

# 污泥碱处理过程中的微生物细胞结构损伤

肖本益<sup>1</sup>, 张志渊<sup>2</sup>, 张晓红<sup>2</sup>, 孙冀垆<sup>2</sup>, 刘俊新<sup>1</sup>

(1. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2. 北京市城市排水集团小红门污水处理厂, 北京 100176)

**摘要:** 污泥预处理是污泥处理处置过程中的重要步骤, 本文以污泥碱处理为例, 研究了污泥碱处理过程中微生物细胞结构的损伤及其与污泥微生物细胞物质释放之间的关系。在污泥碱处理过程中, 微生物细胞结构-胞外聚合物 (EPS)、细胞壁、细胞膜和细胞核均会受到损伤。在碱处理过程中, 在 pH11.5-pH12.0 之间, EPS 损伤最快; 在 pH10.0-12.5 之间, 污泥微生物细胞壁和细胞膜的损伤速率最大; 而在 pH10.0-12.0 之间, 细胞核的损伤量最多。相关性统计分析表明, EPS、细胞壁和细胞膜的损伤与溶解性化学需氧量 (SCOD)、碳水化合物、蛋白质和总氮等物质的释放显著相关, 而细胞核的损伤仅与 SCOD、溶解性蛋白质和 TN 等物质的释放显著相关。

**关键词:** 污泥, 碱处理, 微生物细胞结构, 损伤

## Damage of microbial cell structures in the alkaline pretreatment of sewage sludge

Xiao Benyi<sup>1</sup>, Zhang Zhiyan, Zhang Xiaohong, Sun Jilu, Liu Junxin<sup>1</sup>

(1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. Xiaohongmen wastewater treatment plant, Beijing Drainage Group Co. Ltd., Beijing, 100176)

**Abstract:** Pretreatment is an important step in the process of sewage sludge treatment and disposal process. This paper studied the damages of microbial cell structures and their relationship with the release of cellular matters in the sludge pretreatment using alkaline pretreatment as the mode pretreatment. The damaged microbial cell structures include extracellular polymeric substances (EPS), cell wall, cell membrane and cell nucleus in the alkaline pretreatment of sewage sludge: the fast damage of EPS is at pH11.5-pH12.0; that of cell wall and cell membrane at pH10.0-pH12.5; while the most damage of cell nucleus is at pH10.0-pH12.0. The results of statistical analysis showed that the correlations between the damage of EPS, cell wall and cell membrane and the release of SCOD, carbohydrate, protein and total nitrogen were significant. However, the damage of cell nucleus was only significantly correlated with the release of SCOD, protein and total nitrogen.

**Keywords:** Alkaline pretreatment, damage, microbial cell structures, sewage sludge

### 1. 引言

污泥是污水处理生物过程中产生的一种重要有机副产物。由于污泥的处理处置费用占到污水处理厂总费用 20-60%, 因此日益增加的污泥已成为目前污水处理厂面临的一个重要问题<sup>[1,2]</sup>。在污泥的处理处置过程中, 污泥预处理是一种重要的过程, 例如在污泥厌氧消化、污泥制内碳源、污泥脱水等过程中均可能有预

处理过程存在<sup>[3-5]</sup>。由于微生物细胞是污泥的主要有机组分来源，微生物细胞物质在预处理过程中的释放对污泥的进一步处理十分重要<sup>[4]</sup>，而污泥预处理过程中，微生物细胞物质的释放与微生物细胞结构损伤程度直接相关。然而，目前对污泥预处理过程中微生物细胞物质的释放研究主要采用 SCOD、溶解性蛋白质、溶解性多糖等综合性参数，而很少关注微生物细胞结构的损伤及其程度。

因此，本研究以污泥碱处理为例，通过研究碱处理过程中污泥微生物细胞物质的释放和污泥微生物细胞结构的损伤，以了解两者之间的关系。

## 2. 材料与方法

### 2.1 试验污泥

试验用污泥取自北京市某市政污水处理厂的二沉池，污泥取得后，过 40 目筛，去除其中大颗粒物及杂质，然后重力浓缩到合适浓度，置于 4℃ 保存备用。

### 2.2 污泥碱处理及取样

向污泥中加入 6 M NaOH，将污泥的 pH 值逐步提高到 12.5 进行碱处理，并在加 NaOH 过程中取样分析，分析指标包括 SCOD、溶解性蛋白质、溶解性多糖、细胞结构（EPS、细胞壁、细胞膜和细胞核）等，取样点如表 1 所示。

表 1、污泥碱处理过程中的取样点

序号	取样点	序号	取样点
No1	原污泥 (pH 7.0)	No7	pH 12.0 稳定 5 min 后(pH 12.0)
No2	pH 8.0 稳定 5 min 后(pH 8.0)	No8	pH 12.5 稳定 5 min 后(pH 12.5-1)
No3	pH 9.0 稳定 5 min 后(pH 9.0)	No9	pH 12.5 1 h 后(pH 12.5-2)
No4	pH 10.0 稳定 5 min 后(pH 10.0)	No10	pH 12.5 2 h 后(pH 12.5-3)
No5	pH 11.0 稳定 5 min 后(pH 11.0)	No11	pH 12.5 6 h 后(pH 12.5-4)
No6	pH 11.5 稳定 5 min 后(pH 11.5)	No12	pH 12.5 24 h 后(pH 12.5-5)

### 2.3 分析方法

污泥的 pH 值采用 pH 计（德国 Sartorius, PB-10）测定。将污泥用 0.45 μm 微孔滤膜过滤后用 COD 检测管（美国 HACH）测定其溶解性化学需氧量（SCOD）。污泥中溶解性蛋白质及 EPS 中蛋白质采用菲林酚法测定<sup>[6]</sup>，溶解性总糖及 EPS 中总糖采用苯酚-硫酸法测定<sup>[7]</sup>。溶解性 DNA 采用二苯胺比色法测定<sup>[8]</sup>。用 0.45 μm 微孔滤膜过滤污泥得到的滤液，经冷冻干燥后，采用傅立叶红外光谱仪（Tensor 27，德国 BRUKER）分析溶解性有机物的红外光谱。污泥的溶解性总氮（TN）、总磷（TP）和氨氮（NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N）等采用标准方法测定<sup>[9]</sup>。污泥 EPS 采用甲醛-NaOH 法测定<sup>[10]</sup>。污泥粒径采用激光粒度仪（Mastersizer 2000，英国 Malvern）测定。微生物细胞壁组成部分-肽聚糖水解产物之一—氨基乙酰葡萄糖

采用 Morgan-Elson 比色法测定<sup>[11]</sup>。微生物细胞膜 (Cell membrane) 的损伤采用 FITC-PI 双染法结合流式细胞仪 (FACSCalibur, 美国 BD 公司) 分析<sup>[13,14]</sup>。数据统计分析采用 SPSS16.0 软件进行。

### 3. 结果与讨论

#### 3.1 微生物细胞物质的释放

在碱处理过程中, 污泥微生物细胞物质会释放到水溶液中, 导致污泥溶解性有机物升高, 在污泥碱处理过程中测定了污泥的 SCOD、溶解性蛋白质 (Pro)、溶解性多糖(Carb)、总氮 (TN)、总磷 (TP) 和氨氮 ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) 等的变化 (图 1-A)。

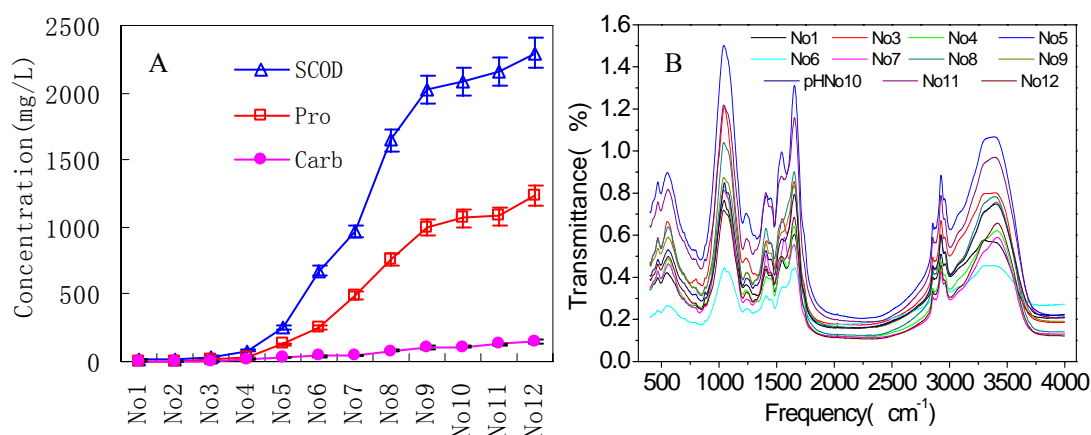


图 1、污泥碱处理过程中溶解性有机物的变化

在污泥碱处理过程中, 由于微生物细胞结构的损伤, 细胞有机物 (包括胞内的和胞外的) 会释放到水相中, 导致污泥的溶解性有机物 (SCOD) 增加。从图 1-A 可以看出, 在碱处理 pH10.0 以下时, 污泥的 SCOD 增加的很慢, 而在之后污泥的 SCOD 迅速升高, 最大 SCOD 释放量发生在 pH11.0-pH12.5-2 之间, 这个结果与前人的研究相似<sup>[14,15]</sup>。污泥碱处理释放出来的有机物以蛋白质和总糖为主<sup>[14]</sup>, 从图 1-A 可以看出, 溶解性蛋白质的变化与 SCOD 的变化基本相似, 而溶解性总糖基本呈碱处理的进行而一直增加。污泥碱处理过程中溶解性蛋白质变化与 SCOD 变化相似主要因为是溶解蛋白质占污泥 SCOD 的 40-80%<sup>[14]</sup>。红光光谱分析表明 (图 1-B), 在碱处理过程中污泥释放出来的溶解性有机基团峰没有明显差别, 这说明污泥在碱处理过程中释放的溶解性有机物种类没有明显差别, 只是在浓度上有变化。

在污泥碱处理过程中, 除释放有机物外, 营养素 N 和 P 也会释放出来<sup>[16]</sup> (图 1-B), 从图 1-B 可以看出, 污泥碱处理过程中释放出  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  较少, 而溶解性 TN 的释放规律与溶解性蛋白质相似, 这说明污泥碱处理过程中释放出来的 TN 以有机氮 (蛋白质) 为主。污泥碱处理过程中, 溶解性总磷在前期有一定下降, 而

pH11.5-pH12.0 之间迅速增加，之后保持相对稳定。在前期溶解性总磷可能是由于 pH 的升高，而污泥中溶解性总磷发生了沉淀<sup>[17,18]</sup>，而在 pH11.5-pH12.0 之间时迅速增可能是由于含磷细胞物质有明显释放溶解<sup>[19]</sup>。

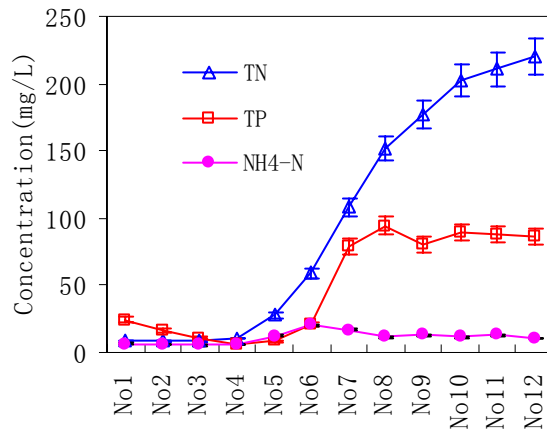


图 2、污泥碱处理过程中溶解性营养元素的变化

### 3.2 微生物细胞结构的损伤

#### 3.2.1 EPS 及污泥絮体结构的损伤

在污泥碱处理过程中，采用甲醛-NaOH 法测定了污泥 EPS 含量的变化<sup>[10]</sup>，主要分析了 EPS 中多糖和蛋白质的含量（图 3）。从图 4 中可以看出，随着碱处理过程中 pH 值的升高，污泥 EPS 中多糖和蛋白质含量均下降，最大下降发生在 pH11.5-12.0 之间，之后再升高 pH 值及保持高 pH 值（12.5）对污泥 EPS 中多糖和蛋白质的含量没有多大影响，说明当碱处理 pH 值升高到 12.0 时，污泥中 EPS 基本全部被损伤、释放到水溶液中。

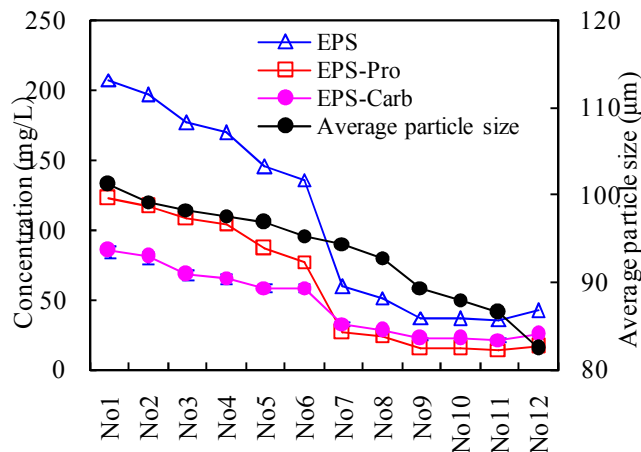


图 3、碱处理过程中污泥 EPS 及絮体粒径的变化

污泥的 EPS 与污泥絮体结构直接相关，EPS 的损伤和释放会影响影响污泥絮体的结构，因此，可以用絮体结构的变化来反映污泥 EPS 的损伤和释放。碱处理过程上对污泥絮体的平均粒径和比表面积进行了测定（图 3）。从图 3 中可

可以看出，随着碱处理 pH 值的升高污泥絮体的平均粒径逐渐降低，到 pH12 之后迅速下降。平均粒径的减小说明污泥的 EPS 含量的确发生了变化。

### 3.2.2 细胞壁、细胞膜和细胞核的损伤

污泥碱处理过程中，微生物细胞壁会受到损伤时，微生物细胞（包括革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌）细胞壁的重要组成部分—肽聚糖会发生水解成 N-乙酰葡萄糖胺和 N-乙酰胞壁酸<sup>[20]</sup>，试验过程中测定了污泥溶解性 N-乙酰葡萄糖胺的变化，以了解污泥碱处理过程中微生物细胞壁的损伤情况（图 4）。

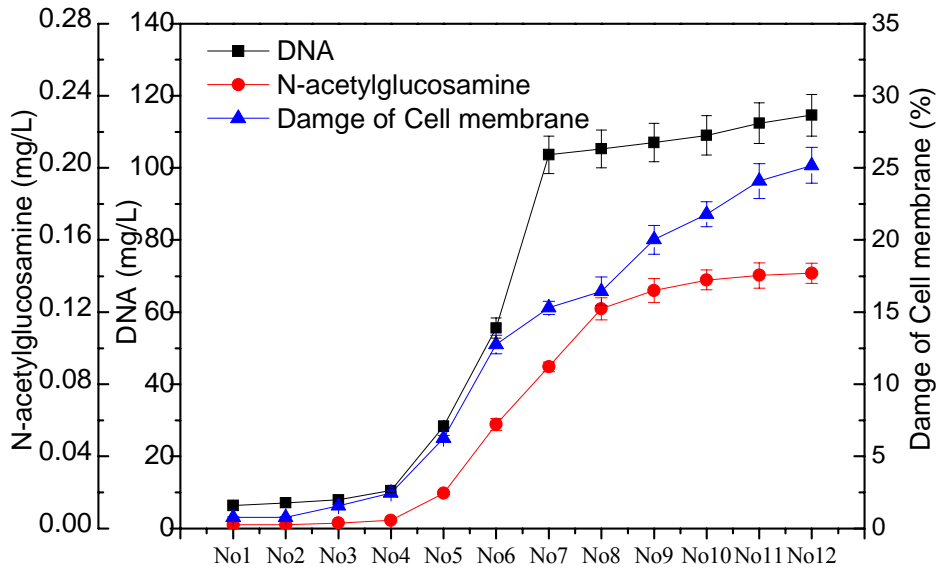


图 5、污泥碱处理过程中细胞壁、细胞膜和细胞核的损伤

从图 4 中可以看出，当碱处理 pH 值低于 10.0 时，污泥中溶解性 N-乙酰葡萄糖胺增加很少，这说明在 pH10.0 以下，污泥微生物的细胞壁损伤较少；随着碱处理 pH 值的进一步升高，溶解性 N-乙酰葡萄糖胺迅速增加，在 pH 值达到 12.5 后，溶解性 N-乙酰葡萄糖胺的增加速度开始变小，这说明在 pH10.0-12.5 之间，污泥微生物细胞壁损伤量最大。

污泥碱处理过程中，当微生物细胞壁损伤后，处在细胞壁下的细胞膜会暴露出来<sup>[21]</sup>，从而受到损伤。试验过程中结合 FITC-PI 双染和流式细胞仪检测分析了细胞膜的损伤情况（图 4）。从图 5 可以看出在 pH 值低于 10.0 时，污泥细胞膜损伤较少，随着碱处理 pH 值的进一步升高，细胞膜损伤率明显增加。对比溶解性 N-乙酰葡萄糖胺和细胞膜损伤率的变化，可以发现两者变化的趋势十分相似，这说明细胞壁和细胞膜损伤可能是同时发生的。

细胞壁和细胞膜后，污泥的细胞核会受到损伤，释放出细胞核中 DNA（图 4）。从图 5 中可以看出，在碱处理初期（pH7.0-pH10.0），污泥中溶解性 DNA 增加量较少；当碱处理 pH 从 10.0 升高到 12.0 时，污泥中溶解性 DNA 显著增加；

当碱处理 pH 值进一步升高 12.5 之后，污泥中溶解性 DNA 的增加又变缓。以上结果表明在 pH10.0-12.0 之间，污泥微生物细胞核损伤速率最大，损伤量最多。

### 3.2.3 微生物的完整性

采用扫描电镜观察了碱处理过程中污泥微生物的完整性（图 6）。从图 6 可以看出，当 pH 值低于 10.0 时，污泥微生物在扫描电镜十分完整，而当碱处理 pH 值升高到 10.0 以上时，污泥微生物出现破损，至 pH12.5-5 时，可污泥微生物完全破碎。

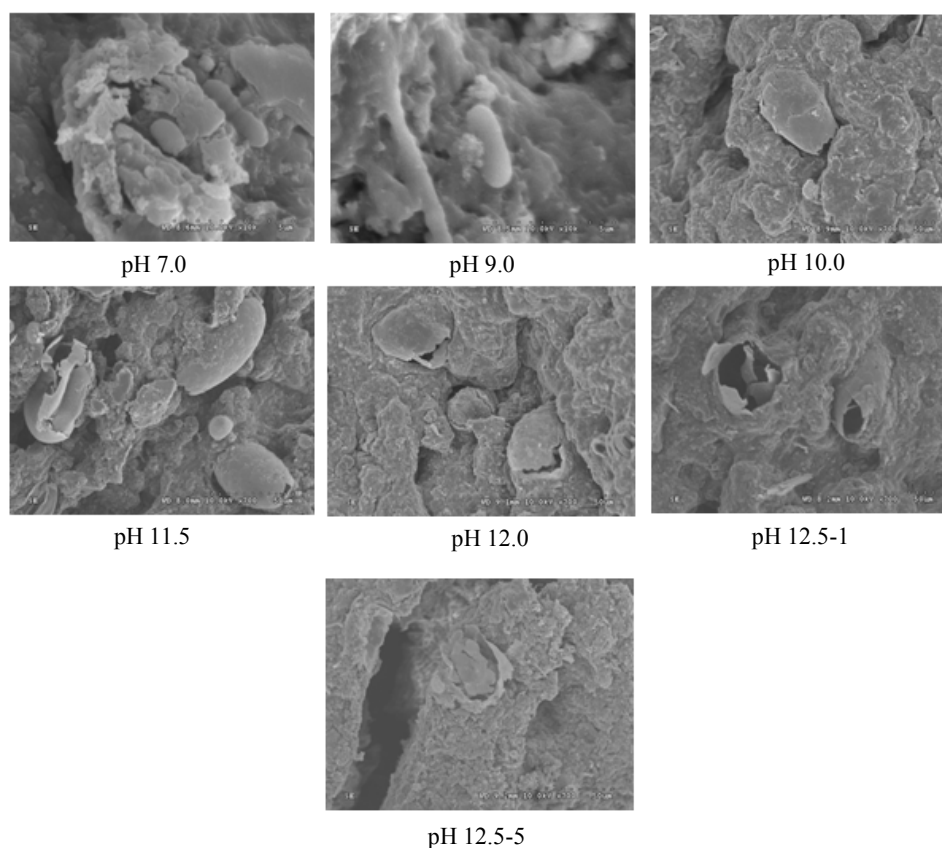


图 6、碱处理污泥的扫描电镜照片

### 3.3 微生物结构损伤与细胞物质释放之间的关系

采用 SPSS16.0 对微生物结构损伤与细胞物质变化进行相关性分析，结果如表 2 所示。从表 2 可以看出，EPS、N-乙酰氨基葡萄糖、细胞膜的损伤率的变化与 SCOD、溶解性碳水化合物、溶解性蛋白质、TN 的变化均显著相关；而与 TP 和 NH<sub>3</sub>-N 的变化不相关，而 DNA 的变化与 SCOD、溶解性蛋白质和 TN 的变化相关，与其它物质释放不相关。以上结果表明，EPS、细胞壁和细胞膜的损伤直接导致细胞物质的释放，而细胞核的损伤由于发生在细胞壁和细胞膜损伤之后，与细胞物质的释放相关性不强。另外，从表中可以看出，EPS、N-乙酰氨基葡萄糖和细胞膜的损伤率的变化也显著相关，这可能是由于三者的损伤基本上的同时

发生的（图 4 和图 5）。

表 2、污泥微生物结构损伤与细胞物质释放之间的关系

指标	N-乙酰氨基葡萄糖	细胞膜的损伤率	DNA	SCOD	Carb	Pro	TN	TP	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N
EPS <sup>1)</sup>	-0.977** <sup>2)</sup>	-0.962**	-0.687* <sup>3)</sup>	-0.952**	-0.906**	-0.944**	-0.956**	-0.377	-0.338
N-乙酰氨基葡萄糖		0.983**	0.684*	0.989**	0.951**	0.979**	0.988**	0.374	0.388
细胞膜的损伤率			0.570*	0.976**	0.965**	0.970**	0.979**	0.433	0.351
DNA				0.650*	0.402	0.639*	0.657*	0.483	0.364
SCOD					0.982**	0.997**	0.997**	0.444	0.403
Carb						0.988**	0.980**	0.384	0.460
Pro							0.997**	0.435	0.363
TN								0.452	0.398
TP									0.342

1: EPS 中蛋白质与多糖之和; 2: 显著相关; 3: 相关

#### 4. 结论

在污泥的碱处理过程中，污泥微生物细胞结构会随着碱处理 pH 值的升高而受到损伤，导致细胞物质的释放。由于污泥中微生物繁多，在碱处理过程中，各污泥细胞结构（EPS、细胞壁、细胞膜和细胞核）的损伤基本上同时存在。在碱处理过程中，在 pH7-pH12.0 之间，EPS 损伤最快；在 pH10.0-12.5 之间，污泥微生物细胞壁和细胞膜的损伤速率最大；而在 pH10.0-12.0 之间，细胞核的损伤量最多。EPS、细胞壁和细胞膜的损伤与 SCOD、溶解性碳水化合物、溶解性蛋白质和 TN 等物质的释放显著相关，而细胞核的损伤仅与 SCOD、溶解性蛋白质和 TN 等物质的释放显著相关。

#### 参考文献

- [1] 张自杰, 林荣忱, 金儒霖. 排水工程(下册)(第四版) [M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2000. 328.
- [2] Wei Y, Van Houten R T, Borger A R, et al. Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment [J]. Water Res. 2003, 37: 4453-4467.
- [3] Müller J A. Prospects and problems of sludge pre-treatment processes [J]. Water Sci Technol. 2001, 44(10): 121-128.
- [4] Carrère H, Dumas C, Battimelli A, et al. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: A review [J]. J Hazard Mater. 2010, 183(1-3): 1-15.
- [5] Tyagi V K, Lo S-L. Sludge: A waste or renewable source for energy and

- resources recovery? [J]. *Renew Sust Energ Rev*. 2010, 35(9): 1914-1919.
- [6] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent [J]. *J Biol Chem*. 1951, 1993: 265-275.
- [7] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Anal. Chem*. 1956, 28: 350-356.
- [8] Sun M, Li W-W, Mu Z-X, et al. Selection of effective methods for extracting extracellular polymeric substances (EPS) from *Bacillus megaterium* TF10 [J]. *Sep Purif Technol*. 2012, 95: 216-221.
- [9] APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [M]. 20th ed., American Public Health Association, Washington DC, USA. 1998. pp, 2-53-2-59, 4-100-4-111.
- [10] Liu H, Fang H H P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges [J]. *J Biotechnol*. 2002, 95: 249-256.
- [11] Morgan W T J, Elson L A. A colorimetric method for the determination of N-acetylglucosamine and N-acetylchondrosamine [J]. *Biochem J*. 1934, 28: 988-995..
- [12] Prorot A, Eskicioglu C, Droste R, Dagot C, Leprat P. Assessment of physiological state of microorganisms in activated sludge with flow cytometry: application for monitoring sludge production minimization [J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2008, 35(11): 1261-1268.
- [13] 姜建湖, 闫家强, 竺俊全, 等. 大黄鱼精子的超低温冻存及细胞结构损伤的检测[J]. *农业生物技术学报*. 2011, 19(4): 725-733.
- [14] 肖本益, 刘俊新. 污水处理系统剩余污泥碱处理融胞效果研究[J]. *环境科学*, 2006, 27(2): 319-323
- [15] 苏高强, 汪传新, 郑冰玉, 等. pH 对混合污泥水解酸化的影响[J]. *环境工程学报*. 2012, 6(12): 4257-4262
- [16] J.R. Banu, U.D. Khac, S.A. Kumar, Y. Ick-Rae, S. Kaliappan. A novel method of sludge pretreatment using the combination of alkalis [J]. *J Environ Biol*. 2012, 33: 249-253.
- [17] 鲍小丹, 叶志隆, 马建华, 等. 鸟粪石法回收养猪废水中磷时 pH 对沉淀物组分的影响[J]. *环境科学*. 2011, 32(9): 2598-2603.
- [18] Le Corre K S, Valsami-Jones E, Hobbs P, et al. Phosphorus recovery from wastewater by struvite crystallization: a review [J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2009, 39(6): 433-477.
- [19] 程振敏, 魏源送, 刘俊新. 酸碱预处理对常压微波辐射剩余活性污泥磷释放



的影响[J]. 环境科学.2009, 30(4): 1110-1114.

[20]张悦, 宋晓玲, 黄健. 双歧杆菌肽聚糖结构及分子量的分析[J]. 微生物学通报. 2007, 34(4): 676-681.

[21]Russell A D. Bacterial outer membrane and cell wall penetration and cell destruction by polluting chemical agents and physical conditions [J]. Sci Prog. 2003, 86(4): 283-311.

# 污泥碱处理过程中的微生物细胞结构损伤

作者: [肖本益](#), [张志渊](#), [张晓红](#), [孙冀垆](#), [刘俊新](#)

作者单位: [肖本益, 刘俊新\(中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085\)](#), [张志渊, 张晓红, 孙冀垆\(北京市城市排水集团小红门污水处理厂, 北京 100176\)](#)

引用本文格式: [肖本益](#). [张志渊](#). [张晓红](#). [孙冀垆](#). [刘俊新](#) 污泥碱处理过程中的微生物细胞结构损伤[会议论文] 2014