

胞外聚合物的提取与特性分析研究进展

严杰能, 许燕滨, 段晓军, 杜妍晔

广东工业大学环境科学与工程学院, 广州 510006

摘要 胞外聚合物(EPS)由于具有独特的性能,在废水处理过程中扮演着重要角色,已成为目前的研究热点之一。它是一种附着于细胞表面的不溶性有机物,其主要来源于微生物的新陈代谢和细胞自溶,主要由多糖、蛋白质、核酸和腐殖酸等组成。本文在介绍胞外聚合物的组成、性质和特性的基础上,对生物膜、污泥和细菌胞外聚合物的提取技术、胞外聚合物组成和表面特性分析方法的研究概况进行了综述,并总结了近年来胞外聚合物的发展趋势和应用前景,为胞外聚合物的进一步研究和应用提供有价值的参考。

关键词 胞外聚合物;提取方法;组分分析;特性分析

中图分类号 X172

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2009)20-0106-05

A Review on the Extraction and Property Analysis of Extracellular Polymeric Substance

YAN Jieneng, XU Yanbin, DUAN Xiaojun, DU Yanye

Faculty of Environmental Science and Engineering, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China

Abstract Extracellular polymeric substance (EPS) plays an important role on the removal of pollutant in the wastewater due to its special properties, and its study is one of the hottest research fields in recent years. EPS is some kinds of important indiscernible organics, usually attached on the cell wall and derived from bacteria metabolism and cell lysis. This substance mainly consists of polysaccharides, proteins, nucleic and humic acid. EPS has a negatively gel matrix with extremely diverse characteristics and a wide variety of functional groups. At present, the research on the mechanism and the role of EPS is still in an early stage, with a lot of problems to be explored. Based on the components, characteristics and properties of EPS, the research progress of the techniques for the EPS extraction, methods of its composition and property analysis is reviewed in this paper. The development trend and potential applications of EPS are discussed. The paper may serve a reference for further studies on EPS.

Keywords extracellular polymeric substance; extraction method; composition analysis; property analysis

胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substance, EPS)是一定环境条件下微生物分泌于体外的一种高分子黏性聚合物,一般还包括一些细胞脱落物以及从环境中吸附的有机物^[1]。随着生物技术在各领域的深入发展, EPS 的应用越来越受到重视,目前在实际工程中已得到广泛应用。如在矿物加工中被用作硫化矿浮选的抑制剂;在医药工程中用于疾病防治和保健;在食品工业作为食品添加剂、抗凝剂、保鲜剂等;在环境工程中 EPS 不仅能影响活性污泥的疏水性、絮凝性、沉降性,更能影响其对重金属离子的吸附性,还可以作为生物絮凝剂、吸附剂。大量研究表明^[2-4], EPS 在水环境重金属离子的去除过程中起着至关重要的作用。EPS 的特性研究是目前的研究热点之一。目前有关 EPS 的提取和特性分析方法的研究报道较多,但由于方法的多样性,导致结果并不统一,因此,本文拟在介绍 EPS 的性质、结构、特性、作用等的基础上,对生物膜、污泥和细菌 EPS 的提取技术、EPS 组成含量和表面特性分析方法的研究概况进行总结分析,进而提出 EPS 的发展趋势和应用前景,借此为 EPS 的进一步研究和应用提供参考。

1 EPS 的组成、性质和特性

EPS 是一种天然高分子化合物,成分复杂,主要由蛋白质、多糖组成,约占 EPS 总量的 70%~80%,伴随有少量的腐殖酸、糖醛酸和核酸^[5-6]。它的组成受到外界很多因素的影响,

收稿日期: 2009-09-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(40801194)

作者简介: 严杰能,研究方向为环境微生物工程,电子信箱: kitnang_yum@yahoo.com.cn; 许燕滨(通信作者),副教授,研究方向为环境生物技术应用,电子信箱: hopeybxu@tom.com

如细胞生长过程的分泌物、细胞表面的脱落物、细胞裂解以及从外界环境中吸附的物质等^[7]。EPS 广泛存在于细胞表面,具有表面吸附性强,生物絮凝性好,能稳定絮体结构,形成保护层抵御杀菌剂和有毒物质的危害,保持水分,富集营养物质等重要生理功能^[1-2,8]。Sunil 等^[9]研究了 EPS 对好氧颗粒污泥

结构稳定性的影响,揭示了 EPS 在维持颗粒污泥絮凝结构中的作用;最近人们又发现 EPS 对防止金属腐蚀有一定作用。表 1 描述了不同来源的生物膜、污泥、硅藻 EPS 成分含量之间的异同,说明 EPS 的主要组成成分是多糖和蛋白质,它们的比例不仅与提取方法有关,而且因对象来源不同存在差别。

表 1 不同来源的生物膜、污泥和硅藻 EPS 组成
Table 1 EPS form different biofilm, sludge and diatom

对象	提取方法	多糖/%	蛋白质/%	DNA/%
自然水体中生物膜	高速离心	40	52	8
膜生物反应器(MBR)中的膜污染物	碱液离心	31	63	6
好氧污泥	甲醛-NaOH 法	55	29	16
厌氧污泥	甲醛-NaOH 法	50	34	16
咖啡形双眉藻	离心+90%乙醇	88.2	11.8	—
多枝舟形藻	离心+90%乙醇	91.3	8.7	—

2 EPS 的提取

2.1 EPS 的提取方法

EPS 的提取效率很大程度上受提取方法影响,不同的提取方法对微生物细胞具有不同的影响,因此选择合适的提取方法非常重要。提取方法不但要足够强,保证 EPS 从细胞表面被有效提取的同时,又要足够温和,减少细胞破裂和溶解。目前,对于 EPS 的提取还没有统一的技术规范,经过多年的研究和探索,人们把 EPS 的提取方法总结分为物理提取法和化学提取法。物理提取法主要是通过外力作用使 EPS 脱离细胞表面转移至溶液中,常用方法有高速离心法、加热提取法、蒸汽法、超声波提取法等;化学提取法是通过化学溶剂与 EPS 的作用,使大分子 EPS 呈水溶性而被提取出来,常用方法包括 EDTA 法、NaOH 法、H₂SO₄ 提取法、阳离子交换树脂提取法等;近年来,还出现有物理法和化学法联用的组合方法,如超声波-阳离子树脂提取法。不同的提取对象,提取方法也略有差异。

2.1.1 生物膜 EPS 的提取

物理法和化学法均适用于生物膜 EPS 的提取。提取前必须进行生物膜培养,培养后将生物膜刮置于匀浆机中搅拌待用。目前对生物膜的提取多数采用化学方法,但加入的萃取剂浓度不能过高,否则会破坏细胞,造成 DNA 含量大增。Li 等^[10]发现生物膜 EPS 的提取效率与膜的厚度有关,当生物膜较薄时,EPS 的分泌反而增多,表明营养不足有利于产生更多的 EPS,通过 NaOH 法提取到的 EPS 可达 65 mg·g⁻¹ VSS。康春莉等^[11]采用高速离心法和 EDTA 法、NaOH 法、磷酸二氢钾法对生物膜 EPS 进行提取,结果表明:在高速离心法下测得糖类、蛋白质、DNA 质量分数依次为 26%,30%,10%;EDTA 法测得糖类、蛋白质、DNA 质量分数依次为 72%,59%,16%;NaOH 法测得糖类、蛋白质、DNA 质量分数依次为 59%,54%,16%;磷酸二氢钾法测得糖类、蛋白质、DNA 质量分数依次为 49%,51%,14%。

2.1.2 活性污泥膜 EPS 的提取

对污泥 EPS 含量进行定量分析的一个关键是 EPS 的提取,活性污泥 EPS 的提取大多是借鉴了生物膜 EPS 的提取方法^[12]。常用的活性污泥 EPS 提取法有:加热提取法、超声波提取法、阳离子交换树脂法,最近出现较多的还有一些组合法,如甲醛-NaOH 法、超声波-阳离子交换树脂法等。Li 等^[13]在 80℃条件下对厌氧污泥样品 EPS 进行加热提取,总的 EPS 提取量高达 168 mg·g⁻¹ VSS。李绍峰等^[14]利用阳离子交换树脂法提取活性污泥 EPS,EPS 的提取量达到 111.20 mg/L,DNA 占提取量的 12.13%。该方法的重现性试验结果还表明,EPS 及其各成分的相对标准偏差在 2.21%~6.07%之间,能较好地满足试验要求,是一种可靠的 EPS 提取方法。王暄等^[15]采用 4 种方法(热、超声、高压、碱处理)分别研究在不同的作用时间和方式下对好氧颗粒污泥 EPS 的提取效果,综合考虑各提取方法的提取效果及对于污泥细胞的破坏程度后,确定热处理(80℃,30 min)和超声波提取(320 W,40 s)法均是可行的,其中热处理提取产物中多糖、蛋白质分别为 30.3、8.1 mg·g⁻¹ VSS,而超声波则分别为 24.3、10.8 mg·g⁻¹ VSS。郑雷等^[16]考查了蒸气法、EDTA 法、NaOH 法和搅拌法 4 种方法对 3 种活性污泥 EPS 的提取效率,结果表明:EDTA 法对 EPS 总量和糖的提取效率最高,搅拌法的效率最低,说明相对于搅拌扩散、NaOH 引起的水解作用和蒸气引起的热运动,EPS 中糖类物质更容易与 EDTA 发生络合反应,EDTA 对细胞的损坏也相对较大,且好氧颗粒污泥 EPS 中多糖含量高于蛋白质,在热处理和超声波提取的产物中,多糖与蛋白质之比分别为 3.7 和 2.3。Sunil 等^[9]采用甲酰胺-NaOH 法对好氧颗粒污泥 EPS 进行提取,蛋白质、糖类、脂类的提取效果依次为 240±13,61.0±9.4,51.1±7.8 mg·g⁻¹ VSS。

2.1.3 细菌 EPS 的提取

人们曾用一系列不同的方法试图从细菌细胞表面将 EPS 提取出来,某些研究甚至还利用基因突变的手段来得到 EPS

游离细胞。然而大多数人还是采用化学法（如 EDTA 或甲醛法）和物理法（如超声波或阳离子树脂法），但在这些方法之中，人们通过电镜扫描发现超声波并不能完全使 EPS 从细胞表面脱落，化学试剂又很容易造成胞内物质外流，污染样品，因此，阳离子树脂提取法较为合适^[17]。除此以外，国内外很多研究都采用：菌种-液体培养基-离心-醇析-冻干的提取工艺，这样的提取工艺有助于对 EPS 做进一步研究，如表面基团红外光谱分析、SEM 观察 EPS 的分布状况等。Zhang 等^[18]对硅藻的培养液进行离心处理 30 min，加入 3 倍体积 95%乙醇，离心生收集沉淀物为 EPS。Gilles 等^[19]从活性污泥中分离出 6 株革兰氏阴性杆菌和 1 株革兰氏阳性杆球菌，并对以上菌株在 40 W 超声波条件下处理 2 min 后，于 20 000 g、40℃条件下高速离心，得到的上清液再在 20 000 g、40℃离心提取，得到 EPS 溶液，7 株菌种蛋白质含量分别为：202、168、193、206、130、101、189 mg·g⁻¹；多糖含量分别为：26、7、37、40、22、6、18 mg·g⁻¹；DNA 含量分别为：29、10、8、21、28、26、55 mg·g⁻¹；提取效果较好。

2.2 EPS 提取方法的有效性检验及应用

有效的提取方法是指最大限度地提取细胞表面的 EPS，但对细胞不破坏或破坏程度最小的方法。由于 EPS 与细胞结

合非常紧密，一般情况下物理提取法的提取效率低于化学提取法；但化学提取法易造成细胞死亡，使胞内物外流，影响提取结果，因此，EPS 提取技术中另一重要问题是如何评价对微生物细胞的损坏程度，通常以 EPS 中的 DNA 和蛋白质的相对含量作为评价指标。Bo 等^[20]又提出通过测定 EPS 中胞内酶（G6PDH，6-磷酸葡萄糖脱氢酶）的活性判断细胞的溶解程度，然而以这些物质含量为标准，有时也很难判断这些物质的存在究竟是提取前的细胞自溶产物，还是提取技术使细胞破壁造成的胞内物质溶出。总之，人们一致认为，选择 EPS 的提取方法，必须综合考虑提取效率和细胞破损程度等因素。

3 EPS 的特性分析

3.1 胞外聚合物的组分分析

多糖和蛋白质是 EPS 的主要成分，而多糖和蛋白质的含量比和 DNA 是衡量 EPS 提取过程中细胞破损程度的重要指标。因此，对 EPS 进行化学分析是检验其提取方法可行性的必要途径。目前，对 EPS 组分分析还没有统一的技术方法，但在选择分析方法时要结合操作、结果可靠性等方面综合考虑。常用的 EPS 组分含量分析方法详见表 2。

表 2 常用的 EPS 组分含量分析方法
Table 2 Common methods of composition analysis for EPS

组分	方法名称	方法说明	参考文献
多糖	苯酚-硫酸法	以葡萄糖为标准物，稳定性好，精密度高且重现性好	[21]
	紫外-可见分光光度法	操作简单，结果可靠	[22]
	蒽酮比色法	以葡萄糖为标准物，快速，简便	[22],[23]
蛋白质	Folin-酚试剂法	灵敏度高，但费时较长，标准曲线不是严格的直线形式	[16]
	Bradford 法	灵敏度高，测定快速、简便，染色稳定，干扰物质少	[21],[24]
	紫外吸收法	简便、灵敏、快速，不消耗样品，但准确度较差，用标准曲线法测定蛋白质含量时，对于与标准蛋白中酪氨酸和色氨酸含量差异大的蛋白质，有一定的误差	[25]
DNA	荧光分析	以鲑精作为标准物，灵敏度高，并且适合测量低浓度和微量 DNA	[21]
	二苯胺显色法	简便快捷，但容易受杂质影响	[22],[23]

3.2 EPS 的表面特性

3.2.1 EPS 表面电荷

EPS 表面电负性是由 EPS 中的带电基团决定的，取决于 EPS 的化学组成和比例。另外，EPS 中含负电荷基团较多，正电荷基团较少，因而 EPS 一般情况下都是呈负电荷的，其绝对值一般在 0.2~0.6 meq·g⁻¹ MLSS 之间^[26]；大量研究表明^[27-28]：在水处理过程中，EPS 的表面电荷对污泥的絮凝性、沉降性、脱水性等都有重要影响，EPS 的表面电荷通常采用电荷密度和 Zeta 描述。目前有关 EPS 表面电荷检测的方法报道还不多，方法种类也较单一，常见的 EPS 表面电荷检测方法有 pH 滴定法和胶体滴定法。Mikkelsen^[29]的研究表明，胶体滴定法能准确测量大分子 EPS 的表面电荷，其结果较 pH 滴定法更为

准确。郑雷等^[30]利用胶体滴定法考查了 pH 值对 EPS 的表面特征影响，胶体滴定结果表明，2 种污泥提取 EPS 表面负电荷随 pH 值的上升而下降。Masato 等^[31]利用电位滴定法发现微生物细胞在有或没有 EPS 的情况，表面电性不发生改变。龙向宇等^[32]用胶体滴定法探讨了污泥龄对活性污泥中 EPS 的表面电荷影响，结果表明，随着污泥龄（Sludge Retention Time，SRT）的增大，EPS 的电荷密度和 Zeta 电位逐渐降低。

3.2.2 EPS 表面官能团

EPS 不仅具有巨大的表面积，而且携带着大量在水处理作用中起重要作用的官能团，主要有羟基、胺基、酰胺基、羧酸等，这些负离子基团，对重金属离子表现出强烈的亲和性；生物膜吸附水体中的重金属离子的一个重要机制就是通过



EPS 中带负电荷的配合基与重金属相互作用而逐渐吸附重金属离子^[33]。常用的 EPS 官能团分析方法有红外光谱分析法,它是利用物质的分子对红外辐射的吸收,得到与分子结构相应的红外光谱图,从而鉴别分子结构的方法。对于金属离子铜, Loukidou 等^[34]研究了豚鼠气单胞菌的 EPS,结果表明,豚鼠气单胞菌 EPS 的羧基和磷酸基对铜起主要吸附作用。苏春彦等^[35]通过研究长春南湖水体细菌 EPS 中的有机组分胞外蛋白和胞外多糖对铅、铜的相互作用机制,根据红外光谱图关键基团峰的位移,从而确定了胞外有机组分吸附对重金属离子起关键作用的化学基团,如胞外蛋白的氨基、酰胺基、胞外多糖的羟基、酰胺基等。对于金属铜离子,潘响亮等^[36]对硫酸盐还原混合菌群分泌的 EPS 进行 FTIR 分析,表明 EPS 中蛋白质的酰胺(II)、羧基,多聚糖的 C—O—C、—OH 和脂类等基团对 Cu²⁺具强络合能力。Martha 等^[37]的研究表明,生物物质中结合 Cu²⁺的配合基可以是羧基、硫酸基、磷酸基等负离子基团,或胺基等具有孤对电子的基团。Comte 等^[38]的研究发现, EPS 的吸附与 pH 值有关, pH 值在 7 和 8 时对铜的吸附量最大。对于金属铬离子,Bois 等^[39]研究发现, Cr(III)的吸附受腐殖酸的影响,低 pH 值有利于 Cr(III)与腐殖酸形成三元络合物。Priya 等^[40]对海藻 EPS 进行 FTIR 分析,发现—OH、—NH、—COOH 等基团对 Cr(VI)有强的吸附作用。Sibel 等^[41]用 FT-IR 分析了链孢菌生物物质对 Cr(VI)的吸附作用,图谱表明—NH、—OH、—COOH、—CO、P=O 等都与 Cr(VI)发生络合作用。

3.3 EPS 的仪器分析

某些情况下,如观察 EPS 的分布、吸附前后形态、酶处理前后形态等,必须通过一些先进仪器进行分析。目前国内外对 EPS 的结构特性、表面形态等主要采用扫描电镜、傅里叶红外光谱仪、激光共聚焦显微镜 (CLSM) 与不同荧光探针联合、能谱仪等先进仪器及一些化学分析方法进行研究。Masato 等^[31]利用扫描电镜 (SEM) 对 EPS 的分布进行了分析,发现 EPS 呈云状完全覆盖于细胞表面,而经过葡糖淀粉酶处理的细胞表面明显没有云状物质。Sunil 等^[22]通过发射型电子显微镜 (EEM) 证明了好氧污泥 EPS 中存在蛋白质及腐殖酸,并利用激光扫描聚焦显微镜 (CLSM) 观察了 EPS 在生物样品中的分布。Zhang 等^[42]通过扫描电镜对比了 EPS 吸附染料 BB54 前后的形态,发现吸附前 EPS 呈线状晶体结构,而吸附后被呈网状的染料紧密包裹,表明 EPS 有很好的吸附能力。

4 前景与展望

对 EPS 进行深入适用透彻研究,有助于提示生物处理的本质,是目前废水生化处理的前沿研究。迄今为止,有关 EPS 对水处理过程中的操作参数、污泥的沉降脱水等的影响还不十分清楚,对 EPS 在生物吸附和降解有机物过程中的变化情况、重金属离子的迁移及其机制更是一项空白。随着国家对环境保护的日益重视, EPS 的应用前景将会越来越广泛,对 EPS 的提取方法及其特性进行研究和应用,将为污水生物处理技术开辟更为广阔的空间,今后应把重点放在以下方面:

- 1) 筛选出高产 EPS 的优势菌种培养条件,充分发掘和利用资源型 EPS 来源,如剩余污泥;
- 2) 优化 EPS 的提取过程,完善现有的提取技术,开发利用多种单一技术的优化组合,保证提取效率,降低破坏性;
- 3) 引入更多新的监测手段,为 EPS 的特性分析奠定技术基础;
- 4) 根据不同领域的需要,加大 EPS 特殊成分的综合利用开发,如 PHA 的生产,商品化吸附絮凝剂的生产,其他药用、食品等领域的产品等。

参考文献 (References)

- [1] Wingender J, New T R, Flemming H-C. Microbial extracellular polymeric substances: Characterisation, structure and function[M]. Berlin: Springer, 1999: 123
- [2] Ledin M. Accumulation of metals by microorganisms—processes and importance for soil systems[J]. *Earth Sci Rev*, 2000, 51: 1-31.
- [3] Brown M J, Lester J N. Metal removal in activated sludge: The role of bacterial extracellular polymers[J]. *Water Res*, 1979, 13: 817-837.
- [4] Brown M J, Lester J N. Role of bacterial extracellular polymers in metal uptake in pure bacterial culture and activated sludge-I [J]. *Water Res*, 1982, 16: 1539-1548.
- [5] Liu H, Fang H P. Characterization of electrostatic binding sites of extracellular polymers by linear programming analysis of titration data [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2002, 80: 806-811.
- [6] Sponza D T. Extracellular polymer substances and physicochemical properties of flocs in steady and unsteady-state activated sludge systems [J]. *Process Biochem*, 2002, 37: 983-989.
- [7] Zhang T, Fang H H P. Quantification of extracellular polymeric substances in biofilms by confocal laser scanning microscopy[J]. *Biotechnol Lett*, 2001, 23: 405-409.
- [8] Andrews S C, Robinson A K, et al. Bacterial iron homeostasis [J]. *Fems Microbiol Rev*, 2003, 27: 215-237.
- [9] Sunil S, Lee D J, Tay J H. Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule [J]. *Water Research*, 2008, 42: 1644-1650.
- [10] Li T G, Bai R B, Liu J X. Distribution and composition of extracellular polymeric substances in membrane-aerated biofilm [J]. *Journal of Biotechnology*, 2008, 135: 52-57.
- [11] 康春莉,董德明,李忠华. EDTA 萃取法分离自然水体中生物膜胞外聚合物[J]. 东北师大学报: 自然科学版, 2003, 35(2): 120-122.
Kang Chunli, Dong Deming, Li Zhonghua. *Journal of Northeast Normal University: Natural Science Edition*, 2003, 35(2): 120-122.
- [12] 葛利云,王红武,马鲁铭,等. 胞外聚合物物理法提取过程的优化[J]. 环境化学, 2006, 25(6): 723-725.
Ge Liyun, Wang Hongwu, Ma Luming, et al. *Environmental Chemistry*, 2006, 25(6): 723-725.
- [13] Li X F, Li Y J, Liu H, et al. Correlation between extracellular polymeric substances and aerobic biogranulation in membrane bioreactor [J]. *Separation and Purification Technology*, 2008, 59: 26-33.
- [14] 李绍峰,王宏杰,王雪芹,等. 超声波树脂联用法提取活性污泥中的

- 胞外聚合物[J]. 安全与环境学报, 2006, 6(5): 11-13.
- Li Shaofeng, Wang Hongjie, Wang Xueqin, *et al.* *Journal of Safety and Environment*, 2006, 6(5): 11-13.
- [15] 王喧, 季民, 王景峰, 等. 好氧颗粒污泥胞外聚合物提取方法研究[J]. 中国给排水, 2005, 21(8): 91-93.
- Wang Xuan, Ji Min, Wang Jingfeng, *et al.* *China Water and Wastewater*, 2005, 21(8): 91-93.
- [16] 郑蕾, 田禹, 孙德智, 等. 活性污泥胞外聚合物提取方法研究[J]. 环境污染治理技术与设备, 2006, 7(11): 32-34.
- Zhen Lei, Tian Yu, Sun Dezhi, *et al.* *Techniques and Equipment for Environment Pollution Control*, 2006, 7(11): 32-34.
- [17] Janette T, Bryne T N, *et al.* The effect of extracellular polymers (EPS) on the proton adsorption characteristics of the thermophile *Bacillus licheniformis* S-86[J]. *Chemical Geology*, 2008, 247: 1-15.
- [18] Zhang S J, Xu C, Peter H. Chemical composition and ^{234}Th (IV) binding of extracellular polymeric substances (EPS) produced by the marine diatom *Amphora* sp[J]. *Marine Chemistry*, 2008, 112: 81-92.
- [19] Guibaud G, Bordas F, Saaid A, *et al.* Effect of pH on cadmium and lead binding by Extracellular Polymeric Substances (EPS) extracted from environmental bacterial strains [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2008, 63: 48-54.
- [20] Bo F, Rikke P, Kristian K, *et al.* Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin [J]. *Water Res*, 1996, 30(8): 1749-1758.
- [21] Zhang B, Sun B S, Jin M, *et al.* Extraction and analysis of extracellular polymeric substances in membrane fouling in submerged MBR [J]. *Desalination*, 2008, 227: 286-294.
- [22] Sunil S, Lee D J. Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 154: 1120-1126.
- [23] Sunil S, Lee D J, Lai J Y. Effects of aeration intensity on formation of phenol-fed aerobic granules and extracellular polymeric substances[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 77: 175-182.
- [24] Nur C, Guven O. Extracellular polysaccharides produced by cooling water tower biofilm bacteria and their possible degradation [J]. *Biofouling*, 2008, 24(2): 129-135.
- [25] 傅金祥, 由昆, 琚冉, 等. 磁力搅拌/阳离子交换树脂法提取胞外聚合物[J]. 中国给排水, 2006, 22(20): 84-86.
- Fu Jinxiang, You Kun, Ju Ran, *et al.* *China Water and Wastewater*, 2006, 22(20): 84-86.
- [26] 杨义飞, 包常华, 周玲玲, 等. 胞外聚合物的生成特性及其对污水生物处理的影响[J]. 市政技术, 2006, 24(6): 405-407.
- Yang Yifei, Bao Changhua, Zhou Lingling, *et al.* *Municipal Engineering Technology*, 2006, 24(6): 405-407.
- [27] Higgins M J, Novak J T. Dewatering and settling of activated sludges: The case for using cation analysis [J]. *Water Environment Research*, 1997, 69(2): 225-232.
- [28] Novak J T, Becker H, Zurow A. Factors influencing activated sludge properties [J]. *Journal of the Environmental Engineering Division*, 1977, 103: 815-828.
- [29] Mikkelsen L H. Application and limitations of the colloid titration method for measuring activated sludge surface charges [J]. *Water Res*, 2003, 37(10): 2458-2466.
- [30] 郑蕾, 田禹, 孙德智. pH 值对活性污泥胞外聚合物分子结构和表面特征影响研究[J]. 环境科学, 2007, 28(7): 1508-1511.
- Zhen Lei, Tian Yu, Sun Dezhi, *et al.* *Environmental Science*, 2007, 28(7): 1508-1511.
- [31] Ueshima M, Ginn B R, Haack E A, *et al.* Cd adsorption onto *Pseudomonas putida* in the presence and absence of extracellular polymeric substances [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2008, 72: 5885-5895.
- [32] 龙向宇, 龙腾锐, 唐然, 等. 污泥龄对胞外聚合物组分与表面性质的影响[J]. 中国给水排水, 2008, 24(15): 1-5.
- Long Xiangyu, Long Tengrui, Tang Ran, *et al.* *China Water and Wastewater*, 2008, 24(15): 1-5.
- [33] Jang A, Kim S M, Kim S Y, *et al.* Effect of heavy metals (Cu, Pb and Ni) on the compositions of EPS in biofilms [J]. *Water Science Technology*, 2001, 43(6): 41-48.
- [34] Loukidou M X, Karapantsios T D, Zouboulis A I, *et al.* Cadmium(II) biosorption by *aeromonas caviae*: Kinetic modeling [J]. *Separation Science and Technology*, 2005, 40: 1293-1311.
- [35] 苏春彦, 康春莉, 董德明. 自然水体细菌胞外有机组分吸附铅镉红外光谱特征[J]. 长春理工大学学报, 2005, 28(4): 111-112.
- Su Chunyan, Kang Chunli, Dong Deming. *Journal of Changchun University of Science and Technology*, 2005, 28(4): 111-112.
- [36] 潘响亮, 王建龙, 张道勇. 硫酸盐还原菌混合菌群胞外聚合物对 Cu^{2+} 的吸附和机理[J]. 水处理技术, 2005, 31(9): 25-28.
- Pan Xiangliang, Wang Jianlong, Zhang Daoyong. *Technology of Water Treatment*, 2005, 31(9): 25-28.
- [37] Martha L, Jorge L, Jose R, *et al.* Study of calcium(II), copper (II), magnesium (II), and iron (III) interference on au (III) binding to native hop biomass using ICP-OES[J]. *Spectroscopy Letters*, 2004, 37(2): 201-215.
- [38] Comte S, Guibaud G, Baudu M. Biosorption properties of extracellular polymeric substances (EPS) towards Cd, Cu and Pb for different pH values[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 151: 185-193.
- [39] Bois L, Ribes A, Petit-Ramel M, *et al.* Experimental study of chromium adsorption on mineral in the presence of phthalic and humic acids[J]. *Chemistry and Ecology*, 2003, 19(4): 263-273.
- [40] Priya A J, Rao P S, Vijaya Y, *et al.* Biosorption of chromium(VI), nickel (II) and copper(II) ions from aqueous solutions using *Pithophora algae*[J]. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 2007, 89(3): 421-442.
- [41] Sibel T, Ismail K, Tamer A. Chromium(VI) biosorption characteristics of *Neurospora crassa* fungal biomass [J]. *Minerals Engineering*, 2005, 18: 681-689.
- [42] Zhang Z Q, Xia S Q, Wang X J, *et al.* A novel biosorbent for dye removal: Extracellular polymeric substance (EPS) of *Proteus mirabilis* TJ-1[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 163: 279-284.

(责任编辑 王芷)