

## 废水生物处理过程对微生物胞内 PHA 的影响

陈银广 杨海真 顾国维

(同济大学环境工程学院, 上海, 200092)

**提 要** 微生物合成的聚- $\beta$ -羟基烷酸酯 (PHA) 作为一种生物可降解高分子, 不仅具有广阔的应用前景, 而且在废水生物处理领域具有很高的研究价值。本文首先对微生物利用废水合成 PHA 的代谢机理作了分析, 然后分别介绍了与 PHA 有关的两种不同的废水生物处理工艺及其关键影响因素, 并对国内外在此领域的研究进展作了论述。

**关键词** 聚- $\beta$ -羟基烷酸酯, 废水, 生物处理

科学技术的进步促进了工业的迅速发展, 使得人们的生活水平进一步提高。但同时也出现了人类自己所造成的各类环境污染, 其中有机废水污染是很重要的一个方面。为了解决废水污染问题, 并且为了避免产生二次污染, 世界各国兴起了生物处理有机废水的研究, 而且已经取得了令人瞩目的成效。

研究表明<sup>[1~3]</sup>, 生物法处理有机废水时, 一定条件下微生物能在胞内积累聚- $\beta$ -羟基烷酸酯 (简称 PHA), 并以积累聚- $\beta$ -羟基丁酸酯 (PHB) 及其与聚- $\beta$ -羟基戊酸酯 (PHV) 的共聚酯, 即聚- $\beta$ -羟基丁酸戊酸酯 (PHBV) 被研究得较多。

PHA 是微生物在不平衡生长条件下产生的作为碳源与能源的储藏物, 其优良的生物降解性、生物相容性及能利用再生资源进行生物合成等特性, 特别是具有与化学合成塑料聚丙烯相似的性质, 而使人们对于 PHA 的研究产生了极大的兴趣。这些研究主要包括, PHA 的合成工艺、提取及应用<sup>[4~8]</sup>等, 特别是研究如何利用廉价原料以降低生产成本及研究其对废水除磷脱氮工艺的影响。PHA 在有机废水处理过程中, 既可大量积累, 又被认为是微生物胞内的一种“能量转换器”。

### 1 微生物利用废水合成 PHA 的机理

废水虽然是一种环境污染物, 但其中存在一些能够被微生物利用并合成对人类有用的物质 (例如 PHA)。微生物利用这些物质合成 PHA 通常经历两个过程, 即先在厌氧条件下将废水中的一些物质转

变成小分子有机酸, 然后由一些微生物 (例如真养产碱杆菌等) 在某些营养物质 (例如氮、磷或氧源) 受限制时, 利用这些有机酸在胞内积累 PHA 作为碳源及能源的储存物<sup>[9,10]</sup>。

#### 1.1 废水的厌氧酸化

废水中的复杂有机物经过水解或细菌的作用, 首先变为较简单的小分子, 如单糖、脂肪酸及氨基酸等。单糖 (以葡萄糖为例) 进一步降解的途径有多种, 但最重要的是 EMP 和 HMP 途径。EMP 途径中, 葡萄糖经磷酸化生成 1,6-二磷酸果糖, 进一步分解生成丙酮酸。这些反应都发生在细胞质中, 与环境的氧的供应状况无关。然而, 丙酮酸进一步代谢的途径却与环境是否供氧有关。对于厌氧过程, EMP 途径中产生的  $\text{NADH}_2$  将 H 转交给不同的有机物, 就形成不同的代谢产物。

乙酸: 丙酮酸经丙酮酸脱羧酶、焦磷酸硫胺素等的作用生成乙醛, 两分子乙醛分别在乙醇脱氢酶、乙醛脱氢酶作用下经氧化还原反应生成乙酸和乙醇; 或者由丙酮酸在酶系的作用下生成乙酰辅酶 A, 再转变成乙酸。另外, 葡萄糖经 HMP 途径生成的 5-磷酸核糖能异构为 5-磷酸木酮糖, 它在磷酸解酮酶作用下的裂解产物为 3-磷酸甘油醛和乙酰磷酸, 后者在乙酸激酶的作用下也能生成乙酸。

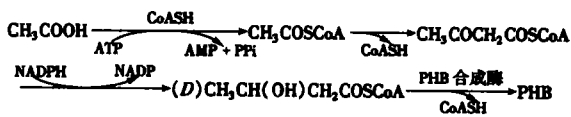
乳酸: 葡萄糖经 EMP 途径产生的丙酮酸如果作为受氢体, 则形成乳酸。除此之外, 葡萄糖经 HMP 途径生成的 3-磷酸甘油醛, 经 EMP 途径也能形成丙酮酸, 从而产生乳酸。

丁酸：EMP 途径产生的丙酮酸在酶的作用下能转化为乙酰辅酶 A，2 分子乙酰辅酶 A 经乙酰乙酰辅酶 A 硫解酶催化生成乙酰乙酰辅酶 A，它被  $\text{NADH}_2$  还原成  $\beta$ -羟基丁酰辅酶 A，脱水后生成丁烯酰辅酶 A，再经还原成丁酰辅酶 A，其水解后产生丁酸。

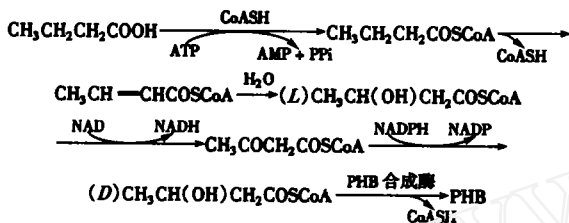
由于厌氧污泥中存在大量的微生物，因此控制不同的酸化条件，可以使不同的有机酸成为主要酸化产物。

## 1.2 PHA 在微生物胞内的合成

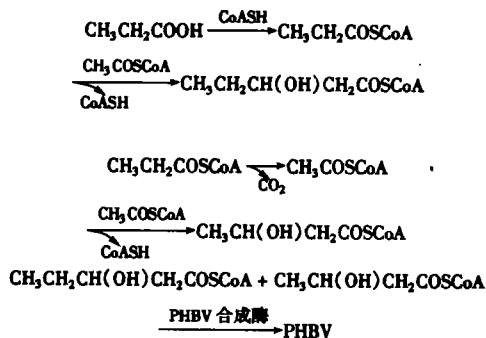
Y Doi 等<sup>[11]</sup>用同位素方法研究了 *A. eutrophus* 分别以乙酸和丁酸为碳源时的 PHA 生物合成途径。其中由乙酸合成 PHB 的代谢途径为：



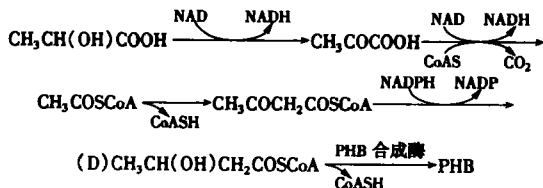
以丁酸为碳源合成 PHB 的途径为：



*A. eutrophus* 以丙酸为碳源合成 PHBV 的途径为：



尽管还没有发现有关以乳酸为碳源合成 PHB 代谢途径的报道，但研究结果表明，它也能合成 PHB<sup>[10]</sup>，因此推测可能是按以下途径合成的。



值得一提的是，酸化时产生的其他较长碳链的有机酸，在微生物酶系的作用下，也能合成 PHB (V) 或具有中等链 HA 单位的 PHA。例如，铜绿假单胞菌用葡萄糖酸培养时，合成以 3-羟基癸酸为主、3-羟基十二酸和 3-羟基辛酸为副的共聚酯。可见，酸化产物直接影响 PHA 的组成。

## 2 与 PHA 有关的两种典型的废水生物处理工艺

目前人们研究得较多的与 PHA 有关的废水生物处理工艺主要有两个，一是以有机废水为主要原料大量合成 PHA，另一是废水的生物除磷脱氮工艺。

### 2.1 以生产 PHA 为目的的有机废水的生物处理

如果先将有机废水在酸化反应器（例如 UASB）中厌氧酸化，然后将菌种接入经灭菌的酸化废水中培养一段时间，可获得较高 PHA 含量的菌体，再通过一定的分离、纯化的方法，就能得到较高纯度的 PHA 产品。这样不但达到了减少废水污染的目的，而且能获得具有较高利用价值的产品。

在这种工艺中，PHA 之所以能够大量积累（有时细胞内 PHA 的质量分数可达 60% 以上），是因为在 PHA 合成时的碳源充足，而氮、磷或氧源受限制。

由前面的机理分析可知，不同的酸化产物对 PHA 的合成有影响。因此，控制适当的酸化条件是很重要的。金大勇等<sup>[12]</sup>对真养产碱杆菌利用不同的有机酸合成 PHA 进行了比较研究（结果见表 1）。显然，以不同的有机酸为碳源时，真养产碱杆菌的生长和积累 PHA 的情况相差较大，其中以丁酸为碳源的结果最好。可见，如果使用这种工艺合成 PHA，则应控制厌氧酸化的条件，使丁酸为主要酸化产物。

表 1 真养产碱杆菌利用不同有机酸合成 PHA 的比较

| 有机酸 | PHA 质量<br>浓度/g·L <sup>-1</sup> | 干细胞质量<br>浓度/g·L <sup>-1</sup> | PHA 质量<br>分数/% |
|-----|--------------------------------|-------------------------------|----------------|
| 乙酸  | 2.1                            | 6.5                           | 32.3           |
| 丙酸  | 4.3                            | 8.9                           | 48.3           |
| 乳酸  | 5.2                            | 9.7                           | 53.6           |
| 丁酸  | 10.2                           | 14.8                          | 68.9           |

### 2.2 以 PHA 作为能量转换器的废水生物除磷

在废水除磷脱氮过程中，普遍认为，厌氧条件下，产酸菌使进水中的快速 COD 有机物发酵产生低分子有机物（如各种有机酸），聚磷菌在厌氧时

通过分解体内的聚磷酸盐产生能量 (ATP) 以维持其代谢及供给利用发酵产生的快速 COD 合成 PHB 所需的能量; 在好氧条件下, 聚磷菌利用胞内的 PHB 和胞外的快速 COD 产生能量, 以供给将胞外的磷吸收到胞内转化为聚磷所需的能量。由于交替进行厌氧和好氧的过程, 因而可以同时达到降低废水 COD 及除磷的目的。显然, PHB 在这种工艺中是很难大量积累的。

前人通过大量的实验研究后发现, 厌氧阶段合成的 PHB 越多, 好氧时的聚磷菌吸收磷就越多, 除磷效果越好。文献<sup>[13]</sup>报道了 PHB 与吸磷之间存在一定的比例关系, 如图 1 所示。

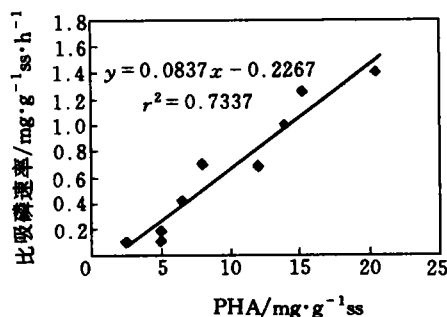


图 1 PHA 与比吸磷速率之间的关系

可见, 如何控制厌氧条件, 使其产生更多的快速 COD 或低分子的有机酸, 对于磷的去除十分重要。他们考察了污泥停留时间对 PHA 合成的影响, 结果表明, 当停留时间为 5d 时, 几乎不发生磷的吸收。这说明, 过短的停留时间, 由于没有能合成 PHA, 因而好氧时聚磷菌吸收磷所需的能量无法得到供应。Engeler 等<sup>[14]</sup>的研究表明, 厌氧阶段的时间和温度对低分子有机酸的生成有一定的影响。当发酵产物是乙酸、丙酸时, 因它们很易被用于合成 PHB, 因而好氧段的磷吸收速率很快。

然而, 关于 PHA 在除磷脱氮工艺中所发生的合成与降解这种现象, 几乎都是将其看成是一种能量转换器, 几乎很少从代谢机理方面加以说明。作者认为, PHA 的合成与分解是同时存在的。通过对不同细菌参与 PHA 代谢的酶系的研究, 发现它们很相似。图 2 给出了以乙酸为碳源的 PHB 合成与分解的代谢途径。

当微生物处于平衡生长时, 即 C、O、N 及 P 源等供应充足时, 细胞进行正常的代谢, 乙酰辅酶 A 进入正常的 TCA (三羧酸) 循环, PHB 积累受阻; 当碳 (能) 源充分, 而氧或氮或磷源供应不足

时, NADPH 积累, 抑制了柠檬酸合成酶, TCA 循环受阻, 乙酰辅酶 A 浓度升高; 同时, 高的 NADPH 浓度也抑制了 PHB 降解酶的活力, 使得 PHB 能在体内不断积累。

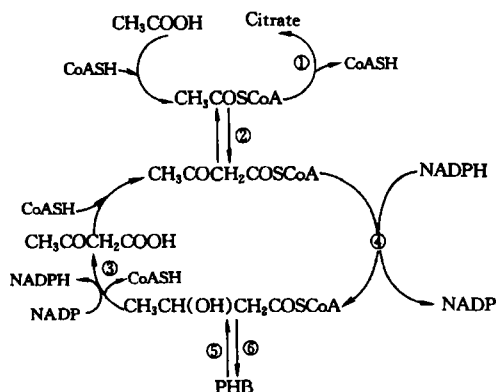


图 2 PHB 合成与分解的代谢途径

柠檬酸合成酶; ②  $\beta$ -酮硫解酶; ③ 3-羟基丁酸脱氢酶; 乙酰乙酰辅酶 A 还原酶; ⑤ PHB 降解酶; ⑥ PHB 合成酶

这就是说, PHB (对于其他的 PHA 也是如此) 的积累似乎并不一定要以释放磷作为前提, 磷的过量吸收也不一定要以分解 PHB (或其他的 PHA) 为条件。因此, 为了阐明除磷脱氮工艺中出现的磷的积累 (释放) 与 PHA 的降解 (积累) 之间的关系, 有必要更深入地进行机理方面的研究。

### 3 参考文献

- Nichols H A, Osborn D W. J WPCF, 1979 (3): 557 ~ 569
- Mino T, Satoh H, Matzuo T. Water Sci Tech, 1994, 29(7): 67 ~ 70
- Samuel T, Jiany. Resources Conservation and Recycling, 1997, 19: 157 ~ 164
- 堵国成, 陈坚, 陈银广等. 生物工程学报, 1998, 14(2): 187 ~ 192
- Yinguan Chen, Jian Chen, Shiyi Lun, et al. Process Biochemistry, 1999, 34 (2): 153 ~ 157
- 陈银广, 陈坚, 堵国成, 伦世仪. 化工进展, 1998, 17(1): 41 ~ 45
- 陈银广, 陈坚, 余彩荣等. 高校化学工程学报, 1999, 13 (1): 182 ~ 185
- 陈银广, 陈坚, 王朝晖等. 高校化学工程学报, 1999, 13 (2): 129 ~ 134
- Akiyama M, Taima Y, Doi Y. Appl Microbiol Biotechnol, 1992, 37: 698 ~ 701
- Linko S, Vaheri H, Seppala J. Enzyme microbiol. Technol., 1993 (1): 401 ~ 406
- Doi Y, Tamaki A, Kunioka M, et al. Microbiol Biotechnol, 1988, 28: 330 ~ 334
- 金大勇, 陈坚, 伦世仪. 应用与环境生物学报, 1999, 5 (2): 199 ~ 202

- 13 Chuang S H, Ouyang C F, Yang H. C et al. Wat Sci Tech, 1998, 38 (1): 107 ~ 114
- 14 Engeler S M, Udert K M, Wild D, et al. Wat Sci Tech, 1998, 38 (1): 265 ~ 273

陈银广 男, 30岁, 化学工程硕士, 生化工程博士, 现从事博士后研究工作。

收稿日期: 1999-12-02

中图法分类号: X78

## Effects of Biological Treatment Process of Waste Water on Microorganism Intracellular PHA

Chen Yinguang, Yang Haizhen, Gu Guowei

(School of Environmental Engineering, Tongji University, Shanghai 200092)

**Abstract** As a biodegradable macromolecule, the biosynthesized PHA not only has extensive application, but also plays an important role in the field of biological treatment of waste water. In this paper, the mechanisms of microorganism using wastewater to produce PHA are analyzed, two wastewater biological treatment processes concerning PHA are introduced, and their key influencing factors and advances are discussed.

**Keywords** polyhydroxyalkanoates, waste water, biological treatment

### ·国内化工信息·

#### 业者分析未来塑料原材料开发方向

业内人士分析, 未来塑料工业原料结构没有更大变化, 但在质量方面将有较大提高, 功能性塑料、高性能复合材料均以年均 10% 以上的速度持续发展。

ABS 通过基础和应用研究两方面努力, 生产和加工技术获得进一步提高和完善, 同时产品性能改进和系列化功能方面也取得更大的进展。由于投资少、成本低, 不但能满足市场发展需要, 而且可为塑料加工提供更多的原料选择。层状分散型塑料合金为特殊性能的塑料合金, 包括永久抗静电、阻燃、生化医疗等特性, 将进一步满足包装、建材、电子电气、医疗卫生等产业高新技术的需要。据预测, 2000 年后上述领域 90% 以上将使用 ABS 材料。

液晶高分子作为塑料增强剂可实现原位复合, 能够显著提高塑料的模量、强度和耐热性, 将为改性塑料提高性能带来新的飞跃。

特种功能塑料如导电塑料、超导塑料、导磁塑料、光敏塑料、导热塑料、记忆性塑料以及功能薄膜如电渗析膜、微孔过滤膜、气体分离膜、超过滤膜、血液透析膜、逆渗透膜, 在 21 世纪将迅速进入市场, 更好满足特殊要求。

电子束辐射技术在聚合物改性中无需催化剂, 能耗低, 生产效率高, 环境污染轻, 产品性能优异, 也将获得越来越广泛的应用。

茂金属催化剂在合成高性能聚烯烃的生产和应用中技术更趋成熟, 可为包装、汽车、电线电缆及耐用消费品领域开发出强大、透明性好、韧性强、耐热性和电性能优良的聚烯烃。今后将在高立体规整性聚丙烯、新型共聚体、热塑性弹性体等方面进行研究开发, 并进一步开拓用途。另外, 采用单中心催化剂生产超低密度聚乙烯及其弹性体等, 大大改善了其加工性能, 可替代乙丙橡胶在医用管、

阻隔收缩包装和电线电缆中的广泛应用。

热塑性弹性体由于其综合了橡胶和塑料的特性, 21 世纪初产量将进一步增长, 用途和需求量也将大幅增加。其中, 汽车工业将成为其最大用户, 医疗制品、粘合剂等也具有较大的发展潜力。

#### 魔芋生物全降解薄膜迈向产业化

武汉大学科技人员以魔芋为原料, 经过生物改性制成低成本、全降解薄膜。近日, 这项技术在武汉通过鉴定。

据介绍, 这种薄膜厚度仅在 0.008 ~ 0.02mm, 其抗拉强度、韧性、透明度等性能都可以与同样厚度的塑料薄膜相比, 其保温、保湿性能还优于塑料薄膜。该膜的成本价格在目前初试阶段为 9483 元/t, 比目前市场上的塑料薄膜略微便宜。大规模生产后成本将进一步降低, 售价也会更加便宜。

以郑正炯教授为首的课题组, 在研究开发生物全降解薄膜的同时, 还循着另一条思路研究开发出可用于方便面料、豆奶、麦片以及药物冲剂小包装的可溶可食薄膜。在鉴定会上, 这种可溶可食薄膜技术, 也被专家们评价为具有国际领先水平。

国务院副总理李岚清十分关心这项技术的产业化, 2000 年 4 月国务院政策研究室受李岚清副总理的委派, 专门召开了“国家魔芋产业化专题协调会”, 提出了全面推进魔芋产业化发展的意见。

这项技术赢得武汉金丰环保制品公司和湖北化纤集团的青睐, 三方已于 2000 年 6 月 28 日签订了产业化合作协议。产品大规模生产上市已为期不远。

同出于郑正炯教授课题组的“魔芋高纯度葡甘聚糖”、“魔芋精粉种衣成膜剂”两项技术也同时通过了鉴定, 专家认为具有国际先进水平。