

摘 要

城市污水厂的剩余污泥，不加处理任意排放，会严重的污染环境。从剩余污泥中提取蛋白质，符合污泥资源化的目的，是当前研究的热点课题之一，耦合技术提取剩余污泥中蛋白质具有明显优势。本文以武汉市沙湖污水处理厂剩余污泥为研究对象，探讨了基于热、基于超声波的耦合技术在剩余污泥蛋白质提取上的应用研究，分别从反应体系的温度、反应时间、pH 值、超声波输出功率、超声波输出时间、过氧化氢投加量和作用时间、硫酸钠投加量等条件进行系统的分析研究，对今后的剩余污泥蛋白质的提取的研究起到借鉴作用。

本研究主要可分为三个部分：基于热耦合工艺的蛋白质提取研究；基于超声波耦合工艺的蛋白质提取研究；基于最佳处理条件下上清液作为污水厂补充碳源的可行性研究。通过研究得出一些新的结论。

1) 在单一酸解、热解作用下的蛋白质提取效果较差，热解与酸耦合处理技术不仅具有较高的蛋白质提取率，而且试验过程中酸性环境会在体系中保护蛋白质，阻碍美拉德反应的发生，缩短反应时间。在试验温度为 110℃，试验 pH 条件为 1 左右，处理时间为 6h 的情况下，蛋白质质提取率达到 61.59%，远远大于单一处理条件。

2) 超声波输出功率为 65%（总功率为 1200w），超声波处理时间为 22min 情况下，单一超声波处理的蛋白质提取率为 62.28%，提取率较高。单一过氧化氢和超声波耦合过氧化氢处理剩余污泥均可以提取蛋白质，提取率分别为 23.56%和 59.18%，试验过程中，过氧化氢在水解细胞壁的同时也会对溶液中蛋白质产生影响，而且当试验结束时，溶液中剩余的过氧化氢会继续水解污泥和蛋白质，试验进程较难掌握。而超声波与硫酸钠耦合工艺处理剩余污泥不仅蛋白质提取率高（69.01%），而且试验进程容易掌握，试验结束后无任何因素影响，试验清洁，不需对溶液进行进一步处理，最佳处理条件：超声波输出功率为 65%，超声波输出时间为 20min，盐（硫酸钠）的投加量为 0.7mol/L。

3) 在最佳污泥处理条件下污泥溶液的上清液可作为碳氮比较低的污水的补充碳源。经超声波耦合盐处理的剩余污泥上清液中含有大量的 SCOD、N 和 P，将处理后的上清液做为营养液培养活性污泥，并对反应器水质情况进行分析。经

研究, 污泥处理后上清液中 SCOD 去除率达到 68.4%, 上清液可作为补充碳源被活性污泥部分利用。

关键词: 剩余污泥; 蛋白质; 超声波; 热; 过氧化氢; Na_2SO_4 ; 补充碳源

研究类型: 应用研究

Abstract

Surplus sludge of city sewage treatment plant which without any processing and casually given away will pollute the environment seriously. Extraction of protein from the surplus sludge, fit for the purpose of sludge resources, it is one of the hot topic of current research, the coupling technology of extracting protein from surplus sludge has obvious advantages. This paper takes the sludge from Wuhan Shahu sewage treatment plant as the research object, discusses the application technology based on coupling with the heat and ultrasonic used on extraction of protein from sewage sludge, systematic analysis the temperature of reaction system, reaction time, pH value, ultrasonic output power, ultra sonic wave output time, H₂O₂ dosage and action time, Na₂SO₄ dosage such conditions respectively, this will be benefit for the future research on the extraction of sludge protein.

This study can be divided into three parts: Study on the extraction process of protein based on thermal coupling; Study on the extraction process of protein based on ultrasonic coupling technology; feasibility study on sewage plant supernatant which under the optimum treatment condition as supplementary carbon source.

1) The extraction rate of proteins under the action of single acid hydrolysis, heat treatment is poor, heat and acid coupled processing technology not only has high extraction rate of protein, but also the acidic environment in the course of the experiment can protect the protein in the system, hinders the Maillard reaction, shorten reaction time. In the experimental temperature of 110°C, the experimental condition of pH is about 1, the processing time for the case of 6h, the protein extraction rate can reached to 61.59%, far more than single treatment conditions.

2) When the ultrasonic output power is 65% (the total power is 1200W), the ultrasonic processing time is 22min, the protein extraction rate of single ultrasonic treatment was 62.28%, has a higher rate of extraction. Single H₂O₂ and ultrasonic coupling H₂O₂ treatment of excess sludge can extract protein, the rate of extraction were 23.56% and 59.18%, in the process of experiment, H₂O₂ could hydrolytic the

cell wall and have an affect on the protein solution, at the end of the experiment, the remaining H_2O_2 will continue hydrolysis sludge and protein, it is difficult to master the experiment process. The coupling of ultrasonic and Na_2SO_4 process for treatment of surplus sludge, the protein extraction rate is high (reach to 69.01%), and the experimental process is easy to grasp, the end of the experiment without any factors, the liquid of experimental is clean, have no solution for further processing, the optimum processing conditions: ultrasonic outputpower of 65%, ultrasonic output time is 20min, salt (sulfate sodium) dosage for 0.7mol/L.

3) At the optimum processing condition of sludge, the supernatant can be used as supplementary carbon source for carbon and nitrogen lower sewage. The surplus sludge supernatant which under ultrasonic coupling salt treatment contains large amounts of SCOD, N and P. The supernatant treated as nutrient solution for activated sludge culture, and analysis the water quality of reactor. After study, the treated sludge supernatant SCOD removal rate reached to 68.4%, the supernatant can be used as supplementary carbon source and was used by activated sludge.

Keywords: Surplus sludge; Protein; Ultrasonic; heat; H_2O_2 ; Na_2SO_4 ; Supplementary carbon source.

Thesis: Application Research

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 剩余污泥的来源、危害及其处置现状.....	1
1.1.1 污泥来源.....	1
1.1.2 剩余污泥组成及其危害.....	2
1.1.3 国内外传统污泥处理与处置方法.....	2
1.1.4 新型的剩余污泥处理与处置方法.....	3
1.2 剩余污泥提取蛋白质的应用前景.....	4
1.2.1 污泥蛋白质作为饲料添加剂使用.....	4
1.2.2 污泥蛋白质应用于泡沫灭火剂.....	5
1.2.3 污泥蛋白质应用于混凝土发泡剂.....	5
1.3 剩余污泥中蛋白质提取技术现状.....	6
1.3.1 化学方法提取污泥中蛋白质.....	6
1.3.2 物理方法提取污泥中蛋白质.....	7
1.3.3 生物法提取污泥中蛋白质.....	7
1.3.4 耦合提取污泥中蛋白质.....	8
1.4 蛋白质的测定及其提取技术现状.....	9
1.5 本课题主要研究目的及内容.....	10
1.5.1 研究目的.....	10
1.5.2 研究内容.....	11
1.5.3 课题的创新点.....	11
第 2 章 试验材料和试验方法	12
2.1 前言.....	12
2.2 试验材料.....	13
2.2.1 试验污泥来源.....	13
2.2.2 试验所用药品及玻璃仪器.....	13
2.2.3 试验设备.....	13
2.3 检测项目和检测方法.....	15
2.4 试验方法.....	15
2.4.1 最佳离心条件的试验方法.....	15
2.4.2 热解处理剩余污泥提取蛋白质试验方法.....	16
2.4.3 酸处理剩余污泥提取蛋白质试验方法.....	16
2.4.4 酸与热解耦合法提取剩余污泥蛋白质试验方法.....	16

2.4.5 超声波法提取剩余污泥蛋白质试验方法.....	16
2.4.6 过氧化氢氧化、超声波与过氧化氢耦合提取剩余污泥蛋白质的试验方法17	
2.4.7 盐耦合超声波法提取剩余污泥蛋白质的试验方法.....	17
2.4.8 污泥蛋白质提取后的上清液可生化研究的试验方法.....	17
第3章 不同预处理工艺对剩余污泥蛋白质提取的研究.....	18
3.1 前言.....	18
3.2 试验前期准备.....	19
3.2.1 活性污泥.....	19
3.2.2 剩余污泥.....	23
3.2.3 Bradford 法测蛋白质含量的标准曲线绘制.....	24
3.2.4 试验最佳离心条件的确定.....	25
3.3 基于热耦合技术提取剩余污泥蛋白质的研究.....	27
3.3.1 单一热处理效果.....	27
3.3.2 单一酸处理效果.....	29
3.3.3 酸与热处理耦合法处理效果.....	30
3.4 基于超声波耦合技术提取剩余污泥蛋白质的研究.....	32
3.4.1 单一超声波处理效果.....	33
3.4.2 单一过氧化氢处理效果.....	37
3.4.3 过氧化氢与超声波耦合效果.....	39
3.4.4 超声波和盐耦合效果.....	41
3.5 章节小结.....	43
第4章 处理后污泥上清液可生化性能的研究.....	45
4.1 应用试验的上清液的选择.....	46
4.2 试验步骤及试验结果讨论.....	46
4.2.1 试验步骤.....	46
4.2.2 试验结果讨论.....	47
4.3 结论.....	48
第5章 总结.....	50
5.1 总结.....	50
5.2 深入研究.....	51
参考文献:.....	52
附 录.....	58
致 谢.....	59

第 1 章 绪论

1.1 剩余污泥的来源、危害及其处置现状

1.1.1 污泥来源

人均用水量是检测一个国家或者城市发达程度的重要指标之一。据统计,我国人均日用水量仅为 86L,我国最发达的城市上海人均用水量为 300~500L,而美国人均日用水量高达 575L。人均用水量直接说明了生活水平和生活质量的高低,高用水量带来高的消耗量和废水产生量。中国环科院院长孟伟在第九届循环经济发展论坛上说,我国环境容量承受力约为 740 万吨,但实际污染排放量达 3000 万吨;氨氮环境容量不到 30 万吨,实际排放量达 179 万吨,污染物的排放量远远超过环境承受能力。废水未经处理随意排放将会对环境带来重大危害,是现在城市污染的主要来源。环境治理、清洁生产、低碳经济已成为现在社会的热门话题,而且国家对于环保的投入也在逐年增加,据统计北京市在 2014 年之前几年内将投入近万亿元用于环境治理方面。

水资源作为环境治理的重要一环,近年来水资源紧缺、水环境恶化现象日益突出,水环境保护的任务也越来越紧迫,各级政府对污水的治理的投入力度越来越大,目前污水处理厂污水来源主要包括城市污水和工业污水两部分,国内外对城市污水的处理主要采用的是生物法(活性污泥法)。活性污泥法以稳定性好,处理效果良好,易操作管理等优点被国内绝大部分(80%以上)污水处理工艺,但是活性污泥法处理剩余污泥最大的弊端就是会产生大量的剩余污泥。

活性污泥是污水中各种菌体及其他物质形成的菌胶团,菌胶团具有一定的稳定性。污水由市政管道收集进入污水处理厂,在经过污水提升泵房、粗细格栅、沉砂池(初沉池)、配水井后进入生物反应池,反应池中含有大量的活性污泥,污水中的有机物被活性污泥菌株吸收并合成自身营养物质用于生长和繁殖,从而使污泥溶液浓度增加,大量的活性污泥进入二沉池,经过沉淀后部分污泥回流至反应池,还有一部分过量的污泥输送至污泥浓缩池,并在浓缩车间浓缩脱水后外运,这部分污泥就是剩余污泥,污水处理厂的主要废弃物。

上世纪八九十年代开始,我国大力发展城市污水处理事业。数据显示,在 2005 年,我国仅有 708 座污水处理厂在运行,而到 2009 年底全国已建成并运行的污水处理厂达 3136 座,而且还有 1518 座污水处理厂在建,城市污水处理率达到 50%^[1-2],在污水得到净化的同时,污水生物处理的副产物——剩余污泥的产量也在迅速增加。据统计,目前我国每年的污水处理量超过 400×10^8 吨,而且

每年产生的污泥 3000 万吨以上(按含水率 80%计算),且这一数据在以每年 10% 的速度增长^[3-4]。据 LOW E.U.等人统计,在欧美国家,污泥处理的基建费用占总基建费用的 60%~70%^[5],我国污泥处理费用占污水处理厂运行费用的 20%~50%,而且污泥的处理是一个长期工程,如此巨大的消费对污水处理厂和地方政府来说是一个巨大的负担。

1.1.2 剩余污泥组成及其危害

剩余污泥的组分复杂,其主要成分是水,固体组成主是微生物菌体和泥沙,污泥中含有大量的有毒有害物质,如:病毒、重金属及其化合物、盐、寄生虫和致癌致病的有机化合物。污泥的不正当的处理与处置方法都会对环境或者人类健康带来危害。对于剩余污泥的主要危害主要体现在以下几个方面:1) 污泥随意堆放会占用大量的土地,造成土地的浪费;2) 土壤养分的大量流失和盐碱化;3) 重金属富集农作物中造成的食品安全问题;4) 污泥淋洗液进入水环境引起水源污染;5) 污泥中病原菌引起人、畜健康问题等。剩余污泥合理的处理与处置是不得不完成的任务。

1.1.3 国内外传统污泥处理与处置方法

据统计,截止 2010 年,我国污泥的利用与处置现状如表 1-1^[6]:

表 1.1 我国污泥利用与处置情况表

Table 1.1 The table of sludge utilization and disposal in our country

污泥农用	填埋	其他处理	未处理
45%	30%	10%	15%

剩余污泥随意的堆放具有一定的危害性,为防止剩余污泥的二次污染,国内外研究了多种污泥处理处置方法,来减少污泥带来的危害。剩余污泥常见传统的处置方法有污泥农用、污泥焚烧、污泥填埋等。

1) 污泥农用:污泥农用主要是将污泥厌氧发酵,由于污泥中含有大量的 N、P 等元素,发酵后的剩余污泥不仅增加了污泥中易被植物吸收的物质,同时还可以去除污泥中部分病原菌和重金属。污泥经过发酵后可以用于园林绿化,增加林木肥料,或者直接作为土地肥料。污泥农用是欧美当西方国家重要的污泥处理方式之一。据统计^[7],早在上世纪末,英国的污泥农用比例就达到 55%,法国利用比例达到 50%,利用率最高的是葡萄牙,污泥农用率高达 80%。由于污泥中的 Cu、Cr、Ni 等重金属不能被有效的去除,根据《农用污泥中污染物控制标准(GB4284—84)》中土地重金属含量标准,污泥堆肥在土地利用上有很大的局

限性^[8-10]，现在我国的污泥农用技术仍然存在很多技术障碍，无法保证处理后的污泥营养成分均衡和有害物质有效去除，因此，我国污泥农用无法大规模实施。

2) 污泥卫生填埋：污泥卫生填埋是许多国家污泥处置的主要方式之一，相较于其他处理办法，该方法具有操作方便、工艺简单、投资少等优点。由于剩余污泥与固体废弃物相似，剩余污泥的填埋方式与垃圾填埋方法基本相同。上世纪，卫生填埋是欧美国家的主要处理方式之一，但是由于污泥填埋会引起土地浪费，若处理不慎极易对土壤造成二次污染，影响地下水水质，所以近年来欧美许多国家关闭了大量的污泥填埋场，我国也在积极找寻其他可替代方法。

3) 污泥焚烧：污泥焚烧是最为彻底的污泥处置方式。污泥焚烧可减少污泥中固体成分，消除污泥中的病原菌和有害有机物。近年来，污泥焚烧处理成为欧洲国家增长最快的处置方式。由于现在污泥焚烧工艺的改良，能量利用效率和集约化程度有了很大的改善，现代的流化床焚烧技术相较于传统的多炉焚烧手段，无论在经济性、卫生性，还是在运行成本及自动化管理等方面，具有越来越多的优势。但是较多的污泥热值无法达到要求，需要添加助燃剂，焚烧过程耗氧量大，工艺程度复杂，运行成本较高，而且，污泥焚烧后的烟气含有大量的SO₂和NO_x污染治理难度较高，灰分重金属处置仍然是一个重要技术难题。我国在现阶段污泥焚烧上的应用仅为3.5%，远远低于西方国家的20%^[11-12]。

4) 其他的污泥处理处置方法：污泥填海是上世纪污泥处理和处置的主要方法之一，被沿海的一些城市广泛使用。近年来近海海水水质恶化，赤潮频发，海生生物大量死亡，绝大部分发达国家已经严厉禁止污泥填海行为，我国也于1994年禁止海上处理废弃物这一污泥处理方式^[13-15]。

1.1.4 新型的剩余污泥处理与处置方法

污水处理厂剩余污泥的产生量是巨大的，由于传统的污泥的处理与处置主要集中于对已经产生的剩余污泥的处理，剩余污泥按每年10%的速度增长，那到2020年，每年国内剩余污泥总量将达到7000万吨（按80%计算）以上，这样庞大的数字对于传统的处理方法是一个巨大的负担。随着技术的发展，现阶段对剩余污泥处理与处置新兴的研究方向主要分为两部分：1) 污泥资源化；2) 污泥减量化。

1) 污泥资源化：是利用物理、化学或者生物法将污泥中有用的物质提取或者转化成为可利用的资源的污泥处置新方法。现阶段污泥资源化利用方法主要有用剩余污泥提取生物质油^[16]，污泥制氢^[17]，污泥作为制造建材的材料使用^[18]，污泥蛋白质的回收利用等。污泥资源化是污泥处理或处置中可以实现盈利的处理办法，随着污泥处理技术的发展，污泥资源化将是污泥处置的最终方向。

2) 污泥减量化: 通过物理、化学或者生物技术处理污泥, 实现污泥的产生量减少。减少污泥产生量主要通过以下途径来实现: 1、通过污水处理工艺改进或者改变处理条件来减少微生物的合成量; 2、促进微生物的氧化、分解; 3、通过生物对微生物的捕食减少微生物的总量。根据不同的途径, 近些年对污泥减量化的技术可大致分为三类: 代谢解耦联技术、强化隐性生长技术、生物捕食技术。

由于现有的污泥资源化和减量化技术不成熟, 投资费用高等因素影响而处于研究阶段。如何更好、更简便、高效和低投入的处理污泥成为现在研究的主要方向。

1.2 剩余污泥提取蛋白质的应用前景

随着人类对污染物治理认识的加深, 人类对废弃物的态度也在发生改变, 从处置废弃物, 到从源头上消减废弃物, 及对废弃物的综合利用。在剩余污泥资源利用方面人们发现对待污泥还有许多其他方面的方法, 如近年来人们研究如何减少污泥中的自由水与间隙水来减少污泥的含水率, 从而减少污泥的体积, 荷兰某污水处理厂利用隐性生长技术将处理后的剩余污泥回流至生物反应池来增加进水水质的营养成分, 减少碳源的投加量, 减少剩余污泥的产出, 进而实现污泥零排放。我国对污泥的处理与处置起步较晚, 国内基本上仍采用传统的污泥处置工艺, 21 世纪初, 随着西方对污泥处置技术的发展, 新的观念与技术传入国内, 进而带动了国内对污泥处置新技术的研究。

20 世纪 80 年代, 白色污染严重, 可降解的日用品、餐具等的研究日益增加, 蛋白质作为可生物降解物质也作为工艺原材料广泛使用, 而污泥的主要固体组成主要是微生物、原生动物、后生动物、藻类、泥沙等, 前四类成分都是生物成分, 微生物中含有大量的蛋白质。若能从提取蛋白质, 不仅可以减少剩余污泥排放量, 同时可以将其变废为宝。据资料和近些年来的研究方向, 污泥蛋白质具有广泛的应用前景, 但近些年的研究却属于起步阶段, 现阶段的已做出的研究及工程应用主要集中在以下几个方面:

1.2.1 污泥蛋白质作为饲料添加剂使用

污泥蛋白质作为饲料添加剂主要考虑的是污泥蛋白质安全性, 然后考虑蛋白质营养性以及含量的问题。Chishtia 于 1992 年就对污泥中蛋白质可用于饲料的可行性进行分析, 并提出作为饲料的基础是安全性, 1997 年 Tanaka 等人研究发现生活污水剩余污泥中含有超过 40% 的蛋白质, Clevenger(1990)研究发现, 污泥中 70% 的粗蛋白质以氨基酸形式存在, 各氨基酸之间相对平衡, 对污泥可成为蛋白

质提取的原材料提供可靠依据^[19-21]。赵顺顺、孟范平等研究发现剩余污泥提取的蛋白质具有较大的营养价值 and 安全性，由于超声波、碱、酸等处理可以有效杀灭污泥中的病原菌，在对处理后蛋白质沉淀物用 SOLAAR-M6 型火焰一石墨炉原子吸收光谱仪检测其中重金属含量极少，Cu、Pb、Zn、Cd 等金属均具有较好的去除效果，其均符合国家对食品添加剂标准中对各重金属规定值。沉淀物中蛋白质含量在 80% 左右，沉淀的蛋白质大部分以氨基酸形式存在，而且氨基酸中有 7 种生物必须氨基酸和 8 种非必须氨基酸，对蛋白质的营养价值进行有所保证^[22-24]。因此污泥蛋白质作为饲料添加剂是可行的而且随着技术的进步对污泥蛋白质可食用的研究也会越来越多。

1.2.2 污泥蛋白质应用于泡沫灭火剂

污泥蛋白质作为泡沫灭火剂的研究是在近几年内才发展起来的，而且各国对这方面的研究仍然较为稀少。在 2004 年湖北大学李亚东^[25-26]等人对剩余污泥蛋白质进行研究，在不同预处理条件下所得蛋白质的灭火效果不同。蛋白质泡沫灭火剂具有可靠性大、安全系数高等优点，而且其粘度、发泡倍数、灭火时间、抗烧时间等各项指标完全可以达到国家对灭火器各项标准规定数值，在灭火过程中以及在灭火之后，对火场的保护性能优良，它有良好的生物降解性，相对于传统 NaHCO_3 等泡沫灭火器，蛋白质制备的灭火器是现阶段唯一可以完全降解的灭火剂材料，对环境危害降到最小。泡沫灭火器是可降解灭火材料的发展方向，由于对污泥蛋白质制作泡沫灭火剂的研究起步晚，近年来其研究仍然处于起步阶段，因此污泥蛋白质应用于泡沫灭火剂具有很大的发展前景。

1.2.3 污泥蛋白质应用于混凝土发泡剂

随着社会发展，环保观念的提高，以及国家对于耕种土地的保护，近年来烧制砖类的减少导致泡沫混凝土类建材的需求量急剧正价，发泡性能的好坏以及泡沫稳定性的优劣是泡沫混凝土的性能的重要影响因素。发泡剂主要是具有表面活性剂或者表面活性的物质，表面活性物质包括动物蛋白、植物蛋白、纸浆废液等，通过对污泥的组成研究，污泥中含有大量的微生物、原生动物和藻类，而且污泥中具有较高的蛋白质含量，这为污泥可以作为发泡剂的蛋白质提取原料提供依据。李军伟等^[27-28]在活性污泥蛋白质浓度为 2% 时，发泡剂的发泡性能和泡沫稳定性较好，在与适当浓度的十二烷基苯磺酸钠复配发泡液制备泡沫，制备出来的泡沫混凝土砌块在抗折强度和抗压强度上均能满足《泡沫混凝土砌块》(JC/T1062—2007) 标准规定的要求，试验结果表明污泥蛋白质作为混凝土发泡剂是可行的，也是污泥资源化利用的可行方向之一。

污泥作为废弃物却能够得到有效利用对环境和经济来说都具有重大意义,随着研究的深入,污水处理厂剩余污泥的应用将会更广泛,利用价值将会更高。

基于以上分析,本课题拟提出以城市污水处理厂的剩余污泥为研究对象,提取其中蛋白质,将剩余污泥这一废弃物进行资源化利用。现阶段制约污泥蛋白质综合利用的主要因素是蛋白质难以大量提取,以及技术和资金投入过高,若蛋白质大量提取能得以实现,这不仅能大大减缓污泥处置的难题,同时可以在一定程度上缓解当今能源危机及资源紧缺的趋势,因此污泥的资源化具有较大的研究意义。

1.3 剩余污泥中蛋白质提取技术现状

随着科技的发展,传统的污泥处理与处置技术已经无法满足世界科研人员对环境和资源的要求,因此近年来各国专家学者将视野放到污泥减量化和资源化方面的研究上来,尤其是近十几年来,对污泥蛋白质提取技术的研究取得较大进展,现在国内外对污泥提取的技术的研究主要在以下几个领域:化学法、物理法、生物法以及多种方法耦合法。

1.3.1 化学方法提取污泥中蛋白质

化学法是利用化学试剂在适当的条件下,使细胞破碎,细胞中的蛋白质释放出来,从而实现污泥蛋白质提取的方法,是主要的污泥蛋白质提取方法之一。常见的化学方法有酸水解法、碱水解法、高级氧化法。对于污泥采用不同的处理方法,污泥蛋白质的提取率也不尽相同。Chishtietal 采用氢氧化钠与氯化钠在单独或联合作用下对污泥进行处理,从污泥中提取出蛋白质,而且氢氧化钠中加入少量的氯化钠提取率更高些。Lerchetal 等分别采用水、曲拉通 X-100 以及氢氧化钠溶液从干燥的污泥中进行了蛋白质的提取研究,发现污泥中蛋白质可以被提取出来,而且蛋白质更容易被碱性物质所提取出来,而国内在 2000 年后国内在西方学者研究的基础上对处理技术上的改进也取得较好结果^[29-31],污泥破解后的溶液中的溶解性有机物的主要成分为蛋白质、碳水化合物和挥发性脂肪酸(三者之和约占总量的 80%~90%),蛋白质有较高的提取价值,其中肖本益^[32]等在对酸碱处理的比较,对 SS 与 VSS 的减少量进行比较,其中件处理的污泥减少量为 25.32%和 38.84%,而酸解处理的减少量仅为 9.05%和 1.80%。化学处理技术主要的试剂包括盐酸、硫酸、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、臭氧、ClO₂ 等。周丽丽^[33]等,根据两种不同的碱(NaOH、Ca(OH)₂)相互配合在不同 pH、温度、时间条件下蛋白质的提取率达 60.03%,在增加蛋白质提取绿的同时可以减少的

碱的使用量。崔静等^[34],利用热碱溶液处理剩余污泥得到较高的蛋白质提取率。但是由于向污泥中投加化学试剂使的污泥的沉降性能、脱水性能都受到影响,因此各国学者都在寻求可以减少化学试剂的用量与减少对污泥性能的影响并且可以更好的提取蛋白质的效率上来。

1.3.2 物理方法提取污泥中蛋白质

物理法主要是利用外界的机械能或者热能作用于微生物的细胞壁和细胞膜,导致细胞内物质最大程度的释放,从而实现最好的提取效果。物理方法包括传统的机械法和非机械法,包括匀浆、研磨、压榨、超声、热解、微波处理等。现在国内外研究最多的组要是超声波溶胞技术、热解和微波热解技术。超声波技术是现阶段研究较多的方向之一,超声波技术是利用高频率(20KHz-500MHz)声波在液体中产生的“空穴”作用,形成极端的物理和力学条件,在溶液局部地区形成高温、高压以及巨大的横向剪切力作用使细菌细胞壁击破,胞内物质释放到外环境中。超声波技术最早是应用在污泥减量化技术方面,20世纪60年代,欧洲一些污水处理厂利用超声波技术处理剩余污泥,并将处理后的污泥回流至反应池来增加碳源,同时实现污泥的减量化。1998年开始,在以德国汉堡工业大学的奈斯教授为首的一批研究人员的努力改进原有的污泥减量技术,使得能量的投入产出比得到显著下降。上世纪90年代后,德国、英国、美国等许多西方国家的污水已安装并使用该技术,但是在超声应用于污泥资源化(如提取蛋白质)但研究才于90年代开始^[35-36]。近些年来相玉林、张卫江等^[37]对超声波在污泥提取蛋白质方面的应用进行专项研究,在超声辐射20min, pH=12,电流强度0.7A的情况下,蛋白质提取率达到73%。近年来,国内关于超声处理蛋白质的研究如雨后春笋般越来越多,科研成果可见一斑^[38-40]。微波技术处理和热解在处理原理上相同,都是利用加热使微生物受热膨胀导致生物细胞破碎,使胞内的蛋白质、胶质、矿物质以及细胞碎片,从而实现提取目的,一般的热解温度在165—180℃之间。赵连梅等研究表明,相对于普通热解,微波处理利用微波强劲的穿透力使污泥的各部位得到均匀加热,效果更好,同时蛋白质提取率随着温度的升高而增加,同时相应的处理时间也减少^[41]。

1.3.3 生物法提取污泥中蛋白质

生物法又叫酶解法,是向污泥中投加能够分泌胞外酶的细菌或者直接投加溶菌酶等酶制剂(抗生素)等物质水解细胞壁,以达到溶胞的目的的处理方法。Azize Ayol^[42]向污泥中投加溶菌酶使其达到10mg/L,污泥中的游离的固体颗粒的含量占聚合体的比例由处理前的26%提高到48%,说明酶制剂能有效溶解污泥

中的细菌等成分。武汉理工大学的梁艳^[43]用酒曲对污泥进行处理, 结论显示: 酒曲种类、酒曲投加量、温度都对污泥的处理效果有较大影响, 在处理温度为 35℃、米酒曲、酒曲含率为 10% 条件下, 污泥中的 SCOD 在第五天时达到 3723mg/ml, SS 减少量达到 9.54%, 污泥出现较多的溶胞现象, 其中酒曲投加量相较于其他因素影响因子较大。王伟怡^[44]采用静态试验考察脱水污泥、浓缩污泥、在投加与不投加 10% 米酒曲(按含固量计)并在 30±1℃ 环境下厌氧发酵的结果对比, 投加酒曲的明显酵解效果好, 结果显示投加酒曲的污泥 SCOD 增加了 74%。虽然生物处理污泥具有较高的污泥破解效果, 但是许多的酶制剂对污泥中的蛋白质、多糖、DNA 等成分也有水解效果, 使提取的蛋白质含量较少, 因此, 生物法应用于污泥提取物的研究较少。

1.3.4 耦合提取污泥中蛋白质

由于对单独的化学处理方法取得的效果并不理想以及对最优良效果的追求, 国内外学者将视线转移到各种不同的处理技术耦合在一起方面的研究中。Chishtietal^[45]利用氢氧化钠与氯化钠耦合一起处理剩余污泥, 发现在氯化钠与氢氧化钠耦合处理污泥提取蛋白质时较单一氢氧化钠处理提取率有所提升。Dong-Hoon Kim^[46]等人对碱和超声波前处理的结合对污泥分解的影响进行研究, 结果显示耦合后的效果相对于某一单独处理方式的蛋白质提取率高出少许。Julien Laurent^[47]等人研究超声波和高压、热处理和臭氧、物理处理耦合的试验条件进行处理污泥, 结果显示不同的耦合处理方法具有不同的处理效果, 热处理与臭氧的耦合效果更好些。国内对耦合技术的研究虽比国外晚一些, 但是也取得了巨大进展, 现在主要的耦合包括以超声波为主的耦合技术和以热为主的耦合技术, 其中超声波为主的耦合技术包括超声波酸解耦合、超声波碱解耦合、超声波热解耦合、超声波氧化剂耦合、不同频率的超声波耦合^[48]等, 以热为主的耦合技术包括热碱耦合、热酸耦合、微波酸耦合、微波碱耦合、微波臭氧耦合等技术。崔静、董岸杰^[49]等在研究热与碱的耦合条件下 (pH=13、T=140℃) 时得到 61.37% 的蛋白质提取率, 其中 pH 相较于温度来说影响更大; Pham、宫常修^[50-51]在研究超声波与 Fenton 氧化剂耦合的情况下污泥中的 SCOD 增加量超过 5 倍 (单纯的 Fenton 氧化结果仅为 2.6 倍), 效果明显强于单纯的氧化处理; 毛艳萍、刘广益^[52-57]等人在近些年的研究表明耦合技术对污泥破解的效果的影响因素较多, 而且不同的污泥影响因素不尽相同, 但是相对而言耦合工艺处理污泥用于提取蛋白质的效果明显好于单一条件处理。秦晓等在研究中均发现, 在单纯的化学条件处理条件下, 污泥破碎效果不明显, 然而在高温 (121℃ 左右) 与各种化学处理方法耦合条件下, 污泥破碎效果有很大提升, 污泥蛋白质提取率均达到 60% 左右。

综上所述, 目前单独的物理、化学和生物方法均可实现从剩余污泥中提取蛋白质, 但是存能耗高和药耗高, 效率较低的问题。耦合技术如果运用得当, 不仅可以在降低能量和药品添加量的同时还可以大大提高污泥蛋白质的提取效率, 且采用基于热解的耦合技术和基于超声波的耦合技术在效率上普遍较高。因此, 耦合技术是现阶段国内外污泥蛋白质提取的热点方向。

各种不同的剩余污泥蛋白质提取技术, 由于技术方面存在许多问题, 目前世界各地仍处在试验研究阶段, 很少有实际工程应用。化学法处理后的污泥存在沉降性能、脱水性能以及酸碱性等方面的不同改变, 而这些都没有得到解决, 对于机械类处理方法存在设备组建问题、能耗问题、成本问题、设备腐蚀、磨损问题以及操作复杂问题等。

另外, 据文献报道^[58-60]采用蛋白质提取技术处理剩余污泥后, 提取过蛋白质的上清液仍含有部分 SCOD。而我国城市污水处理厂采用的生物工艺中, 普遍存在着碳源不足的问题^[61-63], 对于这部分 SCOD 是否可作为生物工艺的有效补充碳源, 目前罕有研究。

因此, 基于以上污泥蛋白质提取技术现状, 结合当前城市污水处理厂普遍存在的问题, 本课题拟研究从剩余污泥中提取蛋白质的高效耦合方法, 并试图探讨城市污水厂补充碳源的新途径。

1.4 蛋白质的测定及其提取技术现状

现阶段的污泥处理方法都具有一定效果, 然而, 如何快捷、简便、准确的测量蛋白质是得出处理方法优良的前提。蛋白质主要是根据蛋白质的性质和成分来测量的, 可分为两大类: 第一类根据蛋白质分子中含氮量、肽键和折射率等测定蛋白质的含量, 即利用蛋白质分子的共同特性来测量蛋白质含量; 第二类是根据不同的蛋白质分子中含有特定的氨基酸残基或者芳香基团等测定蛋白质的含量, 即利用蛋白质分子部分特性来测量的。现在蛋白质常用的测量方法包括以下种:

(1) 凯氏定氮法^[64-65]: 凯氏定氮法是国标法测定蛋白质的标准方法之一。由于蛋白质是含氮化合物, 而且蛋白质的含量与含氮量有换算关系(蛋白质的含量=含氮量 \times 6.25), 所以可以利用物质含氮量来计算物质蛋白质含量。凯氏定氮法是将含蛋白质物质与 98%浓硫酸和五水硫酸铜及硫酸钾混合物加热, 蛋白质分解并与溶液中的硫酸反应生成硫酸铵, 硫酸铵与定氮蒸馏装置中碱溶液反应生成游离态的氨, 游离态的氨用硼酸吸收后再以盐酸标准溶液滴定直至溶液变色, 根据盐酸的消耗量计算出物质含氮量从而计算出蛋白质的含量。由于物质中蛋白质含量、测量的仪器装置和试剂用量的不同, 一般可将凯氏定氮法分为常量法、

半微量法和微量法。由于凯氏定氮法具有测量方法简便，应用范围广（可用于固体物质和溶液中蛋白质的测定），试验费用低，测量准确等优点而得到广泛的应用。

(2) 考马氏亮蓝法^[66]：考马氏亮蓝法是 Bradford 于 1976 年研究并开发的蛋白质测量方法。Bradford 利用染料（考马氏亮蓝 G-250）与蛋白质结合生发生颜色反应，成新的物质，导致蛋白质的最大吸收波长由 488nm 提升至 595nm，由于吸光度与蛋白质浓度存在线性关系，因此可以利用吸光度计算出蛋白质含量。考马氏亮蓝法测量灵敏度高，测量蛋白质范围大（0~1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ），操作简便，影响因子少，反应迅速等优点，是现阶段蛋白质含量测量的主要方法之一。

(3) Folin—酚试剂法^[67]：Folin—酚试剂法是 Lowry 最先提出的蛋白质测量方法，其原理主要是在碱性条件下，利用蛋白质分子与 Folin 试剂中的铜离子结合发生显色反应，生成蓝色复合物，蓝色的深度与蛋白质的量成正相关关系。Folin—酚试剂法由于干扰因素多，试剂难以制得等因素影响，正慢慢被其他方法取代。

(4) 双缩脲法^[68]：双缩脲法是利用双缩脲试剂与待测物在碱性条件下加热，双缩脲试剂中的二价铜离子与物质中肽键结合生成紫色物质，蛋白质的含量与溶液颜色的深浅成正比例关系，溶液吸光度越高，蛋白质含量越高。双缩脲法的蛋白质测量范围为 1000—10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，不同的蛋白质检测差异较小，不存在氨基酸、肽键的影响，但是双缩脲法的灵敏度低，测量时的样品需求量大，测量范围窄，限制了此法的应用范围。

除了上面介绍的几种常用的蛋白质测量方法外，还有一些常接触到的蛋白质提取方法，如：紫外-可见分光光度法^[69]、水杨酸比色法^[70]、荧光探针法^[71]、近红外透射光谱法^[72]，罗丹明 6G 生物探针法^[73]等。种类繁多的蛋白质测量方法为蛋白质的准确测量提供了技术保证，各种方法都会存在各自的优缺点，在检测结果较为准确的基础上实现费用的最节约化是一般试验追求的最佳方法。此节对蛋白质检测方法做了些许介绍，为试验的选择提供帮助。

1.5 本课题主要研究目的及内容

1.5.1 研究目的

污泥蛋白质具有一定的研究价值和利用价值，由于现有的蛋白质提取方法存在诸多不便导致污泥蛋白质提取仍然处于实验室阶段，本研究拟在现有的国内外蛋白质提取方法的基础上，探讨新的蛋白质提取技术，对该技术的可行性及优缺点进行分析，并对蛋白质提取工艺条件进行优化。蛋白质提取后的污泥上清液是

否具有再利用价值实现物尽其用,本试验在后期分析污泥蛋白质提取后上清液的可生化性能,对蛋白质提取液可否作为低碳氮比污水补充碳源进行分析研究,为剩余污泥资源化利用,从试验室走向实际应用,提供一条新的途径。

1.5.2 研究内容

(1) 测量原始污泥基本数据;对污泥进行洗涤并干燥,测量干污泥中蛋白质总量,为后期试验对蛋白质提取率的计算提供依据。

(2) 采用酸解、热解、酸与热解耦合的方法处理剩余污泥,根据蛋白质提取率优化试验条件,得出最佳反应条件,为后期新剩余污泥蛋白质提取工艺提供对比参照。

(3) 采用过氧化氢法、超声波与过氧化氢耦合法处理剩余污泥,根据蛋白质提取率分析提取方法的可行性,并优化提取条件,为后期试验提供依据。

(4) 超声波耦合盐法处理剩余污泥,根据蛋白质提取率分析提取方法的可行性,并优化试验条件,为后期试验提供依据。

(5) 将最佳处理工艺处理好的污泥上清液分离提取蛋白质,上清液投加污泥反应装置内进行培养,根据试验数据的变化验证污泥蛋白质提取后的上清液作为补充碳源的可行性进行分析。

1.5.3 课题的创新点

(1) 对于基于热的剩余污泥中提取蛋白质耦合技术、基于超声波的剩余污泥中提取蛋白质耦合技术进行了较为全面、系统的研究,探讨新的提取工艺的可行性。

(2) 提出对蛋白质提取后的剩余污泥上清液,作为城市污水处理厂的补充碳源,探讨了其可行性。

第 2 章 试验材料和试验方法

2.1 前言

武汉市是中国中部地区的经济、文化、教育中心，总人口超 1000 万，城市人口超过 500 万，成为我国 16 座特大城市之一。据统计，截至 2014 年初，武汉市共建成污水处理厂 21 座，设计处理能力为 224.75 万吨/日，实际污水处理量为 178 万吨/日，其中以汉西污水处理厂的日处理能力最大（40 万吨）。城市污水处理厂的主要处理工艺仍然为活性污泥工艺，生物法必然会产生剩余污泥，按照城镇污水处理厂产污系数，处理每万吨污水残生 5~6 吨湿污泥，武汉市的污水处理厂每天将产生 800~1000 吨剩余污泥。目前，除了龙王嘴污水处理厂和汤逊湖污水处理厂每天产生的剩余污泥用于水泥生产综合利用外，其他剩余的近千吨剩余污泥都无法得到妥善的安置。现我国的主要的污泥处理与处置方法是卫生填埋，但是由于卫生填埋的投资和土地占用较大，剩余污泥的运送至垃圾填埋场填埋的费用过高，因此，较多的污水处理厂将剩余污泥运送至郊外农田或者池塘随意倾倒。据报道，2010 年武汉市某污水处理厂将剩余污泥就近投入附近湖泊，导致该水体富营养化严重，水体恶臭，鱼类大量死亡等现象，对周围市民的生活带来严重影响；近年，武汉共建有 5 座垃圾焚烧厂，有部分剩余污泥运至焚烧厂焚烧，这样可以有效减少剩余污泥量，同时可以减少土地浪费，但是焚烧处理费用过高，焚烧产生的有害物质若得不到有效处理会引起大气二次污染。据 2014 年武汉地区报道，由于垃圾焚烧厂因管理不规范，垃圾焚烧产生的烟气中含有大量的致癌物逸散，导致周围村庄数十人患得癌症，对周围人群的健康及生存带来巨大灾难。现有的污泥处理与处置方法不仅会带来土地浪费、高投资、大气污染、水体二次污染，还会对人类的身体健康带来危害。若污水处理厂产生的剩余污泥产量能够减少或者得到有效的资源化综合利用，不仅对环境污染起到一定的改善作用，同时还可以减少污水处理厂污泥处置成本。

污泥被称为“被错误放置的资源”，然而现有的污泥处置基本上都是将污泥作为废弃物、垃圾来处置，造成“资源”的浪费。本文首先对武汉市沙湖污水处理厂剩余污泥采样分析，然后对这些“资源”的资源化利用的可行性及其减量化进行研究，得出较合理的污泥综合利用方法。

2.2 试验材料

2.2.1 试验污泥来源

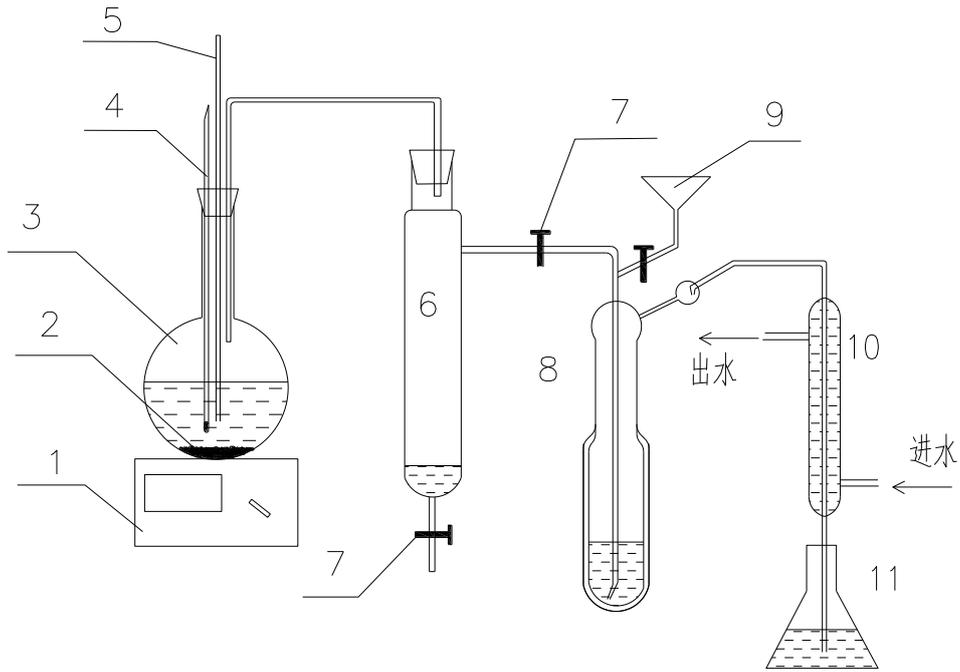
本试验污泥来源于武汉市沙湖污水处理厂，该污水处理厂最早于 1990 年投入使用，处理的污水中生活污水占 75%，工业废水占 25%，污水组成具有一定的代表性，而且水厂运行时间长、运行稳定、处理效果好；经过三期建设，现处理能力为 15 万吨/日，污水处理厂二级处理采用 A²/O 和倒置 A²/O 工艺，污泥产生率较高，生物组成丰富，可做为试验材料。试验污泥采样点分为两个：第一个为污泥提升泵房未抽至污泥重力浓缩池前的活性污泥，污泥静置重力浓缩；第二个为污泥浓缩车间的污泥传送带出口处，取样为污泥浓缩后的泥饼。将第一取样点的污泥在实验室自制设备内驯化培养待用；将第二取样点下的剩余污泥放置于 4~6℃冰柜中冷藏保存待用。

2.2.2 试验所用药品及玻璃仪器

本试验过程中所用到的化学药品及基本玻璃仪器如下：98%浓硫酸，五水硫酸铜，无水碳酸钠，硼酸，考马氏亮蓝 G250 试剂，硫酸钾，盐酸，牛血清蛋白（BSA），(NH₄)₂SO₄，葡萄糖、KH₂PO₄、甲基橙，亚甲基蓝所有药品纯度均为分析纯，器皿包括坩埚、25~50ml 试管、50-200ml 烧杯、研钵、250ml 定氮瓶、漏斗、50ml 离心管、10ml 离心管、10ml 比色管、移液管等。

2.2.3 试验设备

主要仪器设备：TDL-80-2B 低速台式离心机（240ml、4000r/min），HH-6 数显恒温水浴器、DGX-9423BC-1 干燥箱（RT+10~300℃、4800W），压力蒸汽灭菌器（0.24Mpa、93ml、150℃），BS323S 电子天平，PHS-25 型酸度计（上海伟业仪器厂），SP-1920 型紫外可见分光光度计（上海光谱仪器有限公司），半微量凯氏定氮蒸馏装置（见图 2.1）、20~200ul 与 100~1000ul 大龙移液器（北京卓信伟业科技有限公司）、KS-1200 型超声波细胞破碎仪（宁波海曙科生超声设备有限公司，功率 1200w、频率 20KHz、处理量为 10~1000ml，见图 2.2）、YN-2D-Z 不锈钢断水自控电热蒸馏水器（10L/h）、HP-100 型电磁振动式空气泵、HJ-5 电动加热搅拌器（金坛市晓阳仪器厂）、电炉等。



1-电炉 2-沸石 3-凯氏烧瓶 4-温度计 5-安全管 6-汽水分离管
7-橡皮管夹 8-蒸馏器 9-进样漏斗 10-冷凝管 11-吸收瓶

图 2.1 半微量凯氏定氮蒸馏装置示意图

Fig. 2.1 Semi micro Kjeldahl distillation device Schematic diagram of experimental set-up



图 2.2 KS-1200 超声波细胞破碎仪

Fig.2.2 KS-1200 ultrasonic cell disrupter

2.3 检测项目和检测方法

试验过程中所用到的检测项目和检测方法如下：

污泥含水率：采用国标法（CJ/T 221-2005）测定^[74]，

$$\text{污泥含水率：} w = \frac{W_{\text{湿污泥质量}}(g) - (W_2 \text{干污泥与坩埚总质量}(g) - W_1 \text{坩埚质量}(g))}{W_{\text{湿污泥质量}}(g)} \times 100\%$$

2、蛋白质含量：本试验中蛋白质检测包括两个方面内容，第一为污泥固体，采用国标 GB5009.5-2010^[64]中凯氏定氮法测定；第二部分为离心并过滤处理后的蛋白质溶液，采用 Bradford 法^[66]测定。

$$\text{干污泥中蛋白质的含量：} \omega_1 = \frac{W_1 \text{原污泥中蛋白质总质量}(g)}{W \text{干污泥总质量}(g)} \times 100\%$$

$$\text{蛋白质提取率：} \omega_2 = \frac{W_2 \text{提取液中蛋白质总量}(g)}{W_1 \text{原污泥样品中蛋白质总量}(g)} \times 100\%$$

3、污泥 pH 值：采用上海伟业仪器厂 PHS-25 型酸度计测定。

4、污泥溶液 SCOD 值：SCOD 为溶于水中的 COD，采用国标法(GB11914-89)测定^[75]。

5、TN 和 TP：分别采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(HJ636-2012)^[76]和钼酸铵分光光度法(GB 11893-89)^[77]。

2.4 试验方法

在试验前要将剩余污泥进行预处理，即用去离子水洗涤剩余污泥泥饼，静置后将上层的漂浮物撇去，多次洗涤去除污泥间隙中的游离氮和其他物质。洗涤后的剩余污泥加去离子水调节至含水率为 93%，将调节好的剩余污泥放置于温度为 4~6℃低温储藏柜中储存待用。

2.4.1 最佳离心条件的试验方法

以配制好含水率的剩余污泥为试验样品，将其放置于大试管中，pH 调至指定数值，用橡胶塞密封并混合均匀，在适当温度下处理一定时间，处理结束后冷却。将处理好的剩余污泥溶液移至 10ml 离心管中，将其在不同转速下离心不同时间，测试不同离心机转速及离心条件下蛋白质提取效果，得出最佳的污泥离心调件。

2.4.2 热解处理剩余污泥提取蛋白质试验方法

称取一定量配制好的剩余污泥置于 50ml 离心管中并且混合均匀,用离心管盖封好离心管,确保离心管中有一定的压力能使管内环境温度达到高于 100℃ 的高温。将处理好的离心管放置于调节好温度的 DGX-9423BC-1 干燥箱中,放置 10 分钟后开始计时(根据试验在密封条件下,将污泥样品加热到试验温度需要 7~10 分钟)。试验处理结束后将离心管置于冰水中迅速冷却,将常温状态下的污泥处理液移入 10ml 离心管中,用 TDL-80-2B 低速台式离心机离心,离心后的上清液用 0.4 μ m 孔径滤膜过滤,过滤后的液体用 Bradford 法测定提取液中蛋白质含量,并计算出蛋白质提取率。

本试验主要考虑不同的处理温度和处理时间条件下剩余污泥蛋白质的提取效果,与后面试验结果进行对比,得出较优处理条件。

2.4.3 酸处理剩余污泥提取蛋白质试验方法

量取一定量配制好的剩余污泥置于 50ml 取样管中,用硫酸调节污泥溶液的 pH 至指定值并且混合均匀,将离心管盖子旋紧在 HH-6 数显恒温水浴器中恒温震荡,当温度达到试验温度时开始计时,试验结束后将离心管冷却并且将处理好的剩余污泥移至 10ml 离心管中,把离心后的污泥上清液过滤,然后用 Bradford 法测定提取液中蛋白质含量,并且计算出蛋白质提取率。

2.4.4 酸与热解耦合法提取剩余污泥蛋白质试验方法

量取一定量配制好的剩余污泥置于 50ml 取样管中,用硫酸调节污泥溶液的 pH 至指定值并且混合均匀,将离心管盖子旋紧在调节好温度的 DGX-9423BC-1 干燥箱中加热,当温度达到试验温度时开始计时。试验结束后将离心管冷却并且将处理好的剩余污泥移至 10ml 离心管中,把离心后的污泥溶液上清液过滤,然后用 Bradford 法测定提取液中蛋白质含量,并且计算出蛋白质提取率。

试验过程考虑处理的条件为 pH 值,处理温度 T,处理时间 t 三个条件,经试验得到最适宜的处理条件。

2.4.5 超声波法提取剩余污泥蛋白质试验方法

量取一定量配制好的剩余污泥放置于 200ml 烧杯中,搅拌均匀,在一定输出功率条件下用探头超声辐射污泥一定时间,将处理后的污泥溶液移至 10ml 离心管中,离心后的污泥溶液经过过滤后用 Bradford 法测量上清液中蛋白质的含量,并计算出蛋白质的提取率。

试验中超声波细胞破碎仪的输出功率为 1200W,频率为 20KHz,探头直径

6.3mm，输出功率范围为 5%~95%，有输出间隔调节和温度显示。试验时将探头深入液面下 1~1.5cm，液面深度一般大于 3cm。

试验考虑不同超声波输出功率和超声处理时间条件下蛋白质的提取状况，根据试验结果选出提取率较好的试验条件。

2.4.6 过氧化氢氧化、超声波与过氧化氢耦合提取剩余污泥蛋白质的试验方法

取一定量配制好的剩余污泥置于 200ml 烧杯中，向污泥溶液中投入不同体积的过氧化氢，一部分用搅拌器低速搅拌不同时间，另一部分在超声波细胞破碎仪最佳条件下处理，将处理好的剩余污泥离心，并用 Bradford 法测量蛋白质的含量，计算蛋白质提取率。

本试验主要研究在过氧化氢单一处理剩余污泥和在过氧化氢和超声波耦合条件下处理剩余污泥的最佳条件和最大蛋白质提取率。

2.4.7 盐耦合超声波法提取剩余污泥蛋白质的试验方法

取一定量配制好的剩余污泥置于 200ml 烧杯中，向污泥溶液中投入不同质量的 Na_2SO_4 固体，搅拌至污泥混合均匀，将污泥溶液用超声波细胞破碎仪在最佳处理条件下处理，处理后的污泥溶液经过离心过滤后，用 Bradford 法测量上清液中蛋白质的含量，并计算出蛋白质的提取率。

本试验主要考虑在超声最佳条件下通过投加不同量的 Na_2SO_4 固体对蛋白质提取率的影响，得出最佳的 Na_2SO_4 投加量。

2.4.8 污泥蛋白质提取后的上清液可生化研究的试验方法

首先是污泥的驯化培养部分：将取样点一处取得的活性污泥在实验室自制设备中培养，确保活性污泥成活、生长并且稳定。然后是污泥处理后上清液可否做为碳源使用部分：将最佳蛋白质提取条件下处理后的破解污泥溶液上清液作为碳源投入活性污泥培养装置中，每隔一定时间测量污水中 SCOD 含量，将每次测定的 SCOD 数值的变化进行分析，得到活性污泥对 SCOD 利用情况，确定活性污泥能否将污泥处理后上清液做为补充碳源使用。

第 3 章 不同预处理工艺对剩余污泥蛋白质提取的研究

3.1 前言

自第一座污水处理厂的建立至今已有 100 年的历史，随着城市的发展，城市对污水处理厂的需求量越来越多，规模越来越大。剩余污泥是污水处理厂产生的固体或者半固体状态的废弃物，由于剩余污泥成分复杂，随意排放会造成土地浪费，对环境造成二次污染，近年来，剩余污泥减量化和资源化利用已成为市政工程方面的研究热点。

现有的比较成熟的污水处理工艺有 MBR 膜生物处理工艺、SBR 工艺、A/O 工艺、A²/O 工艺和 Carrousel 氧化沟工艺等，由于生物处理法的稳定性和高效性，城市污水处理厂大都采用生物法处理工艺，其主要作用成分就是活性污泥，因此城市污水处理厂剩余污泥的固体组成主要是微生物还有一些原生动物、后生动物、藻类、泥沙等，前四类都是生物组成，一般情况下干燥的剩余污泥中往往含有重量高达 40% 的微生物，而生物中含有大量的蛋白质。本文使用样品为沙湖污水处理厂剩余污泥，沙湖污水处理厂采用 A²/O 处理工艺，据研究，好氧异养环境中革兰氏阴性菌为优势菌群^[78]，相对于革兰氏阳性菌，革兰氏阴性菌的细胞壁较薄，组成简单，肽聚糖层较薄，其外壁层主要由脂蛋白、脂多糖和磷脂层组成（具体见下图 3-1）。细胞膜内主要是细胞质，细胞质中包括线粒体、细胞核、酶、核糖体等内含物，主要化学成分是蛋白质^[80]。综上，剩余污泥中的蛋白质主要存在于细胞壁、细胞膜以及细胞质内，其中细胞质内含量最高，因此，要想提取剩余污泥中蛋白质就必须将蛋白质释放到外环境中，破坏细胞壁及细胞膜是唯一的可行途径，通过合理的物理、化学或者生物法使微生物发生融胞反应，使细胞内含物释放到水环境中，实现蛋白质的分离。

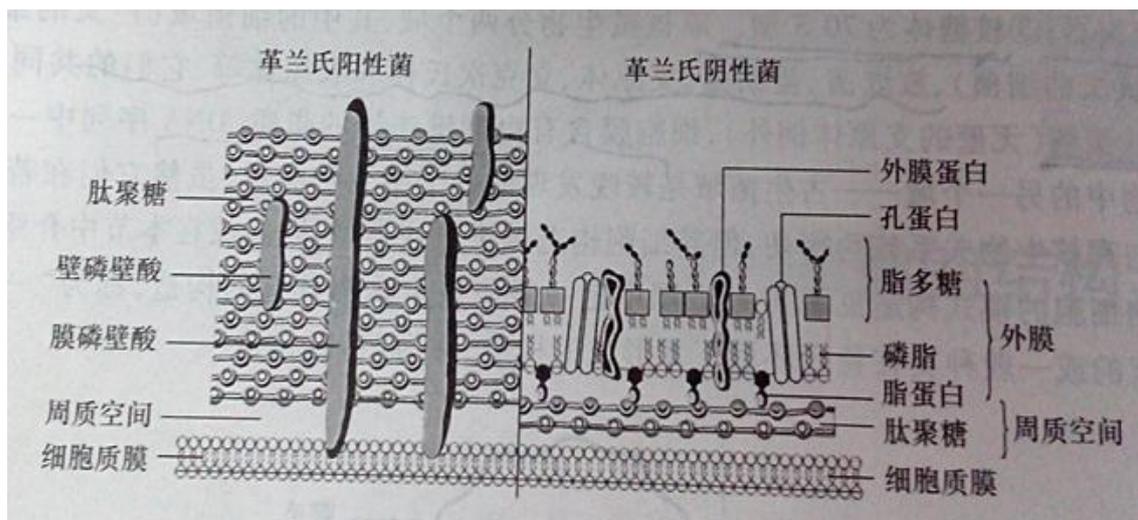
图 3.1 革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的细胞壁组成^[79]

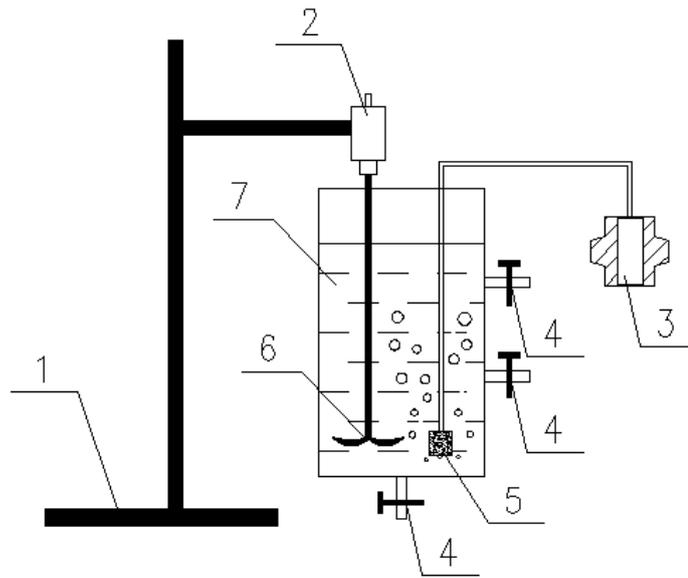
Fig. 3.1 composition of gram negative and gram positive bacteria cell wall

本节主要在研究剩余污泥在热解、酸解、热酸耦合、超声波、过氧化氢氧化及超声波与过氧化氢耦合、超声波与盐耦合的方法对剩余污泥进行融胞处理，通过试验数据分析，得出最佳的处理条件。本节还探讨超声耦合盐溶液对剩余污泥蛋白质的影响结果，确定盐对蛋白质的提取是否有促进作用。

3.2 试验前期准备

3.2.1 活性污泥

将取样点一处的污泥放置于自制试验装置中（见图 3-2）培养，容器容量为 25L，以葡萄糖为碳源，硫酸钠为氮源，磷酸二氢钠为磷源，按照 C:N:P=100:5:1（葡萄糖： $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ： KH_2PO_4 =1:0.236:0.044）的比例配置营养液，用搅拌器连续搅拌，装置内温度维持在 20~25℃（可适当加热），pH=7.2~7.8 左右，空气泵早开晚关。每天早晨开启空气泵前停止搅拌 30 分钟，将静置后的污泥上清液自中部阀门流出，打开试验装置底部阀门，去除少量污泥，然后加入营养液继续曝气、搅拌。（一般情况氯化铵作为氮源的情况较多，但是由于试验中要检测 SCOD，国标法（HJ 636-2012）中要求不适用于含氯化物浓度超过 1000mg/L 的含盐水，因此，试验采用硫酸铵。）

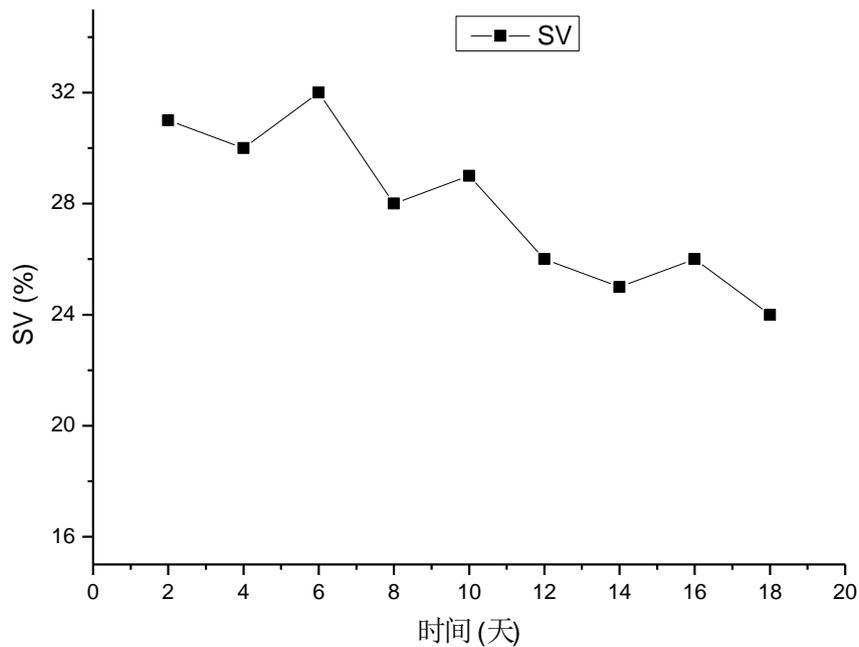


1-三角支架 2-搅拌器 3-空气泵 4-阀门 5-曝气头 6-搅拌头 7-容器

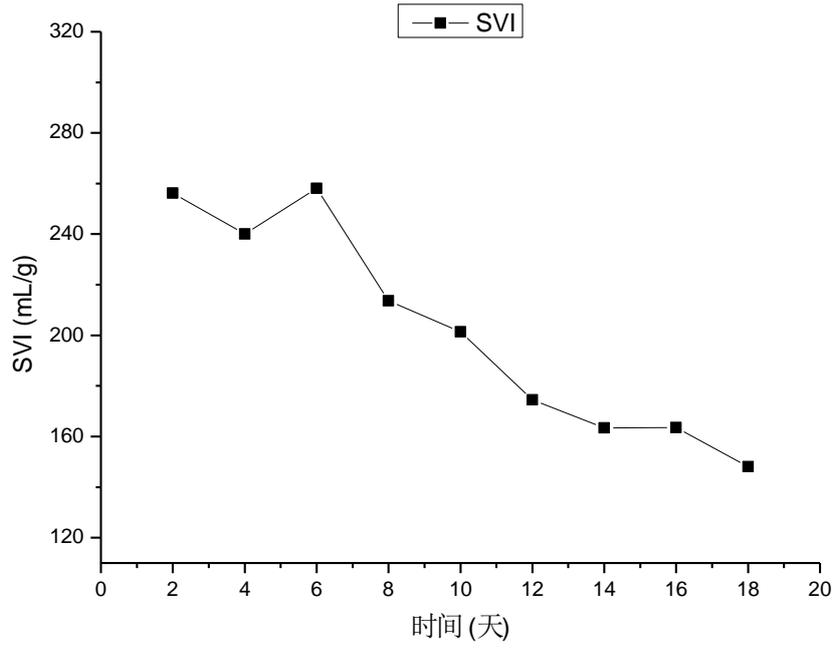
图 3.2 活性污泥培养装置

Fig. 3.2 culture device of activated sludge

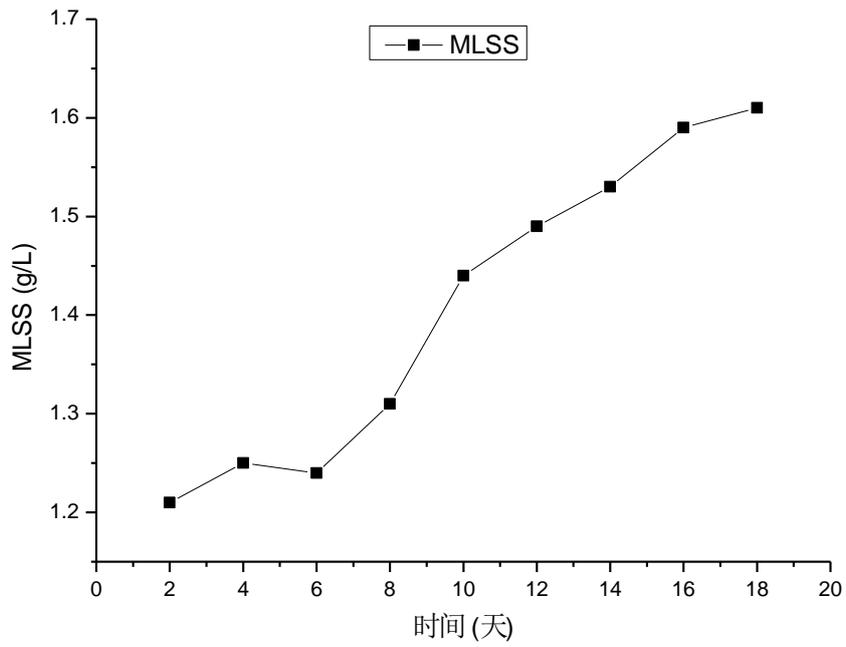
培养期间，主要测量的数据为污泥的污泥沉降比(SV)、污泥体积指数(SVI)、混合液悬浮固体浓度 (MLSS) 和混合液挥发性悬浮固体浓度 (MLVSS)。根据驯化期间测量数据，污泥各项指标变化如下图 3-3。培养 18 天时，各项数据如下表 3.1，根据数据显示在 16 到第 18 天左右，污泥基本达到稳定。将污泥在显微镜下观察（图 3.4），污泥呈絮状均匀分布。



(a)



(b)



(c)

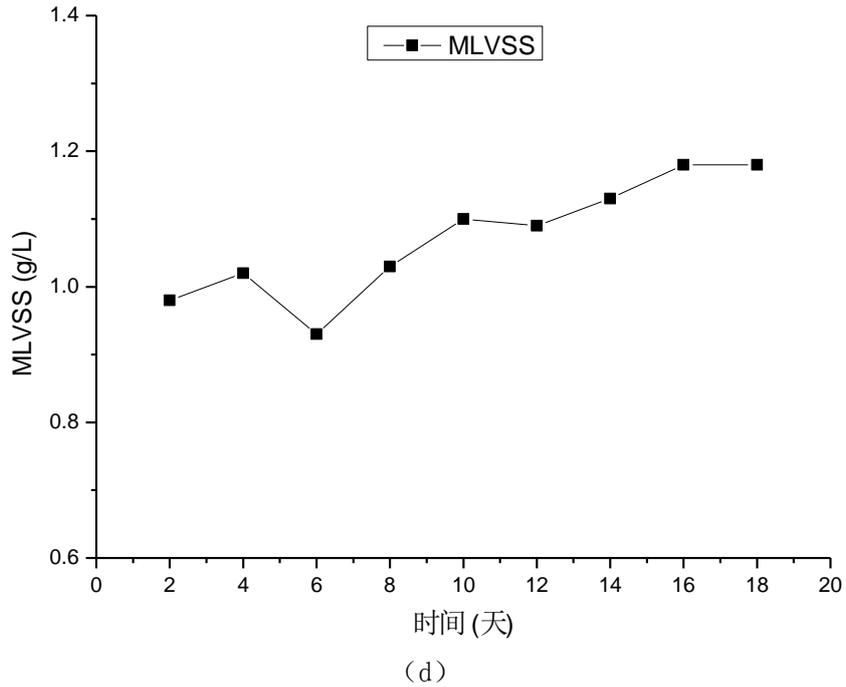


图 3.3 活性污泥培养各数据变化情况图

Fig.3.3 The picture of each data of activated sludge culture changes

表 3.1 培养 18 天时污泥各项数据

Tab. 3.1 The data of sludge after 18 days

SV (%)	SVI (mL/g)	MLSS (g/L)	MLVSS (g/L)
24	148.1	1.62	1.18

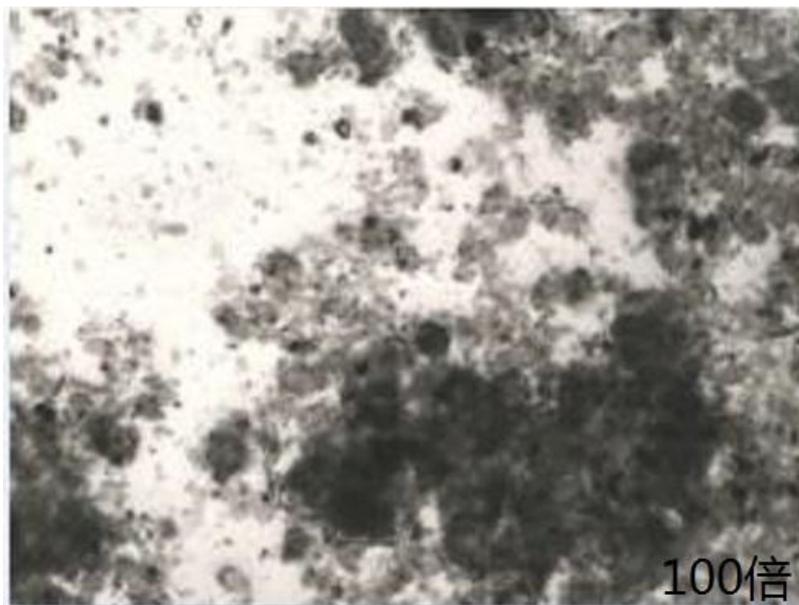




图 3.4 污泥在显微镜下的结构

Fig. 3.4 The structure of sludge under microscope

3.2.2 剩余污泥

沙湖污水处理厂污泥浓缩车间的污泥传送带出口处污泥颜色呈深褐色，pH 值为 7.8~8.2，较为松软，有轻微臭味，根据国标法（CJ/T 221-2005）中重量法测定剩余污泥含水率为 73.27%~80.51%。该剩余污泥用去离子水洗涤后调节含水率为 93%，pH 测得为 7.2 左右，将此污泥作为试验污泥。

将处理好的污泥在 105℃ 下烘干，在干燥皿中冷却后称量，然后再加热 15min，冷却后称量，确定称量结果偏差不大于 0.005g 为止。将干燥后的污泥用研钵研成粉末，称取一定量的污泥粉末置于干燥的凯氏烧瓶中，加入 98% 浓硫酸、五水硫酸铜和硫酸钾固体，混合均匀后在电炉上加热消解，直至液体呈蓝绿色透明（消解在通风厨中进行），继续加热 1 小时，然后冷却，用 100mL 容量瓶标定，待测。同时做试剂空白试验。用半微量凯氏定氮装置（实物图如图 3.5）按照 GB 5009.5-2010 标准中凯氏定氮法标定原污泥中蛋白质含量。通过多次测量，原污泥蛋白质含率为 25.3%~34.8%（干重），平均值为 29.4%（干重）。用 GB11914-89 法测量洗涤后剩余污泥的 SCOD 为 73.1mg/L。



图 3.5 凯氏定氮法装置实物图

Fig. 3.5 The physical picture the Kjeldahl nitrogen determination apparatus

3.2.3 Bradford 法测蛋白质含量的标准曲线绘制

考马斯亮兰法 (Bradford 法) 是现阶段蛋白质含量测定的主要方法之一。由于 Bradford 法具有较高的灵敏度 (最低蛋白质检测量可达 $1 \mu\text{g}$)，测试范围广 ($31.25 \sim 2000 \mu\text{g/mL}$ ^[81])，测定快速，操作方便，干扰物质少等突出优点，因而正在得到广泛的应用。由于 Bradford 法的各项优点，本次试验液体蛋白质含量的测定方法采用此法。李海玲等^[82]对 Lowry 法、BCA 法、磺基水杨酸沉淀法和 Bradford 法等 4 种常用蛋白质测定方法进行对比，采用 Bradford 法测定蛋白质浓度不仅准确而且可重复性好，染色剂考马氏亮蓝 G-250 与蛋白质结合变成蓝色，颜色稳定，颜色深浅与蛋白质浓度呈正比关系。

按照 Bradford 法配制标准浓度的 (1.0mg/mL 和 0.1mg/mL) 牛血清清蛋白 (BSA) 溶液。将混合均匀后的蛋白质和考马氏亮蓝 G-250 混合液在 SP-1920 型紫外可见分光光度计在波长 595nm 下测量其吸光度 A_{595} ，根据测得的 A_{595} 与各分样品中蛋白质含量之间的关系绘制标准蛋白质含量曲线 (如图 3.6)。根据图中所给的斜率、截距和方差，蛋白质吸光度 $A_{595\text{nm}}$ 与蛋白质含量之间的关系表达式可写为： $y=0.3551x+0.00383$ ($R^2=0.9981$)，在后期试验测得蛋白质吸光度 $A_{595\text{nm}}$ 时，将其数据带入此表达式中，计算出提取液中蛋白质含量，进而得出蛋白质提取率。

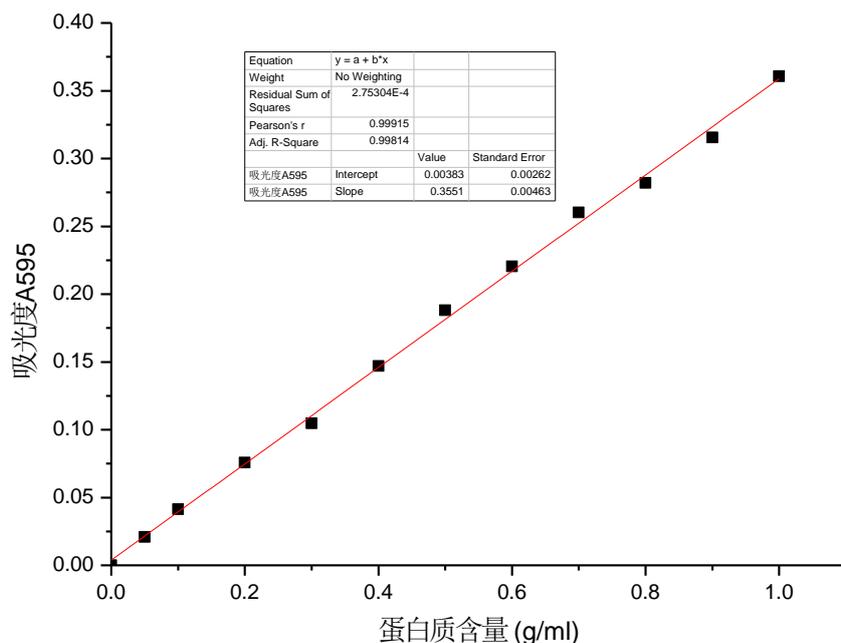


图 3.6 蛋白质标准吸光度曲线

Fig.3.6 Protein standard curve

3.2.4 试验最佳离心条件的确定

剩余污泥提取的蛋白质来源于微生物细胞壁破碎后溶于水中的部分蛋白,要测量这部分蛋白质的量,离心分离法可将其与污泥混合液中的固态残渣分离。处理后的剩余污泥在离心过程中,若离心转速过低,污泥上清液无法与残渣分离;若离心转速过高则会导致溶出的蛋白质与残渣混合在一起。这样会造成测量值与实际溶解出的蛋白质有较大的差距。因此,对于处置后的剩余污泥存在较佳的离心条件,经过离心分离后,残渣与上清液具有较好的分层现象,且细胞中溶出的蛋白质基本上存在离心后上清液中。

离心条件的选择包括离心机转速及离心时间。首先,以预处理的污泥为试验样品,将其 pH 值调至 1 左右,并在 100℃ 下处理 6h 左右;其次,再将处理后的剩余污泥污泥移至 10ml 离心管中,分别在 2500、3000、3500、3800、4000、4500r/min 转速下离心,处理时间为 20min,测量离心机转速下蛋白质的提取率(见图 3-7)。在图 3.7 中,蛋白质的提取率随着离心机转速的增加先增加后降低,当离心机转速为 3800r/min 时,蛋白质提取率达到最大值。当离心机转速较低时,蛋白质无法与污泥中固体悬浮物分离,导致大量蛋白质吸附于固体上,在滤膜过滤时导致大量蛋白质流失,测得的蛋白质提取率偏低;当离心机转速过大时,离心作用使分子组成较大的蛋白质沉淀在固体层,导致蛋白质的提取率偏低。因此,离心机最佳的离心转速为 3800r/min。

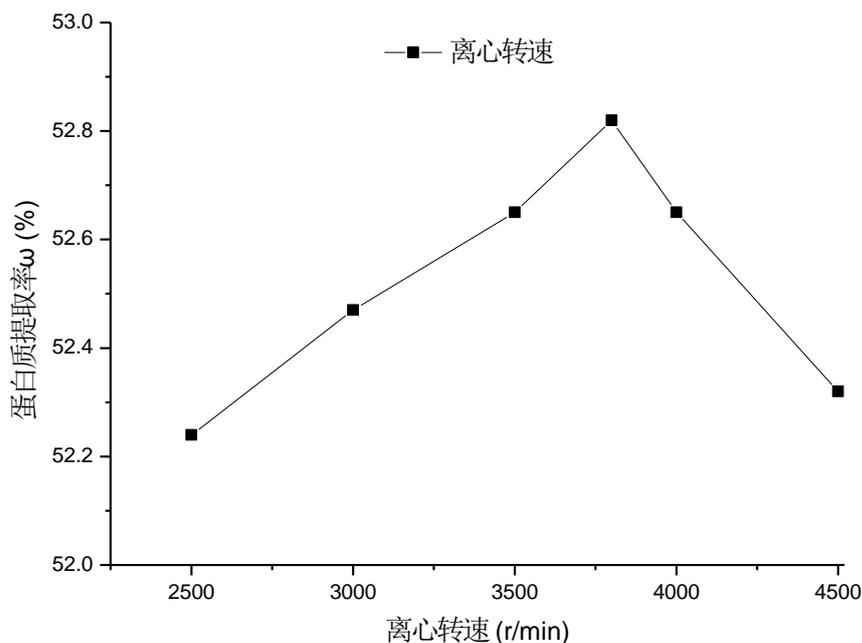


图 3.7 不同离心转速下蛋白质的提取率变化

Fig.3.7 The effect of centrifugal speed on the extraction of protein

其次用上诉经过处理好的污泥溶液移至 10ml 离心管中，在最佳转速条件下离心 5、10、15、20、25、30min，测试不同离心机转速及离心条件下蛋白质提取效果，结果见图 3.8。从图 3.8 中可以看出，随着离心时间的增加蛋白质的提取效果呈现先增加，后缓慢减少的趋势，当离心时间为 15min 左右时，蛋白质的提取率达到最大值。离心时间过短，蛋白质无法与污泥中固体成分分离，导致蛋白质分子大量吸附在固体悬浮物表面，在过滤时被截留，导致蛋白质提取率较低，当离心时间过久，固液完全分离，随着时间的增加，导致部分蛋白质沉淀或者被固体成分吸附，使得所测的蛋白质提取率有所降低。因此，本研究各试验将剩余污泥处理后混合液的离心条件选为在 3800r/min 转速下离心 15min。

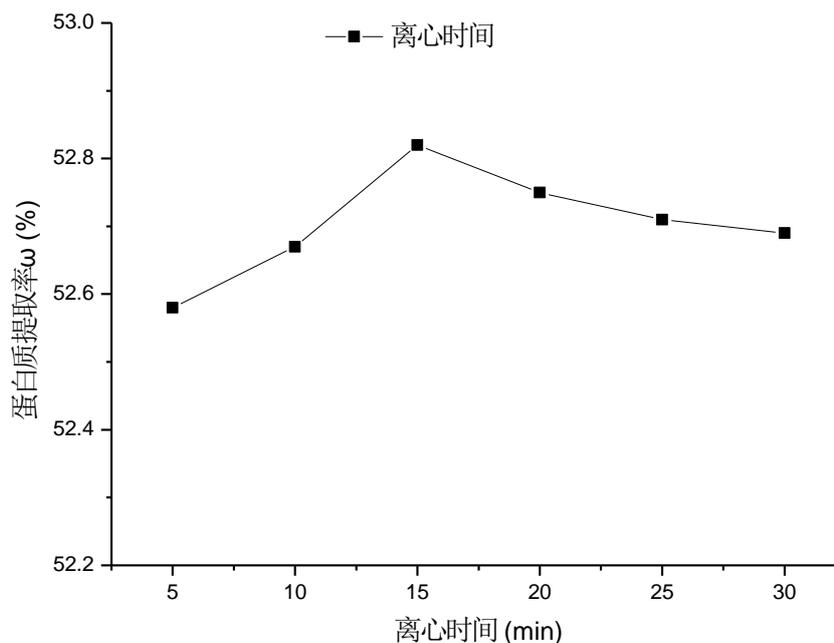


图 3.8 不同离心时间下蛋白质提取率变化

Fig. 3.8 The effect of centrifugal time on the extraction of protein

3.3 基于热耦合技术提取剩余污泥蛋白质的研究

上世纪 80 年代, 国外学者已经开始对热解处理剩余污泥进行研究, 但是, 当时研究的主要目的是为了提高污泥脱水性能, 减少剩余污泥的产量和体积, 实现污泥减量化。后来又有研究热解处理后的污泥回流, 是否能够作为生物反应池的碳源, 并向热解污泥的溶液中加入部分化学物质, 提高热解污泥的可生化性能。本试验部分主要研究剩余污泥的热解、酸解、酸与热解耦合分方法处理剩余污泥, 通过此三种方法探讨热解、酸解、酸与热解耦合法对蛋白质提取效率的影响, 各处理方法对剩余污泥蛋白质提取的主要影响机理, 同时对后期试验蛋白质提取率提供对比, 得出较为适宜的试验条件。本试验还测量处理后的污泥溶液中 SCOD 的含量, 根据肖本益^[83]等的研究表明, 污泥溶液中 SCOD 的增加与污泥的破碎效果有关, 污泥破碎效果越好, 污泥溶液中的 SCOD 的含量越高, 根据剩余污泥蛋白质提取率与 SCOD 的变化对破解各数据进行分析。

3.3.1 单一热处理效果

此试验阶段主要研究剩余污泥在单一热处理条件下的蛋白质处理效果, 涉及到的主要是试验温度和加热时间两个因素, 污泥选用调节为 93%含水率的污泥, pH 值保持预处理后污泥的 pH 值 (7.2) 左右。将污泥控制在 37℃, 55℃、85℃、100℃、110℃和 120℃六个水平值, 根据饱和蒸汽温度与压力对照表, 当温度为 120℃时, 蒸汽压为 0.19854MPa, 当温度为 126℃时, 压力为 0.23933MPa, 由于

实验室设备及其试验成功率限制，没有做当试验温度超过 120℃的试验。另外热处理时间分别为 3h、4h、5h、6h、7h、10h 和 14h。试验开始计时前应先将其余污泥加热 10 分钟并摇晃均匀，确保污泥达到试验温度。在不同温度 T 下蛋白质提取率随处理时间变化情况详见图 3.9。

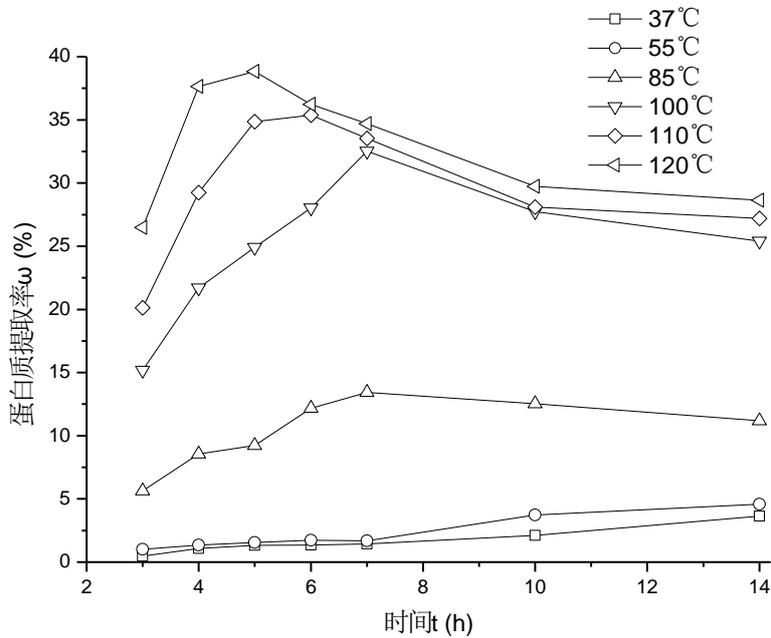


图 3.9 温度 T 对蛋白质提取率 ω 的影响

Fig.3.9 The effect of temperature on the rate of protein extraction

细菌细胞壁和细胞膜的主要组成是蛋白质、脂质和多糖，热解不仅破坏了污泥的絮体结构，同时破坏细胞壁和细胞膜中脂质成分，使细胞壁破碎，发生融胞反应，同时可是破坏细胞器膜，细胞器内的酶、核酸等物质释放到污泥溶液中，提高污泥溶液中蛋白质含量。根据图 3.9 可以看出，随水解温度的升高，蛋白质提取率在逐渐增加，而且在高温条件下，蛋白质提取达到最大后随时间不断减少。在 120℃处理条件下，6h 时污泥溶液 SCOD 为 1729.3mg/L，在 10 时，污泥溶液 SCOD 为 1873.0mg/L，由于污泥中不溶性物质转化为溶解性物质会导致液相 SCOD，SCOD 升高，说明污泥融胞反应仍在继续，但是污泥蛋白质的提取率却在降低，可能是由于蛋白质分子在高温下会发生发生“美拉德反应(Maillard Reaction)”^[84-85]（蛋白质的氨基和碳水化合物的羰基发生聚合反应）生成一些难降解的类黑色素物质，导致溶液发生褐变，而反应结束后污泥溶液为褐色正验证这一反应（见图 3.10）。因此，单一的热处理可以使污泥微生物破解，导致溶液蛋白质含量增加，但是温度过高会导致蛋白质发生聚合反应，对蛋白质提取率有影响，不利于蛋白质的提取。综合考虑试验各因素，在 120℃条件下，处理时间 5 小时左右，蛋白质的提取率最大。

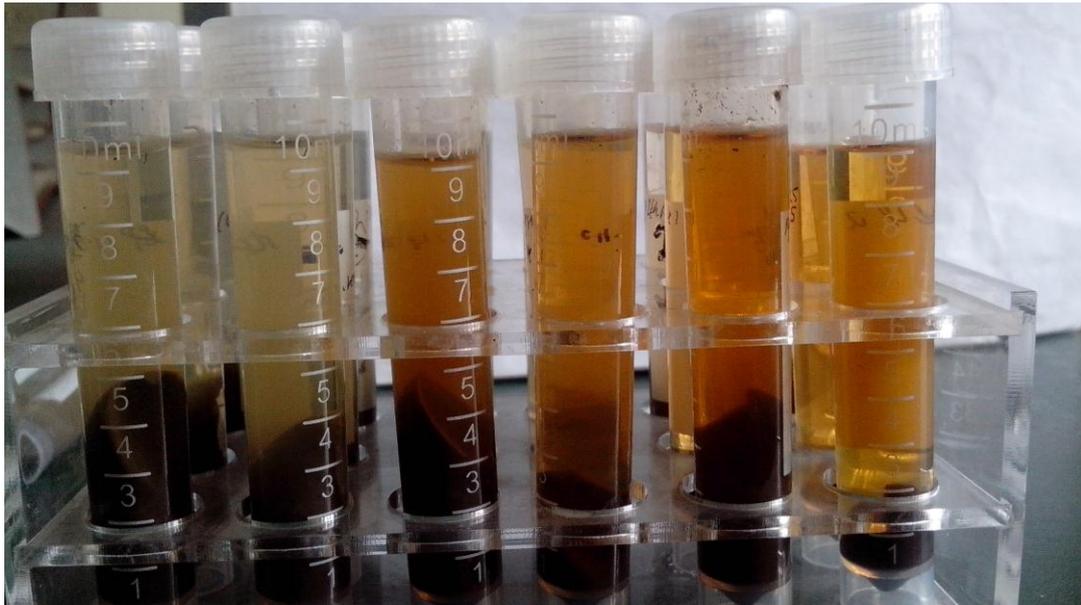


图 3.10 不同热处理温度下污泥溶液颜色

Fig.3.10 The color of sludge solution under different heat treatment temperature

3.3.2 单一酸处理效果

此试验阶段主要考虑剩余污泥溶液在单一酸处理条件下污泥蛋白质提取率变化, 试验考虑的变量为 pH, 试验剩余污泥溶液仍选用含水率为 93% 的洗涤溶液。此试验在恒温水浴锅中进行, 温度保持在 55℃ 左右; 将污泥用硫酸溶液条件至 pH 值分别为 0.5、1、1.5、2、3 和 4 六个水平, 酸处理时间控制在 6h 左右。不同 pH 条件下剩余污泥蛋白质提取率变化情况见图 3.11。

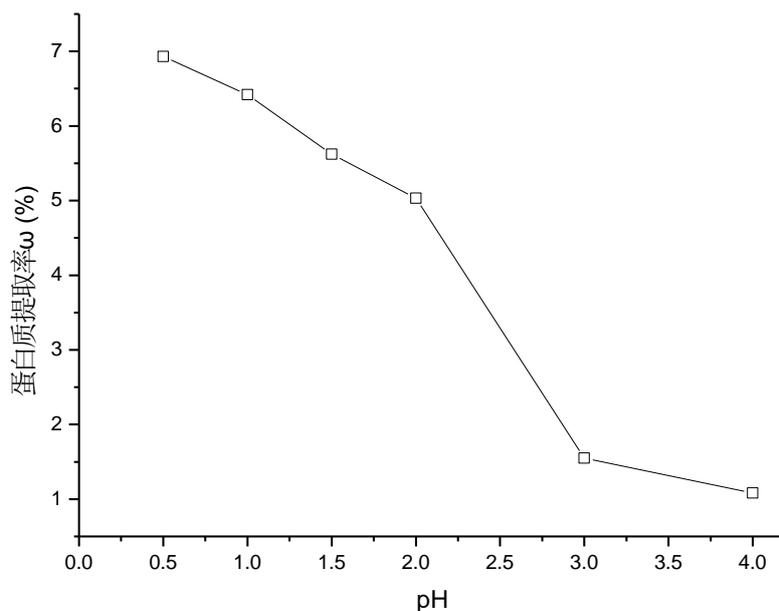


图 3.11 pH 对蛋白质提取率 ω 的影响

Fig.3.11 Effect of pH on protein extraction rate ω

由图 3.11 数据发现，污泥蛋白质的提取率与 pH 相关，水解 pH 越小蛋白质提取率越高。由于活性污泥中革兰氏阴性菌为优势菌，酸会促进革兰氏阴性菌细胞壁中的蛋白质和脂类的水解，使细胞破裂，细胞内物质融出，增加污泥溶液中蛋白质含量，从而增加提取率。秦晓等^[86]研究发现，酸处理可以保护蛋白质结构，破坏污泥胶体，使污泥中的部分金属（Fe、Al、Zn 等）氧化物发生融解，减少污泥溶液中的固体成分，有利于固液分离。但是根据试验数据，在 pH=0.5 条件下，污泥蛋白质的提取率仅为 7.1%，比较低，而在 pH=4 时，蛋白质提取率仅为 1%左右，提取率很低。因此，在低温条件下单一的 pH 条件对污泥的融胞效果较小，对蛋白质的提取率影响轻微。

3.3.3 酸与热处理耦合法处理效果

此试验阶段主要研究剩余污泥在热和酸耦合处理条件下蛋白质提取率的变化，试验考虑的影响因素为水解温度与水解 pH，以洗涤后含水率为 93%的污泥为试验材料。对剩余污泥蛋白质时间控制在 6h，将试验材料放入到烘箱中加热，温度分别保持 37℃，55℃、85℃、100℃、110℃和 120℃六个水平值；pH 值分别保持 0.5、1、1.5、2、3 和 4 六个水平。在不同处理条件下剩余污泥蛋白质提取率变化结果见图 3.12。

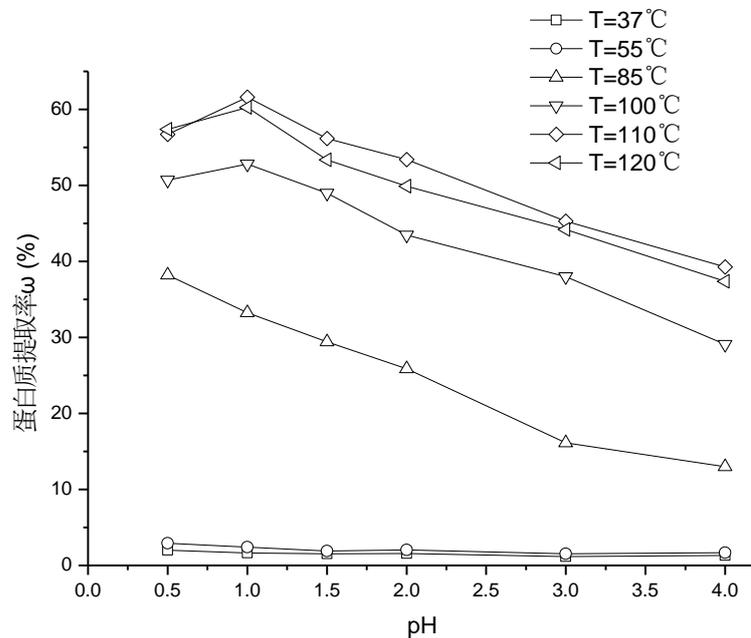


图 3.12 温度 T 和 pH 对蛋白质提取率 ω 的影响

Fig.3.12 The effects of temperature and pH on protein extraction rate ω

根据图 3.12 与图 3.9 的对比发现，在相同的预处理时间和温度条件下，较低的 pH 有利于蛋白质的提取，而且作用明显，当 pH 低于 1 时，高温条件则会发生蛋白质提取率的小幅降低。图 3.12 与图 3.9 的对比发现，在相同的 pH 和时间

条件下, 温度越高越有利于蛋白质的提取。根据蛋白质等电点理论, 在等电点下 ($pI=pH$ 时) 蛋白质的溶解度最小, 导致部分蛋白质发生沉降, 当溶液 pH 越接近等电点, 溶解度越低, 沉降作用越明显, 蛋白质的等电点一般在 $pH=4\sim 6$ 之间, 当试验 pH 越高, 越接近等电点, 导致大量蛋白质发生沉降, 溶液中蛋白质含量减少, 导致提取率降低; 而 pH 较低时蛋白质提取率小幅降低的原因可能是蛋白质在低 pH 环境下发生分解, 导致溶液中的蛋白质含量减少, 提取率降低, 因此蛋白质的提取 pH 在 1 左右较好。当温度为 120°C 和 110°C 时蛋白质提取率相差不多, 而 120°C 容器的压力要比 110°C 时高 0.05MPa , 综合考虑设备和节能问题, 110°C 是较为理想的蛋白质提取条件。综上, 酸和热处理耦合的条件下具有较好的蛋白质提取效果, 此时的蛋白质提取条件为 $pH=1$ 、温度 $T=110^{\circ}\text{C}$, 蛋白质的提取率为 61.59% 。

在最适条件 $pH=1$ 、 $T=110^{\circ}\text{C}$ 条件下, 对剩余污泥处理 4、5、6、7h, 蛋白质提取率与 SCOD 见图 3.13。

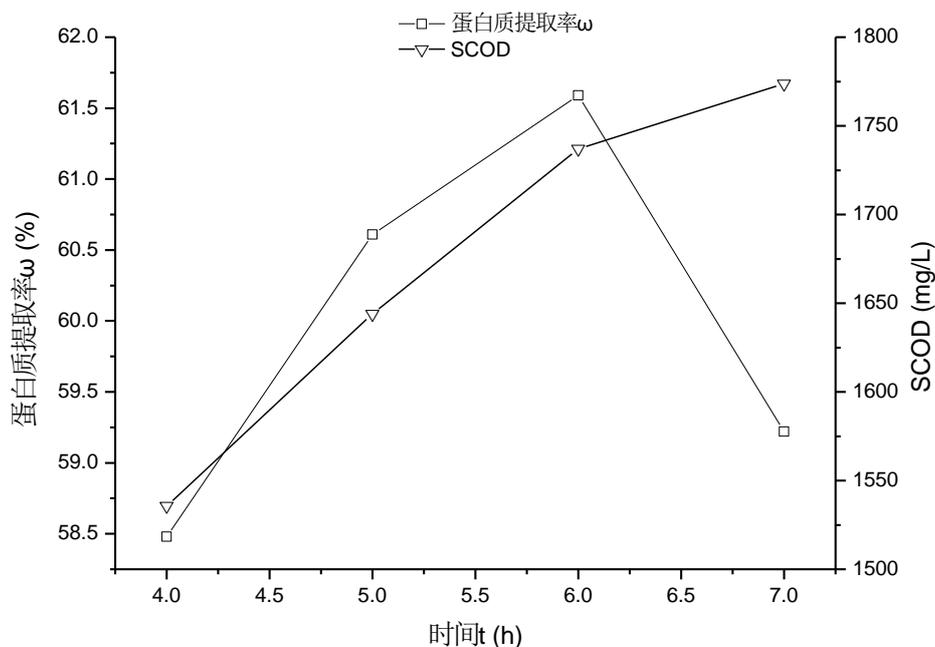


图 3.13 最佳提取条件下蛋白质提取率 ω 和 SCOD 随时间的变化

Fig.3.13 The extraction of protein rate and SCOD change with time under the optimum extraction conditions

根据图 3.11 显示, 在 $pH=1$ 、温度 $T=110^{\circ}\text{C}$ 条件下, 最佳的提取时间为 6h, 蛋白质的提取率最高 (61.59%); 随着时间的延续, SCOD 仍在增加, 细胞破解作用继续进行, 而蛋白质的提取率却降低, 可能是由于融出的蛋白质量小于美拉德反应消耗和蛋白质水解量, 此时, 溶液中蛋白质含量不断降低, 提取率也随之减少。

3.4 基于超声波耦合技术提取剩余污泥蛋白质的研究

超声波是物质介质中的一种弹性机械波，人们通常把频率为 15kHz-10MHz，超出人耳听觉上限的声波叫做超声波^[87]，超声波在日常生活中具有较广泛的应用，如医院的 B 超检查、超声波清洗机、超声波热熔机和超声波金属焊接等。依据频率及用途不同，超声波可分为功率、高频和诊断超声(详见表 3.2)^[88]。功率超声波是指频率为 15kHz~100kHz 范围的声波，可作为能量输出方式应用于多个领域。

表 3.2 声波分类

Tab.3.2 Acoustic classification

类型	频率范围
次声波(Infrasound)	低于 20Hz
声波(sound wave)	20Hz~15kHz
功率超声波(Power Ultrasound)	15kHz~100KHZ
高频超声波(High Frequency Ultrasound)	100kHz~1MHz
诊断超声波(Diagnosis Ultrasound)	高于 1MHz

Gogati^[89]等研究当把声能输入到液体时，声能通过液体中的气体或者蒸汽形成气泡并不断变大，这些气泡破裂会在局部形成高温(4000K)和高压(40MPa)，这种现象称为气穴现象。超声处理在污泥处理上的应用主要分为四类：(1) 生物融胞，释放微生物体内有机物，使其转化为易生物降解的物质；(2) 污泥减量化；(3) 改变污泥絮体结构，提高污泥脱水性质；(4) 破坏可能导致污泥膨胀的丝状菌^[90]。Yin X^[91-92]等研究发现超声波可以有效地使污泥絮体及细胞解体，破坏微生物的细胞壁和细胞膜，达到融胞效果，相玉琳等^[93]通过研究，超声波处理污泥提取蛋白质有一定可行性。近年来据金瑞洪等^[94-95]研究臭氧和 ClO₂ 等强氧化剂可以作用于污泥溶液可以促进细胞融解，污泥中生物量减少，使一定量的生物污泥无机化，污泥的活性和存活性降低，因此，强氧化剂具有有效的融胞效果。强氧化技术具有融胞能力，在污泥减量化的应用有较多研究，但是在污泥资源化上应用较少，过氧化氢作为强氧化物也具有一定的融胞能力。本试验主要研究单一超声波处理工艺、单一过氧化氢氧化工艺和两者耦合工艺处理剩余污泥对蛋白质提取率的影响，得出其作为提取蛋白质的可行性及其最佳条件。超声设备装置见图 3.14，过氧化氢搅拌装置见图 3.15。

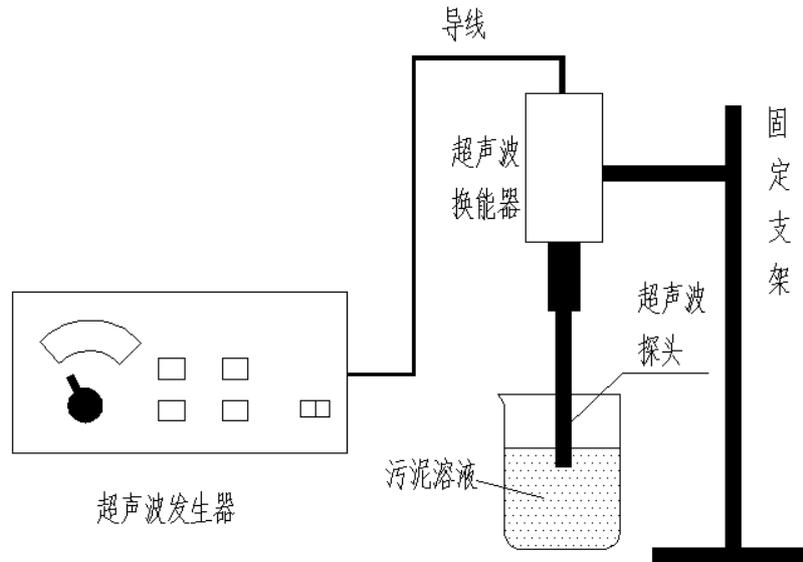


图 3.14 超声设备装置图

Fig.3.14 Ultrasonic equipment diagram

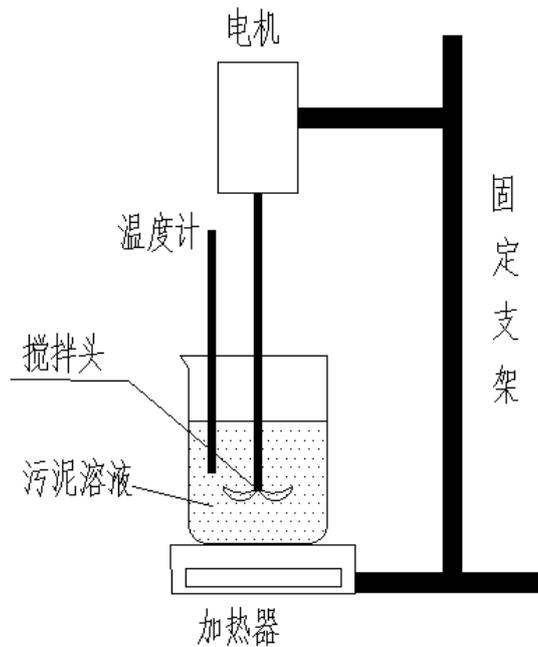


图 3.15 过氧化氢搅拌装置图

Fig.3.15 H₂O₂ stirring device

3.4.1 单一超声波处理效果

此试验阶段主要研究剩余污泥在单一超声波处理条件下的蛋白质处理效果，试验选用 KS-1200 型号超声波细胞破碎仪，该型号超声处理频率为 20kHz，总功率为 1200W，可调因素为超声处理时间和超声波输出功率百分比，可调范围为 5%~95%（输出功率=输出百分比×总功率），温度仅有显示，不可调节。因此本

试验涉及到的主要是超声波输出功率和超声波处理时间，污泥选用调节为 93%含水率的污泥 100mL，pH 值保持预处理后污泥的 pH 值（7.2）左右。将超声波输出百分比保持在 10%、20%、40%、50%、60%、65%、70%和 80%八个水平值，处理时间为 5min、10min、15min、20min、22min、25min 和 30min 七个水平值。由于试验过程超声波处理会导致污泥溶液温度升高，因此试验过程要水冷污泥溶液。试验时将超声波探头深入液面下 1~1.5cm 左右，处理时间情况为 5s 处理，3s 间隔。

由于试验过程考虑两因素，故选用固定单一变量的方法试验。首先，将时间作为变量，超声波输出功率作为固定值，输出功率选为 65%，蛋白质提取率随超声波处理时间的变化情况见图 3.16。

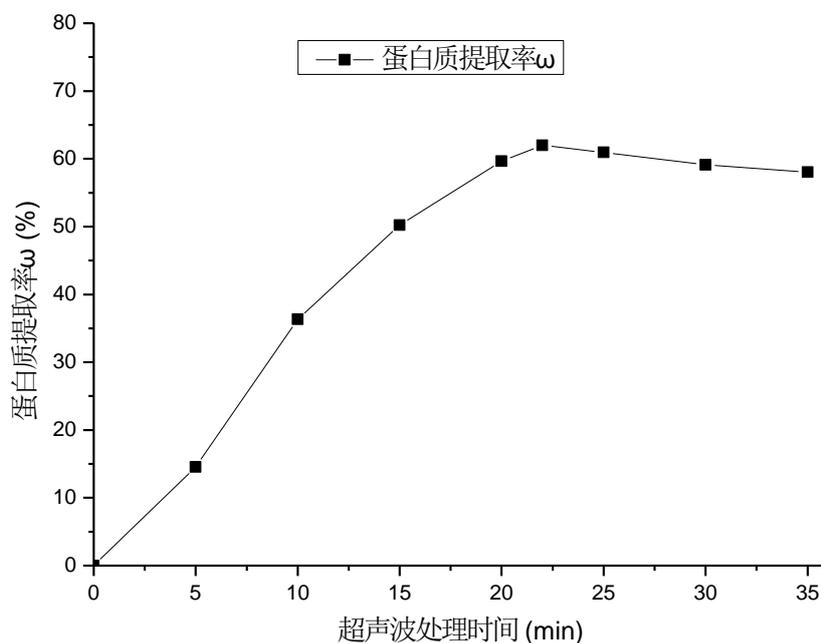


图 3.16 超声波输出功率为 65%，不同处理时间下蛋白质提取率变化

Fig.3.16 Ultrasonic power output is 65%, changes of protein extraction rate with processing time

图 3.16 反应的是在最佳超声波输出功率条件下，蛋白质的提取率随超声波处理时间的变化情况。在水冷装置冷却，温度波动不大的情况下，随着超声波处理时间的增加，蛋白质提取率不断增加，当处理时间在 20min 后，提取率增加缓慢，当处理时间为 22min 时，蛋白质提取率达到最大值，处理时间不断延长，蛋白质的提取率变化缓慢，在处理时间为 35min 时，剩余污泥蛋白质提取率较第 22min 有减少，原因可能是测量过程有些许误差，另一个原因是这段时间内有部分蛋白质发生分解，导致溶液中蛋白质的含量减少，蛋白质提取率降低。根据后期试验分析，实验时间延长，溶液中蛋白质会部分发生分解，因此超声处理的最佳时间为 22min。

根据上述试验，选择超声处理时间为 22min，若加上间隔时间则为 35min。蛋白质提取率随超声波输出功率的变化如图 3.17。

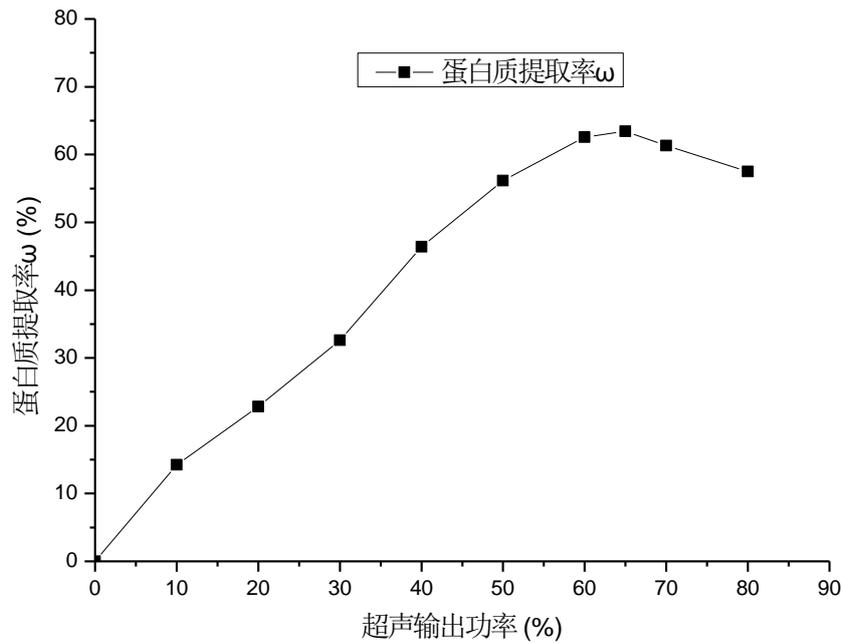
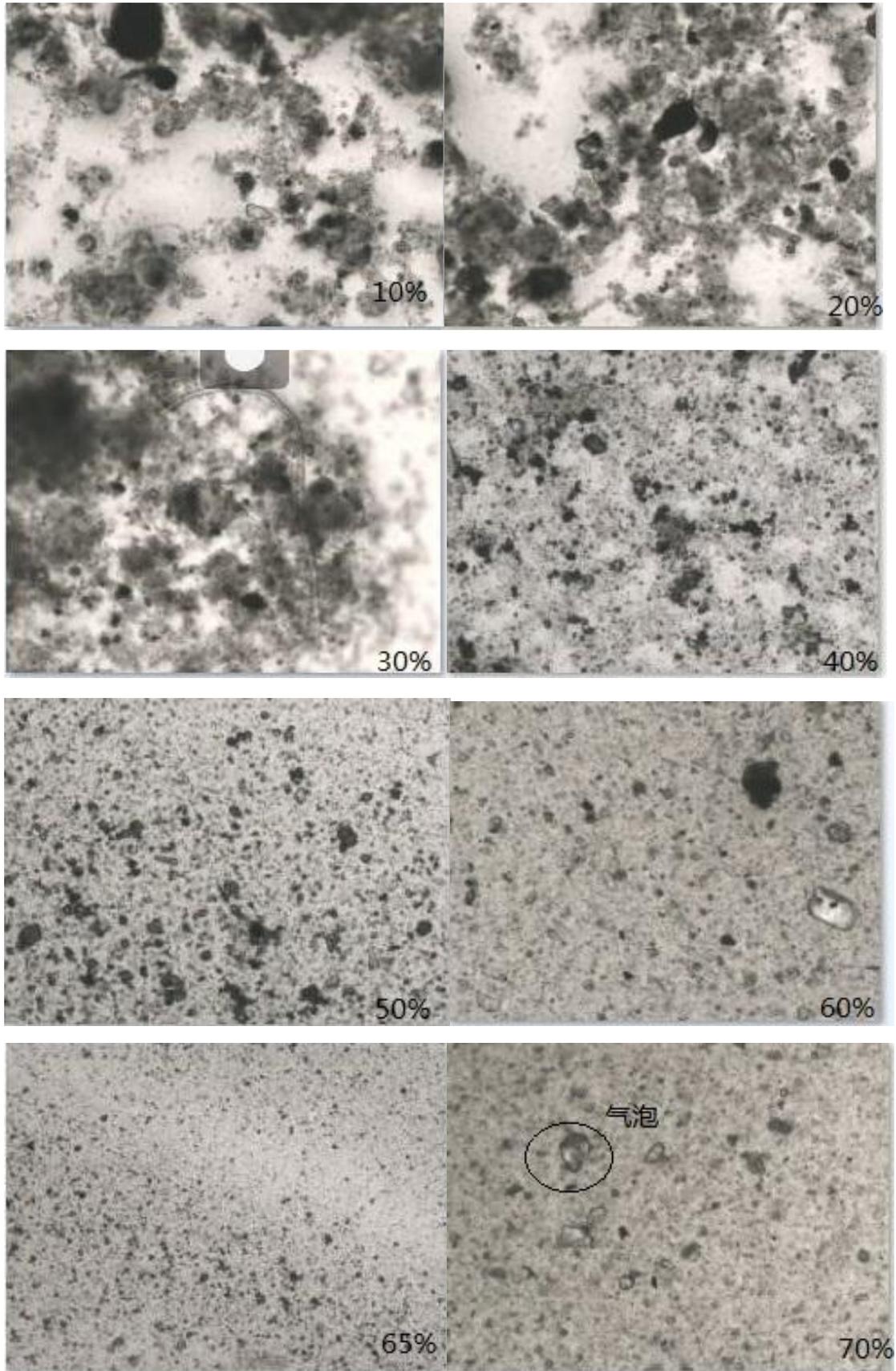


图 3.17 T=30min, 不同超声波输出功率下蛋白质提取率变化

Fig.3.17 T=30min, changes of protein extraction rate with ultrasonic power output

图 3.17 为在处理时间为 30min 情况下的超声波输出功率对蛋白质提取率的影响情况。根据图中数据可知, 在水冷装置冷却, 温度变化不大的情况下, 当处理时间为 22min 条件下, 蛋白质的提取率随超声波输出功率的增加而迅速增加, 输出功率在 50% 以后增加速度减缓, 当超声波输出功率达到 65% 时蛋白质的提取率达到最大值; 此后, 随着功率增加, 蛋白质的提取率下降, 且下降情况较为明显。超声波处理剩余污泥使其达到融胞反应主要是靠超声波在溶液中的气穴现象, 随着超声波输出功率的增加, 气穴现象的强度在不断增加, 在气穴过程中, 气泡破碎对周围溶液的剪切力也在不断加大, 剪切力能有效的破坏细菌细胞壁及细胞膜, 导致胞内物质融出, 进而溶液中蛋白质的含量也在不断增加。当输出功率过高, 剪切力过大, 溶液中大分子物质因物理或者化学作用发生降解, 导致溶液中蛋白质含量减少。超声波输出功率在 80% 时, 污泥溶液内会产生大量的小气泡 (见图 3.18), 导致污泥体积增大, 离心效果较差, 且污泥沉降性能大大降低。据上所述, 剩余污泥在超声波输出功率为 65% 时, 具有较好的蛋白质提取率, 而且离心上清液较清, 超声波可以破解污泥絮体结构, 使污泥分散跟均匀, 同时可以减小污泥粒径。



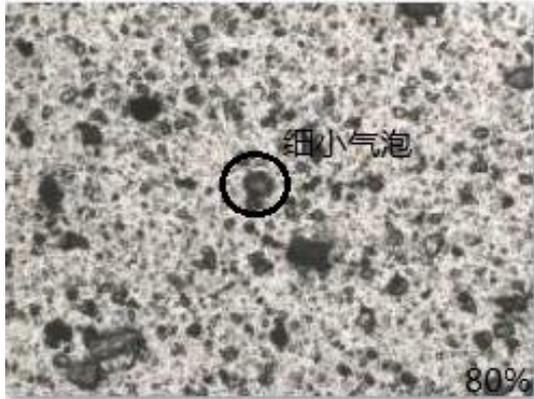


图 3.18 超声处理 22min, 不同输出功率下污泥显微镜成像

Fig.3.18 Ultrasonic treatment of 22min, microscopy imaging under different output power

超声处理应用于剩余污泥蛋白质处理具有较好的效果, 当超声处理时间为 22min, 超声波输出功率为 65% 时, 蛋白质提取率可达 62.28%。根据试验数据发现, 超声波在污泥破解过程中存在两个反应, 第一个反应为超声波气穴现象产生的剪切力作用于微生物细胞壁上, 导致细胞破碎, 细胞内蛋白质等物质释放到溶液中; 第二个反应是超声波气穴现象产生的高温和剪切力导致污泥溶液中的蛋白质发生水解或者破坏, 形成 Bradford 法无法检测到的物质, 进而使蛋白质提取率降低。试验在达到最大值后, 蛋白质水解作用占主要地位, 导致蛋白质提取率下降。当超声波功率过大, 污泥溶液中会生成许多小型气泡, 功率越大气泡越细小, 较小的气泡对离心及过滤都有一定影响。

3.4.2 单一过氧化氢处理效果

过氧化氢具有较强的氧化性, 可作为氧化剂使用, 但是过氧化氢在污泥蛋白质提取上的应用鲜有研究。本试验主要研究剩余污泥在过氧化氢处理后蛋白质的提取率的情况, 对剩余污泥提取剩余污泥的可行性进行分析。试验过程主要研究两个变量: 过氧化氢 (H_2O_2) 投加量和搅拌时间 (装置见图 3.15)。试验材料选用洗涤后含水率为 93% 的污泥, pH 值保持预处理后污泥的 pH 值 (7.2) 左右, 试验前想溶液中加入少量的硫酸亚铁。过氧化氢浓度为 30%, 由于过氧化氢具有一定致癌性和毒性, 因此试验过程中保护措施要做好。试验时将过氧化氢投加量选择为 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 和 2.5% (体积比) 五个水平值, 搅拌时间选择 5min、10min、15min、20min、25min、30min 和 35min 七个水平值, 试验过程中用电磁加热器, 使试验维持在 35℃ 左右。不同过氧化氢投加量和搅拌时间下蛋白质提取率情况见图 3.19。

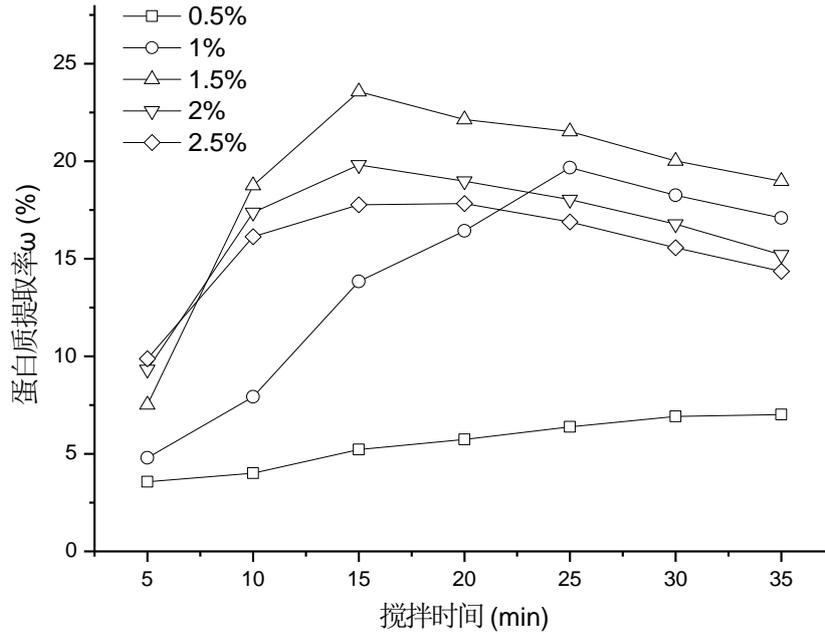
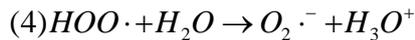
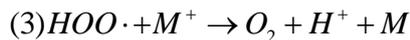
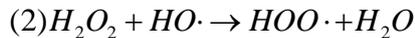
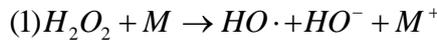


图 3.19 不同过氧化氢投加量下蛋白质提取率随时间变化关系

Fig.3.19 Protein extraction rate changing with time under different H₂O₂ dosage

根据图 3.19，过氧化氢具有一定的蛋白质提取能力，随着过氧化氢投加量的增加，蛋白质提取效率增加，当投加量为 1.5% 体积比时，剩余污泥在搅拌时间为 15min 处取得最大值，在最大值后蛋白质提取率在迅速降低。过氧化氢在溶液中存在如下反应^[96]：



过渡金属离子很容易引起过氧化氢的分解，本试验中投加少量的硫酸亚铁就是促进过氧化氢的分解。过氧化氢的分解会产生具有氧化性的羟基自由基 $HO\cdot$ 和氧化能力较低些的 $HOO\cdot$ 。羟基自由基 $HO\cdot$ 具有极强的氧化性，可氧化大部分物质。试验过程中，过氧化氢作用于剩余污泥提取蛋白质存在 4 个作用面：1、过氧化氢水解产生的羟基自由基 $HO\cdot$ 作用于污泥溶液中还原性物质，因此，在试验前期过氧化氢存在少量浪费，蛋白质提取率也比较慢；2、过氧化氢中羟基自由基 $HO\cdot$ 作用于微生物细胞壁，导致微生物破碎，细胞内容物释放，使溶液中的蛋白质含量大大提升；3、羟基自由基 $HO\cdot$ 作用于细胞释放的大分子物质，导致像蛋白质一类的物质发生水解、转化；4、随着过氧化氢的分解，溶液中 H^+ 含

量增加, 导致溶液 pH 降低, 根据等电点理论, 当溶液中 pH 接近等电点时, 蛋白质溶解度减小, 溶液中蛋白质析出。此 4 个方面共同作用生成过氧化氢提取蛋白质的曲线, 其中, 2、3 两作用的强弱关系决定了蛋白质提取率的高低。

由于试验过程中, 羟基自由基 $HO\cdot$ 会破坏溶液中的蛋白质等有机物, 而且过氧化氢对 pH 的影响对蛋白质的提取不利, 因此, 试验过程中蛋白质的最大提取率仅为 23.56%。试验时, 将过氧化氢加入污泥溶液中会产生大量的气泡, 并且污泥溶液体积剧增, 其剧烈程度随投加过氧化氢的浓度增加而加剧, 当污泥搅拌一段时间后气泡消失, 污泥体积恢复, 气泡消失 (图 3.20)。



图 3.20 加入过氧化氢后污泥中产生大量气泡导致污泥膨胀

Fig.3.20 The sludge will produce a large number of bubbles and causing sludge bulking after addition hydrogen peroxide

综合上述试验过程, 过氧化氢可应用于提取剩余污泥中的蛋白质, 在过氧化氢投加量为 1.5%, 搅拌时间为 15min 时, 蛋白质的提取率取得最大值 23.56%, 提取率较低。导致蛋白质提取率较低的原因有两个: 第一, 由于试验过程中存在融胞和蛋白质氧化分解两个过程, 随着溶液中 $HO\cdot$ 浓度的减少, 融胞作用变弱, 溶液中蛋白质仍有部分在氧化分解, 导致蛋白质的提取量持续降低, 直至 $HO\cdot$ 完全消失; 第二, 溶液 pH 降低趋近蛋白质的等电点, 导致部分蛋白质沉淀, 溶液蛋白质提取率减小。

3.4.3 过氧化氢与超声波耦合效果

过氧化氢具有氧化性, 可以对微生物细胞作用, 本试验主要研究在超声波和

过氧化氢同时作用下蛋白质的提取效果。根据 3.4.1 超声波试验结果，超声波处理最佳条件：超声波处理时间 22min，超声波输出功率为 65%。在此试验中仅选择超声波处理的最佳输出功率，其他条件（过氧化氢的投加量和超声处理时间）均为变量。试验选择的处理时间为 10min、15min、20min 和 25min，试验期间不采用超声时间间隔操作；过氧化氢投加量为 0.5%、1%、1.5%、2%、2.5% 五个变量。蛋白质提取率变化情况见图 3.21。

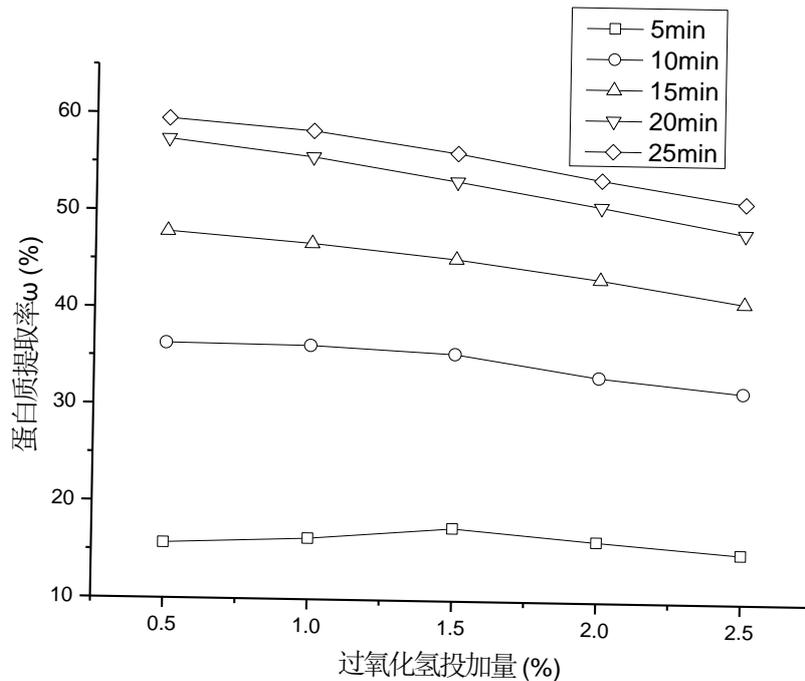


图 3.21 超声波处理下蛋白质提取率随过氧化氢投加量的变化

Fig.3.21 Under ultrasonic treatment, the protein extraction rate change with dosage of H₂O₂

据图 3.21 显示，在 65% 超声波输出功率下，超声处理 5min 时，蛋白质的提取率随过氧化氢的投加量增加呈先增后减趋势，而处理时间大于 10min 时，蛋白质的提取率随过氧化氢的投加量呈递减趋势。根据与超声波单一处理条件下相同处理时间后蛋白质提取率(58.31%)的对比发现，在过氧化氢的投加量较少(0.5%)时的蛋白质提取率有所提升，但是提升幅度不高(1%-2%左右)。根据过氧化氢中羟基自由基 $HO\cdot$ 强氧化性和与图 3.17 中蛋白质提取率数据对比，可得出结论：当试验刚开始时，过氧化氢和超声波起协同作用共同作用于微生物细胞，促进融胞反应；随着时间延续，环境中蛋白质含量增加时，过氧化氢中的 $HO\cdot$ 可以使已溶解到溶液中的蛋白质分子水解或者氧化，减少蛋白质含量(0.5%的过氧化氢浓度低，水解蛋白质有限，过氧化氢浓度增大时， $HO\cdot$ 的融胞速度小于水解蛋白质的速度，蛋白质减少)。

根据试验结果显示,过氧化氢与超声波耦合的方法提取剩余污泥蛋白质在低浓度的过氧化氢(0.5%)有少许帮助(提高1~2%左右),但是作用不明显,而且蛋白质提取率小于单一超声波处理情况下的最佳值;在高浓度过氧化氢投加量下,过量的过氧化氢会氧化蛋白质,对蛋白质的提取不利。

3.4.4 超声波和盐耦合效果

根据研究,蛋白质溶液再加入盐后溶解度存在两个阶段^[97]:1、当中性盐浓度小于1.0mol/L时,可增大蛋白质的溶解度(盐溶, salting in);2、当中性盐蛋白质溶液大于1.0mol/L时,可降低蛋白质在水中的溶解度甚至产生沉淀(盐析, salting out)。因此适当的盐溶液浓度可以增加蛋白质的溶解度。本试验主要研究在超声波处理剩余污泥时,向污泥溶液中加入适量的硫酸钠的情况下对蛋白质的提取率影响情况,为超声波与盐耦合法处理剩余污泥提取蛋白质的可行性提供依据。

试验选择超声波处理最佳的条件:超声处理22min,超声波输出功率65%。取100ml洗涤后的剩余污泥置于200ml在最佳的超声波处理条件下加入硫酸钠,测量蛋白质的提取率,试验选择的硫酸钠的投加量为0.01mol、0.02mol、0.03mol、0.04mol、0.05mol、0.06mol、0.07mol、0.08mol、0.09mol、0.1mol、0.11mol和0.12mol(按照质量的投加量为:1.32g、2.64g、3.96g、5.28g、6.60g、7.92g、9.24g、10.56g、11.88g、13.2g,按照浓度记为0.1mol/L、0.2mol/L、0.3mol/L、0.4mol/L、0.5mol/L、0.6mol/L、0.7mol/L、0.8mol/L、0.9mol/L、1.0mol/L)10个变量,将硫酸钠加入到污泥溶液中用玻璃棒搅拌后按照3.4.1方法继续试验。在最佳的超声波处理条件下蛋白质的提取情况见图3.22。

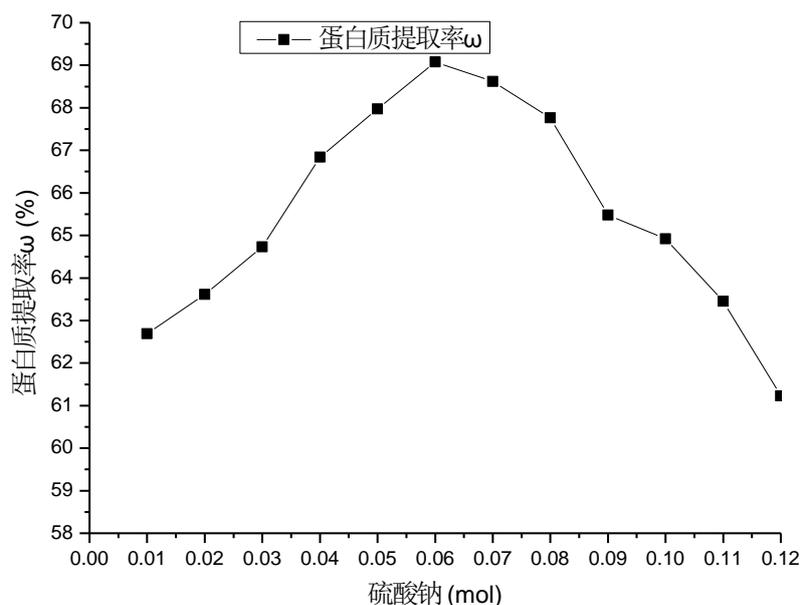
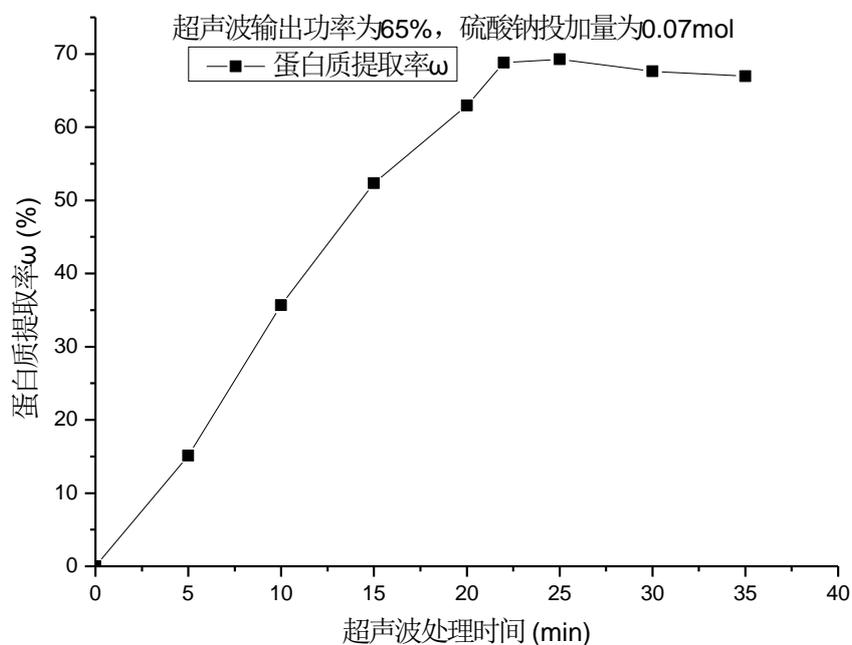


图 3.22 超声波最佳处理条件下,不同硫酸钠投加量对蛋白质的提取率影响

Fig.3.22 The affect of extraction rate of protein under different dosage of Na_2SO_4 , under the optimum ultrasonic treatment

由图 3.22 可见, 在超声波最佳处理的条件下, 蛋白质的提取率随硫酸钠的投加量的增加而递增, 当硫酸钠的投加量为 0.07mol (9.24g) 时, 蛋白质最大提取率达到 69.01% , 在最大值后, 蛋白质的提取率在迅速减小, 硫酸钠的投加量越大, 递减速度越快。单一超声波处理的最大蛋白质提取率为 62.28% , 耦合处理较单一处理高出近 7% , 向蛋白质溶液中投加盐, 盐溶解后可增加溶液中蛋白质分子表面的电荷, 增加蛋白质分子与水分子的作用, 使蛋白质在水溶液中溶解度增大, 因此在溶液中存在部分沉淀蛋白质重新融解的现象, 从而增加蛋白质的提取率。当盐浓度过大时, 高浓度的盐离子 (Na^+ 和 SO_4^{2-} 等) 具有较强的水化能力, 可夺取与蛋白质分子结合的水分子, 导致蛋白质胶体因失水而沉淀, 所以在达到最大值后随着盐投加量的增大蛋白质的提取率减小。



(a) 超声波与盐耦合

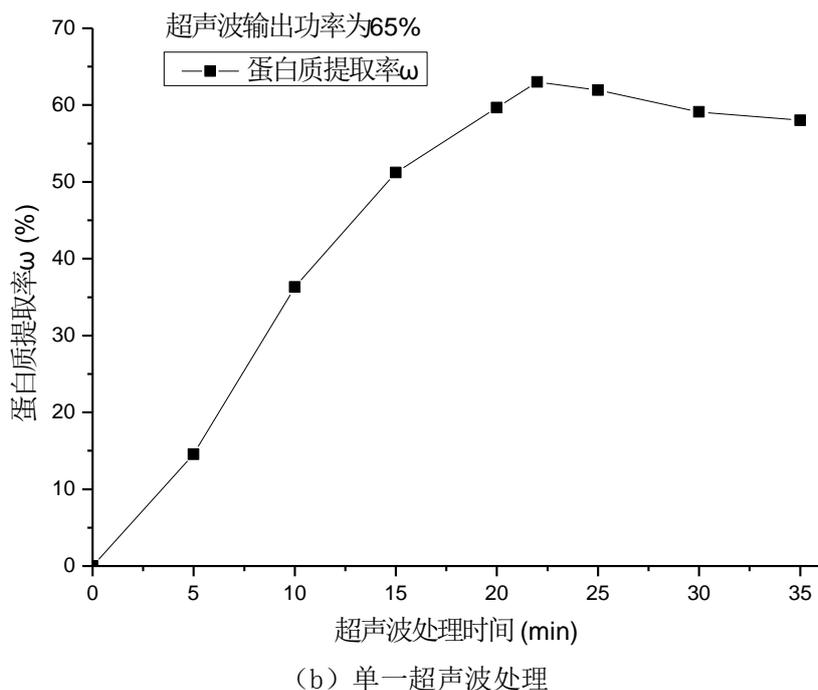


图 3.23 超声波与盐耦合和单一超声波处理情况下蛋白质提取率对比

Fig.3.23 The comparison of extraction protein rate under ultrasonic coupling with salt and single ultrasonic treatment

从图 3.23 上可以看出，超声波单一处理和超声波与盐耦合两条曲线的走势基本相近，超声波耦合盐处理的后期蛋白质提取率变化较平缓；在数据上，0~10min 时间内的蛋白质提取率基本无差别，在 15min 后超声波耦合盐处理的蛋白质提取率较单一处理的提取率均有提升，说明在此段时间后，蛋白质原本应该出现的少量沉淀或者聚沉被溶解，而且在最大值点处的提取率较单一处理要高 6%~7%。耦合试验在 25~35min 时蛋白质提取率变化平缓，说明在此时间内蛋白质含量基本无变化，盐的加入可以改善蛋白质胶体的稳定性能。

综合本试验各数据，超声波耦合盐处理剩余污泥是可行的，而且耦合法的提取效果较单一超声波处理更加良好，盐不仅可以促进蛋白质的融解，增加溶液中蛋白质的含量，同时也具有稳定蛋白质胶体的能力。试验结果显示，在超声波处理时间为 25min、超声波输出功率为 65%、硫酸钠的投加量为 0.7mol/L 时蛋白质的提取率可达 69.01% 左右。

3.5 章节小结

(1) 沙湖污水处理厂剩余污泥资源化利用是可行的，酸解、热解、酸与热解耦合、超声波处理、过氧化氢氧化、超声波与过氧化氢耦合、超声波与盐耦合处理均可从剩余污泥中提取出蛋白质。

(2) 将酸解、热解、酸与热解耦合的方法进行比较, 酸与热解耦合能有效提取剩余污泥中的蛋白质, 其最佳条件为: 水解温度 110℃, 水解时间 6h, 水解体系 pH=1 左右, 在此条件下的蛋白质提取率可达 61.59% 左右。

(3) 过氧化氢处理剩余污泥的提取率较低, 羟基自由基可氧化细菌及内溶物。一般情况下, 耦合处理方法较单一处理结果良好, 但是超声波与过氧化氢的耦合结果较单一超声波处理结果要差一些。

(4) 超声波与盐耦合处理方法比单一超声波处理得到的蛋白质提取率要高 6~7% 左右, 该处理方法具有最高的蛋白质提取率。最佳试验条件: 超声波输出功率 65%, 超声处理时间为 25min, 盐投加量为 0.7mol/L, 而且处理后污泥溶液蛋白质较为稳定, 没有出现蛋白质大幅度减少的情况。

(5) 将上述各试验方法进行对比发现, 超声波与盐耦合法无论在试验设备、试验时间、可操作性及蛋白质提取率方面都具有一定优势, 试验设备简介、干净, 而且试验完成后不会因其它条件影响溶液成分。

(6) 在剩余污泥蛋白质提取的同时, 污泥微生物发生融胞反应, 导致污泥固体成分的减少, 对污泥的减量化也具有一定的作用。

第 4 章 处理后污泥上清液可生化性能的研究

经过前期试验研究, 剩余污泥经过处理后可提取蛋白质, 然而提取蛋白质后的溶液能否资源化再利用, 达到污泥的充分、合理的使用呢? 本试验部分主要研究处理后的污泥溶液上清液能否用于回流补充反应池中碳源。

近年来污水处理厂的大规模建立为城市污水的净化做出巨大贡献。众所周知, 污水处理厂污水主要来源于生活污水。它主要是从住房、公共设施(饭店、宾馆、影剧院、体育场馆、机关、学校和大型商场等)以及一些工厂的厨房、卫生间、浴室和洗衣房等生活设施排放出来的水。这类污水一般会含有较高的有机物, 如淀粉、油脂等, 以及氮、磷等无机物, 此外, 还含有病原微生物和较多的悬浮物。我国的大部分污水处理厂普遍存在碳源不足的问题, 由于碳源不足, 反硝化菌和聚磷菌对能源需求的竞争剧烈, 导致污水生物不能有效的脱氮除磷, 出水不达标, 对污泥水厂的正常运行带来诸多问题。目前主要解决这一问题的办法是向污水中再投碳源, 这无疑为污水处理厂的投资增加额外费用。现阶段, 如何更合理和更节省的方法为污水增加可利用的碳源成为研究的热点问题^[98-99]。

生物法处理污水本身会产生大量的剩余污泥, 污水处理厂剩余污泥的合理处理与处置同样是现阶段污水处理厂急需解决的重点和难点。由于剩余污泥本身含有大量的有机物, 如何将污水处理厂的剩余污泥这部分有机物做为进厂污水的补充碳源使用, 这是一个需要克服的重要难题。据曹艳晓等^[100]研究, 通过将剩余污泥的厌氧发酵控制在水解酸化阶段以制备高含碳上清液, 并回用到处理工艺中, 可以达到在解决系统碳源不足问题的同时实现剩余污泥减量的目的; 宴鹏等^[101]研究在碱解、超声波处理和两者联合处理方法处理后的上清液中碳氮比和碳磷比等在数据上基本满足增加进水碳源的要求。污泥可作为补充碳源主要是靠污泥处理后的上清液, 污泥上清液制备方法是实现污泥内容物的释放, 即污泥融胞。据第 1 章中阐述, 实现污泥融胞的主要方法有物理法、化学法、生物处理法和热处理。在第 3 章主要研究了不同污泥破解工艺条件下, 剩余污泥蛋白质的提取效果, 在酸与热解耦合的研究中, 离心后用于蛋白质提取的上清液中含有大量的 SCOD, 因此, 本试验主要在第 3 章的基础上做的进一步试验, 采用第 3 章中剩余污泥蛋白质提取率最高的污泥处理方法对剩余污泥进行处理, 静置沉淀固体成分, 然后将上清液投加入污泥培养装置中, 培养期间测量污泥溶液中各物质组分的变化, 分析污泥水解液作为污泥碳源的可行性。

4.1 应用试验的上清液的选择

根据第3章中各提取方法蛋白质提取率的研究,选择超声波耦合盐溶液的处理方法处理剩余污泥所得的上清液用于试验。试验选择的原因主要有以下几个:1、超声波耦合盐处理的方法干净、高效,蛋白质提取率最高,提取率可达到69%左右,应作为蛋白质提取的处理方法,同时,上清液中SCOD含量也较高;2、酸与热解耦合法处理的剩余污泥上清液中含SCOD含量也较高,但是上清液中含有酸,较低的pH环境会对活性污泥的活性造成影响;3、热解反应过程中蛋白质和碳水化合物发生反应,生成难降解物质,对上清液中SCOD有影响。

表 4.1 剩余污泥不同工艺处理后上清液中 SCOD 含量

Tab.4.1 The contains of SCOD in the surplus sludge supernatant after different heat treatment

处理方法	酸解	热解	酸与热 解耦合	超声波	过氧化 氢氧化	超声波耦合过 氧化氢	超声波 耦合盐
SCOD (mg/L)	229.4	1755.9	1873.3	2061.7	825.1	1277.4	2108.4

4.2 试验步骤及试验结果讨论

4.2.1 试验步骤

本试验主要分为两个部分,第一个为蛋白质沉淀制备试验上清液的试验部分;第二个是可生化性研究试验部分。

1) 试验上清液的制备

将处理好的上清液置于10ml离心管中,用调节好的稀硫酸调节pH为3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0和6.5(由于蛋白质的一般沉降pH在4~6之间,因此试验选择此7各点),将上清液离心后检测上清液中蛋白质的含量,蛋白质含量最低的pH值即为蛋白质等电点或者临近点。调节上述蛋白质沉降后的污泥上清液pH至7~8左右。

2) 可生化研究

将污泥上清液稀释,使溶液SCOD在250mg/L左右,C:N为15左右(比污泥培养时配制的营养液C:N要低,但并不是很大),将稀释后上清液加入试验装置(图3.1)中,开始搅拌并曝气处理,培养两天后换新的上清液试验,自污泥投加开始,每隔2h在取样口(装置3.1上阀门)处取污泥溶液进行检测(由于夜晚停止曝气,仅搅拌,此段时间没有取样检测)。其他试验按照3.2.1中试

验方法操作。

4.2.2 试验结果讨论

1) 试验上清液的制备

根据试验步骤，上清液离心后蛋白质浓度生物变化情况见下图 4.1。

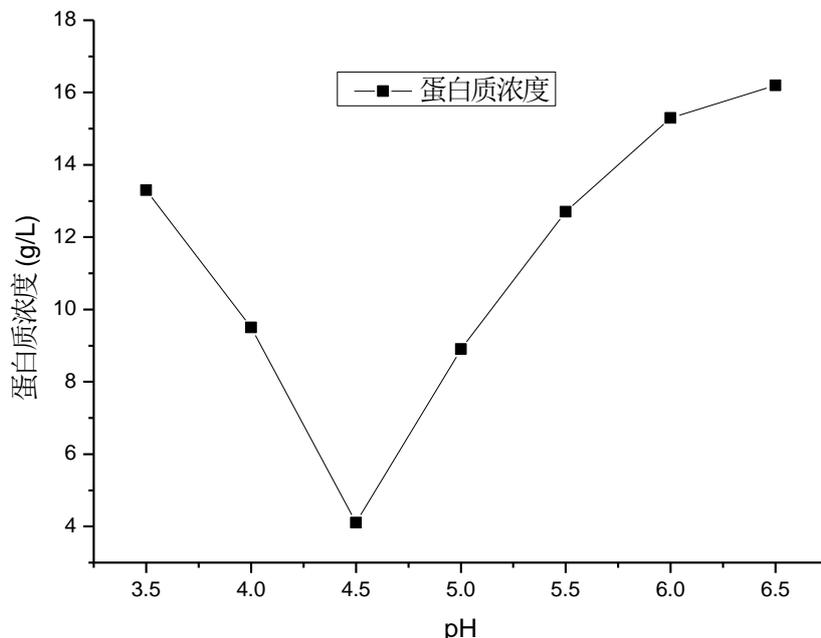


图 4.1 提取上清液中蛋白质浓度随 pH 的变化

Fig.4.1 The changes of protein concentration in the supernatant with variations of pH

由图 4.1 发现，随着 pH 的升高，蛋白质浓度先降低，在最低点以后，蛋白质浓度随 pH 的升高而增加，蛋白质在 pH=4.5 处的浓度最低。根据等电点理论，蛋白质在等电点处的溶解度最小，等电点的离子浓度 pI 与 pH 相等，由于试验 pH 间隔过大，试验不能准确的确定其等电点，只能确定等电点范围，因此，试验所得的蛋白质的等电点在 pH=4.5 左右。

在经超声波与盐耦合处理后的污泥上清液，调节 pH 至 4.5，将所得的溶液在 3000r/min 转速下离心 3min，取上清液 2L。预处理后的上清液调节 pH 为 7~8 左右，溶液中 SCOD、TN、TP 含量见表 4.2。根据表中数据显示，污泥处理后上清液中总氮较高，其原因可能是蛋白质分子水解，补充了溶液中的总氮。试验所用上清液中 C:N 约为 18.2 左右，C:P 约为 47.5，符合试验条件下碳氮比的投加量。

表 4.2 超声波耦合盐预处理剩余污泥中 SCOD、TN、TP 含量

Tab.4.2 The content of SCOD, TN, TP in the sludge treat with ultrasonic coupling with salt

检测项目	SCOD	TN	TP
含量 (mg/L)	1879.4	102.7	39.6

2) 上清液生化性能研究

本试验主要研究经过处理后的污泥上清液做为培养液添加至反应池培养活性污泥的可行性。上清液投入试验装置内一段时间后检测污水的 SCOD、TN、TP 的浓度，通过对其变化分析得出污泥处理后上清液用于回流补充碳源的可行性，试验过程中污水溶液 SCOD、TN、TP 变化情况见下图 4.2。

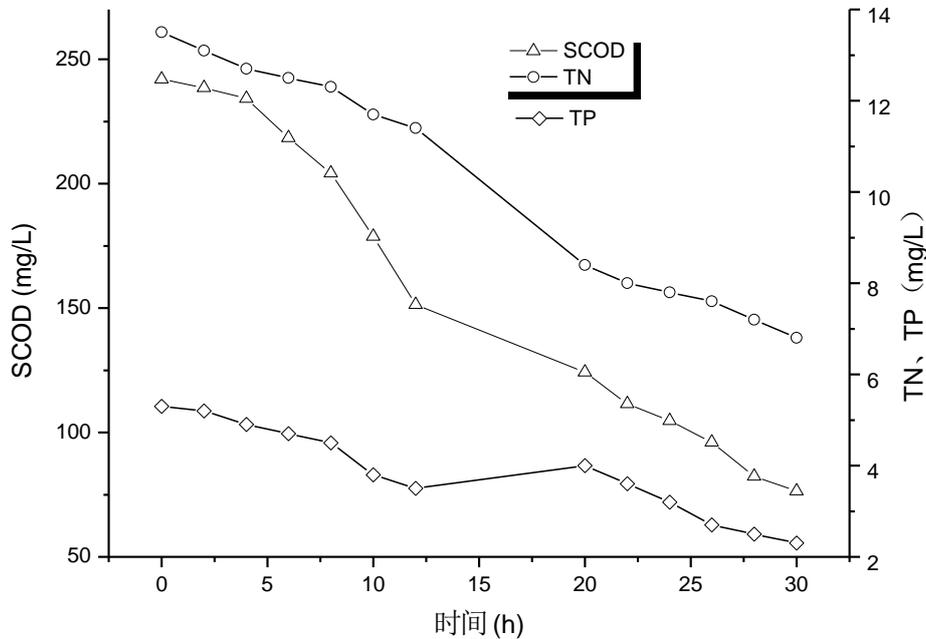


图 4.2 污泥溶液中各物质浓度随时间变化

Fig.4.2 The concentration in solution of all substances in the sludge changes with time

图 4.2 显示，上清液投入装置中后，污水中的 SCOD、TN、TP 随着试验过程的延续而不断减少，试验结束时污水中 SCOD 减少 68.4%左右，TN 减少 49.8%左右，TP 减少 56.8%左右。试验中，由于试验所用的上清液 C:N 较低，而 TP 含量较高，聚磷菌和反硝化细菌对碳源的竞争激励，能量的不足导致试验中氮、磷的去处理仅为 50%左右。30h 时，检测水样的 SCOD 的浓度为 76.5mg/L, 整个过程中污水 SCOD 减少了 68.4%，说明试验过程中，水样中的 SCOD 部分被微生物利用，剩余污泥超声波耦合盐处理后的污泥上清液可作为微生物的碳源使用。

4.3 结论

- 1、超声波耦合盐处理剩余污泥具有较高的污泥破碎效果，上清液中的 SCOD 含量达 2098.1mg/L，比原污泥溶液增加了近 26 倍。
- 2、超声波耦合盐处理剩余污泥所得上清液可用于补充低碳氮比污水碳源。试验中 SCOD 的去处理达到 68.4%。

3、超声波耦合盐处理剩余污泥的上清液中还含有较高浓度的 N、P，试验将对有效减少上清液中的 N、P 或者将其应用于补充 N、P 含量较低的污水做进一步研究。

第5章 总结

在我国城市化进程加快,城市人口稠度增加,生活水平的提高的同时,人均用水量也在急剧增加,城市污水的综合治理将是整治城市环境污染的重要环节。近年来我国污水处理厂大规模兴建,污水未经处理随意排放问题得到改善,城市主要水源地水质得到改善。2015年两会期间提出加大污染物排放超标处罚力度,大力打击乱排、偷排现象,反应政府整治环境污染的决心。近年,随着污水处理效率的增加,污泥产量增加,污泥合理处置也是现在相关环境部门的首要关注问题。污泥资源化综合利用不仅可以实现污泥的变废为宝,同时还可以减少污泥的排放量,实现污泥的无害化。

本文先对我国污水处理现状和污泥处理现状进行分析,然后以污泥融胞为基本思路,提出在污泥融胞后的污泥上清液两种资源化利用的新途径,即将污泥融胞后的上清液用于蛋白质提取和用于补充低碳氮比的污水碳源。为此,本文以污水厂剩余污泥为研究对象,通过不同的融胞工艺对剩余污泥进行处理,对比蛋白质提取效果,优化提取工艺条件,得出最佳处理工艺。然后以最佳蛋白质提取条件下的污泥上清液应用于培养活性污泥,分析污泥上清液作为碳源的可行性。

5.1 总结

1、沙湖污水处理厂的剩余污泥呈深褐色饼状,较为松软,有轻微臭味,pH值为7.8~8.2,弱碱性,剩余污泥含水率为73.27%~80.51%,洗涤后的剩余污泥蛋白质含量为29.4%(干重)。

2、主要研究热解、酸解、酸与热解耦合、超声波处理、过氧化氢处理、超声波耦合过氧化氢处理和超声波耦合盐处理7种提取污泥蛋白质方法,超声波处理、酸与热解耦合法和超声波耦合盐法蛋白质提取率为62.28%、61.59%和69.01%,提取率较高。

3、过氧化氢处理剩余污泥提取剩余污泥蛋白质效率较低,在过氧化氢投加1.5%(体积比),处理时间为15min,蛋白质提取率仅为23.56%;过氧化氢与超声波耦合的方法处理剩余污泥效果差于单一超声波处理,可能是试验过程蛋白质被过氧化氢氧化分解。

4、超声波耦合盐处理不仅具有最高的蛋白质提取率而且处理后上清液中SCOD、TN、TP含量也较高。适当浓度的盐溶液可以增加蛋白质的溶解度,使部分沉淀蛋白质再溶解,增加溶液中蛋白质含量。处理工艺最佳条件为:超声波输出功率为65%,超声波处理时间为25min,硫酸钠投加量为0.7mol/L。

5、超声波耦合盐处理后的污泥上清液可用于补充污水碳源。试验过程中，水样中 SCOD 含量不断降低，在第 30h 时，污水 SCOD 去除率达 68.4%，试验过程中上清液中的 N、P 也有一定的去处率。

5.2 深入研究

1、分离、提纯最佳试验条件下处理后的污泥上清液中蛋白质，对提取的蛋白质组分和安全性进行分析，并对蛋白质市场投放方式进行研究。

2、开展以超声波为主体试验部分，利用超声波与其他处理（如酸、碱、臭氧、加热等）耦合的方法处理剩余污泥，研究蛋白质提取率情况。

3、开展剩余污泥蛋白质提取后固体成分脱水性能及其减量化的研究；

4、开展中试研究，根据中试运行情况核算蛋白质提取的成本，蛋白质产品的市场盈利以及上清液补充碳源的资金节省情况，为剩余污泥资源化可行性提供科学依据。

参考文献：

- [1] 《城镇污水处理厂污泥处理处置技术规范(2008.12)》 .
- [2]张振华, 浅议我国污泥处置的现状与发展[J]. 科技情报开发与经济, 2012, 22(9).
- [3]中华人民共和国住房和城乡建设部. 关于全国城镇污水处理设施 2010 年第四季度建设和运行情况的通报[R]. 建城[2011]12 号,2011,1,28.
- [4] 林云琴, 周少奇. 我国污水污泥处理、处置与利用现状[J].能源环境保护, 2004,18(6):15-18.
- [5]Low E.U., Chase H. A. .Reducing production of excess biomass during wastewater treatment. Wat. Res. ,1999,33(5):1119-1132.
- [6] 宿翠霞, 王龙波, 李凌霄. 城镇污水处理厂污泥处置与资源化利用[J]. 中国资源综合利用, 2010,5(28):50-52.
- [7]徐强, 张春敏, 赵丽君. 污泥处理处置技术及装置[M].北京:化学工业出版社, 2003,P3.
- [8]李国学, 等. 固体废物堆肥化与有机复混肥生产[M]. 北京:化学工业出版社, 2000,P232.
- [9]周书征, 郝丽君, 等. 污泥对肥后处理系统初探[J]. 机电产品开发与创新. 2013,26(1):50-52.
- [10]黄雅曦, 李季, 李国学. 污泥处理与资源化利用现状分析[J].农业环境科学学报. 2003.22(6):765-768.
- [11] 《生活垃圾焚烧污染控制标准》 (GB18485) .
- [12]王涛. 污泥焚烧技术现状、存在问题与发展趋势[J]. 西南给排水, 2007, 29(1):7-10.
- [13]杨柯敏, 张春燕, 张燕等. 城市污泥处理处置方式及现状分析[J]. 中国资源综合利用 2012,12:28-31.
- [14]杨文婷. 城市污泥处理现状[J]. 科技信息. 2009,33:730-731.
- [15]王大伟, 刘宗耀. 污泥减量化研究进展[J]. 广州化工:2010,5(28):65-67.
- [16]Siddiquee M N, Rohani S. Lipid Extraction and Biodiesel Production from Municipal Sewage Sludges:A Review[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews,2011,15(2):1067-1072.
- [17]Dogru M,Midilli A,Howarth C R. Gasification of Sewage Sludge Using a Throated Downdraft Gasifier and Uncertainty Analysis[J]. Fuel Processing

- Technology.2002,75(1):55-82.
- [18]Weng C H,Lin D F,Chiang P C. Utilization of Sludge as Brick Materials[J]. Advances in Environmental Research,2003,7(3):679-685.
- [19]Chishtia S S,Hasnaina S N,Khanb M A studies on the recovery of sludge protein [J]. Water Research, 1992, 26(2):241-248.
- [20]Tanakas,Kobayashi T,Kamiyama K,el;al.Effects of thermochemical pretreatment on the anaerobic digestion of waste activated sludge[J]. War Sci Tech, 1997,35 (8):209-215.
- [21]Clevenger T E.Safety and efficacy of food processing sludges as animal food: chemical characterization[J].Water Pollution Control Federation,1990,62(6):820-827.
- [22]赵顺顺, 孟范平. 剩余污泥蛋白质作为动物饲料添加剂的营养性和安全性分析[J].中国饲料, 2008,15:25-38.
- [23]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].山东:中国海洋大学环境科学与工程学院. 2008.
- [24]熊振湖. 我国污水厂污泥的处理与资源化研究[J]. 天津城市建设学院学报, 1999,5(3):6-9.
- [25]李亚东, 李海波. 利用剩余活性污泥水解蛋白质制备蛋白质泡沫灭火剂的研究[J]. 湖北大学学报. 2005,27(1).91-93.
- [26]常青, 梁浩, 李亚东, 等. 利用剩余污泥制备泡沫灭火剂的试验研究[J].中国给水排水, 2006,22(9):38-42.
- [27]王翠花, 潘志华. 蛋白质类发泡剂的合成及其泡沫稳定性[J].南京工业大学学报, 2006,28(4):92-96.
- [28]李军伟. 活性污泥蛋白质混凝土发泡剂的泡沫稳定性研究[J]. 新型建筑材料, 2010:63-66.
- [29]Lerch RNBarbarick KAAzari P.Sewage sludge proteins:i.Extraction methodology [J]. Journal of Environmental Quality,1993,22(3):620-624.
- [30]秦晓, 刘勇. 盐酸法提取污泥中蛋白质过程的研究[J]. 2012,38(2).
- [31]ChishtiS S,HasnainS N,KhanM A.Studies on the recovery of sludgeprotein [J]. Water Research,1992,26(2):241-248.
- [32]肖本益, 刘俊新. 不同预处理方法对剩余污泥性质的影响研究[J].环境科学; 2008,29(2),327-331.
- [33]周丽丽, 祁小丹, 周迟骏. 双碱配合提取啤酒厂剩余污泥蛋白质的研究[J].安徽农业科学,2012,40(2):1020-1021.
- [34]崔静, 董岸杰, 张卫江等. 热碱水解提取污泥蛋白质的试验研究[J]. 环境工程

学报. 2009.3(10).1889-1892.

[35]J He.Ultrasonic reduction of excess sludge from activated sludge system: Energy efficiency improvement via operation optimization[J].Ultrason Sonochem,2010, 03.6

[36]A Gronroos,H Kyllonen,K Korpijarvi,et al.Ultrasound assisted method to increase soluble chemical oxygen demand(SCOD)of sewage sludge for digestion[J].Ultrason Sonochem.2005,12(1-2):115-120.

[37]相玉林, 张卫江, 徐娇等. 超声波辐射强化污泥蛋白质的提取[J]. 化学工程. 2011.39(3):63-66.

[38]张骥. 国内外超声波用于污泥减量的比较研究[J].广州环境科学;2011, 26(1):1-5.

[39] 曹秀芹. 超声波技术在污泥处理中的研究及发展[J]. 环境工程. 2002,20(8). 23-25.

[40]马凌. 自热高温好氧消化处理剩余污泥试验研究[D].西安建筑科技大学市政工程.2010.

[41]赵连梅, 池勇志, 张春青等. 微波消解对剩余污泥中蛋白质的影响研究[J].实验室科学;2012.15(3).

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

[43]梁艳. 污水厂污泥酶解减量及资源化技术研究[D]. 武汉理工大学市政工程, 2009.

[44]王伟怡. 污水处理厂污泥酶解溶出有机物试验研究[J].河北建筑工程学院学报. 2001.29(2).31-34.

[45]Chishti S S, Hasnain S N, Khan M A. Studies on the recovery of sludge protein[J]. Water Research, 1992, 26(2):241-248

[46]A Gronroos, H Kyllonen, K Korpijarvi, et al. Ultrasound assisted method to increase soluble chemical oxygen demand(SCOD)of sewage sludge for digestion[J]. Ultrason Sonochem.2005,12(1-2):115-120.

[47]Julien Laurent, Magali Casellas, Christophe Dagot. Heavy metals biosorption on disintegrated activated sludge: description of a new equilibrium model[J]. Chemical Engineering Journal, 2010.

[48]赵德君. 单频率及双频率超声和碱联合预处理技术对剩余污泥的破解效果研究[D]. 辽宁大学环境科学:2011.

[49]崔静, 董岸杰, 张卫江等. 热碱水解提取污泥蛋白质的试验研究[J]. 环境工程学报. 2009.3(10):1889-1892.

- [50]宫常修, 蒋建国, 杨世辉. 超声波耦合 Fenton 氧化对污泥破解效果的研究——以粒径和溶解性物质为例[J]. 中国环境科学. 2013,33(2).293~297.
- [51] Pham T T H, Brar S K, Tyagi R D, et al. Influence of ultrasonication and Fenton oxidation pre-treatment on rheological characteristics of wastewater sludge [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2010,17(1):38-45.
- [52]毛艳萍, 陈泉源, 杜菲菲. 酸热处理提剩余污泥胞外聚合物的条件优化[J]. 环境工程学报,2012,6(9):3294-3298.
- [53]刘广益. 超声波-厌氧消化处理不同种类污泥的效果研究[D]. 哈尔滨工业大学市政工程.2011.6.
- [54]杨虹. 超声破解促进污泥厌氧水解酸化速率的研究[D]. 天津大学环境科学与工程学院. 2006.
- [55]刘涛. 碱联合微波预处理污泥效果的研究[D]. 太原理工大学环境工程学院. 2012.
- [56] Buyukkamaci N. Biological sludge conditioning by Fenton's reagent [J]. Process Biochemistry, 2004,39(11):1503-1506.
- [57]曹秀芹, 陈珺, 欧阳利, 等. 剩余污泥的超声处理试验研究[J].中国给水排水. 2003,19(2):58-60.
- [58]李琪. 低碳源系统剩余污泥碳源化特性研究[D].重庆:重庆大学. 2014.
- [59]苑宏英. 基于酸碱调节的剩余污泥水解酸化及其机理研究[D].上海:同济大学. 2006.
- [60]李洋, 曹国凭. 污泥减量化技术的研究现状和进展[J].河北理工大学学报. 2009,31(2):139-142.
- [61]霍贞, 王芬, 季民. 污泥破解技术的研究与进展[J]. 工业水处理,2005,25(9): 16-19.
- [62]杨顺生, 高晓勇. 超声波技术在污泥处理利用中的应用现状及前景预测[J]. 四川环境, , 2006, 25(1):61-64,69.
- [63] Harrison S T L. Bacterial cell disruption: a key unit operation in the recovery of intracellular products [J].Biotechno. Adv., 1991, 9(2):217-240.
- [64]《食品安全国家标准-食品中蛋白质的测定》(GB 5009.5-2010).
- [65]汪家政, 范明. 蛋白质技术手册[M]. 科学出版社,2000.
- [66]Bradford M M.A rapid and sensitive method for the Quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dyebinding[J]. Anal. Biochem.1976, (72):248-254.
- [67]Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al.Protein measurement with the Folin

- phenol reagent[J].Biol Chem,1951,(193):265-275.
- [68]刘邻涓,陶健,毕磊.双缩脲法测定荞麦蛋白质[J].食品科学,2004,25(10):258-261.
- [69]魏琴,吴丹,张慧,等.蛋白质分析技术的发展趋势[J].济南大学学报(自然科学版),2003,17(4):312-320.
- [70]龚仁敏,张方,杨朝辉,等.水杨酸盐光度法测定蛋白质[J].安徽师范大学学报(自然科学版),2002,25(1):52-53.
- [71]姜能座,陈剑伟.用原子荧光分光光度计测定食品中的蛋白[J].分析实验室.2004,23(8).62-64.
- [72]谢新华,肖听,刘彦卓,等.小批量稻谷种子蛋白质含量的近红外透射光谱分析[J].湖北农业科学,2004(20):16-18.
- [73]刘立明,宋功武.罗丹明 6G 生物探针测定蛋白质[J].湖北大学学报,2001(4):363-365.
- [74]《城市污水处理厂污泥检验方法》(CJ/T 221-2005).
- [75]《水质化学需氧量的测定-重铬酸钾法》(GB 11914-89).
- [76]《水质总氮的测定-碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法》(HJ 636-2012).
- [77]《水质总磷的测定-钼酸铵分光光度法》(GB 11893-89) 环境保护部.1990.7.1.
- [78]秦晓.剩余污泥中蛋白质的分离及其性质分析[D].天津:天津大学.2011.
- [79]沈萍,陈向东.微生物学[M].北京:高等教育出版社,2006.12.P40.
- [80]许保玖,龙腾锐.当代给水与废水处理原理(第二版)[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [81]朱厚础.蛋白质纯化与鉴定试验指南[M].北京:科学出版社,1999;158-159.
- [82]李海玲,彭书明,李凇,张雪梅.4种常用蛋白浓度测定方法的比较[J].中国生化药物杂志.2008,29(4):277-282.
- [83]肖本益,刘俊新.不同预处理方法对剩余污泥性质的研究[J].环境科学,2008,29(2):327-331.
- [84]Elbing G, Dünnebeil A.Thermal disintegration with subsequent digestion-lab-scale investigation[J].Korrespondenz Abwasser,1999,4(2):538-547.
- [85]李林,卢家炯.美拉德反应的抑制及消除方法[J].广西轻工业,2000,(4):16-18.
- [86]秦晓,刘勇.盐酸法提取污泥中蛋白质过程的研究[J].环境保护科学.2012,38(2):48-52.
- [87]应崇福,超声学[M].北京,科技出版社,1990:8
- [88]王芬.超声破解对污泥特性的影响机制与零剩余污泥排放工艺研究[D].天津:天津大学.2006

- [89] Gogati P. A Novel Form of Energy Dissipation for Wastewater Treatment [J]. *Journal of Microbiology*,2003,48:318-324.
- [90]刘玉蕾. 城市污水厂污泥回收蛋白质的技术研究[D]. 黑龙江:哈尔滨工业大学. 2012.
- [91]YIN Xuan,HAN Ping fang, LU Xiao pin,et al. A review` on the dewaterability of bio-sludge and ultrasound pretreatment[J].*Ultrasonics Sono-chemistry*,2004,11:337-348.
- [92] BOUGRIER C.CARRERE H, DELGENES J P.Solu-bilisation of waste activated sludge by ultrasonic treatment[J].*Chemical Engineering Journal*,2005,106:163-169.
- [93]相玉琳, 张卫江, 徐娇, 相玉坤. 超声波辐射强化污泥蛋白质的提取[J].*化学工程*. 2011,39(3):63-66.
- [94]金瑞洪. 臭氧对活性污泥特性影响研究[J].*环境污染治理技术与设备*. 2004, 5(9):48-50.
- [95]王广华 C102 耦合超声波破解污泥溶出机理与微生物隐性生长的污泥减量研究[D]. 广东:华南理工大学. 2011.
- [96]王习文, 詹怀宇, 李兵云. 自由基与过氧化氢漂白[J].*中国造纸学报*. 2003,18(1):45-47.
- [97]阚建全. 食品化学(第二版)[M].北京:中国农业大学出版社, 2008.9,67
- [98]汤兵, 王五洲, 石太宏. 低碳源条件下反硝化同步除磷脱氮的研究[J].*工业水处理*, 2007,27(12):49-51.
- [99]邹胜男, 梅翔, 谢玥, 江文潮等. 以剩余污泥水解酸化液为外加碳源的污水生物脱氮[J]. *环境工程学报*. 2011,5(11):2519-2526.
- [100]曹艳晓, 龙腾锐, 付婵媛, 龚正. 剩余污泥碱解上清液作为反硝化碳源的回用量试验研究[J]. *土木建筑与环境工程*. 2010,32(1):125-130.
- [101]宴彭, 毛建红, 曾荣辉, 周冰洁, 吉芳英. 剩余污泥碳源化特性及利用途径研究[J]. *中国给水排水*.2013,29(23):27-31.

附 录

本人在攻读硕士学位期间所写论文：

[1]酸和热解耦合法提取剩余污泥蛋白质的研究[J]. 武汉纺织大学学报.

致 谢

时间转瞬即逝，三年的研究生生活即将结束，在此我衷心的感谢我的导师吕斌教授在这段时间里对我生活上的关心照顾，以及在学习上的悉心教导。他是一个严谨的人，对自己要求严格，对工作认真，对科学执着，对他人热情。三年的生活他帮助了我很多，不仅仅是因为他为我提供一个良好的学习、科研环境，还教会我严谨科研、认真做事、乐观做人的生活态度，为我以后的工作生活奠定了基础。

非常感谢武汉大学土木建筑学院的王宏宇老师对我的悉心指导及给排水实验室的各位老师、同学对我实验的帮助，也感谢武汉纺织大学环境工程实验室的各位老师、同学对我实验的帮助，在你们的帮助、指导下我的实验才能顺利完成，在此我表示深深的感谢。最后，感谢在研究生期间的各位老师、同学和室友对我学习生活上的帮助，谢谢你们，祝你们身体健康、事业顺利、永远幸福。