

石墨对污泥中厌氧微生物代谢产物及其性能的影响

朱梦扬, 李青, 王进, 陈天虎, 周跃飞, 彭书传

(合肥工业大学 资源与环境工程学院, 安徽 合肥 230009)

摘要: 矿物材料对废水厌氧处理及厌氧污泥改性具有十分重要的作用, 而微生物代谢产物是生物处理系统的重要组成部分, 在提高污染物去除率和甲烷产量等方面也起到非常重要的作用。本研究对矿物材料石墨和厌氧微生物共存体系内溶解性微生物产物(soluble microbial product, SMP)和胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)进行了分析表征。结果表明, 石墨对 EPS 和 SMP 的组成和含量影响显著, 主要是由于石墨的吸附作用及其对石墨颗粒的环境毒性所致。红外光谱分析表明, 添加石墨体系内 SMP 与 EPS 的基团种类并未发生明显改变, 但含量有所改变。三维荧光分析结果显示, SMP 的主要荧光类物质为色氨酸类似物和腐殖质(辅酶 NADH), 而 EPS 的主要荧光类物质为色氨酸类似物和腐殖酸, 石墨能明显降低色氨酸类似物及腐殖酸类物质的产生。石墨会减弱微生物的相对疏水性, 提高表面自由能, 有利于微生物团聚体的形成。

关键词: 厌氧微生物; 石墨; 胞外聚合物; 溶解性微生物产物

中图分类号: P578.1⁺6; P579

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2016)04-0721-08

The effect of graphite on the microbial metabolite substances production and characteristics of anaerobic sludge microorganism

ZHU Meng-yang, LI Qing, WANG Jin, CHEN Tian-hu, ZHOU Yue-fei and PENG Shu-chuan
(Resources and Environment Engineering School, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: Mineral material plays a very important role in wastewater treatment and sludge modification. Microbial metabolites are important components of the biological treatment system, and also play a very important role in improving the pollutants removal efficiency and methane production. In this study, the authors analyzed and characterized the soluble microbial products (SMP) and extracellular polymeric substances (EPS) produced from the graphite dosed anaerobic system. The results show that graphite exerts significant effects on the composition and content of the EPS and SMP, mainly due to the adsorption effect of graphite and its environmental toxicity. Fourier transform infrared spectrum (FTIR) analysis results show that adding graphite does not influence the types of the active group in SMP and EPS, but the relative content is changed. Three-dimensional fluorescence spectrum analysis results show that the main fluorescent materials in the SMP are humus (coenzyme NADH) and tryptophan analogs, whereas the main fluorescent materials in EPS are humic acid and tryptophan analogs. Fluorescence spectrum analysis results also indicate that graphite could significantly reduce the tryptophan and humic acid analogs. Graphite decreases the relative hydrophobicity of the sludge and improves the surface free energy, which is beneficial to the formation of microbial aggregates.

Key words: anaerobic microorganism; graphite; extracellular polymeric substances; soluble microbial products

Fund support: National Natural Science Foundation of China (41130206, 41372347, 41372046)

收稿日期: 2015-11-24; 接受日期: 2016-04-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(41130206, 41372347, 41372046)

作者简介: 朱梦扬(1992-), 女, 汉, 硕士研究生, 环境工程, E-mail: zmy0119@163.com; 通讯作者: 彭书传(1964-), 男, 汉, 从事环境材料学研究, E-mail: scpeng@vip.sina.com

随着社会经济的快速发展,化石能源的大量消耗以及环境污染的日益加剧引起人类越来越多的重视。微生物代谢产物是生物处理系统的非常重要组分,在提高污染物去除率和甲烷产量等方面起到非常重要的作用(Zhao *et al.*, 2012)。它主要分为溶解性微生物产物(soluble microbial products, SMP)和可提取的胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)两类,它们能影响微生物的很多性能,如表面电荷、絮凝性、脱水性、沉降特性及传质能力等(Sheng *et al.*, 2010)。

石墨因具有较好的化学稳定性和较高的比表面积而被广泛应用于污染治理工艺中,在微生物的生长部分受到抑制的情况下,石墨能起到很强的促进作用(陈小利,2008),并且能够影响微生物的活性以及代谢产物的性质(Hadi *et al.*, 2015)。目前已有更多关于 EPS 与各种不同矿物间交互作用方面的研究(Sheng *et al.*, 2010; Yue *et al.*, 2015),但关于石墨是如何影响厌氧产甲烷过程的研究还很少,而 SMP 和 EPS 作为细菌与石墨相联系的重要媒介,其自身性质的变化对厌氧产甲烷过程有着非常重要的作用。光谱法在样品处理过程中对样品破坏较小,在对微生物代谢产物的表征中得到了广泛应用(李卫华等,2008;王磊磊等,2011),因此本文选用不同粒径和形态的石墨做添加物,利用傅里叶红外变换光谱(FTIR)、三维荧光光谱和接触角测量仪等对微生物胞外聚合物进行了表征分析,以期对生物处理过程提供更多理论依据。

1 材料与方法

1.1 接种微生物与矿物材料

实验所用微生物来自某酒厂 UASB 反应器的厌氧污泥(PCR-DGGE 分析已知其中细菌群落以厚壁菌门、绿弯菌门和拟杆菌门为主,古菌群落以甲烷杆菌属和甲烷八叠球菌属为主),过 200 目筛网去除污泥颗粒杂质,以此作为微生物接种物。以接种物中挥发性固体(volatile solid, VS)表示微生物含量(Eaton *et al.*, 2005)。

石墨购自青岛金日来石墨有限公司,并利用比表面和孔径分析仪(NOVA 3000e,美国康塔)对其进行比表面积分析,其性质见表 1。

1.2 实验设计

以 250 mL 血清瓶作为厌氧发酵反应器,反应体

表 1 实验所用石墨性质

Table 1 The property of graphite

	石墨-1	石墨-2	石墨-3
形态	磷片	磷片	球形
粒径/目	50	10 000	325
比表面积/ $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$	3.70	19.71	5.62

积为 150 mL。石墨实验组的石墨浓度为 1.64 g/L,微生物浓度为 0.164 g VS/L,乙酸钠初始浓度为 1.64 g/L,并添加 1 mL/L 的微量元素溶液和维生素溶液, MgCl_2 0.1 g/L, NH_4Cl 1.0 g/L, K_2HPO_4 0.4 g/L, KH_2PO_4 0.2 g/L, 半胱氨酸 0.5 g/L, 抗坏血酸 0.1 g/L, NaHCO_3 3 g/L。微量元素组成为 (mmol/L): FeCl_2 10, CoCl_2 1, $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 1, ZnCl_2 1, H_3BO_3 0.1, NiCl_2 0.1, AlCl_3 0.1, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 0.1, CuCl_2 0.01。维生素溶液组成为 ($\mu\text{mol/L}$): D (+)-生物素 20, 4-氨基苯甲酸 20, 烟酸(VB3) 20, Ca-D (+)-泛酸 20, 维生素 B1 20, 硫辛酸 20, 吡哆胺(VB6) 20, 叶酸 20 微生物素 B2 20, 维生素 B12 20 (Kato *et al.*, 2010)。初始 pH 值为 7.0 ± 0.1 , 鼓气排净瓶内空气,然后用铝塞密封,保持瓶内厌氧状态,并置于 35℃ 恒温培养箱中培养,每组实验重复 2 次。

在反应不同阶段取 50 mL 混合液于 4℃、4 000 rpm 条件下离心 15 min,获得沉淀物和上清液。上清液用 0.22 μm 的纤维素膜过滤,并用 3500Da 半透膜透析 24 h 后得到 SMP 样品。将沉淀物用蒸馏水洗涤 2 次,再将沉淀物重悬于少量蒸馏水中。然后加入 1/4 悬液体积的 2% EDTA 溶液,4℃ 放置 3 h。之后在 4℃、14 000 rpm 条件下离心 15 min,取上清液用 0.22 μm 的纤维素膜过滤,并用 3500Da 半透膜透析 24 h 后得到 EPS 样品。获得的 EPS 和 SMP 样品可直接利用或者于 -80℃ 中保存待用(周俊等,2013)。

1.3 胞外聚合物的测定和表征

分别测定不同体系中不同时期提取的 EPS 和 SMP 的各组分含量及总量(彭书传等,2013)。TS (总固体, total solid)、VS 的测定参考标准方法(Eaton *et al.*, 2005)。取 10 mL EPS 和 SMP 样品分别加入等量的 KBr 溶解混合均匀,进行冷冻干燥。后将干燥的固体进行压片,用傅里叶变换红外光谱仪(BRUKER VERTEX 70)测定样品,测定范围为 900~4 000 cm^{-1} 。三维荧光仪(Model F-4600, Hi-

tachi, Japan)用于 EPS 及 SMP 样品分析,测试条件为激发波长扫描范围为 250~450 nm,增量为 5 nm;发射波长扫描范围为 300~550 nm,增量为 5 nm;扫描电压为 700 V,扫描速度为2 400 nm/min。对于每一种荧光物质都有特定的三维荧光光谱信息,即有相应的激发波长(E_x)与发射波长(E_m)与之对应,并以该荧光峰的荧光强度表征某类有机物的含量(李卫华等,2008)。

取 40 mL 混合液,经离心清洗后重新悬浮于蒸馏水中,超声处理 2 min,使混合液均匀化。之后使用 0.45 μm 滤膜对样品进行抽滤,获得均匀平整厚度适中的泥饼,置于凝固的琼脂表层暂时保存,并将其分割成扇形使用接触角测量仪(JC2000C,中晨,上海)按照 Owens 二液法(水、二碘甲烷)(李小斌等,2012)进行接触角测定,并进一步计算表面自由能。

2 结果与讨论

2.1 石墨对 SMP 和 EPS 产量的影响

不同石墨对单位生物量的 CH_4 、SMP 和 EPS 产量影响结果如图 1、2 所示。从图 1 中可看出,添加石墨实验组的累计甲烷产量显著高于空白对照组 ($p < 0.05$, p 为显著性水平),这可能是因为石墨作为导体矿物,而矿物导电性对乙酸钠厌氧发酵产甲烷量可能有影响。随着培养时间的延长,石墨的加入并没有改变微生物分泌的胞外聚合物总量先升高后降低的变化趋势(图 2)。而在培养后期,胞外聚合物分泌总量减少的速率先快后慢也说明了在营养物质不足的情况下,胞外聚合物确实可以作为微生物自身营养补给的一部分,但也与微生物自身活性有很大关系。微生物自身活性好时可以快速充分地利

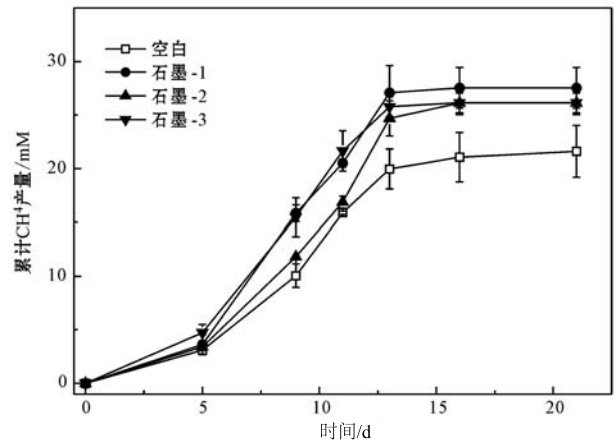


图 1 不同石墨作用下的累计 CH_4 产量图

Fig. 1 The time profiles of overall CH_4 production under the influence of different graphites

用分泌的胞外聚合物作为新陈代谢的补给,但进入衰亡期后活性减弱,胞外聚合物含量渐渐趋于平稳,此时也暗示了微生物渐渐进入衰亡的状态(Xiao *et al.*, 2015)。

图 2a 中,在培养时间为 13 d 左右时, SMP 的产量达到最大值,实验组的 SMP 产量均低于空白对照组,且此时微生物代谢活动旺盛,细胞溶解现象少有发生,由此说明石墨可能因其较大的比表面积而吸附了部分 SMP(Xu *et al.*, 2013),但同时也不排除石墨对 SMP 的形成具有一定的抑制作用。添加磷片石墨的实验组中 SMP 的产量逐渐增大,并在 16 d 左右趋于平稳。此时 SMP 的产量受三方面的影响,一方面是微生物为维持自身活性而消耗掉一部分;另一方面是微生物在衰亡期自身细胞溶解增多,从胞内溶出一部分可溶性有机物(Menniti and Morgenroth,

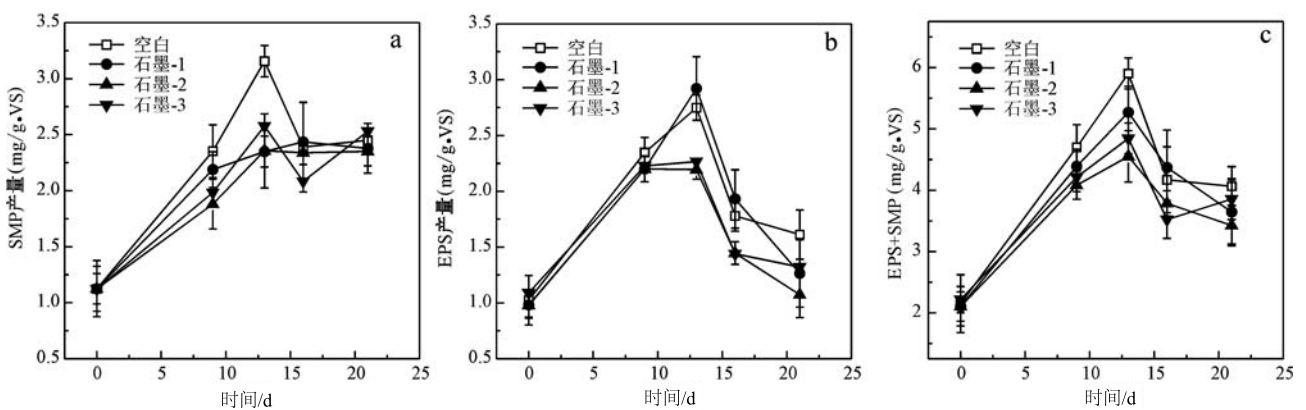


图 2 不同石墨作用下的 SMP 产量(a)、EPS 产量(b)和胞外聚合物总量(c)随时间变化图

Fig. 2 Time profiles of SMP(a), EPS(b) and SMP+EPS production (c) under the influence of different graphites

2010)。另外, SMP 在石墨表面的粘附造成溶解态 SMP 的减少也起到了一定作用, 最终 SMP 产量的基本平稳说明微生物自身的消耗和胞内溶出速率及石墨对 SMP 的吸附基本达到平衡。同时, 石墨粒径越小, 比表面积越大, 对 SMP 生成的吸附能力越强。而球形石墨会加速微生物衰亡期细胞的溶解和胞内物质的溶出, 其速率大于微生物对于 SMP 的消耗, 所以在 16 d 后 SMP 产量有所升高。综上可知, 不同粒径和形态的石墨对 SMP 的影响也不尽相同, 但主要体现在自身比表面积造成的吸附能力的差异和加速细胞溶解两个方面。

图 2b 中不同石墨作用下的厌氧微生物 EPS 产量整体呈现一个先升高后降低的趋势, 其原因除微生物衰亡期为维持自身代谢活动对 EPS 的消耗外, 还有 EPS 自身水解的原因。与 SMP 不同的是, EDTA 将石墨中吸附的 EPS 通过络合的方式一并提取出, 因而排除了材料吸附对 EPS 产量的影响, 并且石墨形态的差异也会造成 EPS 产量和产率的变化。由于其较小的比表面积和较大的微观尺寸, 50 目鳞片石墨的添加在微生物未进入衰亡期时与对照相比对 EPS 的产量并无明显影响, 而在微生物代谢活性变差的衰亡期, 石墨的良好导电性能可能促进了细菌将 EPS 作为代谢底物利用的能力 (Sheng *et al.*, 2006), 从而使一部分容易被降解的 EPS 被利用而体现出产量的减少; 同时, 处于衰亡期的微生物对环境毒性抵抗能力的减弱也表现出对 EPS 分泌的抑制。325 目球形石墨及 10 000 目鳞片石墨比表面积较大,

表面化学活性较强, 因而可能通过与细菌接触甚至进入菌体内部抑制细菌增殖并导致细菌死亡, 从而表现出菌体对 EPS 分泌的显著减少 (Magrez *et al.*, 2006)。郭洪霞 (2012) 认为纳米颗粒产生的活性氧也可通过损伤细胞膜或激发细胞内氧化应急通道而对菌体产生毒性, 也可以说明这一点。

2.2 傅里叶变换红外(FT-IR)光谱

红外光谱的分析结果进一步证实蛋白质和多糖是 EPS 和 SMP 的主要组分, 而核酸由于含量较低, 所以在红外光谱图中显示不明显 (图 3)。图 3 表明石墨的加入改变了 SMP 中官能团的峰的位置和强度, 主要体现在 $\text{CH}=\text{CH}_2$ 的弯曲振动峰的红外移和减弱、球形石墨作用下多糖基团的增多等。由此可发现不同石墨对微生物分泌可溶性有机物产生了不同程度的影响。石墨具有一定的吸附性能, 且该性能和石墨的比表面积大小有关, 其中 SMP 中蛋白质基团的变化最大 (图 3a 及表 2)。Ma 等 (2000) 发现肌红蛋白可以在石墨表面通过吸附形成蛋白膜, 并在电化学实验中能够实现稳定、直接的电化学响应行为, 这也在一定程度上说明了本实验中 EPS 及 SMP 中某些与产电功能相关的蛋白质可能在膜表面形成了相类似的膜结构, 从而提高了产甲烷过程中电子转移的效率, 进而促进体系产甲烷。同时有研究表明, 细菌粘附与非生物颗粒过程中可由一些基团如羧基、磷酸基团、羟基等形成微弱的氢键介导 (王磊磊等, 2011), 据此可推断在石墨和微生物相互作用的过程中, 可能发生了以氢键为介导的非特异性黏附。

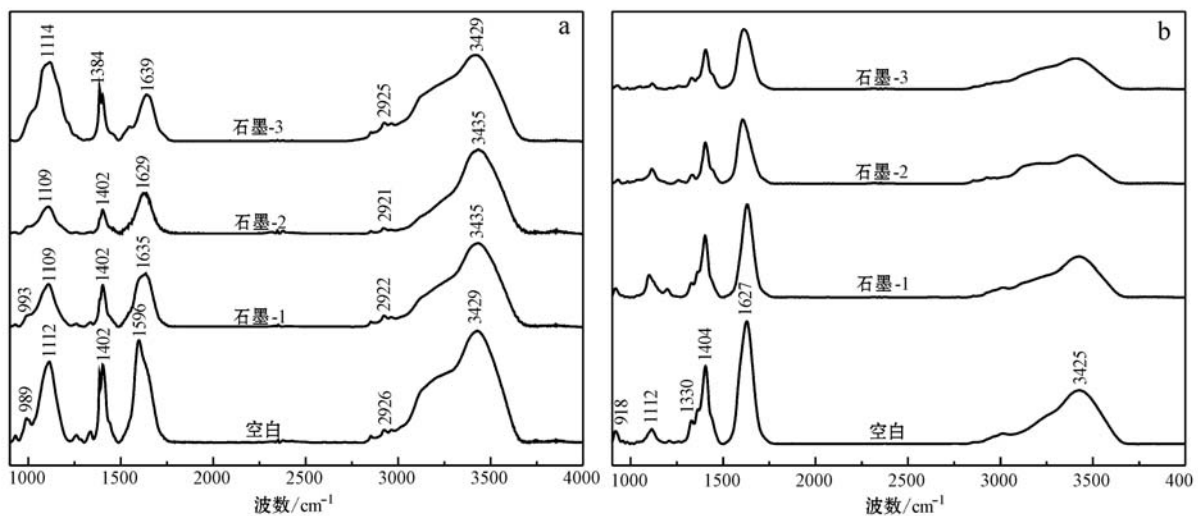


图 3 添加不同石墨体系内 SMP(a)及 EPS(b)的红外光谱图

Fig. 3 FTIR analysis results of SMP (a) and EPS (b) in the graphite dosed system

表 2 红外谱图中主要官能团信息 (Jiang *et al.*, 2004; Dittrich and Sibling, 2005)

Table 2 Main functional groups of FT-IR spectrum (Jiang *et al.*, 2004; Dittrich and Sibling, 2005)

波数/cm ⁻¹	官能团	所属组分
918	O—H	羧酸
989	CH=CH ₂	
1 112	C—O	多糖
1 330	CH	
1 402	C=O	羧基
1 596	C=O and C—N (Amide II)	蛋白质
2 926	CH ₂	脂类
3 429	OH, NH	

从图 3b 中的红外谱图结果来看, EPS 显示出了与 SMP 相似的峰, 特别是在 1 112、1 404、1 627 和 3 425 cm⁻¹ 处, 同样证明了 EPS 中多糖和蛋白质的重要地位和主要官能团种类。与 SMP 不同的是, EPS 的红外谱图中在 918 cm⁻¹ 和 1 330 cm⁻¹ 处出现了新的峰, 分别为 O—H (羧酸) 和 CH 振动峰; 而代表脂类基团的红外峰没有明显的显示出来, 说明该厌氧产甲烷体系分泌的 EPS 中几乎不含脂类。此外

不同粒径和形态的石墨因其比表面积差异对 EPS 的含量影响不尽相同, 具体表现为小粒径石墨比大粒径石墨作用下的 EPS 的含量低, 其中以 10 000 目鳞片石墨的作用最为显著, 这是由于纳米级石墨对微生物活性的毒性作用而导致的 (Magrez *et al.*, 2006)。与 SMP 类似, EPS 也可能通过某些基团的氢键作用与石墨发生了反应。

2.3 三维荧光光谱

SMP 和 EPS 的三维荧光分析结果如图 4 和图 5 所示。从图 4 中可以看到, 空白实验组 SMP 谱图含有 2 个荧光峰, 分别为 Ex/Em 为 280/330 nm (峰 A, 色氨酸类物质) 和 340/430 nm (峰 B, 腐殖质类物质) 处 (Liu *et al.*, 2014)。Tian 等 (2012) 对膜生物反应器中的 SMP 进行三维荧光表征发现了同样的荧光组分, 与本研究中的结果相一致。而李卫华等 (2011) 曾提出了不同的见解, 认为 Ex/Em 位于 340/430 nm (峰 B) 处的荧光峰对应于辅酶 NADH 组分的荧光贡献。由此可推测, 辅酶 NADH 和腐殖质可能出现了荧光峰的重叠。此外, 辅酶 NADH 是生物氧

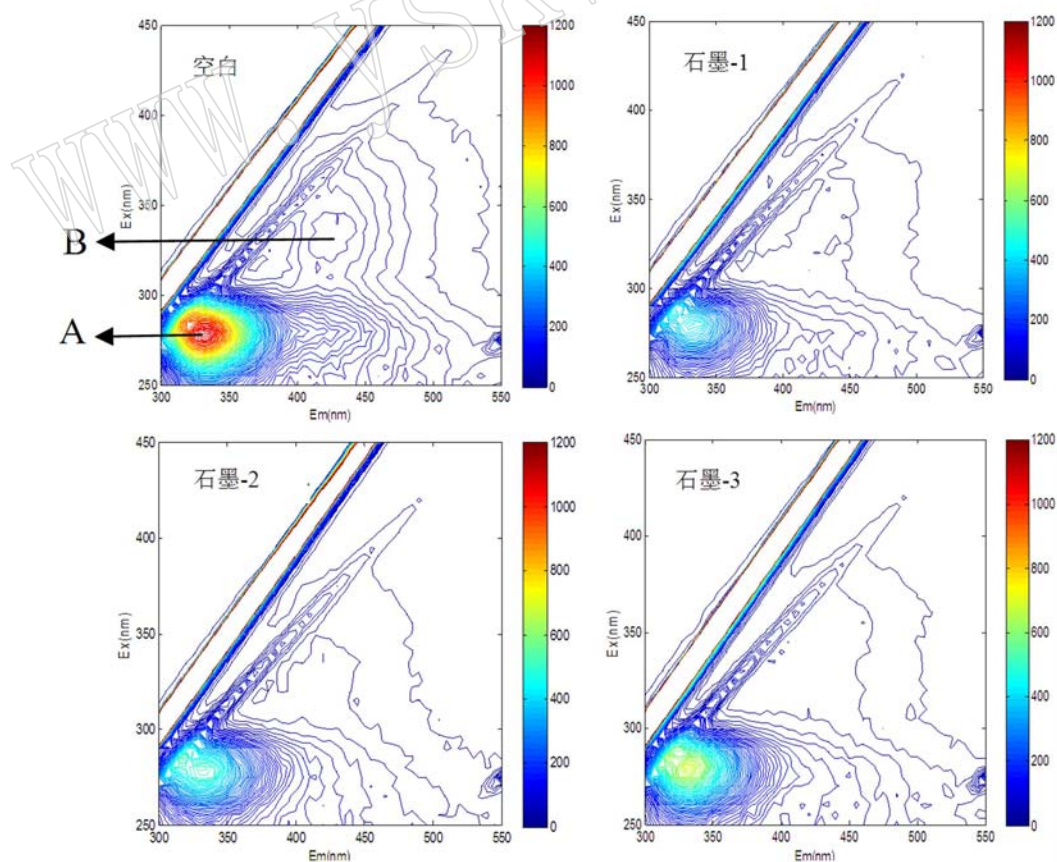


图 4 不同石墨作用下 SMP 三维荧光光谱图

Fig. 4 Characterization of SMP under the influence of different graphites via EEM analysis

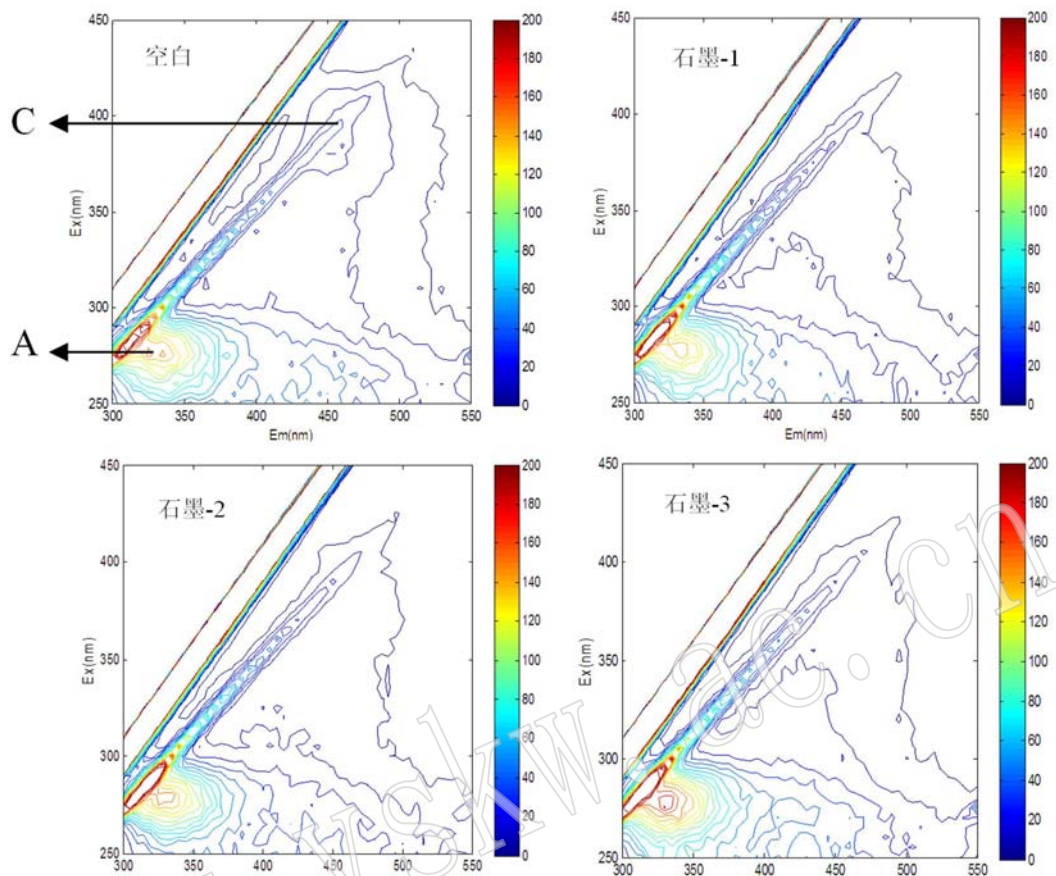


图 5 不同石墨作用下 EPS 三维荧光光谱图

Fig. 5 Characterization of EPS under the influence of different graphites via EEM analysis

化过程中电子传递链中的一种辅酶,电子通过辅酶 NADH 传递到辅酶 F420 从而实现将底物转化(尹小波等, 1998)。这为 SMP 是厌氧发酵过程中电子传递产物之一提供了有力证明。另外, SMP 中代表蛋白质的荧光峰强度远大于腐殖质,更说明了蛋白质是 SMP 中主要成分。添加石墨后,尽管石墨与 SMP 中某些蛋白质的基团发生了交互作用,但 SMP 的主要荧光类物质只是含量有所降低,而种类没有发生变化。同 FTIR 谱图结果相互印证,说明石墨对 SMP 中荧光物质含量的影响主要与吸附作用有关,其中与石墨作用的具体蛋白质基团则需要更进一步的研究和探索来确定。

从图 5 中可发现, EPS 虽与 SMP 都含有色氨酸类物质(峰 A),但并没有显示出腐殖质类物质或代表辅酶 NADH(峰 B)的荧光峰,同时,在 E_x/E_m 为 390/460 nm(峰 C)处出现了新的荧光峰,代表腐殖酸类物质。由此说明, SMP 和 EPS 虽然都为微生物分泌的胞外有机物,但具体组分和构成存在差异。

石墨对 EPS 荧光类物质的影响主要表现在其浓度的变化上,在石墨的作用下,腐殖酸类物质明显减少,而不同粒径的石墨对其浓度的影响差异不大。

2.4 接触角和表面自由能

石墨材料能够对微生物的表面性质及内部结构等产生很大影响。图 6a 表明所有样品的接触角都在 $0\sim 30^\circ$ 范围内,均显亲水性;但随着培养期的延长,接触角呈变大趋势,即亲水性有所减弱,相对疏水性有所增强。有研究表明,微生物亲疏水性与胞外分泌物的组分和物理构型有关,不同 SMP 和 EPS 组分在控制微生物表面亲疏水性方面起到的作用不同(More *et al.*, 2014)。而添加物的种类和含量改变了微生物的表面基团,是造成其相对疏水性变化的原因之一。从图 6a 可看出,投加石墨后,厌氧微生物相对疏水性都有所减弱,但不同粒径和形态的石墨影响差异不大,这可能与其较大的比表面积和吸附性有关。混合微生物表面自由能计算结果如图 6b 所示。随着培养期的延长,表面能整体呈略微下

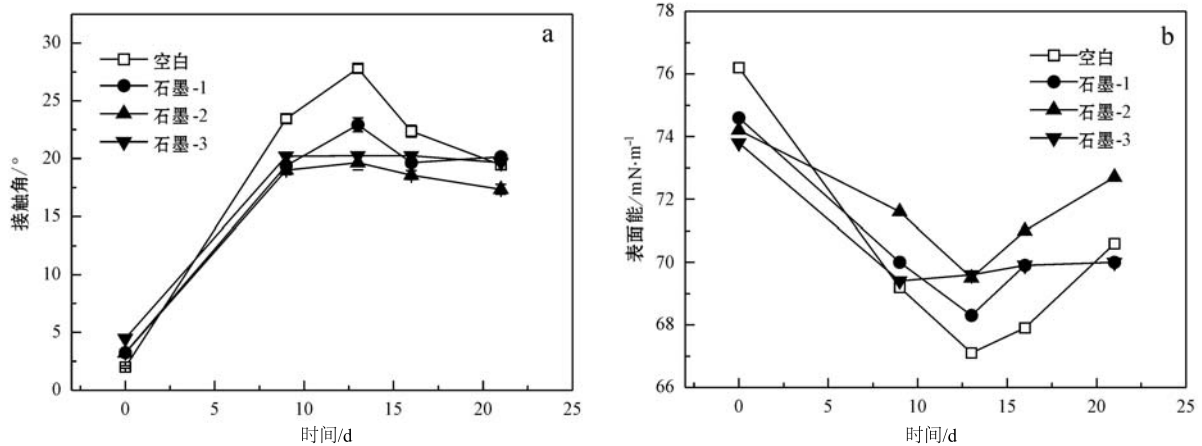


图 6 不同石墨作用下微生物的接触角及表面自由能

Fig. 6 The contact angle and surface free energy of sludge under the influence of different graphites

降趋势,这种现象在培养前期尤为明显。增加细胞表面的疏水性将降低吉布斯自由能,进而促进细胞间的相互吸引,引起细菌的自固定和自凝聚,有利于提高系统稳定性(魏谷等,2006)。在培养期 13 d 左右,表面自由能基本达到最低,此时,微生物体相对疏水性较高,胞外聚合物累积产量达到最大,是系统中微生物新陈代谢最旺盛、活性最好的阶段。

3 结论

石墨的添加对 SMP 的影响主要体现在自身比表面积造成的吸附能力的差异和加速细胞溶解两个方面。石墨能够改变 EPS 的组分及含量,并且同 SMP 中蛋白质的基团发生了交互作用,10 000 目鳞片石墨使 EPS 和 SMP 含量减少最多。三维荧光分析结果显示 SMP 的主要荧光类物质为色氨酸类似物和腐殖质(辅酶 NADH),而 EPS 的主要荧光类物质为色氨酸类似物和腐殖酸,石墨能明显降低腐殖酸和色氨酸类似物的产生。石墨的加入会减弱厌氧微生物的相对疏水性,提高表面自由能,有利于微生物的团聚。

References

Eaton A D, American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA), Water Environment Federation (WEF). 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater[M]. Washington D C, USA: APHA-AWWA-

WEF, 2~59.

Chen Xiaoli. (2008). Research about Growth Promotion Effects of Graphite on Microorganisms[D]. Chengdu: Southwest Jiaotong University(in Chinese).

Dittrich M and Sibling S. 2005. Cell surface groups of two picocyanobacteria strains studied by zeta potential investigations, potentiometric titration, and infrared spectroscopy[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 286: 487~495.

Guo Hongxia. 2012. Effects of Carbon-based Nano-materials on Activated Sludge Process[D]. Hefei: Hefei University of Technology(in Chinese).

Hadi P, Xu M, Ning C, *et al.* 2015. A critical review on preparation, characterization and utilization of sludge-derived activated carbons for wastewater treatment[J]. Chemical Engineering Journal, 260: 895~906.

Jiang W, Saxena A and Song B. 2004. Elucidation of functional groups on gram-positive and gram-negative bacterial surfaces using infrared spectroscopy[J]. Langmuir, 20 (26): 11 433~11 442.

Kato S, Nakamura R, Kai F, *et al.* 2010. Respiratory interactions of soil bacteria with (semi)conductive iron-oxide minerals[J]. Environmental Microbiology, 12(12): 3 114~3 123.

Li Weihua, Sheng Guoping, Lu Rui, *et al.* 2011. Analysis of the EEM fluorescence spectra of effluent from anaerobic methane reactor during the inhibition process[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 31(8): 2 131~2 135(in Chinese with English abstract).

Li Weihua, Sheng Guoping, Wang Zhigang, *et al.* 2008. Analysis of EEM fluorescence spectra of effluent from bioreactors[J]. Journal of University of Science and Tehcnology of China, 38(6): 601~608 (in Chinese with English abstract).

- Li Xiaobin, Zhao Dongfeng, Zhang Xuan, *et al.* 2012. Effect of surface property of main minerals in red mud on their sedimentation ability [J]. *The Chinese Journal of Nonferrous Metals*, 22(1): 281~286.
- Liu J L, Li X Y and Xie Y F. 2014. Characterization of soluble microbial products as precursors of disinfection byproducts in drinking water supply[J]. *Science of the Total Environment*, 472: 818~824.
- Ma H, Hu N and Rusling J F. 2000. Electroactive myoglobin films grown layer-by-layer with poly(styrenesulfonate) on pyrolytic graphite electrodes[J]. *Langmuir*, 16(11): 4 969~4 975.
- Magrez A, Kasas S, Salicio V, *et al.* 2006. Cellular toxicity of carbon-based nanomaterials[J]. *Nano Letters*, 6(6): 1 121~1 125.
- Menniti A and Morgenroth E. 2010. Mechanisms of SMP production in membrane bioreactors: choosing an appropriate mathematical model structure[J]. *Water Research*, 44: 5 240~5 251.
- More T T, Yadav J S S, Yan S, *et al.* 2014. Extracellular polymeric substances of bacteria and their potential environmental applications [J]. *Journal of Environmental Management*, 144: 1~25.
- Peng Shuchuan, Yu Yanyun, Wan Zhengqiang, *et al.* 2013. Research on the interaction of sulfate reducing bacteria EPS and the heavy metal of Cd^{2+} [J]. *Journal of Nanjing University (Natural Sciences)*, 49(6): 1 976~1 980(in Chinese with English abstract).
- Sheng G P, Yu H Q and Li X Y. 2010. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: a review[J]. *Biotechnology Advances*, 28(6): 882~894.
- Sheng G P, Yu H Q and Yue Z. 2006. Factors influencing the production of extracellular polymeric substances by *Rhodospseudomonas acidophila* [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 58(2): 89~93.
- Tian Y, Li Z P and Lu Y B. 2012. Changes in characteristics of soluble microbial products and extracellular polymeric substances in membrane bioreactor coupled with worm reactor: Relation to membrane fouling[J]. *Bioresource Technology*, 122: 62~69.
- Wang Leilei, Chen Wei and Lin Tao. 2011. Desorption mechanism and operating optimization of bacteria attached to carbon fines (BACF) in GAC process effluents[J]. *Journal of China University of Mining & Technology*, 40(5): 829~834(in Chinese with English abstract).
- Wei Gu, Yu Xin, Yu Ping, *et al.* 2006. Formation of aerobic granular sludge and factors affecting it[J]. *Environmental Protection Science*, 32(4): 13~16(in Chinese).
- Xiao C, Ren H, Zhang Y, *et al.* 2015. Effects of micro-organism growth phase on the accumulation and characteristics of soluble microbial products in MBR[J]. *Desalination and Water Treatment*, 53(11): 2 954~2 961.
- Xu W, Pignatello J and Mitch W. 2013. Role of black carbon electrical conductivity in mediating hexahydro-1,3,5-triazine (RDX) transformation on carbon surfaces by sulfides[J]. *Environmental Science and Technology*, 34: 2 472~2 478.
- Yin Xiaobo, Lian Liwen, Xu Jiequan, *et al.* 1998. Unique enzymes and biochemical monitoring methods in methanogenesis[J]. *China Biogas*, 16(3): 8~12(in Chinese with English abstract).
- Yue Z, Ma D, Wang J, *et al.* 2015. Goethite promoted anaerobic digestion of algal biomass in continuous stirring-tank reactors[J]. *Fuel*, 159: 883~886.
- Zhao M X, Yan Q, Ruan W Q, *et al.* 2012. A comparative study of sequential hydrogen-methane and independent methane production from kitchen wastes[J]. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 34(11): 1 046~1 054.
- Zhou Jun, Zhou Lixiang and Wong Woochung. 2013. Optimization of extracellular polymeric substance extraction method and its in the de-waterability of sludge[J]. *Environmental Science*, 34(7): 2 752~2 757(in Chinese with English abstract).

附中文参考文献

- 陈小利. 2008. 炭材料对微生物生长影响的研究[D]. 成都: 西南交通大学.
- 郭洪霞. 2012. 碳纳米材料对活性污泥影响研究[D]. 合肥: 合肥工业大学.
- 李卫华, 盛国平, 陆锐, 等. 2011. 厌氧产甲烷受抑制过程的三维荧光光谱解析[J]. *光谱学与光谱分析*, 31(8): 2 131~2 135.
- 李卫华, 盛国平, 王志刚, 等. 2008. 废水生物处理反应器出水的三维荧光光谱解析[J]. *中国科学技术大学学报*, 38(6): 601~608.
- 李小龙, 赵东峰, 章宣, 等. 2012. 赤泥主要物相的表面性质对其沉降性能的影响[J]. *中国有色金属学报*, 22(1): 281~286.
- 彭书传, 虞艳云, 方正强, 等. 2013. 硫酸盐还原菌胞外聚合物(EPS)去除重金属离子 Cd^{2+} 过程中的交互作用研究[J]. *南京大学学报: 自然科学版*, 49(6): 1 976~1 980.
- 王磊磊, 陈卫, 林涛. 2011. 活性炭出水中炭附细菌解吸附机制及工况优化[J]. *中国矿业大学学报*, 40(5): 829~834.
- 魏谷, 于鑫, 余萍, 等. 2006. 好氧颗粒污泥的形成过程及其影响因素[J]. *环境保护科学*, 32(4): 13~16.
- 尹小波, 连莉文, 徐洁泉, 等. 1998. 产甲烷过程的独特酶类及生化监测方法[J]. *中国沼气*, 16(3): 8~12.
- 周俊, 周立祥, 黄焕忠. 2013. 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*, 34(7): 2 752~2 757.