

接种比对猪粪中温条件产甲烷潜力的影响

马文林, 王安吉

引用本文:

马文林, 王安吉. 接种比对猪粪中温条件产甲烷潜力的影响[J]. [农业环境科学学报](#), 2023, 42(8): 1860–1869.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1019>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

三种添加剂对猪粪厌氧干发酵的影响

李丹妮, 张克强, 梁军锋, 高文萱, 孔德望, 杜连柱

农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1777–1785 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0587>

猪粪厌氧发酵消化液回流体系微生物群落结构特征与产气关系研究

孔德望, 张克强, 房芳, 高文萱, 梁军锋, 梁雨, 杜连柱

农业环境科学学报. 2018, 37(3): 559–566 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1241>

pH调控对瘤胃液接种稻秸厌氧消化中水解菌及产甲烷菌的影响

邓玉营, 阮文权, 郁莉, 黄一波

农业环境科学学报. 2018, 37(4): 813–819 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1599>

不同加入方式下金霉素对猪场污水厌氧消化系统的影响

曹俊超, 王小庆, 马保华, 邹永德, 廖新倮, 庞燕玲, 吴银宝

农业环境科学学报. 2019, 38(3): 680–687 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0555>

碱预处理稻秆与猪粪混合厌氧发酵特性研究

付嘉琦, 夏嵩, 陈小平, 付尹宣, 晏恒, 吴九九

农业环境科学学报. 2018, 37(6): 1255–1261 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1498>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

马文林, 王安吉. 接种比对猪粪中温条件产甲烷潜力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(8): 1860-1869.

MA W L, WANG A J. Effects of inoculation ratios on the biochemical methane potential of pig manure under mesophilic conditions[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(8): 1860-1869.

接种比对猪粪中温条件产甲烷潜力的影响

马文林^{1,2}, 王安吉²

(1.北京建筑大学,北京应对气候变化研究和人才培养基地,北京 102616; 2.北京建筑大学,环境与能源工程学院,北京 102616)

摘要:为探究不同接种比对猪粪中温产甲烷潜力(BMP)的影响,在(35.0±0.5)℃和3%初始挥发性固体(VS)浓度条件下分别按照猪粪与接种液比例为1:2、1:1和2:1的接种比开展猪粪中温BMP实验,实验期间对各反应瓶的日甲烷产生量和发酵液上清液的pH、氨氮、总氮、葡萄糖等理化指标进行连续监测,并在反应结束后对不同接种比实验体系的微生物群落进行16SV4测序。各处理组甲烷产生量均为标准状况(1个标准大气压,0℃)体积。结果表明:累积甲烷产量和最大日甲烷产生量都与猪粪接种比呈显著正相关关系($P<0.05$),但不同接种比例下猪粪BMP(以VS计)无显著差异($P>0.05$)。在1:2、1:1和2:1三种接种比例下猪粪的BMP分别为(252.05±5.12)、(250.07±16.57)mL·g⁻¹和(249.65±13.69)mL·g⁻¹,其均值为(250.59±1.28)mL·g⁻¹;在微生物群落中,厚壁菌门、拟杆菌门与Cloacimonadota是猪粪厌氧消化系统中相对丰度最高的三类细菌,Halobacterota在产甲烷古菌中占绝对优势,变形菌门和Methanobacterium相对丰度的下降水平与接种比呈负相关关系。修正的Gompertz模型较Logistic模型更适合中温条件下猪粪的厌氧消化动力学分析。研究表明,在中温[(35.0±0.5)℃]和3%初始VS条件下,不同接种比的猪粪BMP值无显著差异($P>0.05$),从缩短BMP测试时间、提高效率考虑,建议猪粪BMP测试的接种比选取1:2。

关键词:厌氧消化;猪粪;接种比;产甲烷潜力;中温条件

中图分类号:X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)08-1860-10 doi:10.11654/jaes.2022-1019

Effects of inoculation ratios on the biochemical methane potential of pig manure under mesophilic conditions

MA Wenlin^{1,2}, WANG Anji²

(1. Beijing Climate Change Response Research and Education Center, Beijing University of Civil Engineering and Architecture, Beijing 102616, China; 2. School of Environment and Energy Engineering, Beijing University of Civil Engineering and Architecture, Beijing 102616, China)

Abstract: This study aimed to explore the effects of different inoculation ratios on the biochemical methane potential (BMP) of pig manure under mesophilic conditions. BMP experiments were conducted at (35.0±0.5)℃ and 3% of the initial volatile solids (VS) concentration at the ratios of pig manure to inoculum solution of 1:2, 1:1 and 2:1, respectively. During the experiment, the methane productions of each test were monitored daily, and the physical and chemical indices of the supernatant of fermentation liquid, such as pH, ammonia nitrogen, total nitrogen, and glucose, were measured once every two to three days. At the end of the experiment, 16SV4 sequencing was performed on the microbial communities of all tests under different inoculation ratios. Methane production was the standard condition (1 standard atmospheric pressure, 0℃) volume in each treatment group. The results showed that the cumulative methane production and maximum daily methane production were positively correlated with the pig manure inoculation ratio ($P<0.05$); however, there was no significant

收稿日期:2022-10-12 录用日期:2023-04-25

作者简介:马文林(1968—),女,山西晋中人,博士,教授,从事温室气体排放与减排评估技术研究。E-mail:mawenlin1130@126.com

基金项目:“十三五”国家重点研发计划课题(2017YFF0211703);现代农业产业技术体系北京市生态循环与低碳发展创新团队项目(BAIC08-2022-SYZ04)

Project supported: The National Key Research and Development Program During the 13th Five-Year Plan Period of China (2017YFF0211703); Modern Agricultural Industry Technology System Beijing Ecological Recycling and Low Carbon Development Innovation Team (BAIC08-2022-SYZ04)

difference in the BMP(calculated by VS) of pig manure under different inoculation ratios($P>0.05$). The BMPs of pig manure were(252.05 ± 5.12), (250.07 ± 16.57) $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, and(249.65 ± 13.69) $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ at inoculation ratios of 1:2, 1:1, and 2:1, respectively. The mean BMP was calculated as(250.59 ± 1.28) $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$. Firmicutes, Bacteroides, and Cloacimonadota were the three types of bacteria with the highest relative abundance in the anaerobic digestion system of pig manure. Halobacterota dominated the methanogenic archaea. The decreasing relative abundance levels of Proteobacteria and *Methanobacterium* were negatively correlated with the inoculation ratio. The modified Gompertz model was more suitable than the Logistic model for anaerobic digestion kinetics analysis of pig manure under mesophilic conditions. In conclusion, there was no significant difference in BMP values of pig manure with different inoculation ratios under mesophilic conditions [35.0 ± 0.5] °C and initial VS level(3%). Selecting the inoculation ratio of 1:2 for the BMP test of pig manure is recommended to shorten its measurement time and improve its working efficiency.

Keywords: anaerobic digestion; pig manure; inoculation ratio; biochemical methane potential; mesophilic condition

为减缓气候变化,《巴黎协定》确定了到2100年末将全球平均气温升幅控制在不超过工业化前水平2 °C的升温目标,并努力限制在1.5 °C之内^[1]。甲烷对于全球升温的影响作用,在所有温室气体种类中排位第二,仅次于二氧化碳。联合国粮农组织统计表明,2020年我国因畜禽粪便管理引起的甲烷排放占我国农业活动甲烷排放总量的8.42%^[2]。因此,畜禽粪污管理导致的甲烷排放量对全球升温有不可忽视的潜在负面影响,需要采取适当的管理策略^[3]。我国是全球生猪饲养量最大的国家,Li等^[4]的研究得出一头猪在其畜牧生命周期内因粪便管理产生1.34 kg甲烷排放量,准确评价我国猪粪管理的甲烷排放量,既利于明确我国在全球温室气体排放管理中的责任担当,也利于摸清家底,更有针对性地制定猪粪管理甲烷减排措施,为我国农业领域乃至全国实现碳中和提供科技支持。

IPCC《国家温室气体清单指南》给出了畜禽粪便管理甲烷排放量的计算方法,即粪便管理甲烷排放量等于活动数据[以粪便中挥发性固体(VS)质量计的粪便量]乘以排放因子(每单位质量粪便VS的甲烷排放质量)。最大产甲烷能力(B_0)是估算甲烷排放因子的关键参数^[5],IPCC《国家温室气体清单指南》针对全球各大洲给出了猪粪便管理 B_0 缺省值(以VS计),亚洲地区为 $0.29\text{ m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$,使用亚洲水平的缺省值评估我国猪粪管理甲烷排放情况,估算结果会有较高的不确定性。

产甲烷潜力(Biochemical methane potential, BMP)可用于评估有机物的产甲烷活性^[6-7],它是直接获取 B_0 值的常用实验方法。但BMP测试具有条件复杂和周期长等特点^[8-9],且至今无统一的测试方法,这在很大程度上影响了BMP值测试结果的准确性和可比性。刘翌晨等^[10]研究得出,不同生长期猪粪的BMP

(以VS计)有显著不同,妊娠母猪($230\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$)显著低于保育猪($273\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$)与生长猪($272\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$);徐文倩等^[11]于37 °C中温条件下得出猪粪的BMP(以VS计)为 $0.38\text{ m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$;杨紫怡^[12]以污水处理厂污泥为接种物在37 °C中温条件下得出猪粪的BMP为 $427\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$;Wang等^[13]研究了中温条件下预热处理对猪粪BMP的影响;张丹志等^[14]分析了猪粪厌氧发酵有机酸代谢与微生物的相关性;王思淇等^[15]研究了猪粪厌氧发酵过程中挥发性脂肪酸对微生物群落的影响。以上研究表明,不同学者采用不同方法或不同来源接种液对不同猪粪进行BMP和相关指标的分析,得出的测试结果存在较大差异,这将影响到 B_0 值和甲烷排放量估算结果的准确性,有可能加大粪便管理甲烷排放量和减排项目减排量估算的误差,导致误判粪便管理甲烷减排潜力。因此,为使不同研究者得出的BMP具有可比性,取得符合我国实际排放水平的猪粪管理 B_0 值,有必要尽早制定规范统一的BMP测试方法。

根据BMP测试方法可知,测试温度、接种液微生物活性、底物与接种液比例、甲烷气体计量方法等多方面因素都可能影响BMP测试结果。本研究选取有机物厌氧反应最普遍使用的中温条件(35 °C)、以微晶纤维素为参照物表征接种液微生物活性、利用能够对甲烷气体体积自动计量并进行标准状态换算的全自动产甲烷潜力仪,研究不同底物与接种液比例对猪粪BMP的影响,以期提出猪粪BMP统一测试方法提供科学依据。该方法的提出,对降低猪粪管理甲烷排放量核算结果不确定性至关重要。同时,本研究还对不同接种比反应系统的产甲烷过程中消化液的理化指标进行连续监测,并对反应结束后的微生物群落进行分析,以探索接种比对猪粪产甲烷过程中的理化指标变化规律和微生物菌群特征的影响,为开展相关

机理分析提供参考借鉴。

1 材料与方法

1.1 样品来源与处理

本实验所用猪粪样品采集于北京市东部郊区某规模化养殖场的母猪舍。该养殖场总存栏量1 055头,包括仔猪380头、育肥生长猪570头和母猪105头,猪舍采用干清粪方式。从母猪舍漏缝地板采集鲜母猪粪样品,样品于实验室内35℃下进行风干处理,除杂后研磨过40目筛备用。

本实验以猪粪为底物,以北京市北部某规模养殖场沼气工程(2个容积为50 m³的沼气发酵罐)排放的沼液为接种液。在实验室内对沼液进行除杂处理,并于35℃环境下进行为期1个月的培养后备用。

在实验开始前分别用燃烧法测定接种液与猪粪的总固体(TS)和灰分含量(以质量计),计算得到其VS值,样品TS、VS与灰分值见表1。

表1 接种液与猪粪的TS、VS与灰分值(%)

Table 1 TS, VS and ash values of inoculum and pig manure (%)

指标 Index	接种液 Inoculum	猪粪 Pig manure
TS	6.03±0.03	87.99±1.74
VS	3.23±0.01	64.79±1.96
灰分	2.81±0.02	23.20±0.26

1.2 实验装置

本研究利用系统 I (AMPTS-II, 碧普)和系统 II (MultiTalent 203, 碧臣)两套全自动甲烷潜力测试装置进行猪粪中温厌氧发酵实验,如图1所示,系统 I 和系统 II 的反应瓶反应体积分别为0.4 L和1.6 L。各系统均由厌氧消化单元、二氧化碳固定单元与气体体积测定单元3部分构成。样品消化单元由玻璃发酵瓶、恒温水浴锅与自动搅拌装置组成。二氧化碳固定单元由若干个容积为100 mL的玻璃瓶组成,实验开始前向每个玻璃瓶装入80 mL 3 mol·L⁻¹的NaOH溶液以吸收厌氧消化单元排出的二氧化碳、硫化氢等酸性气体。为保证不同环境条件下所产生甲烷的体积计量结果具有可比性,仪器将测得的产气量数据自动换算为标准状况(0℃、1个标准大气压)下的体积。

1.3 实验设计

系统 I 与系统 II 采用相同的接种液和猪粪样品,各实验组初始总 VS 水平(猪粪+接种液)均设为3%,反应温度以恒温水浴控制在(35.0±0.5)℃。根据实验

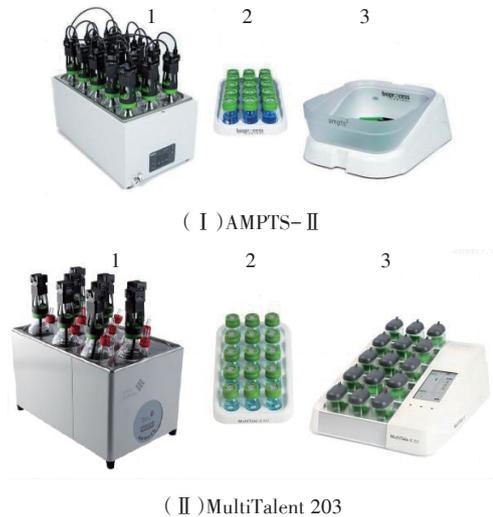


图1 BMP装置示意图
1. 厌氧消化单元;2. 二氧化碳固定单元;3. 气体体积测定单元
1. Anaerobic digestive unit; 2. CO₂ fixed unit;
3. Gas volume measurement unit

Figure 1 Schematic diagram of the BMP apparatus

设定的各反应瓶的反应体积、物料 VS 含量、初始 VS 浓度以及物料接种比,计算各反应瓶的物料投入水平,接种比以 VS 计,计算结果见表2。在各反应瓶添加相应物料后,用纯水补充至相应体积。本实验以猪粪为反应底物,沼液为接种液,将猪粪与接种液的比例分别设置为1:2、1:1与2:1,即接种比(S/I)分别为0.5、1.0和2.0。

表2 系统 I 和系统 II 各实验组物料投入情况(g)

Table 2 Material input for each experimental group in system I and system II (g)

实验组 Group	系统 I System I			系统 II System II	
	猪粪 Pig manure	接种液 Inoculum	微晶纤维素 Cellulose	猪粪 Pig manure	接种液 Inoculum
CK	—	371.80	—	—	1 487.19
CG	—	247.87	4.00	—	—
M1	6.17	247.87	—	24.70	991.46
M2	9.26	185.90	—	37.05	743.60
M3	12.35	123.93	—	49.35	495.73

注:—为未添加。
Note:— means not added.

系统 I 用于测试猪粪的BMP值,共15个反应瓶,各反应瓶反应体积设为0.4 L,分为空白组(CK组,仅含接种液)、纤维素对照组(CG组,纤维素和接种液的比例为1:2)和处理组(M1组、M2组和M3组,S/I分别为0.5、1.0和2.0)3类5个实验组,每组设3个平行实

验。实验期间,自动搅拌系统以 $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度间歇进行搅拌工作。BMP 测试装置每日自动记录各反应瓶的甲烷产生量,当甲烷日产量小于累积产气量的 1% 时系统自动停止日产气量记录,同时终止实验。

系统 II 用于连续监测猪粪的中温厌氧消化过程,只设空白组和 3 个处理组共 4 个实验组,不设对照组和平行实验,各反应瓶反应体积设为 1.6 L。自动搅拌系统以 $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速度间歇进行搅拌工作。在反应过程中定期从反应瓶中取发酵混合液样品,将其离心并过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜后,对滤液进行 pH、氨氮、总氮与葡萄糖浓度检测,各项理化指标的检测方法见表 3。

表 3 系统 II 中各实验组相关指标测试方法

Table 3 Test methods of relevant indexes for each experimental group in System II

指标 Index	方法 Method	仪器 Instrument
pH	电位法	梅特勒 pH 计
氨氮	水杨酸法	哈希 DRB200 消解仪、DR2800 紫外可见分光光度计
总氮	非分散红外吸收法	耶拿 NC3100 N/C 分析仪
葡萄糖	GOPOD 法	紫外可见分光光度计

在实验结束后从系统 II 各反应瓶中取出一定体积污泥进行 16S rRNA 测试,检测厌氧消化系统的细菌与产甲烷古菌的群落结构,扩增区域为 V4 区,所用测序平台为 Novaseq-PE250,引物序列(5'→3')如下:细菌引物为 515F(GTGCCAGCMGCCGCGGTAA)和 806R(GGACTACHVGGGTWTCT AAT);产甲烷古菌引物为 1106F(TTWAGTCAGGCAACGAGC)和 1378R(TGTGCAAGGAGCAGG GAC)。

1.4 厌氧消化动力学分析

将所得产甲烷数据利用修正的 Gompertz 模型^[16]与 Logistic 模型^[17]进行动力学拟合。以均方根误差(RMSE)和决定系数(R^2)作为模型的评估指标。RMSE 常用于评价模型精度,该值越小模型精度越高^[18], R^2 用于评价模型拟合优度, R^2 越高模型拟合度越好^[19]。在进行动力学拟合前,将所得猪粪的日甲烷产量与累积甲烷产量数据根据各组物料投入水平换算成均以 VS 计的日产甲烷速率($R, \text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)与累积产甲烷量($M, \text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)。修正的 Gompertz 模型与 Logistic 模型如公式(1)与公式(2)所示。

$$M(t) = A \times \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_{\max} \times e}{A} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

$$M(t) = \frac{A}{1 + \exp \left[\frac{4 \times R_{\max}}{A} (\lambda - t) + 2 \right]} \quad (2)$$

式中: $M(t)$ 为 t 时的累计产甲烷量(以 VS 计), $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$; A 为最大产甲烷潜力(以 VS 计), $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$; R_{\max} 为最大产甲烷速率(以 VS 计), $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; e 为自然常数; λ 为延滞期, d ; t 为发酵时间, d 。

2 结果与分析

2.1 BMP 测试

各实验组日甲烷产量与累积甲烷产量变化如图 2 所示。由图 2A 可知,CK 组第 2 天和第 3 天无甲烷产出,第 4~6 天有少量甲烷产生,于第 6 天自动结束产气记录,表明接种液中有有机物匮乏,基本不再产甲烷。3 个猪粪处理组在整个产甲烷过程中有相似的产甲烷变化规律。M1 组、M2 组、M3 组 3 个处理组产甲烷的第一个峰值出现在第 2 天,第 3 天产气量出现小幅下降,第 4 天开始回升,第 5 天出现第二个产气峰值。该峰值是整个产甲烷过程中日产气量最高值,各处理组最大日甲烷产量从大到小依次排序为 M3 组

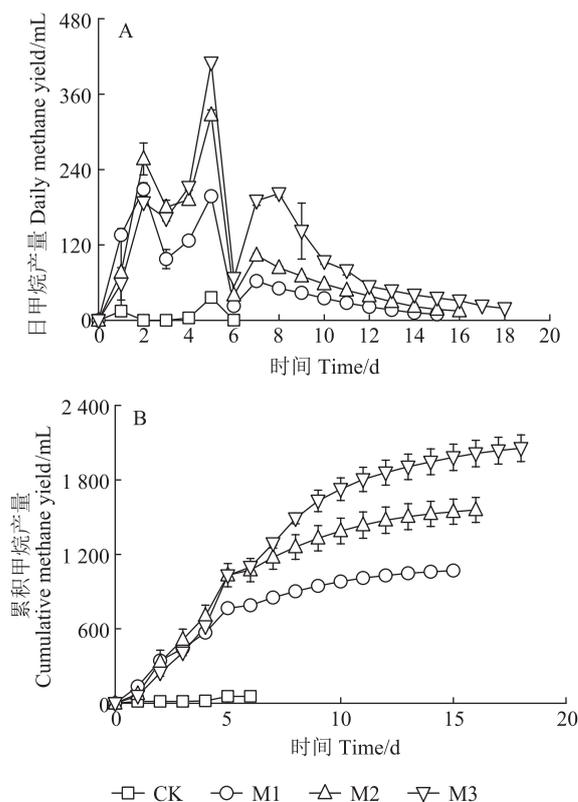


图 2 不同处理组日甲烷产量和累积甲烷产量

Figure 2 Daily methane and cumulative methane yields in different treatment groups

(410.05 mL)>M2组(326.90 mL)>M1组(208.40 mL),表明猪粪接种比例越高,日产甲烷最大峰值越高,最大日甲烷产量与猪粪接种比例呈显著正相关关系($P<0.05$)。第6天3个处理组日产气量骤降,下降幅度强于之前第一个峰值后出现的降幅。第7天产气量再次回升,但回升能力显著低于第二次峰值时的情况,M1组和M2组于第7天出现第3个产气峰值,M3组的第3个峰值出现在第8天,第三个峰值的产气量由高到低的顺序与甲烷最大产量顺序相同。在第三个产气峰值出现后各处理组的日产气量均呈现稳定下降趋势,M1、M2和M3组分别于第15天、第16天和第18天结束产气。

由图2B可以看出,接种比例越高,总的产气时间越长、累积产气量越大。M1、M2和M3组累积甲烷产量分别为1 068.5、1 558.2 mL和2 054.6 mL,猪粪累积甲烷产量与其接种比例显著正相关($P<0.05$)。

图3为猪粪处理组与微晶纤维素组的BMP测试结果。由图3可知,M1、M2、M3与CG组产甲烷潜力(以VS计)分别为(252.05±5.12)、(250.07±16.57)、(249.65±13.69) mL·g⁻¹与(302.03±21.73) mL·g⁻¹,不同接种比例处理组的BMP无显著差异($P>0.05$)。各猪粪处理组实验所得猪粪BMP平均值为(250.59±1.28) mL·g⁻¹。

2.2 pH的变化

各实验组厌氧发酵反应过程的pH变化情况见图4。pH是影响厌氧发酵过程的重要条件因素,对微生物繁殖代谢、酶活性、物料溶解等有重要影响。由图4可看出,不同实验组组间的发酵上清液pH变化具有较大差

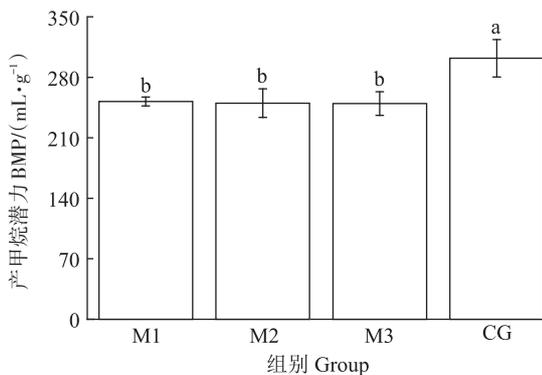


图3 对照和各处理组产甲烷潜力测试结果
Figure 3 Results of BMP tests for control group and treatment groups

异,且无明显规律性。但各组在厌氧消化结束后发酵上清液的pH均较初始状态有所提升。

2.3 氮的变化

各实验组厌氧发酵反应过程的氨氮与总氮变化情况见图5。从图5A可以看出,M1、M2和M3这3组的氨氮浓度在厌氧消化前4 d都呈上升趋势。M1组第4天出现一个峰值(772.50 mg·L⁻¹),且在第6天迅速下降,降幅为8.16%。M2组与M3组第6天的氨氮浓度也较第4天有所下降,降幅分别为2.08%与

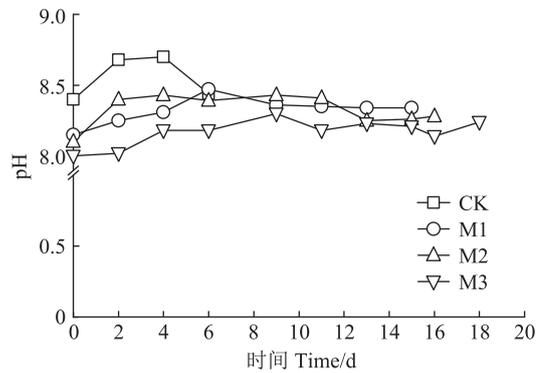


图4 不同实验组的pH

Figure 4 pH in different experimental groups

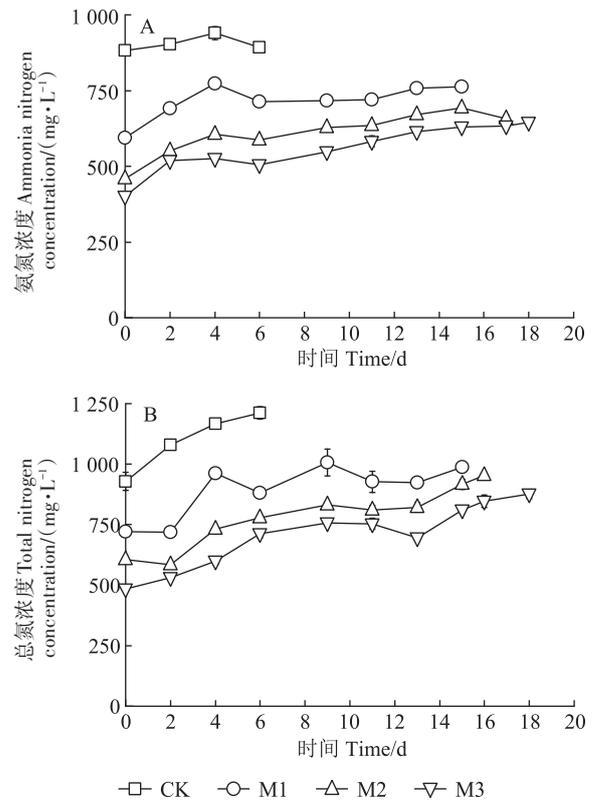


图5 不同实验组的氮浓度

Figure 5 Nitrogen concentration in different experimental groups

3.81%。在反应结束后,M1、M2和M3组的发酵上清液中的氨氮浓度较初始值分别增加28.37%、43.25%与60.85%。

对于总氮(图5B),各组BMP测试完成后的发酵上清液中的总氮浓度均较初始状态有所提高。M1、M2和M3组厌氧反应结束后发酵上清液中的总氮浓度较初始值分别增加了27.23%、37.15%与80.49%。上清液中氨氮与总氮浓度较初始值增长幅度与接种比例呈显著正相关($P<0.05$)。

2.4 葡萄糖的变化

图6为不同实验组葡萄糖浓度的变化趋势。从图6可以看出,各处理组发酵上清液中的葡萄糖浓度在厌氧消化期间呈下降-上升-再下降的波动变化,且各处理组的葡萄糖浓度均于第6天出现了明显的峰值。

将图6与图2进行比较观察发现,第2天与第4天葡萄糖浓度均较前一次检测结果有所降低,且当日甲烷产量均较前一天有所提升,第4天各猪粪处理组的

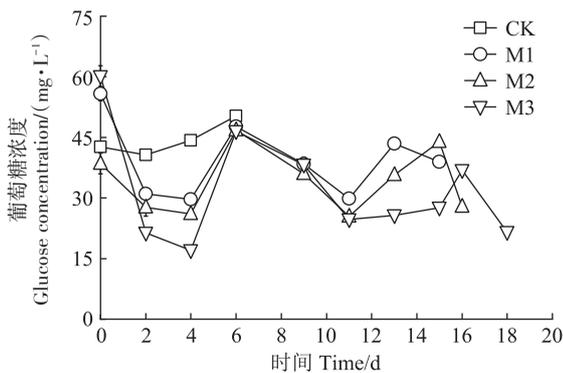


图6 不同实验组的葡萄糖浓度

Figure 6 Glucose concentration in different experimental groups

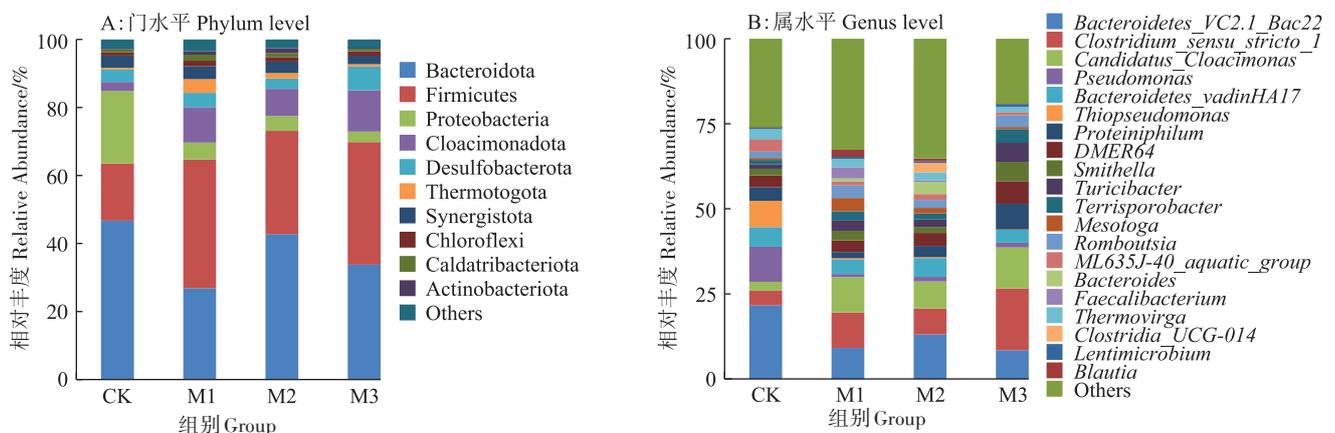


图7 不同实验组细菌相对丰度

Figure 7 Relative abundance of bacterial in different experimental groups

发酵上清液的葡萄糖浓度处于最低值,各处理组日产甲烷量均较第3天有所提高且均出现了日产甲烷峰值。当反应进行至第6天时,各处理组均出现了葡萄糖浓度峰值,而日产甲烷量均呈现产甲烷低谷。在各组反应结束前1~2 d,上清液中葡萄糖浓度均有所升高。由此表明,产甲烷过程与葡萄糖消耗有关,日甲烷产量高时,当日葡萄糖浓度与前日相比较就处于下降情况,反之则升高。

2.5 细菌与产甲烷古菌的变化

参与厌氧发酵反应的微生物群系包括细菌和产甲烷古菌。因此,反应结束后,检测了系统II各实验组细菌与产甲烷古菌的相对丰度,相对丰度位于前20的菌种情况如图7与图8所示。

由图7可以看出,基于门水平,CK组前3种优势菌群为Bacteroidota(拟杆菌门)、Proteobacteria(变形菌门)与Firmicutes(厚壁菌门)。各猪粪处理组中丰度居前3位的菌种均为厚壁菌门、拟杆菌门与Cloacimonadota,变形菌门与拟杆菌门的相对丰度均较CK组明显下降,而厚壁菌门与Cloacimonadota的相对丰度明显上升。其中变形菌门在M1、M2和M3组的相对丰度由CK的21.32%分别下降至4.95%、4.37%和3.09%,下降程度与接种比例呈正相关。对于猪粪处理组,在M2组检测到最高的拟杆菌门相对丰度与最低的厚壁菌门相对丰度。Thermotogota和Synergistota的相对丰度均与接种比例呈负相关性。

基于属水平,CK组丰度居前3的菌种为*Bacteroidetes_VC2.1_Bac22*、*Pseudomonas*(假单胞菌属)与*Thiopseudomonas*(硫代单胞菌属),猪粪处理组的*Bacteroidetes_VC2.1_Bac22*、*Pseudomonas*与*Thiopseudomonas*的相对丰度均较CK组明显下降,而*DMER64*、

Clostridium_sensu_stricto_1 与 *Candidatus_Cloacimonas* 的相对丰度较CK组明显上升,其中 *DMER64* 的相对丰度与接种比呈正相关性。

从图8可知,从门水平看,无论是否添加猪粪, Halobacterota 均是产甲烷古菌中的绝对优势菌。M1、M2和M3组中的 Halobacterota 较CK组的相对丰度有所提升。从属水平看, *Methanosaeta* 在各组中均为最优势菌种。相较CK组,猪粪处理组的 *Methanosaeta* 的相对丰度有明显提升, *Methanobacterium* 与 *Methanospirillum* 的相对丰度明显下降。 *Methanobacterium* 在M1、M2和M3组的相对丰度分别为CK组的71.22%、74.42%与84.79%,相对丰度下降幅度与接种比例呈负相关。

2.6 厌氧消化动力学分析

图9为中温条件下采用两种模型对不同接种比猪粪的累积产甲烷量的拟合结果。表4为中温条件下不同接种比下两种模型对累积产甲烷量的拟合参数。

由图9与表4可知,在中温条件下修正的 Gomp-

ertz 模型预测的各接种比的最大产甲烷潜力分别为 247.40 mL·g⁻¹ (S/I=0.5)、244.10 mL·g⁻¹ (S/I=1.0) 和 246.39 mL·g⁻¹ (S/I=2.0),其 R² 保持在 0.991~0.997 之间, R² 均大于 0.99,拟合程度良好。对于 Logistic 模型,预测的各接种比的最大产甲烷潜力分别为 244.19 mL·g⁻¹ (S/I=0.5)、240.19 mL·g⁻¹ (S/I=1.0) 和 241.74 mL·g⁻¹ (S/I=2.0),其 R² 在 0.981~0.991 之间, R² 大于 0.9,拟合程度良好。修正的 Gompertz 模型的 RMSE 数值范围在 4.67~6.97 之间, Logistic 模型的 RMSE 数值范围在 7.70~10.12 之间。通过对比 R² 与 RMSE 可知,修正的 Gompertz 模型较 Logistic 模型能

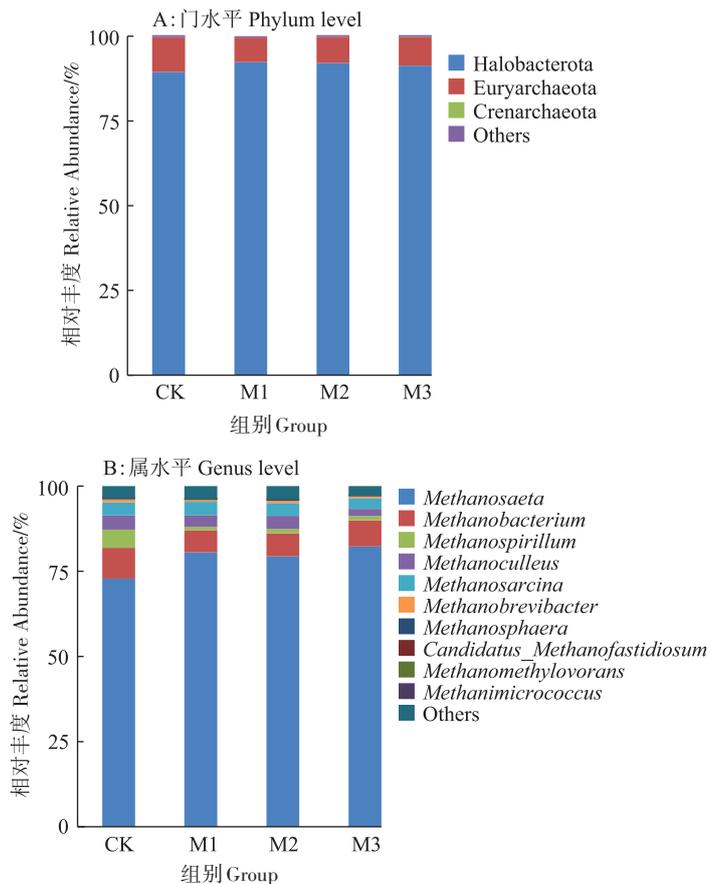


图8 不同实验组产甲烷古菌相对丰度

Figure 8 Relative abundance of methanogenic archaea in different experimental groups

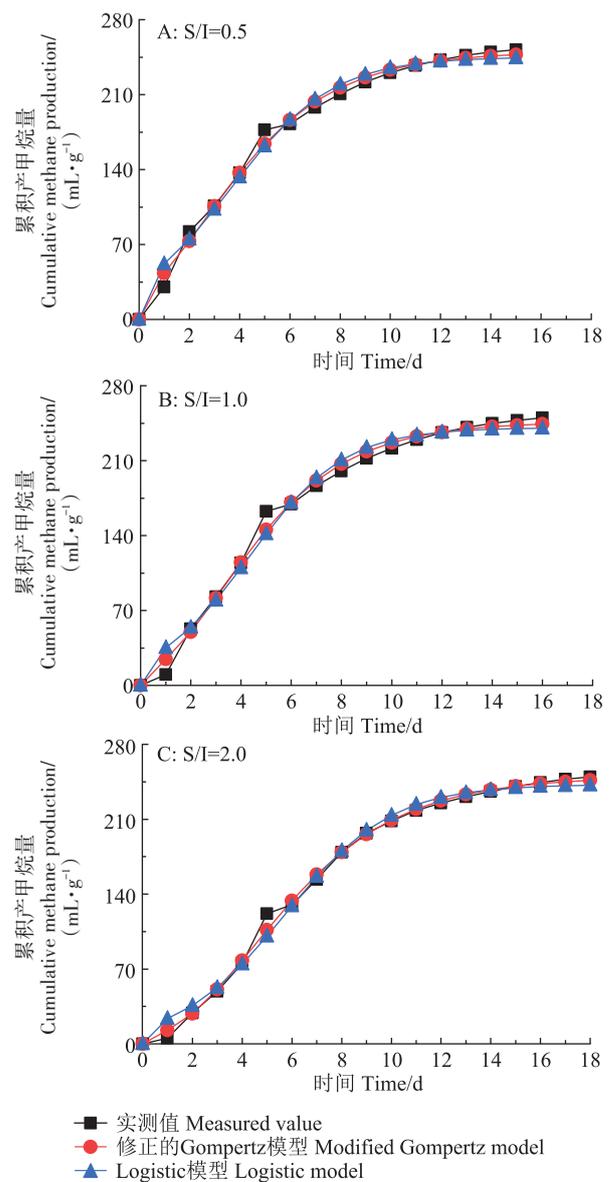


图9 中温条件下两种模型拟合的累积产甲烷曲线

Figure 9 Cumulative methanogenesis curves fitted by the two models at mesophilic conditions

表4 中温条件下两种模型的累积产甲烷产量拟合参数

Table 4 Fitting parameters of cumulative methane production for two models under mesophilic conditions

模型 Model	参数 Parameter	S/I=0.5	S/I=1.0	S/I=2.0
Modified Gompertz	$A/(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$	247.40	244.10	246.39
	R^2	0.991	0.992	0.997
	RMSE	6.45	6.97	4.67
Logistic	$A/(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$	244.19	240.19	241.74
	R^2	0.983	0.981	0.991
	RMSE	8.91	10.12	7.70

更好地对中温条件下不同接种比例猪粪的产甲烷潜力进行拟合。

3 讨论

3.1 实验条件对测试结果的影响

本研究结果表明,针对同一物料,采用相同的测试温度和初始 VS 水平时,接种比对 BMP 测试结果有影响,但差异不显著。而 Santos 等^[20]以市政污水处理厂污泥为接种液,设定 0.65 与 1 两种水平的接种比,测得葡萄牙中部地区养殖场猪粪的 BMP 值分别为 $0.329 \text{ m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$ 与 $0.568 \text{ m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$,不同接种比下的测试结果有较大差异。两项研究实验方案的差异主要是 Santos 等^[20]的实验没有采取固定的初始 VS 浓度。

微晶纤维素 BMP 测试结果用来表征接种液的活性程度,因此,该实验组被作为 BMP 测试的对照组(CG 组)。本研究测得 CG 组的 BMP 值为 $(302.03 \pm 21.73) \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。Zhu 等^[21]于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下测得的微晶纤维素 BMP 值为 $183.32 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$,同时其依据 Buswell 公式计算出微晶纤维素的理论 BMP 值为 $390.21 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$,本研究测得的微晶纤维素 BMP 值达到理论产值的 77%,说明本次实验所用的接种液活性良好。接种液活性对于 BMP 测试结果有重要影响,规范接种液制备方法(包括接种液来源和接种液培养驯化方法),可使得不同研究对各种有机物料测得的 BMP 值具有可比性。也有其他研究者进行了猪粪 BMP 值的测定,例如:Cao 等^[22]将食品废弃物中温消化器污泥在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下培养 3 d 后作为接种液,以美国俄亥俄州养殖场猪粪为测试对象,在 $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 中温条件下测得其 BMP 值为 $0.476 \text{ m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$; Wang 等^[23]于 $35\text{ }^\circ\text{C}$ 、6% 初始 TS 浓度和 7:3 的猪粪与接种液比例下得出猪粪的 BMP 为 $239.00 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$; Xu 等^[24]利用葡萄糖与醋酸钠对污水处理厂污泥培养 20 d 后作为接种液,在 $35\text{ }^\circ\text{C}$ 、4% 初始 TS 浓度、底物与接种液的比例为 1.14

(以 VS 计)时得出猪粪的 BMP 为 $221.3 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

根据上述研究结果可以发现,不同研究者的研究结果间存在较大差异。归纳起来,猪粪来源、接种液来源和培养驯化方法、反应温度、实验初始 VS 或 TS 水平是造成差异的主要原因。因此,为使得不同测试者对猪粪的 BMP 测试结果具有可比性,应对接种液制备方法、实验初始 VS 水平和反应温度这 3 方面关键测试条件进行统一规定。

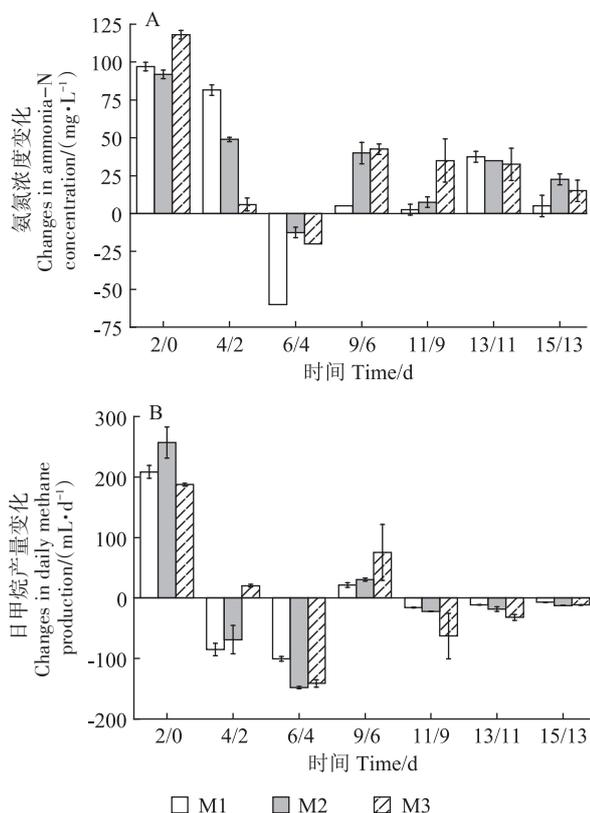
3.2 氨氮变化量与日甲烷产量变化量的相关关系

高浓度氨氮对厌氧消化过程有抑制作用^[25]。通过分析本实验厌氧消化液中氨氮含量与日甲烷产量的关系,发现氨氮浓度日变化量与日甲烷产量变化量之间存在一定的相互关系,因此分别计算了各处理组第 2 天较第 0 天、第 4 天较第 2 天、第 6 天较第 4 天、第 9 天较第 6 天、第 13 天较第 11 天与第 15 天较第 13 天的日氨氮浓度变化量与甲烷日产量变化,结果见图 10。

有机物通过厌氧消化反应转化为甲烷,同时也伴随氨氮的产生。从图 2 曲线可得出,在猪粪厌氧消化前 9 d,厌氧反应体系经历了 3 个产甲烷高峰。从图 10A 可看出,在整个反应过程中,氨氮总体上呈现上升趋势,但期间存在往复上升与下降的波动情况。图 10 同时表示厌氧反应体系中氨氮含量日变化量与甲烷日产生量变化情况。从图 10 可以看出,厌氧消化早期(0~7 d),由于猪粪中可降解有机物含量多,厌氧消化反应快,氨氮浓度变化和日产甲烷量变化都大,且氨氮变化量与日产甲烷量变化情况呈负相关关系。例如,第 0~6 天, M1、M2 和 M3 处理组的氨氮浓度变化量依次降低,对应各组的甲烷日产生量增幅则逐一加大;第 4~6 天, M1 组氨氮浓度下降最大,对应的日产甲烷增长量最低;在厌氧消化中期(6~9 d),随厌氧消化反应的进行,猪粪中可降解有机物减少,反应体系的日产气量及其日变化幅度都相应减少,但同时氨氮浓度增加趋势未减缓,对比各组间氨氮浓度变化和日产甲烷量变化之间的关系可知,二者呈正相关关系;厌氧消化末期(9 d 以后)与中期不同,氨氮浓度变化率明显下降,其变化量与产甲烷变化量之间依然呈正相关关系。

3.3 日产甲烷量与葡萄糖的相关性

本研究中不同处理组均在第 2 天出现首个日产甲烷峰值,然后产气量下降,这是因为猪粪中所含的易降解有机物经厌氧水解反应转化生成的产甲烷底物被消耗殆尽。随反应时间延长,猪粪中的大分子有机物进一步被转化为产甲烷菌群可以利用的反应底



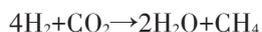
2/0, 4/2, 6/4, 9/6, 11/9, 13/11 与 15/13 表示第2天较第0天、第4天较第2天、第6天较第4天、第9天较第6天、第11天较第9天、第13天较第11天与第15天较第13天。

2/0, 4/2, 6/4, 9/6, 11/9, 13/11, and 15/13 respectively indicate that the day 2 compared to the day 0, the day 4 compared to the day 2, the day 6 compared to the day 4, the day 9 compared to the day 6, the day 11 compared to the day 9, the day 13 compared to the day 11, and the day 15 compared to the day 13.

图10 不同处理组相关天数的氨氮浓度与日甲烷产量变化
Figure 10 Variations of ammonia-N concentration and daily methane production on relevant days in different experimental groups

物,因此在第5天出现了第二个日产甲烷峰值。

乙酸是产甲烷的直接底物,而葡萄糖发酵是产生乙酸的途径之一,葡萄糖经乙酸路径产甲烷的过程如下:



由该方程组可知,发酵液中葡萄糖浓度的增加,有利于反应向产甲烷过程偏移。观察图2中第5~7天日产甲烷量和图6中同期葡萄糖浓度变化可知,第6天日甲烷产量较第5天显著降低的原因或为反应器内大分子有机物分解生成的葡萄糖浓度不足所致。这也为第7天各处理组日甲烷产量均较第6天

出现明显增长提供了解释基础,第7天发酵液中葡萄糖浓度增加促使乙酸浓度上升,促进了产甲烷菌的产甲烷作用,因此出现了日甲烷产量较第6天有所增长的现象。

产甲烷菌利用底物产甲烷具有一定的浓度阈值,当底物浓度低于一定值时,不生产甲烷过程^[26-29]。此外,互营降解有机物对于代谢产物的转移具有一定依赖性,代谢产物和甲烷产生速度与互营菌和产甲烷菌间的距离呈正相关性,有机质的类型和降解产物也会对产甲烷过程进行调节控制^[30]。在本研究中,当反应结束时各处理组葡萄糖浓度从大到小依次为M1 [(43.92±0.11) mg·L⁻¹] > M2 [(38.96±0.11) mg·L⁻¹] > M3 [(27.54±0.11) mg·L⁻¹]。关于上清液中葡萄糖浓度与日产甲烷量的定量关系有待进一步探索。

4 结论

(1)中温条件下,初始挥发性固体浓度为3%时,母猪粪产甲烷潜力(BMP)为(250.59±1.28) mL·g⁻¹,不同接种比例猪粪的产甲烷潜力无显著差异($P>0.05$)。从优化物料用量与时间成本考虑,猪粪BMP测试的猪粪与接种液比例(以VS计)取1:2为宜。

(2)猪粪累积甲烷产量和最大日甲烷产量均与猪粪接种比例呈显著正相关性($P<0.05$)。

(3)猪粪厌氧消化过程中,厚壁菌门、拟杆菌门与Cloacimonadota为三大优势细菌,Halobacterota在古菌中占绝对优势。接种比对细菌和古菌中不同菌种的丰度均有影响。

(4)修正的Gompertz模型较Logistic模型更适合中温条件下猪粪的厌氧消化动力学分析。

参考文献:

- [1] LEWIS S L. The Paris Agreement has solved a troubling problem[J]. *Nature*, 2016, 532(7599):283-283.
- [2] FAO. FAOSTAT[DB/OL]. (2022-10-08) [2022-10-09]. <https://www.fao.org/faostat/en/#home>.
- [3] KHALID A, ARSHAD M, ANJUM M, et al. The anaerobic digestion of solid organic waste[J]. *Waste Management*, 2011, 31(8):1737-1744.
- [4] LI Q, GAO M, LI J. Carbon emissions inventory of farm size pig husbandry combining Manure-DNDC model and IPCC coefficient methodology[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 320:128854.
- [5] STEFFEN W. Working Group 1 report of the IPCC Fourth Assessment: an editorial[J]. *Global Environmental Change*, 2008, 18(1):1-3.
- [6] RINCÓN B, BANKS C J, HEAVEN S. Biochemical methane potential of winter wheat (*Triticum aestivum* L.): influence of growth stage and storage practice[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(21):8179-8184.

- [7] 成喜雨,李超,李兵,等.物料产甲烷潜力分析及设备评述[J].可再生能源,2013,31(5):72-79. CHENG X Y, LI C, LI B, et al. Technologies and equipments used for testing biochemical methane potential(BMP): a review[J]. *Renewable Energy Resources*, 2013, 31(5): 72-79.
- [8] KAFLE G K, KIM S H, SUNG K I. Ensiling of fish industry waste for bio-gas production: a lab scale evaluation of biochemical methane potential (BMP) and kinetics[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 127:326-336.
- [9] ANGELIDAKI I, ALVES M, BOLZONELLA D, et al. Defining the bio-methane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays[J]. *Water Science and Technology*, 2009, 59(5):927-934.
- [10] 刘翌晨,马文林.猪粪中有机成分对生物产甲烷潜力的影响研究[J].环境科学与技术,2020,43(2):102-107. LIU Y C, MA W L. Effects of manure organic components of pigs on their biochemical methane potentials[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 43(2):102-107.
- [11] 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 W Q, DONG H M, SHANG B, et al. Experiment and calculation on the biochemical methane potential of typical livestock and poultry manure in anaerobic digestion[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2021, 37(14):228-234.
- [12] 杨紫怡.生物强化促进高含氮有机物厌氧产甲烷工艺优化及机理探究[D].北京:北京化工大学,2020:87-88. YANG Z Y. Optimization and mechanism of alleviating ammonia inhibition through bio-augmentation in anaerobic digestion process[D]. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2020:87-88.
- [13] WANG M, WANG J, LIU K, et al. Relationship between the effects of heat pre-treatment on anaerobic performance of pig manure and the microbial variation within reactors[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 461:141991.
- [14] 张丹志,尹强,徐文静,等.猪粪厌氧发酵的有机酸代谢与微生物群落相关性分析[J].分析化学,2022,50(8):1260-1268. ZHANG D Z, YIN Q, XU W J, et al. Relationship between organic acid metabolites and microbial communities during anaerobic digestion of pig manure[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2022, 50(8): 1260-1268.
- [15] 王思淇,张克强,孔德望,等.微生物群落对厌氧干发酵挥发性脂肪酸抑制的响应[J].农业环境科学学报,2022,41(1):171-182. WANG S Q, ZHANG K Q, KONG D W, et al. Microbial community response to volatile fatty acid inhibition in dry anaerobic fermentation [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(1):171-182.
- [16] NGUYEN D D, CHANG S W, JEONG S Y, et al. Dry thermophilic semi-continuous anaerobic digestion of food waste: performance evaluation, modified Gompertz model analysis, and energy balance[J]. *Energy Conversion and Management*, 2016, 128:203-210.
- [17] ŞENOL H. Anaerobic digestion of hazelnut (*Corylus colurna*) husks after alkaline pretreatment and determination of new important points in Logistic model curves[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 300: 122660.
- [18] 路冰洁,杜晨秋,郭芯竹,等.温湿度对建筑室内典型霉菌生长影响及其动力学模型[J].中国环境科学,2023,43(3):1368-1377. LU B J, DU C Q, GUO X Z, et al. Effect of temperature and humidity on the growth of typical molds in buildings and its kinetics modeling [J]. *China Environmental Science*, 2023, 43(3):1368-1377.
- [19] 李光辉,王哲旭,徐汇,等.基于探地雷达和深度学习的果树根径预测方法[J].农业机械学报,2022,53(11):306-313,348. LI G H, WANG Z X, XU H, et al. Root diameter prediction method of fruit trees based on ground penetrating radar and deep learning[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2022, 53(11): 306-313, 348.
- [20] SANTOS A D, SILVA J R, CASTRO L M, et al. A biochemical methane potential of pig slurry[J]. *Energy Reports*, 2022, 8:153-158.
- [21] ZHU Q, DAI L, WANG Y, et al. Enrichment of waste sewage sludge for enhancing methane production from cellulose[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 321:124497.
- [22] CAO L, KEENER H, HUANG Z, et al. Effects of temperature and inoculation ratio on methane production and nutrient solubility of swine manure anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 299: 122552.
- [23] WANG M, ZHOU J, YUAN Y X, et al. Methane production characteristics and microbial community dynamics of mono-digestion and co-digestion using corn stalk and pig manure[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2017, 42(8):4893-4901.
- [24] XU S, WANG C, SUN Y, et al. Assessing the stability of co-digesting sewage sludge with pig manure under different mixing ratios[J]. *Waste Management*, 2020, 114:299-306.
- [25] AKINDELE A A, SARTAJ M. The toxicity effects of ammonia on anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste[J]. *Waste Management*, 2018, 71:757-766.
- [26] CONRAD R. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 28(3):193-202.
- [27] BOONE D R, JOHNSON R L, LIU Y. Diffusion of the interspecies electron carriers H₂ and formate in methanogenic ecosystems and its implications in the measurement of K_m for H₂ or formate uptake[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1989, 55(7):1735-1741.
- [28] DONG X, STAMS A J M. Evidence for H₂ and formate formation during syntrophic butyrate and propionate degradation[J]. *Anaerobe*, 1995, 1(1):35-39.
- [29] LEE M J, ZINDER S H. Hydrogen partial pressures in a thermophilic acetate-oxidizing methanogenic coculture[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1988, 54(6):1457-1461.
- [30] 刘鹏飞,陆雅海.水稻土中脂肪酸互氧化的研究进展[J].微生物学通报,2013,40(1):109-122. LIU P F, LU Y H. A review of syntrophic fatty acids oxidation in anoxic paddy soil[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(1):109-122.

(责任编辑:李丹)