

专论与综述

DOI 10.12030/j.cjee.201706043 中图分类号 X713 文献标识码 A

张玉秀, 孟晓山, 王亚炜, 等. 畜禽废弃物厌氧消化过程的氨氮抑制及其应对措施研究进展 [J]. 环境工程学报, 2018, 12(4): 985-998.

ZHANG Yuxiu, MENG Xiaoshan, WANG Yawei, et al. Research progress of ammonia inhibition and counter measures during anaerobic digestion of livestock wastes [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2018, 12(4): 985-998.

畜禽废弃物厌氧消化过程的氨氮抑制及其应对措施研究进展

张玉秀¹, 孟晓山^{1,2}, 王亚炜^{2,3}, 郝达伟^{2,3}, 魏源送^{2,3,4,*}

1. 中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院, 北京 100083
2. 中国科学院生态环境研究中心环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100085
3. 中国科学院生态环境研究中心水污染控制实验室, 北京 100085
4. 中国科学院大学, 北京 100049

第一作者: 张玉秀(1962—), 女, 博士, 教授, 研究方向: 固体废弃物资源化利用等。E-mail: zhangyuxiu@cumt.edu.cn

* 通信作者, E-mail: yswei@rcees.ac.cn

摘要 氨氮抑制是造成畜禽养殖废弃物厌氧消化处理效率低和运行稳定性差的主要因素之一。在总结国内外研究进展的基础上, 简述了氨氮的来源及抑制阈值, 剖析了氨氮抑制的机理及其影响因素, 从氨氮的缓冲和微生物驯化2个方面总结了氨氮抑制的应对措施。建议重点加强畜禽养殖废弃物厌氧消化过程中氨氮释放规律、“氨氮-VFAs-碳酸盐”三元缓冲体系的调控模式、氨氮抑制的微生物学机制等方面的研究, 以期为提高畜禽养殖废弃物厌氧消化工程的处理效率和运行稳定性提供参考。

关键词 畜禽废弃物; 厌氧消化; 氨氮抑制; 产甲烷菌; 应对措施

我国是畜禽养殖大国, 每年产生约 38×10^8 t 畜禽粪污, 仍有 40% 未有效处理和利用^[1]。随着畜禽养殖集约化程度的不断提高, 大量废弃物的集中排放给周边环境带来了严峻挑战。2017年5月31日, 国务院办公厅发布了《关于加快推进畜禽养殖废弃物资源化利用的意见》, 要求到2020年全国畜禽粪污综合利用率达到75%以上。厌氧消化技术可对有机废弃物进行无害化、减量化处理, 在控制环境污染的同时回收能源, 已广泛应用于畜禽养殖废弃物处理。然而厌氧消化能否稳定、高效地运行易受微生物代谢过程中累积的化学物质(如氨氮、VFAs、 H_2S 等)浓度的影响^[2]。其中: 氨氮一方面为厌氧微生物生长、繁殖提供重要的氮源, 为厌氧消化系统提供部分碱度^[3]; 另一方面, 当氨氮超过一定浓度时会对微生物产生强烈的抑制作用, 造成产气量低或不产气, 即氨氮抑制, 氨氮已成为典型的微生物活性抑制剂^[4]。

关于厌氧消化过程中出现的氨氮抑制问题, 国内外已经开展了许多研究工作。早期研究主要集中在剩余污泥厌氧消化减量化方面^[5], 但由于污泥来源与种类不尽相同, 氨氮抑制的问题并非普遍存在。畜禽废弃物中普遍存在大量的含氮有机物(表1), 在厌氧消化过程中, 它们逐渐降解并释放氨氮, 进而增加了潜在的氨氮抑制风险, 这大大推动了氨氮抑制的研究进展。因此, 本研究以畜禽

收稿日期: 2017-06-06; 录用日期: 2017-11-28

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2015ZX07203-007); 国家自然科学基金资助项目(21677161); 中国矿业大学(北京)中央高校基本科研业务费专项基金(2010YH05); 国际科技合作项目(S2016G6353)

表1 猪、牛、鸡粪便部分理化性质
Table 1 Physicochemical properties of manure from swine, dairy and chicken

底物	TS/%	(TC/TS) /%	(TKN/TS) /%	C/N	NH ₃ -N/ (mg·kg ⁻¹)	文献
SM	30.1	36.8	2.7	13.6	—	[8]
SM	37.1	42.1	2.3	18.0 ± 0.5	3 052 ± 86	[9]
SM	27.4	—	2.28	—	4 000	[10]
SM	21.7	35.9	2.8	12.8	—	[11]
DM	15.0	52.0	2.3	22.4	—	[12]
DM	14.4	51.3	2.3	22.1	646	[13]
DM	16.9	46.9	1.9	25	—	[14]
CM	67.8	43.2	4.3	10	—	[15]
CM	72.3	34.9	3.13	11.2	—	[16]

注: SM 表示猪粪; DM 表示牛粪; CM 表示鸡粪。

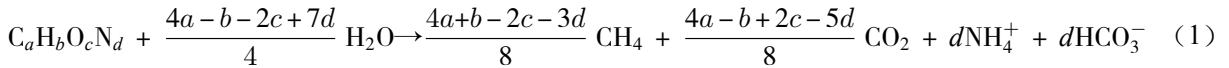
废弃物厌氧消化处理为对象,从氨氮的来源及抑制阈值、抑制机理及其影响因素、应对措施3个方面对近年来国内外的相关研究进行归纳总结,并重点分析氨氮浓度对厌氧微生物群落结构的影响,为氨氮抑制的预防、缓解和消除等调控措施提供依据和参考。

1 氨氮的来源及抑制阈值

1.1 氨氮的来源

畜禽养殖废弃物以粪便、尿液以及冲洗水为主,此外还有少量的死畜禽和饲料残渣等,各类废弃物中均有丰富的氮元素。以生猪养殖为例,猪粪便中粗蛋白总量占粪便干重的17.3%^[6],猪尿中仅氨氮浓度就高达2 173 mg·L⁻¹^[7],病死猪体内13.2%是蛋白质。我国规模化畜禽养殖以猪、牛、鸡为主,其产生的废弃物量占比最大,表1列举了这3类畜禽粪便的部分理化指标。

从表1看出,猪粪、牛粪、鸡粪均有丰富的凯氏氮(TKN),且鸡粪中的TKN含量是猪粪或牛粪的近2倍,但三者的C/N差异较大。这些含氮有机物,包含尿液中的尿素、尿酸、尿囊素等,在厌氧微生物的生化作用下,水解、酸化细菌将蛋白质为主的大分子含氮有机物逐渐降解并释放氨氮,由此产生的氨氮可由式(1)的化学计量关系^[16]求得:



尿素及游离氨基酸等小分子有机氮分别在尿酶和脱氨基酶作用下迅速水解释放形成初始的氨氮,这部分NH₄⁺-N是微生物代谢、繁殖过程中最直接的氮源,还构成一定的碱度和缓冲体系,对厌氧消化有一定的促进作用。然而,由于厌氧微生物细胞增殖缓慢,只有少量的NH₄⁺-N用于细胞合成^[17],因此,在高含氮底物的厌氧消化体系中,随着有机氮的降解,氨氮浓度往往较高,对产甲烷过程有着潜在的不利影响。

1.2 氨氮抑制阈值

氨氮在厌氧消化体系内以NH₄⁺离子和NH₃分子(free ammonia nitrogen, FAN)2种形态存在,其和称为总氨氮(total ammonia nitrogen, TAN),并以此衡量氨氮的浓度水平。对于厌氧微生物,TAN浓度为50~200 mg·L⁻¹时利于厌氧消化;200~1 000 mg·L⁻¹时没有拮抗作用;在1 500~3 000 mg·L⁻¹时会受到抑制,尤其在高pH厌氧体系;超过3 000 mg·L⁻¹时,厌氧消化过程在任何pH条件下微生物均会受到不同程度的抑制^[18-19]。

畜禽废弃物中丰富的有机氮给其厌氧消化处理带来了潜在的氨氮抑制风险。HASHIMOTO^[20]在40 kg·m⁻³有机负荷下对肉牛粪厌氧消化时,发现反应器内累积的TAN浓度达到2 500 mg·L⁻¹时出现了明显的氨氮抑制现象。氨氮浓度的累积造成了厌氧消化的崩溃。WEBB等^[21]研究了1%~10%TS下蛋鸡粪高温厌氧消化的产气能力,在低TS浓度下,产气量随着TS增大而提升,但提升TS至高浓度时,氨氮浓度也相应地从465 mg·L⁻¹逐渐升高至4 275 mg·L⁻¹,产气能力逐渐受到抑制,单位挥发

性固体 (volatile solid, VS) 产气率下降 10% 以上, 说明氨氮抑制的发生存在一定阈值。陈闯等^[22] 开展猪粪连续干式发酵的实验结果表明, 随着 TS 由 20% 提升至 35%, 氨氮浓度从 2 250 mg·L⁻¹ 增加到 3 800 mg·L⁻¹, 而单位 VS 产气率减少了 74.1%。为了衡量氨氮抑制的程度, HANSEN 等^[23] 研究猪粪厌氧消化, pH 为 8.0, TAN 浓度为 1 100 mg·L⁻¹ 时即面临氨氮抑制问题, 并对 4 个温度 (37、45、55、60 °C) 条件下猪粪厌氧消化的甲烷产气效果进行分析。研究发现其甲烷产量均显著低于猪粪的理论产甲烷量, 主要原因在于 FAN 浓度达到 1 100 mg·L⁻¹ 及以上, 引起了对产甲烷微生物的抑制作用, 更高的 FAN 浓度降低了产甲烷菌的表观生长速率。结合实验结果和数据分析, 他们总结并提出了氨氮抑制产气的 4 阶段模型, 不同氨氮浓度对应不同抑制阶段: FAN 浓度低于阈值 1 100 mg·L⁻¹ 时, 沼气生产过程不受抑制; FAN 浓度超过 1 100 mg·kg⁻¹ 时, 抑制发生, 形成初始抑制的第 1 相; 然后是抑制的稳定状态; 之后进入抑制阶段, 随着 FAN 浓度的增加, 表观生长速率下降。该 4 阶段模型可表示如下:

$$\text{阶段1:} \quad 0 < [\text{NH}_3] < 1.10, \mu_{\text{ref}} = 1.0 \quad (2)$$

$$\text{阶段2:} \quad 1.10 < [\text{NH}_3] < 1.16, \mu_r = \frac{1}{-7.6 + \frac{[\text{NH}_3]}{0.128}} \quad (3)$$

$$\text{阶段3:} \quad 1.16 < [\text{NH}_3] < 1.34, \mu_r = 0.67 \quad (4)$$

$$\text{阶段4:} \quad 1.34 < [\text{NH}_3], \mu_r = \frac{1}{-12 + \frac{[\text{NH}_3]}{0.0995}} \quad (5)$$

式中: $[\text{NH}_3]$ 为 FAN 浓度, g·L⁻¹; μ_{ref} 为产甲烷微生物在 FAN 浓度为 1 100 mg·L⁻¹ 时的表观生长速率, d⁻¹; μ_r 表示相对表观生长速率, 为各实验组相对于 FAN 浓度为 1 100 mg·L⁻¹ 时产甲烷菌的表观生长速率, 并进行了归一化处理, 即 μ/μ_{ref} 。随着 FAN 浓度的增加, μ_r 呈现不同形式的下降。当 FAN 浓度小于 1 100 mg·L⁻¹ 时, μ_r 恒定为 1.0; 当 FAN 浓度由 1 100 mg·L⁻¹ 增加到 1 160 mg·L⁻¹ 时, μ_r 由 1.0 降至 0.67; 当 FAN 浓度在 1 160~1 340 mg·L⁻¹ 之间时, μ_r 以 0.67 的下降率稳定降低; 在第 4 阶段, 随着 FAN 浓度的增加, μ_r 以近乎恒定的速率下降。

氨氮抑制除了跟 TAN 浓度密切相关, 还受底物的理化性质、接种物对氨氮的耐受性^[24] 以及厌氧消化操作条件 (温度、pH 及有机负荷) 的影响, 故其抑制阈值也会有差异。表 2 列举了不同底物及工艺操作条件下厌氧消化过程出现的氨氮抑制效果。已有研究表明, 氨氮的抑制浓度有一个较大的范围, 例如, 当 TAN 浓度达到 1 500~7 000 mg·L⁻¹ 时厌氧消化过程不稳定, 甲烷产量下降^[25], 甚至当 TAN 浓度在 1 700~1 800 mg·L⁻¹ 时就有可能造成厌氧消化的失败^[4]。也有研究将造成甲烷产量减少 50% 的 TAN 浓度定义为半抑制浓度 (IC₅₀), 范围为 1 700~14 000 mg·L⁻¹^[26]。厌氧消化过程中遭遇氨氮抑制的阈值差异和消化底物以及工艺操作条件的不同有较大关系^[27]。

如表 2 所示, 鸡粪厌氧处理时更易遭遇氨氮抑制的问题, 鸡粪自身的高浓度有机氮降解后就产生了较高的氨氮浓度。由于鸡粪厌氧消化较其他 2 种粪便更易降解, 在实际应用中常处于高有机负荷、高 TS 下运行, 这就大大提升了遭遇氨氮抑制的风险。相比鸡粪, 牛粪在常温下受氨氮抑制的报道较少, 可能是由于 C/N 相对较高, C/N 比为 25 左右较适于厌氧微生物所需的环境, 但当其经历高温厌氧消化时仍有被抑制的可能。猪粪有较丰富的有机氮, 其 C/N 也相对较低, 在厌氧消化处理高浓度猪粪废弃物时极有可能触发氨氮抑制问题。此外, 猪尿产生总量大于猪粪, 但在收集过程中并不分开单独处理, 猪尿中高浓度的氨氮及尿素含量会进一步提高厌氧消化遭遇氨氮抑制的风险。此外, 高含固厌氧消化 (含固率 8%~20%) 是新兴的厌氧消化工艺, 能够较好地弥补传统厌氧消化的不足, 已逐渐成为研究和应用的热点。然而, 含固率的提升必然导致氨氮浓度的提升, 氨氮抑制风险加剧, 这是高含固厌氧消化产气率低的主要原因之一^[40]。

表2 畜禽粪便厌氧消化过程中的氨氮抑制效果
Table 2 Results of ammonia inhibition during anaerobic digestion of livestock manure

底物	TS/%	温度/°C	TAN/ (mg·L ⁻¹)	VFAs/ (mg·L ⁻¹)	pH	抑制效果 (以产甲烷计)	文献
DM	6.4	55	>4 000	>3 000 ¹⁾	7.9	较1 500 mg·L ⁻¹ 时减少25%	[28]
DM	2.9	55	5 000 ²⁾	>3 500 ¹⁾	7.7	减少67.3%	[29]
DM	2.0	55	6 200 ²⁾	7 000	7.6	减少38%	[30]
DM	4.2	40~60	6 000 ²⁾	>8 000 ¹⁾	7.8	较2 500 mg·L ⁻¹ 时减少40%	[31]
SM	2.25	37	1 600 ²⁾	—	7.34	较未添加减少8%	[32]
SM	2.25	37	3 200 ²⁾	—	7.24	较未添加减少62%	[32]
SM	2.25	37	4 000 ²⁾	—	7.01	较未添加减少83%	[32]
SM	4.5	37	6 000 ²⁾	11 060	8.0	比理论值 ³⁾ 减少38%	[23]
SM	4.5	55	6 000 ²⁾	11 060	8.0	比理论值 ³⁾ 减少78%	[23]
SM	15.6	51	11 000 ²⁾	>6 500	7.68	较添加前减少50% ⁴⁾	[33]
SM	2.0	25	4 000 ²⁾	2 000 ¹⁾	7.5	较1 600 mg·L ⁻¹ 时减少45%	[34]
SM	2.0	35	4 000 ²⁾	<1 000	7.5	较1 600 mg·L ⁻¹ 时减少13%	[34]
SM	2.0	35	>5 200 ²⁾	—	7.6	完全不产气	[34]
CM	30 ⁵⁾	36	9 000	68 000	6.0	彻底酸化, 产气完全被抑制	[35]
CM	15	40	5 590	9 000	7.8	较抑制前减少10%左右	[36]
CM	15	40	6 960	>8 000	8.0	较抑制前减少32%左右	[36]
CM	10	35	12 000 ²⁾	25 000 ¹⁾	8.15	产气基本停止	[37]
CM	10	55	6 000	<10 000 ¹⁾	8.15	较抑制前减少超过50%	[37]
CM	10	35	6 578	8 401	—	较4 049 mg·L ⁻¹ 时减少50%	[38]
CM	3~8	55	500~3 500	300~6 000	7.5~8.0	渐适应提升的有机负荷, 未减少	[39]

注: 1) 折合成乙酸计; 2) 外源氨氮添加; 3) 300 mL·g⁻¹, 以VS计; 4) 接种物经5.4 g·L⁻¹ TAN驯化; 5) 其中鸡粪占VS的30%, 其余为青贮玉米秸秆。

2 氨氮抑制机理及影响因素

2.1 氨氮抑制的形成机理

当前, 厌氧消化过程中氨氮对微生物产生抑制机理的研究有很多, 一些机理已被证实, 也有些争论的观点, 其中广为认可的观点就是NH₃分子比NH₄⁺离子更容易对微生物产生抑制作用, 且抑制程度更大, 这是氨氮抑制的主要原因。SPROTT等^[41]在对纯甲烷菌种*Methanobacterium bryanti*的研究中发现: FAN由于其疏水性可直接透过细胞膜进入细菌细胞内, 吸引并结合细胞外的H⁺引起细胞内pH的改变, 进而影响产甲烷菌的正常生理活动; 同时, NH₃分子在细胞内转化为NH₄⁺离子引起电荷变化, 为了保持电荷平衡需将部分K⁺移出细胞, 造成细胞内K⁺的缺乏; 并且K⁺转移过程还额外消耗能量, 影响细胞正常的生理活动, 进一步降低了产甲烷菌的活性。此外, SPROTT等^[41]还指出, NH₄⁺离子可能直接作用于甲烷合成过程中的某些酶, 导致甲烷合成的失败。GALLERT等^[42]在对蛋白质类废弃物中温和和高温厌氧消化研究时证实了该观点。ELHADJ等^[43]根据NH₃分子和NH₄⁺离子对产甲烷的抑制效果, 发现中温和高温下FAN的IC₅₀浓度分别为215和468 mg·L⁻¹, 而NH₄⁺离子的IC₅₀浓度则需高达3 860和5 600 mg·L⁻¹, 这说明了NH₃分子比NH₄⁺离子对产甲烷菌产生更强的毒性, 更容易对产甲烷过程形成抑制作用。但LAY等^[44-45]认为, 产甲烷菌的活性取决于NH₄⁺离子的浓度, 而不是NH₃分子的浓度, 而且NH₄⁺离子和NH₃分子对驯化和非驯化的厌氧系统中的影响程度各不相同, 在一个经过良好驯化的厌氧微生物系统中, NH₄⁺离子是比NH₃分子更重要的产甲烷菌活性影响因素。除此之外, WIEGANT等^[46]认为高浓度TAN会影响产甲烷菌合成甲烷的途径, 导致另一些代谢中间产物如丙酸、H₂的积累, 可能抑制乙酸利用型甲烷菌属*Methanosarcina*的活性, 进而影响总体产甲烷效果。

总之, 产生氨氮抑制并导致产甲烷减少的根本原因是氨氮影响了微生物正常的生命活动, 降低了底物利用效率, 进而影响底物的产甲烷潜势。然而, 不同微生物对氨氮的耐受性也不相同。KAYHANIAN^[17,47]认为在产酸发酵菌、产氢产乙酸菌、同型产乙酸菌、产甲烷菌这4类厌氧微生物中, 产甲烷菌对氨氮的耐受性最差, 受到氨氮抑制时比其他微生物更有可能停止生长。研究结果表明, 当TAN浓度从4 051 mg·L⁻¹升到5 734 mg·L⁻¹时, 产甲烷菌活性下降了56.5%, 但对产酸菌活性没

有明显的影响。根据 KARAKASHEV 等^[48]的研究结果, 在乙酸利用型产甲烷菌中, *Methanosaetaceae* 比 *Methanosarcinaceae* 对 FAN 更敏感, 而后者被认为是 4 100 mg·L⁻¹ 氨氮浓度下的优势菌。ZEEMAN 等^[49]发现, 乙酸利用型产甲烷菌-甲烷八叠球菌属 *Methanosarcina* 有大球面细胞, 比表面积远大于杆状 *Methanotrix*, 那么扩散到 *Methanosarcina* 内的 FAN 就少, 转移 FAN 所需能量较后者少, 受 FAN 抑制程度低于 *Methanotrix*。ANGENENT 等^[50]采用 ASBR 处理猪场废弃物时, 研究了氨氮浓度从 2 000 mg·L⁻¹ 升高至 3 600 mg·L⁻¹ 过程中产甲烷菌的种群变化。结果表明: *Methanosarcina* 的 16S rRNA 占总 16S rRNA 的比例从 3.8% 降至 1.2%, *Methanosaetaconcilii* 的 16S rRNA 占比依旧保持在 2.2% 以下; 氢利用型产甲烷菌的 16S rRNA 占比则从 2.3% 提高至 7.0%, 但甲烷生成和反应器运行状况均未受影响, 这说明在高氨氮浓度运行条件下, 产甲烷主要途径是通过氢利用型甲烷菌和乙酸利用型甲烷菌的互生关系。不同类型的厌氧微生物对氨氮浓度的耐受性如表 3 所示。由此可见, 在氨氮抑制的研究中, 微生物对氨氮的响应与其群落结构密切相关, 故需持续关注微生物群落结构中优势菌群的演变, 方可制定有效的氨氮抑制应对措施提供一种科学的技术手段。

表 3 厌氧消化系统中受氨氮抑制的微生物类型
Table 3 Types of microorganism inhibited by ammonia in anaerobic digestion system

底物	温度/°C	pH	TAN/(mg·L ⁻¹)	FAN/(mg·L ⁻¹)	受抑制菌(群)	文献
鸡粪	35	8.0	12 000	8 000	<i>Aceticlastic Methanosaeta</i>	[51]
鸡粪	55	8.1	>7 000	>2 000	<i>Methanoculleus marisnigri</i> JR1	[52]
鸡粪	55	8.1	>7 000	>2 000	<i>Methanosarcina mazei</i> Go1	[52]
猪废弃物	25	—	>3 500	—	<i>Methanomicrobiales</i>	[50]
鸡粪	37	—	>8 000	500~1 000	<i>Bacteroidetes</i>	[53]
牛粪 ¹⁾	37/55	—	1 300	—	<i>Methanosarcina</i>	[54]
合成废水	35	8.0	6 000 ²⁾	>700 ²⁾	<i>Methanosarcina-related species</i>	[55]
生物废弃物	35	7.5~8.0	>10 000	47~494	<i>Syntrophomonas</i>	[56]
生物废弃物	35	7.5~8.0	>10 000	47~494	<i>Ruminococcus</i>	[56]
酒糟	38	7.9	3 500	300~1 100	<i>Acetogenic community</i>	[57]
乙酸 ³⁾	37/55	7	5 000	63/188	<i>Hydrogenotrophic Methanogens</i>	[58]

注: 1) 与橄榄油厂废料混合; 2) 100% 抑制产气; 3) 纯种细菌分别在培养基上培养。

2.2 氨氮抑制的影响因素

厌氧消化系统中氨氮抑制阈值之间的显著差异可归因于底物种类^[59]、环境条件(温度及 pH)^[34]、接种物驯化程度等方面的差异^[26,31]。NH₄⁺ 离子和 NH₃ 分子对微生物抑制机理和程度存在一定差异, 而两者的浓度关系与反应器的温度和 pH 直接相关。pH 和温度 T 直接影响 TAN 中 NH₃ 和 NH₄⁺ 的相互转化, FAN 与 pH、 T 及 TAN 之间的关系^[23] 如式 (6) 所示:

$$C_{\text{FAN}} = C_{\text{TAN}} \left(1 + \frac{10^{-\text{pH}}}{10^{-(0.09018 + \frac{2729.92}{T})}} \right) \quad (6)$$

式中: C_{FAN} 为 FAN 的质量浓度, mg·L⁻¹; C_{TAN} 为 TAN 的质量浓度, mg·L⁻¹; T 为厌氧消化反应温度, K。

据式 (6) 作图 1, 在典型的常温 25 °C、中温 37 °C 和高温 55 °C 下, FAN 占 TAN 的比例随着 pH 或温度的提升而增大。

当 pH 一定(如 8.0)时, 中温、高温厌氧消化下 FAN 占比分别是常温厌氧消化的 2 倍和 5 倍以上, 这表明随着温度升高, FAN 占比急剧上升, 会提高氨氮抑制风险。但是, 温度升高能明显提高微生物的生长速率及活性, 反而利于产甲烷菌的代谢活动。所以, 产甲烷菌在高温下对 FAN 的耐受能力也可能优于中温。HASHIMOTO^[20]研究了肉牛粪中外源氨氮(NH₄Cl)添加对厌氧消化的影响, 发现中温和高温条件下氨氮浓度均在 2 500 mg·L⁻¹ 左右产生抑制, 相应的 FAN 浓度分别为 30 mg·L⁻¹ 和 200 mg·L⁻¹。然而, 就整个厌氧消化系统而言, 在更高 TAN 浓度下, 高温厌氧消化比中温厌氧消化更容易受到氨氮抑制。LINDORFER 等^[60]将猪粪与青贮玉米秸秆混合厌氧发酵, 接种已经过氨氮驯化

的污泥,将 TAN 浓度恒定在 $5\ 500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,随着反应温度逐步从 $35\ ^\circ\text{C}$ 提升至 $55\ ^\circ\text{C}$,在 $45\ ^\circ\text{C}$ 时发现明显的丙酸累积,产气量因此下降。由此可见,温度升高加强了 NH_4^+ 到 NH_3 的转变,超过一定浓度后能明显加强氨氮抑制。此外,ANGELIDAKI 等^[31]研究了在 $40\sim 64\ ^\circ\text{C}$ 范围内牛粪的产气能力,认为当 FAN 浓度超过 $700\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,为保证系统不受氨氮抑制应当控制厌氧消化的温度低于 $55\ ^\circ\text{C}$ 。

pH 是影响 FAN 浓度的另一主要因素。当温度恒定在 $37\ ^\circ\text{C}$ 、pH 为 7.0 时, FAN 占比 1% 左右;而当 pH 升到 8.0 时,则 FAN 占比迅速提升至 11.6%,增大了 10 倍,并随着 pH 的提升, FAN 占比提升更显著^[23]。较高 pH 导致的高浓度 FAN 严重抑制了产甲烷菌正常代谢,造成 VFAs 累积又降低了系统 pH。因此, FAN、VFAs 和 pH 之间的相互作用使整个厌氧消化系统达到一种“抑制平衡状态”,该状态下甲烷产量往往较低,厌氧消化难以高效运行^[28]。SHANMUGAM 等^[61]在研究中发现, pH 为 8.5 时, $2\ 473\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 FAN 浓度导致沼气产率极低,仅为 $170\ \text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ (以 VS 计);随后将 pH 降低至 6.5, FAN 浓度减至 $817\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,获得了最佳产气效果,累积沼气产量为 $6\ 518\ \text{mL}$, VS 产气率升至 $680\ \text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ (以 VS 计)。进一步调节厌氧消化系统的 pH 至 4.5,虽然 FAN 可降至 $510\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,但此时 VFAs 却严重积累至 $26\ 803\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,形成了酸抑制。因此,产甲烷菌、水解酸化菌在代谢繁殖时均需适宜的 pH 环境,如果不能将 pH 调整至适当的范围,尽管将游离氨浓度控制在抑制阈值以下,也会导致厌氧消化系统的运行失败。

不同的接种微生物对氨氮的耐受程度不同,经过高浓度氨氮驯化后的产甲烷菌能提高其对氨氮的抵抗能力。已有研究^[4]表明,未经驯化的微生物在氨氮浓度为 $1\ 700\sim 1\ 800\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时就可能遭遇厌氧消化失败。也有研究^[62]证明,在 pH 为 7.5 时, FAN 浓度为 $80\sim 100\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 对未驯化微生物具有明显的抑制作用,而经过高浓度氨氮驯化后的接种污泥则在更高的 FAN 浓度下才会遭遇氨氮抑制。NAKAKUBO 等^[33]通过接种经 $5\ 200\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 氨氮驯化后的厌氧接种泥,在 $51\ ^\circ\text{C}$ 的操作温度下,微生物对氨氮的耐受浓度可提升至 $6\ 900\sim 7\ 400\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, IC_{50} 浓度则被提升至 $11\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,而此时的 FAN 浓度却高达 $1\ 450\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。GAO 等^[63]在中温 CSTR 中分 5 阶段将 TAN 从 $2\ 000\sim 2\ 500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 逐渐提升至 $4\ 000\sim 4\ 500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 从 7.4 增至 7.9, TAN 也从 $100\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下逐渐累积至 $470\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,但装置运行稳定,产气效率没有明显下降,说明微生物逐渐被驯化。微生物群落结构的分析结果表明,微生物逐渐适应高氨氮环境得益于 *Firmicutes bacteria* 丰度的增加、群落结构从乙酸营养型甲烷菌到氢营养型甲烷菌的转变以及辅酶 F_{420} 活性的提高。NIU 等^[37]在 CSTR 中逐渐增加 NH_4HCO_3 的投加量,发现 *Methanosarcina* 比 *Methanoculleus* 对氨氮更为敏感。随着微生物逐渐适应高浓度氨氮,最终在中温条件下将微生物对氨氮的耐受浓度提升至 $10\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,对应 FAN 浓度为 $800\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;由于高温下 FAN 占比高于中温,微生物的氨氮耐受浓度只能提升至 $3\ 700\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右。当超过氨氮耐受浓度后,通过稀释进料浓度缓解氨氮抑制,中温下产气可逐渐恢复,而高温下则恢复失败。这些说明过高的氨氮浓度驯化也可能造成微生物群落结构不可逆转的破坏。

3 氨氮抑制的应对措施

为提高含氮有机废弃物厌氧发酵的处理效率及系统运行稳定性,国内外学者对如何缓解或消除厌氧发酵过程中的氨氮抑制进行了大量的研究。当前应对氨氮抑制的解除技术主要如下:1)降低

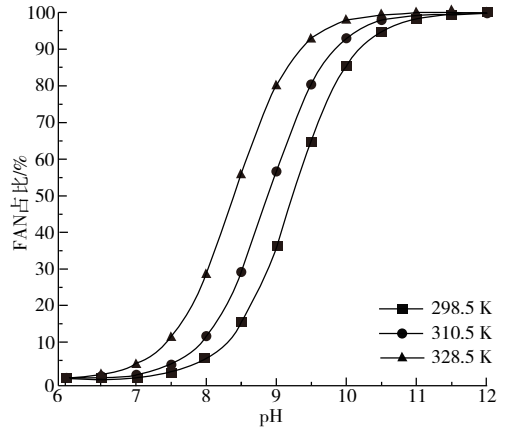


图1 温度与 pH 对 FAN 占比的影响
Fig. 1 Effects of temperature and pH on FAN proportion

氨氮浓度,形成氨氮浓度缓冲,可通过稀释、调节碳氮比以及脱氮等手段完成;2)驯化微生物种群,保持厌氧体系处于较高氨氮环境,使微生物逐渐适应高氨氮环境,构建新的微生物群落结构以增强对氨氮的抵抗能力;3)通过添加适当微量元素,可增强微生物对高浓度氨氮的耐受性,从而使厌氧消化仍可在氨氮浓度较高的情况下进行。

3.1 浓度缓冲

在降低氨氮浓度缓解氨氮抑制的措施中,稀释发酵原料或厌氧系统中料液是最有效的应急方法^[25]。通过稀释,养殖废弃物的TS浓度降至0.5%~3%,不仅降低了TAN浓度,而且恢复了微生物活性,可使厌氧消化系统在抑制后短期内迅速恢复正常;但该方法治标不治本,不仅增加了后续废水的处理量,而且厌氧消化反应器的体积变得更庞大,存在设备投资高、后处理难度大等问题,经济上并不可行^[64-66]。

碳氮比(C/N)是厌氧消化成败的关键因素之一。畜禽养殖废弃物的C/N相对较低,易遭遇氨氮抑制。KAYHANIAN^[17]对较大范围C/N比(8~125)下的厌氧消化反应效果进行了研究,控制碳氮比在27~32时最有利于阻止氨氮抑制现象的发生并保持产气稳定。ZESHAN等^[67]开展了进一步的研究,测定了C/N比分别为27和32下的氨氮浓度及氨氮抑制效果,当C/N比为32时,系统中的氨氮浓度相比C/N比为27时减少了30%,一定程度上缓解了氨氮抑制。因此,通过将养殖废弃物与餐厨垃圾^[68]、玉米秸秆^[69-71]、淀粉生产废水^[72]等高C/N比废弃物混合厌氧消化,不但可以降低养殖废弃物遭遇氨氮抑制的概率,还可以提高废弃物降解效率及产气率,被认为是最有效的缓解方法,应用最为广泛。HASSAN等^[73]用小麦秸秆(经过热-双氧水预处理)将鸡粪的C/N比分别调节到35:1、30:1、25:1和20:1,调节后的底物产气性能均得到提高,其中20:1时效果最佳,产甲烷效率提升了85.11%。杨安逸等^[74]将混合后的马铃薯渣和鸡粪作为厌氧消化底物,产气效率可提升至405.4 mL·g⁻¹。相比其他方法,C/N比调节具有经济合理、易于操作和增加产气量等优点。但C/N比的调节过程相对较为缓慢,必须在系统被完全抑制之前进行,如果在氨氮抑制作用下产气急剧减少甚至停止,系统会出现VFAs积累,且伴随着pH下降等现象,此时即使将底物调节至合适的C/N比,厌氧消化系统也难以从抑制状态得到恢复^[17]。

通过物理或化学方法将一部分氨氮从厌氧系统中原位脱除也是一种研究与应用较多的缓解或消除氨氮抑制的有效方法。氨氮脱除方法主要有气体吹脱、化学沉淀及矿物质吸附等。

1)吹脱法。利用沼气循环气提法将一部分游离的氨氮带出厌氧系统以缓解氨氮抑制。WU等^[75]在研究鸡粪厌氧沼渣循环接种的研究中发现,随着循环使用次数的增多,氨氮浓度从2 600 mg·L⁻¹累积至5 000 mg·L⁻¹,产气率从(1.4±0.1) L·(L·d)⁻¹降至(0.8±0.1) L·(L·d)⁻¹,产气受到明显抑制,随后采用沼气吹脱接种沼渣,将氨氮浓度降到3 000 mg·L⁻¹,产气效率即可恢复至(1.4±0.1) L·(L·d)⁻¹,由此推断沼气吹脱法是一种有效的氨氮抑制解除手段。ABOULENIEN等^[76]用沼气循环吹脱鸡粪中的氨氮,82%的氨氮可在厌氧过程中脱除,单位VS产气率提升25%以上。但是,沼气循环吹脱法需要增加脱氨设备,增加了投资成本和动力消耗,实际应用中需要核算经济性。

2)向系统中投加适量氧化镁或金属镁盐,生成磷酸铵镁(鸟粪石)化学沉淀。此法不但可降低体系中氨氮浓度而减轻其对厌氧生物的抑制,而且所形成的鸟粪石沉淀物是一种N、P缓释肥料,具有良好的经济价值。ROMERO-GÜIZA等^[77]通过向猪粪厌氧系统中投加低品质氧化镁,添加量为5 kg·m⁻³时,VS产气率提升了0.17 m³·kg⁻¹,较添加前增加25%。然而,鸟粪石沉淀容易在反应器表面结垢,可能导致反应体系与外界的传热受到影响。

3)添加多孔性的矿物质材料对氨氮进行选择性吸附以降低氨氮浓度。HUANG等^[78]将麦饭石(WRS)添加到高氨氮猪粪(5 145 mL·g⁻¹)厌氧系统中,并对添加量进行了优化。最终,将VS产甲烷

率从 $82.8 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 提高到 $142.7 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, 还有效地将 40 d 的产气周期缩短到一半。这一促进作用可能源于 2 个方面: WRS 具有多孔结构, 可吸附氨氮; WRS 还向系统中缓慢释放 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等离子, 这些离子与体系中丰富的 NH_4^+ 及 PO_4^{3-} 形成化学沉淀, 进而缓解了氨氮抑制。ZHENG 等^[8] 使用固定床反应器对高氨氮 ($7511 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$) 养猪废弃物进行厌氧消化处理, 固定床由沸石和聚氯乙烯构成, 前者吸附氨氮, 后者作为固定微生物的载体, 经过 30 d 的厌氧消化, 产气率较对照提高了 96 倍。此外, MUMME 等^[79] 比较了热解型生物炭和水热型生物炭对氨氮抑制的缓解效果。研究发现, 由于水热型生物炭比热解型生物炭 (0.6%) 含有更多的可降解碳 (10.6%), 可将产气率提升 32%, 热解型生物炭则无明显提升效果。此外, 热解型生物炭与水热型生物炭一样, 可解除轻度氨氮抑制 ($2100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 但均不能缓解高浓度氨氮 ($3100\sim 6600 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 下的抑制效果, 其应用因此受到限制。多孔吸附材料对氨氮抑制缓解有较好效果, 但其投加对厌氧微生物的影响需要再评估, 再生利用等后处理问题有待深入研究。

3.2 微生物驯化

驯化接种是增强厌氧微生物氨适应性的最有效途径之一, 但耗时长^[80]。在一定范围内, 随着系统内氨氮浓度缓慢增加, 微生物可以逐渐适应较高氨氮浓度的环境^[18,26]。通常, TAN 浓度为 $3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时产甲烷菌受到了明显抑制, 但经过驯化的产甲烷菌可以在氨氮浓度高于 $3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的环境中生存和产气。HASHIMOTO 等^[20] 对比了未经驯化和驯化后的高温厌氧消化系统, 发现引起氨氮抑制时的临界 TAN 浓度分别为 2500 、 $4000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 抑制阈值提高了 60%。KOSTER 等^[81] 在实验中发现, 未经驯化的产甲烷菌在 $1900\sim 2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TAN 浓度下产气失败, 而驯化后的厌氧微生物在 TAN 浓度高达 $11800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的环境下仍有甲烷生成。很多研究者^[28,50,82] 都已发现经过驯化的产甲烷菌对氨的耐受性可明显提高, 但对这种耐受性的产生机理还未达成共识, 究竟是新的高耐受性产甲烷菌种出现还是产甲烷菌改变了自身合成甲烷的途径? LÜ 等^[83] 在研究 TAN 和 VFAs 对改变产甲烷功能的路径和群落结构的复合影响时发现, 随乙酸和氨氮浓度各自升高, 甲烷合成菌群开始由乙酸利用型产甲烷菌向互营养型乙酸氧化菌 (SAOB) 与氢利用型甲烷菌构成的互养菌团转化。ANGENENT 等^[50] 也得到了相似的菌群转变结果, 他们在提升有机负荷 (organic loading rate, OLR) 的过程中, 氨氮浓度由 $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 提升至 $3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 由此导致乙酸氧化菌和氢利用型产甲烷菌的互养方式成为主要的产甲烷途径。然而 FOTIDIS 等^[54] 在类似的研究中却发现了相反的变化, 在经过高浓度氨氮和乙酸环境中驯化后的系统中进一步提高氨氮浓度, 产甲烷途径由 SAOB 与 H_2 利用型产甲烷菌 (*Methanobacteriales* spp. 和 *Methanomicrobiales* spp.) 共生途径转变为乙酸利用型途径 (*Methanosarcinaceae* spp.); 未驯化的系统暴露于 TAN 浓度为 $7000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的环境时, 未观察到产甲烷途径发生转变, 而 *Methanosarcinaceae* spp. 为主要的产甲烷菌。也有学者认为这种氨氮适应性的提高可能是产甲烷菌中优势种群改变或产甲烷菌丰度发生转变的结果^[49]。根据最近的研究结果, *Methanosarcina* sp. 作为一种具有超强耐受性的产甲烷菌被重新关注^[84]。*Methanosarcina* sp. 可以利用 H_2 或乙酸 2 种途径合成甲烷, 并且其形成的菌落拥有较大的比表面积, 这些特征使 *Methanosarcina* sp. 可以在 TAN 浓度为 $7000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的严酷条件下仍能生存, 因而可将乙酸氧化菌与 *Methanosarcina* sp. 构成的共生菌团接种到厌氧反应器中, 增强群落结构的缓冲能力, 提高厌氧消化过程的稳定性。但是 WESTERHOLM 等^[85] 的一些关于接种 SAOB 共生菌团的研究并未取得成功, 可能是由于产甲烷菌生长速率过慢导致。因此, 驯化后的接种液可作为刚遭遇或轻度氨氮抑制厌氧消化系统的生物添加剂来协助提升系统土著微生物的耐氨氮能力, 生物添加 (bioaugmentation) 技术已得到广泛的关注^[86-87]。

3.3 微量元素添加

微量元素影响微生物的生命活动。研究表明, 常量元素的离子 (Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等) 可以削弱或消除厌氧消化反应中氨氮的抑制作用。某些微量元素 (Fe 、 Co 等), 也有利于增强微生物对高浓度氨氮的抵抗能力。张万钦等^[88]认为, Fe 、 Cu 和 Mo 元素是硝酸盐、亚硝酸盐还原酶的组成成分, 这有利于氨氮的氧化, 可能是微量元素促进厌氧消化产甲烷过程和拮抗高氨氮毒害作用的原因。也有研究者认为 Se 、 Mo 和 W 是产甲烷菌产生甲酸脱氢酶降解甲酸所必需的微量元素^[89]。BANKS 等^[90]通过添加 Se 和 Co ($0.16 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0.22 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 即使在 TAN 浓度为 $5\ 000\sim 6\ 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下, 厌氧消化反应也能稳定进行。李亚新等^[91]的研究结果表明, 厌氧消化过程中微量元素 Fe 、 Co 、 Ni 等对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 有拮抗作用, 并且 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度越高, Fe 、 Co 、 Ni 对其毒性的拮抗作用越明显。当然, 微量元素种类的选择及用量还需根据底物性质来确定, 微量元素对微生物的作用机理还需进一步深入研究, 这样才能为氨氮抑制的缓解提供科学依据。

4 结语与展望

厌氧消化是实现畜禽养殖废弃物资源化利用和无害化处理的有效手段。养殖废弃物在降解过程中释放大量的氨氮, 已影响到厌氧消化稳定性, 一定程度上制约了厌氧消化工艺的推广应用。与国外相比, 我国在厌氧消化过程中氨氮抑制领域的研究尚处于起步阶段, 在借鉴已有国外研究成果基础上结合我国养殖废弃物的组成特点及其处理现状, 深入开展有效预防、缓解和解除氨氮抑制的研究与应用非常必要。笔者认为以下 3 个方面值得进一步研究。

1) 深入研究不同来源 (猪、肉牛、奶牛、蛋鸡、肉鸡等) 养殖废弃物中不同类型有机氮在厌氧消化过程的氨氮释放规律。考察厌氧系统在氨氮抑制前、中、后 3 阶段的物质组成、理化指标和微生物群落的变化, 并进行统计分析, 同时结合厌氧消化模型 (ADM), 对氨氮抑制进行模拟和预测, 为制定氨氮抑制的预防措施提供科学依据。

2) 在高含固厌氧消化体系中, 原位构建“氨氮-VFAs-碳酸盐”三元缓冲体系, 形成具有高缓冲能力的厌氧环境, 并据此开发不同的厌氧消化调控模式, 从而控制 FAN 浓度, 提高厌氧微生物对氨氮的耐受程度, 实现高含固厌氧消化的稳定运行, 增强产气效率。

3) 结合现代分子生物学方法, 深入开展氨氮抑制对厌氧微生物群落结构和功能的影响研究, 尤其是功能菌群, 明确氨氮抑制的微生物学机理; 驯化培养具有高氨氮耐受性的厌氧微生物, 分析高氨氮耐受菌群中的优势菌种和产气途径, 为氨氮抑制的解除策略 (如脱除氨氮、耐氨氮生物添加、微量元素强化等) 的研究与应用提供科学依据。

参考文献

- [1] 农业部, 国家发展改革委员会, 财政部, 等. 关于推进农业废弃物资源化利用试点的方案 [EB/OL]. [2017-06-05]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/FZJHS/201609/t20160919_5277846.htm.
- [2] YUAN H, ZHU N. Progress in inhibition mechanisms and process control of intermediates and by-products in sewage sludge anaerobic digestion[J]. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2016, 58:429-438.
- [3] 孙志岩, 张君枝, 刘翌晨, 等. 牛粪和玉米秸秆厌氧消化产甲烷潜力及动力学 [J]. *环境工程学报*, 2016, 10(3):1468-1474.
- [4] YENIGÜN O, DEMIREL B. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: A review[J]. *Process Biochemistry*, 2013, 48(5/6):901-911. DOI:10.1016/j.procbio.2013.04.01.
- [5] FUJISHIMA S, MIYAHARA T, NOIKE T. Effect of moisture content on anaerobic digestion of dewatered sludge: Ammonia inhibition to carbohydrate removal and methane production[J]. *Water Science & Technology*, 2000, 41(3):119-127.

- [6] 郭建斌,董仁杰,程辉彩,等. 温度与有机负荷对猪粪厌氧发酵过程的影响[J]. 农业工程学报,2011,27(12):217-222. DOI:10.3969/j.issn.1002-6819.2011.12.041.
- [7] 梅凯,董红敏,陶秀萍,等. 水泡粪物料中固体和氮含量对厌氧消化产气特性的影响[J]. 中国农业气象,2014,35(6):622-627. DOI:10.3969/j.issn.1000-6362.2014.06.003.
- [8] ZHENG H, LI D, STANISLAUS M S, et al. Development of a bio-zeolite fixed-bed bioreactor for mitigating ammonia inhibition of anaerobic digestion with extremely high ammonium concentration livestock waste[J]. Chemical Engineering Journal,2015,280:106-114. DOI:10.1016/j.cej.2015.06.024.
- [9] HUANG W, ZHAO Z, YUAN T, et al. Effective ammonia recovery from swine excreta through dry anaerobic digestion followed by ammonia stripping at high total solids content[J]. Biomass & Bioenergy,2016,90:139-147.
- [10] DENG L, CHEN C, ZHENG D, et al. Effect of temperature on continuous dry fermentation of swine manure[J]. Journal of Environmental Management,2016,177:247-252. DOI:10.1016/j.jenvman.2016.04.029.
- [11] 丁福贵,李欣,张炳宏,等. 进料浓度对猪粪批式和连续厌氧发酵产沼气的的影响[J]. 中国沼气,2014,32(5):36-39. DOI:10.3969/j.issn.1000-1166.2014.05.008.
- [12] ZHAI N, ZHANG T, YIN D, et al. Effect of initial pH on anaerobic co-digestion of kitchen waste and cow manure[J]. Waste Management,2015,38(1):126-131. DOI:10.1016/j.wasman.2014.12.027.
- [13] WANG X, YANG G, FENG Y, et al. Optimizing feeding composition and carbon-nitrogen ratios for improved methane yield during anaerobic co-digestion of dairy, chicken manure and wheat straw[J]. Bioresource Technology,2012,120(8):78-83. DOI:10.3969/10.1016/j.biortech.2012.06.058.
- [14] KAFLE G K, CHEN L. Comparison on batch anaerobic digestion of five different livestock manures and prediction of biochemical methane potential (BMP) using different statistical models[J]. Waste Management,2016,48(1):492-502. DOI:10.1016/j.wasman.2015.10.021.
- [15] 王桂珍,李兆君,张树清,等. 碳氮比对鸡粪堆肥中土霉素降解和堆肥参数的影响[J]. 中国农业科学,2013,46(7):1399-1407. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2013.07.010.
- [16] RICHARDS B K, CUMMINGS R J, WHITE T E, et al. Methods for kinetic analysis of methane fermentation in high solids biomass digesters[J]. Biomass & Bioenergy,1991,1(2):65-73.
- [17] KAYHANIAN M. Ammonia inhibition in high-solids biogasification: An overview and practical solutions[J]. Environmental Technology,1999,20(4):355-365. DOI:10.1080/09593332008616828.
- [18] SUNG S, LIU T. Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion[J]. Chemosphere,2003,53(1):43-52. DOI:10.1016/S0045-6535(03)00434-X.
- [19] PROCHAZKA J, DOLEJS P, MACA J, et al. Stability and inhibition of anaerobic processes caused by insufficiency or excess of ammonia nitrogen[J]. Applied Microbiology & Biotechnology,2012,93(1):439-447.
- [20] HASHIMOTO A G. Ammonia inhibition of methanogenesis from cattle wastes[J]. Agricultural Wastes,1986,17(4):241-261. DOI:10.1016/0141-4607(86)90133-2.
- [21] WEBB A R, HAWKES F R. The anaerobic digestion of poultry manure: Variation of gas yield with influent concentration and ammonium-nitrogen levels[J]. Agricultural Wastes,1985,14(2):135-156. DOI:10.1016/S0141-4607(85)80025-1.
- [22] 陈闯,邓良伟,信欣,等. 上推流厌氧反应器连续干发酵猪粪产沼气试验研究[J]. 环境科学,2012,33(3):1033-1040.
- [23] HANSEN K H, ANGELIDAKI I, AHRING B K. Anaerobic digestion of swine manure: Inhibition by ammonia [J]. Water Research,1998,32(1):5-12. DOI:10.1016/S0043-1354(97)00201-7.
- [24] MAHDY A, FOTIDIS I A, MANCINI E, et al. Ammonia tolerant inocula provide a good base for anaerobic digestion of microalgae in third generation biogas process[J]. Bioresource Technology,2017,225:272-278. DOI:10.1016/j.biortech.2016.11.086.
- [25] HEJNFELT A, ANGELIDAKI I. Anaerobic digestion of slaughterhouse by-products[J]. Biomass & Bioenergy,2009,33(8):1046-1054.
- [26] CHEN Y, CHENG J J, CREAMER K S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review[J]. Bioresource Technology,2008,99(10):4044-4064. DOI:10.1016/j.biortech.2007.01.057.
- [27] LISSENS G, VANDEVIVERE P, DE B L, et al. Solid waste digestors: Process performance and practice for municipal solid waste digestion[J]. Water Science & Technology,2001,44(8):91-102.

- [28] ANGELIDAKI I, AHRING B K. Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: The effect of ammonia[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 1993, 38(4): 560-564.
- [29] WANG H, FOTIDIS I A, ANGELIDAKI I. Ammonia-LCFA synergetic co-inhibition effect in manure-based continuous biomethanation process[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 209: 282-289. DOI:10.1016/j.biortech.2016.03.003.
- [30] NIELSEN H B, AHRING B K. Effect of tryptone and ammonia on the biogas process in continuously stirred tank reactors treating cattle manure[J]. *Environmental Technology*, 2007, 28(8): 905-914. DOI:10.1080/095933328086188485.
- [31] ANGELIDAKI I, AHRING B K. Anaerobic thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: Effect of temperature[J]. *Water Research*, 1994, 28(3): 727-731. DOI:10.1016/0043-1354(94)90153-8.
- [32] 高文萱, 张克强, 梁军锋, 等. 氨胁迫对猪粪厌氧消化性能的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2015, 34(10): 1997-2003. DOI:10.11654/jaes.2015.10.023.
- [33] NAKAKUBO R, MØLLER H B, NIELSEN A M, et al. Ammonia inhibition of methanogenesis and identification of process indicators during anaerobic digestion[J]. *Environmental Engineering Science*, 2008, 25(10): 1487-1496. DOI:10.1089/ees.2007.0282.
- [34] GARCIA M L, ANGENENT L T. Interaction between temperature and ammonia in mesophilic digesters for animal waste treatment[J]. *Water Research*, 2009, 43(9): 2373-2382. DOI:10.1016/j.watres.2009.02.036.
- [35] CHEN S, CAO W, BANKS C J, et al. Biogas production from undiluted chicken manure and maize silage: A study of ammonia inhibition in high solids anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 218: 1215-1223.
- [36] HONG N, H FABIAN J, KATRIN S, et al. Mono-fermentation of chicken manure: Ammonia inhibition and recirculation of the digestate[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 178: 238-246.
- [37] NIU Q, TAKEMURA Y, KUBOTA K, et al. Comparing mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of chicken manure: Microbial community dynamics and process resilience[J]. *Waste Management*, 2015, 43: 114-122. DOI:10.1016/j.wasman.2015.05.012.
- [38] BUJOCZEK G, OLESZKIEWICZ J, SPARLING R, et al. High solid anaerobic digestion of chicken manure[J]. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 2000, 76(1): 51-60. DOI:10.1006/jaer.2000.0529.
- [39] DALKILIC K, UGURLU A. Biogas production from chicken manure at different organic loading rates in a mesophilic-thermophilic two stage anaerobic system[J]. *Journal of Bioscience & Bioengineering*, 2015, 120(3): 315-322.
- [40] YAP S D, ASTALS S, JENSEN P D, et al. Indigenous microbial capability in solid manure residues to start-up solid-phase anaerobic digesters[J]. *Waste Management*, 2017, 64: 79-87.
- [41] SPROTT G D, PATEL G B. Ammonia toxicity in pure cultures of methanogenic bacteria[J]. *Systematic & Applied Microbiology*, 1986, 7(2): 358-363.
- [42] GALLERT C, BAUER S, WINTER J. Effect of ammonia on the anaerobic degradation of protein by a mesophilic and thermophilic biowaste population[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 1998, 50(4): 495-501.
- [43] ELHADJ T B, ASTALS S, GALÍ A, et al. Ammonia influence in anaerobic digestion of OFMSW[J]. *Water Science & Technology*, 2009, 59(6): 1153-1158.
- [44] LAY J J, LI Y Y, NOIKE T. The influence of pH and ammonia concentration on the methane production in high-solids digestion processes[J]. *Water Environment Research*, 1998, 70(5): 1075-1082. DOI:10.2175/106143098X123426.
- [45] LAY J J, LI Y Y, NOIKE T, et al. Analysis of environmental factors affecting methane production from high-solids organic waste[J]. *Water Science & Technology*, 1997, 36(6/7): 493-500.
- [46] WIEGANT W M, ZEEMAN G. The mechanism of ammonia inhibition in the thermophilic digestion of livestock wastes[J]. *Agricultural Wastes*, 1986, 16(4): 243-253. DOI:10.1016/0141-4607(86)90056-9.
- [47] KAYHANIAN M. Performance of a high-solids anaerobic digestion process under various ammonia concentrations[J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2010, 59(4): 349-352.
- [48] KARAKASHEV D, BATSTONE D J, ANGELIDAKI I. Influence of environmental conditions on methanogenic compositions in anaerobic biogas reactors[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2005, 71(1): 331-338. DOI:10.1128/AEM.71.1.331-338.2005.

- [49] ZEEMAN G, WIEGANT W M, KOSTER-TREFFERS M E, et al. The influence of the total-ammonia concentration on the thermophilic digestion of cow manure[J]. *Agricultural Wastes*,1985,14(1):19-35. DOI:10.1016/S0141-4607(85)80014-7.
- [50] ANGENENT L T, SUNG S, RASKIN L. Methanogenic population dynamics during startup of a full-scale anaerobic sequencing batch reactor treating swine waste[J]. *Water Research*,2002,36(18):4648-4654. DOI:10.1016/S0043-1354(02)00199-9.
- [51] NIU Q, KUBOTA K, QIAO W, et al. Effect of ammonia inhibition on microbial community dynamic and process functional resilience in mesophilic methane fermentation of chicken manure[J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2015,90(12):2161-2169.
- [52] NIU Q, QIAO W, QIANG H, et al. Microbial community shifts and biogas conversion computation during steady, inhibited and recovered stages of thermophilic methane fermentation on chicken manure with a wide variation of ammonia[J]. *Bioresource Technology*,2013,146(10):223-233. DOI:10.1016/j.biortech.2013.07.038.
- [53] ALSOULEMAN K, LINKE B, KLANG J, et al. Reorganisation of a mesophilic biogas microbiome as response to a stepwise increase of ammonium nitrogen induced by poultry manure supply[J]. *Bioresource Technology*,2016,208:200-204. DOI:10.1016/j.biortech.2016.02.104.
- [54] FOTIDIS I A, KARAKASHEV D, KOTSOPOULOS T A, et al. Effect of ammonium and acetate on methanogenic pathway and methanogenic community composition[J]. *FEMS Microbiology Ecology*,2013,83(1):38-48. DOI:10.1111/j.1574-6941.2012.01456.x.
- [55] CALLI B, MERTOGLU B, INANC B, et al. Methanogenic diversity in anaerobic bioreactors under extremely high ammonia levels[J]. *Enzyme & Microbial Technology*,2005,37(4):448-455. DOI:10.1016/j.enzmictec.2005.03.013.
- [56] POIRIER S, DESMOND-LE Q E, MADIGOU C, et al. Anaerobic digestion of biowaste under extreme ammonia concentration: Identification of key microbial phylotypes[J]. *Bioresource Technology*,2016,207:92-101. DOI:10.1016/j.biortech.2016.01.124.
- [57] MOESTEDT J, MÜLLER B, WESTERHOLM M, et al. Ammonia threshold for inhibition of anaerobic digestion of thin stillage and the importance of organic loading rate[J]. *Microbial Biotechnology*,2015,9(2):180-194. DOI:10.1111/1751-7915.12330.
- [58] WANG H, FOTIDIS I A, ANGELIDAKI I. Ammonia effect on hydrogenotrophic methanogens and syntrophic acetate oxidizing bacteria[J]. *FEMS Microbiology Ecology*,2015,91(11):1-8. DOI:10.1093/femsec/fiv130.
- [59] LIU L, ZHANG T, WAN H, et al. Anaerobic co-digestion of animal manure and wheat straw for optimized biogas production by the addition of magnetite and zeolite[J]. *Energy Conversion & Management*,2015,97:132-139.
- [60] LINDORFER H, WALTENBERGER R, KÖLLNER K, et al. New data on temperature optimum and temperature changes in energy crop digesters[J]. *Bioresource Technology*,2008,99(15):7011-7019. DOI:10.1016/j.biortech.2008.01.034.
- [61] SHANMUGAM P, HORAN N J. Optimising the biogas production from leather fleshing waste by co-digestion with MSW[J]. *Bioresource Technology*,2009,100(18):4117-4120. DOI:10.1016/j.biortech.2009.03.052.
- [62] WANG Y Y, ZHANG Y L, WANG J B, et al. Effects of volatile fatty acid concentrations on methane yield and methanogenic bacteria[J]. *Biomass & Bioenergy*,2009,33(5):848-853.
- [63] GAO S, ZHAO M, CHEN Y, et al. Tolerance response to in situ ammonia stress in a pilot-scale anaerobic digestion reactor for alleviating ammonia inhibition[J]. *Bioresource Technology*,2015,198:372-379. DOI:10.1016/j.biortech.2015.09.044.
- [64] 金仁村, 黄冠男, 马春, 等. 厌氧消化工艺的氨抑制现象 [J]. *工业水处理*,2010,30(4):9-12. DOI:10.3969/j.issn.1005-829X.2010.04.003.
- [65] KELLEHER B P, LEAHY J J, HENIHAN A M, et al. Advances in poultry litter disposal technology: A review[J]. *Bioresource Technology*,2002,83(1):27-36. DOI:10.1016/S0960-8524(01)00133-X.
- [66] CALLAGHAN F J, WASE D A J, THAYANITHY K, et al. Co-digestion of waste organic solids: Batch studies[J]. *Bioresource Technology*,1999,67(2):117-122. DOI:10.1016/S0960-8524(98)00108-4.
- [67] ZESHAN, KARTHIKEYAN O P, VISVANATHAN C. Effect of C/N ratio and ammonia-N accumulation in a pilot-scale thermophilic dry anaerobic digester[J]. *Bioresource Technology*,2012,113(2):294-302. DOI:10.1016/j.biortech.2012.02.028.
- [68] EBNER J H, LABATUT R A, LODGE J S, et al. Anaerobic co-digestion of commercial food waste and dairy manure: Characterizing biochemical parameters and synergistic effects[J]. *Waste Management*,2016,52:286-294. DOI:10.1016/j.wasman.2016.03.046.
- [69] YANGINGOME C, OZTURK I. Effect of maize silage addition on biomethane recovery from mesophilic co-digestion of chicken and cattle manure to suppress ammonia inhibition[J]. *Energy Conversion & Management*,2013,71(1):92-100.
- [70] 张彬, 蒋滔, 高立洪, 等. 猪粪与玉米秸秆混合中温发酵产气效果 [J]. *环境工程学报*,2014,8(11):4991-4997.

- [71] 冯亚君, 袁海荣, 张良, 等. 玉米秸与鸡粪混合厌氧消化产气性能与协同作用 [J]. 环境工程学报, 2013, 7(4):1489-1494.
- [72] DAHUNSI S O, ORANUSI S, OWOLABI J B, et al. Mesophilic anaerobic co-digestion of poultry dropping and Carica papaya peels: Modelling and process parameter optimization study[J]. Bioresource Technology, 2016, 216:587-600. DOI:10.1016/j.biortech.2016.05.118.
- [73] HASSAN M, DING W, SHI Z, et al. Methane enhancement through co-digestion of chicken manure and thermo-oxidative cleaved wheat straw with waste activated sludge: A C/N optimization case[J]. Bioresource Technology, 2016, 211:534-541. DOI:10.1016/j.biortech.2016.03.148.
- [74] 杨安逸, 晏磊, 王彦杰, 等. 马铃薯渣与鸡粪混合原料厌氧发酵条件优化 [J]. 可再生能源, 2015, 33(3):442-447.
- [75] WU S, NI P, LI J, et al. Integrated approach to sustain biogas production in anaerobic digestion of chicken manure under recycled utilization of liquid digestate: Dynamics of ammonium accumulation and mitigation control[J]. Bioresource Technology, 2016, 205(1):75-81. DOI:10.1016/j.biortech.2016.01.021.
- [76] ABOUELENIEN F, FUJIWARA W, NAMBA Y, et al. Improved methane fermentation of chicken manure via ammonia removal by biogas recycle[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(16):6368-6373. DOI:10.1016/j.biortech.2010.03.071.
- [77] ROMERO-GÜIZA M S, ASTALS S, CHIMENOS J M, et al. Improving anaerobic digestion of pig manure by adding in the same reactor a stabilizing agent formulated with low-grade magnesium oxide[J]. Biomass & Bioenergy, 2014, 67(5):243-251.
- [78] HUANG H, HE L, LEI Z, et al. Contribution of precipitates formed in fermentation liquor to the enhanced biogasification of ammonia-rich swine manure by wheat-rice-stone addition[J]. Bioresource Technology, 2015, 175:486-493. DOI:10.1016/j.biortech.2014.10.142.
- [79] MUMME J, SROCKE F, HEEG K, et al. Use of biochars in anaerobic digestion[J]. Bioresource Technology, 2014, 164(7):189-197. DOI:10.1016/j.biortech.2014.05.008.
- [80] TIAN H, FOTIDIS I A, MANCINIE, et al. Different cultivation methods to acclimatise ammonia-tolerant methanogenic consortia[J]. Bioresource Technology, 2017, 232:1-9. DOI:10.1016/j.biortech.2017.02.034.
- [81] KOSTER I W, LETTINGA G. Anaerobic digestion at extreme ammonia concentrations[J]. Biological Wastes, 1988, 25(1):51-59. DOI:10.1016/0269-7483(88)90127-9.
- [82] CALLI B, MERTOGLU B, INANC B, et al. Effects of high free ammonia concentrations on the performances of anaerobic bioreactors[J]. Process Biochemistry, 2005, 40(3):1285-1292. DOI:10.1016/j.procbio.2004.05.008.
- [83] LÜ F, HAO L, GUAN D, et al. Synergetic stress of acids and ammonium on the shift in the methanogenic pathways during thermophilic anaerobic digestion of organics[J]. Water Research, 2013, 47(7):2297-2306.
- [84] VRIEZE J D, HENNEBEL T, BOON N, et al. Methanosarcina: The rediscovered methanogen for heavy duty biomethanation[J]. Bioresource Technology, 2012, 112(5):1-9. DOI:10.1016/j.biortech.2012.02.079.
- [85] WESTERHOLM M, LEVÉN L, SCHNÜRER A. Bioaugmentation of syntrophic acetate-oxidizing culture in biogas reactors exposed to increasing levels of ammonia[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2012, 78(21):7619-7625.
- [86] LI Y, ZHANG Y, SUN Y, et al. The performance efficiency of bioaugmentation to prevent anaerobic digestion failure from ammonia and propionate inhibition[J]. Bioresource Technology, 2017, 231:94-100. DOI:10.1016/j.biortech.2017.01.068.
- [87] TSAPEKOS P, KOUGIAS P G, VASILEIOU S A, et al. Bioaugmentation with hydrolytic microbes to improve the anaerobic biodegradability of lignocellulosic agricultural residues[J]. Bioresource Technology, 2017, 234:350-359. DOI:10.1016/j.biortech.2017.03.043.
- [88] 张万钦, 吴树彪, 郎乾乾, 等. 微量元素对沼气厌氧发酵的影响 [J]. 农业工程学报, 2013, 29(10):1-11.
- [89] BÖCK A. Selenium Proteins Containing Selenocysteine[M]. Manhattan: John Wiley & Sons Inc., 2006:1930.
- [90] BANKS C J, YUE Z, YING J, et al. Trace element requirements for stable food waste digestion at elevated ammonia concentrations[J]. Bioresource Technology, 2012, 104(1):127-135. DOI:10.1016/j.biortech.2011.10.068.
- [91] 李亚新, 董春娟, 徐明德. 厌氧消化过程中 Fe、Co、Ni 对 NH₄⁺-N 的拮抗作用 [J]. 城市环境与城市生态, 2000, 13(4):11-12.

Research progress of ammonia inhibition and counter measures during anaerobic digestion of livestock wastes

ZHANG Yuxiu¹, MENG Xiaoshan^{1,2}, WANG Yawei^{2,3}, YU Dawei^{2,3}, WEI Yuansong^{2,3,4,*}

1. School of Chemical & Environmental Engineering, China University of Mining & Technology (Beijing), Beijing 100083, China

2. State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

3. Department of Water Pollution Control Technology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract During the anaerobic digestion (AD) of livestock wastes, the accumulation of ammonia nitrogen has become a potential inhibitor for anaerobic digestion, resulting in the low efficiency and instability of the operation. Based on literature review, this study summarizes source and inhibition threshold value of ammonia nitrogen, analyzes the mechanism and factors of ammonia inhibition, and put forwards to counter measures for ammonia nitrogen inhibition according to the buffering to ammonia inhibition and the acclimation of microorganism. Hereon, the research about the characteristic of ammonia release, the control strategy based on ternary buffer system composed of ammonia-VFAs-carbonates and the microbiological mechanisms of ammonia inhibition during the AD treatment of livestock wastes should be intensified, aiming at providing technical support for improving the efficiency and stability of AD of livestock wastes in practice.

Key words livestock wastes; anaerobic digestion; ammonia inhibition; methanogens; counter measures