

# 酶解法制备土霉素菌渣吸附剂的研究

杜欣欣<sup>1</sup>, 王红英<sup>1</sup>, 周传文<sup>2</sup>, 钱斯日古楞<sup>1\*</sup>

(1. 大连工业大学生物工程学院, 辽宁 大连 116034;

2. 中肽生物科技(大连)有限公司, 辽宁 大连 116034)

**摘要:**针对土霉素菌渣存在危险处置及不合理利用等问题,采用酶解法制备了土霉素菌渣吸附剂,以实现菌渣的资源化利用。采用高温高压蒸汽预处理菌渣,破坏菌丝体细胞壁和细胞膜结构;采用风味蛋白酶对菌丝体进行酶解处理,使菌丝体中的蛋白质、多肽等成分水解溶出,保留细胞多糖框架结构用作吸附剂的制备。结果表明,菌渣经酶解处理后菌丝分支变短、透光率提高;主要官能团没有发生改变;制备的菌渣吸附剂对亚甲基蓝的吸附率达到 78.29%,比原菌渣的吸附量提高了 1.44 倍,达到了传统吸附剂活性炭的 91.14%。

**关键词:**土霉素菌渣资源化;蛋白酶;酶解;响应面法;吸附剂

**中图分类号:**X71;Q814

**文献标志码:**A

**文章编号:**0253-4320(2023)02-0180-06

**DOI:**10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2023.02.034

## Preparation of oxytetracycline residue adsorbent by enzymatic hydrolysis

DU Xin-xin<sup>1</sup>, WANG Hong-ying<sup>1</sup>, ZHOU Chuan-wen<sup>2</sup>, QIAN Siriguleng<sup>1\*</sup>

(1.School of Biological Engineering, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;

2.Zhongtai (Dalian) Biotechnology Co., Ltd., Dalian 116034, China)

**Abstract:**In order to solve the problems of dangerous disposal and irrational utilization of oxytetracycline residue, the adsorbent based on oxytetracycline residue is prepared through enzymatic hydrolysis method. Oxytetracycline residue is pretreated with high temperature and high pressure steam to destroy mycelium cell wall and cell membrane structure. Then the mycelium is treated by flavourzyme to hydrolyze and dissolve the protein and polypeptide in it, and retain cell polysaccharide framework for the preparation of adsorbent. Results show that the branches of mycelium become shorter, and the mycelium improve its transmittance after enzymatic hydrolysis. Major functional groups remain unchanged. The adsorption rate of methylene blue by the prepared oxytetracycline residue adsorbent reaches 78.29%, which is 1.44 times that by the original oxytetracycline residue, and 91.14% that by traditional activated carbon adsorbent.

**Key words:** recycling oxytetracycline residue; protease; enzymatic hydrolysis; response surface; adsorbent

抗生素菌渣是抗生素生产过程中产生的、主要由发酵菌丝体构成的副产物,富含蛋白质和纤维素等成分<sup>[1]</sup>。随着抗生素生产量的加大,制药企业产生的抗生素菌渣也逐年递增。为了避免菌渣抗生素残留对环境带来污染或对人体造成安全隐患,国家禁止抗生素菌渣直接排放到环境中或用作动物蛋白饲料等<sup>[2-3]</sup>。目前对抗生素菌渣主要采用焚烧技术、肥料化技术、资源化技术等进行处置<sup>[4-7]</sup>。但由于菌渣含水量大、热值较低、有抗生素残留等原因,严重制约着菌渣的安全处置及利用。

土霉素菌渣主要由龟裂链霉菌发酵生产土霉素时产生,其内菌丝体具有完整的细胞壁、细胞膜和较完整的细胞内结构<sup>[8]</sup>。放线菌细胞壁是由多层肽聚糖构成的网格状结构,若能用适当处理方法使菌

丝体胞内物质释放出来,同时有效保留肽聚糖细胞壁框架,则可利用其多孔立体网格结构及其表面丰富的羟基等官能团制备优良的菌渣吸附剂使其变废为宝。

Lu<sup>[9]</sup>、周保华<sup>[10]</sup>分别采用干燥法和化学活化法制备了土霉素菌渣吸附剂和土霉素菌渣活性炭;陈蜜蜜、张蒙蒙等<sup>[11]</sup>利用青霉素废菌丝制备新型石膏缓凝剂,同时将制备缓凝剂后的滤渣用于制备活性炭。但在上述制备中以及大多生物炭制备中<sup>[12]</sup>,活化和炭化菌丝体过程均需在 200~1 000℃甚至更高的温度下进行,不仅消耗大量的能源,而且还具有很大的安全隐患。酶是活细胞产生的具有高度催化活性和高度专一性的生物催化剂<sup>[13]</sup>。酶解法能够选择性地水解底物,使不必要的大分子溶解流出,保留

收稿日期:2022-02-19;修回日期:2022-12-02

基金项目:内蒙古自治区科技重大专项项目(222089)

作者简介:杜欣欣(1996-),女,硕士研究生,研究方向为生物工程及酶学研究,857805832@qq.com;钱斯日古楞(1969-),男,博士,教授,研究方向为生物工程及酶学研究,通讯联系人,srgl2000@163.com。

需要的结构;同时该方法具有条件温和、安全、易操作、成本低等优点<sup>[14]</sup>。将酶解法应用于抗生素菌渣制备吸附剂的研究未见报道。

笔者基于土霉素菌渣菌丝体细胞结构比较完整、富含蛋白质的特点,在预处理破坏其细胞壁及细胞膜结构的基础上,采用风味蛋白酶酶解菌丝体细胞内的蛋白质成分,优化提高菌丝体细胞质中的蛋白质及其他有机物的溶出,保留其多糖框架用作吸附剂制备。为减少抗生素菌渣的排放及资源化利用提供了新的思路 and 方向。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 材料与仪器

样品与试剂:新鲜土霉素菌渣,由内蒙古华曙生物科技有限公司提供;风味蛋白酶(Flavourzyme,食品级),诺维信生物技术有限公司生产,其余均为分析纯,国药生产。

仪器:透射式电子显微镜(JEM-2100)、日本电子株式会社扫描电镜(JSM-7800F),日本电子株式会社生产;傅里叶变换红外光谱仪(Spectrum two),铂金埃尔默仪器有限公司生产;全自动凯氏定氮仪(K9860),海能仪器生产。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 土霉素菌渣的预处理

用去离子水制成一定浓度的土霉素菌渣悬浮液,对其进行高温高压(121℃、101 kPa、30 min)预处理。预处理后的样品在6 000 r/min条件下离心10 min,沉淀即为预处理后的土霉素菌渣。

#### 1.2.2 酶解制备吸附剂条件的优化

以酶解离心后上清液中蛋白质质量浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )为指标,在料液比为1:25( $m/V$ )、温度为40℃、酶解3 h、加酶量6 000 U/g、pH为6.5的基础条件下,分别考察温度(40、45、50、55、60℃)、时间(1、2、3、4、5、6 h)、加酶量(500、1 500、3 000、4 500、6 000、7 500、9 000、10 000 U/g)、pH(5、5.5、6、6.5、7)和料液比( $m/V$ )(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30)对蛋白溶出的影响,菌丝体水解上清液的蛋白浓度越高,说明菌丝体蛋白质溶出越多,菌丝体蛋白残留更少,制备菌丝体吸附剂更理想。每个试验条件下重复3次,取平均值。

根据单因素的实验结果,采用响应面(Response Surface Methodology, RSM)优化法进行试验设计。该部分试验分为以下2个内容:Plackett-Burman(PB)试验设计,筛选出本试验的显著性因素<sup>[15]</sup>;

Box-Behnken-Design(BBD)试验设计,通过对响应面二次多项回归模型进行方差分析及因素间的交互作用分析,确定酶解最优条件<sup>[16]</sup>。

#### 1.2.3 蛋白浓度的测定

蛋白浓度的测定采用考马斯亮蓝法,以考马斯亮蓝G-250为显色剂、牛血清白蛋白为标准的蛋白质,测定得标准曲线回归方程为 $Y = 0.0065x + 0.001$ , $R^2 = 0.9983$ 。

#### 1.2.4 土霉素菌渣吸附剂吸附能力测定

精确称取制备的吸附剂、原菌渣、活性炭各0.01 g,分别与100 mL质量浓度为10 mg/L的亚甲基蓝溶液混合,在160 r/min摇床下吸附5 h,在波长664 nm处测定上清液的吸光值,计算制备吸附剂、原菌渣和活性炭对亚甲基蓝的吸附量和去除率。测得亚甲基蓝的标准曲线为: $y = 0.1062x - 0.0168$ , $R^2 = 0.9931$ 。其平均吸附量和去除率分别为:

$$Q = [V \times (C_0 - C_e)] / M \quad (1)$$

式中: $Q$ 为吸附材料的平衡吸附量, $\text{mg}/\text{g}$ ;  $V$ 为亚甲基蓝溶液体积单位,L; $C_0$ 为进行吸附之前溶液中亚甲基蓝的质量浓度, $\text{mg}/\text{L}$ ; $C_e$ 为进行吸附后溶液中亚甲基蓝的质量浓度, $\text{mg}/\text{L}$ ; $M$ 为加入活性炭的质量单位,g。

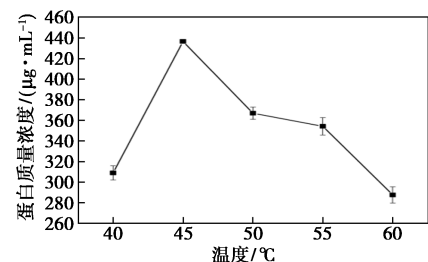
$$R = (C_0 - C_e) / C_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中: $R$ 为去除率,%; $C_0$ 为亚甲基蓝溶液的初始质量浓度, $\text{mg}/\text{L}$ ; $C_e$ 为吸附后亚甲基蓝溶液的平衡质量浓度, $\text{mg}/\text{L}$ 。

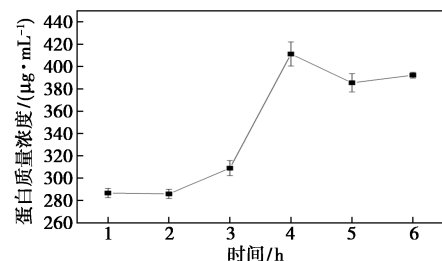
## 2 结果与讨论

### 2.1 酶解单因素实验结果

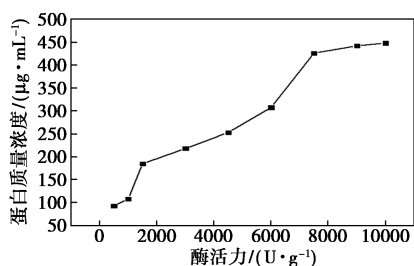
不同因素对蛋白质质量浓度的影响如图1所示。



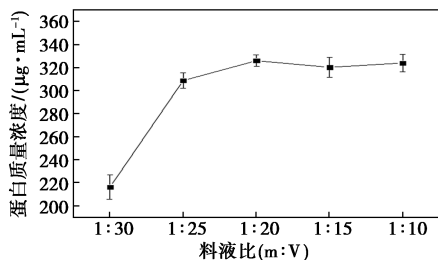
(a) 酶解温度对蛋白质质量浓度的影响



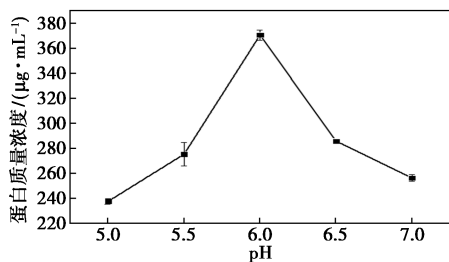
(b) 酶解时间对蛋白质质量浓度的影响



(c) 加酶量对蛋白质量浓度的影响



(d) 料液比对蛋白质量浓度的影响



(e) pH 对蛋白质量浓度的影响

图 1 不同因素对蛋白质量浓度的影响

由图 1(a)可知,随着酶解温度的升高,上清液中蛋白质量浓度呈先上升后下降的趋势。较低温度下,蛋白酶活性较弱,上清液中的水解溶出蛋白质相对较少;温度达到 45℃时,上清液中的蛋白质量浓度达到最高 436.62 μg/mL;随后,随着温度的升高,上清液的蛋白浓度逐渐下降,过高的温度使蛋白酶活力下降,无法使更多的蛋白质从胞内溶出。故确定最佳酶解温度为 45℃。

由图 1(b)可知,在反应时间 1~2 h 范围内,上清液蛋白质量浓度相对平稳;随后随着反应时间的延长,上清液中的蛋白质量浓度快速增长,在 4 h 时蛋白质量浓度达到最高值 411.21 μg/mL,故确定最佳酶解时间为 4 h。

由图 1(c)可知,酶的添加量低于 7 500 U/g 时,随着添加量的增加,上清液中的蛋白质量浓度增加明显,在 7 500 U/g 时,蛋白浓度达到较高值 442.15 μg/mL;随后蛋白质量浓度增加变缓。考虑到成本等因素,确定 7 500 U/g 为最适酶添加量。

由图 1(d)可知,料液比在 1:10~1:20 范围内,上清液蛋白质量浓度均较高,在 1:20 时上清液蛋白质

量浓度达到最高值 326.15 μg/mL;之后随着料液比的加大,上清液蛋白质量浓度持续下降。这是由于底物浓度较小时,低浓度底物被添加的蛋白酶充分水解,产生的氨基酸或多肽更多地溶解到上清液中,表现更高的蛋白质量浓度;而底物浓度继续加大时,蛋白酶的水解逐渐达到饱和<sup>[17]</sup>,上清液中的蛋白质量浓度趋于平稳;过大的底物浓度易导致底物分子与蛋白酶接触不充分,蛋白质降解率反而降低。故确定最佳料液比为 1:20。

由图 1(e)可知,随着 pH 的上升,上清液蛋白质量浓度持续上升,当 pH 6.0 时,上清液蛋白质量浓度达到最高值 370.62 μg/mL;而后随着 pH 的增加,上清液蛋白质量浓度下降。过低或过高的 pH 造成酶的活力降低。因此,最适酶解 pH 确定为 6.0。

## 2.2 菌渣酶解的响应面优化

### 2.2.1 PB 试验设计及分析

综合上述单因素试验结果,设计试验次数  $N=12$  的 PB 试验设计,对影响蛋白质量浓度的五个因素进行显著性试验,试验因素及水平如表 1 所示,设计方案及方差分析结果如表 2 和表 3 所示。

表 1 PB 试验因素水平设计表

编码	因素	水平	
		1	-1
A	温度/℃	50	40
B	pH	6.5	5.5
C	时间/h	5	3
D	料液比(m/V)	1:25	1:15
E	加酶量/(U·g <sup>-1</sup> )	7500	4500

表 2 PB 试验设计及结果

试验号	A	B	C	D	E	蛋白质量浓度(Y)/(μg·mL <sup>-1</sup> )
1	1	1	-1	1	1	263.077
2	-1	1	1	-1	1	475.385
3	1	-1	1	1	-1	180.000
4	-1	1	-1	1	1	411.692
5	-1	-1	1	-1	1	538.154
6	-1	-1	-1	1	-1	262.154
7	1	-1	-1	-1	1	167.077
8	1	1	-1	-1	-1	193.846
9	1	1	1	-1	-1	332.308
10	-1	1	1	1	-1	348.000
11	1	-1	1	1	1	185.538
12	-1	-1	-1	-1	-1	340.615

表3 PB回归模型方差分析表

项目	回归系数	自由度	离差平方和	均方差	F值	P>F	显著性
模型		4	53489.09	13372.27	29.78	0.0328	*
截距	308.15						
温度(A)	-73.22	1	34641.19	34641.19	77.14	0.0127	*
pH(B)	15.13	1	1923.38	1923.38	4.28	0.1744	
时间(C)	44.21	1	16417.10	16417.10	36.56	0.0263	*
料液比(D)	1.12	1	4.69	4.69	0.01	0.9279	
加酶量(E)	43.22	6	12069.83	12069.83	26.88	0.0353	*
误差		2	898.16	449.08			
总值		11					

PB法对蛋白质量浓度回归模型预测及方差分析中,以蛋白浓度为响应值,五个因素为自变量,对其相关性进行回归模型预测及方差分析,结果如表3所示。由表3可见,该模型的F值为0.0328 < 0.05,表示该模型显著。五个因子影响大小排序为:A>C>E>B>D,即温度>时间>加酶量>pH>料液比,其中温度、时间和加酶量对蛋白浓度有显著性影响( $p < 0.05$ ),作为下一步响应面模型的考察因素。

### 2.2.2 BBD试验设计及响应面分析

根据BBD的中心组合试验设计原理,以蛋白质量浓度为考察指标,采用Design-Expert 8.0软件设计三因素三水平17个实验点的响应面分析,试验因素水平如表4所示,设计方案及响应值如表5和表6所示。

表4 BBD试验因素水平设计表

编码	因素	水平		
		-1	0	1
A	温度/°C	40	45	50
B	时间/h	3	4	5
C	加酶量/(U·g <sup>-1</sup> )	4500	6000	7500

表5 BBD试验设计及结果

试验号	A	B	C	蛋白质量浓度(Y)/ (μg·mL <sup>-1</sup> )
1	-1	-1	0	269.06
2	1	-1	0	380.20
3	-1	1	0	300.29
4	1	1	0	261.89
5	-1	0	-1	235.17
6	1	0	-1	284.92

7	-1	0	1	340.10
8	1	0	1	318.45
9	0	-1	-1	209.55
10	0	1	-1	268.62
11	0	-1	1	431.59
12	0	1	1	400.25
13	0	0	0	376.15
14	0	0	0	394.02
15	0	0	0	405.29
16	0	0	0	379.50
17	0	0	0	367.51

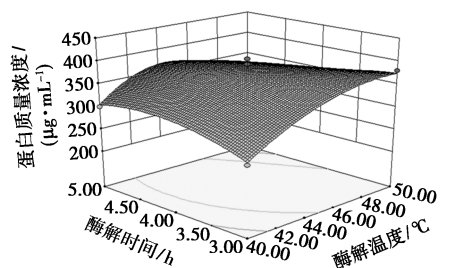
表6 BBD回归模型方差分析表

项目	平方和	自由度	F值	Prob(P)	显著性
模型	71136.63	11	27.99	0.0009	**
温度(A)	1271.09	1	5.50	0.0659	
时间(B)	192.24	1	0.83	0.4035	
加酶量(C)	31270.62	1	135.33	<0.0001	**
AB	5590.55	1	24.19	0.0044	**
AC	1274.49	1	5.52	0.0657	
BC	2043.49	1	8.84	0.0310	*
A <sup>2</sup>	13794.60	1	59.70	0.0006	**
B <sup>2</sup>	2505.91	1	10.84	0.0216	*
C <sup>2</sup>	4473.61	1	19.36	0.0070	**
A <sup>2</sup> B	1647.67	1	7.13	0.0443	*
A <sup>2</sup> C	5789.42	1	25.06	0.0041	**
其余项	1155.33	5			
失拟项	249.09	1	1.10	0.3536	
误差	906.24	4			
总和	72291.96	16			

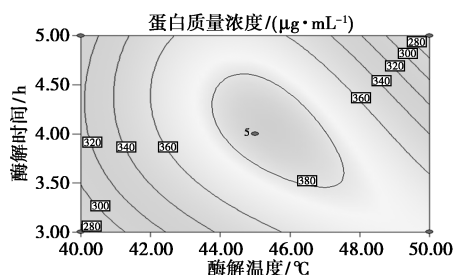
通过Design-Expert 8.0软件对响应值与各因素编码值进行回归拟合,得到回归方程如下: $Y = 384.49 + 12.61A + 6.93B + 88.42C - 37.39AB - 17.85AC - 22.60BC - 57.24A^2 - 24.40B^2 - 32.60C^2 - 28.70A^2B - 53.80A^2C$ 。并对该响应面的二次回归方程进行方差分析,结果如表6所示。从表6中可看出,该模型极显著( $p < 0.01$ ),失拟项不显著( $p > 0.05$ )。多元相关系数 $R^2$ 越大,相关性越好。本实验中 $R^2 = 0.9840$ ,说明该模型能解释98.40%响应值的变化; $R^2_{Adj} = 0.489$ ,说明该模型拟合程度较好,可用该模型对土霉素菌丝体上清液中的蛋白质量浓度进行分析预测。由F检验得到影响因素主次顺序为:C>A>B,即加酶量>温度>时间。从方差分析

可以看出,  $C$ 、 $AB$ 、 $A^2$ 、 $C^2$ 、 $A^2C$  项为极显著项 ( $p < 0.01$ ),  $B$  和  $C$  因素之间交互作用显著 ( $P < 0.05$ ),  $A$  和  $B$  因素之间交互作用极显著 ( $P < 0.01$ ), 其他因素之间的交互作用均不显著, 交互作用小。

各因素的 3D 响应曲面和等高线图分别如图 2~图 4 所示。若响应曲面坡度陡峭且等高线形状为椭圆形, 则各因素之间交互作用明显; 若等高线图形为圆形则各因素之间交互作用不显著<sup>[18]</sup>。从图 2 中可以看出, 等高线形状接近椭圆, 表明酶解温度和酶解时间的交互作用显著。从图 3 中可以看出, 随着

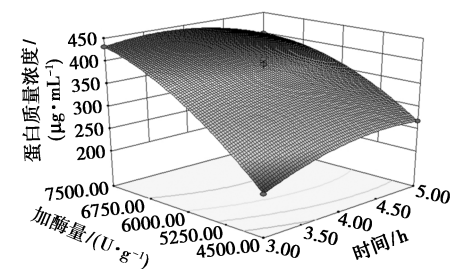


(a) 温度和时间交互作用的响应曲面图

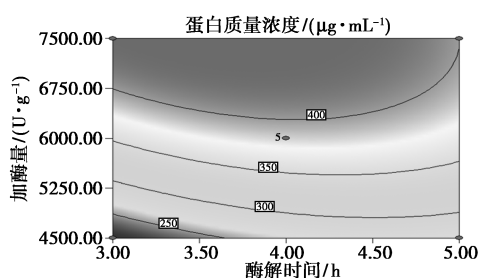


(b) 温度和时间交互作用的等值线图

图 2 酶解温度和酶解时间对蛋白质量浓度的影响

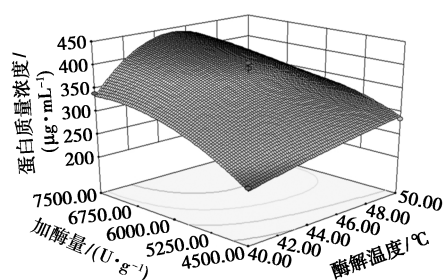


(a) 加酶量和时间交互作用的响应曲面图

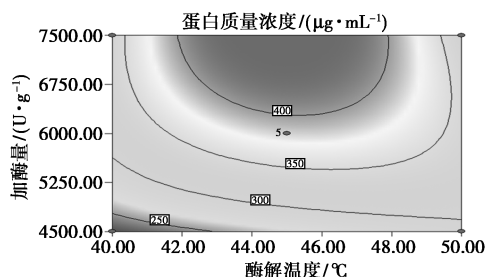


(b) 加酶量和时间交互作用的等值线图

图 3 加酶量和酶解时间对蛋白质量浓度的影响



(a) 温度和加酶量交互作用的响应曲面图



(b) 温度和加酶量交互作用的等值线图

图 4 酶解温度和加酶量对蛋白质量浓度的影响

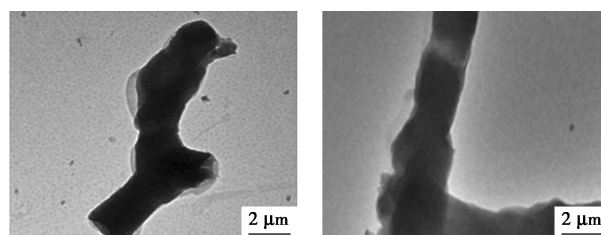
加酶量的增大, 蛋白质量浓度在一定范围内呈上升趋势, 响应曲面呈凸起状态, 而时间引起的蛋白浓度变化较小, 二者交互作用不明显。从图 4 中可以看出, 加酶量和酶解时间也无明显交互作用。该模型预测下, 当温度为 44.55°C、时间为 3.32 h、加酶量为 7 290  $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$  时, 蛋白质量浓度预测值为 433.55  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。根据预测实验条件进行重复试验, 得到平均蛋白质量浓度为  $(417.67 \pm 2.68) \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 与理论值之间无显著性差异 ( $p > 0.05$ ), 精密度较好, 说明该 BBD 模型用来优化酶解液中的蛋白质量浓度可行。

### 2.3 土霉素菌渣吸附剂的结构表征

#### 2.3.1 菌渣吸附剂的结构特性

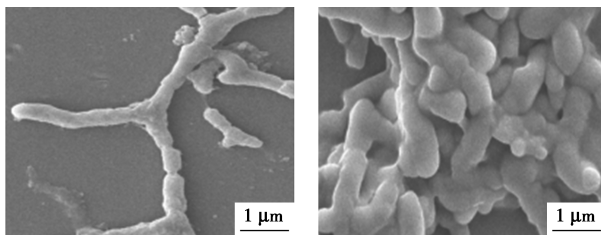
通过透射电镜和扫描电镜观察土霉素原菌渣菌丝体和酶解菌丝体的形态结构, 结果如图 5 所示。

由图 5(a)、图 5(b) 可知, 菌渣原菌丝体质地致密、不透明; 而酶解处理的菌丝体质地变疏松、较透明。结合酶解处理菌丝体的蛋白质质量浓度较原菌渣菌丝体下降 43.47%, 土霉素菌渣经风味蛋白酶



(a) 原菌渣菌丝体的透射电镜图

(b) 酶解后菌丝体的透射电镜图



(c)原菌渣菌丝体的扫描电镜图 (d)酶解后菌丝体的扫描电镜图

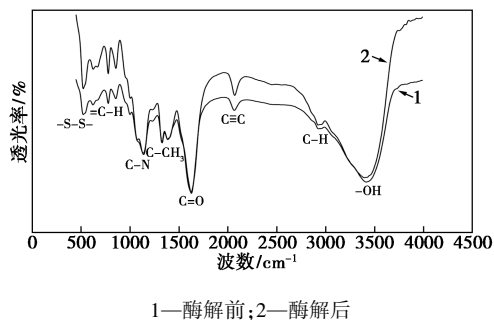
图 5 酶解前后菌丝体的电镜对比图

水解处理,使菌丝体细胞内的蛋白质成分被水解成小分子,并通过水洗可有效去除其蛋白质等内容物,而菌丝体外部框架基本保持不变,该特性有利于用作吸附剂。

由图 5(c)、图 5(d)可知,原菌渣中的菌丝体细长、有隔膜、分支较多,经酶解处理后,菌丝体变短,分支减少。

### 2.3.2 菌渣吸附剂的红外光谱特性

利用傅里叶变换红外光谱仪对土霉素菌渣原菌丝体和酶解处理的菌丝体的官能团进行扫描,结果如 6 所示。



1—酶解前;2—酶解后

图 6 土霉素菌渣的红外光谱图

由图 6 可知,土霉素菌渣酶解处理菌丝体的官能团红外光谱吸收峰特性与原菌丝体的吸收峰特性基本一致,均在红外光谱的  $3423\text{ cm}^{-1}$  处表现较宽而宽的—OH 基团吸收特征峰,这主要与菌丝体细胞壁和细胞膜的糖类和脂类成分官能团有关;在  $1600\text{ cm}^{-1}$  附近的吸收峰是由  $\text{C}=\text{O}$  基团引起, $\text{C}-\text{N}$  伸缩振动在  $1100\text{ cm}^{-1}$ <sup>[19]</sup>,这与放线菌菌丝体细胞壁中构成肽聚糖成分的 *N*-乙酰葡萄糖胺和 *N*-乙酰胞壁酸有关。丰富的官能团—OH 表现较强的活性,对土霉素菌渣吸附剂的吸附能力起到重要作用。

土霉素菌渣酶解处理后,其红外光谱吸收峰的位置未发生较大偏移,也未出现新的吸收峰,表明该方法较为温和。

### 2.4 菌渣吸附剂的吸附能力测定

比较菌渣吸附剂、原菌渣、活性炭对亚甲基蓝的

吸附能力,结果如表 7 所示。

表 7 对亚甲基蓝的吸附作用

	活性炭	吸附剂成品	原菌渣
吸附量/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )	96.718	88.149	64.640
吸附率/%	86.952	78.286	54.508

由表 7 可知,酶解制备的菌渣吸附剂在  $160\text{ r/min}$  摇床下  $5\text{ h}$  对亚甲基蓝的吸附量达到  $88.15\text{ mg/g}$ ,对亚甲基蓝的去除率达到  $78.29\%$ ,这比原菌渣的吸附量提高了  $43.62\%$ ,而且也达到了传统吸附剂活性炭的  $91.14\%$ ,与活性炭的吸附能力相当,表明酶解法制备土霉素菌渣吸附剂有良好的吸附特性和开发潜能。

## 3 结论

(1)对预处理后的土霉素菌渣进行酶解试验。以蛋白质量浓度为指标,确定各单因素最优条件为:反应温度为  $45^\circ\text{C}$ 、反应时间为  $4\text{ h}$ 、反应 pH 为  $6.0$ 、料液比为  $1:20$ 、添加酶量为  $7500\text{ U/g}$ 。

(2)通过响应面试验设计,模型预测的最优酶解反应温度为  $44.55^\circ\text{C}$ 、反应时间为  $3.32\text{ h}$ 、添加量为  $7290\text{ U/g}$ ,在该条件下实验得到的实际平均蛋白质量浓度为  $(417.67 \pm 2.68)\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。通过 TEM、SEM 和 FT-IR 对制备的菌渣吸附剂结构特性进行分析。酶解后菌渣菌丝体结构更加疏松,但其主要吸附官能团没有发生改变,该特性更有利于菌渣用作吸附材料。

(3)对制备的土霉素菌渣吸附剂的吸附性能进行测试。在相同条件下,与原菌渣、活性炭进行比较发现,对亚甲基蓝的吸附量达到  $88.15\text{ mg/g}$ ,对亚甲基蓝的去除率达到  $78.29\%$ ,比原菌渣的吸附量提高了  $43.62\%$ ,达到了传统吸附剂活性炭的  $91.14\%$ 。

(4)与传统方法相比,酶解方法制备的菌渣吸附剂过程温和、绿色环保。该方法可用于其他菌渣吸附剂的制备,对土霉素菌渣等废弃物的资源化利用开辟了全新的研究思路。

## 参考文献

- [1] 邹书娟,王一迪,张均雅,等.抗生素菌渣理化性质分析[J].环境科学与技术,2018,41(S1):47-52.
- [2] Wang X, Guo T, Wei Y, et al. Determination of Quinolone Antibiotic residues in human serum and urine using high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Journal of Analytical Toxicology, 2019, 43(7):579-586.

(下转第 190 页)

ATMPA+0.005% Y-3。通过对此配方进行泡沫性能评价和腐蚀速率测试,200 mL 溶液初始起泡体积为 710 mL、析液半衰期为 420 s、泡高半衰期大于 6 h、腐蚀速率为 0.065 9 mm/a,满足现场对泡排剂和缓蚀剂性能的要求。

### 3 结论

(1)以十二烷基二甲基羟丙基磷酸酯甜菜碱为主剂制备出复合缓蚀泡排剂,其质量配比为:0.24% F605+0.06% 起泡剂 YH+0.005% ATMPA+0.005% Y-3。

(2)复合缓蚀泡排剂体系在 0.31% 质量分数下,200 mL 溶液初始起泡体积为 710 mL,析液半衰期为 420 s,泡沫半衰期为 6 h 以上,腐蚀速率为 0.065 9 mm/a,可满足气田相关标准要求。

### 参考文献

- [1] 郑新权,师俊峰,曹刚,等.采油采气工程技术新进展与展望[J].石油勘探与开发,2022,49(3):565-576.
- [2] 曹光强,姜晓华,李楠,等.产水气田排水采气技术的国内外研究现状及发展方向[J].石油钻采工艺,2019,41(5):614-623.
- [3] 吴秋伯,郭东红,杨晓鹏,等.排水采气用起泡剂研究及应用进展[J].精细与专用化学品,2022,30(3):1-6.
- [4] 裘智超,熊春明,常泽亮,等.CO<sub>2</sub>和H<sub>2</sub>S共存环境下井筒腐蚀主控因素及防腐对策—以塔里木盆地塔中 I 气田为例[J].石油勘探与开发,2012,39(2):238-242.
- [5] 刘文汇,腾格尔,高波,等.四川盆地大中型天然气田(藏)中H<sub>2</sub>S形成及富集机制[J].石油勘探与开发,2010,37(5):513-

(上接第 185 页)

- [3] 艾哈,石鹏,王辉,等.抗生素制药菌渣处理处置技术评价与分析[J].环境工程学报,2016,10(2):906-914.
- [4] 洪晨,杨强,王志强,等.抗生素菌渣与煤混合燃烧特性及其动力学分析[J].化工学报,2017,68(1):360-368.
- [5] Yu Y, Du X G, Jiang X J, et al. Evaluation of cofiring bioferment residue with coal at different proportions: Combustion characteristics and kinetics[J]. Energy Fuels, 2013, 27(10): 6295-6330.
- [6] 张光义,马大朝,彭翠娜,等.水热处理抗生素菌渣制备固体生物燃料[J].化工学报,2013,64(10):3741-3749.
- [7] 吴树洁.典型抗生素菌渣残留价检测方法及其利用的初步研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2016.
- [8] 张慧.土霉素高产菌株选育的研究[D].石家庄:河北科技大学,2012.
- [9] Lu Q, Dai L C, Li L, et al. Valorization of oxytetracycline fermentation residue through torrefaction into a versatile and recyclable adsorbent for water pollution control[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2021, 9(4): 105397.
- [10] 周保华.土霉素菌渣活性炭的制备及其吸附性能研究[D].天津:天津大学,2014.

522.

- [6] 田伟,惠艳妮,李彦彬,等.长庆气田新型缓蚀型泡排剂的开发与性能研究[J].当代化工,2021,50(12):2788-2792.
- [7] 陈楠.川渝酸性气田泡沫排水用复合缓蚀起泡剂研究与应用[D].成都:西南石油大学,2018.
- [8] Wang D, Liu C, Wu W, et al. Novel surfactants that attain ultra-low interfacial tension between Oil and high salinity formation water without adding alkali salts co-surfactants alcohols and solvents[C]. SPE EOR Conference a Oil & Gas West Asia, Society of Petroleum Engineers, 2010.
- [9] Adsorption behavior of dodecyl hydroxypropyl sulfobetaine on limestone in high salinity water[J]. RSC Advances, 2015, 5(73): 59738-59744.
- [10] 刘子铭,葛际江,师小娟,等.高温高盐油藏空气驱起泡剂研制及性能评价[J].特种油气藏,2022,29(3):118-123.
- [11] 李谦定,卢永斌,李善建,等.新型高效泡排剂 LYB-1 的研制及其性能评价[J].天然气工业,2011,31(6):49-52+126.
- [12] 郭东红,杨晓鹏,孙建峰,等.产水气井高效廉价排水采气技术的研究与应用[J].现代化工,2018,38(10):137-139.
- [13] 孙玉鹏,吴向阳,张颖,等.抗凝析油泡排剂 SH-1 的泡沫性能研究与应用[J].应用化工,2021,50(7):1867-1869+1874.
- [14] 王素芳,李志元,徐慧,等.油田采出水缓蚀剂与阻垢剂的配伍性研究[J].现代化工,2021,41(6):197-200.
- [15] 豆宁辉,何汉平,杨顺辉,等.一种抗氧缓蚀杀菌一体剂其制备方法和应用:CN113999662A[P].2022-02-01.
- [16] 华忠志,吕玉海,刘洋,等.一种抗冻型缓蚀泡排阻垢剂及其制备方法:CN112266774A[P].2021-01-26.
- [17] 国家能源局.SY/T 5273—2014,油田采出水缓蚀剂性能指标及评价方法[S].北京:石油工业出版社,2014-10-15.
- [18] 中国石油天然气集团公司.Q/SY 1815—2015,排水采气用起泡剂技术规范[S].北京:石油工业出版社,2015-08-04.■
- [11] 陈蜜蜜,张蒙蒙,赵凤清.青霉素废菌丝体制备石膏缓凝剂联产活性炭[J].环境工程学报,2017,11(6):3747-3752.
- [12] 欧阳金波,陈建,刘峙嵘,等.生物质源多孔碳制备及其对废水中药物吸附研究进展[J].化工学报,2020,71(12):5420-5429.
- [13] 卜友泉.酶和核酶的词源学研究及现实意义[J].中国生物化学与分子生物学报,2020,36(4):475-480.
- [14] 郑龙,田佳鑫,张泽鹏,等.多肽药物制备工艺研究进展[J].化工学报,2021,72(7):3538-3550.
- [15] 朱惠斌,钱诚,白丽珍,等.基于 Plackett-Burman 试验设计与响应面法优化玉米秸秆分散元模型[J].中国农业大学学报,2021,26(12):221-231.
- [16] 查昱,张宗豪,李秀璋,等.PB 试验结合 BBD 响应面法优化冬虫夏草菌菌丝体多糖的提取工艺[J].中国食用菌,2020,39(6):25-31.
- [17] 张妮妮,阮晓惠,陈浩,等.核桃蛋白的酶解工艺优化及产物特性研究[J].中国油脂,2021,46(10):18-23.
- [18] 钟为章,杨珂,洪晨,等.沉淀法分离青霉素菌渣中蛋白质工艺的优化[J].环境工程学报,2021,15(6):2027-2036.
- [19] 冀东,熊强,李元岗,等.电子束辐照对土霉素菌渣理化性质的影响[J].同位素,2021,34(3):265-272.■