

试验研究

超声辅助氨解预处理对纤维素酶酶解餐厨垃圾的影响研究

吕健, 陈亚, 吴逾格, 华金波

(台州职业技术学院 生物与化学工程系, 浙江台州 318000)

摘要: 为了提高餐厨垃圾酶解产糖能力, 从而能得到更多的燃料乙醇, 就纤维素预处理对餐厨垃圾酶解产糖能力的影响进行了试验研究, 考察了餐厨垃圾氨解、超声预处理对酶解产糖的影响规律。结果表明: 在纤维素酶加酶量为 12 g/100g 实验垃圾样品、pH4.8、酶解糖化温度为 42 ℃~58 ℃、反应时间为 60 min 的条件下, 餐厨垃圾经过氨水-超声(10%氨水, 固液比 1:20, 超声 30min)预处理的酶解产糖率比没进行预处理的产糖率有较大提高。

关键词: 餐厨垃圾; 预处理; 酶解; 氨水; 超声

中图分类号: X705

文献标识码: A

文章编号: 1006-8759(2010)04-0013-03

餐厨垃圾是指产生于餐饮经营与居民生活的食物加工下脚料(厨余)和食用残余(泔脚)。餐厨垃圾中淀粉和纤维素物质含量都十分丰富, 糖化工序的好坏直接影响到糖化液的出品率、乙醇的产率等, 了解酶解糖化的规律及糖化过程极为重要^[1]。由于纤维素、半纤维素和木质素共存于餐厨垃圾原料中, 形成复杂结构, 而阻碍了纤维素酶对纤维素的酶解作用。通过对厨余垃圾进行预处理, 使纤维素酶更容易酶解纤维素, 从而可以提高酶解产糖率。纤维素的预处理方法主要有蒸汽爆破处理、酸碱处理、辐射处理及氨处理等, 氨处理条件比较温和且试剂易于回收循环利用, 对纤维素和半纤维素破坏较小, 不会产生对后续发酵不利的副产物^[2,3], 超声波产生的振动、高加速度及空化效应等均可加速细胞内物质的释放及溶解, 提高浸出率^[4]。本文以经过脱脂除糖处理的餐厨垃圾为材料, 讨论超声波辅助氨水预处理, 对酶解的效果和最终得糖率的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 餐厨垃圾

试验所用餐厨垃圾取自校内某食堂, 包括厨余垃圾和泔脚, 二者质量比为 4:6, 组分包括米饭、蔬菜、肉骨、鱼刺、菜汤等^[5]。主要成分为淀粉、纤维素、蛋白质、脂类和无机盐, 新取来的餐厨垃圾经过搅拌机打浆处理, 高温灭菌后保存于冰箱待用。为了保证样品的均匀性和防止餐厨垃圾中原有还原性糖类对结果的影响, 酶解反应之前, 先用乙醚对餐厨垃圾进行脱脂处理, 用乙醇洗涤、抽滤等进行除糖处理。实验物料和原餐厨垃圾的理化性质见表 1。

表 1 餐厨垃圾的理化性质

| 项目 | 水分含量/% | 脂肪含量/% | 总糖/% | 还原糖/% | 非还原糖/% | 纤维素/% |
|--------|--------|--------|------|-------|--------|-------|
| 实验垃圾样品 | 69.00 | 0 | 4.37 | 0 | 4.37 | 5.07 |
| 原始餐厨垃圾 | 84.94 | 2.04 | 3.45 | 1.88 | 1.57 | 1.82 |

1.1.2 纤维素酶

降解纤维素生成葡萄糖的一组酶的总称。由非病原性的木霉菌诱变筛选的高产菌株, 经液态发酵精制而成。由山东隆大生物工程有限公司提供, 酶活 50 000u/g。

1.1.3 仪器设备

JJ2000 型精密电子天平; DSX-280A 手提式灭菌锅; PHS-25C 数显酸度计; HR2094 飞利浦搅

拌机;WFJ7200 型分光光度计;THZ-82 恒温振荡器;98-1-B 型电子调温电热套;AST100-240-28 超声波发生器。

1.2 纤维素预处理及纤维素酶酶促条件试验方法

1.2.1 实验设计

试验设 4 个处理,分别为餐厨垃圾未经其他预处理(CR)、餐厨垃圾经氨水水解预处理(SJ)、餐厨垃圾经超声预处理(CS)、餐厨垃圾经氨水-超声预处理(SJ+CS)。实验步骤如下图所示。

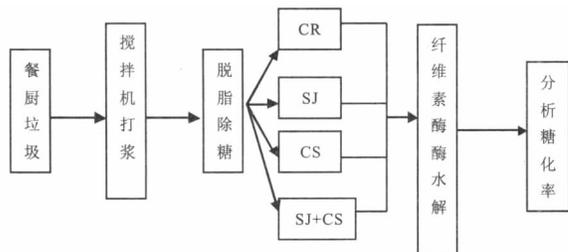


图 1 超声辅助氨解预处理对纤维素酶酶解效率试验流程图

1.2.2 纤维素酶酶促条件试验方法

准确称取一定量餐厨垃圾试验样品,调 pH 值为 4.8,加 50 mL 水后在电子调温电热套中进行样品糊化,在恒温箱中保持至 58 °C 后,加入一定量酶液,之后放入恒温振荡器中,58 °C 下酶解 1 h,加热至沸灭酶,冷后移入 250 mL 容量瓶,定容,过滤,取滤液 50 mL 调 pH 至 7.0,于 100 mL 容量瓶中定容,测定样品吸光度,计算出葡萄糖含量,以加相同量经高温灭活的酶液处理作空白对照。下述单因素实验中,除提到的条件外,其他均固定为上述条件。

1.2.3 葡萄糖分析方法

葡萄糖标准曲线绘制:采用 DNS 法测定标准溶液中葡萄糖含量^[6]。以葡萄糖含量为 x 轴、吸光度为 y 轴,得糖含量与吸光度的关系曲线如图 1,得线性回归方程: $y=0.8317x - 0.0155, R^2=0.9989$ 。

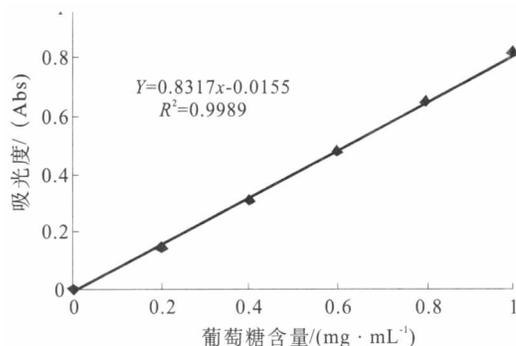


图 2 葡萄糖标准曲线

1.2.4 纤维素酶酶解餐厨垃圾糖化率的计算方法

纤维素酶酶解糖化率:纤维素酶酶解葡萄糖质量/纤维素含量×100 %。

2 结果与讨论

2.1 氨水处理对餐厨垃圾酶解糖化率的影响

氨水处理条件比较温和且试剂易于回收循环利用,对纤维素及半纤维素破坏较小,不会产生对后续发酵不利的副产物^[7]。氨水处理后,餐厨垃圾中可酶解纤维素含量显著上升,半纤维素和木质素均有不同程度的溶出,有利于酶与纤维素的接触,酶解率较处理前有明显提高。这里对氨水处理的体积比进行讨论,每 100 g 实验垃圾样品中分别用 2 %、5 %、10 %、15 %、20 % 氨水各 10 mL 处理后,在纤维素酶用量 12 g/100g 实验垃圾、pH4、温度 55 °C、酶解 1 h 的糖化条件下进行纤维素酶实验解,结果如图 3 所示。

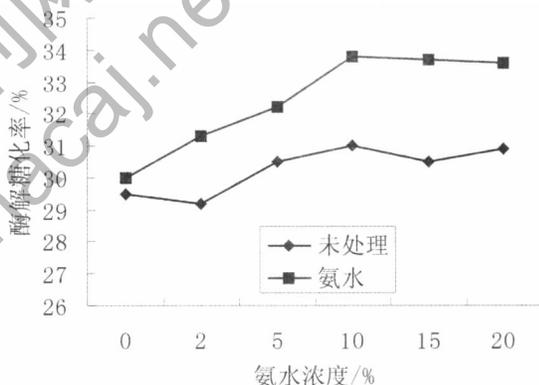


图 3 氨水处理对餐厨垃圾酶解糖化率的影响

由图 3 结果可知,酶解糖化率随氨水浓度增加而增加,当氨水浓度达 10% 时,酶解糖化率达到最高,但随氨水浓度继续增大酶解糖化率逐渐减小,这可能是由于氨水浓度增加会引起纤维素及半纤维素部分分解破坏,导致酶解糖化率减小。

2.2 超声时间对餐厨垃圾酶解糖化率的影响

超声波能够打开纤维素的结晶区,破解木质素大分子,超声波预处理能使木浆纤维的形态结构和超微结构发生明显变化,对提高纤维素酶的可及度和化学反应性能非常有利,能破坏纤维素组分中的部分结晶结构,从而提高纤维素酶解时的酶解率^[8]。本实验先经过 10 % 氨水处理,考察超声时间对纤维素酶解餐厨垃圾的影响,在纤维素酶用量 12g/100g 实验垃圾、pH4、温度 55 °C、酶解 1 h 的糖化条件下测定酶解效率,以超声时间对酶水解率作图得到图 4。

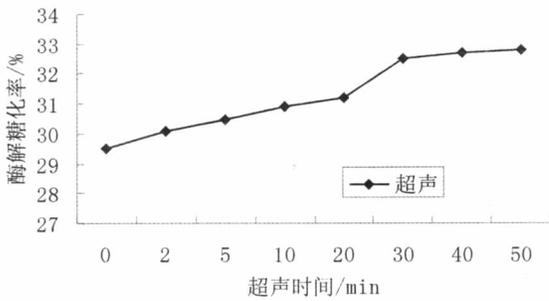


图 4 超声时间对餐厨垃圾酶解糖化率的影响

从图 4 中可以看出, 酶解糖化率随着超声时间的增加而变大, 当超声时间达到 30 min 后, 酶解效率没有再增加, 这可能是由于随着超声时间的延长, 超声波产生的机械力对固体表面的侵蚀作用更充分, 且其产生的热能和自由基的量更充分, 使大分子间的化学键更多的发生断裂, 生成了可溶性的小分子如可溶性糖, 但这些断裂下来的小分子另一方面又可与体系中的裂解下来的其他单体发生聚合反应, 如此反复循环直到聚合反应与降解反应速率相等, 因此在考虑时间、资源的节省, 选择超声处理 30 min 亦可。

2.3 餐厨垃圾固液比对超声的影响

本实验用固液比 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 在 10% 氨水 10 mL 的加入量, 超声时间 30 min, 纤维素酶用量 12 g/100 g、pH4、温度 55℃、酶解 1 h 的糖化条件下进行酶水解得到图 5。

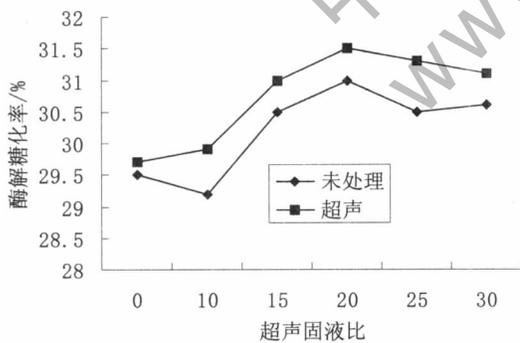


图 5 固液比对超声的影响

从图 5 中可知, 随着固液比增大酶解糖化率由升到降, 这是因为当超声波作用于水时水分子所获得的加速度可比重力加速度大几百万倍, 水分子多则冲撞固体餐厨垃圾表面的作用力多, 破碎大分子的量有一定的上升, 但随着水量上升到一定程度后, 由于声波随着传播距离的增加而衰减, 水分子所获得的加速度下降, 使得超声波对大分子的破坏力下降, 因此选择固液比 1:20 为佳。

3 结论

酶解餐厨垃圾是餐厨垃圾进行酒精发酵的关键。用超声辅助氨解预处理先破解纤维素大分子, 使纤维的形态结构和超微结构发生明显变化, 可以提高纤维素酶解时的酶解率。预处理条件为 10% 氨水的碱化、超声处理时间 30 min、固液比为 1:20, 该预处理条件温和, 为利用餐厨垃圾生产燃料乙醇打下了良好的基础。

参考文献

- [1] Sauer J, Sigurskjold B W, Christensen U, et al. Glucoamylase: structure/function relationships, and protein engineering [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1543:75-293.
- [2] 食品成分分析. 宁正祥著. -北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [3] 沈文豪, 肖希和, 杭建忠等. 发酵过程中气提的动力学行为探讨, *高校化学工程学报*, 2003, 17(2): 166-172.
- [4] 于淑娟, 高大维. 超声强化纤维素酶反应机理研究. *华南理工大学学报: 自然科学版*, 1998, 26(11): 90-95.
- [5] 于红艳, 曹树勇, 奚立民. 餐厨垃圾制备燃料乙醇中酶促反应条件研究. *可再生能源*, 2009 (6): 47-50.
- [6] 许庆芬, 吕文词, 石瑛, 等. 马铃薯茎块还原糖的测定方法比较 [J]. *中国马铃薯*, 2004, 18(16): 377-339.
- [7] Guadalupe Bustos, Modeling of the hydrolysis of sugar cane bagasse with hydrochloric acid. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2003, 104: 51-68.
- [8] Imaim, Ikarik. High-performance Hydrolysis of Cellulose Using Mixed Cellulase Species and Ultrasonication Pretreatment [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2004, 17(2): 79-83.