



当代
杰出青年
科学文库

产酸发酵微生物 生理生态学

任南琪 王爱杰 马放 著



科学出版社
www.sciencep.com

当代杰出青年科学文库

产酸发酵微生物 生理生态学

任南琪 王爱杰 马 放 著

科学出版社
北 京

内 容 简 介

运用产酸发酵微生物生理生态学原理和方法调控废水厌氧生物处理过程是一项国际前沿性研究课题,也是提高废水处理过程可操作性和可控制性的一条有效途径。

本书是国内外首部介绍产酸发酵微生物生理生态学原理及其在高浓度有机废水生物处理中应用的专著,是作者对所主持的3项国家自然科学基金资助项目研究成果的整理和提炼,创新性地提出了很多新观点和新理论,其内容新颖、信息量大、理论体系和脉络完整严谨,注重系统性、科学性、前沿性、实践性和指导性。

本书可作为从事环境微生物学、微生物生态学、环境科学和环境工程学等专业的硕士生、博士生以及高校教师的教学用书,也可供相关学科科研人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

产酸发酵微生物生理生态学/任南琪,王爱杰,马放著. —北京:科学出版社, 2005

(当代杰出青年科学文库)

ISBN 7-03-015200-X

I. 产… II. ①任… ②王… ③马… III. 有机酸发酵-生理学:微生物生态学 IV. TQ921

中国版本图书馆CIP数据核字(2005)第038582号

责任编辑:杨震 吴伶伶/责任校对:包志虹

责任印制:钱玉芬/封面设计:陈敬

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005年6月第一版 开本:B5(720×1000)

2005年6月第一次印刷 印张:22

印数:1—2 500 字数:427 000

定价:50.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

前 言

两相厌氧生物处理工艺中产酸相的稳定性及其发酵类型对产甲烷相的运行起着关键性作用,在产酸相反应器这一人工微生物生态系统中,揭示产酸发酵微生物与生态因子之间的相互作用规律,可以进一步提高有机废水的处理能力和处理水平。因此,产酸发酵微生物的生态学及运行控制对策等研究成为当前国际上的前沿性研究课题。

本书是国内外首部介绍产酸发酵微生物生理生态学原理及其在高浓度有机废水生物处理中应用的专著,是作者对所主持的3项国家自然科学基金资助项目研究成果的整理和提炼,创新性地提出了很多新观点和新理论,其内容新颖、信息量大、理论体系和脉络完整严谨,既补充了传统微生物生态学理论,又为废水厌氧生物处理可操作性与可控制性的提高提供了有效的途径。

全书共分8章。第1章介绍了产酸发酵微生物生理生态学的研究基础、研究内容、研究方法及其应用前景。第2章介绍了微生物的产酸发酵类型及其稳定性,阐明了影响发酵类型稳定性和末端代谢产物组成的因素与机理。第3章介绍了产酸发酵细菌的群落生理生态学内容,包括反应器内产酸发酵细菌的群落结构特征、群落演替、产酸发酵细菌群落的内平衡与反馈调节机制等。第4章介绍了产酸发酵细菌种群生理生态学,包括顶极群落中优势种群的种类、产酸发酵优势种群的耐性限度、pH对优势种群发酵产物的影响、优势种群的种间关系等内容。第5章介绍了产酸发酵细菌限制因子的量化与调控,包括温度、pH、接种污泥、有机负荷和氧化还原电位对产酸发酵作用的影响及其调控等内容。第6章着重介绍产氢发酵细菌的产氢途径与机理、产氢发酵细菌的产氢能力以及产氢发酵类型的生态调控等内容。第7章着重介绍产酸相反应器处理硫酸盐废水过程中微生物的群落生态特征、乙酸型代谢方式的形成及其稳定性、产酸相反应器处理硫酸盐废水过程中碳硫比制约的群落生态演替规律、产酸相反应器处理硫酸盐废水过程中微生物群落的内平衡反馈调节机制以及产酸相反应器处理硫酸盐废水过程中限制因子的量化与调控对策等内容。第8章则介绍了产酸发酵微生物生理生态学在高浓度有机废水生物处理工程中的应用实例。同时,作为补充内容,书后还附录了产酸发酵微生物分离与鉴定方法、产酸发酵过程相关实验室分析方法以及产酸发酵微生物生态学研究中的主要分子生物学诊断方法。全书内容丰富,并注重系统性、科学性、前沿性、实践性和指导性。

在本书完成之际,作者诚挚地感谢陈晓蕾、赵丹、刘艳玲、李建政、王爱杰、

周雪飞、林明、刘敏、丁杰、王相晶、秦智、王勇、邢德峰、刘广民、王旭、赵阳国、李永峰、赵秋实等人，他们在研究生期间的工作成果为完成本书提供了重要的数据和资料。作者还要诚恳地感谢国家自然科学基金委员会专著出版基金的资助，使本书能顺利出版。

本书既可作为从事环境微生物学、微生物生态学、环境科学和环境工程学等专业的硕士生、博士生、科研人员以及高校教师的教学用书，又可作为相关学科科研人员的参考书。由于工作量大，难免有疏漏和错误，请有关专家和广大读者批评指正。

目 录

前言

1 概述	1
1.1 产酸发酵微生物生理生态学的研究基础	1
1.1.1 厌氧生物处理的基本原理	1
1.1.2 两相厌氧生物处理	16
1.1.3 产酸发酵微生物生态学	22
1.2 产酸发酵微生物生理生态学的研究内容	26
1.2.1 产酸发酵细菌的生理生态学	26
1.2.2 产氢发酵细菌的生理生态学	26
1.2.3 产酸相反应器处理硫酸盐废水过程中微生物的生理生态学	27
1.3 产酸发酵微生物生理生态学的研究方法	28
1.3.1 直接测定法	28
1.3.2 细胞培养法	28
1.3.3 生理生化法	28
1.3.4 分子生物学诊断法	29
1.3.5 数学模型法	32
2 微生物产酸发酵类型及其稳定性	34
2.1 微生物的经典发酵途径	34
2.1.1 丁酸发酵和丙酮-丁醇发酵	37
2.1.2 丙酸发酵	40
2.1.3 混合酸发酵和丁二醇发酵	41
2.1.4 乳酸发酵	45
2.1.5 酵母菌的乙醇发酵和甘油发酵	48
2.1.6 发酵平衡	50
2.2 产酸发酵混合菌群的发酵类型	51
2.2.1 丁酸型发酵	52
2.2.2 丙酸型发酵	54
2.2.3 乙醇型发酵	56
2.3 废水处理产酸发酵类型的稳定性	59
2.3.1 丁酸型发酵的稳定性	59
2.3.2 乙醇型发酵的稳定性	61

2.3.3	丙酸型发酵的稳定性	62
2.4	产酸发酵过程中丙酸产生和积累的条件与原因	62
2.4.1	生理学原因导致丙酸的产生	64
2.4.2	生态学条件导致丙酸的积累	65
2.4.3	丙酸积累的控制对策	66
2.5	微生物产酸发酵过程中液相末端产物的选择	67
2.6	产酸相发酵产物对产甲烷相的影响	68
2.6.1	乙醇型发酵液相末端产物在产甲烷相中的转化规律	68
2.6.2	丁酸型发酵液相末端产物在产甲烷相中的转化规律	71
2.6.3	丙酸型发酵液相末端产物在产甲烷相中的转化规律	72
3	产酸发酵细菌群落生理生态学	74
3.1	废水厌氧生物处理系统中微生物群落生态学原理	74
3.1.1	微生物群落	74
3.1.2	废水厌氧生物处理系统中的微生物群落演替	75
3.1.3	产酸发酵微生物顶极群落的主要类型	76
3.2	产酸发酵细菌的群落结构特征	77
3.2.1	絮状活性污泥的表现特征	77
3.2.2	絮状活性污泥的形成机理与生态学意义	78
3.3	产酸发酵细菌的群落生态演替	82
3.3.1	pH 制约的产酸发酵细菌群落生态演替	82
3.3.2	氧化还原电位制约的产酸发酵细菌群落生态演替	90
3.3.3	有机负荷制约的产酸发酵细菌群落生态演替	91
3.3.4	初始生态位对微生物群落定向演替及顶极群落的影响	94
3.4	产酸发酵微生物群落的内平衡与反馈调节机制	98
4	产酸发酵细菌种群生理生态学	100
4.1	顶极群落中优势种群的种类	100
4.2	优势种群的耐性限度	101
4.2.1	pH 耐性限度规律	101
4.2.2	氧化还原电位耐性限度规律	104
4.3	pH 对优势种群发酵产物影响	105
4.4	优势种群的种间关系	107
4.4.1	种间的生存竞争	108
4.4.2	优势种群的实现生态位及其生态位图谱	112
4.4.3	种间协同作用	113
5	产酸发酵细菌限制因子的量化与调控	120
5.1	温度	120

5.2 pH	122
5.2.1 乙醇型发酵细菌在不同 pH 下的间歇产酸发酵试验	122
5.2.2 乙醇型发酵细菌在不同 pH 下的连续流产酸发酵试验	123
5.2.3 pH 是形成不同发酵类型的限制因子	124
5.3 接种污泥	126
5.4 有机负荷	127
5.4.1 污泥负荷	127
5.4.2 容积负荷	127
5.5 氧化还原电位	131
6 产氢发酵细菌生理生态学	135
6.1 产氢发酵细菌及其生理特性	135
6.1.1 产氢发酵细菌	135
6.1.2 产氢发酵细菌生理特性	136
6.2 细菌的产氢发酵机理与产氢途径	137
6.2.1 细菌产氢发酵的生物物化机理	137
6.2.2 细菌产氢发酵的生物化学机理	145
6.2.3 细菌的产氢发酵动力学分析	154
6.3 产氢发酵细菌的产氢能力	167
6.3.1 纯菌种的产氢能力	167
6.3.2 混合菌群的产氢能力	170
6.4 产氢发酵细菌乙醇型发酵的生态调控	173
6.4.1 限制性因子的调控	173
6.4.2 细胞水平上的调控对策	176
6.4.3 群落水平上的监测与调控	181
7 产酸相反应器处理硫酸盐废水过程中微生物的生理生态学特征	187
7.1 微生物的群落生态特征	187
7.1.1 种群的数量分布	187
7.1.2 微生物群落的结构模式	188
7.1.3 微生物群落的种群间关系分析	190
7.2 乙酸型代谢方式的形成及其稳定性	191
7.2.1 产酸细菌的发酵类型分析	191
7.2.2 微生物群落的乙酸型代谢方式	193
7.2.3 乙酸型代谢方式的成因分析	195
7.2.4 乙酸型代谢方式的重要性	197
7.3 碳硫比制约的群落生态演替	198
7.3.1 碳硫比从 5.0 降低到 3.0	198

7.3.2	碳硫比从 3.0 提高至 4.0	203
7.3.3	碳硫比从 4.0 降低到 2.0	207
7.4	微生物群落的内平衡与反馈调节	210
7.4.1	碳硫比制约的群落内平衡与反馈调节	210
7.4.2	顶极群落调节氧化还原电位的内平衡机制	212
7.5	限制因子的量化与调控	214
7.5.1	硫酸盐负荷率	214
7.5.2	pH	216
7.5.3	碱度	218
7.5.4	氧化还原电位	222
8	产酸发酵工艺的工程应用	225
8.1	有机废水处理工艺的确立	225
8.1.1	废水处理过程的基本特征	225
8.1.2	处理工艺的选择	226
8.2	生物制药废水处理工程	228
8.2.1	废水的水质水量	228
8.2.2	处理工艺选择	229
8.2.3	构筑物与设备	230
8.2.4	生物相分析	231
8.2.5	工艺特征	232
8.2.6	小结	233
8.3	高浓度中草药废水处理工程	233
8.3.1	废水的水质水量	234
8.3.2	处理工艺选择	234
8.3.3	构筑物与设备	237
8.3.4	生物相分析	238
8.3.5	工艺特征	240
8.3.6	小结	241
8.4	高浓度精细化工废水处理工程	241
8.4.1	废水的水质水量	242
8.4.2	处理工艺选择	242
8.4.3	构筑物与设备	243
8.4.4	生物相分析	244
8.4.5	工艺特征	248
8.4.6	小结	249
8.5	还原性染料废水处理工程	249

8.5.1 原有废水一级处理装置	250
8.5.2 处理工艺选择	251
8.5.3 构筑物及装置	252
8.5.4 生物相分析	252
8.5.5 工艺特征	254
8.5.6 小结	259
参考文献	260
附录	267
附录 1 产酸发酵微生物的分离与鉴定方法	267
附 1.1 产酸发酵细菌	267
附 1.2 产氢发酵细菌	271
附 1.3 利用电子显微镜分析产酸发酵微生物	273
附录 2 产酸发酵过程相关实验分析方法	275
附 2.1 碱度测定	275
附 2.2 氧化还原电位的测定	280
附 2.3 pH 的测定	282
附 2.4 挥发性脂肪酸的测定	284
附 2.5 硫酸盐和硫化物的测定	289
附 2.6 有机物厌氧生物可降解性测定	294
附 2.7 产酸发酵反应器内活性污泥生物量的测定	299
附 2.8 产酸发酵过程中还原糖的测定	301
附 2.9 淀粉含量的测定	304
附 2.10 蛋白质含量的测定	304
附录 3 产酸发酵微生物生态学研究中的分子生物学诊断方法	306
附 3.1 16S rRNA 文库及其序列分析技术	306
附 3.2 变性梯度凝胶电泳技术监测微生物群落	312
附 3.3 荧光原位杂交技术监测微生物群落	318
附 3.4 SSCP 技术在微生物群落动态监测中的应用	326
附 3.5 TRFLP 技术在微生物群落分析中的应用	333

1 概 述

产酸发酵微生物生理生态学，主要研究产酸发酵微生物个体和群体如何通过生理上的反应和调节以适应生境中生态因子改变的机制与规律，这一调节过程对于产酸发酵微生物与环境协同进化起着重要的促进作用，并影响着发酵类型和发酵末端产物的组成。

这里，笔者将产酸发酵微生物的范畴界定如下：①产酸发酵细菌(acidogenic fermentation bacteria, AFB)，指能将溶解性单体或二聚体有机物转化为以脂肪酸(fat acid)和醇为主要末端产物的细菌；②产氢发酵细菌，是一类以氢气为目标产物的特殊产酸发酵细菌，在发酵法生物制氢技术中被广泛采用；③产酸相反应器处理硫酸盐废水过程中参与有机物降解的产酸细菌群，包括水解细菌、产酸发酵细菌和产氢产乙酸细菌等。

1.1 产酸发酵微生物生理生态学的研究基础

1.1.1 厌氧生物处理的基本原理

1.1.1.1 厌氧生物处理工艺

厌氧生物处理工艺(anaerobic biotreatment process)传统上称之为厌氧消化(anaerobic digestion)，也称污泥消化(sludge digestion)。虽然厌氧生物处理技术问世已有 100 多年，但是很长一段时期内，厌氧生物处理工艺被认为是一种较慢的生物处理过程，而且仅仅适用于剩余污泥等有机物的处理，如 20 世纪 50 年代前，普通消化池是唯一的厌氧生物处理实用装置，主要用于污水处理厂剩余污泥的消化处理。即在无氧气的条件下，利用厌氧微生物的代谢活动，将污泥中的各种有机物转化为甲烷、二氧化碳等。在废水处理方面，几乎都是采用好氧生物处理工艺。20 世纪 50 年代后，随着环境污染的加剧和全球性能源危机的日益突出，在废水处理领域内，人们开始对厌氧生物处理工艺产生了新的认识和估价。特别是 70 年代以来，生物相分离技术提出以后，研究开发的第二代厌氧生物处理工艺和装置，使废水厌氧生物处理系统的有机负荷率和处理效率大大提高，进一步拓展

了厌氧生物处理的应用领域。随着对产甲烷细菌(methanogen)的生理学、生态学和生物化学等研究的进一步深入和工程实践经验的不断积累,陆续开发出很多新的厌氧生物处理工艺和设备。它们不仅克服了传统厌氧工艺的诸多缺点,而且使这一处理技术的理论和实践都有了很大的进步,使之在高浓度有机废水处理方面取得了良好的效果和显著的经济效益。

从 20 世纪 70 年代以来,厌氧生物处理工艺与设备主要朝着两个方面发展:①最大限度地提高反应器中的生物持有量,通过比好氧反应器中高几倍甚至几十倍的生物量,使处理效率接近或达到好氧处理的效率。基于此,开发出多种新型厌氧反应器,升流式厌氧污泥反应器、厌氧流化床反应器、厌氧膜膨胀床反应器、厌氧膨胀颗粒污泥床反应器以及复合式厌氧反应器、厌氧生物转盘、厌氧序批式反应器、厌氧折流板反应器和内循环升流式厌氧污泥层反应器等,其共同特征为有机负荷高、处理能力强。②利用厌氧细菌的特点,采取生物相分离技术,开发出两相厌氧反应器,使不同厌氧菌群在各自的反应器中各司其职,充分发挥作用,从而提高转化效率。

虽然厌氧生物处理工艺的发展较好氧生物处理技术起步晚,但是在不断的开发与应用过程中,以下几个方面突出的优点得到很多研究和应用者的认可与重视:①厌氧法可以直接处理高浓度有机废水,且耗能少、运行费用低;②污泥产率低;③营养物需求少;④可以回收沼气,具有一定的经济效益。目前,厌氧生物处理技术作为一种有效的工艺,广泛应用于工业生产废水的处理中。自 20 世纪 80 年代起,美国、英国等国家在应用厌氧处理工艺处理肉类加工废水、食品加工废水、乙醇加工废水等,取得了很好的处理效果,COD 去除率可达 65%~85%。世界上已有几十座 UASB 投入运行,其中最大的容积可达 5000m³。

1.1.1.2 复杂有机物的厌氧生物降解过程

复杂有机物是指高分子有机物,这些有机物在废水中以悬浮态或胶体形式存在。在废水的厌氧生物处理过程中,复杂有机物在多种微生物的共同作用下,被最终转化为甲烷、二氧化碳、硫化氢和氮气等。在此过程中,不同微生物的代谢过程相互影响,相互制约,形成复杂的生态系统。分析复杂有机物的厌氧过程,有助于我们了解这一过程的基本内容。

传统观点认为,有机物的厌氧生物处理分为两个阶段:产酸(或酸化)阶段(acidogenic phase)和产甲烷(或甲烷化)阶段(methanogenic phase)。产酸阶段几乎包括所有的兼性细菌;产甲烷阶段的细菌主要为产甲烷细菌。Bryant(1967)认为,复杂有机物的厌氧降解过程经历 4 个阶段(图 1-1):①水解(hydrolysis)阶段;②产酸发酵(acidogenic fermentation)阶段;③产氢产乙酸(H₂-producing acetogenesis)阶段;④产甲烷(methanogenesis)阶段。从厌氧细菌类型来看,完成上述 4 阶段的

微生物可以划分为两大菌群：产酸细菌(acidogens)(也称非产甲烷细菌，non-methanogens)，包括水解、产酸发酵、产氢产乙酸阶段的细菌群体；产甲烷细菌(methanogens)。

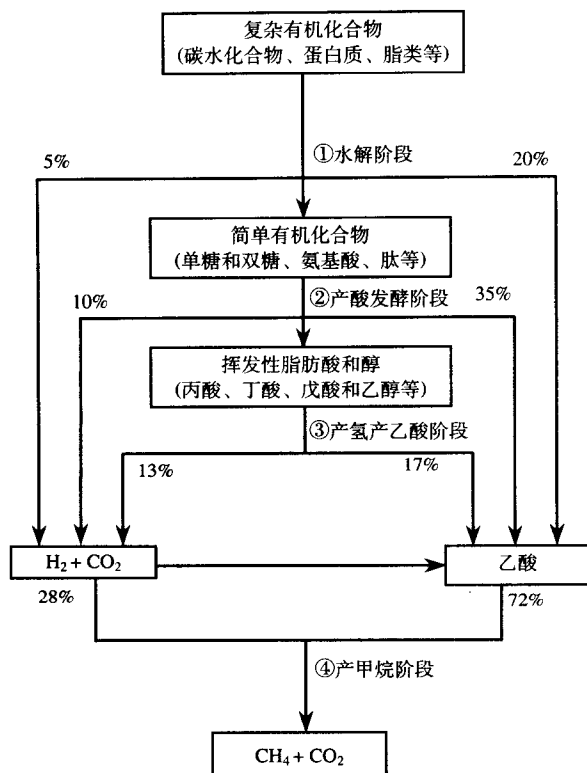


图 1-1 厌氧生物代谢过程 4 阶段示意图

在厌氧条件下，除以上这些过程之外，当废水中含有硫酸盐时，还会存在硫酸盐还原过程，含有硝酸盐和亚硝酸盐时还会发生反硝化作用以及厌氧氨氧化作用。

(1) 水解阶段

水解可以定义为复杂的非溶解性的有机物质在产酸细菌胞外水解酶的作用下被转化为简单的溶解性单体或二聚体的过程。非溶解性有机物是以胶体或悬浮固体形态存在的高分子有机物，因相对分子质量大，不能透过细胞膜，因此不可能为细菌直接利用，它们需在第 1 阶段(图 1-1)被胞外酶分解为小分子有机物。例如，纤维素被纤维酶水解为纤维二糖与葡萄糖，淀粉被淀粉酶分解为麦芽糖和葡萄糖，

蛋白质被蛋白酶水解为短肽与氨基酸等。这些小分子的水解产物能够溶解于水并透过细胞膜为细菌所利用。

对于含有难降解或高分子有机物的废水,水解过程通常较缓慢,因此水解过程是此类废水厌氧降解的限速步骤之一。多种因素可影响水解的速度和水解的程度,如温度、水力停留时间、有机物质的组成成分(如木质素、碳水化合物、蛋白质与脂肪的质量分数)、有机质颗粒的大小、pH、氨的浓度、水解产物的浓度等。

胞外酶能否有效地接触到底物对水解速率的影响很大,因此大的颗粒比小颗粒底物降解要缓慢得多。例如,来自于植物中的木质纤维素,其生物降解性极大地取决于纤维素和半纤维素被木质素包裹的程度。纤维素和半纤维素是可以生物降解的,但木质素难以降解,当木质素包裹在纤维素和半纤维素表面时,酶无法接触纤维素和半纤维素,导致降解缓慢。

(2) 产酸发酵阶段

发酵(fermentation)被定义为有机物既作为电子受体又是电子供体的生物降解过程,这一过程也称为酸化。参与产酸发酵过程中的主要微生物是产酸发酵细菌,它能将溶解性单体或二聚体形式的有机物转化为以脂肪酸(fat acid)和醇为主的末端产物,同时产生新的细胞物质。产酸发酵速率较快,末端产物主要有甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、己酸、乳酸等脂肪酸、醇类(乙醇等)、二氧化碳、氢气以及氨、氮气、硫化氢等。由产酸发酵反应过程的标准吉布斯自由能(表 1-1)可知反应均自发进行。因为发酵产物作为产甲烷细菌的底物,所以,发酵产物种类和产率对产甲烷过程影响较大。

表 1-1 产酸发酵细菌以葡萄糖为发酵底物的标准吉布斯自由能变化

反应(pH = 7, T = 298.15K)	$\Delta G'^{\ominus}/(\text{kJ/mol})$
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 4\text{H}_2\text{O} + 2\text{NAD}^+ \longrightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + 2\text{HCO}_3^- + 2\text{NADH} + 2\text{H}_2 + 6\text{H}^+$	-215.67
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2\text{NADH} \longrightarrow 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{NAD}^+$	-357.87
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{HCO}_3^- + 2\text{H}_2 + 3\text{H}^+$	-261.46
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{NADH} \longrightarrow 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 2\text{HCO}_3^- + 2\text{NAD}^+ + 2\text{H}_2$	-234.83
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \longrightarrow 2\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + 2\text{H}^+$	-217.70

产酸发酵细菌种类、数量众多,其中重要的类群有梭状芽孢杆菌属(*Clostridium*)和拟杆菌属(*Bacteriodes*)等。梭状芽孢杆菌属是厌氧产芽孢的细菌,它们能

在较恶劣的环境条件下存活。拟杆菌属大量存在于有机物丰富的地方，它们分解糖、氨基酸和有机酸。上述细菌大多数是严格厌氧的，但随着反应器中缺氧条件的不同，兼性厌氧细菌的数量也随之增加。当厌氧反应器进水中溶有氧气时，这些兼性厌氧细菌能够起到保护严格厌氧细菌(如产甲烷细菌)的左右，使之免受氧的损害与抑制。

产酸发酵的末端产物组成取决于厌氧生态条件、底物种类和参与的微生物种群。例如，若产酸发酵过程在一个专门的产酸反应器(如两相厌氧生物处理的产酸反应器)中进行，则末端产物组成将受到不同生态因子(如 pH、氧化还原电位、有机负荷、水力停留时间和碱度等)的共同影响。根据 Cohen 等(1979)的研究结果，有机废水产酸发酵存在两种发酵类型：丁酸型发酵(butyric acid type fermentation)和丙酸型发酵(propionic acid type fermentation)。丁酸型发酵的典型末端产物是丁酸、乙酸和 H_2/CO_2 ；丙酸型发酵的主要末端产物是丙酸、乙酸和 CO_2 ，氢气产量很少。任南琪(1994)提出了有机废水产酸发酵的另一种类型——乙醇型发酵^①(ethanol type fermentation)，其主要末端产物为乙醇、乙酸和 H_2/CO_2 以及少量的丁酸。

(3) 产氢产乙酸阶段

1) 产氢产乙酸过程。产氢产乙酸过程是将产酸发酵阶段两个碳以上的有机酸(除乙酸)和醇转化为乙酸、氢气、二氧化碳等的过程，并产生新的细胞物质。营产氢产乙酸过程的细菌称为产氢产乙酸细菌(H_2 -producing acetogens, HPA)。产氢产乙酸过程的某些反应及其标准吉布斯自由能见表 1-2，表中假定水为纯液体，所有化合物在溶液中浓度为 1.0mol/kg 。

表 1-2 产氢产乙酸细菌对几种有机酸和醇代谢的标准吉布斯自由能变化

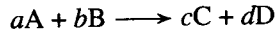
反应($pH = 7, T = 298.15K$)	$\Delta G'^{\ominus}/(kJ/mol)$
$CH_3CH_2OH + H_2O \longrightarrow CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+9.6
$CH_3CH_2COO^- + 3H_2O \longrightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$	+76.1
$CH_3CH_2CH_2COO^- + 2H_2O \longrightarrow 2CH_3COO^- + H^+ + 2H_2$	+48.1
$CH_3CHOHCOO^- + 2H_2O \longrightarrow CH_3COO^- + HCO_3^- + H^+ + 2H_2$	-4.2

由表 1-2 可见，在标准条件下，乙醇、丁酸和丙酸的产氢产乙酸过程不能自

^① 厌氧生物处理中 3 种发酵类型是指混合细菌培养的发酵类型，不同于经典生物化学中细菌纯培养的丁酸发酵(butyric acid fermentation)、丙酸发酵(propionic acid fermentation)和乙醇发酵(ethanol fermentation)。

发进行,因为在这些反应中 $\Delta G'^{\ominus}$ 为正值,但氢分压降低有利于产物产生。

假如反应为



则实际自由能计算公式如下

$$\Delta G = \Delta G'^{\ominus} + RT \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

式中: R 为摩尔气体常量, 氢分压一般不高于 0.1 hPa , 平均值约为 10^{-3} hPa 。当作为反应产物之一的氢分压(p_{H_2}) $< 0.1 \text{ hPa}$ 时, 乙醇、丁酸和丙酸的降解一般均可以自发进行, 即反应的实际自由能 ΔG 成为负值, 见图 1-2。由此可见, 对于单相厌氧生物处理反应器, 只有在产氢产乙酸细菌产生的氢被利用氢的产甲烷细菌有效地利用时, 系统中氢才能维持在很低的分压, 这说明生化反应需要菌种之间密切的共生关系, 这种现象称为“种间氢传递(interspecies hydrogen transfer)”。研究表明, 几种有机酸的产氢产乙酸速率顺序为: 乙醇 $>$ 乳酸 $>$ 丁酸 $>$ 丙酸。

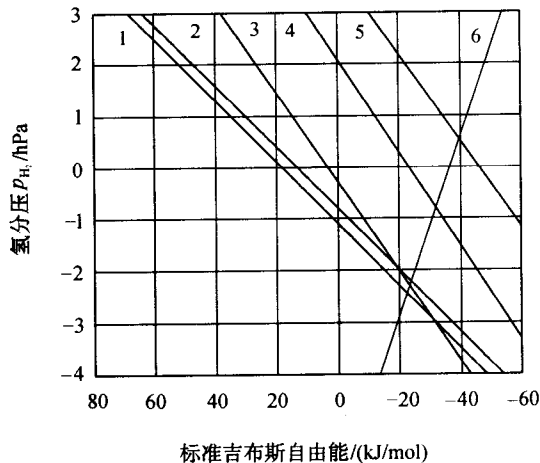


图 1-2 产氢产乙酸(及产丙酸)的吉布斯自由能($\Delta G'$)变化。[乙酸]=[乙醇]= 20 mmol/L ,
[丁酸]=[乳酸]= 10 mmol/L , [丙酸]= 5 mmol/L , $[\text{HCO}_3^-] = 20 \text{ mmol/L}$, $\text{pH} = 7$

1—丁酸 $\rightarrow$ 丙酸; 2—丙酸 $\rightarrow$ 乙酸; 3—丁酸 $\rightarrow$ 乙酸;
4—乙醇 $\rightarrow$ 乙酸; 5—乳酸 $\rightarrow$ 乙酸; 6—乳酸 $\rightarrow$ 丙酸

在反应器中, 各类菌群往往构成微生物生态系统, 在此系统中, 产氢产乙酸细菌靠近利用氢的细菌生长, 因此氢可以很容易被消耗掉并使产乙酸过程顺利进行。除了许多产甲烷细菌可以利用氢以外, 硫酸盐还原菌和反硝化细菌等也能消耗氢。

2) 同型产乙酸过程。在厌氧条件下, 能产生乙酸的细菌有两类: 一类是化能异养型厌氧细菌, 能利用有机基质产生乙酸; 另一类是混合营养型(化能自养和化能异养型)厌氧细菌, 既能利用有机基质产生乙酸, 也能利用 H_2+CO_2 或甲醇等作为底物形成乙酸。前者通常归类于产酸发酵细菌, 后者特称之为同型产乙酸细菌(homo-acetogens, HOMA), 混合营养型产乙酸的这一特征是它区别于其他发酵细菌的重要标志, 也是成为独立的一种细菌类群的原因。同型产乙酸细菌是专性厌氧细菌, 以 CO_2 为最终电子受体, 以 H_2 及其他有机物(如糖类、有机酸、醇类、氨基酸等)为供氢体, 乙酸是其无氧呼吸的唯一产物。许多同型产乙酸细菌还可以还原 NO_3^- 和 $S_2O_3^{2-}$ 。

同型产乙酸细菌将 CO_2 还原为乙酸是通过乙酰 CoA 途径(又称作 Ljungdahl-Wood 途径, 图 1-3)实现的。表 1-3 列出了主要的同型产乙酸细菌。以乙酸梭菌(*Clostridium aceticum*)和伍德乙酸杆菌(*Acetobacterium woodii*)为例, 它们既可以营化能自养型生长, 又可以营化能异养型生长, 化学计量式如下所示

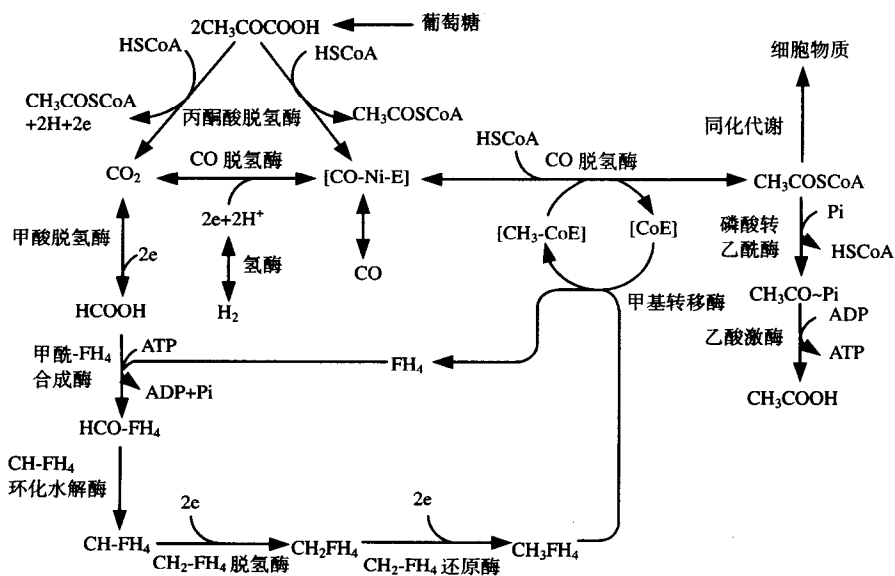
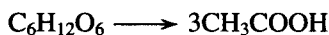


图 1-3 乙酰 CoA 途径, 包括同型产乙酸菌、硫酸盐还原菌和产甲烷菌
THF—四氢叶酸; B_{12} —辅酶维生素 B_{12} ; CO 与 CO 脱氢酶中的 Fe 原子结合,
而 CH_4 与其内的有机镍化合物结合