

酒糟厌氧消化产甲烷特性与微生物菌群结构分析

柳 珊^{1,2} 郭春春¹ 何荣玉³ 王 淳¹ 马艳芳¹ 董仁杰¹

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学烟台研究院, 烟台 264670;
3. 中国环境保护集团有限公司, 北京 100082)

摘要: 酒糟是酿酒生产过程中的副产物,以酒糟为研究对象,分别考察不同底物总固体(Total solid, TS)质量分数(0.5%、1%、1.5%、2%)、接种比(接种污泥与酒糟的挥发性固体质量比)(0.25、0.5、0.75、1、1.5)和温度(25、37、50℃)条件下酒糟的厌氧消化产甲烷特性。结果表明,随着TS浓度的增加,产甲烷量逐渐增加,2%TS条件下可获得最大的累计产沼气量(532.8 mL/g)和产甲烷量(294.7 mL/g)。接种比是影响厌氧消化系统的重要因素,随着接种比的增大,系统累计产沼气和产甲烷量呈先增加后减少的趋势,在接种比为0.25和0.5的条件下,系统发生崩溃,并未产甲烷,当接种比为1时,获得最大的累计产沼气和甲烷量。当TS质量分数为2%、接种比为1.5、发酵温度为50℃的条件下,获得最大的累计产沼气量为559.4 mL/g,相较37℃条件下提高了10.2%,而获得的累计产甲烷量为284.0 mL/g,相较37℃并未显著提升($P>0.05$)。利用修正的Gompertz模型进行产气动力学分析后,发现TS质量分数越高、接种比越大、温度越高,产甲烷迟滞期越短。同时对不同温度反应体系中的微生物群落进行了分析,发现Bacteroidetes和Firmicutes为优势菌门,随着温度的升高,产甲烷菌逐渐由氢营养型代替乙酸营养型。因此,TS浓度、接种比和温度是厌氧发酵重要因素,初步确定2%TS、接种比为1的中温酒糟厌氧发酵产甲烷性能相对较好。

关键词: 酒糟; 厌氧消化; 甲烷; 微生物; 接种比; 温度

中图分类号: X71 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2023)S1-0338-12

Performance of Methane Production and Microbial Structure Distribution for Vinsasse Anaerobic Digestion

LIU Shan^{1,2} GUO Chunchun¹ HE Rongyu³ WANG Chun¹ MA Yanfang¹ DONG Renjie¹

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China
2. Yantai Institute of China Agricultural University, Yantai 264670, China
3. China National Environmental Protection Group Co., Ltd., Beijing 100082, China)

Abstract: Vinsasse is a by-product in the process of wine production. Vinsasse were used as the research object. The effects of different substrate total solids (TS) concentrations (0.5%, 1%, 1.5%, and 2%), inoculation and vinsasse ratios (0.25, 0.5, 0.75, 1, and 1.5), and temperatures (25℃, 37℃, and 50℃) on performance of methane production for vinsasse AD were investigated. The results showed that methane production was increased gradually with the increase of TS concentration, and the maximum cumulative biogas production (532.8 mL/g) and methane production (294.7 mL/g) were obtained at 2% TS. The inoculation ratio was an important factor affecting the anaerobic digestion system, with the increase of inoculation ratio, the cumulative biogas and methane production of the system showed an increasing and then decreasing trend, the system collapsed and did not produce methane at inoculation ratios of 0.25 and 0.5, and the maximum cumulative biogas and methane production were obtained when the inoculation ratio was 1. When TS was 2%, and inoculation ratio was 1.5, the cumulative biogas production obtained at a fermentation temperature of 50℃ was 559.4 mL/g, which was 10.2% higher than that at 37℃, and the cumulative methane production obtained was 284.0 mL/g, which was not significantly higher than that at 37℃ ($P>0.05$). After gas production kinetic analysis by using the

收稿日期: 2023-05-20 修回日期: 2023-08-23
基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2020QE240)、金华市科技计划项目(2022-3-066)和烟台市校地融合项目(2019XDRHXMQT36)
作者简介: 柳珊(1985—),女,副教授,博士,主要从事生物有机废弃物资源化利用研究,E-mail: liu610shan@cau.edu.cn
通信作者: 董仁杰(1964—),男,教授,主要从事沼气工程及其环境影响评价研究,E-mail: rjdong@cau.edu.cn

modified Gompertz model, it was found that the higher the TS was, the higher the inoculum ratio and the temperature were, and the shorter the methane production latency period was. The microbial communities in the AD system at different temperatures were also analyzed, and it was found that Bacteroidetes and Firmicutes were the dominant phyla, and the methanogenic bacteria were gradually replaced by hydrogenotrophic instead of acetoclastic methanogens with the increase of temperature. Therefore, TS concentration, inoculation ratio and temperature were important factors for AD, and it was initially determined that the methanogenic performance of vinasse mesophilic AD with 2% TS and an inoculation ratio of 1 was relatively good, and the research result can provide data support for the application of vinasse AD technology.

Key words: vinasse; anaerobic digestion; methane; microbial community; inoculation ratio; temperature

0 引言

酒糟是酿酒过程中重要的副产品,含有丰富的有机物和氮、磷、钾等营养物质^[1]。据估计我国酒糟年产量约 3.9×10^7 t^[2],资源量丰富。但酒糟具有酸性大、高腐蚀性和高有机负荷的特性,处理处置不当会对生态环境造成不利影响。例如,过量施用酒糟作为肥料会破坏土壤结构,导致土壤酸化以及改变微生物群落组成等^[3],大量饲喂酒糟的动物容易因为产生游离酸而遭受酸中毒^[4]。酒糟的资源化处理处置是影响酿酒工业可持续绿色发展的重要环节。

厌氧消化(Anaerobic digestion, AD)能够将有机物质转化为沼气、沼渣、沼液等可再生能源,是当前主流的废弃物资源化处理技术之一。酒糟中可生物降解的有机物含量较高,包含蛋白质、多糖、脂肪等,其可溶性化学需氧量大于 96.5%,具有很高的厌氧发酵潜能^[5],在嗜温厌氧发酵过程中酒糟沼气产量为 253.7 ~ 855.5 L/kg,甲烷体积分数可达 55% ~ 60%^[6]。AD 已被用于处理酿酒厂产生的废水与酒糟^[4, 7]。但是酒糟的 pH 值通常在 3 ~ 6 范围内,在 AD 期间可能会导致挥发性有机酸(Volatile fatty acids, VFAs)的积累, pH 值下降等,这将抑制甲烷的生成^[8]。AD 受底物浓度、接种物、水力停留时间、温度、pH 值、微量元素、反应器类型等多种因素的影响,这些因素在不同厌氧系统中发挥重大影响,导致许多文献中报道的数据相差巨大。因此,对于酒糟复杂底物的厌氧发酵过程,需要明确不同影响因素对其产甲烷系统稳定性的影响。

在 AD 系统中,底物 TS 浓度、接种比和温度是重要的影响因子,直接或者间接影响系统中产甲烷效果、VFAs 浓度和微生物群落组成等。TS 浓度会影响系统内生物降解性能和甲烷产率,适宜的 TS 浓度会提高系统的容积产气率,增强产气性能^[9]。接种比决定着系统内微生物的生长繁殖情况与系统抵

抗有机酸累积的能力^[10]。有研究报道了甲烷产量随着接种比的增加呈先增加后减少的趋势^[11],但对于不同原料的反应体系适宜的接种量不尽相同,接种比对酒糟厌氧发酵产甲烷性能和沼液特性的影响,目前较少文献报道。AD 通常分为低温(<25℃)、中温(25 ~ 40℃)和高温(45 ~ 60℃)厌氧发酵,发酵温度主要是通过影响微生物群落的结构组成来影响 AD 的反应进程,特别是产甲烷菌^[12]。可见,研究同一体系微生物群落对不同温度的响应对分析酒糟厌氧消化性能至关重要。

因此,本文以酒糟为研究对象,通过批次厌氧消化试验,研究不同 TS 浓度、接种比和温度对酒糟厌氧发酵产甲烷性能的影响,并采用修正的 Gompertz 模型对产沼气和产甲烷潜力进行动力学分析,最后对不同温度厌氧发酵系统中细菌和古菌微生物的群落构成进行分析,以期对酒糟的沼气化利用技术的推广与应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 原料

试验所用酒糟取自贵州省遵义市某酒厂,取回后放置于 4℃ 冷藏室中保存备用。试验所用的接种污泥取自北京排水集团的市政污泥,接种污泥取回后放置于 4℃ 冷藏室中保存,使用前在 37℃ 条件下驯化 7 d。酒糟的 pH 值为 3.6, TS 质量分数为 45.32%,挥发性固体(Volatile solid, VS)质量分数为 16.98%,碳氮比为 12.27,总磷(Total phosphorus, TP)质量比为 4.45 g/kg;接种污泥的 pH 值、TS 质量分数、VS 质量分数、碳氮比及 TP 质量比分别为 8.16、6.14%、3.25%、6.69、44.6 g/kg。

1.2 厌氧消化试验

1.2.1 不同 TS 浓度

批次发酵试验在总体积为 1 L、有效容积为 0.8 L 的密封玻璃发酵瓶中进行,以酒糟为发酵底物,分别设置 4 个不同 TS 浓度试验组:质量分数

0.5%、1%、1.5%、2%，每组反应器中接种污泥和酒糟的接种比（接种污泥与酒糟的挥发性固体质量比）为1。根据试验设定的TS浓度和接种比，向发酵瓶中加入所需的酒糟和接种污泥，然后加蒸馏水至0.8 L，进料完成后盖上瓶盖，通过取样口充入N₂以形成厌氧条件，最后在瓶口上连接气袋用于收集气体，并放入（37±1）℃恒温水浴锅中，发酵时间为52 d，每组设置3个平行。试验启动后，每天固定时间从气袋中抽气测定各发酵瓶中沼气产量和成分，每隔4 d从取样口用注射器取沼液30 mL，对沼液中的pH值、总氮（Total nitrogen，TN）、氨氮（Ammonia nitrogen，NH₄⁺-N）和VFAs含量进行测定，并采用修正的Gompertz模型分析酒糟厌氧消化产气动力学特性。厌氧发酵过程中，每天手动摇匀反应器2次。

1.2.2 不同接种比

批次发酵试验在上述玻璃发酵瓶中进行，分别设置5个不同接种比试验组：0.25、0.5、0.75、1、1.5，每组反应器中起始TS质量分数为2%。根据试验设定的TS浓度和接种比，向发酵瓶中加入所需的酒糟和接种污泥，然后加蒸馏水至0.8 L，进料完成后盖上瓶盖，通过取样口充入N₂以形成厌氧条件，最后在瓶口上连接气袋用于收集气体，并放入（37±1）℃恒温水浴锅中，发酵时间为52 d，每组设置3个平行。试验启动后，每天固定时间从气袋中抽气测定各发酵瓶中沼气产量和成分，每隔4 d从取样口用注射器取沼液30 mL，对沼液中的pH值和TN、NH₄⁺-N、VFAs含量进行测定，并采用修正的Gompertz模型分析酒糟厌氧消化产气动力学特性。厌氧发酵过程中，每天对反应器手动摇匀2次。

1.2.3 不同温度

批次发酵试验在上述玻璃发酵瓶中进行，分别设置3个温度试验组：25、37、50℃，每组反应器中起始TS质量分数为2%，接种比为1.5。根据试验设定的TS浓度和接种比，向发酵瓶中加入所需的酒糟和接种污泥，然后加蒸馏水至0.8 L，进料完成后盖上瓶盖，通过取样口充入N₂以形成厌氧条件，最后在瓶口上连接气袋用于收集气体，并分别放入（25±1）℃、（37±1）℃、（50±1）℃恒温水浴锅中，发酵时间为52 d，每组设置3个平行。试验启动后，每天固定时间从气袋中抽气测定各发酵瓶中沼气产量和成分，每隔4 d从取样口用注射器取沼液30 mL，对沼液中的pH值和TN、NH₄⁺-N、VFAs含量进行测定，并采用修正的Gompertz模型分析酒糟厌氧消化产气动力学特性。厌氧发酵过程中，每天对反应器手动摇匀2次。

1.3 指标检测方法

TS、VS含量采用质量法测定；pH值采用Orion 5-Star pH计测定；气体产量使用玻璃注射器检测（以单位质量TS计）；甲烷含量使用气相色谱仪（GC-8A型，岛津公司，日本）测定^[13]；VFAs中乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、己酸、异丁酸、异戊酸含量采用气相色谱仪（岛津2010plus型，日本）进行测定，色谱柱为RTX-WAX毛细色谱柱，载气为氮气，分压为0.4 MPa，氢空一体机（HA-300型，科普生公司）气流速度为20~30 mL/min，分流比为30，进样口、色谱柱和检测器温度分别为230、60、250℃，进样体积为10 μL。测定前样品需先离心，取上清液过0.45 μm的水系滤膜，用甲酸调pH值至2~3，再过0.22 μm的水系膜后上机测样；NH₄⁺-N含量的测定采用纳氏试剂分光光度法（HJ 535—2009）；TN含量的测定采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法（HJ 636—2012）。

产气动力学分析采用修正的Gompertz模型拟合累积沼气和甲烷产量曲线，即

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

式中 P ——时间 t 内的累计产气量，mL/g
 $R_{\max}$ ——最大产气速率，mL/(g·d)
 P_0 ——产气潜能，mL/g
 t ——发酵时间，d
 λ ——迟滞期，d

1.4 微生物分析方法

取25、37、50℃共3组反应器中厌氧消化20 d的样品（R_{25℃}、R_{37℃}、R_{50℃}）进行微生物多样性分析检测。DNA提取采用E. Z. N. A. Soil DNA Kit（Omega Bio-tek，Inc.，美国）试剂盒，使用Nanodrop 2000超微量分光光度计（ThermoFisher Scientific，Inc.，美国）对DNA的质量和浓度进行检测，所有提取的DNA样本存储在-20℃进行进一步分析。16s rDNA基因的高通量测序由北京奥维森科技有限公司进行，使用Illumina MiSeq PE300测序平台（Illumina，Inc.，美国）。细菌16s rDNA基因的V3-V4区采用通用引物338F（ACTCCTACGGGAGGCAGCAG）和806R（GGACTACHVGGGTWTCTAAT）进行扩增，古菌16S rDNA基因的V3-V4区采用引物344F（ACGGGGYGCAGCAGGCCGA）和806R（GGACTACVSGGGTATCTAAT）进行扩增。细菌和古菌的PCR扩增步骤和Illumina MiSeq测序如文献[14]所述。

2 结果与分析

2.1 不同 TS 浓度对酒糟厌氧消化性能的影响

2.1.1 沼气与甲烷

在批次反应器中,不同 TS 浓度(质量分数 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%)条件下酒糟厌氧发酵的日产沼气的量、甲烷含量、累计沼气和甲烷产量如图 1 (图 1c 中不同字母表示差异显著,下同)所示。由图 1a 可以看出,4 种不同 TS 浓度下,酒糟厌氧发酵启动很快,均在第 1 天出现产气高峰,日产气量分别达到 50、43.75、57.92、55 mL/g,随后产气量开始迅速下降,之后产气量最大产气峰值出现在 14~20 d,日产气量分别可达 60.63、61.25、58.75、64.69 mL/g。综合沼液特性分析,发酵初期 0~4 d,消化体系中丰富的有机物为产酸菌生长繁殖提供了机会,有机底物部分被迅速酸化降解生成水溶性有机物,VFAs 浓度大幅度升高,同时伴随着 CO₂ 的产

生,这一阶段各组 pH 值均下降,随着酸抑制累积,产气量开始下降。第 2 个产气峰的出现则由于有机酸逐渐被消耗,产甲烷菌的活性逐渐恢复。在整个发酵周期中,0.5% 和 1% TS 的反应器在第 36 天停止产气,1.5% 和 2% TS 的反应器分别在第 46、49 天停止产气,表明降低 TS 浓度可以提高产气速率,缩短发酵周期。这主要由于反应体系中含水率在生长代谢和酶活性方面都会影响微生物活性,提高体系中的 TS 浓度会直接影响微生物的活性^[15]。不同 TS 质量分数的酒糟厌氧发酵体系中甲烷含量如图 1b 所示,当 TS 质量分数为 0.5%、1% 时,分别在第 18、10 天开始产甲烷,当 TS 质量分数为 1.5%、2% 时,均在第 2 天开始产甲烷,表明 TS 浓度越大,可利用的有机物越多,产甲烷越快。各组中的甲烷含量变化规律一致,即先稳定一段时间后迅速增加并保持稳定,稳定后甲烷体积分数差异不大,均维持在 76% 左右。

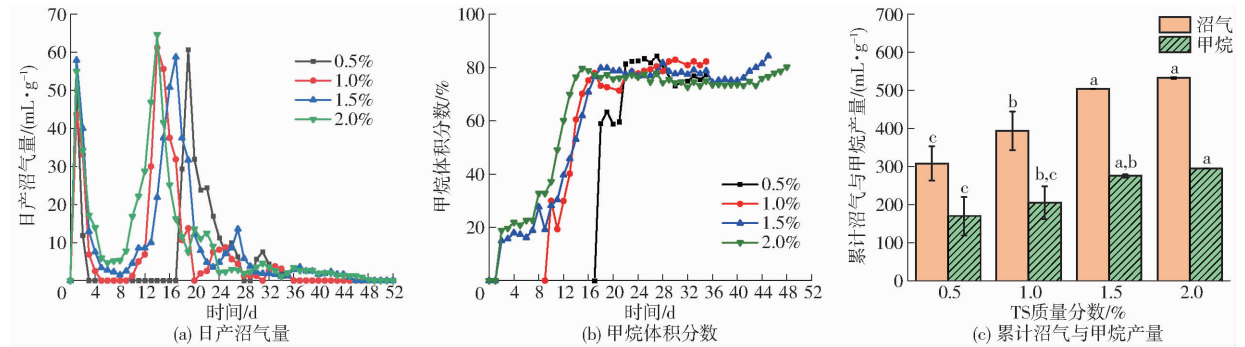


图 1 不同 TS 质量分数下酒糟厌氧发酵的产气量变化

Fig. 1 Changes of gas production in AD of vinasse at different TS concentrations

在整个发酵周期结束后,累计产气量如图 1c 所示,TS 质量分数为 0.5%、1%、1.5%、2% 的累计产沼气的量分别为 308.1、393.8、504.0、532.8 mL/g;累计产甲烷量分别为 169.6、204.9、275.2、294.7 mL/g,随着 TS 浓度的增加,产甲烷量逐渐增加,相对于 0.5% TS,2% TS 的累计产沼气的量、产甲烷量分别提高了 72.9%、73.8%。文献[16]研究了不同 TS 浓度(质量分数 5%、7%、10%、12%、15%)的厨余废弃物嗜温批次厌氧发酵试验,发现随着 TS 增加沼气的产量也逐渐增大,15% TS 的试验组获得最大沼气和甲烷产量。文献[17]在酒糟厌氧发酵试验中发现,当酒糟底物质量分数为 4.3% 时,甲烷产量为 287 mL/g;当底物质量分数为 7.8% 时,甲烷产量为 360 mL/g,提高了 25.4%。从这些结果可以看出,通过增加反应器中的底物固体浓度,微生物可代谢的有机物增多,沼气和甲烷产量增加,且较高的 TS 浓度并未影响系统的传质效果。

利用修正的 Gompertz 模型对不同 TS 浓度的酒糟产气数据进行了动力学分析,不同 TS 浓度酒糟厌氧消化的产气潜能、产气速率和延滞期见表 1。该模型对不同处理组下的产沼气和产甲烷潜能决定系数 R^2 均大于 0.9,且对产甲烷潜力决定系数 R^2 均大于 0.99,拟合结果吻合度高,表明该模型能更好地反映各处理组酒糟厌氧发酵产甲烷潜能。2% TS 处理组获得最大的产沼气的量、产甲烷潜能 P_0 ,分别为 535.1、284.3 mL/g。TS 质量分数为 0.5%、1%、1.5%、2% 时,沼气的生产迟滞期 λ 值分别达到了 10.8、4.0、1.9、1.5 d,随着 TS 浓度的升高,产气迟滞期逐渐缩短。对于沼气的生产,2% TS 的处理组表现出最大的 R_{max} ,为 26.2 mL/(g·d);对于甲烷生产,1.5% TS 的处理组表现出最大的 R_{max} ,为 25.4 mL/(g·d)。综上,就产气能力而言,TS 为 2% 是最佳进料质量分数,获得最大的累计产沼气和产甲烷量,同时经过修正的 Gompertz 模型拟合后,获得最大的 P_0 ,且迟滞期较短。

表 1 不同 TS 质量分数下的动力学模型参数

Fig. 1 Dynamic model parameters at different TS concentrations

参数	0.5%		1%		1.5%		2%	
	沼气	甲烷	沼气	甲烷	沼气	甲烷	沼气	甲烷
$P_0/(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$	317.4	168.3	403.5	200.6	521.3	267.0	535.1	284.3
$R_{\max}/(\text{mL}\cdot(\text{g}\cdot\text{d})^{-1})$	19.7	20.9	22.0	25.2	21.5	25.4	26.2	24.4
λ/d	10.8	16.8	4.0	11.8	1.9	12.0	1.5	8.9
R^2	0.926	0.997	0.952	0.992	0.961	0.992	0.979	0.991

2.1.2 pH 值、VFAs 和 NH₄⁺-N 质量浓度

pH 值的变化会直接影响厌氧发酵的过程^[18], 并且 pH 值会随着 VFAs 的积累而降低。厌氧消化过程中大多数的水解菌和产酸菌可在 pH 值 5.0 ~ 8.5 范围内正常生长, 产甲烷菌可以在 pH 值 6.5 ~ 7.8 的范围内正常生长^[19]。如图 2 所示, 4 个试验组的起始 pH 值为 7.1, pH 值总体呈现先下降后上

升, 然后逐渐稳定的趋势。具体地, 发酵初期 0 ~ 8 d, 底物快速水解酸化, VFAs 出现累积, 各组 pH 值下降至 6.8 以下; 发酵 8 ~ 20 d, 产甲烷菌的活性逐渐恢复, VFAs 被大量消耗, 各组 pH 值逐步升高, 且 TS 浓度越大, pH 值上升越快, 之后在 7.4 ~ 7.8 范围内保持稳定, 适合产甲烷菌的生长。

VFAs 是厌氧发酵产酸阶段的主要产物, 是表征

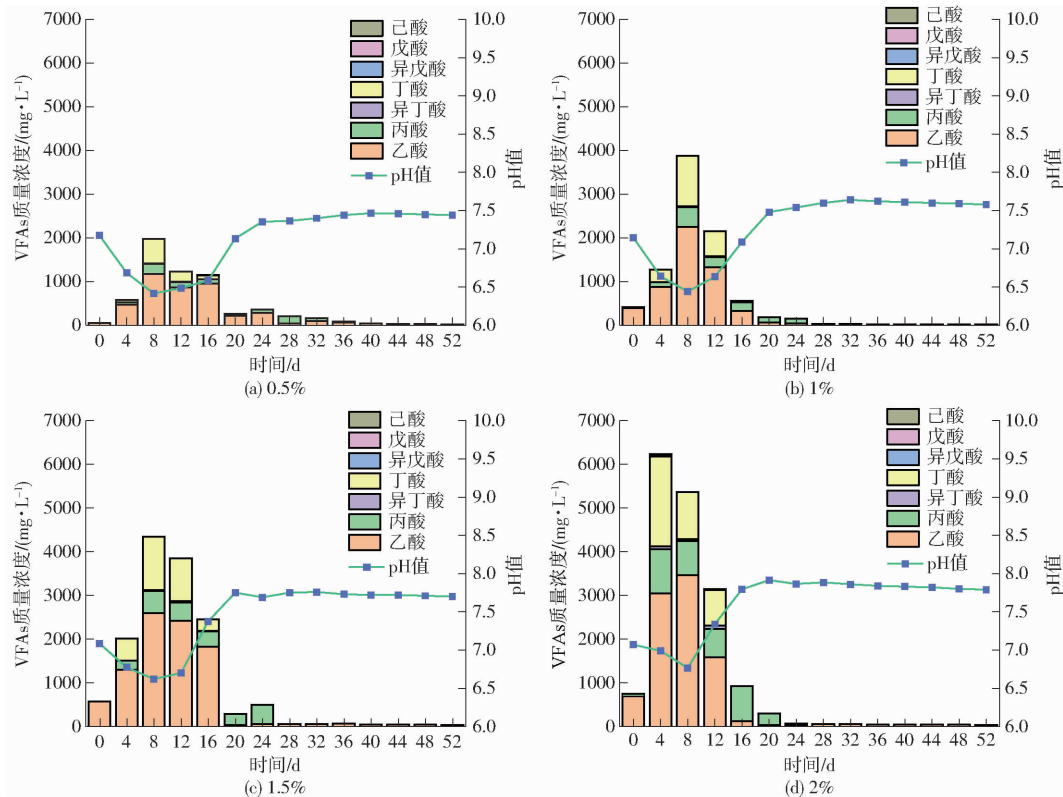


图 2 不同 TS 质量分数下 VFAs 的组成和质量浓度变化

Fig. 2 Changes in composition and concentration of VFAs at different TS concentrations

水解酸化程度的重要指标。由图 2 可知, 不同 TS 浓度下 VFAs 质量浓度变化趋势相似, 均随时间先上升后下降。发酵前 8 d 为快速水解阶段, VFAs 快速积累, 当 TS 质量分数分别为 0.5%、1%、1.5%、2% 时, 最大总挥发性有机酸 (Total volatile fatty acids, TVFAs) 质量浓度可分别达 1 975.5、3 878.7、4 352.4、6 237.7 mg/L, 随着底物浓度的增加, VFAs 产量也逐渐增加, 这是由于 TS 浓度越高, 水解菌和产酸菌可利用有机底物越多, VFAs 作为产酸菌的代

谢产物也就增长越快。发酵至 8 d 后, 各组 VFAs 质量浓度都开始下降, 表明 VFAs 被消耗, 产甲烷菌生长代谢速率提高, 此时 VFAs 中的乙酸和丁酸在 8 d 内被迅速利用和转化, 到 24 d 后, 各组的 VFAs 质量浓度都维持在较低水平 (<200 mg/L), 系统中主要的 VFAs 是丙酸, 随后剩余的丙酸被逐渐分解利用。总体上, VFAs 浓度的升高与 pH 值下降的变化保持一致。

发酵过程中底物浓度对 VFAs 的组成很重要,

在本研究中,VFAs 主要由乙酸、丁酸和丙酸组成。TVFAs 质量浓度最大时,乙酸、丁酸和丙酸质量分数分别为 48.9% ~ 59.8%、28.2% ~ 33.0% 和 11.5% ~16.1%。乙酸由于可以被产甲烷菌直接利用,而丙酸需要先被降解为乙酸才能被甲烷菌所利用,代谢速率慢容易出现累积^[20]。在发酵16 ~ 28 d 内,4 组试验中丙酸质量占 TVFAs 的 66.7% ~ 89.3%,最高质量浓度达 1 006.8 mg/L,一般来讲,丙酸质量浓度在 1 500 mg/L 以上时,会导致系统酸化,影响正常产气^[21],因此本试验中未受到丙酸抑制。

由表 2 可知,不同 TS 条件下总氮变化规律大致相同,先增加后降低,整体为增加的趋势。起始总氮质量浓度随 TS 浓度增大而升高,在发酵初期总氮质量浓度大幅升高,且 TS 质量分数越大,上升幅度

越大,2% TS 的试验组中在第 8 天时总氮质量浓度达到 4.19 g/L,比 0.5% TS 试验组多了 3.87 倍。发酵过程中,总氮的增加主要来源于固相中酒糟与污泥中部分氮元素会转移到液相中,有机氮如蛋白质和氨基酸等水解降解为 NH₄⁺-N,导致 TN 和 NH₄⁺-N 质量浓度的增加^[22]。发酵液中 NH₄⁺-N 质量浓度随着 TS 浓度的增加而增加,且不同处理组中 NH₄⁺-N 质量浓度随着反应的进行呈上升趋势,至反应结束,各组 NH₄⁺-N 质量浓度均高于初始值,这主要归因于体系混合物中蛋白质的水解^[23]。氨氮可作为微生物生长代谢的氮源,但是在厌氧消化的过程中,当氨氮质量浓度过高超过了某一限值时,将会影响厌氧微生物的新陈代谢,减低厌氧发酵的效率,反而抑制整个厌氧发酵进程。文献[24]指出,在中温条件下,氨氮对厌氧消化过程的抑制浓度为 3 500 mg/L,

表 2 不同条件下总氮、氨氮质量浓度的变化

Tab. 2 Changes of TN and NH₄⁺-N concentrations under different conditions

时间/ d	参数	TS 质量分数/%				接种比					温度/℃		
		0.5	1	1.5	2	0.25	0.5	0.75	1	1.5	25	37	50
0	总氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.55	1.05	1.64	2.17	0.99	1.46	2.07	2.17	2.70	2.67	2.70	2.75
	氨氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.49	0.86	1.43	2.06	0.82	1.26	1.74	2.06	2.46	2.49	2.46	2.50
4	总氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	1.01	1.89	2.56	3.50	1.14	2.51	3.29	3.50	3.63	2.90	3.63	3.66
	氨氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.68	1.35	1.75	2.55	0.93	1.53	1.95	2.55	2.68	2.61	2.68	3.03
8	总氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.86	1.85	4.04	4.19	1.24	1.75	2.25	4.19	3.86	3.06	3.86	4.76
	氨氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.73	1.29	2.80	2.97	1.07	1.66	2.14	2.97	2.96	2.75	2.96	3.22
20	总氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.92	1.16	2.28	2.90	1.17	1.68	2.37	2.90	3.73	3.62	3.73	4.13
	氨氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.85	1.40	1.75	2.48	1.03	1.49	2.25	2.48	3.31	2.85	3.31	3.47
32	总氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.91	1.64	2.86	3.20	1.06	1.84	2.55	3.20	3.59	3.41	3.59	4.17
	氨氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.79	1.40	1.85	2.51	0.87	1.74	2.42	2.51	3.26	3.11	3.26	3.72
52	总氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.96	1.95	2.85	3.26	1.26	1.74	2.49	3.26	3.46	3.40	3.46	3.94
	氨氮质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.86	1.59	2.15	2.69	1.15	1.66	2.42	2.69	3.29	3.27	3.29	3.65

本研究中各处理组均未达到抑制浓度。

因此,当 TS 质量分数为 2% 时,AD 系统中获得最佳产气和有机物降解能力,同时系统运行稳定,pH 值、VFAs 和 NH₄⁺-N 浓度保持在正常的范围内。

2.2 不同接种比对酒糟厌氧消化性能的影响

2.2.1 沼气与甲烷

不同接种比(0.25、0.5、0.75、1、1.5)条件下酒糟厌氧发酵的日产沼气量、甲烷含量、累计产沼气和甲烷量如图 3 所示。从图 3a 中可以看出,当接种比为 0.25 和 0.5 时,厌氧消化系统并未启动成功,由于接种比较低,系统中所含的微生物较少,系统中的酸抑制难以恢复,在第 1 天达到产气峰值后,第 2 天日产气量迅速下降,第 4 天后系统内停止产气,系统崩溃。当接种比为 0.75 时,在发酵前期产气量较少,在第 2 天达到峰值,随后开始下降,在第 10 ~ 30 天内,系统中几乎不产气,在 30 d 后开始缓慢产气,

最大日产气量达 22.5 mL/g,这是由于系统中微生物数量少,体系中有有机负荷大,产甲烷菌成为优势菌的时间较长^[25]。当接种比为 1 和 1.5 时产气规律相似,在第 1 天产气达到峰值,日产沼气量分别为 55、36.88 mL/g,随后开始缓慢下降,在第 13 天左右出现第 2 个产气峰值,随后产气量下降,直至第 49、42 天停止产气。

如图 3b 所示,在整个发酵周期,接种比为 0.25 和 0.5 的试验组中由于酸抑制,系统崩溃,甲烷含量一直为 0,即并未产生甲烷。在接种比为 0.75 的试验组中,经过较长的迟滞期,在第 29 天后开始产甲烷,甲烷含量逐渐上升直至稳定,发酵结束时体积分数稳定在 79% 附近。接种比为 1 和 1.5 的试验组中,甲烷生产并未受到抑制,第 2 天起甲烷含量逐渐增加,随后体积分数稳定在 76% 左右,两者差异不大。

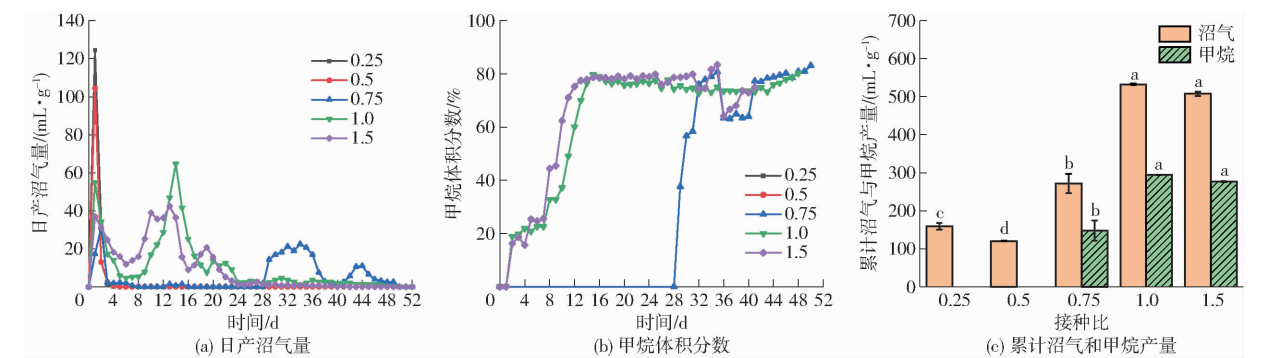


图3 不同接种比下酒糟厌氧发酵产气量变化

Fig.3 Changes of gas production in AD of vinasse at different inoculation ratios

整个发酵周期结束后,不同接种比的酒糟厌氧发酵累计产沼气量如图 3c 所示,接种比分别为 0.25、0.5、0.75、1、1.5 的试验组中累计产沼气量分别为 158.7、120.5、271.5、532.8、507.7 mL/g;累计产甲烷量分别为 0、0、148.0、294.7、277.0 mL/g。通过上述结果发现,随着接种比的增大,系统累计产沼气和产甲烷量呈先增加后减小的趋势,接种量过小或者过大都会影响酒糟的产气性能,当接种量小时,系统中的微生物数量和种类较少会出现酸抑制,产气延滞期长甚至出现系统崩溃不产气情况。接种量大时,系统中底物含量相对减少不足以维持产甲烷菌生长代谢,微生物之间相互竞争进而影响产气效率,像接种比为 1 的试验组中累计产气量和甲烷量均高于接种比为 1.5 的试验组。在中温污泥-餐厨垃圾厌氧发酵试验中发现,甲烷产量随着接种量的增加呈先增加后减少的趋势,接种量为 30% 的体系中产甲烷量最大^[11]。利用修正的 Gompertz 模型对不同接种比条件下酒糟产气数据进行了动力学分析(见表 3),该模型对不同处理组下的产沼气和产甲烷潜能决定系数 R^2 均大于 0.97,拟合结果吻合度高。当接种比为 1 时,拟合得到最大的甲烷潜能 P_0 (284.3 mL/g),接种比分别为 0.75、1、1.5 时,沼气生产迟滞期 λ 分别达到了 24.0、1.5、1.7 d,表明较大的接种比产气更容易,适当提高接种比能大大缩短产气延滞期。综上,当接种比为 1 时,不会导致系统酸化且获得最大的累计产沼气和甲烷量。

表 3 不同接种比下动力学模型参数

参数	0.75		1		1.5	
	沼气	甲烷	沼气	甲烷	沼气	甲烷
$P_0/(mL \cdot g^{-1})$	279.7	145.3	535.1	284.3	512.8	276.1
$R_{max}/(mL \cdot (g \cdot d)^{-1})$	17.2	12.8	26.2	24.4	31.7	24.8
λ/d	24.0	28.7	1.5	8.9	1.7	7.1
R^2	0.985	0.993	0.979	0.991	0.991	0.998

2.2.2 pH 值、VFAs 和 NH_4^+ -N 质量浓度

不同接种比条件下的 AD 过程中 pH 值变化规律如图 4 所示,AD 初期,各试验组由于酒糟水解酸化累积了大量的 VFAs,pH 值呈下降趋势。在发酵第 8 天,接种比为 0.25、0.5、0.75、1、1.5 的试验组中,pH 值分别降至 5.1、5.6、6.0、6.8、7.2,接种比越低,pH 值越小,文献[10]也发现了同样的规律。随着接种比的增大,发酵体系中呈弱碱性的接种污泥越多,其缓冲能力越强,可以缓解 pH 值迅速下降。随后,接种比为 0.25、0.5 的试验组中 pH 值未出现增长趋势,稳定在 5.5 以下,不利于产甲烷菌的生长,因此系统崩溃,大量的 VFAs 累积,未能产甲烷。当接种比为 0.75 时,pH 值从第 28 天起,开始有上升的趋势,最后稳定在 7.6 附近,产甲烷菌活性恢复的时间较长。接种比为 1 和 1.5 的试验组,pH 值变化规律一致,从第 8 天开始逐渐增加,最后稳定在 8.0 附近。从 VFAs 质量浓度变化也可以得出 pH 值的变化规律(图 4)。在接种比为 0.25 和 0.5 的试验组中,VFAs 出现了大量的累积,TVFAs 质量浓度始终维持在较高水平(2.7~4.1 g/L)。接种比为 0.75 的试验组中,从第 32 天起 VFAs 开始被大量消耗和利用。接种比为 1 和 1.5 的试验组中 TVFAs 质量浓度分别在第 4、8 天达到最大值 6.2、5.1 g/L,第 8 天后 VFAs 质量浓度迅速下降,大量的乙酸、丁酸和丙酸被消耗掉,第 24 天后有机酸几乎被完全消解,此时系统内产气缓慢。

如表 2 所示,TN 和 NH_4^+ -N 质量浓度随着接种比的增加而增加。一方面,随着接种污泥的增加,系统中会有更多的氮元素会转移到液相中,有机氮水解为 NH_4^+ -N 的含量也增加。另一方面,pH 值与 NH_4^+ -N 质量浓度之间存在密切联系,降低 pH 值会导致 NH_4^+ -N 质量浓度的降低。因此,在接种比为 0.25 和 0.75 的试验组中,系统稳定时 pH 值小于 5.5 会严重影响 NH_4^+ -N 质量浓度,同时对产甲烷菌造成不利影响。

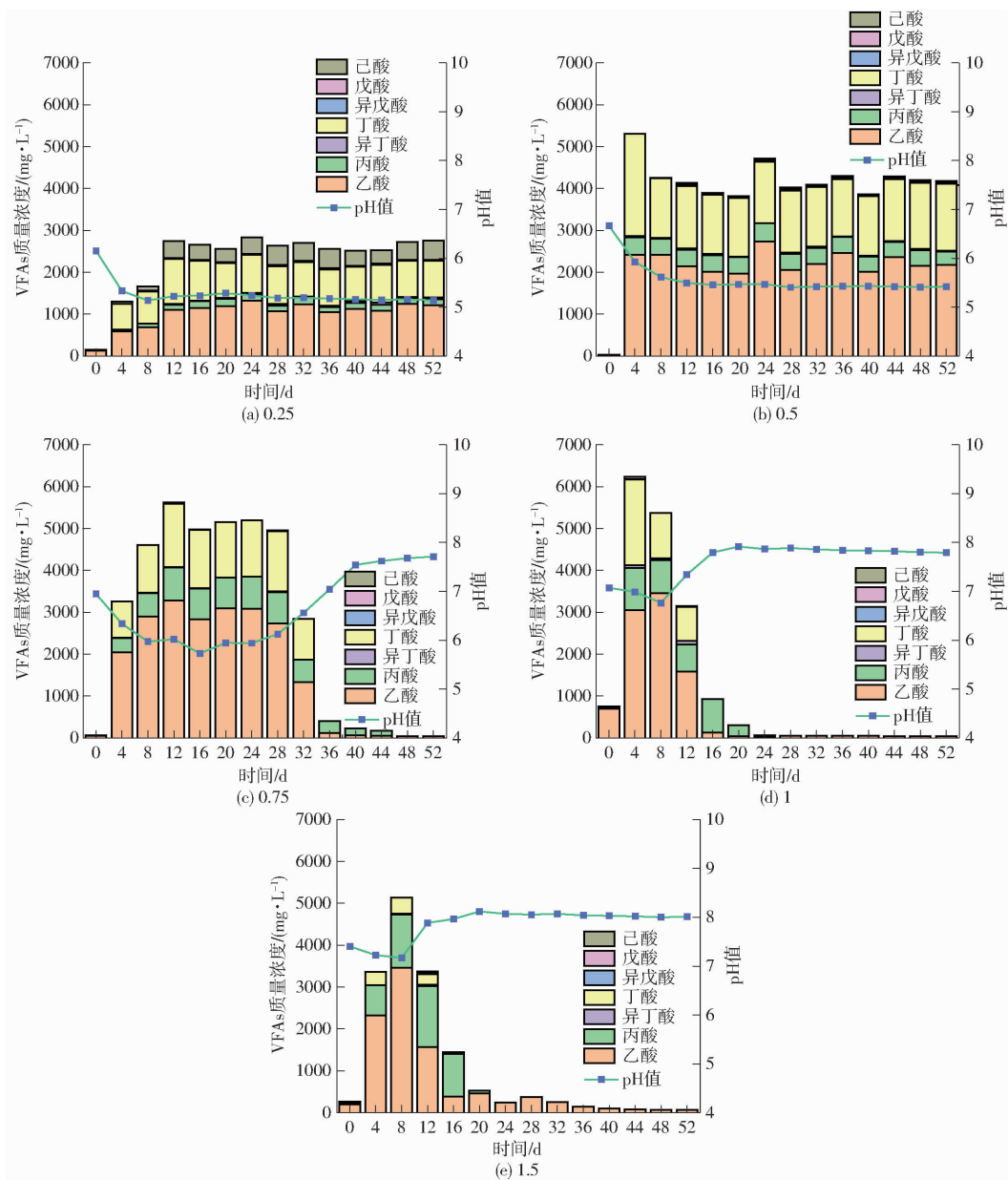


图 4 不同接种比条件下 VFAs 的组成和质量浓度变化

Fig. 4 Changes in composition and concentration of VFAs at different inoculation ratios

综上所述,TS 质量分数为 2% 的条件下,接种比为 1 的处理组中系统稳定运行且获得最大的累计产沼气和产甲烷量。

2.3 不同温度对酒糟厌氧消化性能的影响

2.3.1 沼气与甲烷

图 5 显示了不同温度处理组的日产沼气的量、甲烷含量和累计沼气与甲烷产量。温度为 25℃ 的条件下,从第 3 天开始产气,并在第 50 天完全停止产气。其中在第 3 天达到最大日产沼气的量,为 19.1 mL/g,第 36 天后甲烷含量稳定,其中甲烷体积分数为 72.2% ~ 77.2%,最终获得的累计沼气、甲烷产量分别为 246.6、109.0 mL/g。当发酵温度为 37℃ 的条件下,从第 1 天开始产气,并在第 42 天完全停止产气。其中在第 1 天达到最大日产沼气的量,

为 36.9 mL/g,第 12 天后甲烷含量稳定,其中甲烷体积分数为 74.3% ~ 79.9%,最终获得的累计沼气、甲烷产量分别为 507.7、277.0 mL/g。在发酵温度为 50℃ 的条件下,从第 2 天开始产气,并在第 47 天完全停止产气。在第 2 天获得最大日产沼气的量为 69.2 mL/g,第 12 天后甲烷含量稳定,其中甲烷体积分数为 72.8% ~ 82.0%,最终获得的累计沼气、甲烷产量分别为 559.4、284.0 mL/g。在本研究中发现,随着温度的升高产沼气和产甲烷量逐渐增加,当温度由 25℃ 提高到 37℃ 时,累计沼气、甲烷产量分别提高了 105.9%、154.1%,当温度由 37℃ 提高到 50℃ 时,累计沼气产量提高了 10.2%,累计产甲烷量并未显著增加 ($P > 0.05$)。在酿酒厂废水污泥和酒糟共发酵中,高温 (55℃) 条件下的沼气产量比中

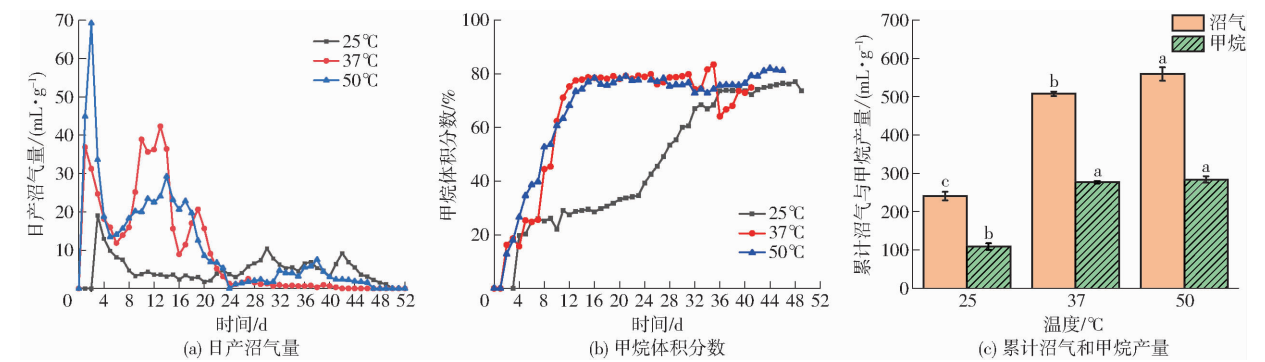


图 5 不同温度下酒糟厌氧发酵的产气量变化
Fig.5 Changes of gas production in AD of vinasse at different temperatures

温(37℃)过程提高了18%^[7]。而且在3组试验组中,甲烷体积分数稳定在72.2%~82.0%之间,表明温度并未显著影响甲烷含量^[4]。一般认为,当累计产气量达到总产气量的90%以上为一个发酵周期,即发酵基本完成^[2],由此推测在温度为25、37、50℃处理组中,发酵周期依次为42、20、30 d。

利用修正的 Gompertz 模型对不同温度下酒糟产气数据进行了动力学分析(表4),该模型对不同处理组下的产沼气和产甲烷潜能决定系数 R^2 均大于0.98,拟合结果吻合度高。温度分别为25、37、50℃时,甲烷生产迟滞期 λ 分别达到了17.1、7.1、4.8 d,表明适当提高温度能够有效地缩短滞后时间。综合上述试验结果发现,TS质量分数越高、接种比越大、温度越高,产甲烷迟滞期越短。当发酵温度为37℃时,甲烷最大产气速率 $R_{\max}$ 是发酵温度为25、50℃的6.9、1.65倍。综上所述,考虑经高温条件下维持反应器正常运行需要更多的耗能,中温

(37℃)厌氧发酵可以获得最优的累计产沼气和甲烷量,且产甲烷迟滞期较短,初步确定2% TS、接种比为1的中温酒糟厌氧发酵产甲烷性能相对较好。

2.3.2 pH值、VFAs和NH₄⁺-N质量浓度

pH值和VFAs质量浓度是厌氧发酵运行过程中重要的参数,如图6所示。在发酵温度为25、37、50℃条件下,与VFAs和NH₄⁺-N质量浓度相关的pH值分别在7.08~7.78、7.17~8.12、7.32~8.34之间,可以看出随着温度的升高,pH值呈轻微的上升趋势^[12]。由图6发现,在发酵温度25℃条件下,发酵前期系统受到酸抑制,直至28 d VFAs质量浓度开始下降,这与图5中产气情况相吻合,在37、50℃条件下并未发生此情况,这可能由低温下产甲烷菌的活性不高导致。25、37、50℃条件下,最大TVFAs质量浓度分别为4.9、5.1、7.7 g/L, VFAs质量浓度的增加表明提高发酵温度能够提高系统的水解和产酸能力,其中乙酸是主要的挥发性有机酸(占TVFAs的61.7%~76.5%),丙酸是第二丰富的(占TVFAs的12.5%~35.4%)。在VFAs中,由于其生物降解速率缓慢,丙酸的转化是厌氧发酵过程产甲烷的主要限速过程^[26],因此低效率的甲烷生产可归因于丙酸的累积。在本研究中,温度为50℃的处理组中,在第24~32天丙酸质量浓度在806.2~1 050.4 mg/L之间波动,在此期间甲烷产量出现下降(图5b)。同样文献[27]也发现甲烷产量

表 4 不同温度下动力学模型参数

Fig.4 Dynamic model parameters at different temperatures

参数	25℃		37℃		50℃	
	沼气	甲烷	沼气	甲烷	沼气	甲烷
$P_0/(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$	389.8	237.3	512.8	276.1	552.9	275.5
$R_{\max}/(\text{mL}\cdot(\text{g}\cdot\text{d})^{-1})$	5.4	3.6	31.7	24.8	25.2	15.0
λ/d	0.9	17.1	1.7	7.1	-1.4	4.8
R^2	0.982	0.986	0.991	0.998	0.988	0.990

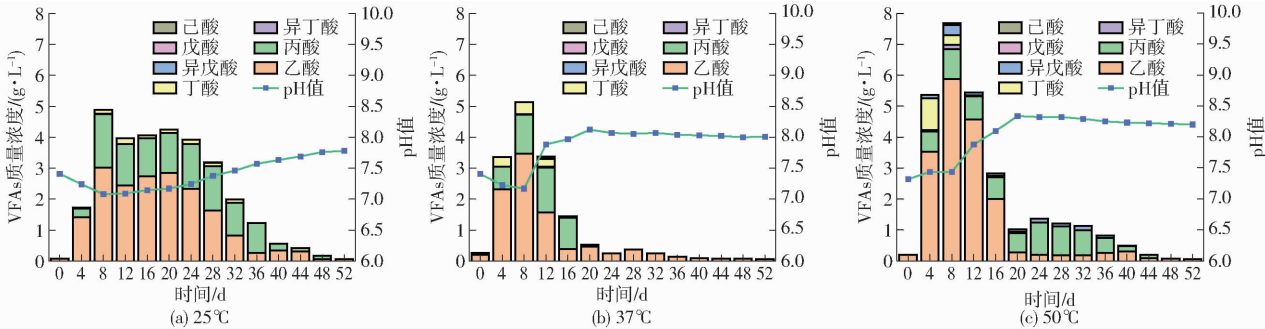


图 6 不同温度下 VFAs 的组成和质量浓度变化
Fig.6 Changes in composition and concentration of VFAs at different temperatures

的减少主要归因于丙酸的累积。

如表 2 所示,随着温度的升高,系统中总氮与氨氮质量浓度逐渐增加,这主要由于温度升高会提高酒糟中富氮物质(如蛋白质等)的生物降解,因此采用嗜热高温厌氧发酵可以提高水解速率,水解进一步影响氨化反应。在发酵温度为 25、37、50℃ 的条件下,氨氮质量浓度稳定在 3.2、3.3、3.6 g/L 附近,温度为 50℃ 的反应器中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度超过了预警值 3.5 g/L,且丙酸出现了累积,进一步证明了产甲烷菌活性受到了抑制,有研究也报道了氨氮质量浓度持续大于 3.5 g/L 时,丙酸会出现不同程度累积^[28]。但是文献[29]报道,在大多数情况下,反应器系统中会经历“抑制稳态”,其中 AD 具有低而稳定的沼气产率,这与本研究结果一致(图 5a)。

2.4 温度对酒糟厌氧消化微生物菌群结构的影响

2.4.1 细菌

微生物对温度的耐受性不同,不同温度可以通过改变微生物群落的结构组成来影响 AD 的反应进程,特别是产甲烷菌群的动态变化^[12]。因此研究了微生物群落的组成和相对丰度。

图 7 显示了厌氧发酵第 20 天反应器中细菌群落的组成。如图 7a 中显示了在门水平上的群落变化,在 3 组试验中,Bacteroidetes 和 Firmicutes 为优势菌门,在中温条件(25、37℃)下,Bacteroidetes 是占主导地位的群落,相对丰度为 49.1% ~ 81.3%,其有助于乙酸和丁酸的产生。相比之下,Firmicutes 在高温条件(50℃)下占主导地位,相对丰度为 61.5%,Firmicutes 是高温厌氧消化中重要的微生物群落^[4],据报道,许多隶属于厚壁菌的微生物可以分泌细胞胞外酶,用于水解各种大分子有机物以合成 VFAs^[30]。由此发现与中温厌氧消化系统相比,在高温厌氧消化系统中 Bacteroidetes 相对丰度降低,而 Firmicutes 的相对丰度增加^[31]。此外,在反应器中还能观察到另一重要的 Synergistota 菌门,在 $R_{37^\circ\text{C}}$ 反应器中占 5.2%,对厌氧发酵过程中氨基酸的降解有积极影响^[32]。图 7b 显示了属水平上的菌群变化情况,主要的菌属有 *Proteiniphilum*、*Bacteroides*、*Clostridium_sensu_stricto_1*、*Clostridium_sensu_stricto_8*、*Fermentimonas* 和 *Rikenellaceae_RC9_gut_group*,其相对丰度在不同的反应器中存在显著差异。*Proteiniphilum* 是专性厌氧菌,可以利用蛋白质等物质产乙酸^[33],*Proteiniphilum* 在 $R_{37^\circ\text{C}}$ 、 $R_{50^\circ\text{C}}$ 反应器中的相对丰度分别为 28.9%、24.0%,高于 $R_{25^\circ\text{C}}$ 反应器(0.7%),因此提高温度可以加速甲烷的产率。在 $R_{25^\circ\text{C}}$ 反应器中 *Bacteroides* 的相对丰度为 11.9%,高于 $R_{37^\circ\text{C}}$ 、 $R_{50^\circ\text{C}}$ 反应器(0.9%、0.005%)。

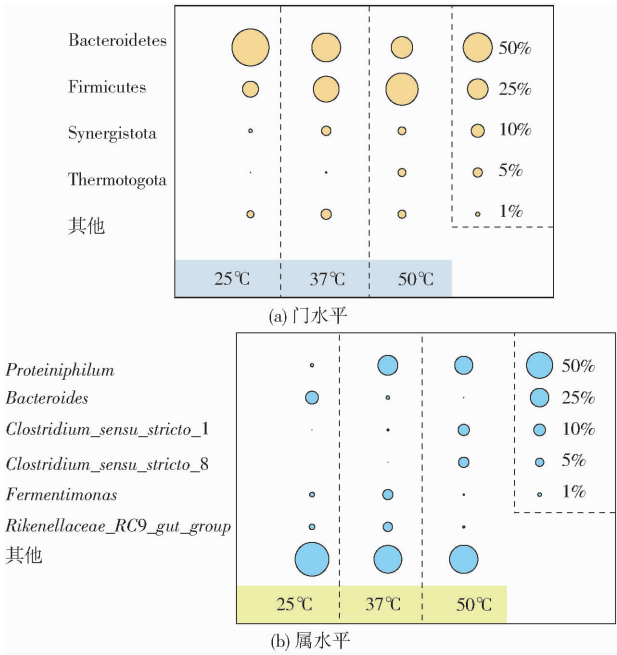


图 7 不同温度下细菌群落的结构和相对丰度
Fig. 7 Structural composition and relative abundance of bacterial communities at different temperatures

在 $R_{50^\circ\text{C}}$ 反应器中 *Clostridium_sensu_stricto_1*、*Clostridium_sensu_stricto_8* 的相对丰度分别为 9.1%、7.7%,*Clostridium_sensu_stricto_1* 可以将有机物发酵成乳酸、乙酸、丙酸和 H_2 ^[34],提高其相对丰度可以为产甲烷菌的代谢提供丰度的底物,进而提高产气性能。

2.4.2 古菌

为研究不同温度下对产甲烷菌的影响,对 $R_{25^\circ\text{C}}$ 、 $R_{37^\circ\text{C}}$ 和 $R_{50^\circ\text{C}}$ 样品的古菌群落进行了分析,图 8a 显示了古菌群落在门水平上的相对丰度,在所有温度下,样本中都含有 Halobacterota、Euryarchaeota、Thermoplasmatota 菌门,其中 Halobacterota 主要由与产甲烷相关的古菌组成^[35],在本研究中为优势菌群,各占总丰度的 97.5% ~ 99.5%,因此,测序数据证明本研究中低温或者高温并未抑制 Halobacterota 菌群的活性。

根据所利用的物质不同,产甲烷菌主要有两种产甲烷途径(氢营养型和乙酸营养型)。如图 7b 所示,属于乙酸营养型的产甲烷菌 *Methanosaeta* 和 *Methanosarcina* 在 3 个反应器中含量丰富,以乙酸盐作为底物产甲烷。 $R_{25^\circ\text{C}}$ 反应器中 *Methanosaeta* 和 *Methanosarcina* 相对丰度之和为 76.6%,高于 $R_{37^\circ\text{C}}$ (46.5%)、 $R_{50^\circ\text{C}}$ (23.9%) 反应器,表明随着温度的提高乙酸营养型产甲烷菌的相对丰度降低。其中 *Methanosarcina* 菌属因其重叠在一起的特殊球形细胞结构可以最大限度地耐受高氨氮和 VFAs 等的环境^[36]。属于氢营养型产甲烷菌有 *Methanolinea*、

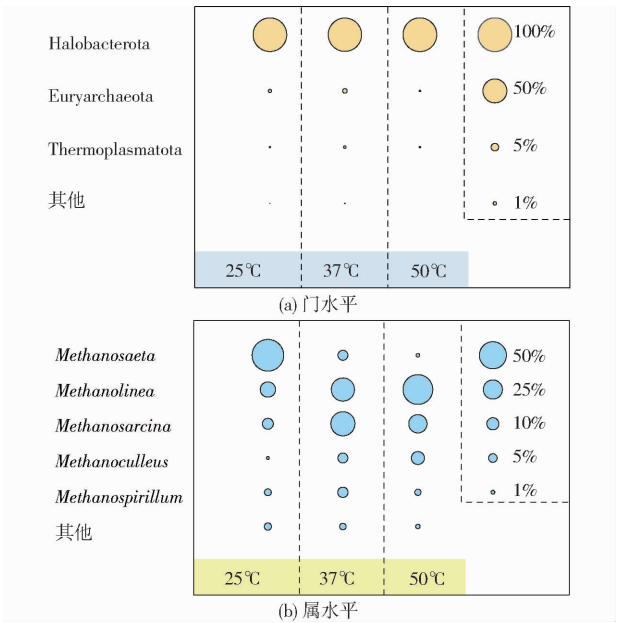


图 8 不同温度下古菌群落的结构组成和相对丰度
Fig.8 Structural composition and relative abundance of archaeal communities at different temperatures

Methanoculleus 和 *Methanospirillum*, 基于 CO_2/H_2 为底物产甲烷。在 $\text{R}_{50^\circ\text{C}}$ 反应器中氢营养型产甲烷菌 (*Methanolinea*、*Methanoculleus* 和 *Methanospirillum*) 的相对丰度之和为 74.8%, 高于 $\text{R}_{25^\circ\text{C}}$ (19.8%)、 $\text{R}_{37^\circ\text{C}}$ (50.7%) 反应器。从产甲烷菌的相对丰度进一步证明了提高发酵温度氢营养型与乙酸营养型产甲烷菌之间发生演替, 特别是氢营养型逐渐取代乙酸营养型产甲烷菌。但是也有文献报道, 随着温度的升高, 产甲烷菌的结构从氢营养型转变为乙酸营养型, 这可能与 AD 体系中的底物和接种物有关^[12]。与

乙酸型产甲烷菌相比, 氢营养型产甲烷菌对高氨水平的耐受性更强^[37], 因此, $\text{R}_{50^\circ\text{C}}$ 反应器系统稳定时氨氮质量浓度持续大于 3.5 g/L 可能会导致氢营养型逐渐代替乙酸营养型产甲烷菌。

3 结论

(1) 调节进料 TS 浓度可有效提高 AD 系统的产气性能和有机物降解能力, TS 质量分数为 2% 条件下, 获得最大的累计产沼气量 (532.8 mL/g) 和产甲烷量 (294.7 mL/g), 同时经过修正的 Gompertz 模型拟合后, 获得最大的 P_0 , 且迟滞期较短。

(2) 接种比对系统的稳定运行至关重要。沼气和甲烷产量随着接种比的增加, 呈先增加后减小的趋势。TS 质量分数为 2% 条件下, 接种比为 0.25 和 0.5 的系统中, 出现大量的酸累积, 系统无法自己调节恢复并导致系统崩溃, 未产甲烷。而接种比为 1 时, AD 系统稳定运行且能获得最大的累计产沼气和产甲烷量。

(3) 沼气和甲烷产量随着温度增加而增加, 温度为 50℃ 的条件下, 获得的酒糟累计产沼气量为 559.4 mL/g, 相较 37℃ 条件下提高了 10.2%; 而 50℃ 获得的累计产甲烷量为 284.0 mL/g, 与 37℃ 处理组无显著差异 ($P > 0.05$)。不同温度 AD 系统中的微生物群落结构存在显著差异, Bacteroidetes 和 Firmicutes 为优势细菌门, 但是在中温 AD 反应器中, Bacteroidetes 占主导地位, 而在高温 AD 反应器中 Firmicutes 占主导地位; 随着温度的增加, 产甲烷菌逐渐由氢营养型取代乙酸营养型。

参 考 文 献

[1] DE OLIVEIRA L V, DE BARROS V G, DUDA R M, et al. Anaerobic digestion of vinasse and water treatment plant sludge increases methane production and stability of UASB reactors[J]. Journal of Environmental Management, 2023, 327: 116451.

[2] 王婷婷, 汤云川, 贺莉, 等. 酒糟与秸秆混合厌氧消化产沼气特性研究[J]. 中国沼气, 2023, 41(2): 23–28.
WANG Tingting, TANG Yunchuan, HE Li, et al. Study on biogas production characteristics of mixed anaerobic digestion of distilled grains and straw[J]. China Biogas, 2023, 41(2): 23–28. (in Chinese)

[3] FUESS L T, GARCIA M L. Implications of stillage land disposal: a critical review on the impacts of fertigation[J]. Journal of Environmental Management, 2014, 145: 210–229.

[4] SUN C, LIU F, SONG Z, et al. Feasibility of dry anaerobic digestion of beer lees for methane production and biochar enhanced performance at mesophilic and thermophilic temperature[J]. Bioresource Technology, 2019, 276: 65–73.

[5] SILVA A F R, BRASIL Y, KOCH K, et al. Resource recovery from sugarcane vinasse by anaerobic digestion—a review[J]. Journal of Environmental Management, 2021, 295(2): 113137.

[6] JASKO J, SKRIPSTS E, DUBROVSKIS V. Biogas production of winemaking waste in anaerobic fermentation process[C]// Jelgava: Engineering for Rural Development, 2012.

[7] DA ROS C, CAVINATO C, PAVAN P, et al. Mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of winery wastewater sludge and wine lees: an integrated approach for sustainable wine production[J]. Journal of Environmental Management, 2017, 203(2): 745–752.

[8] CHIAPPERO M, BERRUTI F, FIORE S. Biomethane potential of wine lees from mesophilic anaerobic digestion[J]. Biochemical Engineering Journal, 2023, 196: 108954.

[9] 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 Tong, ZHANG Liqiu, FENG Li, 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. (in Chinese)
- [10] 许恒彬, 高原, 李秀金. 含固率与接种比对分类厨余垃圾高固厌氧消化性能的影响[J]. 可再生能源, 2022, 40(8): 1020 – 1027.
- XU Hengbin, GAO Yuan, LI Xiujin. Effects of total solids content and inoculation ratio on high solid anaerobic digestion of food waste[J]. Renewable Energy Resources, 2022, 40(8): 1020 – 1027. (in Chinese)
- [11] 周雨绮, 许俊超, 卓桂华, 等. 中温条件下污泥接种量对污泥 – 餐厨垃圾联合厌氧发酵产氢余物产甲烷的影响[J]. 环境工程, 2021, 39(6): 144 – 149.
- ZHOU Yuqi, XU Junchao, ZHUO Guihua, et al. Influence of sludge inoculation volume on methanogenesis of residue from anaerobic fermentative hydrogen production using combined sludge and food waste under medium temperature condition[J]. Environmental Engineering, 2021, 39(6): 144 – 149. (in Chinese)
- [12] 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 and Products, 2023, 192: 116066.
- [13] 董仁杰, 张紫嘉, 刘晟, 等. 水热预处理对猪粪厌氧消化及沼液生态安全性的影响[J]. 农业工程学报, 2022, 38(6): 193 – 203.
- DONG Renjie, ZHANG Zijia, LIU Sheng, et al. Effects of hydrothermal pretreatments on the anaerobic digestion of pig manure and ecological safety of biogas slurry[J]. Transactions of the CSAE, 2022, 38(6): 193 – 203. (in Chinese)
- [14] YIN F, DONG H, ZHANG W, et al. Removal of combined antibiotic (florfenicol, tylosin and tilmicosin) during anaerobic digestion and their relative effect[J]. Renewable Energy, 2019, 139: 895 – 903.
- [15] ARELLI V, MAMINDLAPELLI N K, ANUPOJU G R. Influence of solids concentration on microbial diversity and methane yield in the anaerobic digestion of rice husk[J]. Bioresource Technology Reports, 2023, 22: 101455.
- [16] NASRIN T, SAHA C K, NANDI R, et al. Kinetic study and optimization of total solids for anaerobic digestion of kitchen waste: Bangladesh perspective[J]. Water Science and Technology, 2021, 84(5): 1136 – 1145.
- [17] 谢彤彤. 酒糟厌氧消化液中丙酸互营降解微生物研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2020.
- XIE Tongtong. Research of syntrophic propionate-degrading consortia from anaerobic digestion of vinasse[D]. Qingdao: Qingdao University, 2020. (in Chinese)
- [18] ERYILDIZ B, TAHERZADEH M J. Effect of pH, substrate loading, oxygen, and methanogens inhibitors on volatile fatty acid (VFA) production from citrus waste by anaerobic digestion[J]. Bioresource Technology, 2020, 302: 122800.
- [19] LIU C F, YUAN X Z, ZENG G M, et al. Prediction of methane yield at optimum pH for anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste[J]. Bioresour Technology, 2008, 99(4): 882 – 888.
- [20] YAMADA C, KATO S, UENO Y, et al. Conductive iron oxides accelerate thermophilic methanogenesis from acetate and propionate[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2015, 119: 678 – 682.
- [21] MA J, CARBALLA M, CAVEYE P V D, et al. Enhanced propionic acid degradation (EPAD) system: proof of principle and feasibility[J]. Water Research, 2009, 43(13): 3239 – 3248.
- [22] 常城, 明磊强, 牟云飞, 等. 厨余垃圾与污泥厌氧发酵产甲烷的协同作用[J]. 中国环境科学, 2022, 42(3): 1259 – 1266.
- CHANG Cheng, MING Leiqiang, MOU Yunfei, et al. Synergistic effect of kitchen waste and sludge anaerobic fermentation for methane production[J]. China Environmental Science, 2022, 42(3): 1259 – 1266. (in Chinese)
- [23] AKINDELE A A, SARTAJ M. The toxicity effects of ammonia on anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste[J]. Waste Management, 2017, 71: 757 – 766.
- [24] JIA Z, YE X, LIU Y, et al. Metal-organic framework-derived porous metal oxide/graphene nanocomposites as effective adsorbents for mitigating ammonia nitrogen inhibition in high concentration anaerobic digestion of rural organic waste[J]. Fuel, 2023, 332: 126032.
- [25] 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 Rongbo, LIU Li, MENG Yan, 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. (in Chinese)
- [26] SHARMA P, MELKANIA U. Biochar-enhanced hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste using co-culture of *Enterobacter aerogenes* and *E. coli*[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2017, 42(30): 18865 – 18874.
- [27] SUNYOTO N M S, ZHU M, ZHANG Z, et al. Effect of biochar addition on hydrogen and methane production in two-phase anaerobic digestion of aqueous carbohydrates food waste[J]. Bioresource Technology, 2016, 219: 29 – 36.

[12] LEE K S, CHOI S H. Effect of geometric parameters on ventilation performance in a dry room[J]. *Drying Technology*,2002, 20(7):1445 – 1461.

[13] YUE Xiaoyu, ZHAO Jinhong, SHI Ejuan, et al. Analysis of air velocity distribution in a multilayer conveyor dryer by computational fluid dynamics[J]. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*,2007,2(2):108 – 117.

[14] AMANLOU Y, ZOMORODIAN A. Applying CFD for designing a new fruit cabinet dryer[J]. *Journal of Food Engineering*, 2010,101(1):5 – 8.

[15] 王振文,吴敏,徐新民,等. 热泵烘房结构及参数优化仿真设计[J]. *农业机械学报*,2020,51(增刊1):464 – 475.
WANG Zhenwen, WU Min, XU Xinmin, et al. Optimal simulation design of structure and parameter in heat pump drying room [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*,2020,51(Supp. 1):464 – 475. (in Chinese)

[16] 赵丹丹,彭郁,李莱,等. 枸杞热泵干燥室系统设计与应用[J]. *农业机械学报*,2016,47(增刊):359 – 365,373.
ZHAO Dandan,PENG Yu,LI Mo,et al. Design and application of wolfberry heat pump drying system[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*,2016,47(Supp.):359 – 365,373. (in Chinese)

[17] 刘瑞,董继先,王栋,等. 菊花热风烘房的流场模拟及结构优化[J]. *机械设计*,2021,38(1): 47 – 54.
LIU Rui, DONG Jixian, WANG Dong,et al. Flow-field simulation and structural optimization of the chrysanthemum hot air drying room[J]. *Journal of Machine Design*,2021, 38(1):47 – 54. (in Chinese)

[18] 刘广文. 干燥设备设计手册[M]. 北京:机械工业出版社,2009:5 – 6.

[19] 王福军. 计算流体动力学分析:CFD 软件原理与应用[M]. 北京:清华大学出版社,2004.

[20] 牟国良,张学军,史增录,等. 红枣干燥设备的流场仿真研究[J]. *甘肃农业大学学报*,2014, 49(6): 157 – 161,167.
MOU Guoliang, ZHANG Xuejun, SHI Zenglu,et al. A numerical simulation of drying equipment on jujube fruit[J]. *Journal of Gansu Agricultural University*,2014,49(6):157 – 161,167. (in Chinese)

(上接第 349 页)

[28] 陈颜. 氨氮/硫酸根对高含固厨余垃圾厌氧产甲烷效能影响及机制[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2021.
CHEN Yan. Effects of sulfate and ammonia concentrations of food waste on methane production during high solid anaerobic digestion[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2021. (in Chinese)

[29] CAI Y, ZHENG Z, WANG X. Obstacles faced by methanogenic archaea originating from substrate-driven toxicants in anaerobic digestion[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 403:123938.

[30] ZHOU X, DU Y, LIU D, et al. Enhanced bioproduction of volatile fatty acids from excess sludge by sodium alcohol ether sulphate[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 450: 138288.

[31] TIAN Z, ZHANG Y, LI Y, et al. Rapid establishment of thermophilic anaerobic microbial community during the one-step startup of thermophilic anaerobic digestion from a mesophilic digester[J]. *Water Research*, 2015, 69: 9 – 19.

[32] KURODA K, NARIHIRO T, NOBU M K, et al. Ecogenomics reveals microbial metabolic networks in a psychrophilic methanogenic bioreactor treating soy sauce production wastewater[J]. *Microbes and Environments*, 2021, 36(4): ME21045.

[33] WANG Z, LU T, LIU J, et al. Response and mechanisms of the performance and fate of antibiotic resistance genes to nano-magnetite during anaerobic digestion of swine manure[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 366:192 – 201.

[34] YANG G, WANG J, ZHANG H, et al. Applying bio-electric field of microbial fuel cell-upflow anaerobic sludge blanket reactor catalyzed blast furnace dusting ash for promoting anaerobic digestion[J]. *Water Research*, 2018, 149:215 – 224.

[35] LYU Z, WHITMAN W B. Transplanting the pathway engineering toolbox to methanogens [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 59: 46 – 54.

[36] WANG P, WANG H, QIU Y, et al. Microbial characteristics in anaerobic digestion process of food waste for methane production—a review[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 248:29 – 36.

[37] MAHDY A, BI S, SONG Y, 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.