

不同活性污泥胞外聚合物提取方法优化

王淑莹, 何岳兰, 李夕耀, 贾方旭, 郭思宇

(北京工业大学北京市污水脱氮除磷处理与过程控制工程技术研究中心
北京市水质科学与水环境恢复工程重点实验室, 北京 100124)

摘要: 活性污泥胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)是污水生物处理过程中污泥结构、脱水性能、絮凝性能以及沉降性能的重要决定因素,而提取方法不同 EPS 的剥离程度存在很大的差别. 因此 EPS 提取方法的建立至关重要. 采用6种方法提取不同污泥 EPS,分析了不同污泥每 g 干污泥中分层 EPS 的质量及组成,并考察了污泥粒径及脱水性能与污泥 EPS 的关系. 结果表明:不同工艺不同污泥每 g 干污泥中 EPS 质量不同;甲醛 + NaOH 法提取 EPS 效率高且对细胞破坏程度小,试验中不同污泥 EPS 提取量为 15.88 ~ 39.30 mg;每 g 干污泥中黏液层 EPS 质量越高,蛋白质与多糖质量浓度之比越大,污泥脱水性能越差;污泥 EPS 的提取效率与污泥粒径存在一定的相关性,污泥粒径越大,提取效率越高.

关键词: 胞外聚合物(EPS); 提取方法; 脱水性能; 污泥粒径

中图分类号: X 703.1

文献标志码: A

文章编号: 0254-0037(2016)04-0569-08

doi: 10.11936/bjutxb2015070005

Optimization of Extracellular Polymeric Substance Extraction Method of Different Sludge

WANG Shuying, HE Yuelan, LI Xiyao, JIA Fangxu, GUO Siyu

(Engineering Research Center of Beijing, Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

Abstract: Extracellular polymeric substances (EPS) is an important determinant of the characters of sludge produced in biological wastewater treatment processes, including the structure, dewaterability, flocculation and settling behavior. However, the different extraction methods of EPS led to more discrepancy of EPS stripping degree. Thus, the establishment of the EPS extraction from sludge method is crucial. Six different methods were employed to extract EPS from different sludge in this study, and the content and composition of EPS in different sludge layers were analyzed. Meanwhile, the relationship between the sludge particle size and dewatering performance and the EPS were investigated. Results show that the EPS content is different in different processes of reactor. Formaldehyde + NaOH extraction method was proved to be the most efficient method to extract EPS from sludge, and the destructiveness on cells of this method was relatively slight. The extracted EPS content of different sludge of the method is in the range of 15.88 - 39.30 mg/gVSS. The content of slime-EPS is higher, the ratio of protein and polysaccharide is larger, but the dewaterability of the sludge is poorer. Besides, the sludge particle size is greater, and the extraction efficiency of EPS is higher.

收稿日期: 2015-07-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51478013); 住房和城乡建设部科学技术计划项目(2014-K7-022)

作者简介: 王淑莹(1953—), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事水污染生物处理工艺技术方面的研究, E-mail: wsy@bjut.edu.cn

Key words: EPS (extracellular polymeric substances); extraction method; dewaterability; particle size of sludge

活性污泥胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 是微生物在一定环境下消耗有机物而产生的附着于细胞壁上的高分子有机多聚物, 这种聚合物的组成与污水处理系统的运行方式有很大相关性^[1]. EPS 的化学组成复杂, 主要成分为蛋白质、多糖、DNA 和腐殖酸, 其中蛋白质和多糖占 EPS 总量的 70% ~ 80%^[2-3].

活性污泥 EPS 的量 and 组成不仅可以引起微生物颗粒化、生物絮凝, 还能维持生物絮体的结构^[4-7]. 同时, EPS 对活性污泥的沉降性能、吸附能力及污泥稳定化后的脱水性能有直接的影响^[8-10]. 活性污泥 EPS 可以分为黏液层 EPS、疏松结合型 EPS (loosely-bound EPS, LB-EPS) 和紧密结合型 EPS (tightly-bound EPS, TB-EPS)^[11-12]. 黏液层 EPS 溶解于液体, 参与表面的条件变化; LB-EPS 位于 TB-EPS 外, 黏合细胞群形成菌落或者絮体; TB-EPS 附着于细胞壁, 连接细胞群集, 有一定的外形^[11, 13].

活性污泥 EPS 紧紧附着于细胞壁, 具有较高的持水能力, 可以增加微生物抵抗外界环境条件变化的能力^[14], 只有特定的方法才能将其从污泥絮体中分离出来. 而 LB-EPS 与 TB-EPS 没有特定的界限, 且 TB-EPS 提取容易导致细胞破碎, 因此, 需要选择适当的方法来提取 TB-EPS. 目前主要的提取方法有离心法、超声波法、EDTA 法、加热法、NaOH 法、阳离子树脂交换法、甲醛 + NaOH 法、化学试剂外加电场法^[14-18]等. 为了达到高 EPS 提取效率和低细胞溶解之间的平衡最优化, 尽管已经有很多试验研究, 但是结果却仍存在争议.

因此, 确定一种活性污泥 EPS 提取方法, 使其在不破坏细胞壁的条件下达到最大的提取效率非常必要. 不仅能更准确地反映活性污泥 EPS 与污泥性质之间的关系, 而且可以为工艺的运行提供相关的

理论依据. 另外, 不同的污泥 EPS 提取方法对不同的活性污泥 EPS 提取效率存在差异性, 针对不同污泥确定不同提取方法, 使其提取效率最高也是尤为重要的.

本研究引用 EPS 的分层理论, 采用了离心法、超声波法、甲醛法、甲醛 + NaOH 法、甲醛 + 超声波法及加热法 6 种方法分别对完全混合中温厌氧消化反应器 (continuously stirred tank reactor-mesophilic anaerobic digestion, CSTR-MAD)、序批式全程硝化反硝化反应器 (sequencing batch reactor-complete nitrification denitrification, SBR-CND)、序批式短程硝化反硝化反应器 (sequencing batch reactor-short cut nitrification denitrification, SBR-SCND)、序批式除有机物反应器 (sequencing batch reactor-organic matter removal, SBR-OMR)、A²O 反硝化除磷反应器 (A²O-denitrifying phosphorus removal, A²O-DPR)、UCT 分段进水脱氮除磷反应器 (UCT-step feed nitrogen removal, UCT-SFNR) 等 6 个系统浓缩后污泥 EPS 提取效果进行研究. 同时, 研究污泥 EPS 对污泥脱水性能的影响, 并考察污泥粒径分布和污泥 EPS 的相关性, 为污泥脱水性能优化及 EPS 提取方法建立奠定基础.

1 材料与方法

1.1 试验剩余污泥来源

试验中所用的污泥来源于本实验室稳定运行的 CSTR-MAD、SBR-CND、SBR-SCND、SBR-OMR、A²O-DPR 及 UCT-SFNR 这 6 个系统反应结束的浓缩污泥. 6 种污泥的基本性质 (pH、*t*、TS、VS) 和 6 个系统的运行参数 (HRT、SRT) 如表 1 所示. 试验取泥阶段, 各系统运行稳定, 脱氮除磷系统运行效果良好, 去除率达 95% 以上.

表 1 试验污泥系统运行参数及污泥性质

Table 1 Operation parameters of experiment sludge system and characteristics of sludge

污泥来源工艺	pH	<i>t</i> /°C	TS/(mg·L ⁻¹)	VS/(mg·L ⁻¹)	HRT	SRT/d
CSTR-MAD	7.0 ± 0.2	35.0 ± 0.5	22 610	14 880	32 d	32
SBR-CND	7.5 ± 0.2	25.0 ± 0.5	12 860	10 575	14 h	20
SBR-SCND	7.5 ± 0.2	25.0 ± 0.5	15 710	12 265	16 h	16
SBR-OMR	7.5 ± 0.2	20.0 ± 0.5	16 226	12 330	12 h	20
A ² O-DPR	7.5 ± 0.2	20.0 ± 0.5	14 448	11 856	8 h	12
UCT-SFNR	7.5 ± 0.2	20.0 ± 0.5	14 956	12 014	10 h	25

1.2 污泥 EPS 提取方法

取上述不同系统浓缩后的污泥 112 mL,其中 100 mL 测污泥浓度 TS,2 mL 测污泥毛细吸水时间,10 mL 提取污泥 EPS. 分层提取污泥 EPS 的黏液层、LB-EPS 和 TB-EPS,具体提取方法如下:首先取上述不同系统浓缩后的污泥 10 mL,在 2 000 g、4 °C 下离心 15 min,取上清液即为 EPS 黏液层^[12];然后用磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer saline, PBS)将污泥重新悬浮到原体积,在 4 000 g、4 °C 下离心 15 min,取上清液即为 LB-EPS;然后仍用 PBS 将污泥重新悬浮到原来体积后,分别用离心法、超声波法、甲醛法、甲醛 + NaOH 法、甲醛 + 超声波法及加热法分别处理污泥,具体操作^[19]如下。

1) 离心法:对照处理,将重新悬浮后的污泥在 4 000 r/min、4 °C 下离心 20 min;

2) 超声波法:将重新悬浮后的污泥用槽式超声波发生器在 130 W 下超声 10 min;

3) 甲醛法:向重新悬浮后的污泥样品中加入适量 36.5% 的甲醛溶液,并在 4 °C 下震荡 1 h,本试验采用每 2 mL 样品加入 0.05 mL 甲醛溶液;

4) 甲醛 + NaOH 法:经上述甲醛法处理后,再加入适量 1 mol/L 的 NaOH 溶液震荡 3 h,试验中每 2 mL 样品加入 0.02 mL NaOH 溶液;

5) 甲醛 + 超声波法:经 3) 处理后,将样品用槽式超声波发生器在 130 W 下超声 10 min;

6) 加热法:将重新悬浮后的污泥在 70 °C 下震荡 30 min。

经过上述不同方法处理后,所有样品在 14 000 g、4 °C 下离心 15 min,收集其上清液即为不同提取方法所得的 TB-EPS. 黏液层 EPS、LB-EPS、TB-EPS 溶液经 0.45 μm 的滤膜过滤,于 4 °C 下透析 24 h (3.5 ku) 后进行组分分析。

1.3 指标分析方法及数据处理

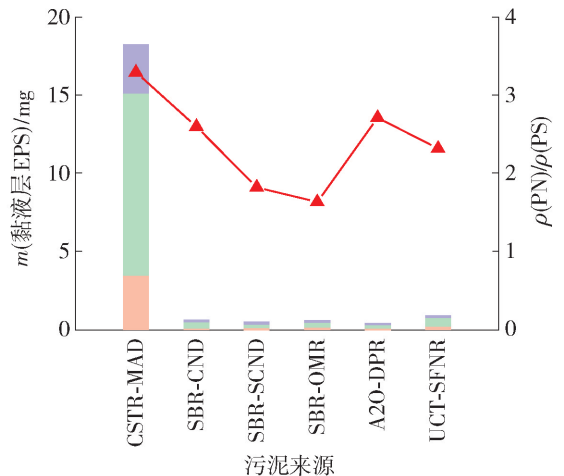
活性污泥每 g 干污泥中 EPS 提取总量以其组分蛋白质、多糖和 DNA 之和表示. 蛋白质采用改良型 Bradford 法蛋白质浓度测定试剂盒测定(生工 SK3041);多糖采用苯酚-硫酸法测定^[18];DNA 采用二苯胺法测定^[19]. 污泥质量浓度 TS 采用质量法测定. 污泥毛细吸水时间(capillary suction time, CST)采用 CST 快速测定仪(Triton Type 304M,英国)检测. 污泥粒径采用激光粒度分析仪(Winner2008,中国)检测. 活性污泥 EPS 及其组分的量均以每 g 干污泥(gVSS)中所含的质量计,并且利用 SPSS 数据处理分析软件对不同方法提取的 TB-EPS 进行显著

性差异分析。

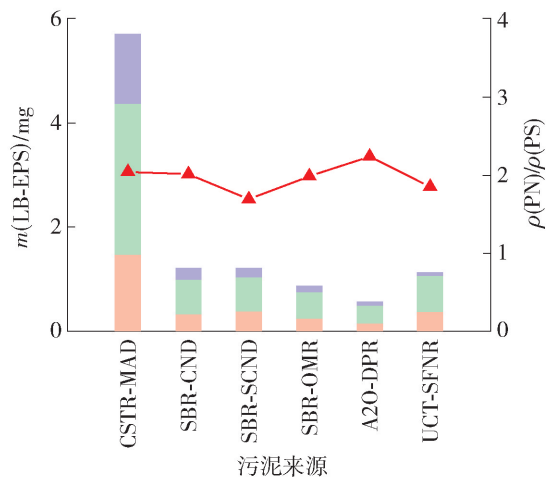
2 结果与讨论

2.1 不同污泥黏液层 EPS 和 LB-EPS 分布

图 1 为不同系统每 g 干污泥中黏液层 EPS 和 LB-EPS 提取总质量及各组分质量分布情况. 从各污泥黏液层 EPS 分布可以看出,每 g 干污泥中 CSTR-MAD 污泥黏液层 EPS 质量远高于其他污泥,为 18.18 mg. 其中蛋白质为主要成分占 63.4%,多糖和 DNA 的质量分别为 3.50、3.14 mg. 而其他污泥每 g 干污泥中黏液层 EPS 质量均低于 0.89 mg. 出现这种现象的原因是 CSTR-MAD 污泥在厌氧消化过程中死亡细胞分解成颗粒性组分,然后由酶水解为可溶性的蛋白质和多糖,使每 g 干污泥中黏液层 EPS 质量显著增加^[20]. 目前,较多研究发现 EPS



(a) 黏液层EPS分布情况



(b) LB-EPS分布情况

■ DNA ■ 蛋白质 ■ 多糖 ▲ $\rho(PN)/\rho(PS)$

图 1 不同污泥黏液层 EPS 和 LB-EPS 分布情况

Fig. 1 Distribution of slime and LB-EPS of different sludge

同污泥 TB-EPS 时,每 g 干污泥中 TB-EPS 质量及各组分质量。

对照法即离心法通过离心时产生的离心力将微生物表面的聚合物剥离,与其他提取方法相比,对不同污泥提取的每 g 干污泥中 TB-EPS 总质量均最低,最大为 CSTR-MAD 污泥,仅有 1.37 mg;同时,该方法提取的每 g 干污泥中 DNA 质量也是所有方法中最低的,平均为 0.14 mg。在 TB-EPS 各组分中,各污泥提取的主要成分均为蛋白质,占总 TB-EPS 的 74.1% 以上。该方法提取效率较低,但提取步骤简单温和,能表征每 g 干污泥中污泥 EPS 质量中各组分的相对组成,可以作为 EPS 提取方法的对照方法。

超声波法是通过超声波产生的剪切力和空穴效应,形成压力冲击从而使细胞表面的 EPS 脱落。从图 2 可以看出,与其他方法相比,超声波法提取各污泥每 g 干污泥中 TB-EPS 的质量仅高于对照法,最大提取量为 2.59 mg。该提取方法产生的每 g 干污泥中 DNA 质量也较低,平均为 0.34 mg。这是由于采用槽式超声波发生器超声污泥,与污泥的接触面积少,污泥受到的剪切力较弱,从而导致 EPS 剥离不彻底。

甲醛法提取不同污泥 TB-EPS 结果发现, TB-EPS 提取效率较对照和超声法相比有所提高,尤其是 UCT-SFNR 污泥,其提取的每 g 干污泥中后 EPS 总质量为 6.55 mg。试验结果表明:EPS 提取方法中化学方法提取效率高于物理方法提取效率,这与 Pan 等^[25] 研究结果一致;并且单独采用甲醛法对多糖的提取效率高于对蛋白质的提取效率。

甲醛 + 超声法是一种物理与化学结合的方法,利用化学药剂的同时利用超声波剪切力来使 TB-EPS 脱落,该方法对 CSTR-MAD、SBR-CND、SBR-SCND、SBR-OMR、A²O-DPR、UCT-SFNR 污泥提取的每 g 干污泥中 TB-EPS 总质量分别为 2.56、2.67、1.57、1.90、1.33、10.17 mg,各组分中蛋白质与多糖比例相当,平均分别为 38.74% 和 38.71%,DNA 质量平均为 0.29 mg。

甲醛 + NaOH 法是利用甲醛和细胞膜中的羟基等官能团反应,并加入 NaOH 使污泥 pH 升高,增加带电 EPS 分子间的斥力,从而提高 EPS 提取效率。与其他方法相比,该方法对不同污泥提取的每 g 干污泥中 TB-EPS 质量仅次于加热法,但是其 DNA 质量仅占总 TB-EPS 的 0.9% ~ 1.8%,且该方法提取的蛋白质质量均最高,CSTR-MAD、SBR-CND、SBR-

SCND、SBR-OMR、A²O-DPR、UCT-SFNR 污泥分别为 7.93、17.05、14.69、11.07、11.04、26.10 mg,所占比例均在 69.9% 以上,所有污泥每 g 干污泥中多糖质量平均为 5.15 mg。

研究表明, EPS 提取物中高 DNA 质量浓度是细胞破裂溶解的表征,提取方法不当会使 EPS 提取物各组分中 DNA 占主要成分^[9,26]。除 CSTR-MAD 污泥外,加热法提取其他 5 种污泥每 g 干污泥的 TB-EPS 中 DNA 质量均较高, DNA 质量占总 TB-EPS 的 46.8% ~ 69.6%。多糖和蛋白质质量则较甲醛 + NaOH 法低。这可能是由于高温在一定范围内改变了分子的结构形态和酶活性,使细胞破裂,胞内核酸溶出,使 DNA 成为 EPS 的主要成分。加热法对 CSTR-MAD 污泥提取效率低的主要原因是该污泥长期适宜中温,对于温度的变化有一定的抗性,当温度升高时,对其影响并不明显。

表 2 是通过 SPSS 数据处理分析软件得出的本研究中 6 种 EPS 提取方法提取每 g 干污泥中的 TB-EPS 质量及其组分质量的显著性差异分析,可以看出对于本研究中的 6 种污泥,6 种提取方法提取的 TB-蛋白质、TB-多糖、TB-DNA 及 TB-总 EPS 其克鲁斯卡尔·沃利斯检验得到的 *p* 值均小于 0.05,因此,本研究中的 6 种 EPS 提取方法之间存在显著性的差异,也就是说,对于每种 EPS 提取方法的研究都是必要的。

表 2 不同 EPS 组分 6 种不同提取方法间的显著性差异性
Table 2 Significant differences between six extraction methods of EPS components

指标	TB-蛋白质	TB-多糖	TB-DNA	TB-总 EPS
样品总数	36	36	36	36
检验统计	23.997	23.997	21.428	27.976
自由度	5	5	5	5
渐进显著性	0.000	0.000	0.001	0.000

2.3 不同 EPS 提取方法评价

不同方法提取 6 种污泥总 EPS 质量(即黏液层 EPS、LB-EPS、TB-EPS 之和)如图 3 所示。结合上述分层讨论可以看出,CSTR-MAD 污泥含有水解酸化菌使得其可溶性蛋白质及多糖质量增加,其黏液层 EPS 质量高,对照法提取的 CSTR-MAD 污泥每 g 干污泥中黏液层 EPS 质量占其总 EPS 质量的比例高达 75.0%。因此,除甲醛 + NaOH 法外,其余方法对该污泥 EPS 提取效率无明显差异。而 SBR-CND、SBR-SCND、SBR-OMR、A²O-DPR、UCT-SFNR 污泥对

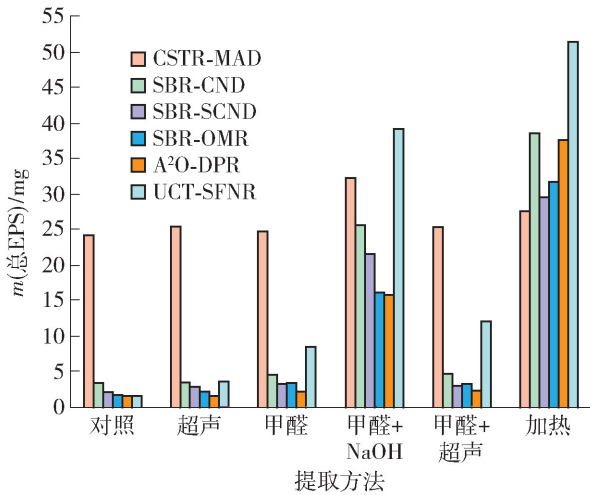


图3 不同方法提取不同污泥总EPS

Fig. 3 Content of total EPS that different methods extract EPS from different sludge

不同的EPS提取方法,其提取量不同,但同种提取方法对这5种污泥EPS提取的效果类似. Tian等^[14]研究结果发现,对照法和超声波法虽然操作简单、无化学药剂污染,但是其提取效率较低,只能表征EPS组分的相对组成,这与本研究结果一致;本研究中对照法和超声波法对上述5种试验污泥EPS提取量均较低,每g干污泥中仅为3.65 mg

以下. 而甲醛法和甲醛+超声波法对这些污泥EPS提取量分别为每g干污泥中2.18~8.54 mg和2.31~12.16 mg,稍高于对照法和超声波法. 研究发现甲醛有利于细胞的固定,对细胞破坏较小,但是其提取EPS的效率低^[9]. 加热法对各污泥EPS提取效率较高,但由图2(c)可知,每g干污泥中其DNA质量高,细胞破裂严重,胞内物质溶出,不适宜做后续指标分析. 甲醛+NaOH法利用甲醛固定细胞的同时利用碱升高pH值,增加带负电荷分子间的斥力,提高EPS提取效率. 本研究中,与其他方法相比,甲醛+NaOH法对不同污泥EPS提取效率高,提取量在15.88~39.30 mg,且其对细胞伤害小,是一种较优的提取方法.

2.4 污泥脱水性能和污泥粒径与EPS质量的关系

不同污水处理工艺,其每g干污泥中EPS质量不同;相同污水处理工艺不同运行目的不同水质参数,其每g干污泥中EPS质量也不相同,特别是有机物质量浓度不同,导致了每g干污泥中EPS质量存在差异. 污泥EPS提取效率与污泥性质有很大的相关性,表2给出了本试验中不同污泥的平均粒径和CST,并给出了甲醛+NaOH法提取EPS时每g干污泥中各层EPS质量占总EPS的比例.

表2 试验污泥性质及分层EPS比例

Table 2 Properties of test sludge and ratio of layered EPS

污泥	CSTR-MAD	SBR-CND	SBR-SCND	SBR-OMR	A ² O-DPR	UCT-SFNR
CST/s	1 347.1	56.2	48.9	95.0	31.5	24.5
平均粒径/ μm	45.48	158.28	143.09	135.77	120.57	239.64
$m(\text{黏液层EPS}) \cdot m(\text{总EPS})^{-1}/\%$	54.4	2.0	2.1	3.4	2.4	2.3
$m(\text{LB-EPS}) \cdot m(\text{总EPS})^{-1}/\%$	17.0	4.7	5.5	5.2	3.5	2.8
$m(\text{TB-EPS}) \cdot m(\text{总EPS})^{-1}/\%$	28.5	93.3	92.4	91.3	94.2	94.9

CST常用来反映污泥的脱水性能,CST越小,表明污泥的脱水性能越好^[27]. CSTR-MAD污泥CST高达1 347.1 s,其脱水性能较差. 结合其EPS提取情况分析原因为其每g干污泥中黏液层EPS质量高,溶液中含大量多糖和蛋白质, $\rho(\text{PN})/\rho(\text{PS})$ 高于其他污泥,研究发现溶解态蛋白质与多糖质量浓度之比增加,说明污泥絮体解体,细小污泥产生,从而导致污泥的脱水性能变差^[24],因此,每g干污泥中黏液层EPS质量对污泥的脱水性能影响较大. 周俊等^[19]研究了污泥EPS分层提取前后污泥CST的变化情况,发现污泥黏液层EPS、LB-EPS和TB-EPS脱

落后污泥的脱水性能大幅改善,并且黏液层EPS质量对污泥脱水性能影响最严重,与本研究结果一致.

根据表2中污泥的平均粒径分布可以将试验污泥分为3类:CSTR-MAD污泥粒径较小($< 50 \mu\text{m}$)为第1类,SBR-CND、SBR-SCND、SBR-OMR、A²O-DPR污泥粒径分布在 $100 \sim 200 \mu\text{m}$ 之间为第2类,UCT-SFNR污泥粒径偏大($> 200 \mu\text{m}$)为第3类. 对第1类污泥,EPS剥离困难,不同方法提取效率差别不大,提取效率低;而对第3类污泥,污泥粒径大,每g干污泥中EPS质量高,提取效率高;第2类污泥则介于两者之间. Zhang等^[28]研究发现污泥在颗粒化

的过程中,其EPS提取量明显增加,这说明在一定范围内污泥粒径越大,其EPS提取量越高。

3 结论

污泥胞外聚合物EPS的组分及每g干污泥中各组分质量与污泥的沉降、脱水等性质有很大的相关性。因此,不同污泥EPS提取方法的优化尤为重要。本研究通过对比不同方法提取不同污泥EPS得到以下结论:

1) 针对本研究中的不同污泥,加热法和甲醛+NaOH法提取EPS的效率较高,但是加热法提取时微生物细胞严重破裂,胞内物质溶出,不宜采用;甲醛+NaOH法对污泥细胞破坏程度小,提取效率高,是一种高效的提取方法。

2) 通过对本实验室多种工艺浓缩污泥EPS的分层提取分析发现,工艺和运行参数不同使得每g干污泥中污泥EPS质量存在很大差别,各种污泥中蛋白质为EPS主要成分。

3) 每g干污泥中污泥黏液层EPS质量越高,并且 $\rho(\text{PN})/\rho(\text{PS})$ 越大,污泥脱水性能较差;不同方法提取CSTR-MAD污泥每g干污泥中黏液层EPS质量占总EPS质量均在50.0%以上, $\rho(\text{PN})/\rho(\text{PS})$ 达3.293,而其脱水性能明显较其他污泥脱水性能差。

4) 通过不同污泥粒径与不同EPS提取方法和提取效率比较发现,随着污泥粒径的增大,EPS提取含量增加,提取效率增强。

参考文献:

[1] NI B J, FANG F, XIE W M, et al. Characterization of extracellular polymeric substances produced by mixed microorganisms in activated sludge with gel-permeating chromatography, excitation-emission matrix fluorescence spectroscopy measurement and kinetic modeling[J]. *Water Research*, 2009, 43(5): 1350-1358.

[2] FLEMMING H C, WINGENDER J. The biofilm matrix [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(9): 623-633.

[3] HOUGHTON J I, STEPHENSON T. Effect of influent organic content on digested sludge extracellular polymer content and dewaterability[J]. *Water Research*, 2002, 36(14): 3620-3628.

[4] D'ABZAC P, BORDAS F, VAN HUILEBUSCH E, et al. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from anaerobic granular sludges: comparison of chemical

and physical extraction protocols [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 85(5): 1589-1599.

- [5] CAUDAN C, FILALI A, LEFEBVRE D, et al. Extracellular polymeric substances (EPS) from aerobic granular sludges: extraction, fractionation, and anionic properties[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2012, 166(7): 1685-1702.
- [6] LI X Y, YANG S F. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge[J]. *Water Research*, 2007, 41(5): 1022-1030.
- [7] SEVIOUR T, YUAN Z G, VAN LOOSDRECHT M C M, et al. Aerobic sludge granulation: a tale of two polysaccharides?[J]. *Water Research*, 2012, 46(15): 4803-4813.
- [8] SHENG G P, YU H Q, LI X Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: a review [J]. *Biotechnology Advances*, 2010, 28(6): 882-894.
- [9] LIU H, FANG H H P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges [J]. *Journal of Biotechnology*, 2002, 95(3): 249-256.
- [10] NOVAK J T, SADLER M E, MURTHY S N. Mechanisms of floc destruction during anaerobic and aerobic digestion and the effect on conditioning and dewatering of biosolids [J]. *Water Research*, 2003, 37(13): 3136-3144.
- [11] PELLICER-NÀCHER C, DOMINGO-FÉLEZ C, MUTLU A G, et al. Critical assessment of extracellular polymeric substances extraction methods from mixed culture biomass [J]. *Water Research*, 2013, 47(15): 5564-5574.
- [12] YU G H, HE P J, SHAO L M, et al. Stratification structure of sludge flocs with implications to dewaterability [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(21): 7944-7949.
- [13] 倪丙杰,徐得潜,刘绍根. 污泥性质的重要影响物质——胞外聚合物(EPS) [J]. *环境科学与技术*, 2006, 29(3): 108-110.
- NI B J, XU D Q, LIU S G. Important influence on the sludge properties of the material—extracellular polymeric substances (EPS) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 29(3): 108-110. (in Chinese)
- [14] TIAN Y, ZHENG L, SUN D Z. Functions and behaviors of activated sludge extracellular polymeric substances (EPS): a promising environmental interest [J]. *Journal of Environmental Sciences-China*, 2006, 18(3): 420-427.

- [15] NGUYEN M T, MDHD YASIN N H, MIYAZAKI T, et al. Enhancement of sludge reduction and methane production by removing extracellular polymeric substances from waste activated sludge [J]. *Chemosphere*, 2014, 117: 552-558.
- [16] WEI L L, WANG K, ZHAO Q L, et al. Fractional, biodegradable and spectral characteristics of extracted and fractionated sludge extracellular polymeric substances [J]. *Water Research*, 2012, 46(14): 4387-4396.
- [17] LIANG Z W, LI W H, YANG S Y, 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.
- [18] 钟方丽, 曹宏斌, 李鑫钢. 交流电场对生物膜胞外聚合物提取过程的影响 [J]. *中国环境科学*, 2003, 23(3): 243-246.
ZHONG F L, CAO H B, LI X G. Effect of alternating electric field on the extraction of extracellular polymeric substances of biofilm [J]. *China Environmental Science*, 2003, 23(3): 243-246. (in Chinese)
- [19] 周俊, 周立祥, 黄焕忠. 污泥胞外聚合物的提取方法及其对污泥脱水性能的影响 [J]. *环境科学*, 2013, 34(7): 2752-2757.
ZHOU J, ZHOU L X, HUANG H Z. Optimization of extracellular polymeric substance extraction method and its role in the dewaterability of sludge [J]. *Environmental Science*, 2013, 34(7): 2752-2757. (in Chinese)
- [20] BATSTONE D J, KELLER J, NEWELL R B, et al. Modelling anaerobic degradation of complex wastewater. I: model development [J]. *Bioresource Technology*, 2000, 75(1): 67-74.
- [21] ADAV S S, LEE D J. Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 154(1/2/3): 1120-1126.
- [22] WANG Z P, LIU L L, YAO J, et al. Effects of extracellular polymeric substances on aerobic granulation in sequencing batch reactors [J]. *Chemosphere*, 2006, 63(10): 1728-1735.
- [23] XIE B, GU J D, LU J. Surface properties of bacteria from activated sludge in relation to bioflocculation [J]. *Journal of Environmental Sciences-China*, 2010, 22(12): 1840-1845.
- [24] NOVAK J T, MULLER C D, MURTHY S N. Floc structure and the role of cations [J]. *Water Science and Technology*, 2001, 44(10): 209-213.
- [25] PAN X L, LIU J, ZHANG D Y, et al. A comparison of five extraction methods for extracellular polymeric substances (EPS) from biofilm by using three-dimensional excitation-emission matrix (3DEEM) fluorescence spectroscopy [J]. *Water Sa*, 2010, 36(1): 111-116.
- [26] DOMINIAK D M, NIELSEN J L, NIELSEN P H. Extracellular DNA is abundant and important for microcolony strength in mixed microbial biofilms [J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(3): 710-721.
- [27] YU G H, HE P J, SHAO L M. Novel insights into sludge dewaterability by fluorescence excitation-emission matrix combined with parallel factor analysis [J]. *Water Research*, 2010, 44(3): 797-806.
- [28] ZHANG L L, FENG X X, ZHU N W, et al. Role of extracellular protein in the formation and stability of aerobic granules [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007, 41(5): 551-557.

(责任编辑 吕小红)