

碳链延长技术在有机资源回收领域的研究进展

石川, 刘越, 马金元, 李坤, 王婧瑶, 王凯军* (清华大学环境学院, 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 本文综述了碳链延长技术在处理有机废料及碳资源回收领域的优势, 梳理了其发展历程为后续研究提供方向指导, 阐释了其生化代谢途径中物质转变、能量传递和信号传输等机理, 验证了其延长为丁酸、己酸等产物的热力和动力学可行性, 总结归纳了其已优化的关键反应参数和已运行的工程试验案例等方面内容. 本文为揭示细胞碳链延长机制和应用碳链延长技术于实际废料治理提供理论基础和建议展望.

关键词: 脂肪酸碳链延长; 反- β 氧化反应; 有机固废管理; 产物加工; 研究进展

中图分类号: X17, Q26, TQ2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2020)10-4439-10

Review on research progress of anaerobic microbial chain elongation in organic waste treatment. SHI Chuan, LIU Yue, MA Jin-yuan, LI Kun, WANG Jing-yao, WANG Kai-jun* (State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China). *China Environmental Science*, 2020,40(10): 4439~4448

Abstract: This work presents a summary of chain elongation treatment technology which has been applied in organic waste management and carbon resource recovery. The advantages and research progresses, metabolic pathways, feasibility of thermodynamic and kinetics, optimized reaction parameters and operational engineering case studies of chain elongation are reviewed. The information provided gives a theoretical basis for revealing the mechanism of cell carbon chain elongation and some suggestions for driving the application in practical engineering.

Key words: fatty acid chain elongation; reverse-beta oxidation; organic waste management; product process; research progress

目前,中国使用的污水处理核心技术仍是活性污泥法^[1],该方法能够满足水质安全的基本要求.但由于人口数量激增和资源紧缺,提高污水处理效率和挖掘资源回收潜力就成为新时代污水处理技术发展的驱动力^[2].污水资源化利用中水资源回用、碳物质转化和氮磷资源回收等观念与发展备受重视^[3].厌氧消化产物甲烷和有机质残留物是重要的能源和资源回用物质.结合循环经济模式,考虑生态、成本和收益等相关影响,污水处理工艺进一步优化是必要的.因此,集污染治理和资源回收于一体的新型有机处理技术-碳链延长具有充足的发展空间和良好的发展前景.本文通过比较碳链延长与其他有机处理技术确认了该技术的产值优势,通过梳理其发展历程引出了该技术的研究现状,通过介绍其机理探究、参数优化和工程应用提出了该技术发展的关键难点与未来潜力,助力碳链延长实现研究性向应用性的转变。

1 碳链延长的技术及价值优势

实现生物质中碳资源高效回收利用可分为能源

转化(如厌氧产甲烷、微生物燃料电池产电等)和资源转化(生物可降解塑料、高附加值中长链酸等).以厌氧消化产甲烷工艺为代表的生物质碳能源回收工艺^[4],由于脂肪酸积累难以稳定运行^[5]且甲烷气体产物的收集和利用效率低难以高效运行,导致整体工艺经济效益低.因此,厌氧消化产甲烷工艺未能实现较好的废物资源化利用和较高的物质循环使用效率^[6].目前,以微生物燃料电池(MFC, Microbial Fuel Cell)为代表的进行生物质电能回收技术由于有限的产电效能和较高的成本投入,其工程应用还需等待较长时间^[7].在此背景下,以高附加值产品回收为目标的新兴碳资源回收技术引起广泛关注.新兴碳资源回收是采用生物化学方法将有机物转化为高附加值产品,如生物降解塑料(PHAs)和有机脂肪酸物质等.目前,PHAs 工业化生产存在转化率低,提取率低,产品纯度低,生产成本高等问题^[8].因此,直

收稿日期: 2020-03-06

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07102-003, 2017ZX07103-003)

* 责任作者,教授, wkj@mail.tsinghua.edu.cn

接生成有机脂肪酸的碳链延长技术因其简单快捷具有较好的发展前景.碳链延长技术的优势在于能够实现短链碳资源整合为中长链脂肪酸资源,实现碳源和能源的富集升级.其次碳链延长技术利用有机废料再生成丁酸和己酸等多种产品,具有更多的资源转化选择.碳链延长产品经济价值高,生产成本低,在碳资源回收产品领域具有明显的产值优势.碳资源回收产品经济价值及操作难易程度对比如表 1 所示.

表 1 碳资源回收产品经济价值及操作难易程度对比
Table 1 Comparison of economic value and operation difficulty of carbon resource recovery products

产品	技术	市场价值(欧元/t)	收集方法
甲烷	厌氧消化	€90~200 ^[9]	气体易分离收集
生物降解塑料*	胞内颗粒物聚合	€2200~5000 ^[9]	颗粒物需破膜较难获得
中长链脂肪酸	碳链延长	€1880~2090(己酸为例) ^[9]	油状物易萃取提纯

注:*每t生产成本为€4000^[10].

在厌氧环境中微生物实现碳链延长的反应主要为 3 类,包括乙酰 CoA 途径,甘油和二氧化碳形成琥珀酸途径和反- β 氧化延长碳链脂肪酸途径^[11].基于第三类反应的碳链延长技术对有机废料发酵液进行处理,可实现短链小分子物质向疏水性强的较长碳链物质转化,结合浓缩提纯技术可获得高价值的中等碳链脂肪酸物质(MCFAs).提纯的终端产物可加工成为抗生素^[12]、抗腐蚀剂^[13]、生物燃料^[14]

和生物塑料^[15],创造更高的经济价值.

2 碳链延长技术的发展历程

2.1 发展历程

碳链延长技术经历 3 个阶段即早期发现培养微生物,中期提升生化反应电子传递效率(如尝试不同电子供体和设计反应器流态等条件优化)和后期耦合电发酵、污泥颗粒化、细胞固定化和提纯等技术应用.碳链延长技术发展历程如图 1 所示.

在 20 世纪,科学家们对碳链延长技术的微生物形态和生化反应基础进行了初步探索.Barker^[16]首次在污泥培养产甲烷过程中发现革兰氏阴性细菌克氏梭状芽孢杆菌(*Clostridium kluyveri*)能够实现乙醇向丁酸、己酸的转化.随着对克氏梭状芽孢杆菌的人工培养营养^[17]条件的完善,碳链延长反应机理(反- β 氧化途径)^[18]和克氏梭状芽孢杆菌的能量代谢研究也已提出假设^[19].该反应的生化途径研究对碳链延长技术的应用显得尤为重要,奠定了碳链延长工艺的理论基础,决定了有机废料高价值转化的参数,提供了实际有机废料碳链延长处理的可行性依据.同时,该时期也获得了基于不同反应底物进行碳链延长的功能菌株,如 *Megasphaera elsdeni* 可利用乳酸产生己酸^[20],*Eubacterium limosum* 利用甲醇进行碳链延长^[21].进入 21 世纪,碳链延长技术随着新颖观点的提出、先进技术的结合和创新工程的应用,进入快速发展时期.

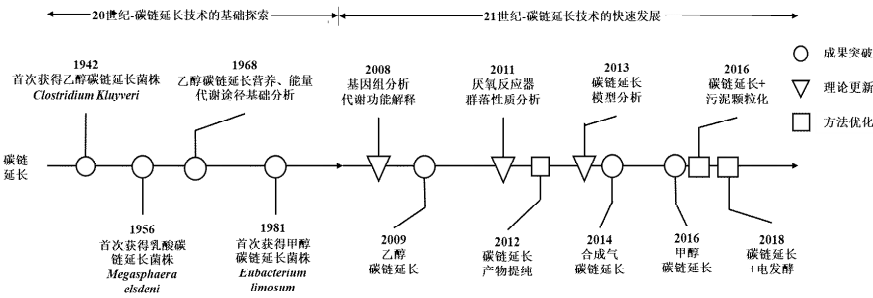


图 1 碳链延长技术发展历程

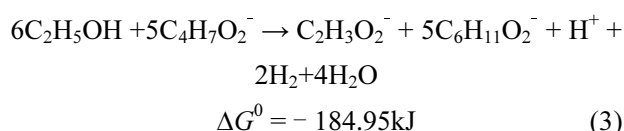
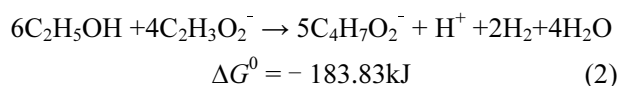
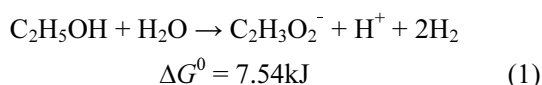
Fig.1 Development process of chain elongation technology

2.2 碳链延长反- β 氧化反应机理

随着对反- β 氧化过程的更多关注,借助现有先进的检测工具,厌氧碳链延长微生物的生理生态已得到更全面、更精确的阐释^[22].在中试规模的碳链延长技术中,碳回收率可高达 94%,这充分证明了微生

物的功能稳定性和应用潜力^[23].克氏梭状芽孢杆菌是能够利用乙醇和乙酸向短链和中长链脂肪酸转化的主要菌种,其转化过程主要遵循反- β 氧化途径^[18].反- β 氧化途径主要分为乙醇氧化(式 1)、辅酶转化和延长碳链多次循环生成丁酸(式 2)、己酸(式

3)等步骤^[11].在组分浓度为 1mol/L,氢分压为 1atm,水活力系数为 1,环境 pH 6.82 和温度为 37℃时,碳链延长热力学反应式(1)、(2)和(3)成立.



在较高的底物浓度条件下,微生物首先必须将部分乙醇氧化为乙酸,提供初始 ATP 能量和合成乙酰辅酶 A.每当 6mol 的乙醇用于延长反应时,则有 1mol 乙醇氧化为乙酸为该生化途径提供能量.在第一次循环中,乙醇转化的乙酰辅酶 A 参与丁酸的合成.根据热力学分析,乙醇向正丁酸碳链延长吉布斯自由能为 -183.83kJ/mol(1atm,37℃).每 5mol 的乙醇和 5mol 的乙酸能够生成 5mol 丁酸^[22].第 2 次循环中合成己酸,该步骤类似第 1 次循环中的丁酸合成,得到 2 个碳原子延长.己酸合成为放能反应,其发生必须与吸能反

应乙醇脱氢相结合^[22],且丁酸和己酸的合成是在发酵过程中同时进行的,而不是分阶段转化^[18].由于反-β 氧化全程需要满足 2.5mol ATP 能量供应,除去第一步乙醇氧化为乙酸提供的 ATP 外,其余则需要质子跨膜运输提供能量.Schobeth 等^[19]将碳链延长的能量供给机制与氢交换建立联系,在形成乙酰辅酶 A 的过程中需要脱氢来促进能量合成.通过监测实验产气组分,也证明氢气最高可占生物产气组分 38%^[24].在生物酶化学方面,新的遗传学和生化证据揭示了催化一系列氧化还原循环的两种关键酶,一种是细胞质丁基辅酶 A 脱氢酶复合物(Bcd/EtfAB)^[25],另一种是铁氧蛋白氧化还原酶(RnfA-E)^[26].还原型的铁氧蛋白(FDred)在酶作用下,生成氧化性铁氧蛋白,释放氢气,同时产生电化学钠离子和质子的电位梯度,排出细胞外.为维持细胞内外质子平衡,质子和钠离子通过钠泵跨膜运输进入细胞,促使 1.5mol ADP 向 1.5mol ATP 能量转化,形成运输偶联磷酸化的能量供应方式.因此碳链延长反应的能量主要由底物水平磷酸化和膜内外运输磷酸化提供^[27].克氏梭状芽孢杆菌利用乙醇和乙酸进行反-β 氧化反应的代谢途径如图 2 所示.

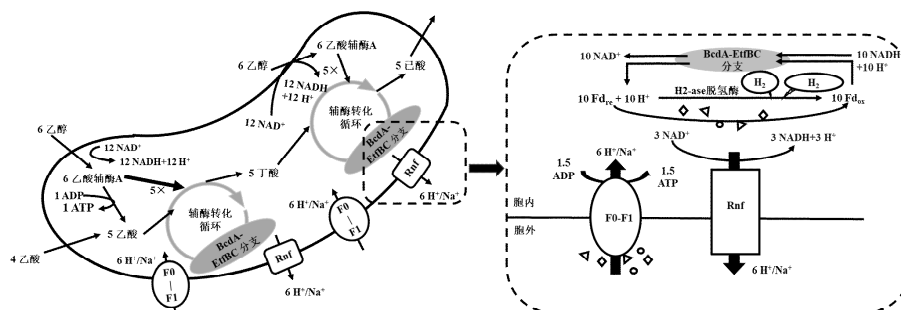


图2 乙醇和乙酸生成丁酸、己酸的碳链延长反-β 氧化代谢途径

Fig.2 Chain elongation pathway with ethanol and acetate to butyrate and caproate for *C. kluyveri*

BcdA-EtfBC 丁酰辅酶A脱氢酶-电子传递黄素蛋白复合物; F0-F1ATP 合成复合钠泵; Fdox 氧化型的铁氧蛋白; Fdred 还原型的铁氧蛋白; H2-ase: 脱氢酶; Rnf NAD: 铁氧蛋白还原复合物

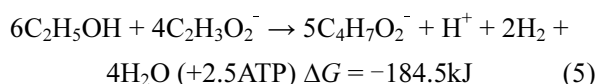
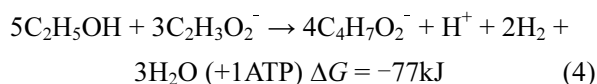
2.3 碳链延长热力学与动力学分析

随着研究的深入,已有较多文献对碳链延长的动力学及热力学进行分析^[11,22,28-29],以乙醇为电子供体碳链延长转化步骤的动力学和热力学系数已明确.基于以上理论基础,热力学和动力学分析模拟对生物转化机制的理解和产物生产过程的调节至关重要.

其一,反应环境变化情况下,确定不同反应发生的难易程度,提供抑制竞争反应和促进碳链延长反

应的策略指导.生物代谢反应系数接近热力学平衡,仅有少量的能量耗散.因此,底物浓度、pH 值、温度和气体分压很容易影响生物代谢反应的有利程度^[30-32].当底物浓度变化时,Angenent 等^[27]对产己酸途径进行动力学分析.针对以乙醇、乙酸和丁酸为底物的低浓度(1mmol/L)条件,氢分压为 1atm,水活力系数为 1,环境 pH 7,温度为 25℃,调整后反应式见式(4).在较低底物浓度条件下,反应所需 1ATP 能量仅从底物水平磷酸化获得.而在高底物浓度

(1mol/L)条件时,反应则需更多能量见式(5).该能量从底物水平磷酸化获得 1mol ATP 外,仍需通过物质跨膜运输方式提供 1.5ATP 能量.在底物浓度较高条件下,如何在低还原氧化电势下产氢和铁氧蛋白-NaD⁺还原酶如何参与反应的机理还需要进一步研究与完善. Spirito 等^[11]列举了在不同 pH 值和温度条件下,碳链延长反应热力学条件.在 pH=6.58 和温度 55℃ 条件下,反应吉布斯自由能的变化反映出碳链延长反应较难进行.保持上流式固定床反应器温度 30℃,pH 5.5 的反应条件,Ding 等^[33]进行热力学效率分析,得出至少 5mol 的乙醇参与反应能够满足丁酸或己酸的生成,且热力学效率达到 40%~50%.在反应器混菌条件下,产甲烷反应^[34]、脂肪酸还原反应^[35]等也都是自发反应,因此抑制这些竞争反应能够提高碳链延长的碳利用率、产物转化率和氢气产量.



其二,优化数据模型分析,可加深对碳链延长反应的理解和指导产物调节方法的建立. Cavalcante 等^[28]和 Candry 等^[36]已建立了纯菌克氏梭状杆菌的生长及代谢动力学和热力学模型.运用已建立的模型可进行底物如葡萄糖^[37]和乙醇浓度^[27]对碳链延长反应的模拟分析.从而获得效果较好的底物浓度范围.从能量分析上,己酸合成有两条途径,可利用乙醇和乙酸合成,也可利用乙醇和由碳链延长转化的丁酸合成^[38].

3 技术参数优化研究

碳链延长技术应从微生物、物理和化学角度上寻找产量、产率提升的参数优化策略.实际上,宏观的产量和产率变动,本质是微观的电子转移速率、能量利用效率等变化的体现.这些本质变化受外界非生物因子的影响,其中关键因子包括电子供体、环境气体和反应器设计等.因此,对于这些关键因子的量化和调控尤为重要.

3.1 电子供体底物选择

碳链延长中的电子供体底物设计,决定了反应的碳源、能源和还原氧化当量的浓度和转化效率等.

目前,涉及底物浓度和种类方面的研究居多.

底物浓度影响反应难易程度和最终产物组分.乙醇浓度的提高有助于中长链脂肪酸产物合成,而非中间产物的转化^[39].在生活垃圾的酸化产物中添加乙醇能够提高己酸和辛酸的产量,但是中间产物如丁酸、丙酸的产物并未能积累^[40].乙醇浓度较高时,乙醇氧化菌氧化乙醇为乙酸,过多乙醇氧化则会限制碳链延长,造成底物浓度限制^[41].乙醇浓度高于 1.84g/L 对微生物酶活性也存在抑制作用^[42].研究表明^[43],5~10g/L 浓度范围的乙醇在加入反应器后能保持较高的 MCFAs 产量.在二级延长循环中,Steinbusch 等^[29]发现当丁酸浓度达到 0.45g/L 时才可发生己酸的转化,己酸浓度达到 0.50g/L 激活辛酸的生成.在提供单一电子供体研究时,电子供体浓度和电子转移比例都会影响产物组分^[29],以乙醇为电子供体时,其促进和抑制碳链延长反应的浓度范围见表 2.Liu 等^[44]研究发现当固定总投入碳量,改变乙醇/乙酸比例,系数大于 2 时,能实现较好的脂肪酸转化效果.Catherine^[45]等在升流式反应器中对比了从 1.2~183mol/mol 乙醇/乙酸比例系数的产酸性能,比例系数越大其产物辛酸浓度越高,但辛酸转化率降低.在纯菌 *C. kluyveri* 反应器中,底物浓度和比例对产物浓度的影响也很明显.Bornstein 等^[46]固定乙醇初始浓度为 2.17g/L,随着增加乙酸初始浓度到 0.83g/L,己酸浓度出现峰值.因此,在结合考虑进料成本和产物收益实际情况下,如何设计底物浓度及比例,如何分配电子供体电子流动和调控电子受体产量是非常重要的研究内容.

除底物浓度外,底物的多样性即电子供体的多样性反映电子供体转移电子的难易程度,进而影响反应产物产量.相比投加乙醇和乙酸电子供体的合成反应,仅加入乙酸和氢气也可实现己酸和辛酸的合成,但其延长产物产量较低^[29].电子供体的多样性也为碳链延长技术提供了更多的应用选择.2015 年首次尝试利用甲醇和乙酸进行碳链延长^[50].在序批式和连续式反应器中都能得到产物己酸.在此之后,Chen 等^[51]利用甲醇和乙酸,得到异丁酸的最高产率为 2.0g/(L·d).如果进一步采用优化策略如降低水力停留时间、调控 pH 值等,甲醇碳链延长会有更好的发展潜力.另一种尝试是以乳酸做为电子供体,能够利用乳酸进行碳链延长的微生物为 *Megasphaera*

elsden^[52],在序批式^[53]和连续式^[54]体系研究中证明了乳酸向己酸盐的转化是可行的.甚至在实际生活垃圾处理中,酸化发酵类型为乳酸的条件下,可调控 pH 值在无外源乳酸添加下完成己酸盐的转化^[55].基于乳酸进行碳链延长的研究仍在进行,如通过提高产物提纯率促进己酸的生产^[56]等.

表 2 乙醇在碳链延长反应中促进及抑制浓度
Table 2 The promote and inhibit effect of ethanol concentration in chain elongation process

底物	乙醇浓度(g/L)	乙醇/乙酸比例(mol/mol)	己酸浓度(g/L)	辛酸浓度(g/L)	效果	引用
纸张与鸡粪共发酵物	5~10	无	4~10	无	促进	[43]
瘤胃发酵产物	10.4	无	6.1	无	促进	[47]
人工合成乙醇乙酸溶液	2.5~3.0	无	8.2	0.3	促进	[29]
人工合成乙醇乙酸溶液	4.61~5.18	2~3	3.03	0.37	促进	[44]
人工合成乙醇乙酸溶液*	8.2~13.3	1.2~183.0	0.5	0.2	促进	[45]
有机城市固体废物	1.0~3.0	无	2.8	0.6	促进	[40]
纸张与鸡粪共发酵物	15~40	无	7~0	无	抑制	[43]
人工合成乙醇乙酸溶液*	13.82	9	无	无	抑制	[48]
人工合成乙醇乙酸溶液	21.2~32.3	4.0~5.8	12.8	无	抑制	[49]

注:*升流式反应器.

利用多种电子供体或实际废料的碳链反应研究,为碳链延长的进料提供了多种可能性.乙醇与奇数短链羧酸的混合底物可实现庚酸、壬酸等奇数中长链脂肪酸的生成^[39].Agler 等^[57]在无甲烷抑制剂条件下,利用酵母发酵啤酒进行了碳链延长研究并建立了可在线提取的反应器装置,获得高价值和高能量的发酵产物己酸.纤维素与乙醇混合^[58]能够实现己酸的生成,但产酸较低还需进一步研究与优化.克氏梭状芽孢杆菌与瘤胃微生物混合后,能转化纤维素类生物质为丙酸、丁酸和己酸,己酸产率为 6.1g/(L·d)^[47].以待处理的有机废料为原料进行碳链延长获取脂肪酸资源的理念能够符合市场的实际需求,也能够顺应可持续发展的目标要求.多种进料共培养具备合成高价值、可循环的己酸及其衍生物的可行性.酵母提取物是一种含有氨基酸、无机盐和维生素等元素的复杂混合物,投加在碳链延长反应中也能明显提高产物产量,但是具体机理不明确.考虑到成本问题,应减少其使用量或寻找替代物来优化工艺^[16,59].

3.2 气体环境填充

反应过程中的环境气体组分如氮气、氢气、二氧化碳和甲烷等,具有推动或抑制反应进行和维持反应热力学条件的功能,因此调控环境气体组分能够影响碳链延长产物产量和反应竞争优势.在厌氧滤床条件下,Vasudevan^[60]将组分为一氧化碳(65%),二氧化碳(5%)和氢气(30%)的合成气通入碳链延长

反应器中,得到己酸产率仅为 1.7g/(L·d),丁酸产率可达 20g/(L·d),证明此条件下丁酸合成更具有优势.在厌氧微生物发酵反应中,不同气体组分具有相关联作用,如表 3 所示.

表 3 厌氧微生物发酵反应中气体组分作用
Table 3 Function of gas composition in anaerobic microbial fermentation

气体	作用	碳链延长 填充比例*	碳链延长 产气组分*
氮气	保证厌氧反应环境	80%~90%	90%~96%
氢气	影响反应热力学还原条件;作为反应物或生成物参与产甲烷、乙醇转化,脂肪酸碳链延长等过程;	无	4%~6%
二氧化碳	参与微生物生长代谢;影响反应热力学氧化条件;作为反应物或生成物参与产甲烷、乙酸转化、脂肪酸氧化等过程;	10%~20%	2%~3%
甲烷	在碳链延长过程抑制甲烷生成,一般为厌氧发酵产物;	无	0%~1%

注:*表示一般含量比例范围.

在己酸和戊酸合成的碳链延长反应中^[33],氢气是乙醇转化为乙酰辅酶 A 过程中的主要生成物^[27].当乙醇和氢气作为反应物含量不足时,乙酸向丁酸的延长反应受到限制后更趋向于产甲烷^[11].因此氢分压需要保持较高的水平,有助于微生物利用脂肪酸物质作为电子供体释放电子,提高电子参与反应效率.促进碳链延长功能菌的生长和抑制中等长度碳链脂肪酸的氧化需要氢气的持续通入,但太高的

氢分压也会抑制产己酸菌活性^[61]。

二氧化碳参与碳链延长功能菌的蛋白质合成和菌种生长繁殖.同时,其可作为产酸和产甲烷中间代谢产物影响各反应进程.Tomlinson 等^[62]得到二氧化碳浓度与碳链延长克氏梭状芽孢杆菌生物量变化呈线性关系,证明二氧化碳进入细胞内参与细胞生长代谢.Roghair 等^[63]发现在二氧化碳负荷较高为 2.5LCO₂/(L·d)时,会加快以乙醇为底物的碳链延长反应;反之,则以短链脂肪酸为底物延长为主.减少二氧化碳的分压,能抑制以氢气和乙醇为底物的产甲烷反应^[41, 64].由于碳链延长反应和产甲烷反应为竞争关系,因此,产甲烷趋势从条件上需要抑制.控制二氧化碳负荷率和分压能够促进碳链延长目标产物的生成.

在碳链延长反应中,由于底物竞争和条件矛盾,需要考虑采用产甲烷抑制方法.减少水力停留时间^[65]、降低 pH 值^[66]、热冲击预处理^[67]和添加产甲烷抑制剂^[63]等都是常用的抑制产甲烷菌的生长和活性手段.

反应环境气体组分适宜的调控能够使碳链延长反应更快、更好的发生,进而实现高效处理有机废料和最大化提炼高价值产物的双重目的.

3.3 反应器优化设计

反应器的流态、水力停留时间和构型对底物利用、反应程度和微生物效能都会有相应的动力学影响.对比血清瓶(110mL)、反应器(440mL)和标准发酵罐(2.2L)的产物产量及产率,结果证明在维持同等微生物生理和效能的基础上,不同的反应器形式和容量都会呈现不同的碳链延长反应动力学参数.因此,进行实验规模的升级,不可忽略反应器的参数变化^[68].

目前,发生碳链延长的反应器类型 1)全混合反应器(CSTR);2)升流式厌氧滤床(UAF).相较而言,升流式厌氧反应器利用水力剪切力和较低的水力停留时间能有效去除或抑制乙酸型产甲烷菌.因此,其在产物效率上更具有优势即得到的 MCFAs 产率大幅度提升,高达 16.6g/(L·d)^[39,65,69].随着电发酵技术的开发,微生物电化学系统被用于碳链延长反应实验,有望提高电子传递效率和 MCFAs 产量.但最终产物组分和产量由于受微生物代谢和电极电解程度的共同影响而并不理想,电发酵条件有待继续优

化^[70-72].在碳链延长技术的后端,连接在线产物提取设备可缓解由于酸浓度累积而产生的微生物代谢抑制情况,实现产物己酸等产品的连续获得,为生物资源回收利用打通循环回路^[57].表 4 为碳链延长反应常用反应器产酸效能对比结果.

随着对碳链延长研究的持续关注,融合污泥颗粒化和细胞固定化的想法,也为今后生产己酸盐和其它增值产品的高效经济的链延长系统发展提供了思路.碳链延长微生物能以盐物质沉淀为核心或通过分泌胞外聚合物包覆在产甲烷菌上,在水力剪切力诱导下形成颗粒.Roghair 等^[73]以丙酸、乙醇作为底物,将具有碳链延长功能的颗粒污泥接种入反应器,来研究观察污泥形态、特定功能、粒径、沉降性能对碳链延长反应的影响,希望能逐步开展碳链延长颗粒污泥的工业化应用.同时,以增加微生物停留时间、提升反应效率为目标的碳链延长微生物细胞固定化研究也已开展.其中,生物炭的添加^[74]可以稳定微生物群落结构,提高电导率,己酸最高浓度可达 21.1g/L.Zhang 等^[75]通过在麦秸生物质颗粒上固定克氏梭状芽孢菌,开发了一种具有己酸产率高、耐高氨浓度和载体可重复利用的碳链延长工艺.

表 4 碳链延长反应器产酸效能对比

Table 4 Comparison of acid production efficiency of chain elongation reactor

反应器类型	反应条件	产物浓度(g/L)			参考文献
		正丁酸	正己酸	正辛酸	
全混合	序批式,无 pH 值调控,周期 82h	8.68±0.18	11.30±0.28	无	[68]
	序批式, pH=7,周期 120d	2.2	8.2	0.3	[29]
	颗粒污泥, pH=6.8, 周期 120d	无	7.4 ± 0.2	无	[73]
升流式	连续式,pH 6.5~7.0, 周期 80d	1.3	12	0.9	[69]
	连续式, pH6.5~7.2, 周 60~69d	2.6	12.8	无	[65]
电发酵	连续式, pH=5.8,周期 283d	9.3	3.1	无	[71]
	序批式, pH=7.2,周期 70d	2.0	2.1	无	[72]

4 实际工程案例分析

碳链延长的实际工程应用案例多集中在欧洲国家.荷兰 Chaincraft 是第一家成功应用厌氧生物碳

链延长技术、实现终端产物加工为化工品的公司。该公司主要基于“自然平衡”的碳链延长技术,将一个系统产生的废料用于另一个生产环节创造经济价值,转变利用化石原料的传统思想,致力于构建可再生生物化学品循环生产模式。Chen 等^[76]基于 Chaincraft 公司的中试工程数据,利用生命周期评价方法对碳链延长产己酸工艺进行环境影响分析,得到工艺中乙醇添加和提纯效率是抑制碳链延长工艺发展和影响其工艺环境效益的主要问题。目前,从粗棕榈油中生产己酸的实际生命周期影响未有明确研究。因此,应将不同底物生产己酸工艺进行合理的比较。然而,依据现有的生命周期评价数据,将混合有机废物进行碳链延长转化对己酸合成工艺是具有实质性改进的。

德国 Darmstadt 是一家现代化的有机生活垃圾堆肥处理厂(处理量 13200t/a),其工艺路线是“收集分选-破碎-发酵-碳链延长-脂肪酸提纯”。Kannengiesse 等^[23]在该厂常规运行期间,进行产物分析与追踪,根据数据整理与核算,得出该厂每年可提炼脂肪酸 15.5~22.5t。同时,利用剩余低价值脂肪酸可实现大约 5000m³的沼气产量。该处理厂的创新理念在于将垃圾处理和生物化工品精炼集中于一体,实现碳资源可持续利用。当然在运行过程中,还有许多问题需要解决包括由于垃圾组分不稳定,渗滤液中脂肪酸含量不稳定;如何确定垃圾进行碳链延长时间,能够节省原料投加与额外消耗^[77];极性脂肪酸仍存留在渗滤液中未能回收利用,影响后续脂肪酸的产生等。如果处理量和精炼品产量较低(脂肪酸产量低于 900t),该厂则会处于经济亏损状态。因此除了考虑可持续性和循环利用外,控制产物组分,提升精炼技术水平,生产具有高附加值的生物化学品,才能使这一创新概念落地并可复制推广。

总之,碳链延长技术的前端涉及有机废料的资源化处理,后端实现碳源化学品的循环回收。优化前端输入参数,严格控制后端成品质量,是碳链延长技术落地与发展的基础。

5 结论与展望

5.1 结论

在全球矿物资源匮乏的大背景下,制备可再生燃料和可循环化学品成为趋势。利用城市、工业或

农业有机废料作为生物质原料,在厌氧技术基础上将其转化为生化产品^[34]的处理方法成为更热的关注点。本文从整体梳理了碳链延长技术的发展,阐释碳链延长反应机理,结合动力学和热力学分析技术可行性,依据已优化反应参数和实际工程案例,对碳链延长技术在有机废料处理领域的未来研究提出建议与展望。碳链延长反应的深入研究对有机废料处理和资源回收起到重要作用,对解决化石燃料、矿产资源需求量剧增的问题提供“资源即价值”创新思路。

5.2 展望

本文阐释了以乙醇为电子供体的反- β 氧化反应机理,但其他电子供体如甲醇、乳酸等的碳链延长机理途径和模型分析较少,代谢机理亦亟待深入研究。因此,需要基于不同电子供体进行碳链延长反应的广泛研究为实际复杂有机废料处理提供理论支撑。其次,建立反应的不同阶段标志性特征分析手段,则会更易于判断反应进程,也会为工业生产提供简单有效的调控方法,实现环境管理和资源循环利用的双重目的。另外,如何利用实际有机废料而非人工合成电子供体混合液,如何合理配置和调控反应环境参数,如何结合现有处理单元设计高效碳链延长反应工艺流程,则是落实和推广碳链延长工艺的现实问题。随着理论和实际应用的探索,有机废料碳链延长处理工艺将逐步完善成为可行、可观、可收益、可持续的有机废料处理方法。

参考文献:

- [1] 余 杰,田宁宁,王凯军,等.中国城市污水处理厂污泥处理、处置问题探讨分析 [J]. 环境工程学报, 2007,1(1):82-86.
Yu J, Tian N N, Wang K J, et al. Analysis and discussion of sludge disposal and treatment of sewage treatment plants in China. [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2007,1(1):82-86.
- [2] Larsen T A, Alder A C, Eggen R I, et al. Source separation: will we see a paradigm shift in wastewater handling? [J]. Environmental Science & Technology, 2009,43(16):6121-6125.
- [3] Guest J S, Skerlos S J, Barnard J L, et al. A new planning and design paradigm to achieve sustainable resource recovery from wastewater [J]. Environmental Science & Technology, 2009,43(16):6126-6130.
- [4] 王凯军.厌氧生物技术:理论与应用 I [M]. 北京:化学工业出版社, 2015.
Wang K J. Anaerobic biological technology: I theory and application [M]. Beijing: Chemical industry press, 2015.
- [5] 史绪川,左剑恶,阎 中,等.新型两相一体厌氧消化反应器处理餐厨垃圾中试研究 [J]. 中国环境科学, 2018,38(9):3447-3454.

- Shi X C, Zuo J E, Yan Z, et al. A pilot study on integrated two-stage anaerobic digestion of food waste in an innovative dual-cylinder reactor. [J]. *China Environmental Science*, 2018,38(9):3447-3454.
- [6] Hao X, Li J, van Loosdrecht M C M, et al. Energy recovery from wastewater: Heat over organics [J]. *Water Research*, 2019,161:74-77.
- [7] Pant D, Van Bogaert G, Diels L, et al. A review of the substrates used in microbial fuel cells (MFCs) for sustainable energy production [J]. *Bioresource Technology*, 2010,101(6):1533-1543.
- [8] 俞苗新,潘 杨,钱亚芳,等.活性污泥法合成可生物降解塑料的工程化可行性探讨 [J]. *环境污染与防治*, 2012,34(9):96-101.
Yu M, Pan Y, Qian Y F, et al. Study on engineering feasibility of biodegradable plastics synthesized by activated sludge process [J]. *Environmental Pollution & Control*, 2012,(9):96-101.
- [9] Moscoviz R, Trably E, Bernet N, et al. The environmental biorefinery: state-of-the-art on the production of hydrogen and value-added biomolecules in mixed-culture fermentation [J]. *Green Chemistry*, 2018,20(14):3159-3179.
- [10] Lunt J. The Development and Commercialization of PHBV Polymers [R]. In: Presentation at ISBP, USA, 2008.
- [11] Spirito C M, Richter H, Rabaey K, et al. Chain elongation in anaerobic reactor microbiomes to recover resources from waste [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014,27:115-122.
- [12] Woolford M K. Microbiological screening of the straight chain fatty acids (c1-c12) as potential silage additives [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1975,26(2):219-228.
- [13] Kuznetsov Y I, Ibatullin K A. On the inhibition of the carbon dioxide corrosion of steel by carboxylic acids [J]. *Protection of Metals*, 2002,38(5):439-444.
- [14] Renz M. Ketonization of carboxylic acids by decarboxylation: mechanism and scope [J]. *European Journal of Organic Chemistry*, 2005,(6):979-988.
- [15] Bernard W, Kessler Birgit. Perspectives of medium chain length poly(hydroxyalkanoates), a versatile set of bacterial bioplastics [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 1999,10(3):279-285.
- [16] Barker H A. *Clostridium Kluyveri* [J]. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology*, 1947, 12(1-4):167-176.
- [17] Barker H A, Taha, S M. *Clostridium Kluyverii*, an organism concerned in the formation of caproic acid from ethyl alcohol [J]. *Journal of bacteriology*, 1942,43(3):347-363.
- [18] Barker H A, Kamen M D, Bornstein B T. The synthesis of butyric and caproic acids from ethanol and acetic acid by *Clostridium Kluyveri* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1945,31(12):373-381.
- [19] Schoberth S, Gottschalk G. Considerations on the energy metabolism of *Clostridium kluyveri* [J]. *Archiv für Mikrobiologie*, 1969,65(4): 318-328.
- [20] Elsdon S R, Volcani B E, Gilchrist F M C. Properties of a fatty acid forming organism isolated from the rumen of sheep [J]. *Journal of Bacteriology*, 1956,72(5):681-689.
- [21] Genthner B R S, Davis C L, Bryant M P. Features of rumen and sewage sludge strains of *Eubacterium limosum*, a methanol- and H₂-CO₂-utilizing species [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1981,42(1):12-19.
- [22] Seedorf H, Fricke W F, Veith B, et al. The genome of *Clostridium Kluyveri*, a strict anaerobe with unique metabolic features [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008,105(6):2128-2133.
- [23] Kannengiesser J, Sakaguchi-Söder K, Mrukwa T, et al. Extraction of medium chain fatty acids from organic municipal waste and subsequent production of bio-based fuels [J]. *Waste Management*, 2016,47(Part A):78-83.
- [24] Reddy M V, Hayashi S, Choi D, et al. Short chain and medium chain fatty acids production using food waste under non-augmented and bio-augmented conditions [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 176:645-653.
- [25] Herrmann G, Jayamani E, Mai G, et al. Energy conservation via electron-transferring flavoprotein in anaerobic bacteria [J]. *Journal of Bacteriology*, 2008,190(3):784-791.
- [26] Li F, Hinderberger J, Seedorf H, et al. Coupled ferredoxin and crotonyl coenzyme A (CoA) reduction with NADH catalyzed by the butyryl-CoA dehydrogenase/Etf complex from *Clostridium Kluyveri* [J]. *Journal of bacteriology*, 2008,190(3):843-850.
- [27] Angenent L T, Richter H, Buckel W, et al. Chain elongation with reactor microbiomes: open-culture biotechnology to produce biochemicals [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016,50(6): 2796-2810.
- [28] Cavalcante W D A, Leitão R C, Gehring T A, et al. Anaerobic fermentation for n-caproic acid production: A review [J]. *Process Biochemistry*, 2017,54:106-119.
- [29] Steinbusch K J J, Hamelers H V M, Plugge C M, et al. Biological formation of caproate and caprylate from acetate: fuel and chemical production from low grade biomass [J]. *Energy & Environmental Science*, 2010,4(1):216-224.
- [30] Kleerebezem R, Joosse B, Rozendal R, et al. Anaerobic digestion without biogas? [J]. *Reviews in Environmental Science & Biotechnology*, 2015,14(4):787-801.
- [31] González-Cabaleiro R, Lema J M, Rodríguez J, et al. Linking thermodynamics and kinetics to assess pathway reversibility in anaerobic bioprocesses [J]. *Energy & Environmental Science*, 2013, 6(12):3780-3789.
- [32] Hanselmann K W. Microbial energetics applied to waste repositories [J]. *Experientia*, 1991,47(7):645-687.
- [33] Ding H B, Tan G Y A, Wang J Y. Caproate formation in mixed-culture fermentative hydrogen production [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(24):9550-9559.
- [34] Agler M T, Wrenn B A, Zinder S H, et al. Waste to bioproduct conversion with undefined mixed cultures: the carboxylate platform [J]. *Trends in Biotechnology*, 2011,29(2):70-78.
- [35] van Wyk J P. Biotechnology and the utilization of biowaste as a resource for bioproduct development [J]. *Trends Biotechnology*, 2001, 19(5):172-177.
- [36] Candry P, Van Daele T, Denis K, et al. A novel high-throughput method for kinetic characterisation of anaerobic bioproduction strains, applied to *Clostridium Kluyveri* [J]. *Scientific Reports*, 2018,8(1):9724.DOI:10.1038/s41598-018-27594-9.

- [37] Gonzalez-Cabaleiro R, Lema J M, Rodriguez J. Metabolic energy-based modelling explains product yielding in anaerobic mixed culture fermentations [J]. *PLoS One*, 2015,10(5):e0126739.DOI:10.1371/journal.pone.0126739.
- [38] Grootsholten T I M. Development of a mixed culture chain elongation process based on municipal solid waste and ethanol [M]. Wageningen University & Research, 2013.
- [39] Grootsholten T I M, Steinbusch K J J, Hamelers H V M, et al. High rate heptanoate production from propionate and ethanol using chain elongation [J]. *Bioresource Technology*, 2013,136(Supplement C): 715–718.
- [40] Grootsholten T I M, Kinsky dal Borgo F, Hamelers H V M, et al. Promoting chain elongation in mixed culture acidification reactors by addition of ethanol [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2013,48:10–16.
- [41] Grootsholten T I M, Strik D P B T B, Steinbusch K J J, et al. Two-stage medium chain fatty acid (MCFA) production from municipal solid waste and ethanol [J]. *Applied Energy*, 2014,116(3): 223–229.
- [42] Chen H, Jin S. Effect of ethanol and yeast on cellulase activity and hydrolysis of crystalline cellulose [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2006,39(7):1430–1432.
- [43] Lonkar S, Fu Z, Holtzapple M. Optimum alcohol concentration for chain elongation in mixed-culture fermentation of cellulosic substrate [J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2016,113(12):2597–2604.
- [44] Liu Y, Lü F, Shao L, et al. Alcohol-to-acid ratio and substrate concentration affect product structure in chain elongation reactions initiated by unacclimatized inoculum [J]. *Bioresource Technology*, 2016,218:1140–1150.
- [45] Spirito C M, Marzilli A M, Angenent L T. Higher substrate ratios of ethanol to acetate steered chain elongation toward n-caprylate in a bioreactor with product extraction [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018,52(22):13438–13447.
- [46] Bornstein B T, Barker H A. The energy metabolism of *Clostridium kluyveri* and the synthesis of fatty acids [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1948,172(2):659–669.
- [47] Weimer P J, Nerdahl M, Brandl D J. Production of medium-chain volatile fatty acids by mixed ruminal microorganisms is enhanced by ethanol in co-culture with *Clostridium kluyveri* [J]. *Bioresource Technology*, 2015,175:97–101.
- [48] Kucek L A, Spirito C M, Angenent L T. High n-caprylate productivities and specificities from dilute ethanol and acetate: chain elongation with microbiomes to upgrade products from syngas fermentation [J]. *Energy & Environmental Science*, 2016,9(11): 3482–3494.
- [49] Weimer P J, Stevenson D M. Isolation, characterization, and quantification of *Clostridium kluyveri* from the bovine rumen [J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2012,94(2):461–466.
- [50] Chen W S, Ye Y, Steinbusch K J J, et al. Methanol as an alternative electron donor in chain elongation for butyrate and caproate formation [J]. *Biomass & Bioenergy*, 2016,93:201–208.
- [51] Chen W S, Huang S, Strik D P, et al. Isobutyrate biosynthesis via methanol chain elongation: converting organic wastes to platform chemicals [J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2016,92:1370–1379.
- [52] Marounek M, fliegrova K. Metabolism and some characteristics of ruminal strains of *Megasphaera elsdenii* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1989,55(6):1570–1573.
- [53] Ladd J N. The fermentation of lactic acid by a gram-negative coccus [J]. *The Biochemical journal*, 1959,71(1):16–22.
- [54] Kucek L A, Nguyen M, Angenent L T. Conversion of L-lactate into n-caproate by a continuously fed reactor microbiome [J]. *Water Research*, 2016,93:163–171.
- [55] Contreras-Davila C A, Carrion V J, Vonk V R, et al. Consecutive lactate formation and chain elongation to reduce exogenous chemicals input in repeated-batch food waste fermentation [J]. *Water Research*, 2019,169:115215. DOI: 10.1016/j.watres.2019.115215.
- [56] Andersen S J, Candry P, Basadre T, et al. Electrolytic extraction drives volatile fatty acid chain elongation through lactic acid and replaces chemical pH control in thin stillage fermentation [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2015,8:221. DOI: 10.1186/s13068-015-0396-7.
- [57] Agler M T, Spirito C M, Usack J G, et al. Chain elongation with reactor microbiomes: Upgrading dilute ethanol to medium-chain carboxylates [J]. *Energy & Environmental Science*, 2012,5(8):8189–8192.
- [58] Kenealy W R, Cao Y, Weimer P J. Production of caproic acid by cocultures of ruminal cellulolytic bacteria and *Clostridium kluyveri* grown on cellulose and ethanol [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1995,44(3):507–513.
- [59] San-Valero P, Abubackar HN, Veiga MC, et al. Effect of pH, yeast extract and inorganic carbon on chain elongation for hexanoic acid production [J]. *Bioresource Technology*, 2019,300:122659.DOI: 10.1016/j.biortech.2019.122659.
- [60] Vasudevan D, Richter H, Angenent L T. Upgrading dilute ethanol from syngas fermentation to n-caproate with reactor microbiomes [J]. *Bioresource Technology*, 2014,151:378–382.
- [61] Dworkin M, Falkow S. Defining taxonomic ranks: the prokaryotes [M]. New York: Springer, 2006.
- [62] Tomlinson N, Barker H A. Carbon dioxide and acetate utilization by *Clostridium kluyveri*. I. Influence of nutritional conditions on utilization patterns [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1954,209(2): 585–595.
- [63] Roghair M, Hoogstad T, Strik D P B T B, et al. Controlling ethanol use in chain elongation by CO₂ loading rate [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018,52:1496–1505.
- [64] Roghair M, Liu Y, Adiatma J C, et al. Effect of n-caproate concentration on chain elongation and competing processes [J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018,6:7499–7506.
- [65] Grootsholten T I, Steinbusch K J, Hamelers H V, et al. Improving medium chain fatty acid productivity using chain elongation by reducing the hydraulic retention time in an upflow anaerobic filter [J]. *Bioresource Technology*, 2013,136(12):735–738.
- [66] Kim I S, Hwang M H, Jang N J. Effect of low pH on the activity of hydrogen utilizing methanogen in bio-hydrogen process [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2004,29(11):1133–1140.
- [67] Steinbusch K J J, Arvaniti E, Hamelers H V M. Selective inhibition of methanogenesis to enhance ethanol and n-butyrate production through

- acetate reduction in mixed culture fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2009,100(13):3261–3267.
- [68] Hegner R, Koch C, Riechert V, et al. Microbiome-based carboxylic acids production: from serum bottles to bioreactors [J]. *RSC Advances*, 2017,7(25):15362–15371.
- [69] Grootsholten T I M, Steinbusch K J J, Hamelers H V M, et al. Chain elongation of acetate and ethanol in an upflow anaerobic filter for high rate MCFA production [J]. *Bioresource Technology*, 2013,135 (Supplement C):440–445.
- [70] Eerten-Jansen M C A A V, Heijne A T, Grootsholten T I M, et al. Bioelectrochemical production of caproate and caprylate from acetate by mixed cultures [J]. *Acs Sustainable Chemistry & Engineering*, 2013,1(5):513–518.
- [71] Jourdin L, Winkelhorst M, Rawls B, et al. Enhanced selectivity to butyrate and caproate above acetate in continuous bioelectrochemical chain elongation from CO₂: Steering with CO₂ loading rate and hydraulic retention time [J]. *Bioresource Technology Reports*, 2019,7:100284.DOI:10.1016/j.biteb.2019.100284.
- [72] Jiang Y, Chu N, Zhang W, et al. Electro-fermentation regulates mixed culture chain elongation with fresh and acclimated cathode [J]. *Energy Conversion and Management*, In Press, 2020.
- [73] Roghair M, Strik D P B T B, Steinbusch K J J, et al. Granular sludge formation and characterization in a chain elongation process [J]. *Process Biochemistry*, 2016,51(10):1594–1598.
- [74] Liu Y, He P, Shao L, et al. Significant enhancement by biochar of caproate production via chain elongation [J]. *Water Research*, 2017, 119:150–159.
- [75] Zhang C, Yang L, Tsapekos P, et al. Immobilization of *Clostridium kluyveri* on wheat straw to alleviate ammonia inhibition during chain elongation for n-caproate production [J]. *Environmental International*, 2019,127:134–141.
- [76] Chen W S, Strik D P B T B, Buisman C J N, et al. Production of caproic acid from mixed organic waste: an environmental life cycle perspective [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017,51(12): 7159–7168.
- [77] Roghair M, Liu Y, Strik D P B T B, et al. Development of an effective chain elongation process from acidified food waste and ethanol into n-caproate [J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2018, 6:50.DOI:10.3389/fbioe.2018.00050.

作者简介: 石 川(1995-),女,山东省巨野人,清华大学环境学院博士研究生,研究方向为有机固废污染控制与资源化.发表论文 1 篇.

《中国环境科学》喜获 中国科协精品科技期刊 TOP50 项目资助

《中国环境科学》2015 年 6 月获得中国科协精品科技期刊 TOP50 项目资助.中国科协精品科技期刊 TOP50 项目按照“以奖促建”的原则,通过以奖代补方式,遴选支持一批高端精品科技期刊,形成学科导航期刊集群.推动其加快成长为促进科技知识生产传播的重要渠道、促进学术交流的重要平台和促进学术生态建设的苗圃花坛,为我国科技期刊的发展发挥示范引领作用.经过专家评审和公示,最终确定入选的期刊均为学术影响力强、引证指标好、在学术交流与学科建设中起到重要作用、服务科技工作者成效显著、学术出版道德规范的优秀中文科技期刊.