

不同粒径成熟好氧颗粒污泥 EPS 的三维荧光光谱特性

李定昌¹, 王琦², 高景峰¹, 高永青², 张帅²

(1. 北京工业大学环境与能源工程学院 城镇污水深度处理与资源化利用技术国家工程实验室, 北京 100124; 2. 北京城市排水集团有限责任公司, 北京 100124)

摘要: 为了研究不同粒径成熟好氧颗粒污泥 (AGS) 中胞外聚合物 (EPS) 的分布及物理化学特性, 探究 AGS 的最优培养粒径, 采用超声结合加热法提取了 SBR 中 8 种不同粒径成熟 AGS 的 EPS, 并利用三维荧光光谱 (3D-EEM) 结合化学法对其主要组分进行了定性和定量分析。3D-EEM 分析结果显示, 随着 AGS 粒径的不断增大, AGS 中蛋白质类的荧光强度逐渐增强, 表明蛋白质类物质在大粒径 ($d > 1.25$ mm) AGS 内分布较多, 蛋白质类物质有助于污泥的颗粒化。腐殖酸类物质的荧光强度随着粒径的增大而逐渐减弱, 意味着腐殖酸类物质在小粒径 AGS 中分布较多, 表明其可能对 AGS 的形成影响不大。在 AGS 的培养过程中, 并非粒径越大越好。研究中, 不同粒径 AGS 的蛋白质/多糖在 1.6 ~ 2.0 mm 范围内达到最大, 且在此范围内 AGS 的 SVI_{30} 值最低, 因此可以认为 1.6 ~ 2.0 mm 是 AGS 的最优粒径。

关键词: 好氧颗粒污泥; 粒径; EPS; 超声加热法; 3D-EEM

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2018)07-0026-06

Three-dimensional Excitation Emission Matrix Fluorescence Spectroscopic Characterization of Extracellular Polymeric Substances of Mature Aerobic Granular Sludge with Different Particle Sizes

LI Ding-chang¹, WANG Qi², GAO Jing-feng¹, GAO Yong-qing², ZHANG Shuai²

(1. National Engineering Laboratory for Advanced Municipal Wastewater Treatment and Reuse Technology, College of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 2. Beijing Drainage Group Co. Ltd., Beijing 100124, China)

Abstract: To investigate the properties of extracellular polymeric substances (EPS) in mature aerobic granular sludge (AGS) with different particle sizes, EPS of AGS with 8 different particle sizes was extracted by ultrasonic wave and heating method. A combination of three-dimensional excitation emission matrix fluorescence spectra (3D-EEM) and chemical method was applied to analyze the composition of EPS in each particle size. The results of 3D-EEM showed that the fluorescence intensity of protein in AGS gradually increased with the increasing of AGS particle size, indicating the protein mainly distributed in AGS with larger size particles ($d > 1.25$ mm). It also implied that protein (PN) facilitated the sludge granulation. While fluorescence intensity of humus decreased with the increasing of AGS particle size,

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07103-003); 国家自然科学基金资助项目(51578015); 北京市自然科学基金资助项目(8162010)

通信作者: 高景峰 E-mail: gao.jingfeng@bjut.edu.cn

suggesting that the humic acid substances mainly distributed in the smaller particle size of AGS. It possibly meant that humic acids had little effect on the formation of AGS. In the process of AGS cultivating, bigger particle size of AGS was not necessarily better. In the present study, the PN/polysaccharide (PS) proportion of AGS reached the maximum in the range of 1.6–2.0 mm, with which AGS had the lowest SVI_{30} value. Thus, AGS with the particle size of 1.6–2.0 mm was considered to have the most excellent performance.

Key words: aerobic granular sludge; particle sizes; EPS; ultrasonic wave and heating method; 3D-EEM

好氧颗粒污泥(AGS)比传统活性污泥拥有更好的沉降性能^[1],更大的生物量以及更高效的水处理能力。Morgenroth 于 1997 年首次在实验室 SBR 中培养出 AGS,并发现其具有良好的降解有机物的能力。Pronk 等^[2]报道了 AGS 在规模为 28 600 m³/d 的污水处理厂中的应用。可见,AGS 技术是当下污水生物处理领域极具发展前景的技术之一。AGS 的沉降性能决定着固液分离的效果,颗粒直径和沉降速率之间呈正相关,粒径越大则沉降越快,有利于维持反应器内较高的生物量。

胞外聚合物(EPS)对 AGS 的形成至关重要,它通过聚合和粘附微生物细胞来建立和维持 AGS 结构的完整性。Deng 等人^[3]研究发现,AGS 中 EPS 的含量,尤其是胞外蛋白质的含量对 AGS 的形成有重要意义,更高 EPS 的含量有助于增强 AGS 的沉降性能。McSwain 等人^[4]指出,AGS 中胞外蛋白质作为 EPS 的主要成分,可以和多价阳离子物质结合,有利于污泥的颗粒化。目前,已经有很多关于 AGS 培养过程中 EPS 的理化性质方面的研究。然而,对于同一反应器中不同粒径成熟 AGS 的 EPS 组分含量的差异,目前还鲜见报道。AGS 在培养过程中,随着微生物的不断团聚和附着,其颗粒会不断增大,当 AGS 粒径过大时,其内部的生存环境会发生恶化,颗粒内部的传质阻力会随粒径增大而增加。Toh 等人^[5]研究发现,当颗粒粒径 > 4 mm 时,粒径增大反而会导致其沉降性能变差,在浮力及外部剪切力作用下,最终会导致颗粒污泥解体,从而影响污染物去除效果和固液分离性能。因此,在 AGS 的培养过程中,粒径并非越大越好,有必要寻求最合适的粒径。

随着光谱技术的发展,三维荧光光谱技术(3D-EEM)在用于表征 EPS 中蛋白质和多糖等荧光化合物时,被认为是一种快速、有选择性且灵敏的方

法^[6]。高景峰等^[7]采用 3D-EEM 结合化学分析法对 AGS 和普通絮状污泥的 EPS 进行了定性和定量分析,结果显示 AGS 中的 EPS 含量更高。Adav 等^[8]采用 3D-EEM 技术表征了 3 个反应器中 3 种不同粒径 AGS 的 EPS,结果显示,最大粒径(3.0~3.5 mm)的 AGS 所对应的蛋白类荧光强度最强,其蛋白质含量最高。Zhu 等^[6]采用 3D-EEM 对 AGS 和絮体污泥中的 EPS 做了表征,研究表明蛋白类荧光化合物(芳香类蛋白和色氨酸类蛋白)和高分子蛋白类化合物是 AGS 的关键成分,这些物质对 AGS 的形成和结构稳定有重要作用。可见,目前采用 3D-EEM 对 AGS 的 EPS 研究日益增多,但将该技术应用于不同粒径 AGS 的 EPS 成分分析方面的研究报道几乎没有。

笔者对 SBR 反应器中不同粒径的成熟 AGS 的 EPS 采用 3D-EEM 结合化学分析法进行定性和定量分析,旨在研究不同粒径的 AGS 中 EPS 各组分的分布规律,从而为寻求 AGS 的最佳粒径提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验污泥和污水

本研究采用的 SBR 工艺以实际生活污水为处理对象,种泥取自吴家村再生水厂曝气池,通过接种驯化法培养 AGS。经测定,污水的 COD、NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N、PO₄³⁻-P 分别为(325 ± 10)、(52 ± 3)、(0.2 ± 0.04)、(0.88 ± 0.05)、(6.8 ± 0.5) mg/L。

1.2 试验装置和方法

SBR 反应器如图 1 所示,采用有机玻璃材料制成,其有效容积为 150 L,直径为 40 cm,总高为 150 cm,有效高度为 140 cm。两个排水口设置在距反应器底部 60 cm 高度处。反应器采用悬空式机械搅拌桨进行搅拌,通过液位计控制每周期的进水量,采用蠕动泵从上部将外加碳源打入反应器,以内置加热

棒实现控温。反应器底部设置了曝气盘,通过空气压缩机为反应器提供氧气,采用气体流量计控制并监测进气量。反应器的运行方式为进水(8 min)、搅拌(40 min)、曝气(160 min)、沉淀(9 min)、排水(5 min),每天运行4个周期,采用精确定时控制器自动控制反应器各阶段的启停。经过240 d的培养后,取一定量SBR反应器中的泥水混合液,用标准分样筛进行湿式筛分,将颗粒污泥筛分为 >2.0 、 $1.6 \sim 2.0$ 、 $1.25 \sim 1.6$ 、 $1.0 \sim 1.25$ 、 $0.8 \sim 1.0$ 、 $0.6 \sim 0.8$ 、 $0.2 \sim 0.6$ 、 $0 \sim 0.2$ mm等8种粒度。

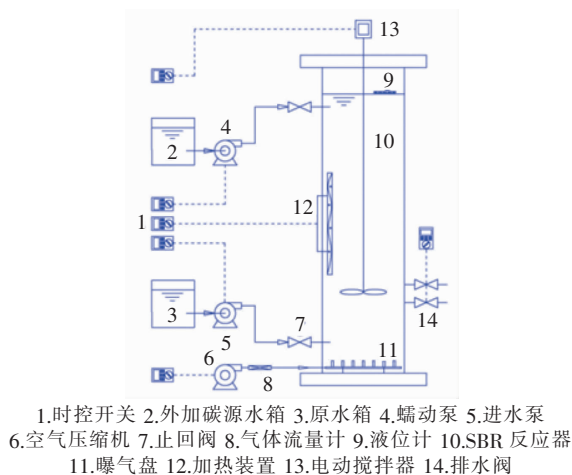


图1 SBR反应器示意

Fig.1 Schematic diagram of SBR

1.3 不同粒径AGS的EPS提取

分别将不同粒径的AGS进行匀浆化处理后放入50 mL离心管,并在50 W的超声功率下超声5 min使污泥进一步匀浆化,以便EPS的充分提取。随后将其放入80 ℃水浴中加热1 h,将加热后的混合液于12 000 r/min下离心15 min,取上清液经0.22 μm微滤膜过滤后测定滤液中胞外蛋白质(PN)、腐殖酸(HA)、多糖(PS)和核酸(DNA)的含量。

1.4 分析方法

EPS的提取效果通过蛋白质(PN)、腐殖酸(HA)、多糖(PS)和核酸(DNA)来表征。采用改良Lowry法测定胞外蛋白质和腐殖酸,分别以牛血清白蛋白和腐殖酸作为标准液;采用苯酚-硫酸法测定胞外多糖,以葡萄糖为标准液;核酸采用二苯胺比色法测定,以脱氧核糖核酸为标准液。每个粒度的各指标测试都做3组平行试验。

采用Perkinelmer LS 55 荧光分光光度计对EPS

进行定性分析。试验中,3D-EEM以10 nm为增量从激发波长为200 nm扫描到400 nm,以0.5 nm为增量从发射波长为300 nm扫描到550 nm,扫描速度为1 200 nm/min,采用Origin8.0对光谱图进行分析。

2 结果与讨论

2.1 不同粒径AGS的EPS含量

图2是SBR反应器中污泥的粒度分布,可知不同粒径污泥占总MLVSS的比例不同。图3是8种粒径污泥对应的 SV_{30} 和 SVI_{30} ,可知 SVI_{30} 随着污泥粒径的增大而减小,AGS($d > 0.2$ mm)的 SVI_{30} 明显低于絮体污泥($d < 0.2$ mm),粒径在1.6 ~ 2.0 mm的AGS的 SVI_{30} 达到最低,其沉降性能最好。

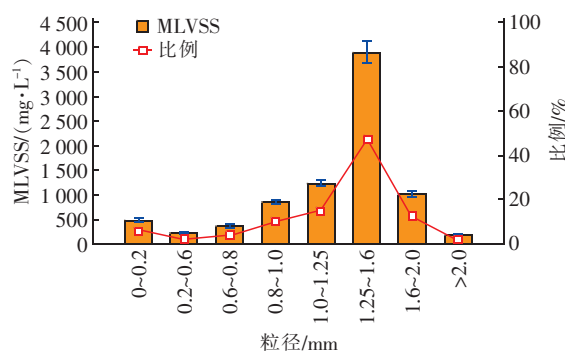


图2 反应器中AGS的粒径分布

Fig.2 Particle size distribution of AGS in SBR

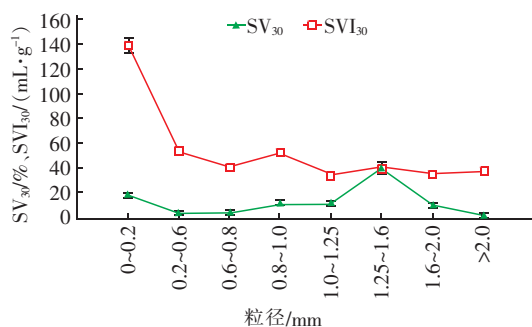


图3 不同粒径AGS的污泥沉降比和污泥容积指数

Fig.3 SV_{30} and SVI_{30} of AGS with different particle sizes

不同粒径成熟AGS的胞外PN、HA、PS和DNA含量如图4所示。由于AGS的平均粒径远大于普通污泥,因此其比表面积相对较小,而颗粒的大小直接影响微生物与药剂的接触。McSwain等^[4]研究证实,对于颗粒污泥而言,匀浆化后提取的EPS含量明显高于匀浆化之前,但这种匀浆化作用对絮状污泥EPS的提取效率没有明显改善,因此,为了充分提取EPS,需对AGS进行匀浆化处理。

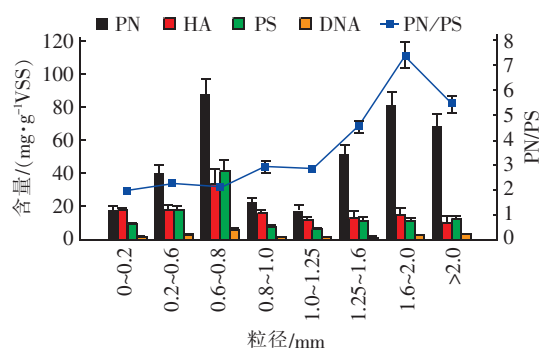


图4 不同粒度 AGS 的蛋白质、腐殖酸、多糖和核酸含量对比

Fig. 4 Comparison of protein, humic-like substances, polysaccharide and nucleic acid content in AGS with different particle sizes

由图 4 可知,PN、PS 和 HA 的含量随着粒径的增大呈先增加后降低再增大的趋势,可能是因为 AGS 形成初期 EPS 含量增加;随着 AGS 粒径的增大,可能存在着一定程度的颗粒破碎,EPS 含量出现下降;随着 AGS 粒径继续增大并逐渐进入成熟期,EPS 含量又有所上升并最终趋于稳定。而 DNA 在整个过程中占总 EPS 的比例低于 5%,说明在 EPS 提取过程中有微量的细胞裂解,但不会对后续 EPS 组分的分析造成明显影响。微生物的 EPS 特性会随着环境和微生物种群的不同而发生变化,在本研究中,每一种粒径的 AGS 都包含有不同的微生物群体,因此即便是同一反应器的 AGS,其 EPS 也不尽相同。此外,絮体污泥的胞外 PN 含量远低于 $d > 1.6$ mm 的 AGS,而胞外 PS、HA 和 DNA 含量则相差不大,表明絮体污泥和颗粒污泥的 EPS 特性有所不同。

EPS 会对污泥的沉降性能、絮凝能力、表面疏水性、表面电荷以及脱水性能等表面特性产生影响^[9],很多研究表明,活性污泥中 EPS 含量的增加不利于污泥絮凝沉降,Forster 等认为当 EPS 含量过高、污泥表面负电荷足够大时,絮体间斥力会导致沉降性能恶化。在本研究中,粒径在 0.6 ~ 0.8 mm 的 AGS 的 EPS 总量较高,但其沉降性能不如粒径在 1.0 ~ 2.0 mm 的 AGS。由图 3 也可以看出,粒径在 1.0 ~ 2.0 mm 的 AGS 的沉降速率更快,具有更好的固液分离效果,其沉降性能比絮体污泥高出数倍。粒径大于 2.0 mm 的 AGS 其 EPS 含量有所降低,PN/PS 值也有所下降,可能是因为大粒径 AGS 的形成过程缓慢而长久,尽管 AGS 所包含的生物量大,

但其内核的微生物由于长时间被包裹,生物质受到限制,接触有机物的几率大大降低,导致 AGS 分泌的 EPS 减少。由图 4 可以看出,随着粒径的增大,其 PN/PS 值先增大后减小,粒径在 1.6 ~ 2.0 mm 的 AGS 其 PN/PS 值最高,PN/PS 值的增大表明 EPS 中 PN 的相对含量增加,PN 在 AGS 的形成过程中扮演着重要角色^[10],有助于污泥的颗粒化。

2.2 3D-EEM 分析

一般而言,天然环境中各种溶解性有机质的激发/发射(Ex/Em)荧光峰位置可以归纳如下:芳香族蛋白类荧光峰^[11](Peak A, Ex/Em = 280 ~ 290/335 ~ 360 nm; Peak B, Ex/Em = 220 ~ 230/335 ~ 345 nm)、类腐殖酸荧光峰^[12](Peak C, Ex/Em = 340 ~ 360/420 ~ 445 nm; Peak D, 350 ~ 440/430 ~ 510 nm)。图 5 是不同粒径 AGS 的 3D-EEM 光谱分析结果。

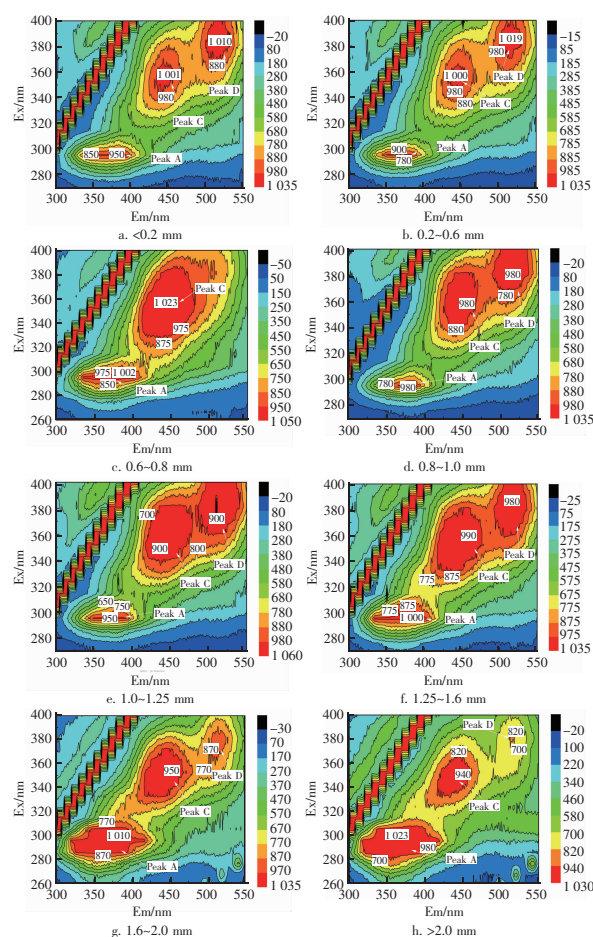


图5 不同粒径 AGS 的 3D-EEM 光谱图

Fig. 5 3D-EEM spectra of AGS with different particle sizes

由图 5 可知,每个粒径 AGS 的 3D-EEM 光谱中

均有 Peak A, 表明 AGS 的形成与蛋白质类物质有很大关联。许多研究已经证实^[13], EPS 中的多数蛋白质是对疏水性有贡献的物质, EPS 总量及胞外 PN 含量与表面负电荷和疏水性成正比, 这也正是大粒径 AGS 所具备的理化特性, 表明 PN 的存在有利于污泥的颗粒化。高景峰等^[7]研究发现 EPS 组分中除了含有蛋白质、多糖和核酸之外, 还存在一定量的腐殖酸。在本研究中, Peak C、D 便是腐殖酸相关峰, 当 AGS 粒径 >1.25 mm 时腐殖酸的荧光强度与较小粒径 AGS 相比, Peak C 强度有所减弱, Peak D 峰逐渐消失, 结合 EPS 组分中腐殖酸的定量分析结果可知, 腐殖酸类物质在小粒径 AGS 中的含量相对较高。絮体污泥的 Peak C 强度明显高于 $d > 2.0$ mm 的 AGS, 而 Peak A 的强度明显低于 $d > 2.0$ mm 的 AGS。Lurin 等发现腐殖酸成分主要是脂肪族和芳香族的高聚合物, 由于包含有羧基、酚基等官能团, 其氢离子可以被解离出来与溶液中的阳离子进行交换, 因此官能团都带有高负电荷, 同样会影响污泥的絮凝能力, 不利于污泥的颗粒化。从图 5(f)、(g) 和 (h) 可以看出, 其 Peak A 强度较小粒径 AGS 的有所增强, 这与胞外 PN 值测量结果一致。Zhu 等^[14]研究发现, 随着 AGS 的逐渐形成并稳定, 蛋白类荧光强度逐渐增强, 同时腐殖酸荧光强度减弱, 与本研究结果一致。Adav 等^[15]研究发现, AGS 中的蛋白质含量尤其高, 是多糖含量的 3~6 倍, 在本研究中, 粒径为 1.6~2.0 mm 的 PN/PS 值更是达到了 7 以上。AGS 粒径大于 1.25 mm 后, 蛋白荧光特征峰 Peak A 强度也趋于稳定, 而腐殖酸类荧光峰强度逐渐变弱, 故推测蛋白类物质对好氧颗粒污泥的形成有重要积极的作用。

在所筛分的 8 种粒径污泥中, 粒径 >1.25 mm 的 AGS 具有很好的沉降性能, 其 SVI_{30} 值维持在 35~40 mL/g 之间, 而絮体污泥 ($d < 0.2$ mm) 的 SVI_{30} 值在 130 mL/g 以上, 显然 AGS 在固液分离效果方面具有绝对的优势, 而粒径在 1.6~2.0 mm 之间的 AGS 其 SVI_{30} 值最低, PN/PS 值最高, 这与 3D-EEM 的定性结果一致。对于粒径在 0.6~0.8 mm 范围的 AGS, 虽然其 PN 含量较高, 但其 PN/PS 值相比絮体污泥并没有明显升高, SVI_{30} 也并非最低, 因此它不是最合适粒径。而粒径在 2.0 mm 以上的 AGS 其 PN 含量有所降低, 与粒径在 1.6~2.0 mm 的 AGS 相比, 其 PN 的荧光峰值相对较低, 这意味着在 AGS

的培养过程中并非粒径越大越好, AGS 的最优粒径是 1.6~2.0 mm。在今后的 AGS 培养过程中, 可以将 AGS 粒径控制在 1.6~2.0 mm 之间, 以适当地缩短培养周期。3D-EEM 作为一种快速、高选择性以及高灵敏度的分析手段, 在分析和表征 EPS 的光谱特性方面表现出了独特的优势, 更直观地呈现了 EPS 所包含的信息, 为 AGS 的培养提供了一定的数据和理论引导, 同时也为 AGS 的理化特性表征提供了一种可靠的技术手段和方法。

3 结论

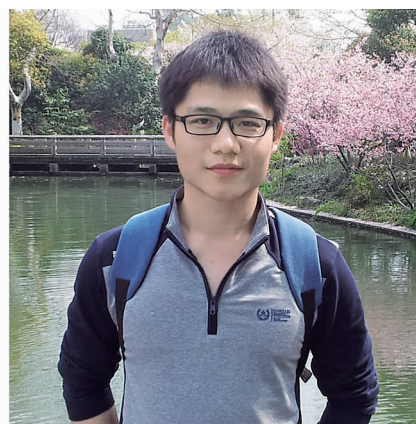
① EPS 是影响颗粒污泥形成和稳定的重要因素, 同一 SBR 中不同粒径 AGS 的 EPS 含量各异, 本研究中 AGS 的 EPS 含量随着颗粒粒径的增大呈先增加后减小再增大的趋势; PN/PS 值随着粒径的增大先升高后降低, 在 1.6~2.0 mm 之间时达到最高, 同时其 SVI_{30} 值达到最低, 具有最好的固液分离性能。因此在 AGS 培养的工程实践中, 可将 AGS 粒径控制在 1.6~2.0 mm 范围内, 维持较高的 PN/PS 值, 以利于颗粒污泥的形成和稳定维持。

② AGS 粒径大于 1.25 mm 后, 随着 AGS 的增大, 其蛋白类物质的荧光强度逐渐增强, 结合定量分析结果可知, 蛋白类物质在 AGS 的形成和结构稳定中有着重要的作用, 能够促进污泥的颗粒化。而小粒径 AGS 中腐殖酸类物质的荧光强度较高, 随着粒径的增大而逐渐减弱, 表明腐殖酸类物质可能对 AGS 的形成影响不大。

参考文献:

- [1] Rosman N H, Nor Anuar A, Othman I, *et al.* Cultivation of aerobic granular sludge for rubber wastewater treatment[J]. *Bioresour Technol*, 2013, 129: 620–623.
- [2] Pronk M, de Kreuk M K, de Bruin B, *et al.* Full scale performance of the aerobic granular sludge process for sewage treatment[J]. *Water Res*, 2015, 84(1): 207–217.
- [3] Deng S, Wang L, Su H. Role and influence of extracellular polymeric substances on the preparation of aerobic granular sludge[J]. *J Environ Manage*, 2016, 173: 49–54.
- [4] McSwain B S, Irvine R L, Hausner M, *et al.* Composition and distribution of extracellular polymeric substances in aerobic flocs and granular sludge[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(2): 1051–1057.

- [5] Toh S, Tay J, Moy B, *et al.* Size-effect on the physical characteristics of the aerobic granule in a SBR[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, 60(6): 687 – 695.
- [6] Zhu L, Zhou J, Lv M, *et al.* Specific component comparison of extracellular polymeric substances (EPS) in flocs and granular sludge using EEM and SDS-PAGE [J]. *Chemosphere*, 2015, 121: 26 – 32.
- [7] 高景峰, 郭建秋, 陈冉妮, 等. 三维荧光光谱结合化学分析评价胞外多聚物的提取方法[J]. *环境化学*, 2008, 27(5): 662 – 668.
- Gao Jingfeng, Guo Jianqiu, Chen Ranni, *et al.* Comparison of the efficiency of five extracellular polymeric substances (EPS) extraction methods using three dimensional excitation and emission matrix (EEM) fluorescence spectroscopy together with chemical analysis [J]. *Environmental Chemistry*, 2008, 27(5): 662 – 668 (in Chinese).
- [8] Adav S S, Lee D, Lai J Y. Effects of aeration intensity on formation of phenol – fed aerobic granules and extracellular polymeric substances [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2007, 77(1): 175 – 182.
- [9] Reida E, Liub X, Judda S J. Sludge characteristics and membrane fouling in full-scale submerged membrane bioreactors [J]. *Desalination*, 2008, 219(1/3): 240 – 249.
- [10] Long B, Yang C, Pu W, *et al.* Rapid cultivation of aerobic granular sludge in a pilot scale sequencing batch reactor [J]. *Bioresour Technol*, 2014, 166: 57 – 63.
- [11] Wei D, Wang B, Ngo H H, *et al.* Role of extracellular polymeric substances in biosorption of dye wastewater using aerobic granular sludge [J]. *Bioresour Technol*, 2015, 185: 14 – 20.
- [12] Wang Z, Gao M, Wang S, *et al.* Effect of hexavalent chromium on extracellular polymeric substances of granular sludge from an aerobic granular sequencing batch reactor [J]. *Chem Eng J*, 2014, 251: 165 – 174.
- [13] Geyik A G, Kilic B, Cecen F. Extracellular polymeric substances (EPS) and surface properties of activated sludges: effect of organic carbon sources [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2016, 23(2): 1653 – 1663.
- [14] Zhu L, Qi H, Lv M, *et al.* Component analysis of extracellular polymeric substances (EPS) during aerobic sludge granulation using FTIR and 3D-EEM technologies [J]. *Bioresour Technol*, 2012, 124: 455 – 459.
- [15] Adav S S, Lee D. Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure [J]. *J Hazard Mater*, 2008, 154(1/3): 1120 – 1126.



作者简介: 李定昌 (1987 –), 男, 山西晋中人, 博士研究生, 从事水污染控制技术研究。

E – mail: leading089219@126. com

收稿日期: 2017 – 12 – 20

全面推进水生态环境保护和修复
打造水清岸绿、河畅湖美的美丽家园