

生物强化在厌氧发酵过程中的应用进展^{*}

吴树彪¹ 李颖^{2,3} 董仁杰¹ 袁振宏³ 孙永明³ 孔晓英³

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193;

3. 中国科学院广州能源研究所生物质能生化转化实验室, 广州 510640)

摘要: 从生物强化作用机理、作用效果及影响因素等方面对国内外生物强化在沼气发酵过程中的研究进行了归纳与总结,表明生物强化在厌氧发酵的原料预处理、系统启动、产气等方面均具有促进作用,可提高系统的产气效率,但多数研究为实验室规模的批式发酵,生物强化的功能菌在发酵系统中的适应能力及稳定性是限制该技术实际应用的关键问题,需揭示投加的功能菌与系统土著微生物间的相互作用机制,研制性能稳定、适应性强的功能菌剂,寻求更佳生物强化作用方式、建立强化效果的评价标准,才能使生物强化技术在实际工程中得到广泛应用。

关键词: 厌氧发酵 生物强化 沼气 预处理

中图分类号: TK6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)05-0145-10

引言

能源供给与环境保护是当今世界的两大热点问题。世界经济社会发展的同时,工业、农业、林业等领域产生了大量的有机废弃物,仅中国轻工业废水废渣达10亿t、养殖粪便30亿t、农作物秸秆8亿t、林业剩余物7760万t、城市生活垃圾1.5亿t、干污泥510万t^[1]。若污染物不进行有效治理,将对环境产生严重污染。在此背景下,既能处理有机废弃物,降低污染,又能获取能源的沼气技术得到了较快的发展。沼气规模类型多样,从小型、中型到大型;发酵原料更多元化,从污泥废水、农林废弃物、家畜粪便到城市有机垃圾、餐厨垃圾、能源作物、微藻等;沼气的利用更加注重高品位,从简单的直接燃烧、发电供热到提纯车用。虽然,目前沼气已达到产业化水平,但是,在提高沼气发酵效率和降低运行成本方面,还存在启动缓慢、底物利用不充分、产气效率低、酸抑制、氨抑制等一系列问题尚待进一步解决。针对这些问题,通常的解决方法是宏观上优化运行参数,包括:加大接种量缩短启动时间;减少有机负荷避免酸化;增加水力停留时间使底物降解更充分。随着生物强化技术在污水处理^[2-5]及土壤修复^[6-7]的广泛应用,人们考虑将此技术应用在厌氧发酵产沼气的上,尝试能否从微观上更好地解决厌氧发酵存在的问题。生物强化(Bioaugmentation)是指为提高

系统某种能力或活性,向系统中投加特定功能微生物的方法^[8]。目前,针对沼气发酵存在问题的生物强化已进行了一些研究,包括加快发酵系统启动时间^[9]、增加原料利用率、缩短酸败系统的恢复时间、降低毒性物质的抑制作用^[10]等。关于生物强化在污水处理及土壤修复的研究已有很多文章进行了综述^[11-12],而其在厌氧发酵产沼气的研究的综述甚少。因此,本文针对农林废弃物、城市固体废弃物、家畜粪便等为底物的厌氧发酵过程中的生物强化,重点阐述生物强化过程及作用效果,并综合分析目前生物强化技术存在的问题及相应的解决方案,为此后开展生物强化的相关实验研究提供参考。

1 生物强化的作用机理

沼气发酵过程包括水解发酵、产氢产乙酸及产甲烷3个阶段^[13],生物强化是针对发酵系统的某一阶段的限速步骤,人为的投加具有某种特定功能的微生物菌(群),使发酵系统更高效。各类型功能菌在厌氧发酵过程中的生物强化作用机理可总体归纳为:通过添加相应的功能菌,加速或加大对某种限制发酵效率的底物的利用,从而提高系统的发酵效率。如:针对复杂原料的水解环节,添加纤维素水解菌、脂类水解菌、蛋白质水解菌等功能菌,提高纤维素、脂类、蛋白质等发酵原料的水解率,为后续发酵提供更多的发酵底物,进而强化发酵系统产气;针对发酵

收稿日期: 2014-02-13 修回日期: 2014-03-06

^{*}“十二五”国家科技支撑计划资助项目(2012BAD14B03, 2012BAD47B00)

作者简介: 吴树彪, 讲师, 博士, 主要从事生物质能源工程与低碳技术研究, E-mail: wushubiao@gmail.com

通讯作者: 董仁杰, 教授, 博士生导师, 主要从事生物质能源工程与低碳技术研究, E-mail: rjdong@cau.edu.cn

系统的产氢产乙酸环节,添加产氢菌,一方面,促进水解阶段的产物有机酸等生成更多的氢气和乙酸,增加产甲烷菌的底物,另一方面,有机酸的不断分解,使水解发酵阶段的大分子有机物的水解反应向正向进行,从而提高发酵效率;针对产甲烷环节,添加产甲烷(氢营养型、乙酸营养型)菌,促进氢气及乙酸的利用,提高产甲烷能力,此外,氢营养型产甲烷菌消耗氢气,利于系统保持低的氢分压,低氢分压则有利于挥发性脂肪酸的降解,侧面促进发酵进程。

需要说明的是上文所述的作用机理是较理想地从所添加的功能菌的角度,简单地分析其代谢的底物与产物得出的论断,而发酵系统中土著微生物对添加的功能菌的作用未纳入分析,此方面的作用机理尚待深入揭示。

除常规的强化发酵系统产气外,生物强化也被应用在诸如低温、低 pH 值、高有机负荷、高氨氮等特殊的发酵体系中,相关的作用机理将在后文中的相应部分进行阐述。

2 木质纤维素原料降解的生物强化

农林废弃物、家畜粪便、城市固体有机垃圾等是厌氧发酵产沼气广泛应用的原料,这些原料的固体成分中含有木质纤维素。木质纤维素由纤维素、木

质素及半纤维素组成,木质素与半纤维素以共价键形式结合,纤维素分子则被包裹其中,结构坚固难降解。提高木质纤维素的降解率对于提高甲烷产量及节约沼气的成本至关重要^[14]。针对木质纤维素类的发酵原料,通常采用物理、化学及生物预处理的方法使木质纤维素得到有效降解,与物理、化学方法相比,生物预处理方法条件温和,成本低。国内外已有大量的实验表明,采用已分离的纯培养的单菌或复合菌群的生物预处理可有效提高厌氧发酵系统的产气效率。由于木质纤维素原料的生物预处理可视为厌氧发酵产沼气的水解产酸过程,故本文将木质纤维素原料的生物预处理纳入生物强化的范围进行论述。

2.1 单菌对木质纤维素原料降解的生物强化

已发现具有纤维素降解能力的微生物主要有真菌、细菌、放线菌等,好氧真菌及多数好氧细菌分泌胞外的游离纤维素复合酶降解木质纤维素,在微生物衰亡后,游离的纤维素酶仍可发挥作用;厌氧细菌合成的纤维素酶则粘附在细菌细胞壁上,需吸附在原料上才发挥作用。单菌与复合菌群相比,易培养,易保存,且便于在生物强化过程中进行监测,因此,采用纯培养的单菌强化木质纤维素原料水解是较普遍的方式(表 1)。

表 1 单菌对木质纤维素原料降解的生物强化

Tab. 1 Bioaugmentation of lignocellulosic feedstocks degradation with pure strains						
菌种分类	菌名	原料	预处理条件	发酵工艺	强化效果	文献
真菌	<i>Pleurotus florida</i>	玉米秸秆	60 d	批次 35℃	提高沼气产量 194.49% ^a	[15]
真菌	<i>Phanerochaete</i>	玉米秸秆	28℃, 16 d	批次 (35±2)℃	提高产甲烷率 29.2%	[16]
	<i>Chrysosporium</i>					
真菌	<i>Phanerochaete</i>	稻草秸秆	室温, 21 d	批次 30℃	提高产气量 34.73% / 21.12%, 提高甲烷产量 46.19% / 31.94%	[17]
	<i>Chrysosporiu</i> / <i>Polyporus ostreiformis</i>					
真菌	<i>Pleurotus sajor-caju</i>	稻草秸秆/瓜尔胶	40 d	批次 37℃	提高产气得率 54% / 52%	[18]
真菌	<i>Orpinomyces</i> sp.	能源作物	未预处理, 功能菌直接投加	批次/分批补料/半连续 (39±10)℃	提高沼气产率 4% ~ 22%	[19]
	<i>Anaeromyces</i> sp.					
真菌	<i>Piromyces</i> sp.	剑麻叶渣	(28±2)℃, 5 d	批次 (28±2)℃	提高产甲烷率 30% ~ 101%	[20]
	<i>Trichoderma reesei</i>					
真菌	<i>Sporotrichum</i> sp. ,	橙橘制品渣	30℃, 4 d	半连续 30℃	负荷率由 4% 提高到 8% ~ 10%, 提高累积产气率及甲烷产率。	[21]
	<i>Aspergillus</i> sp. ,					
	<i>Fusarium</i> sp.					
细菌	半纤维素降解菌 B4	牛粪	70℃, 7 d	批次 55℃	提高总产气量, 提高甲烷产量 30%	[22]
细菌	<i>Caldicellusiruptor</i>	牛粪及其分离组分/牛粪	未预处理, 功能菌直接投加	批次/连续全混式 (CSTR) 两段 68℃ 55℃	提高甲烷得率 10% ~ 24% / 提高甲烷得率 93%	[14]
	<i>lactoaceticus Dictyoglomus</i> / <i>C. lactoaceticu</i>					
细菌	<i>Clostridium cellulolyticum</i>	家禽垃圾	37℃	批次 37℃	累积甲烷产量提高 15%	[23]
细菌	<i>Clostridium thermocellum</i>	微藻	未预处理, 功能菌直接投加	批次 55℃	提高甲烷得率 17% ~ 24%	[24]
放线菌 ^b	纤维素降解菌 F2	玉米秸秆	10 d	批次 35℃	提前产气高峰 2 d, 提高产气量	[25]

注: a 为根据文献计算的数值; b 为根据 F2 的培养基推断。

从表 1 可以看出,纯培养的单菌的生物强化已在秸秆、家畜粪便、工业废渣等木质纤维原料的降解过程中进行了研究。对于秸秆、能源作物等天然木质纤维素原料,多采取预处理的方式;而家禽粪便等原料,多在发酵系统启动阶段直接投加强化菌种,以减免家禽粪便固液分离步骤。通过对比功能菌添加与否对发酵系统总产气量、产气率的影响等发现,添加纤维素降解菌可提高系统的发酵效率,这是由于投加纤维素降解菌后,木质纤维原料水解率增大,为后续甲烷发酵提供了更多的可溶性糖、挥发性有机酸等底物^[17]。但有研究发现,虽然木质纤维素降解菌的投加提高了原料的水解率,但对产气强化效果不明显,如嗜热细菌 *C. thermocellum* 及 *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* 高温强化发酵家禽粪便,原料水解率提高到 74%,但甲烷的产量并没有显著增大,作者分析是由于中温的产甲烷菌在高温条件下活性降低,未能及时利用水解产物,挥发性有机酸(VFA)的累积抑制了产甲烷^[23]。因此,纤维

素水解的生物强化中,应充分发挥纤维素水解菌与产甲烷的协同代谢作用,避免 VFA 的累积。

2.2 复合菌群对木质纤维素原料降解的生物强化

除纯培养的单菌外,微生物复合菌系也被广泛应用于木质纤维素原料的水解强化。成功的复合菌系主要是通过特定条件下的多代驯化与筛选来获得,菌系的群落组成复杂,人工组配的复合菌系效果欠佳,鲜有成功的案例。目前,有些复合菌系已制成商业产品,如绿秸灵、腐秆灵等。复合菌系具有较强的木质纤维素降解能力,对原料的作用效果主要表现在分解木质纤维素的各组分,产生大量对后续甲烷发酵有利的乙酸、丁酸等挥发性有机酸^[26];改变原料的碳氮比,使其更接近最佳碳氮比 20:1~30:1^[27];破坏原料中木质纤维素的物理结构,使秸秆能更好地被发酵体系中微生物代谢利用^[28]等。微生物复合菌系对木质纤维素原料的生物强化效果主要包括:提高产气量、产气率、甲烷含量,提前产气时间等(表 2)。

表 2 复合菌对木质纤维素原料降解的生物强化
Tab. 2 Bioaugmentation of lignocellulosic feedstocks degradation with composite microbial community

复合菌名及来源	原料	预处理条件	发酵工艺	强化效果	文献
MC1 ^a	玉米秸秆	55℃,4 d	批式,35℃	提高总产气量 33.0%,提高总甲烷量 58.1%,提前产气高峰 10 d	[26]
复合菌剂 ^b	玉米秸秆	15 d	批式,20℃	提高总产气得率 33.07%,提高甲烷产量 75.57%,缩短系统发酵时间 34.6%	[29]
绿秸灵	玉米秸秆/麦秆	10 d	15~25℃	提高总产气量 16%/12%,提高甲烷含量 13%/8%	[30]
复合菌剂 ^c	玉米秸秆/麦秆/麦秆+猪粪	4 d	批式/户用沼气池/户用沼气池	提高总产气量 29.54%/33.65%/39.31%,提高甲烷含量	[28]
复合菌剂 ^d	玉米秸秆/麦秆/稻草秸秆	30℃,3 d	批式 35℃	提高总产气量 12.33%/16.08%/15.78%,提高甲烷产量 23.4%/38.9%/23.9%,提高甲烷含量 9.22%/12.68%/9.11%	[27]
绿秸灵/腐秆灵	麦秆	50℃,3 d	户用沼气池	提高平均产沼气量 38.33%,提高甲烷含量,缩短启动时间约 4 d	[31]
复合菌剂 ^e	麦秆	10 d	35℃	提高总产气量 44.25%,提高甲烷含量 22.91%*,提高产甲烷率 44.13%*	[32]
BYND-5 ^f	稻草秸秆	30℃,10 d	批式,30℃	提高总产气量 9.3%,提高甲烷含量 10.0%~20%	[33]
BYND-8 ^f	稻草秸秆	30℃,10 d	批式,30℃	提高累积产气量 44.5%,提高累积甲烷产量 95.3%,提前产气高峰期 8 d	[34]
MEG ^g	棉秆	7 d	批式,(35±2)℃	提高总产气量 25%	[35]
混合菌剂 ^h	油菜秸秆	30℃,11 d	批式	提高日产气量 37.6%,提高累积产气量 17.8%	[36]
纤维素降解菌群 ⁱ	木薯渣	55℃,12 h	批式,55℃	提高甲烷得率 96.63%	[37]
MC1 ^a	滤纸/办公用纸/报纸/纸箱	50℃,7 d	批式,35℃	提高甲烷得率 33.2%/34.1%/156.0%/140.6%	[38]
纤维素降解菌剂 ^j	玉米加工剩余物	37~40℃	批式,37~40℃	提高甲烷累积产率 34%	[39]
半纤维素水解菌 ^k	木聚糖	未预处理,功能菌直接投加	批式,35℃	提高甲烷得率 53%	[40]
微生物促进剂 GF ^l	猪粪+稻草	未预处理,功能菌直接投加	7 m ³ 沼气池	提高产沼气量 42.3%	[41]
CN6 ^m	牛粪	未预处理,功能菌直接投加	批式,(36±1)℃	提高沼气总产量 18.4%	[42]

注:a 为中国农业大学;b 为中国石油大学;c 为北京合百意生态能源科技开发公司;d 为西安工程大学;e 为陕西省循环农业工程技术研究中心;f 为黑龙江八一农垦大学;g 为华中科技大学;h 为中国农业科学院油料作物研究所;i 为江南大学;j 为 Phylein Inc 公司;k 为格拉茨技术大学;l 为江西省赣州市丰源生物技术开发公司;m 为中国农业大学及河北省科学院生物研究所;* 为根据文献计算的数值。

从表 2 中可以看出,纤维素降解复合菌系的研制及其生物强化的应用主要集中在国内,多为实验室批次发酵实验,但也有个别实际应用的成功案例,如经商业菌剂绿秸灵、腐秆灵预处理的秸秆,在 8 m³ 户用沼气池中发酵,缩短沼气池的启动时间,提高了沼气产气量和产甲烷量^[31];具有较强分解纤维素能力的 GF 促进剂可直接投放到沼气池中,能使猪粪沼气池的沼气产量增加 40% 左右,此外,该菌剂也可用于冬季低温条件下的沼气池中。

对比单菌的预处理时间及强化效果发现,复合菌系的预处理耗时更少,意味着相同时间内复合菌的生物强化效果优于单菌,尤其是缩短发酵时间方面,可降低沼气工程的运行成本。复合菌系的复杂微生物构成是其生物强化效果优于单菌的关键,已筛选的大部分复合菌系不仅包括纤维素分解菌,还有发酵产酸细菌及产甲烷菌,是一个多种类型功能菌协同作用的有机整体,投加后表现出高效的生物强化能力。

2.3 木质纤维素原料水解生物强化的影响因素

预处理的时间是木质纤维素原料水解的生物强化的重要影响因素,影响水解产物的 COD、pH 值及产物组分等,而这些因素又制约着后续的发酵过程。预处理时间过短或过长均会导致甲烷产率的降低。预处理时间过短,水解酶活低,原料中的不溶性物质不能充分水解,预处理时间过长,可供后续发酵的物质减少,最终都导致甲烷产率降低。有研究表明,水

解产物的可溶 COD 达到最大值时,相应的甲烷得率最大,是最佳的预处理时间,而总挥发性有机酸(TVFAs)含量最高的预处理产物并不能得到最大的甲烷得率,TVFAs 的浓度高,说明更多的溶解性有机物被混合菌降解,剩余的可供发酵的产物相对减少^[37],另一方面,高浓度的有机酸,尤其是丙酸被证明对产甲烷有抑制作用^[43]。因此,经预处理后产物组分中有利于后续发酵的中间产物含量多,不利于后续发酵的产物含量少,是比较理想的复合菌系,如纸张经复合菌系 MC1 预处理后^[38],主要产物是乙醇、乙酸、丙酸、丁酸和甘油,而对后续发酵有抑制作用的丙酸含量较其他产物少。此外,为了避免发酵体系酸败,通过控制预处理的时间,保证预处理产物的 pH 值在 6.8 ~ 7.2 之间,更适于厌氧发酵细菌、产甲烷菌的生长及后续厌氧发酵。

3 产氢菌及产甲烷菌的生物强化

如前文所述产氢菌及产甲烷菌是分别针对沼气发酵过程的产氢产乙酸及产甲烷环节所添加的强化菌,以提高系统的产气效率。产氢产乙酸阶段处于沼气厌氧发酵进程的中间环节,与源头的原料水解反应相比,该环节的反应复杂,难以控制及检测,生物强化较难成功实施;产甲烷阶段与水解阶段相比,反应相对容易,对生物强化的需求相对较弱,因此投加产氢菌及产甲烷菌的生物强化的研究相对较少(表 3)。

表 3 产氢菌及产甲烷菌对产沼气的生物强化					
Tab.3 Bioaugmentation of biogas production with hydrogen producing bacteria and methanogens					
类型	功能菌名	原料	发酵工艺	强化效果	文献
产氢菌	<i>C. saccharolyticus</i>	猪粪	半连续, (55±0.5)℃	提高沼气产气量 160%~170%,沼气各组分比例明显变化	[44]
产氢菌	<i>C. saccharolyticus</i> / <i>Enterobacter Cloacae</i>	猪粪+甜高粱	CSTR,55℃/37℃	提高沼气产率	[45]
产氢菌	<i>Clostridium sp.</i> WY-1 <i>Clostridium sp.</i> WW-5	猪粪	批次,30℃	提高甲烷总产量 3%~11%,提高沼气总产量,甲烷浓度无明显提高	[46]
产氢菌	<i>Clostridium sp.</i> 3-9	稻草	批次,40℃	缩短启动时间,提前产甲烷的时间 3 d	[47]
产氢菌群	B83/D83	葡萄糖废水	间歇,CSTR	提高产甲烷率 1.98 倍/1.11 倍	[48]
产甲烷菌群		酒糟	CSTR,37℃	提高甲烷产率	[49]

从表 3 中可以看出,产氢菌或产甲烷菌的添加可提高发酵系统的沼气产量、产气率等。值得一提的是,几项针对产氢产乙酸阶段的生物强化研究发现,投加产氢菌后,最终生成的沼气中各组分比例无明显变化,即甲烷及氢气浓度无明显增加,说明投加产氢菌并非单纯的提高氢气的生成量,产生的氢气被产甲烷菌有效利用,并使沼气各组分含量达到相应的平衡状态。有研究发现,添

加产氢菌,不仅提高了系统中产氢菌的数量,产甲烷菌的数量也有一定的提高,相当于消耗氢气的产甲烷菌也得到了数量上的强化。投加产氢菌后,丙酸、丁酸等大分子有机酸的消耗增加,生成的氢气和乙酸等可被产甲烷菌利用的底物增多,产甲烷菌数量增多,甲烷生成量提高。与此同时,大分子有机酸的不断分解,使得水解发酵阶段大分子有机物糖类等水解为有机酸的反应向正向进

行,甲烷产量提高。

产氢菌强化产沼气的重要影响因素是强化菌的投加浓度。以 *C. saccharolyticus* 强化猪粪的 5 m³ 半连续发酵实验为例^[44],投加浓度增大,沼气产率相应提高,从大到小依次为 10%、8%、4%。但是, *Clostridium sp* 强化猪粪的批式发酵实验发现^[46],并非投加的产氢菌浓度越大,强化效果越好,总产气量及甲烷产量从大到小的投加量依次为 4%、2%、8%、16%。产氢菌消耗有机酸,为产甲烷菌提供产甲烷底物:乙酸和氢气。氢气对产甲烷有双重作用,在氢气高于一定的分压时,抑制产甲烷^[50-51];若氢气能够很快被消耗,维持低的氢分压,对产甲烷有促进作用。因此,加入的产氢菌数量过多,所产生的氢气未得到及时消耗,则甲烷产量得不到提高或提高很少^[46]。

有些产氢菌具有纤维素水解活性,如嗜热产氢菌 *C. saccharolyticus*^[52]、产氢产乙酸菌 *Clostridium sp.* 3-9^[47],在厌氧发酵中表现出对纤维素原料的水解及产气的多重生物强化功能。

产甲烷菌的生物强化研究较少,其中有一项应用于产业沼气发酵的生物强化的专利^[53],即氢营养型产甲烷菌 *Methanoculleus spec* 的投加,可提高沼气产量 20%,缩短水力停留时间 2 倍。

另有研究发现,在污泥批式中温发酵实验中,投加乳酸菌 *Lactobacillus* 可提高沼气产量 67%^[54]。

4 其他生物强化作用

生物强化在复杂原料的水解、发酵系统低温运行、毒害后发酵系统重启、低 pH 值运行、耐氨抑制及应对酸抑制等方面也得到了实验研究(表 4)。

表 4 厌氧发酵中其他生物强化作用
Tab.4 Otherbioaugmentations in anaerobic digestion process

强化目的	功能菌	原料	发酵系统	强化效果	文献
增加复杂原料的利用率	<i>Clostridium lundense</i>	餐厨垃圾	批式,37℃	提高产甲烷率	[68]
	<i>Syntrophomonas zehnderi</i>	油酸盐	批式,37℃	提高甲烷产量,加快产气速度	[69]
	<i>Ferriodobacterium pennivorans</i>	鸡羽毛	批式,65℃	提高水解率 40%,未提高甲烷产量	[56]
低温运行	脂类、蛋白、碳水化合物降解菌及硝化细菌	市政有机废水	低温,12~13℃	缩短启动时间 12~15 d	[70]
应对酸抑制	丙酮酸降解菌	脱脂奶粉	有机负荷过载连续,35℃	缩短系统恢复产气时间	[63]
耐氨抑制	互营乙酸氧化菌	乳清蛋白粉	半连续,37℃	无明显强化效果	[67]
缩短系统重启时间	氢型产甲烷菌	市政工业废水	O ₂ 毒害	提高甲烷产量 25%~60%,缩短系统恢复时间	[71]
低 pH 值运行	低 pH 产甲烷菌群	废水	批式,35℃ pH 值 4.0~5.0	提高产气 10%~12%	[72]
脱硫	硫还原菌群	高含硫废水	批式,(30±2)℃	提高产气率、硫酸盐去除率提高 53%	[73]

4.1 复杂原料水解的生物强化

厌氧发酵的原料类型丰富,一些诸如鸡羽毛、餐厨垃圾、咖啡渣等复杂原料也被用于发酵产沼气。提高复杂原料的水解效率是使发酵系统高效的前提。由于羽毛中角蛋白的稳定性高及不溶性,发酵第一步角蛋白的水解较困难^[55],有实验通过添加羽毛的水解菌对此步骤进行了生物强化,但只提高了羽毛的水解率,并没有提高甲烷的产量,根据此结果推断在鸡羽毛的厌氧发酵过程中,溶解的有机物质产甲烷是限速步骤,而角蛋白的水解并不是限速步骤^[56]。脂类原料的产甲烷率高于碳水化合物和蛋白质类,被认为是较具有潜力的厌氧发酵产沼气的原料^[57]。研究表明脂类的水解阶段比较容易,即脂类水解为甘油及长链脂肪酸(LCFAs),而 LCFAs 的进一步降解是脂类发酵的关键及限速步骤^[58-59],添加利用 LCFAs 的功能菌可提高产甲烷率。真菌

Mycotypha sp. 可改变咖啡渣的高酸性,在 16 d 内将 pH 值调整到 8.4,处理后的咖啡渣更适宜厌氧发酵产甲烷^[60]。

4.2 发酵系统低温运行的生物强化

低温条件下,沼气发酵系统难以稳定运行,常出现酸败现象,因为产甲烷菌群相对于水解菌群和产酸菌群对低温更敏感,产甲烷反应活性低。多项研究发现,向发酵系统投加低温沼气发酵菌剂,沼气池可正常运行^[61]或提高产气效率^[62]。

4.3 应对酸抑制的生物强化

有机负荷过大的厌氧发酵过程常出现酸积累过多现象,导致系统酸败,通过生物强化作用加速有机酸的降解可缩短系统恢复的时间^[63],此外,对于城市有机垃圾为原料的发酵过程,添加堆肥和垃圾渗滤液的微生物,在高有机负荷冲击的情况下能起到稳定系统运行的作用^[64],因为发酵系统内氢型产甲

烷微生物的数量增加,促进了氢气的利用,低的氢分压有利于挥发性脂肪酸的降解,克服酸抑制作用。

4.4 耐氨抑制的生物强化

富含蛋白质的原料发酵过程中产生相对较高的氨,高氨氮浓度会抑制产甲烷菌的活性,尤其是乙酸发酵产甲烷菌,最终导致发酵系统不稳定,加大了发酵失败的风险^[65]。发酵系统在氨浓度较高的情况下,产甲烷途径由乙酸发酵产甲烷途径向互营乙酸氧化(Syntrophic acetate oxidation, SAO)途径转变,后者产甲烷包括两步反应,首先,乙酸在互营乙酸氧化菌(Syntrophic acetate oxidation bacteria, SAOB)的作用下生成氢气和二氧化碳,然后,在氢型产甲烷菌的作用下生成甲烷^[66]。瑞典科研人员尝试添加氨耐受的 SAO 途径的微生物,强化系统对氨抑制的耐受,结果表明,SAO 途径的微生物添加对系统产气性能没有影响^[67]。

虽然有些生物强化实验未能达到理想的效果,但是,为生物强化开辟了更多的研究方向,并为今后相关的研究提供了实验基础。综合分析,部分生物强化实验失败的主要原因是功能菌种单一,与后续的反应脱节,而厌氧发酵产沼气是一个多阶段多步骤的反应,需要多种微生物协同作用。

5 提高功能菌在系统中稳定性的投加方式

决定生物强化作用成功与否的关键问题是功能菌在系统中的能否持久稳定地发挥作用,投加的功能菌的繁殖速度必须高于其流失和被吞噬的速度,保证生物的净持有量。目前,提高功能菌稳定性的研究主要集中在投加方式的优化上,主要包括以下方面:

(1) 固定化投加:有研究发现,在连续的发酵过程中,不断地进料及原料中微生物的冲击,生物强化的功能菌逐渐被淘汰^[14],甲烷产量显著下降,投加的功能菌难以在后续的发酵中保持优势^[74]。为增加生物强化菌在反应器中稳定性并持久发挥作用,研究人员采取固定化的投加方式,功能菌的固定的形式主要有固定在沸石、海泡石^[75]等载体上,或高聚物的包埋固定。固定化投加可提高功能菌的稳定性、提高反应器的发酵效率^[76-77]。这是由于载体在功能微生物的投加初期未适应系统中的环境前可起到保护作用^[73],减少土著微生物的冲击。此外,某些载体可吸附底物,加速了生长在载体上的功能微生物的代谢物质传递^[69],某些固定化功能菌还可以反复使用^[75],节省成本。

(2) 定期多次投加:为保持功能菌在系统中的生物量并持续发挥作用,研究人员采取定期多次的

连续投加方式,并发现定期多次投加生物强化菌剂比一次投加的强化效果好,这是由于连续投加使系统形成了定向的稳定微生物群落。Ana 等^[39]利用两相反应器发酵玉米加工废弃物发现,在产酸相定期(每天一次)投加生物强化菌剂,比一次投加的原料水解率增加 22% ~ 25%,进而提高产甲烷率 15%,连续投加使系统形成了稳定的更适应以纤维素为底物的微生物菌群。

6 总结与展望

生物强化技术对厌氧发酵产沼气有明显的促进作用,但多数的成功案例仍停留在实验室规模,而且存在很多问题尚待解决。

(1) 投加的功能菌在工作系统中不能长期保证生物持有量及活性,尤其是在连续进料的发酵系统中,尽管固定化投加和周期性补加能改善这一问题,但这也增加运行成本,因此降低载体及固定化工艺的成本是需要研究的问题,此外,筛选具有自凝集能力或可吸附固定在填料的功能菌种也是提高强化菌稳定性的一个研究方向。

(2) 缺乏高效的功能菌剂产品,虽然有一些功能菌剂被筛选出来,但只在各自的实验室或小范围内研究,没有制成商业菌剂产品进行推广应用。高效、稳定的功能菌剂是生物强化的基础,也是影响强化效果的关键因素,因此,筛选更多的功能菌剂,并将其制成产品推广,丰富功能菌剂资源,对实际的工程应用有重要意义。

(3) 对于生物强化影响因素的研究较少,已进行的生物强化的实验研究大部分重点关注其作用效果,而针对生物强化技术本身的影响因素的研究较少,只限于菌种的投加方式和投加浓度^[78],缺乏功能菌的投加时刻及投加后在发酵体系中作用过程的温度、pH 值、有机负荷、停留时间等影响因素的研究。因此,结合生物强化的作用效果对强化作用的影响因素进行探讨,优化生物强化的工艺是今后的研究内容之一。

(4) 缺乏生物强化效果的评价体系,目前,生物强化实验只是在特定的条件下进行,导致实验结果具有局限性,无法做出科学的横向比较。因此,需结合强化菌种、底物、反应器类型、运行参数、效果指标及经济性等方面建立完整全面的评价标准和体系,这样才能对生物强化作用做出科学的评估与对比,便于规模化应用上的功能菌种与相关技术的选择。

(5) 投加的功能菌与土著菌间的作用机制尚待揭示,投加的功能菌在发酵系统中的作用还处于“黑匣子”状态,多数实验关注投加前的状态与投加

后的结果,而对其作用过程及机理缺乏研究,已有的相关研究多是考察投入功能菌的数量变化,利用PCR-DGGE等分子生物学手段检验功能菌是否存在,对群落的演变等表面现象进行描述,而对于表现出该种现象的内在原因,诸如功能菌投放新环境的代谢规律、功能菌与土著菌间的相互作用机制等没有深入揭示。由于厌氧发酵系统是一个开放的复杂

的生态系统,也是一个平衡的微生态环境^[79],各种微生物菌群通过互相协调营养,互相限制生长,发挥互补功能。人为投入功能菌必然打破这一平衡状态,弄清投加菌与土著菌间的作用机制、投加菌对发酵系统中生态环境的影响、投加菌对厌氧发酵代谢途径的影响是指导生物强化其他研究的理论基础,也是今后的研究难点。

参 考 文 献

- 1 李海滨,袁振宏,马晓茜. 现代生物质能利用技术[M]. 北京:化学工业出版社,2012.
- 2 Quan X C, Shi H C, Liu H, et al. Enhancement of 2,4-dichlorophenol degradation in conventional activated sludge systems bioaugmented with mixed special culture[J]. Water Research, 2004,38(1):245-253.
- 3 Ma F, Guo J B, Zhao L J, et al. Application of bioaugmentation to improve the activated sludge system into the contact oxidation system treating petrochemical wastewater[J]. Bioresource Technology, 2009,100(2):597-602.
- 4 Wang J L, Quan X C, Wu L B, et al. Bioaugmentation as a tool to enhance the removal of refractory compound in coke plant wastewater[J]. Process Biochemistry, 2002,38(5):777-781.
- 5 Park D, Lee D S, Kim Y M, et al. Bioaugmentation of cyanide-degrading microorganisms in a full-scale cokes wastewater treatment facility[J]. Bioresource Technology, 2008,99(6):2092-2096.
- 6 Grigg B C, Assaf N A, Turco R F. Removal of atrazine contamination in soil and liquid systems using bioaugmentation[J]. Pesticide Science, 1997,50(3):211-220.
- 7 Top E M, Springael D, Boon N. Catabolic mobile genetic elements and their potential use in bioaugmentation of polluted soils and waters[J]. Fems Microbiology Ecology, 2002,42(2):199-208.
- 8 Ritmann B E, Whiteman R. Bioaugmentation: a coming of age[J]. Water Quality International, 1994,1:12-16.
- 9 Saravanane R, Murthy D V, Krishnaiah K. Bioaugmentation and anaerobic treatment of pharmaceutical effluent in fluidized bed reactor[J]. Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering, 2001,36(5):779-791.
- 10 Dhouib A, Ellouz M, Aloui F, et al. Effect of bioaugmentation of activated sludge with white-rot fungi on olive mill wastewater detoxification[J]. Letters in Applied Microbiology, 2006,42(1):405-411.
- 11 李久安,周后珍,刘庆华,等. 废水生物强化处理技术研究进展[J]. 应用与环境生物学报,2011,17(2):273-279.
Li Juan, Zhou Houzhen, Liu Qinghua, et al. Progress in bioaugmentation technology research for biological treatment of wastewaters[J]. Chinese Journal of Applied Environmental Biology, 2011,17(2):273-279. (in Chinese)
- 12 熊贵刚,陈瑾,叶文衍. 生物强化技术及其在水污染治理中的应用[J]. 环境科学与管理,2013,38(4):82-86.
Xiong Guili, Chen Jin, Ye Wenyan. Bioaugmentation technology and its application in water pollution treatment [J]. Environmental Science and Management, 2013,38(4):82-86. (in Chinese)
- 13 Ferry J G. Methanogenesis-ecology, physiology, biochemistry and genetics[M]. New York: Chapman & Hall, 1993, 128-206.
- 14 Nielsen H, Mladenovska Z, Ahring B. Bioaugmentation of a two-stage thermophilic (68℃/55℃) anaerobic digestion concept for improvement of the methane yield from cattle manure[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2007,97(6):1638-1643.
- 15 Zhang Z, Qiao W, Fu P, et al. Comparison of chemical and biological pretreatment of corn straw for biogas production by anaerobic digestion[J]. Renewable Energy, 2011,36(6):1875-1879.
- 16 柳珊,吴树彪,张万钦,等. 白腐真菌预处理对玉米秸秆厌氧发酵产甲烷影响实验[J]. 农业机械学报,2013,44(增刊2):124-129,142.
Liu Shan, Wu Shubiao, Zhang Wanqin, et al. Effect of white-rot fungi pretreatment on methane production from anaerobic digestion of corn stover[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013,44(Supp. 2):124-129,142. (in Chinese)
- 17 Ghosh A, Bhattacharyya B C. Biomethanation of white rotted and brown rotted rice straw[J]. Bioprocess Engineering, 1999, 20(4):297-302.
- 18 Ragini B, Mira M, Mukhopadhyay S N. Production of biogas from residues from mushroom cultivation[J]. Biotechnology Letters, 1983,5(12):811-812.
- 19 Jindrich P, Jakub M, Lenka S, et al. Enhanced biogas yield from energy crops with rumen anaerobic fungi[J]. Engineering in Life Sciences, 2012,12(3):343-351.
- 20 Mutemi M, Anthony M M, Amelia K K. Two-stage fungal pre-treatment for improved biogas production from sisal leaf decortication residues[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2009,10(11):4805-4815.
- 21 Srilatha H R, Nand K, Sudhakar B K, et al. Fungal pretreatment of orange processing waste by solid-state fermentation for improved production of methane[J]. Process Biochemistry, 1995,30(4):327-331.

- 22 Angelidaki I, Ahring B K. Methods for increasing the biogas potential from the recalcitrant organic matter contained in manure [J]. *Water Science and Technology*, 2000,41(3):189–194.
- 23 Costa J C, Barbosa S G, Alves M M, et al. Thermochemical pre- and biological co-treatments to improve hydrolysis and methane production from poultry litter[J]. *Bioresource Technology*, 2012,111(5):141–147.
- 24 Lü F, Ji J Q, Shao L M. Bacterial bioaugmentation for improving methane and hydrogen production from microalgae[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2013,6(1):92.
- 25 牛明芬,王赛月,王昊,等. 不同堆沤处理对玉米秸秆厌氧发酵的影响[J]. *环境科学与技术*,2012,35(6):32–36.
Niu Mingfen, Wang Saiyue, Wang Hao, et al. Composting methods for anaerobic fermentation of corn stalk[J]. *Environmental Science and Technology*, 2012, 35(6):32–36. (in Chinese)
- 26 袁旭峰,高瑞芳,李培培. 复合菌系 MC1 预处理对玉米秸秆厌氧发酵产甲烷效率的提高[J]. *农业工程学报*,2011,27(9):266–270.
Yuan Xufeng, Gao Ruifang, Li Peipei. Improvement of anaerobic biogasification efficiency by pretreatment of corn straw with composite microbial system of MC1[J]. *Transactions of the CSAE*, 2011,27(9):266–270. (in Chinese)
- 27 李海红,常华,袁月祥,等. 复合菌剂预处理对秸秆厌氧发酵的影响[J]. *西北大学学报:自然科学版*,2012,42(6):979–952.
Li Haihong, Chang Hua, Yuan Yuexiang, et al. The effect of straws pretreated by microbial agent on anaerobic fermentation[J]. *Journal of Northwest University: Natural Science Edition*, 2012,42(6):979–952. (in Chinese)
- 28 闫志英,袁月祥,刘晓风. 复合菌剂预处理秸秆产沼气[J]. *四川农业大学学报*,2009,27(2):176–179.
Yan Zhiying, Yuan Yuexiang, Liu Xiaofeng. A study on biogas fermentation with straws[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2009,27(2):176–179. (in Chinese)
- 29 Zhong Weizhang, Zhang Zhongzhi, Luo Yijing. Effect of biological pretreatments in enhancing corn straw biogas production[J]. *Bioresource Technology*, 2011,102(24):11177–11182.
- 30 刘德江,邱桃玉,饶晓娟,等. 小麦、玉米秸秆不同预处理产沼气试验研究[J]. *中国沼气*,2012,30(3):34–37.
Liu Dejiang, Qiu Taoyu, Rao Xiaojuan, et al. Biogas production of wheat and corn straw with different pre-treatment[J]. *China Biogas*, 2012,30(3):34–37. (in Chinese)
- 31 黄如一,何万宁,唐和建,等. 秸秆预处理产沼气对比试验[J]. *中国沼气*,2008,26(4):24–26.
Huang Ruyi, He Wanning, Tang Hejian, et al. Straws biogas fermentation with bacterium additive pretreatment[J]. *China Biogas*, 2008,26(4):24–26. (in Chinese)
- 32 季艳敏,杨改河,尹冬雪,等. 不同预处理方法对麦秆厌氧消化产气特性的影响[J]. *西北农林科技大学学报:自然科学版*,2012,14(5):149–156.
Ji Yanmin, Yang Gaihe, Yin Dongxue, et al. Effect of different pretreatments on biogas production characteristics of anaerobic fermentation of wheat straw[J]. *Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition*, 2012,14(5):149–156. (in Chinese)
- 33 Yan Lei, Gao Yamei, Wang Yanjie. Diversity of a mesophilic lignocellulolytic microbial consortium which is useful for enhancement of biogas production[J]. *Bioresource Technology*, 2012,111:49–54.
- 34 王伟东,宋亚彬,王彦杰,等. 复合菌系 BYND-8 的种群组成及其对沼气产量的影响[J]. *环境科学*,2011,32(1):253–258.
Wang Weidong, Song Yashan, Wang Yanjie, et al. Biodiversity of mesophilic microbial community BYND-8 capability of lignocellulose degradation and its effect on biogas production[J]. *Environmental Science*, 2011,32(1):253–258. (in Chinese)
- 35 白云. 棉秆预处理及沼气发酵系统微生物群落多样性研究[D]. 武汉:华中科技大学,2009.
Bai Yun. Pretreatment of cotton stalks and microbial community diversity in biogas fermentation system[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2009. (in Chinese)
- 36 万楚筠,黄凤洪,刘睿,等. 微生物预处理油菜秸秆对提高沼气产量的影响[J]. *农业工程学报*,2010,26(6):267–271.
Wan Chuyun, Huang Fenghong, Liu Rui, et al. Effect on increasing biogas production using rape straw by microbiological pretreatment[J]. *Transactions of the CSAE*, 2010,26(6):267–271. (in Chinese)
- 37 Zhang Qinghua, He Jiang, Tian Min. Enhancement of methane production from cassava residues by biological pretreatment using a constructed microbial consortium[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(19):8899–8906.
- 38 Yuan Xufeng, Cao Yanzhuan, Li Jiajia. Effect of pretreatment by a microbial consortium on methane production of waste paper and cardboard[J]. *Bioresource Technology*, 2012,118:281–288.
- 39 Ana D. Evaluating the potential for improving anaerobic digestion of cellulosic waste via routine bioaugmentation and alkaline pretreatment[D]. Urbana: University of Illinois at Urbana-Champaign, 2012.
- 40 Weiss S, Tauber M W, Somitsch R M, et al. Enhancement of biogas production by addition of hemicellulolytic bacteria immobilized on activated zeolite[J]. *Water Research*, 2010,44(6):1970–1980.
- 41 叶发斌,赖世华,李世源,等. 产沼气微生物促进剂的研制与应用[J]. *中国沼气*,1999,17(1):28–30.
- 42 程辉彩,张丽萍,左壮,等. 复合菌系 CN6 生长特性及在沼气发酵中的应用[J]. *农业机械学报*,2013,44(5):143–153.
Cheng Huicai, Zhang Liping, Zuo Zhuang, et al. Growth characteristics of complex strains CN6 and its application in biogas

- production[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013,44(5):143–153. (in Chinese)
- 43 Wang Q, Kuninobu M, Ogawa H I, et al. Degradation of volatile fatty acids in highly efficient anaerobic digestion[J]. Biomass Bioenergy, 1999,16(6):407–416.
- 44 Bagi Z, Acs N, Balint B, et al. Biotechnological intensification of biogas production [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007,76(2):473–482.
- 45 Kovacs K, Acs L N, Kovacs E. Improvement of biogas production by bioaugmentation[J]. BioMed Research International, 2013 (2013):Article 482653:1–7.
- 46 王芳,刘晓飞,刘晓风,等. 产氢菌对沼气发酵的生物强化作用[J]. 应用与环境生物学报,2013,19(2):351–355.
Wang Fang, Liu Xiaofei, Liu Xiaofeng, et al. Biotechnological intensification of biogas fermentation biotechnological intensification of biogas fermentation by hydrogen producing bacteria by hydrogen producing bacteria [J]. Chinese Journal of Applied Environmental Biology, 2013,19(2):351–355. (in Chinese)
- 47 程林. 沼气系统生物强化及相关研究[D]. 合肥:安徽农业大学,2008.
Cheng Lin. Study on Biointensification for biogas fermentation[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2008. (in Chinese)
- 48 王硕. 产氢产乙酸优势菌群构建及其对厌氧消化系统的强化效应[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学,2009.
Wang Shuo. Construction of dominant hydrogen-producing acetogens and the bioaugmentation for developing the efficacy of anaerobic wastewater treatment system[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2009. (in Chinese)
- 49 Lalov I G, Krysteva M A, Phelouzat J L. Improvement of biogas production from vinasse via covalently immobilized methanogens [J]. Bioresource Technology, 2001,79(1), 83–85.
- 50 Bryant M P, Wolin E A, Wolin M J, et al. Methanobacillus omelianskii, a symbiotic association of two species of bacteria[J]. Archives of Microbiology, 1967,59:20–31.
- 51 Ahring B K, Westermann P, Mah R A. Hydrogen inhibition of acetate metabolism and kinetics of hydrogen consumption by *Methanosarcina thermophila* TM-1[J]. Archives of Microbiology, 1991,157:38–42.
- 52 Herbel Z, Rákhegyi G, Bagi Z, et al. Exploitation of the extremely thermophilic *Caldicellulosiruptor saccharolyticus* in hydrogen and biogas production from biomasses[J]. Environmental Technology, 2010,31(8):1017–1024.
- 53 Schmack D, Reuter M. Methanogenic microorganisms for generating biogas: WO, 2010115424[P]. 2010–10–14.
- 54 Bilanin M, Igaz D, Gosch A, et al. Influence of fermented cereal and lactic acid bacteria concentrate on sewage sludge digestion [J]. Environmental Technology, 1997,18(10):1061–1067.
- 55 Kashani A K. Application of various pretreatment methods to enhance biogas potential of waste chicken feathers[D]. Sweden: University of Borås, 2009.
- 56 Costa J C, Barbosa S G, Sousa D Z. Effects of pre-treatment and bioaugmentation strategies on the anaerobic digestion of chicken feathers[J]. Bioresource Technology, 2012,120:114–119.
- 57 Hansen K H, Ahring B K, Lutgarde R. Quantification of syntrophic fatty acid- β -oxidizing bacteria in a mesophilic biogas reactor by oligonucleotide probe hybridization[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999,65(11):4767–4774.
- 58 Masse L, Kennedy K J, Chou S P. Testing of alkaline and enzymatic hydrolysis pretreatments for fat particles in slaughterhouse wastewater[J]. Bioresource Technology, 2001,77(2):145–155.
- 59 Pereira M A, Pires O C, Mota M, et al. Anaerobic degradation of oleic acid by suspended and granular sludge: identification of palmitic acid as key intermediate[J]. Water Science Technology, 2002,45(10):139–144.
- 60 Jayachandra T, Venugopal C, Appaiah K. Utilization of phytotoxic agro waste-coffee cherry husk through pretreatment by the ascomycetes fungi *Mycotypha* for biomethanation[J]. Energy for Sustainable Development, 2011,15(1):104–108.
- 61 崔微微,杨涛. 低温沼气菌种研制成功[J]. 农村能源,2008(7):61–62.
- 62 杨鹏可,周静,胡梦,等. 偏低温沼气发酵促进剂的初步研究[J]. 酿酒科技,2008(4):101–104.
Yang Pengke, Zhou Jing, Hu Meng, et al. Research on biogas-fermentation accelerant at relatively low temperature[J]. Liquor-making Science and Technology, 2008(4):101–104. (in Chinese)
- 63 Tale V P, Maki J S, Struble C A, et al. Methanogen community structure-activity relationship and bioaugmentation of overloaded anaerobic digesters[J]. Water Research, 2011,45(16):5249–5256.
- 64 Sophia G, Mutasem E, Pascal S. Improving the stability of thermophilic anaerobic digesters treating SS-OFMSW through enrichment with compost and leachate seeds[J]. Bioresource Technology, 2013,131:53–59.
- 65 Chen Y, Cheng J J, Creamer K S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review[J]. Bioresource Technology, 2008,99 (10):4044–4064.
- 66 Zinder S H, Koch M. Non-aceticlastic methanogenesis from acetate: acetate oxidation by a thermophilic syntrophic coculture[J]. Archives of Microbiology, 1984,138:263–272.
- 67 Maria W, Lotta L, Anna S. Bioaugmentation of syntrophic acetate-oxidising culture in biogas reactors exposed to increasing levels of ammonia[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012,78(21):7619–7625.
- 68 Cirne D G, Björnsson L, Alves M, et al. Effects of bioaugmentation by an anaerobic lipolytic bacterium on anaerobic digestion of lipid-rich waste[J], Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2006,81(11):1745–1752.
- 69 Cavaleiro A J, Sousa D Z, Alves M M. Methane production from oleate: assessing the bioaugmentation potential of

Syntrophomonas zehnderi[J]. Water Research, 2010, 44 (17):4940 – 4947.

70 Guo Jingbo, Wang Jihua, Cui Di. Application of bioaugmentation in the rapid start-up and stable operation of biological processes for municipal wastewater treatment at low temperatures[J]. Bioresource Technology, 2010,101 (17):6622 – 6629.

71 Schauer-Gimenez A E, Zitomer D H, Maki J S, et al. Bioaugmentation for improved recovery of anaerobic digesters after toxicant exposure[J]. Water Research, 2010,44(12):3555 – 3564.

72 Jain S R, Mattiasson B. Acclimatization of methanogenic consortia for low pH biomethanation process[J]. Biotechnology Letters, 2001,20(8):771 – 775.

73 Mohan S V, Rao N C, Prasad K K, et al. Bioaugmentation of an anaerobic sequencing batch biofilm reactor (AnSBBR) with immobilized sulphate reducing bacteria (SRB) for the treatment of sulphate bearing chemical wastewater [J]. Process Biochemistry, 2005,40(8):2849 – 2857.

74 杨玉楠, 陈亚松, 杨敏. 利用白腐菌生物预处理强化秸秆发酵产甲烷研究[J]. 农业环境科学学报, 2007,26(5):1968 – 1972.

Yang Yunan, Chen Yasong, Yang Min. Methane production from anaerobic fermentation of straw enhanced by biological pretreatment with white-rot fungi[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2007,26(5):1968 – 1972.

75 Kumar A, Jain S R, Srsharma, C B, et al. Increased H₂ production by immobilized microorganisms [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1995,11(2):156 – 159.

76 Milan Z, Villa P, Sanchez S, et al. Effect of natural and modified zeolite addition on anaerobic digestion of piggery waste[J]. Water Science and Technology, 2003,48(6):263 – 269.

77 田沈, 杨静, 张伟, 等. 固定化甲烷八叠球菌提高甲烷化作用研究[J]. 应用与环境生物学报, 1999,5(增刊):80 – 83.

Tian Shen, Yang Jing, Zhang Wei, et al. Increasing methanization by immobilized *methanosarcina* [J]. Chinese Journal of Applied Environmental Biology, 1999,5(Supp.):80 – 83. (in Chinese)

78 刘荣厚, 吴晋锴, 武丽娟. 菌种添加量对生物预处理小麦秸秆厌氧发酵的影响[J]. 农业机械学报, 2012,43(11):147 – 151.

Liu Ronghou, Wu Jinkai, Wu Lijuan. Effects of supplement dose of microorganism in biological pretreatment of wheat straw on its characteristics of anaerobic digestion for biogas production[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012,43(11):147 – 151. (in Chinese)

79 Morris J G. The physiology of obligate anaerobiosis[J]. Advances in Microbial Physiology, 1975,12:169 – 246.

Application of Bioaugmentation in Anerobic Desgestion

Wu Shubiao¹ Li Ying^{2,3} Dong Renjie¹ Yuan Zhenhong³ Sun Yongming³ Kong Xiaoying³

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China

3. Laboratory of Biomass Bio-chemical Conversion, Guangzhou Institute of Energy Conversion, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640 ,China)

Abstract: The application of bioaugmentation techniques in anaerobic fermentation was reviewed in term of mechanisms, effects and influencing factors of the bioaugmentation process. It reveals that bioaugmentation has positive effects on anaerobic fermentation, such as in feedstock pretreatment, anaerobic digestion processes start up and biogas produce. However, most of the existing researches were conducted in laboratory scale and batch assays. The focal point of bioaugmentation process is the survival and activity of functional microorganisms in the fermentation system. There are still a series of problems that need to be solved to increase the success of bioaugmentation strategies widely using in actual engineering, such as revealing the interrelationship of the inoculated microbial culture and existing microflora, developing stable and adaptable functional microbial agents, seeking better ways of bioaugmentation performance, establishing evaluation criteria of the bioaugmentation effects.

Key words: Anaerobic fermentation Bioaugmentation Biogas Pretreatment