

蒋心茹, 姬高升, 刘杨, 房俊楠, 许力山, 谢炎东, 闫志英. 市政污泥胞外聚合物 (EPS) 的形成过程与解聚方法研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26 (5): 1282-1289

Jiang XR, Ji GS, Liu Y, Fang JN, Xu LS, Xie YD, Yan ZY. Overview of extracellular polymeric substance (EPS) generation and disaggregation in municipal sewage sludge [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2020, 26 (5): 1282-1289

市政污泥胞外聚合物 (EPS) 的形成过程与解聚方法研究进展

蒋心茹^{1,2,3} 姬高升^{1,2,3} 刘杨^{1,2,3} 房俊楠^{1,2,3} 许力山^{1,3} 谢炎东⁴ 闫志英^{1,3}✉

¹中国科学院成都生物研究所, 中国科学院环境与应用微生物重点实验室 成都 610041

²中国科学院大学 北京 100049

³环境微生物四川省重点实验室 成都 610041

⁴广西师范大学 桂林 541004

摘要 市政污泥厌氧发酵能将污泥所含有机质转化为能源物质甲烷, 使污泥实现“减量化”、“无害化”、“资源化”, 但发酵效率与污泥胞外聚合物 (extracellular polymeric substance, EPS) 的降解程度密切相关。综述了EPS的形成机理、解聚方法及其组分检测技术。主要结论为EPS由多糖类、脂质、蛋白质、DNA以及某些小分子类物质相互结合、聚集而成。根据物质之间结合的紧密程度, EPS可分为4个层次, 因此EPS解聚方法通过对其结构破坏程度不同而表现出不同的EPS溶解率。解聚方法大致可分为物理、化学和生物3种, 其中生物法效果显著、反应条件温和、反应过程能耗低且对环境无二次污染, 具有巨大的应用前景。EPS组分检测技术通过监测EPS中金属离子、腐殖质、水分等的迁移以及污泥结构变化, 评价EPS降解程度, 为理解污泥厌氧发酵过程、提高污泥厌氧发酵效率提供新的视角和观点, 同时为实现污泥厌氧发酵沼渣农林化利用提供理论支撑。最后提出EPS作为有机聚合体, 生物预处理法优势明显, 能在提高EPS溶解率的同时减少厌氧反应抑制物生成, 实现污泥生物质资源的高效安全利用。(图4 表2 参67)

关键词 城市污泥; 厌氧消化; 胞外聚合物; 预处理

Overview of extracellular polymeric substance (EPS) generation and disaggregation in municipal sewage sludge

JIANG Xinru^{1,2,3}, JI Gaosheng^{1,2,3}, LIU Yang^{1,2,3}, FANG Junnan^{1,2,3}, XU Lishan^{1,3}, XIE Yandong⁴ & YAN Zhiying^{1,3}✉

¹ Laboratory of Environmental and Applied Microbiology, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Chengdu 610041, China

² University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China

³ Environmental Microbiology Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu 610041, China

⁴ Guangxi Normal University, Guilin 541004, China

Abstract Municipal sewage sludge anaerobic digestion can turn sewage sludge organics into methane, which makes it reduction, harmless, and recyclable. This previous studies demonstrated that the reaction efficiency is strongly linked with extracellular polymeric substance (EPS) degradation. The paper introduces the formation mechanism, disaggregation methods, and detection technologies of EPS. The main ideas include the following: EPS consists of polysaccharides, lipids, proteins, DNA, and smaller molecules bound together. According to the strength of the binding substances, EPS can be classified into four layers from the outside to the center. Therefore, the dissolution rate of EPS is determined by the different destroying degrees for the structure. Disaggregation methods can be classified into three types: physical, chemical, and biological. Biological methods have features that are advantageous. These include significant degradation, mild reaction conditions, low energy consumption, and no secondary pollution. Developing detection technologies evaluate the EPS degradation level by monitoring the migration of metal ions, humics, water, and EPS components, and changes in the sludge structure. These technologies offer new perspectives on the process of sewage sludge anaerobic digestion and how to improve the efficiency of anaerobic digestion. At the same time, they provide theoretical support for the agricultural and forestry utilization of biogas residues. Finally, we propose that, as EPS consists of organic polymers, it can be used more effectively after biological pretreatments because of enhanced dissolution and a reduction in the generation of inhibitors for anaerobic digestion. Only in this way can we utilize sewage sludge

收稿日期 Received: 2019-10-11 接受日期 Accepted: 2020-01-08

四川省重点研发项目 (2019YFS0052)、四川省重大科技专项课题 (2018SZDX0024) 和中国科学院科技服务网络项目 (KFJ-STZ-QYZD-098)

资助 Supported by the Key Research and Development Project of Sichuan Province (2019YFS0052), the Major Science and Technology Project of Sichuan Province (2018SZDX0024) and the Science and Technology Service Network Initiative of the CAS (KFJ-STZ-QYZD-098)

✉通讯作者 Corresponding author (E-mail: yanzy@cib.ac.cn)

biomass appropriately and safely.

Keywords municipal sludge; anaerobic digestion; extracellular polymeric substance (EPS); pretreatment

随着我国城市化进程不断加快,人民生活水平也越来越高,城市人口增加的同时,污水处理厂的规模也在不断扩大.污水厂普遍采用活性污泥水处理法,处理量大成本低,但会产生大量的活性污泥絮体,是生物废水处理单元不可避免的“副产物”^[1-4].活性污泥经脱水后(含水率>80%)会形成高COD、高有机质,并且含有大量病原菌、抗生素、重金属等有害物的剩余活性污泥(activated exceed sludge).因为存在污泥成分复杂、处理难度大且处置责任不明确等问题^[5],使得我国污泥处置面临困境.目前国内常见的污泥处置方法包括填埋、焚烧、建筑材料以及厌氧发酵等(图1),其中填埋是我国污泥处置主要方式.生污泥填埋不仅会侵占土地资源,而且存在渗滤液污染地下水等二次污染问题^[6].据E20研究院数据显示,我国生活污泥产量在2020年将超过5 000万吨/年(图2),这些“治标不治本”的污泥处置方法终究不是长久之计.

从环保部的“水十条”到国家提出的“无废城市”概念,污泥处置原则为“资源化、无害化、减量化”,政策引导市场将污泥开发成一种可再生资源^[7].大量的研究表明,污泥厌氧发酵(anaerobic digestion, AD)是实现其“资源化”的最佳策略^[8].污泥厌氧发酵可产生能源物质甲烷,发酵后残渣又可作为肥料回归土壤.通过这种循环模式使污泥中的“碳资源”回归地球,是环境经济友好型的污泥处置方法^[9].德国、意大利、英国等的城市早在多年前就推广应用厌氧发酵工艺处理污泥,设计体系庞大,发酵工艺稳定、成熟^[10].我国污泥厌氧消化研究早在上世纪90年代初便开始进行,但是由于我国的城市污泥品质不均、泥沙成分含量高、有机质难以降解,导致其厌氧发酵效率低,且发酵产物“无路可去”仍然需要填埋等问题,使得污泥厌氧发酵在我国难以持续,甚至有些已建成的工厂也停止运行^[11].许多学者的研究表明,污泥的缓慢降解性和部分降解性是污泥厌氧发酵技术的瓶颈^[7-8].污泥中50%-90%的有机物是以胞外聚合物(extracellular polymeric substance, EPS)和微生物菌体这种难以被利用的形式存在的,通过物理、化学和生物的方法破坏EPS结构和细胞壁,能够释放EPS有机质,提高污泥厌氧消化的效率,即EPS预处理是提高污泥厌氧消化效率的关键技术.

污泥有机质主要以EPS的结构存在,因此本篇综述总结了近年来国内外对EPS的形成、解聚技术以及污泥组分检测的理论进展和技术创新,从理论联合实际的角度出发,讨论了基于各种EPS解聚原理的污泥预处理技术的优缺点,期望以EPS解聚为切入点,寻找高效污泥降解技术,为设计出符合我国污泥特殊的理化品质的厌氧发酵工艺提供参考,为我国巨大的污泥产量寻找出路.

1 EPS的形成及理论模型

污泥颗粒主要由微生物细胞和胞外聚合物EPS组成,是在处理污水过程中形成的一种天然的具有微生物活性的混合物^[12-14].污水中的生物细胞可通过疏水作用聚集在一起,形成一个半径100-200 μm 的细胞群^[1],再通过自身分泌的胞外蛋白、多糖或者脂肪的相互作用紧密结合,进而形成多孔的絮状结构^[15](图3).这种结构不仅能够吸纳大量的水,而且拥有带负电荷的、比单细胞更大的表面积,使它能截流孔隙水中其他有机质成分、病原菌、重金属以及泥沙^[16].污水处理工艺会利

用这种结构吸附、降解水中各种有机、无机杂质,达到净化水体的效果.

污泥作为一个有机复合体,它的成分和结构在微生物的生命活动作用下是不断变化的,人类对它的认知也随着技术的不断进步而深入(图4).Christensen等发现微生物荚膜的成分对于污泥絮体形成空间结构具有重要作用^[16],他们检测得出EPS含有多聚糖、蛋白、核酸或者各种杂聚物,并鉴定出了某些多聚糖种类如可溶性多糖藻酸盐(Na^+)、葡萄糖聚糖、支链淀粉,以及不溶性多糖海藻糖(H^+)、纤维素、凝胶多糖等.通过对EPS成分的探究,他们认为只要能鉴定多聚糖全部种类,便能推测出污泥絮体形成的原理,但因为其成分复杂、某些成分含量低于检测方法的阈值,直到现在我们仍然无法全部鉴定出EPS的多聚糖种类.

1997年Nielsen提取EPS成分并将它们分为6类:细胞、细胞内存物(ISP)、聚合物、裂解物、水解物和附着物^[17],两年后他提出EPS最初的理论模型^[18],将EPS分为结合型EPS和松散型EPS;Liu等提出了污泥颗粒(granulation)形成4步法,认为紧密的污泥颗粒需要水动力、扩散力、重力、热力和细胞迁移率的相互作用,且认为紧密结构是细胞生物膜与胞外纤维素、核酸链不断反应形成的^[19-20].Nielsen的成分说和Liu的动力学说分别从两个角度假设了EPS的形成条件,这些假说奠定了Sheng等、Ramesh等和Li等学者提出的更全面的污泥胞外聚合物假设模型的基础^[21-23].他们将EPS分为两层:外层由易分散的EPS与细胞组成(LB-EPS),内层相对稳定,由细胞与不易分散的EPS组分构成(TB-EPS).

以上几位学者均是以污泥颗粒的形成过程为推论污泥各组分之间的合成顺序及空间结构的基础,Yu等通过离心和超声技术连用分解成熟的污泥颗粒,将EPS从内到外分为黏液层(slime)、松散附着EPS(LB-EPS)、紧密黏附EPS(TB-EPS)、细胞相(Pellet)4个层次^[24],这个模型自提出便一直被污泥预处理行业的学者所认可,里面所建立的EPS分层提取方法也被沿用至今.为了能更好地获得污泥原始结构特征,吕凡等利用更加温和的方式—酶处理—分解污泥颗粒,并提出了污泥颗粒结构新模型^[14].他们首次鉴定出聚半乳糖醛酸类物质在污泥小颗粒形成大颗粒的过程中所起的作用,且这类物质能被聚半乳糖醛酸酶分解,使污泥大颗粒裂解为小颗粒.

随着研究的不断深入,我们对污泥空间结构的认识更具体也更深刻,污泥胞外聚合物由多聚糖类、脂质、蛋白质、DNA以及某些小分子类物质组成,但其成分和含量在微生物和外界环境的作用下是动态变化的.因此在使用各种预处理方法破解EPS时,如果将降解目标从物质种类移到化学键,我们的技术方法可能会作用到更多的聚合物,从而提高EPS解聚效率,对污泥空间结构造成更大的破坏.EPS的形成过程说明,在对污泥进行预处理的过程中,要充分考虑各物质含量的动态变化及相互反应机率,尽量避免在处理过程中生成高聚物如腐殖质等.

2 EPS解聚方法

EPS含有可作为厌氧发酵底物的多糖、蛋白质、脂质等,这些物质在微生物作用下,会被分解合成某些复杂的物质如

腐殖质酸等^[2], 这些物质紧密或松散的附着在微生物细胞周围, 可帮助微生物避免环境中的伤害, 也可以在环境能量物质缺少时, 作为碳源、氮源供体^[25], 所以EPS的成分是动态变化的, 且结构复杂, 不易鉴别. 许多研究表明, 要获得完整的EPS的理化特征是很难的^[26], 并且研究EPS生物学性质, 我们也需要对它的空间结构有一个完整的认识^[27]. 无论是从污泥的形成过程, 还是从分解成熟污泥颗粒的角度出发, EPS的空间结构都是很重要的. 我们可以利用各种物理化学生物的手段使污泥絮体解聚, 对其中的成分进行定性和定量分析(表1), 在探究EPS空间结构的同时, 可以有针对性的改进污泥预处理技术, 加大污泥降解程度.

2.1 物理方法

EPS解聚物理方法主要包括高温热解(thermal disintegration)、超声波(ultrasonication)、冻融(freeze/thaw)等技术.

高温使污泥分子布朗运动增强^[23], 提高了污泥液化程

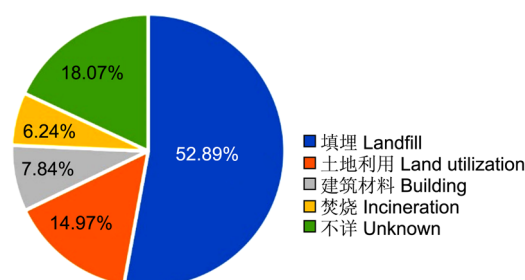


图1 污泥处置方式.

Fig. 1 Municipal sewage sludge disposal method.

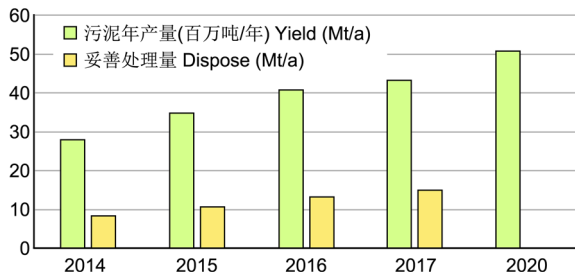


图2 历年污泥产量和处理能力及2020预计污泥产量.

Fig. 2 Sludge production and treatment capacity over the years and predicted sludge production in 2020.

度, 同时使微生物细胞壁破裂, 从而加强污泥EPS溶解性和生物可降解性. 研究表明污泥最适热水解温度为170 °C, 超过200 °C后会产生对厌氧发酵反应有抑制作用的物质^[28]. Gokce Kor-Bicakci等在总结了从1978年到2017年公开发表的热水解预处理污泥文献后发现温度在160-180 °C, 压力600-2 500 kPa, 反应时间20-40 min为污泥热解最适条件^[29]. 该方法能显著增加污泥Vs去除率, 但是能耗过高, 产物成分复杂难以降解, 会带来新的环境问题, 因此限制了该技术的实际应用. 今后对高温预处理方法的研究中, 应把重点放在传热效率高的设备开发和最适运行参数上.

超声波通过发射具有强穿透力的机械波, 或通过微气泡破裂产生的巨大剪切力使微生物细胞壁破裂、EPS解聚, 溶出污泥有机物^[30-31]. 研究表明, 当使用0.12 W/mL的超声波处理污泥时可以将可溶性COD从36%提高到89%, 从而提高沼气产量2.2倍^[32]. 需要注意的是, 同样的超声处理条件可能会产生相反的效果^[33], 所以需要进一步研究该技术的反应条件并探索其作用规律和原理, 才能有理论基础实现该技术的现实投产.

冻融法是指使用-15 °C以下的温度对污泥进行冷冻—融化, 通过污泥内部水分形成的冰晶, 在污泥内部制造一个巨大的压力, 使污泥絮体结构受到破坏. 这种方式能使污泥多孔结构中的自由水几乎全分离出来, 其污泥体积能降低80%^[34], 这对污泥后续运输, 发酵Ts参数设置等都有巨大意义. 但该方法所要求的环境温度限制了该方法的应用地域范围, 在考虑成本的情况下, 该方法比较适用于中国北方冬季地区温度较低的省市^[4, 35]. 将北方污泥存储一个冬季后再进行处理, 虽然该策略能解决冻融法的能耗问题, 但需要占据大量的土地空间和时间, 因此并不适用于实际情况.

上述方法均能通过对污泥胞外聚合物施加一定程度的机械力使EPS空间结构遭到破坏, 但物理作用力是有阈值的, 这就决定了此类方法并不能完全释放污泥颗粒的有机质, 且上述方法依赖于相应设备的换代更新, 会产生更大的投入, 限制了该技术的应用发展. 也有研究者尝试技术联用^[36], 其预处理效果跟污泥原料组成成分关系很大, 所以到目前为止仍然没有制定出适用于不同品质污泥的普适工艺参数.

2.2 化学方法

研究发现, 污泥是一种表面带负电荷的复合体, 且含有多种官能团如羧基、羰基、羟基等可以相互作用, 形成糖脂键、

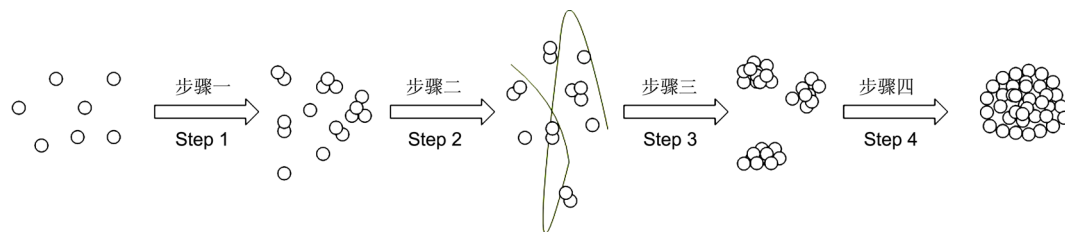


图3 污泥颗粒形成过程.

Fig. 3 Granular sludge formation process.

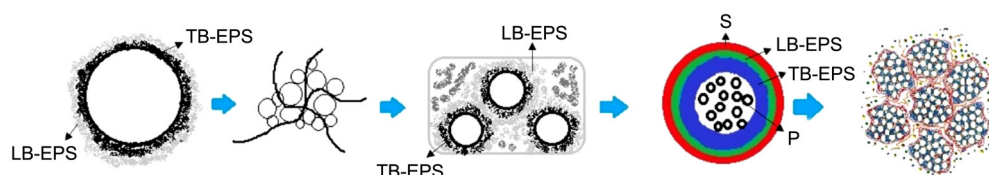


图4 污泥EPS结构认知变化历程. TB-EPS: 结合型EPS; LB-EPS: 松散型EPS. S: 黏液层; P: 细胞相.

Fig. 4 Cognition process of stratification components of EPS. TB-EPS: Tightly bound EPS; LB-EPS: Loosely bound EPS. S: Slime; P: Pellet.

表1 EPS的解聚方法
Table 1 Depolymerization methods of EPS

	方法 Method	机理 Theory	参考文献 Reference
物理 Physics	高温热解 Thermal disintegration	增强分子布朗运动，促进EPS溶解。 The molecular Brownian Motion is enhanced that accelerates the EPS dissolution.	22, 27-28
	超声波 Ultrasonication	超声波作用于液体时产生的微气泡，在爆破时对周围环境产生的冲压使EPS结构破裂。 The EPS part of the matrix under the impulsive pressure that is created by the sonication.	29-31
	冻融 Freeze/thaw	通过水分子形成的冰晶制造局部巨大机械压力使细胞破裂。 The increased mechanical pressure made by ice crystals destroy cell structure.	32
化学 Chemistry	酸 Acidic treatment	水解半纤维素。 Hemicellulose hydrolysis enhanced.	35
	碱 Alkaline treatment	增强EPS组分之间的排斥力，增加有机物溶解性。 The components to be ionized, resulting a strong repulsion between the cells and micro-molecules and make the EPS dissolve in water	34, 36
	金属离子 Ions	用化学键较弱的金属离子替换污泥中原有的强化化学键金属离子，破坏EPS有机物聚集作用。 Exchange ion species to weaken interaction between ions and smaller organics and destroy the EPS combination.	30
	金属螯合剂 Metal chelators	螯合萃取EPS中具有聚集作用的金属离子，破坏有机小分子间的作用力，增加有机物溶解性 Chelating agent extraction of metal ions with aggregation in EPS, the matrix structure destroyed and increasing the solubility of organic matters.	37, 38
生物 Biology	酶 Enzymatic extraction	破坏碳水化合物或蛋白的结构，使EPS解聚溶解 The carbohydrate and protein-hydrolyzing enzymes were used to disrupt the structure of sludge and dissolve the EPS.	40-41
	生物强化 Bioaugmentation	添加能分泌各种水解酶的微生物增强污泥产酸阶段效率 Using hydrolytic bacteria enhanced the EPS hydrolysis efficient.	43

肽键，这些复杂的化合物不易被微生物利用^[37]。研究者发现，可以通过改变溶液中的pH值来改变溶液中带电离子的电性，使离子之间相互吸引或者排斥。我们通过添加不同的化学试剂（酸和碱），改变溶液pH值，使污泥颗粒相互排斥，分子与分子之间的化学键断裂，从而使污泥絮体解聚，释放有机物^[38-39]。

张闻多等发现碱预处理污泥进行工程化应用时，氢氧化钙与氢氧化钠混碱预处理使污泥SCOD提高8.45倍^[40]。Guang-Huan Yuan等通过对比酸、碱、酸碱联用3种预处理污泥方式发现：碱单独处理所释放出来的SCOD含量比酸碱连用高16%^[41]；Song X等同样认为加碱比加酸预处理效果更好，是因为碱性环境能使本身带负电荷的EPS颗粒之间的排斥力加强，因此对污泥絮体解聚的效果要优于酸性环境^[42]。需要注意的是，污泥无论是经过酸处理还是碱处理后，都需要再次使用大量酸碱将原料pH值调至厌氧发酵最适值再进行发酵，因此该方法化学试剂使用量大，成本偏高。

化学处理还有一类是添加金属离子或者金属螯合剂。研究发现，污泥中存在许多价态的金属离子，这些离子与有机物之间形成化学键，能使污泥各组分连接更加紧密，污泥颗粒不易降解^[31, 43]。通过添加阳离子替换原有金属离子或者添加EDTA螯合金属离子，能够破坏价态金属离子对污泥有机物的聚集作用，也能屏蔽重金属对厌氧发酵的抑制作用。卢怡清等通过添加EDTA将污泥厌氧发酵单位甲烷产气量提高了48%，同时发现当金属螯合剂破坏了金属离子与有机物形成的稳定结构后，污泥厌氧发酵产气的限速步骤从产酸阶段变为产甲烷阶段，证明通过断裂EPS内金属键能够加快污泥酸化过程，提高污泥生物降解性^[44]。但过量添加螯合剂会抑制污泥产气效率，且EDTA等不易降解的化学试剂也会限制污泥发酵产物的土地利用，排放到环境中会加重自然环境的负担。

许多学者也在探索利用污泥颗粒化学性质联合其他方式预处理污泥。J. Wawrzynczyk等发现活性污泥的EPS能在酶和三聚磷酸盐的共同作用下溶解到上清液中，然后可以利用阳离子交换树脂（cation exchange resin, CER）精确的鉴别多糖、蛋白等组分^[45]。该试验结果表明：脱水后的污泥颗粒之间被金属阳离子紧密连接在一起，且多糖和蛋白类物质最有可能彼此结合在一起。该方法进一步证明了大颗粒污泥的紧密结构有各种化学键的参与，我们可以通过改变外界条件来

改变EPS带电性以及夺取或替换它的金属成键离子来破坏这些紧密结构；这个试验结果也暗示了EPS形成的复杂程度，使我们认识到污泥胞外聚合物的降解需要各种针对不同形成方式的化学键的预处理方法联用，才有可能彻底解聚污泥EPS。

2.3 生物预处理

生物预处理方式主要分为效率高的工业酶添加法和成本较低的生物强化法。

根据EPS形成理论及实验室数据，蛋白酶、脂肪酶、纤维素酶是3种最有效降解EPS的酶种类。他们通过定向破坏污泥颗粒中的蛋白类、脂质类或纤维素类大分子以及相互形成的复合物结构，使大分子降解为小分子，同时破坏了EPS紧密结构，使更多的污泥有机物溶解在水中，这些物质就成为了厌氧微生物主要的能量来源^[46]。通过对污泥胞外聚合物形成的不断认识，我们发现EPS包裹的微生物菌体内含有大量的有机质，因此有学者探索了溶菌酶对污泥预处理的效果^[45]。酶处理法因为反应条件温和，降解效果显著，反应无二次污染风险，被认为是最有发展前景的污泥预处理方式^[47-48]。

工业酶预处理法效果显著。Qi Yang等通过试验证明在给污泥外加蛋白酶时污泥可溶物增加39.7%，外加淀粉酶时增加54.24%^[49]。也有学者研究复合酶的作用效果，辛晓东等发现当中心蛋白酶、溶菌酶、 α -淀粉酶、纤维素酶按1:1:1:1混合，5%（w）比例加入污泥中时，释放的有机物大于单独使用4种酶的有机物量^[50]。各种酶对污泥作用程度根据使用量的不同而有差异，但作用效果是一致的，单一酶和复合酶均能增加污泥出现解聚现象。相比于其他预处理方法，酶处理能提高污泥中微生物副产物和腐殖酸类物质的利用率，从而提高污泥沼气产量^[51]。

酶处理效果与酶制剂用量呈正相关，可是工业酶高昂的价格限制了该技术的工业应用。通过培养可生产胞外水解酶的微生物并将其添加到污泥中代替工业酶进行预处理，可大大降低酶处理成本。很多学者开始研究最适添加微生物种类和数量，并获得了不错的结果，推动了污泥消化微生物菌剂行业的发展。常添加的单菌以芽孢杆菌居多，添加菌群的研究也不断有新的突破。Hayato Sato等通过添加外源微生物群落分泌的酶混合物，成功地提高消化污泥EPS溶解能力，提升了单位污泥甲烷产量^[52]。

也有学者对酶的这种效果给出了不同的机理解释。吕凡等探索了在不同pH值和温度下的酶处理污泥作用效果,发现污泥降解是因为外部环境变化(pH或温度)而不是因为酶的催化作用^[14]。这说明我们对酶的降解效果知之甚少,它的作用机理我们还未完全了解,还无法解释酶在复杂环境中是如何工作的。

除了实验室规模的研究外,在工程模拟实验中也发现酶对污泥预处理效果不明显。Diak J等发现当将商业酶加入装有污泥的化粪池中进行预处理时,除碱度外,其他影响厌氧发酵效果的指标如SCOD等并没有增加^[53]。这证实了另外一个假说,污泥孔状结构会吸附酶从而使其失活,无法降解大分子物质或使细胞破壁^[50],因此会有酶法处理污泥无效的现象发生。酶的作用甚至会因为破坏了污泥絮体紧密结构,而使污泥脱水性降低^[54]。如何保持酶的活性,是利用该技术的限制因素。未来酶预处理法降解EPS应向选育高效水解菌株、保持酶在复杂环境中的活性和优化水解工艺参数的方向发展。

3 EPS组分检测方法

EPS因为内部微生物的生命活动会产生某些新的大分子物质如腐殖酸等,它会抑制污泥厌氧发酵反应,也会影响污泥絮体结构。此外,上述各种预处理方法都会对污泥胞外聚合物的组分及分布产生影响,从而改变污泥颗粒的理化性质。因此对EPS成分变化进行定性、定量及变化追踪,对于理解污泥降解原理及改进污泥预处理条件具有重要的理论指导意义。EPS成分的精确检测需要依靠技术手段的创新和进步。表2列举出了目前常用于分析污泥成分及结构的研究技术,随后介绍了各技术应用于EPS的研究进展。

3.1 三维荧光光谱

三维荧光光谱(3D fluorescence excitation-emission matrix)通过检测能发射荧光的有机物官能团并与荧光区域一体化技术(fluorescence regional integration, FRI)进行数据分析,能确定溶液或者固体中部分有机物的含量变化^[55]。三维荧光光谱通常用来监测污泥上清液中5类物质:酪氨酸类蛋白质、色氨酸类蛋白质、可溶性微生物副产物、富里酸^[56]、腐殖酸类。这5类物质的吸光值变化可带入特定公式,得出EPS有机质溶解程度、是否有腐殖酸生成以及微生物细胞是否破裂等结论。

三维荧光光谱不仅能监测某一种物质的变化情况,还能获得不同物质之间的变化规律。卢明敏在利用剩余污泥厌氧发酵产氢的研究中发现,当EPS中酪氨酸、色氨酸类蛋白质区域和富里酸区域所占比例增加,而溶解性微生物副产物和腐殖酸类物质减少时,污泥厌氧发酵效率会提高,并从这个角度得出热处理和微波处理比酶处理效果更好^[57]。当我们引入腐殖化指数(HIX)和荧光指数(FI)来表征污泥在发酵不同时期的腐殖化程度和污泥可溶性有机物(dissolved organic

matter, DOM)含量及来源时, Zengshuai Zhang等监测到了污泥腐殖质在厌氧发酵过程中的动态平衡现象,表明污泥厌氧发酵能提高污泥腐殖化程度,增加生物可利用性^[58],为污泥发酵产物农林化应用提供理论基础。我们也可以通过使用3D-EEM技术检测反应体系内腐殖质含量变化,预警和优化污泥预处理技术。Pengtao Gao等在盐度为2%的条件下,利用能分解细菌裂解酶的嗜热细菌(TB)处理污泥能获得更高的甲烷产量,EEM检测发现污泥上清液中DOM增长了17倍^[59]。而Liang Guo等利用分泌裂解酶的嗜热菌在65℃下预处理污泥12 h后,污泥厌氧发酵反应出现了抑制现象^[51]。通过3D-EEM检测发现,Liang Guo的反应过程中产生了大量的腐殖酸,反应体系的抑制作用超过了裂解酶的水解的作用,使反应获得了负结果。

3D-EEM技术通过检测污泥厌氧发酵微生物活动产物动态变化,总结出的规律可用于评价厌氧发酵反应的顺利进行,也可反应原料腐熟程度,为污泥农用提供技术指标参数。

3.2 核磁共振

核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)原理依据所释放的能量在物质内部不同结构环境中不同的衰减,通过外加梯度磁场检测所发射出的电磁波,即可得知构成这一物体原子核的位置和种类,据此可以绘制成物体内部的结构图像。NMR技术可用于研究EPS与金属离子之间的相互作用,为我们去除污泥重金属、提升污泥农用可能性提供理论基础^[60]。

Daniel Lattner等利用¹³C-NMR技术研究微生物胞外聚合物发现二价金属离子对EPS的结合能力主要取决于离子类型,他们发现金属离子更易跟某些特定种类的糖苷键结合^[60],这种选择的依据是什么还未知。我们或许可以利用该原理,通过酶预处理法降解这些糖苷键,从而代替难降解的金属螯合剂,来解除金属离子对污泥颗粒紧密结构的强化作用,达到降解污泥的目的。核磁共振也提供了独特的视角研究污泥颗粒空间结构。Wei Zhang等利用低场核磁共振法(LF-NMR)研究污泥中水分分布情况,首次提出污泥含水量与VS含量正相关,揭示了厌氧消化作用与提升污泥脱水性能的关系,即厌氧反应消耗了污泥有机质,使消化后污泥的脱水性能增加^[61]。

3.3 红外光谱

傅里叶变换红外光谱技术(fourier transform infrared spectrometer, FT-IR)可以表征污泥EPS官能团的结构:检测到的羟基官能团伸展峰代表多糖类物质,酰胺基的特征峰表示蛋白质,而磷酸盐基团则代表核酸成分的存在;也可以通过检测官能团的动态变化检测污泥EPS组分在发酵过程中的成分变化。姚炜婷等分析比较超声预处理污泥厌氧发酵EPS红外光谱变化表明,蛋白质、多糖以及DNA是EPS的主要成分,且超声波并没有改变EPS中多糖、蛋白质、DNA等有机物的结构,而是使有机物的溶解性增加从而提高污泥发酵效率^[62]。

表2 EPS组分检测方法

Table 2 Detection methods of EPS

方法 Method	检测指标 Detection object	参考文献 Reference
三维荧光光谱 3D-fluorescence excitation-emission matrix	识别芳香族蛋白、腐殖酸物质含量变化 The concentration changes of aromatic protein and humic acid	45-48
核磁共振 Nuclear magnetic resonance	研究EPS与金属离子之间的相互作用 The interaction efforts between EPS and mental ions	49-50
红外光谱 Fourier transform infrared spectrometer	检测EPS中核酸、金属离子、有机物的形态结构 Morphological and structural analysis at nucleic acid, mental ions and organics in EPS	51-52
扫描电镜 Scanning electron microscope	观察样品表面形态 Observation of the microstructure of granular sludge	53-55

红外光谱研究结果能进一步揭示污泥对重金属离子的络合现象原理。Wen Juan Song等利用红外光谱研究污泥可溶性EPS (SEPS) 和结合型EPS (BEPS) 与二价铅的络合状态发现, 相比于BEPS, SEPS与Pb的络合程度更高, 且可溶性EPS中的多聚糖的—OH官能团和C—O—C官能团, 蛋白中的—OH官能团和C=O官能团参与Pb络合^[63]。红外光谱结果对于酶的种类的选择具有重要的参考意义。

3.4 扫描电镜

扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)利用样品二次电子信号成像来观察样品表面形态, 拥有较高的放大倍数, 拥有更高的分辨率, 因此能够观察到EPS中微生物絮体的微结构, 为我们理解EPS空间结构及各种预处理技术对污泥的作用具有重要参考意义。Xie Shuibao等利用SEM分别检测被酸、 γ -辐照联合碱处理后的污泥发现, 酸处理污泥并不能使污泥空间结构和细胞体受到明显破坏, 而碱和 γ -辐照处理能使污泥絮体表明变形, 且丝状细菌明显破裂^[64], 该结果从结构上证实了碱预处理污泥的原理: 碱性环境能使EPS颗粒排斥性增强。扫描电镜结果是各种宏观有效的污泥预处理方法的微观证据。不过, 对SEM结果的解读, 一定要有其他指标的辅证, 才能更好地揭示微观规律。Lu Cai等通过SEM、TDR、EEM技术联合分析SSBM过程发现, 通过降解污泥絮体中的芳香族蛋白和DOM, 能够促进EPS絮体解体, 且通过对比污泥处理前后SEM图证明了EPS失去结合水能促进前两者物质的降解, 从而达到絮体解体的效果^[65], 这个结论与上述Wei Zhang等的结论^[61]一致。

污泥颗粒的SEM图像的变化是污泥结构解聚的直观证据, 随着分辨率的提高和图像处理技术的发展, 该技术能为从微观角度解释污泥解聚机理提供新思路、新发现。

4 结语与展望

通过比较现有的污泥处置技术, 作者认为虽然污泥厌氧消化技术存在效率低、成本高等问题, 但我国还是应该坚持改进和使用该技术处置污泥, 将污泥开发为一种安全的农林

肥, 才能解决大量污泥的出路。厌氧消化技术可以使污泥“能源化、无害化、减量化”成为现实, 实现国家“无废城市”政策的思想理念。

对比全球污水处理系统架构及产泥品质现状, 目前我国污泥实施厌氧消化技术的限制因素主要包括3个方面: 细沙含量高(50%-65%)、含抑制物重金属及污泥泥龄长^[66]。结合我国国情, 我们探索通过添加营养元素^[67]或者酶以及产酶菌株等生物强化的方法处理污泥, 破解细胞壁, 释放有机质, 提高甲烷产量, 提高污泥稳定性。添加工业酶对污泥EPS解聚效果明显, 发酵产物理化性质稳定, 具有巨大的市场利用潜力。酶处理不仅可以提高污泥产气量, 缩短消化时间, 降低处置成本, 而且流程简单易操作, 可以增强污泥脱水性能、提高环保性等^[49]。

在我国实现酶处理工业化利用存在3方面的问题: 成本高、酶易失活、酶用量及配比受不同地区泥质影响较大。目前我国有大量的研究学者在寻找各种解决途径, 且取得了一定的成果: 寻找各类泥质普遍适用的关键酶类如多聚糖酶、筛选高产纤维素酶、蛋白质水解酶的微生物菌株^[68]、添加表面活性剂提高酶的传质效率及使用寿命、添加辅酶因子刺激原生态污泥中的酶活性提高等。本团队结合前人的研究基础, 通过结合复合酶预处理技术和产甲烷促进剂技术, 成功地提高了污泥累计甲烷产气量25%以上, 在中温条件下提高污泥有机物转化效率, 为污泥厌氧消化技术的改良提供了新的思路。

EPS解聚是释放污泥有机质、提高产气量的关键, 也是去除污泥重金属, 实现无害化、农用化的关键。研究EPS的解聚方法应该朝着可视化、精确化、大数据分析的方向发展。污泥的成分复杂、结构特殊且泥质状态会随时间不断变化、合成许多难以鉴定的新物质。我们需要结合现代科学技术的发展, 使用新的技术手段和研究思路研究它的成分变化、水分分配情况、重金属迁移规律、厌氧发酵过程微生物群落的衍替等。理论的提升是污泥厌氧消化技术应用推广的基础, 虽然现理论模型与实际还有一定差距, 但作者相信, 随着设备和技术的进步, 我们终有一天能揭开EPS的面纱, 通过生物学的方法使EPS解聚来提高污泥提升污泥厌氧发酵效率, 推动整个污泥资源化行业的发展。

参考文献 [References]

- 1 Li DH, Ganczarczyk JJ. Structure of activated sludge flocs [J]. *Biotechnol Bioeng*, 1990, **35** (1): 57-65
- 2 伟关, 肖甫, 周晓铁, 春丁. 污泥中胞外聚合物EPS的研究进展[J]. 化学工程师, 2009, **6**: 35-40 [Wei G, Pu X, Zhou XT, Ding C. Research advances on sludge extracellular polymeric substance (EPS) [J]. *Chem Eng*, 2009, **6**: 35-40]
- 3 袁冬琴, 王毅力. 活性污泥胞外聚合物EPS的分层组分及其理化性质的变化特征研究 [J]. 环境科学, 2012, **33** (10): 3522-3529 [Yuan DQ, Wang YL. Study on the stratification components of extracellular polymeric substance (EPS) in activated sludge and their variation characteristic in physicochemical properties [J]. *Environ Sci*, 2012, **33** (10): 3522-3529]
- 4 陈悦佳, 赵庆良, 柳成才. 冷冻温度对冻融污泥有机物变化的影响 [J]. 哈尔滨工业大学学报, 2015, (342): 1-8 [Chen YJ, Zhao QL, Liu CC. Effect of freezing temperature on freeze/thaw sludge organic matter transformation [J]. *J Harbin Inst Technol*, 2015 (342): 1-8]
- 5 杭世珩, 傅涛, 戴晓虎, 王凯军, 杨向平, 肖琼. 技术路线没有走通, 产业没有融通, 政策缺乏贯通污泥出路困境如何破?[J]. 环境经济, 2019 (342): 34-39 [Hang SJ, Fu T, Dai XH, Wang KJ, Yang XP, Xiao Q. The technical route has not been passed, the industry has not been fused, and the policy has not been connected. How can the sludge exit dilemma be broken? [J]. *Environ Econ*, 2019 (342): 34-39]
- 6 严迎燕. 浅谈我国城镇污水处理厂污泥处理处置现状[J]. 广东化工, 2016, **43** (11): 204-205 [Yan YY. Analysis the status quo of domestic sludge treatment and disposal in China [J]. *Guangdong Chem Ind*, 2016, **43** (11): 204-205]
- 7 Kor-Bicakci G, Eskicioglu C. Recent developments on thermal municipal sludge pretreatment technologies for enhanced anaerobic digestion [J]. *Renew Sust Energy Rev*, 2019 (110): 423-443
- 8 Hanum F, Yuan LC, Kamahara H, Aziz H A, Atsuta Y, Yamada T, Daimon H. Treatment of sewage sludge using anaerobic digestion in Malaysia: current state and challenges [J]. *Front Energy Res*, 2019, **7**: 1-7
- 9 Liu X, Han Z, Jie Y, Ye T, Fang Y, Nan W, Bao Z. Review of enhanced processes for anaerobic digestion treatment of sewage sludge [C]//Iop Conf Ser: Earth Environ Sci, England: IOPscience, 2018: 1-7
- 10 王静, 卢宗文, 田顺, 陶俊杰. 国内外污泥研究现状及进展[J]. 市

- 政技术, 2006, **24** (3): 140-144 [Wang J, Lu ZW, Tian S, Tao JJ. Existing state and development of sludgy researches in domestic and foreign [J]. *Municip Eng Technol*, 2006, **24** (3): 140-144]
- 11 Yang G, Zhang G, Wang H. Current state of sludge production, management, treatment and disposal in China [J]. *Water Res*, 2015, **78**: 60-73
 - 12 郝晓地, 蔡正清, 甘一萍. 剩余污泥预处理技术概览[J]. 环境科学学报, 2011, **31** (1): 1-12 [Hao XD, Cai ZQ, Gan YP. Review of pretreatment technology for excess sludge [J]. *Acta Sci Circum*, 2011, **31** (1): 1-12]
 - 13 Lehne G, Muller A, Schwedes J. Mechanical disintegration of sewage sludge [J]. *Water Sci Technol*, 2001, **43** (1): 19-26
 - 14 Lu F, Wang J, Shao L, He P. Enzyme disintegration with spatial resolution reveals different distributions of sludge extracellular polymer substances [J]. *Biotechnol Biofuels*, 2016, **9** (29): 2-14
 - 15 Sheng GP, Yu HQ, Li XY. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: a review [J]. *Biotechnol Adv*, 2010, **28** (6): 882-894
 - 16 Christensen BE. The role of extracellular polysaccharides in biofilms [J]. *J Biotechnol*, 1989, **10** (3): 181-202
 - 17 Nielsen PH, Jahn A, Palmgren R. Conceptual model for production and composition of exopolymers in biofilms [J]. *Water Sci Technol*, 1997, **36** (1): 11-19
 - 18 Wingender J, Neu TR, Flemming HC. Microbial Extracellular Polymeric Substances [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1999: 52
 - 19 Liu Y, Xu HL, Yang SF, Tay JH. Mechanisms and models for anaerobic granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactor [J]. *Water Res*, 2003, **37** (3): 661-673
 - 20 Ding Z, Bourven I, Guibaud G, Van Hullebusch ED, Panico A, Pirozzi F, Esposito G. Role of extracellular polymeric substances (EPS) production in bioaggregation: application to wastewater treatment [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, **99** (23): 9883-9905
 - 21 Sheng GP, Yu HQ. Characterization of extracellular polymeric substances of aerobic and anaerobic sludge using three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy [J]. *Water Res*, 2006, **40** (6): 1233-1239
 - 22 Ramesh A, Lee DJ, Hong SG. Soluble microbial products (SMP) and soluble extracellular polymeric substances (EPS) from wastewater sludge [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2006, **73** (1): 219-225
 - 23 Li XY, Yang SF. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge [J]. *Water Res*, 2007, **41** (5): 1022-1030
 - 24 Yu GH, He PJ, Shao LM, He PP. Stratification structure of sludge flocs with implications to dewaterability [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42** (21): 7944-7949
 - 25 Baird BH, Thistle D. Uptake of bacterial extracellular polymer by a deposit-feeding holothurian (*Isostichopus badionotus*) [J]. *Marin Biol*, 1986, **92** (2): 183-187
 - 26 Flemming HC, Neu TR, Wozniak DJ. The EPS matrix: the "house of biofilm cells" [J]. *J Bacteriol*, 2007, **189** (22): 7945-7947
 - 27 Yu GH, Tang Z, Xu YC, Shen QR. Multiple fluorescence labeling and two dimensional FTIR-13C NMR heterospectral correlation spectroscopy to characterize extracellular polymeric substances in biofilms produced during composting [J]. *Environ Sci Technol*, 2011, **45** (21): 9224-9231
 - 28 王治军, 王伟, 夏州, 吴舒旭. 热水解污泥的厌氧消化试验研究[J]. 中国给水排水, 2003, **19** (9): 1-4 [Wang ZJ, Wang W, Xia Z, Wu SX. Experimental study on thermal hydrolysis and anaerobic digestion of sewage sludge [J]. *China Water Wastewater*, 2003, **19** (9): 1-4]
 - 29 Kor-Bicakci G, Eskicioglu C. Recent developments on thermal municipal sludge pretreatment technologies for enhanced anaerobic digestion [J]. *Renewable Sustainable Energy Rev*, 2019, **110**: 423-443
 - 30 Jorand F, Zartarian F, Thomas F, Block JC, Bottero JY, Villemin G, Urbain V, Manem J. Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs [J]. *Water Res*, 1995, **29** (7): 1639-1647
 - 31 Bhaskar PV, Bhosle NB. Bacterial extracellular polymeric substance (EPS): a carrier of heavy metals in the marine food-chain [J]. *Environ Int*, 2006, **32** (2): 191-198
 - 32 李丹阳, 陈刚, 张光明. 超声波预处理污泥研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2003, **4** (8): 70-72 [Li DY, Chen G, Zhang GM. the research progress in ultrasonic pretreatment of sludge [J]. *Techniq Equip Environ Pollut Con*, 2003, **4** (8): 70-72]
 - 33 Xu X, Cao D, Wang Z, Liu J, Gao J, Sanchuan M, Wang Z. Study on ultrasonic treatment for municipal sludge [J]. *Ultrason Sonochem*, 2019, **57**: 29-37
 - 34 朱玲. 缺氧-厌氧污泥减量过程中EPS与SMP特征变化规律[D]. 西安: 西安理工大学, 2018 [Zhu L. Study on characteristics of SMP characteristics variation and mechanism of freeze-thaw dewatering anaerobic reduction [D]. Xi'an: Xi'an University of Technology, 2018]
 - 35 简东升, 朱敬平, 李笃中, 彭晓峰. 以天然气候进行污泥的冻融处理[J]. 应用基础与工程科学学报, 2000, **8** (4): 370-375 [Jian DS, Zhu JP, Lin DZ, Peng XF. Freeze-thaw treatment of sludge in natural climate [J]. *J Basic Sci Eng*, 2000, **8** (4): 370-375]
 - 36 张月. 超声预处理对餐厨垃圾与污泥两级厌氧消化的影响[D]. 苏州: 苏州科技大学, 2016 [Zhang Y. Effect of ultrasonic pretreatment on two-phase anaerobic digestion of food waste and sewage sludge [D]. Suzhou: Suzhou University of Science and Technology, 2016]
 - 37 Zhen G, Lu X, Kato H, Zhao Y, Li YY. Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: current advances, full-scale application and future perspectives [J]. *Renew Sustain Energy Rev*, 2017 (69): 559-577
 - 38 Tyagi VK, Lo SL. Application of physico-chemical pretreatment methods to enhance the sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: an up to date review [J]. *Rev Environ Sci Biotechnol*, 2011, **10** (3): 215-242
 - 39 Zhang D, Chen Y, Zhao Y, Zhu X. New sludge pretreatment method to improve methane production in waste activated sludge digestion [J]. *Environ Sci Technol*, 2010, **44** (12): 4802-4808
 - 40 张闻多, 余雷, 刘和, 符波, 郑志永, 刘宏波. 工程规模下碱类型对污泥预处理效果及发酵产酸的影响[J]. 环境工程学报, 2018, **12** (5): 1517-1527 [Zhang WD, Yu L, Liu H, Fu B, Zheng ZY, Liu HB. Effect of alkali type on sludge pretreatment effect and fermentation acid production under project scale [J]. *Chin J Environ Eng*, 2018, **12** (5): 1517-1527]
 - 41 袁光环, 周兴求, 伍健东. 酸-碱预处理促进剩余污泥厌氧消化的研究[J]. 环境科学, 2012, **33** (6): 1918-1922 [Yuan GH, Zhou XQ,

- Wu JD. Enhancement of anaerobic digestion of excess sludge by acid-alkali pretreatment [J]. *Environ Sci*, 2012, **33** (6): 1918-1922
- 42 Song X, Shi Z, Li X, Wang X, Ren Y. Fate of proteins of waste activated sludge during thermal alkali pretreatment in terms of sludge protein recovery [J]. *Front Environ Sci Eng*, 2019, **13** (2): 1-9
- 43 Morgan-Sagastume F, Allen DG. Physicochemical properties and stability of activated sludge flocs under temperature upshifts from 30 to 45 degrees C [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2005, **281** (1): 136-145
- 44 卢怡清, 许颖, 董滨, 戴晓虎. 去除城市生活污水中有机络合态金属强化其厌氧生物制气[J]. 环境科学, 2018, **39** (1): 284-291 [Lu YQ, Xu Y, Dong B, Dai XH. Enhance of anaerobic methane production by removal of organic-bonding metals from sewage sludge [J]. *Environ Sci*, 2018, **39** (1): 284-291]
- 45 Wawrzynczyk J, Szewczyk E, Norrlov O, Dey ES. Application of enzymes, sodium tripolyphosphate and cation exchange resin for the release of extracellular polymeric substances from sewage sludge. Characterization of the extracted polysaccharides/glycoconjugates by a panel of lectins [J]. *J Biotechnol*, 2007, **130** (3): 274-281
- 46 Sesay ML, Ozcengiz G, Dilek Sanin F. Enzymatic extraction of activated sludge extracellular polymers and implications on bioflocculation [J]. *Water Res*, 2006, **40** (7): 1359-1366
- 47 白润英, 陈湛, 张伟军, 王东升. 复合酶处理对活性污泥溶解的动力学机制研究[J]. 环境工程学报, 2016, **10** (10): 5840-5846 [Bai RY, Chen K, Zhang WJ, Wang DS. Kinetic mechanisms study of activated sludge solubilization under composite enzyme treatment [J]. *Chin J Environ Eng*, 2016, **10** (10): 5840-5846]
- 48 张宇, 李明智, 梅荣武, 许青兰, 王慧荣, 韦彦斐. 应用柠檬酸和酶制剂协同减量处理活性污泥[J]. 环境工程学报, 2017, **11** (3): 1947-1952 [Zhang Y, Li MZ, Mei RW, Xu QL, Wang HR, Wei YF. Reduction of excess activated sludge production by combine citric acid and enzyme treatment [J]. *Chin J Environ Eng*, 2017, **11** (3): 1947-1952]
- 49 Yang Q, Luo K, Li XM, Wang DB, Zheng W, Zeng GM, Liu JJ. Enhanced efficiency of biological excess sludge hydrolysis under anaerobic digestion by additional enzymes [J]. *Bioresour Technol*, 2010, **101** (9): 2924-2930
- 50 辛晓东. 酶溶剩余污泥发酵产酸效能与机制研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2018 [Xin XD. Volatile fatty acid production performance and mechanism from waste activated sludge fermentation enhanced by enzymolysis [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2018]
- 51 Guo L, Lu M, Li Q, Zhang J, Zong Y, She Z. Three-dimensional fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectroscopy with regional integration analysis for assessing waste sludge hydrolysis treated with multi-enzyme and thermophilic bacteria [J]. *Bioresour Technol*, 2014, **171**: 22-28
- 52 Sato H, Kuribayashi K, Fujii K. Possible practical utility of an enzyme cocktail produced by sludge-degrading microbes for methane and hydrogen production from digested sludge [J]. *New Biotechnol*, 2016, **33** (1): 1-6
- 53 Diak J, Ormeci B, Kennedy KJ. Effect of enzymes on anaerobic digestion of primary sludge and septic tank performance [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2012, **35** (9): 1577-1589
- 54 曹艾清, 王毅力. 生物酶-CTMAB/CPAM联合调理对活性污泥脱水性能的影响[J]. 环境工程学报, 2017, **11** (8): 4467-4475 [Cao AQ, Wang YL. Effect of combined enzymes-CTMAB/CPAM conditioning on activated sludge dewaterability [J]. *Chin J Environ Eng*, 2017, **11** (8): 4467-4475]
- 55 Wen C, Paul W, Leenheer JA, Karl B. Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter [J]. *Environ Sci Technol*, 2015, **37** (24): 5701-5710
- 56 Monique R, Elisabeth GN, Etienne P, Dominique L. A high yield multi-method extraction protocol for protein quantification in activated sludge [J]. *Bioresour Technol*, 2008, **99** (16): 7464-7471
- 57 卢明敏. 基于三维荧光光谱技术的剩余污泥厌氧发酵产氢研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014 [Lu MM. Investigation of excess sludge anaerobic fermentation hydrogen based on three-dimensional fluorescence spectroscopy [D]. Qidao: Ocean University of China, 2014]
- 58 Zhang Z, Guo L, Wang Y, Li F, Zhao Y, Gao M, She Z. Degradation and transformation of extracellular polymeric substances (EPS) and dissolved organic matters (DOM) during two-stage anaerobic digestion with waste sludge [J]. *Int J Hydrogen Energy*, 2017, **42** (15): 9619-9629
- 59 Gao P, Guo L, Sun J, Wang Y, She Z, Gao M, Zhao Y. Enhancing the hydrolysis of saline waste sludge with thermophilic bacteria pretreatment: new insights through the evolution of extracellular polymeric substances and dissolved organic matters transformation [J]. *Sci Total Environ*, 2019, **670**: 31-40
- 60 Lattner D, Flemming H-C, Mayer C. ¹³C-NMR study of the interaction of bacterial alginate with bivalent cations [J]. *Intern J Biol Macromol*, 2003, **33** (1-3): 81-88
- 61 Zhang W, Xu Y, Dong B, Dai X. Characterizing the sludge moisture distribution during anaerobic digestion process through various approaches [J]. *Sci Total Environ*, 2019, **675**: 184-191
- 62 姚炜婷, 孙水裕, 郑莉, 李楚华, 蔡明山, 许燕滨, 童文锦. 超声波-缺氧/好氧消化过程污泥胞外聚合物和溶出物的变化研究[J]. 环境科学, 2011, **32** (6): 1665-1672 [Yao WT, Sun SY, Zheng L, Li CH, Xu YB, Tong WJ. Variation of extracellular polymeric substance and dissolved substances in sewage sludge anaerobic/aerobic digestion by ultrasonic treatment [J]. *Environ Sci*, 2011, **32** (6): 1665-1672]
- 63 Song WJ, Pan X, Zhang D. Lead complexation of soluble and bound extracellular polymeric substances from activated sludge: characterized with fluorescence spectroscopy and ftir spectroscopy [J]. *Biotechnol Biotechnol Equip*, 2014, **26** (6): 3371-3377
- 64 Xie S, Wu Y, Wang W, Wang J, Luo Z, Li S. Effects of acid/alkaline pretreatment and gamma-ray irradiation on extracellular polymeric substances from sewage sludge [J]. *Radiation Phys Chem*, 2014, **97**: 349-353
- 65 陈思思, 杨殿海, 庞维海, 董滨, 戴晓虎. 我国剩余污泥厌氧转化的主要影响因素及影响机制研究进展[J]. 化工进展, 2019: 1-14 [Chen SS, Yang DH, Pang WH, Dong B, Dai XH. Main influence factors and influencing mechanisms of anaerobic transformation of excess sludge in China [J]. *Chem Ind Eng Progr*, 2019: 1-14]
- 66 Romero-Guiza MS, Vila J, Mata-Alvarez J, Chimenos JM, Astals S. The role of additives on anaerobic digestion: a review [J]. *Renew Sustain Energy Rev*, 2016, **58**: 1486-1499
- 67 Damasceno FRC, Freire DMG, Cammarota MC. Impact of the addition of an enzyme pool on an activated sludge system treating dairy wastewater under fat shock loads [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 2010, **83** (5): 730-738