

不同进料频率对丙酸产甲烷菌群富集的影响

邓明涛^{1,2}, 杨津津², 李绍康², 侯军华², 常根旺², 钟根茂², 周子粲³, 周继红^{1*},
李翔^{2*}

1. 河北工程大学能源与环境工程学院, 河北 邯郸 056038

2. 中国环境科学研究院, 国家环境保护地下水污染模拟与控制重点实验室, 北京 100012

3. 北京市第四中学, 北京 100034

摘要: 针对厨余垃圾在低频进料模式下进行厌氧消化过程中易积累丙酸导致系统失稳的问题, 以丙酸钠为唯一碳源, 在不同进料频率 (R1、R2、R3 和 R4 四组试验, 分别为每天、每 2 d、3 d 和 4.5 d 进出料 100、200、300 和 450 mL) 下采用半连续进料模式驯化富集丙酸产甲烷菌群, 探究不同进料频率对厌氧消化系统运行过程中产气量、TAN 浓度、挥发性脂肪酸等组分变化以及微生物群落结构的影响; 同时利用修正的 Gompertz 模型分析不同进料频率下厌氧消化系统累计产甲烷动力学特性。结果表明: 每 3 d 进料频率系统能够克服较大的丙酸负荷 [1.5 g/(L·d) 期间] 冲击, 平均日产甲烷量为 409.82 mL, 优于其他进料频率。比较各组模拟的动力学特性发现, 在参数研究范围内, 丙酸厌氧消化系统迟滞时间随着进料频率的升高而减小。不同进料频率下微生物群落结构分析表明, 在第 60 天时 R1、R2、R3 和 R4 四组中具有丙酸氧化功能的菌属的相对丰度从 5.19% 分别增至 13.55%、13.64%、9.31% 和 8.41%, 氢养型产甲烷菌 *Methanoculleus* 在 R1、R2、R3 和 R4 四组厌氧消化系统中的相对丰度分别为 33.63%、29.96%、41.77% 和 41.47%。研究显示, 与每天进料频率的厌氧消化系统相比, 每 2 d、每 3 d 和每 4.5 d 进料频率的系统在较大丙酸瞬时负荷冲击下均有效地促进了丙酸产甲烷菌群的富集和保留, 且综合评估后, 每 2 天或每 3 天进料系统的促进效果较优。

关键词: 厌氧消化; 进料频率; 瞬时丙酸负荷; 丙酸产甲烷菌群

中图分类号: X705

文章编号: 1001-6929(2024)12-2802-12

文献标志码: A

DOI: 10.13198/j.issn.1001-6929.2024.08.05

Effects of Different Feeding Frequencies on the Enrichment of Propionic Acid Methanogenic Bacterial Flora

DENG Mingtao^{1,2}, YANG Jinjin², LI Shaokang², HOU Junhua², CHANG Genwang², ZHONG Genmao²,
ZHOU Zican³, ZHOU Jihong^{1*}, LI Xiang^{2*}

1. School of Energy and Environmental Engineering, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China

2. State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

3. Beijing No.4 High School, Beijing 100034, China

Abstract: Given the issue that food waste tends to accumulate propionic acid during anaerobic digestion in low-frequency feeding modes, leading to system instability, this study used sodium propionate as the sole carbon source to domesticate and enrich propionic acid methanogenic bacteria in a semi-continuous feeding mode. Different feeding frequencies (100, 200, 300 and 450 mL/d, daily, every 2, 3 and 4.5 days, respectively) were employed. The results showed that the anaerobic digestion system enriched propionic acid methanogens with a semi-continuous feeding mode with 100, 200, 300 and 450 mL of feed every 2, 3 and 4.5 d. The effects of different feeding frequencies on the changes in gas production, TAN concentration, volatile fatty acid, and other components as well as the structure of the microbial community were investigated. The system effectively handled a large propionic acid load (1.5 g/(L·d) period), with an average daily methane production of 409.82 mL, outperforming other feeding frequencies. Comparing the kinetic characteristics of each group, the

收稿日期: 2024-05-14 修订日期: 2024-07-30

作者简介: 邓明涛 (1999-), 男, 河北邢台人, deng45662018@163.com

* 责任作者: ①周继红 (1970-), 女, 河北邯郸人, 副教授, 硕士, 主要从事环境监测与评价研究, holly70@163.com; ②李翔 (1970-), 女, 河南洛阳人, 研究员, 博士, 主要从事规划环境影响评价、地下水污染控制与修复技术研究, lixiang@craes.org.cn

基金项目: 国家重点研发计划项目 (No.2021YFC1910403)

Supported by National Key Research and Development Program of China (No.2021YFC1910403)

hysteresis time of the propionic acid anaerobic digestion system decreased with increasing feed frequency within the tested parameters. Analysis of microbial community structure revealed that the relative abundance of genera responsible for propionic acid oxidation increased from 5.19% to 13.55%, 13.64%, 9.31% and 8.41% in groups of R1, R2, R3 and R4, respectively, by day 60. The relative abundance of the hydrogenotrophic methanogenic bacterium *Methanoculleus* was also assessed, with *Methanoculleus* hydrophilicus showing relative abundances of 33.63%, 29.96%, 41.77% and 41.47% in R1, R2, R3 and R4 anaerobic groups, respectively. The study demonstrates that the anaerobic digestion systems with feeding frequencies of 2, 3 and 4.5 days effective promote the enrichment and retention of propionic acid methanogens under larger transient propionic acid loads compared to daily feeding, and the promotion of the feed system every 2 or 3 days was superior after a comprehensive evaluation.

Keywords: anaerobic digestion; feed frequency; instantaneous propionic acid load; propionic acid methanogens

随着我国经济发展和人们生活水平的提高,厨余垃圾产量逐年增长^[1]。厌氧消化可实现生物质能的高效利用^[2],是目前处理厨余垃圾的主流技术。微生物是厌氧消化的主体,厌氧消化过程中,不同功能微生物的连续协同作用保证了厌氧消化体系稳定运行^[3]。厨余垃圾有机质含量高,在厌氧消化过程中微生物降解速率快^[4],容易导致挥发性脂肪酸积累,影响反应进行。其中丙酸具有难降解性以及对其微生物的毒害性,容易造成厌氧系统酸化^[5-7],继而降低产甲烷菌活性,最后使得产气量下降甚至系统酸败,极大地限制了厌氧消化技术的工程化应用。

缓解丙酸抑制是实现厌氧消化高效稳定产甲烷的有效手段之一,研究人员常利用选择性的培养基并控制环境条件来富集耐丙酸的产甲烷菌群,将其投加到厌氧消化体系,加快丙酸降解,提升厌氧消化系统的产甲烷效率。Li 等^[8]以丙酸为底物,采用半连续进料方式注入培养基以富集具有丙酸降解能力的产甲烷菌群,最高有机负荷承受力为 2.5 g/(L·d)。黄心昊^[9]以厌氧活性污泥为基础,以丙酸为底物并辅以氢胁迫,待反应器内丙酸被消耗 95% 以上时再次进出料,以此获得了以互营产乙酸为主要途径的降解丙酸氧化菌群。目前丙酸产甲烷菌群富集方式多以单一频率进料方式进行,或以系统内丙酸降解效果为进出料标志,缺少对丙酸冲击的适应能力。实际上,厨余垃圾湿式厌氧消化过程中,需要对其稀释以降低有机负荷来维持连续进料系统的稳健性^[10],因此每天一次或少次的低频率进料方式成为厨余垃圾厌氧消化的普遍选择^[11]。但这种低频进料模式在高有机负荷下会使厌氧消化初期产生较大的负荷冲击,可能导致水解酸化与产甲烷失衡^[12],最终使厌氧消化失稳或失败。因此有必要富集筛选适宜在低频进料模式下耐丙酸负荷冲击的产甲烷菌群,进而为厨余垃圾湿式厌氧消化的高效稳定运行提供有力保障。

针对低进料频率下丙酸瞬时负荷冲击对产甲烷菌活性的抑制问题,本研究以丙酸钠为唯一碳源,通

过设置不同进料频率来模拟丙酸负荷冲击环境,采用半连续进料方式富集耐丙酸产甲烷菌群,并在菌群培养过程中,探究进料频率对系统产气性能、组分变化以及微生物群落的影响;同时结合不同进料频率下的累积产气量变化,分析厌氧消化系统的产甲烷化动力学特性,以期对丙酸产甲烷强化菌群的富集提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验装置和运行条件

试验装置示意如图 1 所示。采用有效容积为

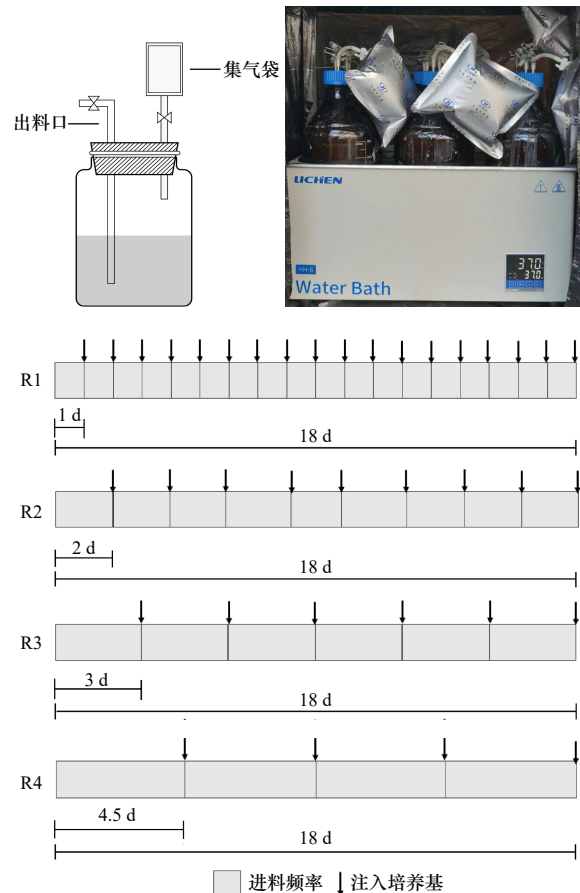


图 1 试验装置与各组运行示意

Fig.1 Schematic diagram of the test setup and the operation of the groups

1.8 L 的棕色厌氧瓶作为半连续进出料的厌氧发酵罐培养丙酸产甲烷菌。发酵瓶均置于 (37±1)℃ 的恒温水浴锅内, 瓶口装有进出料管和出气管。出气管与集气袋相连, 进出料由 500 mL 注射器完成。考虑到热量的散失, 反应装置四周均用黑色塑料袋密封。Bi 等^[13] 在有效容积为 1.6 L 的反应器内探究不同水力停留时间对厨余垃圾与牛粪共厌氧消化性能的影响, 结果显示当水力停留时间为 15 d 时厌氧消化表现出较好的产甲烷性能。基于此以及对本研究反应装置的考量, 将水力停留时间设置为 18 d。根据进出料频率共设置 R1、R2、R3 和 R4 四组实验, 分别为每天、2 d、3 d 和 4.5 d 进出料 100、200、300 和 450 mL, 4 组试验均保持 18 d 的水力停留时间。具体来看, 每天进出料与每 2 d 进出料时, 100 和 200 mL 的进出料量对应于每次置换反应体系内 1/18 和 1/9 的物料, 两组试验 18 d 均可完全置换完反应体系内全部物料, 每 3 d 和每 4.5 d 分别进出料 300 和 450 mL 也是同样的道理。每个丙酸负荷维持一个水力停留时间, 每个试验组另设一个平行组。

1.2 接种物与培养基

实验中所采用的中温厌氧发酵接种物取自北京某厨余垃圾处理厂的厌氧发酵罐中的有机浆液, 接种物在使用前静置一周以消耗本底有机物质^[14]。有机浆液的理化性质见表 1。接种物混匀后均等倒入 4 组厌氧瓶中, 初始接种物以 100% 进行接种。其中 R1 组在 1 d 后注入 100 mL 含丙酸的新鲜培养基并排出 100 mL 的浆液, 依此类推, R2、R3 和 R4 组分别在 2 d、3 d 和 4.5 d 后注入对应量的培养基并排出相应量浆液。为保证发酵效果, 初始接种后, 每个厌氧瓶顶空通入 N₂ 3 min 冲洗反应器以排除空气, 随后立即用止水夹密封以保持厌氧状态。

表 1 有机浆液的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of organic slurries

分析指标	质量分数
TS	5.84%±0.01%
VS	4.32%±0.01%
C	47.91%±0.52%
H	6.64%±0.06%
N	2.60%±0.02%
粗蛋白	8.80%
粗脂肪	1.21%
多糖	9.02%

培养基以丙酸钠为唯一有机碳源, 其他初始组分包括 NaHCO₃ 5 000 mg/L、MgSO₄·6H₂O 250 mg/L、NH₄Cl 400 mg/L、KCl 400 mg/L、FeCl₃·6H₂O 55 mg/L、

CaCl₂·2H₂O 120 mg/L、(NH₄)₂HPO₄ 80 mg/L, 随着丙酸负荷提升, 相应对培养基中氮源浓度提升以维持 C/N 为 28。微量元素溶液组分为 CoCl₂·6H₂O、NiCl₂·6H₂O、MnCl₂·4H₂O、CuCl₂·2H₂O、AlCl₃·6H₂O、ZnCl₂·Na₂WO₄·2H₂O、H₃BO₃、Na₂SeO₃、Ma₂MoO₄·2H₂O, 浓度均为 0.5 mg/L。

1.3 分析方法

总固体含量 (TS) 和挥发性固体含量 (VS) 采用标准重量法^[15] 测定; 总氨氮浓度 (TAN) 采用纳氏试剂分光光度法测定; pH 采用便携式 pH 计 (pH-100A, 上海力辰仪器科技有限公司) 检测; 有机物元素含量由元素分析仪 (Vario EL III, ELEMENTAR, 德国) 测定。

沼气组分和挥发性脂肪酸 (VFAs) 采用气相色谱法进行分析。沼气采用气相色谱法 (填充柱, 柱温 80 °C, 进样口温度 150 °C, 检测器温度 150 °C, 载气为高纯氩气); VFAs 采用气相色谱法 (FFAP 毛细管柱, 柱温 160 °C, 检测器温度 250 °C, 载气为高纯氮气)。

1.4 DNA 提取及测序

采用 FastDNA®土壤 DNA 提取试剂盒 (MP Biomedicals, 美国) 提取 DNA。提取后 DNA 在 10 °C 下保存, 然后进行聚合酶链反应 (PCR) 扩增, 本研究使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 对纯化后的 PCR 产物进行建库构建文库, 并通过 Qubit 和 Q-PCR 进行定量。利用 Illumina Miseq PE300 测序对定量文库进行测序。

1.5 丙酸负荷计算方法

通过阶段性地提高培养基中丙酸钠浓度来对丙酸产甲烷菌群富集。在此基础上, 丙酸负荷可通过式 (1) 进行计算。

$$OLR = (C_{\text{HPr}} \times Q_{\text{feed}}) / V_{\text{eff}} \quad (1)$$

式中: OLR 为有机负荷 (以丙酸计), g/(L·d); C_{HPr} 为培养基丙酸钠浓度, g/L; Q_{feed} 为进料流量, L/d; V_{eff} 为有效容积, L。

1.6 修正的 Gompertz 模型拟合

产气过程的模拟可预测反应体系产气性能。对不同条件下系统的产气产甲烷数据进行非线性拟合, 修正的 Gompertz 方程结构如下:

$$P = P_{\text{max}} \times \exp \left[-\exp \left(R_{\text{max}} \times e \times \frac{\lambda - t}{P_{\text{max}}} + 1 \right) \right] \quad (2)$$

式中: R_{max} 为最大产甲烷日产量, L/g; P_{max} 为最大产甲烷潜力, L/(g·d); λ 为延滞时间, d; t 为厌氧消化时间, d; e 为自然常数, 2.718。

2 结果与讨论

2.1 进料频率对厌氧消化系统运行的影响

2.1.1 不同进料频率系统产甲烷性能

各组日产甲烷量、甲烷含量随时间和有机负荷的变化如图 2 所示。在富集试验整个过程中, 甲烷含量在 58%~68% 范围波动。初始进出料时, 各组甲烷含量基本都在 60% 左右, 各组日产甲烷量在前期波动范围较大, 这与王光远等^[16]的研究结果类似, 每 2 d 进出料时, 一次性加入 2 倍的原料, 丙酸含量增加, 日产气量与每天进出料相比降低。加入后的几天内随着挥发酸逐渐被分解, 产气量升高。同样, 每 3 d 和每 4.5 d 进出料时单次进出料量分别是每天进出料组的 3.0 倍和 4.5 倍, 出料时会使微生物流失进一步增加, 而酸化原料加入过多, 未被分解的挥发酸会对产甲烷微生物的抑制作用强度加大, 日产气量呈波动变化下降的趋势。随着进出料的进行, 各系统逐步适应这种进出料方式, 在丙酸负荷为 1.5 g/(L·d) 期间, 各组甲烷产量升至 68% 左右。

日产甲烷量方面, 在有机负荷为 0.5 g/(L·d) 期间, 刚接种的有机浆液中有机质经过水解酸化后^[17], R1、R2、R3 和 R4 四组的日产甲烷量均达到各自不同的峰值; 之后 R1 和 R2 组的日产气量平稳上升后逐渐

下降, 而 R3 和 R4 组日产甲烷量先下降后逐渐回升最后再次下降。R1 和 R2 组的日产甲烷量峰值出现有机负荷为 1.0 g/(L·d) 的中后期 (30~32 d), 早于 R3 和 R4 组 (36~38 d)。这是因为 R1 和 R2 组较小的出料量能够保留微生物的数量, 当丙酸负荷提升后, 产甲烷菌更易成为主要的优势菌群, 因此相比于 R3 和 R4 组能够有效利用底物进行厌氧消化。图 2 亦显示, 进料频率对丙酸负荷的抑制也有一定的缓解作用。在有机负荷为 1.5 g/(L·d) 期间, R4 组厌氧消化系统在此期间第一次进料后快速下降, 由 329.98 mL 降至 83.37 mL, 随后趋于稳定。R3 组厌氧消化系统在整个期间一直处于波动下降之中, 最终降至 72.45 mL, 但 R3 组在该阶段平均产甲烷量为 409.82 mL, 高于 R1 组 (364.53 mL) 和 R2 组 (392.44 mL)。R1 和 R2 组厌氧消化系统日产甲烷量经历下降之后很快恢复至较高水平。这是因为较高进出料频率能够分配厌氧消化系统内的丙酸负荷, 有助于缓解反应体系内丙酸负荷提升对产甲烷菌的抑制, 促进底物向甲烷的转化^[18]。当有机负荷提升至 2.0 g/(L·d) 后, 各组的日产甲烷量小幅上升后, 紧接着再次出现下降。

2.1.2 pH、TAN 和 VFAs 的浓度变化特性

TAN 作为 VFAs 的缓冲物质, 可以降低系统酸化

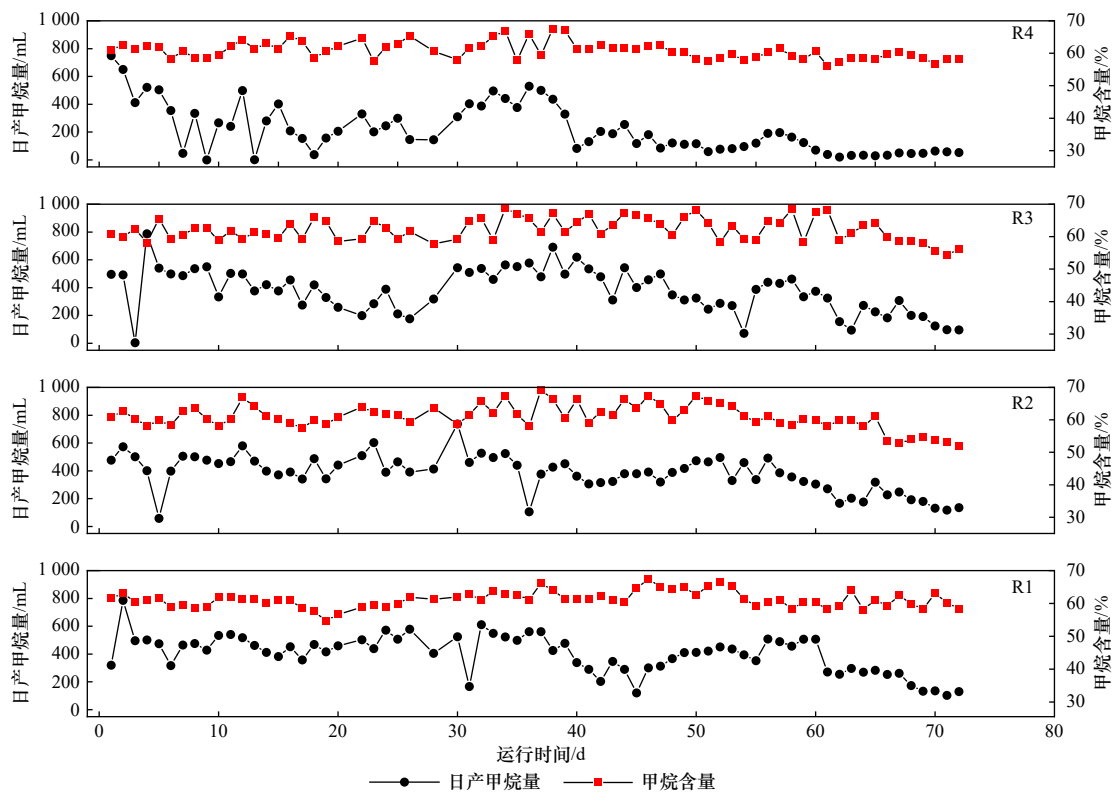


图 2 不同进料频率下产甲烷情况

Fig.2 Methane production under different feed frequencies

的风险^[19],但同时 TAN 也是厌氧消化进程中重要的抑制因子,有研究^[20]表明,当 TAN 浓度达到 1 500 mg/L 时会影响厌氧消化性能。从不同进料频率下 TAN 浓度随时间的变化结果(见图 3)可以看出,各试验组 TAN 浓度整体呈波动下降趋势,一方面可能是由于培养基的注入对氨氮产生了稀释作用,另一方面可能是由于丙酸的瞬时负荷冲击导致有机酸在系统内无

法及时降解,从而导致 TAN 浓度持续下降以中和剩余有机酸^[21]。在有机负荷为 1.0 g/(L·d) 期间,各组日产甲烷量随着氨氮浓度下降均达到了峰值,但 TAN 浓度均始终维持在 1 500 mg/L 以上,表明接种物中的菌群对氨氮浓度有了适应性。有机负荷提升至 2.0 g/(L·d) 后,各 TAN 浓度低于 1 000 mg/L,说明此阶段未出现氨抑制,产甲烷菌活性抑制因素以 VFAs 为主。

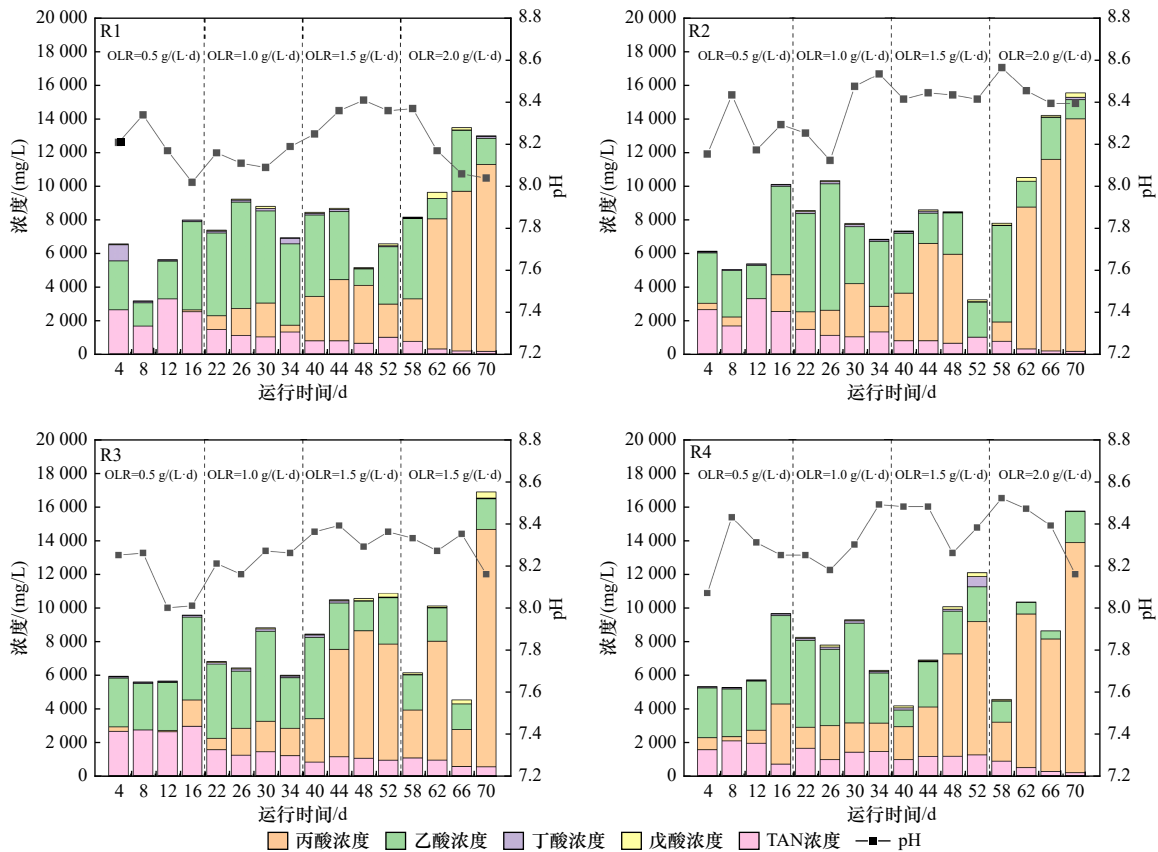


图3 不同进料频率下各厌氧系统中液相参数变化

Fig.3 Variation of liquid phase parameters in each anaerobic system at different feed frequencies

pH 的变化在一定程度上反映了厌氧消化系统的稳定性。如图 3 所示,各组 pH 总体上均呈现先下降后回升最后下降的趋势。这是因为在初始阶段,接种的有机浆液有机质较多,经过水解酸化, VFAs 有了一定的积累,因此在第一个有机负荷初期各试验组 pH 较低,随着产甲烷菌活性恢复, VFAs 被利用^[22]。加之后续以人工配置的培养基作为半连续进料基质, pH 逐渐回升。因丙酸持续积累超过了厌氧消化体系的承受能力, pH 逐渐下降。同时整个厌氧消化阶段, pH 维持在 7.8 以上,高于产甲烷菌最佳 pH 范围 (6.8~7.5)^[23]。李颖等^[24]在对丙酸产甲烷菌系驯化过程中,也出现了 pH 持续大于 7.5 甚至大于 8 的现象。王春芳等^[25]富集的厌氧消化降解菌系最适 pH 范围是 6.0~9.0。

另外有研究显示,若产甲烷菌大量繁殖富集则会推动氨含量升高,致使 pH 过高 (pH>8)^[26]。加之进料中含有 NaHCO₃, 对系统内 pH 的变化有缓冲作用,且部分微生物还会将系统中的某些特定组分转化为碱性物质,这在后续微生物群落结构分析部分得到验证。

不同进料频率下各系统运行过程中各类挥发性酸浓度随时间的变化情况如图 3 所示。各组在有机负荷为 0.5 和 1 g/(L·d) 时,挥发性脂肪酸并未对产气造成明显抑制。主要是因为刚接种物中的微生物数量大,能够有效利用 VFAs^[27]。当有机负荷提升至 1.5 g/(L·d) 后,在第 40~52 天 R1 和 R2 组中丙酸持续积累,日产甲烷量逐渐下降,在静置期内,积累的丙酸被逐渐降解,分别从 4 474.23、3 542.34 mg/L 降至

3 007.72、2 131.14 mg/L, 降幅分别达 33% 和 40%。因此, 此时每天进出料下的厌氧消化系统在该阶段的日产甲烷量表现为经过小幅下降后逐渐回升至稳定状态。第 40~52 天期间, R3 组中平均丙酸浓度为 8 643.34 mg/L, 而 R1 和 R2 组中丙酸的平均浓度分别是 R3 系统的 55% 和 62%, 这主要得益于 R1 和 R2 组在较高的进出料频率下, 有效促进了厌氧消化体系中丙酸负荷的均匀分布, 从而减轻了系统的酸积累现象^[28]。有机负荷升至 2.0 g/(L·d) 后, 前 4 d 内 R1~R4 仍能有效利用丙酸, 但当丙酸浓度继续升高后, 过高的瞬时丙酸负荷高于微生物的降解能力, 进而形成 VFAs 的积累。同时, 由于丙酸对产甲烷菌的抑制作用, 各组日产甲烷量进一步下降, 运行状态变差。

2.2 不同进料频率下累计产甲烷量的动力学分析

将不同进料频率累计产甲烷量进行非线性曲线拟合, 模拟结果如图 4 所示。各组的产甲烷速率呈现先降低后升高的趋势, 这是因为各组进料初期有机质相对充足, 不受底物限制。然而, 随着有机质逐渐被消耗与交换, 底物成为限制产甲烷量的主要因素, 且进料频率越高, 平缓期越短。该试验中, R1 组的最大累计产甲烷量为 27.65 L, 较 R2 组 (26.34 L)、R3 组 (26.05 L) 和 R4 组 (14.91 L) 分别提高了 5.0%、6.2% 和 85%, 说明进料频率的增加有助于提高厌氧系统的甲烷产量。R1、R2 和 R3 组在前期的累计产甲烷量没有显著区别, 在有机负荷 1.5 g/(L·d) 中后期, R3 组产甲烷量介于 R1 和 R2 组之间。这表明 R3 组经过一定时间的丙酸厌氧消化, 对较高丙酸负荷有了一定的耐受性。

不同进料频率下厌氧消化系统的产甲烷潜力

表 2 不同进料频率下修正的 Gompertz 模型的拟合参数

Table 2 Fitting parameters of the modified Gompertz model under different feed frequencies.

组别	累计产甲烷量(P)/(L/g)	产甲烷潜力(P_{\max})/(L/g)	最大产甲烷速率(R_{\max})/[L/(g·d)]	迟滞时间(λ)/d	R^2
R1	27.65	35.124 71±0.812 4	0.447 57±0.006 25	1.054 98±0.421 97	0.995 43
R2	26.34	33.087 03±0.626 60	0.437 7±0.005 35	1.902 11±0.358 04	0.996 65
R3	26.05	34.353 43±1.027 00	0.429 12±0.006 93	2.127 52±0.495 57	0.993 38
R4	14.91	17.067 84±0.347 3	0.272 47±0.007 12	-2.604 88±0.696 70	0.988 68

2.3 不同进料频率对系统微生物群落的影响

2.3.1 微生物属水平群落结构分析

各组在不同有机负荷下属水平上的细菌群落结构如图 5 所示。在初始有机浆液中, 优势细菌为 UCG-004、Fastidiosipila、Gallicola, 其相对丰度分别为 28.34%、10.53%、5.29%。各反应器运行至第 30

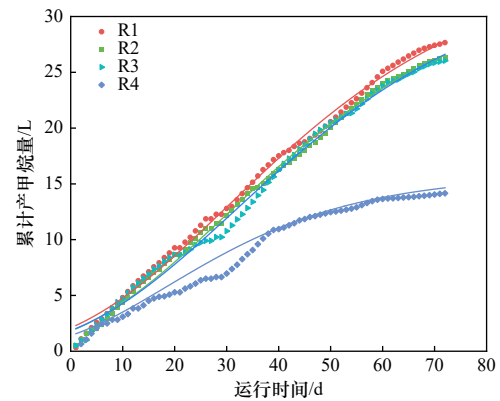
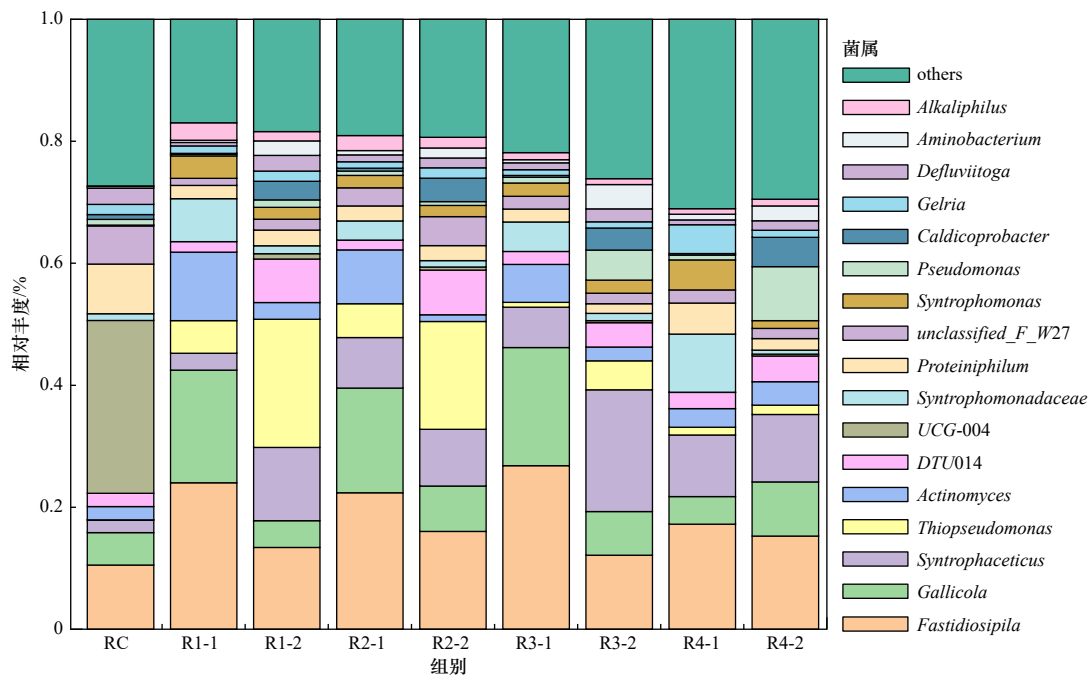


图 4 不同进料频率下累计甲烷产量及拟合曲线

Fig.4 Cumulative methane production and fitted curves under different feed frequencies

(P_{\max})、最大产甲烷速率 (R_{\max}) 和迟滞时间 (λ) 汇总如表 2 所示。4 组的相关系数 R^2 均大于 0.98, 说明修正的 Gompertz 模型可以较好地描述不同进料频率下厨余垃圾的厌氧消化产甲烷过程。R1、R2、R3 和 R4 四组拟合出的 P_{\max} 分别比实际累计产甲烷量 (P) 高出 27.03%、25.61%、31.86% 和 20.11%, 说明丙酸加重了各系统负荷, 影响了累计产甲烷量。 λ 表示迟滞时间, λ 越小, 产甲烷系统启动越快^[29]。由表 2 可知, 随着进料频率的升高, 迟滞时间逐渐减小, 主要原因可能是较低的进料频率和较大的进料量抑制了厌氧消化过程中功能微生物的活性, 减慢了消耗相同质量底物产甲烷速度, 从而在拟合时表现出迟滞时间的增加。每 4 d 进出料的厌氧系统迟滞时间为负值 (-2.6 d), 这种负值的产生可能是由于该厌氧消化系统在一开始就有较大的产甲烷量 (749.16 mL), 从而使累积产甲烷量在丙酸负荷为 0.5 g/(L·d) 初期的值较大, 使得模拟时表现为 λ 值偏小甚至为负值。

天时, 各组中相对丰度位于第一和第二的菌属均分别为 Fastidiosipila 和 Gallicola, 二者能分别利用糖类和蛋白质产生乙酸和丁酸^[30-31], 在水解酸化过程中起着重要作用。R1 组中相对丰度排第三位的菌属为 Actinomyces (11.23%), 其在葡萄糖代谢中具有重要作用, 能利用葡萄糖来生产乙酸^[32]。Actinomyces 相对



注: RC 表示接种物, R1-1 和 R1-2 分别表示 R1 第 30 天丙酸负荷为 1 g/(L·d) 和第 60 天丙酸负荷为 2 g/(L·d) 的样品, 其他依此类推。下同。

图 5 不同进料频率下运行各阶段细菌属水平群落结构

Fig.5 Horizontal community structure of bacterial genera at each operation stage under different feeding frequencies

丰度在其他组中随着进料频率的降低而降低,可能是由于在该试验中进料频率越低,进出料量越大,有机浆液的底物与含丙酸培养基交换作用更为显著,进而导致 *Actinomyces* 所需底物减少,最终使得 *Actinomyces* 相对丰度降低。R2 和 R3 组中相对丰度排第三位的菌属为 *Syntrophaceticus*(互营乙酸氧化菌属)(分别为 8.29% 和 6.64%),其可以将乙酸分解为 H_2 和 CO_2 ^[33],从而为氢养型产甲烷菌提供底物,在厌氧消化系统中同样占有重要地位。该菌相对丰度在 R4 组中最高,为 10.1%,其次是 R3 组,这表明较大的丙酸负荷冲击有利于该菌富集,这也印证了前期文献的报道^[34],*Syntrophaceticus* 可以在极高的氨水平下保持厌氧消化效率,并承受 VFA 过载和氨抑制对系统的冲击。

第 60 天时,丙酸负荷提至 2 g/(L·d)。*Syntrophaceticus* 富集效果更加明显,R1、R2、R3 和 R4 四组厌氧消化系统中 *Syntrophaceticus*(互营乙酸氧化菌属)的相对丰度分别从 2.75%、8.29%、6.64% 和 10.09% 升至 12.03%、9.32%、19.96% 和 11.05%。随着不同进料频率下丙酸型厌氧消化的进行,有机质不断消耗,*Fastidiosipila*、*Gallicola* 作为各组水解产酸菌属,其相对丰度均呈下降趋势,但仍然是各组的优势菌属。*Proteiniphilum* 是一种可以将蛋白质和纤维转化为乙酸的功能细菌^[35],作为协同菌属可以通过

乙酸生成代谢途径加速有机酸向乙酸转化,其在初始接种物中相对丰度较高,并随着进料频率的降低而降低,这可能与系统中底物的浓度有关。同时,*DTU014*、*Syntrophomonadaceae*、*Alkaliphilus* (嗜碱菌属)、*Syntrophomonas* (互营单胞菌属) 和 *Gelria* (凝胶杆菌) 作为各厌氧消化系统中具有丙酸氧化的功能菌属,可以将丙酸转化为乙酸和氢气^[36-40],这些丙酸氧化菌群在发酵体系细菌中的总丰度由富集前的 5.19% 分别增至 13.55%、13.64%、9.31% 和 8.41%,说明长时间以丙酸为碳源进行驯化,可使丙酸氧化菌在微生物菌群中的比例增加。

对比图 6 各组关键功能菌的相对丰度变化可知,*DTU014* 菌属更适应以丙酸为消化底物的生长环境,几乎占各组所有丙酸氧化菌的 50%。*Syntrophomonas*、*Alkaliphilus* 的相对丰度在各组也有所增长,分别是接种物的 9~15 倍和 10~17 倍。其中 *Syntrophomonas* 的相对丰度在 R3 组中最高。Yan 等^[41]通过向厌氧消化反应器定向投加菌属 *Syntrophomonas* 和 *Syntrophobacter*,有效改善了系统中 VFAs 积累问题,其微生物群落分析表明 *Syntrophomonas* 可以适应 VFAs 胁迫环境,并显示出生长优势,有效加速甲烷化过程。同时值得一提的是,在第 60 天,*Syntrophomonas* 的相对丰度在 R1、R2、R3 和 R4 四组厌氧消化系统中分别为 1.96%、1.80%、

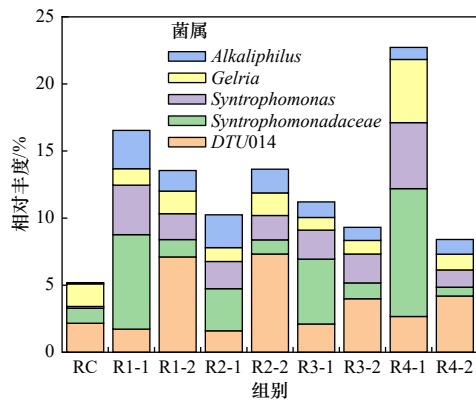


图 6 不同进料频率下目标功能菌在各运行阶段的相对丰度

Fig.6 Relative abundance of target functional bacteria under different feeding frequencies in each running stage

2.13% 和 1.36%, 较第 30 天分别减少了 50%、4.3%、3.2% 和 73.0%。可见在该试验中, R3 组的厌氧消化系统在较大丙酸瞬时负荷冲击下更好地实现了对 *Syntrophomonas* 的富集和保留, 并与 *Syntrophaceticus* 相互协作促进了厌氧消化系统产甲烷。另外, *Gelria* 菌属与 *Syntrophomonas* 一样, 能与氢营养型产甲烷菌互营氧化 VFAs, 在厌氧消化过程中发挥重要作用, 能促进丙酸盐等有机酸向乙酸盐、氢气和二氧化碳转化。其他细菌诸如 *Thiopseudomonas*(硫氧化菌属) 等, 有报道指出其可以反应器内 CHCOO^- 和硫化物为底物生成 OH^- ^[42], 因此这在一定程度上能够提高厌氧消化系统的碱性, 为厌氧消化微生物提供了合适

的生长环境。

在古菌属群落结构方面(见图 7), 在接种物中, 相对丰度为 99.6% 的甲基型产甲烷菌 *Methanosphaera*(甲烷球形菌属) 为绝对优势的产甲烷菌属, *Methanosphaera* 可以乙酸盐为碳源, 利用 H_2 和甲醇产生 CH_4 ^[43-44]。随着厌氧消化的进行, 第 30 天 R1、R2、R3 和 R4 四组中氢营养型产甲烷菌 *Methanoculleus*(甲烷囊菌属) 的相对丰度从 0.36% 分别升至 1.02%、1.79%、1.74% 和 3.66%, *Methanosphaera* 依然为各组的优势菌属, 此时 R1、R2、R3 和 R4 四组中 *Methanosphaera* 的相对丰度分别为 98.96%、98.18%、98.22% 和 96.24%, 与初始接种物相差不大, 显示出良好的稳定性。值得注意的是, 尽管总体趋势相似, R4 组中 *Methanosphaera* 的相对丰度相较于其他组有所降低, 这一现象可能更多地归因于较低的进料频率影响, 而非丙酸负荷的直接作用, 表明此时丙酸负荷对 *Methanosphaera* 的影响较为有限。随着丙酸负荷的提升, 第 60 天时, R1、R2、R3 和 R4 四组 *Methanoculleus* 的相对丰度进一步分别升至 33.63%、29.96%、41.77% 和 41.47%, 成为优势菌属, 这进一步佐证了丙酸负荷和进料频率在调控产甲烷途径中发挥重要作用。而 *Methanoculleus* 能够利用 H_2 和 CO_2 合成甲烷^[45], *Syntrophaceticus* 将水解酸化而来的乙酸转化来的氢气有利于 *Methanoculleus* 的生长, 同时 *Methanoculleus* 能够更有效地维持系统内氢分压平衡, 为厌氧发酵过程创造了一个更加有利的环境。*Methanimicrococcus*(甲烷微球菌属) 是一种利用乙酸生产甲烷的乙酸营养型产甲烷菌属^[46], 在各

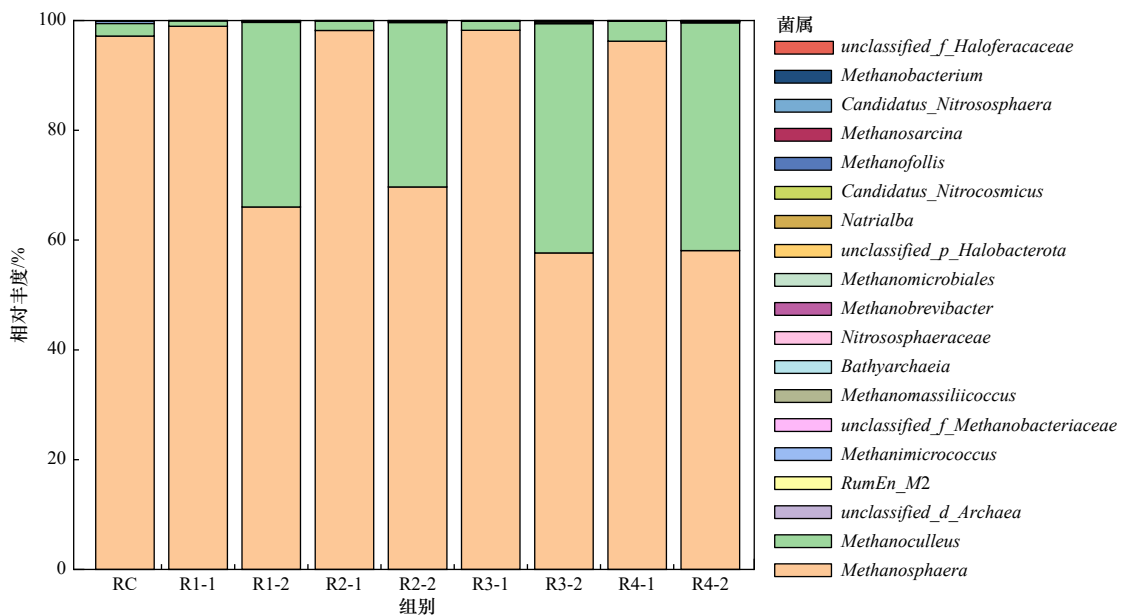


图 7 不同进料频率下运行各阶段古菌属水平群落结构

Fig.7 Horizontal community structure of Archaea at each run stage under different feeding frequencies

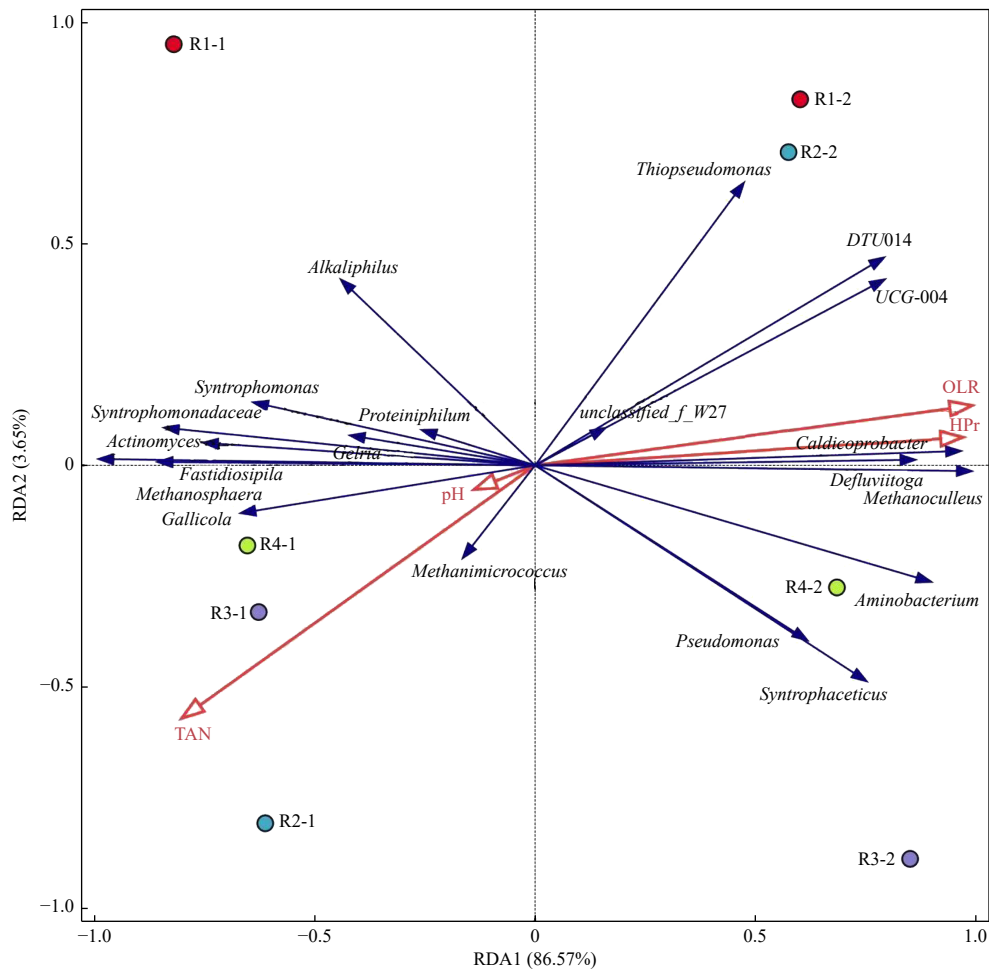
试验组中其相对丰度相较于初始接种时显著下降,甚至在 R2 组中完全消失,表明系统中丙酸负荷的冲击对其生长构成了显著抑制,进而导致了乙酸消耗途径的转变。有报道^[47]指出,氢养型产甲烷菌相较于其他产甲烷途径,有着更高的能量获取效率,因此在环境胁迫下可能相比于其他类型产甲烷菌更有优势。

2.3.2 环境因子和关键微生物属的相关性分析

为进一步了解微生物群落与环境因子的相关性,采用 RDA 分析了影响微生物群落的 4 个环境因子。由图 8 可知,两个轴分别解释了所有微生物中的 86.57% 和 3.65% 的变化。从图 8 可以看出,与丙酸浓度 (HPr) 相关性较强的功能微生物是 *Methanoculleus*、*DTU014* 和 *Syntrophaceticus*。此外,还有几类重要的水解酸化菌属。例如, *Aminobacterium* (氨基杆菌属) 可以参与氨基酸代谢, *Caldicoprobacter* (钙杆菌属) 则能发酵多种糖类,并以乳酸、乙酸等有机酸作为最终产物^[48],同时 *Defluviitoga* 也在糖类分解过程中也起着重要作

用^[49]。这些菌属与丙酸浓度呈正相关,说明这些菌属随着丙酸浓度的增加而富集。同时有研究指出,厌氧系统中胞外聚合物的含量会随着富集的进行而提高^[50],因此推测这些发酵型细菌的存在是由于系统中含有大量的胞外聚合物。胞外聚合物主要成分与微生物的胞内成分相似,是一些高分子物质,如多糖、蛋白质和核酸等聚合物^[51]。因此在第 60 天,胞外聚合物可以被上述水解酸化细菌转化为乙酸。另外,鉴于第 60 天时, *Methanoculleus*、*DTU014* 和 *Syntrophaceticus* 的相对丰度较高,推测 *DTU014* 是主要的丙酸利用细菌,其将丙酸氧化为乙酸和 H_2 , 然后部分乙酸被 *Syntrophaceticus* 进一步利用以产生 CO_2 。 *Methanoculleus* 是氢养型产甲烷菌,第 60 天时细菌生产的中间产物乙酸、 H_2 和 CO_2 能够被 *Methanoculleus* 利用进行产甲烷。

进一步分析,第 30 天的样品都位于负向一侧 (见图 8), 其中 R2-1 与 R2-2 相距较远,从而认为 R2 组



注: 图中菌属名称对应其相对丰度。

图 8 不同进料频率下反应器中微生物群落 RDA 分析

Fig.8 RDA analysis of microbial communities in the reactor under different feed frequencies.

中两个阶段细菌群落结构与功能差异性较大,富集效果明显。*Fastidiosipilah* 和 *Gallicola* 等水解酸菌属, *Syntrophomonas* 和 *Gelria* 等产氢产乙酸菌属, 以及 *Methanospaera* 和 *Methanimicrococcus* 产甲烷古菌, 均与丙酸浓度呈负相关。持续增加的丙酸负荷导致系统在进料时遭受的酸冲击变强, 这导致 *Fastidiosipilah* 和 *Gallicola* 相对丰度下降。第 30 天时丙酸负荷较低, *Methanoculleus* 对系统内氢分压的消耗作用不显著, *DTU014*、*Syntrophomonadaceae*、*Syntrophomonas* 等与 *Methanimicrococcus* 的互营耦合能够实现丙酸转化为甲烷的全过程。同时除了氢营养型产甲烷途径和乙酸营养型产甲烷途径以外, 甲醇营养型产甲烷途径也在甲烷生成过程中发挥了重要的作用, 鉴于系统中挥发性脂肪酸成分中长期含乙酸, 推测系统中还可能存在丙酸通过裂解反应直接转化为乙酸和甲基化合物的降解新途径。从冗余分析结果可以看出, 不同的进料频率策略和丙酸负荷对微生物群落的聚类也产生了一定的影响。

3 结论

a) 本研究构建了不同丙酸瞬时负荷冲击的厌氧消化系统, 每 2 d、每 3 d 和每 4.5 d 进料频率系统相较于每天进料频率系统在更大的丙酸瞬时负荷冲击下均有效促进了丙酸产甲烷菌群的富集和保留, 且每 2 d 的效果最优。但在 1.5 g/(L·d) 较高丙酸负荷冲击下, 虽然每天较高进料频率有助于缓解系统负荷, 但每 3 d 和每 2 d 进料频率系统获得了更高的平均产甲烷量。综合考虑, 选择富集一定时间后每 2 d 进料频率和每 3 d 进料频率组既能兼顾高效的产甲烷性能, 又能较好地抵抗丙酸负荷冲击带来的负面影响。

b) 不同进料频率下的厌氧消化系统都实现了 H_2 和 CO_2 合成甲烷的代谢途径, 丙酸不断冲击下不同程度地促进了两种古菌 *Methanoculleus*、*Methanospaera* 与 *Syntrophaceticus* 的互营氧化作用。

参考文献 (References):

- [1] JIN C X,SUN S Q,YANG D H,et al.Anaerobic digestion:an alternative resource treatment option for food waste in China[J]. *Science of the Total Environment*,2021,779:146397.
- [2] 张衍,韩鹏,刘和,等.蒸汽爆破对污泥和餐厨垃圾联合厌氧消化的促进效果 [J]. *环境科学研究*,2018,31(8):1471-1478.
ZHANG Y,HAN P,LIU H,et al.Enhancement of anaerobic co-digestion of sludge and food waste by steam explosion pretreatment[J]. *Research of Environmental Sciences*,2018,31(8):1471-1478.
- [3] FENG S S,HONG X J,WANG T,et al.Reutilization of high COD leachate via recirculation strategy for methane production in anaerobic digestion of municipal solid waste:performance and dynamic of methanogen community[J]. *Bioresource Technology*,2019,288:121509.
- [4] 唐曼玉,王晚晴,强敬雯,等.调控厨余垃圾厌氧消化产沼研究进展 [J]. *食品与发酵工业*,2023,49(17):324-331.
TANG M Y,WANG W Q,QIANG J W,et al.Research progress in regulating biogas production by anaerobic digestion of kitchen waste[J]. *Food and Fermentation Industries*,2023,49(17):324-331.
- [5] HAN Y,GREEN H,TAO W D.Reversibility of propionic acid inhibition to anaerobic digestion:inhibition kinetics and microbial mechanism[J]. *Chemosphere*,2020,255:126840.
- [6] LI Q,LIU Y Q,YANG X H,et al.Kinetic and thermodynamic effects of temperature on methanogenic degradation of acetate, propionate,butyrate and valerate[J]. *Chemical Engineering Journal*,2020,396:125366.
- [7] 阮仁俊,李运晴,项经纬,等.废铁屑对剩余污泥厌氧消化特性的影响 [J]. *环境科学研究*,2020,33(9):2156-2162.
RUAN R J,LI Y Q,XIANG J W,et al.Influence of rusty scrap iron on anaerobic digestion performance of waste-activated sludge[J]. *Research of Environmental Sciences*,2020,33(9):2156-2162.
- [8] LI Y,ZHANG Y,SUN Y M,et al.The performance efficiency of bioaugmentation to prevent anaerobic digestion failure from ammonia and propionate inhibition[J]. *Bioresource Technology*,2017,231:94-100.
- [9] 黄心昊.丙酸氧化产甲烷菌系的驯化及其对酸化 ASBR 恢复的生物强化作用 [D].福州:福州大学,2020.
- [10] ANGELONIDI E,SMITH S R.A comparison of wet and dry anaerobic digestion processes for the treatment of municipal solid waste and food waste[J]. *Water and Environment Journal*,2015,29(4):549-557.
- [11] LI Q,LI H,WANG G J,et al.Effects of loading rate and temperature on anaerobic co-digestion of food waste and waste activated sludge in a high frequency feeding system,looking in particular at stability and efficiency[J]. *Bioresource Technology*,2017,237:231-239.
- [12] YIN Y N,SONG W Z,WANG J L.Inhibitory effect of acetic acid on dark-fermentative hydrogen production[J]. *Bioresource Technology*,2022,364:128074.
- [13] BI S J,HONG X J,YANG H Z,et al.Effect of hydraulic retention time on anaerobic co-digestion of cattle manure and food waste[J]. *Renewable Energy*,2020,150:213-220.
- [14] 高一鸣.丙酸产甲烷菌系驯化及对餐厨垃圾厌氧发酵强化作用研究 [D].哈尔滨:东北农业大学,2018.
- [15] SUMMERS Z M,FOGARTY H E,LEANG C,et al.Direct exchange of electrons within aggregates of an evolved syntrophic coculture of anaerobic bacteria[J]. *Science*,2010,330(6009):1413-1415.
- [16] 王光远,李文哲,李嵩,等.进出料频率对牛粪两相厌氧发酵特性的影响 [J]. *环境工程学报*,2016,10(1):306-310.
WANG G Y,LI W Z,LI H,et al.Effect of feeding frequency on two-phase anaerobic fermentation characteristics of dairy manure[J].

- [Chinese Journal of Environmental Engineering](#),2016,10(1):306-310.
- [17] 王紫琪,周海东,张喆,等.活性污泥及其与秸秆共基质的厌氧消化特性 [J].[环境科学研究](#),2017,30(2):315-321.
WANG Z Q,ZHOU H D,ZHANG Z,et al.Characteristics of anaerobic digestion of activated sludge and co-substrates with waste straw[J].[Research of Environmental Sciences](#),2017,30(2):315-321.
- [18] 周慧敏,姜璐秋,王琨,等.有机负荷和进料频率对高含固厨余垃圾厌氧消化系统性能的影响 [J].[环境科学学报](#),2020,40(10):3639-3650.
ZHOU H M,JIANG J Q,WANG K,et al.Effects of organic loading rate and feeding frequency on high solid food waste anaerobic digestion system[J].[Acta Scientiae Circumstantiae](#),2020,40(10):3639-3650.
- [19] MENG X S,YU D W,WEI Y S,et al.Endogenous ternary pH buffer system with ammonia-carbonates-VFAs in high solid anaerobic digestion of swine manure:an alternative for alleviating ammonia inhibition?[J].[Process Biochemistry](#),2018,69:144-152.
- [20] MAHDY A,BI S J,SONG Y L,et al.Overcome inhibition of anaerobic digestion of chicken manure under ammonia-stressed condition by lowering the organic loading rate[J].[Bioresource Technology Reports](#),2020,9:100359.
- [21] 张念瑞,李倩,许曼娟,等.进料频率对餐厨垃圾与剩余污泥中温共发酵系统稳定性的影响 [J].[环境工程学报](#),2018,12(2):638-644.
ZHANG N R,LI Q,XU M J,et al.Effect of feeding frequency on stability of mesophilic co-digestion of food waste and waste activated sludge[J].[Chinese Journal of Environmental Engineering](#),2018,12(2):638-644.
- [22] 张彤,张立秋,封莉,等.含固率和有机负荷对厨余垃圾厌氧消化性能及沼渣特性的影响 [J].[环境科学研究](#),2022,35(11):2596-2607.
ZHANG T,ZHANG L Q,FENG L,et al.Effects of total solid content and organic loading rate on anaerobic digestion performance and biogas residue characteristics of kitchen waste[J].[Research of Environmental Sciences](#),2022,35(11):2596-2607.
- [23] PRAMANIK S K,SUJA F B,ZAIN S M,et al.The anaerobic digestion process of biogas production from food waste:prospects and constraints[J].[Bioresource Technology Reports](#),2019,8:100310.
- [24] 李颖.丙酸产甲烷菌系的驯化过程及生物强化作用研究 [D].北京:中国农业大学,2017.
- [25] 王春芳.秸秆好氧-厌氧联合生物降解与强化作用的研究 [D].北京:中国农业科学院,2016.
- [26] HAO L P,LÜ F,LI L,et al.Self-adaption of methane-producing communities to pH disturbance at different acetate concentrations by shifting pathways and population interaction[J].[Bioresource Technology](#),2013,140:319-327.
- [27] 熊荣波,柳丽,孟艳,等.含固率和接种比对菜籽饼中温厌氧消化特性的影响 [J].[环境科学研究](#),2022,35(1):230-237.
XIONG R B,LIU L,MENG Y,et al.Effects of total solid content and inoculation ratio on anaerobic digestion of rapeseed cake[J].[Research of Environmental Sciences](#),2022,35(1):230-237.
- [28] 高泽洋.高频进料对厌氧膜生物反应器处理餐厨垃圾效能的影响研究 [D].西安:西安建筑科技大学,2022.
- [29] ZHANG M,YANG Y W,MOU H Q,et al.Enhanced methane yield in anaerobic digestion of waste activated sludge by combined pretreatment with fungal mash and free nitrous acid[J].[Bioresource Technology](#),2023,385:129441.
- [30] LI D Y,SUN M Y,XU J F,et al.Effect of biochar derived from biogas residue on methane production during dry anaerobic fermentation of kitchen waste[J].[Waste Management](#),2022,149:70-78.
- [31] WEI Y F,BAO R,GUAN R L,et al.Solid-state co-digestion of food waste and highland barley straw:effect of inoculum-substrate ratio on the performance and microbial community structure[J].[Waste and Biomass Valorization](#),2024,15(4):2019-2031.
- [32] 欧阳创,张余睿,邵俊,等.沼渣水热炭与沼渣热解炭强化餐厨垃圾厌氧消化对比研究 [J].[环境卫生工程](#),2024,32(3):47-53.
OUYANG C,ZHANG Y R,TAI J,et al.Comparative study on anaerobic digestion of food waste enhanced by biogas residue hydrochar and biogas residue pyrochar[J].[Environmental Sanitation Engineering](#),2024,32(3):47-53.
- [33] LI Y Z,ZHANG S H,CHEN Z,et al.Biogas slurry reflux enhances the organic loading rate of high-solid anaerobic digestion of kitchen waste by alleviating fatty acids accumulation[J].[Chemical Engineering Journal](#),2024,482:149072.
- [34] BAO R,WEI Y F,GUAN R L,et al.High-solids anaerobic co-digestion performances and microbial community dynamics in co-digestion of different mixing ratios with food waste and highland barley straw[J].[Energy](#),2023,262:125529.
- [35] TAN J Y,CHEN C,ZHANG C C,et al.Roles of oxygen in methane oxidation coupled denitrification in membrane biofilm reactors[J].[Chemical Engineering Journal](#),2024,493:152744.
- [36] LEE J,KOO T,YULISA A,et al.Magnetite as an enhancer in methanogenic degradation of volatile fatty acids under ammonia-stressed condition[J].[Journal of Environmental Management](#),2019,241:418-426.
- [37] YAN M,TREU L,CAMPANARO S,et al.Effect of ammonia on anaerobic digestion of municipal solid waste:inhibitory performance,bioaugmentation and microbiome functional reconstruction[J].[Chemical Engineering Journal](#),2020,401:126159.
- [38] ZHANG S H,HU Y Y,FU N X,et al.Enhancing kitchen waste anaerobic digestion by recycled aluminum industry waste:alkali treatment and potential electron transfer mechanism[J].[Journal of Environmental Chemical Engineering](#),2024,12(2):112409.
- [39] 毕豪华,高春娣,刘奕伟,等.pH 值调控方法对剩余污泥厌氧发酵的影响 [J].[中国环境科学](#),2023,43(9):4648-4657.
BI H H,GAO C D,LIU Y W,et al.Effects of pH control methods on anaerobic fermentation of waste activated sludge[J].[China](#)

- [Environmental Science](#),2023,43(9):4648-4657.
- [40] YUSUF H H,PAN X F,YE Z L,et al.Revolutionizing sanitation: valorizing fecal slags through co-digesting food waste at high-solid content and dosing metallic nanomaterials for anaerobic digestion stability[J].[Journal of Environmental Management](#),2024, 353:120177.
- [41] YAN M,HU Z Y,DUAN Z H,et al.Microbiome re-assembly boosts anaerobic digestion under volatile fatty acid inhibition: focusing on reactive oxygen species metabolism[J].[Water Research](#),2023,246:120711.
- [42] 谭文勃.混养反硝化硫细菌 *Thiopseudomonas denitrificans* X2 的分离鉴定与基因组学研究 [D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2017.
- [43] MACÉDO W V,HARPØTH R D,POULSEN J S,et al.Anaerobic digestion of wastewater from hydrothermal liquefaction of sewage sludge and combined wheat straw-manure[J].[Bioresource Technology](#),2024,399:130559.
- [44] WANG Y D,LI W,WANG Y K,et al.Anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge in anaerobic sequencing batch reactors with application of co-hydrothermal pretreatment of sewage sludge and biogas residue[J].[Bioresource Technology](#), 2022,364:128006.
- [45] DI L,WANG F,LI S Y,et al.Influence of nano-Fe₃O₄ biochar on the methanation pathway during anaerobic digestion of chicken manure[J].[Bioresource Technology](#),2023,377:128979.
- [46] 艾冰.餐厨垃圾和污泥协同中温厌氧消化的优化研究 [D].杭州:浙江大学,2022.
- [47] 冷欢,杨清,黄钢锋,等.氢营养型产甲烷代谢途径研究进展 [J].微生物学报,2020,60(10):2136-2160.
- LENG H,YANG Q,HUANG G F,et al.Recent advances in hydrogenotrophic methanogenesis[J].[Acta Microbiologica Sinica](#), 2020,60(10):2136-2160.
- [48] 任元森,张海波,程红艳,等.pH 值对猪粪与菌糠共发酵产酸特性及微生物群落的影响 [J].[河南农业科学](#),2023,52(5):110-120.
- REN Y S,ZHANG H B,CHENG H Y,et al.Effect of pH value on acid production characteristics and microbial community in co-fermentation of pig manure and spent mushroom substrate[J]. [Journal of Henan Agricultural Sciences](#),2023,52(5):110-120.
- [49] 程东兴,胡以松,屈艺,等.AnMBR 处理剩余污泥与厨余共消化的效能研究 [J].[中国环境科学](#),2023,43(9):4676-4687.
- CHENG D X,HU Y S,QU Y,et al.Study on the performance of AnMBR in treating the co-digestion of sewage sludge and food waste[J].[China Environmental Science](#),2023,43(9):4676-4687.
- [50] HE S F,ZHAO L X,FENG L K,et al.Mechanistic insight into the aggregation ability of anammox microorganisms:roles of polarity, composition and molecular structure of extracellular polymeric substances[J].[Water Research](#),2024,254:121438.
- [51] 谭煜,付丽亚,周鉴,等.胞外聚合物 (EPS) 对污水处理影响的研究进展 [J].[环境工程技术学报](#),2021,11(2):307-313.
- TAN Y,FU L Y,ZHOU J,et al.Research progress of the effects of extracellular polymeric substances (EPS) on wastewater treatment system[J].[Journal of Environmental Engineering Technology](#), 2021,11(2):307-313.

(责任编辑:周巧富)