



Springer

Q_{in} Q_{out}



Heizwasser
Kreislauf

BHKW

Druckluft

Biogas

Thermo-Gas-Lift 1

K1

K2

Thermo-Gas-Lift 2

微生物的作用 ——从废物到资源

Microbes at Work From Wastes to Resources

黑里贝特·因萨姆 (Heribert Insam)

【德】英格丽德·弗兰克-怀特 (Ingrid Franke-Whittle) 编
玛塔·戈韦尔纳 (Marta Goberna)

鞠美庭 王平 黄访 王海勇 等译



化学工业出版社

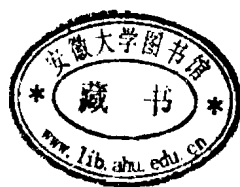
微生物的作用 ——从废物到资源

Microbes at Work From Wastes to Resources

黑里贝特·因萨姆 (Heribert Insam)

【德】英格丽德·弗兰克-怀特 (Ingrid Franke-Whittle) 编
玛塔·戈韦尔纳 (Marta Goberna)

鞠美庭 王平 黄访 王海勇 等译



化学工业出版社

· 北 京 ·

本书对两种最常用的微生物处理过程——堆肥（好氧）过程和消化（厌氧）过程进行了全面、具体的介绍，包括两种处理过程中涉及的微生物种类、各种环境条件和微生物之间的相互关系、工艺设备、处理过程中的监测指标及监测方法等。全书包括 16 章，讨论了消化过程诸多方面的问题。前几章集中讨论了不同类型废弃物处理中的微生物群落，包括堆肥、蚯蚓堆肥和厌氧消化。后面的章节讨论了最终产品中存在的“好”的和“坏”的微生物。后面的章节介绍了应用基础研究和土壤微生物群落处理废物的研究成果，希望读者能充分体会生物废弃物处理技术的艺术，并且通过阅读最后一章，能学会如何更好地利用微生物的代谢途径。本书可供从事环境工程、环境科学、固体废物、生物堆肥等相关研究的科研人员使用，也可供高等院校环境专业师生和其他感兴趣的人士参考阅读。

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物的作用：从废物到资源/[德] 因萨姆 (Insam, H.), [德] 弗兰克-怀特 (Franke-Whittle, I.), [德] 戈韦尔纳 (Goberna, M.) 编; 鞠美庭等译. —北京: 化学工业出版社, 2012. 8

书名原文: Microbes at Work: From wastes to Resources
ISBN 978-7-122-14798-1

I. ①微… II. ①因…②弗…③戈…④鞠… III. ①微生物-应用-废物处理②微生物-应用-废物综合利用 IV. ①X7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 152451 号

Microbes at Work: From Wastes to Resources/by Heribert Insam (Editor), Ingrid Franke-Whittle (Editor), Marta Goberna (Editor).

ISBN 978-3-642-04042-9

Copyright © 2010 by Springer-Verlag Berlin Heidelberg. All rights reserved. Authorized translation from the English language edition published by Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Springer-Verlag is a part of Springer Science+Business Media.

本书中文简体字版由 Springer-Verlag Berlin Heidelberg 授权化学工业出版社独家出版发行。未经许可，不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分，违者必究。

北京市版权局著作权合同登记号：01-2011-1536

责任编辑：满悦芝
责任校对：宋 玮

装帧设计：尹琳琳

出版发行：化学工业出版社（北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011）

印 刷：北京云浩印刷有限责任公司

装 订：三河市前程装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张 15¼ 字数 369 千字 2012 年 10 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询：010-64518888（传真：010-64519686） 售后服务：010-64518899

网 址：<http://www.cip.com.cn>

凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。

定 价：69.80 元

版权所有 违者必究

译者序

本书的翻译出版，旨在使读者了解微生物在废弃物处理过程中的重要性，以及如何更好地利用微生物的生理代谢来处理人类工业和生活中的各种废弃物。本书对两种最常用的微生物处理过程——堆肥（好氧）过程和消化（厌氧）过程进行了全面、具体的介绍，包括两种处理过程中涉及的微生物种类、各种环境条件和微生物之间的相互关系、工艺设备、处理过程中的监测指标及监测方法等。微生物处理废弃物是一种用自然方法应对环境问题的理想方法，只要我们充分了解微生物的各种生理特性，就能利用特定的微生物为我们解决环境问题，从而达到可持续发展的目的。

本书由南开大学环境科学与工程学院鞠美庭和王平主持翻译并统稿。各章翻译人员分别为：第1章，王平、黄访、鞠美庭；第2章，王平、黄访、鞠美庭；第3章，王平、黄访、鞠美庭；第4章，王平、王海勇、鞠美庭；第5章，张楠、王平、鞠美庭；第6章，张楠、王平、鞠美庭；第7章，张楠、黄访、王平、鞠美庭；第8章，张楠、黄访、王平、鞠美庭；第9章，李倩、张楠、王平、鞠美庭；第10章，李倩、黄访、王平、鞠美庭；第11章，李倩、张楠、王平、鞠美庭；第12章，李倩、黄访、王平、鞠美庭；第13章，张楠、王海勇、王平、鞠美庭；第14章，王海勇、王平、鞠美庭；第15章，王海勇、王平、鞠美庭；第16章，王海勇、王平、鞠美庭（各翻译人员单位均为南开大学环境科学与工程学院）。

本书得以翻译出版要感谢化学工业出版社的大力支持。

由于时间及水平所限，翻译可能存在疏漏之处，希望得到专家、学者及广大读者的批评指正。

译者

2012年8月 于南开园

前 言

近些年，人们设计和开发了各种废弃物无害化处理的方法。生物处理方法能够在最大程度上对废弃物成分进行回收再利用，因此对于分类收集的生物质废弃物中易腐败的部分，生物处理方法是最佳选择。

堆肥，即通过生物降解将有机废物降解为腐殖质，这样就保护了自然资源。采用堆肥的方法可以提高土壤中的有机碳含量，有助于减少大气中的二氧化碳；堆肥的使用对土壤的物理性质有有益作用，例如，它使土壤疏松，增强了微生物活性和抑制植物疾病的能力，从而减少了对农药的需求。

厌氧消化是在缺氧情况下分解有机废物的生物作用过程。该过程通过复杂的细菌反应将废物的有机部分转化为稳定的物质，并产生沼气和厌氧污泥。现在化石燃料供应减少，温室气体增加受到关注，在这种情况下正如厌氧污泥可以用作肥料一样，沼气成为重要的资源。厌氧消化作为一种处理方法，因其可以得到可再生新能源这一好处，正在逐步取代好氧降解。

微生物在有机废物的好氧和厌氧消化过程中都起到了关键作用。十年前，对消化过程中的微生物群落的结构和功能多样性方面的研究还很有限，然而，分子生物学方法的发展使得人们可以对能将废弃物资源化的微生物群落进行深入的研究，从而能够更好地了解微生物的动力学特征。

《微生物的作用——从废物到资源》包括 16 章，讨论了消化过程诸多方面的问题。前几章集中讨论了不同类型废弃物处理中的微生物群落，包括堆肥、蚯蚓堆肥和厌氧消化。后面的章节讨论了最终产品中存在的“好”的和“坏”的微生物。最后面章节介绍了应用基础研究和土壤微生物群落处理废物的研究成果，希望读者能充分体会生物废弃物处理技术的艺术，并且通过阅读最后一章，学会如何更好地利用微生物的代谢途径。

编者感谢本书各章节撰稿人的协助，并感谢斯普林格出版社在本书出版过程中的合作无间。

Heribert Insam

Marta Goberna

Ingrid Franke-Whittle

茵斯布鲁克

2009 年 9 月

目 录

第 1 章 好氧废弃物处理和厌氧废弃物处理中的微生物	1
1.1 概述	1
1.2 底物	1
1.2.1 木质素	1
1.2.2 纤维素	2
1.2.3 半纤维素（木聚糖、果胶、淀粉）	2
1.2.4 微生物细胞壁组成成分：胞壁质和几丁质	2
1.3 好氧或厌氧降解：四段微生物作用过程	3
1.3.1 堆肥	3
1.3.2 厌氧消化	5
1.4 分子工具在堆肥和厌氧污泥微生物群落差异研究中的应用	11
1.5 碳氮平衡	15
1.6 结论	16
参考文献	17
第 2 章 通过发酵回收生物能的近期发展	26
2.1 引言	26
2.2 生物乙醇发酵	27
2.3 甲烷发酵	29
2.4 其他发酵产品	30
2.5 微生物甲烷生产的最佳发酵条件、瓶颈和过程控制	30
2.5.1 甲烷发酵的缺点	30
2.5.2 氨抑制	31
2.5.3 微量元素的供给	32
2.5.4 发酵温度	32
2.5.5 保留时间	32
2.6 发酵罐性能的参考标准	33
2.7 发酵的控制和监测	33
2.8 微生物能源转化的可持续性	34
2.8.1 过程能源需求和温室气体排放	34
2.8.2 副产品对生物能源可持续性的影响	35
2.8.3 物质和能量平衡	35
2.8.4 微生物能源转化潜力	37
参考文献	38
第 3 章 高浓度废水产生甲烷过程中的共生微生物群落	44
3.1 甲烷	44

3.1.1	甲烷的来源	44
3.1.2	甲烷的双重特征	45
3.2	高浓度废水的组成成分	45
3.3	甲烷生产过程	46
3.3.1	甲烷反应器	46
3.3.2	甲烷形成的影响因素	47
3.4	高浓度废水产生甲烷的微生物	48
3.4.1	厌氧产甲烷食物链	48
3.4.2	高效厌氧消化中的产甲烷古细菌	48
3.4.3	互生产乙酸细菌	49
3.5	前景	52
	参考文献	53
第4章	沼气技术——控制气体流量以提高混合、加热和脱硫	58
4.1	历史发展	58
4.1.1	欧洲	58
4.1.2	亚洲	59
4.1.3	数值工具和现有技术	59
4.2	BIO4-GAS 方法	60
4.2.1	方法的发展	60
4.2.2	混合和搅拌	61
4.2.3	加热	62
4.2.4	硫化氢氧化	63
4.3	结论	65
	参考文献	65
第5章	蚯蚓堆肥技术：蚯蚓促进微生物的作用	68
5.1	什么是蚯蚓堆肥技术？	68
5.2	蚯蚓	69
5.3	蚯蚓堆肥食物网	70
5.4	蚯蚓堆肥的运行过程	71
5.5	蚯蚓堆肥过程中蚯蚓对微生物降解的促进和加速	73
5.6	在蚯蚓堆肥过程中蚯蚓对微生物群落的影响	74
5.6.1	蚯蚓对微生物群落结构的影响	74
5.6.2	蚯蚓对微生物群落活动的影响	76
5.6.3	在蚯蚓堆肥过程中蚯蚓对总大肠菌群的影响	77
5.6.4	蚯蚓对微生物群落组成的影响	78
5.6.5	分子工具在蚯蚓堆肥研究中的应用	79
5.7	结论	79
	参考文献	79
第6章	堆肥的微生物活性与堆肥稳定性的关系	83
6.1	概述	83

6.2 堆肥过程中的重要条件	84
6.3 堆肥过程中的微生物活性	84
6.4 堆肥的稳定性	86
6.4.1 堆肥稳定性的定义	86
6.4.2 堆肥稳定性评价	87
6.5 堆肥的稳定性和农业用途	90
6.5.1 堆肥在保护土壤质量中起的作用	90
6.5.2 使用不稳定堆肥的启示	91
6.6 结论	91
参考文献	92
第7章 新的分子工具在监测规模堆肥中的作用	98
7.1 介绍	98
7.1.1 堆肥过程中的微生物	99
7.2 研究微生物多样性的分子方法	99
7.2.1 序列	101
7.2.2 指纹图谱法	102
7.2.3 微阵列的阴性选择	103
7.2.4 诊断芯片	103
7.2.5 定量实时 PCR 法	104
7.3 结论	105
参考文献	105
第8章 堆肥抑制的生产和应用：环境、食物及健康优势	110
8.1 引言	110
8.2 堆肥过程	111
8.3 堆肥过程的控制	112
8.4 肥堆的抑制性	112
8.5 抑制机理	113
8.5.1 生物因素	113
8.5.2 非生物活动	114
8.6 堆肥茶	116
8.7 评估堆肥抑制性的测试	116
8.8 抑制性堆肥的使用	117
8.9 农业中的农药	117
8.10 结束语	118
参考文献	119
第9章 堆肥卫生设施	123
9.1 简介	123
9.1.1 卫生、堆肥化的重要因素	123
9.1.2 屏障——产品的应用	124
9.2 风险因素	124

9.2.1 原料	124
9.2.2 堆肥原料的污染	124
9.3 带来风险的生物体	124
9.3.1 肠道病原菌	125
9.3.2 其他致病细菌	126
9.3.3 致病病毒	126
9.3.4 致病寄生生物	126
9.4 灭活过程	127
9.5 堆肥中的热量产生	128
9.6 堆肥中的热量分布	130
9.7 搅拌的功能	132
9.8 灭活的计算	133
9.9 堆肥过程的卫生水平的检验	134
参考文献	135
第 10 章 在动物健康促进和植物保护中的微生物拮抗剂	138
10.1 促进健康的微生物拮抗剂	138
10.1.1 肠道细菌的竞争能力	138
10.1.2 寻找抗生素的替代品	140
10.1.3 微生物饲料添加剂：等待接受	142
10.2 微生物植物保护剂	142
10.2.1 拮抗剂在植物保护方面的应用	143
10.2.2 靶子与士兵：植物表面和内部的微生物生态学	143
10.2.3 来自自然——回归自然：筛选新的拮抗微生物	145
10.2.4 商业应用的艰难历程	146
10.2.5 前景：为市场接受的有竞争力的产品	147
10.3 结论	147
参考文献	147
第 11 章 有益和有害微生物的相互作用：从堆肥过程到堆肥的应用	151
11.1 简介	151
11.2 堆肥过程开始时的微生物	152
11.3 堆肥过程中微生物的演替	152
11.4 堆肥控制对微生物群落的影响	153
11.5 有害微生物的杀灭	154
11.6 有益微生物群在堆肥化过程中的发展	155
11.7 堆肥改良对土壤微生物群的影响	156
11.8 结论	157
参考文献	158
第 12 章 堆肥微生物群落与植物的相互作用	163
12.1 微生物生态学方法	163
12.1.1 微生物群落评测	165

12.1.2 克隆库·····	165
12.1.3 DNA 芯片·····	166
12.2 堆肥系统·····	166
12.3 堆肥的应用对土壤中微生物群落的影响·····	167
12.4 堆肥的应用对根系和根际微生物群落的影响·····	168
12.5 结论·····	171
参考文献·····	172
第 13 章 土壤的退化和修复：微生物及其功能 ·····	178
13.1 土壤质量·····	178
13.2 半干旱地区的土壤退化·····	179
13.3 微生物活动和土壤退化·····	180
13.4 基于微生物参数的土壤质量指数·····	180
13.5 利用有机改良剂进行土壤修复——以一个半干旱地区的研究为例·····	182
13.5.1 半干旱地区有机改良剂的短期影响：对土壤微生物群落大小、活动和结构的影响·····	182
13.5.2 半干旱地区有机改良剂的长期影响：对土壤微生物群落活动和结构的影响·····	185
13.6 有机废弃物的宏蛋白质组学·····	186
13.7 结论和最后的话·····	186
参考文献·····	187
第 14 章 堆肥产物会影响土壤微生物群落吗？ ·····	191
14.1 引言·····	191
14.2 作为生物肥料的堆肥·····	192
14.3 堆肥作为土壤改良剂的使用·····	192
14.4 堆肥改良剂如何影响土壤微生物·····	193
14.4.1 堆肥改良剂对微生物数量的影响·····	193
14.4.2 堆肥改良剂对微生物活性的影响·····	194
14.4.3 堆肥改良剂对微生物群落结构和多样性的影响·····	195
14.5 案例研究——不同种类堆肥产物对农场土壤微生物的长期影响·····	196
14.5.1 试验设计·····	196
14.5.2 结果和讨论·····	197
14.5.3 展望·····	200
14.6 结论·····	200
参考文献·····	201
第 15 章 生物有机肥在泰国有机农业系统的生产和使用：个案研究 ·····	206
15.1 概述·····	206
15.1.1 生态农业的目标·····	206
15.1.2 泰国的有机农业·····	207
15.1.3 生物有机肥的前景·····	207
15.2 材料和方法·····	208

15.2.1	选择生产生物有机肥的原料·····	208
15.2.2	根际促生菌 (PGPR) 的特性和生产 ·····	208
15.2.3	生物有机肥在农业种植系统中的应用·····	209
15.2.4	生物有机肥料的质量控制·····	210
15.3	生物有机肥产品的结果和在农业种植系统中的应用·····	210
15.3.1	生物有机肥产品及其特性·····	210
15.3.2	生物有机肥在农业种植系统中的应用·····	211
15.3.3	生物有机肥的质量控制·····	212
15.4	讨论·····	213
15.4.1	影响优质有机肥生产的因素·····	213
15.4.2	有机肥改良剂对土壤性质的影响·····	214
15.4.3	根际促生菌对促进植物成长的效应·····	215
15.5	结论: 生物有机肥应用的新兴研究、教育和扩展需求·····	216
	参考文献·····	216
第 16 章	挑战、机遇和未来的研究需求 ·····	219
16.1	全球挑战·····	219
16.1.1	废物管理·····	220
16.1.2	土地退化和土壤侵蚀·····	220
16.1.3	人口增长、食物需求和疾病·····	221
16.1.4	能源需求·····	221
16.1.5	气候变化·····	222
16.2	微生物对解决当前全球挑战的作用·····	222
	参考文献·····	224
附录	·····	226

第 1 章

好氧废弃物处理和厌氧废弃物处理中的微生物

Heribert Insam, Ingrid Franke-Whittle 和 Marta Goberna^①

【摘要】 本章概括介绍了在好氧环境和厌氧环境中微生物降解对象的材料和化合物组成，给出了在降解过程的特殊阶段中起作用的细菌、真菌和古细菌，本章对有机废弃物微生物循环再利用的两个主要过程——微生物堆肥过程和厌氧消化生产沼气过程——给予了特别关注，对微生物研究中的传统方法和新方法的应用进行了讨论，并且提到了营养和温室气体平衡。本章结论强调了借助微生物的作用对有机残渣废弃物进行环境无害化循环再利用的方法是可实现的，同时废弃物管理政策应鼓励这种方法。

1.1 概 述

在生物降解过程中，所有的有机物都需要经过微生物分解，这就是为什么微生物在物质循环过程中起关键作用的原因，也是为什么我们需要促进微生物活动以确保其更好地发挥作用的原因。然而，工程师在设计废弃物处理设备时，常常是根据实际经验、建筑理念和政策进行设计，而不是根据微生物的需求进行设计。

微生物学家负责“作用者”即微生物工作顺利，废弃物处理厂的微生物在合适的条件下才能起作用。微生物的作用方式从本质上可分为两种类型，一种需要高含氧量的新鲜空气（堆肥），一种不需要氧气（消化）。但在某些情况下，这两种类型我们都需要，我们要给每种微生物群提供适合的作用环境。本章就以合适的底物作为开始。

1.2 底 物

从本质上讲，所有的降解底物，不是源于植物，就是源于动物或者微生物。通常，植物原料中包含大碎片，而动物组织和微生物成分是一些混合的小碎片。Insam 和 Bertoldi (2007) 对主要的天然化合物及它们的潜在可降解性进行了总结。

1.2.1 木质素

木质素是植物的一种主要结构成分，木材中的木质素高达 30%。某些其他单体（苯基丙烷衍生物，主要是松柏醇）的数量很少，但它们之间的各种特殊键使得降解变得困难。因

^① H. Insam (通讯作者), I. Franke-Whittle 和 M. Goberna

Universität Innsbruck, Institut für Mikrobiologie, Technikerstrasse 25 d, 6020 Innsbruck, Austria
e-mail: heribert.insam@uibk.ac.at; ingrid.whittle@uibk.ac.at; marta.goberna@uibk.ac.at

H. Insam 等 (eds.), *Microbes at Work*,

DOI 10.1007/978-3-642-04043-6_1, © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2010

此,木质素分解通常是共代谢型分解,木质素降解产生的能量小到可以忽略不计。木质素主要靠真菌降解,真菌通常是病原体,也可以生长在活的植物体上。木质素降解真菌中最有名的是白腐真菌,如栓菌(*Trametes versicolor*) (Turkey Tail),或毛革盖菌(*Stereum hirsutum*) (False Turkey Tail)。这些菌能把木质素降解为纤维素。一些真菌,如平菇(*Pleurotus ostreatus*),能同时降解纤维素和木质素。

1.2.2 纤维素

在所有类型的有机废弃物中,纤维素是量最大的天然有机化合物。纤维素分子是由 β -D-葡萄糖组成的链,其聚合度可高达40000。葡萄糖分子通过 β -1,4-糖苷键相结合。降解过程中主要有3种酶发挥作用:①内切- β -1,4葡聚糖酶,断裂开分子间的 β -1,4-键,使其变成带自由端的长链;②外切- β -1,4葡聚糖酶,把纤维二糖从自由端上分离下来;③ β -葡糖苷酶,把纤维二糖水解开成葡萄糖单体。

Wilson (2008) 提出纤维素水解包括3个微生物过程。大部分好氧微生物分泌纤维素酶,纤维素酶含有一种碳水化合物结合分子(CBM),而大部分厌氧微生物产生纤维小体(一种多酶复合物),这种多酶复合物结合在微生物的外表面。对好氧的哈氏纤维黏菌(*Cytophaga hutchinsonii*)和厌氧的产琥珀酸丝状杆菌(*Fibrobacter succinogenes*)的基因分析表明,这些微生物在降解过程中运用了其他未知机制。它们不对持续纤维素酶编码,内切纤维素酶基因既不对碳水化合物连接分子编码,也不对锚定域和黏合蛋白域编码,这些都是纤维小体的关键组成部分。真菌对于纤维素降解比细菌更重要,特别是在纤维素被木质素包裹的情况下(如木材或稻草)。因为纤维素含有大量的碳,但是不含氮和其他必要元素,真菌的菌丝结构使得真菌在纤维素降解中占竞争优势,养分可以在菌丝中转移。重要的纤维素降解真菌包括毛壳菌属(*Chaetomium*)、镰孢菌属(*Fusarium*)和曲霉属(*Aspergillus*)。在细菌中,黏菌属和其他相关微生物类群,如噬纤维菌属(*Cytophaga*)、多囊菌属(*Polyangium*)、堆囊菌属(*Sorangium*),在纤维素降解中起重要作用。还有,假单胞菌(*Pseudomonas*)和相关菌属也能降解纤维素,但只有少数放线菌能降解纤维素。在缺少氧气的条件下,主要靠嗜中温和嗜高温的梭状芽孢杆菌(*Clostridia*)降解纤维素,丝状杆菌属(*Fibrobacter*)微生物也能降解纤维素。

1.2.3 半纤维素(木聚糖、果胶、淀粉)

木聚糖是3种半纤维素复合物中最重要的一种,木聚糖发现于稻草、甘蔗渣(达30%)和木材(2%~25%)中。木聚糖由戊糖(木糖、阿拉伯糖)或己糖(葡萄糖、甘露糖、半乳糖)组成,聚合度为30~100。主要的木聚糖降解酶是木聚糖酶,很多细菌和真菌产木聚糖酶(在某些情况下是复合型的)。果胶由无支链的聚半乳糖醛酸组成,植物细胞壁的2%~35%是果胶。果胶酶可以降解果胶,通常真菌和细菌产果胶酶,这些真菌和细菌的大部分是植物病原体。淀粉由直链淀粉(20%)、无支链D-葡萄糖和支链淀粉组成,支链淀粉在1,6位置分支并含有磷酸盐基团和钙、镁离子。3类酶在淀粉降解中起重要作用。磷酸化酶作用在直链淀粉链的非还原自由端,释放单糖-1-磷酸分子。但只有在淀粉-1,6-葡糖苷酶(脱支酶)发生作用后,磷酸化酶才会在1,6分支继续发挥作用,否则磷酸化酶将停止作用。淀粉分子中的 α -1,4键在 α -淀粉酶的作用下断裂。

1.2.4 微生物细胞壁组成成分:胞壁质和几丁质

胞壁质由N-乙酰基葡萄糖和N-乙酰胞壁酸直链构成,胞壁酸通过乳酸基结合形成不同的氨基酸。大部分细菌的细胞壁的主要成分是胞壁酸。真菌细胞壁最重要的组成成分是几丁

质,昆虫和甲壳类动物的外骨骼的重要组成物质也是几丁质。真菌几丁质是发酵工业中重要的废弃物,甲壳类动物几丁质是小龙虾加工中的废弃物。从化学结构看,几丁质和纤维素相似,在几丁质分子中,*N*-乙酰基葡萄糖取代了纤维素的葡萄糖单体。从微生物学观点看,几丁质与纤维素的区别是几丁质的氮含量高(几丁质 *C/N* 约为 5)。很多真菌(如曲霉菌)和细菌(如黄杆菌、噬纤维菌和假单胞菌)能利用几丁质作为氮源和碳源。几丁质在细胞外酶的作用下降解为 *N*-乙酰基葡萄糖,*N*-乙酰基葡萄糖被再吸收,转化成果糖-6-磷酸,从而进入糖类代谢。

1.3 好氧或厌氧降解:四段微生物作用过程

有机化合物通过不同的代谢途径被降解。好氧过程(堆肥)把氧气作为末端电子受体,在热力学方面比厌氧过程(厌氧消化)更有利,所以通常微生物降解在有氧气条件下进行得较快。堆肥和厌氧消化都可以被表述成四阶段过程,下面详细解释。

1.3.1 堆肥

在有氧的条件下,有机物的降解是一个放热过程,该过程以热的形式产生能量,结果是温度升高和高温(热的)阶段。堆肥过程的最终产物是二氧化碳、水、矿物质和稳定的有机物(高腐殖酸含量的肥料)。新鲜有机质转化成肥料有几个优势:能克服不稳定有机物的植物毒性,能改善原料的卫生状况(见第9章,Vinnerås等,2010),产生稳定的有机物质,富含营养成分和碳,这些对土壤(Ros等,2006;第13章,Bastida等,2010)和植物(见第11章,Fuchs,2010)是有益的。

Browne(1933)最早发现堆肥发热是由于有微生物的活动,Wskzman(1932)最先发表了有关微生物群落动态的研究报告。随后几十年,分离和培养成为研究堆肥微生物群落的基础(如Finstain和Morris,1975)。20世纪80年代和90年代,基于DNA和RNA的方法得到发展,使得研究者在肥料中发现了一些微生物的未知种(如Beffa等,1996)。最近分子工具的发展使得人们在很大程度上增加了对堆肥中微生物群落的认识(Ryckeboer等,2003)。生境条件(温度、pH、通风、湿度、底物的可利用性)的不断变化使不同生物处于指数增长阶段和稳定阶段。在某些时间点存在的微生物群会在短暂的间隔内被其他微生物群取代。另一方面,肥堆是不均匀的,并不是肥堆的所有区域的温度都一样。从微生物学观点看,可以把肥堆分成4个主要部分。最外面的区域是温度最低、氧气供应最好的区域;最里面的区域是氧气供应最少的区域;下面的区域是温度高、氧气供应良好的区域;上面的区域是温度最高、通常氧气供应相当充足的区域(Lott Fischer,1998)。

连续堆肥过程被看作一系列连续培养,每一部分都有自己的物理特性(如温度)、化学特性(如有效底物)、生物特性(如微生物群落结构)以及反馈效果。这些变化使得研究过程变得困难,事实上,因为温度、通风、湿度等因素和肥堆的比表面积有关,所以不可能在实验室里进行完全模拟。然而,大家通常认同堆肥本质上是四阶段过程,本书1.3.1.1~1.3.1.4介绍了这些内容。

1.3.1.1 中温阶段(25~40℃)

在最初阶段,能量充足,真菌和细菌是主要分解者,降解大量易降解的物质如糖和蛋白质。在这个阶段,真菌和细菌相互竞争容易利用的底物。因为细菌的生长速率超过真菌一个数量级(Griffin,1985),所以真菌很快就被消灭了。在很长时间内,人们忽略了细菌(放

线菌除外)在堆肥过程中的重要性,大概因为生长菌丝的微生物容易被观察到。Ryckeboer等发表了一篇关于在中温阶段发现的微生物的综述(2003年)。

假如机械影响(如旋转)很小,中型动物包括堆肥蠕虫、螨、马陆可能很多。从微生物学观点看,这些生物可能被当作是催化剂,有助于机械破坏和为特殊微生物提供适合的内部环境。根据堆肥方法,这些动物的作用可以考虑也可以不考虑,但在蚯蚓堆肥的特殊阶段中需要考虑(见第5章,Domínguez等,2010)。

1.3.1.2 高温阶段(35~65℃)

高温使得嗜热微生物有竞争优势,嗜中温微生物消失。嗜中温微生物在高温下失去活性,剩下的易降解物质在高温下被降解,分解加速,温度能达到大约62℃。

高温真菌在55℃的环境中生长,更高的温度会抑制真菌生长。和真菌相比,充足的氧气供应对细菌更重要,但是在加强通风系统中,也会有暂时缺氧的情况发生。基于以上原因,在高温阶段,真菌的作用可以忽略不计。一种例外的情况是堆肥原料富含纤维素和木质素物质。在这种情况下,真菌是整个过程中重要的降解者。

在60℃时,多于40%的固体在一周内被降解,几乎都是细菌降解的(Strom,1985)。在50~65℃温度范围内,存在选择性优势,特别是对芽孢杆菌属(*Bacillus*)。当温度超过65℃时,嗜热芽孢杆菌(*B. stearothermophilus*)通常占优势地位。栖热菌(*Thermus*)/异常球菌(*Deinococcus*)在40~80℃时在有机底物上生长,最适生长温度是65~75℃。生物垃圾堆肥中,每克堆肥干物质中的栖热菌/异常球菌数量能达到 $10^7 \sim 10^{10}$ 个(Beffa等,1996)。这样看来,地热区域存在的栖热菌可以用于热堆肥系统,并在高温峰值阶段起主要作用。现在人们已经从肥堆中分离出了一些自养细菌。这些非芽孢细菌在60~80℃环境中生长,最适温度是70~75℃。以前只在地热区域存在的产氢杆菌也是类似的情况。它们依靠硫或氢的氧化得到能量,吸收二氧化碳,合成它们自身的有机质(Beffa等,1996)。

尽管大部分微生物在65℃以上会死亡,但堆肥温度可能会超过80℃。最后的温度升高可能不是因为微生物的活动,而是非生物放热反应,在这种反应中可能包含了放线菌的温度稳定酶作用。这样的高温对堆肥卫生很重要(见第9章),高温能消灭人类病原体和植物病原体,除掉野草种子和昆虫幼虫。超过70℃的高温的缺点是大部分的中温微生物被杀死,这样在温度峰值后分解菌群的恢复会比较缓慢。可以通过适当的重新定殖方法加快菌群的恢复,如把中温阶段的物料接种到高温阶段。

有证据表明在肥堆中普遍存在专性厌氧菌,但是迄今为止,有用的信息很少。Eicker(1981)在准备姬松茸(*Agaricus*)基板的过程中发现硫酸盐在高温条件下减少。目前已知很多嗜热和极端嗜热古细菌,但是很长时间以来没有在肥堆中发现这些菌。假设古细菌和细菌相比有更长的世代周期,那么它们可能不能适应堆肥过程中的快速变化的环境。直到最近,罕有古细菌才被从肥堆中分离出来(如Stackebrandt等,1997)。最近有报道称肥堆中有大量的产甲烷菌(Jäckel等,2005;Cabanas-Vargas和Stentiford,2006),有人提出只要利用正确的方法进行研究,应该能找到产甲烷古细菌。事实也确实如此,Thummes等(2007a,b)在堆肥优势微生物中发现了大量经过培养的微生物,如嗜热甲烷菌(*Methanosarcina thermophila*)、嗜热甲烷杆菌(*Methanothermobacter* sp.)、甲烷甲酸杆菌(*Methanobacterium formicicum*)、嗜热甲烷袋装菌(*Methanoculleus thermophilus*),同时也发现了未经培养的古细菌。

1.3.1.3 降温阶段（第二中温阶段）

当底物耗尽，嗜热微生物活动停止，温度开始降低时，中温微生物开始起作用，这些中温微生物有的是来自高温阶段利用微生物保护机制存活下来的孢子，有的来自外部接种。在开始阶段，降解糖、低聚糖和蛋白质的微生物占优势地位，第二中温阶段的特点是降解淀粉或纤维素的微生物数量增加。纤维素降解菌包括纤维单胞菌（*Cellulomonas*）、梭状芽孢杆菌（*Clostridium*）、诺卡放线菌（*Nocardia*）和真菌，如曲霉（*Aspergillus*）、镰刀菌（*Fusarium*）和拟青霉菌（*Paecilomyces*）（Ryckeboer 等，2003 概述）。

1.3.1.4 成熟熟化阶段

在成熟阶段，底物减少，在随后的阶段，微生物群落结构完全改变。通常，真菌和细菌的比例取决于真菌在水势降低和可利用底物很少的情况下的竞争优势。在该阶段，那些不能再进一步降解的化合物，如木质素-腐殖质复合物，成为主要物质。

某些学者提出第五个堆肥阶段，熟化加工阶段。这个阶段，也可以称为“贮存阶段”，物理化学参数不再发生变化，但微生物群落仍然在发生变化（Danon, 2008）。从图 1.1 中可以看出，在熟化加工阶段，即成熟之后，硝化微生物渐渐消失，降解大分子的微生物如分枝杆菌、疣微菌门微生物开始成为优势菌。

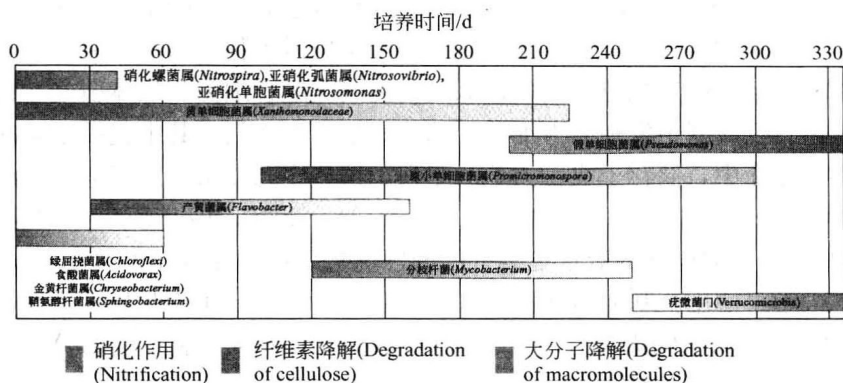


图 1.1 堆肥优势微生物甘特（gantt）图

堆肥过程中微生物群落变化模型及其可能的功能

[来自基因芯片、克隆和 PCR-DGGE 序列测定数据（Danon, 2008）]

1.3.2 厌氧消化

在获取氧气困难的自然生境中，如沉积物、渍水土壤和肠道，会发生微生物厌氧消化。厌氧消化指一种生物技术过程，在这一过程中，有机废物、废水或再生能源，如能源作物，在缺氧的情况下被降解。填埋场和废料堆中会发生厌氧消化（Whitehead 和 Cotta, 1999; Chen 等，2003），环境工程中利用厌氧消化生产沼气作为绿色能源，进行商业生产（见第 2 章，Braun 等，2010；第 3 章，Plugge 等，2010；第 4 章，Wett 和 Insam, 2010）。另一种厌氧消化的产物是稳态化污泥，这种污泥可以被当作土壤有机改良剂用于农业及非农业土地（如牧场、公园）中。厌氧消化污泥看似比未经消化的产品如牛粪更加适合于在土地上推广使用。根据美国环保局（2005）文件，这是由于减少了有机污染物负担、恶臭和病原体含量，但是从 Sahlstrom 和 Baggeet 等 2003 年的研究看（2005），它同时还增加了营养元素的生物可利用性。

对自然中和工程生态系统中的厌氧消化过程的研究已经超过一个世纪了。直到 20 世纪

80年代,人们才开始应用富集培养分离厌氧微生物的方法研究特殊环境样品中的微生物群落。这导致了一种思想的产生,Boone等(1993)提到,“因为实际上不能研究消化过程中不计其数的所有微生物,所以重要的是寻找合适的方法来确定在数量上重要的微生物群落……以便理解消化过程。”同一年,Harmsen和他的同事们发表了沃氏互养杆菌(*Syntrophobacter wolinii*)基于16S rRNA基因的群落重建,沃氏互养杆菌是一种在生物反应器中普遍存在的脂肪酸降解细菌(Harmsen等,1993)。还有,Raskin和他的同事们发展了针对几种甲烷菌16S rRNA基因的³²P标记寡核苷酸探头技术,用于对生物反应器中的微生物进行量化研究(Raskin等,1994a, b)。这些先驱研究为其后大量使用分子工具研究废水厌氧消化中微生物群落发育奠定了基础,O'Flaherty等(2006)和Talbot等(2008)(见1.4)曾回顾过这些。揭示生物反应器中原核生物多样性和了解其生理需求,使得设计师设计的沼气厂能更加有效利用残渣有机碳(Briones和Raskin 2003; Ward等,2008)。

厌氧消化通常分成4个阶段(见1.3.2.1~1.3.2.4),因为有机物厌氧降解产生的能量低(Schink,1997),而且微生物共代谢需要的物理距离近,所以在这几个阶段中需要几种微生物群共同作用(Stams等,2006)。原核微生物群落一直是受到关注最多的,因此,很少有人研究参与消化作用的真核生物——主要是真菌和原生生物——尽管关于瘤胃微生物的一些知识是有用的(Kraus等,2003)。在厌氧生物反应器中,细菌是优势菌,代表了所有种类的80%(Krause等,2008)。通常检测到的细菌类微生物包括厚壁菌门、变形菌门和杆菌门的微生物。偶尔也能发现热袍菌属、绿屈挠菌属、融合细菌、螺体菌属、脱铁杆菌、放线菌和硝化螺菌。反应器中发现的古细菌大部分属于广古菌门,其中包括已知的全部产甲烷菌。而在公共数据库中,储存了成百上千的序列,这些序列在系统发育上与未经培养的古细菌有关,也可以归类到泉古菌门中(Chouari等,2005; Collins等2006; Sekiguchi,2006)。尽管原生生物多样性的数量更具有压倒性优势,但现在还不知道这些原生生物应归于哪一门类。最近,使用全基因组鸟枪方法,发现在1930个确定的16S rRNA序列中,高达15%的序列和已知微生物无关(Krause等,2008)。揭示大量新发现的微生物的生理生态功能将是微生物生态学家们面临的下一个挑战。

1.3.2.1 解聚合-水解作用

厌氧食物链的第一步(见图1.2),生物大分子(多糖、脂类、蛋白质和核酸)被解聚合,水解成为单体化合物(糖、氨基酸、脂肪酸、嘌呤和嘧啶)。分解纤维的真菌和细菌复杂群落产生胞外水解酶(如纤维素酶、木聚糖酶、蛋白酶、脂肪酶),共同作用将复杂的生物大分子变成其构成单位。解聚合-水解作用通常是厌氧消化过程的限速步骤,由于这个原因,近期优化甲烷生产的办法是尝试胞外酶的生产和活化,或者加一步预水解步骤,使用加热或机械方法对原料进行预水解(Schwarz,2001; Mosier等,2005; Zhang等,2007; Ward等,2008)。

多糖,特别是纤维素,是生物质最主要的结构和储存化合物(见1.2)。多糖水解是最重要的酶作用过程,决定了厌氧生物反应器的效率。Lynd等(2002)对微生物如何利用纤维素做了总结。和好氧微生物相比,大多数厌氧纤维素分解细菌发展出了一套复合多酶——纤维小体(Schwarz,2001)。包括:①几个紧密结合的催化域,协同降解纤维素;②底物-锚域,减小细胞和水解产物之间的距离。一般来说,多糖水解在厌氧条件下进行得比较缓慢,因为自然界的纤维素具有不同的形式,而且嵌入其中的半纤维素和木质素很复杂(Lynd等,2002)。纤维素水解的速率和效率与微生物种群组成有关,因为纤维素降解菌的