

厌氧颗粒污泥形成过程中 胞外多聚物作用的研究

刘双江 胡纪革 顾夏声

(清华大学环境工程系, 北京)

摘要 采用钌红吸附法测定胞外多聚物的研究结果表明, 厌氧颗粒污泥形成后污泥中胞外多聚物含量有所增加; 钌红定位染色表明, 颗粒污泥中胞外多聚物主要分布在球菌细胞间, 而在丝菌等细胞间胞外多聚物分布较少。这些结果说明胞外多聚物在颗粒污泥形成过程中具有一定的作用, 但并不是颗粒污泥形成与否的决定因素。

关键词 厌氧颗粒污泥, 胞外多聚物, 厌氧消化

厌氧污泥颗粒化对UASB反应器运行的重要意义已被普遍认识, 但有关颗粒污泥形成的确切机制至今仍不十分清楚^[1, 2]。Sam一Soon等人曾提出细胞外多聚物的粘连作用是颗粒污泥形成的主要原因, 但有关胞外多聚物在污泥颗粒化过程中数量变化及其定位分布的研究报道还极少^[3]。全面系统地了解厌氧颗粒污泥形成的机理, 必将为培养颗粒污泥提供更加准确可靠的理论指导。本文通过采用钌红吸附法测定颗粒污泥形成前后污泥中胞外多聚物含量的变化以及采用特异染色法用透射电镜对颗粒污泥中胞外多聚物分布进行定位研究, 初步明确了胞外多聚物在污泥颗粒化过程中的作用。

材料与方法

一、厌氧颗粒污泥的培养

试验以工业葡萄糖配水、豆制品废水为基质分别在UASB反应器内培养颗粒污泥, 反应器均以普通絮状厌氧污泥为接种物, 经

过1~2个月的运行, 反应器内部培养出了颗粒污泥。有关反应器的运行、颗粒污泥的培养条件及其性状, 请参见文献^[4]。

二、胞外多聚物的测定

1. 试剂及仪器

取钌红试剂0.3g, 加入50ml蒸馏水中, 缓慢加热使之溶解(水温不超过60℃), 冷却至室温后定容100ml, 置于棕色试剂瓶内, 在4℃冰箱中贮存备用。

2. 测定方法

研究表明, 钌红试剂对胞外多聚物如胞外多糖具有特异性的吸附反应, 利用这一性状, 发展了定量测定胞外多聚物的方法^[5]。本试验参照Figueroa等人的研究, 选用海藻酸做为测定胞外多聚物的标准参照物质, 在25±1℃吸附3小时测定胞外多聚物含量。

钌红试剂光吸收特性及吸光度采用UV-250岛津分光光度计进行测定。

三、电镜观察

污泥样品的处理、染色以及切片的制作

本文收稿日期: 1991年4月9日。

和电镜观察均由中科院生物物理所电镜室协助完成，主要使用TEM-1000型透射电镜进行观察^[6]。

结果与分析

一、钉红试剂光吸收特性及吸附等温线

1. 光吸收特性

试验所用钉红试剂吸收光谱见图1。在200~650nm光谱范围内，钉红具有2个较明显的光吸收峰，分别为257.3nm和533.3nm。基于测定灵敏度考虑，试验以533.3nm处的光吸收值来测定钉红浓度，进一步研究表明，在0~60mg/L范围内，钉红试剂浓度与其光吸收值(O.D.533.3)具有十分良好的线性关系(图2)。

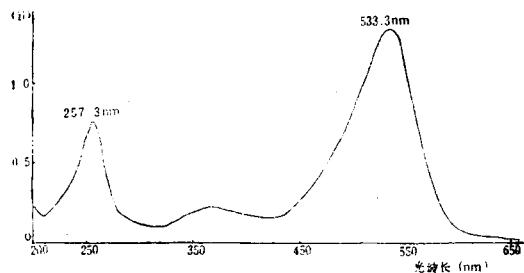


图1 钉红试剂光吸收特性

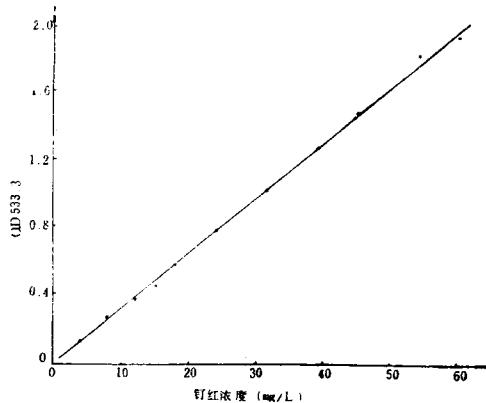


图2 钉红试剂浓度与光吸收值的关系

2. 吸附等温线

在本试验条件下测定标准参照物质海藻

酸对钉红的等温吸附线如图3所示。为了确定吸附量(x/m)与平衡浓度 C_e 的定量关系，分别对Langmuir公式、BET公式和Freundlich公式进行线性处理后对上面试验结果进行分析^[7]，发现Langmuir公式的拟合最好，其线性相关系数为0.95514。

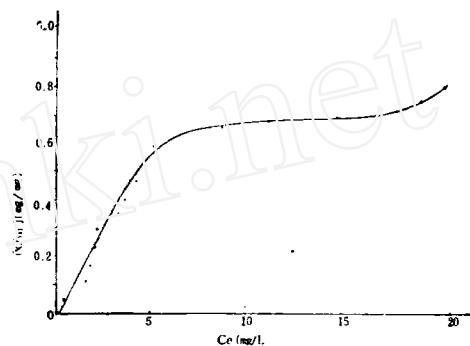


图3 钉红吸附等温线(25℃)

对Langmuir公式进行线性处理：

$$\left(\frac{x}{m}\right) = \frac{b \left(\frac{x}{m}\right)^0 C_e}{1 + b C_e} \quad (1)$$

$$\frac{1}{\left(\frac{x}{m}\right)} = \frac{1}{b \left(\frac{x}{m}\right)^0} \cdot \frac{1}{C_e} + \frac{1}{\left(\frac{x}{m}\right)^0} \quad (2)$$

式中： $\left(\frac{x}{m}\right)$ ——单位重量海藻酸吸附钉红的重量(mg钉红/mg海藻酸)，

C_e ——吸附平衡时反应液中钉红浓度(mg/L)，

b——常数，

$\left(\frac{x}{m}\right)^0$ ——达到吸附平衡时 $\left(\frac{x}{m}\right)$ 的极限值。因此，式(1)中的2个常数 $\left(\frac{x}{m}\right)^0$ 和b均可用作图法由直线的截距和坡度求出(图4)。从图3中可以看出，当 $\left(\frac{x}{m}\right)$ 值在0.6~0.8范围内，吸附等温线存在一个近似平台区，此区域达到平衡后， $\left(\frac{x}{m}\right)$ 为一常数值，作图(图4)求得 $\left(\frac{x}{m}\right)^0 = 0.75$ mg钉红/mg海藻酸。

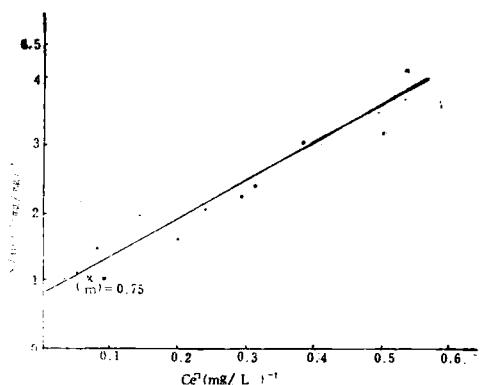


图4 Langmuir公式中 $(\frac{x}{m})$ 值的作图法求解。

二、颗粒污泥形成后胞外多聚物含量的变化

1. 污泥样品的处理及吸附反应过程

从反应器内取污泥样20ml，加入等体积的磷酸盐缓冲液(pH 7.2)低速离心5min，弃去上清液，重新加入20ml磷酸盐缓冲液，摇匀后用于胞外多聚物的测定，每次测定取污泥7~10mgVSS，并尽量保持一致。

取10ml带盖玻璃试管，加入7~10mgVSS待测污泥样品，然后加入4ml3000mg/l钌红试剂，置于摇床上振荡(200r/min)吸附3h，温度保持在25℃。吸附反应平衡后，计算吸附的钌红量，并换算为相当于胞外多聚物的量。

2. 颗粒污泥形成前后污泥中胞外多聚物的含量

按上述方法分别对葡萄糖水和豆制品废水培养的颗粒污泥及其接种污泥进行胞外多聚物含量的测定。每个样品重复测定3次。下表中所列数值为3次测定的平均值。

从表中可以看出，同接种污泥相比，颗粒污泥中胞外多聚物含量明显升高，以葡萄糖配水为基质培养的颗粒污泥中胞外多聚物含量同接种污泥相比几乎增加了一倍，以豆制品废水为基质培养的颗粒污泥中胞外多聚物也有较大提高。

接种污泥与颗粒污泥中胞外多聚物的含量表

UASB反应器编号	接种污泥(mg/gVSS)	颗粒污泥(mg/gVSS)	处理水质及接种污泥来源
1	81.6	136.5	葡萄糖配水，北京酒仙桥污水厂消化污泥
2	82.5	155.9	葡萄糖配水，北京苇沟猪场厌氧消化污泥
3	82.5	105.4	豆制品废水，北京苇沟猪场

三、颗粒污泥中胞外多聚物的定位研究

厌氧颗粒污泥外观如图5(a)所示。钌红对颗粒污泥的染色情况见图5(b)，从图中可以看出，钌红对颗粒污泥的着色并不均匀，这表明胞外多聚物在颗粒污泥中的分布有一定的区域化特点。胞外多聚物主要分布在聚集的球菌细胞间[图5(b)]，在细胞间的连接中起明显的粘连作用，而在杆菌、弧菌或类似于甲烷丝菌的细胞周围，没有观察到明显的胞外多聚物存在。

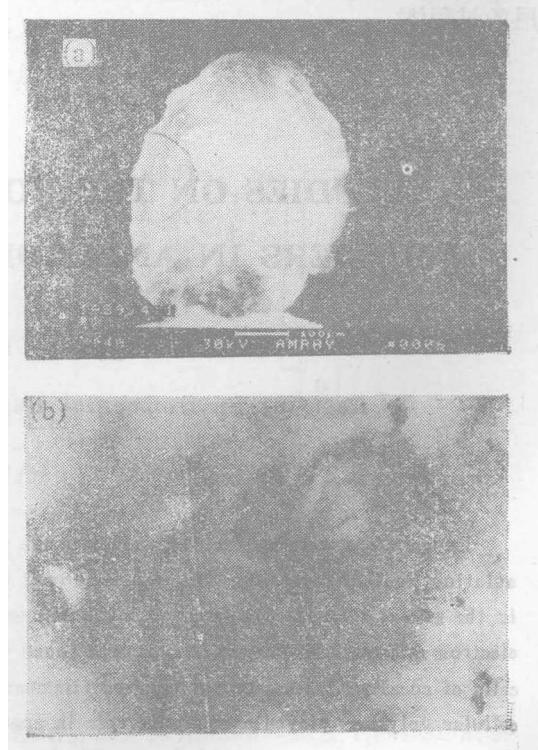


图5 厌氧颗粒污泥形状及其钌红染色情况

(a) $\times 140$ ，厌氧颗粒污泥外观；

(b) $\times 6000$ ，示胞外多聚物的粘连作用。

讨 论

从数量上看，颗粒污泥形成后胞外多聚物有所增加，尤其是以糖为基质的人工配水UASB反应器内的污泥，它形成颗粒污泥后胞外多聚物的含量几乎增加近一倍（表1）。由此可见，胞外多聚物数量的增加，与颗粒污泥的形成有十分密切的关系，图5（b）表明，胞外多聚物在细胞间的聚集中的确起着粘连作用。

但是，颗粒污泥的形成是否完全依赖于胞外多聚物的存在则不尽然。根据试验研究，组成颗粒污泥的优势产甲烷菌为甲烷丝菌^[7]，但在甲烷丝菌和许多杆菌、弧菌周围并没有明显的胞外聚物存在。这就表明，形成颗粒污泥过程中还存在着其它机制如疏水作用、水流冲刷、表面电荷作用等，颗粒污泥的形成是一个复杂的微生物与环境相互作用的过程^[8]。

参 考 文 献

- [1] Lettinga, G., and A. J. B. zender, of Proceedings the Gasmat Workshop Lunteren, Granular anaerobic sludge, Microbiology and technology, Netherlands 1987
- [2] 刘双江、胡纪萃等, 中国环境科学, 10(5), 343~346, 1990
- [3] Sam-Soon, P. A. L. N. S. et al. Wat. Res., 13(20), 69~80, 1987
- [4] 刘双江, 升流式厌氧污泥层反应器内颗粒污泥形成过程中的微生物学研究, 博士学位论文, 清华大学环境工程系, 1990
- [5] Figueroa, L. A. et al, Biotech. Bioeng., 22, 941~947, 1989
- [6] 朱丽霞等, 生物学中的电子显微技术, 北京大学出版社, 1983
- [7] 许保玖, 当代给水与废水处理原理讲义, 清华大学出版社, 1983
- [8] Mahoney, E. M. et al., Wat. Sci. Technol., 19, 249~260, 1987

STUDIES ON THE ROLE OF EXTRACELLULAR POLYMERS IN ANAEROBIC SLODGE GRANULATION

Liu Shuangjiang Hu Jicui Gu Xiasheng

(Dept. of Environmental Engineering, Tsinghua University)

Abstract

Experiments were conducted to elucidate the role of extracellular polymers in anaerobic sludge granulation in UASB reactor. The results showed that the amount of extracellular polymers increased in the granular sludge compared with the amount of seeding sludge. By ruthenium red staining and electron microscopic observation, it was found that the extracellular polymers distributed between cells of cocci with less amount between filamentous or rod cells. These results revealed that extracellular polymers played a cohesive role in anaerobic sludge granulation but it was not the decisive factor controlling anaerobic sludge granulation.

Keywords: anaerobic granular sludge, extracellular polymers, anaerobic digestion