

基于蛋白质回收的剩余污泥酶解技术研究

宋小莉^{1,2}, 施正华^{1,2}, 李秀芬^{*1,2}, 王新华^{1,2}, 任月萍^{1,2}

(1. 江南大学 环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江苏省厌氧生物技术重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: 研究酶解技术联合热碱方法水解剩余污泥, 进而高效溶出蛋白质。结果表明, 与酶解技术结合, 热碱水解对剩余污泥蛋白质的溶出有明显的促进作用。与单独酶解相比, 溶菌酶和木瓜蛋白酶的剩余污泥蛋白质溶出率分别提高了 46.84% 和 45.56%。碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶复配联合热碱水解法水解剩余污泥, 效果优于其他复合酶。当污泥浓度为 30 g/L 时, 复合酶(碱性蛋白酶:木瓜蛋白酶=1:12, 质量比)投加质量分数为 1%, 在 pH 为 7.0 和温度为 55 °C 条件下酶解 2.0 h, 再在 pH 为 12.5 和温度为 90 °C 条件下热碱水解 1.5 h 后, 剩余污泥蛋白质溶出效果最佳, 上清液中蛋白质质量浓度和蛋白质溶出率分别达 6 050 mg/L 和 84.33%。

关键词: 剩余污泥; 溶菌酶; 碱性蛋白酶; 资源回收

中图分类号: X 703 文章编号: 1673-1689(2019)04-0090-07 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.04.014

Study on Enzyme Hydrolysis of Waste Activated Sludge Based on Protein Recovery

SONG Xiaoli^{1,2}, SHI Zhenghua^{1,2}, LI Xiufen^{*1,2}, WANG Xinhua^{1,2}, REN Yueping^{1,2}

(1. School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Anaerobic Biotechnology, Wuxi 214122, China)

Abstract: Protein recovery from waste activated sludge (WAS) is a kind of new way of sludge reutilization. The purpose of this manuscript is to investigate a combined method of enzymatic hydrolysis with thermal alkali hydrolysis for efficiently dissolving proteins from WAS. The results showed that thermal alkali hydrolysis strongly promoted the dissolution of WAS proteins after combined with enzymatic hydrolysis. Compared with single enzyme hydrolysis, the protein dissolution rates hydrolyzed by lysozyme and papain were increased by 46.84% and 45.56%, respectively. Combined with thermal alkali hydrolysis, the multi-enzymes with alkaline protease and papain got the highest dissolution rate of WAS proteins. With 30 g/L of WAS and 1% of multi-enzymes (alkaline protease:papain=1:12), the dissolution of WAS proteins was optimal after WAS was enzyme-hydrolyzed for 2.0 h under pH=7.0 and 55 °C, and then experienced thermal alkali hydrolysis under pH=12.5 and 90 °C for 1.5 h. Accordingly, the soluble protein concentration and

收稿日期: 2016-10-08

基金项目: 水体污染控制与治理科技重点项目(2015ZX07306001-5); 国家重点研发计划项目(2016YFC0400707)。

* 通信作者: 李秀芬(1968—), 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事有机废水生物质能回的技术开发的研究。

E-mail: xfli@jiangnan.edu.cn

引用本文: 宋小莉, 施正华, 李秀芬, 等. 基于蛋白质回收的剩余污泥酶解技术研究[J]. 食品与生物技术学报, 2019, 38(04): 90-96.

dissolution rate were 6 050 mg/L and 84.33%.

Keywords: Waste activated sludge, lysozyme, alkaline protease, resource recovery

城市污水处理厂处理规模不断扩大,副产物剩余污泥(waste activated sludge, WAS)产量不断增加,已成为污水处理厂面临的主要问题之一^[1]。剩余污泥富含有机质,其中胞内和胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)中蛋白质含量为污泥干质量的30%~60%^[2],如能在水解基础上将剩余污泥中的蛋白质回收利用,则可实现真正意义上的变废为宝。回收剩余污泥中的蛋白质,首先需将污泥水解,破胞并破坏污泥絮体结构,将蛋白质释放到水相中。与物理和化学水解技术相比,酶解技术具有环境友好、操作简单、水解效果好等特点,是一种重要的剩余污泥水解技术^[3]。溶菌酶(lysozyme, Lys)是一种能够溶解细胞壁中不溶性多糖的细胞质酶,酶活力很高。 α -淀粉酶(α -amylase, AA)和 β -淀粉酶(β -amylase, BA)则是细胞壁糖类的水解酶^[4]。剩余污泥中的微生物主要是格兰阴性菌^[5],其细胞壁中蛋白质含量很高,约占60%。木瓜蛋白酶(papain, pap)和碱性蛋白酶(alkaline protease, AP)能很好地水解细胞壁中的蛋白质成分,使细胞壁破裂,胞内蛋白质溶出。另一方面,污泥中的微生物被EPS所包裹,其中70%~80%是蛋白质和多糖^[6],该部分蛋白质能被木瓜蛋白酶水解,致使污泥絮体结构被破坏,细胞壁失去EPS的保护作用,细胞的形状和性能受到一定程度的影响,为木瓜蛋白酶进一步水解细胞壁创造有利条件。纤维

素也是污泥有机质的主要成分之一,占污泥干质量的8%~15%^[7]。此外碱性蛋白酶分解细胞效果较好,能较大幅度提升蛋白质提取率^[8]。纤维素酶(Cellulase, Cel)可将污泥中的纤维素降解为简单糖类,对污泥结构的破坏同样起着重要作用。

然而,剩余污泥中大部分蛋白质存在于微生物菌体细胞内,因此,污泥水解破胞效果对蛋白质溶出影响较大。目前尚存在酶解破胞效果较低、酶制剂用量大、酶解时间较长且成本高等问题。开展酶解条件对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响以及酶解联合化学方法的水解效果研究,可为剩余污泥的资源化提供技术支撑。本研究通过酶制剂种类筛选、酶解联合热碱水解法、酶制剂复配、投加量、水解时间及污泥浓度等对蛋白质溶出影响的规律分析,得到剩余污泥酶解技术,不仅酶制剂的投加量小,水解时间短,而且蛋白质溶出率较高,可大大降低技术运行成本。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用剩余污泥取自无锡新城污水处理厂的脱水污泥,污泥性质如表1所示。实验用酶制剂购自江苏锐阳生物科技有限公司(无锡),其酶活力分别如表2所示。

表1 剩余污泥性质

Table 1 Characteristics of raw waste activated sludge

含水质量分数/%	可溶性蛋白质质量浓度/(mg/L)	粗蛋白质质量分数/%	TS/(g/L)	VS/(g/L)	pH
83.72±1.55	7.77±1.31	25.00±3.08	30.00±0.82	13.33±0.55	7.00

表2 不同酶制剂的酶活力

Table 2 Enzyme activities of different enzymes

U/g

酶种类	溶菌酶	α -淀粉酶	β -淀粉酶	木瓜蛋白酶	碱性蛋白酶	纤维素酶
酶活	20 000 000	3 000	700 000	800 000	200 000	50 000

1.2 实验方法

1)研究不同种类酶制剂对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响。配制30 g/L剩余污泥混合液,调节

pH值为7.0,依据酶制剂活力大小,不同酶制剂的投加量均为每克污泥(Total solid, TS)中投加7 500 U的酶制剂,混匀后,45℃水解2.0 h。

2)研究酶制剂联合热碱水解法对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响。配制 30 g/L 剩余污泥混合液,调节 pH 值为 7.0,依据酶制剂活力大小,不同酶制剂的投加量均为每克污泥中投加 7 500 U 的酶制剂,混匀后,45 ℃水解 2.0 h 后,调节 pH 值至 12.5,90 ℃再水解 1.5 h。

3)研究溶菌酶和木瓜蛋白酶复配对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响。配制 30 g/L 剩余污泥混合液,调节 pH 值为 6.0,溶菌酶与木瓜蛋白酶质量配比分别为 1:6、1:3、1:1、3:1 和 6:1,复合酶投加质量分数为 1%,混匀后,45 ℃水解 2.0 h 后,调节 pH 值至 12.50,90 ℃再水解 1.5 h。

4)研究木瓜蛋白酶与纤维素酶复配对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响。配制 30 g/L 剩余污泥混合液,调节 pH 值为 7.0,木瓜蛋白酶与纤维素质量配比分别为 1:6、1:3、1:1、3:1 和 6:1,复合酶投加质量分数为 1%,混匀后,55 ℃水解 2.0 h 后,调节 pH 值至 12.50,90 ℃再水解 1.5 h。

5)研究碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶复配对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响。配制 30 g/L 剩余污泥混合液,调节 pH 值为 7.0,碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶质量配比分别为 1:24、1:12、1:6、1:1、6:1、12:1 和 24:1,复合酶投加质量分数为 1%,混匀后,55 ℃水解 2.0 h 后,调节 pH 值至 12.50,90 ℃再水解 1.5 h。

6)研究复合酶投加量对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响。配制 30 g/L 剩余污泥混合液,调节 pH 值为 7.0,分别投加质量分数 1%、3%和 5%蛋白质溶出效果较优的上述复合酶,混匀后,55 ℃水解 1.0 h 后,调节 pH 值至 12.50,90 ℃再水解 1.5 h。

7)研究复合酶水解时间对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响。配制 30 g/L 剩余污泥混合液,调节 pH 值为 7.0,投加质量分数为 1%蛋白质溶出效果较优的上述复合酶,混匀后,55 ℃分别水解一定时间后,调节 pH 值至 12.50,90 ℃再水解一定时间。

8)研究剩余污泥浓度对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响。配制 10、30、50、75 g/L 的剩余污泥混合液,调节 pH 值为 7.0,投加质量分数为 1%蛋白质溶出效果较优的上述复合酶,混匀后,55 ℃分别水解 2.0 h 后,调节 pH 值至 12.50,90 ℃再水解 1.5 h。

上述实验均重复 3 次,取平均值。

1.3 分析测试项目与方法

上述剩余污泥水解液在 8 000 r/min 条件下,离

心 15 min,采用考马斯亮蓝法测定所得离心上清液中的蛋白质浓度^[9],离心残渣中的蛋白质含量采用凯氏定氮法^[10]测定,剩余污泥蛋白质溶出率采用式(1)计算而得。

$$R = \frac{C \times V}{M} \times 100 \quad (1)$$

式中, R 为剩余污泥蛋白质溶出率(%); C 为上清液蛋白质浓度质量度 (mg/L); V 为离心后所得上清液体积(L); M 为原始污泥中蛋白质质量(mg)。

2 结果与分析

2.1 酶制剂种类对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

依据酶制剂活力大小,不同酶制剂的投加量均为每克污泥中投加 7500 U 的酶制剂,相应地,溶菌酶、 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶和纤维素酶的投加质量分数分别为 0.04%、250 %、1%、1%、4%和 15%(相对于污泥干重)。采用 α -淀粉酶水解剩余污泥后,上清液蛋白质质量浓度和蛋白质溶出率分别为 518 mg/L 和 8.17%(图 1),水解残渣中蛋白质质量分数由 25.00%降低到 12.70%(表 3),水解效果最好。 α -淀粉酶可将剩余污泥中的淀粉及其他含有 1,4 糖苷键的碳水化合物水解,破坏污泥絮体结构^[11]。其次,纤维素酶水解后的上清液蛋白质质量浓度和蛋白质溶出率分别为 71 mg/L 和 0.87%,而其他酶制剂水解剩余污泥溶出蛋白质的效果不太理想,上清液中蛋白质质量浓度均低于 60 mg/L,蛋白质溶出率均低于 1%,水解残渣中蛋白质质量分数均高于 20%。

2.2 酶制剂联合热碱水解法对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

已有研究表明,采用酶解与其他物化方法联合水解,可使污泥水解效果大大提升,对胞内物的释放有积极作用^[12]。剩余污泥厌氧产甲烷是其资源化处理的重要途径,为提高产甲烷效果,对剩余污泥进行预处理使其胞内物大量释放十分必要。本研究选择联合热碱水解的方法。首先,热碱水解是一种高效的预处理方法^[13],三维荧光光谱分析表明,碱处理对瓦解污泥絮体和破裂细胞壁效果十分明显,进而促进剩余污泥蛋白质的释放^[14]。其次,所用的碱来源广泛,经济易得,操作简便。最后,热碱水解条件(高温强碱)下,酶解后的残余酶制剂失活,省去酶灭活这一步骤。剩余污泥酶解联合热碱水解处理的

蛋白质溶出效果如图 2 所示。

与酶解技术结合,热碱水解对剩余污泥蛋白质的溶出有明显的促进作用,水解后蛋白质溶出率均有大幅度提高(图 2)。其中,溶菌酶和木瓜蛋白酶溶出剩余污泥蛋白质的效果较佳,上清液中蛋白质质量浓度及其溶出率分别达 5 283 mg/L、47.03%和 5 335 mg/L、47.36%,与单独酶解相比,蛋白质溶出率分别提高了 46.84%和 45.56%(图 1)。与热碱水解结合后,单独酶解效果最好的 α -淀粉酶的蛋白质溶出率提高到 33.21%,但与其他 5 种酶制剂相比,溶出率最低。

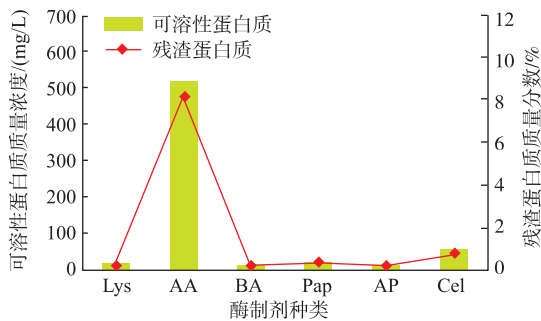


图 1 酶制剂种类对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

Fig. 1 Effect of various enzymes on WAS protein dissolution

表 3 酶制剂水解后残渣中的蛋白质质量分数($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Protein contents of residue after enzyme hydrolysis ($\bar{x} \pm s$)

酶种类	溶菌酶	α -淀粉酶	β -淀粉酶	复合酶	纤维素酶
粗蛋白质/ %	22.03± 0.20	12.70± 1.56	22.01± 0.14	21.88± 0.32	21.14± 0.13

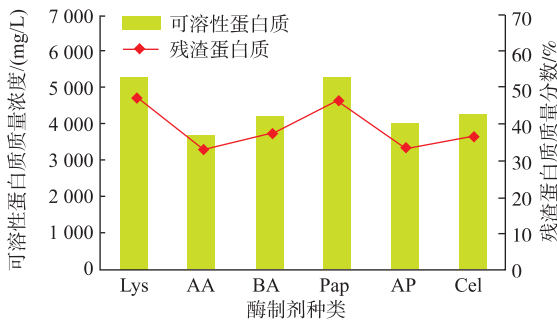


图 2 联合热碱水解后酶制剂种类对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

Fig. 2 Effect of various enzymes after combined with thermal alkali hydrolysis on WAS protein dissolution

有研究表明,与其他酶制剂相比,木瓜蛋白酶水解剩余污泥的效果最佳,反应温度为 55 ℃、反应时间为 5.5 h 和投加量为 60 mg/g 条件下,蛋白质提取率为 51.57%^[8]。本研究中,采用酶法与热碱联合水解的方法水解剩余污泥,酶解阶段的反应温度同样为 55 ℃,而联合水解的反应时间共 2.0 h,与 5.5 h 相比大大缩短,木瓜蛋白酶的添加质量分数则仅为 1%(相当于 10 mg/g),剩余污泥蛋白质溶出率为 47.03%,尽管比 51.57%略低,但从固定投资和运行成本方面看,本研究后续实验均采用酶解与热碱水解联合处理技术。

2.3 复合酶配比对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

污水处理厂剩余污泥富含有机物,分别存在于污泥絮体和细胞内,其中,粗蛋白质质量分数为 29%~41%,纤维素为 27%~44%,而细菌细胞壁的主要成分为糖类(如肽聚糖)。酶制剂具有较好的专一性,采用单一酶制剂的酶解效果有限^[9],将不同酶制剂进行复配,理论上可提高剩余污泥的水解效果^[9],进而提高蛋白质的溶出率。考虑剩余污泥中蛋白质和纤维素的含量较高,蛋白酶与纤维素酶复配将有利于污泥水解,而与热碱水解结合后,碱性蛋白酶的水解效果令人期待。由于溶菌酶和木瓜蛋白酶的水解效果较佳(图 2),对二者复配也进行了研究。

随木瓜蛋白酶与纤维素酶配比增加,剩余污泥蛋白质的溶出效果先提高后降低(图 3),2 种酶制剂的最佳质量配比为 1:1,此时上清液中蛋白质质量浓度达 6 323 mg/L,蛋白质溶出率为 60.15%,与二者质量配比为 1:6 和 6:1 相比,蛋白质溶出率分别增加了 30%、34%,木瓜蛋白酶与纤维素酶复合使用有利于水解剩余污泥进而有效释放蛋白质。与单一酶解效果(图 2)相比,木瓜蛋白酶与纤维素酶复配后(1:1,质量比),其蛋白质溶出率比二者单独水解分别提高了 13.12%和 23.13%,复合溶出效果明显。

已有研究表明,剩余污泥热水解后,投加质量分数 5%复合酶(碱性蛋白酶:木瓜蛋白酶=1:1,质量比),在 pH=7.0 和 55 ℃条件下,水解 4 h 后蛋白质溶出率可达 68.16%^[8]。本研究中,碱性蛋白酶与木瓜蛋白酶复合酶的投加质量分数为 1%,二者配比对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响如图 4 所示。可见,酶解效果均优于单一酶解(图 2)。当二者质量配比为 1:12 时,蛋白质溶出率相对较高,达 81.84%,与木瓜蛋白酶和纤维素酶复合水解效果相比,提高了

21.69%,碱性蛋白酶与木瓜蛋白酶复合更有利于剩余污泥水解。此外,与单一酶解效果(图2)相比,碱性蛋白酶与木瓜蛋白酶复配后(1:12,质量比),其蛋白质溶出率比二者单独水解分别提高了48.02%和34.81%,复合效果显著。

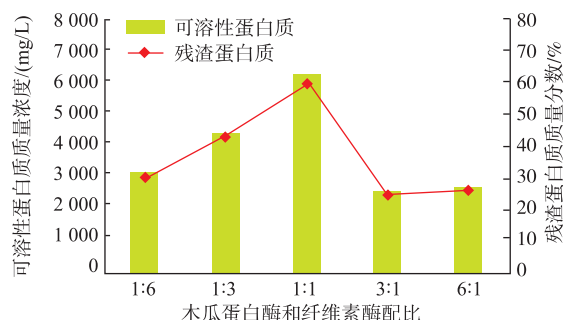


图3 木瓜蛋白酶和纤维素酶比对剩余污泥蛋白质效果的影响

Fig. 3 Effect of the ratio of papain and cellulase on WAS protein dissolution

将溶菌酶与木瓜蛋白酶复合,二者比对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响不甚显著(图5),且酶解效果均低于单一酶解(图2)。其中,当二者质量配比为6:1时,蛋白质溶出率相对较高,为40.89%,上清液蛋白质质量浓度为4498 mg/L。单一溶菌酶和木瓜蛋白酶联合热碱水解时,蛋白质溶出率分别为47.03%和47.36%,与木瓜蛋白酶与纤维素酶复配不同,溶菌酶和木瓜蛋白酶不宜复合用于剩余污泥水解。木瓜蛋白酶适宜的活性温度为50~60℃,pH为6~7,而溶菌酶适宜的活性温度为35℃,pH为4.5~6.0,二者的活性温度和pH条件存在一定差异,本研究中采用的酶解温度为55℃,因此,复合酶水解效果低于单一酶解。

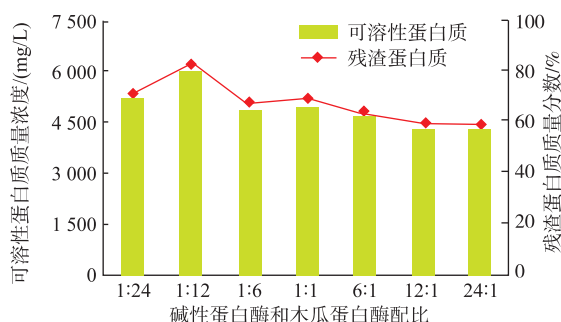


图4 碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶比对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

Fig. 4 Effect of the ratio of alkaline protease and papain on WAS protein dissolution

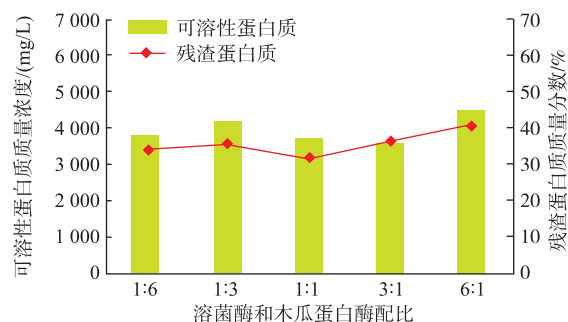


图5 溶菌酶和木瓜蛋白酶比对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

Fig. 5 Effect of the ratio of lysozyme and papain on WAS protein dissolution

2.4 复合酶投加量对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

上述研究表明,碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶复合使用的剩余污泥水解效果最佳,当复合酶投加质量分数为1%且二者质量配比为1:12时,蛋白质溶出率高达81.84%。为降低酶解的运行成本,研究复合酶投加量对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响。随复合酶投加量增加,尽管上清液蛋白质浓度及蛋白质溶出率呈增加趋势,但增幅较小(表4)。当碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶复合酶投加质量分数由1%增加到5%时,上清液中蛋白质质量浓度及蛋白质溶出率分别从4730 mg/L和65.22%提高到4957 mg/L和68.34%,考虑运行成本,1%的复合酶投加量较宜。苏瑞景^[6]的研究表明,投加20 mg/g(相当于质量分数2%)碱性蛋白酶,在pH=8.0和55℃条件下,水解热预处理后的剩余污泥4 h,其蛋白质溶出率为52.5%。可见,本研究采用复合酶水解方法,可在降低酶制剂投加量、缩短水解时间进而降低运行成本的同时,达到提高剩余污泥蛋白质溶出效果的目的。

表4 碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶投加质量分数对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

Table 4 Effect of alkaline protease + papain dosage on WAS protein dissolution

测定指标	可溶性蛋白质质量浓度/(mg/L)	蛋白质溶出率/%	残渣蛋白质质量分数/%
复合酶添加质量分数/%			
1	4 730±90	65.22±1.24	7.32±0.24
3	4 723±188	64.40±2.56	7.88±0.21
5	4 957±108	68.34±1.49	6.01±0.29

2.5 复合酶水解时间对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

除复合酶投加量外,水解时间对剩余污泥蛋白

质的溶出效果同样有着较大影响。水解时间过短剩余污泥水解不充分,影响破胞效果,降低蛋白质溶出率;水解时间过长则导致剩余污泥水解溶出的蛋白质进一步分解为小分子量的多肽、氨基酸,甚至是挥发性脂肪酸和氨氮,同样对蛋白质回收不利。结果表明,当酶解时间为 1.0 h 时,随热碱水解时间从 1.5 h 增加到 2.0 h, 剩余污泥蛋白质溶出率从 65.22% 增加到 77.22%。当酶解时间从 1.0 h 增加到 2.0 h, 而热碱水解时间固定为 1.5 h 时, 蛋白质溶出率则从 65.22% 增加到 84.33%, 此时上清液中蛋白质质量浓度为 6 050 mg/L。然而, 当酶解时间为 2.0 h, 热碱水解时间从 1.0 h 延长至 2.0 h 时, 剩余污泥蛋白质溶出率不增反降, 从 83.6% 降低到 78.24%。剩余污泥水解效果不仅与酶解或热碱水解时间有关, 还与总的水解时间密切相关, 总水解时间从 3.5 h 延长到 4.0 h, 存在溶出蛋白质进一步分解的可能, 这与研究[17]报道一致。复合酶水解总时间控制在 3.5 h 内为宜。

表 5 复合酶水解时间对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

Table 5 Effect of multi-enzyme hydrolysis time on WAS protein dissolution

水解时间/h	可溶性蛋白质/(mg/L)	蛋白质溶出率/%	残渣蛋白质/%
1.0/1.5	4 730±90	65.22±1.24	7.32±0.24
1.0/2.0	5 540±116	77.22±1.62	6.49±0.33
2.0/1.0	5 998±66	83.60±0.92	4.81±0.41
2.0/1.5	6 050±122	84.33±1.70	4.21±0.12
2.0/2.0	5 613±32	78.24±0.46	4.01±0.09

2.6 剩余污泥浓度对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

影响剩余污泥蛋白质溶出效果的因素中, 剩余污泥浓度是另一个重要的限制因子, 复合酶与底物相互作用的概率大小受含水率多少的直接影响, 同时也影响二者之间相互作用的传质速率^[8]。在复合酶水解剩余污泥的过程中, 水作为反应介质和运输载体, 使复合酶与剩余污泥得以均匀分布, 充分接触, 有利于剩余污泥蛋白质的溶出。

当复合酶投加质量分数为 1% (碱性蛋白酶: 木瓜蛋白酶=1:12, 质量比) 时, 随污泥质量浓度增加, 剩余污泥蛋白质溶出率先增加后降低, 并在 30 g/L 处取得最佳效果 (图 6), 此时蛋白质溶出率为 84.33%, 上清液蛋白质质量浓度为 6 050 mg/L。上

清液蛋白质浓度则与体系污泥蛋白质总量密切相关, 随污泥浓度持续增加, 污泥质量浓度为 10 g/L 和 75 g/L 时, 水解上清液蛋白质质量浓度分别为 1 286 mg/L 和 9 812 mg/L, 差异十分显著, 但蛋白质溶出率均在 45% 左右, 水解溶出效果不佳。酶水解过程中, 污泥的水解率取决于酶表面活性中心在污泥基质中的分散程度^[13], 而高浓度剩余污泥其污泥絮体结构紧密, 含水量相对较少, 影响酶与剩余污泥的接触, 水解或蛋白质溶出率较低。当污泥浓度较低时, 酶与剩余污泥颗粒碰撞的概率也随之下降, 水解效果相应变差。上述研究表明, 污泥质量浓度为 30 g/L 时, 复合酶在污泥混合液中分散均匀, 酶与剩余污泥接触较充分, 蛋白质溶出率最佳。

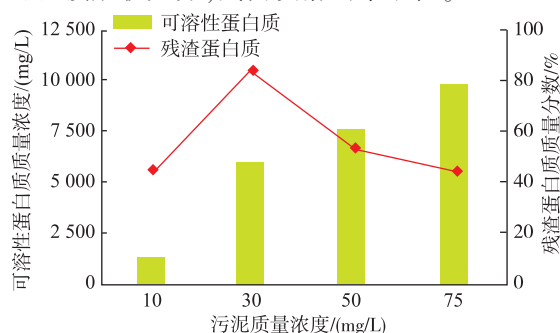


图 6 污泥浓度对剩余污泥蛋白质溶出效果的影响

Fig. 6 Effect of sludge concentration on WAS protein dissolution

3 结 语

与酶解技术结合, 热碱水解对剩余污泥蛋白质的溶出有明显的促进作用。其中, 溶菌酶和木瓜蛋白酶溶出剩余污泥蛋白质的效果较佳, 上清液中蛋白质质量浓度和蛋白质溶出率分别达 5 283 mg/L、47.03% 和 5 335 mg/L、47.36%, 与单独酶解相比, 蛋白质溶出率分别提高了 46.84% 和 45.56%。

碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶复合酶联合热碱水解法水解剩余污泥, 效果优于其他复合酶 (木瓜蛋白酶与纤维素酶和溶菌酶与木瓜蛋白酶)。当二者配比为 1:12 时, 蛋白质溶出率相对较高, 达 81.84%。与单一酶解效果相比, 碱性蛋白酶与木瓜蛋白酶复配后, 其蛋白质溶出率比二者单独水解分别提高了 48.02% 和 34.81%。

当污泥质量浓度为 30 g/L 时, 复合酶 (碱性蛋白酶: 木瓜蛋白酶=1:12, 质量比) 投加质量分数为 1%, 在 pH 为 7.0 和温度为 55 °C 条件下酶解 2.0 h,

再在 pH 为 12.5 和温度为 90 ℃条件下热碱水解 1.5 h 后,剩余污泥蛋白质溶出效果最佳,蛋白质溶出率 和上清液中蛋白质质量浓度分别达 6 050 mg/L 和 84.33%。

参考文献:

- [1] TIEHM A,NICKEL K,ZELLHORN M,et al. Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization[J]. **Water Research**,2001,35:2003-2009.
- [2] MONIQUE R,ELISABETH G N,ETIENNE P,et al. A high yield multi-method extraction protocol for protein quantification in activated sludge[J]. **Bioresource Technology**,2008,99(16):7464-7471.
- [3] 赵顺顺. 剩余污泥蛋白质提取及其作为动物饲料添加剂的可行性研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2007.
- [4] CHEN Yuhui,HUA Jia,HUO Miao,et al. Experimental research on the protein hydrolysate from activated sludge by recirculation process[J]. **Journal of Hubei University**,2006,28(4):417-419.(in Chinese)
- [5] 陆钧皓. 复合酶水解法提取剩余污泥中蛋白质的研究[D]. 上海:东华大学,2015.
- [6] CAO Xiuqin,ZHAO Zilin. Analysis of influencing factor on the component of extracellular polymeric substance (EPS) [J]. **Environmental Science & Technology**,2010,33(12):420-424.(in Chinese)
- [7] 纪豪. 复合酶水解剩余污泥优化及重金属迁移转化规律研究[D]. 上海:东华大学,2015.
- [8] SHEN Lianqing,HUANG Guangrong,WANG Xiangyang,et al. Extraction of protein from tea sullage by protease[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2006,25(6):1673-1689.(in Chinese)
- [9] XU Shufang,ZHU Jiang,LIU Linwei,et al. Determination of protein in apple juice concentrate production by Coomassie Brilliant Blue G-250M method[J]. **Beverage**,2005,8(1):45-48.(in Chinese)
- [10] ZAGON J,JANSEN B,KNOPPIK M,et al. Gene transcription analysis of carrot allergens by relative quantification with single and duplex reverse transcription real-time PCR[J]. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**,2010,396(1):483-93.
- [11] CHEN Xiaofen,LI Xiaoming,YANG Qi,et al. Promoting thermal hydrolysis of excess sludge with external amylase [J]. **China Environmental Science**,2011,31(3):396-401.(in Chinese)
- [12] KNAPP J S,HOWELL J A. Treatment of primary sewage sludge with enzymes [J]. **Biotechnology Bioengineering**,1978,20:1221-1234.
- [13] CUI Jing,DONG Anjie,ZHANG Weijiang,et al. Experimental investigation of extracting protein by alkaline thermal sludge hydrolysis from sludge[J]. **Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control**,2009,3(10):1889-1892.(in Chinese)
- [14] LIU Chang,ZENG Ping,SONG Yonghui,et al. Phosphorus and DOM releasing from different surplus activated sludge by ultrasonic and alkaline pretreatment[J]. **Acta Scientiae Circumstantiae**,2014,34(5):1276-1284.(in Chinese)
- [15] LI Ping,LI Dengxin,SU Ruijing,et al. Study on hydrolysis of by two excess sludge protein treatment methods [J]. **Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control**,2011,5(12):2859-2863.(in Chinese)
- [16] 苏瑞景. 剩余污泥酶法水解制备蛋白质、氨基酸及其机理研究[D]. 上海:东华大学,2013.
- [17] HUA Jia,LI Yadong,ZHANG Linsheng. Study on improvement of protein preparation process from hydrolyzed sludge[J]. **China Water & Wastewater**,2008,24(1):17-21.(in Chinese)
- [18] 罗昆. 外加水解酶强化剩余污泥水解和酸化的研究[D]. 湖南:湖南大学,2013.