

•环境工程•

DOI:10.12454/j.jsuese.202400272



本刊网刊

好氧颗粒污泥的培养及其胞外聚合物的分析与应用

郑逸涵^{1,2}, 杨英^{1,2*}, 李卫华^{1,2}, 冯青原^{1,2}, 朱曼丽^{1,2}, 陈卉静^{1,2}, 杨婷婷^{1,2}

(1.安徽建筑大学环境与能源工程学院,安徽合肥230000;2.水污染控制与废水资源化安徽省重点实验室,安徽合肥230000)

摘要:本文对快速培养性能稳定的好氧颗粒污泥(AGS)进行研究,记录接种活性絮状污泥(AS)培养成AGS的外观形貌变化过程,并从微观层面揭示AGS机械强度高、稳定性强的原因。另外,从力学层面研究AGS的胞外聚合物(EPS)对 Cd^{2+} 的吸附机理,对AGS-EPS能否成为具有潜力的生物吸附剂进行验证,以揭示AGS在水处理领域的优势作用。培养过程中,第85 d反应器内污泥形态稳定,污泥粒径由 $31.59 \mu m$ 增至 $442.72 \mu m$,污泥磷含量增长232.70%,从 $25.93 mg/g$ 增长至 $86.27 mg/g$ 。16s rRNA基因高通量测序结果表明,*Chloroflexi*可能是颗粒污泥的初始颗粒框架,而*Proteobacteria*是污泥颗粒化的核心菌门;聚糖菌*Candidatus_Cometibacter*和聚磷菌*Candidatus_Accumulibacter*是污泥颗粒化的核心菌属。从AS到AGS的培养,EPS含量从 $79.18 mg/g$ VSS增至 $133.63 mg/g$ VSS,3维荧光光谱(3D-EEM)证实AGS-EPS含有更高水平的蛋白质,驯化过程中细胞分泌的蛋白质分解溶解性降低,更加有利于生物膜中微生物细胞凝聚;傅里叶红外光谱(FTIR)和蛋白质2级结构研究表明,两类EPS均含有醇酚、糖类中的—OH、—CH、C—O、C—C,糖醛酸中的羧酸盐基团,蛋白质中的N—H及烷烃类有机物,而AGS-EPS具有更丰富的多糖种类,稳定的细胞结构。颗粒化培养使AGS对 Cd^{2+} 的吸附机理发生了变化,吸附动力学研究表明AS-EPS对于 Cd^{2+} 的吸附,同时存在物理、化学吸附;AGS-EPS对于 Cd^{2+} 的吸附适合用拟2级动力学模型来拟合,具有更强的生物化学属性。吸附热力学研究表明,两类EPS对于 Cd^{2+} 的吸附实验适合用Langmuir模型来拟合,该吸附过程属于均相单分子层吸附,而AGS-EPS的理论最大吸附容量大于AS-EPS,分别为 $617.09 mg/g$ 、 $542.90 mg/g$ 。实验过程证明:在高磷环境中增加COD含量能够提升污泥的除磷性能,对于污泥颗粒化的培养具有积极作用;颗粒化的培养使得污泥的物理、化学性质均得到了强化;颗粒污泥培养的副产物AGS-EPS具有更强的 Cd^{2+} 吸附效果,其对 Cd^{2+} 的吸收主要为生物化学作用,也说明了AGS在污水处理领域具有更大的潜力。

关键词:好氧颗粒污泥;胞外聚合物;重金属;微生物群落;生物吸附剂

中图分类号:X703

文献标志码:A

文章编号:2096-3246(2025)06-0274-12

好氧颗粒污泥(AGS)被视为一种由微生物自凝聚作用形成的特殊活性污泥^[1]。AGS具有高生物负载量、高有机物负荷率、良好的抗冲击负荷能力、出色的沉降性^[2]。与传统水处理工艺相比,AGS工艺可减少25%~50%的能耗和25%~75%的占地面积^[3];与厌氧颗粒污泥工艺相比,AGS工艺的启动时间更短,污泥颗粒生长速度快。2022年,国内AGS技术工业化污水处理厂——河南南阳示范工程建成并投入使用,将AGS工艺应用到实际工程中,能够提高水处理效率,降低污水处理成本^[4]。

因此,一些学者对如何快速稳定地培养颗粒污泥进行了研究,认为代谢环境中较充足的磷元素能促进好氧颗粒污泥的培养,增强AGS系统的稳定性^[5-6]。张小雷^[7]发现高磷环境有助于提高AGS对污染物的净化效能,且污泥在高磷环境中生长速率快,颗粒污泥系统物化特性强,微生物代谢水平高。王然登^[8]开展了不同磷、碳元素质量比(P/C)的进水对污泥形成颗粒的实验,在P/C=2:100时有利于颗粒污泥快速生成,而在P/C=0.03:100时无颗粒污泥生成。

关于污泥的研究,研究者通常都会对污泥的胞外

收稿日期:2024-04-19 修回日期:2024-06-08 网络出版日期:2024-06-13

基金项目:国家自然科学基金项目(52370021);安徽省住房和城乡建设科学技术计划项目(2023-RK025);安徽省教育厅研究生质量工程项目(2022jyjxggvj314)

作者简介:郑逸涵(1999—),男,硕士.研究方向:水污染控制. E-mail:571024204@qq.com

*通信作者:杨英,教授, E-mail: yangying5918@163.com

聚合物(EPS)进行提取、含量测定、表征分析。EPS能反映污泥的性状,是微生物在一定环境下分泌的高分子物质,主要成分为胞外蛋白质和多糖^[9],是生物膜的重要组成部分,有保护和维持生物膜的作用^[10]。EPS还有广泛的工业用途,可作为阻燃剂^[11]、吸附剂^[12]、土壤修复剂^[13]。Wei等^[14]研究了EPS对Cu²⁺、Zn²⁺、Cd²⁺的吸附行为,表明EPS中的蛋白质对于上述重金属离子具有较强的吸附性。费维繁等^[15]认为絮状活性污泥的EPS对于Cd²⁺吸附存在离子交换,有较好的吸附效果。

为验证AGS在处理污水过程中的积极作用,以及污泥颗粒化之后的EPS能否作为更具有潜力的吸附剂,本文以污泥颗粒培养为基础,研究好氧絮状活性污泥(AS)与AGS的特性差异,对污泥EPS的变化进行深度分析。研究结果对于认识AS-EPS、AGS-EPS吸附Cd²⁺的力学机理具有一定意义。

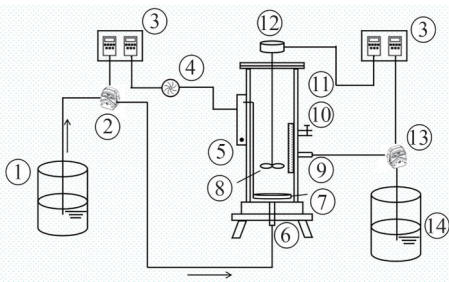
1 材料与方法

1.1 污泥

本文使用的接种活性污泥取自合肥市经济开发区某污水处理厂二沉池。将取回的污泥进行预处理:首先,用格栅去除较大的废物杂质;然后,在4 000 r/min转速下离心10 min,将含有其他悬浮杂质的上清液去除;最后,用质量分数为0.85%的NaCl溶液恢复至原体积并轻搅拌使AS恢复悬浮状态,重复此操作3次。将处理好的AS分为两份:一份为预处理后接种污泥(污泥可挥发性固体含量(MLVSS)为2 100 mg/L,污泥混合液总固体含量(MLSS)为3 000 mg/L,污泥容积指数(SVI)为85 mL/g),直接用于提取AS-EPS;另一份沉淀2 h后去除上清液,然后将浓缩接种污泥(MLVSS=12 000 mg/L、MLSS=15 500 mg/L)放入序批式活性污泥法反应器(SBR)培养成AGS,以获取AGS-EPS。

1.2 实验装置与运行

通过SBR反应器稳定运行培养并收集沉降、性状优良且富磷的AGS,其示意图如图1所示。



1. 进水桶;2. 进水蠕动泵;3. 时控开关;4. 曝气泵;5. 转子流量计;6. 进水口;7. 曝气环;8. 搅拌桨;9. 出水口;10. 取样口;11. 恒温加热棒;12. 搅拌器;13. 出水蠕动泵;14. 出水桶。

图1 SBR反应器示意图

Fig. 1 Schematic diagram of SBR reactor

由有机玻璃构成的反应器主体有效容积为8 L,高为60 cm,有效水深为45 cm,内径为15 cm。反应器连接软管及蠕动泵(保定兰格BT100-3J)用于进出水;顶部开孔使搅拌器和搅拌桨能够通过;反应器底放置微孔砂滤曝气环,用于好氧曝气,曝气量由转子流量计控制,分别为1.2、0.8、0.4 L/min,根据定期测定的溶解氧浓度进行流量调节,使溶解氧浓度稳定在6~7 mg/L。反应器内采用恒温加热棒来维持器内温度(25±1 °C)。

反应器的进出水、曝气等程序均通过时控开关自动控制。每天运行3个周期,每个周期8 h,包括进出水15 min,搅拌120 min,曝气180 min,沉淀60 min,排水15 min,闲置90 min。控制每个周期反应器进入废水4 L,排出处理完成的污水4 L,水力停留时间(HRT)为16 h。每天在第2个周期好氧曝气末端排出泥水混合液约500 mL,污泥浓度为3 400~4 000 mg/L,污泥龄(SRT)控制在15 d左右。

以乙酸钠为主要碳源模拟废水,具体模拟废水配方见表1。同时,使用NaHCO₃调节pH为7.0~7.3,再加入1 mL微量元素和矿物质浓缩液,其组分及浓度见表2。反应器的培养阶段分为阶段I(60 d)及阶段II(40 d)。

表1 反应器模拟废水配方

Tab. 1 Formulation of the simulated wastewater for the reactor

组分	阶段 I/(mg·L ⁻¹)	阶段 II/(mg·L ⁻¹)
CH ₃ COONa	400.00	600.00
NH ₄ Cl	60.00	90.00
KH ₂ PO ₄	96.00	96.00
CaCl ₂ ·2H ₂ O	14.26	14.26
MgSO ₄ ·7H ₂ O	90.00	90.00

表2 微量元素和矿物质浓缩液组分浓度

Tab. 2 Concentration of trace element and mineral concentrate components

组分	浓度/(mg·L ⁻¹)
FeCl ₃ ·6H ₂ O	1 500
H ₃ BO ₄	150
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	60
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	120
KI	180
CoCl ₂ ·6H ₂ O	150
CuSO ₄ ·5H ₂ O	30
MnCl ₂ ·4H ₂ O	120
EDTA(C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈)	10 000

1.3 分析方法

1.3.1 常规指标分析方法

常规指标的检测参照《水和废水监测分析方法》(第四版),总磷(TP)测定采用钼酸铵分光光度法,COD测定采用重铬酸钾法, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 测定采用纳氏试剂分光光度法,总氮(TN)测定采用碱性过硫酸钾法,污泥粒径的测定采用激光粒度分析仪(Malvern Panalytical, Zetasizer Nano ZS),MLSS和MLVSS采用重量灼烧法^[16]。污泥含磷量采用SMT法测定,测定指标为TP^[17]。

1.3.2 微生物群落分析

将预处理后的初AS和SBR运行100 d后稳定的AGS进行16s rRNA高通量测序分析,分别将样本命名为A1、B1。实验完成基因组DNA提取后,聚合酶链式反应(PCR)扩增子文库使用Illumina MiSeq平台构建,特异性引物为338F_806R。对得到的PE reads样品进行拆分,对两端Reads进行质控、过滤,获取ASV(amplicon sequence variant)代表序列和丰度信息,基于ASV进行物种分类学、群落多样性、群落组成分析。

1.3.3 EPS的提取和测定

取预处理后AS、AGS各100 mL,以60 g/g VSS加入732 Na型阳离子交换树脂,在500 r/min的条件下搅拌4 h。搅拌后在10 000 r/min、4 °C条件下离心25 min。所得上清液即为EPS溶液,用透析袋(2 000 Da)透析8 h,每1 h换一次水。透析袋会截留住蛋白质、多糖等大分子物质,排除溶液中其他组分对实验的影响。

采用考马斯亮蓝-G250法测定蛋白质含量,蒽酮-硫酸法测定多糖含量,二苯胺法测定核酸含量^[18]。

1.3.4 EPS的表征方法

采用荧光光谱仪(Hitachi, F7000)对EPS进行3维荧光光谱(3D-EEM)组分测试。测试条件:以10 nm为增量,激发波长 E_x 为250 nm~450 nm,发射波长 E_m 为300~500 nm,扫描速度为12 000 nm/min。采用Matlab软件进行数据处理和绘图。

将EPS溶液置于-40 °C冰箱冷冻24 h,再用冷冻干燥机进行冻干后用傅里叶红外光谱仪(Thermo Fisher Scientific, Nicolet iS20)对EPS样品进行分析,探测波长为400~4 000 nm范围内进行测试。使用OMNIC 9.2对数据进行分析。在此基础上采用PeakFit v4.12进行蛋白质二级结构分析,对酰胺I区(1 600~1 700 cm^{-1})分峰拟合分析,以深度探究两份污泥的EPS蛋白质特性。

1.3.5 EPS吸附实验

取25 mL浓度为10 mg/L的 Cd^{2+} 溶液,向其中按

质量比 $m(\text{Cd}^{2+}):m(\text{EPS}^{2+})=1:1$ 投加EPS,调节pH=6,在25 °C恒温振荡箱中以180 r/min的条件分别振荡10、20、30、40、60、120、180 min,进行吸附动力学实验。

分别取浓度为5、10、20、30、40、50、100 mg/L的 Cd^{2+} 溶液25 mL,向其中加入1 mg的EPS,调节pH=6,在温度为25 °C的恒温振荡箱中以180 r/min的转速振荡60 min,进行吸附热力学实验。

将吸附后的溶液注入处理过的透析袋(8 000~12 000 Da)中透析8 h,用于分离吸附重金属的EPS和未被吸附的重金属离子。烧杯中透析袋外部的纯水500 mL,基于扩散定律,重金属离子会被透析到袋外纯水中,取烧杯溶液用ICP(PerkinElmer, Optima 8000)测定 Cd^{2+} 浓度,从而计算出EPS对重金属的吸附量与去除率。

2 结果与讨论

2.1 反应器培养期运行状况分析

AGS的培养需要一段时间的稳定运行,此阶段需要对反应器进出水及污泥外观进行实时监控,以保证污泥的长期稳定驯化。在培养阶段,选择在每天/固定时间对反应器的进/出水的TP、COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN进行检测。指标变化见图2。

AGS培养的10 d前,对磷的去除效果较低。10 d之后,可发现出水磷含量明显降低,认为是污泥中的聚磷菌逐渐成为优势菌种,污泥中的多聚磷酸盐开始积聚并趋于稳定。第30 d,反应器出水TP含量稳定在5 mg/L左右。第60 d,COD含量增至450 mg/L时,出水TP含量开始降至2 mg/L以下,TP去除率提升至90%。最终出水COD含量稳定在30 mg/L左右,满足《污水综合排放标准》(GB8978—1996)的一级A标准(COD < 50 mg/L)。说明在稳定的反应体系中,适当增加COD含量,有助于聚磷菌对磷的吸收,提升污泥的净化、代谢能力,有利于污泥系统的稳定。当系统的碳磷比为15:1时,污泥在厌氧期缺乏足够的碳源以合成聚羟基脂肪酸酯(PHAs),导致污泥在好氧期没有足够的碳源和能量,去吸收磷元素并合成聚磷酸盐。这可以解释在阶段I时系统较低的磷去除率,也是在此条件下难以快速形成AGS的原因。

反应器的两个阶段对于 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效率较高,出水含量低于0.5 mg/L,第60 d进水水质的变化对其去除率无明显影响。TN较 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率稍低,最终出水TN含量从2.5 mg/L增至5.0 mg/L上下波动,两类指标均满足《污水综合排放标准》(GB8978—1996)的一级A标准($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度 < 5 mg/L, TN浓度 < 15 mg/L)。该反应器对氮负荷的环境适应性较强。稳定后TN去

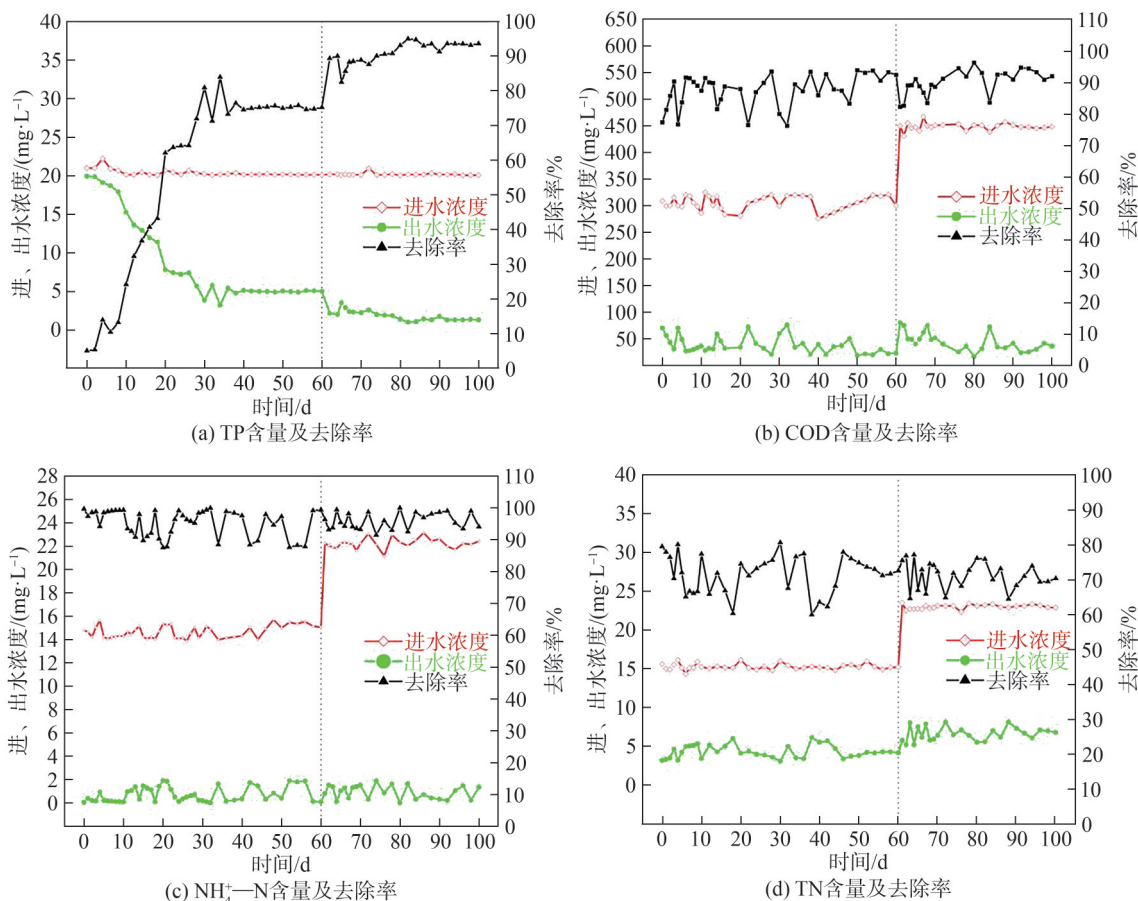
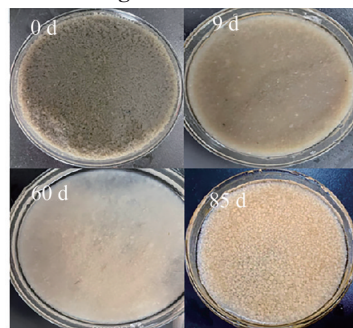


图 2 反应器培养阶段各指标变化

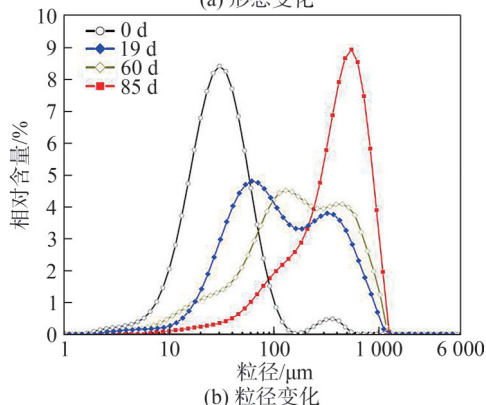
Fig. 2 Changes of each index in the reactor incubation stage

除率为 70%, 低于 TP 的去除率 (90%)。实验结果表明, COD 含量增加对颗粒污泥的脱氮效率影响不大, 但对除磷效率有显著影响。本次实验与李巨峰等^[19]使用 AGS 处理长链二元酸废水的结果相同, AGS 对于 TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率较低, 而对去除有机物及 TP 具有优势。

在培养初期需要对 AS 进行一段时间的培养, 以提高其抗冲击能力。SBR 反应器因为每天剩余污泥的排出, 使得系统内絮状污泥不断减少, 聚磷菌富集, 沉降性能不断优化。污泥形貌和污泥粒径变化如图 3 所示。接种污泥为深灰褐色絮状 (粒径中值 $d_{0.5}=31.59 \mu\text{m}$); 第 19 d 观察到污泥白色颗粒开始形成 ($d_{0.5}=71.14 \mu\text{m}$), 主体污泥的深灰褐色变为浅灰黑色; 培养至 60 d, 污泥基本上全部变为白色 ($d_{0.5}=229.418 \mu\text{m}$); 改变进水后污泥颗粒增长速度明显, 85 d 污泥为白色、黄色大颗粒状, 形态圆润饱满 ($d_{0.5}=442.72 \mu\text{m}$)。最终, AGS 的 MLVSS/MLSS 增至 0.81, MLVSS=2 600 mg/L, MLSS=3 200 mg/L。SVI 降至 42 mL/g, AS 的含磷量为 25.93 mg/g, 颗粒化培养后增长了 232.7%, 达 86.27 mg/g, AGS 有更高的磷回收价值。



(a) 形态变化



(b) 粒径变化

图 3 污泥培养过程中形态变化及粒径分布

Fig. 3 Morphological changes and particle size distribution during sludge cultivation

2.2 污泥的菌群结构解析

2.2.1 菌群结构门水平的差异

污泥的菌群结构解析结果如图 4 所示。由图 4(a) 可知,在 AS 中,优势菌门为变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、骸骨细菌门(*Patescibacteria*),丰度分别为 33.85%、21.04%、10.78%、9.44%、7.42%。而黏球菌门(*Myxococcota*)和浮霉菌门(*Planctomycetes*)丰度较低,分别为 3.84%、2.95%。

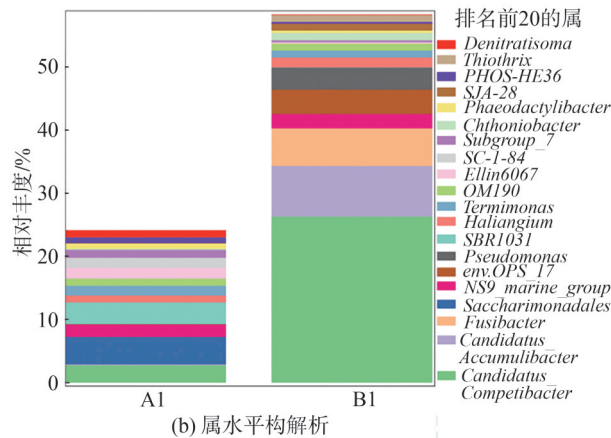
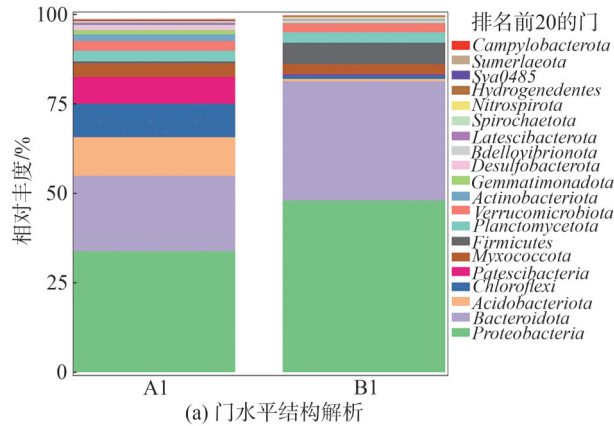


图 4 群落结构解析

Fig. 4 Analysis of community structure

AGS 稳定形成后,变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)丰度较接种活性污泥大幅提高,分别为 48.08%、33.26%。变形菌门(*Proteobacteria*)被认为是 AGS 污泥系统中常见的主要菌门^[20],能通过分泌 EPS 促进絮状污泥凝聚,在污泥颗粒化过程起着重要作用^[21]。

颗粒污泥中的绿弯菌门(*Chloroflexi*)降至 1.1%,而酸杆菌门(*Acidobacteriota*)、骸骨细菌门(*Patescibacteria*)在培养过程中被淘汰。Bovio-Winkler 等^[22]发现 *Chloroflexi* 在厌氧系统中具有很强的降解碳化合物和构建絮凝体或造粒功能,该系统中 *Chloroflexi* 丰度

有所减少但没有被淘汰,*Chloroflexi* 能够在厌氧和好氧反应器中形成小污泥颗粒和颗粒骨架^[23-24],推测其可能是本实验污泥颗粒化的初始框架^[25]。此外,在颗粒污泥体系中,厚壁菌门(*Firmicutes*)由极低的丰度增长至 6.06%,该菌门往往可以抵抗脱水和极端环境,在颗粒污泥中经常被发现有优势菌种^[26-27],这可能是 AGS 结构紧凑、耐冲击的原因之一。

2.2.2 菌群结构属水平的差异解析

对 AS 和 AGS 中属水平菌落进行解析如图 4(b) 所示,*Candidatus_Cometibacter* 聚糖菌丰度在 AS 中的丰度仅占 2.72%,而颗粒污泥中增长为最优势菌属,占 23.33%。*Candidatus_Cometibacte* 作为一种生长缓慢的微生物,在 SBR 反应器中有优势丰度,使得系统具有较强的细胞内源储存能力,这也解释了为何该反应器污染物去除率较高^[28]。AGS 能够上调糖原合成和反硝化相关的代谢^[29],主要是因为 *Candidatus_Cometibacte* 能在厌氧阶段吸收挥发性脂肪酸(VFAs)并将其储存为 PHAs,在好氧阶段氧化 PHAs,合成糖原^[30]。

传统聚磷菌 *Candidatus_Accumulibacter* 的丰度从极低增至 8.13%,与 AGS 培养过程中 TP 去除率不断增加相对应。在厌氧条件下,*Candidatus_Accumulibacter* 利用细胞内多磷酸盐水解产生的能量,迅速消耗易于生物降解的有机化合物,并将其储存为细胞内聚合物;在有氧条件下或在替代电子受体(硝酸盐或亚硝酸盐)存在的情况下,利用在厌氧条件下积累的细胞内碳和能量源吸收正磷酸盐并合成细胞内多磷酸盐^[31],它们对于磷的代谢量明显超过其他常规细菌,因此能够从废水中去除磷^[32]。Tian 等^[33]在 EBPR 工艺低温运行中发现,*Candidatus_Accumulibacter* 使器内具有高水平的胞外多糖,产有大量源自生物物质的古洛糖醛酸-古洛糖醛酸(GG)嵌段,这种特性有利于污泥造粒,增强所形成 AGS 的机械强度,促进固液分离,有助于系统稳定运行。

2.3 污泥的胞外聚合物

2.3.1 EPS 各组分含量

接种污泥和颗粒污泥的胞外聚合物 SEM 图及各组分含量如图 5(a)、(b) 所示。由图 5(a)、(b) 可知,两类污泥的 EPS 的形貌有明显差异:AS-EPS 结构松散,脉络清晰,孔隙较多;AGS-EPS 结构致密、均匀,认为是其多糖含量的增多,使 AGS-EPS 具有相对较强的黏性,从而形成致密的堆积体。由图 5(c) 可知,AS-EPS 含量为 79.18 mg/g VSS,PS、PN、DNA 浓度分别为 18.08、46.65、14.70 mg/g VSS。AGS-EPS 总量增至 133.63 mg/g VSS,PS、PN、DNA 浓度分别为 48.21、62.07、23.34 mg/g VSS。

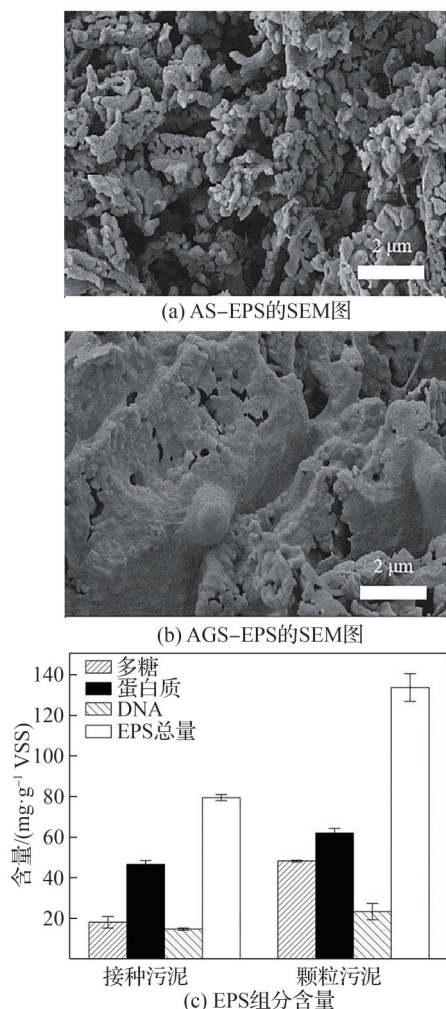


图 5 接种污泥和颗粒污泥的胞外聚合物 SEM 图及各组分含量

Fig. 5 SEM images of AS-EPS and AGS-EPS and content of each component

间歇曝气导致短时间内的好氧与厌氧环境快速改变,因此 AGS-EPS 分泌量显著增加,以抵抗环境不利变化^[34]。整个驯化培养过程胞外聚合物中的多糖含量从 22.83% 增至 36.01%,EPS 中的多糖可黏结絮体,促进污泥颗粒化。内部结构发生的重大变化,可以由上述的微生物多样性分析进行解释,聚糖菌 *Candidatus_Competibacter* 和聚磷菌 *Candidatus_Accumulibacter* 在整个培养过程中的代谢起了重要作用。组分分析结果表明,蛋白质(PN)含量始终高于多糖(PS)含量,较高的 PN/PS 通过改善微生物表面的疏水性,降低污泥表面电负性能够促进生物膜的形成及结构稳定^[35]。培养过程 PN/PS 值由 AS 的 2.58 降至 AGS 的 1.29,较低的 PN/PS 会对 AGS 的稳定造成不利影响,但这一结果与刘前进等^[36]对于 AGS 培养成功后 PN/PS 为 1.57 相接近,本实验出水稳定且指标去除率均较高,证明颗粒污泥培养状况良好。AS 的 PN/PS 值较高,经调查该污水厂承接多个食品工厂的出水,进水 COD

浓度约为 450 mg/L,高于实验模拟废水,证明 AS 原始的代谢环境具有较高的有机物浓度,因此 AS 的 PN/PS 值高于 AGS 是合理的。经过 100 d 的培养,随着原始胞外蛋白被代谢、稀释、排出,在污泥细菌的作用下最终出现蛋白质略高于多糖的情况,形成稳定的 AGS。

2.3.2 EPS 的 3D-EEM 分析

AGS-EPS 和 AS-EPS 的 EPS 的 3 维荧光光谱如图 6 所示。该图谱有 3 个明显荧光峰:A(E_x 和 E_m 分别为 260~280 nm、320~380 nm)、B(E_x 和 E_m 分别为 220~240 nm、320~350 nm)和 C(E_x 和 E_m 分别为 220~240 nm、290~320 nm)。两类污泥 EPS 的 3 维荧光峰基本相似,其中,荧光峰 A 属于酪氨酸类蛋白质,是 AGS 形成的重要成分,与微生物活性成正相关^[37],对于促进絮状污泥颗粒化具有积极作用;峰荧光峰 B 属于色氨酸类蛋白质,为疏水性物质,其与 EPS 中芳环氨基酸结构的共同作用对抗应激和蛋白质合成调节有重要作用^[38]。酪氨酸类和色氨酸类蛋白质均属于溶解性微生物代谢产物,AGS-EPS 的这两个荧光峰强均强于 AS-EPS,且出现新的荧光峰 C 代表芳香族蛋白质,说明驯化过程细胞分泌的蛋白质分解溶解性降低,更加有利于生物膜中微生物细胞凝聚。所以 3D-EEM 图谱分析结果表明 AGS 有更高质量的蛋白质。

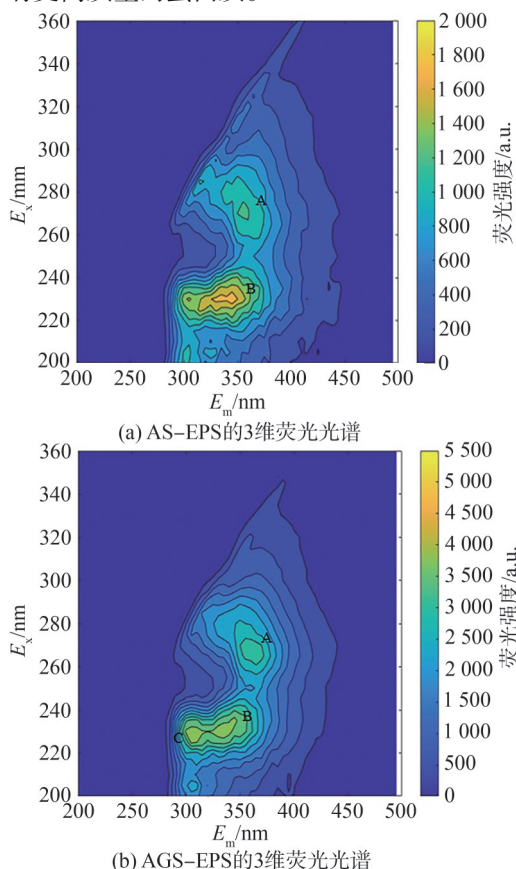


图 6 AS-EPS 和 AGS-EPS 的 3 维荧光光谱
Fig. 6 3D-EEM of AS-EPS and AGS-EPS

2.3.3 EPS 的 FTIR 及蛋白质二级结构分析

通过傅里叶红外光谱对二类 EPS 进行定性分析,结果如图 7 所示。两种污泥的 EPS 样品均在波长 $3\ 420\text{ cm}^{-1}$ 左右存在宽峰,主要是由醇酚、糖类中的一 OH 和蛋白质中的 N—H 伸缩振动所引起的^[39]; $2\ 940\text{ cm}^{-1}$ 左右的非对称峰是由烷烃类有机物和多糖中的一 CH_2 非对称伸缩振动所致^[40]。 $1\ 385\sim 1\ 400\text{ cm}^{-1}$ 的峰是糖醛酸中的羧酸盐基团^[41]。 $900\sim 1\ 160\text{ cm}^{-1}$ 的峰与多糖中的 C—O、C—C 的伸缩振动有关^[42],这反映了 AGS-EPS 中多糖的种类多于 AS,可能是聚糖菌在颗粒化过程中产生了大量的其他糖原,致使 AGS-EPS 的结构产生变化。波长 $<900\text{ cm}^{-1}$ 的区域为指纹区域,证明了硫、磷基团的存在。傅里叶红外光谱分析证明二类 EPS 都具有大量的官能团,总体结构相似,而多糖种类存在差异。

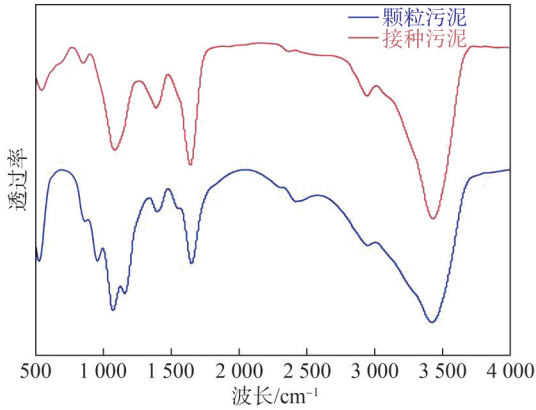
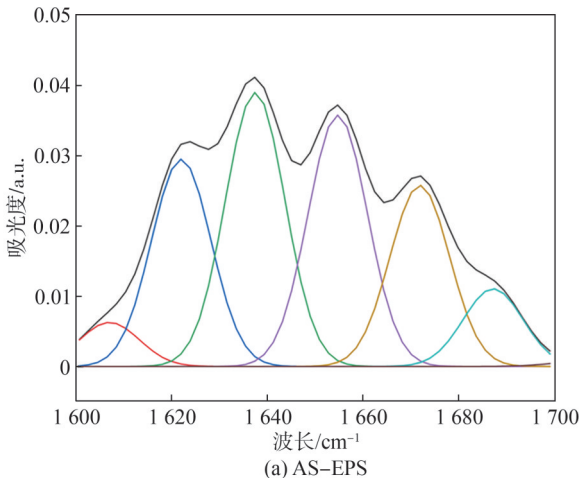
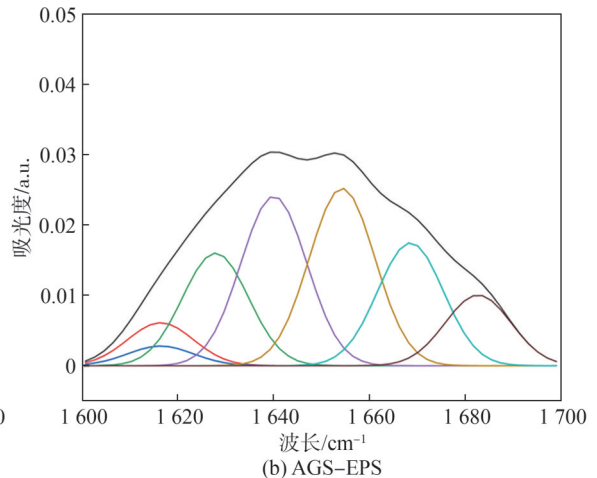


图 7 接种污泥和颗粒污泥胞外聚合物的 FTIR 图谱
Fig. 7 FTIR profiles of AS-EPS and AGS-EPS

蛋白质二级结构影响微生物的聚集性能、吸附性能和生物膜的形成过程^[43],酰胺 I ($1\ 600\sim 1\ 700\text{ cm}^{-1}$)、酰胺 II ($1\ 500\sim 1\ 600\text{ cm}^{-1}$) 和酰胺 III ($1\ 200\sim 1\ 300\text{ cm}^{-1}$) 处波长主要与蛋白质变化相关,FTIR 图谱显示酰胺 I 可测得的信号最强,因该波段与细胞聚集性高度相



(a) AS-EPS



(b) AGS-EPS

图 8 蛋白质二级结构分峰

Fig. 8 Protein secondary structure bifurcation

关,且两类 EPS 的红外光谱差异不明显,所以通过拟合酰胺 I 的已知峰获得蛋白质二级结构。酰胺 I 区包括 β -折叠 (β -sheet, $1\ 600\sim 1\ 636\text{ cm}^{-1}$)、无规则卷曲 (Random coil, $1\ 636\sim 1\ 645\text{ cm}^{-1}$)、 α -螺旋 (α -helix, $1\ 646\sim 1\ 660\text{ cm}^{-1}$)、 β -转角 (β -Turn helix, $1\ 660\sim 1\ 680\text{ cm}^{-1}$)、反向 β -折叠 (Antiparallel β -sheet, $1\ 680\sim 1\ 700\text{ cm}^{-1}$) 5 种结构^[44]。拟合结果见表 3、图 8。有利结构 β -sheet 在两类 EPS 蛋白质二级结构中均含量均最高,是一种能够提供较多疏水位点的扭曲片状结构,可以促进疏水位点的暴露以及细胞间的聚集, β -折叠占比从 24.19% 增长至 30.53%,细胞的聚集性有所强化; α -螺旋被认为具有一定的刚性,是决定污泥絮凝性的关键结构^[45],颗粒化后 EPS 中该结构含量占比有少量增长,表明其机械强度略微有些增长; β -转角也有微量增长,更有利于吸附污水中的重金属等污染物。AS-EPS 和 AGS-EPS 的不利结构(无规则卷曲、反向 β -折叠)分别占比 34.20%、27.03%,它们对污泥的聚集起负面作用^[46]。两组样品中 α -螺旋/ (β -折叠+无规则卷曲) 的比值分别为 0.48、0.50,这个比值常被用于分析疏水基团的结构,比值越高表示结构越致密,相对致密的蛋白质有助于电子传递并保护微生物免受损害^[47]。以上结果表明,两类 EPS 结构相似,但蛋白质二级结构含量百分比证明,颗粒化培养确实能够增强污泥细胞的聚集性、机械强度、蛋白质致密程度。

表 3 蛋白质二级结构的含量变化

Tab. 3 Changes in the content of protein secondary structure

EPS 种类	β -折叠	无规则卷曲	α -螺旋	β -转角	反向 β -折叠
AS-EPS	24.19	26.36	24.18	17.43	7.84
AGS-EPS	30.53	19.92	25.07	18.51	7.11

2.4 EPS对Cd²⁺吸附实验

2.4.1 吸附动力学

通过吸附实验拟合拟 1 级、拟 2 级动力学模型,研究 EPS 对 Cd²⁺ 的吸附机理。

拟 1 级动力学模型为:

$$\lg(q_e - q_t) = \lg q_e - \frac{k_1}{2.303} t \quad (1)$$

拟 2 级动力学模型为:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad (2)$$

式(1)~(2)中: t 为吸附时间,min; q_e 和 q_t 分别为平衡时和 t 时的吸附量,mg/g; k_1 为拟 1 级速率常数,min⁻¹; k_2 为拟 2 级速率常数,g/mg·min。

表 4 EPS 吸附 Cd²⁺ 的动力学模型参数

Tab. 4 Kinetic modeling parameters of Cd²⁺ adsorption by EPS

EPS 种类	拟 1 级动力学模型				拟 2 级动力学模型		
	$q_{e,exp}/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	k_1/min^{-1}	$q_{e,cal}/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	R_1^2	$q_{e,cal}/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$k_2/(\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1})$	R_2^2
AS-EPS	336.79	0.035 42	414.74	0.986 1	413.23	6.00×10^{-5}	0.978 8
AGS-EPS	340.01	0.017 08	169.95	0.850 9	421.94	1.77×10^{-4}	0.995 6

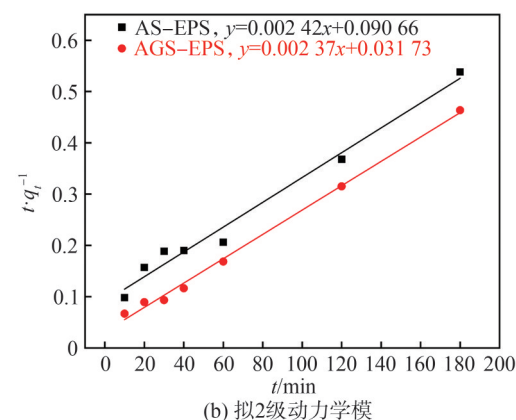
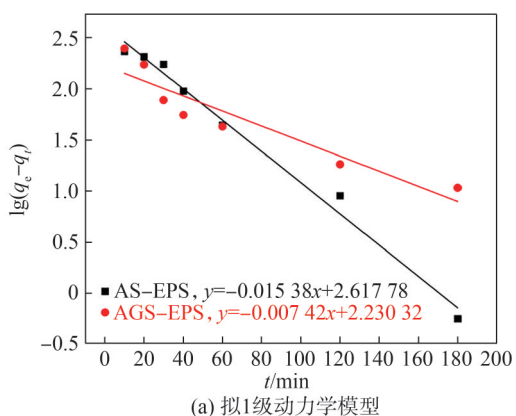


图 9 EPS 吸附 Cd²⁺ 动力学模型研究

Fig. 9 Kinetic modeling study of Cd²⁺ adsorption by EPS

2.4.2 吸附热力学

平衡吸附容量是从吸附等温线中可得到的重要参数,分别采用 Langmuir 模型(式(3))和 Freundlich

两种动力学模型拟合结果见表 4、图 9。表 4 中, $q_{e,exp}$ 和 $q_{e,cal}$ 分别为实验和计算所得平衡吸附容量。对于 AS-EPS,拟 1、2 级动力学模型都可以较好地拟合实验数据($R_1^2, R_2^2 > 0.95$),拟 1 级动力学模型效果略好,说明 AS-EPS 对于 Cd²⁺ 的吸附同时存在物理、化学吸附。与 AGS-EPS 相比,AS-EPS 对 Cd²⁺ 的物理吸附效果强于 AGS-EPS,这可能是因为 AS-EPS 的结构孔洞较多(图 5(a)),相比之下易形成物理吸附。对于 AGS-EPS,拟 2 级动力学模型的 $R_2^2 > 0.99$,该实验数据能够较好地用拟 2 级动力学模型来拟合,说明 AGS-EPS 对于 Cd²⁺ 的吸附过程属于化学吸附,证明在吸附过程中,AGS-EPS 内官能团积极地与 Cd²⁺ 的进行离子交换^[18]。AGS-EPS 处理污水中的 Cd²⁺ 具有更强的生物化学属性。

模型(式(4))对 EPS 吸附 Cd²⁺ 实验数据进行拟合:

$$q_e = \frac{K_L q_i C_e}{1 + K_L C_e} \quad (3)$$

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (4)$$

式(3)~(4)中: C_e 为平衡时 Cd²⁺ 浓度,mg/L; K_L 为热力学 Langmuir 常数,L/g; K_F 为 Freundlich 常数,mg/g; n 为与吸附容量和吸附速率有关的系数。

两种热力学模型拟合结果见表 5、图 10。由表 5 及图 10 可知:1)两种 EPS 拟合结果较为相似且相关系数 R_L^2 均大于 R_F^2 ,说明与 Freundlich 相比,Langmuir 模型能够更全面准确地描述两种 EPS 吸附 Cd²⁺ 过程;2) Langmuir 模型计算的吸附量更接近真实吸附量,也说明 EPS 对于 Cd²⁺ 的吸附过程为均相单分子层吸附;3) AGS-EPS 对于 Cd²⁺ 的吸附能力强于 AS-EPS,二者理论最大吸附容量(Q_{max})分别为 617.09、542.90 mg/g;4) Langmuir 模型拟合计算得到的 K_L 能够表示吸附亲和力^[48],两类 EPS 的 K_L 均在 0~1 之间,表明有利于吸附进行。

表 5 EPS 吸附 Cd²⁺ 的热力学模型参数

Tab. 5 Thermodynamic modeling parameters of Cd²⁺ adsorption by EPS

EPS 种类	Langmuir 等温吸附模型			Freundlich 等温吸附模型		
	$Q_{max}/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$K_L/(\text{L}\cdot\text{mg}^{-1})$	R_L^2	$K_F/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$	$1/n$	R_F^2
AS-EPS	542.90	0.051 96	0.939 76	73.69	0.464 57	0.833 92
AGS-EPS	617.09	0.046 64	0.953 39	71.82	0.497 85	0.873 49

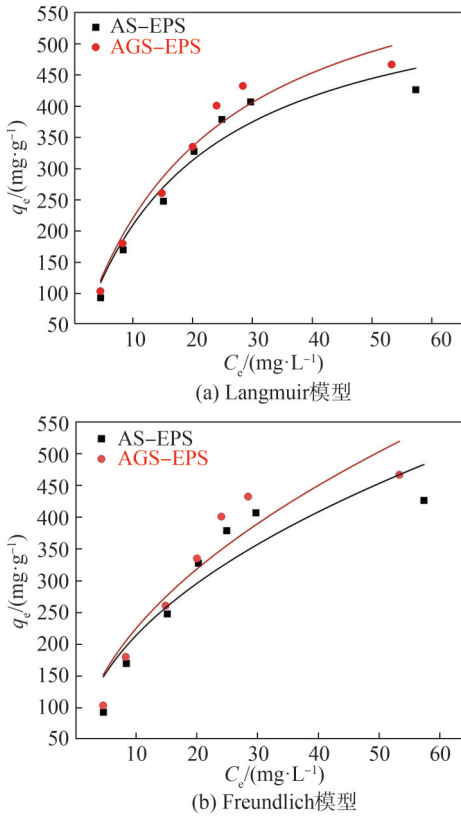


图 10 EPS 吸附 Cd²⁺ 热力学模型研究

Fig. 10 Thermodynamic modeling of Cd²⁺ adsorption by EPS

3 结 论

1) 在絮状活性污泥驯化成颗粒污泥的完整过程中, 在高磷环境中增加有机质含量, 能够增强污泥的除磷性能, 对于污泥颗粒化的培养有积极作用。

2) 16s rRNA 基因高通量测序结果表明: 门水平中, *Chloroflexi* 可能是颗粒污泥的初始颗粒框架, *Proteobacteria* 是污泥颗粒化的核心菌门; 属水平中, 聚糖菌 *Candidatus_Cometibacter* 和聚磷菌 *Candidatus_Accumulibacter* 是污泥颗粒化的核心菌群, *Candidatus_Cometibacter* 能够将 VFAs 储存为 PHAs, 在好氧阶段氧化 PHAs, 合成糖原; *Candidatus_Accumulibacter* 厌氧条件下积累的细胞内碳和能量源吸收正磷酸盐并合成细胞内多磷酸盐, 两种菌属的优势增殖加快了污泥化进程。

3) 研究两种污泥的胞外聚合物, EPS 总含量从 79.18 mg/g VSS 增长至 133.63 mg/g VSS。3D-EEM 证实 AGS-EPS 含有更高水平的蛋白质, 驯化过程细胞分泌的蛋白质分解溶解性降低, 更加有利于生物膜中微生物细胞凝聚。FTIR 分析表明两类 EPS 均含有醇酚、糖类中的—OH、—CH、C—O、C—C, 糖醛酸中的羧酸盐基团, 蛋白质中的 N—H, 烷烃类有机物, 而 AGS-

EPS 具有比 AS-EPS 更多的多糖种类。蛋白质二级结构分析结果表明, 培养过程 β -折叠从占比 24.19% 增长至 30.53%, 不利结构(无规则卷曲、反向 β -折叠)含量从 34.20% 降低至 27.03%, 证明污泥细胞的聚集性有所强化, β -转角也有微量增长, 更有利于吸附污水中的重金属等污染物。

4) 吸附动力学结果分析表明, AS-EPS 的吸附过程则同时存在物理和化学吸附, AGS-EPS 对 Cd²⁺ 吸附以化学吸附为主。吸附热力学结果分析表明, 两种 EPS 对于 Cd²⁺ 的吸附过程为均相单分子层吸附, 而 AGS-EPS 的吸附能力强于 AS-EPS, 理论最大吸附容量为 617.09 mg/g。基于以上结果, 认为 AGS-EPS 对于污水中重金属的吸附具有更大潜力。

参考文献:

- [1] Li Yitao, Bi Wenwu, Cai Wei, et al. Research progress on interaction mechanism between aerobic granular sludge and heavy metal ions[J]. Environmental Engineering, 2023, 41(S1):248–252. [李毅涛, 毕文武, 蔡伟, 等. 好氧颗粒污泥与重金属离子的互作机制研究进展[J]. 环境工程, 2023, 41(S1):248–252.]
- [2] Xu Ping, Zhan Xiaojian, Li Fengxiang. Research progress on extracellular polymeric substances in aerobic granular sludge and their applications[J]. Industrial Water Treatment, 2023, 43(12):36–45. [徐萍, 占晓建, 李凤祥. 好氧颗粒污泥中的胞外聚合物及其应用的研究进展[J]. 工业水处理, 2023, 43(12):36–45.]
- [3] Pronk M, Giesen A, Thompson A, et al. Aerobic granular biomass technology: Advancements in design, applications and further developments[J]. Water Practice and Technology, 2017, 12(4):987–996.
- [4] Cao Jianpeng, Zhu Jingping. Effect of different loading conditions on aerobic sludge granulation[J]. Technology of Water Treatment, 2024, 50(4):117–123. [曹建鹏, 朱静平. 不同负荷条件对好氧污泥颗粒化的影响[J]. 水处理技术, 2024, 50(4):117–123.]
- [5] Guo Shuo, Gao Dawen, Liu Lin, et al. Effect of phosphorus deficiency stress on aerobic sludge granulation system[J]. Journal of AgroEnvironment Science, 2016, 35(11):2202–2209. [郭硕, 高大文, 刘琳, 等. 磷素缺乏对好氧污泥颗粒化系统的胁迫影响[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(11):2202–2209.]
- [6] Yongming Wu, Jinbao Wan, Jihai Xiong, et al. Research progress and effect of free ammonia on the biological treatment of ammonium-containing wastewater[J]. Industrial Water Treatment, 2010, 30(9):1–4. [吴永明, 王金保, 熊继海, 等. 游离氨在高含氮废水生物法处理中的作用及其研究进展[J]. 工业水处理, 2010, 30(9):1–4.]

- [7] Zhang Xiaolei. Effect of Influent Phosphate on the granulation process of aerobic sludge[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018. [张小雷. 进水磷酸盐对好氧污泥颗粒化过程的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018.]
- [8] Wang Randeng. Formation and characteristics of the granules formed in biological phosphorus removal SBR system [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2015. [王然登. SBR生物除磷系统中颗粒污泥的形成及其特性研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015.]
- [9] Lei Yingjie, Ai Cuiling, Zhang Guochun. Effect of EPS content on activated sludge reduction in process of predation by *T. tubifex* [J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2017, 100: 012063.
- [10] Zhao Qin, Bian Wei, Li Jun, et al. Characteristics of biofilm during the transition process of complete nitrification and partial nitrification [J]. Environmental Science, 2018, 39(3): 1278–1285. [赵青, 卞伟, 李军, 等. DO/NH₄-N实现短程硝化过程中生物膜特性[J]. 环境科学, 2018, 39(3): 1278–1285.]
- [11] Kim N K, Lin R, Bhattacharyya D, et al. Insight on how biopolymers recovered from aerobic granular wastewater sludge can reduce the flammability of synthetic polymers [J]. Science of the Total Environment, 2022, 805: 150434.
- [12] Zeng Rungen. Extraction and application of alginate-like extracellular polymers (ALE) from conventional activated sludge [D]. Beijing: Beijing University of Civil Engineering and Architecture, 2023. [曾润根. 普通活性污泥类藻酸盐(ALE)提取与应用[D]. 北京: 北京建筑大学, 2023.]
- [13] Siddharth T, Sridhar P, Vinila V, et al. Environmental applications of microbial extracellular polymeric substance (EPS): A review [J]. Journal of Environmental Management, 2021, 287: 112307.
- [14] Wei Liangliang, Li Jianju, Xue Mao, et al. Adsorption behaviors of Cu²⁺, Zn²⁺ and Cd²⁺ onto proteins, humic acid, and polysaccharides extracted from sludge EPS: Sorption properties and mechanisms [J]. Bioresource Technology, 2019, 291: 121868.
- [15] Fei Weifan, Yang Ying, Wang Di. Research on the Adsorption of Cu²⁺ and Cd²⁺ by extracellular polymers based on mathematica models [J]. Environmental Science & Technology, 2024, 47(2): 1–8. [费维繁, 杨英, 王娣, 等. 基于数学模型对胞外聚合物吸附Cu²⁺、Cd²⁺的研究[J]. 环境科学与技术, 2024, 47(2): 1–8.]
- [16] Guo Huan, Xu Pingping, Zhao Yueqin. Sludge characteristics and nutrient removal of boiler wastewater treated with aerobic granular sludge [J]. Technology of Water Treatment, 2024, 50(3): 113–116. [郭欢, 徐平平, 赵月琴. 好氧颗粒污泥处理锅炉废水污泥特征及营养盐去除规律探究[J]. 水处理技术, 2024, 50(3): 113–116.]
- [17] 王圣瑞. 湖泊沉积物-水界面过程[M]. 北京: 科学出版社, 2014.
- [18] Yuan Yujie. Efficient extraction of extracellular polymers from activated sludge and their adsorption on Cu²⁺ and Pb²⁺ [D]. Heifei: Anhui Jianzhu University, 2022. [袁宇杰. 活性污泥胞外聚合物的高效提取及其对Cu²⁺、Pb²⁺吸附研究[D]. 合肥: 安徽建筑大学, 2022.]
- [19] Li Jufeng, Huang Zimeng, Liang Jiahao, et al. Performances and microbial characteristics of aerobic granular sludge treating long chain Di-carboxylic acids wastewater [J]. Technology of Water Treatment, 2024, 50(5): 107–112. [李巨峰, 黄子萌, 梁家豪, 等. 好氧颗粒污泥处理长链二元酸发酵废水性能及微生物特征研究[J]. 水处理技术, 2024, 50(5): 107–112.]
- [20] Zou Jinte, Pan Jiyang, Wu Shuyun, et al. Rapid control of activated sludge bulking and simultaneous acceleration of aerobic granulation by adding intact aerobic granular sludge [J]. Science of the Total Environment, 2019, 674: 105–113.
- [21] Liu Jun, Li Jun, Wang Xiaodong, et al. Rapid aerobic granulation in an SBR treating piggery wastewater by seeding sludge from a municipal WWTP [J]. Journal of Environmental Sciences, 2017, 51: 332–341.
- [22] Bovio-Winkler P, Guerrero L D, Erijman L, et al. Genome-centric metagenomic insights into the role of Chloroflexi in anammox, activated sludge and methanogenic reactors [J]. BMC Microbiology, 2023, 23(1): 45.
- [23] Chu Zhaorui, Wang Ke, Li Xiangkun, et al. Microbial characterization of aggregates within a one-stage nitrification-anammox system using high-throughput amplicon sequencing [J]. Chemical Engineering Journal, 2015, 262: 41–48.
- [24] Xia Yu, Wang Yubo, Wang Yi, et al. Cellular adhesiveness and cellulolytic capacity in Anaerolineae revealed by omics-based genome interpretation. [J]. Biotechnology for biofuels, 2016, 9(1): 111.
- [25] Chen Xi, Hu Bin, Zhang Ruifeng, et al. Effect of superficial gas velocity on the granulation and metabolic characteristics of phosphorus removal sludge [J]. China Environmental Science, 2024, 44(2): 686–698. [陈希, 胡彬, 张瑞峰, 等. 表观气速对除磷污泥颗粒化性能及代谢特征的影响[J]. 中国环境科学, 2024, 44(2): 686–698.]
- [26] Xing Yajuan, Xie Zuofu, Shan Shengdao, et al. Longitudinal distribution characteristics of micro-organism in UMIC reactor treating papermaking wastewater [J]. China Biogas, 2019, 37(1): 22–26. [邢雅娟, 谢作甫, 单胜道, 等. 造纸废水UMIC反应器中微生物的纵向分布特性[J]. 中国沼气, 2019, 37(1): 22–26.]
- [27] Xie Yuelin. Environmental adaptability of microbial fuel

- cell coupled aerobic granular sludge system under different matrix carbon sources[D]. Nanchang: Nanchang University, 2023. [谢岳林. 微生物燃料电池耦合好氧颗粒污泥系统在不同基质碳源下对环境适应性的探究[D]. 南昌: 南昌大学, 2023.]
- [28] Ma Jingwei, Ji Yaning, Fu Zhidong, et al. Performance of an aerobic/oxic/anoxic simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal system overwhelmingly dominated by *Candidatus Competibacter*: Effect of aeration time[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 384: 129312.
- [29] Geng Mingyue, You Shijie, Guo Haijuan, et al. Response of aerobic granular sludge to loading shock: Performance and proteomic study[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 444: 136458.
- [30] McIlroy S J, Albertsen M, Andresen E K, et al. 'Candidatus Competibacter'-lineage genomes retrieved from metagenomes reveal functional metabolic diversity[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(3): 613–624.
- [31] Dorofeev A, Pelevina A, Nikolaev Y, et al. Oxygen uptake rate as an indicator of the substrates utilized by *Candidatus Accumulibacter*[J]. *Water*, 2023, 15(20): 3657.
- [32] Welles L, Abbas B, Sorokin D Y, et al. Metabolic response of "Candidatus Accumulibacter phosphatis" clade II C to changes in influent P/C ratio[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 7: 2121.
- [33] Tian W D, Ma C, Lin Y M, et al. Enrichment and characterization of a psychrophilic 'Candidatus Accumulibacter phosphatis' culture[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 124: 267–275.
- [34] Zeng Jie, Gao Junmin, Chen Youpeng, et al. Composition and aggregation of extracellular polymeric substances (EPS) in hyperhaline and municipal wastewater treatment plants[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 26721.
- [35] Sriwiriyarat T, Nuchlek P. Effects of pH on extracellular polymeric substances compositions of biofilm in Integrated Fixed Film Activated Sludge process[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2022, 19(1): 73–84.
- [36] Liu Qianjin, Liu Lifan. Effect of protein in extra-cellular polymeric substance on aerobic sludge granulation[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2021, 15(3): 929–938. [刘前进, 刘立凡. 胞外聚合物中蛋白质对好氧污泥颗粒化的影响[J]. *环境工程学报*, 2021, 15(3): 929–938.]
- [37] Zhang Teng, Cao Jiashun, Zhu Qirong, et al. Revealing the characteristics and formation mechanisms of partial denitrification granular sludge for efficient nitrite accumulation driven by glycerol[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 428: 131195.
- [38] Xu Weiyi, Huang Kaiwen, Liu Chong, et al. Characterization of extracellular polymer substances and acyl-homoserine lactones of sulfur-based autotrophic denitrification microbial community under high nitrate loading [J]. *China Environmental Science*, 2024, 44(8): 4314–4325. [许炜怡, 黄凯文, 刘崇, 等. 高氮负荷下硫自养反硝化菌群的胞外聚合物和信号分子特征[J]. *中国环境科学*, 2024, 44(8): 4314–4325.]
- [39] Zhou Yutong. Study on adsorption behavior of activated sludge extracellular polymer for heavy metals[D]. Hefei: Anhui Jianzhu University, 2023. [周语桐. 活性污泥胞外聚合物对重金属吸附行为研究[D]. 合肥: 安徽建筑大学, 2023.]
- [40] Li Ying, Liu Qiang, Chen Wei, et al. The FTIR study on the response of extracellular polymer substances to sludge retention time[J]. *Industrial Water Treatment*, 2020, 40(11): 28–32. [李莹, 刘强, 陈卫, 等. 胞外聚合物响应污泥龄的傅里叶变换红外研究[J]. *工业水处理*, 2020, 40(11): 28–32.]
- [41] Guibaud G, Comte S, Bordas F, et al. Comparison of the complexation potential of extracellular polymeric substances (EPS), extracted from activated sludges and produced by pure bacteria strains, for cadmium, lead and nickel[J]. *Chemosphere*, 2005, 59(5): 629–638.
- [42] Barth A, Zscherp C. What vibrations tell about proteins[J]. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 2002, 35(4): 369–430.
- [43] Wang Weigang, Xie Hongchao, Wang Han, et al. Organic compounds evolution and sludge properties variation along partial nitrification and subsequent anammox processes treating reject water[J]. *Water Research*, 2020, 184: 116197.
- [44] Long Guohui, Ji Yuan, Pan Hongbin, et al. Characterization of thermal denaturation structure and morphology of soy glycinin by FTIR and SEM[J]. *International Journal of Food Properties*, 2015, 18(4): 763–774.
- [45] Yang Fan, Qu Jianwei, Huang Xiaoxiao, et al. Phosphorus deficiency leads to the loosening of activated sludge: The role of exopolysaccharides in aggregation[J]. *Chemosphere*, 2022, 290: 133385.
- [46] Liao B Q, Allen D G, Leppard G G, et al. Interparticle interactions affecting the stability of sludge flocs[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2002, 249(2): 372–380.
- [47] Sang Wenjiao, Li Xiaoyang, Feng Yijie, et al. Improvement of the sludge flocculation dewatering efficient by electromagnetic wave loading: Research based on removal of bound water[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(3): 3413–3427.
- [48] Zhou Gang, Zhang Xinyuan, Li Shuailong, et al. Study on the characteristics of Cd²⁺ adsorption of mineral process-

ing wastewater by micro-organisms supported by hydro-thermal carbon[J].2025,53(4):414–433.[周刚,张欣远,李帅

龙,等.水热炭负载原位微生物吸附选矿废水 Cd²⁺特性研究[J].煤炭科学技术,2025,53(4):414–433.]

Culture of Aerobic Granular Sludge and Analysis and Application of its Extracellular Polymers

ZHENG Yihan^{1,2}, YANG Ying^{1,2*}, LI Weihua^{1,2}, FENG Qingyuan^{1,2}, ZHU Manli^{1,2}, CHEN Huijing^{1,2}, YANG Tingting^{1,2}

(1.School of Environmental and Energy Engineering, Anhui Jianzhu University, Hefei 230000, China;

2.Anhui Provincial Key Laboratory of Water Pollution Control and Wastewater Recycling, Hefei 230000, China)

Abstract:

Objective Due to the advancement of industry and the improvement of residents' living standards, the urban sewage treatment load continues to increase, making it urgent to develop cost-effective water treatment technologies. In recent years, aerobic granular sludge (AGS) has been increasingly applied in practical projects because of its high stability and good pollutant removal efficiency. This study examines the rapid cultivation of stable AGS, records the changes in appearance and morphology of inoculated activated sludge floc (AS) and AGS, and reveals, at the microscopic level, the reasons why the structure and stability of AGS are superior to those of AS. In addition, this study investigates the adsorption mechanism of Cd²⁺ by the extracellular polymeric substances (EPS) of AGS from a mechanical perspective and verifies whether AGS–EPS exhibits a higher pollutant removal capacity.

Methods The sludge was collected from the secondary sedimentation tank of a wastewater treatment plant in Hefei and was pretreated to obtain cleaner inoculating sludge. It was divided into two portions: one was used for research, and the other was concentrated and placed into the SBR reactor. The process of granular sludge cultivation was documented, including morphological transformations and variations in key indicators. The microbial community structure was analyzed through high-throughput sequencing of 16 s rRNA genes. Changes in EPS content before and after sludge granulation were determined, and the EPS was characterized using Three-Dimensional Excitation Emission Matrix Fluorescence Spectroscopy (3D-EEM) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) to analyze the structural differences between AS and AGS. At the mechanical level, kinetic and thermodynamic models were employed to fit the adsorption experiments of AS–EPS and AGS–EPS for Cd²⁺.

Results and Discussions During the domestication of AS into AGS, on the 85th day, the sludge morphology stabilized, and the sludge particle size increased from 31.59 to 442.72 μm. This experiment successfully produced phosphorus-rich granular sludge, with the phosphorus content of the sludge increasing from 25.93 to 86.27 mg/g. The results of 16 s rRNA gene high-throughput sequencing indicated that *Chloroflexi* served as the initial particle framework of the granular sludge, while *Proteobacteria* represented the core bacterial phylum responsible for sludge granulation. In addition, *Candidatus_Competibacter* and *Candidatus_Accumulibacter* were identified as the dominant bacterial genera involved in the sludge granulation process. Throughout the cultivation period, the EPS content increased from 79.18 mg/g VSS to 133.63 mg/g VSS. The 3D-EEM analysis confirmed that AGS–EPS contained a higher level of proteins, and the reduction in protein decomposition and solubilization by cells during the domestication process facilitated microbial cell aggregation within the biofilm. FTIR and protein secondary structure analyses revealed that both types of EPS contained alcohol phenols, —OH, —CH, C—O, C—C from sugars, carboxylate groups from uronic acids, N—H from proteins, and alkane-like organic compounds. However, AGS–EPS exhibited a more diverse composition of polysaccharides and a more stable cell structure. The granulation process altered the adsorption mechanism of AGS toward Cd²⁺. Adsorption kinetic studies demonstrated that the adsorption of Cd²⁺ by AS–EPS involved both physical and chemical adsorption, whereas the adsorption of Cd²⁺ by AGS–EPS was better described by the pseudo-second-order kinetic model, indicating stronger biochemical adsorption properties. Adsorption thermodynamic analyses indicated that the adsorption of Cd²⁺ by both types of EPS was best fitted by the Langmuir model, indicating a homogeneous monolayer adsorption process. The theoretical maximum adsorption capacity of AGS–EPS was higher than that of AS–EPS, at 617.09 and 542.90 mg/g, respectively.

Conclusions The experimental process demonstrated that increasing the COD content in a high-phosphorus environment enhanced the phosphorus removal performance of sludge and positively influenced the cultivation of granular sludge. In the comparison between AGS and AS, 3D-EEM analysis revealed that AGS exhibited a higher protein level, while FTIR indicated that both had similar functional groups; however, AGS contained more abundant polysaccharides. The secondary protein structure confirmed that AGS possessed stronger cell aggregation, greater mechanical strength, and higher protein compactness. The by-product of granular sludge cultivation, AGS–EPS, exhibited a stronger Cd²⁺ adsorption capacity, primarily through biochemical interactions, indicating that AGS holds greater potential in wastewater treatment applications.

Key words: aerobic granular sludge; extracellular polymers; heavy metal; microbial community; biosorbent

(编辑 陈 雪)

引用格式: Zheng Yihan, Yang Ying, Li Weihua, et al. Culture of aerobic granular sludge and analysis and application of its extracellular polymers[J]. Advanced Engineering Sciences, 2025, 57(6): 274–285. [郑逸涵, 杨英, 李卫华, 等. 好氧颗粒污泥的培养及其胞外聚合物的分析与应用[J]. 工程科学与技术, 2025, 57(6): 274–285.]