赵银兰,秦芷怡,严媛媛,等.荧蒽对污泥和厨余垃圾厌氧共消化的影响机制 [J]. 中国环境科学, 2025,45(10):5561-5569.
Zhao Y L, Qin Z Y, Yan Y Y, et al. Influence mechanism of fluoranthene on anaerobic co-digestion of sludge and kitchen waste [J]. China Environmental Science, 2025,45(10):5561-5569.

# 荧蒽对污泥和厨余垃圾厌氧共消化的影响机制

赵银兰[1],秦芷怡[1],严媛媛[2],冯雷雨[1*],陈银广[1] (1.同济大学环境科学与工程学院,上海 200092；2.盐城师范学院化学与环境工程学院,江苏 盐城 224002)

**摘要**：在探究荧蒽(Flu)对污泥和厨余垃圾厌氧共消化产甲烷效果的基础上,全面解析了 Flu 对厌氧共消化的作用机制.在适量浓度范围内(≤50mg/kg TSS), Flu 对厌氧产甲烷具有促进作用,当 Flu 为 50mg/kg TSS 时,共消化系统的甲烷产率达到最高[30.70mL/(gVSS·d)],是空白组的 1.61 倍.机理研究表明, Flu 促进了水解、酸化和乙酸裂解产甲烷过程;提高了厌氧共消化系统中乙酸激酶(ACK)和辅酶 F420 活性,分别是空白组的 1.30 和 1.43 倍.微生物群落结构分析发现 Flu 不仅促进了与有机物水解和酸化密切相关的普氏菌属和毛球菌属微生物的富集,还提高了乙酸裂解甲烷化的甲烷八叠球菌相对丰度.宏基因组学进一步揭示 Flu 的存在提高了与糖酵解(*HK*, *pfk* 和 *PK*)、挥发性脂肪酸产生(*por*, *ackA* 及 *buk*)和乙酸裂解产甲烷途径(*pta*, *ACSS1_2*, *cdhD* 和 *cdhE*)中相关基因丰度,促进产甲烷.

**关键词**：荧蒽；污泥；厨余垃圾；厌氧共消化；宏基因组学
**中图分类号**：X705 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)10-5561-09

**Influence mechanism of fluoranthene on anaerobic co-digestion of sludge and kitchen waste.** ZHAO Yin-lan[1], QIN Zhi-yi[1], YAN Yuan-yuan[2], FENG Lei-yu[1*], CHEN Yin-guang[1] (1.School of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China；2.College of Chemistry and Environment Engineering, Yancheng Teachers University, Yancheng 224002, China). *China Environmental Science*, 2025,45(10)：5561~5569

**Abstract**：On the basis of investigating the effect of fluoranthene (Flu) on the anaerobic co-digestion of sludge and kitchen waste, the mechanism on anaerobic co-digestion was comprehensively analysed. The results demonstrated that anaerobic methanogenesis was enhanced within the appropriate concentration of Flu (≤50mg/kg TSS). The maximum methane yield of the anaerobic co-digestion system [30.7mL/(gVSS·d)] was achieved at Flu concentration of 50mg/kg TSS, which was 1.61times that of the control group. Mechanistic studies showed that hydrolysis, acidification and acetoclastic methanogenesis were promoted by Flu, as evidenced by the increased activities of acetate kinase (ACK, 1.30-fold) and coenzyme F420 (1.43-fold) relative to the control. Microbial community structure demonstrated that not only *Prevotella* and *Trichococcus*, involved in organic matter hydrolysis and acidification, were selectively enriched in the Flu group, but also the relative abundance of the acetoclastic methanogen *Methanosarcina* was increased. Metagenomics further revealed that the relative abundances of functional genes associated with glycolysis (*HK*, *pfk* and *PK*), volatile fatty acid production (*por*, *ackA* and *buk*) and acetoclastic methanogenesis (*pta*, *ACSS1_2*, *cdhD* and *cdhE*) were up-regulated, favouring methanogenesis.

**Key words**：fluoranthene；sludge；kitchen waste；anaerobic co-digestion；metagenomics

居民生活水平的提高造成我国污水厂污泥和厨余垃圾产量不断增加.据统计 2023 年我国污泥年产量已超过 5000 万 t (含水率为 80%)[1];厨余垃圾总量约为 1.15 亿 t[2].污泥和厨余垃圾均是有机质含量高的有机固废,兼具资源和污染双重属性[3],若处理处置不当易造成环境污染和资源浪费.因此,污泥和厨余垃圾的清洁化和资源化处理引起了国内外研究者的广泛关注.

厌氧消化是一种重要的有机固废处理技术[4],可在实现污泥和厨余垃圾高效处理的同时回收甲烷等生物质能源[5].然而,单一底物(污泥或厨余垃圾)厌氧消化通常受水解速率慢,C/N 比不平衡,酸抑制等问题限制[6].在改善厌氧消化性能的各种策略中,两种或两种以上底物的厌氧共消化可通过平衡有机负荷,优化微生物群落结构克服这些问题[5,7].因此,将污泥和厨余垃圾厌氧共消化是实现其资源回收最大化的有效途径.但是,作为厌氧共消化重要底物

**收稿日期**：2025-02-20
**基金项目**：上海市自然科学基金资助项目(24ZR1468400)
* 责任作者, 副教授, leiyufeng@tongji.edu.cn

的污泥中通常含有多环芳烃(PAHs)等难降解有机污染物[8].其中 PAHs 具有致癌性,诱变性和高生物毒性[9].据报道,我国城市污水污泥中 PAHs 含量高达 169.9mg/kg[10],其中 3~5 个环的 PAHs 占主导地位(84.01%~91.53%),主要包括菲,荧蒽,荧光素,芘和苯并[b]荧蒽等.尽管厌氧消化技术能够降解部分 PAHs[11],但其整体去除效果仍受到可生物利用性低的极大限制[12].目前,在 PAHs 影响有机固废资源化方面,已有研究发现 PAHs 能够显著影响污泥厌氧消化产挥发性脂肪酸(VFAs),氢气和甲烷等[13-14],但其在污泥和厨余垃圾厌氧共消化体系中的作用和影响机制却鲜有报道.因此,探究 PAHs 对污泥和厨余垃圾厌氧共消化的影响及机制尤为必要.

荧蒽(Flu)是一种广泛存在于工业废水(80ng/L),污泥(233.9μg/kg)及污染土壤(4.4~297μg/kg)的典型 4 个环的 PAHs,已被美国环境保护局和欧盟列入《优先控制污染物名录》[15-18].携带荧蒽的污泥和土壤在土地施用后可能迁移到作物中,导致食物和衍生的厨余垃圾受到污染,但目前关于厨余垃圾中新污染物荧蒽的研究相对较少[19].本研究选用 Flu 作为典型 PAHs 来探究其对污泥和厨余垃圾厌氧共消化产甲烷的影响与机制,首先探讨 Flu 对污泥和厨余垃圾厌氧共消化的表观性能影响,接着考察其对厌氧共消化各关键阶段的影响,进一步从与产甲烷密切相关的关键酶活性、微生物种群结构、功能基因等方面深入解析其影响机理,以期揭示暴露于 Flu 的复杂微生物过程的剂量-效应关系,为含 Flu 污泥和厨余垃圾的工程化资源利用提供指导.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 荧蒽来源** 本实验所用的 Flu(纯度>98%)购于上海阿拉丁试剂有限公司,以甲醇为溶剂,溶解 Flu 并配置成 1g/L 及 0.1g/L 的标准溶液,置于棕色试剂瓶中,于 4℃冰箱储存备用.

**1.1.2 污泥和厨余垃圾** 本研究所用污泥为上海某污水处理厂二次沉淀池剩余污泥.新鲜污泥在室温下静置沉降 24h 后,弃去上清液后过 10 目筛子,保存于 4℃冰箱备用.厨余垃圾来自于同济大学食堂,挑选出纸巾,骨头等物质,随后去除浮油,将其破碎,过 10 目筛子,保存于-20℃冰箱备用.

本实验所用的菌种取自实验室长期运行的厌氧消化反应器.本研究处理后的污泥和厨余垃圾的主要性质如表 1 所示.

**表 1 污泥和厨余垃圾分析指标**

Table 1 Analytical indicators for sludge and kitchen waste

| 分析指标 | 厨余垃圾 | 污泥 |
|---|---|---|
| pH 值 | 5.13 ± 0.1 | 6.8 ± 0.2 |
| 总悬浮固体颗粒(TSS) (g/L) | 13.89 ± 0.28 | 16.52 ± 0.26 |
| 挥发性悬浮固体颗粒(VSS) (g/L) | 13.44 ± 0.24 | 12.21 ± 0.18 |
| 总化学需氧量(TCOD) (g/L) | 12.09 ± 0.02 | 13.92 ± 0.21 |
| 溶解性化学需氧量(SCOD) (g/L) | 3.01 ± 0.02 | 0.22± 0.03 |
| 总蛋白质(g/L) | 1.87 ±0.02 | 6.73 ± 0.33 |
| 总碳水化合物(g/L) | 10.77 ± 0.05 | 2.65 ± 0.04 |

### 1.2 实验装置及运行过程

**1.2.1 Flu 对污泥和厨余垃圾厌氧共消化产甲烷的影响** 将 135mL TSS 为 10g/L 的污泥和厨余垃圾以及 30mL 驯化好的厌氧消化污泥分别加入 15 个 600mL 血清瓶中,并加入相应量的 Flu (Flu 的浓度设置为 0, 5, 20, 50 及 100mg/kg TSS),共 5 组,分别标记为 Control, Flu-5, Flu-20, Flu-50 和 Flu-100,每组 3 个平行.如前所述,污水厂剩余污泥中 PAHs 干重高达 169.9mg/kg.可以看出,本研究设定的 Flu 含量基本与实际情况的 PAHs 含量一致.厌氧共消化系统运行条件如下:pH (7.0±0.2),温度(35±2)℃,固体停留时间 25d.反应器运行稳定后(60d)每间隔一段时间从反应器中取样测定甲烷的体积及占比,计算甲烷产量.

**1.2.2 Flu 对污泥和厨余垃圾厌氧共消化各阶段的影响** 水解阶段:根据初始污泥和厨余垃圾共消化液总碳水化合物和总蛋白含量比为 1.9:1,本研究将含有 270mL 牛血清蛋白(2.6g/L)和葡聚糖(5g/L)的合成废水及 30mL 长期运行反应器中 Flu 浓度分别为 0 和 50mg/kg TSS 的共消化液加入 600mL 血清瓶,控制 pH=7.0,反应前 2d 每隔 12h 取样,第 3d 开始每隔 1d 取样.

酸化阶段: Flu 对厌氧共消化酸化阶段影响的探究,其具体步骤与水解阶段相似,并根据初始污泥和厨余垃圾共消化液总碳水化合物和总蛋白含量比确定酸化阶段的底物占比,不同之处是将牛血清蛋白和葡聚糖替换为 L-谷氨酸(2.6g/L)和葡萄糖(5g/L)[20].此后,每间隔 2d 取样,并测定反应器中 VFAs 含量.

甲烷阶段: Flu 对厌氧共消化产甲烷阶段的影响分为两种情况进行探究.Flu 对厌氧共消化系统中耗乙酸产甲烷过程的影响,利用含有 2g/L 乙酸钠的合成废水在 600mL 血清瓶进行反应,氮气吹扫除氧,每隔 1d 取样测定反应器中乙酸与气体含量;耗氢还原$CO_2$产甲烷过程的合成废水为无机盐及微量元素,通入 80%的$H_2$和 20%的$CO_2$,每间隔 12h 取样测定瓶中气体组成和含量.

### 1.3　分析方法

**1.3.1　测定方法**　液体样品经 0.45μm 滤膜过滤后,分别采用蒽酮试剂法和 BCA (bicinchoninic acid)法测定其碳水化合物及蛋白质含量[21],并计算牛血清蛋白和葡聚糖的水解效率.氢气,甲烷和 VFAs 采用气相色谱法进行分析,其中采用带有热导检测器的福立 GC9790T−2 型气相色谱仪测定样品中氢气和甲烷,采用带有氢火焰离子检测器的 Agilent 7820 型气相色谱仪测定样品中 VFAs 的含量.

**1.3.2　关键酶活性的测定**　20mL 共消化混合液经 0.1mol/L PBS 洗涤和重新悬浮后.重悬液经超声波细胞破碎 15min,在 4℃下以转速 10000r/min 离心 10min 以除去细胞残留物,得到的上清液即为细胞酶提取液.通过酶生物试剂盒分别测定反应乙酸激酶(ACK),辅酶 F420 及铁氧还蛋白氢化酶(POR)三种关键酶活性的对应特征峰 340, 450 和 550nm 吸光度,分析 Flu 对厌氧共消化体系中关键酶活性的影响.其中 ACK 的标准品浓度梯度为 0, 12.5, 25, 50, 100, 200U/L;辅酶 F420 试剂盒的标准品浓度梯度为 0, 2.5, 5, 10, 20, 40U/mL, POR 标准样品浓度为 0, 12.5, 25, 50, 100, 200U/L.测出样品的吸光度后代入标准曲线,计算得到样品的酶活性.

**1.3.3　DNA 提取及测序**　厌氧共消化系统中微生物种群结构和功能基因丰度的变化将直接影响反应器的产能.因此,本研究对 Control 及 Flu−50 组反应器中的基因组的 DNA 采用 FastDNA®土壤试剂盒(MP Biomedicals, USA)进行 DNA 抽提和利用 NanoDrop2000 检验后,随后通过对细菌 16S 核糖体 RNA 基因的 V3−V4 可变区和古菌的 V4−V5 可变区进行 PCR 扩增(其中细菌的引物序列为 338F 及 806R,古菌引物序列为 524F10extF 及 Arch958 RmodR),并利用 IlluminaNovaSeq/Hiseq Xten 测序平台完成宏基因组测序,全面分析 Flu 暴露下微生物群落结构的变化,最后对所得数据进行功能注释和分析.

**1.3.4　数据分析与处理**　采用 Excel 软件对数据进行分析处理, $P<0.05$ 认为两组存在显著性差异; Origin 2021 用于实验结果的图形绘制.

## 2　结果与讨论

### 2.1　Flu 对污泥和厨余垃圾厌氧共消化系统产甲烷效果的影响

如图 1 所示,在适量浓度(≤50mg/kg TSS)范围内,Flu 对厌氧共消化产甲烷具有一定促进作用.同一时间,随着 Flu 浓度从 0~50mg/kg TSS,甲烷产率逐渐提高.在 80~120d, Flu−20 甲烷平均产率为 26.85mL/(gVSS·d),是 Control 组[19.09mL/(gVSS·d)]的 1.41 倍;当 Flu 浓度进一步提升至 50mg/kg TSS 时,甲烷产率达到最大,为 30.70mL/(gVSS·d)],是 Control 的 1.61 倍.然而,进一步提高 Flu 浓度为 100mg/kg TSS,甲烷平均产率反而降低至 18.21mL/(gVSS·d)],为 Control 组 0.95 倍,说明适量的 Flu 能够促进污泥和厨余垃圾厌氧共消化,高浓度的 Flu 反而抑制甲烷产生.本研究选取 Control 和 Flu−50 组深入研究 Flu 影响污泥和厨余垃圾厌氧共消化的机制.

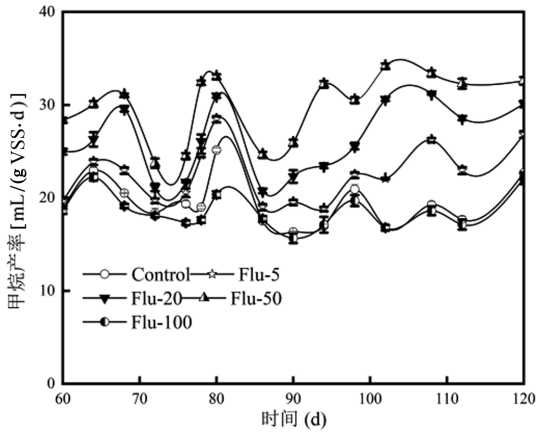



图 1　荧蒽对污泥和厨余垃圾厌氧共消化的影响

Fig.1　Effect of Flu on anaerobic co−digestion of sludge and kitchen waste

### 2.2　Flu 对污泥和厨余垃圾厌氧共消化各阶段的影响

**2.2.1　Flu 对水解阶段的影响**　污泥和厨余垃圾厌氧共消化包括水解、酸化和甲烷化 3 个阶段.水解通常被认为是污泥厌氧消化的限速步骤,在水解酶的作用下,可溶性有机物转化为氨基酸、单糖等底物用

于产 VFAs[22].由图 2(a)可以看出,与 Control 组相比,Flu−50 组中碳水化合物的水解效率提高了 32.87% (95.4% vs 71.80%),而溶解性蛋白质水解效率分别为 25.05%和 26.09%,说明 Flu 促进了厌氧共消化系统碳水化合物水解但对蛋白质水解无显著影响.

2.2.2 Flu 对酸化阶段的影响 厌氧共消化的酸化阶段中,水解阶段生成的小分子物质被产酸菌转化生成 VFAs、$H_2$ 及 $CO_2$ 等产甲烷微生物可利用的物质,为后续甲烷生成提供底物[23-24].Flu 对酸化阶段的影响如图 2(b)所示,VFAs 产量在 Control 和 Flu−50 组中分别为 2651 和 3419mg COD/L, Flu−50 组的 VFAs 产量是 Control 组的 1.29 倍,表明 Flu 的存在显著促进了酸化阶段 VFAs 产生,可为甲烷生成提供更多底物.

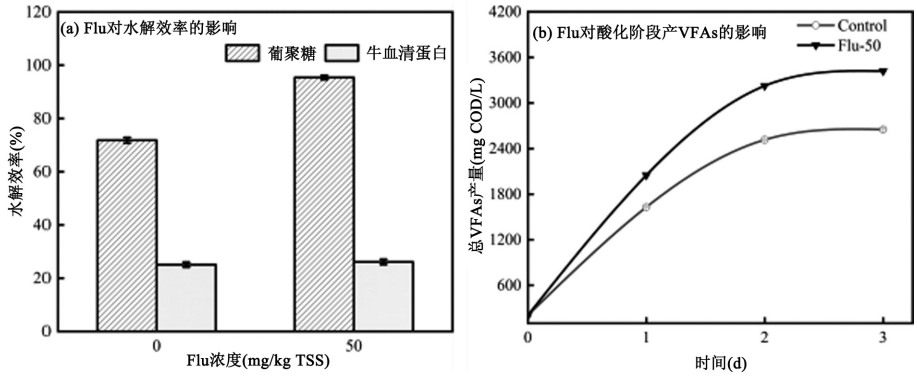
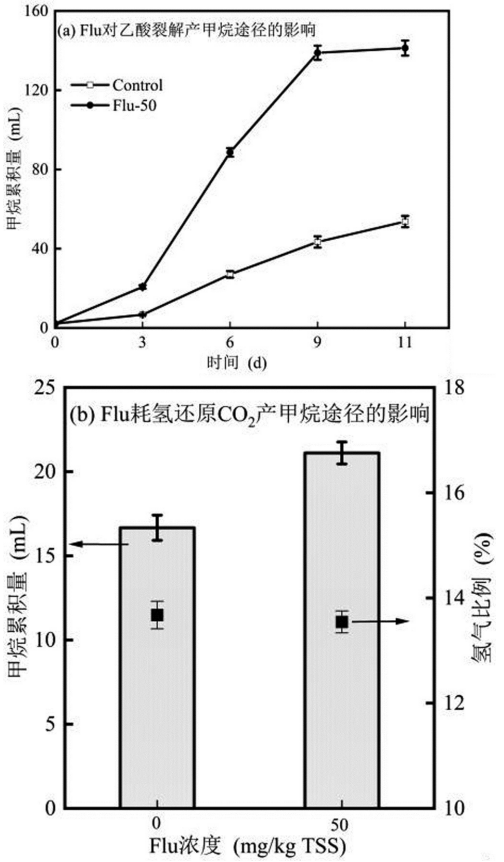



图 2 荧蒽对水解和酸化阶段的影响

Fig.2 Effect of Flu on the hydrolysis and acidification stages

2.2.3 Flu 对产甲烷阶段的影响 对于厌氧消化中酸化阶段的产物,甲烷菌可直接利用的底物,通常有两种,一是乙酸;二是 $H_2$ 或 $H^+/e^-$和 $CO_2$[25],丙酸和丁酸需经脂肪酸氧化菌进一步转为乙酸,$H_2$ 及 $CO_2$ 才可直接被甲烷菌利用. Flu 对乙酸裂解产甲烷途径的影响如图 3(a)所示,Flu−50 中甲烷积累量为 141.27mL,为 Control 组的 2.63 倍(53.67mL),说明 Flu 对乙酸裂解产甲烷途径具有显著促进作用,这与在长期反应器中甲烷产率提高的结论相吻合.然而,对于耗氢还原 $CO_2$ 产甲烷过程,从图 3(b)可以看出,Control 组和 Flu−50 组中剩余氢气量均约为 13%,并且两组的甲烷产量相当(17.13mL vs 21.11mL),证实 Flu 对耗氢还原 $CO_2$ 产甲烷途径无显著影响.上述结果也从侧面揭示 Flu 促进酸化阶段 VFAs 产生为产甲烷阶段提供了更多可利用乙酸,促进甲烷产生.

生物酶作为催化剂参与并调控几乎所有生物代谢过程.酶活性直接决定了微生物能否高效地利用营养物质,维持生命活动以及适应环境变化.辅酶 F420 与甲烷生成的多个途径密切相关[26];而 ACK 活性直接决定乙酸生成并影响产甲烷过程[27]; POR 则与消化系统中氢气的生成密切相关[28],影响耗氢还原 $CO_2$ 产甲烷过程.因此,测定 ACK,辅酶 F420 和 POR 的活性有助于进一步揭示 Flu 对厌氧共消化的影响.



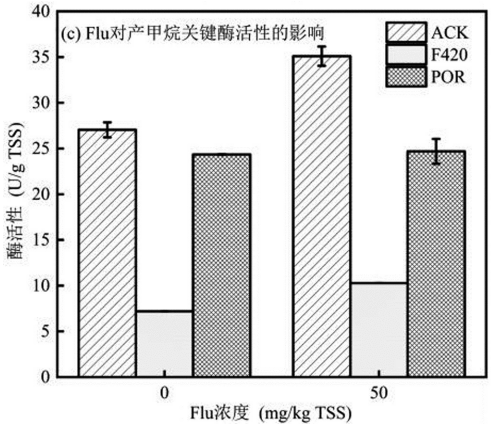



图 3　荧蒽对产甲烷阶段和关键酶活性的影响

Fig.3　Effect of Flu on methanogenesis and the activities of key enzymes

如图 3(c)所示, ACK 活性在 Control 和 Fl−50 组中分别为 27.04 和 35.10U/g TSS;辅酶 F420 的活性分别为 7.19 和 10.28U/g TSS,这两种酶的活性在 Flu−50 组中分别为 Control 组的 1.30 与 1.43 倍;而 POR 活性在两组中无显著差别,约为 24U/g TSS.上述研究结果证实 Flu 通过增强厌氧共消化系统中辅酶 F420 和 ACK 活性强化乙酸裂解产甲烷途径,也与图 3(a)的研究结果一致.

## 2.3　Flu 对微生物群落结构的影响

厌氧共消化是一个细菌、古菌等多种微生物参与的生化反应过程,为进一步揭示 Flu 对污泥和厨余垃圾厌氧共消化产甲烷的影响机制,本研究全面分析了 Flu 对厌氧共消化系统微生物种群结构的影响.如图 4(a)所示,在门分类学水平上,厌氧共消化系统的微生物群落主要包括厚壁菌门(Firmicutes),拟杆菌门(Bacteroidetes),放线菌门(Actinobacteria),绿弯菌门(Chloroflexi),变形菌门(Proteobacteria)和互养菌门(Synergistetes)等,均与厌氧产挥发性脂肪酸和甲烷密切相关[29-30].其中,厚壁菌门和拟杆菌门细菌在厌氧共消化系统占优势地位.之前的研究表明,厚壁菌门可水解大分子有机物(如淀粉和纤维素等),拟杆菌门产生各种裂解酶(水解酶和脂肪酶)降解大分子有机物产生 VFAs[31].厚壁菌门的相对丰度在 Control 和 Flu−50 组中占比均最高,分别为 23.02%和 28.17%, Flu−50 组显著高于 Control 组,表明 Flu 的存在提升了厌氧共消化系统中与水解功能相关的微生物群落丰度,有利于碳水化合物等大分子有机物水解.此外,与 Control 组相比, Flu−50 组中拟杆菌门的相对丰度也略有提高(23.10% vs 24.23%),说明 Flu 促进了大分子有机物的降解,产生更多 VFAs,为产甲烷过程提供充足底物.已有研究发现甲烷产量与放线菌门和变形菌门相对丰度呈负相关[32].

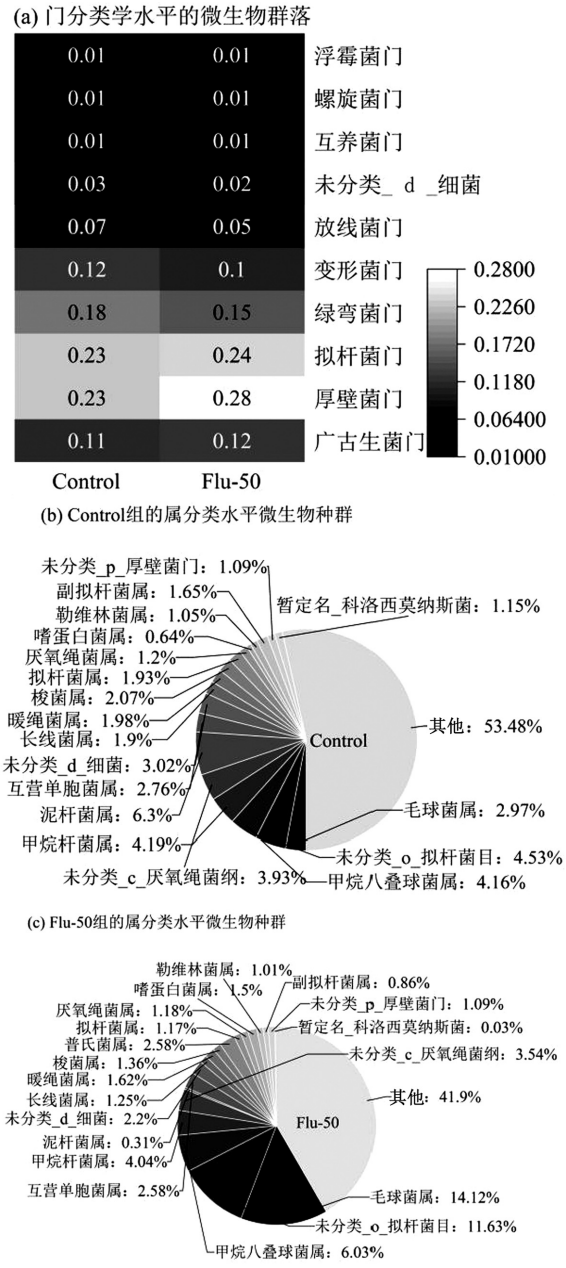



图 4　荧蒽对污泥和厨余垃圾厌氧共消化系统中微生物群落结构的影响

Fig.4　Effect of Flu on microbial community structure during anaerobic co−digestion of sludge and kitchen waste

在本研究中,这两类微生物的相对丰度在 Flu−50 组中有所降低,揭示了 Flu 可通过抑制放线菌门和变形菌门微生物的增殖促进甲烷产生.产甲烷微生物属于广古菌门(Euryarchaeota), Flu 的存在导致

广古菌门相对丰度由 Control 组的 11.01%提升至 Flu-50 组的 12.24%,表明适量的 Flu 有利于厌氧共消化系统中产甲烷微生物富集,促进甲烷产生.

厌氧共消化系统属水平微生物群落结构如图 4(b)(c)所示.在属水平上,细菌主要包括毛球菌属(*Trichococcus*),普氏菌属(*Prevotella*)和嗜蛋白菌属(*Proteiniphilum*)等微生物.据报道普氏菌属和嗜蛋白菌属细菌能够促进厌氧消化系统碳水化合物和蛋白质水解[33].本研究中, Flu 存在强化了厌氧共消化体系普氏菌属和嗜蛋白菌属富集,其相对丰度由 Control 组的 0.08%和 0.64%提高至 2.58%和 1.50%.其中,在碳水化合物水解中起关键作用的普氏菌属相对丰度的提高幅度最大(0.08% vs 2.58%),进一步说明 Flu 能够促进厌氧共消化系统中碳水化合物的水解过程,这与上述 Flu 促进碳水化合物水解的结论相一致.已有研究发现毛球菌属细菌可利用葡萄糖进行厌氧发酵产生乙酸[34].毛球菌属相对丰度在 Flu 影响下提升最为明显,由 Control 组的 2.97%提高至 Flu-50 组的 14.12%,揭示了 Flu 通过促进毛球菌属细菌富集强化了厌氧共消化系统乙酸产生,与前面酸化阶段结果相一致(图 2(b)).属水平的产甲烷古菌主要组成有甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)及甲烷杆菌属(*Methanobacterium*)微生物.甲烷八叠球菌是一种常见的产甲烷微生物,可利用乙酸,氢气/二氧化碳等底物产甲烷[35].在 Flu-50 组中,甲烷八叠球菌属相对丰度为 6.03%,明显高于 Control 组(4.16%),其相对丰度的提高有利于高效利用酸化阶段的底物产甲烷,导致甲烷产量明显提升.然而,甲烷杆菌属在两组中的相对丰度无明显差异,约为 4%,揭示该菌属微生物并不是导致甲烷产量升高的主要原因.

### 2.4 Flu 对微生物功能基因的影响

厌氧共消化体系由具有独特基因的不同微生物组成,其基因的特殊性决定了功能特性.污泥和厨余垃圾厌氧共消化系统的微生物宏基因组学在 Level 3 层级上的相对丰度结果如图 5 所示,可以看出 Control 组和 Flu-50 组中占整个代谢通路前 10 的路径有:碳代谢,氨基酸生物合成, ABC 转运,糖酵解与糖代谢合成,甲烷代谢等.厌氧消化中的产甲烷过程是整个厌氧消化的最后阶段,涉及复杂的微生物物质代谢活动.从图 5 可以看出, Flu 的存在显著提高了厌氧共消化系统中与甲烷产生相关的碳代谢,糖酵解和甲烷代谢的基因相对丰度,分别从 Control 组的 5.07%, 2.05%和 1.85%提高至 Flu-50 组的 5.42%, 2.36%和 2.26%,进一步说明 Flu 促进的甲烷产生是各个代谢过程(ABC 转运,糖酵解,丙酮酸代谢和甲烷代谢)共同作用的结果,并非仅仅促进甲烷代谢途径,这也与上述 Flu 的存在促进厌氧消化系统的水解,酸化和产甲烷阶段的结论相一致.

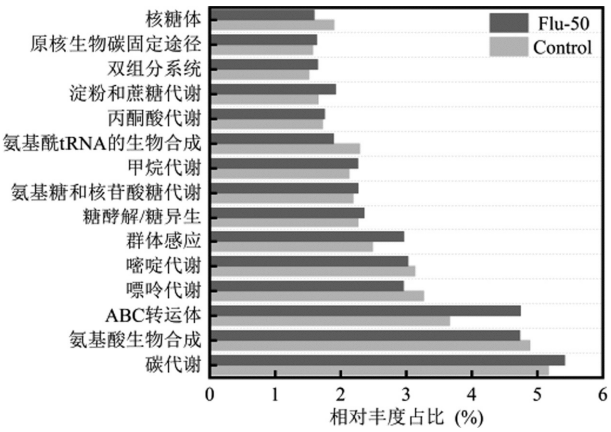



图 5 3 级代谢路径上相对丰度差异分析

Fig.5 Differential analysis of relative abundance on the 3-level metabolic pathway

由 Level 3 层级上代谢通路和厌氧共消化路径图 6(a)可知,甲烷产生除了与甲烷代谢途径相关外,还与 VFAs 生成途径密切关联. VFAs 生成过程主要涉及葡萄糖经过糖酵解途径产生中间产物丙酮酸,而后丙酮酸经过不同代谢途径转化为乙酸,丙酸和丁酸等[36].首先,糖酵解途径由葡萄糖生成丙酮酸的过程主要包括:葡萄糖→葡萄糖-6-磷酸→果糖 1,6-二磷酸→甘油醛-3-磷酸→磷酸烯醇式丙酮酸→丙酮酸[37].其中,涉及葡萄糖磷酸化己糖激酶基因 *HK*,异构化编码基因 *pfk*, *ALDO* 和 *PGK*,以及丙酮酸生成相关基因 *PK* 的相对丰度由于 Flu 的存在提高了 32.14%~125% (图 6(b)),证实 Flu 的存在促进了厌氧共消化系统有机底物的糖酵解过程.此外, Flu 还提高了由丙酮酸生成 VFAs 密切相关的 *por* 及 *buk* 等基因相对丰度,由 Control 组的 0.11%提高至 Flu-50 组的 0.13%,说明 Flu-50 组中更多小分子 VFAs 生成为后续甲烷产生提供了更多可利用底物,该结果从基因水平揭示了 Flu 的存在促进了厌氧共消化系统中 VFAs 生成,这也与 Flu-50 中酸化阶段 VFAs 产量提高的结果相符合(图 2(b)).

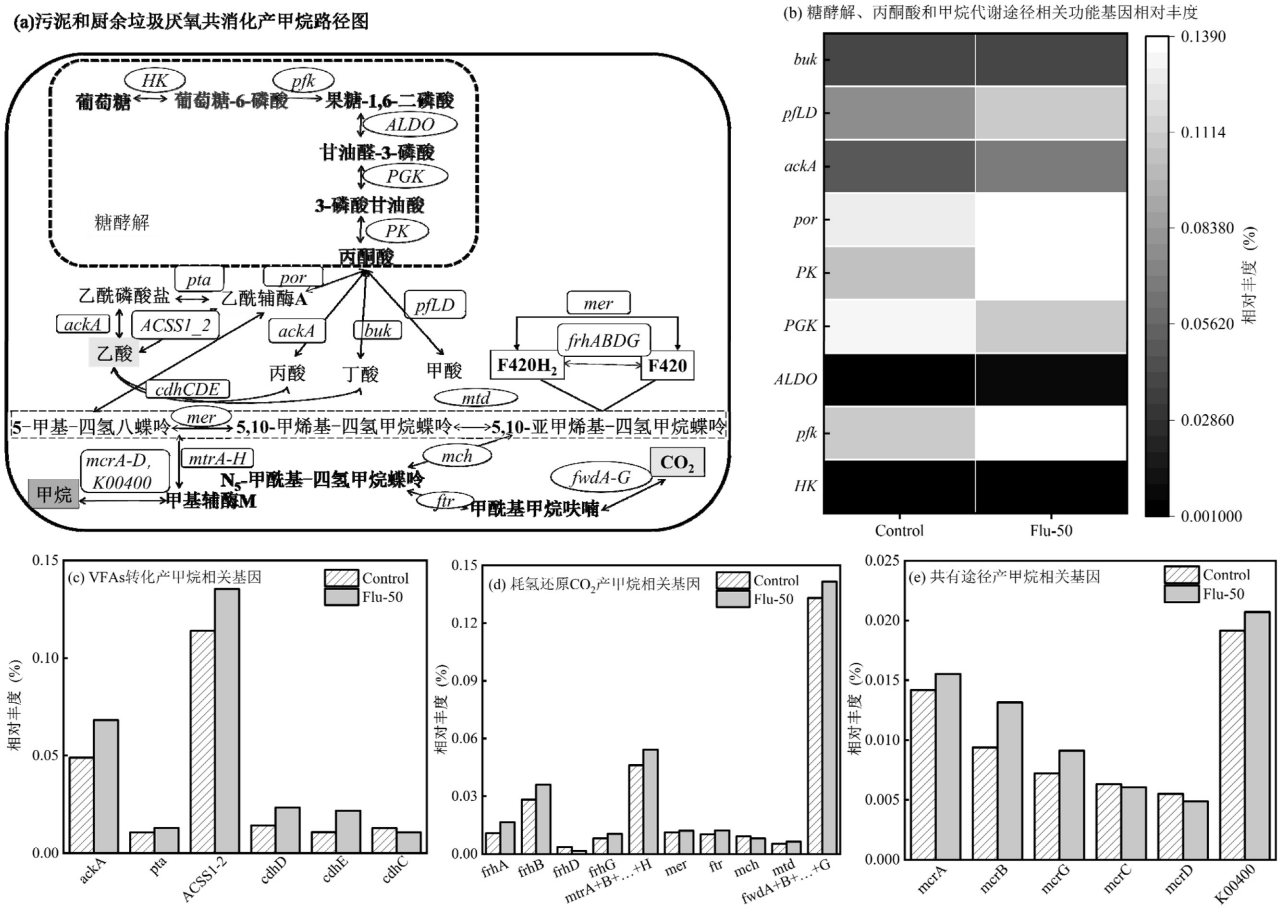



图 6　荧蒽对污泥和厨余垃圾厌氧共消化过程中糖酵解,丙酮酸代谢和甲烷代谢途径相关功能基因相对丰度的影响

Fig.6　Effect of Flu on the relative abundance of functional genes related to glycolysis, pyruvate metabolism and methane metabolism pathways during anaerobic co-digestion of sludge and kitchen waste

厌氧共消化系统中乙酸裂解和耗氢还原$CO_2$产甲烷的路径如图 6(a)所示.结合图 6(c)可知,乙酸裂解过程中乙酸激酶(ACK)编码乙酸转化为乙酰磷酸的基因 *ackA* 相对丰度在 Flu 影响下由 Control 组的 0.0489%提高至 0.0682%;接着,由乙酰磷酸经过如图 6(a)所示的步骤转化成甲基辅酶 M($CH_3$-CoM),该过程涉及磷酸转乙酰酶(PTA)的编码基因 *pta*,乙酰辅酶 A 合成酶(ACS)的编码基因 *ACSS1_2*,乙酰辅酶 A 脱羧酶/合成酶复合体(ACDS)的编码基因 *cdhC*, *cdhD* 及 *cdhE*,甲基转移酶(Mtr)的编码基因 *mtrA*, *mtrB*, *mtrC*, *mtrD*, *mtrE*, *mtrF*, *mtrG* 及 mtrH.其中,在乙酰磷酸转化成 5-甲基-四氢八蝶呤($CH_3$-$H_4$SPT)过程涉及的编码基因 *pta*, *ACSS1_2*, *cdhD* 和 *cdhE* 中, *ACSS1_2* 基因相对丰度在代谢途径中占比最高,Control 组和 Flu-50 组中分别为 0.1139%及 0.1354%; *cdhD* 及 *cdhE* 基因相对丰度在 Flu-50 组中是 Control 组的 1.64 及 2.02 倍.最后,甲基-四氢八蝶呤转化为甲基辅酶 M 过程涉及的甲基转移酶编码基因 *mtrA-H* 相对丰度由 Control 组的 0.046%提升至 Flu-50 组的 0.054%,该结果表明 Flu 促进厌氧共消化系统中乙酸裂解产生更多甲烷的前驱体甲基辅酶 M.

辅酶 F420 氢化酶(Frh)可催化辅酶 F420 转化为辅酶 $F420H_2$,在耗氢还原 $CO_2$ 产甲烷途径的多个步骤中起着重要作用[38].辅酶 F420 转化过程涉及的功能基因有:*mer*, *frhA*, *frhB*, *frhD* 和 *frhG*.其中,基因 *frh* 相对丰度在 Flu 的存在下与 Control 组相比提高了 27.10% (图 6(d)).然而,耗氢还原 $CO_2$ 过程的相关酶编码基因如编码甲酰甲烷呋喃脱氢酶(Fdh)的主要功能基因 *fwdA-G*,编码四氢甲烷蝶呤甲酰转移酶(Ftr)的功能基因 *ftr*,甲酰四氢甲烷蝶呤环化水解酶(Mch)功能基因 *mch*,甲酰四氢甲烷蝶呤脱氢酶(Mtd)功能基因 *mtd* 以及甲酰四氢甲烷蝶呤还原酶(Mer)功能基因 *mer* 的总相对丰度在 Control 组和 Flu-50

组中无显著差别(0.30% vs 0.32%),揭示了 Flu 对耗氢还原 $CO_2$ 产甲烷过程无明显影响,这与产甲烷阶段 Control 组和 Flu-50 组中氢气消耗量无显著差异的结果一致.在整个甲烷代谢途径中,甲基辅酶 M 在甲基辅酶 M 还原酶(Mcr)催化下以辅酶 B 为电子供体转化生成甲烷和异二硫化物(CoM-S-S-CoB)是产甲烷的最后一个步骤[39],该过程涉及的编码基因 *K00400* 和 *mcrA-D* 的总相对丰度由于 Flu 的存在相比于 Control 组提高了 12.50% (图 6(e)),证实 Flu 可通过强化甲烷生成共有途径甲基辅酶 M 的转化促进甲烷产生.总体而言,上述研究结果从基因水平揭示 Flu 主要通过强化厌氧共消化系统的乙酸裂解产甲烷途径促进甲烷产生.

### 2.5 Flu 促进污泥和厨余垃圾厌氧共消化产甲烷的主要机制

本研究揭示了暴露于 Flu 的污泥和厨余垃圾厌氧共消化产甲烷(复杂微生物过程)的剂量特异性效应和机制.适量 Flu 浓度(≤50mg/kg TSS)促进了污泥和厨余垃圾厌氧共消化产甲烷的水解,酸化和产甲烷阶段,主要机制是 Flu 的存在调节了共消化系统的微生物种群结构,并调控了微生物代谢过程,包括甲烷代谢,ABC 转运,糖酵解和丙酮酸代谢等过程.具体地,一方面 Flu 的存在大幅度提高了与有机物水解和酸化相关的普氏菌属和毛球菌属等微生物相对丰度,其代谢产物为产甲烷过程提供了充足底物;另一方面,Flu-50 组中与甲烷生成密切相关的甲烷八叠球菌属相对丰度是 Control 组的 1.45 倍,促进乙酸裂解产甲烷过程,提高甲烷产量.此外,基因水平分析揭示 Flu 的存在上调了糖酵解,丙酮酸代谢和乙酸裂解产甲烷过程中关键基因的相对丰度,从而促进污泥和厨余垃圾厌氧共消化产甲烷.

## 3 结论

3.1 在适量 Flu 浓度范围内(≤50mg/kg TSS),Flu 对污泥和厨余垃圾厌氧共消化产甲烷有一定促进作用,当 Flu 为 50mg/kg TSS 时,厌氧共消化系统的甲烷产率从 19.09mL/(gVSS·d)提高至 30.70mL/(gVSS·d),而超过 100mg/kg TSS 的 Flu 抑制甲烷产生.

3.2 Flu 主要促进了污泥和厨余垃圾厌氧共消化的酸化和产甲烷阶段;具体地, Flu 显著提高了 VFAs 产量为乙酸裂解产甲烷过程提供了更多底物,另一方面, Flu 促进乙酸裂解产甲烷,提高甲烷产量.

3.3 Flu 主要通过强化厌氧共消化系统普氏菌属和毛球菌属等微生物的富集,促进水解和酸化过程;通过提高 44.92%的甲烷八叠球菌属相对丰度,促进产甲烷过程.

3.4 宏基因组学揭示了 Flu 通过提高厌氧共消化系统中糖酵解和产挥发性脂肪酸途径中相关酶的编码基因(*HK*, *PK*, *por*, *ackA*, *pfLD* 及 *buk*)和乙酸裂解产甲烷途径相关基因(*pta*, *ACSS1_2*, *cdhD* 和 *cdhE*)的相对丰度促进甲烷产生.

**参考文献:**


[1] 中华人民共和国生态环境部 2023 年中国生态环境统计年报[EB/OL].(2024-12-31)[2025-02-18]. https://www.mee.gov.cn/hjzl/sthjzk/sthjtjnb/202412/t20241231_1099687.shtml.
2023 Annual Report on China's Ecological Environment Statistics by the Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China[EB/OL].(2024-12-31)[2025-02-18]. https://www.mee.gov.cn/hjzl/sthjzk/sthjtjnb/202412/t20241231_1099687.shtml.

[2] Ma S, Zhou C, Chi C, et al. Estimating Physical Composition of Municipal Solid Waste in China by Applying Artificial Neural Network Method [J]. Environmental Science & Technology, 2020,54(15):9609-9617.

[3] 杨东海,华 煜,武博然,等.双碳背景下有机固废资源化处理处置技术发展思考 [J]. 环境工程, 2022,40(12):1-8,36.
Yang D H, Hua Y, Wu B R, et al. Consideration on development of organic solid waste resource treatment and diaposal technology under the background of doule carbon [J]. Environmental Engineering, 2022,40(12):1-8,36.

[4] 李 蕾,张 智,黄 茜,等.厨余垃圾厌氧消化反应器起泡的驱动因子 [J]. 中国环境科学, 2023,43(3):1244-1255.
Li L, Zhang Z, Huang Q, et al. Driving factors of foaming in anaerobic digestion of food waste [J]. China Environmental Science, 2023,43(3):1244-1255.

[5] Perez-Esteban N, Vinardell S, Vidal-Antich C, et al. Potential of anaerobic co-fermentation in wastewater treatments plants: A review [J]. Science of The Total Environment, 2022,813:152498.

[6] Chen Y, Luo J, Yan Y, et al. Enhanced production of short-chain fatty acid by co-fermentation of waste activated sludge and kitchen waste under alkaline conditions and its application to microbial fuel cells [J]. Applied Energy, 2013,102:1197-1204.

[7] Tonanzi B, Braguglia C M, Gallipoli A, et al. Anaerobic digestion of mixed urban biowaste: The microbial community shift towards stability [J]. New Biotechnology, 2020,55:108-117.

[8] Li W, Li C, Zhu N, et al. The extent of sludge solubilization allows to estimate the efficacy of ozonation for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in municipal sewage sludge [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021,413:125404.

[9] Shi Y, Xue H, Yao Y, et al. Overcoming methanogenesis barrier to acid inhibition and enhancing PAHs removal by granular biochar during anaerobic digestion [J]. Chemical Engineering Journal, 2023,477:147229.

[10] Zhang X, Tong Y, Xu L, et al. The fate and enhanced removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater and sludge treatment system: A review [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2019,49(16):1425-1475.

[11] Cea-Barcia G, Carrère H, Steyer J P, et al. Evidence for PAH removal coupled to the first steps of anaerobic digestion in sewage sludge [J]. International Journal of Chemical Engineering, 2013,2013(1): 450542.
[12] Aemig Q, Chéron C, Delgenès N, et al. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sludge organic matter pools as a driving force of their fate during anaerobic digestion [J]. Waste Management, 2016,48:389-396.
[13] Chen Y, Qin Z, Zhang P, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons stimulate acidogenesis, acetogenesis and methanogenesis during anaerobic co-digestion of waste activated sludge and food waste [J]. Bioresource Technology, 2022,360:127567.
[14] Li X, Liu Y, Li X, et al. Phenanthrene regulates metabolic pathways for hydrogen accumulation in sludge alkaline dark fermentation [J]. Bioresource Technology, 2023,384:129311.
[15] Madrid F, Florido M C, Rubio-Bellido M, et al. Dissipation of a mix of priority PAHs in soils by using availability enhancers. Effect of aging and pollutant interactions [J]. Science of The Total Environment, 2022,837:155744.
[16] Gong C, Huang H, Qian Y, et al. Integrated electrocoagulation and membrane filtration for PAH removal from realistic industrial wastewater: effectiveness and mechanisms [J]. RSC Advances, 2017, 7(83):52366-52374.
[17] Shen R, Luo Y, Zhang G, et al. Contamination of PAHs in sludge samples from the Yangtze River Delta Area1 1Project supported by the National Basic Research Program (973 Program) of China (No. 2002CB410810) [J]. Pedosphere, 2007,17(3):373-382.
[18] Yu X Z, Gao Y, Wu S C, et al. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils at Guiyu area of China, affected by recycling of electronic waste using primitive technologies [J]. Chemosphere, 2006, 65(9):1500-1509.
[19] 白玉丹,张雨辰,王　峰,等.有机固废资源化过程中新污染物的赋存与消减 [J]. 能源环境保护, 2025,39(2):137-150.
Bai Y D, Zhang Y C, Wang F, et al. Occurrence and reduction of emerging pollutants in the process of organic solid waste recycling [J]. Energy Environmental Protection, 2025,39(2):137-150.
[20] Zhao Y, Yuan F, Su Y, et al. Metagenomic and proteomic insights into graphene oxide-boosted anaerobic co-fermentation of food waste and sewage sludge for volatile fatty acids production [J]. Chemical Engineering Journal, 2025,504:158706.
[21] Zhou X, Liu T, Zhang S, et al. Metagenomic insight of fluorene-boosted sludge acidogenic fermentation: Metabolic transformation of amino acids and monosaccharides [J]. Science of The Total Environment, 2023,865:161122.
[22] Hu J, Zhao J, Wang D, et al. Effect of diclofenac on the production of volatile fatty acids from anaerobic fermentation of waste activated sludge [J]. Bioresource Technology, 2018,254:7-15.
[23] 周滢月,张　智,李　蕾,等.底物对厌氧消化系统 EPS 产生及起泡的影响 [J]. 中国环境科学, 2023,43(8):4046-4056.
Zhou Y Y, Zhang Z, Li L, et al. Influence of substrate composition on the production characteristics of extracellular polymers and foaming performance in anaerobic digestion systems [J]. China Environmental Science, 2023,43(8):4046-4056.
[24] 张　波,史红钻,张丽丽,等. pH 对厨余废物两相厌氧消化中水解和酸化过程的影响 [J]. 环境科学学报, 2005,(5):665-669.
Zhang B, Shi H Z, Zhang L L, et al. The influence of pH on hydrolysis and acidogenesis of kitchen wastes in t wo phase anaerobic digestion [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2005,(5):665-669.
[25] 田　琪,王　佳,范晓蕾,等.海洋油气田沉积物产甲烷活性及微生物生态 [J]. 环境科学, 2014,35(6):2322-2327.
Tian Q, Wang J, Fan X L, et al. Methanogenie activity and methanogen diversity in marine gas field sediments [J]. Environmental Science, 2014,35(6):2322-2327.
[26] 李煜珊,李耀明,欧阳志云.产甲烷微生物研究概况 [J]. 环境科学, 2014,35(5):2025-2030.
Li Y S, Li Y M, Ouyang Z Y. A Research overview of methanogens [J]. Environmental Science, 2014,35(5):2025-2030.
[27] 牛明杨,梁文悦,王风平.海洋环境中甲烷的生物转化及其对气候变化的影响 [J]. 中国科学:地球科学, 2018,48(12):1568-1588.
Niu M Y, Liang W Y, Wang F P. Methane biotransformation in the ocean and its effects on climate change: A review [J]. Science China Earth Sciences, 2018, 61:1697–1773.
[28] 王　雪,苑宏英,贾　璇,等.纳米零价铁和零价铁对餐厨垃圾暗发酵制氢过程铁离子和酶活性的影响 [J]. 环境工程学报, 2020,14(5): 1354-1364.
Wang X, Yuan H Y, Jia X, et al. Effect of nano zero valent iron and zero valent iron on the iron ion composition and enzyme activity during dark fermentation of food waste for hydrogen production [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020,14(5):1354-1364.
[29] Aoyagi T, Inaba T, Aizawa H, et al. Unexpected diversity of acetate degraders in anaerobic membrane bioreactor treating organic solid waste revealed by high-sensitivity stable isotope probing [J]. Water Research, 2020,176:115750.
[30] Chen H, Chen Z, Nasikai M, et al. Hydrothermal pretreatment of sewage sludge enhanced the anaerobic degradation of cationic polyacrylamide (cPAM) [J]. Water Research, 2021,190:116704.
[31] 王　攀,杨鑫玉,郑　义,等.厨余垃圾厌氧发酵失稳调控及微生物群落分析 [J]. 中国环境科学, 2022,42(4):1770-1779.
Wang P, Yang X Y, Zheng Y, et al. Reguation of acidified dry anaerobic digestion of kitchen waste and microbial community analysis [J]. China Environmental Science, 2022,42(4):1770-1779.
[32] Ma G, Chen Y, Ndegwa P. Association between methane yield and microbiota abundance in the anaerobic digestion process: A meta-regression [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2021, 135:110212.
[33] Kim E, Lee J, Han G, et al. Comprehensive analysis of microbial communities in full-scale mesophilic and thermophilic anaerobic digesters treating food waste-recycling wastewater [J]. Bioresource Technology, 2018,259:442-450.
[34] Parshina S N, Strepis N, Aalvink S, et al. Trichococcus shcherbakoviae sp. nov., isolated from a laboratory-scale anaerobic EGSB bioreactor operated at low temperature [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2019,69(2):529-534.
[35] Sowers Kevin R, Baron Stephen F, Ferry James G. *Methanosarcina acetivorans* sp. nov., an acetotrophic methane-producing bacterium isolated from marine sediments [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1984,47(5):971-978.
[36] 宋　娜,汪群慧,王利红,等.乙醇预发酵对餐厨垃圾与酒糟水解酸化和甲烷发酵的影响 [J]. 中国环境科学, 2015,35(7):2095-2102.
Song N, Wang Q H, Wang L H, et al. Effect of ethanol pre-treatment on hydrolytic acidification and methane fermentation of food waste and distillers' grains [J]. China Environmental Science, 2015,35(7): 2095-2102.
[37] Liu H, Xu Y, Li X, et al. Extracellular-proton-transfer driving high energy-conserving methanogenesis in anaerobic digestion [J]. Water Research, 2024,262:122102.
[38] 虞雪晴,王志伟,梅晓洁,等.在线化学清洗对厌氧MBR产甲烷性能影响研究 [J]. 中国环境科学, 2017,37(9):3339-3345.
Yu X Q, Wang Z W, Mei X J, et al. Effects of in-situ chemical cleaning on methanogenic activities in anaerobic membrane bioreactors [J]. China Environmental Science, 2017,37(9):3339-3345.
[39] Duan X, Chen Y, Feng L, et al. Metagenomic analysis reveals nonylphenol-shaped acidification and methanogenesis during sludge anaerobic digestion [J]. Water Research, 2021,196:117004.

**作者简介：**赵银兰(1995-),女,河南商丘人,同济大学博士研究生,主要从事固体废弃物处理与资源化研究.发表论文 9 篇.2210568@tongji.edu.cn.