

· 综 述 ·

污水处理过程中微塑料去除的现状与发展趋势

吴世磊¹, 徐安明¹, 周杰^{1,2}, 信丰学^{1,2}, 余子夷², 董维亮^{1,2}, 姜岷^{1,2}

1 南京工业大学 生物制药与工程学院, 江苏 南京 211816

2 南京工业大学 材料化学与工程国家重点实验室, 江苏 南京 211816

吴世磊, 徐安明, 周杰, 信丰学, 余子夷, 董维亮, 姜岷. 污水处理过程中微塑料去除的现状与发展趋势. 生物工程学报, 2022, 38(7): 2410-2422.

WU SL, XU AM, ZHOU J, XIN FX, YU ZY, DONG WL, JIANG M. Microplastics in wastewater treatment: current status and future trends. Chin J Biotech, 2022, 38(7): 2410-2422.

摘 要: 微塑料 (microplastics, MPs) 被发现广泛存在于海洋、陆地以及大气等生态系统中。城市污水中的大量微塑料被污水处理厂截留在活性污泥中, 但仍有不计其数的微塑料颗粒“逃脱”污水处理厂, 排放到自然环境中。与此同时, 污水处理过程中绝大部分微塑料会转移到污泥中, 伴随着活性污泥的利用过程进入土壤环境, 形成微塑料的二次污染。文中基于对国内外文献的调研, 对环境中微塑料的来源、分布及危害进行了概述, 对活性污泥工艺过程中微塑料的处理情况以及活性污泥中残留微塑料的处理方式进行了梳理; 展望了生物技术及合成生物学在活性污泥核心菌群遗传改造, 赋予核心菌群微塑料降解能力方面的应用; 以期为优化污水处理厂 MP 的降解提供参考。

关键词: 塑料; 微塑料; 污水处理; 活性污泥; 塑料降解酶

Microplastics in wastewater treatment: current status and future trends

WU Shilei¹, XU Anming¹, ZHOU Jie^{1,2}, XIN Fengxue^{1,2}, YU Ziyi², DONG Weiliang^{1,2}, JIANG Min^{1,2}

1 College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China

2 State Key Laboratory of Materials-Oriented Chemical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China

Abstract: Microplastics (MPs) have been detected in many ecosystems, such as the ocean, land and the

Received: December 10, 2021; Accepted: March 21, 2022

Supported by: National Key Research and Development Program of China (2019YFA0905500); National Natural Science Foundation of China (31961133017); China Postdoctoral Science Foundation (2021M701686)

Corresponding author: XU Anming. E-mail: xu_anming@njtech.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划 (2019YFA0905500); 国家自然科学基金 (31961133017); 中国博士后基金 (2021M701686)

atmosphere. A large number of MPs in urban sewage are trapped in the activated sludge by sewage treatment plants, but tens of thousands of MPs ‘escape’ the treatment and are discharged into the nature. Meanwhile, most of the MPs are transferred into the activated sludge during sewage treatment, and the sludge will be further used in agriculture, leading to secondary pollution of the MPs. Through literature research, we summarized the sources, distribution and hazards of MPs in the environment, the treatment of MPs with activated sludge, and the treatment methods of residual MPs in activated sludge, and summed up the potentials of biotechnology and synthetic biology in the genetic modification of key bacteria in activated sludge to endow them with MPs-degrading ability. The conclusion is expected to serve as a reference for optimizing the biodegradation of MPs in wastewater treatment plants.

Keywords: plastic; microplastic; wastewater treatment; activated sludge; plastic-degrading enzyme

现代生活密切依赖塑料制品, 塑料制品在给人类生活带来诸多便利的同时, 也因不合理使用及处置方式对自然环境和人类健康产生巨大威胁。据统计, 2020 年全球共生产了近 3.67×10^8 t 塑料^[1], 这些塑料产品经消费使用后 91% 被焚烧、填埋或者丢弃。据悉, 每年排放到海洋中的塑料可达 $(0.48-1.27) \times 10^8$ t^[2]。相比于这些可见的塑料污染, 塑料使用过程中产生细小的微塑料 (microplastics, MPs) 带来的危害则更加严重。微塑料是指直径小于 5 mm 的塑料颗粒, 2004 年由英国科学家 Richard Thompson 等提出。微塑料是一种存在于不同环境介质中的新兴污染物, 因其分布范围广、潜在环境危害大, 近年来逐渐引起人们的广泛关注。

1 环境中的微塑料及其危害

微塑料由于其较高的流动性、较长的驻存时间以及难降解的特性而存在于各种生态环境中^[3-5]。城市污水系统中最常见的微塑料来源于化妆品和洗护用品中添加的人为制造成微观尺寸的塑料颗粒, 由于其耐用、耐磨的特性, 常被添加到卸妆膏、洗面奶、香皂、牙膏等物品中, 发挥其磨砂、去死皮、按摩等“深层清洁”功能^[6]。据统计, 全球每年约有 1 500 t 来自个

人护理产品的微塑料经污水处理厂进入水生环境^[7]。除此之外, 在日常生活中纺织衣物的洗涤过程也会释放大量纤维状微塑料^[8]。此外, 汽车轮胎磨损也会产生大量的微塑料, 在雨水的冲刷下通过城市雨污合流管道汇集到城市污水处理系统中, 微塑料的建模研究表明, 道路排放的总轮胎磨损量中有 1%–25% 到达附近的水处理系统^[9-10]。

微塑料广泛存在于水体和沉积物中, 作为各种病原微生物的载体, 协助微生物耐药性的传播和扩散^[11]。高浓度的微塑料导致海洋生物摄食活动受到抑制、肠道停留时间延长、影响生长繁殖^[12]。直径更小的纳米塑料 (nanoplastics, NPs) 还可以随食物摄入或通过母体转移的方式进入大脑, 造成 DNA 氧化损伤^[13]。此外, 土壤中的微塑料还可以通过根际进行吸收并转移到植物芽中^[14]。微塑料生态毒理研究还处于起步阶段, 关于其对自然生态系统和人类健康的危害仍知之甚少。基于现有的研究, 不难发现这是一类细胞穿透性强、危害性大, 可以通过动植物食物链进行富集, 最终危害人类健康的新型污染物。

2 污水处理工艺中微塑料的处理情况

人类日常生活中产生的微塑料绝大部分会

通过城市污水系统进行汇集 (图 1)^[15]。在未经处理的废水中, 微塑料的浓度范围大致在 125–3 160 MPs/L 之间。尽管污水处理厂没有针对微塑料开发特异性的去除工艺, 但是现有污水处理技术对微塑料具备一定的去除效果, 平均去除率约 80%^[16]。尽管如此, 微塑料的排放量依然很大, 据统计, 一个小型污水处理厂(处理量: 390 m³/h)每天要向环境中释放 1.83×10^{10} 个微塑料颗粒^[17]。因此, 了解城市污水处理系统中微塑料的分布、阻滞情况, 对微塑料的研究和防控至关重要。

2.1 活性污泥处理工艺的微塑料分布情况

活性污泥法是处理城市污水、工业废水以及养殖业污水的主要技术, 是当今应用最为广泛的污水处理工艺。微塑料几乎存在于全世界范围内的所有污水处理厂中, 研究结果显示, 在对 12 个国家数百个污水处理厂的活性污泥中微塑料数量的统计发现, 平均每克污泥里面约含有 12.8 ± 5.2 个塑料颗粒^[18]。此外, 污水处理厂活性污泥中所含的微塑料几乎涵盖了所有的塑料种类, 包括 PE、PET、PU、PP、PA、PVC 等^[19]。Jiang 等调查了我国哈尔滨市某污水处理厂微塑料的处理情况, 通过检测污水处理厂各采样点废水样品中微塑料的含量, 污水中微塑料在处理的各个阶段都有所降低^[20]。其中进水口中微塑料颗粒检测值为 (126 ± 14) 个/L, 出水口中检测值为 (30.6 ± 7.8) 个/L, 污水处理厂处理后微塑料的去除率约 75.7%^[20], 表明污水处理厂在微塑料的阻滞过程中发挥了重要作用。

在多数情况下, 现有的污水处理技术可以有效去除污水中的 MPs^[18,21]。污水处理通常按顺序进行一级处理和二级处理, 但由于处理目标和水质的不同, 不一定存在三级处理工艺。一些研究表明, MPs 主要通过污水一级处理去除^[22-23]。在污水中, 大多数 MPs 会附着在悬浮

固体上, 并通过固体撇除和污泥沉降过程从污水中去除^[24]。污水的二次处理也可以去除 MPs, 但与一级处理相比, 这一步的处理效果并不显著^[25]。此外, 一些三级污水处理工艺可以大大减少 MPs 的排放。研究表明, 污水经二级处理后, 40%–98.5% 的 MPs 仍然可以通过污水三级处理去除^[26]。然而, 也有相反的结果, 例如 Talvitie 等发现污水的三级处理与 MPs 浓度的降低无明显相关性, 去除效果在一定程度上取决于具体的处理工艺^[24]。但需要注意的是, 污水处理的目的不是消除污水中的 MPs, 目前没有专门设计的污水处理设施来消除 MPs^[27]。

2.2 水处理工艺中的微塑料阻滞技术

虽然现行污水处理技术的可以有效降低 MPs 的浓度, 但大多数 MPs 仍然从液相 (水) 向固相 (污泥) 转移, 无法被完全降解^[28-30] (图 1)。据报道, 有 72%–99.4% 的微塑料在污水处理过程中转移到污泥中^[31-32], 并且微生物分泌的胞外多聚物 (extracellular polymeric substances, EPS) 能够捕获微塑料, 导致污泥中微塑料的含量进一步增加^[31]。Gies 等的研究结果发现, 在污水处理过程中, MPs 下降了 97%–99%, 但有 93.18% 的 MPs 转移到了污泥中^[23]。Magnusson 等的研究表明, 即使经历多个不同处理阶段的连续处理, 99% 的 MPs 仍然能存留在污泥中, 无法被完全降解^[33]。Liu 等报道称, MPs 的粒径与更容易吸附和转移到污泥中的 MPs 的数量成反比^[30]。尽管大多数微塑料会被隔离在污水处理厂的污泥中, 然而, 每天从污水处理厂释放到地表水的微塑料颗粒可达 1.5×10^4 – 450×10^4 个^[34]。这是由于污水处理厂之间的水处理策略差异和微塑料的特性导致大量微塑料可以绕过污水处理单元。

目前, 特异性应用于污水处理过程中的微塑料阻滞技术呈现成本高和效率低的两极分

化。例如,传统絮凝和沉淀的方案成本较低,但其效果不佳且不能将微塑料固定。深度过滤、微滤和超滤这些处理手段效率高,但成本高昂,且会将化学试剂添加到污水中,不利于有效的二次回收和物料回收并且不利于生态环境保护。传统污水处理工艺的相关研究表明,膜生物反应器工艺对废水中微塑料的去除效果优于循环曝气系统工艺^[35]。许多研究表明,过滤在去除微塑料中起着重要的作用。但这种方法也有其缺点,因为滤布产生的机械应力可能导致

微塑料的磨损,使它们不受限制地释放到环境中。另一个原因是,小颗粒需要更长的时间过滤,容易造成滤布堵塞,大大增加了处理时间和维护成本。Baresel 等发现,膜生物反应器和超滤相结合,耦合颗粒活性炭生物过滤器的吸附,该组合可以有效去除微塑料,去除率几乎达 100%^[36]。近年来,国内外许多研究人员报道了各个污水处理厂活性污泥中微塑料的处理方法及处理情况,表 1 总结了不同污水处理工艺对微塑料的去除效率。

表 1 不同水处理工艺对微塑料的去除效率

Table 1 MPs removal efficiency of different wastewater treatment methods

Year	Location	Processes/methods	Microplastic concentrations (MPs/L)		Removal efficiency (%)	References
			Before treatment	After treatment		
2018	Korea	A ² O	29.85	0.435	≥98	[37]
		SBR	16.45	0.14	≥98	
		Media process	13.865	0.28	≥98	
2018	Turkey	Aeration tank	26 555±3 175	6 999±764	73	[38]
		Aeration tank	23 444±4 100	4 111±318	79	
2017	Australia	UF	0.48	0.28	41.6	[39]
		Reverse osmosis	0.28	0.21	25	
2017	Finland	Discfilters	0.50–2.00	0.03–0.3	40.0–98.5	[26]
		Rapid sand filters	0.70	0.02	97	
		Dissolved Air Flotation	2.00	0.10	95	
		MBR	6.90	0.005	99.9	
2016	America	Activated sludge process	134.00	5.90	95.6	[40]
		Anaerobic membrane reactor	83.00	0.50	99.4	
		Granular sand filtration	92.80	2.60	97.2	
2016	Britain	Sand filter	15.70±5.23	8.70±1.56	Maximum 44.59	[41]
		Aeration tank+clarifier	3.40±0.28	0.25±0.04	20.07	
		Primary sedimentation tank	8.70±1.56	3.40±0.28	33.75	
2017	Finland	BAF	(1.0±0.6)–(2.0±0.2)	(0.7±0.6)–(3.5±1.3)	No effect	[24]
2019	China	Oxidation ditch	(5.6±0.09) mg/L	(0.168)±(0.02) mg/L	97	[42]
2018	Britain	Aluminum electrode electrocoagulation	0.10 g/L	0.001–0.01 g/L	≥90	[43]
2018	Finland	Conventional activated sludge process	57.6±12.4	1.00±0.40	98.3	[35]

3 活性污泥的处置方式对微塑料的影响

尽管活性污泥对微塑料的阻滞发挥了一定作用,然而并不能从根源上解决微塑料的污染问题,其根本原因在于活性污泥中的微塑料最终还是会和活性污泥一起被填埋、焚烧或被应用于农业,释放到环境中(图1)。由于污泥含有大量的有机物和养分,许多国家鼓励将污泥作为土壤改良剂或肥料应用于农业,一些国家高达80%的城市污水污泥被用于农业^[44]。污泥中的微塑料很难被微生物同化,导致通过活性污泥输送到土壤中的MPs可以持续大量积累。据统计,每一百万居民每年就会向土壤中释放125–850 t微塑料^[45]。因此,开发高效去除污泥中微塑料的工艺对于减少微塑料的环境污染具有重要意义。虽然微塑料从液相转移到固相可以实现从废水中去除微塑料的目的,但微塑料的富集对从污泥中回收资源或最终污泥的处置提出了巨大的挑战。目前报道的活性污泥中微塑料的处理方式大体分为两种:物理化学法和

厌氧消化法。

3.1 物理化学处理法

物理化学法处理活性污泥的主要工艺有热干燥、石灰稳定、热水解等。Mahon 等对爱尔兰7个污水处理厂的污泥样品中的MPs进行比较,结果显示,石灰稳定工艺处理污泥后,样品中小尺寸类MPs的丰度显著增高,表明石灰稳定处理过程会把大的微塑料剪切成小的微塑料颗粒^[46]。利用扫描电子显微镜观察不同工艺处理微塑料后其表面特征的变化,结果发现经热干燥处理的MPs表面出现明显的起泡和开裂现象^[46]。特别是HDPE和PE碎片表面表现出褶皱和熔化特性^[46]。而石灰稳定的MPs则呈现出更破碎的外观,具有撕碎和剥落的特点^[46]。pH值和温度的升高以及机械搅拌的联合作用,可以加速MPs的脆化和分解产生次级MPs,从而导致小尺寸MPs颗粒数量的增加^[47]。这表明,热干燥和石灰稳定过程都会导致污泥中次级MPs数量的增加^[48]。

近年来,污泥热水解技术作为污泥厌氧消化主要的预处理技术之一,能够实现污泥的破

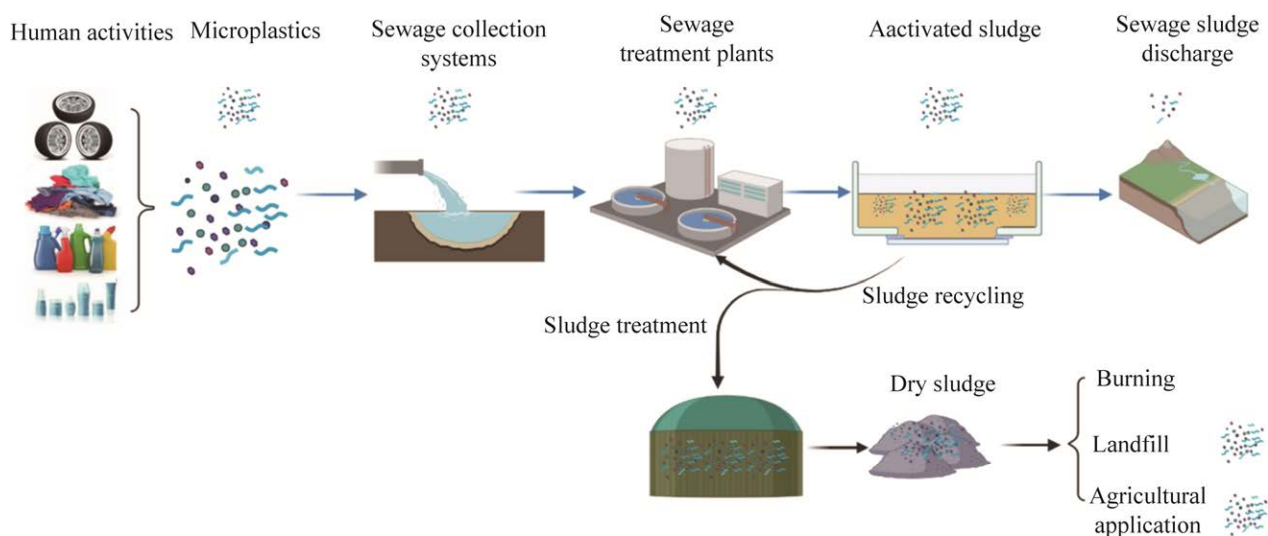


图1 微塑料的生命周期
Figure 1 Lifecycle of microplastics.

壁、有机物的溶出和病原体的杀灭,在实际工程中得到了广泛应用^[49]。热水解工艺不需要添加氧化剂并且反应温度、压力适中,为提高城市污泥厌氧消化和脱水性能提供了有效的预处理工艺^[50]。然而,污泥热水解预处理也会导致污泥中 MPs 的破碎。例如,污泥中最常见的 MPs 是 PET-MPs,这些 MPs 的热降解被认为是通过分子内环化发生的,形成多达 3 个单位大小的环状低聚物。此外,这些分子通过 β -CH 转移反应,产生具有烯烃和羧基端基的开链低聚物^[51]。研究表明,污泥中的 PET-MPs 在热水解过程中极易发生链断裂,导致聚合物断裂,降低聚合物的分子量。目前来看,尽管大多数污水污泥在应用前都经过了处理,但没有一种物理化学的处理方法能够有效去除污泥中的 MPs。考虑到经济成本以及处理技术等方面,去除进水中的 MPs 和防止 MPs 在污泥中积累可能比去除污泥中的 MPs 更有效。对待无法在源头进行阻滞进入到活性污泥中的微塑料,强化利用微生物降解工艺是一种可行的路径。

3.2 厌氧消化法

活性污泥厌氧消化是污泥减量和稳定的常用方法,厌氧消化过程可分为溶解、水解、产酸和产甲烷 4 个阶段^[52]。污泥厌氧消化处理过程中,污泥被浓缩、稳定和脱水,以减少污泥生物量和稳定污泥^[53]。污泥厌氧消化的过程被证明可以有效降解某些类型的 MPs^[46]。例如聚乳酸 (polylactic acid, PLA) 和聚羟基丁酸 (polyhydroxybutyric acid, PHB) 微塑料,在污泥厌氧消化中很容易被降解。此外,一些聚酯型塑料 (如 PET 和 PUR) 在活性污泥厌氧消化过程中发生降解也较为容易^[54]。但在污泥处理系统中,大部分的 MPs 一般难以被生物降解,其根本原因在于活性污泥中不存在相应塑料的降解菌株,无法将微塑料进行同化。MPs 的生

物降解依赖于许多因素,如 MPs 的化学结构、分子量和塑料添加剂的类型等都会影响 MPs 的生物降解^[55]。有研究表明,高浓度聚乙烯微塑料(100–200 MPs/g) 不仅无法在活性污泥中被降解,反而可以诱导活性污泥中产生大量的活性氧,抑制污泥中微生物的生理活性,降低污泥的水解效果和甲烷产量^[56]。

活性污泥厌氧消化脱水,及其后续运输、堆肥或填埋的整个处理周期较长,导致 MPs 与污泥中的微生物有很长的时间发生相互作用。目前对活性污泥中微生物与 MPs 相互作用的研究主要集中在微生物对 MPs 的降解以及 MPs 对微生物群落结构的影响上。Zhang 等的研究表明,部分微生物会以优势菌落的形式粘附在 MPs 的表面,改变 MPs 的表面物理和化学性质,加速 MPs 的降解和次级 MPs 的形成^[57]。经过长期储存的污泥还可能发生堆肥反应,通过生物氧化会增加 MPs 的脆性并促进其碎裂和分解。Chen 等验证了超高温堆肥技术对微塑料降解的效果,经过 45 d 的高温堆肥,污泥中 MPs 的含量降低了 43.7%,这是迄今为止已报道的最高的降解效率^[58]。通过高通量测序发现,嗜高温细菌如栖热菌 (*Thermus*)、芽孢杆菌 (*Bacillus*) 和地芽孢杆菌 (*Geobacillus*) 等是高温堆肥体系中的优势菌群,这些超嗜热菌对塑料结构具有很强的攻击和氧化能力,能够进行有效的生物氧化和生物降解,从而实现了高温堆肥期间 MPs 的高效去除。此外,在较高的堆肥温度下,还可以通过引入 C=O 或 C–O 基团改变 MPs 的理化性质,使其更适合微生物的降解和矿化^[58]。

4 生物技术在活性污泥微塑料降解中的应用前景

活性污泥中大量微塑料的存在导致其在填埋、农业应用过程中存在微塑料二次污染的情

况, 为活性污泥的后期处理带来了新的挑战, 也给现有污水处理工艺增加了难度和成本。如何在污水处理过程中针对性地对微塑料进行去除, 是未来研究的热点问题。一些研究基于实验室条件, 开展如过滤、微滤等技术尝试, 虽然取得了很好的微塑料去除效果, 但是由于其成本过高, 离实际应用还有一段距离。近些年来, 生物技术蓬勃发展, 大量塑料降解菌株及其塑料降解酶的发现为开展人工微塑料降解菌株、菌群的构建带来了契机。此外, 随着高通量培养技术的发展, 大量活性污泥中的核心菌群被发现及培养, 进一步增加了对核心菌株进行合成生物学设计和改造的可能性 (图 2)。

4.1 活性污泥核心菌群的鉴定

活性污泥中包括成千上万种微生物, 是典型的由多个物种构成的多细胞复杂体系。以城市污水处理厂活性污泥为例, 我国城市污水处

理厂活性污泥微生物物种丰度为 10^{8-9} 种, 全球污水处理厂微生物物种丰度估计为 1.1×10^9 种, 其中 99.9% 的物种还没有被分离培养^[59]。清华大学周集中和文湘华团队联合开展了“全球水微生物组联盟”项目, 对全球 23 个国家的活性污泥中的微生物进行了测序和分析。通过对 269 个污水处理厂的 1 200 份活性污泥的 16S rRNA 基因序列分析, 预测了全球活性污泥系统中细菌物种数有 $(1.10 \pm 0.07) \times 10^9$ 种^[59]。尽管细菌多样性极高, 但在全球污水处理厂的活性污泥中, 组成细菌群落的核心 OTUs 并不多, 仅有 28 个, 且与活性污泥的性能密切相关, 如增强活性污泥的絮凝能力、氧化活性污泥中的亚硝酸盐、强化生物除磷能力等。且这 28 种核心群落与其他生境中的微生物核心群落没有重叠, 这表明活性污泥是一个独特的微生物群落^[59]。

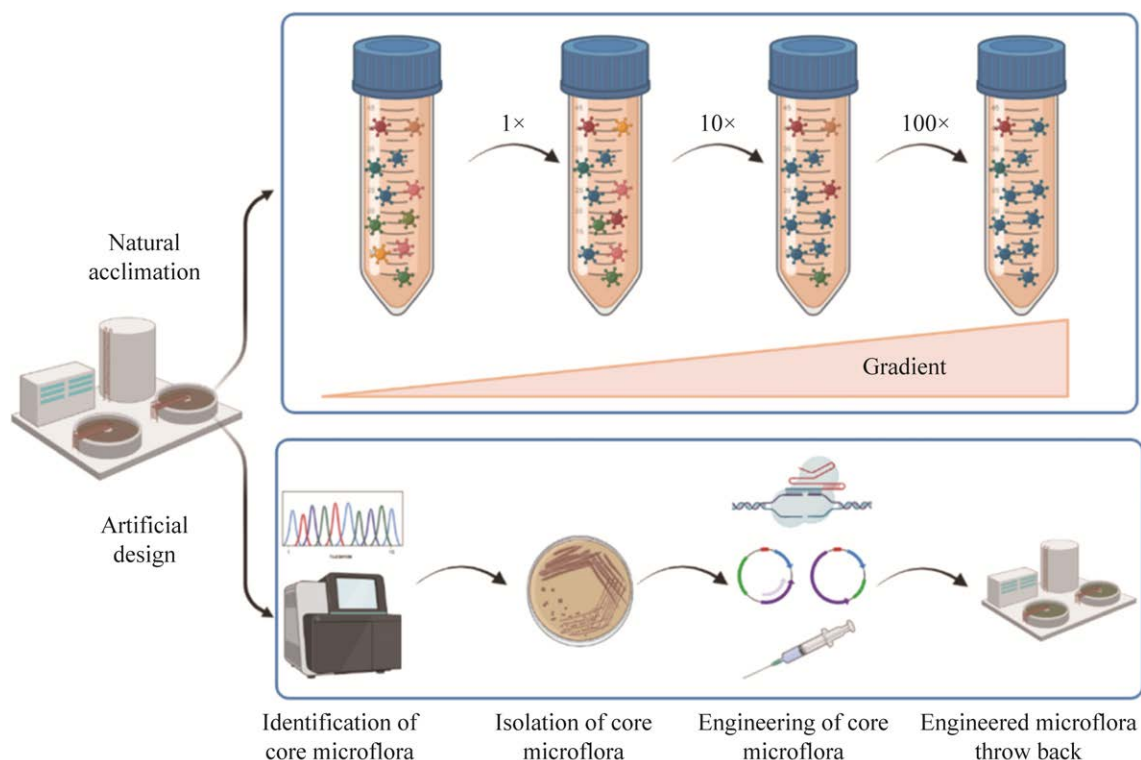


图 2 活性污泥菌群的傳統馴化与人工定制

Figure 2 Microorganisms in activated sludge: acclimation vs. designment.

对活性污泥核心菌群的鉴定对了解其遗传、生理、系统发育和生态特性以及提高污水处理系统的性能都至关重要。Song 等通过对北京清河污水处理厂中的活性污泥的群落分析,发现并鉴定了一株活性污泥中的核心菌株惠芳中科微菌(*Casimicrobium huifangae*) SJ-1, 该菌株在活性污泥中的菌群丰度达 1%^[60]。*C. huifangae* SJ-1 在污水处理过程中发挥着脱氮除磷的功能,其菌群丰度随着生态环境的改变而发生变化,如盐浓度、溶氧、温度和 pH 值等^[60]。通过 16S rRNA 基因鉴定和 MiSeq 测序,Chen 等通过研究发现在纲水平上污泥中优势纲前 5 位分别为 β -变形菌纲、黄杆菌纲、鞘脂杆菌纲、 α -变形菌纲和 γ -变形菌纲,分别占总检出 OTUs 的 30.8%、14.9%、14.7%、13.3%和 11.2%^[61]。厌氧水解使 β -变形菌纲、黄杆菌纲和 γ -变形菌纲的数量显著减少,梭菌纲和 β -变形菌纲的相关菌群随温度升高而明显增加^[61]。甲烷微菌纲和甲烷杆菌纲是所有污泥样本中的优势菌群,但这两种菌群在不同温度下处理的污泥中分布不同^[61]。

4.2 现有塑料降解酶的发现及改造

尽管目前已经对活性污泥的核心菌群有了一定的认识,但还是无法改变活性污泥中微塑料不能被降解的事实,其根本原因在于活性污泥中极少存在高效降解(微)塑料的天然菌群。因此利用已报道的塑料降解酶为元件对核心菌群进行改造,构建人工活性污泥菌株实现微塑料的降解是未来可行的方案之一。针对 PET、PUR、PA、PE 等塑料降解的微生物及酶已有一些报道,但是不同类型塑料研究进展差距较大。其中 PET 降解菌株和酶元件的研究相对较多。日本科研工作者从 (*Ideonella sakaiensis*) 201-F6 中分离鉴定了 PET 水解酶 PETase,该酶可在常温下水解非晶态 PET,但此酶的效率并不是特别高^[62]。来源于嗜热放线菌 (*Thermobifida fusca*)

DSM 43793 菌株的 Tfh 酶能够在 65 °C 反应 48 h,把低结晶度 PET 膜降解约 13%^[63]。来自 *T. fusca* KW3 菌株的 TfCut2 能够降解角质、短链脂肪酸,并对 PET 表现出一定的降解活性^[64-65]。随后通过氨基酸突变实验来提高 TfCut2 的热稳定性,使酶能够在 70 °C 降解低结晶度 PET 薄膜,一定程度上提高了酶的降解活性^[66]。前人报道了一些来自真菌和放线菌的脂肪酶、酯酶或角质酶具有水解非晶态 PET 及修饰 PET 膜表面的功能^[67]。来自芽孢杆菌 (*Bacillus*) 等的羧酸酯酶也能部分水解 PET 材料^[68]。

很多对提高塑料降解酶催化稳定性和效率提升的研究为实现微塑料人工降解菌群的构建提供了可能。中国科学院微生物研究所吴边团队基于对 PETase 进行全局结构重塑与定向设计获得 DuraPETase^[69],在温和条件下,DuraPETase 对 30%结晶度 PET 薄膜的降解效率相较于野生型提升了 300 倍。实现了 2 g/L 塑料温和条件下完全降解^[69]。Wang 等利用枯草芽孢杆菌对 PETase 进行外泌表达,通过启动子和信号肽的正交实验,最终获得了 P43 和 amy 在枯草芽孢杆菌中外泌表达 PETase 的最优组合^[70]。P43 和 amy 介导分泌的 PETase 在 2 h 内能够降解 80%的 BHET^[70],且当其与 PET 膜相互作用时,36 h 内在扫描电镜下能明显观察到 PET 膜被腐蚀^[70]。此外,基于机器学习模型,王南还获得了 PETase 的 S136Q 突变体,该突变体 T_m 值提高了 1.56 °C,最适温度提高 5 °C,且在 50 °C 保温 60 min 后酶活仍高达 79.1%,是野生型的 1.5 倍^[71]。以上研究表明,在 PET 塑料降解领域,现有酶降解元件已具备高效降解微塑料的能力,在活性污泥中实现微塑料的降解在理论上已经可行。

4.3 现有活性污泥菌群遗传改造的前景

利用现有塑料降解元件实现活性污泥中微

塑料降解的核心在于对活性污泥中的核心菌群进行改造,让核心菌株具备塑料降解的能力。通过对活性污泥中的菌株进行遗传改造,让其具备特定污染物的降解能力已有一些成功的例子。以环境修复的天然底盘细胞睾丸酮从毛单胞菌 (*Comamonas testosteroni*) 为例,从毛单胞菌属于活性污泥中的核心菌群。其遗传改造工具丰富,具备较好的遗传改造前景。Tang 等基于 *C. testosteroni* CNB-1 开发了其遗传改造工具箱,包括穿梭质粒、诱导型表达元件库、外源基因表达系统等^[72]。此外,恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 也是环境污染物降解过程中的常见菌株^[73]。McClure 等利用 *P. putida* UWC1 为底盘,将 3-氯苯甲酸降解基因以质粒的形式进行表达后,成功将重组菌株应用于活性污泥中并表现出极高的污染物处理能力^[74]。Ravathn 等通过将来源于假单胞菌的氯邻苯二酚降解基因簇 *clc* 在 *P. putida* F1 中进行表达,发现当重组 F1 菌株被投入到活性污泥中后,*clc* 基因簇可以在活性污泥的菌株间进行水平基因转移^[75]。Tsutsui 等利用质粒水平转移的原理,以 *P. putida* KT2440 为底盘细胞,以 2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D) 降解质粒 pJP4 为元件,构建了 2,4-二氯苯氧乙酸降解菌株并投放到活性污泥体系中,发现 pJP4 质粒同样可以在活性污泥菌群间水平转移,让多株非假单胞菌属的微生物同样获得了 2,4-二氯苯氧乙酸的降解能力^[76]。

目前基于核心菌株的遗传改造较少,很多研究以外源加入遗传改造菌株的方式进行。这种方式会因为菌株的环境适应性差的问题导致无法在活性污泥菌群中存活下来。基于核心菌群的改造对赋予活性污泥新型污染物处理能力可能更加有效,因为核心菌群在活性污泥中的定殖能力更强。然而,由于对活性污泥核心菌

群的群落结构解析、核心菌株的分离和培养工作才刚刚开始。很多核心菌株还无法分离培养,更缺乏相应的遗传改造工具。因此,开发核心菌群的高通量分离培养和遗传改造工作是进行活性污泥人工菌群定制的关键。

5 总结与展望

污水处理过程中大量 MPs 从废水转移到污泥中,对活性污泥的回收利用和处理带来了巨大挑战。为了防止 MPs 污染,首先要考虑的是限制 MPs 的使用,以控制 MPs 的源头排放。鼓励多使用生物可降解塑料、改进活性污泥中 MPs 的去除方法以及实现 MPs 的生物降解对于改善 MPs 污染环境有着重要意义。综上所述,未来关于微塑料的研究应主要关注以下几个方面。

(1) 活性污泥中微塑料的定性与定量。目前,有关微塑料的研究仅停留在微塑料去除率、水工艺迁移规律等表象,且因方法差异,研究结果难以比较。微塑料的去除效果的研究取样和检测方法差异较大,在微塑料的定量和定性方面需要统一和规范化。

(2) 活性污泥核心菌群的分离和培养。测序技术的发展对活性污泥核心菌群的组成情况在宏观上有了深刻的认识。然而目前对核心菌株的分离培养工作研究较少。活性污泥中的微生物总体丰度高,但很多核心菌株的相对丰度很低,且很多菌株为厌氧生长菌株,这些因素都为核心菌株的分离培养带来了巨大挑战。尽管如此,对核心菌株的培养是改造核心菌株并重新投回活性污泥,使污泥具有污染物处理能力的前提条件。因此活性污泥核心菌株的分离培养工作是人工定制活性污泥的必经之路。

(3) 核心菌株遗传改造工具的开发。目前已报道的活性污泥的核心菌株除了睾丸酮从毛单胞菌具有相对成熟的遗传操作系统外,其他菌

株, 包括 *C. huifangae* SJ-1、28 种通过宏基因组学鉴定的核心菌株均无成熟的遗传操作系统。建立菌群水平遗传操作和基因编辑平台, 赋予核心菌株特异性功能, 是未来活性污泥人工定制的关键。

(4) 活性污泥人工定制菌群的生态风险的评估与防控。通过生物技术手段定制活性污泥人工菌群, 提高活性污泥对微塑料的降解能力, 为活性污泥中微塑料的降解提供了新的解决方案。然而人工菌群重投回活性污泥也会带来不可预知的生态环境风险, 人工改造的菌株可能在特定污染物环境中更易生存, 对其他原生菌株产生竞争优势, 破坏菌群平衡, 从而影响活性污泥的整体效果。也会由于人工菌株的意外释放到环境中, 产生不可预测的生态环境风险。对于活性污泥人工菌株定制的生态风险, 需要实验手段进一步评估, 并针对潜在泄露风险开发相应的阻控技术, 为活性污泥人工菌群的应用奠定基础。

REFERENCES

- [1] PlasticsEurope: plastics-the facts [EB/OL], 2021. <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2021/>
- [2] Jambeck JR, Geyer R, Wilcox C, et al. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 2015, 347(6223): 768-771.
- [3] Fang C, Zheng RH, Zhang YS, et al. Microplastic contamination in benthic organisms from the Arctic and sub-Arctic regions. *Chemosphere*, 2018, 209: 298-306.
- [4] Zhang GS, Liu YF. The distribution of microplastics in soil aggregate fractions in southwestern China. *Sci Total Environ*, 2018, 642: 12-20.
- [5] Rezaian S, Park J, Md Din MF, et al. Microplastics pollution in different aquatic environments and biota: a review of recent studies. *Mar Pollut Bull*, 2018, 133: 191-208.
- [6] Gregory MR. Environmental implications of plastic debris in marine settings—entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2009, 364(1526): 2013-2025.
- [7] Sun Q, Ren SY, Ni HG. Incidence of microplastics in personal care products: an appreciable part of plastic pollution. *Sci Total Environ*, 2020, 742: 140218.
- [8] De Falco F, Gullo MP, Gentile G, et al. Evaluation of microplastic release caused by textile washing processes of synthetic fabrics. *Environ Pollut*, 2018, 236: 916-925.
- [9] Wagner S, Hüffer T, Klöckner P, et al. Tire wear particles in the aquatic environment—a review on generation, analysis, occurrence, fate and effects. *Water Res*, 2018, 139: 83-100.
- [10] Unice KM, Weeber MP, Abramson MM, et al. Characterizing export of land-based microplastics to the estuary—Part II: sensitivity analysis of an integrated geospatial microplastic transport modeling assessment of tire and road wear particles. *Sci Total Environ*, 2019, 646: 1650-1659.
- [11] Zettler ER, Mincer TJ, Amaral-Zettler LA. Life in the “plastisphere”: microbial communities on plastic marine debris. *Environ Sci Technol*, 2013, 47(13): 7137-7146.
- [12] Jin YX, Xia JZ, Pan ZH, et al. Polystyrene microplastics induce microbiota dysbiosis and inflammation in the gut of adult zebrafish. *Environ Pollut*, 2018, 235: 322-329.
- [13] Awasthi AK, Tan QY, Li JH. Biotechnological potential for microplastic waste. *Trends Biotechnol*, 2020, 38(11): 1196-1199.
- [14] Sökmen TÖ, Sulukan E, Türkoğlu M, et al. Polystyrene nanoplastics (20 nm) are able to bioaccumulate and cause oxidative DNA damages in the brain tissue of zebrafish embryo (*Danio rerio*). *Neurotoxicology*, 2020, 77: 51-59.
- [15] McCormick A, Hoellein TJ, Mason SA, et al. Microplastic is an abundant and distinct microbial habitat in an urban river. *Environ Sci Technol*, 2014, 48(20): 11863-11871.
- [16] Freeman S, Booth AM, Sabbah I, et al. Between source and sea: the role of wastewater treatment in reducing marine microplastics. *J Environ Manage*, 2020, 266: 110642.
- [17] Leslie HA, Brandsma SH, Van Velzen MJM, et al. Microplastics en route: field measurements in the Dutch River delta and Amsterdam canals, wastewater treatment plants, north Sea sediments and biota.

- Environ Int, 2017, 101: 133-142.
- [18] Rolsky C, Kelkar V, Driver E, et al. Municipal sewage sludge as a source of microplastics in the environment. *Curr Opin Environ Sci Heal*, 2020, 14: 16-22.
- [19] Zhang ZQ, Chen YG. Effects of microplastics on wastewater and sewage sludge treatment and their removal: a review. *Chem Eng J*, 2020, 382: 122955.
- [20] Jiang JH, Wang XW, Ren HY, et al. Investigation and fate of microplastics in wastewater and sludge filter cake from a wastewater treatment plant in China. *Sci Total Environ*, 2020, 746: 141378.
- [21] Bayo J, Olmos S, López-Castellanos J. Microplastics in an urban wastewater treatment plant: the influence of physicochemical parameters and environmental factors. *Chemosphere*, 2020, 238: 124593.
- [22] Carr SA, Liu J, Tesoro AG. Transport and fate of microplastic particles in wastewater treatment plants. *Water Res*, 2016, 91: 174-182.
- [23] Gies EA, LeNoble JL, Noël M, et al. Retention of microplastics in a major secondary wastewater treatment plant in Vancouver, Canada. *Mar Pollut Bull*, 2018, 133: 553-561.
- [24] Talvitie J, Mikola A, Setälä O, et al. How well is microlitter purified from wastewater? -a detailed study on the stepwise removal of microlitter in a tertiary level wastewater treatment plant. *Water Res*, 2017, 109: 164-172.
- [25] Gao D, Li XY, Liu HT. Source, occurrence, migration and potential environmental risk of microplastics in sewage sludge and during sludge amendment to soil. *Sci Total Environ*, 2020, 742: 140355.
- [26] Talvitie J, Mikola A, Koistinen A, et al. Solutions to microplastic pollution-removal of microplastics from wastewater effluent with advanced wastewater treatment technologies. *Water Res*, 2017, 123: 401-407.
- [27] Ou HS, Zeng EY. Occurrence and fate of microplastics in wastewater treatment plants. *Microplastic Contamination in Aquatic Environments*. Amsterdam: Elsevier, 2018: 317-338.
- [28] Rochman CM, Brookson C, Bikker J, et al. Rethinking microplastics as a diverse contaminant suite. *Environ Toxicol Chem*, 2019, 38(4): 703-711.
- [29] Kalčíková G, Alič B, Skalar T, et al. Wastewater treatment plant effluents as source of cosmetic polyethylene microbeads to freshwater. *Chemosphere*, 2017, 188: 25-31.
- [30] Liu XN, Yuan WK, Di MX, et al. Transfer and fate of microplastics during the conventional activated sludge process in one wastewater treatment plant of China. *Chem Eng J*, 2019, 362: 176-182.
- [31] Gatidou G, Arvaniti OS, Stasinakis AS. Review on the occurrence and fate of microplastics in sewage treatment plants. *J Hazard Mater*, 2019, 367: 504-512.
- [32] Li XW, Chen LB, Mei QQ, et al. Microplastics in sewage sludge from the wastewater treatment plants in China. *Water Res*, 2018, 142: 75-85.
- [33] Magnusson K, Norén F. Screening of microplastic particles in and downstream from a wastewater treatment plant. Swedish Environmental Protection Agency [EB/OL]. [2022-3-27]. <http://www.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A773505&dswid=8805>
- [34] Hoellein T, Kelly J, McCormick A, et al. Consider a source: microplastic in rivers is abundant, mobile, and selects for unique bacterial assemblages. *Ocean Sciences Meeting, American Geophysical Union* [EB/OL]. [2022-3-27]. <https://ui.adsabs.harvard.edu/abs/2016AGUOSHI41A..02H/abstract>
- [35] Lares M, Ncibi MC, Sillanpää M, et al. Occurrence, identification and removal of microplastic particles and fibers in conventional activated sludge process and advanced MBR technology. *Water Res*, 2018, 133: 236-246.
- [36] Baresel C, Harding M, Fång J. Ultrafiltration granulated active carbon-biofilter: efficient removal of a broad range of micropollutants. *Appl Sci*, 2019, 9(4): 710.
- [37] Lee H, Kim Y. Treatment characteristics of microplastics at biological sewage treatment facilities in Korea. *Mar Pollut Bull*, 2018, 137: 1-8.
- [38] Gündoğdu S, Çevik C, Güzel E, et al. Microplastics in municipal wastewater treatment plants in Turkey: a comparison of the influent and secondary effluent concentrations. *Environ Monit Assess*, 2018, 190(11): 626.
- [39] Ziajahromi S, Neale PA, Rintoul L, et al. Wastewater treatment plants as a pathway for microplastics: development of a new approach to sample wastewater-based microplastics. *Water Res*, 2017, 112: 93-99.
- [40] Michielssen MR, Michielssen ER, Ni J, et al. Fate of microplastics and other small anthropogenic litter (SAL) in wastewater treatment plants depends on unit processes employed. *Environ Sci: Water Res Technol*, 2016, 2(6): 1064-1073.
- [41] Murphy F, Ewins C, Carbonnier F, et al. Wastewater

- treatment works (WwTW) as a source of microplastics in the aquatic environment. *Environ Sci Technol*, 2016, 50(11): 5800-5808.
- [42] Lv XM, Dong Q, Zuo ZQ, et al. Microplastics in a municipal wastewater treatment plant: Fate, dynamic distribution, removal efficiencies, and control strategies. *J Clean Prod*, 2019, 225: 579-586.
- [43] Perren W, Wojtasik A, Cai Q. Removal of microbeads from wastewater using electrocoagulation. *ACS Omega*, 2018, 3(3): 3357-3364.
- [44] 杨军, 张晓雪, 寇晓宇. 城市生活污水处理技术现状及发展趋势研究. *石化技术*, 2017, 24(4): 63.
Yang J, Zhang XX, Kou XY. Urban waste water treatment. *Petrochem Ind Technol*, 2017, 24(4): 63 (in Chinese).
- [45] Nizzetto L, Futter M, Langaas S. Are agricultural soils dumps for microplastics of urban origin? *Environ Sci Technol*, 2016, 50(20): 10777-10779.
- [46] Mahon AM, O'Connell B, Healy MG, et al. Microplastics in sewage sludge: effects of treatment. *Environ Sci Technol*, 2017, 51(2): 810-818.
- [47] Cole M, Lindeque P, Fileman E, et al. Microplastic ingestion by zooplankton. *Environ Sci Technol*, 2013, 47(12): 6646-6655.
- [48] Xu ZJ, Bai X, Ye ZF. Removal and generation of microplastics in wastewater treatment plants: a review. *J Clean Prod*, 2021, 291: 125982.
- [49] Barber WPF. Thermal hydrolysis for sewage treatment: a critical review. *Water Res*, 2016, 104: 53-71.
- [50] Baroutian S, Robinson M, Smit AM, et al. Transformation and removal of wood extractives from pulp mill sludge using wet oxidation and thermal hydrolysis. *Bioresour Technol*, 2013, 146: 294-300.
- [51] Montaudo G, Puglisi C, Samperi F. Primary thermal degradation mechanisms of PET and PBT. *Polym Degrad Stab*, 1993, 42(1): 13-28.
- [52] Feng YH, Zhang YB, Quan X, et al. Enhanced anaerobic digestion of waste activated sludge digestion by the addition of zero valent iron. *Water Res*, 2014, 52: 242-250.
- [53] Hou LY, Kumar D, Yoo CG, et al. Conversion and removal strategies for microplastics in wastewater treatment plants and landfills. *Chem Eng J*, 2021, 406: 126715.
- [54] Benn N, Zitomer D. Pretreatment and anaerobic co-digestion of selected PHB and PLA bioplastics. *Front Environ Sci*, 2018, 5: 93.
- [55] Moharir RV, Kumar S. Challenges associated with plastic waste disposal and allied microbial routes for its effective degradation: a comprehensive review. *J Clean Prod*, 2019, 208: 65-76.
- [56] Wei W, Huang QS, Sun J, et al. Revealing the mechanisms of polyethylene microplastics affecting anaerobic digestion of waste activated sludge. *Environ Sci Technol*, 2019, 53(16): 9604-9613.
- [57] Zhang MJ, Zhao YR, Qin X, et al. Microplastics from mulching film is a distinct habitat for bacteria in farmland soil. *Sci Total Environ*, 2019, 688: 470-478.
- [58] Chen Z, Zhao WQ, Xing RZ, et al. Enhanced *in situ* biodegradation of microplastics in sewage sludge using hyperthermophilic composting technology. *J Hazard Mater*, 2020, 384: 121271.
- [59] Wu LW, Ning DL, Zhang B, et al. Global diversity and biogeography of bacterial communities in wastewater treatment plants. *Nat Microbiol*, 2019, 4(7): 1183-1195.
- [60] Song Y, Jiang CY, Liang ZL, et al. *Casimicrobium huifangae* gen. nov., sp. nov., a ubiquitous "most-wanted" core bacterial taxon from municipal wastewater treatment plants. *Appl Environ Microbiol*, 2020, 86(4): e02209-e02219.
- [61] Chen HB, Chang S. Impact of temperatures on microbial community structures of sewage sludge biological hydrolysis. *Bioresour Technol*, 2017, 245: 502-510.
- [62] Yoshida S, Hiraga K, Takehana T, et al. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science*, 2016, 351(6278): 1196-1199.
- [63] Mueller RJ. Biological degradation of synthetic polyesters—Enzymes as potential catalysts for polyester recycling. *Process Biochem*, 2006, 41(10): 2124-2128.
- [64] Chen S, Su LQ, Billig S, et al. Biochemical characterization of the cutinases from *Thermobifida fusca*. *J Mol Catal B Enzym*, 2010, 63(3/4): 121-127.
- [65] Herrero Acero E, Ribitsch D, Steinkellner G, et al. Enzymatic surface hydrolysis of PET: effect of structural diversity on kinetic properties of cutinases from *Thermobifida*. *Macromolecules*, 2011, 44(12): 4632-4640.
- [66] Then J, Wei R, Oeser T, et al. A disulfide bridge in the calcium binding site of a polyester hydrolase increases its thermal stability and activity against polyethylene terephthalate. *FEBS Open Bio*, 2016, 6(5): 425-432.
- [67] 许楹, 殷超凡, 岳纹龙, 等. 石油基塑料的微生物降解. *生物工程学报*, 2019, 35(11): 2092-2103.

- Xu Y, Yin CF, Yue WL, et al. Microbial degradation of petroleum-based plastics. *Chin J Biotech*, 2019, 35(11): 2092-2103 (in Chinese).
- [68] Ribitsch D, Heumann S, Trotscha E, et al. Hydrolysis of polyethyleneterephthalate by p-nitrobenzylesterase from *Bacillus subtilis*. *Biotechnol Prog*, 2011, 27(4): 951-960.
- [69] Cui YL, Chen YC, Liu XY, et al. Computational redesign of a PETase for plastic biodegradation under ambient condition by the GRAPE strategy. *ACS Catal*, 2021, 11(3): 1340-1350.
- [70] Wang N, Guan F, Lv X, et al. Enhancing secretion of polyethylene terephthalate hydrolase PETase in *Bacillus subtilis* WB600 mediated by the SP amy signal peptide. *Lett Appl Microbiol*, 2020, 71(3): 235-241.
- [71] 王南. 塑料降解酶(PETase)在枯草芽孢杆菌中的高效表达及其酶学性质的改良研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020.
- Wang N. Efficient Expression of Plastic Degrading Enzyme (PETase) in *Bacillus subtilis* and Improvement of Its Enzymatic Properties[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020 (in Chinese).
- [72] Tang Q, Lu T, Liu SJ. Developing a synthetic biology toolkit for *Comamonas testosteroni*, an emerging cellular chassis for bioremediation. *ACS Synth Biol*, 2018, 7(7): 1753-1762.
- [73] Ankenbauer A, Schäfer RA, Viegas SC, et al. *Pseudomonas putida* KT2440 is naturally endowed to withstand industrial-scale stress conditions. *Microb Biotechnol*, 2020, 13(4): 1145-1161.
- [74] McClure NC, Weightman AJ, Fry JC. Survival of *Pseudomonas putida* UWC₁ containing cloned catabolic genes in a model activated-sludge unit. *Appl Environ Microbiol*, 1989, 55(10): 2627-2634.
- [75] Ravatn R, Zehnder AJ, Van Der Meer JR. Low-frequency horizontal transfer of an element containing the chlorocatechol degradation genes from *Pseudomonas* sp. strain B13 to *Pseudomonas putida* F1 and to indigenous bacteria in laboratory-scale activated-sludge microcosms. *Appl Environ Microbiol*, 1998, 64(6): 2126-2132.
- [76] Tsutsui H, Anami Y, Matsuda M, et al. Transfer of plasmid pJP4 from *Escherichia coli* and *Pseudomonas putida* to bacteria in activated sludge developed under different sludge retention times. *J Biosci Bioeng*, 2010, 110(6): 684-689.

(本文责编 郝丽芳)