

研究简报

膜生物反应器中污泥 EPS 的提取方法

张宏伟, 雷 鸣, 李 莹, 张雪花, 王 捷
(天津大学环境科学与工程学院, 天津 300072)

关键词: 膜生物反应器; 胞外聚合物; EDTA 二钠; 热提取; NaOH 提取; 甲醛

中图分类号: X 703.1

文献标识码: A

文章编号: 0438-1157 (2008) 06-1531-04

Extraction of extracellular polymeric substances from activated sludge in membrane bioreactor

ZHANG Hongwei, LEI Ming, LI Ying, ZHANG Xuehua, WANG Jie

(School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: The optimum conditions and effectiveness of extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from activated sludge in a membrane bioreactor (MBR) were studied under such conditions, thermal, acid, alkaline treatment methods, and it was concluded that both thermal treatment (80 °C, 45 min) and EDTA bi-sodium treatment were effective. The sludge cell was damaged seriously by NaOH treatment (1 mol · L⁻¹, 2 h), but when formaldehyde was added, the nucleic acid concentration was reduced by 21.5%, and the damage to sludge cell was then decreased.

Key words: membrane bioreactor; extracellular polymeric substances; EDTA bi-sodium; thermal treatment; NaOH treatment; formaldehyde

引 言

膜生物反应器 (MBR) 被认为是污水处理和回用工艺中最有前途的工艺之一^[1]。然而, 膜生物反应器的主要局限是由于膜污染造成的通量的显著减少^[2]。由于膜生物反应器对微生物来说是一个封闭的系统, 使得其中的微生物产物积累, 成为影响出水水质及膜污染的重要因素, 因此对微生物产物的研究是膜生物反应器研究的一个重点内容。微生物产物主要指胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 和溶解性微生物产物 (soluble

microbial products, SMP)^[3]。

EPS 主要成分为多糖、蛋白质及 DNA 等, 分子量大于 10000^[4]。造成研究中 EPS 组成不同的原因有: (1) 处理工艺的不同; (2) 提取过程的不同; (3) 对提取到的 EPS 组分的化学分析方式的不同^[5]。其中提取步骤是决定活性污泥中 EPS 组成和含量的重要环节^[6]。

本文将常用的几种方法应用于 MBR 中污泥 EPS 的提取, 经过比较后确定出最简便有效的提取方法, 为今后的研究工作提供方法依据。

2007-10-24 收到初稿, 2008-02-12 收到修改稿。

联系人: 张雪花。第一作者: 张宏伟 (1956—), 男, 教授。

基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (2007CB407306-1)。

Received date: 2007-10-24.

Corresponding author: Prof. ZHANG Xuehua. E-mail: xuehua671231@163.com

Foundation item: supported by the National Basic Research Program of China (2007CB407306-1).

1 实验材料及方法

1.1 处理工艺实验装置

实验中所用污泥取自以市政废水为原水且处于稳定运行状态的膜生物反应器，实验设备见图 1。反应器尺寸 47.2 cm×40.3 cm×137.4 cm，有效容积 190 L，内置 2 片 PVDF 中空纤维微滤膜组件（天津膜天膜科技公司）。系统运行由可编程逻辑控制器控制，采用恒通量操作模式，HRT=6 h，通过自吸泵负压抽吸出水。

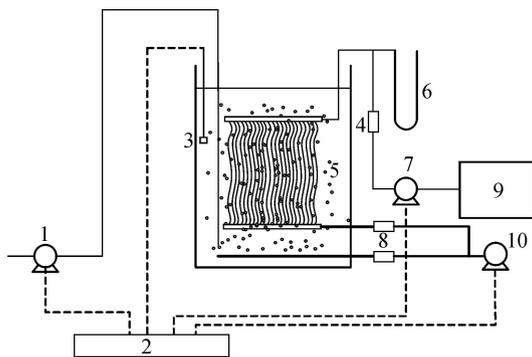


图 1 MBR 实验装置

Fig. 1 Schematic diagram of MBR process

1—feeding pump; 2—PLC controller; 3—level sensor;

4—flow meter; 5—membrane module; 6—mercury manometer;

7—suction pump; 8—flow meter; 9—effluent tank; 10—aerator

1.2 EPS 的提取

实验期间调整污泥浓度在 5000 mg·L⁻¹。取 50 ml 污泥混合液离心（3500 r·min⁻¹，10 min）后，弃去上清液，以蒸馏水补足体积，混匀后继续离心，重复 3 次后取混合液备用^[7]。之后则采用不同的物化方法提取 EPS。（1）高速离心：混合液于 12000 r·min⁻¹ 离心^[8]；（2）热提取^[9]：混合液置于不同温度下的水浴中提取；（3）化学试剂提取：混合液分别与不同浓度的 EDTA 溶液^[10]、硫酸溶液^[11]、EDTA 二钠溶液、NaOH 溶液（分为加甲醛和不加甲醛两种情况）、磷酸氢二钾溶液^[12]等体积混合适当时间后提取。提取后对污泥进行高速离心（10000 r·min⁻¹，20 min）处理，并取上清液经 0.22 μm 的滤膜过滤后进行各项测定，经酸碱提取的上清液需调至中性后再进行过滤。实验结果为 3 次平行实验的平均结果。

1.3 分析方法

EPS 的提取效果通过蛋白质、多糖及核酸表征，而对污泥细胞的破坏程度则通常通过核酸来表

征^[8]。EPS 各项指标的测定方法为：蛋白质采用考马斯亮蓝法；多糖采用蒽酮比色定糖法；核酸采用定磷法^[13]。污泥浓度的测定则采用标准方法^[14]。本文图表中各缩写字母的含义为 P: protein, C: carbon-hydrates, N: nucleic acid。

2 实验结果与讨论

2.1 EDTA 二钠提取

选取不同浓度的 EDTA 二钠溶液对污泥混合液进行提取以考察溶液浓度对于提取效果的影响，之后采用最佳的溶液浓度在不同提取时间下提取，确定最适宜的提取时间。实验结果见图 2。

污泥的提取产物以多糖为主，蛋白质其次，核酸最少。随着 EDTA 二钠浓度的增加，3 种组分均呈增长趋势。溶液浓度大于 2% 之后蛋白质增长缓慢，核酸则加速增长，由此确定最佳的溶液浓度为 2%。随着提取时间的增加，3 种组分开始均呈现增长趋势。多糖和蛋白质分别在提取时间大于 120 min 和 180 min 之后开始减少和增长速度减缓，核酸的增长速度则非常稳定。所以 EDTA 二钠提取最适宜的提取时间是 180 min。

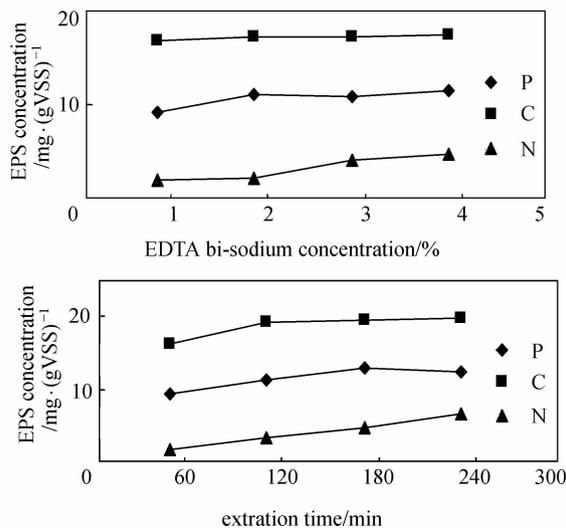


图 2 EDTA 二钠法提取 MBR 中污泥的 EPS

Fig. 2 EPS concentration from activated sludge in MBR by EDTA bi-sodium treatment

2.2 热提取

考察不同的水浴温度以及不同的提取时间对于污泥 EPS 提取效果的影响，实验结果如图 3 所示。在提取温度大于 80℃ 后，蛋白质和多糖的增加速度减小，由于过高温对于微生物细胞的破坏作

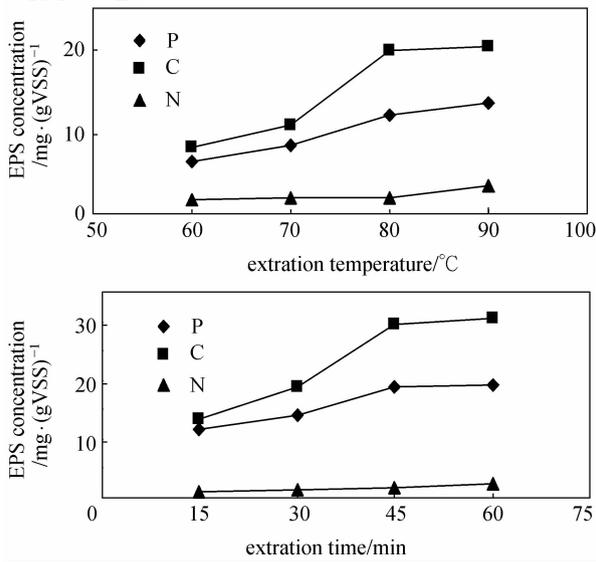


图 3 热法提取 MBR 中污泥的 EPS

Fig. 3 EPS concentration from activated sludge in MBR by thermal treatment

用，核酸的增加突然加速，因此热提取的最佳温度为 80℃。在提取时间大于 45 min 后，蛋白质和多糖的增加趋势不明显，而核酸平稳增加，最适宜的提取时间为 45 min。

2.3 碱提取

采用 0.5、1.0、1.5、2.0 mol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液在不同的提取时间提取 MBR 中污泥的 EPS。结果表明：当 NaOH 浓度为 1 mol·L⁻¹，提取时间为 2 h 时提取效果最好。其中蛋白质、多糖、核酸分别为 30.7、32.9、12.4 mg·(gVSS)⁻¹。核酸量明显大于前两种方法，这是由于微生物只能在一定的 pH 范围内生长（一般为 5~9），NaOH 溶液会明显地升高 pH 值，从而对污泥细胞具有很大的破坏作用，常用作杀菌剂。

根据文献，加入甲醛会对细胞产生一定的保护作用^[8]，所以在 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液中加入不同浓度的甲醛溶液后在不同的提取时间下进行提取。实验结果如图 4 所示，甲醛的最佳投量为 2%，最佳反应时间为 120 min，此时蛋白质、多糖及核酸为 30.5、26.2、9.74 mg·(gVSS)⁻¹。其中核酸由不投加甲醛时的 12.4 mg·(gVSS)⁻¹ 减少至 9.74 mg·(gVSS)⁻¹，降低了 21.5%。投加的甲醛通过与细胞膜中带有氨基、羟基、羧基、巯基的蛋白质和核酸反应，从而保护了污泥细胞，减少了 NaOH 溶液对细胞的破坏^[6]，但由于强碱

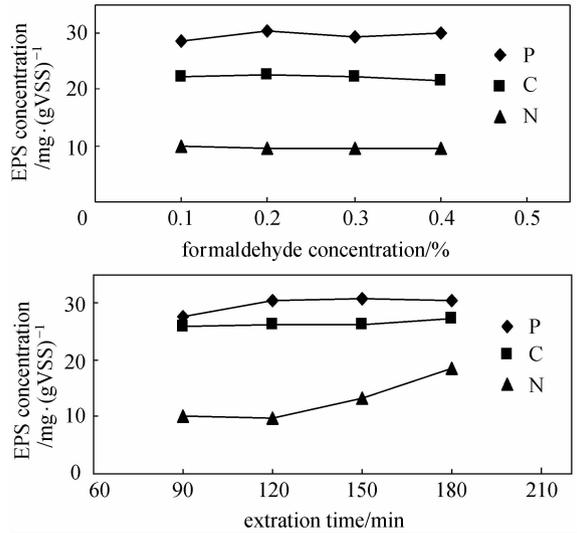


图 4 甲醛-NaOH 法提取 MBR 中污泥的 EPS

Fig. 4 EPS concentration from activated sludge in MBR by formaldehyde-NaOH treatment

对于细胞的强烈破坏作用，核酸还是明显高于前两种方法。

2.4 其他提取方法

本次实验还采用了高速离心、硫酸、EDTA 及磷酸氢二钾提取，实验结果见表 1。

表 1 提取方法效果对比

Table 1 Extraction methods comparison on sludge in MBR

Extraction method	P /mg·(gVSS) ⁻¹	C /mg·(gVSS) ⁻¹	N /mg·(gVSS) ⁻¹
centrifugation	5.28	0.71	—
sulfate acid	23.7	5.63	2.88
EDTA	24.7	4.94	1.08
potassium bi-phosphate	0.57	2.45	—
EDTA bi-sodium	12.9	19.5	4.8
formaldehyde-NaOH	30.5	26.2	9.74
thermal	18.9	29.6	1.75

由表 1 可知，EPS 的提取效果为，蛋白质：NaOH+甲醛>EDTA>硫酸>热提取>EDTA 二钠>高速离心>磷酸氢二钾；多糖：热提取>NaOH+甲醛>EDTA 二钠>硫酸>EDTA>磷酸氢二钾>高速离心；核酸：NaOH+甲醛>EDTA 二钠>硫酸>热提取>EDTA>磷酸氢二钾和高速离心（低于检测限）。但是在提取过程中发现：采用酸碱提取法时，由于加酸或碱调节至中性范围，易增大提取液的体积，影响提取结果；并且生成大量盐类，在抽滤时易结晶析出影响过滤速度和测定结果。综合考虑提取总量、细胞破坏程度以及操作的难易度，EDTA 二钠

和热提取是最有效的两种方法。

3 结 论

(1) EDTA 二钠提取最佳的溶液浓度为 2%，提取时间是 180 min；热提取的最佳温度为 80℃，提取时间为 45 min。

(2) NaOH 提取核酸的量在 9.4~19.8 mg · (gVSS)⁻¹，对污泥细胞具有很大的破坏作用。投加甲醛的 NaOH 提取中甲醛的最佳投加量为 2%，反应时间为 120 min，核酸含量由不投加甲醛时的 12.4 mg · (gVSS)⁻¹ 减少至 9.74 mg · (gVSS)⁻¹，降低了 NaOH 溶液对于细胞的破坏作用。

(3) 在采用酸碱（硫酸、NaOH 及 EDTA）提取时，需调节 pH 值，易增大提取液的体积，影响提取结果；并且生成大量盐类，在抽滤时易结晶析出影响过滤速度和测定结果。综合考虑提取总量、细胞破坏程度以及操作的难易度，EDTA 二钠和热提取是最简便有效的两种提取方法。

References

- [1] Pierre Le-Clech, Vicki Chen, Tony A G Fane. Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*, 2006, **284** (1/2): 17-53
- [2] Hernandez Rojas M E, Van Kaam R, Schetrite S, Albasi C. Role and variations of supernatant compounds in submerged membrane bioreactor fouling. *Desalination*, 2005, **179** (1/2/3): 95-107
- [3] Jin Ruofei (金若菲), Zhou Jiti (周集体), Wang Jing (王竞), Jin Yujie (金玉洁). Biological aspects in the membrane bioreactor. *Microbiology* (微生物学通报), 2004, **31** (2): 121-125
- [4] Zhou Jian (周健), Luo Yong (罗勇), Long Tengrui (龙腾锐), Miao Lili (苗利利). Effects of extracellular polymeric substances, Ca²⁺ and pH on bioflocculation. *China Environmental Science* (中国环境科学), 2004, **24** (4): 437-441
- [5] Bo Frølund, Rikke Palmgren, Kristian Keiding, Per Halkjaer Nielsen. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Research*, 1996, **30** (8): 1749-1758
- [6] Liu Hong, Fang Herbert H P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges. *Biotechnology*, 2002, **95**: 249-256
- [7] Wang Xuan (王暄), Ji Min (季民), Wang Jingfeng (王景峰), Yang Zaoyan (杨造燕). Study on the extraction of extracellular polymer from aerobic granular sludge. *China Water and Wastewater* (中国给水排水), 2005, **21** (8): 91-93
- [8] Zhang Xiaoqi, Paul L Bishop, Brain K Kinkle. Comparison of extraction methods for quantifying extracellular polymers in biofilms. *Water Science and Technology*, 1999, **39** (7): 211-218
- [9] Dignac M F, Urbain V, Rybacki D, Bruchet A, Snidaro D, Scribe P. Chemical description of extracellular polymers: implication on activated sludge floc structure. *Water Science and Technology*, 1998, **38** (8/9): 45-53
- [10] Kang Chunli (康春莉), Dong Deming (董德明), Li Zhonghua (李忠华), Li Yu (李鱼), Hua Xiuyi (花修艺), Guo Ping (郭平). Extraction of extracellular polymers from biofilm in natural water by EDTA solution. *Journal of Northeast Normal University: Natural Science* (东北师大学报: 自然科学版), 2003, **35** (2): 120-122
- [11] Liu Zhijie (刘志杰), Xie Hua (谢华), Yu Yuxin (俞毓馨), Lu Zhengyu (陆正禹). Selection of the methods for extraction and determination of extracellular polymers from anaerobic sludge. *Chinese Journal of Environmental Science* (环境科学), 1994, **15** (4): 23-26
- [12] Dong Deming (董德明), Kang Chunli (康春莉), Li Zhonghua (李忠华), Li Yu (李鱼), Hua Xiuyi (花修艺), Guo Ping (郭平). Extraction of extracellular polymers from biofilm in natural water by potassium bi-phosphate solution. *Science Technology and Engineering* (科学技术与工程), 2002, **2** (5): 51-53
- [13] Chen Junhui (陈钧辉), Tao Li (陶力), Li Jun (李俊), Zhu Wanhua (朱婉华), Yuan Yusun (袁玉荪). *Biochemical Experiment* (生物化学实验教程). 3rd ed. Beijing: Science Press, 2003
- [14] State Environment Protection Bureau (国家环境保护局). *Standard Methods for Water and Wastewater Analysis* (水和废水监测分析方法). 3rd ed. Beijing: China Environmental Science Press, 1989