

高温强化牛粪高浓度厌氧发酵 协同抗生素抗性基因削减

刁彦花¹, 王馨芝¹, 李旭¹, 魏帅强^{1,2}, 孙立博^{1,2}, 吕亚天^{1,3}, 程辉彩^{1*}

(1. 河北省科学院生物研究所, 河北 石家庄 050081; 2. 河北工程大学 园林与生态工程学院, 河北 邯郸 056038; 3. 河北地质大学 水资源与环境学院, 河北 石家庄 050031)

摘要: 为提高畜禽粪便厌氧发酵(anaerobic digestion, AD)效率并促进其在高有机负荷条件下稳定运行,探究厌氧发酵过程中抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)的消长机制。通过序批式试验研究了中温 35℃ 和高温 55℃ 对牛粪高浓度(12% TS)厌氧发酵产气性能、功能微生物群落及 ARGs 消长的影响,挖掘不同因子与 ARGs 的相互关系;实验证明:牛粪高固浓度发酵系统在高温 55℃ 条件下具有更好的产气性能,甲烷产量提高 17.27%。中温发酵过程 VFAs 的组分主要为乙酸和丙酸,二者约占 VFAs 的 55.58%,其中丙酸积累量高,转化慢,系统出现短暂酸化状态。而高温发酵体系的稳定性及抗酸能力更强,高温改变了发酵过程中的优势细菌属,增加了 *Acetivibrio*、*Petrimonas*、*Methanothermobacter* 等微生物的丰度从而增加产气量,维持了产酸菌和产甲烷菌的动态平衡。相比中温(35℃),高温(55℃)发酵更能促进 ARGs(尤其是 *aph(6)-Id*、*aph(3'')-Ib* 和 *sul1*)相对丰度的削减。提高温度可显著提高厌氧发酵体系的产气性能,增加稳定性;微生物群落变化是 ARGs 消长的主要驱动因子。该研究结果可为畜禽养殖粪污厌氧发酵的工艺优化提供参考。

关键词: 高温; 牛粪; 高浓度厌氧消化; 微生物群落; 抗性基因

中图分类号: S216.4; X713 文献标志码: A 文章编号: 1000-1166(2024)03-0022-07

DOI: 10.20022/j.cnki.1000-1166.2024030022

High-temperature Intensified High-concentration Anaerobic Fermentation of Cow Manure Synergizes with the Reduction of Antibiotic Resistance Genes / XI Yanhua¹, WANG Xinzh¹, LI Xu¹, WEI Shuaiqiang^{1,2}, SUN Libo^{1,2}, LV Yatian^{1,3}, CHENG Huicai^{1*} / (1. Biology Institute, Hebei Academy of Sciences, Shijiazhuang 050081, China; 2. College of Landscape and Ecology, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China; 3. School of Water Resources and Environment, Hebei GEO University, Shijiazhuang 050031, China)

Abstract: In order to improve the efficiency of anaerobic digestion (AD) of livestock and poultry manure and promote its stable operation under high organic load conditions, the growth and decline mechanism of antibiotic resistance genes (ARGs) during the anaerobic fermentation process was explored through sequencing. A batch experiment was carried out to study the effects of the gas production performance, functional microbial communities and ARGs of high-concentration anaerobic fermentation of cow manure (12% TS) at two process temperatures of medium temperature 35℃ and high temperature 55℃, and explore the relationship between different factors and ARGs. The cow dung high solid concentration fermentation system has better gas production performance at high temperature of 55℃, and the methane production increases by 17.27%. The main components of VFAs during medium-temperature fermentation are acetic acid and propionic acid, which account for approximately 55.58% of VFAs. Among them, the accumulation of propionic acid is high, the conversion is slow, and the system is temporarily acidified. The high-temperature fermentation system has stronger stability and acid resistance. High temperature changes the dominant bacterial genera during the fermentation process, increases the abundance of *Acetivibrio*, *Petrimonas*, *Methanothermobacter* and other microorganisms, thereby increasing gas production and maintaining the dynamic balance of acidogenic bacteria and methanogenic bacteria. Compared with medium temperature (35℃), high temperature (55℃) fermentation can promote the reduction of the relative abundance of ARGs (especially *aph(6)-Id*, *aph(3'')-Ib* and *sul1*); Increasing the temperature can significantly improve the gas production performance of

收稿日期: 2023-12-05 修回日期: 2024-01-15

项目来源: 河北省科学院重点研发项目(22302; 23302; 24302)

作者简介: 刁彦花(1986-),女,汉族,河北平山人,硕士,主要研究方向为固体废弃物的资源化利用。

通信作者: 程辉彩(1974-),男,汉族,河北栾城人,研究员,主要从事固体有机废弃物的资源化利用等工作。

the anaerobic fermentation system and increase stability; Changes in the microbial community are the main driving factors for the growth and decline of ARGs. The research results can provide reference for process optimization of anaerobic fermentation of livestock and poultry breeding manure.

Key words: high temperature; cow manure; anaerobic digestion systems with high substrate concentrations; anaerobic microflora; antibiotic resistance genes

厌氧发酵(anaerobic digestion, AD)是畜禽粪便实现资源化和污染物减量化的有效手段^[1],且对原料中抗生素抗性基因(antibiotic resistance genes, ARGs)具有一定的去除效果^[2]。为保证沼气发酵系统的稳定,大多数沼气工程多采用低负荷条件运行,造成反应器体积资源的浪费、工程整体经济性较差^[3]。但高负荷运行的厌氧消化系统具有高粘度的特点,影响物质和能量的传递效率,造成水解酸化与产甲烷两个过程不能较好地匹配并最终导致厌氧系统失稳^[4]。国内外学者主要通过添加外源促进剂、加强搅拌等措施来提高高浓度厌氧发酵效率^[5-6]。温度是影响厌氧发酵性能的最重要影响因素之一,与物料水解效率、微生物种群、酸抑制、沼气产量和质量关系密切,也会间接影响 ARGs 的多样性及丰度变化^[7-8]。Cazaudehore G^[9]等研究结果表明以生物可降解塑料为原料的高温(58℃)厌氧发酵降解效果显著高于中温(38℃),两个不同工艺反应器中微生物种群存在显著差异。Beneragama^[10]等认为55℃高温厌氧发酵比中温37℃能更有效地消除体系内的 ARGs;然而,并非所有厌氧发酵体系

对 ARGs 丰度均有效,甚至高温发酵对某些 ARGs 的削减效果也无法达到预期^[11-12],当前研究对于 ARGs 在厌氧消化体系内的消长规律并无一致结论。

因此,为了提高畜禽粪便等废弃物厌氧发酵效率,并使其能在高有机负荷条件下稳定运行,同时更加全面了解不同厌氧发酵体系内所特有的 ARGs 消长机制。本研究以牛粪为原料(含固率12%)进行了中温(35℃)和高温(55℃)厌氧发酵试验,探讨不同发酵温度对体系 pH 值、挥发性脂肪酸和产气量的影响,分析发酵液中功能微生物群落、抗生素抗性基因的响应特征,以期为厌氧发酵工艺优化提供数据支撑,并为畜禽养殖粪污的资源化处理与利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 发酵原料与接种物

新鲜牛粪取自当地奶牛养殖场,去除石块等杂质后-18℃冷冻保存;接种物为当地污水处理厂污泥,取回后加入5 gVS·L⁻¹的牛粪驯化30 d直至不产气。发酵原料及接种物的基本性质具体见表1。

表1 物料基本理化性质

项 目	TS/%	VS/%	pH 值	C/%	N/%	S/%	H/%
牛 粪	20.13	16.43	7.42	40.80	1.74	0.35	5.73
接种物	1.54	0.93	7.56	20.37	3.52	0.17	0.13

1.2 实验设计与运行

采用序批式实验(见表2),分别设置中温35℃±1℃、高温55℃±1℃2个发酵工艺体系,牛粪

TS浓度为12% 种子液添加量30%。发酵装置为总体积6 L的连续搅拌反应器(CSTR),有效体积5 L,搅拌转速80 rpm,反应器外部设有水浴锅循环加热装置。

表2 试验设计

分 组	发酵温度	牛粪 TS	实际添加量(5 L 计)		
	℃	%	牛粪/g	种子液/mL	水/mL
中温组	35	12	2980	1500	520
高温组	55	12	2980	1500	520

1.3 样品采集

每天监测发酵罐内产气规律并测定产气体积和气体成分。定期取样测定发酵液的挥发性脂肪酸

(VFA)、pH 值、碱度、氨氮等理化指标;分别取不同处理初始样品及发酵产物测定微生物多样性、抗生素抗性基因相对丰度。

1.4 指标测定方法

1) pH 值: 电极法 pH 计(奥豪斯 ST3100); 2) 沼气产量: 湿式气体流量计; 3) 甲烷含量: Biogas 5000 沼气分析仪; 4) TS 和 VS: 烘箱-马弗炉称重法测定; 5) TVFA: Nordmann 联合滴定法; 6) SCOD: 比色法, 执行 HJ/T399-2007 标准; 7) VFAs: 配备有火焰离子化检测器(Flame ionization detector, FID) 的气相色谱仪(7890A 气相色谱仪; 安捷伦, 美国) 测定; 8) 宏基因组学分析: 将收集到的样品送至微科盟公司进行宏基因组测序, 并对所产生的数据进行整理分析; 9) 抗生素抗性基因注释: 从去除宿主基因的 clean reads 出发, 使用 FMAP 软件将各个样本的质控以及去除宿主基因的 reads 与抗生素抗性基因数据库 CARD 进行比对注释, 可以获得抗性基因丰度分布情况。

2 结果与讨论

2.1 提高发酵温度对牛粪高浓度厌氧发酵产气性能的影响

不同温度对牛粪高负荷厌氧发酵产气量、甲烷含量及原料利用率的影响如图 1~图 4 所示。根据累积产气量曲线趋于平行, 以及后期日产气量显著下降趋于一致作为发酵结束标准, 中温 35 °C 和高温 55 °C 反应体系分别在第 40 天和第 30 天结束发酵, 说明提高温度可加快厌氧消化反应进程, 缩短发酵时间。发酵完成时高温组总产气量达 111.92 L, 比中温发酵组的 95.44 L 提高了 17.27%。从日产气量变化来看, 反应器启动阶段 2 个反应体系前 4 d 均出现第 1 个产气高峰, 此时为厌氧消化有机质初级水解阶段, 所产气体中中温组和高温组甲烷含量分别为 18.72% 和 23.67%, CH_4/CO_2 分别为 0.44 和 0.46, 此时主要为水解阶段, 产生的 CO_2 量相对较高, 同时由于反应器顶空其余气体(如空气)的存在, 也是导致 CH_4 含量相对较低的原因之一。随着试验的进行, 高温发酵组产气量在短暂回落后迅速增加, 且在第 9 天出现第 2 个真正的产气高峰, 此时日产气量达 $11 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$, 甲烷含量 60.1%; 在第 16 天出现最后 1 个产气小高峰, 此时累积产气量已达到总产气量的 76.50%, 发酵第 21 天累积产气量超过总产气量的 90%, 随后产气速度变慢直至厌氧消化结束。中温产气组在第 1 个产气高峰后的第 4~9 天内日产气量几乎降为零, 经测定是因为反应器内有机酸浓度偏高且累积了较多难以被厌氧降解的丙酸, 系统内的微生物开始受到抑制作用, 此时系统进

入轻度失稳状态。宫亚斌^[13]等研究证明碱度的缓冲作用可有效防止厌氧反应器的过酸化现象, 故本试验中以质量比 1% 添加氧化钙(每 3 d 添加 1 次), 共计添加 2 次, 以此来缓解中温组出现的酸抑制现象。解决酸抑制问题后, 中温组开始正常产气, 随后分别在第 17 天和第 28 天出现第 2、3 个产气高峰期, 并于发酵第 30 天累积产气量超过总产气量的 90%。整个发酵过程中, 中温和高温两个体系的甲烷含量均超过 60%, 55 °C 高温组在厌氧发酵第 8 天甲烷含量达最大 62.18%, CH_4/CO_2 为 1.71。而 35 °C 中温组在厌氧发酵第 17 天甲烷含量才达最大 65.20%, 此时 CH_4/CO_2 为 1.96; 发酵结束时高温组发酵原料的 TS 去除率为 34.21%, VS 去除率为 42.45%, 分别比中温组提高了 14.38% 和 17.13%。

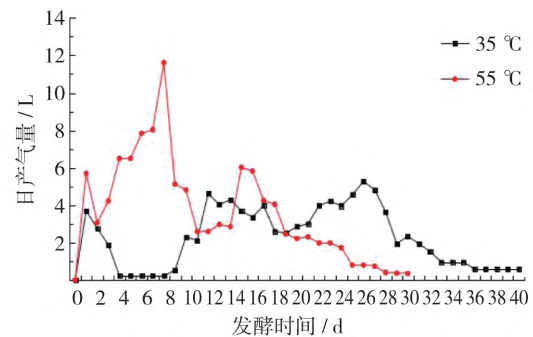


图1 不同温度对牛粪高负荷厌氧发酵日产气量的影响

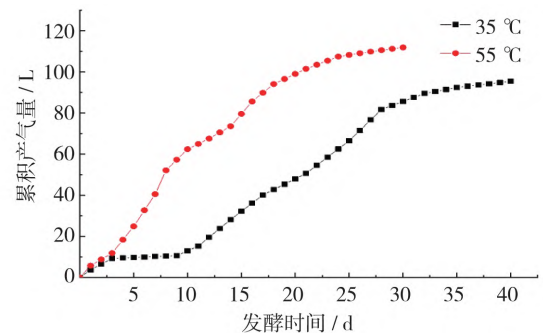


图2 不同温度对牛粪高负荷厌氧发酵累积产气量的影响

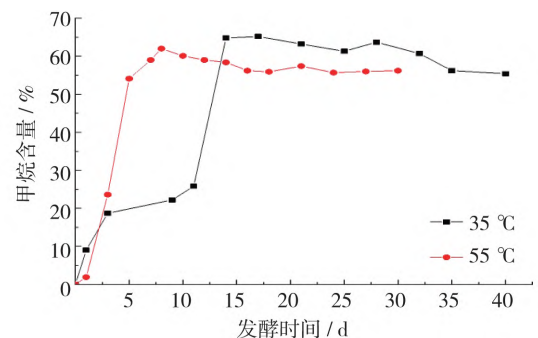
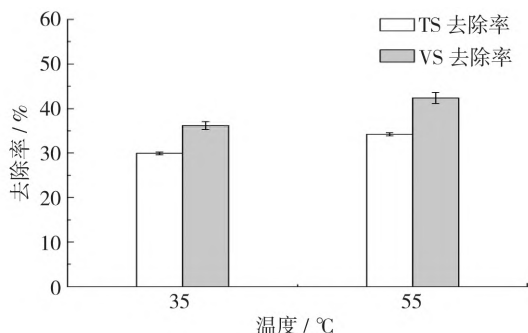


图3 不同温度对牛粪高负荷厌氧发酵甲烷含量的影响



4 不同温度对牛粪高负荷厌氧发酵 TS、VS 去除率的影响

2.2 提高发酵温度对 AD 系统中 VFAs 及 pH 值的影响

VFAs 是厌氧发酵的重要中间产物, pH 值则反映了大分子有机物水解酸化成 VFAs 以及 VFAs 被产甲烷菌利用的动态过程。不同温度发酵体系内的 VFAs 总含量均呈现先升高后下降的变化趋势(见图 5、图 6)。乙酸和丙酸是整个发酵过程中主要的挥发酸类型。在反应初期, 35 °C 中温发酵组挥发性脂肪酸的浓度上升速度要高于 55 °C 高温组, 且在第 7 天 VFAs 浓度达到最大 10881 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 此时乙酸含量为 3826.53 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (占总 VFAs 的 35.17%), 丙酸含量为 2220.31 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (占总 VFAs 的 20.41%), 相应的 pH 值也降至最低 6.05, 说明 35 °C 条件下物料酸化速度快, 体系环境利于产酸菌产酸。然而过低的 pH 值以及较高的丙酸浓度 ($>2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 抑制了甲烷菌的活性, 导致系统出现短暂酸化状态, 产气几乎停止。随着添加碱性物质等措施, pH 值逐步回升并恢复至适宜范围, 乙酸开始被迅速降解转化成甲烷, 产气逐渐正常。然而后期积累的丙酸一直无明显降解, 直至第 25 天才降至 663.21 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。而 55 °C 高温组在整个发酵过程中并未出现明显的酸抑制, pH 值虽在水解酸化阶段降至 6.5 左右, 但 TVFA 含量仅 5069 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 显著低于中温组。随着发酵进行甲烷菌逐渐适应环境并快速生长繁殖, 产甲烷速率提高, 避免了挥发性脂肪酸等中间产物的大量积累。同时含氮有机物被分解后产生的氨也对酸性体系进行了有效缓冲, 从而使得体系 pH 值迅速恢复至 7.0 ~ 7.3, 保证了厌氧发酵的稳定运行。丙酸含量虽在发酵第 10 天达到峰值 1393.30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 但随后被快速利用未对系统造成影响, 说明较高的发酵温度可以促进体系中复杂的微生物菌群对丙酸的利用和转化, 在一定程度上缓解丙酸对系统的抑制作用^[14]。综上, 提高发酵温度更有利于提高不同

底物类型产甲烷菌群的生物活性, 体系抗酸能力更强、性能更稳定。

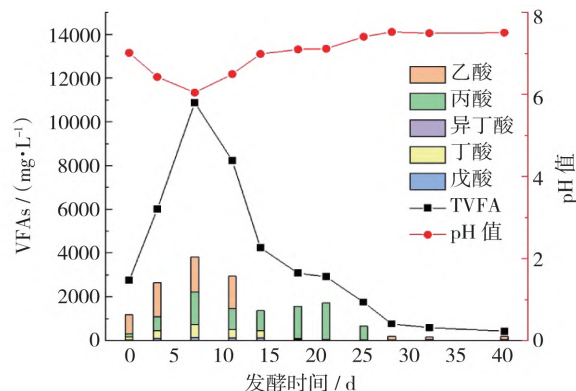


图5 中温 35 °C AD 系统中 VFAs、pH 值变化

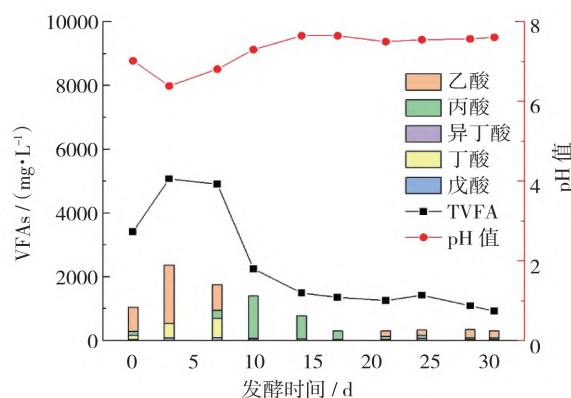


图6 高温 55 °C AD 系统中 VFAs、pH 值变化

2.3 提高发酵温度对 AD 系统中微生物群落变化的影响

2.3.1 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性分析中 Chao1 指数可以看出高温处理组的物种丰富度随着发酵进行而降低, 说明部分微生物适应不了较高的温度而逐渐衰亡, 微生物种类下降。Shannon 指数和 Simpson 指数可以看出高温处理组在发酵结束时的微生物群落多样性要低于中温处理组, 说明温度对微生物群落的演替影响较明显(见表 3)。

表3 Alpha 多样性指数统计表

样品名称	OTU	Chao1	Shannon	Simpson
HT-s	1538	1545.40	8.98	0.99
HT-e	751	754.85	5.35	0.86
MT-s	1440	1451.54	9.07	1.00
MT-e	962	977.40	7.32	0.98

2.3.2 门水平变化

宏基因组测序和分类分析显示, 放线菌门(*Ac-*

tinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)是发酵系统初始阶段的前3优势菌门,占比分别为68.59%~78.68%、11.95%~18.06%和5.79%~7.79%,3个菌门相对丰度占总丰度的90%以上。如图7所示,经过中温35℃和高温55℃2个不同温度厌氧发酵后,2个体系内门水平上的微生物种群及丰度均出现了明显变化且存在显著差异。中温组放线菌门(Actinobacteria)的丰度与初始样品相比下降了85.36%,高温组下降了84.91%,说明厌氧发酵对放线菌门的丰度有较大影响。同样的,发酵结束后变形菌门(Proteobacteria)丰度也显著下降,中温组由初始的18.06%下降至2.61%;高温组由11.95%下降至0.85%。

广古菌门(Euryarchaeota)成为了中温及高温发酵结束后的第1优势菌属,且高温组丰度51.50%比中温组的47.72%显著增加了7.92%。产甲烷菌(Methanogenus)是广古菌门中最主要的类群之一,其在高温组的丰度比中温组显著增加。同时,与产甲烷古菌存在互生-协同产甲烷效应的互营杆菌门(Synergistetes)虽不是优势菌门,但其丰度在高温组中同样明显增加至1.05%,在中温组则差异不明显。进一步说明提高发酵温度能有效增加体系产甲烷菌尤其是耐热甲烷菌丰度进而提升产气效率。

中温组发酵结束后拟杆菌门(Bacteroidetes)丰度显著增加成为了第2优势菌门占比24.63%,比初始阶段的3.25%提高了6.58倍。但其在高温组中仅提高了76.39%。研究认为拟杆菌门具有高效的碳水化合物降解体系,其丰度所发生的变化趋势与厌氧发酵过程中pH值变化一致,这也合理解释了中温发酵系统出现的短暂酸抑制现象。厚壁菌门(Firmicutes)其丰度在高温组中急剧升高,从5.79%增至26.03%成为了其第2优势菌。而在中温组发酵后的丰度稍有下降。有学者研究表明,厌氧发酵

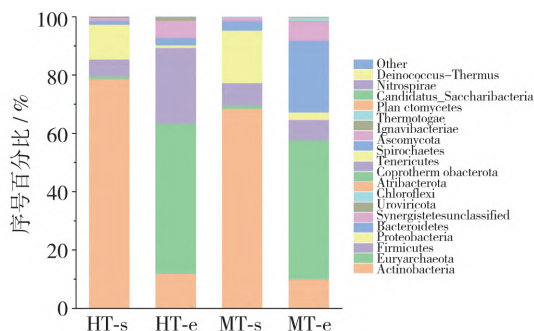


图7 不同温度AD系统中微生物群落门水平变化

体系中厚壁菌门多为革兰氏阳性菌,主要由芽孢杆菌纲(Bacilli)、梭菌纲(Clostridia)等构成,主要参与厌氧发酵水解酸化阶段,为产甲烷提供必要的底物^[15,16]。但在不同温度处理组中出现了明显的丰度差异,说明厚壁菌门中的部分厌氧微生物相较于拟杆菌门在嗜热环境下竞争优势更大、更耐热。

2.3.3 属水平变化

图8显示了不同温度厌氧发酵对体系中微生物属水平(前20个属)影响。在中温和高温厌氧发酵初始原料中,棒状杆菌属Corynebacterium、双歧杆菌属Bifidobacterium、不动杆菌属Acinetobacter以及Jeotgalibaca等为主要的优势菌属,分别占总丰度的74.61%和77.79%。发酵结束后,不同温度处理组该4个菌属变化趋势一致均显著下降。Corynebacterium丰度由初始的46.13%和45.37%下降至7.35%和7.33%,Bifidobacterium分别由初始的13.93%和24.75%下降至0.03%和2.95%。而Acinetobacter和Jeotgalibaca两个菌属的相对丰度显著降低基本检测不到。

35℃中温发酵组的乙酸产生菌Petrimonas和Fermentimonas相对丰度分别显著增加至12.23%、5.04%。甲烷八叠球菌属Methanosarcina、甲烷杆菌属Methanobacterium相对丰度分别显著增加至39.97%和4.69%。在55℃高温条件下,嗜温微生物受到抑制甚至死亡,而嗜热微生物成为优势种群,高温发酵组的Methanosarcina、醋弧菌属Acetivibrio、甲烷嗜热杆菌Methanothermobacter、乙酸产生菌Petrimonas的相对丰度分别显著增加至38.04%、18.13%、12.04%和2.05%。甲烷八叠球菌Methanosarcina是唯一可以利用氢和乙酸的两种途径的产甲烷微生物^[17],是各处理在整个发酵过程中的优势菌属。Methanobacterium属于氢营养型产甲烷微生物,主要存在于中温组的发酵后期,而Methanothermobacter则主要存在于高温发酵组。

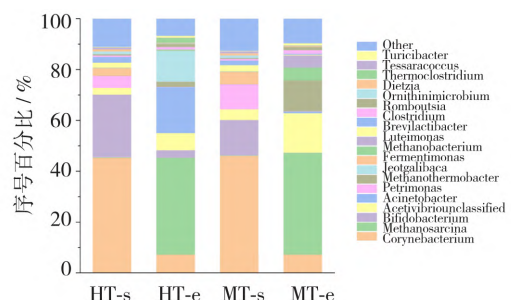


图8 不同温度AD系统中微生物群落属水平变化

2.4 不同温度 AD 系统中 ARGs 相对丰度变化

通过宏基因组测序及 CARD 数据库注释,在 2 个分组的 4 个初始样本中分别有 11 种抗性基因的检出丰度 >1% (见图 9)。其中丰度最高的是利福霉素类抗性基因 *rpoB2* 和 *rpoB*, 占有检测到的 ARGs 含量的 11.31% ~ 16.29%, 其次分别为氨基糖苷类抗性基因 *aph(6)-Id* 和 *aph(3')-Ib* (5.62% ~ 5.66%)、多重抗生素外排泵基因 *MtrA* (2.89% ~ 3.67%) 以及磺胺类抗性基因 *sul1* (2.57% ~ 2.79%)。在该实验厌氧发酵原料中利福霉素类抗性基因具有最高的绝对丰度,经调查,利福霉素及其衍生物是目前兽医领域常用的奶牛乳房炎和子宫炎治疗药物^[18]。

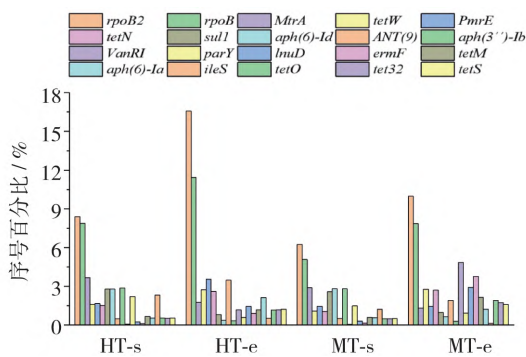


图9 厌氧发酵前后 ARGs 相对丰度变化(前 20)

在经过不同温度厌氧发酵后,相对丰度 >1% 的抗性基因中共有 6 种 ARGs 得到不同程度的削减,分别为 *MtrA*、*sul1*、*aph(6)-Id*、*aph(3')-Ib*、*parY* 以及 *ileS*, 其中去除效果最好的为氨基糖苷类 *aph(3')-Ib*、*aph(6)-Id* 和磺胺类 *sul1* 两类(见图 10)。中温发酵产物中氨基糖苷类 ARGs 检出丰度由初始的 5.62% 降至 0.94%, 去除率为 83.27%。而高温发酵产物中则由 5.66% 降至 0.70%, 去除率达 87.63%, 削减幅度高于中温。类似的中温发酵产物中 *sul1* 去除率为 62.26%, 在高温组中降幅更大,从占比 2.79% 降至 0.81%, 去除率达到 70.97%。*ileS*、*MtrA* 和 *parY* 基因丰度也有不同程度的削减,且高温组降低幅度优于中温发酵组。该结果与前文 2.3 中微生物群落多样性变化情况一致。在初始阶段作为绝对优势菌群的放线菌门和变形菌门丰度在经过厌氧发酵后急剧降低且在高温处理中差异更显著。研究表明放线菌门与氨基糖苷类、磺胺类等多种抗性有关^[19], 棒状杆菌是 *sul1* 的主要载体^[20]。而变形菌门囊括了肠杆菌、假单胞菌等大量的病原

菌^[21]。值得注意的是奶牛粪便中检出率较高的利福霉素类 ARGs 相对丰度在发酵结束后有所富集。不同类型的 ARGs 相对丰度变化有所差异可能是由于其宿主菌的丰度变化所导致,群落中潜在的病原菌和厌氧发酵过程中富集的古菌门、拟杆菌门、厚壁菌门等都可能成为活跃的抗性基因宿主。

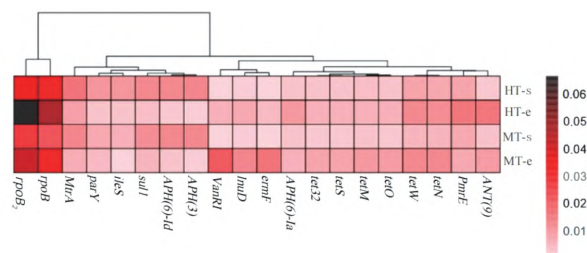


图10 厌氧发酵前后 ARGs 绝对丰度聚类热图(前 20)

2.5 高温 AD 系统中 ARGs 消长变化与环境因子之间的关系

图 11 为 55 °C 高温工艺条件下 AD 系统中 ARGs 与环境变量相关性热图。提高发酵温度促进了氨基糖苷类(87.63%)和磺胺类(70.97%)等 5 类抗性基因的削减,相关性分析结果表明被削减的 ARGs 均与 SCOD、TVFA、不同类型 VFAs 等成显著正相关,说明 AD 体系中可溶性有机物、挥发性酸浓度越高越不利于 ARGs 的减少。ARGs 的变化与 pH 值、TIC 以及甲烷产量之间的负显著相关性表明,AD 系统中的 pH 值越稳定,甲烷产量越高剩余的 ARGs 就越少,相应的去除效果就越好,该结果正对应了前文中高温组缓解了高负荷厌氧发酵中酸抑制现象,其 TVFA、VFAs 含量显著低于中温组,甲烷产量显著增加这一研究结果,且与 Junya Zhang^[12] 等的结论一致。总之提高发酵温度引起的环境变量和微生物群落变化解释了 AD 系统中 ARGs 的大部分变化,环境变量对 ARGs 的影响大多是间接的,但微生物群落的影响则是直接的。

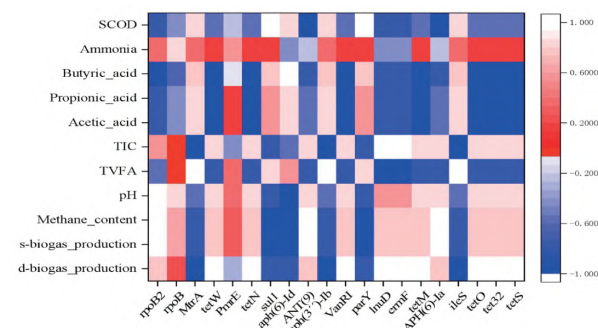


图11 ARGs 与环境变量相关性热图

3 结论

(1) 温度对牛粪高浓度厌氧发酵产气特性有显著的影响, 55 ℃ 处理的累积产气量比 35 ℃ 提高了 17.27%; 同时, VS 去除率可达 42.45%, 比 35 ℃ 中温组提高了 17.13%。说明提高发酵温度可以加快底物的分解和产气进度, 同时有助于提升牛粪的发酵效率, 使其养分转化更为彻底。

(2) 对于高负荷条件下的厌氧发酵, 提高发酵温度(55 ℃) 更有利于提高产甲烷菌活性, 能更好地维持产酸菌与产甲烷菌之间的动态平衡, 缓解酸抑制现象, 体系抗酸能力更强、性能更稳定。

(3) 55 ℃ 高温厌氧发酵主要通过降低微生物群落的多样性和丰度, 消除许多潜在的 ARGs 宿主和抗生素抗性致病菌。SCOD、TVFA、不同类型的 VFAs 等环境变量都是影响 ARGs 去除的重要因素。本课题的研究结果可为牛粪厌氧发酵参数的优化提供参考, 更加深入了解高温厌氧发酵中 ARGs 的消长机制。

参考文献:

- [1] 田肖艳, 刘玉香. 农业废弃物混合厌氧发酵研究进展[J]. 现代化工, 2023, 43 (S1): 39-43.
- [2] 张鑫. 抗生素对牛粪厌氧发酵功能微生物及抗性基因影响机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- [3] 于月, 许开立. 大中型沼气工程安全评价方法研究现状及展望[J]. 中国沼气, 2023, 41 (05): 41-49.
- [4] 祝其丽, 李加群, 李江, 等. 有机废弃物厌氧发酵系统失稳预警研究进展[J]. 中国沼气, 2023, 41(05): 3-9.
- [5] 李佩琪, 宁志芳, 李再兴, 等. 牛粪与秸秆干式厌氧共发酵性能与流变特性研究[J]. 可再生能源, 2023, 41 (10): 1294-1302.
- [6] 陈文成, 孙京, 袁存亮, 等. 干清猪粪半干法厌氧发酵关键技术参数优化[J]. 中国沼气, 2023, 41(05): 18-23.
- [7] JINGYEONG S, SUNGMAN L, HYEONGJU P, et al. Effects of thermal hydrolysis on anaerobic digestion and abundance of antibiotic resistance genes during recuperative thickening digestate treatment of sewage sludge[J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 450(P3): DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138128>.
- [8] TIEDONG L, JUNYA Z, TIANBGMING S, et al. Coupled mechanism of enhanced and inhibitory effects of nanoscale zero-valent iron on methane production and antibiotic resistance genes in anaerobic digestion of swine manure. [J]. Bioresource technology, 2022, 360: 127635.
- [9] CZAAUDEHORE G, MONLAU F, GASSIE C, et al. Methane production and active microbial communities during anaerobic digestion of three commercial biodegradable coffee capsules under mesophilic and thermophilic conditions[J]. Science of the Total Environment, 2021, 784: 146972.
- [10] 支苏丽, 周婧, 赵润, 等. 畜禽粪便厌氧发酵过程抗生素抗性基因归趋及驱动因子分析[J]. 农业工程学报, 2019, 35(01): 195-205.
- [11] PENG Y, PEIYAN D, HUI W. Deciphering changes in the abundance of intracellular and extracellular antibiotic resistance genes and mobile genetic elements under anaerobic fermentation: Driven by bacterial community. [J]. Bioresource technology, 2022, 355: 127264.
- [12] JUNYA Z, TIEDONG L, HUI Z, et al. Zero valent iron improved methane production and specifically reduced aminoglycoside and tetracycline resistance genes in anaerobic digestion[J]. Waste Management, 2021, 136: 122-131.
- [13] 宫亚斌, 姚建刚, 谭婧. 餐厨垃圾中温与中高温过渡区厌氧产沼效率研究[J]. 环境工程, 2022, 40 (03): 132-138.
- [14] 高一鸣. 丙酸产甲烷菌系驯化及对餐厨垃圾厌氧发酵强化作用研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018.
- [15] 章爽, 马欣欣, 孙海曙, 等. 餐厨垃圾和菌糠的半连续中温-高温两相厌氧共消化: 产甲烷性能、微生物和宏基因组分析[J]. 环境卫生工程, 2023, 31(02): 127.
- [16] 张丹志, 尹强, 徐文静, 等. 猪粪厌氧发酵的有机酸代谢与微生物群落相关性分析[J]. 分析化学, 2022, 50 (08): 1260-1268.
- [17] 廖杰, 谢威, 刘超翔, 等. 初始碱度和温度对养猪废水厌氧发酵过程的影响特征[J]. 环境工程, 2023, 41 (02): 53-59+65.
- [18] 安冉, 乔茂锡, 黄梅, 等. 利福昔明对奶牛子宫内膜炎常见病原菌的体外抗菌活性评价[J]. 畜牧与兽医, 2018, 50 (07): 64-67.
- [19] 马吉玥. 纳米零价铁对养殖场废弃物厌氧发酵过程中抗生素抗性基因的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
- [20] 冉薛伶. 纳米四氧化三铁对厌氧发酵特性及四环素类抗生素降解的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
- [21] 孙薇. 畜禽粪便厌氧发酵过程中抗生素抗性基因变化机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.