

热碱-分步酶水解-厌氧消化工艺处理秸秆畜粪混合物料及其甲烷高值化条件

卞爱琴¹, 远野^{1, 2*}, 张璐璐³, 付强¹, 陈天明¹, 何磊¹, 丁成¹, 王爱杰^{1, 2}

(1. 盐城工学院环境科学与工程学院, 盐城 224051; 2. 中国科学院生态环境研究中心环境生物技术重点实验室, 北京 100085; 3. 江苏科易达环保科技有限公司, 盐城 224007)

摘要: 为获得秸秆畜粪混合物料在厌氧消化过程中的甲烷高值化产出, 提出了一种新型“热碱-分步酶水解-厌氧消化”组合工艺。以玉米秸秆和牛粪混合物料作为实验对象, 考察物料中纤维素、半纤维素、蛋白质获得高溶出效率的热碱预处理条件; 分步投加纤维素酶和蛋白酶的剂量及水解时间; 热碱预处理后的混合浆液和热碱-酶水解后的混合水解液厌氧消化甲烷产率及产气周期。结果表明, 在 80℃ 和 0.5% NaOH 碱用量条件下, 纤维素、半纤维素和蛋白质的溶出效率 (% TS) 最高, 与未预处理相比(对照组), 分别提高 24.84%、12.24% 和 8.92%; 分步酶水解的过程和条件为: 先投加 80 U·g⁻¹ 的纤维素酶水解 18 h, 再投加 20 U·g⁻¹ 的蛋白酶水解 4 h, 纤维素和蛋白质的水解效率可分别达到 74.08% 和 74.01%, 获得的水解液中糖类提高 12~32 倍; 在厌氧消化阶段, 热碱-酶水解后的水解液甲烷产量最高值可达 750 mL·h⁻¹, 产气周期 50 h, 相比于热碱预处理后的底物消化(对照组), 产甲烷效率提高了约 14 倍, 产气周期缩短了约 17 d。热碱-酶水解预处理能有效地解除混合物料厌氧消化过程的水解限速, 研究结果可以为开发高效的农业废弃物能源高值化利用技术提供参考依据。

关键词: 秸秆畜粪; 混合物料; 热碱预处理; 酶水解; 厌氧消化; 甲烷产率

中图分类号: X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)02-1003-08 DOI: 10.13227/j.hjx.201807092

Performance of Treating Straw and Animal Manure Mixture by an Integrated Process of Thermo-alkali-bi-enzyme Hydrolysis-anaerobic Digestion and Conditions of High Methane Yield

BIAN Ai-qin¹, YUAN Ye^{1, 2*}, ZHANG Lu-lu³, FU Qiang¹, CHEN Tian-ming¹, HE Lei¹, DIND Cheng¹, WANG Ai-jie^{1, 2}

(1. School of Environmental Science and Engineering, Yancheng Institute of Technology, Yancheng 224051, China; 2. Key Laboratory of Environmental Biotechnology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 3. Jiangsu Keyida Environmental Science and Technology Co., Ltd., Yancheng 224007, China)

Abstract: To obtain a high methane yield during the anaerobic digestion of a straw and animal manure mixture, an integrated process of thermo-alkali-bi-enzyme hydrolysis-anaerobic digestion was proposed. A mixture of corn straw and cattle manure was selected as the experimental object. A higher dissolution efficiency of cellulose, hemicellulose, and protein in the thermo-alkali pretreatment, dosages and hydrolysis times of cellulase and protease in the bi-enzyme hydrolysis, and the methane yield and biogas production cycle in the anaerobic digestion with mixed slurry and hydrolysates were investigated respectively. The results showed that the dissolution efficiency (% TS) of cellulose (24.84%), hemicellulose (12.24%), and protein (8.92%) reached their highest levels at 0.5% NaOH and 80℃ (compared with the control group). The bi-enzyme hydrolysis process and conditions were as follows: cellulase hydrolysis was 80 U·g⁻¹ and 18 h, and protease hydrolysis was 20 U·g⁻¹ and 4 h. The hydrolysis efficiency of cellulose and protein reached 74.08% and 74.01%, respectively. The sugars in the hydrolysate were increased by 12~32 times. During anaerobic digestion, the maximum yield of methane from hydrolysate after thermo-alkali-bi-enzyme hydrolysis was 750 mL·h⁻¹, and the gas production cycle was 50 h. Compared with the mixture after the thermo-alkali pretreatment, the methane production efficiency of the mixed hydrolysate after thermo-alkali-bi-enzyme hydrolysis was increased by 14 times, and the gas production cycle was noticeably shortened by 17 d. The results indicated that the thermo-alkali and enzyme hydrolysis pretreatment could effectively accelerate the hydrolysis rate in the anaerobic digestion with the mixture. The results of this study provide a new reference for developing efficient technology of high-value energy utilization of agricultural waste.

Key words: straw and animal manure; mixture; thermo-alkali pretreatment; enzyme hydrolysis; anaerobic digestion; methane yield

20 世纪以来,随着全球能源需求的日益增长和石化燃料的日渐枯竭,世界各国在可持续能源发展中不约而同地把生物质能源提到重要的战略位置,其中废弃生物质能源高值化利用是目前研究的热点之一^[1, 2]。厌氧消化技术为废弃生物质能源化

收稿日期: 2018-07-13; 修订日期: 2018-08-01

基金项目: 国家自然科学基金项目(51608467); 盐城市农业科技自主创新专项引导资金项目(yk2016030); 江苏省普通高校毕业生科研创新计划项目(SJCX17-YG02)

作者简介: 卞爱琴(1993~),女,硕士研究生,主要研究方向为农业固废处置及资源化, E-mail: 1033720408@qq.com

* 通信作者 E-mail: yuanye_19840915@163.com

提供了有效途径,富含有机质的秸秆和畜粪作为厌氧消化底物具有较高的产甲烷潜力^[3,4].我国每年秸秆产量约8亿t,其中玉米秸秆约占35%;畜禽粪便产量约38亿t,其中牛粪约占37%^[5~7],其通常作为生物燃料、饲料或农田有机肥料,但利用率普遍低于50%~60%^[8,9].发展高效的废弃生物质厌氧消化技术,可以有效地消除废弃生物质带来的环境污染,同时,产生的甲烷可以补充和替代部分石化燃料,对可持续能源发展具有重要的推动意义^[10,11].

近年来,秸秆畜粪混合物料厌氧消化技术引起了研究人员的广泛关注,相比秸秆或畜粪作为单一物料,混合物料可有效调节厌氧消化底物营养、碳氮比等条件,提高甲烷产量^[12].Zhou等^[13]发现玉米秸秆和牛粪混合厌氧消化产甲烷量相比于单独使用玉米秸秆提高了29%.Li等^[14]发现当稻秸和牛粪混合比为1:1时,最大产气量(以VS计)可达到383.5 L·kg⁻¹.但是,较低的水解效率往往是影响混合物料厌氧消化应用的一个限制因素.一方面由于底物中纤维素及有机蛋白具有复杂的晶体结构,在水解酸化细菌的直接接触下难以分解.适宜的物化预处理(如热碱、机械、超声波和堆腐法等)可以有效地脱除或破坏底物的木质素及晶体结构,提高纤维素、半纤维素、蛋白质的溶出效率^[15,16],为后续的水解创造有利条件.与其他方法相比,热碱预处理法具有操作简单、处理时间短、纤维素等溶出效率高等优点.例如,李琳等^[17]发现混合物料在适宜的热碱预处理条件下,甲烷产量比未预处理提高了55%;另一方面由于在厌氧消化过程中,纤维素、半纤维素和蛋白质等的水解过度依赖水解酸化细菌,往往导致较长的产甲烷周期^[18].例如,李凯等^[19]利用牛粪、秸秆和酱油渣混合厌氧消化产气周期为36 d.姜庆宏等^[20]利用秸秆和牛粪混合厌

氧消化的产气周期为30 d.

有研究证明,纤维素水解酶(纤维素酶)、蛋白质水解酶(蛋白酶)可以加速纤维素、蛋白质的水解^[21,22],联合物化预处理可有效提高废弃有机质厌氧消化甲烷产量.Nkemka等^[23]采用小麦秸秆为底物进行纤维素酶水解,以上流式厌氧污泥床作为厌氧消化反应器处理水解液,发现甲烷产量提高了57%.Wang等^[24]采用“热碱预处理-水解酶”工艺处理猪粪获得水解液,经厌氧消化甲烷产量提高了5倍,周期仅1.5 d,与传统干式消化相比产气周期大大缩短.目前,已有研究主要将水解酶运用于秸秆或畜粪单一物料水解,而将其运用于秸秆畜粪混合物料水解方面的研究尚属少见.

本研究提出了一种新型“热碱-分步酶水解-厌氧消化”组合工艺,利用玉米秸秆与牛粪混合物料作为研究对象,重点考察混合物料中纤维素、半纤维素、蛋白质获得最高溶出效率的热碱预处理条件;分步投加纤维素酶及蛋白酶的剂量及操作时间;以及热碱-酶水解后的混合水解液产甲烷性能及产气周期,以期为农业废弃物能源高值转化提供一种具备应用前景的工艺技术.

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验所用玉米秸秆和牛粪取自江苏省射阳县某综合农场.玉米秸秆置于105℃的烘箱中烘干切至2 mm并用粉碎机(YSW-180)粉碎至1 mm.将牛粪过滤以去除大颗粒物后放置-18℃冰箱中备用,混合物料的基本性质如表1所示.反应器接种的产甲烷颗粒污泥取自江苏省盐城市某食品加工厂废水处理站的上升流厌氧污泥床反应器,颗粒污泥的可挥发性悬浮物(VSS)为1.85 g·L⁻¹,总悬浮物(TSS)为2.59 g·L⁻¹(VVS/TSS=0.72).

表1 混合物料的基本特征

Table 1 Characterization of mixture

参数	单位	玉米秸秆	牛粪	混合物料
总固体(TS)	%	93.13±0.3	51.17±0.2	72.15±0.25
挥发性固体(VS)	%	87.35±1.2	46.60±1.1	66.98±1.15
总碳(TC)	% TS	42.13±1.5	31.60±1.2	38.39±1.35
总氮(TN)	% TS	1.82±0.1	2.32±0.3	1.20±0.2
纤维素	% TS	34.54±3.2	25.21±1.7	31.23±2.45
半纤维素	% TS	28.83±0.2	20.14±2.1	25.74±1.15
木质素	% TS	17.55±1.7	8.67±1.4	14.40±1.55
蛋白质	% TS	0.13±0.05	35.18±1.7	12.56±2.87

1.2 反应装置与实验设计

本实验过程中热碱预处理、分步酶水解阶段均采用同一个不锈钢罐进行间歇操作,其有效体积为

15 L并配有控温装置(WK-T02BRA)、搅拌器(转速40 r·min⁻¹)和pH探头(HD62-AP800).厌氧消化阶段,热碱预处理后的混合浆液厌氧消化采用连续

搅拌反应器(CSTR),其有效容积为5 L.热碱-酶水解后的水解液厌氧消化采用膨胀颗粒污泥床反应器(EGSB),其反应区容积为3.0 L,回流比为1:6.两个反应器的温度均通过自动温控器(PCD-33A)控制在 $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$,为防止极端pH造成反应器运行不稳定,反应区设有pH探头进行监控,此外,采用集气装置收集气体.热碱-酶水解后的水解液实验装置如图1.

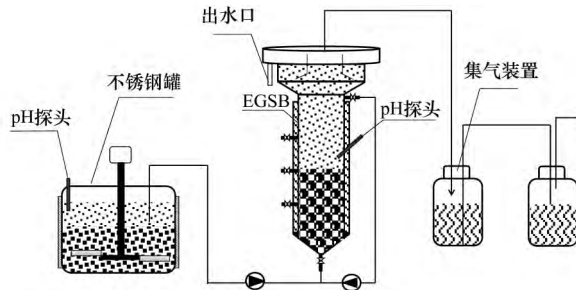


图1 实验装置示意

Fig. 1 Schematic of experimental device

热碱预处理阶段:将3 kg玉米秸秆和3 kg牛粪与6 kg水混合加入15 L的不锈钢罐中并连续搅拌.为获得适宜的热碱预处理条件,本实验设置了4组不同质量分数的NaOH(0.1%、0.5%、0.8%和1.2%),及4组不同温度(60、70、80和 90°C)进行热碱预处理,同时设置了一组对照实验,用于比较热碱预处理效果以获得适宜的操作条件,在此条件下产生的混合物料浆液作为后续酶水解阶段的实验对象.

酶水解阶段:秸秆牛粪混合物料中的纤维素约占31.23%,蛋白质约占12.56%,半纤维素约占25.74%,见表1.纤维素和蛋白质是混合物料中主要的大分子有机物,而半纤维素相对分子量较小,在厌氧消化阶段容易降解^[25].因此,本实验着重利用纤维素酶和蛋白酶对热碱预处理阶段溶出的纤维素和蛋白质进行酶解,选用的纤维素酶(Cellucast®)和蛋白酶(Alcalase®)来自诺维信生物技术有限公司.纤维素酶和蛋白酶的pH和温度条件分别为pH:5.5~6.5、温度:50~ 60°C 和pH:8.5~9.5、温度:55~ 80°C .酶水解的第一阶段投加纤维素酶,待反应充分之后调节pH和温度,进行第二阶段投加蛋白酶.为获得适宜的酶水解操作条件,分别设置了4组投加量(以VS计)(纤维素酶:60、70、80和 $100\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$;蛋白酶:9、12、20和 $30\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$),各采用4组水解时间(纤维素酶:12、15、18和20 h;蛋白酶:2、3、4和5 h)进行分步操作.在纤维素酶水解阶段,通过比较获得适宜酶水解操作条件,并将此条件下产生的混合浆液用于后续的蛋白酶水解.

厌氧消化阶段:将2 L污泥接种到两个反应器中,将热碱预处理后的混合浆液加入CSTR中并不停搅拌(转速 $40\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$).热碱-酶水解后的水解液通过蠕动泵(BT100-2J)从不锈钢罐中吸取并从EGSB反应器底部打入,同时开启回流泵,使水解液与污泥充分混合接触.厌氧消化过程中产生的气体均通过集气装置进行收集并测定甲烷产量.反应过程中测定反应器中COD和VFAs浓度.玉米秸秆和牛粪混合物料经过热碱预处理、酶水解及厌氧消化的处理过程如图2所示.

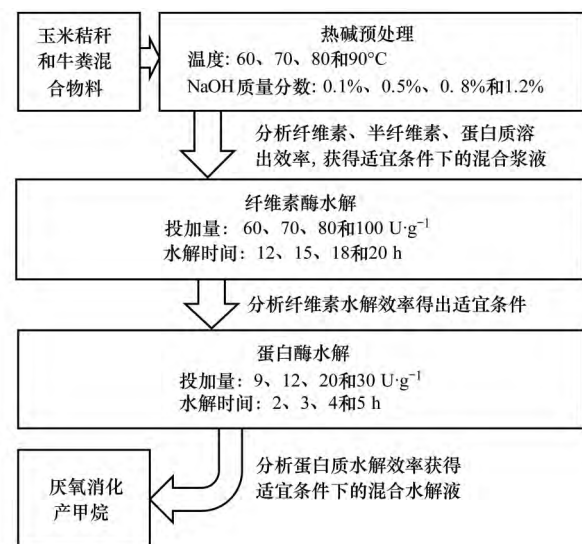


图2 混合物料不同处理条件流程

Fig. 2 Processing flow of mixed substrates under different treatment conditions

1.3 分析测试方法

pH由pH计(PHS-3C)测定.总固体(TS)、总氮(TN)、挥发性固体(VS)和化学需氧量(COD)均依照文献[26]采用相应的标准方法进行测定.纤维素、半纤维素和木质素由纤维测定仪(CXC-06)分析.糖类采用高效液相色谱(FLEXAR FX-20)测定.总碳(TC)由总有机碳分析仪(multi N/C-2100)测定.蛋白质、有机氮、氨氮由凯氏定氮仪(UPW-N700T)测定.甲烷和挥发性脂肪酸(VFAs)由气相色谱仪(GC-18C)测定.

热碱预处理溶出效率的计算公式如下(以纤维素为例,半纤维素和蛋白质的计算与此类同):

$$\text{纤维素溶出效率} = \frac{\text{上清液中纤维素浓度}}{\text{原混合物料TS浓度}} \times 100\%$$

酶水解效率的计算公式如下(以纤维素为例,蛋白质的计算与此类同):

$$\text{纤维素水解效率} = (\text{投加水解酶前上清液中纤维素浓度} - \text{投加水解酶后上清液中纤维素浓度}) / \text{投加水解酶前上清液中纤维素浓度} \times 100\%$$

COD 降解效率的计算公式如下:

$$\text{COD 降解效率} = (\text{原水解液中 COD 浓度} - \text{水解液厌氧消化过程中 COD 浓度}) / \text{原水解液中 COD 浓度} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 热碱预处理对混合物料溶出效率的影响

不同温度和 NaOH 用量对混合物料溶出效率的影响见表 2。经热碱预处理后,纤维素、半纤维素和蛋白质的溶出效率均有所增加,这是由于物料的复杂结构在热碱作用下被有效破解,纤维素、半纤维素和蛋白质被释放出来。在投加 NaOH 质量分数为 0.1%、0.5%、0.8%、1.2% 和 60℃ 条件下,纤维素溶出效率与未预处理相比分别提高 13.61%、19.26%、16.46% 和 16.40%,半纤维素溶出效率分别提高 8.99%、10.85%、11.02% 和 10.44%,蛋白质溶出效率分别提高 5.30%、6.37%、6.50% 和 4.86%。70℃ 下的纤维素、半纤维素和蛋白质溶出效率变化与 60℃ 下的情况相接近。在 80℃ 下,纤维素溶出效率分别提高 17.82%、24.84%、24.33% 和 22.77%,半纤维素溶出效率分别提高 9.90%、12.24%、13.22% 和 10.32%,蛋白质溶出效率分别提高 6.83%、8.92%、8.96%、6.88%。90℃ 下的纤维素、半纤维素和蛋白质的溶出效率变化与 80℃ 下的情况相接近。通过比较得出,在各温度下纤维素的溶出

效率均在 0.5% NaOH 的碱用量下达到最高,半纤维素、蛋白质的溶出效率则在 0.8% NaOH 条件下达到最高,但仅比 0.5% NaOH 条件下高出约 1%。因此,选择 0.5% NaOH 作为热碱预处理的碱用量。

当碱用量和温度提高到一定程度时,纤维素、半纤维素和蛋白质的溶出效率会下降,这可能是由于较高的碱度和温度导致部分溶出的纤维素、半纤维素和蛋白质被分解。在 0.5% NaOH 碱用量条件下,当温度分别为 60、70、80 和 90℃ 时,纤维素溶出效率分别增高 19.26%、20.10%、24.84% 和 22.83%,半纤维素溶出效率分别增高 10.85%、10.83%、12.24%、8.85%,蛋白质溶出效率分别增高 6.37%、6.59%、8.92% 和 5.63%。通过比较得出,纤维素、半纤维素和蛋白质在 80℃ 时溶出效率最高,当温度继续提高到 90℃,溶出的纤维素、半纤维素和蛋白质被降解,尤其是半纤维素和蛋白质降解较为明显,间接导致溶出效率下降。李琳等^[17]在 55℃ 下利用 2.5% KOH 对玉米秸秆进行预处理,半纤维素降解效率达到 74.30%,纤维素则无明显变化,证明较高的碱用量也可以促进半纤维素降解,但是对纤维素的降解则无明显作用。因此,本实验选择相对较高的温度(80℃)和较低的碱用量(0.5% NaOH)作为热碱预处理的的操作条件,使得原料中的纤维素、半纤维素和蛋白质获得较高的溶出效率。

表 2 不同热碱预处理条件对混合物料溶出效率的影响/%

Table 2 Influence of different thermo-alkali conditions on dissolution efficiency of mixed substances/%

项目	温度/℃	NaOH				
		未预处理	0.1%	0.5%	0.8%	1.2%
纤维素	60	5.01 ± 0.1	18.62 ± 1.8	24.27 ± 1.2	21.47 ± 1.1	21.41 ± 0.1
	70	5.01 ± 0.1	18.75 ± 1.1	25.11 ± 0.2	22.52 ± 0.2	22.89 ± 1.2
	80	5.59 ± 0.4	23.41 ± 0.2	30.43 ± 1.1	29.92 ± 0.4	28.36 ± 1.3
	90	5.98 ± 0.01	23.32 ± 1.3	28.81 ± 1.2	28.07 ± 0.3	27.19 ± 0.6
半纤维素	60	6.12 ± 0.2	15.11 ± 1.4	16.97 ± 0.3	17.14 ± 1.2	16.56 ± 1.4
	70	6.35 ± 1.2	16.12 ± 0.2	17.18 ± 1.4	17.78 ± 0.5	16.95 ± 0.7
	80	7.21 ± 0.2	17.11 ± 0.4	19.45 ± 1.2	20.43 ± 0.2	17.53 ± 1.3
	90	8.23 ± 1.4	16.24 ± 0.9	17.08 ± 0.5	17.56 ± 0.3	17.23 ± 0.2
蛋白质	60	2.36 ± 0.4	7.66 ± 0.2	8.73 ± 0.1	8.86 ± 1.3	7.22 ± 0.2
	70	3.08 ± 0.5	9.27 ± 0.1	9.67 ± 0.3	9.91 ± 0.4	9.11 ± 0.6
	80	3.27 ± 0.4	10.1 ± 1.2	12.19 ± 1.1	12.23 ± 0.3	10.15 ± 0.2
	90	2.53 ± 0.2	7.69 ± 0.3	8.16 ± 0.2	8.41 ± 0.5	7.35 ± 1.2

2.2 分步酶水解对混合物料水解效率的影响

酶水解第一阶段,向热碱预处理(条件: 80℃ 和 0.5% NaOH) 后的混合浆液中投加纤维素酶。由图 3 可见,随着纤维素酶投加量和水解时间的增加,纤维素水解效果明显。当纤维素酶投加量为 60 U·g⁻¹ 时,随着水解时间从 12 h 增加到 20 h,纤维

素水解效率从 32.72% 提高到 54.48%。当纤维素酶投加量为 70 U·g⁻¹ 时,纤维素水解效率随着时间的变化趋势与投加量为 60 U·g⁻¹ 时情况接近。纤维素酶投加量为 80 U·g⁻¹ 时,随着水解时间从 12 h 增加到 20 h,纤维素水解效率从 50.24% 提高到 74.46%。但是,纤维素酶投加量为 100 U·g⁻¹、水

解时间为 20 h 的条件下与投加量为 $80 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 、水解时间为 18 h 相比, 纤维素水解效率仅提高 0.78%, 这说明当纤维素酶投加量和水解时间达到一定时, 热碱预处理溶出的大部分纤维素已被水解, 继续投加纤维素酶则对水解效果影响不大. 因此, 选择的纤维素酶水解条件: 投加量 $80 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$, 水解时间 18 h. 此条件下, 纤维素水解效率为 74.08%. 黄爱玲等^[27]利用纤维素酶对玉米秸秆进行水解发现随着水解时间的延长, 水解速度减缓, 反应到 24 h 后, 还原糖浓度开始保持稳定.

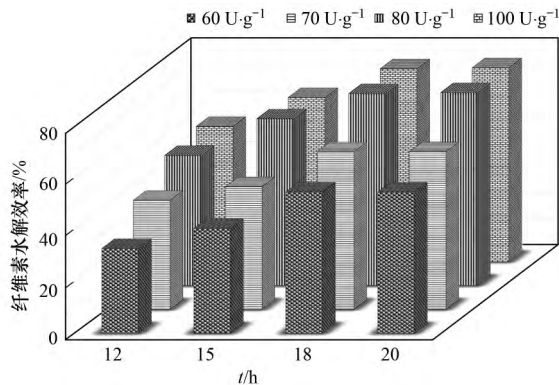


图3 不同条件下纤维素酶的水解效果

Fig. 3 Hydrolysis effect of cellulase under different conditions

酶水解第二阶段, 向纤维素酶水解(条件: 投加量 $80 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$, 水解时间 18 h) 后的物料中投加蛋白酶. 与纤维素酶相似, 在蛋白酶的作用下, 底物蛋白质随着投加量和水解时间的增加而减少, 而且当蛋白酶投加量和水解时间达到一定时, 蛋白质水解效率变化不明显. 由图 4 可见, 当蛋白酶投加量为 $9 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 时, 随着水解时间从 2 h 增加到 5 h, 蛋白质水解效率从 41.94% 提高到 57.07%. 蛋白酶投加量为 $12 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 时, 蛋白酶水解效率随时间变化情况与投加量为 $9 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 时相类似. 当蛋白酶投加量为 $20 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 时, 随着水解时间从 2 h 增加到 5 h,

蛋白质水解效果从 54.57% 提高到 75.84%. 当蛋白酶投加量继续提高到 $30 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$, 与投加量为 $20 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 的水解效率相比, 蛋白质水解效率提高不明显. 因此, 确定 $20 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 为适宜的蛋白酶投加量. 在此投加量下, 蛋白质水解效率在 4 h 达到 74.01%, 5 h 仅比 4 h 提高 1.83%, 因此, 确定 4 h 为适宜的水解时间. Wang 等^[24]利用蛋白酶水解猪粪粗蛋白时获得最优时间为 4 h, 与本实验所得结果蛋白质水解时间相一致.

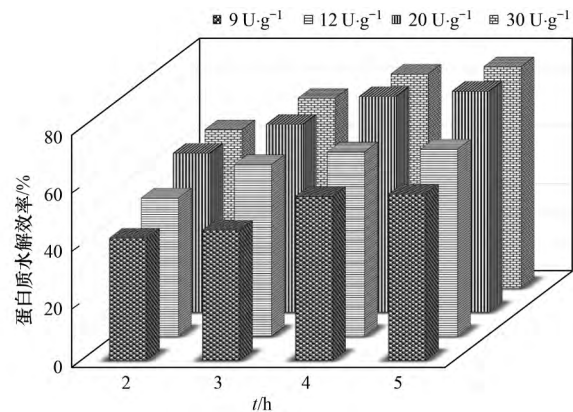


图4 不同条件下蛋白酶的水解效果

Fig. 4 Hydrolysis effect of protease under different conditions

综上所述, 各阶段的适宜条件为: 热碱预处理 (80°C 和 $0.5\% \text{ NaOH}$); 分步酶水解(纤维素酶: 投加量 $80 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$, 水解时间 18 h; 蛋白酶: 投加量 $20 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$, 水解时间 4 h). 混合物料浆液组分在上述条件下的组分变化见表 3, 以未预处理作为对照, 热碱预处理后的纤维素、半纤维素和蛋白质分别增加了 4.44、1.71 和 2.67 倍. 酶水解后纤维素和蛋白质的水解效率分别达到 74.08% 和 74.01%, 水解液中的葡萄糖、木糖和阿拉伯糖分别提高了 27、32 和 12 倍, TS 和 VS 下降到未预处理前的 42.00% 和 39.00%. Wang 等^[24]发现经过热碱预处理和蛋

表3 混合物料浆液中各组分变化/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

Table 3 Change of each constituent in the slurry of mixed substances/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

项目	未预处理	热碱预处理	热碱-酶水解
TS	360.42 ± 2.3	289.10 ± 3.4	151.37 ± 1.1
VS	334.87 ± 3.5	263.50 ± 1.8	130.59 ± 0.8
纤维素	20.13 ± 0.2	109.58 ± 1.2	28.41 ± 0.2
半纤维素	25.91 ± 0.4	70.10 ± 0.2	65.32 ± 0.4
木质素	21.46 ± 0.2	19.13 ± 0.1	— ¹⁾
葡萄糖	—	0.31 ± 0.01	8.73 ± 0.2
木糖	—	0.42 ± 0.04	13.94 ± 0.03
阿拉伯糖	—	0.45 ± 0.02	5.93 ± 0.01
TC	28.50 ± 0.3	87.26 ± 1.1	103.52 ± 0.3
TN	3.15 ± 0.07	15.34 ± 0.04	4.57 ± 0.07
蛋白质	11.81 ± 0.6	43.39 ± 0.1	11.27 ± 0.6

1) “—”表示文章中没有相关数据

白质酶水解,猪粪中的 TS 和 VS 只剩下原来的 47% 和 41%,且蛋白质水解效率达到 63%。本实验发现通过水解酶和蛋白酶的逐步投加,使得混合物料中的纤维素、半纤维素和蛋白质水解效率明显提高,这说明混合物料在热碱、酶水解前处理条件下,可以大幅度将混合物料中大分子有机物转为小分子有机物进入液相,为后续的厌氧消化产甲烷提供适宜和稳定的底物(水解液)。

2.3 厌氧消化产甲烷的性能和周期

热碱预处理后的混合浆液(对照组)和热碱-酶水解后的水解液(实验组)厌氧消化甲烷产量及累积量变化见图 5,甲烷产量均呈现先上升再下降的趋势。在厌氧消化初期,两组的甲烷产量均较低,可能是由于反应器中的产甲烷污泥正处于一个底物切换的适应阶段,活性相对较低,导致初期产气量低。对照组的甲烷产量从第 6 d 开始迅速上升并在第 11 d 达到峰值 $1\,223\text{ mL}\cdot\text{d}^{-1}$ ($51\text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$),之后开始下降并在第 19 d 趋于稳定。而实验组的甲烷产量从第 9 h 开始迅速上升并在第 25 h 达到高峰 ($750\text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$),随后开始迅速下降并在第 50 h 后稳定在 $60\text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$,通过比较得出,实验组的甲烷效率(每小时产量)显著高于对照组(约 14 倍),同时产气周期显著低于对照组。由图 5 可见,对照组的累积产甲烷量从第 19 d 开始趋于稳定,稳定值为 $11\,000\text{ mL}$;而实验组累积产甲烷量从第 50 h 开始达到稳定,稳定值为 $15\,000\text{ mL}$,比较得出实验组累积产甲烷量提高了约 0.5 倍。Wei 等^[5]以牛粪和玉米秸秆为混合底物通过化学预处理后进行厌氧消化,产气周期为 20 d,累积甲烷量最高为 $10\,000\text{ mL}$ 。吴强等^[28]以秸秆和蓝藻混合为消化原料,经过热碱预处理后累积产气量达到最大值 $11\,071\text{ mL}$ 。其得出的结果基本与本研究对照组一致,相比之下,本研究的实验组累积产甲烷量提高了 0.5 倍,

产气周期缩短了约 17 d。

由图 6 可见,对照组和实验组的 COD 降解效率均呈先逐步上升后趋于稳定的变化趋势,对照组的 COD 降解效率在 19 d 开始趋于稳定(82%),实验组则在 50 h 达到稳定值 92%。VFAs 是厌氧消化过程的重要中间产物,糖类有机物在水解细菌的作用下转化为 VFAs,产甲烷菌利用乙酸形成甲烷,一般情况下乙酸占 VFAs 的 60%~70%^[29]。由图 6、7 可见,对照组总 VFA 在第 11 d 时达到最高,其值为 $4\,785\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,此时乙酸占总 VFA 的 48%,到第 19 d 时总 VFA 开始趋于稳定($1\,267\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),此时乙酸为 $291\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,占总 VFA 的 23%。而实验组乙酸在第 25 h 时达到 $3\,875\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,占总 VFA 的 52.9%,此时总 VFA 达到最高($7\,500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),在 50 h 之后总 VFA 平稳在 $1\,500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 直至反应结束,此时乙酸为 $311\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,占总 VFA 的 19.3%。由图 5 可见,对照组和实验组累积产甲烷量分别在 19 d 和 50 h 之后开始稳定,这是由于反应前期有机物被转化为 VFAs, VFAs 积累到一定程度开始迅速产甲烷,而在产甲烷量达到最高之后, VFAs 被一定程度地消耗,累积甲烷量开始逐渐稳定^[30]。从图 5、6 中可看出,对照组和实验组甲烷产量和 COD 降解效率分别在 19 d 和 50 h (2.1 d) 之后开始稳定,可视为各自的产甲烷周期。Nkemka 等^[23]将小麦秸秆进行蒸汽爆破预处理和酶水解,发现水解液厌氧消化的产气周期为 2.7 d,略高于本实验组的产气周期。Wang 等^[24]通过热碱-酶水解处理得到的猪粪水解液在 EGSB 中的产气周期为 1.5 d,略低于本实验组的产气周期。而传统热化学预处理下的混合物料产甲烷周期一般在 20~40 d^[19,20],相比之下,热碱-分步酶水解工艺可显著提高秸秆畜粪混合物料厌氧消化产甲烷效率,有效缩短产气周期。

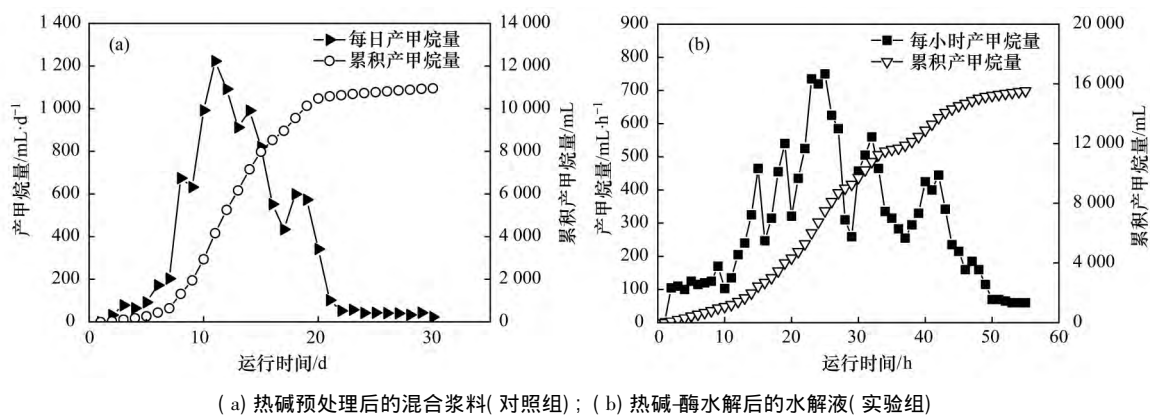
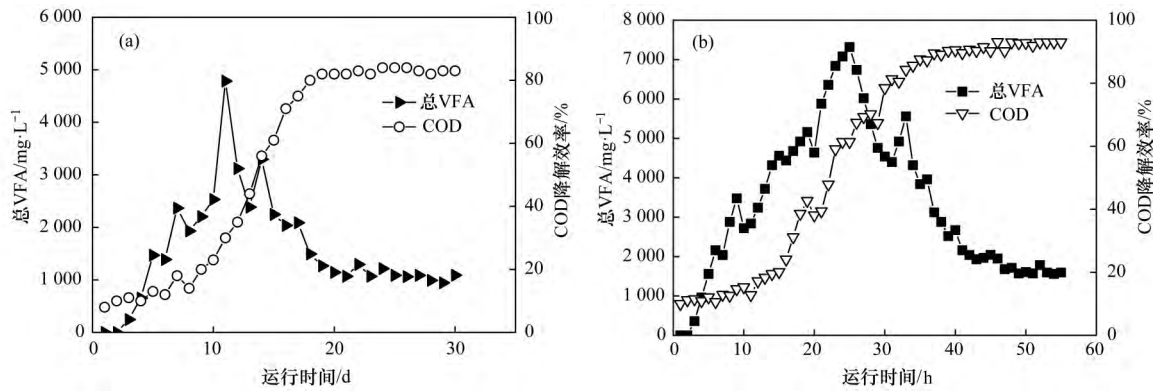


图 5 厌氧消化过程中的甲烷产量

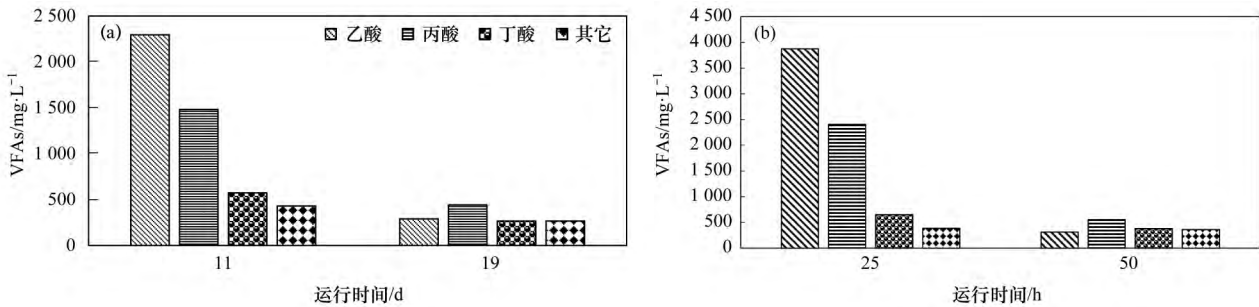
Fig. 5 Production of methane during anaerobic digestion



(a) 热碱预处理后的混合浆料(对照组); (b) 热碱-酶水解后的水解液(实验组)

图6 厌氧消化过程中总VFA和COD的变化情况

Fig. 6 Changes of VFAs and COD during anaerobic digestion



(a) 热碱预处理后的混合浆料(对照组); (b) 热碱-酶水解后的水解液(实验组)

图7 不同运行状态下的VFAs组成情况

Fig. 7 Composition of VFAs during different operating states

3 结论

(1) 热碱预处理在 NaOH 质量分数为 0.5%, 温度为 80℃ 条件下, 可使玉米秸秆和牛粪混合物料中的纤维素、半纤维素和蛋白质获得较高的溶出效率, 可为分步酶水解阶段提供充足的待水解物质。

(2) 分步投加纤维素酶和蛋白酶并满足适宜的操作条件, 可使热碱预处理溶出的纤维素和蛋白质高效地转化为糖类小分子有机物, 为后续厌氧消化提供稳定、易利用的底物。

(3) 热碱-酶水解作为前处理可有效提升后续的厌氧消化产甲烷性能, 可显著提高产甲烷效率和缩短产气周期, 使得水解阶段不再是混合物料厌氧消化的限速步骤。本研究结果可以为开发高效的农业废弃物能源高值化技术提供重要的方法。

参考文献:

[1] Pierie F, Benders R M J, Bekkering J, *et al.* Lessons from spatial and environmental assessment of energy potentials for Anaerobic Digestion production systems applied to the Netherlands[J]. *Applied Energy*, 2016, **176**: 233-244.
 [2] Zheng Z H, Liu J H, Yuan X F, *et al.* Effect of dairy manure to switchgrass co-digestion ratio on methane production and the bacterial community in batch anaerobic digestion[J]. *Applied Energy*, 2015, **151**: 249-257.
 [3] Monlau F, Sambusiti C, Antoniou N, *et al.* A new concept for

enhancing energy recovery from agricultural residues by coupling anaerobic digestion and pyrolysis process[J]. *Applied Energy*, 2015, **148**: 32-38.

[4] Zheng Y, Zhao J, Xu F Q, *et al.* Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production[J]. *Progress in Energy and Combustion Science*, 2014, **42**: 35-53.
 [5] Wei Y F, Li X J, Yu L, *et al.* Mesophilic anaerobic co-digestion of cattle manure and corn stover with biological and chemical pretreatment[J]. *Bioresource Technology*, 2015, **198**: 431-436.
 [6] 甘荣, 葛明民, 刘勇迪, 等. 活性炭在中高温条件下对玉米秸秆厌氧发酵的影响[J]. *环境科学*, 2017, **38**(6): 2607-2616.
 Gan R, Ge M M, Liu Y D, *et al.* Effect of activated carbon addition on the anaerobic fermentation of corn straw in mesophilic and thermophilic conditions[J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(6): 2607-2616.
 [7] 中华人民共和国农业部. 中国农业统计资料 2015[M]. 北京: 中国农业出版社, 2016.
 [8] Tsaepokos P, Kougias P G, Treu L, *et al.* Process performance and comparative metagenomic analysis during co-digestion of manure and lignocellulosic biomass for biogas production[J]. *Applied Energy*, 2017, **185**: 126-135.
 [9] Yuan H R, Li R P, Zhang Y T, *et al.* Anaerobic digestion of ammonia-pretreated corn stover[J]. *Biosystems Engineering*, 2015, **129**: 142-148.
 [10] 乔江涛, 郭荣波, 袁宪正, 等. 玉米秸秆厌氧降解复合菌系的微生物群落结构[J]. *环境科学*, 2013, **34**(4): 1531-1539.
 Qiao J T, Guo R B, Yuan X Z, *et al.* Phylogenetic analysis of

- methanogenic corn stalk degrading microbial communities [J]. *Environmental Science*, 2013, **34**(4): 1531-1539.
- [11] 刘雨秋, 陈东雨, 李金洋, 等. 温度和 pH 值对猪粪与玉米秸秆混合厌氧发酵影响的试验研究[J]. *可再生能源*, 2014, **32**(6): 860-865.
Liu Y Q, Chen D Y, Li J Y, *et al.* Experimental study on the effect of temperature and pH value on anaerobic fermentation of pig manure and corn straw [J]. *Renewable Energy Resources*, 2014, **32**(6): 860-865.
- [12] 郭香麟, 左剑恶, 史绪川, 等. 餐厨垃圾与秸秆混合中温和高温厌氧消化对比[J]. *环境科学*, 2017, **38**(7): 3070-3077.
Guo X L, Zuo J E, Shi X C, *et al.* Mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of food waste and straw [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(7): 3070-3077.
- [13] Zhou S X, Zhang Y L, Dong Y P. Pretreatment for biogas production by anaerobic fermentation of mixed corn stover and cow dung[J]. *Energy*, 2012, **46**(1): 644-648.
- [14] Li D, Liu S C, Mi L, *et al.* Effects of feedstock ratio and organic loading rate on the anaerobic mesophilic co-digestion of rice straw and cow manure[J]. *Bioresource Technology*, 2015, **189**: 319-326.
- [15] Ramos-Suárez J L, Gómez D, Regueiro L, *et al.* Alkaline and oxidative pretreatments for the anaerobic digestion of cow manure and maize straw: factors influencing the process and preliminary economic viability of an industrial application [J]. *Bioresource Technology*, 2017, **241**: 10-20.
- [16] Kalamaras S D, Kotsopoulos T A. Anaerobic co-digestion of cattle manure and alternative crops for the substitution of maize in South Europe[J]. *Bioresource Technology*, 2014, **172**: 68-75.
- [17] 李琳, 张继宇, 何艳峰, 等. 热碱预处理对玉米秸秆厌氧消化的影响[J]. *北京化工大学学报(自然科学版)*, 2016, **43**(5): 1-7.
Li L, Zhang J Y, He Y F, *et al.* Impact of thermo-alkaline pretreatment on the anaerobic digestion of corn stover [J]. *Journal of Beijing University of Chemical Technology (Natural Science)*, 2016, **43**(5): 1-7.
- [18] Khatri S, Wu S B, Kizito S, *et al.* Synergistic effect of alkaline pretreatment and Fe dosing on batch anaerobic digestion of maize straw[J]. *Applied Energy*, 2015, **158**: 55-64.
- [19] 李凯, 吴明阳, 徐桂转. 酱油渣、牛粪与秸秆混合厌氧发酵产沼气的试验研究[J]. *河南农业大学学报*, 2015, **49**(1): 79-82.
Li K, Wu M Y, Xu G Z. Study on biogas production from mixed anaerobic fermentation of soy sauce residue, cow dung and straw [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2015, **49**(1): 79-82.
- [20] 姜庆宏, 姜月, 张宝心. 牛粪、秸秆混合厌氧发酵制沼气研究[J]. *可再生能源*, 2013, **31**(1): 57-59.
Jiang Q H, Jiang Y, Zhang B X. Research on the biogas fermentation with corn stalk and cow dung [J]. *Renewable Energy Resources*, 2013, **31**(1): 57-59.
- [21] Eusébio A, Marques S, Marcolongo L, *et al.* Dairy cow effluent: enzymatic hydrolysis as pre-treatment of anaerobic digestion [A]. *Proceedings of the 4th International Conference Wastes: Solutions, Treatments and Opportunities [C]*. At Porto, Portugal: Center for Waste Recovery, 2017. 87-89.
- [22] Schroyen M, Vervaeren H, Vandepitte H, *et al.* Effect of enzymatic pretreatment of various lignocellulosic substrates on production of phenolic compounds and biomethane potential[J]. *Bioresource Technology*, 2015, **192**: 696-702.
- [23] Nkemka V N, Murto M. Biogas production from wheat straw in batch and UASB reactors: the roles of pretreatment and seaweed hydrolysate as a co-substrate[J]. *Bioresource Technology*, 2013, **128**: 164-172.
- [24] Wang H Y, Tao Y, Temudo M, *et al.* An integrated approach for efficient biomethane production from solid bio-wastes in a compact system[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2015, **8**: 62.
- [25] Wang X M, Li Z F, Zhou X Q, *et al.* Study on the bio-methane yield and microbial community structure in enzyme enhanced anaerobic co-digestion of cow manure and corn straw [J]. *Bioresource Technology*, 2016, **219**: 150-157.
- [26] APHA, AWWA, WEF. Standard methods for the examination of water and wastewater (21st ed.) [M]. Washington, DC: American Public Health Association, 2005.
- [27] 黄爱玲. 玉米秸秆酶水解及发酵乳酸的研究[D]. 上海: 东华大学, 2005. 33-36.
Huang A L. Enzymatic hydrolysis of corn straw and lactic acid fermentation [D]. Shanghai: Donghua University, 2005. 33-36.
- [28] 吴强, 王宁, 李玉成, 等. NaOH 预处理对秸秆与蓝藻混合厌氧发酵产沼气的的影响[J]. *环境工程学报*, 2016, **10**(11): 6727-6731.
Wu Q, Wang N, Li Y C, *et al.* Anaerobic fermentation of rice straw and blue algae for biogas under NaOH pretreatment [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2016, **10**(11): 6727-6731.
- [29] 裴占江, 刘杰, 王粟, 等. pH 值调控对餐厨垃圾厌氧消化效率的影响[J]. *中国沼气*, 2015, **33**(1): 17-21.
Pei Z J, Liu J, Wang S, *et al.* Effect of pH modification on anaerobic digestion of kitchen wastes [J]. *China Biogas*, 2015, **33**(1): 17-21.
- [30] 夏挺. 高固浓度玉米秸秆厌氧发酵产酸特性及其对产沼气的的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017. 10-12.
Xia T. Effect of volatile acid on the characteristics of solid state anaerobic fermentation of corn stalk [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2017. 10-12.