

厌氧固态发酵

原理与应用

陈洪章 等 编著

中国农业科学技术出版社

厌氧固态发酵

原理与应用

陈洪章 等 编著

中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

厌氧固态发酵原理与应用/陈洪章等编著. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2009. 7

ISBN 978-7-80233-907-1

I. 厌… II. 陈… III. 厌氧处理 - 固态发酵 IV. TQ920.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 088643 号

责任编辑 莫小曼

责任校对 贾晓红

出版者 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010) 82106630 (编辑室) (010) 82109704 (发行部)

(010) 82109703 (读者服务部)

传 真 (010) 82106636

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 新华书店北京发行所

印 刷 者 北京华正印刷有限公司

开 本 787 mm × 1092 mm 1/16

印 张 15.25

字 数 280 千字

版 次 2009 年 7 月第 1 版 2009 年 7 月第 1 次印刷

定 价 35.00 元

前言

目前的发酵工业大多以好氧发酵为主体,供氧需要能耗,并产生大量的二氧化碳(CO₂)。实际上,最初的发酵工业只能采用厌氧方式规模生产一些厌氧发酵产品,而从节能减排来讲,发酵工业的未来应以厌氧发酵为主。固态发酵也是一种节能节水的清洁发酵技术,因此,厌氧固态发酵是今后的发展方向。目前的白酒发酵、乙醇发酵、丁醇发酵、部分有机酸发酵和传统的烟草、香肠、茶叶等均采用的是厌氧固态发酵方式,需要对其进行挖掘整理,总结厌氧固态发酵的基本规律,指导和带动相关的发酵工业生产。由于目前厌氧生物技术主要用于环境治理,因此,国内已经出版的多部有关厌氧生物技术书籍,均是以废水生物治理或环境生物治理为主线。

本书是在我们多年进行乙醇固态发酵、烟草发酵等研究的基础上,根据厌氧固态发酵的应用前景,提出了厌氧固态发酵原理与应用这一理念。本书首先分析发酵工业、厌氧生物技术和固态发酵发展历程,以及厌氧固态发酵现状,总结出厌氧固态发酵的发展趋势和应用前景;其次,讨论分析影响厌氧固态发酵过程的主要因素,以及现有厌氧固态发酵反应器结构特点;最后,介绍有关厌氧固态发酵产品的工艺路线和特点。

作者在该方面的研究得到了国家重点基础研究发展计划(“973”计划)(2004CB719700)和中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KGCX2-YW-328)的资助。另外,我的十几位硕士和博士研究生的研究工作是本书得以出版的重要前提,其中代树华硕士参与第1章的撰写,迟菲博士参与第2章的撰写,陈国忠博士参与第3章的撰写和全书汇总,丁文勇博士参与第4章的撰写,迟菲博士、乔小青硕士和代树华硕士参与第5章的撰写,张志国博士和于彬博士参与第6章的撰写,李宏勋博士、于彬博士和陈国忠博士参与第7章的撰写,张翔博士参与第8章的撰写。在本书编著过程中,参考了大量国内外前辈和同行们撰写的书籍和期刊论文资料,在此一并表示衷心的感谢。

书中有不当之处,诚请读者批评指正,并欢迎来函指导。

陈洪章

2008年5月于北京市中关村北二条1号
中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室

E-mail: hzchen@home.ipe.ac.cn

目录

第1章 概论	1
1.1 厌氧固态发酵的内涵	2
1.2 厌氧固态发酵的特点	3
1.3 厌氧固态发酵的历史与现状	4
1.4 厌氧固态发酵的发展前景	5
参考文献	6
第2章 厌氧发酵微生物学基础	7
2.1 引言	7
2.2 兼性厌氧菌	9
2.2.1 酵母菌	10
2.2.2 肠杆菌	17
2.2.3 乙醇发酵霉菌	21
2.3 微好氧菌	22
2.3.1 运动发酵单胞菌的微生物学以及生长特性	22
2.3.2 运动发酵单胞菌的代谢以及发酵特性	24
2.3.3 运动发酵单胞菌的基因工程菌株	25
2.3.4 乙醇发酵菌株的研究进展	26
2.4 耐氧菌	27
2.4.1 乳酸菌的微生物学特性	27
2.4.2 乳酸菌的代谢以及发酵特性	27
2.4.3 乳酸菌的基因工程菌株	29

2.5	厌氧菌	30
2.5.1	丁酸型发酵菌	30
2.5.2	丙酸菌	36
2.5.3	产甲烷菌	39
2.5.4	固氮细菌	43
2.5.5	不产氧光合细菌	47
2.6	厌氧发酵中的专性好氧菌	53
2.6.1	酿酒中的微生物	53
2.6.2	沼气发酵、污水处理以及堆肥中的微生物	53
2.7	新的厌氧微生物资源的开发	55
2.7.1	极端微生物	55
2.7.2	不可培养的厌氧微生物	58
2.8	厌氧发酵微生物的研究趋势	59
2.8.1	筛选和驯化新型厌氧发酵微生物	60
2.8.2	构建厌氧发酵基因工程菌	60
2.8.3	混菌发酵	60
	参考文献	61

第3章	固态发酵的基本原理	69
3.1	固态发酵概念	69
3.2	厌氧与好氧固态发酵的异同点	69
3.3	固态发酵界面与微生物代谢的关系	71
3.3.1	营养物在界面上的富集	72
3.3.2	微生物在界面上的分布	73
3.3.3	微生物界面效应的实践意义	74
3.4	纯种、限定混合和自然富集固态发酵	76
3.4.1	纯种固态发酵	76
3.4.2	自然富集固态发酵	76
3.4.3	限定混合固态发酵	77
3.5	厌氧固态发酵的类型	79
3.5.1	厌氧固态发酵	79
3.5.2	兼性厌氧固态发酵	81
3.5.3	好氧厌氧顺次固态发酵	83
3.5.4	厌氧好氧复式固态发酵	84
	参考文献	85

第 4 章 厌氧固态发酵反应器	87
4.1 引言	87
4.2 影响厌氧固态发酵过程的主要因素	87
4.2.1 湿度与水活度	88
4.2.2 温度与热量传递	88
4.2.3 通气与传质过程	89
4.2.4 pH	89
4.3 固态发酵过程控制策略	90
4.3.1 湿度控制	90
4.3.2 温度控制	90
4.3.3 通气控制	90
4.3.4 pH 控制.....	90
4.4 厌氧固态发酵反应器类型	91
4.4.1 白酒厌氧固态发酵反应器	92
4.4.2 乙醇发酵反应器	96
4.4.3 茶叶发酵反应器	99
4.4.4 沼气干发酵反应器.....	101
参考文献.....	103
第 5 章 厌氧固态发酵在生物能源领域的应用	108
5.1 沼气厌氧固态发酵	109
5.1.1 沼气的概念和特性.....	109
5.1.2 沼气厌氧固态发酵.....	110
5.1.3 沼气厌氧固态发酵反应器.....	117
5.2 厌氧发酵生物制氢	120
5.2.1 生物制氢微生物以及产氢机制.....	121
5.2.2 厌氧生物制氢过程.....	123
5.2.3 厌氧发酵生物制氢的发展方向.....	127
5.3 燃料乙醇固态发酵	128
5.3.1 燃料乙醇的发展概况.....	128
5.3.2 乙醇发酵原理.....	128
5.3.3 发酵方式.....	129
5.3.4 发酵工艺流程.....	129

5.3.5	能效分析	133
5.3.6	前景与展望	133
	参考文献	133
第6章	厌氧固态发酵生产生物基化学品	139
6.1	乳酸发酵	140
6.1.1	前言	140
6.1.2	乳酸生产菌及其发酵机制	141
6.1.3	乳酸固态发酵关键过程控制和调控	142
6.2	醋酸发酵	147
6.2.1	从食醋到醋酸	147
6.2.2	醋酸发酵机制	148
6.2.3	食醋酿造和醋酸生产	148
6.2.4	同型醋酸菌发酵生产醋酸	151
6.3	丙酸和丁酸发酵	152
6.3.1	前言	152
6.3.2	发酵微生物和发酵机制	153
6.3.3	生产技术现状和展望	155
6.4	丙酮、丁醇发酵工艺	156
6.4.1	丙酮、丁醇厌氧发酵原理	157
6.4.2	丙酮、丁醇厌氧固态发酵技术	159
6.4.3	展望	162
	参考文献	163
第7章	传统发酵中的厌氧固态发酵	169
7.1	白酒厌氧固态发酵工艺	169
7.1.1	白酒厌氧固态发酵原理	170
7.1.2	白酒的厌氧固态发酵工艺	170
7.1.3	白酒的生产工艺	174
7.1.4	展望	177
7.2	香肠发酵工艺	177
7.2.1	发酵香肠的特点	180
7.2.2	香肠发酵的研究现状	181
7.2.3	香肠通过微生物发酵的主要机制	184

7.2.4	发酵方法与工艺路线	187
7.3	烟草发酵	190
7.3.1	烟草发酵概述	191
7.3.2	烟草固态发酵的机制研究	193
7.3.3	烟草固态发酵的工艺研究	197
7.3.4	烟草固态发酵的发展前景	198
7.4	酸奶	199
7.4.1	酸奶的营养保健作用	199
7.4.2	酸奶的发酵剂	200
7.4.3	酸奶的主要类型	202
7.4.4	酸奶的生产工艺及其操作要点	202
7.5	泡菜	205
7.5.1	乳酸菌发酵泡菜的机制及过程	205
7.5.2	泡菜的生产工艺及研究进展	206
7.6	中药发酵	209
7.6.1	中药发酵的历史	209
7.6.2	中药发酵的研究现状和进展	210
	参考文献	212
第8章	堆肥和青贮饲料固态发酵	220
8.1	堆肥	221
8.1.1	堆肥化概述	221
8.1.2	堆肥的原理	221
8.1.3	厌氧堆肥工艺	223
8.1.4	堆肥的发展趋势	226
8.2	青贮饲料	227
8.2.1	青贮饲料概述	227
8.2.2	饲料青贮原理	228
8.2.3	青贮原料	228
8.2.4	饲料青贮工艺	228
8.2.5	饲料青贮的方法	229
8.2.6	青贮饲料的品质鉴定	229
8.2.7	青贮饲料常用添加剂	230
8.2.8	青贮饲料的应用前景	232
	参考文献	232

◆ 第 1 章 概论

发展现代厌氧固态发酵不仅可以在传统厌氧固态发酵的基础上实现原料路线的变更, 同时还可以对制造路线和产品对象进行变更, 以最大限度的利用资源, 减少污染和排放。厌氧固态发酵的产品加工路线可显著提高资源利用效率, 减少三废排放, 产生明显的经济和社会环境效益。通过将一些传统的好氧过程改变为厌氧过程, 既可减少能量消耗和 CO₂ 排放, 也可增加产品收率和碳资源利用效率, 大大提升过程的竞争力。以乳酸生产过程为例, 在历史上的很长一段时间, 好氧生物转化过程为主流, 但该过程理论质量产率低, 且为提高 O₂ 在体系中的分散度和传质效率而必须强化搅拌, 耗费大量的能量, 同时释放大量 CO₂, 造成了碳资源的浪费。后来, 通过菌种的选育和改良及过程工程技术的发展, 乳酸生产过程由好氧过程转向厌氧过程, 显著提高质量产率, 减少能量消耗和 CO₂ 排放(表 1-1), 提高了碳资源的利用率。

表 1-1 三种产品的不同生物加工路线比较

产品	PHA		乳酸		丁二酸	
	好氧	厌氧	好氧	厌氧	好氧	厌氧
过程特点	好氧	厌氧	好氧	厌氧	好氧	厌氧
CO ₂ 产出	+	-	+	/	+	-
理论质量产率 (%)	48	64	75	100	65.6	112

注: “+”表示释放 CO₂; “-”表示固定 CO₂; “/”表示无 CO₂ 产出。

虽然厌氧固态发酵的优势明显, 但由于厌氧微生物的分离和纯种培养困难, 研究厌氧微生物的技术和方法进展又相当缓慢, 致使人类对厌氧微生物的认识和利用远远落后于对好氧微生物和兼性厌氧微生物的研究工作, 同时由于传统固态发酵的可控性不高、发酵设备陈旧落后、产品质量不稳定等因素, 造成固态发酵研究的滞后性。直到近 20 年来, 随着厌氧操作技术的不断完善, 并且由于厌氧固态发酵具有节水、节能、环保的独特优势, 厌氧固态发酵逐步引起世界各国的重视。本着继承、发展和创新的精神, 本书从全新角度和发展的观点来讨论厌氧固态发酵, 不仅对厌氧固态发酵基础理论上进行分析, 而且从厌氧固态发酵的典型应用过程上来说明, 以期使人们重新认识厌氧固态发酵。

1.1 厌氧固态发酵的内涵

按照培养基物理性状不同，一般将发酵工艺过程按发酵方式分为两大类：固态发酵（Chen 等，2002a；Chen 等，2002b）和液态发酵。而按发酵过程中对氧的不同需求来分，又可分为厌氧发酵和好氧发酵两大类型。因此对于厌氧固态发酵来讲，是指在没有或几乎没有氧气和自由水存在下，在有一定湿度的水不溶性固态基质中，用一种或多种微生物发酵的一个生物反应过程。

厌氧固态发酵需要从厌氧和固态两方面来理解。

厌氧的意思是指发酵环境是缺氧的，同时发酵微生物类型是厌氧微生物或兼性厌氧微生物。在厌氧环境下，从葡萄糖到丙酮酸的阶段，其发酵过程和好氧发酵是完全相同的。而从丙酮酸开始，它们分别沿着不同的途径形成不同的产物：在有氧条件下，丙酮酸彻底氧化分解成 CO_2 和水，全过程释放较多的能量；在无氧条件下，丙酮酸则分解成为乙醇和 CO_2 ，或者转化成乳酸，全过程释放较少的能量。对于厌氧菌，通常认为是一类只能在低氧分压的条件下生长，而不能在空气（18% 氧气）和（或）10% CO_2 浓度下的固体培养基表面生长的细菌，按其耐氧的耐受程度的不同，可分为专性厌氧菌、微需氧厌氧菌和兼性厌氧菌，它们的生长代谢与好氧菌差别很大。需要指出的是，厌氧发酵因为在发酵过程中无须通气搅拌而能有效降低能耗，同时能极大地减少 CO_2 排放量，符合当今世界节约能源和保护环境的要求，这使得此种发酵方式极具竞争优势。

固态发酵从广义上讲是指一类使用不溶性固体基质来培养微生物的工艺过程，既包括将固态悬浮在液体中的深层发酵，也包括在没有（或几乎没有）游离水的湿固体材料上培养微生物的工艺过程，多数情况下是指在没有或几乎没有自由水存在下，在有一定湿度的水不溶性固态基质中，用一种或多种微生物发酵的一个生物反应过程；狭义上，固态发酵是指利用自然底物作碳源及能源，或利用惰性底物作固体支持物，其体系无水或接近于无水的任何发酵过程。固态的发酵环境所提供的丰富的界面环境和微生物给多种微生物的共同生长代谢提供了条件，而多种微生物的共同作用又带来比液态条件下更多的风味物质。

随着厌氧固态发酵技术的改进和完善，厌氧固态发酵不仅可以应用于好氧液态发酵不能实现的发酵过程，也可应用于一些目前已有的好氧液态发酵过程并与之争高低。应用现代厌氧固体发酵技术能实现大规模生产，而且其投资规模和生产成本往往要比好氧液态发酵法低，更重要的是厌氧固态发酵往往没有污染环境的废物产生，在现代发酵工业中将发挥越来越重要的作用。

1.2 厌氧固态发酵的特点

在厌氧固态发酵中，微生物是在无氧条件下，附着于固体培养颗粒的表面生长或菌丝体穿透固体颗粒基质，进入颗粒深层生长（任南琪等，2004），而可被生物降解或不被降解的多孔固体基质，有较大的用于微生物生长的气固表面积（ $10^3 \sim 10^6 \text{m}^2/\text{cm}^3$ ）。此外，为了具有较高的生物化学过程，基质需要吸附一倍或几倍的水分，保持相对高的水活度。相对于好氧发酵和液态发酵，厌氧固态发酵有很多优势特点：

(1) 节省能耗。好氧菌降解有机物是有氧呼吸，必须通气提供分子氧，耗能较高。厌氧固态发酵过程中，微生物分解有机物是无氧呼吸，故不必给系统提供氧气，也没有与之相随的微生物的大量合成，从而减少了处理废弃物的费用，其费用只相当于好氧生物技术的10%。

(2) 可以产生生物能。有机物在好氧降解时，如碳水化合物，其中约有2/3用于合成细胞，约有1/3用于氧化分解提供能量；而厌氧降解时，只有少量有机物被同化为细胞，大部分被转化为 CH_4 和 CO_2 。有机废弃物的厌氧发酵可以产生沼气，作为能源利用，而且污泥产量少。如今城市的垃圾、废水均进行厌氧处理，以产生的沼气用来供污泥加热和发电。资料表明，发达国家城市废水厌氧消化产生的沼气转化的电能可解决处理时所需电力的33%~100%。

(3) 对氮和磷的需求量较低。氮和磷等营养物质是组成细胞的重要元素，而厌氧生物处理要去除 1kgBOD_5 所合成细胞量远低于好氧生物处理，因此可减少氮和磷的需要量，降低费用，一般情况下只要满足 BOD_5 ：氮：磷 = (200 ~ 300)：5：1即可。

(4) 降解有机废弃物。随着化学工业的发展，越来越多的化合物被合成，这些人工合成的有机物有些是可以生物降解的，有些则是难于生物降解的或不能生物降解的，甚至是有毒的。这些有毒物进入常规的好氧废水生物处理系统，不仅得不到理想的处理效果，而且对微生物产生毒害，影响生物处理的正常进行。厌氧微生物可以适应复杂的基质并能忍受毒性，从而对有机物进行很好的降解。

(5) 不产生废水。液态发酵产生大量的废水，污染环境。如液态发酵乙醇，每吨成品乙醇产生的酒糟为12~15t，一般酒糟的BOD生物需氧量为25 000~35 000mg/L。厌氧固态发酵用水量少，发酵后也没有大量的废水产生，降低废水处理成本，属于清洁生产。

(6) 设备简单。由于不需要考虑好氧发酵中 O_2 的传递问题，所以不需要搅

拌、曝气设备等。

1.3 厌氧固态发酵的历史与现状

从史前到 19 世纪末,在微生物的性质尚未被人们所认识时,人类已经利用自然接种方法进行发酵制品的生产,主要产品有酒、乙醇、醋、酵母、干酪、酸奶等,其中有很多都是采用的厌氧固态发酵方式。比如中国古代的白酒酿造工艺,采用大型深层地窖对固态发酵料进行堆积式固态发酵。这是因为以前纯种培养技术以及无菌操作技术还没有发展起来,在厌氧和固态基质条件下,只有一些特定的微生物才能生长,不容易污染杂菌。然而,当时实际上还谈不上发酵工业,而仅仅是家庭式或作坊式的手工业生产,多数产品为自然接种条件下的厌氧固态发酵产物,非纯种培养,凭经验传授技术和产品质量不稳定是这个阶段的特点。而且,厌氧条件不利于大量繁殖和培养菌种,传统的固态发酵不容易进行纯种大规模培养,这些因素影响了厌氧固态发酵的发展。

德国人柯赫 (Robert Koch, 1843 ~ 1910) 首先发明固体培养基,得到了细菌的纯培养物,由此建立微生物的纯培养技术。这开创了人为控制发酵过程的时期,再加上简单密封式发酵罐的发明、发酵管理技术的改进,发酵工业逐渐进入了近代化学工业的行列。这时期的产品有酵母、乙醇、丙酮、丁醇、有机酸、酶制剂等,主要是一些厌氧发酵和表面固体发酵产生的初级代谢产物。

随着纯种培养以及无菌操作技术的发展,好氧液态发酵成为 20 世纪发酵的重点,带来发酵业的繁荣。然而,好氧液态发酵存在着很多问题,例如,为了供氧搅拌而需要大量的能耗,发酵后的污水多,难处理,因为好氧呼吸作用而排放大量 CO_2 。在提倡节能减排的 21 世纪,发酵业需要新的变革,厌氧固态发酵重新获得人们的关注。

当前,世界各国对于厌氧技术应用的兴趣已日益增加,厌氧技术作为一门独立的学科已成为国际上的研究热点,厌氧生物处理的有效性与实用性已被充分认识与肯定。通过人工的方法在一种反应器内创造厌氧微生物所需要的营养条件和环境条件,使设备内积累高浓度的厌氧微生物,以加速厌氧发酵过程,从而使人工厌氧发酵的速度大大超过自然界中自发的厌氧发酵。同时,现代的新型固态发酵反应器和发酵技术可以解决固态发酵的传质传热以及大规模纯种培养的问题,借助基因工程和代谢工程的手段可以解决厌氧条件下微生物生长以及发酵产物的问题。在这种情况下,厌氧固态发酵成为未来发酵业的发展趋势。

1.4 厌氧固态发酵的发展前景

厌氧固态发酵近几年在有机酸、乙醇、生物活性物质、风味物质及其他类化合物领域的研究得到迅速发展及应用,但大多数处在实验室研究阶段。尽管如此,厌氧固态发酵仍有可能是解决当前人类所面临的环境、食品和能源“三大危机”的一个有效手段。当前,许多工农业残渣、城市生活垃圾已成为人类社会公害,对人类的生存环境均产生不利的影 响,随着人们对厌氧固态发酵机制认识不断加深,现代厌氧固态发酵技术可以将这些材料进行降解、修复、转化为对人们有益或无害的物质,既无损于既定自然生态系统,又可以成功解决环境问题、减轻资源危机。

例如,沼气发酵不仅提供气体燃料,而且解决了人畜粪便和工业废水的污染问题,但存在废水的二次污染问题。目前沼气开发的一个重要方向就是沼气干发酵,也就是本书所阐述的沼气的厌氧固态发酵过程。沼气干发酵体系中有有机质含量较高,因此提高了池容产气率和池容效率;消化后的产品也不需脱水即可作为肥料,这既是另一种有价值的副产物,也解决了废水的二次污染问题。

再比如乙醇的厌氧固态发酵。目前以淀粉原料为基础的乙醇工业主要是液态发酵,由于粮食生产乙醇威胁到中国乃至世界的粮食安全,同时造成的大量废水排放,继续大规模开发淀粉质原料生产乙醇的项目不符合可持续发展战略。近年来研究者注意到,利用非粮作物和秸秆等木质纤维原料作为发酵底物,通过厌氧固态发酵方式生产乙醇,不仅可以缓解粮食危机,降低生产成本,同时几乎没有废水排放,作为发酵渣的剩余物还可以用作饲料,可谓一举数得。因此从经济和环保的角度考虑,开发厌氧固态乙醇发酵更具有实际意义。

厌氧固态发酵应用具有巨大的潜能,但与液体发酵研究相比,固态发酵在传质、传热等方面缺乏有效的研究,难以实现工业化大规模的生产。其原因主要为:通风散热困难,易染菌,基质利用率低,缺少固态发酵反应器设计和放大的统一标准,缺少完善的传质、传热数学模型,检测手段不完备等。针对以上问题,要发展厌氧固态发酵应从以下几个方面详细研究:

(1) 固态发酵产物积累容易对发酵菌株形成反馈抑制,因此固态发酵菌种对产物的耐受性要高,要加强菌种筛选、培育和诱变等方面的工作;

(2) 限定混合菌种发酵的研究。自然发酵不易控制,产品产量和质量都不稳定,而纯种发酵易染菌,产物种类较为单一,将几种不同菌种组合发酵并进行人为控制,不仅能极大丰富发酵菌种的种类,而且有可能通过菌种间的相互影响

以及产物之间的反应变化产生意想不到的结果；

(3) 由于固态发酵传质传热不如液态，所以应该重视固态发酵反应器的研究，尤其是目前厌氧反应器的研究不多，应尽快实现厌氧固态发酵反应器从传统粗放向精密控制的转变；

(4) 适合厌氧固态发酵的工艺参数的研究。现在的工艺参数大部分都是针对好氧液态发酵设计的，并不完全适用于厌氧固态发酵过程；

(5) 分离技术的研究，尤其是在线分离技术的研究，这对于厌氧固态发酵来说难度更大。

参 考 文 献

Chen Hongzhang, Xu Fujian, Li Zuohu, 2002a. A novel industrial level reactor with two dynamic changes of air for solid state fermentation. *Journal of Biosciences and Bioengineering*, 93 (2): 211 - 214.

Chen Hongzhang, Xu Fujian, Li Zuohu, 2002b. Solid state production of biopulp by *Phanerochaete chrysosporium* using steam exploded wheat straw as substrate. *Bioresource Technology*, 81: 261 - 263.

任南琪等, 2004. 厌氧生物技术原理与应用. 北京: 化学工业出版社, 25.

陈洪章, 徐健, 2004. 现代固态发酵原理及应用. 北京: 化学工业出版社.

◆ 第 2 章 厌氧发酵微生物学基础

2.1 引言

厌氧发酵是由能够在厌氧条件下进行发酵的微生物来完成的。这些微生物大多数都是细菌，也有真核微生物（如酵母菌），还有古细菌。

原始生命生存环境是原始大气，由于原始大气中没有游离氧的存在，所以原始生命只能是厌氧的，只有在生物的进化过程中，出现绿色植物之后，通过绿色植物的光合作用产生出大量氧气，才能有需氧型生物的出现。原始生命的厌氧呼吸的效率极低，而当时海洋中的养料并不能维持很长时间，后来叶绿素产生了，它向生命体提供养料，生命体不再依赖通过厌氧过程聚集起来但不断减少的营养素，厌氧微生物进化成需氧微生物。至今，厌氧微生物仍然存在，它们能够在氧气不足或无氧气的情况下完成生物化学反应，从而净化受到污染的水体。原始生命环境是恶劣的，所以当时的厌氧微生物大多数被我们现在称为极端微生物，随着生命的进化，有些厌氧微生物的这些耐受恶劣环境的能力仍然保存下来，现在我们生活中的很多厌氧微生物对极端环境的耐受性很强，这使厌氧微生物更能够适应工业发酵的一些极端环境。

生物体在进行生命活动的过程中，必须不断地消耗能量。而能量的产生依赖于呼吸作用。通过呼吸作用，将体内有机物分解，并释放出能量，供生命活动所需。一般情况下，生物呼吸作用的方式有两种类型：有氧呼吸和无氧呼吸，但是，无氧呼吸比有氧呼吸释放的能量少。在好氧条件下，氧是微生物能量代谢中最终电子受体，而在厌氧条件下，简单有机物成为电子受体。两者相比，厌氧分解过程产生的能量少。例如在沼气发酵过程中，沼气微生物获得自身生长繁殖需要的能量少。在有机物质（基质）相同的条件下，厌氧消化所释放的能量仅为耗氧消化所释放能量的 $1/30 \sim 1/20$ 。从这个意义上说，厌氧发酵比好氧发酵所消耗的能量少，废物的排放少，更节能减排。

不同类群的微生物对氧要求不同，可根据微生物对氧的不同需求与影响，把

微生物分成如下几种类型：

(1) 专性好氧菌 (obligate or strict aerobes)。这类微生物具有完整的呼吸链，以分子氧作为最终电子受体，只能在较高浓度分子氧的条件下才能生长，大多数细菌、放线菌和真菌是专性好氧菌。如醋杆菌属 (*Acetobacter*)、固氮菌属 (*Azotobacter*)、铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 等为专性好氧菌。

(2) 兼性厌氧菌 (facultative anaerobes)。兼性厌氧菌也称兼性好氧菌 (facultative aerobes)。这类微生物的适应范围广，在有氧或无氧的环境中均能生长。一般以有氧生长为主，有氧时靠呼吸产能；兼具厌氧生长能力，无氧时通过发酵或无氧呼吸产能。如大肠杆菌 (*E. coli*)、产气肠杆菌 (*Enterobacter aerogenes*) 等肠杆菌科 (Enterobacteriaceae) 的成员，地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)、酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)、反硝化细菌等。

(3) 微好氧菌 (microaerophilic bacteria)。这类微生物只在非常低的氧分压，即 0.01~0.03Pa 下才能生长 (正常大气的氧分压为 0.2Pa)。它们通过呼吸链，以氧为最终电子受体产能。如发酵单胞菌属 (*Zymomonas*)、弯曲菌属 (*Gampylobacter*)、氢单胞菌属 (*Hydrogenomonas*)、霍乱弧菌 (*Vibrio cholerae*) 等成员。

(4) 耐氧菌 (aerotolerant anaerobes)。它们的生长不需要氧，但可在分子氧存在的条件下营发酵性厌氧生活，分子氧对它们无用，但也无害，故可称为耐氧性厌氧菌。氧对其无用的原因是它们不具有呼吸链，只通过发酵经底物水平磷酸化获得能量。一般的乳酸菌大多是耐氧菌，如乳酸乳杆菌 (*Lactobacillus lactis*)、乳链球菌 (*Streptococcus lactis*)、肠膜明串珠菌 (*Leuconostoc mesenteroides*) 和粪肠球菌 (*Enterobacter faecalis*) 等。

(5) 厌氧菌 (anaerobes)。分子氧对这类微生物有毒，氧可抑制生长 (一般厌氧菌) 甚至导致死亡 (严格厌氧菌)。因此，它们只能在无氧或氧化还原电位很低的环境中生长。常见的厌氧菌有梭菌属 (*Clostridium*) 成员，如丙酮丁醇梭菌 (*Clostridium acetobutylicum*)，双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*) 的成员，着色菌属 (*Chromatium*)、硫螺旋菌属 (*Thiospirillum*) 等的光合细菌与产甲烷菌 (为严格厌氧菌) 等。

根据微生物发酵时对氧的需求的不同，微生物发酵可以分为好氧发酵和厌氧发酵两大类。厌氧发酵在发酵时不需要供给空气，微好氧菌、耐氧菌、厌氧菌以及兼性厌氧微生物都能进行厌氧发酵。

在厌氧发酵中，有的情况是厌氧微生物在完全厌氧的情况下进行，如丙酮丁醇发酵丙酮丁醇等产物；有的情况是兼性厌氧微生物在有氧时进行繁殖扩增，在无氧的时候进行发酵，如酵母菌发酵乙醇；还有的是进行混合菌种发酵，即多种好氧微生物和厌氧微生物混合在一起发酵，如白酒、黄酒等的酿造，沼气发酵，