

接种比对微量元素促进厌氧消化体系产甲烷的影响

尹赵^{1,2}, 孙辰², 曹卫星², 胡长伟²

(1.浙江理工大学 理学院, 浙江 杭州 310018; 2.嘉兴学院 生物与化学工程学院, 浙江 嘉兴 314001)

摘要: 有关微量元素(TEs)在厌氧消化系统中的关键调控作用已经明确,但其内在作用规律和机理的解析还不够全面。文章通过研究厌氧消化体系中不同接种比(I/S)下TEs的变化规律,探究TEs对厌氧发酵的生物有效性,明确TEs化学形态与厌氧发酵过程中关键影响因子及微生物群落之间的相互作用关系。研究表明:在10批次的葡萄糖厌氧消化试验中,在I/S为1.5的条件下添加TEs后,甲烷产量提升了80.7%;在添加的3种TEs(Fe,Co和Ni)中,Fe元素的不同化学形态与厌氧消化中pH值、碱度、挥发性脂肪酸和氨氮含量的相关性最强;pH值与酸可挥发性硫化物含量是厌氧消化中TEs生物有效性的关键影响因子;pH值与Fe的4种化学形态均有明显相关性;厌氧消化体系稳定运行时,甲烷丝菌属(*Methanosaeta*)的相对丰度最高(53.8%),厌氧消化体系运行异常时,甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)的相对丰度最高(34%)。

关键词: 厌氧消化; 微量元素; 化学形态; pH值; 生物多样性

中图分类号: TK6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-5292(2024)12-1570-08

0 引言

厌氧消化是指有机物在无氧条件下,被微生物分解转化成甲烷、二氧化碳等一系列物质,并合成自身细胞物质的过程^[1]。厌氧消化是沼气工程重要的单元,对沼气工程运行具有重要的影响。有研究表明,厌氧消化过程除了需要碳、氮、磷、硫等常规营养元素外,还需要一定浓度的微量元素(TEs)维持消化系统稳定运行^[2]。虽然微生物对TEs的需求量较少,但TEs对有机体的生化反应过程至关重要。TEs可以充当电子导体,参与细胞外的电子转移,是微生物生长及酶促反应不可缺少的物质,可通过影响微生物活性,进而影响有机物的降解效率和厌氧消化系统的稳定性^[3]。TEs也是酶的重要组成部分,例如,Fe,Cu,Zn元素参与构成超氧化物歧化酶,Co,Zn元素参与构成辅酶M甲基转移酶,Ni元素参与构成甲基辅酶合成酶等^[4]。裴占江^[5]研究了TEs对餐厨垃圾与牛粪联合批次厌氧消化的影响,结果表明,添加TEs后,甲烷含量提高了20%,累积甲烷产量提高了55%。Zhu X^[6]研究了TEs对餐厨垃圾中温厌氧消化体系的影响,结果表明,添加5 mg/L的Ni后,累积甲烷

产量提高了231%。

许多研究者报道了不同微量元素的添加量对厌氧消化产气特性、pH值、碱度、挥发性脂肪酸(VFAs)含量的影响,发酵体系中TEs的总量虽然看似满足需求,但并非所有TEs都处于生物有效态。在不同接种比[接种物和底物的挥发性固体(VS)含量之比,I/S]下,厌氧消化体系的酸可挥发性硫化物(AVS)含量以及TEs的化学形态与沼液特性的关系,对TEs的生物有效性起到了更为关键的作用,但这种作用没有引起足够的重视。AVS含量对厌氧体系中金属元素在水相与固体相间的分配行为有决定性影响,制约着固体相中二价金属元素的化学活性和生物有效性^[7]。由此可见,TEs的生物有效性对于厌氧消化体系的稳定运行至关重要。

本文以猪粪发酵液为发酵接种物进行序批式半连续厌氧消化产沼气试验,研究不同接种比对厌氧消化性能的影响,揭示TEs化学形态与厌氧发酵过程中VFAs含量、碱度、氨氮含量、AVS含量及微生物群落多样性等之间的关系,阐明TEs维持厌氧发酵稳定运行的内在作用机理,为实际

收稿日期: 2023-05-08。

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFE0104600);国家自然科学基金青年基金项目(31901407)。

通信作者: 孙辰(1985-),女,博士,副教授,主要从事农业生物质、餐厨垃圾资源化能源化利用和厌氧消化方面的研究。

E-mail:sunbeammy@163.com

沼气的稳定运行提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 底物与接种物

试验以葡萄糖作为底物,接种物取自嘉兴某猪粪处理企业的厌氧消化罐,接种物活化3 d后用于厌氧消化试验。接种物的基础特性见表1。

表1 接种物的基础特性

Table 1 The basic characteristics of inoculum

总固体 (TS) 含量/%	VS (以TS计) 含量/%	pH值	氨氮 含量 mg/L	碱度 (以CaCO ₃ 计) mg/L
4.23±0.02	52.0±1.00	8.03±0.06	786±2.20	11 900±180

1.2 试验设计与操作

试验在恒温水浴摇床中进行,振荡速率为100 r/min,水浴温度为(36.5±0.5)℃。发酵罐的总容积为1 L,工作容积为0.8 L,即接种物质量为800 g,设置I/S分别为2.5和1.5,相应的底物葡萄糖的添加量分别为7.0 g和11.8 g。发酵液中的TEs(Fe,Co,Ni)分别以FeCl₂·4H₂O,CoCl₂·6H₂O和NiCl₂·6H₂O的形式添加^[8],添加量分别为1.00,0.20,0.10 mg/kg。总共设置4个试验组,前两个试验组的I/S分别为2.5和1.5,后两个试验组在前两个试验组的基础上添加TEs。4个试验组分别标记为I/S(2.5),I/S(1.5),TEs+I/S(2.5),TEs+I/S(1.5)。每个试验组设置4个平行,其中2个每隔1~2 d测定沼气产量和甲烷含量,另外2个每隔1~2 d采集发酵液样品并分析发酵液的pH值、氨氮含量、碱度、VFAs含量、AVS含量、TEs化学形态和微生物群落多样性。产沼气试验采用序批式半连续厌氧消化,试验分为10个批次,共48 d,每个批次内添加相同质量的葡萄糖。

1.3 分析方法

沼液的TS和VS含量以及碱度通过国家标准方法进行测定^[8];pH值采用pH-3c型pH计进行测定;甲烷含量和沼液的VFAs含量利用安捷伦7820A型气相色谱仪进行测定^[9],甲烷含量测定的进样口、热导池检测器和填充柱的温度分别为230,200,50℃,VFAs含量测定的进样口、氢火焰离子化检测器和毛细管色谱柱的温度分别为220,250,190℃,载气为氮气,流量为2 mL/min;氨氮含量采用蒸馏中和滴定法进行测定;TEs化学形态的测定采用Ortner提取法^[10],将样品中的

TEs分离为水溶态、可交换态、碳酸盐态、有机和硫化物结合态(简称有机结合态)和残渣态5个组分,用电感耦合等离子体质谱仪测定前4个形态的含量;同步提取金属(Simultaneously Extracted Metals,SEM)(Fe,Co和Ni)含量和AVS含量采用冷扩散法同时进行测定;使用SEM含量与AVS含量的比值(SEM/AVS)来表征TEs的生物有效性^[11];微生物群落多样性采用PacBio RS II System型高通量基因测序仪进行测定(采用相应DNA提取试剂盒提取发酵液中的总DNA,PCR扩增对象为古细菌16S rDNA V3区可变区、真细菌16S rDNA V3区、产甲烷丝状菌引物515FmodF和806RmodR)。采用SPSS 22.0数据处理系统进行相关性差异分析,计算P值,当P值小于0.05时,说明相关性较为显著,当P值小于0.01时,说明相关性非常显著;采用Origin 2020软件作图。

2 结果与分析

2.1 各批次累积甲烷产量分析

不同试验组各个批次的累积甲烷产量(以单位质量的VS计)如图1所示。

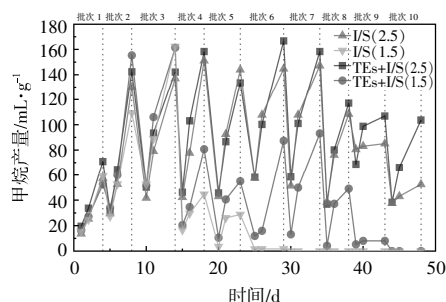


图1 不同试验组各个批次的累积甲烷产量

Fig.1 The cumulative methane production in different experimental groups for each batch

由图1可知,各个试验组在启动阶段即第1个批次的累积甲烷产量较少,为55~70 mL/g。试验组I/S(2.5)在第2~7批次时运行良好,累积甲烷产量为130~160 mL/g;试验组TEs+I/S(2.5)的累积甲烷产量明显高于试验组I/S(2.5),在第6个批次时达到峰值,为166.8 mL/g,这说明TEs的加入有利于累积甲烷产量的提升。试验组I/S(1.5)在前3个批次运行正常,且在第3个批次达到累积甲烷产量峰值162 mL/g,与试验组TEs+I/S(1.5)几乎一致,高于试验组TEs+I/S(2.5)和I/S(2.5)。试验组I/S(1.5)在第4个批次的累积甲烷产量明显降低,仅为44.7 mL/g,并在第6个批次

时几乎不再产生甲烷,这说明体系的接种比过小会导致厌氧消化体系被破坏;虽然试验组 TE_s+I/S(1.5)在第4个批次的累积甲烷产量明显下降,但也达到了 80.8 mL/g,比试验组 I/S(1.5)提升了 80.7%,且在后续批次中仍可产生甲烷,直到第10个批次,这说明 TE_s 的加入延缓了厌氧发酵体系被破坏的速度。这与 Yuan T²的研究结果相一致。造成这种现象的原因是,在厌氧消化过程中,加入微量元素会缓解 VFAs 和氨氮的积累,提高产甲烷菌的活性,从而促进了甲烷的生成^[12]。

2.2 pH 值、碱度和氨氮含量分析

不同试验组各个批次的 pH 值、碱度和氨氮含量变化如图 2 所示。

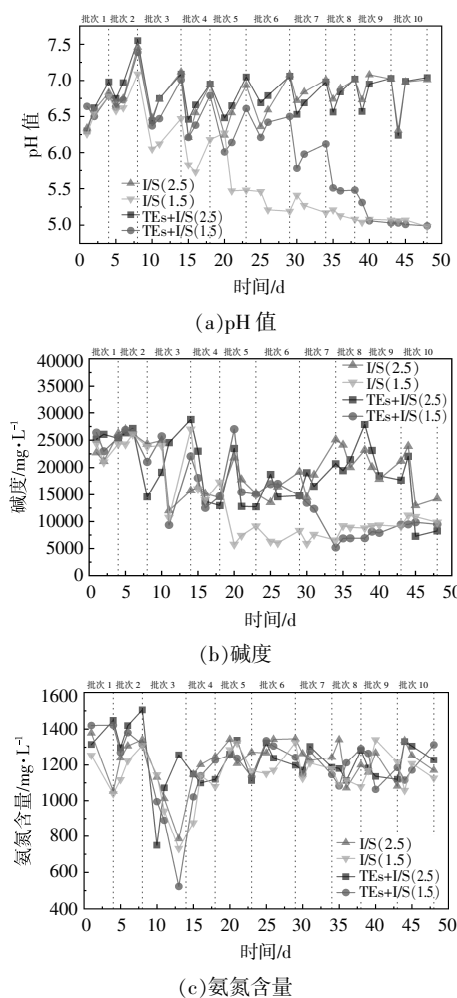


图 2 不同试验组各个批次的 pH 值、碱度和氨氮含量的变化

Fig.2 Variations in pH, alkalinity and ammonia nitrogen content among different experimental groups for each batch

在厌氧消化体系中,pH 值可以影响微生物生命活动的各个方面,包括酶活性、蛋白质稳定性、

核酸结构、跨膜电势等^[13]。由图 2(a)可知:试验组 I/S(1.5)的 pH 值在第 21 天下降到 5.47 后无法回升,这可能是接种比过小使得厌氧消化体系酸化导致的^[14];试验组 TE_s+I/S(1.5)的 pH 值快速下降的趋势明显减缓,在 30 d 之前一直保持相对稳定的状态(约为 6.5),30 d 后体系才被破坏。由此得知,TE_s 的添加可以缓解 pH 值下降的趋势。

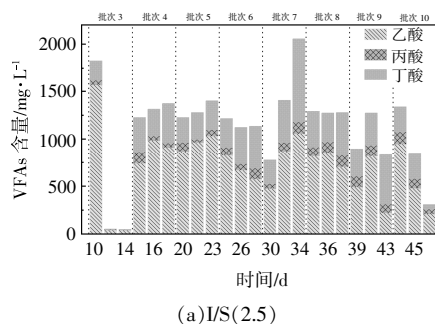
碱度与氨氮含量也是判断厌氧消化体系是否稳定的重要指标,碱度的降低与 VFAs 含量的增加直接相关。由图 2(b)可知:除最后一个批次外,I/S 为 2.5 的试验组的碱度均无明显波动,平均碱度为(19 500±200) mg/L;试验组 I/S(1.5)的碱度最小,平均碱度为(15 500±500) mg/L,并且随着体系的运行不断降低,加入 TE_s 后平均碱度明显升高。

氨氮是厌氧发酵过程中含氮有机物消化分解后的重要产物,其含量过高会改变体系的 pH 值,对微生物产生毒害作用。由图 2(c)可知:各个试验组的氨氮含量相差不大,试验组 I/S(2.5),I/S(1.5),TE_s+I/S(2.5)和 TE_s+I/S(1.5)的平均氨氮含量分别为(1 215±128),(1 145±134),(1 222±142),(1 186±179) mg/L;在第 3 批次,试验组 I/S(1.5)和 TE_s+I/S(1.5)的氨氮含量均呈下降趋势,其中试验组 TE_s+I/S(1.5)的氨氮含量降至 515 mg/L;在第 3 批次,试验组 I/S(2.5)的氨氮含量降至 798 mg/L,而试验组 TE_s+I/S(2.5)的氨氮含量先从 1 505mg/L 下降到 765 mg/L,又迅速回升到 1 250 mg/L,这说明 TE_s 的添加可以维持氨氮含量在一定的范围。

2.3 VFAs 含量分析

VFAs 的主要组成是乙酸、丙酸、丁酸,其中乙酸占比最大,丁酸次之。不同试验组 VFAs 含量的变化如图 3 所示。

由图 3 可知:试验组 I/S(2.5)的 VFAs 含量最



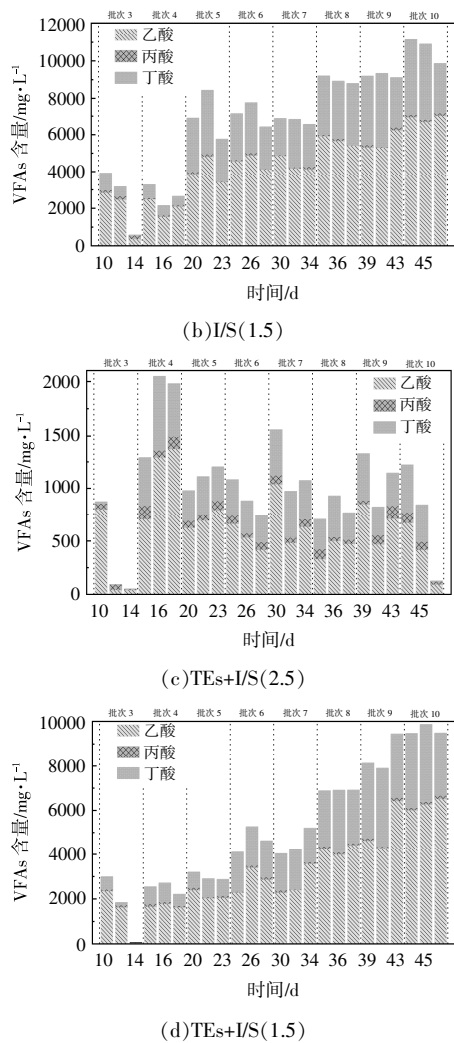


图3 不同试验组 VFAs 含量变化

Fig.3 The VFAs concentration variations among different experimental groups

高可达 2 047 mg/L,与试验组 TEs+I/S(2.5)的最高 VFAs 含量相差不大,由此可见,当 I/S 为 2.5 时,TEs 的加入没有明显减少的 VFAs 含量;试验组 I/S(1.5)的 VFAs 含量在第 3,4 批次时不超过 4 000 mg/L,但在第 5 批次增加到 8 000 mg/L,且越靠后的批次 VFAs 含量越高,最高 VFAs 含量达到 10 906 mg/L,这可能是由于体系接种比过小导致体系中的 VFAs 产生积累;试验组 TEs+I/S(1.5)的 VFAs 含量在第 3~7 批次时均不超过 6 000 mg/L,最高 VFAs 含量也低于试验组 I/S(1.5),和试验组 I/S(1.5)相比,VFAs 累计减少 25%,这说明当 I/S 为 1.5 时,添加 TEs 对 VFAs 的快速积累有一定缓解作用,该结果与 Wei Q^[15]的研究结果相一致。这是因为 TEs 可以促进甲基还原酶、脱氢酶等参与产甲

烷反应关键酶的合成,加速甲烷合成反应,缓解酸抑制^[4]。

有研究表明,丙酸型发酵的主要产物是丙酸和乙酸,丙酸型发酵的产甲烷能力较低;丁酸型发酵的主要产物是丁酸和乙酸,丁酸型发酵的产甲烷能力远强于丙酸型发酵。这是因为根据化学热力学特征,丙酸的降解比其他产物更难,不利于厌氧消化系统产甲烷^[16]。由图 3 可知,各试验组的丙酸含量均远低于乙酸和丁酸,故本研究的发酵类型不属于丙酸型发酵。

2.4 AVS 及 SEM/AVS 的测定分析

AVS 对厌氧体系中金属元素在水相与固体相间的分配行为有决定性影响,制约着固体相中二价金属元素的化学活性和生物有效性^[7]。本文中添加的 TEs(Fe, Ni, Co)皆为二价离子,因此对 AVS 的检测是十分必要的。SEM/AVS 是 TEs 生物有效性的指标,一般认为当 SEM/AVS>6 时,TEs 对于水体中微生物有很强的生物有效作用,当 SEM/AVS<6 时,TEs 对水体中微生物的影响略弱。

不同试验组的 AVS 含量(以干重计)随时间的变化和 SEM/AVS 随 pH 值的变化如图 4 所示。

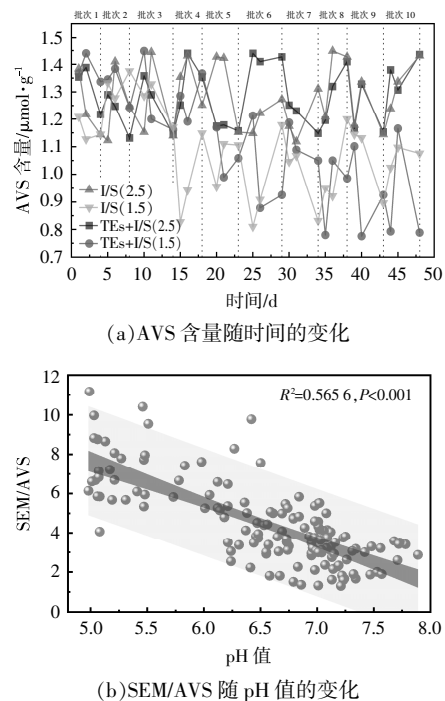


图4 不同试验组 AVS 含量随时间的变化和 SEM/AVS 随 pH 值的变化

Fig.4 The changes of AVS concentration over time and changes in SEM/AVS with pH values in different experimental groups

从图 4 (a) 可以看出: I/S 为 1.5 的试验组的 AVS 含量最低, 平均值为 $(1.1 \pm 0.16) \mu\text{mol/g}$, I/S 为 2.5 的试验组的 AVS 含量平均值为 $(1.28 \pm 0.12) \mu\text{mol/g}$; 相较于 I/S 为 2.5 的试验组, I/S 为 1.5 的试验组的产气效果明显较差, 因此, AVS 含量的高低也能反映厌氧消化体系产气效果的好坏。由图 4(b) 可以看出, SEM/AVS 的高低明显与 pH 值大小呈现出相反的趋势, 即 pH 值较低时, SEM/AVS 较高, 也即 TE_s 的生物有效性较高。本文中, I/S 为 1.5 的试验组的 pH 值较小(平均为 5.85 ± 0.05), 这说明在低接种比体系中, TE_s 的生物有效性较高^[17]。

不同试验组 AVS 含量之间差异性分析的 *P*-value 见表 2。

表 2 不同试验组 AVS 含量之间差异性分析的 *P*-value

Table 2 The *P*-value of the analysis of differences in AVS concentration among different

试验组	TE _s +I/S(1.5)	I/S(2.5)	I/S(1.5)
TE _s +I/S(2.5)	2.6×10^{-4}	0.75	2.8×10^{-7}
TE _s +I/S(1.5)		7.3×10^{-4}	0.45
I/S(2.5)			1.8×10^{-6}

由表 2 可以看出, 试验组 I/S(2.5) 和 TE_s+I/S(2.5), I/S(1.5) 和 TE_s+I/S(1.5) 之间的 *P*-value 分别为 0.75 和 0.45, 由此可以推断出, AVS 含量的高低变化与 TE_s 的添加没有明显相关性。但是, 不同 I/S 的试验组 AVS 含量之间差异显著 (*P*-value < 0.01)。

2.5 TE_s 的化学形态与沼液特性的关系

TE_s 的残渣态不具生物可利用价值, 本研究没有对残渣态进行分析。Fe, Co, Ni 的 4 种化学形态含量随 pH 值的变化如图 5 所示。不同试验组 Fe 的 4 种化学形态的含量见表 3。

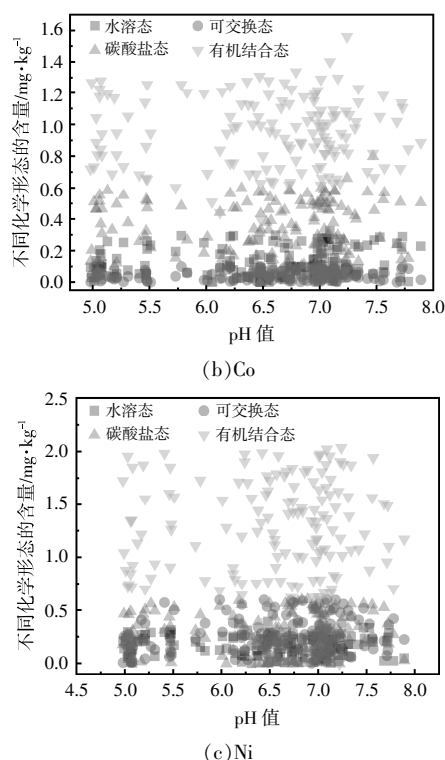
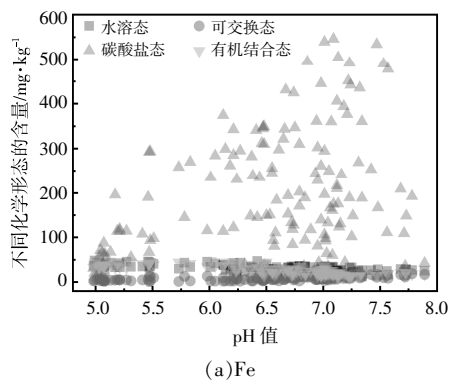


图 5 Fe, Co, Ni 的 4 种化学形态含量随 pH 值的变化
Fig.5 The content of the four chemical forms of Fe, Co and Ni varies with pH values

表 3 不同试验组 Fe 的 4 种化学形态的含量

Table 3 The concentrations of the four chemical forms of Fe in different experimental groups mg/kg

试验组	水溶态	可交换态	碳酸盐态	有机结合态
TE _s +I/S(2.5)	27.3 ± 0.06	8.72 ± 0.02	190 ± 1.38	22.8 ± 0.92
TE _s +I/S(1.5)	39.1 ± 0.05	7.00 ± 0.01	158 ± 2.13	39.1 ± 0.28
I/S(2.5)	29.1 ± 0.03	8.19 ± 0.05	191 ± 1.58	22.2 ± 0.09
I/S(1.5)	37.1 ± 0.09	3.46 ± 0.01	171 ± 1.49	38.7 ± 0.38

由图 5(a) 和表 3 可知: 在试验组 I/S(1.5) 和 TE_s+I/S(1.5) 中, Fe 的水溶态和有机结合态含量均差别不大, 且明显高于 I/S 为 2.5 的两个试验组; 在 I/S 为 2.5 的两个试验组中, Fe 的 4 种化学形态的含量均差别不大。因此, 当厌氧发酵体系接种比较小时, Fe 的水溶态含量较高, 也即 Fe 元素可被利用程度升高。由图 5(b) 可知, Co 的有机结合态含量最高, 水溶态和可交换态含量最低, 这说明厌氧消化体系中 Co 的生物有效性普遍较低, 应在后续研究 TE_s 添加策略时额外关注。由图 5(c) 可知, Ni 与 Co 类似, 有机结合态含量最高, 而其他三态含量较低。

为了明确厌氧消化中其他影响因子对 TE_s 不同化学形态含量的相互作用和影响程度, 本文

分析了 Fe 的 4 种化学形态与 pH 值、碱度、氨氮含量、AVS 含量、乙酸含量和丁酸含量之间的相关性,结果如表 4 所示。

表 4 Fe 的 4 种化学形态与其他影响因子的相关性
Table 4 The correlation of the four chemical forms of Fe with other influencing factors

Fe 的 4 种化学形态	pH 值	氨氮含量	碱度	AVS 含量	乙酸含量	丁酸含量
水溶态	-0.62	-0.45	-0.58	-0.66	0.59	0.62
可交换态	0.57	0.66	0.31	0.57	-0.4	-0.36
碳酸盐态	0.34	0.09	0.56	0.29	-0.38	-0.39
有机结合态	-0.75	-0.59	-0.52	-0.76	0.66	0.66

由表 4 可知:Fe 的水溶态和有机结合态含量与这些影响因子相关性较强,与 pH 值、氨氮含量、碱度、AVS 含量呈负相关;Fe 的水溶态含量与 pH 值和 AVS 含量的相关性高达-0.62 和-0.66,Fe 的有机结合态含量与 pH 值和 AVS 含量的相关性高达-0.75 和-0.76;Fe 的水溶态和有机结合态含量与乙酸和丁酸含量的正相关性最强。Fe 的可交换态和碳酸盐态含量与这些影响因子的相关性与 Fe 的水溶态和有机结合态含量恰恰相反。

在所有的厌氧消化影响因子中,pH 值与 AVS 含量是其中最重要的影响因子^[18]。AVS 对重金属在水体与沉积物间的分配行为有决定性影响^[11],因此对厌氧消化体系中 TEs 的化学形态有重要影响。

2.6 微生物群落分析

厌氧消化过程中甲烷生成的两种主要途径是氢营养型甲烷化和乙酸发酵型甲烷化,后一种方式通常被认为是厌氧消化过程中大部分甲烷生成的途径。尽管产甲烷菌的类型多样,但是甲烷丝菌属 (*Methanosaeta*) 和甲烷八叠球菌属 (*Methanosarcina*) 是仅有被认为能够进行乙酸发酵型甲烷化的产甲烷菌属。由于 *Methanosaeta* 和 *Methanosarcina* 在乙酸依赖生长动力学上的差异,通常认为在低乙酸含量的环境中,*Methanosaeta* 种群比 *Methanosarcina* 种群在动力学上更具竞争性和丰度;而在较高乙酸含量的环境下,*Methanosarcina* 种群通常比 *Methanosaeta* 种群更占优势^[19]。

图 6 为不同样本属水平上的群落丰度图。从图 6 可以看出:在第 4 个批次,试验组 I/S(1.5)的 *Methanosaeta* 和 *Methanosarcina* 的相对丰度总和

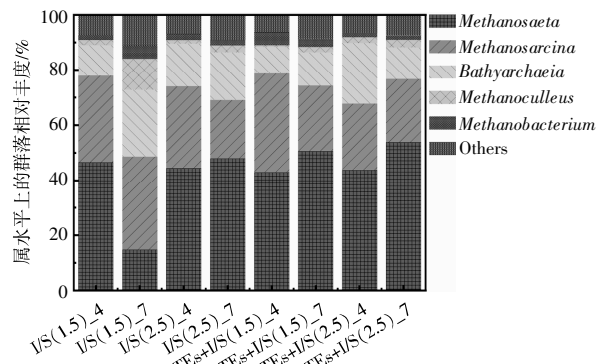


图 6 不同试验组在属水平上的群落相对丰度

Fig.6 The relative abundances of communities at the genus level in different experimental groups

注:横坐标轴上的数据 4 和 7 分别代表第 4 和第 7 个批次。

达到 78.0%;在第 7 个批次,*Methanosaeta* 的相对丰度下降了 32.0%,达到了 14.7%,而 *Methanosarcina* 的相对丰度增加了 2.7%,达到了 34.0%,甲烷囊菌属 (*Methanoculleus*) 的相对丰度明显提高,由最初的 1.9%提高到 11.2%。由图 1 可知,在第 7 个批次后,试验组 I/S(1.5)的产甲烷性能明显降低,说明当 *Methanoculleus* 相对丰度较高时,厌氧消化体系的产甲烷性能较低。试验组 TEs+I/S(1.5)的 *Methanosaeta* 相对丰度没有随着发酵时间的延长而下降,甚至提高了 7.0%。对于试验组 I/S(2.5),添加 TEs 后,*Methanosaeta* 的相对丰度提高了 6.0%的,达到了 53.8%,*Bathyarchaeia* (可利用甲烷进行产能代谢,消耗体系中的甲烷)的相对丰度减少了 11.0%^[20]。综上可知,TEs 的添加会增加厌氧消化体系中 *Methanosaeta* 和 *Methanosarcina* 的相对丰度,减少 *Methanoculleus* 及 *Bathyarchaeia* 的相对丰度,这对厌氧消化体系有益。

3 结论

①当 I/S 为 1.5 时,厌氧消化体系不稳定,累积甲烷产量较低,添加 TEs 后,累积甲烷产量提高了 80.7%,VFAs 累计减少了 25%。

②在改变接种比和人工添加 TEs 的厌氧消化体系中,Fe 元素的水溶态和有机结合态含量与 pH 值、氨氮含量、碱度、AVS 含量之间呈现负相关,而 Fe 元素的可交换态和碳酸盐态含量与这些影响因子之间呈现正相关的相关性。pH 值与 AVS 含量是影响 Fe 元素化学形态动态迁移转化的最关键影响因子。

③随着发酵时间的延长,试验组 TEs+I/S

(1.5)的 *Methanosaeta* 相对丰度比试验组 I/S(1.5) 提高了 7%, 试验组 TE_s+I/S(2.5)的 *Bathyarchaeia* 相对丰度比试验组 I/S(2.5)减少了 11%。

参考文献:

- [1] Zheng X, Zou D, Wu Q, et al. Review on fate and bioavailability of heavy metals during anaerobic digestion and composting of animal manure [J]. *Waste Management*, 2022, 150: 75–89.
- [2] Yuan T, Bian S, Ko J H, et al. Exploring the roles of zero-valent iron in two-stage food waste anaerobic digestion [J]. *Waste Management*, 2020, 107: 91–100.
- [3] Thanh P M, Ketheesan B, Yan Z, et al. Trace metal speciation and bioavailability in anaerobic digestion: A review [J]. *Biotechnology Advances*, 2016, 34 (2): 122–136.
- [4] Choong Y Y, Norli I, Abdullah A Z, et al. Impacts of trace element supplementation on the performance of anaerobic digestion process: A critical review [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 209: 369–379.
- [5] 裴占江, 刘杰, 王粟, 等. 微量金属元素对餐厨垃圾与牛粪联合厌氧消化效率影响 [J]. *可再生能源*, 2015, 33 (3): 462–467.
- [6] Zhu X, Wang Z, Dominic Y, et al. Effects of trace elements supplementation on methane enhancement and microbial community dynamics in mesophilic anaerobic digestion of food waste [J]. *Waste and Biomass Valorization*, 2023, 14(7): 2323–2334.
- [7] Gustavsson J, Yekta S S, Sundberg C, et al. Bioavailability of cobalt and nickel during anaerobic digestion of sulfur-rich stillage for biogas formation [J]. *Applied Energy*, 2013, 112: 473–477.
- [8] Cao W, Wang M, Liu M, et al. The chemical and dynamic distribution characteristics of iron, cobalt and nickel in three different anaerobic digestates: Effect of pH and trace elements dosage [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 269: 363–374.
- [9] Sun C, Cao W, Banks C J, et al. Biogas production from undiluted chicken manure and maize silage: A study of ammonia inhibition in high solids anaerobic digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 218: 1215–1223.
- [10] Ortner M, Rachbauer L, Somitsch W, et al. Can bioavailability of trace nutrients be measured in anaerobic digestion? [J]. *Applied Energy*, 2014, 126: 190–198.
- [11] 王思粉, 黄楚光, 倪志鑫, 等. 珠江虎门河口表层沉积物中酸可挥发性硫化物的重金属同步提取 [J]. *海洋环境科学*, 2012, 31(4): 500–503.
- [12] Bardi M J, Aminirad H. Synergistic effects of co-trace elements on anaerobic co-digestion of food waste and sewage sludge at high organic load [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27: 18129–18144.
- [13] Xu F, Li Y, Ge X, et al. Anaerobic digestion of food waste – Challenges and opportunities [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 1047–1058.
- [14] 刘中军, 丁岳峰, 于钦, 等. 不同粒径玉米秸秆与猪粪混合厌氧发酵特性研究 [J]. *可再生能源*, 2020, 38 (10): 1301–1306.
- [15] Wei Q, Zhang W, Guo J, et al. Performance and kinetic evaluation of a semi-continuously fed anaerobic digester treating food waste: Effect of trace elements on the digester recovery and stability [J]. *Chemosphere*, 2014, 117: 477–485.
- [16] Li Y, Zhang Y, Kong X, et al. Effects of ammonia on propionate degradation and microbial community in digesters using propionate as a sole carbon source [J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2017, 92(10): 2538–2545.
- [17] Zhang W, Li L, Wang X, et al. Role of trace elements in anaerobic digestion of food waste: Process stability, recovery from volatile fatty acid inhibition and microbial community dynamics [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 315: 123796.
- [18] 宋佳楠, 于佳滢, 冯磊, 等. 鸡粪和玉米秸秆混合干发酵特性及微生物多样性研究 [J]. *可再生能源*, 2022, 40 (3): 292–298.
- [19] Yin Z, Zhou S, Zhang X, et al. A novel batched four-stage-two-phase anaerobic digestion system to facilitate methane production from rice straw and cow manure with low inoculum/substrate ratios [J]. *Fermentation*, 2023, 9(6): 565–582.
- [20] Xie Z, Cao Q, Chen Y, et al. The biological and abiotic effects of powdered activated carbon on the anaerobic digestion performance of cornstalk [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 343: 126072.

The effect of inoculum/substrate on methane production in anaerobic digestion systems promoted by trace elements

Yin Zhao^{1,2}, Sun Chen², Cao Weixing², Hu Changwei²

(1.Faculty of Science, Zhejiang Sci -Tech University, Hangzhou 310018, China; 2.College of Biological, Chemical Science and Engineering, Jiaxing University, Jiaxing 314001, China)

Abstract: The key regulatory role of trace elements (TEs) in anaerobic digestion systems has been established, but their intrinsic effects and mechanisms have not yet been fully elucidated. This study investigates the biological effects of TEs on biogas fermentation by examining the dynamic distribution of TEs under different inoculum/substrate (I/S) conditions in an anaerobic digestion system. It aims to clarify the interaction between the chemical form of TEs and the key influencing factors and microbial communities in the anaerobic fermentation process. Results from the 10 batches of experimental anaerobic digestion of glucose showed an 80.7% enhancement in cumulative methane production with the addition of TEs at an I/S ratio of 1.5. Among the three TEs (Fe, Co and Ni) added, the different chemical forms of elemental Fe showed the strongest correlation with pH, alkalinity, volatile fatty acids and ammonia nitrogen content in anaerobic digestion. The pH value was notably correlated with the four chemical forms of Fe. When the anaerobic digestion system operates stably, the relative abundance of *Methanosaeta* was the highest (53.8%), while the relative abundance of *Methanosarcina* was the highest (34.0%) when the anaerobic digestion system operates abnormally.

Keywords: anaerobic digestion; trace elements; chemical form; pH value; microbial diversity