胞外多聚物对酶催化污泥厌氧水解的影响研究

陈伟[1,3],贾原媛[2],郑伟[1,3],李小明[1,3*],周俊[1,3],杨麒[1,3],罗琨[1,3]

(1. 湖南大学环境科学与工程学院,长沙 410082; 2. 天津科技大学材料科学与化学工程学院,天津 300457; 3. 环境生物与控制教育部重点实验室(湖南大学),长沙 410082)

摘要: 研究了胞外多聚物对酶催化污泥溶解效果和催化过程中污泥化学组分变化的影响. 向原污泥及去除胞外多聚物的剩余污泥外加酶,并与未加酶组水解效果进行对比. 结果表明,酶浓度 < 20 mg/g时仅水解污泥胞外物质,加大酶量能显著引起污泥破解. 溶菌酶用于原污泥水解效果较好,SCOD/TCOD 最高可达 28.14%,投加量 60 mg/g,反应 48 h 后 VSS 去除率达 51.66%,DNA 浓度(以 VSS 计)为 68.34 mg/g,分别比空白组提高了 29.01% 与 59.63 mg/g,比去除胞外多聚物组提高了 24.86% 与 53.39 mg/g,且NH_4^+-N、PO_4^{3-}-P、SCOD 溶出效果良好,最大累积量分别为 503、78.9、3 171 mg/L. 污泥去除胞外多聚物后投加蛋白酶与纤维素酶溶胞效果较好,VSS 去除率最高分别达到 49.95%、39.85%,溶出 DNA 浓度与 SCOD、NH_4^+-N 及 PO_4^{3-}-P 线性相关系数在 0.9 以上,6 h 左右水解效率最高,达到最大水解速率时刻比原污泥组提前了 3 h 左右,且较小的酶量可达到好的溶胞效果.

关键词: 溶菌酶; 纤维素酶; 蛋白酶; 胞外多聚物; 污泥水解; 溶胞

中图分类号: X703.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2011)08-2334-06

Influence of Extracellular Polymeric Substance on Enzyme Hydrolysis of Sludge Under Anaerobic Condition

CHEN Wei[1,3], JIA Yuan-yuan[2], ZHENG Wei[1,3], LI Xiao-ming[1,3], ZHOU Jun[1,3], YANG Qi[1,3], LUO Kun[1,3]

(1. College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China; 2. College of Material Science and Chemical Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 3. Key Laboratory of Environmental Biology and Pollution Control (Hunan University), Ministry of Education, Changsha 410082, China)

Abstract: The effect of extracellular polymeric substance (EPS) on the enzymatic solubilisation of sludge and the changes of chemical components was investigated. Sludge solubilization with and without EPS was studied in the enzymatic system, and in the normal system without enzyme addition, respectively. The result indicated that only EPS could be hydrolyzed when the enzyme addition less than 20 mg/g, while the cell lysis occurred significantly with the doses of enzymes increasing. Treatment with lysozyme for the original sludge was proved to have a higher hydrolysis efficiency, and the SCOD/TCOD rate reached up to 28.14%. And at the enzyme dosage of 60 mg/g, the VSS removal rate increased to 51.66% and the concentration of DNA attained 68.34 mg/g (calculated by VSS) after 48 h reaction, which were 29.01% and 59.63 mg/g higher than the control test, respectively, and were 24.86% and 53.39 mg/g higher than that with EPS removed in advance, respectively. Meanwhile, NH_4^+-N, PO_4^{3-}-P and SCOD showed high dissolution efficiency, and the maximal concentrations achieved to 503 mg/L, 78.9 mg/L and 3 171 mg/L, respectively. After removal of extracellular polymers, higher lysis efficiency was also observed by protease and cellulose, by which VSS reduction rate reached to 49.95% and 39.85%, respectively. The concentration of DNA showed a correlation coefficient of more than 0.9 with the concentrations of SCOD, NH_4^+-N and PO_4^{3-}-P. And the highest hydrolysis rate obtained in 6 hours, which was about 3 hours earlier than the control test. Moreover, under those condition, sludge hydrolyzation could be well realized by only small amount of the enzyme addition.

Key words: lysozyme; cellulose; protease; extracellular polymeric substance (EPS); hydrolysis of sludge; cell lysis

目前我国城镇污水处理厂每年排放的污泥年增长率 > 10%,以我国城镇污水处理率达到 60% 估算,则将产生的污泥量(以干重计)为 840 万 t,占全国总固体废弃物的 3.3% [1],且大部分污泥并未得到有效处理,而近些年报道的溶胞新方法利用外加酶技术处理剩余污泥可实现污泥的高效减量化,结合后续工艺可使处理后的污泥更安全、环保,以减少对环境的二次污染.

以往的研究显示外加酶如脂肪酶、内切聚糖酶等能加快污泥溶解[2],利用蛋白酶与淀粉酶处理剩余污泥时 VSS 去除率最大可达到 68.43% [3]. Parmar 等[4] 利用外加酶混合物使 TSS 最高减少了 50%,污泥经处理后沉降性能较好. Roman 等[5] 则利用混合酶处理初沉污泥,反应 5 d 后 TS 明显减

收稿日期: 2010-10-31; 修订日期: 2010-12-21
基金项目: 国家自然科学基金项目(51078128)
作者简介: 陈伟(1986~),男,硕士研究生,主要研究方向为水污染控制,E-mail: chenwei444440@163.com
* 通讯联系人, E-mail: xmli@hnu.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

少.由于污泥絮体中胞外多聚物(extracellular polymeric substance,EPS)决定絮体结构,絮体的水解限制污泥的降解程度[6,7],EPS 的破解可能会加强污泥厌氧消化过程中生物降解的比率[8],理论上,去除 EPS 后将加强酶的水解作用,而 Sesay 等[9]将纤维素酶与 α-淀粉酶用于提取活性污泥 EPS,发现酶解是一种温和的提取方法,增加酶用量与延长反应时间,EPS 提取量趋于平缓,酶与污泥起反应去除的只是胞外物质,且通过细胞计数发现未出现大量细胞溶解. Wawrzynczy 等[10]也通过酶与三聚磷酸钠结合提取污泥胞外多聚物,然而对于酶是否引起污泥大量破解及胞外多聚物对外加酶的水解作用影响,国内外未进行过相关深入研究,此外,溶菌酶用于环境工程领域较少,主要用于提取污泥中总 DNA 含量[11],而鲜有其水解污泥的研究. 为此笔者考察了几种外加酶对剩余污泥的水解效果,并研究了去除 EPS 后酶对污泥水解的影响,对于酶水解污泥技术的研究和运用有较好的参考价值.

1　材料与方法

1.1　实验材料

实验用剩余污泥取自长沙市第二污水处理厂,污泥经 4 h 沉淀后弃去上清液,再经 1 mm × 1 mm 筛网过滤,去除杂质后于 4℃保存备用. 污泥性质见表 1.

表 1　污泥的基本性质

Table 1　Characteristics of raw sludge

pH	TSS /g·L^{-1}	VSS /g·L^{-1}	TCOD /mg·L^{-1}	SCOD /mg·L^{-1}
6.69	18.44	10.84	16 112	324

所用溶菌酶为进口分装,蛋白酶与纤维素酶分别为北京索莱宝公司与上海蓝季公司提供,酶的基本参数见表 2.

表 2　酶的基本参数

Table 2　Characteristics of the enzyme

酶	酶活力/U·mg^{-1}	最适温度	最适 pH
溶菌酶	22 000	35℃左右	4.0 ~ 6.5
纤维素酶	30	50℃左右	6.0 ~ 7.0
蛋白酶	60	40℃左右	7.0 ~ 7.8

1.2　样品预处理

通过不同温度 60、70、80、90、100℃和不同提取时间 10、20、30、40、50 min 条件下研究胞外多聚物的最适提取参数,发现 80℃,30 min,EPS 的提取效果最好,提取的 EPS 较高且未引起大量细胞溶解,蛋白质与多糖含量分别达到 88.98 mg/g、25.94 mg/g,DNA 浓度相对较低为 6.83 mg/g. 取适量污泥在此条件下进行预处理,然后于10 000 r/min 离心 10 min,所得沉淀即为去除 EPS 的细胞体,弃去上清液后以蒸馏水补足体积,混匀后待用.

1.3　实验方法

原污泥酶水解实验(1 号):分别投加 0、10、20、30、60、100 mg/g(以 TS 中加入酶量计)的溶菌酶、纤维素酶、蛋白酶于盛有剩余污泥的具塞锥形瓶中,然后于锥形瓶内通入氮气 3 min 以驱除空气,加塞于表 2 中所示温度,水浴振荡(200 r/min)条件下反应,定时平行取样. 去除 EPS 组污泥水解实验(2 号),方法同上.

1.4　分析项目及方法

蛋白质含量采用 Lowry 法测定[12];多糖浓度采用苯酚-硫酸法测定[13];可溶性PO_4^{3-}-P 及NH_4^+-N 分别采用钼锑抗分光光度法和纳氏试剂分光光度法测定;TSS 及 VSS 采用重量法测定;COD 采用微波密封消解,重铬酸钾法测定;上清液经 0.22 μm 微孔过滤膜过滤后测 DNA 浓度,测定方法为二苯胺比色法,以小牛胸腺 DNA 的碱溶液为标准溶液[14].

2　结果与讨论

2.1　投加酶后剩余污泥的减量效果

随着酶浓度的提高,反应 48 h 后 VSS 溶解率不断增大(见图 1),1 号实验组,酶浓度 > 6% 后,VSS 溶解率趋于平缓. 经溶菌酶、蛋白酶、纤维素处理后 VSS 最大溶解率分别达到 52.21%、43.92%、38.44%,溶菌酶处理效果最好,比空白组提高了 29.56%. 2 号实验组中,反应 48 h 后溶菌酶的处理效果最差,蛋白酶的水解效果最好,VSS 溶解率达到

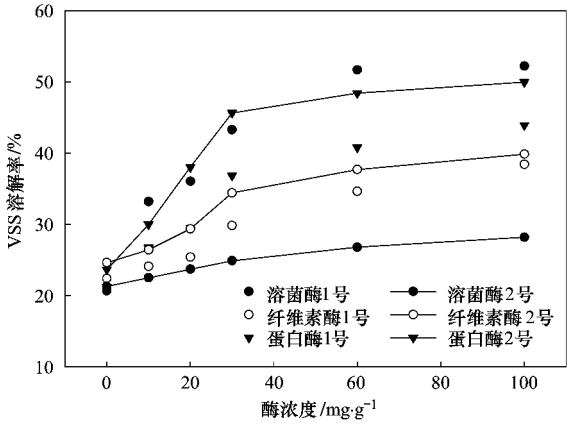


图 1　VSS 溶解率随酶浓度变化

Fig. 1　Effects of enzyme concentration on VSS solubilization

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

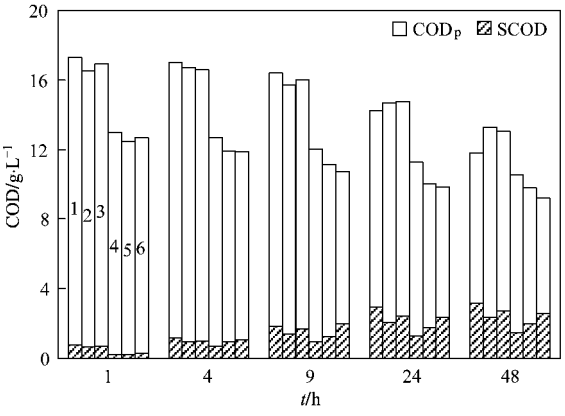
49.95%,此时检测 DNA 浓度为 52.16 mg/g,而空白组仅为 6.19 mg/g. 去除 EPS 后,酶投加浓度 3% 左右 VSS 溶解率已进入平台期,加入少量的蛋白酶与纤维素酶就能得到较好的溶解效果,水解过程加速. 未加酶实验组污泥由于失去了胞外物质的保护,微生物更易发生自溶,溶解率稍高于原污泥,另外,由于热解反应[15],50℃(投加纤维素酶)空白组溶解率最高. 实验检测到 TSS 浓度也得到降低,去除率最高达 32.65%,比空白组提高了 21.15%,可能由于液相中生成的沉淀及络合物被吸附使污泥固相灰分增加,造成了同时刻 TSS 去除率比 VSS 的低.

对比 1 号组与 2 号组发现,溶菌酶用于原污泥组处理效果较好,纤维素酶与蛋白酶则是在去除 EPS 组水解污泥效果好,且蛋白酶处理效果变化明显. 原污泥组投加酶量 >60 mg/g后,VSS 溶解率进入平台期,这可能是高浓度的底物夹带有较多的抑制剂[16](如一些重金属离子等)所致,为了降低成本且能取得最佳处理效果,酶加入量 60 mg/g较合适,而去除胞外多聚物后,除溶菌酶外投加一半的酶量就能达到较好的处理效果,故可去除 EPS 或使用阳离子结合剂等破坏 EPS 结构后再进行酶强化水解,可有效降低处理成本.

由于 EPS 是使微生物保持三维立体结构的主要物质,其空间阻碍作用是阻止酶对污泥溶液化的主要原因,去除 EPS 后,蛋白酶易溶解污泥中革兰氏阴性菌的细胞壁. 与脂多糖交叉结合的蛋白质水解后胞体也得到溶解,另外 EPS 去除后使得原本被它包裹的酶裸露出来显示出更大的酶活性[17~19],嵌入 EPS 阵列中的菌体也易被水解. 这与 Tiehm 等[20]的结论类似,其认为消化过程中污泥絮体的瓦解可以使胞外酶更好地作用于每个细胞体,污泥更易被降解. 而纤维素酶作用底物为相对较小的碳水化合物结合单元,它主要与细胞壁上多糖反应溶解细胞壁,其在液相与固相均有酶活力[21],在固相细胞壁上的酶活力相对不高可能是 VSS 溶解率低于蛋白酶的原因. 溶菌酶却在去除胞外物质前水解效果较好,其原因可能是: 溶菌酶为一种糖苷水解酶,作用于 *N*-乙酰葡萄糖胺和 *N*-乙酰胞壁酸之间的 β-1,4 连接形成的多聚物,进而水解细菌的细胞壁引起细胞溶解[22,23],而酶催化污泥水解通过多个反应进行,首先酶被吸附到污泥基质上,水解表面结合的小分子物质,污泥水解比率取决于酶在污泥颗粒上活性位点的扩散速率[24],去除 EPS 后,造成溶菌酶活性中心不能直接与污泥中革兰氏阴性菌的细胞壁上活性位点结合或使其扩散速率降低,从而造成污泥水解程度降低; 污泥胞外多聚物上包含的许多不同的功能基团,如羧基、胺基和磷酸基等,对溶菌酶具有特殊的选择吸附作用; 去除 EPS 后,污泥表面被吸附的金属离子如铜、锌、钴、钼、镍等离子被去除,而这些离子是溶菌酶酶促反应的激活剂.

2.2 剩余污泥破解溶出效果

随着酶促反应的进行,污泥中微生物细胞壁被酶分解,细胞内的有机质被溶出,转化为液相中的可溶性物质,污泥量大为减少. 由图 2 所示,污泥初始 SCOD/TCOD 值为 2.63%,随着反应进行其值逐渐增大,最高可达 28.14%(酶量 100 mg/g),未加酶组最高为 11.19%,酶的加入使污泥中固体 COD 转化为溶解状态 COD 的速率提高,且随着酶投加量增加,不易生物降解的大分子有机物被分解为小分子物质,污泥固相中的有机物不断转至液相,污泥水解程度变大,其值也呈增大趋势,说明污泥是一种很好的酶作用底物,提高 SCOD/TCOD 值可通过在一定范围内加大酶量或较少的酶量下延长反应时间达到. 1 号组经溶菌酶、纤维素酶、蛋白酶处理后 SCOD/TCOD 分别为 26.85%、17.68%、20.07%,SCOD 与 DNA 浓度相关系数分别为 0.955、0.842、0.957,存在明显的正相关关系. 相应地,2 号组 SCOD/TCOD 分别为 13.86%、20.39%、28.14%,相关系数分别为 0.750、0.922、0.971,线性关系显著. 由此可知,蛋白酶及纤维素酶在去除胞外多聚物后对污泥的溶液化效果较好,而溶菌酶则相反. 分析原因可能为去除胞外多聚物后造成溶菌酶在污泥固相酶活降低,而蛋白酶与纤维素酶仍在固相有相当活力,或去除胞外多聚物后污泥 pH >6.5 超出最适



1. 溶菌酶 1 号,2. 纤维素酶 1 号,3. 蛋白酶 1 号,4. 溶菌酶 2 号,5. 纤维素酶 2 号,6. 蛋白酶 2 号,COD_P 为固体 COD 浓度

图 2 2 组 COD 变化

Fig. 2 Variations of COD under two conditions

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

pH 引起溶解效果差异. 反应 48 h 后 TCOD 都有不同程度的降低,最高损失量达 35.99%,这可能是由于水解过程中一些挥发性有机物的挥发及生成的 CO_2、CH_4 等转移到气相的缘故. 除此之外,一些厌氧菌利用溶解性碳源作为基质生长使部分含碳物质返回固相(如厌氧条件下聚磷菌吸收水中的易挥发脂肪酸)及酶促反应速率的降低也造成了后期 SCOD 增加缓慢.

如图 3,随着污泥不断被水解,液相 DNA 浓度不断积累,其释放速率为先增大后减小,后期有效酶浓度的降低及酶促反应不利条件的产生(如 pH 升高)造成水解效率降低,DNA 浓度变化率趋于平缓. 结果表明,1 号组溶菌酶处理时 DNA 释放速率最高,其次为投加蛋白酶与纤维素酶,且在 9 h 左右达到最大释放速率,分别为 11.46、8.78、7.95 $mg\cdot(L\cdot h)^{-1}$,变化趋势较缓,反应温和,保持在较高释放率时间较长. 除加入溶菌酶外,2 号实验组 DNA 最大释放速率明显高于 1 号组,投加蛋白酶时 DNA 释放速率最高,达 20.19 $mg\cdot(L\cdot h)^{-1}$,前 6 h 内 SCOD 及 DNA 释放速率不断增大,此后释放缓慢,说明 6 h 左右酶促反应速率最大. 去除 EPS 后使得纤维素酶及蛋白酶水解效率提高,反应剧烈,DNA 含量变化明显,污泥细胞在较短时间内破解,总体上达到最大释放率时刻提前,污泥水解时间缩短.

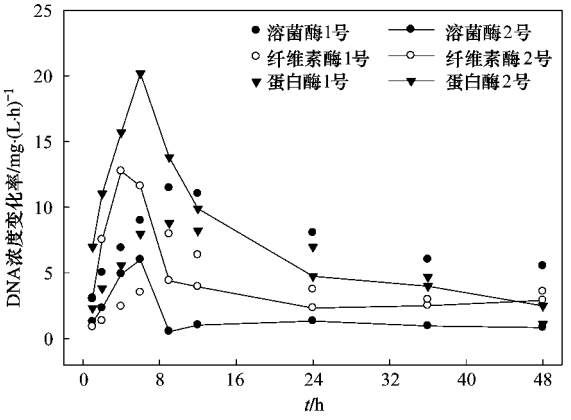


图 3　DNA 浓度变化率

Fig. 3　Change rates of DNA concentration in sludge

2.3　NH_4^+-N 与 PO_4^{3-}-P浓度变化

如图 4 所示,酶加入量 60 mg/g时,前 24 h 内 NH_4^+-N浓度迅速增加,之后增加缓慢,污泥经酶水解后易于水解的蛋白质在短时间内已释出. 可见在较短时间内,将污泥控制在水解酸化阶段实现氮的大量释放较为可行. 1 号组NH_4^+-N最大达到 528.15 mg/L,由于污泥浓度高,其NH_4^+-N释出量也相对较大[25],厌氧条件下,氨基酸脱下来的氨不能经亚硝酸菌及硝酸细菌转化为硝酸,这也造成了氨氮的大量积累.

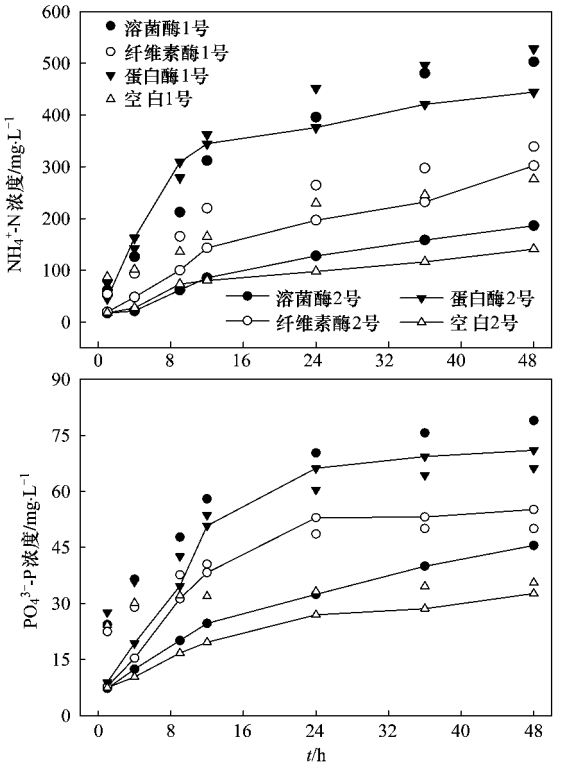


图 4　NH_4^+-N 与可溶性 PO_4^{3-}-P随水解时间变化

Fig. 4　Variations of ammonia and soluble orthophosphate during hydrolyzing

空白实验组NH_4^+-N为 3 种温度下未加酶组的均值,1 号组 48 h 时浓度仅为 276 mg/L. 加入蛋白酶后其浓度升高最快,污泥水解效率大大提高,其次为溶菌酶、纤维素酶,这是由于蛋白酶对污泥中蛋白质水解效果最好所致. 各时刻 1 号空白组比 2 号空白组NH_4^+-N浓度高,表明胞外多聚物中有机物的水解也产生了一部分NH_4^+-N,24 h 后其差值在 130 mg/L左右,这可能为 EPS 中蛋白质等水解所产生,去除胞外物质前后投加溶菌酶时NH_4^+-N最大相差 321 mg/L,DNA 浓度最大相差 56.28 mg/g,说明去除 EPS 后溶菌酶不能有效水解污泥,微生物细胞壁破解较少,胞膜及胞内蛋白未被水解. 而去除 EPS 前后投加蛋白酶与纤维素酶时,NH_4^+-N差值分别为 83.6 mg/L、37 mg/L,2 号组 DNA 浓度稍高,正是由于胞壁破裂、胞内蛋白的溶出水解使得差值缩小,这说明去除胞外物质后使这 2 种酶能较好地作用于污泥. 实验发现酶加入量低于 20 mg/g时,酶的加入

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

对NH_4^+-N浓度影响较小，且 DNA 浓度低于 9.02 mg/g，加大酶量NH_4^+-N增加明显，DNA 浓度升高至 22.36 mg/g. 这说明酶投加量较少时，产生的NH_4^+-N基本为胞外物质水解产生，较高酶浓度时，液相中NH_4^+-N主要来自细胞破裂后细胞质膜和胞内蛋白的水解，酶的加入加速了细胞壁的破裂及蛋白质的水解. 实验后期NH_4^+-N浓度增加缓慢，事实上，NH_4^+-N浓度变化主要由三方面共同引起，蛋白质水解及氨基酸脱氨基作用使其不断积累，而厌氧消化产生的有机酸及NH_4^+-NH_3平衡体系向右移动又会使 NH_4^+-N 浓度降低. 另外，由于液相中的 NH_3 与有机物水解产生的 CO_2（H_2CO_3）可形成重碳酸盐 NH_4HCO_3，HCO_3^--H_2CO_3 缓冲体系也会防止 pH 的过度变化给反应带来的负面影响.

由于原污泥上清液及胞外物质上存在少量磷酸盐，反应刚开始 1 号组PO_4^{3-}-P浓度高于 2 号组. 原污泥投加溶菌酶时，随着微生物细胞水解后胞内物质的释放，反应后可溶性PO_4^{3-}-P浓度最高，其含量升高的原因主要是微生物将体内存贮的一些聚磷酸盐分解，以PO_4^{3-}-P可溶性单磷酸盐的形式释放至液相. 而对于 2 号组，溶菌酶的加入使PO_4^{3-}-P浓度升高不明显，溶菌效果不好；蛋白酶与纤维素酶处理时，去除胞外物质有助于更多的污泥水解，磷酸盐释放量增大，使得 24 h 后 2 号组PO_4^{3-}-P含量偏高；空白组PO_4^{3-}-P浓度变化不大，胞内磷酸盐溶出量很少. 原污泥投加溶菌酶、纤维素酶、蛋白酶时最大释磷速率分别为 4.04、2.16、5.93 mg·(L·h)$^{-1}$，在 4～9 h 内达到最大释放率，去除胞外多聚物后最大释磷速率分别为 2.38、3.19、6.04 mg·(L·h)$^{-1}$，达到最大释磷速率时刻提前. 其趋势与 DNA 释放速率变化一致，PO_4^{3-}-P浓度与氨氮、DNA 浓度线性相关系数在 0.912～0.967 之间，线性关系较明显.

总体上检测到PO_4^{3-}-P含量偏低，这可能是由于酶加速水解菌体的过程中，微生物未能快速将体内不溶结晶聚磷酸盐、焦磷酸盐、过磷酸盐等结构复杂的多聚磷酸盐水解为单磷酸盐释放到环境中. 实验中污泥 pH 值逐渐升高，反应后期 pH 最高为 7.75，且不同酶不同投加量时 pH 都较反应初期有所升高，而中性或碱性环境也将不利于磷或氨氮的释放[26]，除此之外，剩余污泥中的钙、镁等离子，易与PO_4^{3-}-P形成磷酸钙、鸟粪石等化学沉淀也会使PO_4^{3-}-P浓度降低.

3 结论

(1) 较少的酶量只能水解污泥胞外物质，增加投加量，溶出 DNA 浓度升高，VSS 溶解率明显增大，酶加速污泥水解效果显著.

(2) 原污泥酶投加量 60 mg/g 左右较经济合理，投加溶菌酶时减量效果最好，VSS 溶解率达 52.21%. 蛋白酶及纤维素酶在去除 EPS 后处理效果较好，酶浓度 30 mg/g 可得到较好的处理效果，VSS 溶解率最高分别达到 49.95%、39.85%. 胞外多聚物使溶菌酶能更好地作用于污泥，使蛋白酶及纤维素酶水解效果变差.

(3) 除投加溶菌酶外，去除 EPS 后 DNA 溶出率变化较大，而原污泥组反应相对温和；原污泥组在 9 h 左右达到最大溶出速率，去除 EPS 后，达到最大水解速率时刻提前至 6 h 左右.

(4) 原污泥加入溶菌酶，SCOD/TCOD 值最大，最大值为 28.14%，同时 NH_4^+-N 与PO_4^{3-}-P大量积累；去除胞外多聚物后，投加蛋白酶与纤维素酶细菌胞内物质溶出量大于溶菌酶处理时，细胞溶出物间有较明显的正相关关系；蛋白酶及纤维素酶在去除胞外多聚物后对污泥的溶液化效果较好，而溶菌酶则相反.

参考文献：

[1] 边增光，姜鑫. 我国城市污水处理厂污泥处理工艺及现状[J]. 科技创业月刊，2010，23(4)：170.

[2] Ayol A. Enzymatic treatment effects on dewateribility of anaerobically digested biosolids-I: Performance evaluations [J]. Process Biochemistry，2005，40(7)：2427-2434.

[3] Yang Q，Luo K，Li X M，*et al*. Enhanced efficiency of biological excess sludge hydrolysis under anaerobic digestion by additional enzymes [J]. Bioresource Technology，2010，101(9)：2924-2930.

[4] Parmar N，Singh A，Ward O P. Enzyme treatment to reduce solids and improve settling of sewage sludge [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology，2001，26(6)：383-386.

[5] Roman H J，Burgess J E，Pletshke B I. Enzyme treatment to decrease solids and improve digestion of primary sewage sludge [J]. African Journal of Biotechnology，2006，5(10)：963-967.

[6] Higgins M J，Novak J T. Characterization of exocellular protein and its role in bioflocculation [J]. Journal of Environmental Engineering，1997，123(5)：479-485.

[7] Burgess J E，Pletschke B I. Hydrolytic enzymes in sewage sludge treatment: A mini-review [J]. Water SA，2008，34(3)：343-349.

[8] Park C，Novak J T. Characterization of activated sludge

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

exocellular polymers using several cation-associated extraction methods [J]. Water Research, 2007, **41**(8): 1679-1688.

[9] Sesay M L, Özcengiz G, Sanin F L. Enzymatic extraction of activated sludge extracellular polymers and implications on bioflocculation [J]. Water Research, 2006, **40**(7): 1359-1366.

[10] Wawrzynczy K J, Szewczyk E, Norrlöw O, *et al*. Application of enzymes, sodium tripolyphosphate and cation exchange resin for the release of extracellular polymeric substances from sewage sludge [J]. Journal of Biotechnology, 2007, **130**(3): 274-281.

[11] Shan G B, Jin W B, Lam E K H, *et al*. Purification of total DNA extracted from activated sludge [J]. Journal of Environmental Sciences, 2008, **20**(1): 80-87.

[12] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A, *et al*. Protein measurement with the folin phenol reagent [J]. Journal of Biological Chemistry, 1951, **193**(1): 265-275.

[13] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, *et al*. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, **28**(3): 350-356.

[14] Sun Y, Clinkenbeard K D, Clarke C, *et al*. Pasteurella haemolytica leukotoxin induced apoptosis of bovine lymphocytes involves DNA fragmentation [J]. Veterinary Microbiology, 1999, **65**(2): 153-166.

[15] **史彦伟, 李小明, 赵维纳, 等**. **微曝气条件下** S-TE **剩余污泥溶解性研究** [J]. **环境科学**, 2008, **29**(1): 139-144.

[16] **罗琨, 杨麒, 李小明, 等**. **外加酶强化剩余污泥水解的研究** [J]. **环境科学**, 2010, **31**(3): 763-767.

[17] Vavilin V A, Rytov S V, Lokshina L Y. A description of hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic matter [J]. Bioresource Technology, 1996, **56**(2): 229-237.

[18] Whiteley C G, Burgess J E, Melamane X, *et al*. The enzymology of sludge solubilisation utilizing sulphate-reducing systems: the properties of lipases [J]. Water Research, 2003, **37**(2): 289-296.

[19] Yu G H, He P J, Shao L M, *et al*. Extracellular proteins, polysaccharides and enzymes impact on sludge aerobic digestion after ultrasonic pretreatment [J]. Water Research, 2008, **42**(8-9): 1925-1934.

[20] Tiehm A, Nickel K, Zellhorn M, *et al*. Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization [J]. Water Research, 2001, **35**(8): 2003-2009.

[21] Wawrzynczyk J, Recktenwald M, Norrlöw O, *et al*. The function of cation-binding agents in the enzymatic treatment of municipal sludge [J]. Water Research, 2008, **42**(6-7): 1555-1562.

[22] Smith L E, Mohr L H, Raftery M A. Mechanism for lysozyme-catalyzed hydrolysis [J]. Journal of the American Chemical Society, 1973, **95**(22): 7497-7500.

[23] Nigena M, Gaillard C, Croguennec T, *et al*. Dynamic and supramolecular organisation of α-lactalbumin/lysozyme microspheres: A microscopic study [J]. Biophysical Chemistry, 2010, **146**(1): 30-35.

[24] Venugopal V, Alur M D, Nerkar D P. Solubilization of fish proteins using immobilized microbial cells [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1989, **33**(9): 1098-1103.

[25] Banister S S, Pitman A R, Pretorius W A. The solubilization of N and P during primary sludge acid fermentation and precipitation of the resultant P [J]. Water SA, 1998, **24**(4): 337-342.

[26] **苑宏英, 张华星, 陈银广, 等**. pH **对剩余污泥厌氧发酵产生的** COD、**磷及氨氮的影响** [J]. **环境科学**, 2006, **27**(7): 1358-1361.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net