



# 厌氧发酵菌剂对黑水厌氧发酵和无害化效果的影响

孙远博<sup>1</sup>, 杨飙<sup>1</sup>, Eid S. Gaballah<sup>1</sup>, 李淑萍<sup>2,3</sup>, 朱光灿<sup>1,2,3</sup>✉

1. 东南大学能源与环境学院, 南京 210096; 2. 西藏自治区水质安全与水环境健康重点实验室, 咸阳 712000;  
3. 西藏水污染控制与生态修复国家民委重点实验室, 咸阳 712000

**摘要** 为实现农村黑水的安全资源化利用, 本研究通过添加厌氧发酵菌剂, 分别考察了菌剂投加量、发酵温度对黑水中有有机物的转化和病原微生物灭活效果的影响, 分析了发酵体系中微生物群落结构的变化。结果表明厌氧发酵菌剂对黑水厌氧发酵有明显促进作用, 适宜投加量为黑水量的 1‰。较高温度有利于黑水发酵, SCOD 积累量最高达 1497 mg·L<sup>-1</sup>, VFA 积累量为 359 mg·L<sup>-1</sup>, 80.3% 的纤维素被降解, 粪大肠菌群数、蛔虫卵数均达到无害化要求。低温时微生物活性降低但仍有明显促进效果。发酵体系中, 厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门是主要优势菌门, 相对丰度分别为 35.8%~63.0%、9.9%~43.8% 和 2.6%~31.5%; 优势菌属为 *Acinetobacter*, *Tissierella*, *Bacteroides* 菌属, 相对丰度分别为 14.0%~22.5%、6.4%~14.5% 和 1.3%~7.9%。厌氧发酵菌剂的投加提高了具有水解酸化功能的厚壁菌门的丰度, 降低了变形菌门的丰度; 同时提高了具有降解木质素、纤维素的 *Dysgonomonas* 丰度, 降低了 *Acinetobacter*, *Ruminococcus* 和 *Romboutsia* 的丰度。本研究结果可为应用厌氧发酵菌剂促进黑水厌氧发酵、臭味控制、实现黑水的高效无害化和资源化提供依据。

**关键词** 农村生活污水; 黑水厌氧发酵; 厌氧发酵菌剂; 有机物转化; 无害化效果; 微生物群落结构

农村生活污水的可持续治理是建设宜居宜业和美乡村的重要内容之一。传统的农村生活污水治理方式存在建设及运维成本高、污染物收集率低、运行不稳定、运维复杂等问题, 是一种消耗能源处理资源的非可持续治理路径。农村生活污水的资源化利用已成为共识, 在地形条件复杂或农房较为分散的农村地区, 基于黑灰分离的分散式污水资源化利用系统是更为有效且可持续的治理模式<sup>[1]</sup>。

生活污水根据其来源可以分为来自厕所的黑水和来自厨房、洗涤、洗澡等的灰水, 其中黑水主要包括粪便、尿液和冲厕水等<sup>[2]</sup>。人粪尿的日均排放量仅占生活污水的 1%~2%(体积比), 但生活污水中约 60% 的化学需氧量 (Chemical Oxygen Demand, COD)、97% 的总氮 (Total Nitrogen, TN) 和 90% 的总磷 (Total Phosphorus, TP) 源自于黑水<sup>[3]</sup>。因此, 源分离是一种能充分利用黑水中营养物质并大幅降低污水处理成本的有效方案<sup>[4]</sup>。通过“黑灰分离”, 对黑水进行处理, 获得液态或固态肥, 实现黑水资源化利用。化粪池是农村地区常见的无动力黑水简易处理设施<sup>[5]</sup>, 通过厌氧消化实现对黑水中有有机物的降解, 然而, 化粪池的简易厌氧消化不能有效去除黑水中所含有的大量病原微生物。王玉华等<sup>[6]</sup>研究发现在三格式化粪池中, 经 30 d 以上的厌氧消化, 粪大肠菌值无法满足无害化卫生要求, 增加了利用过程中的安全风险。通过提高发酵温度或与餐厨垃圾、畜禽粪便、厌氧污泥、农业废弃物共消化等方式, 可有效灭活病原微生物, 同时产生清洁能源甲烷, 实现黑水的资源化, 但需要额外的设施收集农户黑水和产生的甲烷, 增加了建设成本, 在广大农村地区推广应用难度较大。因此, 强化黑水在化粪池内厌氧发酵, 促进大分子有机物的水解和病原微生物的灭活, 是进行黑水安全资源化利用的关键<sup>[7]</sup>。

本研究应用厌氧发酵菌剂, 强化黑水厌氧发酵产酸过程, 促进黑水中有有机物的快速水解并积累有机酸, 抑制后续的产甲烷过程, 保留黑水中的小分子有机物和营养物质, 获得液态肥, 同时有效控制黑水中的臭味

收稿日期: 2024-05-23; 录用日期: 2024-08-13

基金项目: 江苏省生态环境成果转化与推广重点项目 (2022002)

第一作者: 孙远博 (1999 —), 男, 硕士研究生, 研究方向为农村生活污水资源化利用, 1326200566@qq.com ✉通信作者: 朱光灿 (1972 —), 男, 博士, 教授, 研究方向为低碳水处理与资源化利用、高原水处理与水环境生态修复等, gc-zhu@seu.edu.cn

物质和粪大肠菌群等病原微生物,保障发酵液回田利用的安全性。通过批次实验,考察了厌氧发酵菌剂投加量、发酵温度对黑水中有机物转化、有机酸积累、臭味控制和病原微生物灭活的影响,分析了发酵体系中微生物群落结构的变化,提出了适宜的黑水强化处理方法,为实现农村黑水资源化安全利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 厌氧发酵菌剂和黑水的获取及表征

本文使用的厌氧发酵菌剂由课题组与登高环保科技有限公司联合研发,外观为黑色液体,有少许沉淀。厌氧发酵菌剂的性质为:pH为7.6,总化学需氧量(total chemical oxygen demand, TCOD)为150 000 mg·L<sup>-1</sup>,溶解性化学需氧量(soluble chemical oxygen demand, SCOD)为270 mg·L<sup>-1</sup>,总固体浓度(total solids, TS)为1 500 mg·L<sup>-1</sup>,挥发性固体浓度(volatile solids, VS)为1 480 mg·L<sup>-1</sup>。

高通量测序结果显示厌氧发酵菌剂含有16种细菌门,优势菌门为厚壁菌门和变形菌门,相对丰度分别为88.3%和11.2%;含有69种菌属,优势菌属为乳杆菌属、罗尔斯通菌属、假单胞菌属和寡养单胞菌属,相对丰度分别为87.4%、6.5%、2.1%和1.1%,表1列出了相对丰度排名前10的细菌门/属。

表1 厌氧发酵菌剂微生物群落丰度

Table 1 Microbial community abundance of the anaerobic fermentation bacterial agent

门水平分类	相对丰度/%	属水平分类	相对丰度/%
厚壁菌门(Firmicutes)	88.28	乳杆菌属( <i>Lactobacillus</i> )	87.40
变形菌门(Proteobacteria)	11.21	罗尔斯通菌属( <i>Ralstonia</i> )	6.55
拟杆菌门(Bacteroidota)	0.25	假单胞菌属( <i>Pseudomonas</i> )	2.06
放线菌门(Actinobacteriota)	0.08	寡养单胞菌属( <i>Stenotrophomonas</i> )	1.07
蓝藻菌门(Cyanobacteria)	0.05	李斯特菌属( <i>Listeria</i> )	0.48
脱硫杆菌门(Desulfobacterota)	0.02	根瘤菌属( <i>Allorhizobium-Rhizobium</i> )	0.37
疣微菌门(Verrucomicrobiota)	0.02	气单胞菌属( <i>Aeromonas</i> )	0.19
脱铁杆菌门(Deferribacterota)	0.02	弧菌属( <i>Vibrio</i> )	0.13
奇球菌门(Deinococcota)	0.02	固氮螺菌属( <i>Azospirillum</i> )	0.12
梭杆菌门(Fusobacteriota)	0.02	普氏菌属( <i>Prevotella_9</i> )	0.08

实验用黑水取自东南大学校园厕所,厕所冲水量为每次5 L。取样后,将黑水混匀并分装至厌氧反应器内进行厌氧发酵实验。黑水pH为9.2±0.3,TCOD为(2 900±100) mg·L<sup>-1</sup>,SCOD为(300±20) mg·L<sup>-1</sup>,TS为(1 950±150) mg·L<sup>-1</sup>,VS为(1 200±100) mg·L<sup>-1</sup>,TN为(545±25) mg·L<sup>-1</sup>,TP为(125±15) mg·L<sup>-1</sup>,总钾(Total Potassium, TK)为(3.5±1.7) mg·L<sup>-1</sup>,粪大肠菌群数为(1.6±0.8)×10<sup>10</sup> MPN·L<sup>-1</sup>,蛔虫卵数为(2 650±350) MPN·L<sup>-1</sup>。

### 1.2 实验装置

本研究实验装置为如图1所示的双层厌氧反应釜,有效容积为2 L,设有转速为30 r·min<sup>-1</sup>的搅拌机。使用带有循环泵的恒温水浴锅,在反应釜夹层中注入恒温水控制反应温度。

### 1.3 实验方案

1) 厌氧发酵菌剂适宜投加量的确定。在正式实验前,分别在0、0.2、0.4、0.6、0.8、1 mL和0、2、4、6、8、10 mL两个菌剂投加量梯度下进行了黑水发酵预实验,黑水量为2 L,发酵时间为20 d。预实验结果表明,1 mL以下的菌剂投加量下,厌氧发酵效果较差,而在2~10 mL投加量下,厌氧发酵菌剂的效果差异并不显著,因此将菌剂投加量梯度设置为0.5、1.0、1.5、2.0和2.5 mL。发酵10 d后,SCOD、VFA等指标均趋于平稳,故确定发酵时间为10 d。

在5个分别装有2 L黑水的反应釜内,分别投加0.5、1.0、1.5、2.0和2.5 mL的厌氧发酵菌剂,编号分别为F1~F5,并设置不投加厌氧发酵菌剂的对照组F0。在室温(20±1)℃下进行为期10 d的厌氧发酵实

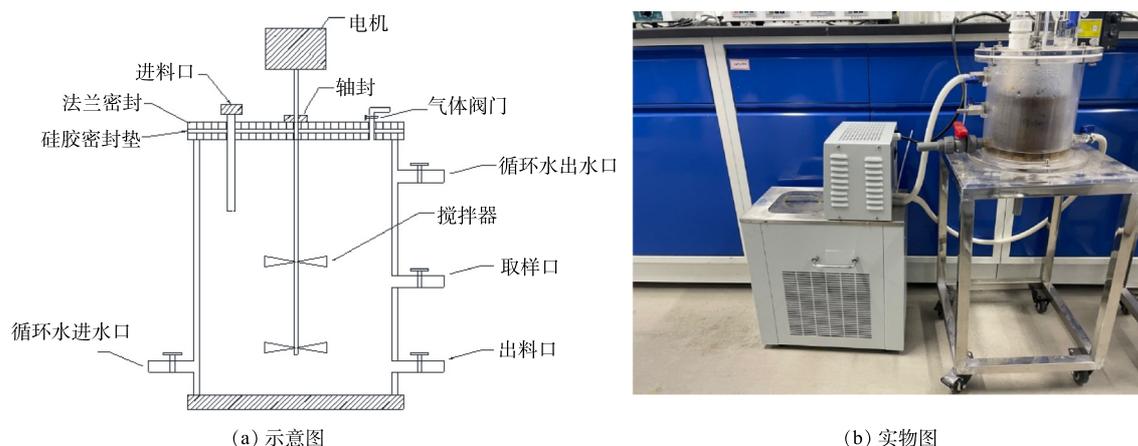


图1 实验装置示意图与实物图

Fig. 1 Schematic and physical diagram of experimental device

验。搅拌速度  $30 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，反应釜内投加聚氨酯海绵填料，填充体积比 70%。每天取上清液，测定 TCOD、SCOD、VFA、氨氮、TN、TP 等指标。经  $0.45 \mu\text{m}$  膜过滤后的黑水原水和发酵后水样均在  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  下保存，并在 3 d 内完成测定。每天取样后，反应器内通氮气 5 min 以保证厌氧环境。

2) 温度对厌氧发酵菌剂强化黑水厌氧发酵的影响。在 3 个装有 2 L 黑水的反应釜内各投加 2.0 mL 厌氧发酵菌剂 (投加量由前述实验确定)，搅拌速度  $30 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，聚氨酯填料填充体积比为 70%，分别在 10、20、 $30 \text{ }^\circ\text{C}$  下进行为期 10 d 的厌氧发酵实验，实验编号为 T1、T2 和 T3，并设置  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  下不添加厌氧发酵菌剂的对照组 T0。经  $0.45 \mu\text{m}$  膜过滤后的黑水原水和发酵后水样均在  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  下保存，并在 3 d 内完成测定。每天取样后，反应器内通氮气 5 min 以保证厌氧环境。

3) 黑水厌氧发酵过程中微生物群落结构分析。常温下，在有效容积为 2 L 的厌氧反应釜内进行厌氧发酵实验，厌氧发酵菌剂投加量为 2.0 mL (由实验 1 确定)，搅拌速率为  $30 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，聚氨酯填料填充率 70%，记为 M1。设置不添加厌氧发酵菌剂的对照组为 M0，其他条件一致。取黑水原水及发酵时间为 1、5、10 d 的 M0、M1 发酵液，经  $12\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心后获得沉淀，分析其微生物群落结构。

#### 1.4 分析方法

1) 微生物群落分析方法。经离心处理后，沉淀物的高通量测序委托广东美格基因科技有限公司进行。使用引物 341F(CCTACGGGNGGCWGCAG) 和 805R(GACTACHVGGGTATCTAATCC) 对细菌 16srDNA 的 V3/V4 区域进行扩增，使用 Illumina Novaseq 6000 / Miseq 高通量测序平台的 PE250 / PE150 / PE300 模式进行测序。使用 QIIME2 (Version QIIME2-202202) 软件进行降噪，并获得最终的 ASV (Amplicon Sequence Variants) 以及特征表。使用 QIIME2 软件的 SILVA138.1 数据库对进行物种注释分析<sup>[8-9]</sup>。

2) 其他指标分析方法。pH、TS、VS、TCOD、SCOD、氨氮、TN、TP 按照国家标准方法测定<sup>[10]</sup>。使用 pH100A 型 pH 计 (HACH, Loveland, Colorado, USA) 测定 pH。使用配有 HPFFAP 毛细管柱 ( $30 \text{ m}\times 0.25 \text{ mm}\times 0.25 \text{ mm}$ ) 和氢火焰离子化检测器的气相色谱仪 (7890B, 美国 Agilent 公司) 测定 VFA<sup>[11]</sup>。UV<sub>254</sub>、E4/E6 使用分光光度计 (UV8100A, 中国 Labtech 公司) 进行测定。蛋白质质量浓度采用比色法测定<sup>[12-13]</sup>。纤维素采用中性洗涤剂洗涤、蒽酮比色定糖法测定<sup>[14]</sup>。粪大肠菌值采用《粪便无害化卫生标准》(GB7959) 中的推荐方法测定<sup>[15]</sup>。粪大肠菌群数采用多管发酵法测定<sup>[16]</sup>。三维荧光光谱采用荧光光谱仪 (Cary Eclipse, 美国 Agilent 公司) 测定。粪臭素采用高效液相色谱仪 (6890A, 美国 Agilent 公司) 测定，色谱条件如下：色谱柱为 Hypersill BDSC18 ( $250 \text{ mm}\times 4.6 \text{ mm}\times 5 \mu\text{m}$ )，柱温  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ，紫外检测波长  $254 \text{ nm}$ ，流动相为甲醇:水 ( $75:25$ , 体积比)，流速为  $0.6 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ，进样量为  $20 \mu\text{L}$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 厌氧发酵菌剂适宜投加量的确定

1) 厌氧发酵菌剂投加量对 TCOD 与 SCOD 的影响。不同厌氧发酵菌剂投加量下的黑水 TCOD 与 SCOD 值在不同时间的变化如图 2 所示。在常温且没有投加菌剂的情况下，TCOD 整体呈波动降低的趋势。

与对照组相比, 添加了厌氧发酵菌剂的反应器内, TCOD 值降低较慢。其中 F5 号反应器添加了最多剂量的厌氧发酵菌剂, 其 TCOD 的去除率为 36%, 低于 F4 号反应器的 43.3%。F1、F2 和 F3 号反应器有着相似的 TCOD 去除率, 均在 67% 左右。这种 TCOD 变化的差异可能是由于菌剂的添加导致黑水中的更易通过物理沉降作用沉淀的大颗粒物质被分解为粒度更小、更不易沉降的小颗粒物质。这点也可以从黑水的表现形态看出, 添加了菌剂的反应器内絮状物更多, 而对照组内大部分固体物质均沉降在底部。

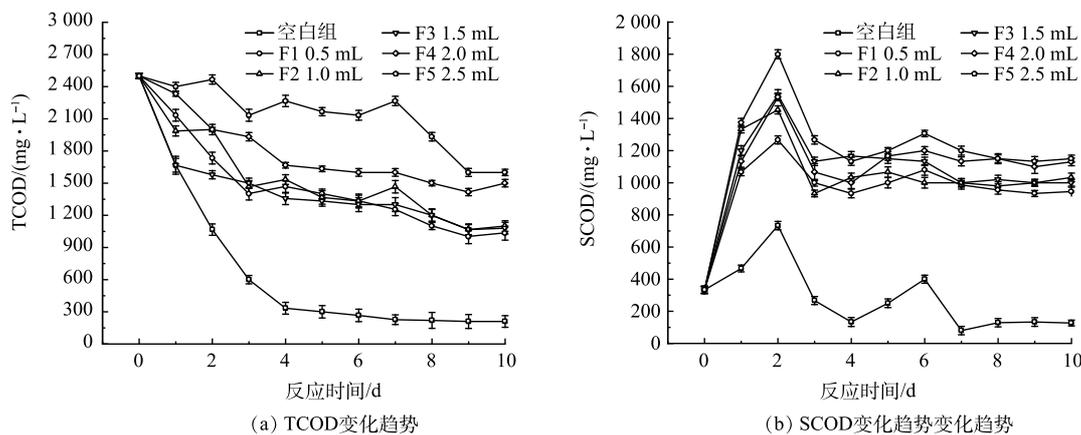


图 2 不同菌剂投加量下, TCOD 与 SCOD 的变化

Fig. 2 Variations of TCOD and SCOD at different doses of bacterial agent

与 TCOD 不同, SCOD 表现出不同的趋势。随着反应时间的增加, SCOD 整体呈现出先上升后略微下降, 随后保持稳定的状态。在反应器内部同时存在 2 种反应, 一种是粒径较大的不溶性的颗粒在微生物的作用下逐步转化为粒径较小的不溶性颗粒, 并且进一步转化为可溶性物质, 这会导致 SCOD 的升高。同时, 溶解在水中的有机物会通过微生物的同化作用和异化分解, 导致 SCOD 的减少。出现上述趋势的原因可能是, 在反应前 3 d, 反应器内的主要反应过程为非溶解性物质转化为溶解性有机物, 因此 SCOD 值在前 3 d 迅速积累, 呈上升趋势, 随后 2 d, 黑水中溶解性有机物含量的增加导致微生物大量生长, 同化作用和异化分解开始占据主要地位, SCOD 呈下降趋势, 之后这两类反应过程逐渐达到平衡。6 个反应器内, SCOD 值均在第 3 天达到峰值, 随后开始下降。其中 F5 反应器内 SCOD 峰值最高, 为  $1800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 而不添加菌剂的对照组峰值最低。上述结果说明添加厌氧发酵菌剂可以有效促进黑水中不溶性物质转化为溶解性有机物, 进而有利于黑水中微生物的增殖, 这一点在后续进一步讨论。厌氧发酵菌剂的投加量影响了黑水 SCOD 值, 较多的厌氧发酵菌剂促进了黑水中 SCOD 的积累。F5 反应器添加了  $2.5 \text{ mL}$  厌氧发酵菌剂, 获得最高的 SCOD 值, 但反应 10 d 后 SCOD 的积累量仅比添加  $2.0 \text{ mL}$  的 F4 反应器提高 3%, 而 F4 反应器比 F3 中的 SCOD 值提高了 10%。该结果表明厌氧发酵菌剂添加的越多, 越有利于黑水中不溶性有机质的水解, 但菌剂的添加量增加至一定值后, 其效果不再明显提升。

2) 厌氧发酵菌剂投加量对氨氮的影响。不同厌氧发酵菌剂投加量对黑水氨氮值的影响如图 3 所示。由于黑水中含有大量蛋白质, 在微生物的分解作用下可形成高质量浓度的氨氮<sup>[17]</sup>。由图 3 可见, 氨氮由最开始的  $147 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  开始快速积累, 最高达到  $342 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。有研究<sup>[18]</sup>表明, 厌氧发酵过程氨氮质量浓度应保持在  $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  以下, 以避免高质量浓度氨氮抑制产甲烷菌的活性。但本文使用的厌氧发酵菌剂旨在促进厌氧产酸过程, 即厌氧发酵的第一阶段, 通过这一阶段产生富含有机物和氮磷营养物质的发酵液, 进而实现黑水的资源化。因此, 尽管在很多文献中氨氮积累被极力避免, 但在本文中氨氮积累可以提高发酵液中营养盐的含量, 有利于黑水资源化效率。添加厌氧发酵菌剂的反应器中氨氮积累量明显高于对照组, 反应 10 d 后 F5 反应器的氨氮质量浓度达到了  $342 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 明显高于对照组的  $198 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。YAN 等<sup>[19]</sup>研究表明, 黑水在厌氧发酵过程中产生的高质量浓度氨氮主要来源于尿素和蛋白质的分解。因此, 厌氧发酵菌剂的添加能够明显促进蛋白质和尿素等的水解过程, 对于提高黑水中的营养物质质量浓度有贡献较大, 该结果在后文的蛋白质的分析中也能进一步证明。与 SCOD 类似, 仅添加  $0.5 \text{ mL}$  的厌氧发酵菌剂就可以使黑水中的氨氮质量浓度提升

27%，而 F5 与 F4 相比氨氮质量浓度积累仅提高 2%，因此，在提高厌氧发酵菌剂量至 2.0 mL 后，再增加菌剂使用量并不能明显提高氨氮的积累效率。

3) 厌氧发酵菌剂投加量对 VFA 生成的影响。厌氧发酵菌剂投加量对黑水 VFA 值的影响如图 4 所示。黑水中的大分子有机物通过厌氧发酵转化可为微生物、植物利用的小分子有机物，本研究使用的厌氧发酵菌剂强化了厌氧产酸的过程，促进黑水中 VFA 的积累。对照组中的 VFA 积累量最低，反应 10 d 后从最开始的  $62.16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  仅增加至  $116.84 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。而在添加了厌氧发酵菌剂的反应器内，VFA 的积累量明显高于对照组，表明厌氧发酵菌剂对黑水厌氧发酵的产酸阶段具有积极的促进作用，增加发酵菌剂的投加量可以提高 VFA 的产量，但投加量从 F4 的 2 mL 提高至 F5 的 2.5 mL 时，VFA 产量和积累速率相近。

4) 厌氧发酵菌剂投加量对 TN 与 TP 的影响。厌氧菌剂投加量对黑水中 TP 与 TN 值的影响如图 5 所示。6 个反应器的 TN 质量浓度在第 2 天均有明显积累，且积累量相当，但在随后的反应中均有所衰减。发酵过程中各反应器 pH 由 9.2 下降至 8.1~8.4，始终处于碱性条件，因此部分游离氨的挥发导致 TN 下降，但由于氨氮的产生量大于氨的挥发量，氨氮质量浓度没有下降 (图 3)。添加了厌氧发酵菌剂的反应器内，由于发酵液中氨氮质量浓度的增加，TN 的衰减速度略慢于对照组，但菌剂投加量对于 TN 质量浓度的变化没有显著影响。TP 的积累与 TN 有所差异，反应第 2 天由于颗粒态含磷有机物的水解，各组 TP 质量浓度均有增加，F0~F2 组在反应 2 d 后，TP 质量浓度开始有所降低，而 F3~F5 组的 TP 质量浓度缓慢增加，其中 F5 组在反应 10 d 后 TP 质量浓度最高，达到  $159 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。这可能

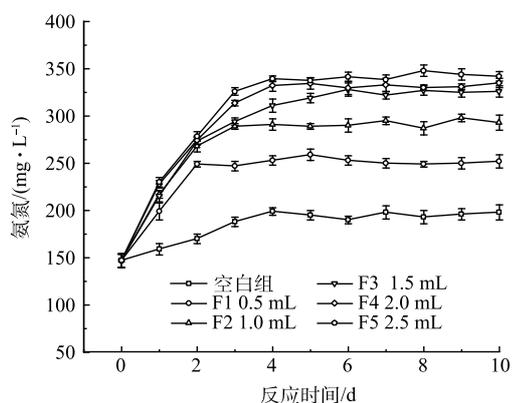


图 3 不同菌剂投加量下，氨氮质量浓度的变化

Fig. 3 Variations of ammonia nitrogen concentration at different doses of bacterial agent

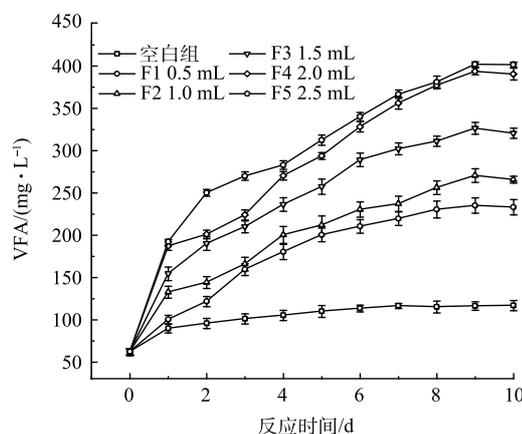


图 4 不同菌剂投加量下，VFA 质量浓度的变化

Fig. 4 Variations of VFA concentration at different dosages of bacterial agent

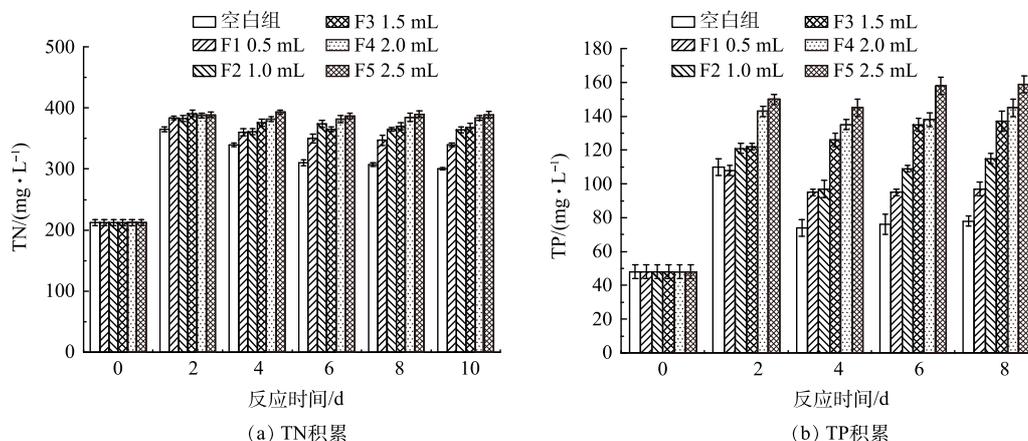


图 5 不同菌剂投加量下，TN 和 TP 的积累

Fig. 5 Accumulation of TN and TP at different dosages of bacterial agent

与固磷微生物的作用有关,即添加 1.5 mL 及以上的厌氧发酵菌剂的反应体系中固磷微生物菌群在厌氧发酵菌剂的作用下得到更好生长<sup>[19]</sup>。

5) 厌氧发酵菌剂投加量对粪大肠菌值的影响。在《粪便无害化卫生要求》(GB7959-2012)中,粪大肠菌值是评价黑水无害化的一个重要指标<sup>[15]</sup>。本研究监测了黑水原水和发酵 10 d 后黑水的粪大肠菌值,结果如表 2 所示。由表可知,经过 10 d 的厌氧发酵后,黑水中粪大肠菌值均升高。粪大肠菌值越高,表明检测出粪大肠菌存在所需要的稀释倍数越高,也表明该体系内可能含有的粪大肠菌的个数越少。表 2 表明,添加了厌氧发酵菌剂的实验组,其发酵液粪大肠菌值均显著高于对照组 F0,证实了本研究使用的厌氧发酵菌剂可以高效促进黑水的无害化。

黑水在不同厌氧发酵菌剂投加量时经 10 d 厌氧发酵后,SCOD、氨氮和 VFA 的积累如图 6 所示。由图可知,各指标的最终积累的质量浓度与厌氧发酵菌剂投加量呈正相关,表明厌氧发酵菌剂可以促进黑水在厌氧发酵过程中固态及大分子有机物的水解、VFA 的产生和致病菌的去除,菌剂量从 0 增加至 2 mL 时促进作用显著,而当菌剂投加量从 2.0 mL 增加至 2.5 mL 时,SCOD 值、VFA 值和氨氮质量浓度变化不显著,因此厌氧发酵菌剂的适宜投加量为 1.0 mL·L<sup>-1</sup> 黑水,即黑水量的 1‰。

## 2.2 温度对厌氧发酵菌剂强化黑水厌氧发酵的影响

1) 对水质指标的影响。SCOD 可以直观表现出黑水中溶解性有机物的积累,不同温度时黑水的 SCOD 值变化如图 7 所示。由于黑水中颗粒态有机物在发酵初期的有效水解,各组 SCOD 值快速上升,随后由于微生物的同化作用及异化分解,SCOD 值逐渐下降并维持稳定。温度对水解过程有显著影响,温度越高,发酵液 SCOD 的峰值越高,T3 组的 SCOD 值在反应第 1 天就达到 1 800 mg·L<sup>-1</sup> 的峰值,而 T1 组的峰值仅为 1 300 mg·L<sup>-1</sup>,但均高于对照组 T0 的 933 mg·L<sup>-1</sup>,各组在实验 4 d 后 SCOD 值趋于稳定,该结果表明在 10 °C 至 30 °C 的范围内,提高温度可以促进黑水厌氧发酵过程的水解阶段。而在 10 °C 时,添加厌氧发酵菌剂的黑水与常温下不添加菌剂的黑水相比,其 SCOD 值的积累也较高,说明在较低温度下,厌氧发酵菌剂依然可以有效促进黑水中颗粒态有机物的水解。

温度对黑水氨氮质量浓度的影响如图 8 所示。各组氨氮质量浓度呈现先升高后稳定的趋势,其中 T1 和 T2 两组在反应 4 d 后,氨氮值的的增长达到相对稳定的状态,T2 的氨氮积累量在反应 10 d 后达到 325 mg·L<sup>-1</sup>,

表 2 不同菌剂投加量下,黑水的粪大肠菌群值

Table 2 Fecal coliform values of blackwater at different dosages of bacterial agents

发酵时间/d	F0	F1	F2	F3	F4	F5
0	$4.0 \times 10^{-6}$					
10	$4.0 \times 10^{-5}$	0.4	0.6	3.6	4.3	4.3

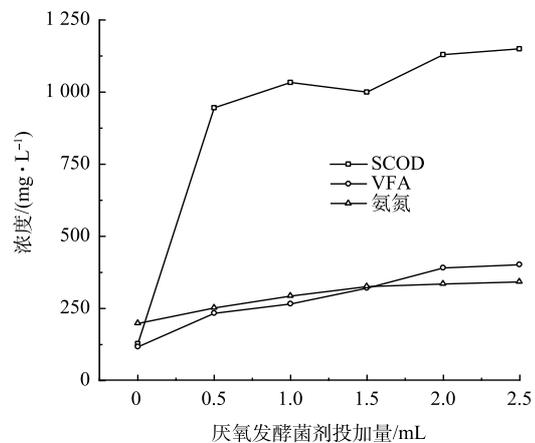


图 6 不同厌氧发酵菌剂投加量下,SCOD、VFA 和氨氮在黑水中的积累

Fig. 6 Accumulation of SCOD, VFA and ammonia in blackwater at different dosages of anaerobic fermentation bacterial agent

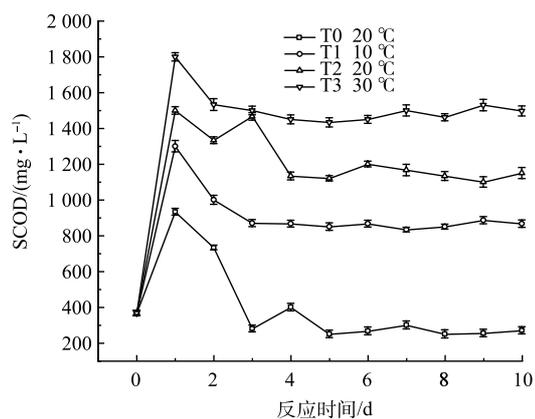


图 7 不同温度下,SCOD 的变化

Fig. 7 Variations of SCOD at different temperatures

略高于 T1 的  $318 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，而 T3 中氨氮值在反应 7 d 后趋于稳定，积累量为  $403 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，高于其余实验组。该结果表明较低温度仍然可以实现氨氮的积累，但适当升高温度可促进黑水中含氮有机物的生物分解，使氨氮的积累更多。

图 9 为各组黑水发酵中 TN 变化。在经历 1~2 d 的快速积累后，由于氨的挥发，总氮值均有所下降，其中 T3 组 TN 积累最多，第 2 天达到峰值  $422 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，但其随后的下降量也最多，第 10 d 时质量浓度降至  $377 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，低于 T1 和 T2 组，可能原因是较高的温度促进了氨的挥发，导致 TN 下降。低温下的 T1 组 TN 值在各反应阶段均低于 T2 常温组，其原因为低温条件下微生物活性下降，颗粒态含氮有机物的分解较慢，达到平衡时的 TN 值也较低。不同温度时各组 TP 质量浓度均高于对照组 T0，但 T1~T3 组间差异不大，说明投加发酵菌剂时温度对于总磷的积累影响不大。

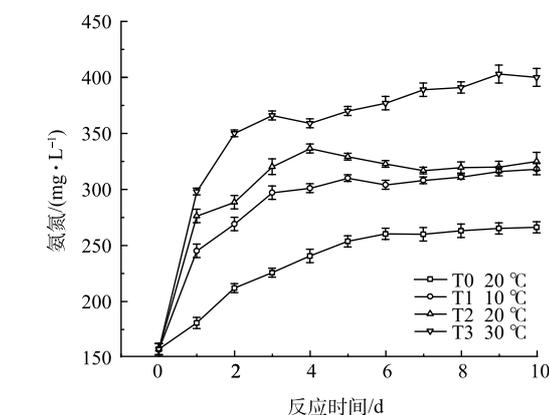
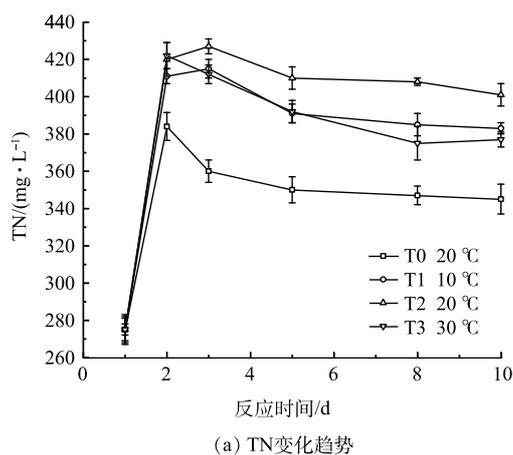


图 8 不同温度下，氨氮质量浓度的变化

Fig. 8 Variations of ammonia nitrogen at different temperatures

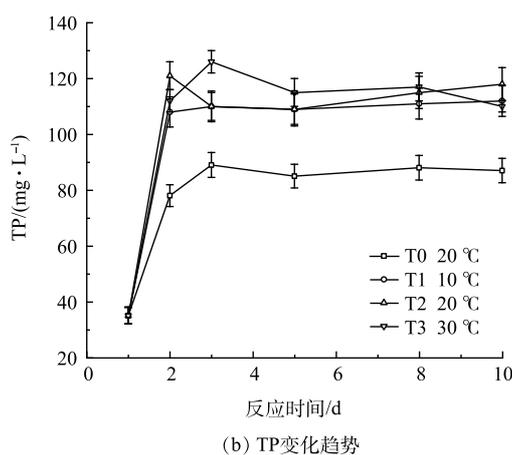


图 9 不同温度下，TN 和 TP 的变化

Fig. 9 Variations of TN and TP at different temperatures

$UV_{254}$  是衡量水中有机物的一个重要指标，其与 COD、DOC 等均具有良好的关联性<sup>[20-21]</sup>。由图 10 可知，厌氧发酵 1~2 d 内  $UV_{254}$  值即达到峰值，随后快速下降，在第 3~5 天开始稳定，这种变化是黑水中颗粒态有机物的水解和溶解性有机物生物降解共同作用的结果。有研究表明，木质素、丹宁等有机污染物在 254 nm 处均有较强的吸收<sup>[22]</sup>， $UV_{254}$  的下降表明在厌氧发酵菌剂的作用下，这类物质很好地被降解<sup>[23]</sup>，而未投加发酵菌剂的对照组 T0 中黑水  $UV_{254}$  值变化量较小。温度对  $UV_{254}$  有显著影响，温度越高，其值变化速率越高，其原因为温度影响黑水中微生物活性。T1 低温组黑水的  $UV_{254}$  在第 5 天后才达到稳定状态，但稳定后  $UV_{254}$  的值与 T2 和 T3 组无显著区别，表明温度对黑水中有机物的水解程度并无显著影响。

E4/E6 值可用于表征苯环 C 骨架的聚合程度及羰基共轭度，其值越小表示有机物的聚合程度越

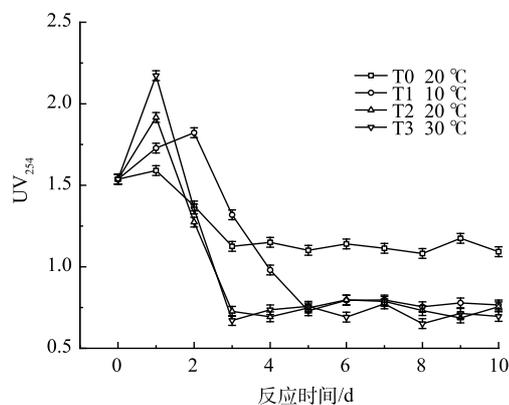


图 10 不同温度下， $UV_{254}$  的变化

Fig. 10 Variations of  $UV_{254}$  at different temperatures

高<sup>[24]</sup>。温度对黑水 E4/E6 值的影响如图 11 所示。在厌氧发酵的前期, E4/E6 快速升高, 表明在反应起始阶段大分子物质占总溶解性有机物的比例较高, 随着反应的进行, 小分子物质占总溶解性有机物的比例快速增加, 其原因为发酵菌剂在反应前期即可将大分子有机物有效分解为小分子物质。研究表明, 分子质量小于 1kDa 的有机物含量是水体是否具有生物稳定性的关键<sup>[25]</sup>, 因此在厌氧发酵菌剂作用下发酵的黑水具有更强的生物稳定性。T1 与 T2 组相比没有明显差异, T3 组由于温度升高, 黑水的 E4/E6 值在反应后期略高于另外两个实验组, 该现象表明温度升高可以使黑水中小分子有机物占比提高。

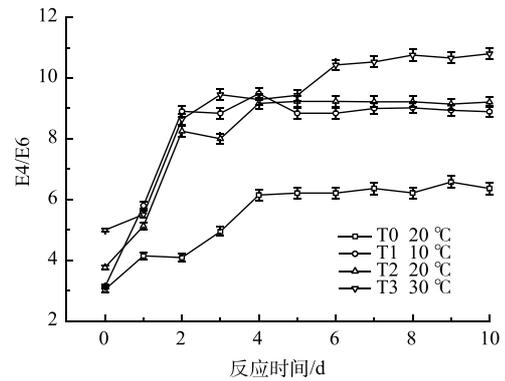


图 11 不同温度下, E4/E6 的变化

Fig. 11 Variations of E4/E6 at different temperatures

2) 对有机物转化的影响。黑水中溶解性有机物 (dissolved organic matter, DOM), 如腐殖酸和蛋白质等, 受特定激发光线照射的影响, 会产生各异的荧光信号<sup>[26]</sup>。对黑水的三维荧光光谱图进行分析, 可以揭示黑水在不同温度时发酵前后 DOM 化学组分的变化, 结果如图 12 所示。由图 12 可知, 黑水的三维荧光光谱图主要由两个明显的荧光峰组成, 分别为类腐殖酸峰 (Ex/Em=260~300 nm/350~390 nm) 与类蛋白质峰 (Ex/Em=215~235 nm/350~410 nm)<sup>[27-28]</sup>, 这与王明月等<sup>[22]</sup>对黑水进行三维荧光光谱强度测定, 所检测到的峰一致。图 12 表明, 经 10 d 发酵后, 黑水中类腐殖酸与类蛋白质物质含量明显升高, 且与对照组相比, T1~T3 实验组黑水中类腐殖酸与类蛋白质物质的积累明显高于对照组, 表明添加厌氧发酵菌剂可以极大促进黑水在厌氧发酵的过程中类腐殖酸与类蛋白质物质的积累。T1 组中, 黑水经发酵后, 类腐殖酸物质的积累低

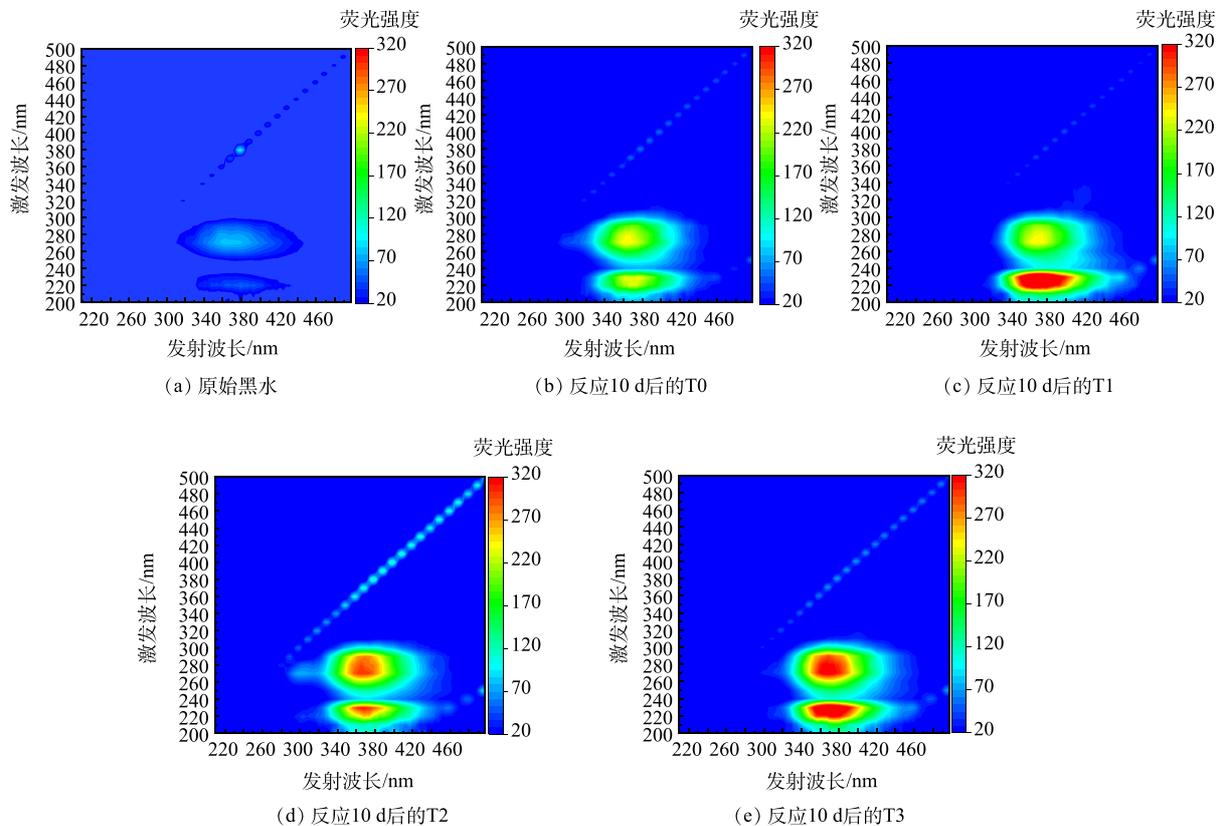


图 12 不同温度下, 黑水的三维荧光光谱图

Fig. 12 Three-dimensional fluorescence spectra of black water at different temperatures

于 T2 与 T3, 表明低温条件不利于将有机物分解为类腐殖酸物质。而不同温度条件下, 对于类蛋白物质的积累并无明显影响。

黑水发酵过程中的蛋白质量浓度的变化如图 13 所示, 呈现先升高、后逐渐趋于稳定的趋势。由图 13 可知, 温度越高, 黑水中蛋白质量浓度升高越快, 积累量也越多, T3 中黑水的蛋白质量浓度在发酵 10 d 后达到  $79.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 而 T2 与 T1 组中的蛋白质量浓度分别为  $61.6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $68.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。与对照组 T0 相比, T1 中的蛋白质量浓度积累速率与最终积累量都较高, 表明低温条件下添加厌氧发酵菌剂也可以促进黑水中蛋白质量浓度的提高。

温度对黑水厌氧发酵过程中 VFA 的积累速率有显著影响, 结果如图 14 所示。T3 组 VFA 积累最快, 在反应第 5 天达到  $359 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , T2 与 T1 组也在第 5 d 达到最高值, 分别为  $305 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  与  $268 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , T1~T3 组均在第 5 天后维持稳定, 表明温度的升高可以促进黑水厌氧发酵中的产酸过程, 使 VFA 积累量提高。T1 组与 T0 组相比, VFA 的积累速率与积累量也有明显升高, 这一现象表明在低温条件下, 可以通过投加厌氧发酵菌剂的方式来促进黑水的厌氧发酵产酸过程。

纤维素是一类分子量较大且难以被微生物降解利用的有机物, 这也是导致厌氧发酵启动困难的一个很重要的因素<sup>[29]</sup>。图 15 反映了黑水厌氧发酵过程中的纤维素含量的变化。由图可知, 在常温且不添加厌氧发酵菌剂的情况下, T0 组经 10 d 的厌氧发酵后, 纤维素仅被降解 10.9% 左右, 而添加了厌氧发酵菌剂的实验组, 纤维素降解速率明显高于 T0 组, 表明厌氧发酵菌剂对纤维素的降解具有明显促进作用。T1 组在发酵初期纤维素质量浓度下降较慢, 这可能是由于在低温条件下, 纤维素降解菌群较不活跃, 导致降解速度较低, 并且在发酵 10 d 后, 其纤维素降解率为 64.3%, 低于 T2 组的 75.5% 和 T3 组的 80.3%。该结果表明较高温度促进了纤维素的生物降解, 而低温对纤维素的生物降解有一定抑制作用, 但仍显著优于空白组中的纤维素降解。

3) 对无害化指标的影响。粪臭素 (3-甲基吡嗪) 是一类有难闻气味的有机物, 是黑水中臭味物质的主要来源<sup>[30]</sup>。通过液相色谱法对粪臭素含量进行监测, 结果如图 16 所示。常温下, 不添加发酵菌剂的黑水厌氧发酵 10 d 后, 对粪臭素的降解能力有限, 粪臭素质量浓度由  $553.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  降低至  $475.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 去除率为 14%, 因此, 单独黑水在厌氧发酵

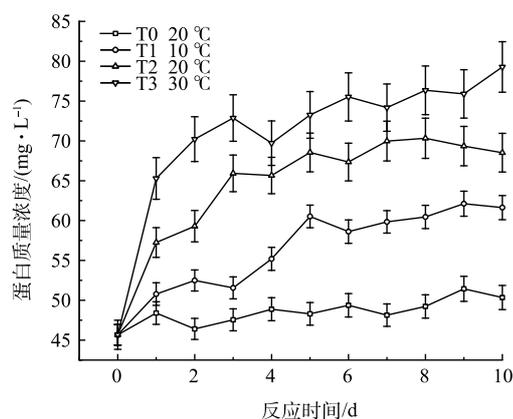


图 13 不同温度下, 蛋白质量浓度的变化

Fig. 13 Variations of protein concentration at different temperatures

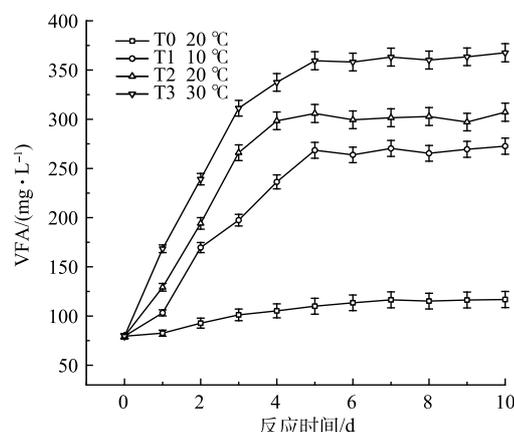


图 14 不同温度下, VFA 质量浓度的变化

Fig. 14 Variations of VFA concentration at different temperatures

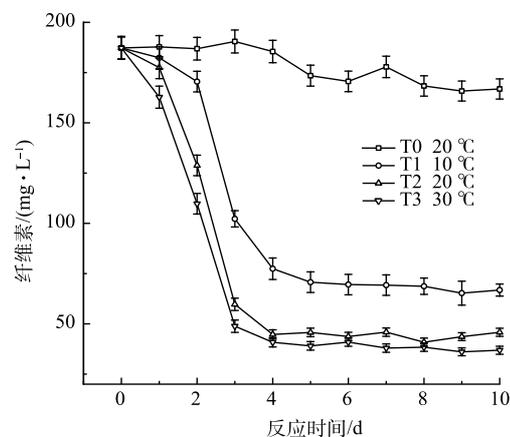


图 15 不同温度下, 纤维素质量浓度的变化

Fig. 15 Variations of cellulose concentration at different temperatures

过程中会有难闻的气味。T1~T3 组粪臭素降解效果显著,降解率在 77.3%~83.1% 之间。有文献报道了单独培养粪臭素降解菌 *Burkholderia* sp. IDO3, 在 pH 4.0~9.0, 30~35 °C 时降解粪臭素性能最佳,降解率为 82%<sup>[31]</sup>, MA 等<sup>[32]</sup> 的研究中,两种粪臭素降解菌 *Rhodococcus* sp. DMU1 和 *Rhodococcus* sp. DMU2 在接种量为 1%、pH 为 7.0、温度 30 °C、转速 150 r·min<sup>-1</sup> 时可降解 250 mg·L<sup>-1</sup> 的粪臭素, MENG 等<sup>[33]</sup> 培养了 *Lactobacillus brevis* 1.12 菌株,在 1 mL 的粪臭素质量浓度为 1.0 μg·mL<sup>-1</sup> 系统中,粪臭素降解率为 65%。本研究通过添加厌氧发酵菌剂,可以实现最高 83.1% 的粪臭素降解率。

粪大肠菌是一种常见的致病菌,多见于人与动物的排泄物中。在 2.1 节中检测了黑水在发酵过程中粪大肠菌值的变化,在本小节进一步采用多管发酵法确定具体的粪大肠菌群数,从而可以更直观反映黑水中粪大肠菌群的数量变化。各反应组不同时间的粪大肠菌群数的最大可能数 (most probable number, MPN) 如表 3 所示。在对照组 T0 中,黑水的粪大肠菌群数在厌氧发酵过程中均处于较高的数值,远超我国农业推荐标准中规定的 10 000 个·L<sup>-1</sup><sup>[34]</sup>。添加厌氧发酵菌剂后,在反应初期对粪大肠菌并没有高效灭活,T2 与 T3 组甚至出现了粪大肠菌群数升高的现象,这可能是由于在反应初期,反应器内还未处于完全厌氧状态,发酵系统的还未稳定,导致粪大肠菌群数出现波动。从反应第 3 天开始,T1~T3 组黑水中的粪大肠菌群数均开始迅速下降,直到反应第 7 天时,黑水中的粪大肠菌开始保持在较低的水平。在发酵后期,添加了厌氧发酵菌剂的黑水中,粪大肠菌群数远低于我国农业推荐标准。可能的原因是厌氧发酵菌剂的添加,显著减少了 *Bacteroides* 菌属的相对丰度,文献研究表明这是一类与肠道疾病有关的菌属,对粪大肠菌群的贡献较高<sup>[35]</sup>。该结果表明,在低温、常温和较高温度条件下,厌氧发酵菌剂可以促进高效灭活黑水中的粪大肠菌群,有效降低利用黑水发酵液作为液态肥施用于农田时的安全风险。在实际应用中,应保证黑水的厌氧发酵时间不少于 7 d,以确保黑水的无害化效果,控制资源化利用的安全风险。

对黑水中的蛔虫卵个数在发酵前后的数量变化也进行了检测和分析,结果如表 4 所示。根据我国粪便无害化卫生标准,蛔虫卵死亡率应 ≥95%,由表 4 可知,T1~T3 均达到标准要求限值,蛔虫卵死亡率均在 97% 以上,而 T0 组未添加厌氧发酵菌剂,经过 10 d 的发酵,蛔虫卵指标难以满足无害化要求。表明厌氧发酵菌剂的投加可以快速有效灭活黑水中蛔虫卵等寄生虫卵,使其满足我国农业推荐标准和无害化卫生要求。T0 组的蛔虫卵数量最低,T3 组最高,表明温度越低,可能越有利于蛔虫卵的灭活,这与宋伟民等<sup>[36]</sup> 的研究结果一致。

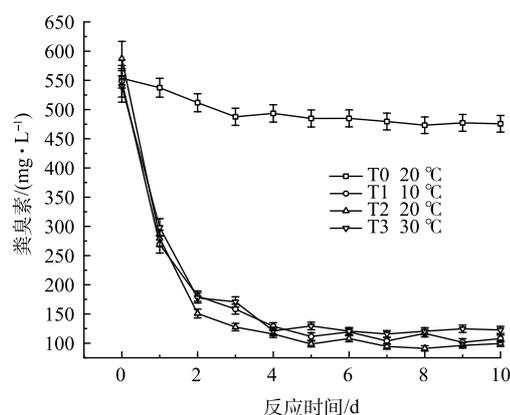


图 16 不同温度下,粪臭素质量浓度的变化

Fig. 16 Variations of skatole concentration at different temperatures

表 3 不同温度下,黑水的粪大肠菌群的最大可能数

Table 3 Most probable number of *Fecal coliform* in black water at different temperatures

发酵时间/d	T0/(MPN·L <sup>-1</sup> )	T1/(MPN·L <sup>-1</sup> )	T2/(MPN·L <sup>-1</sup> )	T3/(MPN·L <sup>-1</sup> )
0	9.2×10 <sup>9</sup>	9.2×10 <sup>9</sup>	9.2×10 <sup>9</sup>	9.2×10 <sup>9</sup>
1	1.7×10 <sup>10</sup>	9.2×10 <sup>9</sup>	1.1×10 <sup>10</sup>	1.3×10 <sup>10</sup>
2	1.9×10 <sup>10</sup>	5.3×10 <sup>9</sup>	7.4×10 <sup>9</sup>	9.1×10 <sup>9</sup>
3	2.1×10 <sup>10</sup>	3.7×10 <sup>6</sup>	4.3×10 <sup>6</sup>	8.3×10 <sup>8</sup>
4	2.3×10 <sup>9</sup>	4.7×10 <sup>5</sup>	2.9×10 <sup>5</sup>	3.5×10 <sup>6</sup>
5	1.9×10 <sup>9</sup>	7.3×10 <sup>4</sup>	1.3×10 <sup>5</sup>	7.2×10 <sup>5</sup>
6	2.3×10 <sup>10</sup>	5 900	8.3×10 <sup>4</sup>	5.5×10 <sup>5</sup>
7	2.5×10 <sup>10</sup>	3 700	9 300	1.3×10 <sup>4</sup>
8	2.3×10 <sup>10</sup>	2 800	4 900	8 600
9	2.3×10 <sup>10</sup>	3 300	3 100	7 900
10	2.5×10 <sup>10</sup>	3 400	5 400	6 400

表 4 不同温度下,黑水的蛔虫卵的最大可能数

Table 4 Most probable number of *Ascaris lumbricoides* eggs in black water at different temperatures

发酵时间/d	T0	T1	T2	T3
0	2.6×10 <sup>3</sup>	2.6×10 <sup>3</sup>	2.6×10 <sup>3</sup>	2.6×10 <sup>3</sup>
10	1.2×10 <sup>3</sup>	4	11	60

### 2.3 黑水厌氧发酵过程中微生物群落结构分析

空白组 (M0) 与实验组 (M1) 同时进行为期 10 d 的厌氧发酵实验, 取黑水原水及发酵时间为 1、5、10 d 的发酵液, 编号分别为 BW(黑水未发酵时的原水)、D1M0(发酵 1 d 的 M0 组)、D1M1(发酵 1 d 的 M1 组)、D5M0(发酵 5 d 的 M0 组)、D5M1(发酵 5 d 的 M1 组)、D10M0(发酵 10 d 的 M0 组)、D10M1(发酵 10 d 的 M1 组)。经  $12\ 000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$  离心后获得沉淀, 对沉淀物进行微生物群落组成分析。

1) 微生物群落多样性及丰富度。由表 5 可知, 各检测样本的 Coverage 指数均为 1, 表明该检测的结果覆盖了样本中的全部微生物, 检测结果可以反映出样本中微生物的真实情况。Richness 指数整合了 OTUs、ACE、Chao1 3 种指数, 其值越高表明样本中微生物群落的丰富度越高; Simpson 指数和 Shannon 指数可以用来表征微生物群落的多样性, Simpson 指数越小, Shannon 指数越大, 则表明样本微生物群落多样性越高<sup>[37]</sup>。由表可知, 在未添加菌剂的空白组 (F0) 内, 随着反应时间的增加, Richness 指数并没有出现显著升高或降低, 表明在空白组中微生物的丰富度并没有显著变化; 添加菌剂的样本 (F1) 中 Richness 指数较空白组有明显升高, 表明添加厌氧发酵菌剂可以提高样本的微生物丰富度。随着菌剂的投加, 样本中的 Simpson 指数均大于空白组, 而 Shannon 指数均小于空白组, 表明添加菌剂可以提高样本中的微生物多样性。

2) 微生物门水平组成分析。微生物门水平群落相对丰度如图 17 所示。在门水平上, M0 与 M1 在不同时间下的优势菌门相似, 主要的优势菌门为厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门, 这与韦采妮等<sup>[38]</sup>在粪污厌氧发酵系统中检测到的优势菌门类似。在黑水厌氧发酵过程中, 大分子有机物的水解、产乙酸为主要的过程。厚壁菌门主要参与水解酸化的过程, 且其广泛存在于富含纤维素的底物中, 是将木质纤维素转化为有机酸的主要细菌群<sup>[39]</sup>。与原始黑水相比, 添加菌剂 1 d 后的样本中厚壁菌门的丰度由 63.0% 提高至 83.3%, 而空白组的厚壁菌门丰度则下降至 53.0%, 表明厌氧发酵菌剂的添加促进了黑水中厚壁菌门的富集。在反应后期 (10 d), 厚壁菌门的丰度有所降低, 空白组与实验组分别降低至 35.8% 和 47.8%, 这可能是由于在反应后期, 黑水中的木质纤维素大部分已被分解成有机酸, 系统中有机酸含量升高, 对厚壁菌门的有所抑制。拟杆菌门在富含木质素和多糖的环境中比较丰富, 其参与将有机物转化为乙酸的过程。拟杆菌门丰度在空白组与实验组中相对稳定, 菌剂的投加对于拟杆菌门并没有显著的促进或抑制作用, 且在反应前中期, 拟杆菌门丰度低于反应后期 (10 d), 表明在反应后期, 更多的微生物参与到合成乙酸的反应过程中来, 底物中有机酸的含量增加更有利于拟杆菌门的生长。变形菌门可以促进粗蛋白的降解, 使其转化为小分子物质, 为产甲烷阶段的微生物转化过程提供底物, 同时变形菌门还能够促进粪便中碳氮的转化<sup>[40]</sup>。与空白组相比, 投加厌氧发酵菌剂使样本中变形菌门的丰都明显低于空白组, 表明添加菌剂对变形菌门有抑制作用, 这可能是黑水厌氧发酵过程中产生的高质量浓度氨导致的<sup>[18]</sup>。这一现象不利于甲烷的产生, 但可能更有利于体系中有有机酸的积累, 使黑水发酵液更适合作为液态肥回用于农田。

2) 微生物属水平组成分析。微生物属水平群

表 5 微生物多样性及丰富度指数统计

Table 5 Microbial diversity and the statistics of abundance index

样本	Reads	Richness	Simpson	Shannon	Coverage
BW	76 843	624	0.123	4.68	1
D1M0	84 338	649	0.125	4.64	1
D1M1	79 960	1 276	0.021 7	6.91	1
D5M0	85 827	577	0.066 5	4.55	1
D5M1	76 468	1 194	0.032 2	6.7	1
D10M0	71 067	682	0.076 6	4.71	1
D10M1	83 976	1 038	0.039 6	6.59	1

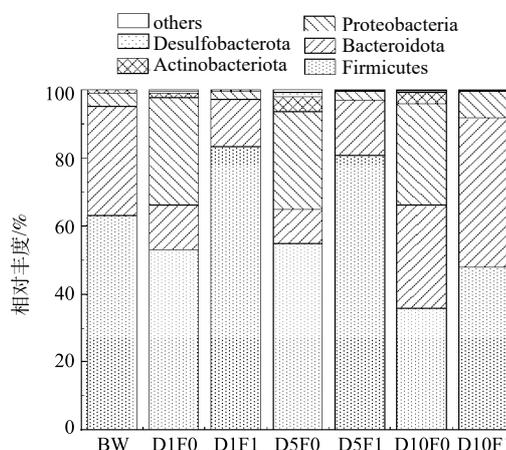


图 17 门水平微生物群落相对丰度

Fig. 17 Relative abundance of microbial community at phylum level

落相对丰度如图 18 所示。在原始黑水及不添加厌氧发酵菌剂的空白组中, 各反应时间的优势菌属有所不同, 但 *Acinetobacter*、*Tissierella*、*Bacteroides* 是其共有的 3 种优势菌属。*Acinetobacter* 是一种与肺部感染、皮肤感染、泌尿生殖系统感染相关的重要致病菌, *Bacteroides* 被报道与肠道疾病等有关<sup>[35]</sup>, 而 *Tissierella* 常见于发酵乳制品中, 可产生酯、酸、酮等风味物质, 对厌氧发酵过程有一定的促进作用。另外, 随着反应进行, 存在于黑水原水中的一些菌属丰度逐渐降低, 如 *Ruminococcus* 和 *Romboutsia*。有研究表明, 这 2 种菌属均是常见致病菌, *Ruminococcus* 与消化道疾病有关而 *Romboutsia* 与尿路感染有关<sup>[41]</sup>。随着反应进行, 空白组内 *Ruminococcus* 的相对丰度由 34% 下降至 0.5%, *Romboutsia* 的相对丰度则由 16% 下降至 0.7%, 表明在不添加厌氧发酵菌剂的情况下, 黑水自身微生物菌群在厌氧情况下也可以自发灭活一些致病菌, 但仍有许多可能致病的菌属没有被灭活, 如 *Morganella* 菌属, 这是一种与呼吸道疾病有关的致病菌<sup>[42]</sup>, 其相对丰度在发酵 10 d 后仍在 14%。

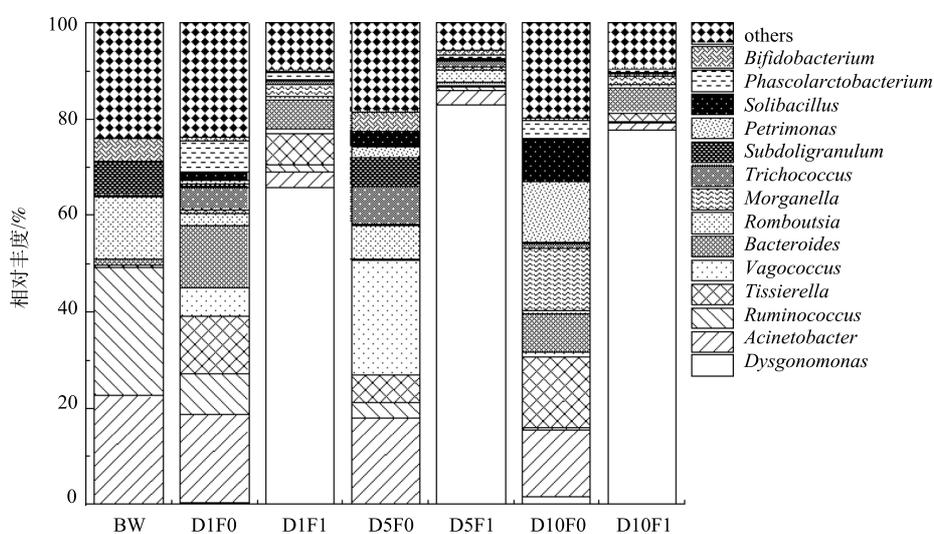


图 18 属水平微生物群落相对丰度

Fig. 18 Relative abundance of microbial community at genus level

添加厌氧发酵菌剂的反应体系内的优势菌属与空白组有较大差异。添加厌氧发酵菌剂后, 优势菌属主要为 *Dysgonomonas*, 这是一种可以有效降解木质素、纤维素等有机物的菌属<sup>[43-44]</sup>。表明厌氧发酵菌剂对该菌属具有显著促进作用, 有利于降解黑水中的有机物。*Acinetobacter* 的相对丰度在添加厌氧发酵菌剂后迅速降低, 相比于空白组的 18%, 实验组的数值仅在 3.2%, 并且经过 10 d 发酵后, 空白组降低至 14%, 实验组降低至 1.5%。这表明厌氧发酵菌剂的添加可以很好地抑制 *Acinetobacter* 这类致病菌的增长, 并且该现象在 *Ruminococcus* 和 *Romboutsia* 两种菌属中同样有所体现。

### 3 结论

1) 增加厌氧发酵菌剂的投加量可以提高黑水厌氧发酵过程中的水解和产酸效果, 但投加量增加到一定水平后, 继续增加投加量对水解产酸效果提升不显著, 厌氧发酵菌剂的适宜投加量为 1% 黑水量。

2) 不同温度下, 厌氧发酵菌剂对黑水厌氧发酵的影响有所不同, 但在 10、20、30 °C 下, 都可以促进黑水厌氧水解产酸的效果。温度越高, 对黑水中有机物的水解及 VFA、氨氮积累的促进效果越明显。在较低的温度下, 厌氧发酵菌剂对于大分子有机物的水解和厌氧产酸过程也有明显的促进作用, 并能有效灭活致病菌、去除臭味物质。

3) 添加发酵菌剂的实验组与空白组相比, 在细菌门水平上, 二者在不同时间下的优势菌门相似, 主要的优势菌门为厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门, 相对丰度分别为 35.8%~63.0%、9.9%~43.8%、2.6%~31.5%。发酵菌剂的投加使黑水中厚壁菌门的丰度增加至 47.8%~83.3%, 降低变形菌门的丰度至 2.3%~8.0%, 对于拟杆菌门的丰度并没有显著影响, 厚壁菌门是将木质纤维素转化为有机酸的主要细菌群, 其丰度增加表明水

解酸化过程被促进。在细菌属水平上,二者在不同的反应时间内共有的优势菌属为 *Acinetobacter*、*Tissierella*、*Bacteroides* 菌属,相对丰度分别为 14.0%~22.5%、6.4%~14.5% 和 1.3%~7.9%。添加发酵菌剂显著提高黑水中 *Dysgonomonas* 丰度至 65.8%~82.9%,并使 *Acinetobacter*、*Ruminococcus* 和 *Romboutsia* 丰度显著降低, *Dysgonomonas* 可以有效降解木质素、纤维素等有机物,其丰度增加有利于有机物的水解。

#### 参考文献

- [1] DISSANAYAKE P, TENNAKOON M. Guide to on-site wastewater management for industrial and commercial establishments and other institutions: guide for hotel and restaurant owners and managers in Kurunegala, Sri Lanka[J]. Iwmi Books, 2008, 68(3): 20-21.
- [2] SABHARWAL S, SARMA K S S. Appliance of electron beam technology for disinfection of sewage water to minimize public health risks[J]. *European Journal of Sustainable Development*, 2013, 2(2): 31-31.
- [3] WALKER R, BEADSWORTH A. The potential of source-separated human urine to be used as a partial replacement for synthetic fertilisers[J]. *Aspects of Applied Biology*, 2011: 171-176.
- [4] 王国田,郭芳,温禾,等.基于源分离的农村污水资源化技术现状与展望[J].资源节约与环保,2024,1(02): 41-46.
- [5] SANTIAGO-DIAZ A L, GARCIA-ALBORTANTE J, SALAZAR-PELAEZ M L. UASB-septic tank as an alternative for decentralized wastewater treatment in Mexico[J]. *Environmental Technology*, 2019, 40(13): 1780-1792.
- [6] 王玉华,方颖,焦隹.江苏农村“三格式”化粪池污水处理效果评价[J].生态与农村环境学报,2008,24(2): 80-83.
- [7] MAHMOUD A, ZAGHLOUL M, HAMZA R, et al. Comparing VFA composition, biomethane potential, and methane production kinetics of different substrates for anaerobic fermentation and digestion[J]. *Fermentation*, 2023, 9: 138-138.
- [8] PETER J A C, CHRISTOPHER J F, NAOHISA Goto, et al. The Sanger FASTQ file format for sequences with quality scores, and the Solexa/Illumina FASTQ variants[J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 38(6): 1767-1771.
- [9] KASPER D H, STEVEN E B, et al. Biases in Illumina transcriptome sequencing caused by random hexamer priming[J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38(12): 131-131.
- [10] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法[M].4版.北京:中国环境科学出版社,2002: 211-213.
- [11] WEN L, HUANG X W, LI X Y. Enhanced production of short-chain fatty acids from sludge by thermal hydrolysis and acidogenic fermentation for organic resource recovery[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 8(28): 154-389.
- [12] DIAZ-ELSAIED N, REZAEI N, GUO T, et al. Wastewater-based resource recovery technologies across scale: A review[J]. *Resources Conservation and Recycling*, 2019, 14(5): 94-112.
- [13] TAYLOR K A C C. A modification of the phenol/sulfuric acid assay for total carbohydrates giving more comparable absorbances[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1995, 53(3): 207-214.
- [14] 王玉万,徐文玉.木质纤维素固体基质发酵物中半纤维素、纤维素和木素的定量分析程序[J].微生物学通报,1987,1(2): 81-84.
- [15] 卫生部,国家标准管理委员会. GB7959-2012 粪便无害化卫生标准[S].北京:中国标准出版社,2012.
- [16] 生态环境部. HJ347.2-2018 水质 粪大肠菌群的测定 多管发酵法[S].北京:中国环境出版集团,2019.
- [17] YAN, Han, NING. Pathways in bacterial and archaeal communities dictated by ammonium stress in a high solid anaerobic digester with dewatered sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 2(41): 95-102.
- [18] CHEN Y, CHENG J J, CREAMER K S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(10): 4044-4064.
- [19] HARDER R, WIELEMAKER R, LARSEN A T, et al. Recycling nutrients contained in human excreta to agriculture: Pathways, processes, and products[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2019, 49(8): 695-743.
- [20] 林星杰,杨慧芬,宋存义. UV<sub>254</sub> 在水质监测中应用的研究[J].能源与环境,2006,1(22): 22-24.
- [21] 刘莹,盛飞,陈文婷,等. UV<sub>254</sub> 在煤制气废水处理中的指示作用[J].环境工程学报,2015,9(4): 1809-1814.
- [22] 王明月,程丽华,刘健,等.污水处理对黑水/灰水中溶解性有机物紫外光谱及荧光光谱特性的影响[J].环境工程学报,2019,13(4): 910-917.
- [23] YAMAMOTO H, LILJESTRAND H M, SHIMIZU Y, et al. Effects of physical-chemical characteristics on the sorption of selected endocrine disruptors by dissolved organic matter surrogates[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(12): 2646-2657.
- [24] 谷洁,李生秀,秦清军,等.微生物及胡敏酸 E4/E6 值在农业废弃物静态高温腐解中的变化[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2005,33(12): 98-102.
- [25] 程丽华,王奇,韩婷,等.混凝对二级出水中有机物分布特性的影响[J].环境工程学报,2013,7(8): 2919-2924.
- [26] 安莹,李云辉,李震,等.改良型 AO 法组合工艺中有机物的三维荧光分析[J].环境工程学报,2013,7(1): 159-163.
- [27] DU Y X, LU Y H, ROEBUCK J A, et al. Direct versus indirect effects of human activities on dissolved organic matter in highly impacted lakes[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 75(2): 141-839.
- [28] YU H, LIANG H, QU F, et al. Impact of dataset diversity on accuracy and sensitivity of parallel factor analysis model of dissolved organic matter fluorescence excitation-emission matrix[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 2-7.
- [29] 汤响,朱教宁,庞震鹏,等.菌剂预处理秸秆与牛粪混合对厌氧发酵产气的影响[J].天津农业科学,2022,28(6): 56-60.
- [30] MA Q, MENG N, LI Y, et al. Occurrence, impacts, and microbial transformation of 3-methylindole (skatole): A critical review[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 41(6): 126-181.
- [31] MA Q, QU H, MENG N, et al. Biodegradation of skatole by *Burkholderia* sp. IDO3 and its successful bioaugmentation in activated sludge systems[J]. *Environmental Research*, 2020, 18(2): 109-123.
- [32] MA Q, LIU SW, LI SZ, HU JB, et al. Removal of malodorous skatole by two enriched microbial consortia: performance, dynamic, function prediction and bacteria isolation[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 72(5): 138-416.

- [33] MENG X, HE ZF, LI HJ, ZHAO X. Removal of 3-methylindole by lactic acid bacteria in vitro[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2013, 6(4): 983-988.
- [34] 农业部. NY/T1168-2006 畜禽粪便无害化处理技术规范[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [35] HASSAN Z, MILTON H, SAIER J. Gut Bacteroides species in health and disease, *Gut Microbes*, 2021, 13(1).
- [36] 宋伟民, 卢纯惠, 李锦梅. 土壤渗滤处理三格化粪池粪液的可行性论证[J]. *上海环境科学*, 1997, 16(3): 36-37.
- [37] 唐山青, 谢彦培, 刘智峰, 等. 温度转换对厌氧消化系统连续运行及微生物群落的影响[J/OL]. *中国环境科学*.
- [38] 韦采妮, 赵晨菊, 黄河笑, 等. 微量元素 Fe、Co、Ni 对养殖粪污厌氧发酵产气性能及微生物群落结构影响[J]. *当代化工研究*, 2022, 20(6): 23-25.
- [39] FLINT H J, BAYER E A, RINCON M T, et al. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis[J]. *Nature reviews Microbiology*, 2008, 6(2): 121-131.
- [40] XIAO Z Z, SHI C M, SHI P W, et al. A comparative study of composting the solid fraction of dairy manure with or without bulking material: performance and microbial community dynamics[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 443-452.
- [41] CHUA HH, CHOU HC, et al. Intestinal dysbiosis featuring abundance of ruminococcus gnavus associates with allergic diseases in Infants[J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(1): 154-167.
- [42] 李晓萍, 张龙, 刘华. 摩根菌致肺炎感染合并菌血症 1 例[J]. *宁夏医科大学学报*, 2013, 35(3): 357-358.
- [43] DUAN J, LIANG J D, WANG Y P, et al. Kraft lignin biodegradation by *Dysgonomonas* sp. WJDL-Y1, a new anaerobic bacterial strain isolated from sludge of a pulp and paper mill[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2016, 26(10): 1765-1773.
- [44] ZHANG M L, LIU N, QIAN C L, et al. Phylogenetic and functional analysis of gut Microbiota of a fungus-growing higher termite: Bacteroidetes from higher termites are a rich source of  $\beta$ -glucosidase genes[J]. *Microbial Ecology*, 2014, 68(2): 416-425.

(责任编辑: 曲娜)

## Influence of anaerobic fermentation bacterial agents on the effectiveness of anaerobic fermentation and harmlessness of blackwater

SUN Yuanbo<sup>1</sup>, YANG Biao<sup>1</sup>, Eid S. Gaballah<sup>1</sup>, Li Shuping<sup>2,3</sup>, ZHU Guangcan<sup>1,2,3,\*</sup>

1. School of Energy and Environment, Southeast University, Nanjing 210096, China; 2. Key Laboratory of Water Safety and Aquatic Ecosystem Health of Xizang, Xianyang 712000, China; 3. Key Laboratory of Water Pollution Control and Ecological Restoration of Xizang, National Ethnic Affairs Commission, Xizang Minzu University, Xianyang 712000, China

\*Corresponding author, E-mail: [gc-zhu@seu.edu.cn](mailto:gc-zhu@seu.edu.cn)

**Abstract** In order to safely and resourceful utilization of rural blackwater, the anaerobic fermentation bacterial agents were added in the blackwater, the effects of bacterial dosage and fermentation temperature on the conversion of organic matter and the inactivation effect of pathogenic microorganisms in black water were investigated, and the changes in the microbial community structure of the fermentation system were analysed, respectively. The results showed that anaerobic fermentation bacterial agents significantly promoted the anaerobic fermentation of black water, and the optimal dosage was 1‰ of black water. The high temperature was conducive to the fermentation process, the highest SCOD and VFA accumulation were 1497 mg·L<sup>-1</sup> and 359 mg·L<sup>-1</sup>, respectively; 80.3% of cellulose was degraded, and the counts of *Fecal coliform* and *Ascaris lumbricoides* egg met the requirements of harmlessness. At lower temperatures, the microbial activity decreased, but still exhibited a considerable promotional effect. In the fermentation system, *Firmicutes*, *Bacteroidota* and *Proteobacteria* were the main dominant phyla, with relative abundances of 35.8%~63.0%, 9.9%~43.8%, and 2.6%~31.5%, respectively; and the dominant genera were *Acinetobacter*, *Tissierella*, and *Bacteroides*, with relative abundances of 14.0%~22.5%, 6.4%~14.5%, and 1.3%~7.9%, respectively. 22.5%, 6.4%~14.5% and 1.3%~7.9%, respectively. The addition of anaerobic fermentation agents increased the abundance of the *Firmicutes* with hydrolytic acidification function and decreased the abundance of the *Bacteroidota*. Meanwhile, it increased the abundance of the *Dysgonomonas* with the function of degrading lignin and cellulose, and decreased the abundance of the *Acinetobacter*, *Ruminococcus*, and *Romboutsia*. This study provides a reference for the application of anaerobic fermentation bacterial agents to promote the anaerobic fermentation of blackwater, control odour production and effectively achieve the harmlessness and resourcefulness of blackwater.

**Keywords** rural domestic wastewater; anaerobic fermentation of blackwater; anaerobic fermentation bacterial agent; conversion of organic matter; harmlessness effect; microbial community structure