

# 厌氧发酵体系中挥发性脂肪酸检测方法研究进展

包铮<sup>1</sup>, 贺莉<sup>1\*</sup>, 李悦<sup>2</sup>, 宋亚莉<sup>2</sup>

(1. 农业农村部沼气科学研究所, 四川 成都 610041; 2. 四川省农业援外办公室, 四川 成都 610041)

**摘要:** 挥发性脂肪酸(VFAs)是厌氧发酵过程中的一类具有监测作用的重要中间代谢产物,对其进行有效的测定可以很好地监控厌氧发酵体系中的酸化情况。主要总结了目前应用较为广泛的6种VFAs检测方法,包括解释检测技术的运行机制、仪器的性能、测定过程可能会出现的问题以及解决的办法,也总结了6种方法的优缺点。

**关键词:** 厌氧发酵; 挥发性脂肪酸; 检测方法

**中图分类号:** S216.4; O657.77 **文献标志码:** B **文章编号:** 1000-1166(2022)02-0067-05

**DOI:** 10.20022/j.cnki.1000-1166.2022020067

**Research Progress on Detection Methods of Volatile Fatty Acids in Anaerobic Digestion System / BAO Zheng<sup>1</sup>, HE Li<sup>1\*</sup>, LI Yue<sup>2</sup>, SONG Ya-li<sup>2</sup> / (1. Biogas Institute of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Chengdu 610041, China; 2. Sichuan Provincial Office of Agricultural Foreign Aid, Chengdu 610041, China)**

**Abstract:** Volatile fatty acids (VFAs), are a family of important intermediate metabolite that plays a monitoring role in the anaerobic digestion process. The effective determination of VFAs is of great significance as to monitor acidity in an anaerobic fermentation system. This paper primarily summarizes the six most widely used VFAs detection methods, including explanation of the operation mechanism of detection technology. Meanwhile the benefits and drawbacks of the six techniques are discussed.

**Key words:** anaerobic digestion; volatile fatty acids; detection methods

厌氧发酵(AD)是处理粪便、秸秆、餐厨垃圾等有机废弃物的主要利用方式之一,沼气是AD体系中微生物代谢的产物,它是由有机底物的分解形成的<sup>[1-3]</sup>。分解过程可分为3个阶段:水解阶段、酸化阶段和产甲烷阶段,在每个阶段都有不同的微生物组参与分解过程<sup>[4]</sup>。

在厌氧发酵第1阶段,需氧细菌利用酶将大分子有机底物(蛋白质、碳水化合物、脂肪、纤维素)转化为分子量较低的化合物(如糖、氨基酸、有机酸和水),水解细菌分离的酶附着在细菌的外壁上,将底物中的有机成分分解成小的可溶性成分,聚合物被转化为低聚物和单体,这一过程即水解。水解过程依赖于细胞外酶(如纤维素酶、淀粉酶、蛋白酶和脂肪酶),该过程受到4.5~6.0的pH值水平以及罐内时间的影响。在厌氧发酵的第2阶段,产酸菌进行裂解,第1阶段产生的单个分子进入产酸菌的细

胞,在那里继续分解,同时,部分厌氧细菌利用氧残基和形成厌氧微生物所需的厌氧条件也参与了该发酵过程。在pH值为6.0~7.5时,该体系主要产生一些挥发性脂肪酸和低分子量醇等物质,如乙酸、乙醇、二氧化碳、硫化氢和氨等,这一过程被称为酸化(或氧化)。同时,该过程会导致pH值的水平降低。在第3阶段,产甲烷菌将乙酸、甲醇等物质转化为甲烷为主的物质,一种方式是利用乙酸产生甲烷,另一种方式是在二氧化碳存在时利用氢气生成甲烷,这个阶段的菌群对温度非常敏感<sup>[5]</sup>。有机废弃物在厌氧微生物的作用下,经过3个阶段的分解转化后产生甲烷、氢气等气体可被用作清洁能源,挥发性脂肪酸、甲醇、可溶性糖等中间代谢产物可被用作工厂原料,以及最后剩余的沼渣经处理后可以被用作有机肥<sup>[6]</sup>。AD不仅解决了环境污染的问题还为社会带来了经济效益。

**收稿日期:** 2022-03-01

**项目来源:** 国家自然科学基金青年项目(31902208); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(161001202003\_02201); 四川省科技支撑项目(2021ZDZX0012); 中国农业科学院科技创新工程(CAAS-ASTIP-2016-BIOMA)。

**作者简介:** 包铮(1996-),女,硕士生,主要从事废弃物资源化利用研究等工作, E-mail: baozi1001@foxmail.com

**通信作者:** 贺莉, E-mail: heli@caas.cn

## 1 VFAs 在 AD 体系中的作用

在整个 AD 过程中, VFAs 是厌氧发酵过程中一类重要的中间代谢产物, 正常的 AD 体系中 VFAs 主要包括乙酸、丙酸、丁酸、戊酸, 其浓度范围比较低且较稳定, 约有 70% 的产甲烷菌都是利用 VFAs 来进行产甲烷过程。但是一般厌氧发酵体系中有机质的含量较高, 在发酵过程中会容易有酸积累的现象发生, 即当 VFAs 浓度在  $6.7 \sim 9.0 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-3}$  时会造成微生物细胞内酸碱平衡失调, 进而抑制产甲烷产生, 严重影响产甲烷过程的正常进行, 当体系中的酸积累现象过于严重时甚至会使细胞失活, 直接导致厌氧发酵的失败<sup>[7-8]</sup>。VFAs 的含量变化不仅能够判断 AD 过程是否顺利进行, 而且可以间接观察到 AD 过程中微生物的活性变化, 因此, 对其进行实时监测非常必要。

目前, 较为传统的 VFAs 测定方法有比色法和滴定法<sup>[9]</sup>。这些传统方法存在耗时耗力的缺点, 在科技飞速发展的社会, 比色法已逐渐淡出研究者的视野。取而代之的是操作更简便、精度更高的电子仪器设备, 例如气相色谱 (GC) 法、高效液相色谱法 (HPLC)、中红外光谱法 (MIRS)、近红外光谱法 (NIRS) 和生物传感器<sup>[10-13]</sup> 法。

## 2 AD 体系中 VFAs 检测方法的研究进展

### 2.1 滴定法

传统滴定法的原理是在碱性条件下通过蒸馏分离出溶液中存在的氨氮, 再在酸性环境中收集纯度较高的 VFAs, 利用碱性溶液进行标定, 通过消耗的体积计算 VFAs 的含量<sup>[14]</sup>。滴定法成本低、操作简单, 但是需要前处理、耗时长、不能在现场使用, 在取样和蒸馏过程中可能会损失掉部分 VFAs, 降低了结果的准确性。此外, 有研究发现滴定结果会受厌氧发酵环境中存在各种弱酸根离子以及溶液固体含量等因素的影响, 使滴定结果出现误差<sup>[15]</sup>。为此, 许多研究学者通过简化处理步骤、改变溶液环境、选择适当的滴定终点等方法优化改进建立新型滴定法<sup>[16]</sup>。例如, 在分析 VFAs 与样品离子干扰体系以及总固体之间的关系时, 结合 GC 法和简化滴定步骤后的 Nordmann 滴定法测得 VFAs 化学值。滴定过程得到简化, 结果差异性也有明显的降低, 但是依然需要专门的仪器设备, 不利于实际发酵工程中的分析比较<sup>[17]</sup>。Nativ<sup>[18]</sup> 等人利用模拟溶液开发了一

种改进的两点滴定法, VFAs 在较高的浓度范围内受到磷酸盐等弱酸离子的影响可以忽略不计。同时, 还使用外部分析法, 即利用 PHRREQC 程序通过总无机碳的浓度预测 VFAs 的变化趋势。此法减少了滴定步骤、提高了结果的精确度, 但是操作环境较为严格、对探头灵敏度以及标准样品精度的要求较高。

### 2.2 GC 法

气相色谱仪的原理是样品在进样器中经过高温处理后以气体的形式被载气携带进入毛细色谱柱, 各组分在载气的冲洗下由于沸点、吸附系数等不同依次被分离出来, 进入检测器后根据给出的信号被记录成不同的色谱峰, 通过峰面积和峰高来进行定量和定性分析<sup>[19]</sup>。GC 法所需样品量小、灵敏度较高、适用范围大, VFAs 有较强的吸附性且极性较高, 加上 AD 体系较为复杂, 含有很多干扰因素, 产生的色谱峰容易出现拖尾现象, 可以对样品进行预处理 (如萃取、酯化)、选择合适的极性柱以及改变 GC 升温程序等方法来改善此类问题<sup>[20-21]</sup>。此外, VFAs 属于弱酸, 具有易挥发的特点, 需要对溶液环境进行酸化以确保测定时是分子的状态, 同时, 在 VFAs 测定完之后及时清理进样针和色谱柱以避免造成污染和堵塞<sup>[22]</sup>。Ward<sup>[23]</sup> 等对 VFAs 的 4 种监测方法 (微气相色谱、薄膜进样质谱、近红外光谱以及 pH 值) 进行中试研究, 结果发现薄膜进样质谱需要频繁清洗以及背景测量, 不适用于长期测量, 除此之外的其他 3 种方法都具有较高的准确性和低频率维护的优点。Ullah<sup>[24]</sup> 等比较了直接注射和热解吸两种样品运载方式对 GC 测定性能的影响, 发现热解吸方式更好地抑制一些基质反应的发生。

### 2.3 HPLC 法

高效液相色谱技术是一种高效液相色谱仪的分离技术, 原理主要是溶液中各组分在两相运动中具有不同的分配系数, 导致在反复分配过程中各组分的移动速度具有明显差距, 进而被依次分离流出<sup>[25]</sup>。受固定相的影响可分为固-液吸附色谱、液-液分配色谱、离子交换色谱以及凝胶色谱<sup>[26-27]</sup>。Mesquita<sup>[28]</sup> 等使用带有二极管阵列的紫外检测器和离子排斥柱的液相色谱系统对厌氧消化系统中的 VFAs 进行测定, 比较纯溶液和实际发酵溶液的 HPLC 色谱图发现 VFAs 的色谱峰的分辨率受溶液环境的干扰程度可以忽略不计, 分析检测限、线性、重复性、基质效应等结果表现出 7 种 VFAs 都具有良好的独立性以及较高的精确性。Peu<sup>[29]</sup> 等利用配

有紫外检测器、自动进样器以及阳离子交换柱的 HPLC, 在流动相的作用下分离标准溶液和样品中的 VFAs, 通过分析峰面积之间的关系建立了猪粪中 6 种 VFAs 的 HPLC 测定方法。

#### 2.4 MIRS 法

MIRS 法是物质的分子结构在中红外光谱区 ( $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$  或者  $2500 \sim 25000 \text{ nm}$ ) 发生基频或倍频吸收产生特征性的吸收峰, 从而进行物质的定性或定量分析<sup>[30]</sup>。经过预处理以及特征光谱提取后的 MIRS 模型可以有效的监测 AD 过程, 但是复杂的 AD 体系会使过滤器极易发生堵塞, 导致相应的装置不能及时进行监测分析<sup>[31]</sup>。研究学者通过改进 MIRS 装置如使用光纤探测器的方法解决类似的问题。Falk<sup>[32]</sup> 等开发了一种基于偏最小二乘法 ATR-MIR-FTIR 设备, 可以实现样品提取、光谱记录以及光谱分析的自动化, 达到了 AD 体系中 6 种单组分 VFAs 的快速定量分析的目标, 设备带有的传感系统几乎不需要维修。同时, 污泥造成的淤积问题也通过增加转速器搅拌时间得到有效解决。Li<sup>[33]</sup> 等改进采样方式, 增加冲洗频率以降低堵塞问题的发生概率, 用液相色谱法得到的化学值与中红外光谱建立了基于偏最小二乘法模型, 该模型能够测定乙酸、丙酸等单组分的含量, 且成功的应用于中试体系中。

#### 2.5 NIRS 法

近红外光谱 (NIRS) 技术是指利用近红外光谱区 ( $12500 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$  或  $800 \sim 2500 \text{ nm}$ ) 所包含的物质信息进行有机物质的定性或定量的检测技术<sup>[34]</sup>。NIRS 主要有透射式、漫透式和漫反射式 3 种采集方式, 需根据不同待测物或者环境的变化选择合适的采集技术。NIRS 模型的效果一般通过相关系数 ( $R^2$ )、均方根误差 (RMSE) 和残差预测偏差 (RPD) 3 个指标进行评估<sup>[35]</sup>。越来越多的学者研究 NIRS 对 AD 中 VFAs 等多种参数的监测能力, 例如, 有研究利用傅里叶变换近红外光谱法结合偏最小二乘法 (PLS) 建立了污水污泥系统中的挥发性脂肪酸、碳酸氢盐碱度和挥发性固体的回归模型, 该模型可用于消化池的原料类型改变和水力保留时间减少的识别和预警, 以此来提高污水污泥厌氧消化器的性能<sup>[36]</sup>。Awhangbo<sup>[37]</sup> 等通过利用 NIRS 结合多块 PLS 方法预测不同来源厌氧消化物的 VFAs 和长链脂肪酸, 证实了可以通过多个来源的协同作用来优化监测过程, 同时解决了远程探针在厌氧消化中

出现的饱和和结垢问题。Stockl<sup>[38]</sup> 等用玉米和青贮牧草进行实验室发酵池的投料, 检测 AD 体系中 VFAs、总无机碳 (TIC) 以及 VFAs/TIC 等参数的化学指标, 建立并分析了基于 PLS 的 NIRS 模型, 结果发现经过预处理后的 NIRS 模型  $R^2$  分别 0.94、0.97 和 0.85 ~ 0.97, RPD 值均在 3 以上, RMSE 与所测参数的浓度范围有关, 3 个指标均说明模型具有较高的精度, 但是不适用于浓度高于校准模型浓度的样品。

#### 2.6 生物传感法

生物传感器法结合了生物技术和物理化学技术, 将生物活性物质作为传感器的识别元件, 其分子识别部分所表达的信号通过转换器转化为电信号, 通过这些信号分析待测物质的含量<sup>[39]</sup>。生物传感器主要包括识别元件、换能器和信号输出装备构成, 固定化识别元件是决定传感器性能 (例如灵敏性、稳定性、使用寿命等) 的核心因素, 根据材料的特性一般分为酶传感器、微生物传感器和免疫传感器<sup>[40]</sup>。研究者们多在识别元件和换能器材料上对其进行机理和功能的深入研究, 例如传统的微生物燃料电池 (MFC) 无法很好地区分 AD 体系中的有机物质和 VFAs, Sun<sup>[41]</sup> 等改进了此类传感器, 开发了一种由阳极和阴极组成的两腔室 MFC 微生物传感器, 两腔室之间通过阴离子交换膜 (AEM) 进行物理分离。通过观察传感器对合成废水中醋酸盐的电流响应, 发现电流密度和不同反应时间内乙酸盐浓度呈一种非线性关系, 并且在醋酸盐浓度低于 40 mM 时, 电流密度在设计的批次实验结束时间 (5 h) 达到最大值, 对于监测乙酸盐浓度具有一定的可行性。此外, 研究结果还发现葡萄糖等非离子物质不能穿过 AEM, 所以基本不影响传感器的性能, 但是 AEM 会对丙酸盐、丁酸盐和异丁酸盐有一定的选择透过性, 对乙酸盐浓度的测定结果造成一定的偏差, 同时, 较高的初始温度对微生物的活性有很大的影响, 而且在长期运行后阴极表面的微生物生长也会影响传感器的性能。此后, 该研究团队开发了一种由阳极、阴极和样品室组成的三腔室 MFC 传感器<sup>[42]</sup>, 此传感器中底物输到阳极室的机理是浓度扩散, 醋酸盐通过 AEM 时受其它离子的干扰导致传质系数和扩散率降低, 使得在 1 h 反应时间得到的结果偏差较大。与之前的研究相比较, 监测的浓度范围增大, 样品室的添加极大地提高了传感器的稳定性, 但是其非线性拟合度较低, 制作成本也相对增加。



### 3 结论与展望

本文总结了6种常用的VFAs测定方法,滴定法成本低、易操作,一般用于总VFAs的测定,对于单个组分的测定来说是很难实现的。GC法是目前相对而言应用最广泛的方法,缺点在于样品测定前需要对其进行消除颗粒、酸化等预处理,使操作步骤变得较为繁琐。HPLC法具有灵敏度高、分离效果好、应用范围广、前处理较为简单等优点,但是其分析成本较为昂贵、分析时间较长。光谱技术由于具有无需预处理、分析速度快、无创、方便、成本低等优点已被广泛应用于农业、石化、医药、食品、聚合物、林业、环境等领域,但是光谱技术受环境的影响(如温度、湿度、样品颗粒大小等)较大,需要结合化学计量学来降低外界因素的干扰。生物传感法兼具生物技术的特异性选择和物理化学技术分析速度快、高灵敏的优点。酶传感器选择性好、灵敏度高,但是其敏感元件提炼工序复杂、造价高、性能不太稳定,微生物传感器相对而言性能更稳定、造价低,且不受AD体系中干扰物质的影响,但是存在响应时间较长、选择性较差的缺点,免疫传感器制作简便、使用寿命长,缺点在于其选择性差,所用的敏感元件材料也不易保存。现在VFAs检测方法的研究趋势正朝着快速、无损、低成本、自动化的方向发展,但是许多方法仍存在仪器性能、检测时间、造价成本等问题,希望未来能够克服这些困难,真正满足实际发酵工程的VFAs自动化在线检测。

#### 参考文献:

- [1] Valentino F, G Munarin, M Biasiolo, et al. Enhancing volatile fatty acids (VFA) production from food waste in a two-phases pilot-scale anaerobic digestion process[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(5): 106062.
- [2] Zhai S, M Li, Y Xiong, et al. Dual resource utilization for tannery sludge: Effects of sludge biochars (BCs) on volatile fatty acids (VFAs) production from sludge anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 316.
- [3] 孔祥平, 奚永兰, 杜静, 等. 厌氧菌群 TC-5 生物强化秸秆猪粪混合发酵过程的研究[J]. *中国沼气*, 2021, 39(06): 9-14.
- [4] 贺莉, 冉毅, 李冰峰. 基于近红外技术的沼液丁酸和异丁酸定量分离研究[J]. *中国沼气*, 2020, 38(04): 9-12.
- [5] Cremonese P A, J G Teleken, T R W Meier, et al. Two-Stage anaerobic digestion in agroindustrial waste treatment: A review[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021: 281.
- [6] Hunter S M, E Blanco, A Borrión. Expanding the anaerobic digestion map: A review of intermediates in the digestion of food waste[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 767.
- [7] 徐家英. 氨氮对厌氧发酵脂肪酸浓度的影响研究[J]. *中国沼气*, 2021, 39: 12-16.
- [8] Hill A, S Tait, C Baillie, et al. Microbial electrochemical sensors for volatile fatty acid measurement in high strength wastewaters: A review[J]. *Biosensors Bioelectronics*, 2020: 165.
- [9] Purser B J J, S M Thai, T Fritz, et al. An improved titration model reducing over estimation of total volatile fatty acids in anaerobic digestion of energy crop, animal slurry and food waste[J]. *Water Research*, 2014, 61: 162-170.
- [10] Jin X, I Angelidaki, Y Zhang. Microbial Electrochemical Monitoring of Volatile Fatty Acids during Anaerobic Digestion[J]. *Environmental Science Technology*, 2016, 50(8): 4422-4429.
- [11] Guo H, Z Bao, S Zhang, et al. A Novel NIR-Based Strategy for Rapid Freshness Assessment of Preserved Eggs[J]. *Food Analytical Methods*, 2022.
- [12] Courtois N, I Pochard, M Remery, et al. Influence of the characteristics of paper mill sludges on their anaerobic digestion[J]. *Waste Management Research*, 2021.
- [13] Kumara CP, Rena, A Meenakshi, et al. Bio-Hythane production from organic fraction of municipal solid waste in single and two stage anaerobic digestion processes[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 294.
- [14] 李祥燕, 李红峰. 聚酯污水中挥发性脂肪酸测定的改进[J]. *聚酯工业*, 2021, 34: 48-50.
- [15] Lahav O, B E Morgan. Titration methodologies for monitoring of anaerobic digestion in developing countries - a review[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2004, 79(12): 1331-1341.
- [16] Mu Z X, C S He, J K Jiang, et al. A modified two-point titration method for the determination of volatile fatty acids in anaerobic systems[J]. *Chemosphere*, 2018, 204: 251-256.
- [17] Sun H, J Guo, S Wu, et al. Development and validation of a simplified titration method for monitoring volatile fatty acids in anaerobic digestion[J]. *Waste Management*, 2017, 67: 43-50.

- [18] Nativ P, Y Graber, Y Aviezer, et al. A Simple and Accurate Approach for Determining the VFA Concentration in Anaerobic Digestion Liquors, Relying on Two Titration Points and an External Inorganic Carbon Analysis [J]. *Chemengineering*, 2021, 5(2).
- [19] 牟建楼,王 颢,张 伟,等. 乙醇的测定方法综述[J]. *酿酒*, 2006, 02:46-48.
- [20] 陈庆今,刘焕彬,胡勇有. 气相色谱测厌氧消化液挥发性脂肪酸的快速法研究[J]. *中国沼气*, 2003, 04:3-5.
- [21] 吴凯旋,谢彤彤,迟明妹,等. 厌氧发酵液中挥发性脂肪酸的气相色谱检测方法研究[G]//《环境工程》2019年全国学术年会, 2019:458-462.
- [22] 顾福权,徐红娟,柳展飞,等. 气相色谱法测定废水中6种挥发性脂肪酸含量[J]. *能源环境保护*, 2014, 28:62-64.
- [23] Ward A J, E Bruni, M K Lykkegaard, et al. Real time monitoring of a biogas digester with gas chromatography, near-infrared spectroscopy, and membrane-inlet mass spectrometry [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(5): 4098-4103.
- [24] Ullah M A, K H Kim, J E Szulejko, et al. The gas chromatographic determination of volatile fatty acids in wastewater samples: Evaluation of experimental biases in direct injection method against thermal desorption method [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2014, 820: 159-167.
- [25] 姚 晨. 关于液相色谱仪的操作及异常情况分析[J]. *食品安全导刊*, 2021, 06:180.
- [26] 严 玲,毛琼丽,石 豪,等. 高效液相色谱分析样品处理技术进展[J]. *化学分析计量*, 2022, 31: 93-99.
- [27] 张旦亚,杨吉兴. 高效液相色谱分类及工作原理[J]. *化工管理*, 2017,20:113.
- [28] Mesquita P d L, R J de Cassia Franco Afonso, S. F. de Aquino, et al. Validation of a liquid chromatography methodology for the analysis of seven volatile fatty acids intermediates of anaerobic digestion [J]. *Engenharia Sanitaria E Ambiental*, 2013, 18(4): 295-302.
- [29] Peu P, F Beline, J Martinez. Volatile fatty acids analysis from pig slurry using high-performance liquid chromatography [J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2004, 84(13): 1017-1022.
- [30] 赵秀琴. 中红外光谱分析及研究进展[J]. *安庆师范学院学报(自然科学版)*, 2012, 18: 94-97.
- [31] Spanjers H, J C Bouvier, P Steenweg, et al. Implementation of in-line infrared monitor in full-scale anaerobic digestion process [J]. *Water Science and Technology*, 2006, 53(4-5): 55-61.
- [32] Falk H M, P Reichling, C Andersen, et al. Online monitoring of concentration and dynamics of volatile fatty acids in anaerobic digestion processes with mid-infrared spectroscopy [J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2015, 38(2): 237-249.
- [33] Li X Y, Y Feng, J L Duan, et al. Model-based mid-infrared spectroscopy for on-line monitoring of volatile fatty acids in the anaerobic digester [J]. *Environmental Research*, 2022, 206.
- [34] Huang C J, L J Han, L Liu, et al. Proximate analysis and calorific value estimation of rice straw by near infrared reflectance spectroscopy [J]. *Journal of the Energy Institute*, 2008, 81(3): 153-157.
- [35] Yang G, Y Li, F Zhen, et al. Biochemical methane potential prediction for mixed feedstocks of straw and manure in anaerobic co-digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 326.
- [36] Reed J P, D Devlin, S R R Esteves, et al. Integration of NIRS and PCA techniques for the process monitoring of a sewage sludge anaerobic digester [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 133: 398-404.
- [37] Awhangbo L, R Bendoula, J M Roger, et al. Multi-block SO-PLS approach based on infrared spectroscopy for anaerobic digestion process monitoring [J]. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2020, 196.
- [38] Stockl A, F Lichti. Near-infrared spectroscopy (NIRS) for a real time monitoring of the biogas process [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 1249-1252.
- [39] 韩雪清,杨泽晓,林祥梅. 极具应用前景的生物学检测技术-生物传感器[J]. *中国生物工程杂志*, 2008, 05: 141-147;.
- [40] 刘 佳,殷立峰,代云容,等. 电化学酶传感器在环境污染监测中的应用 [J]. *化学进展*, 2012, 24: 131-143.
- [41] Sun H, Y Zhang, S Wu, et al. Innovative operation of microbial fuel cell-based biosensor for selective monitoring of acetate during anaerobic digestion [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 655: 1439-1447.
- [42] Sun H, I Angelidaki, S Wu, et al. The Potential of Bioelectrochemical Sensor for Monitoring of Acetate During Anaerobic Digestion: Focusing on Novel Reactor Design [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 9.