周 曼,邓良伟,杨红男,等. 鸡粪中温干式沼气发酵启动阶段温度变化对产气性能的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(8): 1785-1792. ZHOU Man, DENG Liang-wei, YANG Hong-nan, et al. Effect of temperature changes on the performance of gas production at the start-up stage of chicken manure mesophilic temperature dry biogas fermentation[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(8): 1785-1792.

## 鸡粪中温干式沼气发酵启动阶段温度变化对 产气性能的影响

周 曼<sup>1,2</sup>,邓良伟<sup>1\*</sup>,杨红男<sup>1</sup>,刘 刈<sup>1</sup>,蒲小东<sup>1</sup>,陈子爱<sup>1</sup>,李和平<sup>2</sup>,李扬眉<sup>2</sup> (1.农业部沼气科学研究所,成都 610041; 2.四川农业大学水利水电学院,四川 雅安 625014)

摘 要:采用半连续试验研究了鸡粪中温干式沼气发酵启动阶段,温度从35℃骤降至15、20、25℃和30℃并再次恢复至35℃过程中,温度变化对产气性能的影响,以期为干式沼气发酵的启动提供科学依据。结果表明:温度变化影响启动阶段沼气产量和甲烷含量,变温期间,15、20、25、30℃和35℃最大容积沼气产率分别为0.017、0.126、0.357、0.442 L·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>和0.493 L·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>;最大原料甲烷产率分别为0.011、0.074、0.211、0.261 L CH₄・g<sup>-1</sup>VS和0.294 L CH₄・g<sup>-1</sup>VS。对比35℃恒温发酵产气性能,温度骤降至15℃和20℃条件下运行的产气能力明显小于温度骤降至25℃和30℃条件运行的产气能力。温度变化幅度越大,产气性能受影响越大,沼气发酵微生物对一定温度变化范围具有一定的适应性,足够的时间范围内可以顺利恢复。在变温发酵启动过程中,相比脱氢酶,辅酶F₄20浓度变化和甲烷产率之间具有更好的线性相关性。研究表明:鸡粪35℃中温干式沼气发酵可以顺利启动,但温度变化导致厌氧干发酵启动时间延长。辅酶F₄20可以作为反映干式沼气发酵启动阶段污泥活性变化的指标。

中图分类号:S216.4 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2018)08-1785-08 doi:10.11654/jaes.2018-0415

# Effect of temperature changes on the performance of gas production at the start-up stage of chicken manure mesophilic temperature dry biogas fermentation

ZHOU Man<sup>1,2</sup>, DENG Liang-wei<sup>1\*</sup>, YANG Hong-nan<sup>1</sup>, LIU Yi<sup>1</sup>, PU Xiao-dong<sup>1</sup>, CHEN Zi-ai<sup>1</sup>, LI He-ping<sup>2</sup>, LI Yang-mei<sup>2</sup>

(1.Biogas Institute of Ministry of Agriculture, Chengdu 610041, China; 2.College of Water Resource and Hydropower, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

**Abstract**: Semi-continuous experiments were carried out to study the effects of temperature changes on the gas production performance of mesophilic temperature dry biogas fermentation of chicken manure during the start-up phase. The temperature was decreased from 35 °C to 15, 20, 25 °C and 30 °C, and then returned to 35 °C to conduct the start-up test of semi-continuous dry biogas fermentation of chicken manure to provide a scientific basis for the start of dry biogas fermentation. The results showed that the fermentation temperature affected the biogas production yield and methane content at the start-up stage. During the temperature change stage, the maximum biogas production rates at 15, 20, 25, 30 °C, and 35 °C were 0.017, 0.126, 0.357, 0.442 L · L<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, and 0.493 L · L<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, respectively. The maximum methane production rates of raw material were 0.011, 0.074, 0.211, 0.261 L CH<sub>4</sub> · g<sup>-1</sup>VS, and 0.294 L CH<sub>4</sub> · g<sup>-1</sup>VS, respectively. Gas production performance of the 25 °C and 30 °C temperature conditions were more effective than that of the 15 °C and 20 °C temperature conditions. At start-up, gas production yield decreased significantly with temperature changes; the greater the decrease, the greater the impact. The microorganisms used for biogas fermentation had some flexibility regarding temperature changing within a certain range; performance could be success-

收稿日期:2018-03-30 录用日期:2018-06-07

作者简介:周 曼(1982—),女,吉林白城人,博士生,主要从事农业废弃物厌氧发酵技术研究。E-mail:zhouman710@qq.com

<sup>\*</sup>通信作者:邓良伟 E-mail:dengliangwei@caas.cn

基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFD0501403);国家自然科学基金项目(31572450);国家生猪技术产业体系(CARS-36-10B);中央级公益 性科研院所基本科研业务费专项(Y2018LM13)

Project supported: National Key R&D Program of China (2016YFD0501403); The National Natural Science Foundation of China (31572450); China Agriculture Research System(CARS-36-10B); Fundamental Research Funds for Central Non-profit Scientific Institution(Y2018LM13)

fully restored within enough time, but the time of start-up stage was delayed. Changes in the concentration of dehydrogenase and coenzyme  $F_{420}$  reflected the changes in sludge activity during the temperature changes. There was a better linear correlation between coenzyme  $F_{420}$  and methane yield. Our results indicated that the dry biogas fermentation of chicken manure at 35 °C could be started smoothly, and coenzyme  $F_{420}$  could be used as an indicator of sludge activity at the start-up stage of dry biogas fermentation.

Keywords: chicken manure; dry fermentation; biogas; temperature; coenzyme F<sub>420</sub>

沼气发酵技术是处理畜禽粪污的重要手段,在消 纳有机废弃物、保护环境的同时,能生产可再生能源 甲烷和有机肥,因此受到越来越广泛的关注<sup>[1-2]</sup>。

温度是影响厌氧微生物及沼气发酵过程的关键 因素。通常温度越高,微生物活性越高,相应地,沼气 发酵分为常温(15~25℃)、中温(35~37℃)、高温 (50~60℃)三个温度范围。迄今为止,大多数沼气 发酵系统在中温范围运行。在厌氧微生物生长范围 内,一般温度每升高10℃,沼气发酵反应速度增加约 一倍。当温度低于最优温度,每下降1℃,沼气发酵 速率下降11%<sup>33</sup>,如果发酵液温度突然变化超过3℃, 污泥的活性会显著降低<sup>66</sup>。具体到每种发酵原料,受 温度影响也不相同。例如,在10、15、20、25、30℃和 35 ℃温度下猪场废水沼气发酵最大容积产气率分别 是 0.071、0.271、1.173、1.948、2.196 L·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>和 2.871 L·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1[4]</sup>。可用温度活性系数(θ值)定量反映温度 对沼气发酵的影响,在15~20℃范围θ值最高为 1.332,20~25、25~30 ℃和 30~35 ℃分别为 1.043、 1.041 和 1.028<sup>[5]</sup>。

脱氢酶和辅酶 F<sub>420</sub>是产甲烷菌代谢途径两种重要 辅酶,其在微生物体内或者污泥样品内含量可以用来 衡量活性微生物量的大小以及该污泥样品对某种有 机物的降解活性。在乙酸、丙酸、乳酸和丁酸对沼气 发酵过程的胁迫作用中,脱氢酶的活性可反应活性污 泥的活性变化<sup>[7]</sup>。从不同的膜载体对牛粪厌氧发酵的 影响可看出,辅酶 F<sub>420</sub>在某种程度上可以作为产甲烷 菌数量变化的参考<sup>[8]</sup>,辅酶 F<sub>420</sub>的相对浓度与甲烷产 生速率呈线性相关,这进一步表明辅酶 F<sub>420</sub>可以表示 特定生物反应器的产甲烷活性<sup>[9]</sup>。

相对于湿式沼气发酵,干式发酵具有沼渣沼液浓 度高、数量少、容易利用等优点<sup>[10-11]</sup>。但是,干发酵过 程传质困难,随总固体(TS)浓度增加,传质能力急剧 降低,TS浓度为8%和25%发酵液的有效扩散系数 数值分别仅为水的参考值的1/50和1/185<sup>[12]</sup>。各种中 间代谢产物和微生物的交流受到严重限制,加剧氨 抑制和脂肪酸积累,从而进一步使微生物活性受到 抑制。猪粪湿式和干式沼气发酵都可以顺利启动并 良好运行<sup>[13-14]</sup>,但鸡粪比牛粪、餐厨废弃物、猪粪和活 性污泥都有更高的氮含量<sup>[15]</sup>,一般采用湿式沼气发 酵,进料TS为8.93%,早期总氨氮(TAN)浓度低于 5000 mg·L<sup>-1</sup>,原料沼气产气率为0.35~0.4 L· g<sup>-1</sup>VS<sub>added</sub>,但随发酵进行,TAN浓度增加,沼气产量降 低<sup>[16]</sup>,因为随温度增加,游离氨浓度增加,导致氨氮抑 制加重,使得沼气产量减少。鸡粪干式沼气发酵很多 尝试都最终失败<sup>[17]</sup>。鉴于此,本文研究了鸡粪中温沼 气干发酵的启动,并考察了启动阶段温度变化对产气 性能的影响,通过分析发酵过程中产气率、总氨氮、挥 发性脂肪酸、脱氢酶活性和辅酶F420浓度变化反映污 泥活性,以期为鸡粪沼气发酵工程的启动提供科学参 考。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 试验材料

鸡粪取自四川省雅安市某规模蛋鸡场,取回当日 新鲜鸡粪置于4℃冰箱冷藏备用。接种污泥取自四 川省某规模猪场正常运行的废水处理沼气工程,取回 后35℃水浴培养至无残余产气备用。底物和接种污 泥理化指标见表1。

#### 1.2 试验装置

干式沼气发酵试验装置为具有三通出口的玻璃瓶,总容积2500 mL(有效容积1600 mL),用带有进料管、出料管和排气管的橡皮塞密封(图1)。集气瓶为总容积为2500 mL玻璃瓶,用带有进气管和排水管的橡皮塞密封,沼气发酵瓶和集气瓶通过橡皮管连接。测量集气瓶排出水的容积,即为沼气产量。

#### 1.3 试验设计

试验采用污泥全接种,即将1600 mL厌氧污泥装 入沼气发酵瓶。反应器设计容积负荷为1.1 g TS· L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,进料TS浓度为22.09%,水力停留时间为160 d。即每日进料10 mL,进料之前先排出发酵残余物 10 mL。共5组反应器,每组2个重复。

初始5组反应器均设置在35℃水浴连续培养,待 出料pH、出料COD、日产气量稳定后,将其中4组反 应器分别转移至15、20、25℃和30℃条件下进行水浴

Table 1 Characteristics of substrates and inoculum sludge		
指标Parameters	接种物 Inoculum	鸡粪 Chicken manure
总固体TS/%(湿基)	10.14±0.03	22.09±0.17
挥发性固体VS/%(湿基)	5.78±0.02	16.83±0.14
挥发性固体占总固体质量分数 (VS/TS)/%	59.03±0.32	76.49±0.85
pH值	7.21±0.01	7.95±0.02
挥发性脂肪酸VFAs/g HAc·L <sup>-1</sup>	0.27±0.02	1.44±0.08
总凯氏氮 TKN/g·L <sup>-1</sup>	1.33±0.05	10.23±0.54
总氨氮TAN/g·L <sup>-1</sup>	$0.42 \pm 0.05$	7.89±0.37
游离氨FA/g·L <sup>-1</sup>	0.33±0.01	7.21+0.14
化学需氧量CODs/g·L <sup>-1</sup>	22.11±0.74	93.21±0.69

表1 底物和污泥的基本性质

注:数值表示平均值(n=3)±标准偏差(SD)。

Notes: Data are mean values  $(n=3) \pm \text{standard deviation}(SD)$ .



Biogas outlet tube, A-4: Water bath); B:Gas collection bottle(B-1: Water outlet tube); C: Measuring cylinder

#### 图1 沼气发酵装置示意图

Figure 1 Diagrammatic sketch of anaerobic reactor

培养,待降温处理一段时间后,再次将4个降温处理 组反应器升温恢复至35℃培养条件。35℃温度处理 组反应器为对照,始终保持发酵温度不变。整个试验 过程中每日测沼气产量和甲烷含量,每隔2d测TAN、 VFAs、脱氢酶活性和辅酶F420浓度。试验开始前测定 接种污泥化学成分为C11.91H5.02O1.69NS0.18,鸡粪化学成 分为C16.05H29.35O3.060。

## 1.4 分析方法

TS、VS测定采用重量法;pH值测定采用pHS-3C+酸度计;TAN测定采用纳氏试剂分光光度法(HJ 535—2009);TKN测定采用硫酸-过氧化氢消解-凯 氏定氮法;VFAs成分测定采用气相色谱仪 Aglient 7820A GC火焰监测器(Agilent Technologies,USA);沼 气成分测定采用沼气成分分析仪(BIOGAS 5000, Geotech,UK);元素分析测定采用元素分析仪(CE Instruments, Milano, Italy);脱氢酶活性测定以2-3-5triphenyltetrazolium chloride(TTC)为底物,经脱氢酶 催化还原反应后生成红色产物TTCH2-trifenylformazane(TF),颜色的深浅反映脱氢酶活性的高低<sup>[18]</sup>;辅 酶 F<sub>420</sub>测定采用紫外分光光度法<sup>[19]</sup>。FA 由公式(1)计 算<sup>[20]</sup>:

$$\frac{[\text{NH}_3]}{[\text{TAN}]} = \left[1 + \frac{10^{-\text{pH}}}{10^{-(0.090\,18 + \frac{2729.92}{T})}}\right]^{-1}$$
(1)

式中: $[NH_3]$ 为游离氨含量, $mg \cdot L^{-1}$ ;[TAN]为总氨态氮 含量, $mg \cdot L^{-1}$ ;T为发酵料液的温度,K。

## 2 结果与讨论

### 2.1 温度变化对发酵运行的影响

在厌氧生态系统中,产甲烷菌对温度波动比较敏 感,发酵液温度改变会导致污泥活性发生改变,产气 也随之变化。如图2所示,5组厌氧反应器首先同时 干35℃温度下启动运行,使用水浴锅维持发酵温度, 每日进出料,进料TS浓度为22.09%,进料负荷为1.1 g TS·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,容积产气率逐渐稳定在0.459~0.510 L·  $L^{-1} \cdot d^{-1}$ 之间。运行至第6d后,温度突然下降至30、 25、20 ℃和15 ℃时,相比35 ℃温度处理组,30、25 ℃ 和 20 ℃温度处理组的容积产气率分别降低 27.2%、 73.4% 和95.3%, 随后产气量逐渐小幅上升。15℃温 度处理组发生产气停滞现象,超过10d才恢复产气。 各温度处理组在各自温度条件下运行12d,第18d温 度骤升恢复至35℃,15℃温度处理组产气量发生短 暂停滞,20、25℃和30℃温度处理组产气量发生小幅 降低,之后皆出现产气上升的现象,25℃和30℃最早 恢复到与35℃对照组产气相当的状态,15℃和20℃ 产气量逐渐提升,最终在近10d时也基本恢复到与 35 ℃对照组相当的产气量。15 ℃和20 ℃产气恢复较 慢原因主要是由于低温运行时快速积累了较高的 VFAs(图3)。整个发酵过程中,对总VFAs构成中乙 酸、丙酸和丁酸含量分析发现,乙酸始终占总VFAs中 绝对比例,对总酸大量积累有最大贡献。脂肪酸大于 4000 mg·L<sup>-1</sup>时发酵过程发生抑制<sup>[21]</sup>,在恢复到35 ℃ 时,15℃和20℃温度处理组 VFAs 浓度分别达到 5829 mg·L<sup>-1</sup>和7465 mg·L<sup>-1</sup>,远超过了抑制阈值,因此 需经历更长时间降解积累中间产物,故导致产气率降 低,随VFAs浓度降低,产气逐渐得以恢复。变温处理



图 2 容积产气率和甲烷产率的变化





Figure 3 Variations of total volatile acid

期间,各温度处理组TAN浓度在2700~3200 mg·L<sup>-1</sup> 之间(图4),35 ℃温度处理组FA浓度最高为170 mg· L<sup>-1</sup>。FA的抑制阈值为1100 mg·L<sup>-1</sup>(对应TAN为 3400 mg·L<sup>-1</sup>),低于此浓度,比增长速率基本保持不 变<sup>[21]</sup>。此过程TAN浓度在抑制阈值之下,FA浓度远 低于抑制阈值。

试验结果说明在鸡粪干发酵启动阶段,因为运行 时间不长,TAN尚未达到抑制产气浓度,产气效果主 要受温度影响。甲烷微生物对温度变化非常敏感,尤 其突然降低温度使沼气发酵微生物活性受限,微生物 的生长和代谢随之降低,继而导致中间代谢产物如 VFAs积累,产气能力降低。因此,为了保持厌氧反应 器高效稳定的产气性能,保持适宜、稳定的温度尤为 重要。试验中较大幅度的温度变化,并没有对反应器 造成持续恶劣的影响,重新恢复到35℃时,经历一定 时间,各温度变化组最终产气量均恢复到与35℃产 气量相当水平。这说明沼气发酵微生物对一定温度 变化范围波动具有一定的适应性,足够的时间范围内 可以顺利恢复。

2.2 温度变化对沼气产量和甲烷含量的影响

沼气产量和甲烷含量是评价沼气工程发酵效果 的重要指标,而原料的化学成分决定了潜在沼气产量 和气体成分。已知原料的化学成分可以评估理论甲 烷产量。

 $C_{a}H_{a}O_{b}N_{c}S_{d}+[A]H_{2}O \rightarrow [B]CO_{2}+[C]CH_{4}+cNH_{3}+dH_{2}S$ (2)

$$||A|| = \left(n - \frac{a}{2} - \frac{b}{2} + \frac{3c}{4} + \frac{d}{2}\right)$$

$$[B] = \left(\frac{n}{2} - \frac{a}{8} + \frac{b}{4} + \frac{3c}{8} + \frac{d}{4}\right)$$

$$[C] = \left(\frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4} - \frac{3c}{8} - \frac{d}{4}\right)$$

$$CH_4(\text{STP}, \text{mL} \cdot \text{g}^{-1}\text{VS}) = CH_4(T^{\circ}\text{C}, \text{mL} \cdot \text{gVS}^{-1}) \times$$

$$\frac{27}{273 + T} \times \frac{760 - P}{760}$$
(3)

式中:T为温度,℃;P为气压,mmHg(1 mmHg= 0.1333kPa)。

本研究底物鸡粪的化学成分为 $C_{16.05}H_{29.35}O_{3.06}NS_{0.06}$ , 在标准温度和气压下(STP,0 °C、760 mmHg),由公式 (2),可计算得到理论原料沼气产率和原料甲烷产率, 分别为1.42 L Biogas·g<sup>-1</sup>VS和0.85 L CH<sub>4</sub>·g<sup>-1</sup>VS,理论 甲烷含量60.0%。如图2所示第(II)阶段,温度骤降, 不同温度处理组产气性能受到不同程度影响。15、 20、25、30 °C和35 °C温度处理组最大原料甲烷产率分 别为0.011、0.074、0.211、0.261 L CH<sub>4</sub>·g<sup>-1</sup>VS和0.294 L CH<sub>4</sub>·g<sup>-1</sup>VS。35 °C温度处理组产气率最高,但也仅为 理论值的35%。实际值较理论值偏低,主要原因是底



物降解不完全。一方面底物中含有一部分难降解有 机物,这部分有机物未降解。另一方面,底物可利用 有机物转化不完全,未转化或未转化为沼气底物排出 反应器。

容积产气率是沼气工程设计和投资核算的基础 参数。变温处理期间,15、20、25、30℃和35℃温度处 理组最大容积沼气产气率分别为0.017、0.126、0.357、 0.442 L·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>和0.493 L·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。35℃温度处理组最 大容积沼气产气率最高。容积产气率不随温度而线性 增加可能是由微生物对底物的饱和程度决定的<sup>[5]</sup>。

由公式(3)计算可得,忽略水蒸汽气压的影响,不 同温度下不同干燥气体理论产率和实际产率差异不 大。变温处理过程中,沼气成分发生变化,随温度增 加,甲烷含量增加。35、30、25、20℃和15℃温度处理 组的平均甲烷含量分别为60%、59%、57%、53%和 50%。15℃和20℃的甲烷含量要明显低于25~ 35℃,说明低温条件VFAs积累,造成酸化,酸化细菌 活性相对较高,产甲烷细菌活性降低,产甲烷阶段比 产酸阶段受到更大影响,产甲烷菌对低温更敏感。

变温过程中,不同温度条件下产气性能的差异可 能是由于微生物群落结构和活性随温度梯度的变化

而急剧变化,相应的导致了消化性能的变化,即甲烷 产量、VFAs浓度等发生变化。对于温度变化造成的 影响并未见较多报道,有学者研究了猪粪湿发酵反应 器从35℃降低至30℃,并再次恢复到32℃两个温度 脉冲过程,原料甲烷产率均有所降低,但较快恢复到 和35℃相当的产气率,结果并未造成较大的影响<sup>[22]</sup>。 Lin 等<sup>[23]</sup>研究了在不同温度下微生物基因表达和沼气 生产的关系,每日甲烷产量和总产气量随温度(25、 35、45 ℃和50 ℃)升高而增加。微生物调节的温度影 响厌氧消化系统性能,其运行机制还不甚清楚。一种 可能是由于通过增加微生物群落的α多样性和提供 更多功能途径的潜在相关活动和代谢网络的活动,并 增加微生物群落整个活动,尤其是产甲烷活动,从而 提高厌氧消化过程的力量和效率[23]。另一种可能通 过减少功能性途径的多样性( $\alpha$ 多样性相反),但提高 中心功能的途径,使大部分细胞的活动和资源投资 于甲烷及相关途径,提高转换效率[24]。本试验变温处 理时间短,主要考察由于温度变化造成的影响,各温 度处理组也可能尚未达到各自温度条件下的稳定运 行状态,对于不同温度条件对厌氧于发酵产气性能的 长期影响需要更多试验研究。

#### 2.3 酶活对产气特性的反应

脱氢酶作为一种胞内酶与细胞内的氧化磷酸化 过程紧密相关,是反映沼气发酵体系中微生物活性的 一个重要指标<sup>[25-26]</sup>。由图 5a 可以看出,与 35 ℃时相 比,温度骤降为 15、20、25 ℃和 30 ℃的酶活分别降低 了 65.52%、50.63%、42.53%和 36.78%。各温度处理 组在稳定运行时,随温度降低,脱氢酶也呈现较低的 活性,第 12 d,15、20、25、30 ℃和 35 ℃的酶活性分别 为 45.36、79.2、158.4、365.2 TF  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>和 383.2 TF  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>。运行至第 18 d,温度再次升高,酶活 力逐渐上升,试验运行至第 30 d 到第 40 d,各温度处 理组间酶活性差异不显著(*P*>0.05)(图6)。

在厌氧消化产甲烷的代谢途径中有两类重要的 辅酶,一是作为甲基载体的辅酶,二是作为电子载体 的辅酶。辅酶  $F_{420}$ 属于后者,是产甲烷菌特有的辅酶, 其浓度可以反映厌氧颗粒污泥产甲烷的活性<sup>[9]</sup>。由图 5b 可以看出,与 35 ℃时相比,温度骤降为 15、20、 25 ℃和 30 ℃时  $F_{420}$ 酶活分别降低了 89.10%、79.15%、 71.56% 和 29.86%。随温度降低,各温度处理组辅酶  $F_{420}$ 也呈现较低的活性,第 12 d, 15、20、25、30 ℃和 35 ℃的酶活性分别为 0.16、0.34、1.11、1.77  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup> 和 1.89  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup>。运行至第 18 d,温度再次升高,酶



图5 脱氢酶活性和辅酶F420浓度变化

Figure 5 Variations of dehydrogenase activity and F420 concentrations



Figure 6 The linear correlation of dehydrogenase activity and  $F_{420}$  concentrations with methane yield

活力逐渐上升,试验运行至第30d到第40d,对各温度处理组间酶活性差异不显著(P>0.05)(图6)。

也有研究表明辅酶 F<sub>420</sub>作为厌氧活性污泥指标可 能是不可行的<sup>[19]</sup>,即在同种污泥的不同时期,辅酶 F<sub>420</sub> 的含量与最大甲烷产率之间存在着一定的正相关,但 不为线性相关。在本试验中辅酶 F<sub>420</sub>相对浓度与甲烷 产率呈现一定的线性相关性的原因一种可能是由于 同种污泥的不同运行时期,产甲烷菌的种类及其各自 所占的比例不同,而导致不同的甲烷菌中辅酶 F<sub>420</sub>的 含量不同;另一种可能是辅酶 F<sub>420</sub>作为产甲烷菌所特 有的辅酶<sup>[27]</sup>,其活性变化与蛋白质含量呈线性相 关<sup>[19]</sup>,且一般认为辅酶 F<sub>420</sub>是由嗜氢产甲烷菌分泌 的<sup>[28]</sup>。鸡粪中未降解蛋白质含量较高,其沼气发酵过 程中以耐受氨氮的嗜氢甲烷菌为主导<sup>[16]</sup>,故而呈现更 为敏感的变化。

## 3 结论

(1)采用污泥全接种方式,35℃鸡粪中温干式沼 气发酵可以顺利启动,挥发酸没有达到抑制浓度,氨 氮也尚未达到抑制水平,温度是影响产气性能的主要 因素。

(2)沼气发酵微生物对温度变化敏感。鸡粪中温 干式沼气发酵启动过程中,温度变化会导致产气量降低,较低温度条件下VFAs快速大量积累,对产气影响 较大。沼气发酵微生物对一定范围的温度变化具有 一定的适应性,足够的时间内可以顺利恢复,但温度 变化导致厌氧干发酵启动时间延长。

(3)相比脱氢酶,辅酶F420的活性变化与甲烷产率 变化趋势更相似,有更好的线性拟合关系,能反映鸡 粪中温干式沼气发酵启动过程中产气性能的变化,可 作为厌氧干发酵启动阶段或进行变温管理中监测污 泥活性的指标。

#### 参考文献:

- Khalid A, Arshad M, Anjum M, et al. The anaerobic digestion of solid organic waste[J]. Waste Management, 2011, 31(8):1737-1744.
- [2] Hansen K H, Angelidaki I, Ahring B K. Improving thermophilic anaerobic digestion of swine manure[J]. Water Research, 1999, 33(8):1805– 1810.
- [3] 邓良伟. 沼气工程[M]. 北京:科学出版社, 2015:58-59.
   DENG Liang-wei. Biogas engineering[M]. Beijing: Science Press, 2015: 58-59.
- [4] 杨红男, 邓良伟. 不同温度和有机负荷下猪场粪污沼气发酵产气性能[J]. 中国沼气, 2016, 34(3): 36-43.

YANG Hong-nan, DENG Liang-wei. The biogas production performance of anaerobic digestion of swine wastewater under different organic loading rate and temperatures[J]. China Biogas, 2016, 34(3): 36-43.

- [5] Deng L W, Yang H N, Liu G J, et al. Kinetics of temperature effects and its significance to the heating strategy for anaerobic digestion of swine wastewater[J]. Applied Energy, 2014, 134:349-355.
- [6] 李磊磊, 郭 勇, 秦娜娜, 等. 沼气伴热研究进展[J]. 环境工程, 2011, 29(4):125-129.
  LI Lei-lei, GUO Yong, QIN Na-na, et al. Progress in research on the biogas heating[J]. *Environmental Engineering*, 2011, 29(4):125-129.
- [7] 黄振兴,严 群, 阮文权, 等. 有机酸胁迫下厌氧污泥产氢效果[J]. 微生物学通报, 2010, 37(4):529-533.
  HUANG Zhen-xing, YAN Qun, RUAN Wen-quan, et al. Effect of organic acids stress on biohydrogen production by anaerobic granular sludge[J]. *Microbiology China*, 2010, 37(4):529-533.
- [8] 李 杰, 李文哲, 许洪伟, 等. 牛粪湿法厌氧消化规律及载体影响的研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(3):186-191.
  LI Jie, LI Wen-zhe, XU Hong-wei, et al. Rules of anaerobic digestion of cow manure by wet method and the effect of carriers[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2007, 23(3):186-191.
- [9] 李卫华, 盛国平, 陆 锐, 等. 厌氧产甲烷受抑制过程的三维荧光光 谱解析[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(8):2131-2135.
  LI Wei-hua, SHENG Guo-ping, LU Rui, et al. Analysis of the EEM fluorescence spectra of effluent from anaerobic methane reactor during the inhibition process[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2011, 31 (8):2131-2135.
- [10] Kothari R, Pandey A K, Kumar S, et al. Different aspects of dry anaerobic digestion for bio-energy: An overview[J]. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2014, 39(6):174-195.
- [11] 王 明, 李文哲, 殷丽丽, 等. 高固体含量进料提高餐厨废弃物连续厌氧发酵性能[J]. 农业工程学报, 2015, 31(3):283-287.
  WANG Ming, LI Wen-zhe, YIN Li-li, et al. High solid concentration feedstock improving performance of continuous anaerobic digestion of food waste[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015, 31(3):283-287.
- [12] Bollon J, Benbelkacem H, Gourdon R, et al. Measurement of diffusion coefficients in dry anaerobic digestion media[J]. *Chemical Engineering Science*, 2013, 89(4):115–119.
- [13] 刘刚金, 邓良伟, 陈子爱, 等. 常温条件下猪粪干发酵的启动[J]. 中国沼气, 2013, 31(3):18-22.
  LIU Gang-jin, DENG Liang-wei, CHEN Zi-ai, et al. Start up of dry anaerobic digestion of swine manure under ambient temperature[J]. *China Biogas*, 2013, 31(3):18-22.
- [14] 王 明, 赵胜雪, 李旭荣, 等. 猪粪中温半干法连续厌氧发酵产气 性能[J]. 农业工程学报, 2018, 34(1):204-209.
  WANG Ming, ZHAO Sheng-xue, LI Xu-rong, et al. Biogas production performance of swine manure by mesophilic semi-dry continuous anaerobic digestion[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2018, 34(1):204-209.
- [15] Qiao W, Yan X, Ye J, et al. Evaluation of biogas production from different biomass wastes with/without hydrothermal pretreatment[J]. *Renewable Energy*, 2011, 36(12):3313-3318.
- [16] Niu Q G, Qiao W, Qiang H, et al. Mesophilic methane fermentation of chicken manure at a wide range of ammonia concentration: Stability, inhibition and recovery[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 137 (11): 358-367.
- [17] Gallert C, Winter J. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of source-sorted organic wastes: Effect of ammonia on glucose degra-

dation and methane production[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 1997, 48(3):405-410.

[18] 张洪宾,谷 洁,孙 薇,等.不同原料配比对厌氧发酵过程中产
 气量 VFA 和脱氢酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31
 (2):422-427.

ZHANG Hong-bin, GU Jie, SUN Wei, et al. Effects of different rations of materials on biogas production, VFA and the activity of dehedrogenase during anaerobic process[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(2):422-427.

- [19] 唐 一, 胡纪萃. 辅酶 F<sub>420</sub>作为厌氧污泥活性指标的研究[J]. 中国 沼气, 1990, 8(1):11-15.
   TANG Yi, HU Ji-cui. Studies on the use of coenzyme F<sub>420</sub> as a parameter for anaerobic sludge activity[J]. *China Biogas*, 1990, 8(1):11-15.
- [20] Hansen K H, Angelidaki I, Ahring B K. Anaerobic digestion of swine manure: Inhibition by ammonia[J]. Water Research, 1998, 32(1):5-12.
- [21] 勒系意,黄运红,任雨涵,等.梯度有机负荷下农业废弃物厌氧发 酵特性及微生物群落[J].农业工程学报,2017,33(17):239-247. LE Xi-yi, HUANG Yun-hong, REN Yu-han, et al. Anaerobic digestion characteristics and microbial structure of agricultural wastes under gradient organic loadings[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2017, 33(17):239-247.
- [22] Chae K J, Jang A, Yim S K, et al. The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99 (1):1–6.

[23] Lin Q, De V J, Li J, et al. Temperature affects microbial abundance, activity and interactions in anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technol*ogy, 2016, 209:228-236.

农业环境科学学报 第37卷第8期

- [24] Lin Q, Vrieze J D, He G, et al. Temperature regulates methane production through the function centralization of microbial community in anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 216:150–158.
- [25] Yang H W, Jiang Z P, Shi S Q, et al. INT-dehydrogenase activity test for assessing anaerobic biodegradability of organic compounds[J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 2002, 53(3):416-421.
- [26] Mosher J J, Levison B S, Johnston C G. A simplified dehydrogenase enzyme assay in contaminated sediment using 2-(p-lodophenyl)-3 (p-nitrophenyl)-5-phenyl tetrazolium chloride[J]. Journal of Microbiological Methods, 2003, 53(3):411-415.
- [27] Dolfing J, Mulder J W. Comparison of methane production rate and coenzyme F<sub>420</sub> content of methanogenic consortia in anaerobic granular sludge[J]. Applied & Environmental Microbiology, 1985, 49(5):1142– 1145.
- [28] Reynolds P J, Colleran E. Evaluation and improvement of methods for coenzyme F<sub>420</sub> analysis in anaerobic sludges[J]. *Journal of Microbiologi*cal Methods, 1987, 7(2/3):115–130.
- [29] 程国玲,李巧燕,李永峰.产甲烷菌细菌学原理与应用[M].哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2013:44-47.
  CHENG Guo-ling, LI Qiao-yan, LI Yong-feng. Bacteriology principle and application of methanogenic bacteria[M]. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2013:44-47.