

# 生物化学中厌氧消化代谢途径的教学实践

陈畅, 李成

北京化工大学 化学工程学院, 北京 100029

陈畅, 李成. 生物化学中厌氧消化代谢途径的教学实践. 生物工程学报, 2022, 38(12): 4765-4778.

CHEN C, LI C. Anaerobic digestion pathways in biochemistry: a teaching practice. Chin J Biotech, 2022, 38(12): 4765-4778.

**摘 要:** 厌氧消化是乳酸和乙醇发酵之外的另一条重要的无氧分解代谢途径, 对促进资源高效利用、维持生态平衡、优化能源结构、缓解能源危机、推动实施“双碳”战略都具有重要意义。如此重要的代谢过程在大学生物化学课程教材和教学中没有涉及, 使得教学体系不完整, 亟需教学改革。厌氧消化过程涉及的反应众多, 代谢途径复杂, 为了让学生全面了解这一过程, 教师通过查阅大量文献, 将厌氧消化的主要反应途径归纳成图, 较为完整地展现厌氧消化代谢过程, 并通过BOPPPS教学模式融入课堂教学中。以代谢途径全图的形式直观展示分散冗杂的代谢过程, 可以帮助学生构建厌氧消化代谢的系统框架, 有助其丰富代谢知识体系, 达到了良好的教学效果。本文介绍了厌氧消化代谢途径的内容及教学过程的设计, 为生物化学、环境工程微生物学、新能源工程等课程教材的修订及相关课堂教学改革提供参考和借鉴。

**关键词:** 生物化学; 厌氧消化; 代谢途径; BOPPPS教学模式; 教学改革

## Anaerobic digestion pathways in biochemistry: a teaching practice

CHEN Chang, LI Cheng

College of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

**Abstract:** Anaerobic digestion is another important anaerobic catabolism pathway besides lactic acid

**Received:** April 15, 2022; **Accepted:** July 19, 2022

**Supported by:** Teaching Reform Program for Sino-Foreign Cooperation in Education, Beijing University of Chemical Technology (HZBX202202); Talent Training and Teaching Reform Project from the Beijing Municipal Education Commission; Teaching Reform Program in Undergraduate Education (2018BHDJGY02); Teaching Reform Program for “New Engineering” Research and Practice, Beijing University of Chemical Technology (xgk2017040117)

**Corresponding author:** CHEN Chang. Tel/Fax: +86-10-64442375; E-mail: chenchang@mail.buct.edu.cn

**基金项目:** 北京化工大学中外合作办学教学改革项目 (HZBX202202); 北京市与中央共建人才培养-教学名师项目; 北京化工大学本科教育教学改革项目 (2018BHDJGY02); “新工科”研究与实践教学改革专项 (xgk2017040117)

and ethanol fermentation, which is of great significance for recycling resources, maintaining the ecological balance, optimizing the energy structure, alleviating the energy crisis, and promoting the implementation of the “Carbon Peaking and Carbon Neutrality” strategy. However, such an important metabolic process has not been involved in the current textbooks and teaching of biochemistry courses, making the teaching system incomplete. The anaerobic digestion process involves many reactions and complex metabolic pathways. In order to improve the students’ understanding to this process, we created a full chart of the whole anaerobic digestion process based on systemic literature review and integrated it into the classroom teaching through the BOPPPS teaching mode. It was found that the classroom teaching assisted by this metabolic chart could help students establish the structural framework of the anaerobic digestion process and enrich the knowledge system of metabolism, achieving a good teaching effect. This paper introduces the content of the metabolic pathways of anaerobic digestion and the design of the teaching process, which would facilitate the teaching reforms and perfection of textbooks for related courses, such as Biochemistry, Environmental Engineering Microbiology and New Energy Engineering.

**Keywords:** Biochemistry; anaerobic digestion; metabolic pathway; BOPPPS teaching model; teaching reform

生物化学是运用化学的原理和方法,从微观水平上研究生物分子的结构、功能和代谢过程中遵循化学规律所发生的一系列变化的科学。有机物的分解代谢是生物化学课程教学的重点,根据分解过程是否需要氧气可以分为有氧分解和无氧分解。长期以来,以三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)为枢纽的有氧分解途径占据了物质分解代谢教学的大部分课时,而作为一种特殊的无氧分解方式,厌氧消化途径一直被忽略。厌氧消化是指在无氧环境下,有机物在多种厌氧微生物的共同作用下转变为  $\text{CH}_4$  和  $\text{CO}_2$  的过程,它不但对推动自然界的物质循环并维持生态系统平衡至关重要,还是当前处理有机废弃物的主要手段之一。人类生产生活中产生的种植养殖废弃物、餐厨垃圾、有机生活垃圾等可以通过厌氧消化生成  $\text{CH}_4$ ,对减轻环境污染、优化能源结构、推动碳减排、实现经济和社会的可持续发展具有重要意义<sup>[1]</sup>。如此重要的代谢途径一直未纳入到生物化学的课堂教学中,在主流的生物化学教材中

也未介绍,使得物质代谢教学不完整、不系统,学生不能全面地构建物质代谢网络,亟需教学改革。厌氧消化是一个复杂的代谢途径,涉及反应众多,教师通过阅读大量文献,将复杂的厌氧消化途径绘制成图,并采用 BOPPPS 教学模式开展了厌氧消化知识的教学,在生物化学课程中填补了本模块的教学空白,健全了物质代谢教学体系,让学生认识到厌氧消化的重要作用,拓宽了他们的视野,获得了良好的教学效果。以下对厌氧消化代谢途径的教学内容和过程设计进行介绍。

## 1 厌氧消化过程的重要性

传统教学过程中,无氧分解代谢仅介绍了葡萄糖的乳酸发酵和乙醇发酵,即乳酸菌无氧发酵生成乳酸,酵母菌无氧发酵生成乙醇,二者统称为厌氧发酵。所以教师在开始厌氧消化途径教学之前,首先要告知学生,除了厌氧发酵之外,还有一种更复杂的无氧分解代谢方式,即生成  $\text{CH}_4$  的厌氧消化过程,进而介绍厌氧消

化的重要性, 让学生明确学习它的必要性。

厌氧消化广泛存在于各类生态环境中, 对推动生物圈碳循环、促进物质和能量流动、维持生态系统的稳定性至关重要。随着经济的快速发展, 人民生活水平不断提高, 每年会产生大量的有机废弃物, 如农业中的秸秆、禽畜粪便等, 生活中的餐厨垃圾, 食品加工业中的果蔬废弃物、酒糟、废料等, 这些有机废弃物若不经有效处理, 会对环境造成严重污染。厌氧消化已成为当前有机废弃物处理和资源回收利用最常用的技术之一<sup>[2]</sup>, 其终产物  $\text{CH}_4$  是生物天然气的主要成分, 可作为清洁能源供发电、取暖、车辆使用, 从而减少化石能源的用量和污染; 而消化后的废物残渣可作有机肥料, 减少化肥的施用, 提升土壤肥力和作物品质。

通过对近 5 年发表的文献进行分析可见, 厌氧消化在环境科学、生态学、工程学、能源燃料、生物技术、应用微生物学和农业等多个领域有广泛研究, 具有多学科融合和跨学科交叉的特点<sup>[3]</sup>。世界范围内, 建成运行和在建的厌氧消化工程数量快速增长, 表明该技术具有广阔的应用前景。我国作为人口和农业大国, 有机废弃物的产生量世界第一, 在我国发展厌氧消化技术具有迫切的现实需求, 其不仅可以推动“双碳”战略实施, 而且对治理环境污染、改善能源结构、消纳回收废弃资源, 促进农业、环境、生态和社会可持续发展都具有重要意义。近年来, 国家出台了《中华人民共和国国民经济和社会发展第十四个五年规划和 2035 年远景目标纲要》《“十四五”推进农业农村现代化规划》《关于促进生物天然气产业化发展的指导意见》等一系列文件, 明确要求加快有机废弃物资源利用和生物天然气制备的技术突破和工程推广。因而补充厌氧消化知识的教学, 符合国家战略需求, 对生物化学课程非常必要, 对跨

学科应用型、工程型人才的培养具有重要意义。课堂教学中, 教师在讲解以上重要性的同时, 将国内外生物化学教学和教材缺失本部分内容的现状告知学生, 让其体会到完善这部分教学体系的必要性, 认识到学习厌氧消化知识的重要意义, 为后续的学习奠定基础。

## 2 厌氧消化的 4 个阶段

教师在介绍厌氧消化过程时, 首先让学生了解厌氧消化分为 4 个阶段, 即水解、酸化、产乙酸和产甲烷阶段。整个过程较为复杂, 主要涉及 3 大类底物和上百个反应, 信息众多, 如果用传统的灌输式教学方式逐一罗列各个反应, 很难让学生理清庞大架构中的规律和内在联系。在之前的教学实践中, 教师发现很多复杂的代谢途径用图的形式辅助讲解会有“一图胜万言”的效果。为了给学生留下直观、深刻的印象, 教师通过查阅大量文献, 总结归纳了厌氧消化过程的各步反应, 利用 Adobe Illustrator 软件绘制出了厌氧消化代谢途径全图 (图 1), 图中酶的 EC 编号、缩写和全称以及部分物质与途径的缩写和全称对应关系分别如表 1、表 2 所示。图 1 将文献中分散的反应串联起来, 经合理地排版设计转变为具体、连贯的途径, 各条路径之间通过中间产物连结成网络, 便于学生掌握厌氧消化代谢过程的特征, 形成全面的知识框架。教师在课堂上依托代谢图, 横向上区分糖类、蛋白质、油脂 3 大类不同底物, 纵向上按照水解、酸化、产乙酸、产甲烷 4 个阶段的顺序去介绍厌氧消化的反应过程, 达到高效地传授相关知识的目标。

### 2.1 水解阶段

水解阶段是指复杂的大分子有机物, 如纤维素、半纤维素、蛋白质和油脂等经细菌分泌的各种胞外水解酶作用, 水解为小分子

有机物的过程,即纤维素在纤维素酶作用下水解为葡萄糖;半纤维素在半纤维素酶催化下水解为木糖、阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖和甘露糖;蛋白质在蛋白酶作用下水解成氨基酸;油脂经脂肪酶水解生成甘油和脂肪酸等。这一阶段的反应较简单,教师主要让学生明确水解阶段是后续反应的基础,是整个厌氧消化途径的限速步骤。

## 2.2 酸化阶段

酸化阶段是厌氧消化中大分子有机物水解之后的重要阶段,即水解产物(如单糖、氨基酸、脂肪酸、甘油等)进一步分解,生成丙酸、丁酸、乙酸、乳酸等短链有机酸的过程。该阶段反应众多,也是厌氧消化代谢网络中最复杂的过程,有多种酸化细菌参与。根据底物的不同,下面分别介绍这些水解产物的酸化过程。

单糖的酸化过程是其通过不同的代谢途径先转化为丙酮酸,再转变为丙酸、丁酸、乙酸、乳酸和乙醇的过程。以葡萄糖为例,降解途径主要有3条:糖酵解途径(Embden-Meyerhof-Parnas pathway, EMP)是多数细菌降解葡萄糖共有的代谢途径,由10个反应(含3个不可逆反应)串联生成丙酮酸<sup>[4]</sup>;磷酸戊糖途径(hexose monophosphate pathway, HMP)是葡萄糖经氧化阶段和非氧化阶段生成三碳、四碳、五碳、六碳和七碳糖,最终进入EMP生成丙酮酸<sup>[5-6]</sup>;一些缺少完整EMP途径的微生物则通过2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖酸途径(Entner-Doudoroff pathway, ED)降解葡萄糖,经6-磷酸-葡萄糖酸内酯酶和2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖酸醛缩酶催化生成3-磷酸-甘油醛(glyceraldehyde 3-phosphate, GAP)和丙酮酸<sup>[7-8]</sup>,GAP再经EMP最终合成丙酮酸。这3个过程不是孤立存在的,中间产物如GAP将三者联系起来,实现葡萄糖到丙酮酸的转化。木糖异构为木酮糖后磷酸化生

成5-磷酸-D-木酮糖<sup>[9-10]</sup>,随后经HMP途径转化为丙酮酸。阿拉伯糖异构为核酮糖后,生成5-磷酸-D-木酮糖,经HMP、EMP合成丙酮酸<sup>[11]</sup>。甘露糖在甘露糖激酶和6-磷酸-甘露糖异构酶作用下生成6-磷酸-果糖进入EMP途径<sup>[12]</sup>,半乳糖在半乳糖激酶等作用下生成6-磷酸-葡萄糖进入EMP途径<sup>[13]</sup>,最终都可生成丙酮酸。

常见氨基酸有20种,代谢过程较为复杂,主要通过2条途径降解:单个氨基酸通过非耦合脱氨的方式降解;氨基酸也可配对后通过Stickland反应降解,即在2个氨基酸之间,1个氨基酸作为电子供体,另1个作为电子受体的脱氨过程<sup>[14]</sup>。丙氨酸、异亮氨酸、半胱氨酸为常见的电子供体氨基酸,甘氨酸和脯氨酸为常见的电子受体氨基酸<sup>[15]</sup>,如丙氨酸和甘氨酸通过Stickland反应生成乙酸。脂肪酸在脂酰CoA合成酶作用下先生成脂酰CoA,后经脂酰CoA $\beta$ -氧化过程的脱氢、加水、再脱氢、硫酯解4步循环脱下乙酰CoA,进而生成乙酸<sup>[16]</sup>。

丙酮酸是酸化过程重要的共同中间产物,是承上启下的桥梁,将糖、氨基酸等的分解与后续短链有机酸的合成联系起来。丙酸的生成主要是通过Wood-Werkman途径,即琥珀酸途径实现,在丙酸杆菌作用下,丙酮酸经草酰乙酸、苹果酸、延胡索酸、琥珀酸生成琥珀酰CoA,再经过甲基丙二酰CoA变位酶、甲基丙二酰CoA脱羧酶等多种酶的催化生成丙酸<sup>[17]</sup>。丁酸的合成过程中首先发生丙酮酸氧化脱羧生成乙酰CoA,随后在乙酰CoA转乙酰基酶的催化下缩合生成乙酰乙酰CoA,之后被还原成丁酰CoA,最终生成丁酸<sup>[18]</sup>。乳酸可由丙酮酸在乳酸脱氢酶的作用下发生羰基还原反应生成,该过程是可逆的,也被称为同型乳酸发酵。酸化阶段除了生成上述有机酸外,还会在丙酮酸脱羧酶和乙醇脱氢酶的作用下由丙酮酸生成乙醇。

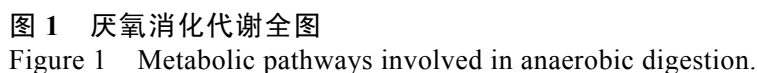


表 1 厌氧消化途径中酶的缩写、全称和 EC 编号

Table 1 Abbreviations, full names, and EC numbers of enzymes involved in anaerobic digestion

Abbreviation	Full name in Chinese	Full name in English	EC number
ACAT	乙酰辅酶 A 转乙酰基酶	Acetyl-CoA acetyltransferase	EC 2.3.1.9
ACDH	脂酰辅酶 A 脱氢酶	Acyl-CoA dehydrogenase	EC 1.3.8.1
ACS	乙酰辅酶 A 合成酶	CO-methylating acetyl-CoA synthase	EC 2.3.1.169
ADH	乙醇脱氢酶	Alcohol dehydrogenase	EC 1.1.1.1
AFO	醛铁氧还蛋白氧化还原酶	Aldehyde ferredoxin oxidoreductase	EC 1.2.7.5
AK	乙酸激酶	Acetate kinase	EC 2.7.2.1
ALDH	乙醛脱氢酶	Acetaldehyde dehydrogenase	EC 1.2.1.10
ATK	乙酸硫激酶	Acetate thiokinase	EC 6.2.1.1
BCDH	丁酰辅酶 A 脱氢酶	Butyryl-CoA dehydrogenase	EC 1.3.1.86
BK	丁酸激酶	Butyrate kinase	EC 2.7.2.7
CODH	一氧化碳脱氢酶	Anaerobic carbon monoxide dehydrogenase	EC 1.2.7.4
CRT	丁烯酰酶	Crotonase	EC 4.2.1.150
ECH	烯脂酰辅酶 A 水合酶	Enoyl-CoA hydratase	EC 4.2.1.55
FDH	甲酸脱氢酶	Formate dehydrogenase	EC 1.2.2.1 EC 1.17.98.3 EC 1.17.1.9
FFS	甲酰四氢叶酸合成酶	Formyltetrahydrofolate synthetase	EC 6.3.4.3
FMDH	甲酰甲基呋喃脱氢酶	Formylmethanofuran dehydrogenase	EC 1.2.7.12
FMTT	甲酰甲基呋喃-THMPT N-甲酰基转移酶	Formylmethanofuran-THMPT N-formyltransferase	EC 2.3.1.101
FR	延胡索酸酶	Fumarase	EC 4.2.1.2
GDH	3-磷酸甘油脱氢酶	Glycerol 3-phosphate dehydrogenase	EC 1.1.1.8
GK	甘油激酶	Glycerol kinase	EC 2.7.1.30
HBDH	3-羟丁酰基辅酶 A 脱氢酶	3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase	EC 1.1.1.157
HDH	D-2-羟基酸脱氢酶	D-2-hydroxyacid dehydrogenase	EC 1.1.1.272
HDR	异质二硫化物还原酶	Heterodisulfide reductase	EC 1.8.7.3
LDH	乳酸脱氢酶	Lactate dehydrogenase	EC 1.1.1.27
MCD	甲基丙二酰辅酶 A 脱羧酶	Methylmalonyl-CoA decarboxylase	EC 4.1.1.41
MCM	甲基丙二酰辅酶 A 变位酶	Methylmalonyl-CoA mutase	EC 5.4.99.2
MCR	甲基辅酶 M 还原酶	Methyl-CoM reductase	EC 2.8.4.1
MDH	苹果酸脱氢酶	Malate dehydrogenase	EC 1.1.1.37
MFC	次甲基 THF 环水解酶	Methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase	EC 3.5.4.9
MFDH	亚甲基 THF 脱氢酶	Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase	EC 1.5.1.15
MFR	亚甲基 THF 还原酶	Methylenetetrahydrofolate reductase	EC 1.5.1.20
MTC	次甲基 THMPT 环水解酶	Methenyltetrahydromethanopterin cyclohydrolase	EC 3.5.4.27
MTDH	亚甲基 THMPT 脱氢酶	Methylenetetrahydromethanopterin dehydrogenase	EC 1.5.98.1
MTF	甲基转移酶	Methyltransferase	EC 2.1.1.245
MTR	5,10-亚甲基 THMPT 还原酶	5,10-methylenetetrahydromethanopterin reductase	EC 1.5.98.2

(待续)

(续表 1)

Abbreviation	Full name in Chinese	Full name in English	EC number
ODC	草酰乙酸脱羧酶	Oxaloacetate decarboxylase	EC 4.1.1.112
PAT	丙酰辅酶 A 转移酶	Propionyl-CoA transferase	EC 2.8.3.1
PCC	丙酰辅酶 A 羧化酶	Propionyl-CoA carboxylase	EC 6.4.1.3
PDC	丙酮酸脱羧酶	Pyruvate decarboxylase	EC 4.1.1.1
PDH	丙酮酸脱氢酶系	Pyruvate dehydrogenase complex	EC 1.2.1.104
PEPC	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶	Phosphoenolpyruvate carboxylase	EC 4.1.1.31
PFL	丙酮酸甲酸裂解酶	Pyruvate formate lyase	EC 2.3.1.54
PK	丙酮酸激酶	Pyruvate kinase	EC 2.7.1.40
PTA	磷酸转乙酰酶	Phosphotransacetylase	EC 2.3.1.8
PTB	磷酸转丁酰酶	Phosphotransbutyrylase	EC 2.3.1.19
PYC	丙酮酸羧化酶	Pyruvate carboxylase	EC 6.4.1.1
SCS	琥珀酰辅酶 A 合成酶	Succinyl-CoA synthetase	EC 6.2.1.5
SDH	琥珀酸脱氢酶	Succinate dehydrogenase	EC 1.3.5.1
TML	THMPT S-甲基转移酶	Tetrahydromethanopterin S-methyltransferase	EC 2.1.1.86
TPI	磷酸丙糖异构酶	Triose-phosphate isomerase	EC 5.3.1.1
TRA	转氨酶	Transaminase	EC 2.6.1.X

表 2 厌氧消化过程中物质与途径的缩写和全称对应关系

Table 2 Abbreviations and full names of substances and pathways involved in anaerobic digestion

Abbreviation	Full name in Chinese	Full name in English
CoFeSP	钴铁硫蛋白	Cobalt iron-sulfur protein
Cyt <sub>b</sub> <sub>1</sub>	细胞色素 <i>b</i> <sub>1</sub>	Cytochrome <i>b</i> <sub>1</sub>
DHAP	磷酸二羟丙酮	Dihydroxyacetone-phosphate
ED	恩特纳-杜多罗夫途径	Entner-Doudoroff pathway
EMP	糖酵解途径	Embden-Meyerhof-Parnas pathway
Fd	铁氧还蛋白	Ferredoxin
GAP	3-磷酸-甘油醛	Glyceraldehyde 3-phosphate
HMP	磷酸戊糖途径	Hexose monophosphate pathway
MFR	甲基呋喃	Methanofuran
PEP	磷酸烯醇式丙酮酸	Phosphoenolpyruvate
Pyr	丙酮酸	Pyruvate
THF	四氢叶酸	Tetrahydrofolate
THMPT	四氢甲基蝶呤	Tetrahydromethanopterin

本阶段涉及的反应较多,教师在讲解过程中抓住丙酮酸这一衔接上下游反应的关键中间产物,将复杂的代谢途径串联起来,同时适当放慢教学节奏,让学生能跟上教师的思路更好地了解酸化阶段,对短链有机酸生成过程有更清晰地认识。

### 2.3 产乙酸阶段 (产氢产乙酸过程)

产乙酸阶段是将上一阶段产生的丙酸、丁酸和乳酸等进一步转化为乙酸。丙酸的降解过程主要通过甲基丙二酰 CoA 途径<sup>[19]</sup>,首先丙酰

CoA 在丙酰 CoA 羧化酶作用下先生成甲基丙二酰 CoA,然后经甲基丙二酰 CoA 变位酶、琥珀酰 CoA 合成酶催化生成琥珀酸,琥珀酸依次氧化成延胡索酸、苹果酸、草酰乙酸,进而生成丙酮酸,丙酮酸在丙酮酸脱氢酶系和铁氧还蛋白氧化还原酶的作用下转变为乙酰 CoA,乙酰 CoA 在磷酸转乙酰酶和乙酸激酶的作用下生成乙酸<sup>[20]</sup>。在丁酸的降解过程中,丁酸首先被氧化为丁酰 CoA,再经过氧化转变为乙酰乙酰

CoA, 最后分解为 2 分子乙酸<sup>[21]</sup>。乳酸可以在不同的乳酸降解菌作用下生成乙酸和丙酸<sup>[22-23]</sup>, 乙醇在乙醇氧化菌作用下生成乙酸。丙酸、丁酸、乳酸和乙醇生成乙酸的过程伴随有  $H_2$  的生成, 因此这 4 个途径也统称为产氢产乙酸过程。另外, 乙酸还有 1 条合成路线, 同型产乙酸菌可以通过 Wood-Ljungdahl 途径 (Wood-Ljungdahl pathway, WLP) 将  $CO_2$ 、 $H_2$  转化成乙酸, 该途径由 2 个独立的分支组成: 甲基分支和羰基分支。甲基分支中  $CO_2$  首先在甲酸脱氢酶作用下消耗氢生成甲酸, 然后经过甲酰四氢叶酸合成酶、次甲基四氢叶酸环水解酶、亚甲基四氢叶酸脱氢酶、亚甲基四氢叶酸还原酶和甲基转移酶作用下生成甲基钴铁硫蛋白; 同时  $CO_2$  在羰基分支中被一氧化碳脱氢酶/乙酰 CoA 合成酶复合酶作用生成 CO, 并与上一步生成的甲基钴铁硫蛋白在同一复合酶作用下生成乙酰 CoA, 随后生成乙酸; 即由氢作为电子供体使  $CO_2$  还原为乙酸<sup>[24-25]</sup>, 该过程消耗氢气, 也被称为耗氢产乙酸途径。产乙酸阶段是个全新的知识点, 讲解时教师通过以上逻辑梳理不同的产乙酸途径, 让学生明确乙酰 CoA 是生成乙酸的重要前体, 多种细菌参与了该途径。

## 2.4 产甲烷阶段

产甲烷阶段是指产甲烷古菌将乙酸、 $CO_2$ 、 $H_2$  和甲基类物质如甲胺、甲醇、甲硫醇等转化为  $CH_4$  的过程。根据底物的不同, 可以把产甲烷阶段分为 3 条途径, 分别为耗乙酸产甲烷、耗氢产甲烷和耗甲基产甲烷途径。自然界中有 2/3 的甲烷来自耗乙酸产甲烷途径, 该过程又称为乙酸裂解途径, 乙酸依次生成乙酰 CoA、甲基 THMPT 和甲基 CoM, 最终生成  $CH_4$ 。在耗氢产甲烷途径中,  $CO_2$  在甲酰基呋喃脱氢酶作用下先生成甲酰基 MFR, 后被甲酰基呋喃 THMPT N-甲酰基转移酶催化为 N5-甲酰基 THMPT, 再被

$H_2$  依次还原为次甲基 ( $=CH$ )、亚甲基 ( $=CH_2$ ) 和甲基 ( $-CH_3$ ), 最终通过甲基 CoM 还原酶催化还原生成  $CH_4$ <sup>[26]</sup>, 该过程也称为  $CO_2$  还原途径。只有少部分古菌可以通过耗甲基产甲烷途径将甲胺、甲醇、甲硫醇等物质转化为  $CH_4$ <sup>[27]</sup>。

厌氧消化途径是以上 4 个阶段的集成, 过程中反应众多, 但教师紧抓横向 (不同底物)、纵向 (4 个阶段) 的脉络, 通过强调关键中间产物将整个代谢途径串联起来, 使学生在大脑中构建清晰、完整、系统的厌氧消化代谢网络, 对厌氧消化的具体过程有一个全面的认识。

## 3 厌氧消化代谢过程特殊途径的强化教学

教师在讲解图 1 的厌氧消化代谢的 4 个阶段时, 将所有反应划分为通用途径和特殊途径两部分 (图 2)。通用途径指物质分解代谢普遍存在的反应, 包括水解和酸化阶段的水解反应以及后续生成丙酮酸、乙酰 CoA 涉及的 EMP、HMP 以及  $\beta$ -氧化等途径, 学生已在前期章节学习过, 比较熟悉, 容易理解, 教师可以简要带过。特殊途径是指厌氧消化中独特的代谢过程, 主要包括丙酮酸酸化为短链酸、产氢产乙酸和产甲烷过程, 这一部分是教学重点和难点, 需进行精讲, 并加强逻辑梳理。

对特殊途径的讲解首先从丙酮酸和乙酰 CoA 酸化为短链酸开始, 这些过程没有复杂的分支, 学生较为容易掌握。产乙酸和产甲烷途径是厌氧消化教学的重点和难点, 分支较多, 具有不同特点, 教师要带领学生及时梳理并对比这些过程。丙酸、丁酸、乳酸和乙醇生成乙酸的过程都伴随着产生  $H_2$ , 但转化过程中, 重要的中间产物不同。如丙酸先生成丙酮酸再转化为乙酸和  $H_2$ ; 丁酸经由乙酰乙 CoA、



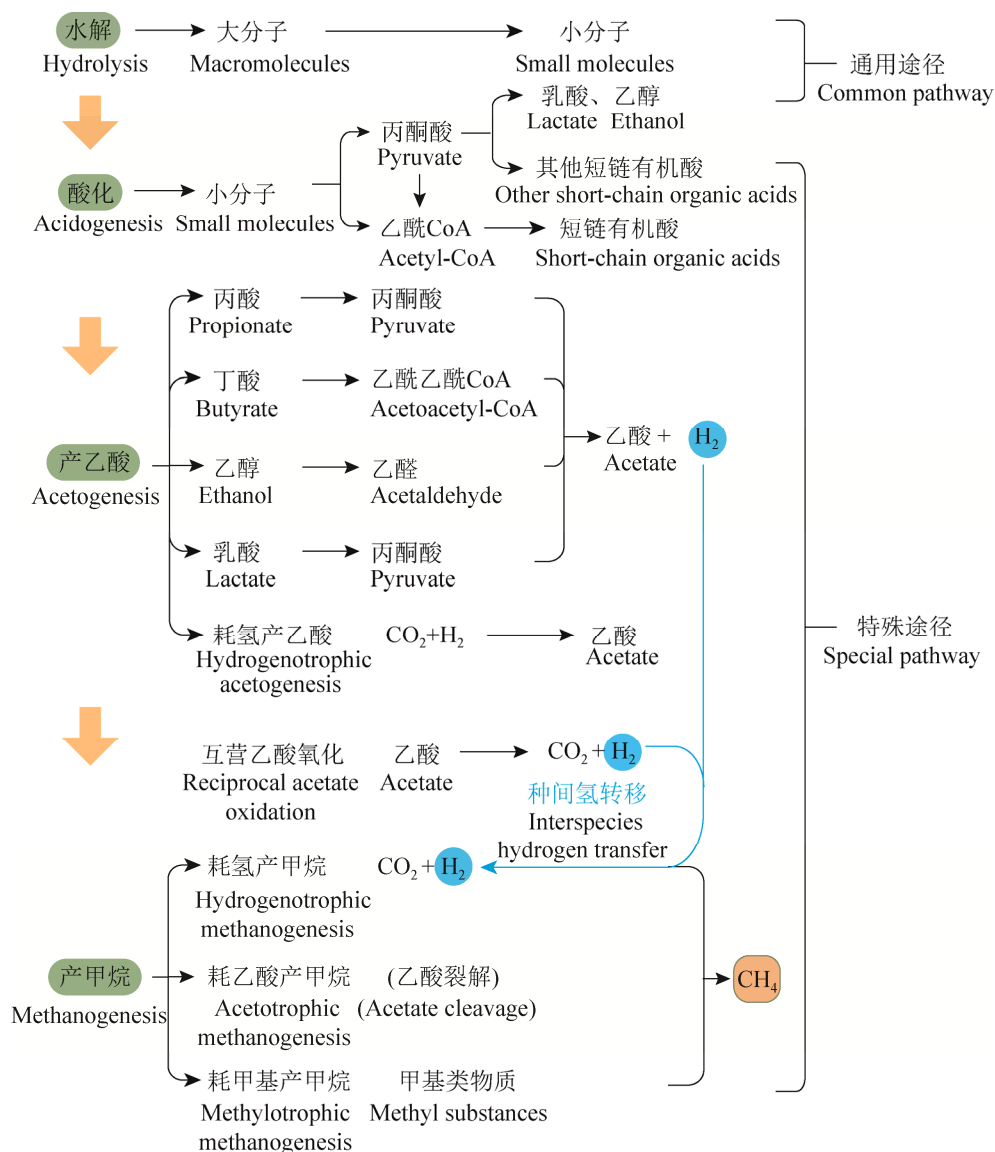


图2 厌氧消化过程中的通用途径和特殊途径

Figure 2 Common and special pathways involved in anaerobic digestion.

乙酰 CoA 生成乙酸和  $H_2$ ; 乳酸和乙醇的转化过程较为简单。耗氢产乙酸 (WLP) 和耗氢产甲烷途径本质都是耗氢还原  $CO_2$  的过程, 中间都有次甲基 ( $=CH$ )、亚甲基 ( $=CH_2$ ) 和甲基 ( $-CH_3$ ) 的产生。学生初次接触容易混淆, 教师可以紧抓  $CO_2$  的还原产物进行区分, 并结合图 1 和图 2 进行具体讲述。

特殊代谢过程较为复杂, 包含很多氧化还

原反应, 有的反应需要不同的微生物协作完成, 涉及复杂的电子传递现象——种间电子转移 (interspecies electron transfer, IET)。微生物厌氧消化中的 IET 主要有 2 类: 一类是依赖氢气或甲酸将电子从产氢产乙酸菌转移到产甲烷菌的间接种间电子转移 (mediated interspecies electron transfer, MIET), 包括种间氢转移 (interspecies hydrogen transfer, IHT) 和种间甲

酸转移 (interspecies formate transfer, IFT)。IHT 一般指产氢产乙酸菌先将乙醇、丙酸和丁酸等转化为乙酸和  $H_2$ , 然后由耗氢产甲烷菌消耗体系内的  $H_2$  生成  $CH_4$ 。这种产氢产乙酸菌和耗氢产甲烷菌之间的协作关系也称之为“互营”。此外还有乙酸氧化菌和耗氢产甲烷菌之间的互营过程, 乙酸先被乙酸氧化菌氧化为  $CO_2$  和  $H_2$ , 然后在耗氢产甲烷菌作用下生成  $CH_4$ 。通过这种互营关系, 有效降低了体系氢分压, 推动产氢产乙酸过程的进行, 实现单一微生物不能独立完成的代谢过程。除  $H_2$  外, 甲酸也是在微生物间进行 IET 的一类重要电子载体。

另一类是个别细菌利用自身导电结构如导电菌毛、细胞色素 C 以及通过添加导电材料将电子传递给其他微生物的直接种间电子转移 (direct interspecies electron transfer, DIET)<sup>[28]</sup>。如硫还原地杆菌 (*Geobacter sulfurreducens*) 通过自身导电纤毛将氧化乙醇时产生的电子传递给甲烷八叠球菌 (*Methanosarcina barkeri*)<sup>[29]</sup>, 该菌的膜结合电子通过复杂的呼吸链进行传递, 终端的电子受体是异质二硫化物 ( $CoB-S-S-CoM$ )<sup>[30-31]</sup>, 其接受电子后在  $CoB-S-S-CoM$  还原酶作用下生成  $HS-CoB$  和  $HS-CoM$ 。 $HS-CoB$  可作为电子供体, 在甲基辅酶 M 还原酶作用下将甲基辅酶 M ( $CH_3-S-CoM$ ) 还原成  $CH_4$ 。此外常见的导电材料有颗粒活性炭、零价铁以及磁铁矿<sup>[32]</sup>等, 这些导电结构能加快电子传递, 加速反应进行。

教师以图 2 展示了厌氧消化过程的通用和特殊途径, 在梳理各过程逻辑脉络的基础上, 突出了厌氧消化代谢过程中的特殊途径, 介绍微生物及各反应之间的互营关系, 使学生对厌氧消化过程有更清晰、更深入、更系统地认识。

## 4 课堂教学过程

课堂上, 教师采用了 BOPPPS (bridge-in, objective, pre-assessment, participatory learning, post-assessment, summary) 教学模式组织教学, 该模型最早是 20 世纪 70 年代在加拿大高校教师技能培训中被提出的, 近些年被引入我国应用于教学改革中。该模式把课堂教学环节分为 6 个阶段, 即导入、目标、前测、参与式学习、后测、总结, 强调以学生为主体, 引导学生主动参与课堂学习, 重视教学交流, 激发学生学习兴趣。同时将教学过程模块化, 具有很强的可操作性, 使得教学安排更加条理化、合理化<sup>[33-34]</sup>。其中在参与式学习环节中教师依托图 1 讲解厌氧消化途径, 以此为核心, 其余环节紧密配合, 起到引发学生的学习兴趣、巩固和提高学习效果的作用。教学过程中教师随时关注学生反馈并及时调整方式方法, 充分调动学生学习的积极性, 鼓励学生参与课堂教学互动, 使其更好地掌握知识点, 从而提高课堂教学的有效性。

### (1) 导入 (bridge-in)

教师先让学生回顾上节课讲授的厌氧发酵途径, 即乳酸发酵和酒精发酵, 提问无氧分解除了可以产生乳酸和酒精之外, 还有其他途径吗? 循序渐进地引出本节的主要内容, 即产生  $CH_4$  的特殊无氧分解方式——厌氧消化。既复习了上节课的内容, 又引出了本节的主题厌氧消化, 引发学生的兴趣。

### (2) 学习目标 (objective)

教师在课堂上明确本部分的教学目标和要求: 1) 了解厌氧消化代谢的基本过程, 掌握关键反应步骤, 如产氢产乙酸、耗氢产乙酸、耗氢产甲烷、耗乙酸产甲烷、耗甲基产甲烷途径等; 2) 掌握种间电子转移的两种方式, 了解种间电子转移与产乙酸、产甲烷阶段的联系, 深刻认识厌氧

消化代谢途径; 3) 明确厌氧消化的重要性, 即其在自然界物质循环中的角色、对人类生产生活的意义、以及对实现“双碳”目标的推动作用等。

### (3) 前测 (pre-assessment)

前测目的是了解学生的先备知识, 以便调整后续的教学使之准确达成教学目标。通过发布问卷调查, 得知 90% 以上的学生从未了解过厌氧消化过程, 但是对不久前学习过的 EMP、HMP 等途径印象较深刻, 厌氧消化途径的酸化阶段中也涉及这部分反应, 因此有利于加深理解。教师在讲解厌氧消化重要性的同时, 将国内外生物化学教学和教材缺失本部分内容的现状告知学生, 让其深刻体会学习厌氧消化知识的必要性和重要意义, 为学习后面的核心知识做好准备。

### (4) 参与式学习 (participatory learning)

参与式学习是核心知识教学的主要环节。教师以图 1 为核心, 对通用途径简略讲解, 对特殊途径进行重点讲解和强化 (图 2), 实现 4 个阶段的集成提高, 同时通过随时提问、互动、讨论等方式, 激发学生的思考, 从而提升课堂的参与度<sup>[35]</sup>。该环节主要分 5 个教学模块, 如图 3 所示。教师首先介绍厌氧消化分为 4 个阶段, 让学生大致了解厌氧消化的过程。随后依托图 1 介绍每一阶段关键步骤的底物、催化酶和产物。由于途径中的反应众多, 为了使更容易理解, 教师接下来带领学生从不同底物出发, 顺着不同路径梳理到产物, 即横向按照多糖、蛋白质、脂肪 3 大类不同底物、纵向按照 4 个反应阶段逐一分析, 将看似复杂的代谢网络按照逻辑板块进行梳理, 使学生充分掌握厌氧消化代谢的脉络。讲解时, 由于反应较多, 教师不需要对每步反应进行详细介绍, 水解和部分酸化过程学生已有基础, 教师可以简单带过, 使学生在复习先前知识的同时了解以上途径在厌氧消化中同样出现; 对厌氧消化而言, 哪些反应产生了短链有机酸、短

链有机酸怎样转化成乙酸、乙酸和  $H_2$  如何生成  $CH_4$ , 这 3 处是重点, 教师着重关注学生的掌握程度, 记住以上 3 个关键也就掌握了厌氧消化途径的核心。随后教师针对厌氧消化的特殊途径提出问题, 引导学生思考, 如: 生成乙酸的主要反应有哪些? 生成  $CH_4$  的反应有哪些? 哪些过程是产氢的? 哪些过程是耗氢的? 通过学生回答, 使其对产氢产乙酸、耗氢产乙酸、耗氢产甲烷、耗乙酸产甲烷、耗甲基产甲烷途径等核心路径以及种间电子转移等基本概念加深记忆。

最后, 教师介绍一个兴趣实验: 用简易实验容器实现玉米秸秆厌氧消化制备  $CH_4$ 。介绍过程中通过互动性提问, 让学生思考如何利用简单的瓶子实现厌氧消化, 需要注意什么? 秸秆的主要成分是什么? 怎样能够提升秸秆的水解效率? 通过互动讨论和教师引导, 使学生认识到: 1) 无论农业秸秆、生活垃圾、还是禽畜粪污, 厌氧消化利用的都是其中的有机组分; 2) 厌氧消化过程是由多种微生物协作完成的, 因此需要接种, 并对装置进行密封隔氧, 通常置于  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  或  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  下消化; 3) 秸秆中富含木质纤维素, 结构致密, 会直接影响水解效率, 通常需要用预处理技术破除致密结构, 提升水解产气效率。学生通过参与式学习, 不但回顾了厌氧消化 4 个阶段反应的特点, 还复习了生物化学中糖一章讲过的纤维素不溶于稀酸、稀碱和有机溶剂的特性。感兴趣、有余力的同学可以对预处理技术进行文献检索, 课上分享有哪些预处理方法、哪种效果最好、存在什么问题……最终使学生切身体会“学有所用”的含义, 引导其在生活中树立“变废为宝”的观念, 激发其投身专业学习和探索钻研的热情。本环节授课内容较多, 教师讲解时要随时观察学生的表情和反馈, 若学生有疑惑, 教师应及时调整教学进度, 针对薄弱环节进行反复强化。

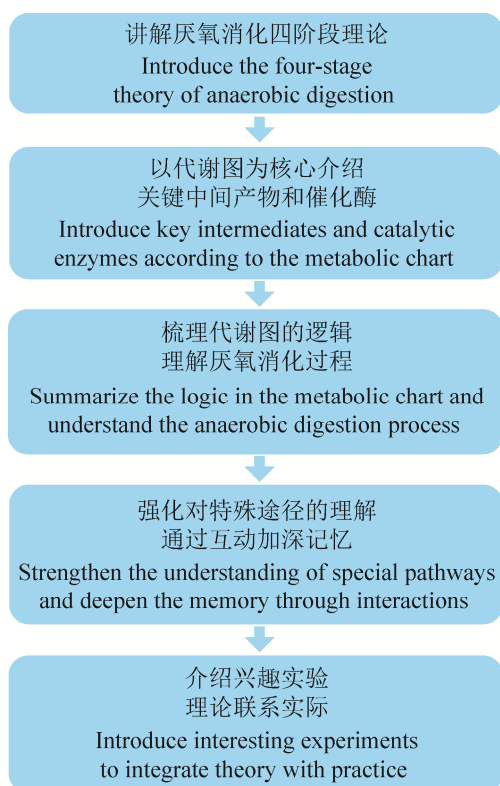


图3 参与式学习过程

Figure 3 Participatory learning process.

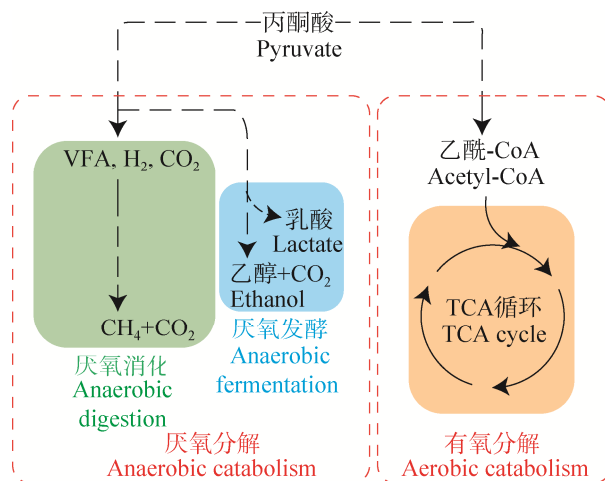
## (5) 后测 (post-assessment)

随后教师在课上发布随堂测试, 问题涉及厌氧消化代谢途径中的 4 个阶段、特殊途径中的关键反应、重要中间产物等, 检验学生的掌握情况。对于错误较多的薄弱环节, 教师结合图 1 进行反复强化, 便于学生对厌氧代谢途径进行梳理和记忆。接下来教师介绍厌氧消化的工程案例, 让学生思考厌氧消化过程的影响因素, 从而针对如何提高消化效率开展讨论, 理论联系实际, 从应用角度巩固厌氧消化知识。

## (6) 总结 (summary)

最后教师对课堂教学内容进行回顾, 进一步强化厌氧消化代谢的难点、重点, 同时提出 2 个思考题, 让学生互相讨论并发言, 教师加以引导, 对本部分内容进行总结、巩固并提高学习效果, 强化达成学习目标。1) 厌氧消化、厌氧发酵和有氧分解

三者什么关系? 以糖的分解为例, 不论有氧无氧, 都要经过 EMP 途径分解为丙酮酸。之后, 有氧则进入 TCA 途径彻底降解为  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ , 释放大能量; 无氧的话则进入无氧分解, 无氧分解包括两个分支, 一个是酵母菌和乳酸菌分别可以将丙酮酸转化为乙醇和乳酸的厌氧发酵过程; 另一个分支是在众多微生物的作用下, 丙酮酸通过厌氧消化最终转化为  $\text{CH}_4$  和  $\text{CO}_2$ 。可见丙酮酸是 3 条路径分支点上的共同中间产物, 教师通过展示图 4, 使学生掌握三者之间的关系, 准确地理解厌氧消化在分解代谢中的地位。2) 查阅 2019 年 12 月 6 日国家发布的《关于促进生物天然气产业化发展的指导意见》, 思考在我国发展生物天然气有什么重要意义? 通过阅读文件, 让学生充分认识到厌氧消化技术转化农业秸秆、养殖粪污、餐厨垃圾等有机废弃物, 对我国废弃资源有效利用、促进生态环境保护、改善能源结构、保障能源安全的重要价值和意义, 引导学生在生活中树立“有机垃圾是资源”的观念, 能够用科学、绿色、可持续发展的理念自觉践行“两山”理论, 养成绿色生活习惯, 为建设美丽中国 and 实现“中国梦”而贡献力量。

图4 厌氧消化、厌氧发酵和有氧分解三者关系图  
Figure 4 The relationship among anaerobic digestion, anaerobic fermentation, and aerobic catabolism.

## 5 总结

厌氧消化广泛存在于生态环境中,对推动生物圈碳循环、促进物质和能量流动、维持生态系统的平衡稳定至关重要,特别对我国维护国家能源安全、践行“两山”理论、推动生态文明建设、实施“双碳”战略,最终实现经济、环境、社会可持续发展目标具有重要意义。在现行生物化学教学内容和教材中这一内容却一直被忽略,针对这一现状,教师系统地总结了厌氧消化代谢途径全图,并在生物化学课堂教学中开展了教学改革,引入了厌氧消化教学。教学过程采用 BOPPPS 教学模式,以代谢途径全图为核心,向学生系统地展示了厌氧消化全过程,明确了厌氧消化中的通用代谢途径和特殊代谢途径。并通过互动讨论、留思考题、问卷和测试等多种形式,巩固了学生的学习效果。课后教师对学生展开了匿名问卷调查,调查结果显示:91.25%的学生课前从未了解过厌氧消化过程,课堂教学后 98.31%的学生认为对厌氧消化过程有了更深入地了解,94.91%的学生认为将该部分内容融入生物化学教学中很有必要,100%的学生认为以图的形式展示厌氧消化代谢过程更有利于理解记忆,并一致认为教师讲解后,其对物质代谢过程有了全面认识。结果表明教学改革获得了良好的效果。

本文总结了教学的内容和过程,所绘制的代谢途径全图,是目前可知文献中最系统、最全面的厌氧消化代谢图谱,不仅可为生物化学、环境工程微生物学、固体废弃物处理、新能源工程等教材的修订提供借鉴,还可为相关领域的科研人员从事有机废弃物处理提供参考。本教学改革填补了生物化学课程关于厌氧消化知识的教学空白,完善了物质分解代谢的知识体系,代谢全图的形式便于学生梳理内在逻辑,在脑中形成深刻印象,构建完整的代谢网络,有助于系统掌握整

个厌氧消化过程。通过学习使学生体会到厌氧消化的重要意义,在生活中养成减少排放、资源回收、变废为宝的思维习惯,实现学以致用目标。相关经验对生物工程、环境工程、能源工程等多个专业相关课程的教学改革具有重要参考价值。

## REFERENCES

- [1] 刘丽娜,漆新华,孙妍,等.新工科与“双碳”背景下生物质能源转化与利用技术课程教学改革.高教学刊,2021,7(S1):121-122,125.  
Liu LN, Qi XH, Sun Y, et al. Teaching reform of biomass energy conversion and utilization technology under the background of new engineering and “carbon peak and carbon neutral”. J High Educ, 2021, 7(S1): 121-122, 125 (in Chinese).
- [2] 何玉凤,钱文珍,王建凤,等.废弃生物质材料的高附加值再利用途径综述.农业工程学报,2016,32(15):1-8.  
He YF, Qian WZ, Wang JF, et al. High value-added reutilization approach for waste biomass materials. Trans Chin Soc Agric Eng, 2016, 32(15): 1-8 (in Chinese).
- [3] Ampese LC, Sganzerla WG, Di Domenico Z Iero H, et al. Research progress, trends, and updates on anaerobic digestion technology: a bibliometric analysis. J Clean Prod, 2022, 331: 130004.
- [4] Barnett JA. A history of research on yeasts 5: the fermentation pathway. Yeast, 2003, 20(6): 509-543.
- [5] Masi A, Mach RL, Mach-Aigner AR. The pentose phosphate pathway in industrially relevant fungi: crucial insights for bioprocessing. Appl Microbiol Biotechnol, 2021, 105(10): 4017-4031.
- [6] 陈畅,金文雄,戴壮强.生物化学中糖类分解代谢的教学创新.生命的化学,2021,41(9):2060-2067.  
Chen C, Jin WX, Dai ZQ. Teaching innovation of carbohydrates degradation in biochemistry course. Chem Life, 2021, 41(9): 2060-2067 (in Chinese).
- [7] Jacobson TB, Adamczyk PA, Stevenson DM, et al.  $^2\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  metabolic flux analysis elucidates *in vivo* thermodynamics of the ED pathway in *Zymomonas mobilis*. Metab Eng, 2019, 54: 301-316.
- [8] Verhees CH, Kengen SWM, Tuininga JE, et al. The unique features of glycolytic pathways in archaea. Biochem J, 2003, 375(Pt 2): 231-246.
- [9] Wang RL, Li LL, Zhang B, et al. Erratum to: improved xylose fermentation of *Kluyveromyces marxianus* at elevated temperature through construction of a xylose isomerase pathway. J Ind Microbiol Biotechnol, 2013, 40(8): 935-936.

- [10] Zhang B, Zhu YL, Zhang J, et al. Engineered *Kluyveromyces marxianus* for pyruvate production at elevated temperature with simultaneous consumption of xylose and glucose. *Bioresour Technol*, 2017, 224: 553-562.
- [11] Wisselink HW, Toirkens MJ, Del Rosario Franco Berriel M, et al. Engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for efficient anaerobic alcoholic fermentation of L-arabinose. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(15): 4881-4891.
- [12] Ichikawa M, Scott DA, Losfeld ME, et al. The metabolic origins of mannose in glycoproteins. *J Biol Chem*, 2014, 289(10): 6751-6761.
- [13] Harrison MC, LaBella AL, Hittinger CT, et al. The evolution of the GALactose utilization pathway in budding yeasts. *Trends Genet*, 2022, 38(1): 97-106.
- [14] Wang SY, Ping Q, Li YM. Comprehensively understanding metabolic pathways of protein during the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Chemosphere*, 2022, 297: 134117.
- [15] Neumann-Schaal M, Jahn D, Schmidt-Hohagen K. Metabolism the difficile way: the key to the success of the pathogen *Clostridioides difficile*. *Front Microbiol*, 2019, 10: 219.
- [16] Wei T, Fang Q, Luo J, et al. Insight into effects of long-chain fatty acids on propionic acid production in anaerobic fermentation: a case study of oleic acid and palmitic acid. *J Water Process Eng*, 2021, 44: 102415.
- [17] Li JR, Chen T, Yin J, et al. Effect of nano-magnetite on the propionic acid degradation in anaerobic digestion system with acclimated sludge. *Bioresour Technol*, 2021, 334: 125143.
- [18] 张小元, 李香真, 李家宝. 微生物互营产甲烷研究进展. *应用与环境生物学报*, 2016, 22(1): 156-166.  
Zhang XY, Li XZ, Li JB. Microbial syntrophic methanogenesis: a review. *Chin J Appl Environ Biol*, 2016, 22(1): 156-166 (in Chinese).
- [19] Kremer DR, Hansen TA. Pathway of propionate degradation in *Desulfobulbus propionicus*. *FEMS Microbiol Lett*, 1988, 49(2): 273-277.
- [20] Chatterjee S, Dutta TK. Complete degradation of butyl benzyl phthalate by a defined bacterial consortium: role of individual isolates in the assimilation pathway. *Chemosphere*, 2008, 70(5): 933-941.
- [21] Wofford NQ, Beaty PS, McInerney MJ. Preparation of cell-free extracts and the enzymes involved in fatty acid metabolism in *Syntrophomonas wolfei*. *J Bacteriol*, 1986, 167(1): 179-185.
- [22] 王新叶, 李芳香, 张依香, 等. 乳酸降解菌在白酒酿造中的研究进展. *中国酿造*, 2021, 40(6): 7-10.  
Wang XY, Li FX, Zhang YX, et al. Research progress on lactic acid-degrading bacteria in Baijiu-making process. *China Brew*, 2021, 40(6): 7-10 (in Chinese).
- [23] Schiel-Bengelsdorf B, Dürre P. Pathway engineering and synthetic biology using acetogens. *FEBS Lett*, 2012, 586(15): 2191-2198.
- [24] Jiao JY, Fu L, Hua ZS, et al. Insight into the function and evolution of the Wood-Ljungdahl pathway in actinobacteria. *ISME J*, 2021, 15(10): 3005-3018.
- [25] Zhao YQ, Xu CF, Ai SQ, et al. Biological pretreatment enhances the activity of functional microorganisms and the ability of methanogenesis during anaerobic digestion. *Bioresour Technol*, 2019, 290: 121660.
- [26] Schwörer B, Thauer RK. Activities of formylmethanofuran dehydrogenase, methylenetetrahydromethanopterin dehydrogenase, methylenetetrahydromethanopterin reductase, and heterodisulfide reductase in methanogenic bacteria. *Arch Microbiol*, 1991, 155(5): 459-465.
- [27] 方晓瑜, 李家宝, 芮俊鹏, 等. 产甲烷生化代谢途径研究进展. *应用与环境生物学报*, 2015, 21(1): 1-9.  
Fang XY, Li JB, Rui JP, et al. Research progress in biochemical pathways of methanogenesis. *Chin J Appl Environ Biol*, 2015, 21(1): 1-9 (in Chinese).
- [28] Shen L, Zhao QC, Wu XE, et al. Interspecies electron transfer in syntrophic methanogenic consortia: from cultures to bioreactors. *Renew Sustain Energy Rev*, 2016, 54(8): 1358-1367.
- [29] Rotaru AE, Shrestha PM, Liu FH, et al. Direct interspecies electron transfer between *Geobacter metallireducens* and *Methanosarcina barkeri*. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80(15): 4599-4605.
- [30] Evans PN, Boyd JA, Leu AO, et al. An evolving view of methane metabolism in the archaea. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17 (4): 219-232.
- [31] Welte C, Deppenmeier U. Bioenergetics and anaerobic respiratory chains of aceticlastic methanogens. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1837(7): 1130-1147.
- [32] Shrestha PM, Rotaru AE, Summers ZM, et al. Transcriptomic and genetic analysis of direct interspecies electron transfer. *Appl Environ Microbiol*, 2013, 79(7): 2397-2404.
- [33] Pattison P, Day R. Instruction skills workshop (ISW) handbook for participants. Vancouver: The Instruction Skills Workshop International Advisory Committee, 2006: 20-32.
- [34] Lou SJ, Dzan WY, Lee CY, et al. Learning effectiveness of applying TRIZ-integrated BOPPPS. *Int J Eng Educ*, 2014, 30(5): 1303-1312.
- [35] 陈畅. 以动带静——静态生物化学的单元化“微教学”实践. *生物工程学报*, 2022, 38(4): 1649-1661.  
Chen C. Integrating dynamic elements to static biochemistry-the practice of unitized “micro-teaching”. *Chin J Biotech*, 2022, 38(4): 1649-1661 (in Chinese).

(本文责编 陈宏宇)