

酸碱调控污泥厌氧发酵实现乙酸累积及微生物种群变化

刘和¹, 刘晓玲¹, 张晶晶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】通过对污泥厌氧发酵 pH 调控, 研究挥发性脂肪酸的累积、产酸微生物种群变化及产氢产乙酸菌群对乙酸产生的贡献。【方法】测定不同 pH 条件下污泥厌氧发酵过程中挥发性脂肪酸的累积; 分别应用末端限制性片段长度多态性 (T-RFLP) 和荧光原位杂交技术 (FISH) 分析产酸系统中微生物种群结构的变化及产氢产乙酸菌的数量。【结果】pH 为 10.0 时, 有机酸和乙酸的产率在发酵结束时分别达到 652.6 mg COD/g-VS 和 322.4 mg COD/g-VS, 显著高于其它 pH 条件。T-RFLP 结果表明, pH 值为 12.0 时, 产酸菌优势菌为颗粒链菌属 (*Granulicatella*); pH 值依次降为 10.0, 7.0 和 5.0 时, 优势菌分别为消化链球菌属 (*Peptostreptococcus*) 梭菌属 (*Clostridium*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*)。FISH 检测结果表明, 中性条件下产氢产乙酸细菌数量高于酸性条件。pH 为 10.0 时, 产氢产乙酸细菌的丰度仅为总细菌的 0.01% 以下。【结论】pH 不仅影响了挥发性脂肪酸和乙酸的产率, 并且显著改变了厌氧发酵微生物菌群结构。碱性 pH 条件下, 乙酸的累积主要是由水解发酵产酸菌完成, 但在中性和酸性 pH 条件下, 产氢产乙酸菌发挥了更大的作用。

关键词: 城市污泥; pH; 厌氧发酵; 细菌种群

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2009) 12-1643-07

厌氧发酵产酸条件下, 污泥中的大分子有机物逐渐分解为小分子有机物并生成各种挥发性脂肪酸 (Volatile Fatty Acids, VFAs) 是一个由多种微生物相互协同、共同完成的复杂过程。至少有 3 种主要的微生物类群参与了这一过程, 即水解发酵细菌、产氢产乙酸菌和同型产乙酸菌。

在众多影响微生物厌氧发酵产酸的环境因子和厌氧操作工艺参数中, pH 是一个非常重要的调控因子。有关 pH 对有机物厌氧发酵影响的研究已有许多, 归纳起来, 可以认为 pH 通过 (1) pH 改变了发酵体系中各有机成分的生物可利用性从而影响发酵产酸结果^[1-3]; (2) pH 调控厌氧发酵种泥中乙酸合成

微生物的种群比例以及乙酸合成微生物体内的代谢途径^[4-5]; (3) 有机酸在发酵溶液中以不同的离子态和分子态形式存在等机制影响微生物发酵产酸的产率和有机酸产物分布^[6-7]。尽管现有研究已初步揭示了 pH 影响微生物发酵有机物产酸的机制, 但是仍然存在以下问题: (1) 由于厌氧微生物生长缓慢以及难以培养, 以传统研究手段得到的微生物变化结果有一定的局限性; (2) 微生物种群变化的研究结果主要局限于阐明水解发酵细菌的变化, 对于具有产酸发酵功能的微生物类群——产氢产乙酸菌的贡献关注很少。

本文考察了酸碱调控下对污泥预处理液厌氧发

酵实现乙酸累积的 VFAs 分布特征和产率变化,结合 16S rDNA 基因扩增的末端限制性片段长度多态性分析技术 (T-RFLP) 和荧光原位杂交技术 (FISH) 揭示厌氧发酵产酸系统中微生物种群结构的变化以及 pH 对产氢产乙酸菌的影响,从而推断酸碱调控下水解产酸菌和产氢产乙酸菌对 VFAs 累积的贡献。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

污泥微生物总 DNA 提取采用 3S 柱离心式环境样品 DNA 回收试剂盒 V2.1, 购自上海申能博彩生物科技有限公司; PCR 产物纯化采用 DNA Fragment Purification Kit Ver. 2.0, 购自上海 TaKaRa 公司。荧

光显微镜为日本 Nikon (DXM1200C), 气相色谱仪为日本岛津公司 GC2010。

1.2 底物污泥和接种污泥

实验用的发酵剩余污泥取自无锡市城北污水处理厂。污泥采集后置于阴凉处, 风干 10 d 以便促使污泥中的大部分水分挥发。然后, 采用机械粉碎仪粉碎, 再过 30 目筛, 密封置于 -15℃ 冰柜中保存。接种污泥取自无锡某柠檬酸厂上流式厌氧污泥反应器 (UASB) 中的厌氧颗粒污泥。在 100℃ 下煮沸 2 h 以杀死产甲烷菌^[8], 然后导入有效容积为 2 L 的 UASB 中进行驯化^[9]。驯化温度为 35℃。驯化期间定期监测反应器内 pH 值。两种污泥粉碎过筛后的成分测定如表 1 所示。

表 1 底物污泥和接种污泥的性质

Table 1 Characteristics of sewage sludge for substrate and seed for the anaerobic fermentation

Sludge	Total solid (TS) (g/L)	Volatile solid (VS) (wt, %)	Total protein (VS, %)	Total lipids (VS, %)	Total carbohydrates (VS, %)	Total phosphorus (wt, %)	Carbon nitrogen ratio/%
Substrate sludge	87.25 ± 0.34	54.47 ± 0.18	59.6 ± 1.47	1.2 ± 0.2	12.5 ± 0.8	0.312 ± 0.019	12.22 ± 0.98
Seed sludge	30.45 ± 0.72	89.47 ± 1.21	65.32 ± 1.01	1.7 ± 0.2	20.84 ± 1.74	ND	ND

ND not determined.

1.3 预处理和厌氧发酵产酸条件

发酵污泥采用热-碱方法预处理。配置 TS 浓度为 73.6 g/L 污泥混合液 4 L, 用 8 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 至 12.0, 然后在 90℃ 下密封低速搅拌预处理 2 h。热-碱预处理后, 将预处理液在 1000 × g 的转速下离心 25 min, 取离心上清液做为底物用于厌氧发酵产酸实验。

污泥预处理液厌氧发酵产酸操作程序如下: 取热-碱预处理后离心液 500 mL 置于 1000 mL 的厌氧反应瓶中, 接入 20 mL 驯化后的种泥, 然后用 6 mol/L 的 HCl 溶液将混合液的初始 pH 分别调节为 11.0、10.0、9.0、8.0、7.0、6.0、5.0、4.0 和 3.0, 充氮气 1 min 以去除氧气, 然后迅速密封置于转速为 120 r/min 和温度 35 ± 1℃ 摇床厌氧发酵。在发酵初始几天, 每 12 h 调节 pH 至各自的初始值。当发酵液 pH 值稳定后, pH 调节不再进行。

1.4 分析方法

1.4.1 挥发性短链脂肪酸及污泥各项指标的测定: 采用 GC 法检测挥发性短链脂肪酸的质量浓度, 样品处理及色谱条件等参见文献^[9], 为方便不同条件下产酸效率的比较, 将测得的 VFAs 换算成 COD, 换算方法参见文献^[9]。污泥预处理前后的含水率、TS、VS 均采用国家标准方法^[10]测定, 总蛋白质、总脂、总

碳水化合物、总磷分别采用文献^[9]中所述方法测定。

1.4.2 微生物种群结构分析: 采用 T-RFLP 分析厌氧发酵过程中产酸微生物的种群结构变化。采用通用引物扩增细菌 16S rDNA。正向引物为 8-27F (5'-AGAGTTTGATCMTG GCTCAG-3'), 5'端用 6-羧基四甲基若丹明 (FAM) 标记。反向引物为 1378-1401R (5'-CGGTGTGTACAAGGCCCGGGAA CG-3')。

实验步骤包括: (1) 提取发酵样品中微生物细菌的总 DNA; (2) PCR 扩增细菌 16S rDNA 片段; (3) 纯化 16S rDNA 片段; (4) 酶切纯化的 PCR 产物; (5) STR 检测酶切产物; (6) STR 结果分析。具体实验步骤及数据分析方法见文献^[11]。

提取污泥微生物总 DNA, PCR 扩增 16S rDNA 后进行纯化。正反向引物都由上海生工生物技术有限公司合成并标记。STR 检测由上海基康生物技术有限公司完成。

1.4.3 产氢产乙酸细菌丰度: 采用荧光原位杂交技术 (FISH) 对样品中的产氢产乙酸菌进行定量分析。产氢产乙酸菌中常见的细菌为食丁酸盐细菌和食丙酸盐细菌, 分别采用 3 种不同种属水平的寡核苷酸探针, 即 S-F-Synn-0700-a-A-23、S-S-S. wol-0223-a-A-19 和 S-S-MPOB-0222-a-A-19 检测这两类细菌。其中, 食丁酸盐产氢产乙酸细菌探针用荧光染料花青

素 Cy3 在 3' 端标记, 而 2 种食丙酸盐产氢产乙酸细菌探针都用荧光染料异硫氰酸荧光素 FITC 在 3' 端标记 3 种探针的合成和标记由上海生工生物技术有限公司完成。实验步骤包括 (1) 载玻片的预处理; (2) 样品预处理; (3) 载玻片制备; (4) 荧光原位杂交; (5) 洗脱杂交液; (6) 镜检; (7) 结果分析。具体实验

$$\text{细菌丰度} = \frac{\text{视野中细菌数目} \times \text{载玻片凹孔面积} \times \text{稀释倍数} \times \text{固定样品体积}}{\text{视野面积} \times \text{涂布载玻片固定样品体积} \times \text{实际样品体积}} \quad (1)$$

式中 载玻片凹孔面积 $7.07 \times 10^6 \mu\text{m}^2$; 视野面积 40 倍为 $74025 \mu\text{m}^2$; 10 倍为 $1240 \times 930 \mu\text{m}^2$; 固定样品体积 加入 PBS 和冰乙醇后的总体积; 涂布载玻片固定样品体积 $5 \mu\text{L}$ 。

1.4.4 总细菌丰度: 发酵样品总细菌的数量采用 4'-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) 荧光染料法进行定量。具体操作步骤为 $5 \mu\text{L}$ 稀释的固定样品点入明胶包埋的载玻片孔中, 然后加入 $10 \mu\text{L}$ DAPI 工作液 均匀涂布, 盖上盖玻片, 自然干燥后, 在荧光显微镜下观察, 其余步骤及总细菌丰度的分析同产氢产乙酸菌。

2 结果和讨论

2.1 pH 对发酵过程挥发性短链脂肪酸产率和分布特征的影响

各 pH 条件下污泥预处理液厌氧发酵产生的 VFAs 产率变化见图 1-A 所示。在 pH 为 12.0 的极端条件下, 产生的单酸有乙酸、丙酸、丁酸和异丁酸, 但这些酸的产率都低于 80 mg COD/g-VS 。当厌氧发酵过程 pH 控制在 10.0 时, 乙酸产率至发酵结束时达到 $322.4 \text{ mg COD/g-VS}$ 。当 pH 值继续降低至 7.0 时, 乙酸的产率先上升然后开始下降, 至发酵结束时是 $140.4 \text{ mg COD/g-VS}$ 。当 pH 值控制为 4.0 时, 发酵期间只检测到乙酸和丙酸。这两种脂肪酸的产率在厌氧发酵 24 h 之后基本维持在 25 mg COD/g-VS 左右。Yu 和 Fang 等^[13]考察了 pH 在 4.0~7.0 范围内富含胶蛋白的合成废水有机质水解和厌氧酸化, 发现蛋白质的水解随着 pH 的升高而增加, 但 pH 为 7.0 时的酸化效率却低于 pH 为 6.5 时。研究结果的不一致, 可能是因为产甲烷菌的最适 pH 为 7.0 左右, 从而导致 pH 在 7.0 时乙酸的消耗要大于 pH 6.5 时。上述结果表明, pH 不仅能够影响发酵产酸过程中 VFAs 的分布特征, 而且显著地影响有机质的产酸效率。通过控制发酵过程 pH 值为 10.0, 可以显

步骤参考文献^[12]。

采用荧光显微镜观察样品, 用 Image-Pro Plus 软件计数, 对于同一样品, 取 30 次不同的观察视野用于后续的细菌丰度统计分析。样品中细菌丰度由公式 (1) 计算得出, 最后数据用 Microsoft Office Excel 2003 进行统计分析。

著改善产酸效率, 并维持稳定的酸产量。由结果显示 (图 1-B), 在 pH 4~12 范围内, 乙酸都为挥发性短链脂肪酸的主要成分, 且不同的 pH 下各有机酸所占的比例也不同, 说明 pH 不但可以影响酸产率, 还可以影响有机酸的构成。Horiuchi^[14]等以葡萄糖做底物接种厌氧污泥考察了污泥产酸, 表明 pH 为 6 时, 酸化产物以丁酸为主, 当 pH 为 8 时, 主要产物为乙酸和丙酸。Chen^[15]等也发现 pH 在控制污泥厌氧发酵酸化产物发挥的关键性作用。

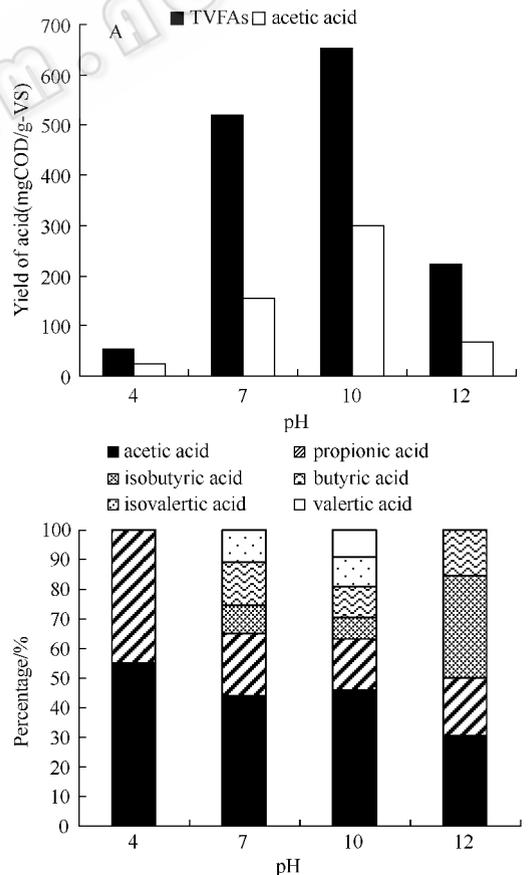


图 1 发酵结束时各 pH 条件下挥发性短链脂肪酸的产率 (A) 和 pH 对挥发性单酸构成比的影响 (B)

Fig. 1 The acetate and TVFA yields at various pH conditions (A) and percentage of individual VFAs accounting for TVFAs at different pHs (B).

2.2 微生物种群结构分析

图 1-B 结果表明,在不同的 pH 条件下,厌氧发酵体系中乙酸总是挥发性短链脂肪酸的主要成分。由于液相产物分布特征与厌氧发酵体系微生物的种群结构密切相关,因此有必要探讨不同 pH 条件下

厌氧发酵产酸的微生物学种群变化。基于 T-RFLP 技术所获得在厌氧发酵 72 h,发酵过程 pH 分别控制在 12.0、10.0、7.0、5.0 和 3.0 条件下的末端限制性酶切片大小 (TRFs) 分布如图 2 所示。

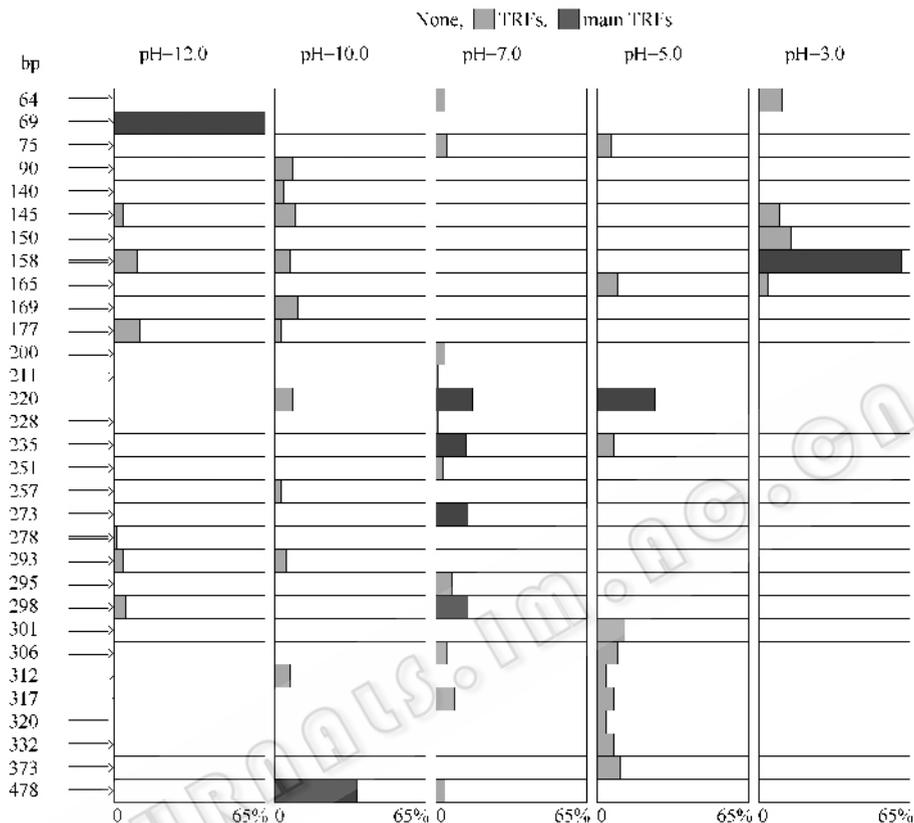


图 2 不同 pH 条件下厌氧体系中的 TRFs 片段分布和相对丰度

Fig. 2 Relative abundance and distribution of TRFs at different pHs.

厌氧发酵过程 pH 条件不同,相对丰度最高的 TRFs 也不相同。在厌氧发酵过程 pH 为 12.0 条件下,相对丰度达到 65% 的片段大小为 69 bp;而 pH 降为 10.0 时,相对丰度最高的片段大小则为 478 bp,占到总 TRFs 峰面积的 36%;当 pH 控制在中性及 pH 为 5.0 时,相对丰度最高的片段大小相同,为 220 bp,分别占总 TRFs 的 16% 和 25%;在 pH 为 7.0 时,除 220 bp 大小的 TRFs 外,相对丰度较高的片段还包括 235 bp、273 bp 和 298 bp,分别为 13%、14% 和 14%;当 pH 控制在强酸条件下即 pH 为 3.0 时,158 bp 的片段成为相对丰度最高的 TRFs,为 64%。pH 对 TRFs 丰度的影响也较为显著。在厌氧发酵过程 pH 分别为 12.0 和 3.0 时,所获得的 TRFs 丰度最小,这是因为大多数厌氧微生物并不能适应强碱性和强酸性的极端环境条件。pH 为 7.0 时,TRFs 的丰度

最高,表明大多数的厌氧微生物在中性条件下能够很好地生长。

不同末端限制性酶切片大小可能代表的厌氧微生物属的信息见表 2 所示。在厌氧发酵过程 pH 为 12.0 时,片段大小为 69 bp 的微生物经推断可能为颗粒链菌属 (*Granulicatella*),其它 TRFs 所代表的可能的厌氧微生物种属多为产芽孢的微生物。在厌氧发酵过程 pH 为 10.0 时,478 bp 的 TRFs 经推断可能为消化链球菌属 (*Peptostreptococcus*)。在厌氧发酵过程 pH 为 7.0 时,片段大小为 64 bp、220 bp 和 317 bp 的微生物经推断可能为梭菌属 (*Clostridium*),其总的相对丰度为 28%,在此 pH 条件下也出现了一些能进行混合酸发酵的典型种属的微生物,如埃希氏杆菌属 (*Escherichia*)、变形杆菌属 (*Proteus*) 和假单胞菌属 (*Pseudomonas*),但这些属所占的相对丰度

较小。在厌氧发酵过程 pH 为 5.0 时,优势菌群仍可能为梭菌属 (*Clostridium*),其片段大小分别为 220 bp 和 317 bp。当发酵过程 pH 降为 3.0 时,145 bp 和 158 bp 的 TRFs 推断可能为芽孢杆菌 (*Bacillus*),其总

的相对丰度为 71%,在此 pH 条件下出现了典型的产丙酸的厌氧微生物种属,即丙酸杆菌属 (*Clostridium*) 和韦荣氏球菌属 (*Veillonella*),但这两个属的相对丰度都较小。

表 2 不同 pH 条件下厌氧发酵产酸体系中可能存在的微生物属

Table 2 Possible microorganism genres at different pHs

12.0	10.0	7.0	5.0	3.0
<i>Granulicatella</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Bacillus</i>
<i>Abiotrophia</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Veillonella</i>	<i>Acetobacter</i>
<i>Exiguobacterium</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Butyrivibrio</i>	<i>Clostridium</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Proteus</i>	<i>Eubacterium</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Brevibacillus</i>	<i>Brevibacillus</i>	<i>Eubacterium</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Paenibacillus</i>
<i>Eubacterium</i>	<i>Paenibacillus</i>	<i>Butyrivibrio</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Veillonella</i>
<i>Paenibacillus</i>	<i>Eubacterium</i>	<i>Aeromonas</i>	<i>Pseudomonas</i>	
	<i>Butyrivibrio</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Aeromonas</i>	
	<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Veillonella</i>	
	<i>Micrococcus</i>	<i>Veillonella</i>	<i>Zymomonas</i>	
		<i>Zymomonas</i>	<i>Desulfovibrio</i>	
		<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Desulfotomaculum</i>	
		<i>Brevibacillus</i>		
		<i>Mycobacterium</i>		
		<i>Staphylococcus</i>		
		<i>Desulfovibrio</i>		
		<i>Desulfotomaculum</i>		

2.3 不同 pH 条件下产氢产乙酸细菌的数量变化

水解发酵菌、产氢产乙酸菌、同型产乙酸菌是厌氧发酵体系中促使乙酸累积的主要功能菌群,在不同 pH 条件下,几类菌群对有机酸累积的贡献机制

还未明确。通过 FISH 技术分别检测了在 pH 为 10.0、7.0 和 5.0 条件下厌氧发酵 72 h 时污泥中产氢产乙酸细菌及总细菌的数量,两者数量比例关系的变化结果见表 3。

表 3 产氢产乙酸细菌相对丰度的过程变化

Table 3 Time course of the relative abundance of syntrophic acetogenic bacteria

pH	t/h	Syntrophic propionate-oxidizing bacteria /%	Saturated fatty acid- β -oxidizing Syntrophs /%	Syntrophic acetogenic bacteria /%
10.0	72	—	—	—
7.0	24	0.12 \pm 0.02	1.51 \pm 0.13	1.63
	96	0.32 \pm 0.06	2.37 \pm 0.18	2.69
	168	0.36 \pm 0.04	2.28 \pm 0.12	2.64
	240	0.42 \pm 0.05	2.30 \pm 0.20	2.72
5.0	24	0.10 \pm 0.01	1.25 \pm 0.08	1.35
	96	0.08 \pm 0.01	1.27 \pm 0.10	1.35
	168	0.10 \pm 0.02	1.28 \pm 0.12	1.38
	240	0.12 \pm 0.01	1.30 \pm 0.20	1.42

— can not be detected.

表中结果表明,pH 分别为 7.0 和 5.0 时,污泥中都能检测到一定数量的产氢产乙酸细菌。然而在 pH 为 10 时,产氢产乙酸细菌的数量极少,在检测限以下。pH 为 7.0 时,产氢产乙酸菌在发酵前 96 h 相对丰度变化较为明显,之后随着厌氧发酵过程的进行,相对丰度的变化转为平缓。这说明产氢产乙酸

菌在经过一段时间适应了厌氧发酵产酸环境后在产甲烷菌等耗氢菌的“拉动”下开始迅速生长。乙酸一方面在水解发酵细菌和产氢产乙酸菌的代谢作用下不断产生,另一方面却被产甲烷菌不断消耗。当乙酸的消耗速率超过产生速率时就导致了乙酸在厌氧发酵体系中的浓度开始呈现下降的趋势。当发酵过

程 pH 控制为 5.0 时,不论是食丙酸产氢产乙酸菌还是饱和脂肪酸 β -氧化产氢产乙酸的相对丰度在厌氧发酵过程中变化都较小。

综合分析不同 pH 条件下微生物种群结构和产氢产乙酸菌的研究结果,可得出 pH 不仅能够影响水解发酵产酸优势菌群,而且能够改变产氢产乙酸菌在厌氧体系中的丰度,从而导致两类菌群对乙酸的贡献不一。当发酵过程 pH 控制为 10.0 时,消化链球菌属成为厌氧发酵产酸优势功能菌群,且是促使乙酸累积的主要厌氧微生物。当 pH 值降为 7.0 和 5.0 时,此时优势产酸菌群演变为梭菌属。

3 结论

通过以上研究,得出以下结论。

(1) pH 能够影响 VFAs 的产率和分布特征,在 pH 为 12.0、4.0 和 3.0 极端环境条件下产生的 VFAs 种类都少于其它 pH 条件。但在 pH 为 3~12 范围内,乙酸都为 VFAs 的主要成分。控制厌氧发酵过程 pH 为 10.0,乙酸的产率在发酵结束时达到 322.4 mg COD/g-VS,显著高于其它 pH 条件。

(2) pH 能够显著改变厌氧发酵微生物菌群结构,且发酵过程 pH 不同,代谢形成 VFAs 的优势产酸菌并不相同。在厌氧发酵过程 pH 为 10.0 时的优势产酸菌为消化链球菌属;而当 pH 分别控制为 7.0 和 5.0 时,优势产酸菌演变成梭菌属。

(3) FISH 定量分析结果表明, pH 为 10.0 时产氢产乙酸菌的数量极其微小,相对丰度为总细菌的 0.01% 以下,乙酸的累积主要是由水解发酵产酸菌完成。当 pH 为 7.0 和 5.0 时,产氢产乙酸菌的相对丰度在 1.35~2.72% 之间变化,揭示乙酸产氢产乙酸菌在乙酸累积中发挥了更大的贡献。

参考文献

- [1] Yuan HY, Chen YG, Zhang HX, et al. Improved Bioproduction of Short-chain Fatty Acids (SCFAs) from Excess Sludge under Alkaline Conditions. *Environmental Science Technology* 2006 40 2025–2029.
- [2] Cai ML, Liu JX, Wei YS. Enhanced biohydrogen production from sewage sludge with alkaline pretreatment. *Environmental Science Technology* 2004 38 3195–3202.
- [3] 吕凡,何晶晶,邵立明,等. pH 值对易腐有机垃圾厌氧发酵产物分布的影响. *环境科学 (Environmental Science)* 2006 27 (5) 991–996.
- [4] 刘和,聂艳秋. 产乙酸耦合系统产酸及其微生物种群动态分析. *中国环境科学 (China Environmental Science)* 2008 28 (4) 319–323.
- [5] Ye NF, Lü F, Shao LM, Godon JJ, et al. Bacterial community dynamics and product distribution during pH-adjusted fermentation of vegetable wastes. *Journal of Applied Microbiology* 2007 103 1055–1065.
- [6] Oh S E, Ginkel S V, Logan B E. The relative effectiveness of pH control and heat treatment for enhancing biohydrogen gas production. *Environmental Science Technology* 2003 37 : 5186–5190.
- [7] 郭磊,刘和,李秀芬,等. 多级逆流工艺促进城市污泥厌氧发酵生产挥发性脂肪酸. *生物工程学报 (Chinese Journal of Biotechnology)* 2008 24 (7) :1–7.
- [8] Logan BE, Oh SE, In SK, et al. Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometers. *Environmental Science Technology* 2002 36 2530–2535.
- [9] Liu XL, Liu H, Chen YY, et al. 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.
- [10] 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水分析方法. 第 4 版. 北京:中国环境科学出版社, 2002.
- [11] 李光伟,刘和,云娇,等. 应用 T-RFLP 技术研究五氯酚对好氧颗粒污泥中细菌组成的影响. *环境科学 (Environmental Science)* 2006 27 (4) :199–204.
- [12] 李艳娜,许科伟,堵国成,等. 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] Yu HQ, Fang HHP. Acidogenesis of gelatin-rich wastewater in an upflow anaerobic reactor: influence of pH and temperature. *Water Research* 2003 37 55–66.
- [14] Horiuchi J, Shimizu T, Tada K, et al. Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. *Bioresource Technology* 2002 82 209–213.
- [15] Feng LY, Chen YG, Zheng X. Enhancement of waste activated sludge protein conversion and volatile fatty acids accumulation during waste activated sludge anaerobic fermentation by carbohydrate substrate addition: the effect of pH. *Environmental Science Technology* 2009 43 4373–4380.

Acetate accumulation and shift of bacterial community during anaerobic sewage sludge fermentation by pH adjustment

He Liu^{1*}, Xiaoling Liu¹, Jingjing Zhang¹, Jian Chen^{1,2}

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

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

Abstract : [Objective] To investigate the accumulation mechanism of volatile fatty acids (VFAs) the shift of bacterial community and the contribution of syntroph acetogenic bacteria during the anaerobic fermentation of sewage sludge under different pH values. [Methods] The VFAs were determined at different pH conditions during the sludge anaerobic fermentation process. The Terminal Restriction Fragment Length Polymorph (T-RFLP) and Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) were used to explore the variation of bacterial community and the quantity of syntroph acetogenic bacteria, respectively. [Results] When the pH was controlled at 10.0, yields of VFAs and acetate were 652.6 mg COD/g-VS and 322 mg COD/g-VS, respectively (COD, Chemical Oxygen Demand; Volatile Solid, VS). They are much higher than that under neutral and acid pH conditions. The results by T-RFLP showed that *Granulicatella* was the dominant bacterial population at pH 12.0, while *Peptostreptococcus* dominated at pH 10.0. When the pH was adjusted from 7.0 to 3.0, the dominant bacterial populations were *Clostridium* and *Bacillus*, respectively. Based on the FISH result, the amount of syntrophic acetogenic bacteria at neutral condition was higher than that under the acid and alkali conditions. When the pH value was 10.0, the relative abundance was below 0.01% in total microorganism. [Conclusions] pH not only altered the yields of VFAs and acetate, but also changed the bacterial community structure. Under the alkali condition, the VFAs accumulation was mainly from the hydrolysis fermenting bacteria. At the neutral and acid conditions, the syntroph acetogenic bacteria made more contribution for the acetate accumulation.

Keywords : Sewage sludge ; pH adjustment ; anaerobic fermentation ; bacterial community

(本文责编:王晋芳)

Supported by the National High Technology Research and Development Program of China (2006AA06Z315), the Grant from State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment (HIT, QAK200807), the Tai-Lake Water Specific Program of Jiangsu Province (BS2007098) and the Key Technologies R & D Program (Social Development) of Jiangsu Province (BE2008627)

* Corresponding author. Tel/Fax : + 86-510-85326670 ;E-mail :liuhe@jiangnan.edu.cn

Received 6 May 2009/Revised 1 August 2009

《微生物学报》投稿方式

从2006年起,本刊采用“稿件远程处理系统”,全面实行网上投稿、网上审稿、网上查询等方式进行工作。欢迎广大作者通过登陆本刊网站进行投稿和查询。

- (1) 远程投稿:请先登陆本刊网站 <http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>, 点击“作者投稿”。如果您是第一次通过“远程”给本刊投稿,请先进行“注册”,注册成功后再进行投稿。如果曾在本刊网站投过稿,则可直接投稿。如果忘了用户名和密码,请联系本刊编辑部找回登录口令。
- (2) 收稿回执:编辑部看到远程投稿后,当日或者次日给作者发“收稿回执”,通知作者投稿成功。
- (3) 编辑部内审:编辑看到远程投稿后,还要对稿件进行内审。内审会有2个结果,直退或受理,请接到“受理通知”的作者再补交其它材料(纸样介绍信和稿件、受理费)。
- (4) 邮寄纸样:为了保护知识产权,务必请作者提供“研究内容所属单位”出具的介绍信(请到本刊网页的“下载专区”中下载“介绍信”模板);为了核实文中的图、表等内容,还需要提供一份纸质稿件。
- (5) 受理费:100元审稿费。按照“稿件受理通知”中提供的详细地址办理,务必通过邮局汇款,切忌夹在纸样材料中随信邮寄!【为了便于查找,请在汇款单上注明“稿件编号”。】