

餐厨废弃物复合酶解预处理条件优化

刘伟伟^{1,2}, 姚建铭^{1,3}, 陈祥松^{1,3*}, 吴金勇^{1,3}, 袁丽霞^{1,3}

(1. 淮南新能源研究中心, 淮南 232000; 2. 安徽农业大学工学院, 合肥 230036;

3. 中国科学院等离子体物理研究所, 合肥 230031)

摘要: 为提高餐厨废弃物复合酶解效果, 根据餐厨废弃物生物质组分特点及不同酶作用条件, 以固形颗粒去除率、还原糖含量及淀粉水解率为衡量指标, 调整并优化了复合酶解配方及作用条件。结果表明, 在以液化酶、糖化酶、纤维素酶和脂肪酶为配方组成的复合酶作用下, 按照每克干重 (TS) 餐厨废弃物分别添加液化酶 9 U g⁻¹、糖化酶 150 U g⁻¹、纤维素酶 45 U g⁻¹ 和脂肪酶 150 U g⁻¹; 酶解工艺为: 将分选后去除非生物质组分的餐厨废弃物进行粉碎匀浆, 先投加脂肪酶并于 40°C 酶解 24 h, 再投加液化酶、糖化酶及纤维素酶于 55°C 酶解 90 min。本研究建立的餐厨废弃物复合酶解预处理方法有助于提高其后续厌氧发酵效率及稳定性。

关键词: 餐厨废弃物; 复合酶解; 预处理; 厌氧发酵

中图分类号: X785

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2016)01-0123-05

Optimization of the pretreatment conditions for multi-enzyme hydrolysis of food waste

LIU Weiwei^{1,2}, YAO Jianming^{1,3}, CHEN Xiangsong^{1,3}, WU Jinyong^{1,3}, YUAN Lixia^{1,3}

(1. Huainan New Energy Research Center, Institute of Plasma Physics, Chinese Academy of Sciences, Huainan 232000;

2. School of Engineering, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

3. Institute of Plasma Physics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031)

Abstract: In order to enhance the multi-enzyme hydrolysis of food waste, the composition and hydrolysis conditions were optimized based on the biomass components of food waste and the conditions of enzymatic reactions. The whole solid removal rate, reducing sugar content and hydrolysis rate of starch were determined. The optimum parameters for the food waste hydrolysis were: the mixed enzyme was composed of α -amylase, α -1,4-glucan glucohydrolase, cellulase and lipase. The dose of each enzyme was 9, 150, 45 and 150 U/g, respectively, based on the total solid (TS) weight of the food waste. The food waste was first digested by lipase at 40°C for 24 h, and then α -amylase, α -1,4-glucan glucohydrolase and cellulase were added for additional digestion at 55°C for 90 min.

Key words: food waste; multi-enzyme hydrolysis; pretreatment; anaerobic digestion

中国餐厨废弃物年产生量超过 5000 万 t, 其资源浪费相当于 233 万 hm² 玉米的能量产出和 200 万 hm² 大豆的蛋白质产出, 可养活 2~3 亿人^[1-4]。餐厨废弃物含有大量淀粉、糖类、蛋白质、油脂等营养物质, 以及氮、磷、钾、钙及多种微量元素, 是良好的生物质资源, 可用于好氧堆肥、厌氧发酵产甲烷和氢气、生产微生物油脂及乙醇等^[5-13]。在进

行厌氧发酵时, 如采用传统针对粪污等原料的一步法直接厌氧发酵工艺, 常由于餐厨废弃物组分极易水解酸化, 致使发酵系统有机酸积累过快, pH 值下降过低而导致不适合产甲烷菌生长, 系统效率下降甚至崩溃。同时, 所含油脂的水解产物为长链脂肪酸 (LCFAs) 和甘油。LCFAs 会吸附于厌氧菌的细胞壁或细胞膜上, 干扰其运输或防御功能, 还会引

收稿日期: 2015-03-12

基金项目: 淮南市科技创新平台建设重点项目 (2014A15) 和安徽农业大学学科建设项目 (2014xkjs-101) 共同资助。

作者简介: 刘伟伟, 博士, 副教授。E-mail: liuww@ahau.edu.cn

* 通信作者: 陈祥松, 高级工程师。E-mail: xschen@ipp.ac.cn

起活性污泥流失, 从而对厌氧消化过程产生明显的抑制作用^[14-17]。尽管工程上可采取降低有机负荷或延长水力滞留时间的方式来解决, 但都会带来厌氧工程效率降低、工程投资增加的问题。因此, 大量研究报道采用酸、热、酸-热结合、高温水解、高压-低压、冷冻-融化、微波、超声波、巴氏杀菌等方法对餐厨废弃物先进行预处理^[18-26], 再进行厌氧发酵, 可获得良好的试验效果。但这些方法实际应用中往往存在能耗、设备投资、预处理成本以及对后续发酵微生物的影响等问题。

鉴于以上分析, 在研究团队前期开发的复合酶解预处理技术^[27-28]基础上, 本研究针对餐厨废弃物不同组分特点, 对复合酶配方及作用条件进行调整及优化, 建立基于不同油脂含量的餐厨废弃物复合酶解配方及应用条件, 以期提高后续厌氧发酵效率及系统运行稳定性。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 餐厨废弃物及接种物 餐厨废弃物取自中科院合肥物质科学研究院等离子体物理研究所食堂中午时段, 接种物为本试验室 35℃培养的正常厌氧活性污泥。其基本理化性质参见表 1。

表 1 餐厨废弃物及接种污泥基本理化性质

Table 1 The physical and chemical characteristics of food waste and sludge

样品 Sample	TS/%	VS/%	pH	油脂/% Fat
餐厨废弃物 Food waste and sludge	15.75	87.95	6.34	4.28
接种物 Inoculum	13.43	47.39	8.50	0

1.1.2 主要试剂与药品 液化酶 (酶活 ≥ 50000 U g^{-1})、糖化酶 (酶活 ≥ 300000 U g^{-1}) 均为食品级, 购于南京添嘉生物科技有限公司; 纤维素酶购于东莞高宝技术有限公司, 其葡萄糖内切酶活力、滤纸酶活力分别为 5.82×10^4 U mL^{-1} 、826 FPU mL^{-1} ; 脂肪酶 (酶活 ≥ 200000 U g^{-1}), 为假丝酵母脂肪酶 LS20, 购于北京凯泰新世纪生物技术有限公司; 各酶酶活均为商品酶活, 其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 检测方法 总固体 (TS) 及挥发性固体 (VS) 含量测定采用重量法^[29]; pH 值采用数显 pH 计测定;

粗脂肪采用索氏标准抽提法^[30]; 固形颗粒物含量测定采用离心分离、重力法; 还原糖含量测定采用 DNS 法^[31]; 淀粉含量测定采用盐酸水解法^[32]; 餐厨废弃物热值采用氧弹法, 采用美国 Parr 公司 6300 型量热仪测定。

1.2.2 复合酶配方的调整 本团队前期研究^[27-28]已初步建立以液化酶、糖化酶、蛋白酶和纤维素酶为主的复合酶配方, 以及每克餐厨废弃物添加液化酶 6~10 U、糖化酶 50~200 U、蛋白酶 20~50 U、纤维素酶 20~50 U, 温度 50~60℃, 时间 2~4 h 的基本酶解工艺参数。但考虑到一方面, 餐厨废弃物中通常含有 3~5% 的油脂, 且蛋白酶会抑制其他酶的催化活性; 另一方面, 蛋白质在厌氧环境下的降解速度相对较快, 而油脂的降解速度相对较慢^[33], 且其水解产物会对厌氧发酵过程产生一定的抑制作用。因此, 在调整后的复合酶配方中增加脂肪酶, 同时去除蛋白酶。

1.2.3 复合酶解条件的优化设计 (1) 复合酶解顺序。由于脂肪酶的适宜酶解温度较低 (30~45℃)、pH 值较高 (6.0~10.0), 而液化酶、糖化酶等的适宜酶解温度较高 (50~80℃)、pH 值较低 (3.5~5.0)。因此, 在进行复合酶解时, 先添加脂肪酶进行酶解, 再添加液化酶、糖化酶和纤维素酶进行复合酶解。

(2) 复合酶解效果评价。参考前期研究结果及不同酶产品推荐的使用条件, 首先通过单因素试验确定不同酶的适宜酶用量、酶解时间及酶解温度, 再对所获得的适宜酶解条件进行综合试验验证, 确定最佳酶解条件。复合酶解的作用主要是将餐厨废弃物中淀粉、纤维素、油脂等大分子有机物水解为易于被厌氧分解的还原糖、挥发性有机酸 (VFAs) 等。因此选择固形颗粒去除率、还原糖含量及淀粉水解率等来衡量复合酶解效果, 进而确定适宜的酶解条件。

(3) 复合酶解单因素试验设计。针对复合酶用量的单因素试验水平设计见表 2。其他酶解条件为: 经人工分选、粉碎匀浆之后的餐厨废弃物用量为 500 g, 脂肪酶 40℃酶解 24 h, 液化酶、糖化酶和纤维素酶 60℃酶解 2 h。

表 2 复合酶添加量试验水平设计

Table 2 Experimental design of added ratio on multi-enzyme hydrolysis

U g^{-1}

试验组 Treatment group	脂肪酶 Lipase	液化酶 α -amylase	糖化酶 α -1,4-glucan	纤维素酶 Cellulase
A1	0	0	0	0
B1	50	3	50	15
C1	100	6	100	30
D1	150	9	150	45
E1	200	12	200	60

表 3 复合酶解时间试验水平设计

Table 3 Experimental design on multi-enzyme hydrolysis time

试验组 Treatment group	脂肪酶/h Lipase	液化酶、糖化酶和纤维素酶/min Mixture of α -amylase, α -1,4-glucan and cellulase
A2	0	0
B2	8	30
C2	16	60
D2	24	90
E2	36	120

表 4 复合酶解温度试验水平设计

Table 4 Experimental design on multi-enzyme hydrolysis temperature

试验组 Treatment group	脂肪酶/h Lipase	液化酶、糖化酶和纤维素酶/min Mixture of α -amylase, α -1,4-glucan and cellulase	°C
A3	30	45	
B3	35	50	
C3	40	55	
D3	45	60	
E3	50	65	

在确定适宜的复合酶添加量的基础上, 针对复合酶解时间的单因素试验水平设计见表 3, 试验采用的酶解温度仍为脂肪酶 40°C、其他酶 60°C, 餐厨废弃物用量为 500 g。

1.2.4 复合酶解优化条件验证试验设计 验证试验是在以上单因素试验确定的最佳酶解条件下进行酶解量扩大的重复试验, 以验证所得参数的重复性, 同时为后续厌氧发酵工艺制备原料。餐厨废弃物用量为 5000 g。

2 结果与分析

2.1 复合酶解用量对酶解效果的影响

在试验设计的不同复合酶用量条件下, 各组固形颗粒去除率、还原糖及淀粉水解率变化见图 1。

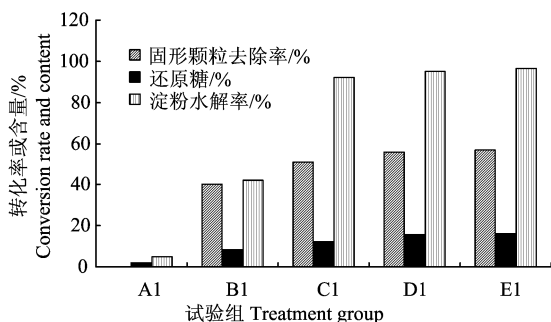


图 1 复合酶用量对餐厨废弃物酶解效果的影响

Figure 1 Effects of the added ratio on multi-enzyme hydrolysis

可以看出, 从未添加任何复合酶解的 A1 组至添加量最高的 E1 组, 其固形颗粒去除率、还原糖及淀粉水解率均呈现逐渐升高的趋势, 最高可分别达 56.84%、16.14% 及 96.27%。说明随着复合酶用量的增加, 在试验设计条件内, 餐厨废弃物主要组分被较彻底的水解为还原糖及有机酸等小分子。但也可以看出, C1 组水解效果显著优于 B1 组, 但与 D1、E1 组差异并不明显, 说明随着复合酶用量的线性增加, 水解率增加并不明显。因此综合酶解效果, 从稳定性及酶成本的方面考虑, 选择 D1 组复合酶用量为适宜条件, 即复合酶用量分别为: 脂肪酶 150 U g⁻¹、液化酶 9 U g⁻¹、糖化酶 150 U g⁻¹ 和纤维素酶 45 U g⁻¹。

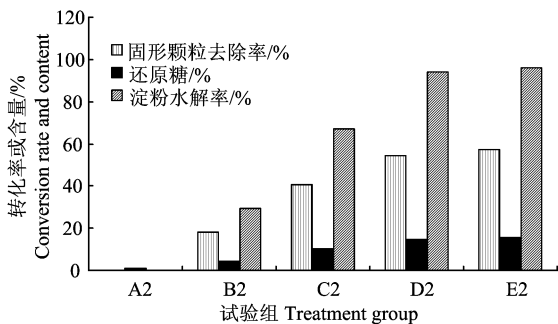


图 2 酶解时间对餐厨废弃物酶解效果的影响

Figure 2 Effects of the multi-enzyme hydrolysis time on the enzymolysis of food waste and sludge

2.2 复合酶解时间对酶解效果的影响

按照以上试验确定的适宜复合酶用量, 并设置酶解温度仍为脂肪酶 40℃、其他酶 60℃, 分别取不同酶解时间下样品, 测量固形颗粒、还原糖及淀粉含量, 并计算其相应转化率, 结果见图 2。

图 2 的结果表明, 随着酶解时间的延长, 试验各组的固形颗粒去除率、还原糖及淀粉水解率均呈现持续增加的趋势, 至脂肪酶酶解 36 h, 其他酶酶解 120 min 时, 其相应数据分别达到 57.16%、15.49% 及 95.83%, 同样说明餐厨废弃物得到了较为彻底的水解。但比较各组数据可以看出, 试验组 D2 数据均高于 C2, 但与 E2 组试验数据无显著差异。因此从能耗及效率的方面考虑, 选择 D2 组酶解时间为适宜条件, 即脂肪酶酶解 24 h、其他酶酶解 90 min。

2.3 复合酶解温度对酶解效果的影响

根据复合酶产品的推荐使用条件, 按照 5℃ 的温度梯度, 研究了脂肪酶从 30~50℃、其他酶从 45~65℃ 不同温度条件下的复合酶解效果, 结果见图 3。

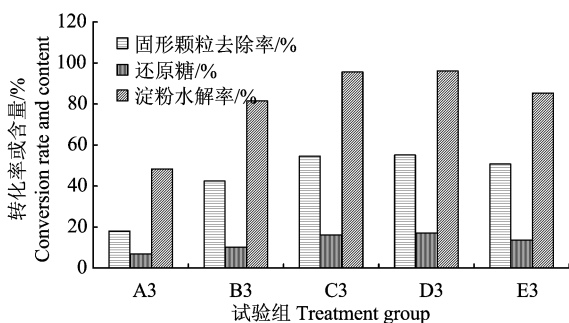


图 3 酶解温度对餐厨废弃物酶解效果的影响

Figure 3 Effects of the multi-enzyme hydrolysis temperature on the enzymolysis of food waste and sludge

试验结果表明, 随着酶解温度的升高, 餐厨废弃物水解效果也持续增加, 当脂肪酶酶解温度 45℃、其他酶解温度 60℃ 时, 试验组 D3 固形颗粒

去除率, 还原糖及淀粉水解率分别达到 55.07%, 16.95% 和 96.19% 的最高值。但当酶解温度进一步提高时, 其各项水解指标均有较大程度下降。根据试验采用酶产品的使用说明, 其原因可能是糖化酶耐热性较差, 酶解温度高于 60℃、酶解时间超过 45 min 时, 酶活易损失。同时也发现, 脂肪酶解温度 40℃、其他酶解温度 55℃ 的 C3 试验组, 其各项酶解数据与 D3 组相当。因此, 选择 C3 组为适宜的酶解温度。

2.4 复合酶解最佳条件的验证

在以上单因素试验获得的优化酶解条件下, 增加餐厨废弃物酶解用量 10 倍至 5000 g, 进行重复及验证试验。其固形颗粒去除率、还原糖及淀粉水解率分别达到了 58.27%、17.39% 和 97.18%。说明餐厨废弃物复合酶解效果良好, 底物水解较为彻底, 所得酶解参数重复性良好, 可作为复合酶解的最佳条件。

另外经测定, 餐厨废弃物复合酶解后样品 TS 为 18.22%, VS 为 89.75%, 与原料相比略升高, 其原因应与酶解过程水分蒸发及酶解能够起到一定的沉砂作用^[34-35]有关; pH 值为 4.28, 也是由于酶解之后脂肪酸的产生。

3 结论

根据餐厨废弃物组分特点及各种酶之间的相互作用, 酶解配方组成调整为: 液化酶、糖化酶、纤维素酶和脂肪酶。

根据所采用不同酶的作用条件, 对餐厨废弃物的复合酶解顺序为: 先添加脂肪酶酶解, 再添加液化酶、糖化酶和纤维素酶酶解。

选择固形颗粒去除率、还原糖含量及淀粉水解率为复合酶解效果的衡量指标, 通过单因素实验, 获得的适宜复合酶用量为: 每克干重 (TS) 餐厨废弃物酶用量分别为脂肪酶 150 U g⁻¹、液化酶 9 U g⁻¹、糖化酶 150 U g⁻¹、纤维素酶 45 U g⁻¹; 最佳的酶解工艺条件是: 将经人工分选去除非生物质组分的餐厨废弃物进行粉碎匀浆后, 先投加脂肪酶进行酶解 24 h、酶解温度 40℃, 再投加液化酶、糖化酶及纤维素酶酶解 90 min、酶解温度 55℃。

参考文献:

- [1] 成升魁, 高利伟, 徐增让, 等. 对中国餐饮食物浪费及其资源环境效应的思考[J]. 中国软科学, 2012(7): 106-114.
- [2] LIU J G, LUNDQVIST J, WEINBERG J, et al. Food losses and waste in China and their implication for water

- and land[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(18): 10137-10144.
- [3] 张振花, 王兴峰, 吴世洋, 等. 餐厨废弃物资源化利用研究进展[J]. *中国资源综合利用*, 2013, 31(11): 35-39.
- [4] GAO L W, CHENG S K, CAO X C, et al. An overview of the resources and environmental issues from wasted food in urban catering across China [J]. *Journal of Resources and Ecology*, 2013, 4(4): 337-343.
- [5] CJJ 184-2012. 餐厨垃圾处理技术规范[S].
- [6] 胡新军, 张敏, 余俊锋, 等. 中国餐厨废弃物处理的现状、问题和对策[J]. *生态学报*, 2012, 32(14): 4575-4584.
- [7] 许晓杰, 冯向鹏, 李冀闽, 等. 国内外餐厨垃圾处理现状及技术[J]. *环境卫生工程*, 2014, 22(3): 31-33.
- [8] 李荣平, 葛亚军, 王奎生, 等. 餐厨废弃物特性及其厌氧消化性能研究[J]. *可再生能源*, 2010, 28(1): 76-80.
- [9] CHEN H F, ZHANG Y G, MENG A H, et al. Municipal solid waste fueled power generation in China: a case study of waste-to-energy in Changchun City[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41(21): 7509-7515.
- [10] CHU C F, EBIE Y, XU K Q, et al. Characterization of microbial community in the two-stage process for hydrogen and methane production from food waste [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2010, 35(5): 8253-8261.
- [11] 邹德勋, 汪群慧, 隋克俭. 餐厨垃圾与菌糠混合好氧堆肥效果[J]. *农业工程学报*, 2009, 25(11): 269-273.
- [12] 姚建铭, 颜守保, 汪平超, 等. 用玉米秸秆纤维为载体制备固定化酵母细胞并用于餐厨废弃物发酵生产燃料乙醇的方法. 中国, ZL201110070177.5 [P]. 2011-03-23.
- [13] 曹媛媛, 姚建铭, 李俊, 等. 一种利用餐厨废弃物生产微生物油脂的方法. 中国, ZL200910184813.X[P]. 2009-10-14.
- [14] 刘研萍, 陈雪, 朱保宁, 等. 餐厨垃圾厌氧消化中硬脂酸钙的形成及作用[J]. *环境工程学报*, 2011, 5(12): 2844-2848.
- [15] 夏亚穆, 常亮, 王伟. 厌氧消化过程抑制因素的研究进展[J]. *化学与生物工程*, 2009, 26(10): 5-7.
- [16] YAMU X, LIANG C, WEI W. Research progress on inhibitors of anaerobic digestion process[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2009, 26(10): 5-7.
- [17] CHEN Y, CHEN J J, CREAMER K S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 499(10): 4044-4064.
- [18] 夏天明, 黄凯峰, 李鸣晓, 等. 湿热预处理对餐厨废弃物厌氧产氢发酵类型的影响[J]. *环境工程技术学报*, 2014, 4(2): 150-157.
- [19] KIM S, CHOI K, KIM J O, et al. Biological hydrogen production by anaerobic digestion of food waste and sewage sludge treated using various pretreatment technologies[J]. *Biodegradation*, 2013, 24(6): 753-764.
- [20] MA J, DUONG T H, SMITS M, et al. Enhanced biomethanation of kitchen waste by different pre-treatments[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(2): 592-599.
- [21] KIM D H, LEE M K, JUNG K W, et al. Alkali-treated sewage sludge as a seeding source for hydrogen fermentation of food waste leachate[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2013, 38(35): 15751-15756.
- [22] 魏自民, 夏天明, 李鸣晓, 等. 不同湿热预处理条件对餐厨垃圾厌氧发酵产氢的影响[J]. *环境科学研究*, 2013, 26(11): 1239-1245.
- [23] 刘研萍, 燕艳, 方刚, 等. 高温水解预处理对餐厨垃圾厌氧消化的影响[J]. *中国沼气*, 2014, 32(1): 43-48.
- [24] MARIN J, KENNEDY K J, ESKICIOGLU C. Effect of microwave irradiation on anaerobic degradability of model kitchen waste[J]. *Waste Manage*, 2010, 30: 1772-1779.
- [25] 王佳明, 蒋建国, 宫常修, 等. 超声波预处理对餐厨垃圾产 VFAs 的影响[J]. *中国环境科学*, 2014, 34(5): 1207-1211.
- [26] 苏鑫, 李伟, 李文进, 等. 巴氏杀菌对餐厨垃圾高温厌氧发酵的影响[J]. *生物技术通报*, 2014(1): 188-190.
- [27] 姚建铭, 王姗姗, 李俊, 等. 一种生产高活性真菌 α -淀粉酶的方法. 中国, ZL201010101850.2[P]. 2010-01-26.
- [28] 曹媛媛, 李俊, 陈祥松, 等. 餐厨废弃物生产微生物油脂酶解条件的研究[J]. *安徽农业大学学报*, 2013, 40(2): 294-298.
- [29] 中国科学院成都生物研究所沼气发酵常规分析编写组. 沼气发酵常规分析[M]. 北京: 科学技术出版社, 1984.
- [30] GB/T 5512-2008. 粮油检验-粮食中粗脂肪含量测定[S].
- [31] GB/T 5009.7-2008. 食品中还原糖的测定[S].
- [32] GB/T 5009.9-2008. 食品中淀粉的测定[S].
- [33] 李东, 孙永明, 袁振宏, 等. 有机垃圾组分中温厌氧消化产甲烷动力学研究[J]. *太阳能学报*, 2010, 31(3): 385-390.
- [34] 刘研萍, 燕艳, 方刚, 等. 高温水解预处理对餐厨垃圾厌氧消化的影响[J]. *中国沼气*, 2014, 32(1): 43-48.
- [35] 夏天明, 黄凯峰, 李鸣晓, 等. 湿热预处理对餐厨废弃物厌氧产氢发酵类型的影响[J]. *环境工程技术学报*, 2014, 4(2): 150-157.