



东北林业大学研究生教育教学质量工程

# 环境生物技术：典型厌氧环境微生物过程

HUANJINGSHENGWUJISHU DIANXINGYANYANGHUANJINGWEISHENGWUGUOCHENG

高等学校“十二五”规划教材



市政与环境工程系列研究生教材

李永峰 李巧燕 王 兵 秦必达 著  
张国财 主审



哈爾濱工業大學出版社



东北林业大学研究生教育教学质量工程  
高等学校“十二五”规划教材 · 市政与环境工程系列研究生教材

# 环境生物技术： 典型厌氧环境微生物过程

李永峰 李巧燕 王 兵 秦必达 著  
张国财 主审

## 内容简介

本书共包括 4 篇：第 1 篇系统论述了对厌氧生物处理过程微生物、厌氧过程的有机物转化、厌氧生物处理过程的控制、厌氧生物处理工程的设计等；第 2 篇详细介绍了产甲烷菌以及相关的研究方法和在工业方面的应用；第 3 篇全面阐述了硫酸盐还原菌及在污染物去除方面的应用；第 4 篇全面分析了厌氧发酵产氢机理及其实验产氢研究。

本书可作为微生物学、环境微生物学、环境科学及工程专业的研究生或高年级本科生教材，并可供从事微生物学、环境保护等教学与科研人员参考。

## 图书在版编目 (CIP) 数据

环境生物技术：典型厌氧环境微生物过程 / 李永峰

等著. —哈尔滨：哈尔滨工业大学出版社，2014.8

(市政与环境工程系列)



I . ①环… II . ①李… III . ②厌氧微生物 - 厌氧处理  
- 高等学校 - 教材 IV . ①X703

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 134447 号

策划编辑 贾学斌

责任编辑 李广鑫

出版发行 哈尔滨工业大学出版社

社址 哈尔滨市南岗区复华四道街 10 号 邮编 150006

传真 0451-86414749

网址 <http://hitpress.hit.edu.cn>

印刷 哈尔滨市工大节能印刷厂

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 47 字数 1110 千字

版次 2014 年 8 月第 1 版 2014 年 8 月第 1 次印刷

书号 ISBN 978-7-5603-4800-1

定价 98.00 元

(如因印装质量问题影响阅读, 我社负责调换)

## 《市政与环境工程系列研究生教材》编审委员会

名誉主任委员 任南琪 杨传平

主任委员 周琪

执行主任委员 张颖 李永峰

委员(按姓氏笔画顺序排列)

马 放 王 鹏 王爱杰 王文斗 王晓昌

冯玉杰 田 禹 刘广民 刘鸣达 刘勇弟

刘晓烨 孙德志 岳莉然 李盛贤 那冬晨

刘 红 陈兆波 吴晓芙 汪大永 江群惠

张 颖 张国财 季宇彬 周雪飞 赵庆良

赵晓祥 姜 霞 郑天凌 唐 利 焦安英

徐春霞 徐菁利 黄民生 韩 伟 曾光明

楼国庭 蔡伟民 蔡体久 颜涌捷 都昌杰

## 《环境生物技术:典型厌氧 环境微生物过程》编写人员名单与分工

著 者 李永峰 李巧燕 王 兵 秦必达

主 审 张国财

编写分工 王 兵:第1篇,1~5章;

秦必达:第1篇,6~7章;

李巧燕:第2篇;

刘晓烨:第3篇;

李永峰:第4篇。

文字整理、图表制作由王安娜、杜亚曼、党煊栋、秦建欣等完成。

# 前　　言

随着人类社会的不断发展和进步,工业文明在进步的同时也给环境带来了严重的污染问题,环境污染的治理工作也就越来越受到人们的重视。尤其是水体污染,加重了中国本身就匮乏的水资源的短缺,环顾中国,人均水资源拥有量只有全世界平均水平的四分之一,所以治理水污染,开拓治理新方法、新工艺,力求解决水污染,使其资源化,迫在眉睫且任重道远。在水污染中,最受重视的是有机物的污染,其次是有关氮和磷的污染,有关硫在水体中的危害还没有引起足够的重视,但这必将成为各国的焦点问题之一。

厌氧消化是厌氧微生物以废水中构成 BOD 的有机污染物为基质,进行厌氧发酵降解的过程。在这个过程中各类菌群参与其中并各自发挥至关重要的作用。本书系统介绍了厌氧微生物的作用机理及其在各行业中的应用。

全书共分为 4 篇。第 1 篇介绍了厌氧生物处理过程微生物、厌氧过程的有机物转化、厌氧生物处理过程的控制、厌氧生物处理工程的设计等,并与厌氧处理技术有机地结合在一起。另外较全面地论述了目前国内外现有的废水厌氧生物处理工艺的工作原理、运行特性和设计方法,并详细地介绍了厌氧生物技术对含有不同有机废物的各种工业废水的处理方法;第 2 篇系统介绍了产甲烷菌以及相关的研究方法和在工业方面的应用。内容共分为八章,包括产甲烷菌的分类、生态多样性、生理特性、基因组研究,同时介绍了厌氧反应器中的产甲烷菌的多样性。另外还阐述了甲烷的产生机制,最后介绍了产甲烷菌的研究方法和产甲烷菌的工业应用。第 3 篇全面阐述了硫酸盐还原菌的分类、系统发育学、生理学、自然生态学、在厌氧处理工艺中的硫酸盐还原菌生态学,也介绍了油田中的硫酸盐还原菌的作用、危害与处理,脱硫弧菌属的分子生物学知识。第 4 篇阐述了硫酸盐还原的厌氧工艺,硫酸盐还原菌在环境污染治理中的应用,包括处理各种重金属废水、抗生素废水、青霉素废水等。第 4 篇详细分析了厌氧生物制氢的 3 种主要的不同发酵代谢类型,以及各发酵代谢类型稳定运行特征、各生态因子,如温度、pH 值、生物量等对厌氧发酵制氢产氢效能的影响,着重介绍了通过有机负荷和 pH 的变化实现乙醇型发酵的快速启动、厌氧发酵生物制氢的纯培养工艺、生物载体强化对乙醇型发酵的影响。另外还介绍了污泥强化厌氧发酵生物制氢、菌种强化厌氧发酵生物制氢、活性炭载体强化乙醇型发酵产氢效能、利用 UASB 反应器发酵制氢系统的启动和运行特征,以及 BP 神经网络并对其建模。

本书由东北林业大学、黑龙江八一农垦大学、上海工程技术大学和中国环境科学研究院

院的专家撰写。使用本教材的学校可免费获取电子课件。可与李永峰教授联系([dr\\_lyf@163.com](mailto:dr_lyf@163.com))。本书的出版得到黑龙江省自然科学基金(No. E201354)、上海市科委重点技术攻关项目(No. 071605122)、“上海市市教委重点科研项目(No. 07ZZ156)和国家“863”项目(No. 2006AA05Z109)的技术成果和资金的支持,特此感谢!

本书在撰写过程中参考了许多中外文献,尤其参阅了李永峰教授的硕士、博士论文,在此向文献作者表示诚挚的谢意。由于作者的水平有限,加之科技的发展日新月异,所以本书的内容还是不完善的,仍有不少疏漏之处,敬请广大读者及同行专业批评指正。

谨以此书献给李兆孟先生(1929年7月11日—1982年5月2日)。

作者  
2014年1月

# 目 录

## 第1篇 厌氧微生物与厌氧系统过程

第1章 废水生物处理微生物学 .....	1
1.1 发酵细菌群 .....	3
1.2 产氢产乙酸菌群 .....	6
1.3 同型产乙酸菌 .....	8
1.4 产甲烷菌及其作用 .....	11
1.5 硫酸盐还原细菌 .....	25
1.6 细菌种群间关系 .....	27
第2章 有机污染物的厌氧生物转化 .....	30
2.1 有机污染物厌氧生物转化的基本原理 .....	30
2.2 基本营养型有机物的厌氧生物降解途径 .....	35
2.3 非基本营养型有机物的厌氧生物降解途径 .....	44
2.4 有机物生物转化后的环境效应 .....	45
第3章 厌氧消化过程的控制条件 .....	47
3.1 厌氧消化过程的酸碱平衡及 pH 值控制 .....	47
3.2 温度对厌氧生物处理的影响 .....	50
3.3 厌氧消化过程中的氧化还原电位 .....	53
3.4 废水特性 .....	55
3.5 负荷率与发酵 .....	62
第4章 厌氧生物反应器 .....	64
4.1 基质降解和微生物增长表达式 .....	64
4.2 动力学基本方程 .....	67
4.3 升流式厌氧污泥床反应器(UASB) .....	69
4.4 连续流式混合搅拌反应器(CSTR) .....	76
4.5 厌氧生物膜法 .....	83
4.6 其他厌氧生物反应器 .....	90
第5章 废水厌氧处理的后处理工艺 .....	95
5.1 后处理工艺概述 .....	95
5.2 废水中病原微生物和营养物的浓度 .....	96

5.3 稳定塘的后处理 .....	97
5.4 活性污泥法后处理 .....	100
5.5 硫化物的生物氧化方法 .....	106
<b>第6章 两相厌氧生物处理工艺 .....</b>	<b>113</b>
6.1 两相厌氧工艺概述 .....	113
6.2 相的分离 .....	129
6.3 工艺的研究与应用 .....	135
<b>第7章 污泥厌氧消化处理 .....</b>	<b>148</b>
7.1 污泥的分类及性质 .....	148
7.2 污泥厌氧消化工艺流程及消化池构造 .....	164
7.3 厌氧消化系统的运行与控制 .....	186
7.4 化学物质对厌氧消化系统的影响 .....	194

## **第2篇 产甲烷菌及其工艺**

<b>第8章 产甲烷菌的分类 .....</b>	<b>204</b>
8.1 微生物的分类 .....	204
8.2 产甲烷菌的分类 .....	214
8.3 产甲烷菌的代表种 .....	222
<b>第9章 产甲烷菌的生态多样性 .....</b>	<b>226</b>
9.1 产甲烷菌的生物地球化学作用 .....	226
9.2 第一类生境 .....	229
9.3 第二类生境 .....	232
9.4 第三类生境 .....	238
9.5 第四类生境 .....	242
9.6 其他生态环境中的产甲烷细菌 .....	242
<b>第10章 产甲烷菌的生理特性 .....</b>	<b>248</b>
10.1 产甲烷菌的微生物特性 .....	248
10.2 产甲烷菌的细胞结构特征 .....	248
10.3 产甲烷菌的辅酶 .....	252
10.4 产甲烷菌的生长繁殖 .....	257
10.5 产甲烷菌与不产甲烷菌之间的相互作用 .....	263
<b>第11章 产甲烷菌的基因组研究 .....</b>	<b>267</b>
11.1 产甲烷菌基因组特征 .....	267
11.2 产甲烷菌的基因结构 .....	270
11.3 突变型 .....	272
11.4 原生质体 .....	273

11.5 基因工程.....	273
11.6 问题与展望.....	274
<b>第12章 厌氧反应器中的产甲烷菌 .....</b>	<b>276</b>
12.1 常见厌氧反应工艺.....	276
12.2 厌氧消化污泥中的产甲烷菌.....	292
12.3 厌氧颗粒污泥中的产甲烷菌.....	294
12.4 好氧活性污泥中的产甲烷菌.....	305
<b>第13章 产甲烷菌的甲烷形成途径 .....</b>	<b>306</b>
13.1 产甲烷菌的甲烷形成途径.....	306
13.2 甲烷形成过程中的能量代谢.....	316
13.3 沼气技术.....	319
<b>第14章 产甲烷细菌的研究方法 .....</b>	<b>341</b>
14.1 厌氧操作.....	341
14.2 产甲烷细菌的分离.....	347
14.3 产甲烷细菌形态观察.....	350
14.4 产甲烷细菌的保存法.....	351
14.5 产甲烷细菌的生理学特性测定.....	353
<b>第15章 产甲烷菌的工业应用 .....</b>	<b>357</b>
15.1 厌氧生物处理.....	357
15.2 煤层气开发.....	358
15.3 酿酒行业.....	359
15.4 微生物采油.....	360
15.5 生物制氢.....	361

### 第3篇 硫酸盐还原菌及其工艺

<b>第16章 概述 .....</b>	<b>366</b>
16.1 硫.....	366
16.2 硫酸盐还原菌.....	370
<b>第17章 硫酸盐还原菌的分类 .....</b>	<b>376</b>
17.1 传统分类.....	377
17.2 根据对有机物的氧化能力分类.....	384
17.3 未培养的新发现的 SRB .....	385
17.4 硫酸盐还原古菌的分类学关系.....	385
17.5 SRB 的富集、分离与鉴定 .....	386
<b>第18章 硫酸盐还原菌的系统发育学 .....</b>	<b>389</b>
18.1 分子系统发育与系统发育树.....	389

18.2 嗜温革兰氏阴性 SRB 的系统发育学研究 .....	394
18.3 嗜热革兰氏阴性 SRB 的系统发育学研究 .....	397
18.4 革兰氏阳性 SRB 的系统发育学研究 .....	398
18.5 硫酸盐还原古细菌 SRB 的系统发育学研究 .....	399
18.6 除 16S rDNA 以外遗传标记的 SRB 系统发育分析.....	400
<b>第 19 章 硫酸盐还原菌的生理学 .....</b>	<b>403</b>
19.1 硫酸盐还原菌的呼吸代谢作用.....	403
19.2 硫酸盐还原菌的电子传递蛋白.....	412
19.3 硫酸盐还原菌溶质运输和细胞能量.....	420
<b>第 20 章 硫酸盐还原菌的自然生态学 .....</b>	<b>430</b>
20.1 在生态圈中 SRB 的起源和进化 .....	430
20.2 在有机物厌氧消化过程中 SRB 的生态学 .....	431
20.3 SRB 在生物学硫循环中的作用 .....	431
20.4 自然境中硫酸盐还原菌的生物多样性及还原作用.....	433
20.5 生态因素对 SRB 的影响 .....	436
20.6 硫酸盐还原菌与其他微生物的种间关系.....	437
<b>第 21 章 废水处理工艺中硫酸盐还原菌的生态学 .....</b>	<b>440</b>
21.1 厌氧处理工艺中的 SRB .....	440
21.2 厌氧处理工艺中 SRB 与其他微生物的种间关系 .....	443
21.3 厌氧处理工艺中影响 SRB 的生态因子 .....	449
21.4 SRB 对底物的利用规律 .....	457
21.5 生物膜反应器中 SRB 的分布 .....	460
<b>第 22 章 油田硫酸盐还原菌分子生态学 .....</b>	<b>462</b>
22.1 油田概述.....	462
22.2 油田中的硫酸盐还原菌的检测方法.....	467
22.3 油田中 SRB 的危害 .....	470
22.4 油田中 SRB 的生态调控抑制 .....	472
22.5 工业设备控制.....	475
<b>第 23 章 脱硫弧菌属的分子生物学 .....</b>	<b>479</b>
23.1 脱硫弧菌属概述.....	479
23.2 脱硫弧菌的遗传学.....	481
23.3 脱硫弧菌属的氧化还原活性金属蛋白.....	485
<b>第 24 章 硫酸盐还原菌在废水治理中的应用 .....</b>	<b>489</b>
24.1 硫酸盐还原的厌氧工艺.....	489
24.2 应用硫酸盐还原菌技术处理废水.....	501

24.3 通过混合培养和纯培养 SRB 来代谢环境污染物 .....	508
<b>第 25 章 复合硫酸盐还原菌法去除污染物的原理 .....</b>	<b>513</b>
25.1 复合硫酸盐还原菌 .....	513
25.2 复合硫酸盐还原菌法去除铬的原理 .....	515
25.3 复合硫酸盐还原菌法去除废水中的砷 .....	520
25.4 微生物去除其他重金属离子 .....	523
<b>第 4 篇 厌氧发酵生物制氢系统</b>	
<b>第 26 章 生物能源 .....</b>	<b>526</b>
26.1 能源 .....	526
26.2 生物能源 .....	534
<b>第 27 章 厌氧生物处理技术及工艺 .....</b>	<b>543</b>
27.1 厌氧生物处理概述 .....	543
27.2 有机物的厌氧生物降解过程 .....	544
27.3 厌氧生物处理技术的发展概况 .....	545
27.4 厌氧生物处理工艺进展 .....	545
27.5 厌氧生物发酵制氢的研究进展及应用 .....	552
<b>第 28 章 生物制氢原理 .....</b>	<b>555</b>
28.1 生物制氢概述 .....	555
28.2 生物制氢技术的主要研究方向 .....	556
28.3 厌氧发酵生物制氢的产氢机理 .....	559
28.4 厌氧发酵法生物制氢工艺概述 .....	560
28.5 厌氧发酵生物制氢技术的发展现状 .....	567
<b>第 29 章 厌氧生物制氢的发酵类型及其运行特征 .....</b>	<b>572</b>
29.1 乙醇型发酵及其运行特征 .....	573
29.2 丁酸型发酵及其运行特征 .....	577
29.3 丙酸型发酵及其运行特征 .....	582
29.4 混合酸发酵产氢途径 .....	585
29.5 结论 .....	585
<b>第 30 章 厌氧发酵生物制氢系统的混合培养工艺 .....</b>	<b>586</b>
30.1 厌氧发酵生物制氢的生态因子分析 .....	586
30.2 乙醇型发酵和丁酸型发酵的产氢能力及运行稳定性分析 .....	591
30.3 乙醇型发酵制氢工艺快速启动的定向调控 .....	595
30.4 结论 .....	605
<b>第 31 章 厌氧发酵生物制氢的纯培养工艺 .....</b>	<b>606</b>
31.1 纯培养发酵法生物制氢工艺 .....	606

31.2 纯菌种 R3 厌氧发酵生物制氢 .....	609
31.3 厌氧发酵连续流纯菌种 R3 生物制氢 .....	613
31.4 纯菌种 R3 连续流生物制氢 .....	613
31.5 底物浓度变化对反应器的影响.....	617
31.6 结 论.....	619
<b>第 32 章 生物载体强化对乙醇型发酵的影响 .....</b>	<b>621</b>
32.1 生物载体强化技术在生物制氢领域的应用.....	621
32.2 生物强化技术的应用现状.....	623
32.3 CSTR 生物制氢反应器悬浮生长系统的运行特性 .....	625
32.4 生物载体强化附着生长系统乙醇型发酵制氢工艺的定向调控.....	632
32.5 有机负荷对厌氧发酵制氢系统产氢效率的影响.....	638
32.6 生物强化技术在其他领域的应用.....	646
32.7 结 论.....	646
<b>第 33 章 生物制氢反应系统的生物强化技术研究 .....</b>	<b>648</b>
33.1 生物强化的主要控制参数.....	648
33.2 生物强化的作用效果分析.....	654
33.3 结 论.....	659
<b>第 34 章 污泥强化厌氧发酵生物制氢 .....</b>	<b>660</b>
34.1 强化污泥的工程控制.....	660
34.2 强化污泥的研究装置.....	660
34.3 强化污泥对产气量及产氢量的影响.....	661
34.4 强化污泥对液相末端产物的影响.....	662
34.5 强化污泥对化学需氧量(COD)去除率的影响 .....	663
34.6 强化污泥对 pH 值和 ORP 的影响 .....	664
34.7 结 论.....	665
<b>第 35 章 菌种强化厌氧发酵生物制氢 .....</b>	<b>666</b>
35.1 产氢菌的投加方式对强化发酵菌群产氢的影响.....	666
35.2 发酵生物制氢反应器的产氢菌生物强化作用研究.....	670
35.3 结 论.....	675
<b>第 36 章 活性炭载体强化乙醇型发酵产氢效能的研究 .....</b>	<b>676</b>
36.1 非固定化 CSTR 系统的产氢运行操作 .....	676
36.2 固定化 CSTR 系统的产氢运行效能 .....	682
36.3 结 论.....	689
<b>第 37 章 UASB 生物制氢 .....</b>	<b>690</b>
37.1 UASB 生物制氢反应器的启动 .....	690

37.2 UASB 生物制氢反应器稳定运行的特征 .....	694
37.3 基于 BP 神经网络的 UASB 系统建模 .....	699
37.4 结 论.....	704
<b>第 38 章 氢气的制备、纯化 .....</b>	<b>706</b>
38.1 氢气的制备.....	706
38.2 氢气的纯化.....	717
<b>第 39 章 氢气的贮运 .....</b>	<b>720</b>
39.1 氢气的储存.....	720
39.2 氢气的储存技术.....	720
39.3 储氢合金的优缺点.....	722
39.4 非金属氢化物储存.....	722
39.5 储氢研究动向.....	723
39.6 氢气的运输.....	726
39.7 氢气运输小结.....	728
<b>参考文献 .....</b>	<b>733</b>

# 第1篇

## 厌氧微生物与厌氧系统过程

本篇提要：本篇分别对厌氧生物处理过程微生物、厌氧过程的有机物转化、厌氧生物处理过程的控制、厌氧生物处理工程的设计等进行了全面论述和介绍，并与厌氧处理技术有机地结合在一起。本篇不仅详细阐述了厌氧消化的基础理论，而且较全面地论述了目前国内外现有的废水厌氧生物处理工艺的工作原理、运行特性和设计方法，并详细介绍了厌氧生物技术对含有不同有机废物的各种工业废水的处理方法。

### 第1章 废水生物处理微生物学

国际上称有机废水的厌氧生物处理为厌氧消化，中国习惯称之为沼气发酵，前者侧重于有机物的厌氧分解，后者侧重于沼气的生产。早在 4000 多年以前，天然气就作为燃料在我国四川省大范围应用；在西方，古罗马时期就记载了地下冒出天然气的现象。因为天然气中 95% 的成分是甲烷，所以最初的天然气形成可能是植物和其他有机物发酵形成的。1630 年，Van Helment 记述了 15 种气体，其中的一种可燃气体是由有机物腐烂产生的，同时在动物肠道内也存在这种气体。1776 年，意大利物理学家 Alexander Valta 发现沼泽中可产生可燃气体，他发现当用木棍搅动湖底沉淀物时，有许多气泡冒出水面，他认为这种气体与湖泊底部的沉积物腐烂分解有关，他分析了气体成分，了解到这种气体可以燃烧。这篇文章成为研究甲烷气体来自植物体分解的最早的文章，人们将这种自然界的可燃气体称为 Valta 气体。1808 年，Humphrey Davy 在实验室里将牛粪产生的沼气收集起来并保存在真空的曲颈瓶里，对其进行研究。

早在 1676 年，荷兰人 Anthony Van Leeuwenhoek 就用自制的单片显微镜观测到了污水、牙垢、腐败有机物中的细菌，并称之为“微动体”，但并未引起广泛关注。直到 1857 年，法国人 Louis Pasteur 通过曲颈瓶实验彻底推翻了以往生命的自然发生说，确立了胚种学说，该学说称：细菌的存在是物体腐败的真正原因。根据这个理论，Pasteur 利用富集培养物进行酒精发酵、乳酸发酵、醋酸发酵等，并得出“不同的发酵产物是由不同的细菌引起的”这一结论。有了这个理论基础，1868 年，Pasteur 的学生 Bechamp 第一个指出，甲烷的产生也是由微生物作用引起的，他还发现，用乙醇作为唯一碳源，碳酸盐作为缓冲剂的厌氧富集物中可以产生甲烷。这是甲烷产生于简单有机物的第一个证据。随后，在 1875 年，俄国学者 Popoff 将纤维素混入污泥中，同样产生了甲烷。1882 年，Tappeiner 花了很长时间研究反刍动物的

消化物,进一步证明了甲烷来自于微生物。他将3个相同的植物材料与反刍动物肠道微生物一起培养,一个培养物中加入防腐剂阻止细菌生长,但不影响可溶性酶;第二个培养物经过高温煮沸,杀死细菌和酶;第三个则不做任何处理。结果发现,只有未做处理的培养物有甲烷产生。

但是由于当时的微生物学技术有限,没人能将发酵液中的菌种分离。直到1906年,Sohngen培养出一种八叠球菌和杆状细菌的共生培养物,遗憾的是他未能将它们进一步分离鉴定。Delft理工大学博士Schnellen继续了Sohngen的工作,分离出两个纯种——甲烷八叠球菌属和甲烷杆菌属,将其命名为*Methanosaerina barker* 和 *Methanobacterium formicicum*。不过,虽然人们清楚了厌氧消化过程中产生的甲烷来自微生物,但对产甲烷菌以及它们的生理生化特性仍一无所知。

1967年,Bryant发现乙醇转化为甲烷的过程并非人们以往认为的那样由一种微生物完成,而是由两种共生菌一起完成的。其中一种微生物先把大分子乙醇转化为乙酸和氢气,另一种微生物再利用氢气把二氧化碳转化为甲烷。这个发现表明能够被产甲烷微生物利用的底物种类是有限的,其主要种类包括乙酸、氢气、碳酸氢盐、甲醛和甲醇。

今天我们知道,产甲烷微生物在亲缘关系上既不属于真核生物,也不属于原核生物。人们把它们归于与原核生物极其接近的古细菌。古细菌在分子生物学角度明显区别于原核生物,尤其是在DNA组成方面。产甲烷细菌的细胞壁组成也与其他细菌不同。由于细胞壁中不含胞壁酸,产甲烷菌对作用于细胞壁的高效抗菌素,如青霉素、右旋环丝氨酸、万古霉素、头孢菌素等均不敏感。而最令人感兴趣的是产甲烷菌具有从底物转换为甲烷过程中获得能量的能力,也有一些其他细菌虽然能产生甲烷,但它们不能从产甲烷过程中获取能源。

厌氧消化是一种普遍存在于自然界的微生物过程,凡是在有水和有机物存在的地方,在氧气不足或有机物含量过多的情况下,就存在厌氧消化。厌氧消化常发生在沼气淤泥,海底、湖底和江湾的沉积物,污泥和粪坑,牛及其他一些反刍动物的瘤胃,废水及污泥的厌氧处理构筑物等地方。厌氧消化使有机物经厌氧分解而产生CH<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>S等气体。

厌氧消化是一种多菌群多层次的厌氧发酵过程,有些种群之间呈互营共生性,培养分离和鉴定细菌的技术难度非常大,所以尽管厌氧消化普遍存在,但人们对这一过程的研究和认识仍有很大的局限性。

厌氧消化系统有稳定和不稳定之分。当进行间歇性发酵(一次性加料发酵)时,随着最初基质不断向中间产物转移,当中的微生物组成及优势种群也随之不断更替,形成不稳定生态系统;当进行连续发酵(连续进料和排料)时,由于基质组成和环境条件基本稳定,微生物组成及优势种群也相对稳定,从而形成比较稳定的生态系统。理论上讲,稳定的厌氧消化生态系统易于研究厌氧消化微生物种群,但由于发酵原料的组成和控制发酵条件的实际情况千差万别,加之接种物的来源亦不尽相同,给厌氧微生物种群的研究带来很大的困难。

在厌氧消化系统中,细菌是数量最多、作用最大的微生物。细菌以厌氧菌和兼性厌氧菌为主,参与有机物逐级降解的细菌依次为水解发酵细菌、产氢产乙酸细菌、产甲烷细菌三大类群,另外还存在一种同型产乙酸细菌,它们能将产甲烷菌的一组基质CO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>横向转化为另一种基质CH<sub>3</sub>COOH。在某些系统(如城市污泥消化系统)中,也能观察到数量庞大的好氧菌,可能是随进料带入消化系统的。真菌(主要是丝状真菌和酵母)虽然也能存活,但数量较少,作用尚不十分清楚;藻类和原生动物偶有发现,但数量稀少,作用不大。

根据有机物在厌氧消化过程中的3个转化阶段以及参与的微生物种群,可将厌氧消化过程做如下理解:

首先,蛋白质、纤维素、淀粉、脂肪等不溶性的大分子有机物经水解酶的作用,在溶液中分解为水溶性的小分子有机物(如氨基酸、脂肪酸、葡萄糖、甘油等)。而后,发酵细菌摄入这些小分子水解产物,经一系列生化反应后生成代谢产物并将之排出体外。由于发酵细菌种群有别,代谢途径各异,所以代谢产物也各不相同。在多种代谢产物中,能够被产甲烷菌直接吸收利用的包括无机产物CO、H<sub>2</sub>以及有机产物甲酸、甲醇、甲胺和乙酸,产甲烷菌将这些产物转化为CH<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>,其他多碳类代谢产物,如丙酸、丁酸、戊酸、己酸、乳酸等有机酸以及乙醇、丙酮的有机物则不能被产甲烷菌直接利用,必须经过产氢产乙酸菌进一步转化为氢和乙酸之后,才能被产甲烷菌吸收利用,转化为甲烷和二氧化碳。

## 1.1 发酵细菌群

厌氧消化反应器内的发酵性细菌是指在厌氧条件下,将多种复杂有机物水解为可溶性物质,并将可溶性有机物发酵生成乙酸、丙酸、丁酸、氢和二氧化碳的菌类。因此,也有人称发酵细菌为水解发酵性细菌或产氢产酸菌。

### 1.1.1 发酵细菌的种类

厌氧处理污水中的有机物种类繁多,生物大分子物质包括碳水化合物(淀粉、纤维素、半纤维素和木质素等)、脂类、蛋白质和其他含氮化合物。因此发酵细菌是一个庞大而复杂的细菌群,已研究过的就有几百种。在中温厌氧消化过程中,有梭状芽孢杆菌属(*Clostridium*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、丁酸弧菌属(*Butyrivibrio*)、真细菌属(*Eubacterium*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)和螺旋体等属的细菌。在高温厌氧消化器中,有梭菌属和无芽孢的革兰氏阴性杆菌。还存在一些链球菌和肠道菌等兼性厌氧细菌。菌群主要包括纤维素分解菌、木聚糖(半纤维素)分解菌、果胶分解菌、淀粉分解菌、木质素分解菌、脂肪分解菌、蛋白质分解菌等。

#### 1. 纤维素分解菌

地球上每年光合作用产物以干重计算约为150×10<sup>9</sup>t,其中近一半是纤维素和木质素。这些纤维素除少量被燃烧外,绝大部分被微生物分解。

好氧条件下,纤维素易被细菌和真菌分解。自从Hungate厌氧技术发明之后,首先从瘤胃中分离到多株厌氧纤维素分解菌,多数为革兰氏染色阴性无芽孢杆菌和革兰氏染色阳性球菌。琥珀酸拟杆菌(*Bacteroides succinogenes*)是Hungate分离到的第一个重要的纤维素分解菌,后来又有包括Stesarl在内的许多学者分离过此菌,并对该菌的生理学特性进行了详细研究。瘤胃中的另一个数量较大的纤维素分解菌是溶纤维丁酸弧菌(*Butyrivibrio fibrisolvens*)。重要的球菌是金黄瘤胃球菌(*Ruminococcus flatefaciens*)和白色瘤胃球菌。瘤胃中还分离到梭状芽孢杆菌的洛氏梭菌(*C. lochheadii*)、长孢梭菌(*C. longisporum*)和产纤维二糖梭菌(*C. cellobioparus*),这些细菌在瘤胃中的数量并不多。除此之外,从瘤胃中还分离到为数不多的溶纤维真杆菌(*Eubacterium cellulosoliens*)和嗜热的梭菌。

有些纤维素分解菌为专性厌氧菌,适宜弱酸或弱碱的酸碱环境(pH值为6.5~7.7),适

宜温度为 20 ~ 40 °C, 发酵纤维素、纤维二糖和葡萄糖产生氢气、二氧化碳、乙酸和少量乙醇、丙醇和丁醇。发酵纤维素的过程可能会有纤维二糖和葡萄糖的积累, 当纤维二糖过量存在时, 一种易与碘结合的多糖便会在培养基中积累, 饥饿时这种多糖就可被代谢。

### 2. 木聚糖(半纤维素)分解菌

木聚糖也称为半纤维素, 是一种戊糖或己糖与糖醛酸的多聚物。因为木聚糖在结构上与纤维素无关, 所以“半纤维素”的名称已经停止使用。木聚糖是植物细胞壁的主要成分之一, 一年生植物的多聚体含量很高, 占干重的 10% ~ 20% 左右, 玉米秸和穗轴中的木聚糖高达 30% 左右。

木聚糖可被许多真菌和细菌直接好氧分解, 最终被氧化为二氧化碳和水。在厌氧条件下, 从瘤胃中发现主要的木聚糖分解菌是革兰氏阴性的、不生芽孢的杆菌和球菌。如瘤胃生拟杆菌 (*Bacteroides ruminicola*)、溶纤维拟杆菌 (*B. fibrisolvens*) 和溶纤维丁酸弧菌 (*Butyrivibrio fibrisolvens*) 都可以水解木聚糖, 并利用水解产物 D - 木聚糖作为碳源和能源。

木聚糖的分解速度比纤维素快, 能分解纤维素的生物大多数也能分解木聚糖, 而有许多不能分解纤维素的微生物却能分解木聚糖, 因此参与木聚糖分解过程的微生物种类及数量要多于分解纤维素过程。

### 3. 果胶分解菌

果胶是一种复杂的植物多糖, 存在于所有植物的细胞壁和细胞间质中, 用来粘连相邻的细胞, 薄壁组织中含有丰富的果胶, 但木质部的果胶含量较少。在植物残体中的干物质中, 果胶占 15% ~ 30%。分解果胶的好氧菌种类繁多, 瘤胃中分解果胶的细菌有多毛螺菌 (*Lachnospira mutiparus*)、溶纤维素拟杆菌 (*B. fibrisolvens*)、瘤胃生拟杆菌、产琥珀酸拟杆菌 (*B. succinogenes*)、瘤胃螺旋体和大的瘤胃密螺旋体。

### 4. 淀粉分解菌

淀粉是高等植物能量贮存的主要方式。瘤胃中许多微生物利用淀粉作为唯一能源。瘤胃中主要的淀粉水解菌是嗜淀粉拟杆菌 (*B. amylophilus*), 它对淀粉颗粒有很强的附着能力。其他瘤胃中水解淀粉的细菌还包括牛链球菌 (*Streptococcus bovis*)、反刍形单孢菌 (*Selemomona ruminantium*)、溶淀粉琥珀酸单孢菌 (*Succinomonas amyloyticu*)、瘤胃生拟杆菌 (*B. ruminicola*)、瘤胃螺旋体及原生动物等。

### 5. 木质素分解菌

木质素是植物体的重要组成部分, 其含量仅次于纤维素和木聚糖。木材中木质素的含量约占 18% ~ 30%。木质素包埋在植物组织中, 位于细胞壁次生层内。木质素是生物降解最慢的植物组分, 它有一个复杂的二维结构环状化合物的聚合物, 以苯丙烷为基础, 主要以  $\beta$ -联苯基醚键连接的无规律结构, 这种结构使其难以酶解, 所以通常认为木质素抗厌氧微生物降解。由于木质素渗入到纤维素和木聚糖的组织结构中, 使得被它包埋的纤维素和木聚糖的分解也变得困难。

目前关于厌氧降解木质素的微生物研究不多, 已经分离到两种类型能分解芳香族化合物的细菌。一类是能运动的革兰氏阴性杆菌, 与利用氧的细菌协作可完成苯甲酸盐的降解, 产物为甲酸、乙酸、二氧化碳和氢; 另一类则是不要求利用氢的细菌的协作, 可单独降解环状化合物的革兰氏阴性无芽孢的杆状厌氧菌。