

研究报告

纳米氧化铈作用下活性污泥胞外聚合物及 溶解性微生物产物特性

吴杨芳¹ 冯骞^{1,2*} 薛朝霞^{1,2} 杨雯¹ 施明杰¹

(1. 河海大学环境学院 江苏 南京 210098)

(2. 河海大学 浅水湖泊综合治理与资源开发教育部重点实验室 江苏 南京 210098)

摘要:【目的】纳米氧化铈作为一种应用普遍的人工纳米材料,其生物毒性和环境效应得到了越来越多的重视。尝试从微生物代谢产物的角度,解读纳米氧化铈对活性污泥微生物的影响规律和过程。【方法】在实验室活性污泥系统中投加不同质量浓度纳米氧化铈,研究纳米氧化铈短期作用下微生物胞外聚合物(EPS)和溶解性微生物产物(SMP)这两类主要的微生物代谢产物含量和组分的变化规律。【结果】短期作用下,EPS和SMP的总量都随着纳米氧化铈浓度的增加而增加。低浓度纳米CeO₂不会导致活性污泥中松散型胞外聚合物(LB-EPS)、紧密型胞外聚合物(TB-EPS)含量和组分的显著改变。高浓度纳米CeO₂(25 mg/L以上)作用下TB-EPS含量和组分不受影响,而LB-EPS中多糖和蛋白质为抵抗纳米CeO₂毒性而增多。EPS分层组分含量显著提高,且LB-EPS的增幅显著高于TB-EPS增幅。当纳米氧化铈浓度为50 mg/L时,相较于空白对照组,蛋白质和多糖增幅分别达到35.18%和46.57%。当纳米氧化铈超过25 mg/L以上时,SMP不仅出现蛋白质,多糖和腐殖酸的含量也明显增加。【结论】SMP中蛋白质的产生,可能会与纳米材料相结合,以减小纳米材料的毒性。当纳米氧化铈浓度较低时,EPS的吸附作用会抵制其进入细胞内,当纳米氧化铈浓度较高时,刺激细胞产生更多EPS吸附纳米CeO₂,形成更厚的外部屏障层保护细胞。EPS和SMP的共同作用,构成了微生物细胞对纳米CeO₂的毒性抵抗机制。

关键词: 活性污泥, 纳米氧化铈, SMP, 胞外聚合物

Foundation item: Major Science and Technology Program for Water Pollution Control and Treatment (No. 2012ZX07101-003); National Natural Science Foundation of China (No. 51579072)

***Corresponding author:** Tel/Fax: 86-25-83787935; E-mail: xiaofq@hhu.edu.cn

Received: September 16, 2015; **Accepted:** November 26, 2015; **Published online** (www.cnki.net): December 01, 2015

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项项目(No. 2012ZX07101-003); 国家自然科学基金项目(No. 51579072)

***通讯作者:** Tel: 86-25-83787935; E-mail: xiaofq@hhu.edu.cn

收稿日期: 2015-09-16; **接受日期:** 2015-11-26; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2015-12-01

Characterization of extracellular polymeric substance and soluble microbial products under impact of CeO₂ nanoparticles

WU Yang-Fang¹ FENG Qian^{1,2*} XUE Zhao-Xia^{1,2} YANG Wen¹ SHI Ming-Jie¹

(1. College of Enviroment, Hohai University, Nanjing, Jiangsu 210098, China)

(2. Key Laboratory of Integrated Regulation and Resource Development on Shallow Lakes, Ministry of Education, Hohai University, Nanjing, Jiangsu 210098, China)

Abstract: [Objective] With the universal application of CeO₂ nanoparticles (CeO₂ NPs), its biological toxicity and environmental effect have been paid more and more attention. The purpose of this study was to acquire the process and influence of CeO₂ NPs on activated sludge from activated microorganisms metabolites. [Methods] EPS and SMP are the two main types of microbial metabolites, the content and composition of which were both examined after dosing different concentrations of CeO₂ NPs in laboratory-scale activated sludge. [Results] The content of EPS and SMP increased with the increasing dosage of CeO₂ NPs during a short period. The content of TB-EPS and LB-EPS didn't have changed observably at low concentration of CeO₂ NPs. The content of TB-EPS and its compositions were not significantly affected, while the polysaccharide and protein of LB-EPS increased for resistant to the toxicity of CeO₂ NPs (more than 25 mg/L). Compared to the control upon exposure to CeO₂ NPs (50 mg/L), the protein and polysaccharide increased 35.18% and 46.57% respectively. The content of two types of EPS increased in the presence of CeO₂ NPs, and LB-EPS increased significantly higher than the TB-EPS growth. When the concentration of CeO₂ NPs was more than 25 mg/L, the content of protein of SMP appeared, polysaccharide and humic also increased significantly as well. [Conclusion] The protein generated from SMP might be combined with nanometer materials to reduce the toxicity of nanomaterials. At the low concentration of CeO₂ NPs, the adsorption effect of EPS would prevent CeO₂ NPs from passing into the cell. However, when the concentration was higher, CeO₂ NPs would stimulate the microorganisms to produce more EPS which could form a thicker outer barrier layer to protect cells better. EPS and SMP worked together to resist the toxicity of CeO₂ on microbial cell.

Keywords: Activated sludge, CeO₂ NPs, SMP, EPS

纳米氧化铈(CeO₂ nanoparticles)是一种廉价的纳米稀土材料,自20世纪90年代以来,因其良好的储氧、释氧功能及氧化还原反应能力,在磨料、燃油添加剂、紫外线吸收剂或抗氧化剂、气体传感器、离子薄膜等领域得到了广泛的应用^[1-3]。然而在纳米氧化铈等人工纳米材料不断推广应用的同时,其环境效应也得到了越来越多的重视。相关研究显示,与纳米TiO₂、纳米Ag和纳米Au相比,纳米CeO₂对污水处理中的微生物抑制作用更强。地表水中1-100 nmol/L的纳米CeO₂就可对环境生物[植物种子、水蚤(*Daphnia pulex*)、模糊网纹蚤(*Ceriodaphnia*)等]产生不利影响^[4-6]。活性污泥系统中的异养菌和亚硝化细菌在短期接触纳米CeO₂后,即可表现出

较为明显的抑制效应,且抑制程度随浓度和接触时间的增加而增加^[7]。因此,纳米CeO₂在2008年就被世界经济合作与发展组织(OECD)列为优先监测的13种工程纳米材料之一^[8]。

胞外聚合物(Extracellular polymeric substance, EPS)是存在于细胞外及微生物聚集体外,由微生物分泌或大分子细胞溶解、水解产生的一种高分子量化合物,通常含有蛋白质、多糖、腐殖质、少量的脂类和DNA等,根据其空间位置的不同,可分为紧密附着在细胞壁上的胞囊聚合物TB-EPS和以胶体和溶解状态松散于液相主体中的黏性聚合物LB-EPS。溶解性微生物产物(Soluble microbial products, SMP)则是微生物在降解污染物的同时,

通过细胞裂解、细胞膜扩散、合成代谢损失等方式向周围环境中释放出的溶解性物质。由于微生物在毒性物质刺激下会通过分泌 EPS 形成对微生物的保护,而 SMP 中基质利用相关型产物生成速率与基质的分解速度成正比,生物量相关型产物生成速率与生物量水平成正比,因此这两类微生物代谢产物含量的变化,能够有效地体现毒性物质对基质降解、细胞生长、裂解、衰亡等微生物代谢过程的影响。Mu 等^[9]研究了纳米 ZnO 对污水处理中厌氧颗粒污泥的影响,结果表明 10 mg/g TSS 和 50 mg/g TSS 纳米 ZnO 并未对厌氧颗粒污泥中 EPS 组分及含量产生影响,当纳米 ZnO 剂量增加至 200 mg/g TSS, EPS 中的蛋白质、DNA、腐殖酸、脂类含量显著降低,而多糖含量未出现明显变化。Tan 等^[10]对活性污泥系统的研究表明,当纳米 ZnO 暴露浓度为 1 mg/L 时,随暴露时间的增加 SMP 的含量不断提高,蛋白质和多糖分别比初始时增加了 44.5 mg/g MLVSS (70 d)和 33.3 mg/g MLVSS (100 d)。

相关研究已经证实,一定浓度的人工纳米材料能够显著改变微生物的代谢行为,影响微生物代谢产物中 EPS 和 SMP 的组分及含量。但目前的研究中,关于纳米氧化铈作用下活性污泥微生物代谢产物的研究仍然十分有限,尤其在纳米氧化铈作用下 EPS 分层组分的研究和 SMP 的特性分析方面。鉴于此,本文拟以实验室培养的厌氧-好氧活性污泥为对象,通过实验室小试,考察不同纳米氧化铈短期作用下活性污泥胞外聚合物分层组分含量的变化,比较溶解性微生物产物的差异,并利用三维荧光光谱对其特性进行分析,在此基础上尝试从代谢产物的角度进一步解读纳米氧化铈对活性污泥微生物的影响过程和机制。

1 材料与方法

1.1 试验材料

纳米 CeO₂ 购于上海晶纯生化科技股份有限公司。称取 100 mg 纳米 CeO₂ 置于 1 L 超纯水(pH 6.9)超声 1 h (25 °C, 250 W, 40 kHz),其悬浮液即为

100 mg/L 纳米 CeO₂ 悬浮液,悬浮液经动态光散射 (Malvern Instruments Ltd., UK)分析得平均粒径为 70–150 nm。

试验过程中采用模拟生活污水进行污泥培养、驯化,进而开展试验研究。其中模拟生活污水以无水乙酸钠为碳源, NH₄Cl 为氮源、KH₂PO₄ 为磷源,并添加一定比例的其他微量元素。具体配水成分浓度如下(mg/L):污水乙酸钠 385, NH₄Cl 120, KH₂PO₄ 24, CaCl₂·2H₂O 30, MgSO₄·7H₂O 20; 此外还包括 0.5 mL/L 微量元素混合液。微量元素混合液组成浓度如下(mg/L): H₃BO₃ 2.0, FeCl₂·4H₂O 2.0, EDTA (乙二胺四乙酸) 2.0, ZnCl₂·4H₂O 0.4, MnCl₂·4H₂O 0.8, (NH₄)₆MO₇·4H₂O 1.1, CuCl₂·2H₂O 0.2, NiCl₂·6H₂O 1.0。接种污泥取自南京江宁污水厂二沉池。试验前用蒸馏水冲洗接种污泥数遍后,曝气 10 h,以去除原有基质对试验的影响。

1.2 试验方法

试验开始前,先在反应器中进行污泥驯化培养。反应器运行周期为 8 h,包括进水 10 min,厌氧搅拌 2 h,好氧曝气 4 h,沉淀 1 h,排水 10 min,闲置 40 min。污泥龄控制在 15 d 左右,排水比为 50%。当系统的 COD、氨氮和磷去除率分别稳定在 90%、95%和 85%以上时,认为系统进入稳定运行期。在稳定运行期,沉淀结束后从反应器中取出等量活性污泥,加入 5 个 500 mL 的平行烧杯中,再加入等量原水,使混合液悬浮固体浓度(MLSS)约为 3 000 mg/L。向反应器中同时加入纳米 CeO₂ 悬浮液,使得反应器中浓度依次为 1、10、25、50 mg/L,不投加纳米 CeO₂ 的反应器作为空白样,以厌氧-好氧方式运行 6 h。运行结束后,测试出水中 SMP 的组分含量,同时检测活性污泥中 EPS 分层组分及含量,在此基础上,利用三维荧光光谱 EEM, Hitachi, F7000 对 SMP 和 EPS 进行分析。

1.3 分析方法

SMP 的测定方法参考 Ni 等^[11]的研究。取 10 mL 污泥悬浮液, 2 325×g 离心 10 min, 上清液经过

0.45 μm 滤膜过滤, 用作 SMP 含量测定。

EPS 提取方法参考 Liang 等^[12]的研究。干污泥用超纯水恢复至 10 mL, 向悬浮液加 0.06 mL 甲酰胺(37%), 在恒温振荡器中提取 1 h (150 r/min, 4 $^{\circ}\text{C}$), 取出离心 15 min (5 000 $\times g$, 4 $^{\circ}\text{C}$), 上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 即为 LB-EPS。上述底泥经磷酸缓冲液恢复至 10 mL, 加入 CER 后在恒温振荡器中振荡 1 h (150 r/min, 4 $^{\circ}\text{C}$), 取出离心 15 min (10 000 $\times g$, 4 $^{\circ}\text{C}$), 上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 即为 TB-EPS。

LB-EPS、TB-EPS 以及 SMP 中的多糖采用蒽酮比色法^[13]测定, 以葡萄糖作为标准; 蛋白质和腐殖酸采用改进 Lowry 法测定^[14], 分别以牛蛋白清与腐殖酸作为标准。提取得到的 EPS 和 SMP 采用荧光光谱的激发波长和发射波长范围均为 200–700 nm, 增量均为 10 nm; 激发和发射狭缝设为 2.5 nm, 扫描速度 12 $\mu\text{m}/\text{min}$ 。采用 Origin 8.5 处理三维荧光光谱数据。

2 结果与讨论

2.1 纳米 CeO_2 对胞外聚合物含量和组分的影响

表 1 表明不同浓度纳米 CeO_2 作用下胞外聚合物的分层组分与含量的变化。从表 1 可以看出, 在纳米 CeO_2 的短期作用下, EPS 总量随着纳米 CeO_2 浓度的增加逐渐提高。当纳米 CeO_2 浓度为 1 mg/L 时, EPS 总量与对照组基本相当。增加纳米 CeO_2 浓度至 10、25 和 50 mg/L 时, 相比对照组 EPS 总

量增幅分别为 4.12%、4.64%和 15.29%。分析 EPS 中 TB-EPS 和 LB-EPS 的变化不难看出, 在纳米 CeO_2 的短期作用下, 随浓度增加 LB-EPS 的增幅显著高于 TB-EPS 增幅。1 mg/L 和 10 mg/L 纳米 CeO_2 的短期作用下, 纳米 CeO_2 对 LB-EPS、TB-EPS 含量并未出现明显变化。当纳米 CeO_2 浓度增加到 25 mg/L 时, LB-EPS、TB-EPS 含量呈现不同程度增加, 相比对照组 LB-EPS 和 TB-EPS 增幅分别为 13.8%和 0.50%。纳米 CeO_2 浓度增加至 50 mg/L 时, EPS 分层组分含量呈现明显增加, LB-EPS 和 TB-EPS 与对照组相比增幅分别达到 39.77%和 4.24%。

相关研究证实, 蛋白质、多糖和腐殖质是活性污泥 EPS 中主要物质, 其中蛋白和多糖约占 EPS 总量的 70%–80%^[15]。进一步对比不同浓度纳米 CeO_2 作用下 TB-EPS 和 LB-EPS 中多糖和蛋白组分含量(表 1)可知, TB-EPS 中多糖和蛋白质含量随纳米 CeO_2 浓度增加变化不显著, 而 LB-EPS 中多糖和蛋白质含量随纳米 CeO_2 浓度增加则出现了明显递增, 且增加幅度也随浓度增大不断加大。

EPS 在抵御毒性胁迫中发挥着重要作用。随着纳米 CeO_2 浓度的增加, EPS 分泌量的增加是活性污泥微生物对纳米 CeO_2 产生环境刺激的典型应激反应。TB-EPS 是紧密附着在细胞壁上, 而比较松散没有明显边缘的黏液层 LB-EPS 位于外层。虽然 TB-EPS 是总 EPS 主要的组成部分, 但由 TB-EPS

表 1 不同纳米 CeO_2 浓度下对活性污泥 EPS (LB-EPS 和 TB-EPS) 质量浓度的影响
Table 1 Influences of different CeO_2 NPs concentration on EPS (LB-EPS and TB-EPS) of activated sludge

CeO_2 NPs (mg/L)	LB-EPS (mg COD/g VSS)			TB-EPS (mg COD/g VSS)			Total EPS (mg COD/g VSS)
	蛋白质 Protein	多糖 Polysaccharide	总量 Total	蛋白质 Protein	多糖 Polysaccharide	总量 Total	
0	10.80 \pm 1.20	7.30 \pm 0.80	18.10	27.40 \pm 1.20	12.70 \pm 1.10	40.10	58.20
1	11.00 \pm 1.00	7.20 \pm 0.90	18.20	29.20 \pm 1.10	11.10 \pm 1.00	40.30	58.50
10	12.30 \pm 1.00	7.40 \pm 0.20	19.70	27.60 \pm 1.60	13.30 \pm 0.80	40.90	60.60
25	12.50 \pm 0.90	8.10 \pm 0.50	20.60	26.50 \pm 0.80	13.80 \pm 1.70	40.30	60.90
50	14.60 \pm 0.60	10.70 \pm 0.80	25.30	29.30 \pm 1.00	12.50 \pm 1.20	41.80	67.10

扩散的 LB-EPS 提供巨大的比表面积与纳米颗粒直接接触,从空间上延缓了纳米颗粒进入 TB-EPS 和细胞体内,也使得纳米 CeO_2 对 LB-EPS 的影响程度明显高于 TB-EPS。SEM 对 EPS 的观察也证实微生物的 LB-EPS 具有粗糙且呈蜂窝空洞状的表面,这种结构有利于吸附水中的有毒有害物质,从而有效保护生物膜中的微生物^[16]。纳米 CeO_2 作用下,多糖和蛋白质的增加也与活性污泥微生物抵抗毒性物质作用有关。由于较大粒径的纳米 CeO_2 粒子更难进入细胞体内,因此微生物可以通过分泌更多的胞外蛋白质和胞外多糖改变颗粒带电性能,促进纳米颗粒聚集,进而借助增加纳米颗粒的粒径,减少纳米 CeO_2 对活性污泥的毒性。FTIR 的分析证实,多糖中的 C-O-C 和蛋白质酰胺 I 中 C=O、C-N 键和酰胺 III 中 C-H 在其中起到了重要的作用^[17]。

2.2 纳米 CeO_2 对溶解性微生物产物的影响

图 1 表明了不同浓度的纳米 CeO_2 对 SMP 各组分含量的影响。从图 1 中可以看出,纳米 CeO_2 浓度从 0 mg/L 增加到 25 mg/L, SMP 产量由 3.01 ± 0.20 mg COD/g VSS 增到 3.84 ± 0.21 mg COD/g VSS; 进一步增加纳米 CeO_2 浓度到 50 mg/L, SMP 产量由则达到 5.14 ± 0.27 mg COD/g VSS。Mei 等^[18]在研究纳米 ZnO 对 MBR 中微生物影响时,也发现了 SMP 产量随纳米 ZnO 浓度的增加而增加的现象。红外光谱分析显示, SMP 产量的增加主要表现为有关蛋白质、多糖的氨基、酰胺基、羟基等官能团吸收峰强度的增长。进一步对比 SMP 中各组分变化程度不难看出,蛋白质和多糖的变化程度明显高于腐殖酸。与对照组相比,当纳米 CeO_2 浓度为 50 mg/L 时,蛋白质浓度从 0 mg COD/g VSS 增加到 0.5 mg COD/g VSS,多糖和腐殖酸则分别从 0.66 ± 0.10 mg COD/g VSS 和 2.35 ± 0.10 mg COD/g VSS 分别增加到 1.65 ± 0.14 mg COD/g VSS 和 2.99 ± 0.13 mg COD/g VSS,增幅分别为 150%和 27%。这一现象也说明,纳米 CeO_2 的短期作用改变了微生物分泌产生 SMP 的过程,当浓度较高时,这种影

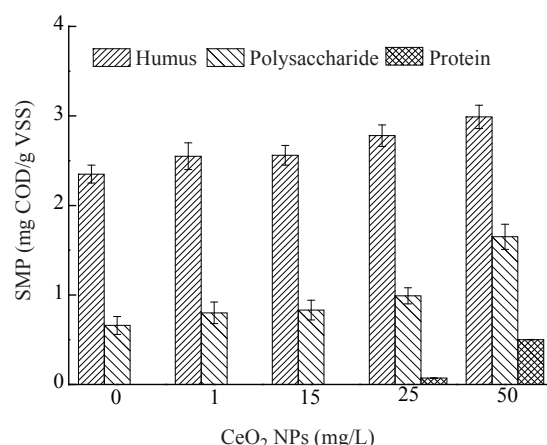


图 1 不同纳米 CeO_2 浓度对活性污泥微生物 SMP 的影响

Figure 1 Effects of different CeO_2 NPs concentration on SMP of activated sludge

响直接改变 SMP 的组分含量。此外,与 EPS 的变化相比, SMP 对纳米 CeO_2 毒性敏感程度高。

根据统一理论的观点, EPS 和 SMP 之间存在相互转化关系,溶解性的 EPS 实际上就是 SMP,而 SMP 中微生物内源呼吸相关联的微生物产物(BAP)则源于 EPS 的水解^[19]。因此, SMP 中腐殖酸和多糖的增加,可归功于纳米 CeO_2 刺激细胞分泌更多 EPS 的水解。由于低浓度的腐殖酸可以稳定纳米银悬浮液,高浓度则会诱导聚集^[20]。当腐殖酸的浓度达到阈值后,纳米 CeO_2 颗粒的毒性也因其尺寸的增加而降低。此外,部分纳米 CeO_2 会被蛋白质中多肽吸附后相互作用达到稳定状态^[21],也能在一定程度上减少纳米 CeO_2 向细胞内的扩散。SMP 产量的增加,也是微生物应对纳米材料毒性的除 EPS 分泌量增加外的另一种自主行为方式。

2.3 活性污泥微生物 EPS 和 SMP 的三维荧光光谱分析

图 2 表明了不同浓度纳米 CeO_2 投加下活性污泥微生物 EPS 和 SMP 的三维荧光光谱图。从图 2A 中均可观测到 a、b 和 c 三个荧光峰的存在,而图 2B 中则仅在纳米 CeO_2 浓度 25 mg/L 以上时,观测

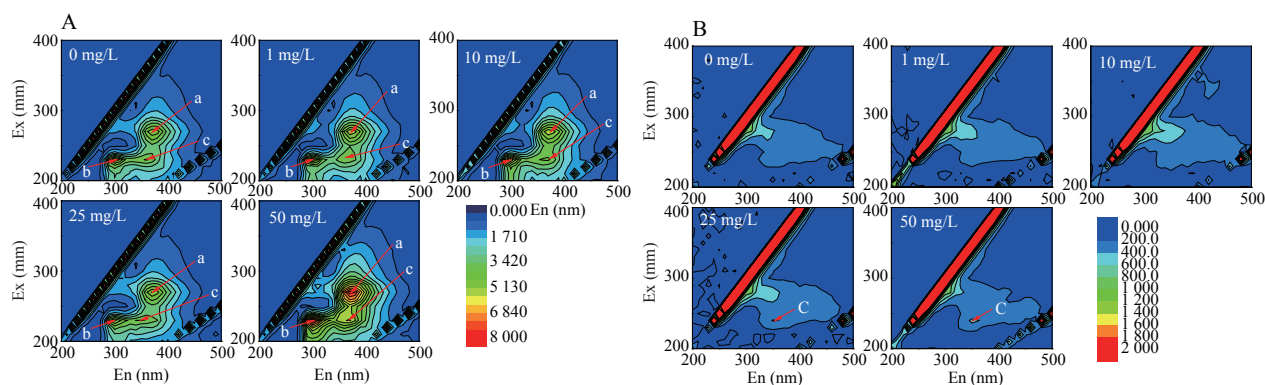


图2 不同浓度纳米 CeO_2 投加下 EPS (A)和 SMP (B)的荧光光谱图
Figure 2 Three-dimensional excitation-emission matrix fluorescence spectra of EPS and SMP at different CeO_2 NPs concentration

到了荧光峰 c 的存在。相关研究表明^[22], 荧光峰 a (270–280/350–370)为类溶解性微生物产物; 荧光峰 b (220–240/350–380)为芳香族蛋白 I, 主要由络氨酸引起; 荧光峰 c (230–240/350–370)为芳香族蛋白 II, 主要由色氨酸引起。进一步对比不同浓度下的荧光图谱, 可以看出尽管不同浓度纳米 CeO_2 的作用, 会引起荧光峰位置细微的红移或蓝移现象, 但并未出现荧光吸收峰重叠以及信号叠加的情况。这也反映出纳米 CeO_2 的短期作用, 没有改变 EPS 组分, 仅改变了主要组分的含量; 但高浓度纳米 CeO_2 (25 mg/L 以上)的作用, 使得 SMP 中蛋白组分发生了从无到有, 从低到高的转变。本研究获得的结果与杨晓南等的研究一致^[23], 也从另一侧面验证了纳米材料不会改变 EPS 组分, 只会改变其主要组分的含量。

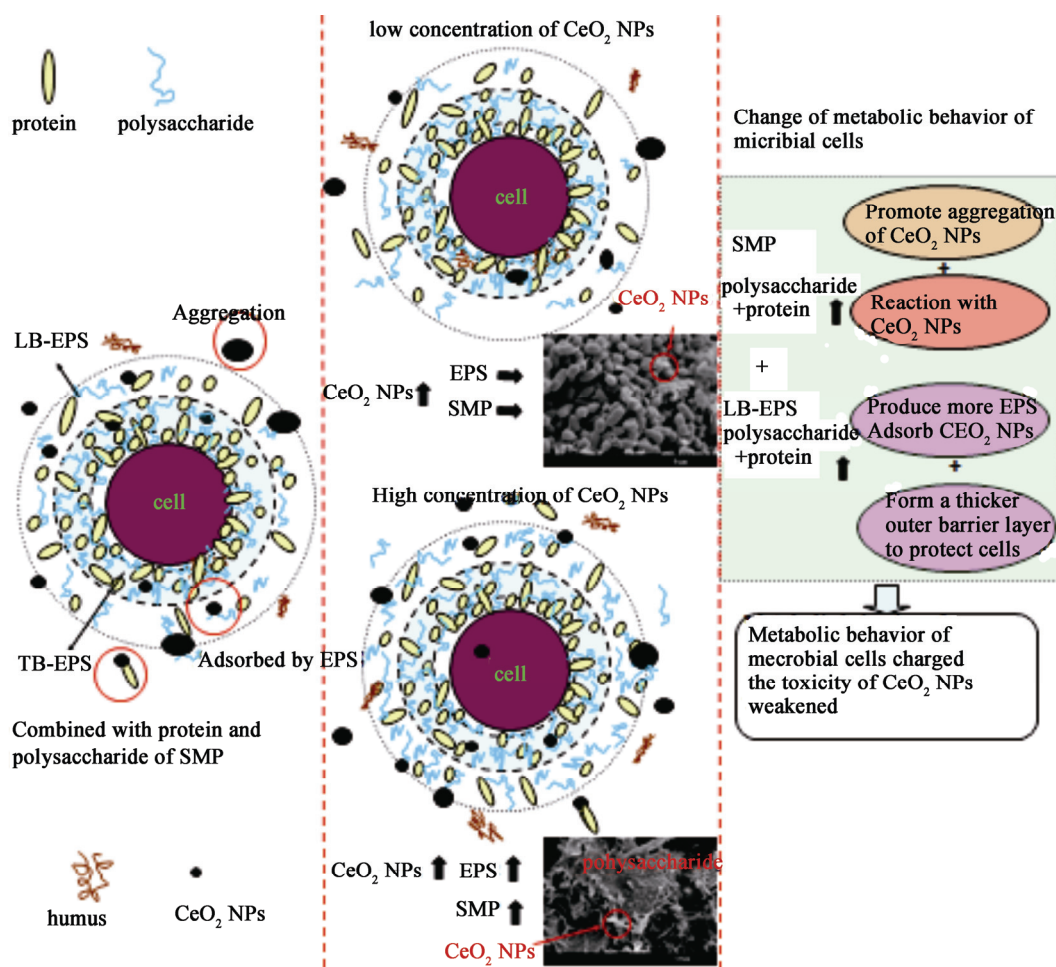
2.4 纳米 CeO_2 影响活性污泥微生物的代谢产物分析

根据本研究的结果, 结合前人相关研究, 笔者利用纳米 CeO_2 作用下活性污泥微生物主要代谢产物(EPS 和 SMP)监测, 在充分认识 EPS 和 SMP 在活性污泥特性演变中重要作用的基础上, 结合纳米 CeO_2 进入细胞的途径, 对纳米 CeO_2 影响活性污泥微生物的过程和机制进行了初步探讨(图 3)。

纳米 CeO_2 进入废水处理系统中会发生以下作

用: (1) 团聚; (2) 与其他混合物或微生物转化物反应; (3) 被 EPS 吸附。纳米 CeO_2 进入污水系统后, 会与水中存在的电解质离子和天然或人工有机质发生相互作用, 会发生自团聚过程, 形成水力学粒径较大的颗粒^[24]。SMP 中蛋白质和多糖的存在, 也会改变纳米 CeO_2 的表面性能, 在静电力、范德华引力、氢键共价键的共同作用下, 促使纳米 CeO_2 进一步聚集。此外, 微生物胞外聚合物的存在, 也能够吸附纳米 CeO_2 。Limbach 等^[21]的研究发现, 当纳米 CeO_2 浓度达到 100 mg/L 时, 典型污水处理系统中大部分 CeO_2 被吸附到活性污泥中。EPS 的物理性屏障保护作用及其导致的延缓运输效应, 使得污泥絮体中微生物细胞膜的完整性得以保存, 也是微生物对待纳米 CeO_2 毒性的应激反应。

低浓度纳米 CeO_2 的短期作用下, 随着纳米 CeO_2 浓度的增加, EPS 和 SMP 含量也会逐渐增大。由于纳米 CeO_2 含量低, 微生物细胞的 EPS 吸附作用, 加上 SMP 中多糖、蛋白质的促团聚作用, 已经足以抵御纳米 CeO_2 带来的影响。但当纳米 CeO_2 的浓度超过一定阈值后, 随着纳米 CeO_2 浓度的增加, EPS 和 SMP 的作用不足以抵抗纳米 CeO_2 的冲击。为减弱这种毒性对微生物细胞的影响, 活性污泥微生物一方面借助大量产生的 SMP 与纳米 CeO_2 的反应, 增大纳米 CeO_2 的颗粒尺寸, 减少其质量

图3 纳米 CeO_2 影响活性污泥微生物代谢产物的机制Figure 3 The mechanism of activated microorganisms metabolites under impact of CeO_2 NPs

浓度,减轻外部毒性作用;另一方面,则通过分泌更多的EPS,在细胞表面形成更厚的保护屏障,延缓纳米 CeO_2 通过被动扩散、跨膜以及通过破损的细胞膜扩散等进入细胞体的速度。

3 讨论

(1) 低浓度纳米 CeO_2 (25 mg/L 以下)的短期作用,不会导致活性污泥中 LB-EPS、TB-EPS 含量的显著改变。高浓度纳米 CeO_2 (50 mg/L)的短期作用,能显著提高 EPS 分层组分含量,且 LB-EPS 的增幅显著高于 TB-EPS 增幅;LB-EPS 中多糖和蛋白质含量的增加是导致 EPS 增加的主要因素。

(2) 低浓度纳米 CeO_2 (25 mg/L 以下)的短期作

用, SMP 含量组分没有显著改变,当浓度 25 mg/L 以上时, SMP 不仅出现蛋白质,多糖和腐殖酸的含量也明显增加。纳米 CeO_2 的短期作用改变了微生物分泌产生 SMP 的过程,当浓度较高时,这种影响直接改变 SMP 的组分含量。

(3) 活性污泥微生物 EPS 和 SMP 的三维荧光光谱结果可知,试验浓度下纳米 CeO_2 的短期投加并未改变 EPS 的组分,仅改变了其主要组分的含量;而 25 mg/L 以上纳米 CeO_2 的作用,使得 SMP 中出现了蛋白质。这也说明出 SMP 对纳米 CeO_2 毒性的敏感程度高于 EPS,可用于纳米材料毒性的指示。

(4) 纳米 CeO_2 进入废水处理系统中会发生团聚、与其他混合物或微生物转化物反应和被 EPS 吸

附作用。其中 EPS 的物理性屏障保护作用及其导致的延缓运输效应,使得污泥絮体中微生物细胞膜的完整性得以保存,SMP 中多糖和蛋白质与纳米 CeO_2 的反应,则一方面促进了纳米 CeO_2 的团聚,另一方面减少了水体中纳米 CeO_2 的浓度。EPS 和 SMP 的共同作用,构成了微生物细胞对纳米 CeO_2 的毒性抵抗机制。

参考文献

- [1] Laberty-Robert C, Long JW, Lucas EM, et al. Sol-gel-derived ceria nanoarchitectures: synthesis, characterization, and electrical properties[J]. *Chemistry of Materials*, 2006, 18(1): 50-58
- [2] Perez JM, Asati A, Nath S, et al. Synthesis of biocompatible dextran-coated nanoceria with pH-dependent antioxidant properties[J]. *Small*, 2008, 4(5): 552-556
- [3] Tarnuzzer RW, Colon J, Patil S, et al. Vacancy engineered ceria nanostructures for protection from radiation-induced cellular damage[J]. *Nano Letters*, 2005, 5(12): 2573-2577
- [4] Keller AA, McFerran S, Lazareva A, et al. Global life cycle releases of engineered nanomaterials[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2013, 15(6): 1692
- [5] Tiede K, Hassellöv M, Breitbarth E, et al. Considerations for environmental fate and ecotoxicity testing to support environmental risk assessments for engineered nanoparticles[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(3): 503-509
- [6] Zhang HF, He XA, Zhang ZY, et al. Nano- CeO_2 exhibits adverse effects at environmental relevant concentrations[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(8): 3725-3730
- [7] García A, Delgado L, Torà JA, et al. Effect of cerium dioxide, titanium dioxide, silver, and gold nanoparticles on the activity of microbial communities intended in wastewater treatment[J]. *Journal of Materials*, 2012, 199/200: 64-72
- [8] Anonymous. Nanotechnology consumer product inventory[Z]. Washington, DC: Project on Emerging Nanotechnologies, Woodrow Wilson International Center of Scholars and the Pew Charitable Trusts, 2011. <http://www.nanotechproject.org/consumerproducts>
- [9] Mu H, Zheng X, Chen YG, et al. Response of anaerobic granular sludge to a shock load of zinc oxide nanoparticles during biological wastewater treatment[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 46(11): 5997-6003
- [10] Tan M, Qiu GL, Ting YP. Effects of ZnO nanoparticles on wastewater treatment and their removal behavior in a membrane bioreactor[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 185: 125-133
- [11] Ni BJ, Rittmann BE, Yu HQ. Soluble microbial products and their implications in mixed culture biotechnology[J]. *Trends in Biotechnology*, 2011, 29(9): 454-463
- [12] Liang ZW, Li WH, Yang SY, et al. Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in autotrophic nitrifying biofilm and activated sludge[J]. *Chemosphere*, 2010, 81(5): 626-632
- [13] Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 28(3): 350-356
- [14] Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, 193(1): 265-275
- [15] Dignac MF, Urbain V, Rybacki D, et al. Chemical description of extracellular polymers: implication on activated sludge floc structure[J]. *Water Science and Technology*, 1998, 38(8/9): 45-53
- [16] Hou WJ, Ma ZQ, Sun LL, et al. Extracellular polymeric substances from copper-tolerance *Sinorhizobium meliloti* immobilize Cu^{2+} [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 261: 614-620
- [17] Hou J, Miao LZ, Wang C, et al. Effect of CuO nanoparticles on the production and composition of extracellular polymeric substances and physicochemical stability of activated sludge flocs[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 176: 65-70
- [18] Mei XJ, Wang ZW, Zheng X, et al. Soluble microbial products in membrane bioreactors in the presence of ZnO nanoparticles[J]. *Journal of Membrane Science*, 2014, 451: 169-176
- [19] Huang X. Research on EPS, SMP and biodiversity in membrane biological reactor[D]. Tianjin: Master's Thesis of Tianjin University, 2008 (in Chinese)
黄兴. MBR 中 EPS, SMP 和生物多样性的研究[D]. 天津: 天津大学硕士学位论文, 2008
- [20] Furman O, Usenko S, Lau BLT. Relative importance of the humic and fulvic fractions of natural organic matter in the aggregation and deposition of silver nanoparticles[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(3): 1349-1356
- [21] Limbach LK, Bereiter R, Müller E, et al. Removal of oxide nanoparticles in a model wastewater treatment plant: influence of agglomeration and surfactants on clearing efficiency[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(15): 5828-5833
- [22] Chen W, Westerhoff P, Leenheer JA, et al. Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(24): 5701-5710
- [23] Yang XN, Cui FY, Guo XC, et al. Effects of nanosized titanium dioxide on the physicochemical stability of activated sludge flocs using the thermodynamic approach and Kelvin probe force microscopy[J]. *Water Research*, 2013, 47(12): 3947-3958
- [24] Ma S. Homo-aggregation and hetero-agglomeration with algal cells of nanoparticles in water[D]. Hangzhou: Master's Thesis of Zhejiang University, 2014 (in Chinese)
马偲. 水中纳米颗粒的自团聚及与藻细胞的异团聚[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2014