

# 超声法从剩余污泥中提取微生物絮凝剂的研究

张志强<sup>1,2</sup>, 李向蓉<sup>1,2</sup>, 张 姣<sup>3</sup>, 夏博宇<sup>4</sup>

(1. 同济大学 环境科学与工程学院, 上海 200092; 2. 同济大学 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092;  
3. 上海城市管理职业技术学院 土木工程与交通学院, 上海 200432; 4. 上海财经大学附属中学, 上海 200090)

**摘要:** 通过超声系列试验,对超声法从剩余污泥中提取微生物絮凝剂(MBF)进行了系统研究.从剩余污泥中提取的MBF在偏酸性条件下和35~40℃范围内表现出较高的絮凝活性.超声时间以1~3 min为宜,超声功率以210~270 W为宜.污泥浓度越高,所提取的MBF浓度越高;对于从高浓度污泥提取的MBF,投加剂量可随污泥浓度升高而减小,以获得较好的絮凝效果.MBF主要成分包括蛋白质、多糖和核酸.研究表明,超声法可用于从剩余污泥中直接提取MBF,在降低MBF生产成本的同时实现污泥的资源化利用.

**关键词:** 剩余污泥;微生物絮凝剂;超声法;絮凝活性

**中图分类号:** X705

**文献标志码:** A

## Microbial Flocculant Extraction from Excess Sludge by Ultrasonic Method

ZHANG Zhiqiang<sup>1,2</sup>, LI Xiangrong<sup>1,2</sup>, ZHANG Jiao<sup>3</sup>,  
XIA Boyu<sup>4</sup>

(1. College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China; 3. School of Civil Engineering and Transportation, Shanghai Technical College of Urban Management, Shanghai 200432, China; 4. High School Affiliated to Shanghai University of Finance and Economics, Shanghai 200090, China)

**Abstract:** Microbial flocculant (MBF) extraction from excess sludge by ultrasonic method was systematically studied. The MBF extracted from excess sludge showed higher flocculating activity under acidic conditions and 35~40℃. The optimum ultrasonic time and power were 1~3 min and 210~270 W, respectively. The concentration of the extracted MBF from the sludge by ultrasonic method increased with the rising sludge concentration. To get the best flocculation efficiency, MBF dosage can be decrease with the rising sludge concentration. The main components of MBF consisted of

proteins, polysaccharides, and nucleic acids. According to the results, ultrasonic method is feasible to extract MBF from excess sludge, which can not only save the cost of MBF production, but also realize the resource reuse of excess sludge.

**Key words:** excess sludge; microbial flocculant; ultrasonic method; flocculating activity

微生物絮凝剂(microbial flocculant, MBF)是由微生物产生的可使液体中不易沉降的悬浮颗粒、菌体细胞及胶体颗粒等凝聚沉淀的特殊高分子物质<sup>[1]</sup>. MBF主要成分包括多糖、蛋白质和核酸等<sup>[2]</sup>,具有高效、无毒、可生物降解、无二次污染等特点,可成为人工合成有机高分子絮凝剂潜在的替代物<sup>[3]</sup>,已有关于其在水处理、食品加工、发酵等行业的应用报道<sup>[4]</sup>.制备MBF的常用方法是利用纯菌株在特定培养基和培养条件下好氧发酵<sup>[1]</sup>,其高成本和苛刻的培养条件限制了其进一步的扩大应用.因此,如何进一步降低MBF生产成本、提高生产效率,成为制约其推广应用的瓶颈.国内外很多学者对此问题进行了研究,如日本学者Kurane<sup>[5]</sup>、Fujita<sup>[6]</sup>和国内学者马放<sup>[7]</sup>、王曙光<sup>[4]</sup>等利用廉价原料和有机废弃物作为产絮凝菌的碳、氮源或替代培养基以降低MBF的生产成本;笔者也研究了利用啤酒废水作为廉价碳源制备新型微生物絮凝剂,从而降低MBF的生产成本<sup>[8]</sup>.

剩余污泥是由多种微生物形成的菌胶团与其吸附的有机物和无机物组成的集合体<sup>[9]</sup>.它是污水生物处理的副产物,其处理已成为城市污水处理厂运行的沉重负担.污泥中含有大量MBF产生菌<sup>[1]</sup>,它们在降解污水中有机物时产生的絮凝性物质与

收稿日期: 2011-07-07

基金项目: 国家自然科学基金(51008218);中央高校基本科研业务费专项资金;教育部留学回国人员科研启动基金;国家“八六三”高技术研究发展计划(2009AA062902)

第一作者: 张志强(1980—),男,副教授,工学博士,主要研究方向为水污染控制与资源化. E-mail: zhiqiang@tongji.edu.cn

MBF 成分及功能相仿. 因此,若成功从剩余污泥中提取出这些天然絮凝性物质作为 MBF,则不仅可大大降低 MBF 的生产成本,还可实现剩余污泥的资源化利用. 目前,国内外相关的研究文献报道较少. 本文采用超声法从城市污水处理厂剩余污泥中提取出具有絮凝活性的天然有机高分子物质作为絮凝剂试样. 首先,分析了 pH 值和温度对絮凝活性的影响;其次,研究了超声波作用参数(时间、脉冲方式和功率等)和污泥浓度对所提取絮凝剂试样絮凝活性的影响;最后,对 MBF 的化学成分进行了分析.

## 1 实验材料和方法

### 1.1 剩余污泥

剩余污泥取自上海市某城市污水处理厂的二沉池回流污泥. 该厂采用 A<sup>2</sup>/O-BAF(缺氧-厌氧-好氧-曝气生物滤池)处理工艺,日处理水量  $5.7 \times 10^4 \text{ m}^3$ ,回流污泥质量浓度  $7.5 \sim 9.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,挥发性悬浮颗粒物质量(VSS)与悬浮颗粒物质量(SS)的比值为  $62.0\% \sim 68.0\%$ ,pH 值为  $6.8 \sim 7.5$ . 将取回的剩余污泥在  $4^\circ\text{C}$  下保藏备用,2 d 内用完.

### 1.2 MBF 的超声提取法

前期研究结果表明,相比其他频率超声波,20 kHz 超声波表现出超声频率低、超声时间短和所提取 MBF 絮凝效率高等优势. 因此,本文采用 20 kHz 超声波进行研究,超声设备为上海生析超声仪器有限公司的 20 kHz 的超声波细胞破碎仪. 将超声处理后的污泥样品通过 Thermo Multifuge X1R 高速离心机,在  $4^\circ\text{C}$ ,  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  下离心 10 min 得到的上清液即为絮凝剂试样. 分别考察 pH 值、温度、超声波作用参数(时间、脉冲方式和功率)和污泥浓度等对从剩余污泥中所提取絮凝剂试样的絮凝活性影响. 考察 pH 值对絮凝剂试样的絮凝活性影响时,以  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 HCl 和  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NaOH 将高岭土悬浊液调至  $3 \sim 10$  的 pH 值;考察温度对絮凝剂试样的絮凝活性影响时,用水浴锅加热高岭土悬浊液的温度至  $15 \sim 60^\circ\text{C}$ .

### 1.3 絮凝率的测定方法

在 100 mL 比色管中加入 0.4 g 高岭土,3 mL 质量浓度为 1% 的  $\text{CaCl}_2$  溶液,2 mL 絮凝剂试样,定容至 100 mL. 以  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 HCl 和  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NaOH 将其调至一定的 pH 值,混匀后静置 5 min,然后用移液器吸取其上清液 5 mL 于比色管中,用分光光度计(HACH, DR 2800)在  $550 \text{ nm}$  下

测其吸光度<sup>[8]</sup>(B). 以不加絮凝剂试样,相同操作条件下的高岭土悬浊液的吸光度作对照(A). 以絮凝率(E)来表示絮凝活性,计算方法如下:

$$E = [(A - B) / A] \times 100\% \quad (1)$$

### 1.4 分析方法

污泥 SS 和 VSS 均采用标准方法测定<sup>[10]</sup>. MBF 的多糖含量采用苯酚-硫酸法测定,用甘露糖作为标准物质<sup>[11]</sup>;蛋白质含量用 Bradford 法测定,用牛血清蛋白作为标准物质<sup>[12]</sup>;核酸含量采用二苯胺法测定,用小牛胸腺 DNA 作为标准物质<sup>[13]</sup>. MBF 总量用多糖、蛋白质与核酸含量之和表示.

## 2 结果与讨论

### 2.1 pH 值对 MBF 絮凝活性的影响

用 20 kHz, 210 W 的超声波对剩余污泥(质量浓度为  $8.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )连续超声 30 s 后,以  $4^\circ\text{C}$ ,  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  低温高速离心 10 min,取其上清液为絮凝剂试样. 将絮凝剂试样投加到高岭土悬浊液中,考察 pH 值对絮凝剂试样絮凝效果的影响,结果如图 1 所示.

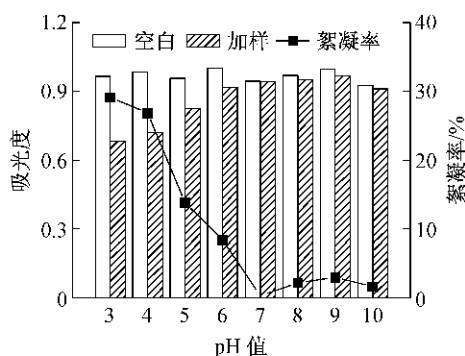


图1 pH 值对絮凝剂试样絮凝效果的影响

Fig.1 Effect of pH value on the flocculating activity of MBF

从图 1 可以看出,随着混和液 pH 值的逐渐增加,投加相同剂量的絮凝剂试样后,其絮凝率基本呈现逐渐降低的趋势. 在碱性和中性条件下,高岭土悬浊液在絮凝剂投加前、后的吸光度值差异较小,絮凝率均较低;随着 pH 值往酸性方向变化,高岭土悬浊液在絮凝剂投加前、后的吸光度值差异变大,絮凝率越来越高. 由此可知,pH 值对絮凝活性的影响较大,偏酸性条件有利于絮体形成,而中性或碱性条件不利于絮体形成. 因 pH 能通过改变酸碱度来改变絮凝剂大分子和胶体颗粒的表面电荷、带电状态、中和电荷能力,从而影响它们之间的靠近和吸附行为. 高

岭土表面带负电荷,因此,偏酸性环境可以中和其表面的负电荷,从而有利于絮凝沉淀。当 pH 值为 4.0 时,絮凝效果较好,故选择 pH 值 4.0 为后续实验条件。

## 2.2 温度对 MBF 絮凝活性的影响

用 20 kHz, 210 W 的超声波对剩余污泥(质量浓度为  $8.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )连续超声 30 s 后,以  $4^\circ\text{C}$ ,  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  低温高速离心 10 min, 取其上清液为絮凝剂试样。将絮凝剂试样投加到高岭土悬浊液中,考察温度对絮凝剂试样絮凝效果的影响,结果如图 2 所示。

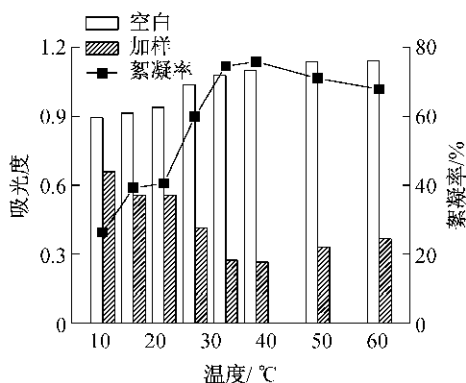


图 2 温度对絮凝剂试样絮凝效果的影响

Fig.2 Effect of temperature on the flocculating activity of MBF

由图 2 可知,温度在  $15 \sim 60^\circ\text{C}$  范围内变化时,絮凝率有很大的变化。随着温度的升高,高岭土悬浊液在絮凝剂投加前、后的吸光度值差异先变大后缩小,絮凝率也呈现先增加后降低的趋势。温度为  $15 \sim 25^\circ\text{C}$  时,分子热运动较慢,高岭土悬浊液空白值偏低,其在絮凝剂投加前、后的吸光度值差异较小,MBF 的絮凝率较低;  $30 \sim 40^\circ\text{C}$  时,分子热运动逐渐加速,高岭土悬浊液空白值变大,其在絮凝剂投加前、后的吸光度值差异变大,MBF 的絮凝率快速上升,并在  $40^\circ\text{C}$  时达到最大 68.9%; 随着温度的继续升高,分子热运动进一步加速,高岭土悬浊液空白值随之变大,但高岭土悬浊液在絮凝剂投加前、后的吸光度值差异有所缩小,MBF 的絮凝率逐渐下降。在较低温度下,MBF 絮凝活性可能受到抑制;而在较高温度下,MBF 中起絮凝作用的有机高分子物质可能因高温变性降低絮凝活性。MBF 适宜工作温度范围为  $35 \sim 40^\circ\text{C}$ 。考虑到正常情况下(非冬季)实际处理水温一般在  $20^\circ\text{C}$  左右,故选择温度  $20^\circ\text{C}$  为后续实验条件。

## 2.3 脉冲方式对超声法提取 MBF 的影响

超声波脉冲方式是指超声波每次辐射时间与间歇时间的工作情况,脉冲 1 s 是指超声波每次辐射时间与间歇时间均为 1 s 的脉冲方式。用 20 kHz, 210 W 的超声波对剩余污泥(质量浓度为  $7.9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )进行超声,分别在连续超声、1 s 脉冲、4 s 脉冲、8 s 脉冲条件下超声 1, 2, 3, 5 和 7 min, 然后在  $4^\circ\text{C}$ ,  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  低温高速离心,取其上清液为絮凝剂试样,考察超声波脉冲方式对超声法提取 MBF 的影响,结果如图 3 所示。

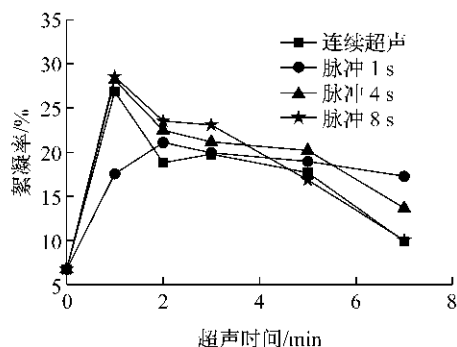


图 3 脉冲方式对超声法提取 MBF 的影响

Fig.3 Effect of pulse style on MBF extraction by ultrasonic method

由图 3 可知,4 种超声脉冲方式所提取的絮凝剂试样均有一定的絮凝效果,而不超声直接提取的絮凝剂试样絮凝率非常低(6.7%)。在短时间(1 min)内,连续超声、脉冲 4 s 和脉冲 8 s 方式均比脉冲 1 s 方式超声所提取絮凝剂试样的絮凝效果要好,这是由于脉冲 1 s 方式单次超声作用持续时间过短会导致超声效率下降。当延长超声时间至 2 min,可发现脉冲 1 s 方式与其他脉冲方式所提取絮凝剂试样的絮凝率相当。继续延长超声时间,所有脉冲方式所提取絮凝剂试样的絮凝率均呈现出一定的下降趋势。由此可见,超声法提取 MBF 的超声时间不宜过长,1~3 min 内较适宜,这与周集体等人的研究结果相似,即长时间的超声会破坏所提取絮凝剂试样的絮凝活性<sup>[8]</sup>。超声的机械水力剪切作用有利于将絮凝性物质与菌体进行分离;超声同时可以形成化学自由基,对污泥具有破解作用<sup>[14]</sup>。长时间、高强度的超声会将大分子聚合物降解为没有絮凝活性的小分子有机物,表现为絮凝剂试样的絮凝率降低;此外,过长的超声时间导致细胞破碎的可能性增大,细胞内的物质溶出也会影响所提取絮凝剂试样的絮凝效果。

## 2.4 功率对超声法提取 MBF 的影响

用 20 kHz 超声波对剩余污泥(质量浓度为  $8.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )在不同功率下分别连续超声 0.5, 1, 2 和 4.0 min 后,在  $4^\circ\text{C}$ ,  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  低温高速离心,取其上清液为絮凝剂试样,考察超声波功率对超声法提取 MBF 的影响,结果如图 4 所示。

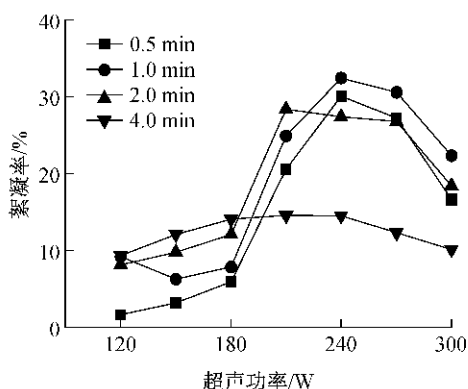


图 4 功率对超声法提取 MBF 的影响

Fig.4 Effect of power on MBF extraction by ultrasonic power

由图 4 可知,随着超声波功率的增大,絮凝率基本为先升高后逐渐降低的趋势。低功率下提取的絮凝剂试样絮凝率低,当功率由 180 W 增至 210 W 时絮凝率迅速上升;当功率由 210 W 增至 270 W 时絮凝率缓慢增加,所提取的絮凝剂试样絮凝效果好;270 W 以后絮凝率迅速下降。可见,超声功率过低或者过高均不利于 MBF 的提取。因超声法主要是通过超声波声场产生的强烈振动、空化效应和搅拌作用使得污泥絮体分散,同时使部分结合较弱的高分子物质在剪切力的作用下分离而进入液相溶液,当功率较低时,超声辐射能不足以有效破解污泥,超声波所产生的剪切力无法完全使细胞表面的高分子絮凝活性物质脱落,从而影响提取效率;当功率较高时,会产生更多的化学自由基,使某些敏感活性物质变性或分解为小分子物质,从而失去絮凝活性<sup>[14]</sup>。

## 2.5 污泥浓度对超声法提取 MBF 的影响

用 20 kHz, 210 W 的超声波对不同质量浓度的剩余污泥(原污泥质量浓度为  $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )分别连续超声 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 和 5.0 min 后,以  $4^\circ\text{C}$ ,  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  低温高速离心,取其上清液为絮凝剂试样,考察污泥质量浓度对超声法提取 MBF 的影响,结果如图 5 所示。

从图 5 可见,随着污泥质量浓度的增加,絮凝率基本呈现降低的趋势;超声提取 MBF 时间不宜太长,以 1~3 min 为宜。考察浓度范围内,在絮凝剂试

样投加量体积分数均为 2% 的情况下,从较低浓度污泥中提取到的 MBF 表现出较高的絮凝率;污泥质量浓度在  $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  内所提取的絮凝剂试样絮凝效果均较好。在超声波能量足以穿透污泥层的情况下,理论上污泥质量浓度越高,相同体积的污泥可提取的絮凝活性物质也越多,较浓污泥得到的絮凝率反而较低,可能是由于不同浓度的污泥提取的絮凝剂试样的投加量(体积分数为 2%)超过了其最佳投加量所致,后面以絮凝剂投加剂量实验进行验证。

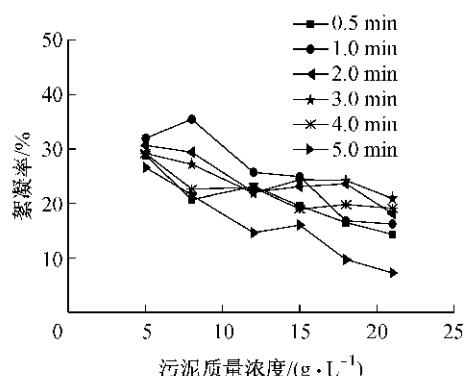


图 5 污泥质量浓度对超声法提取 MBF 的影响

Fig.5 Effect of sludge concentration on MBF extraction by ultrasonic method

## 2.6 MBF 成分分析与剂量对絮凝剂试样絮凝效果的影响

用 20 kHz, 210 W 的超声波对剩余污泥(原污泥质量浓度为  $9.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )连续超声 1 min 后,在  $4^\circ\text{C}$ ,  $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  低温高速离心,取其上清液为絮凝剂试样,考察 MBF 的化学组成及其絮凝活性,结果如图 6 和表 1 所示。

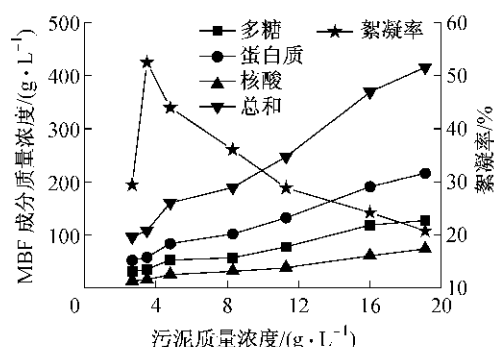


图 6 MBF 的化学组成与絮凝效果

Fig.6 Composition and flocculating efficiency of the extracted MBFs

由图 6 和表 1 可知,不同质量浓度的污泥通过超声法提取出的 MBF,蛋白质、多糖、核酸的质量分数基本一致,分别平均约占 MBF 总量的 53%,

表 1 MBF 中各成分的质量分数

Tab.1 Percentage of each component in the extracted MBF's

| 污泥质量浓度/<br>( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | 质量分数/% |       |       |
|---|--------|-------|-------|
|   | 蛋白质    | 多糖    | 核酸    |
| 2.67  | 54.05  | 32.24 | 13.71 |
| 3.49  | 52.95  | 32.44 | 14.61 |
| 4.84  | 51.90  | 32.33 | 15.78 |
| 8.33  | 53.60  | 29.84 | 16.56 |
| 11.27   | 53.4   | 31.17 | 15.39 |
| 15.93   | 51.65  | 32.06 | 16.30 |
| 19.14   | 51.88  | 30.52 | 17.60 |

31%, 16%。由此可见, 蛋白质为 MBF 的主要成分, 多糖次之, 核酸的含量最低, 这之前一些学者所得的结论一致<sup>[15]</sup>。随着污泥浓度的增加, 提取到的 MBF 的总量也在升高。絮凝活性随着污泥质量浓度的增加先增加到达峰值后逐渐降低, 污泥质量浓度为  $2.49 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 絮凝率为 29.42%; 污泥质量浓度为  $3.32 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 絮凝率达到最大值为 52.46%; 之后随着污泥质量浓度的升高, 絮凝率逐渐降低, 污泥质量浓度为  $20.75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 絮凝率仅为 20.73%。可能因不同浓度的污泥提取的 MBF 的投加量(体积分数为 2%) 超过了其最佳投加量所致。因此, 对不同浓度污泥提取的 MBF 投加剂量对絮凝剂试样絮凝效果的影响进行了试验研究, 结果见表 2。

表 2 MBF 剂量对絮凝效果的影响

Tab.2 Effect of MBF dosage on its flocculating efficiency

| 污泥质量浓度/ $(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$ | 投加量/mL | 絮凝率/% |
|--|--------|-------|
| 1.9                                      | 4.00   | 57.8  |
| 3.8                                      | 2.00   | 58.7  |
| 7.6                                      | 1.00   | 47.0  |
| 9.5                                      | 0.80   | 46.4  |
| 11.4                                     | 0.67   | 49.4  |
| 15.2                                     | 0.50   | 49.7  |

由表 2 可见, 随着污泥质量浓度的成倍增加及 MBF 投加量成比例的降低, 所得的絮凝率在 46.4%~58.7% 之间变化, 变化幅度不大。污泥质量浓度为  $3.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , MBF 的投加量为 2 mL 时, 絮凝率为 58.7%; 污泥质量浓度为  $7.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , MBF 的投加量为 1 mL 时, 絮凝率为 47.0%。MBF 的絮凝机理主要是因为吸附中和架桥<sup>[1]</sup>, 过高的 MBF 剂量容易造成高岭土颗粒因吸附了高分子聚合物而带上同种电荷, 因同种电荷排斥而重新分散稳定, 导致絮凝率降低, 处理效果下降。因此, 对于不同浓度的污泥提取的 MBF, 需要投加相应剂量而得到最佳的絮凝效果。

### 3 结论

以城市污水处理厂的剩余污泥为原料, 通过超声波破碎、低温高速离心从剩余污泥中提取出 MBF, 其对高岭土悬浊液具有良好的絮凝活性。MBF 在偏酸性条件和  $35 \sim 40^\circ\text{C}$  范围内表现出较高的絮凝活性。超声时间过长或超声功率过大, 都会使絮凝活性物质失去活性, 超声时间以 1~3 min 为宜, 超声功率以 210~270 W 为宜。污泥浓度越高, 所提取的 MBF 浓度越高; 对于从不同浓度污泥提取的 MBF 获得最佳絮凝效果的投加剂量也不相同。MBF 的主要组成成分为蛋白质, 其次为多糖和核酸。

### 参考文献:

- [1] Salehizadeh H, Shojaosadati S A. Extracellular biopolymeric flocculants recent trends and biotechnological importance[J]. *Biotechnology Advances*, 2001, 19(5): 371.
- [2] Bala S S, Yan S, Tyagi R D, et al. Extracellular polymeric substances (EPS) producing bacterial strains of municipal wastewater sludge: isolation, molecular identification, EPS characterization and performance for sludge settling and dewatering[J]. *Water Research*, 2010, 44(7): 2253.
- [3] Liu W J, Yuan H L, Yang J S, et al. Characterization of bioflocculants from biologically aerated filter backwashed sludge and its application in dyeing wastewater treatment[J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100(9): 2629.
- [4] Wang S G, Gong W X, Liu X W, et al. Production of a novel bioflocculant by culture of *Klebsiella mobilis* using dairy wastewater [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2007, 36(2): 81.
- [5] Kurane R, Hatamochi K, Kakuno T, et al. Production of a bioflocculant by *Rhodococcus erythropolis* S-1 grow on alcohol [J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1994, 58(2): 428.
- [6] Fujita M, Citrobacterlike M, Tachibana S, et al. Characterization of a bioflocculant produced by sp: TKF04 from acetic and propionic acids [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2000, 89(1): 40.
- [7] 李大鹏, 马放, 侯宁, 等. 味精废水资源化制备复合型生物絮凝剂[J]. 湖南大学学报: 自然科学版, 2009, 36(9): 78.  
LI Dapeng, MA Fang, HOU Ning, et al. Preparation of compound bio-flocculants by using waste zymotic fluid of glutamic acid fermentation as substrate [J]. *Journal of Hunan University: Natural Sciences*, 2009, 36(9): 78.
- [8] Zhang Z Q, Lin B, Xia S Q, et al. Production and application of a novel bioflocculant by multiple-microorganism consortia using brewery wastewater as carbon source [J]. *Journal of Environmental Sciences—China*, 2007, 19(6): 667.
- [9] 高廷耀, 顾国维, 周琪. 水污染控制工程: 下册[M]. 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2007.

- GAO Tingyao, GU Guowei, ZHOU Qi. Water pollution control engineering: Vol. 2[M]. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2007.
- [10] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法[M].4版.北京:中国环境出版社,2002.  
State Environmental of Protection Administration of People's Republic of China. Water and wastewater analyzing methods [M]. 4th ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2002.
- [11] Adav S S, Lee D J. Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure [J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 154(1-3): 1120.
- [12] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteindye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1-2): 248.
- [13] Chaplin M F, Kennedy J F. Carbohydrate analysis[M]. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 1994.
- [14] 史吉航,吴纯德.超声破解促进污泥两相厌氧消化性能研究[J].中国给水排水,2008,24(21):21.  
SHI Jihang, WU Chunde. Study on ultrasonic disintegration for improving two-phase anaerobic digestion of excess sludge [J]. China Water & Wastewater, 2008, 24(21): 21.
- [15] Park C, Novak J T. Characterization of activated sludge exocellular polymers using several cation-associated extraction methods [J]. Water Research, 2007, 41(8): 1679.

#### (上接第222页)

本文针对郊区线与市区既有轨道网络衔接的方案生成算法中将郊区新城与市区各车站以及市区网络本身的客流分布作为固定的已知条件考虑.但随着轨道交通线网的不断延伸,客流在线路上的时间和空间分布特征也随之改变.若要考虑客流特征的变化,本文提出的衔接设计方法还需进一步修正,例如结合需求可变的网络客流分配模型,修正算法中每一步搜索后的客流出行总网络距离.在模型中合理体现郊区线衔接市区网络后带来的客流特征变化以及市郊线特定的运营服务需求将是本文进一步研究的方向.

#### 参考文献:

- [1] Gendreau M, Laporte G, Mesa J. Locating rapid transit lines [J]. Journal of Advanced Transportation. 1995, 29(2): 145.
- [2] Samanta S, Jha M. Modeling a rail transit alignment considering different objectives [J]. Transportation Research Part A, 2011, 45: 31.
- [3] Laporte G, Mesa J A, Ortega F A, et al. Planning rapid transit networks[J]. Socio-Economic Planning Sciences, 2011, 45: 95.
- [4] Magnanti T, Wong R. Network design and transportation planning: Models and algorithms[J]. Transportation Science, 1984, 18: 1.
- [5] Le Blanc L. An algorithm for the discrete network design problem[J]. Transportation Science, 1975, 9(3): 183.
- [6] Yang H, Bell M. Models and algorithms for road network design: a review and some new developments [J]. Transportation Review, 1998, 18: 257.
- [7] 张好智,毛保华,高自友.新建交通小区配套道路网络设计模型与算法[J].交通科技与经济,2009,11(53):7.  
ZHANG Haozhi, MAO Baohua, GAO Ziyu. Counterpart road network design model and algorithm for new-built zones[J]. Technology & Economy in Areas of Communications, 2009, 11(53): 7.
- [8] 杨超,王隼,曾鹏.城市道路网络演变模型[J].同济大学学报:自然科学版,2011,39(4):534.  
YANG Chao, WANG Yi, ZENG Peng. Evolution model of urban road network [J]. Journal of Tongji University: Natural Science, 2011, 39(4): 534.
- [9] 赵彤.城市交通离散网络设计及相关问题研究[D].北京:北京交通大学交通运输学院,2004.  
ZHAO Tong. A study on the urban transport discrete network design problem and its relative problems[D]. Beijing: College of Transportation Engineering of Beijing Jiaotong University, 2004.
- [10] Ben-Ayed O, Boyce D, Blair C. A general bilevel linear programming formulation of the network design problem[J]. Transportation Research Part B, 1988, 22(4): 311.
- [11] Marín Á, García-Ródenas R. Location of infrastructure in urban railway networks [J]. Computers & Operations Research, 2009, 36: 1461.
- [12] Bruno G, Gendreau M, Laporte G. A heuristic for the location of a rapid transit line[J]. Computers & Operations Research, 2002, 29: 1.
- [13] Gastner M T, Newman M E J. The spatial structure of networks[J]. The European Physical Journal B, 2006, 49: 247.