净水技术前沿与热点综述

纪晓云,张景新,何义亮. 厌氧消化工艺中生物固碳技术与途径研究进展[J]. 净水技术,2024,43(12):7-17,55. JI X Y, ZHANG J X, HE Y L. Research advances in biological carbon fixation technology and pathways in anaerobic digestion process[J]. Water Purification Technology, 2024, 43(12):7-17,55.

厌氧消化工艺中生物固碳技术与途径研究进展

纪晓云¹,张景新¹,何义亮^{1,2,*}

(1.上海交通大学中英国际低碳学院,上海 201306;2.上海交通大学环境科学与工程学院,上海 200240)

摘 要 厌氧消化(anaerobic digestion, AD)是当前实现有机废弃物减量化与清洁能源生产的有效技术手段。在全球气候变 暖和化石能源短缺的背景下,将 AD 技术与微生物固碳相结合,有助于提升生物甲烷的产率并增强固碳能力。然而,目前对于 微生物固碳的研究普遍忽视了 AD 系统的固碳潜能。文章基于 AD 中 CO₂ 的生物转化研究现状,介绍了 AD 中 CO₂ 的产生及 固定途径,重点分析了通过引入外源 H₂、添加零价铁、外加微生物电解池、投加导电材料和引入外源 CO₂ 等手段优化 AD 过程 的研究进展。最后,文章对实现 CO₂ 固定为无定形碳、明确外源 CO₂ 促进产甲烷的具体机制及推动相关技术从实验室走向工 业化应用等未来研究方向进行展望,为探索 AD 固碳途径和提升 CO₂ 固定与转化技术提供一定的参考。

关键词 厌氧消化 生物固碳 天然固碳途径 CO2利用 生物转化

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 1009-0177(2024)12-0007-12

DOI: 10. 15890/j. cnki. jsjs. 2024. 12. 002

Research Advances in Biological Carbon Fixation Technology and Pathways in Anaerobic Digestion Process

JI Xiaoyun¹, ZHANG Jingxin¹, HE Yiliang^{1,2,*}

(1. China-UK Low Carbon College of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201306, China;
2. School of Environmental Science and Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract Anaerobic digestion (AD) is an effective method for reducing organic waste and producing clean energy. In context of global warming and scarcity of fossil fuels, integrating AD with microbial carbon sequestration enhances biomethane yield and carbon fixation capacity. However, current research on microbial carbon sequestration often overlooks the carbon fixation potential of AD systems. Based on the current status of CO_2 biotransformation in anaerobic digestion, this paper introduces the pathways of CO_2 generation and fixation in anaerobic digestion. It focuses on the research progress achieved by introducing external H_2 , adding zerovalent iron, utilizing microbial electrolysis cells, adding conductive materials, and introducing external CO_2 to optimize the AD process. Finally, this paper looks forward to future research directions, including the fixation of CO_2 into amorphous carbon, elucidating the mechanisms by which external CO_2 enhances methanogenesis, and advancing related technologies from laboratory to industrial application. This serves as a reference for exploring carbon sequestration pathways in anaerobic digestion and improving CO_2 fixation and conversion technologies.

Keywords anaerobic digestion (AD) biological carbon fixation natural carbon fixation pathway CO_2 utilization biotransformation

[[]收稿日期] 2024-05-07

[[]基金项目] 国家自然科学基金项目(41977387,52270131)

[[]作者简介] 纪晓云(1999—),女,硕士,研究方向为有机固体废弃物资源化,E-mail;jxy1718@163.com。

[[]通信作者] 何义亮(1965—),男,教授,研究方向为水污染控制与水环境修复,E-mail:ylhe@sjtu.edu.cn。

随着经济快速增长和人民生活水平提高,餐厨 垃圾、污泥、农作物秸秆以及畜禽粪便等有机固体废 弃物的产量不断增加,导致环境污染问题愈加严重。 厌氧消化(anaerobic digestion, AD)技术因能够将有 机物转化为低碳、清洁、可再生的生物甲烷而被认为 是处理这些废弃物的有效途径^[1]。然而,沼气中 30%~50%的 CO₂ 降低了其热值,限制了沼气的应 用范围^[2]。因此,提高 AD 中甲烷产率与减少沼气 中 CO₂ 含量是当前改进 AD 技术的关键。

在 CO₂ 固定与转化技术中,相比物理化学法, 生物固碳具有环境友好和可持续发展等优点,通过 植物、微生物和藻类等生物体的固碳途径,将 CO₂ 转化为生物质、燃料和化工原料等。其通常在常温 常压下进行,能耗和成本较低,展现出更为广阔的发 展前景^[3]。

在全球气候变暖和化石能源短缺的背景下,将 AD 技术与生物固碳技术相结合,提高甲烷产率和 产量,增强 AD 固碳能力,对可再生能源发展和双碳 目标的实现具有重要推动作用。目前,已有研究 者^[4-8]对微藻固碳等好氧固碳技术进行综述,但普 遍忽视了 AD 系统的固碳潜能。近年来,许多研究 对 AD 中 CO₂ 的生物利用进行了探索,基于前人研 究,文章分别从 CO₂ 的产生与固定途径以及生物利 用技术 2 个方面,综述 AD 中固碳途径与技术的最 新研究进展,并展望未来研究方向,以期为深入研究 和认识 AD 固碳潜能提供一定参考。

1 CO₂ 生物固定

 CO_2 生物固定是指在微生物的作用下,从大气 和其他来源吸收 CO_2 ,用于细胞生长和生产有机生 物质形式的胞外成分。目前,自然界中已知的微生 物天然固碳途径共有 6 种(表 1),分别是卡尔文 (calvin-benson-bassham, CBB)循环、3-羟基丙酸(3hydroxypropionate, 3-HP)双循环、3-羟基丙酸/4-羟 基丁酸(3-hydroxypropionate/4-hydroxy-butyrate, 3-HP/4-HB)循环、厌氧乙酰辅酶 A(wood-ljungdahl, WL)途径、逆向 TCA(reductive citric acid, rTCA)循 环和二羧酸/4 - 羟基丁酸(dicarboxylate/4hydroxybutyrate, DC/4-HB)循环^[9]。

生物体吸收的 CO₂ 进入微生物固碳途径后,经 多种代谢反应,生成丙酮酸或乙酰辅酶 A,它们是细 胞生长的重要中间代谢产物。CO₂ 生物固定涉及的 微生物根据存在的多种酶机制及其对氧的敏感程 度,可分为好氧型和厌氧型,其中 CBB 循环、3-HP 双循环和 3-HP/4-HB 循环为好氧固碳途径, WL 途 径、rTCA 循环和 DC/4-HB 循环为厌氧固碳途 径^[10]。在生物体内,生物还原当量还原型烟酰胺腺 嘌呤二核苷酸磷酸[NAD(P)H]和细胞能量"货币" 腺嘌呤核苷二磷酸(ATP)被用于固碳过程,将CO, 转化为生物质或化学物质。ATP 中储存的能量可 在高能磷酸键水解时释放,为固碳过程提供动力。 与此同时,固碳酶以更低的活化能催化 CO2 与特定 底物的连接。为了提供所需的 ATP 和还原当量,自 养微生物进化出了各种能量模块。植物中的 CBB 循环和绿色无硫细菌中的 3-HP 双循环的能量来自 光能。对于主要分布在厌氧细菌中的 WL 途径,能 量则来自H₂。H₂或单质硫也可用作 3-HP/4-HB 循 环和 DC/4-HB 循环的能量来源, 而光能和单质硫则 可用于驱动 rTCA 循环^[11]。厌氧条件下的化能自养 细菌很可能是地球上最早出现的生物类型之一^[12]。 它们利用多种无机化合物作为电子供体(如 S²⁻、 NH_4^+ , H₂)和电子受体(如 O₂, CO₂, SO₄²⁻, S⁰, NO₃⁻), 催化无机氧化还原反应,获取能量和还原当量,将 CO。转化为有机分子,从而通过提供有机碳或封闭 元素循环(如氮、硫)为生态系统发挥关键作用。从 热力学角度来看,在有氧、氧化环境中,与厌氧、还原 生境相比,将无机碳还原成有机碳需要更多的能 量^[13]。因此,大多数能量供应充足的好氧化能自养 细菌使用耐氧但耗能的 CBB 循环,而通常能量供应 有限的厌氧化能自养细菌则利用能效更高但对氧敏 感的固碳途径。

2 AD 中 CO₂ 的产生与固定途径

2.1 CO2 的产生途径

在 AD 中,复杂有机物在厌氧微生物的作用下 逐步分解为甲烷和 CO₂。其中,CO₂ 的产生主要发 生在酸化、产氢产乙酸及产甲烷阶段,与之相关的主 要生化反应如表 2 中式(1)~式(15)所示。在酸化 阶段,产酸发酵细菌进一步分解前一阶段产生的小 分子有机物,将其转化为短链脂肪酸(如甲酸、乙 酸、丙酸、丁酸和戊酸等)、醇类(如甲醇和乙醇等)、 H₂和 CO₂等,同时合成新的细胞组分。在产氢产乙 酸阶段,产氢产乙酸细菌将挥发性脂肪酸(volatile fatty acids, VFAs)和醇类等转化为乙酸、甲酸、CO₂

December 25th, 2024

| Tab. 1 Comparison of Six Natural Microbial Carbon Fixation Pathways ^[11] | | | | | | |
|---|---------------------|------------------|------------------------------------|--------|-----------------------------------|--|
| 固碳途径 | 能量来源 | 底物 | 能量输入 | 产物 | 固碳酶 | |
| CBB 循环 | 光能 | 3CO ₂ | 9 ATP 6 NAD(P)H | 3PGA | 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶 | |
| 3-HP 双循环 | 光能 | $3HCO_3^-$ | 5 ATP 5 NAD(P)H | 丙酮酸 | 乙酰辅酶 A 羧化酶、丙酰辅酶 A 羧化酶 | |
| 3-HP/4-HB 循环 | H ₂ 和单质硫 | $2HCO_3^-$ | 4 ATP 4 NAD(P)H | 乙酰辅酶 A | 乙酰辅酶 A 羧化酶、丙酰辅酶 A 羧化酶 | |
| WL 途径 | Н ₂ | 2CO ₂ | 1 ATP 2 NAD(P)H4 Fd _{red} | 乙酰辅酶 A | 甲酸脱氢酶(FDH)、一氧化碳脱氢酶/乙 酰辅酶 A 合成酶 | |
| rTCA 循环 | 光能和单质硫 | $2CO_2$ | 2 ATP 2 NAD(P) H FADH ₂ | 乙酰辅酶 A | 2-氧戊二酸合酶、异柠檬酸脱氢酶 | |
| | | | $2 \mathrm{Fd}_{\mathrm{red}}$ | | | |
| DC/4-HB 循环 | H ₂ 和单质硫 | CO_2 HCO_3^- | 3 ATP NAD (P) H 2 Fd_{red} . | 乙酰辅酶 A | 丙酮酸合酶、磷酸烯醇丙酮酸羧化酶 | |
| | | | $2 MV_{red}$ | | | |

| 表 1 | 6 | 种天然微生 | 物固碳途 | 径的对比[11 |
|-----|---|-------|------|---------|
|-----|---|-------|------|---------|

注:FADH2 是指黄素腺嘌呤二核苷酸递氢体;Fd_{red} 是指还原型铁氧还蛋白;MV_{red} 是指还原型甲基紫精;3PGA 是指 3-磷酸甘油酸。

和 H₂等可被产甲烷菌直接利用的物质^[14]。这一过 程受到系统氢分压的影响,因为只有当氢分压小于 10 Pa 时,丙酸、丁酸和乙醇等向乙酸转化的反应才 能发生,若氢分压过大,会对产甲烷过程产生抑制作 用。CO₂和 H₂可被同型产乙酸菌转化为乙酸,从而 使体系氢分压降低,保证系统正常运行^[15]。

产甲烷阶段是产甲烷菌利用 H₂/CO₂、乙酸、甲酸和甲醇等物质生成甲烷的过程^[14]。在产甲烷微 生物中起关键作用的是乙酸营养型产甲烷菌和 CO₂

还原型产甲烷菌。此外,还存在少部分甲基营养型 产甲烷菌可利用甲胺、甲醇等物质产甲烷。在 AD 产生的甲烷中,约有 70%来自乙酸营养型产甲烷, 28%来自 CO₂ 还原型产甲烷^[16]。在这一阶段产生 的沼气中,除甲烷外,CO₂ 也是重要的气体组分。 因此,通常需要沼气升级,通过膜分离法、吸收剂 法、筛选吸附法等分离提纯甲烷气体,或利用微生 物反应实现 CO₂ 的转化,从而进行后续的发热发 电利用。

表 2 AD 中与 CO₂ 产生与转化相关的主要生化反应^[15,17-18]

| 主要生化反应 | 反应式 | | $\Delta G_0 / \mathrm{kJ}$ |
|--------|--|------|----------------------------|
| 酸化 | $C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 4H_2 + 2CO_2$ | (1) | - 206 |
| | $\mathrm{C_6H_{12}O_6} \rightarrow \mathrm{CH_3CH_2CH_2COOH} + 2\mathrm{CO_2} + 2\mathrm{H_2}$ | (2) | - 254 |
| | $\mathrm{C_6H_{12}O_6} \rightarrow \mathrm{2CH_3CH_2OH} + \mathrm{2CO_2}$ | (3) | - 164.8 |
| | $2\mathrm{CH}_3\mathrm{CHOHCOOH} + 2\mathrm{H}_2\mathrm{O} \rightarrow \mathrm{CH}_3\mathrm{CH}_2\mathrm{CH}_2\mathrm{COOH} + 2\mathrm{HCO}_3^- + 2\mathrm{H}^+ + 2\mathrm{H}_2$ | (4) | - 56.3 |
| | $\mathrm{CH}_{3}\mathrm{CH}_{2}\mathrm{COO}^{-} + 2\mathrm{CO}_{2} + 6\mathrm{H}_{2} \rightarrow \mathrm{CH}_{3}(\mathrm{CH}_{2})_{3}\mathrm{COO}^{-} + 4\mathrm{H}_{2}\mathrm{O}$ | (5) | - 143.3 |
| | $\mathrm{CH}_3(\mathrm{CH}_2)_2\mathrm{COO}^- + 2\mathrm{CO}_2 + 6\mathrm{H}_2 \rightarrow \mathrm{CH}_3(\mathrm{CH}_2)_4\mathrm{COO}^- + 4\mathrm{H}_2\mathrm{O}$ | (6) | - 143.3 |
| 产氢产乙酸 | $\mathrm{CH}_3\mathrm{CH}_2\mathrm{COOH} + 2\mathrm{H}_2\mathrm{O} \rightarrow \mathrm{CH}_3\mathrm{COOH} + 3\mathrm{H}_2 + \mathrm{CO}_2$ | (7) | + 76.2 |
| | $\mathrm{CH_3CHOHCOOH} + \mathrm{2H_2O} \rightarrow \mathrm{2CH_3COOH} + \mathrm{HCO_3^-} + \mathrm{2H_2}$ | (8) | + 48.4 |
| 产甲烷 | $4\mathrm{H}_2+\mathrm{CO}_2{\rightarrow}\mathrm{CH}_4+2\mathrm{H}_2\mathrm{O}$ | (9) | - 135.0 |
| | $CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$ | (10) | - 31.0 |
| | $4\rm HCOOH \rightarrow \rm CH_4 + 3\rm CO_2 + 2\rm H_2\rm O$ | (11) | - 304.2 |
| | $4\mathrm{CH}_3\mathrm{OH} \rightarrow 3\mathrm{CH}_4 + \mathrm{CO}_2 + 2\mathrm{H}_2\mathrm{O}$ | (12) | - 312.8 |
| | $2\mathrm{CH}_3\mathrm{CH}_2\mathrm{OH} + \mathrm{CO}_2 \longrightarrow \mathrm{CH}_4 + 2\mathrm{CH}_3\mathrm{COOH}$ | (13) | - 31.6 |
| 同型产乙酸 | $4\mathrm{H}_2 + 2\mathrm{CO}_2 \rightarrow \mathrm{CH}_3\mathrm{COOH} + 2\mathrm{H}_2\mathrm{O}$ | (14) | - 104.6 |
| 乙酸氧化 | $CH_3COOH + 2H_2O \rightarrow 2CO_2 + 4H_2$ | (15) | +104.6 |

| Tab. 2 | Major Biochemical | Reactions | Associated | with (| CO_2 | Formation | and | Conversion | in | AD ^[15,17-18] |
|--------|-------------------|-----------|------------|--------|--------|-----------|-----|------------|----|--------------------------|
|--------|-------------------|-----------|------------|--------|--------|-----------|-----|------------|----|--------------------------|

注:ΔG₀是指标准吉布斯自由能变化。

2.2 CO2 的固定途径

目前自然界中的3种天然微生物厌氧固碳途径:WL途径、rTCA循环和DC/4-HB循环,均在AD体系中被发现。

2.2.1 WL途径

WL途径(也被称为厌氧乙酰辅酶A途径)是6 种天然固碳途径中唯一一个非循环通路,也是最短 且固碳能耗最低的途径。该途径被产乙酸菌和部分 产甲烷菌用于能量生产和碳固定,在AD体系中广 泛存在^[19]。研究^[20]发现,在AD高温反应器中,WL 途径和CO₂还原型产甲烷途径是主导途径。在利 用WL途径时,大多数细菌(如同型产乙酸菌)的最 终产物是乙酸盐,而大多数古菌(如CO₂还原型产 甲烷菌)的最终产物是甲烷^[21]。该途径也在厌氧自 养古菌(Euryarchaeola)、发生厌氧氨氧化的浮霉菌 门 (Planctomyceles)及硫酸盐还原细菌 (Deltaproleobacteria)中起作用^[22]。

与其他 CO, 固定途径不同, 它不涉及主要 CO, 受体的再生^[6]。WL途径始于2个CO。分子的同时 氧化还原,它们通过2条不同的分支进入WL途径, 分别称西支(也称为羰基分支)和东支(也称为甲基 分支),如图1所示。甲基分支将CO,还原为与辅 酶结合的甲基,细菌和古菌中的甲基分支分别为 H₄F 甲基分支和 H₄MPT 甲基分支^[23]。在细菌型 WL途径中,该过程第一步由 NAD(P)H 依赖的 FDH 催化,将 CO,还原成甲酸。随后,在甲酰-H₄F 合酶、次甲基-H₄F环化水解酶、亚甲基-H₄F脱氢 酶和亚甲基-H₄F还原酶的作用下,甲酸最终被还原 为甲基-H₄F。在古菌型 WL 途径中, CO, 通过 H₄MPT 甲基分支进入,在甲酰基呋喃脱氢酶(Fmd/ Fwd)、甲酰基转移酶(Ftr)、次甲基-H₄MPT 环化水 解酶(Mch)、F₄₂₀-依赖的亚甲基-H₄MPT 脱氢酶 (Mtd)、产氢亚甲基-H₄MPT 脱氢酶(Hmd)和亚甲 基-H₄MPT 还原酶(Mer)的作用下最终被还原为甲 基-H₄MPT。

羰基分支是将 CO₂ 还原为与酶结合的羧基。 CO 脱氢酶(CODH)或乙酰辅酶 A 合成酶(ACS)是 这一过程的关键酶,因其催化 2 个反应而得名。首 先是在 CODH 的作用下 CO₂ 被还原成 CO。第二个 反应通过甲基化的协因蛋白从甲基-H₄F 或甲基-H₄MPT 中接受甲基,将其与 CO 和辅酶 A(CoA)缩







合形成乙酰辅酶 A,因此也被称为 ACS。CODH/ ACS 可能在细菌和古菌中有共同的起源,这与参与 甲基分支反应的关键酶不同,后者在细菌和古菌中 存在显著差异^[12]。

2.2.2 rTCA 循环

rTCA 循环主要发生在光合绿硫细菌(如 Chlorobium limicola)和某些厌氧菌中,其本质上是三 羧酸(TCA)循环的逆转,即从一分子 CO,中生物合 成乙酰辅酶 A^[6]。在前人^[24-27]的研究中, rTCA 循 环多次在 AD 体系中被报道,表明其在该体系中广 泛存在。大多数酶[包括苹果酸脱氢酶(MDH)、富 马酸氢化酶、琥珀酰辅酶 A 合成酶、异柠檬酸脱氢 酶、丙酮酸氢化酶] 都可同时用于 TCA 和 rTCA 循 环,因为它们催化的是完全可逆的反应。rTCA 循环 的特有的关键酶包括富马酸还原酶、铁氧还蛋白依 赖的 2-氧戊二酸合成酶和 ATP-柠檬酸裂解酶 (ACLY)。该循环如图 2 所示。首先,在 ACLY 的 催化下,柠檬酸分解为草酰乙酸和乙酰辅酶A。随 后,MDH 催化草酰乙酸还原为苹果酸,再经富马酸 酰水合酶(FHD)的作用进一步转化为富马酸,接 着由富马酸还原酶(FDR)催化还原为琥珀酸。在 下一个反应中,琥珀酸在琥珀酰辅酶 A 合成酶 (SCS)、α - 酮戊二酸合酶和异柠檬酸脱氢酶

-10 -

(IDH)的作用下依次转化为琥珀酰辅酶 A、α-酮 戊二酸和异柠檬酸,由顺乌头酸酶(AcnA)作用重 组为柠檬酸。最后,柠檬酸裂解产生乙酰辅酶 A, 并在丙酮酸:铁氧还蛋白氧化还原酶(POR)的作 用下转化为丙酮酸。



Fig. 2 Cycle of rTCA

此外,产甲烷菌中也含有 rTCA 循环,如海沼甲 烷球菌(Methanococcus maripaludis)和嗜热自养甲烷 杆菌(Methanobacterium thermoautotrophicum)^[28]。但 由于缺少某些步骤和酶,它们的 rTCA 循环并不完 整。M. maripaludis 缺乏磷酸烯醇丙酮酸羧化酶 (PPC)、柠檬酸合成酶、顺乌头酸酶和异柠檬酸脱氢 酶。在缺乏 PPC 的情况下, M. maripaludis 通过丙 酮酸羧化酶将丙酮酸转化为草酰乙酸。然后,草酰 乙酸通过 rTCA 循环中的一系列中间产物(苹果酸、 富马酸、琥珀酸、琥珀酰辅酶 A)还原为 α -酮戊 二酸。

2.2.3 DC/4-HB 循环

DC/4-HB 循环存在于泉古菌门(Crenarchaeota)、厌氧热变形菌目(Thermoproteales)和除硫 球菌目中(Desulfurococcales)^[29-30]。其中, Crenarchaeota和Desulfurococcales是AD反应器微 生物群落的常见组成部分^[31-32]。DC/4-HB 循环的 关键酶与rTCA循环的部分酶(将草酰乙酸转化为 琥珀酰辅酶A的酶)及3-HP/4-HB循环的部分酶 (将琥珀酰辅酶A转化为乙酰辅酶A的酶)相同。 此外,将乙酰辅酶A转化为草酰乙酸还需要另外3 种酶,即丙酮酸合成酶、丙酮酸:水二激酶(PPS)和 PEP 羧化酶(PEPC)。值得注意的是,DC/4-HB 循 环中没有该途径特有的关键酶。整个 DC/4-HB 循 环可分为 2 个部分(图 3)。在第一部分中,乙酰辅 酶 A、一分子 CO₂ 和一分子 HCO₃ 通过 C₄ 二羧酸转 化为琥珀酰辅酶 A;在第二部分中,琥珀酰辅酶 A 通 过 4-羟基丁酸转化为两分子乙酰辅酶 A。其中一 分子乙酰辅酶 A 可用于生物合成,另一分子可作为 下一轮循环的 CO₂ 接受体。与 3-HP/4-HB 循环相 比,DC/4-HB 循环优先使用还原型铁氧还蛋白,而 不是 NADH 或 NAD(P)H 作为还原剂。



2.2.4 其余固定途径

在一项 2021 年的研究中, Allen 等^[33] 首次在厌 氧甲烷氧化菌与部分产甲烷菌中发现了生物成因无 定形碳,包括巴氏甲烷八叠球菌(Methanosarcina barkeri)、海沼甲烷球菌(Methanococcus maripaludis) 和詹氏甲烷球菌(Methanocaldococcus jannaschii),并 通过同位素示踪试验确定其来源为 CO_2 , 推测无定 形碳由 CO_2 和 H, 产生, 如式(16)。

$$\begin{cases} CO_2 + 2H_2 \rightarrow C + 2H_2O\\ \Delta G_0 = -79.8 \text{ kJ/mol} \end{cases}$$
(16)

在自然界中,碳单质以不同的结构形式存在,包括石墨、金刚石、富勒烯和无定形碳,这些物质通常 在高温高压下通过非生物过程产生^[34],而该研究则 表明部分产甲烷菌可通过生物反应生成碳单质,但 这一过程的催化机制尚不明确。考虑到 AD 体系中 存在大量不同种类的产甲烷菌,若能将 CO₂ 通过生 物过程转化为碳单质,该过程或将成为 AD 微生物 固碳的新途径。

3 AD 中 CO₂ 的固定与转化技术

WL 途径是 AD 中应用最为广泛的微生物固碳 途径。目前,针对 WL 途径在 AD 中的强化主要从 以下两方面展开研究:一是促进产乙酸菌生产乙酸, 从而增强乙酸型产甲烷^[35],或进一步实现链延长将 VFAs 转化为中链脂肪酸^[36];二是促进 CO₂ 还原型 产甲烷菌固定 CO₂,推动 CO₂ 甲烷化^[37]。可用的电 子供体对于 CO₂ 的转化至关重要^[38]。AD 中 CO₂ 利用与转化采用的技术主要包括:(1)引入外源 H_2 , 直接提供电子供体;(2)投加零价铁(zero-valent iron, ZVI),间接提供电子供体;(3)外加微生物电 解池(microbial electrolysis cell, MEC),间接提供电 子供体;(4)投加导电材料,促进直接种间电子传递 (direct interspecies electron transfer, DIET);(5)引 入外源 CO_2 ,直接提供反应基质,间接提供电子供 体。各技术的具体机制与优缺点如表 3 所示。

表3 AD 中 CO₂ 固定与转化技术的机制与优缺点

Tab. 3 Mechanisms, Advantages, and Disadvantages of CO2 Fixation and Conversion Technologies in AD

| 技术 | 机制 | 优点 | 缺点 |
|-------------------------|---|--|---|
| 引入外源 | (1)H2通过古菌型 WL 途径直接被 CO2 还原型 | (1)无有害物质产生;(2)无需 | (1) 外源 H_2 的供应和运输成本过高;(2) |
| H ₂ | 产甲烷菌利用生成甲烷;(2)H ₂ 在同型产乙酸菌的作用下进入细菌型WL途径生成乙酸,从而增强乙酸型产甲烷菌的活性 | 微 介称加化子 | H ₂ 的低溶解性和传质效率有待解决;(3) 过高的氢分压会稀释沼气中的甲烷纯度, 抑制微生物活动,并降低体系的缓冲能力 |
| 投加 ZVI | (1)ZVI在厌氧条件下腐蚀析氢,为CO ₂ 还原型 产甲烷提供电子供体,或自身作为电子供体通过 古菌型WL途径参与CO ₂ 还原型产甲烷;(2)产 生的H ₂ 也可以作为电子供体,支持细菌型WL途 径中甲酸、乙酸的生成,从而间接增强甲烷的产生 | (1)操作简单,无需额外设备, 经济效益高;(2)ZVI可增强多 种酶活性,降低污染物毒性,有 效防止体系酸化 | (1)ZVI的环境影响仍未知;(2)铁矿开采 及ZVI加工过程易造成生态破坏,产生负 面健康及环境影响 |
| 外加 MEC | (1)间接转化,即H ₂ 通过阴极区的非生物电化学 或微生物催化作用从游离质子中生成,随后被 CO ₂ 还原型产甲烷菌利用,生成甲烷;(2)直接转 化,即产甲烷菌直接利用阴极的电子形成甲烷 | (1)持续提供可持续的H₂并 实现高效的能量回收;(2)实 现高效的CO₂甲烷化 | (1)电子传递机理尚未完全阐明;(2)阴极 电位和能效较低 |
| 投加导电 材料 | 在以乙酸同养型氧化和 CO ₂ 还原型甲烷生成 SAO-HM 为主的系统中加强直接电子传递 | (1)投加材料稳定无害、廉价 易得;(2)可扩大微生物以能 量为基础的生态位,为代谢产 物的生成保存更多能量 | 导电物质与微生物代谢的相互作用及界面 电子传输机制仍不清楚 |
| 引入外源 CO ₂ | 通过刺激 WL 途径, 有效促进了乙酸和甲烷的产生, 增强系统的甲烷产率 | (1)将固碳与 AD 相结合;(2) 促进水解酸化过程,有效提高 有机物降解率 | (1)并未阐明外源 CO ₂ 促进产甲烷的具体 机制,如其中还原 CO ₂ 的电子供体来源尚 不明确;(2)过量的 CO ₂ 会导致体系 pH 降 低,反应器失效 |

3.1 引入外源 H₂

在 AD 反应器中引入外源 H₂,直接提供 CO₂ 还 原所需电子供体,可显著提高沼气中的甲烷含量。 其作用机制主要包括:(1)H₂ 通过古菌型 WL 途径 直接被 CO₂ 还原型产甲烷菌利用生成甲烷;(2)H₂ 在同型产乙酸菌的作用下进入细菌型 WL 途径生成 乙酸,从而增强乙酸型产甲烷菌的活性。Sun 等^[39] 在半连续试验中,使用中空纤维膜加强 H₂ 扩散,导 致甲烷产率提高至 52.0 mL/(g VS·d),并发现外源 氢供应增强了水解微生物、产乙酸微生物和产甲烷 菌之间的协同作用,促进了甲烷产生和沼气提纯。 Jonge 等^[40]的研究表明,在添加外源 H₂ 的 AD 系统 中,H₂ 显著刺激了微生物活性,尤其增强了参与 WL 途径的基因表达。此外,研究^[41]发现,H₂ 的注入显 著上调了参与 rTCA 循环的一些关键酶(如丙酮酸: 铁氧还蛋白氧化还原酶和磷酸烯醇丙酮酸羧化激 酶)的表达,促进了乙酸的吸收和能量代谢。

多项研究表明,添加 H₂ 能够促进生物气体的 升级,但 H₂ 的低溶解性和传质效率是需要解决的 技术问题。此外,如果超过 VFAs 降解的抑制分压/

— 12 —

(1.013 Pa),可能会稀释沼气中的甲烷纯度,并抑制 微生物活动^[42]。过量的 H₂ 还可能降低 AD 的缓冲 能力,损害系统的稳定性。Wahid 等^[42]的研究证 实,当H,与CO,的比例超过4:1时,pH值会升高 至超过 8,导致 AD 失效并降低甲烷产量。Zheng 等^[43]通过在 AD 反应器中添加不同形式的外源气 体(H₂、CO₂,或比例为4:1的H₂/CO₂混合气),发 现添加混合气时甲烷产量提高了 20%以上,并与 H, 分压呈正相关: 而纯 H₂(50.663 kPa)的添加严重抑 制了甲烷产量,降低了76.5%。考虑到H₂本身是 一种能源,不必要的高剂量使用还会造成资源浪费。 因此,研究如何高效、有效地间接补充 H,,对于发展 H,辅助的 CO,转化技术具有重要意义。此外,基于 厌氧环境中无定形碳可由 CO, 和 H, 产生的猜测, 未来研究可进一步探索外源 H, 的引入对于该固碳 途径应用于 AD 的可能性。

3.2 投加零价铁(ZVI)

多项研究^[44-46] 表明,在反应器中投加废铁屑、 铁粉或 ZVI 能够提升 AD 产酸性能及甲烷产率。目 前发现的作用机制主要为:(1)ZVI 可作为还原剂与 污染物发生反应,降低其毒性,并使氧化还原电位保 持在较低水平,促进丙酸降解为乙酸^[47];(2)ZVI 在 厌氧条件下腐蚀析氢[式(17)],刺激耗氢微生物的 增殖,为 CO₂ 还原型产甲烷提供电子供体,或自身 作为电子供体通过古菌型 WL 途径参与 CO₂ 还原型 产甲烷[式(18)],提高电子传递速率^[48-49];此外, 产生的 H₂ 也可以作为电子供体,支持细菌型 WL 途 径中甲酸、乙酸的生成,从而间接增强甲烷的产 生^[50];(3)ZVI 腐蚀后产生 OH⁻,在高有机负荷体系 下能够有效防止体系酸化^[51];(4)添加 ZVI 可增强 体系中多种酶的活性^[52]。

$$\begin{cases} Fe^{0} + 2H_{2}O \rightarrow Fe^{2+} + H_{2} + 2OH^{-} \\ \Delta G_{0} = -79.8 \text{ kJ/mol} \\ \\ CO_{2} + 4Fe^{0} + 8H^{+} \rightarrow CH_{4} + 4Fe^{2+} + 2H_{2}O \\ \Delta G_{0} = -150.5 \text{ kJ/mol} \end{cases}$$
(18)

目前,关于 ZVI 在 AD 中的研究,大致可分为 2 类。一是在以污泥或餐厨垃圾为底物的体系中投加 ZVI,探究其强化有机物降解与甲烷生成的效果^[51]。 例如,Hao 等^[53]在两相污泥 AD 体系中投加 ZVI,发 现甲烷产量在水解酸化阶段和产甲烷阶段分别提高 了 10.1%和 21.4%,并证实了这一提高与难降解有 机物水解速率的加快和电子传递速率的提高有关。 此外,许多研究关注使用 ZVI-AD 系统促进 CO₂ 的 甲烷化,该技术可作为一种碳捕集方式,在 AD 中无 有机碳源存在的条件下,将 CO₂ 转化为生物甲烷。 ZVI 腐蚀产生的 H₂ 被 CO₂ 还原型产甲烷菌利用产 甲烷^[54];在同型产乙酸菌中,CO₂ 和 H₂ 被转化为乙 酸,随后经乙酸营养型产甲烷途径生成甲烷。此外, CO₂ 还能与 ZVI 形成 FeCO₃[式(19)],作为一种潜 在的固定途径^[38]。

$$\begin{cases} \operatorname{Fe}^{0} + \operatorname{HCO}_{3}^{-} + \operatorname{H}^{+} \rightarrow \operatorname{FeCO}_{3} + \operatorname{H}_{2} \\ \Delta G_{0} = -79.9 \text{ kJ/mol} \end{cases}$$
(19)

3.3 外加 MEC

近年来, MEC-AD 技术展现出提升 AD 性能及 加速 CO₂转化的巨大潜力^[55-56]。在 MEC 中, 外部 能量被用来促进热力学非自发反应, 如 CO₂ 电还原 制甲烷。其中, 阳极区域的微生物氧化有机废物释 放电子, 而阴极区域的 CO₂ 还原型甲烷菌利用这些 电子经古菌型 WL 途径将 CO₂ 还原成甲烷。该过程 涉及 2 种不同的胞外电子传递机制:(1)间接转化, 即 H₂ 通过阴极区的非生物电化学或微生物催化作 用从游离质子中生成, 随后被 CO₂ 还原型产甲烷菌 利用, 生成甲烷; (2) 直接转化, 即产甲烷菌直接利 用阴极的电子形成甲烷。

MEC-AD 能够通过富集产电细菌和产甲烷菌改 变 AD 系统的微生物群落,从而提高甲烷生产率并 加速消化过程。Yang 等^[57]的研究发现,与传统 AD 相比,MEC-AD 系统的甲烷产量可增加 63.3%。通 过 MEC-AD 的工作原理可以发现,它的性能在材 料、尺寸、比表面积和物理特性方面高度依赖于电极 的特性,尤其是阴极^[58]。通过电化学、热处理等多 种方法改性电极,可提高电流密度,如石墨阳极的电 化学处理可使电流密度提高 56%^[59]。此外,研 究^[60]发现,使用金属有机框架衍生的镍/钴双金属 杂化阴极可将甲烷产率提高 13%。导电材料如活 性炭、石墨烯和生物炭因高导电性和丰富的表面官 能团,能促进微生物间的电子转移,因此需要更多研 究探索导电材料在 MEC-AD 系统中的具体作用。

MEC-AD 系统通过持续提供可持续的 H_2 并实 现高效的能量回收,展现出极大的发展潜力。然而,

— 13 —

其电子传递机理尚未完全阐明,且阴极电位和能效 较低,这些都是目前研究中亟待解决的问题。此外, MEC 技术仍主要在实验室规模进行,若想实现真正 的工业化应用,还需着重考虑如何提升系统的整体 效率和操作的可行性。

3.4 投加导电材料

非生物导电材料依靠其本身特性,如比表面积、 导电性、表面官能团等,实现对 DIET 的调控,进而 促进厌氧甲烷化。出于对材料稳定性、无害性、廉价 易得性的考虑,采用的材料多集中在生物炭、活性 炭、磁铁矿、赤铁矿等铁、碳材料上^[61-63]。这些材料 通过它们的氧化还原状态的循环变化,加速了电子 供体和受体之间的电子转移,能够丰富参与 DIET 的功能性微生物种类,并进一步增强甲烷的生 成^[64-65]。

DIET 强化 AD 的主要机制是在以乙酸同养型 氧化和 CO₂ 还原型甲烷生成(SAO-HM)为主的系统 中加强直接电子传递。在 DIET 强化的 SAO-HM 系 统中,氢分压降低,总体反应速率得到提升^[15]。因 此,DIET 可通过接受来自导电或电容性导电材料的 电子,同时促进 CO,转化为甲烷以及乙酸裂解产甲 烷^[64]。在 AD 体系中添加水热炭增强了梭状芽孢 杆菌属(Clostridium)通过WL途径的碳固定及H, 及电子的产生,这些H,和电子通过DIET直接传递 给鬃毛甲烷菌属(Methanosaeta),促进了甲烷的高效 生成^[66]。此外,厌氧发酵反应接近热力学平衡,厌 氧微生物生态系统通常处于能量受限的条件下[67]。 如果多种电子传递途径同时发生,可扩大微生物以 能量为基础的生态位,从而为代谢产物的生成保存 更多能量^[18]。因此,通过强化 DIET 提高 AD 系统 中的 CO, 固定或转化效率至关重要。然而,大多数 研究集中于探究 DIET 对 VFAs 和其他复杂底物甲 烷化的影响,对 CO,还原的转化潜力关注较少^[68]。 Ren 等^[69]的研究表明,在添加生物炭的 AD 反应器 中,来自 CO, 和 H, 的甲烷产率提高了 20%~70%。 未来应进一步探讨碳基或铁基材料的添加对同时供 给 CO, 和有机底物的 AD 系统的影响。

此外,最近还有研究者在投加导电材料的同时,向 AD 系统注入外源 H₂,进一步促进 DIET。如 Liu 等^[70]通过外加 H₂ 与碳布配合使用,发现增加 H₂ 的注入压力和频率可以显著增强 DIET,从而

提高废油脂的转化率和甲烷产量。导电材料与外源 H₂ 的结合运用强化 DIET 的潜力有待深入研究与开发。

3.5 引入外源 CO₂

在 AD 中, CO₂ 作为碳循环与能量链上的基本 单元, 不仅是发酵过程的最终产物, 同时也是产甲 烷和同型产乙酸过程的反应基质。对于多种产酸 或产甲烷微生物, CO₂ 对其代谢具有显著的刺激作 用。因此, 将沼气中分离得到的 CO₂ 重新注入 AD 反应器中, 有可能促进甲烷的生成, 同时实现 CO₂ 的固定。目前, 利用外源 CO₂ 强化 AD 的研究主要 通过以下 3 种方式向反应器中注入 CO₂。

一是通入 CO₂/N₂ 混合气。研究者^[71]通过向 含有餐厨垃圾或污泥的 AD 反应器中通入不同比例 的 CO₂/N₂ 混合气体,发现在处理餐厨垃圾时,外加 CO,使甲烷产率最高提高了13%;对于污泥,在消化 的前24h内,甲烷产量增加了96%~138%。二是直 接通入 CO, 纯气体。Muntau 等^[72]在以污泥为基质 的高有机负荷 AD 系统中以1 L/min 的速率通入 CO,,每周3次,每次3h,体系的比产甲烷量持续增 加,并发现乙酸营养型产甲烷是主要的甲烷生成途 径。此外,研究^[73]表明,外源 CO₂ 的注入通过刺激 WL途径,有效促进了乙酸和甲烷的产生,该策略不 仅强化了碳固定,也优化了微生物群落的结构和功 能,从而增强了系统的甲烷产率。在最近的一项研 究中,研究者^[74]还发现 AD 中外源 CO, 的引入能够 增强 rTCA 循环的固碳效果。最后是加压注入 CO,。 研究者^[75]将 30、100、300、500 kPa 和 800 kPa 的高 压 CO, 通入以丙酸盐或丁酸盐为基质的 AD 体系, 发现随着 CO, 分压的升高, 丙酸和丁酸的最大底物 利用率逐渐降低,导致整体吉布斯自由能增加,并认 为其与氢分压的变化相关。尽管已有许多研究通过 多种方式向 AD 反应器中注入外源 CO,,并证实了 其提高体系甲烷产率的可能,但并未阐明其具体机 制,如其中还原 CO, 的电子供体来源尚不明确, 有 待进一步探究。

4 结论与展望

在全球气候变化和能源危机的双重挑战下,提 高 AD 技术中的 CO₂ 转化效率和固碳能力,不仅有 助于提升生物甲烷的产量,同时也为实现低碳环保 的可持续发展目标提供了有效途径。目前,已知的

— 14 —

December 25th, 2024

3 种厌氧微生物固碳途径包括 WL 途径、rTCA 循环 和 DC/4-HB 循环。除此之外,研究者最近在产甲烷 菌和厌氧甲烷氧化菌中发现 CO₂ 可转化为无定形 碳。这一新发现的功能、形成机理与工程应用有待 进一步验证和研究,若能将其固碳功能放大,则有望 作为一种碳捕集手段投入工业应用,或将对碳循环 与气候调节产生重要影响。

研究者通过引入外源 H₂、添加 ZVI、外加 MEC、 投加导电材料和引入外源 CO₂ 等多种策略,已经在 不同程度上优化了 AD 过程中的 CO₂ 固定和转化。 这些策略提供了不同的技术途径来提高甲烷产率和 沼气质量。引入外源 H₂ 和 ZVI 通过提供直接和间 接的电子供体,提升了 CO₂ 的生物转化效率;外加 MEC 和投加导电材料通过强化电子传递,优化了微 生物代谢途径;外源 CO₂ 的引入则作为附加的碳源 进一步提升了甲烷产率。未来研究应着重优化这些 技术的应用条件和效率,探索如何提高系统的整体 性能和操作的可行性,推动从实验室向工业化的转 变。此外,探究并阐明这些方法提高甲烷产率的具 体机制,尤其是电子供体的来源和作用方式,将对 AD 技术的发展和应用提供重要的理论依据和技术 支持。

展望未来,为进一步提升 AD 技术的效率和可 持续性,研究者需要从探索固碳途径和改善 CO₂ 利 用与转化技术两方面深入认识和提升 AD 系统,从 而进一步提高生物能源的产量和效率,在全球碳减 排中发挥关键作用。

参考文献

- [1] CHEN J, ZHANG P, ZHANG J, et al. Micro-nano magnetite-loaded biochar enhances interspecies electron transfer and viability of functional microorganisms in anaerobic digestion [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2022, 10 (8): 2811-2821.
- [2] GOSWAMI R, CHATTOPADHYAY P, SHOME A, et al. An overview of physico-chemical mechanisms of biogas production by microbial communities: A step towards sustainable waste management [J]. 3 Biotech, 2016, 6: 72. DOI: 10.1007/s13205-016-0395-9.
- [3] DANESHVAR E, WICKER R J, SHOW PL, et al. Biologicallymediated carbon capture and utilization by microalgae towards sustainable CO₂ biofixation and biomass valorization-A review
 [J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 427; 130884. DOI: 10.1016/j. cej. 2021. 130884.

- [4] GONG F Y, ZHU H W, ZHANG Y P, et al. Biological carbon fixation: From natural to synthetic [J]. Journal of CO₂ Utilization, 2018, 28: 221 227. DOI: 10.1016/j. jcou. 2018.09.014.
- [5] SAINI R, KAPOOR R, KUMAR R, et al. CO₂ utilizing microbes-A comprehensive review [J]. Biotechnology Advances, 2011, 29(6): 949-960.
- KAJLA S, KUMARI R, NAGI G K. Microbial CO₂ fixation and biotechnology in reducing industrial CO₂ emissions [J]. Archives of Microbiology, 2022, 204: 149. DOI: 10.1007/s00203-021-02677-w.
- ZENG J, WANG Z, CHEN G. Biological characteristics of energy conversion in carbon fixation by microalgae [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2021, 152: 111661. DOI: 10.1016/j.rser.2021.111661.
- [8] ZHANG S, LIU Z. Advances in the biological fixation of carbon dioxide by microalgae [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2021, 96(6): 1475-1495.
- [9] BAREVEN A, NOOR E, MILO R. A survey of carbon fixation pathways through a quantitative lens[J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(6): 2325-2342.
- [10] WANG B, LAN C Q. Biofixation of carbon dioxide (CO₂) by microorganisms[M]. Cambridge: Woodhead Publishing, 2010.
- [11] ZHAO T, LI Y, ZHANG Y. Biological carbon fixation: A thermodynamic perspective [J]. Green Chemistry, 2021, 23 (20): 7852-7864.
- [12] BERG I A, KOCKELKORN D, RAMOS-VERA W H, et al. Autotrophic carbon fixation in archaea [J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(6): 447-460.
- [13] MCCOLLOM T M, AMEND J P. A thermodynamic assessment of energy requirements for biomass synthesis by chemolithoautotrophic micro-organisms in oxic and anoxic environments[J]. Geobiology, 2005, 3(2): 135-144.
- [14] CHEN W, WANG J, LIU W. A view of anaerobic digestion: Microbiology, advantages and optimization [J]. Academic Journal of Environment & Earth Science, 2023, 5(1): 1–8.
- [15] PAN X F, ZHAO L X, LI C X, et al. Deep insights into the network of acetate metabolism in anaerobic digestion: Focusing on syntrophic acetate oxidation and homoacetogenesis [J]. Water Research, 2021, 190: 116774. DOI: 10.1016/j. watres. 2020.116774.
- [16] HARIRCHI S, WAINAINA S, SAR T, et al. Microbiological insights into anaerobic digestion for biogas, hydrogen or volatile fatty acids (VFAs): A review [J]. Bioengineered, 2022, 13 (3): 6521-6557.
- ZHOU M M, YAN B H, WONG J W C, et al. Enhanced volatile fatty acids production from anaerobic fermentation of food waste: A mini-review focusing on acidogenic metabolic pathways [J]. Bioresource Technology, 2018, 248: 68-78. DOI: 10.1016/j.

biortech. 2017. 06. 121.

- XU S Y, QIAO Z H, LUO L W, et al. On-site CO₂ bio-sequestration in anaerobic digestion: Current status and prospects
 J. Bioresource Technology, 2021, 332: 125037. DOI: 10.1016/j. biortech. 2021. 125037.
- [19] BORREL G, ADAM P S, GRIBALDO S. Methanogenesis and the Wood-Ljungdahl pathway: An ancient, versatile, and fragile association[J]. Genome Biology and Evolution, 2016, 8(6): 1706-1711.
- [20] LI Y Q, JING Z M, PAN J T, et al. Multi-omics joint analysis of the effect of temperature on microbial communities, metabolism, and genetics in full-scale biogas reactors with food waste [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2022, 160; 112261. DOI: 10.1016/j.rser.2022.112261.
- [21] BIEGEL E, MÜLLER V. Bacterial Na⁺-translocating ferredoxin: NAD⁺ oxidoreductase[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(42): 18138-18142.
- [22] HÜGLER M, SIEVERT S M. Beyond the calvin cycle: Autotrophic carbon fixation in the ocean [J]. Annual Review of Marine Science, 2011, 3(1): 261-289.
- [23] ADAM P S, BORREL G, GRIBALDO S. An archaeal origin of the Wood-Ljungdahl H4MPT branch and the emergence of bacterial methylotrophy [J]. Nature Microbiology, 2019, 4 (12): 2155-2163.
- [24] ZHANG L, GONG X Z, CHEN Z Y, et al. Genome-centric metagenomics analysis revealed the metabolic function of abundant microbial communities in thermal hydrolysis-assisted thermophilic anaerobic digesters under propionate stress [J]. Bioresource Technology, 2022, 360: 127574. DOI: 10.1016/j. biortech. 2022. 127574.
- [25] YAN M, TREU L, ZHU X, et al. Insights into ammonia adaptation and methanogenic precursor oxidation by genomecentric analysis [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54(19): 12568-12582.
- [26] ZHANG L, GONG X Z, WANG L, et al. Metagenomic insights into the effect of thermal hydrolysis pre-treatment on microbial community of an anaerobic digestion system [J]. Science of the Total Environment, 2021, 791: 148096. DOI: 10.1016/j. scitotenv. 2021. 148096.
- [27] GASPARI M, TREU L, CENTURION V B, et al. Impacts of long chain fatty acids injection on biogas reactors performance stabiligy and microbial community struiture and function [J]. Joural of Cleaner Production, 2023, 418:138048. DOI: 10. 1016/j.jclepro. 2023. 138048.
- [28] GOYAL N, ZHOU Z, KARIMI I A. Metabolic processes of Methanococcus maripaludis and potential applications [J].
 Microbial Cell Factories, 2016, 15(1): 107-107.
- [29] BERG I A, RAMOS-VERA W H, PETRI A, et al. Study of the distribution of autotrophic CO₂ fixation cycles in Crenarchaeota

[J]. Microbiology, 2010, 156(1): 256-269.

- [30] SHARMA K, PARK Y K, NADDA A K, et al. Emerging chemo-biocatalytic routes for valorization of major greenhouse gases (GHG) into industrial products: A comprehensive review
 [J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2022, 109; 1–20. DOI: 10.1016/j. jiec. 2022. 02. 001.
- [31] WILKINS D, LU X Y, SHEN Z, et al. Pyrosequencing of mcrA and archaeal 16S rRNA genes reveals diversity and substrate preferences of methanogen communities in anaerobic digesters [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, 81(2): 604-613.
- [32] JIANG J F, WU P W, SUN Y M, et al. Comparison of microbial communities during anaerobic digestion of kitchen waste: Effect of substrate sources and temperatures [J]. Bioresource Technology, 2020, 317: 124016. DOI: 10.1016/j. biortech. 2020. 124016.
- [33] ALLEN K D, WEGENER G, MATTHEW SUBLETT D, et al. Biogenic formation of amorphous carbon by anaerobic methanotrophs and select methanogens [J]. Science Advances, 2021, 7(44): eabg9739. DOI: 10.1126/sciadv.abg9739.
- [34] LI K, LIU Q, CHENG H, et al. Classification and carbon structural transformation from anthracite to natural coaly graphite by XRD, raman spectroscopy, and HRTEM[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, 249: 119286. DOI: 10.1016/j. saa. 2020.119286.
- [35] ALIBARDI L, GREEN K, FAVARO L, et al. Performance and stability of sewage sludge digestion under CO₂ enrichment: A pilot study[J]. Bioresource Technology, 2017, 245: 581-589. DOI: 10.1016/j.biortech. 2017. 08.071.
- [36] WANG Y, WEI W, WU S L, et al. Zerovalent iron effectively enhances medium-chain fatty acids production from waste activated sludge through improving sludge biodegradability and electron transfer efficiency [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54(17): 10904-10915.
- [37] DONG D, ALETA P, ZHAO X, et al. Effects of nanoscale zero valent iron (nZVI) concentration on the biochemical conversion of gaseous carbon dioxide (CO₂) into methane (CH₄) [J]. Bioresource Technology, 2019, 275: 314–320. DOI: 10.1016/j. biortech. 2018. 12. 075.
- [38] MA L, ZHOU L, RUAN M Y, et al. Simultaneous methanogenesis and acetogenesis from the greenhouse carbon dioxide by an enrichment culture supplemented with zero-valent iron [J]. Renewable Energy, 2019, 132: 861 - 870. DOI: 10.1016/j.renene. 2018. 08. 059.
- [39] SUN Z F, ZHAO L, WU J T, et al. Exogenous hydrogen supply improves in-situ biogas upgrading of sewage sludge: Performance and mechanisms[J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 477: 147307. DOI: 10.1016/j.cej.2023.147307.
- $\left[\,40\,\right]$ $\,$ JONGE N, POULSEN J S, VECHI N T, et al. Wood-Ljungdahl

-16 -

pathway utilisation during in situ H₂ biomethanation[J]. Science of the Total Environment, 2022, 806: 151254. DOI: 10.1016/j.scitotenv. 2021. 151254.

- [41] FONTANA A, KOUGIAS P G, TREU L, et al. Microbial activity response to hydrogen injection in thermophilic anaerobic digesters revealed by genome-centric metatranscriptomics [J]. Microbiome, 2018, 6: 194-194. DOI: 10.1186/s40168-018-0583-4.
- [42] WAHID R, MULAT D G, GABY J C, et al. Effects of H₂: CO₂ ratio and H₂ supply fluctuation on methane content and microbial community composition during in-situ biological biogas upgrading
 [J]. Biotechnology for Biofuels, 2019, 12: 104-104. DOI: 10.1186/s13068-019-1443-6.
- [43] ZHENG M, OU H, DONG F, et al. Mechanism insights into enhanced treatment of wasted activated sludge by hydrogenmediated anaerobic digestion [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30(16): 47787-47799.
- [44] ZHONG Y, HE J, ZHANG P, et al. Effects of different particle size of zero-valent iron (ZVI) during anaerobic digestion: Performance and mechanism from genetic level [J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 435: 134977. DOI: 10.1016/j. cej. 2022. 134977.
- [45] TANG J, LIU Z, ZHAO M, et al. Enhanced biogas biological upgrading from kitchen wastewater by in-situ hydrogen supply through nano zero-valent iron corrosion [J]. Journal of Environmental Management, 2022, 310: 114774. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.114774.
- [46] CHEN S, TAO Z, YAO F, et al. Enhanced anaerobic codigestion of waste activated sludge and food waste by sulfidated microscale zerovalent iron: Insights in direct interspecies electron transfer mechanism [J]. Bioresource Technology, 2020, 316: 123901. DOI: 10.1016/j.biortech.2020.123901.
- LIU X, LI R, JI M, et al. Hydrogen and methane production by co-digestion of waste activated sludge and food waste in the two-stage fermentation process: Substrate conversion and energy yield
 J]. Bioresource Technology, 2013, 146: 317 323. DOI: 10.1016/j. biortech. 2013. 07. 096.
- [48] KONG X, NIU J, ZHANG W, et al. Mini art review for zero valent iron application in anaerobic digestion and technical bottlenecks[J]. Science of the Total Environment, 2021, 791: 148415. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.148415.
- [49] WU L, JIN T, CHEN H, et al. Conductive materials as fantastic toolkits to stimulate direct interspecies electron transfer in anaerobic digestion: New insights into methanogenesis contribution, characterization technology, and downstream treatment [J]. Journal of Environmental Management, 2023, 326: 116732. DOI: 10. 1016/j. jenvman. 2022. 116732.
- [50] WANG R, LI C, LÜ N, et al. Deeper insights into effect of activated carbon and nano-zero-valent iron addition on

acidogenesis and whole anaerobic digestion [J]. Bioresource Technology, 2021, 324; 124671. DOI; 10.1016/j. biortech. 2021.124671.

- [51] CARPENTER A W, LAUGHTON S N, WIESNER M R. Enhanced biogas production from nanoscale zero valent ironamended anaerobic bioreactors [J]. Environmental Engineering Science, 2015, 32(8): 647-655.
- [52] FERRY J G. Enzymology of one-carbon metabolism in methanogenic pathways[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1999, 23(1): 13-38.
- [53] HAO X, WEI J, LOOSDRECHT M C M V, et al. Analysing the mechanisms of sludge digestion enhanced by iron [J]. Water Research, 2017, 117: 58 - 67. DOI: 10.1016/j. watres. 2017.03.048.
- [54] MA L, ZHOU L, MBADINGA S M, et al. Accelerated CO₂ reduction to methane for energy by zero valent iron in oil reservoir production waters [J]. Energy, 2018, 147: 663-671. DOI: 10.1016/j. energy. 2018. 01.087.
- [55] ZHAO L, WANG X T, CHEN K Y, et al. The underlying mechanism of enhanced methane production using microbial electrolysis cell assisted anaerobic digestion (MEC-AD) of proteins [J]. Water Research, 2021, 201; 117325. DOI: 10.1016/j.watres.2021.117325.
- [56] HUANG Q, LIU Y, DHAR B R. A critical review of microbial electrolysis cells coupled with anaerobic digester for enhanced biomethane recovery from high-strength feedstocks [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2022, 52 (1): 50-89.
- [57] YANG C X, WANG L, ZHONG Y J, et al. Efficient methane production from waste activated sludge and Fenton-like pretreated rice straw in an integrated bio-electrochemical system [J]. Science of the Total Environment, 2022, 813: 152411. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.152411.
- [58] NING X, LIN R, MAO J, et al. Improving the efficiency of anaerobic digestion and optimising in-situ CO₂ bioconversion through the enhanced local electric field at the microbe-electrode interface[J]. Energy Conversion and Management, 2024, 304: 118245. DOI: 10.1016/j.enconman.2024.118245.
- [59] ROUBAUD E, LACROIX R, SILVA S D, et al. Industrially scalable surface treatments to enhance the current density output from graphite bioanodes fueled by real domestic wastewater[J]. Iscience, 2021, 24 (3): 102162. DOI: 10.1016/j. isci. 2021.102162.
- [60] ZHENG X M, LIN R J, XU J, et al. Enhanced methane production by bimetallic metal-organic frameworks (MOFs) as cathode in an anaerobic digestion microbial electrolysis cell[J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 440; 135799. DOI; 10. 1016/j. cej. 2022. 135799.

(下转第55页)

(6): 64-70.

[19] 伍亚, 邹凤娟, 高丽洁, 等. 基于机器学习的大气 PM_{2.5} 中金属浓度预测模型的研究[J]. 环境监控与预警, 2023, 15 (5): 8-15.

(上接第17页)

- [61] MARTINS G, SALVADOR A F, PEREIRA L, et al. Methane production and conductive materials: A critical review [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(18): 10241-10253.
- [62] FENG L, HE S, GAO Z, et al. Mechanisms, performance, and the impact on microbial structure of direct interspecies electron transfer for enhancing anaerobic digestion-A review [J]. Science of the Total Environment, 2023, 862; 160813. DOI: 10.1016/ j. scitotenv. 2022. 160813.
- [63] WANG W, LEE D J. Direct interspecies electron transfer mechanism in enhanced methanogenesis: A mini-review [J]. Bioresource Technology, 2021, 330; 124980. DOI: 10.1016/j. biortech. 2021. 124980.
- [64] CHARALAMBOUS P, VYRIDES I. In situ biogas upgrading and enhancement of anaerobic digestion of cheese whey by addition of scrap or powder zero-valent iron (ZVI) [J]. Journal of Environmental Management, 2021, 280: 111651. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.111651.
- [65] PAN X, ZHAO L, LI C, et al. Deep insights into the network of acetate metabolism in anaerobic digestion: Focusing on syntrophic acetate oxidation and homoacetogenesis [J]. Water Research, 2021, 190: 116774. DOI: 10.1016/j.watres. 2020.116774.
- [66] USMAN M, SHI Z, JI M, et al. Microbial insights towards understanding the role of hydrochar in alleviating ammonia inhibition during anaerobic digestion [J]. Chemical Engineering Journal, 2021, 419: 129541. DOI: 10. 1016/j. cej. 2021. 129541.
- [67] RODRÍGUEZ J, LEMA J M, KLEEREBEZEM R. Energy-based models for environmental biotechnology [J]. Trends in Biotechnology, 2008, 26(7): 366-374.
- [68] YANG H J, YANG Z M, XU X H, et al. Increasing the methane production rate of hydrogenotrophic methanogens using biochar as a biocarrier [J]. Bioresource Technology, 2020, 302: 122829. DOI: 10.1016/j.biortech. 2020. 122829.

WU Y, ZOU F J, GAO L J, et al. Prediction models of metal components in ambient $PM_{2.5}$ based on machine learning [J]. Environmental Monitoring and Forecasting, 2023, 15(5): 8–15.

- [69] REN S, USMAN M, TSANG D C W, et al. Hydrocharfacilitated anaerobic digestion: Evidence for direct interspecies electron transfer mediated through surface oxygen-containing functional groups [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54(9): 5755-5766.
- [70] LIU X, HE X, LU J, et al. Role of exogenous hydrogen in methane yield during anaerobic digestion of waste fat, oil, and grease by coupling carbon cloth with exogenous hydrogen [J]. Journal of Cleaner Production, 2024; 142302. DOI; 10.1016/j.jclepro.2024.142302.
- [71] BAJÓN F Y, SOARES A, VILLA R, et al. Carbon capture and biogas enhancement by carbon dioxide enrichment of anaerobic digesters treating sewage sludge or food waste [J]. Bioresource Technology, 2014, 159: 1 7. DOI: 10.1016/j. biortech. 2014. 02. 010.
- [72] MUNTAU M, LEBUHN M, POLAG D, et al. Effects of CO₂ enrichment on the anaerobic digestion of sewage sludge in continuously operated fermenters [J]. Bioresource Technology, 2021, 332: 125147. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.125147.
- ZHANG M, QIAO Z, XU S, et al. Pulsed CO₂ feeding promotes methane yield in anaerobic digester by diverting acidogenic pathways [J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 471: 144756. DOI: 10.1016/j.cej.2023.144756.
- [74] QIU Y, ZHANG J, TONG Y W, et al. Reverse electron transfer: Novel anaerobic methanogenesis pathway regulated through exogenous CO₂ synergized with biochar[J]. Bioresource Technology, 2024, 401: 130741. DOI: 10.1016/j. biortech. 2024. 130741.
- [75] CERON C P, KLEEREBEZEM R, RABAEY K, et al. Direct and indirect effects of increased CO₂ partial pressure on the bioenergetics of syntrophic propionate and butyrate conversion
 [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 54 (19): 12583-12592.