

酸沉淀法回收木薯黄浆废水中蛋白质及其影响因素的研究

邓国龙,莫创荣*,张金莲,谢婷,韩宴秀,聂骥
(广西大学环境学院,广西南宁 530004)

摘要:以木薯黄浆废水为研究对象,分析木薯黄浆废水主要组成成分,并对其中的蛋白质组分进行有效地沉淀。通过实验测定木薯黄浆废水蛋白质的等电点在3.5~4.5之间。通过单因素实验条件,选择pH、沉淀时间、温度和黄浆废水蛋白质浓度为变量,利用正交实验分析影响木薯黄浆废水蛋白质沉淀因素主次和优化木薯黄浆废水蛋白质沉淀工艺,结果表明在pH为4.0、温度为35℃、提取时间为3.0h及蛋白质浓度为1400mg/L的条件下,木薯黄浆废水中蛋白质沉淀率达到最高为98.3%。木薯黄浆废水沉淀蛋白质富含15种氨基酸,可以作为动物饲料添加剂使用。

关键词:木薯黄浆废水,等电点,酸沉淀,正交实验

Study on acid precipitation technology of protein in cassava starch wastewater and its influencing factors

DENG Guo-long, MO Chuang-rong*, ZHANG Jin-lian, XIE Ting, HAN Yan-xiu, NIE Ji

(Department of Environment Science, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: The major components of cassava starch maize plasm wastewater were analyzed to understand the subsequent processing and recycling of cassava starch wastewater. Isoelectric points of protein in the maize plasm cassava starch wastewater were between 3.5 to 4.5. Through the single factor experiment, pH, precipitation time, temperature and concentration of protein in cassava yellow pulp wastewater were selected as variables. The acid precipitation technology of protein in cassava starch maize plasm wastewater was studied by the orthogonal test. The results showed that the precipitation rate of protein were obtained reach as high as 98.3%, when the initial pH was 4.0, the temperature was 35℃, the precipitation time was 3.0h, and protein concentration for 1400mg/L. Cassava starch wastewater precipitated protein contained 15 kinds of amino acids, it could be used as animal feed additive.

Key words: cassava starch wastewater, isoelectric point, acid precipitation, orthogonal test

中图分类号: TS255.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2014)20-0308-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.20.059

广西壮族自治区是我国最大的木薯生产产地和木薯淀粉生产基地。木薯种植面积和原淀粉生产占全国65%以上,对拉动广西经济增长、提高当地劳动人民生活水平起着重要作用^[1]。木薯淀粉一般使用湿法生产,生产过程中会产生大量的黄浆废水,由于废水中含有大量有机物质,直接处理对后续处理工艺有很高负荷作用^[2];另一方面,木薯黄浆废水主要成分为蛋白质、淀粉、多糖、纤维等物质,其中蛋白质的含量高达1000mg/L以上。

目前,从木薯黄浆废水中回收蛋白质的技术有沉淀法、发酵法和聚凝沉淀法等三类方法^[3]。沉淀法是利用木薯黄浆废水自然沉淀,黄浆废水中蛋白质沉淀时间长且沉淀效果差,如果天气温度高容易使

蛋白质变质^[4];发酵法利用微生物对黄浆废水发酵回收菌体蛋白,实验室操作效果比较好,但在实际应用过程还需要进一步探讨^[5];聚凝沉淀法应用无机絮凝剂和有机絮凝剂联合使用,对黄浆废水蛋白质等物质絮凝沉淀,通过研究聚凝沉淀法的沉淀效果较好,但木薯淀粉生产过程废水产量大,需要投加大量絮凝剂,木薯黄浆废水的pH变化大导致在投加絮凝剂过程有较大影响从而使沉淀效果差^[6],无机絮凝剂和有机絮凝剂的价格高同时回收的产品中含有大量絮凝剂影响回收产品的品质,导致实际应用较少。本文从木薯黄浆废水中蛋白质酸沉淀法及其影响因素研究入手,探索能简便有效回收木薯淀粉黄浆废水中有机成分的方法,以期为木薯淀粉产业实现废物资源化提供新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

木薯淀粉生产废水 木薯洗涤废水、木薯淀粉

收稿日期:2014-02-10

作者简介:邓国龙(1989-),男,硕士研究生,研究方向:水处理技术。

*通讯作者:莫创荣(1969-),男,博士,研究方向:环境评价、环境规划。

基金项目:南宁市科学与技术开发项目(20125257)。

一次黄浆废水和二次黄浆废水, 本论文主要研究一次黄浆废水和二次废水的综合废水, 木薯淀粉黄浆废水采自广西南宁市西乡塘区某淀粉厂。

722分光光度计 上海仪电分析仪器有限公司; 雷磁PHS-3c pH计 上海精科; 医用离心机 长沙英泰仪器有限公司; 冷冻干燥器 北京亚星仪科科技发展有限公司; 电子天平 梅特勒-托利多仪器; 电热恒温鼓风干燥箱 上海都电子科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 木薯淀粉黄浆综合废水的组成成分测定 水溶性蛋白质测定采用考马斯亮蓝G-250法^[7]; 食品水分测定参考GB/T 5009-2008食品中水分的测定方法; 木薯黄浆干燥采用真空冷冻干燥; 淀粉含量测定参考GB/T 5009.9-2008食品中淀粉的测定方法; 食品蛋白质的测定参考GB/T 50095-2010食品安全国家标准 食品蛋白质的测定方法; 总糖测定采用硫酸-苯酚法; 蛋白质氨基酸测定参考GT/B 18246-2000《饲料中氨基酸测定》方法。

1.2.2 沉淀工艺参数的确定 在单因素实验时, 用木薯黄浆废水中蛋白质沉淀率作为指标, 依次改变木薯黄浆废水中沉淀时间、温度、废液蛋白质浓度和pH, 以木薯黄浆废水中蛋白质的沉淀率作为评价指标进行研究和分析, 考察不同影响因素对酸沉淀法回收木薯黄浆废水中蛋白质的影响。

1.2.2.1 废水pH对木薯黄浆废水蛋白质的沉淀率的影响 取7份100mL的木薯黄浆废水温度为25℃、蛋白质浓度1200mg/L, 然后依次调节废水的pH为2.5、3.0、3.5、4.5、5.0、5.5、6, 沉淀0.5h后, 测定木薯黄浆废水蛋白质的沉淀率, 根据上蛋白质沉淀率判断蛋白质等电点^[8]。

1.2.2.2 废水温度对木薯黄浆废水的蛋白质沉淀率的影响 取6份100mL木薯黄浆废水调节蛋白质浓度1200mg/L, 然后水浴控制废水在温度为15、25、35、45、55、65℃, 调节木薯黄浆废水pH为4.0, 沉淀0.5h后, 测定木薯黄浆废水蛋白质的沉淀率。

1.2.2.3 沉淀时间对木薯黄浆废水蛋白质沉淀率影响 取6份100mL的木薯黄浆废水调节废水温度为25℃、蛋白质浓度1200mg/L、pH为4.0, 分别沉淀0.5、1.5、2.5、3.5、4.5、5.5h, 测定木薯黄浆废水蛋白质的沉淀率。

1.2.2.4 木薯黄浆废水中蛋白质浓度对沉淀率影响 分别调节6份木薯黄浆废水蛋白质浓度为500、700、900、1000、1200、1500mg/L各取100mL, 调节废水温度为25℃、pH为4.0, 沉淀时间2.5h后, 测定木薯黄浆废水蛋白质的沉淀率。

1.2.3 正交实验方案 为了优化沉淀木薯黄浆废水中蛋白质的条件, 在单因素条件和淀粉厂实际废水条件下选择提取温度、沉淀时间、蛋白质浓度和pH为考察因素, 每一个因数设3个水平, 因素水平表如表1所示。

表1 正交实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of the orthogonal experiment

水平	因素			
	A 提取温度 (°C)	B 提取时间 (h)	C 蛋白质浓度 (mg/L)	D 初始pH
1	25	2.5	1000	3.5
2	30	3.0	1200	4.0
3	35	3.5	1400	4.5

1.3 蛋白质沉淀率的测定

1.3.1 蛋白质沉淀率的计算 公式如下所示:

蛋白质沉淀率(%) = (1 - 沉淀后木薯黄浆废水的蛋白质浓度(mg/L) / 原木薯黄浆废水中蛋白质浓度(mg/L)) × 100。

1.3.2 木薯黄浆废水中蛋白质含量测定 采用考马斯亮蓝G-250法, 木薯黄浆废水原液取1mL加9mL蒸馏水稀释至10mL, 稀释后的原液或沉淀后上清液取1mL, 加入考马斯亮蓝G-250染液5mL, 混匀, 静止3min, 在722紫外分光光度计波长595nm处吸光度; 依蛋白质标准曲线回归方程 $y=0.0078x+0.0423$ ($R^2=0.9946$) 计算可溶性蛋白质含量。

2 结果与分析

2.1 木薯黄浆废水主要的特征

由表2可知, 木薯黄浆废水具有有机污染物、固体悬浮物含量高的特征。对木薯黄浆废水沉淀物进行分析, 取1L黄浆废水静置24h沉淀, 首先将沉淀物脱水, 然后放入45℃烘箱烘至恒重, 称量黄浆粉质量为8.0g, 测定黄浆粉主要组成是蛋白质和淀粉, 其中蛋白质含量为19%, 淀粉含量为45%。淀粉乳通过碟片分离黄浆废水, 同时会排出一定量的轻质淀粉同黄浆废水一起排出, 导致排出淀粉量大的原因可能跟工人操作成熟度及淀粉厂对木薯淀粉生产工艺的要求有关^[9]。

2.2 木薯黄浆废水蛋白质的沉淀单因素实验结果和分析

2.2.1 废液pH对木薯黄浆废水蛋白质的沉淀率的影响 调节木薯黄浆废水的pH, 在温度、蛋白质浓度、沉淀时间不变条件下测定木薯黄浆废水蛋白质的沉淀率。以pH为横坐标, 木薯黄浆废水中蛋白质沉淀

表2 木薯黄浆废水主要指标

Table 2 Main indication of cassava wastewater

项目	化学需氧量(mg/L)	蛋白质浓度(mg/L)	淀粉含量(mg/L)	水溶性糖含量(mg/L)
一次黄浆废水	15000~25000	1000~1500	0~2000	1200~2000
二次黄浆废水	7000~30000	150~1000	0~6000	200~1000
综合废水	10000~30000	700~1300	0~5000	600~2000

注: 以上数据为对广西南宁某木薯淀粉厂的监测数据统计。

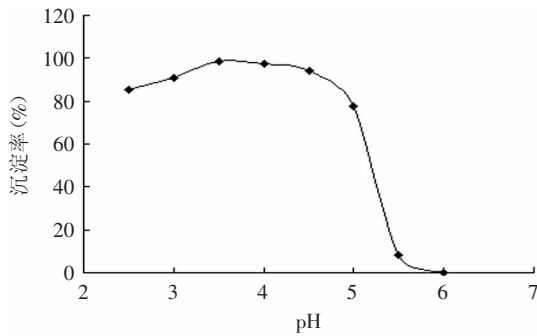


图1 pH对木薯黄浆废水蛋白质沉淀率影响

Fig.1 Effect of the pH on the protein precipitation rate in cassava wastewater

率为纵坐标绘制曲线图,如图1所示。

蛋白质在等电点时,蛋白质分子以两性离子形式存在,其分子正负电荷相等,此时蛋白质分子颗粒在溶液中因没有相同电荷的相互排斥,分子相互之间的作用力减弱,其颗粒极易碰撞、凝聚而产生沉淀,所以蛋白质在等电点时,其溶解度最小,最易形成沉淀物;等电点时的蛋白质许多物理性质如黏度、膨胀性、渗透压等都变小,从而有利于悬浮液的过滤^[10]。由图1可知,pH为3.5~4.5时木薯黄浆废水上清液中蛋白质浓度最低,根据蛋白质在等电点处水溶性最小原理可知,木薯黄浆废水中蛋白质等电点在3.5~4.5之间。考虑到工程实际,木薯黄浆废水是高浓度有机废水,特别是在高温的条件下,木薯黄浆废水受环境中腐败菌的污染导致水体易变质和酸化发臭,如果pH太低废水沉淀效果和回收蛋白质质量差,所以对后续进行酸沉淀法回收蛋白质的影响因素研究时,选择pH的为3.5、4.0、4.5三个水平进行正交实验。

2.2.2 废水温度对木薯淀粉废水的蛋白质沉淀率的影响 调节木薯黄浆废水在不同的温度下,在废水的pH、蛋白质浓度、沉淀时间不变的条件下沉淀后,测定木薯淀粉黄浆废水蛋白质沉淀率,研究废水温度对蛋白质沉淀的影响如图2所示。从图2可知,随着温度的升高蛋白质沉淀率先升高再降低,在25℃和35℃之间存在最大沉淀率。而随着温度再次升高蛋白质沉淀率下降,在温度大于45℃的木薯黄浆废水中的蛋白质析出,悬浮在废水中难以沉淀。这可能是蛋

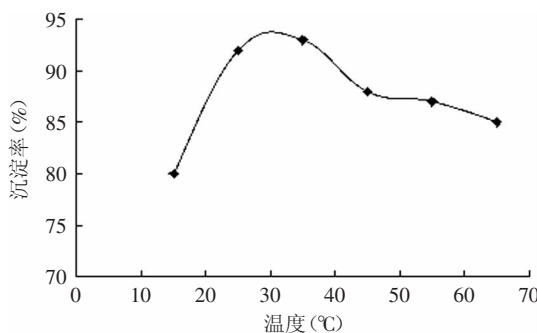


图2 温度对木薯黄浆废水中蛋白质沉淀率的影响

Fig.2 Effect of the temperature on the protein precipitation rate in cassava wastewater

白质析出后与水结合使得蛋白质膨胀,导致沉淀效果差,因而测定蛋白质沉淀率下降。综合考虑木薯淀粉厂生产废水实际情况选择温度25、30、35℃三水平进行正交实验。

2.2.3 沉淀时间对木薯黄浆废水蛋白质沉淀率影响

调节木薯淀粉黄浆废水在温度、蛋白质浓度、溶液pH在不变的条件下,设定蛋白质不同的沉淀时间,研究沉淀时间对木薯黄浆废水蛋白质沉淀率的影响,结果见图3。由图3可知,蛋白质沉淀率随时间增加先增加后降低。整个这个过程先是蛋白质凝固析出沉淀,蛋白质的沉淀率随时间增加取向稳定,稳定后由于废水是高浓度有机废水易受到微生物污染,微生物的生长代谢使得原液的蛋白质浓度增加,导致测定蛋白质沉淀率下降。综合评价和淀粉厂废水停留时间,选择进行正交实验蛋白质的沉淀时间为2.5、3.0、3.5h三水平进行实验。

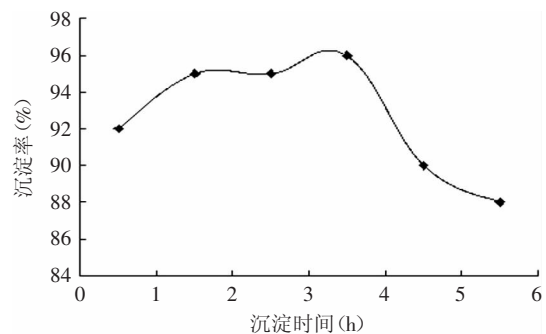


图3 时间对木薯黄浆废水中蛋白质沉淀率的影响

Fig.3 Effect of the time on the protein precipitation in cassava wastewater

2.2.4 木薯黄浆废水中蛋白质浓度对蛋白质沉淀率影响

调节不同蛋白质浓度的木薯黄浆废水,在废水的温度、废水pH、沉淀时间不变的条件下沉淀后,测定蛋白质沉淀率研究溶液蛋白质浓度对酸沉淀影响,结果见图4。由图4可知,木薯黄浆废水总蛋白质沉淀率随蛋白质浓度增加而提高,其中由于木薯黄浆废水经过沉淀后废液中残余蛋白质浓度相差不大,木薯黄浆废水蛋白质含量高致使沉淀率高。在木薯黄浆废水蛋白质浓度为1200mg/L后,蛋白质沉淀率最好。综合评价木薯淀粉厂黄浆废水蛋白质浓度,

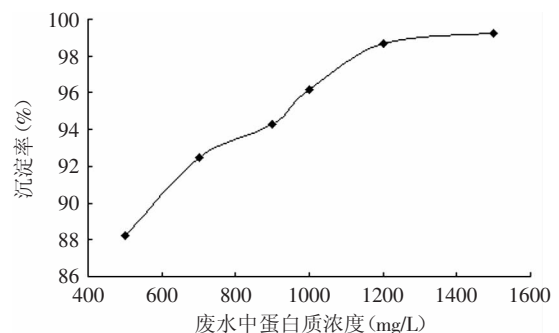


图4 废水中蛋白质浓度对蛋白质沉淀率的影响

Fig.4 Effect of the protein concentration on the protein precipitation rate in cassava wastewater

选择木薯黄浆废水的蛋白质浓度1000、1200、1400mg/L三水平进行正交实验。

2.3 酸沉淀法回收蛋白质的影响因素研究

以沉淀温度、沉淀时间、蛋白质浓度、废水pH为考察因素,采用 $L_9(3^4)$ 四因素三个水平进行正交实验,结果分析见表3。比较极差R值的大小可知,影响蛋白质回收的主次顺序为D>B>C>A,即废液的初期pH影响最大,其次提取时间和体系的废水蛋白质浓度,黄浆废水中温度影响最小。盐酸法回收木薯黄浆废水蛋白质在最佳工艺条件为: $A_3B_2C_3D_2$,即温度35℃、沉淀时间3.0h、浓度1400mg/L、pH为4.0,由于正交实验中该工艺条件,所以对该工艺进行验证实验,平行实验3次验证结果蛋白质沉淀率最高,为98.3%,高于表3中其他组合的蛋白质沉淀率,证明最优条件可行。

表3 $L_9(3^4)$ 正交实验结果
Table 3 Results of the $L_9(3^4)$ orthogonal experiment

实验号	A	B	C	D	蛋白质沉淀率(%)
1	1	1	1	1	95.9
2	1	2	2	2	97.0
3	1	3	3	3	90.8
4	2	1	2	3	88.6
5	2	2	3	1	97.3
6	2	3	1	2	97.6
7	3	1	3	2	98.1
8	3	2	1	3	92.5
9	3	3	2	1	96.2
K_1	283.7	282.3	286.0	289.4	
K_2	283.5	286.8	281.8	292.7	
K_3	286.8	284.6	286.2	271.6	
k_1	94.57	94.10	95.33	96.47	
k_2	94.50	95.60	93.93	97.57	
k_3	95.60	94.87	95.40	90.53	
R	1.10	1.50	1.47	7.04	

2.4 回收蛋白质中氨基酸含量测定

表4 木薯黄浆中蛋白质氨基酸测定
Table 4 The determination of the protein amino acid in cassava

序号	测验项目	检测结果 (mg/100mL)	序号	测验项目	检测结果 (mg/100mL)
1	门冬氨酸	150	10	蛋氨酸	0
2	苏氨酸	70	11	异亮氨酸	90
3	丝氨酸	80	12	亮氨酸	140
4	谷氨酸	240	13	酪氨酸	60
5	脯氨酸	90	14	苯丙氨酸	80
6	丙氨酸	70	15	赖氨酸	120
7	胱氨酸	0	16	氨	30
8	甘氨酸	70	17	组氨酸	40
9	缬氨酸	140	18	精氨酸	150

氨基酸总量:1600mg/100mL

沉淀法回收得到的蛋白质中氨基酸含量委托广西壮族自治区分析测试研究中心测定。由表4可知,蛋白质中的氨基酸含量比较丰富,干燥后的蛋白并无其他气味,可以作为动物饲料使用。据统计,广西每年木薯种植面积多达300万亩产量在600万吨以上,中小型淀粉厂有100多家,木薯淀粉产量达到58万吨。如果能回收利用木薯黄浆废水中的蛋白质,就能大大提高资源利用率。

3 结论

3.1 本研究使用酸对木薯黄浆废水进行pH调节,酸在木薯黄浆废水中可以通过碱中和不会产生二次污染。木薯黄浆废水中的蛋白质等电点在pH为3.5~4.5,当调节废水pH为3.5~4.5时,蛋白质沉淀率可达最高。

3.2 通过三水平四因素对木薯黄浆废水蛋白质沉淀影响因素测定,pH对木薯黄浆废水中蛋白质沉淀影响最大,其次为蛋白质浓度、蛋白质沉淀时间和黄浆废水温度,在条件为温度35℃、提取时间3.0h、浓度1400mg/L、pH为4.0时蛋白质沉淀率达98.3%。

3.3 木薯淀粉生产过程有大量黄浆废水排出,黄浆废水中有机成分自由沉淀效果不理想,不能有效的把黄浆废水中的有机成分回收利用。木薯淀粉厂生产一吨淀粉排放两类黄浆废水总体积为8~12m³,通过对木薯黄浆废水成分分析,每一吨的黄浆废水含有8.0kg干物,这类物质蛋白质含量高,可以作为动物饲料,市场价在1000元/吨以上,一个年产万吨淀粉厂黄浆废水排出黄浆粉在800t左右,如果能有效回收这类物质,一方面可以使黄浆变废为宝给企业带来一定的利润,同时还可以减轻后续废水处理压力。

参考文献

- [1] 莫凤明,黎克纯. 木薯淀粉废水治理技术研究[J]. 硅谷,2010(8):125-179.
- [2] 赵侣璇,张立宏,余婉丽,等. 广西木薯原淀粉生产工艺废水循环利用技术研究[J]. 轻工科技,2013(4):91-93.
- [3] 伍婵翠,刘康怀. 淀粉废水资源化利用的现状和前景[J]. 矿产与地质,2004(2):179-182.
- [4] 孙乾刚. 木薯淀粉废水生化处理及资源化利用工艺研究[D]. 南宁:广西大学化学工艺,2009.
- [5] 伍婵翠. 木薯淀粉生产废水的水质特征及其资源化利用研究[D]. 桂林:桂林工学院,2004.
- [6] 梁建奎,刘康怀,刘辉. 木薯淀粉废水混凝预处理实验[J]. 工业用水与废水,2007(3):24-27.
- [7] 时敏. 多菌发酵处理木薯淀粉废水生产单细胞蛋白工艺研究[D]. 南宁:广西民族大学,2012:71.
- [8] 董银卯,冯明珠,赵华,等. 燕麦麸蛋白质等电点测定及其稀碱法提取工艺优化的研究[J]. 食品科技,2007(3):258-260.
- [9] 龚长彪,覃学江,文玉萍,等. 木薯淀粉生产中渣浆分离工艺的研究与改进[J]. 轻工科技,2014(2):19-20.
- [10] 安卫东. 膜分离技术在废水处理和蛋白质回收中的应用研究[D]. 长春:吉林大学,2004:43.