产蛋白酶混合菌系对碱性剩余污泥水解酸化的影响

接伟光[1,2], 彭永臻[1,3]

(1. 城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学),150090 哈尔滨;2. 黑龙江东方学院 食品与环境工程学部,150086 哈尔滨; 3. 北京市水质科学与水环境恢复工程重点实验室(北京工业大学), 100124 北京)

摘 要: 为提高剩余污泥水解酸化过程中挥发性脂肪酸(VFAs)的累积,从剩余污泥中分离产蛋白酶活力较高的耐碱细菌,并构建产蛋白酶混合菌系. 将其接种于碱性(pH 10.0)发酵剩余污泥的不同发酵时期,评价其对溶解性有机化合物和VFAs累积的影响,探讨利用剩余污泥生产VFAs的最佳条件. 从剩余污泥中分离到2株产蛋白酶活力较高的耐碱细菌,并构建产蛋白酶混合菌系. 在发酵初期接种混合菌系效果最显著,且可缩短发酵启动时间2 d. 发酵初期接种混合菌系后,溶解性蛋白质和VFAs质量浓度在第8天均达到最高值,分别为未接种混合菌系样品中相应值的1.25和1.41倍,分别占溶解性化学需氧量(SCOD)总量的29.87%和44.54%. 乙酸和丙酸为剩余污泥水解酸化过程中VFAs的主要组分,分别占VFAs总量的50.69%和18.19%.

关键词: 剩余污泥;水解酸化;混合菌系;内碳源;挥发性脂肪酸

中图分类号: X703 **文献标志码**: A **文章编号**: 0367-6234(2014)12-0033-06

Effect of mixed microbial consortium capable of protease-producing on hydrolysis and acidification of excess sludge under alkaline condition

JIE Weiguang[1,2], PENG Yongzhen[1,3]

(1.State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment(Harbin Institute of Technology), 150090 Harbin, China; 2. Dept. of Food and Environment Engineering, East University, 150086 Harbin, China; 3. Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering(Beijing University of Technology), 100124 Beijing, China)

Abstract: To improve volatile fatty acids (VFAs) accumulation from hydrolysis and acidification of excess sludge (ES), alkali-tolerant bacteria capable of protease-producing were isolated from ES. A mixed microbial consortium capable of protease-producing was constructed by the isolated bacterial strains. The mixed microbial consortium was inoculated into the different fermentation periods of ES to investigate their effects on soluble organic compounds and VFAs accumulation from ES under alkaline conditions (pH 10.0). The optimal condition for VFAs accumulation from ES was investigated. The results showed that two alkali-tolerant bacterial strains capable of protease-producing were isolated from ES and constructed as a mixed microbial consortium. The soluble organic compounds concentrations and VFAs accumulation were improved significantly after the mixed microbial consortium was inoculated at the initial fermentation, and the start-up phase was shortened by 2 days. On the 8th day of fermentation, the concentrations of soluble protein and total VFAs reached their peak values, and were 1.25 times and 1.41 times higher as compared to the corresponding values from non-inoculated samples, and accounted for 29.87% and 44.54% of total SCOD concentration, respectively. Acetic and propionic acids were the most prevalent VFAs (account for 50.69% and 18.19%, respectively).

Keywords: excess sludge (ES); hydrolysis and acidification; mixed microbial consortium; internal carbon source; volatile fatty acids (VFAs)

活性污泥法能够有效地处理各种类型的污水,但会产生大量的剩余污泥[1]. 剩余污泥中含有大量的有机或无机污染物及病原体,处置不当会污染环境并影响人类健康[2]. 此外,剩余污泥

收稿日期: 2013-12-01.
基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(2012AA063406,2011AA060903-02).
作者简介: 接伟光(1981—),男,博士研究生;
彭永臻(1949—),男,教授,博士生导师.
通信作者: 彭永臻,pyz@bjut.edu.cn.

的处理费用约占污水处理厂运行成本的60%[3]. 因此,采用适当方法对污泥进行处理和处置成为污水处理厂的首要任务[4]. 目前,剩余污泥的处理及处置方法多种多样,如焚烧、填埋、海洋倾弃等[5-6]. 然而这些方法均会对环境产生负面影响. 生物营养物质(氮和磷)的去除是减轻水体富营养化的一种有效途径. 污水中易于生物降解的有机物,如挥发性脂肪酸(volatile fatty acids, VFAs)显著影响着生物营养物的去除效率. 然而,污水中VFAs质量浓度往往较低. 污水生物处理时如人为添加外碳源,会在一定程度上增加运营成本. 近年的研究表明,污泥发酵产生的VFAs既可作为生物营养物去除的内碳源,又可起到污泥减量的作用,从而降低运营成本[7-8].

污泥厌氧消化包括水解、酸化和产甲烷3个阶段. 水解反应通常被认为是污泥厌氧消化的限速步骤,该反应产生的VFAs可被产甲烷菌利用[9]. 为了降低水解阶段的影响,各种预处理方法已应用于加速污泥水解或改善污泥厌氧消化工艺[10-11]. 蛋白质和碳水化合物是剩余污泥中的主要有机物,在剩余污泥酸化阶段可以被转化为VFAs,且乙酸和丙酸是污水处理厂用于脱氮除磷工艺优选的有机碳源[12-14]. 近年的研究表明,污泥厌氧发酵过程中pH及污泥中微生物群落结构显著影响VFAs的产量及组分[4,14-15]. 然而,关于接种微生物对剩余污泥水解酸化过程中VFAs产量影响的研究却鲜有报道. 本研究从剩余污泥中分离产蛋白酶活力较高的耐碱细菌,并构建产蛋白酶混合菌系. 将该混合菌系接种于碱性(pH 10.0)发酵剩余污泥的不同时期,评价其在碱性条件下对溶解性化学需氧量(SCOD)、溶解性蛋白质和碳水化合物、VFAs等的影响,探讨利用剩余污泥生产VFAs的最佳条件. 同时有助于了解VFAs积累的机制,有益于剩余污泥的资源化利用.

1 实 验

1.1 污泥来源

实验所用剩余污泥均取自哈尔滨太平污水处理厂二沉池. 污泥取回后静置24 h,弃上清液,于4 ℃保存备用. 浓缩后的剩余污泥pH为6.82,总固体(TS)质量浓度为13.68 g/L,挥发性固体(VS)质量浓度为10.36 g/L, SCOD为142.21 mg/L, 溶解性蛋白质质量浓度为76.32 mg/L,溶解性碳水化合物为30.87 mg/L.

1.2 培养基

基础培养基:10 g脱脂奶粉,3 g酵母提取物,0.5 g氯化钠,6.7 g硫酸铵,0.5 g硫酸镁,0.7 g磷酸二氢钾,1.2 g磷酸氢二钾,1 L蒸馏水,pH 10.0,121 ℃灭菌20 min.

透明圈培养基:10 g脱脂奶粉,5 g蛋白胨,2.5 g酵母提取物,10 g可溶性淀粉,0.5 g磷酸二氢钾,0.5 g硫酸镁,1 g氯化钠,20 g琼脂,1 L蒸馏水,pH 10.0,121 ℃灭菌20 min.

产酶液体培养基:40 g葡萄糖,20 g蛋白胨,1.4 g磷酸氢二钠,0.6 g氯化钙,0.4 g硫酸镁,1 L蒸馏水,pH 7.0~7.2,121 ℃灭菌20 min.

LB培养基:10 g胰蛋白酶胨,5 g酵母提取物,5 g氯化钠,1 L蒸馏水,pH 7.0~7.2,121 ℃灭菌20 min.

1.3 菌株的分离鉴定及蛋白酶活力的测定

将1 g剩余污泥接种于250 mL基础培养基中,120 r/min、30 ℃厌氧培养48 h. 将培养液适当稀释后涂布于琼脂基础培养基中,30 ℃厌氧培养48 h. 挑选长势良好的单菌落,并重复以上步骤直至获得纯培养. 将初筛获得的菌株分别涂布于透明圈培养基中,30 ℃厌氧培养48 h,挑取水解圈直径与菌落直径比值较大的单菌落,并分别接种于不同条件下的产酶液体培养基中,厌氧培养48 h后,采用Folin试剂显色法测定其酶活力[16]. pH 10.0、30 ℃条件下,以1 mL酶液每分钟水解酪蛋白产生1 μg酪氨酸所需酶量定义为1个酶活力单位. 将分离获得的产蛋白酶活力较高的菌种进行鉴定,具体方法见文献[17]. 测序得到的16S rDNA序列提交至GenBank数据库,并通过NCBI的BLASTN程序对测序结果进行同源性分析,获得相关种属的序列信息,采用MEGA5.1软件进行系统发育分析.

1.4 混合菌系的构建

将分离到的菌株分别接种于250 mL LB培养基中,120 r/min、30 ℃厌氧培养12 h后,调节培养基pH至10.0,120 r/min、30 ℃继续厌氧培养36 h,使菌株能够在接种污泥后快速适应碱性发酵条件. 发酵液分别以6 000 r/min离心10 min,弃上清液,菌体沉淀用无菌水洗涤并离心2次. 以无菌水分别将各菌体质量浓度调节至OD_{600}为0.8,并将其1∶1混匀后作为接种物,即混合菌系.

1.5 序批实验

本研究采用序批式发酵,用2 mol/L的NaOH溶液将3.5 L剩余污泥调节pH至10.0后,平均分配到0~4号反应瓶(1 L锥形瓶)中,保证污泥性质、质量浓度及颗粒大小一致. 1~4号反应瓶分别在剩余污泥水解酸化第0天、5天、10天和

15 天将混合菌系以 5% 的接种量进行添加. 0 号反应瓶为对照，添加与接种量一致的无菌水，以保证污泥质量浓度一致. 每种处理 3 个平行重复，100 r/min、30 ℃振荡器内发酵 20 d. 使用 2 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH，每 6 h 调节各反应瓶内 pH 1 次，保证 pH 稳定在 10.0±0.3. 每 48 h 取各反应瓶中发酵污泥 10 mL，10 000 r/min 离心后立即用细菌滤器过滤，测定上清液中 SCOD、溶解性蛋白质、溶解性碳水化合物和 VFAs 等指标. 实验前及每次调节 pH 或取样后，各反应瓶均通入氮气 5 min以保证驱除瓶内氧气，并用橡胶塞密封.

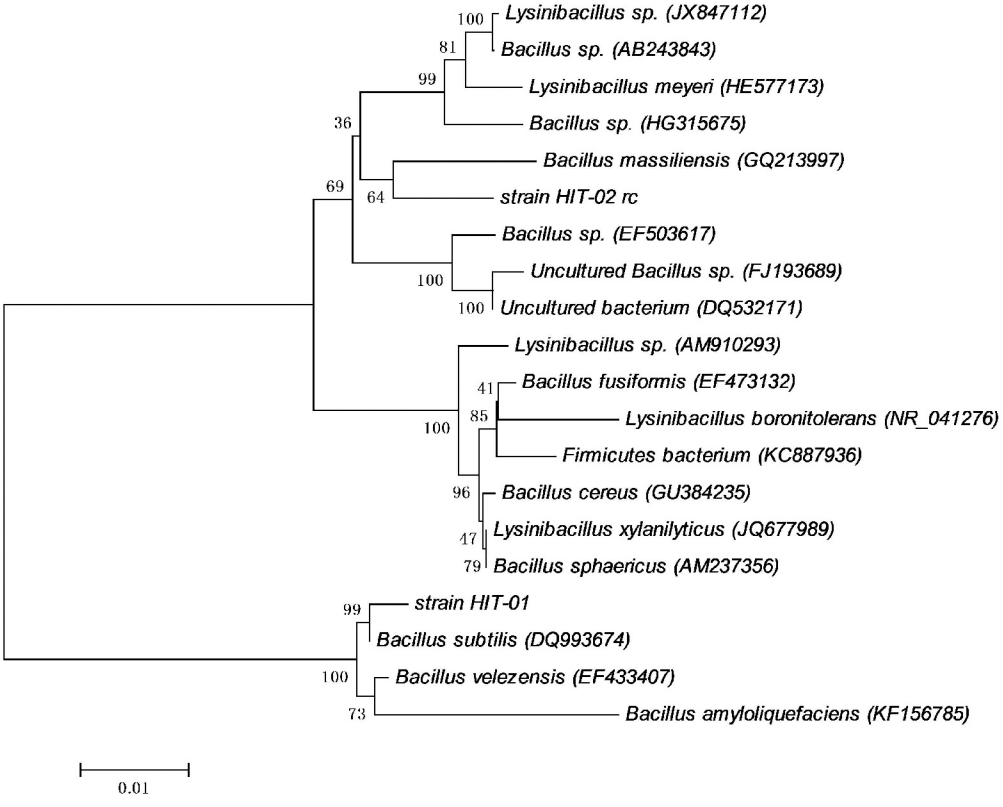
1.6　分析方法

SCOD 按照标准方法测定[18]；溶解性蛋白质质量浓度的测定采用国家标准方法[19]；溶解性碳水化合物采用苯酚-硫酸法测定[20]；VFAs 质量浓度的测定采用气相色谱法（安捷伦 6890N 色谱分析仪，FID 检测器）[15].

2　结果与讨论

2.1　菌种的分离及鉴定

从剩余污泥中共分离到 17 株细菌，通过初筛得到 6 株生长稳定的耐碱细菌，进一步复筛获得 2 株产蛋白酶活力较高的耐碱细菌，分别命名为 HIT-01 和 HIT-02. 经鉴定，这 2 株细菌均为芽孢杆菌属（*Bacillus*）细菌. 在 LB 琼脂培养基上生长时，菌株 HIT-01 形成的菌落呈浅黄色、边缘整齐、菌落扁平、表面干燥、不易挑起. 菌株 HIT-02 形成的菌落呈乳白色、边缘呈锯齿形、菌落中心微凸起、表面湿润、易挑起. 2 株细菌在 pH 6.0~11.0 条件下均能生长. 经镜检，2 株细菌均为革兰氏阳性芽孢杆菌. 其 GenBank 登陆号分别为 KF738663 和 KF738664. 为显示菌株 HIT-01 和 HIT-02 与已知细菌之间的亲缘关系及其系统地位，将其 16S rDNA 序列在 GenBank 中进行同源序列比对. Blast 分析结果表明，菌株 HIT-01 的 16S rDNA 序列与 *Bacillus subtilis*（DQ993674）相似性达 99%. 菌株 HIT-02 的 16S rDNA 序列与 *Bacillus* sp.（AB243843）相似性达 98%. 采用 MEGA 5.1 构建系统发育进化树，用 Neighbor-joining 法对其评价. 由图 1 可知，菌株 HIT-01 与 *Bacillus subtilis*（DQ993674）、*Bacillus velezensis*（EF433407）和 *Bacillus amyloliquefaciens*（KF156785）相似性较高，聚为一簇. 菌株 HIT-02 与 GenBank 中获得的其他 15 个已知细菌序列相似性较高，聚为一簇.



节点上的数字表示 1000 自展后的数值

图 1　菌株 HIT-01 和 HIT-02 16S rDNA 序列与其近缘物种的系统发育树

2.2 菌株产酶状况

2.2.1 培养温度对菌株产酶的影响

将菌株 HIT-01 和 HIT-02 分别接入产酶液体培养基中,分别于 25,30,35,40,45 ℃下,120 r/min 厌氧培养 48 h,以最高酶活力为 100%,其他与之相比计算相对酶活力,研究温度对菌体产酶的影响. 由图 2 可知,菌株 HIT-01 和 HIT-02 蛋白酶均在 30 ℃时酶活力最高,温度降低或升高酶活力反而降低. 当温度超过 40 ℃时,蛋白酶活力急速下降. 因此,最适产酶温度均为 30 ℃.

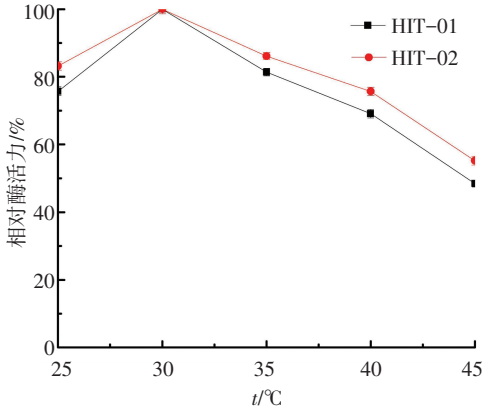


图 2 培养温度对菌株产酶的影响

2.2.2 培养基初始 pH 对菌株产酶的影响

将菌株 HIT-01 和 HIT-02 分别接入 pH 为 7.0,8.0, 9.0, 10.0, 11.0 的产酶液体培养基中,30 ℃、120 r/min 厌氧培养 48 h,研究 pH 对菌体产酶的影响. 由图 3 可知,培养基初始 pH 对菌株 HIT-01 和 HIT-02 产酶影响均较大,随着 pH 的升高,蛋白酶活力逐渐升高. pH 为 10.0 时,产酶活力均最高. 随着 pH 继续升高,蛋白酶活力急剧下降. 因此,最适产酶 pH 均为 10.0.

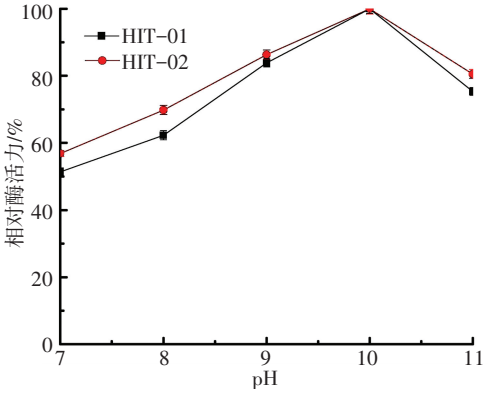
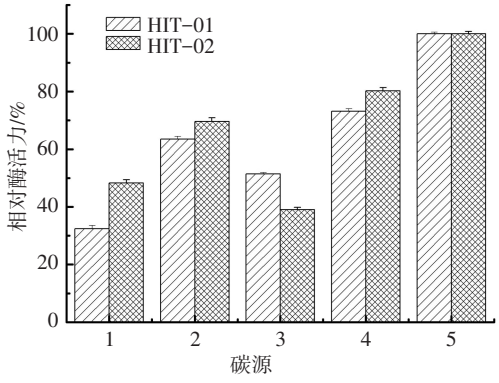


图 3 培养基初始 pH 对菌株产酶的影响

2.2.3 碳源和氮源对菌株产酶的影响

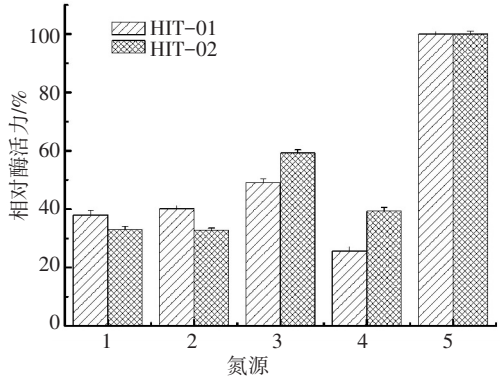
分别以蔗糖、麦芽糖、乳糖、可溶性淀粉代替产酶液体培养基中的葡萄糖,以葡萄糖作对照,30 ℃、pH 10.0、120 r/min 厌氧培养 48 h,分析碳源对菌株产酶的影响. 由图 4 可知,不同碳源对菌株产酶的影响较大,菌株 HIT-01 和HIT-02均是以葡萄糖作为唯一碳源时产酶活力最高.



1.蔗糖;2. 麦芽糖;3. 乳糖;4. 可溶性淀粉;5. 葡萄糖

图 4 不同碳源对菌株产酶的影响

分别以 NH_4NO_3、$(NH_4)_2SO_4$、KNO_3和酪蛋白代替产酶液体培养基中的蛋白胨,以蛋白胨作对照,30 ℃、pH 10.0、120 r/min 厌氧培养 48 h,分析氮源对菌株产酶的影响. 由图 5 可知,不同氮源对菌株产酶的影响也较大,菌株 HIT-01 和 HIT-02均是以蛋白胨作为唯一氮源时产酶活力最高.



1.NH_4NO_3;2. $(NH_4)_2SO_4$;3. KNO_3;4. 酪蛋白;5. 蛋白胨

图 5 不同氮源对菌株产酶的影响

2.3 混合菌系对 SCOD 的影响

水解阶段被认为是剩余污泥厌氧发酵的限速步骤,SCOD 的变化可在一定程度上反映污泥的水解程度[21]. 此外,增加污泥水解速率或减少产甲烷菌对 VFAs 的利用,能够在一定程度上加速 SCOD 的累积[22]. 由图 6 可知,随着发酵时间的增加,各反应瓶中 SCOD 均迅速增加,且 1 号反应瓶增加最明显,在发酵第 8 天达到最高值(7 132.13 mg/L),随后 SCOD 缓慢降低,但始终高于其他反应瓶. 而 0 号反应瓶 SCOD 增加相对缓慢,在发酵第 10 天达到最高值,为 5 268.70 mg/L,仅为 1 号反应瓶中 SCOD 最高值的 0.74 倍,随后缓慢下降. 此外,Lee 等[23]研究表明,SCOD 变化与有机物降解及微生物代谢的综

合作用有关. 因此,发酵的起始阶段添加混合菌系能够加速剩余污泥水解,SCOD 增加最明显.

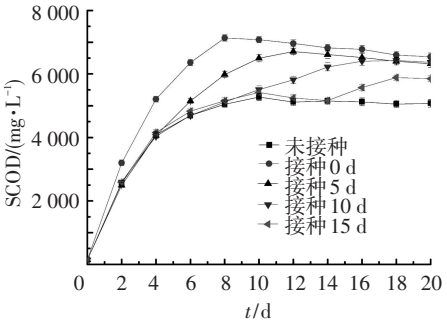


图 6　SCOD 与发酵时间关系

2.4　混合菌系对溶解性蛋白质和碳水化合物的影响

蛋白质和碳水化合物是微生物细胞胞外聚合物的主要成分[24],在剩余污泥水解酸化过程中,碱性作用于耐碱能力较弱的微生物细胞,可使其细胞间的絮状结构物和胞外聚合物分解,进而成为溶解性的 COD. 由图 7 可知,1 号反应瓶中蛋白质质量浓度始终高于其他反应瓶,且在发酵前 4 d 质量浓度迅速增加,而后增速缓慢,在发酵第 8 天达到最高值(2 130.43 mg/L),占 SCOD 总量的 29.87%,为 0 号反应瓶中蛋白质质量浓度最高值的 1.25 倍,随后其质量浓度缓慢降低. 1 号反应瓶中较高的溶解性蛋白质质量浓度在一定程度上为 VFAs 的产生提供了物质基础.

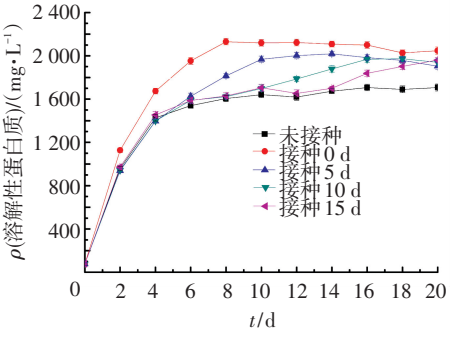


图 7　溶解性蛋白质的变化

由图 8 可知,溶解性碳水化合物与溶解性蛋白质质量浓度变化趋势相似. 1 号反应瓶中碳水化合物质量浓度始终高于其他反应瓶,在发酵的前 10 d 碳水化合物质量浓度增加较快,在发酵第 14 天达到最高值(619.77 mg/L),仅占 SCOD 总量的 9.09%,为 0 号反应瓶中碳水化合物质量浓度最高值的 1.31 倍,随后其质量浓度缓慢降低. 此外,由图 7、8 可知,溶解性蛋白质质量浓度始终明显高于溶解性碳水化合物,这与剩余污泥中蛋白质具有较高的质量浓度相对应.

2.5　混合菌系对 VFAs 累积及组分的影响

由图 9 可知,剩余污泥中 VFAs 的初始质量浓度仅为 20.35 mg/L,随着发酵时间的增加,各处理中 VFAs 的质量浓度均经历了一段迅速上升时期,当其质量浓度达到峰值后缓慢下降. 1 号反应瓶 VFAs 质量浓度增加速度最快,在发酵第 8 天达到最高值(3 176.75 mg/L),占 SCOD 总量的 44.54%,为 0 号反应瓶中 VFAs 质量浓度最高值的 1.41 倍,随后 VFAs 质量浓度缓慢降低,并在发酵第 14 天后趋于平稳. VFAs 的组分也能够在一定程度上反映污泥水解程度. 对 1 号反应瓶中剩余污泥水解酸化产生的 VFAs 组分进行了分析. 在剩余污泥水解酸化的整个过程中,各种挥发酸组分占 VFAs 总量的比例始终稳定,且乙酸所占比例最高,平均为 50.69%. 其次为丙酸,平均为 18.19%,戊酸所占比例最低,仅为 4.09%. 结果表明,在剩余污泥水解酸化过程中接种混合菌系能够提高 VFAs 产量,而且能够缩短产酸发酵的启动时间.

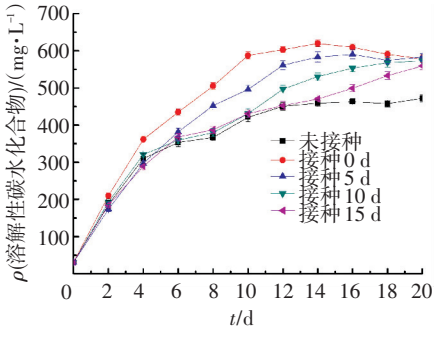


图 8　溶解性碳水化合物的变化

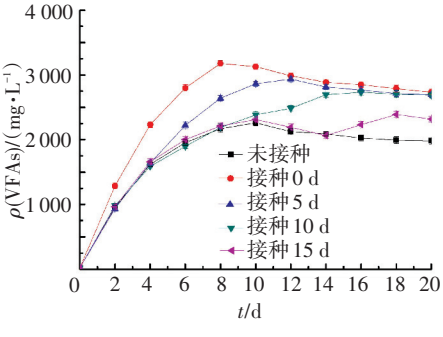


图 9　VFAs 的变化

3　结　论

1)在剩余污泥中分离获得 2 株耐碱且产蛋白酶活力较高的芽孢杆菌属细菌,并构建了产蛋白酶混合菌系.

2)通过研究菌株生长特性和检测发酵产物,确定应用该混合菌系进行剩余污泥产酸发酵的适宜条件为:发酵初期以 5% 的接种量添加该混合菌系后,30 ℃、pH 10.0 条件下厌氧发酵 8 d.

3)在发酵初期接种该混合菌系,可缩短发酵

启动时间2 d,SCOD、溶解性蛋白质和VFAs的质量浓度均可在发酵第8天达到最高值,且显著高于其他反应瓶中相应值. 溶解性蛋白质和VFAs分别占SCOD总量的29.87%和44.54%.

4)乙酸和丙酸为剩余污泥水解酸化过程中产生的主要短链挥发酸,分别占VFAs总量的50.69%和18.19%.

参考文献

[1] PAVÉ A. By way of introduction: modelling living systems, their diversity and their complexity—some methodological and theoretical problems [J]. Comptes Rendus Biologies, 2006, 329(1): 3-12.

[2] LIU Z G, WANG Y P, HE N, et al. Optimization of polyhydroxybutyrate (PHB) production by excess activated sludge and microbial community analysis [J]. Journal of Hazardous Materials, 2001, 185(1): 8-16.

[3] WEI Y S, VAN-HOUTEN R T, BORGER A R, et al. Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment [J]. Water Research, 2003, 37(18): 4453-4467.

[4] LIU H, WANG J, LIU X L, et al. Acidogenic fermentation of proteinaceous sewage sludge: effect of pH [J]. Water Research, 2012, 46(3): 799-807.

[5] RENOU S, GIVAUDAN J G, POULAIN S, et al. Landfill leachate treatment: review and opportunity [J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 150(3): 468-493.

[6] KHWAIRAKPAM M, BHARGAVA R. Vermitechnology for sewage sludge recycling [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 161(2/3): 948-954.

[7] ZHANG D, CHEN Y G, ZHAO Y X, et al. New sludge pretreatment method to improve methane production in waste activated sludge digestion [J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(12): 4802-4808.

[8] TAN R, MIYANAGA K, UY D, et al. Effect of heat-alkaline treatment as a pretreatment method on volatile fatty acid production and protein degradation in excess sludge, pure proteins and pure cultures [J]. Bioresource Technology, 2012, 118: 390-398.

[9] UCISIK A S, HENZE M. Biological hydrolysis and acidification of sludge under anaerobic conditions: the effect of sludge type and origin on the production and composition of volatile fatty acids [J]. Water Research, 2008, 42(14): 3729-3738.

[10] APPELS L, DEGRÈVE J, BRUGGEN B V, et al. Influence of low temperature thermal pre-treatment on sludge solubilisation, heavy metal release and anaerobic digestion [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(15): 5743-5748.

[11] RANI R U, KUMAR S A, KALIAPPAN S, et al. Low temperature thermo-chemical pretreatment of dairy waste activated sludge for anaerobic digestion process [J]. Bioresource Technology, 2012, 103: 415-424.

[12] LUO K, YANG Q, YU J, et al. Combined effect of sodium dodecyl sulfate and enzyme on waste activated sludge hydrolysis and acidification [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(14): 7103-7110.

[13] YANG X, DU M A, LEE D J, et al. Enhanced production of volatile fatty acids (VFAs) from sewage sludge by β-cyclodextrin [J]. Bioresource Technology, 2012, 110: 688-691.

[14] KARGI F, UYGUR A. Effect of carbon source on biological nutrient removal in a sequencing batch reactor [J]. Bioresource Technology, 2003, 89(1): 89-93.

[15] WU H Y, GAO J Y, YANG D H, et al. Alkaline fermentation of primary sludge for short-chain fatty acids accumulation and mechanism [J]. Chemical Engineering Journal, 2010, 160(1): 1-7.

[16] 黄红英, 方海红, 刘爱民, 等. 一株地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶的研究Ⅰ[J]. 微生物学通报,2001,28(5): 20-24.

[17] WEISBURG W G, BAMS S M, PELLETIER D A, et al. 16S ribosomal DNA for phylogenetic study [J]. Journal of Bacteriology, 1991, 173(2): 697-703.

[18] 水和废水监测分析方法编委会.水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社,2002.

[19] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T23527—2009 蛋白酶制剂[S]. 北京: 中国标准出版社,2009.

[20] HERBERT D, PHILIPPS P J, STRANGE R E. Carbohydrate analysis [J]. Methods in Enzymology, 1971, 5B(2): 265-277.

[21] HATZICONSTANTINOU G J, YANNAKOPOULOS P, ANDREADAKIS A. Primary sludge hydrolysis for biological nutrient removal [J]. Water Science and Technology, 1996, 34(1/2): 417-423.

[22] YAN Y Y, FENG L Y, ZHANG C J, et al. Ultrasonic enhancement of waste activated sludge hydrolysis and volatile fatty acids accumulation at pH 10.0 [J]. Water Research, 2010, 44(11): 3329-3336.

[23] LEE S H, CHUNG W C, YU Y J, et al. Effect of alkaline protease-producing *Exiguobacterium* sp. YS1 inoculation on the solubilization and bacterial community of waste activated sludge [J]. Bioresource Technology, 2009, 100: 4597-4603.

[24] LIU H, FAN H H P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges [J]. Journal of Biotechnology, 2002, 95(3): 249-256.

(编辑 刘 彤)