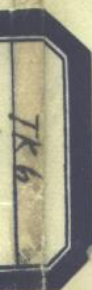


国外沼氣

第一集

科学技术文献出版社重庆分社



国外沼 气

第一集

农牧渔业部沼气办公室
中国沼气协会 编辑
中国科学技术情报研究所重庆分所
科学技术文献出版社重庆分社 出版
重庆市市中区胜利路91号
新华书店重庆发行所 发行
科学技术文献出版社重庆分社印刷厂 印刷

开本: 787×1092毫米1/16 印张: 5.75 字数: 15万

1984年8月第一版 1984年8月第一次印刷

科技新书目: 81-230 印数: 4900

书号: 16176-75 定价: 4.00元

国 外 沼 气

一九八四年

第一集

目 录

厌氧消化中微生物的中间代谢.....	J. G. Zeikus (1)
废物在厌氧系统中消化性能的分类.....	P. Pipyn 等 (8)
连续膨胀厌氧消化法.....	D. T. Hill 等 (14)
新型消化器和气体设备.....	宇 美史郎 (21)
厌氧消化工艺——NEFAH.....	U. Marchaim 等 (27)
一个采用有效设备和工艺的奶牛场消化器的运行情况.....	
.....	E. Coppingre 等 (34)
1-碳和2-碳卤代脂族有机化 合物在产甲烷条件下的转化.....	
.....	E. J. Bouwer 等 (46)
添加生物催化剂的厌氧污泥消化.....	S. Ghosh 等 (54)
沼气发电系统.....	高桥宏等 (65)
联邦德国农业研究中心沼气研究 计划.....	W. Baader (89)
联合国亚太经社会等开会制订“生物甲烷化系 统 报导准则”.....	
.....	徐曾符 (75)

厌氧消化中微生物的中间代谢

J. G. Zeikus

(威斯康辛大学, 细菌学研究室)

摘 要

在有机废物有效降解成甲烷时需要不同微生物群的协调的代谢作用。介绍生理和生化实验的结果是为了说明在消化过程中混合培养物代谢的基础和鉴定影响有机物降解速率关键的控制参数、还原性代谢产物的产量和热力学效应。

引 言

有机物有效地消化成甲烷需要不同种类的分解代谢碳的厌氧细菌的复合和协调的代谢作用。从厌氧消化器中至少已经分离出四种不同类型的营养型细菌, 这些细菌根据发酵的基质和生成的代谢终产物能明显地认辨^[1]。在厌氧消化中四种代谢群包括(见图1): (I) 水解性细菌群, 它们发酵各种复杂有机分子(即多糖类、脂类和蛋白质)成为种类很广泛的终产物(即乙酸, H_2/CO_2 , 一碳化合物和大于乙酸的有机酸和大于甲醇的中性化合物); (II) 产氢产乙酸细菌群, 这群包括专性和兼性厌氧细菌, 它们能发酵大于乙酸的有机酸(如丁酸盐、丙酸盐)和大于甲醇的中性化合物(如丁醇、丙醇)为 H_2 和乙酸; (III) 同型产乙酸细菌, 它们将很广泛的多碳或一碳化合物发酵成乙酸; (IV) 产甲烷细菌, 它们发酵 H_2/CO_2 和一碳化合物(即甲醇、CO、甲基胺)和乙酸成甲烷。

在厌氧消化中产甲烷细菌扮演着关键性的作用, 因为它们的独特的代谢作用控制着有机物降解的速率和通过去除中间代谢的有

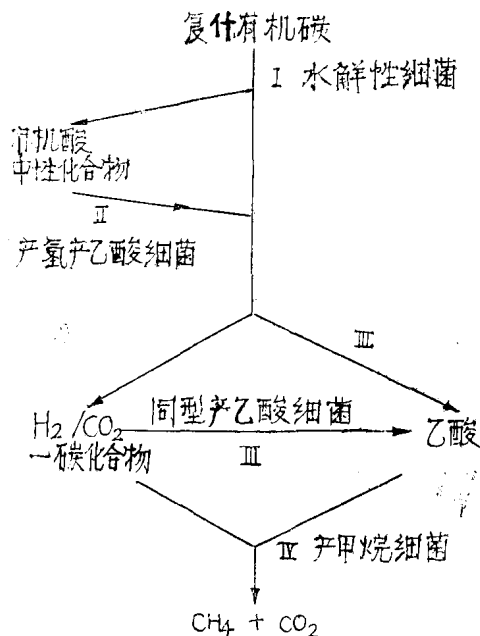


图1 在厌氧消化中微生物群的代谢特性

毒物质和加强种间中间代谢的热力学效应指导着碳素和电子的流向^[1]。厌氧消化过程本质上类似于一个不同碳素代谢反应乐队, 由产甲烷菌所指挥。

本文的目的是用测定各种代谢因子, 了解厌氧消化的中间代谢, 这些因子控制着在与沼气生产细菌的纯培养和混合培养发酵中有机物降解速率, 碳素和电子流及热力学效应。有希望的是, 这种基本方法将鉴定控制

参数, 这些参数被用来改进产甲烷的过程和厌氧消化过程。在这里仅限于复习我的实验室最近的研究数据, 这些数据已经或将被比较详细地介绍在其它出版的文献中^[2-20]。

产甲烷细菌的代谢

产甲烷菌利用小分子和大分子(即细胞壁、脂类、DNA、RNA、蛋白质)的各种细菌群。然而产甲烷菌的代谢研究仅限于二种细菌, 嗜热自养甲烷杆菌和巴氏甲烷八叠球菌^[6]。嗜热自养甲烷杆菌是最多种产甲烷菌, 但它利用有限的基质范围; 它生长在 H_2/CO_2 上的倍增时间仅为2小时, 在单独的 CO 上生长缓慢。巴氏甲烷八叠球菌在代谢基质上为最广泛的产甲烷菌, 在 H_2/CO_2 、甲醇或甲基胺上生长迅速, 但在乙酸盐或一氧化碳^[6]为唯一能源时生长很慢。

巴氏甲烷八叠球菌和嗜热自养甲烷杆菌能在以 S^{2-} 作为硫源和 NH_4^+ 作为氮源的矿质培养基上自养生长。二者缺少谷氨酸脱氢酶, 但能通过谷氨酸合成酶同化氨。值得注意的是, 当在含有高浓度氨(即 $>10mM$)的培养基上生长时, 嗜热自养甲烷杆菌使用丙氨酸脱氢酶作为同化作用的机制, 并在低能量条件下生长得到有效代谢的结果^[4]。这些菌种有机营养物的利用还没有很好的描述。然而, 嗜热自养甲烷杆菌能利用半胱氨酸作为唯一的硫源^[4]。二者似乎应用化学渗透的原理。当生长时结合电子输送产生质子电动势的氧化还原反应来合成ATP以储存能量^[8]。在这点上, 巴氏甲烷八叠球菌当代谢甲醇时, 转位膜的电位(即 ΔH)是 2.2 ± 0.2 单位(相当于 $32^\circ C$ 下 $132mV$)。

巴氏甲烷八叠球菌在适宜的培养下, 即在含有甲醇的培养基相继移到以乙酸盐为唯一碳源和能源的培养基上生长的生长曲线见图2。适宜于乙酸盐的菌株的倍增时间在甲醇上(19小时)比在乙酸盐上(49小时)要快得多。很显然, 巴氏甲烷八叠球菌限制生长

速率的步骤是乙酸盐的代谢。值得注意的是, 当培养物进入生长的稳定期后很久, 乙酸盐继续明显地消耗。在乙酸盐和甲醇上, 指数生长期计算细胞的收量相似(约3.9克/消耗克分子基质), 表明二种基质具有相类似的能量储存机制。当适宜于乙酸盐的巴氏甲烷八叠球菌菌株, 在用乙酸盐为唯一的碳源和电子源的矿质培养基上生长时, 在整个生长过程中 ^{14}C -2乙酸盐同时以显著的速率被转化为 $^{14}CO_2$ 和 $^{14}CH_4$ ^[5]。 CH_4 和 CO_2 形成的比例是接近一致的。此外, ^{14}C -1和 ^{14}C -2乙酸盐同时被转化为 $^{14}CH_4$ 和 $^{14}CO_2$ 。当乙酸盐发酵中大约形成14%的 CO_2 来源于乙酸盐或甲基碳和14%的甲烷来源于羧基。反之86%

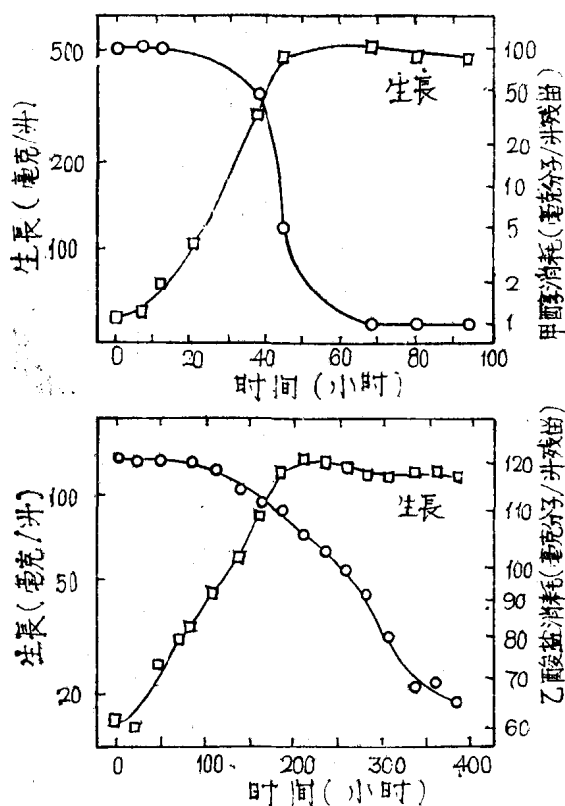


图2 巴氏甲烷八叠球菌(适宜乙酸盐的菌株)从甲醇(A)和乙酸盐(B)为单一营养的发酵作用

条件: 试验在大玻璃瓶内进行, 瓶内含有15升的PBB培养液, 或用100毫克分子甲醇, 或120毫克分子乙酸钠, 气相为 N_2 , 1500毫升的细胞接种物预先生长在甲醇(A)或乙酸盐(B)上。培养物在 $37^\circ C$ 下测定搅拌速率下培养^[5]。

的 CO_2 从乙酸盐的羧基上产生和86%的甲烷由甲基分子上产生。

适宜于乙酸盐的巴氏甲烷八叠球菌菌株,当单一营养的混合营养生长时产生甲烷和二氧化碳的速率常数(K)随“比基质浓度”而变化^[5]。在50毫克分子基质浓度条件下,当单独营养生长乙酸盐代谢的速率明显地低于甲醇代谢的速率。很明显巴氏甲烷八叠球菌是能够同时代谢乙酸盐和甲醇的。在每一基质浓度50毫克分子,从乙酸盐和甲醇的混合营养产甲烷的速率常数比50毫克分子基质单一营养代谢明显地增加。另外甲醇明显地增加从 ^{14}C -2乙酸盐产生 CO_2 的速率,此现象由几个不同的研究者所报导。甲醇的较高浓度(即150毫克分子)呈现出毒性和阻止从甲醇和乙酸盐二者的产甲烷速率。很显然,巴氏甲烷八叠球菌的乙酸盐代谢不是受甲醇抑制的分解代谢,而是微生物经过二种基质的同时代谢作用,得到显著的代谢效率和增强了产甲烷速率。

适宜乙酸盐的巴氏甲烷八叠球菌菌株似乎显著地不同于从自然界甲醇基质上分离的野生型菌株(即MS或UBS菌株),因为它有单独在作为碳源和能源的乙酸盐上生长的能力。对适宜乙酸盐的菌株和MS新型菌株的氧化还原酶作比较表明,二者有相同水平的丙酮酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶,但仍缺少 α -酮脱氢酶,这说明不完全的三羧酸循环。很

显然 CO 脱氢酶活性在适宜乙酸盐的菌株中增长五倍。很有趣的是,虽然巴氏甲烷八叠球菌的野生型菌株不能单独在乙酸盐上生长,当生长在 H_2/CO_2 上时它们能代谢乙酸盐为甲烷,但比适宜乙酸盐菌株的速率明显地减慢(5倍)。

图3表示巴氏甲烷八叠球菌对乙酸盐分解代谢的碳流模型,这个模型能说明上面观察的结果。这假说的图式要求乙酸盐和甲醇代谢统一的途径,因为它使结合一碳位的载体替代游离碳中间物。显而易见,最初甲醇和乙酸盐的转换与不同的甲基载体(即 X_1 或 X_2)有关。这个统一氧化途径能解释在甲醇存在下从C-2乙酸盐增加 CO_2 的产量。括弧内是当在乙酸盐上单一营养生长的总碳平衡部分的数值。形成甲烷可能有二个途径。第一途径和1956年巴氏描述的途径相一致,有85%的甲烷形成。第二途径为氧化还原过程,包括C-2乙酸盐的氧化作用和一个甲酰中间物或 CO_2 还原成甲烷。为了今后的试验,一个重要的假说是, CO 脱氢酶的功能是裂解乙酸盐为 $\text{CH}_3\text{-X}$ 和 HOOC-Y 。这个反应是为嗜热乙酸梭菌 CO 脱氢酶作用建议的相反方向。在适宜乙酸盐的巴氏甲烷八叠球菌菌株中有很高水平的 CO 脱氢酶,支持了这种酶的分解代谢的功能。巴氏甲烷八叠球菌内含有高水平的类咕啉^[2]。碘丙烷为类咕啉的拮抗物质,它是巴氏甲烷八叠球菌的乙酸盐代谢的最潜在抑制剂^[3]。根据这些发现和Thauer及其合作者的工作表明 CO 脱氢酶是 B_{12} 伴生的酶,在这里诱使支持对Stadman在1967年提出的建议在巴氏甲烷八叠球菌产生甲烷时 B_{12} 起甲基载体的作用。

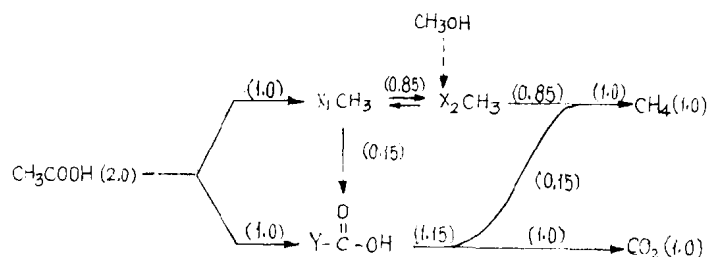


图3 与巴氏甲烷八叠球菌(适宜乙酸盐的菌株)对单一营养乙酸盐分解代谢相一致的假设碳流模型

括弧内数字表示碳流克分子分解代谢的部分。 X_1 及 X_2 表示甲基载体。 Y 是甲酰中间产物。大约85%的乙酸盐脱羧为 CH_4 和 CO_2 。15%是通过包括甲基氧化和羧基还原成甲烷的途径被分解代谢的,加入甲醇经过同样途径导致C-2乙酸盐氧化作用和甲醇的氧化作用^[5]。

同型产乙酸细菌的代谢

同型产乙酸细菌具有很高代谢作用热力学效应,当生长

在多碳化合物上时结果不形成 H_2 和 CO_2 。同型产乙酸细菌的中间代谢仅在嗜热乙酸梭菌有较好的描述，一般认为它单独在一碳化合物上不能生长。

嗜甲基丁酸杆菌 (*Butyribacterium methylotrophicum*) 似乎为一种特殊的同型产乙酸菌，因为它能生长在不同的多碳化合物(如己糖、乳酸和丙酮酸)上和一碳化合物(如 H_2/CO_2 ，甲醇/ CO_2)上，除了在乙酸盐是唯一终产物时形成 H_2/CO_2 外，在大多数基质上形成丁酸盐和乙酸盐的混合物。这种微生物最近才被分离出来，而且特征上作为一种完全新的种，不同于粘液真杆菌(*Eubacterium limosum*)，因为它产生对热有拮抗性的孢子，能保存生活力数年^[8]。

图4表示嗜甲基丁酸杆菌 (Marburg 菌株) 在含有甲醇/乙酸盐/ CO_2 的培养基上的发酵时间过程。在这些条件下Marburg菌株的倍增时间为9小时，而且每消耗10克分子甲醇和2克分子 CO_2 形成一克分子丁酸盐。在控制最初 CO_2 或乙酸盐浓度下，该菌生长在甲醇上能产生或利用乙酸盐。

嗜甲基丁酸杆菌 (Marburg 菌株) 当 CO 加入气相时，发酵产生乙酸，不形成丁酸^[9]。很显然通过在甲醇- CO 培养基上一系列移植

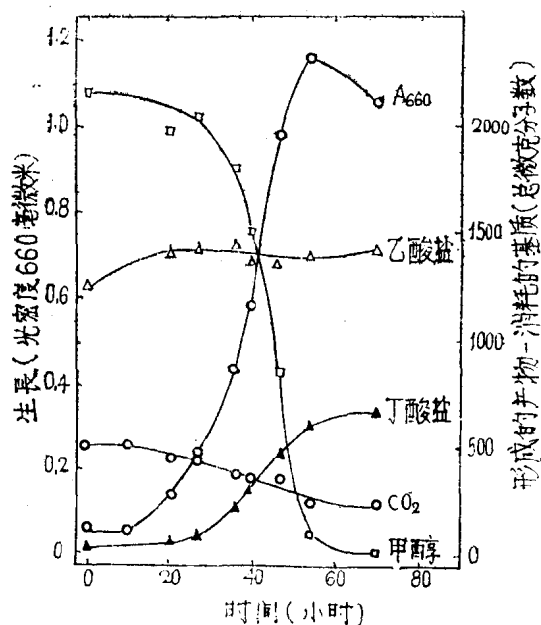


图4 嗜甲基丁酸杆菌生长在甲醇上发酵的时间过程

结果是最初含有51毫升PB培养基，48毫克分子浓度的甲醇和56毫克分子浓度的乙酸盐和872毫克分子的 CO_2 的158毫升并的四个重复平均数的结果。

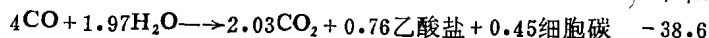
能在单独 CO 上生长后，选育出嗜甲基丁酸杆菌的一个菌株(即 CO 菌株)^[9]。该 CO 菌株在 CO 上生长迅速，倍增时间为9小时，而且形成 CO_2 和乙酸盐为终产物。嗜甲基丁酸菌对 CO 代谢的力能学和热力学效率见图5。 CO

I、力能学：

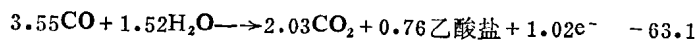
A、平衡的实验反应：

$$\Delta G^{\circ'}$$

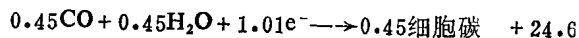
(千卡)



B、净分解代谢反应：



C、净合成代谢反应：



I、代谢作用的相对热力学效率：

$$\frac{\text{储存在细胞的能量}}{\text{细胞合成所利用的能量}} = \frac{(\text{克分子数细胞})(\Delta G^{\circ'} \text{氧化的细胞})}{(\text{基质的克分子数})(\Delta G^{\circ'} \text{氧化的基质}) - (\text{产物的克分子数})(\Delta G^{\circ'} \text{氧化的产物})}$$

$$\times 100\% = \frac{(0.45)(-116.0 \text{千卡})}{(4)(-61.5 \text{千卡}) - (0.76)(-204.0 \text{千卡})} \times 100\% = 57\%$$

图5 嗜甲基丁酸杆菌的 CO 代谢的力能学和代谢效率

菌株大约转化4克分子CO为2克分子的CO₂和0.8克分子的乙酸盐和在生长中形成0.45克分子的细胞碳。CO代谢的相对热力学效率（以能量在细胞内的储存量被细胞合成所利用的能量所除来表示）为57%。很显然好氧细菌生长在与以CO相同的氧化态基质（即甲酸盐）上，其热力学效率大约为20%。

图6表示碳和电子流的假定模型，这与关于CO的中间代谢的现有不足的试验结果相一致。酶的分析表明，甲酸脱氢酶的活性当生长在CO时为最高，而当生长在甲醇时CO脱氢酶为最大^[8]。研究表明，CO形成甲酰基中间产物，因为没有测出游离的甲酸盐，而且生长在甲酸盐上本身是有疑问的。甲酰基中间物或被脱氢成CO₂和电子被还原成甲基水平或转移羧化一个甲基载体而形成乙酸盐。其他的同型产乙酸细菌可能有这一相同的发酵。例如嗜热乙酸梭菌也能被培养成适宜于单独在CO上生长^[18]。

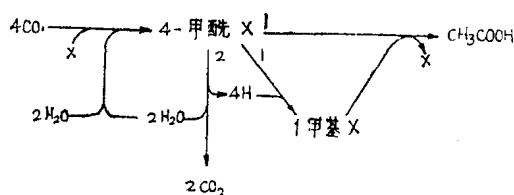


图6 嗜甲基丁酸杆菌从CO产生乙酸盐和CO₂的生物化学模型

符号X表示酶活性的部位或碳素的载体^[9]。

关于在厌氧消化中同型产乙酸菌代谢的重要功能或是同型产乙酸菌和产甲烷菌间的相互代谢作用知道得很少。然而当生长在多碳化合物（如葡萄糖）上时，这些细菌能得到比水解细菌较多的热力学代谢效率；从而在厌氧消化中不产生氢而消耗氢的同型产乙酸菌降低H₂的分压。值得提出的是，嗜甲基丁酸杆菌能和巴氏甲烷八叠球菌共同培养，以代谢丁酸盐作为唯一的碳源和电子供体。因此嗜甲基丁酸杆菌也能起一种兼性的产氢产乙酸菌的作用^[17]。

水解性细菌从一定基质的发酵中形成各种还原性终产物。提出一个基本问题是有关

代谢的状况，它控制碳和电子流，在水解性细菌的纯培养和产甲烷菌的混合培养中得到还原性产物。*Thermoanaerobium brockii* 是一个代表性嗜热水解性细菌，它经EMP途径发酵葡萄糖^[18]。*T. brockii*是一种不是典型的异型的乳酸细菌，因为它除形成乳酸和乙醇外，还形成H₂。葡萄糖发酵还原性终产物是由丙酮酸酶促形成的，通过下面的机制：果糖1-6二磷酸（FDP）由乳酸脱氢酶活化成乳酸盐；由丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶和氢化酶形成H₂；经过NADH及NADPH联系乙醇脱氢酶形成乙醇。经过NAD联系的甘油醛3-磷酸脱氢酶和NAD及NADP联系铁氧还蛋白氧化还原酶而产生还原性吡啶核苷酸^[19]。

各种不同的环境条件特别改变*T. brockii*的酶促装置的调节性质，这样依次改变形成的还原性终产物和“比生长速率”^[11]。下面一些例子描述了水解性细菌代谢的特性。当生长在葡萄糖复合培养基上，*T. brockii*细胞内含有高量的FDP并生产乳酸盐为发酵的主要产物。当生长在淀粉上，细胞内FDP浓度是相当低的，由于淀粉的水解引起生长速率的限制，乙醇是主要产物。加入丙酮，一种内源电子受体被NADP联系的乙醇脱氢酶所还原，在葡萄糖上得到加倍的生长量，甚至在高含量FDP存在下，热力学上改变电子流，这样异丙醇是主要的还原性终产物；而且仅形成少量的乳酸盐，乙醇和氢。氢是*T. brockii*中间代谢中的有效剂。葡萄糖发酵和生长在一大气压H₂下完全受抑制。然而当在加入或不加入氢条件下葡萄糖发酵时加入丙酮，明显地增加生长速率。嗜热自养甲烷杆菌加入到*T. brockii*的葡萄糖发酵中，明显地增加代谢和生长速率，而且改变碳和电子流，这样形成甲烷和乙酸盐替代乳酸、乙醇和氢。

图7表示*T. brockii*发酵作用中，电子流如何被可逆的氧化还原系统所控制（即细胞内电子线路由专一的各种酶所媒介）。在

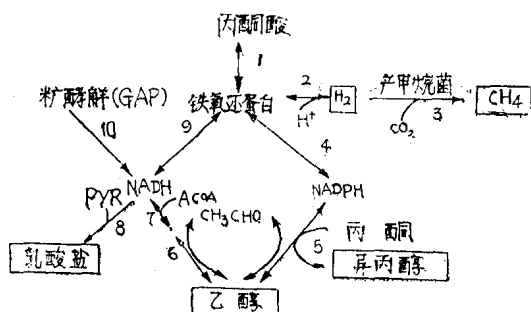


图7 在*T. Brockii*中的可逆性氧化还原酶作用下的分解代谢电子流的代谢控制

数字代表下列酶的活性: 1. 丙酮酸铁氧还蛋白氧化还原酶; 2. 氢化酶; 3. 产甲烷菌; 4. 铁氧还蛋白-NADP氧化还原酶; 5. 乙醇-NADP氧化还原酶; 6. 乙醇-NAD氧化还原酶; 7. NADH-乙酰辅酶A氧化还原酶; 8. NADH-丙酮酸还原酶; 9. 铁氧还蛋白-NAD氧化还原酶; 10. 甘油醛3-P脱氢酶, A CoA为乙酰辅酶A; GAP为甘油醛3-磷酸。注意酶5的专一性产物依赖于基质(即乙醇、乙醇或丙酮)。[11]

每一个箭头上的数字表示不同酶的活性。在*T. Brockii*发酵中电子流的方向受改变酶活性的专一环境条件的影响。在葡萄糖发酵中, 电子流的结果是产生乳酸盐、乙醇和 H_2 作为终产物。 H_2 抑制生长和代谢是由于电子流的相反方向和细胞内电子载体的还原作用(即铁氧还蛋白, NAD和NADP)。结果, 葡萄糖不能被氧化, 因为NAD是不能利用的。加入过剩的丙酮, 从热力学上改变了电子流, 甚至存在 H_2 下, 电子被引导到产生异丙醇替代乳酸盐, 乙醇或氢。加入产甲烷菌除去有毒性的代谢产物 H_2 , 在热力学上改变电子及碳的流向而转向产生 CH_4 作为主要的还原性终产物和乙酸盐作为主要的氧化终产物。值得注意的是, 在有嗜热自养甲烷杆菌时, *T. Brockii*能起生长在乙醇上的兼性产 H_2 产乙酸菌的作用。经过从乙醇回到氢的反向电子流, 而且仅在产甲烷菌维持低 H_2 分压下才能完成。

在厌氧消化器中形成甲烷的速率往往受生物多聚体的分解速率和(或)在水解菌和产甲烷菌之间有效代谢的相互影响所限制[1,6]。果胶质是用来研究水解菌和产甲烷菌

之间相互代谢作用的多聚体的模式的, 因为它有独特的结构和中间代谢作用。果胶质是半乳糖醛酸的甲氧基化的多聚体, 此物质在所有植物生物物质和许多藻类的细胞壁中存在。水解果胶质的细菌形成解聚酶, 该酶起水解酶或转换限制酶(Transliminases)和甲基酯酶的作用, 该酶产生甲醇。到目前为止, 检查了所有水解果胶质的细菌, 包括好氧细菌的种类, 当降解果胶质时, 并不消耗甲醇[13]。

丁酸梭菌在产甲烷的生态系统中遍生的厌氧菌, 它是在活的树木的湿木内和淡水水生沉积物中占优势的水解果胶的细菌[12,20]。当生长在果胶质上单一培养物的发酵中, 丁酸梭菌产生大量的甲醇、乙酸盐、 CO_2/H_2 和少量丁酸盐和乙醇。在没有受能量限止的批量培养物中, 此微生物由于蛋白质毒性的结果停止生长。在批量培养中, 加入发酵形成的浓的其他终产物没有抑制该微生物的生长。加入乙酸盐刺激其生长; 而且加入三个大气压的 H_2 没有影响丁酸梭菌的生长。在低pH值下虽然生长停止, 果胶甲基酯酶的作用仍良好, 所有果胶质的甲氧基转化为乙醇。

丁酸梭菌和巴氏甲烷八叠球菌当生长在果胶质上时形成稳定的代谢联合。这种共同培养含有大约相等数量的二种微生物, 而且能被迅速移植而不失去代谢功能。在共同培养中分析果胶质降解的中间代谢揭示在厌氧消化中产甲烷菌扮演的作用。当质子浓度保持在中性时, 很明显共同培养物完全降解果胶质为 CO_2 和 CH_4 。因此产甲烷菌的功能为除去有毒的代谢产物(即 H^+)维持代谢作用。巴氏甲烷八叠球菌激烈地改变由丁酸梭菌单独发酵果胶质形成的中间代谢产物。不形成丁酸盐和乙醇, 而且 H_2 、乙酸盐和甲醇的暂时浓度是很低的。因此产甲烷菌由于除去 H_2 改变电子流和增加水解性细菌的热力学效应。很显然, 巴氏甲烷八叠球菌同时代谢 H_2/CO_2 、甲醇和乙酸盐, 同时第一

种基质被迅速消耗,而后一种基质消耗的速率很慢。似乎产甲烷菌还对丁酸梭菌提供了生长因子,因为当丁酸梭菌生长在最低限度的果胶培养基上,在单独培养时生长很慢,但在共同培养时生长迅速。

结论性评论

对厌氧消化中间代谢的这些基础研究证明几种将来进一步研究的趋向,这能从废物处理过程中改进甲烷的产量得到好处。这些包括:

1. 在专一的废物处理中,推广活性的启动培养物,此培养物含有一定的代谢联合作用的厌氧细菌。

2. 在一定基质的厌氧分解中,鉴定限制生物化学步骤的速率。

3. 在厌氧消化中,从遗传上改进关键性的微生物种类,选择和发展高效菌株。

4. 鉴定厌氧消化中专一性酶促调节剂,它能最大地控制碳及电子流成甲烷来替代其他终产物。

参考文献

1. Zeikus, J. G. (1980) Microbial Population in Digestors, in: Stafford, D. A. (Ed.), First Internat. Symp. on Anaerobic Digestion, A. D. Scientific Press, Cardif, pp. 75—103.
2. Krzycki, J. A. and Zeikus, J. G. (1980), Current Microbiology, 3:243—245.
3. Kenealy, W. and Zeikus, J. G. (1981), J. Bacteriol., 146:133—140.
4. Kenealy, W. et al. J. Bacteriol. (Manuscript Submitted).
5. Krzycki, J. A. et al. (1981), J. Bac-

- teriol. (In Press).
6. Zeikus, J. G. (1980), Ann. Rev. Microbiol., 34:423—456.
7. Wolkin, R. and Zeikus, J. G. Measurement of the Internal pH of *Methanosarcina barkeri*, (Manuscript in Preparation).
8. Zeikus, J. G. et al. (1980), Current Microbiology, 3:381—386.
9. Lynd, L. H. et al. (1981), J. Bacteriol., (In Press).
10. Lynd, L. H. and Zeikus, J. G., J. Gen. Microbiol. (Manuscript Submitted).
11. Ben-Bassat, A. et al. (1981), J. Bacteriol., 146:192—199.
12. Schink, B. et al. (1981), Appl. Environ. Microbiol. (In Press).
13. Schink, R. and Zeikus, J. G. (1980), Current Microbiology, 4:387—390.
14. Zeikus, J. G. et al. (1975), Arch für Mikrobiol., 104:129—134.
15. Zeikus, J. G. et al. (1981), Proceedings of the Joint US/USSR Conference on Mechanisms and Kinetics of Growth on Various Substrates and Control, Simulation and Optimization of Microbial Process of Project I-III, Fundamentals of Microbial Processes under the US/USSR Joint Working Group on the Production of Substances by Microbiological Means, Riga, Latvia.
16. Zeikus, J. G. and Hegge, P. W. (Manuscript in Preparation).
17. Zeikus, J. G. and O'Brien, J. (Manuscript in Preparation).
18. Lamed, R. J. and Zeikus, J. G. (1980), J. Bacteriol., 141:1251—1257.
19. Lamed, R. J. and Zeikus, J. G. (1980), J. Bacteriol., 144:569—578.
20. Schink, B. and Zeikus, J. G. (1981), J. Gen. Microbiol. (In Press).

钱泽澍译自《Anaerobic Digestion》1982, p23—35, 黄志南校。

废物在厌氧系统中消化性能的分类

P. Pipyn等

摘 要

用简单的负荷试验,按厌氧消化性能,对一系列农业的和工业的有机废物进行了筛选分类,对容易消化的稀废物,在高负荷流化床反应器内作了进一步的试验。

由浸制亚麻,生产酶、制造奶品及酿造业等产生的废水很易消化,而且似乎宜于采用流化床处理。切碎的秸秆、生活污水的初沉污泥,养殖场废物、石油化学工业的二沉污泥、以及啤酒厂、酵母、棕榈油和羊毛工业的废水,看来也适于甲烷消化,但为了达到50%的生物气化,需要滞留10—34天。

石油化工、植物油和人造黄油等工业的废水不能生成甲烷。硫酸盐达到20克/升时,会抑制甲烷产生,而在0.6克/升时则没有抑制作用。酞酸二甲酯在25克/升时,抑制甲烷的生成。

有机废物在发酵以前,用声波或者,尤其是用高压灭菌法作预处理,可增强甲烷化过程,并提供主要是由微生物体组成的废料。

引 言

通常,很多有机物都被看作为厌氧消化即生物法产生甲烷的基质,当人们必须对某特殊物质是否可作为基质进行判断时,就不得不考虑很多方面的问题,其中主要是:

1. 该物质能转变为甲烷的程度如何?
2. 该过程进行的最大速率是多少?
3. 在预处理、消化、和残渣处理的设计中最适宜的方法是什么?
4. 从产生能量和废物处理这两方面分析,其总的经济效益是多少?

为了回答这些问题,人们常常需参考一系列的实验室或中间规模工厂的试验。这是很清楚的,通常,这些试验仅提供所要求的一小部分资料,但是至少能允许工程师,冒适当的风险去设计全过程。

这篇论文概括了我们在三年内对各种农业的和工业的有机废物进行厌氧处理所作的筛选研究。

试 验

为了检验某未知物质的消化性能,就需将废物经简单的负荷率试验,试验中运行了三个以上的发酵器,每个发酵器有特定的水力滞留时间,通常为10、20和30天。发酵器(图1)采用振动混合(每9—16小时振动1分钟),每天排出适量的混合液,并以同体积进水代替;上部空间充以氮气以造成厌氧条件,发酵器与气体监测仪相连接。

从该项试验可得出多种数据,实际上,虽然一些动力学模型对甲烷消化可能是合适的,但是对于维持在稳定状态的一系列发酵器,一级反应模型(等式(1)),或是经线性化后的模型如等式(2),可用来推断生物降解率常数,尽管需要数据很多,但仍然是适用而简单的。

$$-\frac{dS}{dt} = KS \dots\dots\dots(1)$$

$$\frac{S_0 - St}{St} = Kt \dots\dots\dots (2)$$

$$t_{1/2} = 1/K \dots\dots\dots (3)$$

式中 S = 基质浓度 (毫克/升),

t = 时间 (天),

K = 生物气化率常数,

$t_{1/2}$ = 去除50%所需的时间,

在一定消化时间 t (天) 内, 基质转换成沼气的百分率, 可用下式表示

$$\% \text{去除} : [1 - 1/(1 + Kt)] \times 100 \dots\dots (4)$$

关于发酵器, 测定了下列参数, 化学需氧量 (COD)、干固体 (DS)、挥发性固体 (VS = DS - 灰份)、pH、沼气产量, 沼气成份和挥发性脂肪酸。当然, 在发酵进入稳定态时 (常常需经过2—7天左右时间), 测定这些参数很重要。

各种废物都进行了该项试验 (表1)。首先, 研究了两种半固体物质。来自生活污水处理厂的初沉污泥是甲烷消化的典型基质, 在给定的试验条件下, 这种物质很容易消化, 尽管进行得比较慢 (表2), 这种缓慢的

消化是由于污泥中存在大量 (0.2—0.5克/升) 矿物油。面包工业生产的湿废料, 是用上述消化器中的污泥接种的, 和初沉污泥比较, 它更易于消化和气化, 虽然这种废料 C/N 比值高 (约 200), 但加入 NH_4Cl 和 K_2HPO_4 , 并不能使气体产量得到改善。很低的 $\nu_{\text{FS}}^{\text{CH}_4}$ 数值表示, 低分子的脂肪酸已被转化为甲烷。

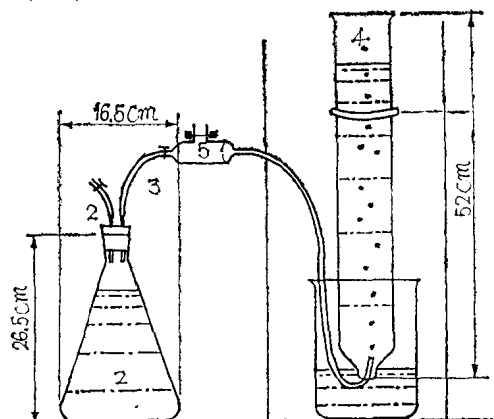


图1 用于废水发酵性能研究的锥形烧瓶示意图 (有效容积为2升)

1. 消化容器
2. 进料管
3. 气体输出管
4. 盐水排气系统
5. 气体取样器

表 1 试验废水的主要特性

废水类型	原 料 参 数				
	pH	干物质(克/升)	悬浮固体(克/升)	挥发性固体(克/升)	化学需氧量(COD)(克/升)
生活污水初沉污泥	6.5—7.0	42—165	40—160	18—72	—
切碎的秸秆	—	500—900	500—900	490—850	—
工业二沉污泥	7.0—8.4	5—10	4—8	5—7	6.5—8.8
养猪场浆液	7.0—8.0	18—55	13—45	16—20	20—29
废水来源					
亚麻浸液	4.6	4.4	0.5	1.9	7.2
酶制剂工厂	8.0—8.6	6—10	0.4	2.5—7.5	3.1—8.3
乳品加工业(1)	8.4—12.5	3—10	1—3	1.6—2.3	0.5—1.9
” ” (2)	4.2	6.7	2.3	5.5	9.8
啤酒厂	4.2	34.6	0.5	33.3	87.3
酵母厂	5.1—5.7	100—120	0.5	60—84	115—176
棕榈油提炼厂	3.5	31	26	28	46
屠宰场	6.0—6.5	9—21	4—9	4—10	9.0—12.1
羊毛工业	6.9—7.3	14—28	5—10	7—17	15—35
人造黄油工业	1.8—2.2	30—33	1—5	5—8	4—5
植物油工厂	1.3—1.5	50—90	1—3	12—14	10—18
石油化学工业	2.9—13.9	0—10	0	—	10—70

表 2

各种废料的动态发酵

发酵基质	K_{VS} (1)	$Y_{VS}^{CH_4}$ (2)	$t_{VS}^{1/2}$ (3)	K_{COD} (4)	$Y_{COD}^{CH_4}$ (5)	$t_{COD}^{1/2}$ (6)	$t^{1/2}$ (7)
生活污水初沉污泥	0.018	648	56	—	—	—	56
切碎的秸秆	0.055	254	17	—	—	—	17
工业二沉污泥							
未处理的	0.064	436	16	0.058	373	17	17
高压消毒的	0.094	500	11	0.116	581	9	10
声波处理	0.058	595	17	0.080	361	13	15
养猪场残渣							
未处理的	0.042	1041	24	0.103	342	10	17
高压消毒的	0.041	1230	24	0.101	570	10	17
声波处理	0.036	1124	28	0.060	325	13	23
废水来源							
亚麻浸液	—	—	—	0.213	389	5	5
酶制剂工厂	—	—	—	0.156	379	6	6
乳品加工业(1)	0.135	491	5	0.154	332	4.5	4.8
乳品加工业(2)	—	—	—	0.154	380	7	7
啤酒厂	—	—	—	0.333	595	10	10
酵母生产工厂	0.102	60—340	10	0.046	300—850	22	16
棕榈油生产工厂	0.038	862	26	0.040	503	25	26
屠宰场	0.030	330—900	33	—	—	—	33
羊毛工业	0.029	838	34	0.029	420	34	34
人造黄油工业	0.030	361	33	0.027	140	37	35
植物油工厂	0.000	0	—	0.000	0	—	—
石油化学工业	—	—	—	0.000	22	—	—

(1) K_{VS} = 根据挥发性固体计算的生物气常数。

(2) $Y_{VS}^{CH_4}$ = 甲烷产量系数：去除每克有机物（以挥发性固体计）所产生的甲烷毫升数。该值为不同滞留时间所记录的甲烷产量系数的平均值。

(3) $t_{VS}^{1/2}$ = 挥发性固体的半衰期、分解50%有机物（用挥发性固体表示）所需的时间（天）。

(4) K_{COD} = 以化学需氧量计算的生物降解常数。

(5) $Y_{COD}^{CH_4}$ = 甲烷产量系数：去除每克有机物（以化学需氧量计）所产生的甲烷毫升数。

(6) $t_{COD}^{1/2}$ = COD的半衰期：分解50% COD（化学需氧量）所需的时间（天）。

(7) $t^{1/2}$ = 平均半衰期： $\frac{(3)+(6)}{2}$ 。

由石油化学工业污水活性污泥处理池中产生的工业二沉污泥所取得的数据，列于表3。显然，这种污泥被认为是一种进行甲烷发酵的优良基质。在十七天内COD降解可达50%（表2）。在试图改进该过程效率时，采用了两种物理预处理，一种是热处理（在144℃下进行蒸压1小时），可使COD降解率在一定滞留时间内增加10%以上（表3），半衰期则从17天降至10天（表2）。声波有同样效果（表3），虽然其滞留时间显著的短。但

必须注意到，蒸压预处理可大量增加去除的每单位有机物所产生的甲烷，但声波却不能。

对养猪场残渣（2—5%总固体），也作了详细的研究（表4）。取得了令人满意的生物降解率和非常高的 $Y_{VS}^{CH_4}$ ，正如 van Velsen 曾指出， $Y_{VS}^{CH_4}$ 和 $Y_{COD}^{CH_4}$ 值之间的差异，是由于养猪场残渣烘干时部分脂肪酸挥发所造成。对猪场废物也应用了上述的物理预处理，但没有改善发酵性能（表2），虽然在热预处理

的情况下甲烷产量增加,但生物降解常数和半衰期并没有多大变化。

由此可见,正如Haug所提出的,在厌氧消化前进行热处理,的确改善了随后的生物降解过程,特别是当发酵过程中的微生物生物体未受损时。声波对剩余污泥有好的效果,但对猪场粪便却没有,这一点是十分符合逻辑的必然结果,因为前者主要含的是未受损的微生物细胞。

所研究的高浓度有机废水的COD在0.5

—200克/升之间变化(表1),可将废物分成三种不同类型。第一种类型的废水来自亚麻、酶、乳制品和酿造工业。例如亚麻浸渍产生的废水,具有高浓度的挥发性脂肪酸(达230毫克当量/升)。这说明有机物已经经过了由酸化细菌所进行的厌氧发酵的第一阶段。当甲烷发酵器的水力滞留时间为10、20和30天时,可以保证92%、97%和100%的挥发性脂肪酸得到降解。该挥发性脂肪酸是构成有机物的主要部分($\pm 90\%$)。

表 3 工业废水处理厂的二沉污泥的厌氧消化

基 质	滞留时间 (天)	容积负荷率 (克COD/升/ 天)	进水COD (克/升)	出水COD (克/升)	COD去除率 (%)	沼气中甲烷百 分率 (%)	每去除1克COD 产生的甲烷毫 升数
A	10	0.71	7.140	4.011	43.8	61.2	445
	20	0.44	8.800	3.800	56.8	64.5	297
	30	0.24	7.140	2.588	63.7	65.6	377
B	10	0.64	6.426	3.009	53.1	68.8	614
	20	0.32	6.426	2.029	68.4	72.5	636
	30	0.21	6.426	1.423	77.9	71.0	492
C	10	0.86	8.578	3.174	63.0	74.3	353
	20	0.43	8.578	3.008	64.9	72.3	409
	30	0.29	8.578	2.369	72.4	68.5	320

A: 未处理污泥 (=对照)

B: 经热预处理的污泥

C: 经声波处理污泥

表 4 猪场残渣的厌氧消化

基 质	停留时间 (天)	容积负荷率 (克COD/升/ 天)	进水COD (克/升)	出水COD (克/升)	COD去除率 (%)	沼气中甲烷百 分率 (%)	每去除一克 COD产生甲烷 毫升数
A	10	2.12	21.169	16.557	21.8	79.4	380
	20	1.06	21.169	9.795	53.7	77.0	297
	30	0.71	21.169	5.130	75.8	75.3	348
B	10	1.94	19.367	14.459	25.3	80.7	648
	20	0.97	19.367	10.028	48.2	73.1	579
	30	0.65	19.367	4.664	75.9	75.8	487
C	10	2.84	28.431	19.853	30.2	71.5	425
	20	1.42	28.431	16.911	40.5	68.4	304
	30	0.95	28.431	9.804	65.5	71.7	247

A: 未处理的猪场废物 (=对照)

B: 经热预处理的猪场废物

C: 经声波处理的猪场废物

酶制剂工厂的废水, 尽管产生的硫酸盐浓度可达600毫克 SO_4^{2-} /升, 但仍然容易发酵为甲烷。在个别试验里采用了污泥回流。因此在10天的停留时间中COD降解率由67%增加到80%。乳品加工业NO.1的废水, 含COD在2克/升以下, 十分易于厌氧消化, 未采用污泥回流, 但是发酵器内废水的水力停留时间, 很可能由于污泥回流而进一步减少。污泥的沉淀特性很好, 易于获得89%的COD降解率, 沼气中含甲烷85%, 该含量是很高的。乳品加工业NO.2废水内含有大量悬浮固体, 这些悬浮物也是容易消化的, 在停留时间为10天时, 可使悬浮有机物溶解和降解50%以上, 在停留时间为20天时, 总有机物和溶解性有机物的生物降解率分别达80%和95%。酿造废水中含有很多容易生物降解的溶解性有机物(87克COD/升), 其主要成份是酒精(80%的COD), 停留时间为20天时, COD可被生物降解90%, 然而必须严密控制pH, 其目的是避免突然的酸化以及挥发性脂肪酸浓度急剧增加, 可以得到稳定的发酵和甲烷含量较高(80%)的沼气。

第二种类型包括由酵母、棕榈油、肉类及羊毛等工业排出的废水, 酵母工业的废水特别浓(COD达20,000毫克/升), 它的主要成份为糖, 在厌氧发酵时, 糖可使挥发性脂肪酸的量大大提高, 挥发性脂肪酸在VS测定中不能反应, 但可以反映在COD测定中, 以此说明, 据COD和VS计算出的 $t_{1/2}$ 之间所产生的偏差。甲烷产值系数 $Y_{CH_4}^{COD}$ 在300和850之间, 容积负荷率愈高, 得到的产气量愈低。这些数值指出, 在实践中, 应该采用低负荷率(1—3公斤COD/米³消化器·天)。来自棕榈油工业的废水是含有较高比例的油或脂肪的悬浮液, 必须严密控制pH和挥发性脂肪酸的含量。看来, 为了取得稳定的转化过程, 两阶段发酵是必不可少的, 在酸化阶段(停留时间10天)悬浮的脂肪类有机物首先水解, 接着第二阶段中使其

中和并产生甲烷(停留时间15—30天), 从而, 可得到稳定的发酵过程。

来自屠宰场(清洗内脏)的废水含有大量的悬浮有机物, 主要为脂肪和粘液, 需很长的停留时间——30天, 才能使发酵稳定。由于粘液被细菌溶解而形成大量脂肪酸, 所以必须控制pH, 停留时间为10—20天时可得到50—58%的甲烷含量, 当停留时间为30天和进行平衡发酵时, 可使甲烷含量达80%。来自羊毛工业废水含类脂化合物和石蜡很多, 且发酵甚慢。

总起来说, 第二种类型的废水半衰期为16—34天, 有较高的甲烷产量系数, 沼气中的甲烷百分率在50%和85%之间, 在棕榈油废水的两步消化可得最高值。

在表2的第三类废水中, 包括人造黄油, 植物油和石油化学等工业的废水。人造黄油和石油工业的废水, 都含有很高的硫酸盐(20和20—30克 SO_4^{2-} /升), 前者还稍有一点发酵的可能性, 但是 $Y_{CH_4}^{COD}$ 很低(表2)。后者完全不能发酵。甲烷产生菌受抑制而被硫酸盐还原菌所代替。这种抑制大概是由于高离子浓度的作用以及硫酸盐还原所产生的 H_2S , 还有硫酸盐还原菌和甲烷产生菌之间对氢的竞争。石油化学工业废水内含醋酸和对酞酸二甲酯(钠盐)的数量分别达到5和25克/升, 在非常低的负荷率(<1克COD/升·天)和很长的停留时间(30天)下, 只能进行很有限的发酵。

因此第三种类型的废水不适宜于厌氧消化。高浓度的硫酸盐(>20克/升)和对酞酸二甲酯(>25克/升)被认为是与甲烷生成不相容的。

一些初步试验表明, 某些废物消化较快, 因而引起了最佳消化过程的控制问题。

对含悬浮固体总量超过5克/升的废物, 一般选用传统的完全混合式反应器(有时带污泥回流)是合适的。然而, 对于更稀的废物, 流化床反应器是否合适是值得注意的问题, 图2所示是用以回答上述问题的实验装置。

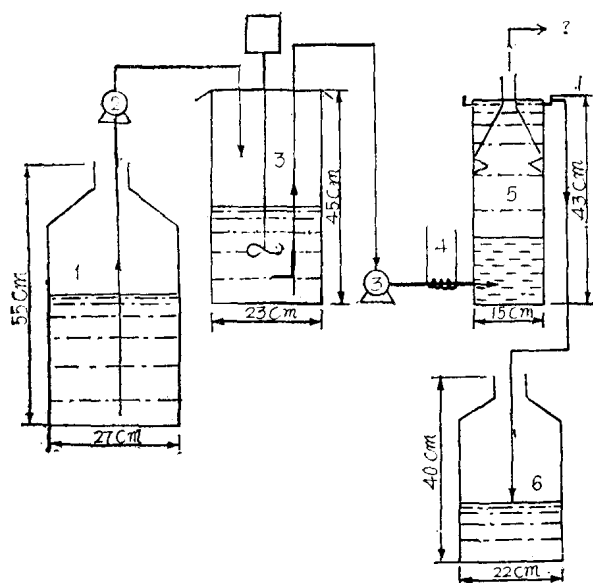


图2 用于废水发酵性能研究的两步发酵器示意图

① 贮备池 ② 泵 ③ 完全混合发酵器 ④ 温度调节器 ⑤ 升流式甲烷反应器 ⑥ 出水收集器 ⑦ 气体出口

有机物转化为甲烷的前体是在发酵器内得到控制和最佳化。经预处理的液体，连续地进入上流式装置 (θ_H 在6—24小时之间变化)，控制的参数曾在初步试验中作过描述，此外对于酸化阶段，检查了先期形成物的类型（气味），需要的碱度量以及 COD 损失百分数。至于上流式反应器，特别注意了其污泥总量的积累，在污泥中产甲烷菌的浓度（用 F_{420} 技术测定），以及污泥絮体的大小和沉淀特性。事实上，反应床仅用于提供发展产甲烷的微生物絮体的场所。在好氧活性污泥系统里，水力冲洗和原生动物的捕食，是影响絮体形成的主要生态学要素。在厌氧流化床污泥里，只有前一种因素是起作用的，而絮体的形成则是关键性的。

对表1中所列的废物，就酶制剂工厂废水和羊毛工业废水在流化床反应器内的生物气化情况作了详细的分析。第一种废水很容易消化，并很易得到高度产甲烷的污泥组成，随着气体的产生，COD的总去除率可达80%。人们发现，短暂的酸化，主要形成了乳酸和酒精，而很少形成乙酸和丁酸，并可

以得到最高的产气量和 COD 总去除率。然而，羊毛工厂的废水却消化得太慢，而且悬浮固体含量太高（约10克/升），以致在上流式反应器内不可能形成产甲烷的污泥，该种废水只有在利用传统的完全混合式反应器，并在低负荷率下进行运转，才能达到适当的消化。

一方面根据生物气化率常数值，另一方面根据该两种废水在上流式处理中得到的经验，看来亚麻浸液、酶制剂、乳品加工业和啤酒工业废水是宜于采用高负荷流化床的。为了完整起见，应该补充的是，在实际情况下，酶制剂、甜菜糖，和土豆淀粉工业的废水采用流化床消化技术的中间试验和生产性试验，都得到了良好的结果。

讨 论

为了检验一种特殊物质的可消化性，经常要进行实验室规模的间歇式消化试验。在进行研究的物质中，为了要有足够达到选定的初始浓度的数量与接种物混合，在30℃—37℃下培养，并进行有规律的振荡和测量气体产量。约30天后分析剩余液体。Badger等人用这种方法筛选各种作物和有机废物。描述的负荷率试验是相似的，也是很近似的，可是它提供了两个重要的结论。首先，可消化性与适应的和平衡的（稳定态的）微生物群体有关；其次得到了关于生物气化动力学过程的概念。因此可估计出两个定量参数——气化率常数和甲烷产量系数。此外，在任何特定停留时间下基质去除数量可按等式（4）进行计算。通过该种试验还可得到大量定性情报：例如，关于需要控制 pH，控制泡沫，投加矿物营养物质，加热、化学和酶的预处理等的要求。此外还能得到关于产生的沼气体成份的概念，特别是 CH_4 ， H_2S 和挥发性有机物的含量，而且消化后（下转74页）

连续膨胀厌氧消化法

一种适于小型家畜饲养场的沼气技术

D. T. Hill 等

摘 要

传统厌氧消化法处理料液的体积是恒定的,而连续膨胀消化法则是在运转周期开始前首先投入大约30%总容积的微生物接种物,然后逐日投加生料液进行消化,直至满后才往外排放,结束其运转周期,因而消化容积是不断“膨胀”的。本文所报导的是关于利用连续膨胀消化器在三种操作温度下处理奶牛粪便的研究结果。在操作温度约为20℃至35℃之间时,气质和产气量均对温度不敏感,甲烷含量平均为58—60%之间;挥发性固体去除率在消化温度21.1℃时大于50%,在35℃时大于60%。在大约运转35天后,该处理过程特别稳定,不受异常投料负荷的影响。

引 言

在市政污水处理中,用厌氧消化法作为污泥在最终清除前的一种稳定处理手段,已经有半个多世纪了。因为这类处理场的处理量通常很大,其工艺过程必须采取连续进出料方式,方能减少消化器的容积,节省大量基建投资。近十年来,厌氧消化已经引起了许多农业企业的重视,以此来产生沼气,同时又降低废物对环境的污染。在最近五年中,建立了不少的大型消化处理场。这些处理场都采用的是连续进出料式消化器,操作温度为35℃或更高,它们要求连续运转并由熟练工人进行操作管理。它们所采用的工艺过程与市政污水处理基本相同。

改变市政污水处理工艺使之适应农业废物处理是困难的,因为市政污水污泥中的固体含量通常为3—4%;有机物主要是微生物体,极易消化;污泥含氮低。而家畜粪便的含氮量和固体含量均高。据现有资料报导,对家畜粪便进行消化处理时,难于采用搅拌

措施,消化过程易受氨(NH₃)和挥发性有机酸的抑制。

中小型饲养场采用这种厌氧消化法,还存在其它经济和技术上的问题,诸如(a)必须处理每日的流出液;(b)所产生的能量相当大一部份要用于消化器的加热;(c)至少应经常对氨和碱度进行控制等等,这些都是面临的主要障碍。

我们对这一操作方式作了简单的改变,即采用连续膨胀消化法。以奶牛粪便所进行的研究看来,将这种方式用于小型饲养场可以克服过去厌氧消化法固有的某些不利因素,它展现出了大有希望的前景。

连续膨胀消化法的应用和说明

连续膨胀消化器是一个加盖密封的贮粪池,采用“半批量”投料方式运转,即每日投料而不出料,活性物质(接种物)开始占容积的30%左右,其中料液量随逐日投料而“膨胀”,直到全部装满后才大出料,从而又开始新一轮循环。典型循环周期的长短应