



文章栏目：固体废物处理与资源化

DOI 10.12030/j.cjee.202301079 中图分类号 X705 文献标识码 A

张佩云, 赵丹阳, 丁丽姿, 等. 高温条件下生物炭强化丙酸与乙酸产甲烷的动力学及热力学机制[J]. 环境工程学报, 2023, 17(6): 1955-1966. [ZHANG Peiyun, ZHAO Danyang, DING Lizi, et al. Kinetic and thermodynamic mechanisms of methane production from propionate and acetate enhanced by biochar at high temperature[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2023, 17(6): 1955-1966.]

# 高温条件下生物炭强化丙酸与乙酸产甲烷的动力学及热力学机制

张佩云<sup>1</sup>, 赵丹阳<sup>1</sup>, 丁丽姿<sup>1</sup>, 尤少文<sup>1</sup>, 李倩<sup>1,2,✉</sup>, 陈荣<sup>1</sup>, 李玉友<sup>2</sup>

1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055; 2. 东北大学工程研究生院土木与环境工程系, 日本仙台 980-8579

**摘要** 针对生物炭强化互营产甲烷的动力学及热力学作用机制不明晰的问题, 通过乙酸、丙酸的高温降解产甲烷批次实验, 结合降解产甲烷动力学、微生物生长动力学和过程热力学分析, 探究了生物炭强化乙酸、丙酸互营产甲烷的增效机制。结果表明, 与对照组相比, 生物炭加快了乙酸、丙酸互营产甲烷过程的降解速率和产甲烷速率, 乙酸与丙酸的降解速率分别提高了 8.4% 和 3.7%, 产甲烷速率分别提高了 31.3% 和 23.1%。微生物生长分析表明, 生物炭可为微生物生长提供适宜的环境, 同时也能促进微生物生长, 添加生物炭使得丙酸降解过程的产甲烷微生物最大比生长速率提高了 113.8%。反应过程热力学分析表明, 生物炭降低了乙酸与丙酸互营产甲烷过程 40.6% 与 19.4% 的氢分压, 从而降低了与氢分压相关反应的自由能, 推动了种间氢转移 (interspecies hydrogen transfer, IHT) 反应的进行。此外, 生物炭显著提升了体系内的电子传递效率, 这可能是由于其自身氧化还原官能团所引发的直接种间电子转移 (direct interspecies electron transfer, DIET) 作用导致的, 这不仅可以提高反应的电子转移效率, 同时也能改善热力学效能, 从而推动 IHT 反应并进一步强化互营产甲烷。生物炭可以通过促进微生物生长、改善热力学促进 IHT 以及强化 DIET 作用, 共同提升互营产甲烷过程效能。本研究结果可为生物炭在厌氧消化中进一步的实际应用提供参考。

**关键词** 互营产甲烷; 挥发性脂肪酸; 高温; 动力学; 吉布斯自由能; 生物炭

厌氧消化因其可将有机质转化为甲烷, 已成为餐厨<sup>[1]</sup>、污泥<sup>[2]</sup>等有机废弃物以及高浓度有机废水处理<sup>[3]</sup>的主流技术。与中温 (35 °C) 条件相比, 高温 (55 °C) 反应具有速率快、甲烷产率高以及病原体灭活效果好等优势<sup>[4]</sup>。然而在厌氧消化过程中, 水解产酸速率大于产甲烷速率, 高温条件会进一步加剧水解产酸与产甲烷过程的不平衡, 造成挥发性脂肪酸 (volatile fatty acids, VFAs) 的过量积累, 从而导致体系 pH 下降以及微生物代谢体系失衡, 限制了高温厌氧消化系统的高效稳定运行。

研究表明, 乙酸和丙酸是有机废弃物发酵过程最易积累的 VFAs, 其在酸化体系的总 VFAs 中的占比分别可达 70% 以上<sup>[5]</sup>。相较乙酸而言, 虽然丙酸占比较低, 但其生物毒性导致其在厌氧消化过程中降解较为困难。AMANI 等<sup>[6]</sup>的研究发现, 在高温条件下使用间歇式厌氧反应器处理剩余污泥, 反应初始丙酸就在体系内积累, 并且在第 50 d 反应结束时仍有 40%~60% 未被降解。高温条

收稿日期: 2023-01-19; 录用日期: 2023-04-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (52070148); 陕西省重点研发计划资助项目 (2022KWZ-25); 日本学术振兴会海外特别研究员资助项目 (P20794)

第一作者: 张佩云 (1997—), 女, 硕士研究生, 1304759423@qq.com; ✉通信作者: 李倩 (1987—), 女, 博士, 教授, Qian.LI@xauat.edu.cn

件下, 89% 的甲烷都被证实来自于乙酸的互营氧化途径<sup>[7]</sup>, 即在乙酸氧化菌和氢营养型产甲烷菌共同作用下以  $H_2$  为电子载体的产甲烷过程, 也被称为种间氢转移 (interspecies hydrogen transfer, IHT) 过程。研究表明 IHT 一般要在氢分压低于  $10^{-5}$  atm 的条件下才能自发进行<sup>[8]</sup>, 然而过低的氢气浓度则不利于产甲烷菌维持其代谢活性, 因此体系氢分压需要保持在一个合适的范围内。丙酸的甲烷化需要经历乙酸化与产甲烷即“两阶段”的互营氧化过程, 其在热力学上可能更易受氢分压影响。因此, 如何强化乙酸、丙酸的互营产甲烷过程是实现高温高负荷下厌氧消化系统稳定运行的关键。

近年来, 随着直接种间电子转移 (direct interspecies electron transfer, DIET) 现象在厌氧消化系统中共同培养 *G. metallireducens* 和 *G. sulfurreducens* 时被发现<sup>[9]</sup>, 许多研究表明向厌氧消化系统中投加石墨<sup>[10]</sup>、磁铁矿<sup>[8]</sup> 和生物炭<sup>[11]</sup> 等导电材料强化更高效的 DIET 过程能够实现 VFAs 的快速降解。其中, 生物炭可由有机废弃物制得, 具有成本低廉、绿色环保等优势。在 LI 等<sup>[12]</sup> 投加生物炭到苯酚降解产甲烷批次实验的研究中, 生物炭可通过自身导电性和表面的氧化还原官能团触发 DIET 并强化互营氧化菌之间的电子传递, 从而促进苯酚降解产甲烷并加快最大产甲烷速率。在 LI 等<sup>[13]</sup> 针对餐厨垃圾与活性污泥共消化的研究中, 生物炭可在高温厌氧消化系统中富集与 DIET 相关的菌属 *Methanosaeta* 和 *Methanosarcina*。虽然现阶段的研究通常将生物炭对互营产甲烷的促进作用归因于 DIET 的作用, 但生物炭能否通过改善热力学条件而强化 IHT 过程仍有待深入研究。当前, 通过建立微生物生长动力学模型<sup>[14]</sup>, 以及过程热力学分析能够解析添加导电材料时的作用机制和能量代谢<sup>[15-16]</sup>。基于此, 利用两阶段的微生物生长动力学及过程热力学解析, 探明生物炭对反应过程热力学条件的改善以及微生物生长的影响对于解析生物炭的强化机制具有重要意义。

本研究拟通过生物炭介导下不同负荷乙酸与丙酸的高温互营产甲烷批次实验, 并结合 Gompertz 方程与 Monod 方程分析, 研究生物炭对于降解产甲烷以及微生物生长动力学影响。此外, 还通过亨利定律计算反应过程的自由能, 明晰生物炭促进 IHT 过程的热力学强化作用。结合生物炭性质探讨其增促互营产甲烷的作用机制, 并为生物炭在厌氧消化中进一步的实际应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 生物炭的制备与表征

本研究制备生物炭所用的原材料木屑来自西安市某木材加工厂。将木屑在玻璃方舟内压实后放入管式气氛炉内保持无氧  $500\text{ }^\circ\text{C}$  下热解 2 h, 制得木屑生物炭。清洗表面灰分, 烘干后筛选直径为 0.25~1 mm 颗粒, 密封保存备用。

生物炭的理化性质与电化学性质见表 1。生物炭产率依据原始木屑与最终所得生物炭样品的质量百分比计算; 生物炭中固定碳、挥发性炭以及灰分的质量分数根据国家标准《木炭和木炭实验方法》(GB/T 17664-1999)<sup>[17]</sup> 测定; 将生物炭配置为 5% 的炭水混合液, 在室温下以  $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  震荡 24 h, 使用便携式 pH 计 (pH-11B, 日本 Horiba 公司) 测定混合液 pH; 比表面积由比表面积测试仪 (V-Sorb X800, 北京金埃谱科技有限公司) 测定; 元素组成由同位素质谱仪 (IsoPrime100, 德国 Elementar 公司) 测定; 将生物炭烘干研磨成粉

表 1 生物炭性质  
Table 1 Properties of biochar

性质参数	单位	数值
生物炭量	%	22.6±1.1
固定炭	%	68.5±2.1
挥发性炭	%	23.7±1.9
灰分	%	7.8±0.3
pH	—	9.2±0.1
比表面积	$\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$	248.6±9.4
C	%	72.1±0.2
O	%	15.3±0.0
电导率	$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	0.1±0.0
电子供给容量	$\mu\text{mole}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$	0.35
电子接受容量	$\mu\text{mole}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$	4.85

末压片后采用傅里叶变换红外光谱分析仪 (Nicolet iS50, 美国 ThermoFisher 公司) 测定官能团; 对生物炭喷金处理后利用扫描电子显微镜 (quanta F50, 美国 FEI 公司) 对生物炭表面形貌进行观察; 用粉末电阻测定仪 (ST2722, 苏州晶格电子有限公司) 使用四探针法测定生物炭导电性; 电子交换容量通过电化学工作站 (CHI660E, 上海辰华仪器有限公司) 进行测试。

## 1.2 种泥性质

本实验的接种污泥取自以餐厨垃圾为基质驯化的实验室稳定运行的 CSTR 反应器。实验前将接种泥取出, 使用配制的营养液洗涤后加入  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  葡萄糖为基质厌氧条件下放入  $55 \text{ }^\circ\text{C}$  摇床中驯化 14 d。装瓶前测定接种泥基本性质见表 2, 餐厨与营养液的组成成分参考了文献 [18]。

## 1.3 生物炭对乙酸和丙酸的动力学影响

为了探究高温条件下生物炭对乙酸和丙酸互营产甲烷过程的动力学影响, 研究分别以  $1\ 000$ 、 $3\ 000$ 、 $5\ 000$ 、 $8\ 000$  和  $10\ 000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (以 COD 计) 的乙酸、丙酸为基质。首先在  $120 \text{ mL}$  血清瓶内分别加入  $50 \text{ mL}$  接种泥以及  $0.5$ 、 $1.5$ 、 $2.5$ 、 $4$  和  $5 \text{ mL}$  浓度为  $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的基质储备液, 使体系内基质与接种污泥的比例 (F/M) 分别为  $0.25$ 、 $0.75$ 、 $1.25$ 、 $2$  和  $2.5$ , 加水补充有效容积至  $100 \text{ mL}$ , 用橡胶塞和铝盖将血清瓶密封压实后, 通入氮气  $2 \text{ min}$  使瓶中维持厌氧。之后放入  $55 \text{ }^\circ\text{C}$  恒温水浴摇床中, 达到设定温度后使用玻璃注射器排出瓶内热胀冷缩产生的气体压力。实验组中生物炭投加量为  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  [18], 各组均设置平行对照组。加碳组记为 BC 组, 控制组即不加碳组记为 CT 组。每天测定气量、气组进行产甲烷情况分析, 直至产气量小于累计产气量的  $1\%$  时结束反应。

## 1.4 生物炭对乙酸和丙酸的热力学影响

在上述实验过程中, 根据累计产气量情况在反应过程中间隔时间取样测定 VFAs 以及 INT-ETS 活性等指标。根据所测得的气体组分分压以及 VFAs 质量浓度等计算  $8\ 000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  反应过程内各点热力学自由能值, 用于分析生物炭对产甲烷过程热力学的影响。

## 1.5 物化分析方法

用  $5$ 、 $20$  和  $50 \text{ mL}$  玻璃注射器测量产气体积。 $\text{CH}_4$ 、 $\text{CO}_2$ 、 $\text{N}_2$  和  $\text{H}_2$  采用气相色谱法 (GC-PE680, 美国 peClarus 公司), 填充色谱柱固定相 (Porapak Q) 进样口温度为  $130 \text{ }^\circ\text{C}$ , 柱温箱温度为  $140 \text{ }^\circ\text{C}$ , TCD 温度为  $160 \text{ }^\circ\text{C}$ , 载气为氩气, 流速  $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 气体产量采用气体流量计; VFAs 采用气相色谱 (GC-2014, 日本 Shimadzu 公司), 色谱柱为 DB-FFAP, FID 检测器温度为  $230 \text{ }^\circ\text{C}$ , 进样口温度为  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ , 程序升温至  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  保持  $2 \text{ min}$ , 以  $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  的速率上升到  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  并保持  $2 \text{ min}$ , 再以  $5 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  的速率上升到  $200 \text{ }^\circ\text{C}$  并保持  $2 \text{ min}$ 。总固体 (TS)、挥发性固体 (VS) 采用重量法测定。碱度采用滴定法测定。混合液 pH 使用便携式 pH 计 (pH-11B, 日本 Horiba 公司) 测定。体系内 INT-ETS 活性变化用氧化还原法 [19] 进行测定。

## 1.6 动力学特性解析

使用 Gompertz 方程对产甲烷结果进行拟合, 得到产甲烷过程的动力学参数。Gompertz 方程如式 (1) [20] 所示。

$$P(t) = P_0 \exp \left\{ - \exp \left[ \frac{R_{\max} e}{P_0} (t_0 - t) \right] + 1 \right\} \quad (1)$$

式中:  $P$  为某阶段  $t$  时刻产甲烷潜能,  $\text{mL}$ ;  $P_0$  为最大产甲烷潜能,  $\text{mL}$ ;  $R_{\max}$  为最大产甲烷速率,

表 2 接种泥性质

Table 2 Properties of inoculated sludge

考察参数	单位	数值
TS	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$23.95 \pm 1.28$
VS	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$8.07 \pm 0.02$
pH		$7.50 \pm 0.01$
碱度	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$4.45 \pm 0.13$
乙酸	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$0.02 \pm 0.01$
丙酸	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$0.01 \pm 0.01$

$\text{mL}\cdot\text{d}^{-1}$ ;  $e=2.718281828$ ;  $t_0$  为延滞期,  $\text{d}$ ;  $t$  为反应时间,  $\text{d}$ 。

厌氧消化过程假设底物消耗为 100%, 微生物生长根据式 (2)<sup>[14]</sup> 进行计算。



式中:  $f_e$  是微生物细胞合成电子的占比;  $f_s$  是微生物细胞合成能量的占比, ( $f_e+f_s=1$ );  $\text{C}_n\text{H}_a\text{O}_b$  代指反应碳源底物;  $\text{NH}_3$  为反应氮源底物;  $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$  代指微生物生长所增加的细胞物质。

利用微生物生长与产甲烷的化学计量关系, 可以计算出微生物的特定生长速率, 如式 (3)<sup>[14]</sup> 所示。

$$\mu = \frac{f_s}{f_e X} \left( \frac{dV_{\text{CH}_4}}{dt} \right) \quad (3)$$

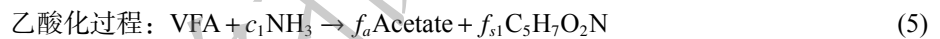
式中:  $\mu$  是特定的微生物生长速率;  $dV_{\text{CH}_4}/dt$  为产甲烷速率,  $\text{mg}\cdot\text{d}^{-1}$ ;  $X$  表示反应前后生物质质量浓度差,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

对上式进行非线性回归数据拟合, 通过 Monod 方程进一步得到生长动力学参数, 常用于描述微生物的生长, 表示了底物浓度和微生物比生长速率之间的关系, 如式 (4)<sup>[14]</sup> 所示。

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \quad (4)$$

式中:  $\mu_m$  为最大比生长速率,  $\text{d}^{-1}$ ;  $K_s$  为底物半饱和常数,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $S$  是底物质量浓度,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

根据单一反应的微生物生长计算模型<sup>[21-22]</sup>, 带入微生物生长速率公式和 Monod 方程中可以得到 VFAs 降解乙酸化与甲烷化过程微生物生长动力学参数, 如式 (5)~式 (10) 所示。



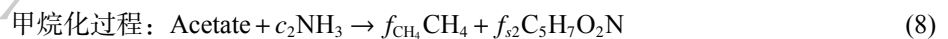
式中:  $f_a$  为 VFA 用于生成乙酸的部分占比;  $f_{s1}$  为 VFA 用于细胞生长的部分占比;  $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$  代指微生物生长所增加的细胞物质;  $\text{NH}_3$  为反应氮源底物。

$$\frac{dX_1}{dt} = \frac{f_{s1}}{f_a X_1} \left( \frac{d\text{Acetate}}{dt} \right) \quad (6)$$

式中:  $dX_1/dt$  为乙酸化微生物生长速率,  $\text{d}^{-1}$ ;  $d\text{Acetate}/dt$  为乙酸降解速率,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ;  $X_1$  表示乙酸化反应前后生物质质量浓度差,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

$$\frac{dX_1}{dt} = \frac{\mu_{m1} X_1 \text{VFA}}{(K_{s1} X_1 + \text{VFA})} \quad (7)$$

式中: VFA 为反应过程相应 VFAs 质量浓度,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\mu_{m1}$  为拟合得到产乙酸过程微生物的最大增殖速率,  $\text{d}^{-1}$ ;  $K_{s1}$  为拟合得到产乙酸过程微生物的半饱和系数,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。



式中:  $f_{\text{CH}_4}$  为乙酸用于生成甲烷的部分占比;  $f_{s2}$  为乙酸用于细胞生长的部分占比;  $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$  代指微生物生长所增加的细胞物质;  $\text{NH}_3$  为反应氮源底物。

$$\frac{dX_2}{dt} = \frac{f_{s2}}{f_{\text{CH}_4} X_2} \left( \frac{d\text{CH}_4}{dt} \right) \quad (9)$$

式中:  $dX_2/dt$  为产甲烷微生物生长速率,  $\text{d}^{-1}$ ;  $d\text{CH}_4/dt$  为产甲烷速率,  $\text{mL}\cdot\text{d}^{-1}$ ;  $X_2$  表示产甲烷反应前后生物质质量浓度差,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

$$\frac{dX_2}{dt} = \frac{\mu_{m2} X_2 \text{Acetate}}{(K_{s2} X_2 + \text{Acetate})} \quad (10)$$

式中: Acetate 为反应过程相应乙酸质量浓度,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\mu_{m2}$  为拟合得到产甲烷过程微生物的最大增殖速率,  $\text{d}^{-1}$ ;  $K_{s2}$  为拟合得到产甲烷过程微生物的半饱和系数,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 1.7 热力学特性解析

本研究所涉及的反应方程与标准反应条件下吉布斯自由能见表3<sup>[23]</sup>, 对于式(11)所示的反应, 实际反应吉布斯自由能的计算方法如式(12)<sup>[24]</sup>所示。



$$\Delta G = \Delta G^\theta + RT \ln \left( \frac{C^c D^d}{A^a B^b} \right) \quad (12)$$

式中:  $\Delta G$  是实际的吉布斯自由能;  $\Delta G^\theta$  是在 298 K 和 1 atm 下的标准吉布斯自由能;  $R$  是普适气体常数,  $8.314 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ;  $T$  为实际温度, K;  $A$ 、 $B$ 、 $C$ 、 $D$  为水相中各个物质浓度,  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $a$ 、 $b$ 、 $c$ 、 $d$  为相应物质的化学计量数。

$\text{H}^+$  浓度由 pH 测得计算, 反应中  $\text{HCO}_3^-$  浓度由碱度测得计算, 如式(13)<sup>[25]</sup>所示。

$$c(\text{HCO}_3^-) = \frac{\text{BA}}{100\,000} \quad (13)$$

式中: BA 为碳酸盐碱度,  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

气体在液体体系内的溶解浓度由亨利定律计算, 如式(14)<sup>[26]</sup>所示。

$$c = Hp \quad (14)$$

式中:  $c$  为某一物质在水相中的浓度,  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $H$  为亨利溶解度,  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{atm}^{-1}$ ;  $p$  为该组分在气相中的分压, Pa。

## 2 结果与讨论

### 2.1 生物炭对乙酸和丙酸互营产甲烷过程的影响

1) 不同质量浓度下乙酸和丙酸的产甲烷特性。图1(a)和图1(b)所示为乙酸和丙酸在高温情况下 BC 组和 CT 组不同质量浓度梯度实验的甲烷产率, 可以看出, 随着底物质量浓度梯度的增加, 反应周期随之增加, 甲烷产率随之下降, 这可能是由于负荷升高从而影响微生物活性导致的<sup>[27]</sup>。添加生物炭明显促进了乙酸和丙酸降解产甲烷反应, 但是对于丙酸的促进效果更显著, 这是由于生物炭显著加快了丙酸反应进程导致的。此外, 生物炭有利于互营氧化反应增效。丙酸代谢需完全依靠互营氧化过程, 对乙酸而言虽然高温下以乙酸氧化 (syntrophic acetate oxidation, SAO) 为主, 但乙酸裂解 (acetoclastic methanogenesis, AM) 过程仍然存在, 这可能是丙酸增效更为明显的原因。采用 Gompertz 方程对累计产甲烷量拟合得到反应过程动力学参数见图1(c)和图1(d), 可知: 与 CT 组相比, BC 组的最大产甲烷速率大大提升,  $1\,000\sim 10\,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的乙酸和丙酸的产甲烷速率分别提高了 10.7%~62.8% 和 7.7%~36.4%,  $3\,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的乙酸最大产甲烷速率可达 CT 组的 1.6 倍。同时添加生物炭可以有效地使丙酸反应 BC 组  $t_0$  缩短 0.3~20 d, 有利于产甲烷反应的快速进行。生物炭的添加明显促进了乙酸和丙酸互营产甲烷反应, 而生物炭对于乙酸与丙酸产甲烷过程促进的差异可能是由于在高温下反应链延长所导致的<sup>[20]</sup>, 特别是在需要“两阶段”步骤才能产甲烷的丙酸反应中。

2) 乙酸和丙酸的降解特性。图2为生物炭促进效果明显且无质量浓度抑制的  $8\,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  降解反应过程乙酸和丙酸质量浓度变化和降解速率。图2(a)所示在同一反应时间下, BC 组乙酸质量浓度仅为 CT 组的 51.0%~96.5%。对快速降解阶段质量浓度梯度接近于直线的部分进行线性拟合可知, CT 组最大降解速率为  $1\,581.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , 而 BC 组可达  $1\,714.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , 生物炭使得乙酸降

表3 实验涉及的反应方程及其标准自由能

Table 3 The reaction equations involved in the experiment and its standard free energy

反应名称	反应方程	标准自由能 $\Delta G^\theta/(\text{KJ}\cdot\text{mol}^{-1})$
SAO	Acetate+4H <sub>2</sub> O→2HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +4H <sub>2</sub> +H <sup>+</sup>	104.6
AM	Acetate+H <sub>2</sub> O→HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +CH <sub>4</sub>	-31
HM	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +4H <sub>2</sub> +H <sup>+</sup> →CH <sub>4</sub> +3H <sub>2</sub> O	-135.6
MMC	Propionate+3H <sub>2</sub> O→2HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> +acetate+H <sup>+</sup> +3H <sub>2</sub>	71.6

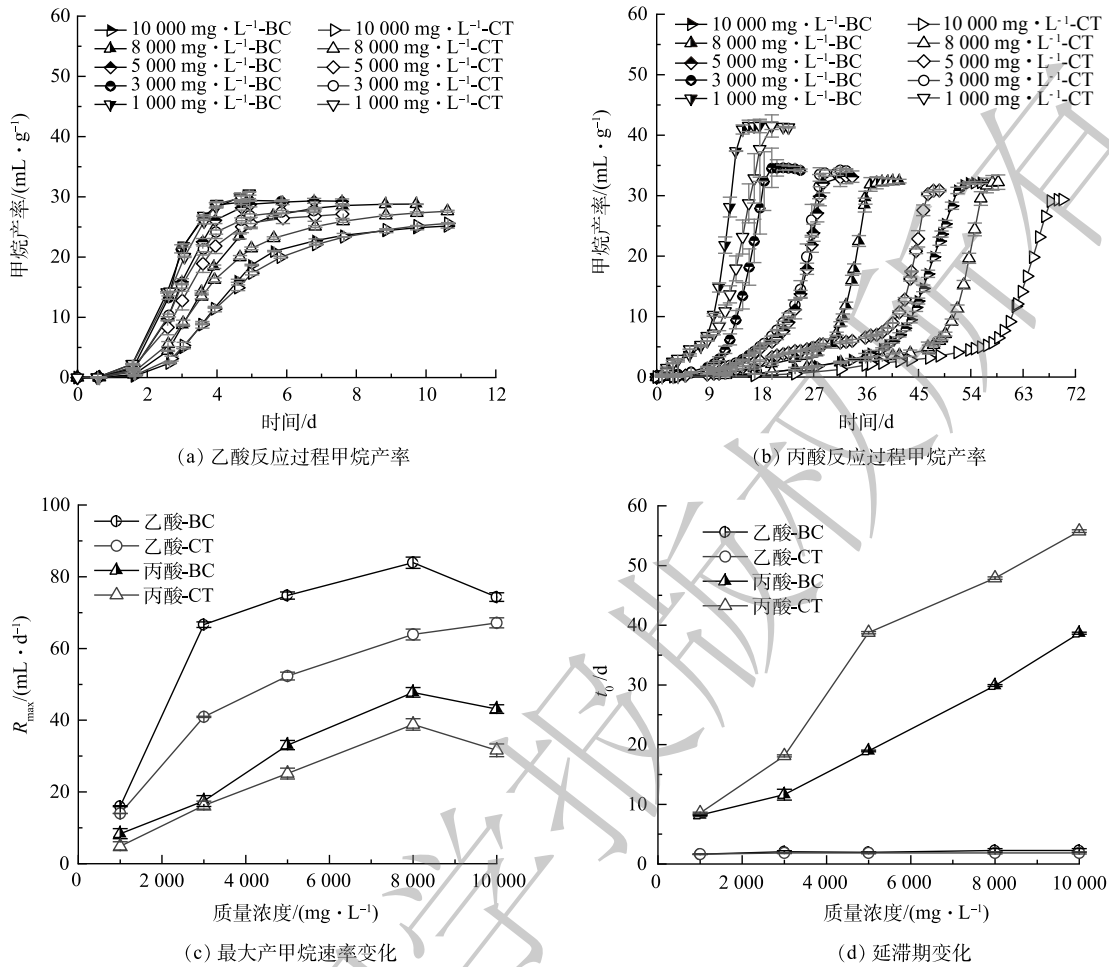


图1 反应过程甲烷产率及动力学参数变化

Fig. 1 The change of methane yield and kinetic parameters in the reaction process

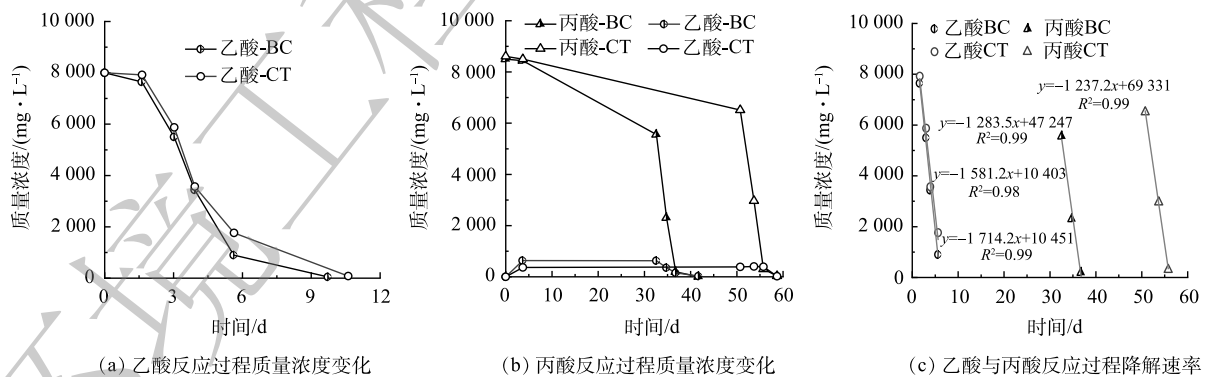


图2 8000 mg·L<sup>-1</sup> 乙酸与丙酸反应过程的质量浓度变化和降解速率

Fig. 2 The mass concentration change and degradation rate of 8000 mg·L<sup>-1</sup> acetate and propionate reaction process

解速率提高了8.4%。图2(b)所示由于丙酸难降解而导致反应周期大大延长, CT组完全结束反应需59 d, 而BC组仅需要42 d, 说明生物炭加速了丙酸降解反应进程。图2(c)显示, CT组丙酸最大降解反应速率为1237.2 mg·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, BC组为1283.5 mg·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 生物炭使得丙酸降解速率提高了3.7%。

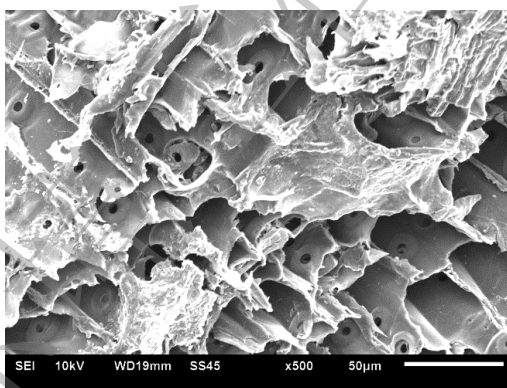
综上, 生物炭对乙酸互营产甲烷效率的提升可归因于对乙酸降解的促进, 而对丙酸互营产甲

烷过程而言则是由于促进了丙酸的乙酸化过程, 但更大程度地应归因于其促进了丙酸的甲烷化过程。丙酸降解过程中没有乙酸积累, 所以乙酸化过程则是丙酸互营产甲烷的限速步骤。

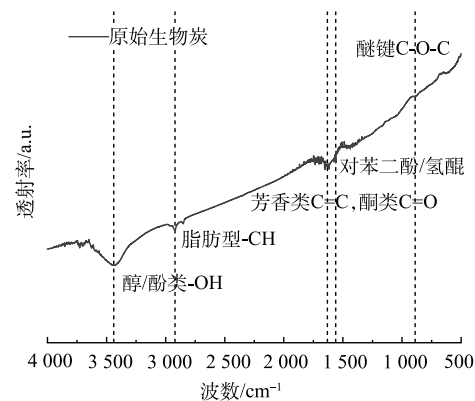
## 2.2 生物炭介导下乙酸和丙酸互营产甲烷的微生物动力学特征

表4为产乙酸菌和产甲烷菌的最大比生长速率 $\mu_m$ 和半饱和系数 $K_s$ 以及加碳组与控制组的差 $\Delta$ 。对乙酸反应而言, 生物炭促进了产甲烷过程的微生物生长与对体系的适应。与CT组相比, BC组 $\mu_{m2}$ 增加了48.1%, 意味着生物炭提高了乙酸产甲烷过程微生物的增殖速率从而强化反应进行;  $K_{s2}$ 减少了65.8%, 说明生物炭使得体系内微生物更快的适应环境, 即乙酸更快被利用而加快反应进程。生物炭对于乙酸互营产甲烷过程的微生物生长有明显的强化作用。与产甲烷速率结果相似, 丙酸 $\mu_{m2}$ 小于乙酸 $\mu_{m2}$ , 且仅为乙酸 $\mu_{m2}$ 的29.6%, 这说明丙酸抑制了原本较快的产甲烷微生物生长; 丙酸 $K_{s2}$ 远远大于乙酸 $K_{s2}$ , 与产甲烷 $t_0$ 趋势相对应。生物炭使丙酸BC组 $\mu_{m2}$ 相比于CT组提升了113.8%, 适当缓解了丙酸对产甲烷菌生长的抑制; 同时BC组 $K_{s2}$ 与CT组相比降低了43.9%, 说明生物炭有利于微生物对不利的丙酸体系的适应。对乙酸化过程而言, 生物炭的加入有利于乙酸化微生物的生长与乙酸化过程微生物的适应, BC组丙酸 $\mu_{m1}$ 和 $K_{s1}$ 相比于CT组分别提高了17.6%和降低了63.8%。

生物炭对微生物的生长有不同程度的促进作用, 可能与生物炭自身丰富的孔隙结构(如图3(a)所示)有关<sup>[28]</sup>。一方面, 可以有利于微生物的附着; 另一方面, 也可以在一定程度上避免微生物在不利的环境条件下(比如高丙酸浓度)与体系混合液直接接触。此外, 燃烧所残留的灰分导致了生物炭的pH一般呈碱性, 约为8.2~13.0。多个研究结果表明碱性生物炭有利于微生物在其表面富集<sup>[29-30]</sup>, 因此这可能是生物炭促进微生物生长的原因。



(a) 形态结构



(b) 表面官能团

图3 生物炭的形貌特性

Fig. 3 Morphological characteristics of biochar

## 2.3 生物炭介导下乙酸和丙酸互营产甲烷的热力学特征

1) 乙酸互营产甲烷。选取生物炭促进程度大产甲烷速率快且无明显抑制的8000 mg·L<sup>-1</sup>质量浓度进行自由能计算。图4(b)为乙酸反应过程自由能变化。实验初始加入固定质量浓度的乙酸, 由

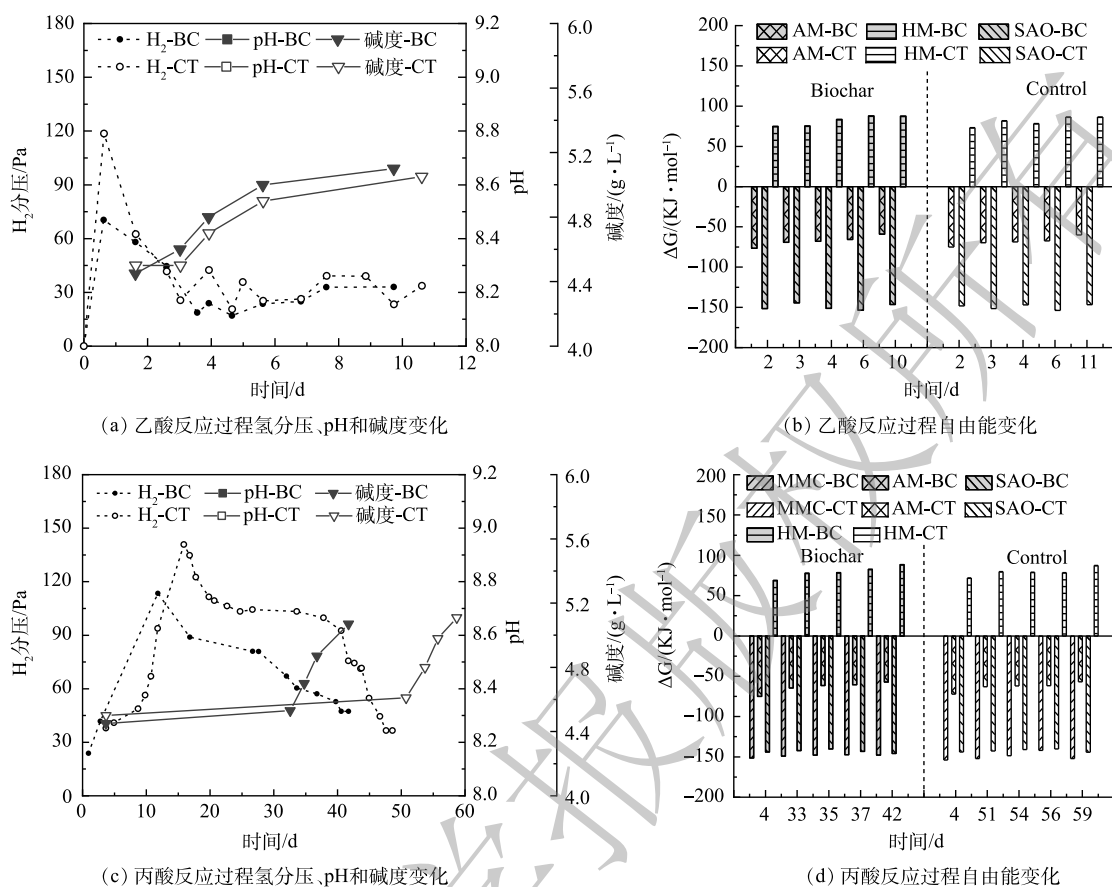


图4 8000 mg·L<sup>-1</sup> 乙酸和丙酸反应过程氢分压、pH、碱度及自由能变化

Fig. 4 The changes of hydrogen partial pressure, pH, alkalinity and free energy during 8000 mg·L<sup>-1</sup> reaction.

于还未开始反应, H<sub>2</sub> 和 CH<sub>4</sub> 体积分数低至 1%~2%, 虽然乙酸氧化反应标准吉布斯自由能为正 (+104.6 KJ·mol<sup>-1</sup>), 但在实际环境条件以及微生物作用下使得反应实际自由能小于 0<sup>[24]</sup>, 可自发进行。随着微生物对环境体系的适应, SAO 反应开始发生, 乙酸进一步生成 H<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>, 氢分压逐渐升高至 118.5 Pa。与氢分压相关的 SAO 和氢营养型产甲烷 (hydrogenotrophic methanogens, HM) 反应自由能在各自氢分压升高时都有相应的上升或下降, 后又由于氢分压的降低有所恢复。同时乙酸裂解反应由于乙酸被不断降解反应自由能由初始的 -74.9 KJ·mol<sup>-1</sup> 上升至 -60.1 KJ·mol<sup>-1</sup>。

生物炭的添加使氢分压相比于 CT 组降低了 40.6%, 有利于降低高氢分压下限制电子传递的热力学壁垒。生物炭分别最大降低了 2.8% 和 6.3% 的 SAO 与 HM 反应自由能, 这可能归因于生物炭对于高氢分压抑制的缓解, 推动了 IHT 过程的进行与 DIET 过程共同作用来加速互营氧化产甲烷<sup>[31]</sup>。动力学的促进使得在同一反应程度下乙酸的质量浓度更低, 从而 SAO 和 AM 反应自由能总体趋势升高, 特别是与不断增加的 CH<sub>4</sub> 组分有关的 AM 反应。

2) 丙酸互营产甲烷。从反应方程看, 丙酸氧化 (methyl-malonyl-CoA, MMC) 反应相比于乙酸反应受氢分压影响较小, 开始降解时氢分压升高没有对反应自由能造成明显影响, 但之后自由能还是随氢分压波动呈先上升后降低的趋势。随后产生的乙酸开始进行丙酸反应第二阶段的产甲烷过程, 如图 2(b) 所示与乙酸反应不同的是, 丙酸氧化产生的乙酸大部分都被利用产甲烷, 体系内的乙酸质量浓度保持在一个相对较低的水平, 这有利于热力学不利的丙酸降解 ( $\Delta G=0$ ) 能自发进行, 但会使得丙酸互营氧化的 SAO 反应自由能相比于乙酸要略高。

图 4(c) 可知生物炭降低了丙酸降解过程 19.4% 的氢分压, 缓解了高氢分压抑制的电子传递,



通过强化 IHT 过程进一步促进反应发生, 使同一反应程度下 MMC 反应自由能相比 CT 组最大降低了 3.8%, 同时氢分压的降低也使得丙酸的 SAO 反应自由能降低了 2.1%。反应自由能与体系内反应物质量浓度密切相关, 生物炭降低了反应过程氢分压, 缓解了高氢分压对电子传递的抑制, 降低了反应过程自由能, 提升了热力学效能, 通过强化 IHT 过程进一步促进反应发生。

#### 2.4 生物炭强化乙酸和丙酸的作用机制

由图 5 可知, 随着质量浓度增加, 体系内 INT-ETS 活性值逐渐增大, 乙酸由  $43.3 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  上升至  $49.2 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ , 丙酸由  $53.6 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  上升至  $67.7 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ , 这表明高负荷下能使微生物有更强的电子传递能力<sup>[32]</sup>。BC 组 INT-ETS 活性普遍高于 CT 组, 在  $3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  丙酸反应时最高可达 CT 组的 1.3 倍, 说明添加生物炭可以明显提升体系内微生物电子传递活性, 这可能得益于生物炭丰富的官能团所蕴含的较强氧化还原能力。图 3(b) 为原始生物炭傅立叶红外表征, 由图可知生物炭上含有酮类结构 ( $\text{C}=\text{O}$ ) 与氢醌, 这可能与具有氧化还原活性的电化学结构 (醌类/吩嗪类) 有关, 使生物炭具备作为电子传递媒介的潜能<sup>[33]</sup>。由表 1 可知, 生物炭供给电子能力 (electron donating capacity, EDC) 和接受电子能力 (electron accepting capacity, EAC) 分别为  $0.35$  和  $4.85 \mu\text{mole}\cdot\text{g}^{-1}$ , 这使得生物炭可有效的作为传递电子的媒介, 这有利于改善初始体系内乙酸和丙酸积累导致的电子传递受限, 从而增强过程中胞外电子传递 (extracellular electron transfer, EET) 来促进互营氧化反应<sup>[34]</sup>。生物炭通过 DIET 作用一方面直接提升了反应的电子转移效率, 另一方面使得反应快速正向进行, 降低体系内氢分压用于产甲烷, 有利于改善体系热力学效能从而推动 IHT 反应进一步强化互营产甲烷。

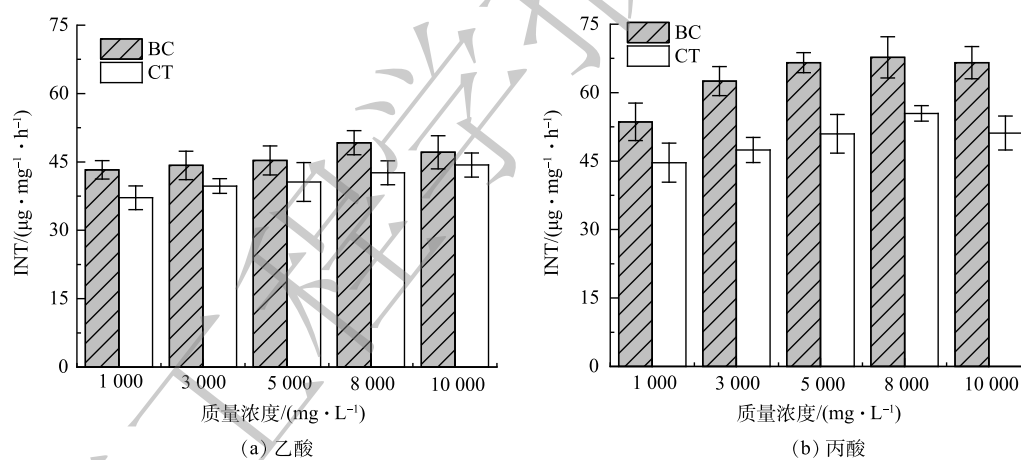


图 5 反应过程电子传递活性

Fig. 5 Electron transfer activity during the reaction

总之, 生物炭有效地增强体系内产甲烷微生物的生长速率来强化反应进行, 从而提升乙酸和丙酸降解产甲烷速率。生物炭还通过降低体系内氢分压来缓解乙酸和丙酸积累对互营反应的抑制作用, 打破了 IHT 过程自由能的限制, 提升了热力学效能。同时 DIET 过程和增强的 IHT 过程可提升电子传递能力进一步促进互营氧化反应。动力学与热力学的促进均有利于互营产甲烷反应过程, 在这种双重促进作用下, 乙酸和丙酸被快速稳定的利用降解产甲烷。

### 3 结论

1) 生物炭显著加快了乙酸与丙酸互营产甲烷过程的降解速率和产甲烷速率, 特别是需要“两阶段”才能完成的丙酸反应。此外, 乙酸化过程是丙酸互营产甲烷的限速步骤。

2) 生物炭可提高乙酸化和甲烷化过程微生物的生长速率, 同时可使反应过程微生物更好适应

体系环境,这可能归因于生物炭自身丰富的孔隙结构以及其呈碱性的特性。

3) 生物炭自身具有氧化还原特性结构,可作为电子传递的媒介。生物炭通过 DIET 作用不仅提高了体系内的电子传递效率,还使得反应快速正向进行,降低了体系内氢分压用于产甲烷,有效缓解了高氢分压对于电子传递的抑制,有利于改善体系热力学效能从而推动 IHT 反应进一步强化互营产甲烷。

4) 在生物炭对互营产甲烷反应过程动力学和热力学的双重促进作用下,乙酸和丙酸能被快速稳定的利用降解产甲烷。

## 参考文献

- [1] REN Y Y, YU M, WU C F, et al. A comprehensive review on food waste anaerobic digestion: Research updates and tendencies[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 1069-76.
- [2] YUAN H P, ZHU N W. Progress in inhibition mechanisms and process control of intermediates and by-products in sewage sludge anaerobic digestion[J]. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2016, 58: 429-38.
- [3] FENG D, XIA A, HUANG Y, et al. Effects of carbon cloth on anaerobic digestion of high concentration organic wastewater under various mixing conditions[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423(Pt A): 127100.
- [4] YAMADA C, KATO S, UENO Y, et al. Conductive iron oxides accelerate thermophilic methanogenesis from acetate and propionate[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2015, 119(6): 678-82.
- [5] NGUYEN D, WU Z Y, SHRESTHA S, et al. Intermittent micro-aeration: New strategy to control volatile fatty acid accumulation in high organic loading anaerobic digestion[J]. *Water Research*, 2019, 166: 115080.
- [6] AMANI T, NOSRATI M, SREEKRISHNAN T R. A precise experimental study on key dissimilarities between mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of waste activated sludge[J]. *International Journal of Environmental Research*, 2011, 5(2): 333-42.
- [7] MULAT D G, WARD A J, ADAMSEN A P, et al. Quantifying contribution of syntrophic acetate oxidation to methane production in thermophilic anaerobic reactors by membrane inlet mass spectrometry[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(4): 2505-11.
- [8] VIGGI C C, ROSSETTI S, FAZI S, et al. Magnetite particles triggering a faster and more robust syntrophic pathway of methanogenic propionate degradation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(13): 7536-43.
- [9] SUMMERS Z M, FOGARTY H E, LEANG C, et al. Direct exchange of electrons within aggregates of an evolved syntrophic coculture of anaerobic bacteria[J]. *Science*, 2010, 330(6009): 1413-5.
- [10] LIN R C, CHENG J, ZHANG J B, et al. Boosting biomethane yield and production rate with graphene: The potential of direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 239: 345-52.
- [11] WANG G J, LI Q, GAO X, et al. Synergetic promotion of syntrophic methane production from anaerobic digestion of complex organic wastes by biochar: Performance and associated mechanisms[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 250: 812-20.
- [12] LI Q, GAO X, LIU Y Q, et al. Biochar and GAC intensify anaerobic phenol degradation via distinctive adsorption and conductive properties[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 405: 124183.
- [13] LI Q, XU M J, WANG G J, et al. Biochar assisted thermophilic co-digestion of food waste and waste activated sludge under high feedstock to seed sludge ratio in batch experiment[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 249: 1009-16.
- [14] YANG Y, CHEN Q, GUO J L, et al. Kinetics and methane gas yields of selected C1 to C5 organic acids in anaerobic digestion[J]. *Water Research*, 2015, 87: 112-8.
- [15] GU M Q, YIN Q D, LIU Y, et al. New insights into the effect of direct interspecies electron transfer on syntrophic methanogenesis through thermodynamic analysis[J]. *Bioresource Technology Reports*, 2019, 7.
- [16] GUO X B, CHEN H Z, ZHU X Q, et al. Revealing the role of conductive materials on facilitating direct interspecies electron transfer in syntrophic methanogenesis: A thermodynamic analysis[J]. *Energy*, 2021, 229: 120747.
- [17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 木炭和木炭试验方法: GB/T 17664-1999[S]. 北京: 中国标准出版社, 1999.
- [18] LI Q, LIU Y Q, GAO W Y, et al. New insights into the mechanisms underlying biochar-assisted sustained high-efficient co-digestion: Reducing thermodynamic constraints and enhancing extracellular electron transfer flux[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 811: 151416.
- [19] 尹军, 谭学军, 任南琪. 用TTC与INT-电子传递体系活性表征重金属

- 对污泥活性的影响[J]. *环境科学*, 2005, 26(1): 7.
- [20] LI Q, LIU Y Q, YANG X H, et al. Kinetic and thermodynamic effects of temperature on methanogenic degradation of acetate, propionate, butyrate and valerate[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 396: 10.
- [21] ECHIEGU. Kinetic modelling of continuous-mix anaerobic reactors operating under diurnally cyclic temperature environment[J]. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 2014, 10(2): 130-42.
- [22] PURNOMO C W, MELLYANAWATY M, BUDHIJANTO W. Simulation and experimental study on iron impregnated microbial immobilization in zeolite for production of biogas[J]. *Waste and Biomass Valorization*, 2017, 8(7): 2413-21.
- [23] THAUER R K, JUNGERMANN K, DECKER K. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria[J]. *Bacteriological Reviews*, 1977, 41(1): 100-80.
- [24] WU D, LI L, ZHEN F, et al. Thermodynamics of volatile fatty acid degradation during anaerobic digestion under organic overload stress: The potential to better identify process stability[J]. *Water Research*, 2022, 214: 118187.
- [25] QIAO W, TAKAYANAGI K, LI Q, et al. Thermodynamically enhancing propionic acid degradation by using sulfate as an external electron acceptor in a thermophilic anaerobic membrane reactor[J]. *Water Research*, 2016, 106: 320-9.
- [26] MCCARTY P L, SMITH D P. Anaerobic wastewater treatment[J]. *Environmental Science & Technology*, 1986, 20(12): 1200-6.
- [27] 张彤, 张立秋, 封莉, 等. 含固率和有机负荷对厨余垃圾厌氧消化性能及沼渣特性的影响[J]. *环境科学研究*, 2022, 35(11): 2596-607.
- [28] QIU L, DENG Y F, WANG F, et al. A review on biochar-mediated anaerobic digestion with enhanced methane recovery[J]. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2019, 115.
- [29] WANG G J, LI Q, GAO X, et al. Sawdust-derived biochar much mitigates VFAs accumulation and improves microbial activities to enhance methane production in thermophilic anaerobic digestion[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 7(2): 2141-50.
- [30] WANG G J, GAO X, LI Q, et al. Redox-based electron exchange capacity of biowaste-derived biochar accelerates syntrophic phenol oxidation for methanogenesis via direct interspecies electron transfer[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 390: 121726.
- [31] QI Q X, SUN C, ZHANG J X, et al. Internal enhancement mechanism of biochar with graphene structure in anaerobic digestion: The bioavailability of trace elements and potential direct interspecies electron transfer[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 406: 126833.
- [32] TIAN T, QIAO S, YU C, et al. Effects of nano-sized MnO(2) on methanogenic propionate and butyrate degradation in anaerobic digestion[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 364: 11-8.
- [33] KIAI H, RAITI J, EL-ABBASSI A, et al. Recovery of phenolic compounds from table olive processing wastewaters using cloud point extraction method[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2018, 6(1): 1569-75.
- [34] WANG G J, XING Y, LIU G H, et al. Poorly conductive biochar boosting extracellular electron transfer for efficient volatile fatty acids oxidation via redox-mediated mechanism[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 809: 151113.

(责任编辑: 金曙光)

## Kinetic and thermodynamic mechanisms of methane production from propionate and acetate enhanced by biochar at high temperature

ZHANG Peiyun<sup>1</sup>, ZHAO Danyang<sup>1</sup>, DING Lizhi<sup>1</sup>, YOU Shaowen<sup>1</sup>, LI Qian<sup>1,2,\*</sup>, CHEN Rong<sup>1</sup>, LI Yuyou<sup>2</sup>

1. Department of Environment and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology 710055, China;

2. Department of Civil and Environmental Engineering, Graduate School of Engineering, Tohoku University Sendai 980-8579, Japan

\*Corresponding author, E-mail: Qian.LI@xauat.edu.cn

**Abstract** In order to address the issue that the kinetic and thermodynamic mechanism of methane production boosted by biochar is unclear, the synergistic mechanism of biochar enhanced methane production by acetate and propionate was investigated using batch tests of methane production by high temperature degradation of acetate and propionate, combined with the analysis of thermodynamic reaction kinetics, microbial growth kinetics, and batch experiments. The results showed that compared with the control group, biochar accelerated the degradation rate and methane production rate of acetate and propionate. The degradation rates of acetate and propionate increased by 8.4% and 3.7%, respectively, while the methane production rates increased by 31.3% and 23.1%, respectively. According to microbial growth studies, biochar might offer an environment that was conducive to microbial growth and microbial growth. The addition of biochar increased the maximum specific growth rate of methanogens using propionate by 113.8%. Thermodynamic analysis of the reaction process revealed that biochar decreased the hydrogen partial pressure of the syntrophic methanogenic reaction of acetate and propionate by 40.6% and 19.4%, thereby reducing the free energy of reactions related to hydrogen partial pressure and promoting the interspecific hydrogen transfer (IHT). In addition, biochar considerably increased the system's electron transfer efficiency. It might be because of the direct interspecific electron transfer (DIET) generated by its own redox functional groups, which might not only increase the reaction's efficiency in terms of electron transfer but also in terms of thermodynamic efficiency, hence promoting the IHT reaction and enhancing the syntrophic methanogenic process. In conclusion, biochar can promote the IHT process and DIET by increasing microbial growth and thermodynamic improvement, as well as improving the efficiency of the syntrophic methanogenesis process. The results of this study can provide a reference for the further practical application of biochar in anaerobic digestion.

**Keywords** syntrophic methanogenesis; volatile fatty acids; thermophilic; kinetics; gibbs free energy; biochar