



种泥对微晶纤维素高温干式消化的影响

张越, 李蕾[✉], 唐周利, 叶文杰, 高小峰, 彭绪亚

重庆大学三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400045

摘要 为筛选出木质纤维素类底物高温干式厌氧消化的最适种泥, 采集牛粪、中温沼渣、脱水污泥和渗滤液污泥 4 类接种物, 进行单独或两两 1:1 (以挥发性有机物含量为基准) 互混; 开展了种泥预孵化后, 以微晶纤维素为模型底物, 开展了批次厌氧消化实验。对比了各组反应器产气性能、微生物群落及功能基因的差异。结果表明, 种泥互混后预孵化组比单独预孵化组具有更优的产气性能, 尤其含有沼渣的种泥互混组产气效果最佳, 沼渣与渗滤液污泥 (DDL)、与牛粪 (DDC) 和与脱水污泥的互混组 (DSD) 在预孵化阶段的甲烷回收率分别高达 97.3%、96.2% 和 92.9%, 其余组则仅 10.7%~53.1%。微晶纤维素批次消化实验中, DSD 组甲烷回收率依然高达 93.7%±5.5%, 其余组在 71.2%~83.7%。碳平衡分析发现, 各实验组在末期并未出现挥发性脂肪酸的积累, 溶解性和颗粒态化学需氧量 (COD), 尤其颗粒态 COD 未能成功水解是其余反应器甲烷回收率不足的主要原因。微生物分析发现, DSD 组具有最高的微生物丰富度和多样性, 且其产甲烷菌和产氢产乙酸菌丰度都显著高于其余组; 水解酸化菌 *norank_c_D84-2* 和 *norank_p_Firmicutes* 在该组中的丰度也显著大于其余组。这些微生物与甲烷产率正相关, 共同保证了 DSD 组最优的产气性能和产气动力学。功能基因预测结果表明, DSD 组产甲烷功能显著强于其余组; 产酸和水解功能基因总丰度与其余组没有明显差异。综上, 秸秆类底物高温干式消化的最适种泥是沼渣与脱水污泥 1:1 互混。本研究结果可为秸秆类农业废物大中型沼气工程项目的种泥选择提供指导。

关键词 厌氧消化; 秸秆; 种泥; 高温干式消化; 微生物群落

农业废物是我国最大的固体废物流。《“十四五”全国清洁生产推行方案》提出加强农业废弃物资源化利用, 因地制宜采取堆沤腐熟还田、生产有机肥、生物天然气等方式, 加大农业废物资源化利用力度。秸秆是农业废物中占比最大的废物, 年产量约 8×10^8 t^[1]。采用厌氧消化 (anaerobic digestion, AD) 技术处理秸秆, 不仅可以实现秸秆减量化、资源化, 产生的生物天然气还可代替化石能源使用, 沼液沼渣制备的有机肥则可部分代替化肥, 进而双重助力减污降碳, 为我国双碳战略的实施增砖添瓦^[2]。鉴于此, 秸秆厌氧消化广受关注。

根据反应器内消化物料含固率 (total solid, TS) 的不同, AD 可以分为干式和湿式两大类。相比湿式消化技术, 干式消化预处理简单、容积负荷高、容积产气率大、沼液产量低, 在高含固废物的处理中极具吸引力^[3]。另外, 根据温度的不同, 又可将 AD 分为中温和高温消化。高温 AD 具有较高的有机质降解率和沼气产量, 较短的停留时间, 对病原菌的杀灭效果也更好^[4]。考虑到秸秆含固率高且富含木质纤维素等难降解有机物, 采用高温、干式消化技术处理秸秆具有更好的应用前景。

种泥对厌氧消化过程具有重要影响, 其中的优势菌群对反应器产气性能及过程稳定性都至关重要。过去常用做种泥的材料有畜禽粪便、污水污泥、沼渣、渗滤液生化段污泥等^[5-8]。但很多研究集中在它们单独或联合作湿式消化系统种泥时的优劣性对比上^[5]。如 SICCHIERI 等^[6]在果蔬垃圾的中温湿式厌氧消化系统中, 对比牛粪消化渣、污泥消化渣、厨余沼渣、猪粪消化渣、新鲜牛粪、牛瘤胃液等种泥的优劣性, 发现来自厌氧工艺的接种物对该 AD 过程表现出更大的适应性。刘健峰^[7]用污水厂污泥、猪粪和水葫芦渣作为接种物进行湿式厌氧消化产沼气, 其中污水污泥厌氧消化系统的动力学参数显著高于猪粪和水葫芦渣厌氧消化系统, 且该系统中微生物多样性较高, 功能模块更齐全。随着干式消化技术的推广, 也有少量研究探索了种泥对中

收稿日期: 2023-11-25 录用日期: 2024-02-01

基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项资助 (CSTB2023TIAD-KPX0084)

第一作者: 张越 (1999—), 男, 硕士研究生, 570930973@qq.com ✉通信作者: 李蕾 (1989—), 女, 博士, 副教授, lileich17@cqu.edu.cn

温干式消化系统的影响。如林艺平^[8]在厨余垃圾中温干式发酵系统中，对比了湿式厌氧发酵的消化污泥和脱水污泥分别作为接种物时，对系统产气量和产气速率的影响。但对高温干式厌氧消化系统中最优种泥的筛选还鲜有报道。

在此背景下，本研究选择了牛粪、中温沼渣、脱水污泥和渗滤液污泥，将其互混后接种至高温干式消化反应器中，研究不同种泥反应器降解模型底物（微晶纤维素）时的产气性能及动力学，并探索了各反应器的微生物群落差异。本研究的目的是筛选出最优的秸秆类废物高温干式消化种泥，为秸秆厌氧消化工程的启动运行提供指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验的接种物由沼渣、渗滤液处理厂生化段脱水污泥、脱水剩余污泥和牛粪组成。其中，沼渣取自重庆江津厨余垃圾厌氧消化场，渗滤液生化段脱水污泥取自重庆江津垃圾填埋场，剩余污泥取自重庆沙坪坝排水有限公司，牛粪取自重庆沙坪坝某私人养牛场。取回的接种物首先过 20 目筛子，去除其中大颗粒的有机物，随后进行理化特性测试，结果见表 1。

表 1 接种物的基本性质
Table 1 Characteristics of seeding sludge

种泥类别	TS/%	VS/%	pH	VFAs/ (mg·L ⁻¹)	TA/ (mg·L ⁻¹)	氨氮/ (mg·L ⁻¹)	C/%	H/%	O/%	N/%	C/N
中温沼渣	57.00	46.89	7.59	694	2 764	207	61.73	9.20	28.13	0.68	91.89
剩余污泥	16.76	10.03	7.29	3 293	4 701	920	30.10	4.97	59.17	5.10	5.9
渗滤液污泥	10.59	8.51	8.03	362	4 169	211	41.88	6.05	42.94	7.54	5.56
牛粪	22.35	18.15	7.69	2 062	5 145	424	34.64	4.86	58.02	2.14	16.13

注：表中VS、VFAs、TA分别指种泥的挥发性有机物含量、挥发性脂肪酸和碱度浓度。

1.2 实验设计

为保证各反应器发酵条件的一致性，将取回的种泥稀释或离心浓缩至 TS 约 20% 后，单独或两两以 VS 比 1:1 混合，置于总容积 1 L，有效容积 600 mL 的反应器中，充入氮气排空瓶内氧气，随后将所有反应器放在 55 ℃ 水浴锅中开展预孵化。预孵化旨在消除种泥中残余的溶解性有机物，避免对后续产气结果产生影响。且考虑到这些接种物之前均来自湿式、中温或常温系统，预孵化过程中还可以让接种物中的微生物提前适应高温、干式的环境条件。

每个反应器包含的种泥类别及混合后反应器内的 TS、VS 及理论甲烷产率见表 2。预孵化过程中每天记录反应器产气量，至产气停止后，再次测量各反应器中的 VS 含量，随后按底物和接种物 VS 比为 1，投加微晶纤维素模拟秸秆厌氧消化。向各反应器中加入微晶纤维素后，搅拌均匀，随后采用 10 mol·L⁻¹ 的 HCl 或 NaOH 将反应器初始 pH 调整到 7.3±0.1。同样充入氮气后置于 55 ℃ 的水浴锅中开始实验，直至日产气量小于累积产气量的 1% 时停止。实验过程中每个实验组设置 3 个平行。

1.3 理化分析

实验过程中采用气袋收集沼气并将其换算成

表 2 实验组别及其基本特性
Table 2 Experimental groups and their basic characteristics

实验组	种泥类别				TS/%	VS/%	理论甲烷产率/ (mL CH ₄ ·gVS ⁻¹)
	中温 沼渣	剩余 污泥	渗滤液 污泥	牛粪			
DD	√				22.00	18.10	536.00
CM				√	22.35	18.15	316.94
LS			√		19.79	15.90	348.41
DS		√			20.45	12.24	228.83
DDL	√		√		20.83	16.93	509.20
DDC	√			√	22.17	18.12	493.47
DSC		√		√	21.22	14.62	272.88
DSD	√	√			21.08	14.60	449.41
CML			√	√	20.99	16.95	332.67
DSL		√	√		20.16	13.83	288.62

标况 (101.325 kPa, 273.15 K) 下的体积。气体成分采用气相色谱测定。在批次实验中产气量达到理论产气量 10%~20% 间隔时, 取样测沼液的 pH、溶解性化学需氧量 (SCOD)、VFAs、TA 以及总氮 (TAN) 等理化参数。pH 采用 pH 计 (pHS-3E, 上海雷磁) 测定, 随后将沼液于 $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 取上清液用于测定 SCOD、TAN、碱度和 VFAs。上述液相指标及 TS、VS、元素组成等分析方法见前期研究^[9]。

1.4 微生物分析

考虑到研究发现种泥互混使用比单独使用具有更好的效果, 在 6 个互混实验组末期采集了 6 组共 18 个样品进行微生物分析。DNA 抽提、PCR 扩增等程序见前期研究^[10]。纯化产物送上海美吉生物技术有限公司 MiSeq 高通量测序平台 (NovaSeq PE250 platform) 进行上机测序。产生的原始核苷酸序列已上传至 NCBI 数据库, 登记号为 PRJNA970220。原始数据的质控、拼接、物种注释、多样性计算、群落结构差异及功能潜能预测方法见前期研究^[11-12]。

1.5 统计与计算

各实验组产气及理化数据的显著差异采用 SPSS 软件, 基于邓肯多重范围检验进行单因素方差分析。为了更直观地分析各阶段代谢情况, 将 CH_4 、VFAs 等转化为 COD 以开展碳平衡分析, 除 COD_{VFA} 之外的溶解性 COD 定义为 $\text{SCOD}_{\text{其他}}$, $\text{COD}_{\text{颗粒}}$ 以总 COD 扣除 COD_{CH_4} 、 COD_{VFA} 和 $\text{SCOD}_{\text{其他}}$ 获得。 COD_{VFA} 的转化公式参考前期研究^[10]。理论产气量根据 Buswell & Mueller 公式计算。采用修正的 Gompertze 模型描述各反应器的产气动力学^[13]。模型参数采用 origin 9.3 进行模拟, 相关系数 (R^2) 用于判断模型准确性, 停滞期 (λ)、最大产气速率 (R_{max}) 等参数值也由 origin 9.3 软件给出。消化时间指反应器启动至日产气量小于累计产气量 1% 时的时间; 甲烷回收率是累计甲烷产率与理论甲烷产率的百分比。

2 结果与讨论

2.1 种泥预孵化及反应器启动

图 1 展示了 10 个实验组在预孵化期间的产气性能。从图中可知, 在约 2 月的预孵化过程中, 各反应器都经历了从产气高峰到停止产气的过程, 表明各类种泥中都成功驯化出了甲烷菌, 且其中的本底有机物已被消耗殆尽。产气速率和甲烷回收率还可帮助我们识别各反应器的启动性能, 初筛适宜的种泥。从图 1 可知, DDL 组具有最高的甲烷产率, 且其最大产气速率最快; 其次为 DDC 和 DSD 组。这 3 个实验组的甲烷回收率分别达到 97.3%、96.2% 和 92.9%, 远高于其余实验组的 10.7%~53.1%。这 3 组都含取自厌氧消化系统的沼渣, 尽管该沼渣取自中温厌氧消化场, 但其优良的产气性能表明, 在接种物中掺混一定量的沼渣, 对高温干式消化系统的启动依然具有促进作用, 这可能是因为沼渣中本身就具有丰富的甲烷菌。前期多项研究也都表明沼渣是最优的厌氧消化接种物^[14]。但值得注意的是, 单独以沼渣作为接种物时, DD 组并没有获得很好的产气效果, 甚至该组甲烷产率和产气动力学是所有实验组中最差的。这可能是有机物限制造成的。尽管沼渣中具有丰富的甲烷菌, 但沼渣中的有机质是经微生物厌氧降解后剩余的难降解有机质, 因此它们在内源消化时不足以激发好的产气效果^[15]。

DS 组是甲烷产率位于第四的实验组, 因其易获得性, 相比沼渣, 剩余污泥是厌氧消化系统启动中更常用的种泥^[16], 该组产气性能不如前 3 组, 可能是因为剩余污泥来自好氧系统, 本底甲烷菌丰度低。填埋场内存在厌氧环境, 牛胃也是甲烷的重要天然产生源^[17], 因此理论上 LS 和 CM 中都会存在一定的甲烷菌, 但遗憾的是, 这两组的甲烷回收率分别仅 $20.7\%\pm 1.6\%$ 和 $25.8\%\pm 2.6\%$ 。温度、含固率等条件的变化造成的微生物生境改变可能是主要原因^[18]。3 类接种物混合构成的 DSL、DSC 和 CML 组甲烷产率不如添加了沼渣的实

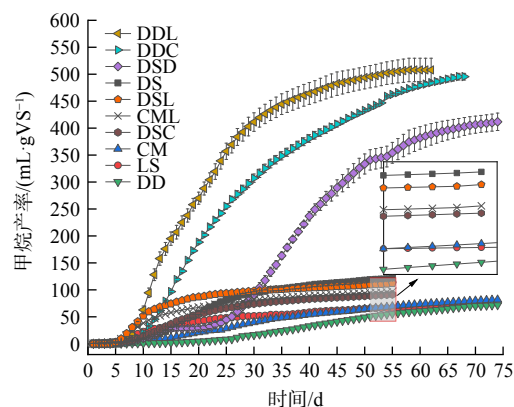


图 1 各反应器的甲烷产率

Fig. 1 Methane yield in each reactor

验组，但稍高于 LS 和 CM 组，这一方面提示接种物中丰富的甲烷菌对反应器启动至关重要；另一方面也暗示出两类种泥混合使用可能比种泥单独使用具有更佳的反器启动效果。鉴于此，后续研究中仅以种泥互混组开展模型纤维素高温干式降解实验。

2.2 种泥来源对微晶纤维素厌氧消化性能的影响

1) 产气特征及产气动力学。图 2(a) 展示了各实验组中微晶纤维素的产气性能，模拟的动力学参数见表 3。从图表中可知，CML、DSD 和 DSL 组停滞期都较短，反应器启动后能迅速进入产气阶段，DDL、DDC 和 DSC 组停滞期则稍长，尤其 DSC 组停滞期达 5.16 d。 R_{max} 的变化规律与停滞期不完全一致，DDC 组 R_{max} 最小，导致其消化时间长达 52 d；相比之下其余组 R_{max} 均在 $30\text{ mL CH}_4\cdot\text{g VS}^{-1}$ 以上，消化时间集中在 20~27 d。尽管如此，各组甲烷回收率还是呈现一定差异，DSD 组甲烷回收率高达 $93.7\%\pm5.5\%$ ，其余组在 $71.2\%\sim83.7\%$ 。预孵化中呈现高甲烷回收率的 DDL 和 DDC 组在此次实验中甲烷回收率下降可能与底物差异有关，预孵化是取回的种泥在厌氧条件下自驯化出厌氧微生物后开展内源消化，而此次消化的是纤维素类模型底物，底物不同引起各反应器产气差异是可以理解的。

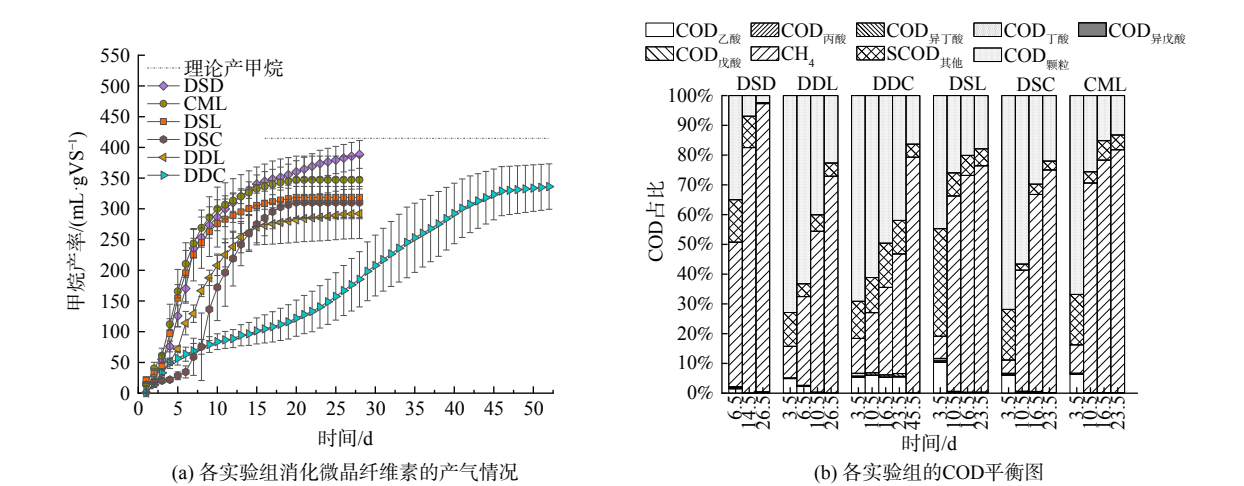


图 2 各实验组的产气情况和 COD 平衡图

Fig. 2 Methane yield and COD distribution in different experimental groups

表 3 不同实验组的动力学参数

Table 3 Kinetic parameters for various experimental groups

组别	$M_{max}/$ ($\text{mL}\cdot\text{g VS}^{-1}$)	$R_{max}/$ ($\text{mL CH}_4\cdot\text{g VS}^{-1}$)	λ/d	R^2	消化时间/d	甲烷回收率/%
DSD	378.4±4.54	37.54±2.11	1.63±0.29	0.986	27	93.7
DDL	301.45±1.06	30.61±0.50	2.42±0.08	0.999	27	71.2
DDC	369.39±17.10	7.6±0.15	2.56±0.56	0.988	52	81.1
DSC	324.67±8.66	33.84±1.94	5.16±0.25	0.992	20	74.8
CML	340.02±2.33	46.44±1.39	1.51±0.11	0.997	20	83.7
DSL	311.48±2.87	44.35±1.85	1.69±0.15	0.995	20	76.8

2) 碳平衡分析。为揭示各试验组呈现产气差异的原因，采集各试验组产气初期、中期和末期的样本进行了碳平衡分析，结果如图 2(b) 所示。

由图可以看出，各试验组仅在初期出现少量的酸积累，且积累的酸以乙酸为主，随着反应的进行，积累的酸很快耗尽。与甲烷回收率一致，DSD 组反应末期大部分 COD 都转移至甲烷中，SCOD_{其他}占比极低，剩下 2.36% 为 COD_{颗粒}；CML 组除 13.21% 的 COD_{颗粒} 外，还有 4.96% 的 SCOD_{其他} 存在。其余各组与之类似，除甲烷中的 COD 外，在末期样品中都存在不同程度的 SCOD_{其他} 和 COD_{颗粒}，尤以 COD_{颗粒} 为主。可见各

反应器产气性能差异主要受水解和酸化阶段,尤其是水解阶段的影响,酸化产生的 VFAs 实际上是耗尽的,不会对产气造成负面影响。由于木质纤维素物质的难降解性,前期很多研究都在农业废物厌氧消化过程中发现水解是限速步骤^[19]。而不同来源的种泥中存在不同类别的微生物,它们对木质纤维素类底物的降解性能差异可能是造成各反应器产气差异的根本原因^[20]。鉴于此,需进一步探索不同反应器中的微生物的群落结构以支撑最佳种泥的选择。

2.3 种泥来源对厌氧消化系统群落及功能的影响

1) 微生物总体分析。为解析各反应器性能差异的原因,以辅助筛选最优种泥,采集了各实验组末期的微生物样品并开展了 Miseq 高通量测序。测序得到的有效序列首先根据最小样本序列数进行了抽平,然后按 97% 的序列相似性聚类,最终鉴定出个 45 门、104 个纲、232 个目、380 个科、668 个属、987 个种和 4 168 个 ASV。所有样品的文库覆盖率均高于 99%,表明样本中大多微生物都已经被检测到。

采用 PCoA 分析探索了样品间群落组成的差异性(图 3(a))。由图可知,6 个实验组样本的组间距离都明显大于组内距离,表明各组群落结构差异较大,这证实了种泥来源不同的各试验组中存在差异较大的群落结构。进一步观察多样性指数(图 3(b)~(d))可知, DSD 组具有最高的微生物丰富度和多样性,这可能是该组甲烷回收率最大的原因^[21]。很多研究者都曾指出群落的丰富度和多样性越大,面临生境变化时适应越快,群落的功能冗余性和鲁棒性越强^[22]。反之, DDC 组丰富度、多样性和均匀性都最差,表明该组反应器内微生物类别最单一,且优势菌群突出。这在对生境变化系统中菌落功能的维持没有积极作用,可能是该组产气动力学最慢的原因。其余各组多样性参数介于上两组之间,也与其产气性能对应。

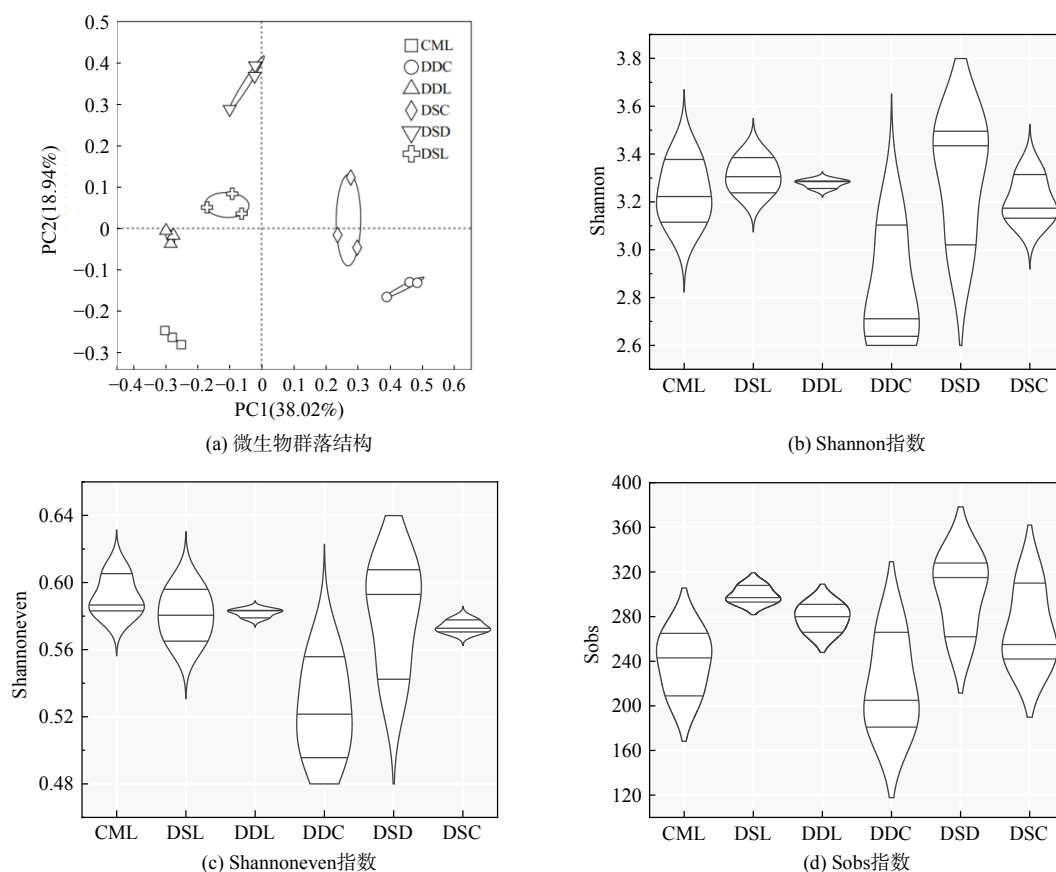


图3 反应器中微生物群落结构的差异和群落多样性指数

Fig. 3 Differences in microbial community structure and community diversity index in reactors

2) 微生物群落组成。考虑到各组微生物 α 和 β 多样性都存在差异,图 4(a) 进一步展示了各组样品的主导微生物(至少在一个样品中相对丰度>1%),图 4(b) 还据此统计出了四类功能菌群的总体丰度差异(其中,“其他”类包含非主导及未被鉴定的主导微生物)。从图中可知,不考虑未被鉴定的及非主导微生物时,

各组反应器中都以水解酸化细菌主导，此类微生物占总微生物的丰度高达 70.89%~85.23%。其次为产甲烷菌，占比在 1.66%~10.51%。产氢产乙酸菌是各反应器中丰度最低的菌群，仅占总丰度的 0.40%~4.84%。这是预料之中的，前期很多研究都曾指出水解酸化菌是反应器内多样性及丰度最高的菌群^[23]，而产氢产乙酸阶段的生化反应因在标态下热力学不可行，通常仅有少数互营微生物能够参与^[24]。进一步对比不同实验组的各类微生物丰度可知，DSD 组的产甲烷菌丰度显著高于其余 5 组，且其产氢产乙酸菌丰度也显著高于其余组，这可能与该组具有最高甲烷回收率相关。但矛盾的是，根据 2.2.2 节，各反应器中并没有 VFAs 积累，没能转化为 CH_4 的有机质是以 $\text{SCOD}_{\text{其他}}$ 或 $\text{COD}_{\text{颗粒}}$ 存在的，因此水解或酸化细菌似乎会与反应器性能更相关。

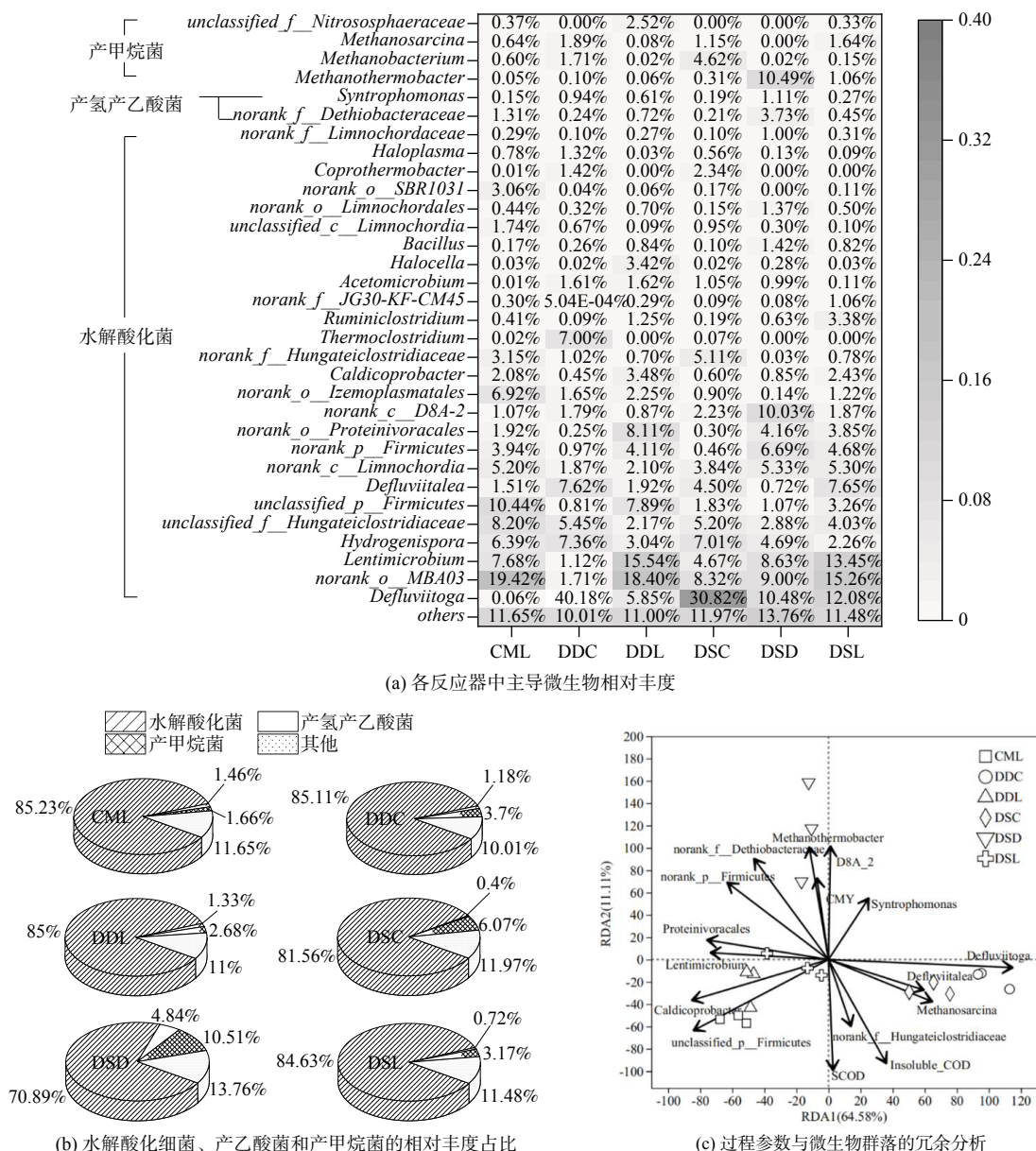


图 4 反应器中微生物群落组成的相关分析

Fig. 4 Correlation analysis of microbial community composition in reactors

为了进一步确定与反应器性能相关的微生物，图 4(c) 采用冗余分析探索了关键理化参数与四阶段微生物的交互作用关系。从图中可知，与甲烷产率相关性最强的微生物是 *Methanothermobacter*，可见产甲烷菌才是系统产甲烷性能的主要贡献者。DSD 组优越的产甲烷性能可能确实源于其极高的 *Methanothermobacter* 丰

Fig. 5 Cellulose metabolism pathway and abundance of associated functional genes

图。因本研究采用的消化底物为微晶纤维素，且反应器内未见 VFAs 的积累，因此图中仅展示了纤维素水解、酸化和产甲烷代谢相关的步骤。图 5(b) 进一步利用 PICRUST 工具获得了测序数据在 KEGG 直系同源基因簇 (KO) 的具体注释信息，并将 KO 值映射到 KEGG 代谢通路数据库，获得了相关的功能基因及其相对丰度。从图中可知，DSD 组产甲烷功能显著强于其余组，这与其甲烷菌的高丰度是一致的，再次暗示产甲烷功能是系统甲烷产率的重要保障。产酸功能方面，DSD 组的总基因丰度与其余组没有明显差异，但其丙酮酸脱氢酶 (EC:1.2.4.1) 含量是各实验组中最高的。丙酮酸是酸化过程重要的共同中间产物，其将糖、氨基酸等的分解与后续 VFAs 的合成联系起来。如单糖的酸化就是其通过不同的代谢途径先转化为丙酮酸后，再转变为丙酸、丁酸、乙酸、乳酸和乙醇的过程^[33]。而丙酮酸脱氢酶正是丙酮酸转化为 VFAs 途径中的重要酶。其高丰度存在代表丙酮酸到 VFAs 的代谢路径是通畅的，也暗示着体系较优的酸化性能。这可能是该组 SCOD_{其他} 能够消耗殆尽的原因。水解酶方面，纤维二糖酶未能在各组反应器中检测到，唯一鉴定到的磷酸纤维二糖酶 (EC:3.2.1.86) 在 DSD 组的丰度并不占优势，但根据 2.2 节碳平衡分析可知，该组 COD_{颗粒} 浓度极低，可见尽管丰富不占优势，但其酶活性或许是各反应器中最高的。前期张虹等^[10] 在探索微生物丰度和活性的相关性时也指出丰度低不代表其代谢活性差。更有研究者指出，他们的反应器中 *Methanospirillum* 和 *Methanoculleus* 的相对丰度仅占古菌的 5%，但其产甲烷活性比高丰度的 *Methanosaeta* (占 21%) 高 188 倍^[34]。

总体来看，各实验组中 DSD 组产气性能、微生物多样性、群落结构及功能均具有突出优势，表明脱水污泥和沼渣互混最适合作为秸秆类底物高温干式消化的种泥。沼渣中原有的甲烷菌可能为种泥的快速驯化提供了重要微生物来源。DDC 组产气动力学最慢，且微生物多样性最差，发酵和产甲烷功能也较弱，可见该组不适合作为种泥。其余组的情况介于两者之间，但渗滤液污泥中可能存在重金属、取代酚、长链烃等高危痕量污染物^[35]，采用其作为接种物可能存在一定隐患。牛粪相比沼渣，在工程上可能更易获得，在无法取得大量沼渣的情况下，以污泥和牛粪互混也是潜在可行的备选方案。另外，受限本地区未有秸秆类厌氧消化场，本研究采用的沼渣是厨余垃圾沼渣，实际中针对农业废物厌氧消化系统，采集秸秆厌氧消化场的沼渣作为接种物可能会具有更好的效果。

3 结论

1) 种泥互混使用比单独使用具有更好的种泥驯化和启动效果，且含有沼渣的互混组在预孵化阶段具有更好的产气性能和产气动力学，预孵化过程中 DDL、DDC 和 DSD 的甲烷回收率分别高达 97.3%、96.2% 和 92.9%，其余组仅 10.7%~53.1%。

2) 批次实验中，DSD 组甲烷回收率高达 93.7%±5.5%，其余组仅 71.2%~83.7%。碳平衡分析发现，SCOD_{其他} 和 COD_{颗粒} 残留是其余反应器甲烷回收率不足的主要原因。

3) 微生物分析发现，DSD 组具有最高的微生物丰富度和多样性，且其产甲烷菌和产氢产乙酸菌丰度都显著高于其余组；水解酸化菌 *norank_c_D8A-2* 和 *norank_p_Firmicutes* 在该组中的丰度也显著大于其余组。这些微生物与甲烷产率正相关，共同保证了 DSD 组最优的产气性能和产气动力学。

4) 功能基因预测结果表明，DSD 组产甲烷功能显著强于其余组；水解和产酸功能基因总丰度与其余组没有明显差异，但可能存在高功能酶表达活性。

5) 综合产气性能、产气动力学、微生物多样性、群落结构和功能分析发现，秸秆类底物高温干式厌氧消化的最适种泥为沼渣和脱水污泥互混。

参考文献

- [1] 杜亚彬, 赵红梅, 张学磊, 等. 基于 WRF-CMAQ 评估秸秆禁烧对区域空气质量的影响[J]. 中国环境科学, 2022, 42(12): 5578-5588.
- [2] 于亚梅, 沈雁文, 朱南文, 等. 生物炭和石墨的电化学性质对剩余污泥厌氧消化产甲烷的影响[J]. 环境工程学报, 2020, 14(3): 807-820.
- [3] KINYUA M, STUART K. Comparison of metabolic kinetics during high and low solids anaerobic digestion of fecal sludge[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2022, 119(4): 1164-1170.
- [4] ZHANG S, MA X, SUN H, et al. Response of semi-continuous anaerobic digestion of food waste to progressively increasing temperature: Methanogen community, correlation analysis, and energy balance[J]. Industrial Crops & Products, 2023, 192: 116066.
- [5] PEREIRA A R, ASSIS N V, PARANHOS A, et al. Effect of inoculum composition on the microbial community involved in the anaerobic digestion of sugarcane bagasse[J]. Environmental Technology, 2024, 45(11): 2205-2217.

- [6] SICCHIERI I M, DE QUADROS T C F, BORTOLOTTI M A, et al. Selection, composition, and validation of standard inoculum for anaerobic digestion assays[J]. *Biomass & Bioenergy*, 2022, 164: 106558.
- [7] 刘健峰. 不同氮素对厌氧消化系统的影响及其转化机制研究[D]. 昆明: 云南师范大学, 2022.
- [8] 林艺平. 厨余垃圾厌氧发酵启动的接种物试验研究及工程建议[J]. *环境卫生工程*, 2020, 28(4): 27-31.
- [9] YANG P, LI L, QIN S, et al. Effects and mechanisms of foam suppression in food waste anaerobic digester using defoaming agents[J]. *Fuel*, 2023, 342: 127920.
- [10] 张虹, 李蕾, 彭韵, 等. 氨氮对餐厨垃圾厌氧消化性能及微生物群落的影响[J]. *中国环境科学*, 2020, 40(8): 3465-3474.
- [11] PENG Y, LI L, YUAN W, et al. Long-term evaluation of the anaerobic co-digestion of food waste and landfill leachate to alleviate ammonia inhibition[J]. *Energy Conversion and Management*, 2022, 270: 116195.
- [12] PENG Y, YANG P, ZHANG Y, et al. Consecutive batch anaerobic digestion under ammonia stress: Microbial community assembly and process performance[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(5): 106061.
- [13] 伍迪. 狼尾草厌氧消化过程失稳的热力学特征及微生物机理研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2022.
- [14] HOSSAIN M S, KARIM T U, ONIK M H, et al. Impact of temperature, inoculum flow pattern, inoculum type, and their ratio on dry anaerobic digestion for biogas production[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 6162.
- [15] LITTI Y, NIKITINA A, KOVALEV D, et al. Influence of cationic polyacrilamide flocculant on high-solids' anaerobic digestion of sewage sludge under thermophilic conditions[J]. *Environmental Technology*, 2019, 40(9): 1146-1155.
- [16] 程东兴, 胡以松, 屈艺, 等. 有机负荷对厌氧膜生物反应器处理剩余污泥与厨余的效能影响[J]. *中国环境科学*, 2023: 1-14.
- [17] 靳晨曦, 孙士强, 盛维杰, 等. 中国厨余垃圾处理技术及资源化方案选择[J]. *中国环境科学*, 2022, 42(3): 1240-1251.
- [18] 李月, 钟为章, 牛建瑞, 等. 体系含固率对土霉素菌渣厌氧消化的影响[J]. *环境工程学报*, 2022, 16(7): 2347-2355.
- [19] KARRABI M, RANJBAR F M, SHAHNAVAZ B, et al. A comprehensive review on biogas production from lignocellulosic wastes through anaerobic digestion: An insight into performance improvement strategies[J]. *Fuel*, 2023, 340: 127239.
- [20] SOHAIL M, KHAN A, BADSHAH M, et al. Yak rumen fluid inoculum increases biogas production from sheep manure substrate[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 362: 127801.
- [21] HU Y, LIU S, WANG X, et al. Enhanced anaerobic digestion of kitchen waste at different solids content by alkali pretreatment and bentonite addition: Methane production enhancement and microbial mechanism[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 369: 128369.
- [22] PASALARI H, GHOLAMI M, REZAEI A, et al. Perspectives on microbial community in anaerobic digestion with emphasis on environmental parameters: A systematic review[J]. *Chemosphere*, 2021, 270: 128618.
- [23] HASHEMI S, HASHEMI S E, LIEN K M, et al. Molecular microbial community analysis as an analysis tool for optimal biogas production[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(6): 1162.
- [24] MURILLO-ROOS M, URIBE-LORÍO L, FUENTES-SCHWEIZER P, et al. Biogas production and microbial communities of mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of animal manures and food wastes in costa rica[J]. *Energies*, 2022, 15(9): 3252.
- [25] ZHANG Q, ZHAO M, WANG T, et al. Enhanced sludge thermophilic anaerobic digestion performance by single-chambered microbial electrolysis cells under ammonia inhibition[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2022, 10(3): 107802.
- [26] HASHEMI S, SOLLI L, LIEN K M, et al. Culture adaptation for enhanced biogas production from birch wood applying stable carbon isotope analysis to monitor changes in the microbial community[J]. *Biotechnologies, Biofuels, Bioproducts & Biorefining*, 2023, 16(1): 77.
- [27] PERMAN E, SCHNÜRER A, BJÖRN A, et al. Serial anaerobic digestion improves protein degradation and biogas production from mixed food waste[J]. *Biomass & Bioenergy*, 2022, 161: 106478.
- [28] YAO Y, GAN Z, ZHOU Z, et al. Carbon sources driven supernatant micro-particles differentiate in submerged anaerobic membrane bioreactors (AnMBRs)[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 430: 133020.
- [29] AO T, CHEN L, CHEN Y, et al. The screening of early warning indicators and microbial community of chicken manure thermophilic digestion at high organic loading rate[J]. *Energy*, 2021, 224: 120201.
- [30] WANG X, XIE Y, QI X, et al. A new mechanical cutting pretreatment approach towards the improvement of primary sludge fermentation and anaerobic digestion[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2022, 10(2): 107163.
- [31] ZHOU L, GAO Y, YU K, et al. Microbial community in in-situ waste sludge anaerobic digestion with alkalization for enhancement of nutrient recovery and energy generation[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 295: 122277.
- [32] CAMARGO F P, SAKAMOTO I K, DELFORNO T P, et al. Microbial and functional characterization of granulated sludge from full-scale UASB thermophilic reactor applied to sugarcane vinasse treatment[J]. *Environmental Technology*, 2022: 1-20.
- [33] 陈畅, 宋超. 厌氧消化过程化学变化的教学研究[J]. *化学教育*, 2023, 44(6): 76-83.
- [34] SCHAUER-GIMENEZ A E, ZITOMER D H, MAKI J S, et al. Bioaugmentation for improved recovery of anaerobic digesters after toxicant exposure[J]. *Water Research*, 2010, 44(12): 3555-3564.
- [35] LIU H, YANG P, PENG Y, et al. Pollution in the interflow from a simple landfill in a mountainous and hilly area in Southwest China[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 793: 148656.

(责任编辑: 金曙光)

Effect of seeding sludge on thermophilic dry anaerobic digestion of microcrystalline cellulose

ZHANG Yue, LI Lei*, TANG Zhouli, YE Wenjie, GAO Xiaofeng, PENG Xuya

Key Laboratory of Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, China

*Corresponding author, E-mail: lileich17@cqu.edu.cn

Abstract To identify the optimal seeding sludge for thermophilic dry anaerobic digestion (AD) of lignocellulosic biomass, four types of inoculants—cow manure, mesophilic dewatered digestate, dewatered sludge and leachate sludge—were collected and mixed either individually or in pairs at a 1:1 ratio based on volatile organic compound content. After pre-incubation, batch anaerobic digestion experiments were conducted using microcrystalline cellulose as the model substrate. Differences in gas production performance, microbial community and functional genes among reactor groups were compared. The results indicated that the pre-incubation group with mixed seeding sludge exhibited superior gas production performance compared to the individually pre-incubation group. Particularly, the mixed seeding sludge group containing biogas residue and leachate sludge (DDL), cow dung (DDC), and dewatered sludge (DSD) exhibited the most favorable biogas production. Methane recovery rates during the pre-incubation phase for DDL, DDC, and DSD were notably high at 97.3%, 96.2% and 92.9%, respectively, while the other groups ranged from 10.7% to 53.1%. In the microcrystalline cellulose batch digestion experiment, the methane recovery of the DSD remained high at $93.7\% \pm 5.5\%$, surpassing the other groups which achieved rates between 71.2% and 83.7%. Carbon balance analysis revealed no accumulation of volatile fatty acids at the end of each experiment. Insufficient methane recovery in the other reactors was attributed primarily to solubility and particulate chemical oxygen demand (COD), notably unhydrolyzed particulate COD. Microbial analysis indicated that the DSD group exhibited the highest microbial richness and diversity, with significantly higher abundances of methanogens and hydrogen-producing acetogenic bacteria compared to the other groups. The abundances of hydrolytic acidogenic bacteria, the *norank_c_D8A-2* and *norank_p_Firmicutes*, were also significantly higher than in the other groups. The abundance of these microorganisms positively correlated with methane yield, ensuring the optimal biogas production performance and kinetics in the DSD group. Functional gene analysis prediction results showed that methanogenesis function of the DSD was significantly stronger than that of the other groups, while the total abundance of acidification and hydrolysis functional genes did not differ significantly from the other groups. In summary, the optimal seeding sludge for thermophilic dry digestion of straw substrates was a 1:1 mixture of leachate sludge and dewatered sludge. These findings provide valuable insights for selecting seeding sludge in large and medium-sized biogas projects focused on lignocellulosic-based agricultural waste.

Keywords anaerobic digestion; straw; seeding sludge; thermophilic dry digestion; microbial community