



文章栏目：固体废物处理与资源化

DOI 10.12030/j.cjee.201908046

中图分类号 X703

文献标识码 A

于亚梅, 沈雁文, 朱南文, 等. 生物炭和石墨的电化学性质对剩余污泥厌氧消化产甲烷的影响[J]. 环境工程学报, 2020, 14(3): 807-820.

YU Yamei, SHEN Yanwen, ZHU Nanwen, et al. Effect of electrochemical properties of biochar and graphite on methane production in anaerobic digestion of excess activated sludge[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(3): 807-820.

## 生物炭和石墨的电化学性质对剩余污泥厌氧消化产甲烷的影响

于亚梅<sup>1</sup>, 沈雁文<sup>1,\*</sup>, 朱南文<sup>1,2</sup>, 袁海平<sup>1</sup>, 楼紫阳<sup>1</sup>

1. 上海交通大学环境科学与工程学院, 上海 200240

2. 上海污染控制与生态安全研究院, 上海 200092

第一作者: 于亚梅(1995—), 女, 硕士研究生。研究方向: 污泥厌氧消化技术。E-mail: 18861825069@163.com

\*通信作者: 沈雁文(1985—), 女, 博士, 副教授。研究方向: 污泥资源化。E-mail: yanwenshen@sjtu.edu.cn

**摘要** 以玉米秸秆为原料, 分别在 300、500 和 700 °C 的条件下热解制备生物炭 (CS300、CS500、CS700), 对其理化性质 (pH、比表面积、灰分含量、元素组成) 和电化学性质 (电子供给能力 (EDC)、电子接受能力 (EAC)、导电率 (EC)) 进行了表征, 并将 3 种生物炭和导电型石墨分别加入消化反应器进行污泥中温厌氧消化批次实验。结果表明: CS300 具有最高的 EDC (0.598 mmol·g<sup>-1</sup>), CS700 具有最高的 EAC (0.740 mmol·g<sup>-1</sup>), 石墨的导电性最强 (2.0×10<sup>4</sup> S·m<sup>-1</sup>); 4 种碳材料对污泥厌氧消化产甲烷均有促进作用, CS300、石墨、CS500 和 CS700 实验组的甲烷累积总产量比对照组分别提高了 42.4%、38.9%、28.9% 和 11.2%。微生物群落结构分析结果表明: 甲烷生成的主要代谢途径是 CO<sub>2</sub> 还原代谢途径; 3 种生物炭材料均提高了 *Methanosarcina* 等氢营养型产甲烷古菌的相对丰度, CS300 的富集能力最强, 石墨的影响作用则不显著。冗余分析结果表明: 4 种碳材料的电化学性质对厌氧细菌群落组成变化的贡献度为 52.7%, 对厌氧古菌群落组成变化的贡献度为 64.4%; 具有氧化还原活性的生物炭通过反复供给、接受电子大幅增加体系中微生物可用电子数量来提高互养微生物种间电子传递效率; 而导电性能优秀的石墨则主要通过促进微生物的直接电子传递来提高甲烷产率。研究为解析具有电化学活性的碳材料对厌氧微生物菌群代谢特征和电子传递的影响规律提供了一定的理论支撑, 对提高污泥厌氧消化效率、实现能源高效回收具有重要理论价值和现实意义。

**关键词** 生物炭; 石墨; 电化学性质; 剩余污泥; 厌氧消化; 产甲烷; 微生物种间电子传递

近 10 年来, 我国的污水处理能力得到巨大提升, 截至 2018 年底, 我国建成运行的城镇污水处理厂处理能力已达 1.95×10<sup>8</sup> m<sup>3</sup>·d<sup>-1</sup>[1]。由于我国城镇污水处理厂普遍采用传统活性污泥法工艺, 随之产生的副产物——污泥的产量也急剧增加, 目前, 我国市政污泥年产量已超过 4×10<sup>7</sup> t<sup>[1-2]</sup>(含水率 80%), 因此, 污泥的有效处理处置已成为亟待解决的问题。厌氧消化作为污泥减量化、稳定化和资源化的重要技术, 在能源回收方面具有优势[3-4]。然而, 由于停留时间较长、产甲烷速率较低等问题, 污泥厌氧消化的实际应用效率仍有待提高。

收稿日期: 2019-08-08; 录用日期: 2019-10-23

基金项目: 上海市浦江人才计划 (18PJ1406300); 国家自然科学基金资助项目 (21876110)

有研究表明,添加导电碳材料可显著提高有机物厌氧消化的甲烷产率。MUMME等<sup>[5]</sup>发现生物炭能有效缓解有机垃圾厌氧消化过程中的氨胁迫效应。WATANABE等<sup>[6]</sup>发现生物炭可加速废甘油厌氧消化产甲烷速率。已有研究<sup>[7]</sup>表明,生物炭能在其孔隙中定植甲烷八叠球菌和甲烷鬃菌,从而提高了VFAs的代谢转化速率。还有研究<sup>[8-11]</sup>表明,具有电化学生活性的活性炭或生物炭可促进微生物直接种间电子传递(direct interspecies electron transfer, DIET),从而加速了产甲烷的过程。污泥的厌氧消化本质上是微生物在厌氧环境中逐步降解代谢有机物的生物化学过程,多糖、蛋白质和脂类等大分子有机物经水解、发酵后产生挥发性脂肪酸(VFAs),VFAs的代谢转化则需依靠厌氧细菌和产甲烷古菌之间的微生物种间电子传递来克服热力学能量壁垒<sup>[12-14]</sup>。因此,如何提高微生物种间电子传递效率,进而加速产甲烷反应,是强化污泥厌氧消化亟待解决的关键问题。然而,拥有不同电化学生质的导电碳材料如何影响污泥厌氧消化产甲烷过程,其作用机制仍有待进一步的探究。

碳材料的电化学生质主要包括电子供给能力(electron donating capacity, EDC)、电子接受能力(electron accepting capacity, EAC)和导电性(electrical conductivity, EC)<sup>[15]</sup>。EDC和EAC通常反映了碳材料表面具有氧化还原活性的官能团的数量,而EC则与碳材料内部的芳构化片层结构数量呈正比,反映的是其转移电子的能力<sup>[14-15]</sup>。通常,在较低热解温度条件下制备的生物炭表面具有数量较多的官能团,而石墨等高度芳构化的碳材料的导电性则较好<sup>[15]</sup>。

本研究以玉米秸秆为原料,在热解温度为300、500和700℃的条件下制备了3种具有不同电化学生质的生物炭(CS300、CS500和CS700),在厌氧消化批次实验中分别添加3种生物炭和导电型石墨(graphite),考察了不同电化学生质的生物炭和石墨对污泥厌氧消化过程的影响,通过建立电化学生质-污泥甲烷产率之间的相关性以及对体系微生物群落结构变化的分析,揭示了其影响机制,可为提高污泥厌氧消化甲烷产率以及具有电化学生质的导电碳材料在厌氧消化工艺中的实际应用提供一定的理论支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

生物炭由玉米秸秆在厌氧环境中慢速热解制成,制备方法如下:玉米秸秆烘干后破碎过筛,选择粒径为0.1~0.5 mm的颗粒。热解开始前,向马弗炉中通氮气(纯度99.99%,流量300 mL·min<sup>-1</sup>)15 min,然后将盛有玉米秸秆颗粒的坩埚置于马弗炉中热解2 h,期间保持氮气吹扫,热解温度分别设置为300、500和700℃。制得生物炭后,用去离子水洗涤,过滤后于60℃下烘干以备用,这3种碳材料分别记为CS300、CS500和CS700。导电型石墨为工业级产品(Sigma-Aldrich,美国)。

厌氧消化批次实验的底物为市政污水处理厂的剩余污泥,取自上海市闵行第2污水处理厂的二沉池,经由孔径1 mm的钢筛过滤去除大颗粒杂质,静置24 h后,弃去上清液,将其保存在4℃冰箱中备用。总固体含量(TS)为3.42%,挥发性固体(VS)为2.01%,总化学需氧量(TCOD)为20 743 mg·L<sup>-1</sup>,可溶性化学需氧量(SCOD)为850.4 mg·L<sup>-1</sup>,氨氮(TAN)和总碱度(TA)分别为180.8 mg·L<sup>-1</sup>和880.6 mg·L<sup>-1</sup>。接种污泥取自实验室连续运行的剩余污泥中温厌氧消化反应装置,其中TS为2.09%,VS为1.09%。

### 1.2 实验设计

采用批次实验,以2 L血清瓶为厌氧消化反应器,单个反应器工作体积为1.5 L。设置污泥厌氧消化实验与空白对照实验共10组(表1),每组设置3个平行,各组接种比例(接种物/底物,按TS计)均为20%。生物炭和石墨的投加量设为每1 g总固体投加1 g生物炭或石墨,根据前期预实验结果<sup>[16]</sup>,该投加量时取得的污泥厌氧消化甲烷产率最高,同时不影响污泥厌氧消化反应器的机

械运行, 因此, 在本实验中继续采用该投加剂量。在对照实验中, 使用与消化实验中底物等体积的去离子水, 其目的是为了测定生物炭或石墨可能会被微生物降解产生的沼气的量。在加入相应的材料后, 使用氮气(纯度 99.99%)对反应器内部吹脱 5 min 以保证厌氧环境, 结束后, 密封所有反应器。反应器顶空排气口接至 MultiTalent 203 全自动甲烷潜力测试系统(Nova Skantek, 瑞典), 该平台采用经典排水法测量气体体积, 测量分辨率为 3~5 mL。实验期间, 反应器置于恒温(37 °C)水浴中, 搅拌速率为 120 r·min<sup>-1</sup>。每 24 h 记录 1 次产气量, 直到日产气体积低于累积产气体积的 1%<sup>[17]</sup> 为止。待消化实验终止, 依次从消化实验组的反应器中提取消化污泥各 1 mL, 并将各实验组的样品混合后进行微生物群落结构分析。

### 1.3 分析方法

采用场发射扫描电镜(Sirion 200, 美国)观察 4 种碳材料表面形态结构。利用快速表面积和孔隙分析仪(Quantachrome, 美国)表征 BET 比表面积。样品在 130 °C、真空条件下脱气 6 h, 清除原料表面吸附的物质, 以 99.999% 的 N<sub>2</sub> 为吸附质, 液氮温度 77 K 时测定吸附-脱附等温线, 饱和蒸汽压为 1.036 0×10<sup>5</sup> Pa, P/P<sub>0</sub> 取点在 0.05~0.35。

碳材料的 pH 测定采用固液混合法, 碳材料与去离子水按 1:10(g:mL) 比例混合, 混合液于 37 °C、150 r·min<sup>-1</sup> 下振荡 24 h 后, 用 pH 电极(Mettler-Toledo, 瑞士)测定 pH。碳材料的灰分含量参照《木炭和木炭实验方法》(GB/T 17664-1999) 进行测定, 并使用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)分析其灰分组成。采用元素分析仪(Vario Macro Cube, 德国)测定 C、H、O 的元素含量。碳基材料的 EDC 和 EAC 分别采用介导性电化学氧化和还原实验法<sup>[15]</sup>测得, EC 则采用四探针法<sup>[18]</sup>测得。采用傅里叶红外光谱(FT-IR, Thermo Scientific, 美国)分析表征碳材料的表面官能团。

沼气的气体组分(CH<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>)采用气相色谱(岛津 GC-2014, 日本)分析, 检测器为热导检测器 TCD, 载气为氮气, 色谱柱温度、检测器温度和进样口温度分别为 80、80 和 120 °C。选择 Modified Gompertz 模型评估产甲烷动力学, 用软件 Origin 9.0 拟合, 模型方程如式(1)所示。

$$M_t = M_0 \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{R_{\max} e}{M_0} \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

式中:  $M_t$  为时刻  $t$  累积的甲烷产量, mL·g<sup>-1</sup>;  $M_0$  为累计产甲烷潜力, mL·g<sup>-1</sup>;  $R_{\max}$  为最大甲烷产率, mL·(g·d)<sup>-1</sup>;  $\lambda$  为停滞期, d;  $t$  为反应持续的时间, d;  $e$  取 2.718 3。

### 1.4 微生物群落分析

使用 E.Z.N.A.® Soil 试剂盒(Omega Bio-tek, Norcross, 美国)抽提消化污泥样品 DNA 得到混合基因组。使用 NanoDrop 2000 分光光度计(Thermo Fisher Scientific, 美国)检测 DNA 浓度和纯度, 并用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。高通量测序及统计分析委托上海美吉生物医药科技有限公司进行。

表 1 批次实验设计

Table 1 Experimental setup for batch test

组别	消化底物	接种污泥	导电碳材料
对照组	+	+	-
消化实验	CS300	+	CS300
	CS500	+	CS500
	CS700	+	CS700
	石墨	+	石墨
对照实验	对照组-N	-	-
	CS300-N	-	CS300
	CS500-N	-	CS500
	CS700-N	-	CS700
石墨-N	-	+	石墨

注: “+”表示添加, “-”表示不添加。

## 2 结果与讨论

### 2.1 生物炭和石墨的理化性质表征

如图1所示,3种生物炭和石墨的表观形貌存在明显差异,CS300基本保持了生物质原料的表面形态,孔隙结构不发达,只存在少许疏松、大小不一的孔状结构。随热解温度的升高,生物质的化学键和大分子结构被破坏,挥发性有机成分进一步挥发<sup>[19]</sup>,可看到CS500清晰的孔隙结构,表面形态更加整洁均匀,且有序性提高,CS700孔隙结构更加发达,孔数量明显增加,这说明适当增加热解温度有利于生物炭孔隙结构的形成。石墨表面平整,断面处呈现规则的层叠式片层结构。

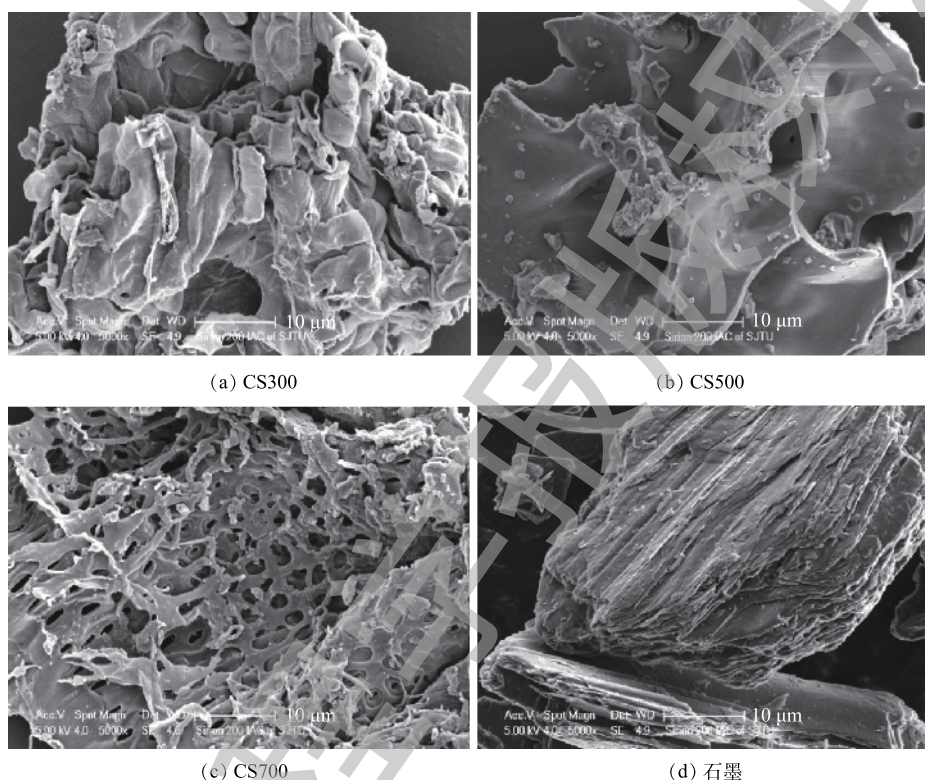


图1 4种碳材料的扫描电镜图

Fig. 1 Scanning electron microscopy images of four carbon-based materials

3种生物炭和石墨的理化性质如表2所示。3种生物炭均为碱性( $\text{pH}>8$ ),而石墨的 $\text{pH}$ 为中性,且4种碳材料的 $\text{pH}$ 与其灰分含量呈线性正相关关系( $R^2=0.939$ ),与SHEN等<sup>[16]</sup>的研究结果一致。灰分的主要成分(表3)为硅元素以及碱金属和碱土金属元素(alkali and alkaline earth metals, AAEMs)。其中硅元素主要来源于农作物收获时掺杂其中的土壤沙石;AAEMs主要包括Na、K、Ca和Mg,由玉米秸秆等农作物热解制备的生物炭灰分中AAEMs的含量普遍较高<sup>[17,19-21]</sup>,本研究的结果与以上的研究结果相一致。农作物生长需施肥,而肥料中一般均含有包括N、P、K等主要常量营养元素以及Ca、Mg等中量营养元素。AAEMs不仅是生物质热解过程的原位催化剂,其氧化态化合物<sup>[22]</sup>也是导致生物炭呈碱性的主要原因。3种生物炭的BET比表面积为 $19.8\sim 32.8\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ ,石墨的BET比表面积最高( $65.3\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ ),与扫描电镜图展示的表观结构观察结果相符。O/C与H/C的摩尔比是反映碳材料化学稳定性和芳构化程度十分重要的2个指标,由其变化趋势可知,O/C与H/C的摩尔比与生物炭的热解温度呈反比;相较于3种生物炭,石墨的O/C摩尔比极低,而H/C摩尔比(0.27)则与CS700(0.28)相近,这说明CS700的芳构化程度较高<sup>[17]</sup>。

表2 4种碳材料的理化性质和电化学性质

Table 2 Physicochemical and electrochemical properties of four carbon-based materials

样品	理化性质						电化学性质			
	产率/%	pH	比表面积/(m <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> )	灰分/%	O/C	H/C	EDC/(mmol·g <sup>-1</sup> )	EAC/(mmol·g <sup>-1</sup> )	EEC/(mmol·g <sup>-1</sup> )	EC/(S·m <sup>-1</sup> )
CS300	45.42	8.35	19.75	15.87	0.21	0.76	0.598	0.409	1.007	3.5×10 <sup>-8</sup>
CS500	31.33	10.12	20.05	20.43	0.13	0.46	0.317	0.309	0.626	7.0×10 <sup>-5</sup>
CS700	23.60	10.39	32.76	22.06	0.06	0.28	0.228	0.740	0.968	107.3
石墨	—	7.15	65.32	1.51	0.003	0.27	0.036	0.075	0.111	2.0×10 <sup>4</sup>

表3 4种碳材料的灰分组成

Table 3 Components of ash in four carbon-based materials

样品	K	Mg	Ni	Ti	Co	Zn	Al	Ca	Fe	Na	Si
CS300	331.0	11.6	0.067 1	1.176	0.025 3	0.330 6	124.3	44.0	4.39	331.1	1 487.0
CS500	312.4	12.0	0.098 9	1.108	0.020 1	0.329 5	121.1	43.1	3.17	326.7	2 436.0
CS700	323	12.0	0.084 6	1.134	0.021 7	7.099	164.8	178.6	4.36	690.1	412.2
石墨	290.6	18.9	0.000 1	0.026	0.001 5	0.004	55.0	10.2	0.24	214.3	557.2

由表2可知, 3种生物炭和石墨呈现出不同的电化学性质。CS300的EDC值最高, CS500与CS700依次降低, 而CS700的EAC值最高, CS300次之, CS500最低, 石墨的EDC和EAC均为最低。EDC与EAC之和表示电子交换容量(electron exchange capacity, EEC), 反映的是碳材料的氧化还原活性, 因此, CS300和CS700的EEC最高, CS500次之, 而石墨的EEC最低。从导电率(EC值)的变化来看, CS300和CS500的EC值极低, 几乎不可导电, CS700的导电性较好(107.3 S·m<sup>-1</sup>), 但仍然比石墨低了近200倍。热解温度是影响生物炭电化学性质最重要的工艺参数之一。通常认为: 在中温热解(300~500℃)环境中, 生物炭表面可形成数量众多的以氢醌为主的还原性官能团, 具有较高的EDC; 当热解温度升至500~700℃时, 生物炭的氧化还原活性主要由EAC所主导<sup>[15]</sup>; 当热解温度高达700℃或以上时, 生物炭表面几乎无法形成官能团, 导致其氧化还原活性急剧下降, 但与此同时, 高温热解可促进芳构化, 从而在材料内部形成类似片层石墨的结构, 因此, 所形成的生物炭具有一定的导电性。从4种碳材料的红外光谱(图2)可看出, CS300和CS500在1 640 cm<sup>-1</sup>处的吸收峰较明显, 该吸收峰主要是由碳氧双键(C=O)和碳碳双键(C=C)的伸缩振动引起的。相比之下, CS700和石墨的谱图未出现特征性振动, 说明它们的表面官能团数量极少<sup>[23]</sup>。氧化还原能力高的碳材料可持续供给或接受电子, 发挥着“电池”的作用, 而导电能力高的碳材料则可充当“电导体”的作用。SUN等<sup>[17]</sup>的研究表明, 中低温热解环境中制备的生物炭(H/C>0.35, O/C>0.09)主要通过表面具有氧化还原活性的官能团持续为微生物体系供给或接受电子, 而导电能力高的碳材料(H/C<0.35, O/C<0.09)则主要通过内部的共轭π-电子体系直接传递电子。

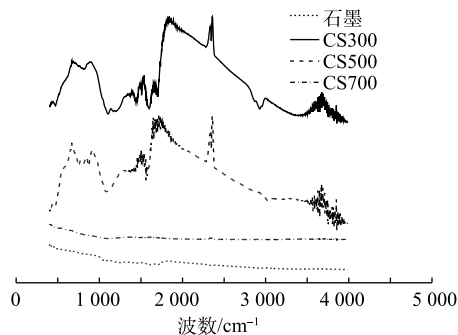


图2 4种碳材料的红外光谱

Fig. 2 FT-IR spectra of four carbon-based materials

## 2.2 不同电化学性质的生物炭和石墨对污泥厌氧消化产甲烷的影响

图3为各实验组的累积甲烷产量随时间的变化。由图3(a)可知, 添加不同电化学性质的生物

炭和石墨对污泥厌氧消化的总甲烷产量均有不同程度的促进作用。在消化实验结束时, 对照组、CS300组、石墨组、CS500组和CS700组的累积甲烷产量分别为3 293、5 720、5 579、5 177和4 466 mL, 而对对照实验的相应实验组均无甲烷产生。相较于对照组, 添加生物炭CS300、石墨、生物炭CS500和CS700实验组的累积甲烷产量分别提高了42.4%、38.9%、28.9%和11.2%。图3(b)为各实验组的甲烷日产量随时间变化, 可见CS300组的甲烷日产量从第8天后开始迅速增加, 在第12~16天期间, 达到峰值(为1 146 mL·d<sup>-1</sup>), 消化反应进行至第22天时达到总甲烷产量的95%; 石墨组的甲烷日产量从第10天后快速增加, 在第14天达到最大产甲烷速率(1 454 mL·d<sup>-1</sup>), 之后甲烷日产量急剧降低; 而CS500组和CS700组在反应进行的前半程产甲烷速率呈现出缓慢上升趋势, 其最大产甲烷速率均出现在第18天, 与对照组的产甲烷速率随时间变化的趋势相似, 但CS500组(1 146 mL·d<sup>-1</sup>)和CS700组(866 mL·d<sup>-1</sup>)的甲烷日产量峰值比对照组(616 mL·d<sup>-1</sup>)分别高出86.04%和40.58%。

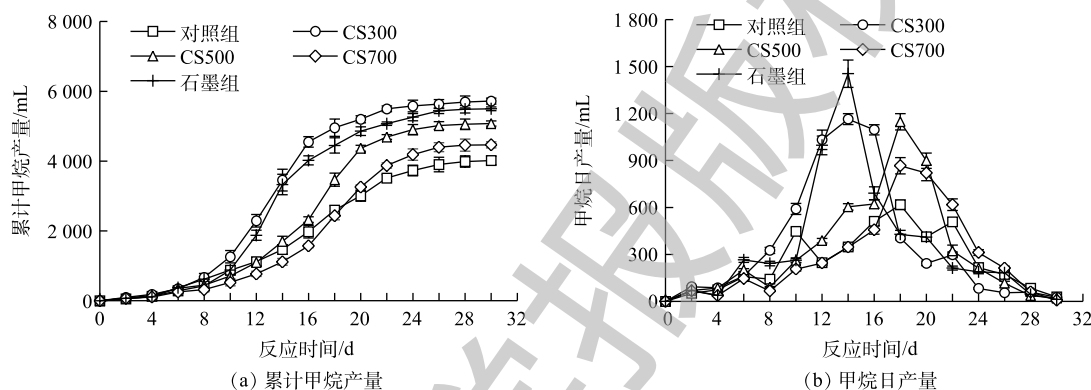


图3 各实验组的甲烷产量随时间的变化

Fig. 3 Changes of methane production for different test groups

产甲烷动力学过程用修正 Gompertz 模型拟合, 结果如表4所示。各实验组的拟合系数  $R^2$  均接近或大于 0.99, 这表明该模型较为准确地反映了各实验组的产甲烷过程。相较于对照组, 添加生物炭和石墨均不同程度地延长了产甲烷的停滞期, CS300组和石墨组的停滞期较短且两者在数值上较为接近, 而CS700组的停滞期最长。由此可见, 氧化还原活性较高的生物炭抑或导电性优秀的石墨均无法加速污泥的水解或酸化过程。此外, 尽管CS500和CS700为碱性(pH>10), 但由于污泥体系本身的缓冲能力很强, 投加碱性生物炭至消化反应器中未能有效提升环境pH来促进污泥水解, 从而缩短产甲烷的停滞期。相反地, CS500组和CS700组的停滞期相较于对照组分别延长了27.4%和39.7%, 这可能是由生物炭灰分中的Ca、Mg、Al、Fe等有机结合金属(organic-binding metal, OBM)阳离子释放所引起的, CS500和CS700的灰分含量较高且Ca和Al为其主要灰分元素组成。XU等<sup>[24]</sup>的研究指出, 厌氧消化体系中OBM浓度的增加会大幅增加污泥水解所需的表观活化能, 同时会降低表面水解酶结合位点的数量。在甲烷的产率和产量方面, 所有添加了碳材料的实验组相较于对照组均有所提高。石墨组的最大甲烷产率为最高, 比对照组的相应数值提高了136.0%; CS300

表4 基于修正 Gompertz 模型的产甲烷动力学拟合结果  
Table 4 Fitting results of the methane production data using the modified Gompertz model

组别	停滞期/d	最大甲烷产率/ (mL·(g·d) <sup>-1</sup> )	最大甲烷产量/ (mL·g <sup>-1</sup> )	$R^2$
对照组	6.98	12.45	196.67	0.996 7
CS300	7.67	26.35	255.76	0.994 8
CS500	8.89	18.21	219.12	0.988 9
CS700	9.75	16.47	204.02	0.988 6
石墨组	7.98	27.09	234.28	0.994 9

组的最大甲烷产量为最高, 比对照组的相应数值提高了 30.0%。

图 4 为各实验组在不同反应时间的沼气甲烷含量。由图 4 可知, 添加碳材料的 4 个实验组与对照组呈现出相似的变化趋势, 在第 8 天之前沼气的主要组分为  $\text{CO}_2$ , 甲烷产量较低, 从相应的累积甲烷产量的变化 (图 3(a)) 来看, 各实验组的产甲烷速率显著增长均出现在第 8 天或之后, 与沼气甲烷含量的变化趋势相一致。这主要是因为污泥在水解、酸化、产乙酸和产甲烷 4 个阶段中均有  $\text{CO}_2$  产生, 而甲烷仅在厌氧消化的产甲烷阶段形成。添加导电碳材料的 4 个实验组沼气甲烷含量均在第 12 天达到峰值, 且均超过 70%, 而对照组的沼气甲烷含量则在第 16 天达到峰值 (65%)。对照组、CS300 组、CS500 组、CS700 组和石墨组的沼气平均甲烷含量分别为 59.6%、64.2%、62.5%、61.3% 和 62.9%, 由此可知, 添加生物炭和石墨均可提升沼气甲烷含量, 但提升幅度则十分有限, 说明生物炭和石墨对  $\text{CO}_2$  并无显著的吸附或吸收作用, 这可能是因为生物炭和石墨的比表面积过低, 且无法提高环境 pH, 从而使碳酸大量转化为碳酸氢盐或碳酸盐。

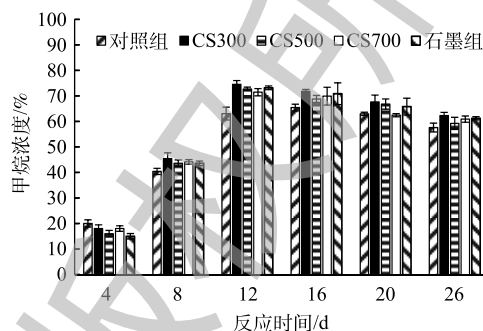


图 4 各实验组的沼气甲烷浓度

Fig. 4 Methane content in biogas in different test groups

### 2.3 不同电化学性质的生物炭和石墨对污泥厌氧消化微生物群落结构影响

5 个实验组的细菌群落结构在门级别上的结构相似, 主要包括厚壁菌门 *Firmicutes*、变形菌门 *Proteobacteria*、拟杆菌门 *Bacteroidetes* 以及绿弯菌门 *Chloroflexi*。图 5 展示了各实验组的纲级别细菌群落结构, 结果显示梭菌 *Clostridia*、拟杆菌 *Bacteroidia*、芽胞杆菌 *Bacilli*、乙型变形菌 *Betaproteobacteria* 以及丙型变形菌 *Gammaproteobacteria* 为主要的细菌群落。相较于对照组, 添加 CS300 或 CS500 生物炭可显著提高 *Clostridia* 的相对丰度, 但添加导电型石墨则导致其相对丰度明显下降。*Clostridia* 能够水解多糖等大分子有机物产生相应的小分子单体, 并进一步将它们转化为 VFAs, 是污泥水解酸化阶段的重要功能微生物之一<sup>[25]</sup>。*Bacteroidia* 的相对丰度由对照组的 12.7% 分别上升至 18.0%(CS300 组)、14.6%(CS500 组)、18.3%(CS700 组) 以及 14.9%(石墨组)。与 *Clostridia* 的功能性相类似, 属于 *Bacteroidia* 纲的大部分细菌对多糖和蛋白质等大分子有机物均有较好的水解能力, 并可产生乙酸和其他短链脂肪酸<sup>[26-28]</sup>。此外, 互养菌 *Synergistia* 也受碳材料的影响, 它们的相对丰度由对照组的 4.8% 分别下降至 3.3%(CS300 组)、3.2%(CS500 组)、1.3%(CS700 组) 以及 0.7%(石墨组)。我们注意到, 所添加的碳材料导电性越强, 它们的相对丰度越低。*Synergistia* 是典型的互养型发酵细菌, 通常与氢营养型产甲烷古菌共生以克服热力学能量壁垒, 促进 VFAs 的降解代谢生成甲烷<sup>[26, 29]</sup>。以上结果表明, 4 种碳材料并无法富集 *Synergistia* 这类互养型发酵细菌。近期已有研究<sup>[30-32]</sup>指出, 导电性优秀的碳材料可促进厌氧发酵细菌与产甲烷古菌之间的直接电子传递 (DIET) 机制, 从而加速 VFAs 的代谢和甲烷的生成。目前, 已知的能够与产甲烷古菌建立 DIET 机制的互养型发酵细菌包括地杆菌 *Geobacter*、互营单胞菌 *Syntrophomonas* 以及陶厄氏菌 *Thauera*<sup>[33-35]</sup>, 分别隶属于 *Deltaproteobacteria*、*Clostridia* 和 *Betaproteobacteria*, 其在本研究的各实验组污泥消化反应器中均有被检测到。鉴于石墨组的高产甲烷速率, 而互养共生体系的微生物种间电子传递主要是以氢分子 ( $\text{H}_2$ ) 为电子载体, 由此推测, *Synergistia* 相对丰度的显著下降可能与 DIET 机制的建立存在相关性。值得注意的是, 虽然 3 种生物炭未能富集 *Betaproteobacteria*, 但其在石墨组的相对丰度 (13.04%) 相较于对照组 (7.14%) 获得了显著的提升, 这可能也与 DIET 机制有关。

图 6 为各实验组古菌在属级别的菌群结构。由图 6 可知, 优势产甲烷古菌主要包括 *Metha-*

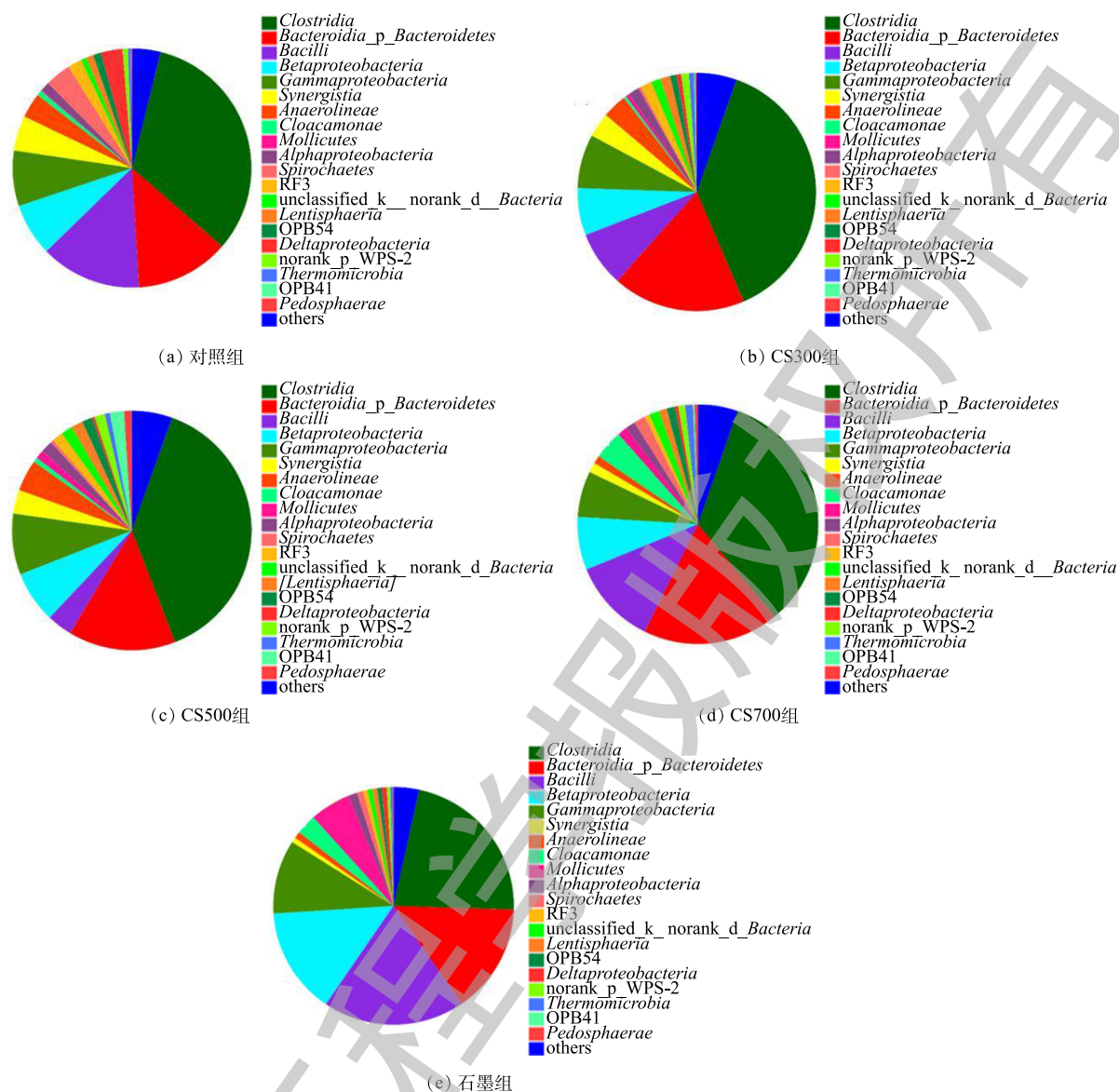


图5 各实验组的纲级别细菌群落结构

Fig. 5 Bacterial community at the Class level in different sludge digesters

*Methanosarcina*、*Methanobacterium*、*Methanoculleus* 和 *Methanomassiliicoccus*，氢营养型产甲烷古菌整体上更占优势。甲烷八叠球菌 *Methanosarcina* 的相对丰度在 CS300 组、CS500 组和 CS700 组中较高，分别为 51.5%、44.0% 和 44.4%，在对照组和石墨组中则较低，分别为 29.1% 和 29.9%。*Methanosarcina* 的代谢灵活性高，可利用 3 种代谢途径（乙酸裂解、 $H_2$  还原  $CO_2$  和甲基途径）产甲烷，其通常是污泥厌氧消化系统中的优势菌属。甲烷囊菌 *Methanoculleus* 在对照组中的相对丰度高达 41.4%，但导电碳材料的投加可使其相对丰度显著下降。作为典型的氢营养性产甲烷古菌，*Methanoculleus* 除  $H_2$  之外还能利用乙醇或某些仲醇作为电子供体以产甲烷<sup>[36]</sup>。相较于对照组 (19.8%)，另一氢营养型产甲烷古菌 *Methanomassiliicoccus* 的相对丰度仅在 CS300 组中略有上升 (22.6%)，而在其余实验组中均出现明显下降。从甲烷杆菌 *Methanobacterium* 的相对丰度变化情况来看，4 种碳材料均能起到富集作用，其相对丰度的增幅高达 12.3 倍 (CS700 组)。甲烷粒菌 *Methanocorpusculum* 能利用  $H_2$  或甲酸作为电子供体还原  $CO_2$  产甲烷，其在对照组和 CS700 组中的相对丰度极低，而在 CS300 组和石墨



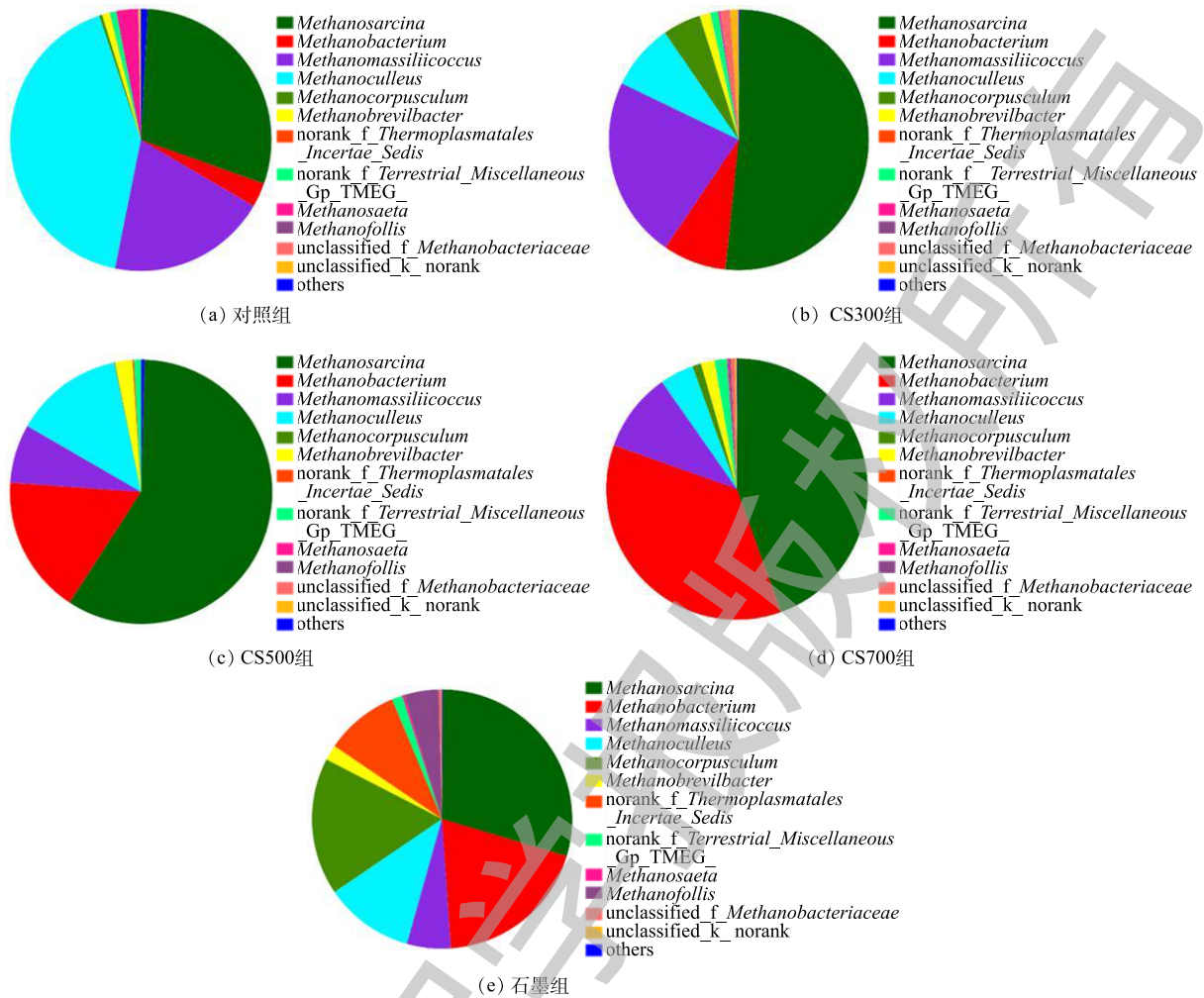


图 6 各实验组的属级别古菌群落结构

Fig. 6 Archaeal community at the Genus level in different sludge digesters

组中的相对丰度则较高，分别为 4.78% 和 25.44%。此外，甲烷鬃菌 *Methanosaeta* 在所有实验组中的相对丰度都是极低，无论是氧化还原活性最高的生物炭 CS300 或是导电性最好的石墨均未能富集。近期有研究<sup>[37]</sup>证实了 *Methanosaeta* 可通过 DIET 机制将  $\text{CO}_2$  转化为甲烷 ( $\text{CO}_2 + 8\text{H}^+ + 8\text{e}^- \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$ )，但代谢底物仅限于乙醇。*Methanosaeta* 是专性乙酸营养型产甲烷古菌，通过乙酸裂解途径生成甲烷 ( $\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$ )。其在某一厌氧体系中是否能成为优势产甲烷古菌主要取决于该体系的乙酸浓度水平<sup>[38-39]</sup>。由于其对乙酸具有较高的亲和性，*Methanosaeta* 更容易在低乙酸浓度环境中大量富集<sup>[40]</sup>。通常认为，在缺乏 *Methanosaeta* 的厌氧体系中，乙酸代谢主要依靠乙酸氧化细菌 (syntrophic acetate oxidizing bacteria, SAOB) 与氢营养型产甲烷古菌所构成的互养共生菌群<sup>[41]</sup>。鉴于此，在本研究中，各实验组的乙酸代谢主要途径为乙酸氧化，而非乙酸裂解。

冗余分析 (RDA) 是环境因子约束化的主成分分析法，可揭示微生物群落结构与厌氧消化过程中特定环境因子之间的关联性，分别选择细菌与古菌的相对丰度为物种变量、碳材料的电化学性质参数 (EDC、EAC、EEC、EC) 为解释变量，RDA 分析结果如图 7 所示。由图 7 可知，碳材料的电化学性质对细菌和古菌的群落结构影响程度分别达到 52.65% 和 64.39%。图 7(a) 显示，石墨组的细菌群落结构变化主要受 EC 影响，CS300 组、CS700 组与电化学指标的相关性很小。图 7(b) 显示，石墨组的古菌群落结构变化也主要受 EC 影响，CS300 组、CS500 组和 CS700 组古菌群落结构

变化的主要影响因子则分别为 EDC、EEC 和 EAC。*Methanosarcina* 的相对丰度与碳材料的 EDC、EAC、EEC 均正相关，与 EDC 的正关联性最强，*Methanomassiliicoccus* 观察到与 *Methanosarcina* 相同的规律；*Methanoculleus* 和 *Methanocorpusculum* 主要与 EC 正相关，而 *Methanobacterium* 则主要与 EAC 正相关。整体而言，从细菌和古菌的 RDA 象限分布来看，反映碳材料导电能力的参数 EC 与其氧化还原活性的参数 (EDC、EAC、EEC) 矢量方向相背，表明这 2 种电化学性质改变所引起的厌氧消化微生物群落结构变化有显著差异。这可能是因为，氧化还原活性高但几乎无法导电的生物炭和导电能力强但表面几乎无官能团的石墨，二者对厌氧消化产甲烷微生物的互养共生体系 (必须依靠种间电子传递) 的促进机制是不同的。

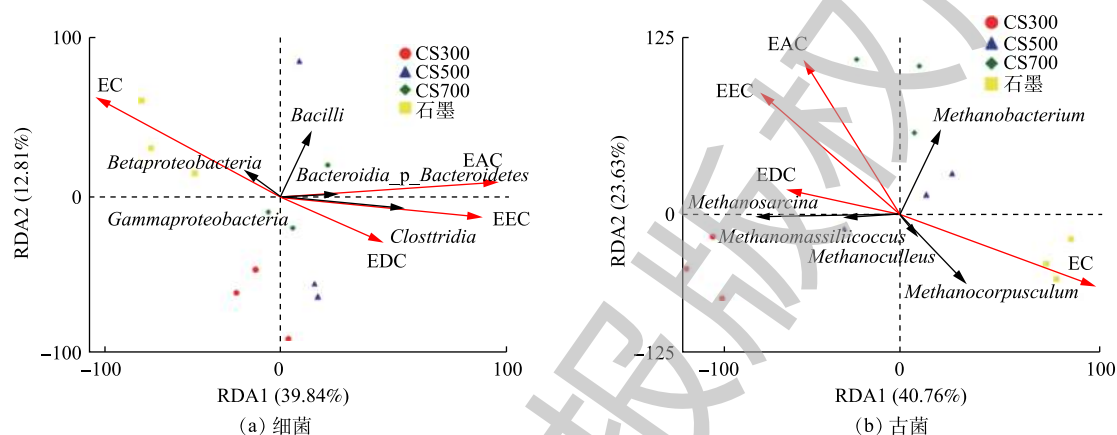


图 7 各实验组微生物群落结构与生物炭和石墨各项电化学性质的冗余分析

Fig. 7 Redundancy analysis (RDA) in the digesters with electrochemical properties of biochar and graphite

#### 2.4 不同电化学性质的生物炭和石墨促进污泥厌氧消化产甲烷的机理解析

在本研究中，CS300 生物炭与导电型石墨的电化学性质完全不同：前者拥有很高的氧化还原活性 ( $EEC=1.007 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ )，但其几乎没有导电性 ( $EC=3.5 \times 10^{-8} \text{ S} \cdot \text{m}^{-1}$ )；后者的表面官能团数量极少，但却是优秀的电导体 ( $EC=2.0 \times 10^4 \text{ S} \cdot \text{m}^{-1}$ )。然而，二者对污泥厌氧消化产甲烷过程的提高能力却很相近，前者的累积甲烷产量仅比后者高出 2.5%，差异不显著 ( $P=0.07$ )，这表明不同电化学性质的碳材料提高污泥厌氧消化甲烷产率的促进机制是有所不同的。CHEN 等<sup>[8]</sup>的研究结果表明，尽管生物炭比颗粒活性炭的导电性低了 1 000 多倍，但二者对 *Geobacter metallireducens*-*Methanosarcina barkeri* 共培养体系代谢乙醇产甲烷的促进效率几乎完全相同，这说明由生物炭所产生的促进作用可能与其导电性无关。本研究的结果与他们的研究结果相似。

基于循环伏安曲线的测定结果，目前，已有大量研究证实，生物炭表面形成的以醌-氢醌氧化还原对为代表的官能团具有反复接受和供给电子的能力，可作为电子传输的载体介导微生物种间电子传递以加速反应的进程。例如，生物炭可强化地杆菌 *Geobacter metallireducens* GS-15 和希瓦氏菌 *Shewanella oneidensis* MR-1 的微生物胞外电子传递机制，加速这些微生物利用呼吸作用降解小分子有机物 (乙醇、乙酸、乳酸等)、同时还原 Fe(III) 矿物质的过程<sup>[42-44]</sup>。在本研究中，CS300 表面存在的醌类物质可替代  $\text{H}_2$  或甲酸，作为电子载体介导乙酸/VFAs 氧化细菌与氢营养型产甲烷古菌的种间电子传递；并且 CS300 主要作为电子供体 ( $EDC > EAC$ )，可大幅增加厌氧消化体系中终端电子供体的数量。PREVOTEAU 等<sup>[45]</sup>的研究表明，生物炭连续供给电子的时间长达 66 d。虽然 CS300 ( $EEC=1.007 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 与 CS700 ( $EEC=0.968 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ ) 的氧化还原活性很相近，但是 CS300 实验组的累积甲烷产量却比 CS700 实验组高出 28.1% ( $P < 0.000 1$ )，这表明相较于 EEC，EDC 与污泥厌氧消化甲烷产量的相关性更高。对于低 EDC、高 EAC 的碳材料 (例如 CS700) 而言，其在厌氧消化体系中

主要作为电子受体, 可能会与  $\text{CO}_2$  的还原反应竞争电子, 由于电子受体参与数千次的氧化还原循环, 这可能会大幅减少原本理应提供给  $\text{CO}_2$  还原反应的电子数量, 从而抑制氢营养型产甲烷途径的代谢效率。

近年来, DIET 机制引起了研究人员的广泛关注, 它的发现让人们认识到除了以  $\text{H}_2$  或甲酸作为电子载体促进厌氧消化体系互养共生微生物种间电子传递这一途径以外, 还存在另一种间电子传递机制, 即 DIET。当导电性能优秀的碳材料被投加至厌氧消化体系后, 互养共生微生物菌群附着在其表面, 此时导电碳材料作为“电导媒介”即可在微生物菌群之间进行直接电子传递。目前, 已有大量研究<sup>[30-33, 46]</sup>表明, 导电性能优秀的碳材料, 如石墨、石墨烯、碳纤维布、碳纳米管等, 可提高有机物厌氧消化体系的甲烷产量。人们推测, 这些能起到“电导体”作用的碳材料可促进互养共生微生物的直接种间电子传递 (DIET), 可能是强化厌氧消化产甲烷的主要机制。但需要注意的是, 大多数研究仅依靠间接实验证据 (如碳基材料能富集 *Geobacter* 等已被证实可进行 DIET 的微生物) 来推测 DIET 是主要的促进机制, 直接证据则相当缺乏。目前基于直接实验证据被证实主要通过 DIET 进行产甲烷的微生物仅有 *Geobacter metallireducens*、*Methanotherix harundinacea* 以及 *Methanosarcina barkeri*<sup>[9-10, 37]</sup>。

### 3 结论

1) 4 种碳材料呈现出不同的电化学性质, 生物炭 CS300 组和 CS700 组具有很高的氧化还原活性 (以 EEC 表征), 石墨的导电性最高 (以 EC 表征)。

2) 4 种碳材料对污泥厌氧消化产甲烷过程均有促进作用, 但促进幅度的差异性较大: 具有高氧化还原活性 (EEC 和 EDC 最高) 的生物炭 CS300 组的促进效果最好, 其累积甲烷产量较对照组提高了 42.4%; 其次为导电性最强 (EC 最高) 的石墨, 优于生物炭 CS500 组和 CS700 组。

3) 3 种生物炭提高了氢营养型产甲烷古菌的相对丰度, CS300 对甲烷八叠球菌 *Methanosarcina* 的富集能力最强, 专性乙酸营养型产甲烷古菌 *Methanosaeta* 的丰度极低, 这表明互养乙酸/VFA 氧化细菌与氢营养型产甲烷古菌的共生代谢是污泥厌氧消化产甲烷的主要代谢途径。

4) 不同电化学性质的生物炭和石墨强化污泥厌氧消化产甲烷的作用机制不同: 生物炭表面含有的氧化活性官能团 (醌/氢醌类物质) 可通过反复供给、接受电子大幅地增加厌氧体系中的微生物可用电子数量, 从而提高了互养微生物种间电子传递效率; 导电性高的碳材料 (石墨) 则主要通过促进微生物群落的直接种间电子传递 DIET 来提高产甲烷效率。

### 参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国生态环境部. 生态环境部公布2018年度《水污染防治行动计划》重点任务实施情况[EB/OL]. [2019-07-23]. [http://www.mee.gov.cn/xxgk/2018/xxgk/xxgk15/201907/t20190723\\_712133.html](http://www.mee.gov.cn/xxgk/2018/xxgk/xxgk15/201907/t20190723_712133.html), 2019.
- [2] YANG G, ZHANG G M, WANG H C. Current state of sludge production, management, treatment and disposal in China[J]. *Water Research*, 2015, 78: 60-73.
- [3] MCCARTY P L, BAE J, KIM J. Domestic wastewater treatment as a net energy producer: Can this be achieved?[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45: 7100-7106.
- [4] SHEN Y W, LINVILLE J L, URGUN-DEMIRTAS M, et al. An overview of biogas production and utilization at full-scale wastewater treatment plants (WWTPs) in the United States: Challenges and opportunities towards energy-neutral WWTPs[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2015, 50: 346-362.
- [5] MUMME J, SROCKE F, HEEG K, et al. Use of biochars in anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 164: 189-197.

- [6] WATANABE R, TADA C, BABA Y, et al. Enhancing methane production during the anaerobic digestion of crude glycerol using Japanese cedar charcoal[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 150: 387-392.
- [7] LV F, LUO C H, SHAO L M, et al. Biochar alleviates combined stress of ammonium and acids by firstly enriching *Methanosaeta* and then *Methanosarcina*[J]. *Water Research*, 2016, 90: 34-43.
- [8] CHEN S S, ROTARU A, SHRESTHA P M, et al. Promoting interspecies electron transfer with biochar[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 5019.
- [9] ROTARU A, SHRESTHA P M, LIU F, et al. Direct interspecies electron transfer between *Geobacter metallireducens* and *Methanosarcina barkeri*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80: 4599-4605.
- [10] LOVLEY D R. Happy together: Microbial communities that hook up to swap electrons[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11: 327-336.
- [11] LOVLEY D R. Syntrophy goes electric: Direct interspecies electron transfer[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2017, 71: 643-664.
- [12] DE BOK F A M, PLUGGE C M, STAMS A J M. Interspecies electron transfer in methanogenic propionate degrading consortia[J]. *Water Research*, 2004, 38: 1368-1375.
- [13] MCINERNEY M J, STRUCHTEMEYER C G, SIEBER J S, et al. Physiology, ecology, phylogeny, and genomics of microorganisms capable of syntrophic metabolism[J]. *Annals of the New York Academy Sciences*, 2008, 1125: 58-72.
- [14] STAMS A J M, PLUGGE C M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7: 568-577.
- [15] KLVPFEL L, KEILUWEIT M, KLEBER M, et al. Redox properties of plant biomass-derived black carbon (biochar)[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48: 5601-5611.
- [16] SHEN Y W, LINVILLE J L, URGUN-DEMIRTAS M, et al. Producing pipeline-quality biomethane via anaerobic digestion of sludge amended with corn stover biochar with in-situ CO<sub>2</sub> removal[J]. *Applied Energy*, 2015, 158: 300-309.
- [17] SUN T, LEVIN B D A, GUZMAN J J L, et al. Rapid electron transfer by the carbon matrix in natural pyrogenic carbon[J]. *Nature Communication*, 2017, 8: 14873.
- [18] CRUZ VIGGI C, SIMONETTI S, PALMA E, et al. Enhancing methane production from food waste fermentate using biochar: The added value of electrochemical testing in pre-selecting the most effective type of biochar[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2017, 10: 303.
- [19] KWANG H K, JAE-YOUNG K, TAE-SU C, et al. Influence of pyrolysis temperature on physicochemical properties of biochar obtained from the fast pyrolysis of pitch pine (*Pinus rigida*)[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 118: 158-162.
- [20] BREWER C E, SCHMIDT-ROHR K, SATRIO J A, et al. Characterization of biochar from fast pyrolysis and gasification systems[J]. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 2009, 28: 386-396.
- [21] ZHAO L, CAO X D, MASEK O, et al. Heterogeneity of biochar properties as a function of feedstock sources and production temperatures[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 256-257: 1-9.
- [22] LIU W J, JIANG H, YU H Q. Development of biochar-based functional materials: Toward a sustainable platform carbon material[J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115: 12251-12285.
- [23] ZHANG C F, KATAYAMA A. Humic as an electron mediator for microbial reductive dehalogenation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46: 6575-6583.
- [24] XU Y, LU Y Q, DAI X H, et al. The influence of organic-binding metals on the biogas conversion of sewage sludge[J]. *Water Research*, 2017, 126: 329-341.

- [25] WERNER J J, KNIGHTS D, GARCIA M L, et al. Bacterial community structures are unique and resilient in full-scale bioenergy systems[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108: 4158-4163.
- [26] RIVIERE D, DESVIGNES V, PELLETIER E, et al. Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge[J]. *The ISME Journal*, 2009, 3: 700-714.
- [27] SUNDBERG C, AL-SOUND W A, LARSSOM M, et al. 454 pyrosequencing analyses of bacterial and archaeal richness in 21 full-scale biogas digesters[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 85: 612-626.
- [28] DE VRIEZE J, RAPORT L, ROUME H, et al. The full-scale anaerobic digestion microbiome is represented by specific marker populations[J]. *Water Research*, 2016, 104: 101-110.
- [29] ITO T, YOSHIGUCHI K, ARIESYADY H D, et al. Identification of a novel acetate-utilizing bacterium belonging to *Synergistes* group 4 in anaerobic digester sludge[J]. *The ISME Journal*, 2011, 5: 1844-1856.
- [30] ZHAO Z Q, ZHANG Y B, WOODARD T L, et al. Enhancing syntrophic metabolism in up-flow anaerobic sludge blanket reactors with conductive carbon materials[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 191: 140-145.
- [31] ZHAO Z Q, ZHANG Y B, HOLMES D E, et al. Potential enhancement of direct interspecies electron transfer for syntrophic metabolism of propionate and butyrate with biochar in up-flow anaerobic sludge blanket reactors[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 209: 148-156.
- [32] ZHAO Z Q, LI Y, QUAN X, et al. Towards engineering application: Potential mechanism for enhancing anaerobic digestion of complex organic waste with different types of conductive materials[J]. *Water Research*, 2017, 115: 266-277.
- [33] DANG Y, HOLMES D E, ZHAO Z Q, et al. Enhancing anaerobic digestion of complex organic waste with carbon-based conductive materials[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 220: 516-522.
- [34] JING Y H, WAN J J, ANGELIDAKI I, et al. iTRAQ quantitative proteomic analysis reveals the pathways for methanation of propionate facilitated by magnetite[J]. *Water Research*, 2017, 108: 212-221.
- [35] WANG T, ZHANG D, DAI L L, et al. Magnetite triggering enhanced direct interspecies electron transfer: A scavenger for the blockage of electron transfer in anaerobic digestion of high-solids sewage sludge[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52: 7160-7169.
- [36] MAUS I, WIBBERG D, STANTSCHIEFF R, et al. Complete genome sequence of the hydrogenotrophic, methanogenic archaeon *Methanoculleus bourgensis* strain MS2(T): Isolated from a sewage sludge digester[J]. *Journal Bacteriology*, 2012, 194: 5487-5488.
- [37] ROTARU A, SHRESTHA P M, LIU F H, et al. A new model for electron flow during anaerobic digestion: Direct interspecies electron transfer to *Methanosaeta* for the reduction of carbon dioxide to methane[J]. *Energy & Environmental Science*, 2014, 7: 408-415.
- [38] CONKLIN A, STENSEL H D, FERGUSON J. Growth kinetics and competition between *Methanosarcina* and *Methanosaeta* in mesophilic anaerobic digestion[J]. *Water Environment Research*, 2006, 78: 486-496.
- [39] DE VRIEZE J, HENNEBEL T, BOON N, et al. *Methanosarcina*: The rediscovered methanogen for heavy duty biomethanation[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 112: 1-9.
- [40] SMITH K S, INGRAM-SMITH C. *Methanosaeta*, the forgotten methanogen[J]. *Trends in Microbiology*, 2007, 15: 150-155.
- [41] KARAKASHEV D, BATSTONE D J, TRABLY E, et al. Acetate oxidation is the dominant methanogenic pathway from acetate in the absence of *Methanosaetaceae*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72: 5138-5141.
- [42] KAPPLEER A, WUESTNER M L, RUECKER A, et al. Biochar as an electron shuttle between bacteria and Fe(III)

- minerals[J]. *Environmental Science & Technology Letters*, 2014, 1(8): 339-344.
- [43] SMITH J A, NEVIN K P, LOVLEY D R. Syntrophic growth via quinone-mediated interspecies electron transfer[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 121.
- [44] WU S, FANG G D, WANG Y J, et al. Redox-active oxygen-containing functional groups in activated carbon facilitate microbial reduction of ferrihydrite[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51: 9709-9717.
- [45] PREVOTEAU A, RONSSE F, CID I, et al. The electron donating capacity of biochar is dramatically underestimated[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 32870.
- [46] YANG Y F, ZHANG Y B, LI Z Y, et al. Adding granular activated carbon into anaerobic sludge digestion to promote methane production and sludge decomposition[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2017, 149: 1101-1108.

(本文编辑: 曲娜, 郑晓梅, 张利田)

## Effect of electrochemical properties of biochar and graphite on methane production in anaerobic digestion of excess activated sludge

YU Yamei<sup>1</sup>, SHEN Yanwen<sup>1,\*</sup>, ZHU Nanwen<sup>1,2</sup>, YUAN Haiping<sup>1</sup>, LOU Ziyang<sup>1</sup>

1. School of Environmental Science and Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China

2. Shanghai Institute of Pollution Control and Ecological Security, Shanghai 200092, China

\*Corresponding author, E-mail: yanwenshen@sjtu.edu.cn

**Abstract** Biochar was prepared by pyrolyzing corn stover biomass at 300, 500 and 700 °C, respectively, and yielded CS300, CS500 and CS700. Their physicochemical properties including pH, surface area, ash content and elemental composition and electrochemical properties including EDC, EAC, EC were characterized. Then three types of biochar and the conductive graphite were dosed in digestion reactor to conduct the batch tests of mesophilic AD of sludge. The results showed that CS300 had the highest EDC of 0.598 mmol·g<sup>-1</sup>, CS700 had the highest EAC of 0.740 mmol·g<sup>-1</sup>, whereas Graphite had the highest EC of 2.0×10<sup>4</sup> S·m<sup>-1</sup>. All the materials could promote AD of sludge. In comparison to the control group, the addition of CS300, Graphite, CS500 or CS700 elevated the cumulative methane production by 42.4%, 38.9%, 28.9% and 11.2%, respectively. Analysis of microbial community indicated that methane was primarily produced via CO<sub>2</sub> reduction pathway, which is attributed to the syntrophic association between syntrophic anaerobes and hydrogenotrophic methanogens. The addition of biochar raised the relative abundance of *Methanosarcina* and other hydrogenotrophic methanogens. CS300 had the best performance on enrich these methanogens, while graphite did not make significant contribution. RDA analysis showed that the parameters reflecting the electrochemical properties of carbon-based materials explained 52.7% and 64.4% of the bacterial and archaeal community in the sludge digesters, respectively. Redox-active biochar could sustainably donate and accept electrons over many redox cycles, improve the available electron quantity of microorganism in the system and facilitate electron transfer to CO<sub>2</sub> reduction, and thereby enhance methanogenesis. Alternatively, graphite could directly transport electrons so that promotes direct interspecies electron transfer (DIET) in syntrophic communities for enhanced methane productivity. It provides theoretical support for the analysis of the influence of conductive carbon materials on the metabolic characteristics and electron transport of anaerobic microbial community. And it has important theoretical and practical value for improving the anaerobic digestion efficiency of sludge and achieving energy efficient recovery significantly.

**Keywords** biochar; graphite; electrochemical properties; excess sludge; anaerobic digestion; methane production; microbial interspecies electron transfer