

专论与综述

废水净化生物工程新进展

杨 惠 芳

(中国科学院微生物研究所)

生物工程是提高当代工业水平的一门科学技术。现代生物工程的主要内容包括：发酵工程，细胞工程，酶学工程和遗传工程等。众所周知，废水生化处理技术是生物工程中的一个领域，涉及生物工程的各方面内容。几十年来，水处理生物工程的建立，对工业发达国家的水源保护起着重大的作用，但工程运转耗资巨大。据报道^[1]，美国自 1976 年至 1986 年十年内用于城市、农业和工业污染控制的资金将达四千亿美元。英国仅 1979 年的统计，花费在排出水的处理和污染控制的费用达一亿英镑。为此，工业发达国家环境保护部门都要求环境科学工作者发展那些效率高而又费用低廉的处理技术。

英国 Cook^[2] 对生物工程在水处理中的作用作了如此的评述：“生物工程是八十年代最激动人心的提高工业水平的一门技术，生物工程在水处理方面的应用是工业发展中最明显的事例之一”。近几年来，欧美日等国在这方面进行了许多研究，取得了新的进展。

一、废水处理的生物反应器

废水处理的生物反应器主要依靠高效率混合微生物群系的代谢多样性发挥效能，这个系统可以比拟为许多极其复杂的发酵器，需要有经验的工程师和生物学家操作。从生物学的观点出发，废水处理生物反应器虽然名目繁多，但总的说来有两种：一种是依赖于混合菌种的发酵系统，在通气条件下微生

物细胞包埋在自然形成的絮状物中，废水与之混合接触，称为活性污泥法。另一种是，微生物有机体以膜的形式固定在填料表面，水以推流的方式与生物有机体接触，废水得到净化，称为生物滤池法^[3]。这两种生物反应器各有其特色。活性污泥法处理能力强，但不易管理和操作，费用大而且产生大量的剩余污泥。大型污水处理厂大都采用该法。生物膜反应器处理能力比活性污泥法低，造价较高，但管理方便，运转费用较低，剩余生物量少，适用于小型处理，欧、美等国 70% 的水处理厂采用这种系统。

环境工程学家们根据微生物降解污染物的生化机制和酶作用动力学，在工程设计方面作了大量的改进。活性污泥法的通气方式由习惯的鼓风曝气发展到表面加速曝气及射流曝气，在有条件的工厂发展纯氧曝气，为提高水中的溶解氧发展了深井曝气，管的深度达 50—100 米，直径 0.5—5 米^[4]。生物滤池方面的改进首先表现在填料革新，如塑料填料的生产^[5] 大大减轻填料的重量，滤池的高度可以增加，从低速滤池提高到高速滤池^[6]。处理负荷相应提高，各种类型的生物滤池承担 BOD 负荷，以高速滤池的负荷最高。另一种改进的反应器叫做生物转盘(RBC)反应器^[3]，这是把圆形的塑料薄板固定在一个轴上，随着轴心的转动，生长在薄板表面的生物膜与水 and 空气交换接触净化废水。英国现有 4000 个小村镇的生活污水和工业废水广

泛使用 RBC 生物反应器。目前有人认为较有前途的生物反应器是活性污泥和生物膜混合使用。在活性污泥中投加填料,发展有固定床和流化床,有通气好氧的生物反应器,亦有厌氧的固定膜生物反应器^[7,8]。有一些研究用生物滤池进行硝化作用,去除一级生物处理出水中的氨氮^[9]。美国杜邦公司采用生物化学物理联合处理废水也很有前途。如活性炭生物膜法,生物-化学法,这类混合反应器能使 COD 高的废水得到净化。

二、污染物的微生物降解

传统的水处理反应器中的微生物来源于生活污水的自然微生物,或是从别的处理系统移植过来的微生物有机体。对降解那些人工合成的有机化合物,必须经较长时间的驯化。如废水成分发生变化,还会发生故障。美国的 Cook^[12]和苏联的罗特米斯特罗夫^[10]认为,在生物处理废水工厂中,无论工程设计如何复杂多样,确定效率的因素是微生物有机体。但是大多数这方面的工作只着重工程技术,而对起主要作用的细菌,放线菌或真菌则注意不够。要从生物圈中去除由人工合成的有机污染物,就要研究降解这些物质的方法,寻找降解它们的微生物。Colwell^[11]报道,根据美国国家科学基金会公布的资料,大约有 200 多种化合物有毒性,这些化合物污染环境。于是,微生物降解污染物的研究引起了重视。开展了高效降解菌的分离和选育,污染物的生物同化和异化作用,以及辅助代谢机理,降解酶系和酶作用动力学等研究。

最近,为了弄清微生物降解污染物的范畴和适应过程,Tabak 等人^[12]对美国环境保护局列出的 114 种有机污染物的生物降解作了较全面的研究,供试的主要污染物种类有:酚、邻苯二酸酯、萘、单环芳烃、多环芳烃、卤代酯、含氮有机化合物和有机氯杀虫剂等。他们采用富集培养技术,在 5 和 10mg/l

两种浓度下静止培养,以 GC (气相色谱)、TOC (总有机碳)和 DOC (溶解性有机碳)为分析基础,结果获得 96 种化合物生物降解和驯化速度的资料,试验观察到对酚类化合物生物降解很明显,接种一星期后降解的范围平均为 60—100%,而五氯苯酚的生物降解不明显,微生物适应四星期以上 10mg/l 的五氯苯酚才能被降解掉。萘是最易生物降解的多环芳烃,在驯化过程中形成萘氧化酶,使萘氧化而去除。单环芳烃中的苯和甲苯较易生物降解,其他多环芳烃则不易被生物降解。

目前,科学工作者把注意力集中在难生物降解的人工合成的污染物上,如农药、聚氯联苯、合成聚合物和含氯化合物等。邻苯二酸酯是一种增塑剂,Taylor 等^[13]检测了密西西比河表层底泥中邻苯二酸酯的生物降解,在七种邻苯二酸酯的培养基上分离出纯的细菌,获得了生长在邻苯二酸二丁基盐和 C-邻苯二酸盐上的好氧细菌。Sugatt 等^[14]对 14 种商品邻苯二酸酯的微生物降解进行研究,选用混合菌群降解邻苯二酸酯。Caskey 等^[15]用同位素¹⁴C-乙烯乙二醇研究 Bacterium T-52 降解乙烯乙二醇,由乙烯乙二醇氧化成乙二醇和二羟醋酸盐。Crawford 等^[16]从被卤代芳烃污染的河泥中,分离到一株利用 5-氯代水杨酸盐作为碳源和能源的短芽孢杆菌 (*Bacillus brevis*) 用无细胞提取液进行试验。结果表明降解的最初阶段是由 5-氯代水杨酸 1-2 二加氧酶作用在 C₁和 C₂之间,芳香环裂解。而后 Vandenbergh 等^[17]又从处理氯代有机废料的土壤中分离到能利用各种氯代芳烃的铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) N-甲基-乙-吡咯烷酮 (NMP) 是石油产品 C₆—C₈ 的新的芳烃化合物,用气液色层分析研究 NMP 的生物降解,表明在混合菌种作用下 NMP 能被降解^[18]。农药的微生物降解已有许多研究,但在治理的实践中有些困难。最近,Matsumura 和 Murti^[19]系统地描述了

热带土壤中的微生物降解。Chakrabarty^[20]在兼性厌氧条件下研究 2, 3, 7, 8-TCDD 的生物除氯机理, 为从土壤和废料中的大幅度降低 TCDD 的毒性获得了线索。

近三、四年来, 仍然有许多关于聚氯联苯微生物降解的研究。Yagi 和 Sudo^[21]广泛地试验了各种联苯化合物的生物降解, 他们分离到的产碱杆菌 (*Alcaligenes*) 能同化联苯、联苯甲烷、联苯乙烷和联苯乙醇, 还能在 *p*-氯联苯, *o*-溴联苯、*m*-硝基联苯和联苯甲醇上中度生长。Sylvestre 等^[22-24]报道了分离降解聚氯联苯细菌的新方法, 获得一株新的兼性厌氧细菌。该菌不仅能降解 4-氯联苯 (4CB), 还能降解联苯, 3-氯联苯, 2-氯联苯和苯酸。最近, Masse 等^[25]进行了无色杆菌 (*Achromobacter* sp.) 和短芽孢杆菌 (*Bacillus brevis*) 降解 4CB 的代谢研究, 提出大部分细菌降解 4CB 的主要途径是在 2, 3 和 1, 2 位上的裂解, 通过羟化作用, 其主要代谢产物为 4-氯苯酸。

含氮有机化合物亦是一种难降解物质, McCormick^[26]研究烈性炸药三次甲基三硝胺 (RDX) 的厌氧生物代谢, 假设了 RDX 生物降解的图示, 提出 RDX 降解过程是硝基的还原作用, 在厌氧条件下进行反硝化使 RDX 降解形成联氨和甲烷混合物。偶氮染料是纺织废水中生物降解的难题, Zimmermann 和 Kulla 等^[27, 28]用恒化器适应培养技术分离到两株假单胞菌 (K22 和 KF26), 它们分别在羧基一号橙和羧基二号橙上生长, 并对降解酶的特性进行试验, 确定该细菌降解偶氮染料初期的酶为一号橙还原酶和二号橙还原酶。同位素的试验表明, 细菌降解一号橙的最初产物是对氨基苯磺酸盐, 反应的另一种产物是氨基萘酚。由此看来, 这类偶氮染料的生物降解要达到完善的程度尚待进一步研究。木质素是顽固的天然物质, 为了研究其生物降解, 许多研究者^[29-31]设法研究木质素的模式聚合物如聚邻甲氧基苯酚及其衍生物

的生物降解, 他们用担子菌降解这些模式聚合物获得成功。以上这些化合物的微生物降解研究, 将大大促进水处理生物工程的应用范围。

三、高效降解菌的应用

在研究污染物生物降解的基础上, 发展了一批高效降解菌种, 早在七十年代就有人积极把这些菌种应用于水处理生物工程中, 试图解决一些有毒废水的净化问题。日本的 Fujii 等^[32]在加拿大发表专利, 应用分解氰和腈的高效细菌, 裂腈无色杆菌 (*Achromobacter nitriloclastes*) 和粘乳产碱菌 (*Alcaligenes viscolactis*) 加到活性污泥中, 处理含氰、腈废水获得显著效果。清水达雄^[33]报道用热带假丝酵母连续处理含酚废水。日本还很注意用光合作用细菌处理农业废料和食品加工等有机物浓度高的废水。1984 年 Shalubhai^[34]使用红酵母 (*Rhodotorula* sp.) 处理石油污水, 处理结果 BOD、COD 明显降低, 各种石油馏分的降解顺序为饱和馏分 > 芳香馏分 > 沥青馏分。目前应用生物种子处理工业废水已成为改良水处理生化工程的技术之一, 通过发展专门的细菌菌种处理特殊废水可提高降解速度^[35]。这些微生物产品在欧洲已列为商品。欧洲爱尔兰国际生化试剂有限公司^[2]商品化的微生物产品应用已达六年之久, 他们用实验室选育发展起来的高效菌处理废水, 可改良生产过程, 稳定处理效果, 保证长期安全运转。欧洲国家应用这些微生物产品克服了水处理中的如下一些问题: (1) 可为某些水处理厂由于生物部分死亡或全部死亡而失效提供活的种子。(2) 有助于难降解的物质进行生物降解, 如氰化物、酚、纤维素等。(3) 在超负荷条件下提高操作效率, 并得到良好的水质。(4) 改善由丝状细菌引起的污泥膨胀问题。(5) 用改良的微生物调整工厂运转中原来的缓慢的反应速度。

爱尔兰国际生化试剂有限公司成立了子

公司——生物降解素系统 (Biolyte System), 专门出售生物降解素产品。1977 年这些产品第一次被应用, 某些工厂使用以上产品一星期后, 出水即可达到排放标准, 原来溶解氧为零的可提高到 2mg/l, 有机负荷的能力超过了 160%。

四、遗传工程在废水处理中的应用

应用分子遗传学的新理论新技术开发新的工程菌, 将会使水处理的生物工程发挥更大的效能。美国酵素公司曾用变异细菌, 制成掺合剂, 分解合成表面活性剂、卤代芳烃、酚和氰类化合物, 还可控制由丝状菌引起的污泥膨胀, 而且可使污泥不易解体以获得更高的处理效果。最近西德 Wilhelm 报道^[36] 变异微生物有助于去除工业废水中的脂肪, 尤其是使用生物降解素 MX 30 效果良好。美国专利^[37] 刊登经过化学诱变剂诱变出来的突变菌株假单胞菌和芽孢杆菌, 组成微生物混合体, 可用来作为降解工业、市政和生活污水中动植物脂肪的增效剂。美国生物学家 Chakrabarty^[38] 对假单胞菌属的许多种分解烃类化合物的质粒做了大量研究, 著名的超级菌就是在他的实验室里创造出来的。此外, 他在农药和抗汞细菌的质粒方面的研究也很有特色。他还企图用遗传工程的技术发展对贵金属铂和金等有特殊亲和力的菌种, 这对分离纯化贵金属会起重要作用。瑞士的 Kulla^[39] 在 1983 年报道在研究偶氮染料的微生物降解时, 发现假单胞菌 K46 存在质粒, 细菌细胞被诱导出二号橙偶氮还原酶, 菌株 K24 具有一号橙偶氮还原酶, 通过两个菌进行质粒接合 (Conjugation) 发展了具有两种酶的细菌细胞。由于排出水中不可能仅存在单一的污染物质, 选育多功能的工程菌对今后水处理的实践具有重要的意义。目前遗传工程菌在水处理方面的研究, 大部分还处于积累资料和实验室阶段, 但有其美好的前景。

五、酶学工程在净化污染物中的应用

近十年来国外用酶制剂净化工业废水的研究进展较快^[40-43], 工业发达的国家已应用固定化酶或固定化细胞净化食品工业和纤维造纸工业的废水。水解酶的粗酶剂比较便宜, 在工业上应用较有前途。例如应用淀粉酶降解造纸、纸浆及纺织厂含淀粉的废液, 利用嗜热细菌产生的高温淀粉酶在 120℃ 降解土豆淀粉的废料, 城市污泥中一般含有 30% 干纤维, 由绿色木霉 (*Trichoderma viride*) 产生的纤维素酶, 24 小时内可把 75% 的纤维素转化成纤维二糖。此外, 利用纤维素酶还可产生葡萄糖和乙醇等。在乳品工业废水的净化中应用固定化乳糖酶可去除乳汁和乳制品里的乳糖, 以降低废水中的 BOD。有人把硫磷水解酶固定在多孔玻璃柱上降解对硫磷农药, 去除率为 72%。许多研究还报道用含有烷基硫酸盐酶的假单胞菌的细胞去除去污剂。有一些有毒的氰化物可用固定化的硫氰酶加以去除。微生物产生的单加氧酶可去除氯仿和苯芘。氧化酶有去除正链烷的作用, 已经商品化的假单胞菌的固定化细胞可降解苯、酚、甲苯、胺和萘。

酶的另一用途是把酶固定在电极上, 制成酶电极, 检测水和空气中的污染物。例如从皮状丝孢酵母中提出的酚羟化酶, 可固定在一氧化电极周围制成酶电极检测酚。另外有用凝胶包埋的胆碱酯酶电极系统, 检测灵敏度为 0.1 ppm 的杀虫剂, 虽然这些酶电极很敏感, 但专一性不强, 如硫解酶、醇脱氢酶能用于检测低浓度 ($10^{-7}M$) 的汞、镉和铅离子。

六、废料的回收

废水中许多有机污染来源于生物制品工业的排出水, 这些行业耗水量也很大。根据英国的统计, 生物制品的排水量不低于非生物制品工业。英国生活污水的日排放量为

2000 万吨,钢厂日排放量为 1200 万吨,而牛奶、乳制品工业日排放量 1600 万吨,啤酒工业为 660 万吨。在这些食品、饮料、发酵工业的废料和排出水中有机成分很高,BOD 大于 1 万 ppm, COD 1—2 万 ppm。它们都是无毒的有机物,但治理费用相当可观。例如英国一家生产四环素的抗菌素厂,每年处理阴沟泥费用为 20—30 万英镑。目前,这些工厂要求既降低废水的排放量,又从废料中回收有价值的物质,或制作单细胞蛋白,可用作混合饲料和食品添加剂。加拿大有几个小规模工厂用废料生产特殊品种的酵母。光合作用细菌细胞含有丰富的蛋白质、胡萝卜素、生物辅助因子和维生素,也可作为良好的单细胞蛋白。印度的 Vratil 最近报道^[44-45],应用经厌氧发酵牛粪的上清液培养荚膜红假单胞菌(*Rhodopseudomonas capsulata*)一方面产生生物能源分子氢,同时获得单细胞蛋白。日本山田秀明^[46]分离到一株能在异丁腈中生长的绿针假单胞菌(*Pseudomonas Chlororaphis*),生成大量的腈水合酶,由此可催化丙烯腈合成化工原料丙烯酰胺。这对由化工废水中回收产品指出了新途径。

参 考 文 献

- [1] Wheatley, A. D. et al., *Effluent and Water Treatment Journal*, 23(8), 307—316 (1983).
- [2] Cook, J., *Water and Waste Treatment Journal*, 26(1), 24 (1983).
- [3] Leslie Grady, C. P. Jr. et al., *Biological Wastewater Treatment*, 715—750 (1980).
- [4] Hemming, M. L., *Water Pollut. Control*, 78(3), 312 (1979).
- [5] Porter, K. E. et al., *Water Pollut. Control*, 78(3), 371 (1979).
- [6] Sarner, E., *Water Research*, 15(6), 671 (1981).
- [7] David, S. H. et al., *Environ. Prog.*, 2(2), 110 (1983).
- [8] Genung, R. K. et al., In "Biotechnology in Energy Production and Conservation", C. D. Scott Ed., pp. 329—344, 1978.
- [9] Wilderer, P., *Stuttg. Ber. Siedlungs Wasserwirtschaft*, 77, 30—47 (1982).
- [10] 罗特米斯特罗夫等著,水净化微生物学,163—200 页,1978年。
- [11] Colwell, R. R. et al., In "Water Pollution Microbiology", P. Mitchell Ed., Vol. 2, pp. 111—128, 1978.
- [12] Tabak, H. H. et al., *J. Water Pollut. Control Fed.*, 53, 1503 (1981).
- [13] Taylor, B. F. et al., *Applied and Environmental Microbiology*, 42(4), 590(1981).
- [14] Sugatt, R. H. et al., *ibid.*, 47(4), 601—606 (1984).
- [15] Caskey, W. H. et al., *ibid.*, 42(1), 180 (1981).
- [16] Craford, R. L. et al., *ibid.*, 38(1), 379 (1979).
- [17] Vandenberg, P. A. et al., *ibid.*, 42(4), 737 (1981).
- [18] Chow, S. T. et al., *Water Research*, 17(1), 117(1983).
- [19] Matsumura, F. et al., *Biodegradation of Pesticides*, pp. 19—111, 1982.
- [20] Chakrabarty, A. M., In "Genetic Engineering Biotechnology Sourcebook", R. G. Pregolizzi Ed., Vol. 1, p. 1316, 1982.
- [21] Yagi, O. et al., *J. Water Poll. Contr. Fed.*, 52(5), 1035 (1980).
- [22] Sylvestre, M., *Appl. and Environ. Microbiol.*, 39, 1223 (1980).
- [23] *ibid.*, 44, 871 (1982).
- [24] Sylvestre, M. et al., *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 28, 61 (1982).
- [25] Masse, R. et al., *Appl. and Environ. Microbiol.*, 47(5), 947(1984).
- [26] McCormick, N. G. et al., *ibid.*, 42(5), 817 (1981).
- [27] Zimmermann, T. et al., *Eur. J. Biochem.*, 129, 197 (1982).
- [28] Kulla, H. G. et al., *Arch. Microbiol.*, 135, 1—7 (1983).
- [29] Crawford, R. L. et al., *Appl. and Environ. Microbiol.*, 41, 1112 (1981).
- [30] Enoki, A. et al., *Arch. Microbiol.*, 132, 123—130 (1982).
- [31] Gold, M. H. et al., *Appl. and Environ. Microbiol.*, 47(4), 597—600 (1984).
- [32] Fujii, T. Y. et al., *Canadian Patent*, 926042, 1973.
- [33] 清水达雄等,糖酵工学杂志,51,809—812,(1973).
- [34] Shalubhai, N. N. et al., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 19(6), 437 (1984).
- [35] Renzo, D. J. De et al., *Biodegradation Techniques for Industrial Organic Wastes*, pp. 87—91, Park Ridge, New Jersey, 1980.
- [36] Wilhelm, H., *Seifen. Ole. Fette, Wachse*, 109(11—12), 337—338 (1983).
- [37] Spraker, P. W., *US Patent*, 4288545, 1981.
- [38] Chakrabarty, A. M., *Industrial Research*, 18(1), 45 (1976).
- [39] Kulla, H. G., In "The Third International Symposium on Microbial Ecology Abstracts",

- p. 5, 1983.
- [40] Roberts, J. C., *Process Biochemistry*, 15(7), 6 (1980).
- [41] Kjellen, K. G. et al., *Biotech. Bioeng.*, 22, 299 (1980).
- [42] Woodward, J. et al., *Enzyme and Microbial Technology*, 4(2), 73 (1982).
- [43] Wiseman, A., In "Topic in Enzyme and Fermentation Biotechnology", A. Wiseman Ed., pp. 265—270, (1983).
- [44] Vrati, S., *Appl. Microb. Biotechnol.*, 19(3), 199 (1984).
- [45] Vrati, S. et al., *J. Ferm. Technol.*, 61, 157 (1983).
- [46] 山田秀明, 発酵と工業, 41(11), 926(1983).

亚化学计量法及其在环境分析中的应用

段 忆 翔

(长春白求恩医科大学)

1958年,日本学者铃木信男 (Suzuki, N.)^[1]首次提出亚化学计量法的基本原理,为测量痕量元素开拓了新的途径。1968年, Ruzicka 等人发表了题为“放射化学分析中的亚化学计量法”一书,1976年,作者又将这一理论系统化,并于综合分析化学丛书中总结了亚化学计量分析法的理论和应用。近年来,亚化学计量法作为一种新型分析技术发展十分迅速,目前已在 50 多种元素的痕量测定中获得应用。

亚化学计量法有很多优点,无需定量地从基体中分离出纯的待测元素,只需测量亚化学计量分离出的放射性强度即能定量地检测元素;该方法不受其它辅助化学方法精确度的影响;此法的误差主要取决于放射性计数的统计误差,其灵敏度受到示踪液放射性比度的限制。所以,只要采用具有足够高比放射性的示踪液,合适的分离方法及选择性较好的测量仪器,就可以获得较高的准确度和精密度。

亚化学计量分析法可以大体分为亚化学计量同位素稀释分析和亚化学计量活化分析两大类^[2]。常用的亚化学计量分离法有溶剂萃取;离子交换;沉淀和电化学等方法。

一、基本理论

1. 亚化学计量同位素稀释分析

把一种已知比放射性为 A/M 的放射性同位素(其放射性活度为 A ,载体量为 M)加入到含量为 M_x 的未知溶液中,从混合物中分离出一定量的元素 $m (< M + M_x)$,测量其放射性 a ,则待测元素的含量由下式决定:

$$M_x = m \cdot \frac{A}{a} - M \quad (1)$$

为了成功地用这种方法测定元素的含量,首先必须满足所加的放射性核素与待测元素达到同位素完全交换,其次是在亚化学计量条件下进行定量的、重现性好的分离。当化学反应不完全时,必须加以校正。为此, Shamaev, V 提出一项放射性计量修正方法^[3],当待测元素用含有可忽略载体量的放射性同位素作示踪剂时,则待测元素的量由下式决定

$$M_x = m \cdot A/a \quad (2)$$

如果元素和外加试剂之间的反应是以恒定的比例进行, m 可以用试剂的浓度表示

$$M_x = (m_{HA}/n) \cdot (A/a) \quad (3)$$