

# 水热炭与共基质对苯酚厌氧降解的影响

邵钱祺<sup>1,2,3</sup>, 罗涛<sup>1,2,3,4</sup>, 张士成<sup>1,2,3</sup>, 罗刚<sup>1,2,3,\*</sup>

(1. 复旦大学环境科学与工程系, 上海 200438; 2. 上海市有机废弃物污染控制与资源化专业技术服务平台, 上海 200438; 3. 上海市污染控制与生态安全研究院, 上海 200092; 4. 上海建科环境技术有限公司, 上海 200032)

**摘要:** 厌氧消化 (Anaerobic Digestion, AD) 是一种可持续的生物技术, 目前已应用于有机废物的处理。难降解的酚类化合物是厌氧消化过程中存在的主要毒性物质之一。本研究探究了水热炭与共基质 (葡萄糖) 同时添加对苯酚厌氧降解的影响。结果表明, 水热炭和共基质的添加缩短了苯酚厌氧消化的延滞期, 使其从对照组的 77.5 d 缩短到了 24.6~59.3 d。同时添加水热炭和共基质时, 最高产甲烷速率  $R_m$  从 3.53 mL/d 提高到了 4.86~6.80 mL/d, 当只添加共基质且共基质浓度过高时,  $R_m$  下降。最适的葡萄糖共基质添加浓度为 1~2 g/L, 高浓度葡萄糖环境可能富集了其它竞争性微生物, 使得苯甲酸降解菌和耗乙酸产甲烷菌受到一定抑制。水热炭也有利于富集苯甲酸降解菌, 但葡萄糖共基质浓度对群落组成的影响在水热炭存在下会被减弱。本研究利用水热炭和共基质强化苯酚厌氧降解, 为苯酚厌氧消化效能提升提供了新思路。

**关键词:** 水热炭; 苯酚降解; 共代谢; 厌氧消化; 微生物群落

**中图分类号:** X703

**文献标识码:** A

## Effects of hydrochar and co-substrate on phenol anaerobic degradation

SHAO Qianqi<sup>1,2,3</sup>, LUO Tao<sup>1,2,3,4</sup>, ZHANG Shicheng<sup>1,2,3</sup>, LUO Gang<sup>1,2,3,\*</sup>

(1. Department of Environmental Science and Engineering, Fudan University, Shanghai 200438, China; 2. Shanghai Technical Service Platform for Pollution Control and Resource Utilization of Organic Wastes, Shanghai 200438, China; 3. Shanghai Institute of Pollution Control and Ecological Security, Shanghai 200092, China; 4. Shanghai Jianke Environmental Technology Co., Ltd., Shanghai 200032, China)

**Abstract:** Anaerobic digestion (AD) is a sustainable biotechnology, which has been applied in the treatment of organic waste. Refractory phenolic compounds, as the main toxic substances in the anaerobic digestion process, usually undergo complex and slow degradation. The addition of hydrochar and co-substrates has been found to effectively enhance the efficiency of phenol anaerobic digestion. This study investigated the simultaneous addition of hydrochar and co-substrates and its impact on anaerobic degradation of phenol. Results indicated that the addition of hydrochar and co-substrates reduced the lag phase of phenol anaerobic digestion, shortening it from 77.5 days in the control to 24.6~59.3 days. When hydrochar and co-substrates were added simultaneously, the maximum methane production rate ( $R_m$ ) increased from 3.53 mL/d to 4.86~6.80 mL/d. However, when only co-substrates were added and the concentration was too high, it hindered the stimulation of  $R_m$ . The optimal concentration for glucose co-substrate addition was approximately between 1 and 2 g/L. A high concentration of glucose in the environment might enrich other competitive microorganisms, leading to the inhibition of benzoic acid-degrading bacteria and acetate-consuming methane-producing bacteria. Hydrochar also promoted the enrichment of benzoic acid degraders, but the influence of glucose co-substrate concentration on

收稿日期: 2023-12-01

DOI: 10.20078/j.eep.20240113

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31970113)

作者简介: 邵钱祺 (2000—), 女, 江苏苏州人, 硕士研究生, 主要从事有机废弃物资源化利用的研究工作。E-mail: endokoko@163.com

通讯作者: 罗刚 (1984—), 男, 河南驻马店人, 教授, 主要从事有机废弃物厌氧消化新技术及机理的研究工作。E-mail: gangl@fudan.edu.cn

community composition was mitigated in the presence of hydrochar. This study utilized hydrochar and co-substrates to enhance anaerobic degradation of phenol, providing a novel approach to improve the efficiency of phenol anaerobic digestion.

**Keywords:** Hydrchar; Phenol degradation; Co-metabolism; Anaerobic digestion; Microbial community

0 引 言

苯酚是一种有毒、致癌的芳香族化合物,广泛存在于煤气化、制药和农药、炼油等工业废水中<sup>[1]</sup>,也可由腐殖酸和单宁化合物等自然芳香物质降解产生<sup>[2]</sup>。据统计,每年有超过1 000万t酚类废水排放到环境中<sup>[3]</sup>,这些含有高浓度酚类物质的废水如未经适当处理直接排放,将会对生态环境和人体健康造成极大危害。

厌氧消化(Anaerobic Digestion, AD)是一种可持续、环保且经济的生物过程,目前已广泛应用于有机废水处理<sup>[4]</sup>。苯酚的厌氧降解是复杂而缓慢的过程,其稳定性取决于微生物群落、化合物的生物降解特性和化学特性<sup>[5]</sup>。一方面,苯酚向苯甲酸盐转化的过程是苯酚厌氧降解的限速步骤<sup>[6]</sup>;另一方面,由于苯酚及其中间产物(如苯甲酸盐)的毒性较高<sup>[7]</sup>,不利于产甲烷菌的富集,使得苯酚的乙酸发酵型产甲烷过程较为脆弱。因此,寻找合适的方法提高苯酚厌氧降解效果和产甲烷效率是关键。

在强化酚类化合物厌氧消化的研究中,生物刺激法是刺激原始微生物群落生长或生物活动以促进生物降解过程,主要包括添加营养素和其他化合物、优化工艺参数等方式<sup>[8]</sup>。投加共基质之后的厌氧消化过程也被称为共代谢,是难处理物质或有毒物质常见的厌氧强化技术,然而其对苯酚厌氧降解的影响尚不清楚。此外,先前的研究中已发现水热炭在苯酚厌氧降解中使最大产甲烷速率( $R_m$ )提高了79.1%<sup>[9]</sup>。如果能够同时利用水热炭与共代谢,进一步强化苯酚的厌氧降解,对实现苯酚的高效处理与甲烷回收具有重要意义。

本研究将水热炭与共代谢结合,探究二者耦合能否进一步促进苯酚的厌氧消化。实验采用葡萄糖作为共基质,260℃水热炭作为投加的炭材料<sup>[9]</sup>,将二者同时添加至苯酚厌氧消化过程中,探究其对苯酚厌氧消化影响。此外,还评估了不同葡萄糖浓度对苯酚厌氧消化的影响,并确定最佳的添加浓度。进一步通过16s rDNA高通量测序探究其中的微生物种类和丰度变化,为苯酚降解提供新思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用接种污泥取自处理酒精废水的UASB反应器中的颗粒污泥,其总固体含量(Total Solids, TS)为 $(37.2 \pm 1.5)$  g/L,挥发性固体含量(Volatile Solids, VS)为 $(30.1 \pm 1.1)$  g/L, pH为 $7.2 \pm 0.1$ 。苯酚(分析纯)和共基质葡萄糖(分析纯)分别购自阿拉丁试剂(上海)有限公司和国药集团化学试剂有限公司。

水热炭的制备以玉米秸秆为原料,玉米秸秆与去离子水按质量比1:19加入1 L加压搅拌釜式反应器中,在260℃下以200 r/min搅拌速率持续运行0.5 h。水热结束后,用冷却水将反应器冷却至室温,使用真空抽滤装置分离水热炭与液相产物。随后使用四氢呋喃多次冲洗水热炭以除去其表面的生物油,并用去离子水洗去四氢呋喃。最后将水热炭置于105℃烘箱烘干24 h后进行研磨,并用孔径为3.0 mm的不锈钢网筛筛分。

1.2 试验装置及运行策略

为探究水热炭与葡萄糖共基质同时添加对苯酚厌氧降解的影响,并确定最适的共基质添加浓度,设置了10组批式厌氧试验,分为不加水热炭(A)与添加水热炭(B)两批,每批按相同的葡萄糖浓度梯度分为5组,葡萄糖浓度梯度设置为0、0.5、1、2、4 g/L。实验设计见表1。

表1 实验设计  
Table 1 Reactor settings

组别	苯酚/ (g · L <sup>-1</sup> )	一水合葡萄糖/ (g · L <sup>-1</sup> )	水热炭/ (g · L <sup>-1</sup> )	接种污泥/ mL
A0	1	0	0	3
A1	1	0.5	0	3
A2	1	1.0	0	3
A3	1	2.0	0	3
A4	1	4.0	0	3
B0	1	0	10	3
B1	1	0.5	10	3
B2	1	1.0	10	3
B3	1	2.0	10	3
B4	1	4.0	10	3

所有试验均在 118 mL 血清瓶中进行,向每个反应器中加入所需量的苯酚、葡萄糖、水、水热炭和接种污泥,最终工作体积为 60 mL,各条件设置 3 个重复实验。

### 1.3 分析方法

TS、VS 和 pH 等均采用标准方法测定<sup>[10]</sup>。采用配有热导检测器的气相色谱 (GC) (GC-960, 中国海信),以 N<sub>2</sub>作为载气,测量血清瓶中的甲烷含量<sup>[11]</sup>。挥发性脂肪酸 (Volatile Fatty Acids, VFAs) 和苯酚的浓度通过配备火焰离子化检测器的 GC (GC-2010Plus, 岛津) 测量<sup>[12]</sup>,色谱柱为 Agilent HP-FFAP。

共代谢厌氧试验末期的微生物样品用于 16S rDNA 高通量测序分析。根据 E.Z.N.A. soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 说明书进行微生物群落总 DNA 抽提,使用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的提取质量,使用 NanoDrop2000 测定 DNA 浓度和纯度。使用通用引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3') 和 806R (5'-GGAC-TACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V4-V5 区进行 PCR 扩增。将同一样本的 PCR 产物混合后使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,利用 AxyPrepDNAGel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行回收产物纯化,2% 琼脂糖凝胶电泳检测,并用 Quantus Fluorometer (Promega, USA) 对回收产物进行检测、定量。使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库。利用 Illumina 公司的 MiseqPE300 平台进行测序。Illumina 测序得到的 PE reads 进行样本拆分后,首先根据测序质量对双端 Reads 进行质控和过滤,同时根据双端 Reads 之间的 overlap 关系进行拼接,获得质控拼接之后的优化数据。然后使用序列降噪方法 (DADA2/Deblur 等) 处理优化数据,获得 ASV (Amplicon Sequence Variant) 代表序列和丰度信息并进一步分析。

### 1.4 修正的 Gompertz 模型

使用修正的 Gompertz 模型 (Gompertz1, 式 (1)) 定量分析不同反应器的产甲烷过程。

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

式中:  $M(t)$ ——时间  $t$  时的累积甲烷产量, mL;

$P$ ——最大产甲烷潜力, mL CH<sub>4</sub>;

$R_m$ ——最大产甲烷速率, mL/d;

$\lambda$ ——延滞期时间, d。

使用 Origin2021 全局曲线拟合估计了三个参数  $P$ 、 $R_m$  和  $\lambda$ ;  $e$  值以是 2.718 28 计。实验数据和模型曲线之间的误差平方和最小。

由于共代谢实验中添加了葡萄糖作为共基质,葡萄糖基质产生的甲烷会干扰 Gompertz1 模型对苯酚产甲烷动力学参数的定量分析,使得葡萄糖浓度较高时, Gompertz1 模型的难以拟合出苯酚产甲烷过程的参数。故在 Gompertz1 模型基础上提出了 Gompertz2 模型 (式 (2))。该模型有助于分离葡萄糖产甲烷过程和苯酚产甲烷过程,专用于分析共代谢实验中葡萄糖浓度较高的实验组。当葡萄糖浓度较低时, Gompertz2 模型拟合效果不佳,故仍使用 Gompertz1 模型。

$$M(t) = P_1 \times \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{R_{m1} \times e}{P_1} \times (\lambda_1 - t) + 1 \right] \right\} + P_2 \times \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{R_{m2} \times e}{P_2} \times (\lambda_2 - t) + 1 \right] \right\} \quad (2)$$

式中,  $M(t)$ ——时间  $t$  时的累积甲烷产量, mL;

$P_1, P_2$ ——一阶段 (葡萄糖) 和二阶段 (苯酚) 的最大产甲烷潜力, mL CH<sub>4</sub>;

$R_{m1}, R_{m2}$ ——一阶段 (葡萄糖) 和二阶段 (苯酚) 的最大产甲烷速率, mL/d;

$\lambda_1, \lambda_2$ ——一阶段 (葡萄糖) 和二阶段 (苯酚) 的甲烷化延滞期, d。

使用 Origin2021 全局曲线拟合估计了所有参数,实验数据和模型曲线之间的误差平方和最小;  $e$  值以 2.718 28 计。

## 2 结果与讨论

### 2.1 共基质与水热炭同时添加对甲烷生成的影响

添加葡萄糖共基质对苯酚厌氧消化存在促进效果,如图 1 所示,相比未添加葡萄糖的对照组, A 组和 B 组各反应器中最高累积甲烷产量分别增加了 42.52%~208.89% 和 16.15%~157.93%。尽管最高累积甲烷产量随葡萄糖浓度增加,但 A 组与 B 组分别在葡萄糖浓度为 1 g/L (A2、B2) 和 2 g/L (A3、B3) 时达到最短苯酚甲烷化延滞期和最高产甲烷速率。该现象的产生可能是在高葡萄糖浓度下初始传质阻力较大和微生物耐受性较差所致<sup>[13]</sup>。此外,共代谢动力学模型研究<sup>[14]</sup>认为,共基质和目标污染物对关键酶的活性位点具有竞争效应,从而产生抑制作用。表 2 为苯酚降解过程

表 2 甲烷生产动力学参数

Table 2 Kinetic parameters of methane production

组别	模型	序批式试验结束时单位 COD 甲烷产量/		$P_1/\text{mL}$	$R_{m1}/$	$\lambda_1/\text{d}$	$P_2/\text{mL}$	$R_{m2}/$	$\lambda_2/\text{d}$	$R^2$
		甲烷产量/mL	( $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1} \text{COD}$ )		( $\text{mL} \cdot \text{d}^{-1}$ )			( $\text{mL} \cdot \text{d}^{-1}$ )		
A0	Gompertz1	29.26	204.9	—	—	—	31.8±1.3	3.53±0.53	77.5±0.7	0.978
A1	Gompertz1	41.69	242.5	—	—	—	43.6±0.6	2.38±0.09	47.5±0.3	0.998
A2	Gompertz1	44.81	222.9	—	—	—	44.9±0.9	3.56±0.39	41.4±0.7	0.989
A3	Gompertz2	65.31	252.0	26.9±3.1	2.18±0.39	26.6±0.9	40.5±3.2	6.40±0.75	44.4±0.6	0.997
A4	Gompertz2	90.37	240.6	61.5±1.7	3.13±0.26	14.5±0.8	38.7±9.8	1.65±0.29	59.3±2.1	0.994
B0	Gompertz1	44.50	311.6	—	—	—	44.8±0.4	4.86±0.18	34.3±0.2	0.999
B1	Gompertz1	51.70	300.8	—	—	—	50.8±0.6	4.61±0.22	28.4±0.3	0.998
B2	Gompertz1	58.29	290.0	—	—	—	57.1±1.2	5.08±0.52	24.6±0.6	0.993
B3	Gompertz2	63.58	245.3	25.0±3.8	2.06±0.50	8.5±1.5	40.0±3.6	6.80±1.20	28.3±0.7	0.993
B4	Gompertz2	114.78	305.6	58.4±1.1	7.62±0.73	9.6±0.4	55.0±1.8	6.60±0.70	33.6±0.5	0.998

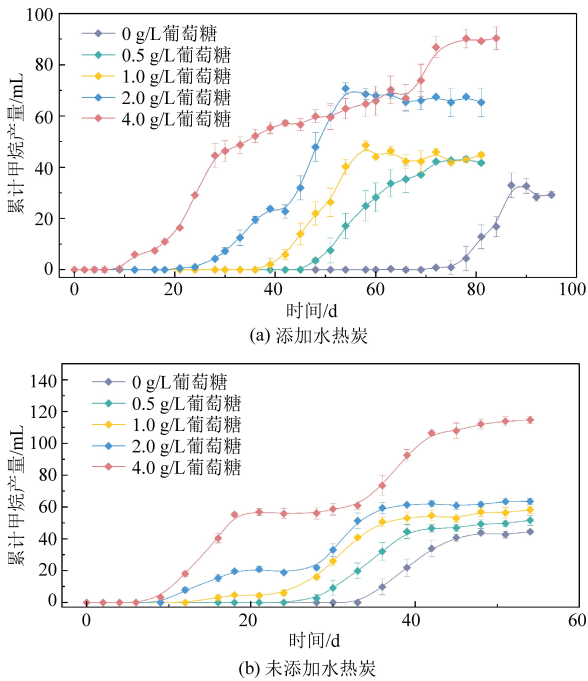


图 1 添加水热炭和未添加水热炭反应器中  
累计甲烷产量变化

Fig. 1 Cumulative methane production changes in  
reactors with hydrochar added and without  
hydrochar added

进一步分析表明,不同浓度葡萄糖均对苯酚甲烷化延滞期的存在缩短效果。A0 组的延滞期长达 77.5 d,但 A1–A4 组延滞期缩短到了 41.4~59.3 d。同时,水热炭对苯酚厌氧消化产生了促进作用。在相同的葡萄糖添加量下,与 A 组相比,B 组延滞期缩短了 36.3%~55.7%。此外,在水热炭存在的情况下,较 A 组相比,B 组中各反应器  $R_m$  分别增长了 6.3%~300%。因此,共基质与水热炭

同时添加能够进一步强化苯酚厌氧消化过程。

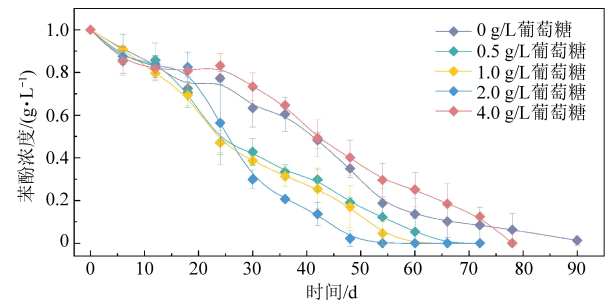
2.2 共基质与水热炭同时添加对苯酚浓度变化影响

如图 2 所示,添加水热炭能够显著促进苯酚的降解。水热炭的添加使苯酚被完全降解所需时间从 54~90 d 减少至 30~42 d。该结果与先前的研究结果一致<sup>[9]</sup>,可能是水热炭良好的吸附作用所致。此外,在 A 组观察到,当葡萄糖浓度为 0~2 g/L 时,苯酚降解速率随浓度提高而加快。然而,当葡萄糖浓度为 4 g/L 时,A4 中的降解速率较 A0 未明显增加。同时,在 B 组中添加 2 g/L 葡萄糖的反应器也同样表现出了最佳的苯酚降解速率。值得注意的是,在 B 组中添加 4 g/L 葡萄糖的 B4 反应器受到高浓度共基质抑制情况并不明显,这说明水热炭能够一定程度上缓解高浓度葡萄糖的竞争抑制,从而提高苯酚厌氧降解效率。

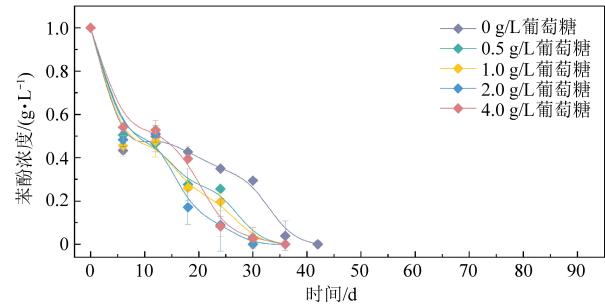
2.3 共基质与水热炭同时添加对挥发性脂肪酸积累的影响

图 3 是各反应器中的 VFAs 变化趋势。VFAs 的积累可以根据降解基质分为两个阶段,第一阶段是由葡萄糖降解主导的 VFAs 积累,并在 18~24 d 时进入由苯酚降解主导的 VFAs 积累阶段。在 6 d 时可以观察到,A 组和 B 组中丁酸均为主要的 VFAs 组分,且其累积量随葡萄糖浓度的增加而提升。丁酸作为葡萄糖酸化的主要代谢产物<sup>[15]</sup>,其大量积累可以说明底物中葡萄糖在反应初期即被大量消耗。在 24 d 后,A 组和 B 组中均无丁酸,乙酸成为主要 VFAs 组分。先前研究表明,乙酸是苯酚厌氧降解的最终产物<sup>[16]</sup>,因此可以推测苯酚在该阶段被显著降解。此外,对比不





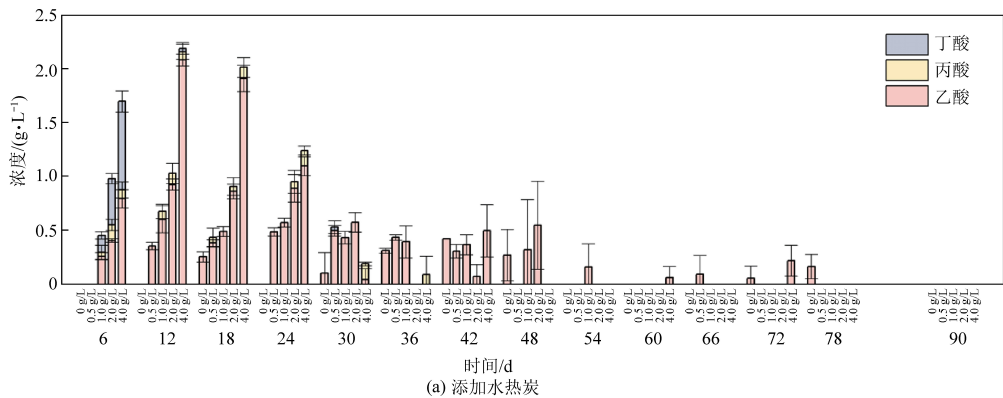
(a) 添加水热炭



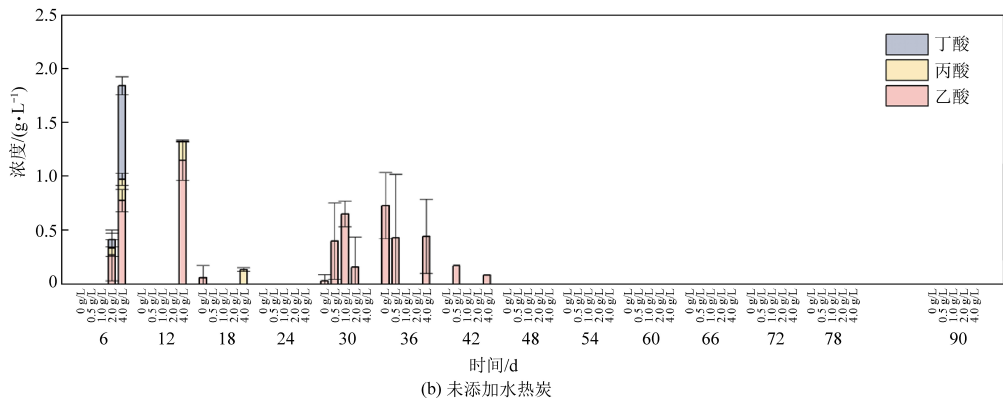
(b) 未添加水热炭

图 2 添加水热炭和未添加水热炭反应器中  
苯酚浓度变化

Fig. 2 Phenol concentration changes in reactors with  
hydrochar added and without hydrochar added



(a) 添加水热炭



(b) 未添加水热炭

图 3 添加水热炭和未添加水热炭反应器中 VFAs 浓度变化

Fig. 3 VFAs concentration changes in reactors with hydrochar added and without hydrochar added

比之下,不同共基质浓度对群落组成影响相对较小,但高浓度共基质添加的反应器(A4、B4)仍与其它组在群落组成上存在较大差异。此外,添加

同葡萄糖浓度的反应器,添加量为 0、4 g/L 葡萄糖的反应器在苯酚降解阶段的乙酸积累量更多,且最高积累量出现的时间更晚,可能是因为这些反应器中的乙酸消耗活性较低。这一结果再次表明了高浓度共基质对苯酚厌氧消化的促进作用较低。

## 2.4 微生物多样性分析

通过  $\alpha$  多样性能够量化分析各反应器中微生物群落的丰富度和多样性。其中, Sobs 指数和 Shannon 指数通常分别用于反映物种丰富度和群落水平的多样性。如图 4 所示,总体而言,水热炭的添加使 B 组中各反应器中 Sobs 指数低于 A 组中相同葡萄糖添加量下的反应器,表明水热炭添加对微生物多样性表现出一定的负面作用,这可能是因为水热炭添加特异性富集了部分菌株。

为了研究样本群落组成的相似性或差异性,对样本数据在 ASV 水平上进行了 Principal Co-ordinates Analysis (PCoA),结果如图 5 所示。未添加水热炭的 A 组与加炭的 B 组在主坐标系上差异较大,表明水热炭对群落组成影响更为强烈。相

水热炭的 B0、B1、B2、B3 反应器显示出了非常小的群落组成差异,水热炭可能减轻了不同共基质浓度对群落组成的影响。

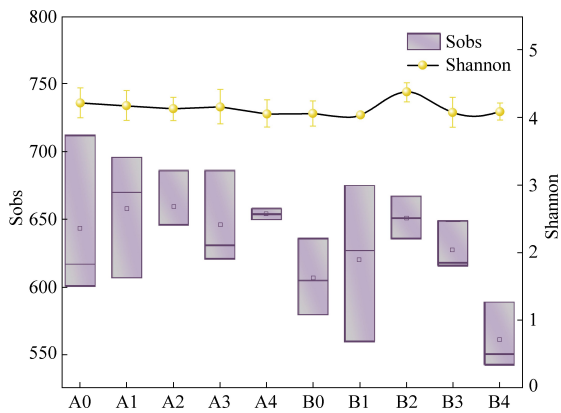


图 4 各反应器的微生物的多样性指数 ( $R^2>0.99$ )

Fig. 4 Diversity index of microorganisms in each reactor ( $R^2>0.99$ )

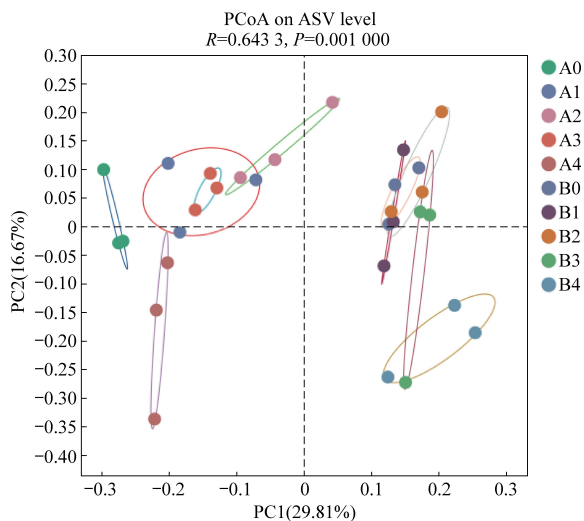


图 5 各微生物群落在 ASV 水平的 PCoA 分析

Fig. 5 PCoA analysis of various microbial communities on ASV level

## 2.5 古菌群落分析

古菌在甲烷生成的过程中至关重要,各反应器中古菌在属水平的群落组成如图 6 所示。其中 *Methanobacterium*、*Methanosaeta* (又名 *Methanothrix*) 是最重要的两个属,两者相对丰度之和在 A 组达到了所有古菌的 83.79%~90.02%;B 组中水热炭的添加使其进一步提高至 91.53%~94.92%。两种菌在 B 组中的显著富集可能是其微生物多样性较 A 组下降的原因。进一步分析发现,在 A 组中 *Methanosaeta* 的相对丰度先增加后减少,与苯酚厌氧消化活性趋势一致。然而, *Methanobacterium* 的相对丰度则随共基质浓度的增加先减少后增加。 *Methanosaeta* 是一种典型的耗乙酸产甲烷菌<sup>[17]</sup>,在苯酚降解过程中发挥着重要作用,是苯甲酸厌氧代谢产物的主要消耗者。 *Methanobacterium* 主要利用葡萄糖和苯酚厌氧降解过程中的副产物

$H_2$  进行耗氢产甲烷<sup>[18]</sup>,其相对丰度从 A0 的 57.47% 上升至 A4 中的 67.21%;这可能是 A4 反应器中累积甲烷是 A 组中最高的反应器原因之一。相反,在 B 组中 *Methanosaeta* 和 *Methanobacterium* 的相对丰度随葡萄糖浓度上升分别出现先减少后增加和先增加后减少的趋势。从图 3 可知, A 组较 B 组在前期水解、酸化阶段表现出的较高的乙酸累积量,可能是 *Methanosaeta* 对 A 组产甲烷过程影响更为明显的原因之一。 A 组、B 组中不同共基质添加量下优势菌门丰度变化趋势的差异也反映出水热炭对苯酚厌氧降解过程微生物群落结构的显著影响。 *Methanobacterium* 能够参与直接种间电子传递 (DIET) 的过程<sup>[19]</sup>,已有许多研究表明<sup>[20-21]</sup>,碳材料的添加能够有效富集 *Methanobacterium* 从而加速 VFAs 的消耗,提升产甲烷效率,这也是共基质与水热炭同时添加能够进一步强化苯酚厌氧降解的另一重要因素。

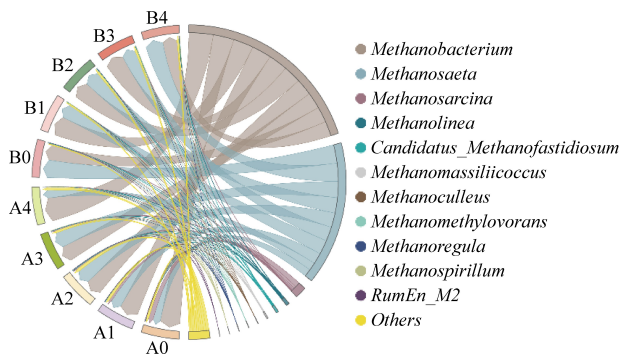


图 6 古菌在属水平的群落组成

Fig. 6 Community composition of archaea at genus level

## 2.6 细菌群落分析

图 7 为细菌在门水平的群落组成。细菌群落以 *Firmicutes*、*Chloroflexi*、*Bacteroidota* 和 *Desulfobacterota* 为主。

在 A 组中, *Chloroflexi* 相对丰度随共基质浓度的变化趋势与苯酚厌氧消化活性相同,并在葡萄糖添加量为 1 g/L 时达到最高值 14.32%,是未添加葡萄糖反应器中的 2.1 倍。 *Chloroflexi* 是厌氧消化过程中葡萄糖的主要消耗者,因此,其在 A1-A3 中的富集也是对应反应器苯酚厌氧消化性能提升的原因之一。有研究指出, *Firmicutes* 和 *Bacteroidota* 的相对丰度之间呈显负相关<sup>[22]</sup>,在 A 组各反应器中也呈现了相同的现象。 *Bacteroidota* 能够与产甲烷菌建立共生关系,并将葡萄糖靶向转化为乙酸和  $H_2$ <sup>[23]</sup>,进而促进厌氧消化的稳定运行。因此, *Bacteroidota* 在 A1-A3 中相对丰度的增加可能是苯酚甲烷化延滞期和苯酚降解时间缩短

的原因之一。

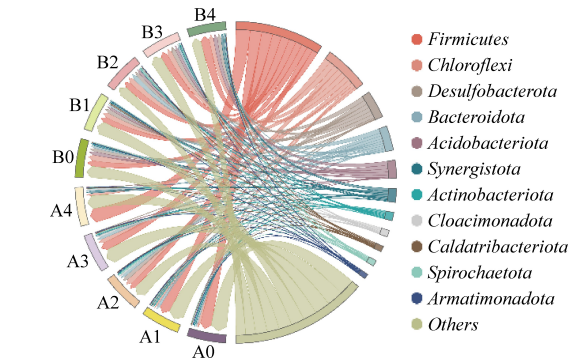


图 7 细菌在门水平的群落组成

Fig. 7 Community composition of bacteria at phylum level

值得注意的是,水热炭的添加显著富集了 *Acidobacteriota*,其相对丰度从 A 组中的 0.17% ~ 1.51% 显著增加至 B 组中的 6.21% ~ 10.80%,成为优势菌门。*Acidobacteriota* 能够对包括葡萄糖在内的多种糖类物质进行降解<sup>[24]</sup>,其特异性富集是促使共基质与水热炭添加提升苯酚厌氧消化性能的

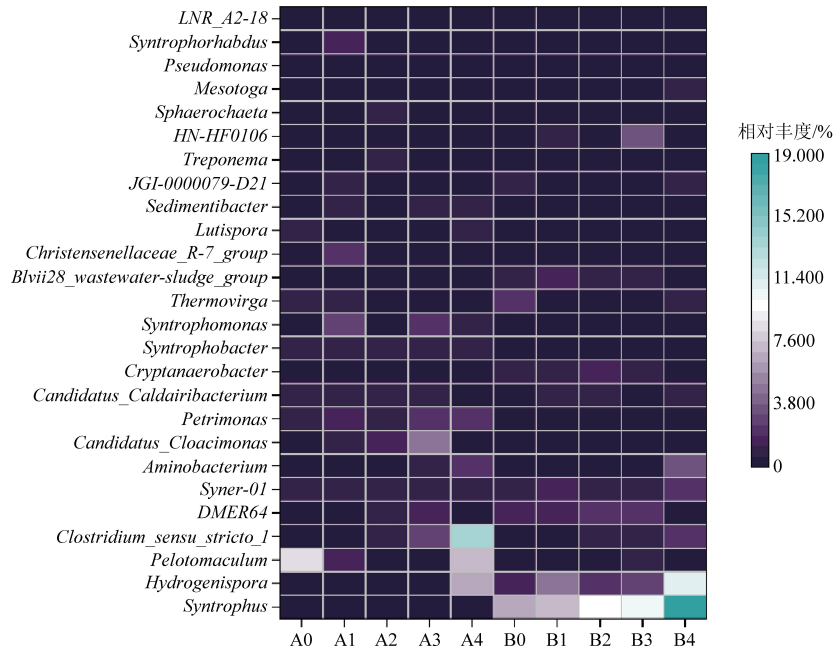


图 8 细菌在属水平的群落组成

Fig. 8 Community composition of bacteria at genus level

值得注意的是,*Hydrogenispora* 在 A4 和 B4 中的相对丰度分别为 6.50%和 11.09%,是 A、B 组其他反应器中该属相对丰度的 38.48 ~ 355.40 倍和 2.13 ~ 7.11 倍。*Hydrogenispora* 在高浓度葡萄糖组相对丰度较高,这可能是因为 *Hydrogenispora* 能够将葡萄糖向乙酸、乙醇和氢气等转化<sup>[29]</sup>,因此 在高浓度葡萄糖环境下竞争力更强。

*Pelotomaculum* 的相对丰度则随共基质浓度的

重要因素。

图 8 进一步在属水平上分析了细菌的群落组成。*Syntrophus*、*Hydrogenispora*、*Pelotomaculum*、*DMER64*、*Syner-01* 和 *Aminobacterium* 是最主要的几种微生物。其中,*Syntrophus* 属于 *Syntrophaceae* 科,是一种典型的苯甲酸厌氧代谢菌<sup>[25]</sup>,能够通过与消耗氢/甲酸盐的微生物的合养以降解苯甲酸盐和某些脂肪酸<sup>[26]</sup>。其在 B 组中被显著富集,相对丰度从 A 组中的 0.14% ~ 0.21% 上升至 B 组中的 6.81% ~ 18.98%。先前研究发现,*Syntrophus* 能够产生 DIET 所需的导电菌毛,并可以通过 DIET 生长<sup>[27]</sup>。因此,水热炭可能通过促进 *Syntrophus* 与其合养产甲烷菌之间的 DIET 提高苯酚降解效率。此外,*Syner-01* 也同样在 B 组中被观察到富集。在相同的葡萄糖浓度下,水热炭的添加使 *Syner-01* 的相对丰度最高提高了约 3.02 倍。*Syner-01* 是 *Synergistaceae* 科的一员,在厌氧消化的互营乙酸氧化和氨基酸氧化过程中发挥着重要的作用<sup>[28]</sup>。

提高呈先减后增趋势。以 A 组为例,*Pelotomaculum* 在 A0 和 A4 中的浓度可达 8.83%和 7.02%,而在 A1–A3 中最高仅为 1.73%。在先前的研究中发现,*Pelotomaculum* 在与耗氢甲烷菌 *Methanspirillum hungatei* 的共培养中,可利用两种或三种邻苯二甲酸酯异构体进行生长,并产生乙酸盐和甲烷等最终产物,但不能利用对羟基苯甲酸作为电子受体<sup>[30]</sup>。

同时, *DMER64* 的相对丰度在 A2、A3 和 B2、B3 中较 A、B 组其他反应器显著上升。据报道, *DMER64* 能够通过细菌属将丙酸和丁酸转化为氢<sup>[31]</sup>, 上述反应器内较高的丙酸和丁酸含量是促进 *DMER64* 活性的可能原因。*DMER64* 被认为是一种潜在的互营细菌, 可以与产甲烷菌建立水热炭等炭材料介导的 DIET, 从而提高产甲烷效率<sup>[32]</sup>。这可能也是葡萄糖浓度在 1~2 g/L 苯酚厌氧降解效果最佳的原因之一。

综上所述, 适宜浓度的葡萄糖共基质和水热炭的添加有利于相关功能微生物的富集, 从而提升苯酚厌氧降解性能。

### 3 总 结

本研究表明, 水热炭和共基质添加均能够促进苯酚厌氧消化, 且二者同时添加能进一步提升促进效果。水热炭和共基质添加使最高累积产甲烷量较对照组提高了 16.15%~208.89%。同时, 二者的添加还缩短了苯酚厌氧消化的延滞期, 并且提高了甲烷生产的  $R_m$ , 且葡萄糖共基质对苯酚厌氧消化的促进作用呈现随浓度增加先增加后减少的趋势。

对不同反应器中的微生物群落结构进行分析发现, 适宜的共基质浓度和水热炭的添加能够有效富集功能微生物, 强化苯酚厌氧降解性能。葡萄糖共基质的添加能够富集耗乙酸产甲烷菌 *Methanosaeta* 和 *Chloroflexi*、*Bacteroidota* 等细菌。水热炭的存在进一步提高了两种优势菌门 *Methanobacterium*、*Methanosaeta* 的丰度和, 尤其是能够参与 DIET 过程的 *Methanobacterium*。同时, *Acidobacteriota*、*Syntrophus*、*Syner-01* 等细菌也被观察到了显著富集。

### 参考文献 (References):

- [1] ROSENKRANZ F, CABROL L, CARBALLA M, et al. Relationship between phenol degradation efficiency and microbial community structure in an anaerobic SBR[J]. *Water Research*, 2013, 47(17): 6739–6749.
- [2] DE GODOI L A G, FUESS L T, DELFORNO T P, et al. Characterizing phenol-removing consortia under methanogenic and sulfate-reducing conditions: Potential metabolic pathways[J]. *Environmental technology*, 2019, 40(24): 3216–3226.
- [3] SINGH S, MISHRA R, SHARMA R S, et al. Phenol remediation by peroxidase from an invasive mesquite: Turning an environmental wound into wisdom[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 334: 201–211.

- [4] HAO S, REN S, ZHOU N, et al. Molecular composition of hydrothermal liquefaction wastewater from sewage sludge and its transformation during anaerobic digestion [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 383: 121163.
- [5] REYES CONTRERAS C, VIDAL G. Methanogenic toxicity evaluation of chlortetracycline hydrochloride [J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2015, 18(6): 445–450.
- [6] LI Y, TABASSUM S, CHU C, et al. Inhibitory effect of high phenol concentration in treating coal gasification wastewater in anaerobic biofilter [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 64: 207–215.
- [7] KAYEMBE K, BASOSILA L, MPIANA P T, et al. Inhibitory effects of phenolic monomers on methanogenesis in anaerobic digestion[J]. *British Microbiology Research Journal*, 2013, 3: 32–41.
- [8] TYAGI M, DA FONSECA M M R, DE CARVALHO C C C R. Bioaugmentation and biostimulation strategies to improve the effectiveness of bioremediation processes [J]. *Biodegradation*, 2011, 22: 231–241.
- [9] LUO T, HE J, SHI Z, et al. Metagenomic binning revealed microbial shifts in anaerobic degradation of phenol with hydrochar and pyrochar[J]. *Fermentation*, 2023, 9(4): 387.
- [10] SHAO Q, FANG S, FANG X, et al. Boosting short-chain fatty acids production from co-fermentation of orange peel waste and waste activated sludge: Critical role of pH on fermentation steps and microbial function traits[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 380: 129128.
- [11] WAN J, JING Y, ZHANG S, et al. Mesophilic and thermophilic alkaline fermentation of waste activated sludge for hydrogen production: Focusing on homoacetogenesis [J]. *Water Research*, 2016, 102: 524–532.
- [12] WU S L, WEI W, SUN J, et al. Medium-chain fatty acids and long-chain alcohols production from waste activated sludge via two-stage anaerobic fermentation [J]. *Water Research*, 2020, 186: 116381.
- [13] LIU X, WU Y, XU Q, et al. Mechanistic insights into the effect of poly ferric sulfate on anaerobic digestion of waste activated sludge[J]. *Water Research*, 2021, 189: 116645.
- [14] 王伟, 潘尚磊, 张静, 等. 厌氧共代谢分解难降解有机物的研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2014, 37(6): 78–82. WANG Wei, PAN Shanglei, ZHANG Jing, et al. Progress in anaerobic co-metabolism of refractory organics[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 37(6): 78–82.
- [15] ZHOU M, YAN B, WONG J W C, et al. Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 248: 68–78.
- [16] FINA L R, FISKIN A M. The anaerobic decomposition of benzoic acid during methane fermentation. II. Fate of carbons one and seven [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1960, 91(2): 163–165.
- [17] HUSER B A, WUHRMANN K, ZEHNDER A J B. *Methanothrix soehngenii* gen. nov. sp. nov., a new acetotrophic non-



- p>hydrogen-oxidizing methane bacterium[J]. Archives of Microbiology, 1982, 132: 1-9.
- [18] ZHENG S, LI M, LIU Y, et al. Desulfovibrio feeding Methanobacterium with electrons in conductive methanogenic aggregates from coastal zones [J]. Water Research, 2021, 202: 117490.
  - [19] ZHENG S, LIU F, WANG B, et al. Methanobacterium capable of direct interspecies electron transfer[J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54(23): 15347-15354.
  - [20] RICHEN L, JUN C, LINGKAN D, et al. Improved efficiency of anaerobic digestion through direct interspecies electron transfer at mesophilic and thermophilic temperature ranges[J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 350: 681-691.
  - [21] 吴博. 污泥基生物炭对污泥中温厌氧消化性能及微生物群落的影响研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2020: 48.  
WU Bo. Effects of sludge-derived biochar on mesophilic anaerobic digestion of waste activated sludge and microbial community[D]. Changsha: Hunan University, 2020: 48.
  - [22] RIESENFELD C S, SCHLOSS P D, HANDELSMAN J. Metagenomics: Genomic analysis of microbial communities[J]. Annual Review of Genetics, 2004, 38(1): 525-552.
  - [23] LI Y, CHEN Z, PENG Y, et al. Deeper insights into the effects of substrate to inoculum ratio selection on the relationship of kinetic parameters, microbial communities, and key metabolic pathways during the anaerobic digestion of food waste [J]. Water Research, 2022, 217: 118440.
  - [24] DEDYSH S N, IVANOVA A A, BEGMATOV S A, et al. Acidobacteria in fens: Phylogenetic diversity and genome analysis of the key representatives[J]. Microbiology, 2022, 91(6): 662-670.
  - [25] MCINERNEY M J, ROHLIN L, MOUTTAKI H, et al. The genome of *Syntrophus aciditrophicus*: Life at the thermodynamic limit of microbial growth[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(18): 7600-7605.
  - [26] JACKSON B E, BHUPATHIRAJU V K, TANNER R S, et al. *Syntrophus aciditrophicus* sp. nov., a new anaerobic bacterium that degrades fatty acids and benzoate in syntrophic association with hydrogen-using microorganisms[J]. Archives of Microbiology, 1999, 171(2): 107-114.
  - [27] WALKER D J F, NEVIN K P, HOLMES D E, et al. *Syntrophus* conductive pili demonstrate that common hydrogen-donating syntrophs can have a direct electron transfer option[J]. The ISME Journal, 2020, 14: 837-846.
  - [28] WANG J J, XU L Z J, HUANG B C, et al. Multiple electron acceptor-mediated sulfur autotrophic denitrification: Nitrogen source competition, long-term performance and microbial community evolution [J]. Bioresource Technology, 2021, 329(9): 124918.
  - [29] LIU Y, QIAO J T, YUAN X Z, et al. *Hydrogenispora ethanolica* gen. nov., sp. nov., an anaerobic carbohydrate-fermenting bacterium from anaerobic sludge[J]. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 2014, 64: 1756-1762.
  - [30] QIU Y L, SEKIGUCHI Y, HANADA S, et al. *Pelotomaculum terephthalicum* sp. nov. and *Pelotomaculum isophthalicum* sp. nov.: Two anaerobic bacteria that degrade phthalate isomers in syntrophic association with hydrogenotrophic methanogens[J]. Archives of Microbiology, 2006, 185: 172-182.
  - [31] GUO X, SUN C, LIN R, et al. Effects of foam nickel supplementation on anaerobic digestion: Direct interspecies electron transfer [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 399: 122830.
  - [32] LEE J, KOO T, YULISA A, et al. Magnetite as an enhancer in methanogenic degradation of volatile fatty acids under ammonia-stressed condition[J]. Journal of Environmental Management, 2019, 241: 418-426.