

蓝惠霞, 邱献欢, 隋冰冰, 等. 2009 降解五氯酚 (PCP) 的微氧颗粒污泥的形成机理 [J]. 环境科学学报, 29(2): 273-278

Lan H X, Qiu X H, Sui B B *et al*. 2009 The granulation mechanism of micro-aerobic granules for PCP degradation [J]. Acta Scientiae Circumstantiae 29(2): 273-278

降解五氯酚 (PCP) 的微氧颗粒污泥的形成机理

蓝惠霞¹, 邱献欢¹, 隋冰冰¹, 陈元彩^{2*}

1 青岛科技大学环境与安全工程学院, 青岛 266042

2 华南理工大学制浆造纸工程国家重点实验室, 广州 510640

收稿日期: 2008-02-04 修回日期: 2008-06-11 录用日期: 2008-12-15

摘要: 在微氧条件及剧毒性的五氯酚存在下, 研究了活性污泥的颗粒化机理. 在污泥培养过程中对污泥性质、外观进行观察, 并利用扫描电镜对微生物相进行分析. 结果表明, 在颗粒化初始阶段诱导核的存在对絮体起着凝集作用, 该阶段的微生物以丝状菌为主; 在形成阶段, 二价金属阳离子含量以及 ECPs 中 PN/PS 比值增加, 丝状菌形成三维框架结构; 而在颗粒污泥形成后的增长阶段, SVI 值下降至较低的水平, 形成表面光滑的完整颗粒, 颗粒内杆菌、球菌占优势, 含水率的明显下降表明质子跨膜迁移引起的细胞脱水作用变得显著.

关键词: 五氯酚; 微氧颗粒污泥; 形成机理

文章编号: 0253-2468(2009)02-273-06 中图分类号: X703 文献标识码: A

The granulation mechanism of micro-aerobic granules for PCP degradation

LAN Huixia¹, QIU Xianhuan¹, SUI Bingbing¹, CHEN Yuancai^{2*}

1 College of Environment and Safety Engineering, Qingdao University of Science & Technology, Qingdao 266042

2 State Key Laboratory of Pulp & Paper Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640

Received 4 February 2008; received in revised form 11 June 2008; accepted 15 December 2008

Abstract Micro-aerobic granules were subjected to a PCP environment to study their granulation mechanisms. The characteristics and appearance of the sludge were studied and their microorganisms were analyzed by scanning electron microscopy during culturing. The results showed that in the initial period the induced cores functioned as flocculants and filamentous bacteria were the dominant microorganisms before the formation of mature granules. Both the amount of bivalent metal cations and the PN/PS ratio increased, and a three-dimensional frame structure was formed by the filamentous bacteria after formation of mature granules. The SVI value decreased to a relatively low level and round mature granules with smooth surfaces were formed, in which bacilli and cocci were the dominant microorganisms. The marked reduction of moisture content in the granules indicated that the effect of cellular dehydration caused by proton translocation was significant in granule growth.

Keywords PCP; micro-aerobic granules; granulation mechanism

1 引言 (Introduction)

微氧 (溶解氧浓度低于 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 颗粒污泥中同时存在好氧区和厌氧区, 将好氧氧化和厌氧还原在空间上和时间上有效的结合在一起, 是降解五氯酚理想的新型生物处理工艺 (Lan *et al.*, 2005). 微氧颗粒污泥是在厌氧颗粒污泥和好氧颗粒污泥研究的基础上发展起来的, 三者颗粒化过程及机理存在相似的地方. 对于污泥颗粒化的机理, 许多研

究者从颗粒化的影响条件进行了大量研究工作. 实践证明, 流体剪切力可以通过改变微生物的代谢途径影响颗粒污泥的形成 (Liu *et al.*, 2002; Tay *et al.*, 2003). 在连续流反应器中, 溶解氧浓度低于 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 好氧颗粒污泥难以形成或已经形成的颗粒污泥会趋于解体; 若改为间歇流工艺, 溶解氧浓度在 $0.7 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 可以形成具有清晰外形的颗粒 (Peng *et al.*, 1999). 这些研究对加速污泥颗粒化提供了有用资料, 但无法从本质上揭示污

基金项目: 国家自然科学基金 (No 20676045)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No 20676045)

作者简介: 蓝惠霞 (1974-), 女, 副教授 (博士), E-mail: lanhuixia@163.com; * 通讯作者 (责任作者), E-mail: ateq@scut.edu.cn

Biography: LAN Huixia (1974-), female, associated professor (Ph.D.), E-mail: lanhuixia@163.com; * **Corresponding author** E-mail: ateq@scut.edu.cn

颗粒化机理.

早在 1972 年, Pavoni (1972) 就推测胞外多聚物 (ECPs) 是絮凝的直接原因. 进一步的研究表明, 在 ECPs 浓度适当的情况下, 决定絮凝的是 ECPs 的组成, 主要是蛋白质 (PN) 和多糖 (PS), 而不是 ECPs 的总量 (Liao *et al.*, 2001). 但是, 由于胞外多聚物的提取所采用的方法不同, 关于 PN 和 PS 对颗粒污泥形成和稳定的贡献存在着不同观点. 一种观点认为, 低 PN/PS 值导致低 SVI 值, 并有利于维持颗粒污泥结构的完整性 (Jiang *et al.*, 2003). 而 Delia 等 (2003) 的研究得出相反的结论, 他们认为 PN 疏水性比 PS 强, PN 的增加使得污泥中滞留水分减少, 使污泥易与水分分离, SVI 值降低, 细胞之间结合紧密; 另外, PN 与阳离子键合的能力大于 PS, 通过阳离子架桥的作用可构成一种空间三维质, 从而维持颗粒结构的完整和稳定.

Tay 等 (2000) 指出, 细胞表面脱水和细胞膜融合在厌氧菌的自凝聚过程中具有关键性作用, 某些环境条件能够激发细胞的表面脱水以及进一步的细胞膜融合. 此外, 还有学者提出诱导核学说以解释污泥颗粒化机理 (Beun *et al.*, 2000; Zhu *et al.*, 1997).

絮状污泥的颗粒化是一个集物理、化学和生物学作用于一体的复杂过程, 在以往的研究中, 均为强化某一个或某几个特定因素, 如有机负荷、胞外多聚物等的作用机理 (蔡春光等, 2004); 王海磊等 (2005) 对好氧颗粒污泥的形成机理进行了专门的研究, 但也仅是强调了三维框架结构的形成阶段, 不具有普遍性. 本研究中采用微氧条件, 在毒性物质 PCP 的存在下, 综合考虑影响污泥颗粒化各个阶段的主要因素以及前人提出的理论, 结合颗粒污泥培养过程中污泥性质、外观、胞外多聚物中 PN/PS 比值、含水率以及微生物相的变化对颗粒化机理进行较全面的研究, 以期降解剧毒性高氯代酚类化合物的颗粒污泥的快速培养提供理论指导.

2 实验材料与方法 (Materials and methods)

2.1 实验装置

实验装置如图 1 所示, 主要由曝气槽和反应器

2 部分组成, 所用材料为有机玻璃. 反应器高 100 cm, 内径为 5 cm, 有效体积为 1.0 L; 曝气槽高 70 cm, 内径为 3 cm, 有效体积为 0.5 L. 实验采用间歇式工艺, 1 d 运行 1 个周期, 进水 15 min, 厌氧 10 h, 好氧 13.5 h, 沉降 5 min, 出水 10 min. 进水由泵先泵入曝气槽, 经曝气后由底部进入反应器底部, 自下而上流经反应器, 经三相分离器, 将水与气、泥分离后, 再次循环至曝气槽, 最后由反应器排水口出水. 反应器密封, 由上部三相分离器连接盛满水的集气瓶, 收集沼气, 由量筒测量导水管排出的水的体积即可得到气体的体积. 循环水流量控制在 $0.3 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, 每次进水控制在 1 L 左右. 气源采用 AC-9904 型空压机, 使溶解氧保持在 $0.2 \sim 0.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

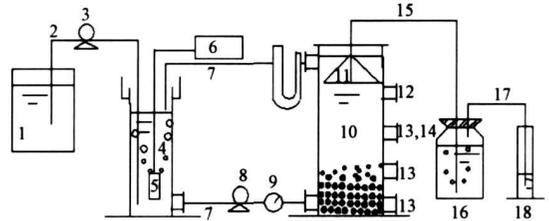


图 1 实验装置 (1. 贮水槽, 2. 进水管, 3. 进水泵, 4. 曝气槽, 5. 曝气头, 6. 曝气机, 7. 水循环管, 8. 循环泵, 9. 流量计, 10. 反应器, 11. 三相分离器, 12. 排渣口, 13. 取样口, 14. 排水口, 15. 排气管, 16. 集气瓶, 17. 排水管, 18. 量筒)

Fig. 1 Schematic illustration of the experimental apparatus (1. water tank, 2. inlet pipe, 3. inlet pump, 4. aeration vessel, 5. air diffuser ball, 6. aeration device, 7. water circulation pipe, 8. circulation pump, 9. liquid flowmeter, 10. reactor, 11. solid-liquid-gas separator, 12. mud valve, 13. sample valve, 14. drain valve, 15. air duct, 16. gas-collecting vessel, 17. aqueduct, 18. measuring cylinder)

2.2 实验用水

采用人工模拟废水, 水质如表 1 所示. 微量元素溶液组成如表 2 所示. 为使接种污泥适应新的环境, 在前 2 d 不加 PCP, 从第 3 d 开始加入低浓度 PCP (为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 既可起到筛选优势菌的作用, 又保证反应器中污泥浓度和活性; 随后不断增加 PCP 的量, 最终浓度达到 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 颗粒的培养和驯化同时进行, 即边培养边增加 PCP 浓度. PCP 在整个培

表 1 模拟废水组成

Table 1 Chemical composition of synthetic wastewater

							$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
葡萄糖	NH_4Cl	KH_2PO_4	MgSO_4	CaCl_2	NaHCO_3	Na_2CO_3	微量元素溶液
4800	900	210	30	80	1000	500	1 mL

表 2 微量元素溶液组成

Table 2 Composition of trace solution

g L⁻¹

FeCl ₃ · 6H ₂ O	H ₃ BO ₃	CuSO ₄ · 5H ₂ O	KI	MnSO ₄ · H ₂ O	(NH ₄) ₆ M _o ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	ZnCl ₂	CoCl ₂ · 6H ₂ O	Ni(NO ₃) ₂
1.50	0.15	0.03	0.03	0.10	0.065	0.057	0.15	0.15

养过程中起着选择压的作用, 即将不能耐受 PCP 毒性的非优势菌淘汰出反应器。

2.3 接种污泥

接种污泥为珠江啤酒厂 EGSB 中解体的厌氧颗粒污泥, 接种量 0.4L。

2.4 分析方法

SVI 含水率采用标准方法测定 (国家环保局, 1998)。多糖 (PS) 和蛋白质 (PN) 的测定分别采用蒽酮法和 Folin 分光光度法 (微生物研究法讨论会, 1981), 各以葡萄糖和牛血清白蛋白为标准物。胞外多聚物的提取采用稀硫酸法 (刘志杰等, 1994)。金属元素用原子吸收仪 (IC, 北京) 测定。

颗粒污泥扫描电镜观察: 取新鲜颗粒污泥, 用 4% 戊二醛固定 2h 以上, 用 0.1mol L⁻¹ 二甲砷酸钠缓冲溶液浸泡 40min, 更换缓冲溶液 2 次, 操作同上。固定后的颗粒污泥依次用 30%、50%、70% 和 90% 的乙醇脱水, 样品在每一乙醇浓度下处理时间为 15min, 再采用 100% 乙醇脱水 3 次, 每次处理时间为 10min, 然后用乙酸已戊脂溶液置换脱水后样品内的乙醇, 共置换 3 次, 每次时间为 10min, 将置换后的样品经 CO₂ 临界点干燥、真空镀金处理, 最后用 LE01530VP 扫描电镜 (分辨率为 1nm) 观察并拍照。

颗粒污泥粒度测定: 采用颗粒度分析仪 (Mastersizer2000) 分析絮状污泥, 颗粒污泥采用标准筛分法。

3 结果 (Results)

根据培养过程污泥的外观以及扫描电镜观察到的污泥结构, 可将颗粒污泥的形成过程分为以下 3 个阶段。

3.1 细菌与基体 (细菌以及核) 的吸引粘连过程

污泥颗粒化的第一步是细菌通过物理运动达到与基体 (包括细菌以及诱导核) 之间的相互接触, 以及之后的吸附粘连。一般来说, 这一阶段经历的时间较短, 通常只有 3~5d 而在本研究中却长达 20d 左右, 主要是由于 PCP 的加入对微生物造成较强的选择压作用, 微生物浓度增加缓慢。

反应器中的絮状污泥依靠向上流体力学运动

以及自身热力学运动, 呈片状连接在一起, 并与周围环境相融合, 没有明显的界面存在, 如图 2a 所示。在剪切力的作用下, 微生物的代谢途径发生改变, 分泌产物中粘性强的胞外多聚物不断产生。诱导核 (由解体的厌氧颗粒污泥以及进水中 Mg²⁺ 和 Ca²⁺ 与 CO₂ 反应形成) 出现后, 絮体在胞外多聚物作用下附着于诱导核附近成簇生长。开始出现固液界面, 但絮体之间仍然大面积连接在一起, 如图 2b 所示。这一阶段的生物相观察表明, 丝状菌占优势, 如图 3 所示。诱导核吸附表面的存在以及 ECPs 的粘附作用在这一阶段是非常重要的。因此, 在培养初始阶段进水中应保证有一定浓度的 Mg²⁺、Ca²⁺ 和一定强度的剪切力。

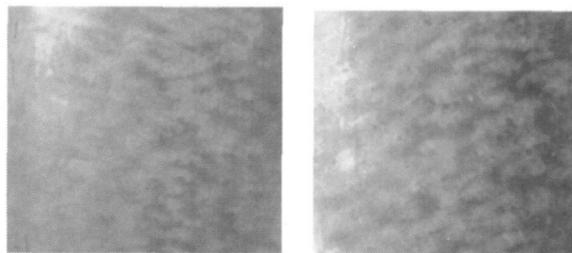


图 2 污泥外观 (a. 6d, b. 12d)

Fig. 2 Appearance of the sludge (a. 6d, b. 12d)

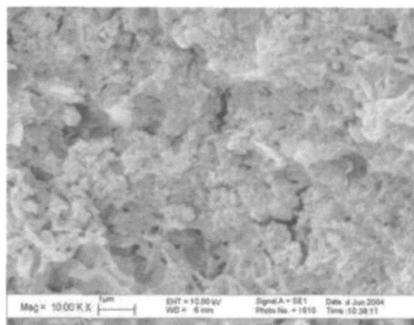


图 3 培养第 12d 污泥扫描电镜照片

Fig. 3 Scanning electron micrograph of the sludge on the 12th day

3.2 微生物聚集体三维结构的形成

在这一阶段 (第 20 ~ 30d), ECPs 中 PN/PS 比值不断升高, 如图 4 所示, 导致疏水作用增强, 推动了固液分离过程。尽管此时微生物聚集体结构松散, 但在单个絮体之间出现了清晰的界面, 如图 5 所

示. 扫描电镜观察表面, 丝状菌仍然占优势, 并形成三维框架结构, 如图 6所示. 上升流体产生的剪切力作用使粘连在一起的丝状菌互相缠绕, 构成三维框架. 表面包裹的 ECPs随微生物密度的增大而升高, 不仅增强了细胞间的内聚和粘附, 使其不易被流体剪切力破碎, 保证了微生物的良好沉降性; 同时保护骨架中的细菌免受 PCP 的侵害, 从而增强了三维结构的稳定性.

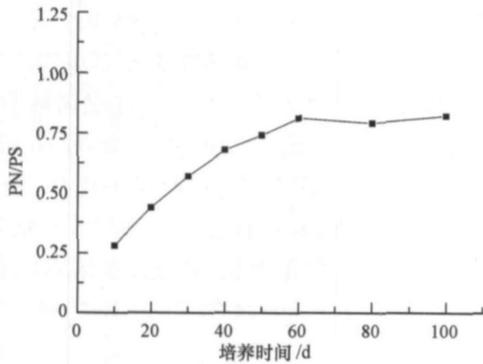


图 4 PN/PS 的变化

Fig. 4 PN/PS ratio over time

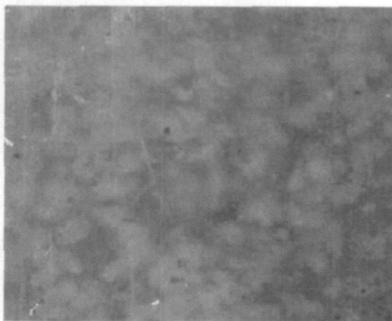


图 5 培养第 22d 污泥外观

Fig. 5 Appearance of the sludge on the 22nd day

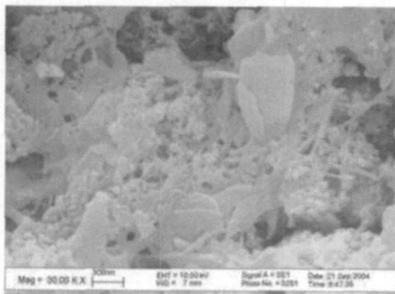


图 6 培养第 22d 污泥扫描电镜照片

Fig. 6 Scanning electron micrograph of the sludge on the 22nd day

在这一阶段, 微生物在三维框架中的附着生长, 除了 ECPs 自身的粘附作用外, 更重要的可能是

二价金属离子的架桥作用. 考察第 1、2 阶段污泥中 Ca、Mg 元素的含量, 实验结果如图 7 所示 (污泥以绝干污泥计). 从图中可以看出, 第 2 阶段污泥中 Ca、Mg 元素的含量均比第 1 阶段高 1 倍甚至数倍. Ca、Mg 元素不仅以诱导核 ($CaCO_3$, $MgCO_3$) 的形式存在, 还以架桥作用的阳离子形式存在. 二价阳离子的架桥作用进一步提高了三维结构的稳定性.

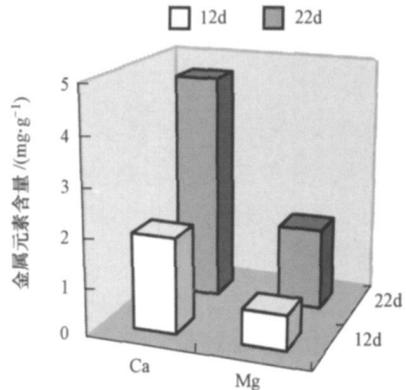


图 7 污泥中 Ca、Mg 元素含量

Fig. 7 Content of Ca, Mg in the sludge

3.3 颗粒污泥的形成及长大成熟

微生物聚体三维结构的形成是污泥颗粒化过程中非常关键的一步. 此后微生物在三维框架内不断聚集生长, 在流体剪切力、沉降时间以及浓度不断增加的 PCP 的选择压作用下, 使密度小、沉降性能差的絮体不断从表面洗脱, 流体与颗粒之间的摩擦作用使光滑的颗粒表面得以形成, 如图 8 所示. 这一阶段从第 31d 到第 50d 由于氧的传质限制, 颗粒内部形成了好氧区和厌氧区, 为各种微生物群系提供了一个互营共生的良好环境. 微生物开始按生物区系进行有规律的重组, 即向着有利于各种代谢产物和中间产物转移的方向生长, 出现分层结构. 在这一阶段另一个突出的特点是在流体的不断冲击

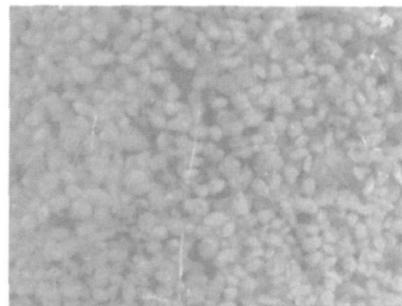


图 8 培养第 45d 污泥外观

Fig. 8 Appearance of the sludge on the 45th day

下, 作为框架的丝状菌也不断从表面被洗脱, 颗粒内杆菌、球菌大量繁殖成为优势菌, 如图 9 所示; 最终形成密度大、沉降性能好的颗粒污泥, 其直接表

现就是污泥 SVI 值下降至较低的水平, 如图 10 所示.

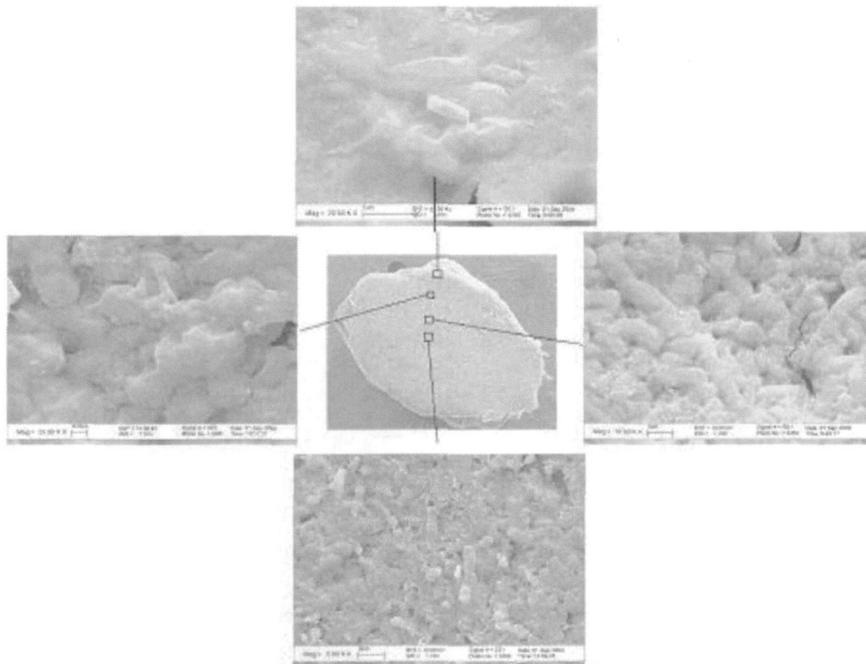


图 9 培养第 45d 污泥扫描电镜照片

Fig 9 Scanning electron micrographs of the sludge on the 45th day

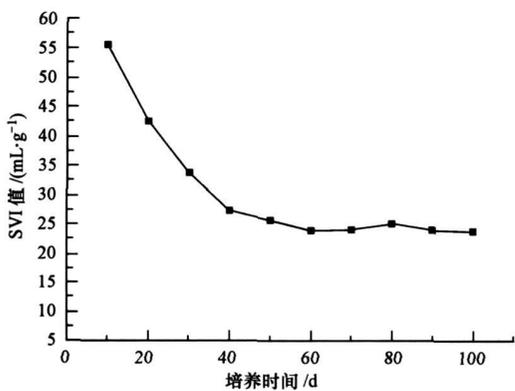


图 10 SVI 值的变化

Fig 10 Sludge volume index (SVI) over time

颗粒污泥形成后, 微生物之间的距离大大缩短了, 为质子跨膜迁移引起细胞表面脱水提供了有利条件, 从而增强了细胞之间的作用力, 形成更高浓度的微生物群落, 颗粒更加密实. 将 3 个阶段污泥含水率作比较, 结果如图 11 所示. 可以看出, 第 1、2 阶段含水率变化不大; 在第 3 阶段, 随颗粒污泥的形成增长, 含水率大大下降. 这表明, 质子跨膜迁移引起

细胞原位脱水在该阶段起着重要作用.

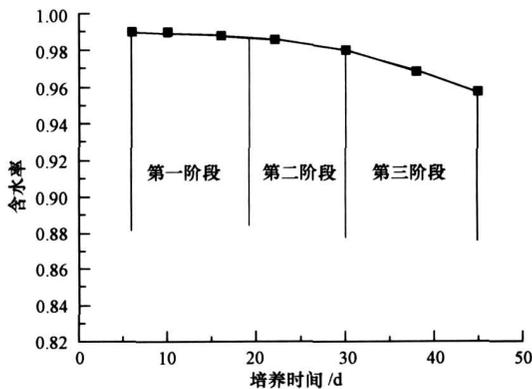


图 11 不同阶段污泥含水率变化

Fig 11 Water content of Sludge during different periods

整个培养过程颗粒污泥平均粒径的变化如图 12 所示. 随着培养时间的增加, 颗粒污泥粒径基本上是增大的趋势, 而且形成的颗粒污泥基本上没有解体现象发生.

培养成熟的颗粒污泥在 PCP 浓度为 20 mg L⁻¹, 经过 1 个多月的驯化, PCP 去除率最终达

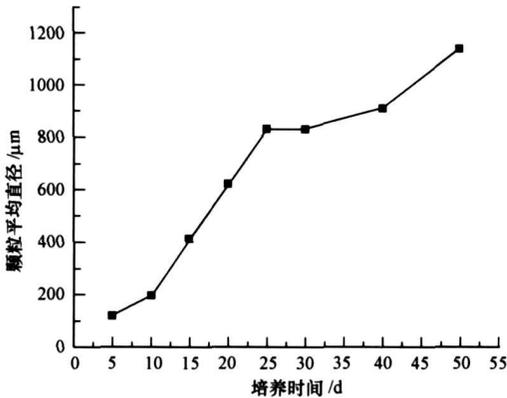


图 12 培养过程中颗粒污泥尺寸的变化

Fig. 12 Mean size of granular sludge during culture

到 80% 以上。

4 结论 (Conclusions)

通过对絮状污泥颗粒化过程的观察、分析和研究得到絮状污泥颗粒化机理。颗粒化初始阶段,诱导核的存在促进絮体的凝集;在形成阶段,ECPs中PN/PS比值不断升高促进固液分离,丝状菌形成三维框架以及二价金属阳离子架桥的作用促使污泥形成稳定的骨架结构;而在颗粒污泥形成后的增长阶段,质子跨膜迁移引起细胞表面脱水,进一步促使密实颗粒污泥形成。

责任作者简介:陈元彩(1967—),女,副教授,博士,硕导,主持国家自然科学基金1项,省自然科学基金1项,国家重点实验室基金4项,发表论文60余篇,多篇被SCI收录,主要从事含氯有机生物处理技术的研究。

参考文献 (References):

Beun J J, Loosdrecht M C M, Heijnen J J. 2000 Aerobic granulation [J]. *Water Science Technology*, 41(4-5): 41-48

蔡春光,刘军深,蔡伟民. 2004 胞外多聚物在好氧颗粒化中的作用机理[J]. *中国环境科学*, 24(5): 623-626

Cai C G, Liu J S, Cai W M. 2004 Action mechanism of extracellular polymers on the aerobic granulation [J]. *China Environmental Science*, 24(5): 623-626 (in Chinese)

微生物研究法讨论会(日). 1981 微生物学实验法[M]. 北京:科学技术出版社

DeLaT S. 2003. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 32: 375-385

Jiang H L, Tay JH, Tay S T L. 2003. Changes in structure activity and metabolism of aerobic granules as a microbial response to high phenol loading [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(5): 602-608

Lan H X, Chen Y C, Chen Z H. 2005 Cultivation and characters of aerobic granules for Pentachlorophenol (PCP) degradation under microaerobic condition [J]. *Journal of Environmental Science*, 17(3): 506-510

Liao B Q, Allen D C, Droppo G G. 2001 Surface Properties of sludge and their role in biofloculation and settleability [J]. *Water Research*, 35: 339-350

Liu Y, Tay JH. 2002. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge [J]. *Water Research*, 36: 1653-1665

刘志杰,谢华,俞毓馨,等. 1994 厌氧污泥胞外多聚物的提取、测定法选择 [J]. *环境科学*, 15(4): 23-26

Liu Z J, Xie H, Yu Y X, et al. 1994. Selection of the methods for extraction and determination of extracellular polymers from anaerobic sludge [J]. *Environmental Science*, 15(4): 23-26 (in Chinese)

国家环保局. 1998. 水和废水监测分析方法. (第3版) [M]. 北京:中国环境科学出版社

National EPA. 1998. Monitoring methods of water and wastewater (the third edition) [M]. Beijing: China Environmental Scientific Publishing Company (in Chinese)

Pavoni J L. 1972. Bacterial exocellular polymers and biological flocculation [J]. *Journal WPCF*, 44(3): 414-424

Peng D C, Bemet N, Deigenes J P, et al. 1999 Aerobic granular sludge—a case report [J]. *Water Research*, 33(3): 890-893

Tay JH, Liu Q S, Liu Y. 2003 The effect of organic loading rate on the aerobic granulation—the development of shear force theory [J]. *Water Science Technology*, 47: 235-240

Tay JH, Xu H L, Teo K C. 2000 Molecular mechanism of granulation I H⁺ translocation-dehydration theory [J]. *J Environ Eng*, 126: 403-410

Zhu J R, Hu J C, Gu X S. 1997 The bacterial numeration and an observation of a new syntrophic association for granular sludge [J]. *Water Science Technology*, 36(6-7): 133-140

王海磊,魏丽莉,李宗义. 2005. 好氧颗粒污泥的形成过程、形成机理及相关研究 [J]. *环境污染与防治*, 27(7): 485-487

Wang H L, Wei L L, Li Z Y. 2005 Study on the process and mechanism of forming aerobic granular sludge [J]. *Environmental Pollution & Control*, 27(7): 485-487 (in Chinese)