

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2023.04.039

干法厌氧发酵装备同步升温发酵及微生物网络研究

衣蕊<sup>1</sup> 赵立欣<sup>1,2</sup> 姚宗路<sup>1,2</sup> 冯晶<sup>3</sup> 刘新鑫<sup>4</sup> 于佳动<sup>1,2</sup>

(1. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081;  
2. 农业农村部华北平原农业绿色低碳重点实验室, 北京 100081;  
3. 农业农村部规划设计研究院农村能源与环保研究所, 北京 100125; 4. 黑龙江八一农垦大学工程学院, 大庆 163319)

**摘要:**干法厌氧发酵是提高农业农村废弃物处理效率及资源高效循环的重要技术之一。先前围绕该技术产甲烷效率低、传质传热不均匀等问题,提出了微好氧同步预升温干发酵技术,设计了配套装备,开展了小试和中试试验,产甲烷效率得到改善。为进一步提高放大装备的实际应用质量,在对发酵装置密封、进出料、喷淋循环系统等关键部件优化的基础上,探明了最优曝气量及实际应用中微好氧预升温阶段物质转化特性,揭示了微生物生态网络关系,评价了实际运行效果。结果表明:对关键部件的优化显著提升装备运行稳定性,微好氧同步预升温阶段最优曝气量为 10 L/min,容积产气率达到 1.20 m<sup>3</sup>/(m<sup>3</sup>·d)。物料在第 40 小时升温至 42℃,曝气组各层物料温度较未曝气组均提高 45.54%、32.46% 和 52.06%。同步预升温促进了物料各层纤维素和半纤维素的降解,提高了酸化效率,有机酸质量浓度分别提高 59.83%、50.69% 和 20.85%,物料产气潜力提高 34.9%。探明了微生物网络关系以及与发酵环境因子变化的相关性,发现微好氧预升温阶段具有协同作用的功能微生物 *SBR1031*、*Synergistales* 和 *Gaiellales*,丰度提高 57.67%、15.88% 和 68.59%。

**关键词:**农业农村废弃物;干法厌氧发酵;微好氧;发酵装备;微生物群落

中图分类号: X76      文献标识码: A      文章编号: 1000-1298(2023)04-0376-10      OSID: 

Synchronous Heating Fermentation and Micro-ecological Network of Dry Anaerobic Fermentation Equipment

YI Rui<sup>1</sup> ZHAO Lixin<sup>1,2</sup> YAO Zonglu<sup>1,2</sup> FENG Jing<sup>3</sup> LIU Xinxin<sup>4</sup> YU Jiadong<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Agricultural Environment and Sustainable Development, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China  
2. Key Laboratory of Low-carbon Green Agriculture in North China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081, China  
3. Institute of Rural Energy and Environmental Protection, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100125, China  
4. College of Engineering, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

**Abstract:** Dry anaerobic fermentation is one of the important technologies to improve the efficiency of agricultural and rural waste treatment and resource recycling. Previously, due to the problems of low methane production efficiency and uneven mass and heat transfer of this technology, the micro-aerobic synchronous pre-heating dry fermentation technology was proposed, supporting equipment was designed, and pilot and pilot tests were carried out, and the methane production efficiency was improved. In order to further improve the practical application quality of amplification equipment, based on the optimization of key components such as sealing, feed inlet and outlet, and spray circulation system of fermentation equipment, the optimal aeration rate and the material transformation characteristics of micro-aerobic pre-heating stage in practical application were further explored, the relationship between microbial ecological network was revealed, and the actual operation effect was evaluated. The results showed that the optimization of key components significantly improved the operational stability of the equipment. The optimal aeration rate was 10 L/min and the volume gas production rate reached 1.20 m<sup>3</sup>/(m<sup>3</sup>·d) in the micro-aerobic synchronous pre-heating stage. At the 40th hour, the material temperature of each layer in the aerated group was increased by 45.54%, 32.46% and 52.06% compared with that in the non-

收稿日期: 2023-02-03    修回日期: 2023-02-24  
基金项目: 财政部和农业农村部:国家现代农业产业技术体系项目(CARS-02)和中国农业科学院科技创新工程项目(ASTIP)  
作者简介: 衣蕊(1996—),女,工程师,主要从事农业废弃物厌氧干发酵技术装备研究,E-mail: 943203196@qq.com  
通信作者: 于佳动(1986—),男,副研究员,主要从事农业废弃物厌氧发酵技术装备研究,E-mail: yujiadong010@163.com

aerated group. The simultaneous pre-heating promoted the degradation of cellulose and hemicellulose in each layer of the material, improved the acidification efficiency, and increased the concentration of organic acids by 59.83%, 50.69% and 20.85%, respectively. The gas production potential of the material was increased by 34.9%. The relationship between microbial network and changes in fermentation environmental factors was investigated. It was found that the abundance of *SBR1031*, *Synergistales* and *Gaiellales*, which had synergistic effects in micro-aerobic pre-heating stage, were increased by 57.67%, 15.88% and 68.59%, respectively.

**Key words:** agricultural and rural waste; dry anaerobic fermentation; micro aerobic; fermentation equipment; microbiome

## 0 引言

干法厌氧发酵是一种进料含固率高的产沼气技术<sup>[1]</sup>,与工程上普遍使用的湿法厌氧发酵技术相比,其优势是原料处理量大、进出料简单、沼液排放量少,在农村地区具备推广优势,产生的沼气与固体沼肥具有较高的利用价值<sup>[2]</sup>,是近年来关注较多的资源循环技术之一<sup>[3]</sup>。

干法厌氧发酵技术在国外被广泛用于处理生活垃圾、城市污泥、畜禽粪便等易降解有机废弃物,并通过气肥联产运行模式产生了良好的经济效益<sup>[4]</sup>。我国干法厌氧发酵技术仍处于探索阶段,国内农业农村废弃物成分复杂,特别是秸秆、牛粪等原料,纤维质量分数通常在 40% 以上,难降解,照搬国外现有技术不能达到最优的运行效果,产气率低、水解酸化与产甲烷速率不匹配是主要的限速步骤。近年来,针对干法厌氧发酵过程出现的抑制问题,调控技术研究已成为热点,研发了可分别在秸秆占比高和牛粪占比高情况下的喷淋-接种物复合调控技术,加速了中间产物丙酸、丁酸的转化效率,甲烷产生速率提升 20.4% ~ 121.3%<sup>[5]</sup>;文献[6]采用生物强化手段改善了牛粪和玉米秸秆共发酵效率;文献[7]在底物中添加 HNO<sub>3</sub> 改性生物炭,成功提高了微生物氧化还原活性和生物量,促进了挥发酸的降解,甲烷产率得到提高。一些研究也发现了导致纤维类物料干发酵产气效率下降的原因,表征了高含固率物料物质转化过程传质传热不均匀的特性<sup>[8]</sup>。文献[9-10]指出,随着发酵装置容积的增大,物料不同区域的温度和可溶性物质含量差异明显,温差达到 4 ~ 8℃,有机酸质量浓度差达 1 500 ~ 3 000 mg/L<sup>[11]</sup>。另外,高含固率物料特性也影响了启动阶段物料升温速率,升温困难导致水解酸化细菌占据主导生态位,造成厌氧发酵失稳风险,严重影响产气效率。

为解决上述问题,课题组提出了一种微好氧同步预升温一体化序批式厌氧干发酵技术<sup>[12]</sup>,产甲烷过程不依靠外源加热,通过间歇微曝气控制体系溶

氧量(0.2 ~ 1.0 mg/L)使温度保持在 42℃ 以上,明显提高了序批式厌氧发酵物料升温及转化效率,初步试验的累积沼气和甲烷产量比不曝气对照分别提高 56.76% 和 41.79%。进一步对发酵装置曝气、喷淋等关键部件和控制系统进行优化设计,创制了中试配套一体化装置<sup>[13]</sup>。然而,微好氧同步预升温特性缺乏深入研究,特别是工艺放大后,对装置内物料各层次的物质升温转化特性、微生物功能网络及关键微生物需要进一步挖掘,系统揭示应用过程干发酵产气协同机制及效果。

本文应用微好氧预升温序批式干发酵一体化装置,探究微好氧同步预升温最佳曝气量,并在最佳曝气条件下深入研究微好氧同步预升温阶段物料不同空间层次的升温、降解、有机酸转化等特性;探明微好氧同步预升温作用下的产气潜力及产甲烷动力学特征;分析升温关键阶段物料不同空间层次的微生物多样性、探索微生物网络关系,以明确核心微生物及利于产气的多参数关联特性。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以玉米秸秆和牛粪为发酵原料,玉米秸秆取自河北省某农场,粉碎粒径为 3 ~ 5 cm,实验室内通风保存,混料前,测定秸秆总固体(TS)质量分数为 87.97%。牛粪取自河北省某规模化奶牛养殖场,牛粪取回放置在常温((25 ± 0.5)℃)实验室保存,混料前,测定牛粪 TS 质量分数为 24.22%,挥发性固体(VS)质量分数为 16.21%。接种物来自本实验室其他序批式厌氧干发酵装置试验结束产出的沼渣,并进一步厌氧培养至不产气作为本次试验接种物,测定其 TS 质量分数为 18.90%。沼液取自河北省廊坊市三河市某沼气工程,未经过滤,测定沼液 TS 质量分数为 1.22%。

### 1.2 试验装置

不同曝气量对牛粪与玉米秸秆混合序批式厌氧干发酵的产气效果影响试验装置为序批式厌氧干发酵反应器,详见文献[12]。

最佳曝气量下微好氧预升温阶段分析试验装置为微好氧预升温序批式干发酵一体化装置,如图 1 所示,长方体结构,有效容积为 1 m<sup>3</sup>,物料填装在内部反应箱中,由推车推至反应器内部,放置在孔径 5 mm 的渗滤网上;反应器进料口设有密封圈,关闭进料口向密封圈充气加压达到密封效果;反应器内均布曝气管道,顶端设有 4 个喷淋头,曝气喷淋均匀稳定;反应器内布有保温水浴夹层,厚度 10 cm,保温性能良好;反应器上、中、下层设有温度传感器,底部渗滤液收集区域设有 pH 值、ORP(氧化还原电位)传感器;收集的沼液通过回流喷淋管道由蠕动泵定时定量控制喷淋;产生的沼气由气袋收集。产气潜力测试使用全自动甲烷潜力测试系统(AMPTS II 型),实时记录甲烷的累积体积和流量,详见文献[14]。

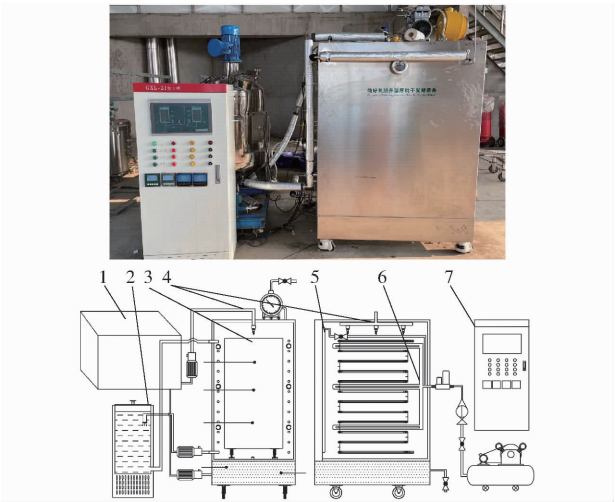


图 1 微好氧预升温序批式干发酵一体化装置  
实物图与示意图

Fig.1 Real picture and schematic of micro-aerobic pre-heating sequence batch dry fermentation integrated device

1.沼液池 2.水浴系统 3.发酵反应箱体 4.喷淋系统 5.密封系统 6.曝气系统 7.电控系统

1.3 试验设计

为使微好氧预升温序批式干发酵一体化装置实现更良好的密封效果、进出料省力方便、循环渗滤液杂质减少,在实际应用中达到最优的工作效果,设计优化装置中密封、进出料以及渗滤液循环过滤系统,并通过实际验证了喷淋头倾斜角度 30°、45°、60°,及喷淋头个数对物料表面喷淋的均一性,从装置角度优化提升物质转化效率。

为探究不同曝气量对牛粪与玉米秸秆混合序批式厌氧干发酵的产气效果影响,确定装置试验参数。从技术工艺角度设计 4 组不同曝气量,分别为 0、10、30、50 L/min。将牛粪和玉米秸秆按干物质比

6:4混合后输送至反应器内,固定曝气频率为 8 次/d,利用改变曝气量进行微好氧升温预处理,当温度达到 38℃时停止曝气。为防止物料温度下降,渗滤液使用水浴锅进行加热循环喷淋。发酵结束后,结合检测的各项指标确定最优曝气量。

在确定装置最优喷淋及曝气量的基础上,开展微好氧预升温阶段分析试验,探明微好氧预升温序批式干发酵一体化装置微好氧预升温阶段生物转化特性。试验以玉米秸秆、牛粪混合为原料,结合先前的研究,秸秆、牛粪碳氮比(25~30):1,营造适合后续高效厌氧发酵产甲烷的原料料配比继续开展装置实际运行试验研究<sup>[5]</sup>。曝气组曝气频率 8 次/d;曝气量为试验确定的最优曝气量。对照组为非曝气处理,全程处于密闭厌氧发酵状态。通过预试验发现反应器空间内各层理化性质差异较大,而一层中各位置间差异较小。故在曝气结束后,分别取 2 组反应器内上、中、下层物料,使用碧普 AMPTS II 型全自动甲烷潜力测试系统进行产甲烷潜力测试,并对初始留存物料及曝气结束后取样物料测试分析有机酸、氨氮、可溶性有机物、纤维素、半纤维素、木质素和微生物的分布特性。

1.4 分析方法

采用直接测试物料表层 TS 和收集渗滤液储存区不同区域渗滤液的方式判断发酵装置的喷淋效果,指导喷淋头角度及个数的调整,其中,在渗滤液收集区划分内圈、中圈、外圈,在相应区域内布置烧杯,实际收集测量渗滤液体积,表征喷淋的均一性<sup>[5]</sup>。

物料 TS 和 VS 含量根据美国 APHA 方法测定;环境温度使用水银温度计记录;物料温度、pH 值、ORP 使用反应器内传感器记录;沼气产量使用 LMP-1 型湿式防腐气体流量计(长春阿尔法仪器公司)记录;甲烷含量使用沼气成分测定仪(Geotech 公司,英国)测定,累积产气量计算参照文献[15],微好氧预升温阶段在计算产气量时,曝气量不计入沼气产量,通过气泵自带流量计监测流量;纤维素、半纤维素和木质素相对含量使用范式洗涤法测定;有机酸含量测定采用气相色谱仪(Agilent7820A),程序及方法参照文献[16];可溶性有机物(sCOD)含量使用 5B-2C 型 COD 快速测定仪(Hach 公司,美国)测定,方法参照文献[17];氨氮浓度测定使用水杨酸紫外分光光度计法,测定方法参照文献[18];采用 Miseq 高通量测序技术,对微好氧预升温阶段结束后物料细菌、古菌特征进行高通量测序分析<sup>[19]</sup>。使用 Microsoft Excel 2019、Origin 2018、Adobe Illustrator Artwork 23.0 和 Gephi 等进行基础数

据处理与图形绘制。

使用修正的 Gompertz 模型对微好氧预升温阶段物料产气潜力测试过程进行拟合,预测体系最大产甲烷量、最大产甲烷速率和延滞期,公式为<sup>[5]</sup>

$$M = P_0 \exp \left( \exp \left( \frac{e R_{\max} (\lambda - t)}{P_0} \right) + 1 \right)$$

式中  $P_0$ ——最大产甲烷量, L/kg  
 $R_{\max}$ ——最大产甲烷速率, L/(kg·d)  
 $\lambda$ ——延滞期, d  $e$ ——常数, 取 2.72  
 $t$ ——发酵时间, d  
 $M$ —— $t$  时刻甲烷累积产量, L

2 结果分析

2.1 装置优化设计

为进一步提升发酵装置的密封质量,密封门采用充气橡胶圈实现密封,如图 2 所示。利用空气压缩机向密封圈充入空气,维持密封压力 0.5 ~ 0.8 MPa,符合密封门通用的设计压力<sup>[13]</sup>,可实现实时通气,气源为发酵装置进行曝气的气路,分流控制。密封圈放置在密封门带有的凹槽内,防止开合密封门对密封圈的损耗。密封圈材质选用具有抗老化效果的三元乙丙橡胶,当密封圈内充满空气时,密封圈变形,与另一密封面紧密接触,达到密封效果。

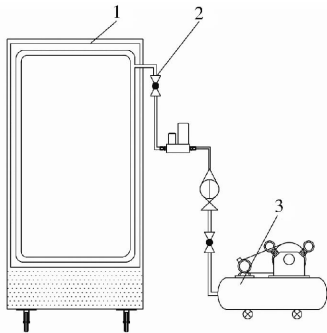


图 2 密封系统示意图

Fig.2 Schematic of sealing system

1. 充气密封圈 2. 充气阀门 3. 空气压缩机

设计进料车,优化提升发酵装置实际运行状态下的进出料效率,进出料系统主要为主发酵系统内部的发酵反应箱体,箱体下方配置转轮,配合辅助推车(图 3)进行进出料操作。在发酵装置铺设与进料车转轮同宽的双轨,当推车行至发酵反应器正面,使推车固定柱与推车上嵌合点嵌合,向外拉出发酵系统内部的发酵反应箱体,通过发酵箱移动轮从发酵箱轨道拉至推车上发酵箱轨道,尤其适合发酵处理量大时的操作,节省人力,必要时可进行自动化升级<sup>[5]</sup>。

在以往的中试试验过程中,发现渗滤液循环喷淋头经常发生堵塞导致喷淋不均匀的现象<sup>[13]</sup>,建立

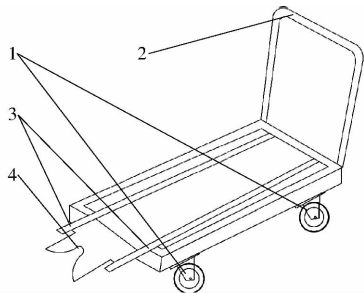


图 3 辅助推车示意图

Fig.3 Schematic of auxiliary trolley

1. 推车转轮 2. 推车把手 3. 推车上发酵箱轨道 4. 嵌合点

渗滤液过滤系统,共设置 3 级过滤网,渗滤液经过主发酵装置筛网进入渗滤液收集池进行第 1 次过滤;渗滤液收集池进入沼液储存池进行第 2 次过滤;启动下一轮喷淋,进入渗滤液回流管道前进行第 3 次过滤。过滤网为 8 目 304 不锈钢材质网片,在喷淋-渗滤循环过程可过滤粒径大于 3 mm 的颗粒。其中,2 级、3 级过滤使用过滤网片,拆卸方便,发酵装置运行时方便更换。

优化喷淋头个数和喷淋角度,结果表明,单个喷淋头喷淋时,渗滤液收集区渗滤液收集体积从大到小依次为内圈、中圈、外圈,其中,外圈几乎没有收集到渗滤液,渗滤过程中通过物料的缝隙,外圈渗滤液有向中圈过渡的趋势<sup>[5]</sup>。当喷淋头沿物料中心点增加至 3 个,呈脚形排列时,内圈、中圈、外圈渗滤液收集容积得到显著改善( $P < 0.05$ ),喷淋头呈三角形阵列排列时,可达到均匀喷淋物料的效果。

2.2 不同曝气量对产气特性的影响

微好氧预升温不同曝气量产气特性如图 4 所示。10 L/min 的累积甲烷产量和容积产气率均高于其他 3 组,确定 10 L/min 为最优曝气量。其中,图 4a 为累积甲烷产量变化,各组产甲烷速率均在第 3 天迅速提高,曝气量 10 L/min 的累积甲烷产量最高,为 144.5 L。图 4b 为容积产气率变化,4 组容积产气率的变化趋势基本保持一致,10 L/min 的平均容积产气率高于其余 3 组,为 1.20 m<sup>3</sup>/(m<sup>3</sup>·d),较不曝气的提高 17.29%,而 30、50 L/min 的较不曝气组分别降低 23.36%、10.38%,这是因为过量的氧气导致好氧或兼性厌氧微生物的大量增殖,容易降解的可溶性有机物直接氧化为 H<sub>2</sub>O 和 CO<sub>2</sub><sup>[20]</sup>。图 4c 为甲烷含量变化,4 组的甲烷含量呈现先升后降的趋势,产气高峰期甲烷体积分数均维持在 55% 以上。在发酵 13 d 后,甲烷含量明显下降,可能是因为厌氧干发酵体系中可溶性物质消耗殆尽,产甲烷菌的营养物质匮乏,导致产甲烷效率降低<sup>[21]</sup>。

2.3 微好氧预升温阶段温度变化特性

应用最优曝气量 10 L/min 在微好氧预升温序

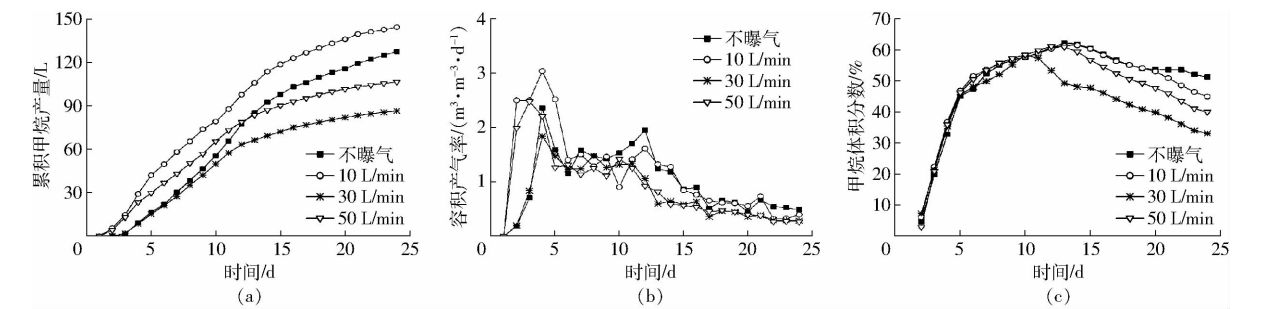


图4 不同曝气量厌氧干发酵产气特性

Fig.4 Gas production characteristics of anaerobic dry fermentationat different aeration rates

批式干发酵一体化装置开展微好氧预升温阶段试验。微好氧预升温阶段反温度变化如图 5 所示,用 A1 表示初始物料,图中 A2 ~ A4 为曝气结束反应器上、中、下层物料;A5 ~ A7 为未曝气反应器上、中、下层物料(下同)。A2 ~ A4 在 8 h 至曝气结束温度呈持续上升状态,28 ~ 32 h 升温速率最高,且相差小于 1℃,在 40 h 曝气组各层均达到发酵所需温度 42℃,较未曝气组均提高 45.54%、32.46% 和 52.06%。而 A5 ~ A7 在 8 ~ 28 h 温度波动,后进入厌氧发酵阶段不受环境温度影响稍有上升至曝气结束温度维持在 20 ~ 29℃,反应器顶部喷淋沼液具有一定温度,导致 A5 温度最高,其次为 A6、A7。曝气结束后 A2 ~ A4 较 A5 ~ A7 升温速率提高 93.33%。好氧预升温阶段在不使用外源加热的条件下,曝气组升温速率显著高于未曝气组。微生物在有氧环境下呼吸分解底物,反应器内曝气均匀,各层物料温度上升均匀。

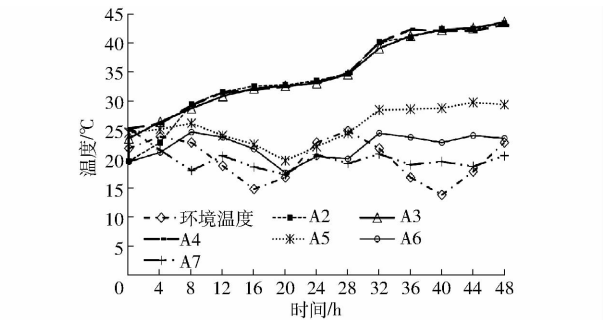


图5 微好氧预升温阶段温度变化曲线

Fig.5 Temperature changes in micro-aerobic pre-heating stage

2.4 物料中组分含量变化

物料中纤维素、半纤维素、木质素和可溶性物质含量变化如表 1 所示,A2 ~ A4 中纤维素、半纤维素含量均低于 A1 和 A5 ~ A7,而可溶性物质含量均高于 A1 和 A5 ~ A7,两组试验中 TS、VS、纤维素和半纤维素含量均为上层最高,其次为中层、下层,反应器内部空间较大,喷淋后更多可溶性物质向下沉淀,导致下层可溶性物质含量最高。微好氧预升温阶段可促进纤维素和半纤维素降解,提高可溶性物质含

量。主要是因为氧气的供应会使大量好氧细菌增殖<sup>[22]</sup>,同时半纤维素水解是一种吸热反应,需要额外的能量或额外的产物<sup>[23]</sup>。曝气使反应器内热量增多,促进了木质素和半纤维素的水解,产生更多的有机酸以及可溶性有机物。并且 A2 ~ A4 的 VS 含量较 A5 ~ A6 和 A1 有较明显的降低,也可以进一步证明基质降解的增加导致微生物群落的可溶性基质浓度增加,提高沼气产量<sup>[24]</sup>。

表 1 物料各组分质量分数

Tab.1 Mass fraction change of each component of material

| 物料序号 | TS    | VS    | 纤维素   | 半纤维素  | 木质素   | 可溶性物质 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A1   | 31.51 | 24.62 | 40.13 | 20.74 | 9.94  | 29.19 |
| A2   | 17.05 | 9.23  | 37.66 | 18.32 | 12.31 | 31.71 |
| A3   | 17.40 | 9.58  | 36.95 | 18.30 | 10.76 | 33.99 |
| A4   | 16.07 | 9.55  | 36.06 | 19.25 | 10.12 | 34.57 |
| A5   | 19.15 | 11.36 | 41.55 | 19.46 | 11.16 | 27.83 |
| A6   | 17.45 | 11.67 | 39.90 | 20.86 | 10.19 | 29.05 |
| A7   | 15.93 | 10.40 | 38.11 | 20.28 | 10.81 | 30.80 |

2.5 有机酸、氨氮和可溶性有机物特性

微好氧预升温阶段反应器各层物料的有机酸和氨氮变化如图 6 所示,A2 ~ A4 的总有机酸质量浓度明显高于 A1 和 A5 ~ A7,为 1 629 ~ 1 927 mg/L,较 A5 ~ A7 分别提高 59.83%、50.69% 和 20.85%。并且乙酸是所有样品中含量最丰富的有机酸,是水解过程中增加甲烷产量的关键成分<sup>[25]</sup>。A2 ~ A4 氨氮质量

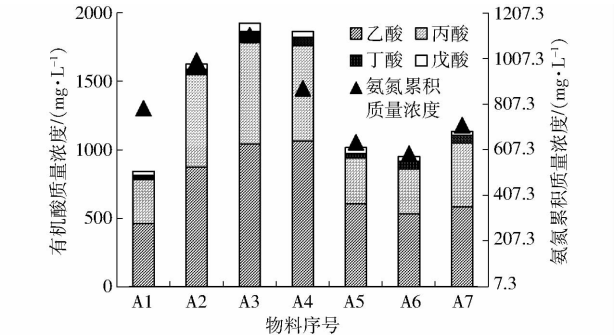


图6 微好氧预升温阶段有机酸和氨氮含量变化

Fig.6 Changes of organic acid and ammonia nitrogen in micro-aerobic pre-heating stage

浓度在 877.3 ~ 1 111 mg/L 之间,较 A5 ~ A7 分别提高 35.91%、46.8% 和 18.34%。微好氧预升温增加了有机酸和氨氮含量,促进了大分子组分的分解。

微好氧预升温阶段各层可溶性有机物含量和酸化率如表 2 所示,A2 ~ A4 较 A5 ~ A7 可溶性有机物质量浓度分别提高 30.9%、47.99% 和 34.17%。A2 ~ A4 酸化率均在 45% 以上,高于 A5 ~ A7。可溶性有机物含量的增加归因于微好氧状态,供氧有利于兼性微生物的发育,导致细菌在微好氧条件下分泌的外部酶增加<sup>[26]</sup>。微好氧预升温阶段提高了可溶性有机物含量,并且酸化率并未因可溶性物质含量的提高而降低。

表 2 微好氧预升温阶段可溶性有机物和酸化率

| Tab.2 Changes of soluble organic matter and acidification rate in micro-aerobic pre-heating stage |                              |                                 |                                |       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-------|
| 物料序号                                                                                              | 有机酸质量浓度/(g·L <sup>-1</sup> ) | 可溶性有机物质量浓度/(g·L <sup>-1</sup> ) | 理论有机酸质量浓度/(g·L <sup>-1</sup> ) | 酸化率/% |
| A1                                                                                                | 1.13                         | 3.57                            | 1.10                           | 30.71 |
| A2                                                                                                | 1.63                         | 4.40                            | 2.11                           | 47.85 |
| A3                                                                                                | 1.93                         | 5.48                            | 2.51                           | 45.72 |
| A4                                                                                                | 1.87                         | 5.21                            | 2.39                           | 45.83 |
| A5                                                                                                | 1.02                         | 3.04                            | 1.30                           | 42.84 |
| A6                                                                                                | 0.95                         | 2.85                            | 1.23                           | 43.38 |
| A7                                                                                                | 1.48                         | 3.43                            | 1.38                           | 43.33 |

2.6 产甲烷特性

取初始物料和微好氧预升温阶段结束后沼渣进行了生化甲烷潜力 (Biochemical methane potential, BMP) 试验,各层累计产甲烷产量如图 7 所示,曝气组各层累积甲烷产量明显高于未曝气组,分别提高

42.6%、41.49% 和 29.97%。且曝气组各层间甲烷产量差异较小,其中累计产甲烷量最低的 A3 仅比最高的 A4 降低 7.15%。而 A5 ~ A7 累积产甲烷量相差较大,其中 A6 比 A7 降低 28.3%。曝气组整体上较未曝气组累积产气量提高 34.9%。微好氧预升温改变了物料发酵特性,使可溶性物质和有机酸含量升高,降解了更多的纤维素和半纤维素,提高了物料的产甲烷潜力。

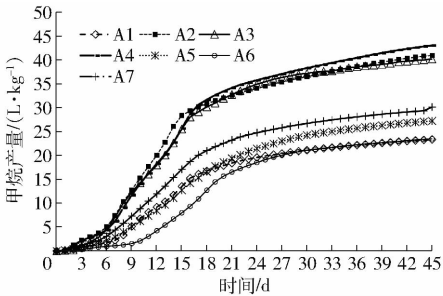


图 7 微好氧预升温阶段物料累积甲烷产量  
Fig. 7 Cumulative methane production of materials in micro-aerobic pre-heating stage

2.7 产甲烷动力学分析

使用修正的 Gompertz 产甲烷预测模型对微好氧预升温序阶段物料的最大产甲烷量、最大产甲烷速率和延滞期进行预测 (表 3)。当甲烷生产模型  $R^2 > 0.99$ ,拟合数据可反映真实的产甲烷性质<sup>[27]</sup>。A2 ~ A4 最大产气量为 39.07 ~ 41.51 L/kg,较未曝气组提高 33.81%;A2 ~ A4 最大产甲烷速率相差小于 0.01 L/kg,较 A5 ~ A7 分别提高 45.14%、40.03% 和 32.46%;A2 ~ A4 延滞期较 A5 ~ A7 缩短约 30.79%。微好氧预升温阶段可提升物料的产甲烷能力,并且缩短厌氧发酵阶段延滞期。

表 3 模型拟合参数  
Tab.3 Model fitting parameters

| 物料序号 | 最大产甲烷量/(L·kg <sup>-1</sup> ) | 最大产甲烷速率/(L·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> ) | 延滞期/d               | R <sup>2</sup> |
|------|------------------------------|------------------------------------------------|---------------------|----------------|
| A1   | 22.657 62 ± 0.128 71         | 1.377 62 ± 0.031 71                            | 5.270 82 ± 0.192 27 | 0.997 12       |
| A2   | 39.070 00 ± 0.313 71         | 2.389 15 ± 0.082 15                            | 3.571 29 ± 0.287 62 | 0.992 82       |
| A3   | 39.277 97 ± 0.165 71         | 2.389 90 ± 0.042 18                            | 4.196 41 ± 0.147 93 | 0.998 19       |
| A4   | 41.510 45 ± 0.276 27         | 2.389 80 ± 0.062 31                            | 4.175 43 ± 0.228 97 | 0.995 89       |
| A5   | 27.222 34 ± 0.090 10         | 1.310 57 ± 0.012 80                            | 5.298 15 ± 0.098 38 | 0.999 40       |
| A6   | 23.179 18 ± 0.117 87         | 1.433 16 ± 0.026 64                            | 9.118 57 ± 0.150 49 | 0.998 47       |
| A7   | 28.928 19 ± 0.138 28         | 1.614 03 ± 0.028 83                            | 4.431 74 ± 0.160 81 | 0.998 07       |

2.8 微生物多样性分析

2.8.1 α 多样性

每个样品至少获得 79 790 条质量合格的序列,并保证所有样品有效序列数相同,细菌 α 多样性分析如表 4 所示。A2 ~ A4 的丰富度指数较 A5 ~ A7 分别降低 27.49%、12.77% 和 7.63%,较 A1 降低约

5.8%;A2 ~ A4 的香农指数较 A5 ~ A7 降低约 4.92%,可以看出 A2 ~ A4 样品中群落丰富度与多样性略低于 A5 ~ A7。不同样本的丰富度指数和香农指数不同,表明温度和基质成分对微生物群落的多样性有很大影响。可能是微好氧预升温阶段温度提高,增强了纤维素降解速率以及有机酸浓度,使一

部分微生物受到扰动、抑制,淘汰了 A2 ~ A4 微生物中的不适菌种,选择了协同发酵体系中的耐高温种群。

表 4 微好氧预升温阶段  $\alpha$  多样性指数

Tab.4 Micro aerobic pre-heating stage  $\alpha$  diversity index

| 物料编号 | 丰富度指数    | 覆盖率/% | 物种数   | 香农指数    | 辛普森指数   |
|------|----------|-------|-------|---------|---------|
| A1   | 2 011.11 | 99.38 | 1 524 | 5.479 0 | 0.868 0 |
| A2   | 1 664.26 | 99.58 | 1 339 | 6.681 7 | 0.960 4 |
| A3   | 1 919.38 | 99.61 | 1 649 | 7.692 4 | 0.983 7 |
| A4   | 2 099.78 | 99.42 | 1 516 | 5.856 3 | 0.899 7 |
| A5   | 2 295.18 | 99.34 | 1 795 | 7.129 1 | 0.977 2 |
| A6   | 2 200.38 | 99.42 | 1 797 | 6.821 6 | 0.965 4 |
| A7   | 2 273.29 | 99.42 | 1 888 | 7.436 4 | 0.981 8 |

2.8.2 微生物网络关系

为进一步深层次探索微好氧预升温微生物间作用关系,挖掘核心关键微生物。利用软件 Gephi 可视化细菌目水平与古菌属水平的生态网络,结果如图 8 所示,以模块作为划分标准时,分别得到 53 和 40 个模块,选取节点数最多的 8 个模块,从大到小排列依次为模块 1~8,节点数较小的模块均以灰色表示,节点数目和大小与作用关系强度成正比。细菌网络中具有生产有机酸功能的有 1、3、5 模块,其中包含多种产酸细菌如 *Kosmotogales*、*Synergistales* 等<sup>[28-29]</sup>,并且在 A3 的丰度均较高;具有有机物降解功能的为 2、4、6 模块,包含如 *Burkholderiales*、*Flavobacteriales*<sup>[30-31]</sup> 等具有降解功能的菌种,在 A2 中的丰度普遍较高。古菌网络中具有产甲烷功能的为 4、6 模块;具有降解有机物功能的有 1、2、5、8 模块,其中包含大量具有降解有机物功能菌种,如 *Planktosalinus*、*Taibaiella* 等<sup>[32-33]</sup>,在各处理中丰度差异较小;具有反硝化功能的模块有 3、4 模块,包含具有反硝化功能菌种如 *Membranicola*、*Thauera* 等<sup>[34-35]</sup>,并且仅在 A7 中发现这些菌群。微好氧预升温改变了细菌在体系中作用机制,增强了具有产酸和降解有机物功能细菌的作用关系,提升了有机酸含量和纤维素降解能力而对关键古菌影响并不明显。其他功能微生物模块还需进一步预测,很少发现这些关键微生物也在物质转化中发挥重要作用。

2.8.3 关键微生物群落特性

根据网络关系图发现丰度较高的微生物作用关系并不明显,为更精准了解微好氧预升温阶段中关键微生物特性,筛选出了作用关系突出的 40 种微生物,多样性如图 9 所示。优势微生物为 *SBR1031*、*Synergistales*、*Cloacimonadales*、*Dethiobacterales* 和 *Gaiellales*,占比 48%~88%。其中 A2~A4 关键微

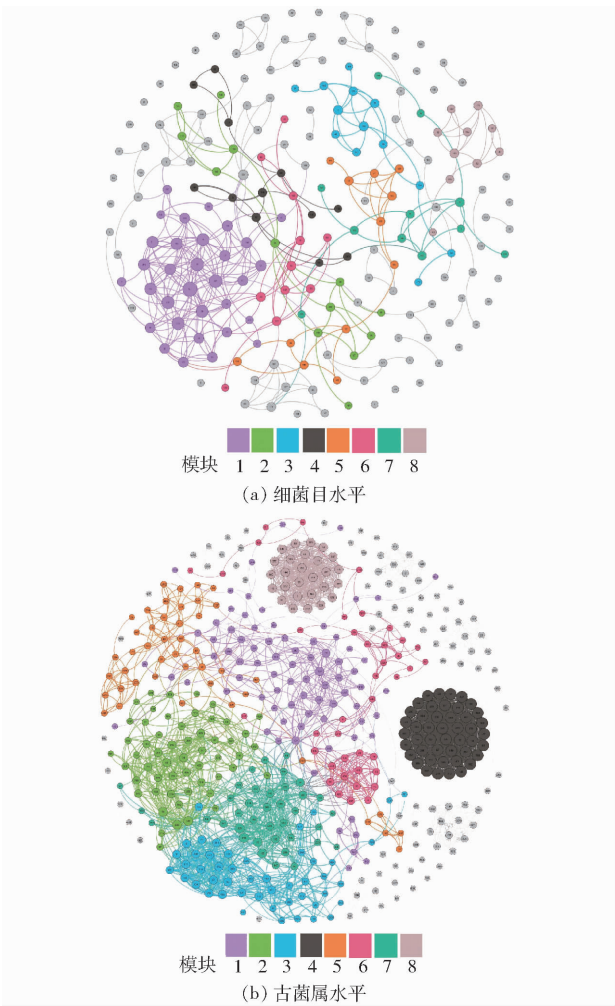


图 8 微生物生态网络  
Fig.8 Microbial ecological networks

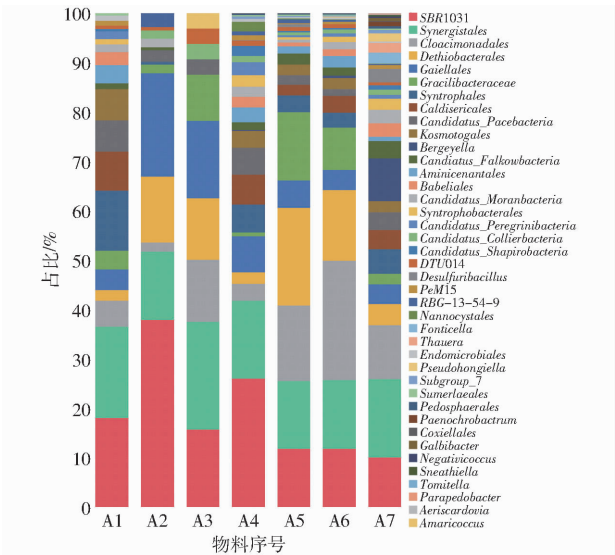


图 9 关键微生物多样性分析  
Fig.9 Analysis of key microbial diversity

生物丰富度明显低于 A1 和 A5 ~ A7,分别降低 19.05% 和 46.88%。A2 ~ A4 的 *SBR1031*、*Synergistales* 和 *Gaiellales* 丰度提高明显,较 A5 ~ A7 分别提高 57.67%、15.88% 和 68.59%;

*Cloacimonadales* 和 *Dethiobacterales* 丰度较 A5 ~ A7 分别降低 64.93% 和 26.18%。文献 [36] 证明, *SBR1031* 具有可降解大分子有机物为易于生物降解的小分子有机物的功能,对分解纤维素也有一定的促进作用;*Synergistales* 为互养菌目,可通过活性乙酸酯降解促进产酸<sup>[29]</sup>;且 *SBR1031* 与 *Synergistales* 和 *Gaiellales* 分别存在显著正相关性 ( $P < 0.05, R > 0.8$ ),具有协同共生作用。微好氧预升温阶段使一部分关键微生物受到扰动,抑制了 *Cloacimonadales* 和 *Dethiobacterales* 等生长,淘汰了不适菌种,提高了具有协同作用的核心微生物纤维素降解菌 *SBR1031*、产酸菌 *Synergistales* 和 *Gaiellales* 的丰度。本研究有机酸、纤维素含量的变化也证明,微好氧预升温阶段促进了纤维素、半纤维素的降解,加速了有机酸生成,为产气阶段提供更多的中间产物,提高甲烷产生速率。还有一些关键微生物,如作用关系较强的 *Candidatus\_Shapirobacteria*、*Syntrophales* 和 *Candidatus\_Collierbacteria* 等,可能是微好氧预升温阶段的关键物种,但尚未明确其在厌氧发酵体系内的功能,还需要进一步研究。

2.8.4 环境因子与关键微生物群落冗余分析

图 10 为环境因子与关键微生物群落相互作用关系分析图,其中 a ~ c 为一层物料中的前、中、后 3 个位置。COD、VFA、BY、T、AN 分别表示可溶性有机物质量浓度、有机酸质量浓度、甲烷产量、温度、氨氮质量浓度。曝气反应器中可溶性有机物质量浓度、氨氮质量浓度、有机酸质量浓度与甲烷产量均存在显著正相关性 ( $P < 0.05$ )。随着曝气阶段温度的升高,促进微生物生长,提高了物料降解率和有机酸的转化效率,使发酵体系内可溶性有机物质量浓度、氨氮质量浓度、有机酸质量浓度得到显著提升,从而提升了物料的产气潜力。其中,在曝气反应器中 *SBR1031*、*Synergistales*、*Gaiellales* 和甲烷产量之间均存在显著正相关性 ( $P < 0.05$ );而未曝气反应器中甲烷产量与 *Synergistales*、*Gaiellales* 之间存在显著正相关 ( $P < 0.05$ ),与 *SBR1031* 呈负相关性,并且 *SBR1031*、*Synergistales*、*Gaiellales* 在曝气反应器中丰度均高于未曝气反应器,推测微好氧预升温通过优化微生物群落组成,促进关键微生物间协同共生,是加速物质转化效率和提高甲烷产量的驱动因素。

3 结论

(1)对装置运行的密封、进出料、沼液喷淋循环

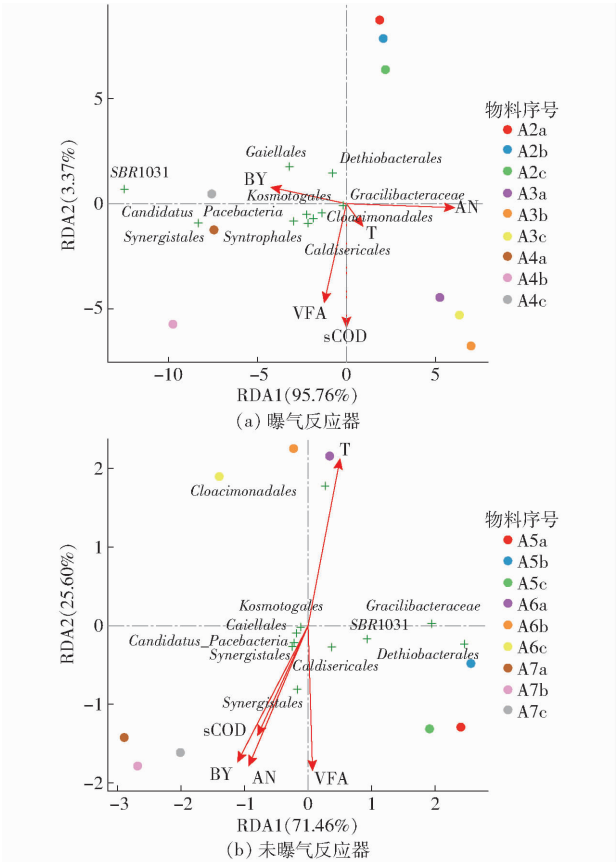


图 10 环境因子与微生物 RDA 分析图

Fig. 10 RDA analysis of environmental factors and microorganisms

系统进行优化,可显著提高发酵装备的运行稳定性。

(2)微好氧预升温最优曝气量为 10 L/min,平均容积产气率达到 1.20 m<sup>3</sup>/(m<sup>3</sup>·d);微好氧预升温阶段第 40 小时各层温度均高于发酵所需温度 42℃,且各层温度均匀,差异小于 1℃。

(3)微好氧预升温阶段改变了物料的理化特性,可溶性有机物质量浓度分别提高 30.9%、47.99% 和 34.17%;有机酸质量浓度分别提高 59.83%、50.69% 和 20.85%;促进了纤维素和半纤维素的降解;加快了厌氧发酵的水解酸化速率,物料累积产气量提高约 34.9%。

(4)微好氧预升温曝气改变了微生物的群落以及形成的形态。通过网络关系图挖掘出微好氧预升温阶段具有协同作用的微生物 *SBR1031*、*Synergistales* 和 *Gaiellales*,丰度提高 57.67%、15.88% 和 68.59%,为后续产甲烷提供基础。

(5)微好氧预升温阶优化了微生物群落,在关键 *SBR1031*、*Synergistales*、*Gaiellales* 协同作用下,改善了物料降解率促进了有机酸的转化效率,提升了物料产气潜力。

## 参 考 文 献

- [1] ABDELSALAM E M, SAMER M, AMER M A, et al. Biogas production using dry fermentation technology through co-digestion of manure and agricultural wastes[J]. *Environment, Development and Sustainability*, 2021, 23:8746 – 8757.
- [2] CAO Y, PAWŁOWSKI A. Sewage sludge-to-energy approaches based on anaero-bic digestion and pyrolysis: brief overview and energy efficiency assessment[J]. *Renew. Sustain Energy. Rev.*, 2012, 16(3):1657 – 1665.
- [3] BOLZONELLA D, INNOCENTI L, PAVAN P, et al. Semi-dry thermo-philic anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste:focusing on the start-up phase[J]. *Bioresour. Technol.*, 2003, 86(2):123 – 129.
- [4] WANG L, CAO Z, ZOU J, et al. Urea-pretreated corn stover: physicochemical characteristics, delignification kinetics, and methane production[J]. *Bioresour. Technol.*, 2020, 306(3):123097.
- [5] 于佳动, 赵立欣, 冯晶, 等. 序批式秸秆牛粪混合厌氧干发酵过程物料理化及渗滤特性[J]. *农业工程学报*, 2019, 35(20):228 – 234.
- YU Jiadong, ZHAO Lixin, FENG Jing, et al. Physicochemical and percolating characteristics of sequencing batch dry anaerobic digestion of straw-cow manure mixture[J]. *Transactions of the CSAE*, 2019, 35(20):228 – 234. (in Chinese)
- [6] XU X, SUN Y, SUN Y, et al. Bioaugmentation improves batch psychrophilic anaerobic co-digestion of cattle manure and corn straw[J]. *Bioresour. Technol.*, 2022, 343:126118.
- [7] GAO B, WANG Y, HUANG L, et al. Study on the performance of HNO<sub>3</sub>-modified biochar for enhanced medium temperature anaerobic digestion of food waste[J]. *Waste Management*, 2021, 135: 338 – 346.
- [8] KAINTHOLA J, KALAMDHAD A S, GOUD V V. A review on enhanced biogas production from anaerobic digestion of lignocellulosic biomass by different enhancement techniques[J]. *Process Biochemistry*, 2019, 84:81 – 90.
- [9] 黄伟钊. 干式半连续厌氧消化处理厨余垃圾的中试研究[J]. *环境卫生工程*, 2022(2):30.
- HUANG Weizhao. Pilot study on the treatment of kitchen waste by dry semi-continuous anaerobic digestion[J]. *Environmental Health Engineering*, 2022(2): 30. (in Chinese)
- [10] SS A, CFMA B, DD A. Anaerobic fermentation for the production of short chain organic acids: product concentration, yield and productivity in batch experiments at high feed concentration[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(5):106311.
- [11] 公菲. 干法厌氧发酵反应器内温度场变化规律与模拟仿真研究[D]. 海口:海南大学, 2018.
- GONG Fei. Research on the change law and simulation of temperature field in dry anaerobic fermentation reactor[D]. Haikou: Hainan University, 2018. (in Chinese)
- [12] 于佳动, 刘新鑫, 赵立欣, 等. 基于微好氧同步预温的序批式厌氧干发酵特性[J]. *农业工程学报*, 2020, 36(10):213 – 219.
- YU Jiadong, LIU Xinxin, ZHAO Lixin, et al. Characteristics of sequencing batch anaerobic dry fermentation based on micro aerobic simultaneous warming[J]. *Transactions of the CSAE*, 2020, 36(10): 213 – 219. (in Chinese)
- [13] 郭占斌, 衣蕊, 赵立欣, 等. 微好氧预升温序批式干发酵装置设计与应用[J]. *农业机械学报*, 2021, 52(9):346 – 354.
- GUO Zhanbin, YI Rui, ZHAO Lixin, et al. Design and application of micro aerobic pre-heating sequencing batch dry fermentation device[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2021, 52(9): 346 – 354. (in Chinese)
- [14] 徐文倩, 董红敏, 尚斌, 等. 典型畜禽粪便厌氧发酵产甲烷潜力试验与计算[J]. *农业工程学报*, 2021, 37(14):228 – 234.
- XU Wenqian, DONG Hongmin, SHANG Bin, et al. Experiment and calculation of methane production potential by anaerobic fermentation of typical livestock and poultry manure[J]. *Transactions of the CSAE*, 2021, 37(14): 228 – 234. (in Chinese)
- [15] YU J, ZHAO L, FENG J, et al. Sequencing batch dry anaerobic digestion of mixed feedstock regulating strategies for methane production: multi-factor interactions among biotic and abiotic characteristics[J]. *Bioresour. Technol.*, 2019, 284(5):276 – 285.
- [16] STRAZZERA G, BATTISTA F, ANDREOLLI M, et al. Influence of different household food wastes fractions on volatile fatty acids production by anaerobic fermentation[J]. *Bioresour. Technol.*, 2021, 335(4):125289.
- [17] YIN D M, MAHBOUBI A, WAINAINA S, et al. The effect of mono- and multiple fermentation parameters on volatile fatty acids (VFAs) production from chicken manure via anaerobic digestion[J]. *Bioresour. Technol.*, 2021, 330(5):124992.
- [18] GUO H, ZHANG M, CHEN Z, et al. The metabolic process of methane production by combined fermentation of coal and corn straw[J]. *Bioresour. Technol.*, 2021, 337(7):125437.
- [19] ZHOU X, LU Y, HUANG L, et al. Effect of pH on volatile fatty acid production and the microbial community during anaerobic digestion of Chinese cabbage waste[J]. *Bioresour. Technol.*, 2021, 336(6):125338.
- [20] ZITOMER D H, SHROUT J D. Feasibility and benefits of methanogenesis under oxygen-limited conditions [J]. *Waste Management*, 1998, 18(2):107 – 116.
- [21] PENG X, ZHANG S, LI L, et al. Long-term high-solids anaerobic digestion of food waste: effects of ammonia on process performance and microbial community[J]. *Bioresour. Technol.*, 2018, 262(2): 148 – 158.
- [22] WANG C, ZHANG J, HU F, et al. Bio-pretreatment promote hydrolysis and acidification of oilseed rape straw: roles of fermentation broth and micro-oxygen[J]. *Bioresour. Technol.*, 2020, 308(20):123272.
- [23] TIZAZU B Z, MOHOLKAR V S. Kinetic and thermodynamic analysis of dilute acid hydrolysis of sugarcane bagasse [J]. *Bioresour. Technol.*, 2018, 250(1):197 – 203.
- [24] NGUYEN D, WU Z, SHRESTHA S, et al. Intermittent micro-aeration: new strategy to control volatile fatty acid accumulation

in high organic loading anaerobic digestion[J]. *Water Research*, 2019, 166:115080.

[25] RUAN D, ZHOU Z, PANG H, et al. Enhancing methane production of anaerobic sludge digestion by microaeration: enzyme activity stimulation, semi-continuous reactor validation and microbial community analysis[J]. *Bioresour. Technol.*, 2019, 289(2):121643.

[26] ZHU M, LUE F, HAO L P, et al. Regulating the hydrolysis of organic wastes by micro-aeration and effluent recirculation[J]. *Waste Management*, 2009, 29(7):2042 – 2050.

[27] LAY J J, LI Y Y, NOIKE T, et al. Analysis of environmental factors affecting methane production from high-solids organic waste[J]. *Water Science and Technology*, 1997, 36(6 – 7):493 – 500.

[28] LANZILLI M, N ESERCIZIO, VASTANO M, et al. Effect of cultivation parameters on fermentation and hydrogen production in the phylum thermotogae[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020,22(1):341.

[29] KANNAN A D, EVANS P, PARAMESWARAN P. Long-term microbial community dynamics in a pilot-scale gas sparged anaerobic membrane bioreactor treating municipal wastewater under seasonal variations[J]. *Bioresour. Technol.*, 2020, 310(8):123425.

[30] ZHANG D, YANG H, LAN S, et al. Evolution of urban black and odorous water: the characteristics of microbial community and driving-factors[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2022, 112:94 – 105.

[31] HE P, LIU W, QIU J, et al. Improvement criteria for different advanced technologies towards bio-stabilized leachate based on molecular subcategories of DOM[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 414:125463.

[32] 王永妍,赵炳赫,梁广钰,等. 不同季节使用微生态制剂后养殖海水细菌群落特征[J]. *生物技术通报*,2020,36(2):126 – 133.  
WANG Yongyan, ZHAO Binghe, LIANG Guangyu, et al. Community characteristics of cultured marine bacteria after using probiotics in different seasons[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020,36(2): 126 – 133. (in Chinese)

[33] EL-FADEL M, SLEEM F, HASHISHO J, et al. Impact of SRT on the performance of MBRs for the treatment of high strength landfill leachate[J]. *Waste Management*, 2017, 73(2):165 – 180.

[34] HOU Fen, DU Junjie, YUAN Ye, et al. Analysis of microbial communities in aged refuse based on 16s sequencing[J]. *Sustainability*, 2021, 13(8): 4111.

[35] QIAO L, YUAN Y, MEI C, et al. Reinforced nitrite supplement by cathode nitrate reduction with a bio-electrochemical system coupled anammox reactor[J]. *Environmental Research*, 2022, 204:112051.

[36] HUA D, FAN Q, ZHAO Y, et al. Comparison of methanogenic potential of wood vinegar with gradient loads in batch and continuous anaerobic digestion and microbial community analysis[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 739: 139943.

---

(上接第 346 页)

[20] VOB A L, FISCHER-TENHAGEN C, BARTEL A, et al. Sensitivity and specificity of a tail-activity measuring device for calving prediction in dairy cattle[J]. *Journal of Dairy Science*, 2021, 104(3): 3353 – 3363.

[21] 甘泉. LoRa 物联网通信技术[M]. 北京:清华大学出版社, 2021.

[22] KRIEGER S, SATTLECKER G, KICKINGER F, et al. Prediction of calving in dairy cows using a tail-mounted tri-axial accelerometer: a pilot study[J]. *Biosystems Engineering*, 2018, 173(1): 79 – 84.

[23] VAPNIK V N. The nature of statistical learning theory[M]. New York: Springer, 1995.

[24] 何东健,刘畅,熊虹婷. 奶牛体温植入式传感器与实时监测系统设计与试验[J]. *农业机械学报*,2018,49(12):195 – 202.  
HE Dongjian, LIU Chang, XIONG Hongting. Design and experiment of implantable sensor and real-time detection system for temperature monitoring of cow[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2018, 49 (12): 195 – 202. (in Chinese)

[25] 赵继政,庄蒲宁,石富磊,等. 基于物联网技术的奶牛瘤胃 pH 值和温度监测系统研究[J]. *农业机械学报*,2022,53(2): 291 – 298,308.  
ZHAO Jizheng, ZHUANG Puning, SHI Fulei, et al. Design and experiment of rumen pH value and temperature monitoring system for dairy cows based on Internet of things[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2022, 53(2):291 – 298,308. (in Chinese)

[26] 宋怀波,李振宇,吕帅朝,等. 基于部分亲和场的行走奶牛骨架提取模型[J]. *农业机械学报*,2020,51(8):203 – 213.  
SONG Huaibo, LI Zhenyu, LÜ Shuaichao, et al. Skeleton extraction model of walking dairy cows based on partial affinity field [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2020,51(8):203 – 213. (in Chinese)

[27] LI Zhenyu, SONG Lei, DUAN Yuanchao, et al. Basic motion behaviour recognition of dairy cows based on skeleton and hybrid convolution algorithms[J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2022, 196: 106889.

[28] GIARETTA E, MARLIANI G, POSTIGLIONE G, et al. Calving time identified by the automatic detection of tail movements and rumination time, and observation of cow behavioural changes[J]. *Animal*, 2021, 15(1): 100071.