

超声预处理对牛粪厌氧消化特性影响

王馨芝^{1,2}, 刁彦花², 杨玲^{1,2}, 李旭^{1,2}, 程辉彩^{2*}, 边红杰^{1*}

(1. 河北科技大学 食品与生物学院, 河北 石家庄 050018; 2. 河北省科学院生物研究所, 河北 石家庄 050081)

摘要: 为了研究超声预处理对畜禽粪污厌氧消化的影响、优化超声预处理工艺,以牛粪为研究对象,结合修正的 Gompertz 方程分析厌氧消化的产气潜力和动力学过程,并采用宏基因组测序分析微生物群落的结构与组成。结果显示,适宜强度的超声预处理可有效破坏大分子有机质底物结构,对牛粪厌氧消化有一定促进作用。在 200 W、400 W 超声 20 min 时,两组 VS 沼气产率最高,提升效果分别为 7.88%、8.04%;两组反应器中甲烷含量可提高至 60% 及以上。修正的 Gompertz 模型可以很好预测不同超声预处理下牛粪的产甲烷潜力(相关性系数 $R^2 > 0.99$)。在 200 W 超声 20 min,TS、VS 去除率分别可达 41.56%、52.78%,比对照组提高了 6.59%、7.08%;超声预处理厌氧消化后样品中优势微生物菌群丰度均高于未预处理组,其优势菌群主要为厌氧消化过程中产甲烷相关的微生物。研究表明选取超声预处理对提高牛粪厌氧消化效率有积极影响,同时还能减少病原微生物在环境中的传播风险。

关键词: 牛粪; 超声预处理; 厌氧消化; 动力学模型; 微生物群落

中图分类号: S216.4; X713 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-1166(2023)03-0041-08

DOI: 10.20022/j.cnki.1000-1166.2023030041

Effect of Ultrasonic Pretreatment on the Anaerobic Digestion Characteristics of Cow Manure / Wang Xinzhi^{1,2}, XI Yanhua², YANG Ling^{1,2}, LI Xu^{1,2}, CHENG Huicai^{2*}, BIAN Hongjie^{1*} / (1. College of Food Science and Biology, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China; 2. Biology Institute, Hebei Academy of Sciences, Shijiazhuang 050081, China)

Abstract: In order to study the effect of ultrasonic pretreatment on the anaerobic digestion of livestock manure and to optimize the ultrasonic pretreatment process, we used cow manure as raw material, combined with the modified Gompertz equation to analyze the gas production potential and kinetics of anaerobic digestion, as well as the structure and composition of the microbial community using metagenomics sequencing. The results showed that the appropriate intensity of ultrasonic pretreatment can destroy the structure of macromolecular organic substrate and promote the anaerobic digestibility of cow manure. At 200 W and 400 W for 20 min, the highest biogas yield was achieved in both groups VS, with an enhancement effect of 7.88% and 8.04% respectively; the methane content in both reactor could be increased to 60% and above. The modified Gompertz model was a good predictor of the methanogenic potential of cow manure under different ultrasound pretreatments ($R^2 > 0.99$). At 200 W for 20 min, the TS and VS removal rates reached 41.56% and 52.78% respectively, an increase of 6.59% and 7.08% compared to the control; The abundance of the dominant microflora in the anaerobic digestion samples after ultrasonic pretreatment were higher than that of the non-pre-treated. This study showed that the selection of ultrasonic pretreatment has a positive impact on improving the efficiency of anaerobic digestion of cow manure, while also reducing the risk of transmission of pathogenic microorganisms in the environment.

Key words: cow manure; ultrasonic pretreatment; anaerobic digestion; dynamics model; microbial communities

随着我国农业产业结构的调整,畜牧养殖业发展迅猛,使得畜禽粪污产量逐步增加^[1]。大量的畜禽粪污随意堆放或不经处理直接排放,不仅会对养殖场周围的水体、土壤和大气环境造成严重的污染,

还会对农村生态环境和人畜健康造成极大的威胁^[2]。厌氧消化作为一种经济有效的有机废物处理方法,其对畜禽粪污进行厌氧消化产生的沼渣、沼液不仅可以回收用于生产有机肥而减少对环境的污

收稿日期: 2022-08-15 修回日期: 2022-10-24

项目来源: 河北省重点研发项目(20327302D); 河北省科学院重点研发项目(22302)。

作者简介: 王馨芝(1999-),女,湖南邵阳人,硕士,主要从事厌氧发酵及生物质能源研究等工作, E-mail: 609162701@qq.com

通信作者: 程辉彩, E-mail: huicaicheng@163.com; 边红杰, E-mail: BianHongJ@126.com

染,同时还可获得清洁生物能源——甲烷^[3],来实现畜禽粪污的能源转换及碳减排。

为了提高畜禽粪污资源化处理效率和甲烷产率,通常在厌氧消化前,对原料进行处理。Akbaty^[4]等通过物理、化学和热预处理工业废物和城市污泥进行厌氧共消化,研究表明,用超声波、微波、弱酸碱进行预处理,使累积沼气产量分别增加了20.9%、14.9%、8.1%和5.2%,而热和强酸碱预处理降低了沼气产量。此外,与未经预处理相比,可溶性COD、碳水化合物和蛋白质的去除效率分别提高了53.9%、33.0%和260.7%。由此可见,相比化学处理产生大量副产物和热处理造成能量损耗,物理预处理有其独特的优势。

目前,物理预处理中的超声为常见处理方式。超声预处理可以破坏有机质中难以被降解的大分子结构,加速水解和产甲烷效率,从而提升原料降解效率。超声预处理现已应用在秸秆、餐厨垃圾等厌氧消化中,显著促进水解酸化进而提高消化效率^[5]。Poddar^[6]等采用超声处理对木质纤维素废料进行厌氧消化,通过甲烷产量和动力学评估其影响,发现甲烷产量提高了20%,动力学参数提高了64%~82%,均得到了加强。Chu^[7]等人采用超声波联合好氧预处理木质纤维素含量较高的玉米秸秆,并进行厌氧消化,累计甲烷产量比对照提高了46.73%,

提升效果显著。

由于牛粪中含有大量不易被微生物降解的物质,例如木质素、纤维素等,均具有坚硬的晶体结构,导致酶分子和水分子难以穿透使其水解,从而限制了后续甲烷化过程^[8]。如果将其单独进行厌氧消化,存在沼气产量和挥发性固体(VS)去除率都低等问题。因此,本研究采用不同强度超声对牛粪进行预处理,考察牛粪厌氧消化日产气量、累计产气量、产气拟合模型以及生物降解率和微生物群落的影响,为牛粪高浓度厌氧消化工艺提供基础数据,进一步为畜禽粪污的高效绿色资源化处理提供思路。

1 材料与方法

1.1 材料

牛粪取自河北石家庄市某奶牛养殖场,种子液取自石家庄市某污水处理厂的污泥,经过牛粪驯化至不产气后作为接种物,原料与接种物的理化性质见表1。

表1 原料与接种物的理化性质

项目	TS/%	VS/%	灰分/%	含水量/%	pH值
牛粪	22.06	19.02	4.48	77.94	7.42
接种物	1.54	0.93	0.61	98.46	7.65

1.2 试验设计

表2 试验设计

分组	超声时间 min	牛粪 VS %	牛粪 TS %	实际添加量(100 mL计)		
				牛粪/g	种子液/mL	水/mL
CK	—	8	10.03	42	30	28
200 W	5	8	10.03	42	30	28
	10	8	10.03	42	30	28
	20	8	10.03	42	30	28
	30	8	10.03	42	30	28
	400 W	5	8	10.03	42	30
400 W	10	8	10.03	42	30	28
	20	8	10.03	42	30	28
	30	8	10.03	42	30	28
	—	8	10.03	42	30	28

实验采用全混式序批式厌氧消化工艺,在总体积为250 mL的厌氧瓶中进行,有效发酵体积为100 mL,实验运行时间为35 d。分别设为对照组和处理组,每个实验处理设置3个平行,发酵体系中牛粪的VS含量均为8%,接种物添加量为有效发酵体积的30%,发酵温度为36℃±1℃。处理组1为40 Hz,200 W超声功率,5、10、20、30 min四组超声处理时

间;处理组2为40 Hz,400 W超声功率,5、10、20、30 min四组超声处理时间。定期测定产气量与气体组分含量,实验设计具体如表2所示。微生物组成和分布采用高通量测序技术进行研究。

1.3 各项指标测定方法

(1) 沼气产量:排水法。

(2) 甲烷含量:微流量气体分析仪(UYI-300)。

(3) TS 和 VS: 烘箱-马弗炉称重法测定。

(4) 微生物多样性: 采用 Illumina Novaseq 平台对测序样本进行双端测序^[9]。

1.4 动力学模型分析

根据累积产气量曲线, 本实验分别采用修正的 Gompertz 模型(1) 对累积产气量进行拟合^[9]。

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

式中: P 为 t 时刻的累积沼气产气量, mL; P_{max} 为最大产沼气潜能, mL; R_{max} 为最大产沼气速率, mL · d⁻¹; λ 为迟滞期, d; t 为发酵时间, d; e 为常数, 2.71828。

1.5 数据统计分析

所有试验设置 3 组平行, 试验结果分别采用 Office Excel、Origin 2018 和 SPSS 22 软件进行数据处理统计。

微生物群落物种注释使用 Kraken2 和广州微科盟平台自建的微生物数据库(从 Kraken 官网下载各个微生物数据库(细菌, 真菌, 古菌, 病毒), 合并后再加入哥伦比亚大学实验室研究中新发现的一些细菌基因组数据) 来鉴别样本中所含有的物种, 再用 Bracken 来对样本中物种的实际相对丰度进行预测。是基于序列的宏基因组物种注释方法^[11]。

2 结果与分析

2.1 超声预处理对牛粪厌氧消化产气特性分析

2.1.1 超声预处理对牛粪厌氧消化日产气量、累积产气量影响

超声预处理对牛粪厌氧消化过程中日产气量影响如图 1、图 3 所示。在 35 d 的厌氧消化过程中, 对照组和处理组的牛粪厌氧消化日产气量相比, 呈现先小幅增加达到第 1 个产气小高峰期, 5 d 后出现第 2 个高峰期并随着厌氧消化时间增加而呈现下降的趋势。这种趋势出现的主要原因是厌氧消化初期, 主要是水解和酸化过程, 此时接种物对牛粪有机质底物有一段适应期, 日产气量较低, 随着微生物对底物的适应性增强, 日产气量逐渐增加, 达到峰值后, 微生物将大量有机质底物水解酸化, 而其余组分基本不易或难以水解, 因此日产气量逐渐减少。未经预处理的对照组在厌氧消化的第 16 天达到最大日产气量 108 mL · d⁻¹, 经 200 W、400 W 功率超声 20 min 预处理后, 分别在 15 d、14 d 达到最大日产气量 111 mL · d⁻¹ 和 115 mL · d⁻¹, 均提前于对照组。

超声预处理对牛粪厌氧消化过程中累积产气量影响如图 2、图 4 所示。未经预处理的对照组 VS 沼气产率为 230.08 mL · g⁻¹, 200 W、400 W 功率超声预处理组中效果最好的均为处理时间 20 min, 其 VS 沼气产率分别为 248.21 mL · g⁻¹、248.58 mL · g⁻¹, 提升率分别为 7.88%、8.04%。两组功率提升效果差异不显著, 这可能使由于牛粪本身固含率较高, 超声传质阻力过大, 能被超声有效震碎的有机质十分有限。

实验结果表明, 超声预处理在一定程度上促进了牛粪的厌氧消化。由于牛粪主要含有纤维素、半纤维素、木质素等物质, 超声振动可在消化液中引起有效搅动, 从而促进主要发生在边界层、生物膜附近或细胞壁和细胞液中的有机反应物的混合、扩散和运输^[12]。一方面, 超声空化作用可以破坏纤维素、半纤维素和木质素的晶体结构, 这些物质中的网状链接键遭到破坏, 使纤维素和半纤维素暴露出来, 缩小纤维素的结晶区, 改变其超分子结构, 使微生物更容易水解底物, 从而加速酶与底物的偶联并促进水解、酸化、甲烷化等生物反应的进程; 另一方面超声

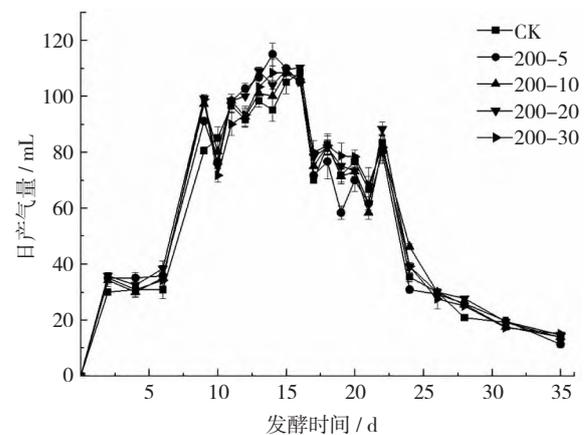


图 1 厌氧消化过程中 200 W 处理组日产气量变化

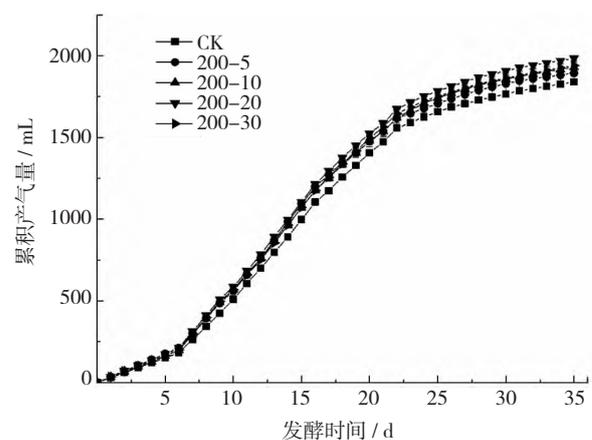


图 2 厌氧消化过程中 200 W 处理组累积产气量变化

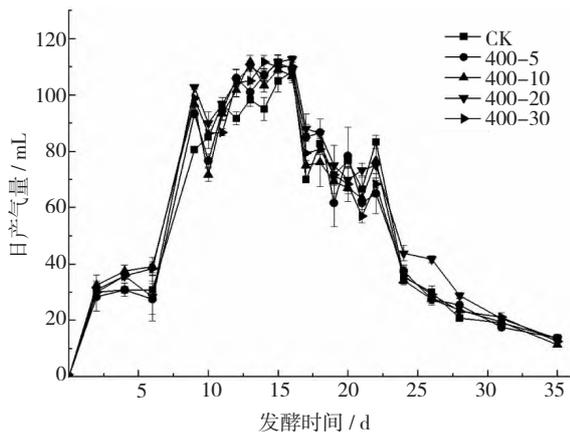


图3 厌氧消化过程中400 W处理组产气量变化

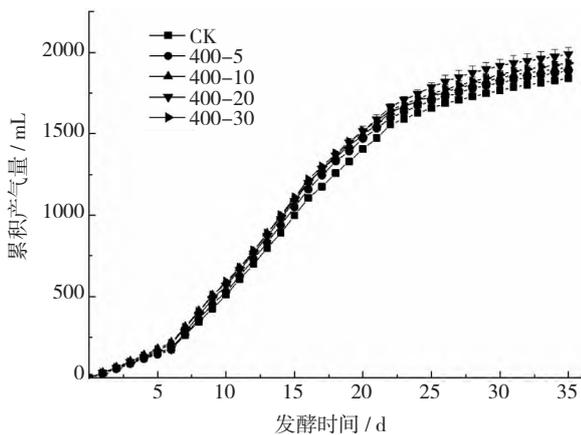


图4 厌氧消化过程中400 W处理组累积产气量变化

作用于作为生物介质的接种物,增加了酶与有机质底物接触的机会,加速了生物膜和细胞壁的传质过程,提高了生物活性促进了厌氧消化过程^[13]。

2.1.2 超声预处理对牛粪厌氧消化甲烷含量的影响

超声预处理对牛粪厌氧消化过程中甲烷含量的影响如图5和图6所示。由图可以看出,在35 d厌氧发酵过程中,甲烷浓度呈逐步升高至最高浓度后趋于稳定。厌氧消化初期,对照组和处理组甲烷含量较低,在25%左右。分析其原因可能是由于在装瓶时,瓶内还有部分空气,稀释了甲烷浓度。未在启动前发酵瓶内充氮气,主要是由于厌氧消化系统中存在大量兼性厌氧菌,它们可以快速消耗瓶内空气提供厌氧环境^[14],不会对整个厌氧过程产生显著影响。在厌氧消化反应的第15 d后,所有组别基本都达到最大甲烷浓度,此时200 W、400 W功率超声预处理20 min甲烷含量达到60%以上,其余组也均在55%左右。

这是由于在整个厌氧消化过程中,通过超声预

处理的振动和空化作用加速了底物的水解酸化,大分子碳链有机物结构被破坏,从而有利于后续甲烷化过程,提升甲烷含量,缩短了达到最大甲烷含量时间。但在厌氧发酵初期,接种物中的产氢产乙酸菌比较活跃,分解有机质底物形成大量的有机酸,有机酸浓度过高对产甲烷菌的代谢产生抑制作用,导致初期甲烷含量较低^[15]。同时,初期仅部分有机酸发生甲烷化反应,产生的气体主要为 H_2 和 CO_2 。随着厌氧消化反应的进行,产甲烷菌的丰度逐渐增加,它们可利用有机酸完成甲烷化过程,最终反应器的甲烷浓度显著增加,甲烷含量最高可达60%。消化后期,有机质底物基本已被利用殆尽其浓度下降,甲烷含量也出现小幅下降。

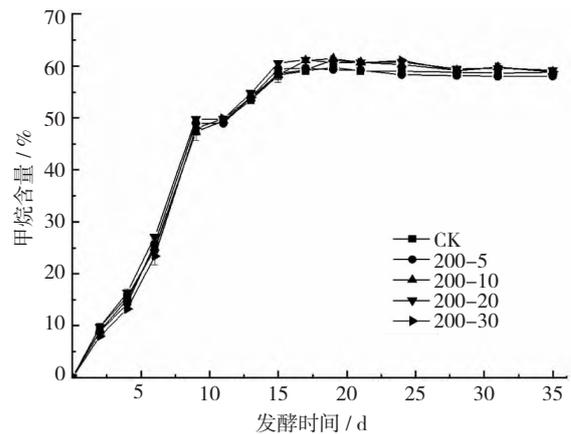


图5 厌氧消化过程中200 W处理组甲烷特性变化

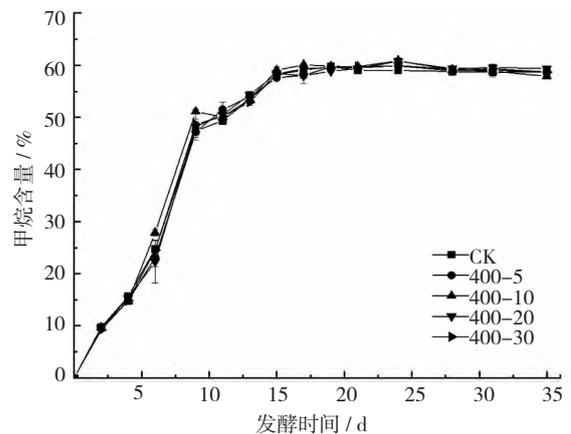


图6 厌氧消化过程中400 W处理组甲烷特性变化

2.1.3 超声预处理厌氧发酵产甲烷动力学模型

采用修正的 Gompertz 模型对对照组、200 W-20 min 和 400 W-20 min 处理组累积产气量进行曲线拟合。图7和图8为修正的 Gompertz 模型对累积产气量的拟合曲线。修正的 Gompertz 模型在厌氧发酵拟合过程中应用非常广泛, Xie^[16]等研究不同的

预处理对初级污泥厌氧消化的影响,采用修正的 Gompertz 模型对产气数据进行拟合,预处理为超声的拟合的相关系数在 0.99 以上,因此 Gompertz 模型能较好的拟合超声预处理对牛粪厌氧消化产气的影响。

表 3 为 3 组实验的拟合参数。R_{max} 为最大产气速率,400 W-20 min 处理组 R_{max} 值最大,但是与 200 W-20 min 处理组没有显著差异,CK 组 R_{max} 值显著低于超声处理组,这与图 7、图 8 中 3 组实验累积产气量曲线切线的最大斜率保持一致。 λ 为迟滞期,一般来说,迟滞期越短,表明产甲烷菌对环境的适应能力就越快。200 W-20 min 处理组相比于其它两组实验的迟滞期较短,说明该处理组水解酸化效率较高,大量难降解的有机物质转化为可以快速被甲烷菌利用的小分子有机物,从而使厌氧消化产甲烷阶段启动速率加快。

2.1.4 超声预处理对牛粪厌氧消化 TS、VS 去除率影响

超声预处理对牛粪厌氧消化 TS 和 VS 去除率

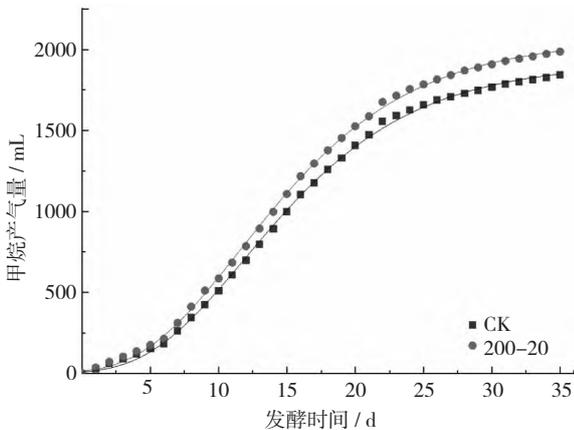


图 7 超声 20 min 200 W 功率处理组累积产气量拟合曲线

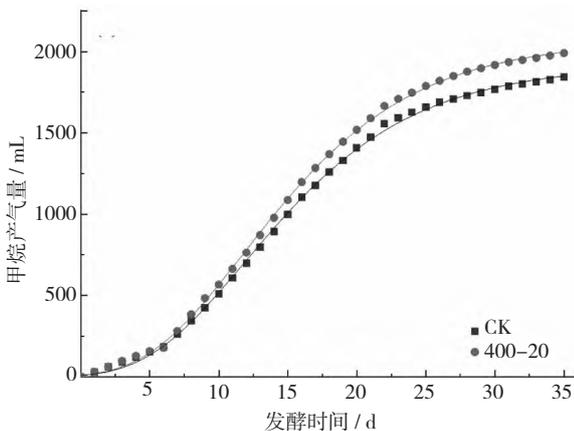


图 8 超声 20 min 400 W 功率处理组累积产气量拟合曲线

表 3 模型拟合参数

组别	P _{max} /mL	R _{max} /mL·d ⁻¹	λ /d	R ²
CK	1918.42 ± 100.34	100.34 ± 1.16	4.86 ± 0.10	0.9993
200 W-20	2066.08 ± 8.96	106.64 ± 1.00	4.44 ± 0.08	0.9995
400 W-20	2070.88 ± 8.96	108.39 ± 1.02	4.79 ± 0.08	0.9995

的影响如图 9 和图 10 所示。除对照组 TS、VS 去除率低于 40%、50% 外,其余处理组的均在 40%、50% 以上。两组处理 TS、VS 去除率差异性不显著 ($p > 0.05$),其中 200 W-20 min TS、VS 去除率为 41.56%、52.78%,相比未经任何处理对照组分别提升 6.59%、7.08%,这与 VS 沼气产率一致。未经超声处理的牛粪,由于纤维素中纤维素小体复合物的存在^[17],有机物由固相进入液相需要一定的时间,微生物利用有机质底物略微滞后。而经过超声预处理后,复合物遭到强能量破坏,絮体被打散,加大了细胞膜渗透性,使小分子有机物更易释放到细胞外,从而被微生物利用,水解和酸化反应立即发生,缩短了后续到达甲烷化的过程。同时,在这个过程中牛粪成分逐渐溶解,其中包括一些不易于直接消化的物

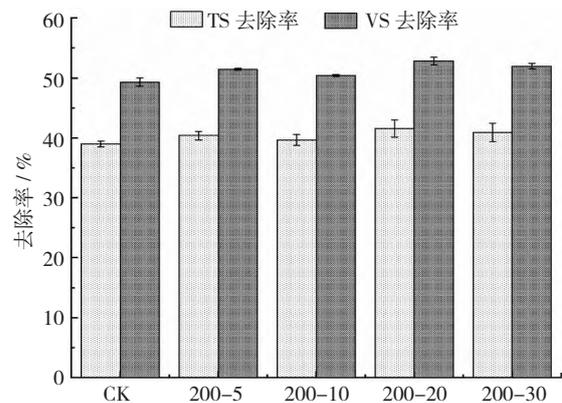


图 9 厌氧消化 200 W 处理组 TS、VS 去除率

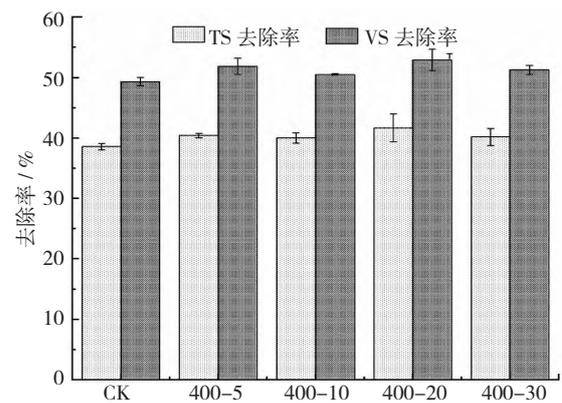


图 10 厌氧消化 400 W 处理组 TS、VS 去除率

质、受损的细胞壁以及分解有机物所需的媒介(酶等),微生物菌群需不断地适应、调整和丰富,以适应复杂的底物环境^[18],从而促进反应器中复杂底物的降解提升厌氧消化效率。所以经过超声预处理后,牛粪厌氧消化 VS 去除率也相应提升。

2.2 超声预处理对牛粪厌氧消化微生物群落的影响

2.2.1 微生物群落门水平的变化

分别选取对照组牛粪厌氧消化起始阶段(N-1star)、结束阶段(N-2end)和200 W-20 min 超声预处理厌氧消化结束阶段(S-2end)3组样本,进行宏基因组学测序。结果如图11所示,在门水平上,厌氧消化起始阶段中占据优势的是放线菌门(*Actinobacteria*),其次是变形菌门(*Proteobacteria*),随后是拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和厚壁菌门(*Firmicutes*),分别占比53.2%、33.4%、6.5%、5.8%。在经过超声预处理牛粪厌氧消化后,微生物群落结构发生较大变化。广古菌门(*Euryarchaeota*)代替了放线菌门成为了优势门,分别占比58.19%、35.54%;放线菌门和变形菌门和比例变化也比较明显,均有不同程度的降低。

Euryarchaeota 作为严格厌氧的古菌,广泛存在于厌氧环境中,对于驱动地球生物碳元素循环具有不可忽视的作用,其中 *Methanogenus* 作为广古菌门中的主要类群之一,可利用乙酸、甲基化合物和氢/二氧化碳等为底物产生甲烷^[19]。其丰度在厌氧消化前后发生显著变化,主要是甲烷菌群变化在起主要作用。说明经过厌氧消化,产甲烷菌微生物群落

得到富集,甲烷含量也相应提升;但超声预处理组(S-2end)中 *Euryarchaeota* 比例低于对照组,分析其原因可能是因为经过超声预处理后,在前期厌氧消化效率已有提升,产气速率加快,可利用的有机质底物被消化更多,最终缩短了厌氧消化周期。而在消化结束的35 d时,由于对照组有机质底物并未被利用完全,可能还在持续产甲烷,相应的产甲烷菌丰度会更高。其次 *Bacteroidetes* 比例变化也比较大,已有学者研究表明^[20],拟杆菌门能有效降解大分子物质如纤维素和木质素等,可以将多糖降解为有机酸,同时还能利用所产生的短链脂肪酸,在厌氧消化过程中促进 VFAs 转化为乙酸盐类物质,为后续产甲烷阶段提供物质基础。这说明在经过超声预处理后,厌氧消化水解阶段得到促进,相对应的水解酸化微生物群落也得到富集,这将大大提升厌氧消化效率并为后续甲烷化过程提供物质基础。同时也发现经过厌氧消化后, *Proteobacteria* 占比大幅减少。这可能是由于变形菌门中大都属于兼性或严格好氧细菌如假单胞菌等,在厌氧环境下无法生长,导致厌氧消化结束后其门水平丰度显著降低。当然,变形菌门中也包含不少致病菌^[21],其门水平丰度减少也说明了厌氧消化可降低传染病传播风险。*Chloroflexi* 门丰度变化也十分显著,从0.15%升高至13.34%。*Chloroflexi* 门已广泛的在厌氧消化物中检测到,可通过将碳水化合物以及其他复杂的聚合有机化合物降解为低分子量底物参与到厌氧消化过程中^[22]。其门水平丰度的大幅升高同样也证明了超声预处理对牛粪厌氧消化的促进作用。

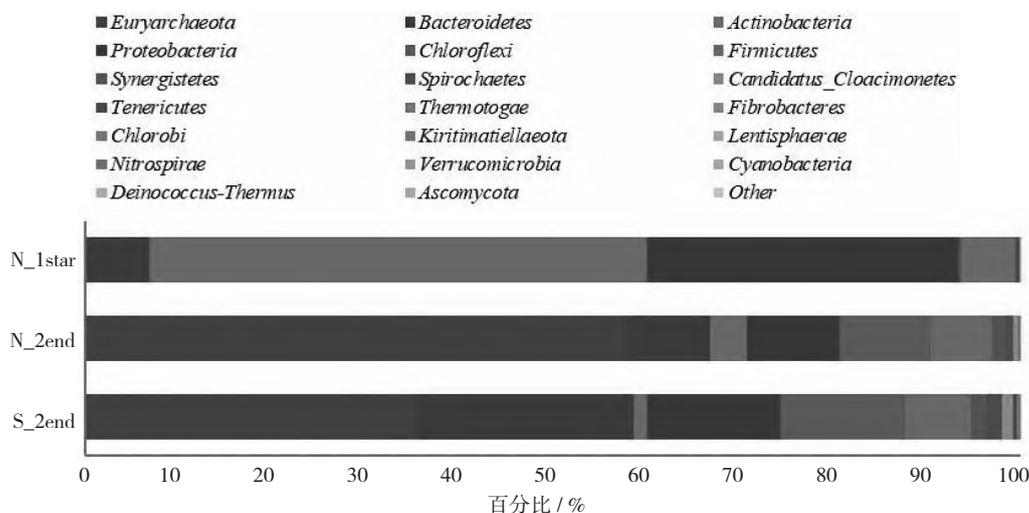


图11 厌氧消化前后微生物群落多样性门水平变化

2.2.2 微生物群落属水平变化

在属水平,牛粪厌氧消化起始阶段的优势菌属为棒杆菌属(*Corynebacterium*)、斯氏弓形菌属(*Arcobacter*)以及不动杆菌属(*Acinetobacter*)。其中,斯氏弓形菌属和不动杆菌属大都为革兰氏阴性致病菌,常见于人体呼吸道感染等疾病^[23];而在经过厌氧消化后,这些优势菌属比例均大幅减少,说明厌氧消化可有效降低致病菌的传染危险。厌氧发酵结束时,无论超声与未超声处理组微生物菌群均发生了显著变化,其中甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)、*Petrimonas*、*Flexilinea*、*Methanothrix*和*Syntrophus*成为了优势菌属。

甲烷八叠球菌(*Methanosarcina*)作为乙酸营养型产甲烷菌可以转化水解酸化阶段产生的乙酸为甲

烷,还可以通过与部分互营杆菌形成互生产甲烷协同作用生成甲烷^[24]。此时,超声处理组甲烷八叠球菌属丰度显著低于对照组,主要是由于超声处理缩短了牛粪厌氧消化周期造成。与此同时,*Syntrophus*丰度占比也大幅增加,进一步证实了经过超声之后,产甲烷途径更加多样化,并进一步促进产甲烷和提高厌氧消化效率。*Petrimonas*为拟杆菌门(*Bacteroidetes*)成员,是一种嗜温厌氧发酵细菌。其在厌氧消化水解酸化过程中可将部分VFAs转化为乙酸盐,同时还伴随着H₂和CO₂的产生^[25]。其丰度的升高,也表明了经过超声预处理后,水解酸化微生物大量富集且加速了其产甲烷菌的电子传递,缩短厌氧发酵周期(见图12)。

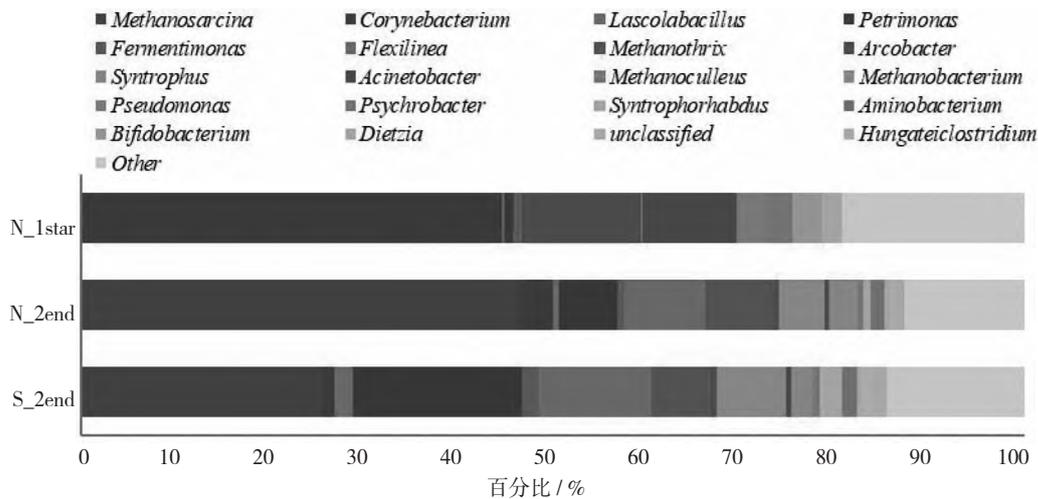


图 12 厌氧消化前后微生物群落多样性属水平变化

3 结论

(1) 超声预处理对于农业废弃物中的畜禽粪污厌氧消化确实有促进作用。200 W、400 W 超声预处理 20 min 厌氧消化效果最好,提升作用差异不显著。Gompertz 方程能较好模拟超声预处理厌氧消化累积产气率的变化过程。结合绿色农业经济发展理念,综合考虑选择 200 W-20 min 组为最佳处理,对牛粪厌氧消化的提升率为 7.88%。

(2) 牛粪经过超声预处理厌氧消化后,微生物群落丰度和多样性均有提升,集中表现在水解酸化阶段相关微生物以及产甲烷古菌。与此同时,斯氏弓形菌属和不动杆菌属等部分致病微生物丰度被削减,说明厌氧消化能有效降低畜禽粪污对环境污染风险。

参考文献:

- [1] 王铁灵. 畜禽养殖污染的有效治理策略[J]. 中国畜牧业, 2016(21): 38 - 40.
- [2] 鱼鹏, 杨婷. 农村畜禽养殖环境污染现状及治理对策[J]. 吉林畜牧兽医, 2022, 43(01): 103 - 104.
- [3] 王昌海. 论我国经济发达地区农村经济绿色发展转型——以北京地区为例[J]. 技术经济, 2021, 40(04): 87 - 93.
- [4] Gulsen Akbay H E, Dizge N, Kumbur H. Enhancing biogas production of anaerobic co-digestion of industrial waste and municipal sewage sludge with mechanical, chemical, thermal, and hybrid pretreatment[J]. Biore-source Technology, 2021, 340: 125688.
- [5] Boni M R, Poletini A, Pomi R, et al. Effect of ultrasonic post-treatment on anaerobic digestion of lignocellulosic

- waste [J]. *Waste Management Research*, 2020.
- [6] Poddar B J, Nakhate S P, Gupta R K, et al. A comprehensive review on the pretreatment of lignocellulosic wastes for improved biogas production by anaerobic digestion [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2022, 19(4): 3429–3456.
- [7] Chu X, Cheng Q, Xu Y, et al. Anaerobic digestion of corn straw pretreated by ultrasonic combined with aerobic hydrolysis [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 341: 125826.
- [8] 冯磊, Raninger B, 李润东, 等. 牛粪和厨余垃圾联合厌氧消化试验 [J]. *生态与农村环境学报*, 2008(03): 81–85.
- [9] Modi A, Vai S, Caramelli D, et al. The Illumina Sequencing Protocol and the NovaSeq 6000 System [A]. A. Mengoni, G. Bacci, M. Fondi. *Bacterial Pangenomics: Methods and Protocols* [M]. New York, NY: Springer US, 2021: 15–42.
- [10] Motte J-C, Escudié R, Bernet N, et al. Dynamic effect of total solid content, low substrate/inoculum ratio and particle size on solid-state anaerobic digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 144: 141–148.
- [11] Wood D E, Salzberg S L. Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments [J]. *Genome Biology*, 2014, 15(3): R46.
- [12] 杨铭伟. 超声振动时效消除残余应力机理分析及试验研究 [D]. 太原: 太原理工大学, 2015.
- [13] 牛希, 史乾坤, 赵城彬, 等. 超声改性对燕麦膳食纤维理化性质及结构的影响 [J]. *食品科学*, 2020, 41(23): 130–136.
- [14] André A C, Debande L, Marteyn B S. The selective advantage of facultative anaerobes relies on their unique ability to cope with changing oxygen levels during infection [J]. *Cellular Microbiology*, 2021, 23(8): e13338.
- [15] 张晓娜. 超声—热水解破解污泥厌氧消化有机物释放及减量化研究 [D]. 上海: 华东师范大学, 2016.
- [16] Xie S, Li X, Wang C, et al. Enhanced anaerobic digestion of primary sludge with additives: Performance and mechanisms [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 316: 123970.
- [17] 朱兆静, 潘虎, 郭俊, 等. 纤维小体结构及其功能的研究进展 [J]. *江苏农业科学*, 2018, 46(19): 12–16.
- [18] 冯磊, 李润东. 超声波预处理对牛粪厌氧消化的影响 [J]. *环境污染与防治*, 2012, 34(07): 40–44.
- [19] Yang S, Li L, Peng X, et al. Methanogen Community Dynamics and Methanogenic Function Response to Solid Waste Decomposition [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12.
- [20] Song W, Wang X, Gu J, et al. Effects of different swine manure to wheat straw ratios on antibiotic resistance genes and the microbial community structure during anaerobic digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 231: 1–8.
- [21] Pancza B, Szathmáry M, Gyurjún I, et al. A rapid and efficient DNA isolation method for qPCR-based detection of pathogenic and spoilage bacteria in milk [J]. *Food Control*, 2021, 130: 108236.
- [22] Speirs L B M, Rice D T F, Petrovski S, et al. The Phylogeny, Biodiversity, and Ecology of the Chloroflexi in Activated Sludge [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10.
- [23] Wójcik-Fatla A, Mackiewicz B, Sawczyn-Domańska A, et al. Timber-colonizing gram-negative bacteria as potential causative agents of respiratory diseases in woodworkers [J]. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 2022, 95(6): 1179–1193.
- [24] Pan X, Lv N, Li C, et al. Impact of nano zero valent iron on tetracycline degradation and microbial community succession during anaerobic digestion [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 359: 662–671.
- [25] Grabowski A, Tindall B J, Bardin V, et al. *Petrimonas sulfuriphila* gen. nov., sp. nov., a mesophilic fermentative bacterium isolated from a biodegraded oil reservoir [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *Microbiology Society*, 55(3): 1113–1121.