

污泥厌氧消化产酸发酵过程中乙酸累积机制

刘和¹, 许科伟¹, 王晋¹, 李秀芬¹, 陈坚^{1,2}

(¹ 江南大学环境与土木工程学院环境生物技术研究室, 无锡 214122)

(² 江南大学生物工程学院, 无锡 214122)

摘要: [目的] 研究污泥厌氧消化产挥发性脂肪酸(VFA)过程中的有机物碳流的转化机制, 阐明乙酸累积机理。[方法] 研究溴乙烷磺酸盐(BES)和氯仿(CHCl_3)抑制模型下中间代谢产物和气体的累积, 检测各产乙酸功能菌群数量, 推断污泥产酸发酵过程中的有机物碳流方向和乙酸累积机理。[结果] BES模型乙酸浓度达27 mmol/L, *fhs* 基因拷贝数比对照组高2-3倍, 产氢产乙酸菌略有下降。 CHCl_3 模型乙酸浓度达22 mmol/L, *fhs* 基因拷贝数比BES组低一个数量级, 产氢产乙酸菌下降明显。[结论] BES特异性较高, 除产甲烷菌外对其他厌氧产酸细菌没有影响, 乙酸浓度增加并且其主要来源于水解发酵产酸以及同型产乙酸过程。氯仿除抑制产甲烷菌外, 对同型乙酸菌和产氢产乙酸菌也有强烈的抑制作用。

关键词: 污泥; 同型产乙酸细菌; 产氢产乙酸细菌; 挥发性有机酸; 碳流

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2010) 10-1327-07

污泥厌氧消化产甲烷是实现城市污泥稳定化及资源化的一条重要途径。甲烷生成是污泥厌氧消化过程的最终步骤, 有机废物经过水解、酸化和乙酸化, 产生乙酸、 CO_2 和 H_2 等中间产物, 在产甲烷菌的作用下转化为 CH_4 。近年来, 有机物厌氧转化过程中产生的中间产物短链挥发性脂肪酸(VFA)受到愈来愈多的关注, 这不仅由于VFA在诸多领域具有重要的应用前景^[1-4]。而且, 将污泥中赋存的有机物以有机酸的形式保留在厌氧体系中而不是转化成温室气体的 CO_2 和 CH_4 , 也将是实现碳减排的一种重要的技术。

要实现VFA的高效累积, 阐明厌氧条件下乙酸累积机制尤为重要。在产甲烷反应受到抑制状态下, 理论上甲烷的前驱物乙酸, 氢气以及二氧化碳均会累积^[5-6]。 H_2 分压上升, 将有利于同型产乙酸细菌利用氢气和二氧化碳生成乙酸, 但同时也会对产

氢产乙酸细菌生成乙酸造成抑制。因此在氢气累积条件下, 究竟何种反应会占优势还不清楚, 这对能否实现乙酸积累具有决定性作用。

本文采用两种常用的微生物抑制剂溴乙烷磺酸盐(BES)和氯仿(CHCl_3)构建不同的微生物产酸模型, 详细研究了发酵中间代谢产物和气体的累积, 并借助于热力学分析以及两类关键产乙酸微生物的定量监测, 分析了产甲烷抑制状态下污泥厌氧发酵产酸的有机物碳流, 这对阐明有机酸的累积机制, 实现乙酸的累积具有重要的理论价值。

1 材料和方法

1.1 厌氧污泥来源

厌氧消化污泥取自无锡城北污水厂污泥浓缩池, 接种污泥来自无锡某柠檬酸厂IC反应器厌氧颗粒污泥。采用文献^[7]提到的方法测定污泥的相关

基金项目: 江苏省科技支撑计划资助(BE2008627); 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室开放基金项目(QAK200807)

作者简介: 刘和(1974–), 男, 江西吉安人, 副教授, 主要从事环境生物技术研究。Tel/Fax: +86-510-85326670; E-mail: liuhe@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2010-03-08; **修回日期:** 2010-05-25

指标,两种污泥的性质见表 1。

表 1 厌氧污泥与接种污泥性质

Table 1 Characteristics of anaerobic sludge and seed sludge			
Parameter	Unit	Anaerobic sludge	Seed sludge
Crude protein	g/g VS%	59.6 ± 1.47	65.32 ± 1.01
Carbohydrate	g/g VS%	12.5 ± 0.81	20.84 ± 1.74
Crude fatty acid	g/g VS%	1.2 ± 0.22	1.7 ± 0.21
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	mg/L	12.6 ± 0.14	8.4 ± 0.11
pH	-	7.28 ± 0.06	7.12 ± 0.08
Alkalinity (CaCO ₃)	mg/L	2554.3 ± 58.91	ND*
Phosphorus	wt %	0.27	0.58

* ND = not determine

1.2 厌氧消化培养条件

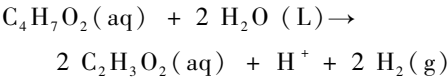
设计 3 个实验组进行厌氧消化试验:未添加抑制剂的对照组、BES 抑制组以及 CHCl₃ 抑制组。培养条件如下:取新鲜污泥 225 g 接种 25 g 种泥,加入适量微量元素液^[8]使培养物总体积为 500 mL。泵入氮气 5 min 去除顶空和液相中的氧气,用丁基胶塞密封后于 2500 mL 反应器中 35℃ 静置培养,避免因振荡破坏其种群结构。BES(纯度 99.5%,溶液形式)和 CHCl₃(纯度 99.5%)的终浓度分别为 50 mmol/L 和 0.05% (v/v),充气完毕后由反应器进样口加入。

1.3 挥发性脂肪酸和气体成分分析

采用气相色谱法测定 VFAs 和气体浓度,测定条件分别见文献[7,9]。

1.4 热力学分析

产氢产乙酸和同型乙酸过程的实时吉布斯自由能由各自的标准吉布斯自由能(ΔG°)和实时反应物和产物浓度,结合能斯特(Nernst)方程和范德霍夫(Van't Hoff)方程计算而得。反应方程式及其标准状态下的吉布斯自由能(1 mol/L, 105 Pa, 298.14°K)^[10]如下:



细菌细胞数 =
$$\frac{\text{视野中细菌数目} \times \text{载玻片凹孔面积} \times \text{稀释倍数} \times \text{固定样品体积}}{\text{视野面积} \times \text{涂布载玻片固定样品体积} \times \text{实际样品体积}}$$
 (5)

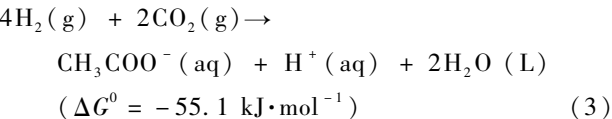
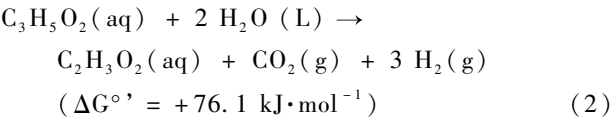
2 结果和讨论

2.1 两种抑制模型下有机酸和气体累积状况

污泥中添加 BES 和氯仿后,甲烷、氢气以及乙酸和丙酸的累积结果见图 1 所示。

如图 1 所示,未添加抑制剂的对照组和抑制组的有机酸和气体累积情况有显著差异。污泥未经抑制时,甲烷产量基本没有延滞期并快速增加,氢气在

(ΔG°' = +48.1 kJ·mol⁻¹) (1)



1.5 同型产乙酸菌和产氢产乙酸菌以及总微生物定量检测

分别采集 3 个实验组中的污泥进行微生物定量检测。采样时间分别为培养的第 4,10,15,21,28,36,42,48 天。采用定量 PCR 方法^[11]检测厌氧污泥中甲酰四氢叶酸合成酶基因(*fhs*)的拷贝数,用以表征同型产乙酸细菌的数量。在扩增体系中加入 SYBR Green I 荧光染料,在每个循环后检测荧光强度。荧光阈值设置和 C_T 值(threshold value)的测定均按照标准方法进行,所用仪器为 DNA Engine Chromo™ 辅以 Opticon Monitor™ 软件分析。试剂为 TaKaRa 公司的 real time PCR Kit v2.1,PCR 反应条件见文献 11。实际样品中基因拷贝数计算公式为:

每 g 样品中基因拷贝数 =
$$\frac{(\text{反应体系中拷贝数}) \times [\text{DNA 模板量}(\mu\text{L})]}{[\text{反应管中 DNA 体积}(\mu\text{L})] \times (\text{样品重量 g})}$$
 (4)

采用荧光原位杂交方法(FISH)^[12]分别检测产氢产乙酸细菌的两种类群食丙酸降解菌(SPOB)和丁酸降解菌(SPOB)的数量。采用 DAPI 染色法检测污泥中总微生物的数量^[12]。具体实验步骤如下:(1)载玻片用明胶包埋。(2)菌体用多聚甲醛(PFA)固定。(3)涂片。(4)46℃ 荧光原位杂交。(5)洗脱杂交液。(6)镜检。(7)结果分析。用软件 Image-Pro Plus 6.0 计数,样品中细菌细胞数由公式(5)计算得出,数据用 STATISTICA 6.0 进行统计分析。

第 1 天时短暂积累后快速消耗至检测限以下。相反,CHCl₃ 和 BES 抑制组的 CH₄ 和 H₂ 乙酸均出现累积,其中 CH₄ 在培养初期有少量产生,随后基本维持不变(相对于对照 95% 产甲烷活性被抑制)。但是,两种抑制模型中 H₂ 累积量有很大差异。污泥经 CHCl₃ 处理后 H₂ 快速积累在培养后期稳定在 1 kPa 左右。而 BES 抑制组中的顶空 H₂ 浓度仅有 90 Pa。

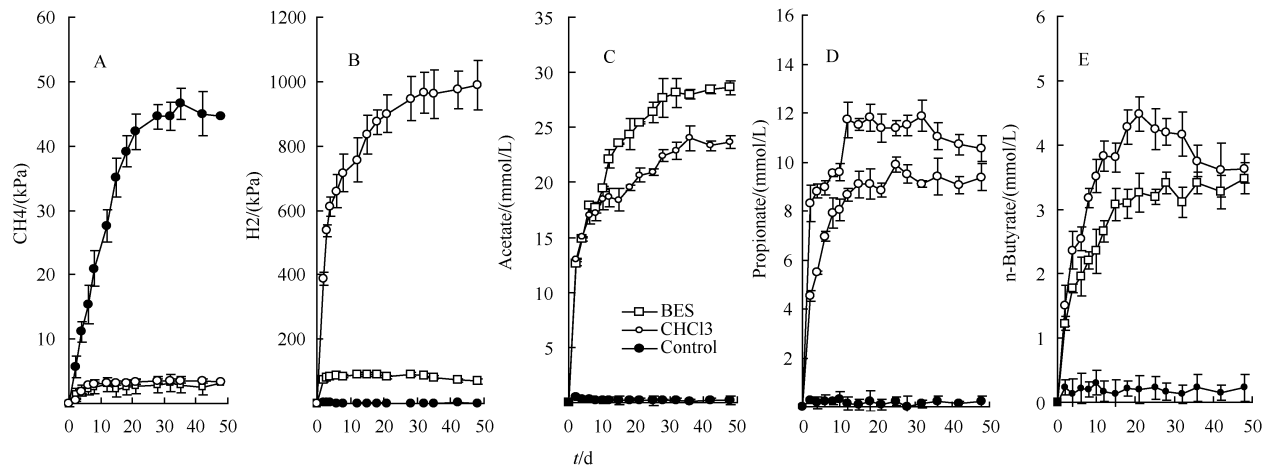


图1 不同抑制模型下甲烷(A)、氢气(B)、乙酸(C)、丙酸(D)和丁酸(E)的累积情况。气体以分压表示,1 kPa 相当于液相中 1.56 mmol/L

Fig. 1 Accumulation of methane (A), hydrogen (B), acetate (C), propionate (D), butyrate (E) in anaerobic sludge incubated in the presence and absence of different inhibitors. The accumulation of gases is given in partial pressures where 1 kPa is equivalent to approximately 1.56 mmol/L gas accumulated per liter of sludge suspension.

乙酸方面,未抑制污泥发酵过程中除乙酸在发酵第2天有短暂积累后迅速下降至 200 $\mu\text{mol/L}$ 左右外,未测得其他 VFA,表明整个污泥产甲烷活性非常高。相反,两个抑制组中乙酸虽然都有明显积累。与氢气相反,氯仿处理组中的乙酸浓度比 BES 中低 5 mmol/L 左右 ($P < 0.05$)。由于本实验中硫酸盐的浓度均 $< 150 \mu\text{mol/L}$,而此浓度不足以发生硫酸盐还原过程,整个培养过程中硫酸盐浓度基本保持恒定。

以上结果表明,CHCl₃ 和 BES 造成了不同的抑制效应。由于 BES 是产甲烷细菌辅酶 M 的结构类似物,在适量浓度下,主要是抑制产甲烷细菌,而 CHCl₃ 是一种广谱性的微生物抑制剂,除抑制产甲烷细菌外,还可能会抑制包括产氢产乙酸细菌以及同型产乙酸细菌在内的其他微生物。因此推断,两种抑制剂造成的抑制模型是:BES 抑制产甲烷菌,造成氢气和二氧化碳以及乙酸累积,而氢气和二氧化碳的累积刺激了同型产乙酸细菌活性,消耗氢气和二氧化碳,最终的效应是只有乙酸累积,而氢气未能在体系中累积。CHCl₃ 抑制模型中,由于 CHCl₃ 同时也抑制了其他细菌,如同型产乙酸细菌和产氢产乙酸细菌,因此氢气未能被消耗从而在体系中累积。

2.2 热力学分析

为了证实以上推断,计算了对照组及不同抑制模型下同型产乙酸反应以及产氢产乙酸反应的热力学(图2),为阐明抑制效应提供理论证据。

产甲烷被选择性抑制后,由于 H₂ 分压的抬升,

同型产乙酸过程变得可以自发进行,且两种抑制类型中 ΔG 都明显低于同型乙酸菌生长的最低吉布斯自由能。而在正常污泥厌氧发酵过程中(对照中),系统为同型产乙酸菌所提供的能量极为有限($\Delta G > -5.4 \text{ kJ/mol HAC}$)。由此可以判断,在产甲烷过程占优势的生态中,同型产乙酸过程从生化反应角度并不容易发生($\Delta G > -20 \text{ kJ/mol HAC}$)。而在投加 BES 后, ΔG 已变得足够低($\Delta G < -24 \text{ kJ/mol HAC}$),此能量已足以合成 1/3 ATP,于是在热力学上变得可以自发进行^[14]。

图2-B中,未抑制样品培养过程中,丙酸和丁酸降解的吉布斯自由能始终小于 -23 kJ/mol ,说明反应始终在自发进行。而加入 CHCl₃ 之后,由于非常高的氢分压,使得两个反应在热力学上都变得不可进行。出乎意料的是,BES 培养并没有像 CHCl₃ 处理一样,而是使污泥发酵的产氢产乙酸过程处于非常接近于热力学平衡状态($\Delta G \approx 0 \text{ kJ/mol}$)。虽然从生化反应原理上来说,微生物满足生长至少需要 1/4 - 1/3 mol ATP($\Delta G < -15 \text{ kJ/mol}$),但这仅针对单一反应而言。近来已有研究表明厌氧微生物在有互营关系存在条件下其吉布斯自由能在接近于热力学平衡状态下也能保持活性^[15-16]。

2.3 同型产乙酸细菌的动态变化

为了解释氯仿和 BES 抑制状态下,各种代谢产物(乙酸,丙酸,氢气)累积情况的不同,考察了同型乙酸菌在不同抑制模型状况下的数量(图3)。

结果发现,在 BES 的抑制模型中观察到了比对

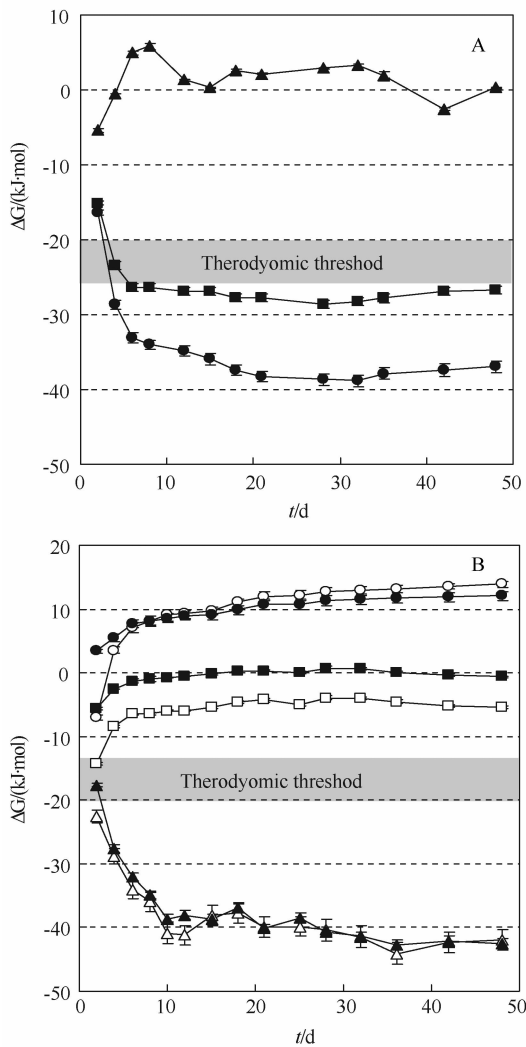


图2 不同抑制模型下同型产乙酸(A),丁酸和丙酸降解(B)的吉布斯自由能变化

Fig.2 Gibbs free energies of homoacetogenic H₂ consumption (A) and syntrophic butyrate-oxidizing (solid) and propionate-oxidizing (open) calculated for the actual conditions of the anaerobically incubated sludge in the presence and absence of different inhibitors. ▲-Control, ●-CHCl₃ treatment, ■- BES treatment.

照平均高 2-3 倍的 *fhs* 基因拷贝数,间接说明在此抑制模型下促进了同型乙酸菌的生长。与之相对,氯仿中的 *fhs* 基因拷贝数比 BES 处理的污泥样品低一个数量级,达到稳态发酵期时只有 3×10^6 /mL。也就是说氯仿很大程度上抑制了同型产乙酸菌的活性。这个结果正好与前述的产酸和产气的特性相符合,部分解释了为什么 BES 模型中乙酸浓度比氯仿中的高,而氯仿抑制模型中氢气浓度较之 BES 模型中要高约 10 倍($P < 0.05$),也符合上述两种抑制模型下的热力学计算结果。从这里也可以看出前述氯仿抑制模型下所造成的吉布斯自由能降低,仅仅是

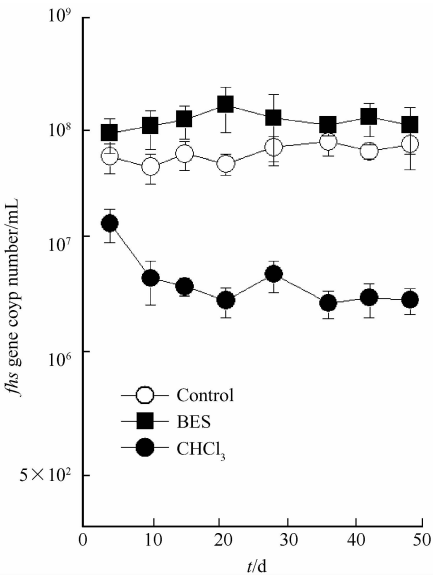


图3 不同抑制模型下甲酰四氢叶酸合成酶基因(*fhs*)拷贝数

Fig.3 Temporal change of formyltetrahydrofolate synthetase (*fhs*) gene copy numbers of homoacetogens under different inhibition models.

由同型乙酸菌被抑制后造成的“反应势”。

2.4 产氢产乙酸细菌数量的变化

为进一步了解产甲烷抑制状态下产氢产乙酸过程的响应,本研究还通过特异性探针对产氢产乙酸菌群动力学进行了考察(图4)。

如图4所示,在两个抑制组中,产氢产乙酸菌数量都有不同程度的下降。氯仿处理后,丙酸降解菌(SPOB)和丁酸降解菌(SPOB)细胞数的变化范围分别从 2.51×10^6 和 1.80×10^7 下降到 2.52×10^7 和 2.94×10^8 个/mL,其数值比未抑制对照中分别低 13.3 和 7.9 倍($P < 0.001$)。同热力学分析结果类似,BES 处理样品中 SPOB 和 SBOB 的数量仅有轻微减少(分别下降 1.5 和 2.0 倍, $P = 0.02$)。在 CHCl₃ 抑制模型下,两种产氢产乙酸细菌的数量下降可归结为两个原因:H₂ 分压上升造成的负反馈抑制和氯仿的毒性作用。而在 BES 抑制模型中,产氢产乙酸细菌的变化不大。这个结果同样证实了之前的推断。

2.5 污泥厌氧消化产酸的有机物碳流分析

根据以上结果,推断出两种污泥厌氧发酵产酸条件下的有机物转化碳流,同时列出正常产甲烷条件下的有机物碳流作为比较,见图5所示。

在正常的厌氧消化产甲烷条件下,污泥中的有机物经过水解酸化、产氢产乙酸、同型产乙酸以及产甲烷四个阶段最终转化为甲烷,作为中间产物的挥发性脂肪酸积累很少,通常在 5 mmol/L 或以下。

在两种产酸条件下,乙酸均出现明显的累积,但

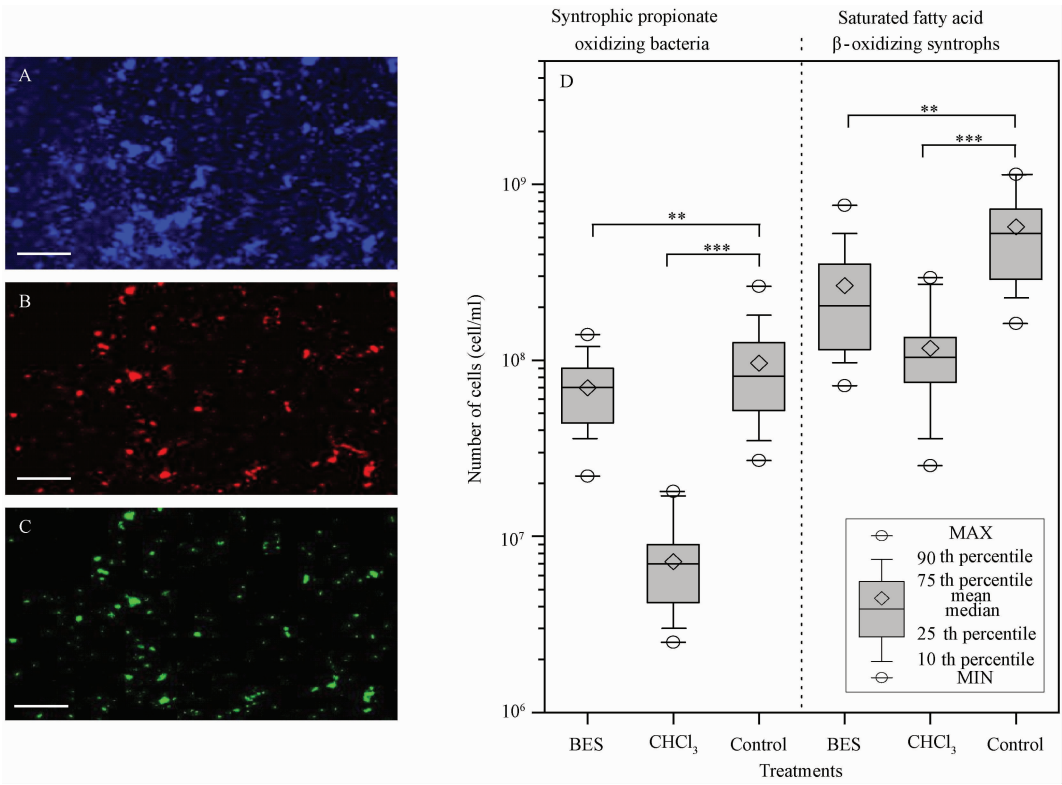


图 4 不同抑制状态下 (A) DAPI, (B) 丁酸盐降解菌 (SBOB) 探针, (C) 丙酸盐降解菌混合探针 (SPOB) 荧光原位杂交结果 (比例尺 = 100 μm) (D) SBOB 和 SPOB 细胞数箱式图 (* $P < 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P < 0.001$)

Fig.4 Fluorescence *in situ* hybridization of biomass incubated in the presence and absence of different inhibitors with (A) DAPI staining, (B) probe for syntrophic fatty acid- β -oxidizing bacteria (SBOB), (C) a mixed probe for syntrophic propionate-oxidizing bacteria (SPOB). Scale bar = 100 μ m. (D) Box plots of SBOB and SPOB cell numbers in the presence and absence of different inhibitors. Asterisks indicate significant differences (two-tailed Student's t-test of all datapoints, * $P < 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P < 0.001$).

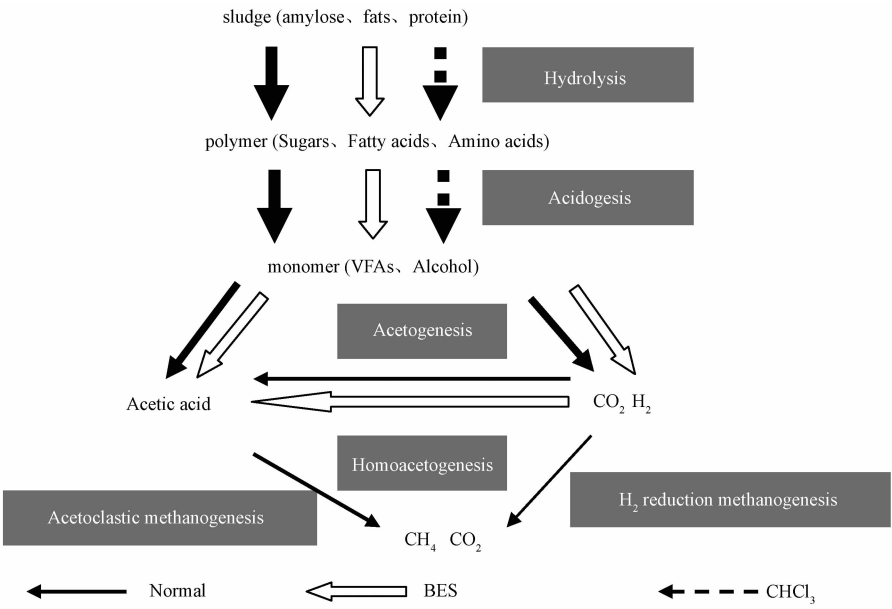


图 5 厌氧发酵产甲烷及两种产酸发酵条件下乙酸累积的有机物转化碳流

Fig.5 Organic carbon current under the conditions of two anaerobic digestions for methane production and acidogenesis fermentation. Thickness of the line indicate carbon current.

是两种模型下,有机物碳流的走向和分布都不一样,说明乙酸累积的机制也不同。在 BES 抑制模型中, BES 特异性较高,除抑制产甲烷外对其他厌氧消化过程基本没有影响。如图 5 所示, BES 模型中乙酸的累积过程可以用以下连锁效应来说明: BES 加入后,食氢产甲烷菌和食乙酸产甲烷菌被抑制,造成 H_2 分压和乙酸浓度增加;而过高 H_2 分压导致了产氢产乙酸菌活性被抑制。另一方面,由于没有了产甲烷菌的竞争, H_2 的累积刺激了同型产乙酸菌的活性,系统的 H_2 分压下降至同型乙酸菌的动力学阈值 (<100 Pa),而 H_2 分压的下降又反过来解除了产氢产乙酸的热力学抑制。与氯仿模型相比,同型乙酸菌和产氢产乙酸菌这两类菌群之间构成的互营关系使得体系中乙酸浓度明显升高, H_2 分压维持在较低水平,同时丙酸和丁酸等乙酸前体的浓度也有不同程度的降低。

在氯仿抑制模型中,在较低浓度氯仿存在的条件下,厌氧污泥的整体消化效率并不会下降。水解发酵阶段可能也是抑制模型一旦稳定后乙酸产生的唯一途径。所有乙酰 CoA 途径相关菌群均被抑制,包括次级发酵细菌,同型乙酸菌,乙酸氧化菌和食乙酸产甲烷菌等,使得代谢中间产物(VFA、 H_2 和 CO_2 等)之间不能互相转化。由此造成氢气、丙酸、丁酸等潜在的乙酸前体过度积累,造成乙酸虽有累积,但浓度相对较低。

3 结论

通过以上研究,得到结论如下:

(1) 两种抑制剂造成的污泥厌氧消化产酸模型均能造成乙酸的累积,其中 BES 模型中乙酸累积浓度达 25 mmol/L, $CHCl_3$ 模型中,乙酸累积达 22 mmol/L。

(2) 在 BES 产酸模型中,食氢产甲烷菌和食乙酸产甲烷菌被抑制, H_2 分压和乙酸浓度增加,产氢产乙酸菌活性被抑制。同时, H_2 的累积刺激了同型产乙酸菌的活性。乙酸累积来自水解发酵产乙酸、同型产乙酸以及产氢产乙酸。

(3) 在 $CHCl_3$ 产酸模型中,产甲烷细菌受到抑制, H_2 分压上升,但同型产乙酸细菌和产氢产乙酸细菌也受到抑制。水解发酵产乙酸可能是乙酸的唯一来源。

参考文献

[1] Angenent LT, Karim K, Al-Dahhan MH, Domiguez-Espinosa R. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater. *Trends in Biotechnology*, 2004, 22: 477-485.

[2] Du GC, Yu J. Green technology for conversion of food scraps to biodegradable thermoplastic polyhydroxyalkanoates. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36: 5511-5516.

[3] Moser-Engeler R, Udert KM, Wild D, Siegrist H. Products from Primary Sludge Fermentation and their Suitability for Nutrient Removal. *Water Science Technology*. 1998, 38: 265-273.

[4] Chung YJ, Cha HJ, Yeo JS, Yoo YJ. Production of poly (3- hydroxybutyric-co-3 -hydroxyvaleric) acid using propionic acid by pH regulation. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1997, 83: 492-495.

[5] Conrad R, Klose M. Selective inhibition of reactions involved in methanogenesis and fatty acid production on rice roots. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 34, 27-34.

[6] Penning H, Conrad R, Effect of inhibition of acetoclastic methanogenesis on growth of archaeal populations in an anoxic model environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72, 178-184.

[7] Liu XL, Liu H, Chen YY, Du GC, Chen J. Effects of organic matters and initial carbon-nitrogen-ratio on the bioconversion of volatile fatty acids from sewage sludge. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2008, 83(7): 1049-1055.

[8] OH SE, Van GS, Logan BE. The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. *Environmental Science & Technology*, 2003;37:5186-5190.

[9] Xu KW, Liu H, Chen J. Effect of classic methanogenic inhibitors on the quantity and diversity of archaeal community and the reductive homoacetogenic activity during the process of anaerobic sludge digestion. *Bioresource Technology*. 2010, 101 :2600-2607.

[10] Thauer RK, Jungermann K, Decker K. Energy-conservation in chemotropic anaerobic bacteria. *Bacteriology Review*. 1977, 41:100-180.

[11] Xu KW, Liu H, Du GC, Chen J. Real-time PCR assays targeting formyltetrahydrofolate synthetase gene to enumerate acetogens in natural and engineered environments. *Anaerobe*, 2009, 15: 204-213.

[12] 李艳娜, 许科伟, 堵国成, 陈坚, 刘和. 厌氧生境体系中产氢产乙酸细菌的 FISH 定量解析. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*), 2007, 47(6): 1038-1043.

[13] 刘和, 刘晓玲, 张晶晶, 陈坚. 酸碱调控污泥厌氧发酵实现乙酸累积及微生物种群变化. 微生物学报 (*Acta Microbiologica Sinica*), 2009, 49(12): 1643-1649.

[14] Conrad R, Klose M. Anaerobic conversion of carbon dioxide to methane, acetate and propionate on washed

- rice roots. *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 30:147-155.
- [15] Jackson BE, McInerney MJ. Anaerobic microbial metabolism can proceed close to thermodynamic limits. *Nature*. 2002, 415:454-456.
- [16] Scholten JCM, Conrad R. Energetics of syntrophic propionate oxidation in defined batch and chemostat cocultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66:2934-2942.

Mechanism of acetate accumulation during sludge anaerobic digestion

He Liu^{1*}, Kewei Xu¹, Jin Wang¹, Xiufen Li¹, Jian Chen^{1,2}

(¹ Lab of Environmental Biotechnology, School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

(² School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: [**Objective**] To investigate the organic carbon metabolism during sludge anaerobic digestion and to clarify the mechanism of acetate accumulation. [**Methods**] We Used inhibitors 2-bromoethanesulfonate (BES) and chloroform (CHCl₃) to block the methanogenesis to investigate the accumulation of various fermentation intermediates. We determined the bacterial number of homoacetogen and syntrophic acetogen and calculated the thermodynamics of the acetogenesis reaction to identify the directions of organic carbon metabolism and acetate accumulation during sludge anaerobic digestion. [**Results**] With the addition of BES, the acetate concentration was 27 mmol/L, the gene copy number of *fhs* was 2-3 folds of the control group and the number of sytroph acetogen was slightly decreased. In the group of chloroform addition, the acetate was 22 mmol/L, while the copy number of *fhs* gene was one order of magnitude lower than that in the BES model. [**Conclusion**] The two inhibitors lead to acetate accumulation from the anaerobic digestion of sludge. BES inhibited the methanogen and had no effect on other anaerobic acetogens. The accumulation of the acetate came from the hydrolysis acidogenesis, homoacetogenesis and syntrophic acetogenesis. Chloroform inhibited not only methanogen but also the homoacetogen and syntrophic acetogen severely. The acetate accumulation mainly came from the hydrolysis acidogenesis fermentation.

Keywords: sludge; homoacetogen; syntrophic acetogen; volatile fatty acid; carbon current

(本文责编: 张晓丽)