



响应面法优化厌氧消化过程中抗生素去除效果

魏晓曼¹, 尹福斌^{1,✉}, 连天境², 曹起涛¹, 董红敏¹

1. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081; 2. 西北农林科技大学, 咸阳 712100

摘要 为了深入探究厌氧消化过程中厌氧消化时间、猪粪含固率、抗生素初始质量分数对磺胺二甲嘧啶和磺胺甲噁唑去除效果的相互影响, 本研究采用响应面优化法, 以厌氧消化时间、猪粪含固率、抗生素质量分数为 3 因素, 以抗生素残留质量分数和厌氧消化产气量为响应值, 探索使用厌氧消化法降低抗生素残留质量分数的最佳工艺参数。结果表明, 根据响应面分析可知, 当猪粪含固率为 3%, 初始质量分数为 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$, 厌氧消化时间为 30 d, 预测的磺胺二甲嘧啶残留质量分数最低为 $0.428 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$; 当猪粪含固率为 7%, 磺胺二甲嘧啶初始质量分数为 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$, 厌氧消化时间为 20 d, 预测的磺胺甲噁唑残留质量分数最低为 $0.1063 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 。综合产气量考虑, 当猪粪含固率为 5.58%, 磺胺二甲嘧啶初始质量分数为 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$, 厌氧消化时间为 27.8 d, 预测的产气量最高为 $389.3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 。当猪粪含固率为 5.89%, 磺胺甲噁唑初始质量分数为 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$, 厌氧消化时间为 30 d, 预测的产气量最高为 $389.6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 。该研究可为猪粪厌氧消化过程中的降低抗生素残留、提高产气量的工艺优化提供参考。

关键词 畜禽粪便; 抗生素; 厌氧消化; 含固率; 响应曲面法

在畜禽养殖业中, 抗生素在治疗动物疾病方面起到了至关重要的作用^[1]。2020 年, 我国兽用抗生素使用量达到 $3.28 \times 10^4 \text{ t}$, 其中磺胺类及增效剂抗生素由于价格低和广谱抗菌性, 使用量达 $4\,287.87 \text{ t}$ ^[2-3]。且相关研究表明, 磺胺类抗生素在动物肠道中吸附性和降解性较差, 约 90% 的磺胺类抗生素以本身的化学结构或初级代谢后的异构体的形式通过粪便排出体外^[4-5]。另外磺胺类抗生素在环境中稳定, 不易分解^[6-7]。因此, 磺胺类抗生素经常在畜禽粪便中被检测到^[8]。如果含有抗生素残留的畜禽粪便不经过有效处理而直接利用, 易导致环境中的抗生素污染问题, 对生态系统和人类健康造成威胁^[9]。

厌氧消化技术凭借其显著的能源、环保和经济效益, 成为目前应用较广的畜禽粪便处理方法之一。同时, 厌氧消化可以去除一定范围内的磺胺类抗生素^[10], TURCIOS 等^[11]研究发现, 经厌氧消化处理后磺胺二甲嘧啶 (sulfadimidine, SD) 的质量分数从 $2.32 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 降至 $0.97 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 。但是, 畜禽粪便中残留的抗生素由于其本身的抗菌特性, 也可能会抑制或者杀灭厌氧消化微生物, 减少甲烷气体产生量^[12]。ZHANG 等^[13]研究发现, $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 初始质量分数的磺胺二甲嘧啶可使牛粪厌氧消化过程中甲烷的产生量减少 16.0%。ZHI 等^[14]研究发现, 当污泥中磺胺二甲嘧啶为 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 显著减少了 90% 的甲烷的产生。目前, 国内外对畜禽粪便厌氧消化过程中去除磺胺类抗生素的研究多集中在单一因素对抗生素去除效果和厌氧消化产气量的影响, 主要影响因素有残留抗生素初始质量分数、粪便含固率 (total solids content, TS)、厌氧消化时间等^[15-17]。因此有必要通过响应面法, 同时考虑 3 种因素的影响, 探究各个因素的相互作用, 在保证畜禽厌氧消化的产气量的同时, 有效控制和减少抗生素污染, 这对于厌氧消化运行稳定性和减少抗生素对生态环境的污染至关重要。

综上, 现有研究证实厌氧消化可以一定程度的去除畜禽粪便中残留的磺胺类抗生素, 且厌氧消化时间、猪粪含固率、抗生素质量分数等因素都可能对厌氧消化过程中抗生素的去除效率产生影响, 但是现有的单因素实验不能够很好地反映各个影响因素之间的相互作用和主要影响因素。因此, 本研究通过中心复合设计方

收稿日期: 2023-09-18; 录用日期: 2023-10-19

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (31902206); 中国农业产业技术体系资助项目 (CARS-35-10B); 中国农业科学院国际农业科学计划资助项目

第一作者: 魏晓曼 (1998—), 女, 硕士研究生, 13031901582@163.com; ✉通信作者: 尹福斌 (1986—), 男, 博士, 副研究员, yinfubin@caas.cn

法 (central composite design, CCD) 进行响应面曲线回归模型构建, 以猪粪为研究对象, 以抗生素初始质量分数、厌氧消化时间和猪粪含固率为影响因素, 分析其对厌氧消化过程磺胺类抗生素中的 2 种常见抗生素磺胺二甲嘧啶、磺胺甲恶唑 (sulfamethoxazole, SMX) 去除效率的相互影响, 优化最佳运行参数, 为提升厌氧消化处理技术对抗生素的去除效果提供科技支撑。

1 材料与方法

1.1 试验原料

试验所用的新鲜猪粪取自河北某规模化养猪场示范基地, 猪粪中不含有抗生素, 加水调配至不同的 TS, 置于 4 °C 冰箱中保存直至使用。猪粪的总固体含量为 34.81%±0.30%; 挥发性固体含量为 27.52%±0.69%; pH 为 7.08; 总碳含量为 41.22%±0.20% TS; 总氮为 4.10%±0.03% TS; 粗蛋白含量为 25.70±0.73% TS; 碳水化合物含量为 9.16%±0.47% TS。接种污泥取自实验室长期运行的畜禽粪污厌氧消化反应器。试验中所用抗生素磺胺二甲嘧啶 (纯度 99.2%)、磺胺甲恶唑 (纯度 99.8%) 购买于中国兽医药品监察所。

1.2 试验装置

试验装置主要包括反应瓶 (0.5 L 广口瓶)、集气计量装置瓶 (1 L 量筒)、水浴加热装置和气体检测装置。将 20 个反应瓶同时放置于一定温度 (37±1) °C 的恒温水浴锅内, 加入相应接种物和反应底物之后, 瓶口加塞密封。并通过插入瓶内的导气管, 将所产生的沼气通过向下排饱和食盐水法进行收集。按照试验设计加入不同质量的猪粪、抗生素, 得到不同含固率猪粪和不同抗生素初始质量分数的试验样品, 其中不添加抗生素的组别作为空白对照试验。

1.3 试验方法

本研究采用中心组合设计 CCD 方法, 将本试验设计为 3 因素 5 水平实验。3 因素分别为: 猪粪含固率、抗生素初始质量分数、厌氧消化时间, 分别记为 X_1 、 X_2 、 X_3 。响应面变量为厌氧消化后抗生素残留质量浓度和产气量, 根据之前的研究和养殖场猪粪中的抗生素残留质量分数^[18], 抗生素初始质量分数选取 20~100 mg·kg⁻¹TS, 试验因子的水平和编码如表 1 和表 2 所示, 本实验使用 Design Expert10 软件 (Stat-Ease Inc., USA) 进行响应面模型的建立和数据分析。

根据试验设计每组试验添加不同含固率猪粪和不同质量抗生素, 得到含有不同初始抗生素质量分数各个含固率猪粪的试验样品, 然后与 200 g 接种液混合放入 0.5 L 广口瓶中密封, 并放置于一定温度 (37±1) °C 的恒温水浴锅进行厌氧消化试验。

1.4 分析方法

发酵结束后取样, 采集约 10 mL 并对其进行分析。将采集的样品经过 10 000 r·min⁻¹ 离心约 10 min, 取上清液过滤, 用于测定抗生素质量分数。抗生素质量分数采用液质联用法测定。原料的 TS 与 VS 参照美国 APHA(1998) 标准^[19] 采用重量法测定; pH 值采用便携式酸度计 (FE20, 梅特勒-托利多, 瑞士) 测定; 总碳和总氮采用元素分析仪 (2400 Series, 珀金埃尔默, 美国) 测定; 粗蛋白采用自动凯氏定氮仪测定 (K360, 步琪, 瑞士); 碳水化合物采用 Megazyme 试剂盒测定。

表 1 优化抗生素去除效果的自变量因素和编码

Table 1 Levels of independent variables for optimization of antibiotic removal effect

试验因子	水平和编码				
	-2	-1	0	1	2
X_1 猪粪含固率/%	1	3	5	7	9
X_2 抗生素初始质量分数/(mg·kg ⁻¹ TS)	20	40	60	80	100
X_3 厌氧消化时间/d	15	20	25	30	35

表 2 试验设计表

Table 2 Experimental design

处理	X_1	X_2	X_3	处理	X_1	X_2	X_3
T1	0	0	0	T11	1	-1	-1
T2	0	-2	0	T12	0	2	0
T3	0	0	2	T13	0	0	0
T4	0	0	-2	T14	0	0	0
T5	0	0	0	T15	1	1	-1
T6	1	-1	1	T16	-1	-1	1
T7	1	2	1	T17	-1	-1	-1
T8	-2	0	0	T18	-1	1	-1
T9	0	0	0	T19	-1	1	1
T10	2	0	0	T20	0	0	0

2 结果与讨论

2.1 不同条件下的抗生素残留质量分数和厌氧消化产气量试验结果分析

不同处理组中的抗生素残留量和厌氧消化产气量变化如表3所示,磺胺二甲嘧啶各处理组中的抗生素残留质量分数的变化范围为0.131~3.197 mg·kg⁻¹TS,抗生素初始质量分数和厌氧消化时间对抗生素去除效果基本没有影响。在T2、T8、T16、T17、T18和T19处理组中的猪粪含固率为1%或3%,其相对应的抗生素残留质量分数较低。这和李月等^[16]的研究结果相似,该研究发现厌氧消化对土霉素的去除率均随着物料TS的增大(4%、8%、12%、16%和20%)呈降低的趋势。磺胺二甲嘧啶各处理组厌氧消化产气量的变化范围为253.45~395.33 mL·kg⁻¹TS。产气量最高的2个处理组的TS均为5%,说明在过高或过低的TS均不利于厌氧消化,这和杜连柱等^[20]的结果相似,猪粪的含固率分别为3.0%、7.5%、12.0%和15.0%时,甲烷的产率分别为317、326、222和140 mL·g⁻¹VS,当含固率7.5%时,产甲烷效率最高。

对于磺胺甲噁唑而言,畜禽粪便经厌氧消化处理后磺胺甲噁唑残留质量分数的变化范围为0.096~0.126 mg·kg⁻¹TS。厌氧消化基本可以完全去除磺胺甲噁唑,猪粪TS、抗生素初始质量分数和厌氧消化时间对抗生素去除效果基本没有影响。MOHRING等^[21]和WANG等^[22]也发现厌氧消化可以完全去除SMX。但是,试验中各组产气量的变化较大,变化范围为68.93~410 mL·kg⁻¹TS。T10和T11处理组,产气量降低,分别为75.36和68.93 mL·kg⁻¹TS;其中T11相较于T6,只有厌氧消化时间变化,从30 d缩短到20 d,但是产气量却相差3倍,这可能是因为畜禽粪便中残留的磺胺甲噁唑,在厌氧消化初期能迅速抑制了部分微生物。

表3 各组的试验参数以及厌氧消化后磺胺二甲嘧啶和磺胺甲噁唑残留质量分数及产气量

Table 3 Sulfadimidine and sulfamethoxazole residual concentration and gas production after anaerobic digestion with values of factors for each treatment of experiments

处理	自变量			Y ₁ 抗生素残留质量分数/(mg·kg ⁻¹ TS)		Y ₂ 产气量/(mL·kg ⁻¹ TS)		Y ₃ 抗生素残留质量分数/(mg·kg ⁻¹ TS)		Y ₄ 产气量/(mL·kg ⁻¹ TS)	
	X ₁ /%	X ₂ /(mg·kg ⁻¹ TS)	X ₃ /d	实际值	预测值	实际值	预测值	实际值	预测值	实际值	预测值
T1	5	60	25	1.278	1.264	338.56	374.05	0.112	0.115	269.89	337.87
T2	5	20	25	0.525	0.423	297.16	312.20	0.123	0.125	209.46	206.00
T3	5	60	35	1.264	1.412	356.20	365.43	0.110	0.115	355.25	394.38
T4	5	60	15	1.132	1.073	289.71	325.83	0.114	0.113	261.55	262.75
T5	5	60	25	1.224	1.264	357.10	374.05	0.110	0.115	287.16	337.87
T6	7	40	30	1.225	1.193	342.04	345.08	0.115	0.107	292.37	249.24
T7	7	80	30	3.197	2.893	371.66	399.32	0.118	0.116	410.23	379.55
T8	1	60	25	0.131	0.031	253.45	294.89	0.120	0.119	300.10	305.74
T9	5	60	25	1.143	1.264	369.29	374.05	0.121	0.115	371.19	337.87
T10	9	60	25	2.289	2.477	325.12	329.04	0.096	0.101	75.36	110.06
T11	7	40	20	1.117	1.063	316.25	315.03	0.105	0.106	68.93	80.83
T12	5	100	25	1.950	2.141	395.33	434.87	0.125	0.127	316.83	360.62
T13	5	60	25	1.245	1.264	376.75	374.05	0.110	0.115	365.85	337.87
T14	5	60	25	1.272	1.264	333.26	374.05	0.122	0.115	333.10	337.87
T15	7	80	20	2.415	2.340	374.86	379.89	0.124	0.119	300.14	252.35
T16	3	40	30	0.442	0.428	327.82	321.28	0.126	0.127	331.23	338.69
T17	3	40	20	0.426	0.641	330.29	301.12	0.125	0.122	343.90	334.26
T18	3	80	20	0.715	0.659	374.09	369.54	0.112	0.116	355.78	358.58
T19	3	80	30	0.903	0.868	379.37	379.09	0.123	0.117	374.03	321.80
T20	5	60	25	1.331	1.264	382.44	374.05	0.112	0.115	269.89	337.87

物生长。汪少娜等^[23]在猪粪厌氧消化过程中也得到了类似的结果，猪粪中残留磺胺甲噁唑质量浓度分别为 5、10、50 和 100 mg·L⁻¹ 时，日沼气产量的峰值出现的时间分别推迟到第 4、6、6 和 8 d。

2.2 抗生素残留质量分数和厌氧消化产气量的模型拟合分析

对试验结果进行响应面分析，评估猪粪含固率 (X_1)、抗生素初始质量分数 (X_2) 与厌氧消化时间 (X_3) 之间的交互效应。经过多次回归分析，磺胺二甲嘧啶残留质量分数 (Y_1) 和产气量 (Y_2) 结果分别拟合到二阶多项式方程中。回归模型如式 (1) 和式 (2) 所示。

$$Y_1(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}\text{TS}) = 2.937 - 0.375X_1 - 0.0457X_2 - 0.0787X_3 + 0.00788X_1X_2 + 0.00858X_1X_3 + 0.00106X_2X_3 - 0.000577X_1^2 + 0.0000114X_2^2 - 0.000212X_3^2 \quad (1)$$

和

$$Y_2(\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}\text{TS}) = -80.166 + 38.228X_1 + 2.347X_2 + 16.546X_3 - 0.0222X_1X_2 + 0.247X_1X_3 - 0.0265X_2X_3 - 3.880X_1^2 - 0.00320X_2^2 - 0.284X_3^2 \quad (2)$$

磺胺甲噁唑残留质量分数 (Y_3) 和产气量 (Y_4) 结果分别拟合到二阶多项式方程。该回归模型如式 (3) 和式 (4) 所示。

$$Y_3(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}\text{TS}) = 0.142 - 0.00325X_1 - 0.00118X_2 + 0.00158X_3 + 0.000119X_1X_2 - 0.000116X_1X_3 - 0.00000904X_2X_3 - 0.000318X_1^2 + 0.00000699X_2^2 - 0.00000725X_3^2 \quad (3)$$

和

$$Y_4(\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}\text{TS}) = 429.566 - 100.915X_1 + 4.001X_2 - 3.082X_3 + 0.920X_1X_2 + 4.099X_1X_3 - 0.103X_2X_3 - 8.123X_1^2 - 0.0341X_2^2 - 0.0930X_3^2 \quad (4)$$

1) 磺胺二甲嘧啶残留质量分数和产气量的方差分析。对磺胺二甲嘧啶残留质量分数和产气量所获得的方程进行方差分析。试验拟合的模型 p 值均小于 0.05 (磺胺二甲嘧啶残留质量分数模型的 p 值为 0.000 1, 产气量模型的 p 值为 0.045 2), 表明磺胺二甲嘧啶残留质量分数和产气量的二次项模型具有统计学意义; 2 个模型的决定系数 R^2 分别为 0.97 和 0.74, 表明 2 个模型的实际值和预测值存在较高的相关性; 此外 2 个模型的信噪比 (Signal-to-noise, S/N) 分别为 23.68 和 6.70, 均大于 4, 说明 2 个模型的准确度高, 试验结果可信。因此, 所建立的 2 个模型能够很好地反映磺胺二甲嘧啶残留质量分数和产气量的变化。

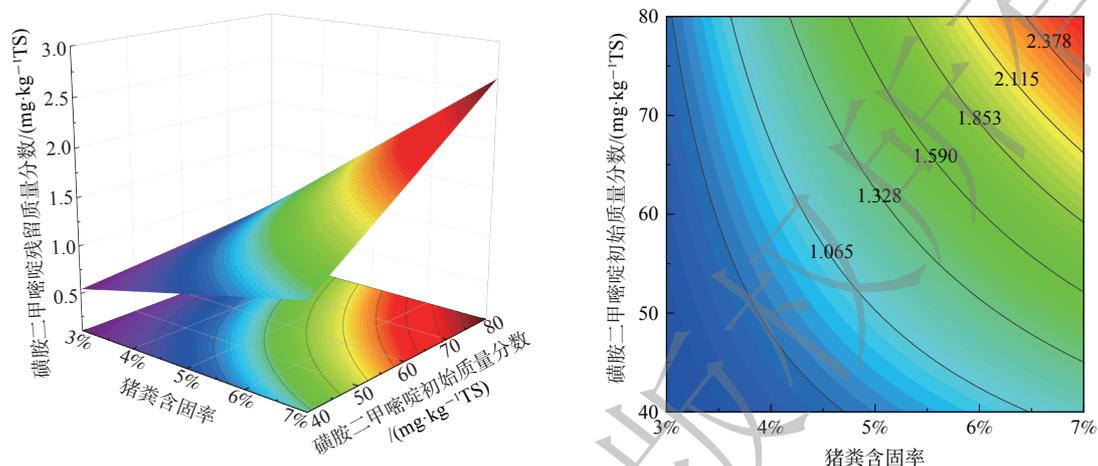
方差分析可检查各因素的显著性, 由 p 值结果可知, 磺胺二甲嘧啶残留质量分数的模型中 X_1 、 X_2 、 X_1X_2 对磺胺二甲嘧啶残留质量分数具有显著的影响, p 值分别为 <0.000 1、<0.000 1 和 0.000 4, 其余因素影响不显著。由 F 值大小可知, 对厌氧消化过程中磺胺二甲嘧啶残留质量分数影响强弱的顺序为 $X_1 > X_2 > X_3$, 即猪粪含固率 > 磺胺二甲嘧啶初始质量分数 > 厌氧消化时间。对于添加磺胺二甲嘧啶的猪粪厌氧消化过程中产气量的回归模型中可知, X_2 和 X_1^2 具有显著影响, p 值分别为 0.004 1 和 0.012 6, 其余因素影响不显著。由 F 值大小可知, 对含有磺胺二甲嘧啶的猪粪厌氧消化过程中产气量影响强弱的顺序为 $X_2 > X_3 > X_1$, 即磺胺二甲嘧啶初始质量分数 > 厌氧消化时间 > 猪粪含固率。

2) 磺胺甲噁唑残留质量分数和产气量的方差分析。对磺胺甲噁唑残留质量分数和产气量所获得的方程进行方差分析。通过回归模型方差分析可知磺胺甲噁唑残留质量分数模型的 $p=0.091 7 > 0.05$, 表明该模型不显著, 根据拟合方程预测的磺胺甲噁唑残留质量分数值与实际值存在一定的误差。而添加磺胺甲噁唑的猪粪厌氧消化产气量的回归模型 $p=0.003 4 < 0.05$, 表明该模型比较显著, 根据拟合方程预测的磺胺甲噁唑产气量与实际值比较接近; 此外该模型的 R^2 和信噪比分别为 0.86 和 9.37, 进一步说明该模型的准确度高, 试验结果可信。因此所建立的磺胺甲噁唑产气量模型能够很好地反映磺胺甲噁唑产气量的变化。

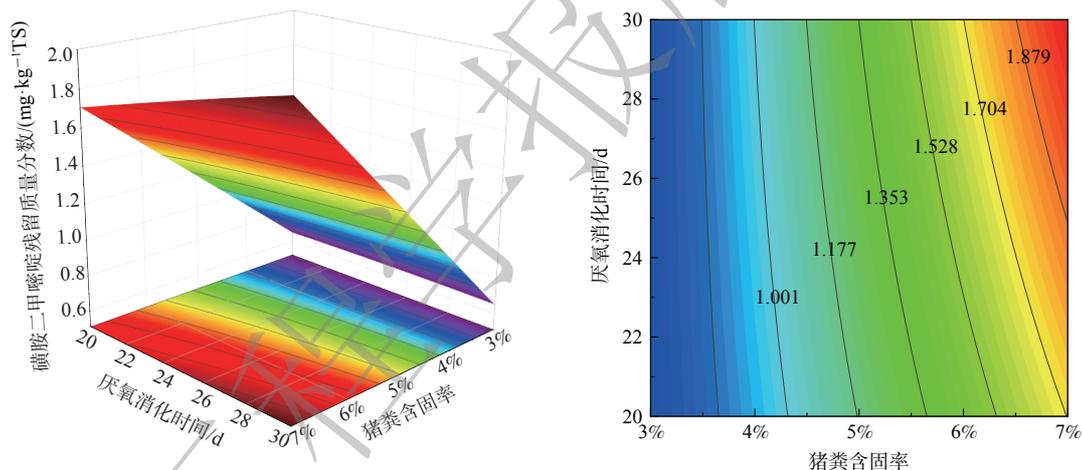
由磺胺甲噁唑残留质量分数回归模型的 p 值结果可知, X_1 和 X_2^2 具有显著性影响, p 值分别为 0.016 1 和 0.044 3, 其余因素影响不显著。由 F 值大小可知, 对磺胺甲噁唑残留质量分数影响强弱的顺序为 $X_1 > X_2 > X_3$, 即猪粪含固率 > 磺胺甲噁唑初始质量分数 > 厌氧消化时间。对于添加磺胺甲噁唑的猪粪厌氧消化过程中产气量的回归模型进行方差分析可知, 一次项 (X_1 、 X_2 、 X_3)、二次项 X_1^2 和交互项 (X_1X_3) 具有显著性影响, p 值分别为 0.002 0、0.008 5、0.019 4、0.034 2 和 0.006 3。由 F 值大小可知, 对厌氧消化过程中产气量影响强弱的顺序为 $X_1 > X_2 > X_3$, 即猪粪含固率 > 磺胺甲噁唑初始质量分数 > 厌氧消化时间。

2.3 抗生素残留质量分数的因子交互作用分析

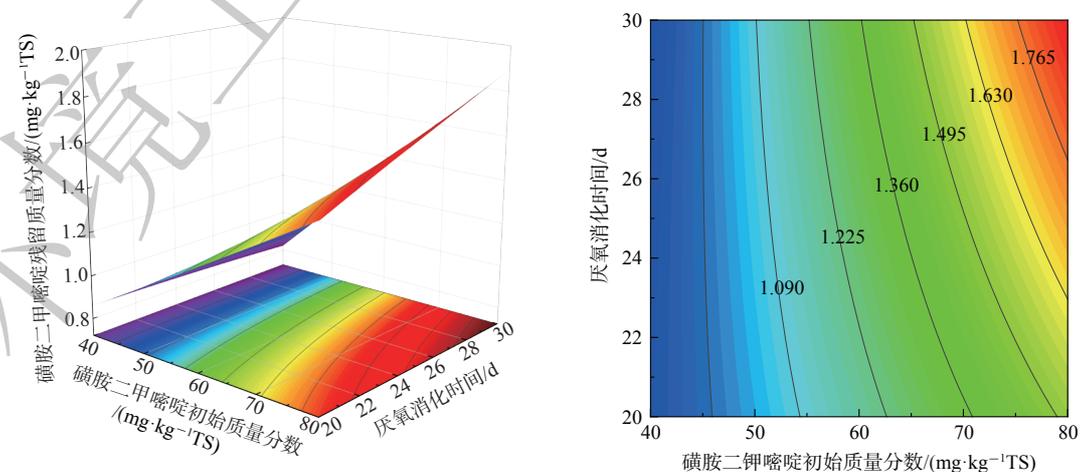
抗生素残留存在健康风险，特别是增加细菌的抗药性，影响人类身体健康^[24]。本研究的主要目的是优化厌氧消化条件，使厌氧消化对残留抗生素的去除效果最好。根据磺胺二甲嘧啶、磺胺甲噁唑残留质量分数回归方程 (1) 和 (3) 绘制三维曲面图和等高线图，如图 1、2 所示。图中显示了自变量(猪粪含固率、抗生素初



(a) 猪粪含固率和磺胺二甲嘧啶初始质量分数的交互作用的响应面图和等高线图



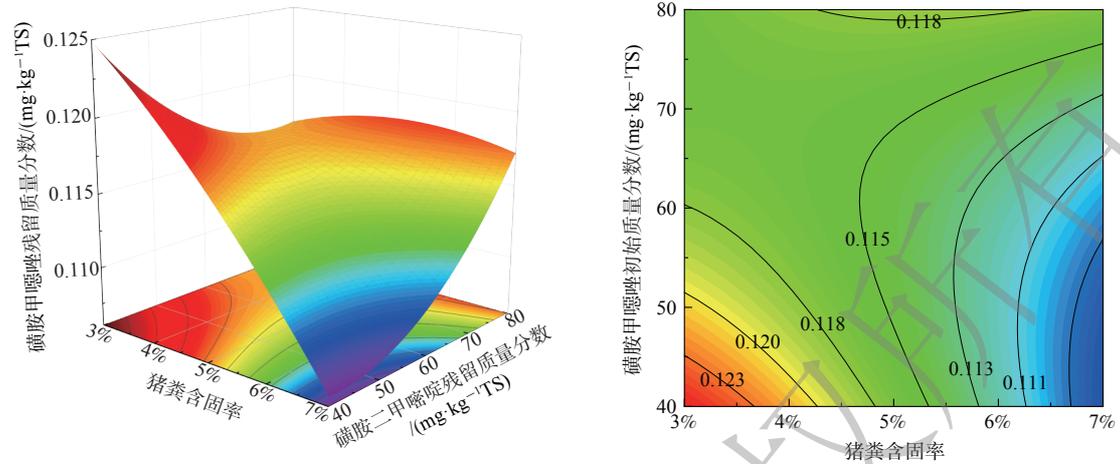
(b) 猪粪含固率和厌氧消化时间的交互作用的响应面图和等高线图



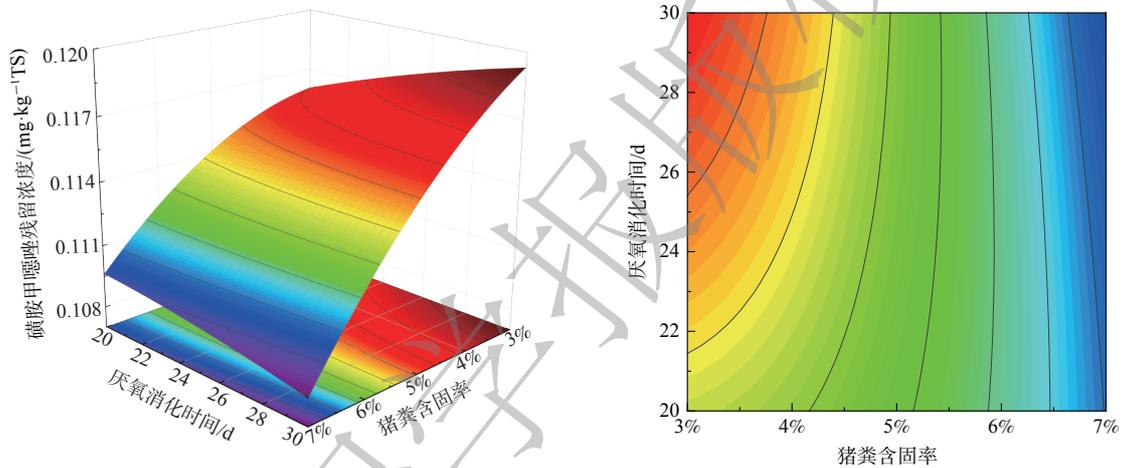
(c) 磺胺二甲嘧啶初始质量分数和厌氧消化时间的交互作用的响应面图和等高线图

图 1 不同自变量之间的交互作用对磺胺二甲嘧啶残留质量分数影响的响应面图和等高线图。

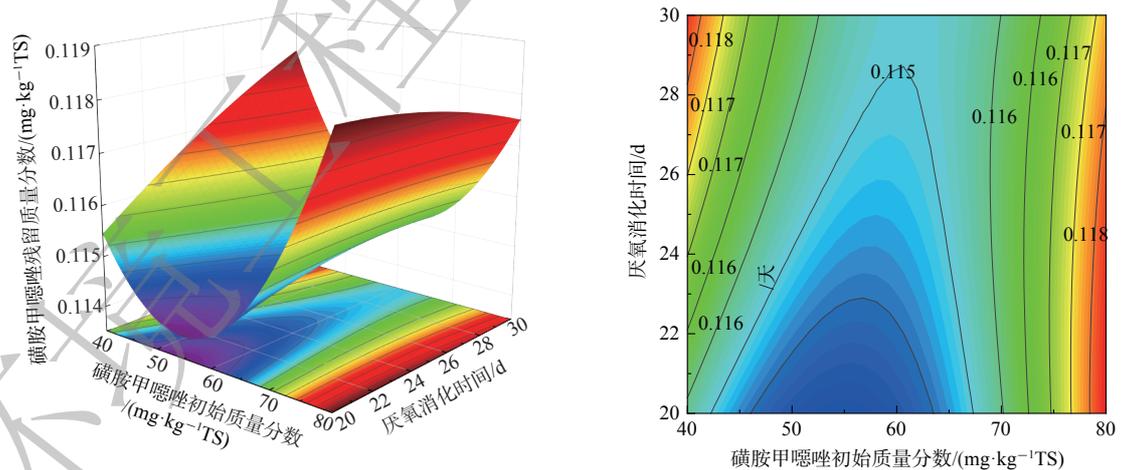
Fig. 1 Response surface and contour map of interaction between different variables on sulfadiazine residual concentration.



(a) 猪粪含固率和磺胺甲噁唑初始质量分数的交互作用的响应面图和等高线图



(b) 猪粪含固率和厌氧消化时间的交互作用的响应面图和等高线图



(c) 磺胺甲噁唑初始质量分数和厌氧消化时间的交互作用的响应面图和等高线图

图 2 不同自变量之间的交互作用对磺胺甲噁唑残留质量分数的响应面图和等高线图。

Fig. 2 Response surface and contour map of interaction between different variables on sulfamethoxazole residual concentration.

始质量分数、厌氧消化时间) 之间的交互作用以及其对响应变量 (抗生素残留质量分数) 的影响, 同时也比较了 2 种抗生素的残留质量分数受到 3 种因素的影响差异。

图1和图2的(a)分图为猪粪含固率和抗生素初始质量分数对SD和SMX残留质量分数的影响。由方差分析可知对于SD的残留质量分数,含固率和初始质量分数之间的交互作用是显著的,从图中可以看出,在猪粪含固率保持不变时,随着SD初始质量分数的升高,厌氧消化后SD残留质量分数升高;在SD初始质量分数保持不变时,猪粪含固率越高,厌氧消化后SD残留质量分数也相应的越高。所以当含固率和初始质量分数都处于较低的水平时,SD的残留质量分数最低。由方差分析可知,对于SMX残留质量分数,猪粪的含固率和初始质量分数之间的交互作用不显著,只有抗生素初始质量分数的影响是显著的。随着猪粪含固率和初始质量分数的升高,SMX残留质量分数呈现先降低后升高的趋势。

猪粪含固率和厌氧消化时间两者交互作用对厌氧消化后的抗生素残留质量分数的影响,由图1和图2的(b)分图可知。对于SD和SMX残留质量分数,含固率和厌氧消化时间之间的交互作用不显著,但2者因素之间进行比较,猪粪含固率对SD和SMX残留质量分数的影响更大。在厌氧消化时间一定的情况下,降低含固率,可以降低SD残留质量分数;而SMX呈现相反趋势,即猪粪含固率降低,SMX残留质量分数增加。上述结论表明,猪粪含固率对SD和SMX残留质量分数的影响不同。2种抗生素出现差异的可能是降解2种抗生素的微生物存在差异,对于SD的降解,在外加猪粪作为碳源的情况下,微生物先利用猪粪中的有机物,从而SD并不是受到的降解物质;对于SMX的降解,在一定含固量下猪粪和SMX的厌氧消化可以同时进行,并且猪粪厌氧消化的某些代谢物(乙酸盐、甲醇和葡萄糖等)可以产生共同代谢的作用^[25]。

图1和图2的(c)分图显示了厌氧消化时间和抗生素初始质量分数对SD和SMX残留质量分数的影响。对于2种抗生素残留质量分数,厌氧消化时间和初始质量分数的交互作用不显著。SD残留质量分数随着厌氧消化时间和磺胺二甲嘧啶初始质量分数的提高呈现上升的趋势,即初始质量分数增大也会使残留质量分数进一步增加。SMX残留质量分数随着初始质量分数和厌氧消化时间的升高首先呈现逐渐增大的趋势,达到最大值后,呈逐渐下降的趋势。在SMX初始质量分数固定时,随着厌氧消化时间的增大,SMX残留质量分数呈现先增大后降低的趋势;在厌氧消化时间固定,SMX残留质量分数也呈现出相同的变化规律的趋势,说明SMX的降解能力会随着初始质量分数的增加而增加。

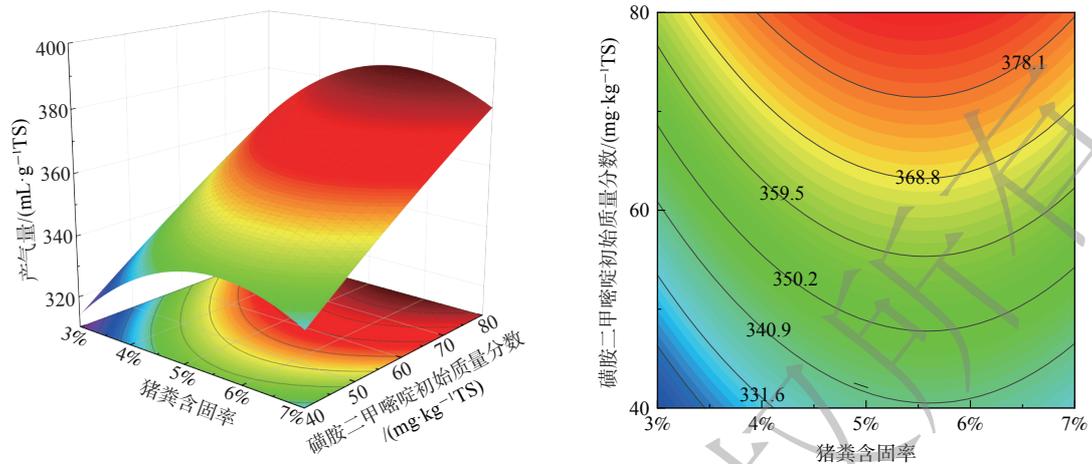
通过模型优化,磺胺二甲嘧啶残留质量分数最低的最优工艺条件为,猪粪含固率为3%,初始质量分数为 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{TS}$,厌氧消化时间为30d,预测的磺胺二甲嘧啶残留质量分数最低为 $0.428\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{TS}$ 。磺胺甲噁唑残留质量分数最低的最优工艺条件为,猪粪含固率为7%,初始质量分数为 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{TS}$,厌氧消化时间为20d,预测的磺胺甲噁唑残留质量分数最低为 $0.1063\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{TS}$ 。SMX的最低残留质量分数远远小于SD的最低残留质量分数,SMX的降解需要较高的含固率,而SD的降解需要较低的含固率,SMX降解的所需的时间也更短。

2.4 产气量的因子交互作用分析

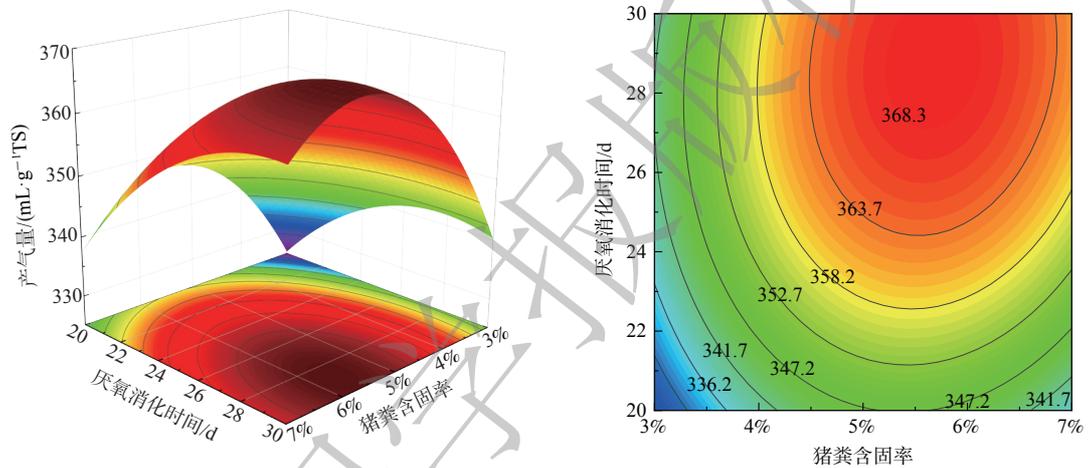
在有效降低抗生素的残留质量分数的同时,保持厌氧消化的稳定性至关重要。根据含有磺胺二甲嘧啶和磺胺甲噁唑的猪粪厌氧消化所产生的产气量回归方程(2)和(4)绘制三维曲面图和等高线图,如图3和图4所示。图中显示了自变量(猪粪含固率、抗生素初始质量分数、厌氧消化时间)之间的交互作用以及其对响应变量(产气量)的影响。

图3和图4的(a)分图为猪粪含固率和初始质量分数两者交互对猪粪厌氧消化产气量的影响。在添加SD的情况下,产气量随着猪粪含固率和SD初始质量分数的升高呈现逐渐增大,达到最大值后,呈缓慢下降的趋势。而对于添加SMX的情况下,在猪粪含固率保持不变时,随着SMX初始质量分数的升高,厌氧消化过程产气量增加,进一步提高SMX初始质量分数,产气量降低。同时,在SMX初始质量分数保持不变时,产气量的变化与SMX初始质量分数的变化一致。含固率和初始质量分数对两种抗生素的产气量的影响相似。

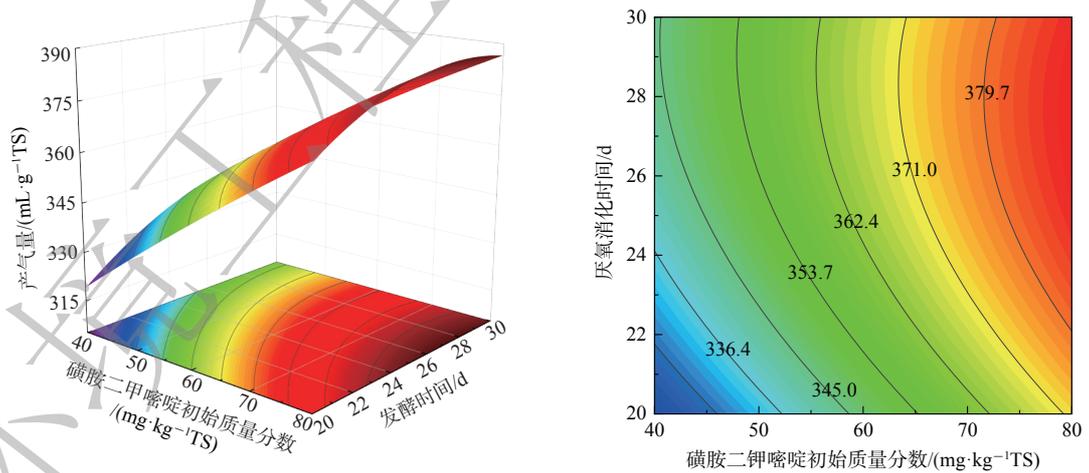
在抗生素初始质量分数处于固定值时,猪粪含固率和厌氧消化时间两者交互作用对产气量的影响如图3和图4的(b)分图所示。对于含有SD的产气量,猪粪含固率和厌氧消化时间之间的相互作用不显著,并且2者对于产气量的作用均不显著。对于含有SMX的产气量,猪粪含固率和厌氧消化时间之间的相互作用显著,并且2者对于产气量的作用均显著。2者的不同说明厌氧消化产甲烷菌群落的多样性与抗生素的种类有关^[26]。该试验表明磺胺甲噁唑的抗菌性更强,其降低了微生物群落的多样性,导致微生物对环境的变化



(a) 猪粪含固率和磺胺二甲嘧啶初始质量分数的交互作用的响应面图和等高线图



(b) 猪粪含固率和厌氧消化时间的交互作用的响应面图和等高线图



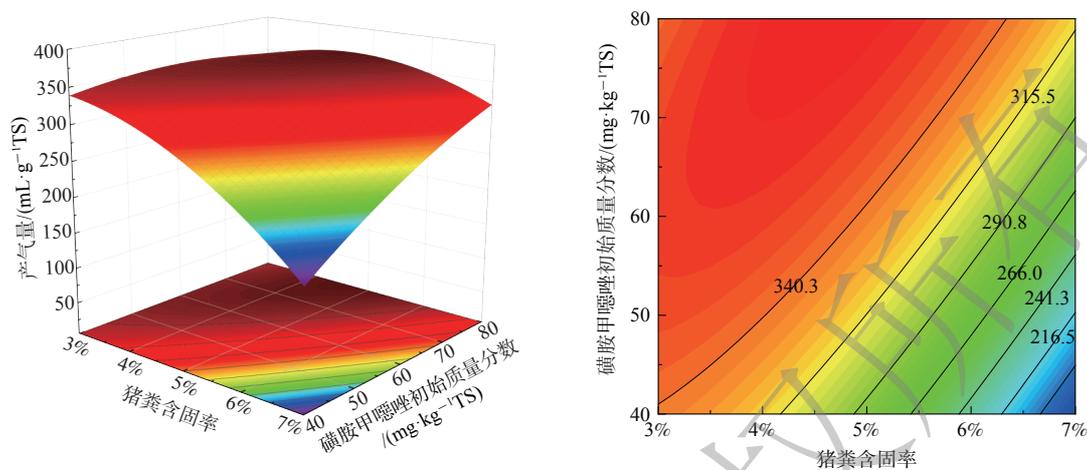
(c) 磺胺二甲嘧啶初始质量分数和厌氧消化时间的交互作用的响应面图和等高线图

图 3 不同自变量之间的交互作用对添加磺胺二甲嘧啶后的产气量响应面图和等高线图

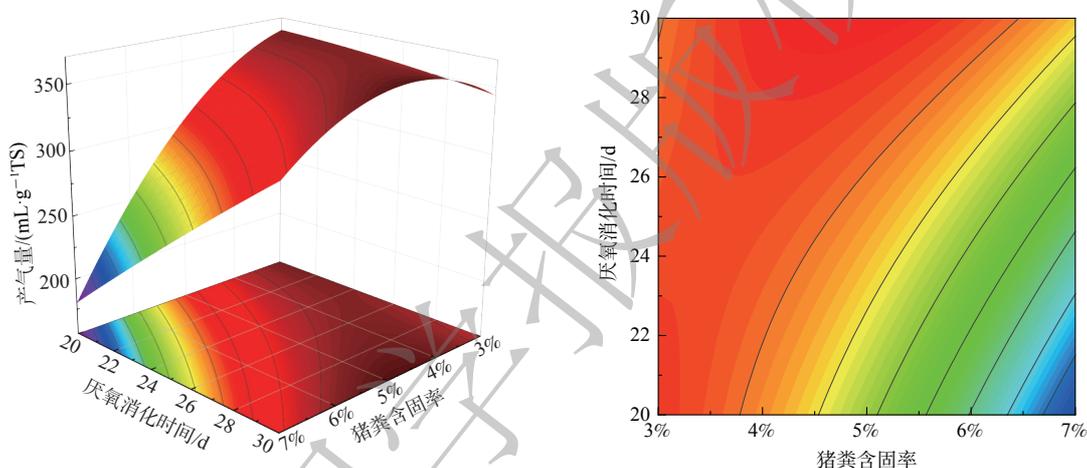
Fig. 3 Response surfaces and contour maps of interaction between different variables on gas production

更加敏感，从而产气量受到含固量和厌氧消化时间的影响。AYDIN 等^[27] 研究发现当厌氧消化系统中存在高质量浓度的 SMX (40 mg L⁻¹) 时，嗜酸产甲烷菌的丰度会急剧降低。

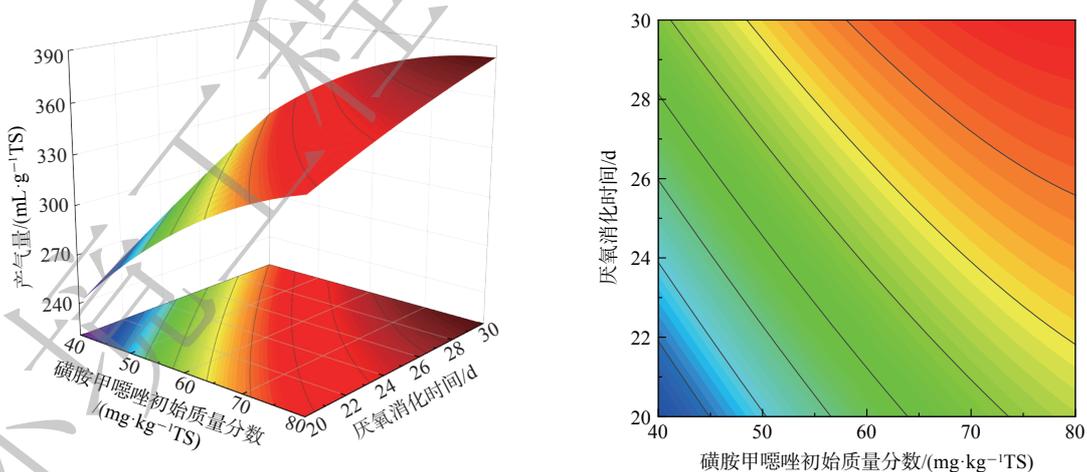
在猪粪含固率处于固定值时，初始质量分数和厌氧消化时间两者交互作用对产气量的影响如图 3 和



(a) 猪粪含固率和磺胺甲噁唑初始质量分数的交互作用的响应面图和等高线图



(b) 猪粪含固率和厌氧消化时间的交互作用的响应面图和等高线图



(c) 磺胺甲噁唑初始质量分数和厌氧消化时间的交互作用的响应面图和等高线图

图 4 不同自变量之间的交互作用对添加磺胺甲噁唑后的产气量的响应面图和等高线图

Fig. 4 Response surfaces and contour maps of interaction between different variables on gas production

图 4 的 (c) 分图所示。在 SD 初始质量分数固定时, 随着厌氧消化时间的增大, 产气量的变化不大; 在厌氧消化时间固定时, 产气量随着 SD 初始质量分数的升高而增大, SD 初始质量分数对产气量的影响大于厌氧消化时间。根据方差分析可知二者对产气量未存在显著的交互作用。对于 SMX 组的产气量, 随着 SMX 初始

质量分数和厌氧消化时间的增加呈现逐渐升高的趋势。在 SMX 初始质量分数固定时,产气量随着厌氧消化时间的延长逐渐增加;在厌氧消化时间固定时,产气量的变化与前者变化趋势一致。SMX 和 SD 初始质量分数相同的情况下,SMX 需要更长的反应时间,达到最大产气量。

通过模型优化,得到最优工艺条件,即 TS 为 5.58%,磺胺二甲嘧啶初始质量分数为 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$,厌氧消化时间为 27.8 d,预测的产气量最高为 $389.3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 。TS 为 5.89%;磺胺甲噁唑初始质量分数为 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$,厌氧消化时间为 30 d,预测的产气量最高为 $389.6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 。2 种抗生素的预测的最大产气量相差较小,磺胺甲噁唑需要更高的 TS 和更长的反应时间,说明 SMX 对环境中的微生物毒性更高,但是微生物能适应 SMX 的存在,不会影响整体的产气量。

3 结论

1) 根据方差分析可知,对于 SD 和 SMX 残留质量分数,3 个因素的影响显著性排序相同,TS>抗生素初始质量分数>厌氧消化时间;对于含有 SD 的粪便的厌氧消化产气量,3 个因素的影响显著性排序为,SD 质量分数>厌氧消化时间>TS;对于含有 SMX 的粪便的厌氧消化产气量,3 个因素的影响显著性排序为,TS>SMX 初始质量分数>厌氧消化时间。

2) 根据响应面分析可知,当 TS 为 3%,初始质量分数为 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$,厌氧消化时间为 30 d,预测的 SD 残留质量分数最低为 $0.428 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$;当 TS 为 7%,初始质量分数为 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$,厌氧消化时间为 20 d,预测的 SMX 残留质量分数最低为 $0.1063 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 。

3) 综合产气量考虑,当 TS 为 5.58%,SD 初始质量分数为 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$,厌氧消化时间为 27.8 d,预测的产气量为 $389.3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 。当 TS 为 5.89%,SMX 初始质量分数为 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$,厌氧消化时间为 30 d,预测的产气量为 $389.6 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \text{TS}$ 。

参考文献

- [1] 王冉,刘铁铮,王恬. 抗生素在环境中的转归及其生态毒性[J]. *生态学报*, 2006, 2(1): 265-270.
- [2] LIU L, LIA C X, ZHENG J Y, et al. Elimination of veterinary antibiotics and antibiotic resistance genes from swine wastewater in the vertical flow constructed wetlands[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(8): 1088-1093.
- [3] YIN F B, DONG H M, ZHANG W Q, et al. Antibiotic degradation and microbial community structures during acidification and methanogenesis of swine manure containing chlortetracycline or oxytetracycline[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 250: 247-255.
- [4] JJEMBAP K. Excretion and ecotoxicity of pharmaceutical and personal care products in the environment[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006, 63: 113-130.
- [5] 张志强. 设施菜田土壤四环素类抗生素污染与有机肥安全施用[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- [6] BIALK B A, STOLE S, MATZKE M, et al. Hydrolysis of sulphonamides in aqueous solutions[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 221-222: 264-274.
- [7] TAPPE W, HERBST M, HOFMANN D, et al. Degradation of Sulfadiazine by Microbacterium lacus Strain SDZm4, Isolated from Lysimeters Previously Manured with Slurry from Sulfadiazine-Medicated Pigs[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2013, 79(8): 2572-2577.
- [8] QIAO M, YING G M, SINGER A C, et al. Review of antibiotic resistance in China and its environment[J]. *Environment International*, 2018, 110: 160-172.
- [9] HWANG I Y, KOH E, KIM H R, et al. 2016. Reprogrammable microbial cell-based therapeutics against antibiotic-resistant bacteria[J]. *Drug Resistance Updates*, 2016, 27: 59-71.
- [10] LINS P, REITSCHULER C, ILLMER P. Impact of several antibiotics and 2-bromoethanesulfonate on the volatile fatty acid degradation, methanogenesis and community structure during thermophilic anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 190: 148-158.
- [11] TURCIOS A E, WEICHGREBE D, PAPENBROCK J. Uptake and biodegradation of the antimicrobial sulfadimidine by the species *Tripolium pannonicum* acting as biofilter and its further biodegradation by anaerobic digestion and concomitant biogas production[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 219: 687-693.
- [12] 孙建平, 郑平, 胡宝兰. 多种抗生素对畜禽废水厌氧消化的联合抑制[J]. *环境科学*. 2009, 12(9): 125-130.
- [13] ZHANG X, GU J, WANG X, et al. Effects of tylosin, ciprofloxacin, and sulfadimidine on mcrA gene abundance and the methanogen community during anaerobic digestion of cattle manure[J]. *Chemosphere*, 2019, 221: 81-88.
- [14] ZHI S, ZHANG K. Antibiotic residues may stimulate or suppress methane yield and microbial activity during high-solids anaerobic digestion[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 359: 1303-1315.
- [15] CETECIOGLU Z, INCE B, ORHON D, et al. Anaerobic sulfamethoxazole degradation is driven by homoacetogenesis coupled with hydrogenotrophic methanogenesis[J]. *Water Research*, 2016, 90: 79-89.
- [16] 李月, 钟为章, 牛建瑞, 等. 体系含固率对土霉素菌渣厌氧消化的影响[J]. *环境工程学报*, 2022, 16(7): 2347-2355.
- [17] LU X Q, ZHEN G Y, LIU Y, et al. Long-term effect of the anti-biotic cefalexin on methane production during waste activated sludge anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 169: 644-651.
- [18] 凌文翠, 范玉梅, 方瑶瑶, 等. 京津冀地区畜禽养殖业抗生素污染现状分析[J]. *环境工程技术学报*, 2018, 8(4): 390-397.
- [19] APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed. American, Public, Health, Association[S]. Washington, DC, USA: 1998.

- [20] 杜连柱, 梁军锋, 杨鹏, 等. 猪粪固体含量对厌氧消化产气性能影响及动力学分析[J]. *农业工程学报*, 2014, 30(24): 246-251.
- [21] MOHRING S A I, STRZYSC H I, FERNANDES M R, et al. Degradation and elimination of various sulfonamides during anaerobic fermentation: A promising step on the way to sustainable pharmacy?[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(7): 2569-2574.
- [22] WANG S, WANG J. Biodegradation and metabolic pathway of sulfamethoxazole by a novel strain *Acinetobacter* sp.[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(1): 425-432.
- [23] 汪少娜. 磺胺类抗生素对猪粪厌氧发酵的影响及其降解机理研究[D]. 北京科技大学, 2020.
- [24] BARAN W, ADAMEK E, ZIEMIANSKA J, et al. Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 196: 1-15.
- [25] XU B, MAO D, LUO Y, et al. Sulfamethoxazole biodegradation and biotransformation in the water-sediment system of a natural river[J]. *Bioresour ce Technology*, 2011, 102(14): 7069-7076.
- [26] MOLA EY R, BAYRAKDAR A, SÜRME L I R O, et al. Influence of trace element supplementation on anaerobic digestion of chicken manure: Linking process stability to methanogenic population dynamics[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 181: 794-800.
- [27] AYDIN S, INCE B, INCE O. Inhibitory effect of erythromycin, tetracycline and sulfamethoxazole antibiotics on anaerobic treatment of a pharmaceutical wastewater[J]. *Water Science and Technology*, 2015, 71(11): 1620-1628.

(责任编辑: 金曙光)

Optimization of antibiotic degradation efficiency during anaerobic digestion of swine manure using response surface method

WEI Xiaoman¹, YIN Fubin^{1,*}, LIAN Tianjing², CAO Qitao¹, DONG Hongmin¹

1. Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Beijing 100081, China; 2. Northwest Agriculture and Forest University, Xianyang 712100, China

*Corresponding author, E-mail: yinfubin@caas.cn

Abstract To study interaction of the fermentation time, total solids and initial concentration on degradation efficiency during anaerobic digestion of swine manure, response surface methodology was used to find out optimal parameters to reduce antibiotic residual concentrations of sulfadimidine (SD) and sulfamethoxazole (SMX), by using the above three factors as independent variables and antibiotic residual concentration and gas production as response values. The results showed that the lowest residual concentration of SD was 0.428 mg·kg⁻¹TS when there were 3% TS, 40 mg·kg⁻¹TS initial concentration and 30 d; the lowest residual concentration of SMX was 0.1063 mg·kg⁻¹TS when there were 7% TS, 40 mg·kg⁻¹TS initial concentration and 20 d. The highest gas yield of swine manure with SD was 389.3 mL·kg⁻¹TS when there were 5.58% TS, 80 mg·kg⁻¹TS initial concentration and 27.8 d; the highest gas yield of swine manure with SMX was 389.6 mL·kg⁻¹TS when there were 5.88% TS, 80 mg·kg⁻¹TS initial concentration and 30 d. This study provides theoretical and technical support for reducing antibiotic residues and increasing gas production during anaerobic digestion of swine manure.

Keywords animal manure; antibiotic; anaerobic digestion; solid content; response surface methodology