DOI:10.11918/201811123

# 好氧颗粒污泥胞外聚合物组分特征分析

王玉莹[1],支丽玲[1],马鑫欣[1],王 硕[1,2,3],李 激[1,2,3]

(1. 江南大学 环境与土木工程学院,江苏 无锡 214122; 2. 江苏省厌氧生物技术重点实验室(江南大学),江苏 无锡 214122;3. 江苏省高校水处理技术与材料协同创新中心,江苏 苏州 215009)

**摘 要:** 为鉴定好氧颗粒污泥(aerobic granular sludge, AGS)中胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)的组成成分和特性,以某污水处理厂好氧池活性污泥(activated sludge-wastewater treatment plant, AS-WWTP)作为接种污泥,采用实验室配水和污水处理厂进水分别培养出 AGS-LAB 和 AGS-WWTP,并对 AGS 中的 EPS 开展对比分析. 结果表明,单位 MLVSS EPS 质量分数由接种污泥的 84.36 mg/g 分别增加到 AGS-LAB 的 122.49 mg/g 和 AGS-WWTP 的 128.23 mg/g,主要以 TB-EPS(tightly bound-EPS, TB-EPS)层蛋白质增加为主,多糖质量分数变化较小. 与接种污泥相比,两种 AGS 中芳香族类氨基酸、酪氨酸/色氨酸类蛋白和天冬氨酸蛋白质量分数明显提高. 3 种污泥样品 EPS 中亲水性氨基酸质量分数较低,疏水性氨基酸质量分数较高,两种 AGS 中氨基酸总量较接种污泥平均升高 28.31%. 此外,载体物质十六甲基环八硅氧烷和具有交联作用的二乙烯苯只存在于两种 AGS 的 EPS 中,表明它们在缩短污泥颗粒化进程和提高 AGS 的结构稳定性中具有潜在作用.

**关键词:** 好氧颗粒污泥;胞外聚合物;蛋白质;多糖;水解氨基酸

**中图分类号:** X703 **文献标志码:** A **文章编号:** 0367-6234(2020)02-0153-08

# Characterization of extracellular polymeric substances from aerobic granular sludge

WANG Yuying[1], ZHI Liling[1], MA Xinxin[1], WANG Shuo[1,2,3], LI Ji[1,2,3]

(1. School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China;
2. Jiangsu Key Laboratory of Anaerobic Biotechnology (Jiangnan University), Wuxi 214122, Jiangsu, China;
3. Collaborative Innovation Center of Water Treatment Technology and Material of Jiangsu Colleges, Suzhou 215009, Jiangsu, China)

**Abstract:** To identify the composition and properties of extracellular polymeric substances (EPS) in aerobic granular sludge (AGS), activated sludge from aerobic tank of a wastewater treatment plant was used as seed sludge in this study. AGS-LAB and AGS-WWTP were cultured from laboratory synthetic wastewater and wastewater treatment plant influent respectively, and the EPS in the two types of AGSs was compared and analyzed. Results showed that the EPS content increased from 84.36 mg/g MLVSS of seed sludge to 122.49 mg/g MLVSS of AGS-LAB and 128.23 mg/g MLVSS of AGS-WWTP, and the protein content in TB-EPS greatly increased while the polysaccharide content slightly changed. The contents of aromatic amino acids, tyrosine/ tryptophan proteins, and aspartic acid proteins in the AGSs were remarkably higher than those in seed sludge. The hydrophilic amino acids contents in three kinds of sludge were relatively lower, while the hydrophobic amino acids presented higher contents. In addition, the total amount of the amino acids in AGSs increased by 28.31% on average. Moreover, the carrier substance hexamethyl-cyclooctasiloxane and ethylene benzene with crosslinking role only existed in the EPS of two AGSs, indicating that they played potential roles in shortening the granulation process of seed sludge and improving the structural stability of AGS.

**Keywords:** aerobic granular sludge; extracellular polymeric substances; protein; polysaccharides; hydrolytic amino acids

好氧颗粒污泥(AGS)技术作为一种新型的污水处理方法,在小试和中式装置中已被广泛研究,部分地区尝试将该技术应用于工业印染废水、含核废料废水的处理中,目前已取得显著成果[1-3]. 胞外聚合物(EPS)是 AGS 的重要组成部分,由微生物生长代谢的分泌物、细胞裂解产物和吸附的小分子化合物组成,成分复杂,主要特征物质包括蛋白质(protein, PN)和多糖(polysaccharide, PS)类以及少量的腐殖酸、富里酸和核酸类物质[4-5],具有良好的絮凝性,Nielsen 等[6]证明了 EPS 是促进 AGS 形成并提高

**收稿日期:** 2018-11-15
**基金项目:** 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07202-001, 2017ZX07202001-005); 国家自然科学基金(51408264)
**作者简介:** 王玉莹(1993—),女,硕士研究生;
李 激(1970—),女,教授,博士生导师
**通信作者:** 李 激,liji@jiangnan.edu.cn

AGS 稳定性的关键因素.

按照组分和形态的不同,EPS 可分为松散型胞外聚合物(soluble microbial products-EPS, SMP-EPS)、附着型胞外聚合物(loosely bound-EPS, LB-EPS)和紧密结合型胞外聚合物(tightly bound-EPS, TB-EPS)[7]. Liao 等[8]研究发现,EPS 的组分和质量分数会对微生物絮凝、污泥沉降性和脱水性产生影响. TB-EPS 中蛋白质质量分数增加会促进 AGS 的形成,LB-EPS 中的某些蛋白质会影响污泥的电负性和脱水性[9]. Tay 等[10]认为 TB-EPS 中 β-多糖可提高微生物间的黏附力,强化 AGS 结构稳定性. Adav 等也发现不溶性多糖是 AGS 的支撑结构,可保证 AGS 具有较高的强度[1]. 相反,Liu 等[7]认为污泥中的非细胞蛋白质核心为 AGS 稳定运行提供了骨架结构. 因此,深入解析 EPS 不同组分的功能作用,有助于推动 AGS 技术的发展. 目前,国内外针对 EPS 在 AGS 形成与稳定过程中的作用研究已经较多,但缺乏对 EPS 中功能组分和特性变化的详尽解析,限制了 AGS 技术的发展.

本文以接种污泥、实验室培养的好氧颗粒污泥(AGS-laboratory, AGS-LAB)和污水处理厂培养的好氧颗粒污泥(AGS-wastewater treatment plant, AGS-WWTP)为研究对象,通过傅里叶红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)和三维荧光光谱(excitation-emission-matrix spectra, 3D-EEM)等技术对 AGS 形成过程中污泥 EPS 的组成成分和特性进行相关分析,旨在研究污泥颗粒化过程中 EPS 不同组分的变化特征,以期为 AGS 技术的发展和应用提供理论支撑.

## 1 实 验

### 1.1 实验装置

实验室和污水处理厂实验反应装置均采用有机玻璃制成的圆柱形 SBR,前者高 100 cm,内径 8 cm,有效容积约为 4 L;后者高 60 cm,内径 30 cm,有效容积约为 42 L. 反应器底部均装有曝气系统,曝气量大小由转子流量计控制,充氧期间溶解氧控制在 5 ~ 8 mg/L. 运行周期 4 h,其中进水 60 min、曝气时间由 145 min 逐渐增加到 170 min,沉降时间由 30 min逐渐降低到 5 min. 污泥泥龄 20 d.

### 1.2 接种污泥与进水水质

接种污泥取自无锡市某污水处理厂好氧池活性污泥,外表呈黄褐色,较为松散. 实验室运行反应器进水采用人工配水,以 $CH_3COONa$ 为碳源,$NH_4Cl$ 为氮源,$K_2HPO_4$ 为磷源,单位 MLSS 进水污泥 COD 负荷为 0.39 kg/(kg·d). 此外,还添加了少量的微量元素,以保证细菌正常的生长代谢活动. 污水处理厂运行反应器进水为旋流沉砂池出水,大部分为生活污水,含有少量工业废水,进水污泥负荷平均为 0.18 kg/(kg·d),水质波动较大.

### 1.3 分析方法

#### 1.3.1 胞外聚合物和生物量的测定

EPS 的提取采用 NaOH 法[11],首先将 10 mL 待测样品置于 50 mL 离心管中,超声解体,分别在 2 000,5 000 和 10 000 r/min 的转速下离心 15 min,收集上清液,即为 SMP-EPS、LB-EPS 和 TB-EPS. 用考马斯亮蓝法和蒽酮-硫酸比色法对 EPS 中蛋白质和多糖质量分数进行测定[9].

#### 1.3.2 FTIR 特性分析[12]

采用 IRTrace-100 型傅里叶变换红外光谱仪(IRTrace,日本岛津)对样品进行官能团鉴定. 具体操作方法如下:首先将污泥 EPS 样品置于 LABCONCO 冻干机上进行冻干处理,将处理好的样品粉末和 KBr 以合适的比例混合后在研磨机上研磨,使用压片机压片并用红外光谱仪进行光谱扫描.

#### 1.3.3 三维荧光特性分析[13]

首先将待测样品置于岛津总有机碳分析仪上检测 DOC 质量浓度,若 DOC 质量浓度太高,可用去离子水稀释直到 DOC 质量浓度低于 10 mg/L,采用日立 F7000 荧光分光光度计进行三维荧光(日立 F7000,日本日立)测试. 本实验以 10 nm 为增量,激发波长从 200 nm 扫描至 400 nm,发射波长从 280 nm扫描至 500 nm,扫描速度为 12 000 nm/min.

#### 1.3.4 水解氨基酸测试方法

取污泥 EPS 样品约 1 mL,先加入 1 mL 浓盐酸,再加 7 mL 的 HCl 溶液(6 mol/L),充氮气后封管,在烘箱内 120 ℃水解 22 h;再加入 4.8 mL 的 NaOH 溶液(10 mol/L)中和,在 25 mL 容量瓶中定容,用滤纸过滤、离心;取 400 μL 澄清样品置于样品瓶,最后通过 Agilent1260 高效液相色谱仪(Agilent1260,美国)测定.

#### 1.3.5 GC-MS 分析[14]

气相色谱-质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)(QP2010Ultra,日本岛津)可对有机物进行定性和定量分析. 通过 HCl 和 NaOH 溶液调节样品的 pH,分别对 EPS 中的中性、酸性和碱性有机物进行萃取,最后通过 QP2010Ultra GC-MS 对有机物鉴定.

## 2 结果与讨论

### 2.1 EPS 变化

#### 2.1.1 EPS 组分变化特征

具有黏附特性的 EPS 可促进微生物絮凝，缩短污泥颗粒化进程，并提高 AGS 结构稳定性[15]. 此外，蛋白质和多糖比例（PN 与 PS 比）变化会影响污泥表面的亲疏水性、带电性和微生物群落结构的完整性[16]. AGS-LAB 中 EPS 的变化如图 1（a）所示，在接种污泥颗粒化过程中，EPS 迅速增长，由接种污泥的 84.36 mg/g 增加到 AGS-LAB 的 106.47 mg/g，以蛋白质增加为主，表明蛋白质在污泥颗粒化过程中发挥重要作用. AGS-LAB 的 EPS 中多糖维持在 18.8 mg/g左右，变化较小；PN 与 PS 比呈现逐步上升的趋势，由接种污泥的 4.27 上升到 AGS-LAB 的 6.65，PN 与 PS 比的增加表明 AGS-LAB 中 EPS 疏水性提高，相应污泥表面的 Gibbs 自由能下降[17]，污泥之间的黏附性提高，有利于保持 AGS 紧密的内部结构.

AGS-WWTP 的 EPS 变化如图 1（b）所示，EPS 呈现先上升后下降的趋势，反应器运行至 30 d 时，单位 MLVSS EPS 质量分数达到最大 153.22 mg/g，60 d 时下降到 128.23 mg/g，而 EPS 的变化以蛋白质为主. 通过水质监测发现，反应器运行至 30 d 时污水处理厂工业废水受纳增多，该水质对 AGS-WWTP 冲击较大，污泥微生物为提高自身稳定性，会分泌大量蛋白质抵抗外界不良环境，这是该阶段蛋白质质量分数较高的原因之一[18]. 当进水恢复稳定后，污泥微生物对蛋白质的需求下降，因此，蛋白质的合成量降低. EPS 中多糖质量分数变化较小，基本维持在15.9 mg/g，与图 1（a）中多糖变化相似，该现象与 Zhu 等[17]研究一致，这是因为多糖中含有羧基等亲水性带负电荷基团，该物质质量分数适中时，可吸附水中游离的微小絮体，促进 AGS 的形成，质量分数过高则容易影响污泥絮体的稳定性，导致 AGS 解体，因此，EPS 中的多糖在相对稳定的范围内波动. AGS-WWTP 在颗粒化过程中 PN 与 PS 比也呈现逐步上升的趋势，由接种污泥的 4.27 上升到 AGS 的 7.54，略高于图 1（a）中 AGS-LAB 的 6.65，推测与污水处理厂进水水质复杂有关.

### 2.1.2　EPS 黏附性分级组分特征

AGS-LAB 中各层蛋白质和多糖的变化如图 2（a），（b）所示，蛋白质以 TB-EPS 层增加为主，由接种污泥的 50.46 mg/g 增加到 AGS-LAB 的 83.14 mg/g，SMP-EPS 和 LB-EPS 层蛋白质增量较小. SMP-EPS 和 LB-EPS 层蛋白质位于微生物体的外侧，结构比较疏松，含水率较高，具有流变特性[19]，其质量分数较高容易导致 AGS 絮体化，使 SVI 值增大，进而导致 AGS 解体. TB-EPS 层蛋白质分子排列密集，与细胞结合最紧密，可中和污泥中带负电荷的官能团，降低污泥的电负性，促进 AGS 的形成[20]. 多糖以 SMP-EPS 和 TB-EPS 层变化为主，SMP-EPS 层多糖由接种污泥的 3.04 mg/g 增加到 AGS-LAB 的 7.02 mg/g，该层多糖可通过离子键使细胞发生絮凝[21]，促进微生物聚集体的形成. TB-EPS 层多糖由 7.4 mg/g 上升到 10.2 mg/g，Chen 等[22]研究发现，TB-EPS 中 β-多糖是构成 AGS 结构的骨架，该物质质量分数的升高可为 AGS 的稳定运行奠定基础.

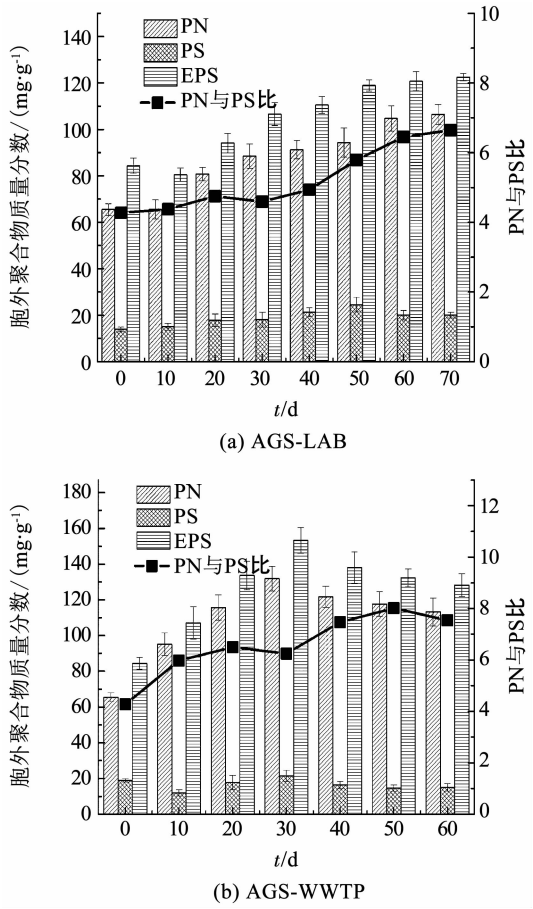



**图 1　污泥颗粒化过程中胞外聚合物质量分数变化**

Fig. 1　Variations of EPS contents during granulation

AGS-WWTP 中各层蛋白质和多糖的变化如图 2（c），（d）所示，蛋白质以 TB-EPS 层增加为主，由接种污泥的 50.46 mg/g 增加到 AGS-WWTP 的 103 mg/g，其增量大于 AGS-LAB. SMP-EPS 中蛋白质质量分数变化与图 2（a）中相似，LB-EPS 中蛋白质质量分数略有下降，可能与进水水质有关. 图 2（d）中多糖的变化与图 2（b）中具有很大差异，SMP-EPS 和 LB-EPS 中多糖质量分数皆呈递减状态，这与进水中有机物匮乏有关，处于易脱落位置的 SMP-EPS 和 LB-EPS 中多糖被 AGS-WWTP 作为碳源利用. TB-EPS 层多糖总体呈现上升趋势，有研究发现，TB-EPS 中多糖质量分数的增加可提高污泥的抗冲击负荷和抗毒性冲击能力，该变化可以很好地适应污水处理厂的进水水质[23].

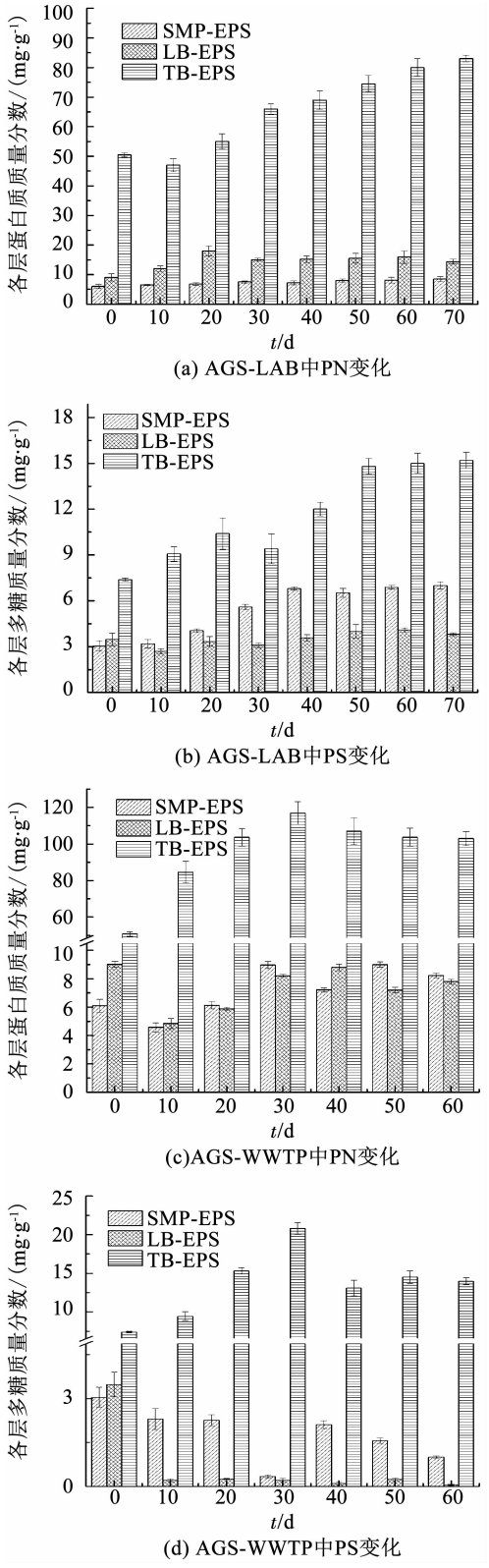



**图 2 污泥颗粒化过程各层蛋白质和多糖的变化**

Fig. 2 Variations of proteins and polysaccharides during granulation

## 2.2 FTIR 光谱分析

接种污泥、AGS-LAB 和 AGS-WWTP 胞外聚合物的 FTIR 见图 3. 可以看出，AGS-LAB 和 AGS-WWTP 存在类似特征峰：3 280 ~ 3 420 $cm^{-1}$吸收峰属于羧酸、糖类等物质中羟基的伸缩振动，由于羧酸分子内氢键的作用使得该吸收峰峰型较为平滑[24]. 2 929 $cm^{-1}$吸收峰是由芳香族氨基酸(色氨酸和苯丙氨酸)中—$CH_2$伸缩振动引起的[25]，AGS 中该峰的强度明显高于接种污泥，说明芳香族氨基酸在 AGS 中的质量分数较高. 2 850 $cm^{-1}$吸收峰与脂肪族中—$OCH_3$的伸缩振动相关，AGS-LAB 中 2 859 $cm^{-1}$吸收峰是该峰红移的结果，这是由于配水水质较为单一，某些官能团中取代基的电性发生了变化[26]. 1 654 $cm^{-1}$表征蛋白质二级结构中双键对称伸缩振动引起的 $\beta$-折叠和 $\alpha$-螺旋[27-28]，蛋白质的二级结构可促进生物絮凝，缩短接种污泥颗粒化进程. 1 627 $cm^{-1}$的吸收峰归属于无规卷曲结构，只存在于接种污泥中，表明其细胞黏附和聚集能力较弱. 酪氨酸侧链酚类物质的环振动引起的 1 517 $cm^{-1}$特征吸收峰只存在于 AGS 中，推测酪氨酸蛋白是 AGS 形成的重要结构性蛋白质[28-29]. AGS 中位于 1 420 $cm^{-1}$特征吸收峰与天冬氨酸去质子化羧基中 C═O 对称伸缩振动有关，Badireddy 等[30]研究发现天冬氨酸蛋白在维持 AGS 结构稳定性方面发挥重要作用，表明实验室配水与污水处理厂进水培养的 AGS 均具有稳定结构. 1 040 $cm^{-1}$左右的吸收峰属于多糖中 C—O、C—C 伸缩振动和 C—O—C、C—O—H 变形振动，AGS 中该峰强度较高，说明 EPS 中多糖在污泥颗粒化过程中也具有一定作用[25].

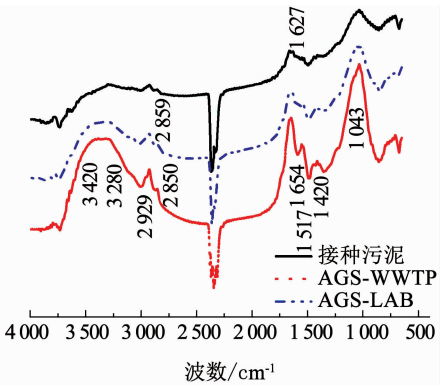


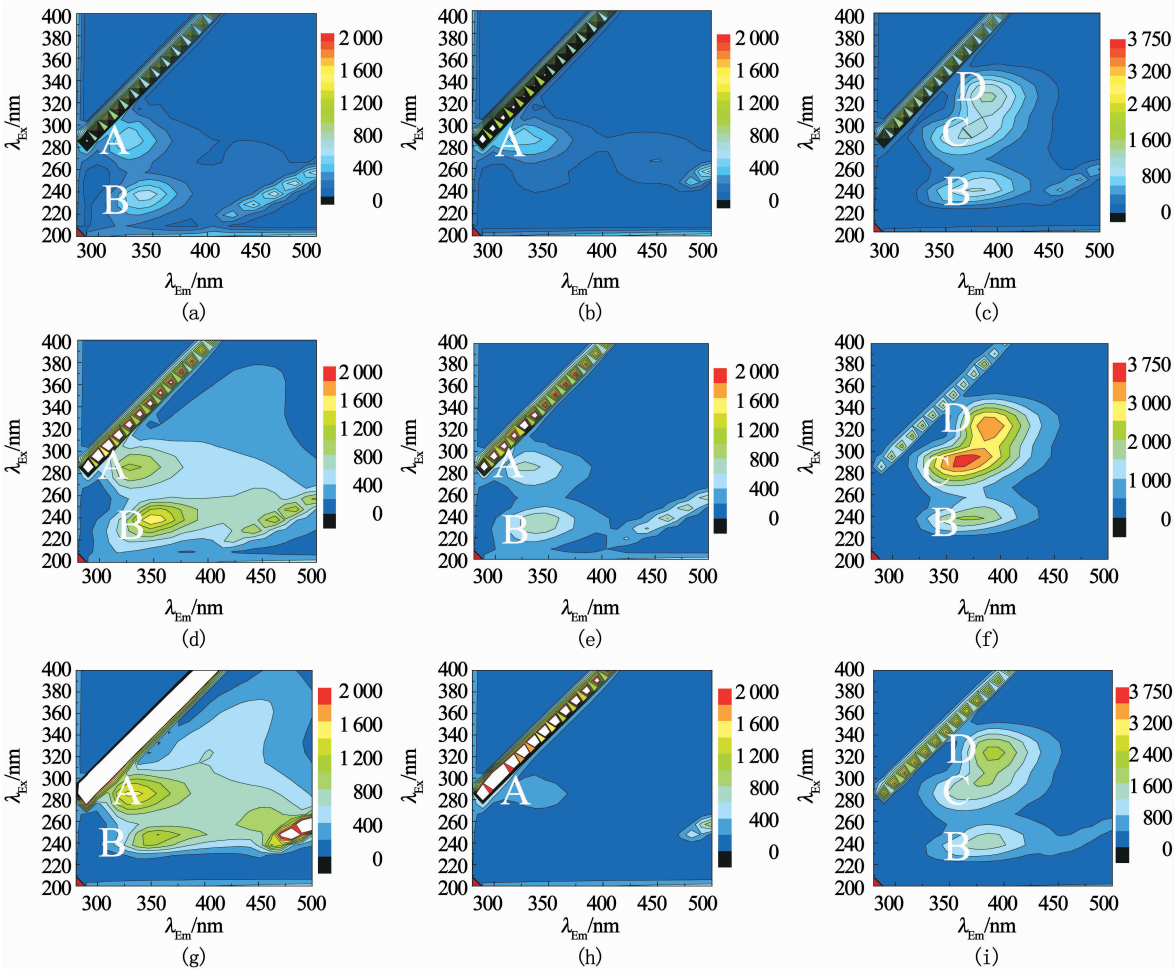

**图 3 接种污泥和好氧颗粒污泥中 EPS 的 3D-EEM 图谱**

Fig. 3 3D-EEM spectra of EPS in seed sludge and AGS

## 2.3 三维荧光光谱分析

接种污泥、AGS-LAB 和 AGS-WWTP 中 SMP-EPS、LB-EPS 和 TB-EPS 的三维荧光光谱如图 4 所示，每个污泥样品中都存在 4 个峰，其中峰 A($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 220 ~ 250/280 ~ 330)和峰 B($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 220 ~ 250/330 ~ 380)分别为芳香族蛋白类物质和酪氨酸/色氨酸类蛋白；峰 C($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 280 ~ 310/380 ~ 455)为类富里酸；峰 D($\lambda_{Ex}/\lambda_{Em}$ = 300 ~ 330/360 ~ 390)为多糖区. 由图 4(a)，(d)和(g)可知，AGS 中峰 A 和峰 B 的荧光强度皆高于接种污泥，说明在接

种污泥颗粒化过程中 SMP-EPS 中蛋白质的增长主要以芳香族蛋白质类物质和酪氨酸/色氨酸类蛋白质为主，Dong 等[31]推测酪氨酸蛋白是 AGS 的重要结构组分，会促进接种污泥颗粒化. 此外，色氨酸类蛋白与 EPS 中的芳环氨基酸结构有关[32]，是一种疏水性物质，可提高 AGS 结构的稳定性，这与 2.2 傅里叶红外中 2 929 $cm^{-1}$吸收峰的变化具有良好对应关系. 由图 4(b)、(e)和(h)中可知，3 种污泥样品都存在芳香族蛋白类物质(峰 A)，唯有 AGS-LAB 存在酪氨酸/色氨酸类蛋白(峰 B)，这可能是因为污水处理厂进水水质复杂，对污泥中微生物群落的冲击较大，某些有毒有害物质抑制了细菌的代谢活动，造成相关蛋白质的合成量降低，此结果也与图 2(c)中测得 LB-EPS 蛋白质质量分数下降相符. 由图 4(c)，(f)和(i)可知，3 种污泥样品 TB-EPS 中都存在峰 B、峰 C 和峰 D，只是峰的强度存在差异. 其中，类富里酸(峰 C)在接种污泥和 AGS-WWTP 中强度较低，这与进水水质复杂存在一定关系[33]. TB-EPS 中多糖区物质主要是指 β-多糖，接种污泥和 AGS-WWTP 中多糖质量分数较低的原因可能与微生物群落结构存在差异有关[34].




(a)～(c)接种污泥；(d)～(f)AGS-LAB；(g)～(i)AGS－WWTP；(a)，(d)，(g)SMP-EPS；(b)，(e)，(h)LB-EPS；(c)，(f)，(i)TB-EPS

**图 4　接种污泥和好氧颗粒污泥中 EPS 的 3D-EEM 图谱**

Fig. 4　3D-EEM spectra of EPS in seed sludge and AGS

## 2.4　水解氨基酸质量分数和种类分析

EPS 中水解氨基酸的种类和质量分数可以反映污泥的理化性质和稳定性[35]. Miller 等[36]认为某些氨基酸能够影响细胞内基因的表达和多肽类物质的合成. Anfora[37]研究发现大部分功能性细菌可以合成右旋类氨基酸，该物质可以发挥信号分子的作用调节微生物群体行为，进而促进絮状污泥颗粒化并维持 AGS 结构稳定. 由表 1 可知，亲水性氨基酸如丝氨酸、甘氨酸、苏氨酸和半胱氨酸在污泥样品中的质量分数均较低，这有利于促进 AGS 的形成. AGS-LAB 中半胱氨酸的质量分数为 6.18 mg/g，略高于另外两种污泥样品，Liao 等[8]发现，通过二硫键连接的半胱氨酸分子，在某些部位适当提高其质量分数会加强蛋白质结构的稳定性. 丙氨酸、天冬氨酸、酪氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和脯氨酸属于疏水性氨基酸，其质量分数在 AGS 样品中相

对较高,EPS 疏水性的提高可增强污泥微生物间的黏附力,为絮状污泥的颗粒化提供物质基础[38]. 此外,组氨酸、精氨酸和赖氨酸在 AGS-LAB 和 AGS-WWTP 中分别升高 56.88% 和 137.68% 、17.09% 和 67.4% 以及 60.88% 和 20.23%. 这 3 种物质属于碱性氨基酸,带有正电荷,可降低细胞表面负电荷,减少微生物间静电斥力,加强污泥表面的疏水性以及保持 AGS 的结构完整性[39]. 同时,氨基酸总量由接种污泥的 177.16 mg/g 分别升高到 AGS-LAB 和 AGS-WWTP 的 218.64 和 235.98 mg/g,氨基酸总量的升高也为 AGS 的形成奠定物质基础.

**表 1 EPS 中水解氨基酸质量分数和种类分析**

Tab. 1 Analysis of contents and species of hydrolyzed amino acids in EPS $mg \cdot g^{-1}$

| 氨基酸种类 | 接种污泥 | AGS-LAB | AGS-WWTP |
|---|---|---|---|
| 天冬氨酸(Asp) | 13.99 | 15.83 | 21.69 |
| 谷氨酸(Glu) | 18.85 | 21.02 | 12.78 |
| 丝氨酸(Ser) | 5.54 | 4.23 | 4.96 |
| 组氨酸(His) | 5.52 | 8.66 | 13.12 |
| 甘氨酸(Gly) | 10.03 | 10.18 | 6.65 |
| 苏氨酸(Thr) | 6.87 | 2.34 | 1.67 |
| 精氨酸(Arg) | 28.32 | 33.16 | 47.41 |
| 丙氨酸(Ala) | 4.62 | 14.99 | 23.43 |
| 酪氨酸(Tyr) | 9.40 | 18.82 | 13.51 |
| 半胱氨酸(Cys) | 1.02 | 6.18 | 1.89 |
| 缬氨酸(Val) | 16.41 | 6.54 | 9.22 |
| 甲硫氨酸(Met) | 5.67 | 8.98 | 19.91 |
| 苯丙氨酸(Phe) | 7.21 | 10.81 | 16.05 |
| 异亮氨酸(Ile) | 7.12 | 8.41 | 7.09 |
| 亮氨酸(Leu) | 16.30 | 18.51 | 14.39 |
| 赖氨酸(Lys) | 15.62 | 25.13 | 18.78 |
| 脯氨酸(Pro) | 4.67 | 4.85 | 3.43 |
| 氨基酸总量 | 177.16 | 218.64 | 235.98 |

## 2.5 有机组分分析

针对外界条件的变化,微生物会利用群体感应进行信息交流,通过促进或抑制某些物质的合成以适应环境的变化[40]. 由于 3 种污泥样品所处环境不同,EPS 中有机组分存在差异. 通过 GC-MS 对其成分进行鉴定,并对样品中的共有物质和特有物质进行分析,结果如表 2 所示. 3 种样品中存在 6 种相同的有机物组分,其中 α-D-喃葡萄糖可吸附水中游离小分子物质,促进微生物聚集体的形成. 油酸酰胺具有润滑剂的功能,可有效降低细胞间的黏附力,故 AGS 的 EPS 中该物质质量分数明显降低[41]. 苯甲醛属于芳香族化合物,醛基上的 C═O 双键与苯环上的 π 键易形成共轭双键,可吸附水中的金属离子,降低污泥表面电负性,提高 AGS 的稳定性[42]. 分子量大、结构复杂的烷烃类和多环芳香族类化合物可为游离小分子物质提供结合位点. 组氨酸作为蛋白质的重要组成成分,对污泥颗粒化过程发挥重要作用[43]. 3 种污泥样品中存在 8 种特有物质,其中聚丙烯酸在接种污泥中质量分数较高,AGS 中几乎不存在,主要是因为该物质会降低污泥黏度系数,阻碍微生物聚集[44]. AGS 中存在 4 种相同的有机组分:苯丙胺、羟基脲、二乙烯苯和十六甲基环八硅氧烷. 其中,二乙烯苯是一种高分子交联剂,可为有机物的附着提供结合位点,提高 AGS 的强度. 十六甲基环八硅氧烷是一种疏水性长链有机物,可以为菌胶团的形成提供载体,加快接种污泥的颗粒化进程[41]. 此外,苯甲酸,十六碳酰胺和 2,4 - 二叔丁基苯酚只存在于接种污泥和 AGS-WWTP 中,推测这与进水水质有关. 苯甲酸是印染行业常用的一种染色剂,十六碳酰胺是沐浴露和化妆品的主要成分,2,4 - 二叔丁基苯酚是橡胶制造业的中间体[45],当部分印染废水、生活污水和加工制造业废水接入污水处理厂后,污泥 EPS 中多糖会通过吸附架桥的方式结合污水中小分子有机物,提高污泥 EPS 质量分数,从而促进 AGS 形成.

**表 2 EPS 中有机组分分析(以峰面积计)**

Tab. 2 Analysis of organic components in EPS (peak area) %

| 物质 | 有机物组分 | 接种污泥 | AGS-LAB | AGS-WWTP |
|---|---|---|---|---|
| 共有物质 | α-D-喃葡萄糖 | 3.31 | 6.21 | 4.13 |
| | 油酸酰胺 | 16.36 | 7.62 | 1.41 |
| | 苯甲醛 | 2.37 | 3.12 | 2.46 |
| | 正二十烷 | 2.31 | 4.31 | 1.97 |
| | 十六烷基七硅氧烷 | 1.38 | 3.78 | 1.31 |
| | 组氨酸 | 2.78 | 5.72 | 9.79 |
| 特有物质 | 聚丙烯酸 | 4.83 | – | 0.15 |
| | 苯丙胺 | – | 5.45 | 3.14 |
| | 羟基脲 | – | 4.31 | 1.22 |
| | 二乙苯烯 | – | 3.78 | 1.61 |
| | 十六甲基环八硅氧烷 | – | 1.78 | 2.07 |
| | 苯甲酸 | 1.78 | – | 2.35 |
| | 十六碳酰胺 | 2.78 | – | 5.12 |
| | 2,4 - 二叔丁基苯酚 | 11.94 | – | 6.69 |

## 3　结　论

1）在接种污泥颗粒化期间，EPS 中蛋白质质量分数明显提高，以 TB-EPS 层增加为主，由 AS-WWTP 的 50.46 mg/g 分别增加到 AGS-LAB 的 83.14 mg/g和 AGS-WWTP 的 102.99 mg/g.

2）光谱分析结果表明，两种 AGS 的 EPS 中芳香族氨基酸、色氨酸/酪氨酸和天冬氨酸蛋白吸收峰强度明显提高，该部分蛋白质为 AGS 的形成奠定了物质基础.

3）与接种污泥相比，两种 AGS 的 EPS 中含有较多疏水性氨基酸，带正电荷的碱性氨基酸（精氨酸、赖氨酸和组氨酸）增幅较大，氨基酸总量平均提高 50.15 mg/g.

4）两种 AGS 的 EPS 中存在苯丙胺、羟基脲、二乙烯苯和十六甲基环八硅氧烷 4 种特有有机组分，推测该部分有机组分有助于缩短接种污泥颗粒化进程，提高 AGS 结构稳定性.

## 参考文献


[1] ADAV S S, LEE D, SHOW K, et al. Aerobic granular sludge: Recent advances[J]. Biotechnology Advances, 2008, 26(5): 411. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.05.002

[2] VANLIER J B, VANDERZEE F P, TAN N, et al. Advances in high-rate anaerobic treatment: Staging of reactor systems[J]. Water Science and Technology, 2001, 44(8): 15. DOI: 10.2166/wst.2001.0454

[3] MESQUITA D P, QUINTELAS C, LUIS A A, et al. Monitoring biological wastewater treatment processes: Recent advances in spectroscopy applications[J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2017, 16(3): 395. DOI: 10.1007/s11157-017-9439-9

[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]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(2): 1051. DOI: 10.1128/AEM.71.2.1051-1057.2005

[5] DING Z, BOURVEN I, GUIBAUD G, et al. Role of extracellular polymeric substances (EPS) production in bioaggregation: Application to wastewater treatment[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(23): 9883. DOI: 10.1007/s00253-015-6964-8

[6] NIELSEN P H, JAHN A, PALMGREN R. Conceptual model for production and composition of exopolymers in biofilms[J]. Water Science and Technology, 1997, 36(1): 11. DOI: 10.1016/S0273-1223(97)00318-1

[7] LIU H, FANG H. Characterization of electrostatic binding sites of extracellular polymers by linear programming analysis of titration data [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2002, 80(7): 806. DOI: 10.1002/bit.10432

[8] LIAO B Q, ALLEN D G, DROPPO I G, et al. Surface properties of sludge and their role in bioflocculation and settleability[J]. Water Research, 2001, 35(2): 339. DOI: 10.1016/S0043-1354(00)00277-3

[9] 王福琨，刘永军，宋雪松，等. 颗粒污泥破碎-再形成过程中微生物胞外聚合物（EPS）的变化及其与污泥特性的相关性分析[J]. 环境化学，2013，12(12)：2233
WANG Fukun, LIU Yongjun, SONG Xuesong, et al. Correlation of extracellular polymeric substances (EPS) concentration and the sludge characteristics in the process of granular sludge breaking-reformulation under coagulation conditions [J]. Environmental Chemistry, 2013, 12(12): 2233. DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2013.12.002

[10] TAY J H, LIU Q S, LIU Y. The role of cellular polysaccharides in the formation and stability of aerobic granules[J]. Letters in Applied Microbiology, 2001, 33(3): 222. DOI: 10.1046/j.1472-765x.2001.00986.x

[11] LIANG Z, LI W, YANG S, et al. Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in autotrophic nitrifying biofilm and activated sludge [J]. Chemosphere, 2010, 81(5): 626. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2010.03.043

[12] 王晓慧，刘永军，刘喆，等. 用三维荧光和红外技术分析好氧颗粒污泥形成初期胞外聚合物的变化[J]. 环境化学，2016(1)：125
WANG Xiaohui, LIU Yongjun, LIU Zhe, et al. Analysis of extracellular polymeric substances changes during the initial stage of aerobic granulation by 3D-EEM and FTIR [J]. Environmental Chemistry, 2016(1): 125. DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2016.01.2015082901

[13] LIU Y, LIU Z, ZHANG A, et al. The role of EPS concentration on membrane fouling control: Comparison analysis of hybrid membrane bioreactor and conventional membrane bioreactor[J]. Desalination, 2012, 305: 38. DOI: 10.1016/j.desal.2012.08.013

[14] 吴艳，谭艳来，陈大志，等. 利用气相色谱-质谱联用仪（GC-MS）分析垃圾渗滤液膜分离浓缩液处理前后的有机物成分[J]. 广东化工，2014(10)：149
WU Yan, TAN Yanlai, CHEN Dazhi, et al. Using GC-MS analysis of garbage leachate membrane separation concentrate organic matter composition before and after processing[J]. Guangdong Chemical Industry, 2014(10): 149. DOI: 10.3969/j.issn.1007-1865.2014.10.073

[15] 倪丙杰，徐得潜，刘绍根. 污泥性质的重要影响物质—胞外聚合物（EPS）[J]. 环境科学与技术，2006(3)：108
NI Bingjie, XU Deqian, LIU Shaogen, et al. Extracellular polymeric substance (EPS) and its influence on properties of activated sludge[J]. Environmental Science & Technology, 2006(3): 108. DOI: 10.19672/j.cnki.1003-6504.2006.03.043

[16] 闫立龙，刘玉，任源. 胞外聚合物对好氧颗粒污泥影响的研究进展[J]. 化工进展，2013(11)：2744
YAN Lilong, LIU Yu, REN Yuan. A review on the effects of extracellular polymeric substance to aerobic granular sludge[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2013(11): 2744. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6613.2013.11.037

[17] ZHU L, LYU M, DAI X, et al. Role and significance of extracellular polymeric substances on the property of aerobic granule [J]. Bioresource Technology, 2012, 107: 46. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.12.008

[18] 王红武，李晓岩，赵庆祥. 胞外聚合物对活性污泥沉降和絮凝性能的影响研究[J]. 中国安全科学学报，2003(9)：34
WANG Hongwu, LI Xiaoyan, ZHAO Qingxiang. Effect of extracellular polymeric substances (EPS) on bio-flocculation and settlement of activated sludge[J]. China Safety Science Journal, 2003(9): 34. DOI: 10.3969/j.issn.1003-3033.2003.09.008

[19] YANG S, LI X. Influences of extracellular polymeric substances (EPS) on the characteristics of activated sludge under non-steady-state conditions [J]. Process Biochemistry, 2009, 44(1): 91. DOI: 10.1016/j.procbio.2008.09.010

[20] TIAN Y, ZHENG L, SUN D. Functions and behaviors of activated

sludge extracellular polymeric substances (EPS): A promising environmental interest [J]. Journal of Environmental Sciences, 2006, 18(3): 420. DOI: 10.3321/j.issn:1001-0742.2006.03.002

[21] LIN D, CAI P, PEACOCK C L, et al. Towards a better understanding of the aggregation mechanisms of iron (HYDR) oxide nanoparticles interacting with extracellular polymeric substances: Role of pH and electrolyte solution [J]. Science of the Total Environment, 2018, 645: 372. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.07.136

[22] CHEN M Y, LEE D J, TAY J H. Distribution of extracellular polymeric substances in aerobic granules [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 73(6): 1463. DOI: 10.1007/s00253-006-0617-x

[23] NIA S, SUN N, YANG H, et al. Distribution of extracellular polymeric substances in anammox granules and their important roles during anammox granulation [J]. Biochemical Engineering Journal, 2015, 101: 126. DOI: 10.1016/j.bej.2015.05.014

[24] SARAVANAN R R, SESSHADRI S, GUNASEKARAN S, et al. Conformational analysis, X-ray crystallographic, FT-IR, FT-Raman, DFT, MEP and molecular docking studies on 1-(1-(3-methoxyphenyl) ethylidene) thiosemicarbazide [J]. Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015, 139: 321. DOI: 10.1016/j.saa.2014.12.026

[25] DIAN B C, LONGARTE A, MERCIER S, et al. The infrared and ultraviolet spectra of single conformations of methyl-capped dipeptides: N-acetyl tryptophan amide and N-acetyl tryptophan methyl amide [J]. Journal of Chemical Physics, 2002, 117(23): 10688. DOI: 10.1063/1.1521132

[26] WANG H, DENG H, MA L, et al. Influence of operating conditions on extracellular polymeric substances and surface properties of sludge flocs [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(1): 510. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.09.055

[27] DZWOLAK W, KATO M, TANIGUCHI Y. Fourier transform infrared spectroscopy in high-pressure studies on proteins [J]. Biochimica et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology, 2002, 1595 (PII S0167-4838(01)00340-51-2): 131. DOI: 10.1016/S0167-4838(01)00340-5

[28] BARTH A, ZSCHERP C. What vibrations tell us about proteins [J]. Quarterly Reviews of Biophysics, 2002, 35(4): 369. DOI: 10.1017/S0033583502003815

[29] WHITELEY C G, LEE D. Bacterial diguanylate cyclases: Structure, function and mechanism in exopolysaccharide biofilm development [J]. Biotechnology Advances, 2015, 33(1): 124. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.11.010

[30] BADIREDDY A R, CHELLAM S, GASSMAN P L, et al. Role of extracellular polymeric substances in bioflocculation of activated sludge microorganisms under glucose-controlled conditions [J]. Water Research, 2010, 44(15): 4505. DOI: 10.1016/j.watres.2010.06.024

[31] DONG J, ZHANG Z, YU Z, et al. Evolution and functional analysis of extracellular polymeric substances during the granulation of aerobic sludge used to treat p-chloroaniline wastewater [J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 330: 596. DOI: 10.1016/j.cej.2017.07.174

[32] 吴志高. 胞外聚合物(EPS)对污泥沉降性能的影响及其在生物除磷中的作用研究[D]. 重庆:重庆大学, 2006
WU Zhigao. Study on the effect of extracellular polymer substance on the settleability of the sludge and its role in biological removal of phosphorus [D]. Chongqing: Chongqing University, 2006

[33] ZHU L, QI H, LYU M, et al. Component analysis of extracellular polymeric substances (EPS) during aerobic sludge granulation using FTIR and 3D-EEM technologies [J]. Bioresource Technology, 2012, 124: 455. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.08.059

[34] 王硕, 于水利, 徐巧, 等. 好氧颗粒污泥特性、应用及形成机理研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2014(4): 732
WANG Shuo, YU Shuili, XU Qiao, et al. Characteristics, application and formation mechanisms of aerobic granular sludge: Recent advances [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2014(4): 732. DOI: 10.3724/SP.J.1145.2014.01009

[35] 王义富. 右旋氨基酸对废水处理反应器中微生物聚集体的作用机制[D]. 济南: 山东大学, 2014
WANG Yifu. Influences and mechanisms of D-amino acids on the microbial aggregates in wastewater treatment reactors [D]. Jinan: Shandong University, 2014

[36] MILLER M B, BASSLER B L. Quorum sensing in bacteria [J]. Annual Review of Microbiology, 2000, 55(1): 165. DOI: 10.1146/annurev.micro.55.1.165

[37] ANFORA A T, HALLADIN D K, HAUGEN B J, et al. Uropathogenic Escherichia coli CFT073 is adapted to acetatogenic growth but does not require acetate during murine urinary tract infection [J]. Infection and Immunity, 2008, 76(12): 5760. DOI: 10.1128/IAI.00618-08

[38] YE F, PENG G, LI Y. Influences of influent carbon source on extracellular polymeric substances (EPS) and physicochemical properties of activated sludge [J]. Chemosphere, 2011, 84(9): 1250. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.05.004

[39] MORE T T, YAN S, JOHN R P, et al. Biochemical diversity of the bacterial strains and their biopolymer producing capabilities in wastewater sludge [J]. Bioresource Technology, 2012, 121: 304. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.06.103

[40] 余华荣. 基于微生物群体感应猝灭的 MBR 膜污染控制研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2015
YU Huarong. Research on membrane fouling control in MBR based on microbial quorum quenching [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2015

[41] 苑宏英, 牛四芳, 宋建阳, 等. 酸碱联合调节剩余污泥对有机质的释放和脱水性能的影响[J]. 环境工程学报, 2013(7): 2694
YUAN Hongying, NIU Sifang, SONG Jianyang, et al. Effect of co-adjusting excess sludge with acid and alkaline on release of organic matter and dewatering performance [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2013(7): 2694

[42] 马永恒, 董秉直. 有机物不同组分对于超滤膜污染的中试实验[J]. 净水技术, 2011(5): 19
MA Yongheng, DONG Bingzhi. Pilot test of different organic matters removal for ultrafiltration (UF) membrane fouling [J]. Water Purification Technology, 2011(5): 19. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0177.2011.05.005

[43] 周贤娇, 董秉直. 不同组分的有机物对膜过滤通量下降的影响[J]. 环境科学, 2009(2): 432
ZHOU Xianjiao, DONG Bingzhi. Effect of different organic fraction on membrane flux declines [J]. Chinese Journal of Environmental Science, 2009(2): 432

[44] 辛凯, 马永恒, 董秉直. 不同有机物组分对膜污染影响的中试研究[J]. 给水排水, 2011(1): 123
XIN Kai, MA Yongheng, DONG Bingzhi. Pilot experiment on the influences of different fractions of NOM on membrane fouling [J]. Water & Wastewater Engineering, 2011(1): 123. DOI: 10.3969/j.issn.1002-8471.2011.01.032

[45] 苏文鹏. 基于造纸白水特性的超滤膜污染及控制研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2016
SU Wenpeng. Study on ultrafiltration membrane pollution and control based on white water characteristics of papermaking [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2016

(编辑 刘 彤)