

22
292-294

酶及其微生物的固定化技术在水处理工程中的应用

同济大学环境工程学院(200092) 年跃刚 顾国维

Q55
X703

摘要:系统总结了酶及其微生物的固定化技术在水处理领域的应用情况,对固定化技术的发展、固定化方法、固定化酶和固定化微生物的性质以及固定化技术在水处理领域的应用前景进行了阐述。

关键词:污水处理 固定化酶 固定化微生物

废水处理 固定化技术 酶

1 固定化技术的发展

污水生物处理方法主要是依靠微生物对有机物的降解能力,可以说,有机物的降解是由微生物细胞内酶和微生物分泌的胞外酶的参与而完成的。正是由于酶的存在,才使得微生物的新陈代谢得以进行,做为基质的废水从而得到降解。一般的废水大多含有糖类、脂类、蛋白质等大分子有机物质,这些物质降解的每一步都需要酶的参加,微生物在有机物降解的反应中承担着催化剂载体的角色。

关于酶的应用历史已非常悠久。被广泛用于酿造、食品、医药等领域,随着生物化学的进展,对酶的认识也越来越清楚。酶是由蛋白质组成,所以酶也有对热、强酸、强碱及有机溶媒的不稳定性。酶只有溶解于水时才能与底物发生作用。为了克服酶的缺点,积极有效地加以利用,本世纪50年代人们开展了酶的固定化研究工作。所谓固定化酶是指在一定空间内呈闭锁状态存在的酶,能连续地进行反应,反应后的酶可以回收重复使用。

酶大致分为天然酶和修饰酶,固定化酶属于修饰酶。固相酶的发展弥补了水溶性酶的某些缺陷,在催化反应中,它以固相状态作用于底物,不但仍然具有酶的高度专一性及温和条件下高效率催化的特性,还具有与离子交换树脂同样的优点,即有一定的机械强度,可用搅拌和装柱的形式作用于底物溶液,

使生产连续化自动化。另外,酶经固相化后,稳定性有较大增加,这些特点使得固相酶为酶的应用开辟了新的途径。

动物、植物、微生物等一切生物都可以产生酶,但微生物来源的酶是最合算的。微生物产生的酶分为分泌在细胞外的体外酶和包含在细胞内的体内酶,利用体内酶时,需要采用某种手段将细胞破坏后,再将酶分离提取出来。但是酶在分离过程中不稳定,实际应用起来有很多不便,所以为减少从微生物中提取酶的麻烦,或有目的利用微生物的复合酶系统,70年代,人们开始了对固定化微生物的研究。同时,固定化微生物在污水处理方面的应用研究也相继展开,其研究的范围主要包括固定化方法、固定化材料及其具有特殊功能的优势菌种的选择。

2 固定化方法

酶的较合理的固定方法大致有3种:即载体结合法、交联法、包埋法,如图1所示。

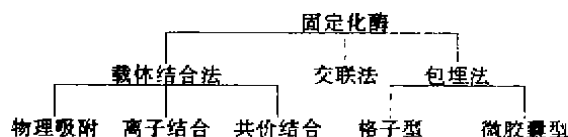


图1 酶的固定方法

载体结合法是将酶结合在非水溶性的载体上,经常使用的载体有:纤维素、葡聚糖、琼脂糖等多糖类衍生物和聚丙烯酰胺凝胶等。载体结合法根据结合的形式不同可分为物理吸附法、离子结合法和共价结合法。

交联法是利用带有两个或两个以上的官能团试剂的作用与酶之间发生交联而把酶固定化。此法靠化学结合的方式使酶固定化,反应条件比较激烈,固定化酶的活力在多数情

况下都较脆弱。

包埋法;分为格子型和微胶囊型两种,将酶包裹在凝胶的微小格子中称为格子型。用半透性聚合物膜将酶包裹起来称为胶囊型。采用包埋法时酶蛋白本身不发生结合反应,如果包埋的好,可以用来制备多种固定化酶。

微生物的固定和酶的固定一样,也是采用载体结合法、交联法和包埋法3种固定方式。污水处理中的微生物固定大多采用包埋形式。作为固定化材料,多采用海藻酸钙、角叉藻聚糖、丙烯酰胺、PVA(聚乙烯醇)、光硬化性树脂等。被包埋的微生物有好氧活性污泥、厌氧菌、硝化细菌、脱氮细菌、难分解性物质分解菌以及重金属蓄积性细菌等许多种类。做为处理对象有以 BOD_5 为代表的有机物、氮、磷、PVA、酚等难降解的有机物以及镉等重金属^[1]。固定化的具体操作方法也多种多样,如PVA—冷冻法、PVA—硼酸法、琼脂—丙烯酰胺固定活性污泥以及硝化细菌的光固定方法等。

3 固定化酶及固定化微生物的性质

3.1 固定化酶的性质

酶在水溶液中以自由的游离状态存在,但是固定化后酶分子便从游离的状态变为牢固地结合于载体的状态,其结果往往引起酶的性质改变。

3.1.1 相对活力的改变

固定化酶与游离酶相比,其相对活力总是有不同程度的下降,其影响因素有以下4个方面:(1)底物与相对活力:酶固定化后,由于载体的空间位阻障碍高分子底物的接近,因而水解大分子底物能力的减低比水解小分子底物能力的减低更为显著。(2)专一性与相对活力:酶的专一性不同,采用同样载体同样方法制得的固相酶的相对活力也将不同。(3)酶量与相对活力:单位载体上偶联的酶少,相对活力也就比较高;偶联酶越多,相对活力就越低。(4)载体与相对活力:载体结构对固相酶的相对活力有着极为重要的影响。

3.1.2 最适 pH 值与 pH 曲线的变化

酶在固相化后,最适 pH 值及 pH 曲线常会引起偏移,一般认为由两种因素造成:一是载体含有大量带电基团,其多电解质的微环境影响着酶的活力;二是由于酶作用产物导致在固相酶颗粒内建立一种带电的微环境。

3.1.3 米氏常数的改变

酶在紧紧结合于电中性载体的表面或孔内后,载体造成的微环境使扩散因素成为酶反应动力学的限制因素。底物分子以扩散运动穿过扩散层而与固相酶接触反应,由于酶的作用引起扩散层中底物浓度迅速降低,而载体的空间位阻却妨碍新的底物扩散进来,因而必须在相对于游离酶较高的底物浓度时才能达到最大反应速度。这在动力学参数上就表现为米氏常数(K'_m)比游离酶的米氏常数(K_m)要高。而且由于载体的干扰和酶蛋白本身在固相化过程中引起侧链基团的化学改变,往往导致最大反应速度(v_{max})变小。

3.1.4 稳定性的增加

酶在固定化后,稳定性普遍增加,表现在以下几个方面:(1)热稳定性增加;(2)保藏稳定性增加;(3)在蛋白质变性剂中的稳定性增加。

3.2 固定化微生物的性质

由于酶是微生物新陈代谢的生化反应催化剂,微生物是酶的载体,所以关于固定化酶的一些性质与固定化微生物也有类同。

微生物固定化后最适 pH 值也发生变化。例如:将大肠杆菌和灵敏固氮菌的活细胞,结合固定到 Dowex1 树脂上,研究它们对葡萄糖和琥珀酸等的氧化能力,研究结果表明,其最适 pH 值向碱性方向移动了 1 个 pH 单位。用聚丙烯酰胺凝胶包埋法固定大肠杆菌后,其天冬酶活性的最适 pH 同未固定化活菌体进行比较,发现 pH 值向酸性方向移动了 2 个 pH 单位。

固定化微生物活性比固定前明显降低,例如,用聚乙烯醇固定硝化细菌并测定其活性,结果如下^[2]:

表1 硝化细菌固定
前后的活性 $\text{kg} \cdot (\text{kg}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$

氧化速度	固定化前	固定化后
$\text{NH}_3\text{-N}$	4.11×10^{-5}	1.43×10^{-5}
$\text{NO}_2\text{-N}$	6.94×10^{-5}	2.39×10^{-5}

固定化微生物的最适温度与固定化前的活细胞也不相同。另外,固定化微生物中酶的稳定性增强,可以反复使用,延长使用寿命。

微生物固定化后,特别是采用包埋、交联等方式,由于微生物所处环境的变化,所以固定化颗粒内部没有微生物增殖情况。微生物无论存活还是死亡,只要内部酶不失去活性,微生物固定化后所起的作用与固定化复合酶系统是一样的,从本质意义上讲,固定化微生物也是固体生物催化剂。

4 固定化技术在水处理工程中的应用前景

固定化技术应用于水处理方面的时间还不很长,许多工作还处于探索性小试阶段。由于微生物固定化后有很多优点,如易于固液分离,不存在污泥膨胀问题,可以有效地利用优势菌种等,所以该技术已成为污水生物处理的重要组成部分。

目前,人们已研究开发出多种固定化材料及固定化方法,应用于各种废水的处理。含酚废水是对生物有毒害作用的废水,如果将活性污泥经含酚废水培养驯化,分离出优势菌种加以固定,对含酚废水有较好的处理效果。研究认为,当容积负荷为酚 $3 \text{ g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ 以下时,几乎能达到 100% 的去除率,当负荷

率增加时,去除率将下降^[3]。在污泥焚烧过程中,产生含氰基的化合物,用 PVA 固定驯化后的活性污泥进行处理,也能得到较好的处理效果^[4]。固定化微生物用于脱氮处理,当采用 A/O 工艺时, BOD_5 去除率为 92% 以上,总氮去除率在 80% 以上^[4]。此外,固定化技术还用于低浓度废水的处理以及水源水的预处理,使微污染物得以较好地去除。

固定化技术在水处理方面的应用已取得了较大的进展,本田繁等人认为,今后还有以下问题需要深入研究:(1)固定化细菌的活性寿命;(2)固定化微生物的更换周期;(3)凝胶内基质透过速度;(4)SS 及 BOD_5 的去除问题;(5)曝气槽内液体流动的水力特性;(6)便宜且易使用的固定化材料开发;(7)固定化细胞内基质浓度的富积。

总之,固定化技术为污水生物处理开辟了一个新的领域,随着固定化技术及其酶工程的不断发展,该技术在水处理工程中的应用将更加成熟。

5 参考文献

- 1 桥本奖. 固定化微生物による排水処理, 用水と废水, 1987, 29(8): 3~11
- 2 市村国宏ら. 光架橋性樹脂ブレポリマ 包括固定化法による硝化菌の固定化. 用水と废水, 1987, 29(8): 20~27
- 3 桥本奖. 固定化フェノール分解菌による高負荷フェノール废水处理に関する研究. 下水道協会志, 1991, 28(3): 67~74
- 4 角野立夫. 固定化微生物を用いた窒素除去に関する研究. 下水道協会志, 1991, 28(4): 44~52

(1995 08 05 收稿)