

疏松和紧密结合 EPS 在强化生物除磷中的作用

狄寿源, 龙向宇, 唐 然, 方振东, 李达学, 谢朝新
(后勤工程学院 国防建筑规划与环境工程系, 重庆 401311)

摘 要: 以实验室 A/O-SBR 反应器活性污泥为研究对象,从 EPS 分层的角度研究了厌氧/好氧周期中疏松结合胞外聚合物(LB-EPS)和紧密结合胞外聚合物(TB-EPS)的磷含量和形态及其金属元素含量与类型,明确了 LB-EPS 和 TB-EPS 在强化生物除磷(EBPR)中的作用。结果表明,EBPR 过程是细菌细胞和 TB-EPS 共同作用的结果,LB-EPS 和 TB-EPS 在 EBPR 中发挥不同的作用。LB-EPS 中转和滞留正磷酸盐(orthoP),细菌细胞直接释放和吸收 orthoP;TB-EPS 是磷的主要贮存库,参与了生物聚磷,其聚磷酸盐(polyP)发生了厌氧分解和好氧合成。细菌细胞释放和吸收 orthoP 以及 TB-EPS 的 polyP 厌氧分解和好氧合成过程均伴随着 K 和 Mg 的释放与吸收,说明 K 和 Mg 是 EBPR 过程中的重要金属元素。

关键词: 疏松结合胞外聚合物; 紧密结合胞外聚合物; 强化生物除磷; 聚磷酸盐; 金属元素

中图分类号: X703 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2017)09-0035-05

Roles of Loosely-bound and Tightly-bound Extracellular Polymeric Substances on Enhanced Biological Phosphorus Removal

DI Shou-yuan, LONG Xiang-yu, TANG Ran, FANG Zhen-dong, LI Da-xue,
XIE Chao-xin

(Department of National Defense Construction Planning and Environmental Engineering, Logistics Engineering University, Chongqing 401311, China)

Abstract: Taking a lab-scale A/O-SBR reactor as object and fractionating extracellular polymer substances (EPS) into loosely-bound EPS (LB-EPS) and tightly-bound EPS (TB-EPS), the content and species of phosphorus (P) and the content and type of metallic element in LB-EPS and TB-EPS during the anaerobic and aerobic cycle were researched, in order to clarify the roles of LB-EPS and TB-EPS on enhanced biological phosphorus removal (EBPR). The EBPR process was contributed to the combined action of both microbial cell and TB-EPS, and the roles of LB-EPS and TB-EPS on EBPR were distinct. LB-EPS only transported and retained orthophosphate (orthoP), and microbial cell directly released and absorbed orthoP. Importantly, TB-EPS not only was a reservoir of P, but also participated in the accumulation process of P, of which polyphosphate (polyP) was decomposed and synthesized during the anaerobic and aerobic cycle. During the process of orthoP release and uptake in microbial cell and polyP de-

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21577174); 重庆市基础科学与前沿技术研究专项(CSTC2015jcyjBX0012、CSTC2014jcyjA20004、CSTC2015jcyjA1286)

通信作者: 龙向宇 E-mail: 2002longxy@sina.com

composition and synthesis in TB-EPS, the release and absorb of K and Mg happened in both microbial cell and TB-EPS, indicating that they were key metallic elements in EBPR process.

Key words: loosely-bound extracellular polymeric substances; tightly-bound extracellular polymeric substances; enhanced biological phosphorus removal; polyphosphate; metallic element

磷是导致水体富营养化的最关键因素。强化生物除磷(EBPR)为经济、有效的除磷方法,是控制水体富营养化的重要措施^[1,2]。目前,普遍认为EBPR过程基于聚磷菌(PAOs)厌氧释磷、好氧/缺氧过量吸磷的原理,并通过排除剩余污泥实现良好的除磷效果。近年来的研究认为EPS中含有大量的磷^[3,4],是磷的贮存库或释磷和吸磷过程中磷的中转站^[5,6],表明生物除磷不能忽略EPS的作用。但是,EPS在生物除磷中的确切作用机制还不清楚。

EPS具有流动可变性的双层空间结构,包括存在于污泥絮体外部的疏松结合EPS(LB-EPS)和存在于污泥絮体内部的紧密结合EPS(TB-EPS)。LB-EPS和TB-EPS具有不同含量和组分,对生物聚集体的形成以及活性污泥的表面性质、絮凝性能、沉降性能和脱水性能具有不同的影响^[7]。因此,LB-EPS和TB-EPS在EBPR过程中可能发挥不同的作用,但目前尚未见相关研究报道。

采用³¹P核磁共振(NMR)已检测到EBPR污泥中的EPS共存有正磷酸盐(orthoP)、焦磷酸盐(pyroP)、聚磷酸盐(polyP)(包括末端聚磷End polyP和中部聚磷Middle polyP)、磷单脂(MonoP)和DNA磷(DNA-P)5种形态的磷,且EPS的polyP存在厌氧分解、好氧合成的现象^[3,6]。另一方面,基于电荷平衡的原理,EBPR污泥的厌氧释磷和好氧吸磷过程伴随着金属元素的释放和吸收^[8]。但是,LB-EPS和TB-EPS中磷的形态,特别是它们的磷含量和形态与金属元素含量和类型的关系还不清楚。

笔者从EPS分层的角度研究疏松结合和紧密结合EPS的磷含量与形态以及金属元素含量和类型,分析了厌氧/好氧周期中LB-EPS和TB-EPS的不同形态磷酸盐与不同类型金属元素含量的变化,探讨了两种EPS在EBPR中的作用。

1 材料与方法

1.1 活性污泥的培养与反应器控制

以实验室规模的A/O-SBR反应器活性污泥为研究对象,反应器水温控制为(20±1)℃。采用人工模拟废水,以乙酸钠、NH₄Cl和KH₂PO₄分别为

碳源、氮源和磷源;废水COD为750 mg/L,COD:N:P为100:5:5,同时投加适量的微量元素。反应器采用瞬时进水,每天运行两个周期,每个周期为12 h,包括4 h厌氧、7 h好氧、50 min沉淀、10 min的滗水和闲置。反应器运行结束前10 min排泥,以维持污泥龄(SBR)为20 d。污泥样品的取样时刻为反应过程的0、1、4、6、11 h。

1.2 LB-EPS和TB-EPS的提取

采用超声波法和阳离子树脂交换法分别提取LB-EPS和TB-EPS。将污泥样品离心清洗后,采用(4±1)℃低温超纯水重新悬浮至40 mL,使其挥发性悬浮固体(VSS)的浓度约为8 000 mg/L。然后,以1 W/mL的超声功率密度超声3 min,随后将污泥样品于43 000g下高速离心2次,离心后的上清液即为LB-EPS。接着,用低温超纯水再次悬浮污泥样品,以80 g/gVSS的投量投加001×7型阳离子交换树脂,于400 r/min下离子交换反应30 min。最后,采用250 μm孔径的滤网滤除树脂颗粒,过滤后混合液于43 000g下高速离心2次,离心后的上清液即为TB-EPS,沉淀物视为细菌细胞。

1.3 磷形态分析

将部分LB-EPS和TB-EPS提取液与全部的细菌细胞冷冻干燥。采用全自动样品快速研磨仪破坏细菌细胞,并释放胞内磷,用于³¹P NMR分析。称取冻干后的样品15 mg,加入0.4 mL D₂O和0.2 mL、100 mmol/L的EDTA使样品重新溶解,测量前加入0.2 mL、2 mol/L的NaOH溶液。采用核磁共振波谱仪扫描样品,扫描次数设置为512次。根据已有研究中不同形态磷的化学位移(单位为ppm,相当于百万分之一),采用NMR数据处理软件分析EPS中磷的形态。

1.4 金属元素分析

取1 mL的样品,依次加入3.5 mL的浓硝酸和0.5 mL的双氧水溶液,分别在125℃下消解2次,消解后的样品定容后采用ICP-OES仪测量液相、污泥絮体、LB-EPS和细菌细胞的金属元素含量,TB-EPS的金属元素含量采用差减法求得。

1.5 其他分析方法

采用 APHA 标准方法测定样品的 TP 和 VSS;采用 TOC 分析仪测定 LB-EPS 和 TB-EPS 中的 TOC;采用傅里叶变换红外光谱仪分析 LB-EPS 和 TB-EPS 的官能团。

2 结果与分析

2.1 污泥释磷和吸磷过程中金属元素的变化

污泥絮体呈现典型的厌氧释磷和好氧吸磷特征,具有良好的 EBPR 性能,可以推断 PAOs 是污泥絮体中的主要微生物。厌氧/好氧过程中主体液相的 K、Mg 浓度以及污泥絮体的 K、Mg 含量变化,均与它们的 TP 浓度或 TP 含量的变化一致,说明污泥絮体厌氧释磷和好氧吸磷过程中伴随着 K 和 Mg 的释放和吸收,这与 Wang 等^[4]的研究结果一致。同时,主体液相和污泥絮体中 Ca 的含量无明显的变化规律,而 Al 和 Fe 浓度或含量变化不大(见图 1)。

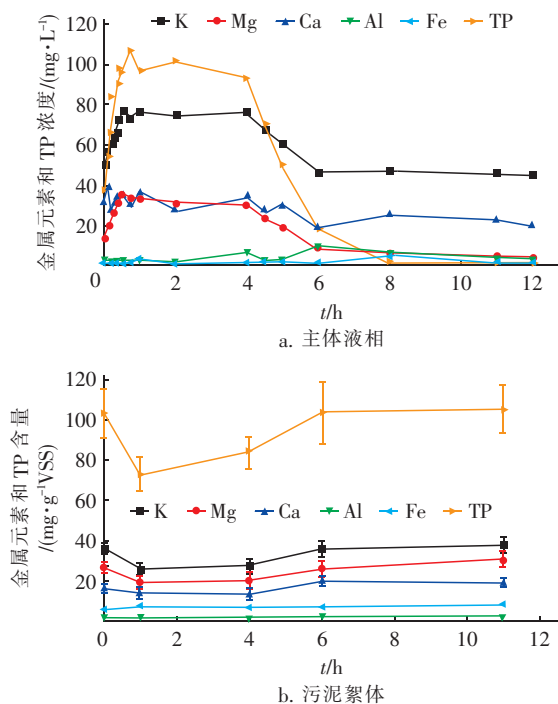


图 1 主体液相和污泥絮体中 TP 和金属元素含量的变化

Fig. 1 Variation of TP and metal elements in bulk solution and sludge floc

2.2 LB-EPS 和 TB-EPS 的特性参数

经分析, TB-EPS 的含量是 LB-EPS 的 4.23 倍, TB-EPS 中单位 TOC 的蛋白质含量是 LB-EPS 的 1.32 倍, 单位 TOC 的多糖含量是 LB-EPS 的 1.47 倍。表明 TB-EPS 含有更多的蛋白质和多糖(见图 2)。红外光谱分析显示, 两种 EPS 的吸收峰

位置和数量接近, 但相同吸收峰的吸收强度则差异较大。LB-EPS 和 TB-EPS 均含有蛋白质和多糖的特征官能团吸收峰, 如蛋白质的 N—H 和 O—H ($3\,500 \sim 3\,100\text{ cm}^{-1}$)、C=O ($1\,635\text{ cm}^{-1}$)、多糖的 C—O—C 基团 ($1\,153 \sim 1\,072\text{ cm}^{-1}$)、多糖羟基 ($1\,080\text{ cm}^{-1}$), 但 TB-EPS 红外谱图的吸收强度均大于 LB-EPS。特别是, LB-EPS 和 TB-EPS 光谱在指纹区 ($<1\,000\text{ cm}^{-1}$) 具有不同的基团(如图 3 所示)。表明 LB-EPS 和 TB-EPS 的含量、组分与官能团存在较大差异。

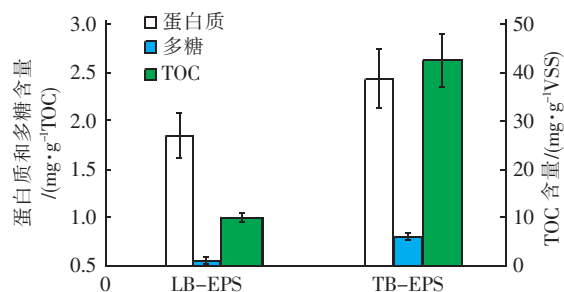


图 2 LB-EPS 和 TB-EPS 的含量与组成

Fig. 2 Content and components of LB-EPS and TB-EPS

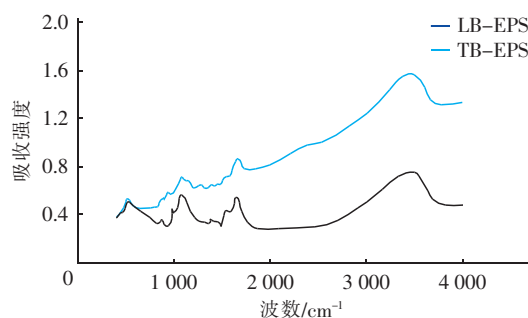


图 3 LB-EPS 和 TB-EPS 的红外光谱

Fig. 3 IR spectra of LB-EPS and TB-EPS

2.3 LB-EPS 中的磷与金属元素

LB-EPS 中的 TP 含量较低, 为 $4.86 \sim 12.48\text{ mg/gVSS}$, 占污泥絮体 TP 含量的 $4.67\% \sim 14.50\%$ (见图 4)。同时, 厌氧/好氧周期中 LB-EPS 的 TP 含量表现为厌氧增加、好氧降低的趋势, 与污泥絮体 TP 含量的变化相反。³¹P NMR 图谱显示, orthoP 是 LB-EPS 中磷的主要形态, 其含量约占 TP 的 $96.42\% \sim 99.59\%$ 。污泥絮体厌氧释磷和好氧吸磷过程中 LB-EPS 中转和滞留 orthoP, 导致 LB-EPS 中 TP 含量的变化与污泥絮体 TP 含量的变化相反。厌氧/好氧周期过程中 LB-EPS 的 Ca、Al、Fe 含量均变化不大, 仅 K 和 Mg 含量有微弱的变化, 说明

LB-EPS 运移 orthoP 的过程伴随着 K 和 Mg 的迁移。

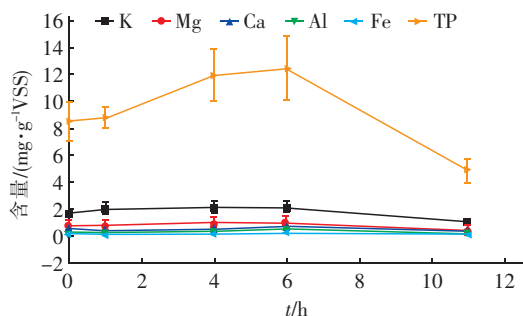


图4 LB-EPS 中 TP 和金属元素含量的变化

Fig. 4 Variation of TP and metal elements content in LB-EPS

2.4 TB-EPS 中的磷与金属元素

TB-EPS 的 TP 含量为 37.76 ~ 59.12 mg/gVSS, 是 LB-EPS 中 TP 含量的 3.28 ~ 12.17 倍, 表明 EPS 中的磷主要存在于 TB-EPS 中 (见图 5)。因此, TB-EPS 是生物絮体中磷的重要贮存库。

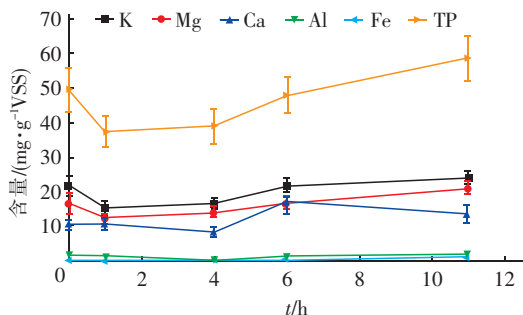


图5 TB-EPS 中 TP 和金属元素含量的变化

Fig. 5 Variation of TP and metal elements content in TB-EPS

TB-EPS 中的 TP 含量在厌氧初期迅速降低, 厌氧中后期缓慢增加, 好氧前期迅速增加, 好氧后期增速变缓, 这与污泥絮体中 TP 含量的变化趋势一致。TB-EPS 的 TP 厌氧降低量 and 好氧升高量分别占污泥絮体厌氧释磷量和好氧吸磷量的 53.29% 和 92.72%, 表明 TB-EPS 在厌氧释磷和好氧吸磷过程中发挥重要作用。厌氧/好氧周期过程中 TB-EPS 的 K 和 Mg 含量变化趋势与 TP 的变化趋势一致, 而 Ca 含量没有类似的变化趋势, Al、Fe 含量保持稳定。

^{31}P NMR 分析结果见图 6。可知 polyP 和 orthoP 是 TB-EPS 中磷的主要形态, 其中 polyP 占 TP 含量的 11.19% ~ 73.77%。同时, Middle polyP 的峰面

积存在厌氧降低和好氧升高的现象, 说明在厌氧/好氧过程中 TB-EPS 的 polyP 发生了分解和合成。上述结果说明, TB-EPS 参与了生物聚磷, 其 polyP 的分解和合成伴随着 K 与 Mg 的释放和吸收, K 和 Mg 是与 TB-EPS 中 polyP 结合的主要金属元素。

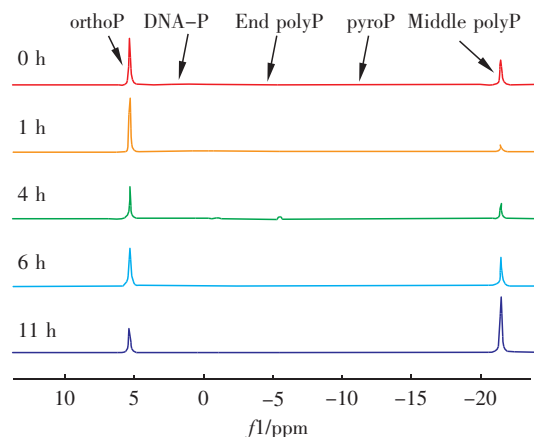


图6 TB-EPS 的 ^{31}P NMR 图谱

Fig. 6 ^{31}P NMR spectroscopy of TB-EPS

2.5 细菌细胞中的磷与金属元素

细菌细胞的 TP 含量为 25.77 ~ 44.06 mg/gVSS。细菌细胞和 TB-EPS 的 TP 含量分别占污泥 TP 的 35.63% ~ 42.99% 和 47.12% ~ 56.83%, 说明 EBPR 污泥絮体中的磷主要分布于 TB-EPS。细菌细胞的 TP 含量也表现出厌氧降低、好氧升高的变化特点 (见图 7), 其厌氧降低量 and 好氧升高量分别占污泥絮体厌氧释磷量和好氧吸磷量的 64.35% 和 40.84%, 说明 EBPR 过程是 TB-EPS 和细菌细胞共同作用的结果。

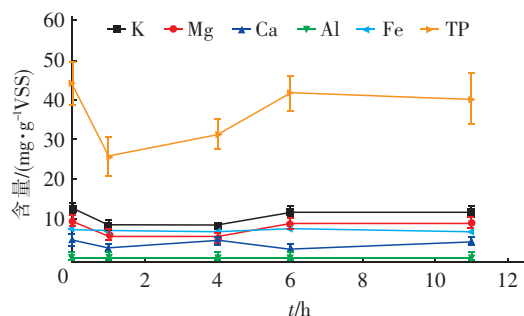


图7 细菌细胞中 TP 和金属元素含量的变化

Fig. 7 Variation of TP and metal elements content in microbial cell

厌氧/好氧周期过程中细菌细胞的 K 和 Mg 含量也存在厌氧降低、好氧升高的变化, 说明上述过程伴随着细菌细胞的 K 与 Mg 的释放和吸收。另一方

面,细菌细胞的 Fe 含量为 6.82 ~ 7.61 mg/gVSS, TB - EPS 的 Fe 含量为 0.010 ~ 0.087 mg/gVSS。污泥絮体中的 Fe 主要存在于细菌细胞,这缘于 Fe 是细胞色素、功能蛋白的成分以及多种胞内酶的辅因子。由 ^{31}P NMR 图谱可以看出(见图 8), orthoP 是细菌细胞磷的主要形态,占 TP 的 94.57% ~ 96.95%,说明细菌细胞发生了厌氧释放和好氧吸收 orthoP 的过程。但是,在细菌细胞中未检测到 polyP,与已有研究中 PAOs 细胞内富集 polyP 的研究结论不一致,需要进一步研究 TB - EPS 除磷和 PAOs 除磷的联系与作用机制。

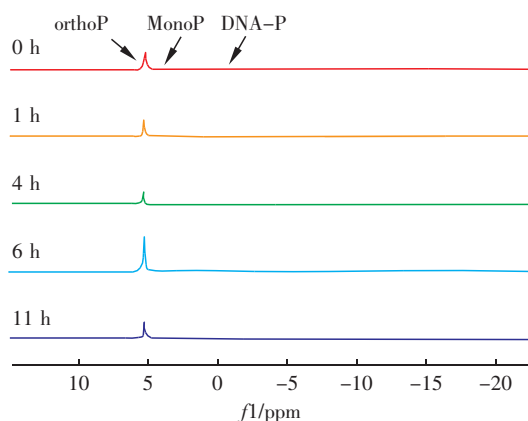


图 8 细菌细胞的 ^{31}P NMR 图谱

Fig. 8 ^{31}P NMR spectroscopy of microbial cell

3 结论

① EBPR 活性污泥中 LB - EPS 和 TB - EPS 的含量、组分和官能团存在较大差异, TB - EPS 较 LB - EPS 含有更多的蛋白质和多糖。

② EBPR 过程是细菌细胞和 TB - EPS 共同作用的结果, LB - EPS 和 TB - EPS 在 EBPR 过程中发挥不同的作用。LB - EPS 主要起中转和滞留 orthoP 的作用, 细菌细胞直接释放和吸收 orthoP; TB - EPS 是磷的主要贮存库, 参与了生物聚磷, 其 polyP 发生了厌氧分解和好氧合成。

③ K 和 Mg 是 EBPR 过程的重要金属元素。细菌细胞释放和吸收 orthoP 与 TB - EPS 中 polyP 厌氧分解和好氧合成的过程均伴随着 K 和 Mg 的释放与吸收。

参考文献:

[1] Zuthia M F R, Guoa W S, Ngao H H, *et al.* Enhanced biological phosphorus removal and its modeling for the acti-

vated sludge and membrane bioreactor processes [J]. *Bioresour Technol*, 2013, 139(2): 363 - 374.

- [2] Lanham A B, Oehmen A, Saunders A M, *et al.* Metabolic modelling of full-scale enhanced biological phosphorus removal sludge [J]. *Water Res*, 2014, 66: 283 - 295.
- [3] Zhang H L, Fang W, Wang Y P, *et al.* Species of phosphorus in the extracellular polymeric substances of EBPR sludge [J]. *Bioresour Technol*, 2013, 142(5): 714 - 718.
- [4] Wang R D, Peng Y Z, Cheng Z L, *et al.* Understanding the role of extracellular polymeric substances in an enhanced biological phosphorus removal granular sludge system [J]. *Bioresour Technol*, 2014, 169: 307 - 312.
- [5] 方振东, 龙向宇, 仙光, 等. 胞外聚合物磷酸盐形态对生物除磷过程的影响研究 [J]. *环境科学学报*, 2014, 34(9): 2205 - 2212.
- [6] Zhang H L, Fang W, Wang Y P, *et al.* Phosphorus removal in an enhanced biological phosphorus removal process: Roles of extracellular polymeric substances [J]. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 11482 - 11489.
- [7] Bezawada J, Hoang N V, More T T, *et al.* Production of extracellular polymeric substances (EPS) by *Serratia* sp. 1 using wastewater sludge as raw material and flocculation activity of the EPS produced [J]. *J Environ Manage*, 2013, 128: 83 - 91.
- [8] Li N, Ren N Q, Wang X H, *et al.* Effect of temperature on intracellular phosphorus absorption and extra-cellular phosphorus removal in EBPR process [J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101(17): 6265 - 6268.



作者简介:狄寿源(1991 -), 男, 山东莱芜人, 硕士研究生, 主要研究方向为废水生物处理理论与技术。

E-mail: 1277751170@qq.com

收稿日期: 2017 - 03 - 08