



张建鹏, 李媛, 李杨. 碱预处理联合丙三醇发酵促进城市污泥厌氧产甲烷 [J]. 能源环境保护, 2025, 39(6): 64-72.

ZHANG Jianpeng, LI Yuan, LI Yang. Combining Alkaline Pretreatment with Glycerol Fermentation to Promote Anaerobic Methanogenesis of Waste Activated Sludge [J]. Energy Environmental Protection, 2025, 39(6): 64-72.

移动扫码阅读

碱预处理联合丙三醇发酵促进城市污泥厌氧产甲烷

张建鹏¹, 李媛², 李杨^{1,*}

(1. 大连理工大学 化工海洋与生命学院, 辽宁 盘锦 124221;

2. 大连理工大学 环境学院, 辽宁 大连 116024)

摘要: 厌氧消化是目前实现城市污泥减量化和资源化的重要途径之一。然而传统厌氧消化受氢气/甲酸扩散的限制, 代谢容易受阻, 最终导致厌氧消化体系酸化崩溃。直接种间电子传递(Direct Interspecies Electron Transfer, DIET)被证实能够有效地避免上述问题并提高厌氧消化的效能。研究表明, 添加少量丙三醇可富集电活性微生物, 促进 DIET。然而添加外源丙三醇会增加运行成本。本实验结合碱预处理与酵母发酵, 实现城市污泥自产丙三醇促进 DIET, 为城市污泥高效厌氧产甲烷提供技术支持。研究结果显示: (1) 碱预处理的最佳周期为 10 h, 城市污泥中溶解性糖的含量提高了 43.4%; 酵母的最佳接种量为 10%, 最佳发酵周期为 9 h, 丙三醇浓度占城市污泥总化学需氧量(COD)的 2.43%; (2) 相比于对照组, 酵母发酵组和碱预处理联合酵母发酵组的甲烷产量分别提高了 11.8% 和 15.4%, 挥发性固体(VS)去除率几乎相同(约 45%), 有机质转化效率分别提高了 5.80% 和 9.30%; (3) 相比于对照组, 酵母发酵组和碱预处理联合酵母发酵组污泥的放电电子转移系数(Electron Transfer Coefficient, ETC)提高了 11.1% 和 16.8%, 充电 ETC 提高了 11.1% 和 17.3%; (4) 微生物群落分析发现, 碱预处理联合酵母发酵组相比于对照组富集了可能参与 DIET 的 *Methanotherrix soehngenii* GP6 和 *Fastidiosipila sanguinis*。

关键词: 城市污泥; 厌氧消化; 直接种间电子传递; 丙三醇发酵; 碱预处理

中图分类号: X505

文献标识码: A

文章编号: 2097-4183(2025)06-0064-09

Combining Alkaline Pretreatment with Glycerol Fermentation to Promote Anaerobic Methanogenesis of Waste Activated Sludge

ZHANG Jianpeng¹, LI Yuan², LI Yang^{1,*}

(1. School of Chemical Engineering, Ocean and Life Sciences, Dalian University of Technology, Panjin 124221, China; 2. School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: Anaerobic digestion is an important approach for reducing the volume of urban sludge and achieving resource recovery. However, conventional anaerobic digestion is limited by the diffusion of

收稿日期: 2024-10-26

修回日期: 2024-12-27

接受日期: 2024-12-31

DOI: 10.20078/j.eep.20250106

基金项目: 国家重点研发计划子课题资助项目(2023YFD1701405-01)

第一作者: 张建鹏(1997—), 男, 河北唐山人, 硕士研究生, 主要研究方向为污染物的厌氧生物处理与资源化。

E-mail: 32228020@mail.dlut.edu.cn

李媛(1998—), 女, 河北邯郸人, 博士研究生, 主要研究方向为污染物的厌氧生物处理与资源化。

E-mail: liyuan04030021@mail.dlut.edu.cn

*通讯作者: 李杨(1989—), 女, 辽宁大连人, 副教授, 主要研究方向为污染物的厌氧生物处理及资源化利用。E-mail: liyang1989@dlut.edu.cn

hydrogen and formic acid, which can easily lead to metabolic blockage, eventual acidification, and system collapse. Direct interspecies electron transfer (DIET) has been proven to effectively mitigate these issues and enhance the efficiency of anaerobic digestion. Previous studies have shown that the addition of a small amount of glycerol can enrich electroactive microorganisms and promote DIET. However, the use of exogenous glycerol increases operational costs. To address this, the present study combined alkali pretreatment and yeast fermentation to produce glycerol in situ from urban sludge, thereby promoting DIET and supporting efficient methane production. The results showed that the optimal duration for alkaline pretreatment was 10 hours, which increased the soluble sugar content by 43.4% compared to untreated sludge. The optimal inoculation ratio for yeast fermentation was 10%, and the optimal fermentation duration was 9 hours, during which glycerol accounted for 2.43% of the total chemical oxygen demand (COD) of the sludge. Anaerobic digestion performance was evaluated based on indicators such as methane yield, volatile solids (VS) removal rate, and organic matter conversion efficiency. Compared with the control group, the yeast fermentation group and the combined alkaline pretreatment and yeast fermentation group achieved increases in methane production of 11.8% and 15.4%, respectively. The VS removal rate was similar across all groups (approximately 45%), while the organic matter conversion efficiency for the yeast fermentation group and the combined group increased by 5.80% and 9.30%, respectively. Furthermore, analysis of the electron transfer coefficient (ETC) revealed the intrinsic mechanism of system enhancement. Compared to the control group, the discharging ETC in the yeast fermentation group and the combined pretreatment group increased by 11.1% and 16.8%, respectively. Similarly, the charging ETC in these groups increased by 11.1% and 17.3%, respectively. Finally, microbial community analysis indicated that *Methanotherrix soehnenii* GP6 and *Fastidiosipila sanguinis* were enriched in the combined pretreatment group, suggesting their potential involvement in DIET.

Keywords: Urban sludge; Anaerobic digestion; Direct interspecies electron transfer; Glycerol fermentation; Alkali pretreatment

0 引言

随着我国城镇化进程的推进,城市污水处理厂剩余污泥产量急剧增加。预计2025年剩余污泥产量将超过9 000万t^[1]。2022年,国家发展和改革委员会在《污泥无害化处理与资源化利用实施方案》中提出,2025年实现城市污泥无害化处置率达到90%以上,大力推进污泥能源资源回收利用^[2]。

剩余污泥成分复杂^[3],含有大量有机物、重金属、致病菌等,有害介质多,处置不恰当的污泥易与周围环境形成多相复合型交叉污染。剩余污泥因组分多样化而具有污染和资源的双重属性。厌氧消化是实现剩余污泥稳定化、减量化和资源化最有效的手段之一^[4]。传统的厌氧消化技术是以H₂为电子载体进行种间能量交换,即种间氢气传递(IHT)^[5],但H⁺作为电子受体氧化,有机物在热力学上不能自发进行厌氧消化过程,需要耗氢产

甲烷菌持续消耗H₂以维持系统内较低的氢气分压才能保证反应顺利进行。然而耗氢产甲烷菌在厌氧消化反应器中丰度较低且对环境敏感^[6],面对成分复杂的剩余污泥,其代谢容易受阻,导致H₂分压上升,丙酸/丁酸积累,使厌氧消化系统酸化崩溃。据统计,我国每年产生的剩余污泥超过8 000万t,而规模化的污泥厌氧消化工程不超过100个,稳定运行的不足10个^[7]。因此急需一种提高剩余污泥厌氧消化产甲烷效率、降低运行成本、操作简便的方法来推动厌氧消化技术的应用^[8]。

2010年,SUMMERS等^[9]发现了直接种间电子传递(DIET)产甲烷途径。某些电活性菌可以氧化有机物,并将产生的电子通过导电菌丝(e-pili)或外膜细胞色素直接传递至产甲烷菌,产甲烷菌接受电子并还原CO₂为CH₄。相比于传统的IHT,DIET产甲烷过程中复杂的有机物无需水解酸化便可直接被电活性菌利用,产甲烷菌直接接受电子还原CO₂为CH₄,提高了厌氧消化速率;电子传

递不需要借助 H_2 扩散, 克服了高氢分压下的热力学限制^[4], 极大地提高了有机质转化效率和系统稳定性。然而在实际应用中, DIET 产甲烷仍存在功能微生物匮乏、电子传递效率低以及电子转移动能不足等问题^[10]。

ZHAO 等^[11]发现乙醇可以促进产生 e-pili/细胞色素进而建立 DIET 产甲烷路径。通过乙醇驯化城市污泥在厌氧消化中建立 DIET 被广泛报道为一种经济有效的策略, 然而在面对高负荷难降解底物时, DIET 易崩溃而被 IHT 取代^[12]。LI 等^[12]发现含有羟基的醇类均可以刺激厌氧消化过程中 DIET 产甲烷路径的建立, 并且羟基数目越多的醇类刺激效果越好。

研究表明, 添加丙三醇能提高厌氧消化中电活性菌的活性, 促进其形成 e-pili, 从而增强 DIET 的效果^[13]。例如, *Geobacter sulfurreducens* 在 DIET 过程中具有重要作用, 丙三醇可以提高其电子传递能力^[14]。WANG 等^[15]发现在厌氧消化过程中添加 8% 丙三醇, 实验组的甲烷产量比对照组高 31%, 并且富集了更多的电活性微生物。持续外源投加丙三醇会提高运行成本, 为此本研究提出丙三醇型发酵预处理, 将剩余污泥部分底物转化为丙三醇, 加快厌氧消化系统中 DIET 产甲烷路径建立的同时降低运行成本。

剩余污泥中的部分有机物(如细胞壁、蛋白质、脂肪等)在未经处理时难以被微生物直接降解^[16]。碱预处理可以破坏细胞壁, 释放细胞内的有机物, 使其更易被厌氧微生物利用^[17], 并且还能促进大分子物质(如蛋白质、多糖等)水解成较小的有机分子(如氨基酸、糖类等), 这些小分子有机物更易被厌氧消化微生物分解^[18]。碱预处理可以显著提高厌氧消化的效率和经济性, 是提高甲烷产量的重要手段之一^[19-21]。

本实验以城市剩余污泥为底物, 采用碱预处理联合酵母发酵产丙三醇的方法, 加快厌氧消化过程中 DIET 路径的建立, 提高厌氧消化产甲烷效率。首先确定丙三醇发酵的时间、酵母菌的添加量和碱预处理的时间; 其次探究碱预处理联合酵母发酵产丙三醇对厌氧消化性能的影响; 最后通过高通量测序分析微生物群落。通过电子转移系数(Electron Transfer Coefficient, ETC)评估污泥的电子转移效率^[22]。本研究可为城市剩余污泥高效厌氧产甲烷提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与药品

1.1.1 药品

本实验所用药品: 葡萄糖、尿素、酵母膏、过氧化氢、丙三醇、葱酮、氯化钾、氢氧化钠。所有药品均购自上海麦克林生化科技有限公司。

1.1.2 菌株

菌株为经过活化后的酿酒酵母菌菌种(以下简称“酵母菌”), 由上海保藏生物技术中心提供, 编号为 SHBCC D21001。

1.1.3 酵母菌培养基

每升高纯水中添加 20.0 g 葡萄糖、0.2 g 尿素、0.4 g 酵母膏, 将 pH 调至 4.5, 121 °C 下灭菌 20 min。

1.1.4 剩余污泥与引种污泥

剩余污泥取自大连市夏家河污泥处理厂, 物料通过 20 目筛网去除杂质, 放入冰箱 4 °C 冷藏保存。引种污泥取自大连市夏家河污泥处理厂厌氧消化罐, 使用 20 目筛网进行筛分。本实验采用全引种污泥(200 mL)启动方案。

1.2 实验与方法

1.2.1 酵母菌培养

将灭菌后的液体培养基自然冷却, 在超净台中按照一定比例加入活化的酵母菌种, 保持培养基中水与酵母菌液的体积比不变。最后, 将培养基放入摇床(上海智城 ZWY-2102C), 30 °C 下以 1.5 r/s 的转速进行培养^[23]。

1.2.2 菌液添加量的探究

以剩余污泥为底物, 在 30 °C 下预处理 12 h, 选择 5%、10%、15%(即 50、100、150 mL/L)酵母菌接种比。最后通过丙三醇的产量确定最佳发酵菌液添加量。

1.2.3 碱预处理的最佳时间

以剩余污泥为底物, 在 pH 为 10 的条件下预处理 12 h, 通过溶解性糖的含量确定最佳碱预处理时间。

1.2.4 半连续流厌氧消化实验

实验使用 250 mL 蓝盖瓶, 瓶口采用双通出口, 一出口接气袋, 另一出口为取样口, 取样口导管延伸到液面以下, 用于每天进出物料。实验以全引种污泥启动(200 mL), 采用半连续式进料。将反应器置于 37 °C 恒温房中进行厌氧消化实验。实验共分为 2 个周期, 每个周期 20 d, 每天进料 10 mL。

1.3 分析方法

1.3.1 丙三醇浓度的测定

利用酶促反应测定丙三醇的含量,该方法具有高灵敏度和特异性。丙三醇被丙三醇激酶(GK)催化生成丙三醇-1-磷酸(G-1-P)。G-1-P被丙三醇磷酸氧化酶(GPO)氧化生成过氧化氢(H_2O_2), H_2O_2 与4-氨基安替吡啉等反应生成红色醌类化合物,其在510 nm处有特征吸收峰,通过检测510 nm处吸光值即可得出丙三醇含量^[24]。

1.3.2 溶解性糖的测定

采用蒽酮比色法测定溶解性糖的含量。在酸性条件下蒽酮与溶解性糖发生反应,生成蓝绿色化合物,通过分光光度计测量溶液的吸光度,从而定量分析样品中的溶解性糖含量^[25]。

1.3.3 半连续流厌氧消化实验

实验中水质和污泥的常规分析指标、方法及仪器见表1。

表1 常规分析指标、方法及仪器

Table 1 Conventional analysis indicators, methods, and instruments

分析指标	分析方法	仪器(型号)
TS	105 ℃烘干重量法	鼓风干燥箱(DHC-9145A)
VS	600 ℃灼烧减量法	马弗炉(DCG-9050B型)
COD	哈希法	COD快速消解仪(DR/890)
pH	pH计测定法	实验室pH计(ST3100)
VFAS	气相色谱法	气相色谱仪(Clarus600氢火焰检测器)
气体组分	气相色谱法	气相色谱仪(GC-8A/热导检测器)

1.3.4 电子转移效率分析

采用电化学工作站(振华,CHI1030C)循环伏安法对污泥ETC进行评价^[26]。以玻璃碳(GC)、Pt片和Ag/AgCl分别作为工作电极、对电极和参比电极。以浓度为0.1 mol/L的氯化钾溶液作为电解质。记录不同扫描速率(10、20、50、100、140、180、200 mV/s)下的循环伏安(CV)曲线,并使用软件进行分析^[27]。对CV曲线的扫描速率进行线性拟合后,根据Randles-Ševčík方程计算污泥的ETC。Randles-Ševčík方程是一种用于描述电化学系统中可逆电极反应的经典方程。

1.3.5 微生物群落分析

采用16S rRNA对污泥进行微生物高通量测序^[28]。首先使用E.Z.N.A.土壤DNA试剂盒从污泥样品中提取微生物的DNA。提取出的DNA使

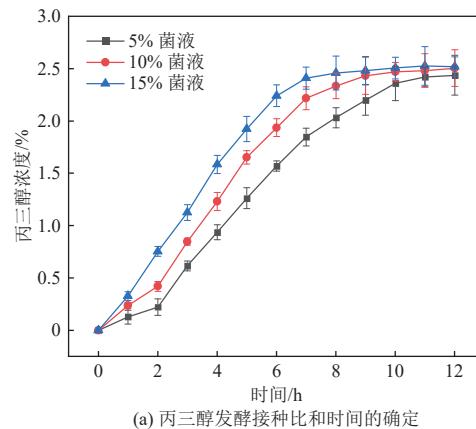
用NanoDrop 2000 UV-vis分光光度计进行浓度和纯度的测定。使用琼脂糖凝胶电泳进一步确认提取的DNA是否完整。使用Illumina MiSeq平台进行配对端测序(2×300)。通过特定的分析软件将测得的序列聚类到不同的操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTUs)中,这些OTUs代表具有相似序列的微生物群体。细菌16S rRNA基因V3~V4区域引物为341F。古菌16S rRNA基因V3~V4区域巢式PCR第一轮引物为340F。第二轮引物为349F。接着,使用BLASTN工具将序列与Silva数据库(版本SSU123)进行比对,该数据库专门用于微生物16S rRNA基因的分类,从而确定污泥中微生物的分类和丰度。

2 结果与讨论

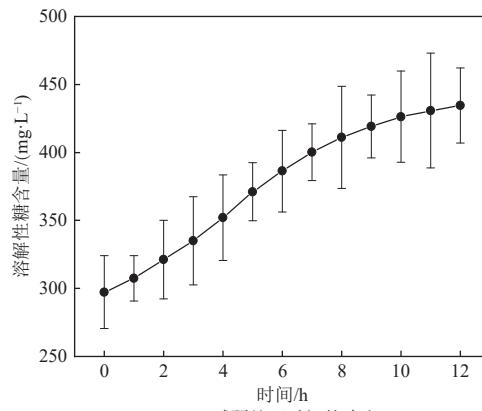
2.1 预处理实验条件的确定

2.1.1 酵母菌接种比和丙三醇发酵时间

由图1(a)可知,酵母菌菌液添加量为5%、10%、15%的实验组在反应12 h时,丙三醇浓度均达到最大值,分别为2.43%、2.50%、2.52%,浓度



(a) 丙三醇发酵接种比和时间的确定



(b) 碱预处理时间的确定

图1 丙三醇发酵和碱预处理最佳条件的探究
Fig. 1 Exploration of the optimal conditions for glycerol fermentation and alkali pretreatment

相近。各组丙三醇浓度达到 2.43% 所用的时间不同, 分别为 12、9、8 h, 在实际应用中应尽量降低成本, 提高丙三醇含量。综合考虑, 确定酵母菌添加量 10%, 预处理时间 9 h 为酵母菌丙三醇发酵实验条件。

2.1.2 碱预处理时间

由图 1(b)可知, 在 12 h 实验结束时溶解性糖含量达到最大值 434.55 mg/L, 反应时间为 10 h 的

溶解性糖提升量(94%)首次超过 12 h 总提升量的 90%, 故选择碱预处理时间为 10 h。

2.2 碱预处理联合酵母发酵产丙三醇强化剩余污泥产甲烷

2.2.1 厌氧消化实验的参数

表 2 是各组物料的初始数据, 图 2 是各组物料的初始 VFAs 和 VFAs 含量变化。

表 2 物料的初始指标

Table 2 Initial indicators of materials

组别	pH	COD/(mg·L ⁻¹)	TS/%	VS/%
对照组	6.58 ± 0.10	93 368 ± 1 027	8.36 ± 0.16	5.75 ± 0.08
酵母发酵组	6.51 ± 0.10	85 096 ± 1 021	7.63 ± 0.11	5.28 ± 0.10
碱预处理联合酵母发酵组	6.55 ± 0.10	80 784 ± 969	7.27 ± 0.10	4.78 ± 0.07

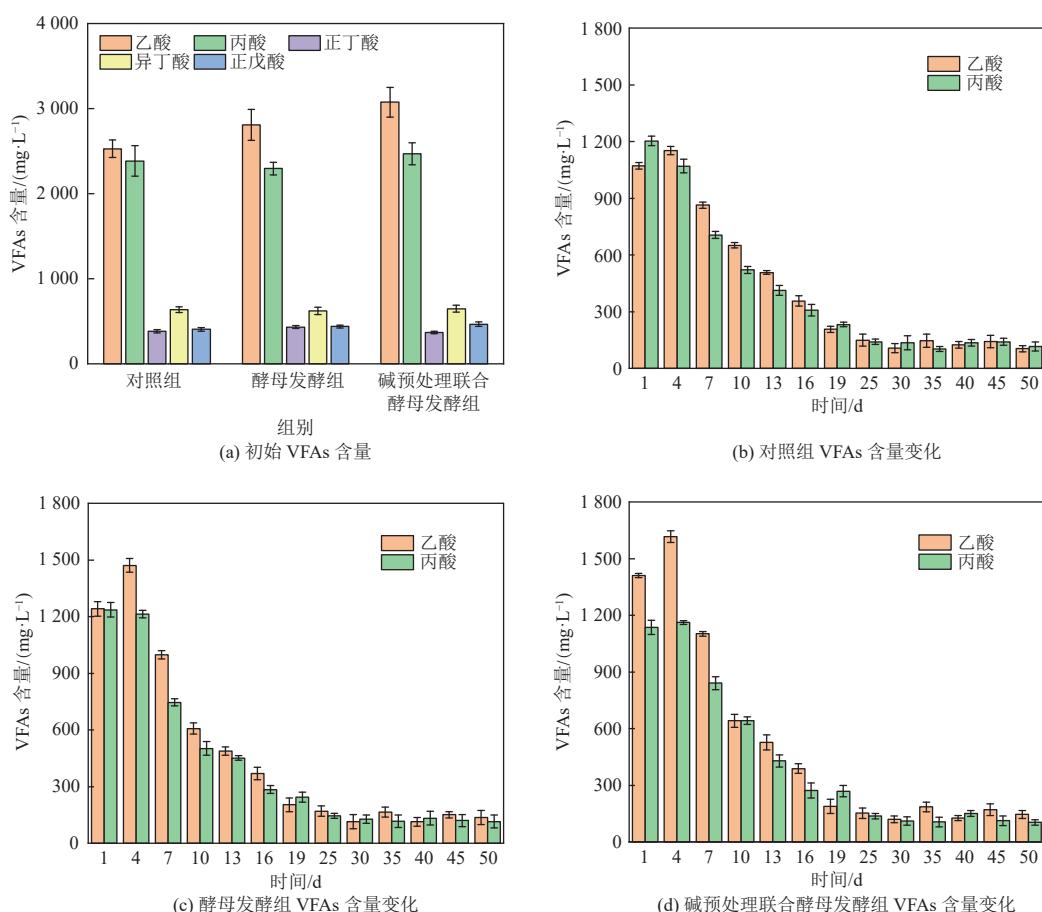


图 2 初始 VFAs 和 VFAs 含量的变化

Fig. 2 Changes in initial VFA and VFAs content

2.2.2 对剩余污泥厌氧消化的影响

产甲烷速率是评价实际应用中厌氧消化性能的重要指标之一。由图 3 可知, 在启动阶段各实验组产甲烷速率均逐渐升高, 稳定后各组之间差

距逐渐拉大, 酵母发酵组的产甲烷速率相比于对照组提高了 11.8%, 碱预处理联合酵母发酵组的提升量更高(15.4%)。图 4 描述了各实验组的 VS 去除率以及有机质转化为甲烷的效率。由图 4(a)

可知,各实验组的VS去除效率几乎相同(约45%),剩余的VS很可能无法生物降解,因为所有实验组反应器中VFAs的积累仅为100~200 mg/L(图2)。上述结果表明,实验组产甲烷速率的提高并不是因为去除了更多的VS,而是因为生物可降解有机物更有效地转化为甲烷。由图4(b)可知,对照组、酵母发酵组和碱预处理联合酵母发酵组的有机质转化效率分别是348.27、368.44、380.64 mL/g VS。相比于对照组,酵母发酵组的有机质转化效率提高了5.8%,碱预处理联合酵母发酵组的有机质转化效率的提升量更高,为9.3%。这说明在剩余污泥厌氧消化中通过碱预处理联合酵母发酵产丙三醇预处理可以提高可生物降解有机质转化为甲烷的效率。

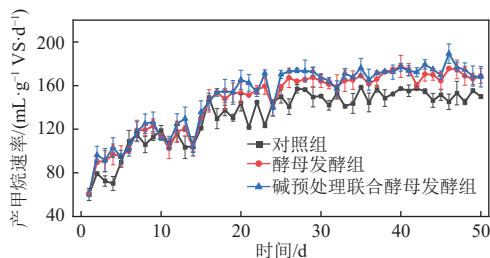


图3 产甲烷速率

Fig. 3 Methane production rates

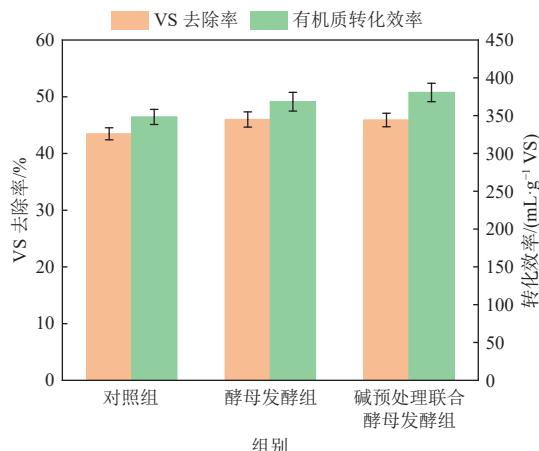


图4 VS去除率和有机质转化效率

Fig. 4 VS removal rate and organic matter conversion efficiency

2.2.3 对剩余污泥电子转移效率的影响

与对照组相比,酵母发酵组和碱预处理联合酵母发酵组的产甲烷速率均有所提高,可能是预发酵产出的丙三醇提高了厌氧消化体系中的电子传递效率。碱预处理联合酵母发酵组更高的产甲烷速率可能是因为相比于丙三醇发酵,碱预处理

增加了可生物降解有机物的量,发酵后丙三醇的产量更高,更好地促进了电子传递。为了证明该结论,本研究使用CV测试研究了污泥的电子传递效率(图5)。

已有研究^[29]表明,可通过CV测试中的伏安响应评估污泥的电容,先进行不同扫描速率的CV实验(图5(a)~(c)),根据Randles-Ševčík方程确定污泥的ETC。观察到峰值电流值与扫描速率的平方根呈良好的线性关系($R^2>0.98$)(图5(d))。由图5(e)可知,充电时酵母发酵组的ETC(1.79×10^{-8} mol·cm⁻²·s^{-1/2})高于对照组(1.61×10^{-8} mol·cm⁻²·s^{-1/2})11.1%,碱预处理联合酵母发酵组的ETC(1.89×10^{-8} mol·cm⁻²·s^{-1/2})高于对照组17.3%。放电时酵母发酵组(1.86×10^{-8} mol·cm⁻²·s^{-1/2})相比于对照组(1.67×10^{-8} mol·cm⁻²·s^{-1/2})提高了11.1%,碱预处理联合酵母发酵组(1.95×10^{-8} mol·cm⁻²·s^{-1/2})的提升量更高(16.8%)。这些结果表明,丙三醇可以促进剩余污泥群落中的电子转移,丙三醇含量越高,促进效果越好。该结果与已有研究相吻合^[12],丙三醇可以加快厌氧消化系统中DIET路径的建立,提高微生物间的电子转移效率。

2.2.4 微生物群落分析

污泥中的微生物群落组成如图6所示。古菌中的优势种是*Methanotherix soehngenii* GP6,其在酵母发酵组(69.27%)的含量明显高于对照组(66.96%),在碱预处理联合酵母发酵组(71.44%)的含量更高。*Methanotherix soehngenii* GP6属于甲烷丝菌,是专性乙酸营养型产甲烷古菌,ZHOU等^[30]研究发现甲烷丝菌可通过DIET吸收来源于细菌的胞外电子,将CO₂还原为甲烷。具有导电性能的产甲烷螺旋菌*Methanospirillum hungatei* JF-1在酵母发酵组(15.70%)和碱预处理联合酵母发酵组(15.14%)的含量也高于对照组(14.78%)。这意味着它可能在某些情况下通过导电蛋白丝或其他导电性结构来促进电子交换。该现象与地杆菌属铁还原菌的电子转移机制有一定相似性,尤其是在通过e-pili进行的DIET过程。e-pili对DIET的重要性已在2种地杆菌(*Geobacter*)的共培养中得到证实^[31]。微生物群落分析还发现利用甲酸或H₂/CO₂的甲烷菌种*Methanobrevibacter smithii*在酵母发酵组(4.91%)和碱预处理联合酵母发酵组(4.98%)的含量相近,但均低于对照组(5.93%)。细菌中的优势种是瘤胃球菌科的*Fastidiosipila sanguinis*,其在酵母发酵组(33.08%)

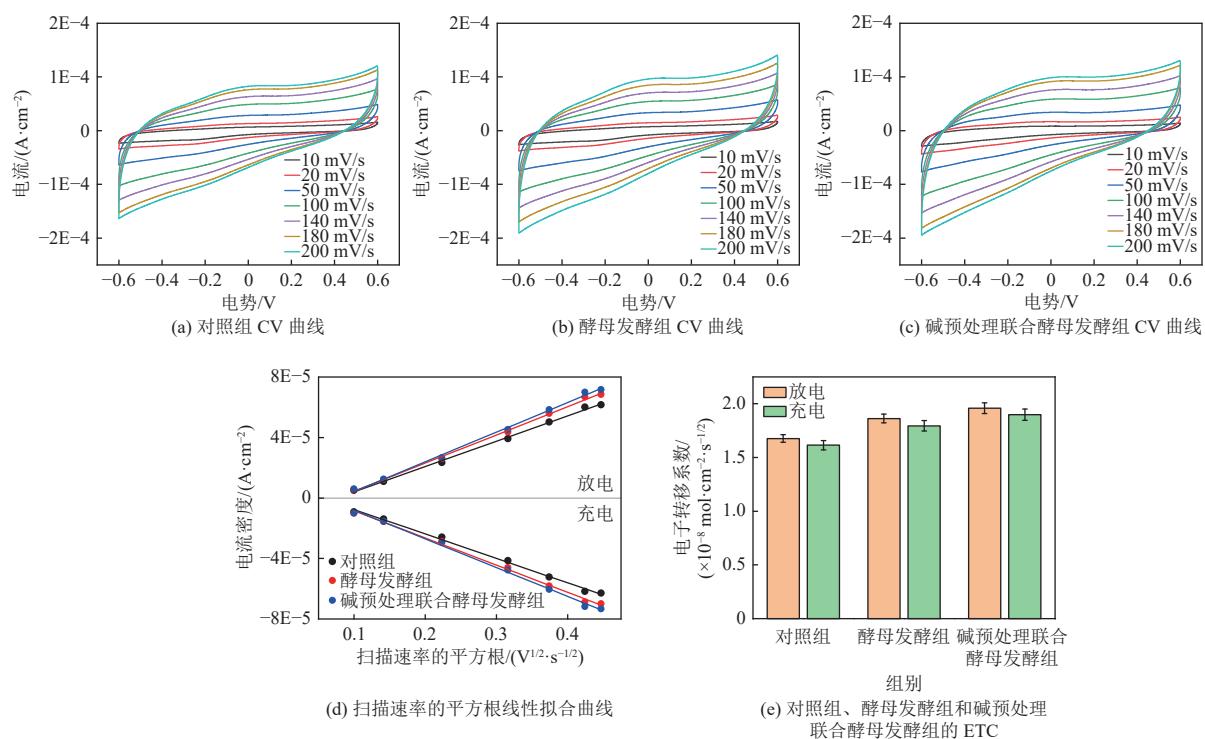


图 5 各实验组的 ETCs

Fig. 5 ETCs of each experimental group

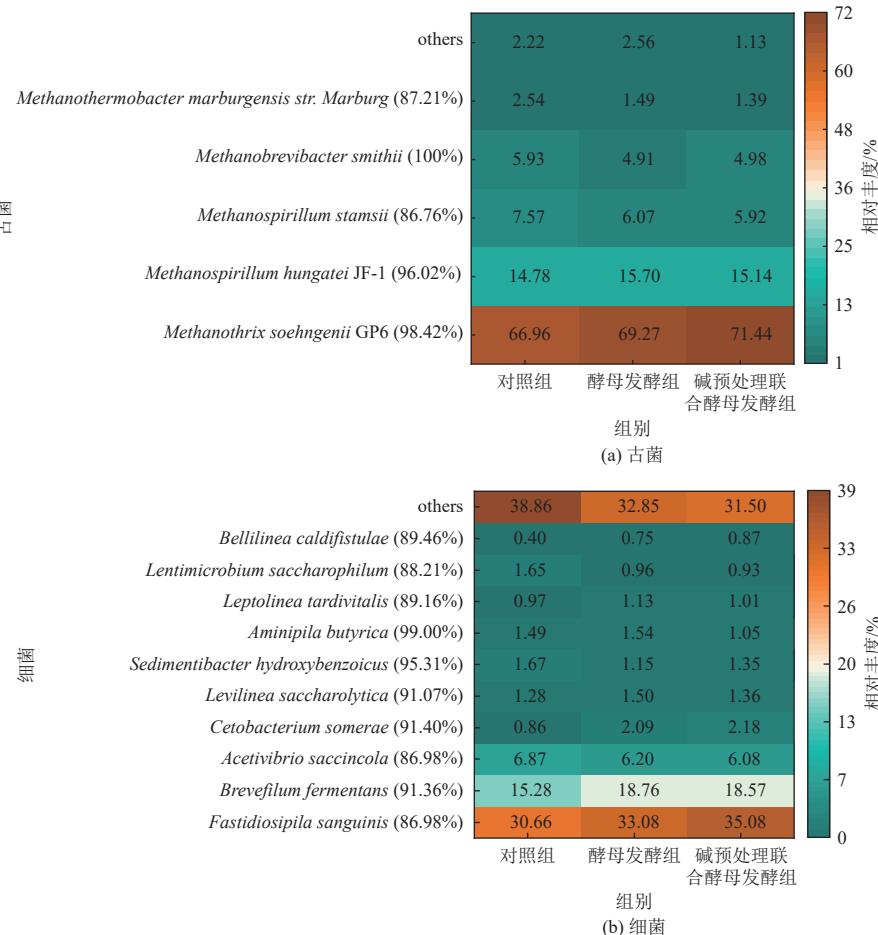


图 6 微生物群落分析

Fig. 6 Microbial community analysis

的含量明显高于对照组(30.66%),在碱预处理联合酵母发酵组(35.08%)的含量更高。瘤胃球菌科的部分属能将细胞外电子转移到 Fe(Ⅲ)^[32],它的 Fe(Ⅲ)还原活性和可能的电子转移能力有利于其他微生物(如产甲烷菌)通过 DIET 进行电子交换。同时酵母发酵组和碱预处理联合酵母发酵组相比于对照组富集了更多能够发酵有机物质并产生短链脂肪酸等发酵产物的 *Brevefilum fermentans* 和能够利用氨基酸并产生乙酸的 *Cetobacterium somerae*。上述结果表明碱预处理联合酵母发酵产丙三醇处理剩余污泥可以改善体系群落组成促进 DIET。

3 结 论

为了探究碱预处理联合酵母发酵产丙三醇对厌氧消化体系的影响,本实验设计了以剩余污泥为底物的厌氧消化实验。通过比较不同酵母菌添加量和发酵时间对丙三醇浓度的影响,确定了最佳预发酵条件为酵母菌接种比 10%,发酵时间 9 h。通过测定溶解性糖含量,确定了碱预处理的最佳时间为 10 h。实验结果表明,与对照组相比,酵母发酵组的产甲烷速率提高了 11.8%,碱预处理联合酵母发酵组提高了 15.4%。其主要原因是发酵产生的丙三醇在剩余污泥厌氧消化体系中能更好地刺激 DIET,提高电子转移效率和可生物降解有机物转化为甲烷的效率。

参考文献 (References) :

- [1] ZHANG Qionghua, YANG Wenn, NGO H H, et al. Current status of urban wastewater treatment plants in China[J]. *Environment International*, 2016, 92: 11–22.
- [2] CHEN H, YAN S H, YE Z L, et al. Utilization of urban sewage sludge: Chinese perspectives[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2012, 19(5): 1454–1463.
- [3] ZANG Ying, YANG Yuan, HU Yisong, et al. Zero-valent iron enhanced anaerobic digestion of pre-concentrated domestic wastewater for bioenergy recovery: Characteristics and mechanisms[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 310: 123441.
- [4] LI Yang, LIU Meishan, CHE Xinrong, et al. Biochar stimulates growth of novel species capable of direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion via ethanol-type fermentation[J]. *Environmental Research*, 2020, 189: 109983.
- [5] KUMAR V, KIEFT B, DEVI P, et al. Two-step activated carbon cloth enhances microbial interactions and methane production during anaerobic digestion of municipal sludge[J]. *Renewable Energy*, 2022, 196: 366–374.
- [6] DEMIREL B, SCHERER P. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: A review[J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2008, 7(2): 173–190.
- [7] IM S, YUN Y M, SONG Y C, et al. Enhanced anaerobic digestion of glycerol by promoting DIET reaction[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2019, 142: 18–26.
- [8] MATA ALVAREZ J, MACÉ S, LLABRÉS P. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives[J]. *Bioresource Technology*, 2000, 74(1): 3–16.
- [9] SUMMERS Z M, FOGARTY H E, LEANG C, et al. Direct exchange of electrons within aggregates of an evolved syntrophic coculture of anaerobic bacteria[J]. *Science*, 2010, 330(6009): 1413–1415.
- [10] KUTLAR F E, TUNCA B, YILMAZEL Y D. Carbon-based conductive materials enhance biomethane recovery from organic wastes: A review of the impacts on anaerobic treatment[J]. *Chemosphere*, 2022, 290: 133247.
- [11] ZHAO Zhiqiang, ZHANG Yaobin, YU Qilin, et al. Communities stimulated with ethanol to perform direct interspecies electron transfer for syntrophic metabolism of propionate and butyrate[J]. *Water Research*, 2016, 102: 475–484.
- [12] LI Yuan, LIANG Lianfu, SUN Cheng, et al. Glycol/glycerol-fed electrically conductive aggregates suggest a mechanism of stimulating direct interspecies electron transfer in methanogenic digesters[J]. *Water Research*, 2022, 217: 118448.
- [13] ELLACURIAGA M, CASCALLANA J G, GONZÁLEZ R, et al. High-solid anaerobic digestion: Reviewing strategies for increasing reactor performance[J]. *Environments*, 2021, 8(8): 80.
- [14] FENG Likui, HE Shufei, GAO Zhelu, et al. Mechanisms, performance, and the impact on microbial structure of direct interspecies electron transfer for enhancing anaerobic digestion—A review[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 862: 160813.
- [15] WANG Zhenru, LI Yuan, AO Zhipeng, et al. Boosting conversion of waste activated sludge to methane during anaerobic digestion via facilitating direct interspecies electron transfer with glycerol[J]. *Renewable Energy*, 2024, 233: 121176.
- [16] MITRAKA G C, KONTOGIANNOPoulos K N, BATSIOLA M, et al. A comprehensive review on pretreatment methods for enhanced biogas production from sewage sludge[J]. *Energies*, 2022, 15(18): 6536.
- [17] CHIANG L C, CHANG J E, CHUNG C T. Electrochemical oxidation combined with physical-chemical pretreatment

- processes for the treatment of refractory landfill leachate[J]. *Environmental Engineering Science*, 2001, 18(6): 369–379.
- [18] KHANH NGUYEN V, KUMAR CHAUDHARY D, HARI DAHAL R, et al. Review on pretreatment techniques to improve anaerobic digestion of sewage sludge[J]. *Fuel*, 2021, 285: 119105.
- [19] CHEN Jian, SUN Yihu, CHEN Hongbo. Enhancing methane production in anaerobic digestion of waste activated sludge by combined thermal hydrolysis and photocatalysis pretreatment[J]. *Bioresource Technology*, 2024, 411: 131353.
- [20] ZHANG Yu, HU Shushan, LI Jinze, et al. Sodium disilicate pretreatment enhancing methane production from anaerobic digestion of waste activated sludge[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024, 497: 154354.
- [21] PICHLER M, COSKUN Ö K, ORTEGA ARBULÚ A S, et al. A 16S rRNA gene sequencing and analysis protocol for the Illumina MiSeq platform[J]. *MicrobiologyOpen*, 2018, 7(6): e00611.
- [22] ZHAO Feng, SLADE R C T, VARCOE J R. ChemInform abstract: Techniques for the study and development of microbial fuel cells: An electrochemical perspective[J]. *ChemInform*, 2009, 40(45): 1923–1939.
- [23] ZHANG Dong, CHEN Yingguang, ZHAO Yuxiao, et al. New sludge pretreatment method to improve methane production in waste activated sludge digestion[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(12): 4802–4808.
- [24] KOECK D E, MECHELKE M, ZVERLOV V V, et al. *Herbivorax saccincola* gen. nov., sp. nov., a cellulolytic, anaerobic, thermophilic bacterium isolated via *in sacco* enrichments from a lab-scale biogas reactor[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016, 66(11): 4458–4463.
- [25] BOTHA F C, BLACK K G. Sucrose phosphate synthase and sucrose synthase activity during maturation of internodal tissue in sugarcane[J]. *Functional Plant Biology*, 2000, 27(1): 81.
- [26] ZHAO Feng, SLADE R C T, VARCOE J R. Techniques for the study and development of microbial fuel cells: An electrochemical perspective[J]. *Chemical Society Reviews*, 2009, 38(7): 1926–1939.
- [27] CADENA A, TEXIER A C, GONZÁLEZ I, et al. Qualitative and quantitative determination of a humic model compound in microbial cultures by cyclic voltammetry[J]. *Environmental Technology*, 2007, 28(9): 1035–1044.
- [28] DE MUINCK E J, TROSVIK P, GILFILLAN G D, et al. A novel ultra high-throughput 16S rRNA gene amplicon sequencing library preparation method for the Illumina HiSeq platform[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 68.
- [29] ABBASIAN HAMEDANI E, ABASALT A, TALEBI S. Application of microbial fuel cells in wastewater treatment and green energy production: A comprehensive review of technology fundamentals and challenges[J]. *Fuel*, 2024, 370: 131855.
- [30] ZHOU Jinjie, SMITH J A, LI Meng, et al. Methane production by *Methanothrix thermoacetophila* via direct interspecies electron transfer with *Geobacter metallireducens* [J]. *mBio*, 2023, 14(4): e0036023.
- [31] UEKI T, NEVIN K P, ROTARU A E, et al. *Geobacter* strains expressing poorly conductive pili reveal constraints on direct interspecies electron transfer mechanisms[J]. *mBio*, 2018, 9(4): e01273–18.
- [32] SHEN Liang, ZHAO Qingchuan, WU Xuee, et al. Interspecies electron transfer in syntrophic methanogenic consortia: From cultures to bioreactors[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2016, 54: 1358–1367.