管 润,李 蕾,叶文杰,等.厨余垃圾高固发酵系统起泡关键 EPS 组分识别及微生物机制解析 [J]. 中国环境科学, 2025,45(10):5607-5618.
Guan R, Li L, Ye W J, et al. Identifying key EPS fractions and elucidating microbial mechanisms of foaming in high solid anaerobic digestion of food waste [J]. China Environmental Science, 2025,45(10):5607-5618.

厨余垃圾高固发酵系统起泡关键 EPS 组分识别及微生物机制解析

管 润,李 蕾*,叶文杰,刘俊豪,韩林沛,彭绪亚 (重庆大学,三峡库区生态环境教育部重点实验室,重庆 400045)

摘要: 为探究厨余垃圾高固厌氧消化系统的起泡特征胞外聚合物(EPS)及其微生物学机制,本研究在半连续式厌氧消化反应器中通过负荷扰动诱导起泡现象,系统考察了起泡进程中反应器各类参数及微生物群落结构的动态响应.结果表明:泡沫高度与溶解性 EPS 中的疏水性蛋白质,总 EPS 中的疏水性腐殖质及疏水性蛋白质均呈显著正相关,这三类物质为潜在的起泡特征 EPS.微生物分析发现,*Fastidiosipila*,*Rikenellaceae_RC9_gut_group*,*W5053* 和 *W5* 属的丰度与泡沫高度及特征 EPS 浓度显著正相关(P≤0.05),指示它们是导致系统起泡的关键微生物.理化与生化参数的多元统计分析结果指示:随着负荷持续提升,累积的 VFA 刺激了 *Fastidiosipila*,*Rikenellaceae_RC9_gut_group*,*W5053* 和 *W5* 的增殖,随后它们大量合成特征 EPS 以应对环境胁迫;过量分泌的特征 EPS 定向排列于气泡表面,增强了液膜机械强度,减缓了气泡破裂.不同于其它特征微生物主要在液相中发挥作用,*W5* 还可随气泡迁移至泡沫层,通过分泌疏水性腐殖质进一步促进泡沫稳定.本研究为厨余垃圾消泡策略的制定提供了理论基础.

关键词: 厨余垃圾；厌氧消化；泡沫；胞外聚合物；微生物群落
中图分类号: X705 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2025)10-5607-12

Identifying key EPS fractions and elucidating microbial mechanisms of foaming in high solid anaerobic digestion of food waste. GUAN Run, LI Lei*, YE Wen-jie, LIU Jun-hao, HAN Lin-pei, PENG Xu-ya (Key Laboratory of Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, China). *China Environmental Science*, 2025,45(10)：5607~5618

Abstract: To identify the key extracellular polymeric substance (EPS) fractions and elucidate the microbial mechanisms driving foaming in high solid anaerobic digestion (HSAD) of food waste, organic loading rate (OLR) perturbations were introduced in a semi-continuous anaerobic digestion (AD) reactor to induce the foaming phenomenon. The responses of physicochemical parameters and microbial community structure were systematically investigated. The results indicated that foaming height was positively correlated with hydrophobic proteins in soluble EPS, as well as with hydrophobic humic substances (HU) and hydrophobic proteins (PN) in total EPS. This suggests that these three EPS fractions are potential key contributors associated with foaming. Microbial analyses revealed a significant positive correlation between the abundance of *Fastidiosipila*, *Rikenellaceae_RC9_gut_group*, *W5053*, and *W5* genera with foaming height and the concentrations of key EPS fractions (P≤0.05), indicating their role as key microorganisms contributing to AD foaming. Additionally, multivariate statistical analyses of physicochemical and microbial parameters indicated that, the continuous increase in OLR stimulated the accumulation of volatile fatty acids (VFA), which in turn promoted the proliferation of *Fastidiosipila*, *Rikenellaceae_RC9_gut_group*, *W5053*, and *W5*. These microorganisms subsequently synthesized substantial amounts of key EPS fractions in response to environmental stress. The over-secreted EPS were oriented and arranged on the surface of bubbles, enhancing the mechanical strength of the liquid membrane and slowing down bubble rupture. Unlike other key microorganisms that primarily act in the liquid phase, *W5* also migrated with the bubbles to the foam layer, further promoting foam stabilization by secreting hydrophobic HU. This study provides a theoretical basis for developing defoaming strategies for AD systems treating food waste.

Key words: food waste；anaerobic digestion；foam；extracellular polymers；microbial community

厨余垃圾因高有机质含量和易腐败的特性,极易散发恶臭,已经成为环境卫生工程的重要管理对象[1].厌氧消化(AD)技术不但能够实现厨余垃圾无害化处理,还可以将其转化为生物天然气,回收可再生能源,对构建“无废城市”及达成“双碳目标”具有重要支撑作用[2].然而,频发的起泡现象已然成为制约厌氧消化的关键[3],尤其当消化底物为厨余垃圾时,起泡现象的发生更为普遍[4].泡沫积聚对厌氧

收稿日期: 2025-03-10
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52170124);新重庆青年创新人才项目(CSTB2024NSCQ-QCXMX0088)
* 责任作者, 教授, lileicqu@126.com

消化系统具有多重危害,一方面会直接降低反应器的有效容积和产气效率,造成经济损失;另一方面会引发搅拌装置卡滞,排气管道堵塞等机械故障,增加沼液溢流和反应器爆炸等环境风险甚至安全事故[5].如泡沫累积造成产气量骤降 30%~90%,甚至引起系统崩溃[6-7];泡沫层积聚甲烷引发爆炸事故的案例都不乏报道[7].因此,泡沫问题已成为限制厌氧消化技术发展的关键难题[8].

团队前期系统探究了不同运行条件下厌氧消化反应器的起泡机制,通过反应器结构参数、性能参数,微生物群落特征等多尺度参数与起泡高度的相关性分析[7,9-13],最终识别出高浓度的胞外聚合物(EPS)是厌氧消化反应器起泡的关键特征物质.它们往往具有双亲特性,可以定向排列在气液膜中增加其机械强度,最终防止其破裂[7,9-10].其他研究者也有过类似论断[14-15].考虑到 EPS 具有不同的组分和浓度,且存在亲疏水组分和不同官能团,还有研究试图进一步揭示 EPS 中对起泡起关键作用的组分或形态等.如有研究者发现,疏水性 EPS 是主导泡沫形成的关键物质,而亲水性 EPS 通过提升污泥粘度强化该过程[9];还有研究者关注 EPS 组分的影响,认为可溶性蛋白质是促进泡沫的重要因素[16-17].值得注意的是,现有的研究大多关注湿式消化系统中 EPS 与起泡的相关性,且大多仅仅停留在总 EPS 的形态,组分或其中的总亲疏水 EPS 浓度与起泡的相关性上.一方面,目前厌氧消化在朝着高固方向迈进[18],与湿式系统含固率通常在 8%以下不同,高固厌氧消化系统的物料含固率通常可达 15%[19],其 EPS 浓度更高[20],EPS 组成特性可能也与湿式存在明显差异.在此系统中,EPS 是否还是起泡的特征物尚待探索.另一方面,不同形态的 EPS 也具有不同的组分,且这些组分也具有亲疏水性,但截至目前,还未有研究系统地探索在如此细致分类下 EPS 与起泡现象的关联.此外,EPS 实际上是一种微生物代谢产物,但与泡沫形成相关的 EPS 究竟是由特定功能微生物分泌,还是由微生物群落整体代谢产生,尚未有明确的研究结论.

鉴于此,本研究在厨余垃圾高固发酵系统中通过负荷扰动诱导反应器起泡,系统考察了泡沫形成过程中反应器运行效能,起泡特征参数,EPS 参数响应情况及微生物群落结构变化.本研究拟揭示高固系统中厨余垃圾厌氧消化起泡的特征物及微生物在起泡中的贡献机制,以期泡沫控制策略的制定提供指导.

1 材料与方法

1.1 底物和接种物

实验所用接种物源于重庆市某农户沼气池,预处理阶段采用 10 目筛对原始污泥进行物理筛分,有效去除其中的无机颗粒及植物纤维等杂质.随后,将筛分后的污泥置于 60L 发酵罐中于 37°C 下进行去气处理以消耗种泥中的本底有机物,以日产沼气量≤1L/d 作为去气处理终点[9,21].随后,以厨余垃圾为底物,在 2.50g VS/(L·d)的负荷下进行污泥驯化,当系统产气性能达到连续 7d 产气量波动≤10%时污泥驯化完成.将此污泥用于接种物,其理化特性如下:pH 值为(8.01±0.20),总固体含量(TS)为(14.74±0.13)%,挥发性固体含量(VS)为(8.42±0.03)%,总挥发性脂肪酸(TVFA)浓度为(158.63±1.65)mg/L,总氨氮(TAN)浓度为(1643.00±0.01)mg/L,总碱度(TA)浓度为(11856±24.12)mg/L.

为排除底物波动对反应器性能及起泡相关参数的影响,本研究采用模化垃圾作为底物.模化垃圾按照蔬菜:果皮:肉:米饭的湿重比例 40%:20%:5%:25%配制[22],其理化性质如下:TS 为(22.69±0.25)%,VS 为(22.22±0.17)%,碳水化合物为(869.36±0.35)mg/g 干基,蛋白质为(60.23±0.03)mg/g 干基,油脂为(55.70±0.18)mg/g 干基,理论甲烷产率为(351.04±0.41)mLCH_4/g VS.

1.2 实验设计

在 3 个平行运行的半连续式中温厌氧消化反应器内,以负荷为扰动条件诱导反应器起泡.反应器罐体由亚克力材质制成,无色透明,便于直接透过罐壁观察反应器内部污泥的状态及起泡情况.泡沫高度测量采取定时记录方式,即在每日进料前通过罐壁刻度进行读数.反应器总体积为 20L,有效体积 17L,以 100r/min 的搅拌速率间歇搅拌(每搅拌 4h 停止 2h)运行.初期,反应器消化液的 TS 为(14.74±0.13)%,反应器在 2.50g VS/(L·d)的有机负荷(OLR)下稳定运行 30d,随后根据反应器起泡及状态参数响应情况,以 5~16d 为周期,逐步提高负荷至 3.50,4.50,5.50,6.50,7.50 和 8.50g VS/(L·d).采用此运行模式的原因在于不同研究者提出的起泡负荷阈值不同[23-24],为完整

的观察到泡沫从无到有,从少到多的过程,且为避免负荷过高直接引起反应器酸化,从低负荷开始运行.与此同时,为控制实验周期,在某一负荷下运行一段时间且预计反应器内不会出现泡沫的显著聚集时,则提升运行负荷.最终,反应器运行至 93d 时,搅拌停止的 2h 内泡沫高度威胁反应器正常运行,为避免安全事故发生,停止向反应器中进料.至第 97d 时,泡沫高度显著下降至 9.00mm.于是第 98d 起将以 5.00g VS/(L·d)的负荷进料,观察到泡沫高度迅速回弹到 33.00mm,于 102d 终止实验.

1.3　分析方法

1.3.1　化学分析　日产气量,甲烷含量以及消化液的表面张力和粘度的测定方法与前期研究一致[12].总固体含量(TS),挥发性固体含量(VS),pH 值,总碱度(TA),总氨氮(TAN)采用标准方法测定[9].VFAs 用气相色谱仪(7890A,Agilent,CA,USA)测定.游离氨(FAN)的计算参考前期研究报道[25].采用热提法进行 EPS 的提取[26],总 EPS(TEPS)浓度是溶解性 EPS(S-EPS),紧密结合型 EPS(TB-EPS)和松散结合型 EPS(LB-EPS)的总和.采用改良 Lowry 法测定 EPS 中蛋白质(PN)和腐殖质(HU)的含量[27].胞外多糖(PS)和核酸(DNA)含量分别采用苯酚-硫酸和二苯胺法测定[28].使用 DAX-8 树脂吸附法测定 EPS 的相对疏水性[7].

1.3.2　微生物分析　根据反应器整个过程中泡沫高度的变化特征,将运行过程划分为四个阶段:稳定期(1~30d),慢速起泡期(31~76d),快速起泡期(77~93d),消泡期(94~102d).为深入探析各运行阶段中微生物群落变化,在稳定期末期(30d),泡沫高度不同的起泡期(60,76,87 及 93d)和消泡期末期(102d)6 个点分别取污泥样,按照运行时期(稳定期,起泡期和消泡期分别以 S,F 和 D 表示)和采样日期分别命名为 S_30,F_60,F_76,F_87,F_93S,D_102S.在 93 和 102d 另取 2 个泡沫层样品分别命名为 F_93F,D_102F.每个样品分别取 3 个平行确保实验结果的可靠.采用 FastDNA®SPIN Kit for Soil 试剂盒提取样本 DNA.细菌和古菌的通用引物的 PCR 扩增及测序均与前期研究方法一致[9].

1.4　统计与计算

多个样本间物种丰度的差异分析采用 Kruskal-Wallis 秩和检验,通过 FDR 对 P 值进行多重检验矫正;各参数间的 Spearman 相关性分析利用 Origin 软件完成,当 P 值小于 0.05 时即视为具有统计学差异.反应器实际甲烷产率由每日甲烷产量与进料有机质的比确定;理论甲烷产率根据式(1)计算[29];实际甲烷产率与理论甲烷产率的百分比定义为甲烷回收率[30].

$$Y=\frac{C\cdot 400}{1000}+\frac{P\cdot 490}{1000}+\frac{F\cdot 804}{1000} \tag{1}$$

式中:Y 是理论甲烷产率,mLCH_4/g VS;C 是底物中碳水化合物含量的总和,mg/g TS;P 是底物中蛋白质含量,mg/g TS;F 是底物中脂肪含量,mg/g TS.

2　结果与讨论

2.1　起泡诱导及泡沫产生情况

图 1(a)展示了负荷诱导进程中反应器的起泡及产气情况.在 0~30d 期间,反应器首先在 OLR 为 2.50g VS/(L·d)的条件下运行,期间无泡沫产生,且各类状态参数保持稳定(图 1(b)和(c)),反应器的甲烷产率和甲烷回收率分别保持在(383.83±12.78)mLCH_4/gVS 和(93.62±0.82)%的稳定水平,因此将此阶段(0~30d)定义为稳定期.从第 31d 开始,反应器 OLR 以 1.00g VS/(L·d)的梯度不断提升,在 OLR 为 3.50~7.50g VS/(L·d)期间(31~76d),泡沫高度随负荷的提升缓慢增加,因此将此阶段定义为慢速起泡期.在反应器刚发生起泡时,泡沫会在搅拌期间被完全打散消除,而当搅拌暂停后泡沫层又会重新稳定出现.随着反应器运行至 38d 时,即使在搅拌装置运行的条件下也只能在一定程度上减小泡沫高度,但无法完全消除泡沫.这是可以理解的,反应器内泡沫的产生是沼气气泡生成与破裂速率失衡的结果[10].正常运行的反应器气泡产生和破裂速率相当,则不会出现起泡现象.但当液相中存在表面活性物质或疏水性物质时,它们定向排列在气泡表面,形成一层液膜包裹住气泡,降低气泡的表面能,减缓气泡的破裂速率,即会造成起泡在气液界面积聚,进而形成泡沫.搅拌可以破坏泡沫液膜的稳定性,加速气泡破裂,因此对消泡存在一定的辅助作用.但当气泡的产生速率大大超过其破裂速率时,搅拌则无法消除泡沫.尽管如此,在特定的操作条件下,气泡的产生和破裂速率会倾向于平衡,这可能是各负荷能够保持相对恒定的泡沫高度的原因.在慢速起泡期间,甲烷产率和甲烷回收率

仍保持在(374.41±15.26)mLCH_4/g VS 和(91.32±3.72)%的较高水平,指示反应器依旧高效运行.这一现象与之前许多研究指出的泡沫出现会导致产气性能恶化的结论不符[31],说明起泡并不一定会立即造成反应器产气下降,通过产气性能来预警反应器起泡是不准确的.当反应器的 OLR 进一步提升至 8.50g VS/(L·d)后,气泡产生和破裂的动态平衡可能彻底被打破,泡沫高度以 4.24mm/d 的速度迅速增长,并在第 93d 达到最大值 117.00mm,此阶段(77~93d)被定义为快速起泡期.在此期间,甲烷产率(370.32±13.20)mLCH_4/g VS 及甲烷回收率(90.11±3.24)%稍有下降,但与慢速起泡期相比仍无显著差异,这再次表明产气性能与起泡没有显著相关性.第 93d 时,反应器泡沫层最高点仅离出气口 5.00cm,即使持续搅拌也无法起到消泡效果,为防止夜间泡沫堵塞出气口引发安全事故,于 94d 停止进料.

停止进料后,泡沫高度迅速下降,这可能与底物匮乏造成了产气下降有关[32].因为泡沫是三相混合体系,其中气体占比可达 90%以上,产气下降会导致起泡条件不足,最终泡沫层仅在 5d 内就完全消失.此阶段被定义为消泡期(94~102d).为了验证系统消泡后的起泡潜能,第 98d 时将反应器恢复至 OLR 为 5.00g VS/(L·d)运行.此时,甲烷产率(347.34±29.62) mLCH_4/g VS 及甲烷回收率(84.72±7.22)%略有降低,泡沫高度重新迅速增长至 33.00mm,说明采用沼气工程常用的停止进料的方式并不能从根本上解决厌氧消化反应器起泡问题.

2.2 理化参数的响应及其与泡沫高度的相关性

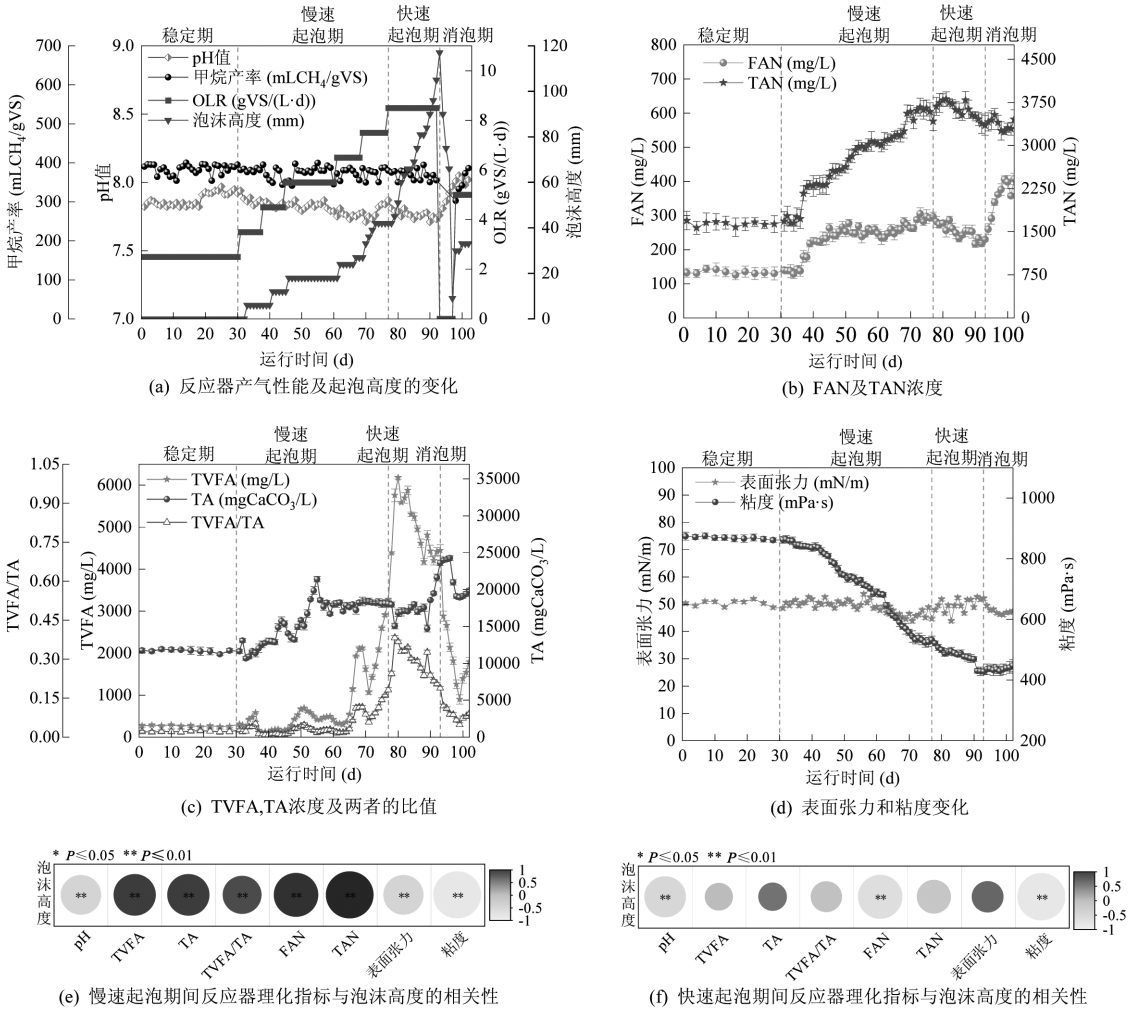
鉴于前期诸多研究讨论过运行参数,状态参数与厌氧消化反应器起泡的相关性[3,33],本研究也监测了起泡期间各类参数的变化及它们与泡沫高度的相关性.如图 1(b)和(c)显示,在稳定运行期间,各类理化参数均保持稳定,指示系统运行状态良好.到慢速起泡期,随着 OLR 的增加,TVFA,TAN,FAN 及 TA 的浓度逐渐上升,泡沫高度也缓慢增长.针对此阶段理化参数与泡沫高度展开相关性,结果如图 1(e)所示,TVFA,TAN 和 FAN 浓度均与泡沫高度呈显著的正相关性(P≤0.01),这意味着此时 TVFA 和 FAN 等抑制因子浓度的增加可能是厌氧消化反应器起泡的诱因.进入快速起泡阶段(77~93d),在第 80d 时,TVFA 浓度超过 6100.00mg/L,TVFA/TA 达到 0.37,已经超过了系统失稳阈值 0.35[34].暗示此时系统的酸碱平衡已被破坏,反应器可能处于失稳状态,此时泡沫高度也迅速增长.然而可能是微生物的自适应扭转了反应器性能的持续恶化,自 80d 后反应器内 TAN,FAN 及 TVFA 浓度不升反降,但意外的是,此时泡沫高度的增长速度仍在加快.这种不一致性使得在此阶段,TVFA 浓度和 TAN 浓度与厌氧消化反应器泡沫高度不存在显著相关性,FAN 浓度更是与泡沫高度呈显著负相关(P≤0.01)(图 1(e)).这表明抑制因子可能并不是反应器快速起泡的真正诱因.

考虑到表面张力和粘度的变化可能是引起反应器起泡的关键参数[20],图 1(d)还展示了运行过程中两者的变化趋势.值得注意的是,在起泡过程中,表面张力始终维持在(49.19±2.39)mN/m 的稳定水平,与稳定期(50.38±0.96)mN/m 相比并无显著差异,并且到了消泡期时表面张力还有所下降(47.34±0.98)mN/m.尽管表面张力曾一度被认为是与起泡最直接相关的参数,但研究者在不同反应器中观察到起泡现象时对应的表面张力阈值普遍存在差异性[35],且与本研究相似的是,在 Yang 等[7]的综述中也提到有不少研究者均观察到起泡前后表面张力并无显著变化的现象.由此可见,仅依据单一的表面张力指标评估厌氧消化系统的起泡潜能是存在局限的,需结合其他参数进行综合分析.粘度在起泡期间(30~93d)缓慢下降,且与泡沫高度呈显著负相关(P≤0.01).然而,多数研究表明,粘度升高更容易导致消化液起泡或泡沫体积快速膨胀[17],这与本研究观测到的情况是矛盾的.这说明,粘度的变化也并不是造成起泡的根本原因.

2.3 EPS 的响应及其与泡沫高度

2.3.1 EPS 各组分及形态响应情况 图 2(a)和图 2(b)分别展示了反应器在不同阶段各形态和组分 EPS 浓度的变化情况.与团队前期在厨余垃圾湿式厌氧消化系统中的研究发现一致[11],EPS 浓度变化趋势与起泡高度呈现高度同步:在未起泡稳定期保持平稳,慢速起泡期缓增,快速起泡期急剧上升,消泡期则骤降.相关性分析(图 2(c))也揭示出起泡高度与所有形态以及除 DNA 外的所有 EPS 组分浓度均存在正相关关系(P≤0.01).这与之前的研究结果相一致[7,11].表明在干式厌氧消化系统中 EPS 仍然是引起反应器起泡的关键特征物质.但与湿式系统不同的是,本系统中最

主导的 EPS 组分是 HU,在 EPS 中的占比高达 37%,而湿式系统最主导的组分往往为 PN,HU 的占比在 25%左右[36-38].Tang 等[20]也发现在干式消化系统中 HU 是最主要的 EPS 组分,其形成机制与复杂有机物水解产生的难降解物质密切相关.在底物充足的情况下,微生物会优先利用 PS 并储存 HU.尽管 HU 难以被微生物降解,但其可以作为微生物呼吸的电子受体有利于微生物在缺氧环境中生存和代谢.HU 还可以充当末端电子受体,电子穿梭剂等对厌氧消化的水解,酸化和产甲烷过程产生影响.DNA 是各 EPS 组分中占比最小的组分,且其与泡沫高度的相关性与其他组分不同,这种异常可能是因为 DNA 的浓度在整个运行阶段中没有明显波动.DNA 一般源于细胞裂解释放的胞内物质,浓度总体较低意味着厌氧消化反应系统中微生物群落活性高,细胞死亡裂解较少,反应器运行过程较好的产甲烷性能也侧面证实了这一点.



(a) 反应器产气性能及起泡高度的变化　(b) FAN及TAN浓度

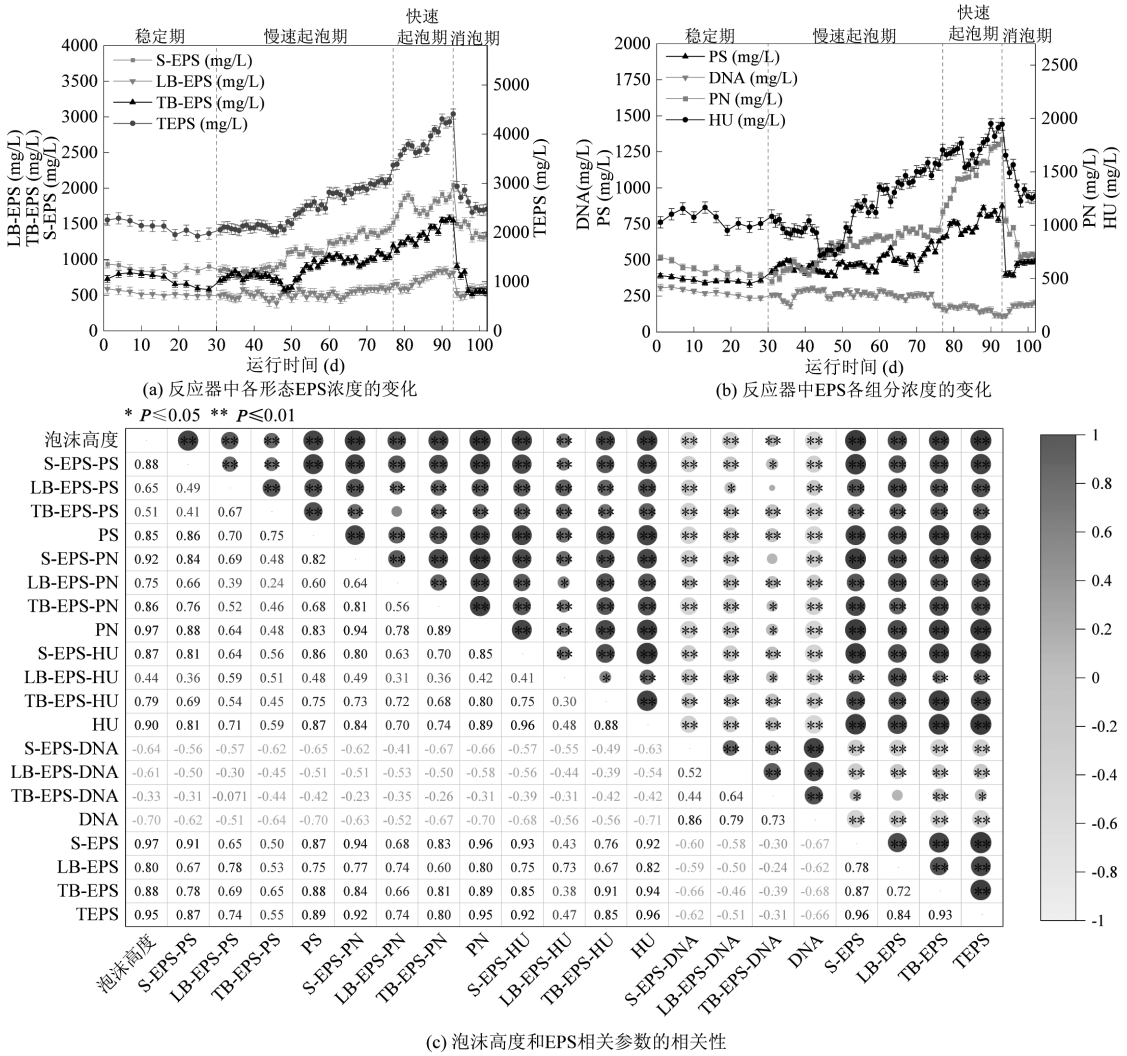
(c) TVFA,TA浓度及两者的比值　(d) 表面张力和粘度变化

(e) 慢速起泡期间反应器理化指标与泡沫高度的相关性　(f) 快速起泡期间反应器理化指标与泡沫高度的相关性

图 1　反应器运行期间理化参数的变化及不同运行阶段其与泡沫高度的相关性分析

Fig.1　Evolution of physicochemical parameters and their phase-dependent correlations with foam height in reactor

更具体的分离出不同形态 EPS 的不同组分,会得到更细致的 EPS 分类参数浓度,探究它们与起泡高度的相关性有助于更具体的找到起泡特征 EPS.如图 2(c)所示,从各形态 EPS 来看,与泡沫高度相关性最大的是 S-EPS(R:0.97,P≤0.01),其次是 TEPS (R:0.95,P≤0.01).在 EPS 组分方面,PN 与泡沫高度最为显著相关(R:0.97,P≤0.01).而在不同形态 EPS 的不同组分浓度与泡沫高度的相关性中,S-EPS-PN 与泡沫高度的相关性最大,但相关系数也仅为 0.92(P≤0.01),远小于 S-EPS 和 PN.这表明细分不同形态 EPS 的不同组分并不能更细致的找到系统中的起泡特征物质.考虑到 EPS 的亲疏水特性对起泡潜力具有不可忽略的贡献[10,38],进一步分离亲疏水 EPS 可能更有利于探究起泡特征 EPS.



(a) 反应器中各形态EPS浓度的变化

(b) 反应器中EPS各组分浓度的变化

(c) 泡沫高度和EPS相关参数的相关性

图 2 反应器运行过程中不同形态及组分 EPS 浓度的变化及 EPS 类参数与泡沫高度的相关性分析

Fig.2 Concentration dynamics of EPS morphological fractions and correlations between EPS-related parameters and foam height during reactor operation

2.3.2 不同形态疏水性EPS中各组分的响应 进一步采用树脂吸附差减法对各运行阶段中 EPS 的疏水性组成特性进行测定(图 3(a)~(d)).由图 3(a)可知,在总 EPS 中,疏水性 HU 在慢速起泡期(30~76d)始终占据主导地位.进入快速起泡期后,疏水性 PN 含量增加,其占比略微超过疏水性 HU.相关性分析结果表明,总 EPS 中的疏水性 PN(R:0.98,P≤0.01)与疏水性 HU 浓度(R:0.96,P≤0.01)与泡沫高度之间均呈显著正相关.表明两者在起泡进程中都起到关键作用.疏水性 HU 可通过提高液膜表观分子层粘度延缓排液速率,从而增强泡沫稳定性.同时,微生物在应对环境胁迫时可能还调整了 EPS 的合成机制,增加了疏水性 PN 的合成和分泌,疏水性 PN 可能在抵御外界压力等方面具有重要的作用[39].图 3(b)~(d)还展示了不同形态下 EPS 的疏水性组分分布情况.各形态 EPS 中疏水性 PN 及疏水性 HU 的占比变化与总 EPS 中基本一致.对于 LB-EPS(图 3(b))和 TB-EPS (图 3(c))而言,疏水性 PN 和疏水性 HU 仍是主要组分,但在浓度上,LB-EPS 和 TB-EPS 的各疏水性组分浓度均要小于 S-EPS 中的疏水性组分浓度.这可能与各形态 EPS 的生成顺序有关,与细胞紧密黏附的 TB-EPS 会逐渐演化为较为疏松的 LB-EPS,在水解,溶解或剪切力的作用下,LB-EPS 中的组分容易被释放并转化为 S-EPS,致使 S-EPS 持续生成与积累,最终浓度远高于结合型 EPS.值得注意的是,在 S-EPS 中,疏水性 PN 组分含量随着起泡进程不断增加,从 30d 的 108.25mg/L 增长至 93d 的 666.30mg/L,其浓度变化与泡沫高度变

化高度同步.相关性分析表明 S-EPS 中的疏水性 PN 含量与泡沫高度呈现极显著相关(R:0.99, $P\leqslant$0.01).说明 S-EPS 中的疏水性 PN 是起泡的关键特征物质,这可能是因为分散在液相中的 S-EPS 能够直接粘附在气泡表面,PN 的疏水区域在泡沫的气-液界面上排列,亲水区域则与水相接触,从而有助于形成稳定的泡沫结构[40-41].综合来看,总 EPS 中的疏水性 PN 及疏水性 HU 及 S-EPS 中的疏水性 PN 与泡沫高度的相关性最高,可能是最可靠的起泡特征 EPS.

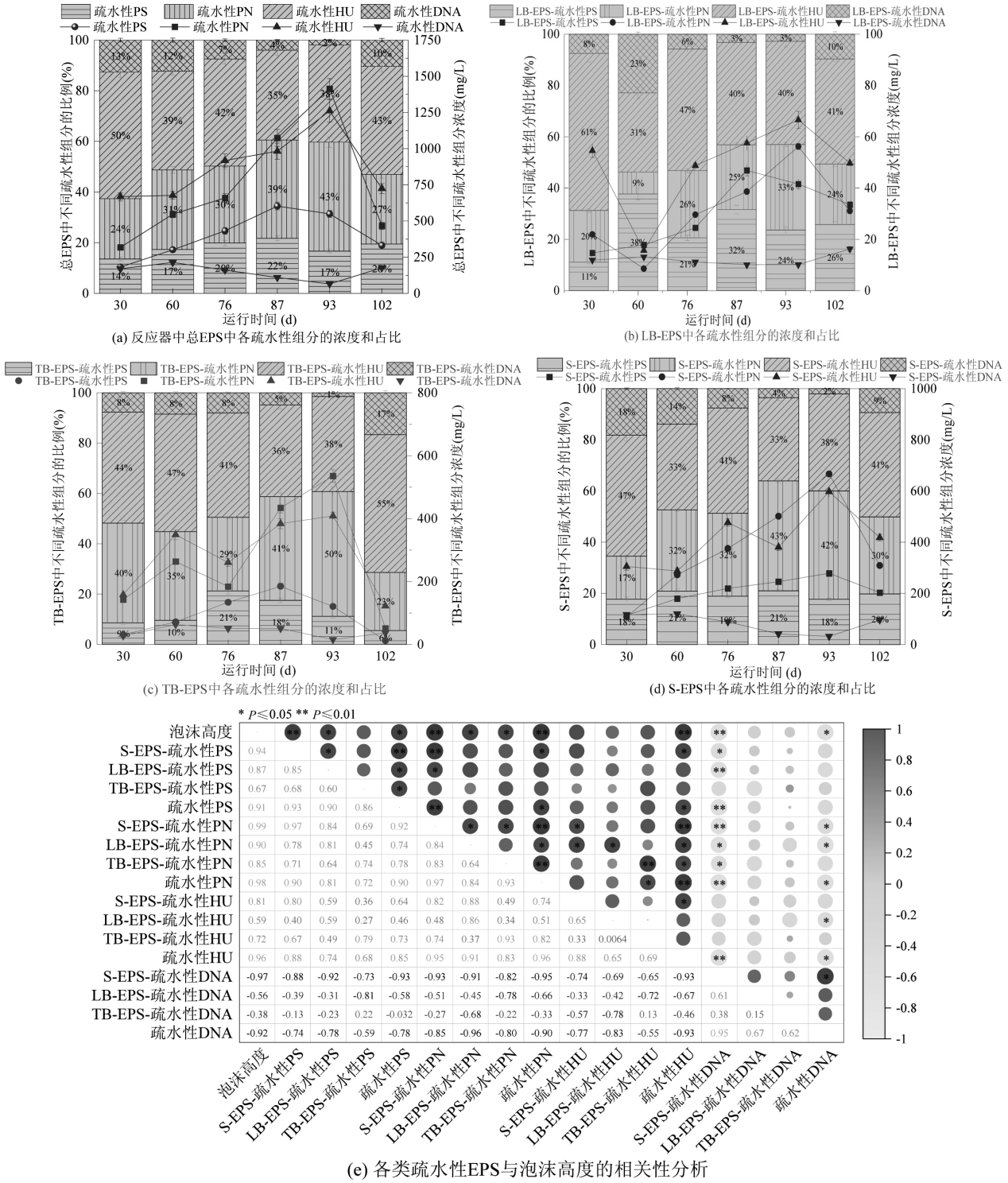


图 3　多层级 EPS 中疏水性组分的分布特征及其与泡沫高度的相关性分析

Fig.3　Partitioning dynamics of hydrophobic constituents in multi-tiered EPS and their correlations with foam height

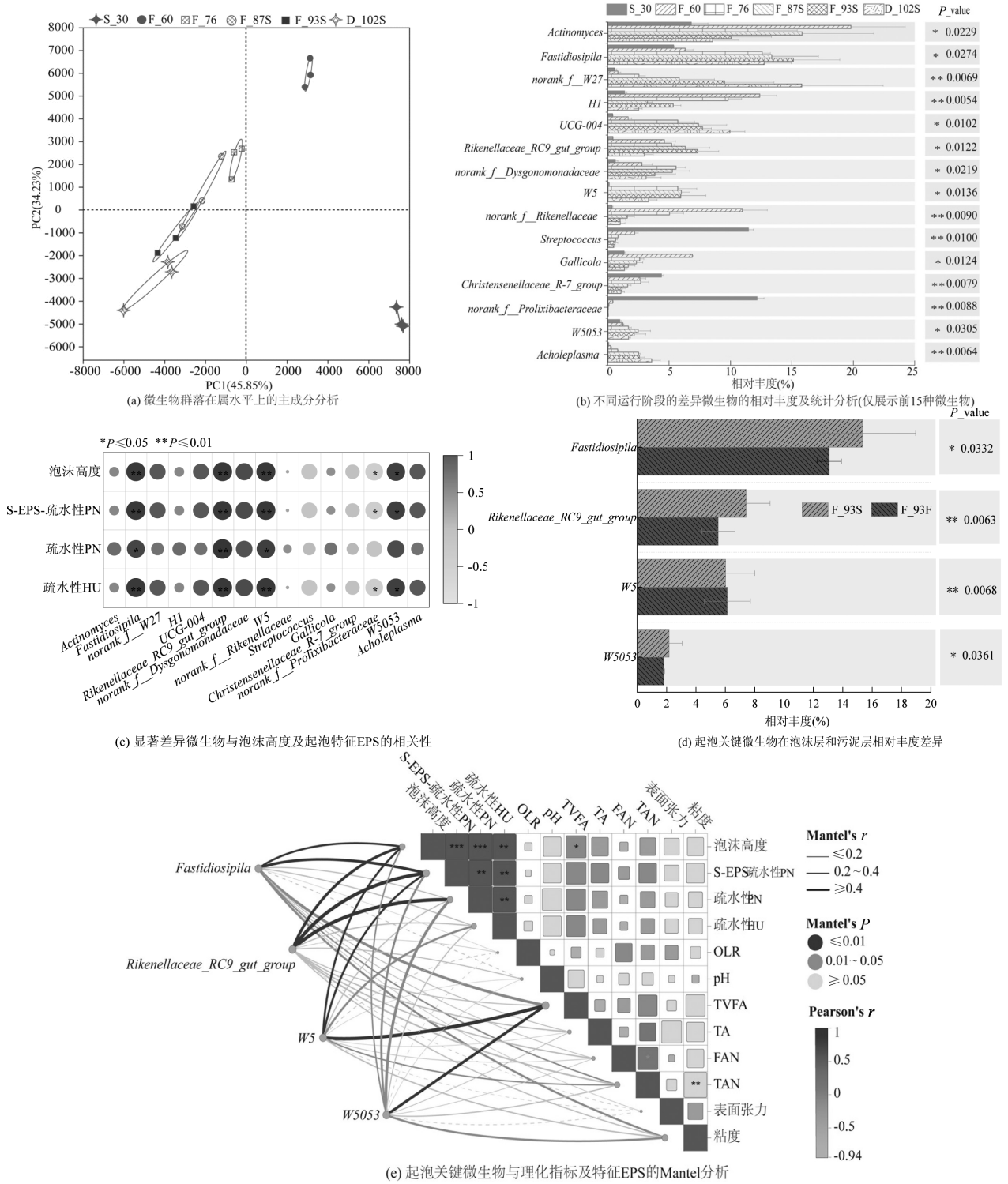


图 4 起泡过程中微生物群落结构演替、关键菌群筛选及其与泡沫/EPS 系统的互作分析

Fig.4 Microbial succession, identification of key foam-associated taxa, and their interaction analysis with foaming indicators and EPS fractions

2.4 起泡进程中微生物群落的响应分析

2.4.1 微生物群落多样性 为进一步明晰厨余垃圾厌氧消化系统起泡进程中的特征 EPS 产生机制,在不同运行阶段选择了污泥及泡沫层样品开展微生物高通量测序.在相同扩增子序列变异数量水平上对各样本进行比较,基于样本中的最小序列数对所有样本进行序列数均一化处理后抽平至 42678 条有效序列.经分类学注释,共鉴定到 42 个门、100 个

纲、196 个目、318 个科、530 个属、797 个种和 3408 个 ASV.

2.4.2　微生物群落变化及起泡关键微生物分析　微生物群落在属水平的PCA分析结果(图4(a))表明,在反应器的不同起泡阶段,微生物群落结构发生了显著变化(P≤0.01).图 4(b)进一步展示了不同时期显著差异微生物的分析结果,如图所示,具有显著差异的微生物主要以水解酸化菌为主,其中仅 *W5* 属于产氢产乙酸菌,其余均为水解酸化菌.

为探索是否存在特征微生物支配着起泡特征 EPS 及泡沫的产生,开展了属水平上前 15 种显著差异微生物与泡沫高度及起泡特征 EPS 的相关性分析(图 4(c)).结果显示,*Fastidiosipila*、*Rikenellaceae_RC9_gut_group*、*W5053* 及 *W5* 均与泡沫高度及特征 EPS 呈显著正相关(P≤0.05),说明这些微生物属可能是潜在的起泡特征微生物.*Fastidiosipila* 作为蛋白质降解的关键功能菌属,其丰度增加与系统 PN 浓度上升密切相关,它可以将复杂的大分子有机物转化为 VFA 和 CO_2[42].*Rikenellaceae_RC9_gut_group* 可以利用蛋白质和碳水化合物来生产 VFAs[43].但该阶段系统并未出现明显的酸积累现象,整体运行较为稳定,微生物活动也未遭受明显抑制.在高固厌氧消化系统中 *W5053* 能通过代谢特性提升系统甲烷产量[44].Bao 等[45]在餐厨垃圾和秸秆的厌氧消化中发现 *W5053* 为优势菌属,并且与系统的 TA 高度相关.*W5* 主要参与长链脂肪酸的降解,可以降解丙酸为甲烷菌提供乙酸、CO_2 和 H_2[46],其活性也未受抑制.进一步对比这些潜在的起泡微生物在快速起泡期(93d)在污泥及泡沫中的丰度差异(图 4(d)),发现 *Fastidiosipila* 、*Rikenellaceae_RC9_gut_group* 及 *W5053* 在污泥层中的相对丰度分别比泡沫层中高 2.25%、1.90%及 0.35%,但 *W5* 在泡沫层中的相对丰度稍高于污泥层.这表明前三类微生物可能并没有依附在气泡上,它们贡献起泡更主导的机制可能是在液相中分泌特征 EPS,随后特征 EPS 捕捉并稳定气泡.而 *W5* 可能具有更强的泡沫捕捉能力,可在捕捉气泡后随之上升到泡沫层,进一步稳定泡沫.将这四种起泡特征微生物与理化指标、特征 EPS 进行 Mantel 分析(图 4(e)).结果表明,*Fastidiosipila*、*W5053* 和 *W5* 与 VFA 浓度均呈现出显著的正相关关系(P≤0.05),暗示 VFA 可能是刺激这些微生物分泌更多特征 EPS 的起因.这与前期研究指出的不利的环境条件会造成胁迫生境,而在这种生境下能分泌 EPS 的微生物更易取得主导地位是一致的[47].快速起泡阶段后期,VFA 含量有所下降(图 1),但已经产生的 EPS 可能不能和其他环境条件一样迅速下降,且系统 VFA 的快速波动可能本身也是一种扰动,因此,泡沫在系统中持续累积,泡沫高度迅速攀升.

2.5　特征 EPS 产生及起泡的微生物学机制

综合上述研究,提出了特征 EPS 产生及反应器起泡的可能机制(图 5).向厌氧消化系统内引入负荷扰动后,随着厌氧消化系统中负荷的持续提升,VFA 等抑制因子的浓度不断积累,刺激了微生物 *Fastidiosipila*,*Rikenellaceae_RC9_gut_group*,*W5053* 和 *W5* 的增殖,并进一步刺激他们合成和分泌更多的特征 EPS 来抵御这种环境因子的变化.其中,*Fastidiosipila*,*Rikenellaceae_RC9_gut_group* 以及 *W5* 参与了所有特征 EPS 的合成,而 *W5053* 主要参与分泌 S-EPS 中的疏水性 PN 及总 EPS 中的疏水性 HU.这些特征 EPS 会在气泡表面定向排列,其疏水基团相互聚集形成疏水区域,增强了液膜机械强度,有效延缓泡沫破裂.除此之外,*W5* 会进一步随气泡上升至泡沫层.在泡沫层中,*W5* 产生的乙酸等代谢产物能与环境中的芳香族化合物发生缩合反应,促进泡沫层中疏水性 HU 等特征 EPS 的形成[44],在泡沫层中进一步稳定泡沫,最终导致反应器严重起泡.然而需要说明的是,本研究是在实验室规模的半连续式反应器内开展,相对较小的反应器体积使得本文未能留足足够的盛装泡沫的空间,在反应器起泡高度于 93d 达到 117.00mm 后,因担心夜间反应器出气口被泡沫堵塞造成安全事故,未再继续诱导起泡.而此泡沫诱导过程中尽管厌氧消化过程参数遭遇了波动,反应器的甲烷产率却不曾受影响.在有足够反应器空间的情况下诱导反应器起泡,并在严重起泡与反应器性能下降共存时,采集样本研究泡沫层,污泥层 EPS 和微生物的差异,开展理化参数,EPS 和微生物的相关性分析,也许能进一步揭示起泡—过程参数—反应器性能的交互关系.尽管如此,本研究结果显示液相中特定微生物及其分泌的疏水性 EPS 是起泡的关键,消泡策略的关注点应更多的放在液相调控上,如加入蛋白酶以破坏蛋白质的空间结构,影响其亲疏水特性,也许有助于消泡.

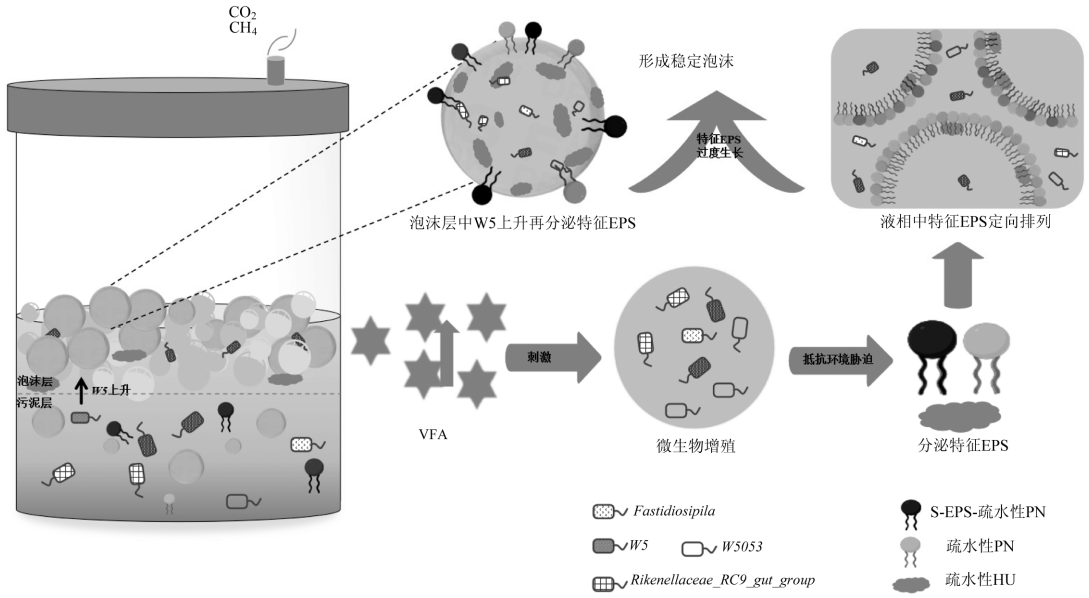


图 5 特征 EPS 产生及厌氧消化系统起泡的微生物学机制

Fig.5 Microbial mechanisms underlying the production of key EPS fractions and the generation of anaerobic digestion foaming

3 结论

3.1 在厨余垃圾高固厌氧消化系统中,泡沫高度与 S-EPS 中的疏水性 PN(R:0.99,P≤0.01),总 EPS 中的疏水性 HU(R:0.96,P≤0.01)及疏水性 PN(R:0.98,P≤0.01)呈显著正相关.指示其为起泡特征 EPS.

3.2 泡沫高度与 *Fastidiosipila*(R:0.94,P≤0.01),*Rikenellaceae_RC9_gut_group*(R:0.94,P≤0.01),*W5053*(R:0.89,P≤0.05)及 *W5*(R:0.94,P≤0.01)呈显著正相关,3 种特征 EPS 也分别与 *Fastidiosipila*,*Rikenellaceae_RC9_gut_group*,*W5053* 及 *W5* 均呈显著正相关.指示其为起泡特征微生物.它们的丰度还与系统 VFA 显著相关(P≤0.05),指示高负荷引发的酸积累改变了微生物生境,促进了能够分泌 EPS 抵抗不利环境条件的微生物的增殖.

3.3 *Fastidiosipila*,*Rikenellaceae_RC9_gut_group*,*W5053* 及 *W5* 贡献起泡的机制各不相同,前三者主要分布在液相中,它们依靠分泌的特征 EPS 捕捉并稳定气泡.*W5* 除在液相中分布外,还在起泡层具有高丰度,指示其可捕捉气泡并随之上升到泡沫层,进一步增强泡沫稳定性.

参考文献:

[1] Yu C, Dongsu B, Tao Z, et al. Anaerobic Co-Digestion of Three Commercial Bio-Plastic Bags with Food Waste: Effects on Methane Production and Microbial Community Structure [J]. Science of the Total Environment, 2023,859:159967.

[2] Fonooll X, Starostka R, Raskin L, et al. Anaerobic digestion as a core technology in addressing the global sanitation crisis: Challenges and opportunities [J]. Environmental Science & Technology, 2023,57(48): 19078-19087.

[3] Nguyen L N, Johir M A H, Commault A, et al. Impacts of mixing on foaming, methane production, stratification and microbial community in full-scale anaerobic co-digestion process [J]. Bioresource Technology, 2019,281.

[4] Kougias P G, Boe K, O-Thong S, et al. Anaerobic digestion foaming in full-scale biogas plants: a survey on causes and solutions [J]. Water Science & Technology, 2014,69(4):889.

[5] Moeller L, Herbes C, Müller R, et al. Formation and removal of foam in the process of anaerobic digestion [J]. Landtechnik, 2010,65(3): 204-207.

[6] Moeller L, Görsch K. Foam formation in full-scale biogas plants processing biogenic waste [J]. Energy, Sustainability and Society, 2015,5(1):DOI:10.1186/s13105-014-0031-7.

[7] Yang P, Peng Y, Tan H, et al. Foaming Mechanisms and Control Strategies During the Anaerobic Digestion of Organic Waste: A Critical Review [J]. Science of the Total Environment, 2021,779 (10):146531.

[8] Suhartini S, Heaven S, Yue Z, et al. Antifoam, dilution and trace element addition as foaming control strategies in mesophilic anaerobic digestion of sugar beet pulp [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2019,145:104812.

[9] Yang P, Peng Y, Liu H, et al. Multi-Scale Analysis of the Foaming Mechanism in Anaerobic Digestion of Food Waste: From Physicochemical Parameter, Microbial Community to Metabolite Response [J]. Water Research, 2022,218:118482.

[10] Yang P, Li L, Zhou Y, et al. Insights into the effect of extracellular

polymeric substances on anaerobic digestion foaming: From perspectives of composition, hydrophobicity, and functional groups [J]. Chemical Engineering Journal, 2023,476:146812.

[11] 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.

[12] 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.

[13] Ye W, Li L, Yang P, et al. Mechanism of extracellular polymeric substance production and its contribution to anaerobic digestion foaming: Insights from cellular signaling [J]. Chemical Engineering Journal, 2024,500:157377.

[14] Shi H, Wang J, Liu S, et al. Potential Role of Ahl-Mediated Quorum Sensing in Inducing Non-Filamentous Sludge Bulking Under High Organic Loading [J]. Chemical Engineering Journal, 2023,454:140514.

[15] Chen X, Jiang Q, Cui Y, et al. Lipid-extraction of Tribonema minus avoids foaming facilitating anaerobic co-digestion with molasses vinasse [J]. Journal of Cleaner Production, 2024,448:141660.

[16] Maria C C, Castagnola F, Sordi M. Sewage sludge treatment in a thermophilic membrane reactor (TMR): Factors affecting foam formation [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017,24(3):2345-2353.

[17] Ekstrand E, Svensson B H, Šafarič L, et al. Viscosity dynamics and the production of extracellular polymeric substances and soluble microbial products during anaerobic digestion of pulp and paper mill wastewater sludges [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2020,43(2):283-291.

[18] Meng X, Zhen F, Yang J, et al. A multistage biogas slurry reflux and spray anaerobic digestion reactor for high solid anaerobic digestion: Performance and application evaluation [J]. Energy Conversion and Management, 2024,32:119060.

[19] 段妮娜,董　滨,戴翎翎,等.有机固体废弃物高含固厌氧消化的研究与应用 [J]. 环境工程, 2016,34(9):119-124.
Duan N N, Dong B, Dai L L, et al. State-of-the-art of high-solids anaerobic digestion of organic waste [J]. Environmental Engineering, 2016,34(9):119-124.

[20] Tang Y F, Dai X H, Bin D, et al. Humification in extracellular polymeric substances (EPS) dominates methane release and EPS reconstruction during the sludge stabilization of high-solid anaerobic digestion [J]. Water Research, 2020,175:115685.

[21] Ko J H, Wang N, Yuan T, et al. Effect of nickel-containing activated carbon on food waste anaerobic digestion [J]. Bioresource technology, 2018,266:516-523.

[22] Xu Z, Qi C, Zhang L, et al. Bacterial dynamics and functions for gaseous emissions and humification in response to aeration intensities during kitchen waste composting [J]. Bioresource Technology, 2021,337:125369.

[23] Tanimu M I, Ghazi T I M, Harun 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.

[24] Zhang Y, Banks C J. Impact of different particle size distributions on anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste [J]. Waste Management, 2013,33(2):297-307.

[25] Hou X L, Liu S T, Zhang Z T. Role of extracellular polymeric substance in determining the high aggregation ability of anammox sludge [J]. Water Research, 2015,75:51-62.

[26] Zhang H, Yuan W D, Dong Q, et al. Integrated multi-omics analyses reveal the key microbial phylotypes affecting anaerobic digestion performance under ammonia stress [J]. Water Research, 2022,213:118152.

[27] Wang X T, Yang H, Su Y, et al. Effects of sludge morphology on the anammox process: Analysis from the perspectives of performance, structure, and microbial community [J]. Chemosphere, 2022,288:132390.

[28] Shi Y, Liu Y. Evolution of extracellular polymeric substances (EPS) in aerobic sludge granulation: Composition, adherence and viscoelastic properties [J]. Chemosphere, 2021,262:128033.

[29] Zhou H, Jiang J, Zhao Q, et al. Effects of organic loading rates on high-solids anaerobic digestion of food waste in horizontal flow reactor: Methane production, stability and mechanism [J]. Chemosphere, 2022,293:133650.

[30] 张　越,李　蕾,唐周利,等.种泥对微晶纤维素高温干式消化的影响 [J]. 环境工程学报, 2024,18(12):3582-3591.
Zhang Y, Li L, Tang Z L, et al. Effect of inoculum on high-temperature dry digestion of microcrystalline cellulose [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2024,18(12):3582-3591.

[31] Ali S N S, Omar R, Man H C, et al. Two-stage anaerobic digestion using protein-rich synthetic wastewater inoculated with anaerobic sludge [J]. Desalination and Water Treatment, 2023,302:82-90.

[32] 彭　爽,何　琴,李　蕾,等.底物和中间产物对餐厨垃圾厌氧消化污泥表面张力、黏度和发泡潜能的影响 [J]. 环境科学学报, 2017,37(10):3845-3852.
Peng S, He Q, Li L, et al. Effect of substrates and intermediate compounds on surface tension, viscosity and foaming potential of anaerobic digestion sludge [J]. Journal of Environmental Sciences, 2017,37(10):3845-3852.

[33] Singh B, Szamosi Z, Siménfalvi Z. State of the art on mixing in an anaerobic digester: A review [J]. Renewable Energy, 2019,141:922-936.

[34] Wu D, Li L, Peng Y, et al. State indicators of anaerobic digestion: A critical review on process monitoring and diagnosis [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2021,148:111260.

[35] 李　蕾,黄　茜,杨屏锦,等.有机垃圾厌氧消化泡沫产生机理及控制方法 [J]. 中国环境科学, 2020,40(8):3475-3485.
Li L, Huang Q, Yang P J, et al. Occurrence mechanisms and control methods of foaming in anaerobic digesters treating organic wastes [J]. China Environmental Science, 2020,40(8):3475-3485.

[36] Srishailam K, Balakrishna A, Reddy B V, et al. Insights into structural

and vibrational characteristics of 1-methoxy-4-[2-(phenylsulfonyl) vinyl] benzene: An application of experimental vibrational spectroscopy and density functional theory [J]. Journal of Molecular Structure, 2023,1286:135572.

[37] 周滢月.运行条件对厨余垃圾厌氧消化系统 EPS 产生规律及起泡特性的影响 [D]. 重庆:重庆大学, 2023.
Zhou Y Y. Effects of operating conditions on EPS production and foaming characteristics of kitchen waste anaerobic digestio on system [D]. Chong Qing: Chong Qing University, 2023.

[38] Ferenczy G G, Kellermayer M. Contribution of hydrophobic interactions to protein mechanical stability [J]. Computational and structural biotechnology journal, 2022,20:1946-1956.

[39] Zhao M, Liu L, Wang G, et al. Comparative study on the foam and air-water interface properties of ethanol-soluble and non-ethanol components in wheat aqueous phase protein [J]. Food Hydrocolloids, 2024,150:109700.

[40] Jin H, Ali S, Pan J, et al. From molecular interactions to foam dynamics: How ionic strength and pH shape egg white protein performance at the air-water interface [J]. Food Hydrocolloids, 2025, 162:110991.

[41] Yang G, Zhang P, Zhang G, et al. Degradation properties of protein and carbohydrate during sludge anaerobic digestion [J]. Bioresource Technology, 2015,192:126-130.

[42] Zhang X, Chen J, Kang Y, et al. Phlorizin ameliorates obesity-associated endotoxemia and insulin resistance in high-fat diet-fed mice by targeting the gut microbiota and intestinal barrier integrity [J]. Gut microbes, 2020,12(1):1842990.

[43] Miao Y, Hu Z, Duan Z, et al. Microbiome re-assembly boosts anaerobic digestion under volatile fatty acid inhibition: focusing on reactive oxygen species metabolism [J]. Water Research, 2023,246: 120711.

[44] Yekta S S, Liu T, Bjerg M A, et al. Sulfide level in municipal sludge digesters affects microbial community response to long-chain fatty acid loads [J]. Biotechnology for Biofuels, 2019,12(1):259.

[45] Bao R, Wei Y, Guan R, et al. High-solids anaerobic co-digestion performances and microbial community dynamics in co-digestion of different mixing ratios with food waste and highland barley straw [J]. Energy, 2023,262:125529.

[46] Stefan D, Claudia G. Candidatus Syntrophosphaera thermopropionivorans: A novel player in syntrophic propionate oxidation during anaerobic digestion [J]. Environmental Microbiology Reports, 2019,11(4):558-570.

[47] 张 铭,蔡 鹏,吴一超,等.细菌胞外聚合物:基于土壤生态功能的视角 [J]. 土壤学报, 2022,59(2):308-323.
Zhang M, Cai P, Wu Y C, et al. Bacterial extracellular polymeric substances: from the perspective of soil ecological functions [J]. Acta Pedologica Sinica, 2022,59(2):308-323.

作者简介: 管 润(2001-),女,贵州毕节人,重庆大学硕士研究生,研究方向为固体废物污染控制与资源化.319887841@qq.com.