

胞外聚合物、 Ca^{2+} 及pH值对生物絮凝作用的影响

周 健*,罗 勇,龙腾锐,苗利利 (重庆大学三峡库区生态环境教育部重点实验室,重庆 400045)

摘要:应用阳离子交换树脂从活性污泥中提取了胞外聚合物(EPS),考察了 EPS、 Ca^{2+} 及 pH 值对生物絮凝作用的影响.结果表明,当 $\text{pH} \geq 7.5$, $\text{EPS} \geq 70\text{mg/L}$, $[\text{Ca}^{2+}] \geq 300\text{mg/L}$ 时,有利于生物絮体的形成.通过正交试验,得出 pH 值、EPS 和 $[\text{Ca}^{2+}]$ 对生物絮体形成综合影响的回归方程: $h_{\text{油度}} = -901.70 + 97.35\text{pH} + 1.96[\text{Ca}^{2+}] + 9.08\text{EPS} - 0.11\text{pH} \cdot [\text{Ca}^{2+}] - 0.91\text{pH} \cdot \text{EPS} - 0.02[\text{Ca}^{2+}] \cdot \text{EPS} + 0.0021\text{pH} \cdot [\text{Ca}^{2+}] \cdot \text{EPS}$.回归分析表明,pH 值对生物絮体形成影响最显著,其次是 EPS 和 Ca^{2+} .

关键词: 生物絮凝作用; 胞外聚合物(EPS); Ca^{2+} ; pH 值

中图分类号: X131 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2004)04-0437-05

Effects of extracellular polymeric substances, Ca^{2+} and pH on bioflocculation. ZHOU Jian, LUO Yong, LONG Teng-rui, MIAO Li-li (Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Chongqing University, Chongqing 400045, China). *China Environmental Science*, 2004,24(4): 437~441

Abstract: Applying the cation exchange resin extracellular polymeric substances (EPS) were extracted from activated sludge, and the effects of EPS, Ca^{2+} and pH on bioflocculation were investigated. The experiment results showed that it was favorable to the formation of bioflocus, when $\text{pH} \geq 7.5$, $\text{EPS} \geq 70\text{mg/L}$, $[\text{Ca}^{2+}] \geq 300\text{mg/L}$. At the same time, the regression equation was obtained in orthogonal experiment for the syntheses effects of pH, EPS and Ca^{2+} on bioflocus formation, the regression analysis showed that the effect of pH on the formation of bioflocus was most obvious; EPS and Ca^{2+} were the next.

Key words: bioflocculation; extracellular polymeric substances (EPS); Ca^{2+} ; pH value

在有关生物絮凝的各种理论中^[1-3],目前较为认同的是胞外聚合物(EPS)及二价阳离子架桥学说^[4].研究表明^[5,6],EPS 是生物絮体的主要组成部分,对生物絮凝具有显著影响.EPS 是微生物在一定环境条件下产生的高分子物质,主要成分为多糖、蛋白质及 DNA 等,其分子量大于 10000Dalton.它以 2 种形式存在,一种是附着在细胞壁上的胞囊聚合物,另一种是以胶体或溶解状态存在于液相主体中的黏质聚合物^[7].活性污泥的 EPS 占污泥干重的比例最高可达 15%^[2,8],并且絮体中总的 EPS 质量占活性污泥质量的 80%左右^[9].但目前对胞外聚合物 EPS、 Ca^{2+} 及 pH 值对生物絮凝的定量影响尚缺乏系统研究,特别是这 3 种因素对生物絮凝的综合影响尚无研究.本研究从活性污泥中提取出生物絮体的 EPS,着重考察 EPS、 Ca^{2+} 及 pH 值对生物絮凝的综合影响,进一步探讨生物絮凝机理.

1 材料与方法

1.1 EPS 的提取

用于本试验的 EPS,通过阳离子交换树脂从活性污泥中提取^[8].首先将活性污泥用蒸馏水洗净,然后在 4 及 6000r/min 条件下离心 15min;将离心的浓缩污泥用缓冲溶液稀释,同时加入阳离子交换树脂,并在 4 及 600r/min 条件下搅拌、提取 8h 后,再于 4 及 10000r/min 条件下离心 15min,完成对 EPS 的提取.本研究中,采用多糖、蛋白质和 DNA 的含量表示 EPS 的含量,并采用苯酚-硫酸法测定多糖含量,用 Lowry 法测定蛋白质含量,DNA 含量则用化学滴定法测定,提取的 EPS 浓度用 mgEPS/gVSS 表示.

收稿日期: 2003-12-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(59838300);重庆大学骨干教师基金资助(713411001)

* 责任作者,副教授, zhoujianntt@sohu.com

1.2 pH 值对生物絮凝的影响

试验污水采用校区生活污水,温度 22℃.取 7 个 100mL 烧杯,加入 50mL 生活污水和相同数量的 EPS,使溶液中 EPS 的浓度为 60mg/L;采用 HCl 或 NaOH 分别调节 pH 值为 6.0,7.0,7.5,8.0, 8.5,9.0 和 9.5,并加入 CaCl₂,使溶液中 Ca²⁺浓度为 300mg/L,立即搅拌 2min,静止沉淀 60min.测定生物絮体形成前后溶液的浊度 Z₀和 Z,利用生物絮体形成前后溶液的浊度变化来判定生物絮凝的效果,采用浊度去除率 $h_{\text{浊度}} = [(Z_0 - Z)/Z_0] \times 100\%$ 反映絮凝效果的差异;同时测定生物絮体形成前后溶液中胞外聚合物的浓度 EPS₀和 EPS,以及钙离子浓度[Ca₀²⁺]和[Ca²⁺];并用ΔEPS和ΔCa²⁺表示絮凝过程中的消耗量,即 ΔEPS=EPS₀-EPS, ΔCa²⁺=[Ca₀²⁺]-[Ca²⁺].此外,在静止沉淀过程中,测定絮体与水分界面的沉速(mm/min),表示絮体沉降的速度;并于沉淀 60min 后,排除上清液,用量筒测定形成絮体的体积,表示絮体生成量.

1.3 EPS 浓度对生物絮凝的影响

试验污水采用校区生活污水,温度 22℃.取 4 个 100mL 的烧杯,加入 50mL 生活污水和不同数量的 EPS,使溶液中 EPS 的浓度分别为 50,70, 90,130mg/L 左右;同时采用 HCl 或 NaOH 调节 pH 值为 7.5;并加入 CaCl₂,使溶液中 Ca²⁺浓度为 300mg/L;立即搅拌 2min,静止沉淀 60min.测试指标同 1.2 节中对应各项.

1.4 Ca²⁺浓度对生物絮凝的影响

试验污水采用校区生活污水,温度 22℃.取 7 个 100mL 的烧杯,加入 50mL 生活污水和相同数量的 EPS,使溶液中 EPS 的浓度为 60mg/L 左右;同时采用 HCl 或 NaOH 调节 pH 值为 7.5,分别加入不同数量的 CaCl₂,使溶液中 Ca²⁺浓度分别为 50, 200, 400, 600, 800, 1000mg/L,立即搅拌 2min,静止沉淀 60min.测试指标同 1.2 节各项.

1.5 pH 值、EPS 和 Ca²⁺对生物絮凝的综合影响

采用正交试验,进一步研究 pH 值、EPS 和 Ca²⁺对生物絮体形成的综合影响.

1.5.1 正交试验设计及试验安排

正交试验采用三因素、二水平正交设计表 L₈(2³).

1.5.2 正交试验因素及水平的确定 选取 pH 值、EPS 和 Ca²⁺作为正交试验的因素,并根据单因素试验的结果,确定正交试验的因素水平,见表 1.

表 1 因素水平
Table 1 Level of factors

项目	因子		
	Z ₁ (pH)	Z ₂ (Ca ²⁺)	Z ₃ (EPS)
零水平 Z _{0j}	8.5	400	75
变化区间Δ _j	1.0	100	17
上水平+1	9.5	500	92
下水平-1	7.5	300	58

2 结果与讨论

2.1 pH 值对生物絮凝的影响

pH 值对生物絮凝影响的结果见图 1.随着 pH 值的升高,污水浊度的去除率($h_{\text{浊度}}$)逐渐增加;并且反应过程中消耗的ΔCa²⁺、ΔEPS 逐渐增加,即用于絮体形成的[Ca²⁺]和 EPS 增加.当 pH 值为 7.0 时,有少量絮体形成,经测定生成絮体 2.3mL,沉降速度为 5.7mm/min;当 pH 值为 7.5 时,絮体开始形成,经测定生成絮体 5.3mL,沉降速度为 8.4mm/min;当 pH 值为 8.0 或 8.5 时,在短时间内形成较多的絮体,经测定生成絮体 8.2mL,沉降速度为 13mm/min;当 pH 值为 9.0 或 9.5 时,在数秒内迅速形成大颗粒絮体,经测定生成絮体 10.3mL,沉降速度为 24mm/min.由此可知,pH 值对生物絮体的形成过程影响较大,中性偏碱有利于生物絮体的形成,酸性条件不利于絮体形成.推测由于不同的 pH 值,造成了溶液的酸碱度不同,pH 值能通过改变酸碱度来改变 EPS 和胶体颗粒的表面电荷、带电状态并具有中和电荷的能力,而污泥的表面电荷与疏水性存在一定关系,表面电荷与污泥表面的离子化基团有关,离子化基团能够增加 EPS 与水分子间的极性接触,因此,污泥表面电荷越多,疏水性越低;随 pH 值升高,胶体颗粒的表面电荷降低,使得颗粒间的相互斥力减弱,从而有利于絮凝剂与颗粒之间的桥联作用,促进架桥形成

和颗粒沉淀.

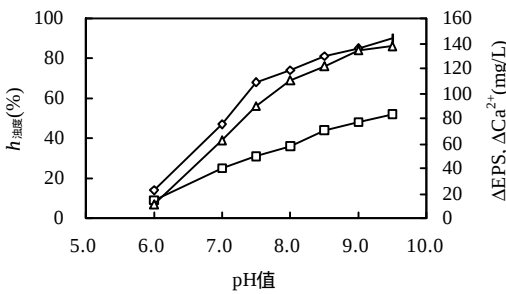


图 1 pH 值对生物絮凝的影响
Fig.1 Effect of pH on biofloculation
— $h_{油度}$ —□— ΔEPS — — ΔCa^{2+}

2.2 EPS 浓度对生物絮凝的影响

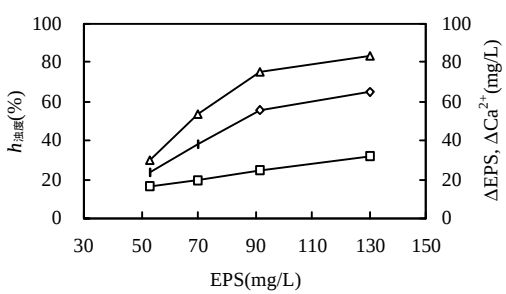


图 2 EPS 对生物絮凝的影响
Fig.2 Effect of EPS on biofloculation
注同图 1

EPS 对生物絮凝的影响试验结果见图 2.随着 EPS 浓度的增加,污水的油度去除率($h_{油度}$)逐渐增加;并且参与絮凝的 ΔCa^{2+} 、 ΔEPS 增加;当 EPS 浓度为 53mg/L 时,有少量絮体形成,经测定生成絮体 2.5mL,沉降速度为 7.5mm/min;当 EPS 浓度升高到 70mg/L 时,絮体形成增加,经测定生成絮体 6.3mL,沉降速度为 10.2mm/min;当 EPS 浓度为 92,130mg/L 时,絮体大量形成,经测定生成絮体 11.6mL,沉降速度为 16.6mm/min.因此,EPS 浓度低于 53mg/L 不利于生物絮体形成,EPS 浓度大于 70mg/L 时,生物絮体形成良好.试验结果表明,EPS 对于生物絮体形成具有重要影响;随着 EPS 浓度增加,生物高分子聚合物 EPS 从颗粒表

面伸展到溶液的距离远远大于颗粒之间产生电荷排斥作用的距离时,可以产生桥联作用,此时该高分子聚合物 EPS 借助离子键、氢键和范德华力,同时吸附多个胶体颗粒,在颗粒间产生“架桥”现象.

2.3 Ca²⁺ 浓度对生物絮体形成的影响

Ca²⁺对生物絮体形成的影响见图 3.随着 Ca²⁺浓度增加,污水的油度去除率($h_{油度}$)逐渐增加;并且 ΔCa^{2+} 、 ΔEPS 、 $h_{油度}$ 均增加;当 Ca²⁺浓度为 160mg/L 时,无絮体形成;当 Ca²⁺浓度为 360mg/L 时,絮体开始形成,经测定生成絮体 5.4mL,沉降速度为 10.3mm/min;当 Ca²⁺浓度为 510~1100mg/L 时,絮体形成极快,当 Ca²⁺浓度为 1100mg/L 时,经测定生成絮体 13.3mL,且沉降速度增加为 21.3mm/min.故 Ca²⁺对絮体形成影响较大,Ca²⁺浓度低于 300mg/L 不利于絮体形成.试验表明,Ca²⁺可以显著提高 EPS 的絮凝活性,Ca²⁺可以加强 EPS 的桥联作用和中和作用,在絮凝微生物细胞间联结细胞表面的蛋白质和多糖;并且 Ca²⁺在生物絮凝过程中能通过中和带负电荷的官能团,减少聚合物和颗粒间的负电荷来增强生物高聚物对悬浮颗粒的最初吸附,在微粒间形成架桥来激发絮凝活性.根据有关研究^[9],活性污泥中 Ca²⁺浓度为 600mg/L.

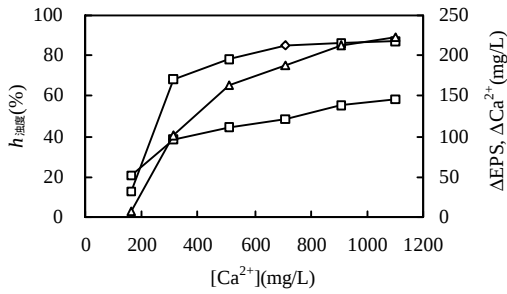


图 3 Ca²⁺对生物絮凝的影响
Fig.3 Effect of Ca²⁺ on biofloculation
注同图 1

2.4 pH 值,EPS 和[Ca²⁺]的正交试验

正交试验结果见表 2.对表 2 中的试验的结果进行正交回归分析计算,得出如下正交回归方

程:
$$h_{\text{油度}} = -901.70 + 97.35\text{pH} + 1.96[\text{Ca}^{2+}] + 9.08\text{EPS} - 0.11\text{pH} \cdot [\text{Ca}^{2+}] - 0.91\text{pH} \cdot \text{EPS} - 0.02[\text{Ca}^{2+}] \cdot \text{EPS} + 0.0021\text{pH} \cdot [\text{Ca}^{2+}] \cdot \text{EPS}$$

(1)

回归分析表明,pH 值,[Ca²⁺],EPS 以及 pH 值

和[Ca²⁺]的交互作用,对生物絮体的形成影响高度显著;[Ca²⁺]和 EPS 的交互作用以及 pH 值,[Ca²⁺],EPS 三个因素的交互作用,对生物絮体的形成影响一般显著;而 pH 值和 EPS 的交互作用对生物絮体的形成影响不显著.

表 2 正交试验结果及一次回归正交计算

Table 2 Experiment results and calculating of orthogonal regression

项目	X_0	X_1	X_2	X_3	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3	$X_1X_2X_3$	Y_1 ($h_{\text{油度}}\%$)	Y_2 ($h_{\text{油度}}\%$)	$Y_{11}+Y_{12}$	$ Y_{11}-Y_{12} $
试验 1	1	1	1	1	1	1	1	1	89.44	90.20	179.64	0.76
试验 2	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	73.62	72.60	146.22	1.02
试验 3	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	80.12	81.20	161.32	1.08
试验 4	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	64.96	63.40	128.36	1.56
试验 5	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	69.01	70.20	139.21	1.19
试验 6	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	63.39	62.40	125.79	0.99
试验 7	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	59.85	54.85	114.70	5.00
试验 8	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	20.70	23.70	44.40	3.00
$B_j=\Sigma XY$	1039.6	191.44	142.08	150.10	-69.72	-17.34	-56.42	57.34				
$b_j=B_j/(8\times 2)$	64.98	11.97	8.88	9.38	-4.36	-1.08	-3.53	3.58				
$Q_j=b_jB_j$		2290.6	1261.7	1408.1	303.80	18.79	198.95	205.5				
$F=Q_j/(S_{\text{误}}/f_{\text{误}})$		880.57	485.02	541.33	116.79	7.22	76.48	79.00				
显著性		高度 显著	高度 显著	高度 显著	高度 显著	不显著	显著	显著				

注: $S_{\text{误}}=0.5\times\Sigma(Y_{11}-Y_{12})^2=6.69$; $f_{\text{误}}=N\times(M-1)=8\times(2-1)=8$; $h_{\text{油度}}=64.98+11.97X_1+8.88X_2+9.38X_3-4.36X_1X_2-1.08X_1X_3-3.53X_2X_3+3.58X_1X_2X_3$
 $X_1=(\text{pH}-8.5)/1.0$; $X_2=([\text{Ca}^{2+}]-400)/100$; $X_3=(\text{EPS}-75)/17$

图 4 为絮凝试验前污水中的悬浮物照片,此时未加入任何絮凝因子,尚未形成生物絮凝体.图 5 为试验 1 形成的絮体,即当 pH 值、[Ca²⁺]、EPS 均处于高水平时,人工合成的生物絮体照片.这种由加入絮凝因子而形成的絮体与实际反应器中

的活性污泥絮体非常相似,但是这些絮体中不含微生物,它是由 Ca²⁺、EPS 和污水中的悬浮及胶态污染物所组成的.与图 4 比较可知,当加入高水平絮凝因子时,大量生物絮体形成.经测定生成絮体 15.6mL,其沉降速度为 23.1mm/min.

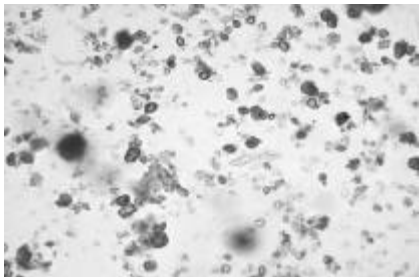


图 4 污水中的悬浮物(×400)

Fig.4 SS of sewage water

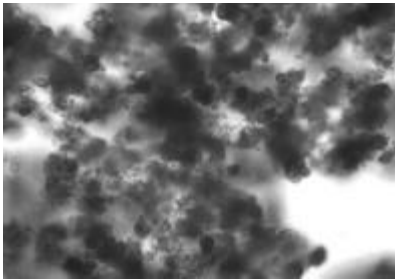


图 5 试验 1 形成的生物絮体(×400)

Fig.5 Floccus formed in experiment 1

试验结果表明,污水中只要 pH 值,EPS 和 [Ca²⁺]在一定范围,就可以形成生物絮体.而在实际的活性污泥处理系统中,由于反应器中的 pH 值和污泥中的 Ca²⁺含量由进水水质决定,基本不会发生变化,但污泥的胞外聚合物 EPS 的含量则可随着运行工况的改变而变化.因此,胞外聚合物是影响实际活性污泥处理系统生物絮凝的最关键的因素.

3 结论

3.1 pH 值,EPS 和 Ca²⁺对絮体的形成影响显著,当 pH ≥ 7.5, EPS ≥ 70mg/L, [Ca²⁺] ≥ 300mg/L 时,有利于生物絮体的形成.

3.2 通过正交试验得出 pH 值, EPS 和 [Ca²⁺]对生物絮体形成综合影响的正交回归方程:

$$h_{\text{油度}} = -901.70 + 97.35\text{pH} + 1.96[\text{Ca}^{2+}] + 9.08\text{EPS} - 0.11\text{pH} \cdot [\text{Ca}^{2+}] - 0.91\text{pH} \cdot \text{EPS} - 0.02[\text{Ca}^{2+}] \cdot \text{EPS} + 0.0021\text{pH} \cdot [\text{Ca}^{2+}] \cdot \text{EPS}$$

回归分析表明:pH 值对生物絮体形成影响最显著,其次是 EPS、[Ca²⁺].

参考文献：

[1] Eriksson L, Alm B. Study of flocculation mechanisms by observing

effects of a complexing agent on activated sludge properties [J]. Water Sci. Technol., 1991,24(7):21-28.

[2] Urbain V, Block J C, Manem J. Bioflocculation in activated sludge: a analytic approach [J]. Water Res., 1993,27(5):829-838.

[3] Pavoni J L, Tenney M W, Echelberger Jr W F. Bacterial extracellular polymers and biological flocculation [J]. Water Pollut. Control Fed., 1972,44(3):414-431.

[4] David C Sobecka, Matthew J Higginsb. Examination of three theories for mechanisms of cation-induced bioflocculation [J]. Water Res., 2002,36(2):527-538.

[5] Melanie J Brown, Lester J N. Metal removal in activated sludge: the role of bacterial extracellular polymers [J]. Water Res., 1979, 13(2):817-837.

[6] Flemming M C, Wingender J. Relevance of microbial extracellular polymeric substances(EPS) - Part : structural and ecological aspects [J]. Water Sci. Technol., 2001,43(6):1-8.

[7] Morgan J W, Forster C F, Evison L. A comparative study of the nature of biopolymers extracted from anaerobic and aviated sludge [J]. Water Res., 1990,24(6):743-753.

[8] Bo Frolund, Rikke Palmgren, Kristian Keiding, *et al.* Extraction of extracellular polymeric substances from activated sludge using a cation exchange resin [J]. Water Res., 1996,30(8):1749-1758.

[9] Dignac M F, Urbain V, Rybacki D, *et al.* Chemical description of extracellular polymers: Implication on activated sludge floc structure [J]. Water Sci. Technol., 1998,38(8-9):45-53.

作者简介：周 健(1964-),女,江苏常州人,副教授,博士,主要从事水污染控制方面的研究.发表论文 20 余篇.

美国全国研究委员会建议环境保护局加大颗粒物研究力度

美国全国研究委员会(NRC)2004 年 3 月 24 日发表一份报告,建议未来的颗粒物研究应重点放在颗粒物中哪些化学成分是最有害的.颗粒物是大气污染物之一,它们包括灰尘、煤灰、二氧化硫氧化产物和其他物质主要由机动车辆、电厂和森林大火排放.NRC 报告总结认为,应由美国环境保护局(EPA)发起研究,更好了解颗粒物引起的健康影响,重点应有所转移,要测定哪些人群对颗粒物的健康效应最敏感.还需要了解不同污染源排放的颗粒物的大小和类型,要改进计算机模式,把具体地区的污染源和颗粒物浓度相联系.此外,该报告还建议对颗粒物暴露的健康影响进行长期研究.详细内容可查阅英特网: <http://www.nap.edu>.

江 英 摘自《Chemical & Engineering News》, March 29,19(2004)