维普资讯 http://www.cqvip.com

有机废水产酸发酵的生理生态学分析

任南琪 王宝贞 马 放

（哈尔滨建筑大学市政与环境工程系，150009）

摘 要：通过对产酸发酵细菌细胞内生物物理化学及发酵途径分析表明，控制生物产酸发酵类型的主要因素有NADH/NAD^+平衡和发酵产物酸性末端数量。根据微生物的生理生态学原理及试验结果分析，证实所发现的乙醇型发酵优于丁酸型发酵和丙酸型发酵。此外，还对氢分压与丙酸积累的相关性提出新的见解。

关键词：废水处理，发酵类型，生理生态学，产酸反应器

二相厌氧生物处理工艺中，产甲烷相的代谢速率及运行稳定性在一定程度上取决于产酸相发酵产物各组分的产率。在某一生境中，产酸细菌通过生理上的代谢调节作用以适应生境中的生态因子，并影响着发酵产物的组成；发酵产物又可使生态系统发生改变，进而对细菌的代谢过程起反馈调节作用。这一代谢的反馈调节作用，导致产酸细菌对有机物的发酵呈现不同的发酵类型。众所周知，有机废水产酸发酵类型有丁酸型发酵和丙酸型发酵两种，但由于这两种发酵类型都将不同程度地存在丙酸产率较高，因而对后续产甲烷相带来潜在危害。所以，探讨最佳发酵类型，寻求最佳生态环境，对提高厌氧生物处理能力有一定指导意义。

我们采用高效产酸发酵反应器，以糖蜜为底物，发现一种可称之为乙醇型发酵的新型发酵类型。通过生理生态学分析，证实这一发酵类型的稳定性优于丁酸型发酵和丙酸型发酵，并且降低了丙酸的产率。

1 试验装置与方法

1.1 试验装置

我们所研制的高效产酸发酵反应器属连续流搅拌槽式反应器（CSTR），内设气、液、固三相分离器。反应器总容积为12.63L，反应区容积为9.03L，试验温度30～35℃。反应器设有搅拌器，通过轴封保证反应区的密封条件。

产甲烷相采用UASB反应器，直径100mm。总容积22.6L，反应区容积16.3L，试验温度30℃。试验流程见图1。

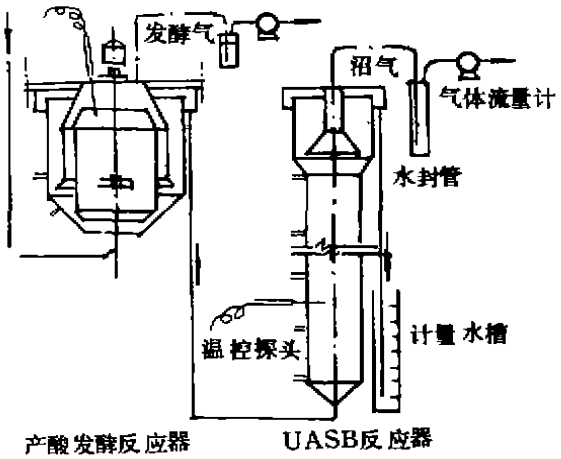

图1 两相厌氧生物处理试验流程

1.2 污泥接种与培养

产酸相污泥取自本校实验室中好氧生物处理模型中的活性污泥，在有机负荷为5～10kgCOD/（m^3·d）的条件下，经约30d，出水pH值降至5以下，培养出产酸发酵的厌氧活性污泥。正常运行中，厌氧活性污泥浓度为20～30g/L。

本文收稿：1994—07—11

维普资讯 http://www.cqvip.com

产甲烷相污泥取自本校实验室中已培养成熟的厌氧颗粒污泥。

1.3 试验用底物

底物采用甜菜制糖厂糖蜜，水样配制中仅补充少量N、P。

1.4 分析项目及测定方法

1.4.1 COD值采用重铬酸钾法。

1.4.2 pH值采用pHS—25型酸度计。

1.4.3 气相发酵产物分析采用SP—2305型气相色谱仪，热导池检测器[1]。

1.4.4 液相发酵产物分析采用SC—7型气相色谱仪，氢火焰离子检测器。采用我们开发的能一次检出乙醇、乙酸、丙酸、丁酸和乳酸等的方法[2]。

2 生理生态学分析

2.1 细胞内电离平衡和缓冲系统

2.1.1 细胞内有机酸的电离平衡产酸发酵中酸性末端产物主要有乙酸、丙酸和丁酸，在30℃条件下，电离常数相差无几，所以可将丙酸和丁酸换算成等当量的乙酸。

对于乙酸的电离平衡

$$HAc \rightleftharpoons H^+ + Ac^-$$

细胞内、外有机酸的电离平衡关系为

$$K_A=\frac{[Ac^-]_{内}[H^+]_{内}}{[HAc]_{内}}=\frac{[Ac^-]_{外}[H^+]_{外}}{[HAc]_{内}} \quad (1)$$

其中 $K_A=1.74\times10^{-5}=10^{-4.757}$。

因为可测得的总有机酸HACT包括离子态和分子态，即

$$[HACT]=[HAc]+[Ac^-] \quad (2)$$

由式(1)和式(2)可得

$$\frac{[Ac^-]}{[HACT]}=\frac{1}{1+10^{4.757-pH}} \quad (3)$$

由于细胞膜带有负电性，所以，当细胞内外传质达到动态平衡时，分子态有机酸达到

$$[HAc]_{内}=[HAc]_{外} \quad (4)$$

根据式(3)和式(4)可得

$$\frac{[HACT]_{内}}{[HACT]_{外}}=\frac{1+10^{pH_{内}-4.757}}{1+10^{pH_{外}-4.757}} \quad (5)$$

设 $pH_{外}=4.4$，$pH_{内}=6\sim6.5$，则由式(3)和式(5)可以得出以下分析结果。

①$[Ac^-]_{外}/[HACT]_{外}=30.5\%$；$[Ac^-]_{内}/[HACT]_{内}=94.6\%\sim98.2\%$。可见，细胞内的有机酸主要以离子形态存在；

②$[HACT]_{内}/[HACT]_{外}=12.9\sim39.2$，这表明，产酸细菌处于酸性生境中，细胞内总有机酸含量远超过细胞外。本试验中在正常运行条件下，$pH_{外}=4.4$，生境中总有机酸浓度为0.044mol/L，则细胞内总有机酸浓度达0.57～1.73mol/L，并且95%以上处于离子状态。

2.1.2 细胞内$HCO_3^-/CO_2(aq)$缓冲系统。对于产生大量CO_2的发酵细菌来说，碳酸平衡将构成细胞内的主要缓冲系统。对于pH<8的体系，CO_2的气、液平衡及电离平衡可表示为

$$CO_2(g)\overset{k}{\rightleftharpoons}CO_2(aq)+H_2O\overset{K}{\rightleftharpoons}H_2CO_3\overset{Ka}{\rightleftharpoons}HCO_3^-+H^+$$

其中k为亨利常数；K为$CO_2(aq)$与H_2CO_3间平衡常数，30℃时$K=3.9\times10^{-3}$；Ka为H_2CO_3与HCO_3^-间电离平衡常数，30℃时$Ka=1.66\times10^{-4}$。

细胞内的分子态碳酸以$CO_2(aq)$形态存在，所以，液相碳酸电离平衡为：

$$CO_2(aq)+H_2O\overset{K'_a}{\rightleftharpoons}HCO_3^-+H^+$$

$$K'_a=\frac{[HCO_3^-][H^+]}{[CO_2(aq)]} \quad (6)$$

其中$K'_a=K\cdot Ka=6.47\times10^{-7}$，

$pK'_a=6.19$。

根据Henderson—Hasselalch公式，细胞内缓冲系统的pH值为

$$pH=pK'_a+\lg\frac{[HCO_3^-]_{内}}{[CO_2(aq)]_{内}} \quad (7)$$

实践证明，对于这一碳酸平衡体系，在pH=6.19～7.19范围内，$HCO_3^-/CO_2(aq)$缓冲系统对弱酸具有较强的缓冲能力。

此外，由于细胞内$HCO_3^-/CO_2(aq)$为一个敞开系统，当发酵中所产生的质子H^+增多时，可通过$CO_2(aq)_{内}\longrightarrow CO_2(aq)_{外}\longrightarrow CO_2(g)_{外}$过程保证细胞内$[HCO_3^-]/[CO_2$

维普资讯 http://www.cqvip.com

(aq)]值较恒定。这是产酸细菌细胞内有机酸浓度较高时，仍能维持正常生理条件下 pH 值(一般为 6～7)的关键所在。

2.2　碳水化合物发酵途径及类型

碳水化合物发酵产物有乙酸、丙酸、丁酸、乳酸和乙醇等(图 2)，从生化反应热力学来看，以上反应均可自发进行。但由于细菌种群和生态条件的差异，以及细菌自身代谢调节作用等原因，导致发酵过程遵循不同的代谢途径，呈现不同的产物产率。

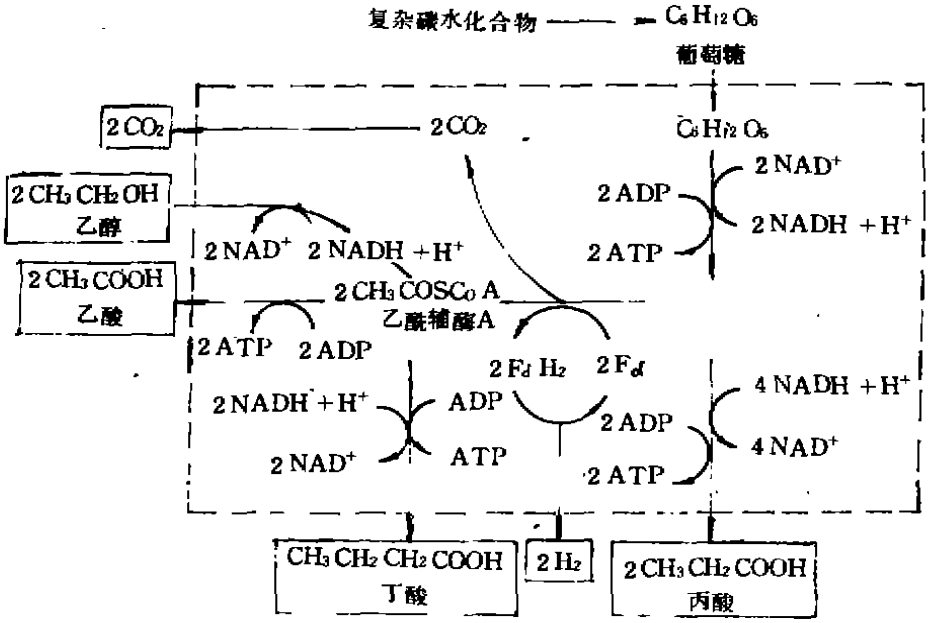

图 2　细菌的碳水化合物发酵途径

废水厌氧生物处理中主要存在两种产酸发酵类型：丁酸型发酵，产物为乙酸、丁酸、H_2/CO_2 和少量丙酸；丙酸型发酵，产物为乙酸、丙酸、少量丁酸和 CO_2。我们(1993)[2]在试验中发现一种细菌性乙醇型发酵，主要发酵产物为乙酸、乙醇、H_2/CO_2。从微观角度分析，细菌细胞内 $NADH/NAD^+$ 的平衡调节过程及发酵产物酸性末端数量是影响发酵类型的主要因素。

2.3　产酸发酵中 $NADH/NAD^+$ 的平衡调节

在发酵过程中，底物的氧化是通过脱氢作用(失电子)完成的，同时产生大量的 NADH。由于发酵细菌细胞内缺乏电子传递体，所以，NADH 不能通过电子传递得以再生。但是，生物体内的 NAD^+ 是有限的，只有维持细胞内 $NADH/NAD^+$ 在一定范围内，才能保证发酵过程持续进行。

2.3.1　发酵过程对 $NADH/NAD^+$ 平衡的调节

大量试验结果表明，产酸发酵中，为了维持细胞内 $NADH/NAD^+$ 在一定范围内，产乙酸过程常需与丙酸发酵或乙醇发酵相耦联(见图 2)；当与丁酸发酵相耦联时，仍有 NADH 积累，但无疑可降低积累程度。由此不难理解，在废水厌氧生物处理中为什么会存在丁酸型、丙酸型和乙醇型发酵。

2.3.2　H_2 的产生对"多余"电子的调节

H_2 的产生是解决氧化还原中产生的"多余"电子，从而维持 $NADH/NAD^+$ 平衡的另一种调控机制。H_2 的产生可通过两种方式。

(1)H_2 直接产生途径。这一过程发生于

维普资讯 http://www.cqvip.com

丙酮酸脱羧作用中(参见图2)。

(2)NADH/NAD^+平衡调节产H_2途径。NADH在氢化酶作用下,通过H_2释放得到再生。

$$NADH+H^+ \longrightarrow NAD^+ + H_2$$

$\triangle Go = -21.84$ kJ/mol

这一反应在"生物化学"标准状态下($T=298.15K$, pH=7, $P_{H_2}=1013$ hPa),$\triangle G_o=+18.12$ kJ/mol。这表明,NADH释放H_2的过程一般不能自发进行。当pH值较低,并以乙酰CoA作为激活剂,反应进行的可能性增加。

2.3.3 生物合成代谢对NADPH的利用

还原性的生物合成代谢中需提供NADPH。NADPH可来源于EMP途径,也可在能量的参与下由NADH转化,由此可减少细胞内的NADH。

综上所述,NADH/NAD^+的平衡调节是导致生物发酵呈现不同发酵类型的重要原因之一,同时也影响着生物发酵的进程。

2.4 发酵类型的稳定性分析

根据国内外产酸相试验结果(表1),当5<pH<6时,丙酸产率大多较高。这一现象可根据生物的生理调控机制加以分析。

表1 国内外部分产酸相反应器出水中的发酵产物组成

底物	反应器类型	运行条件			发酵产物组成(mol %)			
		水力停留时间(h)	进水COD (mg/L)	pH	乙酸	丙酸	丁酸	戊酸
葡萄糖	CSTR	4.5	2000	4.3	66.2	23.9	9.9	—
	CSTR	0.93	1100	6.3	66.8	18.3	14.9	—
	CSTR	16.11	4080	6.35	71.6	17.9	10.5	—
	UASB	4.0	2000	5.45	73.3	13.3	2.6	0.6
	UASB	3.0	2600	4.85	67.4	10.6	18.7	3.2
	UASB	3.0	4500	5.60	55.0	36.4	6.3	2.3
	UASB	2.0	6500	5.52	60.7	22.7	13.5	3.1
制糖废水	CSTR	23.26	3275	6.3	55.2	25.3	16.3	3.2
啤酒废水	UASB	0.64	2660	5~6.8	57.1	27.7	10.1	4.4
麦芽汁	UASB	1.03	3560	5~7.3	55.1	23.4	16.4	4.4
酒糟废液	UASB	7.5	70000	6.2	37.2	8.5	54.3	—

(1)当pH>6.0时,产酸细菌处于最适繁殖条件,可大量利用NADPH(即NADH)。此条件下发酵细菌常进行丁酸型发酵。

(2)当pH=5~6时,产酸细菌繁殖速率降低,丁酸型发酵由于NADH的积累,使代谢过程远离平衡状态。此时常需借助于丙酸发酵保证NADH/NAD^+处于平衡状态,因此常呈丙酸型发酵。

(3)当pH<5时,细胞内酸性末端数量将成为控制发酵产物组成的限制性因素。根据式(5),随着生境中pH值降低,细胞内总有机酸积累倍数显著增加。此时NADH/NAD^+平衡调节产H_2可能性提高,常呈现丁酸型发酵,但丙酸产率也较高。

由以上分析可见,丁酸型发酵稳定性远不及丙酸型发酵,所以,从国内外资料来看,普遍存在丙酸产率较高的现象。

我们以糖蜜为底物所进行的产氢——产酸发酵试验结果表明(表2),pH>5时为丁酸型发酵,而pH<5时,呈现乙醇型发酵。如前所述,当pH值很低时,酸性末端数量的减少将有利于发酵过程的正常进行。因而,以中性产物乙醇作为液相主要发酵产物,不但可减小酸性末端产物的抑制作用,而且从氧化还原过程来看,可以获得有序的发酵过程,促使发酵速率加快。试验结果表明,即使当有机负荷高达107kgCOD/(m^3·d),丙酸浓度仍

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 2　运行参数对糖蜜废水发酵产物组成影响

温度 (℃)	pH	水力停留时间(h)	有机负荷 (kgCOD/m³·d)	发酵产物组成*(mol%)				发酵气(%)	
				乙酸	丙酸	丁酸	乙醇	H_2	CO_2
35	5.2	10.5	26.6	35.2	10.0	54.1	—	23.5	76.8
35	4.9	4.6	19.4	43.0	2.4	16.3	38.1	—	—
30	4.6	3.5	34.0	40.4	1.3	4.7	53.4	32.5	72.5
30	4.5	3.7	46.1	26.7	4.7	5.9	62.5	41.5	57.5
30	4.4	3.5	86.1	41.3	3.6	4.7	50.3	47.0	53.7
30	4.4	3.5	88.4	44.5	3.0	4.9	47.3	48.0	51.5
30	4.3	3.6	107.0	45.9	3.3	3.7	46.9	49.5	50.7

* 其它产物忽略

很低。由此可见，在较低 pH 值条件下，乙醇型发酵的稳定性将优于丁酸型发酵和丙酸型发酵。

2.5　氢分压与丙酸积累相关性分析

众所周知，丙酸无疑对产甲烷相的正常运行带来潜在的危害。我们在试验中发现(图 3)，即使产酸相出水中丙酸含量较少，但由于

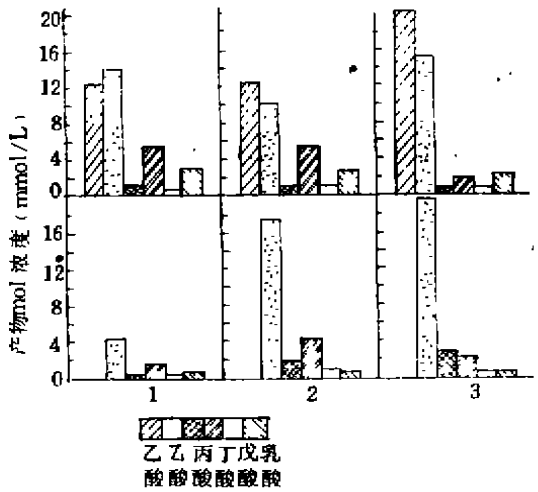

图 3　产酸相(上)和产甲烷相(下)出水中有机物组成

1. 产甲烷相 pH6.6　2. 产甲烷相 pH6.2　3. 产甲烷相 pH5.9

产甲烷相中发酵细菌对丙酸的进一步代谢能力有限，以及其它有机酸(如乳酸等)的转化，在高负荷时产甲烷相出水中丙酸含量反而有增加的趋势(最高可增加 2 倍多)，致使产甲烷相有机负荷难以提高。

有人认为，氢分压高是造成丙酸积累的原因，我们认为这一观点值得商榷。从宏观上看，每当氢分压较高时，常发生丙酸积累，但从微观上分析(参见图 2)，分子氢的产生与丙酸的产生并无直接关系。H_2 主要是伴随着丙酮酸脱羧生成乙酰 CoA 而产生；丙酸的产生是由于以乙酸作为终产物时，产生的过量 NADH 需要与丙酸发酵过程相耦联。是否是由于 H_2 本身引起生境改变而导致丙酸产率提高？对此，可引用 Denac 等(1988)[3]采用糖蜜废水所进行的一项试验结果加以分析。在产酸相中，人为地向反应器内加入 H_2，提高氢分压，并未使丙酸产率增加；然而，反应器内生物代谢所造成的氢分压提高，则显著地增加了丙酸产率。由此可见，氢分压与丙酸产率之间的关系并不是简单的相关关系，这种现象可根据微生物的生理生态学理论加以分析。

根据 2.4 中分析，若发酵中乙酸产率较高，往往导致 H_2 产率较高，并伴随着 NADH 增多。在无其它途径使 NADH 得以再生的条件下，通过与丙酸发酵相耦联以保证机体内 $NADH/NAD^+$ 平衡将是最适调节机制，这就呈现出氢分压与丙酸产率的正相关关系。然而，对于乙醇型发酵，即使当产酸相中氢分压高达 500hPa 时，也未出现丙酸积累现象(均低于 2.8mmol/L)。这充分表明，氢分压高不一定使丙酸产率高，产乙酸过程与乙酸发酵

维普资讯 http://www.cqvip.com

相耦联，可避免丙酸积累。然而，对于单相厌氧生物处理反应器，如 UASB 反应器下部区域，欲保证 pH 值始终大于 6 较困难，所以，出现氢分压高的同时伴随着丙酸积累不难理解。这也进一步表明，通过控制发酵细菌处于最佳生态环境，避免丙酸积累，是二相厌氧生物处理工艺的优越性之一。

3 结论

(1) 产酸细菌细胞内总有机酸含量比细胞外高几十倍，并且主要以离子形态存在。维持产酸细菌细胞内 pH 值处于正常生理条件的因素是细胞内存在 $HCO_3^-/CO_2(ag)$ 构成的敞开缓冲系统。

(2) 控制生物发酵类型的主要因素为 $NADH/NAD^+$ 平衡和发酵产物酸性末端数量，这两要素的生物代谢调控作用受生境中生态因子(如 pH 值)影响。

(3) 乙醇型发酵不但可减少酸性末端数量，维持细胞内正常生理条件下的 pH 值，而且可通过产乙酸过程与乙醇发酵相耦联，维持细胞内的 $NADH/NAD^+$ 达到动态平衡。这一耦联避免了丙酸积累，这是丁酸型发酵所不及的。

(4) 氢分压高并不是导致丙酸积累的直接原因，从理论上分析，丙酸的产生与 $NADH/NAD^+$ 平衡有关。当产酸发酵类型为乙醇型发酵，即使氢分压很高，也不致发生丙酸积累。

4 主要参考文献

1 钱泽澍，闵航编著．沼气发酵微生物学．杭州：浙江科学技术出版社，1986

2 任南琪．有机废水处理生物产氢原理与工程控制对策研究(博士学位论文)．哈尔滨建筑工程学院市政与环境工程系，1993

3 Denac, M., et al. Modeling dynamic experiments on the anaerobic degradation of molasses wastewater. Biotech. & Bioeng., 1988; 31: 1～10

A Physiological Ecology Analysis of Acidogenic Fermentation of Organic Wastewater

Ren Nanqi Wang Baozhen Ma Fang

(Civil and Environmental Department, Harbin Architectural and Engineering University, Harbin, 150009)

Abstract: The physical chemistry in the cell of acidogenic fermentation bacterium and the fermentation path were analysed. It made known that the primary factors of controlling acidogenic fermentation type were the $NADH/NAD^+$ balance and the amount of acid-group of products. According to the principle of physiological ecology and the test results, it was verified that the ethanol type fermentation was better than the butyric acid type fermentation and the propionic acid type fermentation. In addition, a new idea for the correlation of hydrogen pressure with the accumulation of propionic acid was put forward.

Keywords: Wastewater treatment, fermentation type, Physiological ecology, Acid phase reactor