

# 城镇垃圾厌氧消化中纤维素酶酶活变化与产气量间关系的研究

李建昌<sup>1,2</sup>, 王强<sup>1</sup>, 袁亚阁<sup>1</sup>, 徐锐<sup>1</sup>

(1. 云南师范大学能源与环境科学学院, 云南昆明 650092; 2. 昆明理工大学固体废弃物资源化国家工程中心, 云南昆明 650031)

**摘要** [目的]研究城镇垃圾厌氧消化中纤维素酶酶活变化与产气量间的关系。[方法]以城镇有机生活垃圾为原料,采用批量发酵工艺,在35℃下研究城镇有机生活垃圾厌氧消化过程中纤维素酶酶活变化与日产气量之间的关系。[结果]随消化进行,纤维素酶酶活升高,产气量增加;酶活降低,产气量减少。当日产气量处于高峰期时,纤维素酶酶活水平并不是最高的,而是在次产气高峰期时,纤维素酶酶活水平达到最高,为5.3 mg葡萄糖/(ml·min)。[结论]厌氧消化次产气高峰期与较难降解的纤维素类物质有关。

**关键词** 城镇垃圾;厌氧消化;纤维素酶酶活;产气量

**中图分类号** S181.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)26-10758-02

## Study on Relationship between Cellulase Activity Change and Gas Production Amount in Anaerobic Digestion of the Urban Waste

LI Jian-chang et al (College of Energy and Environmental Science, Yunnan Normal University, Kunming, Yunnan 650092)

**Abstract** [Objective] The research aimed to study relationship between cellulase activity change and gas production amount in anaerobic digestion of the urban waste. [Method] Urban organic household waste as material, by using batch fermentation process, relationship between cellulase activity change and daily gas production amount in anaerobic digestion of the urban organic household waste was studied at 35℃. [Result] As digestion conducted, cellulase activity rose, and gas production amount increased. When cellulase activity declined, gas production amount decreased. When daily gas production amount was at peak period, cellulase activity was not the highest. At the second gas production peak period, cellulase activity reached 5.3 mg glucose/(ml·min) and was the maximum. [Conclusion] The second gas production peak period of anaerobic digestion was related to cellulose-based substance which was difficult to be degraded.

**Key words** Urban waste; Anaerobic digestion; Cellulase activity; Gas production amount

在厌氧消化过程中,水解酶对底物水解起着重要的作用。为促进底物水解,提高产气量,有学者在厌氧消化中添加水解酶<sup>[1-3]</sup>。另外,也有学者尝试了水解酶预处理。如李建昌等研究了猪粪厌氧消化中 $\alpha$ -淀粉酶和 $\gamma$ -淀粉酶组合预处理<sup>[4]</sup>。邹成鸿等对OFMSW淀粉酶预处理进行了研究<sup>[5]</sup>。Valladao等采用富含脂肪酶的酶制剂对屠宰场废水进行预处理<sup>[6]</sup>。这些研究无论是在发酵过程中添加水解酶制剂,还是在发酵前进行预处理,均能显著地提高厌氧消化的产气率,表明水解酶与底物降解和沼气产生存在着诸多联系。

OFMSW中的纤维素类物质含量较高,因此它们的水解速率及水解度对OFMSW厌氧消化有着重要的影响<sup>[7]</sup>。为此,笔者以OFMSW为原料,采用批量中温消化工艺,探索纤维素酶酶活变化与产气量之间的关系,以及纤维素酶对厌氧消化的影响,借此为水解酶预处理应用于OFMSW提供理论依据。

## 1 材料与与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 消化原料。**消化原料来源于农贸市场垃圾收集站,通过手工分选、破碎混匀,测定其总固体含量TS为31.6%,挥发性固体含量VS为24.39%。然后经烘干、粉碎,再测定其部分成分:TS 98.28%,VS 75.87%,矿物质12.80%,水溶物31.77%,还原糖3.96%,纤维素24.27%。经过以上处理后的有机垃圾作为厌氧消化的原料。

**1.1.2 接种物。**接种物取自厌氧反应器中的厌氧活性污泥,接种时测定污泥的TS为11.71%,VS为7.95%,pH为6.8。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 试验设计。**在设定温度为35℃、VS浓度为6%和VS料种比为2.5:1下,采用批量厌氧消化方式对处理后的垃圾进行厌氧消化。

**1.2.1.1 试验设置。**发酵瓶为250 ml的血清瓶。在完全相同的条件下同时启动66个发酵瓶,其中3个用于测量每天的产气量和甲烷含量,取其平均值;其余发酵瓶用于测定酶活。当厌氧消化到达设计的时间后,每次取出3个发酵瓶置于冰柜中,停止消化,然后测定其酶活。在测定酶活时,样品经解冻、过滤和离心分离,最后离心液转入样品管,保存于冰柜中,每次精确汲取1 ml,按酶活分析方法测量消化液的酶活。试验设置如表1。

表1 OFMSW厌氧消化试验设置进程

项目	消化进程//d					
	1~3	4~6	7~9	10~13	14~17	18~32
取样间隔//h	8	16	24	48	96	124
取样次数	9	4	3	2	1	3
产气量和甲烷含量	用另外3个瓶作标准,每天测量					

**1.2.1.2 投料与接种。**垃圾和接种物的投料量由下式计算:

$$C_{VS} = \frac{W_1 \times VS_1 + W_2 \times VS_2}{W_0}$$

式中, $C_{VS}$ 为发酵混合物的VS浓度(%); $W_0$ 为发酵混合物的总量(g); $W_1$ 为垃圾的投料量(g); $W_2$ 为接种物的投料量; $VS_1$ 为垃圾的VS浓度(%); $VS_2$ 为接种物的VS浓度(%)。

### 1.3 分析测试方法

**1.3.1 原料组成成分分析。**TS和VS的测定采用沼气发酵

**基金项目** 云南省自然科学基金项目(2009CD044);国家自然科学基金项目(51166014);昆明理工大学固体废弃物资源化国家工程中心项目。

**作者简介** 李建昌(1966-),男,云南施甸人,副教授,博士,从事生物质能与环境工程研究,E-mail: li.jianchang@aliyun.com。

**收稿日期** 2013-07-13

常规分析法<sup>[8]</sup>。可溶性物质的测定采用水溶液浸出法。还原糖含量的测定采用 DNS 法。纤维素含量的测定参照熊素敏等采用的稻壳中纤维素、半纤维素和木质素的测定方法<sup>[9]</sup>。

**1.3.2 酶活分析。**酶活定义:在温度为 40 ℃, pH 为 4.8, 底物羧甲基纤维素钠浓度为 4 mg/ml 的条件下, 每分钟底物释放 1 μg 还原糖所需要的酶量为一个酶活力单位, 以 U/g 表示。测定原理和方法: 参照杨洁等对饲用纤维素酶活力测定方法的改进<sup>[10]</sup>和 (NY/T 912-2004) 中关于饲料添加剂纤维素酶活力的测定。

**1.3.3 产气量和产气速率。**

**1.3.3.1 产气量和产气速率测定。**采用排水集气法测定产气量, 产气量每天从量筒读出。产气速率根据产气量来计算, 以 ml/d 表示。

**1.3.3.2 沼气中甲烷含量测定。**用 10 ml 的注射器从发酵瓶中准确吸取 10 ml 气体, 采用 KOH (33%) 吸收法测定其中甲烷含量。

## 2 结果及分析

**2.1 厌氧消化产气曲线** 根据图 1 日产气量变化, OFMSW 厌氧消化大致可分为启动期(0~3 d)、产气迅速增长及高峰期(4~9 d)、次产气高峰期(13~15 d)和产气衰竭期(16 d 以后)4 个阶段。在启动期, 产气量较低。尽管第 1 天就出现了一个产气高峰, 但此时产生的气体并非真正意义的沼气, 而是俗称的“杂气”。第 3 天过后, 厌氧消化进入快速产气及产气高峰期。如图 1 所示, 日产气量从第 3 天的 60 ml/d 迅速增加到第 6 天和第 7 天的 365 ml/d。而后日产气量下降, 当下降到第 12 天的 145 ml/d 后, 从第 13 天开始, 又出现了一个次产气高峰期。从第 16 天开始, 日产气量逐渐减小, 直至停止产气。该结果与文献报道的厌氧消化产气曲线相符, 表明该次试验正常。

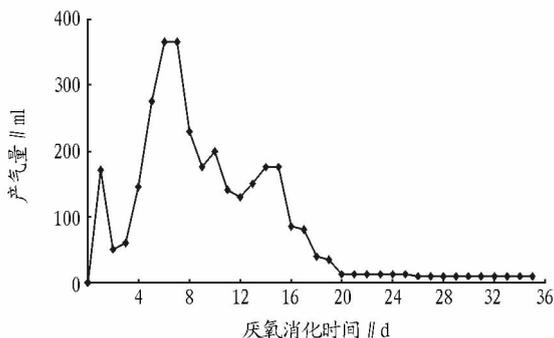


图 1 日产气量的变化

**2.2 纤维素酶活变化与产气量间的关系** 按表 1 设定的时间取样分析 OFMSW 厌氧消化纤维素的酶活变化, 并与产气量进行比较, 结果见图 2。从图 2 两条曲线变化趋势可知, 厌氧消化产气量与纤维素的酶活具有明显的相关性。在启动期, 产气量和纤维素酶酶活相对较低。启动期过后, 产气量和纤维素酶酶活随着消化进行快速增加, 表明此时水解性微生物开始迅速生长繁殖并分泌水解酶促使底物水解, 产气量也迅速增加。在产气高峰期, 产气速率最快, 相应的酶

活水平也高。产气高峰期过后, 尽管产气量有不同程度的下降, 但纤维素酶酶活仍然增加。当产气量再次出现次产气高峰期时, 纤维素酶相反处于产酶高峰期。这可能是因为 OFMSW 中容易降解的淀粉大量被消耗后, 微生物不得不选择较为难降解的纤维素等, 故在次产气高峰期, 纤维素酶活反而相当高。次产气高峰期过后, 随着各种底物大量被消耗, 从第 16 天开始进入产气衰竭期, 直至停止产气。此时能被降解的原料已基本全部降解, 酶活降至启动时的水平。

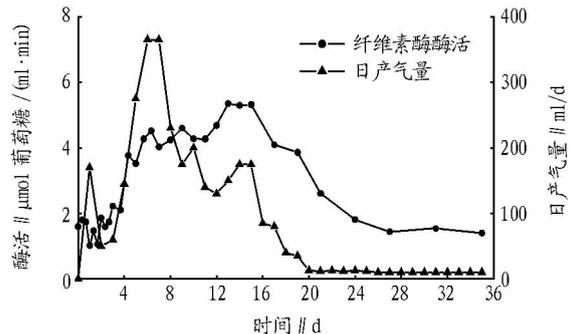


图 2 纤维素酶酶活及产气量随消化时间的变化

纤维素酶酶活变化与产气量间的这种变化关系或许与厌氧消化过程水解、产氢产乙酸和产甲烷 3 个阶段有关<sup>[11]</sup>。对于组成复杂化的 OFMSW 来说, 水解既是厌氧消化的开始, 同时也是产甲烷的限速步骤<sup>[11]</sup>。水解速度决定了厌氧消化的速度, 同时也影响产气量的大小, 而在一定程度上, 酶活水平的高低又反映了水解速度。因而 OFMSW 消化过程中, 纤维素的酶活水平反映了垃圾中纤维素类物质的水解速度, 同时也对产气速度产生影响。

## 3 结论

(1) OFMSW 厌氧消化的产气过程与纤维素酶密切相关。随消化进行, 纤维素酶酶活升高, 产气量增加; 酶活降低, 产气量减少。

(2) 当日产气量处于高峰期时, 纤维素酶酶活水平并未处于高峰期, 而是在次产气高峰期时, 纤维素酶酶活水平最高, 为 5.3 mg 葡萄糖/(ml · min), 表明厌氧消化次产气高峰期与较难降解的纤维素类物质有关。

## 参考文献

- [1] 张无敌, 宋洪川, 李建昌, 等. 鸡粪厌氧消化过程中水解酶与沼气产量的关系研究[J]. 能源工程, 2001(4): 16-18.
- [2] ROMANO R T, ZHANG R, TETER S, et al. The effect of enzyme addition on anaerobic digestion of Jose Tall Wheat Grass[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(20): 4564-4571.
- [3] 张无敌, 宋洪川, 李建昌, 等. 水解酶提高猪粪沼气发酵产气率[J]. 太阳能学报, 2002, 23(5): 674-677.
- [4] 李建昌, 孙可伟. 淀粉酶前处理应用于猪粪沼气发酵的研究[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(4): 117-121.
- [5] 邹成鸿, 李如燕, 李建昌, 等. 应用 α-淀粉酶水解城市生活垃圾的研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(3): 1399-1400, 1410.
- [6] VALLADAO A B G, FREIRE D M G, CAMMAROTA M C. Enzymatic pre-hydrolysis applied to the anaerobic treatment of effluents from poultry slaughterhouses[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2007, 60: 219-225.
- [7] 张记市, 苏存荣, 谢刚. 昆明城市生活垃圾处理研究[J]. 云南环境科学, 2004, 23(1): 3-5.
- [8] 刘福源. 沼气消化常规分析[M]. 北京: 科学技术出版社, 1984.

和表 2 可知,改性稻草秸秆对水溶液中  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附动力学过程更符合准二级动力学方程,其相关系数  $R^2$  高达 0.992 39。由此可以计算出平衡吸附量  $q_e = 46.729 \text{ mg/g}$ ,很接近试验值(吸附作用达到吸附饱和时的吸附量)  $q_{\text{exp}} = 47.143 \text{ mg/g}$ ,二者相对误差为 0.886%。准二级动力学反映出改性稻草秸秆的吸附速率与  $\text{Cu}^{2+}$  浓度的二次方成正比。因此,可以用准二级动力学模型来描述改性稻草秸秆对溶液中  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附行为。

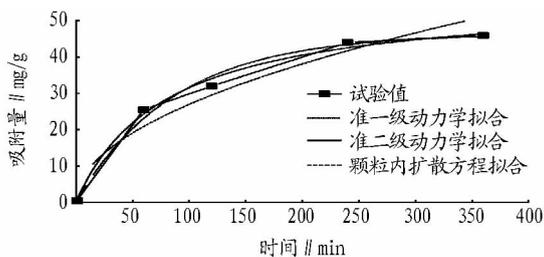


图 5 动力学方程拟合曲线

表 2 动力学相关参数

模型	$q_e$	$k_1$	$k_2$	$k_3$	$R^2$
	mg/g	$\text{min}^{-1}$		mg/(g·min)	
准一级动力学	36.401	0.011 5			0.986 94
准二级动力学	46.729		$2.206 \times 10^{-4}$		0.992 39
颗粒内扩散				2.695 51	0.794 76

注: $k_1, k_2, k_3$  均为速率常数。

**2.6 吸附热力学研究** 在该试验条件下,用恒温摇床在 3 个温度(15、25、40  $^{\circ}\text{C}$ )条件下振荡一段时间,测定不同平衡浓度时  $\text{Cu}^{2+}$  在改性稻草秸秆表面的平衡吸附量,运用 Gibbs 方程对吸附热力学进行分析<sup>[15]</sup>,计算热力学相关参数(表 3)。由表 3 可知,吸附过程中吸附自由能  $\Delta G < 0$ ,说明吸附反应属于自发反应,这与等温吸附特性研究结果一致,而且当温度升高时, $\Delta G$  增幅更明显;吸附焓变  $\Delta H$  为 2.389 kJ/mol,为正值,表明改性稻草秸秆对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附过程自身是吸热的,升高温度可加速吸附反应的进行;吸附熵变  $\Delta S$  为 35.39 J/(mol·K),为正值,表明在改性稻草秸秆对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附过程混乱度较大,有无序的固液界面,推测这与升温更有利于发生化学吸附有关。

表 3 热力学相关参数

绝对温度 $T//\text{K}$	$\Delta G//\text{kJ/mol}$	$\Delta H//\text{kJ/mol}$	$\Delta S//\text{J}/(\text{mol}\cdot\text{K})$
288	-7.80		
298	-8.16	2.389	35.39
313	-8.69		

### 3 结论

(1)用  $\text{ZnCl}_2$  作为活化剂,使用功率 640 W 的微波照射 4

min 的方法制备成的改性稻草秸秆,在投加量为 0.2 g 和 pH 为 6 时,对  $\text{Cu}^{2+}$  具有较好的吸附能力,吸附在 8 h 时达到平衡。

(2)在改性稻草秸秆对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附过程中,Langmuir 和 Freundlich 方程能较好地描述其等温特征。根据 Langmuir 方程, $\text{Cu}^{2+}$  的理论最大吸附量为 92.911 mg/g, $k_1$  为正值,表明在该试验条件下改性稻草秸秆对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附过程可自发进行。根据 Freundlich 理论,改性稻草秸秆吸附表面是不均匀的,常温下容易进行,且表面覆盖度对吸附影响不大。

(3)改性稻草秸秆对  $\text{Cu}^{2+}$  的吸附动力学更符合准二级动力学方程。由准二级动力学模型可以计算出改性稻草秸秆对  $\text{Cu}^{2+}$  的平衡吸附量  $q_e = 46.729 \text{ mg/g}$ ,与试验值  $q_{\text{exp}} = 47.143 \text{ mg/g}$  相接近,二者相对误差为 0.886%。

(4)根据 Gibbs 方程计算出的  $\Delta G$  均为负值, $\Delta H$  为正值, $\Delta S$  为正值,表明改性稻草秸秆吸附  $\text{Cu}^{2+}$  是自发进行的,吸附过程本身是吸热的,吸附固液界面无序,且混乱度较大。

### 参考文献

- [1] AMARASINGHE B M W P K, WILLIAMS R A. Tea waste as a low cost adsorbent for the removal of Cu and Pb from wastewater[J]. Chemical Engineering Journal, 2007, 132: 299 - 309.
- [2] SENGIL I A, OZACAR M. Biosorption of Cu (II) from aqueous solutions by mimosa tannin gel[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 169(1/3): 1022 - 1028.
- [3] NUHOGLU Y, MALKOC E, GURSES A, et al. The removal of Cu (II) from aqueous solutions by Ulothrix zonata[J]. Bioresource Technology, 2002, 85: 331 - 333.
- [4] 胡恋, 谢海波, 张晓健, 等. 微生物吸附处理低浓度含铈废水的效能[J]. 安全与环境学报, 2007, 7(2): 57 - 60.
- [5] ZHANG H P, YAN Y, YANG L C. Preparation of activated carbon from sawdust by zinc chloride activation [J]. Adsorption, 2010(16): 161 - 166.
- [6] MICHAEL ANGELO MIRANDA, DHANDAPANI P, HELEN KALAVATHY M, et al. Chemically activated ipomoea carnea as an adsorbent for the copper sorption from synthetic solutions[J]. Adsorption, 2010, 16(1/2): 75 - 84.
- [7] SAEED B, AMIR L, MOHAMMAD F. Uranium removal from aqueous solutions by wood powder and wheat straw [J]. J Radioanal Nucl Chem, 2010, 283: 289 - 296.
- [8] 冯媛, 易发成. 稻壳对铈吸附性能的研究[J]. 原子能科学技术, 2011, 45(2): 161 - 167.
- [9] 王翠苹, 徐伟昌, 庞红顺. 榕树叶对铈吸附的研究[J]. 环境科学与技术, 2007, 27(2): 19 - 21.
- [10] 夏良树, 王孟, 邓昌爱. 榕树叶 - 活性污泥协同曝气处理含铈废水[J]. 核化学与放射化学, 2006, 28(4): 231 - 235.
- [11] 林芳芳. 改性花生壳对水中  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Pb}^{2+}$  吸附特性的研究[D]. 广州: 华南理工大学环境科学与工程学院, 2011: 26 - 27.
- [12] 刘江国, 陈玉成, 李杰霞, 等. 改性玉米秸秆对  $\text{Cu}^{2+}$  废水的吸附[J]. 工业水处理, 2010, 30(6): 18 - 21.
- [13] 曾国明, 王远亮, 宁欣强, 等. 氯化锌预处理玉米秸秆纤维素[J]. 精细化工, 2011, 28(8): 761 - 762.
- [14] 徐蕾, 宋如翠.  $\text{H}_2\text{O}_2$  与 UV/ $\text{TiO}_2$  协同体系光催化降解酸性品红的研究[J]. 吉林工程技术师范学院学报, 2008, 24(11): 82 - 84.

(上接第 10759 页)

- [9] 熊素敏, 左秀凤, 朱永义. 稻壳中纤维素、半纤维素和木质素的测定[J]. 粮食与饲料工业, 2005(8): 40 - 41.
- [10] 杨洁, 阿里木, 李福成, 等. 饲用纤维素酶活力测定方法的改进[J].

新疆大学学报:自然科学版, 2005, 22(3): 322 - 324.

- [11] LAWRENCE A W, MCCARTY P L. Kinetics of Methane Fermentation in Anaerobic Treatment [J]. Water Pollution Control Federation, 1967, 41(2): 1 - 17.