

## ◆ 生物技术 ◆

不同粪便对糖蜜酒精废水厌氧消化污泥的影响<sup>\*</sup>覃 雅, 程柱雨, 王子豪, 蒋 琼, 申佩弘<sup>\*\*</sup>

(广西大学生命科学与技术学院, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西南宁 530005)

**摘要:**为研究动物粪便驯化污泥对糖蜜酒精废水(MAW)的厌氧消化效果及抗逆性,本研究以猪粪(SMS)、鸡粪(CMS)和牛粪(BMS) 3种粪便驯化的污泥作为厌氧消化的接种物,在高有机负荷率(OLR)和高浓度硫酸盐的条件下进行 37℃ 恒温厌氧消化,采用改进后的重铬酸钾法和氯化钡浊度法分别测定废水中的溶解性化学需氧量(SCOD)和硫酸盐浓度,并利用 16S rRNA 测序技术对污泥群落结构进行分析。结果表明,3组污泥对 MAW 具有良好的消化效果,在 OLR 为  $6.0 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  时,SMS组、CMS组和 BMS组的 SCOD 去除率达最高,分别为  $(64.6 \pm 0.2)\%$ 、 $(68.1 \pm 0.3)\%$  和  $(65.2 \pm 1.4)\%$ ,CMS组分别比 SMS组、BMS组高约 3.5% 和 2.9%。在高硫酸盐浓度下,3组污泥 SCOD 去除率和沼气中甲烷的体积占比受影响较大,均呈下降趋势,但 CMS组相对影响较小。各组污泥微生物群落结构中的优势种群大致相同,具水解或产酸功能的克里斯滕森菌科(Christensenellaceae)和乙酸型产甲烷菌甲烷鬃菌科(Methanosactaceae)在 CMS组中富集,表明特定菌群丰度的变化可能是污泥抗逆性差异的原因。综合评价各阶段反应器厌氧性能,鸡粪驯化的污泥在处理 MAW 方面具有较好的消化效果。

**关键词:**糖蜜酒精废水 污泥 硫酸盐 抗逆性 厌氧消化

中图分类号:Q939 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2022)06-1076-10

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20230110.007

糖蜜是甘蔗制糖的副产品,被广泛用于酒精生产。巴西是最早使用糖蜜生产乙醇的国家,每年乙醇产量可替代巴西 40% 以上的汽油消耗<sup>[1]</sup>。在利用糖蜜生产乙醇的过程中,通常在发酵环节添加 25% 的稀硫酸溶液营造适合酵母生存的酸性环境<sup>[2]</sup>,导致平均每生产 1 t 酒精就会产生 10 - 15 t 含有溶解性化

学需氧量(SCOD)、挥发性脂肪酸(VFAs)以及高硫酸盐含量的高浓度有机废水<sup>[3]</sup>。对于这种难处理的高浓度有机废水,厌氧消化处理无疑是一种更适合降低废水废物污染、降低成本、有效回收能源的技术。微生物在厌氧条件下将可降解有机物转化为富含甲烷(CH<sub>4</sub>)的沼气,可减少化石能源消耗,同时这也是

收稿日期:2022-03-15

修回日期:2022-04-29

<sup>\*</sup> 广西重点研发计划(AB21196036)和南宁市重大项目(20213121)资助。

【作者简介】

覃 雅(1996-),女,在读硕士研究生,主要从事资源与环境微生物研究,E-mail:417054468@qq.com。

【\*\*通信作者】

申佩弘(1977-),女,研究员,主要从事资源与环境微生物研究,E-mail:shenpeihong@gxu.edu.cn。

【引用本文】

覃雅,程柱雨,王子豪,等.不同粪便对糖蜜酒精废水厌氧消化污泥的影响[J].广西科学,2022,29(6):1076-1085.

QIN Y, CHENG Z Y, WANG Z H, et al. Effect of Different Manure on Anaerobic Digestion Sludge of Molasses Alcohol Wastewater [J]. Guangxi Sciences, 2022, 29(6): 1076-1085.

实现可持续发展、促进资源循环利用的理想方法<sup>[4]</sup>。

通常厌氧消化的效果取决于底物种类和混合底物配比,除此之外,接种泥的选择同样重要,这决定了厌氧消化能否成功启动以及稳定运行,从而减少微生物在厌氧消化过程中产生滞后的影响<sup>[5]</sup>。此外,驯化后的活性污泥具有较高的抗逆性,在稳定的厌氧消化条件下能够处理更高浓度的有机废水。已有许多研究将驯化后的污泥用于处理溶液和废水,如 Lin 等<sup>[6]</sup>的研究强调,在厌氧序批式反应器中利用驯化后的污泥在短水力停留时间(HRT)和控制反应期/沉降期比条件下处理蔗糖溶液,可以提高蔗糖产氢气的效率;Liu 等<sup>[7]</sup>利用驯化后的厌氧污泥处理乙草胺除草剂,结果表明厌氧污泥可降解 6 种重要的乙草胺除草剂,并获得了具有高效降解乙草胺能力的厌氧污泥;Janeczko 等<sup>[8]</sup>在去除 2-硝基苯酚(DNP)工艺废水的试验中发现,驯化污泥可以避免在使用非驯化污泥时 DNP 降解的长滞后性。

动物粪便被认为是一种良好的共消化基质,在与糖蜜酒精废水(MAW)共消化的过程中,除了富含营养元素和微量元素外,自身含有的高碱度和高氨氮可以中和厌氧消化过程中因 VFAs 积累、pH 值下降导致的酸性环境<sup>[9]</sup>,对污泥的驯化起到很好的促进和强化作用,良好的驯化可使消化过程中污泥微生物群落结构和功能向积极的方向变化<sup>[10,11]</sup>。猪粪、鸡粪和牛粪是 3 种常见的动物粪便,为厌氧消化过程中常用的原料。Geng 等<sup>[12]</sup>在如何提高活性污泥厌氧消化

过程甲烷产量的研究中发现,接种剂用猪粪、牛粪或食物垃圾进行驯化后,在一定程度上可以提高甲烷产量。肖利萍等<sup>[13]</sup>利用生活污水、鸡粪和锯末的混合发酵液作为碳源驯化硫酸盐还原菌(SRB),用驯化后的 SRB 处理矿山废水,硫酸盐的去除率可达到 98.2%。但这 3 种动物粪便作为混合底物对糖蜜酒精废水厌氧消化的污泥在抗高负荷以及抗高硫酸盐浓度的条件下厌氧消化的研究鲜有报道。

本研究旨在评估利用不同动物粪便(猪粪、鸡粪和牛粪)驯化污泥,在厌氧条件下处理具有高有机负荷率和高浓度硫酸盐糖蜜酒精废水的有效性,通过在厌氧消化过程中添加硫酸盐(硫酸钠),以确定最佳动物粪便驯化污泥种类,为利用驯化污泥处理高有机负荷和高浓度硫酸盐废水提供重要的参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 接种污泥与原料

在保持进水有机负荷率(OLR)不变的情况下,将猪粪、鸡粪和牛粪分别与糖蜜酒精废水按照溶解性化学需氧量(SCOD)比例为 1:1、1:3、1:5、1:7、1:9 进行混合厌氧消化,即在动物粪便 SCOD 逐渐减少,糖蜜酒精废水 SCOD 逐渐增加的驯化方式下产生的 3 种活性污泥,作为处理糖蜜酒精废水厌氧消化的接种物。其中猪粪(SMS)组、鸡粪(CMS)组和牛粪(BMS)组的污泥接种物以及糖蜜酒精废水的特性如表 1 所示。

表 1 3 种动物粪便混合污泥和糖蜜酒精废水的特性

Table 1 Characteristics of three kinds of animal manure mixed sludge and molasses alcohol wastewater

组别 Group	pH 值 pH value	溶解性化学需氧量 ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) SCOD ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	挥发性脂肪酸 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) VFAs ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	硫酸盐( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) $\text{SO}_4^{2-}$ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )
SMS	7.17 ± 0.14	3.1 ± 0.8	1 816.7 ± 189.7	266.7 ± 28.3
CMS	7.20 ± 0.18	3.4 ± 0.1	1 163.9 ± 106.4	273.3 ± 11.5
BMS	7.20 ± 0.23	2.3 ± 0.1	406.9 ± 19.5	240.0 ± 20.0
MAW	4.50 ± 0.11	150.7 ± 1.2	33 175.3 ± 1 301.7	14 933.0 ± 305.5

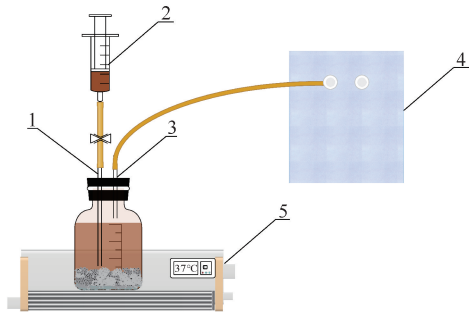
### 1.2 反应装置

反应装置由总体积为 500 mL 的厌氧反应瓶和集气袋两部分组成。厌氧反应瓶顶端安装两个钻孔,其中 1 孔为废水进出水孔,另 1 孔为出气孔,两孔区别在于进出水孔下端距离污泥面 1 cm 以上位置连接塑料管,而出气孔下端无连接管。出气孔上端连接集气袋,用于平衡气压;进出水孔上端连接止水夹,隔绝空气。通过恒温水浴锅加热控制反应温度,保证消化

温度为(37 ± 1)℃。实验装置如图 1 所示。

### 1.3 实验设计

设置反应器工作体积为 400 mL,其中废水为 300 mL,厌氧污泥 100 mL,实验做 3 个重复,共设置 9 个反应器。为了使驯化污泥适应新的消化环境,将初始进水 OLR 控制在较低水平,为  $1.5 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,进水物料为动物粪便 SCOD 与糖蜜酒精废水 SCOD 比例 1:9 的原始污泥,1 个 HRT 为 4



1: Influx or effluent pores; 2: Syringe; 3: Gas outlet; 4: Gas collecting bag; 5: Constant temperature water bath

图1 实验装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of experimental device

d, 每个阶段进行 2 个 HRT。进水前用 NaOH 将水样的 pH 值调整至 7.0 左右。集气袋始终保持打开状态, 目的是为了进出水有足够的气压。出水时, 用注射器对准出水孔并抽出 100 mL 废水, 用于后续废水指标的测定; 进水时, 用注射器抽取按要求配置好的糖蜜酒精废水水样, 对准进水孔将水样注射到厌氧消化反应容器中。每天进出水 100 mL。在每个阶段进样后的第 1 天, 向进出水孔通入氮气 1 min, 确保厌氧环境, 这个过程称为适应期。

在适应期的基础上, 保持 OLR 为  $1.5 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 将进水物料调整为纯糖蜜酒精废水, 运行 2 个 HRT 后, 逐步提高进水 OLR (每 2 个 HRT 提高 1 次, 每次提高  $\text{OLR} = 1.0 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 实验操作方法与适应期一致, 反应过程定义为 I 时期。

在 I 时期的基础上, 保持高浓度的 OLR 不变, 在硫酸钠浓度分别为  $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的条件下进行厌氧消化实验, 每个阶段进行 1 个 HRT, 实验操作方法与适应期一致, 反应过程定义为 II 时期。

## 1.4 方法

### 1.4.1 测定项目

在 I 时期每 2 个 HRT 和 II 时期每 1 个 HRT 后, 采集 100 mL 出水储存于  $4^\circ\text{C}$  冰箱中, 用于水质测定, 根据《水和废水监测分析方法(第四版)》<sup>[14]</sup> 中的重铬酸钾法和氯化钡浊度法分别测定废水 SCOD 含量以及硫酸盐浓度。使用便携式沼气分析仪 (GEM5000, 深圳市昂为电子有限公司) 测定产生的 1 L 沼气中  $\text{CH}_4$  和硫化氢 ( $\text{H}_2\text{S}$ ) 的体积占比, 使用高效气相色谱 (GC9720Plus, 浙江福立分析仪器股份有

限公司) 测定 VFAs 浓度, 分析前将样品在离心机上以  $10\,000 \text{ r/min}$  转速离心 4 min, 用  $0.22 \mu\text{m}$  过滤器过滤, 滴加甲酸酸化至 pH 值 2.0 以下, 设置仪器进样口温度为  $250^\circ\text{C}$ , 检测器温度为  $250^\circ\text{C}$ , 载气为氮气, 在流速为  $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  下测定。

### 1.4.2 微生物群落分析

采取 I 时期 OLR 为  $8.0 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  阶段、II 时期硫酸盐浓度分别为  $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  阶段的厌氧颗粒污泥, 分别命名为 X3、X4、X5、X6 (X 由 SMS、CMS 和 BMS 表示)。颗粒污泥在  $10\,000 \text{ r/min}$  离心 1 min 后, 去除上清液, 污泥样品储存在  $-80^\circ\text{C}$  冰箱中, 直到提取 DNA。用于扩增细菌 16S rRNA V3-V4 区的引物是  $5'$ -CCTACGGRRBGCASCAGKVRVGAAT- $3'$  和  $5'$ -CCTAATCTWTGGGVNCATCAGG- $3'$ ; 用于扩增古细菌 16S rRNA V4-V5 区域的引物是  $5'$ -CCTACGGGNGGCWGCAG- $3'$  和  $5'$ -TAATCTATGGGVHCATCAGG- $3'$ 。随后使用 Illumina Miseq 技术对 PCR 产物进行测序, 得到的序列进行操作分类单元 (OTU) 识别、群落比较和统计分析。

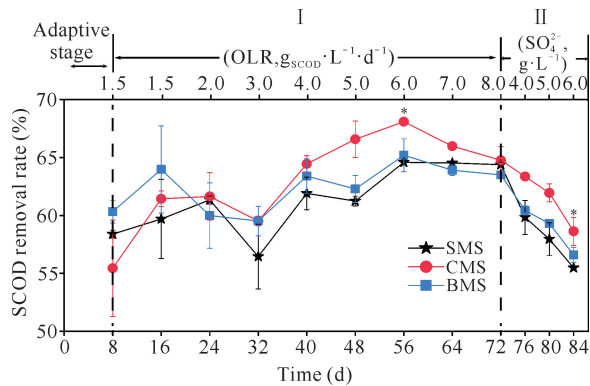
### 1.4.3 数据分析

采用 SPSS 和 Excel 对所有原始数据进行统计计算和数学分析,  $P < 0.05$  时具有统计学意义。所有图形使用 Origin 8.0 软件生成。此外, 采用 Shannon 指数和 Simpson 指数对各样本组的微生物群落多样性进行量化。

## 2 结果与分析

### 2.1 SCOD 去除率的变化

适应期 3 组污泥的 SCOD 去除率为  $55.0\%$  -  $60.3\%$  (图 2)。I 时期, 当进水 OLR 增加至  $6.0 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  时, SMS 组、CMS 组和 BMS 组的 SCOD 去除率达到最大值, 分别为  $(64.6 \pm 0.2)\%$ 、 $(68.1 \pm 0.3)\%$  和  $(65.2 \pm 1.4)\%$ , CMS 组显著较高 ( $P < 0.05$ )。而在 OLR 增加至  $8.0 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  的高有机负荷阶段时, 这 3 组污泥的去除率变化差别较小。II 时期, 3 组污泥的 SCOD 去除率随硫酸盐浓度的增加而降低, 与其他两组相比, CMS 组在抗硫酸盐浓度水平上表现较好。以上结果说明前期添加鸡粪作为糖蜜酒精废水共消化底物驯化的污泥, 在后期处理高有机负荷和高浓度硫酸盐的糖蜜酒精废水的过程中表现出较好的 SCOD 去除效果。



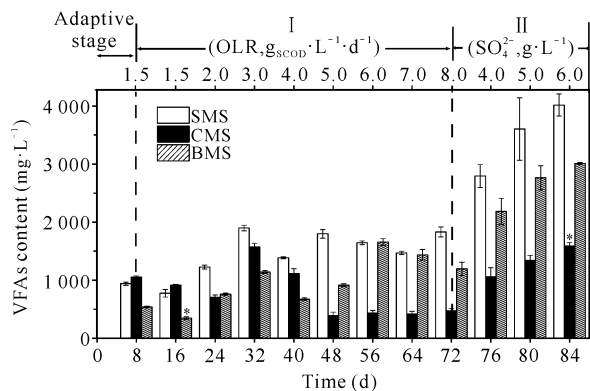
\* indicates  $P < 0.05$  compared with other two groups at the same stage

图2 厌氧消化过程中各反应器 SCOD 去除率变化

Fig. 2 Changes of SCOD removal rate in each reactor during anaerobic digestion

## 2.2 挥发性脂肪酸含量的动态变化

各个反应器 VFAs 含量变化如图 3 所示。与适应期相比, I 时期 OLR 为  $1.5 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  的糖蜜酒精废水阶段, 3 组污泥的 VFAs 含量较低, 其中 BMS 组的 VFAs 含量显著小于其他两组 ( $P < 0.05$ )。随着 OLR 的不断增大, CMS 组在同一时期利用 VFAs 转化效率上有明显的优势, 表明在 CMS 组反应器中 VFAs 生成和消耗达到平衡状态<sup>[15]</sup>。与 I 时期 OLR 为  $8.0 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  的阶段相比, II 时期硫酸盐浓度为  $4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  阶段, SMS 组、CMS 组和 BMS 组 VFAs 含量分别增加  $964.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $583.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $987.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在硫酸盐浓度为  $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  阶段, SMS 组、CMS 组和 BMS 组的 VFAs 含量达到最大值, 分别为  $(4016.7 \pm$



\* indicates  $P < 0.05$  compared with other two groups at the same stage

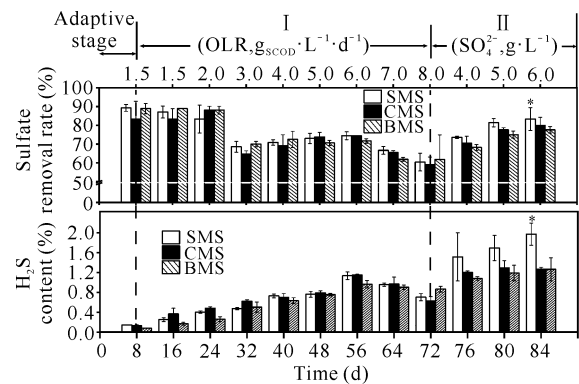
图3 厌氧消化过程中各个反应器 VFAs 含量的变化

Fig. 3 Changes of VFAs content in effluent of each reactor during anaerobic digestion

$191.2) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $(1\ 587.8 \pm 60.72) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $(3\ 010.9 \pm 17.7) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 其中 CMS 组的 VFAs 含量显著低于其他两组 ( $P < 0.05$ )。表明在抵抗高有机负荷和高浓度硫酸盐冲击条件下, CMS 组在转化 VFAs 的消化效率上有明显的优势。

## 2.3 硫酸盐去除率以及 H<sub>2</sub>S 体积占比的变化

厌氧消化过程中各个反应器硫酸盐去除率和 H<sub>2</sub>S 体积占比的变化结果如图 4 所示。在适应期和 I 时期前期, 3 组污泥的硫酸盐去除率保持在 83.0% 以上, 表明驯化污泥在低水平 OLR 下硫酸盐去除率较高。由于低水平 OLR 下硫酸盐含量较低, 因此在厌氧消化过程中产生的 H<sub>2</sub>S 体积占比较低。随着进水 OLR 的增加, H<sub>2</sub>S 体积占比逐渐增加, 而在 OLR 为  $8.0 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  阶段, SMS 组、CMS 组和 BMS 组硫酸盐去除率最低, 分别为  $(60.4 \pm 4.7)\%$ 、 $(59.0 \pm 4.1)\%$ 、 $(61.7 \pm 13.2)\%$ 。II 时期, 在硫酸盐浓度为  $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  阶段, SMS 组、CMS 组和 BMS 组的 H<sub>2</sub>S 在沼气中体积占比分别达到  $(2.0 \pm 0.2)\%$ 、 $(1.3 \pm 0.04)\%$  和  $(1.3 \pm 0.2)\%$ , SMS 组显著高于其他两组 ( $P < 0.05$ )。与此同时, SMS 组、CMS 组和 BMS 组的硫酸盐去除率分别达到  $(83.3 \pm 6.1)\%$ 、 $(79.9 \pm 4.3)\%$  和  $(77.6 \pm 1.7)\%$ , SMS 组的硫酸盐去除率相对较高。



\* indicates  $P < 0.05$  compared with other two groups at the same stage

图4 厌氧消化过程中各个反应器硫酸盐去除率和 H<sub>2</sub>S 体积占比的变化

Fig. 4 Changes of sulfate removal rate and H<sub>2</sub>S volume ratio in each reactor during anaerobic digestion

## 2.4 CH<sub>4</sub> 体积占比的变化

适应期期间产生 CH<sub>4</sub>, 说明厌氧反应成功启动, 各组 CH<sub>4</sub> 体积占比的变化如表 2 所示。I 时期 OLR =  $4.0 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  阶段, SMS 组、CMS 组和 BMS 组的 CH<sub>4</sub> 体积占比达到最大, 分别为

(57.6 ± 0.4)%、(59.3 ± 0.5)%、(58.0 ± 0.7)%。在 OLR 为 6.0 g<sub>SCOD</sub> · L<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> 阶段, CMS 组的 CH<sub>4</sub> 体积占比显著高于 SMS 组和 BMS 组 ( $P < 0.05$ ), 分

Table 2 Changes in CH<sub>4</sub> volume ratio

时期 Stage	阶段性条件 Phase conditions	CH <sub>4</sub> 体积占比(%) CH <sub>4</sub> volume ratio (%)		
		SMS	CMS	BMS
Adaptive stage	OLR = 1.5 g <sub>SCOD</sub> · L <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	50.2 ± 0.9	44.1 ± 0.4	44.9 ± 2.4
I	OLR = 1.5 g <sub>SCOD</sub> · L <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	47.8 ± 8.5	49.6 ± 1.5	53.7 ± 0.7
	OLR = 2.0 g <sub>SCOD</sub> · L <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	50.6 ± 1.4	50.9 ± 1.2	51.4 ± 0.9
	OLR = 3.0 g <sub>SCOD</sub> · L <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	54.1 ± 0.1	54.0 ± 2.6	52.5 ± 0.8
	OLR = 4.0 g <sub>SCOD</sub> · L <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	57.6 ± 0.4	59.3 ± 0.5	58.0 ± 0.7
	OLR = 5.0 g <sub>SCOD</sub> · L <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	42.7 ± 0.7	45.0 ± 0.5	43.8 ± 0.4
	OLR = 6.0 g <sub>SCOD</sub> · L <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	48.1 ± 0.4	54.0 ± 0.7 *	49.5 ± 4.4
	OLR = 7.0 g <sub>SCOD</sub> · L <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	41.5 ± 0.1	42.5 ± 1.4	41.2 ± 1.9
	OLR = 8.0 g <sub>SCOD</sub> · L <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	47.3 ± 3.5	49.9 ± 3.1	49.5 ± 4.4
II	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> = 4.0 g · L <sup>-1</sup>	39.8 ± 0.3	41.6 ± 0.4	37.7 ± 0.6
	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> = 5.0 g · L <sup>-1</sup>	38.0 ± 0.8	39.9 ± 0.2	36.5 ± 1.6
	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> = 6.0 g · L <sup>-1</sup>	36.5 ± 0.4	38.4 ± 0.6	35.3 ± 1.2

\* indicates  $P < 0.05$  compared with other two groups at the same stage

## 2.5 微生物群落动态变化

### 2.5.1 微生物多样性

细菌和古细菌微生物群落多样性结果如表 3 所示。无论是在细菌还是在古细菌水平上, 在 I 时期

表 3 OTU 个数和  $\alpha$ -多样性指数

Table 3 Number of OTU and  $\alpha$ -diversity index

时期 Stage	阶段性条件 Phase conditions	样品 Sample	细菌 Bacteria			古细菌 Archaea		
			OTU	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	OTU	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
I	OLR = 8.0 g <sub>SCOD</sub> · L <sup>-1</sup> · d <sup>-1</sup>	SMS3	690	5.06	0.901 3	56	2.21	0.682 1
		CMS3	565	4.21	0.839 4	46	1.66	0.586 9
		BMS3	617	4.73	0.897 2	44	1.49	0.558 9
II	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> = 4.0 g · L <sup>-1</sup>	SMS4	620	4.82	0.929 6	46	1.42	0.519 1
		CMS4	601	4.72	0.910 0	46	1.15	0.428 5
		BMS4	590	4.83	0.928 9	46	1.32	0.529 9
	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> = 5.0 g · L <sup>-1</sup>	SMS5	612	4.79	0.927 2	45	1.36	0.555 1
		CMS5	528	4.44	0.908 0	47	1.23	0.513 8
		BMS5	593	4.85	0.933 5	46	1.29	0.535 1
	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> = 6.0 g · L <sup>-1</sup>	SMS6	584	4.75	0.926 4	41	1.50	0.593 1
		CMS6	605	4.78	0.927 2	55	1.58	0.567 1
		BMS6	577	4.74	0.930 1	50	1.28	0.518 2

别高出 5.9% 和 4.5%, 与 SCOD 去除率的效果相对应。II 时期, 随着硫酸盐浓度的增加, CH<sub>4</sub> 体积占比逐渐降低, 但相比于其他两组, CMS 组仍较高。

OLR 为 8.0 g<sub>SCOD</sub> · L<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> 阶段, SMS 组的 OTU 个数、Shannon 指数和 Simpson 指数均大于 BMS 组和 CMS 组, 表明猪粪组在该条件下微生物多样性较为丰富。随着反应的进行, II 时期各组呈现不同的变

化趋势,随着硫酸盐浓度的增加,SMS组细菌的OTU个数、Shannon指数和Simpson指数呈下降趋势。II时期在硫酸盐浓度为 $6.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 阶段时,CMS组细菌和古菌OTU个数、Shannon指数和Simpson指数达到最高值,推测硫酸盐浓度的增加,促进了微生物种类及数量的增加,使得CMS组OTU个数以及多样性指数最大。

### 2.5.2 细菌群落结构变化

各组在门水平和科水平上细菌的相对丰度如图5所示。各组间优势物种大致相同,优势菌门以厚壁菌门(Firmicutes,15.6%–40.2%)、互养菌门(Synergistetes,9.0%–37.8%)以及拟杆菌门(Bacteroidetes,8.9%–29.6%)为主。随着厌氧消化的进行,各组在不同时期微生物群落结构明显,在I时期 $\text{OLR}=8.0\text{ g}_{\text{SCOD}}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 阶段,SMS3组和BMS3组的Synergistetes相对丰度最高。然而在II时期,从整体上来看,SMS组和BMS组的Synergistaceae相对丰度随着硫酸盐浓度的增加逐渐降低,CMS组相对丰度上下波动,表明3组污泥的Synergistaceae受硫酸盐浓度影响较大。

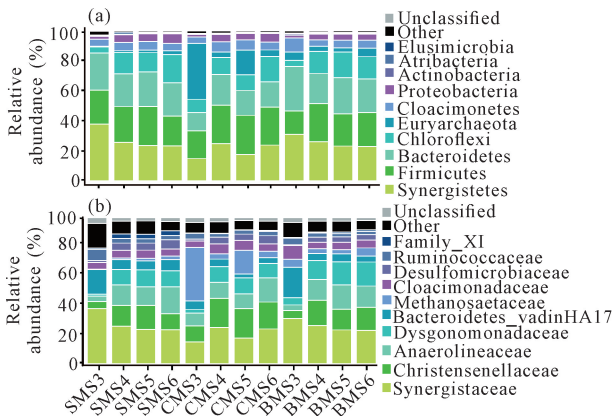


图5 门水平(a)和科水平(b)上细菌的群落结构

Fig. 5 Community structure of bacteria at phylum level

(a) and family level (b)

属于厚壁菌门的克里斯滕森菌科(Christensenellaceae)在CMS组中为优势菌群,甚至在硫酸盐含量较高的阶段,丰度值仍保持在较高水平。同样发挥重要作用的还有属于Bacteroidetes的Dysgonomonadaceae,I时期SMS3组、CMS3组和BMS3组的Dysgonomonadaceae相对丰度值分别为1.5%、2.5%和4.9%,而在II时期SMS5组、CMS5组和BMS6组最大相对丰度值分别达到11.7%、11.0%和16.5%。与此同时,属于变形菌门(Proteobacteria)的脱硫弧菌科(Desulfomicrobiaceae),与I

时期 $\text{OLR}=8.0\text{ g}_{\text{SCOD}}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 阶段相比,各组相对丰度随着硫酸盐浓度的增加而增加,在硫酸盐浓度为 $6.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 阶段各组相对丰度达到最高,SMS6组、CMS6组和BMS6组分别为6.4%、5.6%和3.7%。

### 2.5.3 古细菌群落结构变化

各组在门水平和科水平上古细菌的相对丰度如图6所示。在门水平上,广古菌门(Euryarchaeota)和泉古菌门(Crenarchaeota)为优势菌门。在科水平上,氢营养型甲烷杆菌科(Methanobacteriaceae)相对丰度值较低,其次是甲烷八叠球菌科(Methanosarcinaceae),表明两者受糖蜜酒精废水极端性质的影响较大。而在同样的厌氧消化条件下,甲烷鬃菌科(Methanosaetaceae)为主要的优势物种。与I时期 $\text{OLR}=8.0\text{ g}_{\text{SCOD}}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 阶段相比,II时期各组Methanosaetaceae的相对丰度值较高,整体上以CMS组的Methanosaetaceae相对丰度值最高。

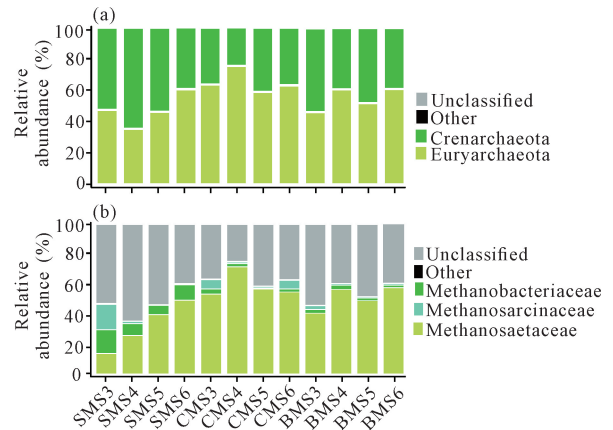


图6 门水平(a)和科水平(b)上古细菌的群落结构

Fig. 6 Community structure of archaea at phylum level

(a) and family level (b)

## 3 讨论

本研究结果表明,各实验组SCOD去除率在适应期为55.0%–60.3%,这与Jiang等<sup>[16]</sup>和Lu等<sup>[17]</sup>的研究结果相似,表明利用动物粪便驯化后的污泥在启动初期SCOD去除率能迅速达到较高水平。随着I时期糖蜜酒精废水的OLR不断增加,SCOD去除率增加幅度逐渐变小,而在II时期各组的SCOD去除率呈下降趋势,抑制作用在硫酸盐浓度达到 $6.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 阶段时表现最明显,且SMS组的SCOD去除率低于其他两组。同样在该阶段发生较大变化的还有 $\text{H}_2\text{S}$ 的体积占比和硫酸盐去除率,3组污泥 $\text{H}_2\text{S}$ 的体积占比和硫酸盐去除率均在II时期硫酸盐浓度

为  $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  阶段达到最大值,且 SMS 组高于其他两组。据文献报道,积累的硫化物会穿过微生物细胞壁,导致细胞内部结构混乱,从而影响 SRB 和产甲烷菌(MPB)等微生物的正常生长,最终导致厌氧消化反应系统崩溃<sup>[18]</sup>。本研究发现,与 SMS 组和 BMS 组相比,CMS 组的厌氧消化性能综合表现最好。据文献报道,鸡粪中的含氮量高于猪粪和牛粪,将富含 N 元素的动物粪便与富含 C 元素的糖蜜酒精废水置于厌氧共消化的条件下,可提高厌氧消化效率<sup>[19,20]</sup>。

在高 OLR 和高浓度硫酸盐的糖蜜酒精废水的条件下,厌氧消化过程中微生物主要以 Synergistetes、Firmicutes 以及 Bacteroidetes 为优势菌门,这与 Laconi 等<sup>[21]</sup>和 Zhang 等<sup>[22]</sup>的研究结果类似。II 时期 SMS 组和 BMS 组的 Synergistaceae 相对丰度随着硫酸盐含量的增加而逐渐降低,且两组间出现了 VFAs 含量积累和  $\text{CH}_4$  体积占比减少的现象。Synergistaceae 是唯一来自 Synergistetes 的菌科,其主要作用是分解废水中的 VFAs,促进氢营养型产甲烷菌利用分解底物生成  $\text{CH}_4$ <sup>[23]</sup>,高 OLR 和高浓度硫酸盐的厌氧环境影响了 Synergistaceae 发挥作用。属 Firmicutes 的 Christensenellaceae 在 II 时期 CMS 组中相对丰度较高,且在该时期 CMS 组的 SCOD 去除率高于其他两组。Firmicutes 中存在着许多可以分解有机物的酸水解微生物,通过分泌多种酶来水解蛋白质、脂肪和糖类等复杂物质<sup>[24]</sup>,将复杂有机物进一步转化为 SCOD,产生氢气和乙酸进而被产甲烷菌所利用,即使在 OLR 逐渐升高的环境中丰度值依旧最高<sup>[25,26]</sup>。Christensenellaceae 具有较强的碳水化合物、氨基酸和羧酸降解代谢活性,具有水解和产酸的作用<sup>[27,28]</sup>,这也是 CMS 组在高 OLR 和高浓度硫酸盐的糖蜜酒精废水条件下能保持较好的消化性能,呈现出较好厌氧消化效果的原因。发挥相似作用的还有 Bacteroidetes<sup>[29,30]</sup>,与 I 时期相比,II 时期属 Bacteroidetes 的 Dysgonomonadaceae 在 3 组污泥中的相对丰度较高。Murakami 等<sup>[31]</sup>认为, Bacteroidetes 在降解复杂结构的多糖反应中有促进水解的作用,可知硫酸盐浓度的增加对 Dysgonomonadaceae 有积极影响。与 I 时期相比,II 时期 3 组污泥中 Desulfomicrobiaceae 的相对丰度增加,其中 SMS 组的相对丰度值大于其他两组,且 SMS 组在该时期表现出 SCOD 去除率较低、VFAs 含量相对较高以及厌氧消化效果较差。文献报道称,在高浓度硫酸盐废

水的厌氧反应系统中,大量硫酸盐和多种有机硫作为 SRB 的底物,使得 SRB 富集,容易与产甲烷菌产生竞争<sup>[32]</sup>。

与其他厌氧消化研究结果中以 Methanobacteriaceae、Methanosarcinaceae 和 Methanosaetaceae 为主的古细菌群落结构<sup>[33]</sup>不同的是,本研究中 Methanosaetaceae 成为主要优势菌群,以 CMS 组相对丰度最高,且 CMS 组  $\text{CH}_4$  在沼气中的体积占比同样高于其他两组。Methanosaetaceae 是典型的乙酸营养型产甲烷菌,能利用乙酸并促进直接种间电子传递(DIET),将二氧化碳还原为  $\text{CH}_4$ <sup>[34]</sup>。在本研究中 Methanobacteriaceae 相对丰度值最低,原因可能是在高 OLR 和高浓度硫酸盐的糖蜜酒精废水冲击条件下,氢营养型 Methanobacteriaceae 与 SRB 竞争氢的能力比其他两种产甲烷菌种类更小<sup>[35]</sup>。因此,优势菌科在高 OLR 和高浓度硫酸盐的冲击条件下进行水解、消化等过程,相应的功能及作用会受到影响,从而产生不利于消化反应的结果。

#### 4 结论

本研究表明,3 种活性污泥受高 OLR 冲击影响明显,其中 CMS 组的 SCOD 去除率和  $\text{CH}_4$  体积占比相对较高,累积 VFAs 含量较低。在高浓度硫酸盐冲击条件下,3 组污泥的厌氧消化效果大幅度下降,其中 SMS 组受影响较大,CMS 组受影响较小。微生物多样性结果表明,优势种群几乎不变,其中具有水解或产酸功能的 Christensenellaceae 和乙酸型产甲烷菌 Methanosaetaceae 在 CMS 组中富集。表明鸡粪与糖蜜酒精废水混合驯化的厌氧活性污泥抗逆性最好,为使用厌氧活性污泥处理工业废水提供了参考依据。

#### 参考文献

- [1] BASSO L C, DE AMORIM H V, DE OLIVEIRA A J, et al. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil [J]. Fems Yeast Research, 2008, 8: 1155-1163.
- [2] KŁOSOWSKI G, MIKULSKI D, MACKO D, et al. Influence of various yeast strains and selected starchy raw materials on production of higher alcohols during the alcoholic fermentation process [J]. European Food Research and Technology, 2015, 240: 233-242.
- [3] YAN X X, BILAD M R, GERARDS R, et al. Comparison of MBR performance and membrane cleaning in a single-stage activated sludge system and a two-stage an-

- aerobic/aerobic (A/A) system for treating synthetic molasses wastewater [J]. *Journal of Membrane Science*, 2012, 394/395:49-56.
- [4] DUAN N, ZHANG D J, KHOSHNEVISAN B, et al. Human waste anaerobic digestion as a promising low-carbon strategy: operating performance, microbial dynamics and environmental footprint [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 256:120414.
- [5] VÁSQUEZ J, NAKASAKI K. Effects of acclimated sludge used as seeding material in the start-up of anaerobic digestion of glycerol [J]. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 2018, 20(1):185-192.
- [6] LIN C Y, JO C H. Hydrogen production from sucrose using an anaerobic sequencing batch reactor process [J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2003, 78(6):678-684.
- [7] LIU J W, ZHANG X, XU J Y, et al. Anaerobic biodegradation of acetochlor by acclimated sludge and its anaerobic catabolic pathway [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 748:141122.
- [8] JANE CZKO A, OLESZKIEWICZ J A. Response of acclimated and un-acclimated activated sludge to 2-nitrophenol [J]. *Environmental Technology*, 1993, 14(4):351-358.
- [9] LI L, YANG X, LI X, et al. The influence of inoculum sources on anaerobic biogasification of NaOH-treated corn stover [J]. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 2010, 33(2):138-144.
- [10] LI K, LIU R H, SUN C. Comparison of anaerobic digestion characteristics and kinetics of four livestock manures with different substrate concentrations [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 198:133-140.
- [11] BOROWSKI S, DOMAŃSKI J, WEATHERLEY L. Anaerobic co-digestion of swine and poultry manure with municipal sewage sludge [J]. *Waste Management*, 2014, 34(2):513-521.
- [12] GENG Y C, ZHANG B, DU L Z, et al. Improving methane production during the anaerobic digestion of waste activated sludge: cao-ultrasonic pretreatment and using different seed sludges [J]. *Procedia Environmental Sciences*, 2016, 31:743-752.
- [13] 肖利萍, 栾雪菲, 汪兵兵, 等. 新型碳源驯化 SRB 生长特性及处理酸性矿山废水研究 [J]. *中国给水排水*, 2017, 33(9):40-44.
- [14] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [15] LEI Z F, CHEN J Y, ZHANG Z Y, et al. Methane production from rice straw with acclimated anaerobic sludge: Effect of phosphate supplementation [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(12):4343-4348.
- [16] JIANG Q, XIN Y, JIANG Y B, et al. Improving the efficiency of anaerobic digestion of molasses alcohol wastewater using cassava alcohol wastewater as a mixed feedstock [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 344:126179.
- [17] LU F Z, JIANG Q, QIAN F, et al. Semi-continuous feeding combined with traditional domestication improved anaerobic performance during treatment of cassava stillage [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 291:121807.
- [18] LU X Q, ZHEN G Y, NI J L, et al. Effect of influent COD/SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> ratios on biodegradation behaviors of starch wastewater in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 214:175-183.
- [19] FANG C, BOE K, ANGELIDAKI I. Anaerobic co-digestion of desugared molasses with cow manure; focusing on sodium and potassium inhibition [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(2):1005-1011.
- [20] TANIMU M I, MOHD GHAZI T I, HARUN M R, et al. Effects of feedstock carbon to nitrogen ratio and organic loading on foaming potential in mesophilic food waste anaerobic digestion [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(10):4509-4520.
- [21] LACONI A, MUGHINI-GRAS L, TOLOSI R, et al. Microbial community composition and antimicrobial resistance in agricultural soils fertilized with livestock manure from conventional farming in Northern Italy [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 760:143404.
- [22] ZHANG Q F, ZENG L Y, FU X, et al. Comparison of anaerobic co-digestion of pig manure and sludge at different mixing ratios at thermophilic and mesophilic temperatures [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 337:125425.
- [23] SI B C, LIU Z D, ZHANG Y H, et al. Towards biohythane production from biomass: influence of operational stage on anaerobic fermentation and microbial community [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2016, 41(7):4429-4438.
- [24] ZHAO X L, LIU J H, LIU J J, et al. Effect of ensiling and silage additives on biogas production and microbial community dynamics during anaerobic digestion of



- switchgrass [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 241: 349-359.
- [25] BELLO A, HAN Y, ZHU H F, et al. Microbial community composition, co-occurrence network pattern and nitrogen transformation genera response to biochar addition in cattle manure-maize straw composting [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 721: 137759.
- [26] TIAN W, SUN Q, XU D B, et al. Succession of bacterial communities during composting process as detected by 16S rRNA clone libraries analysis [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, 78: 58-66.
- [27] WU Y Y, WANG C P, LIU X J, et al. A new method of two-phase anaerobic digestion for fruit and vegetable waste treatment [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 211: 16-23.
- [28] MENG X Y, YUAN X F, REN J W, et al. Methane production and characteristics of the microbial community in a two-stage fixed-bed anaerobic reactor using molasses [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 241: 1050-1059.
- [29] LI D, YANG J W, LI Y, et al. Research on rapid cultivation of aerobic granular sludge (AGS) with different feast-famine strategies in continuous flow reactor and achieving high-level denitrification via utilization of soluble microbial product (SMP) [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 786: 147237.
- [30] YANG J, WANG D H, LUO Z F, et al. The role of re-flux time in a leach bed reactor coupled with a methanogenic reactor for anaerobic digestion of pig manure: Reactor performance and microbial community [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 242: 118367.
- [31] MURAKAMI T, SEGAWA T, TAKEUCHI N, et al. Metagenomic analyses highlight the symbiotic association between the glacier stonefly *Andiperla willinki* and its bacterial gut community [J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(11): 4170-4183.
- [32] KUMAR M, PAKSHIRAJAN K. Novel insights into mechanism of biometal recovery from wastewater by sulfate reduction and its application in pollutant removal [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2020, 17: 100542.
- [33] LI D, RAN Y, CHEN L, et al. Instability diagnosis and syntrophic acetate oxidation during thermophilic digestion of vegetable waste [J]. *Water Research*, 2018, 139: 263-271.
- [34] ZHANG S, CHANG J L, LIN C, et al. Enhancement of methanogenesis via direct interspecies electron transfer between Geobacteraceae and Methanosaetaceae conducted by granular activated carbon [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245: 132-137.
- [35] COLLERAN S, PENDER S. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of sulphate-containing wastewaters [J]. *Water Science & Technology*, 2002, 45(10): 231-235.

---

## Effect of Different Manure on Anaerobic Digestion Sludge of Molasses Alcohol Wastewater

QIN Ya, CHENG Zhuyu, WANG Zihao, JIANG Qiong, SHEN Peihong<sup>\* \*</sup>

(State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530005, China)

**Abstract:** To study the anaerobic digestion effect and stress resistance of domesticated sludge from animal manure on molasses alcohol wastewater (MAW), three kinds of sludge domesticated from swine manure (SMS), chicken manure (CMS) and cow manure (BMS) were used as inoculums for anaerobic digestion. The anaerobic digestion was carried out at a constant temperature of 37°C under the conditions of high Organic Loading Rate (OLR) and high sulfate concentration. The Soluble Chemical Oxygen Demand (SCOD) and sulfate concentration in the wastewater were determined by the modified potassium dichromate method and

barium chloride turbidity method, respectively, and the sludge community structure was determined by 16S rRNA sequencing technology. The results showed that the three groups of sludge had good digestion effect on MAW. When the OLR was  $6.0 \text{ g}_{\text{SCOD}} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , the removal rate of SCOD reached the highest, SMS, CMS and BMS were  $(64.6 \pm 0.2)\%$ ,  $(68.1 \pm 0.3)\%$  and  $(65.2 \pm 1.4)\%$ , respectively. The CMS group was about 3.5% and 2.9% higher than the SMS group and the BMS group, respectively. Under high sulfate concentration, the SCOD removal rate and the volume proportion of methane in biogas of the three groups sludge were greatly affected and showed a downward trend. Among them, the CMS group was relatively less affected. The dominant populations in the community structure of sludge microorganisms were approximately the same in all groups. Christensenellaceae with hydrolytic or acid-producing functions and Methanosaetaceae with an acetic acid-producing methanogenic bacterium were enriched in the CMS group, indicating that the change in the abundance of specific bacteria may be the reason of the difference in sludge resistance. A comprehensive evaluation of the anaerobic performance of the reactors at each stage showed that the acclimation sludge from chicken manure has better digestion effect in the treatment of MAW.

**Key words:** molasses alcohol wastewater; sludge; sulfate; stress resistance; anaerobic digestion

责任编辑:唐淑芬



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxxk@gxas.cn

投稿系统网址:<http://gxxk.ijournal.cn/gxxk/ch>