

一个产氢产乙酸菌互营共培养体的培养基优化

李建政¹, 高晨晨^{1,2}, 张立国¹, 刘崇¹, 金羽¹, 张岩¹

(1. 哈尔滨工业大学 市政环境工程学院 城市水资源与水环境国家重点实验室, 150090 哈尔滨, ljz6677@163.com;
2. 国家城市给水排水工程技术研究中心, 300074 天津)

摘要: 营养生态位位于产酸发酵菌和产甲烷菌之间的产氢产乙酸菌, 其分离培养困难, 种子资源匮乏, 限制了基于强化产氢产乙酸功能作用的高效厌氧生物处理技术的开发. 在前期获得对丙酸具有较强降解能力的产氢产乙酸菌互营共培养体 7-m-2a 的基础上, 探讨了丙酸质量浓度、氮源、 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 和泛酸等对其生长代谢的影响. 结果表明, 培养基中适宜的丙酸钠和 Fe^{2+} 、 Mg^{2+} 、泛酸质量浓度分别为 10 g/L 和 88、38、30 mg/L, 最佳氮源是由质量浓度为 0.33 g/L 的酵母膏、胰蛋白胍和 NH_4Cl 组成的复合氮源. 在优化条件下 38 °C 培养 30 d, 7-m-2a 对丙酸的降解速率和乙酸产量分别可达 998 mg/(L·d) 和 3 947 mg/L.

关键词: 产氢产乙酸菌; 互营共培养体; 生长; 代谢; 培养基

中图分类号: X382; X172 文献标志码: A 文章编号: 0367-6234(2011)10-0040-05

Composition optimization of medium for a syntrophic acetogen coculture

LI Jian-zheng¹, GAO Chen-chen^{1,2}, ZHANG Li-guo¹, LIU Chong¹, JIN Yu¹, ZHANG Yan¹

(1. State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China, ljz6677@163.com; 2. National Engineering Research Center for Urban Water & Wastewater, 300074 Tianjin, China)

Abstract: Hydrogen-producing acetogens, between acidogenes and methanogens in trophic niche, is very difficult to be separated and only few of the pure cultures have been obtained. This has restricted the development of new anaerobic organic wastewater treatment process with high efficiency based on enhancing their metabolic capability. A new syntrophic acetogen coculture named 7-m-2a which showed great capacity in degrading propionic acid was introduced in this paper. To optimize the culture medium, the influences on 7-m-2a's growth and metabolism of propionic acid concentration, nitrogen sources, Fe^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} and pantothenic acid were investigated. The results indicated that the suitable concentration of propionic acid and Fe^{2+} , Mg^{2+} , pantothenic acid were 10 g/L and 88, 38, 30 mg/L, respectively. The optimum nitrogen source was the mixture of yeast extract, tryptone and NH_4Cl with a concentration of 0.33 g/L respectively. With the optimization culture, a specific degradation rate of propionic acid and acetic acid yield of 998 mg/(L·d) and 3 947 mg/L, respectively, obtained after fermenting for 30 days at 38 °C.

Key words: hydrogen-producing acetogens; syntrophic acetogen coculture; growth; metabolism; medium

传统理论认为, 产甲烷阶段是厌氧消化的限制步骤^[1]. 然而, 有研究表明, 产氢产乙酸菌群的产氢产乙酸代谢对厌氧消化过程的限制作用要大于产甲烷菌群的产甲烷代谢^[2-3], 产氢产乙酸菌

代谢活性的增强, 有望使厌氧生物处理系统的效能得到显著提高^[4-5]. 向厌氧生物处理系统中投加产氢产乙酸菌或产氢产乙酸互营共培养体则是达到这一目的的有效手段之一. 产氢产乙酸菌对生长条件有较严格的要求, 其纯培养物很难得到^[6-7]. 比较而言, 产氢产乙酸菌互营共培养体的筛选和培养则相对容易. 然而, 目前关于产氢产乙酸菌互营共培养体的研究报道还十分匮乏^[8-11],

收稿日期: 2010-05-15.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(51178136); 哈尔滨市科技创新人才专项基金项目(2009RFXXS004).

作者简介: 李建政(1965—), 男, 教授, 博士生导师.

如何有效地筛选和培养产氢产乙酸菌互营共培养体是需要解决的首要问题. 在前期研究中^[12], 以处理高质量浓度有机废水的厌氧折流板反应器 (ABR) 中的活性污泥为样品, 分离得到一种产氢产乙酸共培养体 7-m-2a. 本文从产氢产乙酸菌的生理生态习性入手, 研究了 7-m-2a 在不同碳源、氮源及不同质量浓度泛酸、钙、铁、镁离子条件下的生长代谢状况, 优化了培养基, 为其扩大培养并从中分纯产氢产乙酸菌株奠定基础.

1 实验

1.1 菌种及其来源

研究采用的产乙酸互营共培养体 7-m-2a, 是以丙酸为底物的选择性培养基, 从本实验室运行的 ABR 厌氧活性污泥中分离得到, 对丙酸具有较强的降解和转化能力. 该共培养体含有氧化丙酸的专性互营质子还原菌 *Desulfotomaculum* sp. Iso-W2, 其伴生菌是能利用甲酸盐和 H_2/CO_2 的 Uncultured bacterium 054E12_B_DI_P58 和 *Sedimentibacter* sp. JN18_A14_H.

1.2 培养基

基础培养基 (1 L): CH_3CH_2COONa 10 g, $NaCl$ 3 g, $MgCl_2$ 0.1 g, $CaCl_2$ 1 g, K_2HPO_4 0.75 g, KH_2PO_4 0.75 g, NH_4Cl 1 g, 酵母膏 1 g, 胰蛋白胨 1 g, 微量元素液 10 mL, 维生素液 10 mL. 其中, 微量元素液 (1 L): $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01 g, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05 g, H_3BO_3 0.01 g, $N(CH_2COOH)_3$ 1 g, $CaCl_2$ 0.01 g, Na_2MoO_4 0.01 g, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.2 g, $AlK(SO_4)_2$ 0.01 g; 维生素液 (1 L): 钴氨素 0.01 g, 抗坏血酸 0.025 g, 核黄素 0.025 g, 柠檬酸 0.02 g, 吡多醛 0.05 g, 叶酸 0.01 g, 对氨基苯甲酸 0.01 g, 肌酸 0.025 g, 刃天青 (0.2%) 0.2 mL, 半胱氨酸 1 g, pH 7.0.

丙酸质量浓度梯度培养基: 基础培养基中的丙酸钠质量浓度为 2.5、5、10、15、20、25 g/L, 其他成分不变.

酵母膏培养基: 将基础培养基中的胰蛋白胨和 NH_4Cl 去除, 其他成分不变. 胰蛋白胨培养基: 将基础培养基中的酵母膏和 NH_4Cl 去除, 其他成分不变. 胰蛋白胨-酵母膏培养基: 将基础培养基中的酵母膏和胰蛋白胨质量浓度都调节为 0.5 g/L, 同时去除 NH_4Cl , 其他成分不变. 氯化铵培养基: 去除基础培养基中的酵母膏和胰蛋白胨, 其他成分不变. 复合氮源培养基: 将基础培养基中的胰蛋白胨、酵母膏和 NH_4Cl 用量均调节为 0.33 g/L, 其他成分不变.

铁离子培养基: 向基础培养基中投加一定量的 $FeCl_2$ 配制而成. 培养基中的 Fe^{2+} 质量浓度, 根据研究需要分别调节为 44、66、88、110 和 132 mg/L. 无钙培养基: 将基础培养基中的 $CaCl_2$ 去除, 其他成分不变. 镁离子培养基: 向基础培养基中投加一定量的 $MgCl_2$ 配制而成, 培养基中的 Mg^{2+} 质量浓度, 根据研究需要分别调节为 13、25、38、50 和 63 mg/L. 泛酸培养基: 向基础培养基中投加一定量的泛酸, 根据研究需要, 将其质量浓度分别调节为 10、20、30、40 和 50 mg/L.

1.3 静态实验方法

取容积为 25 mL 的厌氧管, 注入 10 mL 的液体培养基, 充氮脱氧, 封盖, 灭菌; 在超净工作台 (SW-CJ-1G, 苏州净化设备有限公司) 上, 用无菌注射器取 7-m-2a 菌悬液 (OD_{600nm} 为 0.8 左右) 3 mL 接种; 置于恒温培养箱 (PYX-DHS, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂) 中 38 °C 培养 30 d. 每个培养条件均采用 3 只厌氧管进行平行试验.

1.4 分析项目与方法

pH 采用 PHS-25 型酸度计测定. 发酵气产量采用注射器释放并剂, 液相末端产物和发酵气成分采用气相色谱仪检测^[4]. 菌悬液细胞密度采用 UV2300 型分光光度计 (上海天美科学仪器有限公司), 以未接种的培养液作为空白对照, 于波长 600 nm 处测定吸光度 (OD). 反应混合液的 OD 值用于反映菌体的增殖情况.

1.5 数据处理方法

生长代谢指标乙酸产量、氢气产量、丙酸降解速率以及 OD_{600nm} 均取 3 个平行测试的平均值, 其标准偏差采用 excel 软件中的 STDEV 函数计算. 其中, 乙酸产量、氢气产量和 OD_{600nm} 均为培养 30 d 后的检测值减去初始时刻的检测值, 而丙酸降解速率则以丙酸累积消耗量除以培养时间 30 d 而获得.

2 结果与讨论

2.1 丙酸质量浓度对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

调节基础培养基中的丙酸钠质量浓度为 2.5、5、10、15、20、25 g/L, 分别对产氢产乙酸菌互营共培养体 7-m-2a 进行 30 d 的培养. 结果 (表 1) 显示, 培养基中丙酸的质量浓度对 7-m-2a 的生长代谢有比较明显的影响. 在丙酸钠质量浓度小于 10 g/L 时, 7-m-2a 菌群的生长代谢水平随着丙酸钠质量浓度的升高而呈现上升趋势, 并在丙酸钠质量浓度为 10 g/L 时达到最高, 其丙

酸降解率和 OD 值分别为 786 mg/(L·d) 和 1.6, 乙酸和氢气产量分别为 2 749 mg/L 和 249 mL/L. 当丙酸钠质量浓度增加到 10 g/L 以上的水平时,

7-m-2a 菌群的生长代谢则呈现下降趋势. 因此, 对于菌群 7-m-2a 的培养, 采用 10 g/L 的丙酸钠质量浓度是比较适宜的.

表 1 丙酸钠质量浓度对 7-m-2a 生长代谢的影响

指标	丙酸钠的质量浓度/(g·L ⁻¹)					
	2.5	5	10	15	20	25
乙酸生成量/(mg·L ⁻¹)	2 210 ± 109	2 359 ± 149	2 749 ± 173	2 639 ± 154	2 489 ± 134	2 179 ± 99
产氢量/(mL·L ⁻¹)	219 ± 11	231 ± 9	249 ± 9	239 ± 8	227 ± 9	207 ± 8
丙酸降解速率/(mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	654 ± 36	699 ± 25	786 ± 31	688 ± 40	664 ± 37	646 ± 29
OD _{600nm}	1.25 ± 0.06	1.38 ± 0.07	1.60 ± 0.09	1.49 ± 0.07	1.31 ± 0.07	1.18 ± 0.05

2.2 氮源对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

氮是细菌生长代谢所必须的大量元素. 对于特定的微生物, 其对不同氮源的利用效率存在显著差异. 为寻求培养 7-m-2a 菌群的最好氮源, 在基础培养基的基础上, 分别探讨了氯化铵、酵母膏、胰蛋白胨、胰蛋白胨-酵母膏、胰蛋白胨-氯化铵、胰蛋白胨-酵母膏-氯化铵等单一氮源和复合氮源对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响, 结果如表 2 所示. 研究表明, 以胰蛋白胨、酵母膏和

氯化铵调配成的混合氮源对 7-m-2a 菌群的生长代谢最为有利, 经过 30 d 的培养, 丙酸降解速率、菌群增殖量 (OD_{600nm})、乙酸和氢气产量分别达到 870 mg/(L·d)、1.21、3 802 mg/L 和 245 mL/L. 而以酵母膏为唯一氮源时, 7-m-2a 的生长代谢最不理想, 培养结束时, 其丙酸降解率、OD_{600nm}、乙酸和氢气产量分别为 862 mg/(L·d)、0.83、3 504 mg/L 和 230 mL/L.

表 2 氮源对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

指标	培养基					
	T ^a + Y ^b + Z ^c	X + Y	X + Z	X	Y	Z
乙酸生成量/(mg·L ⁻¹)	3 802 ± 129	3 729 ± 103	3 790 ± 141	3 629 ± 105	3 504 ± 211	3 698 ± 166
产氢量/(mL·L ⁻¹)	245 ± 12	240 ± 15	240 ± 18	237 ± 21	230 ± 11	239 ± 18
丙酸降解速率/(mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	870 ± 42	867 ± 49	869 ± 57	864 ± 62	862 ± 48	866 ± 63
OD _{600nm}	1.21 ± 0.05	1.06 ± 0.04	1.20 ± 0.08	0.91 ± 0.07	0.83 ± 0.07	0.96 ± 0.05

注: a. 胰蛋白胨; b. 酵母膏; c. 氯化铵.

2.3 Fe²⁺ 对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

许多氧化还原酶中都有铁离子, 它们作为酶的辅因子起着电子传递的功能. 采用向基础培养基中加入不同质量浓度 FeCl₂ 的方式, 探讨了 Fe²⁺ 对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响.

结果(表 3)表明, Fe²⁺ 对 7-m-2a 菌群的生长代谢具有显著影响. 培养基中 Fe²⁺ 质量浓度在 44 ~ 88 mg/L 时, 菌群 7-m-2a 的生长状况和产氢产乙酸能力随着 Fe²⁺ 质量浓度的增加而呈现上升趋势, 并在 Fe²⁺ 质量浓度为 88 mg/L 时表现出最佳的生长代谢能力, 在此条件下经 30 d 的培养,

其丙酸降解速率、OD_{600nm}、乙酸和氢气产量分别达 1 019 mg/(L·d)、2.2、3 909 mg/L 和 266 mL/L. 而当培养基中的 Fe²⁺ 质量浓度继续增加时, 7-m-2a 的生长代谢则表现出了下降趋势, 说明过量的 Fe²⁺ 会对菌群的生长产生抑制作用. 分析认为, Fe²⁺ 促进 7-m-2a 菌群生长代谢的主要原因可能在于其参与了铁氧还原蛋白的合成, 而铁氧还原蛋白是微生物产氢代谢的重要辅酶. Fe²⁺ 可以形成 Fe-S 原子簇为产氢反应提供电子, 并激活氢酶, Fe²⁺ 的缺少可导致细菌甲酸裂解酶合成不足, 进而抑制了产氢产乙酸代谢^[13].

表 3 Fe²⁺ 对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

指标	Fe ²⁺ 的质量浓度/(mg·L ⁻¹)				
	44	66	88	110	132
乙酸生成量/(mg·L ⁻¹)	3 510 ± 151	3 809 ± 134	3 909 ± 163	3 750 ± 125	3 570 ± 136
产氢量/(mL·L ⁻¹)	239 ± 25	259 ± 21	266 ± 18	249 ± 28	238 ± 19
丙酸降解速率/(mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	899 ± 56	958 ± 78	1 019 ± 91	1 000 ± 96	999 ± 52
OD _{600nm}	1.49 ± 0.11	1.75 ± 0.08	2.20 ± 0.16	1.57 ± 0.04	1.56 ± 0.09

2.4 Ca²⁺对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

如表 4 所示,培养基中 Ca²⁺ 的有无对 7-m-2a 菌群的增殖影响并不显著,但在添加 1 g/L CaCl₂ 的培养基中,7-m-2a 菌群的产氢产乙酸代谢能力明显高于不含 Ca²⁺ 的培养基. 在含 Ca²⁺ 培养基中经 30 d 的培养,其乙酸生成量和产氢量分别为 3 391 mg/L 和 259 mL/L,丙酸的平均降解速率为 889 mg/(L·d);而在无 Ca²⁺ 的培养基中,其乙酸生成量和产氢量分别为 3 110 mg/L 和 243 mL/L,丙酸的平均降解速率为 858 mg/(L·d). 显微镜观察发现,CaCl₂ 在液体培养基中大多以结晶颗粒的形式存在,绝大多数菌体则聚集在这些颗粒表面,以游离状态存在的菌体数量很少.

表 4 Ca²⁺对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

指标	Ca ²⁺ 培养基	无 Ca ²⁺ 培养基
乙酸生成量/(mg·L ⁻¹)	3 391 ± 221	3 110 ± 160
产氢量/(mL·L ⁻¹)	259 ± 9	243 ± 17
丙酸降解速率/(mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	889 ± 57	858 ± 81
OD _{600nm}	0.87 ± 0.06	0.9 ± 0.09

表 5 Mg²⁺对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

指标	Mg ²⁺ 质量浓度/(mg·L ⁻¹)				
	10	20	30	40	50
乙酸生成量/(mg·L ⁻¹)	2 870 ± 167	2 890 ± 178	2 939 ± 132	2 889 ± 186	2 810 ± 158
产氢量/(mL·L ⁻¹)	279 ± 23	281 ± 14	291 ± 15	283 ± 20	260 ± 11
丙酸降解速率/(mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	880 ± 58	899 ± 85	908 ± 28	899 ± 59	890 ± 64
OD _{600nm}	1.09 ± 0.08	1.29 ± 0.1	1.58 ± 0.06	1.35 ± 0.07	1.2 ± 0.06

2.6 泛酸对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

泛酸在微生物体内主要以辅酶(CoA)的形式参与糖、脂类、蛋白质的代谢,CoA 有转移酰基的重要作用,泛酸缺乏时,过氧化物酶系的脂肪酸 β-氧化就会受到抑制,从而进一步影响到产氢产乙酸菌的生长代谢. 因而,在培养基中适量添加泛酸,将有助于提高产氢产乙酸菌的代谢活性. 实验结果(表 6)表明,低剂量的泛酸对 7-m-2a 菌群

表 6 泛酸对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

指标	泛酸质量浓度/(mg·L ⁻¹)				
	10	20	30	40	50
乙酸生成量/(mg·L ⁻¹)	3 595 ± 303	3 698 ± 212	3 779 ± 158	3 690 ± 197	3 635 ± 188
产氢量/(mL·L ⁻¹)	209 ± 19	239 ± 20	250 ± 13	240 ± 20	228 ± 17
丙酸降解速率/(mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	870 ± 44	889 ± 52	911 ± 85	896 ± 65	887 ± 72
OD _{600nm}	0.94 ± 0.07	1.28 ± 0.09	1.99 ± 0.11	1.71 ± 0.06	1.52 ± 0.10

2.7 各项最优指标对 7-m-2a 菌群的综合影响

根据 2.1 至 2.6 的实验结果,对产氢产乙酸菌互营共培养体 7-m-2a 的基础培养基进行优

对于这一现象需要给予辩证分析:培养基中添加适量的 Ca²⁺,对于产氢产乙酸菌互营共培养体的培养是有利的,而要从分离和纯化产氢产乙酸菌,Ca²⁺ 的添加则是一个不利因素.

2.5 Mg²⁺对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响

Mg²⁺ 是微生物生长的必要物质,是许多酶的激活剂,因而添加适量的 Mg²⁺ 可能会对产氢产乙酸菌活性的提高具有重要作用^[14]. 通过向基础培养基中添加不同剂量的 MgCl₂,考察了 Mg²⁺ 质量浓度对 7-m-2a 菌群生长代谢的影响.

结果(表 5)表明,较低的 Mg²⁺ 质量浓度对 7-m-2a 菌群的生长和产氢产乙酸代谢具有刺激作用,而 Mg²⁺ 质量浓度较高时则表现为一定程度的限制作用. 在 13 ~ 63 mg/L 的质量浓度范围内,7-m-2a 菌群在 Mg²⁺ 质量浓度为 38 mg/L 时表现出了较高的生长和代谢活性,在培养 30 d 后,其丙酸降解速率、OD_{600nm}、乙酸和氢气产量分别为 908 mg/(L·d)、1.58、2 939 mg/L 和 291 mL/L.

的生长代谢具有刺激作用. 在质量浓度为 10 ~ 50 mg/L 的范围内,7-m-2a 菌群在泛酸质量浓度为 30 mg/L 时所表现出的生长代谢活性最高,经过 30 d 的培养,其丙酸降解速率、OD、乙酸和氢气产量分别为 910 mg/(L·d)、1.99、3 779 mg/L 和 250 mL/L. 而当泛酸质量浓度大于或小于 30 mg/L 时,7-m-2a 菌群生长代谢水平均有不同程度的降低.

化,即将其中的丙酸钠、Fe²⁺ 和 Mg²⁺ 的质量浓度分别调整为 10.88 和 38 mg/L,以胰蛋白胨、酵母膏和氯化铵为混合氮源(分别为 0.33 g/L),同时

添加 30 mg/L 的泛酸,调节培养基 pH 为 7. 采用优化后的培养基,在 38 °C 下培养 30 d,7 - m - 2a 菌群对丙酸的降解速率为 998 mg/(L · d),乙酸生成量达 3 947 mg/L,产氢量为 295 mL/L,反应混合液的 OD_{600nm} 达 2.96. 与各单因子的实验结果(表 1~6)比较可见,在优化条件下,7 - m - 2a 菌群对丙酸的降解速率、乙酸生成量、产氢量以及菌体增殖量(OD_{600nm})要优于丙酸质量浓度、氮源、Mg²⁺ 和泛酸等单因子条件下的培养结果. 以 Fe²⁺ 为单影响因素的培养实验中(表 3),获得了 1 019 mg/(L · d)的丙酸降解速率,这一结果高于优化条件下的 998 mg/(L · d),但诸如乙酸生成量、氢气生成量以及菌体增殖情况等均不如在优化条件下的培养效果好. 总体而言,经优化后的培养基比较适宜 7 - m - 2a 菌群的生长代谢.

3 结 论

1) 对于产氢产乙酸菌互营共培养体 7 - m - 2a 的培养,培养基中适量添加 Fe²⁺、Mg²⁺、Ca²⁺ 和泛酸可有效提高菌群的代谢活性. 优化后培养基成分为:CH₃CH₂COONa 10 g, NaCl 3 g, MgCl₂ 0.15 g, CaCl₂ 1 g, FeCl₂ 0.2 g, K₂HPO₄ 0.75 g, KH₂PO₄ 0.75 g, NH₄Cl 0.33 g, 酵母膏 0.33 g, 胰蛋白胨 0.33 g, 微量元素液 10 mL, 维生素液 10 mL(添加泛酸 30 mg/L), 1 000 mL, pH 7.0, 培养温度采用 38 °C.

2) 在优化培养基中 38 °C 培养 30 d, 产氢产乙酸菌互营共培养体 7 - m - 2a 对丙酸的降解速率可达 998 mg/(L · d), 乙酸生成量为 3 947 mg/L, 产氢量为 295 mL/L, 反应混合液的 OD_{600nm} 达 2.96.

参 考 文 献:

- [1] TABATABAEI M, RAHIM R A, ABDULLAH N. Importance of the methanogenic archaea populations in anaerobic wastewater treatments [J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(8): 1214 - 1225.
- [2] NIE Y Q, LIU H. Acetate production by a coupled syntrophic acetogenesis with homoacetogenesis process: effect of sludge inoculum concentration [J]. *Environmental Technology*, 2009, 30(2): 141 - 150.
- [3] LANGE M, AHRING B K. A comprehensive study into the molecular methodology and molecular biology of methanogenic Archaea [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2001, 5(12): 553 - 571.
- [4] ZHU G F, LI J Z, WU P, *et al.* The performance and phase separated characteristics of an anaerobic baffled reactor treating soybean protein processing wastewater [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99: 8027 - 8033.
- [5] 鲍立新, 李建政, 昌盛, 等. ABR 处理大豆蛋白废水的效能及微生物群落动态分 [J]. *环境科学*, 2008, 29(8): 2206 - 2213.
- [6] 李艳娜, 许科伟, 陈坚, 等. 厌氧生镜体系中产氢产乙酸细菌的 FISH 定量解析 [J]. *微生物学报*, 2007, 47(6): 1038 - 1043.
- [7] ELSHAHED M S, MCINERNEY M J. Benzoate fermentation by the anaerobic bacterium syntrophus aciditrophicus in the absence of hydrogen—using microorganisms [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(12): 5520 - 5525.
- [8] LI J Z, ZHENG G C, HE J G, *et al.* Hydrogen —producing capability of anaerobic activated sludge in three types of fermentations in a continuous stirred - tank reactor [J]. *Biotechnology Advances*, 2009, 27(1): 573 - 577.
- [9] 赵宇华, 钱泽澍. 硬脂酸降解菌与嗜氢产甲烷杆菌共培养物的研究 [J]. *浙江农业大学学报*, 1991, 17(1): 75 - 79.
- [10] SIEBER J R, SIMS D R, HAN C, *et al.* The genome of *Syntrophomonas wolfei*: new insights into syntrophic metabolism and biohydrogen production [J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(8): 2289 - 2301.
- [11] SOUSA D Z, SMIDT H, ALVES M M, *et al.* Ecophysiology of syntrophic communities that degrade saturated and unsaturated long - chain fatty acids [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2009, 68(3): 257 - 272.
- [12] 李建政, 孙倩, 刘枫, 等. 一株产氢产乙酸菌互营共培养体的筛选及其群落结构解析 [J]. *科技导报*, 2009, 27(16): 78 - 82.
- [13] 闵航. 厌氧微生物 [M]. 浙江: 浙江大学出版社, 1992: 104 - 106.
- [14] 林明, 任南琪, 王爱杰, 等. 几种金属离子对高效产氢细菌产氢能力的促进作用 [J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2003, 35(2): 147 - 150.

(编辑 刘 彤)