

外加酶强化剩余污泥水解的研究

罗琨^{1,3}, 杨麒^{1,3}, 李小明^{1,2,3*}, 汤迎^{1,3}, 罗助强^{1,3}, 刘精今^{1,3}

(1. 湖南大学环境科学与工程学院, 长沙 410082; 2. 广西大学环境学院, 南宁 530004; 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: 采用向污泥中外加酶强化污泥水解的处理方式, 考察了单一酶和复合酶的加入对城市污水厂剩余污泥的破解及减量化的影响, 并探讨了酶水解过程动力学。结果表明, 外加酶可以促进污泥中悬浮固体的溶解和大分子有机物的降解。当酶最佳投加量(以 TS 中加入酶量计)为 60 mg/g 时, 淀粉酶比蛋白酶的水解效果好, SCOD/TCOD 由 16.3% 上升到 22.3%, VSS 去除率由 39.8% 提高到 54.24%。同时, 复合酶的水解效果较单一酶的效果好, 当水解温度为 50℃, 蛋白酶和淀粉酶的比例为 1:3 时, 水解效果最佳, VSS 去除率达 68.43%, 还原糖、NH₄⁺-N 浓度分别由 37.29 和 47.60 mg/L 增加至 177.8 和 143.43 mg/L。酶水解过程的前 4 h 蛋白酶和淀粉酶活力均呈上升趋势, 符合一级反应动力学, 水解 4 h 左右达最大值, 分别为 2.57 U/mL 和 4.64 U/mL, 之后酶活力逐渐下降。

关键词: 剩余污泥; 外加酶; 水解; 酶活力; 一级反应

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)03-0763-05

Enhanced Hydrolysis of Excess Sludge by External Enzymes

LUO Kun^{1,3}, YANG Qi^{1,3}, LIXiao-ming^{1,2,3}, TANG Ying^{1,3}, LUO Zhu-qiang^{1,3}, LU Jing-jin^{1,3}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China; 2. College of Environment Guangxi University, Nanning 530004, China; 3. Key Laboratory of Environmental Biology and Pollution Control (Hunan University) Ministry of Education, Changsha 410082, China)

Abstract The effects of external enzymes to enhance excess sludge hydrolysis were investigated. Protease and α -amylase were added singly and in combination, and it was found that external enzymes can enhance sludge hydrolysis. When treated with single enzyme, α -amylase had higher efficiency than protease. SCOD/TCOD rose from 16.3% to 22.3% and VSS reduction improved from 39.8% to 54.24% at the optimal dosage of 60 mg/g (calculated by addition of enzyme in TS). Furthermore, mixture enzymes showed better hydrolysis efficiency than single enzyme. The highest VSS reduction was observed at an enzyme mixture ratio of 1:3 with protease and amylase when the hydrolysis temperature was 50°C, and the VSS reduction achieved 68.43%. Correspondingly, the concentration of reducing sugar and NH₄⁺-N rose from 37.29, 47.60 mg/L to 177.8, 143.43 mg/L, respectively. According to the kinetic and enzymatic analysis of hydrolysis process, sludge hydrolysis within prior 4 h was consistent with first-order reaction dynamic. During the hydrolysis, both protease and amylase activity rose gradually, the highest activity observed were 2.57 U/mL and 4.64 U/mL at 4 h after hydrolysis. Thereafter, the enzyme activity decreased.

Key words excess sludge; external enzyme; hydrolysis; enzyme activity; first-order reaction

目前我国污泥产生量约为 2500 万 t/a(按含水率 80% 计算), 若不及时进行妥善的处理与处置, 将会对环境造成直接或潜在的污染。污泥处理方面的投资可占整个污水处理厂总运行费用的 28% ~ 40%, 甚至高达 60%^[1], 费用的急剧增加提高了污泥合理处置的难度^[2]。因此, 采用先进的技术减少污水处理厂的污泥排放量, 是解决我国城市污水处理厂污泥处理问题的有效途径之一^[3]。

水解是污泥厌氧消化的限速步骤^[4], 而剩余污泥可降解性差又是制约其厌氧消化的瓶颈问题^[5], 因此研发提高污泥水解速率的技术具有重要意义。相对于物理法、化学法、生物法等污泥处理方法, 外加酶技术不但可以缩短消化时间, 改善污泥消化性能^[6], 而且经济高效^[7], 易控制, 其产物对环境也无

污染副作用^[8]。Kim 等^[9]在厌氧条件下, 外加酶水解餐厨垃圾, 取得了良好的减量效果; Roman 等^[10]则向初沉污泥中投加酶, 降低固形物含量, 提高了污泥的消化性能。目前, 国内外针对污泥水解做了大量的研究, 然而有关外加酶强化污泥水解的基础研究国内尚鲜有报道。为此, 笔者研究了单一酶和复合酶的加入对城市污水厂剩余污泥的破解及减量效果的影响, 对于污泥酶水解技术的研究和实际运用具有较好的借鉴和参考价值。

收稿日期: 2009-06-10; 修订日期: 2009-07-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(50478054); 新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-04-0770)

作者简介: 罗琨(1984~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制, E-mail: luokungood2006@163.com

* 通讯联系人, E-mail: xml@hnu.cn

1 材料与方 法

1.1 污泥和酶来源

实验所用剩余污泥取自长沙市第二污水处理厂二沉池污泥,污泥先经过 30 min 沉淀,弃去上清液,

再经 0.71 mm 的筛网过滤去除杂质后,4℃冰箱中保存备用.其特性如表 1 所示.

1.2 分析项目及方法

本实验选用由上海杰辉生物科技有限公司提供的中性蛋白酶和 α -淀粉酶 2 种工业酶(表 2).

表 1 污泥的基本特性

Table 1 Characteristics of excess sludge

指标	pH 值	TCOD / mg L^{-1}	SCOD / mg L^{-1}	TSS / g L^{-1}	VSS / g L^{-1}
数值	6.74	7 780	90	8.27	5.65

表 2 酶的基本参数

Table 2 Enzymes used in this experiment

酶	酶活 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$	最适 pH	最适温度
中性蛋白酶	5000	7.0~7.8	40℃左右
α -淀粉酶	6000	5.5~7.5	50~60℃

TSS、VSS 采用重量法测定; COD 采用微波密封消解,重铬酸钾法测定,其中 SCOD 为离心机(转速为 10 000 r/min)离心 10 min 后上清液的化学需氧量,TCOD 为污泥悬浮液的总化学需氧量;上清液中的还原糖采用苯酚硫酸法进行测定,以葡萄糖为标准物^[11]; NH_4^+-N 采用纳氏试剂分光光度法测定;蛋白酶活力采用 Folin-酚试剂比色法测定,以结晶牛血清蛋白为标准物^[12,13];淀粉酶活力采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定^[14].

1.3 实验方法

单一酶处理时:设立 2 组实验,取 100 mL 污泥加入到 250 mL 具塞锥形瓶中,将蛋白酶或淀粉酶分别加入污泥中,同时设空白对照组,然后向锥形瓶中通入氮气约 4 min 以驱除残留空气,加塞置于 40℃ 或 50℃ 的水浴振荡器上搅拌,4 h 后取样进行分析.复合酶处理时:设立 3 组实验,控制总酶投加量为 60 mg/g 分别加入不同比例的蛋白酶和淀粉酶,其它条件同单一酶.动力学分析实验:取 400 mL 污泥加入到 500 mL 具塞锥形瓶中,分别将蛋白酶,淀粉酶,复合酶(蛋白酶:淀粉酶) = 1:3 投加于污泥中,控制总酶加入量为 60 mg/g 其它条件同前,0.5、1、1.5、2、3、4、5、7、9、12 h 后取样分析.

2 结果与分析

2.1 单一酶对污泥的水解作用

向污泥中投加一定量的蛋白酶或淀粉酶,投加量分别为 0、30、60、120、180 mg/g 反应 4 h 后,污泥中 SCOD/TCOD、VSS 去除率随酶投加量的变化情

况分别如图 1、2 所示.

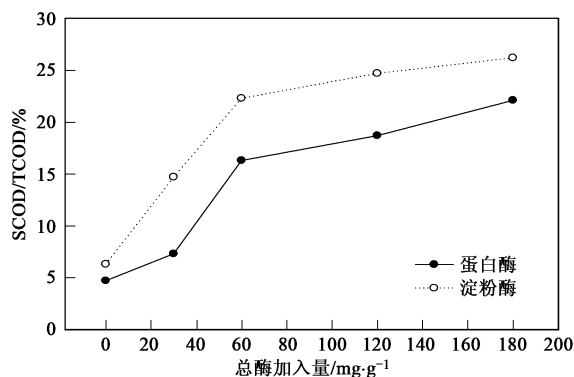


图 1 污泥中的 SCOD/TCOD 随单酶投加量的变化

Fig. 1 SCOD/TCOD of sludge with single-enzyme dosage

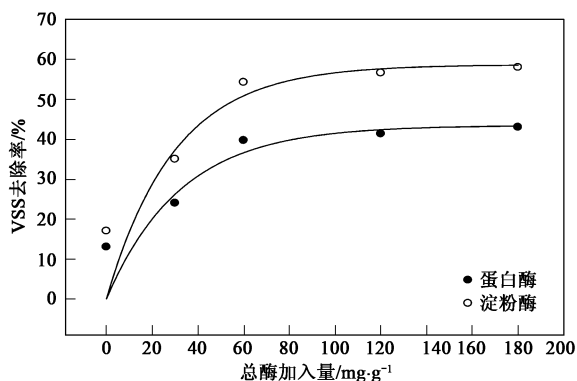


图 2 污泥中的 VSS 去除率随单酶投加量的变化

Fig. 2 Effects of single-enzyme dosage on VSS reduction

实验初始时污泥原样中的 SCOD/TCOD 值仅为 1.2%,在 2 种单酶的催化作用下反应 4 h 后,随酶投加量的增加,泥水混合液的 SCOD/TCOD 分别由空白对照组的 4.7% (蛋白酶), 6.3% (淀粉酶) 上升到 22.1%, 26.2% (图 1). 表明原污泥中的有机物主要以固体状态存在,而溶解性有机物的含量很少.酶水解过程中,污泥胶团的解聚和微生物细胞的水解,大量的有机物质由固相转移至液相,如胞外聚合

物质 (ECPs)、蛋白质、脂肪、碳水化合物等, 污泥微生物细胞中原来不溶性的有机物从胞内释放出来, 成为溶解性物质, 从而提高了污泥中的 SCOD/TCOD 浓度, 这正好符合 Nielsen 等^[15]的研究结果。

从图 2 可以看出, VSS 的减少率与底物浓度的关系符合酶反应动力学方程, 即米式方程:

$$V = \frac{V_{\max}S}{K_s + S}$$

式中, V 表示 VSS 去除率, S 表示酶添加率, V_{\max} 表示 VSS 最大去除率, K_s 表示酶饱和常数。在较低的酶投加量时, 底物浓度大大高于酶浓度, 酶的浓度与反应速度成正比, 表现为一级反应。随着酶加入量的增加, VSS 去除率快速增加, 而当酶投加量超过 60 mg/g 时, 底物浓度对反应速度影响逐渐变小, 最后反应速度几乎与底物浓度无关, 这时反应速度达到最大值, VSS 去除率趋近 V_{\max} , 反应表现为零级反应, 此时蛋白酶和淀粉酶组的 VSS 最大去除率分别为 39.70% 和 54.24%。因此, 考虑污泥处理过程的经济高效性, 本研究最佳酶投加量控制在 60 mg/g

2.2 复合酶对污泥水解的作用

热效应和酶催化效应的作用, 可以破坏污泥絮体结构, 使污泥中微生物细胞内的有机质溶出, 并转化为液相中可溶性有机物, 从而使可挥发性污泥 (VSS) 量减少。本实验考察外加酶强化污水厂剩余污泥水解的最佳条件, 考虑了温度和酶配比的影响。所选取的蛋白酶最适温度为 40℃ 左右, 而淀粉酶为 50~60℃, 为确保各种酶在最适温度范围内维持高效催化性能, 实验中选择反应温度范围为 40~50℃。图 3 所示即为不同温度下投加复合酶, 反应 4h 后污泥中 VSS 的变化情况。由图 3 可见, 在未投加酶条件下, 水解温度的小幅度提高对 VSS 的去除效果并不明显, 空白对照组污泥的 VSS 浓度仅从 40℃ 的 5.65 g/L 下降到 50℃ 的 5.35 g/L; 而加入复合酶后, 水解效果明显提高, 且对温度的改变也更敏感, 当复合酶配比为 1:3、水解温度为 50℃ 时, VSS 浓度下降到 2.42 g/L

污泥是由许多不同的微生物包埋在聚合物组成的网络中形成的, 这些聚合物就是胞外多聚物 (EPS)^[16], 其主要组成物是蛋白质和碳水化合物^[17]。在酶催化作用下, 污泥固体溶解的同时有机质不断被水解: 蛋白质水解生成多肽、二肽、氨基酸, 氨基酸进一步通过脱氨作用水解成低分子有机酸、氨及二氧化碳^[18]; 碳水化合物水解为小分子的多糖

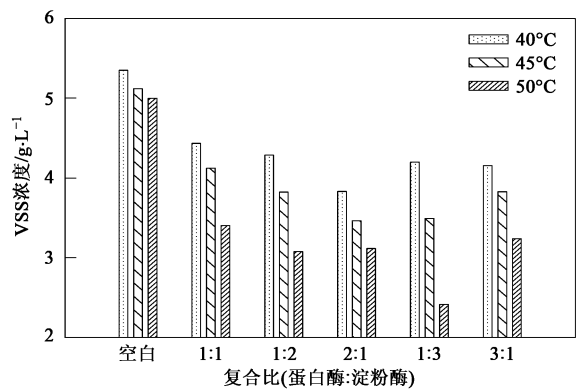


图 3 不同温度, 不同酶配比下 VSS 的变化

Fig. 3 Effects of temperature and enzyme mixture ratio on VSS

甚至单糖。图 4 和图 5 反映了复合酶处理后, 污泥中还原糖和 NH_4^+-N 浓度的变化情况。在同一温度下, 不同复合酶配比时, 各项指标的变化趋势不明显, 可能是因为实验用蛋白酶、淀粉酶的酶活力和最佳活力温度不同, 各组实验中酶的配比也不同。但

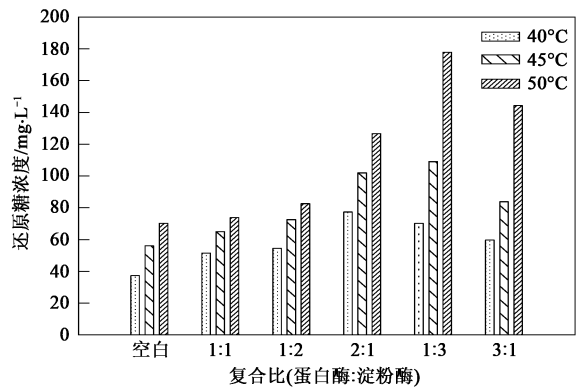


图 4 不同温度, 不同酶配比下还原糖的变化

Fig. 4 Effects of temperature and enzyme mixture ratio on reducing sugar

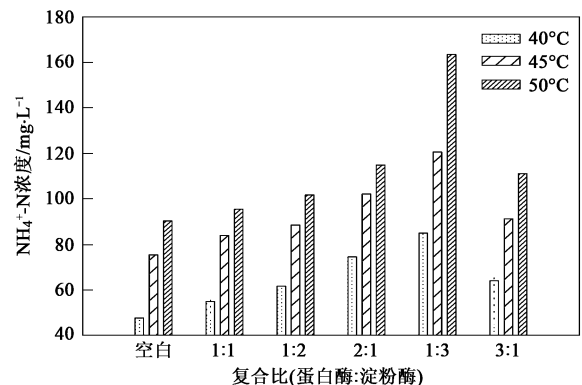


图 5 不同温度, 不同酶配比下 NH_4^+-N 的变化

Fig. 5 Effects of temperature and enzyme mixture ratio on NH_4^+-N

在酶配比相同的情况下,随着温度的升高,还原糖和氨氮浓度有明显的上升趋势.水解温度为 50℃,蛋白酶和淀粉酶配比为 1:3 时,两者的浓度均达最高值,分别为 177.8 和 143.43 mg/L

从上述实验可以发现温度对污泥中的 VSS、还原糖、 NH_4^+-N 影响较大:在同一复合配比条件下,实验温度越高, VSS 去除率越高,还原糖、 NH_4^+-N 的溶出浓度也越高.在热效应和酶催化效应的共同作用下,污泥中的难溶性有机物分解成溶解性有机物,从而进一步被分解.一方面,温度高可以加快污泥絮体结构的破坏速度,加速污泥水解过程;另一方面,温度几乎影响所有的细胞反应.根据修正后的 Arrhenius 公式: $\gamma(T) = \gamma(20^\circ\text{C}) \cdot \theta^{(T-20)}$ 可知,反应速率随着温度的提高而加快,在最适温度范围内,温度每升高 10℃,酶促反应速度可相应提高 1~2 倍.本实验表明,当酶配比为 1:3 时, VSS 去除率由 40℃ 的 25.6% 提高到 50℃ 的 58%.相应地,还原糖、 NH_4^+-N 浓度分别由 70.22、84.81 mg/L 增加到 177.8、163.43 mg/L

2.3 酶水解动力学

图 6 所示为分别投加单酶和复合酶后, 12 h 内 VSS 去除率的改变情况.图 6 中曲线的斜率可以反映 VSS 去除率随水解时间的变化,因此曲线上任何一点的斜率就可以认为是相应时间的反应速度.从图 6 中可以看出,加酶组在反应开始后的 4 h 内,斜率几乎不变, VSS 去除率快速上升,蛋白酶、淀粉酶、复合酶组分别达 42%、56.32% 和 68.43%.这一过程中,反应速率和水解时间呈一级反应动力学关系.而此时空白对照组的 VSS 去除率只有少量增加,反应 4 h 后 VSS 去除率仅 10%.随着水解时间的延长,实验组曲线均逐渐变平坦,相应的斜率也逐渐减小, VSS 去除率趋于平缓,这也正好验证了前面选取 4 h 反应时间是合适的.

实验结果表明,对污泥的水解效果淀粉酶较蛋白酶要好. Pinnekamp 等^[19]指出,碳水化合物和蛋白质的可生物降解率分别为 52% 和 39%,蛋白质的可生物降解性较差.另一方面,可能实验所选用的淀粉酶的水解效力比蛋白酶的高.此外,复合酶的水解效果比单酶的更好,这主要是由于剩余污泥的成分复杂,污泥胶团中存在大量主要由蛋白质和多糖(主要为淀粉和纤维素)组成的胞外多聚物(ECPs)^[20,21],这就意味着投加单酶只能针对特定的有机物质产生水解效果,而对污泥中其它的物质作用较差^[22].因此,同时加入蛋白酶和淀粉酶,可

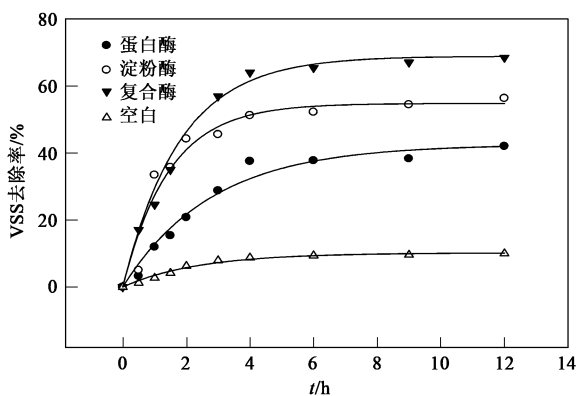


图 6 污泥中 VSS 去除率随投加酶的变化

Fig 6 Effects of enzyme dosage on VSS reduction

以专性高效水解组成污泥的主要成分蛋白质和多糖,加速溶胞过程和胞内有机质有效释放.

2.4 酶水解过程中酶活力的变化

污泥水解过程中,各种酶的活性会随着反应时间发生改变,图 7 反映了实验过程中蛋白酶和淀粉酶活力的变化情况.将 2 种酶分别投加于污泥后,酶活力逐渐上升,当水解进行到 4 h 左右时,2 种酶活力均达到最高值,分别为 2.57 U/mL 和 4.64 U/mL, VSS 溶解速率同时达到最大值.此后随着酶水解时间的延长,酶活力又逐渐下降, VSS 的溶解也基本趋于平台期.

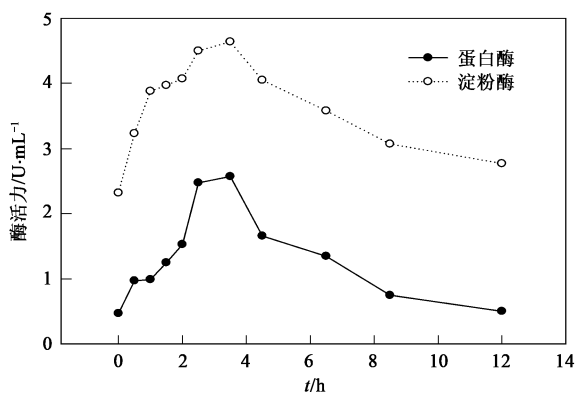


图 7 酶活力随水解时间的变化

Fig 7 Variation of enzyme activity with hydrolysis time

当酶刚投加入污泥时,污泥浓度高,酶促反应速率并不是很高,其原因是:高浓度的底物降低了水的有效浓度和分子扩散性,从而降低了酶促反应速度;过量的底物会与激活剂结合,降低激活剂的有效浓度,也会降低酶促反应速度;过量的底物聚集在酶分子上,生成无活性的中间产物,不能释放出酶分子,从而也会降低反应速度^[23].随着污泥的水解,胞外

聚合物和细胞结构逐渐被破坏,酶分子的扩散性不断增大,隐藏在污泥中的酶分子得到释放,其活力得以表达,因此酶促反应速率不断上升^[24]。但随着反应的进行,污泥絮体中的固体物质不断溶解,污泥中的抑制剂也随之溶出,进而降低酶的活性,抑制酶促反应速度。

3 结论

(1)外加酶能够强化污泥水解,4 h内反应迅速,此后水解速度缓慢。

(2)实验所用的水解酶中,淀粉酶比蛋白酶的水解效果好,反应4 h后VSS去除率分别为56.32%和42%。单一酶处理时,酶最佳投加量(以TS中加入酶量计)为60 mg/g

(3)复合酶处理比单一酶处理效果更好,当控制总酶投加量为60 mg/g,水解温度为50℃,蛋白酶和淀粉酶的比例为1:3时,水解效果最佳,VSS去除率达68.43%。

(4)酶水解过程的前4 h,蛋白酶和淀粉酶活力均呈上升趋势,符合一级反应动力学,水解4 h左右达最大值,分别为2.57 U/mL和4.64 U/mL,之后酶活力逐渐下降。

参考文献:

[1] 梁鹏,黄霞,钱易. 污泥减量化技术的研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2003, 4(1): 44-52

[2] 何岩,周恭明. 剩余污泥减量化技术的研究发展[J]. 环境技术, 2004, 1: 39-42

[3] 张悦. 我国城市污水处理与再生利用的技术决策要素探讨[EB/OL]. <http://blog.h2o-china.com/html/10/262010-2389.html> 2008-03-31.

[4] Eastman J A, Ferguson J F. Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion[J]. J Water Pollut Control Fed 1981, 53(3): 352-366.

[5] 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

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

[7] Beijer R. Enzymatic treatment of wastewater sludge in presence of a cation binding agent-improved solubilisation and increased methane production[D]. Sweders Linkopings University, 2008.

[8] Ahuja S K, Ferreira G M, Moreira A R. Utilization of enzymes for environmental applications[J]. Crit Rev Biotechnol 2004, 24(2-3): 125-154

[9] Kin H J, Kin S H, Choi Y G, et al. Effect of enzymatic pretreatment on acid fermentation of food waste[J]. J Chem Technol Biot 2006, 81(6): 974-980

[10] Ranan H J, Burgess J E, Pletschke B I. Enzyme treatment to decrease solids and improve digestion of primary sewage sludge[J]. Afr J Biotechnol 2006, 5(10): 963-967.

[11] Dubois M, Gilles K A, Hamillon J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Anal Chem, 1956, 28(3): 350-356.

[12] Pin C, Marin M L, Selgas D, et al. Differences in production of several extracellular virulence factors in clinical and food *Aeromonas* spp. strains[J]. J Appl Bacteriol 1995, 78(2): 175-179.

[13] Goel R, Mino T, Satoh H, et al. Enzyme activities under anaerobic and aerobic conditions in activated sludge sequencing batch reactor[J]. Water Res 1998, 32(7): 2081-2088.

[14] 胡琼英,狄浏. 生物化学实验[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007. 24-26.

[15] Nielsen P H, Fjellund B, Keiding K. Changes in the composition of extracellular polymeric substances in activated sludge during anaerobic storage[J]. Appl Microbiol Biot 1996, 44(6): 823-830.

[16] 徐红亮,武小鹰,郑平. 胞外多聚物及其对废水生物处理的影响[J]. 环境科学与技术, 2005, 28(S1): 121-124.

[17] Goel R, Mino T, Satoh H, et al. Enzyme activities under anaerobic and aerobic conditions in activated sludge sequencing batch reactor[J]. Water Res 1998, 32(7): 2081-2088.

[18] Shanableh A, Jm aa S. Production and transformation of volatile fatty acids from sludge subjected to hydrothermal treatment[J]. Water Sci Technol 2001, 44(10): 129-135

[19] Pinnekamp J. Effects of thermal pretreatment of sewage sludge on anaerobic-digestion[J]. Water Sci Technol 1989, 21(4-5): 97-108

[20] Snairl J, Amann R, Huber I, et al. Phylogenetic analysis and in situ identification of bacteria in activated sludge[J]. Appl Environ Microb 1997, 63(7): 2884-2896.

[21] Blackall L L, Burrell P C, Gwilliam H. The use of 16S rDNA clone libraries to describe the microbial diversity of activated sludge communities[J]. Water Sci Technol 1998, 37(4): 451-454

[22] Zhou J, Wang Y H, Chu J, et al. Optimization of cellulase mixture for efficient hydrolysis of steam-exploded corn stover by statistically designed experiments[J]. Bioresource Technol 2009, 100(2): 819-825.

[23] 周群英,高延耀. 环境工程微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. 85

[24] Whiteley C G, Burgess J E, Melanane X, et al. The enzymology of sludge solubilisation utilising sulphate-reducing systems: The properties of lipases[J]. Water Res 2003, 37(2): 289-296