

李杨, 马旭光, 王锐, 赵涛, 江滔, 常佳丽, 陈茂霞, 茹婧, 唐琼. 沼液酸化预处理时间对油菜秸秆理化性质和产甲烷特性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2023, 29 (4): 867-874

Li Y, Ma XG, Wang R, Zhao T, Jiang T, Chang JL, Chen MX, Ru J, Tang Q. Effect of acidification pretreatment time of biogas slurry on the physicochemical properties and methanogenic characteristics of rape straw [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2023, 29 (4): 867-874

沼液酸化预处理时间对油菜秸秆理化性质和产甲烷特性的影响

李杨¹ 马旭光¹✉ 王锐² 赵涛¹ 江滔¹ 常佳丽¹ 陈茂霞¹ 茹婧¹ 唐琼¹

¹乐山师范学院新能源材料与化学学院 乐山 614000

²中国农业大学资源与环境科学学院 北京 100083

摘要 基于油菜秸秆中木质纤维素成分难降解导致甲烷产量低和沼气工程中沼液排放量大、处理难的问题,在含固率为10%、35℃中温条件下,利用沼液对油菜秸秆进行微好氧酸化预处理18 d,通过分析预处理过程中物料的减重率、pH值、挥发性脂肪酸和微生物群落的变化评价酸化预处理时间对秸秆理化性质的影响,并比较不同酸化预处理时间对油菜秸秆产甲烷特性的影响。结果表明,减重率随酸化预处理时间的延长逐渐增加,第5天酸化物料的累计减重率占总减重率的43.34%; pH值随酸化预处理时间的延长先降低后升高,第4天酸化物料pH值达到最低(4.9),挥发性脂肪酸浓度达到最高(468 mg/kg); 优势菌群由初始单一的拟杆菌属(*Bacteroides*)转变为第3-5天的拟杆菌属(*Bacteroides*)和普氏菌属(*Prevotella*)。酸化预处理第5天的物料甲烷产率最高(154.02 mL/g),较对照提高了28.89%,但与第4天的甲烷产率(147.29 mL/g)无显著性差异。本研究获得了沼液酸化预处理油菜秸秆的最优时间,明显提升了秸秆甲烷产量,可为开发低成本的秸秆酸化预处理工艺提供理论依据,在沼液无害化和资源化再利用方面具有一定工程应用前景。(图7 表1 参39)

关键词 油菜秸秆; 沼液; 生物预处理; 厌氧发酵; 甲烷产量

Effect of acidification pretreatment time of biogas slurry on the physicochemical properties and methanogenic characteristics of rape straw

LI Yang¹, MA Xuguang¹✉, WANG Rui², ZHAO Tao¹, JIANG Tao¹, CHANG Jiali¹, CHEN Maoxia¹, RU Jing¹ & TANG Qiong¹

¹ School of New Energy Materials and Chemistry, Leshan Normal University, Leshan 614000, China

² College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100083, China

Abstract The lignocellulosic components of rape straw are recalcitrant and nondegradable, resulting in low methane production and excessive biogas slurry during the anaerobic digestion of rape straw. To overcome this problem, the rape straws were pre-acidified using biogas slurry with 10% solid content under micro-aerobic conditions at 35℃ for 18 days. The temporal dynamics of the physicochemical properties of rape straw were evaluated by analyzing variations in the weight loss rate, pH, volatile fatty acids (VFAs), and microbial communities during the pretreatment process. The effects of pretreatment time on the methanogenic characteristics of rape straw were compared. The results showed that the weight loss rate increased gradually with the extension of the acidification pre-treatment time, and the cumulative weight loss rate of the acidizing materials on the 5th day accounted for 43.34% of the total. The pH of the acidifying material on day 4 was the lowest (4.9), and the concentration of VFAs was the highest (468 mg/kg). The dominant bacteria at the genus level changed from the initial single *Bacteroides* to *Bacteroides* and *Prevotella* on the days 3–5. The highest methane yield (154.02 mL/g) was achieved using feedstock materials pretreated for 5 d, which was 28.89% higher than that of the control, but not significantly different from the treatment for 4 days (147.29 mL/g). This study determined the optimal time for the acidification pretreatment of rape straw with biogas slurry, which significantly promoted the methane yield of straw, and provided a theoretical basis for the development of a low-cost straw acidification pretreatment process with certain engineering application prospects for the harmless

收稿日期 Received: 2022-11-29 接受日期 Accepted: 2023-05-30

四川省科技厅重点研发项目(22ZDYF2037, 22ZDYF1219)、四川省科技厅应用基础面上项目(2020YJ0159)、乐山师范学院自然科学重大科研项目(LZDP002)、乐山市科技局重点项目(21NZD034)和大学生创新创业训练项目(202110649031)资助 Supported by the Key R&D Project of Science and Technology Department of Sichuan Province (22ZDYF2037, 22ZDYF1219), Applied Fundamental Project of Science and Technology Department of Sichuan Province (2020YJ0159), Major Scientific Research Project in Natural Science of Leshan Normal University (LZDP002), Key Project of the Leshan Science and Technology Bureau (ZM202102470), and College Students' Innovative Entrepreneurship Training Plan Program (202110649031)

✉通信作者 Corresponding author (E-mail: maxg196@163.com)

and resourceful reuse of methane.

Keywords rape straw; biogas slurry; bio-pretreatment; anaerobic digestion; methane production

厌氧发酵技术因能将各类有机废弃物转化为清洁能源甲烷而替代化石能源被全球广泛应用,是实现农业废弃物能源化利用的主要途径,对于达成我国提出的“3060双碳”目标意义重大^[1]。据估算,我国每年农作物秸秆和禽畜粪污的产量分别约为8.05亿t和26.10亿t^[2],其中每年可用于产甲烷的农作秸秆为4.95亿t,产甲烷潜力约为82.25亿m³,相当于2018年天然气消费量的29.20%和2019年能源消费总量的2.25%^[3]。然而,目前我国大多数沼气工程的发酵原料为禽畜粪污,以秸秆作为主要发酵原料的还较少,其主要原因在于秸秆含有结构致密且复杂的木质纤维素成分,在厌氧发酵过程中生物降解性能差,导致甲烷产量低^[4]。

中国是世界上最大的油菜种植国,其中四川省作为全国油菜主要种植区,每年的油菜秸秆产量达500万t^[5]。目前油菜秸秆因露天焚烧、田间堆弃和薪柴利用带来了一系列季节性、区域性环境污染问题^[6],迄今还缺乏有效的利用途径。与其他农作物秸秆相比,油菜秸秆中的硫元素含量更低,用于厌氧发酵技术产甲烷可降低生物天然气的脱硫提纯成本^[7]。作者课题组前期研究表明,油菜秸秆与鸡粪、牛粪混合发酵均具有良好的产甲烷性能^[5,8],但在厌氧发酵过程中的生物可降解性明显差于玉米秸秆^[9]。大量研究表明,通过物理、化学和生物预处理技术能有效提高秸秆的生物降解率进而促进甲烷产量^[10-11]。较物理和化学方法而言,生物预处理法具有能耗低、污染小等优点^[12],应用前景广阔。但目前大多数研究采用单一的真菌、细菌或复合菌系等微生物法和生物酶法进行预处理^[13-15],存在微生物培养条件苛刻、预处理时间长、碳损失严重和成本高等问题^[10]。因此,开发易于操作、低成本的油菜秸秆高效产甲烷生物预处理工艺非常必要。

沼液作为厌氧发酵的主要副产物,近年来随着我国沼气工程的快速发展,每年产生量达40亿t^[16]。沼液成分复杂,除含有多种具有分解木质纤维素的微生物、各种氨基酸和氮、磷、钾等营养元素,以及农作物所需钙、镁、铁、锌等微量元素和B族维生素外,还含有重金属和抗生素等^[17-18]。研究表明,沼液可直接用于浸种、叶面肥和土壤肥等^[19],但作为肥料长期施用会明显增加土壤中重金属和抗生素含量,存在污染土壤环境和影响农产品安全性的风险^[20-21]。目前,在实际生产中大部分沼液作为有机废水被处理掉,不仅成本高且浪费资源,严重影响了沼气工程的经济效益。因此,沼液的资源化利用问题已成为限制我国沼气工程规模化发展的主要瓶颈。

在沼气工程中将沼液用于秸秆酸化预处理,可实现沼液就地利用,是减少沼液排放量、降低运营成本和提升秸秆甲烷产量的有效途径,近年来引起相关研究者关注。魏域芳等用沼液预处理的玉米秸秆与牛粪混合厌氧发酵,在预处理物料含固率(total solid content, TS)为15%时的甲烷产量较对照组提高了37.43%^[22];彭翔等研究了不同沼液预处理条件下的玉米秸秆与猪粪混合厌氧发酵产甲烷性能,发现各预处理组的累计甲烷产量较对照组提高了8.07%-32.56%,在预处理物料含固率为10%、预处理时间为3 d时的TS甲烷产量可达192.45 mL/g,比未处理组提高了22.89%^[23];兰艳艳等分析了猪粪沼液预处理麦秸厌氧消化性能,发现沼液添加量和预处理时间是影响甲烷产量的主要因素,预处理时间为1 d、含固率为15%时的甲烷产量较对照组提高了43.20%^[24];李平等比较了

稀碱水解、尿素氨化、生物酶解以及沼液预处理4种不同方式对水稻秸秆厌氧消化性能的影响,结果表明沼液预处理较其他3种方式在提高秸秆转化率、缩短产气周期方面均有优势,甲烷产率较对照提高了21.2%^[25];孟艳等发现沼液预处理时间对黄瓜、番茄、茄子和辣椒4种蔬菜秸秆的降解效果和厌氧消化性能均有较大影响,最优预处理时间不尽相同,各处理组的产甲烷产量较对照组提高了26.33%-38.00%,甲烷产量依次为黄瓜秸秆>番茄秸秆>茄子秸秆>辣椒秸秆^[26]。由此可见,沼液预处理农作物秸秆能显著提高甲烷产量已成共识,且预处理时间、预处理物料含固率、沼液的种类和添加比例以及秸秆理化性质等诸多因素对秸秆厌氧发酵性能均有较大影响。

然而,目前关于沼液预处理对油菜秸秆理化性质及其产甲烷性能影响的研究还鲜见报道。由于不同农作物秸秆的理化性质和结构差别较大,因此有必要针对油菜秸秆开展相关研究。基于此,我们以油菜秸秆为发酵原料,首先分析沼液预处理时间对秸秆pH值、挥发性脂肪酸(volatile fatty acids, VFAs)、减重率和水解酸化细菌群落结构变化的影响;随后,采用批次厌氧发酵工艺比较了不同预处理时间酸化物料的产甲烷性能。本研究旨在为建立油菜秸秆高效产甲烷的沼液酸化预处理工艺与油菜秸秆和沼液的清洁化利用提供理论依据。

1 材料与方

1.1 试验材料

油菜秸秆取自于乐山市井研县某秸秆机械加工厂,用摇摆式粉碎机(BZFS-20C,西安宝正实业有限公司)将其粉碎至粒径<40目,于干燥、避光条件下保存备用;沼液来源于实验室以油菜秸秆和牛粪为原料长期稳定产气的高含固率连续厌氧反应器(有效容积60 L)出料,自然沉淀后取上清液,备用;厌氧接种污泥为实验室上述连续厌氧反应器的出料。试验原料和接种污泥的理化性质见表1。

1.2 试验方法

1.2.1 沼液酸化预处理方法 酸化容器为121℃高压灭菌20 min的250 mL塑料烧杯(PP材质)。首先准确称取26 g油菜秸秆与120 mL沼液混合装入塑料烧杯中,再根据文献[23]的优化参数用80 mL无菌水将酸化物料TS调至为10%,充分混匀后用锡箔纸封口,然后置于立式恒温培养箱(SPX-100,中新医疗仪器有限公司),在恒温(37±1℃)条件下酸化18 d,每天为1个处理,对照组用等量无菌水代替沼液,每个处理(含对照组)设3个重复。每隔12 h用玻璃棒搅拌一次,每隔24 h称重,并扣除对照组中因水分蒸发的减重量,然后计算每天的减重率。称重后用便携式pH计(SX620,上海三信仪表厂)测定酸化物料pH值,另取3 mL酸化物料保存于-20℃冰箱,用于测定VFAs浓度。为了准确计算减重率,在测定pH值和取样后再称重一次,由此带来的物料损失不计入减重量。

1.2.2 酸化物料厌氧发酵方法 根据1.2.1中不同沼液酸化预处理时间的减重量、pH值和VFAs浓度变化情况和实验方法,制备代表性预处理时间(0 d、2 d、3 d、4 d、5 d)的酸化物料用于厌氧发酵实验。采用批次发酵工艺,发酵装置为1 L带有硅胶塞和气孔的厌氧反应器,气孔连接1 L铝箔复合膜集气袋(CYD-1,大连海得科技有限公司),发酵物料总TS为10%、料泥比(按挥发性固体含量计)为1:2、总发酵体积为720 mL,

表1 发酵原料与接种污泥理化性质

Table 1 Physicochemical properties of the fermentation raw materials and inoculated sludge

指标 Test index	油菜秸秆 Rape straw	沼液 Biogas slurry	接种污泥 Inoculated sludge
总固体含量 Total solid content (w%) ^a	87.03 ± 1.70	0.41 ± 0.02	8.39 ± 0.26
挥发性固体含量 Volatile solids content (w%) ^b	92.58 ± 0.52	35.51 ± 0.83	75.37 ± 1.17
总有机碳 Total organic carbon (w%) ^b	40.36 ± 0.14	—	—
总氮 Total nitrogen (w%) ^b	0.96 ± 0.06	—	—
碳氮比 C/N	42.16 ± 1.89	—	—
可溶性物质含量 Soluble matter content (w%) ^b	17.54 ± 1.19	—	—
纤维素成分含量 Cellulose content (w%) ^b	38.28 ± 3.17	—	—
半纤维素成分含量 Hemicellulose content (w%) ^b	21.98 ± 2.36	—	—
木质素成分含量 Lignin content (w%) ^b	13.30 ± 1.52	—	—

a表示基于湿重, b表示基于干重.

The letters a and b represent the values based on wet weight and dry weight of the samples, respectively.

充氮气5 min后置于37 ℃恒温培养箱中发酵. 每个处理3个重复, 对照用等量的接种物代替酸化物料. 每天手动摇动反应器2-3次, 以保证发酵物料与接种物充分混匀. 每天用排水法测定各处理产气体积, 用便携式沼气分析仪 (Biogas5000, 英国Geotech公司) 测定气体中甲烷含量. 若日产气量< 50 mL则视为厌氧发酵结束, 并取样分析发酵物料中总固体物含量 (total solid content, TS) 和挥发性固体物含量 (volatile solid content, VS).

1.3 分析和计算方法

1.3.1 理化性质 TS和VS分别用恒重法 (DHG-9075A, 上海齐欣科学仪器有限公司) 和灼烧法 (SX2-5-12, 上海意丰电炉有限公司) 测定; pH值用便携式pH计 (SX-610, 上海三信仪表厂) 测定^[9]. 总碳 (total carbon, TC) 和总氮 (total nitrogen, TN) 含量分别采用重铬酸钾氧化法和凯氏定氮法 (KN520, 阿尔瓦仪器) 测定; VFAs含量采用高效液相色谱法 (岛津SPD-M20A, 中国) 测定^[4]; 色谱柱为C18, 流动相为乙腈和0.2%的磷酸; 样品前处理方法: 在高速离心机 (12 000 r/min; Eppendorf, AG) 下离心30 min, 取上清液与乙腈1:1混合 (体积比), 待蛋白完全析出沉淀后, 再高速离心10 min, 取上清液过0.22 μm有机系膜注入进样瓶中待测. 上述各指标的测定值均取 3次重复的平均值.

1.3.2 微生物菌落结构 采用DNeasy PowerSoil试剂盒 (12888-50, Qiagen, 德国) 提取不同沼液酸化预处理时间物料 (3个重复混匀) 的DNA, 用1%琼脂糖凝胶电泳定性评估提取质量, 用NanoDrop分光光度计 (M1000, 美国赛默飞) 质检合格的DNA 委托上海欧易生物医学科技有限公司完成水解酸化细菌群的高通量测序. 通过16S rRNA基因V₃-V₄区分析样品的细菌群落结构, 扩增引物为343F (5'-TACGGRAGGCAGCAG-3') 和798R (5'-AGGGTATCTAATCCT-3'), 根据Silva数据库 (v.123) 在分类单元属水平上确定微生物种类^[8].

1.3.3 产甲烷效率 采用容积产甲烷效率 (methane volumetric production rate, MVPR) 和原料产甲烷效率 (special methane production rate, SMPR) 2个指标评价厌氧发酵产甲烷效率^[6]. 计算公式如下:

$$MVPR = V_1 / (V_2 \times T_{80}) \quad (1)$$

式 (1) 中, MVPR 为容积产甲烷效率 (mL mL⁻¹ d⁻¹), V₁ 为发酵周期累计甲烷产量的80% (mL), V₂ 为反应器的容积 (按1 000 mL计) (mL), T₈₀ 为达到发酵周期累计甲烷产量80%时所需发酵天数 (d).

$$SMPR = V / m \quad (2)$$

式 (2) 中, SMPR为原料产甲烷效率 (mL/g), V为整个发酵周期内累计甲烷产量 (mL), m为初始发酵物料总VS质量 (g).

1.3.4 物料分解率 用TS和VS去除率表示物料在酸化预处理阶段和厌氧发酵过程中的综合分解率, 计算公式^[27]如下:

$$R = (m_1 - m_2) / m_1 \quad (3)$$

式 (3) 中, R为TS (VS) 去除率 (%), m₁为初始物料中TS (VS) 的含量 (%), m₂为发酵结束后中物料中TS (VS) 含量 (%).

1.4 数据处理与分析方法

原始数据用Excel标准化处理后, 采用Origin 85软件绘图, 用SPSS 21.0软件在α = 1%和α = 5%水平上分析各处理间的差异显著性.

2 结果与讨论

2.1 物理想化性质变化

2.1.1 减重率 减重率是评价秸秆生物预处理效果的主要指标之一^[24-25], 其主要原因是在有氧条件下微生物分解秸秆中的碳水化合物和蛋白质等有机物质产生了CO₂和氮氧化物所致^[29], 同时水解酸化产生的VFAs也会被沼液中的微生物分解利用而导致碳损失^[5]. 秸秆随沼液预处理时间的减重率变化见图1. 由图1A可知, 日减重率呈先增加后减小的趋势, 第2天的减重率最高 (0.93%), 第3-6天的日减重率均保持在0.6%以上, 第14天出现了第二次减重高峰; 由图1B可知, 整个预处理过程中的累计减重率达8.1%, 前5 d的累计减重率占总减重率的43.34%, 这与前人研究结果^[24, 30]基本一致. 基于前期作者发现在纤维质物料厌氧发酵体系中可溶性物质的分解速率要快速纤维素和半纤维素等物质的现象^[31], 上述减重率的变化趋势可能是由于沼液中的水解酸化菌群在预处理前期以分解更易利用的可溶性物质为主, 而在预处理后期以分解结构更为复杂的纤维素和半纤维素等大分子物质为主, 在好氧水解酸化发酵体系中该推测还有待于进一步证实.

李希越等在利用复合菌系预处理玉米秸秆时发现, 物料的总减重率以及秸秆中纤维素、半纤维和木质素的分解率均随预处理时间的延长而增加^[30]; 兰艳艳等的研究表明, 秸秆累积减重率与预处理时间和物料含固率密切相关: 减重率随预处理时间延长而递增, 在含固率为10%-70%范围内减重率随含固率的增加而递减; 同时发现, 适宜预处理时间 (1-3 d) 的秸秆较对照能显著提高甲烷产量, 但过长的预处理时间 (5 d) 会因物质损失而降低甲烷产量^[24]. 因此, 针对不同原料优化适宜的沼液预处理时间对促进秸秆甲烷产量很重要, 本研究中预处理时间对甲烷产量的影响还有待后续研究进一步明确.

2.1.2 pH值和VFAs pH值和VFAs浓度是表征水解酸化程度的重要指标. 水解酸化作为秸秆产甲烷过程中的限速步骤, 提高水解酸化阶段VFAs浓度有利于提高秸秆产甲烷性能^[32]. 物料pH值和VFAs浓度随沼液预处理时间的变化见图2. 由图

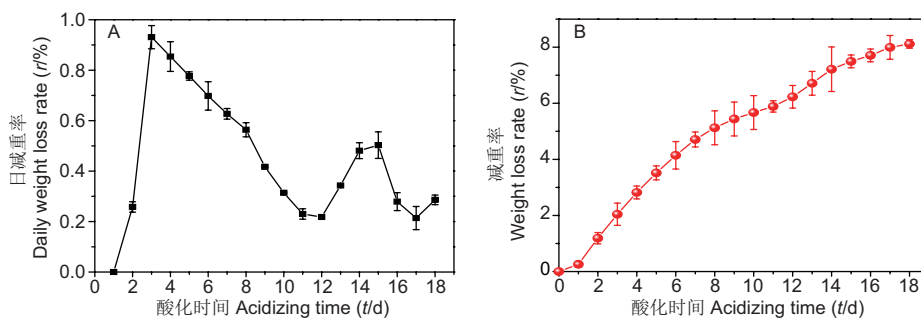


图1 酸化预处理物料的日减重率(A)和累计减重率(B)。

Fig. 1 Daily weight loss rate (A) and cumulative weight loss rate (B) of acidified pretreated materials.

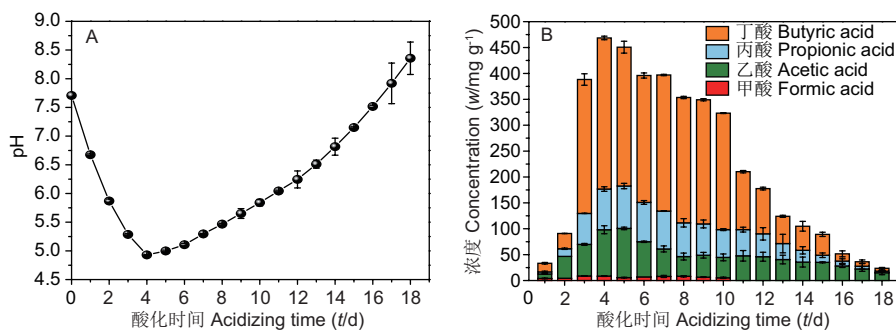


图2 酸化预处理物料pH值变化(A)和VFAs浓度变化(B)。

Fig. 2 Changes in pH (A) and VFAs concentration c (B) of acidified pretreatment material.

2A可知,物料pH值由最初的7.71迅速下降至第4天的4.93,随后开始逐渐上升至预处理结束时的8.35,说明沼液中微生物群体具有良好的自我调节能力,这与黄开明等利用复合菌系预处理玉米秸秆的pH值变化趋势^[33]类似,但本研究的最低pH值明显低于后者第2天最低时的6.79,也低于兰艳艳等人第5天最低时的5.83^[24],其原因可能与沼液中微生物种类、活性以及秸秆的理化性质有关。由图2B可知,物料中VFAs浓度随预处理时间的变化趋势与pH值的相吻合:前4 d VFAs 浓度逐渐升高,最高可达468.58 mg/g,之后逐渐下降,这与李越希等的研究结果^[30]基本一致;在第3-12 天VFAs浓度始终维持在300 mg/g以上,说明水解酸化效果良好。后期VFAs 浓度降低的原因可能是由于前期累计的高浓度VFAs抑制了水解酸化细菌的活性而导致开始分解VFAs所致^[31],这也是微生物群体具有较强自我能力的表现。各预处理时间产生的VFAs种类基本相同,但各成分浓度占比有明显差异:在第3-12天浓度最高的为丁酸,占总浓度的59.50%-69.57%;其次为乙酸和丙酸,二者占总浓度的28.79%-39.25%。任南琪等人研究表明,当水解酸化发酵体系的pH = 5.0左右时,在碳水化合物为底物的基质中会发生混合酸型发酵,当pH < 6.0时,酸化产物以丁酸为主,其含量可占总产酸量的60%-70%^[34],这与本研究结果一致。

需要指出的是,在厌氧产甲烷体系中,尽管丁酸和丙酸经乙酸化阶段均能转化为可被产甲烷菌直接利用的乙酸,但这两种酸的乙酸化属于耗能反应,吉布斯自由能(ΔG)分别为+45.5 kJ/mol和+72.2 kJ/mol,且过高浓度的丁酸和丙酸会抑制产甲烷菌活性,进而降低产甲烷产量^[35]。马旭光等研究表明,在厌氧发酵体系中加大接种量可有效解除丁酸和丙酸抑制作用,进而会提升产甲烷稳定性^[8]。为此,在后续用水解酸化秸秆产甲烷实验中,为了避免过高丁酸和丙酸浓度抑制产甲烷菌活性以确保厌氧发酵体系的稳定性,加大接种量是必要的。

2.2 微生物群落结构

基于上述减重率、pH值和VFAs 浓度的变化趋势,分别选

取第0、2、3、4、5天的水解酸化物料分析微生物群落结构(图3)。水解酸化物料中发现的微生物种类均在之前以木质纤维素为原料的相关厌氧发酵研究中被报道^[4, 7-8, 36],说明这些微生物具有分解木质纤维素的作用,这与本研究所采用的沼液来自粪枯厌氧发酵物有关。在预处理前5天,秸秆水解酸化体系中微生物群落结构发生了明显变化:第0天(沼液)中的优势菌群为拟杆菌属(*Bacteroides*),占比为56.95%;第2天普氏菌属(*Prevotella*)丰度开始增加,但优势菌群仍为拟杆菌属,占比为58.28%;第3-5天,普氏菌属丰度显著增加,优势菌群由之前单一的拟杆菌属变为拟杆菌属和普氏菌属两种,占比分别为31.97%-35.96%和为32.11%-33.09%。另外,梭菌属(*Clostridium*)丰度在第3、4、5天也有较明显的增加。研究表明,拟杆菌属和普氏菌属均具有较强的耐酸性,能将纤维质物料水解酸化产生VFAs,且其中的一些种的数量与乙酸、丁酸和丙酸的产量呈正相关^[36-37]。马旭光在以牛粪为原料构建的

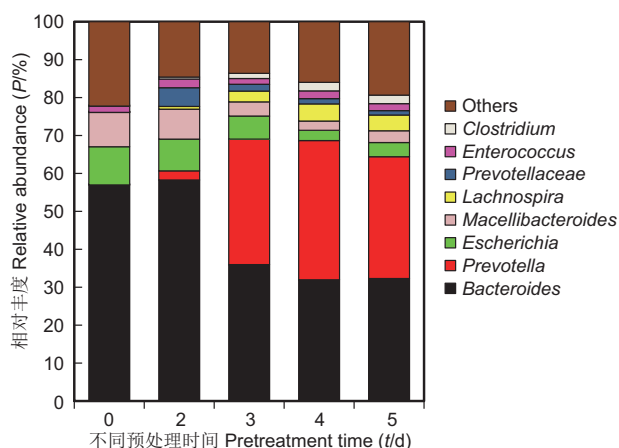


图3 酸化预处理物料微生物属水平的群落构成。

Fig. 3 Community composition of the microbes at genus level in acidizing pretreatment materials.

“两相分区一体”中温(35℃)厌氧反应发酵体系中,发现反应器上部微好氧“水解酸化相”存在丰度较高的隶属于拟杆菌属的一些种,且受pH值和VFAs浓度影响较小^[31];Lebuhn等人发现在以干草和稻秆中温(38℃)混合发酵的水解酸化相,优势菌群为普氏菌属和梭菌属,且认为隶属于普氏菌属的反刍瘤胃亚菌(*Prevotella ruminicola*)可作为分解木质纤维素能力的标记物种^[36]。综合上述研究结果,推测普氏菌属和梭菌属较拟杆菌属更具有耐酸性,且可能以分解可溶性物质、纤维素和半纤维等碳水化合物产丁酸为主。目前在厌氧发酵体系中关于梭菌属的代谢特性报道较多^[8, 35, 37],但有关普氏菌属的研究较少,该类菌群在今后高效分解木质纤维素物料发酵体系中的作用和地位值得进一步探索。

2.3 产甲烷特性分析和分解率比较

基于2.1中预处理时间为第0-5天的秸秆减重、pH值和VFAs变化趋势,选取第0、2、3、4、5天的水解酸化物料进行厌氧发酵实验,从日产气量、甲烷含量、累计甲烷产量和产甲烷效率4个方面分析不同预处理时间的产甲烷特性,并比较各处理之间的物料分解率。

2.3.1 日产气量和甲烷含量 不同酸化预处理时间的物料日产气量和甲烷含量见图4。各处理均能正常产气,未发现预处理阶段累计的VFAs对厌氧发酵的抑制现象,这可能与本研究添加了较高比例(料泥VS比为1:2)的接种量有关,有效保证了各处理的正常产气。由图5A可知,各处理在第1天均开始产气,说明本研究采用的接种物有良好的活性;在26 d的厌氧发酵过程中,各处理日产气量均呈先升高后降低的一致趋势,这与前人的实验现象^[22-24]一致,但各处理产气高峰出现的时间和日产气量的峰值有明显不同:沼液预处理试验组的产气高峰较对照组(预处理时间为0 d)有不同程度的提前,对照组的产气高峰出现在第10天,峰值为390 mL,而预处理时间为2-5 d的试验组产气高峰出现在第7-9天,峰值较对照组提高了7.7%-64.2%,且峰值随处理时间延长而呈增加的趋势,与本文2.1.2中VFAs浓度的变化趋势基本吻合。究其原因,沼液的水解酸化细菌能有效破坏秸秆中纤维素的结晶结构^[30],进而会提高木质纤维素成分的生物可降解性并加快产气速率和提升产气量;另一方面,水解酸化物料中VFAs累积量也会加快产气速率和提升产气量^[38]。李希越等发现,沼液预处理时间越长,秸秆中纤维素结晶度越低,同时也会加快秸秆中无定形区半纤维素成分的降解速率^[30]。因此,在一定的时间范围内,适当延长沼液预处理时间是提高秸秆产气速率和沼气产

量的有效手段。

从图4B可知,各处理甲烷含量变化趋势基本一致,且从第7天开始均能稳定在60%左右,再次证明本研究采用的经长期驯化的活性污泥具有良好的产甲烷活性。各处理在稳定产甲烷期(第7-26天),预处理5 d的试验组平均甲烷含量最高(66.96%),极显著($P < 0.01$)高于其他各处理组(61.76%-62.66%),表现为厌氧发酵后期的甲烷含量明显高于其他处理,但由于后期的日产气量较少,因此对总甲烷产量影响还有待后续分析。总体而言,预处理时间对各处理甲烷含量影响不大,这可能与水解酸化产生的VFAs种类构成基本相同有关。理论上,在乙酸产甲烷代谢途径为主的发酵体系中,甲烷含量与中间代谢产物的分子构成相关,几种常见中间代谢产物的甲烷产量从高到低依次为乙醇(75%)>丁酸(63%)>丙酸(58%)>乙酸和乳酸(50%)>甲酸(25%),但在实际厌氧发酵体系中,甲烷含量主要取决于原料的碳氮比(C/N)等理化性质^[31]和甲烷化代谢途径^[34]。由此可知,在本研究中不同沼液酸化预处理时间的物料产甲烷代谢途径没有差异。

2.3.2 累计甲烷产量 各试验组的累计甲烷产量和累计甲烷产量实时占比见图5。由图5A可知,酸化预处理时间越长,累计甲烷产量越多,预处理5 d的累计甲烷产量最高(2 916 mL),比其他处理组高4.51%-35.7%,且各预处理试验组的累计甲烷产量均显著高于对未经预处理的对照组,与孟艳等人的研究结果^[26]一致,再次证明了沼液酸化预处理能显著提高秸秆甲烷产量。由图5B可知,各预处理试验组累计甲烷产量达到甲烷产量80%的天数(T_{80})较对照组提前1-2 d,彭翔等人^[23]和杨春^[33]等人分别用沼液预处理玉米秸秆和小麦秸秆的厌氧发酵实验中也得出了相似结论,但试验组 T_{80} 较对照组缩短的时间比本研究更为明显,这可能是由于油菜秸秆较玉米秸秆和小麦秸秆更难被微生物分解所致^[5, 8-9]。总之,沼液酸化预处理能加快秸秆产甲烷速率,缩短厌氧发酵周期,有望在实际沼气工程应用中节约时间成本和提高经济效益。

2.3.3 产甲烷效率 容积甲烷产率和原料甲烷产率是评价厌氧反应器产气性能的两个重要指标,前者表示单位容积的反应器在单位时间内的产甲烷体积,后者表示单位质量原料在厌氧发酵周期内的甲烷产量^[5]。在实际沼气工程中,容积甲烷产率更能反映发酵罐的产能水平,而在批次发酵实验中能说明发酵体系的产气速率,可为连续发酵工艺确定适宜的有机负荷(水力滞留时间)提供参考。各处理组的产甲烷效率见图6。各处理间容积甲烷产率和原料甲烷产率变化趋势一致,

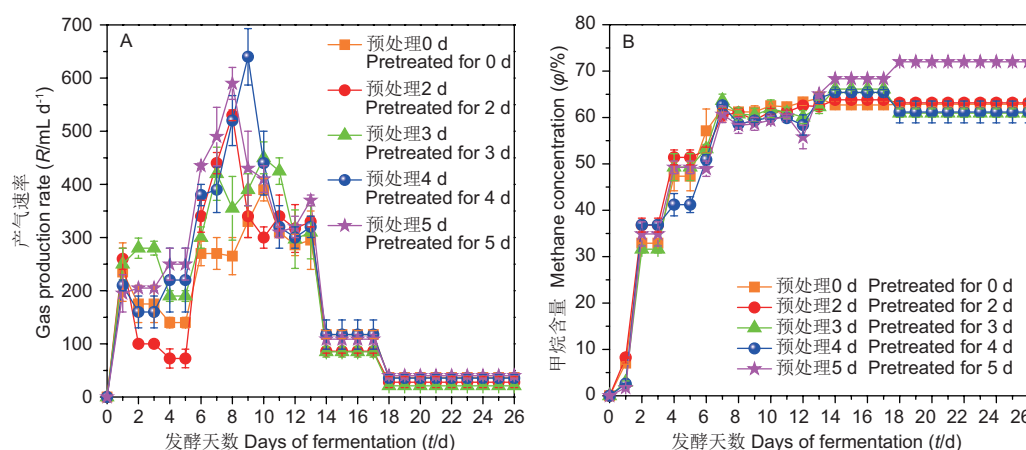


图4 不同预处理条件下油菜秸秆厌氧发酵的日产气量(A)和沼气成分动态变化(B)。

Fig. 4 Daily gas production (A) and biogas composition dynamic change (B) of the rape straw anaerobic fermentation under different pretreatments.

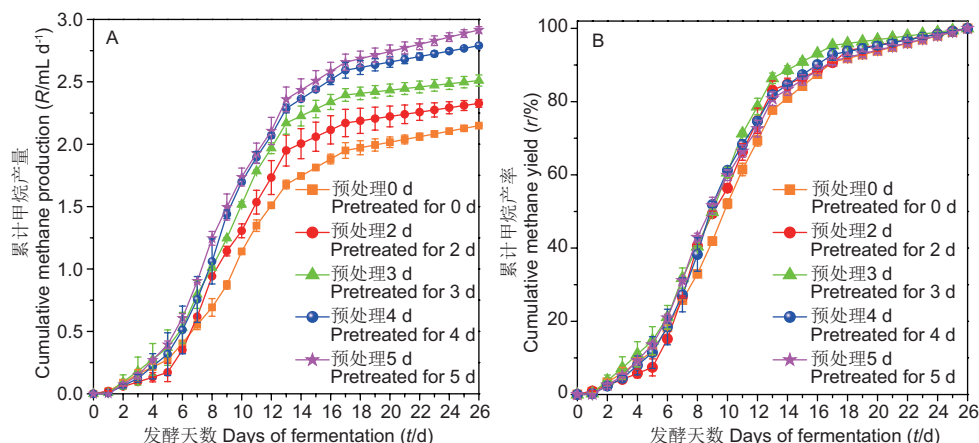


图5 不同预处理条件下油菜秸秆厌氧发酵的累计产甲烷量(A)和累计甲烷产量实时占比(B)。

Fig. 5 Cumulative methane production (A) and cumulative methane production in real time as a percentage (B) for anaerobic fermentation of the rape straw under different pretreatment conditions.

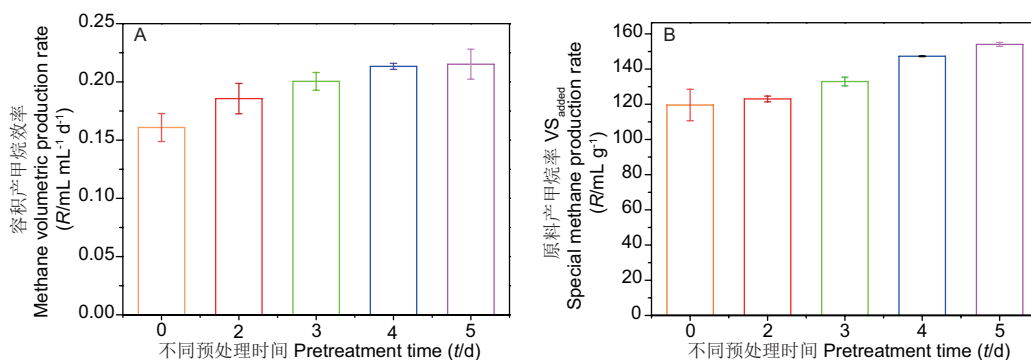


图6 不同预处理时间下油菜秸秆厌氧发酵的容积产甲烷效率(A)及原料产甲烷效率(B)。

Fig. 6 Methane volumetric production rate (A) and special methane production rate (B) of the rape straw anaerobic fermentation under different pretreatment time.

均随沼液预处理时间的延长而增加。就容积甲烷产率而言,各预处理试验组均显著高于对照组,预处理时间5 d的试验组高达 $0.21 \text{ mL mL}^{-1} \text{ d}^{-1}$,较对照组提高33.78%,但预处理时间3、4、5 d的试验组之间差异不显著($P > 0.05$),这与2.3.2中累计甲烷产量实时占比的结果吻合。就原料甲烷产率而言,预处理5 d的最高(154.02 mL/g),比对照组提高了28.79%,比其他各试验组(2 d、3 d、4 d)分别提高了25.21%、15.87%和4.57%,且与预处理4 d的试验组无显著性差异($P = 0.131$)。考虑到时间因素,在本研究条件下较优的沼液水解酸化秸秆时间为4 d。需要进一步指出,预处理5 d的原料甲烷产率与孟艳等人利用沼液预处理黄瓜秸秆的数值(152.42 mL/g)^[18]接近,但远低于杨春等人利用沼液预处理麦秸获得的最高值(243.90 mL/g)^[26],其中麦秸C/N(42.82)接近于本研究中油菜秸秆C/N(42.16),也明显低于魏域芳等人利用沼液预处理玉米秸秆后与牛粪混合发酵获得的最高值(238.35 mL/g)^[22],说明沼液酸化预处理提升秸秆产量的效果不仅与原料理化性质有关,还可能与秸秆中纤维素、半纤维等大分子物质的含量和结合度相关。

2.3.4 TS和VS分解率 不同预处理时间秸秆的TS和VS分解率见图7。TS和VS分解率随预处理时间的延长而增加,预处理5 d的TS和VS分解率最高,分别为35.39%和43.32%,均显著高于其他各处理组($P > 0.05$),这与甲烷产量各处理组差异性略有不同:尽管预处理第5天的TS和VS显著高于第4天,但二者甲烷产量并无显著性差异,其原因可能是过长的预处理时间会大幅增加减重率并造成大量的碳素损失(见本文

2.1.1) 而不利甲烷产量的持续提升,这与杨春等人的研究结论^[33]一致。李平等人在利用稀碱水解、尿素氨化、生物酶解和沼液4种方法预处理稻秆的研究中,认为失重率和物料分解率与甲烷产量呈正相关^[25],但并没有考虑沼液预处理时间对物料分解率和甲烷产量的影响。结合本研究结果,预处理时间与物料分解率呈正相关,但物料分解率与甲烷产量不一定呈正相关。因此,在实际应用中应充分考虑过长预处理时间对提高秸秆甲烷产量的不利影响。另外,本研究得到的最高秸秆TS、VS分解率均低于他人在利用沼液预处理麦秸和玉米秸秆时获

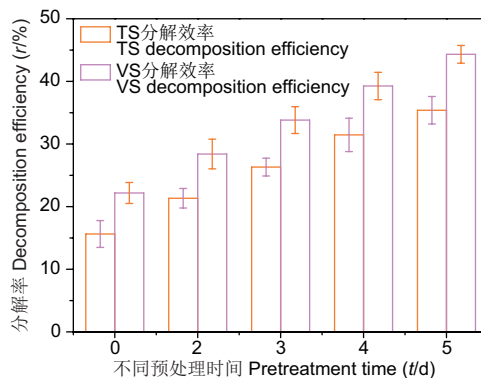


图7 不同预处理时间油菜秸秆的总固体物(TS)和挥发性固体物(VS)分解率。

Fig. 7 Total solid (TS) and volatile solid (VS) decomposition rates of the rape straw at different pretreatment times.

得的最高值^[22, 26], 再次说明油菜秸秆较其他秸秆的生物分解性能较差, 因此高效的预处理方式对提高油菜秸秆甲烷产量有重要作用。

3 讨论

目前关于利用沼液预处理秸秆对产甲烷性能影响的结论基本一致: 能显著提高物料分解率和甲烷产量, 缩短发酵周期, 具有良好的应用前景^[22-26, 30, 33], 但不同秸秆获得最优的预处理参数不尽相同, 甚至同一种秸秆在不同研究中得到的最优沼液预处理条件也不相同。例如, 过5M筛网、含固率为15%的沼液对玉米秸秆有最好的预处理效果^[22], 而预处理麦秸的最佳含固率为30%^[33]; 番茄和辣椒秸秆、黄瓜和茄子秸秆、麦秸的最佳预处理时间分别为5 d、7 d和3 d^[18, 33], 但杨春等人在预处理时间为1 d、含固率为15%的条件下获得了麦秸最佳产气效果^[26]; 彭翔等人针对玉米秸秆获得最优预处理参数为含固率10%、沼液过4 mm筛网、预处理温度35℃、预处理时间3 d^[23]。由此可知, 影响沼液预处理秸秆的因素众多, 而针对同一种秸秆, 预处理时间、沼液添加量和物料含固率可能是影响预处理效果的主要因素; 对于不同秸秆, C/N、木质纤维素结晶度以及含量的影响下沼液预处理效果也有明显差异。因此, 在实际应用中不能一概而论, 根据沼气工程的具体工况系统开展沼液预处理秸秆的工艺参数优化非常必要。另外, 因考虑到沼液酸化预处理与后续厌氧发酵温度的一致性, 目前大多数研究均是在中温(35-37℃)条件下进行沼液预处理, 但研究表明水解酸化细菌群和产甲烷菌群有各自最适的发酵温度^[39]。为此, 从节能和便于操作的角度考虑, 沼液在低于中温条件下是否更有利于提升秸秆产甲烷性能值得进一步研究。由于油菜秸秆生物降解性较差, 本研究仅通过优化预处理时间获得的甲烷产率较低, 今后还需考虑沼液添加量、物料含固率和酸化温度等多种因素对水解酸化效果的协同效应, 以及酸化物料与禽畜粪污共发酵对提升秸秆甲烷产量的影响, 进而

为油菜秸秆在沼气工程中的规模化应用提供可能性; 同时, 为沼液提高秸秆甲烷产量的作用机理还需深入研究, 为建立沼液高效预处理秸秆技术及其精准化控制提供可靠理论基础。

另外, 目前关于沼液提高秸秆产甲烷性能机理的研究普遍认为: 一方面, 沼液中因含有大量具有分解木质纤维素的水解酸化细菌, 会破坏秸秆中致密的纤维质结构, 降低纤维素结晶度, 进而能提高木质纤维素的生物降解性, 在适宜的预处理时间范围内提升了甲烷产量^[30, 36]; 另一方面, 沼液中含有大量的铵态氮, 能够作为氮源调节厌氧发酵体系中的碳氮比(C/N), 进而改善了单一物料的厌氧消化性能^[18]。但是, 沼液中的微量元素、重金属以及抗生素等成分在促进秸秆可降解性和提高甲烷产量中的功能和作用还不清楚, 预处理阶段产生的VFAs种类和浓度是否会改变木质纤维素结构也不明确。因此, 为了在沼气工程中能实现沼液预处理秸秆技术的精准化控制, 对沼液提高秸秆产甲烷性能的机理有待更深入、系统的探究。

4 结论

本研究评价了沼液预处理时间对油菜秸秆减重率、pH值、VFAs的影响, 分析了代表性预处理时间的细菌群落结构, 并从日产气量、甲烷含量、累计甲烷产量、甲烷产率和物料分解率多维度比较了秸秆产甲烷特性, 证明沼液预处理是提高油菜秸秆甲烷产量的有效途径, 主要表现为在酸化阶段能够富集具有水解酸化木质纤维素功能的拟杆菌属(*Bacteroides*)和普氏菌属(*Prevotella*), 并积累了大量VFAs(最高达468.58 mg/g); 在厌氧发酵阶段能够缩短产甲烷周期1-2 d和提高甲烷产率; 预处理时间4-5 d的物料获得了最高甲烷产率(147.29-154.02 mL/g), 较对照提高了25%左右; 考虑到时间成本, 建议最优的预处理时间为4 d。本研究可为实现沼液就地资源化利用和秸秆高效产沼气的工程应用提供理论依据, 也为今后开发秸秆低成本、清洁化的酸化预处理技术奠定了应用基础。

参考文献 [References]

- 1 Cui Q, Liu Y, Ali T, Gao J, Chen H. Economic and climate impacts of reducing China's renewable electricity curtailment: a comparison between CGE models with alternative nesting structures of electricity [J]. *Energy Econ*, 2020, **91**: 104892
- 2 Jiang H, Deng F, Luo YP, Xie ZJ, Chen YC, Zhou P, Liu XF, Li D. Hydrothermal carbonization of corn straw in biogas slurry [J]. *J Clean Prod*, 2022, **353**: 131682
- 3 Sun H, Wang E, Li X, Cui X, Guo J, Dong R. Potential biomethane production from crop residues in China: Contributions to carbon neutrality [J]. *Renew Sustain Energy Rev*, 2021, **148**: 111360
- 4 Zhao Y, Wu J, Yuan X, Zhu W, Wang X, Cheng X, Cui Z. The effect of mixing intensity on the performance and microbial dynamics of a single vertical reactor integrating acidogenic and methanogenic phases in lignocellulosic biomass digestion [J]. *Bioresour Technol*, 2017, **238**: 542-551
- 5 马旭光, 江滔, 唐琼, 常佳丽, 罗涛, 梅自力. 油菜秸秆和鸡粪比例及含固率对其发酵产甲烷特性的影响[J]. 农业工程学报, 2018, **34** (12): 236-244 [Ma XG, Jiang T, Tang Q, Chang JL, Luo T, Mei ZL. Effect of total solid content on biogas production from rape stalk and chicken manure with different mixing ratios [J]. *Trans CSAE*, 2018, **34** (12): 236-244]
- 6 何敏, 王幸锐, 韩丽, 冯小琼, 毛雪. 四川省秸秆露天焚烧污染物排放清单及时空分布特征 [J]. 环境科学, 2015, **36** (4): 1208-1216. [He M, Wang XR, Han L, Feng XQ, Mao X. Emission inventory of crop residues field burning and its temporal and spatial distribution in Sichuan province [J]. *Environ Sci*, 2015, **36** (4): 1208-1216]
- 7 Tian JH, Pourcher AM, Bureau C, Peu P. Cellulose accessibility and microbial community in solid state anaerobic digestion of rape straw [J]. *Bioresour Technol*, 2016, **223** (2): 192-201
- 8 Ma XG, Jiang T, Chang JL, Tang Q, Luo T, Cui ZJ. Effect of substrate to inoculum ratio on biogas production and microbial community during hemi-solid-state batch anaerobic co-digestion of rape straw and dairy manure [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2019, **189**: 884-902
- 9 马旭光, 江滔, 唐琼, 杨娟. 牛粪添加量对油菜秸秆半固态发酵产甲烷特性的影响[J]. 农业工程学报, 2016, **32** (2): 323-330 [Ma XG, Jiang T, Tang Q, Yang J. Effects of dairy manure addition from methane production under semi-solid state condition [J]. *Trans CSAE*, 2016, **32** (2): 323-330]
- 10 Zheng Y, Zhao J, Xu FQ, Li YB. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production [J]. *Prog Energy Combust Sci*, 2014, **42**: 35-53
- 11 徐婉莹, 田建茹, 左华, 邵蕊, 李伟娜. 纤维素生物质厌氧消化的生物预处理研究进展[J]. 中国沼气, 2019, **3**: 9-20 [Xu WY, Tian JR, Zuo H, Shao X, Li W. Progress on biological pretreatment for anaerobic digestion of cellulose biomass [J]. *China Biogas*, 2019, **3**: 9-20]
- 12 Li Y, Chen Y, Wu J. Enhancement of methane production in

- anaerobic digestion process: a review [J]. *Appl Energy*, 2019, **240**: 120-137
- 13 邓媛方, 邱凌, 黄辉, 戴本林, 王一线, 徐继明. 酶预处理对秸秆类原料厌氧发酵特性的影响[J]. 农业机械学报, 2015, **46** (6): 201-206 [Deng YF, Qiu L, Huang H, Dai BL, Wang YX, Xu JM. Effects of enzymatic pretreatment straw wastes on its characteristics of anaerobic digestion for biogas production. *Trans CSAM*, 2015, **46** (6): 201-206.]
 - 14 Xu WY, Fu SF, Yang ZM, Lu J, Guo RB. Improved methane production from corn straw by microaerobic pretreatment with a pure bacteria system [J]. *Bioresour Technol*, 2018, **259**: 18-23
 - 15 黄开明, 赵立欣, 冯晶, 姚宗路, 于佳动, 罗娟. 复合微生物预处理玉米秸秆提高其厌氧消化产甲烷性能[J]. 农业工程学报, 2018, **34** (16): 184-189 [Huang KM, Zhao LX, Feng J, Yao ZL, Yu JD, Luo J. Pretreatment of corn stalk by composite microbial strain improving its methane production performance by anaerobic digestion [J]. *Trans CSAE*, 2018, **34**(16): 184-189]
 - 16 Cao ZL, Deng F, Wang RX, Li JB, Liu XF, Li D. Bioaugmentation on humification during co-composting of corn straw and biogas slurry [J]. *Bioresour Technol*, 2023, **374**: 128756
 - 17 尹鹏, 张辉文, 刘宏达, 王永明, 向小飞, 彭靖靖, 万小春, 艾平. 4省市沼渣沼液养分含量和重金属分析[J]. 中国沼气, 2021, **39** (5): 43-50 [Yin P, Zhang HW, Liu HD, Wang YM, Xiang XF, Peng JJ, Wan XC. Analysis of nutrients and heavy metals of biogas residue and biogas slurry in four provinces and cities [J]. *China Biogas*, 2021, **39** (5): 43-50
 - 18 孟艳, 汪微, 蒯全财, 李屹, 陈来生, 杜中平, 韩睿. 沼液预处理对蔬菜秸秆厌氧消化性能的影响[J]. 中国农业科技导报, 2022, **24** (9): 188-196 [Meng Y, Wang W, Huang QC, Li Y, Chen LS, Du ZP, Han R. Effect of biogas slurry pretreatment on anaerobic digestion of vegetable straws [J]. *J Agric Sci Technol*, 2022, **24** (9): 188-196]
 - 19 张广运, 汤国民, 张晓华, 毕美光. 我国沼渣沼液资源化利用研究综述[J]. 山西农业科学, 2019, **47** (10): 1857-1860 [Zhang GY, Tang GM, Zhang XH, Bi MG. Research progress on resource utilization of biogas residue and biogas slurry in China [J]. *J Shanxi Agric Sci*, 2019, **47**(10): 1857-1860]
 - 20 Tang YF, Wang LY, Carswell A, Misselbrook T, Shen JH, Han JG. Fate and transfer of heavy metals following repeated biogas slurry application in a rice-wheat crop rotation [J]. *J Environ Manage*, 2020, **270**: 110938
 - 21 刘兰英, 黄薇, 吕新, 何肖云, 谢亚兴, 上官亮, 宋永康. 长期沼液灌溉对槟榔芋根区土壤理化性质及重金属含量的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, **11** (21): 7890-7897 [Liu LY, Huang W, Lv X, He XY, Xie YX, Shang GL, Song YK. Effects of long-term biogas slurry fertilization on soil physical and chemical properties and heavy metal content in areca taro root zone [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, **11** (21): 7890-7897]
 - 22 魏域芳, 李秀金, 袁海荣. 沼液预处理玉米秸秆与牛粪混合厌氧消化产气性能的研究[J]. 中国沼气, 2018, **36** (1): 39-46 [Wei YF, Li XJ, Yuan HR. Anaerobic co-digestion of cattle manure and corn stalk pretreated by digestate slurry [J]. *China Biogas*, 2018, **36** (1): 39-46]
 - 23 彭翔, 李秀金, 袁海荣, 刘研萍, 邹德勋, 庞云芝. 沼液原位生化预处理玉米秸与猪粪混合厌氧消化性能分析[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2016, **43** (6): 71-77 [Peng X, Li XJ, Yuan HR, Liu YP, Zou DX, Pang YZ. Anaerobic co-digestion of corn stalk and swine manure with situ biogas slurry pretreatment [J]. *J Beijing Univ Chem Technol (Nat Sci Ed)*, 2016, **43** (6): 71-77]
 - 24 兰艳艳, 朱嘉琳, 刘春梅, 李秀金, 刘研萍, 邹德勋, 袁海荣. 厌氧消化性能分析猪粪沼液预处理麦秸厌氧消化性能分析[J]. 可再生能源, 2017, **35** (8): 1135-1142 [Lan YY, Zhu JL, Liu CM, Li XJ, Liu YP, Zou DX, Yuan HR. Evaluation of anaerobic digestion performance of wheat straw using pig manure liquid fraction of digestate pretreatment [J]. *Renew Energy Resour*, 2017, **35** (8): 1135-1142]
 - 25 李平, 龙翰威, 高立洪, 韦秀丽, 蒋滔, 刘科, 董毛村. 不同预处理方
 - 式下水稻秸秆厌氧消化性能比较[J]. 农业工程学报, 2015, **31** (12): 200-205 [Li P, Long HW, Gao LH, Wei XL, Jiang T, Liu K, Dong MC. Comparison of anaerobic digestion capability of rice straw with different pretreatment methods [J]. *Trans CSAE*, 2015, **31** (12): 200-205]
 - 26 孟艳, 汪微, 蒯全财, 李屹, 陈来生, 杜中平, 韩睿. 沼液预处理对蔬菜秸秆厌氧消化性能的影响[J]. 中国农业科技导报, 2022, **24** (9): 188-196 [Meng Y, Wang W, Xi QC, Li Y, Chen LS, Du ZP, Han R. Effect of biogas slurry pretreatment on anaerobic digestion of vegetable straws [J]. *J Agric Sci Technol*, 2022, **24** (9): 188-196]
 - 27 Walter WG. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [M]. 21th ed. Washington DC: APHA, 2005
 - 28 蒋心茹, 刘杨, 谢炎东, 姬高升, 许力山, 宦臣臣, 张忠武, 刘明刚, 闫志英. 回流液对剩余污泥厌氧消化的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2021, **27** (2): 459-465 [Jiang XR, Liu Y, Xie YD, Ji GS, Xu LS, Huan CC, Zhang ZW, Liu MG, Yan ZY. Effect of leachate recirculation on sewage sludge anaerobic digestion [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2021, **27** (2): 459-465]
 - 29 韩捷, 向欣, 程红胜, 刘丽红. 好氧预处理对干法沼气发酵产气量的影响及能量损失[J]. 农业工程学报, 2012, **27** (12): 246-249 [Han J, Xiang X, Cheng HS, Liu LH. Effects of aerobic fermentation pretreatment on dry anaerobic fermentation gas production and its energy loss [J]. *Transactions of the CSAE*, 2011, **27**(12): 246-249]
 - 30 李希越, 王洪波, 赵玉晓, 华栋梁, 王宁. 好氧生物预处理时间对玉米秸秆水解酸化的影响[J]. 生物质化学工程, 2022, **56**(01): 13-22 [Li XY, Wang HB, Zhao YX, Hua DL, Wang N. Effect of aerobic biological pretreatment time on hydrolytic acidification of corn straw [J]. *Biomass Chem Eng*, 2022, **56** (1): 13-22]
 - 31 马旭光. 纤维质物料高含固率连续厌氧发酵工艺及其高效产甲烷机制[D]. 北京: 中国农业大学, 2014 [Ma XG. A technology of continuous high-solids content anaerobic digestion of lignocellulosic feedstock and mechanism of efficient methane production [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014]
 - 32 Shen SC, Nges IA, Yun JX, Liu J. Pre-treatments for enhanced biochemical methane potential of bamboo waste [J]. *Chem Eng J*, 2014, **240**: 253-259
 - 33 杨春, 刘艳茹, 郭蕊洁, 李思媛, 杨鹏, 兰艳艳, 袁海荣. 猪粪沼液预处理对麦秸厌氧消化性能的影响[J]. 中国沼气, 2017, **35** (4): 10-13 [Yang C, Liu YR, Guo RJ, Li SY, Yang P, Lan YY, Yuan HR. Pretreating wheat stalk with pig manure biogas slurry for its anaerobic digestion [J]. *China Biogas*, 2017, **35** (4): 10-13]
 - 34 任南琪, 刘敏, 王爱杰, 丁杰, 李洪民. 两相厌氧系统中产甲烷相有机酸转化规律[J]. 环境科学, 2003 (4): 89-93 [Ren NQ, Liu M, Wang AJ, Ding J, Li HM. Organic acids conversion in methanogenic-phase reactor of the two-phase anaerobic process [J]. *Environ Sci*, 2003 (4): 89-93]
 - 35 Amani T, Nosrati M, Sreekrishnan TR. Anaerobic digestion from the viewpoint of microbiological, chemical, and operational aspects-a review [J]. *Environ Res*, 2010, **18**: 255-278
 - 36 Michael L, Angelika H, Michael K, Andreas S, Christoph B, Carmen M P. Towards molecular biomarkers for biogas production from lignocellulose-rich substrates [J]. *Anaerobe*, 2014, **29**: 10-21
 - 37 Li YF, Shi J, Nelson MC, Chen PH, Graf J, Li Y, Yu Z. Impact of different ratios of feedstock to liquid anaerobic digestion effluent on the performance and microbiome of solid-state anaerobic digesters digesting corn stover [J]. *Bioresour Technol*, 2016, **200**: 744-752
 - 38 Shen F, Li HG, Wu XY, Wang YX, Zhang QH. Effect of organic loading rate on anaerobic co-digestion of rice straw and pig manure with or without biological pretreatment [J]. *Bioresour Technol*, 2018, **250**: 155-162
 - 39 Nie EQ, He PJ, Zhang H, Hao LP, Shao LM, Lu F. How does temperature regulate anaerobic digestion? [J]. *Renew Sustain Energy Rev*, 2021, **150**: 111453