

## 环保与安全

## 难降解有机污染物的生物处理

李玉平 曹宏斌 张 懿

(中国科学院过程工程研究所, 北京 100080)

**摘要:** 难降解有机物对环境危害巨大, 生物技术是去除这类物质的重要途径。近年来国内外从不同角度研究了强化难降解有机物生物处理效率的方法。从自然环境中筛选分离有效菌和构建工程菌是强化生物处理的首要方法。针对目标污染物的结构性质, 以合适的共代谢基质作为诱导物, 采取共代谢的方式也可以提高难降解有机物的生物降解速率。此外, 通过优化微生物的生存环境、提高微生物耐毒能力和竞争能力等工艺研究同样能够提高生物反应速率。生物技术处理难降解有机物的发展方向趋于三方面: 高效菌种库和基因库的建设与丰富, 新型反应器与工艺的发明以及各种交叉技术的应用。

**关键词:** 难降解有机物; 生物处理; 工程菌; 共代谢基质; 生物反应器

中图分类号: X703.1; TQ209

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2004)04-0056-04

## Biological treatment of biorefractory organic pollutants

LI Yu-ping, CAO Hong-bin, ZHANG Yi

(Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

**Abstract:** Biorefractory organic pollutants (BOPs) are very harmful to environment and biological treatment is now an important way to eliminate BOPs despite their resistance to biodegradation. Addition of highly effective degrading strains isolated from natural environment and engineering microorganism is the preferred way to promote biodegradation. According to the structure of BOPs, cometabolic substrate that can induce the microbial cometabolism is added to the bio-reactor to improve the biodegradation efficiency. Furthermore, novel biological processes are developed to accelerate the removal of BOPs by a few methods, such as optimization of the environment for culture degradation, improvement of the tolerance of microorganism to the toxicity of BOPs, and increase the concentration of degrading culture, etc. It is showed that the development trend is as follows, construction and enlargement of highly effective degrading strains library and gene library, development of more advanced biological processes, and combination of different techniques.

**Key words:** biorefractory organic pollutant; biological treatment; engineering microorganism; cometabolic substrate; biological reactor

难降解有机污染物主要来自农药、石化、印染、制药、塑料橡胶等行业, 包括酚类、卤代有机物、多环芳香族、硝基化合物、某些元素化合物(如有机磷、有机汞等)、硫醚、砒类、某些杂环化合物、含双键三键或叔季碳原子碳架化合物等<sup>[1]</sup>。这类有机物大都由人工合成, 多不能被微生物的酶系统识别, 且对微生物有抑制作用, 常规生物方法处理难以奏效。同时这类有机物一般具有致畸、致突变、致癌作用, 危害极大。因此, 难降解有机污染物的处理研究一直是环保领域中的热点和难点。

难降解有机污染物的处理方法主要有物化处理和生物处理。物化处理一般具有处理成本高、矿化不完全、易产生二次污染等缺点, 故常用于生物处理

的预处理, 以提高可生化性, 或用于某些特殊场合(如高浓度有机物处理、低浓度有机废水的深度处理、有价有机物料回收等)。生物处理投资小, 处理成本较低, 矿化完全, 同时亦是自然环境中消除污染物的最终机制, 因此难降解有机物生物处理的研究日益受到关注。对于难生物降解有机物, 传统生物处理工艺不能有效维持连续的驯化培养物, 冲击负荷大, 特别是其中的有毒有害组分降解困难。于是, 人们试图通过对代谢菌种改良和反应工艺改进与优化来提高难生物降解有机废水的降解效率。

## 1 投加有效降解微生物

有效菌株的获得主要来自两个方面, 其一是从

收稿日期: 2003-12-01; 修回日期: 2004-02-20

作者简介: 李玉平(1975-), 男, 博士生; 张懿(1939-), 女, 中国工程院院士, 研究员, 博士生导师, 主要从事绿色过程工程领域的研究, 通讯联系人, 010-82610244, yizh@home.ipe.ac.cn。

污染现场或处理设施中筛选分离得到,其二是构建工程菌。

### 1.1 筛选分离有效降解微生物

通过污染现场分离,研究人员得到了不少难降解有机物的高效降解微生物,表1是一些典型难降解有机物的有效菌。值得关注的是,白腐真菌对降解底物的非专一性,使得其能降解多种复杂有机物,由于其细胞外降解特性而能承受高浓度的有毒有机物,从而对有毒有机物降解具有很大优势。为了减少分离筛选菌种方面的低水平重复,研究人员开始建设高效降解菌株库,构建系统进化树,从分子生物学水平探讨降解代谢途径的起源与进化,极大地丰富了微生物资源,并促进了微生物资源的利用。

表1 一些典型难降解化合物的降解微生物

| 目标污染物      | 微生物   | 好氧/<br>厌氧 | 参考<br>文献 |
|------------|---|-----------|----------|
| 1,4-二氧杂氧乙烷 | <i>Amycolata</i> sp. CB1190                                 | 好氧        | [2]      |
| 硝基苯类化合物    | <i>Desulfotribrio</i> sp. B,                                | 厌氧        | [3]      |
|            | <i>Bacteroides distasonis</i> 和 <i>Bacteroides merdae</i> , | 厌氧        | [4]      |
|            | <i>Bacillus subtilis</i>                                    | 好氧        | [5]      |
| 苯胺         | <i>Pseudomonas</i> sp. K1,                                  | 好氧        | [6]      |
|            | <i>Comamonas acidovorans</i> sp. AN3                        | 好氧        | [7]      |
| 氯苯         | <i>Pseudomonas</i> sp. 和 <i>Bacillus</i> sp.                | 好氧        | [8]      |
| 有机氯农药      | <i>Ralstonia eutropha</i> sp. A5                            | 好氧        | [9]      |
| 多氯联苯       | <i>Desulfotribacterium dehalogenans</i>                     | 厌氧        | [10]     |
|            | <i>Burkholderia</i> sp. 和 <i>Comamonas testosteroni</i>     | 好氧        | [11]     |
| 多环芳烃       | 白腐真菌 <i>Trametes trogii</i> BAFC 463                        | 好氧        | [12]     |

微生物降解有机物的代谢途径也是人们的研究重点。Haigler 等研究了假单胞菌 4NT 降解 4-硝基甲苯的降解机理,发现苯环上的硝基经硝基还原酶作用还原为羟氨基,随后羟氨基水解脱氨基,形成相应的甲基邻苯二酚,然后开环降解<sup>[13]</sup>。高效微生物应用于实际生物处理系统中也有很好的表现。如 Galli 等筛选出 10 种能降解二氯甲烷的菌种,分解能力可达 0.8 g/(L·h),应用于流化床生物反应器,二氯甲烷分解能力可提高至 1.6 g/(L·h)<sup>[14]</sup>。尽管如此,高效降解微生物在实际废水的生物处理系统能否长期有效发挥作用,尚有不少问题需考虑。如降解菌在废水复杂的生态系统能否优势生长,系统能否增殖维持相当数量的目标污染物驯化培养物等。

### 1.2 构建工程菌

尽管自然界可以进化出能降解某些难降解有机物的微生物,但这种自然进化十分缓慢,远不能满足生物处理的需要,故构建高效工程菌日益受到人们重视。目前研究最多的是质粒转移、原生质融合和基因重组等。

许多难降解有机物特别是卤代芳香化合物的降解基因多位于质粒上,质粒不依赖于寄主染色体而能自主复制,可带着终端重复的 DNA 转移。将不同降解性质的质粒转移到一个受体细胞,能构建不同降解特性的高效工程菌。如 Haugland 等将能降解 2,4-二氯苯氧乙酸的 *Alcaligenes eutrophus* 质粒 JMP134 转移到 *Pseudomonas putida* AC1100(该菌株能降解 2,4,5-三氯苯氧乙酸)中,构建了工程菌 RJH1,能同时降解 2,4-二氯苯氧乙酸和 2,4,5-三氯苯氧乙酸<sup>[15]</sup>。原生质融合技术由于具有遗传物质传递完整、育种效率高、定向性好和致育性限制小等优点,已为环保工作者所关注。如 Kröckel 等将 *Pseudomonas alcaligenes* CO(该菌株能降解苯甲酸酯和 3-氯苯甲酸酯,但不能利用 1,4-二氯苯甲酸酯和甲苯)和 *Pseudomonas putida* .R5-3(该菌株能降解甲苯和苯甲酸酯,但不能利用 1,4-二氯苯甲酸酯和 3-氯苯甲酸酯)进行原生质融合,得到能降解 4 种污染物的融合体工程菌 CB1-9,且产生了双亲所没有的新性状(能降解 1,4-二氯苯甲酸酯)<sup>[16]</sup>。

利用分子生物学进行基因重组育种,打破物种界限,加快变异速度,已成为构建基因菌的新途径。例如 Liaw 等将能降解二苯醚的 *Erwina* sp. 的 DNA 进行消化,得到一段 2.1 kb 的 DNA 片段,接入质粒 PUC19,转入大肠杆菌表达,使之获得了降解二苯醚的能力<sup>[17]</sup>。随着基因重组技术的成熟,各种降解特性的基因库的构建日益引起关注,也极大加速了工程菌的有效构建。

工程菌的实际应用研究也是国内外的研究重点。Satoshi Soda 等将工程菌 *Pseudomonas putida* BH 接种于序批式反应器(SBR)系统中处理酚,大大提高了酚的去除率,污泥的沉降性能改善,工程菌的接种同时抑制了野生菌种的增殖<sup>[18]</sup>。但是,工程菌应用于环境领域尚有不少问题有待解决。如某些质粒的不相容性使降解性状不一定被转移,原生质融合技术可能使酶活性下降,种的壁垒使得外源降解基因表达能力逐渐下降甚至丧失等。更为重要的是,工程菌的安全性需要详细评估,例如某些降解纤维素的工程菌可能对与纤维素有关的行业造成毁灭性

的打击。

## 2 投加生长基质和诱导基质,促进共代谢

大部分难降解有机物不能被微生物直接利用作为生长基质,但可以通过共代谢途径进行降解。在微生物共代谢反应中产生的既能代谢转化生长基质又能代谢转化目标污染物的非专一性的酶,是微生物共代谢反应发生的关键。

投加生长基质为微生物的生长提供直接碳源与能量,投加诱导基质能诱导微生物产生能降解目标污染物的非专一酶,从而使难降解有机物得到降解。不同的目标污染物需要不同的诱导物,一般常用降解中间产物或与目标污染物结构部分类似的较易降解有机物作为诱导基质,在实际应用中常加入易降解有机废水(如生活废水和食品废水等)作为生长基质来提高共代谢降解效果。如 Ryding 等分别用葡萄糖、甲烷、酚和甲苯作单一碳源富集、驯化好氧培养物,用于氯酚的生物转化<sup>[19]</sup>。研究发现,用甲苯富集并驯化的培养物能降解五氯酚和 2,4,6-三氯苯酚,而用葡萄糖、甲烷或酚富集并驯化的培养物对它们表现出很低甚至没有活性,用酚和甲苯混合物富集的培养物能迅速降解 2,4-二氯酚,却不能降解 2,6-二氯酚或 2,4,5-三氯酚。

## 3 生物处理工艺的改进和新技术的使用

研究主要集中在现有工艺的改进和新生物反应器的开发,提高传质效率和难降解有机物的处理效率。

### 3.1 厌氧预处理工艺

厌氧微生物能降解许多有害化合物,进行一些好氧条件难以进行的特殊脱毒反应,如卤代脂肪烃芳烃的脱卤还原、硝基化合物的硝基转化和开环的还原作用等。所以,经过厌氧酸化预处理后,可以改变难降解有机物的结构,提高其可生化性,为好氧处理创造了有利条件。研究得较多的厌氧工艺有上流式厌氧污泥床(UASB)和折流式厌氧反应器(ABR)。

UASB 作为高效厌氧处理技术,近年来得到广泛应用。污泥床层形成的大量厌氧颗粒不仅活性高,沉降性能好,而且抗毒性比絮状消化污泥高,分解中间产物的扩散距离缩短,非常有利于难降解有机物的分解。如 Sponza 用葡萄糖作为共基质,使用 UASB 处理四氯乙烯(TCE)废水,TCE 和 COD 去除率分别高达 92% 和 88%<sup>[20]</sup>。

ABR 是在 UASB 基础上开发出的一种新型高效

厌氧反应器,具有结构简单、运行稳定、抗冲击负荷能力强和处理效率高等一系列优点。ABR 水力条件好,生物固体截留稳定,厌氧颗粒形成速度快,有利于维持世代周期长的降解驯化物,对难降解有机物的分解非常有利。鞠宇平等使用 ABR-SBR 处理泳涂膜废水,废水经过 ABR 厌氧水解 5 h 后,BOD/COD 比提高了 0.17,为后续 SBR 反应提供了良好的可生化基础,总 COD 去除率高达 92% 以上<sup>[21]</sup>。

### 3.2 序批式反应器

序批式反应器(SBR)利用高的循环率有效稀释进液中高浓度的难降解的或对微生物有抑制作用的有机化合物,加之水力停留时间很长和周期操作特点,有利于难降解有机物的驯化培养物的存活与增殖。SBR 能灵活实现厌氧、好氧条件的任意组合,有利于难降解有机物的去除。如 Shaw 等利用 SBR 厌氧-好氧工艺处理印染废水,脱色率和染料降解率均在 90% 以上<sup>[22]</sup>。

### 3.3 高效生物膜反应器

常见的高效生物膜反应器有固定床生物膜反应器(曝气生物滤池或塔)和流化床生物膜反应器。

曝气生物滤池(BAF)集曝气、高滤速、截留悬浮物、定期反冲洗等特点于一体,污染物去除机理主要有过滤、吸附和生物代谢,应用于难降解有机物处理较为广泛。Won-Seok Chang 等分别以天然沸石和沙砾作填料,使用下向流 BAF 处理纺织工业废水<sup>[23]</sup>。研究表明,有机负荷在 1.2 ~ 3.3 kg/(m<sup>3</sup>·d) 间变动时,沸石与沙砾填料 BAF 的 COD 去除率分别高达 88% 和 75%。

流化床由于载体处于流态化状态,故传质效率高,处理效果好,床内生物量高而容积负荷大,用于难降解有机废水处理已为研究者所青睐。Maloney 等用颗粒活性炭厌氧流化床处理炸药废水,乙醇作为供电子体,2,4,6-三硝基甲苯(TNT)转化成了三氨基甲苯,环三甲烯三硝胺(RDX)通过转化为羟氨基二亚硝基-RDX 后开环形成乙醇和甲醛,TNT 和 RDX 均降低到无法检测出的水平<sup>[24]</sup>。Puhakka 等运用三相流化床处理含氯酚废水,在进料质量浓度为 20 mg/L(以总有机碳计)时,三氯酚几乎 100% 降解,出水三氯苯酚的质量浓度 < 0.1 mg/L<sup>[25]</sup>。

### 3.4 膜-生物反应器

膜-生物反应器(MBR)是利用膜分离技术与生物技术相结合的反应器。由于实现了泥龄与水力停留时间的分离,操作简单,易控制污泥的停留时间,有利于难降解有机物培养物的驯化培养;膜截留使

得世代期较长的微生物得以增殖和维持,有利于难降解有机物的降解。MBR应用于难降解废水的研究很多。如沈树宝用自制仿生膜生物反应器处理高浓度难降解农药废水进行了7个多月的试验,当进水 COD<sub>Cr</sub> 为 650 mg/L 时,出水 COD<sub>Cr</sub> 为 100 mg/L, COD<sub>Cr</sub> 去除率为 80% 以上,出水浊度小于 10 度, CN<sup>-</sup> 小于 0.5 mg/L<sup>[26]</sup>。MBR 目前还存在膜易堵塞、能耗高和膜成本高等缺点,限制了实际应用。

### 3.5 固定化生物催化剂

固定化生物催化剂是使用物理或化学方法将酶、微生物细胞、细胞器等限制或定位在某特定范围内,并保留了其活性。固定方式分为物理分隔法和结合法。固定化生物催化剂用于废水处理有以下优点:处理效率高,操作稳定,产污泥量少,固液分离简单,耐有毒物质能力强。Wiesel 等利用固定化混合菌群降解多环芳烃,结果表明,固定化细胞能利用这些物质进行生长并使之完全降解,固定化细胞分别培养 1、2、15 天后,酚、萘、菲均能被彻底降解,与游离细胞相比,固定化细胞生长稳定,具有较强的降解能力<sup>[27]</sup>。

## 4 结论与展望

目前国内外在生物法处理难降解有机物的研究方面已经取得显著成果,不少已经投入实际应用。但是还有不少问题需要解决,研究趋于以下几个方向:

(1) 高效菌种库和基因库的建设与丰富。高效菌种库的建立有利于菌种的实际应用,也能减少低水平的重复研究。高效表达的基因库建设,能极大加速工程菌的构建与实际应用。

(2) 加强现有生物反应器的结构与性能研究,并进行改良,或者发明新型反应器与工艺,使其更有利于难降解有机物的生物降解。如从 UASB 基础上发展起来的膨胀颗粒污泥厌氧床(EGSB)和内循环厌氧反应器(IC),污泥颗粒厌氧 SBR,多段 SBR 或流化床,周期性折流式厌氧反应器(PABR),SBR 基础上发展起来的间歇循环延时曝气活性污泥(ICESS)和循环式活性污泥法(CASS),电生物反应器等。

(3) 各种技术与工艺的联合与交叉。交叉技术与联合工艺研究逐渐成为研究热点,例如固定化高效菌与流化床的结合,厌氧膜-生物反应器的应用,ABR-SBR 或 UASB-BAF 各种工艺联用技术,高效菌颗粒化 UASB 或 ABR 的应用,其他物化工艺与生物

法的联合等。

### 参考文献

- [1] 钱易,汤鸿霄,文湘华,等.水体颗粒物和难降解有机物的特性与控制技术原理(下卷:难降解有机物)[M].北京:中国环境科学出版社,2000.
- [2] Parales R E, Adamus J E, White N, *et al.* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60(12):4527 - 4530.
- [3] Boopathy R, Kulpa C F. [J]. *Current Microbiology*, 1992, 25(4):235 - 241.
- [4] 李湛江,韦朝海,任源,等. [J]. *环境科学*, 1999, 20(9):23 - 24.
- [5] 侯轶,任源,韦朝海. [J]. *环境科学研究*, 1999, 12(6):25 - 27.
- [6] Konopka A, Knight D, Turco R F. [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1989, 55(2):385 - 389.
- [7] 刘志培,杨惠芳,周培瑾. [J]. *应用与环境生物学报*, 1999, 5(2):185 - 189.
- [8] 王战勇,苏婷婷,张洪林. [J]. *抚顺石油学院学报*, 2002, 22(4):20 - 22.
- [9] Hay A G, Focht D D. [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 31(3):249 - 253.
- [10] Wiegel Juergen, Zhang Xiaoming, Wu Qingzhong. [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(5):2217 - 2221.
- [11] Francova K, Mackova M, Macek T, *et al.* [J]. *Environmental Pollution*, 2004, 127(1):41 - 48.
- [12] Levin L, Viale A, Forchiassin A. [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2003, 52(1):1 - 5.
- [13] Haigler B E, Spain J C. [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59(7):2239 - 2243.
- [14] Gälli R, Leisinger T. [J]. *Conservation & Recycling*, 1985, 8(1 - 2):91 - 100.
- [15] Haugland R A, Schlemm D J, Lyons R P, *et al.* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56(5):1357 - 1362.
- [16] Kröckel L, Focht D D. [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1987, 53(10):2470 - 2475.
- [17] Liaw H J, Srinivasan V R. [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1989, 55(9):2220 - 2225.
- [18] Soda Satoshi, Ike Michihiko, Fujita Masanori. [J]. *J Ferment and Bioeng (Changed to J Biosci and Bioeng)*, 1998, 86(1):90 - 96.
- [19] Ryding J M, Puhakka J A, Strand S E, *et al.* [J]. *Wat Res*, 1994, 28(9):1897 - 1906.
- [20] Sponza D T. [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2001, 29(6 - 7):417 - 427.
- [21] 鞠宇平,张林生. [J]. *中国给水排水*, 2003, 19(2):51 - 52.
- [22] Shaw C B, Carliell C M, Wheatley A D. [J]. *Wat Res*, 2002, 36(8):1993 - 2001.
- [23] Chang Won-Seok, Hong Seok-Won, Park Joonkyu. [J]. *Process Biochem*, 2002, 37(7):693 - 698.
- [24] Maloney S W, Adrian N R, Hickey R F, *et al.* [J]. *J Hazardous Materials*, 2002, 92(1):77 - 88.
- [25] Puhakka J A, Järvinen K. [J]. *Wat Res*, 1992, 26(6):765 - 770.
- [26] 沈树宝,陈英文,夏明芳,等. [J]. *工业水处理*, 2003, 23(3):40 - 43.
- [27] Wiesel I, Wübker S M, Rehm H J. [J]. *Appl Microbiol Biotech*, 1993, 39(1):110 - 116. ■