



移动扫码阅读

何子琳, 任韦同, 吴清莲, 等. 有机固废生物转化制备高附加值中链脂肪酸研究进展[J]. 能源环境保护, 2024, 38(5): 45-57.

HE Zilin, REN Weitong, WU Qinglian, et al. Advances in bioconversion of organic solid wastes for the preparation of high-value medium-chain fatty acids[J]. Energy Environmental Protection, 2024, 38(5): 45-57.

有机固废生物转化制备高附加值中链脂肪酸研究进展

何子琳, 任韦同, 吴清莲, 郭婉茜*

(哈尔滨工业大学 环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150096)

摘要: 鉴于有机固废产量随工业化和城市化推进而逐年增长, 有机固废资源化成为当前生态环境保护领域的研究热点。其中, 利用微生物碳链延长技术将有机固废转化为高附加值的中链脂肪酸(Medium-Chain Fatty Acids, MCFAs) 备受关注。该技术既能解决当前紧迫的环境污染问题, 又能提升产品的经济价值, 兼具环保和经济性双重优势, 符合我国减污降碳和无废城市建设的要求。综述了有机固废生物转化制备 MCFAs 的厌氧发酵和碳链延长技术的反应机理以及关键微生物, 分析了影响合成效率的主要因素, 包括 pH、温度、底物类型与浓度、水力停留时间(HRT)、固体停留时间(SRT) 以及其他影响因素, 总结了有机固废生产 MCFAs 所面临的底物生物利用难、电子供体缺乏、高效产酸体系构建难和产物分离提取难题等挑战, 并提出相应解决策略, 为今后相关领域的发展研究提出了建议。

关键词: 有机固废; 厌氧发酵; 中链脂肪酸; 碳链延长; 影响因素

中图分类号: X705

文献标识码: A

文章编号: 2097-4183(2024)05-0045-13

Advances in bioconversion of organic solid wastes for the preparation of high-value medium-chain fatty acids

HE Zilin, REN Weitong, WU Qinglian, GUO Wanqian*

(School of Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150096, China)

Abstract: With increasing industrialization and urbanization, organic solid wastes production is rising. Resource utilization of these wastes has become an emerging area of research in ecological and environmental protection. Among various approaches, utilizing organic solid waste as a fermentation substrate for microbial carbon chain elongation technology to produce valuable medium-chain fatty acids (MCFAs) is gaining significant interest. This technology not only addresses pressing environmental pollution problems but also enhances product value, offering both environmental protection and economic benefits. It aligns perfectly with China's policies on pollution reduction, carbon mitigation, and the development of waste-free cities. The review focuses on the reaction mechanisms and key microorganisms involved in the anaerobic fermentation and carbon chain elongation technologies for the bioconversion of organic solid wastes to prepare MCFAs. The main factors affecting the synthesis efficiency, including pH, temperature, substrate type and concentration, hydraulic retention time (HRT), solid retention time (SRT), and other factors are analyzed. Furthermore, the challenges associated with the production of MCFAs from organic solid wastes, such as the limited bioavailability of the substrate, the lack of electron donors, the complexity of constructing a high-efficiency acid-producing system, and

收稿日期: 2024-05-18

修回日期: 2024-06-13

DOI: 10.20078/j.eep.20240610

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52000132)

作者简介: 何子琳(2001—), 女, 福建福州人, 硕士研究生, 主要研究方向为废弃生物质资源化。E-mail: hezilin3001@163.com

通讯作者: 郭婉茜(1980—), 女, 黑龙江哈尔滨人, 教授, 主要研究方向为废弃生物质资源化。E-mail: guowanqian@126.com

the issues related to product separation and extraction, are summarized. Finally, this review provides suggestions for future research and development in related fields.

Keywords: Organic solid waste; Anaerobic fermentation; Medium-chain fatty acids; Chain elongation; Influencing factors

0 引言

我国是世界上最大的有机固废生产国,随着工业化和城市化的推进,有机固废产量(厨余垃圾、市政污泥、农作物秸秆、畜禽粪便等)呈逐年增长的态势^[1]。据统计,2022年我国生活垃圾清运量为 2.45×10^8 t,干污泥产量为 1.58×10^7 t,秸秆产量为 8.65×10^8 t^[1]。有机废弃物若不能得到有效处理,则会带来环境污染问题。在气候变化和资源短缺的背景下,有机固废处理俨然成为我国生态环境保护产业的新热点。近年来,我国陆续提出无废城市、垃圾分类和循环经济等系列行动计划,并对有机固废资源化提出了明确的要求。有机固废是“放错位置的资源”,对其进行资源化利用,将其“变废为宝”,既可解决资源短缺问题,又能减少碳排放,缓解全球变暖。

链延长技术是厌氧发酵的一个重要分支,利用乙醇、乙酸和乳酸等易获取底物合成己酸、庚酸和辛酸等中链脂肪酸(Medium-Chain Fatty Acids, MCFAs),从而实现废弃物的处理和资源回收。目前,MCFAs可被用作食品添加剂、抗菌剂、生物柴油和香料等的前驱体^[2],由于原料有限、提取工艺复杂,当其主要来源于工业生产的植物油时,己酸生产价格高达20 000~27 000元/t^[3]。因此,基于微生物合成的碳链延长(Chain Elongation, CE)生产MCFAs具有很大的发展前景。有机固废种类繁多,其中农作物秸秆、畜禽粪便、餐厨垃圾和剩余污泥等是典型的有机废弃物,有机质含量高,可通过厌氧发酵生产短链脂肪酸(Short-Chain Fatty Acids, SCFAs),其中包含乙酸、丙酸、丁酸、戊酸,再通过CE技术生产MCFAs。目前,已有诸多研究实现从有机固废中生产MCFAs,其中,剩余污泥、餐厨垃圾为底物的碳链延长技术已被广泛研究。近年来,部分学者验证了畜禽粪便、纤维素类废弃物生产MCFAs的可行性。例如,ZHANG等^[4]通过两阶段发酵工艺将猪粪和玉米秸秆转化为MCFAs,MCFAs最大产量为1 890 mg COD/(L·d);YIN等^[5]采用剩余污泥与木质纤维素废弃物共发酵生产MCFAs,获得了89.5 mmol C/L的己酸产

量。利用有机固废作为碳链延长的发酵底物得到越来越多的关注。

本文围绕微生物利用有机固废进行链延长生产MCFAs,梳理有机固废作为微生物碳链延长底物的技术机理和主要影响因素,总结有机固废生产MCFAs的限制难题与解决方法,以期对有机固废资源化和微生物碳链延长技术研究提供参考。

1 微生物利用有机固废生产MCFAs机理

微生物利用有机固废生产MCFAs主要分为2个阶段。图1为有机固废生产MCFAs的合成途径。第1阶段,有机固废通过厌氧发酵(Anaerobic Fermentation, AF)转化为电子供体(乙醇、乳酸)和电子受体(SCFAs);第2阶段,即CE阶段,将第1阶段产生的有机物进一步转化为有高附加值的中链脂肪酸。

1.1 SCFAs的微生物合成途径

SCFAs是有机固废作为底物进行厌氧消化(Anaerobic Digestion, AD)过程中合成的中间产物。AD是一种利用特殊微生物群降解有机物产生沼气的过程,通常包括水解、酸化和产甲烷阶段,其中产甲烷阶段耗时最长。在水解阶段,有机固废中复杂的有机物(如碳水化合物、蛋白质和脂质)经水解产生简单有机物,包括SCFAs(如丙酸、丁酸)、氨基酸、醇类等中间产物;在酸化阶段,水解阶段产生的中间产物在产氢产乙酸菌的作用下被转化为乙酸、 H_2 、 CO_2 ;在产甲烷阶段,产甲烷菌利用前两个阶段产生的中间产物通过不同的代谢途径转化为甲烷和 CO_2 ,而AF仅涉及AD的前两个阶段。因此,若要积累乙醇、乳酸、SCFAs,则需要阻止AD过程中产甲烷阶段的进行,确保代谢过程主要集中在产生SCFAs的AF过程。

表1为常见产SCFAs的关键微生物,包括厚壁菌门(*Firmicutes*)、氯氟菌门(*Chloroflexi*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)等。据报道,以上微生物能够降解多种有机物质,其主要代谢产物为SCFAs^[6]。富含蛋白质的底物(剩余污泥、微藻等)在进行厌氧发酵时,会富集厚壁菌门(*Firmicutes*)中的大量氨基酸降解菌,例如*Peptostreptococcus*、*Sporoanaer-*

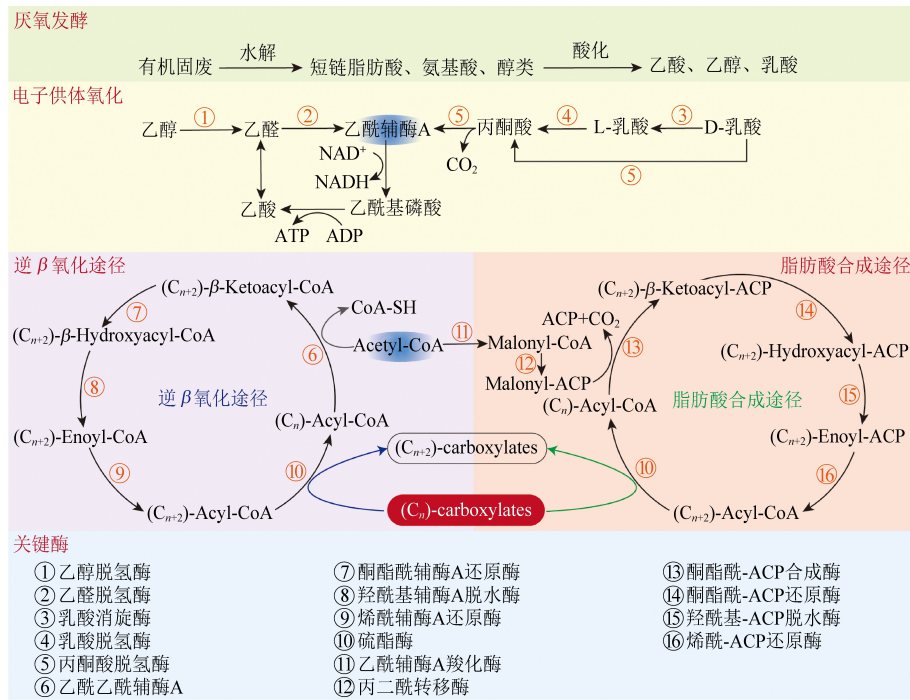


图 1 有机固废生产 MCFAs 的合成途径

Fig. 1 Synthesis pathway of MCFAs from organic solid wastes

obacter 可分别产生丙酸和乳酸, *Sporanaerobacter* 能同时降解蛋白质和碳水化合物, 梭菌属 (*Clostridium*) 则被认为是唯一可在厌氧条件下进行斯提柯兰氏发酵的菌属^[7]。在富含碳水化合物的底物(例如餐厨垃圾)进行发酵时, 乳杆菌目 (*Lactobacillales*) 和梭菌目 (*Clostridiales*, 属于厚壁菌门)

已被确定为参与碳水化合物降解的关键微生物^[8]。此外, LUO 等^[9]指出拟杆菌门 (*Bacteroidetes*) 中的微生物可降解纤维素形成 SCFAs, 与 YIN 等^[5]研究结果一致, 在木质纤维素废弃物进行水解酸化过程中, 拟杆菌门中的拟杆菌属 (*Bacteroides*) 被大量富集。

表 1 不同有机固废厌氧发酵产 SCFAs 过程中的关键微生物

Table 1 Key microorganisms during acidogenic fermentation of various organic solid wastes

底物	底物主要成分	接种物	发酵条件	SCFAs 产量	关键微生物(占比,%)	参考文献
餐厨垃圾	蛋白质、碳水化合物、脂质	污泥	初始 pH=8	13.9 g/L	<i>Bacteroidetes</i> , <i>Firmicutes</i> , <i>Spirochaetes</i>	[10]
污水污泥	蛋白质	—	温度 = 37 °C, pH = 10, 有机负荷率 (Organic Load Rate, OLR) = 17 kg COD/(m ³ · d)	7.8 kg/cm ³	<i>Proteobacteria</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Firmicutes</i>	[11]
餐厨垃圾 (FW)、剩余污泥 (ES)	蛋白质、脂质、纤维素、糖、氨基酸	—	FW/ES=5, SRT=5 d, OLR=9 g VS/(L · d)、温度 = 40 °C	867.42 mg COD/g VS	<i>Firmicutes</i> (35.60), <i>Bacteroidetes</i> (28.69), <i>Proteobacteria</i> (12.56), <i>Chloroflexi</i> (9.71)	[12]
造纸废弃物 (PW)、污水污泥 (SS)	蛋白质、纤维素	—	PW/SS=3/1, pH=5, 温度 = 35 °C	251.55 mg COD/g TSS	<i>Bacteroidetes</i> (47.8), <i>Firmicutes</i> , <i>Chloroflexi</i>	[13]
造纸废弃物 (PW)、污水污泥 (SS)	蛋白质、纤维素	—	PW/SS = 1/3, pH = 10, 温度 = 35 °C	196.44 mg COD/g TSS	<i>Firmicutes</i> (73.5), <i>Chloroflexi</i> (8.6), <i>Bacteroidetes</i>	[13]
木质纤维素废弃物	纤维素	污泥	pH = 10 ± 0.1, 温度 = 36 °C	—	<i>Bacteroides</i> (33.04), <i>Romboutsia</i> , <i>unclassified_f_Enterobacteriaceae</i> (7.84)	[5]

续表

底物	底物 主要成分	接种物	发酵条件	SCFAs 产量	关键微生物(占比,%)	参考文献
污泥、木质 纤维素废 弃物	蛋白质、纤 维素	—	污泥/树叶或草 = 1/1, pH = 10±0.1、温度 = 36 °C	—	<i>Bacteroides</i> (21. 26)、 <i>Trichococcus</i> (4.97)、 <i>Escherichia Shigella</i> (4.09)、 <i>Phascolarctobacte-</i> <i>rium</i> (3.73)	[5]

1.2 MCFAs 的微生物合成途径

微生物主要通过 CE 工艺生产 MCFAs, SCFAs 作为电子受体,乙醇、乳酸等还原性化合物作为电子供体。CE 反应主要涉及电子供体氧化过程和逆β氧化途径(Reverse Beta Oxidation, RBO)或脂肪酸合成途径(Fatty Acids Biosynthesis, FAB)。对于不同电子供体引导的 CE 工艺,差异主要在于电子供体氧化过程,而 RBO 或 FAB 代谢途径相似。截至目前,乙醇和乳酸被认为是诱导 CE 反应最理想的电子供体,因此,本文着重介绍以乙醇和乳酸作为电子供体进行 CE 反应的原理。

1.2.1 电子供体氧化过程

电子供体是引导 CE 反应的必要物质,通常为含有丰富能量的还原性化合物。电子供体氧化为接下来的 CE 反应提供能量、还原性辅酶 I (NADH)和必要的中间产物(乙酰辅酶 A、丙二酰辅酶 A)。

当采用乙醇作电子供体时,乙醇不仅可以转化为乙酸,还能生成乙酰辅酶 A,参与到更多的生化反应中。首先,乙醇在乙醇脱氢酶的催化作用下转化为乙醛,然后在乙醛脱氢酶的催化作用下进一步转化为乙酰辅酶 A。在转化过程中,约 1/6 的乙酰辅酶 A 通过底物水平磷酸化生成乙酸,同时以腺苷三磷酸(ATP)形式释放能量,剩余 5/6 的乙酰辅酶 A 将参与后续的逆β氧化反途径。当

采用乳酸作电子供体时,D-乳酸在乳酸消旋酶的作用下转化为 L-乳酸,然后在乳酸脱氢酶的催化作用下转化为丙酮酸,再由丙酮脱氢酶将丙酮酸氧化生成乙酰辅酶 A,该过程伴随着电子的释放、ATP 的形成和 CO₂ 的释放。此外,部分乳酸也会被氧化生成乙酸,为代谢提供能量。

1.2.2 逆β氧化途径

RBO 途径以电子供体氧化过程中产生的乙酰辅酶 A 为中心。在每个循环中,乙酰辅酶 A 首先与(C_n)-酰基辅酶 A 偶联,形成增加 2 个碳原子的辅酶 A 衍生物,即(C_{n+2})-β-酮酰基辅酶 A。随后进行一系列酶促反应,在酮酰基辅酶 A 还原酶、羟酰基辅酶 A 脱水酶和烯酰辅酶 A 还原酶的催化作用下,(C_{n+2})-β-酮酰基辅酶 A 进一步转化为(C_{n+2})-酰基辅酶 A。最后,(C_{n+2})-酰基辅酶 A 被转移到(C_n)-羧酸(电子受体)上,产生(C_n)-酰基辅酶 A 和(C_{n+2})-羧酸。形成的(C_n)-酰基辅酶 A 可参加下一个 RBO 循环。RBO 途径是研究最广泛的碳链延长途径,表 2 总结了可通过 RBO 途径生产 MCFAs 的微生物包括克氏梭菌属(*Clostridium* sp.),例如 *Clostridium. kluveri*, *Clostridium difficile*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium thermocellu*、严格梭状芽孢杆菌属(*Clostridium sensus stricto*_12)和产己酸菌属(*Caproiciproducens*)^[4-5,14-19]。

表 2 通过 RBO 途径生产 MCFAs 过程中的微生物

Table 2 Key microorganisms during the production of MCFAs via RBO pathway

电子供体	电子受体	接种物	关键微生物(占比,%)	参考文献
乙醇	乙酸	污泥	<i>Clostridium</i> (13.2)、 <i>Bacteroides</i> (7.1)、 <i>Alkaliphilus</i> (3.4)、 <i>Petrotoga</i> (3.3)、 <i>Bacillus</i> (3.0)、 <i>Parabacteroides</i> (2.0)	[19]
乙醇	SCFAs	污泥	<i>Clostridium</i> 、 <i>Caproiciproducens</i> 、 <i>Acinetobacter</i> 、 <i>Exilispira</i> 、 <i>Oscillibacter</i>	[14]
乙醇	SCFAs	污泥	<i>unclassified_f_Peptostreptococcaceae</i> (17.62)、 <i>Romboutsia</i> (17.20)、 <i>Clostridium_sensu_stricto_12</i> (8.03)	[5]
乳酸	乙酸、丙酸	污泥	<i>Caproiciproducens</i> (65.6)	[15]
乳酸	SCFAs	污泥	<i>Pseudoramibacter</i> (45.6)、 <i>Caproiciproducens</i> (9.7)	[4]
乙醇、乳酸	SCFAs	坑泥	<i>Bacillus</i> (26.0)、 <i>Caproiciproducens</i> (25.0)、 <i>Lactobacillus</i> (18.0)	[18]
乙醇、乳酸	SCFAs	污泥	<i>Clostridium_sensu_stricto_12</i> 、 <i>Caproiciproducens</i>	[17]

1.2.3 脂肪酸合成途径

FAB 途径是微生物中普遍存在的途径之一,是 MCFAs 生产的另一种碳链延长途径。因为脂肪酸是包括磷脂、鞘脂和甾醇的合成生物分子的前体物质^[20],在细胞结构和功能中扮演关键角色。FAB 途径和 RBO 途径的共同点是二者都依赖于乙酰辅酶 A 和还原性的电子载体,且都是循环过程,每个循环增加 2 个碳原子。不同的是,FAB 途径是依赖丙二酰辅酶 A 启动的。在 FAB 途径中,乙酰辅酶 A 首先通过乙酰辅酶 A 羧化酶转化为丙二酰辅酶 A,再转化为丙二酰-ACP (ACP 为酰基载体蛋白),最后进入 FAB 循环。在 FAB 循环中,丙二酰-ACP 首先与 (C_n) -酰基-ACP 偶联,形成增加 2 个碳的酰基载体蛋白衍生物 $((C_{n+2})-\beta$ -酮酰基-ACP),然后 $(C_{n+2})-\beta$ -酮酰基-ACP 经过一系列催化反应转化为 (C_{n+2}) -酰基-ACP,其中涉及的酶有酮酰基-ACP 还原酶、羟酰基-ACP 脱水酶和烯酰-ACP 还原酶。最后 (C_{n+2}) -酰基-ACP 中的 ACP 被转移到 (C_n) -羧酸上,生成了 (C_n) -酰基-ACP 和 (C_{n+2}) -羧酸,形成的 (C_n) -酰基-ACP 可参加下一个 FAB 循环。与 RBO 途径相比,FAB 途径较长,值得注意的是,乙酰辅酶 A 转化为丙二酰辅酶 A 的过程伴随着 ATP 的消耗,意味着 FAB 途径效率较低,这是 FAB 途径的主要缺点^[21]。然而,在混菌发酵体系中,FAB 途径在 CE 过程中更为活跃^[22]。

2 有机固废微生物链延长的影响因素

2.1 pH 和温度

pH 是调节发酵系统中 MCFAs 产量的关键因素。首先,因为未解离羧酸可穿过细胞膜使细胞质酸化,所以 pH 变化会严重影响厌氧发酵菌群的生存^[23]。其次,未解离羧酸的积累会降低底物转化为 SCFAs 的分解速率以及 MCFAs 的合成速率。在水解酸化过程中,理想 pH 的取值取决于废弃物种类。FENG 等^[24]发现 pH 为 4.5 和 4.7 时餐厨垃圾产酸发酵的水解率最高,分别为 50% 和 45%。与餐厨垃圾相比,碱性条件有利于污泥中蛋白质的增溶和生物降解,pH 为 11 时可溶性蛋白浓度比 pH 为 3.0 时高了 67.88%,pH 为 9 时 SCFAs 的总产率是 pH 为 3 时的 10.70 倍^[25]。LIN 等^[26]研究了 pH 对含铝初沉污泥厌氧发酵生产 SCFAs 的影响,结果表明,pH 为 8.0~10.0 比 pH 为 2.0~6.0 对污泥水解和随后的 SCFAs 生产更有效。由于蛋

白酶和 α -葡萄糖苷酶活性与 pH 呈正相关,在初始 pH 为 10.0 的条件下,SCFAs 产量最高(275 mg COD/g VS),比对照反应提高了 46%。对于 CE 过程,多数研究采用 pH 为 5.0~6.0 作为优化 MCFAs 产量的最佳条件,原因有以下两方面:一是弱酸性条件可以抑制竞争反应(产甲烷、丙烯酸途径等);二是 CE 微生物对未解离羧酸的耐受水平高于产甲烷菌和丙酸菌^[27]。因此该 pH 范围可以对竞争反应进行抑制,较适合 MCFAs 的生产^[28]。然而 PALOMO 等^[29]对 MCFAs 生产系统的首选 pH 范围提出质疑,其认为接近中性的条件更有利于辛酸盐的形成。综上所述,进行碳链延长反应生产 MCFAs 时,应综合考虑所使用的底物和实际反应的条件,选择合适的 pH 并对体系 pH 进行调控,以实现 MCFAs 的较高产率。

温度主要通过影响参与发酵的微生物的生长代谢活动而影响底物水解程度和 CE 微生物。研究表明,中温环境(30~40 °C)有利于 CE 微生物生产 MCFAs,而生产 SCFAs 的最适温度可能与底物种类有关。当 CE 底物难以水解时,温度对 MCFAs 的影响尤为明显,可通过适当提高温度增强底物的水解程度,促进 SCFAs 的生成。然而,当温度高于 40 °C 时,产甲烷菌的活性增强,使 SCFAs 转化为甲烷从而降低 MCFAs 的产量。因此,ZHANG 等^[4]设计了 2 个独立温度相的发酵阶段,成功实现了猪粪和玉米秸秆在不添加外部电子供体的情况下生产 MCFAs。第一阶段,猪粪和玉米秸秆在嗜热条件下 $((50\pm 1)^\circ\text{C})$ 转化为富含乳酸的发酵液,乳酸平均浓度达到 8.4 g COD/L,较中温 $((35\pm 1)^\circ\text{C})$ 乳酸发酵提高了 3.4 倍;第二阶段,在 pH=6.0 条件下,乳酸通过中温 $((30\pm 1)^\circ\text{C})$ 链延长发酵生成 MCFAs。因此,通过控制温度可以将碳流定向到所需的产品,生产 MCFAs 的初始底物难以水解时,可通过改善不同阶段的温度来优化反应器配置^[28]。然而在相近的 SCFAs 产量条件下,中温条件显然比高温条件更加经济。

2.2 底物组成

有机固废中的有机组分会影响 SCFAs 的产率。有机物质中的有机组分主要包括脂质、碳水化合物、蛋白质、木质纤维素(包含纤维素、半纤维素和木质素)。研究表明,脂质的水解比蛋白质和碳水化合物的水解慢^[30],脂质的水解产物为长链脂肪酸(Long Chain Fatty Acids, LCFAs)和甘油,尽管甘油可以转化为 SCFAs,但甘油的高还原性

使其在发酵条件下难以被微生物利用^[31],同时,LCFAs 会黏附在微生物的细胞壁上,阻碍营养物质的运输,从而抑制厌氧菌的代谢^[32]。由于木质纤维素废物组成复杂,其中纤维素、半纤维素和木质素紧密相连,难以被生物降解,从而限制了其作为厌氧发酵唯一底物的使用^[33]。因此,碳水化合物和蛋白质为主要成分的发酵底物更受研究者的青睐。此外,底物组成类型还会影响 SCFAs 生产的另一个参数,即 C/N 比。碳水化合物、脂质和木质纤维素有助于提高底物的 C/N 比,而蛋白质的高氮含量特性倾向于降低底物的 C/N。因此,可以通过采用多种底物共发酵平衡 C/N 比,以此提高 SCFAs 的产量,例如采取污泥与秸秆、污泥与餐厨垃圾、餐厨垃圾与牛粪、粪便与木质纤维素等共发酵^[5-6,33-34]。

有机固废生产 MCFAs 的浓度与发酵底物中 SCFAs、电子供体的浓度有关。通常情况下,水解酸化产物中的 SCFAs 浓度越高,后续微生物 CE 过程中的己酸产量亦越高。目前,诸多研究者致力于提高有机固废的 SCFAs 产量来提高 MCFAs 产量。然而当乙酸、正丁酸的质量浓度分别超过 7.9 g/L 和 19.4 g/L 时,对 CE 反应具有抑制作用^[35]。电子供体的浓度也是影响 CE 过程的关键因素,电子供体不足直接导致 CE 过程停滞或中断。大多数研究主要是以乙醇和乳酸作为 CE 反应的电子供体^[36]。虽然大量乙醇或乳酸可以促进 MCFAs 生产,但过多乙醇会抑制微生物的活性,高浓度乳酸有利于竞争途径(丙烯酸途径)的发生,使乳酸碳流分散流向丙酸,降低 MCFAs 产量^[37]。YIN 等^[38]发现当乙醇浓度增加到 800 mmol/L 时,己酸产量下降,当乙醇浓度增加至 1 000 mmol/L 时,己酸生产停止。未来研究可以关注如何解除底物抑制,精确控制 SCFAs 和电子供体浓度及其比例,以期提高 MCFAs 产量。

2.3 HRT 和 SRT

水力停留时间 (Hydraulic Retention Time, HRT) 和固相停留时间 (Solid Retention Time, SRT) 是调节废物厌氧发酵产酸的重要操作参数。HRT 是指物质(包括底物和生物物质)在反应器中停留的平均时间长度,所有微生物都需要特定的时间来消耗其偏好的底物并合成产物,若 HRT 不能维持在适宜的水平,可能会导致微生物代谢活性下降和不良产物的生成^[33]。已有许多研究验证了 HRT 对 SCFAs 的影响^[39-42]。大多数研究表

明,降低反应器的 HRT 或 SRT 有利于 SCFAs 的生产,例如,ZHANG 等^[39]研究了降低 HRT 对鸡粪厌氧发酵的影响,当 HRT 由 52 d 降低至 5 d 时,发酵液中乙酸浓度超过 6 000 mg/L。HRT 和 SRT 通常也与发酵底物的组成有关,其中木质纤维素类生物物质所需的发酵时间最长。NAKHATE 等^[40]采用不同木质素含量的农业有机固废进行厌氧发酵,其中,SCFAs 积累量最高为木质素含量最低的水稻秸秆,积累量最低为木质素含量最高的棉花作物废料,说明木质素需要更长的 HRT 和 SRT 进行有效水解。此外,考虑到产甲烷菌的生长速度比产酸菌慢,在较低的 HRT 条件下,产生的 SCFAs 又会进一步抑制产甲烷菌的生存^[43],促进 SCFAs 积累,确保 SCFAs 进一步转化为 MCFAs。因此,在有机固废厌氧发酵过程中,对 HRT 和 SRT 的精确控制对提高产物产量至关重要,在设计厌氧发酵系统时,需综合考虑底物组成和微生物群落特性。

2.4 其他影响因素

为优化有机固废的 MCFA 生产,除了以上的主要影响因素外,研究学者还关注到了其他操作参数并进行了大量研究,包括有机负荷率 (Organic Loading Rate, OLR)、接种物来源、顶空气体等。OLR 是指单位体积反应器在单位时间内所负担的有机物数量。JIANG 等^[44]在餐厨垃圾半连续发酵生产 SCFAs 过程中发现,SCFAs 产量随 OLR 的增加而增加,但将 OLR 从 11.0 g TS/(L·d) 进一步增加至 16.0 g TS/(L·d),会导致系统不稳定。GUO 等^[45]探究了污泥与餐厨垃圾共发酵体系的 OLR 和工作温度之间的可能关系,结果表明,高温体系在较高的 OLR (7.0 g TS/(L·d)) 下表现出最佳的负荷承受能力,而中温体系在低有机负荷 (<5.0 g TS/(L·d)) 才能获得稳定的 SCFAs 产量。

进行 CE 反应时加入驯化富集的 CE 功能菌可以缩短 CE 反应的停滞期,且有利于更长碳链 MCFAs 的生成^[46]。目前常用的接种物多数是通过以乙酸(或乳酸)和乙醇为底物进行污泥驯化得到,在反应器中富集较高丰度的 CE 功能菌。此外,JOSHI 等^[47]证明了不同类型的土壤在高乙酸和乙醇浓度的条件下,可以进行微生物链延长生产 MCFAs,说明土壤也可以作为微生物链延长过程的接种物。

反应器顶空气体,即反应器中固体液体上方

的空气,会通过不同方式影响 SCFAs 和 MCFAs 的生产。在较高的 H_2 和 CO_2 分压下会促进同型产乙酸菌的活性,从而改变 SCFAs 中的组分分布模式,向提高乙酸产量的方式转变^[48]。LI 等^[41]比较了不同顶空压力下对 SCFAs 产量的影响,结果表明较低的顶空压力有利于 SCFAs 的生成。此外, H_2 和 CO_2 分压对 MCFAs 的生产至关重要。 H_2 参与 CE 过程一般有 3 种途径:一是调节竞争反应的发生,较低的 H_2 分压导致乙醇过度氧化使得链延长效率降低^[49],因此在系统中乙醇有限的情况下提高 H_2 分压是首选^[50];二是控制 CE 微生物的代谢;三是根据系统中特定的 $NADH/NAD^+$ 比例, H_2 作为电子供体促进 MCFAs 的生产^[28]。 CO_2 是克氏梭菌等 CE 功能菌生长代谢不可缺少的碳源,可作为 CE 反应的引发剂,低 CO_2 负荷 ($0.5 L CO_2/(L \cdot d)$) 有利于克氏梭菌的富集,表现为更高的

己酸产量和选择性^[51]。然而高 CO_2 分压条件下,脂肪酸的碳链延长在热力学上不可行^[52]。由此可见,顶空气体组成通过改变微生物的代谢途径影响产酸发酵,进而影响产物谱图,保持顶空气中各组分的适当分压,是优化 MCFAs 生产的明智之举。

3 有机固废生产 MCFAs 的限制难题与解决方法

有机固废生产 MCFAs 面临多重挑战,主要包括底物直接利用难、电子供体不足、高效产酸发酵体系构建难和产物特异性分离提取技术匮乏。为克服这些挑战,研究人员积极探索各种预处理方法、外源电子供体的替代品、强化碳链延长手段以及更加环保经济的分离提取技术。图 2 总结概括了有机固废生产 MCFAs 的限制难题和解决方法。

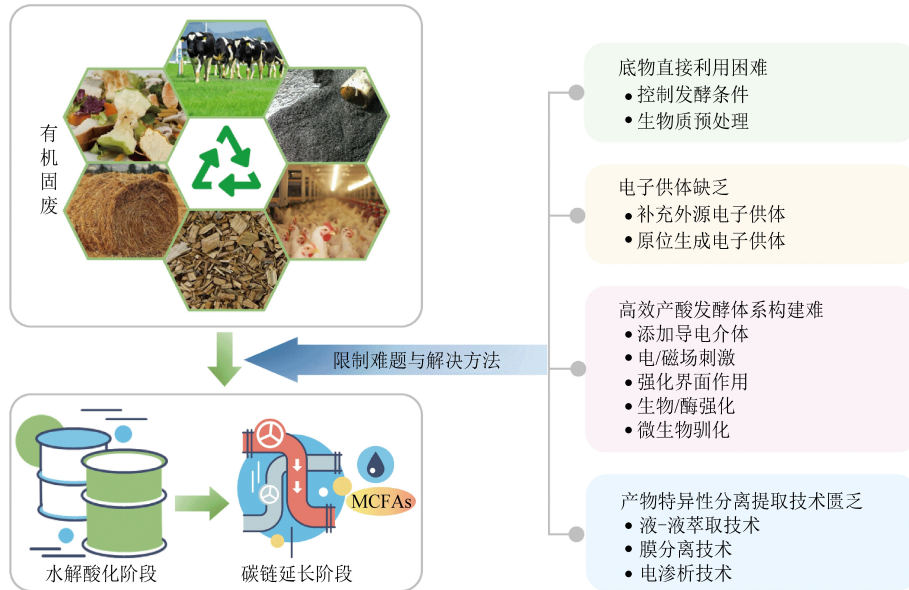


图 2 有机固废生产 MCFAs 的限制难题与解决方法

Fig. 2 Major constraints and solutions to MCFAs in organic solid wastes production

3.1 底物直接利用困难

MCFAs 通过微生物发酵以消耗各种碳源为代价进行生产,使用纯底物可以提高 MCFAs 产率以及纯度,但其产生的收益无法抵消纯底物原料产生的高昂成本^[53]。考虑到 MCFAs 生产的经济性以及环保性,研究人员现专注于利用有机固废进行 MCFAs 合成。然而由于有机固废成分复杂,其中的大分子有机物需要进行溶解、水解、酸化和碳链延长等多步骤才能转化为 MCFAs^[54]。此外,有机固废中的某些大分子难以被生物直接利用,生物可降解性差,例如木质纤维素类生物质。因此,有机固废产酸存在水解酸化程度低、SCFAs 产量

低且种类分散等诸多问题,这也意味着 CE 过程中可获得的电子受体数量较少,使得底物的整体转化效率低于纯底物发酵。

据大多数研究报道,水解步骤通常是复杂有机底物降解的限速步骤,可以通过控制发酵条件(底物营养平衡、 HRT 、 pH 、温度等)和对生物质预处理促进水解。其中,生物质预处理被认为是改善底物水解,提高厌氧发酵生产 SCFAs 产量的极具价值和前途的方法。预处理方法可分为物理预处理、化学预处理、生物预处理以及联合预处理方法。物理预处理方法包括热处理、微波处理、超声波处理等,通过破坏复杂底物结构,促进有机物在

溶液中的释放,SONDHI等^[55]采用微波处理对餐厨垃圾进行预处理,乙醇产量相较于对照组提高了52.2%。然而物理预处理方法普遍存在能耗高的问题,难以推广至工业规模化生产。常用的化学预处理方法有酸/碱处理、强氧化剂、CaO₂、次氯酸钙等,但在使用时需考虑二次污染物的形成问题。WANG等^[56]采用过氧乙酸(Peracetic Acid, PAA)预处理污泥,PAA通过诱导高活性自由基和单线态氧,导致污泥絮凝体中细胞外聚合物显著脱落和蛋白质二级结构破坏,使得MCFAs产量大幅度增加到11.27 g COD/L。生物预处理被认为是有机物质预处理的首选方法,具有预处理条件温和、能耗低、对下游工艺影响小的优势^[57]。该方法通过微生物或酶实现对复杂有机物的降解,从而降低厌氧发酵周期,提高底物水解率和产酸量^[40],但存在预处理周期长的缺点。研究发现,在玉米秸秆与牛粪共发酵前对其进行酶解预处理(添加淀粉酶和纤维素酶),提高了其厌氧发酵的效率^[58]。考虑单个预处理方法的局限性,联合预处理被认为是通过弥补缺陷提高预处理效果的理想方法。例如,MIKULSKI等^[59]采用微波处理联合酸处理,将纤维素的水解产率提高至75%。段晓健等^[60]采用碱联合过氧化氢预处理水稻秸秆,显著提高了纤维素的水解率和乙醇转化率。

3.2 电子供体缺乏

利用有机固废生产MCFAs通常会面临电子供体不足的问题,这会严重影响CE过程的正常进行。针对此类问题,补充外源电子供体是其中一种有效解决方法。WANG等^[61]研究了不同外源电子供体对污泥厌氧发酵生产MCFAs产量的潜力,其中投加乙醇的实验组获得了最高MCFAs产量((3 352.7 ± 564.7) mg COD/L)和选择性(20.7%)。然而直接使用乙醇电子供体不仅价格昂贵,而且不适合用于MCFAs的工业规模化生产。研究表明,乙醇占CE过程成本的50%以上^[14]。此外,涉及乙醇作为电子供体的CE过程对环境变量的要求更为严格,例如pH需要保持在5.5~7.5^[62-65],克氏梭菌的生长代谢高度依赖外部CO₂的存在,这些环境变量的控制都将增加MCFAs的成本。乳酸相较于乙醇具有显著优势,乳酸驱动的CE微生物可在低pH环境中生存,pH可维持在4.7左右^[66],而且乳酸在转化为乙酰辅酶A的过程中会自发释放CO₂,无需额外补充CO₂^[2]。

因此,考虑到外加电子供体,尤其是外加乙醇造成的高物耗高成本问题,可通过以下3种途径解决。一是在酿酒制造业的废弃物中寻找富含乙醇的废弃生物质,作为链延伸底物的来源。KUCEK等^[67]以酒糟为原料,酒糟主要由酵母细胞以及葡萄酒发酵产生的乙醇组成,实现了3.9 g COD/(L·d)的MCFAs产率,己酸和辛酸的选择性均达到了36%。二是通过原位生成乳酸作为电子供体,驱动CE过程合成MCFAs。例如TANG等^[68]利用餐厨垃圾生产MCFAs,其中的碳水化合物首先转化为乳酸,然后通过CE过程转化MCFAs,产量为136.48 mg/g VS。WU等^[69]通过向废活性污泥中接种含有乳酸杆菌培养物的酸奶发酵粉剂,实现了污泥原位形成乳酸,在超过97 d的连续长期试验中,MCFA最大产量达到了5.87 g COD/L,己酸和癸酸的选择性分别为69.28%和25.81%。三是采用2种或多种有机固废共发酵,实现电子供体与电子受体的相互补充。目前,已有诸多学者针对污泥-餐厨垃圾、污泥-纤维素类废弃物、污泥-巨藻、猪粪-秸秆等共发酵生产MCFAs开展研究^[4,6,13,70-71]。底物中电子供体的含量对于MCFAs的生产至关重要,未来还需开展更多研究以寻找低物耗低成本的合适底物,提高电子供体的利用效率,指导MCFAs生产。

3.3 高效产酸发酵体系构建难

目前,基于混菌发酵的碳链增长技术存在MCFAs产量和选择性低的问题,产物呈现以己酸为主、己酸与短链脂肪酸混合以及多种中链脂肪酸混合的形式,目标酸纯度低,限制了产品的应用和经济价值。副产物分散底物碳流是限制MCFAs产量和选择性的直接原因。因为微生物合成MCFAs的过程中通常伴随着SCFAs和醇类的生成,这无疑会分散底物碳流,降低MCFAs产量。WANG等^[72]利用剩余污泥和乙醇生产MCFAs时,获得的丁酸产量高达10.3 g COD/L,超过己酸产量的3倍,这是电子受体物质的碳链不完全增长导致,丁醇和己醇的总质量浓度约占MCFAs质量浓度的1/2。

许多学者为减少副产物分散碳流的不利影响,尝试通过使用导电材料、电场/磁场刺激、强化界面作用等物理/化学手段,或进行生物/酶强化、微生物驯化等生物手段以及环境条件控制,强化碳链延长性能,构建高效产酸体系。导电介体包括生物炭、金属材料等。WU等^[73]以剩余污泥碱

性发酵液为底物,通过添加粒径为 75~150 μm 的生物炭,MCFA 选择性显著提高至 $60.7\% \pm 3.0\%$,电子传递效率提高了 92.6%。生物炭可以富集 CE 功能微生物(例如 *Clostridium kluyveri* sp.、*Clostridium magnum* sp. 和 *Clostridium botulinum* sp.),缓解未解离羧酸毒性,促进微生物种间电子传递。LUO 等^[74]向反应器中加入 5 g/L Fe_3O_4 ,提高了剩余污泥厌氧发酵过程中 MCFA 的总产量,MCFA 最大累积产量提高至 9 614.26 mg COD/L,同时,最佳发酵时间由 24 d 缩短至 9 d。机理研究表明, Fe_3O_4 增强了发酵污泥的导电性,为厌氧微生物提供了更好的导电性环境, Fe_3O_4 发酵体系中存在 Fe(II)和 Fe(III)的氧化还原循环,它们很可能充当电子穿梭体,提高电子传递效率。因此,导电介质能有效富集功能微生物,促进有机底物的水解酸化,提高电子传递效率。REN 等^[75]研究表明在 CE 反应器中添加弱电场,运行 150 d 后己酸产量提高了 21%。ZHANG 等^[76]采用 *Clostridium kluyveri* (DSM 555)作为接种物进行生物强化,己酸产量提高至 48.9 mmol/L。在未来的研究工作中,应深入探索强化手段对底物转化、产物组成、中间产物转变以及代谢过程中关键酶活性变化的影响机制,为构建高效产酸体系提供有价值的参考意见。

3.4 产物特异性分离提取技术匮乏

未解离态的 MCFA 对微生物具有毒性,当其达到毒性阈值会抑制 MCFA 的合成,而且 MCFA 的毒性随着其碳链长度的增加而增强^[77]。减轻产物对 CE 过程的有害影响的常用策略包括延长操作期,从而增强微生物对环境的适应性和耐受性^[28,78],添加导体材料,强化 CE 过程^[73-74]。然而,上述方法均是将未解离 MCFA 浓度控制在微生物的耐受范围内,因此,产物的分离与提取是解决 MCFA 反馈抑制的根本方法,也是实现 MCFA 生产工业化的基本要求。采用连续发酵工艺结合在线回收技术是首选的 MCFA 分离提取策略^[28]。

液-液萃取、膜分离和电渗析技术是厌氧生物工艺中回收 MCFA 常用的在线回收技术。基于可逆化学络合反应的液-液萃取法已被用于将 MCFA 从生物培养基中转移到合适的萃取剂中,WASEWAR 等^[79]证明磷酸三丁酯(TBP)作为萃取剂提取 MCFA 的可行性。随后,CHOI 等^[80]采用原位两相液-液萃取系统,将发酵液中的己酸(>90%)提取到萃取剂中,实现了同时生产和提取

MCFA,该系统的己酸产量是不加原位萃取装置发酵系统的 4 倍,极大提高了 MCFA 产量。基于中空纤维膜的液-液萃取抽提工艺可以有效避免萃取溶剂与微生物和发酵液的直接接触,在众多试验中表现出较好的性能。ANGENE-NT 等^[64]在装备抽提装置的连续 CE 反应器中,选择性地将发酵液(pH 为 5.0~5.5)中的 MCFA 提取到碱性萃取液(pH 为 9)中。需注意的是,在碱性萃取液中 MCFA 是以游离羧酸盐(R-COO^-)形式存在,需要加入盐酸这类化学物质将其转化为未解离羧酸(R-COOH),为省略该步骤,XU 等^[81]在此基础上引入了在线膜电解技术,利用 2 个电解室之间的 pH 梯度连续分离未解离的 MCFA,得到了含有 90%正己酸和 10%正辛酸的油状液体。尽管液-液萃取法已被证实是可用于 MCFA 回收的一种有效方法,但其高成本和溶剂毒性阻碍其被推广应用^[82-83]。除膜污染问题外,低通量、高运行成本以及高能耗等问题同样也限制着膜分离技术在发酵液中分离 MCFA 的应用。这迫使研究人员寻求更环保、更经济的方法来回收 MCFA。XU 等^[84]开发了一种五室电渗析/相分离电解池,获得了 1.7 kg/(d·m²)的最大 MCFA 油通量,该系统的耗电量比在线膜电极串联液-液萃取法低 1/10 左右。然而,由于实际反应器中的 MCFA 浓度比电渗析提取培养液中的低,电耗显著增加。此外,需定期清洁电渗析池内未渗析的盐,这大大增加了电渗析池的停机时间。综上,未来应开发更低成本的分离和提取技术,建立稳定的集成系统,同时完成 MCFA 的生产、分离和提取,有利于 MCFA 基生物产品的大规模应用。

4 总结与展望

利用微生物合成 MCFA 具有巨大的应用潜力,以有机固废作为发酵底物生产 MCFA 大大增加了电子供体/受体来源,降低了生产成本,对于提高有机固废资源化水平具有重要意义,有助于实现碳中和目标。本文对有机固废合成 MCFA 的代谢途径、影响因素、生产限制难题与解决方法进行了系统性阐述。目前,利用有机固废生产 MCFA 已具备了一定的研究基础但仍处于实验研究阶段,为实现经济和高效的 MCFA 生产,现提出以下几点建议。

(1)探索量大且价格合理的有机固废作为原料,并通过政府政策推广,建立完整的有机固废分

类、收集、储存和运输网络,满足 MCFAs 生产对原料的高需求。此外,建议使用具有互补特性的多种物质(分别含有/可原位生成电子受体/电子供体)进行混合发酵,减少外源电子供体投加所产生的额外成本。开展有机固废生产 MCFAs 的中试/生产性试验,对每种潜在原料生产 MCFAs 进行经济性评价和全生命周期评价。

(2) 提高底物的可生物利用性。目前,有机固废发酵产酸存在底物可生物降解性低的问题。建议针对不同底物的特性制定具体的高效预处理工艺参数,从而克服水解程度低的障碍。同时,所选择的预处理工艺应具有易于实施、低成本、不产生有害副产物的特点。

(3) 构建高效产酸发酵体系。针对有机固废生产 MCFAs 产量低的问题,除了可以通过添加导电介质、电/磁场刺激、强化界面反应等手段优化 MCFAs 生产,还可借助先进的生物信息手段,构建高效的功能菌群、进行菌群定向驯化和功能优化。通过功能基因解析、代谢途径解析和功能蛋白解析,对基因进行改造及表达,构建具有优越毒性抗性的高效产酸菌株,并进行群落代谢调控,从而精准优化生物系统群落与功能。

(4) 开发产物分离提取技术和设备。建议大力发展实时-原位分离提取技术,开发 MCFAs 生产、提取和分离集成系统,将液-液萃取、先进膜分离、电渗析、离子交换等技术与厌氧发酵反应器有效耦合,并联合数学建模和精密的自动化控制设备,优化集成系统的建设和维护成本,突破产物回收瓶颈,实现 MCFAs 工业化生产。

参考文献 (References):

- [1] 杨天华, 佟瑶, 翟英媚, 等. 碳中和愿景下有机固废热转化清洁利用技术研究现状与展望[J]. 洁净煤技术, 2024, 30(3): 29-51.
YANG Tianhua, TONG Yao, ZHAI Yingmei, et al. Research status and prospects of thermal conversion clean utilization technology for organic solid waste under the carbon-neutral vision [J]. Clean Coal Technology, 2024, 30(3): 29-51.
- [2] WU Qinglian, GUO Wanqian, BAO Xian, et al. Upgrading liquor-making wastewater into medium chain fatty acid: Insights into co-electron donors, key microflora, and energy harvest [J]. Water Research, 2018, 145: 650-659.
- [3] GE Shijian, USACK J G, SPIRITO C M, et al. Long-term n-caproic acid production from yeast-fermentation beer in an anaerobic bioreactor with continuous product extraction [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(13): 8012-8021.
- [4] ZHANG Wanqin, WANG Shunli, YIN Fubin, et al. Medium-chain carboxylates production from co-fermentation of swine manure and corn stalk silage via lactic acid: Without external electron donors [J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 439: 135751.
- [5] YIN Yanan, HU Yuming, WANG Jianlong. Co-fermentation of sewage sludge and lignocellulosic biomass for production of medium-chain fatty acids [J]. Bioresource Technology, 2022, 361: 127665.
- [6] WU Yang, CAO Jiashun, ZHANG Qin, et al. Continuous waste activated sludge and food waste co-fermentation for synchronously recovering vivianite and volatile fatty acids at different sludge retention times: Performance and microbial response [J]. Bioresource Technology, 2020, 313: 123610.
- [7] SHEN Dongsheng, YIN Jun, YU Xiaoqin, et al. Acidogenic fermentation characteristics of different types of protein-rich substrates in food waste to produce volatile fatty acids [J]. Bioresource Technology, 2017, 227: 125-132.
- [8] TOMÁS PEJÓ E, GONZÁLEZ FERNÁNDEZ C, GRESES S, et al. Production of short-chain fatty acids (SCFAs) as chemicals or substrates for microbes to obtain biochemicals [J]. Biotechnology for Biofuels and Bioproducts, 2023, 16(1): 96.
- [9] LUO Jingyang, LI Yi, LI Yibing, et al. Waste-to-energy: Cellulase induced waste activated sludge and paper waste co-fermentation for efficient volatile fatty acids production and underlying mechanisms [J]. Bioresource Technology, 2021, 341: 125771.
- [10] SLEZAK R, GRZELAK J, KRZYSZEK L, et al. Influence of initial pH on the production of volatile fatty acids and hydrogen during dark fermentation of kitchen waste [J]. Environmental Technology, 2021, 42(27): 4269-4278.
- [11] LIU Hongbo, WANG Ling, ZHANG Xuedong, et al. A viable approach for commercial VFAs production from sludge: Liquid fermentation in anaerobic dynamic membrane reactor [J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 365: 912-920.
- [12] WU Qinglian, GUO Wanqian, ZHENG Heshan, et al. Enhancement of volatile fatty acid production by co-fermentation of food waste and excess sludge without pH control: The mechanism and microbial community analyses [J]. Bioresource Technology, 2016, 216: 653-660.
- [13] LUO Jingyang, LI Yuxiao, LI Han, et al. Deciphering the key operational factors and microbial features associated with volatile fatty acids production during paper wastes and sewage sludge co-fermentation [J]. Bioresource Technology, 2022, 344: 126318.
- [14] WU Shulin, WEI Wei, SUN Jing, et al. Medium-chain fatty acids and long-chain alcohols production from waste activated sludge via two-stage anaerobic fermentation [J]. Water Research, 2020, 186: 116381.
- [15] CANDRY P, RADÍČ L, FAVERE J, et al. Mildly acidic pH selects for chain elongation to caproic acid over alternative pathways during lactic acid fermentation [J]. Water Research, 2020, 186: 116396.

- [16] TANG Jie, DAI Kun, WANG Qingting, et al. Caproate production from xylose via the fatty acid biosynthesis pathway by genus *Caproiciproducens* dominated mixed culture fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 351: 126978.
- [17] HUO Weizhong, FU Xindi, BAO Menggang, et al. Strategy of electron acceptors for ethanol-driven chain elongation from kitchen waste [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 846: 157492.
- [18] GAO Ming, LIN Yujia, WANG Pan, et al. Production of medium-chain fatty acid caproate from Chinese liquor distillers' grain using pit mud as the fermentation microbes [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 417: 126037.
- [19] HAN Wenhao, HE Pinjing, SHAO Liming, et al. Metabolic interactions of a chain elongation microbiome [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84 (22): e01614-e01618.
- [20] TORELLA J P, FORD T J, KIM S N, et al. Tailored fatty acid synthesis via dynamic control of fatty acid elongation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(28): 11290-11295.
- [21] SARRIA S, KRUYER N S, PERALTAYAHYA P. Microbial synthesis of medium-chain chemicals from renewables [J]. *Nature Biotechnology*, 2017, 35(12): 1158-1166.
- [22] WU Shulin, SUN Jing, CHEN Xueming, et al. Unveiling the mechanisms of medium-chain fatty acid production from waste activated sludge alkaline fermentation liquor through physiological, thermodynamic and metagenomic investigations [J]. *Water Research*, 2020, 169: 115218.
- [23] LAMBRECHT J, CICHOCKI N, SCHATTENBERG F, et al. Key sub-community dynamics of medium-chain carboxylate production [J]. *Microbial Cell Factories*, 2019, 18(1): 92.
- [24] FENG Kai, LI Huan, ZHENG Chengzhi. Shifting product spectrum by pH adjustment during long-term continuous anaerobic fermentation of food waste [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 270: 180-188.
- [25] LIU He, WANG Jin, LIU Xiaoling, et al. Acidogenic fermentation of proteinaceous sewage sludge: Effect of pH [J]. *Water Research*, 2012, 46(3): 799-807.
- [26] LIN Lin, LI Xiaoyan. Effects of pH adjustment on the hydrolysis of Al-enhanced primary sedimentation sludge for volatile fatty acid production [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 346: 50-56.
- [27] CONTRERAS DÁVILA C A, CARRIÓN 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*, 2020, 169: 115215.
- [28] WU Lan, WEI Wei, CHEN Zhijie, et al. Medium-chain carboxylate productions through open-culture fermentation of organic wastes [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 373: 133911.
- [29] PALOMO BRIONES R, XU Jiajie, SPIRITO C M, et al. Near-neutral pH increased n-caprylate production in a microbiome with product inhibition of methanogenesis [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 446: 137170.
- [30] YIN Jun, YU Xiaoqin, WANG Kun, et al. Acidogenic fermentation of the main substrates of food waste to produce volatile fatty acids [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2016, 41(46): 21713-21720.
- [31] CLOMBURG J M, GONZALEZ R. Anaerobic fermentation of glycerol: A platform for renewable fuels and chemicals [J]. *Trends in Biotechnology*, 2013, 31(1): 20-28.
- [32] ALIBARDI L, COSSU R. Effects of carbohydrate, protein and lipid content of organic waste on hydrogen production and fermentation products [J]. *Waste Management*, 2016, 47: 69-77.
- [33] NESHAT S A, MOHAMMADI M, NAJAFPOUR G D, et al. Anaerobic co-digestion of animal manures and lignocellulosic residues as a potent approach for sustainable biogas production [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2017, 79: 308-322.
- [34] UWINEZA C, MAHBOUBI A, ATMOWIDJOJO A, et al. Cultivation of edible filamentous fungus *Aspergillus oryzae* on volatile fatty acids derived from anaerobic digestion of food waste and cow manure [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 337: 125410.
- [35] 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.
- [36] 吴清莲. 乙醇和乳酸引导的碳链增长技术生产中链羧酸的研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2019: 2.
- WU Qinglian. Study on medium chain carboxylic acid production from chain elongation technology induced by ethanol and lactate [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2019: 2.
- [37] WU Qinglian, GUO Wanqian, YOU Shijie, et al. Concentrating lactate-carbon flow on medium chain carboxylic acids production by hydrogen supply [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 291: 121573.
- [38] YIN Yanan, ZHANG Yifeng, KARAKASHEV D B, et al. Biological caproate production by *Clostridium kluyveri* from ethanol and acetate as carbon sources [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 241: 638-644.
- [39] ZHANG Wanqin, LANG Qianqian, PAN Zhendong, et al. Performance evaluation of a novel anaerobic digestion operation process for treating high-solids content chicken manure: Effect of reduction of the hydraulic retention time at a constant organic loading rate [J]. *Waste Management*, 2017, 64: 340-347.
- [40] NAKHATE S P, GUPTA R K, PODDAR B J, et al. Influence of lignin level of raw material on anaerobic digestion process in reorganization and performance of microbial community [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2022, 19(3): 1819-1836.
- [41] LI Leigang, WANG Yuanyuan, LI Yu. Effects of substrate concentration, hydraulic retention time and headspace

- pressure on acid production of protein by anaerobic fermentation[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 283: 106–111.
- [42] SAYEDIN F, KERMANSHAHI POUR A, HE Q S. Evaluating the potential of a novel anaerobic baffled reactor for anaerobic digestion of thin stillage: Effect of organic loading rate, hydraulic retention time and recycle ratio[J]. *Renewable Energy*, 2019, 135: 975–983.
- [43] WONG L P, ISA M H, BASHIR M J K, et al. Effect of hydraulic retention time on volatile fatty acid production and organic degradation in anaerobic digestion of palm oil mill effluent[C]//International Symposium On Green and Sustainable Technology (ISGST2019), AIP Conference Proceedings. Perak, Malaysia. AIP Publishing, 2019: 020020.
- [44] JIANG Jianguo, ZHANG Yujing, LI Kaimin, et al. Volatile fatty acids production from food waste: Effects of pH, temperature, and organic loading rate[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 143: 525–530.
- [45] GOU Chengliu, YANG Zhaohui, HUANG Jing, et al. Effects of temperature and organic loading rate on the performance and microbial community of anaerobic co-digestion of waste activated sludge and food waste[J]. *Chemosphere*, 2014, 105: 146–151.
- [46] 张盼月, 王清彦, 梁劲松, 等. 有机废物厌氧发酵液链延长合成中链脂肪酸研究进展[J]. *环境工程学报*, 2022, 16(2): 363–374.
- ZHANG Panyue, WANG Qingyan, LIANG Jinsong, et al. Study progress on chain elongation of anaerobic fermentation liquid from organic wastes for medium-chain fatty acid synthesis[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2022, 16(2): 363–374.
- [47] JOSHI S, ROBLES A, AGUIAR S, et al. The occurrence and ecology of microbial chain elongation of carboxylates in soils[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(7): 1907–1918.
- [48] VARGHESE V K, PODDAR B J, SHAH M P, et al. A comprehensive review on current status and future perspectives of microbial volatile fatty acids production as platform chemicals[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 815: 152500.
- [49] GROOTSCHOLTEN 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: 223–229.
- [50] SHI Xingdong, WU Lan, WEI Wei, et al. Insights into the microbiomes for medium-chain carboxylic acids production from biowastes through chain elongation[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2022, 52(21): 3787–3812.
- [51] HUO Weizhong, YE Rong, SHAO Yuchao, et al. Insight into the mechanism of CO₂ to initiate and regulate ethanol-driven chain elongation by microbial community and metabolic analysis[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2023, 11(5): 110537.
- [52] 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(3): 1496–1505.
- [53] BHATIA S K, YANG Y H. Microbial production of volatile fatty acids: Current status and future perspectives[J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2017, 16(2): 327–345.
- [54] 吴清莲, 邓琳, 任韦同, 等. 微生物碳链延长技术转化废弃生物质合成中链脂肪酸[J]. *环境工程学报*, 2023, 17(7): 2099–2108.
- WU Qinglian, DENG Lin, REN Weitong, et al. Medium chain fatty acids biosynthesis from waste biomass by microbial chain elongation technology[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2023, 17(7): 2099–2108.
- [55] SONDHI S, KAUR P S, KAUR M. Techno-economic analysis of bioethanol production from microwave pretreated kitchen waste[J]. *SN Applied Sciences*, 2020, 2(9): 1558.
- [56] WANG Yufen, GUO Haixiao, LI Xuecheng, et al. Peracetic acid (PAA)-based pretreatment effectively improves medium-chain fatty acids (MCFAs) production from sewage sludge[J]. *Environmental Science and Ecotechnology*, 2024, 20: 100355.
- [57] ZABED H M, AKTER S, YUN Junhua, et al. Recent advances in biological pretreatment of microalgae and lignocellulosic biomass for biofuel production[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2019, 105: 105–128.
- [58] WANG Xuemei, LI Zifu, ZHOU Xiaoqin, et al. Study on the bio-methane yield and microbial community structure in enzyme enhanced anaerobic co-digestion of cow manure and corn straw[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 219: 150–157.
- [59] MIKULSKI D, KŁOSOWSKI G. Microwave-assisted dilute acid pretreatment in bioethanol production from wheat and rye stillages[J]. *Biomass and Bioenergy*, 2020, 136: 105528.
- [60] 段晓健, 居学海, 张长波, 等. 酸碱结合预处理对水稻秸秆纤维素乙醇转化率的影响[J]. *化学与生物工程*, 2013, 30(2): 83–86.
- DUAN Xiaojian, JU Xuehai, ZHANG Changbo, et al. Effect of pretreatment of alkali combined with acid on ethanol conversion rate of cellulose from rice straw[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2013, 30(2): 83–86.
- [61] WANG Yun, WEI Wei, DAI Xiaohu, et al. Different electron donors drive the variation in the performance of medium-chain fatty acid production from waste-activated sludge[J]. *ACS ES&T Engineering*, 2024, 4(3): 650–659.
- [62] FU Xindi, JIN Xi, YE Rong, et al. Nano zero-valent iron: A pH buffer, electron donor and activator for chain elongation[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 329: 124899.
- [63] SAN VALERO P, ABUBACKAR H N, VEIGA M C, et al. Effect of pH, yeast extract and inorganic carbon on chain elongation for hexanoic acid production[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 300: 122659.
- [64] ANGENENT L T, RICHTER H, BUCKEL W, et al. Chain elongation with reactor microbiomes: Open-culture biotechnol-

- ogy to produce biochemicals [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(6): 2796–2810.
- [65] LIU Yuhao, HE Pinjing, SHAO Liming, et al. Significant enhancement by biochar of caproate production via chain elongation[J]. *Water Research*, 2017, 119: 150–159.
- [66] 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.
- [67] KUCEK L A, XU Jiajie, NGUYEN M, et al. Waste conversion into n-caprylate and n-caproate: Resource recovery from wine lees using anaerobic reactor microbiomes and in-line extraction [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1892.
- [68] TANG Jialing, YANG Hao, PU Yunhui, et al. Caproic acid production from food waste using indigenous microbiota: Performance and mechanisms [J]. *Bioresource Technology*, 2023, 387: 129687.
- [69] WU Shulin, WEI Wei, NGO H H, et al. In-situ production of lactate driving the biotransformation of waste activated sludge to medium-chain fatty acid [J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 345: 118524.
- [70] YIN Yanan, WANG Jianlong. Medium-chain carboxylates production by co-fermentation of sewage sludge and macroalgae [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 347: 126718.
- [71] TONANZI B, GALLIPOLI A, FRUGIS A, et al. Bio-based production of medium-chain carboxylic acids from food waste and sludge without chemical addition: The pivotal role of mix ratio and pretreatment [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2024, 436: 140560.
- [72] WANG Yun, WEI Wei, WU Shulin, et al. Zerovalent iron effectively enhances medium-chain fatty acids production from waste activated sludge through improving sludge biodegradability and electron transfer efficiency [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(17): 10904–10915.
- [73] WU Shulin, WEI Wei, XU Qiuxiang, et al. Revealing the mechanism of biochar enhancing the production of medium chain fatty acids from waste activated sludge alkaline fermentation liquor [J]. *ACS ES&T Water*, 2021, 1(4): 1014–1024.
- [74] LUO Tianyi, XU Qiuxiang, WEI Wei, et al. Performance and mechanism of Fe₃O₄ improving biotransformation of waste activated sludge into liquid high-value products [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 56(6): 3658–3668.
- [75] REN Weitong, WU Qinglian, DENG Lin, et al. Insights into chain elongation mechanisms of weak electric-field-stimulated continuous caproate biosynthesis: Key enzymes, specific species functions, and microbial collaboration [J]. *ACS ES&T Engineering*, 2023, 3(10): 1649–1660.
- [76] ZHANG Cunsheng, LING Zhihui, YANG Li, et al. Efficient caproate production from ethanol and acetate in open culture system through reinforcement of chain elongation process [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2023, 383: 135394.
- [77] HARROFF L A, LIOTTA J L, BOWMAN D D, et al. Inactivation of ascaris eggs in human fecal material through in situ production of carboxylic acids [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(17): 9729–9738.
- [78] 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.
- [79] WASEWAR K L, SHENDE D Z. Reactive extraction of caproic acid using tri-*n*-butyl phosphate in hexanol, octanol, and decanol [J]. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 2011, 56(2): 288–297.
- [80] CHOI K, JEON B S, KIM B C, et al. In situ biphasic extractive fermentation for hexanoic acid production from sucrose by *Megasphaera elsdenii* NCIMB 702410 [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2013, 171(5): 1094–1107.
- [81] XU Jiajie, GUZMAN J J L, ANDERSEN S J, et al. In-line and selective phase separation of medium-chain carboxylic acids using membrane electrolysis [J]. *Chemical Communications*, 2015, 51(31): 6847–6850.
- [82] CHWIALKOWSKA J, DUBER A, ZAGRODNIK R, et al. Caproic acid production from acid whey via open culture fermentation—Evaluation of the role of electron donors and downstream processing [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 279: 74–83.
- [83] ANGENENT L T, USACK J G, XU Jiajie, et al. Integrating electrochemical, biological, physical, and thermochemical process units to expand the applicability of anaerobic digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 1085–1094.
- [84] XU Jiajie, GUZMAN J J L, ANGENENT L T. Direct medium-chain carboxylic acid oil separation from a bioreactor by an electrodialysis/phase separation cell [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(1): 634–644.