

ASBR 系统中磷化氢浓度与碱性磷酸酶活性的关系

杨凤霞, 张朝升, 韦伟, 曹建平, 荣宏伟, 申子鸣
(广州大学 土木工程学院, 广东 广州 510006)

摘要: 以厌氧序批式反应器(ASBR)为研究对象,通过对反应器进水和出水中 TP、COD 和沼气中自由态磷化氢的长期监测,确定体系存在稳定的磷化氢产出。在此基础上,研究了系统在典型周期内 TP、COD、磷化氢和碱性磷酸酶的变化规律,分析了磷化氢和碱性磷酸酶之间的相互关系。结果表明:TP、COD 在反应过程中呈下降趋势且在 5 h 时实现最大去除,随后上下小幅波动;气态磷化氢(PH_3)变化趋势呈“S”形;结合态磷化氢(MBP)和碱性磷酸酶活性(APA)变化趋势一致,均于 3 h 时骤升、4 h 陡降、7 h 小幅上升,然后波动; PH_3 与 APA 没有明显的相关关系,MBP 与 APA 呈显著正相关($R^2=0.964$, $P<0.01$)。

关键词: 厌氧序批式反应器; 气态磷化氢; 结合态磷化氢; 碱性磷酸酶

中图分类号: TU992.3 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2018)13-0098-06

Relationship between Phosphine Concentration and Alkaline Phosphatase Activity in ASBR System

YANG Feng-xia, ZHANG Chao-sheng, WEI Wei, CAO Jian-ping, RONG Hong-wei, SHEN Zi-ming

(School of Civil Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The production of phosphine in anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) was studied. After the long-term monitoring of total phosphorus (TP), chemical oxygen demand (COD), and phosphine, it was determined that the system had a stable production of phosphine. The changes in TP, COD, phosphine, and alkaline phosphatase in the typical cycle were studied, and the relationship between phosphine and alkaline phosphatase was analyzed. TP and COD showed a decreasing trend in the reaction process, reached a maximum removal at 5 h, and then fluctuated slightly. The change of gaseous phosphine (PH_3) showed an “S” shape. The matrix-bound phosphine (MBP) and alkaline phosphatase activity (APA) both rose dramatically at 3 h, dropped sharply at 4 h, and then increased moderately at 7 h. No significant correlation was identified between PH_3 concentrations and APA; while, MBP concentrations showed a significant positive correlation with APA ($R^2=0.964$, $P<0.01$).

Key words: ASBR; gaseous phosphine; matrix-bound phosphine; alkaline phosphatase

水体中营养物质(主要为氮、磷)浓度超出自然 水体背景值会导致水体富营养化^[1~3]。富营养化对

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21477027); 广东省科技计划项目(2014A020216048); 广州大学基础创新项目(2017GDJC-M40)

通信作者: 张朝升 E-mail: gdzcs@126.com

自然水体(包括淡水和海水)造成了严重的负面影响,是一个全球性的主要环境问题,引起了国内外学者的广泛关注。为了防止水体富营养化,应对废水中氮、磷等进行有效去除。目前应用于工程实践的废水除磷技术主要有化学除磷法和生物除磷法^[4]。现有关于废水除磷机理的研究主要涉及到好氧条件下除磷,但好氧系统的曝气操作需大量能耗^[5],因此当务之急是探索更加简便、节能、高效的生物除磷技术。磷化氢的发现为厌氧除磷指明了新方向^[6~9]。在污(废)水处理过程中,可以通过微生物和酶的作用将固相和液相中的有机磷和某些无机磷转化为气态磷化氢并释放,从而达到除磷目的。

从已有的研究报道来看,磷化氢的产生可能与脱氢酶、磷酸酶有关。其中磷酸酶是一种专一性较广的磷酸酯水解酶,广泛存在于微生物体内,在磷生物地球化学循环过程中具有重大意义。碱性磷酸酶是一种非特异性磷酸水解酶,在碱性条件下具有较高活性,能催化所有磷酸酯的水解反应和磷酸基团的转移反应。2006 年刘志培等人研究表明样品中结合态磷化氢(MBP)含量与碱性磷酸酶活性(APA)呈正相关($R^2 = 0.79$)^[10];2011 年姜经梅等人检测显示长江口表层沉积物中 APA 与 P 组分、C/N 值、盐度有关^[11];2012 年李涛等人发现长江表层沉积物中 MBP 与 APA 相关性较弱($R^2 = 0.55$, $P = 0.019$)^[12];2013 年游丽丽等发现沉积物中 MBP 与 APA 呈线性正相关($R^2 = 0.819$, $P = 0.023$)^[13]。近年来,有关碱性磷酸酶的检测及其与结合态磷化氢的关系已引起了研究者的关注。

迄今为止,虽然有学者研究厌氧产磷化氢体系并筛选出特异性菌株^[14~16],也有学者研究沉积物或样品中磷化氢亦或生物除磷与碱性磷酸酶的关系^[10,17,18],但关于厌氧产磷化氢除磷系统的磷化氢产量与碱性磷酸酶的关系并无相关报道,关于磷化氢的产生机制仅限于能确认为微生物代谢的结果^[19],磷酸盐在生物化学酶作用下还原以及磷化氢产生机制方面还有待研究。笔者通过监测稳定运行的 ASBR 反应器的磷化氢产量、碱性磷酸酶活性及相关常规水质指标的变化规律,从酶的角度探索性地分析了磷化氢的产生机制。

1 材料与方法

1.1 试验装置及运行方法

试验在一个体积为 2.8 L 的玻璃 ASBR 反应器

中密封厌氧进行(如图 1 所示),在氧化还原电位(ORP) ≤ -300 mV 条件下^[20],置于 (35 ± 1) °C 恒温水浴锅中避光培养。接种污泥取自广州市沥窖污水处理厂辐流二沉池污泥(预闷曝 2 d、静置 3 d)和广州市番禺区小谷围岛广州大学城北亭村下水道淤泥(2 mm 过筛、静置 5 d),分别取沉淀污泥 400 mL 和 800 mL 置于反应器中。

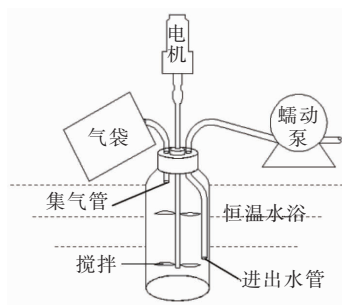


图 1 ASBR 反应器示意

Fig. 1 Schematic diagram of ASBR

采用厌氧序批式运行模式,运行周期为 12 h,流程设置为:进水(0.5 h)→反应(9.0 h)→沉淀(0.5 h)→出水(0.5 h)→闲置(1.5 h),搅拌频率为 10 min/h^[21]。

1.2 进水水质

进水量为 1 200 mL,采用人工配制培养液模拟高磷废水,以葡萄糖、蛋白胨、磷酸氢二钾分别为碳源、氮源和磷源,并投加适量的微量元素,进水 pH 值为 10.65 左右、COD 为 2 400 mg/L、TP 为 40 mg/L。

1.3 分析项目和方法

所有试剂采用超纯水配制,化学药品为分析纯或优级纯。

TP:过硫酸钾消解-钼锑抗分光光度法;COD:重铬酸钾法;ORP、pH 值:HACH HQ40d 便携式分析仪;污泥含水率:METTLER HE53 水分测定仪。

气态磷化氢(PH_3):二次冷阱富集-气相色谱(GC-NPD)法^[3,22];结合态磷化氢(MBP):称取湿泥 1.0 g 左右,采用 5 mL 稀硫酸(0.5 mol/L)于 105 °C 水浴中加热消解 5 min,用高纯氮气置换释放的气体再用气相色谱分析^[23]。

碱性磷酸酶:采用改良的磷酸苯二钠比色法测定,即取 3.0 mL 活性污泥于 15 mL 离心管中,4 000 r/min 下离心 5 min,弃除上清液,加入 0.25 mL 甲苯,反应 15 min 后,加入 0.449 mg/mgMLSS 磷酸苯

二钠(pH值=10的硼酸盐缓冲溶液配制),摇匀,置于37℃恒温水浴振荡器中培养8~12 h;再经4 000 r/min离心5 min,取1 mL上清液至50 mL比色管中,加入5 mL、pH值=9.4的硼酸盐缓冲液和0.25 mL显色剂(0.125 g的2,6-二溴苯醌氯亚胺溶于10 mL、96%的乙醇中,避光冷藏),摇匀显蓝色,稳定30 min后定容至50 mL,在紫外分光光度计上比色(590 nm处)。碱性磷酸酶活性(APA)的计算公式如下:

$$U_T = \frac{D_{590} V}{K_t W t} \quad (1)$$

式中, U_T 为碱性磷酸酶活性,mg/(gTSS·h); D_{590} 为590 nm处的上清液吸光度; V 为萃取剂体积,mL; K_t 为标准曲线斜率; W 为污泥干质量,g; t 为培养时间,h。

2 结果与讨论

2.1 反应器的驯化启动

在ASBR驯化阶段,反应器进出水TP、COD浓度和 PH_3 产量变化情况如图2所示。

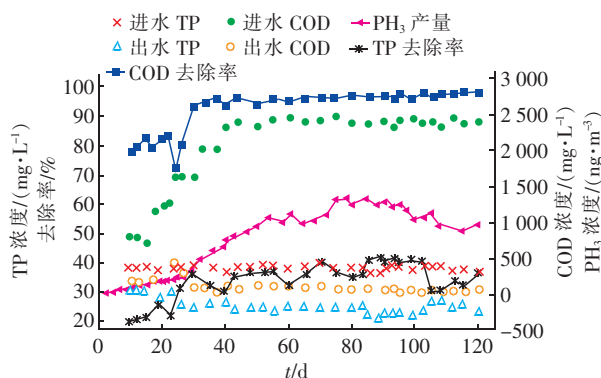


图2 驯化阶段ASBR反应器中TP、COD和 PH_3 浓度变化情况

Fig. 2 Variations of TP, COD and PH_3 concentration in ASBR during acclimatizing stage

由图2可以看出,系统COD负荷从800 mg/L逐步以400 mg/L梯度提高,直至达到目标COD负荷(COD_0)为2 400 mg/L,历时40 d即达到设计负荷,COD去除率在33 d时达到95%,此后一直在95%~98%之间波动。

进水TP负荷(TP_0)稳定在36~38 mg/L左右,10 d时总磷去除率为20.59%,26~85 d时平均去除率为35.8%,85 d后TP去除率维持在40%以上,直到105 d,总磷去除率骤降到30%,而后110~120

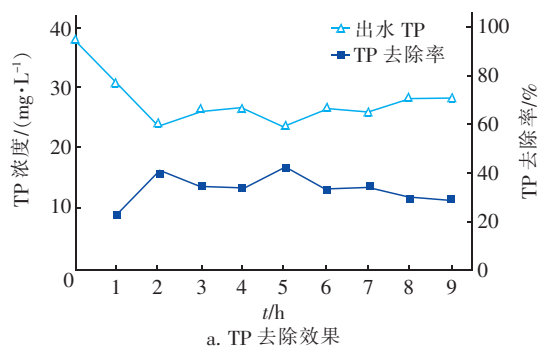
d稍有上升,维持在32%~36%之间。

系统 PH_3 浓度在2 d时为19.59 ng/m³,驯化10 d时升至111.03 ng/m³,随后逐步上升,54 d时已升至1 059.97 ng/m³,随后 PH_3 浓度均值为1 130.92 ng/m³。

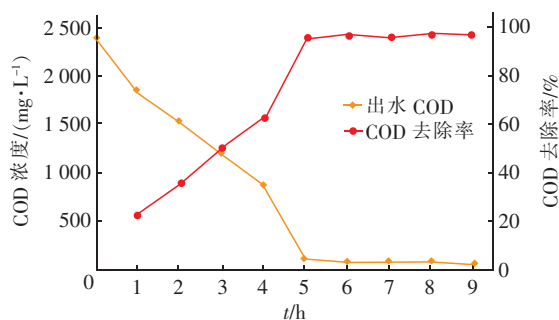
综合TP、COD、 PH_3 的变化情况,ASBR驯化到55 d以后, PH_3 产量基本稳定,TP、COD去除率分别达到37.27%、95.58%。

2.2 典型周期内TP、COD去除效果

待ASBR系统驯化至稳定期后,以小时为单位取样测定一个典型周期内各水质指标,其中TP、COD的去除情况见图3。



a. TP去除效果



b. COD去除效果

图3 稳定运行周期TP、COD去除情况

Fig. 3 Removal of TP and COD during steady operation period

由图3可知,TP在0~2 h内迅速降低,去除率达到40.1%,笔者认为污泥经闲置后具有较强的吸附作用,水中的磷酸盐被短时大量吸附;2~9 h内,TP去除率上下小幅波动,均值为33.84%,最大去除率达到41.38%,这可能是因为微生物依靠生物作用将磷酸盐转化,不能被机体利用的磷酸盐又返回到水中,因此TP含量出现上下浮动情况。

COD在0~5 h内被持续去除,去除率达到96.0%。反应器对有机物的去除效果较好,研究认为ASBR反应器内的混合状态属于完全混合态,处

理高浓度有机废水能力较强。反应进行到第 5 小时,上清液中 TP、COD 均实现最大去除,可见厌氧除磷和有机物降解是同步完成的。

2.3 典型周期内磷化氢浓度、碱性磷酸酶活性变化

图 4 所示是典型周期内磷化氢(PH_3 和 MBP)浓度和碱性磷酸酶活性变化情况。

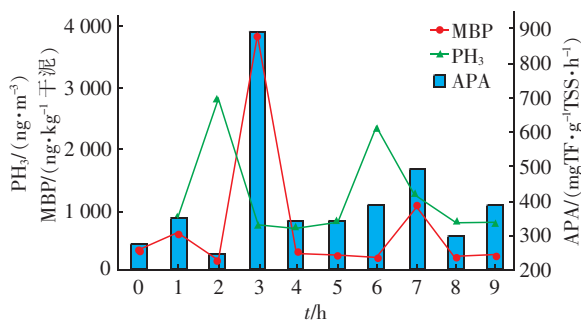


图 4 稳定运行周期 PH_3 、MBP 和碱性磷酸酶变化情况

Fig. 4 Transformation of PH_3 , MBP and alkaline phosphatase during steady period

由图 4 可以看出, PH_3 浓度呈“S”形变化趋势。在 0~1 h, PH_3 浓度为 830 ng/m^3 ;1~2 h, PH_3 浓度达到最大值,为 2790 ng/m^3 ;2~5 h, PH_3 浓度降低,分别为 730、690、790 ng/m^3 ;5~6 h, PH_3 浓度又大幅提升到 2310 ng/m^3 ;6~9 h, PH_3 浓度呈下降趋势;反应阶段 PH_3 浓度均值为 1369 ng/m^3 。结合总磷的去除情况,可以看出上清液总磷去除趋势和 PH_3 浓度变化趋势基本一致,故而推测磷酸盐的去除一部分是通过释放 PH_3 方式实现的。

MBP 浓度以每千克干泥所含气态磷化氢含量计。反应 0~2 h,MBP 浓度分别为 353.76、600.18、174.73 ng/kg 干泥;反应 3 h 时 MBP 为 3850 ng/kg 干泥,是整个周期内最大值;反应 4 h,MBP 浓度骤降至 317.33 ng/kg 干泥;5~6 h,MBP 浓度逐渐降至 186.15 ng/kg 干泥;反应 7 h 时,MBP 突然升至 1083.18 ng/kg 干泥;反应 8~9 h,MBP 浓度分别为 204.5、249.5 ng/kg 干泥。

碱性磷酸酶初始活性为 279.28 $\text{mgTF}/(\text{gTSS} \cdot \text{h})$,反应过程中 APA 变化趋势和 MBP 相似,在 3 h 时达到最大值,为 894.35 $\text{mgTF}/(\text{gTSS} \cdot \text{h})$;4~6 h 骤降,而后又在 7 h 提高到 497.19 $\text{mgTF}/(\text{gTSS} \cdot \text{h})$;8~9 h,类似 MBP 的变化趋势,先下降后上升,反应末时 APA 为 395.08 $\text{mgTF}/(\text{gTSS} \cdot \text{h})$,高于初始 APA。这可能是由于碱性磷酸酶受诱导-遏制机制的影响,初始时环境中磷酸盐含量充足,抑制酶

的合成,末时环境中磷酸盐含量缺乏,诱导酶的合成,从而酶活性较高。

经 SPSS 软件进一步分析,发现 ASBR 产磷化氢系统中 MBP 与 APA 呈明显的正相关性($R^2 = 0.964, P < 0.01$),说明 APA 越大,MBP 浓度越高,即 APA 越大越有利于 MBP 的产生,从而表明了酶在磷化氢产生中的作用。这可能与碱性磷酸酶能水解磷酸酯或降解有机磷产生无机磷酸,促使其他形态的磷转化成可溶性磷的功能有关。经相关性分析发现:气态磷化氢 PH_3 与碱性磷酸酶并无明显的相关性,但从图 4 中能看出当气态磷化氢 PH_3 浓度高时,结合态磷化氢浓度低;相反,当结合态磷化氢浓度低时,气态磷化氢浓度高。这正印证了一些学者的观点:气态磷化氢和结合态磷化氢是相互转化的^[24,25]。

3 结论

① 厌氧序批式反应器经驯化培养 55 d 后,TP 去除率达到 37.27%、COD 去除率达到 95.58% 且有稳定的磷化氢产量(均值为 1130.92 ng/m^3);典型周期内反应 5 h 时,TP 去除率可达最大值 41.38%,此时 COD 去除率为 96.0% 左右。

② 典型周期内气态磷化氢最大浓度为 2790 ng/m^3 ,均值为 1369 ng/m^3 ;结合态磷化氢最大浓度为 3850 ng/kg 干泥;碱性磷酸酶活性在反应 3 h 时最高,达到 894.35 $\text{mgTF}/(\text{gTSS} \cdot \text{h})$,初始活性为 279.28 $\text{mgTF}/(\text{gTSS} \cdot \text{h})$,末时活性为 395.08 $\text{mgTF}/(\text{gTSS} \cdot \text{h})$ 。

③ 结合态磷化氢和碱性磷酸酶之间存在明显的正相关性($R^2 = 0.964, P < 0.01$);虽然气态磷化氢和碱性磷酸酶之间不存在直接相关性,但根据气态磷化氢和结合态磷化氢之间存在的相互转化规律,仍可认为其与碱性磷酸酶之间存在间接联系。

参考文献:

- [1] Oehmen A, Lemos P C, Carvalho G, et al. Advances in enhanced biological phosphorus removal: from micro to macro scale [J]. Water Res, 2007, 41 (11): 2271 - 2300.
- [2] Yang S, Yang F, Fu Z, et al. Simultaneous nitrogen and phosphorus removal by a novel sequencing batch moving bed membrane bioreactor for wastewater treatment [J]. J Hazard Mater, 2010, 175 (1/3): 551 - 557.
- [3] Hou L J, Liu M, Zhou J L, et al. Emission of phosphine

- in intertidal marshes of the Yangtze Estuary[J]. Appl Geochem, 2011, 26(12): 2260–2265.
- [4] 孟顺龙, 裴丽萍, 陈家长, 等. 污水化学沉淀法除磷研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(35): 264–268. Meng Shunlong, Qiu Liping, Chen Jiazhang, *et al.* The research process of chemistry precipitation method in phosphorus removal in wastewater[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(35): 264–268 (in Chinese).
- [5] 杨帆, 王冬波, 李小明, 等. 单级好氧除磷工艺与厌氧/好氧除磷工艺的对比研究[J]. 环境科学, 2011, 32(11): 3379–3385. Yang Fan, Wang Dongbo, Li Xiaoming, *et al.* Comparison study on phosphorus removal between single-stage oxic process and anaerobic/aerobic process[J]. Environmental Science, 2011, 32(11): 3379–3385 (in Chinese).
- [6] 张可方, 张朝升, 韦伟. 好氧及厌氧/好氧序批式工艺中磷化氢的释放[J]. 环境工程, 2011, 29(5): 127–134. Zhang Kefang, Zhang Chaosheng, Wei Wei. Phosphine release in aerobic sequencing reactor process and anaerobic/aerobic sequencing reactor process[J]. Environmental Engineering, 2011, 29(5): 127–134 (in Chinese).
- [7] 孙亮. 磷化氢的释放机理及其过程研究[D]. 广州: 广州大学, 2012. Sun Liang. Study on Mechanism and Process of the Phosphine Released[D]. Guangzhou: Guangzhou University, 2012 (in Chinese).
- [8] 张楠. 谈在厌氧好氧条件下磷的气体转化形式[J]. 山西建筑, 2012, 38(22): 134–135. Zhang Nan. Gaseous transform shape of phosphorus under anaerobic–aerobic condition[J]. Shanxi Architecture, 2012, 38(22): 134–135 (in Chinese).
- [9] 罗野, 鲍建国, 李书敏, 等. 磷化氢的释放对提高生活污水除磷效果的试验研究[J]. 安全与环境工程, 2014, 21(5): 94–97. Luo Ye, Bao Jianguo, Li Shumin, *et al.* Experimental study on the release of phosphine to improve the removal effect of phosphorus from sewage[J]. Safety and Environmental Engineering, 2014, 21(5): 94–97 (in Chinese).
- [10] 刘志培, 王宝军, 贾省芬, 等. 样品磷化氢含量与某些微生物群落及酶活的关系[J]. 微生物学报, 2006, 46(4): 608–612. Liu Zhipei, Wang Baojun, Jia Shengfen, *et al.* Relationships between phosphine content of samples and their microbial populations and enzyme activities[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2006, 46(4): 608–612 (in Chinese).
- [11] 姜经梅, 赵慧, 沈铭能, 等. 长江口潮滩表层沉积物中碱性磷酸酶活性及其影响因素[J]. 环境科学学报, 2011, 31(10): 2233–2239. Jiang Jingmei, Zhao Hui, Shen Mingneng, *et al.* Distribution and impact factor of alkaline phosphatase activity in the intertidal surface sediments of the Yangtze Estuary[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2011, 31(10): 2233–2239 (in Chinese).
- [12] 李涛, 侯立军, 刘敏, 等. 长江口近岸表层沉积物中基质结合态磷化氢的分布特征[J]. 环境科学, 2012, 33(10): 3443–3448. Li Tao, Hou Lijun, Liu Min, *et al.* Distributions of matrix-bound phosphine in surface sediments of the Yangtze Estuary[J]. Environmental Science, 2012, 33(10): 3443–3448 (in Chinese).
- [13] 游丽丽, 宗海波, 张淑芳, 等. 金普湾海域表层沉积物中基质结合态磷化氢的分布特征[J]. 环境科学, 2013, 34(10): 3804–3809. You Lili, Zong Haibo, Zhang Shufang, *et al.* Distribution of matrix-bound phosphine in surface sediments of Jinpu Bay[J]. Environmental Science, 2013, 34(10): 3804–3809 (in Chinese).
- [14] 罗秋容. 厌氧除磷过程的影响因素和功能菌的筛选[J]. 能源与节能, 2013, (4): 64–66. Luo Qiurong. The factor of anaerobic dephosphorization process and the screening of bacteria[J]. Energy and Energy Conservation, 2013, (4): 64–66 (in Chinese).
- [15] 周康群, 刘晖, 孙彦富, 等. 厌氧条件总磷还原为磷化氢种泥筛选及功能菌株鉴定[J]. 生态环境, 2007, 16(6): 1669–1673. Zhou Kangqun, Liu Hui, Sun Yanfu, *et al.* Screening the phosphate reducer deoxidizing total phosphate into PH_3 and the identification of the functional bacteria[J]. Ecology and Environment, 2007, 16(6): 1669–1673 (in Chinese).
- [16] 周康群, 刘晖, 孙彦富, 等. 磷酸盐还原为磷化氢功能菌株的筛选与鉴定[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(4): 1512–1516. Zhou Kangqun, Liu Hui, Sun Yanfu, *et al.* Screening and identification of deoxidizing phosphate into PH_3 bacterium strains[J]. Journal of Agro-Environment Science,

- 2007,26(4):1512-1516(in Chinese).
- [17] Xie C,Zhao J,Tang J,*et al.* The phosphorus fractions and alkaline phosphatase activities in sludge[J]. *Biore-sour Technol*,2011,102(3):2455-2461.
- [18] Zhu R, Ma D, Ding W,*et al.* Occurrence of matrix-bound phosphine in polar ornithogenic tundra ecosys-tems;Effects of alkaline phosphatase activity and envi-ronmental variables[J]. *Science of The Total Environ-ment*,2011,409(19):3789-3800.
- [19] 牛晓君. 沉积物中磷化氢产生的微生物作用初步探讨[J]. *中国科技论文在线*,2010,5(5):373-376.
Niu Xiaojun. Preliminary research on phosphine produc-tion by microorganisms in sediments[J]. *Sciencepaper Online*,2010,5(5):373-376(in Chinese).
- [20] 王瑾丰,牛晓君,马金玲,等. 厌氧条件下微生物将磷还原为磷化氢[J]. *微生物学通报*,2015,42(1):34-41.
Wang Jinfeng, Niu Xiaojun, Ma Jinling,*et al.* Conversion of phosphorus to phosphine by microbial deoxidization under anaerobic conditions [J]. *Microbiology China*, 2015,42(1):34-41(in Chinese).
- [21] 李怀. ASBR 处理水热改性污泥的微生物学特性研究[D]. 西安:长安大学,2008.
Li Huai. A Study on Microbiology of ASBR Reactor Treating Thermal Hydrolysis Sewage Sludge[D]. Xi'an:Chang'an University,2008(in Chinese).
- [22] Hou L,Liu M,Ding P,*et al.* Influences of sediment des-sication on phosphorus transformations in an intertidal marsh:Formation and release of phosphine[J]. *Chemo-sphere*,2011,83(7):917-924.
- [23] Hong Y,Geng J,Qiao S,*et al.* Distribution of phosphine in the offshore area of the Southwest Yellow Sea,East A-sia[J]. *Marine Chemistry*,2010,118(1/2):67-74.
- [24] 陈垚,周健,甘春娟,等. 初始 pH 值对磷酸盐还原除磷的影响研究[J]. *环境工程学报*,2011,5(11):2428-2432.
Chen Yao,Zhou Jian,Gan Chunjuan,*et al.* Effect of ini-tial pH value on phosphorus removal of phosphate reduc-tion[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2011,5(11):2428-2432(in Chinese).
- [25] 周健,栗静静,窦艳艳,等. 无污泥外排除磷系统的磷平衡及除磷途径分析[J]. *华南理工大学学报:自然科学版*,2011,39(6):95-99.
Zhou Jian,Su Jingjing,Dou Yanyan,*et al.* Analyses of phosphorus balance and phosphorus removal way of phosphorus removal system without sludge discharge [J]. *Journal of South China University of Technology:Natural Science Edition*,2011,39(6):95-99(in Chi-nese).



作者简介:杨凤霞(1994-),女,安徽庐江人,
硕士研究生,主要从事污水处理技术研究。

E-mail:1127742771@qq.com

收稿日期:2018-01-12

加强水土保持, 打造绿水青山