

固定化微生物细胞技术在废水处理中的应用*

曹亚莉 田 沈 赵 军 钱 城 杨秀山**

(首都师范大学生物系 北京 100037)

摘要: 固定化微生物细胞技术是一门新兴的生物技术, 文中较为全面地介绍了其定义、分类及载体选择。该技术用于处理高浓度有机废水, 含氨氮、难降解、重金属废水非常有效, 在废水处理领域有着广阔的应用前景。

关键词: 固定化, 微生物, 载体, 废水处理

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 03-0077-05

* 国家自然科学基金资助项目 (No.59976024)

Project Granted by Chinese National Science Found (No.59976024)

北京市自然科学基金资助项目 (No.5992004)

** 联系人 Tel: 010-68902330

收稿日期: 2002-05-08, 修回日期: 2002-07-30

CELL IMMOBILIZATION FOR THE USE OF WASTEWATER TREATMENT

CAO Ya-Li TIAN Shen ZHAO Jun QIAN Cheng YANG Xiu-Shan

(Capital Normal University, Beijing 100037)

Abstract: Cell immobilization is a new biotechnology. The definition, classification, and carrier selection of cell immobilization are presented in details. The technique is efficiently applied to treating strength organic wastewater, nutrient and heavy metals removal of wastewater, as well as hardly biodegraded wastewater. It has a widely applied prospect in wastewater treatment.

Key words: Immobilization, Microbiology, Carrier, Wastewater treatment

固定化微生物细胞技术是20世纪60年代发展起来的一门新兴生物技术,在化工、发酵生产、能源、医药等行业,实际应用效果显著。它是利用物理或化学的手段将游离微生物细胞定位于限定的空间区域,并使其保持活性反复利用的方法。70年代后,污染日益严重,迫切要求研究各种高效的生物处理系统,固定化微生物应用于废水处理成为国内外众多学者研究的热点。固定化微生物细胞技术与传统的悬浮生物处理法相比,具有许多优点:效率高、反应易控制、微生物的高效高密度、固液分离效果好、对环境的耐受力强(如pH、温度、有机溶剂、有毒物质)。因此在废水处理中有着广阔的应用前景。

1 固定化微生物技术分类及载体选择

1.1 技术分类 国内外尚无统一的分类标准,一般分交联法、共价结合法、吸附法和包埋法4种。(1)交联法:利用双功能或多功能的试剂,直接与细胞表面反应基团(氨基、酚基、羟基等)进行反应,使细胞彼此交联,形成网状结构。常用交联剂有戊二醛、甲苯二异氰酸酯、双偶联苯胺等。但此法反应条件比较激烈,对微生物细胞影响很大,且造价昂贵。因此应用受到限制。(2)共价结合法:利用细胞表面反应基团(氨基、巯基、羟基、咪唑基等)与已活的无机或有机载体相反应,形成共价键来制得固定化细胞。此法中,微生物大多死亡,应用并不广泛。(3)吸附法:分物理吸附和离子吸附两种。物理吸附是通过物理方法将微生物细胞吸附到载体表面使之固定化。该法操作易行、反应条件温和、载体可重复使用,但细胞结合不牢易脱落。化学吸附指通过离子键合作用固着于带有相异电荷的离子交换剂(DEAE-纤维、DEAE-sephadex、CM-纤维等)上。(4)包埋法:将微生物细胞包埋在凝胶的微小空格内或埋于半透膜聚合物的超滤膜内,包埋可分为微胶囊法和凝胶包埋法。包埋法是最常见的细胞固定化方法,其操作简单,对细胞活性影响小且制备的固定化细胞球强度高,被广泛用于废水处理研究。

1.2 载体的选择 微生物固定化的理想载体应该具备以下特性:(1)制作过程简单易行,(2)对细胞无毒害作用,(3)传质性能良好,(4)不易被微生物分解,(5)性质稳定,(6)强度高、寿命长,(7)价格便宜。可供选择的载体多种多样,各有其优缺点。寻找合理有效的载体是微生物固定化研究成败的关键之一,下面介绍一些常见的载体材料。

1.2.1 无机载体类:活性炭、多孔陶土、微孔玻璃、砖粒、高岭土、硅藻土等均为此类载体。它们带有多孔结构,靠吸附作用和电荷效应将微生物细胞固定。载体的空隙

为微生物生长和繁殖提供了空间,有利于增加细胞密度。此类载体强度大、传质性好、对细胞无毒害、价格便宜且制备过程简单,有较大的应用价值。但是它们有密度大、实现流化的能效高、微生物吸附有限和易脱落等缺点。方治华等^[1]制得的人工合成多孔载体能有效克服上述缺点。有机载体类:这类载体在包埋法中应用最为广泛,分为天然和合成有机载体两大类。

1.2.2 天然有机载体类:海藻酸盐、卡拉胶、琼脂、明胶、骨胶原等为此类载体。这类载体对微生物无毒害作用,传质性好。但是机械强度低,易被微生物分解。海藻酸钙凝胶操作简单、价格便宜、对微生物无毒,为研究较多的一种凝胶,制备工艺简单。但这种凝胶在处理废水过程中,受到各种离子(如 PO_4^{3-} 、 CO_3^{2-} 、 K^+ 、 Na^+ 等)的侵蚀,会逐渐溶解,寿命缩短。为了提高其机械强度,有人用聚乙烯亚胺处理凝胶颗粒^[2]; Scannell A G M等^[3]制备的双层海藻酸钙凝胶具有较高的机械强度。琼脂凝胶具有较大空隙、对细胞无毒性、聚合不需离子、不带电荷、不会与底物或产物形成离子键,但强度不够。甲苯、四氯乙烯、戊二醛、醋酸丁酯等可作为琼脂载体制备的交联剂。卡拉胶也是一种重要的凝胶剂, Gardon H等人^[4]在2% (w/w)卡拉胶中加入2% (w/w)明胶可以明显改善载体性能。由于明胶在处理废水过程中逐渐被微生物分解,载体空隙变大,传质性能增强,凝胶珠内反应中不再有气泡产生。

1.2.3 人工合成有机载体类:聚丙烯酰胺 (ACAM) 凝胶、聚乙烯醇 (PVA) 凝胶、光硬化树脂、聚丙烯酸凝胶等为此类载体。ACAM 凝胶由丙烯酰胺和甲叉双丙烯酰胺聚合而成。制得载体强度较高,传质性一般,由于丙烯酰胺单体对微生物活性有害,废水处理中应用并不广泛。聚丙烯酸凝胶制备参见文献 [5]。PVA 凝胶是国内外研究最为广泛的一种包埋固定化载体,它具有强度高、化学稳定性好、抗微生物分解性强、对细胞无毒且价格低廉等一系列优点。因而具有很大的利用价值。PVA 凝胶常见的制备主要有紫外线法、冷冻-解冻法和硼酸交联法。其中硼酸交联法最为简单经济。但也有两大缺点:硼酸对微生物细胞有毒害作用;PVA 交联不彻底,固定化颗粒发生粘联现象。Chih cheng chang 等人^[6]以 50% NaNO_3 代替饱和硼酸做交联剂能很好克服上述问题。另外,海藻酸钠的加入可增加 PVA 凝胶的成球性和传质性;添加少量 SiO_2 能增加包埋颗粒比重减少上浮。

2 固定化微生物细胞在废水处理中的应用

2.1 高浓度有机废水的处理 高浓度有机废水指由造纸、皮革和食品等行业排放的 COD 2,000 mg/L 以上的废水。刘双江等^[7]以海藻酸钠包埋固定光合细菌,处理不同浓度豆制品废水。当废水 COD 浓度为 7,560 ~ 12,600 mg/L 时,可稳定产气 260h 以上,平均产气率为 146.8 ~ 351.4 mL/ (L·d),气体中氢气含量 60% 以上, COD 去除率 62.3% ~ 78.2%;当废水 COD 浓度在 1,260 ~ 5,040 mg/L 时,可以维持产气 93h,平均产气率为 120.7 ~ 140.0 mL/ (L·d),气体中氢气含量 75% 以上, COD 去除率 41% ~ 60.3%。罗志腾等^[8]用琼脂包埋厌氧活性污泥,在厌氧膨胀床中处理高浓度有机废水,进水 COD 为 7,300 mg/L,回流比为 24h, COD 去除率达 83.6%。

2.2 氨氮废水的处理 最早是 Nilsson 用海藻酸钙固定假单胞反硝化菌,采用填充柱对硝酸盐浓度为 20mg/L 的地下水进行两个月的连续脱氮试验。脱氮效果良好,容积负荷为 3.6kg/ (m³·d),反硝化速度为 66mg/ (h.kg 凝胶)。Wijffels 等^[9]用卡拉胶包埋反硝化

菌,在容积2L的外循环流化床中进行脱氮试验,HRT为1h,进水 $\text{NO}_x\text{-N}$ 浓度为 $8\sim 16\text{mol/m}^3$,固定化细胞填充率为11.1%时,脱氮率达90%以上。还有人选用聚乙烯醇作载体,并添加适量粉末活性炭,包埋固定硝化污泥处理 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和葡萄糖为主的合成废水。结果表明,在 $24^\circ\text{C}\sim 28^\circ\text{C}$,颗粒填充率7.5%,HRT为8h的条件下,进水 $\text{NH}_4\text{-N}$ 负荷由 $0.6\text{kg}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ 提高至 $3.49\text{kg}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$, $\text{NH}_4\text{-N}$ 去除率可达95.5%,COD去除率保持在80%以上^[10]。

2.3 难降解物质的处理 Joshi N T^[11]等人用海藻酸钙包埋降酚微生物处理含酚废水,当含酚 $1,000\text{mg/L}$,悬浮污泥48h将酚完全降解,固定化细胞只需32h;含酚为 $1,500\text{mg/L}$ 时,悬浮污泥酚去除率为75%,固定化细胞为98%。Manohar S等人^[12]将假单胞菌属NGK1菌系固定于氨基甲酸乙酯泡沫中,用来降萘试验。在萘含量 50mmol/L 废水中,未固定游离细胞4d后达到最大去除量 30mmol/L ,以后不再降解;固定化细胞6d后,将萘全部降解完。研究还发现,含萘 20mmol/L 的废水中,固定化细胞能够在90d内反复利用95次,仍保持萘降解性能。黄霞等人^[13]筛选了能降解焦化废水中的3种难降解有机物(喹啉、异喹啉、吡啶)的优势菌种,并采用无纺布-PVA复合载体进行固定包埋,结果表明,经优势菌种处理8h,3种难降解有机物均可降解90%以上。

2.4 重金属废水的处理 严国安等^[14]采用海藻酸钙凝胶包埋普通小球藻,对人工废水进行静态模拟净化试验,比较了固定化和悬浮态小球藻对重金属 Hg^{2+} 的去除率。结果表明,固定化小球藻的去除率明显高于悬浮藻。在 Hg^{2+} 浓度为 $0.2、0.8、1.4\mu\text{g/L}$ 的污水中,静态停留5d,固定藻对 Hg^{2+} 的去除率分别94.7%、94.5%和97.5%,而悬浮藻分别为79.7%、88.1%和76.9%。Michel L J等人利用聚丙烯酰胺包埋固定*Citrobacter* sp.用于富集废水中的镉,在最优条件下,使用单级固定化细胞反应柱,去除率达100%。杨芬^[15]同样采用海藻酸钙包埋普通小球藻进行Cu(II)吸附研究,结果表明固定化细胞在 Cu^{2+} 浓度较低时,吸附率可达95%,再生后的固定化细胞吸附率在80%以上。

3 固定化微生物细胞技术在废水处理中的应用前景

综上所述,固定化微生物技术用于废水处理,有以下优点:(1)处理能力明显高于普通活性污泥,且抗水力和有机负荷能力强,污泥生成量少。(2)生长繁殖速度缓慢的微生物通过固定化,能有效缩短启动时间,使处理稳定进行。(3)微生物细胞固定后,利于反应中固、液、气三相分开,且产物分离容易,能有效克服某些反应过程中存在的产物抑制问题。(4)固定高活性高浓度的微生物,在处理有毒及难降解物质方面十分有效。

目前,固定化微生物细胞进行污水处理的研究大多仍处于实验室水平,工业化处理实际污水的报道很少见。为了发挥该方法的巨大潜力,实现其工业化目的,还应完善如下研究。(1)固定化载体的寿命和成本是固定化细胞技术经济可行的关键,所以应开发研制低费用、高强度和高传质性的载体。另外,探索不同载体的结合使用也是今后研究的方向。(2)研制高效反应器也是实现其工业化的重要途径。(3)经固定化微生物处理过的废水,出水透明度一般较差,妨碍其在去除率要求较高场合的运用。所以增加前后处理装置,完善整个处理工艺的组合,是今后需要考虑的问题。(4)废水是一个十分复杂的体系,往往是混合菌进行处理,采用混合菌还是单一菌分级处理有待于探索。(5)固定化重组菌,可以提高菌的稳定性和处理效率,将成为今后的一

个发展方向。

固定化微生物细胞技术进行废水处理研究,是一项符合可持续发展战略的课题。目前国内外的大多数研究仍处于实验室水平,有待于实现其工业化生产。相信随着今后研究的不断深入以及不断克服所存在的一些问题,固定化微生物细胞技术将成为一项高效而实用的生物处理技术,在废水处理实际应用中充分发挥出其巨大潜力。

参考文献

- [1] 方治华,黄勇,姜德成,等.应用与环境生物学报,1996,2(2):147~151.
- [2] Joshi N T, D'Souza S F. J Environ Sci Health, 1999, A34(8):1691.
- [3] Scannell A C M, Hill C, Ross R P, et al. J of Appl Microbiol, 2000, 89: 574.
- [4] Gardon H, Pauss A. Appl Microbiol Biotech, 2001, 56: 517~523.
- [5] Joshi N T, D'Souza S F. J Environ Sci Health, 1999, A34(8):1691.
- [6] Chihcheng C, Szu K T. Biotechnology Techniques, 1998, 12(12):865~868.
- [7] 刘双江,杨惠芳,周培瑾,等.环境科学,1995,16(1):42~44.
- [8] 罗志腾,蔡守宏,刘美侠.城市环境与城市生态,1990,3(2):1~4.
- [9] Wijffels R H, Schuurking G C, Tramper J. J Appl Microbiol biotech, 1990, 34: 399.
- [10] 王磊,兰淑澄.环境科学,1997,18(2):18~20,23.
- [11] Veliky I A, Williams R E. Biotechnol Lett, 1997, 5: 277~280.
- [12] Manohar S, Kim C K, Karegoudar. Appl Microbiol Biotech, 2001, 55: 311~316.
- [13] 黄霞,陈戈,少林广.中国环境科学,1995,15(10):1~4.
- [14] 严国安,李益健.环境科学研究,1994,7(1):39~42.
- [15] 杨芬.曲靖师专学报,2000,19(6):46~48.