研究论文

DOI:10.3969/j.issn. 1673–1689.2018.09.012

脂肪酶强化水解餐厨油脂促进厌氧消化

曹 蒙， 缪恒锋*， 赵明星， 阮文权

（江南大学 环境与土木工程学院，江苏 无锡 214122）

摘要： 采用批次实验研究了脂肪酶预处理对餐厨油脂水解及其对厌氧消化性能的影响。首先考察了酶用量、水油比、pH 和温度等因素对餐厨油脂水解的影响，进而通过响应面分析确定了其最佳预处理条件；最后基于预处理条件下的餐厨废水（含油脂）的厌氧消化实验，分析了预处理对餐厨废水厌氧消化的重要影响。结果表明：餐厨油脂的最佳预处理条件为：酶用量质量分数 1.15%、水油质量比 0.9、pH 8.0、温度 42.5 ℃，水解率预测值为 86.6%，重复实验水解率为（88.1±2.2）%，与预测值较为接近，表明该响应面模型能够很好地预测上述 4 个反应条件对水解的影响。对实际餐厨废水进行脂肪酶预处理和厌氧消化研究发现，加酶组的累积甲烷产量为 572.12 mL/g·COD，较餐厨废水组（368.86 mL/g·COD）和含油废水组（499.47 mL/g·COD）分别提高了 55.10%和 14.56%，表明餐厨废水中的脂肪具有较大的产甲烷潜力，脂肪酶预处理能显著提高油脂的产甲烷效率。对不同预处理条件下厌氧反应过程的 pH、挥发性脂肪酸（VFAs）及脱氢酶活性进行了对比分析，发现酶促预处理对系统 pH 的影响较小；其对 VFAs 及脱氢酶活性的影响主要体现在厌氧消化前期，表现为对 VFA 及脱氢酶活性的显著提高，说明预水解能够保证产甲烷过程的底物供给并提高产甲烷效率。

关键词： 厌氧消化；油脂；餐厨废水；脂肪酶预处理；响应面分析

中图分类号：X 703　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1673—1689（2018）09—0977—10

Study on the Enhanced Hydrolysis of Kitchen Grease and Promoted Anaerobic Digestion Performance by Lipase

CAO Meng， *MIAO Hengfeng**， *ZHAO Mingxing*， *RUAN Wenquan*

（School of Environment and Civil Engineering，Jiangnan University，Wuxi 214122，China）

Abstract： The effect of lipase pretreatment on kitchen grease hydrolysis and its anaerobic digestion performance were studied with batch experiments. Firstly，the influence of enzyme dosage，ratio of water to oil，pH and temperature on the kitchen grease hydrolysis were investigated. Then，the optimized pretreatment condition was determined by response surface analysis. Finally，anaerobic fermentation of the kitchen wastewater with grease were carried out to analyze the impact of lipase

收稿日期： 2015–11–17

基金项目： 国家“十二五”科技支撑计划项目（2014BAC25B01）。

* **通信作者：** 缪恒锋（1980—），男，江苏江阴人，工学博士，副教授，硕士研究生导师，主要从事环境生物技术、环境化学方面的研究。

E–mail：hfmiao@jiangnan.edu.cn

引用本文： 曹蒙，缪恒锋，赵明星，等. 脂肪酶强化水解餐厨油脂促进厌氧消化[J]. 食品与生物技术学报，2018，37（09）：977–986.

pretreatment on the kitche grease digestion. Results showed that the optimized hydrolysis conditions were determined as enzyme dosage 1.15%, ratio of water to oil 0.9, pH 8.0, temperature 42.5 ℃. Under these conditions, the hydrolysis rate was predicted at 86.6% and the repeated experimental result was (88.1±2.2)%, which showed that the response surface model could predict the influence of four factors on the hydrolysis reaction well. For the results from anaerobic fermentation, the cumulative methane yield of the enzyme pretreated kitchen wastewater with grease was the highest with the value of 572.12 mL/g·COD, showed 55.10% and 14.56% increase than the wastewater with grease group (499.47 mL/g·COD) and the actual kitchen wastewater group (368.86 mL/g·COD) respectively. This indicated that grease had high methane production potential, and lipase pretreatment could obviously improve the methanogenesis efficiency. Further investigation demonstrated that enzyme pretreatment had little effect on pH variation, which showed the significant increase in volatile fatty acids (VFAs) and dehydrogenase activity during the early stage of anaerobic digestion. This manifested that pre-hydrolysis could promote substrate supply for the methane production and improve the methane yield efficiency.

Keywords: anaerobic fermentation, grease, kitchen wastewater, lipase pretreatment, response surface methodology

随着餐饮业的迅猛发展,餐厨废水已经成为我国主要的污染源之一,其排放量约占城市生活污水排放量的3%[1]。由于餐厨废水的高盐分、高有机质浓度等特点,相比于好氧处理,厌氧消化处理具有更好的适用性[2-3]。然而,由于食物烹饪过程中使用了大量的动植物油脂,餐厨废水中的有机物除了碳水化合物和蛋白质外,还存在大量油脂成分,相对于碳水化合物和蛋白质,油脂的水解速率远小于前二者[2,4]。因此油脂会逐渐在厌氧系统内积累导致污泥上浮,并形成泡沫浮渣层,影响厌氧反应器的正常运行。此外,油脂水解产生的长链脂肪酸(LCFAs)会吸附在微生物细胞膜表面阻碍传质过程,抑制微生物活性,进而影响处理效率和系统稳定性[3]。为解决上述问题,通常在生物处理前采用预处理对油脂进行针对性去除,传统的预处理方法有加压气浮法、化学混凝法、热水解和酸/碱处理等。加压气浮法具有产生的污泥量少、油水分离效率高等优点,但其处理耗时长且能耗高;化学混凝法能去除乳化油等,但是混凝剂的选取较为复杂并且污泥产生量大;热水解能将大分子的蛋白质分解成溶于水的小分子,产生的较高浓度氨氮保证了系统的可生化性和缓冲能力[5],但需高温高压条件,其能耗较大;而酸预处理通常采用硫酸或盐酸,对厌氧体系初始pH值的影响较大;碱法预处理对后续的厌氧过程有较好的促进作用,但更小的油脂颗粒尺寸易悬浮于污泥表面,不利于微生物对油脂的直接利用[6-7]。以上方法均存在各自的问题,亟需新的预处理方法用以减少或解决这些问题。

脂肪酶预处理具有很好的环境相容性,可以有效提高油脂的水解效率,其在含油废水处理过程中的研究受到广泛关注[8]。脂肪酶作用于油水界面,可将甘油三酯催化水解为LCFAs和甘油,而LCFAs在产乙酸菌(β-氧化)和产甲烷菌的作用下转变成甲烷[9]。Márcia等[10]采用上流式厌氧污泥床(UASB)反应器处理乳制品废水,发现经酶法预处理的乳制品废水(油脂质量浓度1 000 mg/L)可以实现其化学需氧量(COD)去除率达到90%。另外,有研究人员对脂肪酶的投加方式对油脂厌氧消化的影响进行了研究。Ying等[2]对餐厨垃圾进行了预水解+厌氧消化和同步水解+厌氧消化处理的比较,发现预水解后餐厨垃圾的甲烷产率高于同步处理组4.97%~26.50%。Adriano等[8]也认为酶促预处理含油废水的厌氧效果更好,并把原因归结于预处理后油脂在水中的溶解度及其可生物利用性的提高。

近年来,脂肪酶预处理方法被广泛应用于屠宰场废水、石油加工废水等的处理,但是其对餐厨废水中油脂预处理的研究和应用鲜有文献报道。考虑到餐厨废水自身的特点,作者先从酶用量、水油比、温度和pH等方面考察华根霉脂肪酶对餐厨油脂水解效率的影响,并在此基础上进行响应面分析

(RSM)确定最优水解条件。然后在最优水解条件下进行预处理并进一步考察其对餐厨废水厌氧消化性能的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

餐厨油脂和餐厨废水:取自苏州某餐厨垃圾处理公司,餐厨废水为去除固形物和大部分油脂后的废水;接种污泥:取自江南大学环境与资源研究室处理餐厨废水的厌氧膜生物反应器;脂肪酶:华根霉(*Rhizopus chinensis*)脂肪酶,粉末状,其适宜的温度和 pH 范围分别为 30~45 ℃和 7.5~9.0,由江南大学生物工程学院提供。餐厨油脂的性质见表 1,餐厨废水和接种污泥的性质见表 2。

表 1 餐厨油脂性质

Table 1 Characteristics of kitchen waste grease

指标	数值
皂化值(mg KOH/g)	194.9
碘值(g I_2/100 g)	100.1
酸价(mg KOH/g)	62.4
密度(g/cm^3)	0.91

表 2 餐厨废水及接种污泥的性质

Table 2 Characteristics of kitchen wastewater and inoculum

指标	餐厨废水	接种污泥
pH 值	3.5	7.3
悬浮固体(MLSS)/(g/L)	15.8 (±0.43)	25.11 (±0.56)
挥发性悬浮固体(MLVSS)/(g/L)	6.68 (±0.71)	17.36 (±0.90)
淀粉质量浓度/(mg/L)	915.7 (±21.2)	/
化学需氧量/(mg/L)	97 500	/
脂类质量浓度/(mg/L)	49 00 (±1 300)	/
粗蛋白质量浓度/(mg/L)	10 000 (±200)	/

1.2 实验方法

1.2.1 酶促餐厨油脂水解 将一定量的脂肪酶加入 250 mL 锥形瓶中,加入一定 pH 的磷酸缓冲液(0.05 mol/L,以 PO_4^{3-}计),振荡使酶分散均匀,将锥形瓶放入恒温水浴中,水浴温度与所设水解反应温度相同,使酶活化 30 min,然后快速加入一定量的餐厨油脂,保鲜膜封口,置于恒温振荡水浴中(150 r/min)开始反应。根据前期水解反应预实验可知,120 h 油脂水解最充分,因此设置反应时间为 120 h。实验从酶用量(质量分数 0.06%、0.10%、0.30%、0.50%、1.00%和 2.00%)、水油质量比(0.1、0.3、0.5、1.0 和 1.5)、温度(35、40、45、50、55、60 ℃)和 pH(6.5,7.0,7.5,8.0,8.5、9.0)4 个方面考察脂肪酶对餐厨油脂的水解情况,并在单因素实验的基础上进行响应面条件优化分析。

1.2.2 餐厨废水厌氧消化实验 为了评价酶法预处理对餐厨废水(和油脂)厌氧消化的影响,实验分为三组:第一组为餐厨废水组(对照组),向 500 mL 血清瓶中加入餐厨废水;第二组为含油废水组,向餐厨废水中加入油脂,使得餐厨废水中的含油量达到 3%;第三组为加酶组,在第二组的基础上,加入相当于餐厨废水中油脂量 1.15%的脂肪酶。根据响应面分析得出的最优预处理条件,调节三组废水初始 pH 值为 8.0±0.1,并置于(42.5±0.5) ℃的振荡水浴(150 r/min)中预处理 24 h。预处理后,向 3 组血清瓶中加入相应体积的接种污泥,使厌氧消化系统的接种比(F/M)为 1.5,并加水定容至 400 mL。调节反应体系初始 pH 值为 7.4~7.6,发酵温度为(37.0±0.5) ℃。每组实验设置 3 组平行实验,取平均值。甲烷产量采用产甲烷潜力测试仪(AMPTS)测定。

1.3 测定方法

餐厨油脂的皂化值采用 GB/T 5534–2008(动植物油脂皂化值的测定)法[11];碘值采用 GB/T 5532–2008(动植物油脂碘值的测定)法[12];酸价采用 GB/T 5530–2005(动植物油脂酸值和酸度测定方法)法[13];餐厨废水中油脂含量采用索氏提取法[14];TS 和 VS 采用质量法[15];COD 采用重铬酸钾法[15];淀粉采用硫酸苯酚法[16];蛋白质采用福林酚法[17];脂肪酶活性采用对硝基苯酚棕榈酸酯法(pNPP)[18];污泥的脱氢酶活性采用氯化三苯基四氮唑(TTC)比色法[19];挥发性脂肪酸(VFAs)采用高效液相色谱仪测定。检测条件:检测器波长 210 nm,ZORBAX SB–A 色谱柱(150 mm×4.6 mm×5 μm ID,Agilent),柱温 35 ℃;流动相:0.5%乙腈和 99.5%的 KH_2PO_4 (0.02 mol/L)混合溶液[20]。

2 结果与分析

2.1 餐厨油脂水解条件优化研究

2.1.1 单因素实验 酶用量对油脂水解效率的影响见图 1(a)。酶用量从 0.06%上升至 2.00%时,油脂水解率呈现先上升后下降的趋势。较适宜的酶用量范围为 0.30%~2.00%,能够保证水解率在 90%左右。在酶用量为 0.50%时,油脂水解率最高。当酶用

量超过 0.50%,水解率有所降低。这可能一方面是因为脂肪酶对油脂的水解作用发生在油水界面,酶加入量过多导致油水界面被酶所饱和,而使得酶在界面聚集,导致水解率下降[21];另一方面是因为酶用量较大时,产物对其水解有抑制作用,从而使得水解率下降[22]。

水油比对脂肪酶水解油脂的影响见图 1(b)。水油比为 0.5 时水解率最大;继续增大水油比,油脂水解率略有下降。因此,较适宜的水油比范围定为 0.3~1.5。脂肪酶是一种界面激活酶,因此油脂水解体系中水、油的比例对两者的有效接触面积和水解率有很大影响[23-24];此外,过量的水可稀释油水界面上生成的甘油,降低其浓度,促进水解反应向正反应方向进行;而水油比过高会降低脂肪酶的相对浓度,使得水解率下降[23]。

温度对脂肪酶水解油脂的影响主要表现在两个方面:1)温度升高可增加油脂在水中的溶解度,增加水和油的接触面积,加快水解反应;2)当超过酶的适宜温度范围时,温度升高使得脂肪酶迅速变性失活,酶失活速率远大于反应速率的增加程度,从而使得油脂水解率降低[21-22]。由图 1(c)可知,随着温度的升高,油脂水解率呈上升趋势,温度为 40 ℃时,其水解率最大;当温度超过 50 ℃时,水解率迅速降低。因此,适宜的温度范围定为 35~50 ℃。

pH 是决定酶催化活性的重要参数之一,pH 过低或过高均会破坏脂肪酶的空间结构,影响酶分子活性部位基团的离子化状态,从而导致酶蛋白失活,油脂水解率下降[25]。由图 1(d)可知,油脂水解率随 pH 的增加呈现先升高后略微下降的趋势;当 pH 值为 8.0 时,其水解率达到最大值,这与高巍等[26]的结论一致。

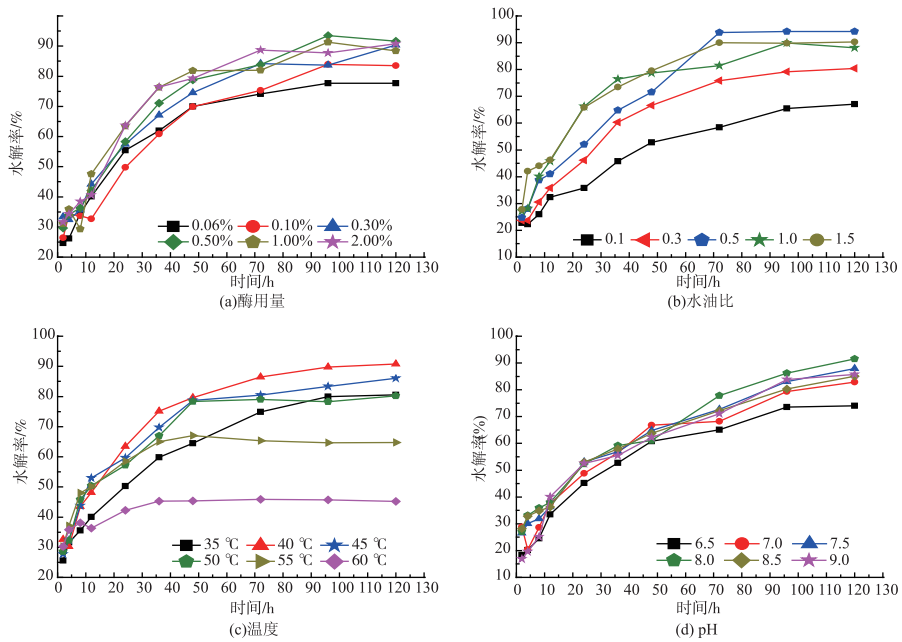


图 1 不同酶用量、水油比、温度和 pH 对油脂水解的影响

Fig. 1 Effects of different enzyme dosages, ratios of water to oil, temperatures and pH on the grease hydrolysis

2.1.2 油脂水解参数的优化 由于影响脂肪酶水解餐厨油脂的酶用量、水油比、pH 和温度是相互影响的因素,单因素分析方法并不能有效地分析各因素的影响显著程度及因素之间的交互作用。因此,在单因素试验的基础上,应用响应面分析法中的 Box-Behnken Design(BBD)对酶用量、水油比、温度、pH 进行三水平的实验设计。实验设计见表 3,BBD 实验设计方案及实验结果见表 4,水解时间均为 120 h。

对实验数据进行多元回归分析,可得 4 个影响因素,即酶用量(X_1)、水油比(X_2)、温度(X_3)和 pH(X_4)的编码值影响油脂水解反应的数学模型:

$$水解率 = 92.6 + 0.49X_1 + 0.79X_2 - 0.3X_3 + 1.11X_4 - 0.47X_1X_2 + 0.47X_1X_3 - 1.91X_1X_4 - 0.24X_2X_3 + 0.5X_2X_4 +$$

$0.2X_3X_4-4.84X_1^2-2.12X_2^2-3.08X_3^2-3.62X_4^2$

表 3 BBD 实验因素和水平表

Table 3 Variable factors and their levels used in BBD

因素	水平		
	−1	0	1
X_1(酶用量质量分数/%)	0.003 0	0.011 5	0.020 0
X_2(水油质量比)	0.30	0.90	1.50
X_3(温度/℃)	35.0	42.5	50.0
X_4(pH)	7.0	8.0	9.0

表 4 BBD 实验设计方案及实验结果

Table 4 BBD arrangement and responses

实验编号	因素				水解率/%
	酶用量(质量分数%) X_1	水油质量比 X_2	温度/℃ X_3	pH X_4	
1	−1.000	1.000	0.000	0.000	86.73
2	0.000	0.000	1.000	−1.000	83.60
3	0.000	0.000	1.000	1.000	86.30
4	−1.000	0.000	0.000	1.000	82.50
5	−1.000	0.000	1.000	0.000	82.50
6	0.000	−1.000	0.000	−1.000	83.71
7	−1.000	0.000	0.000	−1.000	80.24
8	0.000	−1.000	0.000	1.000	83.54
9	1.000	0.000	1.000	0.000	85.72
10	−1.000	−1.000	0.000	0.000	81.76
11	1.000	−1.000	0.000	0.000	83.15
12	1.000	0.000	−1.000	0.000	85.44
13	0.000	1.000	0.000	1.000	88.84
14	0.000	−1.000	−1.000	0.000	83.94
15	1.000	0.000	0.000	−1.000	85.00
16	0.000	0.000	0.000	0.000	90.19
17	0.000	0.000	0.000	0.000	87.31
18	0.000	−1.000	1.000	0.000	84.87
19	1.000	1.000	0.000	0.000	85.87
20	0.000	1.000	1.000	0.000	88.11
21	0.000	1.000	0.000	−1.000	86.63
22	1.000	0.000	0.000	1.000	83.90
23	0.000	0.000	−1.000	−1.000	85.23
24	0.000	0.000	−1.000	1.000	87.14
25	0.000	0.000	0.000	0.000	92.57
26	0.000	0.000	0.000	0.000	91.91
27	−1.000	0.000	−1.000	0.000	84.10
28	0.000	0.000	0.000	0.000	92.81
29	0.000	1.000	−1.000	0.000	88.32

应用方差分析(ANOVA)二次模型的拟合度,表5给出了模型 ANOVA 分析的结果。可知该模型的决定系数为 0.982 6,变异系数(0.74)相对较低,说明了实验数据的精确度较高,可靠性较好;而校正系数为 0.965 2,也证明了该模型显著,表明油脂水解率的预测值和实验数据较为一致;在实验变量的范围内,该模型能较好地进行预测[27];信噪比为 26.173(>4),可知该回归方程的拟合度和可信度均较高。在误差分析中,失拟项的 P 值为 0.086 0(>0.05),不显著,证明了该模型的有效性;模型的 P 值<0.000 1,非常显著。因此,所有统计参数表明该模型可靠性较高,可用于对实验数据进行分析。

表 5 响应面模型的方差分析

Table 5 ANOVA of the response surface model

方差来源	平方和	自由度	均方差	系数	F 值	P 值	
模型	318.99	14	22.79		56.40	<0.000 1	显著
残差	5.66	14	0.40				
失拟项	5.17	10	0.52		4.31	0.086 0	不显著
净误差	0.48	4	0.12				
总离差	324.65	28					
相关系数				0.982 6			
校正系数				0.965 2			
变异系数				0.74			
信噪比				26.173			

表 6 给出了响应面模型系数显著性检验,当 P<0.05 时,参数显著。由表可知,X_4 对水解反应的线性影响(P<0.000 1)和平方影响(P<0.000 1)均非常显著,其次是 X_2,而 X_3 对水解反应的线性影响(P>0.05)不显著。此外,除了 X_1X_4 的交互作用非常显著(P<0.000 1),其他任何两因素的交互作用都不显著。

表 6 响应面模型系数显著性检验

Table 6 Least square fit and significance of the response surface model

参数	平方和	自由度	均方值	F 值	P 值
X_1(酶用量)	2.61	1	2.61	6.46	0.023 5
X_2(水油质量比)	8.84	1	8.84	21.68	0.000 4
X_3(温度)	1.02	1	1.02	2.52	0.134 5
X_4(pH)	13.61	1	13.61	33.68	<0.000 1
X_1X_2	1.27	1	1.27	3.13	0.098 5
X_1X_3	0.88	1	0.88	2.19	0.161 3

续表 6

参数	平方和	自由度	均方值	*F* 值	*P* 值
X_1X_4	14.67	1	14.67	36.31	<0.000 1
X_2X_3	0.32	1	0.32	0.80	0.385 0
X_2X_4	1.42	1	1.42	3.51	0.082 2
X_3X_4	0.16	1	0.16	0.39	0.544 3
X_1^2	151.81	1	151.81	375.80	<0.000 1
X_2^2	60.55	1	60.55	149.89	<0.000 1
X_3^2	61.54	1	61.54	152.35	<0.000 1
X_4^2	85.13	1	85.13	210.74	<0.000 1

采用响应面图描述 4 个实验因素对餐厨油脂水解反应的影响。图 2 给出了当其中两个因素保持不变时,另外两个因素的变化对水解率的影响。图 2(a)中,pH 和温度分别保持 8.0 和 42.5 ℃,当酶用量从 0.30%增至 1.15%时,油脂水解率迅速增加;继续增大酶用量,水解率则有所降低。从图 2(b)和 2(c)中亦可得出相同的结论,根据模型系数检验可知,酶用量对水解率的影响较为显著(P<0.05)。图 2(b)保持水油质量比和 pH 分别为 0.9 和 8.0,当酶用量为 1.15%时,水解率随着温度的升高而呈现先增加后降低的变化趋势。图 2(c)中保持水油质量比和温度分别为 0.9 和 42.5 ℃不变,水解率随着酶用量和 pH 的增加迅速变大,当酶用量和 pH 分别达到 1.15%和 8.0 时油脂水解率达到最大值;继续增加酶用量和 pH 水解率略有降低。图 2(d)中增加水油质量比或降低温度,水解率均出现先升高后降低的趋势。图 2(e)给出了水油质量比和 pH 的交互作用对油脂水解率的影响,酶用量和温度分别保持 1.15%和 42.5 ℃不变,水解率随着水油质量比和 pH 的变大而增加,当水油质量比和 pH 分别达到 0.9 和 8.0 时,水解率达到最大值;继续增大水油质量比和 pH,水解率则有所降低。pH 和温度对水解率的影响见图 2(f)。酶用量和水油质量比分别固定为 1.15%和 0.9,当增大 pH 和温度时,水解率呈现先升高后降低的趋势;此外,水解率随温度变化的曲面较为平缓,表明温度对其影响不显著,这与表 6 相符(P=0.134 5>0.05)。

由响应面优化分析得知,华根霉脂肪酶对餐厨油脂的最适水解条件为:酶用量为质量分数 1.15%,水油质量比为 0.9,pH 为 8.0,温度为 42.5 ℃,水解率预测值为 86.6%。在该实验条件下重复 3 次实验,测得水解率为(88.1±2.2)%,与预测值较为接近,表明该响应面模型能够很好的预测这 4 个实验因素对水解反应的影响。

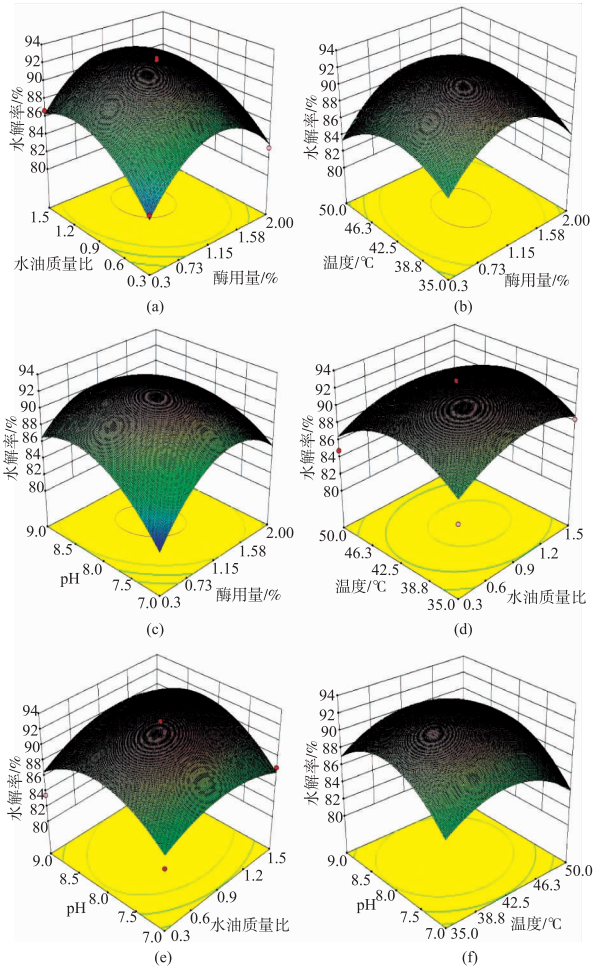


图 2 因素交互作用对水解反应影响的 3D 响应面图

Fig. 2 3D response surface plots of interactions between independent variables

2.2 餐厨废水厌氧发酵研究

2.2.1 日产甲烷量和累积甲烷量的变化 为了考察酶促预处理对餐厨废水以及油脂厌氧消化的作用,作者对比了餐厨废水组、含油废水组以及加酶组 3 组实验的厌氧消化的效果,单位 COD 甲烷日产量及甲烷累积产量见图 3。

由图 3(a)可知,反应初期,餐厨废水组的起始产甲烷速率明显高于含油废水组和加酶组,餐厨废水组在第 3 天达到产气高峰,甲烷产量为 44.60 mL/g·COD;而其它两组的第一次产气高峰均出现在第 6 天,甲烷产量分别为 33.33、47.62 mL/g·COD。这可能是因为含油废水组中未水解的油脂吸附在微生

物表面影响了传质过程,而加酶组中由于预处理大量产生的 LCFAs 对产甲烷菌的活性有抑制作用[28],所以出现了第一次产气高峰均相对延后的现象。随着时间的延长,餐厨废水组的甲烷日产量逐渐降低,第 19 天后,日产量降至 2.00 mL/g·COD 以下,产甲烷逐渐停止。而含油废水组和加酶组分别在第 13 天和第 11 天出现第二次产气高峰,日产量分别为 35.23、56.93 mL/g·COD,该过程主要表现为油脂在水解后的甲烷化。然而加酶组无论在产甲烷速率还是在产甲烷量方面,都比含油废水组表现突出,显示了脂肪酶预处理能够很好地提高油脂的产甲烷效率。

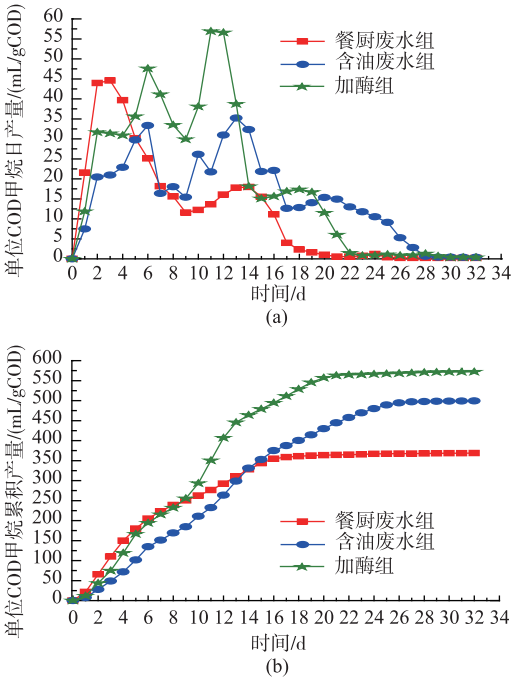


图 3 反应体系单位 COD 甲烷日产量和甲烷累积产量的变化

Fig. 3 Daily methane yield and cumulative methane yield during anaerobic digestion processes

另一方面,从 3 组实验的累积产甲烷量看,反应前 11 天,由于含油废水组和加酶组中油脂与 LCFAs 的存在,两组的累积甲烷产量均低于餐厨废水组;而随着微生物对油脂的适应和降解[29],加酶组在第 11 天第二次产气高峰出现,其累积甲烷产量迅速超越餐厨废水组,而到第 18 天含油废水组的累积甲烷产量也高于餐厨废水组,却低于加酶组。反应最终,三组累积甲烷产量分别为 368.86、499.47、572.12 mL/g·COD;相比于餐厨废水组,含油废水组和加酶组的累积甲烷产量分别提高了 35.41%和 55.10%,而加酶组的累积产甲烷量则比含油废水组提高了 14.56%。表明油脂具有很高的产甲烷潜力[30],并且脂肪酶预处理含油废水能提高甲烷产量,这与 Adriano[8]等人的研究结论一致。

2.2.2 pH 值和 VFAs 质量浓度的变化 为了进一步考察油脂和脂肪酶的加入对厌氧发酵过程的影响,对反应体系中的 pH 和 VFAs 质量浓度进行了分析。pH 是厌氧消化系统最关键的影响因素,产甲烷菌的生长 pH 范围一般控制在 6.5~7.5。3 组实验组体系内 pH 变化情况见图 4(a)。反应第 1 天,三组 pH 迅速降低,这是因为反应刚开始,底物中的营养物质水解产生了大量的 VFAs,从而导致体系中的 pH 迅速下降。随着反应的进行,产甲烷菌逐渐利用有机酸,体系 pH 开始升高。厌氧发酵过程中,三组实验组的 pH 变化趋势基本相同,并且反应过程中 pH 值维持在 7.1~7.8,保证了厌氧消化的正常进行。

厌氧消化过程中,底物中的有机质被厌氧微生物转变成 VFAs,它是厌氧过程中有机质水解酸化的产物,同时也是产甲烷菌的利用底物,VFAs 质量浓度大小常常作为评价水解酸化和产甲烷平衡的重要指标[31],VFAs 质量浓度过高会抑制甚至终止产甲烷过程[32]。图 4(b)为消化液中 VFAs 质量浓度变化图,3 组实验组的 VFAs 质量浓度均呈现先升高后降低的趋势,与 pH 值的变化趋势相反,因为反应初期产酸菌的生长代谢速率快于产甲烷菌的生长代谢,随着反应的进行产甲烷菌大量繁殖,其对体系中 VFAs 的消耗变大,因此反应后期 VFAs 质量浓度呈下降趋势。反应第 5 天,加酶组 VFAs 质量浓度达到最高值 4 486 mg/L,分别是餐厨废水组(3 279 mg/L)和含油废水组(3 109 mg/L)最大值的 1.37 倍和 1.44 倍。此外,3 组 VFAs 质量浓度在 0~14 d 均保持较高质量浓度(>800 mg/L),而这期间三组甲烷日产量也较高(>11.5 mL/g·COD),说明产甲烷菌的活性与体系中的 VFAs 质量浓度有一定正相关关系;第 15 天之前,加酶组的 VFAs 质量浓度明显高于其他两组,这可能是因为预处理加速了油脂的水解,更有助于产酸菌对油脂的利用,使得产酸量明显较高。反应 17 d 后,含油废水组的 VFAs 质量浓度高于加酶组,因为未经预处理的油脂的水解酸化过程较缓慢,因此出现反应后期 VFAs 质量浓度较高的现象。

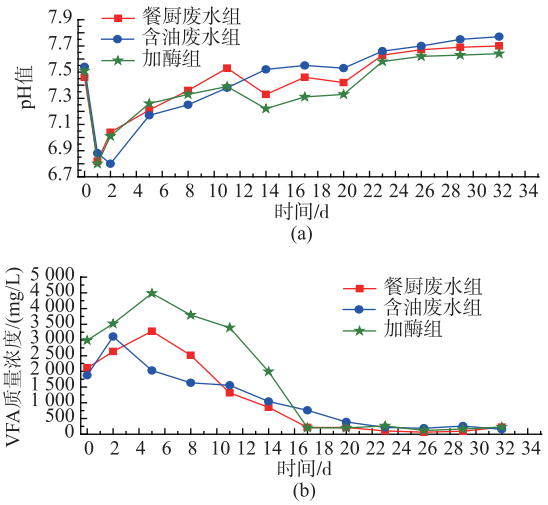


图 4　反应体系内 pH 值和 VFA 的变化

Fig. 4　Variations of pH and VFA during anaerobic digestion processes

2.2.3 *脱氢酶活性的变化*　厌氧过程中的氧化还原反应主要源于脱氢酶的催化,脱氢酶是一种胞内酶,与细胞内的氧化磷酸化过程关系紧密[33]。作者选用脱氢酶活性的变化来表征污泥活性的变化。图 5 中三组脱氢酶活性均呈现先升高后降低的趋势,这可能是因为反应初期底物中营养物质较多,微生物大量繁殖导致脱氢酶活性增大; 随着反应的进行,底物不断被消耗使得脱氢酶活性降低[30]。反应初期,脱氢酶活性迅速升高,3 组均在第二天达到最大值,分别为 272.7、114.3、189.2 TF μg/(L·h);由此可见,反应初期餐厨废水组的脱氢酶活性明显高于加酶组,含油废水组的活性最低,这可能是因为油脂粘附在微生物表面会阻碍传质过程进而影响微生物活性, 并且 LCFAs 对微生物活性有一定的抑制作用[3]。此外,由于甘油酯经酶预处理转变成了相对分子质量较小的甘油和 LCFAs,油脂的溶解性提高更易接近微生物,底物中可被利用的营养物质浓度升高[5,8],从而导致了加酶组脱氢酶活性高于含油废水组。

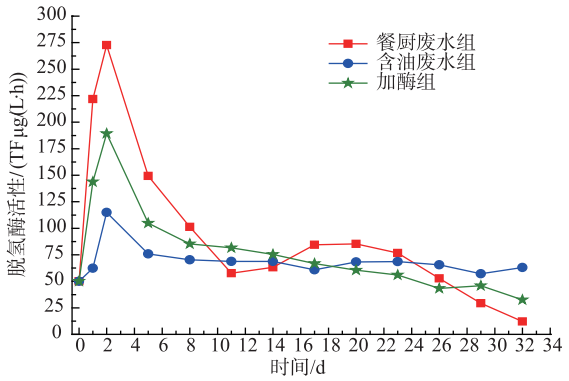


图 5　反应体系内脱氢酶活力的变化

Fig. 5　Change of dehydrogenase activity during anaerobic digestion processes

3 结　语

1) 对华根霉脂肪酶催化餐厨油脂水解反应的参数进行了研究, 在单因素实验的基础上, 应用 BBD 进行四因素三水平的实验设计,对实验结果进行响应面分析,可得华根霉脂肪酶对餐厨油脂的最适水解条件为:酶用量为 1.15%,水油质量比为 0.9,pH 为 8.0,温度为 42.5 ℃,水解率预测值为 86.6%,重复实验水解率为(88.1±2.2)%,两者较接近,表明该响应面模型能较好地预测餐厨油脂的水解情况。

2) 脂肪酶预处理后餐厨废水的厌氧消化结果表明, 加酶实验组的最终累积甲烷产量(572.12 mL/g·COD)是餐厨废水组(368.86 mL/g·COD)和含油废水组(499.47 mL/g·COD)的 1.55 倍和 1.15 倍。系统 pH 维持在 7.1~7.8;VFA 质量浓度呈现先上升后下降最后趋于平缓的趋势, 不存在累积现象;加酶实验组脱氢酶活性最高达 189.2 TF μg/(L·h),比含油废水组提高了 65.53%。脂肪酶预处理是提高含油废水厌氧消化效率的有效途径之一。

参考文献:

[1] 姜晓刚. 餐厨废水的处理技术与设备及油脂回收方法研究[D]. 天津:天津大学,2014.

[2] YING M,SANG L,YUAN H,et al. Effect of lipase addition on hydrolysis and biomethane production of Chinese food waste[J]. **Bioresource Technology**,2015,179:452-459.

[3] JEGANATHAN J,NAKHLA G,BASSI A. Hydrolytic pretreatment of oily wastewater by immobilized lipase[J]. **Journal of Hazardous Materials**,2007,145(1-2):127-135.

[4] CHRIST O,WILDRER P,FAULSTICH M. Mathematical modling of the hydrolysis of anaerobic processes[J]. **Water Science**

Technology,2000,41(3):61-65.
[5] GAO Ruili,YAN Qun,ZOU Hua,et al. Effects of different pretreatment of waste activated sludge on methane production via anaerobic digestion[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2009,28(1):107-112.
[6] HARRIS P W,MCCABE B K. Review of pre-treatments used in anaerobic digestion and their potential application in high-fat cattle slaughterhouse wastewater[J]. **Applied Energy**,2015,155:60-575.
[7] CAMMAROTA M C,FREIRE D M G. A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content[J]. **Bioresource Technology**,2006,97(17):2195-2210.
[8] MENDES A A,PEREIRA E B,CASTRO H F D. Effect of enzymatic hydrolysis pretreatment of lipids-rich wastewater on the anaerobic biodigestion[J]. **Biochemical Engineering Journal**,2006,32(3):185-190.
[9] PALATSI J,AFFES R,FERNANDEZ B,et al. Influence of adsorption and anaerobic granular sludge characteristics on long chain fatty acids inhibition process[J]. **Water Research**,2012,46(16):5268-5278.
[10] LEAL M C M R,FREIRE D M G,CAMMAROTA M C,et al. Effect of enzymatic hydrolysis on anaerobic treatment of dairy wastewater[J]. **Process Biochemistry**,2006,41(5):1173-1178.
[11] GB/T 5534-2008,动植物油脂皂化值的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
[12] GB/T 5532-2008,动植物油脂碘值的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2008.
[13] GB/T 5530-2005, 动植物油脂 酸值和酸度测定[S]. 北京:中国标准出版社,2005.
[14] THIEX N J,ANDERSON S,GILDEMEISTER B. Crude fat,diethyl ether extraction,in feed,cereal grain and forage (randall/soxtec/submersion method):collaborative study[J]. **Journal of Aoac International**,2003,86(5):888-898.
[15] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 北京:中国环境科学出版社,2002.
[16] DUBOIS M,GILLES K A,HAMILTON J K,et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. **Analytical Chemistry**,2002,28(3):350-356.
[17] LOWRY O H,ROSEBROUGH N J,FARR A L,et al. Protein measurement with the Folin phnol reagent[J]. **Journal of Biological Chemistry**,1951,193(1):265-275.
[18] NAMITA G,POOJA R,RANI G. Simplified para-nitrophenyl palmitate assay for lipases and esterases[J]. **Analytical Biochemistry**,2003,311(1):98-99.
[19] KLAPWUK A,DRENT J,STEENVOORDEN J. A modified procedure for the TTC-dehydrogenase test in activated-sludge[J]. **Water Research**,1974,8(2):121-125.
[20] ZHAO M X,RUAN W Q. Biogas performance from co-digestion of Taihu algae and kitche wastes[J]. **Energy Conversion and Managemant**,2013,75(5):21-24.
[21] LIU Yaxuan,JIN Qingzhe,LIU Yuanfa,et al. Lipase catalyzed hydrolysis of soybean oil in solvent-free system[J]. **China Oils and Fats**,2008,33(10):32-36.(in Chinese)
[22] LEI Bingfu,SUN Dengwen,LIU Fuzhen,et al. An applied research of oil hydrolysis catalized by lipolytic enzymes[J]. **China Oils and Fats**,1996,21(4):10-12.(in Chinese)
[23] LIU Y X,JnIN Q Z,LIANG S,et al. The effect of ultrasound on lipase-catalyzed hydrolysis of soy oil in solvent-free system[J]. **Ultrasonics Sonochemistry**,2008,15(4):402-407.
[24] XIANG Xiaole,HUANG Qun,YANG Wangen,et al. Optimization and apparent kinetics research of tea seed oil hydrolysis catalyzed by lipase with ultrasound irradiation[J]. **Food and Fermentation Industries**,2015,41(2):141-146.(in Chinese)
[25] 董恒涛. 粗壮假丝酵母脂肪酶的分离纯化及水解乳脂的研究[D]. 广州:华南理工大学,2010.
[26] GAO Wei,YANG Lichang,HONG Kun,et al. Study on hydrolysis characteristics of lipid by TLIM lipase[J]. **Cereals and Oils Processing**,2010(4):14-18.(in Chinese)
[27] MOHAMMADI R,MOHAMMADIFAR M A,MORTAZAVIAN A M,et al. Extraction optimization of pepsin-soluble collagen from eggshell membrane by response surface methodology(RSM)[J]. **Food Chemistry**,2016(190):186-193.
[28] LIAO Jialin,ZHAO Mingxing,HUANG Zhenxing,et al. An alysis of grease degradation and its impact on the anaerobic digestion of kitchen wastewater[J]. **Journal of Food and Biotechnology**,2013,32(8):803-808.(in Chinese)
[29] SHIGEMATSU T,TANG Y,MIZUNO Y,et al. Microbial diversity of mesophilic methanogenic consortium that can degrade long-chain fatty acids in chemostat cultivation[J]. **Journal of Bioscience and Bioengineering**,2006,102(6):535-544.

[30] MATA A J,DOSTA J,ROMERO G M S,et al. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013 [J]. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**,2014,36(C):412-427.
[31] WANG Yonghui,ZHAO Mingxing,RUAN Wenquan. Synergistic effect of anaerobic co-digestion of food waste and excess sludge[J]. **Chinese Journal of Environment Engineering**,2014,8(6):2536-2542.(in Chinese)
[32] XU Zhiyang,ZHOU Huimin,ZHAO Mingxing,et al. Effects voliatile fatty acids on extracellular polymeric substances (EPS) during the biogas process from food wastes[J]. **Journal of Food and Biotechnology**,2014,33(10):1044-1049.(in Chinese)
[33] GARCIA C,HERNANDEZ T,COSTA F. Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils[J]. **Communications in Soil Science & Plant Analysis**,1997,28(1-2):123-134.

会　议　消　息

会议名称(中文):第七届生物医学工程与生物技术国际学术会议

所属学科:生物技术与生物工程,生物医学工程学
开始日期:2018-10-17　　结束日期:2018-10-20
所在城市:江苏省　南京市　　主办单位:东南大学、南京医科大学
联系电话:13018020541、027-87051286
E-MAIL:icbeb@icbeb.org　　会议网站:http://www.allconfs.org/meeting/index.asp?id=4705

会议背景介绍:第七届生物医学工程与生物技术国际学术会议(ICBEB 2018)将于 2018 年 10 月 17 日至 20 日在南京召开。本次大会由东南大学和南京医科大学联合主办,旨在为生物医学工程与生物技术领域的知名专家和学者搭建一个国际性学术交流平台,针对行业内前沿动态和热点问题展开热烈讨论,分享最新研究成果,积极探索解决方法,推动和促进生物医学行业的发展。

会议名称(中文):2018 年中国遗传学会学术讨论会

所属学科:细胞生物学,遗传与发育生物学
开始日期:2018-10-19　　结束日期:2018-10-22
所在城市:江苏省　南京市　具体地点:江苏省会议中心
主办单位:中国遗传学会
承办单位:苏省遗传学会 南京农业大学 作物遗传与种质创新国家重点实验室
联系人:肖进,李子昂　　联系电话:025-84399893;13951722452
E-MAIL:xiaojin@njau.edu.cn　　会议网站:http://www.gsc.ac.cn/sybanner/201310/t20131030_131582.html

会议背景介绍:“中国遗传学会第十届全国会员代表大会暨学术讨论会”将于 2018 年 10 月 19-22 日在江苏南京召开,这里是中国遗传学会第一届全国会员代表大会召开的地方,届时中国遗传学会将走过 40 年的历程。本次会议大会主题为“遗传学:继承、创新、发展”,来自全国的遗传学相关领域的科技工作者将欢聚一堂,交流遗传学领域的热点、难点和新成果、新进展。欢迎全国从事遗传学及其相关学科的学者与研究生踊跃参加。

会议征文:会议接收植物遗传学、人类与医学遗传学、动物遗传学、微生物遗传学、群体与进化遗传学、基因组学、蛋白质组学、发育遗传学、表观遗传学、药物基因组学、遗传学教学和遗传学技术方法等方面的研究内容。论文格式请参照《遗传》格式,字数限制在 1000 字以内,中英文不限。