

环境工程中胞外聚合物的研究现状及进展

王 怡^{1,2}, 郑淑健¹, 彭党聪^{1,2}

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 陕西 西安 710055;
2. 西部建筑科技国家重点实验室(筹), 陕西 西安 710055)

摘 要:胞外聚合物是微生物分泌于细胞外的多种有机物的总称,它是环境工程中微生物聚集体的主要成分,对于环境微生物的性状有一定的影响,因此近年来成为研究的热点. 本文从 EPS 的组成、提取方法、测定方法、吸附性能正负面影响及其应用等方面,就近年来国内外关于胞外聚合物的现状和最新研究进展进行了综述,以期对未来的胞外聚合物研究提供重要参考.

关键词:胞外聚合物;环境工程;应用

中图分类号:X703 文献标志码:A 文章编号:1006-7930(2011)06-0854-05

胞外聚合物(EPS)是微生物在一定环境条件下分泌于胞外的复杂高分子有机物的总称^[1-2],它是环境工程中微生物聚集体(活性污泥、生物膜及颗粒污泥)的主要成分,影响着微生物聚集体的特性并保护微生物免受外界恶劣环境的破坏,比如在饥饿时能够作为细胞的碳源和能源物质^[3]. 本文较系统地介绍了 EPS 的组成、EPS 的提取分析方法、EPS 的吸附性能及其影响和应用,并指出了 EPS 研究的现存问题及未来的方向.

1 EPS 的组成

自从 EPS 被发现以来,关于其组成的研究一直是该领域最受关注的问题. 到目前为止,大多数研究者认为, EPS 主要由蛋白质、多糖、腐殖质、脂肪、核酸以及无机物质组成,其中蛋白质和多糖含量最高,两者的 TOC 约占总 EPS 的 70%~80%^[4-5],它们也是环境工程领域经常测定的化学成分.

宏观角度上, Sheng 等认为可以将 EPS 划分为溶解型 EPS(soluble EPS)和结合型 EPS(bound EPS). 此外,根据分离难易程度及其空间分布,结合型 EPS 又可分为松散结合 EPS(LB-EPS)和紧密结合 EPS(TB-EPS)^[4].

2 EPS 的提取方法

2.1 EPS 的提取方法及优缺点

EPS 的提取是对其定性定量分析的基础,因此,寻求高效的提取方法一直是 EPS 研究的热点. EPS 提取的方法主要有物理法和化学法. 物理法是通过物理外力提取 EPS,主要包括离心法、超声法和热提取法. 化学法是利用化学添加剂提取 EPS,主要包括 NaOH 提取法、硫酸提取法、甲醛-NaOH 提取法、EDTA 提取法、戊二醛提取法、离子交换树脂法(CER)等^[4,6-7]. 提取方法的优劣通常通过对微生物细胞的损害程度来评价,即 EPS 中 DNA 含量^[8].

一般来说,物理法会影响 EPS 中分子质量分布;而化学法则由于化学提取剂的添加会使样品受到污染,因此会影响 EPS 的高效凝胶过滤色谱(HPSEC)及测定结果^[9]. 而且,物理法的提取效率要低于化学法^[14]. 表 1 综述了部分文献以说明各种提取方法的优缺点.

收稿日期:2011-06-27 修改稿日期:2011-10-15

基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(51108368);教育部“长江学者与创新团队发展计划”创新团队资助项目(IRT0853)

作者简介:王 怡(1971-),女,陕西蓝田人,博士,副教授,研究方向为水污染控制的理论和技术.

表 1 各种 EPS 提取方法的特点

Tab.1 Characteristics of different EPS extraction methods

提取方法	特点	文献来源
超声波法	只能部分提取 EPS	[4]
热提取法	对细胞破坏严重,细胞死亡率高	[10]
氢氧化钠提取法	细胞破坏严重,改变 EPS 内部分子分布	[4][9]
EDTA 提取法	提取效率较高,但影响 Lowry 法测定蛋白质及紫外分光测定核酸的结果	[4][11][12]
阳离子交换树脂法	各种成分提取率均较高,对细胞破坏小	[4][11]
甲醛-氢氧化钠法	提取效率相对较高,但是会改变 EPS 的性质,影响多糖的测定	[3][11]
戊二醛提取法	提取效率高,但对糖类的测定有影响	[13]

从表 1 可以看出,阳离子交换树脂法是较好的一种提取方法,也是目前应用最多的提取方法。

2.2 提取方法对 EPS 含量的影响

对于一定的活性污泥,其 EPS 含量的大小与提取方法密不可分。表 2 所示的研究对象均为城市污水处理厂活性污泥,污泥 EPS 中的多糖测定均采用蒽酮-硫酸法,蛋白质测定均采用 Lowry 法。从表 2 可以看出,即使同为城市污水处理厂活性污泥且采用相同的测定方法,但是由于提取方法不同,EPS 中蛋白质的含量相差巨大,多糖含量也有差异。因此,规范 EPS 的提取方法非常必要。

表 2 提取方法对污泥 EPS 中蛋白质和多糖含量的影响

Tab.2 Effect of extraction methods on the content of protein and carbohydrate in EPS from activated sludge

分离方法	蛋白质/ $\text{mg} \cdot (\text{gVSS})^{-1}$	多糖/ $\text{mg} \cdot (\text{gVSS})^{-1}$	文献来源
超声波树脂联用法	85 ± 10	20 ± 5	[14]
阳离子交换树脂	212 ± 8	41 ± 3	[9]
EDTA	12.4 ± 1.2	22.9 ± 0.5	[3]
甲酰胺-NaOH	240 ± 13.6	61.0 ± 9.4	[15]
超声-交换树脂	50 ± 1	21 ± 3	[16]

3 测定方法

3.1 EPS 的常规测定方法

EPS 提取之后,对其具体成分进行分析测定也是目前研究的重要内容之一。如前所述,环境工程中 EPS 的含量通常通过蛋白质和多糖来描述,偶尔需要测定核酸和腐殖质含量。

EPS 中蛋白质含量一般采用 Lowry 法或 Bradford 法测定,其中 Bradford 法测定过程简捷,干扰因素较少,但是其标准曲线具有一定的非线性,偏差较大;而 Lowry 法虽然测定过程比较费时,但灵敏度较高,结果相对更准确^[8,17],因此,环境工程中对活性污泥 EPS 中蛋白质的测定,目前普遍采用 Lowry 法。

EPS 中多糖含量常用蒽酮-硫酸法或苯酚-硫酸法测定。对比研究表明,蒽酮-硫酸法比苯酚-硫酸法所测定的结果偏低一些^[8],但因蒽酮-硫酸法测定过程简便、快捷,因此,目前测定过程中较常采用蒽酮-硫酸法。

此外,EPS 中核酸多用二苯胺显色法测定,腐殖质则常用改良式 Lowry 法测定^[4,8,12,17-18]。

3.2 EPS 的革新测定方法

近年来,随着研究手段和技术的革新,EPS 测定的各种新方法也得到了发展,目前报道的主要有光谱法、色谱法及显微法。

光谱法是基于物质与辐射能作用时,测量由物质内部发生量子化的能级之间的跃迁而产生的发射、吸收或散射辐射的波长和强度进行分析的方法。采用光谱法可以检测 EPS 的官能团和元素组成,常用的光谱法包括光电子能谱法(XPS)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)、三维矩阵发射荧光分光光度法(3D-EEM)和核磁共振(NMR)^[4,19]。

色谱法中应用较多的是气相色谱(GC)和高效液相色谱分析(HPLC)方法,通过这两种方法对 EPS

水解后的单糖和氨基酸进行定性和定量分析^[4,19],进而可以推算 EPS 中多糖和蛋白质的含量。

显微方法中采用原子力显微镜(AFM),可以在液体环境下观测 EPS 的微结构,直接了解 EPS 的物化性质^[20]。此外,通过共聚焦显微镜(CLSM)观测 EPS 组分的基础上,可以用来测定 EPS 的三维细胞体积比例,从而测定 EPS 的相对含量,也是一种正在尝试的新方法,因为该方法可以免去 EPS 的提取过程,也不需要 EPS 做特殊处理,因此很有前景,但是这种方法目前主要应用于生物膜 EPS 的测定中^[21],对于非固定态微生物中的 EPS 测定尚有难度。

4 EPS 的吸附性能及其影响与应用

4.1 EPS 的吸附性能

EPS 的吸附性能是指 EPS 具有吸附金属和有机物的特性,这一特性直接影响着生物絮凝体表面的生物吸附、生物絮凝、絮体沉降性能和稳定性^[4]。

EPS 的表面吸附性主要归因于它所携带的特殊功能团,如羧基、羟基、氨基、含磷键等。EPS 自身负电荷较多,因此可与带正电荷的菲、苯、腐殖酸和染料等发生电荷反应而吸附有机污染物^[4]。EPS 吸附重金属是由于其组成中的蛋白质、多糖和腐殖酸的粘性决定的,其中蛋白质的粘合能力要大于腐殖酸,这也是蛋白质含量较高的溶解态 EPS 的粘合容量大于蛋白质相对含量较低的结合型 EPS 的原因^[4]。另外,研究表明结合型 EPS 与金属的粘合强度遵循朗格缪尔等温方程式^[22]。

4.2 EPS 吸附性能的负面影响

EPS 的吸附性能能够促进活性污泥的絮凝以及泥水分离,但同时也会带来一定的负面影响,主要表现在膜反应器(MBR)的膜污染问题上。实验表明,导致膜污染的主要原因是 EPS 对膜的结合堵塞^[23],膜污染物中的 EPS 含量是正常活性污泥的 4 倍。另一方面,EPS 吸附有机物形成的大颗粒,粘附在膜上堵塞膜孔,使膜的流通量下降,从而影响了 MBR 系统的运行。经过发射型电子显微镜(EEM)鉴定,EPS 中的多糖由于其自身的高粘性而成为污染膜的主要成分^[24]。

4.3 EPS 吸附性能的正向应用

由于 EPS 是天然的聚阴离子物质,因此依靠离子交换作用固定重金属离子形成复合物,并将其本身携带的钙镁离子释放到环境中^[10,22],可以修复重金属污染的土壤,这也是近年来 EPS 应用研究的热点。当然,由于 EPS 本身成分及其影响因素复杂性及其吸附重金属的键合作用发生的部位不同^[25],导致 EPS 对不同的重金属具有不同的亲和力^[12]。

5 现存的问题及未来的研究方向

由于生物处理和生物修复在环境工程中的大量应用,使环境工程中胞外聚合物的研究近年来成为热点问题。就目前的文献而言,笔者认为主要问题在于:EPS 的提取过程较为繁琐,且尚无统一程序和方法;EPS 的测定目前主要采取化学法,微生物来源直接影响测定结果。因此,未来的工作应该完善现有的提取方法,同时开发先进的分析技术,以提高效率和准确度。另一方面,大量的工作应集中在 EPS 的高效纯化研究中,以利于 EPS 作为自然、可降解生物絮凝剂和吸附剂在环境工程中的大量应用。

参考文献 References

- [1] SHENG Guo-Ping, ZHANG Meng-Lin, YU Han-Qing. Characterization of adsorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) extracted from sludge[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008,62(1):83-90.
- [2] 严杰能,许燕滨,段晓军,等.胞外聚合物的提取与特性分析研究进展[J].科技导报,2009,27(2):106-110.
YAN Jie-neng, XU Yan-bin, DUAN Xiao-jun, et al. A Review on the Extraction and Property Analysis of Extracellular Polymeric Substance[J]. Science & Technology Review, 2009,27(2):106-110.
- [3] LIU Hong, FANG H H P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges[J]. Biotechnol, 2002,95(3):249-256.
- [4] SHENG Guo-ping, YU Han-qing, LI Xiao-yan. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review[J]. Biotechnol Advan,2010,28 :882-894.

- [5] 赵 军, 徐高田, 秦 哲, 等. 胞外聚合物 EPS 组成及对污泥特性的影响研究[J]. 安全与环境工程, 2008, 15(1): 66-69.
ZHAO Jun, XU Gao-tian, QIN Zhe, et al. Composing of Extracellular Polymeric Substances and Its Effect on Sludge Characteristics[J]. Safety and Environmental Engineering, 2008, 15(1): 66-69.
- [6] DOMINGUEZ L, RODRIGUEZ M, PRATS D. Effect of different extraction methods on bound EPS from MBR sludges. Part I: Influence of extraction methods over three-dimensional EEM fluorescence spectroscopy fingerprint [J]. Desalination, 2010, 261: 19-26.
- [7] 罗 曦, 雷中方, 刘 翔. 胞外聚合物的提取、组成及其对污泥性质的影响[J]. 城市环境与城市生态, 2005, 18(5): 38-41.
LUO Xi, LEI Zhong-fang, LIU Xiang. EPS Extraction, Composition and Its Effect on Sludge Characteristics[J]. Urban Environment & Urban Ecology, 2005, 18(5): 38-41.
- [8] FROLUND B, PALMGREN R, KEIDING K, et al. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin[J]. Water Res, 1996, 30(8): 1749-1758.
- [9] COMTE SOPIE, GUIBAUD Gilles, BAUDU Michel. Effect of extraction method on EPS from activated sludge: An HPSEC investigation[J]. Hazardous Materials, 2007, 140: 129-137.
- [10] HOUGHTON J I, STEHENSON T. Effect of influent organic content on digested sludge extracellular polymer content and dewaterability[J]. Water Res, 2002, 36: 3620-3628.
- [11] LIANG Zhi-wei, LI Wen-hong, YANG Shang-yuan, et al. Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in autotrophic nitrifying biofilm and activated sludge[J]. Chemosphere, 2010, 81: 626-632.
- [12] ABZAC Paul d', BORDAS Francois, et al. Effects of extraction procedures on metal binding properties of extracellular polymeric substances (EPS) from anaerobic granular sludges. Biointerfaces[J], 2010, 80(2): 161-168.
- [13] AZEREDO J. Methods to extract the exopolymeric matrix from biofilm: a comparative study[J]. Water Sci Technol, 1999, 39(7): 243-250.
- [14] 李绍峰, 王宏杰, 王雪芹, 等. 超声波树脂联用法提取活性污泥的胞外聚合物[J]. 安全与环境学报[J], 2006, 6(5): 11-13.
LI Shao-feng, WANG Hong-jie, WANG Xue-qin, et al. New method on extracting ultrasonic jointcation resin EPS[J]. Safety and Environment. 2006, 6(5): 11-13.
- [15] SUNIL S, LEE D J, TAY J H. Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule [J]. Water Res, 2008, 42(617): 1644-1650.
- [16] MARTIN-CERECEDA M, JORAND F, GUINEA A. Characterization of extracellular polymeric substances in rotating biological contactors and activated sludge flocs[J]. Environ technol, 2001, 22(8): 951-959.
- [17] LIU Yan, Herbert H. P. Fang. Influences of Extracellular Polymeric Substances (EPS) on Flocculation, Settling, and Dewatering of Activated Sludge[J]. Environ Sci and Technol, 2003, 33(3): 237-273.
- [18] ADAV Sunil S, LEE Duu-Jong. Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure[J]. Hazardous Materials, 2008, 154(1/2/3): 1120-1126.
- [19] GUILLAUME Pierre, MARIANNE Graber. Biochemical characterization of extracellular polymeric substances extracted from an intertidal mudflat using a cation exchange resin[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2010, 38: 917-923.
- [20] Duy K PHAM, Elena P IVANOVA, Jonathan P WRIGHT, et al. AFM analysis of the extracellular polymeric substances (EPS) released during bacterial attachment on polymeric surfaces[J]. Proceedings of SPIE, 2003, 4962: 151-159.
- [21] ZHANG Tong, FANG Herbert H P. Quantification of extracellular polymeric substances in biofilms by confocal laser scanning microscopy[J]. Biotechnology Letters, 2001, 23(5): 405 - 409.
- [22] SUN Xue-Fei, WANG Shu-Guang, ZHANG Xiao-Min, et al. Spectroscopic study of Zn²⁺ and Co²⁺ binding to extracellular polymeric substances (EPS) from aerobic granules[J]. Colloid and Interface Sci, 2009, 335(1): 11-17.
- [23] WANG Zhi-wei, WU Zhi-chao, TANG Shu-juan. Extracellular polymeric substances (EPS) properties and their effects on membrane fouling in a submerged membrane bioreactor[J]. Water Res, 2009, 43(9): 2504-2512.

- [24] ZHANG Bin, SUN Bao-sheng, et al. Extraction and analysis of extracellular polymeric substances in membrane fouling in submerged MBR[J]. *Desalination*, 2008, 227(1/2/3):286-294.
- [25] 王禄仕, 张亚宁, 朱维晃. 汤峪水源水库沉积物中重金属形态分布特征及潜在生态风险评价[J]. *西安建筑科技大学学报:自然科学版*, 2010, 42(4):567-572.
- WANG Lu-shi, ZHANG Ya-ning, ZHU Wei-huang, The speciation of heavy metals in the sediment of the Tangyu Reservoir and assessments of the potential ecological risk [J]. *J. Xi'an Univ. of Arch. & Tech.: Natural Science Edition*, 2010, 42(4):567-572.

A review on extracellular polymeric substance in environmental engineering

WANG Yi^{1,2}, ZHENG Shu-jian¹, PENG Dang-cong^{1,2}

- (1. School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an Univ. of arch. & Tech., Xi'an 710055, China;
2. State Key Laboratory of Architecture Science and Technology in West China)

Abstract: Extracellular polymeric substances (EPS) are organic compounds secreted by microbes, which are very important for such biological aggregates as activated sludge or biofilm. So more and more research were focused on this aspect recently. Based on the introduction of EPS component, extracting method, analytic method, adsorptive property and its impact, the paper signaled the direction of EPS research for the future work.

Key words: *extracellular polymeric substance; environmental engineering; applications*

Biography: WANG Yi, Associate Professor, Ph. D., Xi'an 710055, P. R. China, Tel:0086-15809285181, E-mail: wangyi1003@sina.com

(上接第 837 页)

Evaluation model of urban traffic sustainable development based on matter element with AHP and entropy

LI Xiao-wei^{1,2}, CHEN hong¹, SHAO Hai-peng¹, MA Juan¹, ZHOU Ji-biao¹

- (1. Highway School, Chang'an University, Xi'an Shaanxi, 710064 China;
2. Highway Large-scale Structure Safety Engineering Center of the Ministry of Education, Xi'an Shaanxi, 710064 China)

Abstract: On the basis of index system about urban traffic sustainable development, a matter element model with AHP and entropy is proposed, which is based on extension theory and correlation function. Firstly, matter element of urban traffic sustainable development is made up of evaluation index, value and classification by matter element analysis. By calculating degrees of membership of evaluation indexes and the interrelated value of levels, urban traffic sustainable development and its trend are judged. Secondly, the weight of each index was determined by AHP method and entropy method considering the data objectivity and classification subjectivity. Lastly, the method is applied to the evaluation of urban traffic sustainable development in Beijing, which shows that the model is effective and practical in the evaluation of urban traffic sustainable development.

Key words: *traffic engineering; sustainable development; matter element; entropy; AHP*

Biography: LI Xiao-wei, Candidate for Ph. D., Xi'an 710064, P. R. China, Tel:0086-29-82334834, E-mail: 185381729@qq.com