



# 利用混合菌群活性污泥法实现生物可降解塑料 PHA 的合成

郝晓地, 朱景义, 曹秀芹

北京建筑工程学院可持续环境生物技术研发中心, 北京 100044

**摘要:** PHA是一种生物可降解塑料, 可从污水有机物中合成。文章在简要说明现阶段工业生产PHA情况的基础上, 总结了利用混合菌种活性污泥法从污水有机物中合成PHA的优点。重点对两种从污水中生产PHA工艺——厌氧-好氧活性污泥工艺和好氧瞬时供料工艺进行了介绍, 并给出了相应工艺流程。通过使用廉价的有机底物可以使PHA的生产价格降低到原来的一半, 大约为每公斤4欧元左右。文章还讨论了控制工艺运行条件对PHA合成的重要性, 并说明了不同底物组成对合成PHA性质的影响。

**关键词:** 聚-β-羟基烷酸(PHA); 活性污泥; 可生物降解塑料; 厌氧-好氧工艺; 好氧瞬时供料工艺; 间歇式反应器(SBR)

**中图分类号:** X783.2

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1672-2175 (2005) 06-0967-05

众所周知, 随着经济和社会的发展白色污染变得越来越严重。目前, 塑料垃圾以每年 $2.5 \times 10^7$  t的速度在自然界中积累, 其填埋、焚烧等处理过程中表现出了许多影响环境的弊端。因此, 加强可降解塑料的研究与开发, 争取在工艺上取得突破并应用于实际, 生产出具有生物可降解性、且价格合理的塑料制品, 对于环境保护和可持续发展都具有重要的现实意义。

聚-β-羟基烷酸(PHA)是一种可由微生物合成的热塑性塑料, 与聚丙烯具有类似的性质。但PHA具有生物可降解性和生物可相容性等独特优点, 且其合成原料为糖和脂肪酸等可再生资源。所以, PHA的微生物合成能有效地缓解资源紧张和环境危机的现状, 其开发应用前景十分乐观, 许多国家已把它列为重点发展项目。

本文对目前PHA生产的国际情况做一综述; 重点介绍通过污水处理中的活性污泥法利用混合菌群生产PHA的两种研发工艺; 最后着重讨论不同底物的组成对合成PHA性质的影响。

通过污水中的有机物质合成PHA, 是利用生物技术实现变废为宝的有效途径。一方面, 通过反应降解了有机环境污染物质, 实现了环境保护。另一方面, 把有机环境污染物质转化为具有良好利用价值的环境友好塑料, 这对于可持续发展具有重大现实意义, 可以说是实现环保和可持续发展的最优之路。

## 1 PHA生产情况

现阶段PHA的合成在工业生产中已经可以实现, 如美国Monsanto公司和英国ICI公司均以微生物发酵方式生产生物可降解塑料。这些生产工艺大多

是利用纯种微生物, 生产原料主要是葡萄糖、丙酸等价格昂贵的有机底物。在工艺运行过程中, 要求灭菌消毒, 保证发酵系统无杂菌存在。因此, 这种PHA生产方式与以石油为原料的传统塑料生产工艺相比成本较高; 每公斤PHA生产成本约为9欧元, 而每公斤合成塑料仅为1欧元<sup>[1]</sup>。目前PHA大多应用于医学领域(如, 骨骼替代品等), 而在日常生活中的大量使用还不太现实。

为了降低PHA的生产价格, 近几年来各国对利用混合菌种和多种底物合成PHA的活性污泥法进行了大量的实验研究。活性污泥法具有许多优点:

1) 在驯化过程中微生物的选择基于生态原理。因此菌种稳定, 这就为PHA的工业化生产创造了前提;

2) 混合菌种对工艺的适应性强, 工艺控制简单, 无需灭菌消毒提供纯种环境, 从而降低了工艺运行成本;

3) 混合菌种可以适应多种不同底物, 从而扩大了底物的选择范围, 为混合底物应用于生产打下良好基础;

4) PHA的生产原料为工业废水甚至市政污水, 来源广、价格低, 避免了大量购买有机碳源底物的支出, 从而降低了PHA的生产价格。

所以, 活性污泥法与纯菌种单底物生产PHA相比更具有现实意义。

由上可见, 现阶段及未来的技术研发发展方向应该是从纯菌种单底物的生产工艺向混合菌种多底物的工艺过渡。通过使用廉价的有机底物可以使PHA的生产价格降低到原来的一半, 大约为每公斤4欧元左右<sup>[2]</sup>。

## 2 厌氧-好氧活性污泥工艺

本工艺始于上世纪70年代,被称为强化生物除磷工艺(enhanced biological phosphate removal process, EBPR),主要用于磷的去除。

### 2.1 工艺原理

EBPR系统中废水从厌氧区进入,微生物在好氧区和厌氧区之间循环。在厌氧条件下,聚磷微生物(PAOs)水解体内贮存的多聚磷酸盐以获取能量,从而吸收短链脂肪酸等有机底物贮存于细胞体内作为内部碳源——PHA。在好氧条件下,PAOs分解贮存的有机碳源PHA,通过氧化磷酸化获得能量,进行微生物自身的生长并过量地摄取磷。可见,PHA就是微生物在厌氧条件下吸收有机底物后贮存于细胞内的碳源物质。

### 2.2 EBPR工艺用于PHA生产的特点和流程

首先,活性污泥和有机污染物随污水进入厌氧阶段,要求反应器绝对厌氧并且硝酸盐和亚硝酸盐的浓度很低(以抑制异养菌反硝化与磷细菌争夺碳源)。此时,大分子的有机污染物在厌氧和兼性细菌的作用下水解酸化,被分解成乙酸、丙酸等挥发

性有机脂肪酸,同时,PHA聚集微生物(即,磷细菌PAOs)分解聚磷酸盐,主要通过糖原酵解的方式获得还原力(Mino模型)<sup>[3-5]</sup>,从而利用酸化得到的短链脂肪酸合成PHA。在好氧阶段,微生物行好氧生长,分解PHA获取能量和碳源,摄取正磷酸盐并将其转化为多聚磷酸盐贮存于细胞体内。

该工艺的关键所在是驯化出大量具有PHA合成能力的微生物,提高微生物在厌氧阶段吸收有机碳源物质的能力。因此,对微生物进行预驯化极为重要。通常先通过人工合成的底物(如在废水中加入乙酸)对活性污泥进行驯化,以增加活性污泥中PHA聚集微生物的数量并提高其贮存PHA的能力。根据Chua等人的研究<sup>[6]</sup>,通过在市政污水中添加乙酸对活性污泥进行驯化可使PHA占细胞干重的分数由21%提高到31%。另外Chua指出,把pH值控制在8~9之间有利于PHA的合成。污泥停留时间(SRT)较短有利于PHA的存储;研究发现把SRT从10 h减少为3 h时PHA的含量能提高10%左右。

图1所示的是Chua等人提出的厌氧-好氧活性污泥法生产PHA的理论工艺模型<sup>[6]</sup>。模型以传统的

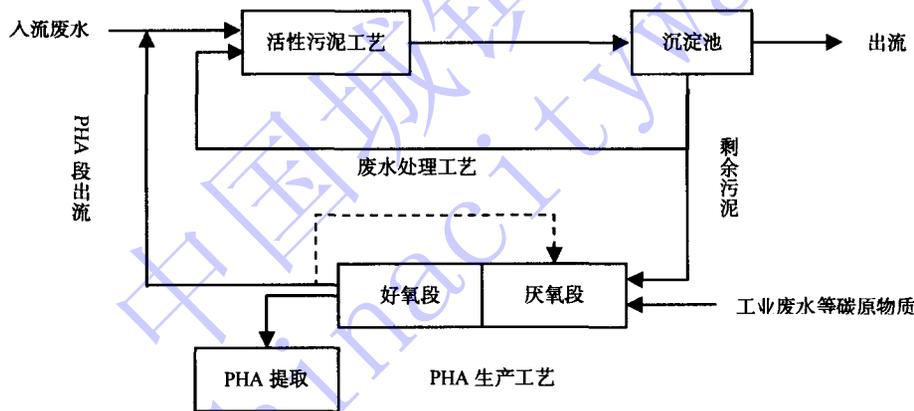


图1 厌氧-好氧活性污泥法生产PHA工艺流程模型

Fig. 1 The process model of PHA production by using anaerobic-aerobic activated sludge process

活性污泥法处理污水为基础,分为传统的活性污泥污水处理工艺和厌氧-好氧PHA生产工艺两部分。该工艺模型独具匠心之处是利用活性污泥法中的剩余污泥进行PHA的生产,可一并做到污水有效处理和PHA合成细菌驯化,并同时达到微生物数量增加和合成能力的提高。这就要求在活性污泥阶段控制反应器的运行条件,选择出最佳运行参数,以丰富剩余污泥中PHA合成细菌的数量和PHA的贮存能力。在实际设计中,可以分别从供氧量、碳氮比 $[w(C):w(N)]$ 、水力停留时间(HRT),SRT和pH等方面来考虑最优设计方案。

另外,根据实际情况也可以做一些必要的改进,这可以从两方面进行考虑。当好氧池出水BOD

不太高时,选择把出流废水引入到活性污泥系统中做到达标排放;当好氧池出水BOD较高,特别是含有较多的碳源可以再次利用时,则设置内循环系统使出水回流,提高废水合成PHA的利用率。PHA生产的底物物质一般取自于高浓度的工业废水,其中碳源物质非常丰富。

### 2.3 小结

从以上工艺中可以看出,通过对传统活性污泥工艺的改造和控制工艺参数可以实现PHA的生产。Sato用驯化过的活性污泥在厌氧-好氧工艺中尝试合成PHA,取得了PHA占细胞干重比例62%的良好效果<sup>[7]</sup>。所以,本工艺具有良好的可行性和非常好的工业应用前景。



### 3 好氧瞬时供料工艺

尽管 Satoh 用活性污泥法获得的 PHA 占干细胞质量达到了 62% 的比例, 但这与通过纯菌种获得的结果 (PHA 占细胞干质量的 80%) 还有较大差距。近年来人们开始研究好氧瞬时供应养料的混合菌种活性污泥法生产 PHA<sup>[8, 9]</sup>。

#### 3.1 工艺原理

研究表明, 通过控制反应器中的底物浓度, 使微生物处于时而底物丰富时而底物匮乏的状态 (feast and famine state), 能使微生物处于非稳态生长状态。在这样的动态环境下, 当底物丰富时 PHA 在微生物体内的贮存和微生物的增长同时进行, 当底物匮乏时 PHA 则被分解以获取能量和碳源<sup>[10]</sup>。所以, 只要在微生物生长没有受到限制的条件下 PHA 就能一直在生物体内合成, 且 PHA 合成反应相对于微生物自身增长而言占主要比例 (约占 70%)。当底物长时间较丰富存在于反应器中, 微生物就会产生生理适应性, 使得微生物的生长占优势。据此, 通过动态瞬时供应养料, 使反应器中底物时而丰富、时而匮乏, 以抑制微生物的生长, 驯化出具有强大 PHA 贮存能力的菌群。

#### 3.2 工艺特点及运行控制因素

本工艺在微生物方面的最大特点是微生物增长和 PHA 的贮存同时进行, 吸收的有机物用来合成 PHA 和微生物用于自身增长各自所占的比例因反应条件的不同存在较大差异:

1) 从反应速率方面来看, 微生物和底物的接触时间越长则微生物增长速率越大, 但对底物的吸收速率却无显著影响。所以, 聚合物 PHA 的合成速率为底物的吸收速率和微生物的生长速率之间的差值。因此, 要使微生物大量地贮存 PHA, 应使微生物与底物的接触时间缩短, 以减少底物被微生物用来增长的比例。

2) 从微生物特征方面来看, 当微生物的泥龄较短时微生物的增长是主要的, 贮存的 PHA 量很少。所以, 工艺过程中应控制工艺运行条件以使微生物的泥龄变长。

另外, 我们知道底物被用于微生物增长的比例还取决于反应器中营养物的浓度, 为了限制微生物的增长、提高微生物聚集 PHA 的能力, 要对反应器中营养物的浓度进行控制。在本工艺中, 加入硫脲以抑制除氨氮之外的其他营养物质, 所以氨氮是唯一供微生物生长的氮源。因此, 可以通过控制氨氮的浓度抑制微生物的增长, 进一步使底物转化为聚合物 (PHA) 的比例增加。Serafim 通过实验得出结论<sup>[11]</sup>, 氨氮浓度是本工艺中重要控制因子, 通过对氨氮的限制可以使微生物的增长速率降低从而提高

聚合物贮存的产率和产量。

Beun 等人<sup>[12]</sup>在实验中发现, 过高的底物浓度会使微生物合成 PHA 的反应产生抑制作用。为了消除这种抑制作用, Serafim 等人<sup>[11]</sup>做了深入的实验研究。他们把浓度为 180 Cmmol/L 的乙酸分两种方式加入到反应器中: 连续加入和分批次加入。在分批次加入中, 他们把乙酸按 60 Cmmol/L 浓度分三次加入。加入控制点由溶解氧 (DO) 控制, 即当底物被耗尽时 DO 值会突然上升, 此时应尽快加入新的底物。通过对底物被耗尽时微生物进行检测获得了相应的实验结果, 连续加入法合成的 PHA 占细胞干质量的比例为 56.2%, 而分批次加入的比例却高达 78.5%。这与通过纯菌种获得的结果 (PHA 占 80%) 相差无几, 也是目前利用活性污泥法得到的最高实验结果。所以, 通过对 DO 的控制、底物分批次加入不仅消除了高浓度带来的抑制作用, 还大大提高了 PHA 占细胞干重的比例。

另外, 分批次加入底物不仅提高了 PHA 的质量分数, 还使得 PHA 的生产时间大大缩短。在 Serafim 的试验中, 连续加入法耗时 7 h, 而分批次加入仅耗时 3 h 20 min<sup>[11]</sup>。但是否分批次加入次数越多越好呢? Serafim 在新的实验中分四次加入了底物, 实验结果是 PHA 的贮存量并无明显的增加, 这说明 PHA 的贮存量已基本达到微生物贮存能力的极限。

根据 Serafim 等人的试验结果<sup>[11]</sup>, 若在工艺中对 pH 进行控制会降低聚合物的合成。所以, 本工艺中对 pH 不予控制效果较好, 这样的实际工艺运行过程操作简便、可行。

#### 3.3 工艺流程及反应器的选择

好氧瞬时供料工艺是目前最具应用前景的技术, 这种工艺活性污泥微生物贮存 PHA 的能力强、产量大, 而且, 在本工艺中挥发性脂肪酸等碳源主要被促进转化为 PHA, 而不是糖原或其他胞内碳水化合物。在工艺运行中, 为了提高污泥贮存聚合物的能力, 反应器是在养料断断续续加入的状态下运行的。首先, 底物在一个较短的时间段内加入, 接着再辅以一个较长的时间段, 只进行曝气无养料加入。在这个较长的时间段内, 反应器内养料是匮乏的。而这种匮乏状态可以提高微生物贮存 PHA 的能力, 这是本工艺的独特之处。反应器就是在这种养料时而丰富时而匮乏的动态下运行的。

综上所述, 可以看出间歇式 (SBR) 反应器的特点能较好地满足本工艺的运行要求。所以, 好氧瞬时供料工艺通常在 SBR 反应器中运行。首先, 在 SBR 反应器中微生物行非稳态生长, 这样就能够驯化选择出大量的具有强大 PHA 合成能力的微生物。其次, SBR 反应器容易控制, 可以根据供料周期和反

应循环周期的不同随时做出调整,这适应了本工艺的动态运行条件。所以,对本工艺来说,SBR是最为理想的反应器类型。如果把工艺流程设计成连续式的,则其基本的结构由一个推流式反应器(PFR)和一个完全混合式反应器(CSTR)组成,中间由一沉淀过滤器连接。在此流程中原水从PFR流入,PFR反应器相当于食料丰富期(feast period),而完全混合式反应器相当于食料匮乏期(famine period)。活性污泥经CSTR运行其贮存能力得到提高,内循环至PFR后与碳源丰富的新鲜污水混合发生反应贮存PHA,并随出流一起流出。出流被分为两部分,一部分直接流入CSTR,另一部分流入到污泥浓缩池。浓缩过的污泥将进行PHA提取等后续处理。PFR和CSTR的水力停留时间分别由底物的消耗时间和使污泥重新处于“饥饿”状态的时间确定。

图2所示为Majone等人于1999年提出的好氧瞬时供料工艺生产PHA的模式图<sup>[13]</sup>。工艺分为厌氧和

好氧两个部分,利用经好氧部分增殖和驯化的活性污泥中的混合菌种进行PHA生产。在第一阶段(厌氧阶段),高浓度可生物降解的物质在厌氧条件下以较高的速率酸化酵解,分解成乙酸和一些羧酸的混合物,这些物质非常有利于PHA合成。第二阶段(完全好氧阶段),活性污泥工艺在SBR反应器中以中等有机负荷强度运行,第一阶段产生的脂肪酸周期性地加入到SBR反应器中。通过对底物的周期性加入,使反应器中的底物浓度处于交替的丰富和匮乏状态(feast and famine conditions),从而使微生物在丰富状态下贮存底物,在匮乏状态下利用贮存的底物增长,这样就选择并增殖了具有PHA贮存能力的微生物种群。这些微生物以剩余污泥的形式进入随后的SBR反应器进行PHA的聚集生产,反应同样在好氧条件下运行,其有机负荷强度较前一SBR反应器有所提高,从而饱和了微生物对有机物底物的贮存能力。得到的含有丰富PHA的污泥则进入随后



图2 好氧瞬时供料工艺流程模型

Fig. 2 The process model of aerobic transient feeding process

的提取工艺。

从以上的工艺模型中可以看到,在开始阶段增加了酸化酵解工艺。这一点是十分重要的,可以从以下两个方面来说明:

1) 为了降低生产价格,本工艺使用的是价格低廉的工业废水甚至是市政污水,底物成分多种多样。但并不是所有的底物都可以被微生物吸收转化为PHA,有相当一部分大分子有机物是难以转化、难以吸收的。为了提高底物的利用率,通过预酸化酵解把底物转化为乙酸和别的羧酸的混合物,促进底物的吸收和转化;

2) 底物的组成对PHA的性质会产生影响,通过预酸化酵解可以改善底物的组成,提高异量分子聚合物P(HB/HV)在PHA中的组成比例,从而优化聚合物PHA的性质。本部分内容将在下面进一步深入讨论。

### 3.4 小结

好氧瞬时供料法是新近开发的一种工艺,具有强大的PHA生产能力。但仍然存在很多待改进的地

方,设计出完善的工艺流程,探索成熟的工艺运行条件还有待于进一步研究和实验。

## 4 底物组成对PHA性质的影响

如上所述,活性污泥法生产PHA是利用多种底物通过混合菌种进行的。菌种的多样性决定了微生物对多种不同底物的适应性,从而可以利用不同底物进行PHA生产。而更重要的是可以利用不同底物改变PHA的性质,因为不同的底物得到的PHA的组成成分是完全不同的,其相应的物理及热力学性质也有相应的变化。

经过大量的实验得出结论<sup>[14,15]</sup>,当使用单一底物如乙酸或乳酸时得到的是均聚物PHB (poly-hydroxybutyrate)。而单独使用丙酸时则为PHV (poly-hydroxyvalerate)。当使用两种底物时,丙酸和乙酸或丙酸和乳酸,即当乙酸和乳酸中的一种存在时都将与丙酸生成异量分子聚合物P(HV/HB)。在通常情况下,利用混合菌种多种底物合成的PHA主要成分是均聚物PHB和异量分子聚合物P(HV/HB),而异量分子聚合物的比例与底物的组成有关。PHB是



高度结晶的(结晶度在55%~80%)<sup>[16]</sup>, 所以其抗冲击强度差且易断裂。异量分子聚合物P(HV/HB)的物理和热塑性质取决于其中PHV的摩尔分数, 相比于PHB机械性能较好, 柔韧性和抗冲击强度有所提高, 且其熔点随PHV分数的增加显著降低。P(HV/HB)比PHB表现出了更好的材料性质, 具有更好的工业应用前景。

为了优化PHA的性质, 就要尽可能的提高PHA中异量分子聚合物的比例, 改善底物的组成, 提高底物中丙酸的浓度。上文中提到的预酸化酵解就是一种改善底物组成行之有效的办法。

## 5 结束语

混合菌种多种底物活性污泥法生产PHA比纯菌种单底物的方法更具有现实可行性。混合菌种使工艺运行简单易于操控, 不需要严格的消毒纯菌环境, 节省了工艺消耗费用。多种底物的使用可以从根本上降低PHA的生产价格, 使底物的选择从昂贵的单一底物转向了低廉的混合底物, 使碳源丰富的工业废水、市政污水和有机废料的利用成为可能。这在根本上还要归功于混合菌种的使用, 归于混合菌种对多种底物的适应性。

当然本法还有许多不成熟的方面, PHA占细胞干重的比例不是很高, 有可能增加PHA的提纯费用。工艺运行的最优条件也不十分明确, 有待进一步的实验。所以, 还要进行更深入的研究, 求得最佳经济效果。

## 参考文献:

[1] BIBY G D. Degradable plastics [EB/OL]. <http://www.icma.com/info/polymers.htm>, 2002.

[2] MEESTERS K. Production of poly-3-hydroxyalkanoates from water streams [R]. Design Report, Delft University of Technology, 1998.

[3] MINO T, ARUN V, TSUZUKI Y, MATSUO T. In: Ramadori R, ed. Proc. IAWPRC International Conference on 'Biological Phosphorus Removal From Wastewaters', Rome, Advances in Water Pollution

Control [C]. Oxford: Pergamon Press, 1987: 27.

[4] ARUN V, MINO T, MATSUO T. Biological mechanism of acetate uptake mediated by carbohydrate consumption in excess phosphorus removal systems[J]. Water Research, 1988, 22: 565 - 570.

[5] MINO T, van LOOSDRECHT M C M, HEIJNEN J J. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process [J]. Water Research, 1998, 32: 3193 - 3207.

[6] CHUA A S M, TAKABATAKE H, SATOH H, *et al.* Production of polyhydroxyalkanoates (PHA) by activated sludge treating municipal wastewater: effect of pH, sludge retention time (SRT), and acetate concentration in influent [J]. Water Research, 2003, 37: 3602 - 3611.

[7] SATOH H, IWAMOTO I, MINO T, *et al.* Activated sludge as a possible source of biodegradable plastic [J]. Water Science Technology, 1998, 38:103 - 109.

[8] MAJONE M, MASANISSO P, CARUCCI A, *et al.* Influence of storage on kinetic selection to control aerobic filamentous bulking [J]. Water Science Technology. 1996, 34: 223 - 232.

[9] BEUN J J, PALETTA F, van LOOSDRECHT M C M, *et al.* Stoichiometry and kinetics of poly-h-hydroxybutyrate metabolism in aerobic, slow-growing, activated sludge cultures [J]. Biotechnology Bioengineering, 2000, 67(4): 379 - 389.

[10] van LOOSDRECHT M C M, POT M A, HEIJNEN, J J. Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses[J]. Water Science Technology, 1997, 35(1): 41 - 47.

[11] SERAFIM L S, LEMOS P C, OLIVEIRA R, *et al.* Optimization of polyhydroxybutyrate production by mixed cultures submitted to aerobic dynamic feeding conditions [J]. Biotechnology Bioengineering, 2004, 87: 145 - 160.

[12] BEUN J J, DIRCKS K, van LOOSDRECHT M C M, *et al.* Poly- $\beta$ -hydroxybutyrate metabolism in dynamically feed mixed cultures [J]. Water Research, 2002, 36:1167 - 1180.

[13] MAJONE M, RAMADORI R, BECCARI M. Biodegradable polymers from wastes by using activated sludges enriched by aerobic feeding [J]. AIDIC Conf Ser, 1999, 4: 163 - 170.

[14] DIONISI D, MAJONE M, PAPA V, *et al.* Biodegradable polymers from organic acids by using activated sludge enriched by aerobic periodic feeding [J]. Biotechnology Bioengineering, 2004, 85: 569 - 579.

[15] REIS M A M, SERAFIM L S, LEMOS P C, *et al.* Production of polyhydroxyalkanoates by mixed microbial cultures[J]. Bioprocess Biosystem Engineering, 2003, 25: 377 - 385.

[16] LEE S Y. Bacterial polyhydroxyalkanoates[J]. Biotechnology Bioengineering, 1996, 49: 1 - 14.

# Production of biodegradable plastics PHA by using mixed cultures and activated sludge

HAO Xiao-di, ZHU Jing-yi, CAO Xiu-qin

The R & D Center for Sustainable Environmental Biotechnology, Beijing Institute of Civil Engineering and Architecture, Beijing 100044, China

**Abstract:** Polyhydroxyalkanotes (PHA) are biodegradable plastics which can be converted from wastewater organics. In this article the situation of PHA production of large scale is described, and the advantages of PHA production using mixed cultures and activated sludge are summarized. Two PHA production processes from wastewater, anaerobic-aerobic activated sludge process and aerobic transient feeding process are presented in this article. With cheap organic substrate being used the price of PHA production is 4 €/kg, which is just about half of the previous price. The importance of process operating conditions for PHA production is discussed. Finally the influences of different substrates on the characteristics of synthesized PHA are also mentioned.

**Key words:** polyhydroxyalkanotes; activated sludge; biodegradable plastics; anaerobic-aerobic process; aerobic transient feeding; sequencing batch reactor