

大学环境教育丛书

翻译版

**Environmental Biotechnology**  
**Principles and Applications (Second Edition)**

**环境生物技术**  
**原理与应用 (第2版)**

[美] 布鲁斯·E. 里特曼 (Bruce E. Rittmann) 著  
[美] 佩里·L. 麦卡蒂 (Perry L. McCarty) 著  
王建龙 文湘华 译



清华大学出版社  
北京

北京市版权局著作权合同登记号 图字：01-2021-4286

Bruce E. Rittmann, Perry L. McCarty

Environmental Biotechnology: Principles and Applications, Second Edition

ISBN: 978-1-26-0441604

Copyright ©2020 by McGraw-Hill Education.

All Rights reserved. No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including without limitation photocopying, recording, taping, or any database, information or retrieval system, without the prior written permission of the publisher.

This authorized Chinese translation edition is published by Tsinghua University Press Limited in arrangement with McGraw-Hill Education(Singapore) Pte. Ltd. This edition is authorized for sale in the People's Republic of China only, excluding Hong Kong, Macao SAR and Taiwan.

Translation Copyright ©2023 by McGraw-Hill Education(Singapore) Pte. Ltd and Tsinghua University Press Limited.

版权所有。未经出版人事先书面许可,对本出版物的任何部分不得以任何方式或途径复制传播,包括但不限于复印、录制、录音,或通过任何数据库、信息或可检索的系统。

此中文简体翻译版本经授权仅限在中华人民共和国境内(不包括中国香港、澳门特别行政区和台湾地区)销售。

翻译版权©2023 由麦格劳-希尔教育(新加坡)有限公司与清华大学出版社有限公司所有。

本书封面贴有 McGraw-Hill Education 公司防伪标签,无标签者不得销售。

版权所有,侵权必究。举报:010-62782989, beiqinquan@tup. tsinghua. edu. cn。

#### 图书在版编目(CIP)数据

环境生物技术:原理与应用/(美)布鲁斯·E.里特曼(Bruce E. Rittmann),(美)佩里·L.麦卡蒂(Perry L. McCarty)著;王建龙,文湘华译.—2版.—北京:清华大学出版社,2023.6

(大学环境教育丛书:翻译版)

书名原文:Environmental Biotechnology: Principles and Applications(Second Edition)

ISBN 978-7-302-63082-1

I. ①环… II. ①布… ②佩… ③王… ④文… III. ①环境生物学 IV. ①X17

中国国家版本馆 CIP 数据核字(2023)第 045014 号

责任编辑:王向珍 王 华

封面设计:陈国熙

责任校对:王淑云

责任印制:曹婉颖

出版发行:清华大学出版社

网 址: <http://www.tup.com.cn>, <http://www.wqbook.com>

地 址:北京清华大学学研大厦 A 座 邮 编:100084

社 总 机:010-83470000

邮 购:010-62786544

投稿与读者服务:010-62776969, c-service@tup. tsinghua. edu. cn

质量反馈:010-62772015, zhiliang@tup. tsinghua. edu. cn

印 装 者:三河市龙大印装有限公司

经 销:全国新华书店

开 本:185mm×260mm 印 张:32

字 数:776千字

版 次:2012年11月第1版 2023年6月第2版

印 次:2023年6月第1次印刷

定 价:118.00元

产品编号:093231-01

# 中文版序言

我们衷心感谢王建龙教授、文湘华教授与清华大学其他老师和学生将《环境生物技术：原理与应用》(第2版)翻译成中文。拥有中文译本意味着这本书将更有效地面向其最重要的读者。中国在21世纪取得了显著的经济和技术进步,快速发展提高了这个世界上人口最多的国家的生活水平,也导致了严重的污染,可能会对人类健康和生态系统产生不利影响。此外,全球气候变化的影响越来越大,因此需要推动人类社会的各个方面朝着更加可持续的方向发展。

《环境生物技术：原理与应用》(第2版)为改善水质和可持续发展向前迈出了一小步,但意义重大。环境生物技术通过研究和利用微生物过程来达到可持续发展的目标。我们知道,微生物过程对于解决广泛的水污染问题和实现可再生资源生产,是非常有效的。特别是环境生物技术解释了微生物和工程现象的原理,这些原理是环境生物技术过程工作的基础。运用基于这些基础知识的策略,可以预见新的成功将在哪里,并可以避免代价高昂的错误。

我们重新组织了第2版的应用部分,以强调我们利用环境生物技术改善人类社会可持续性的目标。最重要的是,我们将应用部分的第一个章节定为产甲烷,因为它是将有机污染物转化为有价值的能源形式——甲烷气体——的主要手段。

我们再次深切感谢王建龙教授、文湘华教授,以及清华大学如此多的人,满怀激情和动力,高效地将第2版的中文版呈现给中国读者。

布鲁斯·E. 里特曼  
亚利桑那州立大学教授  
佩里·L. 麦卡蒂  
斯坦福大学荣休教授

2022年1月



# 译者序言

《环境生物技术：原理与应用》(第2版)中译本就要和读者见面了！我们再次怀着十分激动的心情向读者推荐此书。

该书是美国环境专业学生的权威教材，它阐述了微生物学及工程学的基本原理，并综合讨论了其在主要环境领域中的重要应用。在第2版中，作者对部分章节及内容进行了修改与调整，讨论了环境生物技术在资源回收与可持续发展等方面的新进展；增加了第1章“走向可持续发展”、第3章“生物化学、代谢、遗传学及信息流”、第4章“微生物生态学”、第8章“微生物代谢产物”、第13章“氮转化与回收”、第14章“磷的去除与回收”等。在保留的章节中，作者也增加了大量技术与技术原理方面的新进展。第1版的章节移到了该书的网络版本中。第2版的内容得到了拓展，并充分展现了环境生物技术原理的最新发展。我们希望该书能够成为高等院校的高年级本科生、研究生以及科研院所研究人员的重要参考书。

与第1版相同，我们特别希望读者关注的是，该书体系独特，不同于国内出版的环境生物技术教材。书中详细介绍了化学反应的计量学、能量学和动力学，注重利用化学计量方程、电子转移平衡方程、物料平衡方程来描述生物反应过程，并将这种思想贯穿于所有生物处理工艺的介绍，包括传统的与新技术工艺的分析，并应用于指导工程设计，为读者提供了新的研究思路和方法。

里特曼教授专门为这本中译本写了序言，表达了他对中国读者的敬意以及对中国环境事业的良好祝愿。

清华大学核能与新能源技术研究院的多位博士后及环境学院的研究生参与了本书的初译工作，他们是：胡煜明博士(第1章~第3章)、庞韵梦博士(第4章和第5章)、阴亚楠博士(第6章~第8章)、朱诗慧(第9章)、霍然和李天乐(第10章)、刘佩英和刘巍(第11章)、田泽申(第12章)、陈湛和段丽杰(第13章)、孙晨翔(第14章)、何源(第15章)，在此，向他们表示深深的谢意。

全书由王建龙、文湘华统一修改、定稿。

教科书的翻译是一项十分艰辛、复杂的工作。尽管我们付出了很多努力，但译文中难免仍有一些不准确之处，请读者不吝指正。

王建龙 文湘华

2022年4月于清华大学



# 第2版前言

环境生物技术利用微生物来提高人类社会的可持续发展,包括防止向环境排放污染物、清理污染环境、为人类社会创造宝贵资源以及改善人类健康。环境生物技术对社会至关重要,作为一门技术学科,它确实是独一无二的。

环境生物技术既是一门历史悠久的学科,也是一门极具现代特征的学科。20世纪初开发的微生物处理技术,如活性污泥工艺和厌氧消化工艺,至今仍然是废水处理的主流技术。与此同时,这门学科不断引入新技术,以解决当代面临的环境问题,例如,危险化学品的脱毒和有价值资源的回收。用于表征和控制环境生物技术过程的重要工具,也已经使用了数十年。例如,尽管可以利用分子生物学方法来探索微生物群落的多样性,但传统的生物量测量方法,如挥发性悬浮固体,依然发挥着重要作用。

环境生物技术的工艺过程是基于微生物学和工程学原则建立的,但应用这些原则通常需要一定程度的经验。尽管经验不能代替原则,但因为环境生物技术所涉及的处理对象本质上错综复杂且随着时间和空间不断变化,所以我们必须接受经验主义。

工程学原理通常基于定量工具,而微生物学原理往往更基于观测性结果。如果要求工艺过程性能可靠且经济高效,则量化是至关重要的。然而,环境生物技术所涉及的微生物群落极其复杂,通常无法进行定量描述,因此,非量化的观察研究也具有重要价值。

在《环境生物技术:原理与应用》一书中,我们将环境生物技术的这些不同特征联系起来。我们的策略是在前9章中讲解基本概念和一些量化的工具,这构成了该书第2版的原理部分。在第10章至第15章以及附录的5章电子版中,在描述环境生物技术的应用时,我们始终遵循这些原理。我们的主题思想是,所有微生物过程的行为方式都是可理解、可预测和统一的。同时我们必须认识到,环境生物技术的每个应用都有其自身的特点,而这些特殊性不会推翻或回避普遍原则。相反,它们可以补充这些原则,并根据这些原则得到最有益的理解。

该书的目标是研究生水平的课程,利用微生物过程进行环境质量控制。该书也可作为本科高年级课程的教材,同时也可作为从事环境生物技术专业实践和研究的科技人员的参考书。

本书中的材料可用于一门或几门课程。对于还没有扎实掌握微生物学知识的学生,第1章至第4章提供了微生物分类学、代谢、遗传学和生态学方面的基础知识。这些章节重点介绍了微生物学概念,对于理解环境生物技术的原理和相关应用,这些概念是至关重要的。

这些章节可以作为环境微生物学的基础教材,也可以作为需要更新相关知识的学生的参考书,为学习更注重工艺过程的课程、研究或工程实践做准备。

第5章至第9章提供了定量描述这些原理的核心内容。第5章讲述了描述微生物反应的化学计量学和能量学的定量工具:微生物消耗和产生的物质及方式。化学计量是最基本的定量工具。第6章和第7章系统介绍了描述反应动力学的定量工具:材料消耗和生产的速度。第6章是悬浮生长工艺,而第7章是生物膜工艺。第8章介绍了微生物生产的一些影响工艺性能的产物及其量化方法。这一章的理解可以扩展第6章和第7章的系统工具。可靠性和成本效益取决于正确应用动力学。第9章描述了如何使用质量平衡和动力学原理将化学计量学与动力学原理应用于一些反应器的环境实践中。

第10章至第15章为应用部分。每一章都包括关键微生物的化学计量学和动力学方面的信息,以及化学计量学或动力学参数不易捕捉的特征。每一章都解释了如何设计这些工艺流程以实现废物处理目标,以及良好设计的量化标准是什么。我们的目标是尽可能直接地将原理与实践联系起来。

我们对该书的应用部分进行了重新组织,以强调我们使用环境生物技术提高人类社会可持续性的目标。最为突出的变化是,我们把产甲烷作为该书应用部分的第一章,因为它将是有机污染物转化为有价值的能源形式——甲烷气体的主要手段。产甲烷处理可以将废水处理转化为可再生能源的净产生者,而不是主要的能源消耗者。

第11章和第12章介绍了用于处理废水以去除生化需氧量(biochemical oxygen demand, BOD)的各种好氧处理工艺。这些处理工艺在世界范围内广泛使用,我们必须深入理解,以确保其发挥良好作用。第13章和第14章涉及氮和磷的转化、去除和(或)回收。自该书第1版出版以来,生物脱氮除磷方面有了许多新进展。我们在第2版中从科学和技术方面介绍了这些新进展,并且特别关注回收废水中有价值的资源,同时减少废水处理所需的能源,而不是像过去那样,只考虑从废水中去除污染物质。第15章描述了使用生物膜工艺制备安全、可口的饮用水,自该书第1版出版以来,这一主题越来越受到关注。

从麦格劳·希尔(McGraw-Hill)公司购买了该书纸质版的人,还可以获得5个电子版章节:第B1章,污水池和湿地;第B2章,微生物脱毒;第B3章,微生物电化学电池;第B4章,光合作用生物工厂;第B5章,复杂系统。这些章节可以在网站 [www.mhprofessional.com/rittmann2e](http://www.mhprofessional.com/rittmann2e) 上找到。为了缩短纸质版的篇幅和成本,这些章节以电子版的方式出版。这些章节仅提供电子版,并不意味着它们不重要。事实上,第B2、B3和B4章介绍了环境生物技术中一些最热门的新主题方面的信息。这些章节包含在该书的电子版中。

该书的一个重要特点是它包含许多实例。这些实例逐步地说明了如何利用所需工具理解微生物系统怎样工作或设计处理工艺。在大多数情况下,通过实例学习是最有效的方法,我们非常强调这一点。

在该书每一章的最后都给出了大量的习题。这些习题可以作为“家庭作业”,也可以作为课堂上的补充例题,或作为检验学习工具的试题。

为了全书符号的统一,我们选择了国际上采用的“描述废水生物处理工艺过程的推荐符号”,其发表在《水研究》第16期,第1501-1505页(1982年)。我们希望这将鼓励其他人也这样做,因为这样会促进我们之间更好的沟通与交流。

我们借此机会感谢我们许多优秀的学生和同事,他们给予我们新的想法,启发我们更深

入地思考,并纠正了我们通常容易犯的错误。因为人数太多了,我们无法按姓名一一列出,但你应该知道他们是谁。

最后,我们要感谢 Marylee 和 Martha 对我们的爱,即使在我们过于专注“编写该书这个项目”的时候。

布鲁斯·E.里特曼

亚利桑那州,坦佩

佩里·L.麦卡蒂

加利福尼亚州,斯坦福



# 第1版前言

环境生物技术利用微生物来改善环境质量。这些改善包括防止污染物向外界排放,净化受污染的环境以及为人类创造有价值的资源。环境生物技术是社会必需的,而且作为一个技术学科,它也是独一无二的。

环境生物技术既是传统技术,又是现代技术。在20世纪初发展起来的微生物处理技术(如活性污泥技术、厌氧消化技术)至今仍是核心技术。为解决不断产生的新问题(如有毒化学物质的脱毒),新技术也层出不穷。在环境技术中,用于描述过程特征及其控制的重要工具,沿用了几十年。例如,尽管分子生物学工具可以用于探索微生物群落的多样性,但传统的生物量测量方法,如挥发性悬浮固体物的测量,仍然在应用。

环境生物技术中的各种工艺,按照微生物学和工程学原理运行,但是,应用这些原理通常需要一定程度的经验。尽管这些经验不能代替理论原理,但由于环境生物技术所处理的对象十分复杂,而且随时随地发生变化,所以必须应用经验。

工程学原理主要用于定量分析,而微生物学原理更多地用于观测。只有进行定量分析,才能保证工艺过程可靠、经济。然而,环境生物技术中涉及的微生物群落的复杂性通常难以定量描述,此时非定量观测尤其重要。

在本书中,我们将环境生物技术的各个方面联系起来。在前5章里,我们将介绍基本概念和定量方法,这是本书的原理部分。第6~15章讲述环境生物技术的应用,在这些章节中会经常回顾前5章中相对应的原理。我们的观点是,所有的微生物过程都是可以理解、可以预测,并且是统一的。同时,我们必须理解,每种应用都有它自己的特点。这些特点并不推翻和违背一般原理,相反,可以作为一般原理的补充,根据一般原理,能够更有价值地理解这些特点。

本书可作为研究生教材,供致力于开发微生物过程并应用于环境质量控制方面的研究生使用,也可以作为高年级本科生的教材,或者作为环境生物技术专业的研究和应用人员的综合性参考书。

本书中的内容可供一门或几门课程使用。对于没有微生物学背景知识的学生,第1章提供了微生物分类、代谢、遗传和生态方面的基础知识。第1章强调了微生物学的基本概念,对于理解后续章节的原理和应用是非常必需的。第1章也可作为环境微生物学基础课程的教材,或供需要更新知识、准备学习更注重工艺的课程、研究或实习的学生作为参考书。

原理部分的“核心”在第2~5章。第2章介绍了描述微生物反应过程的化学计量学和

热力学的定量方法,主要解决各过程中微生物消耗和产生何种物质以及有多少物质转变的问题。化学计量学是最基本的定量方法。第3章和第4章系统地介绍了动力学定量方法,解决物质消耗和产生速度究竟有多快的问题。反应系统的可靠性和经济有效性取决于对反应动力学的正确应用。第5章讲述了如何应用物料守恒原理,建立描述实际应用的各种反应器的化学计量学和动力学方程。

第6~15章是实际应用部分。每章都同时讨论了主要微生物化学计量学和动力学方面的内容,以及化学计量学和动力学都不易描述的一些特征。各章都解释了如何构建各种工艺过程以达到处理目标,并介绍了设计中的关键参数。目的是尽可能将原理和应用直接联系起来。

关于应用方面的各章,按照从传统到现代的顺序排列。例如,第6~8章讲述了含可生物降解有机物(如废水的生化需氧量)废水的好氧处理,而在第14、15章中讲述了危害性化学物质的生物降解。废水好氧处理可追溯到20世纪早期,所以它是一种很传统的技术。而对危害性化学物质的脱毒在20世纪80年代才成为一个主要的处理目标。此外,第6~8章讨论了为达到传统目标而采用的一些最新技术。因此,尽管目标是传统的,但是为达到目标所使用的科学与技术可能是非常现代的。

我们还准备了一章介绍复杂系统,但是为了控制本书的长度没有把它加入进来。在网络版的这一章中,通过系统地处理非稳态系统(悬浮的或生物膜系统)和复杂的多物种相互作用系统,我们对第1~5章的原理进行了扩展。本书出版商麦格劳·希尔(McGraw-Hill)公司已经同意将这一章放到网站上,对此有兴趣的读者可以从网站上获得这些内容。为该书建立一个网站的另一个好处是,我们可以方便地在网站上对书中存在的一些不可避免的错误进行更正,也许还可以在此发表一些与该书有关的其他信息;我们鼓励读者浏览我们的网页。

本书一个重要的特点是有许多例题。这些例题讨论了应用基本原理的每一个步骤,以利于理解微生物系统的工作原理以及进行处理系统的设计。在大多数情况下,通过例题来学习是最有效的方法,我们很强调这一点。

每章中都有很多习题,可以作为课外作业、课堂补充例题或者作为学习工具。这些习题范围很广。其中有一些很容易解决,仅需简单的计算或者简短的解释。而另一些则是较深入的问题,解决它们需要很多步骤。其他绝大多数习题是中等难度的。所以,教师或者学生可以从简单的、涉及单个概念的问题入手,逐步向高综合度的问题迈进。有时使用电子计算表格很有帮助,尤其当需要进行比较复杂的或者迭代计算时。

为了促进符号的统一,我们选择了国际认同的《废水生物处理过程描述推荐使用符号》,发表在1982年《水研究》(*Water Research*)第16期,1501~1505页。我们希望这可以促进大家使用同样的符号,以利于交流。

由于本书篇幅有限,所以对一般性原理、环境生物技术的应用以及很多在生物系统设计中必须考虑的特殊细节,本书没有全面论述,而是将重点放在原理及其应用方面。对于特殊的设计细节,我们推荐其他参考书,如两卷本的《城市污水处理厂设计》,由水环境协会(《应用手册》(第8册))和美国土木工程师学会(《工程应用手册及报告》(第76册))联合出版。

我们借此机会感谢很多优秀的学生和同事,他们不但向我们提供新思想,使我们看得更深远,而且更正了一些错误。要感谢的人太多了,无法将他们的名字一一列出。我们特别感

谢在过去几年里选修环境生物技术课程的同学,他们使用了本书的初稿,并且提出很多有益的修改意见。感谢他们所做的一切!

还有以下人员的特别贡献直接促进了本书的出版。Viraj deSilva 和 Matthew Pettis 提供了网络版中“复杂系统”一章的模型计算部分。Gene F. Parkin 和 Jeanne M. VanBriesen 两位博士对本书的内容提出了详细的建议和修改意见。Pablo Pastén 和 Chrysi Lapidou 提供了解题指南中许多习题的答案。Janet Soule 和 Rose Bartosch 将 BER 的手稿转为电子文档,内容包括第 1、3、4、6、8~12、15 章的部分或全部。Saburo Matsui 博士和环境质量控制研究中心(京都大学)为 BER 提供学术休假的位置,使他能够完成本书的所有细节,并准时交付给出版商麦格劳·希尔公司。

最后,我们还要感谢 Marylee 和 Martha。她们在我们全力完成书稿的过程中一直关心和支持着我们。

布鲁斯·E.里特曼

伊利诺伊州,埃文斯顿

佩里·L.麦卡蒂

加利福尼亚州,斯坦福



# 目 录

第 1 章 走向可持续发展	1
1.1 水资源及其利用	1
1.2 污水资源	2
1.3 气候变化	3
1.4 可持续性	4
1.5 环境生物技术的作用	4
1.6 本书的组织结构	5
参考文献	5
第 2 章 微生物学基础	7
2.1 微生物细胞	7
2.2 微生物分类	9
2.3 原核生物	11
2.3.1 细菌和古细菌的细胞结构和功能	11
2.3.2 细菌发育谱系	20
2.3.3 古细菌的系统发生谱系	22
2.4 真核生物	24
2.4.1 真菌	24
2.4.2 藻类	27
2.4.3 原生动物	31
2.4.4 其他多细胞微生物	34
2.5 病毒	35
2.6 传染病	35
参考文献	40
第 3 章 生物化学、代谢、遗传学和信息流	41
3.1 生物化学	41
3.1.1 酶	41

3.1.2	酶的反应性 .....	44
3.1.3	酶活性的调节 .....	47
3.2	能量捕获 .....	47
3.2.1	电子与能量载体 .....	48
3.2.2	能量与电子投入 .....	49
3.3	新陈代谢 .....	50
3.3.1	分解代谢 .....	52
3.3.2	合成代谢 .....	67
3.3.3	新陈代谢与营养种群 .....	70
3.4	遗传学和信息流 .....	71
3.4.1	脱氧核糖核酸(DNA) .....	72
3.4.2	染色体 .....	75
3.4.3	质粒 .....	76
3.4.4	DNA 复制 .....	76
3.4.5	核糖核酸(RNA) .....	77
3.4.6	转录 .....	77
3.4.7	信使 RNA (mRNA) .....	78
3.4.8	转运 RNA (tRNA) .....	78
3.4.9	翻译与核糖体 RNA (rRNA) .....	79
3.4.10	翻译 .....	81
3.4.11	调节 .....	81
3.4.12	系统发育 .....	81
3.4.13	系统发育分类的基础 .....	83
	参考文献 .....	85
	参考书目 .....	85
	习题 .....	85
<b>第 4 章</b>	<b>微生物生态学 .....</b>	<b>88</b>
4.1	选择 .....	89
4.2	物质交换 .....	90
4.2.1	基质交换 .....	90
4.2.2	遗传信息的交换 .....	94
4.2.3	生长因子 .....	94
4.2.4	化学信号的交换 .....	94
4.3	适应 .....	95
4.4	微生物生态学研究工具 .....	97
4.4.1	传统富集工具 .....	98
4.4.2	分子生物学工具 .....	99
4.4.3	基于核糖体 RNA 的基因组学方法 .....	99
4.4.4	基于核糖体 DNA 的基因组学方法 .....	103

4.4.5 基因组测序结果的多样性分析	109
4.4.6 功能基因组学分析	110
4.4.7 转录组学	111
4.4.8 蛋白质组学	111
4.4.9 功能预测	111
参考文献	112
参考书目	112
习题	113
<b>第5章 化学计量学和能量学</b>	<b>116</b>
5.1 化学计量方程式举例	116
5.2 微生物细胞的经验分子式	117
5.3 细胞含有储存产物的分子式	120
5.4 基质分配和细胞产率	120
5.5 生物生长的总反应	122
5.6 发酵反应	128
5.6.1 简单发酵	128
5.6.2 混合发酵	129
5.7 能量学和细菌生长	132
5.7.1 能量反应的自由能	132
5.7.2 产率系数和反应能量学	135
5.7.3 氧化态氮源	139
参考文献	141
习题	142
<b>第6章 微生物动力学</b>	<b>146</b>
6.1 基本速率表达式	146
6.2 参数估值	149
6.3 基本质量平衡	153
6.4 惰性菌体和挥发性固体的质量平衡	158
6.5 微生物产物	161
6.6 输入的活性菌体	162
6.7 营养物和电子受体	164
6.8 CSTR 总结方程	165
6.9 颗粒物和多聚物的水解	166
6.10 抑制作用	168
6.11 其他形式的速率表达式	172
参考文献	173
习题	174

<b>第7章 生物膜动力学</b> .....	180
7.1 微生物的聚集 .....	180
7.2 为什么会形成生物膜 .....	180
7.3 理想化的生物膜 .....	181
7.3.1 基质现象.....	182
7.3.2 一级反应动力学的求解.....	183
7.3.3 已知 $S_w$ 时的通解 .....	184
7.3.4 生物膜物质平衡.....	185
7.4 稳态生物膜 .....	185
7.5 稳态生物膜的解 .....	186
7.6 参数估值 .....	190
7.7 生物膜平均 SRT .....	193
7.8 完全混合生物膜反应器 .....	193
7.9 惰性微生物、营养物和电子受体.....	196
7.10 CMBR 工艺特性 .....	197
7.11 表面负荷的标准化.....	199
7.12 非稳态生物膜.....	204
7.13 生物膜模型解的特例.....	209
7.13.1 厚生生物膜.....	209
7.13.2 零级反应动力学.....	210
7.14 生物膜的数值模拟.....	210
参考文献.....	212
习题.....	213
<b>第8章 微生物代谢产物</b> .....	219
8.1 胞外聚合物 .....	219
8.2 溶解性微生物产物 .....	221
8.3 包括 EPS 和 SMP 的稳态模型 .....	221
8.4 关联 EPS 和 SMP 的集合参数 .....	223
8.5 营养物吸收和受体利用率 .....	224
8.6 参数值 .....	224
8.7 为生物膜过程中 EPS、SMP 和 $X_{in}$ 的建模 .....	228
8.8 胞内存储物质 .....	229
参考文献.....	231
习题.....	232
<b>第9章 反应器特性和动力学</b> .....	234
9.1 反应器类型 .....	234
9.1.1 悬浮生长式反应器.....	236

9.1.2	生物膜反应器	237
9.1.3	膜生物反应器	238
9.1.4	活性载体生物膜反应器	242
9.1.5	反应器组合	242
9.2	反应器工程设计中需要考虑的重要因素	243
9.2.1	选择合适的 SF 值	244
9.2.2	SF 值对简单基质系统处理效率的影响	245
9.2.3	设计重点是生物固体沉降或其他因素	246
9.3	物料衡算	246
9.3.1	间歇式反应器	247
9.3.2	带有回流的连续流搅拌槽反应器	249
9.3.3	推流式反应器	250
9.3.4	带有回流的推流式反应器	252
9.3.5	带有沉淀和回流单元的推流式反应器	254
9.4	其他速率模型	255
9.5	化学计量方程与物料平衡方程的关系	255
9.6	串联反应器	258
	参考文献	261
	参考书目	262
	习题	262
<b>第 10 章</b>	<b>产甲烷</b>	<b>268</b>
10.1	厌氧处理的用途	270
10.2	处理低浓度废水	273
10.2.1	UASB 和 AFMBR	273
10.2.2	厌氧膜生物反应器	275
10.3	反应器类型	277
10.4	过程微生物学和化学	279
10.4.1	过程微生物学	280
10.4.2	过程化学	282
10.5	过程动力学	296
10.5.1	温度影响	296
10.5.2	CSTR 反应动力学	298
10.5.3	复杂基质	300
10.5.4	过程优化	304
10.5.5	生物膜过程反应动力学	305
10.5.6	水解为限速因素时的动力学	307
10.6	厌氧污泥消化池设计中的特殊因素	310
10.6.1	工艺负荷	310
10.6.2	混合	311

10.6.3	加热 .....	311
10.6.4	气体收集 .....	312
10.6.5	运行 .....	312
10.7	低浓度污水厌氧处理设计案例 .....	313
	参考文献 .....	315
	习题 .....	317
<b>第 11 章</b>	<b>好氧悬浮-生长工艺 .....</b>	<b>323</b>
11.1	活性污泥法的工艺特性 .....	324
11.1.1	活性污泥法的基本构成 .....	324
11.1.2	微生物生态 .....	324
11.1.3	氧气和营养需求 .....	326
11.1.4	污泥停留时间的影响 .....	327
11.2	工艺类型 .....	328
11.2.1	反应器类型 .....	328
11.2.2	供氧类型 .....	332
11.2.3	负荷类型 .....	334
11.3	设计与运行参数 .....	335
11.3.1	历史背景 .....	335
11.3.2	食料/微生物比 .....	336
11.3.3	污泥停留时间 .....	337
11.3.4	负荷比较 .....	339
11.3.5	混合液悬浮固体浓度,污泥体积指数 SVI 和回流比 .....	340
11.4	曝气系统 .....	342
11.4.1	传氧与混合速率 .....	342
11.4.2	鼓风曝气系统 .....	345
11.4.3	机械曝气系统 .....	346
11.5	污泥膨胀与污泥沉降性问题 .....	346
11.5.1	污泥膨胀 .....	347
11.5.2	泡沫和浮渣的控制 .....	349
11.5.3	污泥上浮 .....	350
11.5.4	分散生长和针状污泥 .....	350
11.5.5	黏性污泥膨胀 .....	350
11.5.6	加入聚合物 .....	351
11.6	活性污泥工艺设计与分析 .....	351
11.7	沉淀池的设计与分析 .....	357
11.7.1	活性污泥特性 .....	358
11.7.2	沉淀池的组成部分 .....	359
11.7.3	负荷基准 .....	362
11.7.4	通量理论要点 .....	364

11.7.5	状态点分析 .....	368
11.7.6	沉淀池与曝气池的联系 .....	373
11.7.7	状态点分析的局限性 .....	373
11.8	膜生物反应器 .....	373
11.9	复合固定膜活性污泥法 .....	374
	参考文献 .....	375
	参考书目 .....	377
	习题 .....	377
<b>第 12 章</b>	<b>好氧生物膜工艺 .....</b>	<b>383</b>
12.1	生物膜法工艺需要考虑的事项 .....	384
12.2	滴滤池和塔式生物滤池 .....	386
12.3	生物转盘 .....	393
12.4	颗粒滤料滤池 .....	395
12.5	流化床生物膜反应器和循环床生物膜反应器 .....	396
12.6	生物膜/悬浮生长复合工艺 .....	401
12.7	好氧颗粒污泥工艺 .....	401
	参考文献 .....	402
	习题 .....	403
<b>第 13 章</b>	<b>氮转化与回收 .....</b>	<b>405</b>
13.1	氮形式、影响以及转化 .....	406
13.2	氮的转化反应 .....	407
13.3	硝化作用 .....	412
13.3.1	硝化细菌生物化学、生理学及动力学 .....	412
13.3.2	常见工艺的注意事项 .....	416
13.3.3	单级式与分级式活性污泥硝化 .....	416
13.3.4	生物膜硝化 .....	423
13.3.5	复合工艺 .....	425
13.3.6	进水 $BOD_L/TKN$ 值的作用 .....	426
13.4	反硝化 .....	427
13.4.1	反硝化菌的生理学特性 .....	427
13.4.2	反硝化系统 .....	429
13.4.3	脱氮系统的比较 .....	431
13.5	硝化和反硝化系统 .....	435
13.5.1	生物膜反应器 .....	436
13.5.2	Barnard 脱氮工艺 .....	438
13.5.3	序批式反应器 .....	439
13.5.4	侧流厌氧氨氧化 .....	439
13.6	一氧化二氮的形成 .....	440

参考文献 .....	442
习题 .....	445
<b>第 14 章 磷的去除与回收 .....</b>	<b>456</b>
14.1 生物对磷的吸收作用 .....	456
14.2 在生物处理系统中投加金属盐进行沉淀除磷 .....	458
14.3 强化生物除磷 .....	460
14.4 磷的回收 .....	464
14.4.1 磷去除量低与磷回收 .....	464
14.4.2 以污水作为肥料磷的直接来源 .....	464
14.4.3 生物质作为缓释磷 .....	464
14.4.4 选择性吸附 .....	465
14.4.5 鸟粪石沉淀 .....	465
参考文献 .....	466
习题 .....	467
<b>第 15 章 饮用水的生物处理 .....</b>	<b>469</b>
15.1 为什么用生物处理方法处理饮用水 .....	469
15.2 去除生物不稳定物质的好氧生物膜法工艺 .....	470
15.2.1 好氧生物膜工艺的一般特征 .....	470
15.2.2 可生物降解的有机物 .....	470
15.2.3 无机生物不稳定物质 .....	472
15.2.4 复合生物滤池 .....	473
15.2.5 生物膜预处理 .....	475
15.2.6 慢速生物滤池 .....	477
15.2.7 微生物的释放 .....	478
15.2.8 特殊有机物的生物降解 .....	478
15.3 厌氧生物膜工艺对氧化态污染物的还原 .....	479
15.3.1 氧化态污染物 .....	479
15.3.2 生物膜还原氧化态污染物的一般特征 .....	480
15.3.3 自养过程 .....	481
15.3.4 异养过程 .....	484
参考文献 .....	485
习题 .....	487

# 第1章 走向可持续发展

20世纪70年代,在美国国家环境保护局(U. S. Environmental Protection Agency, U. S. EPA)成立之初,主要关注的是河流、溪流和湖泊的水环境污染,以及大气和土地污染。直至今日,世界人口增加了一倍多,人类活动对自然资源(包括水)的可持续发展造成巨大威胁。此外,化石燃料和其他来源释放的温室气体造成全球温度升高,从而导致一系列严重并急需解决的环境问题(IPCC,2018; NAS,2018; Reidmiller et al. ,2018; U. S. EPA,2018)。其中最为明显的是一些地区出现特大风暴和洪水,另一些地区遭受干旱和极端火灾,冰川融化、海平面不断上升,海洋酸化并伴随海洋生命的丧失。这些最近才慢慢浮出水面的重大问题,需要紧急响应并采取有效行动。作为环境工程师和科学家,我们必须做好水质保护工作,同时,必须有效减少温室气体排放,并尽可能满足日益增长的资源保护需求。

环境生物技术是我们应对可持续发展的新问题及长期挑战的有力工具之一。环境生物技术可以定义为“管理微生物群落,使它们为人类社会提供服务”。这些服务包括从水和其他受污染介质中去除污染物、产生可再生资源并改善人类健康。显而易见,这些服务可以解决人类社会面临的许多亟待解决的问题。在第1章中,我们首先提供一个框架,以了解环境工程师和科学家们面临的挑战,以及环境生物技术带来的机遇。

## 1.1 水资源及其利用

适宜的水质是人类享用水资源的前提。世界上仅有一小部分水资源的质量满足人类大部分的需求,且很难避免这部分可用水资源不受人类或工业废物的污染。环境工程师被赋予极具挑战的职责,包括保护、储存和运输水资源,提高水质以满足个人、农业和工业方面的使用需求,保证水资源起到美化环境的作用。

表1.1概述了全球水资源的基本情况。世界上大部分的水储存在海洋中,其含盐量约为3.4%,对于大多数人类用途(包括灌溉、饮用和洗涤)而言过高。淡水仅占全球总水量的2.5%,其中绝大部分被锁定在极地冰和冰川中。液态淡水是唯一可以充分满足我们最大需求的水,它只占地球总水量的不到1%,其中大部分深藏于地下,极难获取。

虽然水是一种可再生资源,但我们对可用淡水的利用率已经很高了,随着需求量的不断增长,未来几年可能会超过其再生速度。太阳辐射不断蒸发(主要为)海水,留下盐和其他化学物质。一部分由此产生的水蒸气最终凝结并以雨或雪的形式降落在陆地上,以补充新鲜

和相对清洁的水供应。实际上,代表可持续供水量的是每年 11.9 万  $\text{km}^3$  的总降水量,而不是地球的淡水水库总水量。然而,并不是所有的降水都能被利用:大约  $2/3(74\,200\text{km}^3)$  的降水会再次被蒸发;其余在陆地上被储存或形成径流的部分( $44\,800\text{km}^3$ ),实际大约只有一半可以被利用。

表 1.1 世界水资源概述

水的类型和位置	总量/ $\text{km}^3$	占世界总水量的百分比/%
总水量	1 386 000 000	100.0
含盐水	1 350 000 000	97.5
淡水	34 600 000	2.5
冰	23 800 000	1.7
液态水	10 800 000	0.8
地下水*	10 400 000	0.75
地表水	90 000	0.007
水蒸气(大气)	13 000	0.001
陆地年降雨量	119 000	—

资料来源: Shiklomanov (1998)。

注: \* 大约一半的地下水位于地表以下超过 1.5km 处。

## 1.2 污水资源

到目前为止,水是我们使用最广泛的自然资源。按质量计算,世界人口对水的使用率比所有其他自然资源的总和还高 100 多倍。我们不仅将水用于饮用和洗涤,还用于农业来种植我们食用的农作物;产生电力或其他形式的能源来运行我们的社会;用于工业来生产我们使用的商品;用于广泛的市政和商业用途,以及生态系统保护。此外,水被用来带走我们身体中的一些废物。

在我们使用并将水污染之后,我们通常认为它是废水,这一术语贯穿于本书。废水是一个术语,用来描述直接来自人类的污水。具有讽刺意味的是,我们所说的废水其实包含多种资源,我们可以称之为“使用过的资源”(used resources)。因此,曾经被视为废物的废水现在被视为一种资源,绝不能被浪费,而是要净化、以有用的形式回收并再利用。例如,新加坡不再使用“废水”(waste water)一词;相反,他们称之为“用过的水”(used water)。对用过的水所需的处理程度取决于其使用目的。这被称为“适合其用途”(fit for use)的水处理(Li et al., 2015)。

废水含有重要的资源,可以被回收并用于满足人类社会的基本需求。一旦使用“适合其用途”的水处理方法对水进行清洁避免了对消费者造成伤害,那么废水就可以成为最重要的资源。许多废水含有可转化为能量的有机物,如果被回收,可用于运行我们的处理系统,并在市场上出售以获利(Rittmann, 2013)。其他常见的资源是肥料元素,如氮和磷。磷以简单磷酸盐或复杂有机磷酸盐的形式存在于废水中。如果简单磷酸盐以正确的形式被捕获,可以去除、浓缩并当作肥料再次利用(Rittmann et al., 2011)。氮,通常以铵或废水中的有机氮的形式存在,也可以在农业中被回收和再利用。将磷和氮重新用于农业的一个关键是

确保处理和恢复过程中已经消除了病原体。另一个关键是,回收的养分需以植物可吸收的形式提供。

重要的是要认识到,为了养活世界不断增长的人口, $N_2$  现在从大气中被提取并转化为铵,用作作物肥料,但用于将  $N_2$  固定为铵的 Haber-Bosch 工艺消耗了全球约 7% 的天然气,而天然气是导致气候变化的化石燃料之一(McCarty et al., 2011)。城市废水中的氮来自我们吃的食物,而最初用于从大气的  $N_2$  中获取氮所耗的能量与我们目前用于运行好氧废水处理系统使用的能量一样多。然而,用于脱氮的传统废水处理通常会将铵转化回氮气。但是,如果我们直接回收铵并将其用作肥料,而不是将其转换回  $N_2$ ,就可以减少整体化石燃料能源的消耗。

可以对磷进行类似的分析。今天,几乎所有的磷酸盐都被挖掘并用于农业。由于径流和废水排放,大部分磷酸盐最终进入水系统(Rittmann et al., 2011); 这种“流失的磷”导致了水的富营养化和缺氧。传统的除磷方法产生的无机固体不能用于农业,导致磷酸盐不能在需要的地方被重复使用。因此,最大的可持续效益来自以在农业中易于利用的形式去除磷酸盐。

### 1.3 气候变化

运输和清洁水的过程需要使用能源,而这种能源通常来自化石燃料燃烧,使气候变化带来的问题日益严重。虽然用于水的能源仅占世界化石燃料总使用量的一小部分,但环境工程师和科学家可以通过寻找降低水运输以及水和废水处理所用能源量的方法来解决这一问题。

化石燃料燃烧并不是导致温室气体排放的唯一与水相关的因素。废水处理过程中产生的一些副产品是温室气体。例如,厌氧废水处理产生的甲烷( $CH_4$ )是一种很好的可再生能源,有助于减少我们对化石燃料的使用;然而,如果让  $CH_4$  逃逸到大气中,对气候变化的影响很大,因为甲烷的温室气体变暖效力是  $CO_2$  的 25~30 倍(U. S. EPA, 2018)。因此,下水道和卫生垃圾填埋场的甲烷排放量也必须减少。

另一种通过生物废水处理产生的温室气体是一氧化二氮( $N_2O$ ),它导致气温升高的潜能比  $CO_2$  高近 300 倍。即使只有一小部分进入废水处理设施的氮被转化为  $N_2O$  并逃逸到大气中,那么为减少化石燃料付出的努力将因  $N_2O$  的形成和释放的影响付诸东流。

2016 年,全球温室气体排放总量约为 420 亿 t 二氧化碳当量(IPCC, 2018)。美国排放了 65 亿 t, 占总量的 15% 以上(U. S. EPA, 2018)。在美国的排放总量中,82% 来自  $CO_2$  排放。尽管与  $CO_2$  相比,全球  $CH_4$  和  $N_2O$  排放量在质量上相对较小,但它们更大的全球变暖潜能使它们在 2016 年的排放量分别对气候变化造成了 10% 和 6% 左右的总体影响。

地球气温在过去的 150 年上升了约  $1^\circ C$ , 这主要是人类活动排放的温室气体所导致的。如果人类不减少所有吸收辐射的化学物质的排放,气温将继续上升。联合国政府间气候变化专门委员会(IPCC, 2018)指出,如果想要全球气温上升幅度不超过  $2^\circ C$ ,  $CO_2$  排放量需要在 2055 年达到净零排放,同时非  $CO_2$  温室气体排放量需要在 2030 年达到净零排放。将升温保持在  $2^\circ C$  以下需要将温室气体从大气中清除! 全世界所有经济部门包括涉及环境工程和科学专业人员的部门都需要把减少温室气体作为首要任务。

## 1.4 可持续性

如今,生物工艺必须以成本效益高的方式可靠地达到其排放标准,还必须推进社会对未来可持续性的需求。正如世界环境与发展委员会的《布伦特兰报告》(Brundtland,1987)所述,可持续发展是指“既满足当代人的需要,又不损害后代人满足其自身需求的能力的发展。”可持续发展的概念甚至早在1970年的《美国国家环境政策法案》中就被提出,旨在“创造和维持人与自然能够在生产上和谐共处的条件,从而能够满足社会、经济和后世的其他要求。”

通常,可持续性代表了一个努力平衡的目标,即在不破坏子孙后代赖以生存的自然环境的情况下,满足当今人类的需求。今天,可持续性的概念至少涉及3个相互依存的支柱:经济发展、社会发展和环境保护。它们构成了社会、环境及经济收益和成本的“三重底线”。

为帮助推进可持续发展,2015年,美国国家环境保护局编制了一本可持续发展入门书,该书在“三大支柱”之上分别定义了“六大主题”。表1.2列出了每个支柱的六个主题。例如,环境支柱包括生态系统服务,强调保护、维持和恢复关键自然栖息地和生态系统的健康。环境压力源,包括水污染物和温室气体排放,将会减少。为了资源的完整性,应减少废物产生,以防止意外释放和未来的清理责任。在社会支柱内,环境正义要求赋予因污染而负担过重的社区权力,以采取行动改善其健康和环境。资源安全意味着保护、维护和恢复对基本资源的获取。就经济支柱而言,供应与需求则利用审计和市场实践促进环境健康和社会繁荣,而自然资源审计则利用成本效益分析提高对生态系统服务的理解和核算。成本是努力开发无废物工艺的例子,从而将监管、处理和处置成本的需求降至最低,而价格是指通过与社区合作伙伴进行示范和测试来降低新技术的风险。

表 1.2 美国国家环境保护局定义的可持续发展的三大支柱以及每个支柱下的重要主题

环 境	社 会	经 济
生态系统服务	环境正义	工作
绿色工程和化学	人类健康	奖励
空气质量	参与	供应与需求
水质	教育	自然资源审计
环境压力源	资源安全	费用
资源完整性	可持续社区	价格

## 1.5 环境生物技术的作用

环境生物技术提供了实现水的许多可持续性目标的手段。以下是几个典型的例子:

(1) 厌氧处理可以从用过的水中获取有机物的能量值。这可以使处理过程产生能源,从而为运营商节约资金,并减少社会对化石能源的使用。

(2) 厌氧处理可以将氮和磷转化为无机形式(铵和磷酸盐),可回收并用作农业肥料的原料。

(3) 厌氧和好氧处理可去除有害化学物质,并使水安全用于各种有益用途。

尽管废水中含有宝贵的资源,但目前的处理方法往往会废弃这些资源。今天,生物处理工艺的选择不能止步于满足污水排放标准。取而代之的是一个精心选择的过程,将使用过的水视为资源,以实现社会的长期可持续需求的方式,完成提供优质水源这一基本使命。对现有流程的修改和新流程的开发应致力于满足未来可持续发展的需求,这是全人类社会的重要目标。

## 1.6 本书的组织结构

为了实现所有可持续发展的成果,我们需要对环境生物技术背后的科学和工程基础有深刻的理解。将这种理解应用于设计和运行设施以改善水质处理是本书的重点。

与书名一致,本书分为两部分。第一部分包括第2章~第9章,阐述了所有微生物过程的基本原理,如生物化学、生态学、化学计量学和动力学。这些原理是理解、设计和应用环境生物技术的基础。

第二部分包括第10章~第15章,是对这些原理的广泛应用。与我们对可持续性的关注一致,第10章是关于产甲烷作用的,在这一过程中,用过的水中的有机化合物所含的能量转化为甲烷,可作为一种有价值的燃料。与天然气中的化石甲烷不同,这种产甲烷过程中产生的甲烷如果被捕获和利用,就属于可再生的、碳中和的。第11章~第15章论述了好氧处理、营养物质的去除和回收,包括改善水质的传统方法和资源回收的新兴方法。

从麦格劳·希尔出版社购买本教科书的人还可以在 [www.mhprofessional.com/rittmann2e](http://www.mhprofessional.com/rittmann2e) 上访问5个电子版的附加章节:泻湖和湿地、微生物在生物修复中的作用、微生物燃料电池、光合作用能量工厂和复杂系统。它们以电子版的形式呈现,以节约印刷书籍的篇幅和成本。

## 参考文献

- Brundtland, G. H. (1987). *Our Common Future*. New York: World Commission on Environment and Development.
- Inter-Governmental Panel on Climate Change (IPCC) (2018). *Global Warming of 1.5°C*. Switzerland: IPCC, p. 28.
- Li, W.-W.; H.-Q. Yu; and B. E. Rittmann (2015). "Reuse water pollutants." *Nature*, 528, pp. 29-31.
- McCarty, P. L.; J. Bae; and J. Kim (2011). "Domestic wastewater treatment as a net energy producer—can this be achieved?" *Environ. Sci. Technol.* 45, pp. 7100-7106.
- NAS (2018). *Environmental Engineering for the 21st Century: Addressing Grand Challenges*. Washington, DC: National Academies Press, p. 120.
- Reidmiller, D. R.; C. W. Avery; D. Barrie; A. Dave; B. DeAngelo; M. Dzaugis; M. Kolian; K. Lewis; K. Reeves; and D. Winner (2018). *Overview: Impacts, Risks, and Adaptation in the United States; Fourth National Climate Assessment, Volume II*. Washington, DC: U. S. Government Publishing Office, pp. 33-71.

## 6 环境生物技术：原理与应用(第2版)

- Rittmann, B. E. (2013). "The energy issues in urban water management." In T. Larsen; K. Udert; and J. Liener, Eds. *Wastewater Management: Source Separation and Decentralisation*. London: IWA Publishing, chap. 2, pp. 13-28.
- Rittmann, B. E; B. Mayer; P. Westerhoff; and M. Edwards (2011). "Capturing the lost phosphorus." *Chemosphere*, 84, pp. 846-853.
- Shiklomanov, I. A. (1998). *World Water Resources: A New Appraisal and Assessment for the 21st Century*. Paris: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization.
- U. S. EPA (2018). *Inventory of U. S. Greenhouse Gas Emissions and Sinks, Washington*, DC: U. S. Environmental Protection Agency, p. 655.

## 第2章 微生物学基础

环境生物技术应用微生物学原理解决环境问题。环境微生物学的应用包括：

- (1) 工业、市政和生活废水的处理和资源回收；
- (2) 改善饮用水水质；
- (3) 修复被不良化合物污染的环境土壤、水或空气；
- (4) 保护河流、湖泊、河口及海岸的水质免受环境污染物的侵害或修复已被污染的水域；
- (5) 防止人群和其他物种暴露于病原体；
- (6) 制造环境友好的化学品、燃料和原料；
- (7) 实施可持续的资源回收、利用和处置。

尽管本书仅涉及环境生物技术所涵盖的众多课题中的一部分，但环境生物技术在环境领域某个方面的应用原则通常也适用于其他环境问题。在各种情况下，均需要将微生物学原理与工程原理联系起来。

本章回顾了微生物学基本原理。它为生物化学、新陈代谢、遗传学以及微生物生态学奠定了基础，这些内容将在随后的两章中阐述。所有这些微生物学基础知识可以帮助读者更好地理解第5章~第9章中列出的工程基础知识。如果读者希望获得更详细的微生物学基础知识，请参见文献 Madigan 等(2018)、Madsen(2016) 和 Pepper 等(2011)。

本章介绍的内容如下：

- (1) 微生物细胞的性质；
- (2) 微生物是如何分类的(分类学)；
- (3) 微生物看上去像什么(形态学)；
- (4) 微生物的组成(细胞化学物质)。

### 2.1 微生物细胞

细胞是构成生命的基础。细胞是独立于其他细胞及环境的实体。作为一个活的实体，细胞是一个复杂的化学系统，它与无生命实体的区别主要表现在4个方面：

- (1) 细胞能够生长和复制。也就是说，细胞能够产生与自身基本相同的另一个实体。
- (2) 细胞是高度有序的，而且对进出细胞的物质具有选择限制性。因此，与生存环境相比，细胞的熵值低。
- (3) 构成细胞的主要元素是 C、H、O、N、P 和 S。

(4) 细胞靠自己摄食。细胞从外界环境中汲取必要的元素、电子以及能量,来创造并维持具有序的、可复制的实体。细胞需要用于自我复制的元素基本构建块的来源。细胞需要能源以维持生命所需的化学过程。另外,细胞还需要电子来源以还原细胞中的主要元素。细胞获得元素、能量及电子的过程称为新陈代谢。新陈代谢是描述细胞特点的一种基本方式。理解新陈代谢是贯穿本书的一个主题。

细胞在生理上是有序的,从而能够完成使之成为有生命实体的过程。本章后面的部分将详细描述细胞的基本成分。活细胞的特征如下:

(1) 细胞膜:细胞与周围环境之间的高度选择性渗透屏障,也称为细胞质膜,它是一种使细胞能够限制跨越其边界的结构,同时是为细胞代谢而发生的一些催化反应的场所。

(2) 细胞壁:支撑细胞,能使细胞保持刚性和形状,保护细胞膜的结构。

(3) 细胞质:细胞内部的主要成分,由水、细胞生命活动需要的大分子构成。

(4) 染色体:由核酸(DNA)和蛋白质组成的结构,储存记录着细胞的遗传与生物化学功能信息的遗传密码。

(5) 核糖体:由核糖核酸(RNA)和蛋白质组成的结构,将遗传密码转化为能够促进细胞反应的催化剂。

(6) 酶:蛋白质催化剂,促使细胞必要的生物化学反应的发生。

细胞可能还具有其他组分,不过,以上是细胞的基本组分,正是有了这些组分,细胞才被定义为有生命的实体。

活细胞根据遗传相似性分为3个主要的域:细菌、古细菌和真核生物。这些域的单个成员被指定为细菌、古细菌或真核生物。图2.1给出了在系统发育树中的3个主要的域(domain)。树上枝杈紧密的生物是相似的。距离较远的分枝在系统发育上是不同的。这3个域起源于同一个根。据估计,约40亿年前,细菌从古细菌和真核生物分支出来,随后,在约20亿年前,古细菌和真核生物发生遗传分化。

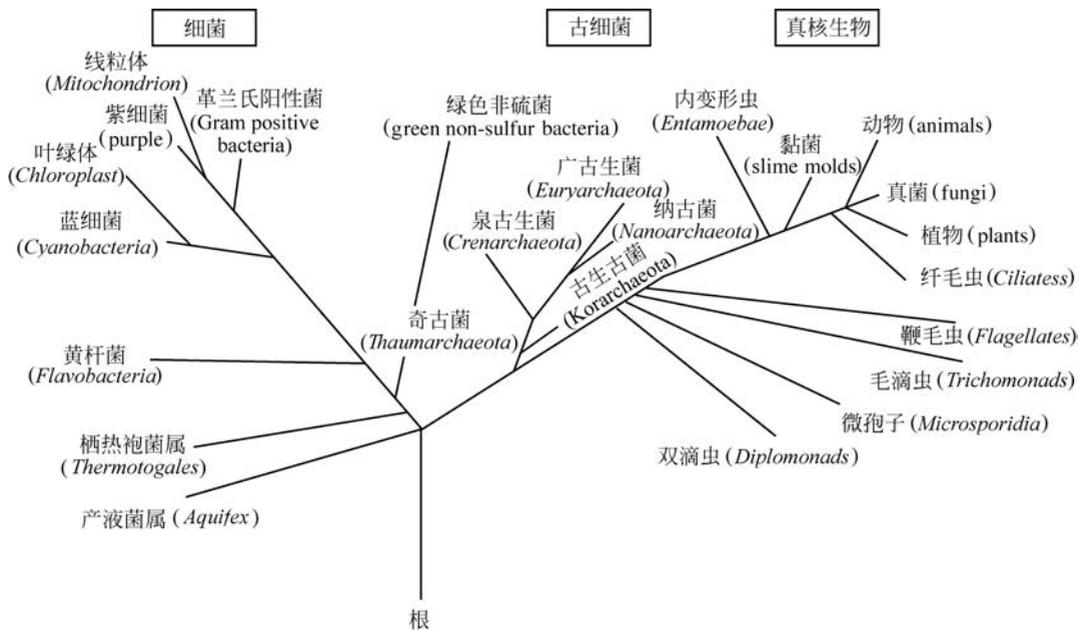


图 2.1 根据核糖体 RNA 序列的比较绘制的生命系统发育树  
[资料来源:根据 Woese 等(1990)和 Madigan 等(2018)修改]

尽管存在系统发育上的差异,但细菌和古细菌都具有缺少由膜包裹的细胞核的物理特征,因此统称为原核生物(源自希腊语,指演化出完整细胞核之前的生物)。因此,原核生物的染色体位于细胞质中。相比之下,真核生物的染色体(或希腊语中的真核)存在于与细胞质不同的、膜包裹的细胞核中。此外,真核细胞往往比原核细胞大得多,结构也更复杂。

所有3个域都包括单细胞生物,而更大的多细胞生物,包括所有高等植物和动物,均属于真核生物。单细胞微生物是一个细胞组成的完整活体,而多细胞生物的细胞不能独立生存和生长,只能作为多细胞体的一部分存在。

一些细胞在分化的过程中可能发生形态或功能的变化。例如,在人体内,眼睛、肌肉以及头发中的细胞就具有不同的功能。分化的一种情况是,细胞经常能够通过各种化学信号,按照能够改变其形式及功能的方式相互作用。重要的是,细胞还能够进化为与其亲代明显不同的生物,在通常情况下这种进化过程进行得相当缓慢,但是,通过进化形成的新生物或新能力对于生物的存活具有非常重要的意义。

虽然我们对环境生物技术的兴趣主要集中在单细胞生物上,其中许多来自细菌和古细菌域,但我们也需要了解真核生物域的生物。这里引起特别关注的微生物是藻类和原生动物,但植物也很重要。例如,植物修复是利用植物分解土壤和地下水中的有毒化合物的过程。在这里,树木(如白杨)可以将有毒化学物与水一起吸收;在某些情况下,树木甚至可以将有毒化合物转化为无害产品。

## 2.2 微生物分类

由于微生物种类繁多,功能广泛,科学家和工程师根据各种标准对其进行分类。基于可观察到的物理/化学细胞特性的分类称为表型分类,可能涉及细胞的结构(例如,形态、细胞器的存在);代谢类型[例如,光养型(食光者)、岩石营养型(食地者)、需氧型(好氧型)或产甲烷菌(甲烷生成者)];首选环境条件[例如,嗜热型(好热)、嗜盐型(好盐)];行为(例如,运动性、附着性、子实体);与染料或染色相互作用的方式(革兰氏阳性、革兰氏阴性、耐酸);以及其细胞膜中的脂质类型。表2.1总结了区分细菌、古细菌和真核生物的许多表型特征。例如,只有真核生物具有膜包裹的细胞核,而只有古细菌能够产生甲烷气体(产甲烷作用)。

表 2.1 细菌、古细菌与真核生物表型之间的区别

特 性	细 菌	古细菌	真核生物
由膜包裹的细胞核	无	无	有
细胞壁	存在胞壁酸	无胞壁酸	无胞壁酸
叶绿素光合作用	有	无	有
产甲烷作用	无	有	无
将 S 还原为 H <sub>2</sub> S	有	有	无
硝化作用	有	无	无
反硝化作用	有	有	无
固氮作用	有	有	无
合成聚 β-羟基链烷酸碳储存颗粒	有	有	无
对氯霉素、链霉素、卡那霉素的敏感性	有	无	无
核糖体对白喉毒素的敏感性	无	有	有

资料来源:根据 Madigan 等(2018)修改。

细胞的第二种分类称为系统发育分类,它根据生物体 DNA(脱氧核糖核酸)中编码的遗传特征(基因型)对生物体进行分类。尽管系统发育分类可以涉及细胞的整个染色体(其所有 DNA)的比较,但大多数系统发育集中在核糖体 RNA 基因的一个组成部分(细菌和古细菌的 16S 和真核生物的 18S)。使用较小的组件有两个主要原因:首先,每个已知生物的 DNA 都包含一个编码核糖体 RNA 的基因;其次, RNA 基因具有保守(始终相同)和可变区域,使其成为根据需要对细胞进行分组和分化的良好靶点(Olsen and Woese, 1993)。使用 RNA 基因的另一好处是,我们目前仅对几千种微生物的整个基因组(包含数百万个碱基对)进行了测序,而我们对数百万种微生物的核糖体 DNA 序列(包含数千个碱基对)进行了测序。

关于系统发育测序的一个有趣的历史事实是,微生物学家卡尔·R. 乌斯(Carl R. Woese)使用了他在 20 世纪 70 年代末首创的这种当时新兴的方法来证明,曾经统称为细菌的一大群单细胞微生物实际上是由两个截然不同的域组成,即细菌和古细菌。这在当时是一个革命性的概念,现在已经被广泛接受。

表型分类通过生物表观和功能特性将各种生物联系起来,而系统发育通过生物的进化史将各种生物联系起来。两种方法均是非常有用的分类方法,会产生不同的互补信息。环境生物技术取决于这两种分类。

无论选择何种分类方法,用于命名、描述和分类微生物的基本分类学(分类科学)都使用通用命名约定。分类层次结构包含从域到物种的 7 个正式层次,总结见表 2.2。基本的分类学单位是种(Species),它是具有足够相似特征的菌株的集合,以保证将它们组合在一起。这样一个松散的定义通常难以确定菌株(自身之间存在可测量差异的给定物种的成员)和物种之间的差异。具有主要相似性的物种群被放置在称为属(Genera)[或单数属(Genus)]的集合中,具有足够相似性的属群被集中到科(Family)中,依此类推,直到域。

表 2.2 应用于 3 个域的分类层次

分类单元	举例 1	举例 2	举例 3
域(Domain)	细菌	古细菌	真核生物
门(Phylum)	变形菌	广古菌	子囊菌
纲(Class)	$\gamma$ -变形菌	甲烷菌	酵母菌
目(Order)	肠杆菌目	甲烷杆菌目	酵母菌目
科(Family)	肠杆菌科	甲烷杆菌科	酵母菌科
属(Genus)	埃希氏菌	甲烷杆菌属	酵母菌属
种(Species)	大肠杆菌	甲烷杆菌	酿酒酵母

微生物学的惯例是采用二项式命名系统,将属和种名称应用于具有足够相似特征的微生物集合,以保证将它们分为一组。属名可以缩写(种名不能),并且两者都是斜体(例如, *Escherichia coli* 或 *E. coli*, *Methylosinus trichosporium* 或 *M. trichosporium*)。(如果不能使用斜体,则在属和种名下方加下划线。)属于密切相关的同一种但具有足够差异的微生物,为保证不同的命名,则给出菌株名称,这些名称不能缩写或使用斜体(例如, *M. trichosporium* Ob3B)。

自 2015 年以来, Wiley 在线图书馆出版了微生物分类学的正式汇编——《伯杰古细菌和细菌手册》(*Bergey's Manual of Archaea and Bacteria*)。其中详细介绍了主要微生物类群之间的个体差异。

## 2.3 原核生物

原核生物、细菌和古细菌通常共同参与将复杂有机物降解或矿化的过程,如死亡植物和动物腐烂形成甲烷的过程,或氨氧化成亚硝酸盐和硝酸盐的过程中。在这个例子中,细菌发酵并将复杂有机物转化为乙酸和氢,而古细菌将乙酸和氢转化为甲烷。生物之间必须密切合作,就像一条流水线,最终使有机物降解。在铵氧化为亚硝酸盐的过程中,古细菌无法在高氨浓度的氧化中与细菌竞争,如在废水处理中;但当铵浓度非常低时,古细菌可以与细菌竞争,如在海水中。就我们今天所知,只有细菌具有将亚硝酸盐氧化成硝酸盐的能力。

光合作用微生物在自然及工程系统中均非常重要,随着遗传系统发育学的发展,在光合作用微生物中存在的差别越来越清晰。以前,藻类(algae)是一个用于描述具有与植物类似行为的单细胞生物的名词,也就是说,它们含有叶绿素,靠从阳光中获得能量生长。然而,以前被称为蓝绿藻的一类具有光合作用的原生动植物没有细胞核,这是细菌的特性,而不是植物的特性。因此,现在它们被划分到细菌的范畴,称为蓝细菌。在天然水体中,通常能够同时观察到蓝细菌和藻类,两者是相同能源与碳源的竞争者。蓝细菌是一种令人讨厌的光养型生物,会造成许多水质问题,包括引起饮用水的味道和气味变化,以及产生毒素等,如果牛及其他反刍动物饮用了被这种毒素严重污染的水,就可能致死。尽管在藻类和蓝细菌之间存在着重要差异,但是在不考虑这些差异时,将两者划分在一起还是有重要的现实意义的。这里需要指出的是,并不是自然界在对事物进行分类,而是人类。尽管存在许多很难进行生物分类的模糊区域(有时是因为分类没有很大意义),但是,从人类的知识结构以及科学家、技术人员和其他人之间交流的角度,进行分类还是十分必要的。

生物的范畴非常广泛,其中有很多特性是多种生物共有的。而且,在种与种之间会发生许多遗传信息的交换,不仅发生在同一域内,也发生在生活于不同域的生物之间。这样造成的界限模糊给那些寻求系统性规则的人带来很大困难。使情况更复杂的是,环境生物技术对功能的兴趣大于对分类的兴趣。就像蓝细菌和藻类具有相似的光合作用功能一样,某种特定有机化学品的生物降解,可能需要属于不同属的许多生物共同完成。因此,在某些情况下,例如,当关心传染病的传播时,对一个特定种的识别是很重要的,而在其他情况下,我们完全不关心这个问题。事实上,在一个能够有效、可靠地降解工业有机废物的废水生物处理系统中,优势菌种可能每天都在变化。这些处理系统不是纯培养系统,也不可能保持纯培养状态。这些系统是开放的、复合的、混合培养的系统,符合微生物生态学原理。那些能够找到适合它们的微环境,并在与其竞争者竞争的过程中占据优势的种,得以生存并繁盛起来,直到出现一些新化学品或环境干扰,使得系统中的平衡被破坏。这种竞争及随着条件变化出现的优势改变,是可以使环境系统保持活力并发挥良好效能的一个特性。

### 2.3.1 细菌和古细菌的细胞结构和功能

细菌与古细菌一起,被公认是最小的生命实体。它们的直径为 $0.2\sim 700\mu\text{m}$ 。它们的行为是所有其他物种生存的基础,因为它们在基本营养循环和降解有机质中起着关键作用。

原核生物在生物圈中无处不在,遍布从海洋深处到最高山脉的每一个地理位置,并通过气流、水流分散到全世界。物种多样性是巨大的,估计有 20 亿到 30 亿种微生物物种,其中只有不到 0.5% 已被确定。由于许多功能分布在大的系统发育距离上,即使在不同地点存在的物种不相同,在环境选择的驱动下,各处微生物的功能也是类似的,如对死亡动植物的矿化作用。

细菌和古细菌对自然环境十分重要,因为它们能够将各种无机、有机污染物转化为无害的矿物质,从而使矿物质通过循环回到环境中。它们能够氧化许多工业合成的有机化学物质,并通过正常生物过程自然生成有机化学物质。在废水处理系统中使用细菌就是为了达到这一目的。有些细菌能将有机废物转化成甲烷——一种有用的能源。另一些细菌能将无机物,如铵或硝酸盐(在某种环境中可能是有害的),转化为无害形式,如氮气——空气的主要组分。

然而,细菌的功能并非对人类都有益。有些细菌是病原体,过去导致许多瘟疫的发生,即使是现在,一些细菌的存在仍是世界上主要疾病和痛苦的源泉。因此,人类需要保护自身免受水、食物及空气中病原体的危害,同时利用原核生物的重要能力来清除水体及土壤中的污染物,并回收养分以实现可持续生产。

### 形态学

细菌形态学包括细菌的形状、大小、结构以及彼此之间的空间关系。细菌具有图 2.2 所示的 3 种常见形状。球形的细菌称为球菌,圆柱体形的细菌称为杆菌,螺旋形的细菌称为螺旋菌。图 2.3 是典型细菌的扫描电镜照片。(图 2.3、图 2.6、图 2.7、图 2.8 中的扫描电镜照片来自微生物园,经密歇根州立大学微生物生态学中心授权使用。微生物园里照片由 Steven Rozeveld、Joanne Whallon 和 Cathy McGowan 创建,版权归密歇根州立大学董事会所有。)

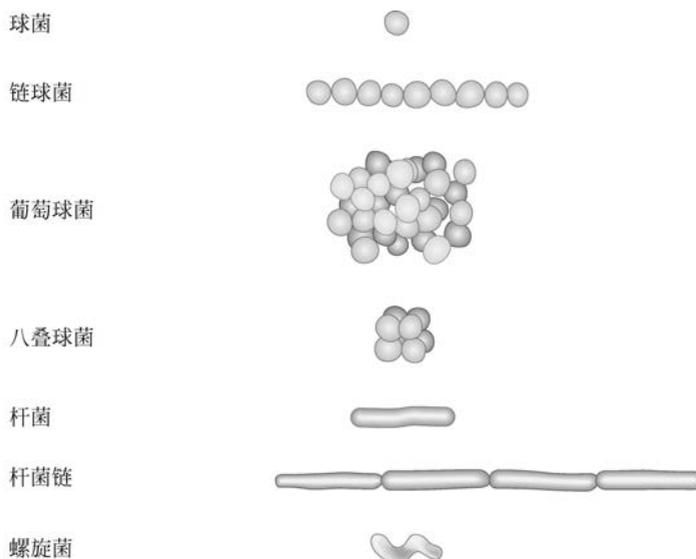


图 2.2 原核生物的典型形态

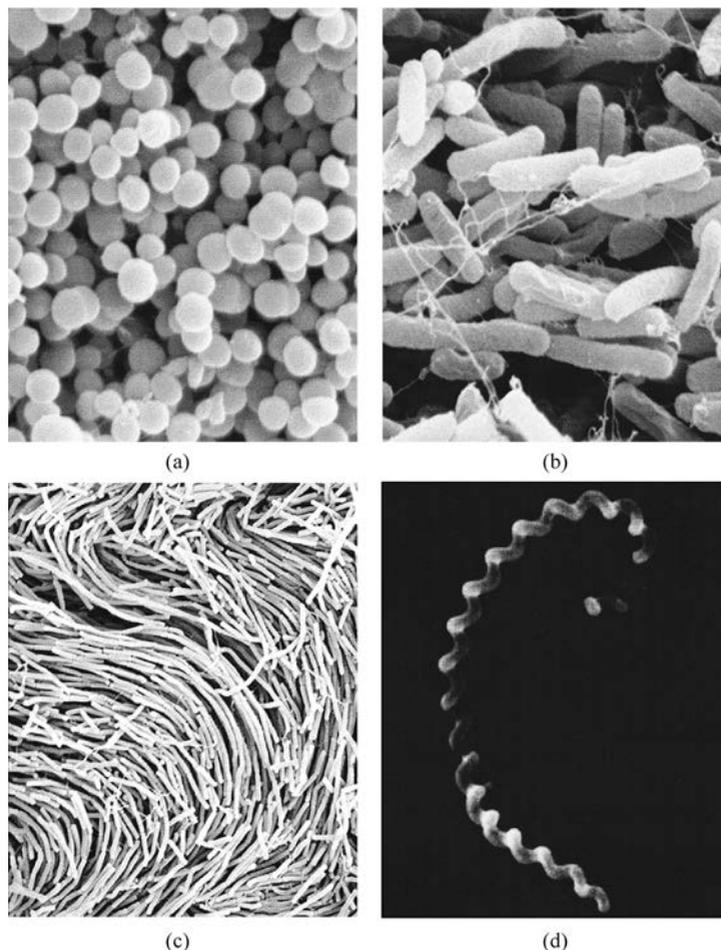


图 2.3 典型细菌的扫描电镜照片

(a) 表皮葡萄球菌；(b) 大肠杆菌；(c) 杆菌链；(d) 问号状钩端螺旋体

[资料来源：由密歇根州立大学微生物园及《Bergey 手册》授权使用。图(a)、(b)、(c)由 Shirley Owens 制作，图(d)取自《Bergey 微生物系统学手册》(Bergey and Holt, 2000)]

在通常情况下，原核生物宽  $0.5 \sim 2 \mu\text{m}$ ，长  $1 \sim 5 \mu\text{m}$ ；球菌的直径通常为  $0.5 \sim 5 \mu\text{m}$ ； $10^{12}$  个细菌的干重是 1g。由于个体小，细菌表面积大约为  $12\text{m}^2/\text{g}$ 。因此，原核生物与外界环境的接触表面十分巨大，使得食物可以快速扩散进入细胞内部，并实现原核生物的快速生长。

图 2.4 所示是原核生物及真核生物细胞的主要组分。尽管并非所有原核生物均具有相同的结构组成，但它们均具有以下共同结构：外层即细胞壁、细胞质膜（也称质膜，在细胞壁内侧）；负责蛋白质生产的核糖体颗粒；盘绕在类核区的 DNA；内部被称为细胞质的胶状液体。

原核生物的细胞壁是一层有一定渗透性的刚性层，负责保持细胞完整，并决定细胞形态。细菌的细胞壁由多层堆积的肽聚糖组成。肽聚糖由两种糖衍生物（N-乙酰基葡萄糖胺和 N-乙酰基胞壁酸）以及一些氨基酸（如丙氨酸、谷氨酸、赖氨酸或二氨基庚二酸等）组成。

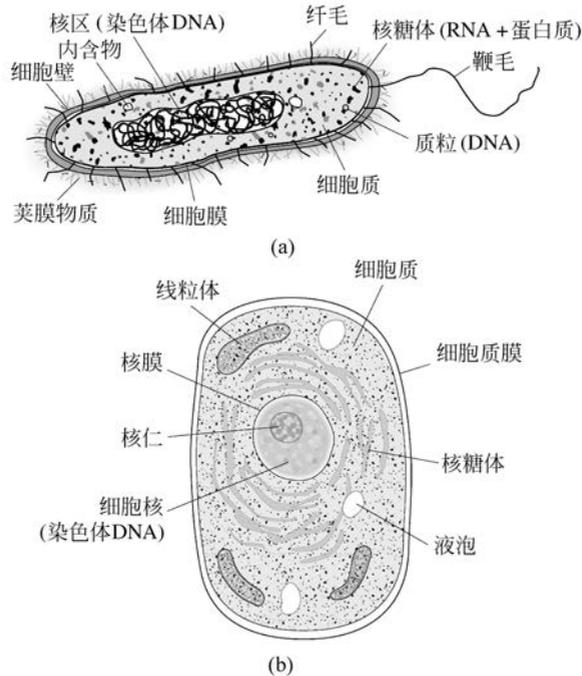


图 2.4 典型原核生物与真核生物细胞的结构

(a) 原核生物细胞；(b) 真核生物细胞

相比之下,古细菌的细胞壁由多种材料组成,包括:由两种与氨基酸交联的糖衍生物(*N*-乙酰氨基葡萄糖和 *N*-乙酰塔罗糖胺糖醛酸)组成的假菌素(也称假肽聚糖);厚的重复多糖单元;由结晶蛋白质壳组成的 S 层。古细菌的细胞壁使它们对某些抗菌药物具有天然抗性,例如溶菌酶(眼泪中的抗生素)和青霉素。一些不寻常的细菌和古细菌没有细胞壁,因为它们要么生活在渗透保护中栖息地(如动物细胞中),要么具有异常坚固的细胞膜结构。

细胞膜,或称细胞质膜,是紧贴细胞壁的磷脂双分子层,它在细胞生命活动中发挥重要作用。细胞膜选择性渗透,是大分子通道的主要屏障,控制着营养物进、出细胞。细胞膜上存在几种重要的酶,包括细胞色素——参与电子传递和能量守恒过程的酶。大多数细菌的细胞膜非常简单。利用无机物合成细胞物质的自养型细菌,其细胞膜比较复杂;而利用太阳光的光养型细菌,其细胞膜还要复杂一些。在这两种生物体内,细胞膜在某点上向细胞内部突起,增加了膜表面的面积,为了能够满足功能复杂性和强度的增强。

某些细胞中含有浓缩沉积的物质,称为细胞质内含物。在通常情况下,内含物的作用是储备食物或营养。磷以聚合物的形式储存于异染质颗粒中,多聚糖颗粒储存碳水化合物,其他颗粒含有聚- $\beta$ -羟基丁酸(polymerized  $\beta$ -hydroxybutyric acid, PHB)或脂肪物质。在某些硫代谢细菌中,大量硫以颗粒的形式在体内积累。

细胞质是细胞膜内包含的流体物质,其作用是完成细胞生长及行使许多细胞功能。细胞质由水、溶解性营养物、酶(使细胞能够完成特殊化学反应的蛋白质)、其他蛋白质以及核酸(RNA 和 DNA)组成。细胞质内还含有浓密堆积的核糖体,核糖体是进行蛋白质合成的 RNA-蛋白质颗粒。

DNA 分子的存在对所有细胞均十分重要,DNA 是双链螺旋形分子,含有细胞复制所需的所有遗传信息。DNA 还以编码形式包含完成细胞正常功能所需的全部信息。这种信息储存于核苷序列中,每个核苷由脱氧核糖与一个含氮碱基连接组成,含氮碱基共有 4 种——腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶。细胞的遗传信息通过 DNA 分子进行储存、复制及转录,DNA 分子也称为原核生物染色体。某些细菌还含有一个或几个小得多的环形 DNA 分子,称为质粒。质粒能够向生物体传递其他遗传特性。

在蛋白质合成过程中,DNA 上包含的信息被 RNA 读取,并传递给核糖体。RNA 是单链的,但其他方面与 DNA 相似。两者的主要区别在于,RNA 中每个核苷的糖组分是核糖,而不是脱氧核糖;另外,在 RNA 中由尿嘧啶替代了 DNA 中的胸腺嘧啶。RNA 有 3 种基本形式:信使 RNA (mRNA),负责携带来自 DNA 分子的蛋白质合成信息;转录 RNA (tRNA),负责将氨基酸运送到 mRNA 上的适当位置,以进行特定蛋白质的合成;核糖体 RNA (rRNA)是核糖体(合成蛋白质的场所)的结构与催化成分。DNA 是细菌结构与功能的设计图,不同形式的 RNA 就如同从事不同工种的工人,分别负责读取这些工作进行细菌细胞的构建。

有些细菌,如杆菌属和梭菌属的一些细菌,能够形成内生孢子(即在细胞内部形成孢子)。孢子的形成通常发生在环境条件不利于细菌生长的情况下,如所需营养物耗竭,或温度、pH 不适宜。在形成孢子的状态下,微生物处于休眠状态。孢子壁有很多层,里面是细胞质膜、细胞质和拟核物质。因此,除了细胞壁以外,孢子类似于植物细胞。孢子也含有大约 10%干重的 Ca-二甲吡啶酸复合物,而其水分含量只有植物细胞的 10%~30%。孢子的这些特性增强了细胞对热和化学刺激的抵抗能力。内生孢子的休眠状态能够保持数年甚至数世纪。当内生孢子发现环境适宜生长后,将恢复到活性状态。细菌一旦形成内生孢子后,通过一般的杀菌方法很难将其破坏。

细菌还具有某些外部特征,这有助于对其进行识别。有些细菌有荚膜或黏液层,由细胞分泌物形成,由于分泌物有黏性,不容易从细胞表面向外扩散。这种分泌物能够增加周围液体的黏度,还有助于将细菌结合起来形成聚集体或细菌絮体。这种黏液层对细菌向表面附着也十分重要,如在生物膜的形成过程中。生物膜的形成在环境生物技术中非常重要。大多数荚膜或黏液层由几种类型的多聚糖(多糖-蛋白质复合物)以及氨基酸聚合物组成。有些黏液层易于用肉眼观察,有些则不能。去除这些外层物质对细菌细胞执行正常功能没有负面影响。

有些细菌具有的一种外部特征是鞭毛。这些类似头发的结构附着在细胞质膜上,并穿过细胞壁进入环境介质。鞭毛的长度可达细胞长度的几倍。对于不同菌种,鞭毛的数量和位置有所不同。有些细菌可能具有一根鞭毛,有些细菌可能在细胞一端有多根鞭毛,有些细菌可能在细胞两端均有多根鞭毛,还有一些细菌的鞭毛可能遍布全身。多数杆菌均有鞭毛,而球菌几乎没有。鞭毛负责细菌的运动。当鞭毛高速旋转时,可以推动或拉动细菌在 1s 内移动几倍于细菌自身长度的距离。有些细菌,在没有鞭毛的情况下,能够在表面上靠“滑行”移动,不过,这种运动相对而言非常缓慢。细胞可以被迫靠近或远离化学或物理环境,这种行为称为趋向性反应。由化学试剂引发的移动称为趋化性,由光引发的移动称为趋光性。

菌毛(pili)与性菌毛(fimbriae)具有与鞭毛相似的结构特征。菌毛比鞭毛数量多,但相当短,而且与运动无关。菌毛有助于微生物在表面的附着。性菌毛比鞭毛数量少,但通常更长。性菌毛对细胞彼此之间及在表面上的附着也十分有利。以大肠杆菌(*E. coli*)为例,性菌毛的作用是使大肠杆菌能丛生在一起,并附着在肠内层。性菌毛似乎还参与细菌接合过程。细菌接合是遗传信息从一个细胞传递到另一个细胞的重要过程。通过接合作用,细胞对杀虫剂和抗生素的抵抗能力及细胞降解某种有毒化学物的能力得以在微生物之间传递。菌毛似乎也参与细胞外电子传递,这使微生物细胞能够在它们之间或固体表面(如电极)之间穿梭电子。

原核生物的另一个特征是它们聚集成群的方式,这与细胞的复制方式有关。正如后面将详细阐述的那样,细菌增殖方式是二分裂,或简称分裂,即一个生物体被分开成为两个。分裂后的两个细胞,可能在一段时间内仍粘在一起,直到每个细胞再次分裂为止。由于不同菌种在分裂后附着在一起的方式各不相同,也由于它们分裂的方式不同,出现了细菌的特征成群方式。因此,细菌可以单个存在或成对存在(双球菌)。细菌可以形成短链或长链(链球菌或链杆菌),可以形成不规则的簇状结构(葡萄球菌),也可以形成4个一组(四球菌)或8个细胞的立体结构(八叠球菌)。这些特殊的成群方式可以通过光学显微镜观察到,能够帮助识别细菌。

### 化学组成

细菌为了生长并维持生命活动,必须获得可利用的基本营养物,如碳、氮、磷、硫,以及用于蛋白质、核酸及细胞其他结构组分合成的元素。无论细菌生活在自然界,还是处于废水生物处理或有害污染物的净化过程中,均必须满足它们对营养物质的要求。例如,如果待处理废水中不存在以可利用形式出现的上述元素,那么在废水处理系统的正常运行中必须适当添加。细胞生长所需不同营养成分的数量,可以通过综合分析细胞生长率及细胞中每种元素的含量进行计算。

表2.3中总结了细菌的一般化学特性。细菌细胞内含有75%的水,这对于采用焚烧法处置废水处理系统产生的剩余生物污泥是个有用信息。采用常规脱水过程很难去除细胞内部水分。结果之一是脱水后的生物固体或污泥仍然含有至少75%的水分;结果之二是多数脱水污泥,由于含有过多水分,很难在不添加燃料的情况下完成焚烧处理。

干的生物固体(经105℃热干燥处理,细胞水分完全蒸发后的剩余物质)中含有90%左右的有机物,其中大约一半是碳元素,1/4是氧元素,其他由氢元素和氮元素构成。氮是组成蛋白质和核酸的重要元素,而蛋白质和核酸占据了细胞内全部有机物的3/4。空气中约80%是氮气,不过,由于氮元素以零价形式存在,除了少数具有固定大气中氮气能力的原核生物,大多数无法利用空气中的氮。氮的固定是一个非常缓慢的过程,而且数量通常不足以满足工程生物处理系统对氮的需求。在氮元素充足的环境中,正常情况下,细菌细胞中含有大约12%的氮。当氮源不足时,细菌细胞内氮的含量可能降低到正常情况下的一半,这降低了蛋白质含量,也将导致生长率的降低。在这种情况下,细胞内的碳水化合物及磷脂部分呈增加趋势。

细菌生长必需的另一元素是磷,磷是核酸及某种关键酶中的基本元素。可以正磷酸

盐的形式添加磷,来满足细胞的需要;以质量计算,磷的需要量是氮需要量的1/7~1/5。如表2.3所示,还需要大量的硫和铁;这两者在一些酶中特别重要。

有一些元素并非所有细菌都需要,不过可能是某些细菌细胞体内一些重要酶的关键组分,例如,元素Mo对于固氮过程、元素Ni对于厌氧条件下甲烷的合成过程、Co对于还原脱氯过程都十分重要。许多微生物需要一些特殊的有机生长因子,如维生素,细菌自己不能合成这些物质。通常情况下,这些物质可以由混合培养物中的其他生物合成,因此,无须额外添加,除非在纯培养的情况下。

在对生物反应器进行质量平衡计算时,细菌细胞的经验分子式十分有用。经验分子式的建立以细胞中5种主要元素的相对质量为基础,将在第5章中加以总结,在设计计算时,常用的形式是 $C_5H_7O_2N$ 。这个经验分子式的相对分子质量是113,其中氮、碳的质量分数分别是12.4%和53%。

表 2.3 原核生物细胞的化学组成与大分子组分

化学组成		大分子组分		大肠杆菌( <i>E. coli</i> )与鼠伤寒沙门氏菌( <i>S. typhimurium</i> ) <sup>①</sup>	
组成	含量/%	组成	含量 <sup>②</sup> /%	含量/%	每个细胞内的分子数
水	75	总量	100	100	24 610 000
干物质	25	蛋白质	50~60	55	2 350 000
有机物	90	碳水化合物	10~15	7	
C	45~55	磷脂	6~8	9.1	22 000 000
O	22~28	核酸			
H	5~7	DNA	3	3.1	2.1
N	8~13	RNA	15~20	20.5	255 500
无机物	10				
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	50				
K <sub>2</sub> O	6.5				
Na <sub>2</sub> O	10				
MgO	8.5				
CaO	10				
SO <sub>3</sub>	15				

① 数据来源: Madigan等(1997)及 Neidhardt等(1996)。处于活性生长态的大肠杆菌细胞干重大约为 $2.8 \times 10^{-13}$ g。

② 干重。

### 繁殖与生长

了解细菌的生长和繁殖速率对于生物处理工程系统的设计是必要的,对于了解自然界中的细菌也是必要的。正常情况下,微生物通过二分裂进行繁殖,即在形成横断的细胞壁或隔膜后由一个细胞分成两个细胞。这种无性繁殖在细胞生长到一定尺寸后会自发发生。完成繁殖后,亲代细胞不再存在,在正常情况下,两个子代细胞彼此之间完全相同,均含有与亲代细胞相同的遗传信息。由一个细胞形成两个子代细胞需要的时间间隔,称为世代期,世代期因生物种类及环境条件的不同而改变。世代期可能短至 30min,如大肠杆菌;但是对于生长速度受到可获得能量较少或环境条件限制的其他生物来说,可能需要很多天。在大肠杆菌无限制生长的情况下,一个细胞在 30min 后变成两个细胞,1h 后变成 4 个细胞,1.5h 后变成 8 个细胞,2h 后变成 16 个细胞。在 24h,即 48 次分裂后,如果细胞生长未受到限制,细胞总数将达到  $10^{14}$  个以上,干重将达到约 50kg。理论上,在 1d 内,细胞质量将从  $10^{-10}$ g 增加到一个儿童的体重。环境和营养条件通常会限制细胞这样大量增殖,但是微生物细胞是具备这种快速生长潜力的。

细菌还有其他繁殖方法,但是不太常见。链霉菌属的某些种,能够在每个生物体内形成许多孢子,每个孢子均可以形成一个新的生物体。诺卡菌能产生长丝,断裂后形成几段细丝,每段均能够形成一个新细胞。有些细菌能够进行出芽繁殖,从母体上长出的芽能够分离并形成新细胞。

### 能源和碳源分类

微生物的一个重要特性是能够利用各种能源进行生长。微生物如何获得能量是通过它的营养物来识别的,营养物来自希腊语中的食物或营养一词。利用光能的生物称为光能营养型;利用化学反应能的生物称为化能营养型。化能营养型中利用有机化学物质为能源的称为化能有机营养型;利用无机化学物质为能源的称为化能无机营养型。

光能营养型细菌,通常以二氧化碳为细胞合成的碳源,可以根据电子供体的不同分为两类。这里,电子供体指能够向二氧化碳提供电子,将二氧化碳还原以形成细胞有机成分的化学物质。那些能够通过光化学反应将水转化为氧和氢(电子源)的菌种称为产氧光养型生物。无氧光养型生物通常只能在无氧环境中生存,它们从还原态硫化物(如  $\text{H}_2\text{S}$ )、分子态硫、氢气或有机化合物(如琥珀酸盐或丁酸盐)中获得电子。当被利用的是  $\text{H}_2\text{S}$  时,转化产物是氢气和硫,转化过程与水的光化学转化过程有点类似,氢分子可以作为合成过程的电子源,而硫则是氧化产物。与产氧光合作用不同,不产氧光合作用利用不同的叶绿素来捕获光能,获取电子。

描述微生物的其他常用术语,与细胞合成过程中利用的碳源有关。自养型生物在细胞合成过程中利用无机碳源,如二氧化碳;而异养型生物利用有机化合物进行细胞合成。化能无机营养型细菌常常也是自养型,而化能有机营养型通常也是异养型。因此,与能量来源有关的不同术语和与化能营养型的碳源有关的不同术语,常常可以交叉使用。

### 细菌生长的环境条件

除了需要营养物来满足能量及细胞合成需要外,微生物的生长还需要适当的物理和化学环境。其中的重要因素包括温度、pH、氧分压和渗透压。所有化学反应的速率均受温度的影响;由于细菌的生长过程中包含一系列化学反应,因此,细菌生长速率受温度的影响也很大。对每个菌种,生长速率在一定范围内随着温度的升高而升高,通常,温度每提高

10℃,生长速率增加1倍。对于某个菌种,当温度超过正常范围,关键酶会被破坏,生物可能无法存活。

根据细菌生长的正常温度范围,可以将细菌分为4种不同类型(表2.4)。

表 2.4 细菌类型及其生长温度

类型	生长的温度范围/℃	类型	生长的温度范围/℃
嗜冷菌	-5~20	嗜冷菌	40~70
嗜温菌	8~45	极度嗜热菌	65~110

图2.5所示是温度对这些不同类型细菌生长速率的影响。通常情况下,与只能耐受较低温度的生物相比,能够耐受较高温度的生物具有更高的最大生长速率,而且,在每个温度范围内,最高生长速率只出现在一个小温度区间。一旦超过这个温度范围,由于关键蛋白质变性,生长速率迅速降低。生活在不同温度范围内的微生物,具有不同的结构特性,以适应在冷、热环境条件下生存。嗜冷菌通常生存在温度极低的北极地区;而极度嗜热菌可以在温度接近沸点的热泉水中生存。

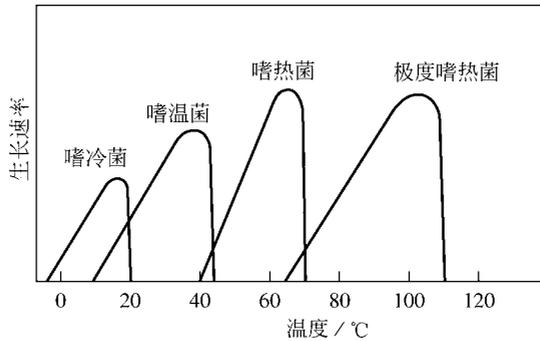


图 2.5 温度对不同类型细菌生长速率的影响

了解微生物生活的温度区域,对于废水处理系统的设计及运行十分有用。较高的处理效率与较高的生长速率有关,因此,在较高温度下处理,可以采用较小的反应器。然而,在较高温度下运行需要消耗能量,这又与小型反应器节约成本的特点相背离。如果处理系统的温度每天都发生很大变化,运行效果会变差,原因在于这种系统无法为任何特定温度范围内的微生物提供最优生存条件。因此,通过产甲烷发酵进行的废水处理过程通常选择嗜温菌的最适宜温度——接近35℃,或选择嗜热菌的最适宜温度——55~60℃,而不是在45℃,因为该温度对两种群落均不是最适宜的。

大多数微生物的生长还需要一个小的pH值范围,对多数细菌,这个范围为6~8。对某些菌种,工作范围相当宽,而对其他菌种,范围相当小。另外,某些微生物,尤其是从氧化硫或铁获得能量的化能无机营养型细菌,最适宜在强酸性环境中生存。这种特性增加了它们的生存机会,因为它们进行能量代谢的最终产物通常是强酸,如硫酸。一个处理系统的设计与运行,必须考虑微生物生长所需的最佳pH条件。

区分细菌菌种的另一个重要环境特性是微生物生长是否需要分子态氧。好氧菌需要氧气才能生长,并以之为产能反应的电子受体。厌氧菌在无氧环境中生存,它们的产能反应不

需要氧气。在有氧或无氧环境中均能生存的细菌是兼性菌。有时还会对这3种菌群进行更细致的分类。专性厌氧菌在有氧气存在的环境中会死亡,而耐氧厌氧菌能够忍受氧气并在有氧环境中生长,但不能利用氧气。喜好氧气,但没有氧气也能生存的菌称为兼性好氧菌,而在微量分子态氧环境中生存的菌种称为嗜微氧菌。这种定义有现实意义,例如,依赖产甲烷发酵过程的处理系统需要专性厌氧菌,因此,必须将氧气从系统中去掉。另外,依赖好氧菌的系统就必须以充足速率供氧。

细菌的另一种分类是根据其对盐的耐受能力区分。那些在类似海水(含3.5%NaCl)的含盐环境中生长最好的菌株称为嗜卤菌,而那些在饱和NaCl溶液(质量分数为15%~30%)中生长良好的菌株称为极度嗜卤菌。犹他州的大盐湖及环旧金山湾的盐塘是极度嗜卤菌的天然家园,在这两个地区通过海水蒸发获得商业用盐。

细菌的这些不同分类意味着细菌生存条件的多样性。在这些环境条件下,细菌不但能够生存,还能够繁盛起来。细菌随着时间而进化,产生了一些能够在对人类而言非常极端的环境中使用可利用能量的菌种。当然,适应某种条件的菌株,不一定适应对其他菌株有利的环境条件。因此,在任何特定区域中发现的优势生物,通常是那些最适合在该特定物理和化学环境中生存的生物。如果环境改变,那么优势菌种可能会随之改变。

### 2.3.2 细菌发育谱系

如图2.1所示,可以根据rRNA序列将细菌域归入不同的谱系。谱系还在某种程度上与细菌的表型特征(如能量来源及微生物对不同环境条件的耐受性)有关。表2.5总结了不同谱系的典型特性。有些特性是一个谱系独有的,而其他特性可能出现在同一域的少数谱系中。3个最古老谱系(产液菌属/氢杆菌、栖热袍菌属以及绿色非硫菌)中的细菌均是嗜热菌,这可能反映了在这些细菌的进化时期,地球比现在温暖得多。产液菌属/氢杆菌种群是最古老的种群,由极度嗜热的化能无机营养型细菌组成,它们能够通过氧化 $H_2$ 和硫化物获得能量,这可能反映了该种群进化时的环境特点。栖热袍菌属不仅是极度嗜热的,而且是厌氧化能有机营养型的,它们可能代表了地球进化的另一个阶段存在更多有机物但大气中仍然缺少氧气。绿色非硫菌仅仅是嗜温菌,但其中包含厌氧光养生物种群——绿屈挠菌属(*Chloroflexus*)。

表 2.5 细菌的 12 个种类谱系的特性

分 类	特 性
氢杆菌	极度嗜热的,化能无机营养型
栖热袍菌属	极度嗜热的,化能有机营养型,有发酵能力
绿色非硫菌	嗜热的,光养型及非光养型
异常球菌属	有些是嗜热菌,有些能抗辐射,有些是单螺旋体
螺旋体属	单螺旋形态
绿色硫细菌	严格厌氧,专性厌氧光养型
黄杆菌属	各种类型的混合物,从严格需氧菌到严格厌氧菌,某些是滑行细菌
浮霉状菌属	有些靠出芽繁殖,细胞壁中缺乏肽聚糖,需氧的,水生的,需要稀介质
衣原体	专性细胞内寄生虫,许多导致人类及其他动物的疾病

续表

分 类	特 性
革兰氏阳性菌 蓝细菌	革兰氏阳性,有许多不同类型,细胞壁内有独特成分 需氧光养型
紫细菌	革兰氏阴性;有许多不同类型,包括厌氧光养生物及厌氧非光养生物;需氧的、厌氧的及兼性的;化能有机营养型及化能无机营养型

其他9个在晚些时候进化出来的谱系中没有专性嗜热菌,而且倾向于向许多方向散开发展。光养型生物出现在其中的3个谱系中。在紫细菌和绿色硫细菌中有厌氧光养型生物,而在蓝细菌中有需氧光养型生物。这些光养型种群的主要区别在于它们所具有的特殊叶绿素类型及用于捕获光能的光合体系不同。

异常球菌属以极强的耐辐射能力为特征。这些革兰氏阳性球菌能够抵抗高达300万rad的电离辐射,这一辐射强度能够破坏大多数生物的染色体。500rad左右的辐射就能致人死亡。在原子反应堆附近发现生活着异常球菌属的若干菌株。螺旋体属可以通过其独特形态对其进行识别:细胞形状是螺旋形的,而且通常相当长。螺旋体属在水生环境中广泛分布,包括从严格需氧菌到严格厌氧菌等多种类型。

拟杆菌属是从严格需氧菌到严格厌氧菌的多种生理类型的混合物,包括在表面靠滑行移动的细菌。浮霉状菌属及其亲缘微生物包括以出芽方式繁殖和细胞壁中不含肽聚糖的生物。

衣原体是由于缺乏代谢功能而依赖自身无法生存的退化生物。它们是专门寄生在人类及动物体内的寄生虫,而且是许多呼吸疾病、性病及其他疾病的致病体。

对环境生物技术而言,研究最多而且最重要的细菌可能是革兰氏阳性菌、变形菌和蓝细菌这3个重要种群。革兰氏阳性菌包括在革兰氏染色中呈紫色的球菌及杆菌(如异常球菌属那样)。革兰氏阳性菌与其他细菌的区别在于细胞壁主要由肽聚糖组成,这种成分使革兰氏染色反应呈阳性。革兰氏阳性菌的细胞膜不像革兰氏阴性菌的细胞膜那样具有外层膜。

变形菌(也称为紫细菌)包括非常多样的微生物种群,有光养型生物(厌氧)和化能营养型生物(含化能无机营养型和化能有机营养型)。如表2.6所示,变形菌在遗传上分为不同的5个类群。表2.6还介绍了每一类群中的一些常见属。在其中的3个类群中存在光养型生物。假单胞菌门——在有机物降解中具有重要作用的一大类微生物——也分布在其中的3个类群中。 $\gamma$ -变形菌门包括肠细菌。肠细菌是一大类革兰氏阴性杆菌,兼性需氧,大肠杆菌就是其中的一员。肠细菌还包括许多可致人类、动物、植物疾病的菌株。 $\gamma$ 种群中的其他致病生物还包括属于军团菌属(*Legionella*)及弧菌属(*Vibrio*)的菌株。由于这些菌对健康和生物技术产业的重要性,这个种群中的微生物已获得了广泛的研究。在变形菌范畴内,对环境生物技术有特殊重要意义的生物是能将铵氧化为硝酸盐的自养型硝化细菌,包括 $\alpha$ 类群的硝化杆菌属(*Nitrobacter*)及 $\beta$ 类群的亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)。在能量代谢过程中,利用氧气或硝酸盐为电子受体的细菌分布在 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 类群中,而那些利用硫酸盐为电子受体的细菌属于 $\delta$ 类群。能够氧化还原态硫化物的细菌,如出现在酸性采矿废水及混凝土侵蚀过程中的细菌,属于 $\gamma$ 类群。这类生物对环境生物技术也具有重要性。因此,出于各种原因,变形菌引起了研究者的极大兴趣。

表 2.6 变形菌中的主要类群及每个类群中的常见属

$\alpha$	红螺菌属* ( <i>Rhodospirillum</i> )、红假单胞菌属* ( <i>Rhodopseudomonas</i> )、红杆菌属* ( <i>Rhodobacter</i> )、红微菌属* ( <i>Rhodomicrobium</i> )、小红卵菌属* ( <i>Rhodovulum</i> )、红圆球菌属* ( <i>Rhodopila</i> )、根瘤菌属* ( <i>Rhizobium</i> )、硝化杆菌属 ( <i>Nitrobacter</i> )、土壤杆菌 ( <i>Agrobacterium</i> )、水螺菌属 ( <i>Aquaspirillum</i> )、生丝微菌属 ( <i>Hyphomicrobium</i> )、醋酸杆菌属 ( <i>Acetobacter</i> )、葡萄糖酸杆菌 ( <i>Glucomobacter</i> )、贝氏固氮菌 ( <i>Beijerinckia</i> )、副球菌属 ( <i>Paracoccus</i> )、假单胞菌属 ( <i>Pseudomonas</i> ) (一些菌种)
$\beta$	红环菌属* ( <i>Rhodocyclus</i> )、红育菌属* ( <i>Rhodofera</i> )、红长命菌属* ( <i>Rubrivivax</i> )、螺菌属 ( <i>Spirillum</i> )、亚硝化单胞菌属 ( <i>Nitrosomonas</i> )、球衣菌属 ( <i>Sphaerotilus</i> )、硫杆菌属 ( <i>Thiobacillus</i> )、产碱菌属 ( <i>Alcaligenes</i> )、假单胞菌属 ( <i>Pseudomonas</i> )、博德特氏菌属 ( <i>Bordetella</i> )、奈瑟氏球菌 ( <i>Neisseria</i> )、发酵单胞菌 ( <i>Zymomonas</i> )
$\gamma$	着色菌属 ( <i>Chromatium</i> )、硫螺菌属* ( <i>Thiospirillum</i> )、其他紫硫细菌*、贝日阿托氏菌属 ( <i>Beggiatoa</i> )、亮发菌属 ( <i>Leucothrix</i> )、埃希氏菌属 ( <i>Escherichia</i> ) 及其他肠道细菌、军团菌属 ( <i>Legionell</i> )、固氮菌属 ( <i>Azotobacter</i> )、发荧光的假单胞菌种、弧菌属 ( <i>Vibrio</i> )
$\delta$	黏液球菌 ( <i>Myxococcus</i> )、蛭弧菌属 ( <i>Bdellovibrio</i> )、脱硫弧菌属 ( <i>Desulfovibrio</i> ) 及其他硫酸盐还原菌、脱硫单胞菌属 ( <i>Desulfuromonas</i> )
$\epsilon$	卵硫菌属 ( <i>Thiovulum</i> )、沃林氏菌属 ( <i>Wolinella</i> )、弯曲杆菌属 ( <i>Campylobacter</i> )、螺杆菌属 ( <i>Helicobacter</i> )

资料来源：Madigan 等(1997)。

注：在属的名称上带有“\*”标记的细菌是光合营养菌。

蓝细菌是产氧光养型细菌中的一员。它们被认为是第一个产氧光养型生物，并负责将地球大气从无氧转变为富氧。这为微生物以及后来包括动物在内的高等生命形式进行有氧呼吸提供了机会。蓝细菌具有广泛的内部膜，称为类囊体膜，其中包含用于光系统的酶，可捕获光能并将其转化为电子和化学能。如前所述，蓝细菌作为水生食物链的基础非常重要，同时是造成水质问题(如富营养化、味道和气味)的因素。

### 2.3.3 古细菌的系统发生谱系

古细菌中也有在环境生物技术领域引起广泛关注的原核微生物，其中特别重要的是产甲烷菌。古细菌在很多方面与细菌相似，事实上，直到人们能够在遗传及进化特性的基础上以分子生物学方法区分生物时，古细菌才被确认为一种完全不同的谱系。在古细菌与细菌之间，具有决定意义的区别在于：尽管各种细菌的细胞壁变化很大，但几乎总是含有肽聚糖；而古细菌的细胞壁却不含这种物质。某些古细菌(包括部分产甲烷菌)在细胞壁中含有一种多糖，与肽聚糖中的多糖类似，称为假肽聚糖，但是这两种物质是不同的。与细菌一样，古细菌各种群的细胞壁成分也显著不同。古细菌与细菌之间的另一个关键区别在于细胞膜磷脂。细菌与真核生物的细胞膜骨架均由经酯链连接到丙三醇上的脂肪酸组成；而古细菌磷脂由经醚链连接的分子组成。细菌细胞膜脂肪酸是直链的，而古细菌细胞膜磷脂是长链、支链烃类化合物。古细菌与细菌之间的区别还表现在 RNA 聚合酶上。细菌的 RNA 聚合酶只有一种类型，具有简单的四级结构；而古细菌的 RNA 聚合酶有几种类型，而且结构更加复杂。因此，在蛋白质合成的某些方面，古细菌与细菌有所不同。两者之间还存在其他一些小的区别，所有这两者之间在结构及功能上的重要区别，再次突显了它们进化历史的不同。

表 2.7 总结了古细菌域中目前已知的主要门及目的系统发育分类。泉古菌门

(Crenarchaeota)和广古菌门(Euryarchaeota)中的微生物在很多年前已经为人所知,但其他3个门中的微生物是最近几年通过发展和使用表征生物体的DNA的分子技术而被发现的。这极大地改变了我们对微生物多样性的认知。初古菌门(Korarchaeota)和纳古菌门(Nanoarchaeota)中已知的微生物很少,到目前为止,似乎没有重大的环境意义。然而,奇古菌门(Thaumarchaeota)中的微生物展示了一个令人惊讶的多样且重要的微生物群落,它们包括海洋中约20%的原核细胞和土壤中1%的微生物(Madigan et al., 2018)。其中具有重要意义的是硝化古细菌,现已知它们在土壤和海洋中主导硝化作用,这可能是因为它们能够在非常低的铵浓度下从硝化作用中获取能量。它们的存在是一个令人惊讶的发现,因为100多年来,微生物学家一直认为只有细菌才能进行硝化作用。

表 2.7 古细菌的主要门及目

门	目
泉古菌门(Crenarchaeota)	硫还原球菌目(Desulfurococcales)、硫化叶菌目(Sulfolobales)、热变形菌目(Thermoproteales)
广古菌门(Euryarchaeota)	甲烷菌目(Methanocellales)、甲烷八叠球菌目(Methanosarcinales)、甲烷微菌目(Methanomicrobiales)、甲烷杆菌目(Methanobacteriales)、甲基吡咯烷酮目(Methanopyrales)、甲烷球菌目(Methanococcales)、嗜甲烷菌(Methanomassiliicoccales)、盐细菌目(Halobacteriales)、盐杆菌目(Haloferacales)、嗜酸热菌(Thermoplasmatales)、热球菌目(Thermococcales)、钠球目(Natrialbales)、古生球菌目(Archaeoglobales)
初古菌门(Korarchaeota)	初古菌目(Korarchaeum)
纳古菌门(Nanoarchaeota)	纳古菌目(Nanoarchaeum)
奇古菌门(Thaumarchaeota)	古细菌目(Cenarchaeales)、亚硝化菌(Nitrosopumilales)、亚硝化球菌(Nitrososphaerales)

资料来源: Madigan 等(2018)。

化能自养以硝化菌为代表,在古细菌中也很普遍,其中  $H_2$  是该类群中常见的电子供体。例如在泉古菌门(Crenarchaeota)中的硫还原微生物中,发生厌氧呼吸,也发生有氧呼吸。从属名可以看出,嗜热菌也存在于古细菌的不同门中。另外,嗜盐菌也比较普遍,包括嗜酸、嗜热的无细胞壁热原体属。古细菌由大量的极端微生物或生活在极端环境条件下的微生物组成。该极端环境条件是相对于我们所熟知的世界而言的。在这些生物的进化时期,这样的条件可能并非极端条件,而是比较正常的条件。

广古菌门(Euryarchaeota)包括极端微生物,可用于盐浓度或温度极端的工业废水的生物处理。虽然过去该类菌群并未在此领域被利用,但将乙酸盐或  $H_2$  转化为甲烷的产甲烷菌已被广泛使用。甲烷( $CH_4$ )是一种在厌氧处理过程中产生的气体,具有重要的商业价值,但它也是一种导致严重环境问题的气体。 $CH_4$  是一种强效温室气体,在吸收红外辐射方面的效率大约是  $CO_2$  的 25 倍;它的排放是全球变暖重点关注的问题。氢气和醋酸盐是产甲烷菌的食物,当外部电子受体(例如氧气、硝酸盐和硫酸盐)不存在时,它们是有机物细菌发酵的正常终产物。醋酸盐转化为甲烷不需要外部电子受体。它是通过所谓的乙酰碎屑转化产生的:甲基碳进一步还原形成  $CH_4$ ,而羧基进一步氧化成为  $CO_2$ 。 $CO_2$  是其他产甲烷古细菌使用的电子受体,可氧化  $H_2$ 。在厌氧处理过程中,通过醋酸盐转化,还有其他有机化合物的发酵会产生过量的  $CO_2$ 。因此,古细菌在将有机物质转化为甲烷时通常不需要外部电子受体。

## 2.4 真核生物

环境生物技术特别关注的真核微生物包括真菌、藻类、原生动物,以及其他一些多细胞显微真核生物,如轮虫、线虫及其他浮游生物。真核生物是以在细胞内含有独立的细胞核为特征的。通常可以将较大的真核生物归入动物或植物范畴,但较小型的生物通常不能如此归类,原因在于在这一规格上动物与植物之间的界限十分模糊。

### 2.4.1 真菌

真菌与细菌、古细菌一起,构成自然界的初级分解者。分解者负责消化和氧化死亡有机物,分解产生的无机元素返回环境,通过其他生命形式的作用进入下一个循环。真菌不具有细菌所具备的广泛的代谢能力:基本都是有机、无机营养型,没有光能营养型。多数真菌适宜生存在陆地环境中,只有一部分喜欢水生系统。真菌对于土壤中积聚的树叶、死亡的植被,以及其他木质纤维素有机残体的分解具有重要意义。

由于真菌在土壤中的重要作用,它们在干有机物质分解中的作用十分显著。干有机物质的分解作用发生在废水处理系统排放物及有机污泥的稳定化过程中。真菌还能够分解细菌不能分解的多种有机物。有重要意义的是,某些真菌能够分解木质素——一种天然有机芳香族聚合物。木质素的作用是连接树、草以及其他类似植物中的纤维素,使其保持一定结构并具有一定强度。细菌没有这种能力,原因在于细菌体内缺乏一种关键氧化酶——过氧化酶,该酶有助于切断木质素中芳香基团之间的连接,这种酶还使某些真菌具备降解难降解且有毒工业有机化合物的特殊能力。

真菌对有机物的广泛降解能力似乎应该在有毒化合物的降解方面得到充分利用,但实际上并没有。其部分原因在于真菌分解过程速度慢,影响了在工业系统中的应用。真菌未在解毒过程发挥重要作用,还因为对于如何最好地发挥它们的潜力尚缺乏了解。人们对环境中存在的有毒有机分子关注的日益增加,可能将促进对这个潜在的重要领域开展更多的研究。

#### 形态学

仅靠形态学特征就能够区别 5 万种不同的真菌。其中包括一些常见种群,如霉菌、酵母菌、白色霉菌、锈菌、黑粉菌、马勃菌以及蘑菇。真菌的细胞是真核的,这是真菌与异养菌之间的主要区别。

除了一些单细胞形式,如酵母,真菌是由大量丝状物组成的。一根单独的丝被称为菌丝,单个真菌的所有菌丝合称为菌丝体。菌丝体一般宽  $5\sim 10\mu\text{m}$ ,可能有分枝。有的菌丝体露在真菌生长的培养基或土壤的表面上,有的隐藏在表面以下。真菌的细胞壁通常由几丁质组成,这种结构在细菌和更高等的植物中均未被发现,但在昆虫的坚硬外壳中存在。

在环境生物技术领域中数量最多、最重要的真菌可能是霉菌(mold)。这种真菌以孢子的形式繁殖,可以进行有性繁殖,也可以进行无性繁殖。大多数霉菌不能运动,不过,有些生殖细胞可以运动。如图 2.6 所示,孢子及孢子形成的方式是千变万化的,这些区别通常用于对霉菌进行分类。

真菌中的另外一个重要种群是酵母菌,通过出芽方式繁殖。酵母菌不但在面包及葡萄酒制作中发挥作用,在土壤中也普遍存在,在土壤环境中,酵母菌像霉菌一样,能够利用各种不同的有机化合物。酵母菌由单个长细胞组成,长度为  $3\sim 5\mu\text{m}$ ,因此,酵母菌比典型的细菌细胞稍大。

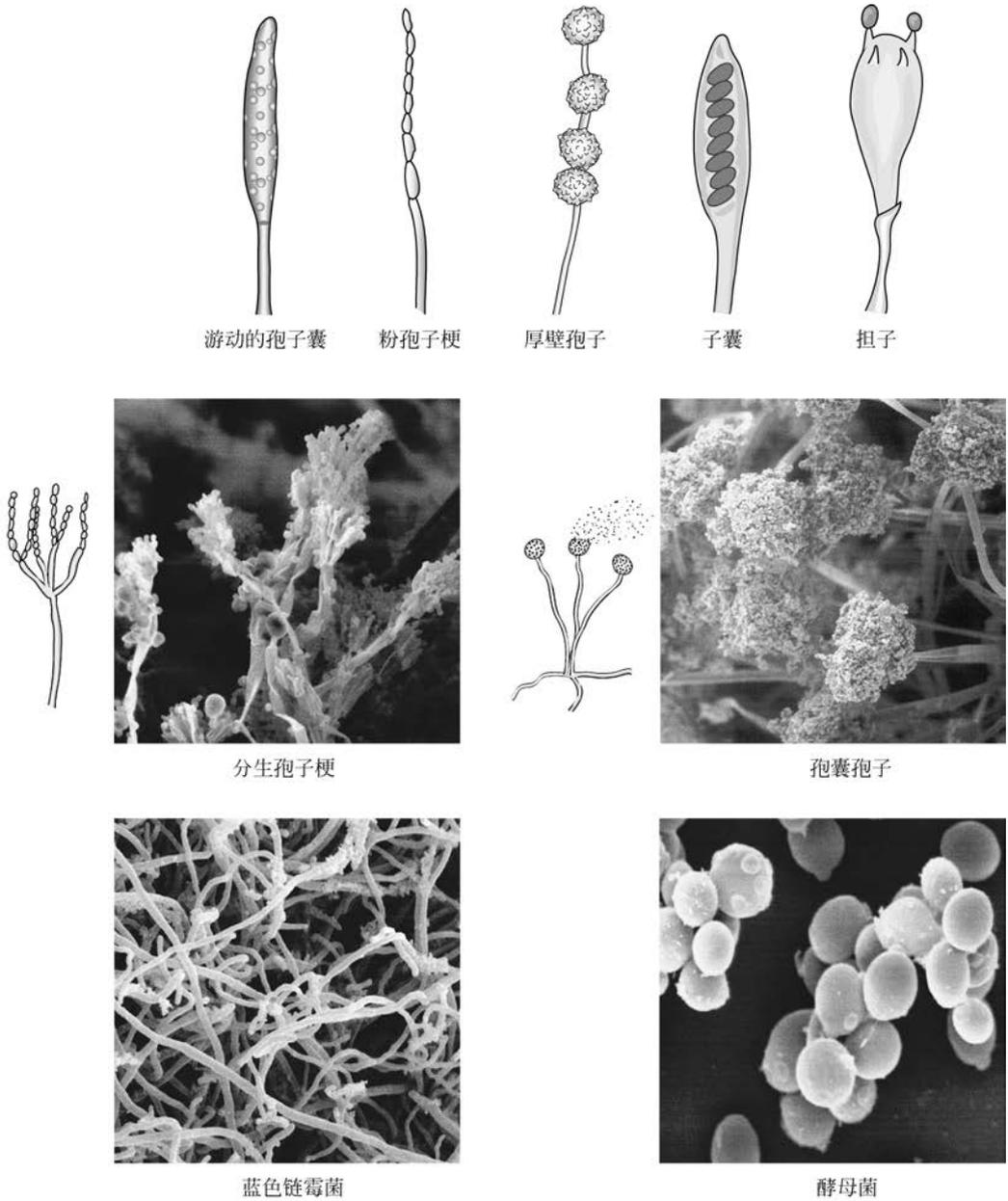


图 2.6 真菌及孢子的典型形态

(资料来源：照片的使用经密歇根州立大学微生物园授权，  
照片作者是 Catherine McGowan, Shirley Owen, Steven Rozewell)

### 分类

有时将真菌划分为 3 个主要种群。我们真正特别关心的真菌属于真菌门(Eumycota)。第二个门是黏菌门(Myxomycota),或称黏菌类,具有类变形虫的运动阶段及类真菌的孢子繁殖阶段。第三个门是地衣门(Lichenes),是真菌与藻类的共生体。真正的真菌分为 5 类,具有表 2.8 中列举的特征。

表 2.8 真菌的分类(真菌门)

纲	特 征			
	常用名	菌丝	有性孢子的类型	生存环境
子囊菌纲(Ascomycetes)	子囊真菌	有隔	子囊孢子	腐烂植物残体,土壤
担子菌纲(Basidiomycetes)	蕈菌	有隔	担子孢子	腐烂植物残体,土壤
半知菌纲(Deuteromycetes)	半知真菌	有隔	无	腐烂植物残体,土壤,动物体表
卵菌纲(Oomycetes)	水生霉菌	多核	卵孢子	水中
接合菌纲(Zygomycetes)	面包霉	多核	接合孢子	腐烂植物残体,土壤

子囊菌纲是真菌中最大的一个纲,包括大约 3 万个菌种。菌丝被横断细胞壁或隔膜隔开。孢子以无性或有性繁殖方式形成,在有性繁殖中一般形成子囊或小囊,其中含有 8 个孢子。子囊菌类包括用于焙烤和酿造过程的酵母菌、粉状霉菌、荷兰榆树病的致病体、许多抗生素的生产者、常见黑霉及蓝绿霉以及多种能够将死亡植物分解为腐殖质并能分解纤维素的真菌。

担子菌类具有可以产生孢子的结构,称为担子,担孢子就是从该结构上形成的。这个种群中还包括许多种分解者。有些能够分解木质结构,如栅栏、铁路接头、电线杆;有些是寄生的,能破坏小麦、水果等农作物;还有一些个体大,肉眼可见,如蘑菇。

半知菌纲包括不能进行有性繁殖的所有真菌。这是一个变化多样的种群,各菌种之间除了无性繁殖这个共同点外,几乎没有其他共同点。与其他真菌的大多数种群一样,半知菌纲中的许多菌种对人类有用,可以用于生产奶酪,如羊乳干酪、软质乳酪,以及抗生素,如青霉素。在半知菌纲中还包括植物和动物(包括人类)寄生菌,有的会导致皮肤病,如癣菌病及脚癣。

卵菌纲中的许多真菌是水生的,因此称为水生霉菌。水生和陆生形式均产生孢子,孢子有鞭毛而且能泳动。这是唯一一个在细胞壁中含有纤维素而不是几丁质的真菌种群。这个纲在经济上需要特别关注,因为其中包含许多危害鱼类的寄生虫,导致爱尔兰大范围土豆疾病的生物以及在 19 世纪末期对法国的整个葡萄酒工业造成威胁的霉菌就属于这个纲。

接合菌纲通过产生接合孢子进行有性繁殖,主要包括生长在死亡动植物上的陆生形式。一些用于发酵工业中生产化学品;一些寄生在生长期水果、微型动物上;还有一些寄生在储存的苹果或面包上。

通过这个简单的总结可以看出,真菌既可以为人类带来经济利益,也可能造成危害。对环境微生物学而言,研究如何用繁殖特性将一个种群与另一个种群区分开,可能不像研究真菌对多种天然或人工合成难降解有机物的降解潜力那么重要。另外,不同菌种对环境的不同要求也值得研究。

### 营养与环境需求

所有真菌均通过分解有机物获得能量。大多数可以靠单糖(如葡萄糖)生存,而且,作为一个种群,它们具有分解多种有机物的能力。有些可以利用无机氮源(如铵及硝酸盐)满足对氮的需求;有些需要而且多数能够利用有机氮源满足对氮的需求。由于真菌体内的氮元素比原核生物少,因此,真菌对于氮元素的需求也少。通常情况下,所有霉菌都是需氧的,需

要充足的氧气才能生存。而酵母菌主要是兼性的,在缺氧条件下,它们通过发酵过程获得能量,如糖类转化为酒精的过程。

真菌通常比异养原核生物长得慢,但是真菌对极端环境条件的耐受能力更强。真菌能在相当干燥的气候下生存,原因在于它们可以从空气中或从它们生长的介质中获得水分。霉菌能够在对营养细菌有抑制作用的干燥气候下生存。在极端干旱条件下,真菌还能形成保护性孢子。霉菌能在高浓度、高渗透压的糖溶液中生存;也能在酸性相当强的条件下生存,而该酸性条件可能对多数原核生物产生危害。生长的最佳 pH 值通常在 5.5 左右,但是可耐受 pH 值范围是 2~9。大多数真菌生长的最佳温度在中温范围内,即 22~30℃,但是有些真菌在接近 0℃ 的冷藏条件下也能使食品腐败,而另一些能够在嗜热条件(温度可达 60℃)下生存。

真菌与异养原核生物之间的区别是真菌通常喜欢更干燥、酸性更强的环境,但是真菌的生长较慢;真菌喜好陆生环境及高浓度有机物,而原核生物更喜欢水生环境。另外,细菌与古细菌在厌氧条件下对有机物的分解更加彻底,而只有酵母菌可以耐受厌氧条件。当希望利用这些生物的降解能力时,以上区别是很重要的。

## 2.4.2 藻类

藻类在保持水质及控制水污染中具有重要作用。藻类与蓝细菌一起,都属于浮游植物的一种,是悬浮的微型光合生物,是天然水体中有机物质的主要初级生产者。它们将光能转化为细胞有机质,该有机质作为食物被原生动物、甲壳纲动物以及鱼类捕食。作为产氧光养型生物,藻类是天然水体中氧气的主要来源。工程师们在氧化塘中利用藻类的产氧光合作用处理废水。

尽管藻类在食物链中处于最底部的位置,使藻类必不可少,但是,废物排放可能促使藻类的生长,最终产生环境问题。藻类过度生长带来的问题包括:使供水产生难闻的味道、气味,堵塞水处理厂的滤网,降低湖水的澄清度,成片漂浮的藻类还会给划船、游泳带来困难,降低沿岸房地产的价值,并增加湖泊及海湾中的沉积物。藻类分解将耗尽鱼类及其他需氧生物需要的氧气。因此,在天然水体中藻类的数量必须保持平衡,才能维持生态系统的良好状态。

在生长过程中,藻类消耗水中的无机矿物质,使水体发生化学变化,如 pH、硬度、碱度等的改变。藻类还排泄有机物质,刺激细菌及有关种群生长。有些藻类产生的毒素,能杀死鱼类并使食用甲壳类动物不安全。因此,藻类的生长及衰亡对水质有着深远的影响。

### 形态学

藻类是一类庞大且种类丰富、含有叶绿素、能够进行光合作用的真核生物(图 2.7)。蓝细菌是原核生物,但由于它具有许多与藻类相同的特点,经常被划入藻类的行列。蓝细菌以前常称为蓝绿藻。然而,藻类和蓝藻属于不同的域。这里重点讨论的是真正的藻类,即真核生物藻类。

大多数真正的藻类从尺寸上讲是显微级的,但是,有许多藻类,如巨型海藻,即海草,可以长到几十米长。将如此巨大的藻类与非藻类植物区分开来有些困难,除了一点——巨型藻在单细胞结构中产生孢子,而植物孢子都是在多细胞的细胞壁中产生的。我们在这里关

注的主要是显微形态藻类,它们与比较高等的植物有着显著的不同,其中许多是单细胞的,而且非常小。

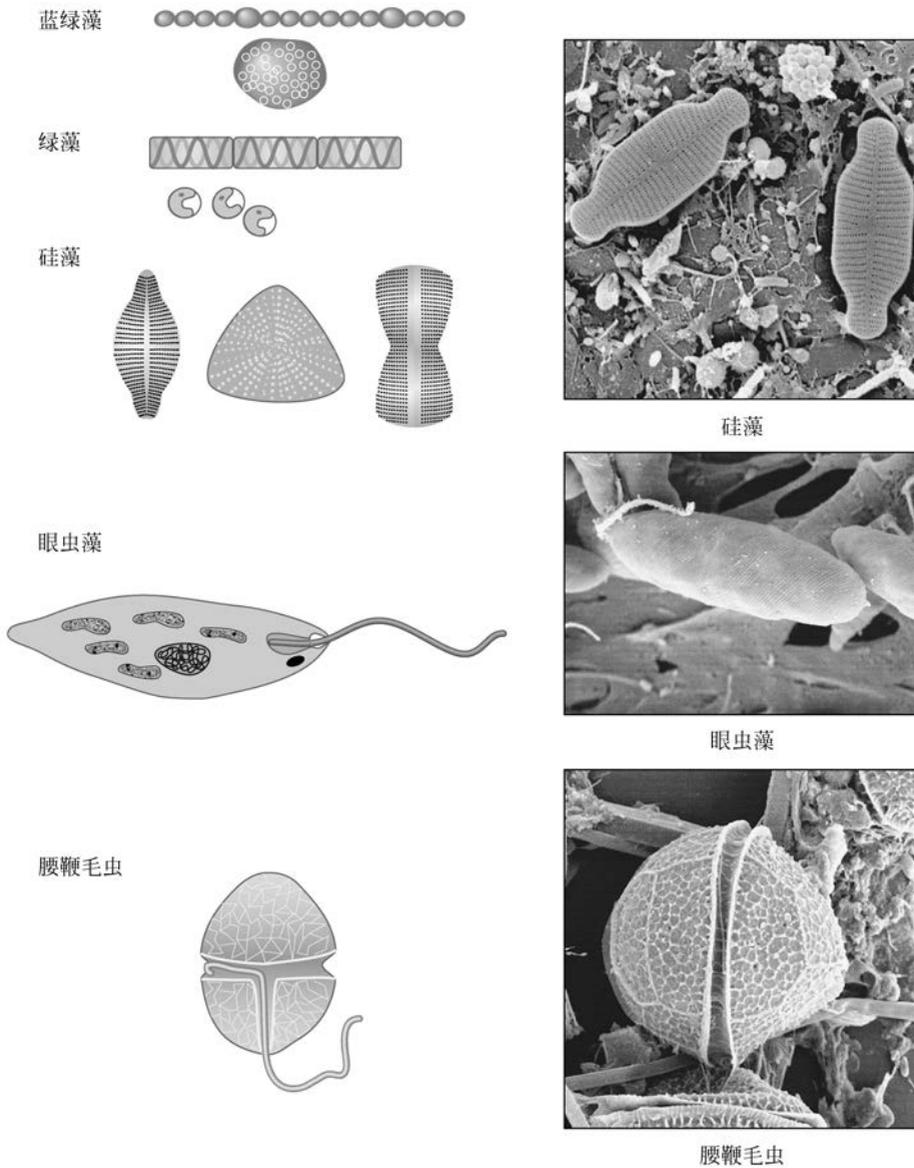


图 2.7 藻类的典型形态

(资料来源:照片的使用经密歇根州立大学微生物园授权,照片作者是 Shirley Owens)

作为一个种群,藻类随处可见——在海洋、湖泊、河流、咸水湖以及温泉中,在树木及岩石上,在潮湿的土壤中甚至在其他植物和动物体内。有些藻类能在高山积雪中生长,使积雪中出现斑斑点点的红色;有些藻类能够在温度达到 90℃ 的温泉中生长;还有一些喜好高浓度盐水。有些藻类与真菌一起形成地衣,生长在岩石或树上,生活在非常干旱或寒冷的气候里。在地衣中,藻类将太阳能转化为有机物质,满足真菌的需要;反过来,真菌从环境中吸

收水分及矿物质,提供给藻类。

就形态而言,有些藻类以单细胞形式出现,可能是球形的、杆形的、纺锤形的或棒状的;有些藻类可能以膜状菌落、单一或成簇的丝状结构等形式出现;或者以有分支或无分支的单链形式出现。有些菌落可能是同一种细胞的聚合体,而有些菌落可能是由具有特殊功能的不同类型细胞组成的。因此,很难描述典型藻类是什么样的。

藻类含有不同类型的叶绿素,每种都能有效地吸收特定范围的光谱。所有藻类均含有叶绿素 a,有些藻类还含有其他叶绿素,这是区别不同种群的基础。与蓝细菌的叶绿素遍布整个细胞不同,真核藻类的叶绿素含在膜结构中,形成叶绿体,而且在任何一个细胞中均可能出现单个或多个叶绿体。

表 2.9 总结了藻类的 7 种不同的分类学种群(这里包括蓝细菌,即蓝藻),主要分类是依据各种种群含有的不同叶绿素与光合色素。各种群的常用名通常与其特征颜色有关,特征颜色是由藻类含有的光合色素决定的。在下文中将对它们的特性进行比较详细的描述。

表 2.9 各种藻类种群的特征

藻类种群	常用名	叶绿素	储藏物	结构特征	分布
蓝藻门(Cyanophyta)	蓝绿藻	a	淀粉	原核的,无鞭毛	海洋、淡水、土壤
绿藻门(Chlorophyta)	绿藻	a,b	淀粉	从没有鞭毛到有几根鞭毛	海洋、淡水、土壤
金藻门(Chrysophyta)	金藻,褐硅藻	a,c,e	类脂	0~2 根鞭毛,硅质外壳	海洋、淡水、土壤
眼虫藻门(Euglenophyta)	眼虫藻 移动绿藻	a,b	多糖	1~3 根鞭毛,有器官	大多数在淡水中
褐藻门(Phaeophyta)	褐藻	a,c	碳水化合物	2 根鞭毛,有多个细胞	海洋
甲藻门(Pyrophyta)	腰鞭毛虫	a,c	淀粉	2 根鞭毛,有沟的多边形板片	海洋、淡水
红藻门(Rhodophyta)	红藻	a,d	淀粉、油类	无鞭毛	海洋

### 绿藻门

绿藻常见于许多淡水水体中,也属于废水处理稳定塘中最重要的藻类。许多绿藻是单细胞的,有些绿藻借助鞭毛运动;有些绿藻是大型的,例如海菜,有时由于营养物过剩,海菜会沿着海岸线过度生长。通常在绿藻的每个细胞中含有一个叶绿体。在稳定塘的营养条件下,通常占优势的重要属是小球藻属、栅藻属及衣藻属。衣藻属是靠鞭毛运动的。

### 金藻门

硅藻是金藻门中最重要的一种类型。硅藻的细胞壁由两片硅质壳盖合形成。硅藻含有黄褐色色素,使细胞呈现特征褐色,这使得在不经意地观察含有该藻类的天然水体时,很难辨别水的浊度是由藻类造成的,还是由含有矿物质(如泥沙、黏土)造成的。当硅藻分解时,硅质外壳残留下来,形成由大小均一的显微外壳构成的巨型沉积物,这种沉积物被作为硅藻土开采出来,并用作水处理厂过滤助剂或工业过滤助剂,得到了广泛应用。

硅藻存在于淡水及海水中。硅藻和腰鞭毛虫是主要的海洋光合物种,是从显微甲壳类

到鲸类的各种生物的食物。

### 眼虫藻门

眼虫藻门是单细胞藻类中相当小的一个种群,靠鞭毛运动,生活在淡水中。种群名称来自最常见的成员之一——眼虫藻,眼虫藻是稳定塘中常见的一种优势生物。眼虫藻具有特征性的红点或者眼点作为光感受器,这样,在需要阳光时,眼虫藻能向水面运动;而当阳光太强烈时,眼虫藻能游离水面。在正午时分或早晨和傍晚水面晦暗时,分开静止稳定塘的表面水层,很容易看到大量眼虫藻的这种垂直运动。

### 甲藻门

甲藻门中的腰鞭毛虫具有坚硬的纤维状细胞壁,看上去像头盔或盾牌。腰鞭毛虫的两根鞭毛在凹槽中碰撞,使它在水中运动时能够旋转(图 2.7)。甲藻门中的一个物种——链状膝沟藻(*Gonyaulax catanella*),可能会骤然大量出现在加利福尼亚及佛罗里达南海岸线周围的海水中,造成严重的赤潮,杀死成千上万的鱼。鱼类死亡是由该藻排泄的毒性极强的毒素造成的。以这些藻类为食的蚌类,将在体内富集该毒素,从而对人类构成威胁。正因如此,在链状膝沟藻繁殖能力最强的夏季,往往禁止食用甲壳类动物。赤潮严重程度增加可能是由于随废物排放了营养物质,但是,最重要的原因有可能是营养物质定期地从深水区上涌,或出现了其他该生物喜好的自然条件。

### 蓝藻门

需氧菌通常与真核藻类竞争,而且,在考虑与藻类有关的水质特征及问题时,通常与藻类一起考虑。蓝细菌常常因其体内色素的颜色而被称为蓝绿藻。蓝细菌以多种形态出现,包括长丝状。

蓝细菌是造成许多水质条件恶化的原因。淡水中的味道及气味,通常与蓝细菌的存在有关。另外,在被生活或农业废物中的磷污染的水体中,蓝细菌经常形成大面积浮萍,造成不良视觉效果。该种群的一个重要特性是,种群中的许多成员能够通过固氮作用利用大气中的氮气,来满足细胞蛋白质和核酸对氮元素的需求。因此,与其他真核生物不同,它们在缺氮的水体中也能生长,只是生长得比较慢。

### 繁殖与生长

真正的藻类能够以与细菌及真菌相似的方式进行有性或无性繁殖。在条件适宜的情况下,藻类通常生长得相当快,单细胞物种的世代期只有几小时。尽管藻类的有些物种能够以异养或光能自养方式生长,但是大多数物种是严格的光养型生物。大多数藻类是自养型生物,但是有些藻类能够利用简单碳源(如乙酸)进行细胞合成。

自养生长需要的基本元素,如碳、氢、氧、氮、磷、硫以及铁,通常来自水中溶解的矿物质或水分子本身。藻类的组成通常与原核生物非常相似。藻类体内有大约 50%的碳、10%的氮和 2%的磷。在氮或磷元素有限的条件下,藻类的生长速率下降,而且这两种基本元素的相对含量可能分别降到 2%和 0.2%,不过,这种低含量通常在实验室条件下出现得比较多,而不是在现场条件下。一般情况下,藻类具有比较高的蛋白质含量,这意味着它们可以作为人类与动物的食物。藻类通常并不太好吃,但如果与其他更美味的食物混合在一起,可以供动物食用。

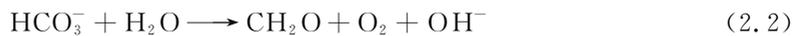
氮或磷的浓度经常限制天然水体中藻类的生长,尽管在有些环境中碳、铁或其他元素的供应量可能更有限。硅藻还需要硅元素,硅在多数淡水水体中均是常见元素,但在海水中的含量有限。当试图促进藻类的生长时,例如在稳定塘中,或者当希望限制它们在河流、湖泊、河口以及水库中的生长,从而防止由藻类造成的不良后果时,都必须了解藻类的无机营养要求。

由于藻类物种巨大的多样性,很难概括藻类的环境需要。有些物种能够在 0℃ 生长,有些物种能够在 90℃ 生长,不过,大多数物种在温度适中的环境中生长得最好。通常情况下,硅藻比绿藻更喜好温度较低的水体,而绿藻比蓝细菌更喜好温度较低的水体。不同的最佳生长温度,加上不同的营养要求,可以引起一年里湖水中优势藻类物种的变化。

藻类一般喜好接近中性而不是碱性的 pH 条件。这可能与两个因素有关:一是无机碳以重碳酸盐及碳酸盐形式存在时的可获得性;二是重碳酸盐、碳酸盐、CO<sub>2</sub>、pH 之间的相关关系。藻类在生长过程中需要从水中吸取 CO<sub>2</sub>, pH 值因此呈升高趋势,如下面的反应式所示,该反应式是经过大大简化的自养-合成反应式:



或者



反应式(2.1)显示藻类(生物量以 CH<sub>2</sub>O 表示)的生长伴随着氧气的产生及碳酸的消耗,因此导致 pH 值升高。类似地,反应式(2.2)表示如果以重碳酸盐为碳源,那么将产生氢氧根,也会导致 pH 值升高。通常情况下,当 pH 值在 8.5~9 时,对藻类生长是有害的。不过,有几个物种能够继续从水中吸取无机碳,直到 pH 值升高到 10~11。前文已经提到过,有些藻类物种对盐类有极强的耐受能力,是藻类能够在极端条件下生存的又一个例子。

### 2.4.3 原生动物

原生动物是单细胞、异养真核生物,能够通过吞噬作用觅食并消化固体食物。就多数好氧和一些厌氧废水生物处理系统而言,原生动物是其复合生态系统中的常见成员。原生动物缺乏真正的细胞壁;就个体尺寸而言,小到与大型细菌的尺寸相当,大到肉眼可见。虽然近年来原生动物的分类发生了变化,但我们仍然倾向于使用以前的方法,如表 2.10 所示,根据运动方法的不同,可以区分原生动物的 4 个主要种群。图 2.8 给出了原生动物的典型形态。

表 2.10 原生动物主要种群的特征

种群	常用名	运动方法	生殖方式	其他特征
肉虫纲(Sarcodina)	阿米巴 变形虫	伪足	靠有丝分裂进行无性生殖,有时进行有性生殖	一般自由生长,不形成孢子
鞭毛纲(Mastigophora)	鞭毛虫	1 个到多个鞭毛	靠有丝分裂进行无性生殖,有性生殖不常见	不形成孢子,许多寄生
纤毛虫类(Ciliophora)	纤毛虫	纤毛	靠有丝分裂进行无性生殖、有性生殖	一般自由生长
孢子虫纲(Sporozoa)	鞭毛虫	一般没有鞭毛或纤毛,不运动	无性生殖、有性生殖	有孢子,全部寄生

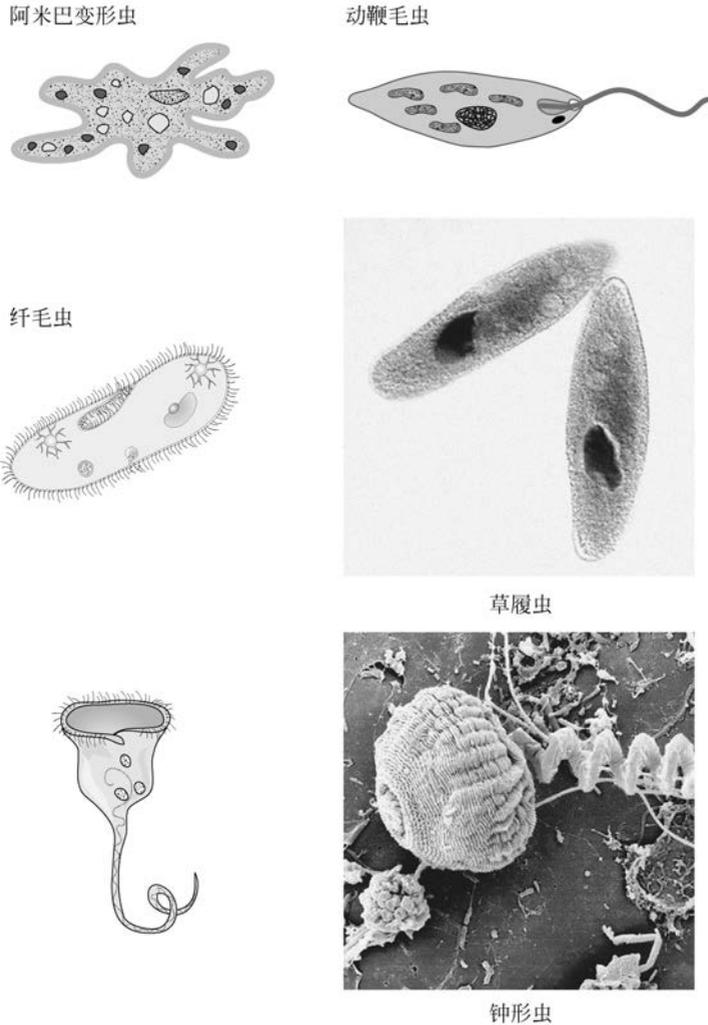


图 2.8 原生动物的典型形态

(资料来源：照片的使用经密歇根州立大学微生物园授权，照片作者是 Shirley Owens)

原生动物一般进行无性繁殖(常常通过有丝分裂进行,类似于原核生物的二分裂),不过,有性繁殖也会发生。在多数淡水及海水环境中均能发现原生动物。原生动物通常以细菌及其他小型有机颗粒物为食;而显微动物与大型动物又猎食原生动物。许多种类的原生动物在自然界中自由生长,而其他原生动物只能以寄生方式,靠其他生物提供的营养物生存。有些寄生的原生动物会导致人类的疾病。在有氧生物处理系统中,原生动物通过清除出水中的细小颗粒物净化出水,否则细小颗粒将存留在出水中。原生动物还能作为存在有毒物质的指示生物,很多原生动物对这些有毒物质相当敏感。

像许多大型的、由不同物种构成的微生物种群一样,原生动物的有些物种能够在相当极端的环境条件下生存。有些原生动物能忍受 pH 值低到 3.2 或高到 8.7 的环境。不过,多数原生动物在 pH 值 6~8 的中性环境内生存得最好。有些原生动物能在温度高达 55℃ 的温泉中生存,但多数原生动物的最佳生存温度为 15~25℃,最高耐受温度为 35~40℃。多

数原生动物是需氧的,但许多原生动物在厌氧环境(如动物的瘤胃)中也能良好地生长。有些生物学家愿意将藻类中的眼虫藻门划归原生动物,原因是两者之间有许多相似性。生物的不同纲之间的区别并不总是很清晰。例如,一些生物学家更喜欢将眼虫藻门(Euglenophyta)分类为原生动物,因为它们之间有许多相似之处。由于原生动物存在于多数生物处理系统中,也由于原生动物扮演着重要指示生物的角色,故在每个种群内部原生动物的不同特征引起了研究者的关注。

### 肉足纲

肉足纲是类变形虫生物,通常借助伪足运动和捕食。所谓伪足,就是细胞质向运动方向上的暂时凸起。细胞通过这种缓慢的运动方式在水面上移动。伪足还能够包围并捕获食物颗粒,随后将其吞入细胞质并消化。

肉足纲中的一个物种——溶组织内阿米巴(*Entamoeba histolytica*),是一种肠道寄生虫,能够导致人类的阿米巴痢疾。溶组织内阿米巴通过被粪便污染的水和食物传播。这种变形虫能够形成孢囊,孢囊能够在干燥和一般消毒环境中存活。有些阿米巴变形虫能在生命周期的特殊阶段形成鞭毛;有些能用亮壳保护细胞,或在细胞表面覆盖黏稠的有机外层,而该有机外层能够捕获沙子及其他碎片来形成保护层。有孔虫(Foraminifera)在海水中形成一种碳酸钙外壳。积累的脱落外壳在海洋沉积物中很常见,而且是形成多佛白色峭壁及其他类似白垩沉积物的原因。

### 鞭毛纲

动鞭毛虫与藻类密切相关,并具有与眼虫藻相似的特征;不过,眼虫藻能够像其他藻类一样以光养方式生存,而动鞭毛虫是鞭毛纲或异养原生动物中的一员。多数动鞭毛虫具有一根或两根鞭毛,使它们能以旋转方式在水中快速移动。多数动鞭毛虫可以独立生活,但也有许多是寄生虫。例如,披发虫属(*Trichonympha*)的成员在白蚁消化道中与白蚁共生,消化白蚁摄取的木头及纤维;锥虫科(Trypanosomatidae)的有些成员对人类是致病的,如通过舌蝇传播的冈比亚锥虫(*Trypanosoma gambiense*),能导致通常致命的非洲睡眠病。动鞭毛虫在生物处理系统中也比较常见,它们靠生物处理系统中产生的大量细菌生存。

### 纤毛虫类

几乎所有纤毛虫都是自由生长的(即非寄生)。纤毛虫以具有很多纤毛为特征,通过纤毛的协调摆动,推动生物体运动或制造水流,将食物运送到口区。

废水生物处理过程中有两种完全不同的纤毛虫:游泳型纤毛虫,可以穿过水流搜寻有机颗粒物质;具柄纤毛虫,借助长而细的丝(称为丝胞)形成大型群体或附着在表面上。钟虫是典型的具柄纤毛虫。具柄纤毛虫是固着生活的种类,能通过纤毛运动制造水流摄取食物。如果在好氧废水生物处理系统中存在大量钟虫,通常可以认为是系统运行稳定、良好的标志,而且说明系统没有受到有毒物质的影响。

### 孢子虫纲

孢子虫纲都是营寄生生活的生物。孢子虫一般不能运动,而且不摄取食物,但是能透过细胞膜吸收溶解态食物。尽管孢子虫在废水生物处理系统中并不重要,但是它们对公共健康非常重要。就公共健康而言,需要特别关注的是间日疟原虫(*Plasmodium vivax*)——疟疾病的致病体。间日疟原虫生命周期的一部分在人体内完成,另一部分在栖息于地球上较温暖地区的疟蚊体内完成。

#### 2.4.4 其他多细胞微生物

动物世界中的微型成员在天然水体中十分常见,在微生物课程中却鲜有涉及。本节简单介绍一些最常见成员的形态及功能。其中的部分生物如图 2.9 所示。这里将介绍的生物包括:袋虫动物门(Aschelminthes)的成员,袋虫动物也称袋虫类,是轮形动物门(Rotifera)与线虫动物门(Nematoda)中最主要的成员;在淡水及海水中常见的其他显微动物和在稳定塘中频见的显微动物,属于节肢动物门(Arthropoda)的甲壳纲(Crustacea),甲壳纲还包括大型动物,如虾、龙虾以及螃蟹。微型动物是多细胞的,它们严格需氧,可以摄食小颗粒有机物,如细菌、藻类以及其他具有相似尺寸的活的或死的有机颗粒。微型动物介于显微与大型之间:有些个体十分小,可以使水体产生浊度;在有些情况下,不用显微镜就能观察到它们的存在及运动。

线虫,或蛔虫,在个体数量以及种数量上可能都是最丰富的动物。线虫大量存在于土壤、天然水体以及较高等的动物体内;在土壤与天然水体中独立生存,在高等动物体内寄生。线虫是长而细的(图 2.9),在逐渐变细的一端有口,另一端有肛门。线虫在好氧处理系统中十分丰富,而且如果不用氯化处理,将有大量线虫排入受纳水体。尽管那些独立生存的线虫本身是无害的,但是人们已开始关注在供水中存在线虫的问题,原因在于线虫有可能摄食病原体,从而使病原体在消毒过程中受到保护。尽管病原体通过这种方式传递给人类是完全可能的,但至今还没有发现由此产生的健康问题。不过,某些线虫本身对人类就是致病的。

轮虫是软体动物,有头、躯干以及逐渐变细的足(图 2.9)。轮虫的头部一般有一个轮状器官或圈状纤毛,通过它的旋转使轮虫游动,并产生水流吸引食物颗粒。轮虫的足部一般分叉形成两个趾,使轮虫在摄食时能将自己固着在大块碎片上。用显微镜观察,一般可以看到在轮虫头部以下咀嚼器官或咀嚼囊里面的情况:具有长有牙齿的颌。在生物系统中,经常能够看到轮虫正在撕扯生物絮体的片段。

微型甲壳纲动物与其个体较大的近亲相似,均具有坚硬的外壳,通常有一对触角,通过鳃呼吸。微型甲壳纲动物一般有一个较大的头,一个短躯干,而且与较大的甲壳纲动物相比,躯干附着器上的节数较少(图 2.9)。代表性成员有水跳蚤(水蚤)及看似微型龙虾的桡足动物(剑水蚤)。与其他类型的生物处理系统相比较,微型甲壳纲动物在稳定塘中更加常见。

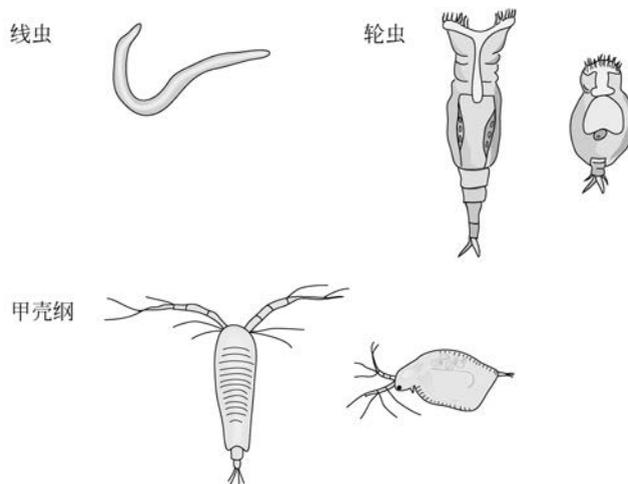


图 2.9 多细胞微生物

## 2.5 病毒

一般不将病毒当作活体看待,因为病毒不能依靠自身进行繁殖或新陈代谢。病毒只能依靠活细胞进行复制:细胞翻译病毒的遗传信息,完成病毒的复制。然而,病毒对于活体的影响是不可忽视的,因为病毒能导致疾病和死亡。通常情况下,病毒是亚微观的遗传因子,由被蛋白质包围的核酸(DNA 或 RNA)组成,有时还含有其他组分。当病毒 DNA 或 RNA 被注入一个合适的宿主细胞后,它能够改变宿主细胞的代谢机制,转而进行病毒细胞的复制生产。当病毒的数量足够多时,宿主细胞死亡并破裂,新的病毒颗粒被释放出来,去感染新的宿主细胞。

病毒的尺寸为 15~300nm,后者刚好在光学显微镜的分辨率范围内。因此,观察病毒需要电子显微镜或者其他具有更高分辨率的仪器。某一种特定病毒只能感染非常有限的几个宿主物种。由于每一个物种能被多种病毒感染,因此,病毒的总数十分巨大。感染原核细胞的病毒称为噬菌体。除了宿主细胞不同外,噬菌体与其他病毒并没有明显的不同。图 2.10 给出了我们关心的各种病毒。

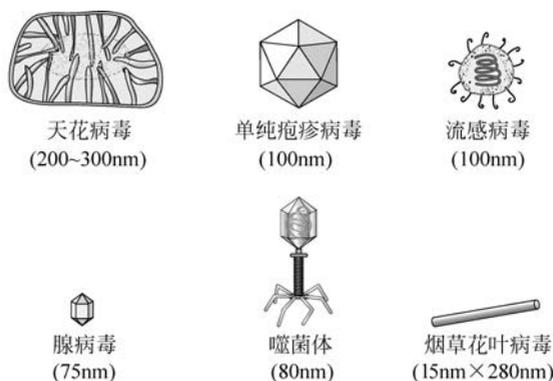


图 2.10 病毒的典型结构

在废水生物处理系统中,噬菌体十分普遍,有时,人们怀疑由于噬菌体杀死了系统需要的细菌而导致废水处理过程恶化,不过,这一点还没有得到有效的证明。在混合培养系统中,噬菌体可能是导致一个细菌种群替代另一个细菌种群占据优势的因素,但是,废水处理中这方面的研究并未充分展开。病毒感染可以相当快地完成。在一个细菌被噬菌体感染后的 25min 内,大约可以产生 200 株新的噬菌体。然后,细菌细胞破裂开来,释放这些新的噬菌体去感染其他细胞,而且这种感染能够以更快的速度传播。

## 2.6 传染病

19 世纪下半叶,在发现水是引起某些较严重疾病的细菌携带者并会导致人类患病之后,环境工程与科学学科相继出现。负责为人类提供用水的工程师们开始寻求确保供水安全卫生的方法。主要的成果是从 19 世纪后期开始使用混凝与过滤,以及从 20 世纪初期开始使用氯消毒。这些步骤,加上其他用于食品保护的方法,如巴斯德消毒法,使与水及食物有关的疾病明显减少。尽管取得了这些成果,但是在美国,与水有关的疾病的爆发仍然很普

遍,而且,对于发展中国家来说,它仍然是疾病的主要原因。另外,有些在美国大规模爆发的与水有关的疾病,是由某些过去未引起关注的生物造成的。这表明出现了新的病原体,它们并没有历史记录作为基础来制定预防措施。在有些情况下,还没有检测致病体的合适方法。

世界人口的增长及对水资源需求的日益增加,增加了人们研究如何将废水回收净化再用于饮用的兴趣。在实践过程中出现的主要问题是:怎样使被病原微生物严重污染的水获得充分、可靠的净化,然后用作生活用水?回用问题成为水专家们面临的一个主要挑战,急需非常可靠的处理与监测技术。

由于与水有关的病原微生物具有显著的重要性,从事水与废水处理的工程师及科学家们需要了解由排泄物或食物传播的病原微生物。

表 2.11 总结了与水和(或)人类粪便有关的常见疾病。列出的许多疾病有时称为肠道疾病或由于水土污染引起的疾病,原因在于这些疾病常常是由食用了被人类粪便污染的水或食物引起的。这种污染能够通过采取适当的卫生措施避免。这些疾病在发展中国家尤其盛行,原因在于人们对疾病的传播没有充分了解,或者缺乏进行预防的经济条件。在表 2.11 中列出的生物中,有许多会导致肠胃炎,肠胃炎经常用于指尚未发现病因的水传播疾病或食物传播疾病。肠胃炎指胃与肠道的炎症,导致腹泻及极端不适。引起水及食物传播疾病的生物分布在从病毒颗粒到多细胞生物的几个微生物类型中。既然所有这些微生物都是颗粒,通过混凝与过滤过程是能够将它们从水中完全去除的。有些病原体——特别是大多数细菌——还能被化学消毒剂(如氯气或臭氧)杀死。在任何可能的情况下,都应该同时使用物理去除方法(过滤)和化学消毒方法,从而建立“多重屏障”对付病原体。

表 2.11 水和(或)人类排泄传播疾病的致病体

微生物类型	种群	生物名	疾病与症状
病毒	亲内脏的	柯萨奇病毒( <i>Coxsackie virus</i> )、诺沃克病毒( <i>Norwalk virus</i> )、轮状病毒( <i>Rotavirus</i> )、伊科病毒( <i>Echovirus</i> )	肠胃炎
	亲神经的	甲肝病毒( <i>Hepatitis A virus</i> )、脊髓灰质炎病毒( <i>Polio virus</i> )	传染性肝炎; 肝脏炎症脊髓灰质炎
细菌(紫细菌种群)	$\epsilon$	幽门弯曲杆菌( <i>Campylobacter jejuni</i> )	肠胃炎; 腹泻、发热、腹部疼痛
	$\epsilon$	幽门螺旋杆菌( <i>Helicobacter pylori</i> )	消化道溃疡
	$\gamma$	大肠杆菌 O157:H7	出血性肠炎; 腹泻
	$\gamma$	嗜肺军团菌( <i>Legionella pneumophilia</i> )	军团病; 发热、头痛、呼吸道疾病
	$\gamma$	伤寒沙门氏菌(沙门杆菌)( <i>Salmonella typhi</i> )	伤寒; 便血
	$\gamma$	痢疾志贺氏菌( <i>Shigella dysenteriae</i> )	痢疾; 腹部绞痛、便血
	$\gamma$	霍乱弧菌( <i>Vibrio cholerae</i> )	霍乱; 严重腹泻、迅速脱水
藻类	腰鞭毛虫	双鞭毛藻( <i>Gambierdiscus toxicus</i> )	甲藻鱼毒
	腰鞭毛虫	链状膝沟藻( <i>Gonyaulax catenella</i> )	甲壳类动物中毒
	腰鞭毛虫	费氏藻( <i>Pfiesteria piscicida</i> )	鱼中毒; 记忆丧失、皮炎
原生动动物	鞭毛纲	蓝氏贾第鞭毛虫( <i>Giardia lamblia</i> )	贾第鞭毛虫病; 腹泻、肿胀
	肉虫纲	溶组织内阿米巴( <i>Entamoeba histolytica</i> )	阿米巴痢疾; 剧烈腹痛、便血
	孢子虫纲	小隐孢子虫( <i>Cryptosporidium parvum</i> )	隐孢子虫病; 腹泻
多细胞寄生虫		曼氏血吸虫( <i>Schistosoma mansoni</i> )	血吸虫病; 发热、腹泻、皮炎

在那些感染人类的病毒中,只有少数几种是真正由水传播的。长期以来,脊髓灰质炎病毒曾被怀疑是通过水传播的,原因是该病毒能在水中长时间存活,然而该病毒的主要传播模式无疑是人们之间的直接接触。幸亏 Jonas Salk 在 20 世纪 50 年代开发出失活的脊髓灰质炎疫苗,可怕的脊髓灰质炎(小儿麻痹症)在美国的发病率才从以前的每 10 万人 1000 例以上下降到大约 1990 年以来的 0。20 世纪 60 年代,沙克氏(Salk)疫苗被口服沙宾(Sabin)减活疫苗替代。特别令水科学家们感兴趣的是,口服疫苗的使用,使大量无害的脊髓灰质炎病毒颗粒被排入城市污水,这可以用来测试处理过程去除废水中已知病毒的能力。

目前,受到较多关注的水传播病毒是传染性肝炎的致病体——甲肝病毒。最大的问题在于食用生贝类,如牡蛎,因为贝类能通过在被人类粪便污染的水体中进行过滤式捕食而富集病毒颗粒。1955 年,在印度德里爆发了一次大规模的传染性肝炎,近 3 万人被感染,当时排入河流的污水回流到给水处理厂的取水点。显然,当时进行的消毒过程还不足以杀死病毒,因此,疾病广泛传播。柯萨奇病毒、诺沃克病毒、轮状病毒和伊科病毒都与肠胃炎及其引起的腹泻有关。被污染的食物、贝类或水可能传播这些病毒。由这些病源导致的疾病,在旅游者及儿童中十分常见,因此,这些常见致病病毒携带者的情况,通常容易溯源。

细菌性水传播病原体来自肠道微生物的  $\gamma$  变形菌门。这是一个相对同类的细菌发育类群,它们呈革兰氏阴性、不形成孢子、兼性需氧、氧化酶阴性、杆菌、可以发酵糖产生各种终产物。多数能在人类肠道内良好生存,是导致痢疾及腹泻等问题的病原菌。

其中最被人熟知的是大肠杆菌,生长在所有人的肠道中。大肠杆菌一般是无害的,但是由于在人类粪便排泄物中含有大量大肠杆菌,因此,大肠杆菌的存在通常作为水体受到粪便污染的标志。通常假设如果大肠杆菌及有关大肠菌的数目少于某一规定水平,如每 100mL 有 2 个左右,饮用水就是安全的。

目前已知大肠杆菌的某些菌株是致病的,它们在食品及水中的存在引起了研究人员的关注。这里需特别指出的是大肠杆菌 O157:H7。20 世纪 90 年代,该菌曾在美国引起食物传播疾病,导致许多例由出血性腹泻引起的死亡。1998 年,在一群曾在加利福尼亚水上公园游玩过的孩子中也发生过一次疾病暴发,病菌被认为是由一个患病儿童通过游泳池传播的。常见的“旅行者腹泻”被认为是由大肠杆菌的一个致病菌株引起的,由该菌株导致的腹泻会持续 1~10d。像其他许多肠道致病菌一样,大肠杆菌借助菌毛附着在肠道内壁上,而且能产生肠毒素,引起人体脱水。

最常见且最可怕的水传播传染病是伤寒、痢疾以及霍乱。如今,被污染的食物可能是这些疾病的最主要载体,但是与水有关的传播仍然经常发生。通过充分的化学混凝、过滤以及化学消毒,能够很容易地将致病细菌从给水中去除。在全世界仍然普遍发生的水传播疾病的爆发,通常是由于水未经充分处理而引起的。有时污染源是未知的。例如,20 世纪 60 年代早期,在加利福尼亚 Riverside 地区爆发了肠胃炎,传染了 18 000 人。所有患者都是鼠伤寒(沙门)杆菌(*Salmonella typhimurium*)的携带者,供水可能是致病原因,因为在几个水样中都发现了该菌。这次发现揭示了只使用大肠菌群作为水质卫生安全指示剂的局限性,因为在配水系统中未检测到大肠菌群超标。

导致腹泻的另一种生物幽门弯曲杆菌来自  $\epsilon$ -变形菌门。这种生物通常由被污染的家禽或受感染的家畜携带,尤其是犬类。大多数儿童腹泻病例是由该生物造成的。与幽门弯曲

杆菌关系密切的幽门螺旋杆菌可能是溃疡致病菌,水是一条可疑的传播路线。

一种比较新的、与水有关的疾病是军团病。已确认的第一次大规模暴发发生在1976年美国军团大会期间。当时许多军团士兵被安置在安装了水冷却空调系统的宾馆中。致病生物生活在这种空调系统中,并通过冷气在冷却塔与房间之间的循环途径传播给受害者。因此,实际的传染路线是通过空气,而不是水。不过,这种传染代表了与水有关的问题。

基本上,在所有主要的、与藻类有关的水传播疾病中,都有腰鞭毛虫作为致病体。然而众所周知,饮用被过量蓝细菌(光养型生物)污染的池塘水会使动物生病。腰鞭毛虫一般对人类没有直接危害,但是会通过贝类的污染影响人类。膝沟藻是引起加利福尼亚太平洋海岸及佛罗里达海湾的海岸发生赤潮的原因。由于营养物质的上涌和夏季的温度使膝沟藻骤然增多,海水呈现红色。膝沟藻会产生一种毒素,有时会导致鱼类死亡,并被贝类富集。人类如果食用了被毒素污染的鱼或贝类,可能染上严重疾病。正因为这一原因,在夏季里通常禁止食用贝类。虽然有时认为由人类活动导致的海岸线周围水体中营养物质的增多是赤潮发生的原因,但是并没有证据显示赤潮是由自然因素以外的原因造成的。

费氏藻(*Pfiesteria piscidida*)所导致的问题是由JoAnn Burkholder在1991年发现。这种单细胞藻类具有24种不同生命形态,其中一种能够释放毒素。在北卡罗来纳州海岸线,该毒素已经毒死了数十亿条鱼。随后,在切萨皮克市(Chesapeake,美国弗吉尼亚州东南部城市)海湾由费氏藻的生长也导致了鱼类死亡,并已经引起更广泛的关注与新的研究。目前得到支持的一种假说是,这种有毒生命形式的生长是由含营养物农业污水的排放引起的,例如,来自畜牧养殖场的废水。马里兰健康与精神卫生部的报告认为,接触费氏藻毒素还能导致人类的健康问题,如记忆力丧失、呼吸短促以及皮疹。目前正在开展研究,以便更好地了解这种新出现的水传播疾病的特点。

与原生动物有关的疾病被世人广为了解,而且可能是目前在发展中国家出现的最严重的与水有关的问题。在热带地区,长期以来一直将阿米巴痢疾与饮用被污染的水以及食用被污染的食物联系在一起。据估计,在热带国家有10%~25%的国民携带该病的致病体。

有一种原生动物疾病——贾第鞭毛虫病,在20世纪60年代才被确认是一种疑难病,与较寒冷气候条件地区(例如,美国、加拿大以及俄罗斯)的供水污染有关。根据报道,在1965—1981年,美国暴发了53次水传播贾第鞭毛虫病,影响人数超过2万。通过水传播的主要是具鞭毛蓝氏贾第鞭毛虫的休眠期孢囊。孢囊在胃肠道中发育,导致腹泻、肠绞痛、恶心及其他不适。贾第鞭毛虫孢囊对氯化消毒处理具有抵抗能力,但是利用由化学混凝和过滤组成的有效的水处理方法能够将其去除。动物,如麝鼠与海狸,是贾第鞭毛虫细胞以及孢囊的主要携带者,经常会污染在荒野地带表面上看似洁净的水。由于这一原因,贾第鞭毛虫病经常被称为海狸热。在荒野宿营的人们常常乐于饮用清凉未经处理的饮用水,虽然这些水取自远离人类影响的溪流,但是,现在出现了大量在饮用这种水后导致贾第鞭毛虫病的病例,因此,必须警告野外宿营者:从看似洁净的环境中取的水也必须经过煮沸或过滤后才能饮用。

一种出现时间更晚的原生动物病由小隐孢子虫引起,该致病体导致了有史以来最大的一次水传播疾病的爆发。1993年,在密尔沃基(美国威斯康星州东南部港市)有大约37万人患上腹泻病,这次疾病暴发与城市供水系统有关。有大约4000人住院治疗,约100人死

于并发症。小隐孢子虫是奶牛体内一种常见的肠道病原体,它在密尔沃基供水系统中的突然出现,被认为与春季雨量大、来自农田的地表径流使流入水处理系统的小隐孢子虫数量大大增加有关。同时,混凝-过滤工艺的运行效果不理想,导致供水浊度增加。小隐孢子虫卵囊是由小隐孢子虫形成的一种孢囊,对氯化消毒处理的抵抗能力很强,因此,必须通过混凝及过滤工艺去除,才能避免感染人群。发生在密尔沃基的疾病暴发,是致使美国改变水处理工艺,通过过滤工艺达到更有效的浊度去除效果的原因。

某些其他类型的原生动物的研究,在公共健康方面也具有重要意义,而且是与水有关的。这些疾病包括疟疾——由属于疟原虫属的4种不同原动物导致的疾病。这种原动物由疟蚊传播,疟蚊吸食被感染人体的血液,将化学成分提供给疟蚊卵。疟疾不同于黄热病,黄热病由虫媒病毒导致,该病毒是已知的最小病毒,由两种不同的蚊子传播,一种是埃及伊蚊,另一种是趋血蚊。疟疾是传播范围最广的疾病之一,特别是在非洲。世界卫生组织估计,每年有超过100万的5岁以下儿童死于疟疾。20世纪60年代,国际组织认为,通过使用氯喹药及DDT控制蚊子,可以控制疟疾。但是,出现了抗氯喹的原动物及抗DDT的蚊子。现在,每年仍有超过3亿疟疾病例出现。

许多多细胞寄生虫与人类粪便及食物有关。有3个物种可能侥幸侵入人体血液:曼氏血吸虫、日本血吸虫、埃及血吸虫。由这3个物种导致的疾病,尽管特点有所不同,均称为血吸虫病。世界卫生组织估计,全世界有2.5亿人曾被感染。雄性与雌性血吸虫在人体肝脏内交配、产卵,卵随粪便排出。卵在水中孵化为毛蚴,毛蚴再设法寄生到蜗牛体内,然后转化为其他被称为无性孢囊及尾蚴的形式。尾蚴从细胞中逃脱出来进入水中,在水中附着在人类裸露的皮肤上,例如,那些在稻田里种水稻或照管水稻的人。尾蚴随后变成血吸虫,感染血液,导致发热和寒战,并随血液循环进入肝脏,在肝脏里繁殖,开始新一轮循环。血吸虫卵损害肝脏,并在肠壁上聚集,导致溃疡、腹泻及腹部疼痛。在北美洲出现的一种危害较轻的血吸虫病,通常被称为游泳者疥疮,但是该病的中间宿主是鸟,而不是人类。接触受尾蚴污染的水后,人体会产生破坏尾蚴的免疫反应,这种免疫反应会产生一种引起过敏症的物质,导致人体患上皮炎。

其他具有世界性重要意义的多细胞生物包括:肠蛔虫[似蚓蛔线虫(*Ascaris lumbricoides*)]、绦虫[猪肉绦虫(*Taenia solium*)和(*T. saginata*)],以及钩虫[十二指肠钩虫(*Ancylostoma duodenale*)和美洲钩虫(*Necator americanus*)]。这些生物生长在人体肠道内,随粪便一起排出,并污染食物及土壤,特别是当人体粪便被用作生吃蔬菜的肥料时。由于这种现象普遍存在于世界上许多国家,所以寄生虫感染也是十分普遍的,在许多国家有40%~50%的人口被感染。还有一种引起关注的寄生虫病是旋毛虫病,由蛔虫旋毛形线虫(*Trichinella spiralis*)引起。这种寄生虫生长在猪的肠道内,当人类食用烹调不良的猪肉时,孢囊进入人体肠道内。随后发育成成虫,引起肠痛、呕吐、恶心以及便秘。孢囊随人体粪便排入环境,污染垃圾及喂猪的其他食物。

尽管环境工程师和科学家在控制某些水传播疾病及与人类粪便有关的疾病方面已经取得了很大成功,但是本节指出的由不良卫生状况引起的问题,在世界范围内仍在发生。尽管我们似乎已经成功地控制了某些疾病,但也还有可能发生其他疾病。因此,仍需要新的知识以及努力。而且,使用化学品(如杀虫剂和抗生素)进行控制经常是暂时的。生物已经反复证明它们有能力形成能抵抗化学品的新品系。同时,不断增加的世界人口及对水的需求,意

味着我们越来越需要从更多的受污染水源地抽取供水。因此,为人类提供安全水的挑战将持续存在,我们永远不能停下脚步。

## 参考文献

- Bergey, D. and J. G. Holt, Eds. (2000). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Madigan, M. T. ; K. S. Bender; D. H. Buckley; W. M. Sattley; and D. A. Stahl (2018). *Brock Biology of Microorganisms*, 15th ed. New York: Pearson.
- Madigan, M. T. ; M. Martinko; and J. Parker (1997). *Brock Biology of Microorganisms*, 8th ed. New York: Prentice-Hall.
- Madsen, E. L. (2016). *Environmental Microbiology: From Genomes to Biogeochemistry*, 2nd ed. Hoboken, NJ: Wiley Blackwell.
- Neidhardt, F. C. and R. Curtiss, III (1996). *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*. Washington, DC: ASM Press.
- Olsen, G. J. and C. R. Woese (1993). "Ribosomal RNA: A key to phylogeny." *FASEB J.* 7, pp. 113-123.
- Pepper, I. L. ; C. P. Gerba; T. J. Gentry; and R. M. Maier, Eds. (2011). *Environmental Microbiology*, 3rd ed. Burlington, MA: Academic Press.
- Woese, C. R. ; O. Kanela; and M. L. Wheeler (1990). "Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya." *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 87, pp. 4576-4579.

# 第3章 生物化学、代谢、遗传学和信息流

## 3.1 生物化学

所有微生物的生长必须要消耗能量,或者是储存在无机或有机分子中的势能,或者是像太阳光这样的辐射能。生物通过氧化-还原反应,转化化学物质获得能量。生物还将部分能量用于自我繁殖。

在环境生物技术领域,氧化-还原反应及新生物量的产生,可以由微生物消耗,即我们认为 是污染物的物质来完成。在某些情况下,它们可产生宝贵的资源。微生物系统能够带来的环境益处包括:

- 将有机废物转化为甲烷——一种有用的燃料;
- 将易腐烂的有机物转化为无害的无机化合物;
- 去除废水中的氮、磷营养物,避免刺激藻类在地表水中过度生长;
- 降解土壤及地下水中的有毒化学污染物。

只有通过 对微生物产能与耗能反应的理解,我们才能创造条件,保护环境并改善环境。简单地说,我们必须了解微生物的生物化学过程。

酶可以催化所有关键反应——无论是能量捕获过程中的氧化-还原反应,还是新细胞合成过程中的各类反应。在下一节中,我们将介绍微生物利用的酶的特性及其功能。这一节为后面几节奠定基础,在后面几节中将介绍新陈代谢的不同方面,还将介绍细胞捕获能量和电子,并将之用于产生新细胞并维持新细胞生命活动的各种反应。

### 3.1.1 酶

酶是微生物产生的有机催化剂,微生物利用酶加速在细胞内发生的数千个独立的产能反应及细胞构建反应的反应速率。酶构成了细胞内最大、最专业的蛋白质分子群体。蛋白质是由 20 多种不同氨基酸亚单位的混合物形成的聚合物。酶是大型高分子物质,相对分子质量一般为  $1.0 \times 10^4 \sim 1.0 \times 10^6$ 。图 3.1 是用计算机绘制的己糖激酶结构图。酶具有由氨基酸长链序列记录的一级结构。酶还具有二级结构,是由氨基酸链盘旋形成的三维构型,

并通过在邻近的氨基酸与双硫键之间形成氢键得以保持,双硫键常见于某些氨基酸的分子结构中。许多蛋白质还具有三级结构,由蛋白质自身折叠形成并再次通过氢键保持。酶的结构很容易受物理或化学环境变化的影响,尤其是温度和 pH,也容易受许多化学物质的影响,这些化学物质可能连接到蛋白质分子上而改变蛋白质的二级或三级结构。改变二级和三级结构导致酶失去催化能力的方式称为变性。

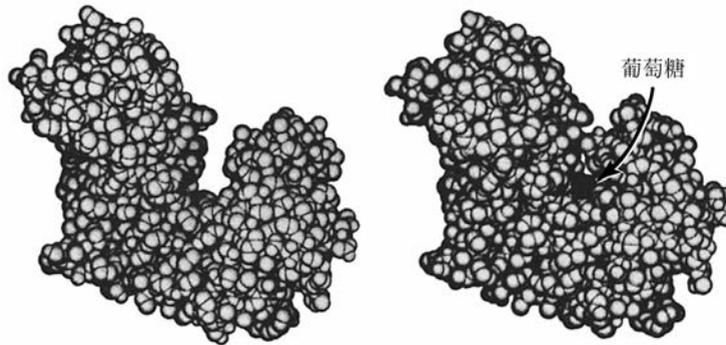


图 3.1 用计算机绘制的己糖激酶结构图(在糖酵解的第一步中,己糖激酶将葡萄糖与 ATP 转化为葡萄糖-6-磷酸,图中所示的是葡萄糖分子与酶结构连接的位置以及由此引起的酶的构型变化)

(资料来源:由 Thomas Steitz 博士提供)

酶有两个重要特性,即酶的专一性和酶可催化反应的速率。专一性意味着酶能够引导一种化学物沿着理想的途径转化。速率是理想化学反应发生的速度。在一种由有机与无机化合物组成的特定混合物(如废水)中,许多反应在热力学上是可能的,但是在标准温度及压力条件下无法以有限速率自发发生。然而,在具有适当的酶且酶的数量合适的情况下,微生物能够控制并指引化学反应按照一定的路径完成。例如,微生物能够吸收单糖分子,并将其一步一步地氧化为二氧化碳和水。对于每一个受酶控制的氧化步骤,酶能捕获电子和能量。然后,将这些电子和能量用于转化其他糖分子以及氮源、磷源和其他元素,形成微生物繁殖与生长所需的蛋白质、脂类、碳水化合物以及核酸。酶并不能增加一个特定反应释放能量,但是酶能将资源(电子、能量以及元素)进入无效路径的可能性减到最低。通过酶催化剂的控制,细胞能最大限度地利用获得的资源。

一个单个的酶分子每秒能催化  $1.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^5$  次分子转化。酶在反应过程中并不被消耗,且能使反应高速率进行,这可以解释为什么细胞对每种酶的需要量均非常小。

一些酶只依赖自身的蛋白质结构就能发挥活性,而另外一些酶还需要非蛋白质成分才能发挥活性。如果这种非蛋白质部分是金属离子,称之为辅助因子。表 3.1 列出了各种金属离子(辅助因子)以及与它们有关的酶。如果非蛋白质结构是有机成分,则称为辅酶或辅基。辅基非常紧密地联结在酶上,通常是永久性的。辅酶的联结相当松散,一种特定辅酶,在不同时间可以与几个不同酶结合。辅酶经常作为中间载体,将一些小分子从一个酶带到另一个酶。表 3.2 总结了一些主要的辅酶及它们参与的特定的酶反应。辅酶通常负责将电子、元素或官能团从一个分子转移到另一个分子,或从细胞的一处转移到另一处。许多辅酶含有的活性部分——一种痕量的有机物质,通常被称为维生素。当细胞辅酶需要维生素,且

细胞自身不能进行合成时,必须向细胞提供这种物质。

表 3.1 金属辅助因子、它们激活的酶以及酶的功能

金属辅助因子	酶及其功能
Co	转羧(基)酶,维生素 B <sub>12</sub>
Cu	细胞色素氧化酶,参与呼吸作用的蛋白质,一些过氧化物歧化酶
Fe	激活许多酶,过氧化氢酶、加氧酶、细胞色素、固氮酶、过氧化物酶
Mn	激活许多酶,产氧光合作用,一些过氧化物歧化酶
Mo	硝酸盐还原酶、甲酸脱氢酶、氧转移酶、钼固氮酶
Ni	一氧化碳脱氢酶、大多数氢化酶、产甲烷菌的辅酶 F <sub>430</sub> 、尿素酶
Se	某些氢化酶、甲酸脱氢酶
V	钒固氮酶、一些过氧化物酶
W	极度嗜热菌的氧转移酶、一些甲酸脱氢酶
Zn	RNA 与 DNA 聚合酶、碳酸酐酶、乙醇脱氢酶

表 3.2 参与基团转移反应的辅酶

被转移的基因	辅 酶	缩 写
氢原子(电子)	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸,辅酶 I	NAD
	烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸	NADP
	黄素腺嘌呤二核苷酸	FAD
	黄素单核苷酸	FMN
	辅酶 Q	CoQ
	辅酶 F <sub>420</sub>	F <sub>420</sub>
酰基	硫辛酰胺	HS-CoA
	辅酶 A	
一个碳的基团	四氢叶酸	CoM
	甲基咪喃	
	四氢甲基蝶呤	
	辅酶 M	
CO <sub>2</sub>	生物素	
甲基	S-腺苷蛋氨酸	
葡萄糖	二磷酸尿苷葡萄糖	
核苷	核苷酸三磷酸	
乙醛	硫胺素焦磷酸	

酶通常以词根加后缀-ase 命名,词根是所催化的反应,或者是所转化的基质(反应物)。例如,脱氢酶(dehydrogenase)将分子上的两个氢原子及有关的两个电子去除;羟化酶(hydroxylase)去除两个电子并加入来自水分子的羟基;蛋白酶(proteinase)将蛋白质水解形成氨基酸。一个更正式的酶命名系统用于进行更精确的酶分类。水解酶(hydrolase)是一种特别重要的酶,通过水分子的介入,破坏复杂的碳水化合物、脂类以及蛋白质聚合物,生成比较简单的构造单元;氧化-还原酶(oxido-reductase)也很重要,参与非常重要的氧化-还原反应,供给细胞能量,而且在合成和维持过程中也必不可少。

微生物的主要能源是通过氧化-还原反应提供的,包括电子从一个原子到另一个原子,或从一个分子到另一个分子的转移。电子载体将电子从一种化合物转移到另一种化合物。

当有这种载体参与时,将最初的供体称为初始电子供体,将最终的受体称为终端电子受体。例如,在乙酸的好氧化过程中,乙酸分子上的电子及氢原子通过一系列复杂的酶反应去除,反应有各种电子载体参与,电子载体运载电子通过细胞色素系统,在细胞色素系统中能量被捕获,并传递给能量载体。在能量被提取之后,被用过的电子最终与氧分子结合形成水。在这个例子中,乙酸是初始电子供体,氧分子是终端电子受体。

水解反应产生很少或不产生能量,不被细胞作为主要能源使用。不过,水解反应可以分解复杂聚合物,从而使水解的部分产物能够被再次利用,合成新的聚合物或产生能量。水解酶可以是细胞外的,也可以是在细胞壁外起作用的外酶,将大分子分解成可以穿过细胞壁的小分子。细胞外酶可能被束缚在细胞外或释放到溶液中。一些水解酶也可能是细胞内的,或在细胞内起作用的内酶。

氧化-还原酶是胞内酶,尽管这种酶经常与细胞质膜结合或横跨细胞质膜。在某些情况下,氧化-还原酶与细胞膜两边的物质均能反应。有些酶与细胞壁紧密结合,既能当胞外酶,也能当胞内酶,这取决于酶催化反应发生的位置。

### 3.1.2 酶的反应性

酶对某种基质的反应性包括专一性与动力学。传统观点认为,基质分子或分子的一部分以“锁-匙”模式与酶的活性部位结合。体积较大的酶包围着体积较小的基质分子,后者刚好装配在蛋白质的三维结构中。辅酶、辅助因子或共基质与基质接触,通过彼此之间的静电力或振动力降低活化能,允许在基质分子的特定部位上发生特定的转化过程。

有些酶具有高度的专一性,而有些酶则缺乏专一性,这值得关注。有些酶对某一特定分子具有近乎完全的专一性,对结构非常相似的分子不起作用。有的酶能够对一类分子起作用。对于能够与各种不同分子反应的酶,每一种基质分子经常对应于不同的反应速率,这可能是由于活性部位上装配的基质不同。

酶催化反应的动力学在通常情况下与其他化学反应遵循同样的原则。在很多情况下,用于描述单分子转化单基质的动力学,也能很好地描述微生物的生长速率及基质利用速率。因此,酶催化作用的动力学在描述独立反应及复杂生物化学过程方面引起了人们的关注。

酶反应的一个特点是基质饱和现象,如图 3.2 所示,为基质浓度对酶催化反应速率的表观影响。当基质浓度很低时,反应速率随基质浓度的增加呈正比例上升。因此,反应速率与基质浓度之间呈一级反应动力学关系。随着基质浓度的增加,反应速度的增加开始减缓,呈现混合级反应关系。当基质浓度较高时,基质相对于酶呈现饱和状态,反应速率不再增加。这时的速率是该反应的最大速率。反应速率与基质浓度呈现零级反应关系。这种饱和现象是所有酶催化反应都具有的。

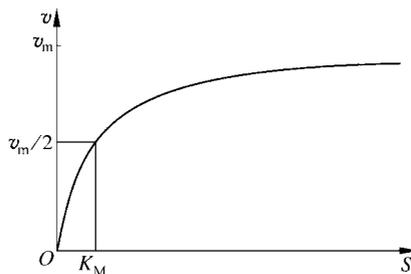


图 3.2 基于米-门动力学的基质浓度(S)对酶转化速率(v)的影响(当 S 等于  $K_M$  时,  $v$  是最大反应速率  $v_m$  的一半)

Michaelis 和 Menten 认识到了这种饱和现象,并于 1913 年建立了酶作用与动力学的普遍理论,后来由 Briggs 与 Haldane 进行了扩展。这一理论假设酶 E 首先与基质 S 反应,形成一种酶-基质复合物 ES,随后,ES 分解,形成游离的酶和产物 P:



两个反应都是可逆的,变量  $k$  代表各反应的速率常数。在 Briggs 与 Haldane 建立的方程中, $[E]$ 是酶的总浓度, $[ES]$ 是酶-基质复合物的浓度,两者之间的差值 $[E]-[ES]$ 是游离酶的浓度。

因此,由 E+S 形成 ES 的速率可以表示为:

$$-\frac{d[ES]}{dt} = k_1([E] - [ES])[S] \quad (3.3)$$

由 E+P 形成 ES 的速率非常小,可以忽略。因此,ES 的分解速率可以表示为:

$$-\frac{d[ES]}{dt} = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \quad (3.4)$$

当形成 ES 的速率恰好等于其分解速率时,系统中 ES 的浓度达到稳态,而且

$$k_1([E] - [ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \quad (3.5)$$

整理式(3.5)得到:

$$\frac{[S]([E] - [ES])}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = K_M \quad (3.6)$$

常数  $K_M$  是 3 个速率常数的综合,称为米-门常数。求解式(3.6),得到 ES 复合物的浓度为:

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M + [S]} \quad (3.7)$$

我们感兴趣的是反应的总速率,也就是产物 P 的生成速率。反应速率  $v$  可以表示为

$$v = k_2[ES] \quad (3.8)$$

将式(3.8)与式(3.7)结合,可以得到

$$v = \frac{k_2[E][S]}{K_M + [S]} \quad (3.9)$$

式(3.9)对于描述酶反应速率是最有用的,因为两个常数酶浓度( $k_2$  和  $K_M$ )和基质浓度( $[E]$ )都是容易测定的量。

如果基质浓度非常高,以至于所有酶基本上都以 ES 复合物形式存在,也就是说, $[ES]=[E]$ ,那么可以得到最大速率  $v_m$

$$v_m = k_2[E] \quad (3.10)$$

将式(3.9)除以式(3.10),得到

$$v = v_m \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad (3.11)$$

式(3.11)就是米-门方程,定义了基质浓度与反应速率之间的定量关系,并与最大可能速率有关。

有一种情形很重要, 即当  $v=1/2v_m$  时,

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_M + [S]}, \quad v = \frac{1}{2}v_m \quad (3.12)$$

这表示当  $v = \frac{1}{2}v_m$  时,

$$K_M = [S] \quad (3.13)$$

因此, 当反应速率等于最大反应速率的一半时, 常数  $K_M$  等于基质浓度。  $K_M$  代表基质与酶之间的亲和力。当  $K_M$  值低时, 亲和力非常强, 此时最大速率可以在基质浓度较低的情况下达到; 当  $K_M$  值高时, 亲和力弱。

当酶转化多种基质时, 每种基质的  $K_M$  和  $v_m$  是不同的。不过, 这些常数是独立于基质浓度的。亲和力与最大速率之间的关系如图 3.2 所示。

从基本原理出发推导式(3.9)~式(3.13)的过程, 可以作为获得其他许多有用关系式的模式。上面处理的简单例子足以描述许多酶催化反应, 较复杂的反应可能有几种基质和酶参与, 但是, 依旧可以采取相似的方法对这些复杂反应进行数学处理, 只是最终结果可能很复杂, 而且可能需要利用计算机才能求解。

酶催化反应依赖于 pH 与温度, 因为这两个因素对酶的二级及三级结构的影响很大。许多酶在中性 pH 条件下具有最佳活性, 无论 pH 从这一最佳点上升还是下降, 酶的活性都会降低。另外, 有些酶在较高 pH 条件下活性最佳, 有些酶在较低 pH 条件下活性最佳。还有一些酶可能几乎不受 pH 变化的影响。在本章前面提到的微生物对 pH 的敏感性, 在某种程度上, 就是在微生物全部新陈代谢中包含的多种酶反应的综合结果。温度也影响单一酶的活性, 影响方式类似于温度对微生物影响的总效应。在温度达到酶蛋白开始失活之前, 温度每升高  $10^\circ\text{C}$ , 反应速率大约增加 1 倍。温度的这种积极效应类似于所有反应的温度效应。不过, 反应速率会在最佳温度范围内达到最大值, 当温度高于最佳值时, 酶开始变性, 随后酶的活性被破坏并最终完全失活。

化学试剂也可能降低酶的反应性, 这是有毒化学物对生物处理系统产生负面影响的一种方式。如果化学试剂不破坏酶, 去除化学试剂, 酶的反应性可以恢复。可逆抑制的两种常见类型是竞争性抑制与非竞争性抑制。

在竞争性抑制中, 与正常的酶基质结构相似的化学物质会与基质竞争酶上的活性部位。例如, 络合在甲烷单加氧酶活性部位上的三氯乙烯, 阻止了酶与甲烷的结合, 导致甲烷氧化速率的降低。不过, 如果甲烷浓度增加, 甲烷的反应速率也会增加, 因为甲烷能将三氯乙烯从酶上置换下来。根据与上文类似的基本原理建立起来的一种竞争-抑制模式, 可以得到下列结果:

$$v = v_m \frac{[S]}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) + [S]} \quad (3.14)$$

式中,  $[I]$  是竞争抑制剂的浓度;  $K_I$  是竞争抑制常数, 具有与  $[I]$  相同的浓度单位。随着  $[I]$  的增加, 反应速率降低, 降低的方式与式(3.12)中  $K_M$  增加时反应速率降低的方式相似。如果  $[S]$  足够大, 抑制剂被从活性部位上去除, 基质转化速率可以达到最大。

在非竞争性抑制中, 化学试剂通过与金属激活剂络合发挥作用, 或通过结合在酶的非活性部位上发挥作用。随后, 酶对基质的反应性会降低。例如, 氰化物影响需要铁才能激活的

酶,因为它能够与这种金属形成一种强络合物。金属,如  $\text{Cu}(\text{II})$ 、 $\text{Hg}(\text{II})$ 、 $\text{Ag}(\text{I})$ ,与半胱氨酸(蛋白质中的一种常见氨基酸)的巯基( $-\text{SH}$ )结合,从而影响酶的活性。在非竞争性抑制中,基质浓度的增加并不能抵消抑制剂的作用。建立在基本原理基础上的非竞争性抑制模式可以表示为:

$$v = v_m \left( \frac{1}{1 + \frac{[I]}{K_i}} \right) \left( \frac{[S]}{K_M + [S]} \right) \quad (3.15)$$

$[I]$ 的增加将显著降低  $v_m$  的值。

通过比较抑制剂影响酶反应速率的方式是改变有效  $K_M$  还是改变有效  $v_m$ ,能够确定抑制剂是竞争性的还是非竞争性的。不过,有些类型的抑制是以上两种情况的结合,使得有时很难判断抑制作用的确切特点。

### 3.1.3 酶活性的调节

微生物能产生几百种不同的酶,必须采取协调措施,以调节每种酶的产量,从而使生物能够对基质类型及浓度变化、环境条件变化,以及生物运动、生长与繁殖过程中能量需要的变化产生适当的反应。细胞不能一直都生产所有可能的酶。生物必须能够在需要时合成足够数量的某些酶,而在不再需要时停止合成这些酶,从而避免能量的无效转化,并保存有限的空间。合成各种酶的数量也必须适当,从而保证细胞所需的各种物质的产生量合适。产生量过多是浪费,而产生量不足会使细胞无法完成必要的功能。因此,细胞必须具有广泛的酶调节能力。这种调节功能非常重要,这也是在细胞 DNA 包含的信息中,有一大部分被用于酶调节的原因。

本章的 3.4 节中,将详细介绍细胞对酶合成的调节作用。简单地说,细胞通过生物化学方法控制是否按照细胞 DNA 上的相应密码来合成某种酶。为了保护细胞资源,酶不断地被分裂产生氨基酸组分。如果一种酶没有按照 DNA 上的指示被再次合成,它就会被分解,并在几分钟到几小时内消失。

细胞经常需要在短时间内控制现有酶的活性,这无法通过调节酶的合成与衰减来完成。因此,现有酶的活性可以通过可逆或不可逆的方式来控制。可逆过程包括产物抑制和反馈抑制。在产物抑制中,一种酶的产物积累能够降低该酶的活性。通常情况下,产物通过非竞争性抑制与酶发生反应。反馈抑制是类似的,不过是在沿着反应链的几个步骤中均有产物积累,降低了反应链中初始酶的活性。当细胞需要迅速提高某种酶的活性时,细胞能够降解抑制该酶的活性的蛋白质。不可逆过程包括加速不需要的酶的降解过程。

## 3.2 能量捕获

包括微生物在内的所有活生物均需要捕获氧化-还原反应释放的能量。电子从初级电子供体上释放,并被转移给细胞内的电子载体。载体将电子传送给电子受体,电子受体被还原,载体得以再生。转移步骤中包括自由能的释放,被细胞以能量载体的形式捕获。

### 3.2.1 电子与能量载体

电子载体包括两种不同的类型,一种自由扩散在细胞的整个细胞质中,另一种附着在细胞质的酶上。自由扩散载体包括烟酰胺腺嘌呤二核苷酸( $\text{NAD}^+$ ,简称辅酶)和烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸( $\text{NADP}^+$ )。 $\text{NAD}^+$ 参与产能反应(分解代谢),而 $\text{NADP}^+$ 参与生物合成反应(合成代谢)。附着在细胞质膜上的电子载体包括 $\text{NADH}$ 脱氢酶、黄素蛋白、细胞色素和醌。某个特定细胞使用的电子载体的种类,取决于初级电子供体与末端电子受体的相对能级。当能级差异非常大时,更多电子载体能够参与反应。

$\text{NAD}^+$ 与 $\text{NADP}^+$ 的反应如下:



$\text{NAD}^+$ (或 $\text{NADP}^+$ )从正在被氧化的分子中提取两个质子和两个电子后,被转化为还原形式 $\text{NAD(P)H} + \text{H}^+$ 。反应自由能是正的,意味着必须从有机分子中获取能量才能形成 $\text{NAD(P)H}$ 。当 $\text{NAD(P)H}$ 反过来向另一个载体提供电子,其本身被氧化为 $\text{NAD(P)}^+$ 时释放化学能,可能被转化为其他有用形式。

如果氧气是终端电子受体,在电子通过一系列电子载体被传递给氧气的过程中释放的能量,可以通过 $\text{NADH}$ 半反应与氧气半反应的总自由能变化来计算:



净反应:



因此,在有氧呼吸中,随电子一起从有机化学物质转移给 $\text{NADH}$ 的能量,被释放给后面的电子载体,并最终传递给氧气,在这个例子中,1mol $\text{NADH}$ 产生219kJ能量供生物利用。

这一能量是怎样被捕获的?能量捕获通过将能量从中间电子载体转移到能量载体完成。一种主要的能量载体是三磷酸腺苷(ATP)。电子载体释放能量后[式(3.16)],能量被用于将一个磷酸盐基团加入二磷酸腺苷(ADP)

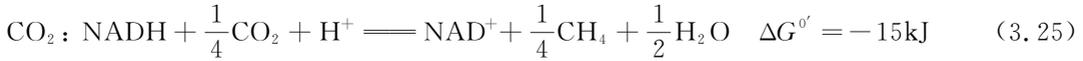
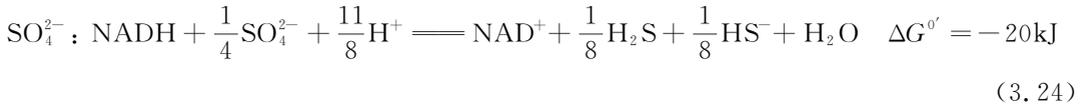


或者简单表示为



在这个反应中,1mol $\text{ADP}$ 只吸收32kJ能量,而当氧气作为末端电子受体时[式(3.20)],1mol $\text{NADH}$ 释放的能量是 $\text{ADP}$ 吸收能量的6倍以上。因此,理论上,在有氧条件下,1mol $\text{NADH}$ 可以形成大约6mol $\text{ATP}$ 。不过,实际上只形成3mol $\text{ATP}$ ,因为在实际反应中不能将标准自由能完全捕获。因此,我们看到的是,在 $\text{NADH}$ 将能量传递给 $\text{ATP}$ 的过程中,只有大约50%的能量被实际捕获。

有一个值得关注的问题是,在厌氧条件下,由 $\text{NADH}$ ,或电子受体 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 和 $\text{CO}_2$ 能形成多少 $\text{ATP}$ 。这或许可以通过计算其他已知电子受体接收来自 $\text{NADH}$ 的电子时释放的总自由能来估计:



这种能量分析表明,以  $\text{NO}_3^-$  为电子受体时,可获得的能量与以氧气为电子受体时相似,但是以  $\text{SO}_4^{2-}$  或  $\text{CO}_2$  为电子受体时,产生的能量则要少得多。由于产生 1mol ATP 需要 32kJ 能量,而在后面两种情况下可获得的能量太少,1mol NADH 甚至不能形成 1mol ATP。这一结果令生物化学家们困惑了一阵子,事实上,有很多人认为, $\text{SO}_4^{2-}$  与  $\text{CO}_2$  的还原过程不可能支持能量捕获。然而, $\text{SO}_4^{2-}$  还原菌及  $\text{CO}_2$  还原菌已众所周知。1961 年,英国科学家 Peter Mitchell 解决了这个问题,提出了“ATP 的形成与通过电子转运反应建立的跨越细胞膜的‘质子动力’有关”,并因此而获得了诺贝尔化学奖。

式(3.18)显示,在 NADH 释放电子被氧化为  $\text{NAD}^+$  的过程中,也释放质子。质子释放到细胞膜外,导致细胞膜两侧电荷不平衡及 pH 值梯度。这一现象与电池充电过程十分相似。储存在质子梯度中的化学能被细胞用于离子穿过细胞膜的转运过程、鞭毛运动以及 ADP 形成 ATP 的过程[式(3.22)]。关键在于电子从 NADH 到末端受体的转运过程与 ATP 分子的形成没有直接关系。相反,ATP 的形成独立于电子转移过程。质子动力随着所需电子转移过程的发生而增大,直到满足 ATP 的形成为止。然后,电子从一个载体运动到下一个载体的作用是产生创造跨膜势能所需的外部质子。

在 ATP 中捕获的化学能,被细胞用于细胞合成与维持。ATP 散布在细胞中,当需要 ATP 的能量时,细胞从 ATP 中提取能量,释放磷酸盐分子,将 ATP 转化为 ADP。这个过程在图 3.3 中进行了描述。在 3.2.2 节中,我们将介绍如何利用 ATP 为合成过程提供能量。

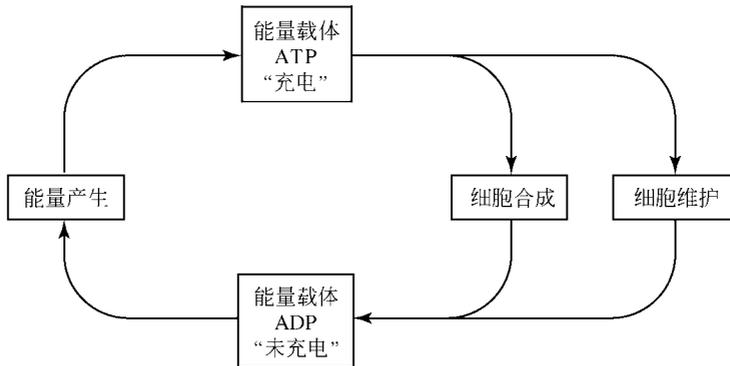


图 3.3 利用能量载体 ATP 将能量从产生到用于细胞合成或维持的转移过程

### 3.2.2 能量与电子投入

某些产能反应需要 ATP 及 NADP 才能启动。例如,在脂肪酸氧化过程中,首先由辅酶 A (CoA) 活化脂肪酸,然后脂肪酸才能被其他酶进一步氧化,而在脂肪酸活化过程中需要

ATP 与脂肪酸基质(R—COOH)形成复合物:



能量投入的另一个例子是在启动碳氢化合物降解(加氧)反应的过程中发生的一组重要反应。加氧酶能催化将氧气中的氧直接加入有机分子的过程。这是脂肪族碳氢化合物,如汽油与天然气中的多数组分;许多芳香族化合物,如苯;多环芳烃,如萘、蒽;多数卤代芳香化合物,氧化过程中关键的第一步。由于引入第一个 O 在化学上很难,因此细胞必须投入电子以插入 O 并使化合物易于进一步氧化和生成 NADH。电子的投入也是能量的投入,因为这些电子不能通过呼吸作用产生 ATP。

加氧酶有两种类型:单加氧酶,催化 O<sub>2</sub> 分子中的一个原子转移到反应分子的过程;双加氧酶,可以催化 O<sub>2</sub> 分子的两个原子加合到一个反应分子的过程。单加氧过程需要投入 NADH 及能量。甲烷单加氧过程的例子证明了这种投入。如果甲烷通过常规羟化反应氧化为甲醇(CH<sub>3</sub>OH),可以产生一个 NADH:



但是,在单加氧过程中,要消耗 NADH 及 O<sub>2</sub>:



来自 CH<sub>4</sub> 的两个电子和来自 NADH 的另外两个电子用于将 O<sub>2</sub> 还原为 H<sub>2</sub>O。微生物逐步将 CH<sub>3</sub>OH 氧化为甲醛、甲酸和 CO<sub>2</sub>,并通过氧化过程获得 3 个 NADH 的能量。对于单加氧过程,必须在第一步中投入其中的 1 个 NADH,因此,NADH 的净产生数是 2 个。对于常规的羟化过程,一共产生 4 个 NADH。因此,正常的单加氧使微生物损失了潜在 NADH (和能量)产量的一半。然而,微生物的一个好处是它仍然能够使用 CH<sub>4</sub> 作为基质。

在双加氧反应中,两个羟基基团被引入反应分子,NADH 既没有净产生也没有净消耗。例如,甲苯的双加氧过程产生儿茶酚:



不过,甲苯通过两次正常羟化过程产生儿茶酚,能够生成 2 个 NADH:



因此,在从甲苯到儿茶酚的双加氧反应中投入了 2 个 NADH,理论上可以由这 2 个 NADH 形成 ATP。总体而言,NADH 产量从每摩尔 C<sub>7</sub>H<sub>8</sub> 的 36 降至 32,但微生物仍然能够利用甲苯。

有关单加氧和双加氧的更多信息,请参见附录 B2 章节(见网络版)。

### 3.3 新陈代谢

新陈代谢是细胞内所有化学过程的总称。它可以分为分解代谢,指通过基质氧化或利用太阳光获得能量的所有过程;合成代谢,包括由碳源合成细胞组分的全部过程。因此,分解代谢提供合成代谢需要的能量,分解代谢还提供运动以及任何其他耗能过程需要的能量。

在分解代谢过程中,产能基质通常逐步被氧化,通过形成中间体(代谢物),最终产生终产物。伴随着氧化过程,释放的化学能通过电子转移储存到电子载体(如 NADH)中,并通过形成富能的 P-P 键(如 ATP)储存。随后,电子及磷键的键能可能被转移到细胞的其他部分,在那里被用于细胞合成、维持或运动。

分解代谢与合成代谢之间的能量转移称为能量偶联。图 3.3 是一张描述分解代谢、合

成代谢与能量偶联之间关系的简图。细胞生长与维持需要的能量,可以通过化学物质的氧化(化能营养型生物)获得,或者通过光合作用(光养型生物)获得。在化能营养型生物的分解代谢中,微生物通过氧化有机物(化能有机营养型生物)或无机物(化能无机营养型生物)获得能量。在每种情况下,释放的化学能均通过能量偶联转移,通常需要借助一种辅酶,如ATP。然后,ATP的能量释放出来,用于合成代谢过程,如细胞合成或维持。

化能有机营养型生物分解代谢过程是相当复杂的,原因是有许多不同有机化合物能够被氧化产生电子与能量。合成代谢过程包括许多不同有机化合物的合成,如蛋白质、碳水化合物、脂类、核酸等,也相当复杂。不过,如果只从新陈代谢每一条路径的各个步骤的细节中提取共性特点,则可以得到一幅描述分解代谢与合成代谢过程的简图。

图3.4所示就是这样一张图,是由Hans A. Krebs提出的一条分解代谢途径,Krebs在20世纪30年代对有机物分解代谢过程中的生物化学理论做出了重要贡献。图3.4介绍了有机物有氧分解代谢过程中的3个基本阶段。任何可用作基质提供电子与能量的有机物均适用这张图。从无机化合物或通过光合作用获得电子与能量的分解代谢过程,不遵循图3.4中所示的分解代谢步骤。

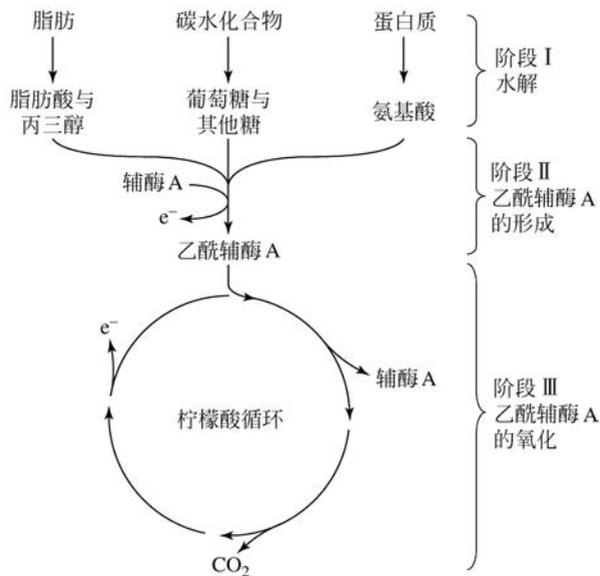


图3.4 好氧条件下脂肪、碳水化合物、蛋白质分解代谢的3个阶段,反之为合成代谢过程

在有机物分解代谢过程的第I阶段,通常是通过水解作用,将大分子或复杂分子降解为基本结构单元,在这个过程中即使产生能量也非常少。脂肪变成脂肪酸和丙三醇;碳水化合物变成葡萄糖和其他己糖和戊糖;蛋白质分解成它们的氨基酸。在第II阶段,这些较小的分子被转化为少量较简单化合物。大部分脂肪酸以及氨基酸被转化为乙酰辅酶A,乙酰辅酶A是乙酸的辅酶A复合物。己糖、戊糖以及丙三醇被转化为三碳化合物——甘油醛-3-磷酸以及丙酮酸,它们也能够被转化为乙酰辅酶A。氨基酸也能够被转化为乙酰辅酶A,以及几种其他产物,如 $\alpha$ -酮戊二酸、琥珀酸、延胡索酸或草酰乙酸。在第II阶段的转化过程中可以释放一些能量供细胞使用。最后,在第III阶段,第II阶段的产物进入一条共同途径,通过这条途径,这些物质被氧化,最终生成CO<sub>2</sub>和H<sub>2</sub>O。第III阶段中的这条最终途径被称

为柠檬酸循环或 Krebs 循环(三羧酸循环),产生数量最大的电子以及能量,供细胞利用。

化能有机自养型生物(如细菌)的合成代谢也是三阶段过程,类似于图 3.4 中描述的步骤,但是从相反方向发生。利用少量化合物,从第Ⅱ阶段末期或第Ⅲ阶段开始,细胞可以反过来合成结构单元。利用这些结构单元,可以构建脂类、多糖、蛋白质以及核酸大分子等细胞的基本组分。由于合成代谢是分解代谢的逆过程,因此需要消耗能量。

化能有机自养型生物经常能够利用单一有机化合物——例如,一种脂肪酸、单糖或氨基酸——作为唯一能源与碳源。这里,一部分简单基质通过分解代谢三步骤的全部或部分步骤氧化,产生能量,这取决于氧化过程从分解代谢途径的哪一步开始。另一部分简单基质随后被转化为第Ⅱ阶段以及第Ⅲ阶段的中间物,可以作为合成细胞需要的所有脂类、多糖、蛋白质及其他物质的起始物。

不过,在有些情况下,可能无法合成某种特定的结构单元,原因可能在于生物缺乏合成某种关键酶的能力。在这种情况下,生物要想生长,就必须从其他来源获得该结构单元。例如,有些细胞缺乏合成关键维生素或氨基酸的能力,必须给细胞提供这些物质,可能由另一种生物提供或由生长培养基提供。许多较高等动物,包括人类,缺乏合成许多种重要有机化合物的能力。所有这些必不可少的维生素以及生长因子,必须通过食物提供。尽管个体很小而且比较简单,大多数细菌却能够合成它们需要的所有物质。

尽管图 3.4 所示的分解代谢与合成代谢图似乎意味着合成代谢是分解代谢的简单逆转,但实际上不完全正确。沿着某一特定路径参与一个方向的转化过程的酶,不一定是参与相反方向的转化过程的酶。这种现象的出现可能是因为,一种能够有效分裂分子的酶可能在合成该分子的过程中却不是最有效的,所以进化出不同的而且更专一的酶,分别参与两个独立过程。另外,分解与合成过程可能在细胞内的不同位置发生,尤其是在真核细胞中。还有,生物在合成过程中对各种结构单元的需要不同于其对能量基质的需要。因此,合成一种特定细胞组分需要的酶的数量,可能与降解过程需要的酶的数量有很大不同,这显示了分解代谢与合成代谢具有各自独立的路径,这具有明显的优越性。

尽管分解代谢与合成代谢路径是分开的,但是在第Ⅱ阶段末期以及第Ⅲ阶段中出现的相似代谢物使这两个过程具有了一个汇合点。三阶段系统的整体设计还显示了生物如何能够适应降解多种有机物质。基本要求是将分子转化为某种形式,能够从某点上进入生物新陈代谢系统的共同路径。

现在,我们要较详细地探讨分解代谢、合成代谢以及能量偶联系统的一些内容,目的是获得整个系统如何工作,以及如何在环境控制的微生物系统中使用等更深层的概念。

### 3.3.1 分解代谢

化能无机营养型生物的分解代谢依赖于生物环境中化学物质的氧化与还原过程。氧化过程失去电子,还原过程得到电子。被氧化的物质称为电子供体,被还原的物质称为电子受体。因此,对于需要得到能量的化能无机营养型生物,必须由外界提供电子供体与电子受体。在有些情况下,如下文所述,一种单一化合物可以承担两种功能。

通常情况下,认为电子供体是微生物的能量基质或食物。电子供体是含有还原态碳的化合物(有机化学物质),或含有其他还原态元素的化合物(还原态无机化合物,如氨、氢或硫化物)。地球上存在无数种供微生物利用作为底物的电子供体。

相比之下,电子受体只有相当少的几种,主要包括氧气、硝酸盐、亚硝酸盐、三价铁、硫酸盐以及二氧化碳。不过,最近几年,已知的能量代谢电子受体的数量一直在增加,现在包括氯酸盐、高氯酸盐、铬酸盐、硒酸盐以及氯代有机物,如四氯乙烯以及氯代安息香酸盐。大多数化合物经常是环境关注的,它们可能发生的转化——作为电子受体被生物利用,也日益引起人们的兴趣。一种新型电子受体是微生物燃料电池的阳极,它在从有机废物中回收能量方面发挥重要作用。

原则上,微生物应该能够利用可以产生能量的任何氧化-还原反应。微生物,尤其是细菌,作为一个群体是万能的,能够通过多种反应捕获能量。这是环境生物技术应用如此广泛的主要原因。

每转移一个电子释放出的能量,其多少取决于电子供体与电子受体的化学特性。偶联反应产生的能量可以通过半反应很好地表述,如下面有氧气参与的乙酸氧化过程所示:

乙酸与氧气(乙酸的有氧氧化)

		$\Delta G^{0'}/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$
供体	$\frac{1}{8}\text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{3}{8}\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \frac{1}{8}\text{CO}_2 + \frac{1}{8}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^-$	-27.40
受体	$\frac{1}{4}\text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	-78.72
净反应	$\frac{1}{8}\text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{1}{4}\text{O}_2 \rightleftharpoons \frac{1}{8}\text{CO}_2 + \frac{1}{8}\text{HCO}_3^- + \frac{1}{8}\text{H}_2\text{O}$	-106.12

$\Delta G^{0'}$  的值代表在标准状态以及 pH=7 的情况下释放的自由能。书写半反应以及总反应时以 1 个电子当量( $\text{e}^- \text{eq}$ )为基准。例如,18mol 乙酸的氧化提供 1mol 电子(也就是 1 个电子当量),而 14mol 氧气接受这个电子当量。与氧气还原过程偶联的乙酸氧化反应释放的能量为  $-106.12\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ ,在净的总反应中,能量释放以负号表示。

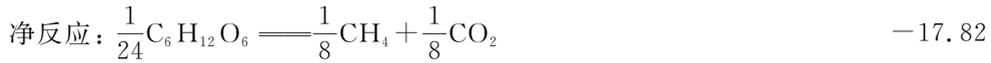
在第 5 章中将详细讨论其他引起关注的反应释放的能量。下面几个例子显示了总反应能随电子供体与受体的不同而变化的情况。

乙酸与二氧化碳(乙酸的产甲烷作用)

		$\Delta G^{0'}/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$
供体:	$\frac{1}{8}\text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{3}{8}\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \frac{1}{8}\text{CO}_2 + \frac{1}{8}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^-$	-27.40
受体:	$\frac{1}{8}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{8}\text{CH}_4 + \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$	23.53
净反应:	$\frac{1}{8}\text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{1}{8}\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \frac{1}{8}\text{CH}_4 + \frac{1}{8}\text{HCO}_3^-$	-3.87

葡萄糖与二氧化碳(葡萄糖的产甲烷作用)

		$\Delta G^{0'}/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$
供体:	$\frac{1}{24}\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \frac{1}{4}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^-$	-41.35
受体:	$\frac{1}{8}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{8}\text{CH}_4 + \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$	23.53



氢气与氧气(氢气的好氧化)

$\Delta G^{\circ'}/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$



这些例子显示,有3个趋势是理解微生物学的关键。第一,产甲烷作用是一个厌氧过程,每电子当量产生的能量比有氧氧化少得多。两个甲烷反应的产量小于  $20\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。第二,葡萄糖含有的能量比乙酸多,生成甲烷的差异显著。第三,氢气的化能无机营养型氧化产生的能量比乙酸的化能有机营养型氧化多,因此,  $\text{H}_2$  是能量上有利的电子供体。

当氧化/还原对提供更多的能量时,微生物生长得更快。在第5章中将定量讨论能量释放的不同产生的影响。

图3.5为微生物利用的氧化/还原对可以提供的相对自由能。图中有两个垂直标尺,一个以  $\text{kJ}$  为能量单位,另一个以  $\text{V}$  为能量单位。由于所有反应均以电子当量为基准书写,两种不同的表示方法通过法拉第常数  $-96.485\text{kJ}/\text{V}$  直接关联。

为了表达能量是由氧化/还原反应释放的,供体半反应必须写在受体半反应上面,如葡萄糖与氧气的反应方程所示。葡萄糖半反应与氧气半反应是自然系统中发生的典型半反应的极限情况。两个半反应之间的能量差为  $-120\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。电子受体氧气、三价铁以及硝酸盐之间在能量上并没有明显区别,均接近标尺底部。在以这三种物质为电子受体时,许多种化合物可以充当电子供体。硫酸盐与二氧化碳(在甲烷发酵过程中)在标尺上的位置要高得多。当它们作为电子受体从葡萄糖等供体上接受电子时,释放的能量要少得多。因为这两个受体在标尺上的位置很高,它们不能从位于它们下面的化合物中接受电子。

有些微生物能利用有机化合物作为电子受体与供体,这样的过程称为“发酵”。分子的一部分被氧化,另一部分被还原。提供的能量可以通过含有产物的半反应估计,如图3.5所示。例如,兼性或厌氧细菌一般能发酵葡萄糖。终产物有所不同,但是可能包括乙醇、乙酸、氢,或者在很多情况下是上述物质的混合物。葡萄糖发酵形成乙醇所得到的能量,等于葡萄糖半反应与乙醇半反应的能量差,大约为  $-10\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。如果葡萄糖发酵生成乙酸,而不是乙醇,提供的能量将更多,大约为  $-14\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。如果发酵过程的终产物是多种化合物的混合物,则每电子当量的净自由能是不同自由能的加权平均值。发酵过程要求起始化合物具有较高的正  $\Delta G^{\circ'}$ 。第5章提供了有关计算发酵产生的能量的更多详细信息。

从电子由电子供体转移到电子受体的热力学不受反应路径的影响。不过,从生物的角度看,反应路径还是有影响的,它关系到释放的自由能有多少能够被捕获。分解代谢的目标之一就是尽可能多地捕获释放的能量,然而,有时能量投入目标会替代能量捕获目标。这些包括活化分子(如通过氧化作用)以及产生某种分解代谢中间体用于合成,如乙酰辅酶A。

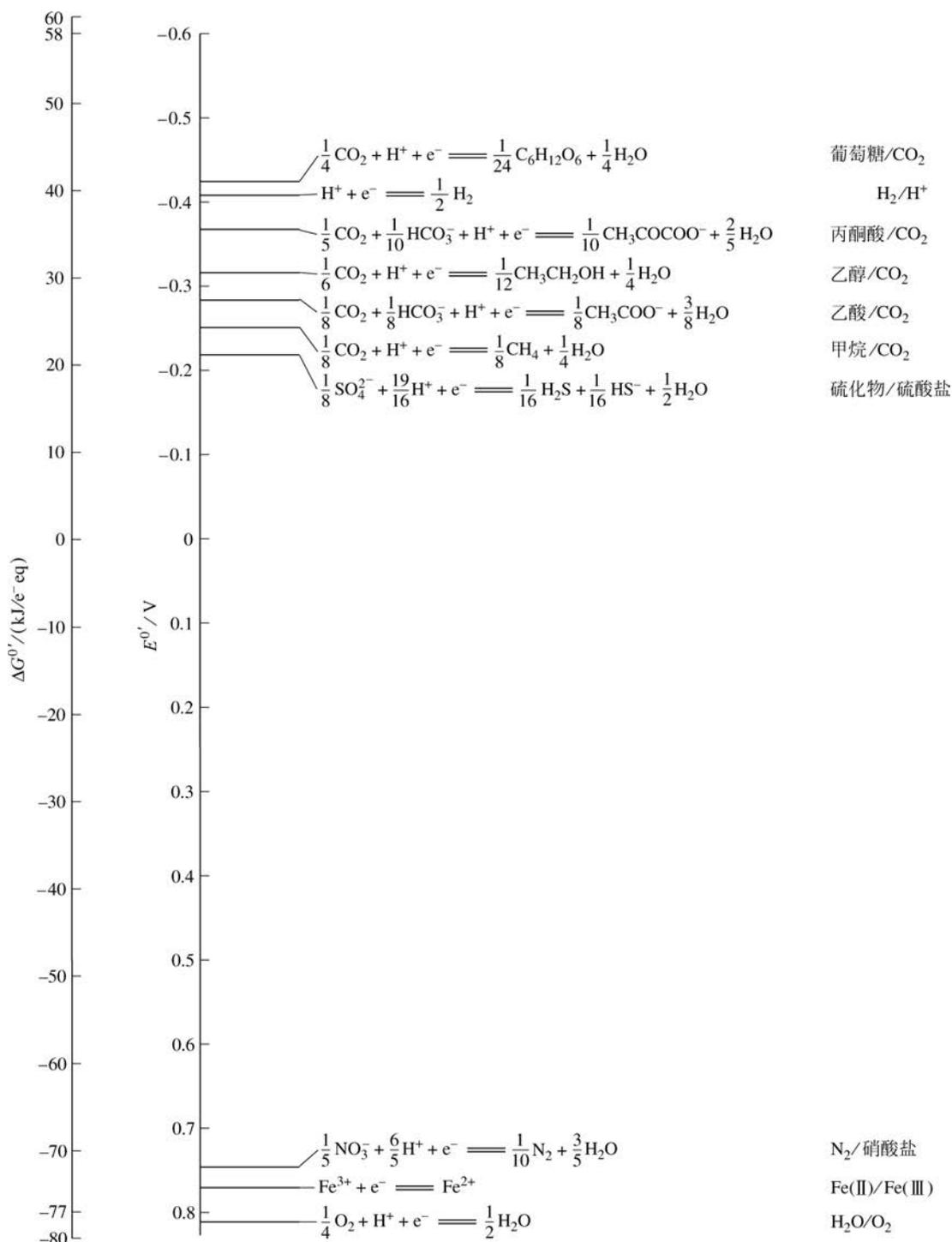


图 3.5 各氧化/还原对的能量标尺(能量标尺可以以  $kJ/e^- eq$  或  $V$  为单位,两者之间的比例关系是  $1V$  相当于  $-96.485kJ$ )

基于化能营养型生物使用还原化合物(即电子供体)进行能量捕获的一般策略,这里详细介绍这些有机化合物氧化获取能量的重要的酶催化步骤。主要涵盖四大类有机化合物的氧化:①饱和碳氢化合物、醇、醛、酮;②脂肪酸;③碳水化合物;④氨基酸。这些物质代表了脂肪、碳水化合物以及蛋白质的结构单元。

### 饱和碳氢化合物、醇、醛、酮

碳氢化合物只含有碳、氢元素,或者是脂肪族(不含苯环),或者是芳香族(含苯环化合物)。因为C—H键与C—C键的强度高,从化学以及生物学的角度来看,碳氢化合物均很难被破坏。破坏非常稳定的碳氢结构,最初的步骤通常从氧化作用开始,如式(3.28)中的甲烷单加氧过程以及式(3.29)中的甲苯双加氧过程。在这两个加氧过程中均需要分子氧;NADH作为单加氧的共底物被消耗;NADH是双氧合第一步的共底物,但在第二步中再生;并且两种氧化都消耗4个电子当量。从热力学角度来看,加氧反应的代价较高,因为应该被用于将 $\text{NAD}^+$ 还原为NADH的电子实际上被用于将 $\text{O}_2$ 还原为 $\text{H}_2\text{O}$ ,而这一过程并不能为细胞捕获电子或能量。由于这种显著的电子和能量损失,氧化每电子当量的碳氢化合物得到的生物产量一般比氧化其他不需要通过氧化活化的有机化合物低。另外,氧化作用将碳氢化合物转化为更容易被产NADH反应氧化的化合物,这些反应将在后面描述。

人类对启动碳氢化合物加氧反应的难度以及氧化酶与分子氧所发挥的作用已经有所了解。石油与天然气绝大部分是碳氢化合物,它们在地层中的积聚被认为是由于在石油前体沉积的沼泽地带缺乏氧气,而氧气在第一个氧化步骤中是必不可少的。由于这个原因,学术界对20世纪80年代中期发表的关于“芳香族碳氢化合物(如甲苯、二甲苯、乙苯以及苯)可以厌氧(即在缺乏分子氧的情况下)降解”的研究结果持怀疑态度。然而,从那时候起,人们分离出了几种能够厌氧氧化芳香族碳氢化合物的纯培养物,而且发现了引起这些氧化过程的新生物化学途径。自从脂肪族碳氢化合物的厌氧生物降解报道出现以来,近年来,已知的生物从有机化合物获得能量的途径在增加。

在所有情况下,—OH中的氧均被加入碳氢化合物,并形成醇。当没有分子态氧时,可以由含氧有机化合物或水提供氧。认识这些最近发现的途径是很重要的,因为它们有助于解释在被污染的地下水、沉积物以及土壤等厌氧环境中碳氢化合物是如何消失的。这些途径还可以用于污染物生物降解的工程中。不过,我们在这里进行的一般性讨论还是集中于那些历史比较悠久的、已被充分认知的机制,这些机制在多数情况下均适用。

图3.6以一种典型直链烷烃为例,介绍了碳氢化合物氧化过程中的一般步骤。这里R代表不确定长度的烷烃链。有机化合物氧化过程一般包括去除两个氢原子与相关电子,并将电子转移给电子载体NADH。不过,我们在前面提过,烷烃氧化为醇的过程通常是在加氧酶的作用下,以NADH为共基质,将分子氧直接加到烷烃上。不过,在后续的从醇到醛再到有机酸的氧化步骤中,有NADH生成。如果起始化合物是醇或醛,该物质将在图3.6中的适当位置进入氧化过程。烯烃(未包含在图中)将首先在双键上进行酶催化的水加成反应,转化为醇,然后进入该氧化过程;加成过程不是氧化反应,不形成也不消耗NADH。

图3.6是一种循环模式:交替进行的脱氢与羟化步骤。在脱氢过程中,通过去除两个氢离子以及两个电子,将醇氧化为醛。 $\text{NAD}^+$ 被还原为 $\text{NADH}_2^+$ (或 $\text{NADH} + \text{H}^+$ )。醇和

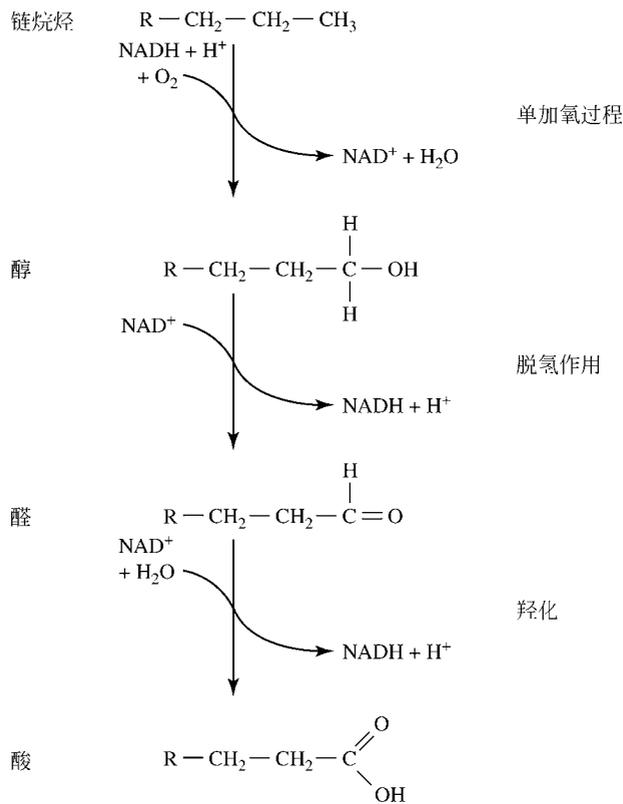


图 3.6 烷烃、醇、醛氧化为有机酸的步骤

醛均具有氧取代基,但醇的单键羟基被转化为双键醛基。在羟化过程中,通过去除两个氢离子以及两个电子并加入水分子,将醛氧化为羧酸。 $NAD^+$ 又被还原为  $NADH_2^+$ 。 $H_2O$ 是氧元素的来源,氧元素被加入反应形成羧酸基团。

脂肪酸,无论是初始基质,还是由其他烷烃经过如图 3.6 所示的途径转化形成,都经过如图 3.7 所示的  $\beta$ -氧化过程氧化。 $\beta$ -碳原子是从有机酸羧基碳原子开始的第二个碳原子,通过  $\beta$ -氧化过程氧化。 $\beta$ -氧化过程的第一步是加入辅酶 A(这里以  $HS-CoA$  代表),形成酰基 CoA。这个步骤能够活化脂肪酸,使之能够进行后续的氧化步骤。另外,这个活化过程需要一些 ATP 能量载体形式的能量。ATP 在这一过程中释放两个磷酸基团,被转化为 AMP,即一磷酸腺苷。完成脂肪酸活化后,反应从被活化的酸中去除两个电子与两个质子,并将水分子加到反应中,然后再去除两个电子与两个质子,导致  $\beta$ -碳原子被氧化成酮基。随后,辅酶 A 被加到分子上,将其分裂成乙酰辅酶 A 以及一个比原始脂肪酸少两个碳原子的酰基-CoA 化合物。这个较短的酰基-CoA 基团随后反复进行  $\beta$ -氧化,直到全部转化为乙酰 CoA 分子。1mol 的十六碳脂肪酸,如棕榈酸,按照这种方式可以转化为 8mol 乙酰 CoA、7mol  $FADH_2$  以及 7mol  $NADH$ 。图 3.8 还表明有 1 个 ATP 被转化为 AMP,从而为第一个步骤提供能量。

去除的质子与电子被转移给电子载体  $FAD$  与  $NAD^+$ ,形成  $FADH_2$  和  $NADH$ 。第一个氧化步骤中的电子被转移给  $FAD$  而不是  $NAD$ ,原因是该步骤产生的能量较少,因此需要

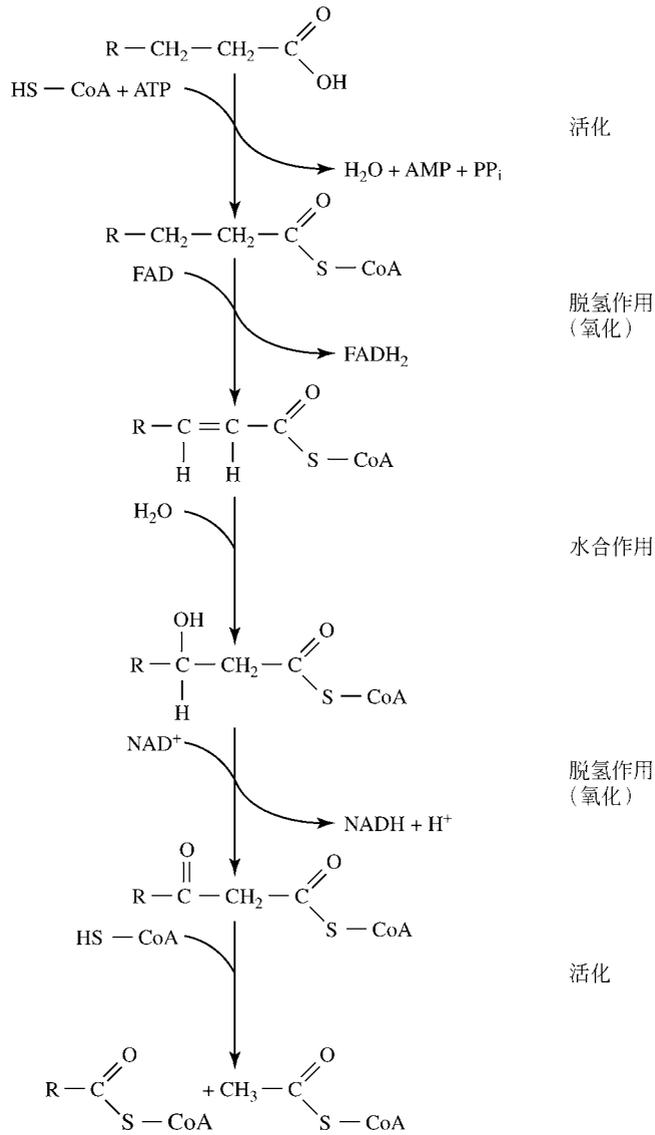


图 3.7 从脂肪酸到乙酰 CoA 的  $\beta$ -氧化过程

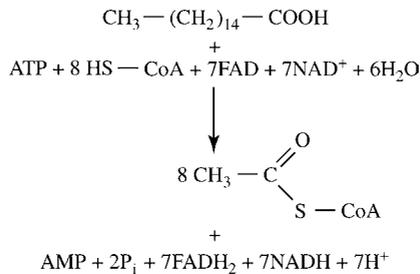


图 3.8 棕榈酸通过  $\beta$ -氧化转化为乙酰 CoA 的总化学计量式

荷能较少的能量载体完成电子转移。

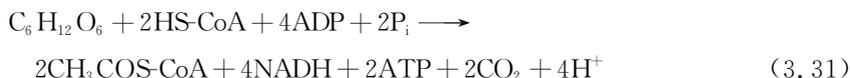
含奇数个碳的脂肪酸发生类似的电子去除以及水分子加成过程,终产物之一是三碳丙酸。支链脂肪酸也经历类似的 $\beta$ -氧化过程形成乙酰 CoA。通过以上任何反应形成的乙酰 CoA 基团均能进入柠檬酸循环(图 3.4),详细内容将在本节后面讨论。

### 碳水化合物

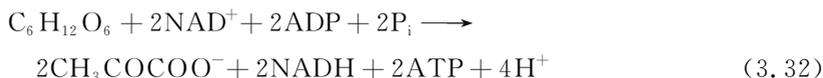
碳水化合物即多糖,如纤维素、淀粉以及复杂的糖类。碳水化合物的酶水解一般产生六碳己糖或五碳戊糖。这些单糖每电子当量的能量含量比乙酸或多数其他简单有机分子更高;这种差异与碳水化合物的结构有关,使它们的熵较低。由于自由能含量较高,微生物经常能通过厌氧发酵途径从碳水化合物中获得能量,尽管厌氧发酵只能生成荷能较少的终产物。

不过,当存在末端电子受体时,碳水化合物也像其他有机基质一样,能沿形成乙酰 CoA 的途径降解,最终进入柠檬酸循环。我们首先以葡萄糖为例,介绍单糖转化为乙酰 CoA 的过程,然后简单讨论发酵途径。

图 3.9 简单总结了葡萄糖转化为乙酰 CoA 的几个步骤。通过以 2mol ATP 的形式引入能量,1mol 六碳葡萄糖被一分为二,生成 2mol 三碳中间产物——甘油醛-3-磷酸。这种化合物经过氧化(电子转移形成 NADH)以及能量转移(形成 ATP)逐步转化为 2mol 丙酮酸——一种比碳水化合物氧化程度更高的三碳化合物。然后,形成了乙酰 CoA,同时释放更多 NADH 与  $\text{CO}_2$ 。形成的乙酰 CoA 随后经历柠檬酸循环中包括的正常氧化过程。由葡萄糖转化产生的总变化如下:



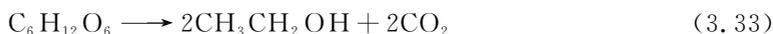
如果没有末端电子受体如氧气存在,许多兼性微生物能够利用葡萄糖或其他单糖为电子供体与电子受体,并从中获得能量。这种发酵过程包括图 3.9 所示的步骤,但是在生成丙酮酸之后终止,即在形成乙酰 CoA 之前结束:



式(3.32)显示生成了 2 个 ATP,这是发酵过程产能的方式。通过电子供体基质氧化直接形成 ATP 被称为底物水平磷酸化作用。

可是,在式(3.32)中还形成了 2 个 NADH。由于没有末端电子受体使  $\text{NAD}^+$  再生,而生物完成整个反应需要  $\text{NAD}^+$ ,因此,细胞必须设法去掉在 2mol NADH 中含有的电子。生物通过将电子传递回丙酮酸完成这一步骤,并导致形成各种可能的化合物。可能的终产物包括乙醇、乙酸,也可能是其他简单有机化合物(如丙醇、丁醇、甲酸、丙酸、琥珀酸、丁酸中的任何一种或几种的混合物),还可能是氢气。由此形成的终产物混合物,取决于参与反应的生物以及当时的环境条件。

一个众所周知的例子是从糖类到乙醇的总发酵反应:



其中的乙醇由丙酮酸与 NADH 经过两个步骤形成:

由丙酮酸形成乙醛:



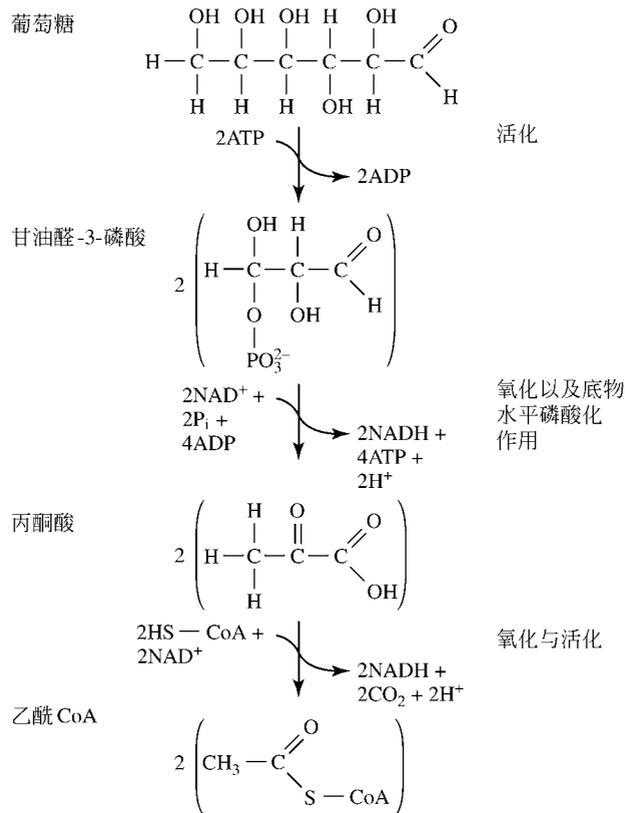


图 3.9 碳水化合物转化为乙酰 CoA 的过程(以葡萄糖为例)

由乙醛与 NADH 形成乙醇：



将式(3.34)、式(3.35)与式(3.32)结合起来,得到的净结果是:



通过乙醇发酵,1mol 葡萄糖发酵形成 2mol ATP,而所有 NADH 通过丙酮酸到乙醇的还原过程再生为  $\text{NAD}^+$ 。

图 3.5 表明生物将葡萄糖发酵形成乙酸获得的能量比形成乙醇多。事实上,有些微生物能够通过丙酮酸发酵形成脂肪酸获得更多能量。可以说许多发酵途径都是可能的,而且每条途径均被许多不同生物利用。在土壤生物混合培养物厌氧发酵含碳氢化合物混合废物的过程中,一般形成的是较简单的脂肪酸,而不是乙醇,原因是优势微生物一般是那些已经找到在现有条件下从碳氢化合物中提取能量的最佳途径的微生物。

### 氨基酸

常见氨基酸的氧化过程是通过去除电子以及加成水完成的,就像脂肪酸与单糖的氧化过程一样。另外,必须去除氨基基团。所有氨基酸都有一个氨基基团与末端羧基旁边的  $\alpha$  碳原子键合在一起:



去氨基作用包括几个步骤,但可以总结为



这里,去氨基作用使 $\alpha$ 碳原子氧化形成酮基,释放氨,并形成1mol NADH。由约20种不同的氨基酸经去氨基作用形成的有机酸通常在转化为乙酰 CoA 后,在不同点上进入柠檬酸循环。不过,有些氨基酸会被转化为像 $\alpha$ -酮戊二酸(精氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、脯氨酸)、琥珀酸(异亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、缬氨酸)、延胡索酸(天冬氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸)或者草酰乙酸(天冬酰胺、天冬氨酸)这样的产物。这些产物是柠檬酸循环的组分,可以直接进入柠檬酸循环被氧化。

### 柠檬酸循环

我们现在已经了解了脂肪、碳水化合物以及蛋白质这些基本食物种类是如何被水解(如果是聚合物形式),然后被部分氧化产生 NADH 与乙酰 CoA 或某些柠檬酸循环中的组分。基本上所有的有机化合物均在某种程度上适合这一代谢模式。当存在末端电子受体时,乙酰 CoA 进入柠檬酸循环。

图 3.10 总结了柠檬酸循环的步骤。为了进入柠檬酸循环,乙酰 CoA 首先与草酰乙酸及水分子结合形成柠檬酸。柠檬酸循环最重要的特点包括:

- 乙酸的 8 个电子分四步成对去除,产生 3 个 NADH 与 1 个  $\text{FADH}_2$ ;
- 乙酸中的 2 个碳原子分两步去除,产生  $\text{CO}_2$ ;
- 有 1 个底物水平磷酸化步骤,生成 1 个 GTP(鸟苷三磷酸,ATP 的类似物);
- 4 个  $\text{H}_2\text{O}$  加成步骤,1 个脱  $\text{H}_2\text{O}$  步骤;

在最后一步中,苹果酸被氧化形成草酰乙酸,草酰乙酸随后与乙酰 CoA 结合,开始重复柠檬酸循环。

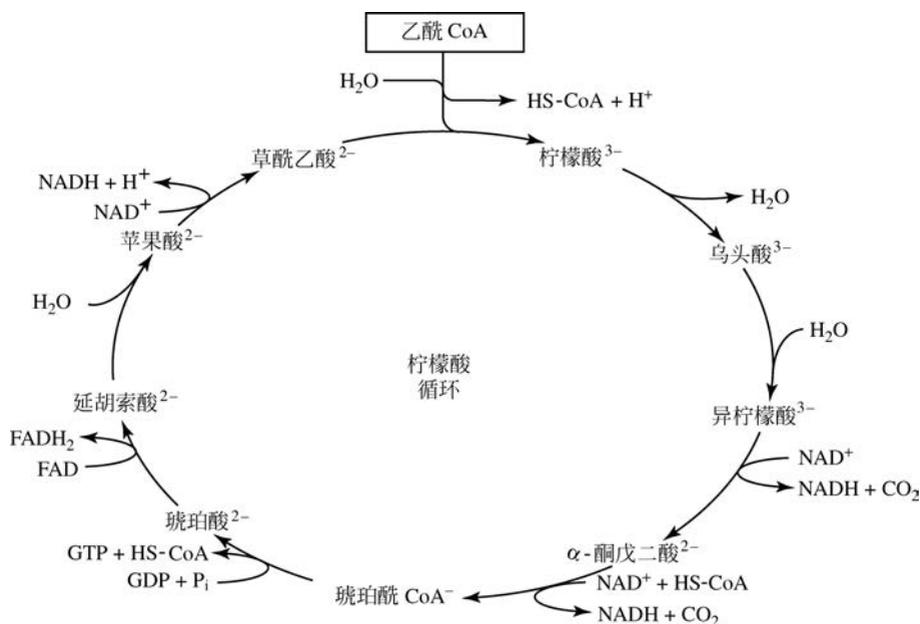


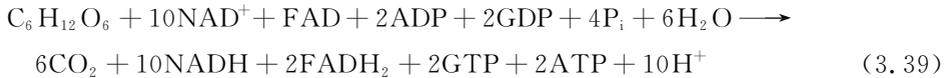
图 3.10 柠檬酸循环的步骤

在氧化乙酰 CoA 的柠檬酸循环中包含的所有反应的净结果是:





如果我们回过头来考虑葡萄糖的分解代谢,并始终沿着有柠檬酸循环发生的路径,则净反应为



从葡萄糖碳到二氧化碳的总氧化反应中,产生了10个NADH、2个FADH<sub>2</sub>、2个GTP与2个ATP。底物水平磷酸化作用产生4个高能磷酸键,而来自葡萄糖的能量储存于还原态电子载体NADH与FADH<sub>2</sub>中。为了获得最大能量,用于细胞生长与维持,必须通过一个被称为氧化磷酸化的过程捕获电子载体中的能量。

### 氧化磷酸化

微生物需要大量ATP用于合成与维持,可以通过将储存于NADH与FADH<sub>2</sub>中的大量势能转化给ATP。生物是如何利用电子载体,为生长、复制、运动与维持提供能量的呢?能量传递发生的过程被称为氧化磷酸化过程。一个密切相关的术语是呼吸作用,指末端电子受体的还原过程。呼吸作用通过氧化磷酸化过程为细胞创造能量。能够被捕获的势能取决于使用的末端电子受体。如果末端电子受体是O<sub>2</sub>,那么可以获得的能量相当高,每摩尔NADH可能足够形成3mol ATP。如果电子受体是硫酸盐,那么可能最多只形成1mol ATP。(图3.5)

通过计算NADH与各种可能电子受体之间的自由能的能差(图3.11),很容易得出电子从NADH传递到ATP能够提供多少能量。比较这些能差与产生1mol ATP需要的能量:



可以知道从1个NADH能产生多少ATP。在实际的反应物细胞内浓度下,实际的ΔG值还要高些,大约-50kJ/mol ATP。

NADH半反应与氧气半反应之间的垂直距离显示,有氧气参与的NADH氧化过程释放的自由能大约为-110kJ。这些能量足够形成3~4mol ATP。如果是硝酸盐参与反应,释放自由能的数量稍微少些(大约-105kJ),仅够形成3mol ATP。四氯乙烯,一种氯代溶剂,也能被一些生物当作能量代谢中的电子受体,反应释放的自由能更少,大约-78kJ;硫酸盐作为电子受体时释放的自由能非常少,只有-9kJ左右;可见,1mol NADH只能产生不足1/3mol的ATP。

实际上,在这些例子中,生物均能产生ATP并生长,像其他跨越能谱的例子一样。接下来的问题是:NADH自由能是通过什么机制传递给ATP而使势能的这种巨大变化得以很好地调节?

答案的第一部分是NADH中的电子经过膜结合蛋白质与细胞色素的级联系统传递到末端电子受体。图3.12中介绍了最长的级联系统出现在氧气为电子受体时。每个蛋白质或细胞色素在能量标尺上的位置均低于给予它电子的上一级物质。在利用其他末端电子受体或生物类型不同的情况下,参与电子传递的特定蛋白质复合物与细胞色素可能与图3.12所示的不同,而且可能在数量上要少一些。当实际末端受体的ΔG<sup>0'</sup>值(正值)比氧气高时,级联系统将在细胞色素aa<sub>3</sub>之前终止。

答案的第二部分是从NADH<sub>2</sub><sup>+</sup>到末端受体的电子传递导致了质子的释放,并被传递到

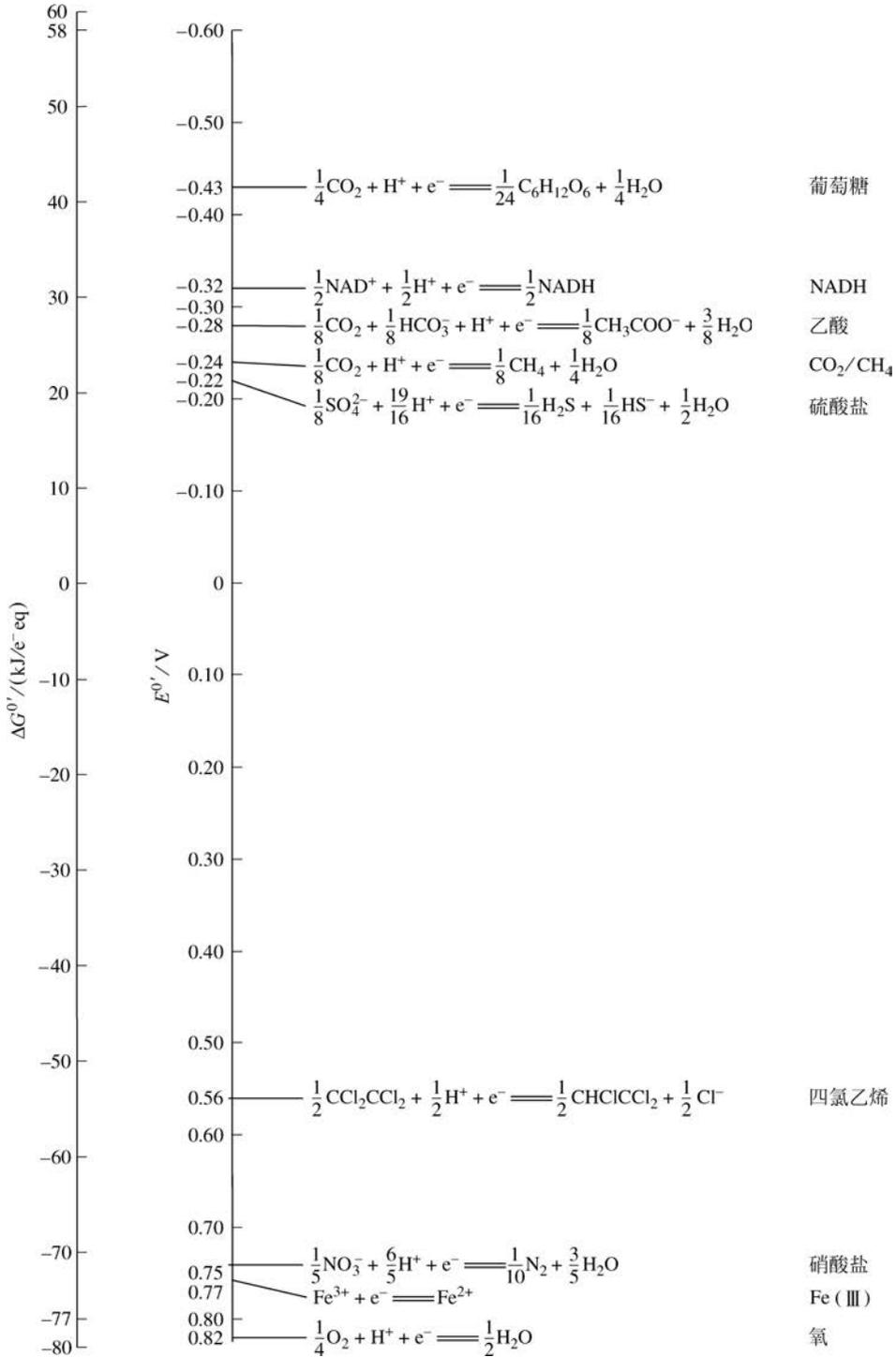


图 3.11 NAD<sup>+</sup>/NADH 对与各种潜在电子受体对的能量含量对比[能量含量以标准自由能(kJ/e<sup>-</sup> eq)或 pH=7 时的标准势能(V)表示]

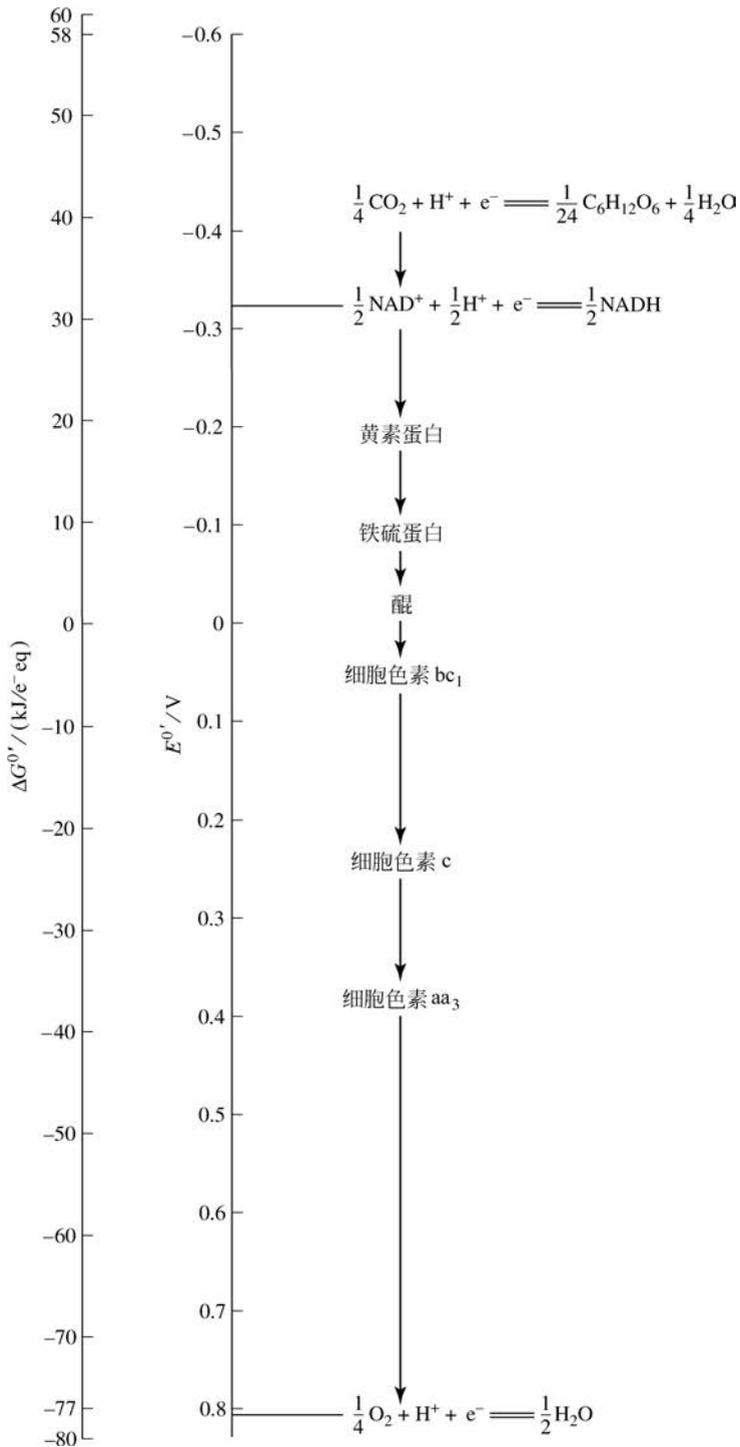


图 3.12 氧气的电子传递热力学：从葡萄糖到 NADH，再从 NADH 经过几个可能电子载体到达末端电子受体

细胞膜外,或者导致氢氧根离子积聚在细胞膜内壁上。例如:



在上面两个方程中,“in”和“out”指的是该组分分布在细胞膜的哪一侧。对于图 3.12 中的电子传递链,多数离子分离过程在电子由黄素蛋白到细胞色素  $\text{bc}_1$  的传递过程中发生。将  $\text{H}^+$  与  $\text{OH}^-$  泵送到细胞膜另一侧,可以产生跨越细胞膜的质子动力(proton motive force, PMF)。PMF 是一种自由能梯度,可以用于促进由 ADP 与磷酸盐形成 ATP。



如果末端电子受体处于图 3.11 的能量标尺上氧气以上的位置,那么可用于产生 PMF 的能量就要少些。因而必须氧化更多 NADH 才能产生足够大的 PMF 来推动式(3.42)发生。希望更详细地了解氧化磷酸化过程的读者,可以参考本章最后列出的微生物学或生物化学的高级读物。

现在回到葡萄糖的例子,从式(3.39)可见,1mol 葡萄糖氧化可以产生 10mol NADH 与 2mol  $\text{FADH}_2$ 。在这些载体中含有的电子通过氧化磷酸化过程传递给末端电子受体。如果末端受体是  $\text{O}_2$ ,可以估计,由产生的质子动力形成的 ATP 产率:对于 NADH,大约是 2.5;对于  $\text{FADH}_2$ ,大约是 1.5。利用这些数值,我们可以写出与 ATP 生成偶联的葡萄糖氧化总化学计量式:



1mol 葡萄糖的完全氧化产生 30 当量的 ATP 和 2 当量的 GTP,总共 32 当量。

通过分析表 3.3 中葡萄糖发酵与氧化反应的 3 个例子,我们可以了解到,从基质氧化或发酵到能量载体 ATP 与 GTP,微生物传递能量的效率是怎样的。我们看到由基质转化释放的标准自由能大约有 50% 被传递给能量载体。可以预期,当电子载体能量反过来传递给蛋白质、碳水化合物、脂肪与核酸(细胞结构的基本组分)的合成过程时,可能获得相同的能量传递效率。那么,传递给细胞合成的能量在总能量中所占比例将是“50%×50%”,或者说大约 25%。

表 3.3 从葡萄糖转化到 ATP 形成的能量传递效率

葡萄糖反应	$\Delta G^{\circ'}$ / (kJ/mol 葡萄糖)	生成 ATP 的数目	总 ATP (ADP)能量 <sup>①</sup> /kJ	能量传递 效率/%
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \text{O}_2 \longrightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$	-2882	32 <sup>②</sup>	1600	56
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \longrightarrow 2\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + 2\text{CO}_2$	-244	2	100	41
$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \longrightarrow 3\text{CH}_3\text{COO}^- + 3\text{H}^+$	-335	3	150	45

① 假定 ATP 的生理能量含量是 50kJ/mol;

② 由葡萄糖氧化形成的 30mol ATP 与 2mol GTP 的总和。

通过这样的能量计算,我们能够估计基质转化能形成多少 ATP 分子,简单方法就是先计算从供体到受体的电子传递过程释放的自由能,然后假定大约有 50% 被转化为 ATP。在第 5 章中,我们将系统地介绍这一方法,并将它与合成过程的能量消耗联系起来。

并非所有生物在从基质氧化获取能量时都有同样的效率。最高能量传递效率大约为

60%。如果微生物酶或电子载体没有进化出利用释放能量的能力,则能量的净传递可能比较低。同样,如果环境抑制剂将能量传递过程从电子流动中截断,或者当微生物进行电子输入启动了生物降解(如氧化),将出现较低的能量捕获效率。

微生物不仅利用能量生长,还用于维持自身机能,如运动以及修复大分子。有一个有趣的问题是:细菌利用多少能量来运动,基质分解代谢产生的能量怎样转化为细胞运动?许多细菌通过鞭毛旋转运动。有一种生物鼠伤寒沙门菌,是一种通过食物与水传播的病原体,具有6根鞭毛。通过这6根鞭毛同时以100r/s左右的速度逆时针旋转,该生物能以大约25 $\mu$ m/s的速度向前运动。每秒移动的距离大约是体长的10倍!鞭毛旋转由跨膜质子动力驱动原生质膜中的鞭毛旋转发动机完成。一根鞭毛的一次旋转大约需要1000个质子。因此,每秒需要大约600000个质子来推动细菌前进。尽管这看上去是一个很大的数目,但我们必须记住1mol物质含有 $6.02 \times 10^{23}$ 个分子,因此,实际需要的基质能量并不是很多。事实上,细胞只将它所获能量的不足1%用于运动。细胞能将质子动力直接用于运动而不是利用像ATP这样的能量载体的事实,揭示了微生物在能量利用上的高效性,这种高效性表现在,微生物将电子载体与能量载体的数量减到最低。需要的传递过程越少,能量捕获与利用总反应的效率就越高。

#### 光养型生物的能量传递

许多光养型微生物从阳光中获得能量。阳光中的能量是以电磁辐射量子或光量子的形式传递,具有与光的波长有关的特征能量含量:

$$E_{\text{photon}} = \frac{hc}{\lambda} \quad (3.44)$$

式中, $h$ 为普朗克常量,等于 $6.63 \times 10^{-34}$ J·s; $c$ 为光速,等于 $3 \times 10^{10}$ cm/s; $\lambda$ 为辐射波长,cm。因此,每摩尔或每爱因斯坦( $N = 6.023 \times 10^{23}$ )光子的能量计算式为

$$E = \frac{hc}{\lambda} N = 12(\text{J} \cdot \text{cm})/\text{Einstein} \quad (3.45)$$

可见光的波长在 $4 \times 10^{-5}$ cm(紫光)与 $7 \times 10^{-5}$ cm(红光)之间,能量含量在170~300kJ/Einstein。

下面,我们讨论光能如何转化为细胞能够利用的化学能。叶绿素是细胞中捕捉光能的主要色素。通常情况下,叶绿素是绿色的,原因是正常情况下,叶绿素捕捉的是光谱红光端与紫光端的能量,而不是光谱中段或绿光部分的能量。不被捕捉的绿光随后被反射离开光合色素。但是,并非所有光合生物都是绿色的。有些光养型生物具有其他类型的光捕捉色素,或者具有能吸收光谱其他部分的光的辅助色素,这些光养型生物呈现从棕色到红色的不同颜色。

虽然产氧光合作用与不产氧光合作用的光捕获反应有些不同,但结果是一致的:光养型生物都利用从光中捕获的能量产生ATP、NADPH以及氧化产物。

在产氧光合作用中,两个独立的光反应相互作用,如图3.13所示。在光合系统I中,一个波长小于700nm的光子被吸收,由此释放的能量产生一种强还原剂,导致NADPH的形成。在光合系统II中,波长较短(<680nm)、能量更高的光产生一种强氧化剂,导致由水分子生成氧气。同时,光合系统II产生一种弱还原剂,而光合系统I产生一种弱氧化剂。从光合系统II到光合系统I的电子流,加上每个光合系统内部的电子流,产生一个跨膜质子梯度(PMF),驱动ATP的形成。关于这一过程中发生的许多中间反应,在微生物学(Madigan et

al., 2019)与生物化学(Miesfeld and McEvoy, 2017; Nelson and Cox, 2005)通用教材中有详细描述。

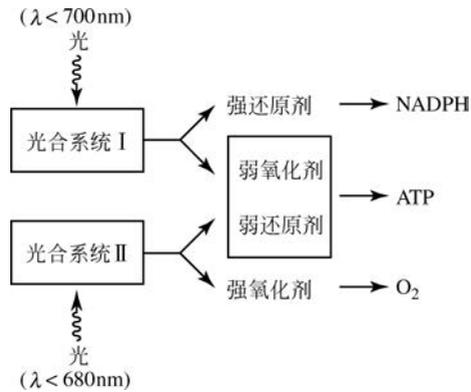


图 3.13 产氧光合作用中光合系统 I 与光合系统 II 的相互作用

(资料来源: Stryer, 1995)

在产氧光合作用中发生的净总反应可以总结为



请注意,用于将  $\text{NADP}^+$  还原成  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  的两个电子来自水分子中的氧元素,形成的氧化产物为 0.5 个  $\text{O}_2$  分子。这意味着含氧光养生物的电子供体是  $\text{H}_2\text{O}$ 。氧化  $\text{H}_2\text{O}$  需要大量的能量输入,式(3.46)的反应需要 2 个光量子,或者说每个反应需要  $400 \sim 500\text{kJ}$  能量,这取决于被吸收的辐射能量。

我们可以计算在这个反应中能量传递的效率:考虑到式(3.46)基本上是式(3.20)中  $219\text{kJ}$  与式(3.21)中  $32\text{kJ}$  的反向加和,因此,得出形成的  $\text{NADPH}$  与  $\text{ATP}$  的总自由能含量为  $251\text{kJ}$ 。在此基础上,得到从光能到化学能的能量传递效率为  $50\% \sim 62\%$ ,类似于化能营养型生物的分解代谢反应的效率。

缺氧光合作用,如紫细菌与绿细菌的光合作用,在厌氧条件下发生,而且通常只利用光合系统 I。某些藻类与蓝细菌也能在厌氧条件下仅利用光合系统 I 生长。在这些情况下,由其他物质代替  $\text{H}_2\text{O}$  作为电子供体,如  $\text{H}_2$  或  $\text{H}_2\text{S}$ 。例如,可以从  $\text{H}_2\text{S}$  提取两个电子,就像在上述反应中从  $\text{H}_2\text{O}$  提取两个电子一样,导致  $\text{NADPH}$  的形成,最终形成氧化终产物是 S 原子而不是 0.5 个  $\text{O}_2$ 。在化学上发生的这些有趣变化,再次强调了微生物具有的多功能性:能从多种潜在化学与光化学来源中捕获能量。

### 3.3.2 合成代谢

合成代谢是进行细胞合成的一系列新陈代谢过程。简单地说,合成代谢是分解代谢的逆过程。简单化学前体(如乙酸)被转化为一系列比较复杂的结构单元(如葡萄糖),这些结构单元随后被组装成大分子,包括蛋白质、碳水化合物、脂类、核酸以及其他细胞组分。不过,在两种新陈代谢过程中发挥作用的酶以及具体代谢途径有些不同,原因在于,特别擅长分解与氧化复杂分子的系统,不一定也擅长还原与组装这些复杂分子。

合成代谢的两种基本类型是异养与自养。在异养中,一种有机化合物,通常是具有两个

或两个以上碳原子的物质,作为细胞的主要碳源。在自养中,无机碳是唯一的基本碳源,尽管可能也需要少量有机化合物,如维生素。有些生物既能以自养方式也能以异养方式生长,这种情况被称为混合营养。

化能有机营养型生物通常是异养生物;实际上,这两个术语常常可以交换使用。化能无机营养型生物一般是自养生物。多数光养型生物一般也是自养生物(光能自养型生物),但也有些可能是异养的(光能异养型生物)。

由有机碳合成细胞组分需要的能量比由无机碳合成需要的能量少得多。因此,有有机碳存在时,异养生物比自养生物有优势。另外,当无机碳作为唯一碳源存在时,自养生物能够占据优势。这再次揭示了微生物具有强的生命力,能够在非常不同的环境条件下获得生长需要的能量与碳源。

既然细胞合成既可以是异养的,也可以是自养的,我们就把它们看作两个独立的过程。在两种情况下均需要能量。两者之间的区别可以通过考虑将简单有机化合物(如乙酸)转化为葡萄糖——碳氢化合物的主要结构单元之一——需要多少能量来说明:



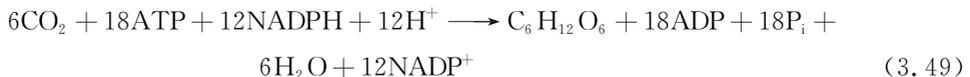
这一能量可以同二氧化碳转化为相同结构单元需要的能量相比较:



由二氧化碳合成六碳糖需要的能量比由乙酸合成需要的能量多8倍以上。异养的优势十分明显。

细胞生长需要的能量直接来自分解代谢中合成的ATP。不过,有时,特别是在自养生长中,NADH或NADPH形式的还原能直接用于将无机碳还原为有机碳。在合成过程中,NADH或NADPH的消耗是一种能量消耗,原因在于那些还原态载体不能被送给末端电子受体去生成ATP。

Melvin Calvin及其同事于1945年最先解释了光养生物将 $\text{CO}_2$ 转化为葡萄糖的途径与过程,该理论被称为卡尔文循环(图3.14)。 $\text{CO}_2$ 通过与核酮糖-1,5-二磷酸加成形成3-磷酸甘油酸而进入循环。通过以ATP的形式加入能量,并以NADPH的形式加入还原力,形成六碳果糖-6-磷酸,并被用于生物合成。在这个循环中,还形成甘油醛-3-磷酸,随后,通过加入更多ATP能量,甘油醛-3-磷酸被转化形成核酮糖-1,5-二磷酸,核酮糖-1,5-二磷酸再与二氧化碳反应,完成循环。卡尔文循环的净结果是:



我们能很容易计算在二氧化碳形成六碳糖的过程中需要的能量输入,如果考虑到式(3.49)等于式(3.48)与表示NADPH变化的式(3.2)及表示ATP变化的式(3.3)相结合,可得:



这里,由ATP及NADPH释放的总能量为3204kJ。式(3.48)中形成的己糖的能量含量是2880kJ,是该能量值的90%,说明能量传递的效率非常高。绝大多数己糖形成需要的能量来自NADPH,而不是ATP。如果在产氧光合作用中,光能向ATP与NADPH的转化效率是50%~60%,而从ATP与NADPH能量到己糖形成的效率大约为90%,那么从光能到己糖的总转化效率为50%左右。

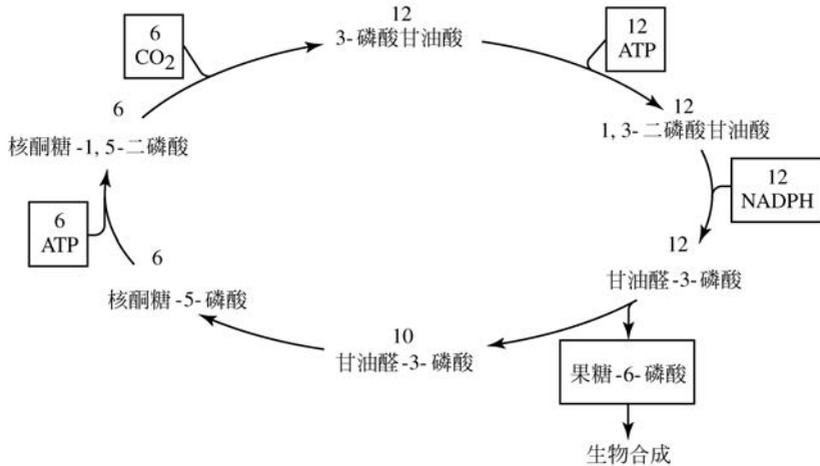


图 3.14 卡尔文循环(化合物上的数字指参与 6mol CO<sub>2</sub> 生成果糖-6-磷酸循环的每种化合物的物质的量)

尽管卡尔文循环被产氧自养型生物利用,但有几个种群的自养生物,CO<sub>2</sub> 固定并不是通过这个循环完成的,如光养绿硫细菌、绿屈挠菌属、同型乙酸菌、某些硫还原菌,以及产甲烷古细菌。这些生物一般利用二氧化碳形成乙酰 CoA,由此形成的乙酰 CoA 作为起始物,被这些生物用于细胞物质的合成。这种乙酰 CoA 合成途径只出现在某些专性厌氧生物中,包括 1mol CO<sub>2</sub> 还原形成乙酸的甲基基团,另外 1mol CO<sub>2</sub> 还原形成羧基基团。这些还原过程需要 H<sub>2</sub> 作为电子供体。在这个途径中发挥作用的一种关键酶是一氧化碳脱氢酶——一种以金属 Ni、Zn、Fe 为辅因子的复合酶。因此,生物生长需要足够数量的这些金属。还原反应导致由 CO<sub>2</sub> 形成 CO,而 CO 变成乙酰 CoA 的羧基碳原子。一种辅酶——四氢叶酸,参与 CO<sub>2</sub> 还原形成乙酰 CoA 的甲基基团的过程。随后,乙酰 CoA 作为结构单元参与合成生物的所有细胞组分。

异养生物细胞物质的合成比自养生物简单,原因是用于合成的碳原子已经处于还原状态。大多数有机化合物的分解代谢生成乙酰 CoA,而乙酰 CoA 随后就能用作细胞合成的结构单元,就像上面对某些自养生物的讨论那样。还有一种不同情况,就是被称为甲基营养生物的微生物,能利用一碳有机化合物,如甲烷、甲醇、甲酸、甲胺,甚至还能利用还原态无机化合物 CO。没有将这些化合物直接转化为乙酰 CoA 的路径。在这种情况下,大多数甲基营养生物能利用丝氨酸途径将甲醛(由一碳有机化合物形成)与二氧化碳结合,形成乙酰 CoA。这一途径适用于 II 型甲烷营养型生物,该生物属于利用甲烷获得能量并生长的生物。不过,另一个种群——I 型甲烷营养型生物,通常利用核酮糖单磷酸循环完成甲烷的同化作用。这些生物缺乏柠檬酸循环途径,乙酰 CoA 无法通过柠檬酸循环供给细胞合成的需要,因此需要替代方法。I 型甲烷营养型生物产生的不是乙酰 CoA,而是甘油醛-3-磷酸;甘油醛-3-磷酸被用于细胞组分的合成。这种化合物在微生物总新陈代谢中的位置如图 3.9 所示。

一旦细胞具有了基本物质,如乙酰 CoA,它就能够利用这些物质去创造需要的所有类型主要分子。例如,利用两个乙酰 CoA(通过多步反应)生成四碳草酰乙酸盐,并最终通过

葡萄糖发酵或糖酵解途径的逆过程生成葡萄糖-6-磷酸。葡萄糖-6-磷酸是六碳葡萄糖与五碳核酮糖-5-磷酸的前体；前者被用于碳氢化合物合成,而后者被用于构造 DNA 与 RNA 需要的核糖核苷酸与脱氧核糖核苷酸。

对合成代谢途径的简单描述指出,各种生物采取的合成途径是非常相似的。所有途径都必须将一套共同中间体(简单结构单元)转化为组成生物的不同蛋白质、脂肪、碳氢化合物以及核酸。有一点值得注意,即当生物必须利用无机碳或一碳有机分子为碳源创造共同中间体时,与利用有机碳的情况有所不同。不过,一旦起始碳源被转化为共同中间体或结构单元,后面的生物合成过程对所有生物都是相似的。

### 3.3.3 新陈代谢与营养种群

环境生物技术领域中的重要微生物几乎总是因它们利用的电子供体与电子受体而具有重要意义。在很多情况下,这些产能基质在人类看来属于污染物。表 3.4 根据微生物的电子供体基质、受体基质以及碳源与域,列出了主要的微生物类型。因此,表 3.4 是根据营养种群对微生物进行分类的。营养指生物如何供养自身。微生物需要消耗供体、受体以及碳源,而且它们是决定营养种群的最基本因素。

表 3.4 为那些希望了解在后续章节中讨论的微生物属于哪种新陈代谢类型的读者提供方便的参考。表中并不包括全部的微生物类型,新的类型还在不断地被发现。

表 3.4 以电子供体、电子受体、碳源及域为基础的主要微生物类型营养分类

微生物种群	电子供体	电子受体	碳源	域
需氧异养生物	有机物	O <sub>2</sub>	有机物	细菌、古细菌与真核生物
硝化细菌	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	细菌与古细菌
	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	细菌
脱氮细菌	有机物	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	有机物	细菌
	H <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>2</sub>	细菌
	S <sup>0</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>2</sub>	细菌
产甲烷菌	乙酸	乙酸	乙酸	古细菌
	H <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	古细菌
嗜甲烷菌	CH <sub>4</sub>	O <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>	细菌
硫酸盐还原菌	乙酸	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	乙酸	细菌
	H <sub>2</sub>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	CO <sub>2</sub>	细菌
硫化物氧化菌	H <sub>2</sub> S	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	细菌与古细菌
产乙酸菌	H <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	细菌
羧化营养菌	CO	CO <sub>2</sub> , Fe(III), SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sup>+</sup>	CO <sub>2</sub>	细菌
发酵生物	有机物	有机物	有机物	细菌与真核生物
嗜盐菌	H <sub>2</sub>	电子转换效率	乙酸	细菌
阳性呼吸菌	乙酸	阳极	乙酸	细菌
	H <sub>2</sub>		CO <sub>2</sub>	细菌
光养生物	H <sub>2</sub> O	CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	真核生物与细菌
	H <sub>2</sub> S	CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	细菌
	H <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	细菌

### 3.4 遗传学和信息流

像所有活生物一样,微生物利用复杂的信息流动网络来控制其类型与行为。信息流与遗传学是同义的,原因是信息仓库就在基因中。不过,基因只是遗传学与信息流动的起点,几种其他类型的分子也是必不可少的。

关于细胞应该组装什么样的大分子,利用什么样的产能反应与合成反应,以及如何与环境相互作用,这些信息被编码在脱氧核糖核酸大分子(deoxyribonucleic acid, DNA)中。在DNA上编码的基因并不实际承担任何细胞工作,如能量产生或合成,而是通过精确的多步骤机制来解码DNA上的信息,并最终生成各种工作分子,即用于催化所有关键反应的酶。在DNA遗传密码与工作酶之间起作用的是三种不同类型的核糖核酸(ribonucleic acids, RNA)大分子:信使RNA、核糖体RNA以及转运RNA。

图3.15总结了基因中的信息转化给酶的过程。基因是DNA的一个片段,或称为一段脱氧核糖核苷酸序列。这段脱氧核糖核苷酸序列被完全如实地复制给一段互补的(也就是“配对”)核糖核苷酸序列,该核糖核苷酸序列构成信使RNA(messenger RNA, mRNA)。通过将DNA密码复制到mRNA上,细胞能够在不破坏或扭曲DNA的情况下利用DNA上的信息。

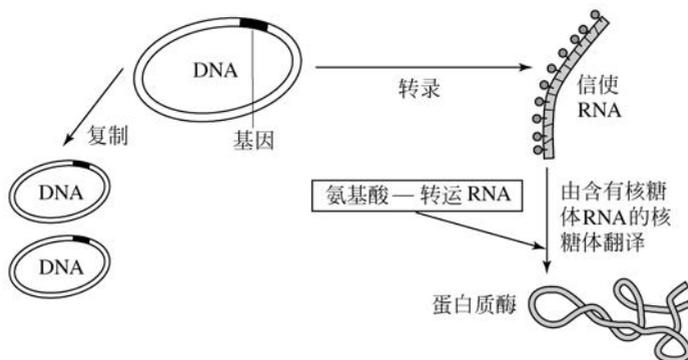


图 3.15 从基因(在 DNA 上)到工作酶催化剂的信息流动

mRNA 分子随后与核糖体相互作用;核糖体是一种巨大的多组分分子,含有另一种形式的 RNA——核糖体 RNA(ribosomal RNA, rRNA)。在核糖体中, mRNA 通过指示氨基酸装配的顺序指导蛋白质的组装过程。mRNA 上的密码确定哪种类型的转运 RNA (transfer RNA, tRNA)应该进入核糖体,并提供特定氨基酸到正在生长的蛋白质链上。不同的 tRNA 分子与制造酶需要的特定氨基酸键合,并与 mRNA 上的特定密码配对。核糖体中 tRNA 与 mRNA 的集合机制对细胞而言是一种万能的、有效的途径,使细胞随时能够合成它们需要的任何类型的酶。

图 3.15 的左侧表示基本信息被复制,当细胞需要一个复制细胞时便发生这种情况,例如当一个细胞分裂形成两个细胞时。复制过程产生一个与亲代 DNA 完全相同的复制品,而不是与 RNA 互补的复制品。

下面几节将介绍核酸以及核酸如何执行图 3.15 所示的步骤。在如何控制信息流的细节方面,原核生物与真核生物有一些重要的区别,但是基本过程是相同的,就像图 3.15 中概括的那样。下一节将重点介绍原核生物的共同特征以及采用的方式。

### 3.4.1 脱氧核糖核酸(DNA)

嘌呤与嘧啶核苷酸序列被磷酸二酯键连接成较大的聚合物,基因通过此聚合物来编码。基本的核苷酸包括三部分:五碳糖或脱氧核糖;含 N 碱基;磷酸基团。图 3.16 所示是用于形成 DNA 的基本脱氧核糖单位与 4 个含 N 碱基的结构。图中尤其重要的是对脱氧核糖上 1,3,5 号位置的定位,以及将两种嘌呤碱基(腺嘌呤与鸟嘌呤)与两种嘧啶碱基(胞嘧啶与胸腺嘧啶)区分开。嘌呤是具有 2 个环的含 N 杂环化合物,环上有 4 个 N 原子;而嘧啶是单环杂环化合物,环上有 2 个 N 原子。两种基团都称为碱基,原因是 N 原子能够从  $H_2O$  中吸引  $H^+$ ,并释放强碱基( $OH^-$ )。

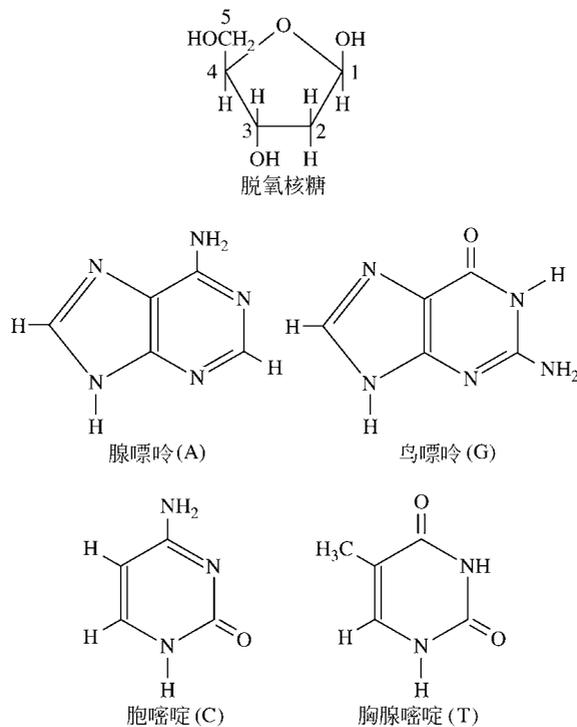


图 3.16 组成 DNA 的脱氧核糖(上)、嘌呤碱基(中)与嘧啶碱基(下)的结构

图 3.17 说明了如何通过核糖将杂环与磷酸基团结合起来形成脱氧核糖核苷酸。图中以腺嘌呤核苷为例,鸟嘌呤核苷、胞嘧啶核苷以及胸腺嘧啶核苷通过同样模式形成。此模式是核糖的 1 位碳原子与杂环的左下方 N 原子连接(图 3.18),而磷酸基团连接到核糖的 5 位碳原子上。杂环碱基与核糖 1 位碳原子之间通过糖苷键连接,在连接过程中从 C 上释放的 OH 与从 N 上释放的 H 形成  $H_2O$ 。磷酸基团与 5 位碳原子形成酯键,在此过程中从 C 上释放的 OH 与从磷酸基团上释放的 H 形成  $H_2O$ 。如果没有磷酸基团参与,形成的分子就

称为核糖核苷。

图 3.17 所示的基本核糖核苷酸能进一步发生两个反应,两者均有磷酸基团参与。第一个反应是再次加合 1~2 个磷酸基团,形成腺苷二磷酸脱氧核苷酸与腺苷三磷酸脱氧核苷酸。多个磷酸基团是所有细胞内能量守恒与运输的关键。三磷酸腺苷(ATP)与二磷酸腺苷(ADP)即未脱氧类似物,是细胞中关键的能量转移单位。第二个反应是核糖核苷酸聚合起来形成长链,即多核苷酸。图 3.18 说明了如何在脱氧核糖的 3 位与 5 位碳原子之间形成磷酸二酯键以生成多核苷酸。图中显示了形成 ACTG 序列的 4 个碱基。5 位或 3 位碳原子标记序列的两端: 5'端或 3'端。

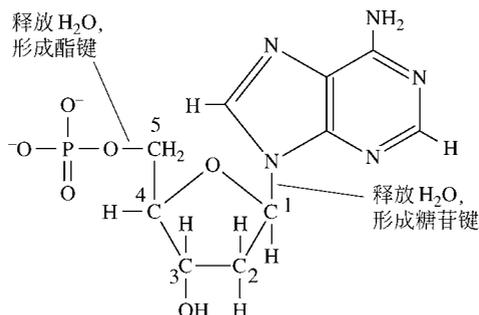


图 3.17 通过将腺嘌呤与磷酸基团连接到核糖单位上生成腺苷一磷酸脱氧核苷酸(注意糖苷键和酯键分别键合到核糖的 1 位与 5 位碳原子上)

如图 3.18 所示的短序列被称为寡核苷酸。实际上,用于编码信息的基因比核苷酸长得多,有几百个到几千个碱基。在信息流中使用的核苷酸的大小用千碱基(即 1000 个核苷酸碱基)计量。由于每个核苷酸具有 400 左右的相对分子质量,每个基因序列的相对分子质量可以达到 100 万或更大。

由于书写所有核苷酸单体的完整化学式是十分烦琐的,我们通常用速记符号表达序列,其中字母 A, T, G, C 分别代表腺嘌呤、胸腺嘧啶、鸟嘌呤、胞嘧啶。例如,一个寡核苷酸可能具有的序列为 5'-ATCGGATTTCGCGTAC-3'。因为该序列是有方向的,所以必须区别 5'端与 3'端。

DNA 最重要的特性是互补键合。由于化学结构的不同,碱基 C 与 G 形成 3 个氢键,而碱基 A 与 T 形成 2 个氢键。图 3.19 所示为键合模式。当两条核苷酸链具有向相反方向延伸的互补序列时,在它们之间形成一系列氢键,使两条链非常牢固地结合起来。图 3.20 说明了互补链之间的氢键键合。由于 C 与 G 共用 3 个氢键,而 A 与 T 共用 2 个氢键,CG 互补对能够形成更强、更稳定的双链结构。例如,当 DNA 双链上有 60%是 C+G 时,与只有 40%是 C+G 的 DNA 相比,前者能够在更高温度下保持双链结构。

由基因编码的遗传信息几乎总是以双链形式储存。这种结构具有重要意义: 第一,具有两条互补链提供备用的信息,使细胞有可能替换或校正遭到破坏的 DNA; 第二,通过互补性形成的强 DNA-DNA 键合意味着当必须复制或转录 DNA 时,需要利用特殊手段来暂时破坏氢键。

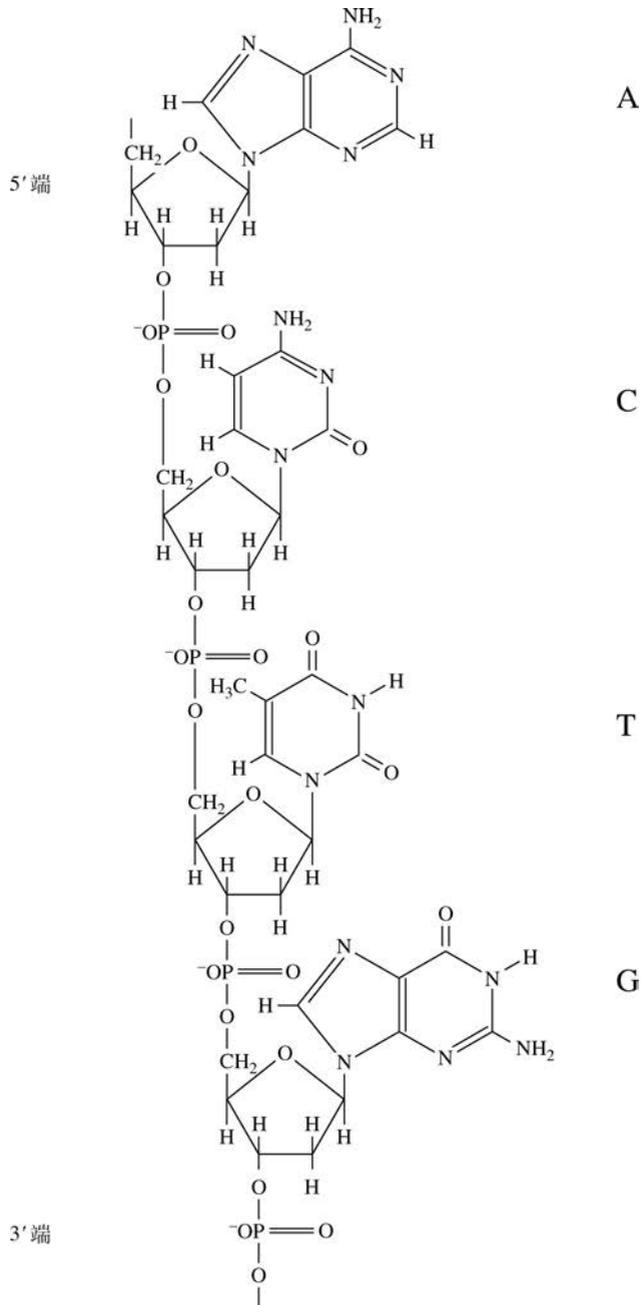


图 3.18 通过一系列磷酸二酯键连接脱氧核糖单位的 3 位与 5 位碳原子,形成 DNA 多核苷酸,碱基形成 ACTG 序列

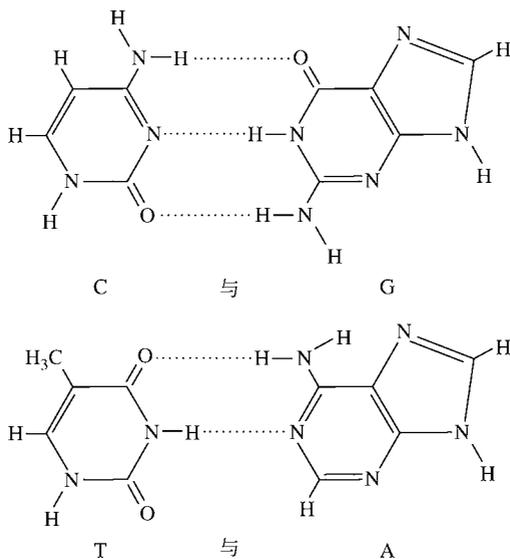


图 3.19 C 与 G、T 与 A 之间的氢键键合模式是互补键合的基础

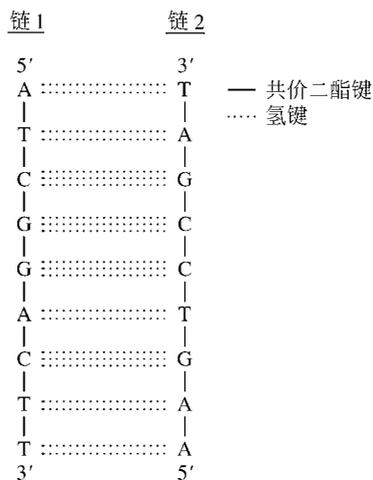


图 3.20 当碱基在相对方向上互补时，DNA 链通过氢键非常牢固地连接在一起

### 3.4.2 染色体

微生物的遗传信息是在染色体上编码的。在所有情况下，染色体均是含有信息的双链 DNA，这些信息告诉细胞如何执行最基本功能，如能量产生，细胞壁、细胞膜与核糖体的合成或复制。当细胞进行自我复制时，必须复制染色体，从而保证每个子细胞都含有染色体。为传递给子细胞而进行的染色体复制称为 DNA 的纵向转移，因为纵向是指新一代细胞。

原核生物的染色体是环状、双链 DNA，位于核区，但核区没有膜。一个细菌物种的典型染色体具有  $5 \times 10^6$  个碱基对（或  $10^7$  个核苷酸碱基）。古细菌物种一般具有  $2 \times 10^6$  个碱基对。

真核生物的染色体比细菌染色体复杂得多。第一,真核生物染色体被包围在磷脂膜内,形成细胞核。细胞核通过膜上的运输孔与细胞其余部分进行交流,并指挥细胞的复制。第二,在真核生物中染色体 DNA 的数量大得多,可达原核生物的 10 000 倍。第三,每个真核生物具有两个到数百个染色体。第四,染色体上的 DNA 与被称为组蛋白的蛋白质紧密结合。第五,真核生物 DNA 上具有不用于基因编码的重要区域,这些非编码区域(称为内含子)的作用还处于研究过程中。

### 3.4.3 质粒

原核生物在染色体之外还含有 DNA,最重要的例子是质粒。质粒通常是环形的双链 DNA,比染色体小而且独立于染色体。尽管质粒的大小千变万化,但典型质粒一般含有  $10^5$  个碱基对。质粒中含有微生物在正常环境条件下并不十分需要的功能基因。这些基因编码的是细胞在胁迫环境下需要的功能,例如,抵抗抗生素,降解不寻常而且通常具有抑制性的有机分子,以及降低重金属的可给性。

原核生物可能有一个或几个质粒。原核生物还能获得或失去质粒,而不影响其基本的遗传特征与功能。

在环境领域中,质粒的复制与转移是 DNA 横向转移的最重要方式。横向转移指现有细胞获得 DNA,因此,不发生细胞复制过程。细胞接合作用要求含质粒供体细胞与不含该质粒的受体细胞之间发生直接接触。在一个需要能量的过程中,质粒 DNA 被复制并转移给受体细胞。结果是,在接合完成后两个细胞均含有质粒。通过接合,不必经过细胞分裂,质粒就可以复制并增殖。因此,接合是在不产生新细胞的情况下,在不同原核细胞中传播遗传信息。已知质粒含有可生物降解外源化合物的基因,并对抗生素产生耐药性。

### 3.4.4 DNA 复制

为了将遗传信息如实地传递给子代细胞,DNA 链必须被精确复制。DNA 复制过程有 5 个关键步骤,包括:

(1) DNA 双链在复制起点的区域分开。一种特殊的酶以及结合蛋白负责将双链打开并保持打开状态。两条分开的链从双链中心出来,形成叉形结构;复制发生的部位称为复制叉。

(2) DNA 聚合酶结合到复制叉的一条链上,顺着两条链沿着从 3'端到 5'端的方向,从一个碱基移动到下一个碱基。

(3) 通过聚合酶生成一条 DNA 互补链;聚合酶将与固定该聚合酶的碱基互补的脱氧核糖核苷三磷酸连接到正在生长的新链前面的碱基上。聚合酶从细胞质中获得核苷三磷酸,并将 3 磷酸连接到前面核苷的 5'端 OH 上。在这个过程中释放一个二磷酸,为磷酸二酯键的形成提供能量。新链的尾端是 3'端,并具有 OH 末端。下一个连接需要的磷酸来自引入的碱基的 5'端三磷酸。

(4) 两条链的复制是同时进行的,复制叉移动,并在此过程中将 DNA 上更多的部分暴露给聚合酶。其中的一条链称为引导链,可以沿着从 3'端到 5'端的方向连续复制。另一条链是后随链,分段复制,然后各段由 DNA 连接酶连接起来。最后,复制产生两对双链,每对

中均有一条原始链以及一条新链。

(5) 由于 DNA 必须非常精确地复制,因此细胞具有精密的校正以及修改错误的机制。聚合酶具有核酸外切酶活性,可以检测错误,切除不正确碱基,并用正确碱基替换。在正常情况下错误率非常低,只有每个碱基对  $10^{-8} \sim 10^{-11}$ 。

### 3.4.5 核糖核酸(RNA)

生物有 3 条途径可以利用核糖核酸,将 DNA 上的遗传密码转变为可以工作的蛋白质。该密码被转录形成一条信使 RNA(mRNA)链。mRNA 由核糖体翻译,其中的关键组分是核糖体 RNA(rRNA)。氨基酸由称为转运 RNA(tRNA)的 RNA 载体分子运输到核糖体。

3 种 RNA 的基本结构都是相同的,而且与 DNA 的结构非常相似:核糖用其 1 位碳原子与嘌呤或嘧啶碱基连接,而磷酸基团连接在 5 位碳上。然而,RNA 与 DNA 有两点不同。第一,核糖在 2 位碳上有一个—OH 基团,而脱氧核糖的对应位置上是一—H 基团。第二,尿嘧啶代替胸腺嘧啶成为两个嘧啶碱基之一。图 3.21 所示就是核糖单位以及尿嘧啶碱基。尿嘧啶与腺嘌呤形成双重氢键。

RNA 核苷酸能形成与图 3.18 中的 DNA 多核苷酸结构相同的聚合物。区别仅在于核糖是未脱氧的,而且 U 代替了 T。正是结构上的相似使得有可能在转录过程中将 DNA 上的密码复制给 RNA。

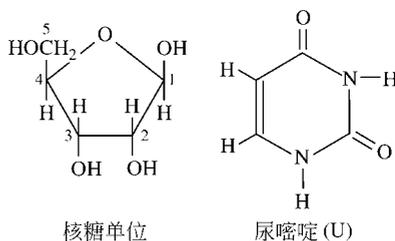


图 3.21 RNA 的组分(左边的核糖在 2 位碳上有一个—OH 基团,右边的尿嘧啶碱基替换了 DNA 上的胸腺嘧啶碱基)

### 3.4.6 转录

DNA 上的信息密码组合起来形成基因或 DNA 片段。在转录过程中,DNA 中一条链上的密码被用作模板,形成互补的单链 RNA。转录过程包括 5 个主要步骤。

(1) 一种被称为 RNA 聚合酶的酶键合到 DNA 的一条链上,键合位置在基因的启动子区,该区域延伸到距转录起始位置约 35 个碱基处。在所有启动子区中,转录起点前的第 5~10 个碱基以及第 30~35 个碱基的序列是相似的,RNA 聚合酶以此来识别启动子的位置。聚合酶与启动子结合的一个非常重要的特征是启动子区必须是自由的。一般情况下,启动子区被蛋白质封阻,这些蛋白质的作用是阻碍聚合酶的结合以及转录的发生。存在这种封阻作用的原因是,细胞无法负担在有的时候表达所有的基因。因此,当不需要某些蛋白质时,细胞就通过封阻相应基因的启动子区来阻遏基因的转录。在转录开始之前,第 10~50 个碱基之间的启动子序列决定键合什么样的抑制蛋白质。当需要某种蛋白质时,细胞有办法除去阻遏蛋白,使得 RNA 聚合酶能够结合并开始转录。

(2) DNA 双链分开,然后 RNA 聚合酶顺着一条链,沿着从 3'端到 5'端的方向从一个碱基移动到另一个碱基。

(3) 在每个碱基上,聚合酶将互补的核糖核苷三磷酸连接到正在生长的 RNA 链上。互补性原则是:

DNA	RNA
A	U
T	A
C	G
G	C

结合进来的三磷酸核糖核苷酸释放二磷酸,为反应提供能量。与 DNA 的复制一样,新链从 5'端向 3'端方向生长。换句话说,新核苷酸的 5'端磷酸基团被加到旧链的 3'端 OH 基团上,因此,使 RNA 的 3'端得以延伸。

(4) 在某点的转录完成后,DNA 双链就在该点上关闭。

(5) 当 RNA 聚合酶到达被转录基因(或一串相关基因)的末端,RNA 脱离,RNA 聚合酶也从 DNA 被释放下来。RNA 包含一个终止序列,是转录终止的信号。

与通过复制形成的 DNA 不同,由转录形成的 RNA 是单链的。这是有必要的,因为不同类型的 RNA 必须直接相互作用。

### 3.4.7 信使 RNA (mRNA)

当转录形成的 RNA 被用于产生蛋白质时,它就是信使 RNA(mRNA)。mRNA 被运送到核糖体,在这里 mRNA 的密码被翻译成氨基酸聚合物。翻译过程由核糖体的 rRNA 控制,而且涉及一个与 tRNA 共享的密码。

### 3.4.8 转运 RNA (tRNA)

转运 RNA 是一个重要的复合分子,是由 RNA 与氨基酸组成的复合体。图 3.22 中显示了这两个部分。RNA 部分包含 73~93 个核苷酸,通过互补核糖核苷酸(C-G, A-U)之间的氢键形成 3 个环与 1 个接纳茎。反密码子含有 3 个核苷酸,这 3 个核苷酸构成一个密码。接纳体结合在反密码子密码的特异氨基酸上。

三碱基反密码子与 mRNA 上的一个三碱基序列互补。这样,mRNA 通过指示氨基酸顺序指导蛋白质的合成。表 3.5 列出了与 mRNA 密码子对应的氨基酸。例如,mRNA 上的 UCU,与 tRNA 反密码子上的 AGA 配

对,代表丝氨酸。同样,mRNA 上的 GCG 代表丙氨酸。大多数氨基酸有不止一个 mRNA 密码,这种性质称为简并性。在这些情况中,第三个碱基可以变化或摇摆。

有 4 种三碱基密码具有特殊的功能。AUG 确切地指示三碱基密码的读取应该从哪个位置开始。由于 mRNA 上的碱基作为三联体被读取,而且几乎每个三联体均编码一种氨基酸,因此起点必须精确。在 RNA 密码中的 AUG 还编码甲硫氨酸,但是,当 AUG 被用作起始信号时,被编码的是 N-甲酰甲硫氨酸。UUA、UAG 与 UGA 是终止信号。

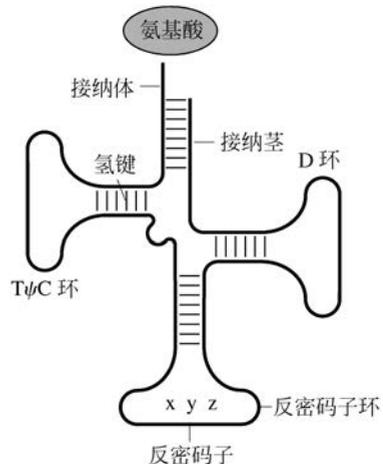


图 3.22 tRNA 分子的三叶草形结构,包括 3 个环、反密码子、接纳体,以及结合在接纳体上的氨基酸

表 3.5 氨基酸的三碱基密码子序列

氨基酸	mRNA 密码子
苯丙氨酸	UUU,UUC
亮氨酸	UUA, UUG, CUU,CUC,CUA,CUG
异亮氨酸	AUU,AUC,AUA
甲硫氨酸	AUG
缬氨酸	GUU,GUC,GUA,GUG
丝氨酸	UCU, UCC, UCA,UCG,AGU, AGC
脯氨酸	CCU,CCC, CCA,CCG
苏氨酸	ACU,ACC, ACA,ACG
丙氨酸	GCU,GCC, GCA,GCG
酪氨酸	UAU,UAC
组氨酸	CAU,CAC
谷氨酰胺	CAA,CAG
天冬酰胺	AAU, AAC
赖氨酸	AAA,AAG
天冬氨酸	GAU,GAC
谷氨酸	GAA,GAG
半胱氨酸	UGU,UGC
色氨酸	UGG
精氨酸	CGU,CGC,CGA,CGG,AGA,AGG
甘氨酸	GGU,GGC,GGA,GGG
终止信号	UAA,UAG, UGA
起始信号	AUG

### 3.4.9 翻译与核糖体 RNA (rRNA)

mRNA 密码子与 tRNA 反密码子之间的配对发生在核糖体中；核糖体是 rRNA 与蛋白质的复合体。mRNA 的三碱基密码被翻译成氨基酸聚合物或蛋白质。从起始 AUC 序列开始,核糖体每次读取 mRNA 密码的 3 个碱基。核糖体找到配对的 tRNA,并通过氢键将密码子与反密码子结合起来。核糖体使两个位点保持并排状态,这使得核糖体能够通过肽键将引进的氨基酸与正在生长的链上的最后一个氨基酸共价连接起来,并释放  $H_2O$ 。然后,核糖体移动 3 个碱基的距离,到达 mRNA 的 3'端,并重复上述过程。核糖体不断延长蛋白质,直到遇到一个终止密码子为止。

细胞含有几千个核糖体,而且当一些微生物处于快速生长状态时,核糖体的数目还会增加。核糖体具有巨大的结构,数量级在  $150\sim 250\text{\AA}$  (埃)<sup>①</sup>。核糖体中大约 60%是 RNA,40%是蛋白质。rRNA 由两种主要的亚单位组成。这两种亚单位通过大小进行识别,大小由沉降速率度量:对于原核生物,分别为 50S 和 30S。30S 亚单位再进一步分为 5S、16S 与

① 注:  $1\text{\AA}=10^{-10}\text{m}$

23S组分,分别有大约120、1500以及2900个核苷酸长。图3.23中的16S亚单位是大肠杆菌16S rRNA的序列及其二级结构。真核生物具有类似的rRNA组分,大小为18S。16S rRNA与18S rRNA称为核糖体小亚基(small system subunit, SSU)。所有SSU rRNA均具有非常相似的二级结构,尽管一级结构(碱基序列)不同。一级结构的不同对于发现不同生物的遗传相关性非常有用,这个话题将在3.4.12节中进行讨论。

尽管核糖体含有蛋白质和rRNA,但担任催化剂工作的是RNA。这是核酸酶的一个例子。在mRNA的翻译即将开始时,50S亚单位与30S亚单位结合起来形成一个功能核糖体。

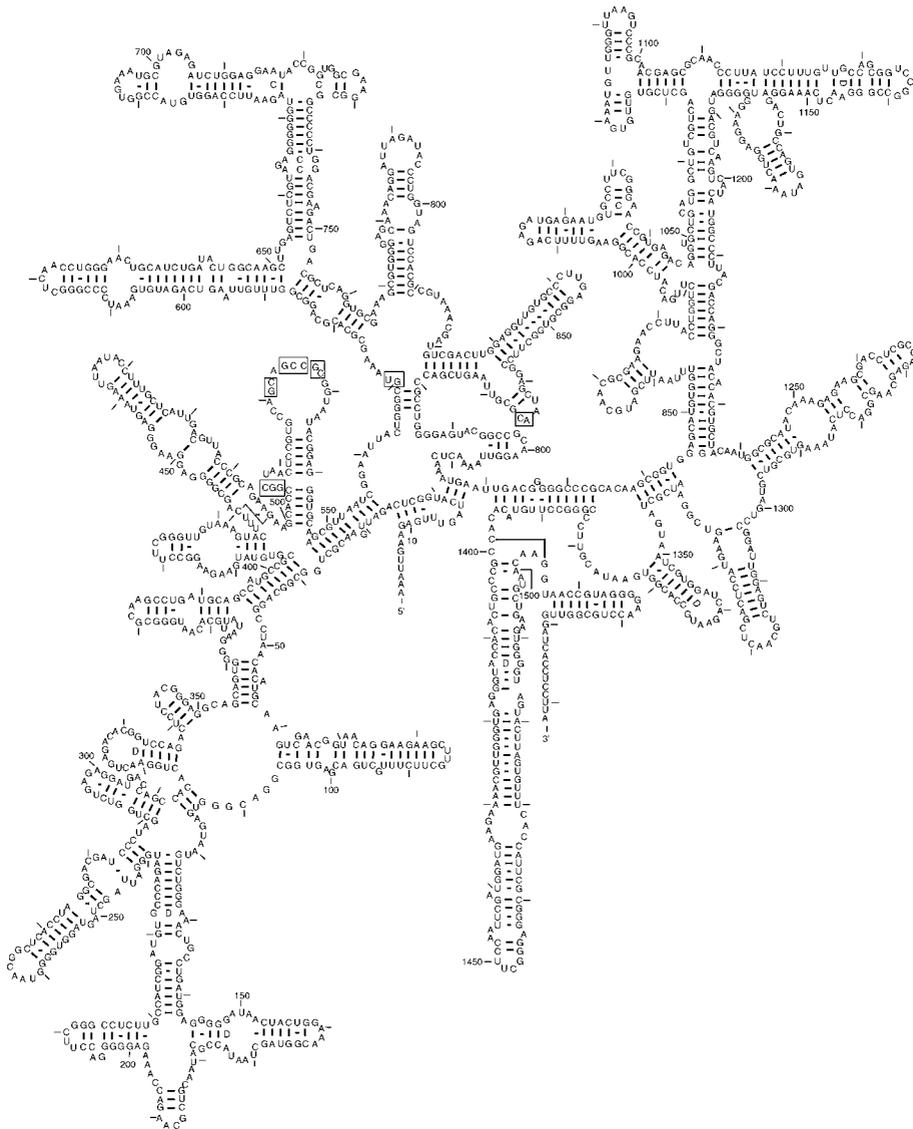


图 3.23 大肠杆菌 16S rRNA 的一级结构(碱基序列)与二级结构(氢键与折叠)(碱基以 50 个碱基为间隔进行编号)

### 3.4.10 翻译

翻译需要三种形式的 RNA 全部参与,分 5 个步骤,在核糖体中的 3 个位点进行。3 个位点彼此相邻,分别被称为 A、P、E 位点。A 代表到达位点,P 代表聚合位点,而 E 代表退出位点。

第 1 步,mRNA 将自己安置在 30S rRNA 单位的 P 位点上,使起始密码子(AUG)处于 P 位点上。对应的 tRNA(反密码子 UAC)带着一个甲酰甲硫氨酸到达 P 位点,与 AUG 密码子形成复合物。第 2 步,与 mRNA 中的下一个三碱基序列互补的 tRNA(朝着 3' 端)到达相邻的 rRNA 的 A 位点,并形成复合物。第 3 步,氨基酸形成肽键,甲酰甲硫氨酸从 tRNA 上释放。第 4 步,第 1 步中的 tRNA 与第 2 步中的 tRNA,以及其他的 RNA,移动到 rRNA 的 E 位点与 P 位点。第 5 步,第一个 tRNA 从 E 位点上释放下来,同时与 mRNA 上的下一个密码子配对的 tRNA 到达 A 位点并形成复合物。随后,重复步骤 3~步骤 5。这个过程反复发生,直到在 mRNA 上检测到一个终止密码子。作为释放因子的蛋白质将多肽链从最后一个 tRNA 上分离下来。核糖体亚单位随即解离,使 mRNA 恢复自由态,并使这些亚单位在下一次翻译即将开始时能够再次结合。

### 3.4.11 调节

细胞含有的基因数目比它在任何时候要表达的基因数目都要多得多。细胞控制“哪些基因将被表达”的方式被称为“调节”。最常见的调节方法是将调节蛋白结合到基因的启动子区,结合上去的蛋白质被称为阻抑蛋白,它会阻止将基因转录给 mRNA,转录过程就被阻抑。当细胞需要转录该基因时,细胞改变阻抑蛋白的化学结构,使它不能再结合在基因启动子上。改变阻抑蛋白结构的分子被称为诱导物,它能够诱导酶转录或解除对酶转录的阻遏。诱导物经常是形成基因产物的基质或在化学结构上与基质相似的物质。

在某些情况下,转录的调节会涉及激活蛋白,该蛋白会允许 RNA 聚合酶结合到启动子上。在这种情况下,诱导物分子改变激活蛋白的结构,使得 RNA 聚合酶能够结合。

有些基因始终被表达,这些基因被称为结构基因,通常产生对细胞的基本代谢非常重要的蛋白质。结构基因的表达不受调节,但是,这些基因产物的活性经常受本章前文讨论的抑制机制的调节。

### 3.4.12 系统发育

系统发育指根据可遗传的遗传特性将各物种系统地划分成几个较大的种群(较高级的分类单位)。系统发育基于遗传进化的概念,认为染色体 DNA 序列的逐渐变化导致新物种的形成。根据我们的理解,系统发育的原理是所有物种均具有一个共同的进化祖先,形成系统树的根,所有物种均是根的分枝。

图 2.1 提供了生命系统发育树的初步概览。我们在以下段落中提供了系统树的更多详细信息。图 3.24 代表了通用系统发育树的最简单形式。这个树显示,地球上所有的已知生命均可以划分到 3 个域中:真核生物、古细菌以及细菌。其中的两个域——古细菌与细菌——构成原核生物。与这 3 个域相连的直线形成系统树的主干。图 3.25 中显示的是真核生物域。当我们在树上寻求更多细节时,从主干又分出一些支干。图 3.25 将细节显示到界的水平。每个界分支又被分成更小的分支,反映了相关物种中更小的细节。

沿着系统树从一个物种到另一个物种的直线距离可以量化表示两者之间的遗传距离。例如,图 3.25 表明,植物与真菌的关系相当密切,而植物与动物之间的关系较远。原生动物双滴虫与植物之间的区别比动物与植物之间的区别要大得多。

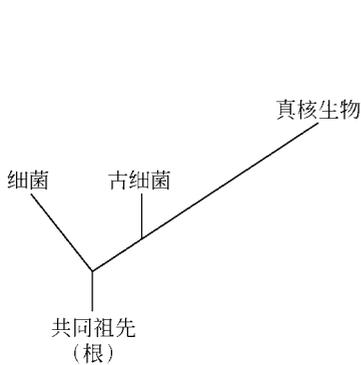


图 3.24 简单的总系统树显示了 3 个域

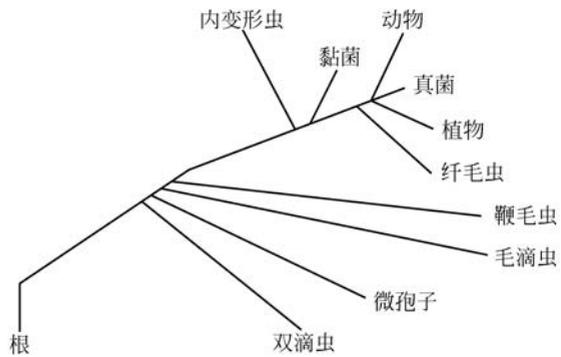


图 3.25 更详细的真核生物树显示了从主干出来的界分支(图中的树指出了大致的相关性,进化距离未定量)。

与根之间的距离代表了种群的进化地位。离根较近的种群可能比离根较远的种群进化得早些。进化时间涉及染色体 DNA 序列的逐渐变化。进化时间不一定严格按照日历时间。沿着不同分支变化的速度并不相同。

图 3.26 显示了在细菌域中界的细目分类。图 3.26 还显示了一个界——变形细菌 (proteobacteria),怎样分叉成 5 个种群;这 5 个种群在遗传上具有密切关系,尽管它们在新陈代谢上明显不同。例如, $\beta$  种群包括光养型生物及能氧化铵、亚铁离子、还原态硫以及很多有机化合物的化能营养型生物。

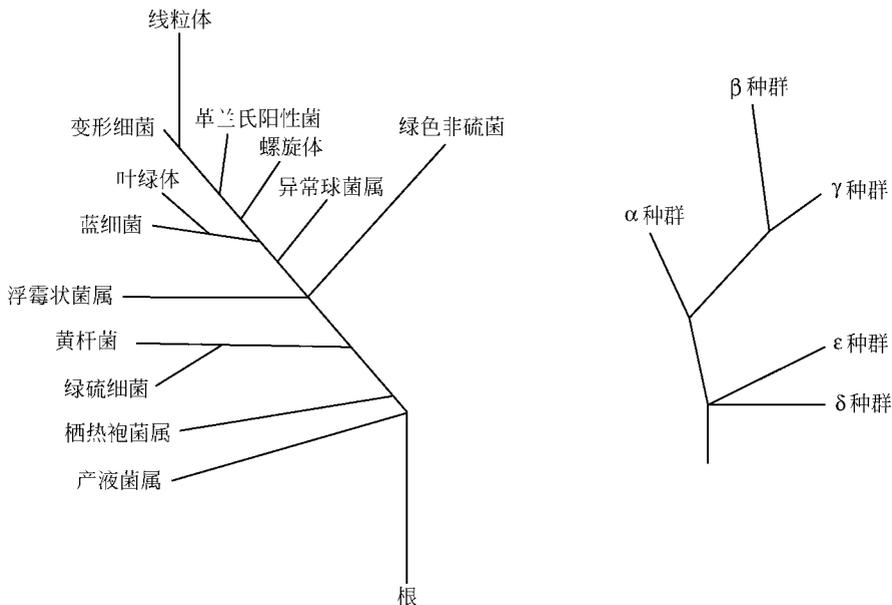


图 3.26 细菌的界(左图),其中变形细菌又分化为 5 个具有密切关系的种群(右图)。图中的树指出了大致的相关性,进化距离未定量。

图 3.37 所示的是古细菌域的相似信息。古细菌被进一步分为广古生菌门、泉古生菌门、纳古菌门、初古菌门和奇古菌门。另外,图中还显示了更细致的广古生菌分类。广古生菌的多样性可以从属名反映出来,其中包括大量产甲烷菌、嗜盐微生物、嗜热微生物。就细菌域而言,遗传相似性并不一定意味着生物在新陈代谢或其他表型表达上是相似的。

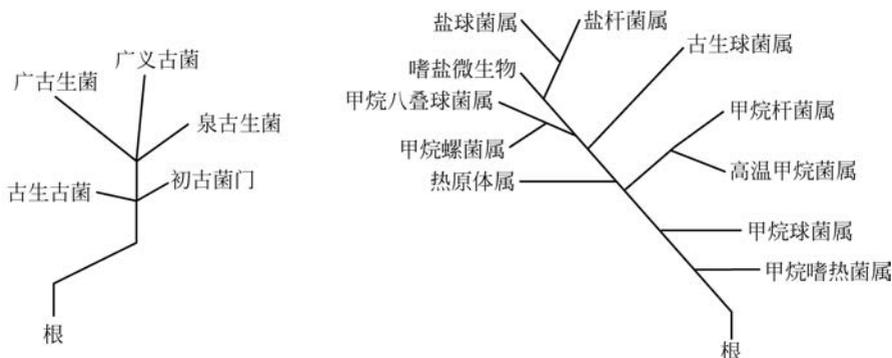


图 3.27 古细菌域被分为广古生菌与泉古生菌。前者在右边详细地显示到属的水平。图中的树指出了大致的相关性,进化距离未定量

### 3.4.13 系统发育分类的基础

系统发育分类依赖于确定一个在各种类型细胞中均存在,而且与细胞的遗传特性直接相关的分子。乍看上去,染色体似乎是最可能的候选者,原因在于染色体是细胞遗传结构的最终储存地。不过,染色体太大,不能胜任此功能。尽管分子生物学的进步使测序速度更快、成本更低,但无论 DNA 测序和编目变得多么快,巨大的工作量始终会带来实际困难。染色体的不同部分以非常不同的速度变化,而且可能还是以非常不同的方式变化。因此,如果通过比较完整染色体的序列来探寻关于“生物在系统发育上是如何相关的”,可能得到各种答案。

迄今为止,得到广泛公认的系统发育计时器是核糖体 RNA(rRNA)。所有细胞均必须通过 rRNA 执行翻译过程,而各种类型细胞的 rRNA 结构均是非常稳定的。因此,rRNA 已被证实是一种很好地进行系统发育的分子。

在大多数情况下,SSU(如 16S 或 18S)rRNA 序列是系统发育对比的基础。SSU rRNA 能很好地完成这一功能,原因在于它的 1500 个碱基对既不太少,也不太多。这 1500 个碱基对提供了足够的遗传多样性,能将一个物种与另一个物种区分开来,而数目又没有多到使测序工作过度繁重的程度。

图 3.28 显示了 16S rRNA 的二级结构,而且确定了哪些碱基对所有生物是相同的,哪些碱基对是不同的。不变的区域称为保守区域,对于排列 RNA 序列以进行对比非常有用。可变区域对于区分不同生物是有用的。

利用计算机统计方法比较 16S rRNA 序列,产生了一个系统树,将各序列最佳地安排到主干-分支模式中,如前文所示。由于被检测序列的数目以及运算法则工作方式的不同,生物在系统树上的位置可能不同。系统树可以用扇形图表示,如图 3.24~图 3.27 所示。当菌株的数目增加时,其他表示方式可能更实用,这些表达方式将在第 4 章中采用。

可以通过两种方法获得 SSU rRNA 序列。比较传统的方法是,先将 rRNA 从细胞中提

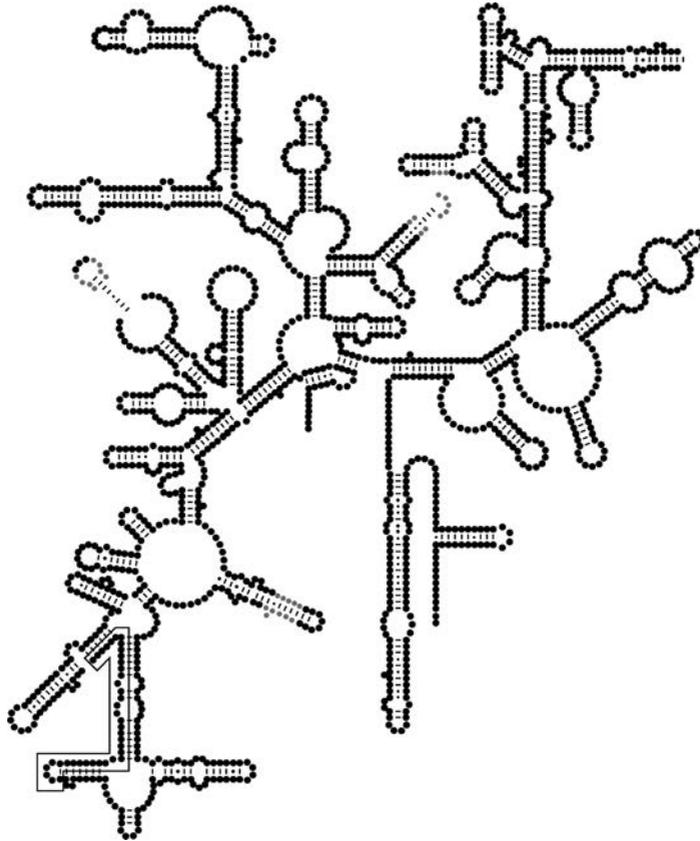


图 3.28 SSU(16S) rRNA 二级结构,显示了某个区域中碱基的保守程度。颜色很深的环表示完全保守区,颜色很淡的点代表具有高度可变性的区域  
(资料来源: Stahl,1986)

取出来再检测。用酚进行提取,可以将 RNA 从蛋白质中分离出来。然后,用乙醇沉淀法分离核糖体 RNA。接着,利用 16S rRNA 的特异 DNA 引物与逆转录酶,合成与该 16S rRNA 互补的 DNA 片段。对该 DNA 片段进行测序,这样,rRNA 序列就可以从这个 DNA 序列推断出来。

第二种方法,也就是目前主要使用的方法,用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)和 16S rRNA 基因的引物复制 DNA 基因,然后测定其序列。引物针对某些可变区,以便获得最丰富的信息。有关这些技术的更多信息将在第 4 章中呈现。

一旦知道了 16S rRNA 序列,就可以把它加到序列数据库中。利用保守区域将新序列与已有序列排在一起。然后,评估可变区域,计算新生物与其他生物之间的进化距离以及新生物在系统树上的位置。

利用计算机进一步分析可变区域,能够确定某种特定生物或一系列相似生物特有的片段。这些特有序列对于设计寡核苷酸探针非常有用;寡核苷酸探针可用于识别并量化复杂微生物群落中存在的不同微生物,这将是第 4 章讨论的主题。

## 参考文献

- Madigan, M. T. ; K. S. Bender; D. H. Buckley; W. M. Sattley; and D. A. Stahl (2019). *Brock Biology of Microorganisms*, 15th ed. New York: Pearson.
- Miesfeld, R. L. and M. M. McEvoy (2017) *Biochemistry*. New York: W. W. Norton.
- Nelson, D. L. and M. M. Cox (2005). *Lehninger's Principles of Biochemistry*, 4th ed. New York: McMillan.
- Stahl, D. A. (1986). "Evolution, ecology, and analysis." *Bio/Technology* 4, pp. 623-628.
- Stryer, L. (1995). *Biochemistry*. New York: W. H. Freeman and Co.

## 参考书目

- Alcorno, I. E. (1997). *Fundamentals of Microbiology*, 5th ed. Menlo Park, CA: Addison-Wesley-Longman.
- Alm, E. W. ; D. B. Oerther; N. Larson; D. A. Stahl; and L. Raskin (1996). "The oligonucleotide probe database." *Appl. Environ. Microb.* 62, pp. 3557-3559.
- Amann, R. L. ; L. Krumholz; and D. A. Stahl (1990). "Fluorescent oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology." *J. Bacteriol.* 172, pp. 762-770.
- Lane, D. J. ; B. Pace; G. J. Olsen; D. A. Stahl; M. L. Sogin; and N. R. Pace (1985). "Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analysis." *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 82, pp. 6955-6959.
- Pace, N. R. ; D. A. Stahl; D. J. Lane; and G. J. Olsen (1986). "The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences." *Adv. Microb. Ecol.* 9, pp. 1-55.
- Stackebrandt, E. and M. Goodfellow, Eds. (1991). *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. New York: John Wiley & Sons.
- Teske, A. ; E. Alm; J. M. Regan; S. Toze; B. E. Rittmann; and D. A. Stahl (1994). "Evolutionary relationships among ammonia- and nitrite -oxidizing bacteria." *J. Bacteriol.* 176, pp. 6623-6630.
- Woese, C. R. ; O. Kandler; and M. L. Wheelis (1990). "Toward a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eukarya." *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 87, pp. 4576-4579.

## 习 题

- 3.1 列举三种酶抑制类型。
- 3.2 列出两种在细菌中普遍存在的不同类型的酶。
- 3.3 以下哪些电子供体/电子受体对代表细菌生长的势能反应? 假设 pH=7, 且所有反应物和产物都具有单位活性。

	电子供体	电子受体
a	乙酸	CO <sub>2</sub> (产甲烷作用)
b	乙酸	Fe <sup>3+</sup> (还原为 Fe <sup>2+</sup> )

续表

	电子供体	电子受体
c	乙酸	$H^+$ (还原为 $H_2$ )
d	葡萄糖	$H^+$ (还原为 $H_2$ )
e	$H_2$	$CO_2$ (产甲烷作用)
f	$H_2$	$NO_3^-$ (反硝化作用形成 $N_2$ )
g	$S^0$ (氧化成硫酸盐)	$NO_3^-$ (反硝化作用形成 $N_2$ )
h	$CH_4$	$NO_3^-$ (反硝化作用形成 $N_2$ )
i	$NH_4^+$ (氧化成 $NO_2^-$ )	$SO_4^{2-}$ (还原为 $H_2S$ 与 $HS^-$ )

3.4 画出核糖与脱氧核糖的结构。

3.5 DNA 与 RNA 在细胞中的存在方式有何不同?

3.6 DNA 与 RNA 分子中分别存在哪些碱基对?

3.7 细胞中 DNA 与 RNA 的主要作用是什么?

3.8 在下列各种物质中,哪些化合物作电子供体,哪些作电子受体,哪些具有两种功能:  $Fe^{2+}$ 、 $O_2$ 、 $CO_2$ 、 $NH_4^+$ 、 $NO_2^-$ 、 $NO_3^-$ 、 $HS^-$ 、 $CH_4$  和  $Fe^{3+}$ 。

3.9 表中给出了一些重要电子供体与电子受体的标准电势(pH=7)。计算电子在下列供体/受体对之间转移时的总标准电位(pH=7):  $H_2/Fe^{3+}$ 、 $H_2S/O_2$ 、 $CH_4/NO_3^-$ 、 $H_2/O_2$ 、 $Fe^{2+}/O_2$ 、 $H_2S/NO_3^-$ 。

还原态物质	氧化态物质	电位/V
$H_2$	$H^+$	-0.41
$H_2O$	$O_2$	+0.82
$H_2S$	$SO_4^{2-}$	-0.22
$N_2$	$NO_3^-$	+0.75
$Fe^{2+}$	$Fe^{3+}$	+0.77
$CH_4$	$CO_2$	-0.24

3.10 为什么 DNA 的复制必须沿着从 5'端到 3'端的方向(对于新链)进行?

3.11 如果 RNA 聚合酶在正常起点上游的一个碱基处(如在 5'端)启动转录过程,将出现什么结果(就蛋白质合成而言)?

3.12 为什么需要跨膜转运蛋白质?

3.13 原核生物与真核生物的 DNA 有哪些相同与不同?

3.14 代谢流通物(如 NADH、NADPH 及 ATP)充当辅基、辅助因子、辅酶还是脱辅酶(选择一个答案),并解释一下你选择的答案。

3.15 DNA 的复制与转录是相似的过程:聚合酶均是沿 DNA 链从 3'端向 5'端移动,加入核苷三磷酸,并使产物链向 3'端方向延伸。不过,复制与转录过程有着重要的不同。请从以下方面对比复制与转录过程:(a)什么时候发生以及发生的频率;(b)产物的化学性质。

3.16 对比 mRNA 与 tRNA 在细胞中所起的作用。

3.17 蛋白质以其催化生物化学反应的能力而著称,但是,蛋白质在微生物体内还有其他功能,列举至少 6 种其他功能。

**3.18** 由 ADP 与无机磷酸盐合成 ATP 的过程是耗能过程。膜结合 ATP 酶是怎样促成 ATP 合成过程的?

**3.19** 假设细菌利用丁醇( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ )作为电子供体。(a)写出其完全氧化过程的分解代谢途径;(b)列举还原态电子载体的生成反应;(c)如果微生物进行有氧呼吸,计算预期的 ATP 产量(以 mol ATP/mol 丁醇表示)。

**3.20** 如果 1mol 葡萄糖被发酵产生下列物质,还有哪些其他发酵产物产生:(a)2mol 乙酸及 2mol  $\text{CO}_2$ ;(b)1mol 丙醛( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHO}$ )及 2mol  $\text{CO}_2$ 。

**3.21** 比较蓝细菌利用光能的方式与绿色细菌及紫细菌的光利用方式。

**3.22** 下列呼吸型载体中哪些携带电子,而不是携带质子:细胞色素 c、黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD)、铁氧化还原蛋白、烟碱腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)?

**3.23** 糖原异生作用最符合的定义是:

- (a) 糖酵解的同义词
- (b) 糖酵解的逆过程
- (c) 由非碳水化合物前体形成葡萄糖的过程
- (d) 以上均不是

**3.24** 在不产氧光合作用中下列哪些现象不会发生:

- (a) 系统在厌氧条件下运行
- (b) 水分子被分解为氧化态产物及还原态产物
- (c) 通过循环光合磷酸化形成 ATP
- (d) 细菌叶绿素参与了光反应

**3.25** 请写出丙酸( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ )完全氧化过程的合理途径。如果细胞进行有氧呼吸,每摩尔丙酸可以产生多少 ATP?

**3.26** 我们知道极端 pH 会抑制酶的催化作用。极端 pH 是怎样影响酶活性的?

## 第4章 微生物生态学

除了在高度专门化的研究或工业环境中,群落中的微生物通常都具有巨大的遗传及表型多样性。在不同微生物类型之间以及微生物与环境之间发生的相互作用称为微生物生态学。为了理解一个群落的微生物生态学,我们必须回答这些基本问题:

- (1) 存在哪些微生物?
- (2) 微生物能进行哪些新陈代谢反应?
- (3) 微生物正在进行什么反应?
- (4) 不同微生物之间以及微生物与环境之间如何相互作用?

第一个问题指的是群落结构,至少包括三方面内容:第一,列出存在的各种不同类型微生物的数量;第二,每种类型的丰度;第三,不同种群的空间关系。由于在环境中生存的群落通常是聚集生长的,因此,空间关系可能是非常稳定且十分重要的。

第二个和第三个问题描述的是群落功能的不同方面,或者生物个体或群体的行为。第二个问题与潜在活性以及可能行为的范围有关,被定义为表型潜力;第三个问题指出在环境中实际发生的行为,被定义为表型现状。

第四个问题要求综合前面的问题得到相关信息。不同微生物之间以及微生物与其合成、消耗,(特别是)交换的物质之间的物理关系,也就是微生物的相互作用,这是微生物生态学的要点。

在环境生物技术中,工程过程的设计与运行是实践微生物生态学的途径,从而利用微生物群落满足人类的需要。作为应用微生物生态学家,工程师们建立的系统(反应器)具有这些特点:含有适当类型的微生物(群落结构);微生物积聚了足够数量,能完成需要的生物化学任务(群落功能);微生物共同工作,随时间推移稳定地完成它们的任务(综合群落生态学)。为了实现这些目标,工程师们设计合适的方式,为所需要的微生物提供适当的营养,将这些微生物保留在系统中,从而实现所需的过程性能,如去除污染物或生成有价值的产物。

下面3节将介绍一些重要的生态学概念:选择、物质交换以及适应。这些概念是工程师控制系统微生物生态状况的基础。随后,概要介绍成功应用这些概念的几个重要的例子。最后,介绍微生物生态学研究工具。

## 4.1 选择

在一个微生物群落内的所有微生物个体,就其完成的生物化学反应及其他表型特性而言,是不同的。选择是指那些最适合在该环境中生存的、个体产生最大量后代的过程。随着时间的推移,被选择的微生物在群落中占据了稳定位置,继续完成其生物化学反应,并保持其可遗传的遗传信息。

从微生物的角度,它的首要目标是在群落中保持遗传信息被继承。微生物实现这个首要目标的方式是找到或创造一个小生境,这个小生境是一个多维空间,可以从能量供应、营养物质、pH、温度及其他条件方面维持细胞,并使其遗传信息得到继承。在通常情况下,有许多不同微生物竞争共同的资源,如电子受体或营养物质。被选择的微生物是那些能够捕获可利用资源的微生物。失去对资源竞争能力的微生物会被选择过程淘汰,有可能从群落中消失。

为了达到环境目标,工程师们在设计及运行微生物系统的过程中,通过控制环境使最需要的微生物被选择。环境生物技术的传统目标是去除污染物。幸运的是,大多数污染物是某些原核生物的电子供体或电子受体基质。例如,生化需氧量(biochemical oxygen demand, BOD)就是度量有机电子供体的一种方法。为了从废物中去除 BOD,可以通过以适当速率提供合适的电子受体(如  $O_2$ ),使异养菌被选择,但是提供电子受体的速率应该与必须达到的 BOD 去除速率相称。只要有营养物质存在,而且环境中的 pH、温度及盐度条件合适,异养生物将从 BOD 的氧化过程中获得能量,实现自我选择。因此,对能够利用电子供体或受体基质的微生物的选择是容易理解的,原因在于利用反应提供电子流及能量流,能够为所需要微生物的生长提供能量。

异养菌是说明选择层次是按照电子受体排序的一个很好的例子。许多类型的有机电子供体基质,均出现了不同原核生物都能将其氧化过程与多种电子受体的还原过程偶联起来的情况。在这种情况下,这些不同的微生物竞争共同的资源——电子供体。一种微生物在建立小生境方面表现出来的相对竞争能力,包括氧化共同供体的能力,取决于该生物能够在电子从供体到受体的转移过程中获得多少能量。第5章将介绍一种量化相对能量产率的方法。图3.5提供了测量相同电子受体的相对能量产率所需的信息。在直接竞争一种有机电子供体的情况下,进行有氧呼吸的细胞能够获得更多的能量,并在生长速率上具有优势。不同电子受体的能量产率,其竞争性按  $O_2 > NO_3^- > Fe^{3+} > SO_4^{2-} > CO_2$  的顺序依次降低。只要供体资源没有因电子转移给了更合适的受体而全部消耗,那么利用不同电子受体的微生物能够共存。

影响选择的另一个重要因素是微生物消耗其电子供体和受体的速率。对速率的系统理解,称为动力学,将在第6章和第7章中展开介绍。当不同的微生物竞争相同的资源(如共同的电子供体或受体)时,动力学起着关键作用。反应器中可以更快地消耗底物的微生物会获得选择性优势,无论它们是否具有能量产量优势。第6章指出,具有能量产量优势的微生物通常也具有生长动力学优势。然而,使用相同电子供体和受体的微生物(如好氧的异养菌)可能具有不同的动力学,这会导致基于控制动力学因素的一种或另一种微生物的增殖。在某些情况下,动力学优势可能比能量产出优势更重要。

选择不仅以某种电子受体(或供体)的有效性为基础,在处理反应器中,也在很大程度上取决于微生物被保留的能力。在环境生物技术中,微生物群落总是聚集生长在絮体或生物膜中。在反应器中,聚集体比独立个体或分散细胞容易保留得多。因此,微生物形成或加入聚集体的能力,对一些环境系统的选择过程很关键。在某些情况下,微生物菌株可以通过位于聚集体中的有利位置,来实现其选择优势。

其他有利于选择的因素包括:避免被捕食的能力、获取并储存有用资源的能力以及与其他微生物交换物质的能力。抗捕食能力的价值是显而易见的。获取有用资源(如共同电子供体)的能力,在环境条件波动性大而且波动有规则的情况下特别有用。还有,能够在基质丰富时捕食并储存资源的生物,能在基质匮乏时利用被储存物质生存。工程师们已经非常善于利用能够储存资源的细菌了。最后一个优点——物质交换,将在下一节中讨论。

环境生物技术中的群落通常含有巨大的功能冗余性(function redundancy)。换句话说,群落结构中包括几种不同菌株,能够执行相同的生物化学功能。例如,它们使用相同的电子供体和受体。功能冗余的菌株可能在底物利用动力学、pH 或最佳温度、聚集能力方面有所不同,并且随着时间推移,不同菌株的相对丰度可能会随反应器条件的变化而变化,但是,整个群落的功能几乎是不变的。对于处理应用,功能冗余性是一个优点,意味着即使在群落结构发生变化时,系统的表现也是趋于稳定的。

与冗余性互补的一个概念是代谢多功能性(metabolic versatility)。原核生物的某些种群以在新陈代谢上具有多样性而著称。许多异养生物,特别是假单胞菌属,能够氧化很多种有机分子。这种能力使它们能捕食不同来源的电子与碳,大大降低了它们被饿死的可能性。硫酸盐还原菌也因其代谢多功能性而著称。当有硫酸盐存在且在厌氧条件时,硫酸盐还原菌还原硫酸盐,并彻底氧化  $H_2$  或一些有机电子供体。当缺乏  $SO_4^{2-}$  时,硫酸盐还原菌转向发酵过程,通过更复杂的有机物转化形成  $H_2$ 、乙酸及其他发酵产物。因此,硫酸盐还原菌在微生物群落中无所不在,即使系统中没有  $SO_4^{2-}$  也是如此。一些细菌在可利用的电子受体方面展现出特别的多样性,兼性好氧菌是很好的例子。若  $O_2$  存在,它们会利用  $O_2$  进行呼吸;若  $O_2$  浓度不是很高,它们也能利用其他电子受体(如  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$  和  $ClO_4^-$ ) 进行呼吸。

## 4.2 物质交换

微生物群落的生存与选择过程中一个最重要的过程,是不同类型微生物之间的物质交换。三种常见的交换方式包括:基质交换、遗传信息的交换以及化学信号的交换。

### 4.2.1 基质交换

微生物群落中也有食物链,与大型生物生态学中的食物链具有一些相同的特征。图 4.1 构建了一个典型大型生物生态系统。食物链顶部是初级生产者,如植物与藻类,它们捕获太阳光能,通过光营养创造生物质。然后,初级生产者的生物质被初级消费者消耗;初级消费者直接捕食初级生产者。然后是二级、三级消费者。消费者是异养生物。被消耗的细胞是下一个营养级的电子供体基质。在通常情况下,随着消费级别的升高,种群的总质量降低,尽管生物个体的体型通常是增大的。

微生物生态系统的某些方面与图 4.1 中描述的内容是相似的。一个最好的例子就是原生动物或简单蠕虫对细菌、蓝细菌或藻类的捕食过程。在这种情况下,原生动物消耗更小的细胞,并把它们直接作为食物利用。在捕食过程中,整个细胞就是交换物质。这种形式的捕食称为摄食;摄食在好氧处理过程中非常重要,将在第 11 章中进行讨论。

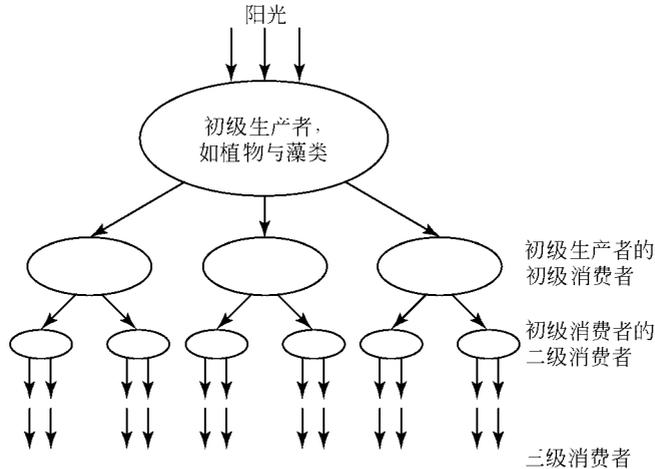


图 4.1 简单大型生物生态系统的示意

其中,初级生产者(如植物)直接被初级消费者消耗,初级消费者随后又被二级消费者消耗,以此类推。

注意:种群总量(用椭圆大小表示)随着消费级别的升高而降低

大多数微生物生态系统中的交换并非采取摄食完整细胞的方式,而是一个细胞将分子释放到环境中,另一个细胞以使一个或两个细胞受益的方式,将这个分子吸收。因此,微生物生态系统中的主要联系方式是分子的交换,而不是一个细胞被另一个细胞消耗。

微生物基质分子的交换有三种典型模式:通过自养型生物将  $\text{CO}_2$  还原为有机(还原态)碳;部分氧化有机中间体的释放;无机元素的循环。本节将简单介绍每种模式,并指出哪些章节含有更详细的信息。

光能自养型生物(如藻类与蓝细菌)与化能自养型生物(如氧化铵、硫化物及氢气的细菌)将无机碳(氧化态, +4 价)还原为 0 价氧化态的有机碳。虽然其主要目的是合成新的物质,但自养型生物也会将部分有机碳以溶解分子的形式释放出来,这些有机碳是一些异养型生物的电子供体基质。在特殊情况下,例如,当光能自养型生物暴露在强光之下,而 N、P 营养物却严重有限时,自养型生物会将大量有机分子释放到环境中。这个现象似乎是倾卸电子(利用光能自  $\text{H}_2\text{O}$  或  $\text{H}_2\text{S}$  中提取)的一种机制。当这些电子由于受营养物的限制不能被用于生物合成时会发生这种情况。在比较正常的条件下,自养型生物向环境中释放少量但是稳定的细胞大分子。这些正常释放物被称为溶解性微生物产物,详细内容将在第 8 章中进行讨论。事实上,所有微生物,包括异养型生物,均释放溶解性微生物产物,这些产物能够充当某些异养菌的基质。自养型生物产生溶解性微生物产物的行为很有意义,因为这增加了异养型生物可利用还原态碳的数量。

微生物生态系统中第二个广泛存在的现象是有机中间体的形成与交换。任何发生发酵

作用的系统均可以作为典型的例子。图 4.2 显示了一个简单厌氧生态系统中的物质流动。在该系统中,碳水化合物( $C_6H_{12}O_6$ )被发酵,经由一系列有机中间体形成乙酸与  $H_2$ ,随后,乙酸与  $H_2$  被产甲烷菌利用。这个交换网络将在第 10 章厌氧处理的产甲烷过程中进一步阐述。在图 4.2 中,首先通过产酸发酵菌产生丙酸、乙酸、氢气与无机碳,在这个过程中,24 个电子当量与 6 个碳当量全部被保存下来。然后,由另一种不同的发酵菌将丙酸转化成更多的乙酸、氢气与无机碳。乙酸被专门分解乙酸的产甲烷菌发酵形成甲烷与无机碳,而氢气被专门的氢氧化产甲烷菌氧化生成更多甲烷。净结果是  $C_6H_{12}O_6$  中的 24 个电子当量全部转移到  $CH_4$  中。在这里,至少有 4 个不同的微生物种群,2 个来自细菌域,2 个来自古菌域,能够通过代谢中间体的逐步形成和消耗提取能量,并创造适宜的生境。图 4.3 显示了产甲烷菌群落中,不同厌氧微生物之间形成的密切关系。

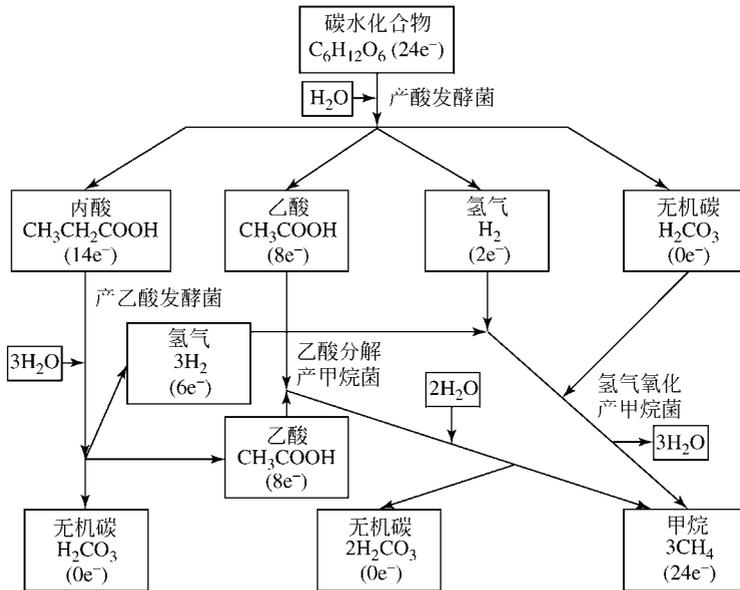


图 4.2 厌氧生态系统中中间体分子的流动:从碳水化合物开始,形成有机酸与  $H_2$  中间体,并最终产生  $CH_4$ 。净反应为:  $C_6H_{12}O_6 + 3H_2O \rightarrow 3CH_4 + 3H_2CO_3$ , 涉及 4 种不同的微生物种群



图 4.3 生长在麦秸培养基上的混合产甲烷培养物的扫描电镜照片,大肠杆菌是利用乙酸的产甲烷菌

(照片的使用经 Xinggang Tong 授权)

利用中间产物的微生物的生存,需要依靠那些产生中间体的微生物的代谢行为,它们的生态依赖性是显而易见的。对于图 4.2 中的情况以及厌氧生态系统中的许多类似情况,执行前面步骤的微生物也在生态上依赖消耗中间产物的微生物的代谢行为。就像在第 3 章及将在第 5 章、第 13 章中详细介绍的那样,前面的发酵步骤产能少,只有当发酵产物的消耗者能够将这些产物的浓度(特别是  $H_2$ )维持在非常低的水平时,发酵步骤在热力学上才是可能的。这种情况是协同作用的一个好例子,能够使所有的微生物受益。图 4.2 所示的协同作用又称互生,微生物之间的合作是通过电子供体基质的交换实现的。许多厌氧生态系统是专性互生的,也就是说,生物个体不能独立于其互生伙伴而被选择。

当含有部分矿化途径的生化步骤速度变慢或被阻断时,可以沿另一条途径产生还原态中间体。然后,部分反应中间体在细胞内积累并被排入环境。营养物限制或共基质限制是部分氧化中间体积累的主要原因。图 4.4 显示了已知的一个中间体积累的例子。在这个例子中,当由于溶解氧浓度低或动力学反应本身的缓慢等使双加氧过程被阻断时,甲基儿茶酚出现了积累。释放到溶液中的甲基儿茶酚可以作为其他异养型生物的电子供体基质,这些异养型生物不受低溶解氧浓度的限制,或者能够通过其他途径分解甲基儿茶酚。

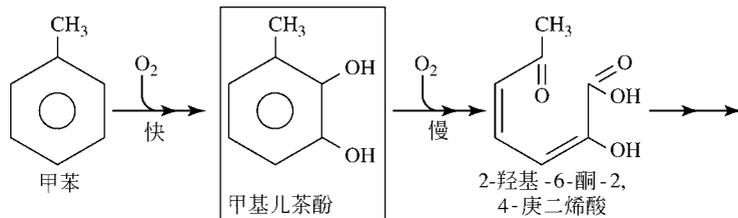


图 4.4 有中间体积累的分解代谢途径的例子。当双加氧过程因  $O_2$  消耗殆尽等原因被阻断时,由甲苯形成的甲基儿茶酚在细胞内积累

许多微生物群落是通过无机元素的循环生存的,这些元素既是一个微生物种群的电子供体,又是另一个种群的电子受体。硫与铁是典型的例子。对于硫元素,有大量厌氧的异养菌与自养菌利用硫酸盐作为末端电子受体,将其还原为硫化物或元素硫。需氧自养菌能利用这些还原态硫元素作为电子供体。对于铁元素而言,有异养菌能够利用  $Fe^{3+}$  作为电子受体,典型的情况是, $Fe^{3+}$  以氢氧化铁固体[如  $Fe(OH)_3$ (固态)]形式存在,在反应过程中必须先溶解。铁氧化菌能够利用  $Fe^{2+}$  作为无机电子供体,完成需氧自养反应。这里的模式是,利用还原形式为电子供体基质的生物是自养型生物;利用氧化形式的生物可以是异养型生物,也可以是氧化  $H_2$  的自养型生物。

为了使交换过程循环进行,氧化条件与还原条件必须在时间或空间上交替出现。日夜循环创造了天然的时间变化:在白天太阳光促使光养型生物生产  $O_2$  时出现强氧化条件,而在夜晚出现还原条件。微生物聚集体形成了强空间梯度。当元素能够扩散或在还原区域与氧化区域之间传递时,这些元素能够在两个区域之间穿梭往来。

表 4.1 总结了微生物群落进行基质交换的方式。表中还总结了遗传信息、生长因子及信号的交换方式,将在下文中进行介绍。

表 4.1 微生物群落利用的交换机制

交换类型	被交换物质	对受体细胞的作用
捕食	细胞本身	电子供体基质
中间体	发酵过程或部分氧化过程的还原产物	电子供体基质
元素循环	被还原或被氧化的元素	电子受体或电子供体基质
接合	质粒 DNA	基因源
转化	自由 DNA	基因源
转导	病毒携带的 DNA	基因源
生长因子	维生素、氨基酸	允许复制
信号	脂肪酸、外激素、蛋白质	启动生理功能

### 4.2.2 遗传信息的交换

微生物能够通过三种途径交换遗传信息：接合、转化及转导(表 4.1)。到目前为止，最重要的机制是细胞接合作用，这种作用已在第 3 章中详细介绍。简单地说，细胞接合包括质粒 DNA 的复制以及从供体细胞到受体细胞的转移。接合的结果是两个细胞都含有该质粒：供体细胞仍然含有质粒，而受体细胞获得质粒，并成为转化结合子。通过接合作用进行的遗传信息转移，可以使基因在整个群落内放大并扩散，这种情况甚至可能在群落没有净增长的情况下发生。质粒含有编码抵抗抗生素和抵抗其他微生物有毒物的基因，包括许多有毒化合物与元素的解毒基因。更多关于解毒作用的信息见附录第 B2 章节(见网络版)。

转化指自由 DNA 被结合进受体细胞染色体的过程。细胞严格调节对 DNA 的吸收，吸收自由 DNA 并将它整合进染色体的能力不属于细胞常规功能的范畴。未被转化的 DNA 会很快在环境中降解，或被非转化细胞内的核酸酶降解。

转导是利用噬菌体作为载体将细菌 DNA 从一个细胞转移到另一个细胞。噬菌体首先感染供体细菌细胞，并将细菌染色体的一个片段结合到自己的 DNA 上。然后，带有新 DNA 的病毒在被感染细菌的体内复制。当细菌解体时，释放出来的噬菌体含有供体 DNA。然后，这种噬菌体感染另一个细菌细胞时，就会导致供体细菌的 DNA 被结合到受体细菌的染色体中。

### 4.2.3 生长因子

某些原核生物的复制需要氨基酸、脂肪酸或者维生素。其中包括维生素 B<sub>12</sub>、硫胺素、生物素(维生素 H)、核黄素以及叶酸。正常情况下，这些生长因子由群落中的其他微生物释放到环境中。

### 4.2.4 化学信号的交换

在某些特殊情况下，微生物可以接收化学信号。这些信号分子结合到细胞膜上的感受器上，并引发生理反应。一个很好的例子就是由链球菌分泌的性外激素，性外激素是一种短链多肽，能向附近不含质粒的微生物发出信号，请它们参加细胞接合过程。还有一个相关但不同的例子是需氧细菌，它能够感应到被它感染的植物的产物。这些信号分子加速了编码

感染植物能力的质粒的接合增殖过程。其他重要的信号分子有革兰氏阴性菌的 *N*-酰基高丝氨酸内酯(*N*-acyl homoserine lactones, AHL)。

在群体感应(quorum sensing)中,细胞紧密聚集时(如在生物膜中),细胞的表型会改变。细胞组成性释放信号分子。当分子浓度足够大时,它会被细胞上的受体检测到,从而诱导表型改变。铜绿假单胞菌诱导的生物膜形成和费氏弧菌的生物发光是定数感应很好的例子。

### 4.3 适应

微生物生态系统的复杂性使它能够非常灵活地应答环境的变化,尤其是那些会使群落产生压力的变化,如温度、pH 或盐度的变化,接触有毒物质,接触异生物有机分子,可利用基质的变化。

群落对环境压力的响应称为适应作用。有时候,驯化作用这个术语也表达同样的意思。适应是指任何使群落最终排除压力或有办法抵制压力并维持自身功能的应答。适应期是指从最初遇到压力到群落完全适应所需要的时间。一个非常普遍而且重要的例子就是对难降解、异生化学物质的适应作用。在从几小时到几个月的适应期内,生物转化作用很小或根本不发生。但在适应期末期,群落能够快速转化异生物质,而且通常能够在后来的接触中继续这种快速转化。

群落通过下面 5 种主要机制中的一种或几种产生适应性:选择性富集、酶调节、遗传信息交换、可遗传的遗传变化以及改变环境。机制之间的重要区别在于群落结构是否发生变化以及适应期有多长。表 4.2 是几种适应机制的总结。

表 4.2 适应机制的总结

机 制	预 期 时 间	群 落 结 构 的 变 化
选择性富集	几天到几个月	显著
遗传信息交换	几周到几年	不必要
可遗传的遗传变化	几小时到几天	不必要
酶调节	几小时	不需要
改变环境	非常不确定:几小时到几个月	非常不确定:从不需要到显著

在第一种适应机制选择性富集中,能够得益于压力环境的微生物类型,可以选择性生长并在总生物量中占据较大比例。在遇到难降解化合物时,能够代谢这种化合物并从中受益的微生物会被富集。在遇到有毒物时,具有抵抗措施的微生物将获得选择性优势。

有一种非常重要且有趣的选择性富集响应是针对不同的基质负荷模式产生的。有两种极端情况:一是完全稳定的负荷;二是营养时富时贫的负荷。对于环境生物技术中负荷非常稳定的过程,限速基质(通常是电子供体)的负荷一般是一个低且稳定的数值(将在第 6 章、第 7 章和第 9 章中定量讨论)。微生物具有不变的低比增长速率。这些条件适合于被称为寡营生物或 *K*-对策者的微生物。正常情况下,寡营生物不具有最快的最大比增长速率,但是它们对限速基质具有高的亲和力,而且它们通常具有非常低的比损失率。高基质亲

和力意味着它们能够捕食浓度很低的基质,或是寡营养的。K-对策者这一术语反映了高基质亲和力可以由非常小的  $K$  值体现; $K$  值等于实际速率为最大速率一半时的浓度(在第6章中详细讨论),类似于第3章中描述酶动力学的  $K_M$ 。

与寡营养相对应的是富营养。富营养生物非常适应时富时贫的生活方式,即在一段时间内基质负荷相当高,但随后基质负荷降到零或者非常低的生活方式。富营养生物能够利用以下3种策略中的一种或多种,很好地应对时富时贫的负荷。第一,与寡营养生物相比,典型的富营养生物具有非常快的最大比增长速率。因此,在营养物丰富阶段,它们比寡营养生物长得快,因而能够捕获绝大多数的基质。利用这种快速生长策略的富营养生物被称为  $r$ -对策者,原因在于它们依赖于非常大的反应速率( $r$ )。第二,在营养物丰富阶段,富营养生物可以快速吸收并汇集基质。通过汇集基质作为一种内部储存物(细节见第11章、第14章),这种类型的富营养生物不需要在营养物丰富阶段具备快速生长速率。事实上,它们具有一个比较稳定的生长速率,这种稳定的生长速率是以在营养物贫乏阶段内部储存物的逐渐利用为基础的。第三,有些富营养生物在饥饿阶段会进入休眠状态,如形成孢子。虽然在环境生物技术过程中,第三种策略不重要,但它在某些环境变化很大的自然生态系统中非常重要。

在环境生物技术中,选择性富集是一种非常重要的适应机制。适应期的持续时间取决于被富集细胞的世代周期(在现有条件下)以及起始接种物的大小。通常的原则是,通过选择性富集进行的适应需要几天到几个月,而且能够通过群落结构的显著变化反映出来。

第二种适应机制是酶调节,不需要群落结构发生变化,而且通常只经过一个短适应期,如几小时。当群落已经含有大量能够产生响应的微生物时,就会出现酶调节适应作用,因为这种响应被编码在一个或多个调节酶上。对酶合成的诱导或抑制能够快速发生以响应环境压力。

第三种适应机制是遗传信息交换,包括接合、转化及转导。这三种机制已经在本章前文中介绍过了。接合作用是环境生物技术中最快且最普遍的交流机制。经过几小时到几天的适应期后,关键遗传信息在整个群落中的增殖能够非常快速地发生。通过遗传交换完成的适应过程不需要改变群落结构。

群落成员的可遗传的遗传变化,可以通过突变、复制及重组产生。这种变化对于微生物而言是永久性的,可以认为是群落进化的一种方式。在多数情况下,可遗传的遗传变化是由罕见的随机事件造成的。因此,通过遗传变化实现的适应通常需要长适应期,而且可能是不可再现的。

微生物群落经常改变环境,使群落能够更好地应对压力或从压力中受益。环境变化包括:首选基质的枯竭、基质或营养物质的供应不足、氧化还原状态的变化、 $pH$  的变化以及毒性的消除。

对首选基质耗竭的研究已经进行得比较充分。一个典型的例子是二次生长现象,即一种极其良好的基质,通常是葡萄糖,能阻抑代谢其他基质需要的酶。基质抑制是一种更普遍的现象:一种基质的存在抑制另一种基质的分解代谢酶的活性。能否在环境生物技术过程中应用二次生长现象还值得怀疑,不过,普通的基质抑制具有广泛的重要性,尤其是对异生分子的生物降解(详见附录第B2章(见网络版))。很显然,某一群落的微生物将抑制基质

去除,可以使另一些有能力的微生物去分解我们感兴趣的基质。

一种更微妙但非常重要的基质耗竭形式发生在具有多种新陈代谢功能的微生物上。例如,厌氧群落只有在其他容易利用的有机电子供体被消耗后,才可能适应生物降解氯代芳香化合物。这时,群落中的一些成员对氯代芳香化合物进行还原脱氯,这样脱氯后的芳香化合物才能够被用作电子供体。因此,只有当其他电子供体被耗尽时,群落才被迫去还原氯代芳香化合物。

基质或营养物质的释放也能刺激生长或活性,作为对压力的响应。有些群落成员的细胞溶解,释放出营养物质与生长因子,能够刺激其他成员的活性。异养型生物释放的无机碳元素正是自养型生物所需要的。自养型生物释放的溶解性微生物产物,对于异养型生物而言,是有用的电子供体。能够作为电子供体与电子受体的元素,在不同微生物类型之间的加速循环,可以使微生物活性普遍增强或使特定种群的活性增强。

电子受体的消耗顺序通常遵循图 3.5 所示的热力学次序。例如,为了完成产甲烷反应,群落需要先通过消耗  $O_2$ 、 $NO_3^-$ 、 $SO_4^{2-}$  以及  $Fe^{3+}$  改变氧化还原状态。

许多微生物反应产生强酸或强碱。这些反应在第 2 章、第 9 章、第 10 章中进行更详细的描述。pH 的变化可能使一个微生物种群受益,也可能改变关键反应的热力学特征。

氧化还原状态的变化、pH 的变化、营养物质的供应或者微生物的直接行为,均能够降低毒性。重金属以氢氧化物、碳酸盐或者硫化物固体的形式沉淀就是一个突出的例子。直接生物转化也能够降低毒性,尤其是来自异生有机分子的毒性。实际上,发挥作用的可能不止一种机制。例如,遗传交换、遗传改变或环境变化,可能优先于从以前的变化中受益的微生物的选择性富集。

我们需要对适应作用进行更多的研究。幸运的是,微生物生态系统研究新工具的发展,已经为我们在未来 10 年里拓展对适应作用的理解开辟了很好的前景。表 4.2 帮助我们记住适应作用包括的不同机制,这些机制的生效可能需要少则几小时,多则几个月的时间。在有些情况下,群落结构剧烈变化;但在另外一些情况下,可能由于适应作用,群落的功能已经显著改变,群落结构却不发生变化。

## 4.4 微生物生态学研究工具

环境生物技术在研究微生物生态方面正进行一场“工具革命”。从分子生物学发展而来的研究工具,如今使我们已经可以直接回答关于微生物生态系统结构与功能的 3 个基本问题:存在什么微生物?它们能够完成哪些代谢反应?它们正在进行什么代谢反应?

本节介绍能够用于研究微生物生态学的工具。首先,概要介绍一下以富集培养为基础的传统工具。然后,介绍由分子生物学发展而来的强大新工具。引言的目的是解释新工具的遗传和生化基础。我们希望读者了解该方法能解决哪种问题,为什么它能够解决,以及该方法的生化基础。有了这些知识,读者就可以选择正确的方法,并了解正确执行该方法的细节。

#### 4.4.1 传统富集工具

几十年以来,微生物学家一直在尝试通过利用微生物的重要表型特征分离单菌株来探索微生物群落的秘密。例如,通过提供富含  $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 、溶解氧以及重碳酸盐,同时缺乏其他电子供体的培养基,可以富集得到硝化菌。如图 4.5 所示,通过连续接触强选择性生长培养基,并利用强选择性生长培养基进行稀释,最终能够分离得到一株具有铵氧化能力的单一菌株,原因是其他类型的微生物会通过稀释逐渐被去除。获得纯分离物需要的时间及稀释次数取决于起始培养物的复杂程度、被富集菌株的起始浓度和生长速率,以及被富集菌株与其他微生物类型交换物质的情况。在发生协同作用的情况下,实际上不可能获得真正的纯分离物。

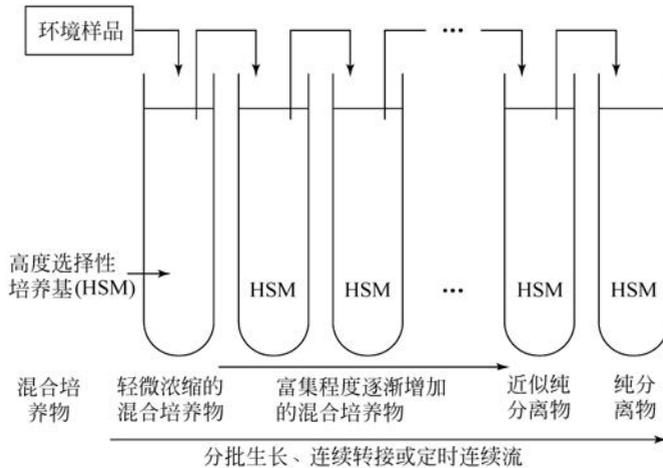


图 4.5 选择性富集,包括用高度选择性培养基对环境样品进行连续稀释。每次转接均在生长完成后进行,转接的过程就是稀释过程。实际上,稀释不必像图中显示的那样通过连续转接进行,也可以通过选择性培养基的连续流动实现

一旦获得了纯分离物,就可以鉴定它的遗传学特征(如 DNA 或 rRNA 序列)、代谢潜力(如利用哪些电子供体与电子受体)、最适宜温度与最适宜 pH、分解代谢动力学与生长动力学以及元素组成与形态学。分离菌株仍然是确定其表型特征,以及通过提供的遗传信息确定它与其他微生物系统发育关系的理想选择。

尽管富集已经提供了并会继续提供许多有价值的信息,但是,它仍在 3 个方面具有严重的局限性。第一,只有事先知道生理特性,才能富集得到我们需要的微生物。由于在微生物被分离之前,我们对它的特点并不完全了解,因此,为了进行富集,我们必须对结果做一些假设。第二,无法分离得到生活在紧密偶联的协同关系中的微生物。第三,可能是最重要的,就是富集方法通常对结果具有偏倚性。产生这种偏倚性的原因是正常环境中的重要菌株通常是寡营养型生物,而富集条件有利于富营养型生物。高浓度电子供体,如  $\text{NH}_4^+-\text{N}$ ,为快速生长的富营养型生物提供了压倒寡营养生物的选择性优势,而在自然环境中寡营养生物可能更重要。由于微生物群落具有功能冗余性,在富集试验中不一定能富集得到实际上最重要的那种微生物。当被选择的是富营养型生物,而不是更重要的但生长速率较慢的寡营养生物时,我们对该特定群落以及微生物生命多样性的了解,通常会有偏差。

尽管存在这些局限性,但只要能够正确解释富集试验的结果,传统方法还是能够提供有价值的信息。传统方法在我们想评价群落的功能时是最有用的。例如,如果我们想知道在混合培养物中硝化细菌是否重要时,我们可以让该群落接触  $\text{NH}_4^+-\text{N}$ ,并观察  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  的损失以及产生  $\text{NO}_2^--\text{N}$  或  $\text{NO}_3^--\text{N}$  的情况。这些证据能够证明硝化功能的存在,而且,损失或生成速率能够帮助我们估计可以执行硝化作用的生物质的数量。当用作评价群落功能时,传统方法不能给我们提供任何关于负责硝化过程的菌株的详细信息。因此,功能评价不以分离纯菌株为目标。

#### 4.4.2 分子生物学工具

很多可以解决传统富集培养偏倚性的分子生物学工具,正处于开发过程中。与建立在某些表型特性基础上的细胞富集方法不同,分子生物学工具直接针对群落的 DNA、RNA 或蛋白质,它们是遗传信息,转录和翻译系统的一部分(图 3.5)。特别是,分子技术测定的是细胞 DNA 或 RNA 的碱基序列。根据需要获得的信息,分子检测可以不同类型的 DNA 或 RNA 为目标。表 4.3 总结了检测目标以及每个目标能够提供的信息。

表 4.3 分子方法的检测目标

目 标	获得的信息	提 问	“组学”范围
rRNA	系统发育身份	谁存在?	基因组学
编码 rRNA 的基因(DNA)	系统发育身份	谁存在?	基因组学
其他基因(DNA)	表型潜力	什么是可能的?	基因组学
mRNA	表达表型	什么正在发生?	转录组学
蛋白质产物	表达表型	什么正在发生?	蛋白质组学

为了确定群落中的细胞在系统发育中的身份,以 rRNA(通常是 SSU rRNA)或用于编码 rRNA 的基因(rDNA 基因)为分子检测的目标。基因组学是研究基因的 DNA 组成。基因组学和 rRNA 可用来提供都有哪些微生物存在的信息。

表型潜力,如氧化一个特定的电子供体或还原一个特定的电子受体的能力,可以通过检测在 DNA 上寻找编码该功能的基因。表型潜力告诉我们微生物能够执行什么功能。表型潜力的表达可以通过检测 mRNA 或蛋白质产物(如酶)来证明。这些信息会告诉我们微生物正在执行哪些功能,因为微生物若不执行该功能,通常不进行转录和翻译。由于 mRNA 是基因的转录产物,它的研究被称为转录组学而不是基因组学。而对蛋白质产物的研究被称为蛋白质组学。

在下一小节,我们将介绍目前正在使用的大多数基因组学方法。这一领域正在快速发展,而且技术进步正不断刷新所采用的方法。因此,在这里,我们没有将注意力集中在方法如何使用的问题上;相反,我们将把重点放在介绍方法的基本原理上。转录组学和蛋白质组学的工具将在接下来的章节中进行介绍。

#### 4.4.3 基于核糖体 RNA 的基因组学方法

当我们想了解群落结构时,我们需要根据不同微生物可遗传的基因信息,对微生物进行鉴定并计数。常用方法是以 SSU rRNA 为目标,SSU rRNA 是强大的系统发育标记。除病

毒外,所有活的微生物都具有结构相似的核糖体,但也具有足够的变异性,可以将一种菌株与另一种菌株区分开来。此外,核糖体是自然扩增的,这意味着每个细胞都有数千个 rRNA 复制物,这使得 rRNA 比编码它的基因更容易检测。

针对 SSU rRNA 的寡核苷酸探针是最原始的基因组学技术。寡核苷酸探针是由 15~25 个碱基组成的单链 DNA,探针的碱基序列与目标细胞的 SSU rRNA 上的某个区域互补。在严格控制的检测条件下,探针 DNA 与目标细胞的 RNA 上的互补区杂交,而不会与序列不匹配的任何其他细胞的 RNA 杂交。如果 RNA 被适当固定,可以将未杂交的探针冲洗掉,只留下与目标 RNA 杂交的探针。只要能够检测到杂交探针,就能够确定目标 rRNA 的存在及其数量。

寡核苷酸杂交作用可以通过两种基本方法进行。传统的方法是狭线印迹法,这种方法要求将 RNA 从样品中提取出来。典型的提取过程是使用酚与氯仿为提取剂,使水相中的 RNA 与乙醇一起沉淀下来。然后, RNA 颗粒被重新悬浮、变性,并涂布在尼龙膜上,形成狭线印迹。用  $^{32}\text{P}$  标记的寡核苷酸探针在杂交缓冲液中与膜接触,通常放置过夜。然后,在严格控制的温度下对膜进行冲洗、干燥,并检测其放射性。

冲洗温度特别重要,因为温度决定了探针的特异性。检测每个探针与目标 RNA 及其他 RNA 的杂交效率。解离温度  $T_d$  指有 50% 的探针与其互补 RNA 结合时的温度。设计得好的探针,在解离温度时与相似但不同的 RNA 的杂交作用最小。

放射性可以用 3 种方法测定。最传统的方法是将照相胶卷暴露于膜。图像强度与每条印迹上杂交探针的数量成正比。最新研究能被自动扫描的储藏磷屏幕正在替代胶卷。第三种方法是将每条印迹放到闪烁管中,加入闪烁混合液,然后进行闪烁计数。

寡核苷酸探测的第二种方式是荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH),即 FISH 技术。FISH 技术的其他特点与狭线印迹法相似。杂交以序列互补为基础,并在严格选定的温度下通过冲洗去除未杂交的探针,然而 FISH 与狭线印迹法有两点不同。第一,在 FISH 技术中标记寡核苷酸探针的分子,是一种可以被特定波长的光激发后发出荧光的分子。因此,检测采用荧光显微术:用激发光源照射已杂交样品,并用显微镜观测发射出来的光。第二,在 FISH 技术中不必提取 RNA,而是将 RNA 保留在细胞内部(原位);细胞被固定并制成多孔结构,使探针可以进入细胞。由于细胞没有被破坏,FISH 技术能够提供空间关系的信息。几种带有不同荧光标记的寡核苷酸可以一起使用,使不同类型微生物之间的空间关系能呈现出来。

图 4.6 是关于 FISH 技术功能的一个生动的例子。这张显微照片显示的是活性污泥絮体的一部分。深灰色细胞与铵氧化菌的特异探针杂交。浅灰色细胞与亚硝酸盐氧化菌的特异探针杂交。这些 FISH 结果显示,铵氧化菌在絮体内形成非常紧密的一簇。亚硝酸盐氧化菌,利用由铵氧化菌产生的  $\text{NO}_2^-$ ,一小簇一小簇地聚集在较大簇的铵氧化菌周围。硝化细菌在活性污泥中密集聚集是正常情况。

对 SSU rRNA 的寡核苷酸探测,一个最强大的特征是能够将探针设计成具有不同的特异性。换句话说,可以将一个探针设计成只与一种菌株杂交,或与一群相似的菌株杂交(如同一属的菌株),或与一整个域内的菌株杂交,或与所有生物杂交。图 4.7 显示了对产甲烷

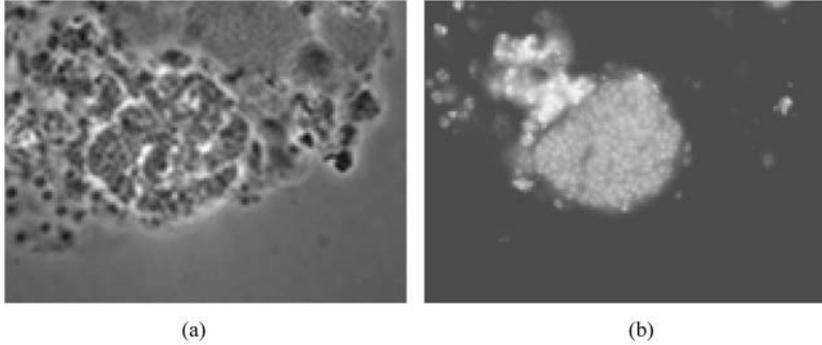


图 4.6 活性污泥絮体中铵氧化菌簇

(a) 中深灰色与亚硝酸盐氧化菌簇；(b) 中浅灰色的 FISH 显微照片

(资料来源：照片由 Bruce Mobarry 提供)

古细菌的这种探针嵌套方法。图中按目、科、属的顺序显示了产甲烷菌的系统发育结构，并显示了与各种产甲烷菌对应的寡核苷酸探针的名称及其特异性范围。寡核苷酸探针的名称包括两部分：一是与属对应的字母；二是与 SSU rRNA 上的目标位点的 5' 端相应的数字。图 4.7 中还给出了从 5' 端到 3' 端方向的探针序列(探针的目标是从 3' 端到 5' 端方向的互补序列,如图 3.18 所示)、在 rRNA (3' 端到 5' 端)上目标位点的位置以及  $T_d$  值。图中还列出了两个能与所有已知古细菌杂交的探针(ARC915 与 ARC344)。图中没有列出能够与所有已知生命体的 SSU rRNA 杂交的通用探针。UNIV1392 就是一种通用探针,该探针的序列为 5'-ACGGGCGGTGTGAG-3',  $T_d$  为 44℃。

图 4.8 说明了如何利用与甲烷八叠球菌科相关的具有不同特异性的各种探针来跟踪混合产甲烷培养物中的分解乙酸产甲烷菌。在利用探针 UNIV1392 跟踪的所有生物的 SSU rRNA 中,有 22% 来自古细菌。在古细菌中有一半,即在所有生物中有 11%,来自甲烷八叠球菌科(一种乙酸发酵菌),而 5% 分别来自甲烷毛状菌属和 1% 来自甲烷八叠球菌属。如果在 rRNA 杂交过程中保持了质量平衡,那么,没有与 ARC912 杂交的 SSU rRNA (占总数的 78%) 分布在细菌域和真核生物域中。在一个产甲烷能力强的系统中,没有与 MSMX960 杂交的 rRNA (占总数的 11%) 反映的应该是另一种产甲烷菌——严格  $H_2$  氧化菌。

图 4.9 所示为硝化细菌的嵌套探针。嵌套对于铵氧化菌尤其重要。图 4.9 还显示了系统树的第二种形式。当需要对关系密切的菌株详细列举遗传关系时,这种格式读起来更容易。菌株之间总的水平距离是对遗传差异的一种度量,表示为碱基对不同的部分,比例尺显示的距离是 0.1,表示有 10% 是不同的。细菌域探针的一个例子是 EUB338,其序列为 5'-GCTGCCTCCCGTAGGAGT-3',  $T_d$  为 54℃ (Amann et al., 1990)。

寡核苷酸探测的一个缺点是,只有对已被分离并已测序的菌株才能够放心使用。微生物生态学家估计只有少数微生物菌株已被分离。另外,由于前文讨论的偏倚性,被分离的菌株也可能并不能很好地代表自然环境中最重要菌株。因此,无论关键菌株是否已被分离或已完成测序,具有能提供群落多样性指纹信息的分子技术都是非常有用的。

探针	序列(5'-3')	目标位点 $T_d / ^\circ\text{C}$ ( <i>E. coli</i> 的编号)
MB310	MC1109 GCAACATAGGGCACGGTCT	1128~1109 55
MB1174	MB314 <u>GAACCTGTCTCAGGTTCATC*</u>	335~314
	MB310 CTTGTCTCAGGTTCATCTCCG	331~310 57
科 II: 甲烷嗜热菌科	MB1174 TACCGTCGTCCTCCTTCTC	1195~1174 62
	属 I: 高温甲烷菌属	MG1200 CGGATAATTCGGGGCATGCTG
目 II: 甲烷球菌目	MSMX860 GGCTCGCTTACGGCTTCCCT	880~860 60
	科 I: 甲烷球菌科	MS1414 CTCACCATACCTCACTCGGG
属 I: 甲烷球菌属	MS1242 GGGAGGGACCCATTGTCCATT*	1263~1242
	目 III: 甲烷微菌目	MS821 CGCCATGCCTGACACCTAGCGAGC
科 I: 甲烷微菌科	MX825 TCGCACCGTGGCCGACACTAGC	847~825 59
	属 I: 甲烷微菌属	ARC915 GTGCTCCCCCGCAATTCCT
属 II: 产甲烷菌属	ARC344 TCGCGCCTGCTCCTCCCGT	363~344 54
属 III: 甲烷袋形菌属		
属 IV: 甲烷螺菌属		
科 II: 甲烷微粒菌科		
属 I: 甲烷微粒菌属		
科 III: 甲烷片菌科		
属 I: 甲烷片菌属		
科 IV: 甲烷八叠球菌科		
属 I: 甲烷八叠球菌属	MS821: 能利用乙酸及其他基质	MS1414 } MSMX860
属 II: 甲烷类球菌属	能利用甲醇及甲胺	
属 III: 甲烷叶菌属		
属 IV: 甲烷嗜盐菌属		
属 V: 甲烷毛状菌属	MS825: 只能利用乙酸	

图 4.7 为产甲烷菌及所有古细菌设计的寡核苷酸探针  
(资料来源: Raskin et al., 1994)

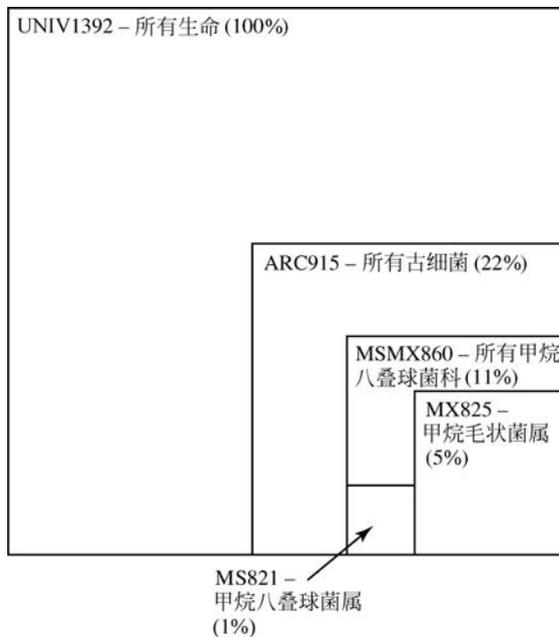
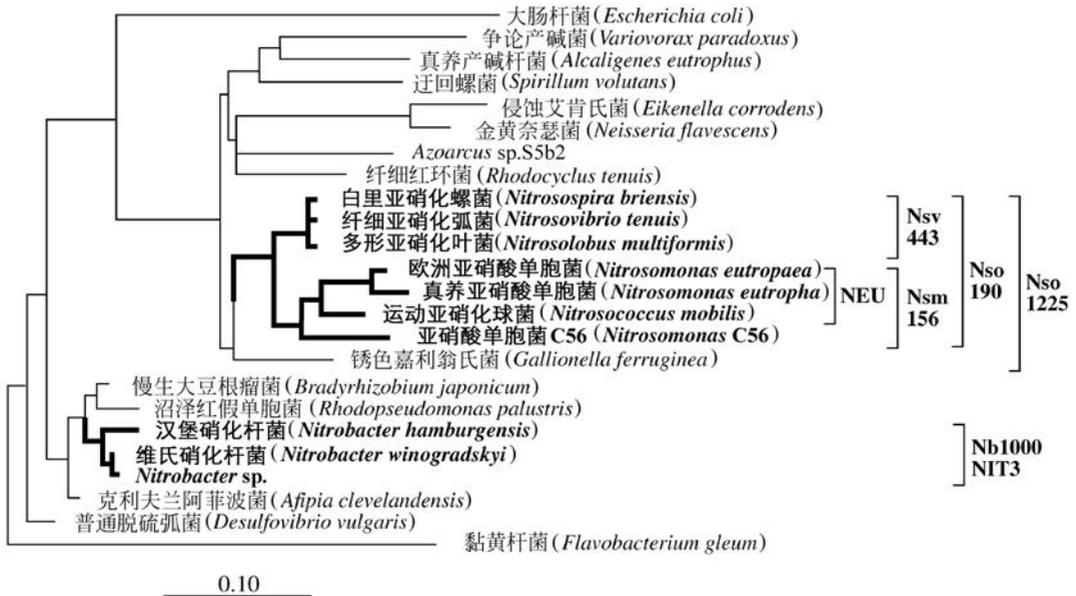


图 4.8 对嵌套探针如何指向与甲烷八叠球菌科(或分解乙酸产甲烷菌)相关的不同特异性的解释



探针	<i>E.coli</i> 16S rRNA 的位置	探针序列
Nb1000	1000 ~ 1012	5'-TGCGACCGGTCATGG-3'
NIT3	1035 ~ 1048	5'-CCTGTGCTCCATGCTCCG-3'
NEU	653 ~ 670	5'-CCCCTCTGCTGCACTCTA-3'
Nso190	190 ~ 208	5'-CGATCCCCTGCTTTTCTCC-3'
Nso1225	1225 ~ 1244	5'-CGCCATTGTATTACGTGTGA-3'
Nsm156	156 ~ 174	5'-TATTAGCACATCTTTCGAT-3'
Nsv443	444 ~ 462	5'-CCGTGACCGTTTCGTTCCG-3'

图 4.9 铵氧化(前缀为 Nitroso)菌及亚硝酸盐(前缀为 Nitro)氧化菌的嵌套探针  
 (资料来源: Mobarry et al., 1996)

#### 4.4.4 基于核糖体 DNA 的基因组学方法

从染色体上编码 SSU rRNA 的基因中能够获得关于群落结构类似的信息,这类基因通常被称为 rDNA。首先,将 DNA 从样品中提取出来,采取的方法与提取 RNA 相似。然而,由于 rDNA 基因不像 rRNA 那样自然扩增,它需要利用聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 以及编码 SSU rRNA 基因的特异性引物选择性地扩增 DNA。引物指向 rDNA 基因的可变区域之一,被称为 V 区。

在 PCR 中,利用在低温(如 37°C)和高温(如 72°C)之间系统循环的程序,使特殊的 DNA 聚合酶复制启动子下游的 DNA。用于 PCR 的 DNA 来自耐 PCR 高温的嗜热菌。在低温时,聚合酶从启动子处开始复制一段双链 DNA 链,使其形成两段。在高温时, DNA 的变性会使复制停止。下一个低温循环使启动子再次结合,这样聚合酶就会从上一步的 2 个复制物中复制出 4 个复制物。连续的温度循环可以产生大量复制物,如 70 个循环可产生  $2^{70}$  (约  $10^{21}$ ) 个复制物,足够在后续步骤中使用。

选择性扩增的 rDNA 包含引物所针对的所有微生物的序列。因此,对微生物群落进行

PCR时,需要分离扩增的DNA混合物,以便区分不同菌株的序列。分离DNA序列的方法有很多(且还在不断增多),每种方法都有其优点和局限性。本节概述了各种分离方法的基础以及优缺点。

大多数分离方法共有的一个重要特点是它们提供了微生物群落的指纹。通过比较前后群落结构并识别重要菌株,指纹分析技术可以快速诊断所监测群落结构随时间的变化。无论菌株的系统发育特征是否已知,都可以使用指纹分析技术。通常,指纹分析可以指出哪些微生物在群落中足够重要,从而通过DNA测序识别它们,或将它们从群落中分离出来,或兼而有之。

在我们讨论如何通过分析被扩增的DNA来解释指纹之前,我们必须提一下利用PCR技术作为获取群落结构指纹信息的第一个步骤的局限性。当不同菌株提取效率不同时,偏倚性将会产生,因为:①在处理过程中某些DNA对剪切断裂作用比其他DNA更敏感;②引物对同一类型的所有基因并不是均等地发挥作用。尽管PCR扩增技术比传统的富集方法产生的问题少,但还是会产生一定的偏倚性,特别是当对群落中次要组分的基因扩增效率远远大于对其他相关菌株的基因扩增效率时。

聚丙烯酰胺凝胶电泳是一种传统的DNA分离方法。扩增的DNA被放在装置中凝胶的一端,该装置从一端到另一端产生电场。带负电荷的DNA会向正极移动。它的移动速率取决于DNA的电荷和大小。较高电荷和较小尺寸的DNA会更快地向正极迁移。经过适当时间的电泳后,DNA混合物形成了一系列的条带。当扩增过程中,放射性或荧光染料附着在每条DNA链上时,就可以观察到这些条带。条带图是指纹分析的一个例子。原则上,每个条带代表一个菌株,更恰当地称为操作分类单元(operational taxonomic unit,OTU)。然而,有时一个条带包含不止一个菌株的DNA。如果条带足够明显,可以小心地将它切下来,然后提取它的DNA。对提取的DNA进行测序,从而确定与切除条带相关的菌株的系统发育特征。

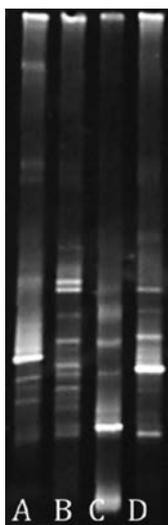


图 4.10 4种不同光催化预处理下恒化培养出水的DGGE结果示例

(来源: Michael Marsolek 博士)

变性梯度凝胶电泳(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)是一种特殊形式的电泳,它能更好、更可靠地将DNA从复杂微生物群落中分离,是环境生物技术中常用的方法。在DGGE中,聚丙烯酰胺凝胶是用梯度的变性剂(通常是尿素和甲醛)制备的,从负极到正极浓度逐渐增加。变性剂使双链DNA分离成两条单链或变性。DNA中的G+C含量是控制它在梯度中何时发生变性的主要因素。一旦DNA链分离,DNA就不再在凝胶中移动,而是停止并形成清晰的条带。DNA分子之间移动性和变性的差异,使得DGGE的条带成为群落的良好指纹,并且可以切除和提取DNA进行测序。DGGE成功的关键在于凝胶中可靠地形成变性梯度,因为凝胶上的所有通道应提供相同的可重复的条带图案。为DGGE制作可靠且可重复的凝胶是一项需要大量培训和实际的技能。

图 4.10 是 DGGE 凝胶的一个很好的例子。采用 4 种不同的处理条件,对三氯苯酚光催化产生的废水进行了 4 种恒化培养。每条泳道大约有 15 个不同的条带,且条带图

案之间差异明显。值得注意的是条带在4个泳道上的平行和一致性。

温度梯度凝胶电泳 (temperature-gradient gel electrophoresis, TGGE) 是 DGGE 的一种变体, 它用到的特殊凝胶块会产生温度梯度, 正极方向会出现较高的温度, 从而导致 DNA 变性并产生与 DGGE 相似的条带。

DGGE 和 TGGE 的优势在于它们可以相对较快地给出条带指纹, 并生成用于测序的 DNA。它们共同的缺点是只能区分少量(好的凝胶是 10~20 个)最主要的菌株, 而微生物群落中的菌株数量远超过于此。此外, DGGE 还需要很高的凝胶制作技术, 即使是最好的凝胶也不能提供完美的条带均匀性。TGGE 降低了制作 DGGE 凝胶的难度, 但它需要专门的凝胶块。DGGE 或 TGGE 中条带的 DNA 密度(与其大小大致相同)大致反映出检测到的 OTU 的相对丰度, 但它们的定量只是近似值。

另一种分离技术是末端限制性片段长度多态性 (terminal-restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)。利用限制性内切酶将扩增的 DNA 切成片段, 然后将片段进行尺寸排阻色谱分离, 根据片段大小生成色谱图。可以用一种以上的限制性内切酶(一次一种)来消化 DNA 样品, 以产生不同的片段图案。图 4.11 是 T-RFLP 色谱图的一个很好的例子。它显示了来自两个污水再生水厂中氨氧化细菌的限制性片段。箭头表示利用正向或反向末端片段 (terminal fragments, TFs) 标记已知氨氧化菌的 16S rDNA 片段。从夏季到冬季, 两个水厂中的氨氧化菌组成基本相同。

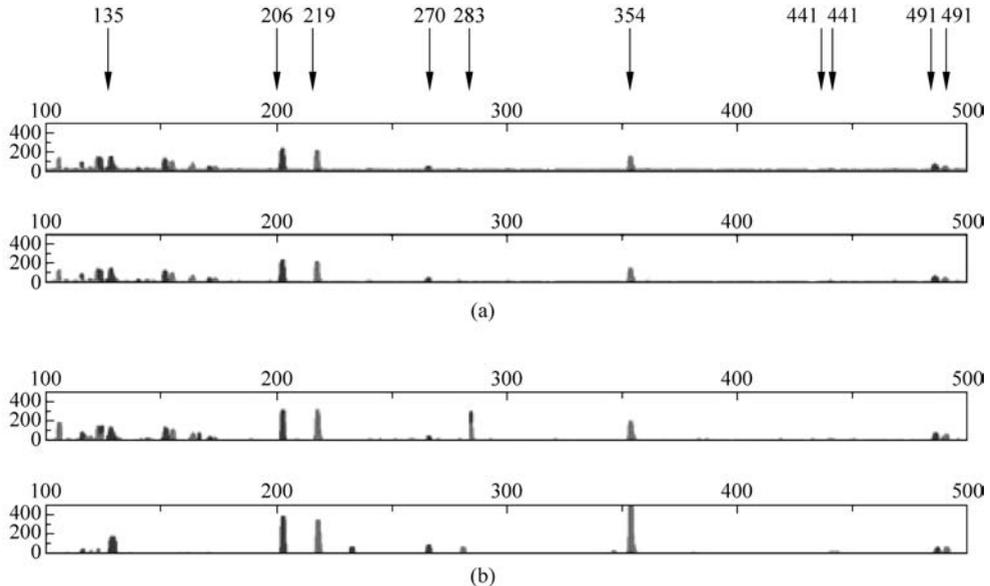


图 4.11 基于 T-RFLP 分析的来自芝加哥两个污水再生水厂的 *amoA* 基因色谱图

(a) 冬季样本; (b) 夏季样本。正向和反向末端片段分别用黑色和灰色来表示;

(c) 基于两种染料系统 *amoA* 基因 T-RFLP 的氨氧化菌群末端片段检测流程图及其意义。

黑体字表示正向引物。标记有编号的峰值表明该引物在水厂样品中被明确检测出来。

(来源: Slit Siripong)

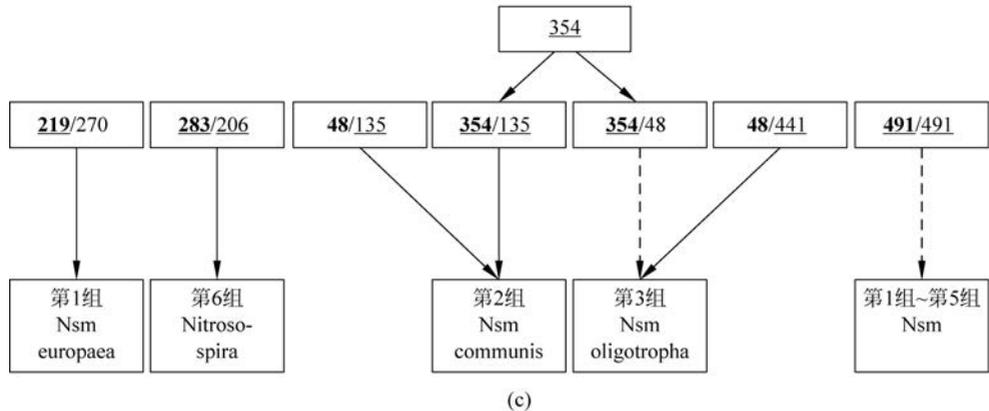


图 4.11(续)

T-RFLP 在群落指纹识别方面展现出许多优势：生成的色谱图可重复且花费的时间很短。对于 rDNA 已被完全测序的微生物，由不同限制性内切酶产生的片段大小是已知的，因此，只要对 rDNA 进行测序，就有可能追踪到指定的菌株。此外，使用不同的限制性内切酶可以排除或强调某些菌株。尽管色谱图不能被视为真正的定量，它的峰值仍提供了相对丰度的信息。

T-RFLP 也有局限性。最重要的缺点可能就是无法确定指纹中某个我们感兴趣但未知的菌株的 DNA 以确定其身份。与 DGGE 相似，T-RFLP 色谱图对群落中的非优势菌株的敏感度有限，尽管仔细选择限制性内切酶可以部分克服这个问题。此外，一个特定的限制性内切酶不会产生所有菌株的色谱峰，这意味着有些菌株，即使是群落中的重要成员，也有可能被“遗漏”。

扩增后的 DNA 序列可以通过建立克隆库的生物学方法分离并转化为群落指纹。利用市面上已有的克隆载体，将 PCR 后的混合 DNA 序列克隆到大肠杆菌的特定菌株中（即将 DNA 序列插入大肠杆菌的染色体中）。一个大肠杆菌细胞将一个 DNA 分子整合到它的基因组中。当大肠杆菌细胞在培养皿中生长时，每个菌落的细胞只有一个 DNA 序列。“挑选”不同菌落，对其插入的 DNA 进行测序。由这些 DNA 序列得到了 rDNA 序列库，可用于对群落中的菌株进行系统分类，并获得不同 OTU 的相对丰度信息。与 DGGE 或 T-RFLP 相比，构建克隆库，对包含许多菌株的群落具有更高的分辨率，也能更好地定量。群落多样性和构建相对数量的能力取决于挑选了多少菌落。由于菌落的生长和挑选存在实际限制（通常使用几百个菌落），对于复杂的群落结构，克隆库不能保证提供完整的信息。

用任何方法分离 DNA 进行测序的传统方法，称为桑格测序。在环境生物技术应用中，它在很大程度上已被下述的高通量测序方法所取代。然而，桑格测序仍可以用于单个短序列的测序。在桑格测序中，荧光标记的脱氧核苷酸（A、C、T 和 G 用不同荧光标记）与正常的未标记的脱氧核苷酸一起添加。在 DNA 聚合酶的复制过程中，随机添加双脱氧核苷酸以停止复制。这就产生了不同长度的、可以用凝胶层析分离的 DNA 链混合物。因为每个脱氧核苷酸都有不同的荧光标记，在给定位置的碱基可以通过其所处位置

来识别。

近年来,出现了许多高通量测序方法,他们比克隆文库的分辨率高很多。这种高通量测序的能力使宏基因组分析,或同时评估来自一个复杂群落的数百到数千个序列成为可能。高通量测序方法需要权衡它们为输出所提供的相对较短的序列(称为读数)长度,如从25个到250个碱基对。较长的读数能更深层次地对微生物进行分类,如从属或种水平的分类而不是仅在门水平上分类。

目前已有许多可用的高通量技术,之后肯定还会有更多。因此,这里列出的技术很快就会过时。然而,还是有必要指出一些可行的技术及其技术基础。最近,高通量测序的标准形式是罗氏454焦磷酸测序,这是一个通过合成测序的例子。该方法的关键是PCR在特殊的DNA捕获微珠上进行,这些微珠位于含有聚合酶和4种碱基(A、T、C和G)的油乳剂中。在该过程中,每个DNA序列与一个微珠结合,然后在油乳剂中进行PCR扩增,使每个微珠都作为一个独立的反应器。当乳剂被破坏时,双链DNA变性,单链DNA转移到特殊的微滴板孔中,每孔中有一个微珠。核苷酸碱基在每个孔中一个接一个地被传递,互补碱基结合,并发出光信号,记录下每个孔中的碱基顺序。454次运行产生大约 $4.0 \times 10^5$ 个读数,每个读数含有大约250个碱基对。在进行焦磷酸测序之前,可以通过将“条形码”标识符融合到引物中跟踪要测序的DNA来源。因此,条形码可以在一次454运行中生成来自不同样本的读数。

目前其他可用的高通量方法开拓了合成测序的概念,它们利用固相测序和不同的方法来确定碱基序列。当下最常用的系统是Illumina的MiSeq和HiSeq,它们使用流动槽固定DNA(即在固体表面上对DNA进行测序),以依次传递具有荧光信号的碱基。Illumina引入了NovaSeq,可以产生更长的读取长度。Ion Torrent也使用固相测序和流动槽,但它不使用荧光碱基。相反,它将DNA结合到半导体表面,该表面通过碱基添加过程中 $H^+$ 的释放导致的pH值变化来检测碱基的结合。

高通量测序的一个重要决策点是运行生成的读数数量与读数长度之间的平衡。更长的可以更深层次上对微生物进行分类,如250个碱基对对应属或种水平,而100个碱基对仅对应门或目水平。此时,使用固相测序系统能生成更多的读数。尽管如此,制造商正在努力增加读取长度,如使用NovaSeq。

检测扩增DNA的另一种方法是基因芯片,它包含许多带有寡核苷酸的孔或点,这些寡核苷酸可以特异性地与指定的DNA片段结合。基因芯片能在短时间内提供大量信息,但这些信息只适用于那些基因组已被测序从而可以设计寡核苷酸探针的微生物。

实时定量PCR(quantitative real-time PCR, qPCR)是对高通量测序和其他指纹技术的一个重要补充。qPCR不使用预扩增的DNA,而是直接从生物样本中提取DNA。qPCR的优点是对扩增(和检测)的DNA具有可控制的特异性,并对选定的DNA进行定量分析。仔细选择聚合酶的引物可以追踪单个物种、一组密切相关的物种或一个庞大的群体,如所有细菌。定量分析是利用跟踪通过一系列低温-高温循环扩增DNA的产生速率来实现的。新DNA分子的合成通过荧光信号被记录,且随着DNA被扩增,荧光信号的数量在随后的周期中呈指数增长。在提取的DNA原始混合物中,基因复制数与达到荧光阈值所需的循环次数呈反比。图4.12是qPCR输出的一个很好的例子,它显示了达到光强度阈值的时间与检测开始时目标基因复制数的关系。

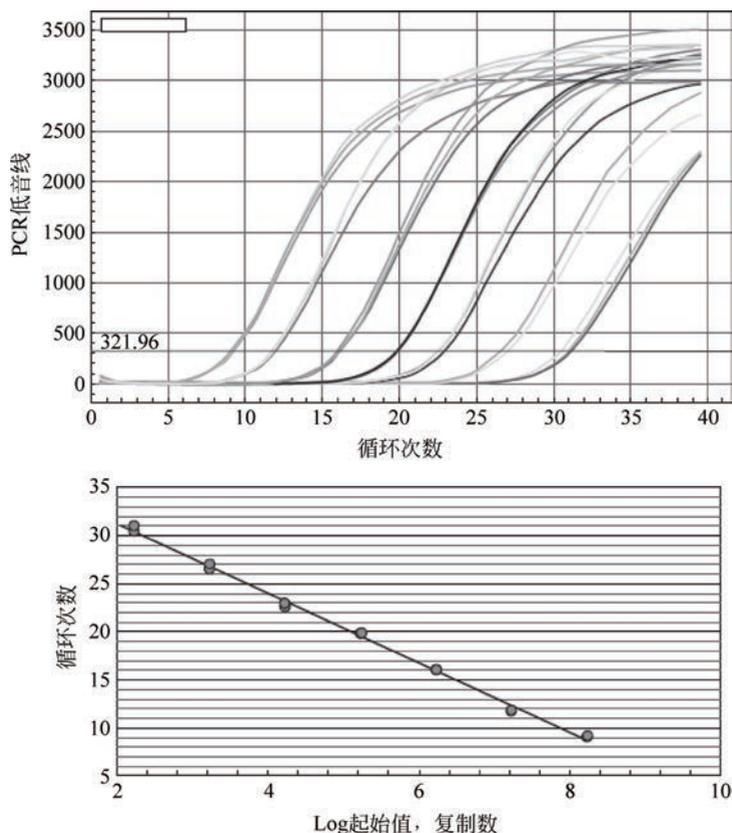


图 4.12 qPCR 的输出示例(上图)显示荧光信号超过阈值(本例为 321.96)所需的循环次数取决于起始 DNA 的数量。左边曲线的起始 DNA 数量最大,往右边逐渐减少。下图显示了原始样品中的复制数与阈值所需循环数的标准曲线。

qPCR 是对指纹分析方法的一个很好的补充,因为它能提供我们感兴趣的物种或群体的定量信息。因此,我们可以利用指纹分析方法对感兴趣的微生物进行鉴定,然后利用 qPCR 方法对其进行直接且快速的追踪。

虽然 qPCR 是定量的,但需要一些指导来确保定量解释的准确性。由于 qPCR 分析依赖于 DNA 的指数增长和经验选择的荧光阈值,因此定量结果本身存在不确定性。一般来说,至少需要一个数量级的差异才能确定一种浓度相对另一种浓度的大小。另一个解释 qPCR 结果的重点是要认识到输出结果是原始样品的单位质量或体积的基因复制数。环境生物技术专家通常想知道细胞的数量或质量。这些值可以从 qPCR 结果中估算,但不是直接来自 qPCR 结果。为了估算细胞的数量,我们需要知道每个细胞的基因复制数。对于 rDNA 基因,复制数可以从 1 到 10,通常大于 1。为了估算细胞的质量,我们需要知道细胞的体积,从中我们可以利用水的密度计算湿重质量( $1\text{g}/\text{cm}^3$ ),它的干重质量大约是湿重质量的 20%。例 4.1 是一个简单的例子,说明如何从 qPCR 结果中计算出几个浓度值。

#### 例 4.1 通过 qPCR 结果计算生物量浓度

qPCR 测得的变形菌 16S rDNA 的基因复制浓度为  $10^{10}$  copies/mL。我们逐步将该浓

度转化为 mg 干重/L。第一步是将基因复制转化为细胞。这要求我们知道每个细胞的 16S rDNA 的基因复制数。变形菌通常每个细胞有两个复制基因。

$$\text{细胞/mL} = (10^{10} \text{ 个复制基因/mL}) / (2 \text{ 个复制基因/细胞}) = 5 \times 10^9 \text{ 细胞/mL}$$

我们接下来利用典型的细胞体积( $10^{-12}$  mL/细胞)将细胞数量转化为细胞体积。

$$\text{细胞体积/mL} = (5 \times 10^9 \text{ 细胞/mL}) \times (10^{-12} \text{ mL/细胞}) = 5 \times 10^{-3} \text{ mL 细胞/mL 样品}$$

下一步是转化为湿重。生物质主要是水,它的密度几乎和水一样,  $1\text{g/mL} = 1000\text{mg/mL}$ 。

$$\text{湿重/mL} = (5 \times 10^{-3} \text{ mL 细胞/mL 样品}) \times (1000\text{mg/mL}) = 5\text{mg 湿重/mL}$$

干重通常等于 20% 的湿重。

$$\text{干重/mL} = (5\text{mg 湿重/mL}) \times 0.2 = 1\text{mg 干重/mL}$$

最后,我们将体积从毫升转化为升。

$$\text{干重/L} = (1\text{mg 干重/mL}) \times 1000\text{mL/L} = 1000\text{mg 干重/L}$$

从指纹中识别感兴趣的微生物通常需要对其 SSU rDNA 基因进行测序。通过对整个基因组进行测序可以获得更完整的评估。要对整个基因组或 SSU rDNA 进行测序,需要将微生物分离出来。目前大多数的测序遵循“鸟枪策略”,包含以下步骤:克隆整个基因组(或 rDNA)的片段,测序所有克隆,然后通过计算组装片段序列,得到完整的序列。虽然这最初是通过桑格测序完成的,但当今它通过高通量方法(如本节前面介绍的合成方法测序)完成。虽然高通量方法的序列读数更短,但输出的数量级更大。因此,对细菌基因组进行测序的时间和成本大大降低,现在可以在短短一天内获得基因组。

最后,不同基因组学技术经常需要一起使用以提供互补的信息。例如,各种指纹技术可用于识别复杂群落中的感兴趣的菌株。这些菌株可以通过 SSU rRNA 或 DNA 来识别。一旦知道了这些感兴趣菌株的系统发育,就可以在复杂群落中使用 qPCR、FISH 或 T-RFLP 技术对它们进行明确且有效的追踪。

#### 4.4.5 基因组测序结果的多样性分析

基因组测序结果使我们可以深入了解微生物群落的结构。虽然识别和追踪重要菌株非常重要,但群落总体结构的数学描述也有深刻意义,它们通常被称为多样性指数。目前已有多种基于群落统计特征(有时是非常简单的特征)的群落多样性指数。

最简单的多样性指数称为丰富度,用  $R$  来表示。丰富度的解释非常简单:不同物种或 OTUs 的数量。例如,一个  $R=10$  的群落比一个  $R=3$  的群落更多样化,这很容易理解。丰富度可用于比较相同方法测定的群落。显然,高通量测序获得的丰富度的值不能与 DGGE 或 T-RFLP 获得的值进行比较。此外,丰富度可随同一方法的细节不同而变化。例如, T-RFLP 使用不同的限制性内切酶,或 DGGE 使用不同的凝胶制备技术。

还有一种描述群落的方法是通过它的均匀性来量化一个群落的所有物种是否具有相同丰度(即一个均匀的群落),还是仅有一个或两个物种组成了几乎整个群体(即一个不均匀的群落)。比如,我们可以考虑一个 100 个个体分成 10 个物种的群落。在一个完全均匀的群落中,每个物种有 10 个个体;而在一个非常不均衡的群落中,可能有一个物种有 91 个个体,但另外 9 个物种每个物种只有 1 个个体。因此,均匀度取决于每个物种丰度的比例( $p_i$ )。

一种常见的均匀度测量方法是 Shannon-Weaver 指数( $H$ ),该指数用于预测估算下一

个采样物种的概率。在一个非常均匀的群落中,该概率很低;但如果群落非常不均匀,该概率会很高,因为几乎所有个体都属于一个类型。Shannon-Weaver 指数的计算方法如下:

$$H = - \sum_{i=1}^r p_i \ln p_i \quad (4.1)$$

$H$  的范围从 0(完全不均匀,或只代表一个物种)到  $\ln R$ (完全均匀)。可见, $R$  越大的群落, $H$  就越高,因此,均匀度取决于丰富度。

衡量均匀度的第二个指标是辛普森(Simpson)指数( $\lambda$ )。它衡量的是两个随机选择的样本是相同物种的概率。

$$\lambda = \sum_{i=1}^R p_i^2 \quad (4.2)$$

$\lambda$  的值从 1(完全不均匀)到  $1/R$ (完全均匀)。由于辛普森指数取的值小且多样性高,常被报道为辛普森指数的倒数( $1/\lambda$ ),它能反映更大的值或更均匀的物种分布。

#### 例 4.2 多样性指数的使用

我们比较了 3 个群落,每个群落有 100 个样本个体。群落 A 和群落 B 各有 10 个特有物种,群落 C 有 4 个特有物种。在群落 A 中,91 个个体属于一个物种,其他物种各有 1 个个体。群落 B 中每个物种有 10 个个体。群落 C 中有 4 个物种,每个物种有 25 个个体。我们现在计算并比较每个群落的  $R$ 、 $H$ 、 $\lambda$  和  $1/\lambda$ 。如预期那样,群落 B 比群落 A 更均匀,因为群落 A 中几乎所有个体都属于同一物种。虽然群落 C 和群落 B 的个体在物种间的分布都是均匀的,但由于群落 B 的丰富度更高,它的均匀度指数更高。

群落	$R$	$H$	$\lambda$	$1/\lambda$
A	10	0.5	0.83	1.2
B	10	2.3	0.10	10.0
C	4	1.4	0.25	4.0

### 4.4.6 功能基因组学分析

由于从 SSU rDNA 中并不能获得所有重要的基因组学信息,利用指纹分析和 qPCR 技术对功能基因进行分析正受到越来越多的关注。所选择的功能可以是常规的,也可以是极为特殊的。用于不同终端电子受体的各种还原酶基因就是很好的例子。在许多情况下,能利用指定电子受体进行呼吸的细菌广泛分布在许多属和门中。因此,SSU rDNA 提供的信息很少,除非它识别了一个已经很好地表征表型的细菌。由于环境生物技术学家经常利用大多数微生物未知的群落,因此,如果能够通过考察还原酶的不同来区分硫酸盐还原微生物和硝酸盐还原微生物将会是一个重大的突破。

对一个基因的功能分析提供表型潜力的信息,其分析方法与对 16S rDNA 群落结构的分析方法相同,关键是要掌握感兴趣基因足够的序列信息,这样才能设计出合适且有特异性的启动子。

#### 4.4.7 转录组学

已表达的表型潜力的最直接的分析方法基于以关键基因或基因组的 mRNA 为目标。由于 mRNA 是转录产物,对它的分析被称为转录组学分析。该分析中先提取 mRNA,再利用反转录酶扩增,产生互补的 DNA(称为 cDNA)。然后用于 rDNA 相同的方法对 cDNA 进一步扩增、分离和测序。需要特别注意的是,基因芯片被广泛用于纯培养的基因表达研究中,但它很难适应复杂的群落,特别是当群落中含有未知菌株时(环境生物技术中的常见情况)。

#### 4.4.8 蛋白质组学

蛋白质组学是指对蛋白质(转录和翻译的最终产物)的检测和鉴定。在环境生物技术中,我们最关注的是检测能催化感兴趣反应的酶。酶的检测为微生物执行酶催化功能提供了证据。由于酶水平和 mRNA 水平之间的关系是可变的,蛋白质组学的证据比检测 mRNA 更可靠。

蛋白质组学分析可以利用凝胶色谱或质谱方法。凝胶色谱是一种存在已久的方法,它根据蛋白质的大小和电荷分离出蛋白质混合物。二维凝胶色谱广泛用于创建蛋白质的可视化模式。蛋白质首先根据电荷密度沿轴分离,随后根据电子量在正交方向分离。蛋白质斑点可以通过质谱或化学方法切除和鉴定。二维色谱法为复杂混合物提供了极好的筛选方法,但它需要专业人士制备凝胶且耗时。

近年来,质谱已成为蛋白质组学研究的主要方法。质谱的基础是蛋白质的电离和裂解。电离后的碎片移动到检测器上,检测器根据在线数据库识别离子质量。质谱可以在液相色谱之前使用,液相色谱允许对蛋白质进行单独分析。质谱需要专业知识且需要准备大量的样品,因此它是一个强大而专业的研究工具。

还有一种追踪基因表达的方法,称为报告基因法(reporter)。在报告基因法中,利用重组技术将报告基因插入 DNA 分子中的目标区域。在 DNA 序列被转录同时,报告基因也被转录,原因是报告基因跟随着启动子,并在将被转录的 DNA 的延伸区内。来自报告基因的 mRNA 被翻译成能催化某些易于检测的反应的酶产物。发光是最常见的报告基因效应。报告基因法的原理是,只有当完整序列被转录时才能观察到报告基因效应;因此,报告基因的表达意味着目标基因的表达。

报告基因法的应用前景十分可观,但是这种方法并不是没有偏倚性。尽管“报告基因 mRNA 的转录与目标基因 mRNA 的转录成比例”这一假说似乎是合理的,但是,蛋白质产物的翻译却不一定成比例。如果报告基因 mRNA 的翻译快得多或慢得多,就不可能存在定量关系。报告基因法的一个潜在优点是能够对已表达表型进行实时测定。这种优越性只有在具有实时检测装置的情况下才能体现出来。

#### 4.4.9 功能预测

随着全基因组序列数据库的发展,现在可以利用宏基因组数据来预测功能基因的存在。这种方法称为通过未观察状态的重建来研究群落的系统发育(phylogenetic investigation of communities by reconstruction of unobserved states, PICRUSt)。首先,根据宏基因组数据

库识别群落中的物种；再利用已知物种的全基因组序列来确定应该存在的功能基因。PICRUSt方法是一种预测表型潜力的有力手段,但它受限于菌株序列的数据库。当下的数据库往往偏向于对人类健康有影响的微生物,但随着数据库的迅速发展,它在环境生物技术的微生物群落研究中会变得更加强大。

## 参考文献

- Mobarry, B. K. ; M. Wagner; V. Urbain; B. E. Rittmann; and D. A. Stahl (1996). "Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria." *Appl. Environ. Microb.* 62, pp. 2156-2162.
- Raskin, L. ; J. M. Stromley; B. E. Rittmann; and D. A. Stahl (1994). "Group-specific 16S rRNA hybridization probes to describe natural communities of methanogens." *Appl. Environ. Microb.* 60, pp. 1232-1240.

## 参考书目

- Alexander, M. (1971). *Microbial Ecology*. New York: John Wiley & Sons.
- Alm, E. W. ; D. B. Oerther; N. Larson; D. A. Stahl; and L. Raskin (1996). "The oligonucleotide probe database." *Appl. Environ. Microb.* 62, pp. 3557-3559.
- Amann, R. I. ; L. Krumholz; and D. A. Stahl (1990). "Fluorescent oligonucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology." *J. Bacteriology*. 172, pp. 762-770.
- Caporaso J. G. ; J. Kuczynski; J. Stombaugh, et al. (2010). "QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data." *Nat. Methods* 7, pp. 335-336.
- Fuqua, C. and P. Greenberg (2002). "Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signaling." *Nat. Rev. Molecul. Cell Biol.* 3, pp. 685-695.
- Gilbert, J. A. ; J. K. Jansson; and R. Knight (2014). "The Earth Microbiome project: successes and aspirations." *BMC Biol.* 12, article 69.
- Han, X. ; A. Aslanian; and J. R. Yates, III (2008). "Mass spectrometry for proteomics." *Curr. Opin. Chem. Biol.* 12(5), pp. 483-490.
- Lane, D. J. ; B. Pace; G. J. Olsen; D. A. Stahl; M. L. Sogin; and N. R. Pace (1985). "Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analysis." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82, pp. 6955-6959.
- Langille, M. G. I. ; J. Zaneveld; J. G. Caporaso; D. McDonald; D. Knights; J. A. Reyes; J. K. C. Clemente; D. E. Burkpile; R. L. Vega Thurber; R. Knight; R. G. Beiko; and C. Huttenhower, C. (2013). "Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences." *Nat. Biotech.* 31, pp. 814-821.
- Liu, W. T. ; T. L. Marsh; H. Cheng; and L. J. Forney (1997). "Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA." *Appl. Environ. Microb.* 63, pp. 4516-4522.
- Lozupone, C. ; M. Hamady; and R. Knight (2006). "UniFrac—an online tool for comparing microbial community diversity in a phylogenetic context." *BMC Bioinform.* 7, article 371.

- Metzker, M. L. (2010). "Applications of next-generation sequencing: sequencing technologies—the next generation." *Nat. Rev. Genet.* 11, pp. 31-46.
- Muyzer, G.; E. C. Dewaal; and A. G. Uitterlinden (1993). "Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S ribosomal RNA." *Appl. Environ. Microb.* 59, pp. 695-700.
- Pace, N. R.; D. A. Stahl; D. J. Lane; and G. J. Olsen (1986). "The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences." *Adv. Microb. Ecol.* 9, pp. 1-55.
- Parameswaran, P.; C. I. Torres; H. -S. Lee; R. Krajmalnik-Brown; and B. E. Rittmann (2009). "Syntrophic interactions among anode respiring bacteria (ARB) and non-ARB in a biofilm anode: electron balances." *Biotechnol. Bioeng.* 103, pp. 513-523.
- Rittmann, B. E.; R. Krajmalnik-Brown; and R. U. Halden (2008). "Pre-genomic, genomic, and post-genomic study of microbial communities involved in bioenergy." *Nat. Rev. Microbiol.* 6, pp. 604-612.
- Shokralla, S.; J. L. Spal; J. F. Gibson; and M. Hajibabaei (2012). "Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research." *Molecul, Ecol.* 21, pp. 1794-1805.
- Stackebrandt, E. and M. Goodfellow, Eds. (1991). *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*, New York: John Wiley & Sons.
- Teske, A.; E. Alm; J. M. Regan; S. Toze; B. E. Rittmann; and D. A. Stahl (1994). "Evolutionary relationships among ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria." *J. Bacteriol.* 176, pp. 6623-6630.
- Wu, L.; D. Ning; B. Zhang; et al. (2019). "Global bacterial diversity and biogeography of activated sludge systems." *Nat. Microbiol.*, in press.
- Zhang, H.; P. Parameswaran; J. Badalamenti; B. E. Rittmann; and R. Krajmalnik-Brown (2011). "Integrating high-throughput pyrosequencing and quantitative real-time PCR to analyze complex microbial communities." In Y. M. Kwon and S. C. Ricke, Eds. *High-Throughput Sequencing: Methods in Molecular Biology*, Vol. 733. New York: Humana Press, chap. 8, pp. 107-128.
- Zhang, T. and H. H. Fang (2006). "Applications of real-time polymerase chain reaction for quantification of microorganisms in environmental samples." *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 70, pp. 281-289.

## 习 题

**4.1** 在微生物生态学中,藻类的生长称为初级生产,是光合作用的光驱动过程,能够利用无机碳及其他营养物产生生物质。细菌的生长称为次级生产。请解释为什么按照这个定义,大多数微生物生长称为次级生产。

**4.2** 混合微生物群落的主要适应方式是什么?哪种机制对纯培养有效?

**4.3** 功能冗余似乎是环境生物技术中许多微生物群落的常态。群落或其环境中哪些特征会有利于功能冗余?哪些特征会不利于功能冗余?

**4.4** 一些异养细菌因能利用多种电子供体而闻名。在什么情况下,这会给它们带来竞争优势?

**4.5** 一些硫酸盐还原细菌在没有硫酸盐的时候能通过发酵存活。在什么情况下,同时拥有这两种能力会给它们带来显著的竞争优势?

**4.6** 分解代谢反应产生的能量通常能提供生态优势,但这并不能总是决定哪些微生物

可以在群落中生存。请描述在什么情况下(至少两种),两种微生物竞争相同电子供体并具有不同电子受体,但能量产率较低的微生物可以在群落中生存。

**4.7** 请描述当寡营养细菌和富营养细菌使用相同底物时,寡营养细菌可以胜过富营养细菌的条件。

**4.8** 环境生物技术中的大多数微生物群落都是聚集体,如生物膜或絮状物。请描述自身生长缓慢的物种如何能在一个聚集体中共存,如果所有细胞以单细胞形式悬浮时,它们可能会被淘汰。

**4.9** 细菌之间遗传信息的交换被广泛研究。最常见的交换形式是接合作用。请描述群落中因接合作用获得优势的情形。供体和受体细胞如何从接合作用中获益或受损?

**4.10** 复杂的食物网很常见,尤其是在厌氧微生物生态系统中,如产甲烷过程。请解释群落为什么必须有几种不同类型的微生物才能发挥作用。

**4.11** 互养作用是协同作用的一种极端形式。请解释为什么说互养作用是协同作用,并解释它在什么方面特殊。

**4.12** 有些微生物能形成储藏物质,使它们在某些情况下具有竞争优势。什么条件下会形成这种优势?这些微生物会做哪些取舍?

**4.13** 选择性培养仍然是微生物生态学的重要工具,尽管它有众所周知的局限性。请列表并讨论选择性培养的优点和缺点(至少各两个)。

**4.14** T-RFLP 和 DGGE 是群落指纹识别的替代方案。请说明这两种方法的优缺点,每种方法至少要有一个优点。

**4.15** 高通量测序能检测到在群落种占比很小的菌株,可能低至 0.1%(基于基因复制)。这与 DGGE 等指纹识别技术形成鲜明对比,DGGE 只能从 10 个左右扩增率最高的菌株中准确地识别出 DNA。请说明通过高通量测序获得更深层次的分辨率的利弊(从 3 个方面进行比较)。

**4.16** 计算以下取样 300 个个体的群落丰富度、Shannon-Weaver 指数和 Simpson 指数。哪个群落最均匀或最不均匀?为什么?

个 体	群落 A	群落 B	群落 C
1	30	100	100
2	30	50	100
3	30	50	50
4	30	40	30
5	30	10	20
6	30	10	0
7	30	10	0
8	30	10	0
9	30	10	0
10	30	10	0

**4.17** 球菌直径为  $1\mu\text{m}$ , 在干重浓度为  $2000\text{mg/L}$  的悬浮液中存在。如果每个细胞有 3 个 16S rDNA 基因复制, 计算每升细胞的浓度和 PCR 测定的每升基因复制的浓度。

**4.18** 转录组学与基因组学有何不同? 它们有什么相似之处?

**4.19** 蛋白质组学和转录组学提供了相似的信息, 但不完全相同。什么是相似的? 什么是不同的?

# 第5章 化学计量学和能量学

生物处理系统工程设计中,质量平衡是最重要的基本概念。对于定量的反应基质,可以根据质量平衡来确定为满足微生物的能量、营养和环境需求而需要提供的化学物质的量。另外,还可以估算系统中最终产物的量。化学物质是指,作为电子供体的氧、供微生物生长的氮和磷、将 pH 值保持在适当范围的石灰和硫酸等。最终产物是指,需要花费大量资金处置的剩余微生物(污泥)和产自厌氧系统可以作为能源加以利用的甲烷。

反应的质量平衡可以从化学反应平衡方程式中得到,它是基于化学计量学建立的,是化学反应过程中反应物和产物之间的物质的量关系。任何学习过最基本的化学课程的人,都能够写出平衡的化学方程式。微生物反应的几个特点使其化学计量式变得复杂。首先,微生物反应通常包括氧化反应和还原反应,而不仅仅是一种反应;其次,微生物在这里起两个作用,作为反应的催化剂同时又是反应的最终产物;最后,微生物同时进行许多反应,以便为细胞合成、维持细胞活性获取能量。因此,在考虑元素、电子、电荷平衡的同时,还必须考虑反应能量学。

我们采用一种基本的、非常实用的方法。这种方法综合了所有控制微生物生长的因素和细胞消耗与产生的物质之间的关系。

## 5.1 化学计量方程式举例

最早的废水生物氧化的平衡方程式之一是由 Porges、Jasewicz 和 Hoover (1956) 针对含酪蛋白废水提出的:



相对分子质量:

$$\begin{array}{ccccccc} 184 & 96 & 113 & 18 & 61 & 88 & \\ \sum & = 280 & & & \sum & = 280 & \end{array}$$

在式(5.1)中,酪蛋白是电子供体基质,它的部分碳被完全氧化成  $\text{HCO}_3^-$  和  $\text{CO}_2$ 。酪蛋白中剩余的碳被用于合成新的生物物质,因为酪蛋白同时也是碳源。式(5.1)表明,为了使反应正常进行,微生物每消耗 184g 酪蛋白,必须提供 96g 氧。这个反应产生 113g 新的细胞物质、

18g 铵(或者 14g 氨氮)、61g 碳酸氢根离子和 88g 二氧化碳。这些知识对于设计酪蛋白生物处理系统是必需的。例如,当处理 1000kg/d 酪蛋白时,必须通过曝气提供 520kg/d 的氧,有 610kg/d 生物固体需要进行脱水和适当的处置。

酪蛋白中含有复杂的蛋白质的混合物,用经验分子式  $C_8H_{12}O_3N_2$  表示。这个分子式的构建,是根据废水中含有的有机碳、氢和氮的相对质量比例,通过常规的有机化学分析,得到每一种元素的含量。

采用同样的方法可以得到细菌细胞的经验分子式为  $C_5H_7O_2N$ 。细菌细胞具有高度复杂的结构,含有多种碳酸盐、蛋白质、脂肪和核酸,有些相对分子质量很大。微生物所包含的元素确实远远多于式(5.1)中的 4 种,例如,磷、硫、铁以及其他一些仅仅以痕量存在的元素。人们常常认为,只要已知它们的相对质量比,一个经验分子式应该包含更多的元素。但是,Portes 等(1956)只选择了 4 种主要元素来表示。通常,这基本上能够满足应用的需要。只要知道形成细菌细胞的特定反应,就可以通过它来确定分子式中未表示出的元素的需求量。例如,磷通常占细菌细胞质量的 2%,因此,如果在处理过程中消耗了 1000kg/d 酪蛋白,废水中就需要存在(或者添加) $0.02 \times 610\text{kg/d}$  或者 12kg/d 磷酸-磷,以满足细菌的需求。

式(5.1)由经验数据推导。我们是否可以预知这一反应的化学计量学? 答案是可以的,本章的其余部分将开发并应用一种方法来预测微生物反应的化学计量方程式。为了实现这一目标,我们需要 3 个条件:

- (1) 细胞的经验分子式;
- (2) 描述电子供体基质在产生能量和合成之间如何分配的框架;
- (3) 将用于合成新的生物体的电子供体基质与从分解代谢获得能量、合成代谢所需要的能量联系起来的方法。

本章将依次介绍这 3 个条件。

## 5.2 微生物细胞的经验分子式

前面提到的细胞的经验分子式( $C_5H_7O_2N$ )是最先应用于平衡生物反应的分子式之一。但是,细胞中各种元素的相对比例取决于系统含有的微生物、用于产生能量的基质以及微生物生长所需的营养物质等特性。如果微生物生长在缺乏氮的环境中,它们会产生更多的脂肪和糖类物质,结果使细胞的经验分子式中氮的比例变小。表 5.1 列举了其他研究中报道的细胞经验分子,这些细胞,有些是厌氧生长的,有些是好氧生长的;有些是混合培养物,有些是纯培养物;有些在不同的有机基质中培养。含氮量在 6%~15%之间变化,“典型的”平均值是 12%。

表 5.1 中一些细胞组成也显示了磷(P)含量。化学计量平衡通常不涉及 P 含量,以免使其过于复杂。然而,原核细胞的 P 含量通常在 2%左右,尽管如表 5.1 中所示,该值可以更大或更小一点。磷是生物体所必需的元素,如表 5.2 所示。

表 5.1 原核细胞的经验分子式

经验分子式	相对分子质量	COD'/质量	N/%	参考文献	生长基质和环境条件
混合培养					
C <sub>5</sub> N <sub>7</sub> O <sub>2</sub> N	113	1.42	12	1	酪蛋白、好氧的
C <sub>7</sub> N <sub>12</sub> O <sub>1</sub> N	174	1.33	8	2	乙酸盐、氨氮氮源、好氧的
C <sub>9</sub> H <sub>15</sub> O <sub>5</sub> N	217	1.40	6	2	乙酸盐、硝酸盐氮源、好氧的
C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub> N	218	1.43	6	2	乙酸盐、亚硝酸盐氮源、好氧的
C <sub>4.9</sub> H <sub>9.4</sub> O <sub>2.9</sub> N	129	1.26	11	3	乙酸盐、产甲烷的
C <sub>4.7</sub> H <sub>7.7</sub> O <sub>2.1</sub> NP <sub>0.045</sub>	112	1.38	13	3	辛酸、产甲烷的
C <sub>4.9</sub> H <sub>9</sub> O <sub>3</sub> NP <sub>0.08</sub>	130	1.21	11	3	丙氨酸、产甲烷的
C <sub>5</sub> H <sub>8.8</sub> O <sub>3.2</sub> NP <sub>0.045</sub>	134	1.16	10	3	亮氨酸、产甲烷的
C <sub>4.1</sub> H <sub>6.8</sub> O <sub>2.2</sub> NP <sub>0.045</sub>	105	1.20	13	3	营养肉汤、产甲烷的
C <sub>5.1</sub> H <sub>8.5</sub> O <sub>2.5</sub> NP <sub>0.17</sub>	124	1.35	11	3	葡萄糖、产甲烷的
C <sub>5.3</sub> H <sub>9.1</sub> O <sub>2.5</sub> NP <sub>0.08</sub>	127	1.41	11	3	淀粉、产甲烷的
纯培养					
C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> N	114	1.47	12	4	细菌、乙酸、好氧的
C <sub>5</sub> H <sub>8.33</sub> O <sub>0.81</sub> N	95	1.99	15	4	细菌、未确定
C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> N	102	1.33	14	4	细菌、未确定
C <sub>4.17</sub> H <sub>7.42</sub> O <sub>1.38</sub> N	94	1.57	15	4	产气气杆菌( <i>Aerobacter aerogenes</i> )、未确定
C <sub>4.54</sub> H <sub>7.91</sub> O <sub>1.95</sub> N	108	1.43	13	4	克雷伯氏产气荚膜杆菌( <i>Klebsiella aerogenes</i> )、甘油、 $\mu=0.1\text{h}^{-1}$
C <sub>4.17</sub> H <sub>7.21</sub> O <sub>1.79</sub> N	100	1.39	14	4	克雷伯氏产气荚膜杆菌( <i>Klebsiella aerogenes</i> )、甘油、 $\mu=0.85\text{h}^{-1}$
C <sub>4.16</sub> H <sub>8</sub> O <sub>1.25</sub> NP <sub>0.097</sub>	92	1.67	14	5	埃希氏大肠杆菌( <i>Escherichia coli</i> )、未确定
C <sub>3.85</sub> H <sub>6.69</sub> O <sub>1.78</sub> N	95	1.30	15	5	埃希氏大肠杆菌( <i>Escherichia coli</i> )、葡萄糖
最高	218	1.99	15		
最低	92	1.16	6		
中间值	113	1.40	12		

参考文献: Porges et al., (1956); Symons and McKinney, (1958); Speece and McCarty, (1964); Bailey and Ollis, 1986; Battley, (1987)。

表 5.2 列出了原核细胞的主要有机成分,包括碳水化合物、蛋白质、脂质以及核酸 DNA 和 RNA,还列出了各组分的经验公式。几乎所有细胞的 P 和大约 1/3 细胞的 N 位于核酸中,表明了这两种营养物质对细胞生长和功能的重要性。同样有趣的是, DNA 只占细胞有机物的 3% 多一点,通常每个细胞只有两个分子组成,而不同形式的 RNA 大约有 25 万个分子。一个典型原核细胞的干重可以通过它的大小和含水率(约 70%)来估算。由于典型杆状微生物为长  $2\mu\text{m}$ 、直径  $1\mu\text{m}$  的圆柱体,其体积约为  $2\mu\text{m}^3$ 。假设有机物含量密度与水相同 ( $1\text{g}/\text{cm}^3$ ),其干重则为  $0.3 \times 2 \times 10^{-12}\text{g}$ ,即  $6 \times 10^{-13}\text{g}$ 。

表 5.2 典型原核生物细胞有机物的化学成分

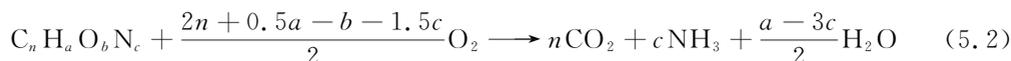
有机基因	经验公式	有机物百分比干重	元素占有有机物干重的百分比				
			C	H	O	N	P
蛋白质	C <sub>4</sub> H <sub>6.2</sub> O <sub>1.2</sub> NP <sub>0.01</sub>	58	31.7	4.1	12.7	9.3	0.2
碳水化合物	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	7.3	3.2	0.5	3.6		
脂肪	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	9.5	7.1	1.2	1.2		
DNA	C <sub>2.8</sub> H <sub>3.6</sub> O <sub>2.0</sub> NP <sub>0.29</sub>	3.2	1.2	0.1	1.1	0.5	0.3

续表

有机基因	经验公式	有机物百分比干重	元素占有机物干重的百分比				
			C	H	O	N	P
RNA	$C_{2.7}H_{3.6}O_{1.7}NP_{0.29}$	22	8.3	0.3	6.9	3.6	2.3
总计	$C_{4.5}H_{6.5}O_{1.7}NP_{0.095}$	100	51.5	6.2	25.5	13.4	2.8

来源: Percent of organics dry weight, Madigan et al. (1997).

测量完全氧化单位质量细胞碳所需要的氧量,是比较细胞经验分子式的一个极其重要的方法。这个需氧量称为计算需氧量(calculated oxygen demand, COD')。它通常等于化学需氧量(chemical oxygen demand, COD),是一种标准化学测定方法。COD'可以从有机物被分子氧氧化的经验公式中得出:



氧化反应所需要的氧与有机质的干重之比为

$$\frac{COD'}{\text{质量}} = \frac{(2n + 0.5a - b - 1.5c)16}{12n + a + 16b + 14c} \quad (5.3)$$

其中, COD'等于细胞氧化过程中需要的氧气体积,质量等于所写的细胞有机物干重的经验值。式(5.3)中分母上的值12、1、16和14分别是碳、氢、氧和氮的相对原子质量;它们用于将经验式中的物质的量浓度,转换为质量。

当处理尚未得到经验分子式的生物量时,如果确定细胞有机质中各主要元素的质量浓度,也可以构建其经验分子式。细胞经验分子式中各元素系数的值可由下式求得:

$$n = \%C/12T, \quad a = \%H/T, \quad b = \%O/16T \quad \text{和} \quad c = \%N/14T$$

以及

$$T = \%C/12 + \%H + \%O/16 + \%N/14 \quad (5.4)$$

上述方程中每个元素的百分比代表该元素在有机生物体中的质量占比。

### 例 5.1 生物体经验分子式的确定

将一个生物培养物样品送到化学实验室,分析其有机成分中各个主要元素的质量分数。在实验室将样品蒸发干燥,然后再放入150℃的烘箱中过夜去除所有水分。干燥后,分析残余的有机部分,随后,将样品放在550℃的马弗炉中燃烧,测定灰分的质量。灰分包括样品中的磷、硫、铁和其他无机元素。结果发现,细胞的组成(质量分数)为48.9%的C、5.2%的H、24.8%的O、9.46%的N和9.2%的灰分。请写出细胞的经验分子式,假设 $c=1$ ,确定细胞的COD'/有机物质量比。

$$T = 48.9/12 + 5.2 + 24.8/16 + 9.46/14 = 11.50$$

和

$$n = 48.9/(12 \times 11.5) \approx 0.354 \quad a = 5.2/11.5 \approx 0.452$$

$$b = 24.8/(16 \times 11.5) \approx 0.135 \quad c = 9.46/(14 \times 11.5) \approx 0.0588$$

为了归一化,设 $c=1$ ,即除以0.0588,此时得到细胞的经验分子式为 $C_{6.0}H_{7.7}O_{2.3}N$ ,这个分子式表明,非整数系数(如O为2.3)是合理的、正确的。所有数字取整将会带来误差,所以不应该这样做。COD'/有机物质量比等于

$$\frac{(2 \times 6.0 + 0.5 \times 7.7 - 1.5 - 2.3) \times 16/}{(12 \times 6 + 7.7 + 16 \times 2.3 + 14)} \approx 1.48gCOD'/g \text{ 细胞}$$

### 5.3 细胞含有储存产物的分子式

如表 5.1 所示,细胞的分子式变化很多。即使是一个特定物种,细胞的分子式也不是一成不变的。它取决于微生物处于活跃生长还是休眠的状态,或者它是否有正常生长所需的充足的营养。当不是所有必需的营养物质都充足时,有些微生物能以由多糖(碳水化合物)、脂质、硫颗粒或多磷酸盐组成的内含物或储存体的形式储存多余的电子和能量。当外部能源变得有限时,可以利用这些储存产物来维持生命或生长。这表明我们能通过操纵细胞的生长条件,以期望的方式改变细胞组成。例如,有些藻类在外部氮源缺乏的情况下生长时,会利用太阳能合成过量的脂质,这些脂质可以被提取用作可再生的柴油染料;还有一些细菌在缺乏氮源时,会以多羟基烷烃酸(polyhydroxyalkanoic acids, PHA)的形式产生聚合脂肪酸,这是可以用来制造可生物降解塑料的宝贵材料。如今,人们对从废物中生产如此有价值的产品表现出了极大的兴趣。

让我们考虑两种细胞分子式随着内含体的存在而变化的例子,一种是表 5.2 中细胞的碳水化合物从 7.3% 增加到 30%,另一种是脂质占比从 9.5% 增加到 30%。这两个增长都在既定的范围内。假设细胞的其他成分的相对比例保持不变,对于碳水化合物增加和脂质增加两种情况,与基本细胞分子式  $C_5H_7O_2NP_{0.1}$  相比,新的细胞分子式分别是  $C_{5.8}H_{8.6}O_{2.7}NP_{0.1}$  和  $C_{6.4}H_{10.4}O_{1.5}NP_{0.1}$ 。在这两种情况下,C 和 H 的含量都相对于 N 增加。O 含量随碳水化合物含量的增加而增加,随脂质含量的增加而降低。在碳水化合物增加的情况下,COD'/质量比降低到 1.37,而在脂质增加的情况下,COD'/质量比增加到 1.77,而在基本情况下(分子式为  $C_5H_7O_2N$ )的值为 1.44。这些变化的原因是,一种情况下碳水化合物比基础细胞中氧化的碳更多,而另一种情况下脂质比基础细胞中还原的碳更多。

### 5.4 基质分配和细胞产率

微生物利用电子供体基质进行合成代谢,一部分电子( $f_e^0$ )先传递给电子受体,用以提高能量,使其他的电子( $f_s^0$ )转化进入微生物细胞,如图 5.1 所示。 $f_s^0$  和  $f_e^0$  的总和是 1。细胞也随着正常的代谢和被捕食而减少; $f_s^0$  中的一部分电子传递给电子受体产生更多的能量,其余的部分转化成没有生物活性的细胞残余物,也称为惰性生物物质。

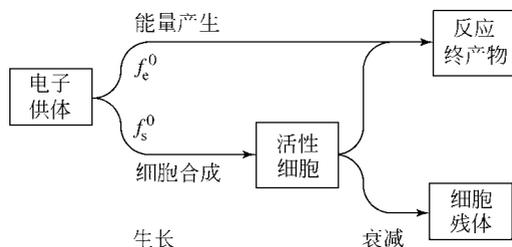


图 5.1 电子供体用于产生能量和合成

电子供体首先转化为细胞的那部分,即  $f_s^0$  和用于产生能量的  $f_e^0$ ,可以为产生能量和合成代谢之间的基质分配提供框架。因为电子流动产生细胞能量,这种电子分配将通过电子平衡来进行。为了方便计算,有机电子供体的一个电子当量等于氧的一个电子当量,即

1/8mol 氧气,或 8g 氧。利用该值,转化为细胞电子供体当量的分数,可以再转化为质量和 COD' 的单位,如 g 细胞产量/g 消耗 COD'。以质量单位表示,称为实际产量,并且以符号  $\gamma$  表示。将  $f_s^0$  转化为  $\gamma$  的表达式为

$$\gamma = f_s^0 M_c / (8n_e) \quad (5.5)$$

式中,  $M_c$  为细胞的摩尔质量;  $n_e$  为经验摩尔细胞的电子当量数。当以  $C_5H_7O_2N$  表示细胞,以铵为氮源时,  $M_c = 113\text{g 细胞/mol 细胞}$ ,  $n_e = 20e^- \text{ eq/mol 细胞}$ 。转化率为  $\gamma = 0.706f_s^0$ ,  $\gamma$  的单位是 g 细胞/g COD'。如果细胞分子式不同或者细胞以被氧化的氮(如  $\text{NO}_3^-$ )为氮源,转化率就会不同。这种变化将在 5.7.3 节进行讨论。

微生物细胞生长速率通常可以用以下公式表达:

$$\frac{dX_a}{dt} = \gamma \left( -\frac{dS}{dt} \right) - bX_a \quad (5.6)$$

式中,  $dX_a/dt$  代表活性生物 ( $X_a, \text{M/L}^3$ ) 的净生长速率,  $\text{M}_x/\text{L}^3\text{T}$ ;  $-dS/dt$  代表基质 ( $S, \text{M/L}^3$ ) 的消耗速率,  $\text{M}_s/\text{L}^3\text{T}$ ;  $b$  是微生物的衰减速率,  $\text{T}^{-1}$ ;  $\gamma$  是微生物的实际产率,  $\text{M}_x/\text{M}_s$ 。[式(5.6)的全面推导将在第6章中给出,这里只给出一个简单的推导,以说明产率的概念。]净生长速率等于消耗基质产生的最大生长速率减去微生物内源呼吸(内源代谢)或被捕食导致的生物量损失或衰减的速率差。式(5.6)除以基质利用速率,就可以得到净产率:

$$\gamma_n = \frac{dX_a/dt}{-dS/dt} = \gamma - b \frac{X_a}{-dS/dt} \quad (5.7)$$

净产率小于  $\gamma$ , 因为基质中最初出现的一部分电子必然作为维持细胞生长的能量而被消耗。在考虑净产率的时候,用于合成的那部分电子是  $f_s$ , 而不是  $f_s^0$ , 用于产生能量的那部分电子是  $f_e$ , 而不是  $f_e^0$ 。并且,  $f_s$  和  $f_e$  的和依然等于 1, 所以  $f_s < f_s^0$ , 同时  $f_e > f_e^0$ 。

式(5.7)表明,如果衰减速率增加,或生物浓度增加,或基质消耗速率降低,则净产率降低。在酪蛋白一例中[式(5.1)],细胞产率为 0.61g 细胞/g 酪蛋白,实际上代表净产率,因为它是从微生物混合培养的实验数据推导的,培养过程中微生物利用基质生长,同时也有衰减。

若单位质量细胞的基质利用率足够低,即式(5.7)右边接近于零,意味着细胞净产率接近于零,  $\gamma_n$  也接近于零。基质利用率仅仅满足维持细胞生存,结果活性细胞并没有增长。这种情况下,有

$$\gamma_n = 0, \quad \text{并且} \quad \frac{-dS/dt}{X_a} = \frac{b}{\gamma} = m \quad (5.8)$$

此时,单位质量微生物的基质利用率称为维持能 ( $m, \text{M/MT}$ )。从式(5.8)看,  $m$  与  $b$  成正比,与  $\gamma$  成反比。当基质利用率小于  $m$  时,基质利用不能满足总的微生物的代谢需求,代表一种饥饿状态,净产率变为负值。

### 例 5.2 生长速率和净产率

一个反应器中,活性微生物浓度为 500mg/L,消耗乙酸的速率是 750mg/(L·d)。培养物的  $\gamma = 0.6\text{g 细胞/g 乙酸}$ ,  $b = 0.15\text{d}^{-1}$ 。确定微生物的比生长速率  $[(dX_a/dt)/X_a]$ 、比基质利用速率  $[-dS/dt)/X_a]$  和细胞的净增长率。

从式(5.6)得到,  $[(dX_a/dt)/X_a] = [\gamma(-dS/dt)/X_a - b] = (0.6 \times 750/500) - 0.15 = 0.75\text{d}^{-1}$ 。这意味着在这种条件下,微生物的数量以每天 75% 的速度增加。其次,  $(-dS/dt)/X_a = 750/500 = 1.5\text{g 乙酸/(g 细胞} \cdot \text{d)}$ 。换句话说,微生物每天消耗的食物质量为其 1.5

倍。式(5.7)给出了净产率,  $\gamma_n = 0.6 - 0.15/1.5 = 0.5 \text{ g 细胞}/(\text{g 乙酸} \cdot \text{d})$ 。这是实际产率(true yield) $\gamma$ 的  $0.5/0.6$  或  $83\%$ 。

## 5.5 生物生长的总反应

细菌的生长涉及两个核心反应,一个是产生能量的反应,另一个是细胞合成反应。这两个核心反应可以合并成一个表现微生物生长和底物利用的化学计量反应。每个反应可以利用半反应来构建。第3章介绍了半反应的构建,并提供各种例子来说明如何通过结合电子供体半反应和电子受体半反应来构建产能反应。为获得一个完整的微生物反应,我们还需要构建一个合成反应,它也可以通过结合两个适当的半反应来实现。有了产能和合成反应,我们便可以直接将两者合并成一个完整且平衡的微生物生长反应式,如式(5.1)。

例如,我们假设苯甲酸盐是电子供体,硝酸盐是电子受体,氨是氮源。基于净产率,我们假设苯甲酸盐的电子当量中的  $40\%$  用于合成细胞( $f_s = 0.40$ ),剩余的  $60\%$  用于产能( $f_c = 0.60$ )。

我们首先构建完整的产能和合成反应式。供体半反应以  $R_d$  表示,受体半反应以  $R_a$  表示。为方便起见,表 5.3 中包含了 5 种最常见电子受体的半反应( $R_a$ ):  $\text{O}_2$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$  和  $\text{CO}_2$ 。表 5.4 和表 5.5 分别列出了常见有机物和无机物的半反应。

表 5.3 常见的电子受体半反应( $R_a$ )和细胞合成半反应( $R_c$ )

反应编号	半 反 应	$\Delta G^{\circ'}/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{ eq})$
一般的电子受体半反应( $R_a$ ):		
I-14 氧	$\frac{1}{4}\text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	-78.72
I-7 硝酸盐	$\frac{1}{5}\text{NO}_3^- + \frac{6}{5}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{10}\text{N}_2 + \frac{3}{5}\text{H}_2\text{O}$	-72.20
I-9 硫酸盐	$\frac{1}{8}\text{SO}_4^{2-} + \frac{19}{16}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{16}\text{H}_2\text{S} + \frac{1}{16}\text{HS}^- + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	20.85
O-12 二氧化碳	$\frac{1}{8}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{8}\text{CH}_4 + \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$	23.53
I-4 Fe(III)	$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	-74.27
细胞合成半反应( $R_c$ ):		
C-1 氨为氮源	$\frac{1}{5}\text{CO}_2 + \frac{1}{20}\text{HCO}_3^- + \frac{1}{20}\text{NH}_4^+ + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{20}\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + \frac{9}{20}\text{H}_2\text{O}$	
C-2 硝酸盐为氮源	$\frac{5}{28}\text{CO}_2 + \frac{1}{28}\text{NO}_3^- + \frac{29}{28}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{28}\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + \frac{11}{28}\text{H}_2\text{O}$	
C-3 亚硝酸盐为氮源	$\frac{5}{26}\text{CO}_2 + \frac{1}{26}\text{NO}_2^- + \frac{27}{26}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{26}\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + \frac{10}{26}\text{H}_2\text{O}$	
C-4 氮气为氮源	$\frac{5}{23}\text{CO}_2 + \frac{1}{46}\text{N}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{23}\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + \frac{8}{23}\text{H}_2\text{O}$	

表 5.4 有机物还原半反应及其吉布斯标准自由能

反应编号	还原化合物	半 反 应	$\Delta G^{\circ'}/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{ eq})$
O-1	乙酸	$\frac{1}{8}\text{CO}_2 + \frac{1}{8}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{8}\text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{1}{8}\text{H}_2\text{O}$	27.40

		续表	
反应编号	还原化合物	半反应	$\Delta G^{\circ'}/$ (kJ/e <sup>-</sup> eq)
O-2	丙氨酸	$\frac{1}{6}\text{CO}_2 + \frac{1}{12}\text{HCO}_3^- + \frac{1}{12}\text{NH}_4^+ + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{12}\text{CH}_3\text{CHNH}_2\text{COOH} + \frac{5}{12}\text{H}_2\text{O}$	31.33
O-3	苯	$\frac{1}{5}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{30}\text{C}_6\text{H}_6 + \frac{6}{15}\text{H}_2\text{O}$	28.34
O-4	苯甲酸盐(安息香酸盐)	$\frac{1}{5}\text{CO}_2 + \frac{1}{30}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{30}\text{C}_6\text{H}_5\text{COO}^- + \frac{13}{30}\text{H}_2\text{O}$	27.34
O-5	丁酸盐	$\frac{3}{20}\text{CO}_2 + \frac{1}{20}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{20}\text{H}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + \frac{7}{20}\text{H}_2\text{O}$	27.73
O-6	柠檬酸盐	$\frac{1}{6}\text{CO}_2 + \frac{1}{6}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{18}(\text{COO}^-)\text{CH}_2\text{COH}(\text{COO}^-)\text{CH}_2\text{COO}^- + \frac{4}{9}\text{H}_2\text{O}$	33.09
O-7	乙醇	$\frac{1}{6}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{12}\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$	31.16
O-8	甲酸盐	$\frac{1}{2}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{2}\text{HCOO}^- + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	39.21
O-9	葡萄糖	$\frac{1}{4}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{24}\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$	40.95
O-10	谷氨酸盐	$\frac{1}{6}\text{CO}_2 + \frac{1}{9}\text{HCO}_3^- + \frac{1}{18}\text{NH}_4^+ + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{18}\text{COOHCH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COO}^- + \frac{4}{9}\text{H}_2\text{O}$	30.94
O-11	甘油	$\frac{3}{14}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{14}\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH} + \frac{3}{14}\text{H}_2\text{O}$	38.66
O-12	甘氨酸	$\frac{1}{6}\text{CO}_2 + \frac{1}{6}\text{HCO}_3^- + \frac{1}{6}\text{NH}_4^+ + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{6}\text{CH}_2\text{NH}_2\text{COOH} + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	36.25
O-13	乳酸	$\frac{1}{6}\text{CO}_2 + \frac{1}{12}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{12}\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + \frac{1}{3}\text{H}_2\text{O}$	32.29
O-14	$\alpha$ 乳酸	$\frac{1}{4}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{48}\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} + \frac{13}{48}\text{H}_2\text{O}$	42.66
O-15	甲烷	$\frac{1}{8}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{8}\text{CH}_4 + \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$	23.52
O-16	甲醇	$\frac{1}{6}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{6}\text{CH}_3\text{OH} + \frac{1}{6}\text{H}_2\text{O}$	36.84
O-17	棕榈酸盐	$\frac{15}{92}\text{CO}_2 + \frac{1}{92}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{92}\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COO}^- + \frac{31}{92}\text{H}_2\text{O}$	27.27
O-18	苯基丙氨酸	$\frac{8}{41}\text{CO}_2 + \frac{1}{41}\text{HCO}_3^- + \frac{1}{41}\text{NH}_4^+ + \text{H}^+ + \text{e}^- = \frac{1}{41}\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH} + \frac{17}{41}\text{H}_2\text{O}$	29.68

				续表
反应编号	还原化合物	半 反 应		$\Delta G^{0'}/$ (kJ/e <sup>-</sup> eq)
O-19	丙醇	$\frac{1}{6}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{18}\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH} + \frac{5}{18}\text{H}_2\text{O}$		29.95
O-20	丙酸盐	$\frac{1}{7}\text{CO}_2 + \frac{1}{14}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{14}\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + \frac{5}{14}\text{H}_2\text{O}$		27.63
O-21	丙酮酸盐	$\frac{1}{5}\text{CO}_2 + \frac{1}{10}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{10}\text{CH}_3\text{COCOO}^- + \frac{2}{5}\text{H}_2\text{O}$		35.10
O-22	核糖	$\frac{1}{4}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{20}\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5 + \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$		41.31
O-23	琥珀酸盐	$\frac{1}{7}\text{CO}_2 + \frac{1}{7}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{14}(\text{CH}_2)_2(\text{COO}^-)_2 + \frac{3}{7}\text{H}_2\text{O}$		29.10
O-24	甲苯	$\frac{7}{36}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{36}\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3 + \frac{7}{18}\text{H}_2\text{O}$		27.85
O-25	生活污水	$\frac{9}{50}\text{CO}_2 + \frac{1}{50}\text{HCO}_3^- + \frac{1}{50}\text{NH}_4^+ + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{50}\text{C}_{10}\text{H}_{29}\text{O}_3\text{N} + \frac{9}{25}\text{H}_2\text{O}$		
O-26	常规的有机 化合物半 反应	$\frac{(n-c)}{d}\text{CO}_2 + \frac{c}{d}\text{NH}_4^+ + \frac{c}{d}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{d}\text{C}_n\text{H}_a\text{O}_b\text{N}_c + \frac{2n-b+c}{d}\text{H}_2\text{O}$		

表 5.5 无机物半反应及其吉布斯标准自由能(pH=7.0 时)

反应编号	氧化还原化合物	半反应	$\Delta G^{0'}$ kJ/(e <sup>-</sup> eq)
I-1	铵-硝酸盐	$\frac{1}{8}\text{NO}_3^- + \frac{5}{4}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{8}\text{NH}_4^+ + \frac{3}{8}\text{H}_2\text{O}$	-35.11
I-2	铵-亚硝酸盐	$\frac{1}{6}\text{NO}_2^- + \frac{4}{3}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{6}\text{NH}_4^+ + \frac{1}{3}\text{H}_2\text{O}$	-32.93
I-3	铵-氮	$\frac{1}{6}\text{N}_2 + \frac{4}{3}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{3}\text{NH}_4^+$	26.70
I-4	亚铁-三价铁	$\text{Fe}^{3+} + \text{e}^- \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+}$	-74.27
I-5	氢-H <sup>+</sup>	$\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{H}_2$	39.87
I-6	亚硝酸盐-硝酸盐	$\frac{1}{2}\text{NO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{NO}_2^- + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	-41.65
I-7	氮-硝酸盐氮	$\frac{1}{5}\text{NO}_3^- + \frac{6}{5}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{10}\text{N}_2 + \frac{3}{5}\text{H}_2\text{O}$	-72.20
I-8	氮-亚硝酸盐	$\frac{1}{3}\text{NO}_2^- + \frac{4}{3}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{6}\text{N}_2 + \frac{2}{3}\text{H}_2\text{O}$	-92.56
I-9	硫化物-硫酸盐	$\frac{1}{8}\text{SO}_4^{2-} + \frac{19}{16}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{16}\text{H}_2\text{S} + \frac{1}{16}\text{HS}^- + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	20.85
I-10	硫化物-亚硫酸盐	$\frac{1}{6}\text{SO}_3^{2-} + \frac{5}{4}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{12}\text{H}_2\text{S} + \frac{1}{12}\text{HS}^- + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	11.03
I-11	亚硫酸盐-硫酸盐	$\frac{1}{2}\text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{SO}_3^{2-} + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	50.30

续表

反应编号	氧化还原化合物	半反应	$\Delta G^{\circ}$ kJ/(e <sup>-</sup> eq)
I-12	硫-硫酸盐	$\frac{1}{6}\text{SO}_4^{2-} + \frac{4}{3}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{6}\text{S} + \frac{2}{3}\text{H}_2\text{O}$	19.15
I-13	硫代硫酸盐-硫酸盐	$\frac{1}{4}\text{SO}_4^{2-} + \frac{5}{4}\text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{8}\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \frac{5}{8}\text{H}_2\text{O}$	23.58
I-14	水-氧	$\frac{1}{4}\text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	-78.72

为构建合成反应,我们需要一个细胞合成的半反应( $R_c$ )。表 5.3 还列出了最常用的且基于氮源的关键合成半反应。我们列出的第一个合成半反应是利用氨为氮源的反应。氨态氮通常是微生物的首选氮源。如果没有氨,微生物可能会利用表中所示的其他氮源。

产能反应( $R_e$ )为

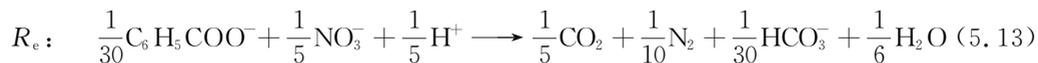
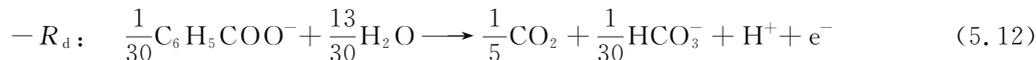
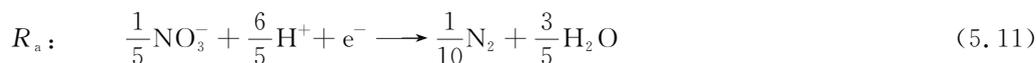
$$R_e = R_a - R_d \quad (5.9)$$

合成反应( $R_s$ )为

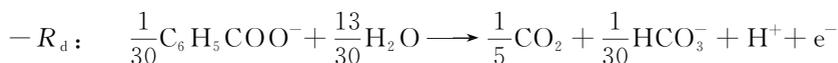
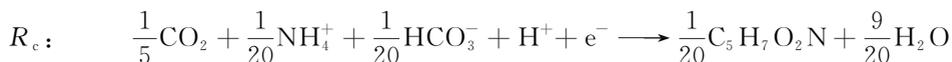
$$R_s = R_c - R_d \quad (5.10)$$

有必要指出  $R_d$  带负号,因为供体被氧化了。

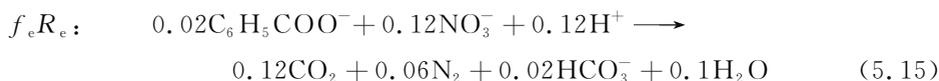
将实际的半反应代入式(5.9)和式(5.10)中,首先是能量半反应。

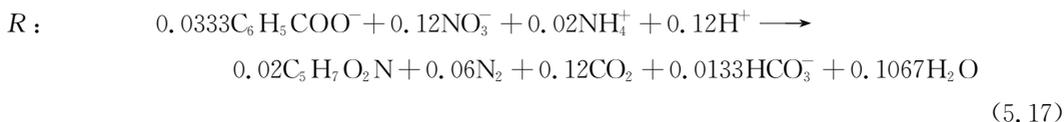


相似地,合成半反应为



下一步,为了得到包含能量和合成的总反应式。将式(5.13)乘以  $f_e$ ,将式(5.14)乘以  $f_s$ ,它们的和为





式(5.17)给出了以安息香酸为电子供体、硝酸盐为电子受体时,细菌净合成的总反应式。这里细菌也以氨为氮源进行合成反应。

可见,式(5.17)综合了式(5.15)和式(5.16),即

$$R = f_e(R_a - R_d) + f_s(R_c - R_d) \quad (5.18)$$

因为用于能量生成反应和合成反应的电子分数必须等于1,即

$$f_s + f_e = 1.0 \quad \text{和} \quad R_d(f_s + f_e) = R_d \quad (5.19)$$

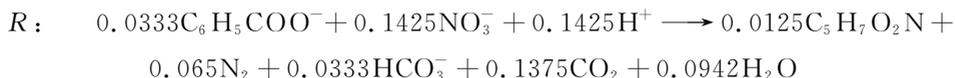
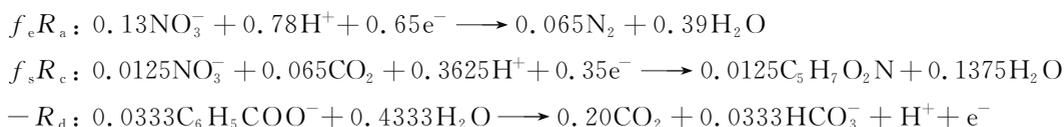
将式(5.18)转换为

$$R = f_e R_a + f_s R_c - R_d \quad (5.20)$$

式(5.20)是一个普遍的方程式,可以用来建立微生物合成和生长的各种各样的化学计量式。这个方程式是以电子当量为基础得到的,换言之,这个方程式代表了微生物消耗电子供体的电子当量时,反应物的净消耗量和产物的产量。

上述情况下细菌以氨为氮源进行合成反应。有些情况下没有氨,可以利用其他氧化态的氮源,包括  $NO_3^-$ 、 $NO_2^-$  和  $N_2$ ,其中  $NO_3^-$  为最常见的氮源。表 5.3 显示了所有 4 种氮源的细胞合成半反应。对于不同的氮源,半反应的一个重要特征是细胞分子式的化学计量系数不同: $NH_4^+$  为 1/20, $NO_3^-$  为 1/28, $NO_2^-$  为 1/26, $N_2$  为 1/23。这个差别表明,当  $C_5H_7O_2N$  中的氮必须被还原时,对于 C,加入的电子当量数必须达到 20,对于  $NH_4^+$ ,外加电子数为 0, $NO_3^-$  为 8, $NO_2^-$  为 6, $N_2$  为 3。当氧化态氮源被利用时, $f_s$  值也会变化。还应该注意的,当使用氧化态氮源时,N 和 C 两种元素的氧化态都有变化。

为了说明如何处理氧化态氮源的情况,我们写出以安息香酸盐为电子供体和碳源、 $NO_3^-$  为电子受体和氮源的一个细菌生长的总反应式。这种情况下,我们假设  $f_s$  为 0.35。选择适当的反应式,对于安息香酸盐和  $R_d$ ,选择表 5.4 中的 O-4;对于  $R_c$ ,选择表 5.3 中的 C-2;对于  $R_a$ ,选择表 5.3 中的 I-7。 $f_e$  的值为  $1 - f_s = 0.65$ 。以相同的模式确定整个反应式:



我们可以看到,0.13mol 的硝酸盐转化为氮气,0.0125mol 转化为细胞中的有机氮。

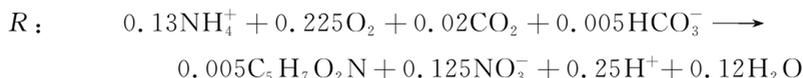
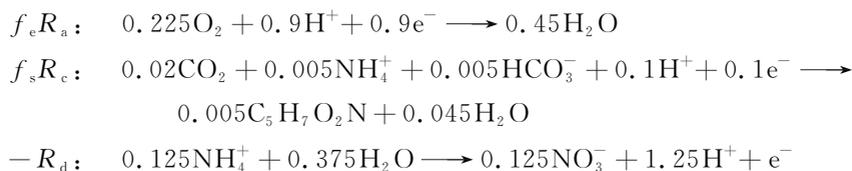
上面的例子大多都是有关有机物的氧化。但是,化能无机营养型微生物是一类重要的微生物,它们通过还原无机化合物获得能量,并且常常利用无机碳( $CO_2$ )为碳源,进行生物的有机合成。表 5.5 中列出的无机半反应,是那些可以被无机营养型微生物调控从而获得生长所需能量的许多不同的无机氧化还原反应的一些例子。从式(5.20)及其推导式得出一个重要的结论:来自电子供体的电子当量可以在能量反应和合成反应之间分配。上面的例

子说明了异养型微生物的反应,对于无机营养型微生物,其反应也是如此,如例 5.3 所示。

### 例 5.3 硝化反应

在废水处理中,用无机营养型微生物在有氧条件下把氨氧化为硝酸盐,以降低进水因为硝化反应而产生的耗氧量。如果废水中氨的浓度为 22mg/L(以 N 表示),处理 1000m<sup>3</sup> 的废水,硝化反应消耗多少氧? 将产生多少细胞物质(以千克干重计)? 处理后废水中硝态氮的浓度是多少? 假设  $f_s$  为 0.10,无机碳用于细胞合成。

氨作为电子供体被氧化为硝酸盐,因为是好氧反应,所以氧是电子受体,氨同时也作为细胞合成的氮源。此外,  $f_e = 1 - f_s = 0.90$ 。从表 5.4 和表 5.5 中选择适当的半反应,采用式(5.19),得出下面总的生物反应式:



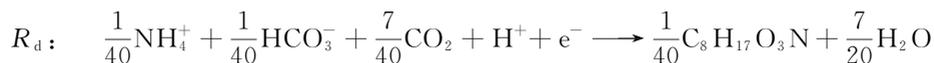
每处理  $0.13 \times 14 = 1.82\text{g NH}_4^+ \text{-N}$ ,消耗  $0.225 \times 32 = 7.2\text{g O}_2$ ,并且产生  $0.005 \times 113 = 0.565\text{g}$  细胞物质和  $0.125 \times 14 = 1.75\text{g NO}_3^- \text{-N}$ 。 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  的处理量  $= (22\text{mg/L})(1000\text{L/m}^3) (\text{kg}/10^6 \text{mg}) = 22\text{kg}$ 。则有

$$\begin{aligned} \text{氧消耗量} &= 22\text{kg} \times (7.2\text{g}/1.82\text{g}) = 87\text{kg} \\ \text{产生的细胞干重} &= 22\text{kg} \times (0.565\text{g}/1.82\text{g}) = 6.83\text{kg} \\ \text{出水中 NO}_3^- \text{-N 的浓度} &= 22\text{mg/L} \times (1.75\text{g}/1.82\text{g}) = 21\text{mg/L} \end{aligned}$$

### 例 5.4 产甲烷反应

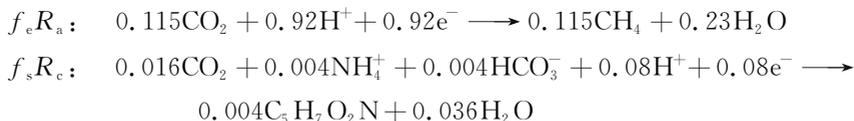
根据有机碳、氢、氧和氮的浓度分析,得出废水中有机物的经验分子式为  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}_3\text{N}$ ,并且根据同样的分析,得出有机物的浓度为 23 000mg/L。如果流量为 150m<sup>3</sup>/d,在 35℃,1atm (1atm=101 325Pa)条件下,厌氧处理的产甲烷发酵中,每天的甲烷产量是多少? 气体中甲烷的体积分数是多少? 假设  $f_s$  为 0.08,反应中有机物的去除率为 95%,所有的气体进入气相。

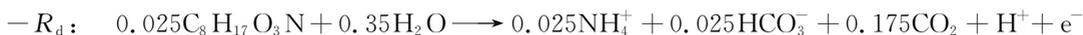
首先,建立废水的电子受体半反应式,应用表 5.4 中的 O-26 式和经验分子式 ( $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{O}_3\text{N}$ ) 给出  $R_d$ :



每天去除的有机物的量  $= 0.95 \times 23\text{kg/m}^3 \times 150\text{m}^3/\text{d} = 3277.5\text{kg/d}$ 。

根据  $f_e = 1 - f_s = 1 - 0.08 = 0.92$  和表 5.4 中的  $\text{CO}_2$  转化为  $\text{CH}_4$  的电子受体半反应 O-15,推导  $R_d$ :





$C_8H_{17}O_3N$  的相对分子质量为 175, 当量质量为  $0.025 \times 175 = 4.375$ g/电子当量。1 当量质量的有机物, 甲烷发酵产生 0.115mol 甲烷和 0.044mol 二氧化碳。因此

$$\begin{aligned} \text{甲烷产量} &= [(273 + 35)/273](0.0224\text{m}^3 \text{ 气体 /mol})(3\,280\,000\text{g/d})(0.115\text{mol}/4.375\text{g}) \\ &\approx 2180\text{m}^3/\text{d} \end{aligned}$$

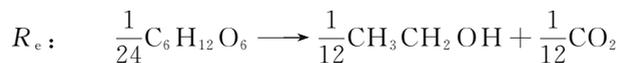
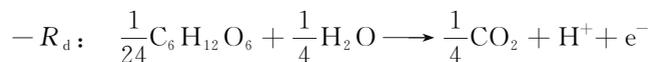
$$\text{甲烷体积分数} = [0.115/(0.115 + 0.044)] \times 100\% = 72\%$$

## 5.6 发酵反应

在发酵反应中, 有机物作为电子供体和电子受体。一个简单的例子是葡萄糖发酵产酒精。这里, 1mol 的葡萄糖转化为 2mol 的乙醇和 2mol 的二氧化碳。葡萄糖转化为乙醇的复杂过程在第 3 章中已经介绍过。我们的目的是写出这个过程的总平衡反应式, 因此, 并不需要写出所有中间环节的反应式。化合物 A 不论通过多么复杂的途径转化为化合物 B, 都必须遵守能量和质量守恒定律。在一定条件下, 已知反应物和最终产物, 就足以建立一个平衡的反应方程式, 而不需要知道中间产物是什么, 只要这个中间产物不是持久的。

### 5.6.1 简单发酵

简单发酵的能量反应中只有一种还原产物, 如葡萄糖发酵产乙醇。所有来自葡萄糖的电子必然被乙醇接受。我们首要的任务就是, 选择一个正确的电子供体半反应式。葡萄糖显然是电子供体, 我们选用表 5.4 中的  $CO_2$  转化为葡萄糖的半反应式(反应式 O-9)。第二个任务是, 确定电子受体反应式。它也非常简单: 表 5.4 中  $CO_2$  转化为乙醇的半反应式(反应式 O-7)。对于能量反应, 我们简单地选用式(5.9):

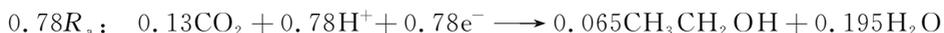


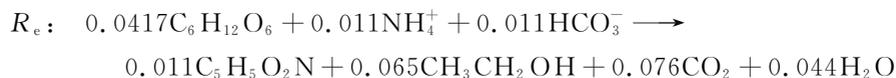
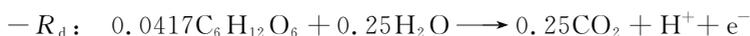
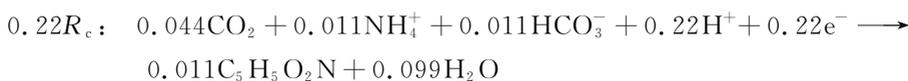
这种选择电子供体和电子受体半反应式的方法和应用式(5.20)建立一个总的反应式是相适应的。

#### 例 5.5 简单发酵的化学计量学

写出葡萄糖发酵产乙醇的总的生物反应式, 假设  $f_s$  等于 0.22, 且铵用于细胞合成。

应用前面的乙醇和葡萄糖半反应式和表 5.3 中的细胞合成反应式, 并且  $f_e = 1 - f_s = 0.78$ , 得到:





这个反应式表明,每1个当量的葡萄糖发酵,产生0.065mol乙醇。并且每形成0.011mol经验分子式的微生物细胞,需要0.011mol氨。如果发酵反应在密闭的反应瓶中进行,这个过程还会产生二氧化碳,进而产生碳酸,像制作香槟一样。

### 5.6.2 混合发酵

许多发酵反应形成的还原产物不止一种。例如,大肠杆菌发酵葡萄糖,通常产生乙酸、乙醇、甲酸和氢气的混合物。在甲烷发酵中,细菌和古细菌的混合体将有机物质转化为甲烷和不完全发酵产物,通常为乙酸盐、丙酸盐和丁酸盐。只要已知还原终产物的相对比例,就可以建立能量反应方程式。还原终产物包括所有的有机产物和氢( $\text{H}_2$ )。生成的 $\text{CO}_2$ 在发酵反应分析中并不重要,因为它们已经被完全氧化。

关键步骤是确定各种还原终产物中电子当量的相对比例。计算各种产物的电子当量之后,求得总和,然后可以计算出各个终产物在总量中所占的分数。这个分数作为还原产物半反应式的乘数,将得到的等式加起来,即可得到电子受体的半反应式 $R_a$ 。这个过程的数学表达式为

$$R_a = \sum_{i=1}^n e_{a_i} R_{a_i} \quad (5.21)$$

其中,

$$e_{a_i} = \frac{\text{equiv}_{a_i}}{\sum_{j=1}^n \text{equiv}_{a_j}} \quad \text{和} \quad \sum_{i=1}^n e_{a_i} = 1$$

这里 $e_{a_i}$ 是产物 $a_i$ 在形成的 $n$ 种还原终产物中所占的分数。 $\text{equiv}_{a_i}$ 代表产物 $a_i$ 的当量数。所有还原终产物的分数和等于1。

有些情况下,比如在城市和工业废水处理中,可能有混合电子供体。这里,和电子受体反应类似,写出电子供体的反应式 $R_d$ :

$$R_d = \sum_{i=1}^n e_{d_i} R_{d_i} \quad (5.22)$$

其中,

$$e_{d_i} = \frac{\text{equiv}_{d_i}}{\sum_{j=1}^n \text{equiv}_{d_j}} \quad \text{和} \quad \sum_{i=1}^n e_{d_i} = 1$$

#### 例 5.6 柠檬酸发酵产生 2 种产物

拟杆菌(*Bacteroides* sp.)将1mol柠檬酸转化为1mol甲酸盐、2mol乙酸盐和1mol重碳酸盐。写出这个发酵反应总的平衡能量反应式( $R_c$ )。

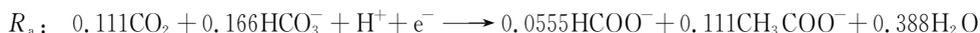
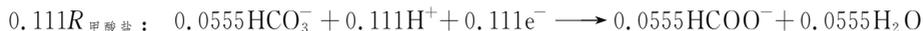
还原产物是甲酸盐和乙酸盐。重碳酸盐和二氧化碳一样是氧化的终产物,在建立电子平衡式过程中不予考虑。第一步是确定各种还原产物的当量数( $\text{equiv}_{d_i}$ )。从表 5.4 中的反应式 O-1 看,1mol 乙酸盐有  $8e^- \text{ eq}$ ; 因此 2mol 乙酸盐代表  $16e^- \text{ eq}$ 。同样,1mol 甲酸盐有  $2e^- \text{ eq}$ 。因此

$$e_{\text{甲酸盐}} = 2/(2+16) \approx 0.111$$

$$e_{\text{乙酸盐}} = 16/(2+16) \approx 0.889$$

$e_{\text{甲酸盐}}$  和  $e_{\text{乙酸盐}}$  之和等于 1。

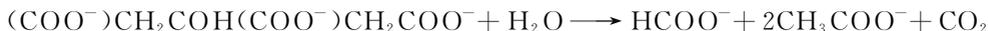
应用表 2.3 中的半反应式:



随后,应用式(5.9)可以建立总的能量反应式,即  $R_e = R_a - R_d$ ,其中  $R_d$  为表 5.4 中的柠檬酸半反应式。综合后得到下列  $R_e$  反应式:



如果给这个反应式除以一个当量的柠檬酸摩尔数 0.0555,使之标准化,得到下列标准的摩尔反应方程式:



我们可以看出,这个方程式满足 1mol 柠檬酸产生 1mol 甲酸盐和 2mol 乙酸盐的要求。这是一个非常简单的例子,可以通过其他的方法得到。下面是一个更加复杂的例子,具有混合反应物和混合产物。

### 例 5.7 具有混合供体和混合产物的发酵反应

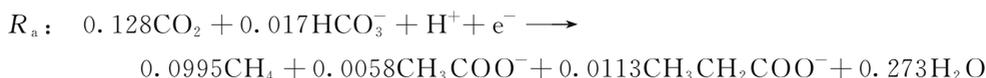
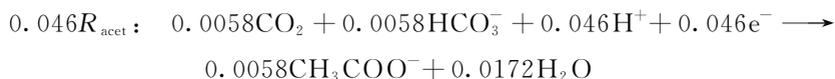
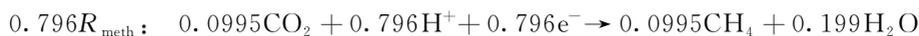
1mol 乳酸和 1mol 葡萄糖的混合物发酵产甲烷,还原终产物分类如下: 3.6mol 甲烷、0.21mol 乙酸盐和 0.41mol 丙酸盐。写出该条件下的平衡能量反应式。

根据表 5.4 中注明的电子当量数,建立下表:

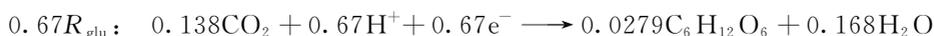
电子供体基质	摩尔数	$e^- \text{ eq/mol}$	$\text{equiv}_{d_i}$	$e_{d_i}$
乳酸	1.1	12	$1.1 \times 12 = 13.2$	$13.2/39.6 \approx 0.33$
葡萄糖	1.1	24	$1.1 \times 24 = 26.4$	$26.4/39.6 \approx 0.67$
			$\sum = 39.6$	$\sum = 1.00$
电子受体产物	摩尔数	$e^- \text{ eq/mol}$	$\text{equiv}_{a_i}$	$e_{a_i}$
甲烷	3.6	8	$3.6 \times 8 = 28.8$	$28.8/36.22 \approx 0.796$
乙酸盐	0.21	8	$0.21 \times 8 = 1.68$	$1.68/36.22 \approx 0.046$
丙酸盐	0.41	14	$0.41 \times 14 = 5.74$	$5.74/36.22 \approx 0.158$
			$\sum = 36.22$	$\sum = 1.000$

供体的电子当量之和(约为 40)比受体的电子当量之和(约为 36)大 10%左右。这是正确的,因为在生物反应中部分供体电子在细胞合成中用尽。产生净合成时,比如在这种情况下,供体当量必须较大。

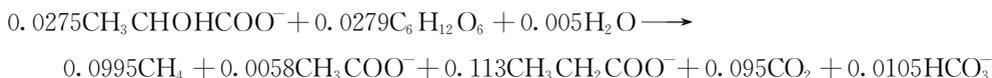
首先建立受体反应式：



同样地,建立供体反应式:

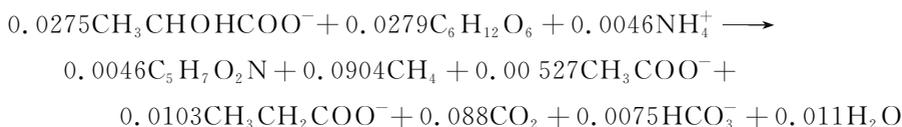


最后,我们应用式(5.9)的关系式  $R_e = R_a - R_d$  得出总的平衡能量式:



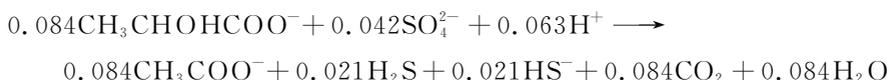
快速质量-平衡检验表明,如果假设乳酸和葡萄糖各 1mol 转化为还原终产物,各种不同种类的物质与问题说明的情况一致。但是,实际是各消耗了 1.1mol。这个差别是由生物合成而引起。则有  $f_s = 0.1/1.1$  或  $f_e = 1 - 0.091 = 0.909$ 。

从供体到生物量的 0.091 合成反应式,加上刚刚建立的 0.909 能量反应式,就可以建立一个包括能量和合成的总反应式。结果如下:



如果没有在这里给出的严格的过程,仅从提供的信息,难以建立这样的反应式。

用于研究发酵反应的分析方法可以在形成还原产物的任何情况下使用。一个典型的例子就是硫酸盐还原反应。其中硫酸盐还原成亚硫酸盐,如同上述产甲烷反应中甲烷的生成。如果被还原有机产物和亚硫酸盐一起出现,则上述过程可以以相似的方法建立能量反应式和总的生物反应式。乳酸通过脱硫脱硫弧菌(*Desulfovibrio desulfuricans*)的硫酸盐还原反应转化为乙酸盐的反应就是这样的能量反应式的例证:



这个反应表明,这种情况下  $e_{\text{乙酸盐}} = 0.67$ ,  $e_{\text{硫酸盐}} = 0.33$ 。

## 5.7 能量学和细菌生长

微生物进行氧化还原反应以便获得细胞生长和维持所需的能量。因为反应不同,一种电子供体的每电子当量氧化后释放的能量差别很大。因此,每当量供体氧化所产生的生长量的差别也很大,这并不奇怪。这一节的目的是揭示反应能量和细菌生长之间的关系。

图 5.1 和图 3.3 简单表示了细胞如何捕获和传递分解代谢的氧化-还原反应释放的能量,用于合成新的细胞或者维持细胞生存。维持细胞生存需要能量,以便进行细胞运动、修复因正常的资源循环或者与有毒化合物相互作用而衰变的细胞蛋白等活动。当所有生长因子的浓度都不限制其生长时,细胞的生长速度很快,这时细胞最大限度地利用所投入的能量,用于细胞合成。但是,当一种基本的因子,比如电子供体基质,其浓度受到限制时,大部分基质氧化反应产生的能量将用于维持细胞的生存。式(5.7)说明了这一点,细胞的净产率随着基质利用率的下降而下降。式(5.8)还表明,当通过基质利用提供的能量等于细胞用于维持的能量  $m$  时,净产率为 0。在这种条件下,释放的所有能量都用于维持细胞的完整性。如果供给微生物的基质量进一步减少,食物不足以维持微生物的生存,它们就开始净衰减。相反,如果基质和其他所需因子的量都没有受到限制,基质利用速率将达到最大,同时因为需要维持细胞生存,净产率  $\gamma_n$  也将接近(而不是达到)实际产率  $\gamma$ 。

多年来,许多研究工作致力于如何描述实际产率和电子供体氧化释放的能量之间的关系。Battley (1987)给出了一个关于能量产生和细胞产率之间关系的全面综述(或者称历史回顾)和讨论。尽管在生长和反应能量学关系研究方面,目前还没有一种被广泛接受的方法,一种基于电子当量,并且可以区分总生物反应能量部分和合成部分的能量差别的方法[如式(5.20)示范的那样],称为热力学电子当量模型(thermodynamic electron-equivalents model, TEEM)(McCarty, 2007)。被证实是非常有用的。这里将采用 TEEM 方法,它基于其他一些更广泛的讨论(McCarty, 1971, 1975, 2007; Christensen and McCarty, 1975)。

除基本上合理外,TEEM 的应用优势在于,电子当量易于和环境工程中广泛应用的测定也就是以需氧量(oxygen demand, OD)表示的常用的废水浓度相联系。例如,生化需氧量(BOD)、计算需氧量(COD')和化学需氧量(COD)。因为一个当量的氧是  $8\text{g O}_2$ ,任何一种电子供体的  $1\text{e}^- \text{eq}$  等于  $8\text{g O}_2$  的需氧量。因此,每升的当量数可以直接转化成基质的需氧量浓度。这样就非常容易计算包含广泛应用的 COD、COD' 和 BOD 的  $\gamma$  值。

### 例 5.8 计算 COD'

一种废水含有乙醇  $12.6\text{g/L}$ 。估算这种废水的  $\text{e}^- \text{eq/L}$  和  $\text{COD}'(\text{g/L})$ 。

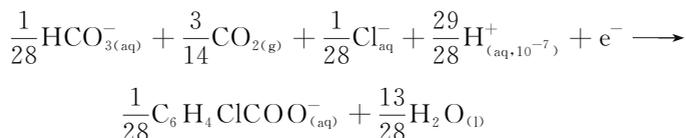
根据表 5.4 中的反应式 O-7,乙醇有  $12\text{e}^- \text{eq/mol}$ 。因为  $1\text{mol}$  乙醇的质量是  $46\text{g}$ ,当量质量是  $46/12$ ,即  $3.83\text{g/e}^- \text{eq}$ 。因此废水中乙醇的浓度就是  $12.6\text{g/L}/3.83\text{g/e}^- \text{eq} \approx 3.29\text{e}^- \text{eq/L}$ 。 $\text{COD}'$  就是  $(8\text{g OD/e}^- \text{eq}) \times (3.29\text{e}^- \text{eq/L}) = 26.32\text{g/L}$ 。

### 5.7.1 能量反应的自由能

表 5.4 和表 5.5 总结了各种无机物和有机物半反应在  $\text{pH}=7$  条件下的标准吉布斯自由能( $\Delta G^0$ )。通过附录(见网络版)列出的各种成分的生成自由能数值,以  $\text{kJ/e}^- \text{eq}$  为单位,可以快速确定其他半反应的标准自由能。例如,通过下面的方法可以得到 2-氯代安息香酸

(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>ClCOO<sup>-</sup>)被氧化的半反应。

生成 2-氯代安息香酸的平衡半反应式为



从附录中得到,各种物质的生成自由能(单位:kJ/e<sup>-</sup> eq)是 1/28(-586.85), 3/14(-394.36), 1/28(-31.35), 29/28(-39.87), 0, 1/28(-237.9), 13/28(-237.18)。产物自由能之和减去反应物自由能之和的计算结果即为半反应的自由能,  $\Delta G^{\circ'} = 29.26\text{kJ/e}^- \text{eq}$ 。

为了得到全部能量反应的自由能( $\Delta G_r$ ),要将供体半反应的自由能和受体半反应的自由能加起来。这个简单的过程与前面的举例中从半反应建立总能量反应式的方法类似。表 5.4 和表 5.5 中列出了供体半反应的自由能,其数值为负,因为供体半反应式必须写成与表中相反的形式。例如,从下表中的标准自由能的半反应,可以建立乙醇的好氧化反应式。

	反应式	$\Delta G^{\circ'}/(\text{kJ/e}^- \text{eq})$
反应 I-14:	$\frac{1}{4}\text{O}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^- \longrightarrow \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	-78.72
反应 O-7:	$\frac{1}{12}\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \frac{1}{6}\text{CO}_2 + \text{H}^+ + \text{e}^-$	-31.18
结果:	$\frac{1}{12}\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \frac{1}{4}\text{O}_2 \longrightarrow \frac{1}{6}\text{CO}_2 + \frac{1}{4}\text{H}_2\text{O}$	-109.90

表 5.4 和表 5.5 中的  $\Delta G^{\circ'}$  为 -109.90kJ/e<sup>-</sup> eq,只适用于标准条件下(1mol/L 乙醇液体浓度、1atm 氧和二氧化碳分压、液态水)。pH 值固定为 7.0。因为在总的乙醇氧化反应式中 H<sup>+</sup> 并不出现,这时 pH 并不会影响  $\Delta G^{\circ'}$ ,但是,在其他条件下,pH 的影响非常显著。

图 5.2 表示各种电子供体和电子受体以及最终的反应自由能之间的关系,假设所有的成分都处于单位活度(除了 pH=7.0)状态。图 5.2 表明,在从甲烷到葡萄糖的有机物,好氧化作用(氧作为电子受体)和反硝化作用(硝酸盐作为电子受体)的  $\Delta G^{\circ'}$  变化相对较小,变化范围为 -120~-96kJ/e<sup>-</sup> eq。相反,对于无机物电子受体,其变化范围则很大,从铁的氧化反应大约为 -5kJ/e<sup>-</sup> eq 到氢在有氧条件下氧化作用的 -119kJ/e<sup>-</sup> eq。但是,如果考虑厌氧条件下的有机电子供体,无论是二氧化碳还是硫酸盐作为电子受体, $\Delta G^{\circ'}$  的相对范围都非常大。例如,二氧化碳作为电子受体(产甲烷作用),对于乙酸氧化作用,其  $\Delta G^{\circ'}$  是 -3.87kJ/e<sup>-</sup> eq,葡萄糖氧化作用,其  $\Delta G^{\circ'}$  是 -17.82kJ/e<sup>-</sup> eq,相差 4.6 倍。好氧反应和厌氧反应之间、有机物反应和无机物反应之间,其反应自由能的巨大差别对微生物产率的影响很大,随后将进行讨论。

反应物和产物的浓度影响真实的反应自由能,特别当反应释放的标准自由能( $\Delta G^{\circ'}$ )小于 10kJ/e<sup>-</sup> eq 时,可以校准非标准反应物和产物浓度的标准自由能。首先考虑包含  $n$  种不同成分的普通反应式 r:



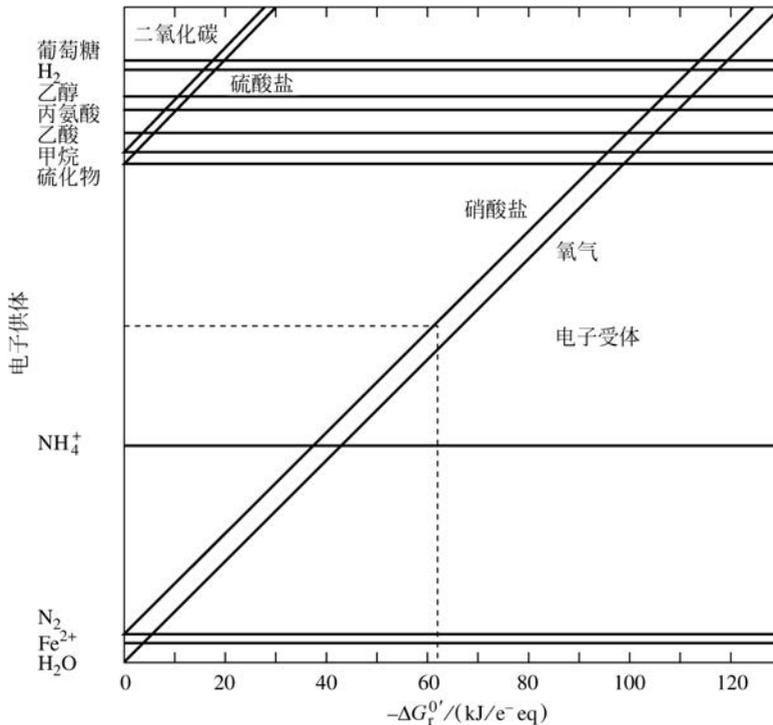


图 5.2 各种电子供体和电子受体之间的关系及其反应自由能

可以写成更简单的通式：

$$0 = \sum_{i=1}^n v_{ir} A_i \tag{5.24}$$

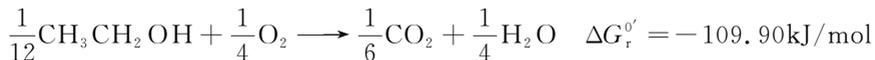
如果  $A_i$  在式(5.23)左边, 则  $v_{ir}$  的值为负数; 如果在右边, 则为正数。

这个反应的非标准吉布斯自由能变化可以根据下式确定：

$$\Delta G_r = \Delta G_r^0 + RT \sum_{i=1}^n v_{ir} \ln a_i \tag{5.25}$$

式中,  $v_{ir}$  代表反应式 r 中组分  $A_i$  的化学计量系数;  $a_i$  代表组分  $A_i$  的活度;  $T$  是热力学温度, K;  $R$  是摩尔气体常数, 等于  $8.314 \text{ J}/(\text{K} \cdot \text{mol})$ 。

根据最终的反应式, 可以很容易地确定这些项。在这里, 再次以乙醇为例写出反应式：



对于这个能量反应式, 因为  $\text{H}^+$  不是方程式中的成分, 所以  $\Delta G_r^0 = \Delta G_r^0'$ ; 对于乙醇、氧、二氧化碳和水,  $v_{ir}$  分别等于  $-1/12$ 、 $-1/4$ 、 $1/6$  和  $1/4$ 。将这些值代入式(5.25), 可以得到：

$$\Delta G_r = \Delta G_r^0 + RT \ln \frac{[\text{CO}_2]^{1/6} [\text{H}_2\text{O}]^{1/4}}{[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}]^{1/12} [\text{O}_2]^{1/4}} \tag{5.26}$$

我们假设, 溶液中乙醇的浓度为  $0.002 \text{ mol/L}$ , 氧分压为海平面上标准大气压条件下的分压 ( $0.21 \text{ atm}$ ), 二氧化碳的浓度为标准大气压时的浓度 ( $0.0004 \text{ atm}$ ), 温度为  $20^\circ\text{C}$ 。还假设, 这 3 种组分的活度等于其浓度或分压 (如果已知各组分的活度系数, 就要校正这些数值。

在该条件下,活度系数近似等于 1.0。)以水为主要溶剂的溶液中,水的活度系数几乎等于 1.0,则有

$$\begin{aligned}\Delta G_r &= -109\,900 + 8.314(273 + 20)\ln \frac{(0.0004)^{1/6}(1)^{1/4}}{(0.002)^{1/12}(0.21)^{1/4}} \\ &\approx -110\,900\text{J/e}^- \text{eq} = -110.9\text{kJ/e}^- \text{eq}\end{aligned}$$

从这个练习可以得出一个结论,即在我们研究的典型生物系统中,经过浓度校正的反应自由能,其取值范围在标准自由能  $-109.9\text{kJ/e}^- \text{eq}$  的 1% 之内。如果对 pH 值进行校正,通常也是这样。

上述的乙醇的好氧化作用同时还表明,不必校正组分的浓度,但并非总是这样。在电子供体或者电子受体的浓度非常低,或者反应自由能  $\Delta G_r^0$  的数量级不大于  $-10\text{kJ/e}^- \text{eq}$  时,浓度校正还是非常重要的。对于一些厌氧电子受体和无机电子供体,后一种情况很常见。

表 5.3 和表 5.4 中  $\Delta G_r^0$  的数值都已经校正为  $\text{pH}=7.0$  时的数值。如果 pH 值和 7.0 差别较大,则必须校准  $\text{H}^+$  浓度的影响。如果 pH 值和 7.0 差别较大,或者必须校准  $\Delta G_r^0$  时,可以转化为  $\Delta G^0$ ,这时认为  $[\text{H}^+]=1$ ,并且

$$\Delta G_r^0 = \Delta G_r^{0'} - RTv_{\text{H}^+} \ln 10^{-7} \quad (5.27)$$

## 5.7.2 产率系数和反应能量学

TEEM 模型认为从基质利用到产生微生物需要经过 2 个步骤。首先,能量反应产生高能载体,如 ATP,然后能量载体在细胞合成或者细胞维持生存的过程中被消耗(图 3.3 和图 5.1)。对于所有的反应,在能量传递过程中,都有一定的热力学自由能散失。本节介绍如何计算细胞合成的能量损失及能量传递过程中的损失。将这三方面结合起来,我们可以根据热力学原理,估算  $f_s$  和实际产率( $\gamma$ )。为了确定实际产率,根据式(5.6),假设细胞用于维持生存的能量为 0,因此,假设所有的能量都用于细胞合成。

首先,我们定义,来自给定碳源用于合成 1 个当量细胞物质所需的能量为  $\Delta G_s$ 。我们最初假设铵为氮源,但在 5.7.3 节中将放宽这个假设。我们首先需要确定,在碳源转化为细胞合成可利用的普通大分子中间产物的过程中,能量变化情况。最初,将丙酮酸盐作为代表性中间产物(McCarty,1971)。然而,近年来,还原自由能为  $30.9\text{kJ/e}^- \text{eq}$  的活性乙酸盐(即乙酰辅酶 A)被认为是更合适的中间产物(McCarty,2007)。将碳源转化为活性乙酸盐所需要的能量是  $\Delta G_p$ (保留原命名),计算值为碳源和活性乙酸盐半反应的自由能之差:

$$\Delta G_p = 30.9 - \Delta G_c^{0'} \quad (5.28)$$

对于异养细菌,碳源基本上就是电子供体。因此,对于给定电子供体, $\Delta G_c^{0'}$  值来自表 5.4。例如,如果电子供体是乙酸,则  $\Delta G_c^{0'}$  等于  $27.4\text{kJ/e}^- \text{eq}$ 。在自养反应中,无机碳作为碳源,需要相当多的能量将无机碳还原成活性乙酸盐。在光合作用中,用于还原二氧化碳形成细胞有机物的氢或者电子来源于水。通过这种情况的类推,如果令  $\Delta G_c^{0'}$  等于表 5.3 中水-氧反应的能量,即  $-78.72\text{kJ/e}^- \text{eq}$ ,可以确定反应包含的能量。因此,在自养条件下,通常取  $30.9 - (-78.72) = 109.62\text{kJ/e}^- \text{eq}$ 。

其次,活性乙酸盐碳转化为细胞中的碳。这里的能量需求( $\Delta G_{\text{pc}}$ )可以取一个估计值,即  $3.33\text{kJ/g}$  细胞(McCarty,1971)。从表 5.3 看,当铵为氮源时,1 个电子当量的细胞是

$113/20=5.65\text{g}$ 。因此,铵为氮源时, $\Delta G_{\text{pc}}$  是  $3.33 \times 5.65 \approx 18.8\text{kJ/e}^- \text{eq}$ 。

最后,能量通常在电子传递过程中损失。通常认为这个损失是包含在能量传递效率  $\epsilon$  中的一项。总之,细胞合成的能量要求为

$$\Delta G_s = \frac{\Delta G_p}{\epsilon^n} + \frac{\Delta G_{\text{pc}}}{\epsilon} \quad (5.29)$$

注意,指数  $n$  指碳转化为丙酮酸盐过程的能量传递效率。这个  $n$  说明,对于某些电子供体,如葡萄糖,其  $\Delta G_p$  是负值,表明在它转化为丙酮酸盐的过程中获得能量。这些能量的一部分散失,这种情况下, $n=-1$ 。其他情况下,如乙酸, $\Delta G_p$  是正值,意味着在它转化为丙酮酸盐的过程中需要能量。这里,比热动力学计算需要更多的能量,这时  $n=+1$ 。

既然我们估计出了合成 1 个当量的细胞需要多少能量,那么,就能够估算出必须氧化多少个电子供体才能产生这些能量。定义如下:为了提供这些能量,必须氧化  $A$  个当量的电子供体。这个氧化反应释放的能量是  $A\Delta G_r$ ,其中  $\Delta G_r$  是每当量电子供体为产生能量而释放的自由能。当这部分能量传递给能量载体时,其中一部分在效率低的传递过程中再次损失。如果这里的传递效率与能量从能量载体传递到合成反应的效率( $\epsilon$ )相同,传递到载体的能量就是  $\epsilon A\Delta G_r$ 。

在稳定条件下,能量载体必须维持一定的能量平衡:

$$A\epsilon\Delta G_r + \Delta G_s = 0 \quad (5.30)$$

对  $A$  求解,得

$$A = -\frac{\frac{\Delta G_p}{\epsilon^n} + \frac{\Delta G_{\text{pc}}}{\epsilon}}{\epsilon\Delta G_r} \quad (5.31)$$

这个等式表明,随着从给定的碳源进行合成反应所需要的能量的增加,以及供体氧化释放的能量的减少,用于形成 1 个当量细胞的能量所需要的供体当量( $A$ )会增加。

我们最终的目标是建立平衡的化学计量方程式。因为式(5.31)并不包括维持细胞生存的能量, $A$  的计算结果适于最大产率或实际产率( $\gamma$ )的情况。因此, $f_s$  是其最大值或者  $f_s^0$ ,用于产生能量的那部分供体为最小值  $f_e^0$ 。因为消耗的供体一部分用于产生能量(这时是  $A$  当量),另一部分用于合成(这时是 1.0 个当量),总的供体当量数是  $1+A$ 。因此可以通过  $A$  计算出  $f_s^0$  和  $f_e^0$ :

$$f_s^0 = \frac{1}{1+A} \quad \text{和} \quad f_e^0 = 1 - f_s^0 = \frac{A}{1+A} \quad (5.32)$$

能量传递效率是求解式(5.31)需要设定的关键因子。在最佳条件下,大多数典型厌氧和化能自养反应的能量传递效率为  $55\% \sim 70\%$ ,通常采用  $\epsilon$  为 0.6 来表示准确结果。然而,好氧异养生物的能量转移效率普遍偏低,平均为  $0.38 \pm 0.06$  (McCarty, 2007),这可能是因为只考虑了供体合成的部分颗粒细胞,而忽略了在第 8 章中介绍的可溶性微生物产物的产生。如果考虑到这一点,那么在厌氧系统中发现的更高效率值,其实可能与好氧异养系统中的值相同。当然,还可能存在其他影响因素。

一些酶促反应,如碳水化合物的初级氧化(见 3.3 节的例子),需要诸如 NADH 形式的能量输入,尽管总反应可能净释放能量,但因为这些反应开始时需要能量投入,其能量产率可能较低。此外,只含一个碳原子的化合物,如甲醇和甲烷,具有低能量效率的合成途径,因

此,其能量产率通常比这里模型预测的值要低很多。若对解决这些问题的模型修改方法感兴趣,可参考其他文献(Dahlen and Rittmann,2002; McCarty,2007; VanBriessen,2001)。

预测微生物能量产率的不确定性表明:使用经验确定的产量值来构建总生物化学计量方程式是最佳方法,而不是依赖热力学模型。然而,我们可能无法获得好的经验值,因为通过实验获得好的产量经验值往往昂贵且耗时,而且由于损耗和实验的复杂性,获得好的经验值困难重重。如果微生物生长缓慢,会更加困难。于是,热力学模型很受青睐,它普遍用于生物处理厂的设计中,能提供足够可靠的预估。此外,我们可以使用一系列转移效率值进行敏感性分析,以确定产率测定中可能涉及的不确定性范围。例5.9是乙酸盐好氧氧化的简单敏感性分析。

### 例5.9 $\epsilon$ 对异养产率的影响

比较估算出的乙酸好氧氧化的  $f_s^0$  和  $\gamma$ ,假设  $\epsilon=0.3, 0.5$  和  $0.7$ ,  $\text{pH}=7.0$ ,所有的反应物和产物都处于单位活度状态。可以利用氨供给生物合成。

因为这是一个异养反应,应用式(5.28)。采用表5.4中的反应式 O-1,  $\Delta G_d^0 = 27.40 \text{kJ/e}^- \text{eq}$ 。因此

$$\Delta G_p = 30.9 - 27.40 = 3.5 \text{kJ/e}^- \text{eq}$$

因为这是好氧反应,  $\Delta G_a^0 = -78.72 \text{kJ/e}^- \text{eq}$ , 因此

$$\Delta G_r = \Delta G_a^0 - \Delta G_d^0 = -78.72 - 27.40 = -106.12 \text{kJ/e}^- \text{eq}$$

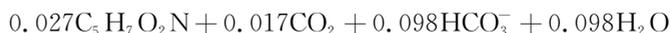
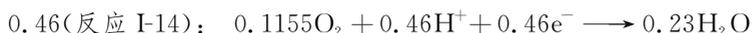
因此  $\Delta G_p$  是正数,  $n=+1$ 。并且,因为氨用于细胞合成,  $\Delta G_{pc}$  等于  $18.8 \text{kJ/e}^- \text{eq}$ , 所以

$$A = \frac{\frac{3.5}{\epsilon^{+1}} + \frac{18.8}{\epsilon}}{-106.12\epsilon}$$

分别令  $\epsilon=0.3, 0.5$  和  $0.7$ ,  $A=2.33, 0.84$  和  $0.43$ 。应用式(5.32), 得出  $f_s^0$  和  $\gamma$  的结果如下:

$\epsilon$	$f_s^0$	$\gamma / (\text{g 细胞/mol 供体})$	$\gamma / (\text{g 细胞/g 供体})$	$\gamma / (\text{g 细胞/g COD}')$
0.3	0.30	14	0.24	0.22
0.5	0.54	24	0.41	0.38
0.7	0.70	32	0.54	0.50

为了确定细菌产率,最好写出平衡的化学计量式。这里仅列举出  $\epsilon=0.5, f_s^0=0.54$  和  $f_e^0=1-0.54=0.46$  的情况下的实例:



从这个平衡反应式可以得出：

$$\begin{aligned}\gamma &= 0.027 \times 113 / 0.125 = 24 \text{g 细胞} / \text{mol 乙酸} \\ &= 0.027 \times 113 / 0.125 \times 59 = 0.41 \text{g 细胞} / \text{g 乙酸} \\ &= 0.027 \times 113 / 8 = 0.38 \text{g 细胞} / \text{gCOD}'\end{aligned}$$

### 例 5.10 电子受体和电子供体对异养微生物的影响

在利用氧、硝酸盐、硫酸盐和二氧化碳作为电子受体时，比较计算葡萄糖、乙酸的  $f_s^0$  值。计算值等于包括多种微生物的总的净合成量。假设  $\epsilon=0.6$ ，氨为氮源。

$\Delta G_d^{0'}$  和  $\Delta G_a^{0'}$  的值分别取自表 5.4 和表 5.3。因为氨是氮源， $\Delta G_{pc} = 18.8 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。

乙酸 ( $\Delta G_d^{0'} = 27.40 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ , $\Delta G_p = 3.5 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ , $n = +1$ )				$f_s^0$
电子受体	$\Delta G_a^{0'}/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$	$\Delta G_r/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$	A	
氧	-78.72	-106.12	0.58	0.63
硝酸盐	-72.20	-99.60	0.62	0.62
硫酸盐	+20.85	-6.55	9.46	0.096
CO <sub>2</sub>	+23.53	-3.87	16.0	0.059

葡萄糖 ( $\Delta G_d^{0'} = 41.35 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ , $\Delta G_p = -10.45 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ , $n = -1$ )				$f_s^0$
电子受体	$\Delta G_a^{0'}/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$	$\Delta G_r/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$	A	
氧	-78.72	-120.07	0.35	0.74
硝酸盐	-72.20	-113.55	0.37	0.73
硫酸盐	+20.85	-20.50	2.04	0.33
CO <sub>2</sub>	+23.53	-17.82	2.34	0.30

从  $f_s^0$  的数值可以看出，乙酸的生物量产率低于葡萄糖的生物量产率。碳水化合物因为其更加有序的结构(低熵)， $\Delta G_d^{0'}$  值更大，这样使  $\Delta G_p$  为负。因为  $\Delta G_a^{0'}$  值为正，氧和硝酸盐比硫酸盐和二氧化碳的生物量产率高。这和不同类型微生物的经验结论一致，并解释了这些结论。

### 例 5.11 发酵反应的产率

当  $\epsilon=0.6$  时，比较以下发酵的  $f_s^0$  值：(a)葡萄糖转化为乙醇；(b)葡萄糖转化为 2mol 乙酸和 4mol 甲酸；(c)乳酸转化为 1mol 丙酸和 3mol 甲酸。假设氨为氮源，pH 值为 7.0。

该问题的难点在于写出能量反应式。对于(a)，使用表 5.4 中的半反应：从乙醇的反应中减去葡萄糖的反应，则  $\Delta G_r = 31.38 - 41.35 = -10.17 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。对于(b)，我们可以用乙酸反应的 2/3 和甲酸反应的 1/3 减去葡萄糖反应得到正确的能量反应。因此，最终产物的比例(1/24mol 葡萄糖产生 1/12mol 乙酸和 1/6mol 甲酸)是正确的。则  $\Delta G_r = (2/3) \times 27.4 + (1/3) \times 39.19 - 41.35 = -10.02 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。对于(c)，我们可以用乙酸反应的 2/3 加上甲酸反应的 1/3 减去乳酸反应得到正确的能量反应。对此，1/12mol 乳酸产生 1/12mol 乙酸和 1/6mol 甲酸。则合并后的  $\Delta G_r = (2/3) \times 27.4 + (1/3) \times 39.19 - 32.29 \approx -0.96 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。对于葡萄糖， $\Delta G_p = 30.9 - 41.35 = -10.45 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ ,  $n = -1$ 。对于乳酸， $\Delta G_p = 30.9 - 32.29 =$

$-1.39\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ ,  $n = -1$ 。  $\Delta G_{\text{pc}} = 18.8\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。将这些值代入式(5.31)和式(5.32),得到以下结果:

发酵反应	$\Delta G_r/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$	$\Delta G_{\text{pc}}/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$	$\Delta G_p/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$	$n$	$A$	$f_s^0$
a	-10.17	18.8	-10.45	-1	4.11	0.20
b	-10.02	18.8	-10.45	-1	4.17	0.19
c	-0.96	18.8	-1.39	-1	53.0	0.019

可见在(a)和(b)两种情况下,葡萄糖的产率大致相同,为  $0.19 \sim 0.2 \text{e}^- \text{eq}$  细胞/ $\text{e}^- \text{eq}$  葡萄糖。然而,在(c)的乳酸发酵情况下,能量产率仅是转化为(b)情况下葡萄糖发酵成相同产物时的 1/10。乳酸的情况说明能量反应的  $\Delta G_p$  值取决于反应物和生成物的浓度。这些浓度需要利用式(5.25)准确地计算出来,从而对该情况下的  $\Delta G_p$  值和产率系数做出更真实的预估。

### 例 5.12 不同的好氧化能无机营养型微生物的产率

比较计算下列化能无机营养型细菌在好氧条件下的  $f_s^0$  值: 氨氧化为硝酸盐,亚硫酸盐氧化为硫酸盐,  $\text{Fe}(\text{II})$  氧化为  $\text{Fe}(\text{III})$ ,  $\text{H}_2$  氧化为  $\text{H}_2\text{O}$ 。二氧化碳和氨分别为碳源和氮源,假设  $\epsilon = 0.6$ 。

因为所有的微生物都是自养型的(二氧化碳作为碳源),故  $\Delta G_s$  都相同:  $109.6/0.6 + 18.8/0.6 = 214\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。  $\Delta G_d^0$  值取自表 5.3,  $\text{O}_2$  的  $\Delta G_a^0 = -78.72\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。结果是:

电子供体	$\Delta G_a^0/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$	$\Delta G_r/(\text{kJ}/\text{e}^- \text{eq})$	$A$	$f_s^0$
氨	-35.11	-43.61	8.18	0.110
亚硫酸盐	+20.85	-99.57	3.58	0.220
$\text{Fe}(\text{II})$	-74.27	-4.45	80.10	0.012
氢	+39.87	-118.59	3.01	0.250

与例 5.11 中的  $f_s^0$  值相比,所有化能无机营养型微生物的值都较小。这主要是因为自养型微生物的合成消耗大,量化表现为  $\Delta G_s$  值大。尽管产率低,化能无机营养型微生物在好氧条件下可以利用所有的这些电子供体。有趣的是,在低 pH 值条件下低产率的铁氧化作用,当  $\Delta G_r$  对 pH 值进行校正[式(5.27)]时,其产率会提高。我们知道,铁氧化菌可以耐受非常低的 pH 值(如  $\text{pH} = 2.0$ )环境。

### 5.7.3 氧化态氮源

微生物优先利用氨氮作为细胞合成的氮源,因为它已经处于氧化态(-III),这也是细胞中有机氮的氧化态。但是,当没有氨可供合成时,许多原核生物可以用氧化态的氮来替代。这里包括硝酸盐( $\text{NO}_3^-$ )、亚硝酸盐( $\text{NO}_2^-$ )和氮( $\text{N}_2$ )。当微生物利用氧化态氮源时,必须首先把它还原成氨的氧化态(-III),这是一个需要电子和能量的过程,因此降低了其合成能力,也降低了真实产率。

应用氧化态的氮源影响合成的能量即  $\Delta G_s$ 。我们扩展前面章节所讲的能量学方法,以便将能量损失考虑在内。假设所有用于合成的电子首先经过通用有机中间体(活性乙酸盐)。因此,  $\Delta G_s$  中的  $\Delta G_p$  部分保持不变:

$$\Delta G_p = 30.9 - \Delta G_c^0$$

假设将氧化态氮还原成氨所需要的电子来自激活的乙酸盐,并且传递给氧化态氮源。用于合成的还原态氮不是呼吸作用的那一部分,并且不产生任何能量。因此,还原氮源需要消耗能量,否则传递给受体产生能量的电子转向细胞合成的氮还原作用。 $\Delta G_s$  中的  $\Delta G_{pc}$  部分取决于氮源,因为  $1\text{mol C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$  包含不同的电子当量数,它取决于有多少电子投入氮还原反应:对于  $\text{NH}_4^+$  是  $20\text{e}^- \text{eq/mol}$ ,对于  $\text{NO}_3^-$  是  $28\text{e}^- \text{eq/mol}$ ,对于  $\text{NO}_2^-$  是  $26\text{e}^- \text{eq/mol}$ ,对于  $\text{N}_2$  是  $2\text{e}^- \text{eq/mol}$ 。 $1\text{mol}$  细胞投入的电子当量数可以参见表 5.3 中的 C-1 到 C-4 半反应式。从通用中间体合成细胞消耗的能量(如  $\Delta G_{pc}$ )单位相同( $\text{kJ/g}$ ),是  $3.33\text{kJ/g}$  细胞(McCarty, 1971),但是它随着每摩尔细胞的电子当量数而变化:对于  $\text{NH}_4^+$ ,  $\Delta G_{pc} = 18.8\text{kJ/e}^- \text{eq}$ ; 对于  $\text{NO}_3^-$ ,  $\Delta G_{pc} = 13.4\text{kJ/e}^- \text{eq}$ ; 对于  $\text{NO}_2^-$ ,  $\Delta G_{pc} = 14.5\text{kJ/e}^- \text{eq}$ ; 对于  $\text{N}_2$ ,  $\Delta G_{pc} = 16.4\text{kJ/e}^- \text{eq}$ 。和前面一样,式(5.31)用来计算  $A$ ,如前所述,分子的  $\Delta G_{pc}$  值取决于氮源。

只要用式(5.30)计算出  $A$ ,就可以用常规的方法从式(5.32)计算出  $f_s^0$  和  $f_e^0$  的值。然后,可以从适当的供体( $R_d$ )、受体( $R_a$ )和合成半反应式( $R_c$ )得出总的化学计量反应式。关键在于,当氮源为氧化态时,合成半反应式应取(表 5.3) C-2 式~C-4 式,而不是 C-1 式。下面以硝酸盐为氮源时的整个过程为例说明,因为需要电子和能量还原硝酸盐氮源,所以产率( $\gamma$ )会降低。

### 例 5.13 一种氧化态氮源的影响

估算在好氧条件下,以  $\text{NO}_3^-$  为氮源、利用乙酸进行细胞合成的  $f_s^0$  和  $\gamma$ (单位为  $\text{g 细胞}/\text{COD}'$ )。写出总的反应计量式。确定需氧量(单位为  $\text{g O}_2/\text{g COD}'$ ),并且与例 5.9 中以  $\text{NH}_4^+$  为氮源进行细胞合成的结果进行比较。假设  $\epsilon = 0.6$ 。

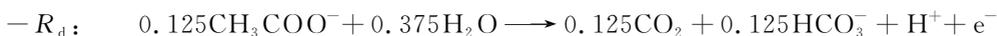
从例 5.9 得出,  $\Delta G_p = 3.5\text{kJ/e}^- \text{eq}$ ,  $n = +1$ ,  $\Delta G_r = -106.12\text{kJ/e}^- \text{eq}$ 。当硝酸盐为氮源时,  $\Delta G_{pc} = 13.4\text{kJ/e}^- \text{eq}$ , 故有

$$A = \frac{\frac{0.3}{0.5^{+1}} + \frac{13.4}{0.5}}{0.5(-106.12)} = -0.44$$

和

$$f_s^0 = \frac{1}{1+A} = \frac{1}{1+0.44} = 0.69$$

由于  $f_e^0 = 1 - f_s^0 = 0.31$ , 可以推导出生物生长的总反应式如下:



结果:



从这个平衡反应式得出

$$\begin{aligned}\gamma &= 0.0246 \times 113 / 0.125 \approx 22 \text{g 细胞} / \text{mol 乙酸} \\ &= 0.0246 \times 113 / (0.125 \times 59) \approx 0.38 \text{g 细胞} / \text{g 乙酸} \\ &= 0.0246 \times 113 / 8 \approx 0.35 \text{g 细胞} / \text{g COD}'\end{aligned}$$

需氧量是  $0.0755 \times 32 / 8 \approx 0.31 \text{g O}_2 / \text{g COD}'$

与利用氨为氮源时进行比较：

$$\begin{aligned}\gamma &= 0.45 \text{g 细胞} / \text{g COD}' \\ \text{需氧量} &= 0.37 \text{g O}_2 / \text{g COD}'\end{aligned}$$

比较结果表明，以硝酸盐为氮源时，细菌细胞产率和需氧量均小于以氨为氮源条件下的细菌细胞产率和需氧量。将硝酸盐还原为进行细胞合成的氨产生的乙酸盐的电子分流，降低了乙酸盐在产生能量和合成反应中的利用率。

### 例 5.14 用甲醇(只含一个碳原子的化合物)进行反硝化的产率

当废水中没有充足的有机物以实现反硝化去除硝酸盐时，有时会添加甲醇( $\text{CH}_3\text{OH}$ )来实现该目的。预估利用甲醇进行反硝化的生物量产率  $f_s^0$ 。假设  $\epsilon$  为 0.6，硝酸盐是氮源。然后将  $f_s^0$  值与实验值 0.28 (McCarty et al., 1969) 进行比较。讨论计算值和实验值存在差异的可能原因。

对于甲醇， $\Delta G_d = 36.84 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ ，对于硝酸盐， $\Delta G_n = -72.20 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。则  $\Delta G_r = -72.20 - 36.84 = -109.04 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。 $\Delta G_p = 30.9 - 36.84 = -5.94 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ ；则  $n = -1$ 。当硝酸盐为氮源时， $\Delta G_{pc} = 13.5 \text{kJ}/\text{e}^- \text{eq}$ 。A 由下式计算得

$$A = \frac{\frac{-5.94}{\epsilon^{-1}} + \frac{13.5}{\epsilon}}{-109.04\epsilon}$$

当  $\epsilon = 0.60$  时， $A = 0.289$ ， $f_s^0 = 1 / (1 + 0.289) \approx 0.78$ 。

甲醇的实验  $f_s$  值为 0.28，明显低于计算的  $f_s^0$  值。造成这种差异的可能原因是，实验值不可避免地包含了衰减的影响，而衰减总存在于操作系统中。因此， $f_s$  总是略低于  $f_s^0$ 。我们不知道文献中操作系统的衰减有多显著，因此无法判断它对测量值的影响。然而，对于甲醇，另一个主要因素是它是只含一个碳原子的化合物。如 5.7.2 节中讨论的，它合成的能量转移不像含有两个或两个以上碳原子的有机化合物那样高。如 McCarty (2007) 所述，使用修正方法可计算出  $f_s^0 = 0.45$ ，这明显小于上式计算出的 0.78，且更接近测量值。该例子强调了根据热力学估算产率时，只含一个碳的有机物和需要氧化的电子供体属于特殊类别。

## 参考文献

- Bailey, J. E. ; and D. F. Ollis (1986). *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2nd ed. New York: McGraw-Hill.
- Battley, E. H. (1987). *Energetics of Microbial Growth*. New York: Wiley.
- Dahlen, E. P. ; and B. E. Rittmann (2002). "A detailed analysis of the mechanisms controlling the acceleration of 2, 4-DCP monooxygenation in the two-tank activated sludge process." *Biodegradation*, 13, pp. 101-116.

- Christensen, D. R. ; and P. L. McCarty (1975). "Multi-process biological treatment model." *J. Water Pollut. Cont. Fedn.* 47, pp. 2652-2664.
- Madigan, M. T. ; J. M. Martinko; and J. Parker (1997). *Brock Biology of Microorganisms*, 8th ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.
- McCarty, P. L. (1971). "Energetics and bacterial growth." In S. D. Faust and J. V. Hunter, Eds. *Organic Compounds in Aquatic Environments*. New York: Marcel Dekker.
- McCarty, P. L. (1975). "Stoichiometry of biological reactions." *Prog. Water Technol.* 7, pp. 157-172.
- McCarty, P. L. (2007). "Thermodynamic electron equivalents model for bacterial yield prediction; modifications and comparative evaluations." *Biotechnol Bioeng.* 97(2), pp. 377-388.
- McCarty, P. L. ; L. Beck; and P. S. Amant (1969). "Biological denitrification of wastewaters by addition of organic materials." *Proceedings of the 24th Annual Industrial Waste Conference*, Purdue University, pp. 1271-1285.
- Porges, N. ; L. Jasewicz; and S. R. Hoover (1956). "Principles of biological oxidation." In eds. J. McCabe and W. W. Eckenfelder, Eds. *Biological Treatment of Sewage and Industrial Wastes*. New York: Reinhold.
- Speece, R. E. ; and P. L. McCarty (1964). "Nutrient requirements and biological solids accumulation in anaerobic digestion." In *Advances in Water Pollution Research*. London: Pergamon Press, pp. 305-322.
- Symons, J. M. ; and R. E. McKinney (1958). "The biochemistry of nitrogen in the synthesis of activated sludge." *Sewage Industr. Wastes.* 30(7), pp. 874-890.
- VanBriessen, J. M. ; (2001). "Thermodynamic yield predictions for biodegradation through oxygenase activation reactions." *Biodegradation.* 12(4) pp. 265-281.

## 习 题

**5.1** 废水的有机物中各元素含量分别为： $[C]=72\text{mg/L}$ ； $[H]=10\text{mg/L}$ ； $[O]=20\text{mg/L}$ ； $[N]=8\text{mg/L}$ 。

- 写出该有机物质的经验分子式，将其标准化为有机 N 的摩尔系数为 1。
- 计算废水中的  $\text{COD}'$ 。
- 写出该有机物的电子当量还原半反应。

**5.2** 在处理可溶性废水处理过程中形成的菌团中，有机碳含量为 55%，有机氢含量为 4%，有机氧含量为 30%，有机氮含量为 11%，有机磷含量为 1.5%。

- 写出包含 5 种元素的细菌细胞经验分子式，将其标准化为有机 N 的摩尔系数为 1。
- 写出该细胞的电子当量还原半反应。
- 计算细胞的  $\text{COD}'/\text{质量比}$ 。

**5.3** 微生物反应器中微生物的浓度为  $1000\text{mg/L}$ ，底物利用速率为  $200\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d})$ 。如果生物衰减率为  $0.12\text{d}^{-1}$ ， $\gamma$  为  $0.6\text{g VSS}/(\text{g 底物} \cdot \text{d})$ ，净产率是最大产率的百分之几？

**5.4** 一组生物维持生存的能量为  $0.4\text{g 底物}/\text{g 生物}$ 。生物的衰减率为  $0.1/\text{d}$ 。

- 生物的最大产率是多少？
- 当底物利用速率为  $0.8\text{g 底物}/\text{g 生物}$  时，净产率是多少？

**5.5** 单位当量的电子供体被氧化，通过从硫酸盐还原为硫化物，你是否希望从乙醇厌

氧转化为甲烷的过程中或者从乙酸氧化的过程中获得更高的细胞产率？为什么？

**5.6** 下列哪些电子供体/电子受体对代表细菌生长可能发生的能量反应？假设所有的反应物和产物都为单位活度， $\text{pH}=7.0$ 。

情 况	电子供体	电子受体
a	乙酸	二氧化碳(产甲烷反应)
b	乙酸	$\text{Fe}^{3+}$ (还原为 $\text{Fe}^{2+}$ )
c	乙酸	$\text{H}^+$ (还原为 $\text{H}_2$ )
d	葡萄糖	$\text{H}^+$ (还原为 $\text{H}_2$ )
e	$\text{H}_2$	二氧化碳(产甲烷反应)
f	$\text{H}_2$	硝酸盐(反硝化产生 $\text{N}_2$ )
g	S(氧化为硫酸盐)	$\text{NO}_3^-$ (反硝化产生 $\text{N}_2$ )
h	$\text{CH}_4$	$\text{NO}_3^-$ (反硝化产生 $\text{N}_2$ )
i	$\text{NH}_4^+$ (氧化为 $\text{NO}_2^-$ )	$\text{SO}_4^{2-}$ (还原为 $\text{H}_2\text{S} + \text{HS}^-$ )

**5.7** 当氨存在，且  $\text{pH}=7$  时， $0.06\text{e}^- \text{eq}$  的乳酸在甲烷发酵过程中转化为细胞。计算消耗每千克乳酸所生成的甲烷的物质的量，以及甲烷和二氧化碳在生成气体中的百分比。

**5.8** 当氨存在，且  $\text{pH}=7$  时， $0.45\text{e}^- \text{eq}$  的乙醇在好氧化过程中转化为细胞。计算消耗每千克乙醇产生的细菌质量。

### 5.9

(a) 写出  $1\text{mol}$  棕榈酸盐发酵成  $8\text{mol}$  乙酸且剩余的电子转化成  $\text{H}_2$  的电子当量发酵能量反应式。

(b) 计算该反应的  $\Delta G_r$ 。

(c) 讨论在什么条件下该反应会为细胞生长产生能量。

### 5.10

(a) 写出  $1\text{mol}$  葡萄糖转化为  $1\text{mol}$  乙酸盐、 $1\text{mol}$  丙酸盐和  $1\text{mol}$  氢气的电子当量发酵能量反应式。

(b) 计算该反应的  $\Delta G_r$ 。

### 5.11

(a) 写出  $1\text{mol}$  丙酸盐转化为  $1\text{mol}$  乙酸盐，且剩余电子转化为  $\text{H}_2$  的电子当量发酵能量反应式。

(b) 假设  $\text{pH}=7$ ，乙酸盐和丙酸盐浓度均为  $1\text{mol/L}$ ，氢气的分压为  $1\text{atm}$  标准条件，计算该反应的  $\Delta G_r$ 。

(c) 假设  $\text{pH}=7$ ，乙酸盐浓度为  $50\text{mg/L}$ ，丙酸盐浓度为  $500\text{mg/L}$ ，氢气的分压为  $10^{-5}\text{atm}$ ，计算该反应的  $\Delta G_r$ 。

(d) 讨论(b)和(c)在什么条件下会出现生物的生长并解释其原因。

### 5.12

(a) 写出丁酸盐转化为  $2\text{mol}$  乙酸盐，且剩余电子转化为  $\text{H}_2$  的电子当量发酵能量反应式。

(b) 假设  $\text{pH}=7$ ，乙酸盐和丁酸盐浓度均为  $1\text{mol/L}$ ，氢气的分压为  $1\text{atm}$  标准条件，计算该反应的  $\Delta G_r$ 。



(a)  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COO}^-$  氧化为  $\text{CO}_2$ 、 $\text{NH}_4^+$  和  $\text{HCO}_3^-$ 。

(b)  $\text{Cl}^-$  转化为  $\text{ClO}_3^-$ 。

**5.19** 乙酸盐为电子供体和碳源,硝酸盐为电子受体和氮源,  $f_s = 0.333$ , 写出上述条件下总的平衡反应式。

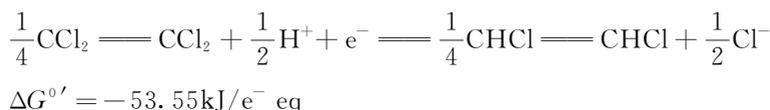
**5.20** 单质 Cu 为供体(被氧化为  $\text{Cu}^{2+}$ ), 氧为受体, 无机碳为碳源, 氨为氮源,  $f_s^0 = 0.036$ , 写出上述条件下总的平衡反应式。

**5.21** 氨为供体被氧化为亚硝酸盐, 氧为受体, 细胞是自养的, 氨是氮源,  $f_s^0 = 0.939$ , 写出上述条件下总的平衡反应式。

**5.22** 二氯甲烷( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ )是供体和碳源, 氧是受体, 氨是氮源,  $f_s^0 = 0.31$ , 写出上述条件下总的平衡反应式。

**5.23** 如果要向地下水中添加甲醇, 通过反硝化作用进行厌氧生物脱氮。如果硝酸盐-氮的浓度是  $84\text{mg/L}$ , 最少需要添加多少甲醇, 才能将所有的硝酸盐还原为氮气? 假设没有氨存在, 反应的  $f_s$  是  $0.3$ 。

**5.24** 某些兼性细菌可以在好氧条件下利用四氯乙烯(PCE)作为电子受体, 这时  $f_s = 0.16$ 。试确定细胞合成的能量传递系数, 考虑将 PCE 还原为顺式-1,2-二氯乙烯的电子受体反应式:



**5.25** 在电子供体为乙酸, 电子受体为氧, 碳源是乙酸, 氮源分别是氨、硝酸盐、亚硝酸盐和氮气的情况下, 应用能量学计算  $f_s^0$  和  $\gamma$ (单位是  $\text{g 细胞/COD}'$ ), 假设  $\epsilon = 0.6$ 。

**5.26** 以葡萄糖代替乙酸盐作为电子供体和碳源, 重新计算习题 5.10。

**5.27** 自养菌以氨作为电子供体, 氧作为电子受体, 氨作为氮源, 无机碳作为碳源进行硝化作用。首先, 对于氨氧化为硝酸盐的正常情况, 应用能量学计算  $f_s^0$  和  $\gamma$ ( $\text{g 细胞/gNH}_4^+-\text{N}$ )。然后, 如果细菌利用乙酸盐替代无机碳作为碳源, 计算  $f_s^0$  和  $\gamma$  的变化结果。假设  $\epsilon = 0.6$ 。

**5.28** 对于以氧或硫酸盐作为电子受体的氢-氧化细菌, 应用能量学分别计算它们的  $f_s^0$  和  $\gamma$ 。假设两种情况下都是自养菌,  $\epsilon = 0.6$ 。

**5.29** 厌氧氨氧化菌能从  $1\text{mol NH}_4^+$  与  $\text{NO}_2^-$  的厌氧自养氧化中获得能量生成  $1\text{mol N}_2$ 。

(a) 写出厌氧氨氧化菌的电子当量能量反应。

(b) 计算该反应的  $\Delta G_r$ 。

(c) 假设  $\epsilon = 0.4$ , 估算厌氧氨氧化自养反应的  $f_s^0$ 。

**5.30** 厌氧氨氧化菌能从  $1\text{mol NH}_4^+$  与  $\text{NO}_2^-$  的厌氧自养氧化中获得能量生成  $1\text{mol N}_2$ 。厌氧氨氧化的一个特殊之处在于, 它们似乎利用  $\text{NO}_2^-$  来还原  $\text{CO}_2$ , 同时将  $\text{NO}_2^-$  转化为  $\text{NO}_3^-$ 。写出厌氧氨氧化菌将  $\text{NO}_2^-$  和  $\text{CO}_2$  转化为细胞( $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$ )和  $\text{NO}_3^-$  的电子当量合成反应。

## 第6章 微生物动力学

前面的章节着重介绍了微生物通过自身的氧化/还原作用产生能量和还原力来维持自身的生长。如果没有催化作用,氧化还原作用非常缓慢,所以微生物产生酶作为催化剂,使这些基本反应的速率提高到足够快,使微生物可以利用环境中的化学物质来满足其生长的需要。工程技术人员希望利用这些微生物催化反应处理他们必须控制的污染物。例如,生物化学需氧量(biochemical oxygen demand, BOD)代表一类异养菌可利用的有机电子供体,  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  可作为硝化细菌的无机电子供体,被转化为危害更小的产物;  $\text{NO}_3^-$  可作为反硝化细菌的电子受体,被转化为无害的  $\text{N}_2$ , 而  $\text{PO}_4^{3-}$  是所有微生物的一种营养物质。

在试图利用微生物进行污染控制时,工程技术人员必须了解两个相互关联的原理:第一,具有代谢活力的微生物催化去除污染物的反应,污染物的去除速率取决于催化剂或者活性菌体的浓度;第二,活性菌体利用产生能量和电子的初级底物(即电子供体和电子受体)生长和维持生命。活性菌体的产生速率与主要基质的利用速率成正比。

对于理解并开发微生物系统进行污染控制,活性菌体(催化剂)与主要基质之间的联系是需要了解的最基本要素。在工程设计和运行中,我们必须系统地、定量地分析这些联系。质量平衡模型是一个基本工具,这个模型是本章内容的基础。

### 6.1 基本速率表达式

一个微生物过程的模型,至少具有活性菌体和限制菌体生长速率的主要基质之间的质量平衡。绝大多数情况下,限制反应速率的基质是电子供体。这里习惯性地用“基质”一词来表示初级电子供体基质。为了完成质量平衡式,必须应用菌体生长和基质利用的速率表达式。先给出两个基本的速率表达式。

首先,让我们考虑给定浓度的活性微生物对基质的利用率。这对环境工程师设计生物处理设施具有重要意义。一个常用的速率方程是一个基于非线性饱和的动力学方程:

$$r_{ut} = -\frac{\hat{q}S}{K+S}X_a V \quad (6.1)$$

式中,  $r_{ut}$  为基质利用速率,  $\text{M}_s \text{T}^{-1}$ ;  $\hat{q}$  为最大比基质利用速率,  $\text{M}_s \text{M}_x^{-1} \text{T}^{-1}$ ;  $S$  为基质浓度,  $\text{M}_s \text{L}^{-3}$ ;  $X_a$  为活性微生物浓度,  $\text{M}_x \text{L}^{-3}$ ;  $K$  为系数,代表当基质利用速率  $r_{ut}$  是最大速率的一半时的基质浓度,  $\text{M}_s \text{L}^{-3}$ ;  $V$  为反应器体积,  $\text{L}^3$ 。

微生物利用基质生长,微生物的生长速率(或其合成速率)与比基质利用速率成正比。该比值为  $\gamma(M_x M_s^{-1})$ ,即细胞合成的实际产率。其实,实际产率和第5章化学计量学中的产率  $\gamma$  一样,它代表了在合成新菌体的过程中,电子供体的电子转化为菌体电子的那一部分。将  $\gamma$  代入式(6.1)并处理微生物浓度,得到微生物的净比生长速率  $\mu_{\text{syn}}(\text{T}^{-1})$ 。

$$\mu_{\text{syn}} = -\frac{\gamma r_{\text{ut}}}{X_a V} = \gamma \hat{q} \frac{S}{K + S} \quad (6.2)$$

其中,  $\gamma \hat{q}$  为最大比生长速率,或微生物在基质浓度无限时的合成速率  $\hat{\mu}(\text{T}^{-1})$ 。

$$\mu_{\text{syn}} = \hat{\mu} \frac{S}{K + S} \quad (6.3)$$

这就是20世纪40年代由法国著名微生物学家 Jacques Monod 提出的著名方程。他的原始公式给出了快速生长细菌的比生长速率与限制生长速率的电子供体浓度之间的关系。Monod 方程可以方便地表达从低(基质)浓度时的一级反应关系向高(基质)浓度时的零级反应关系的平滑过渡。有时将 Monod 方程称为饱和函数,因为在基质浓度  $S$  很大时,比生长速率接近  $\hat{\mu}$ 。图 6.1 表明了  $\mu$  随  $S$  的变化,以及在  $K = S$  时,  $\mu = \hat{\mu}/2$  的情况。尽管式(6.3)基本上是一个经验公式,但是在微生物系统中得到了广泛的应用。

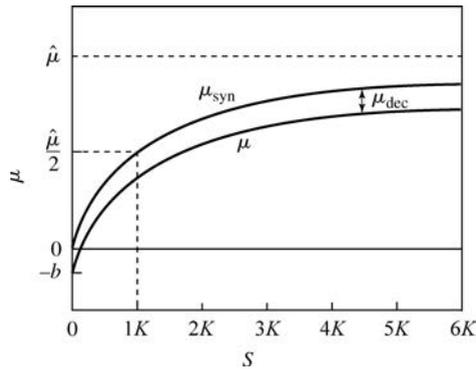


图 6.1 净比生长率与基质浓度的关系

(当  $S = K$  时,  $\mu_{\text{syn}} = 0.5\hat{\mu}$ ; 当  $S = 20K$  时,  $\mu_{\text{syn}} = 0.95\hat{\mu}$ )

对于缓慢生长的细菌研究较多的人(如环境工程师)发现,活性菌体需要能量以维持其生命活动,包括运动、修复和再合成、调节渗透压、运输和散热等。用于维持生长的能量被称为“内源衰减”。换句话说,细胞氧化自身,以满足维持所需求的能量。

然而,在混合培养系统中发生的部分衰减,如用于废水处理,是由原生动物和轮虫等高等生物的捕食或微生物消耗造成的。由于工程师们常用的混合培养系统是这两种衰减的来源,我们更喜欢简单地称这种微生物的损失为衰减,而不是“内源衰减”。一般来说,这个衰减速率对于活性生物浓度来说是一级的,衰减系数用术语  $b$  表示。

衰减速率用一级方程表示:

$$\mu_{\text{dec}} = \left( \frac{1}{X_a} \frac{dX_a}{dt} \right)_{\text{衰减}} = -b \quad (6.4)$$

式中:  $b$  为一级衰减系数,  $\text{T}^{-1}$ ;  $\mu_{\text{dec}}$  为由衰减导致的负的比生长速率,  $\text{T}^{-1}$ 。

最后,微生物的净生长速率,  $\mu(\text{T}^{-1})$  是式(6.3)和式(6.4)的和:

$$\mu = \mu_{\text{syn}} + \mu_{\text{dec}} = \hat{\mu} \frac{S}{K+S} - b = \gamma \hat{q} \frac{S}{K+S} - b \quad (6.5)$$

图 6.1 显示微生物的净比生长速率低于基本合成速率,两者之间的差即为衰减。事实上,当基质浓度很低时,净生长速率会下降到 0 以下。使净生长速率为 0 的基质浓度为  $S_{\min}$ ,其值可以通过将式(6.5)中的净生长速率设置为 0 计算得到

$$S_{\min} = K \frac{b}{\gamma \hat{q} - b} = K \frac{b}{\hat{\mu} - b} \quad (6.6)$$

最小基质浓度等于  $K$  乘以衰减速率与最大净增长率之比。最小基质浓度通常比  $K$  低得多。这里需要注意的是, $S_{\min}$  不一定是可取的最低基质浓度,但它是维持混合处理系统稳态运行时的最低浓度。当然,如果我们停止喂养处理系统,让微生物挨饿,它们可能会继续消耗基质至  $S_{\min}$  以下,同时使净物质下降。无论如何, $S_{\min}$  的概念有助于理解稳态处理系统的潜在限制。

如第 5 章中所述,有人更愿意将维持细胞看作基质产生的电子和能量的分流,直接用于维持细胞的功能。这个概念由  $m$  ( $M_s M_x^{-1} T^{-1}$ ) 表示,且  $m = b/\gamma$ 。用  $m$  代替  $b$  代入上式,可以得到

$$\mu = \frac{\hat{\mu} S}{K+S} - m\gamma = \gamma \left( \frac{\hat{q} S}{K+S} - m \right) \quad (6.7)$$

当系统处于稳定运行状态时,这两种维持的方法没有区别。在本文中,我们将继续使用  $b$  来表示衰减,这也是环境工程领域中一直使用的表示方式。

### 例 6.1 反应速率和限制

一个  $10\text{m}^3$  的反应器内有  $500\text{mg/L}$  活性微生物。微生物的最大生长速率为  $10/\text{d}$ ,  $K = 10\text{mg/L}$ , 衰减系数  $b = 0.10\text{d}^{-1}$ 。基质转化率为  $0.5\text{g/g}$  消耗的基质,微生物周围的基质浓度为  $3\text{mg/L}$ 。

- 反应器内的基质消耗的质量速率( $\text{kg/d}$ )是多少?
- 微生物的净生长速率( $\text{kg/d}$ )是多少?
- 本系统的  $S_{\min}$  是多少?

解: (a) 基质消耗速率  $= r_{\text{ut}} = -\frac{\hat{q} S X_a V}{K+S} = -\frac{\hat{\mu}}{\gamma} \frac{S X_s V}{K+S}$

$$= -\frac{10/\text{d}}{0.5} \left( \frac{3}{10+3} \right) \left( \frac{500\text{mg} \times 10\text{m}^3}{\text{L}} \right) \left( \frac{10^3\text{L}}{\text{m}^3} \right) \left( \frac{\text{kg}}{10^6\text{mg}} \right) = -23\text{kg/d}$$

(b) 微生物净生长速率  $= \frac{\hat{\mu} S}{K+S} - b = \frac{10 \times 3}{(10+3)\text{d}} - \left( \frac{0.1}{\text{d}} \right) = 2.2/\text{d}$

(c)  $S_{\min} = K \frac{b}{\hat{\mu} - b} = 10 \frac{0.1}{10 - 0.1} \text{mg/L} = 0.10\text{mg/L}$

一些工程师会考虑反应器内的生物量,即活性微生物和惰性微生物,以及在后续的处置中每天需要去除多少生物量。这里,惰性微生物是活性微生物衰减后产生的。并非所有损失的活性菌体都被氧化,还有一小部分以惰性菌体累积,通常这个比例为 20%。这些惰性微生物并非完全惰性,而是会在环境中长期缓慢地衰减。通常,在反应器的停留时间内这部分衰减是可以忽略不计的。

如果用  $f_{d'}$  表示衰减中被氧化的部分,那么衰减中形成的惰性微生物为  $(1 - f_{d'})$ 。那么,惰性微生物的形成速率为

$$\hat{\mu}_{\text{inert}} = \left( \frac{1}{X_a} \cdot \frac{dX_a}{dt} \right)_{\text{inert}} = (1 - f_{d'})b \quad (6.8)$$

本章的后面我们会将这个公式用于质量平衡。

## 6.2 参数估值

如 6.1 节中所述,形容微生物生长速率的 6 个重要的动力学参数有:  $\gamma$ , 细胞合成的实际产率;  $\hat{q}$ , 最大比基质利用速率;  $\hat{\mu}$ , 最大比生长速率;  $K$ , 半最大速率系数;  $b$ , 微生物衰减速率;  $f_{d'}$ , 活性微生物中可降解的部分。事实上,  $\hat{\mu}$  不是一个独立的参数, 而是  $\gamma$  和  $\hat{q}$  的乘积。因此, 只需要考虑 5 个独立的参数。

这些参数不是“随机变量”, 它们有特殊的单位和取值范围。在有些情况下, 这些值受细胞化学计量学和能量学的限制。一些参数还会受到温度的影响, 就像动力学系数一样, 都与微生物和反应相关。

那么, 工程师或科学家如何决定在特定情况下使用哪些值呢? 在多数情况下, 可以参考别人或自己的实验研究结果。这通常需要一定的时间, 甚至大量的金钱成本。当无法获得过去研究的数据, 或者希望进行独立的检查时, 我们可以从基本原理(如反应能量学)中估算出足够准确的值。

如第 5 章化学计量学所述, 实际产率  $\gamma$  和  $f_s^0$  成正比。如果没有实验数据, 5.7.2 节中所述的热动力学方法就是获得较准确的  $\gamma$  初步估值的最好方法。此外, 该方法还可以很好地核实实验所得的值。

表 6.1 列出了环境生物技术中经常遇到的微生物的  $f_s^0$  和  $\gamma$  的估值。从表 6.1 中可以看出,  $f_s^0$  的取值范围从好氧异养菌的最高值 ( $0.6 \sim 0.7 e^- \text{ eq 细胞} / e^- \text{ eq 供体}$ ) 到自养菌和氧化乙酸的厌氧菌的最低值 ( $0.05 \sim 0.10 e^- \text{ eq 细胞} / e^- \text{ eq 供体}$ )。这些数值反映了合成消耗的能量与从电子供体和受体能量反应中获得的能量之间的平衡。第 5 章表明, 可以直接将  $f_s^0$  进行单位转换得到  $\gamma$  值。例如:

好氧异养菌:

$$\begin{aligned} \gamma &= 0.6 \frac{e^- \text{ eq 细胞}}{e^- \text{ eq 供体}} \cdot \frac{113 \text{ g VSS}}{20 e^- \text{ eq 细胞}} \cdot \frac{1 e^- \text{ eq 供体}}{8 \text{ g BOD}_L} \\ &= 0.42 \text{ g VSS/g BOD}_L \end{aligned}$$

反硝化菌:

$$\begin{aligned} \gamma &= 0.5 \frac{e^- \text{ eq 细胞}}{e^- \text{ eq 供体}} \cdot \frac{113 \text{ g VSS}}{28 e^- \text{ eq 细胞}} \cdot \frac{1 e^- \text{ eq 供体}}{8 \text{ g BOD}_L} \\ &= 0.25 \text{ g VSS/g BOD}_L \end{aligned}$$

$\text{H}_2$ -氧化硫酸盐还原菌:

$$\begin{aligned} \gamma &= 0.05 \frac{e^- \text{ eq 细胞}}{e^- \text{ eq 供体}} \cdot \frac{113 \text{ g VSS}}{20 e^- \text{ eq 细胞}} \cdot \frac{2 e^- \text{ eq 供体}}{2 \text{ g H}_2} \\ &= 0.28 \text{ g VSS/g H}_2 \end{aligned}$$

表 6.1 环境生物技术中主要细菌的  $f_s^0$ 、 $\gamma$ 、 $\hat{q}$  和  $\hat{\mu}$  典型值

生物类型	电子供体	电子受体	C 源	$f_s^0$	$\gamma^{\text{①}} / (\text{g VSS} \cdot \text{g BOD}_L)$	$\hat{q}^{\text{②}} / (\text{g BOD}_L / (\text{g VSS} \cdot \text{d}))$	$\hat{\mu}^{\text{③}}$
好氧、异养菌	碳水化合物 BOD	O <sub>2</sub>	BOD	0.7	0.49	27	13.2
	其他 BOD	O <sub>2</sub>	BOD	0.6	0.42	20	8.4
反硝化菌	BOD	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	BOD	0.5	0.25	16	4
	H <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>2</sub>	0.2	0.81	1.25	1
硝化自养菌	S(s)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO <sub>2</sub>	0.2	0.15	6.7	1
	NH <sub>4</sub> <sup>-</sup>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	0.14	0.34	2.7	0.92
	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	0.10	0.08	7.8	0.62
产甲烷菌	乙酸 BOD	乙酸	乙酸	0.05	0.035	8.4	0.3
	H <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	0.08	0.45	1.1	0.5
硫化物氧化自养菌	H <sub>2</sub> S	O <sub>2</sub>	CO <sub>2</sub>	0.2	0.28	5	1.4
硫酸盐还原菌	H <sub>2</sub>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	CO <sub>2</sub>	0.05	0.28	1.05	0.29
	乙酸 BOD	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	乙酸	0.08	0.057	8.7	0.5
发酵菌	糖 BOD	糖	糖	0.18	0.13	9.8	1.2

①  $\gamma$  是假设一个细胞  $VSS_n$  的组成为  $C_5H_7O_2N$ , 并且  $NH_4^+$  是氮源, 除  $NO_4^-$  为电子受体以外, 其他情况下  $NO_2^-$  是氧源; 表中给出了  $\gamma$  的典型单位;

②  $\hat{q}$  可以通过  $\hat{q} = 1e^- \text{eq} / (\text{g VSS}_n \cdot \text{d})$  计算;

③  $\hat{\mu}$  的单位为  $\text{d}^{-1}$ 。

有趣的是, 这 3 个例子中  $\gamma$  值的差异小于 2 倍, 而  $f_s^0$  值的差异大于 10 倍。这种差异是由  $\gamma$  值中电子供体基质的单位不同导致的。 $f_s^0$  值对于方程配平具有重要意义, 而  $\gamma$  值则是用来确定反应所需或产生的化学成分的质量。

如果文献中无法得到足够微生物产率的数据, 或有人想检查从反应能量学中得到的  $\gamma$  的实验数据, 那么可以进行实验研究。最简单的方法是通过批式反应的实验研究中确定实际产率。将很少的接种量培养到对数生长期, 然后收集菌体。通过  $\gamma = -\Delta X / \Delta S$  估算实际产率, 其中  $\Delta X$  和  $\Delta S$  分别是接种到收获时菌体浓度和基质浓度的变化值。分批培养技术适于生长速度快的细菌(此时微生物衰减可以忽略不计), 但是在细胞生长缓慢时可能产生误差(因为此时菌体的衰减不能忽视)。

接下来是最大比基质利用率。对于常见的细胞生长的主要基质, 最大比基质利用率  $\hat{q}$  通常由流向电子受体的电子所控制。在 20°C, 能量反应的最大流量大约是  $1e^- \text{eq} / (\text{g VSS} \cdot \text{d})$  (McCarty, 1971)。如果这个流量定义为  $\hat{q}_e$ ,  $\hat{q}$  可以由下式计算:

$$\hat{q} = \hat{q}_e f_s^0 \quad (6.9)$$

表 6.1 列出了在  $\hat{q}_e = 1e^- \text{eq} / (\text{g VSS} \cdot \text{d})$  时  $\hat{q}$  的典型值。 $\hat{q}$  值的范围也反映了  $f_s^0$  的变化和供体的不同单位。表 6.1 还列出了根据  $\gamma$  和  $\hat{q}$  乘积计算出的最大生长速率的值。表 6.1 表明, 生长速度快的细胞具有较大的  $f_s^0$ , 直接使产率  $\gamma$  增大, 间接得到大的  $\hat{q}$  值。因此,  $\hat{\mu}$  主要受微生物化学计量学和动力学控制。

温度对  $\hat{q}$  有影响。当温度达到微生物生长的最适宜温度时, 温度每升高 10°C, 基质利用率大约提高 1 倍。这种现象可以近似表示为

$$\hat{q}_T = \hat{q}_{20} (1.07)^{T-20} \quad (6.10)$$

式中,  $T$  的单位是 $^{\circ}\text{C}$ ,  $\hat{q}_{20}$  是  $\hat{q}$  在  $20^{\circ}\text{C}$  时的值。如果  $\hat{q}_{20}$  未知, 这种关系可以表示为

$$\hat{q}_T = \hat{q}_{T^R} (1.07)^{T-T^R} \quad (6.11)$$

式中,  $T^R$  是任何一个已知  $\hat{q}_{T^R}$  的参考温度,  $^{\circ}\text{C}$ 。

衰减速率( $b$ )主要取决于细菌的种类和温度。 $b$  值和  $\hat{\mu}$  值之间呈正相关关系, 正如混合培养的好氧和厌氧的异养菌和自养菌的一系列微生物的  $b$  值和  $\hat{\mu}$  值的图中所示(van Bodegom, 2007)。总结这些数据可以发现  $b/\hat{\mu}$  值服从对数正态分布而非正态分布。 $b/\hat{\mu}$  的对数正态平均比率趋向于 0.06 左右, 标准差由对数正态扩散因子 3 表示。这意味着 2/3 的比值在 0.02~0.18。另一个重要因素  $b$  往往随温度而变化, 就像最大生长速率一样; 那么, 无论温度如何,  $b/\hat{\mu}$  值都保持不变。虽然由比率的大扩散系数所表明的不确定性似乎很高, 但在试图估计  $b$  的合理值时, 这个比例信息仍然有用, 而  $b$  的值是很难精确测量的。当  $b$  未知时,  $b/\hat{\mu}$  值采用 0.06 通常就足够了。重要的是要认识到, 实验确定的值一般也是相当接近的。

第四个重要参数是 Monod 方程中反应速率是最大速率一半时的基质浓度( $K$ )。它是变化最大、最难以预测的参数。它的值受基质对转运酶或代谢酶的亲和力的影响。另外, 在悬浮生长系统中通常被忽略的传质阻力, 常常会使 Monod 动力学中的  $K$  值增加。当  $K$  中不包含传质影响, 仅考虑单一的电子供体基质时,  $K$  值一般很小, 小于  $1\text{mg/L}$ , 有时甚至低至  $\mu\text{g/L}$  范围。然而, 对于难降解物质, 当考虑传质阻力, 且当颗粒材料(如 VSS)遵循 Monod 动力学时, “测量”得到的  $K$  值可以高达几百毫克每升范围。

最后, 一个影响  $K$  值的主要因素是微生物种类。在环境工程中具有重要意义的微生物的两个主要例子是乙酸产甲烷菌和自养氢氧化菌。Min 和 Zinder(1989)研究了两种不同的嗜热乙酸产甲烷菌的动力学, 它们是厌氧甲烷发酵中最关键的微生物, 结果表明约 2/3 的甲烷由复杂的基质形成。其中, 菌种 *Methanosardna* 具有更高的比基质利用速率  $36\text{g}/(\text{g} \cdot \text{d})$ , 而菌种 *Methanothrix* 的比基质利用速率为  $22\text{g}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 。此外, 菌种 *Methanosardna* 的  $S_{\min}$  值也很高, 约  $60\text{mg/L}$ , 而菌种 *Methanothrix* 的  $S_{\min}$  值为  $0.7 \sim 1.2\text{mg/L}$ 。 $S_{\min}$  值和  $K$  值成正比, 因此, 其各自的  $K$  值也成比例不同。这种差异是显著的, 许多前期对浓缩污泥和工业废物的研究中报道的出水乙酸浓度高达  $10 \sim 100\text{mg/L}$ , 说明对稀市政污水的高效厌氧处理不太可能。然而, 最近对稀市政污水类的污水研究显示, 甲烷菌可以将乙酸浓度降至  $1\text{mg/L}$  水平, 实现 90% 甚至更高的 COD 去除率(Shin et al., 2012)。对于更加浓缩的污水, 菌种 *Methanosardna* 经常被发现占主导地位, 而菌种 *Methanothrix* 则通常在稀市政污水类的污水中呈主导地位。进行相同生物化学反应的不同物种明显发生了进化, 从而使不同物种在不同的环境中变得有竞争力。认识到这一点对处理不同浓度的废水非常重要。

还有一个例子是氨氧化, 或硝化反应。*Nitrosomonas* 和其他氨氧化硝化菌通常在废水处理中占主导地位, 它们的  $K$  值通常在几毫克氮每升范围内。然而, 近年来, 发现了寡养古菌硝化菌, 其  $K$  值在几微克氮每升范围内, 它们往往在非常寡养的海洋水域占主导地位。就像使用乙酸的产甲烷菌一样, 这些古菌硝化微生物的最大生长速率低于氨氧化细菌。这个例子进一步说明, 不同的微生物会进化出不同的能力从而成为世界上各种环境中的优势菌种。因此, 在  $K$  值的选择上需要小心, 以确保它与具体情况相匹配。

另外一个重要因素是  $f_d'$ 。它与反应动力学没有直接联系,但在后期会代入式(6.28)和式(6.29),而且对典型工艺操作条件下的全面的反应化学计量学具有重要性。早期研究(McCarty,1975)显示,可生物降解部分( $f_d$ )的重现性相当好,对于大部分微生物,其  $f_d$  值接近 0.8。在本书中,我们将主要采用这个值。

### 例 6.2 速率和化学代谢系数

一位客户来找你设计一个工业废水处理装置,废水的主要成分为乙酸。你首先想到的是厌氧产甲烷处理是最好的处理方式,直到你分析废水成分发现它含有很高浓度的硫酸,以至于如果采用厌氧处理,将无法生成甲烷,且主要产物为有毒的硫化氢。然而,如果选择好氧处理,将需要大量的能量来供应氧气,并且产生的生物量将特别高,进而需要引入另一个处理过程。你想到一种替代方案,是否可以通过寻找微生物,在厌氧处理过程中,将硫酸盐转化为单质硫而不是硫化氢,这样硫就可能被收集并作为副产品出售。而且,产生的生物量仍然很低。为了说服您的客户支持这样一个独特过程的实验研究,你需要首先做出合理的设计方案,提供一个初步估计的反应器特性、需要和生产的资源,并比较成本。你需要做的第一步是估计这个系统的化学计量和动力学系数。因此,你需要确定  $f_s^0$ 、 $\gamma$ 、 $\hat{q}$ 、 $K$ 、 $\hat{\mu}$  和  $b$ 。

第一步是利用反应动力学估计  $f_s^0$  和  $\gamma$ 。必要的半反应方程如下,即表 5.4 中的 O-1 反应和表 5.3 中的 I-12 反应。

反应编号	反应式	$\Delta G^0 / (\text{kJ}/(\text{e}^- \text{eq}))$
$R_d(\text{O-1})$	$\frac{1}{8}\text{CH}_3\text{COO}^- + \frac{3}{8}\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \frac{1}{8}\text{CO}_2 + \frac{1}{8}\text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + \text{e}^-$	-27.40
$R_s(\text{I-12})$	$\frac{1}{6}\text{SO}_4^{2-} + \frac{4}{3}\text{H}^+ + \text{e}^- \longrightarrow \frac{1}{8}\text{S} + \frac{2}{3}\text{H}_2\text{O}$	19.15
	$\Delta G_r =$	-8.25

为了得到  $f_s^0$ ,利用式(5.31)得到  $A$ ,需要  $\Delta G_p$  和  $\Delta G_{pc}$ :

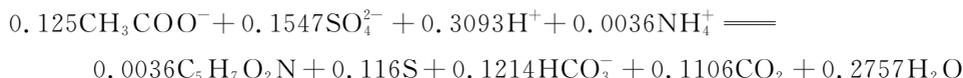
$$\Delta G_p = 35.09 - 27.40 = 7.69 \text{ kJ}/\text{e}^- \text{ eq} \text{ 且 } \Delta G_{pc} = 18.8 \text{ kJ}/\text{e}^- \text{ eq}$$

我们采用比较保守的反应效率  $\epsilon = 0.5$ 。现在计算  $A$  和  $f_s^0$ :

$$A = -\frac{\Delta G_p + \Delta G_{pc}}{\epsilon^2 \Delta G_r} = -\frac{7.69 + 18.8}{0.5^2 (-8.25)} \approx 12.84$$

$$f_s^0 = \frac{1}{1 + 12.84} \approx 0.072, f_e^0 = 1 - f_s^0 = 1 - 0.072 = 0.928$$

采用式(5.20)求  $R$  的总反应,  $R = f_e R_a + f_s R_c - R_d'$ ,那么还需要细胞合成的  $R_c$  值。那么,以氨为氮源,我们采用表 5.3 中的公式 C-1,得到



可以从该公式或者  $f_s^0$  得到  $\gamma$  值。我们用两者互相检验。

采用公式法,我们发现彻底氧化 1mol 乙酸需要 2mol 或者 64g 氧气,因此

$$\gamma = \frac{0.0036 \times 113 \text{ g VSS}}{0.125 \times 64 \text{ g BOD}_L} = 0.051 \frac{\text{g VSS}}{\text{g BOD}_L}$$

或者采用  $f_s^0$  法:

$$\gamma = 0.072 \frac{e^- \text{ eq 细胞}}{e^- \text{ eq 供体}} \left( \frac{113 \text{ g VSS}/20}{e^- \text{ eq 细胞}} \right) \left( \frac{e^- \text{ eq 供体}}{8 \text{ g BOD}_L} \right) = 0.051 \frac{\text{g VSS}}{\text{g BOD}_L}$$

它们刚好互相匹配。

由于需要回收单质 S, 我们还可以计算产生的单质 S。我们称之为  $\gamma_s$ :

$$\gamma_s = \frac{0.116 \times 32 \text{ g S}}{0.125 \times 64 \text{ g BOD}_L} = 0.464 \frac{\text{g S}}{\text{g BOD}_L}$$

这个结果很有吸引力, 因为我们产生的单质 S 比废物 VSS 要多得多。

这个方程还表明, 我们需要一些氨态氮来维持微生物的生长:

$$N_{\text{需求}} = \frac{0.0036 \times 14 \text{ g NH}_4^+ \text{-N}}{0.125 \times 64 \text{ g BOD}_L} = 0.0063 \frac{\text{g NH}_4^+ \text{-N}}{\text{g BOD}_L}$$

现在我们得到反应速率系数:

$$\begin{aligned} \hat{q} &= \frac{\hat{q}_e}{f_e^0} = \frac{1 e^- \text{ eq}/(\text{g VSS} \cdot \text{d})}{0.928} = 1.08 \frac{e^- \text{ eq}}{\text{g VSS} \cdot \text{d}} \\ &= 1.08 \frac{8 \text{ g BOD}_L}{e^- \text{ eq}} \frac{e^- \text{ eq}}{\text{g VSS} \cdot \text{d}} = 8.6 \frac{\text{g BOD}_L}{\text{g VSS} \cdot \text{d}} \\ \hat{\mu} &= \gamma \hat{q} = \frac{0.051 \text{ g VSS}}{\text{g BOD}_L} \left( \frac{8.6 \text{ g BOD}_L}{\text{g VSS} \cdot \text{d}} \right) = 0.44 \text{ d}^{-1} \\ b &= 0.06 \hat{\mu} = 0.06 \times 0.44 = 0.03 \text{ d}^{-1} \end{aligned}$$

照例,  $f_d = 0.8$ 。

到目前为止, 我们还没有得到  $K$ , 我们也没有从基本原理中得到它的好方法。但是, 我们以后会发现, 如果我们设计一个有足够  $\theta_x$  的系统, 并利用我们现有的其他系数, 得到的处理效率可以达到 90% 或更高, 这通常是足够的。

### 6.3 基本质量平衡

使用正确的质量平衡是设计和分析微生物过程的关键。如在第 5 章中所述, 质量平衡的一种类型是由一个平衡的化学方程式提供的。这里选择生物反硝化过程中苯甲酸酯 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{COO}^-$ ) 的转化作为例子:



由上式可知, 微生物在反硝化过程中每消耗 0.0333 mol 苯甲酸, 需要 0.12 mol 硝酸盐作为电子受体, 0.02 mol 铵作为细菌生长的氮源。由此产生 0.02 mol 的细菌以及一定量的氮气、二氧化碳气体、碳酸氢盐和水。如果废水中没有所需的硝酸盐和铵, 则必须将它们添加到处理系统中。产生的 0.02 mol 细菌代表废物, 我们称之为污泥、废物生物量、废物固体或多余的生物固体。这种废物必须从系统中被分离出来, 并将其以某种可接受的方式进行处理。在设计污泥处理设施时, 了解废弃物的产生量是至关重要的。因此, 由这种化学计量方程给出的质量平衡提供了系统中必须添加和去除的物质的关键信息。

在反应器设计中,我们也对反应速率感兴趣,因为它们会影响处理系统的大小。将反应器大小与反应速率、反应化学计量和所需处理效率联系起来的方程式也依赖于质量平衡。例如,Herbert(1960)提出的恒化器(在稳态条件下运行的一种最简单的混合生物反应器)的质量平衡法。遵循他的或者其他类似的方法,我们可以得到所有生物反应器的相关方程。其他系统的质量平衡法将在后续的章节中展开介绍。

处理系统的质量平衡的要素之一是处理系统的定义。图 6.2 所示为两个废水处理中常用的类似恒化器的完全混合型生物反应器。用于废水处理的化学抑素类完全混合生物反应器。在这里,我们将它们称为连续流搅拌槽反应器(continuous-flow stirred tank reactors, CSTR)而不是恒化器,因为它们也可能不在稳态条件下运行。反应器(a)是一个简单的 CSTR,通常用于比较高浓度的废水,如厌氧消化器。反应器(b)是一个 CSTR 与细胞循环的连接,常用于相对稀释的废水(如生活废水),如活性污泥处理工艺。在这里,细胞沉降和循环利用将生物固体从出水带回反应器,以提高反应器的活性微生物浓度,以便更快速度地处理废水。在这里,对于质量平衡的例子,我们将使用反应器(b)。然后我们将发现,得到的性能方程也可以很容易地用于更简单的反应器。

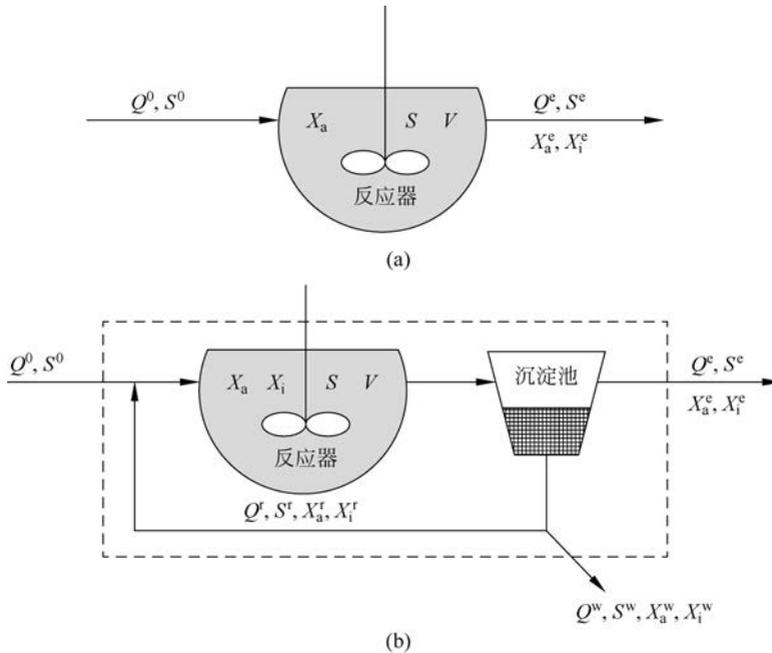


图 6.2 简单的 CSTR(a)和 CSTR 连接细胞循环(b)

首先,必须定义一个控制体积。图 6.2(b)中的虚线部分说明了具有细胞循环的 CSTR 的控制体积。控制体积的选择必须与分析的目标一致。后面的章节将举例说明其他系统的不同选择,并说明为什么这样的选择是合适的。

一旦选定了控制体积,就可以研究某组分的质量平衡。一种组分可以进入或者离开控制体积。例如,在图 6.2(b)中,组分只能通过系统进水进入反应器系统,而它必须通过系统出水或系统废液离开系统。反应系统中还可能破坏某组分或形成新的组分。

在开发对反应系统有用的方程时,有时需要围绕几个不同的控制体积,对几个不同的组

分进行质量平衡。为了推导出有用的、不复杂的方程,常常要做一些简化假设。必须理解使用这种假设所造成的限制,以便导出的方程不被用于它们不适用的情况。

质量平衡的一个非常重要的方面是,每个相关组分都必须有自己的质量平衡。这些组分可能包括废水的化学需氧量(chemical oxygen demand, COD),它是常用的衡量废物强度的指标;总有机碳(total organic carbon, TOC),另一个衡量废物强度的指标;生物质能;氧气,关键电子受体;硝酸盐、氨氮、磷等常量营养元素,等等。如果对该反应有一个平衡的化学计量方程,如苯甲酸酯和反硝化反应,则一种组分的消耗,如电子供体的消耗,可由化学计量学直接用于其他组分的消耗或生成,如电子受体的消耗或生物量的生成。初学者常犯的一个错误是,试图建立一个单一的质量平衡方程,其中包括多种成分(如 COD 和生物量)的质量变化。必须遵循的规则是每个组分都有一个质量平衡。

一旦选择了一个反应系统,确定了控制体积和要做质量平衡的每个组分,就可以得到每个所需的质量平衡方程。质量平衡总是根据控制体积中的质量变化的速率来定义的,即

$$\text{控制体积中质量的积累速率} = \text{质量的进入速率} - \text{质量的流出速率} + \text{质量的生成速率} \quad (6.12)$$

控制体积内的质量积累速率在公式左侧显示。累积量是控制体积中各组分的总质量,或体积与浓度的乘积。速率项采用一般的数学形式  $d(VC_i)/dt$ ,其中  $V$  是控制体积的体积,  $C_i$  是组分的浓度。在大多数环境生物技术中,  $V$  是一定的,质量积累速率简化为  $V dC_i/dt$ ,其中  $dC_i/dt$  是组分  $i$  的浓度随时间变化的微分。

质量进入和质量流出是指跨越系统边界的质量。生成是指在控制体积中组分的生成,如果生成是负的,则在控制体积中组分被破坏,而不是形成。有些组分可能通过某些反应形成,又被另一些反应破坏。例如,细菌细胞可以通过消耗电子供体或“食物”而生成。那么生成率就是正的。内源性呼吸或捕食可能破坏微生物,使生成率为负。对于公式右边的项,起作用的可能有不止一个反应或机制。因此,这 3 个术语中的每一个都可能受到多重影响。对于控制体积中的一个组分,只存在一次总质量积累。根据控制体积的性质,质量进入和流出控制体积的方式,以及产生或破坏该组分的反应,式(6.12)可以有多种数学形式。

现在让我们用图 6.2(b)所示的带有细胞循环的 CSTR 构建一个质量平衡。对于这种情况,我们将做一个简单的假设,反应器被假定在稳定状态下运行,这意味着反应器的输入或输出不随时间变化。我们还将假设基质利用率遵循 Monod 动力学[式(6.3)]。

CSTR 的关键特征是,无论是否沉降或在稳定状态下运行,它都是一个完全混合的反应器,具有均匀、稳定的活性细胞浓度( $X_a$ ),一定的反应器基质浓度( $S$ )和一些惰性微生物( $X_i$ )。我们后续还可以添加其他我们可能希望考虑的成分。反应器体积为  $V$ ,进料流量恒定为  $Q^0$ ,基质浓度为  $S^0$ ,无生物质等悬浮物。出水的流量为  $Q^e$ ,浓度为  $X_a^e$ 、 $X_i^e$  和  $S^e$ 。

在第一个实验中,我们做了以下额外的假设:①基质的生物降解只在反应器内进行,沉降池内不发生生物反应,沉降池内的生物量不显著;②反应器进水中无活性微生物( $X_a^0=0$ );③基质易溶,不易在沉淀池中沉淀,即  $S^e=S$ 。

在上述假设条件下,我们继续对图 6.2(b)中控制体积周围的微生物建立质量平衡:

$$V \frac{dX_a}{dt} = 0 - (Q^e X_a^e + Q^w X_a^w) + [\gamma(-r_{ut}) - bX_a V] \quad (6.13)$$

同样地,基质的质量平衡如下:

$$V \frac{dS}{dt} = Q^0 S^0 - (Q^e S^e + Q^w S^w) + r_{ut} \quad (6.14)$$

式(6.13)和式(6.14)是通用的,可以用来描述反应器在非稳态或稳态条件下的运行。为了说明处理系统的一般操作原理,我们这里只考虑稳态情况。也就是说,我们假设反应器已经连续运行了一段时间,所有流量和进水浓度随时间保持不变。

在稳定状态下,累积变化为零:

$$V \frac{dX_a}{dt} = 0, \quad \text{且} \quad V \frac{dS}{dt} = 0 \quad (6.15)$$

为了求解这些方程,我们引入一个更常用且有力的替代项,即固体停留时间(SRT 或  $\theta_x$ ),根据 Lawrence 和 McCarty (1970)的定义如下:

$$\theta_x = \frac{\text{系统中的活性生物量}}{\text{活性生物量的产率}} = \mu^{-1} \quad (6.16)$$

式(6.16)指明了  $\theta_x$  的两个关键特性。首先,它是一个可测得的、可以应用于任意生物系统的量。其次,它是净比生长速率  $\mu$  的倒数,因为它提供了微生物的比生长速率。

基于我们的假设,沉淀池内没有活性微生物,活性微生物仅存在于反应器内,即  $X_a V$ 。在稳态条件下,在出水中( $Q^e X_a^e$ )或废物固体流中( $Q^w X_a^w$ ),活性生物的生长速率必须等于其流出控制体积的速率。那么

$$\theta_x = \frac{X_a V}{Q^e X_a^e + Q^w X_a^w} \quad (6.17)$$

我们可以重新调整式(6.13)到稳态情况下,得到

$$\frac{Q^e X_a^e + Q^w X_a^w}{X_a V} = \frac{\gamma(-r_{ut})}{X_a V} - b \quad (6.18)$$

观察式(6.18)左侧和式(6.17)右侧的相似性,我们进行适当的替换,得到一个重要的结果:

$$\frac{1}{\theta_x} = \frac{\gamma(-r_{ut})}{X_a V} - b \quad (6.19)$$

式(6.19)适用于具有细胞循环的 CSTR,可以应用于任何形式的生物反应,如  $r_{ut}$ 。如果我们假设它是通常的 Monod 反应形式[式(6.1)],则得到

$$\frac{1}{\theta_x} = \gamma \frac{\hat{q}S}{K + S} - b \quad (6.20)$$

我们可以解出这个方程的  $S$ :

$$S = K \frac{1 + b\theta_x}{\gamma\hat{q}\theta_x - (1 + b\theta_x)} = K \frac{b'}{\gamma\hat{q} - b'} \quad (6.21)$$

式中,  $b' = 1/\theta_x + b$ , 表示反应器中活性微生物的总损失速率,包括通过衰减损失和流失损失。

现在,我们考虑反应器内活性微生物的浓度。我们首先用式(6.19)求解  $X_a$ :

$$X_a = \theta_x \frac{\gamma(-r_{ut})}{V(1 + b\theta_x)} \quad (6.22)$$

接下来,我们返回到式(6.14),基质的质量平衡,并将稳态[式(6.15)]代入得到  $r_{ut}$ :

$$-r_{ut} = Q^0 S^0 - Q^e S^e - Q^w S^w \quad (6.23)$$

由于 S 可溶且在沉淀池中没有反应,反应器内的溶解性基质浓度 S,与反应器的出水浓度  $S^e$  和废物固体流  $S^w$  的浓度相同。通过质量平衡  $Q^e + Q^w = Q^0$ 。将这些代入式(6.23),得到

$$-\frac{r_{ut}}{V} = \frac{Q^0(S^0 - S)}{V} = \frac{S^0 - S}{\theta} \quad (6.24)$$

与式(6.19)相似,式(6.24)是另一个常用的表达,表示反应器内基质的利用速率。将式(6.24)代入式(6.22),得到

$$X_a = \frac{\theta_x}{\theta} \frac{\gamma(S^0 - S)}{1 + b\theta_x} \quad (6.25)$$

由式(6.25)可知,反应器中的活性生物量浓度取决于固体停留时间与水力停留时间的比值,  $\theta_x/\theta$ 。我们称这个重要的比值为固体浓度比。对于处理固体浓度比为 24 的废水的活性污泥系统,反应器中活性生物量的浓度是不带细胞循环的 CSTR 中活性生物量的浓度的 24 倍。

此外,系统中产生的废物固体的量也至关重要。为了维持系统的稳态运行,必须不断地清除它们。此外,废物固体必须妥善处理。因此,生物固体消耗率对于处理系统的运行,以及确定系统建设和运行成本是至关重要的。

从图 6.2(b)可以看到,在稳态条件下,活性微生物生成的质量速率( $r_{abp}$ , M/T)必须与其通过出水或废物流离开系统的速率相同。

$$r_{abp} = Q^e X_a^e + Q^w X_a^w \quad (6.26)$$

将式(6.26)代入式(6.17),得到

$$r_{abp} = \frac{X_a V}{\theta_x} \quad (6.27)$$

不仅活性生物量的生成的质量速率很重要,而且活性和失活生物量的联合生成的质量速率也很重要,通常用挥发性悬浮固体生成的质量速率( $r_{vsp}$ , M/T)来衡量。对于有细胞循环的 CSTR,确定  $r_{vsp}$  的方法类似于活性生物量生成的式(6.27):

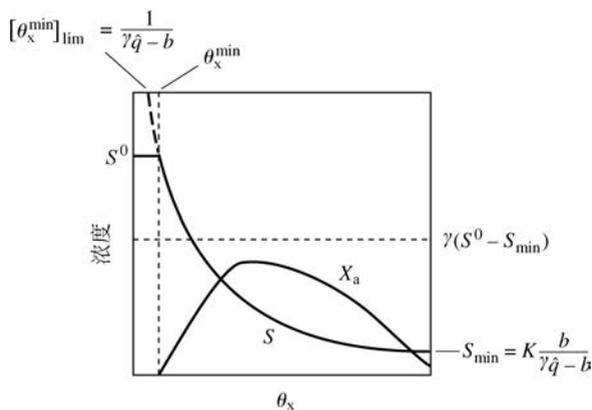
$$r_{vbp} = \frac{X_v V}{\theta_x} \quad (6.28)$$

我们现在有一系列的方程式,可以设计一个具有细胞循环的 CSTR。但有时会使用一个简单的、没有细胞循环的 CSTR。同样的方程适用于单独的 CSTR,但是其中  $\theta_x$  等于  $\theta$ ,即反应器的生物固体和水本身具有相同的停留时间。因此,对于简单的 CSTR,将前面得到的所有公式中的  $\theta_x$  等于  $\theta$  即可以直接使用。

图 6.3 说明了  $\theta_x$  如何控制 S 和  $X_a$ 。尽管恒化器只是一个简单系统,但图 6.3 所示的几个重要的趋势在所有的悬浮生长过程中都会出现。

(1) 当  $\theta_x$  非常小时,  $S = S^0$ ,  $X_a = 0$ 。这种情况称为污泥流失(washout),不能去除基质,因此没有活性菌体累积。刚刚产生污泥流失时的  $\theta_x$  值称为  $\theta_x^{\min}$ ,是稳态菌体和污泥流失之间的边界条件。令  $S = S^0$ ,解式(6.20),通过求  $\theta_x$  可以得到  $\theta_x^{\min}$ :

$$\theta_x^{\min} = \frac{K + S^0}{S^0(\gamma\hat{q} - b) - bK} \quad (6.29)$$

图 6.3  $S$  和  $X_a$  随  $\theta_x$  的变化示意图以及  $\theta_x$ 、 $S$  和  $X_a$  的极限值

随着  $S^0$  增大,  $\theta_x^{\min}$  增大, 逐渐达到其极限值:

$$[\theta_x^{\min}]_{\text{lim}} = \frac{1}{\gamma \hat{q} - b} \quad (6.30)$$

式(6.30)定义了具有稳态菌体时最小的  $\theta_x$  (或最大的  $\mu$ ) 的边界值,  $[\theta_x^{\min}]_{\text{lim}}$  是生物过程的一个临界值: 在低  $\theta_x$  时, 产生的污泥流失。

(2) 对于所有的  $\theta_x > \theta_x^{\min}$ ,  $S$  随着  $\theta_x$  增加而单调下降。式(6.21)可用于计算  $S$ 。

(3) 对于很大的  $\theta_x$ ,  $S$  接近极小值  $S_{\min}$ ,  $S_{\min}$  是维持稳态菌体需要的最小基质浓度。令  $\theta_x$  为无穷大, 可以用式(6.21)计算出  $S_{\min}$ :

$$S_{\min} = K \frac{b}{\gamma \hat{q} - b} \quad (6.31)$$

如果  $S < S_{\min}$ , 细胞的净生长速率就是负数[式(6.6)], 菌体不会累积, 或者将逐渐消失。因此, 只有在  $S > S_{\min}$  条件下, 才能够维持稳态菌体。  $\theta_x$  很大时,  $S_{\min}$  是生物处理性能的临界值。

(4) 当  $\theta_x > \theta_x^{\min}$ ,  $X_a$  开始增加, 因为  $S^0 - S$  随着  $\theta$  增大而增加。但是, 在恒化器中,  $X_a$  达到最大值, 然后因为在  $\theta_x$  大时, 衰减明显占优势,  $X_a$  降低。如果  $\theta_x$  趋向于无穷大,  $X_a$  则接近 0。

综上所述, 图 6.3 中简单的曲线告诉我们, 把  $\theta_x$  从  $\theta_x^{\min}$  提高到无穷大, 可以将  $S$  从  $S^0$  降低到  $S_{\min}$ 。可以依据基质去除、菌体生产(等于  $QX_a$ ) 和以后将要讨论到的其他一些因素之间的平衡, 来选择  $\theta_x$  的值。在实际工作中, 工程师们常常确定一个微生物安全因子, 定义为  $\theta_x / \theta_x^{\min}$ , 安全因子的基本取值范围为 5 到数百, 这将在第 9 章和其他地方进行讨论。

## 6.4 惰性菌体和挥发性固体的质量平衡

由于一些新生成的微生物不会自氧化, 微生物衰减会导致失活微生物的积累。此外, 废水的进水中常常含有不易降解的挥发性悬浮物, 这些物质很难与失活微生物区分。因此, 我们需要扩展反应器分析, 从而将失活微生物、不可生物降解的或者惰性的挥发性悬浮物考虑进来。

利用图 6.2(b)中带有细胞循环的 CSTR 分析惰性微生物的质量平衡:

$$0 = QX_i^0 - Q^w X_i^w - Q^e X_i^e + (1 - f_d) b X_a V \quad (6.32)$$

式中,  $X_i$  为恒化器中惰性菌体的浓度,  $M_x L^{-3}$ ;  $X_i^0$  为进水中惰性菌体的浓度(或者不可辨别的难挥发悬浮固体),  $M_x L^{-3}$ 。

因此,我们放宽进水中只有基质的初始要求。式(6.32)右侧的最后一项,即活性菌体衰减产生惰性菌体的速率,由式(6.8)计算。将式(6.32)的两侧均除以  $X_i V$ ,且  $X_i V / (Q^e X_i^e + Q^w X_i^w)$  等于  $\theta_x$ ,我们可以得到反应器的  $X_i$  浓度:

$$X_i = \frac{\theta_x}{\theta} X_i^0 + X_a (1 - f_d) b \theta_x \quad (6.33)$$

如果我们将式(6.25)中的  $X_a$  代入式(6.33),可以得到  $X_i$  和基质利用率的关系:

$$X_i = \frac{\theta_x}{\theta} \left[ X_i^0 + \frac{\gamma(S^0 - S)(1 - f_d) b \theta_x}{1 + b \theta_x} \right] \quad (6.34)$$

总生物固体浓度,即挥发性悬浮物( $X_v$ )等于  $X_a + X_i$ ,

$$X_v = \frac{\theta_x}{\theta} \left[ X_i^0 + \frac{\gamma(S^0 - S)(1 + (1 - f_d) b \theta_x)}{1 + b \theta_x} \right] \quad (6.35)$$

式(6.33)和式(6.34)强调了由进水的惰性微生物( $X_i^0$ )和生物  $X_a$  的衰减形成的惰性微生物组成[即  $X_a(1 - f_d)b\theta$ ]。图 6.4 显示,对于最简单的 CSTR,  $\theta_x$  等于  $\theta$ ,  $X_i$  随  $X_i^0$  单调增加,达到最大值  $X_i^0 + \gamma(S^0 - S_{\min})(1 - f_d)$ 。因此,在较大的  $\theta_x$  条件下运行会导致惰性菌体的大量累积。此外,  $X_v$  往往跟随  $X_a$  的趋势,但其不会趋近于 0。当  $X_a$  等于 0 时,  $X_v$  等于  $X_i$ 。

式(6.35)右侧中括号中的第二项表示微生物通过生成和衰减得到的净累积量,它等于净产率( $\gamma_n$ )乘以基质浓度的变化( $S^0 - S$ ),净产率为

$$\gamma_n = \gamma \frac{1 + (1 - f_d) b \theta_x}{1 + b \theta_x} \quad (6.36)$$

如果式(6.36)中  $\gamma_n$  和  $\gamma$  统一单位,就像第 5 章中一样,我们可以得到  $f_s$  和  $f_s^0$  的平行关系:

$$f_s = f_s^0 \frac{1 + (1 - f_d) b \theta_x}{1 + b \theta_x} \quad (6.37)$$

有时,净产率也称为观察产率,用符号  $\gamma_{\text{obs}}$  表示。

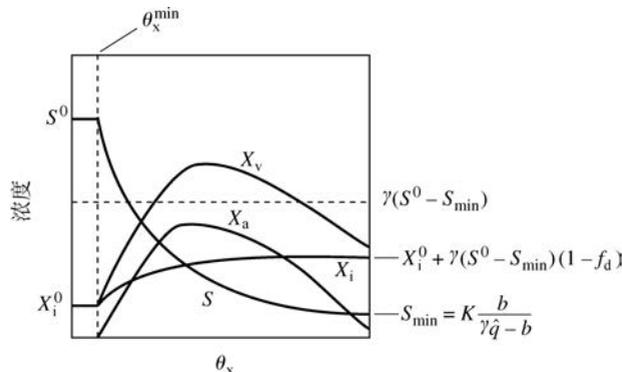


图 6.4 当 CSTR 系统中加入惰性微生物时,  $X_i$ 、 $X_a$  和  $X_v$  随  $\theta_x$  的相对变化

**例 6.3 具有细胞循环的 CSTR 的稳态运行**

一个具有细胞循环的 CSTR 的体积为  $V=500\text{m}^3$ , 进水流量恒定  $Q=1000\text{m}^3/\text{d}$ , 废水中含有有机物质  $S^0=500\text{mg BOD}_L/\text{L}$ 。此外, 还有惰性有机悬浮物  $X_i^0=50\text{mg VSS}/\text{L}$ 。根据已有研究, 我们知道电子供体是限速条件, 且我们有如下动力学和化学计量学参数:

$$\hat{q} = 20\text{g BOD}_L/(\text{g VSS} \cdot \text{d})$$

$$\gamma = 0.42\text{g VSS}/\text{g BOD}_L$$

$$K = 20\text{mg BOD}_L/\text{L}$$

$$b = 0.15\text{d}^{-1}$$

$$f_d = 0.8$$

目的是分析具有细胞循环的 CSTR 的出水特性。

第一, 为了确定系统的  $\theta_x$ , 我们计算  $S_{\min}$ 、 $[\theta_x^{\min}]_{\text{lim}}$  和  $\theta_x^{\min}$  的临界值:

$$S_{\min} = K \frac{b}{\gamma\hat{q} - b} = \frac{20\text{mg BOD}_L}{\text{L}} \frac{0.15/\text{d}}{0.42 \frac{\text{g VSS}}{\text{g BOD}_L} \left(20 \frac{\text{g BOD}_L}{\text{g VSS} \cdot \text{d}}\right) - \frac{0.15}{\text{d}}}$$

$$\approx 0.36\text{mg BOD}_L/\text{L}$$

$$[\theta_x^{\min}]_{\text{lim}} = \frac{1}{\gamma\hat{q} - b} = \frac{1}{0.42 \frac{\text{g VSS}}{\text{g BOD}_L} \left(20 \frac{\text{g BOD}_L}{\text{g VSS} \cdot \text{d}}\right) - 0.15/\text{d}} \approx 0.121\text{d}$$

$$\theta_x^{\min} = \frac{K + S^0}{S^0(\gamma\hat{q} - b) - bK}$$

$$= \frac{(20 + 500)\text{mg BOD}_L/\text{L}}{500 \frac{\text{mg BOD}_L}{\text{L}} \left(0.42 \frac{20}{\text{d}} - \frac{0.15}{\text{d}}\right) - \left(\frac{0.15 \times 20\text{mg BOD}_L}{\text{d} \cdot \text{L}}\right)}$$

$$\approx 0.126\text{d}$$

第二, 我们知道, 如果 SRT 显著大于 0.126d, 基质浓度就会小于  $S^0$ 。我们需要一个足够大的  $\theta_x$  使  $S$  显著低于  $S^0$ , 并保证微生物的稳定生长。接下来我们将检查一下情况是否如此。我们使  $\theta_x$  为临界值的 20 倍:

$$\theta_x = 20[\theta_x^{\min}]_{\text{lim}} = 20 \times 0.121\text{d} \approx 2.42\text{d}$$

第三, 我们估算己酸出水基质浓度:

$$S = K \frac{1 + b\theta_x}{\gamma\hat{q}\theta_x - (1 + b\theta_x)}$$

$$= 20 \frac{\text{mg BOD}_L}{\text{L}} \frac{1 + (0.15/\text{d})(2.42\text{d})}{0.42 \times 20 \times 2.42 - (1 + 0.15 \times 2.42)} \approx 1.44\text{mg}/\text{L}$$

几乎所有的  $S^0$  均被去除, 说明  $\theta_x$  足够大。

第四, 我们确定反应器内活性、惰性和总挥发性固体的浓度:

$$X_a = \frac{\theta_x}{\theta} \cdot \frac{\gamma(S^0 - S)}{1 + b\theta_x}$$

$$= \frac{2.42\text{d}}{500\text{m}^3/1000(\text{m}^3/\text{d})} \cdot \frac{0.42\text{g VSS}}{\text{g BOD}_L} \cdot \left[ \frac{(500 - 1.4)\text{mg BOD}_L}{1 + 0.15\text{d}^{-1} \times 2.42\text{d}} \right]$$

$$\approx 745\text{mg VSS}_a/\text{L}$$

$$X_i = \frac{\theta_x}{\theta} (X_i^0) + X_a (1 - f_d) b \theta_x$$

$$= \frac{2.42}{0.5} \left( \frac{50 \text{mg}}{\text{L}} \right) + 745 \times (1 - 0.8) \times 0.15 \times 2.42 \approx 297 \text{mg/L}$$

$$X_v = X_a + X_i = 745 + 297 = 1042 \text{mg VSS/L}$$

第五,我们计算出水  $X_v$  的浓度和污泥生产效率。式(6.17)将  $\theta_x$  与反应器中  $X_a$  浓度和生产  $X_a$  的质量速率相关,这在稳态条件下等于废有机固体的生产速率。类似的方程可以用于  $X_v$ :

$$\text{生产 } X_v \text{ 的质量速率} = VX_v / \theta_x$$

$$\frac{500 \text{m}^3 \times 1042 \text{mg/L}}{2.4 \text{d}} = \frac{500 \text{m}^3 \times (1042 \times 10^{-6} \text{kg}/10^3 \text{m}^3)}{2.4 \text{d}} = \frac{500 \times 1.042 \text{kg}}{2.4 \text{d}} \approx 217 \text{kg/d}$$

$X_v$  废物生产分流进入出水和剩余污泥。如果生成  $X_v$  的 97% 在沉淀池中沉淀,且生成污泥中  $X_v$  的浓度为 25g/L,那么,

$$Q^w = 0.97 \left( \frac{217 \text{kg}}{\text{d}} \right) \left( \frac{\text{L}}{0.025 \text{kg}} \right) \left( \frac{\text{m}^3}{1000 \text{L}} \right) = 8.42 \text{m}^3/\text{d}$$

$$Q^e = 500 - 8.42 = 492 \text{m}^3/\text{d}$$

$$X_v^e = (1.00 - 0.97) \left( \frac{217 \text{kg}}{\text{d}} \right) \left( \frac{\text{d}}{492 \text{m}^3} \right) \left( \frac{\text{m}^3}{1000 \text{L}} \right) \left( \frac{10^6 \text{mg}}{\text{kg}} \right) = 13 \text{mg/L}$$

我们还想知道废水中活性生物量的浓度,可以通过将出水 VSS 浓度乘以  $X_a$  与反应器中 VSS 浓度的比值得到

$$X_a^e = \frac{745}{1042} \times 13 \approx 9.3 \text{mg/L}$$

这些计算表明,带细胞循环的 CSTR 在将进水  $\text{BOD}_L$  降低到去除 1.44mg/L 的同时,在出水中仍有 13mg/L VSS。出水中一些 VSS 是  $X_a$ ,如果排放到河流本身可能会造成问题,但它也是可生物降解的,会在河流中通过腐烂产生 BOD。出水总 COD 是溶解性 COD 和所有挥发性固体 COD 的总和。

$$\text{总 COD} = \text{溶解性 COD} + (1.42 \text{g COD/g VSS}) X_v = 1.4 + 1.42 \times 13 \approx 20 \text{mg/L}$$

出水总  $\text{BOD}_L$  是可溶性  $\text{BOD}_L$  和活性生物可降解部分的需氧量的总和。

$$\text{总 } \text{BOD}_L = \text{溶解性 } \text{BOD}_L + 1.42 f_d X_a = 1.4 + 1.42 \times 0.8 \times 9.3 \approx 12 \text{mg/L}$$

我们可以看到,反应器的大部分出水 COD 和  $\text{BOD}_L$  来自挥发性悬浮固体。总 COD 和  $\text{BOD}_L$  的计算采用转化率为 1.42g  $\text{BOD}_L$  (或 g COD/g VSS),这是由  $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$  氧化所需的氧气量得到的。

## 6.5 微生物产物

我们对细菌动力学和化学计量学的讨论均涉及了微生物对电子供体的消耗,以及供体转化为能量和生物细胞( $X_a$ )。微生物也会通过衰减产生额外的能量和惰性生物物质( $X_i$ )。然而,其他来自电子供体和细胞转化的产品也可能会影响处理系统,充分满足其预期的处理

能力。潜在的影响是不能达到足够低的 BOD 或 COD, 反应器内无法保留足够的微生物, 或不能充分去除废水中的物质, 如磷。环境工程师和科学家需要很好地了解这些产物是什么, 它们是如何形成的, 以及它们可能会对处理产生什么影响。胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)和可溶性微生物产物(soluble microbial products, SMP)是近年来备受关注的两种基本产物。这些产物的浓度通常以 COD 为单位表示。这些物质将在第 8 章中详细讨论。

## 6.6 输入的活性菌体

无论是设计还是偶然, 一些生物过程会接收到大量的生物质投入, 这些生物质在废水基质的降解中会变得非常活跃(Rittmann, 1996)。这里给出 3 个实例。第一, 当微生物过程是串联操作时, 下游过程通常会从上游过程获得大量的生物量。第二, 微生物可能被排入废水或在水道中生长。第三, 生物强化, 即有意添加微生物以改善工艺某些方面的性能。然而, 对于具有沉淀和循环的 CSTR, 循环流也会将活性微生物带回反应器。但在这种情况下, 其影响不同于我们将首先讨论的普通 CSTR。仅对于单独的 CSTR,  $\theta_x/\theta$  值可以为系统的尺寸和输入提供很好的参考。

对于一个具有活性微生物输入( $X_a^0$ )的 CSTR, 稳态条件下活性微生物的质量平衡为

$$0 = QX_a^0 - QX_a + \frac{\gamma \hat{q} S}{K + S} X_a V - b X_a V \quad (6.38)$$

式(6.38)的解与式(6.21)的解相同, 说明 SRT 式(6.17)的分母被重新定义为每天从系统中提取的净活性生物量。通过数学运算后得到

$$\theta_x = \mu^{-1} = \frac{X_a V}{Q^c X_a^c + Q^w X_a^w - QX_a^0} = \theta \frac{X_a}{X_a - X_a^0} \quad (6.39)$$

$\theta_x$  的分母现在表示活性生物的输出速率( $QX_a$ )减去输入速率( $QX_a^0$ )。将  $V/Q$  转换为  $\theta$ , 并重新排列式(6.39)得

$$\frac{\theta_x}{\theta} = \frac{1}{1 - X_a^0/X_a} \quad (6.40)$$

对于普通的 CSTR,  $\theta_x$  和  $\theta$  是相同的, 但是当加入  $X_a^0$  时,  $\theta_x$  变得大于  $\theta$ 。如果  $X_a^0$  接近  $X_a$ ,  $\theta_x$  会充分地大于  $\theta$ 。甚至有可能如果  $X_a^0$  非常大,  $X_a^0 > X_a$ 。在这种情况下,  $\theta_x$  变为负数, 该过程成为净生物量衰减, 且  $S < S_{\min}$ 。因此, 提供一个非常大的  $X_a^0$  是一种使出水浓度降至  $S_{\min}$  以下的方法。

随着 SRT 定义的改变, 以前的方程大都相似; 例如, 出水基质和活性生物浓度与以前相同[式(6.21)和式(6.25)]:

$$S = K \frac{1 + b\theta_x}{(\gamma \hat{q} - b)\theta_x - 1}$$

$$X_a = \frac{\theta_x \gamma (S^0 - S)}{\theta (1 + b\theta_x)}$$

图 6.5 说明了在稳态运行的简单 CSTR 中,  $X_a^0$  如何影响  $S$  和洗出。在这里,  $S^0$  固定在 100mg/L。在没有活性生物输入( $\theta_x = \theta$ )的情况下, 洗出在  $\theta$  约为 0.6d 发生。然而, 在

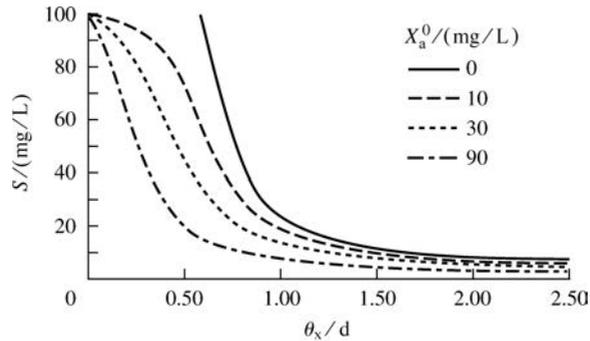


图 6.5 稳态运行的 CSTR 中进水活性菌体和  $\theta_x$  对出水基质浓度的影响。采用的参数为  $\gamma=0.44\text{mg VSS}_a/\text{mg}$ ,  $q=5\text{mg}/(\text{mg VSS}_a \cdot \text{d})$ ,  $K=20\text{mg}/\text{L}$ ,  $b=0.2\text{d}^{-1}$

$\theta_x$  恒定的情况下,随着  $X_a^0$  的增加,完全的洗出将被消除,因为反应器总是包含一些活性生物量。 $\theta$  不变时,增加  $X_a^0$  会导致出水基质浓度变低,这种影响在接近冲蚀时最为显著。

在有细胞循环的 CSTR 中,增加  $X_a^0$  对出水基质浓度或  $X_a$  都没有影响。为什么呢?对于简单的 CSTR,式(6.40)表明  $\theta_x/\theta$  比值不依赖于  $X_a^0/X_a$ ,因为这个比值就是 1。然而,在有沉淀和循环的系统中, $\theta_x/\theta$  比值仍然不依赖于  $X_a^0/X_a$ ,因为  $\theta_x$  和  $\theta$  与我们可以自由选择的其他因素独立相关。在带有循环的系统的设计中,我们通常首先为期望的效率和可靠性选择设计  $\theta_x$ ,而  $\theta$  也会成为我们选择的  $X_a$  值的函数。如果外加的活性微生物与反应器内微生物利用基质的能力相同,那么,添相同量的活性微生物只会通过反应器进入废弃的生物固体流,因此,只要  $\theta_x$  保持不变,去除效率或  $X_a$  浓度就不会改变。注意,利用式(6.39)或式(6.40)计算  $\theta_x$ 。

#### 例 6.4 输入活性菌体

如果系统进水中活性菌体的浓度为  $X_a^0=40\text{mg VSS}_a/\text{L}$ ,重新计算例 6.3 的结果。为了进行计算,式(6.21)、式(6.22)和式(6.40)必须通过迭代求解。计算方法是选择一个  $\theta_x \geq \theta$ ,从式(6.21)计算  $S$ ,从式(6.22)计算  $X_a$ ,从式(6.40)计算  $\theta_x$ ,比较计算结果  $\theta_x$  和初始值  $\theta_x$ 。如果它们不相符,另选一个  $\theta_x$  进行迭代计算。计算结果如下:

$$\theta_x = 2.53\text{d} \quad (\text{没有 } X_a^0, 2.0\text{d 以上取值})$$

$$S = 1.4\text{mg BOD}_L/\text{L} \quad (1.7\text{mg BOD}_L/\text{L 以下取值})$$

$$X_a = 191\text{mg VSS}_a/\text{L} \quad (161\text{mg VSS}_a/\text{L 以上取值})$$

进一步求解式(6.34)和式(6.35),有

$$X_i = 61\text{mg VSS}_i/\text{L} \quad (60\text{mg VSS}_i/\text{L 以上})$$

$$X_v = 252\text{mg VSS}/\text{L} \quad (221\text{mg VSS}/\text{L 以上})$$

因此,当  $\theta_x$  提高 26.5% 时,添加  $40\text{mg VSS}_a/\text{L}$  使  $X_a$  提高  $30\text{mg VSS}_a/\text{L}$ ,  $X_v$  提高  $31\text{mg VSS}_a/\text{L}$ 。提高  $\theta_x$  意味着菌体衰减增加,  $X_a$  增加到小于  $X_a^0$ 。为了像例 6.3 一样维持  $\theta_x$  不变(2d),需要提升废物率。

## 6.7 营养物和电子受体

一个生物反应器必须提供充足的营养物和电子受体,以支持菌体生长和能量产生。营养物是细胞物理结构的基本组成部分,其需要量和菌体的净产生量成正比。形成的活性和惰性微生物含有的营养物列在表 5.2 中。细胞需要的最主要的且在工业废水中常常缺乏的营养物质包括 N 和 P,它们都是合成 DNA、RNA 和蛋白质所需的营养物质。此外,外加电子受体也很重要,其在氧化电子供体或供体转化形成中间产物过程中都是需要的。

营养物和电子受体的需求可以通过第 5 章的化学计量学方程式来确定。式(5.31)和式(5.32)表示消耗基质的电子当量在细胞净合成( $f_s$ )和电子受体消耗( $f_e$ )之间的分配,其中  $f_s + f_e = 1$ 。注意,这个和一般不包括微生物产物的生成;如果要将在微生物产物包括在内,它们将是  $f_s$  的一部分。这将在第 8 章中讨论。

对于我们的反应器模型,营养物消耗的质量速率和生物质生成的净质量速率成正比,如式(6.28)中  $r_{vbp}$  ( $MT^{-1}$ )所示:

$$r_n = -\gamma_n r_{vbp} \quad (6.41)$$

式中,  $\gamma_n$  是微生物营养物 n 的质量与活性微生物和惰性微生物综合的比值,  $M_n M_x^{-1}$ 。

最重要的营养物质是 N 和 P。我们这里用于微生物 VSS 的经验公式中,  $C_5H_7O_2N$  的  $\gamma_N = 14g N/113g VSS = 0.124g N/g VSS$ 。通常情况下,所需的 P 是 N 的 20%,因此  $\gamma_P = 0.025g P/g VSS$ 。

那么,稳态运行的反应器的营养物的总体质量平衡方程为

$$0 = QC_n^0 - QC_n + r_n \quad (6.42)$$

式中,  $C_n^0$  和  $C_n$  分别是进水和出水中营养物浓度 ( $M_n L^{-3}$ ),如果式(6.42)中的  $C_n$  是负值,就必须补充营养物 n。

计算电子受体利用速率的最直接的方法是用要研究的组分的氧当量所表示的电子当量的质量平衡。

$$r_a = QC_a^0 - \gamma_a [Q(S^0 - S) - 1.42r_{vbp}] \quad (6.43)$$

式中,  $r_a$  是受体消耗的质量率,  $M_a T^{-1}$ ;  $C_a^0$  是进水中电子受体的浓度;  $\gamma_a$  是受体质量和需氧量的比值。

受体的系数  $\gamma_a$  的合适的值可以很容易地通过表 5.5 中所列的常见电子受体的电子平衡得到。例如,硝酸盐的电子当量是  $1/5mol$  或  $14g N/5 = 2.8g NO_3^- - N$ ,而氧气的电子当量是  $1/4mol$  或  $32g O_2/4 = 8g O_2$ 。那么,对于硝酸盐-N,  $\gamma_a = 2.8/8 = 0.35g N/g COD$ 。其他潜在电子受体的  $\gamma_a$  的值: Fe(III)为  $6.98g Fe/g COD$ ; 硫酸盐为  $1.5g SO_4/g COD$ ; 甲烷为  $0.25g CH_4/g COD$ ; 氧气为  $1.00g O_2/g COD$ 。

### 例 6.5 营养物和受体的消耗

对于例 6.1 中的 CSTR,我们得到的计算数据如下:

$$S^0 = 500mg BOD_L/L$$

$$X_i^0 = 50mg VSS_i/L$$

$$Q^0 = 1000m^3/d$$

$$\begin{aligned}\theta_x &= 2.42\text{d} \\ S &= 1.44\text{mg BOD}_L/\text{L} \\ X_v &= 1040\text{mg VSS}/\text{L} \\ r_{\text{vbp}} &= 217\text{kg VSS}/\text{d}\end{aligned}$$

在这个好氧系统中,  $\gamma_a = 1.00\text{g O}_2/\text{g COD}$ 。向其中加入一些新的进水基质, 其浓度为:  $50\text{mg NH}_4^+-\text{N}/\text{L}$ ,  $10\text{mg PO}_4^{3-}-\text{P}/\text{L}$  和  $2\text{mg O}_2/\text{L}$ 。

根据式(6.41), N 和 P 的质量消耗率为

$$\begin{aligned}r_N &= -0.124 \frac{\text{g NH}_4^+-\text{N}}{\text{g VSS}} \left( \frac{217\text{kg VSS}}{\text{d}} \right) \approx -26.9\text{kg NH}_4^+-\text{N}/\text{d} \\ r_P &= -0.025 \frac{\text{g PO}_4^{3-}-\text{P}}{\text{g VSS}} \left( \frac{217\text{kg VSS}}{\text{d}} \right) \approx -5.4\text{kg PO}_4^{3-}-\text{P}/\text{d}\end{aligned}$$

通过式(6.42)的质量平衡可以得到出水中 N 和 P 的浓度:

$$\begin{aligned}C_N &= 50 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - \frac{26.9\text{kg}}{\text{d}} \left( \frac{\text{d}}{1000\text{m}^3} \right) \left( \frac{10^6\text{mg}}{\text{kg}} \right) \left( \frac{\text{m}^3}{10^3\text{L}} \right) = 23.1\text{mg NH}_4^+-\text{N}/\text{L} \\ C_P &= 10 \frac{\text{mg}}{\text{L}} - \frac{5.4\text{kg}}{\text{d}} \left( \frac{\text{d}}{1000\text{m}^3} \right) \left( \frac{10^6\text{mg}}{\text{kg}} \right) \left( \frac{\text{m}^3}{10^3\text{L}} \right) = 4.6\text{mg PO}_4^{3-}-\text{P}/\text{L}\end{aligned}$$

以上例子中, 进水中的营养物是充足的, 不需要外加营养物。对于电子受体, 以  $\text{O}_2$  为例, 所要求的质量总供给率为

$$\begin{aligned}r_a &= \left[ 1000 \frac{\text{m}^3}{\text{d}} \left( 2 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) + 1.0 \left[ 1000 \frac{\text{m}^3}{\text{d}} (500 - 1.4) \frac{\text{mg}}{\text{L}} - 1.42 \left( 217 \frac{\text{kg}}{\text{d}} \right) \left( \frac{10^6\text{mg} \cdot \text{m}^3}{10^3\text{L} \cdot \text{kg}} \right) \right] \right] \times \\ &\quad \left( \frac{10^3\text{L} \cdot \text{kg}}{10^6\text{m}^3\text{mg}} \right) \\ &\approx 193\text{kg O}_2/\text{d}\end{aligned}$$

如果用  $r_a$  除以  $Q^0$ , 电子受体供给速率用进水中的浓度表示。这里是  $193\text{g O}_2/\text{m}^3 = 193\text{mg O}_2/\text{L}$ 。显然, 进水中  $2\text{mg}/\text{L}$  的氧浓度不能提供所需的氧气, 因此, 曝气是必要的。

## 6.8 CSTR 总结方程

到目前为止, 在这一章中, 我们得到了一组方程, 描述了可溶性电子供体在具有沉淀和细胞循环的连续流搅拌槽反应器(CSTR)中的利用情况, 还包括有关电子受体和营养物质利用的方程, 以及该情况下生物量的生成和损失。所有的方程都是基于一个分散生长反应器, 其中基质的利用是由 Monod 动力学描述的。通过将  $\theta_x$  设置为  $\theta$ , 这些相同的方程也适用于不带循环的普通 CSTR。表 6.2 包含了相关方程的总结, 参照文中的方程编号可以找到每个方程的发展情况。

本章开发的反应器模型是目前在环境工程和科学领域应用最广泛的。因此, 对该领域的人来说, 很好地理解这些方程是很重要的。第 7 章和第 9 章给出了生物膜反应器、活塞流反应器, 以及由动力学(而非 Monod 动力学)描述的基质消耗的模型。在第 7 章中描述的生物膜反应器被广泛应用, 因此与分散生长反应器同等重要。这两种反应器有明显的相似之处, 也有基本的区别, 因此, 需要很好地理解二者。

表 6.2 稳态 CSTR 的公式总结

定 义	公式编号
水力停留时间, $HRT(T)\theta = \frac{V}{Q^0}$	
固体停留时间, $SRT(T)\theta_x = \frac{X_a V}{X_a^e Q^e + X_a^w Q^w - X_a^0 Q}$	6.39
反应器中活性生物质的损失率 $(T^{-1})b' = \frac{1}{\theta_x} + b$	6.21
浓度 $(ML^{-3})$	
出水基质浓度 $S^e = K \frac{1+b\theta_x}{\hat{\gamma}q\theta_x - (1+b\theta_x)} = K \frac{b'}{\hat{\gamma}q - b'}$	6.21
反应器活性生物质浓度 $X_a = \frac{\theta_x \gamma (S^0 - S^e)}{\theta} \frac{1}{1+b\theta_x} = \frac{\theta_x \gamma (S^0 - S^e)}{\theta} \frac{1}{1+b'\theta_x}$	6.25
反应器总生物质浓度 $X_v = \frac{\theta_x}{\theta} \left[ \frac{\gamma (S^0 - S^e) (1 + (1 - f_d) b \theta_x)}{1 + b\theta_x} \right]$	6.35
边界值	
基质浓度边界值 $(ML^{-3}) S_{\min} = K \frac{b}{\hat{\gamma}q - b} = K \frac{b}{\hat{\mu} - b}$	6.6
当 $S = S^0(T)$ 时, 生物洗出 $SRT(T)\theta_x^{\min} = \frac{K + S^0}{S^0 (\hat{\gamma}q - b) - bK}$	6.29
当 $S \rightarrow \infty(T)$ 时, SRT 的边界值 $[\theta_x^{\min}]_{\lim} = \frac{1}{\hat{\gamma}q - b}$	6.30
反应的质量速率 $(MT^{-3})$	
基质利用速率 $r_{ut} = -Q(S^0 - S) = -\frac{\hat{q}S}{K + S} X_a V$	6.1 6.24
电子受体利用速率 $r_a = -QC_a^0 + \gamma_a [Q(S^0 - S) - 1.42r_{vbp}]$	6.43
反应器内活性生物质的形成和损失速率 $r_{abp} = Q^e X_a^e + Q^w X_a^w = \frac{X_a V}{\theta_x}$	6.26 6.27
反应器内活性生物和非活性生物质的形成和损失速率 $r_{vbp} = \frac{X_v V}{\theta_x}$	6.28
营养物的利用速率 $r_n = -\gamma_n r_{vbp}$	6.41

## 6.9 颗粒物和多聚物的水解

处理含颗粒物或以多聚物形式出现的有机物是环境生物技术的重要应用。例如,典型污水中超过一半的 BOD 由悬浮固体组成,消化污泥由 100% 的颗粒 BOD 组成。在细菌能够进行以有机物分解代谢为特性的氧化反应之前,颗粒物和大的多聚物必须先水解,形成可以通过细胞膜的小分子,胞外酶可以催化这些水解反应。

尽管在许多情况下水解反应非常重要,但对水解反应的研究还不完全。描述水解反应动力学的最佳表达式还没有确定。部分原因是水解酶和活性菌体之间没有对应关系,或者

说没有比例关系。确切地说,还不知道水解酶的水平如何控制,并且其测定方法也比较复杂,与环境生物技术相关的系统还不能经常测试。

一个简单的、比较合理的描述颗粒物(大的多聚物)水解反应动力学的一级反应关系式为

$$r_{\text{hyd}} = -k_{\text{hyd}} S_p V \quad (6.44)$$

式中,  $r_{\text{hyd}}$  为水解引起的颗粒物的累积速率,  $M_s L^{-3} T^{-1}$ ;  $S_p$  为颗粒物(或大分子多聚物)的浓度,  $M_s L^{-3}$ ;  $k_{\text{hyd}}$  为一级水解速率常数,  $T^{-1}$ 。

原则上,  $k_{\text{hyd}}$  和水解酶的浓度以及酶的固有水解特性成正比。有些研究者将活性菌体浓度作为  $k_{\text{hyd}}$  的一部分[如  $k_{\text{hyd}} = k'_{\text{hyd}} X_a$ , 其中  $k'_{\text{hyd}}$  是比水解速率系数 ( $L^3 M_x^{-1} T^{-1}$ ) ]。应用  $k'_{\text{hyd}} X_a$  的优势在于没有菌体时, 水解速率自动降为零。另外, 它还意味着胞外酶和菌体量呈线性关系, 但这种论点还未得到证明。

式(6.44)用于水解速率时, 对于恒化器中颗粒物的稳态质量平衡式为

$$0 = QS_p^0 - (Q^e S_p^e + Q^w S_p^w) - k_{\text{hyd}} S_p V \quad (6.45)$$

式中,  $S_p^0$  为颗粒物的出水浓度,  $M_s L^{-3}$ 。求解式(6.45)可以得到

$$S_p = \frac{\theta_x}{\theta} \left( \frac{S_p^0}{1 + k_{\text{hyd}} \theta_x} \right) \quad (6.46)$$

颗粒物解体的结果是形成溶解性物质或者  $BOD_L$ 。两种基质形式具有相同的质量测定方法(通常以需氧量表示)时, 溶解性物质的形成速率简化为  $k_{\text{hyd}} S_p$ 。因此, 溶解性物质的稳态质量平衡式为

$$0 = Q(S^0 - S) - \frac{\hat{q}S}{K + S} X_a V + k_{\text{hyd}} S_p V \quad (6.47)$$

因为式(6.47)给出了水解物质其他来源,  $S^0$  随着  $k_{\text{hyd}} S_p V$  而增加, 因此累积的生物量将增加。

颗粒物中其他的组分在水解过程中保持质量守恒。较好的例子就是营养物 N、P 和 S。这些溶解性营养物的形成速率是

$$r_{\text{hydn}} = \gamma_n k_{\text{hyd}} S_p V \quad (6.48)$$

式中,  $r_{\text{hydn}}$  为水解导致的溶解性营养元素 n 的累积速率,  $M_n T^{-1}$ ;  $\gamma_n$  为颗粒物中的营养物 n 的化学计量比值 ( $M_n M_s^{-1}$ )。

### 例 6.6 水解效应

例 6.3 给出了进水为 500mg  $BOD_L/L$ , SRT 为 2.42d, HRT 为 0.5d 的 CSTR:

$$S = 1.44 \text{mg } BOD_L/L$$

$$X_a = 745 \text{mg VSS}_a/L$$

$$X_v = 1042 \text{mg VSS}/L$$

我们考虑进水仍然含有 100mg  $COD/L$  的颗粒有机物, 水解速率常数为  $k_{\text{hyd}} = 0.2 d^{-1}$ 。通过如下几步计算来预测新的出水水质:

(1) 用式(6.46)计算  $S_p$ :

$$S_p = \frac{2.42d}{0.5d} \left[ \frac{100 \text{mg } COD/L}{1 + (0.2d^{-1})(2.42d)} \right] \approx 326 \text{mg}/L$$

(2) 进水剩余的  $S_p^0$  即为  $\frac{0.5}{2.42} \times 326 \approx 67 \text{mg}/L$

(3) 出水和反应器内的微生物浓度如例 6.3 中计算,但是现在  $S^0$  是:

$$S^0 = 500\text{mg/L} + (100 - 67)\text{mg/L} = 533\text{mg BOD}_L/\text{L}$$

这导致了微生物量的增加:

$$X_a = \frac{2.42\text{d}}{0.5\text{d}} \left[ \frac{0.42\text{g VSS}_a}{\text{g BOD}_L} \right] \left[ \frac{(533 - 1.44)\text{mg BOD}_L}{\text{L}} \right] \left[ \frac{1}{1 + 0.15 \times 2.42} \right] \approx 793\text{mg VSS}_a/\text{L}$$

$$X_i = \frac{2.42\text{d}}{0.5\text{d}} \left[ \frac{50\text{mg VSS}}{\text{L}} \right] + 793 \left[ \frac{\text{mg VSS}}{\text{L}} \right] (1 - 0.8)(0.15/\text{d})(2.42\text{d}) \approx 300\text{mg VSS}_i/\text{L}$$

$$X_v = X_a + X_i = 793 + 300 = 1093\text{mg VSS}/\text{L}$$

那么,随着颗粒物的 COD 水解形成溶解性 COD,活性微生物的量增加。VSS 的量也随着剩余可生物降解的颗粒 COD 而增加。

## 6.10 抑制作用

基质的利用速率和微生物的生长速率可能因为出现抑制性化合物而变得缓慢。抑制剂可能是重金属、杀虫剂、抗生素、芳香烃和氯代溶剂。有时将这些物质称为有毒物质,它们的抑制作用称为毒性。这里使用术语抑制剂和抑制作用,因为它们是影响代谢速率的几种不同现象中的一种。

抑制剂的可能范围以及它们对微生物的不同影响,使抑制作用成为一个含糊不清的问题。在有些情况下,抑制剂影响利用基质的某种酶的活性。这时,基质的利用变缓。在另一些情况下,抑制剂影响一些更普通的细胞功能,比如呼吸作用,然后,产生一些间接效应,如降低菌体的量,可能使某种物质的利用速率变缓。最后,一些反应随抑制剂而增加,因为细胞在补偿抑制作用引起的不良影响。

图 6.6 表示了抑制剂作用于初级电子和能量流的关键位置。在电子供体基质的初级氧化反应中可能发生特殊降解酶的抑制作用,直接影响是减慢降解速率。另外,电子流减少可能导致生物量损失,或者使其他需要电子( $\text{ICH}_2$ )或能量(如 ATP)的反应速度减缓。

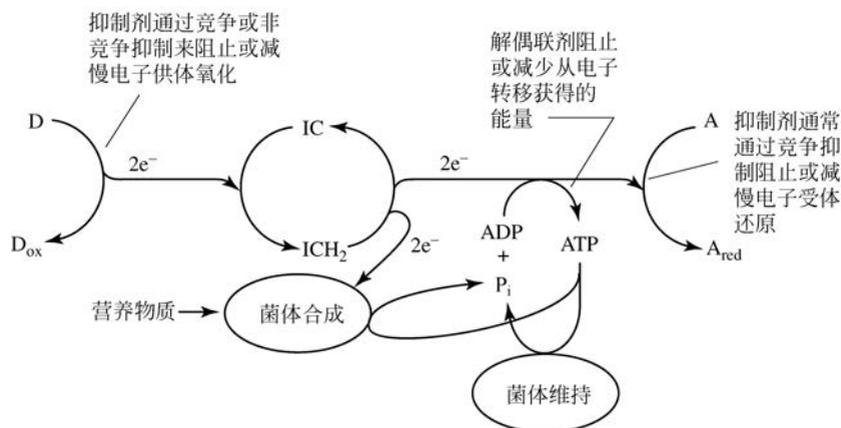


图 6.6 抑制作用影响初级电子和能量流示意图

D 为电子供体; A 为电子受体; IC 为细胞内电子载体,如 NAD

(资料来源: Rittmann and Saez, 1993)

在电子传递链的另一端,受体反应的抑制阻止电子流动和能量产生,因此导致生物量损失。有趣的是,受体反应的抑制会引起还原型电子载体(ICH<sub>2</sub>)的累积,提高需要还原型电子载体作为辅助基质的反应速率(Wernn and Rittmann,1995)。解偶联剂可以减少或消除能量产生,甚至影响电子从供体到受体的流动。解偶联作用可以抑制细胞生长和其他需要能量的反应。有些情况下,解偶联抑制作用会增加单位生物量的受体利用,因为细胞试图通过传递更多的电子给受体来补偿低的能量产率。

抑制物是如何影响生长和基质利用的动力学原理,可以用有效动力学参数简洁地表示。基质利用和生长动力学的表达式与前述的一样[如式(6.1)和式(6.5)],但是,有效动力学参数取决于抑制物的浓度。用有效动力学参数可以将式(6.1)和式(6.5)表示为

$$r_{\text{ut,eff}} = -\frac{\hat{q}_{\text{eff}}S}{K_{\text{eff}} + S}X_aV \quad (6.49)$$

$$\mu_{\text{eff}} = \gamma_{\text{eff}}\left(\frac{-r_{\text{ut,eff}}}{X_aV}\right) - b_{\text{eff}} \quad (6.50)$$

抑制剂如何控制 $\hat{q}_{\text{eff}}$ 、 $K_{\text{eff}}$ 、 $\gamma_{\text{eff}}$ 和 $b_{\text{eff}}$ ,这取决于抑制现象发生的位置和方式。这里回顾一下最常见的抑制作用的形式及其有效参数。更多的细节可以参见 Rittmann 和 Saez (1993)。

芳香烃和氯代溶剂抑制作用的一般类型是自身抑制,也称作 Haldane 或者 Andrews 动力学。在这种情况下,酶催化的基质降解被高浓度的基质自身抑制而减慢。还不清楚自身抑制是直接对分解酶作用,还是在初级电子供体反应后间接地阻断电子流或者能量流。无论在哪一种情况下,自身抑制的有效参数均为

$$\hat{q}_{\text{eff}} = \frac{\hat{q}}{1 + S/K_{\text{IS}}} \quad (6.51)$$

$$K_{\text{eff}} = \frac{K}{1 + S/K_{\text{IS}}} \quad (6.52)$$

式中, $K_{\text{IS}}$ 为自身抑制基质的抑制浓度( $\text{M}_s\text{L}^{-3}$ )。式(6.50)中 $\gamma_{\text{eff}}$ 和 $b_{\text{eff}}$ 不受影响,仍为 $\gamma$ 和 $b$ 。

图 6.7 包括 2 个基质自身抑制对反应动力学的影响的示意图。左图表示了反应速率( $-r_{\text{ut}}$ )随基质浓度的变化情况。在基质浓度较低时,反应速率随浓度提高而提高。但是,

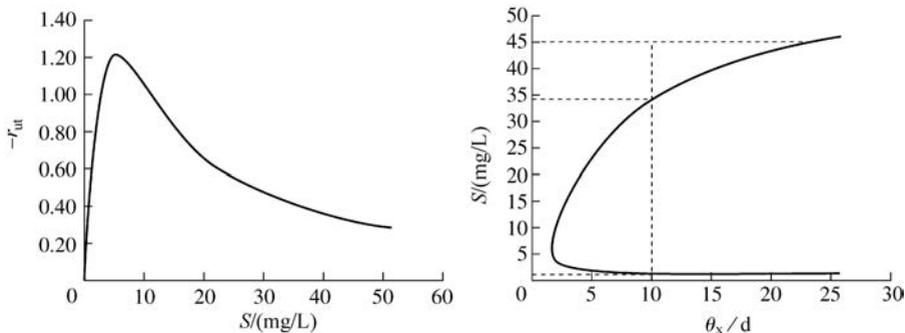


图 6.7 Haldane 动力学,反应速率和  $S$  之间的关系以及  $S$  和  $\theta_x$  之间的关系。以邻氯酚为例,

$$K = 20\text{mg/L}, K_{\text{IS}} = 1.5\text{mg/L}, \hat{q} = 10\text{mg}/(\text{mg VSS}_a \cdot \text{d}), \gamma = 0.6\text{g VSS}_a/\text{g}, b = 0.15\text{d}^{-1}, X_a = 1\text{mg VSS}/\text{L}.$$

达到最大反应速率之后,更高的浓度就会产生抑制,引起反应速率下降。在 CSTR 的质量平衡式中,以 Haldane 反应速率模型取代 Monod 关系式,图 6.7 的右图表示了  $\theta_x$  对出水基质浓度的影响。此图表明,当  $\theta_x$  大于 2d 时,就会有 2 个 S 值对应于它。哪一个值是正确的?答案取决于反应器是如何达到稳态的。

为了探究达到稳态的方式,首先,假设进水浓度为 45mg/L,反应器在  $\theta_x = 10d$  条件下运行,图中以虚线表示。在这种条件下,进水浓度对微生物有相当大的抑制作用。如果先给反应器充满未经处理的废水,再接种微生物,然后在该条件下运行反应器,因为此时生物的比增长速率低于  $0.1d^{-1}(=1/\theta_x)$ ,反应器运行将会失败。但是,如果先稀释进水,使反应器中污水浓度为 33mg/L,则比增长速率大于  $0.1d^{-1}$ ,细菌繁殖的速度会大于从反应器中排出的速度。反应器内生物量会不断增长,S 值会不断降低,直到微生物的量和基质浓度(基质浓度为 1mg/L)达到其稳态浓度。因此,图 6.7 的数值不仅给出了一个运行良好的反应器的稳态浓度,还给出了超过反应器运行能力的基质浓度的上限。

还有一种抑制类型是竞争性(competitive)抑制,一种抑制剂的浓度是  $I(M_T L^{-3})$ 。竞争性抑制剂与降解酶的催化位点结合,因此,在某种程度上,不能与酶结合的基质与已结合的抑制剂成比例。在竞争性抑制作用中,受抑制剂  $I$  影响的惟一参数为  $K_{eff}$ :

$$K_{eff} = K \left( 1 + \frac{1}{K_1} \right) \quad (6.53)$$

式中, $K_1$  为竞争性抑制剂的抑制浓度, $M_T L^{-3}$ ,值越小,表明抑制作用越强。因为  $q_{eff}$  仍然等于  $\hat{q}$ ,由竞争性抑制剂引起的反应速率下降可以通过提高基质浓度得到完全补偿。竞争性抑制剂通常是基质的类似物。

环境工程技术中有趣的竞争性抑制作用的例子是以甲烷为基质的微生物对三氯乙烯(co-metabolism of trichloroethene, TCE)的共代谢。这里,甲烷利用的第一步是通过单加氧酶(methane monooxygenase, MMO)氧化为甲醇,单加氧酶将一个连接在甲烷 C 原子上的 H 原子置换为一个 -OH 基团。对 TCE,MMO 将 O 原子加到 2 个 C 原子之间,形成环氧化物。关键因素是甲烷和 TCE 竞争同一个酶。TCE 的出现影响甲烷的消耗速率。反过来,甲烷的出现也影响 TCE 与 MMO 之间的反应,如图 6.8 所示。与没有竞争抑制的 Monod 模型相比,20mg/L TCE 极大地降低了甲烷的利用速率。同样,随着甲烷浓度增加,TCE 的利用速率也大幅度降低。TCE 的反应速率表达式与甲烷的表达式相同,只需要将基质和抑制剂对换。

第三种抑制类型是非竞争性(noncompetitive)抑制。非竞争性抑制剂和降解酶的结合位点与基质的结合位点不同(也许与辅酶结合),改变了酶的构象,使基质的利用速率降低。受影响的参数是  $\hat{q}_{eff}$ :

$$\hat{q}_{eff} = \frac{\hat{q}}{1 + I/K_1} \quad (6.54)$$

非竞争性抑制剂存在时,S 浓度高也不能消除其抑制作用,因为最大利用速率低于纯基质条件。这种现象有时称为变构抑制,并且,变构抑制剂不需要与基质在结构上相似。

图 6.9 表示了与 Monod 模型比较,竞争性和非竞争性抑制剂对于反应速率的不同影响。假设  $I$ 、 $K$  和  $K_1$  数值相同,都是 1mg/L,使  $(1 + I/K_1) = 2$ 。对于竞争性抑制剂,首先影响  $K$  值,抑制剂使有效的  $K$  值增长(图中间的水平线所示,从 1 到 2)如果基质浓度(S)足

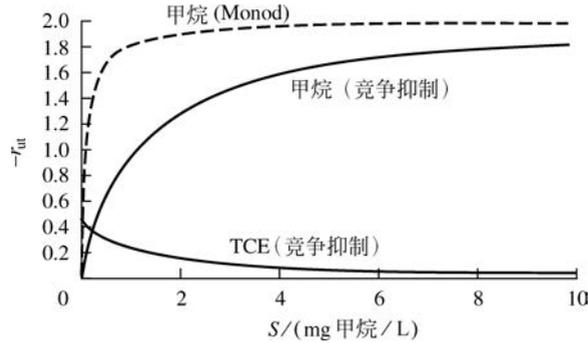


图 6.8 受竞争性抑制动力学控制的甲烷和 TCE 的反应速率。为了比较,同时给出了无抑制情况下甲烷的氧化速率,  $X_a = 1 \text{ mg VSS}_a/\text{L}$ ,  $\hat{q}(\text{甲烷}) = 2 \text{ mg}/(\text{mg VSS}_a \cdot \text{d})$ ,  $K(\text{甲烷}) = 0.1 \text{ mg/L}$ ,  $\hat{q}(\text{TCE}) = 0.5 \text{ mg}/(\text{mg VSS}_a \cdot \text{d})$ ,  $K_1(\text{TCE}) = 2 \text{ mg/L}$ ,  $I(\text{TCE}) = 20 \text{ mg/L}$ 。

够高,反应速率可以接近  $q$ 。对于非竞争性抑制剂,影响  $\hat{q}$ ,随着抑制剂浓度提高, $\hat{q}$  值下降(图上面的和中间的水平线所示,从 2 降到 1)。K 值,即 1/2 最大反应速率时的基质浓度,实际上保持不变(图中的垂线所示,为 1)。加入抑制剂之后,通过确定 Monod 反应的哪一个系数发生变化,可以确定抑制剂的作用方式是竞争性的,还是非竞争性的。

在有些情况下,竞争性抑制和非竞争性抑制的影响同时存在。这种情况称为反竞争抑制。 $\hat{q}_{\text{eff}}$  和  $K_{\text{eff}}$  这 2 个有效参数都发生变化,并且与独自存在条件下的变化相同:

$$\hat{q}_{\text{eff}} = \frac{\hat{q}}{1 + I/K_1} \quad (6.55)$$

$$K_{\text{eff}} = K(1 + I/K_1) \quad (6.56)$$

混合抑制是反竞争抑制的一种更常见的形式,在式(6.55)和式(6.56)中, $K_1$  取值不同。最后一种抑制形式称为解偶联作用。解偶联抑制剂,如芳香烃,通常使质子透过细胞原生质膜的能力增强。因此,通过细胞膜的质子驱动力降低,ATP 合成不再与呼吸链的电子传递并行。有时,解偶联也称为质子载体。 $\gamma_{\text{eff}}$  的降低和  $b_{\text{eff}}$  的提高可以模拟解偶联抑制作用的影响:

$$\gamma_{\text{eff}} = \frac{\gamma}{1 + I/K_1} \quad (6.57)$$

$$b_{\text{eff}} = b(1 + I/K_1) \quad (6.58)$$

其他参数没有必要改变。解偶联作用有趣的一个方面是电子流向初级受体的速率提高,并且单位活性菌体增加。稳态条件下的数学表达式如下:

$$r_{A,\text{eff}} = \frac{\hat{q}_{\text{eff}} S}{k_{\text{eff}} + S} \left[ 1 - \gamma_{\text{eff}} \left( 1 - \frac{f_d b_{\text{eff}} \theta_x}{1 + b_{\text{eff}} \theta_x} \right) \right] \quad (6.59)$$

式中, $r_{A,\text{eff}}$  为受体的比电子流动速率,  $\text{M}_s \text{M}_x^{-1} \text{T}^{-1}$ , 并且所有的质量单位都与电子当量成比例(如 COD)。

式(6.59)对所有形式的抑制作用都适用,并且可以说明自身抑制、竞争性抑制、非竞争性抑制和反竞争性抑制是如何降低  $r_{A,\text{eff}}$  的。然而,当解偶联作用增加  $b_{\text{eff}}$  或者降低  $\gamma_{\text{eff}}$  时,  $r_{A,\text{eff}}$  将提高。

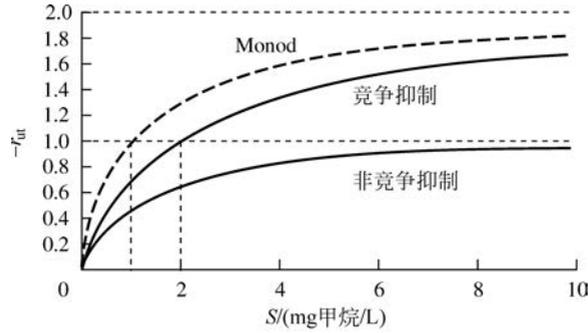


图 6.9 竞争性抑制剂和非竞争性抑制剂对反应动力学的作用( $K = 1\text{mg/L}$ ,  $K_i = 1\text{mg/L}$ ,  $X_a = 1\text{mg VSS}_3/\text{L}$ ,  $\hat{q} = 2\text{mg}/(\text{mg VSS}_3 \cdot \text{d})$ ,  $I = 1\text{mg/L}$ )

有时,反应产物可以产生抑制作用。产物抑制的一个经典事例出现在乙醇发酵中,乙醇是糖类发酵产生的最终产物。在葡萄酒生产中,糖类发酵在乙醇浓度达到 10%~13%时中止,因为此时乙醇的浓度对酵母菌产生毒性,使发酵停止。这就是为什么葡萄酒中乙醇含量通常是 10%~13%。然而,一些对乙醇具有更强耐受性的酵母现在可以使乙醇浓度达到 15%。

## 6.11 其他形式的速率表达式

如式(6.1)和式(6.3)所示,微生物生长和基质利用的 Monod 模型,是动力学分析和反应器设计中应用最广泛的模型。但是在有些特殊情况下,也应用其他模型。前面总结了抑制作用的几种模型。这一节将讨论不存在抑制作用情况下的其他几种模型。

Contois 模型是一个常见的模型,其表达式为

$$r_{ut} = -\frac{\hat{q}S}{BX_a + S}X_aV \quad (6.60)$$

式中, $B$  是常数, $M_S M_X^{-1}$ 。Contois 方程表示了比反应速率与活性生物浓度的关系。生物浓度高,比反应速率下降,对于  $S$ (不是  $X_a$ ),近似于一级反应:

$$-r_{ut} = \frac{\hat{q}}{B}SV \quad X_a \rightarrow \infty \quad (6.61)$$

对于描述初级处理和废活性污泥中悬浮的颗粒有机物的水解速率,Contois 方程非常有用(Henze et al., 1995)。前面已经提到,可生物降解的污泥颗粒,其水解速率遵循一级动力学模型。比较式(6.44)和式(6.61)可以看出,即使微生物的浓度很低,水解速率和微生物的浓度也几乎无关。这主要是因为催化水解反应进行的是胞外酶,而不是细菌。对于水解反应,典型的  $\hat{q}/B$  的比值为  $1 \sim 3\text{d}^{-1}$ 。

另外的两个方程是 Moser 方程和 Tessier 方程,如式(6.62)和式(6.63)所示:

$$r_{ut} = -\frac{\hat{q}S}{K + S^{-\gamma}}X_aV \quad (6.62)$$

$$r_{ut} = -\hat{q}(1 - e^{S/K})X_aV \quad (6.63)$$

式中,  $\gamma$  为常数, 没有单位。与 Contois 方程一样, 当  $-\gamma=1$  (对于 Contois 方程,  $BX_a=K$ ) 时, Moser 方程可以转化为 Monod 方程。但是, Tessier 方程完全不同, 如图 6.10 所示。当在两个方程中采用相同的  $K$  和  $\hat{q}$  时, 在  $S$  接近 0 时, 产生相似的响应, 但是, Tessier 方程比 Monod 方程更快地达到最大反应速率。

当存在一种以上的速率限制基质(称为双重限制)时, 采用另一种速率表达式。最常用的方法是采用多元 Monod 方程, 如式(6.64)所示:

$$r_{ut} = -\hat{q} \left( \frac{S}{K+S} \right) \left( \frac{A}{K_A+A} \right) X_a V \quad (6.64)$$

式中,  $A$  为第二种基质的浓度,  $M_A L^{-3}$ ;  $K_A$  为第二种基质的半最大速率常数,  $M_A L^{-3}$ 。

大多数情况下, 第二种基质是电子受体, 因此, 用符号  $A$  表示。Bae 和 Rittmann(1996) 通过基础生化研究表明, 多元 Monod 方程可以准确地表示电子供体和电子受体的双重限制。式(6.64)的重要特征是, 无论是基质  $S$  还是  $A$ , 当其浓度低于饱和浓度, 或者呈零级反应时, 反应速率将会以 Monod 方程描述的形式降低。当两种基质浓度都低于饱和浓度时, 反应速率的降低可以用两部分 Monod 方程形式的乘积来表示, 变得非常小。例如, 如果  $S=0.1K$ , 并且  $A=0.1K_A$ ,  $r_{ut}$  只是  $\hat{q}X_a$  的 1%。

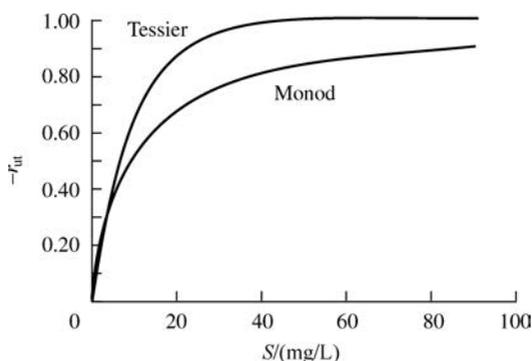


图 6.10 Monod 方程和 Tessier 方程中反应速率与  $S$  之间的关系

## 参考文献

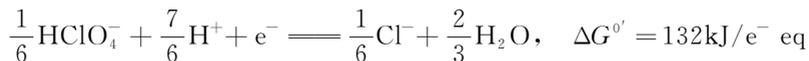
- Andrews, J. F. (1968). "11 A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates." *Biotechnol. Bioengr.* 10, pp. 707-723.
- Bae, W.; and B. E. Rittmann (1996). "Responses of intracellular cofactors to single and dual substrate limitations." *Biotechnol. Bioengr.* 49, pp. 690-699.
- Gujer, W.; M. Henze; T. Mino; and M. van Loosdrecht (1999). "Activated sludge model no. 3." *Water Sd. Technol.* 39(1), pp. 183-193.
- Herbert, D. (1960). 11. "A theoretical analysis of continuous culture systems." *Soc. Chem. Ind. Monograph.* 12, pp. 21-53.
- Lawrence, A. W.; and P. L. McCarty (1970). "A unified basis for biological treatment design and operation." *Sanitary Engr.* 96(SAE), pp. 757-778.
- McCarty, P. L. (1971). "Energetics and bacterial growth." In S. D. Faust and J. V. Hunter, Eds. *Organic Compounds in Aquatic Environments*. New York: Marcel Dekker, chap. 21, pp. 495-531.

- McCarty, P. L. (1975). "Stoichiometry of biological reactions." *Prog. Water Technol.* 7, pp. 157-172.
- Min, H. ; and Zinder, S. H. (1989). "Kinetics of acetate utilization by two thermophilic acetotrophic methanogens: *Methanosarcina* sp. strain CALS-1 and *Methanotherix* sp. strain CALS-1." *Appl. Environ. Microb.* 55, pp. 488-491.
- Monad, J. (1949). "The growth of bacterial cultures." *Ann. Rev. Microbial.* 3, pp. 371-394.
- Rittmann, B. E. (1996). "How input active biomass affects the sludge age and process stability." *J. Environ. Engr.* 122, pp. 4-8.
- Rittmann, B. E. ; and P. B. SAez (1993). "Modeling biological processes involved in degradation of hazardous organic substrates." In J. M. Levin and M. Gealt, Eds. *Biotreatment of Industrial and Hazardous Wastes*. New York: McGraw-Hill, pp. 113-136.
- Shin, C. ; P. L. McCarty; and J. Bae (2012). "Lower operational limits to volatile fatty acid degradation with dilute wastewaters in an anaerobic fluidized bed reactor." *Biores. Technol.* 109, pp. 13-20.
- van Bodegom, P. (2007). "Microbial maintenance: a critical review on its quantification." *Microbial Ecol.* 53, pp. 513-523.
- Wrenn, B. A. ; and B. E. Rittmann (1995). "Evaluation of a model for the effects of substrate interactions on the kinetics of reductive dehalogenation." *Biodegradation.* 7, pp. 49-64.

## 习 题

**6.1** 利用具有细胞循环的好氧 CSTR 处理废水。已知  $K = 50\text{mg/L}$ ,  $\hat{q} = 5\text{g}/(\text{g VSS} \cdot \text{d})$ ,  $b = 0.06\text{d}^{-1}$ ,  $\gamma = 0.06\text{g VSS}_a/\text{g}$ ,  $S^0 = 220\text{mg/L}$ , 求  $\theta_x^{\min}$ 、 $[\theta_x^{\min}]_{\lim}$  和  $S_{\min}$ 。

**6.2** 在对被高氯酸钾污染的水进行生物处理时,发现高氯酸盐( $\text{HClO}_4^-$ )在水中的吉布斯自由能为  $-8.5\text{kJ/mol}$ ,可以在生物处理中作为电子受体,如乙酸作为电子供体时。高氯酸盐还原的半反应为



因此,用高氯酸盐对乙酸进行生物氧化可以去除水中的高氯酸盐,只留下氯化物作为残留。没有关于高氯酸盐生物氧化乙酸的动力学信息的情况下,请估计一些基本反应动力学参数的值。考虑两种情况:能量转移效率是保守的 40% 和更常用的 60%。对于每个效率值,估计  $\gamma(\text{g VSS}/\text{g BOD}_L)$ 、 $\hat{q}[\text{g BOD}_L/(\text{g VSS} \cdot \text{d})]$ 、 $b(\text{d}^{-1})$ 、 $[\theta_x^{\min}]_{\lim}$  和  $\theta_x$  的设计值,假设安全系数为 5d。

**6.3** 假设一个恒化器的停留时间为 2h,已知如下生长常数:  $\hat{q} = 48\text{g}/(\text{g VSS}_a \cdot \text{d})$ ,  $\gamma = 0.5\text{g VSS}_a/\text{g}$ ,  $K = 100\text{mg/L}$ ,  $b = 0.1\text{d}^{-1}$ ,  $f_d = 1.0$ 。

(a) 当进水基质浓度( $S^0$ )分别为 10 000、1000 和 100mg/L 时,基质的稳态浓度( $S$ )是多少?

(b) 每个  $S^0$  的稳态细胞浓度( $X_a$ )是多少?

(c) 每个  $S^0$  最少停留多长时间才会发生洗出? 洗出的停留时间边界值是多少?

**6.4** 一个工厂有一个两级污水处理厂。第一级是一个  $\theta_x = 1\text{d}$  的恒化器。第二级是一个泻湖,可以近似为 CSTR,停留时间为 10d。动力学参数为

$$\gamma = 0.7\text{g VSS}_a/\text{g BOD}_L$$

$$\hat{q} = 18 \text{g BOD}_L / (\text{g VSS} \cdot \text{d})$$

$$K = 10 \text{mg BOD}_L / \text{L}$$

$$b = 0.25 \text{d}^{-1}$$

总的流速为  $3785 \text{m}^3 / \text{d}$ ,  $S^0 = 1000 \text{mg BOD}_L / \text{L}$ 。

如果  $X_v^0 = 40 \text{mg} / \text{L}$ ,  $X_a^0 = 0$ , 所有进入的 COD 和 VSS 均为可生物降解的, 请估计整个系统的出水性质(COD、 $\text{BOD}_L$ 、VSS)。计算所需的 N 和 P, 答案用毫克每升水流表示。

**6.5** 基质利用的动力学有时候采用 Eckenfelder 关系估计,  $-r_{\text{ut}} = k' X_a S$ 。利用 Eckenfelder 关系求解 CSTR 中 S 和  $X_a$  的值。

**6.6** 某工厂用曝气泻湖处理其废水。废水的特性如下:

$$Q = 104 \text{m}^3 / \text{d}$$

$$S^0 = 200 \text{mg BOD}_L / \text{L}$$

$$X_a^0 = 0$$

$$X_i^0 = 30 \text{mg VSS}_i / \text{L}$$

泻湖具有充分的曝气, 总容积为  $4 \times 10^4 \text{m}^3$ 。示踪剂研究表明, 泻湖可描述为两个 CSTR 串联。因此, 假设泻湖被分成两个串联的 CSTR。计算从两个 CSTR 流出的 S、 $X_a$  和  $X_i$ 。使用以下参数:

$$\hat{q} = 5 \text{mg BOD}_L / (\text{mg VSS}_a \cdot \text{d})$$

$$K = 350 \text{mg BOD}_L / \text{L}$$

$$b = 0.2 \text{d}^{-1}$$

$$\gamma = 0.40 \text{mg VSS}_a / \text{mg BOD}_L$$

$$f_d = 0.8$$

**6.7** 计算稳态 CSTR 的出水 COD 和  $\text{BOD}_L$ , 已知

$$\theta = 1 \text{d}$$

$$S^0 = 1000 \text{mg} / \text{L BOD}_L$$

$$X_a^0 = X_i^0 = 0$$

$$\hat{q} = 10 \text{mg BOD}_L / (\text{mg VSS}_a \cdot \text{d})$$

$$K = 10 \text{mg BOD}_L / \text{L}$$

$$b = 0.1 \text{d}^{-1}$$

$$\gamma = 0.5 \text{g VSS}_a / \text{g BOD}_L$$

$$f_d = 0.8$$

COD 和  $\text{BOD}_L$  的去除率是多少? 考虑所有种类的出水 COD 和  $\text{BOD}_L$ 。

**6.8** 已知如下参数, 计算具有固体沉淀和循环的 CSTR 的水力停留时间( $\theta$ ):

$$\gamma = 0.6 \text{g VSS}_a / \text{g BOD}_L$$

$$\hat{q} = 20 \text{g BOD}_L / (\text{g VSS}_a \cdot \text{d})$$

$$K = 20 \text{mg BOD}_L / \text{L}$$

$$b = 0.25 \text{d}^{-1}$$

$$f_d = 0.8$$

$$S^0 = 10\,000 \text{ mg BOD}_L/\text{L}$$

$$X_v = 4000 \text{ mg/L}$$

$$X_v^0 = 0$$

$$\theta_x = 6 \text{ d}$$

$$Q = 1000 \text{ m}^3/\text{d}$$

探讨用该方法处理高浓度可溶性废水的可行性。

**6.9** 你设计了一个具有固体沉淀和循环的 CSTR, 来处理流速( $Q^0$ )为  $100 \text{ m}^3/\text{d}$  的废水, 并假设  $X_i^0$  是 0。设计  $\theta_x$  是 6d, 得到的反应器体积  $V$  为  $20 \text{ m}^3$ 。然而, 实际上  $X_i^0$  是  $200 \text{ mg VSS/L}$ 。如果在你的设计中, 你希望保持之前选择的  $\theta_x$  和混合液悬浮固体浓度 ( $X_a = 2000 \text{ mg VSS/L}$ ), 反应器体积( $\text{m}^3$ )需要改变多少?

**6.10** 一种废水的特性如下:

COD: 溶解性物质  $100 \text{ mg/L}$ , 颗粒物  $35 \text{ mg/L}$ ;

BOD<sub>L</sub>: 溶解性物质  $55 \text{ mg/L}$ , 颗粒物  $20 \text{ mg/L}$ ;

悬浮性固体: 挥发性的  $20 \text{ mg/L}$ , 不可挥发的  $10 \text{ mg/L}$ 。

估计以  $\text{mg BOD}_L/\text{L}$  为单位的  $S^0$  和以  $\text{mg VSS/L}$  为单位的  $X_i^0$ 。

**6.11** 当  $S = 5 \text{ mg/L}$  和  $S = 20 \text{ mg/L}$  时, 一种限速基质的消耗率为  $4 \text{ mg}/(\text{d} \cdot \text{mg 细胞})$  和  $9 \text{ mg}/(\text{d} \cdot \text{mg 细胞})$ , 求  $\hat{q}$  和  $K$ 。

**6.12**

(a) 一个  $10 \text{ m}^3$  的 CSTR, 进水为  $3 \text{ m}^3/\text{d}$ , 含有  $2000 \text{ mg/L BOD}_L$ 、 $20 \text{ mg/L}$  不可生物降解的悬浮固体有机物,  $15 \text{ mg/L}$  悬浮固体无机物。假设有氧条件下,  $\gamma = 0.65 \text{ mg 细胞}/\text{mg BOD}_L$ ,  $\hat{q} = 16 \text{ mg BOD}_L/(\text{d} \cdot \text{mg 细胞})$ ,  $K = 25 \text{ mg/L}$ ,  $b = 0.2 \text{ d}^{-1}$ ,  $f_d = 0.8$ 。计算出水中  $S$ 、 $X_a$ 、 $X_i$  和  $X_v$ 。

(b) 计算反应器对基质(S)的去除率。

**6.13** 你想估计细菌在好氧化乙酸时的最大生长速率( $\hat{\mu}$ )。你发现细菌的产量是  $0.45 \text{ g/g 乙酸}$ 。此外, 你还确定当乙酸浓度为  $5 \text{ mg/L}$  时, 利用率为  $3 \text{ g 乙酸}/(\text{g 细菌} \cdot \text{d})$ ; 当乙酸浓度为  $15 \text{ mg/L}$  时, 利用率为  $5 \text{ g 乙酸}/(\text{g 细菌} \cdot \text{d})$ , 请估计  $\hat{\mu}$ 。

**6.14** 假设你在处理废水,  $\hat{q} = 10 \text{ g BOD}_L/(\text{g VSS}_a \cdot \text{d})$ ,  $K = 10 \text{ mg BOD}_L/\text{L}$ ,  $b = 0.08 \text{ d}^{-1}$ 。当  $\theta_x$  为 4d 时, 基质降解率为 99%, 微生物对氧气的消耗为  $5000 \text{ kg/d}$ , 等于  $f_o$  为 0.55。当  $\theta_x$  变为 8d 时, 估计氧气的消耗量。

**6.15** 一种需要被生物处理的废水的特性如下:

$$\text{BOD}_5(\text{总}) = 765 \text{ mg/L}$$

$$\text{BOD}_5(\text{溶解性}) = 470 \text{ mg/L}$$

$$k_i = 0.32 \text{ d}^{-1}$$

COD:

$$\text{总} = 1500 \text{ mg/L}$$

$$\text{固体悬浮物} = 620 \text{ mg/L}$$

固体悬浮物:

$$\text{总} = 640\text{mg/L}$$

$$\text{挥发性} = 385\text{mg/L}$$

根据以上信息,估计废水的  $S^0$  (mg BOD<sub>L</sub>/L)、 $X^0$ 、 $X_v^0$ 、 $X_{in}^0$  和  $X_i^0$  (mg/L)。注意  $X_{in}^0$  是无机(或不可挥发的)固体悬浮物。

6.16 一种废水的特性如下:

$$Q = 150\,000\text{m}^3/\text{d}$$

$$X = 350\text{mg/L}$$

$$X_v = 260\text{mg/L}$$

$$\text{COD (总)} = 880\text{mg/L}$$

$$\text{COD (溶解性)} = 400\text{mg/L}$$

$$\text{BOD}_L(\text{总}) = 620\text{mg/L}$$

$$\text{BOD}_L(\text{溶解性}) = 360\text{mg/L}$$

估计  $S^0$ 、 $Q^0$ 、 $X^0$  和  $X_i^0$  的值。

6.17 当基质本身的有毒物质(如酚)的浓度高时, Monod 反应的 Haldane 修正常被用于形容基质降解动力学。在如下条件下,计算基质表现出 Haldane 动力学的 CSTR 的出水浓度,并与其基质不抑制( $S/K_1=0$ )时的值进行比较。

$$V = 25\text{m}^3$$

$$Q = 10\text{m}^3/\text{d}$$

$$S^0 = 500\text{mg/L}$$

$$\gamma = 0.5\text{mg/mg}$$

$$\hat{q} = 8\text{g}/(\text{g} \cdot \text{d})$$

$$K = 7\text{mg/L}$$

$$b = 0.2\text{d}^{-1}$$

$$K_1 = 18\text{mg/L}$$

6.18 你已经评估了工业废水中有机物的好氧降解速率,发现它不遵循正常的 Monod 动力学。经过一些测试,你发现基质降解率似乎遵循以下关系:

$$-r_{ut} = \hat{q}^{0.5} X_a S^0$$

式中,  $-r_{ut}$  为降解速率, mg/(L·d);  $\hat{q}$  为  $4\text{L}/(\text{mg} \cdot \text{d}^2)$ ;  $S$  为基质浓度, mg/L;  $X_a$  为活性微生物浓度, mg/L。你还确定了该基质在好氧条件下的细菌生长系数如下:

$$\gamma = 0.25\text{g 细胞/g 基质}$$

$$b = 0.08\text{d}^{-1}$$

当在 CSTR 中处理上述废水,且  $\theta_x$  为 4d 时,估计出水基质浓度。

6.19 请填写下表,说明所列每个变量的增加会对好氧 CSTR 的给定操作特性产生什么变化。假设废水的所有其他特性和其他列出的变量保持不变。使用:(+) = 增加, (-) = 减少, (0) = 不变, (±) = 不确定。

变量	操作特性参数		
	$\theta_x/d$	污泥产量/(kg/d)	氧气消耗/(kg/d)
$\gamma$			
$Q$			
$S^0$			
$b$			
$X_i^0$			

**6.20** 一个生物反应器(CSTR)在  $\theta_x=8d$  的条件下运行,正在处理主要由基质 A 组成的废物。出水中 A 的浓度为  $0.3\text{mg/L}$ ,其亲和常数( $K$ )为  $1\text{mg/L}$ 。然后向反应器的进水中加入浓度相对较小的化合物 B, $\theta_x$  保持恒定。化合物 B 通过共代谢被微生物部分降解,但 B 是 A 降解的竞争性抑制剂。如果发现化合物 B 的出水浓度为  $1.5\text{mg/L}$ ,其亲和常数( $K_1$ )为  $2\text{mg/L}$ ,那么基质 A 的出水浓度将是多少?

**6.21** 在  $\theta_x=8d$  运行的好氧 CSTR 处理以可溶性有机化合物 A 为主的废水,稳态运行时出水浓度为  $1.4\text{mg/L}$ , $K$  值为  $250\text{mg/L}$ 。然后向废水中添加化合物 B,适当增加反应器体积以保持相同的  $\theta_x$ 。不同的微生物使用不同的基质。在新的稳态条件下,B 的出水浓度为  $0.8\text{mg/L}$ 。那么,在下列条件下,化合物 A 的出水浓度是多少呢?

- 普通 Monod 动力学适用于每种基质。
- 基质之间存在竞争性抑制, $K_1$ (与化合物 B 浓度有关)为  $0.8\text{mg/L}$ 。
- 基质之间出现非竞争性抑制, $K_1$ (与化合物 B 浓度有关)为  $0.8\text{mg/L}$ 。
- 化合物 B 具有基质毒性(Haldane 动力学), $K_{IS}=0.8\text{mg/L}$ 。

**6.22** 有机化学物质 A 添加到适合的微生物混合培养物( $1000\text{mg/L VSS}$ )中,A 的浓度与反应速率有以下关系:

浓度( $S$ )/(mg/L)	1	2	4	8	16
反应速率( $-r_u$ )/(mg/(L·d))	1.5	2.0	2.0	1.5	1.0

反应速率( $-r_u$ )与基质浓度( $S$ )之间的关系可用什么速率方程来描述?为什么?

**6.23** 有公司希望设计一种针对矿山尾矿含铁的排放水进行生物处理的系统。水不含颗粒物质。你需要考虑将废水中含有的可溶性  $\text{Fe(II)}$  氧化为  $\text{Fe(III)}$ ,然后通过调整 pH 值使其在后续的反应器中沉淀。对于  $\text{Fe(II)}$  氧化, $[\theta_x^{\min}]_{\text{lim}}=2.2d$ , $f_s^0=0.072$ , $b=0.1d^{-1}$ 。

- 估算当  $SF=10$ 、 $X_v=1000\text{mg/L}$  时的 CSTR 的停留时间。
- 当  $S^0=10\text{mg/L}$ , $K=0.8\text{mg/L}$  时,估算  $\text{Fe(II)}$  的氧化效率。
- 写出所发生反应的化学计量方程。
- 估计每克  $\text{Fe(II)}$  氧化所需的氧的克数。 $\text{Fe}$  的相对分子质量为  $55.8$ 。
- 估计每克被氧化的  $\text{Fe(II)}$  应添加多少克氨氮以满足细菌的需要。

**6.24** 甲烷营养细菌被用来通过共代谢降解三氯乙烯(TCE)和氯仿(CF)的混合物。在这里,MMO 酶启动了这两种化合物的氧化。由于它们在 MMO 中相互竞争,它们在混合物中的降解速率受竞争抑制动力学控制。

$X_a=120\text{mg/L}$ ,在下列条件下,估计 TCE 和 CF 的单独转化率, $\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 。

$$S_{\text{TCE}} = 6.4 \text{ mg TCE/L}$$

$$\hat{q}_{\text{TCE}} = 0.84 \text{ g TCE}/(\text{g VSS}_a \cdot \text{d})$$

$$K_{\text{TCE}} = 1.5 \text{ mg TCE/L}$$

$$S_{\text{CF}} = 5 \text{ mg CF/L}$$

$$\hat{q}_{\text{CF}} = 0.34 \text{ g CF}/(\text{g VSS}_a \cdot \text{d})$$

$$K_{\text{CF}} = 1.3 \text{ mg CF/L}$$

假设每种基质的  $K_1$  值等于其相对应的  $K$  值。

# 第7章 生物膜动力学

## 7.1 微生物的聚集

能很好地适应环境生物工艺技术的微生物在自然情况下几乎都会发生聚集现象。工程师们利用这种自然的聚集作用从出水中分离微生物,提高出水水质,同时使处理系统内保持较高的生物浓度。聚集的两种形式是悬浮絮体和附着生物膜。絮体和生物膜的不同之处在于:生物膜是附着在固体表面上的,而絮体形成时不需要固体表面的存在。悬浮生长体系中生物量的保持是通过在静置条件下使生物絮体沉淀实现的。附着生长体系中,液体流过固体介质时形成生物膜,由于生物膜是固定在固体表面上的,也可以保持生物量。

尽管絮体和生物膜中生物的存在形式不同,但从生物动力学角度来看,它们有一个明显的共同特征,即生物的聚集都能造成明显的基质浓度梯度。基质从聚体外部向内部的传递是由内外基质浓度差驱动的,通常聚体内部的细菌所享有的基质浓度低于外表面的基质浓度,因此,根据细菌在聚体内外的位置不同,基质利用速率和细胞生长速率也不相同。

如果考虑聚体内的浓度梯度,反应动力学模型将更加复杂。幸运的是生物膜的模型化已成为一门成熟的技术,工程师们可以利用很多工具进行设计、分析和研究。下面的几节介绍了生物膜动力学的基础知识,并且开发了几种实用工具,它们比第6章提到的恒化器动力学稍微难一些。另外,生物膜动力学原理还与悬浮絮体有关。

## 7.2 为什么会形成生物膜

生物膜是附着于固体表面的微生物及微生物胞外多聚物形成的层状聚集体。生物膜实际上是自然固定化了的细胞,它在自然界无处不在,而且在污染控制工程技术中变得越来越重要,如滴滤池、生物转盘和厌氧滤池。生物膜工艺不需要进行固液分离和回收就可以使优势生物体通过自然的固定化作用保留并积累下来,因此操作运行简单、可靠而且稳定。

在开发用于预测生物膜基质去除的数学模型之前,我们应该考虑生物膜(其实也是所有聚集系统)的一个基本问题:生物膜内部基质浓度较低,在这种不利因素下,为什么微生物还要聚集生成生物膜?这里有很多可能的原因,它们正确与否取决于实际情况。下面是几种可能的原因:

(1) 当基质流过生物膜时,空间上固定的生物膜,由于对流作用可以持续不断地接触到新鲜的基质。

(2) 生物膜创造了比外部混合液环境更适宜的内部环境(如 pH 值、 $O_2$  或产物)。也就是说,生物膜形成了独特的、自身创造的有利细胞生长的微环境。

(3) 微生物在生物膜内部被保护,以免受到来自环境中的压力,如捕食、分离、干燥和毒素。

(4) 不同菌株的细菌必须在特定的菌群中生活在一起,因为它们依赖于基于有效交换的稳定的、协同的关系(如第4章所述)。

(5) 固体介质表面本身也会创造一个独特的微环境,如电子供体(如  $H_2$ 、 $S^0$  或  $Fe^{2+}$ )或电子受体(如  $O_2$  或  $Fe^{3+}$ )的传递。

(6) 固体介质表面可以引起细菌发生生理变化。

(7) 细菌被紧紧包裹在聚体中,改变了细胞的生理机能。

第1条通常适用于流动系统,特别是基质浓度比较低、液体流速比较大的情况。因此,生物膜中的微生物并不经常处于低基质浓度的环境中。第2条包含了微环境的影响,可能出现在个别的一些例子当中。第3条和第4条是形成有利条件或不同类型微生物组合的例子。第5条是生态选择中一种利用“活跃”表面有力的形式。尽管第6条可能对细菌和生物活体(如植物和动物器官)表面的特殊相互作用比较重要,但在与环境生物技术相关的系统中,支持它的证据很少。第7条常称为“特殊群体感觉”(见“4.2 物质交换”),尽管它在其他环境中可能有非常显著的影响,但它在生物膜和其他对环境生物技术重要的聚集体中发挥作用的证据尚不确定。

### 7.3 理想化的生物膜

本章的主要目标是了解发生在生物膜中的基本机制,并开发简单的建模工具来定量地连接这些机制。这两个目标都是通过定义一个理想化的生物膜来实现的,它以一种简单的方式捕捉生物膜的主要特征:由需要在膜内运输材料而引起的浓度梯度。图7.1(a)显示了理想生物膜的特征:

- 生物膜内生物量密度  $X_f(M_x L^{-3})$  相同。
- 生物膜厚度  $L_f$  一致。
- 生物膜表面和内部的传质阻力可能比较重要。扩散层有效厚度  $L$  代表外部传质阻力,内部阻力用分子扩散表示。传质阻力导致的一个最重要结果是细菌在生物膜内“看到”的基质浓度(记作  $S_f$ )常常低于混合液中的浓度(记作  $S$ )。

如图7.1所示,基质浓度梯度是非线性的。“厚生物膜”浓度梯度的一个特征是,基质浓度会在膜内某点接近零。厚生物膜是一个重要的特例,此处基质浓度为零点的生物没有基质利用活性,因此,生物膜厚度达到一定值时,继续增加生物膜的厚度不会增加总的基质利用速率。如果生物膜内各处  $S_f$  都大于零,叫作“薄生物膜”。薄生物膜的一个特例叫作完全穿透,即基质浓度梯度很小,外表面的基质浓度( $S_s$ )和介质表面基质浓度( $S_w$ )实际上相等。

与CSTR中的悬浮污泥(如第6章所述)类似,生物膜的完整模型必须包括限速基质与活性生物体的物质平衡和速率表达式。在生物膜模型中,因为基质梯度使膜内各处的物质

浓度和反应速率都不相同,所以要针对生物膜内不同位置列出物质平衡和速率表达式。因此,模型化首先要从生物膜内开始研究。

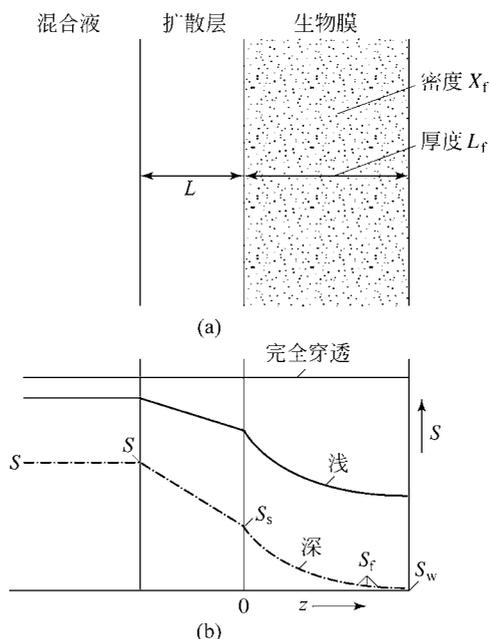


图 7.1 理想化生物膜

(a) 物理属性; (b) 剖面浓度特征

尽管模型化首先要从膜内开始,但模型输出要能适用于反应器的物质平衡。这意味着模型输出应该给出对整个生物膜进行积分的总反应速率。这样,用总反应速率乘以反应器内的生物膜量就可以得到一个量纲为质量比时间(质量/时间)的值,与式(6.14)中的  $r_{ut}$  类似。

接下来的几小节首先研究生物膜内的情况,推导出基质和活性生物体的速率表达式和物质平衡式;然后解出这些物质平衡式(生物膜内),使得模型输出为总的基质利用速率和微生物生长速率;最后,将模型输出代入简单反应器的物质平衡式中(和 CSTR 类似),从而阐明生物膜动力学和反应器响应的重要趋势。与第 6 章类似,重点集中在稳态生物膜上,但也会考虑其他情况。

### 7.3.1 基质现象

生物膜内任一点的基质利用方式与悬浮生长时相同:

$$r_{ut} = \frac{\hat{q}X_f S_f}{K + S_f} \quad (7.1)$$

式中,  $X_f$  为生物膜内的活性生物体密度,  $M_x L^{-3}$ ;  $S_f$  为生物膜内该点的基质浓度,  $M_s L^{-3}$ 。

基质进入生物膜是靠分子扩散,遵守 Fick 第二定律:

$$r_{diff} = D_f \frac{d^2 S_f}{dz^2} \quad (7.2)$$

式中,  $r_{\text{diff}}$  为扩散引起的基质积累速率,  $M_s L^{-3} T^{-1}$ ;  $D_f$  为基质在生物膜内的分子扩散系数,  $L^2 T^{-1}$ ;  $z$  为距离生物膜表面的垂直距离,  $L$ 。

因为扩散和基质利用是同步的, 结合式(7.1)和式(7.2)可以得到基质的总物质平衡方程。生物膜内浓度梯度为稳态时, 基质的物质平衡式为

$$0 = D_f \frac{d^2 S_f}{dz^2} - \frac{\hat{q} X_f S_f}{K + S_f} \quad (7.3)$$

式(7.3)需要两个边界条件。第一个边界条件是固体接触表面的通量为0, 即

$$\frac{dS_f}{dz} = 0 \quad (7.4)$$

第二个边界条件是, 在生物膜和水的交界面, 基质必须通过该面从混合液进入生物膜外表面。外部的传质可以用 Fick 第一定律描述:

$$J = \frac{D}{L}(S - S_s) = D_f \left. \frac{dS_f}{dz} \right|_{z=0} = D \left. \frac{dS}{dz} \right|_{z=0} \quad (7.5)$$

式中,  $J$  为基质进入生物膜的通量,  $M_s L^{-2} T^{-1}$ ;  $D$  为水中的分子扩散系数,  $L^2 T^{-1}$ ;  $L$  为有效扩散层的厚度,  $L$ ;  $S$ 、 $S_s$  分别为混合液中和两相交界面处的基质浓度,  $M_s L^{-3}$ 。

最后, 根据基质浓度的连续性, 液体一侧的界面基质浓度  $S_s$  与生物膜一侧的界面浓度  $S_s$  相等。

对式(7.3)作一次积分得到  $dS_f/dz$ , 再与  $D_f$  相乘得到基质通量  $J$  ( $M_s L^{-2} T^{-1}$ ), 即生物膜单位表面积的基质利用速率。二次积分后得到  $S_f$  对  $z$  的函数表达式。多数情况下, 希望得到用于反应器物质平衡式的  $J$ 。

式(7.3)~式(7.5)同时求解时, 可以给出描述基质通量(及其剖面)的完整模型。求解式(7.3)需要确定所有动力学参数和传质参数( $\hat{q}$ 、 $K$ 、 $D_f$ 、 $D$  和  $L$ ), 以及生物膜的性质  $X_f$ 、 $L_f$  以及它们的乘积  $S_f L_f$ , 即单位面积上的生物量,  $M_x L^{-2}$ 。除非预先知道生物膜的性质, 否则必须利用生物膜的活性生物体平衡式求得, 这些内容将会在本章进行讨论。

### 7.3.2 一级反应动力学的求解

当生物膜各处的  $S_f$  均远小于  $K$  时, 基质通量和基质浓度梯度可以用完全闭合形式的解析解表示。生物膜内的一级反应动力学物质平衡微分方程(针对  $S_f$ )为

$$0 = D_f \frac{d^2 S_f}{dz^2} - k_1 X_f S_f \quad (7.6)$$

式中,  $k_1$  是一级速率常数  $= q/K$ ,  $L^3 M_x^{-1} T^{-1}$ 。对式(7.6)积分得到通量和  $S_f$  的解析解:

$$J_1 = \frac{D_f S_s \tanh(L_f/\tau_1)}{\tau_1} \quad (7.7)$$

$$S_f = S_s \frac{\cosh[(L_f - z)/\tau_1]}{\cosh(L_f/\tau_1)} \quad (7.8)$$

式中,  $J_1$  为进入一级反应生物膜的基质通量,  $M_s L^{-2} T^{-1}$ ;  $\tau_1$  为一级反应条件, 特征生物膜厚度  $L = \sqrt{D_f/k_1 X_f}$ ;  $k_1$  是一级速率常数,  $L^3 M_x^{-1} T^{-1}$ ;  $\tanh(x)$  为  $x$  的双曲正切函数,  $\tanh(x) = (e^x - e^{-x})/(e^x + e^{-x})$ ;  $\cosh(x)$  为  $x$  的双曲余弦函数,  $\cosh(x) = 0.5(e^x + e^{-x})$ 。特征生物膜厚度( $\tau_1$ )由  $D_f$  除以  $k_1 X_f$  后开平方得到, 是代表扩散速率和生物降解速率之比的一个组

合参数。 $L_f/\tau_1$  表示生物膜无量纲厚度。对于厚的生物膜  $L_f/\tau_1 > 1$ , 对于完全穿透生物膜  $L_f/\tau_1 \leq 1$ 。

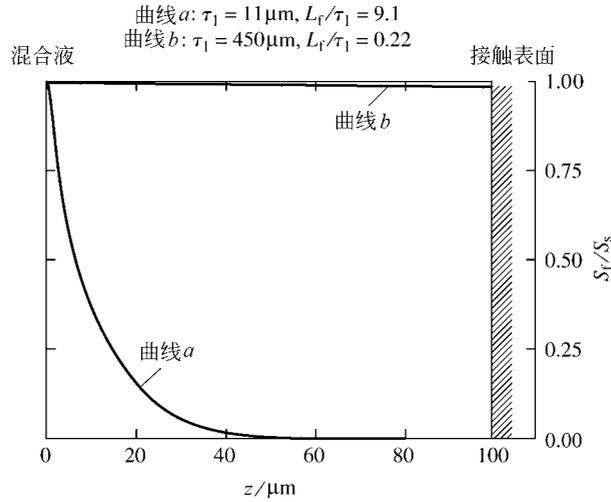


图 7.2 特征性“厚”生物膜(曲线 *a*)与几乎完全穿透的生物膜(曲线 *b*)的断面基质浓度曲线。比值  $L_f/\tau_1$  决定生物膜是否为“厚”生物膜;  $k_1$ 、 $D_f$  和  $X_f$  的不同组合可以得到相同的  $\tau_1$  值, 文章正文部分给出了它们是如何影响  $J_1$  值的

图 7.2 所示为物理厚度相同 ( $L_f = 100 \mu\text{m}$ ) 但  $\tau_1$  值相差很大的两个生物膜内的基质浓度梯度。曲线 *a* 中, 基质浓度在进入膜厚度一半处几乎降到了零, 靠近载体表面的生物膜从基质利用的角度看没有活性。曲线 *b* 代表的情况则完全相反, 生物膜内所有细菌所处位置的基质浓度基本相等, 基质利用速率也相等。图 7.2 说明传质阻力的重要性依赖于扩散作用 ( $D_f$ ) 和基质利用能力 (对一级反应而言为  $k_1 X_f$ ) 两者的比值。 $\tau_1$  值较小时, 会使生物膜比较“厚”, 受扩散阻力的影响比较大。

$k_1$ 、 $X_f$ 、 $D_f$  的不同组合可以得到相同的  $\tau_1$ , 这些参数的值又会影响  $J_1$  的绝对值, 如果曲线 *b* 对应的各参数值为  $D_f = 0.1 \text{ cm}^2/\text{d}$ ,  $X_f = 50 \text{ mg}/\text{cm}^3$  和  $k_1 = 1.0 \text{ cm}^3/(\text{mg} \cdot \text{d})$  (得到  $\tau_1 = 0.045 \text{ cm}$ ),  $S_s = 0.1 \text{ mg}/\text{cm}^3$  时的通量值为  $0.048 \text{ mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。曲线 *a* 的  $\tau_1$  值要小一些, 可以取较小的  $D_f$  或较大的  $k_1 X_f$  值得到。取较小  $D_f$  值时, 如果  $\tau_1 = 0.0011 \text{ cm}$ , 要求  $D_f = 6 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{d}$ , 这时  $J_1$  降至  $5.5 \times 10^{-3} \text{ mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。另外  $k_1 X_f$  增至  $8.3 \times 10^5 \text{ d}$  时,  $J_1 = 91 \text{ mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。因此, 厚生物膜并不意味着通量大或小, 因为反应比较快或扩散速度比较慢时  $\tau_1$  值都比较小。

### 7.3.3 已知 $S_w$ 时的通解

当生物膜两边界的浓度已知, 即  $S_s$  和  $S_w$  已知时, 式(7.3)可求得解析解:

$$J = \left\{ 2\hat{q}X_f D_f \left[ S_s - S_w + K \ln \left( \frac{K + S_w}{K + S_s} \right) \right] \right\}^{1/2} \quad (7.9)$$

对于厚生物膜,  $S_w$  接近零, 可得到一个很有用的解:

$$J_{\text{deep}} = \left\{ 2\hat{q}X_f D_f \left[ S_s + K \ln \left( \frac{K}{K + S_s} \right) \right] \right\}^{1/2} \quad (7.10)$$

在本章末,我们将给出判断生物膜是否为厚生物膜的方法,那将会用到式(7.10)。因为预先不知道  $S_w$ ,所以除了厚生物膜,很少使用式(7.9)。可以特意假定  $S_w$  使用式(7.9),但会导致算得的通量不正确。

为考察生物膜内基质浓度梯度对通量的影响,用式(7.9)和式(7.10)计算  $J$  值。固定参数值为:  $D_f=1\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $X_f=40\text{mg}/\text{cm}^3$ ,  $\hat{q}=10\text{mg}/(\text{mg}\cdot\text{d})$  和  $K=0.001\text{mg}/\text{cm}^3$ 。如果生物膜为厚生物膜( $S_w=0$ )由式(7.10)求得,  $S_s=0.01\text{mg}/\text{cm}^3$  时  $J_{\text{deep}}=2.5\text{mg}/(\text{cm}^2\cdot\text{d})$ 。如果生物膜比较薄,  $S_w=0.005\text{mg}/\text{cm}^3$ ,那么由式(7.9)得到  $J=1.9\text{mg}/(\text{cm}^2\cdot\text{d})$ 。如果  $S_w$  增至  $0.009\text{mg}/\text{cm}^3$ ,则  $J=0.9\text{mg}/(\text{cm}^2\cdot\text{d})$ 。重要的是要记住,在这个例子中,深层生物膜提供了更高的通量,因为它更厚,这意味着它有更多的生物量。

### 7.3.4 生物膜物质平衡

生物膜内任一点活性生物体的物质平衡式为

$$\frac{d(X_f dz)}{dt} = \gamma \frac{\hat{q}S_f}{K+S_f}(X_f dz) - b'X_f dz \quad (7.11)$$

式中,  $t$  为时间,  $T$ ;  $b'$  为总的生物膜损失速率,  $T^{-1}$ ;  $dz$  为生物膜微分段的厚度,  $L$ 。

式(7.11)左侧为单位面积上生物膜质量的变化 ( $M_x L^{-2} T^{-1}$ ); 右侧两项分别表示合成和分解的速率,以单位面积上单位时间的生物量表示 ( $M_x L^{-2} T^{-1}$ )。膜内各处  $S_f$  不同,因此右侧第一项随位置不同而不同。所以,左侧很少为常数或零。也就是说,生物膜内各处生物量并非处于稳态。靠近外边界处,基质浓度比较高,式(7.11)右侧第一项为正值,生物量净增长速率为正,即  $d(X_f dz)/dt > 0$ 。相反,膜深处基质浓度低,净增长速率为负。

## 7.4 稳态生物膜

尽管生物膜内任一点的生物量都存在净增长或净减少,稳态概念仍可以应用且非常重要。稳态概念用于生物膜的关键一点是必须将生物膜看作一个整体。这样,稳态生物膜的基本含义为单位面积上的生物量 ( $X_f L_f$ ) 不随时间变化,但生物膜内任一点的微生物并不是稳态的。也就是说,当式(7.11)对整个生物膜厚度积分为零时,生物膜是稳态的。

$$0 = \int_0^{L_f} \frac{d(X_f dz)}{dt} = \int_0^{L_f} \gamma \frac{\hat{q}S_f}{K+S_f} X_f dz - \int_0^{L_f} b' X_f dz \quad (7.12)$$

根据稳态膜的定义,假设  $X_f$ 、 $\hat{q}$ 、 $K$  和  $b'$  是常数,则可以求出每个积分项。如式(7.13)所示

$$\int_0^{L_f} \frac{d(X_f dz)}{dt} = \frac{d(X_f L_f)}{dt} = 0 \quad (7.13)$$

$r_{\text{un}} dz$  的积分是单位面积上所有反应速率的总和,它等于基质通量或单位面积上的总基质利用速率 ( $M_s L^{-2} T^{-1}$ )。通量与  $\gamma$  相乘则得到单位面积的生长速率 ( $M_x L^{-2} T^{-1}$ )

$$\int_0^{L_f} \gamma \frac{\hat{q}S_f}{K+S_f} X_f dz = \gamma \int_0^{L_f} (-r_{\text{un}}) dz = \gamma J \quad (7.14)$$

生物膜内微生物自身消耗速率是均匀的,因此

$$\int_0^{L_f} b' X_f dz = b' X_f L_f \quad (7.15)$$

将式(7.14)和式(7.15)代入式(7.12)得到

$$0 = \gamma J - b' X_f L_f \quad (7.16)$$

这是稳态生物膜的基本方程。它表明单位面积新生长的生物量( $\gamma J$ )与单位面积上自身消耗的量( $b' X_f L_f$ )相平衡。式(7.16)可以写成其他形式。单位面积上的生物量可由式(7.16a)求得:

$$X_f L_f = \frac{J\gamma}{b'} \quad (7.16a)$$

式(7.16a)两边除以  $X_f$  得到生物膜厚度:

$$L_f = \frac{J\gamma}{X_f b'} \quad (7.16b)$$

稳态生物膜的概念指的是一种动态平衡。靠近外表面的地方,基质浓度比较高, $d(X_f L_f)/dt$  为正值。靠近载体介质表面的地方, $S_f$  低, $d(X_f L_f)/dt$  为负值。正增长速率的位置向负增长速率的位置输送微生物,而整个膜是稳态的。

## 7.5 稳态生物膜的解

稳态生物膜模型的求解需要同时解物质平衡式(7.3)来求生物膜内基质浓度;解式(7.5)求进入生物膜的传质量;解式(7.16)求生物膜内的活性生物量;解边界条件和连续性条件式(7.4)和式(7.5)。Rittmann 和 McCarty (1980a)首先解出了这3个方程式,并给出了稳态生物膜的解,输入  $\hat{q}$ 、 $K$ 、 $D_f$ 、 $D$ 、 $L$ 、 $\gamma$ 、 $b'$ 、 $X_f$  和  $S$ ,就可以计算出  $J$  和  $X_f L_f$  的值。Saez 和 Rittmann(1988,1992)对结果进行了修正,提高了稳态解的准确性,但仍保留了原解的基本形式。解的数学形式将会在后面给出。

图 7.3 给出了稳态生物膜对基质浓度变化的响应曲线。纵轴表示混合液基质浓度的对

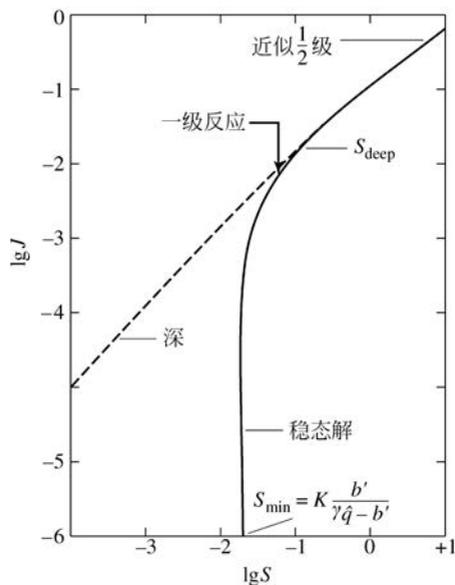


图 7.3 稳态生物膜对基质浓度( $S$ )微小变动的响应。本例中  $S_{\min} = 0.0204 \text{ mg/cm}^3$ ,  $S$  的单位是  $\text{mg/cm}^3$ ,  $J$  的单位是  $\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$

数,横轴表示基质通量的对数。同时横轴和单位面积上生物量的积累  $X_f L_f = \gamma J / b'$  [式(7.16a)]成正比。为了表示所有的值,两个轴都用对数坐标。

图 7.3 展示了稳态生物膜随底物浓度增加而表现出的 5 个主要趋势:

(1) 稳态生物膜的损失率  $b_{\text{det}}$  等于生物膜的 SRT 或  $\theta_x$ 。对于一个给定  $b_{\text{det}}$  条件下稳态运行的生物膜反应器,存在一个最小基质浓度  $S_{\text{bmin}}$ ,如图 7.3 所示,可以按照如下计算:

$$S_{\text{bmin}} = K \frac{b'}{\gamma \hat{q} - b'} = K \frac{b + b_{\text{det}}}{\gamma \hat{q} - (b + b_{\text{det}})} \quad (7.17)$$

$S_{\text{bmin}}$  实际上与稳态 CSTR 的基质浓度  $S$  相同,如式(6.21)所示。而对于 CSTR,这是给定  $\theta_x$  反应器可以运行的  $S$ ,而对于生物膜反应器,它是在  $\theta_x$  条件下可获得的最小  $S$ ; 因此,我们用另一个术语  $S_{\text{bmin}}$  来表示生物膜反应器的  $S_{\text{min}}$ 。如果  $b_{\text{det}}$  为 0,则  $S_{\text{bmin}}$  等于  $S_{\text{min}}$ 。对于 CSTR,无论进水基质浓度如何,在给定  $\theta_x$  时,出水  $S$  值是相同的。相比之下,生物膜反应器中增加进水基质浓度会导致  $S$  的出水值高于  $S_{\text{bmin}}$ 。产生这种差异的原因是在 CSTR 中,所有微生物都暴露在相同的  $S$  中,而浓度随着进入生物膜的深度而降低。与任何稳态完全混合的生物过程一样,当  $S$  低于这一临界值时,负的生长速率不能维持稳态生物量。因此, $S_{\text{bmin}}$  仍然是两个系统设计和操作的一个非常关键的因素。

(2) 当  $S$  稍大于  $S_{\text{min}}$  时, $J$  和  $X_f L_f$  随  $S$  迅速增大。 $J$  快速增大的原因是  $J$  和  $X_f L_f$  同时增加。 $S$  很小的增量会使  $J$  值变大,也使  $X_f L_f$  增大;同时  $X_f L_f$  增大可使  $J$  增加。因此, $S$ 、 $J$  和  $X_f L_f$  正反馈的结果使  $J$  在  $S$  稍大于  $S_{\text{min}}$  时随  $S$  迅速增加。

(3) 对应  $S > S_{\text{min}}$  的某个  $S$  值, $J$  对  $S$  的斜率从接近无穷大降低到接近 1.0。图 7.3 的例子中,对应的  $S$  值近似为  $0.07 \text{mg/cm}^3$ 。

(4) 当  $S$  足够大时,通量等于厚生物膜的通量。图 7.3 中对应的  $S$  值近似为  $0.11 \text{mg/cm}^3$ ,记为  $S_{\text{deep}}$ 。当  $S \geq S_{\text{deep}}$  时,稳态生物膜为厚生物膜,或者  $S_f$  在到达载体表面之前已接近零。使用厚生物膜的实际意义在于  $J$  不再依赖于  $X_f L_f$ ,因为额外的生物膜厚度内  $S_f = 0$ ,增加的生物量并不会增加反应速率。另一方面,因为生物膜内的基质浓度会随  $S$  增加而升高,所以  $J$  和  $X_f L_f$  也会随着  $S$  的增加而增加。

(5) 当  $S$  非常大时, $J$  对  $S$  曲线的斜率逐渐下降,最后到达极限情况的半级反应,即  $J = k_{1/2} S^{1/2}$ 。半级反应是厚生物膜反应中常见的特殊情况。反应级数的下降造成的实际影响是  $S$  的增加不能使  $J$  同比例的增加,且当系统为厚生物膜时,载体表面基质去除量的增量变小。

式(7.3)~式(7.6)和式(7.16)的解可以用相对比较简单的代数式表示,它将  $J$  和  $X_f L_f$  表示为  $S$  和许多动力学参数和传质参数的函数。式(7.3)是非线性的,因此不可能求得精确的解析解。准解析解可以通过选择适当的代数式来适配大量组成稳态生物膜模型方程的数值解来获得。

Saez 和 Rittmann(1992)的准解析解是最新和最精确的。解用 3 个无量纲的主变量  $S_{\text{min}}^*$ 、 $K^*$  和  $S^*$  表示。除了将 8 个变量( $\hat{q}$ 、 $K$ 、 $\gamma$ 、 $b'$ 、 $D_f$ 、 $D$ 、 $L$  和  $S$ )合并成 3 个变量外,无量纲变量还可以提供生物膜系统的动力学属性。

这 3 个无量纲变量为

$$S_{\text{min}}^* = \frac{b'}{\gamma \hat{q} - b'} \quad (7.18)$$

$S_{b\min}^*$  代表生长潜力,  $S_{b\min}^* \ll 1.0$  表示生长潜力很高, 因为最大净生长速率( $\gamma\hat{q} - b'$ ) 远比损失速率( $b'$ ) 大;  $S_{b\min}^* > 1$  表示生长潜力很小且不易保持恒定、稳态的生物量。

$$K^* = \frac{D}{L} \left[ \frac{K}{\hat{q}X_f D_f} \right]^{1/2} \quad (7.19)$$

$K^*$  是外部传质速率和最大基质利用速率的比值。 $K^*$  值很小(比如说小于 1) 意味着外部传质速率低且成为通量的控制因素;  $K^*$  值很大(比如说大于 10) 意味着整个动力学几乎完全由生物膜内的现象控制。

$$S^* = S/K \quad (7.20)$$

$S^*$  是无量纲基质浓度。 $S^*$  值很大(比如  $S^* \gg 1$ ) 表示基质利用已达饱和, 至少在生物膜靠外的部分如此。

准解析解可以用式(7.21)表示:

$$J = fJ_{\text{deep}} \quad (7.21)$$

式中,  $J$  为实际稳态通量, 采用常用单位,  $\text{mg}_s/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ ;  $J_{\text{deep}}$  为进入具有同样  $S_s$  浓度的厚生物膜的通量,  $\text{mg}_s/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ ;  $f$  为表征稳态膜内的实际通量减小的比值, 稳态膜不是厚深生物膜, 范围是  $0 \leq f \leq 1$ 。

通过拟合成千上万个数值解, Saez 和 Rittmann (1992) 发现

$$f = \tanh \left[ \infty \left( \frac{S_s^*}{S_{b\min}^*} - 1 \right)^\beta \right] \quad (7.22)$$

式中,  $\tanh(x)$  为双曲正切函数,  $\tanh(x) = (e^x - e^{-x}) / (e^x + e^{-x})$ ;  $\alpha, \beta$  为依赖于  $S_{b\min}^*$  的系数[式(7.23)和式(7.24)]。

使用准解析解的步骤如下:

(1) 由式(7.18)~式(7.20)计算  $S^*$ 、 $K^*$  和  $S_{b\min}^*$ 。如果  $S^* \leq S_{b\min}^*$ ,  $J = X_f L_f = 0$ , 解析到此结束。如果  $S^* > S_{b\min}^*$ , 则进入第二步。

(2) 由  $S_{b\min}^*$  计算  $\alpha$  和  $\beta$ :

$$\alpha = 1.5557 - 0.4117 \tanh[\lg S_{b\min}^*] \quad (7.23)$$

$$\beta = 0.5035 - 0.0257 \tanh[\lg S_{b\min}^*] \quad (7.24)$$

(3) 由  $\alpha, \beta, K^*$  和  $S^*$ , 反复计算  $S_s^*$ , 即生物膜与混合液界面处的无量纲基质浓度。

$$S_s^* = S^* - \frac{\tanh \left[ \infty \left( \frac{S_s^*}{S_{b\min}^*} - 1 \right)^\beta \right] \{2[S_s^* - \ln(1 + S_s^*)]\}^{1/2}}{K^*} \quad (7.25)$$

由于  $S_s^*$  在方程两边都存在, 必须重复计算  $S_s^*$  直至两边的  $S_s^*$  相等。如果需要的话, 可以通过式(7.22)计算出  $f$ , 从而判断生物膜是厚生物膜( $f$  接近 1) 还是薄生物膜( $f < 1$ )。式(7.25)中的  $\{2[S_s^* - \ln(1 + S_s^*)]\}^{1/2}$  项是式(7.10)中  $J_{\text{deep}}$  或  $J_{\text{deep}}^*$  的无量纲形式。

(4) 由式(7.26)计算  $J^*$ , 即无量纲通量

$$J^* = K^* (S^* - S_s^*) \quad (7.26)$$

(5) 通过下式将  $J^*$  转换为  $J$

$$J = J^* (K\hat{q}X_f D_f)^{1/2} \quad (7.27)$$

(6) 由式(7.16a)计算  $X_f L_f$  或通过式(7.16b)计算  $L_f$ 。

虽然求解过程包括许多步骤,但全部都是代数运算,因此可以很容易地通过手算或使用电子数据表或方程求解软件计算出来。应用稳态生物膜模型应该注意的几个关键问题是:

- 对所有  $S < S_{bmin}^*$ ,  $J = 0$ , 但对所有  $S > S_{bmin}^*$ ,  $J$  有唯一的一个定值。
- $X_f L_f$  (或  $L_f$ ) 是这个模型的一个输出; 对任何  $S > S_{bmin}^*$ ,  $X_f L_f$  都有一个唯一的值。
- $S_{bmin}^*$  和  $K^*$  是描述控制工艺运行的基本量。例如,  $K^*$  值比较小表明外部传质是决定基质通量的主要因素, 而  $S_{bmin}^*$  值比较大说明生物膜的积累严重限制了基质的利用。

### 例 7.1 用准解析解计算稳态生物膜

已知基质浓度  $S$  为  $0.5 \text{ mg/L}$ , 计算稳态基质通量 ( $J$ )、生物膜积累量 ( $X_f L_f$ ) 和生物膜厚度 ( $L_f$ )。动力学和传质参数值如下:

$$\begin{aligned} L &= 0.01 \text{ cm} (= 100 \mu\text{m}) \\ K &= 0.01 \text{ mg}_s / \text{cm}^3 (= 10 \text{ mg/L}) \\ X_f &= 40 \text{ mg}_a / \text{cm}^3 \\ \hat{q} &= 8 \text{ mg}_s / (\text{mg}_a \cdot \text{d}) \\ b' &= 0.1 \text{ d}^{-1} \\ D &= 0.8 \text{ cm}^2 / \text{d} \\ D_f &= 0.64 \text{ cm}^2 / \text{d} \\ \gamma &= 0.5 \text{ mg}_a / \text{mg}_s \end{aligned}$$

$\text{mg}_a$  和  $\text{mg}_s$  分别表示活性生物体和基质的毫克数。参数值列表强调了使用模型解题时最重要的一点: 所有的单位要统一。这里习惯使用也推荐使用的单位是: 质量用  $\text{mg}$ , 长度用  $\text{cm}$ , 时间用  $\text{d}$ 。基质浓度用这些单位表示为  $S = 0.0005 \text{ mg/cm}^3$ , 流量单位为  $\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。

下面的求解步骤是计算无量纲参数的最有效途径。通过这些步骤得到无量纲通量 ( $J^*$ ), 然后将  $J^*$  转换为有量纲值  $J$ 、 $X_f L_f$  和  $L_f$ 。再强调一下, 各计算量的单位应该用  $\text{mg}$ 、 $\text{cm}$  和  $\text{d}$ 。

(1) 用式(7.18)~式(7.20)计算  $S^*$ 、 $K^*$  和  $S_{bmin}^*$ 。

$$\begin{aligned} S^* &= 0.0005 / 0.01 = 0.05 \\ K^* &= \frac{0.8}{0.01} \left[ \frac{0.01}{8 \times 40 \times 0.64} \right]^{1/2} = 0.559 \\ S_{bmin}^* &= \frac{0.1}{(0.5 \times 8) - 0.1} = 0.02561 \end{aligned}$$

$S_{bmin}^*$  值低说明该系统的生长潜力很高, 除非  $S$  接近  $S_{bmin}$ , 否则不会受生物膜积累的限制。  $K^*$  值中等大小表明系统部分受外部传质的控制, 但并不是主要的控制因素。

(2) 由式(7.23)和式(7.24)计算  $\alpha$  和  $\beta$ :

$$\begin{aligned} \alpha &= 1.5557 - 0.4117 \tanh[\lg 0.02561] \\ &= 1.9346 \\ \beta &= 0.5035 - 0.0257 \tanh[\lg 0.02561] \\ &= 0.5272 \end{aligned}$$

(3) 由式(7.25)反复试算得到  $S_s^* = 0.02754$ 。不是必须要计算  $f$ , 但从式(7.22)计算得到  $f = 0.46$ , 表示生物膜明显比较薄, 因此, 至少部分受生物膜积累的限制。

(4) 由式(7.26)计算  $J^*$  :

$$\begin{aligned} J^* &= 0.559(0.05 - 0.02754) \\ &= 0.01256 \end{aligned}$$

(5) 由式(7.27)将  $J^*$  转换为  $J$  :

$$\begin{aligned} J &= 0.01256(0.01 \times 8 \times 40 \times 0.64)^{1/2} \\ &= 0.0179 \text{mg}_s / (\text{cm}^2 \cdot \text{d}) \end{aligned}$$

(6) 由式(7.28)计算  $X_f L_f$ , 用  $X_f = 40 \text{mg}_a / \text{cm}^3$  相除可以得到  $L_f$ 。

$$\begin{aligned} X_f L_f &= \frac{0.0179 \times 0.5}{0.1} = 0.0895 \text{mg}_a / \text{cm}^2 \\ L_f &= 0.00224 \text{cm} = 22.4 \mu\text{m} \end{aligned}$$

## 7.6 参数估值

微生物参数( $\hat{q}$ 、 $K$ 、 $\gamma$  和  $b$ )的确切值可以通过与获得悬浮生长的微生物的相应参数相同的方法确定, 而且二者参数的数量级相同。而生物膜的特征参数  $X_f$ 、 $D$ 、 $D_f$ 、 $L$  和  $b'$  要根据它们各自的情况确定。

生物量密度  $X_f$  随自然条件和微生物特性而在很大范围内变化。生物膜上的机械压力增加会导致生物膜密度的增加, 而厌氧生物膜通常比好氧生物膜密度大。“典型”的密度值, 以挥发性有机物(volatile solids, VS)的干重计, 为  $40 \text{mg VS/cm}^3$ 。而挥发性固体密度在低基质浓度的好氧条件下最低为  $5 \text{mg VS/cm}^3$ , 在高基质浓度厌氧条件下最高可达  $200 \text{mg VS/cm}^3$ 。生物量的最大堆积密度在  $200 \sim 300 \text{mg/cm}^3$ 。持续的高机械应力和湍流会使生物膜的密度增加。此外, “老的”生物膜一般会变得更致密, 特别是在底层附近。厌氧生物膜通常比好氧生物膜密度大, 这可能是因为厌氧生物膜生长缓慢且自然老化。

除了总挥发性固体密度会发生变化外, 挥发性固体中活性生物体部分变化也很大。厚的生物膜可以以惰性生物量或矿物沉淀物为主要成分, 这两种物质都倾向于在附着表面附近积累。非常年轻的生物膜和通过分离保持非常薄的生物膜可以接近 90% 的活性生物量。积累在厚生物膜中的惰性物质, 其积累速率变得缓慢, 且难以在快速脱落的生物膜中生存。

化合物在水中的扩散系数  $D$  在许多化学手册中可以查到。对于手册上没有列出的化合物, 可利用 Wilke-Chang 方程根据化合物的物质的量体积求得一个很好的近似值。对于  $20^\circ\text{C}$  的水溶液, Wilke-Chang 方程为

$$D = 1.279(V_b)^{-0.6} \quad (7.28)$$

式中,  $D$  的单位为  $\text{cm}^2/\text{d}$ ;  $V_b$  是溶质沸点时的物质的量体积,  $\text{mL/mol}$ 。化学工程师手册(Green and Perry, 2008)中有估计  $V_b$  的方法。

生物膜内的扩散系数  $D_f$  小于  $D$ , 这是由生物膜内扩散路径弯曲和溶质可能吸附到生物膜基质中的固体导致的。虽然  $D_f$  的值仍是一个有待更多研究的话题, 但目前的共识是, 对于不吸附于生物膜基质的小溶质,  $D_f/D$  的比例一般是  $0.5 \sim 0.8$ 。大的或可吸附的溶质可能具有较小的值。同样, 高的  $X_f$  值的生物膜可能更加曲折, 导致  $D_f/D$  变小。当不存在

明确的信息时,我们使用默认值  $D_f=0.8D$ ,如例 7.1 所示。

有效扩散层厚度  $L$  可以从化学工程师们得到的多孔介质中或其他规则表面的传质系数的相关关系估计出。大多数经验关系式是用传质系数  $k_m$  表示的,它的单位通常是  $MT^{-1}$ ,本书使用  $cm/d$ 。 $L$  很容易通过下面关系式由  $k_m$  求出:

$$L = D/k_m \quad (7.29)$$

手册和化工文献中有很多  $k_m$  关系式。需要使用适合于相关媒介和关键试验条件的关系式。通常试验条件用雷诺数(Reynolds)和史密特数(Schmidt)描述,它们分别表示对流速率与黏度之比、黏度与扩散率之比。式(7.30)表示了一个对于球形多孔介质很有用的关系式,而且它同样表明  $L$  是雷诺数、史密特数和液体速度的函数。

$$L = \frac{D(Re_m)^{0.75} Sc^{0.67}}{5.7u} \quad (7.30)$$

式中,  $Sc = \mu/\rho D$ , 为史密特数;  $Re_m = 2\rho d_p \mu / (1-\epsilon)\mu$ , 为修正后的雷诺数;  $\mu$  为绝对黏度,  $g/(cm \cdot d)$ ;  $\rho$  为水的密度,  $g/cm^3$ ;  $u = Q/A_c$  为表面液体流速,  $cm/d$ ;  $d_p$  为固体介质直径,  $cm$ ;  $\epsilon$  为介质床的空隙率;  $Q$  为体积流速,  $cm^3/d$ ;  $A_c$  为流体的过流面积,  $cm^2$ 。

该关系式适合  $1 \leq Re_m \leq 30$ ,  $Sc$  为水的典型值的情况。

总生物膜损失系数  $b'$  由三部分组成: 分解、捕食和脱附。分解与悬浮生长情况相类似, 可以用通常的一级反应衰减系数  $b$  表示。原动物或更高级的动物对微生物的捕食作用尽管在一些情况下可能比较重要, 但目前还不能对它们进行定量研究。因此, 我们不得不在损失项中忽略这部分。另外, 生物膜的脱附是生物膜损失的一个关键机理, 且在一些情况下已经可以定量。假设可以计算  $b_{det}$ , 那么  $b'$  可以表示为

$$b' = b + b_{det} \quad (7.31)$$

式中,  $b_{det}$  为生物膜比脱附系数,  $T^{-1}$ 。

许多情况下,  $b_{det}$  大于  $b$ , 使得  $S_{bmin}$ 、 $S_{bmin}^*$  和生物膜的积累量和基质通量很大程度上取决于控制脱附速率的因素。尽管在新的研究和定量化中, 脱附一直是比较成熟的部分, 但也开始出现了一些新的理论和工具。一个基本理论是生物膜表面的机械力影响着生物膜的脱附。尽管力的作用比较复杂而且它不一定是影响生物膜脱附的唯一因素, 但通常当切向力(用剪切力表示)或轴向力(用压力脉动或物理摩擦表示)增加时,  $b_{det}$  也增加。

Rittmann(1982)得到了光滑表面脱附的简单方程, 此时剪切力为引起脱附的主要作用力。当生物膜比较薄(即  $L_f < 0.003cm$ )时,  $b_{det}$  和生物膜表面的切向剪切力相关:

$$b_{det} = 8.42 \times 10^{-2} \sigma^{0.58} \quad (7.32)$$

式中,  $b_{det}$  的单位为  $d^{-1}$ ; 液体剪切力  $\sigma$  的单位为  $dyn/cm^2$ 。剪切力用单位面积生物膜因摩擦引起的能量损耗进行计算。对于多孔介质固定床, 可用式(7.33)计算:

$$\sigma = \frac{200\mu u (1-\epsilon)^2}{d_p^2 \epsilon^3 a \left(7.46 \times 10^9 \frac{s^2}{d^2}\right)} \quad (7.33)$$

对于多孔介质流化床, 用式(7.34)计算

$$\sigma = \frac{(\rho_p - \rho_w)(1-\epsilon)g}{a} \quad (7.34)$$

式中,  $\rho_p$  为颗粒密度,  $g/cm^3$ ;  $\rho_w$  为水的密度,  $g/cm^3$ ;  $g$  为  $980cm/s^2$ ;  $\epsilon$  为床空隙率;  $u$  为

表面液体流速,  $\text{cm/d}$ ;  $\mu$  为绝对黏度,  $\text{g}/(\text{cm} \cdot \text{d})$ ;  $\sigma$  为剪切力,  $\text{dyn}/\text{cm}^2$ , 即  $\text{g}/(\text{cm} \cdot \text{s}^2)$ 。

由切向力引起的脱附速率可能会很大。例如, 薄生物膜在  $0.02 \text{dyn}/\text{cm}^2$  低剪切力作用下  $b_{\text{det}}$  值为  $0.009 \text{d}^{-1}$ , 而在  $1 \text{dyn}/\text{cm}^2$  中等大小剪切力(对多孔介质反应器)作用下  $b_{\text{det}}$  值为  $0.084 \text{d}^{-1}$ 。后一个值基本上等于好氧异养菌的典型  $b$  值, 它会使  $b'$ 、 $S_{\text{bmin}}$  和  $S_{\text{bmin}}^*$  明显增加。

当扰动比较大时, 压力脉动可以产生轴向力或与生物膜表面正交的力。同样地, 当固体介质能到处移动且颗粒之间有摩擦力时, 摩擦作用会产生轴向力。轴向力可以对脱附率有很强影响, 而且它们似乎也加速了生物膜的物理固结。

另一种广泛使用的  $b_{\text{det}}$  强调随着生物膜变厚, 特异性脱附率增加:

$$b_{\text{det}} = k_d L_f \quad (7.35)$$

式中,  $k_d$  的单位为  $\text{cm}^{-1} \text{d}^{-1}$ , 不明确包括剪应力或其他物理力。对于相同的微生物和物理条件,  $b_{\text{det}}$  可能随  $L_f$  的增加而增加, 因为较厚的生物膜机械强度较弱, 特别是在靠近外表面的地方, 或者因为较厚的生物膜增加了表面粗糙度、摩擦和生物膜中的能量耗散。

当表面不光滑时, 生物膜往往首先积聚在裂缝中, 这些裂缝可以保护其不受剪切应力。在某些情况下,  $b_{\text{det}}$  接近于零, 只要生物膜只停留在提供保护的缝隙中。然而, 一旦生物膜从缝隙中出来并在表面形成“光滑”生物膜, 脱附率接近光滑表面, 如式(7.31)和式(7.35)。

上面的脱附机理属于“腐蚀”类型, 即小片生物膜碎片从生物膜表面连续脱离。腐蚀对生物膜积累的影响很小但是连续的。一种不同的脱附类型为“脱落”, 这是指大块生物膜突然地、间歇性地脱离。脱落使局部生物膜积累发生剧烈的变化。图 7.4 给出了仅在外表面发生的小片的腐蚀作用和能波及生物膜整个深度范围的大块生物膜的脱落作用。

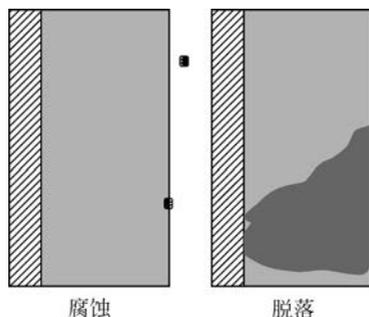


图 7.4 腐蚀和脱落两种脱附机理之间差异的图解。黑色部分表示由于生物脱落在生物膜表面形成的“洞穴”

对脱落现象还没有很好的解释, 它似乎包括了生物膜整体结构的破坏。生物膜内特别是生物膜深处的厌氧条件, 被认为是脱落发生的一个原因。因为脱落既不是一个普遍现象又没有深入研究过, 这里将不进行量化说明。

虽然原生动物或其他高等生命形式对生物膜的捕食在某些情况下很重要, 但并不总是相关的, 也没有进行任何定量研究。因此, 我们通常忽略捕食作为直接包含损失项, 尽管在某些情况下它可能已经包括在  $b$  或  $b_{\text{det}}$  中了。

## 7.7 生物膜平均 SRT

尽管由于基质浓度梯度的存在,生物膜的比生长速率有一个范围,但如果将固体停留时间(SRT)认为是整个生物膜内的平均值时,SRT的概念仍可以应用于稳态生物膜。如果不考虑活性生物体在生物膜上的沉降,对稳态生物膜,活性生物体的产生速率必须等于脱附的损失速率,因此 $\theta_x$ 的基本定义可以应用于稳态生物膜:

$$\begin{aligned}\theta_x &= \frac{\text{生物膜中的活性生物量}}{\text{活性生物量产率}} \\ &= \frac{X_f L_f A_b}{b_{\text{det}} X_f L_f A_b} = \frac{1}{b_{\text{det}}}\end{aligned}\quad (7.36)$$

式中, $A_b$ 为生物膜表面积, $L^2$ 。

由式(7.36)可以得到一个关键结论,即稳态生物膜的平均 $\theta_x$ 等于比脱附速率的倒数。

## 7.8 完全混合生物膜反应器

与恒化器类似,完全混合生物膜反应器(completely mixed biofilm reactor, CMBR)是生物膜动力学用于限速基质和活性生物体物质平衡的最简单系统。图7.5给出了最基本CMBR中的各个量。

- 进水流量为 $Q$ ,基质浓度为 $S^0$ 。
- 反应器总体积为 $V$ ,液体比例(即水占反应器总体积的比例)为 $h$ ,因此水的总体积为 $hV$ 。
- 假定所有生物反应均发生在生物膜内。
- 生物膜比表面积记为 $a(L^{-1})$ ,生物膜总表面积为 $aV$ 。
- 单位面积生物膜积累量为 $X_f L_f$ ,总生物膜积累量为 $X_f L_f aV$ 。
- 出水流量(也等于 $Q$ ),出水基质浓度均为 $S$ 。
- 反应器内和出水中的活性生物量浓度为 $X_a$ ,全部来自于生物膜的脱附。
- 活性生物体在生物膜表面的沉积量极小。

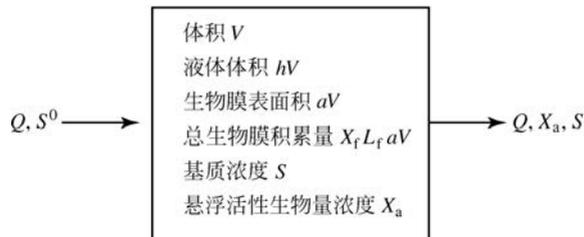


图 7.5 完全混合式生物膜反应器(CMBR)的结构框图。重要的是模块的定义

CMBR 稳态的物质平衡式为

$$hV \frac{dS}{dt} = 0 = Q(S^0 - S) - J_{ss} aV \quad (7.37)$$

式中,  $J_{ss}$  是进入生物膜的基质通量, 可通过解先前给出的稳态生物膜模型计算得出,  $M_s L^{-2} T^{-1}$ 。

生物膜中活性生物体的稳态物质平衡式为

$$aV \frac{dX_f L_f}{dt} = 0 = \gamma J_{ss} aV - (b + b_{det}) X_f L_f aV \quad (7.38)$$

式(7.38)本质上与式(7.6)相同。式(7.6)曾用于推导稳态生物膜模型。这再次强调了稳态生物膜模型包括了生物膜物质平衡式。

式(7.37)和稳态生物膜模型的解给出了  $S$ 、 $J_{ss}$  和  $X_f L_f$  的稳态值。因此出水生物量浓度( $X_a$ )可以通过混合液中生物量的简单物质平衡式计算:

$$hV \frac{dV_a}{dt} = 0 = b_{det} X_f L_f aV - X_a Q \quad (7.39)$$

由此得到

$$X_a = \frac{b_{det} X_f L_f aV}{Q} \quad (7.40)$$

### 例 7.2 简单 CMBR 的特性

例 7.1 中用到的动力学和计量学参数给出了解稳态生物膜模型所需的值, 如下:

$$S_{bmin} = 0.00256 \text{ mg}_s / \text{cm}^3 = 0.256 \text{ mg}_s / \text{L}$$

$$S_{bmin}^* = 0.0256$$

$$K^* = 0.559$$

$$\alpha = 1.9346$$

$$\beta = 0.5272$$

$$S^* = S/K = \frac{S}{0.01 \text{ mg}_s / \text{cm}^3} = \frac{S}{10 \text{ mg}_s / \text{L}}$$

CMBR 的液体体积为  $hV = 1000 \text{ m}^3$ , 比表面积  $a = 100 \text{ m}^{-1}$ , 流量为  $10\,000 \text{ m}^3 / \text{d}$ 。求解当  $S^0 = 100 \text{ mg} / \text{L}$  时,  $S$ 、 $X_f L_f$ 、 $X_f L_f aV$  和  $X_a$  的值。

解这类问题的有效途径是对式(7.37)进行变换, 得到  $S$  对  $J_{ss}$  的函数式:

$$S = S^0 - \frac{J_{ss} aV}{Q} \quad (7.41)$$

将本例的数值解代入式(7.41)得

$$\begin{aligned} S &= 100 \text{ mg} / \text{L} - \frac{[J_{ss} \text{ mg} / (\text{cm}^2 \cdot \text{d})](100 \text{ m}^{-1})(1000 \text{ m}^3)(10\,000 \text{ cm}^3 / \text{m}^2)}{10\,000 \text{ m}^3 / \text{d} \times 10^3 \text{ L} / \text{m}^3} \\ &= 100 \text{ mg} / \text{L} - 100 J_{ss} \end{aligned}$$

式中,  $J_{ss}$  的单位为  $\text{mg} / (\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ ,  $S$  的单位为  $\text{mg} / \text{L}$ 。一种简单的试算法求解的步骤包括: 给  $S$  选定一个初值; 用该  $S$  代入稳态生物膜模型计算得到  $J_{ss}$ ; 然后用  $S = 100 \text{ mg} / \text{L} - 100 J_{ss}$  检验  $S$  是否正确; 重复上述过程直到选择的  $S$  值与计算得到的  $S$  值相等。在本例中, 每一步需要试算两次。对给定的  $S$  值, 利用稳态生物膜模型计算  $J_{ss}$ , 然后得到一对  $(S, J_{ss})$  值, 再用反应器物质平衡式重复计算得到  $(S, J_{ss})$  值, 直至得到正确的  $(S, J_{ss})$  值。(同样可以用作图法得到结果, 即求直线  $S = 100 - 100 J_{ss}$  与由稳态生物膜模型得到的  $J_{ss}$  对  $S$

的曲线的交点,图解法将在后面给出。)知道  $J_{ss}$  值后,可以直接计算得到  $X_f L_f$  和  $X_f L_f aV$ 。计算步骤如下:

首先,假定一个出水浓度  $25\text{mg/L}$ (或  $0.025\text{mg/cm}^3$ )。于是,  $S^* = 0.025/0.01 = 2.5$ 。将  $S_s^* = 1.0$  代入式(7.25)进行迭代计算:

$$\begin{aligned} S_s^* &= 2.5 - \frac{\tanh\left(1.9181\left(\frac{1.0}{0.0256} - 1\right)^{0.5231}\right)(2[1.0 - \ln(1 + 1.0)])^{1/2}}{0.559} \\ &= 2.5 - \frac{0.99999 \times 0.783}{0.559} \approx 1.1 \end{aligned}$$

结果  $S_s^*$  值比初始值 1.0 稍大。因此重复计算  $S_s^*$  得到  $S_s^* = 1.05$ ,再由式(7.26)得

$$J_{ss}^* = 0.559(2.5 - 1.05) \approx 0.8106$$

和

$$\begin{aligned} J_{ss} &= 0.8106 \times (0.01 \times 8 \times 40 \times 0.64)^{1/2} \\ &\approx 1.16\text{mg}_s/(\text{cm}^2 \cdot \text{d}) \end{aligned}$$

由物质平衡式得

$$S = 100 - 100 \times 1.16 = -16\text{mg/L}$$

很明显,需要用新的初始值  $S$  重复计算。先试一下  $S = 20\text{mg/L}$ ,进行重复计算得到

$$S_s^* = 0.81$$

$$J_{ss}^* = 0.665$$

$$J_{ss} = 0.95\text{mg}_s/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$$

$$S = 5\text{mg/L}$$

由于最终的  $S$  值不等于最初的  $S$  值,再进行重复计算得到

$$S = 17\text{mg/L}$$

$$S_s^* = 0.68$$

$$J_{ss}^* = 0.58$$

$$J_{ss} = 0.83\text{mg}_s/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$$

$$S = 17\text{mg/L}$$

此时,两  $S$  值相同,收敛到解。因此,出水浓度为  $17\text{mg/L}$ ,  $J_{ss} = 0.83\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。计算得到生物膜积累量为

$$X_f L_f = \frac{\left(0.83 \frac{\text{mg}}{\text{cm}^2 \cdot \text{d}}\right) \left(0.5 \frac{\text{mg VS}}{\text{mg}}\right)}{\frac{0.1}{\text{d}}} = 4.15\text{mg VS/cm}^2$$

和

$$L_f = \frac{4.15\text{mg VS/cm}^2}{40\text{mg VS/cm}^3} \approx 0.104\text{cm} = 1040\mu\text{m}$$

那么,反应器中微生物的平均浓度为

$$X_f L_f aV = 4.15\text{mg VS}_a/\text{cm}^2 \times 100\text{m}^{-1} \times 0.01\text{m/cm} \times 1000\text{cm}^3/\text{L} = 4150\text{mg VS}_a/\text{L}$$

## 7.9 惰性微生物、营养物和电子受体

与悬浮生物量类似,生物膜也会积累惰性微生物,吸收营养进行合成,并通过呼吸消耗电子受体。估计这些值的方法遵循与第6章相同的原理,但需适应于生物膜设置。

在稳态生物膜中,惰性微生物的物质平衡是

$$0 = (1 - f_d)b(X_f L_f)aV - b_{\text{det}}(X_{\text{fi}} L_f)aV \quad (7.42)$$

式中,  $X_f L_f$  为单位表面积活性生物量积累,  $M_x L^{-2}$ ;  $X_{\text{fi}} L_f$  为单位表面积惰性生物量积累,  $M_x L^{-2}$ 。公式右侧的第一项是活性生物量衰变形成的惰性微生物,第二项是由于惰性微生物脱附形成的损失。利用式(7.42)求解惰性微生物的积累,得到

$$X_{\text{fi}} L_f = (X_f L_f)(1 - f_d)b/b_{\text{det}} \quad (7.43)$$

所有参数均由稳态生物膜模型求解得到。活性和惰性生物量之和为总生物量,或 VS 和  $X_{\text{fv}} L_f$  的积累量:

$$X_{\text{fv}} L_f = X_f L_f + X_{\text{fi}} L_f = (X_f L_f)[1 + (1 - f_d)b/b_{\text{det}}] \quad (7.44)$$

进而,反应器单位体积内的生物膜生物量浓度为  $X_{\text{fv}} L_f a$ 。VS 加入液相的速率  $r_{\text{vs}}$  ( $M_x L^{-3} T^{-1}$ )为

$$r_{\text{vs}} = X_{\text{fv}} L_f a b_{\text{det}} \quad (7.45)$$

生物膜吸收养分的速率与其微生物合成的净速率成正比。对于稳态生物膜,微生物净合成与微生物脱附速率相对应。例如,单位表面积的净生物合成速率为  $X_{\text{fv}} L_f b_{\text{det}}$  ( $M_x L^{-2} T^{-1}$ )。对于由 VS 的  $\alpha_n$  部分组成的营养物质,即从混合液中吸收用于合成的营养物质的容积率,  $r_n$  ( $M_n L^{-3} T^{-1}$ )是

$$r_n = -\alpha_n X_{\text{fv}} L_f b_{\text{det}} a = -\alpha_n r_{\text{vs}} \quad (7.46)$$

如果限制速率的基质是电子供体,那么电子受体的利用率与合成反应的化学计量式(化学计量系数为  $\alpha$ ,  $M_n M_d^{-1}$ )和内源呼吸(化学计量系数  $\alpha_{\text{xn}}$ ,  $M_n M_x^{-1}$ )之和成正比。根据反应器的单位体积速率,  $r_a$  ( $M_n L^{-3} T^{-1}$ ),关系是

$$r_a = -f_e^0 \alpha_n J a - \alpha_{\text{xn}} f_d b(X_f L_f) a = -f_e \alpha_n J a \quad (7.47)$$

公式右侧第一项为用于新合成的受体的摄取,第二项为内源性呼吸对合成的摄取。

### 例 7.3 扩展至包含惰性微生物和营养物的计算

例 7.1 和例 7.2 的结果可以扩展到估计惰性和总生物量以及 N、P 和  $O_2$  的消耗速率。为了完成计算,我们必须在  $b$  和  $b_{\text{det}}$  中区分出  $b'$  (等于  $0.10 d^{-1}$ )。如果我们假定  $b = 0.06 d^{-1}$ ,那么  $b_{\text{det}} = 0.04 d^{-1}$ 。从惰性和总生物量开始,反应器单位体积生物膜微生物的浓度为

$$\begin{aligned} X_{\text{fi}} L_f a &= 4150 \text{ mg VS}_a/\text{L} \times (1 - 0.8) \times (0.06 d^{-1}) / (0.04 d^{-1}) \\ &= 1245 \text{ mg VS}_i/\text{L} \\ X_{\text{fv}} L_f a &= 4150 + 1245 = 5395 \text{ mg VS}/\text{L} \end{aligned}$$

在这个例子中,我们看到大约 23% 的 VS 是惰性的。如果除以比表面积  $100 m^{-1} = 1 cm^{-1}$ ,可以计算出  $X_{\text{fv}} L_f = 5.4 \text{ mg VS}/cm^2 = 54 \text{ g VS}/m^2$ 。脱附的微生物会导致混合液中 VS 浓度的增加:

$$r_{\text{vs}} = (5395 \text{ mg VS}/\text{L}) \times 0.04 d^{-1} \approx 216 \text{ mg VS}/(\text{L} \cdot \text{d})$$

通过对 VS 建立稳态物质平衡,可以计算出出水 VSS 浓度( $X_v^e$ )。我们假设进水中没有微生物,悬浮在混合液中的生物量的净合成可以忽略不计。那么,稳态物质平衡是

$$0 = r_{vs}V + (-QX_v^e)$$

$$X_v^e = r_{vs}V/Q = \frac{216\text{mg VS}/(\text{L} \cdot \text{d}) \cdot 1000\text{m}^3}{10^4\text{m}^3/\text{d}} \approx 22\text{mg VSS/L}$$

用同样的模式计算养分 N 和 P 的利用率,  $\alpha_N = 0.125\text{g N/g VS}$ ,  $\alpha_P = 0.025\text{g P/g VS}$ 。

$$r_N = 0.125\text{g N/g VS} \times 216\text{mg VS}/(\text{L} \cdot \text{d}) = 27\text{mg N}/(\text{L} \cdot \text{d})$$

$$r_P = 0.025\text{g P/g VS} \times 216\text{mg VS}/(\text{L} \cdot \text{d}) = 5.4\text{mg P}/(\text{L} \cdot \text{d})$$

基于类似的 CMBR 物质平衡,这会消耗流经反应器的液体中的  $2.7\text{mg N/L}$  和  $0.54\text{mg P/L}$ 。

最后,根据式(7.47)计算电子受体  $\text{O}_2$  的利用率,并假设供体由需氧量表示(使  $\alpha_a = 1\text{g O}_2/\text{g 需氧量}$ ),  $\alpha_{vs} = 1.42\text{g O}_2/\text{g VS}$ ,  $f_e = 0.63$ 。

$$\begin{aligned} r_a &= -0.63 \times 1 \times 0.83\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d}) \times 1\text{cm}^{-1} \times 1000\text{cm}^3/\text{L} \\ &\approx -523\text{mg}/(\text{L} \cdot \text{d}) \end{aligned}$$

## 7.10 CMBR 工艺特性

图 7.6 给出了 CMBR 工艺特性。它与 CSTR 的特性图 6.3 类似。图 7.6 中的粗线表示稳态生物膜  $S$  和  $J_{ss}$  的关系,它是通过计算图示  $S$  范围内  $J_{ss}$  的值得到的。点划线表示  $X_f L_f a$ ,它与式(7.16a)中  $J_{ss}$  的正相关。叠放的小图中是基质的物质平衡,是由式(7.41)计算得到的粗线。主变量是基质流量,  $J_{ss}$ 。采用  $J_{ss}$  作为主变量是合理的,因为生物膜过程本质上是表面反应。

图 7.6 中显示的所有线都是例 7.2 中的值。 $S$  和  $J_{ss}$  的稳态值在粗线和细线的交点处得到。它们与例 7.2 中计算的相同:  $S = 17\text{mg/L}$  和  $J_{ss} = 0.83\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。 $X_f L_f a$  是从  $J_{ss}$  值与虚线相交得到的  $4150\text{mg/L}$ 。因此,该图为确定  $S$ 、 $J_{ss}$  和  $X_f L_f a$  提供了一种方便的图形方法。与例 7.4 所示相同,这些值可以直接用于估计惰性生物量、营养物和受体的需求。

图 7.6 表明了一个重要事实:  $S$  和  $J_{ss}$  是非线性的关系。与 CSTR 中  $S$  和  $\theta_x$  的关系(图 6.3)类似。这种关系的主要特征如下:

- 对于非常低的  $J_{ss}$ 。 $S$  接近维持稳定生物量的最低浓度  $S_{bmin}$ 。因为  $S_{bmin}$  在例 7.2 中非常低( $0.256\text{mg/L}$ ),图 7.6 的主要部分没有很好地显示出来。叠放的小图显示了  $S_{bmin}$ ,  $S$  趋近于  $S_{bmin}$  时  $J_{ss}$  趋近于 0。这个区域可以被认为是低负荷的,基质的去除主要受生物膜积累的控制。在这里,脱附损失率以及衰减率决定了  $S_{bmin}$ 。
- 对  $J_{ss}$  值较高的情况,  $S$  对  $J_{ss}$  的微小变化很敏感,  $S$  对  $J_{ss}$  曲线的斜率随  $S$  增加持续升高。这种非线性关系主要是由于传质过程逐渐成为控制因素。对于厚一些的生物膜,  $J_{ss}$  值比较高,属于高负荷区,内部和(或)外部的传质阻力使  $S_f$  值远低于  $S$ ,同时促使  $S$  迅速升高以适应  $J_{ss}$  和  $X_f L_f a$  增加的需要。

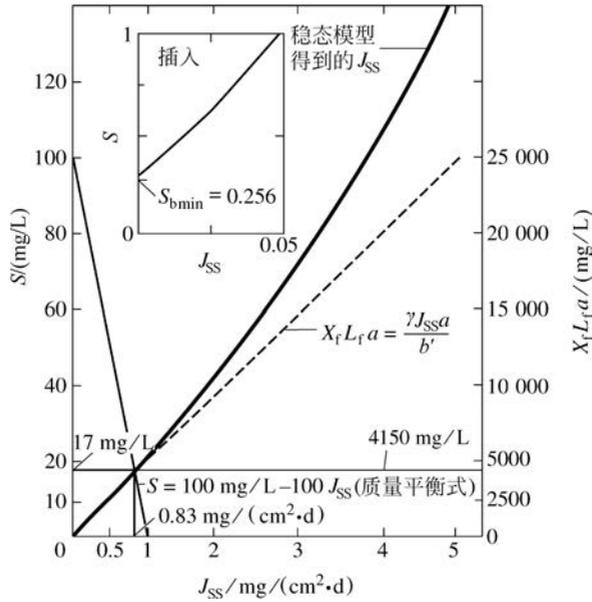


图 7.6 CMBR 的特性曲线。粗线条表示利用例 7.2 中参数值得得的稳态生物膜模型解。细线表示利用例 7.2 中参数值得得的基质物质平衡式,即式(7.41)。注意物质平衡线的截距为  $S^0$ , 坡度为  $-A_v/Q$ 。虚线表示利用例 7.2 中参数得到的稳态生物膜的积累,通过式(7.16)和例 7.2 中得到的参数与  $J_{ss}$  相关。小图表示当  $S$  趋近  $S_{bmin}$  时的  $J_{ss}$  值

### 例 7.4 不同负荷时的情况

图 7.7 使用图 7.6 的格式显示了 CMBR 如何响应不同的基质负载,通过改变  $S^0$  或  $Q$ , 从而改变  $S$  和  $X_f L_f a$  的稳态值。由于基质和微生物没有发生变化,因此粗线和虚线与图 7.6 保持一致。不同的基质物质平衡线说明了改变  $S^0$  或  $Q$  的影响,表 7.1 总结了这些影响。情况 1 是基本情况,与图 7.6 相同。

情况 2 和情况 3 表明,当流量或进水基质浓度增加时,出水中的基质浓度就会增加。例如,情况 2 的  $Q$  值比基本情况高 3 倍,它的  $S$  值增加到 41mg/L。当  $S$  较高时,  $J_{ss}$  和  $X_f L_f a$  比情况 1 大 2.15 倍。当施加较高的  $S^0$  使基质负荷增加 3 倍时,出水  $S$  为 58mg/L,结果导致  $J_{ss}$  和  $X_f L_f a$  值约比情况 1 高 2.9 倍。虽然情况 2 和情况 3 的基质负荷( $QS^0$ )增加了相同的量,但情况 2 的出水  $S$  较低,这是因为在情况 2 中,当  $Q$  增加 3 倍时,平流损失( $QS$ )较大。

表 7.1 基质负荷变化造成的影响

序号	$S^0/(mg/L)$	$Q/(m^3/d)$	$J_{ss}/(mg/(cm^2 \cdot d))$	$S/(mg/L)$	$X_f L_f a/(mg/L)$	类型
①	100	10 000	0.830	17	4150	基准
②	100	30 000	1.790	41	8950	高流量
③	300	10 000	2.420	58	12 100	高 $S^0$
④	100	5000	0.460	9	2300	低流量
⑤	50	10 000	0.420	8	2100	低 $S^0$
⑥	1	10 000	0.007	0.34	33	很低 $S^0$

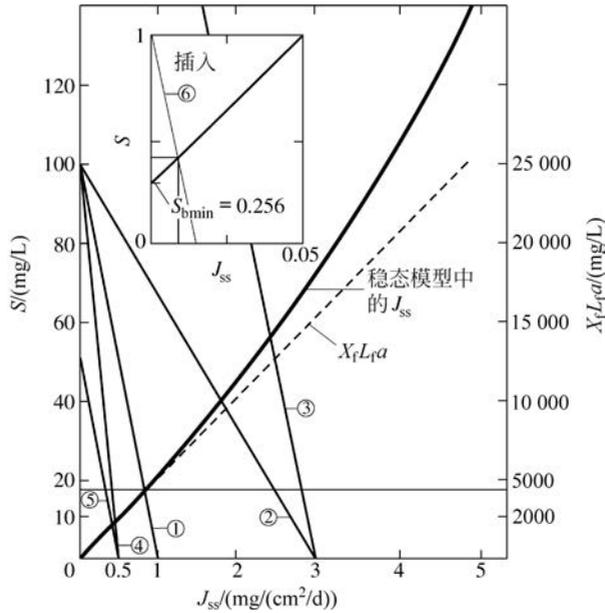


图 7.7 用图解法求例 7.4 中改变  $Q$  或  $S^0$  得到的基质负荷。对于每条物质平衡线 (①~⑥) 的情况见表 7.1。注意物质平衡线与  $y$  轴的交点对应  $S^0$ ，斜率为  $-aV/Q$ 。小图展示了  $S$  趋近于  $S_{bmin}$  时的  $J_{ss}$  值

同样地，情况 4 和情况 5 显示通过减少  $Q$  或  $S^0$  均可以得到更低的浓度。与情况 2 和情况 3 的趋势平行，情况 5 的  $S$  更低，因为它的  $Q$  值越大，平流损失率越高。情况 6 显示非常低的负荷，实现了  $S^0$  的 100 倍的下降，驱动  $S$  趋近于  $S_{bmin}$ 。

### 7.11 表面负荷的标准化

如图 7.6 所示的  $S$  和  $J_{ss}$  之间的关系一般适用于所有处于稳态的 CMBRs。将参数  $S$  和  $J_{ss}$  正确地标准化后，可使这种普遍性表示出来并加以利用。图 7.8 给出了标准化的结果和最终标准。基质轴用  $S$  除以  $S_{bmin}$  进行标准化。接下来，通量轴用  $J_{ss}$  除以  $J_R$  (参考通量，

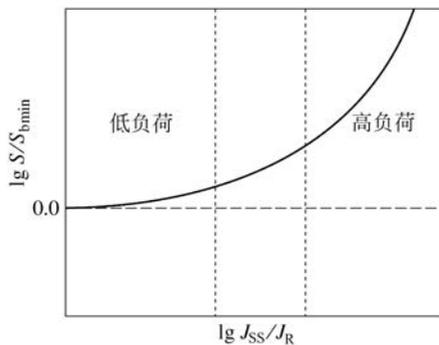


图 7.8 CMBR 稳态下标准化负荷曲线的概念。归一化负荷曲线清楚地说明了低负荷和高负荷区域之间的行为差异

它等于稳态厚生物膜的最小通量,计算方法后面会给出)标准化。将曲线画在双对数坐标上,以便在同一个曲线中显示较大范围内的负荷与浓度。

标准化负荷曲线概括了图 7.6 表示的 4 个重要趋势:

(1) 对低负荷(即  $J_{ss}/J_R$  比较低),  $\log S/S_{bmin}$  接近 0.0。换句话说,  $S/S_{bmin}$  接近 1.0。因此当  $J_{ss}/J_R$  比较低时,  $S=S_{bmin}$ 。在这种意义上, CMBR 的  $J_{ss}/J_R$  值比较低与 CSTR 中  $\theta_x$  值比较大的情况类似。

(2) 低负荷时,曲线的斜率很小。只要负荷处于比较低的区域,  $J_{ss}$  的变化对稳态出水浓度值几乎没有影响。

(3) 对高负荷(即  $J_{ss}/J_R$  比较高),  $S/S_{bmin}$  明显比 1 大。因此,高负荷 CMBR 不能使  $S$  值接近  $S_{bmin}$ 。这样,  $J_{ss}/J_R$  高的情况与 CSTR 中  $\theta_x$  比较小时类似。

(4) 在高负荷区,  $S/S_{bmin}$  对  $J_{ss}/J_R$  的变化很敏感。因此,负荷相对微小的变化都能对稳态  $S$  值产生明显的影响。这种高度的灵敏性是由于传质阻力占主导作用,而在 CSTR 中传质阻力作用并不重要。

对 CSTRs,通过减少水力停留时间来增加负荷最终会使生物量流失。对生物膜反应器,流失的概念并不适用,因为生物体是附着在固体介质上的。然而,当  $S/S_{bmin}$  接近  $S^0/S_{bmin}$  时,负荷达到上限;这时尽管有生物膜存在,但基质去除速率( $J_{ss}\alpha V$ )比起进入的速率( $QS^0$ )很微不足道。与洗出最相似的是一个非常大的脱附率,它增加了  $S_{bmin}$ ,使  $S^0/S_{bmin}$  更容易小于 1,这意味着生物膜的缺失。

图 7.9 给出了具有相同  $S_{bmin}^*$  值的一组归一化曲线的两个例子。一个是  $S_{bmin}^*=0.075$ , 增长潜力较高。第二个例子是  $S_{bmin}^*=7.5$ , 这是相对较低的增长潜力的对比。对于每一组曲线,  $K^*$  值的范围从  $K^*=100$ (基本上没有外部传质阻力的限制)到  $K^*=0.01$ (严重的传质阻力)。

使用归一化的曲线需要计算  $S_{bmin}$ 、 $S_{bmin}^*$ 、 $K^*$  和  $J_R$ 。前 3 个值的计算公式在前面已经给出,为了方便,这里再列一次:

$$S_{bmin} = K \frac{b + b_{det}}{\gamma \hat{q} - (b + b_{det})}$$

$$S_{bmin}^* = S_{bmin}/K$$

$$K^* = \frac{D}{L} \left[ \frac{K}{\hat{q} X_f D_f} \right]^{1/2}$$

$J_R$  可以通过稳态生物膜方程求解: 设  $f=0.99 = \tanh[\alpha(S_R^*/S_{bmin}^* - 1)^\beta]$ , 求解  $S_R^*$ , 用  $J_R^* = \sqrt{2[S_R^* - \ln(1+S_R^*)]}$  计算无量纲参考流量, 用  $J_R = J_R^* \sqrt{K \hat{q} X_f D_f}$  将  $J_R^*$  转换为  $J_R$ 。然而, Cannon(1991)发现  $J_R^*$  和  $S_{bmin}^*$  有图 7.10 所示的简单相关关系, 不仅简单而且精确度也令人满意。

所有归一化负荷曲线都显示了图 7.8 所示的广义趋势, 但  $K^*$  和  $S_{bmin}^*$  值影响曲线有助于深入了解生物膜过程的性能的定量细节。较小的  $K^*$  值(即由于严重的外部传质阻力)推动曲线向上和向左。意思是需要一个高得多的  $S/S_{bmin}$  值来达到指定的  $J/J_R$  值。当  $K^*$  大于 10 左右时, 外部传质变得不重要, 所有曲线几乎重合。较大的  $S_{bmin}^*$  值(即较差的增长

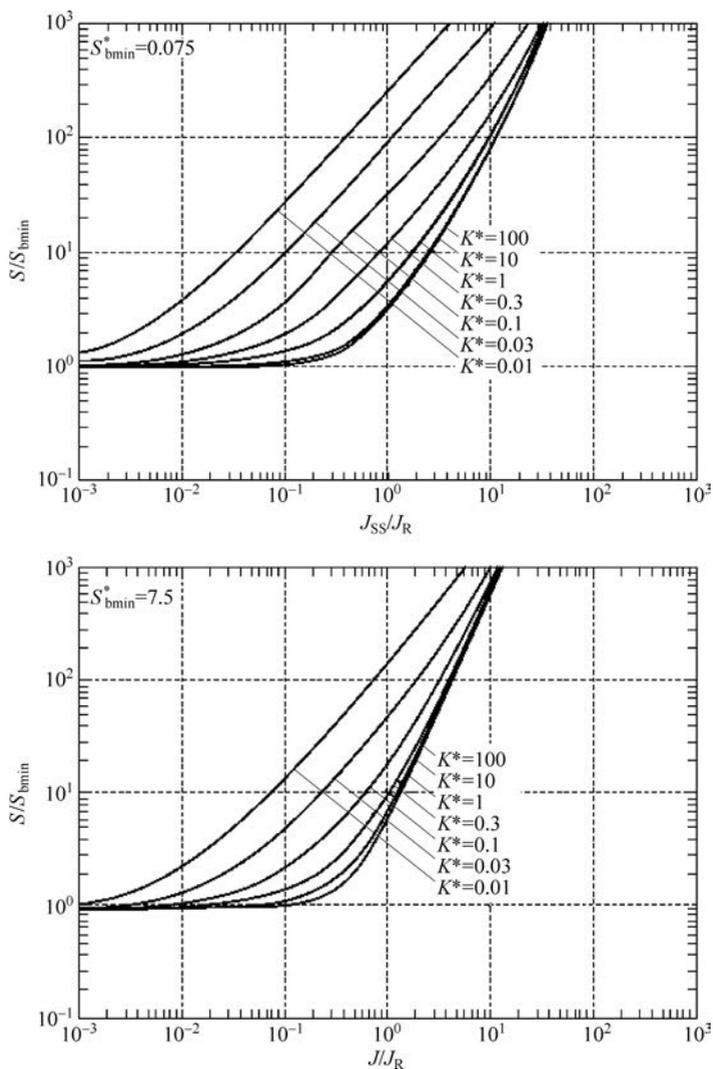


图 7.9 一组标准化曲线的两个示例： $S_{bmin}^* = 0.075$  (上图) 和  $S_{bmin}^* = 7.5$  (下图)。这些曲线对应不同的  $K^*$  值

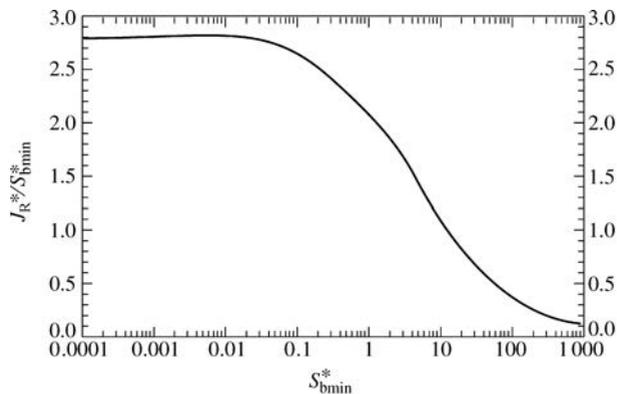


图 7.10 无量纲最小流量( $J_R^*$ )与无量纲最小基质浓度( $S_{bmin}^*$ )比值与  $S_{bmin}^*$  的关系曲线

(资料来源: Cannon, 1991)

潜力)会导致高  $K^*$  和低  $K^*$  曲线“挤”得更紧。这意味着生物膜的积累,而不是传质或基质利用动力学,正在更大程度地控制生物膜的性能。

**例 7.5 使用归一化负荷曲线来理解串联式的 CMBRs**

许多生物膜工艺具有显著的塞流特性。这些工艺可以用串联式的 CMBRs 表示。串联式的 CMBRs 每一级的性能可以通过确定需要多少个体积为  $20\text{m}^3$ 、比表面积为  $900\text{m}^{-1}$  ( $2950\text{ft}^{-1}$ ) 的 CMBRs,将基质浓度从  $430\text{mg/L}$  减少到  $5\text{mg/L}$  时。已知流量为  $4170\text{m}^3/\text{d}$ ,微生物和传质特性的参数见表 7.2。关键动力学参数为  $S_{\text{bmin}}^*$  和  $K^*$  值,分别为 0.1 和 1.2,这些参数的归一化负荷曲线如图 7.11 所示。

**表 7.2 例 7.5 中生物膜工艺设计中对  $\text{BOD}_L$  好氧化过程进行的参数估值**

输入的参数	
$K$	$10\text{mg BOD}_L/\text{L}$ ( $0.01\text{mg BOD}_L/\text{cm}^3$ )
$\hat{q}$	$10\text{mg BOD}_L/(\text{mg VS} \cdot \text{d})$
$D$	$1.25\text{cm}^2/\text{d}$
$D_f$	$0.75\text{cm}^2/\text{d}$
$X_f$	$25\text{mg VS}/\text{cm}^3$
$\gamma$	$0.45\text{mg VS}/\text{mg BOD}_L$
$b$	$0.1\text{d}^{-1}$
$b_{\text{det}}$	$0.31\text{d}^{-1}$
$L$	$0.0078\text{cm}$ ( $78\mu\text{m}$ )
计算的参数	
$S_{\text{bmin}}$	$1.0\text{mg BOD}/\text{L}$
$S_{\text{bmin}}^*$	0.10
$K^*$	1.20
$J_R^*/S_{\text{bmin}}^*$	2.60
$J_R^*$	0.26
$J_R$	$0.36\text{mg BOD}_L/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$

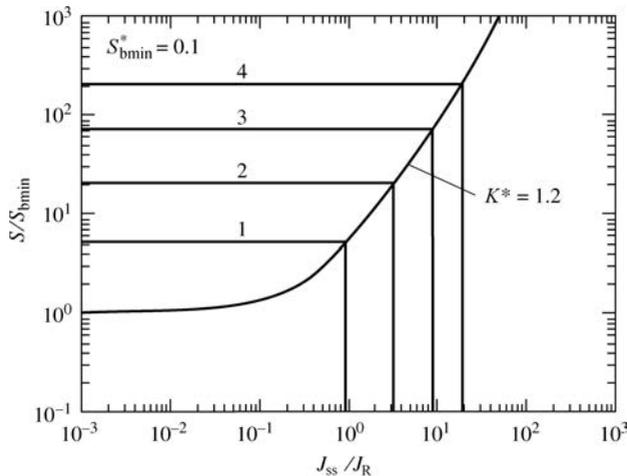


图 7.11 例 7.5 中  $K^* = 1.2, S_{\text{bmin}}^* = 0.1$  时的标准化负荷曲线

用于计算的物质平衡关系见式(7.41)

$$S = S^0 - \frac{J_{ss} a V}{Q}$$

在本例中,  $Q = 4170 \text{ m}^3/\text{d}$ ,  $V = 20 \text{ m}^3$ ,  $a = 900 \text{ m}^{-1}$ 。进行计算的简单方法是从第一个 CMBR(指定  $S^0 = 430 \text{ mg/L}$ )或最终 CMBR(指定  $S = 5 \text{ mg/L}$ )开始。在任何一种情况下,物质平衡都会变为

$$S = S^0 - \frac{(900 \text{ m}^{-1})(20 \text{ m}^3) J_{ss} \text{ mg}_s / (\text{cm}^2 \cdot \text{d})(10^4 \text{ cm}^2 / \text{m}^2)(10^{-3} \text{ m}^3 / \text{L})}{4170 \text{ m}^3 / \text{d}}$$

或

$$S = S^0 - 43.2 J_{ss}$$

本例中,我们从最终(或出水)的 CMBR 开始。对于出水单元(指示单元 1),  $S_1 = 5 \text{ mg/L}$ , 计算如下所示:

$$S_1 / S_{\text{bmin}} = 5$$

$$J_1 / J_R = 0.91 \text{ (图 7.11 中线 1)}$$

$$J_1 = 0.33 \text{ mg BOD}_L / (\text{cm}^2 \cdot \text{d})$$

$$S_1^0 = 5 + 43.2 \times 0.33$$

$$\approx 19.3 \text{ mg BOD}_L / \text{L}$$

那么,进入最后一个单元,离开前一个单元的浓度为  $19.3 \text{ mg BOD}_L / \text{L}$ 。

对于第二个到最后一个单元,指示单元 2,  $S = 19.3 \text{ mg BOD}_L / \text{L}$ , 其计算如下:

$$S_2 / S_{\text{bmin}} = 19.3$$

$$J_2 / J_R = 3.1 \text{ (线 2)}$$

$$J_2 = 1.12 \text{ mg BOD}_L / (\text{cm}^2 \cdot \text{d})$$

$$S_2^0 = 19.3 + 1.12 \times 43.2$$

$$\approx 67.7 \text{ mg BOD}_L / \text{L}$$

由于第二单元中的浓度仍然低于进水浓度,需要继续计算直到  $S^0$  超过  $430 \text{ mg BOD}_L / \text{L}$ 。

单元 3

$$S_3 = 67.7 \text{ mg BOD}_L / \text{L}$$

$$S_3 / S_{\text{bmin}} = 68$$

$$J_3 / J_R = 8.8 \text{ (线 3)}$$

$$J_3 = 8.8 \times 0.36 \approx 3.2 \text{ mg BOD}_L / (\text{cm}^2 \cdot \text{d})$$

$$S_3^0 = 67.7 + 3.2 \times 43.2 \approx 206 \text{ mg BOD}_L / \text{L}$$

单元 4

$$S_4 = 206 \text{ mg BOD}_L / \text{L}$$

$$S_4 / S_{\text{bmin}} = 206$$

$$J_4 / J_R = 19 \text{ (线 4)}$$

$$J_4 = 6.8 \text{ mg BOD}_L / (\text{cm}^2 \cdot \text{d})$$

$$S_4^0 = 206 + 6.8 \times 43.2 \approx 500 \text{ mg BOD}_L / \text{L}$$

计算结果表明,4个  $20 \text{ m}^3$  的单元足以将污水浓度从  $430 \text{ mg/L}$  降至  $5 \text{ mg/L}$ 。在不考虑

安全系数的情况下,所需体积约为  $75\text{m}^3$ 。

图 7.11 中的曲线说明了塞流系统的预期模式。接收进水流量的 CMBR 具有最高的  $S$  和  $J$  值,且其显然在高负荷区域运行。每个后续的 CMBR 具有较低的  $S$  和  $J$  值,并且最后的 CMBR 的负载开始接近低负载区域。当第一个 CMBR 以比最终的 CMBR 高近 20 倍的速度去除基质时,最终 CMBR 将废水浓度降低到第一个 CMBR 中的浓度约  $1/20$  的值。再添加一个 CMBR 将使浓度从  $5\text{mg/L}$  降低到  $1.9\text{mg/L}$ ,但流量为  $0.072\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ ,仅为当前最后一个 CMBR 的 22%。

CMBR 规模的选择会影响结果。使用较小的 CMBR 单元使生物膜反应器更具有塞流性质,从而可以减少总体积,但是当单元数超过 6 个时,影响通常较小。正确的反应器单元数的选择取决于反应器的混合特性,这超出了本节的范围。然而,由于无论是以图形方式(图 7.11)还是借助电子表格,计算都简单快速,因此工程师可以轻松评估不同单元尺寸的影响。

## 7.12 非稳态生物膜

生物膜并不总是处在稳态。负荷、温度、脱附或其他的环境条件瞬时变化将引起生物膜出现净增长或损失。在模型方程式中,整个生物膜生物量平衡式[式(7.14)]将不适用。但是,生物膜内的基质浓度很快会达到稳态,也就是说式(7.3)和式(7.6)是适用的。

式(7.3)和式(7.6)的准解析解的形式为

$$J = \eta \hat{q} X_f L_f \frac{S_s}{K + S_s} \quad (7.48)$$

式中, $J$  为进入生物膜任何厚度处的基质通量,  $\text{M}_s \text{L}^{-2} \text{T}^{-1}$ ;  $\eta$  为有效性系数,即实际通量与生物膜完全被穿透时(浓度等于  $S_s$ )的通量的比值。 $\eta$  的值清晰地表示了内部传质阻力的影响。需要给出一个  $L_f$  值,因为  $L_f$  不是像稳态生物膜模型中那样的输出值。

准解析解为无量纲形式,需要对  $\eta$  和  $S_s$ (生物膜外表面无量纲基质浓度)进行适当的估计。无量纲化的步骤和解如下:

(1) 计算 4 个无量纲参数:

$$S^* = S/K \quad (7.49)$$

$$L^* = L/\tau \quad (7.50)$$

$$L_f^* = L_f/\tau \quad (7.51)$$

$$D_f^* = D_f/D \quad (7.52)$$

其中,

$$\tau = \sqrt{KD_f/\hat{q}X_f} \quad (7.53)$$

(2) 准解析解需要进行反复试算,应该先估计一下有效性系数  $\eta$  的值。原则上, $\eta$  能取  $0 \sim 1$  的任何值,但是如果估计的初值接近实际值的话,求解会更快。如果生物膜非常薄, $\eta$  值接近 1; 对厚生物膜, $\eta$  接近

$$\frac{\sqrt{\frac{D_f(K + 2S_s)}{\hat{q}X_f}}}{L_f} = (1 + 2S_s^*)^{0.5}/L_f^* \quad (7.54)$$

因为并不知道  $S_s^*$ , 开始可以设  $S^*$  值为  $2S_s^*$ 。

(3) 用  $\eta$  的估值和  $S^*$  对  $S_s^*$  进行试算:

$$S_s^* = \frac{1}{2} [(S^* - 1 - L^* L_f^* D_f^* \eta) + \sqrt{(S^* - 1 - L^* L_f^* D_f^* \eta)^2 + 4S^*}] \quad (7.55)$$

(4) 用式(7.56)试算无量纲通量:

$$J^* = D_f^* L_f^* \eta \frac{S_s^*}{1 + S_s^*} \quad (7.56)$$

(5) 计算  $S_s^*$  的检验值, 记作  $S_s^{*'}$

$$S_s^{*'} = S^* - J^* L^* \quad (7.57)$$

(6) 计算  $\phi$

$$\phi = \frac{L_f^*}{(1 + 2S_s^{*'})^{1/2}} \quad (7.58)$$

对无量纲表面浓度为  $S_s^{*'}$  的厚生物膜来说, 参数  $\phi$  等于  $1/\eta$ 。

(7) 由  $\phi$  计算  $\eta$  的检验值, 记作  $\eta'$

$$\begin{aligned} \eta' &= 1 - \frac{\tanh(L_f^*)}{L_f^*} \left( \frac{\phi}{\tanh \phi} - 1 \right), \quad \text{当 } \phi \leq 1 \text{ 时} \\ &= \frac{1}{\phi} - \frac{\tanh(L_f^*)}{L_f^*} \left( \frac{1}{\tanh \phi} - 1 \right), \quad \text{当 } \phi \geq 1 \text{ 时} \end{aligned} \quad (7.59)$$

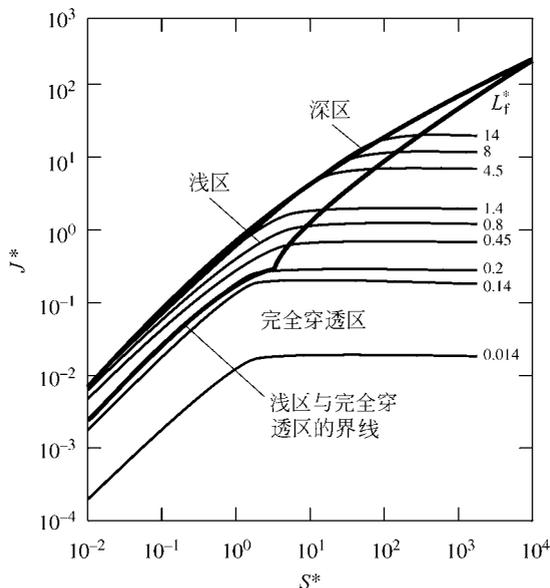


图 7.12 不同厚度生物膜的  $J$  随  $S$  的变化

(资料来源: Rittmann and McCarty, 1981)

(8) 如果  $\eta'$  很接近  $\eta$ , 执行步骤(9)。相反, 如果  $\eta'$  和  $\eta$  不一致, 用  $\eta'$  作为  $\eta$  的估值, 回到步骤(3)进行计算。重复步骤(3)~(8)直到  $\eta'$  很接近  $\eta$ 。判断是否很接近, 取决于对  $J$  值的精度要求。例如, 如果要求  $J$  有 1% 精度, 则要满足  $\eta' - \eta < 0.01\eta'$ 。

(9) 计算无量纲通量  $J^*$

$$J^* = \eta D_f^* L_f^* \frac{S_s^{*'}}{1 + S_s^{*'}} \quad (7.60)$$

(10) 将无量纲量换算为有量纲量

$$J = J^* \left( \frac{KD}{\tau} \right) \quad (7.61)$$

将  $S_s^{*'}$  用式(7.49)转换为  $S_s$  后,也可以通过式(7.48)由  $\eta$ (步骤(8)得出的)计算  $J$ 。

图 7.12 为  $J^*$  和  $S^*$  的关系图。该图有 3 个重要特征。第一,通量随  $S$  的增加线性持续下降。换句话说,当  $S$  而非  $S_{bmin}$  接近零时,  $J$  也接近于零。由于生物膜物质平衡式[式(7.16)]不包括在模型中,因此不存在  $S_{bmin}$  值。第二,当  $S$  值比较低时,  $J$  对  $S$  的曲线开始时为一次方(或线性的),随后反应级数下降,当  $S$  值足够高时,最终降至零次方。这种现象也符合 Monod 基质利用动力学,即当  $S$  值非常高时,完全穿透生物膜达到饱和。第三,生物膜越厚,到达零级反应动力学的点对应的基质浓度越高。由这 3 个特点可以知道当生物膜很厚时,很难取得使其完全穿透的环境条件。

### 例 7.6 非稳态通量与浓度

例 7.2 估计了一个稳态 CMBR 的运行情况,其体积为  $1000\text{m}^3$  的,载体比表面积为  $100\text{m}^{-1}$ ,出水浓度为  $100\text{mg/L}$ ,流速为  $1000\text{m}^3/\text{d}$ 。对于稳态的生物膜反应器,出水浓度为  $17\text{mg/L}$ ,  $J_{ss}=0.83\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ ,  $X_f L_f=4.15\text{mg VS}_a/\text{cm}^2$ ,以及  $L_f=0.10\text{cm}$ 。本例中,我们评估了同一反应器在不同负荷条件下的短期性能。短期意味着,混合液和生物膜中的基质浓度达到稳定状态,但生物膜没有足够的时间在稳定状态下改变其累积量和厚度。

对于任意的 CMBR,稳态的生物膜基质物质平衡在非稳态条件下可以用于求解  $S$ :

$$S = S^0 - \frac{JaV}{Q}$$

其中的  $J$  可通过求解任意厚度生物膜的方程得到[即式(7.48)~式(7.61)],单位为  $\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。求解的关键是必须将  $L_f=0.10\text{cm}$  作为模型解的一个已知条件。如果生物膜是稳态的,  $J$  将等于  $J_{ss}$ 。

本案例考虑短期内,采用 2 倍流量  $20000\text{m}^3/\text{d}$ ,  $S^0$  仍为  $100\text{mg BOD}_L/\text{L}$  的影响。由于负荷加倍,我们首先假设出水基质浓度也由  $17\text{mg/L}$  加倍为  $34\text{mg/L}$ 。用式(7.49)~式(7.61)求解。

(1) 计算 4 个无量纲参数:

$$S^* = \frac{34\text{mg/L}}{10\text{mg/L}} = 3.4 \quad D_f^* = \frac{0.64\text{cm}^2/\text{d}}{0.8\text{cm}^2/\text{d}} = 0.8$$

$$\tau = \sqrt{\frac{(0.01\text{mg}/\text{cm}^3)(0.64\text{cm}^2/\text{d})}{8\text{mg}/(\text{mg} \cdot \text{d})(40\text{mg}/\text{cm}^3)}} \approx 0.00447\text{cm}(44.7\mu\text{m})$$

$$L^* = \frac{0.01\text{cm}}{0.00447\text{cm}} \approx 2.24 \quad L_f^* = \frac{0.10\text{cm}}{0.00447\text{cm}} \approx 22$$

(2) 计算  $\eta$  的初始值

$$\eta = \frac{\sqrt{1 + S^*}}{L_f^*} = \frac{\sqrt{1 + 3.4}}{22} \approx 0.095$$

(3) 用  $\eta$  试算  $S_s^*$

$$S_s^* = 0.05[(3.4 - 1 - 2.24 \times 22 \times 0.8 \times 0.095) + \sqrt{(3.4 - 1 - 2.24 \times 22 \times 0.8 \times 0.095)^2 + 4 \times 3.4}] \approx 1.29$$

(4) 用  $S_s^*$  试算无量纲通量

$$J^* = 0.8 \times 22 \times 0.095 \times \frac{1.29}{1 + 1.29} \approx 0.942$$

(5) 用  $J^*$  计算  $S_s^*$  检验值

$$S_s^{*'} = 3.4 - 0.942 \times 2.24 \approx 1.29$$

(6) 用  $S_s^{*'}$  计算  $\phi$

$$\phi = \frac{22}{\sqrt{1 + 2 \times 1.29}} \approx 11.63$$

(7) 用  $\phi$  计算  $\eta'$  检验值

$$\eta = \frac{1}{11.63} - \frac{\tanh(22)}{22} \left[ \frac{1}{\tanh(11.63)} - 1 \right] \approx 0.086 \neq 0.095$$

由于  $\eta$  值不一致, 选择一个新的  $\eta$  值, 使  $\eta = 0.09$  并重复计算:

$$S_s^* = 1.357$$

$$J^* = 0.912$$

$$S_s^{*'} = 1.357$$

$$\phi = 11.42$$

$$\eta' = 0.088$$

再一次重复计算得到  $\eta = 0.0882$ ,  $S_s^* = 1.38$ , 从步骤(9)令  $J^* = 0.0882 \times 17.6 \times 1.38 / (1 + 1.38) \approx 0.90$ , 然后步骤(10)开始  $J = 0.90 \times (0.01 \text{mg/cm}^3) \times (0.8 \text{cm}^2/\text{d}) / 0.00447 \text{cm} \approx 1.61 \text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。通量并没有随着  $S$  的加倍而加倍。

得到的物质平衡为:

$$S = 100 \text{mg/L} - (1.61 \text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})) (100/\text{m}) (1\text{d}/20000\text{m}^3) (1000\text{m}^3) (10\text{cm}^2 \cdot \text{m/L}) = 19.5 \text{mg/L}$$

很明显,  $S$  值并不一致, 因此选用新  $S$  值重新计算。

我们选  $29.4 \text{mg/L}$ , 得到  $\eta = 0.083$ ,  $S_s^* = 1.17$ ,  $J = 1.41 \text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。由物质平衡式得到  $S = 29.5 \text{mg/L}$ , 即实际出水浓度为  $29.5 \text{mg/L}$ 。因此, 流量是原来的 2 倍时  $S$  是原来的 1.74 倍, 通量是 1.7 倍。如果是基质负荷增加为  $S^0$  的 2 倍, 则出水  $S$  将增加 2 倍以上, 因为基质的平流损失不会随着  $Q$  的增加而增加。

### 例 7.7 次要基质的降解

任意一个厚生物膜的模型的解除了能描述短期传递的通量, 还适用于次要基质, 或生物降解后几乎不能提供任何细胞生长生存所需能量与电子的化合物。由于次要基质的利用与生物量的增加之间并无联系, 式(7.16)不适用。因此, 仅可以用式(7.3)和式(7.4), 它们适用于任意厚度的生物膜模型。

本例中, 仍采用例 7.2 中的稳态生物膜, 微生物以进水中的  $\text{BOD}_L$  作为主要电子供体, 以微污染物作为次要基质进行利用。流量为  $10000 \text{m}^3/\text{d}$ , 进水中次要基质浓度为  $0.1 \text{mg/L}$

(即  $100\mu\text{g/L}$ ), 反应动力学参数如下:

$$\hat{q} = 1\text{mg}/(\text{mg VS} \cdot \text{d})$$

$$K = 20\text{mg/L}$$

$$D = 1.2\text{cm}^2/\text{d}$$

$$D_f = 0.6\text{cm}^2/\text{d}$$

$$L = 0.008\text{cm}$$

由于次要基质不影响主要基质的利用, 所以  $X_f$  和  $L_f$  的值仍分别为  $40\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$  和  $0.10\text{cm}$ 。因为次要基质对生物膜的保持没有作用, 不需要  $\gamma$ 、 $b$  和  $b_{\text{det}}$  值。(当然,  $b$  和  $b_{\text{det}}$  值仍然相同, 因为它们是由生物决定, 而不是由基质决定。)

计算过程与例 7.7 相同, 只是参数采用微污染物的值。由于微污染物的降解动力学较慢, 与主要基质相比, 我们假设其去除的部分较小。在本例中, 首先假设去除率为 83%, 或者  $S = 0.017\text{mg/L} = 1.7 \times 10^{-5}\text{mg}/\text{cm}^3$ 。这一假设与主要基质的去除率 83% 一致。

(1) 计算无量纲参数

$$S^* = \frac{0.017\text{mg/L}}{20\text{mg/L}} = 8.5 \times 10^{-4} \quad D_f^* = \frac{0.60\text{cm}^2/\text{d}}{1.2\text{cm}^2/\text{d}} = 0.5$$

$$\tau = \sqrt{\frac{(0.02\text{mg}/\text{cm}^3)(0.60\text{cm}^2/\text{d})}{1\text{mg}/(\text{mg} \cdot \text{d})(40\text{mg}/\text{cm}^3)}} \approx 0.0173\text{cm}(173\mu\text{m})$$

$$L^* = \frac{0.008\text{cm}}{0.0173\text{cm}} \approx 0.46 \quad L_f^* = \frac{0.10\text{cm}}{0.0173\text{cm}} \approx 5.78$$

(2) 计算  $\eta$  的初始值

$$\eta = \frac{\sqrt{1+S^*}}{L_f^*} = \frac{\sqrt{1+8.5 \times 10^{-4}}}{5.78} \approx 0.173$$

(3) 用  $\eta$  试算  $S_s^*$

$$S_s^* = 0.5 \times (8.5 \times 10^{-4} - 1 - 0.46 \times 5.78 \times 0.8 \times 0.173) + \sqrt{(8.5 \times 10^{-4} - 1 - 0.46 \times 5.78 \times 0.8 \times 0.173)^2 \times 4 \times 8.5 \times 10^{-4}} \approx 6.9 \times 10^{-4}$$

(4) 用  $S_s^*$  试算无量纲通量

$$J^* = 0.8 \times 5.78 \times 0.173 \times \frac{6.9 \times 10^{-4}}{1 + 6.9 \times 10^{-4}} \approx 3.45 \times 10^{-4}$$

(5) 用  $J^*$  计算  $S_s^*$  检验值

$$S_s^{*'} = 8.5 \times 10^{-4} - 3.46 \times 10^{-4} \times 0.46 \approx 6.9 \times 10^{-4}$$

(6) 用  $S_s^{*'}$  计算  $\phi$

$$\phi = \frac{5.78}{\sqrt{1 + 2 \times 6.9 \times 10^{-4}}} \approx 5.78$$

(7) 用  $\phi$  计算  $\eta'$  检验值

$$\eta = \frac{1}{5.78} - \frac{\tanh(5.78)}{5.78} \left[ \frac{1}{\tanh(5.78)} - 1 \right] \approx 0.173$$

因此, 我们可以接受  $\eta = 0.173$ ,  $S_s^* = 6.9 \times 10^{-4}$ , 由此得到  $J^* = 3.45 \times 10^{-4}$ ,  $J = 3.45 \times$

$$10^{-4} \times 0.02 \times 1.2 / 0.0173 \approx 4.8 \times 10^{-4} \text{ mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d}).$$

微污染物的物质平衡式为

$$S = S^* - 100J = 0.1 \text{ mg}/\text{L} - 100 \times 4.8 \times 10^{-4} \text{ mg}/\text{L} = 0.052 \text{ mg}/\text{L}$$

方程的解仍不收敛。再迭代计算一步,得到最终解  $S = 26 \mu\text{g}/\text{L}$  和  $J = 7.3 \times 10^{-4} \text{ mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。因此,微污染物部分的去除率为 73%,小于主要基质的去除率。这表明它的降解速率要慢一些。

## 7.13 生物膜模型解的特例

在某些情况下,可以预先确定生物膜的“类型”,有下面几种特殊情况:

- 生物膜为厚生物膜;
- 整个生物膜内基质利用反应均为零级反应;
- 整个生物膜内基质利用反应均为一级反应,此特例的关系可表示为式(7.7)与式(7.8);
- 已知生物膜外表面与载体表面的基质浓度;通量解可表示为式(7.9)与式(7.10)。

对前两种特殊情况,均可以求得准解析解或真解析解。

### 7.13.1 厚生物膜

Rittmann 和 McCarty(1978)给出了厚生物膜的准解析解。它是变级数模型,因为它将  $J^*$  表示为

$$C^* (S^*)^q \quad (7.62)$$

其中  $q$  在 0.5~1.0 变化。只要生物膜为厚生物膜,变级数模型可以用于稳态或非稳态。变级数模型方程如下:

$$A = (\ln S^*) - \ln(2 + (\ln D_f^*)/2.303) - 1.8 \ln(1 + \sqrt{2} L^* D_f^*) + 0.353 \quad (7.63)$$

$$q = 0.75 - 0.25 \tanh(0.477A) \quad (7.64)$$

$$C^* = \frac{\sqrt{2} D_f^* (\sqrt{2} + \sqrt{2} L^* D_f^*)^{(1-2q)}}{1.0 + 0.54 [1 + 0.0121 \ln(1 + \sqrt{2} L^*)] \left[ 1 - 8.325 \left( \ln \left( \frac{q}{0.707} \right) \right)^2 \right]} \quad (7.65)$$

$$J = \frac{KD}{\tau} C^* (S^*)^q \quad (7.66)$$

其中  $S^*$ 、 $L^*$ 、 $D_f^*$  和  $\tau$  的定义与任意厚度生物膜的非稳态模型[即式(7.49)~式(7.53)]相同。

正确使用变级数模型需要生物膜必须为厚生物膜。对稳态生物膜,当  $S > S_R$  或  $J_{ss} > J_R$  时,生物膜为厚生物膜。对非稳态生物膜,Suidan 等(1987)给出了下面判断厚生物膜的方法:

若  $D_f^* L^* \neq 1$

$$L_f^* \geq \cosh^{-1} \left[ \frac{L^* D_f^* \sqrt{1 + 0.01[(L^* D_f^*)^2 - 1]} - 1}{0.1[(L^* D_f^*)^2 - 1]} \right] \quad (7.67)$$

若  $D_f^* L^* = 1$

$$L_f^* \geq 1.15 \quad (7.68)$$

### 7.13.2 零级反应动力学

当整个生物膜内  $S_f \gg K$  时,生物膜为零级。对薄生物膜,  $J_0$  和  $S_f$  的解析解为

$$J_0 = \hat{q}X_f L_f \quad (7.69)$$

$$S_f = S_s - \frac{\hat{q}X_f}{D_f} \left( L_f - \frac{z}{2} \right) z \quad (7.70)$$

然而,Suidan等(1987)进行更细致的分析后指出薄生物膜不可能出现  $S_f \gg K$  的情形。

对于具有零级反应动力学的厚生物膜,有著名的“半级”解:

$$J = \sqrt{2D_f \hat{q}X_f S_s} \quad (7.71)$$

$$S_f = S_s - 2 \sqrt{\frac{\hat{q}X_f S_s}{2D_f}} z + \frac{\hat{q}X_f}{2D_f} z^2 \quad (7.72)$$

尽管厚生物膜为零级看起来有些不合理,但半级解对很厚的生物膜在理论上是适用的,而且实验也观察到了这一点。

## 7.14 生物膜的数值模拟

到目前为止,本章提供的模型是理想化生物膜的解析解和准解析解的例子,这些理想生物膜具有一种类型的活性微生物,它们在生物膜中均匀分布、有一个速率限制基质和简单的平面几何形状。在环境生物技术中,这些相对简单的模型提供了理解控制生物膜过程性能机制所需的信息。为生物膜工艺的设计和操作提供了有效的定量基础,这种方法将用于接下来的许多章节中。

某些情况下,在环境生物技术实践和研究中所遇到的生物膜,不能很好地用理想的生物膜来重演。在这些情况下,需要更复杂的数值模型来描述超出理想化生物膜的简化现象。一些偏离理想情况的重要例子如下:

(1) 活性微生物需要一个以上的基质或产生一个重要的产物。在这种情况下,一个模型需要代表不止一种溶质,即使它只有一种活性微生物。通常在化学计量上,不同溶质的产生与消耗相互关联,但质量传输速率是独立的。

(2) 生物膜包含多种类型的微生物,它们具有不同的功能。一个例子是好氧生物膜,它包含硝化细菌与异养细菌,前者好氧化  $\text{NH}_4^+$  为  $\text{NO}_2^-$  与  $\text{NO}_3^-$ ,后者在呼吸  $\text{O}_2$ 、 $\text{NO}_2^-$  与  $\text{NO}_3^-$  的时候氧化有机供体。另一个例子是厌氧生物膜,其中包含细菌,它将有机基质发酵为乙酸、氢气,甲烷古菌可将乙酸和氢气转化为  $\text{CH}_4$  气体。在每个例子中,不同的微生物作为一个群落发挥作用,每一种微生物类型都需要依附另一种微生物类型的活动。

(3) 生物膜表面不规则。由于附着基底是不规则的,所以会产生不规则性,例如,颗粒活性炭上的大孔,金属或混凝土上腐蚀引起的凹坑。不规则性意味着一些生物膜微生物远离液体的流动,这意味着它们更多地受到外部传质阻力的影响,而很少因外力而脱落。

(4) 即使生物膜不包含生活在不规则基质上的多种微生物类型,它也会自然地发展出复杂的物理结构。这种情况往往发生在非常低流速的环境中,这在环境生物技术中是不常见的。

当这种生态和物理复杂性很重要时,解析和伪解析模型往往是不够的,而数值模型就变得必要了。在数值模型中,每个组分(生物质类型、基质或产物)都有自己的微分物质平衡方程,如稳态时的式(7.3),非稳态时的式(7.73):

$$\frac{dS_f}{dt} = D_f \frac{d^2 S_f}{dz^2} - \frac{\hat{q}}{K + X_f} S_f X_f \quad (7.73)$$

然后用数值方法同时求解这一系列微分方程,对于生物膜内的空间网格(如,  $\Delta z$ )和一组小的时间增量( $\Delta t$ ),微分项(例如,  $dS_f/dt$  与  $d^2 S_f/dt^2$ )被转换成有限差分项(例如,  $\Delta S_f/\Delta t$  与  $[\Delta(\Delta S_f/\Delta t)/\Delta t]$ )。将式(7.73)转化为

$$\frac{\Delta S_f}{\Delta t} = D_f \frac{\Delta(\Delta S_f/\Delta z)}{\Delta z} - \frac{\hat{q}}{K + X_f} S_f X_f \quad (7.74)$$

建立和解决数值解的细节超出了这本教科书的范围。感兴趣的读者可以从 Wanner 等(2006)中获取如何建立和求解数值模型。用户友好型软件,例如 AQUASIM、COMSOL 与 SUMO,可用于建立和求解生物膜数值模型。在本节的其余部分中,我们通过讨论数值模型之间的4个重要区别,为选择合适的数值模型提供一些参考。

数值模型之间一个非常重要的区别是所表示的维度数。最简单的模型只有一个维度(即1D),它垂直于基底,通常称为  $z$  维,如式(7.73)所示。如图7.1所示,1D模型可以表示溶质浓度梯度,它允许不同类型的生物质垂直于基质的梯度或分层。1D模型非常适合描述本节前面介绍的复杂情况1和复杂情况2,但它无法解决复杂情况3和复杂情况4。

如需描述复杂情况3和复杂情况4,则需要具有二维或三维(即2D或3D)的生物膜模型。2D模型增加了与基底平行的一个维度,通常表示为  $y$  维。3D模型增加了一个平行于基底的第二个维度(通常表示为  $w$ ,但有时表示为  $x$ )。然后,需要  $\Delta y$  和  $\Delta w$  的空间微分。式(7.75)显示了将式(7.74)转换为二维模型:

$$\frac{\Delta S_f}{\Delta t} = D_f \frac{\Delta(\Delta S_f/\Delta z)}{\Delta z} + D_f \frac{\Delta(\Delta S_f/\Delta y)}{\Delta y} - \frac{\hat{q}}{K + X_f} S_f X_f \quad (7.75)$$

第二个区别涉及模型是稳定状态还是非稳定状态。为了便于使用现成的软件进行计算,大多数二维和三维模型都是非稳态的,这意味着左边的项[例如,式(7.75)中  $\Delta S_f/\Delta t$ ]允许有一个变化的值,如计算右边的物质平衡一样[式(7.75)]。非稳态模型提供随时间动态变化的仿真结果。如果建模者需要模拟随时间变化的结果,则需要一个非稳态模型。当建模者寻求稳态结果时,非稳态模型是可被运行的,直到它收敛到一个所有左边项为零的解。正如 Rittmann 和 Manem (1992)、Tang 等(2012)所示,也可以对稳态结果进行直接求解。在直接稳态模型中,当左侧项全部为零时,可以采用一种特殊的数值求解算法直接求解。

第三个区别是关于如何处理生物膜脱附。有三种主要的选择,它们应该与作用于生物膜的脱附机制适当地联系在一起。最常见的脱附形式是侵蚀,小片生物膜从外部表面脱落。在生物膜模型中表示侵蚀最直接的方法是将生物质损失率作为生物膜最外层的边界条件。这种方法集中了生物膜外表面的所有脱附物,并保护内部免受侵蚀的直接影响。另一种极端方法是在整个生物膜中分配脱附生物质的速率。当对生物膜的所有部分都用恒定的脱附率( $b_{det}$ ),这意味着生物膜的内层不受保护也会脱附。脱附的第三种选择是脱落,即一大块生物膜突然脱落,通常一直脱落到基底。只有在二维或三维的非稳态模型中才会出现脱落现象。脱落的关键是要有一种触发脱落事件的机制。

第四个区别是生物膜是作为连续体还是作为独立的细胞或生物颗粒。这是一个与2D和3D模型相关的区别,因为它至少需要两个维度来表示一个细胞或粒子;1D模型本质上是连续模型。乍一看,将生物膜视为一组细胞或粒子的模型明显优于连续模型,因为生物膜是由单个细胞形成的。但这种明显的优势可能相关、也可能不相关(甚至不正确),这取决于使用模型的目标。当目标集中在小空间的单个细胞上时,使用离散细胞或粒子模型可以很好地匹配建模的需要。然而,如果目标是理解平均性质最重要的大规模现象(例如,反应器内基质通量或生物膜积累),连续体可能提供更有用的输出结果。这些权衡还需要考虑模型的建立与求解面临的挑战,而这些挑战必须在逐个案例的基础上进行评估。

连续体模型分为有限差分模型或有限元模型,它是指生物膜空间如何被划分和用差分方程表示的细节。一般来说,有限元模型为描述复杂的物理设置提供了更大的灵活性,但更难以实现。将生物膜表示为单个细胞的选项,包括细胞自动化模型和基于个体的模型。两者都涉及一组关于单个细胞或粒子行为的“规则”,这些规则对模型模拟的结果有很强的影响。

我们在这一节最后给出两个基于成功建模实践的经验,这些经验与Wanner等(2006)的权威工作也相呼应。第一个经验是,建模者应该选择可以实现建模目标的最简单的模型。如果复杂情况3和复杂情况4对建模工作不重要,那么建模人员就不应该选择2D或3D模型,因为它“更复杂”。同样,如果建模者很好地使用分析模型和准分析模型,那么它们的输出结果通常与1D数值模型一样好(Wanner et al., 2006)。第二个经验是,好的建模要求建模人员理解模型表示的内容及其工作方式。模型是一个强大的理解工具。在不了解模型内部内容的情况下插入数字,会导致令人尴尬的、通常是灾难性的错误。使用模型的人需要记住,模型是获取和使用理解的工具,它不是理解的替代品。

## 参考文献

- Cannon, F. S. (1991). "Discussion of Simplified design of biofilm processes using normalized loading curves." *Res. / Water Pollution Control Fedr.* 63, pp. 90-92.
- Green, D. W. and R. H. Perry (2008). *Ferry's Chemical Engineers' Handbook*, 8th ed. New York: McGraw-Hill.
- Rittmann, B. E. (1982). "The effect of shear stress on loss rate." *Biotechnol. Bioengr.* 24, pp. 501-506.
- Rittmann, B. E. and J. A. Manem (1992). "Development and experimental evaluation of a steady-state, multi-species biofilm model." *Biotechnol. Bioengr.* 39, pp. 914-922.
- Rittmann, B. E. and P. L. McCarty (1978). "Variable-order model of bacterial film kinetics." *J. Environ. Engr.* 104, pp. 889-900.
- Rittmann, B. E. and P. L. McCarty (1980a). "Model of steady-state-biofilm kinetics." *Biotechnol. Bioengr.* 22, pp. 2343-2357.
- Rittmann, B. E. and P. L. McCarty (1980b). "Evaluation of steady-state-biofilm kinetics." *Biotechnol. Bioengr.* 22, pp. 2359-2373.
- Rittmann, B. E. and P. L. McCarty (1981). "Substrate flux into biofilms of any thickness." *J. Environ. Engr.* 107, pp. 831-849.
- Saez, P. B. and B. E. Rittmann (1988). "An improved pseudo-analytical solution for steady-state-biofilm

- kinetics." *Biotechnol. Bioengr.* 32, pp. 379-385.
- Saez, P. B. and B. E. Rittmann (1992). "Accurate pseudo-analytical solution for steady-state biofilms." *Biotechnol. Bioengr.* 39, pp. 790-793.
- Suidan, M. T.; B. E. Rittmann; and U. K. Traegner (1987). "Criteria establishing biofilm kinetic types." *Water Res.* 21, pp. 491-498.
- Tang · Y.; H. Zhao; A. K. Marcus; and B. E. Rittmann (2012). "A steady-state biofilm model for simultaneous reduction of nitrate and perchlorate-Part 1: model development and numerical solution." *Environ. Sci. Technol.* 46, pp. 1598-1607.
- Wanner, O.; H. Eberl; E. Morgenroth; D. Noguera; C. Picioreanu; B. E. Rittmann; and M. C. M. van Loosdrecht (2006). *Mathematical Modeling of Biofilms*. Report of the IWA Biofilm Modeling Task Group, Scientific and Technical Report No. 18. London: IWA Publishing.

## 习 题

**7.1** 从生物膜反应动力学可以得到,当混合基质浓度为 2mg/L 时,稳态系统进入生物膜的通量为  $0.15 \text{ mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。在这种情况下如果比表面积为  $3 \text{ cm}^{-1}$ ,现处理流量为  $100 \text{ m}^3/\text{d}$ 、浓度为 50mg/L 的废水,所需反应器的体积为多少?

**7.2** 当生物膜表面基质浓度为 15mg/L 时,进入生物膜的基质通量为  $0.8 \text{ mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。如果  $D=0.8 \text{ cm}^2/\text{d}$ ,  $L_f=0.005 \text{ cm}$ ,且  $X_f=20 \text{ mg VS}_a/\text{cm}^3$ ,求混合基质浓度是多少?

**7.3** 设计一个反应器,处理废水流量为  $10^4 \text{ m}^3/\text{d}$ ,苯酚浓度为 150mg/L。已知下面的系数:  $\gamma=0.6 \text{ g VS}_a/\text{g 酚}$ ,  $\hat{q}=9 \text{ g 酚}/(\text{g VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $b'=0.15 \text{ d}^{-1}$ ,  $K=0.8 \text{ mg/L}$ 。评估比表面积为  $1000 \text{ m}^{-1}$  的 CMBR,假定为厚生物膜反应,  $L=0.005 \text{ cm}$ ,  $X_f=20 \text{ mg VS}_a/\text{cm}^3$ ,  $D=0.8 \text{ cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.8D$ ,反应器体积是多少(单位为  $\text{m}^3$ )?

**7.4** 计划设计一个无循环推流式生物膜反应器。它能将含有  $65 \text{ mg NO}_3/\text{L}$  不含氨氮的废水中的硝酸根,完全反硝化为氮气。乙酸为电子供体。(a)为实现 100%去除氮,需要在进水中加入乙酸的最低浓度是多少?(b)处理前在进水中加入上面给定浓度的乙酸,则在反应器入口处的反应是由下面哪个因素控制反应速度,硝酸根、乙酸还是其他因素?通过正确的计算说明你的结论。对于所有的计算,可假设  $\text{NO}_3^-$  用于生物物质合成,且下列参数是适当的。

	乙 酸	硝酸根	生物膜
$K/(\text{mg/L})$	10	1	
$\hat{q}/(\text{mg}/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d}))$	15		
$D/(\text{cm}^2/\text{d})$	0.9	0.7	
$D_f/D$	0.8	0.8	
$L/\text{cm}$	0.15	0.15	
$f_s$	0.55		0.55
$X_f/(\text{mg VS}_a/\text{cm}^3)$			12
$b'/\text{d}^{-1}$			0.15
$\gamma/(\text{mg VS}_a/\text{mg 乙酸})$	0.4		0.4

**7.5** 填写下面的表格,指出左栏中各变量的微小增量对完全混合曝气生物膜反应器操作性能的影响。假设每个变量的改变是独立于其他变量的。假定供体基质为溶解性的,反

反应器体积与生物膜表面积是固定的,电子供体是限速物质, $X_f$ 是常数,生物膜为厚生物膜。用+代表增长,-代表降低,0代表不变。

变量	出水供体基质浓度 $S^0$	供体基质的处理效率/%	需氧量/(kg/d)
$\gamma$			
$\hat{q}$			
$Q$			
$S^0$			
$b$			
$K$			

**7.6** 用体积为 2500L 的固定生物膜反应器在 35℃ 通过甲烷发酵处理有机废水。废水流量为 5000L/d, 包括可溶解的  $BOD_L$  浓度为 6000mg/L。反应器出水  $BOD_L$  浓度为 150mg/L。试估算反应器总的生物膜表面积。由于气体混合, 假设生物膜反应器为厚生物膜完全混合系统。 $BOD_L$  主要由乙酸组成, 相关参数为  $D=0.9\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.8D$ ,  $L=0.01\text{cm}$ ,  $K=50\text{mg } BOD_L/\text{L}$ ,  $\hat{q}=8.4\text{mg } BOD_L/(\text{g } VS_a \cdot \text{d})$ ,  $b'=0.1\text{d}^{-1}$ , 以及  $X_f=20\text{mg } VS_a/\text{cm}^3$ 。

**7.7** 用固定生物膜反应器对苯进行氧化, 当生物膜表面苯的浓度为 15mg/L 时, 进入厚生物膜的苯的通量为  $5\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})$ 。如果生物膜表面苯的浓度增为 50mg/L, 基质浓度的通量是多少? 可使用以下系数:  $\gamma=0.6\text{g } VS_a/\text{g 苯}$ ,  $\hat{q}=6\text{g 苯}/(\text{g } VS_a/\text{d})$ ,  $K=2\text{mg 苯}/\text{L}$ , 以及  $b'=0.1\text{d}^{-1}$ 。

### 7.8

(a) 为厚生物膜、薄生物膜与全穿透生物膜绘图表示从混合液体到附着基底的基质浓度变化情况。

(b) 一个用于污水处理的生物膜, 稳态条件下混合液中电子供体的浓度为 5mg/L, 生物膜表面电子供体的浓度为 2mg/L。生物膜的其他参数如下:  $L=0.01\text{cm}$ ,  $D=0.75\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.5\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $X_f=30\text{mg } VS_a/\text{cm}^3$ 。假定生物膜为平板状, 且为厚生物膜。试估算电子供体的通量。

(c) 根据上面化学计量方程, 在(b)部分的生物膜中消耗 1g 电子供体需要 0.6g 电子受体。如果混合液中的电子受体浓度为 3mg/L, 扩散系数为电子供体的 1.5 倍。求生物膜外表面电子受体的浓度。

**7.9** 计算进入稳态生物膜的基质通量和生物膜外表面的基质浓度, 条件如下:  $S=30\text{mg}/\text{L}$ ,  $\hat{q}=12\text{mg}/(\text{mg } VS_a \cdot \text{d})$ ,  $K=20\text{mg}/\text{L}$ ,  $\gamma=0.6\text{mg } VS_a/\text{mg}$ ,  $b'=0.15\text{d}^{-1}$ ,  $L=0.005\text{cm}$ ,  $D=0.9\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.8D$ , 以及  $X_f=10\text{mg } VS_a/\text{cm}^3$ 。

**7.10** 基于以下参数设计一个完全混合式生物膜反应器:  $S^0=200\text{mg}/\text{L}$ , 基质设计去除率为 95%,  $Q=1000\text{L}/\text{d}$ ,  $K=10\text{mg}/\text{L}$ ,  $\hat{q}=12\text{mg}/(\text{mg } VS_a \cdot \text{d})$ ,  $D=1.0\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.75\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $\gamma=0.5\text{mg } VS_a/\text{mg}$ ,  $b'=0.15\text{d}^{-1}$ ,  $L=100\mu\text{m}$ ,  $X_f=10\text{mg } VS_a/\text{cm}^3$ , 以及  $a=1000\text{m}^{-1}$ 。确定所需总表面积、体积以及液体停留时间。

**7.11** 参数值与习题 7.10 相同, 计算稳态生物膜、完全混合生物膜反应器去除率为 99% 时所需的表面积。使用稳态生物膜模型。

**7.12** *Aerooxidans unitii* 是一种可形成生物膜的厌氧细菌, 它的动力学参数如下:

$K=1\text{mg}/\text{cm}^3$ ,  $\hat{q}=1\text{mg}/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $D=D_f=1\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $\gamma=1\text{mg VS}_a/\text{mg}$ ,  $b'=0.1\text{d}^{-1}$ ,  $L=0.01\text{cm}$  以及  $X_f=10\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$ 。需要设计一个对负荷变化很不敏感的生物膜工艺。估计符合稳态标准的基质负荷的设计范围。

**7.13** 使用稳态生物膜系统处理高浓度废水,所用细菌的参数:  $K=100\text{mg BOD}_L/\text{L}$ ,  $\hat{q}=12\text{mg BOD}_L/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $D=D_f=1\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $\gamma=0.1\text{mg VS}_a/\text{mg BOD}_L$ , 以及  $b=0.1\text{d}^{-1}$ 。当生物膜在扰动的反应条件下生长时(增强外部质量传输动力),提供以下物理条件:  $L=0.01\text{cm}$ ,  $X_f=100\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$  与  $b_{\text{det}}=0.1\text{d}^{-1}$ 。然而,可以把这种细菌固定在藻酸盐珠状载体上,这基本消除了生物膜的脱附( $b_{\text{det}}=0$ ),但内部传质阻力增加( $D_f=0.1\text{cm}^2/\text{d}$ ),且使生物质密度更低( $X_f=10\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$ )。判断出水浓度为  $10\text{mg BOD}_L/\text{L}$  或  $1000\text{mg BOD}_L/\text{L}$  时(两个答案),固定化是否有利。提供答案的量化依据。

**7.14** 固定生物膜工艺能轻松地进行硝化过程,将  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  氧化为  $\text{NO}_3^--\text{N}$ 。典型的动力学参数如下:  $K=0.5\text{mg N}/\text{L}$ ,  $\hat{q}=2\text{mg N}/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $D=1.5\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=1.2\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $\gamma=0.26\text{mg VS}_a/\text{mg N}$ ,  $b'=0.1\text{d}^{-1}$ ,  $X_f=5\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$  与  $L=65\mu\text{m}$ 。确定停留时间变化时,完全混合生物膜反应器的硝化效果。已知生物膜比表面积  $a=1\text{cm}^{-1}$ ,进水浓度  $S^0=30\text{mg NH}_4^+-\text{N}/\text{L}$ 。求解为 5 个步骤。(a)计算  $S_{\text{bmin}}$ 、 $S_{\text{bmin}}^*$ 、 $K^*$  与  $J_R$ 。描述生长潜力和外部质量传输阻力是否占主导地位。(b)依照水力滞留时间( $\theta=V/Q$ ),建立反应器中  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  的基质物质平衡式,忽略悬浮反应。(c)对每个停留时间(1h、2h、4h、8h 与 24h),使用稳态生物膜模型,求解  $S$ 。(d)作  $S$  与  $\theta$  的关系图并解释曲线。(e)作  $S^0/S$  与  $\theta$  的关系图,是否与一级动力学吻合。如果吻合,表观一级反应速率系数( $k_1, \text{h}^{-1}$ )是多少?并解释为什么动力学接近一级。如果不吻合,说明为何该关系不是一级动力学。

**7.15** 一个生物转盘反应器(RBC)可看作一系列完全混合生物膜反应器的串联。分析下面的 RBC 第一阶段的稳态处理效果:  $Q=1000\text{m}^3/\text{d}$ ,  $S^0=400\text{mg BOD}_L/\text{L}$ ,  $X_a^0=0$ ,  $V=13.3\text{m}^3$  以及  $A=4000\text{m}^2$ 。假设  $\text{O}_2$  不限速,悬浮反应可忽略不计。使用以下参数:  $K=10\text{mg BOD}_L/\text{L}$ ,  $\hat{q}=11\text{mg BOD}_L/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $D=1.0\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.8\text{D}$ ,  $L=60\mu\text{m}$ ,  $\gamma=0.5\text{mg VS}_a/\text{mg BOD}_L$ ,  $b'=0.5\text{d}^{-1}$  以及  $X_f=00\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$ 。估算第一阶段的出水浓度( $S, \text{mg BOD}_L/\text{L}$ )。

**7.16** 设计一个生物膜反应工艺,氧化氨态氮为硝态氮。废水流量为  $1000\text{m}^3/\text{d}$ ,其中氮浓度为  $50\text{mg N}/\text{L}$ 。可以使用的组件为完全混合生物膜反应器,每个组件可附着生物膜的载体表面积为  $5000\text{m}^2$ 。为实现出水浓度达到  $1\text{mg N}/\text{L}$ ,需要多少串联的组件?可以使用下面的参数:  $K=1\text{mg N}/\text{L}$ ,  $\hat{q}=2.3\text{mg N}/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $D=1.5\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=1.3\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $\gamma=0.33\text{mg VS}_a/\text{mg N}$ ,  $b=0.11\text{d}^{-1}$ ,  $b_{\text{det}}=0.11\text{d}^{-1}$ ,  $X_f=40\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$  以及  $L=10\mu\text{m}$ 。请预计实际的出水浓度是多少?

**7.17** 使用并联的 CMBR 模块重新计算习题 7.16。解释相比习题 7.16,为什么模块的数量会更大或更小?

**7.18** 旋转式生物接触器可看作一系列完全混合生物膜反应器的串联。假设有一个三级完全混合生物膜反应器的串联系统。每个反应器的表面积为  $10\,000\text{m}^2$ ,总流量为  $1500\text{m}^3/\text{d}$ ,包含浓度为  $400\text{mg}/\text{L}$  的溶解性  $\text{BOD}_L$ 。相关参数如下:  $K=10\text{mg BOD}_L/\text{L}$ ,  $\hat{q}=16\text{mg BOD}_L/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $D=1\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.8\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $X_f=25\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$ ,  $\gamma=$

0.4mg VS<sub>a</sub>/mg BOD<sub>L</sub>,  $b=0.1d^{-1}$ ,  $b_{det}=0.1d^{-1}$  与  $L=100\mu m$ 。计算每级稳态出水浓度  $S$ 。假设没有悬浮反应。

**7.19** 设计一个厌氧的生物膜处理工艺,进水浓度为 5000mg BOD<sub>L</sub>/L 时,使出水浓度达到 100mg BOD<sub>L</sub>/L。该工艺是介于完全混合和推流的混合特性之间的。使用 4 个串联的完全混合生物膜反应器来实现这种混合。合理的参数:  $K=200mg BOD_L/L$ ,  $\hat{q}=10mg BOD_L/(mg VS_a \cdot d)$ ,  $D=0.5cm^2/d$ ,  $D_f=0.4cm^2/d$ ,  $L=150\mu m$ ,  $\gamma=0.2mg VS_a/mg BOD_L$ ,  $b=0.04d^{-1}$ ,  $b_{det}=0.04d^{-1}$ ,  $f_d=0.9$  与  $X_f=20mg VS_a/cm^3$ 。如果总流量为 1000m<sup>3</sup>/d,那么要符合性能标准,每个完全混合生物膜反应器需要的表面积大约为多少?(每个反应器具有相同的表面积。)

**7.20** 假设习题 7.19 的进水浓度突然降至 20mg/L,计算  $S$ 。假设各参数没有变化,包括生物膜厚度。

**7.21** 重做习题 7.20,只是  $S^0$  变为 40mg/L,其他条件不变。

**7.22** 已知下列参数和操作条件:  $L_f=0.0001cm$ 、 $0.001cm$ 、 $0.01cm$  与  $0.1cm$ ,  $K=10mg/L$ ,  $\hat{q}=5mg/(mg VS_a \cdot d)$ ,  $D=0.9cm^2/d$ ,  $D_f=0.72cm^2/d$ ,  $L=0.01cm$ ,  $X_f=40mg VS_a/cm^3$ ,  $a=2cm^{-1}$ ,  $V=1m^3$ ,  $Q=11.9m^3/d$ 。使用非稳态生物膜模型计算出水浓度和去除率。

**7.23** 在完全混合生物膜反应器,利用甲醇作为碳源和限制基质,计算使 30mg N/L 的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 脱氮所需的表面积。其中流速为 1000L/d,出水甲醇浓度为 1mg/L。假设平均 SRT 为 33d 进行化学计量计算,且假定它为常数。同样,设系统为稳态,相关参数表示如下:  $K=9.1mg CH_3OH/L$ ,  $\hat{q}=6.9mg CH_3OH/(mg VS_a \cdot d)$ ,  $D=1.3cm^2/d$ ,  $D_f=1.04cm^2/d$ ,  $X_f=20mg VS_a/cm^3$ ,  $\gamma=0.27mg VS_a/mg CH_3OH$ ,  $b=0.05d^{-1}$  与  $b_{det}=0.03d^{-1}$ 。

**7.24**  $Q$  在短期内增加到 2000L/d,其他条件同习题 7.23。若进水浓度保持不变,出水甲醇浓度是多少?

**7.25** 拟利用一个完全混合生物膜反应器处理流量为 1000m<sup>3</sup>/d 的废水,其中硫酸盐浓度为 100mg S/L。希望出水硫酸盐浓度为 1mg S/L,且出水中电子供体(乙酸盐)浓度为 4mg BOD<sub>L</sub>/L。已知获得一个很低的脱附率  $b_{det}=0.005d^{-1}$ ,这对于设计很有利。同时知道下面相关参数:  $\hat{q}=8.6mg BOD_L/(mg VS_a \cdot d)$ ,  $K=10mg BOD_L/L$ ,  $b=0.04d^{-1}$ ,  $\gamma=0.0565mg VS_a/mg BOD_L$ ,  $D=1.3cm^2/d$ ,  $D_f=1.0cm^2/d$ ,  $X_f=100mg VS_a/cm^3$ ,  $a=100m^{-1}$ ,  $L=44\mu m$ ,  $b_{det}=0.045d^{-1}$ 。请完成下列步骤对系统进行分析。(a)要使出水浓度达到 4mg BOD<sub>L</sub>/L 所需的基质通量为多少? 通量用 kg BOD<sub>L</sub>/(m<sup>2</sup>·d)表示。(b)为去除硫酸盐、达到甲醇的目标出水浓度,需要的进水 BOD<sub>L</sub> 浓度为多少?(c)生物膜反应器所需的体积(以 m<sup>3</sup> 计)为多少? 液体停留时间(以 d 计)为多少?(d)反应器内单位体积的活性生物物质浓度为多少? 结果用 mg VS<sub>a</sub>/L 表示。(e)出水活性生物物质浓度为多少? 用 mg VSS<sub>a</sub>/L 表示。(f)是否认为生物膜工艺的处理效果受物质传递阻力的影响很大? 你的答案是基于什么量化标准?

**7.26** 已知一个流化床生物膜反应器,很高的循环流速使液体保持完全混合状态。未流化时中层床体的空隙率  $\epsilon_0=0.3$ 。流化后空隙率为 0.46。流化状态时载体的比表面积为 3240m<sup>-1</sup>。非流化状态时比表面积为 4200m<sup>-1</sup>。相关参数如下:  $\hat{q}=8mg/(mg VS_a \cdot d)$ ,  $K=15mg/L$ ,  $D=1.6cm^2/d$ ,  $D_f=1.28cm^2/d$ ,  $\gamma=0.3mg VS_a/mg$ ,  $b=0.08d^{-1}$ ,  $X_f=20mg VS_a/cm^3$ ,  $L=60\mu m$ 。如果进水流量为 10m<sup>3</sup>/d,出水基质浓度为 1mg/L,进水浓度是多少?

假定悬浮态反应可以忽略,而脱附不可忽略,则必须计算  $b_{\text{det}}$  与  $b'$ 。假定生物膜的积累并不改变相对密度。由于能够保护生物膜免受剪切应力和磨损,如果生物膜脱附率是原来的  $1/10$ ,答案将如何改变?

**7.27** 在确定附着生物膜量时,脱附损失是一个主要的考虑因素。在低负荷区, $S$  接近  $S_{\text{bmin}}$  的情况下尤其如此。设  $S=0.5\text{mg/L}$ ,剪切力为  $0$  和  $2\text{dyn/cm}^2$ ,使用下面参数:  $K=10\text{mg/L}$ ,  $\hat{q}=10\text{mg}/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $D=1\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.8\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $\gamma=0.5\text{mg VS}_a/\text{mg}$ ,  $b=0.1\text{d}^{-1}$ ,  $X_f=10\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$ ,  $L=120\mu\text{m}$ ,计算  $S_{\text{bmin}}$  及  $L_f$  的稳态值。

**7.28** 假定你是一个高薪专家,需要判断流化床生物膜反应器是否满足客户的设计需求。所收集的信息如下:

- (1) 工厂必须处理流量为  $1000\text{m}^3/\text{d}$ ,  $\text{BOD}_L$  浓度为  $5000\text{mg/L}$  的废水。
- (2) 目标是将原始基质  $\text{BOD}_L$  降低到  $100\text{mg/L}$ 。
- (3) 之前废水的研究工作指出可生物降解  $\text{BOD}_L$  细菌的动力学参数为:  $\hat{q}=3.5\text{mg BOD}_L/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $K=30\text{mg BOD}_L/\text{L}$ ,  $b=0.04\text{d}^{-1}$ ,  $\gamma=0.1\text{mg VS}_a/\text{mg BOD}_L$ ,  $D_f=0.8\text{D}$  与  $X_f=50\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$ 。
- (4) 组成  $\text{BOD}_L$  的分子为聚合物,它的扩散系数为  $0.3\text{cm}^2/\text{d}$ 。
- (5) 对聚合物的单体的实验表明,  $\hat{q}$ 、 $K$ 、 $b$ 、 $\gamma$ 、 $X_f$  以及  $D_f/D$  的数值相同,只是  $D$  为  $1.2\text{cm}^2/\text{d}$ 。
- (6) 在流化床反应器的单体实验中,使用了直径  $0.2\text{mm}$  的砂粒,密度为  $2.65\text{g/cm}^3$ 。膨胀率是达到床的高度为未膨胀时的  $1.25$  倍,膨胀后的空隙率为  $0.5$ 。对出水进行回流,改善流化效果,膨胀后流化床反应器的表观流速为  $95\,000\text{cm/d}$ 。中试流化床未膨胀时的床体积为  $250\text{cm}^3$ ,床高度为  $50\text{cm}$ 。稳态进水流量为  $100\text{L/d}$ ,其中  $\text{BOD}_L$  浓度为  $5000\text{mg/L}$ 。测定出水  $\text{BOD}_L$  浓度为  $200\text{mg/L}$ ,不符合目标  $100\text{mg/L}$ 。
- (7) 既然中试单元不能达到目标,你的任务是确定利用相同反应器结构设计的实际处理装置能否满足  $100\text{mg/L}$  的目标。如果设计可行,你需要提供流化态床的体积;如果不可行,必须向客户解释为什么此系统不符合要求。
- (8) 实际处理装置中的下列各项必须与中试中的相同:相同的载体、类型和尺寸( $0.2\text{mm}$  砂粒),相同床膨胀率( $25\%$ ),相同的表观流速( $95\,000\text{cm/d}$ ),相同的温度( $20^\circ\text{C}$ ),相同的进水基质浓度( $5000\text{mg/L}$ )。

(9) 实际废水中的有机聚合物需遵循以下步骤完成分析。(a)确定  $S_{\text{bmin}}$ ,两个反应器系统的值应该相同。(b)确定  $L$ ,注意  $\rho_{\text{H}_2\text{O}}=1\text{g/cm}^3$ ,  $\mu=864\text{g}/(\text{cm} \cdot \text{d})$ 。(c)利用负荷标准概念确定中试反应器的预期处理效果。特别是估算  $J/J_R$ 。中试表现是否与预期效果大致相同。(d)如果改变  $J/J_R$  是否可以达到目标?(e)如果(d)的答案是肯定的,确定所需的膨胀后床体体积是多少?如果答案是否定的,解释为什么分析结果证明成功的设计是不可行的。

**7.29** 你有一个体积为  $100\text{m}^3$ 、载体比表面积为  $100\text{m}^{-1}$  的完全混合生物膜反应器。你打算检验它能否处理流量为  $1000\text{m}^3/\text{d}$ ,  $\text{BOD}_L$  浓度为  $500\text{mg/L}$  的废水。使用能将  $\text{SO}_4^{2-}$  转换为  $\text{S}^0$  的脱硫工艺,生物膜系统中的细菌与  $\text{BOD}_L$  具有以下特征:  $K=10\text{mg BOD}_L/\text{L}$ ,  $\hat{q}=8.8\text{mg BOD}_L/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $D=1\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.8\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $L=50\mu\text{m}$ ,

$\gamma=0.057\text{mg VS}_a/\text{mg BOD}_L$ ,  $f_d=0.8$ ,  $b=0.05\text{d}^{-1}$  与  $b_{\text{det}}=0.05\text{d}^{-1}$ 。你需要在决定使用它之前确定生物膜工艺的效果。因此需要使用稳态生物膜模型的概念系统地确定下面各项：(a)出水中基质的浓度,以  $\text{mg BOD}_L/\text{L}$  计。(b) $\text{VSS}_a$  的出水浓度,以  $\text{mg}/\text{L}$  计(只基于脱附)。(c)出水中源于基质与  $\text{VSS}_a$  的总  $\text{BOD}_L$  浓度(以  $\text{mg BOD}_L/\text{L}$  计)。

**7.30** 本题是一种新型系统。它通过使用一种可以将  $\text{H}_2\text{S}$  和  $\text{HS}^-$  好氧氧化为  $\text{SO}_4^{2-}$  的自养细菌处理含硫废水。电子受体为氧气,有充足的氮氮作为氮源。对这些硫化物氧化过程,利用下面参数： $K=2\text{mg S}/\text{L}$ ,  $\hat{q}=5\text{mg S}/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $D=1.2\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=1\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $X_f=40\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$ ,  $f_s^0=0.2e^-$  细胞/ $e^-$  S,  $\gamma=0.28\text{mg VS}_a/\text{mg S}$ ,  $b=0.05\text{d}^{-1}$ ,  $b_{\text{det}}=0.05\text{d}^{-1}$ ,  $f_d=0.8$  与  $L=40\mu\text{m}$ 。CMBR 的比表面积为  $200\text{m}^{-1}$ , 体积为  $162\text{m}^3$ 。废水的  $Q=1000\text{m}^3/\text{d}$ ,  $S^0=100\text{mg S}/\text{L}$ 。回答下面问题：(a)稳态时出水硫化物浓度为多少？(b)总生物膜积累量( $X_{fv}$   $L_f$ )和归一化的反应器体积是多少？以  $\text{mg VSS}/\text{L}$  计。(c)出水中 VSS 的浓度是多少？以  $\text{mg}/\text{L}$  计。所需的供氧速率为多少？以  $\text{kg O}_2/\text{d}$  计。

**7.31** 淹没式生物滤池已被用于甲烷的发酵。需要估计生物膜反应器的体积,以达到 90% 的乙酸去除率,将主要可降解有机物转化为甲烷。因为气体的强烈混合,这个淹没式过滤器可看作是一种 CMBR。假设下列动力学和反应器条件： $\hat{q}=8\text{mg Ac}/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $K=50\text{mg Ac}/\text{L}$ ,  $X_f=20\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$ ,  $L=150\mu\text{m}$ ,  $\gamma=0.06\text{mg VS}_a/\text{mg Ac}$ ,  $D=0.9\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.8D$ ,  $b_{\text{det}}=0.01\text{d}^{-1}$ ,  $b=0.01\text{d}^{-1}$ ,  $Q=15\text{m}^3/\text{d}$ ,  $S^0=2000\text{mg Ac}/\text{L}$ ,  $a=1.2\text{cm}^{-1}$ ,  $h=0.8$  与  $X_i^0=0$ 。使用稳态生物膜模型,(a)确定所需反应器体积  $V$ ,以  $\text{m}^3$  计。(b)确定水力停留时间  $V/Q$ ,以  $\text{h}$  计。(c)确定出水中活性生物物质固体的浓度  $X_a$ ,以  $\text{mg VSS}_a/\text{L}$  计。(d)估算出水中惰性生物物质固体的浓度  $X_i$ ,以  $\text{mg VSS}/\text{L}$  计。(e)估算出水中总挥发性悬浮固体的浓度  $X_v$ ,以  $\text{mg VSS}/\text{L}$  计。

**7.32** 流化床生物膜反应器被证明可以有效去除地下中低浓度的石油碳氢化合物。本题的目的是确定处理被汽油泄漏污染的地下水所需要的停留时间。主要是降低地下水含有的 BTEX 化合物(即苯、甲苯、乙苯和二甲苯)的浓度,需要将浓度降低到一个很低值  $0.1\text{mg}/\text{L}$ 。假设 BTEX 在生物膜中的生物降解可使用下面的参数： $\hat{q}=12\text{mg BTEX}/(\text{mg VS}_a \cdot \text{d})$ ,  $K=0.2\text{mg BTEX}/\text{L}$ ,  $\gamma=0.5\text{mg VS}_a/\text{mg BTEX}$ ,  $b'=0.14\text{d}^{-1}$ ,  $b_{\text{det}}=0.05\text{d}^{-1}$ ,  $D=1\text{cm}^2/\text{d}$ ,  $D_f=0.8D$ ,  $X_f=15\text{mg VS}_a/\text{cm}^3$  与  $L=50\mu\text{m}$ 。该反应器条件为  $Q=100\text{m}^3/\text{d}$ ,  $S^0=4\text{mg BTEX}/\text{L}$ ,  $a=6\text{cm}^{-1}$  与  $h=0.75$ 。首先,估算使用 CMBR 的稳态生物膜在出水中达到处理目标  $0.1\text{mg BTEX}/\text{L}$  时,所需的空床停留时间( $V/Q$ ),以  $\text{min}$  计。其次,估算出水中活性生物物质浓度( $X_a$ )、惰性生物物质浓度( $X_i$ )和挥发性悬浮固体浓度( $X_v$ ),以  $\text{mg VSS}/\text{L}$  计。