

内源淀粉酶对污泥性质及厌氧消化性能的影响

于淑玉, 张光明, 赵志伟

(哈尔滨工业大学 市政环境工程学院, 150090 哈尔滨)

摘要: 为了研究污泥自身产生的淀粉酶对污泥性质的影响, 将污泥中的淀粉酶产生菌(WY_{DF}、WY_{ZZ})发酵培养, 再将培养液投加到污泥中, 并测定了污泥的生物化学甲烷势(BMP), 考察了淀粉酶对污泥厌氧消化性能的影响. 结果表明, 淀粉酶能够促进污泥的水解酸化过程, 与未处理污泥相比, WY_{DF}处理后挥发酸(VFA)最大质量浓度提高了56%. 淀粉酶对污泥的溶解作用是有限的, 处理后最高仅溶出污泥总化学需氧量(TCOD)中6%的有机物. 用两菌株酶液联合处理后(WY_{DF} + WY_{ZZ}), 粒径在200~2 000 μm之间的污泥明显减少. 同时污泥厌氧消化性能得到较大提高. 挥发性固体(VS)去除率从对照组的36.02%提高到42.19%; 污泥的VS甲烷产率从对照组的381 mL/g提高到434 mL/g.

关键词: 淀粉酶; 活性污泥; 生物化学甲烷势; 厌氧消化

中图分类号: X703

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2013)04-0048-05

Effect of endogenous amylase on characterization and anaerobic digestibility of sludge

YU Shuyu, ZHANG Guangming, ZHAO Zhiwei

(School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China)

Abstract: Two bacterial fermentation products containing amylase were added singly or combinationally to waste activated sludge (WAS). Biochemical methane potential (BMP) experiment of enzyme treated sludge was carried out to investigate the effects of amylase, which could be released by WAS, on the digestibility of sludge. The results show that enzymatic pretreatment can facilitate the hydrolyzation of macromolecule organic matters into small molecular organics, with a 56% increase in volatile fat acids. For treated sludge, the volume occupied by particle between 200 ~ 2 000 μm decreased obviously. Although the hydrolyzability of sludge is low, the digestibility of pretreated sludge was remarkably improved. The reduction of volatile was enhanced from 36.02% to 42.19%. The specific methane yield was 434 mL CH₄ per gram volatile solid removed, which was higher than that of untreated sludge (381 mL/g).

Key words: amylase; activated sludge; biochemical methane potential (BMP); anaerobic digestion

胞外聚合物(Extracellular polymer substances, EPS)普遍存在于活性污泥絮体内部及表面. EPS的组成非常复杂, 主要的成分是糖和蛋白, 约占EPS质量的70%~80%^[1-2]. 酶能作用于污泥中所含的物质, 可将大分子的有机物降解、转化为小分子的有机物, 甚至可将大分子有机物溶解, 因此能够改变污泥的一些结构及理化特性. 水解是污

泥厌氧消化的限速步骤, 在污泥厌氧消化前用酶处理, 可以提高污泥水解速度, 从而促进污泥的甲烷产量^[3]. Parmar等^[4]向污泥中投加水解酶对污泥进行预处理, 以利于污泥后续的厌氧消化处理. 研究表明添加水解酶可以有效地促进污泥中有机物的溶解, 提高污泥的沉降性, 提高厌氧消化固体的可生化性^[5-6]. 同时由于酶预处理作用工艺简单、容易控制、对环境无害等优点而备受关注. 但是酶处理污泥也存在一定的缺陷, 酶在处理污泥时的一个重要问题是, 酶容易因吸附或绑定作用而被埋到污泥中^[7], 这种埋藏作用不仅降低了酶

收稿日期: 2012-08-02.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50908061).

作者简介: 于淑玉(1982—), 女, 博士研究生;

张光明(1973—), 女, 教授, 博士生导师.

通信作者: 赵志伟, hit_zzw@163.com.

对污泥的溶解作用,同时酶难以回收,增加了处理成本.开发新的高效污泥水解酶以及改进污泥处理工艺是新的污泥处理方向.

污泥中有大量的可产生水解酶的菌株,如何富集剩余污泥中这些产酶菌或提高水解酶液的含量,将利于污泥自身的溶解减量及后续的厌氧消化过程.本文研究了污泥中自有的两株淀粉酶产生菌(分离于剩余污泥)生长及产酶特性,将菌株的发酵酶液用于污泥的预处理,分析了内源淀粉酶对污泥性质的影响及后续厌氧消化的影响.

1 试验

1.1 污泥及菌株来源

本试验所用污泥取自哈尔滨文昌污水处理厂二沉池.离心沉淀后,pH为6.83;总固体含量(TS)为38.161 g/L;挥发性固体含量(VS)为26.275 g/L;污泥TCOD为28.463 g/L.实验室所提供的两株枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) WY_{DF}、WY_{ZZ},均从哈尔滨文昌污水处理厂活性污泥中分离获得.

1.2 培养基

斜面培养基:10.0 g的蛋白胨,3.0 g的牛肉膏,5.0 g的NaCl,2.0 g的可溶性淀粉,1 000 mL的蒸馏水,调至pH为7.0~7.2,121 °C灭菌20 min.

发酵培养基:1.0 g的NaCl,0.5 g的K₂HPO₄,0.9 g的KH₂PO₄,0.2 g的MgSO₄·7H₂O,5.0 g的可溶性淀粉,5.0 g的蛋白胨,1 000 mL的蒸馏水,调pH至7.0~7.2,121 °C灭菌20 min.

1.3 污泥的预处理

取菌株发酵液以4 500 r/min离心10 min,上清液即为粗酶液.将10 mL含有内源淀粉酶的粗酶液加入250 mL锥形瓶中,再加入100 mL污泥,充分混合后,置于37 °C的水浴振荡器上搅拌9 h.粗酶液与污泥充分混合后离心(4 500 r/min,10 min),取上清液测定可溶性化学需氧量(SCOD)、VFA、蛋白和多糖的质量浓度,9 h后再取样测定各项的质量浓度.

1.4 BMP试验

向经过内源淀粉酶处理的污泥中加入30 mL厌氧污泥,然后向锥形瓶中通入氮气4 min以保证驱除瓶内空气,用橡皮塞密封后置于37 °C的水浴振荡器内,每两天用玻璃注射器测定产气量.

1.5 分析方法

淀粉酶活性测定采用Yoo改良法测定^[8].酶活力单位定义为10 min水解1 mg淀粉的酶量,为1个酶活力单位(U);菌株生长量测定菌株生

长量测定采用OD值比法^[9];蛋白质含量的测定采用国家标准方法^[10];多糖含量的测定采用苯酚法测定^[11];挥发酸(VFA)含量的测定采用气相色谱法(安捷伦6890N色谱分析仪,FID检测器);甲烷含量测定采用气相色谱法(ECD检测器);污泥的粒径分布是将污泥样品稀释一定倍数后测定,采用激光粒度仪(Malvern mastersizer 2000,英国),所得结果表示单位体积溶液中某个粒径区间内(例如10~20 μm)的颗粒个数占全部颗粒个数的百分比.COD、VS(挥发性固体)、TS(总固体)、VSS(挥发性悬浮固体)和SS(悬浮固体)均按照标准方法测定^[12].

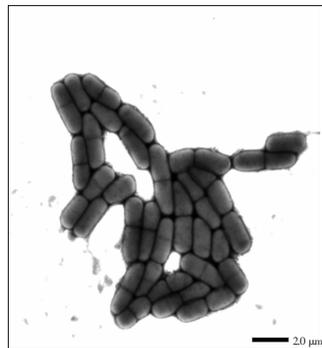
2 结果与讨论

2.1 菌株的基本特性

本实验是从哈尔滨文昌污水处理厂二沉池污泥中筛选出两株具有较高淀粉酶活性的菌株,分别命名为WY_{DF}、WY_{ZZ}.经16S rDNA和Biolog鉴定系统分析,两株均为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*).图1给出了两菌株的透射电镜照片.在含有淀粉的肉汤培养基上生长时,WY_{DF}形成的菌落呈淡粉色、边缘不整齐、表面干燥,由于液化淀粉能力较强,使培养基变为半透明的淡粉色.WY_{ZZ}菌略呈白色、边缘不整齐、表面干燥褶皱、不易挑起,挑起时有拉丝的现象.



(a) WY_{DF}



(b) WY_{ZZ}

图1 透射电镜照片

实验中利用菌株 WY_{DF}、WY_{ZZ} 产生的淀粉酶水解污泥中的不溶性有机物. 为了获取高酶活的发酵液, 测定了菌株的酶活曲线, 用以确定合适的发酵时间, 并同时测定了生长曲线. 从图 2 可以看出, 两菌株的生长规律相同, 在 0~10 h 为生长延迟期, 菌株生长缓慢. 随后进入对数生长期, 都在发酵 30 h 左右获得最大的菌体收益, 然后进入稳定期, 菌体量逐步下降. 两菌株淀粉酶活性的增加与生长不同步, 菌株酶活性的增加滞后于菌体的生长. 菌株 WY_{DF} 发酵约 34 h 后酶活性最高可达 44 U/mL. WY_{ZZ} 发酵约 38 h 酶活性最高可达 52 U/mL, 略高于 WY_{DF} 的酶活.

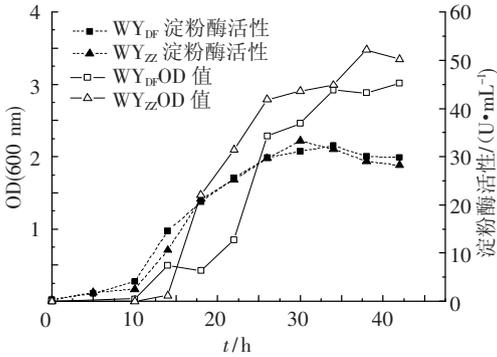


图2 菌株发酵过程曲线

依据 Gaden^[13] 对细胞代谢产物生成规律的分类, 这两个菌株均属于产物形成与菌体生长部分偶联型, 即菌体生长阶段有部分产物形成, 而大部分产物是在菌体处于生长稳定期形成的. 在下面的污泥预处理试验中, 使用的粗酶液均来自于两菌株发酵 38 h, 即发酵后期的发酵液.

2.2 预处理对污泥的影响

处理污泥时, 酶首先被吸附到污泥中的底物上, 破坏了与污泥松散链接的小分子的聚合物. 污泥的溶解速率依赖酶扩散到污泥离子的活性位点的速度^[7], 排列紧密的污泥的水解速度将会比较低. 表 1 给出了内源淀粉酶处理污泥的结果. 与对照组污泥相比较, WY_{DF}、WY_{ZZ}、WY_{DF} + WY_{ZZ} (两菌株粗酶液等量混合后联合处理) 3 个处理组中, 溶出的蛋白、多糖和 SCOD 的增量不明显, 且蛋白、多糖的增量低于对照组. WY_{DF} + WY_{ZZ} 组 SCOD 的增量最大, 也仅溶出了 TCOD 的 6% 左右, 远低于罗琨等^[14] 报道的溶出了 TCOD 的 20% 左右.

理论上, 酶活性越高, 污泥的溶解速率越大, 低分子有机物和有机酸的质量浓度增加. 本试验中, 粗酶液即使不能提高污泥的水解效率, 也不会对水解产生抑制作用. 导致有机物溶出少, 可能的原因: 一是其他的文献中投加的淀粉酶多为工业

酶制剂, 处理单位质量的污泥时, 酶活、酶量均高于本实验中的投加量. Yang Qi 等^[15] 向污泥中外加淀粉酶强化污泥水解, 淀粉酶的投加量为 360 U/g 的 TS, 本试验中的投加量为 120~159 U/g 的 TS. 二是本实验中选用的污泥浓度较高, TCOD 的质量浓度为 28.463 g/L, 而在罗琨等^[14] 的实验中 TCOD 的质量浓度仅为 7.780 mg/L, 淀粉酶处理污泥后 SCOD 比 TCOD 的质量浓度提高了 20%, SCOD 的净增量仅为 1.861 mg/L, 而本实验中的净增量最高也可以达到 1.750 mg/L. 三是粗酶液加入污泥后, 使得初始 SCOD 含量较高, 处理过程中粗酶液中部分有机物会被污泥吸附, 导致一部分溶解的有机物增量被抵消.

表1 预处理对污泥溶解性有机物质量浓度的影响

处理方法	质量浓度/(mg·L ⁻¹)			
	VFA	蛋白	多糖	SCOD
污泥	518	315	254	1 612
污泥 + WY _{DF}	741	109	85	1 328
污泥 + WY _{ZZ}	650	154	144	1 717
污泥 + WY _{DF} + WY _{ZZ}	806	199	125	1 750

酶液处理后, 污泥中 VFA 质量浓度明显高于对照组, 表明已形成了更多的小分子有机物. WY_{DF} + WY_{ZZ} 组 VFA 的质量浓度增量为 806 mg/L, 而未处理污泥质量浓度仅为 518 mg/L, 前者比后者高出了 56%. 表明粗酶液的添加确实提高了污泥的水解酸化速度.

图 3 给出了处理 9 h 后各处理组下的 VFA (乙酸、丙酸、丁酸、异戊酸) 构成, 各试样中乙酸的质量浓度最高, 占 VFA 的 40% 以上. 内源淀粉酶处理后的 VFA, 仍以乙酸、丙酸和丁酸为主. 乙酸的百分比有所增加, 从对照组的 41.19% 增大到 WY_{DF} + WY_{ZZ} + 污泥组处理后的 47.33%.

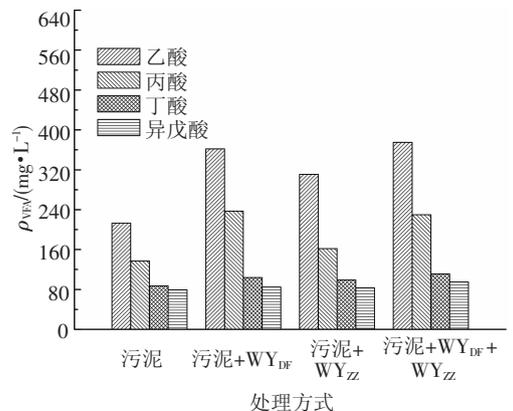


图3 不同来源淀粉酶处理后污泥 VFA 构成

图 4 表示酶处理后污泥的粒径分布情况, 粒径分布的范围是 0.5~2 000 μm.

从图中可以看出, 3 种处理方式相比较,

WY_{DF}和WY_{DF}+WY_{ZZ}处理过的污泥,粒径在200 μm以上的比例明显变小,分别占全部颗粒的5.45%和4.27%,而经WY_{ZZ}处理过的试样所占全部颗粒的7.91%。WY_{DF}、WY_{ZZ}、WY_{DF}+WY_{ZZ}处理后,粒径低于50 μm的颗粒数分别占全部颗粒数的55.48%、52.97%、57.53%。

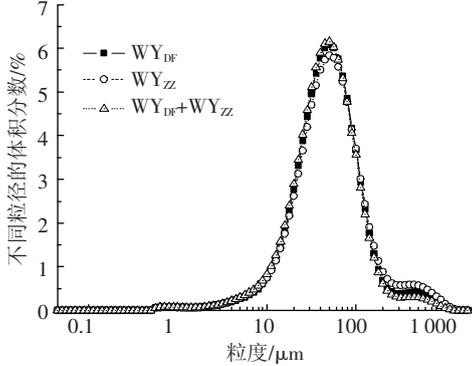


图4 处理后污泥的粒径分布

以上结果表明,内源淀粉酶的投加,改变了污泥的粒径,使污泥的粒径变小,说明内源淀粉酶对污泥具有较好的溶解和解絮作用。来源于不同菌株的内源酶联合应用,更有利于较大粒径污泥的解絮,使污泥的粒径降低。虽然WY_{DF}的酶活性低于WY_{ZZ},但其却表现出了更高降低污泥粒径的能力。同时结合表1可以看出,无论是污泥中有机物的溶出,还是VFA的增加,以及污泥粒径的改变,WY_{DF}+WY_{ZZ}都优于WY_{DF}、WY_{ZZ}单独作用的效果,表现出更高的溶解、酸化、解絮能力。可能的原因如表2所示,WY_{DF}与WY_{ZZ}混合后具有更好的放置稳定性,37℃条件下放置9h仍保持85.7%的酶活性。另外也可能由于两株菌分泌的淀粉酶种类、特性不同,作用于污泥的位点不同,增强了对污泥的溶解和解絮效果,它们的联合互补作用进一步改变了污泥的表面性质。

表2 淀粉酶的放置稳定性(37℃)

菌株种类	淀粉酶活性/(U·mL ⁻¹)	
	初始酶活性	9h后酶活性
WY _{DF}	46.6	24.2
WY _{ZZ}	61.7	29.3
WY _{DF} +WY _{ZZ}	60.8	52.1

2.3 预处理对污泥厌氧消化的影响

酶作用于污泥中所含的有机物中,因此能够改变污泥的一些特性。酶处理污泥后,使污泥更迅速、容易地转换成附加值产物^[16-17]。

从表3可以看出,污泥经WY_{DF}、WY_{ZZ}、WY_{DF}+WY_{ZZ}处理后,污泥厌氧消化的生物气产量与对照组相比,分别提高了11.90%、13.27%和17.37%。污泥经过WY_{DF}+WY_{ZZ}处理后VS的甲

烷产率达到最大值434 mL/g。酶处理对生物气中甲烷的含量没有显著的影响。经酶处理后,污泥中的有机物去除率增加。经WY_{DF}+WY_{ZZ}、WY_{ZZ}处理后,污泥VS去除率分别为42.19%和41.58%,比对照组分别提高17.07%、18.23%。图5为酶处理后污泥的累积产气量。与Bougrier等^[18]采用的物理、化学方法相比酶处理污泥的前期产气速率相对平缓。由于机械或化学方法作用于污泥时,可在短时间内大幅度提高污泥中可溶性物质的含量、降低污泥的粒径,因此处理过的污泥在后续的厌氧消化过程中,前期的产气速率急剧增加。虽然内源酶对污泥的溶解作用有限,但总产气量逐步增加。可能的原因是酶液在处理污泥9h后没有完全失活,在厌氧的过程中继续分解大分子有机物。同时WY_{DF}与WY_{ZZ}混合后,酶的稳定性比单一的菌株高,对污泥的分解作用更强,最终使污泥的厌氧消化性能更好。

表3 厌氧消化实验结束时产气增长率、甲烷体积分数及VS去除率(24d)

样品	产气量/mL	甲烷体积分数/%	VS去除率/%
污泥	633	57.21	36.02
污泥+WY _{DF}	702	60.13	39.14
污泥+WY _{ZZ}	717	59.15	41.58
污泥+WY _{DF} +WY _{ZZ}	743	60.22	42.19

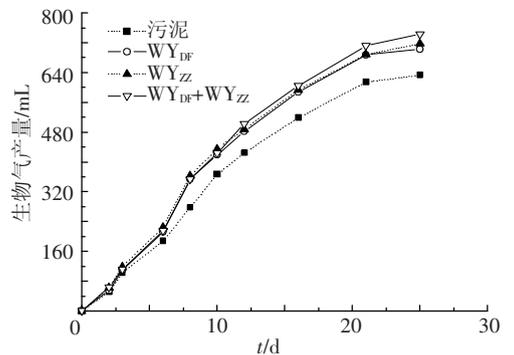


图5 BMP试验结果

从结果上看,污泥经过酶处理后,厌氧消化性能得到了明显提高,WY_{DF}+WY_{ZZ}的效果优于WY_{DF}、WY_{ZZ}单独处理的效果。尽管内源淀粉酶对污泥的溶解效率只有6%,但污泥的产气量得到很大的提高。从内源淀粉酶对污泥的特性及厌氧消化影响的结果上看,酶对污泥特性的改变是一个缓慢、持久的过程。

3 结论

1) 定向添加污泥内源性淀粉酶,能够使污泥溶解,提高污泥中SCOD和VFA的质量浓度,使

污泥的粒径变小.

2) WY_{DF}、WY_{ZZ}两菌株所产内源酶的联合应用,提高了酶的稳定性,无论有机物的溶出能力,还是污泥的厌氧消化性质改善方面,都优于单独一种酶液.污泥经 WY_{DF} + WY_{ZZ}处理后,污泥中的VFA 质量分数较对照组提高了56%.

3) 污泥经过 WY_{DF} + WY_{ZZ}处理后,VS 去除率从对照组的36.02% 提高到42.19%;污泥的VS 甲烷产率从对照组的381 mL/g 提高到434 mL/g.污泥厌氧消化性能有了较大的提高.

参考文献

- [1] SPONZA D T. Extracellular polymer substances and physicochemical properties of flocs in steady and unsteady-state activated sludge systems [J]. *Process Biochemistry*, 2002, 37(9): 983–998.
- [2] FROLUND B, PALMFREN R, KEIDING K, *et al.* Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin [J]. *Water Research*, 1996, 30(8): 1749–1758.
- [3] WAWRZYNCZYK J, RECKTENWALD M, NORRLOW 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.
- [4] PARMAR N, SINGH A, WARD O P. Enzyme treatment to reduce solids and improve settling of sewage sludge [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2001, 26(6): 383–386.
- [5] AL-ALM RASHED I G, AKUNNA J, EL-HALWANY M M, *et al.* Improvement in the efficiency of hydrolysis of anaerobic digestion in sewage sludge by the use of enzymes [J]. *Desalination and Water Treatment*, 2010, 21(1/2/3): 280–285.
- [6] KIM H J, KIM S H, CHOI Y G, *et al.* Effect of enzymatic pretreatment on acid fermentation of food waste [J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2006, 81(6): 974–980.
- [7] 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.
- [8] 史永昶, 姜涌明. 五种 α -淀粉酶测活方法的比较研究 [J]. *微生物学通报*, 1995, 23(6): 371–373.
- [9] 黄秀梨, 辛明秀. *微生物学实验指导* [M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2008.
- [10] GB/T23527—2009, 蛋白酶制剂 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.
- [11] 罗毅, 潘细贵, 刘刚, 等. 苯酚-硫酸法测定多糖含量显色方式的优选 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2005, 12(1): 45–46.
- [12] 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.
- [13] GADEN E L. Fermentation process kinetics [J]. *Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering*, 1959, 4(1): 413–429.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] LAGERKVIST A, CHEN H. Control of two step anaerobic degradation of municipal solid waste (MSW) by enzyme addition [J]. *Water Sci Technol*, 1993, 27(2): 47–56.
- [17] LEE I, EWANS B R, WOODWARD J. The mechanism of cellulase action on cotton fibers: evidence from atomic force microscopy [J]. *Ultramicroscopy*, 2000, 82(1/2/3/4): 213–221.
- [18] BOUGRIER C, ALBASI C, DELGENES J P, *et al.* Effect of ultrasonic, thermal and ozone pre-treatments on waste activated sludge solubilisation and anaerobic biodegradability [J]. *Chemical Engineering and Processing*, 2006, 45(8): 711–718.

(编辑 魏希柱)