

由剩余污泥合成聚 β -羟基脂肪酸酯的研究

龙 妮 任 源 韦朝海

(华南理工大学化工学院, 广东 广州 510640)

摘要:研究了厌氧-好氧过程中微生物合成聚 β -羟基脂肪酸酯(PHAs)和除磷的关系,利用在 SBR 反应器中除磷后的剩余污泥作为菌源,以葡萄糖为碳源合成 PHAs。在 2 h 厌氧 4 h 好氧的反应周期中 COD 的去除率为 81.7%。2 h 厌氧过程中可溶性磷酸盐从 6.23 mg/L 升高到 11.95 mg/L,污泥 PHAs 的含量由 12.6 mg/gMLSS 增加为 73.6 mg/gMLSS,好氧阶段可溶性磷酸盐减少至 1.47 mg/L,污泥 PHAs 的含量降低为 10.3 mg/gMLSS。好氧阶段除磷能力与厌氧过程污泥合成 PHAs 的含量有关。剩余污泥加入 8 g/L 葡萄糖厌氧 2 h 后得到占污泥干重 6.1% 的 PHAs,¹HNMR 谱图和 FT-IR 谱图表明其结构为 PHBV。

关键词:活性污泥;聚 β -羟基脂肪酸酯;生物法强化除磷

中图分类号:TQ225.4;X703

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2004)S1-0174-04

Biodegradable plastic PHAs production from excessive activated sludge

LONG Ni, REN Yuan, WEI Chao-hai

(College of Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, 510640, China)

Abstract: PHAs was obtained from excessive sludge of anaerobic-aerobic phosphorus removal process by using 8 g/L glucose as the unique carbon source. During the 2 h of anaerobic and 4 h of aerobic period, 81.7% of COD was removed. The soluble phosphorus in the liquid were increased from 6.23 mg/L to 11.95 mg/L and the PHAs in the sludge were increased from 12.6 mg/gMLSS to 73.6 mg/gMLSS first in the anaerobic process. But in the aerobic period the soluble phosphorus in the liquid were decreased to 1.47 mg/L and the PHAs in the sludge were decreased to 10.3 mg/gMLSS. The capability of phosphorus uptake depended on the content of PHAs stored in the sludge. About 6.1% of PHAs of the dry weight sludge was obtained under 2 h of anaerobic process from the excessive sludge. The structure of PHAs was identified as PHBV (poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by ¹HNMR spectrum and FT-IR spectrum.

Key words: activated sludge; PHAs; enhanced biological phosphorus removal process (EBPR)

聚 β -羟基脂肪酸酯 (poly- β -hydroxyalkanoates, PHAs) 具有与化学合成塑料相似的性质,并且有可完全生物降解的特性,因此由微生物合成 PHAs 逐渐成为研究的热点^[1-2],但由于 PHAs 价格过高而不能大规模应用,寻求可利用廉价原料的菌株是降低 PHAs 生产成本的有效途径之一。PHAs 在生物法强化除磷的过程中扮演着“能量转化器”的角色,是细菌在营养物质不平衡的生长条件下(如氮源、磷源或氧源受限制)合成的细胞内能量和碳源储藏性物质^[3]。研究者已经从污泥中合成了聚 β -羟基丁酸酯(PHB)^[3-5],而污泥中大部分细菌也可以合成 PHAs 之类的胞内聚合物,只是量的多少问题^[6]。如果在废水除磷的过程中将排出的含高磷量污泥作为生产 PHAs 的菌源,既可在一定程度上解决大量剩余污泥需要再进行处理的问题,另一方面也可以获得高附加值产品 PHAs。笔者利用序批式反应器

(SBR)驯化污泥使聚磷菌占优势地位,对废水进行处理,从剩余污泥中合成 PHAs。

1 实验内容

1.1 主要实验材料

污泥为广州某生活污水处理厂的剩余污泥;3-羟基丁酸和 3-羟基戊酸的共聚物 P(3HB-co-3HV) (简称 PHBV)标准样品,ICI 公司。

人工模拟废水:葡萄糖 0.25 g/L, (NH₄)₂SO₄ 0.25 g/L, KH₂PO₄ 0.25 g/L, MgSO₄ 0.05 g/L, 微量元素液(含 3 g/L H₃BO₃、0.2 g/L CoCl₂、0.1 g/L ZnSO₄、30 mg/L MnCl₂、30 mg/L NaMoO₄、20 mg/L NiCl₂) 1 mL/L、pH 值 7.0。

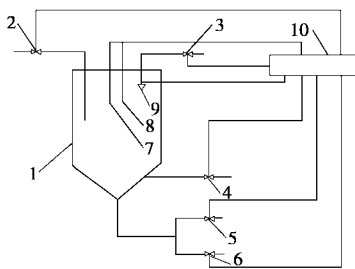
1.2 实验装置

使用自制的 SBR 反应器,配有磁力搅拌和曝气装置,总容积 5 L,有效容积 4 L,如图 1 所示。

收稿日期:2004-03-31

基金项目:国家自然科学基金(50278036)和同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室开放课题资助

作者简介:龙妮(1980-),女,硕士生;韦朝海(1962-),男,博士,教授,博士生导师,研究方向为水污染控制理论与工程技术,通讯联系人,020-87112874,cechwei@scut.edu.cn。



1—反应器主体;2—进水阀;3—出水阀;4—排泥阀;5—空气阀;
6—氮气阀;7—DO仪;8—pH计;9—水位计;10—中控器

图1 反应装置示意图

1.3 实验方法

污泥的驯化:将污泥用生理盐水洗涤后曝气24 h,按补加废水,充氮气5 min后厌氧2 h,开始曝气,好氧4 h,静置排水,为一周期驯化污泥。循环多个周期,驯化污泥2个月。

厌氧-好氧过程 PHAs 的积累:驯化后的污泥置于SBR反应器中,控制MLSS(活性污泥)浓度约为5 000 mg/L。加入模拟废水按厌氧2 h每隔0.5 h取样,好氧4 h每隔1 h取样,测定上清液的COD和 PO_4^{3-} 、污泥总磷、PHAs的含量。

厌氧条件下培养 PHAs:驯化后的剩余污泥在葡萄糖8 g/L的模拟废水中厌氧培养2 h,提取PHAs后称其质量及检测结构。

PHAs的提取^[7]:将活性污泥静置30 min后取沉降物于室温下4 000 r/min离心20 min,将沉淀物于80℃下烘制36 h后得到干细胞,用搅拌机将其打碎

(上接第173页)

在34%~45%之间;离子交换当量在1 290~1 460 g/mol之间。总的说来,与Nafion膜相比尚有一定差距。但复合膜CM1的含水率与离子交换当量与Nafion膜较接近。随着混合液中FYPFSA溶液质量分数的增加,含水率、离子交换容量、电池性能相应提高,CM1电池性能要明显好于CM5。当外接电压为0.4 V时,用复合膜CM1组装的电池功率密度达到0.4 W/cm²,距离燃料电池的应用要求还有一定距离。但由于复合膜CM1具有成本上的优势,如果对其性能进一步加以改进,很有希望应用于质子交换膜燃料电池。

参考文献

[1] 衣宝廉. 燃料电池-原理·技术·应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003. 6-9.
[2] 荆丹敏, 刘富强, 于景荣, 等.[J]. 膜科学与技术, 2002, 22(5):

成细微的颗粒或粉末。称取8 g粉末状的干细胞于三角瓶中,加入100 mL氯仿和100 mL次氯酸钠(NaClO饱和溶液与水的体积比为3:10)溶液,盖上木塞,于30℃下水浴200 r/min振摇90 min后,将溶液全部移入200 mL离心管中,于8℃下5 000 r/min离心30 min吸取最下层的氯仿在80℃下蒸发至约5 mL,加入25 mL甲醇,将溶液转移到锥形瓶中振荡10 min放置过夜。溶液经滤纸抽滤后将沉淀干燥即为细胞内含物,准确称量其质量。

1.4 分析方法

化学耗氧量(COD)采用重铬酸钾法;总磷(TP)采用硝酸-高氯酸法消解,钼锑抗分光光度法分析;可溶性磷酸盐使用钼锑抗分光光度法^[8]。

PHAs^[9]的含量:取一定量的污泥(含PHAs为5~50 μg 的范围),用次氯酸钠-热氯仿法萃取PHAs(PHAs在氯仿层),蒸走氯仿,加入10 mL的浓硫酸,100℃下反应10 min,冷至室温,235 nm下紫外分光光度计测定吸光度,再根据工作曲线确定PHAs的含量。

PHAs的结构测定使用¹H核磁共振(¹HNMR,使用AdvanceDRX-400型超导核磁共振仪,德国Bruker公司)和傅立叶变换红外(FT-IR)光谱测试(样品用KBr压片,Vector33型,德国Bruker公司)。

2 结果与讨论

2.1 活性污泥驯化前后的污泥指数、含磷率比较

经过近2个月的驯化,污泥的颜色由棕黑色渐

12-16.
[3] 卢婷利,梁国正,辛文利,等.[J]. 化工新型材料, 2002, 30(4): 6-12.
[4] Kerres J A. [J]. J Membr Sci, 2001, 185: 3-27.
[5] Nouel K M, Fedkiw P S. [J]. J Electrochim Acta, 1997, (43): 2381.
[6] Joongpyo Shim, Heung Yong Ha, et al. [J]. J Power Sources, 2002, (109): 412-417.
[7] W I. Gore & Associates Inc. Ultra-thin integral composite membrane [P]. US 5547551, 1996-08-20.
[8] E I Du Pont de Nemours and Company. Method for making reinforced ion exchange membranes [P]. US 5447636, 1995-09-05.
[9] Foster-Miller Inc. Composite solid polymer electrolyte membranes [P]. US 6248469, 2001-7-19.
[10] Johnson Matthey Public Co Ltd. Composite membranes [P]. US 6042958, 2000-3-28.
[11] 刘富强, 荆丹敏, 于景荣, 等.[J]. 电化学, 2002, (1): 86-92.
[12] 陈凯平, 张杰, 刘兰香.[J]. 氯碱工业, 2001, (1): 15-18.
[13] 衣宝廉. 燃料电池-原理·技术·应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003. 240. ■

渐变为棕褐色, MLSS 保持在 4 000 ~ 6 000 mg/L 之间。污泥的沉降性能有了显著改善, 污泥沉降比 (SV) 值由最初的约 50% 降为 17%, 污泥指数 (SVI) 为 67.49 mg/g。正常的活性污泥 SVI 在 50 ~ 150 mg/g 之间较好, 该值过低则说明缺乏活性, 过高则说明污泥发生膨胀。在常规的活性污泥系统中, 微生物正常生长时活性污泥含磷量一般为干重的 1.5% ~ 2.3%, 驯化前污泥含磷率为 1.83%, 而经过厌氧-好氧强化驯化后其含磷率达到 2.89%。

好氧曝气、静置后的上清液 SS(悬浮物) 少于 10 mg/L, 活性污泥的镜检 (LEICA 显微摄像系统) 显示系统内存在大量的菌胶团、钟虫、轮虫等原生动物和原虫。

2.2 厌氧-好氧过程中 PHAs 的合成和除磷、COD 的关系

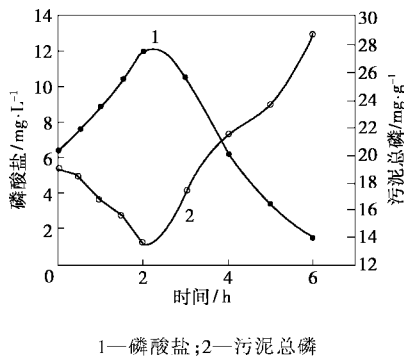


图 2 厌氧/好氧过程中磷素的转移变化

如图 2 所示, 在厌氧阶段上清液中的可溶性磷酸盐先升高后降低, 而污泥总磷呈相反的趋势。根据生物除磷的机理, 在厌氧阶段, 聚磷菌分解储藏在自身的多聚磷酸盐获得能量, 一部分维持细菌自身的生存, 另一部分吸收厌氧酸化所产生的低分子发酵产物 VFAs 合成 PHAs, 将 PHAs 作为细菌含碳有机物的贮藏物质。聚磷水解后的无机磷酸盐释放至聚磷菌体外, 这就是聚磷菌的厌氧释磷现象。进入好氧阶段后聚磷菌就将体内的 PHAs 分解, 释放出的大量能量供聚磷菌生长、繁殖。当环境中存在无机磷酸盐时, 一部分能量供聚磷菌主动吸收磷酸盐, 再以多聚磷酸盐的形式储藏在体内, 这就是聚磷菌的好氧吸磷现象。

在图 3 中 COD 一直在减少, 厌氧的时候有所降低, 但是最主要还是在好氧阶段消耗, 整个反应周期 COD 的去除率为 81.7%。PHAs 的含量变化也有 2 个阶段, 在厌氧的时候含量增加到 73.6 mg/g (MLSS), 在好氧阶段则减少至 10.3 mg/g (MLSS)。在生物除磷的过程中 PHAs 作为一个重要的中间产

物起着能量转化的作用。在厌氧的时候合成的量越多到好氧阶段分解能释放的能量就越多, 可以供聚磷菌吸收更多的磷酸盐, 也就是聚磷菌的除磷能力越高。

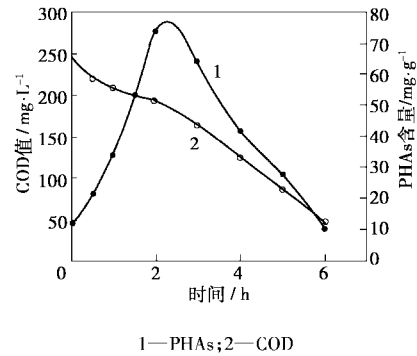


图 3 厌氧/好氧过程中 COD 和 PHAs 的变化

2.3 PHAs 的定量分析和结构分析

2.3.1 PHAs 的定量分析

PHAs 占污泥干重为 6.1%, 而未经驯化的原始污泥 PHAs 的质量分数是 0.066%, 增加 92.4 倍, 驯化培养后污泥中 PHAs 含量大幅度提高, 该驯化条件较适合 PHAs 积累菌的富集。林东恩等^[10]的研究表明活性污泥以乙酸钠为碳源在厌氧 2 h 后可以得到占污泥干重的质量分数为 12.32% 的 PHB, 不同碳源可以合成不同结构的 PHAs。

2.3.2 ¹HNMR 分析

PHAs 样品的 ¹HNMR 谱图见图 4: δ0.911, H_e; 1.290, H_c; 1.645, H_d; 2.502 ~ 2.610, H_a; 5.269, H_b, 与 PHBV 标准样品的对比, 峰形位移基本一致。

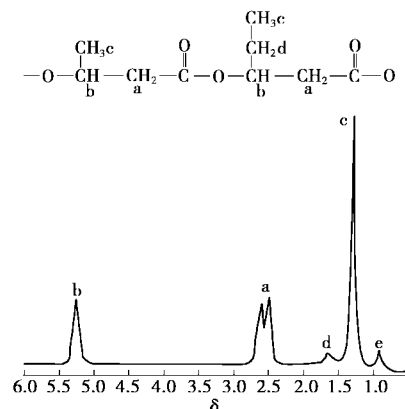


图 4 从污泥中提取 PHAs 的 ¹HNMR 谱图

2.3.3 FT-IR 分析

PHAs 的 FT-IR 谱图见图 5, 1 723 cm⁻¹, 羰基; 3 437 cm⁻¹, -OH 伸缩振动峰; 2 976、2 932、2 874 及 2 853 cm⁻¹, 甲基和亚甲基的不对称和对称伸缩振动; 1 381 cm⁻¹, 甲基的弯曲振动峰, 单峰说明没有异

丙基和叔丁基的存在。将图5和PHBV标准样品对照,峰位和峰的强弱基本保持一致,证明提取出的细胞内含物是PHBV。

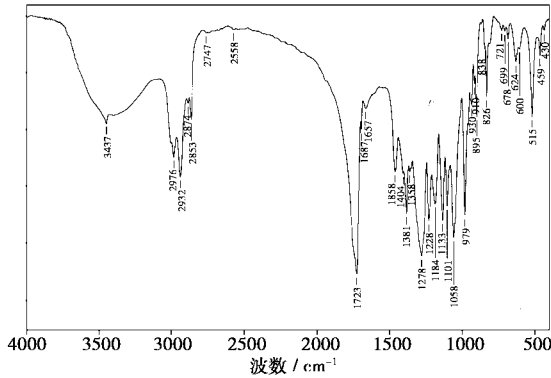


图5 从污泥中提取 PHAs 的 FT-IR 谱图

3 结论

厌氧条件下聚磷菌释放体内的聚磷合成 PHAs, 污泥总磷一直减少, 溶解性磷酸盐从 6.23 mg/L 升高到 11.95 mg/L, PHAs 含量由 12.6 mg/g (MLSS) 增加到 73.6 mg/g (MLSS)。好氧下分解 PHAs 过量吸收磷酸盐合成聚磷储存在细胞内, 污泥总磷增至 28.8 mg/g (MLSS), PHAs 含量降低为 10.3 mg/g

(MLSS)。整个反应周期 COD 的去除率为 81.7%。聚磷菌吸收磷的能力与在厌氧阶段下合成的 PHAs 含量有关, 厌氧条件下以葡萄糖为碳源细菌合成的 PHAs 占干的污泥的质量分数为 6.1%。

参考文献

- [1] 陈琦, 黄和容, 易祖华. [J]. 微生物学通报, 1994, 21(5): 297 - 303.
- [2] 陈国强, 张广, 赵轶. [J]. 无锡轻工大学学报, 2002, (3): 197 - 204.
- [3] Sang Yup Lee. [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1996, 49(2): 1 - 14.
- [4] Satoh H, Iwamoto Y, Mino T, *et al.* [J]. Wat Sci Tech, 1998, 38(2): 103 - 109.
- [5] Takabatake H, Satoh H, Mino T. *et al.* [J]. Wat Sci Tech, 2002, 45(12): 119 - 126.
- [6] Satoh H, Mino T, Matsuo T. [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 1999, 25(1 - 3): 105 - 109.
- [7] Hahn S K, Chang Y K, Kim B S, *et al.* [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1994, 44: 256 - 261.
- [8] 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会编. 水和废水监测分析方法(第三版)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1989.
- [9] 陈玲, 李礼尧, 王武. [J]. 无锡轻工大学学报, 1997, 16(2): 27 - 31.
- [10] 林尔恩, 张逸伟, 韦朝海, 等. [J]. 环境科学, 2003, 24(2): 97 - 101. ■

中美合资南通罗斯混合设备有限公司

主要产品: 高剪切分散混合乳化机、立式混合机、螺旋式混合机

电话: 0513 - 3319157

3110250

<http://www.ntrossmixing.com>

杭州盛大高科机电有限公司

主要产品: PSA 制氮装置和氮气纯化装置, PSA 制氧装置, PSA 制氢装置, PSA 制一氧化碳、二氧化碳装置, 膜分离制氧装置, 空气压缩、净化装置等

电话: 0571 - 56180998

56180989

启东市东盛化工机械厂

主要产品: 高剪切胶体磨、混合输送泵、均子机、乳化设备, 静态混合器, 分体式胶体磨, 快开式双桶过滤器

电话: 0513 - 3351692

3322352

常熟市医药化工设备总厂

主要产品: 钛材换热器、外循环浓缩器、反应釜, 三足式上卸密闭离心机, 三足式上卸直联离心机, 三足式下卸离心机, 三足式吊袋卸料离心机, 螺旋卸料离心机

电话: 0512 - 52502788

52500628