

陈佳新,延一鸣,刘诗漫,等.超声波联合酶预处理强化餐厨垃圾厌氧消化[J].中国环境科学,2025,45(1):223-233.

Chen J X, Yan Y M, Liu S M, et al. Ultrasonic combined with enzymatic pretreatment strengthens anaerobic digestion of food waste [J]. China Environmental Science, 2025,45(1):223-233.

## 超声波联合酶预处理强化餐厨垃圾厌氧消化

陈佳新<sup>1</sup>,延一鸣<sup>1</sup>,刘诗漫<sup>1</sup>,冯怡卓<sup>1</sup>,费强<sup>1,2</sup>,马英群<sup>1,2\*</sup> (1.西安交通大学化学工程与技术学院,陕西 西安 710049; 2.陕西省能源化工过程强化重点实验室,西安市一碳化合物生物转化技术重点实验室,陕西 西安 710049)

**摘要:**以餐厨垃圾为唯一底物原位制备了菌基复合酶,探究了超声波联合菌基复合酶预处理对餐厨垃圾产甲烷效能的影响,并解析了其作用机制.研究发现,超声波联合菌基复合酶预处理可强化餐厨垃圾产甲烷效能,其甲烷产量高于单一的超声波预处理和酶预处理,且增加酶投加量可进一步提升甲烷产量,最大甲烷产量为(369.86±14.06)mL/g VS,较未预处理提高了57.21%.对联合预处理强化餐厨垃圾产甲烷作用机制的解析发现,联合预处理促进了餐厨垃圾中大分子有机物的分解,并使其由固相向液相转移,提升了发酵底物的生物可降解性.同时,联合预处理改变了餐厨垃圾中蛋白质二级结构,破坏了餐厨垃圾的表面形态,且餐厨垃圾中主要组分的动态降解顺序为:蛋白质→油脂→淀粉.此外,联合预处理因改变了餐厨垃圾的特性进而重塑了厌氧消化过程中微生物的群落结构,乙酸型产甲烷古菌 *Methanosaeta* 的富集进一步强化了餐厨垃圾的产甲烷效能.

**关键词:** 餐厨垃圾; 超声波; 菌基复合酶; 厌氧消化; 甲烷; 微生物群落

中图分类号: X705 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)01-0223-11

**Ultrasonic combined with enzymatic pretreatment strengthens anaerobic digestion of food waste.** CHEN Jia-xin<sup>1</sup>, YAN Yi-ming<sup>1</sup>, LIU Shi-man<sup>1</sup>, FENG Yi-zhuo<sup>1</sup>, FEI Qiang<sup>1,2</sup>, MA Ying-qun<sup>1,2\*</sup> (1.School of Chemical Engineering and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China; 2.Shaanxi Key Laboratory of Energy Chemical Process Intensification, Xi'an Key Laboratory of C1Compound Bioconversion Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China). *China Environmental Science*, 2025,45(1): 223~233

**Abstract:** Microbial-based compound enzyme was in-situ prepared using food waste as the sole substrate in this study, and the effect and mechanism of ultrasonic combined with enzymatic pretreatment on methane production of food waste was investigated systematically. Results showed that the combined pretreatment could enhance the methane production of food waste, which was higher than that of single ultrasonic or enzymatic pretreatment, while increased the enzyme dosage could further improve the methane production. The maximal methane yield could reach (369.86±14.06)mL/g VS, which was 57.21% higher than that of the untreated food waste. The mechanism dissection revealed that the combined pretreatment promoted the decomposition of biomacromolecules in food waste, which was transferred from solid to liquid phase, thereby improving the biodegradability of fermentation substrate. Meanwhile, it was found that the combined pretreatment changed the protein secondary structure and destroyed the surface morphology of the food waste, and the degradation sequence of the main components in food waste was protein → lipid → starch. Moreover, the combined pretreatment reshaped the microbial community during the anaerobic digestion process by altering the characteristics of food waste, and the enrichment of *Methanosaeta*, a kind of acetotrophic methanogen, further enhanced the methane production.

**Key words:** food waste; ultrasonic; microbial-based compound enzyme; anaerobic digestion; methane; microbial communities

我国餐厨垃圾的产量逐年增加,预计2025年将超过1.7亿t,同时我国每年能源需求不断增加,亟需开发可再生能源以缓解能源困境<sup>[1]</sup>.因此,将餐厨垃圾通过厌氧消化转化为生物甲烷,既可以实现餐厨垃圾的资源化处置,又可获得可再生能源,具有环境和经济的双重效益.然而,水解是厌氧消化过程的限速步骤,较低的水解效率导致甲烷产量总是低于预期<sup>[2]</sup>.研究发现,在厌氧消化前耦合预处理技术可有效提升餐厨垃圾的水解效率和甲烷产量.

目前,餐厨垃圾预处理技术主要包括热预处理、酸/碱预处理、以及它们的联合预处理等<sup>[3-4]</sup>,但上述预处理技术是在高温、高酸和高碱等极端环境下进行的,且会非定向的破解餐厨垃圾导致释放出一些难生物降解的物质,可能会抑制甲烷生产.酶预处理

收稿日期: 2024-05-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(22108220);国家重点研发计划资助项目(2022YFE0105700);陕西高校青年创新团队

\* 责任作者,特聘研究员,yingqun\_ma@xjtu.edu.cn

因其作用条件温和、无副产物、无二次污染等优点被认为是一种绿色可持续的餐厨垃圾预处理技术,尤其是酶预处理可以利用酶的选择性和专一性靶向分解餐厨垃圾中的主要组分(即淀粉酶和纤维素酶可将淀粉和纤维素水解为葡萄糖,蛋白酶可将蛋白质水解为氨基酸),提升餐厨垃圾的水解效率和生物可降解性,从而获得更高的甲烷产量<sup>[5-6]</sup>。然而,商业酶成本较高限制了酶预处理技术的大规模应用。为此,低成本的菌基复合酶已被开发用于餐厨垃圾水解<sup>[7]</sup>。研究人员利用 *Aspergillus oryzae* 和 *Aspergillus awamori* 制备菌基复合酶,将其用于酶解餐厨垃圾后,溶解性化学需氧量(SCOD)的浓度明显提升,但最终水解效率仅为 35%~64%<sup>[8-9]</sup>。从以上研究可以发现,目前已开发的菌基复合酶尽管成本较低,但也存在水解效率较低的问题,而将酶水解与其他预处理技术联合,有望提升餐厨垃圾水解效率,强化其产甲烷效能。

超声波预处理可以利用高频率的声波破坏餐厨垃圾中复杂聚合物的结构,且预处理过程中不用投加任何化学试剂,是一种绿色的预处理技术。超声波可以通过空化作用释放巨大的瞬时能量,产生巨大的剪切力,导致局部温度可达 5000℃,压力可达 100MPa,实现均质底物、增强传质和破坏结构的目的,以此强化餐厨垃圾产甲烷的效能<sup>[10-11]</sup>。相关研究通过优化超声波预处理的条件,将餐厨垃圾中有机物的溶解度和甲烷产量分别提升了 16.4% 和 120.83%,但最终甲烷产量仅为 53mL/gCOD<sup>[11]</sup>。同时,随着超声波功率的增加,其非定向破解餐厨垃圾的特点会导致副产物或抑制物产生,甲烷产量并不能得到持续提升<sup>[12]</sup>。为了避免副产物或抑制物产生,且能进一步提高餐厨垃圾的产甲烷效能,将短时超声波预处理和菌基复合酶预处理进行耦合,有望实现这一目标。其中,短时超声波可破坏餐厨垃圾的结构,增加酶与餐厨垃圾的接触面积,进而促其溶解,而酶可实现餐厨垃圾的定向转化,减少副产物和抑制物的生成。然而,超声波联合菌基复合酶预处理对餐厨垃圾产甲烷的效能有待验证,且联合预处理对餐厨垃圾水解和厌氧消化的作用机制尚未明晰。

本研究以餐厨垃圾为唯一底物原位制备菌基复合酶,探究超声波联合酶预处理对餐厨垃圾产甲烷效能的影响,并分析厌氧消化过程中 SCOD、可溶

性总糖、可溶性蛋白、挥发性脂肪酸(VFAs)和 pH 值的变化规律。通过分析预处理液体的溶解性和生物可降解性,以及预处理固体的特征官能团和表面结构,解析联合预处理对餐厨垃圾水解的作用机制。同时,通过分析厌氧消化过程中细菌和古菌群落结构的演替规律,明晰联合预处理强化餐厨垃圾产甲烷的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

餐厨垃圾取自西安交通大学食堂,人工去除塑料、筷子和骨头等杂质后破碎为 1~2mm 颗粒,备用。接种污泥取自西安维尔利环保科技有限公司。餐厨垃圾和接种污泥的特征如表 1 所示。产酶功能菌株 *Aspergillus oryzae* CICC 40214 购于中国工业微生物菌种保藏管理中心,以餐厨垃圾为唯一底物,每克餐厨垃圾(干基)接种  $10^6$  个真菌孢子,在温度为 30℃,湿度为 70% 的条件下固态发酵 11d 原位制备菌基复合酶,获得的菌基复合酶无需分离纯化,可直接用于餐厨垃圾预处理,其淀粉酶活、蛋白酶活和滤纸酶活分别为  $(652.14 \pm 29.54)$ ,  $(37.14 \pm 1.00)$  和  $(0.41 \pm 0.08)$  U/g。

表 1 餐厨垃圾和接种污泥特征

Table 1 The characteristics of food waste and inoculated sludge

| 参数          | 餐厨垃圾          | 接种污泥         |
|-------------|---------------|--------------|
| TS(g/L)     | 295.72 ± 4.00 | 55.67 ± 1.60 |
| VS(g/L)     | 276.89 ± 1.71 | 18.23 ± 1.94 |
| VS/TS(%)    | 93.64 ± 1.72  | 32.70 ± 2.54 |
| pH 值        | 4.71 ± 0.08   | 7.13 ± 0.07  |
| VFAs(g/L)   | 6.96 ± 0.11   | 0.08 ± 0.00  |
| SCOD(g/L)   | 151.07 ± 1.88 | 0.42 ± 0.02  |
| 油脂(%,以干基计)  | 12.69 ± 0.30  | —            |
| 蛋白质(%,以干基计) | 13.02 ± 0.92  | —            |
| 淀粉(%,以干基计)  | 58.72 ± 0.55  | —            |
| 纤维素(%,以干基计) | 4.92 ± 0.30   | —            |

### 1.2 超声波联合原位酶预处理

用去离子水将餐厨垃圾的浓度稀释至 100g/L,取 100mL 稀释后的餐厨垃圾于烧杯中,采用超声波细胞粉碎机(YH-1000Y,宁波海曙亿恒,中国)进行超声波预处理,超声频率为 20kHz,功率为 500W,超声 3s,停止 6s,总超声时间为 20min。将超声波预处理后

的餐厨垃圾转移至锥形瓶中,分别添加 1%(UE1 组)和 10%(UE10 组)的菌基复合酶,充分混匀后在 60℃,150r/min 条件下预处理 48h.取 5mL 预处理后的餐厨垃圾于 8000r/min,4℃离心 10min,分别收集预处理液体和预处理固体用于后续的分析 and 表征.同时,在相同条件下完成仅超声波(U 组)以及仅添加 1%(E1 组)和 10%(E10 组)菌基复合酶的预处理,且以未预处理的餐厨垃圾作为对照(Control 组).

### 1.3 餐厨垃圾厌氧消化生产甲烷

采用 600mL 带有螺旋塞的玻璃瓶进行厌氧消化,工作容积为 500mL,螺旋塞上预留取样孔、排气孔和搅拌桨工作孔,将预处理后的餐厨垃圾和厌氧污泥以 1:2(以 VS 计)的比例混合于玻璃瓶中,并通入氮气 5min 以置换顶空的空气,提供厌氧的环境.厌氧消化的温度为 37℃,转速为 100r/min,每 20min 搅拌 1min,通过自动甲烷潜力测试系统(AMPTS II, Bioprocess Control AB,瑞典)测定餐厨垃圾生化甲烷潜力.厌氧发酵周期为 15d,分别在 1,3,5,10,15d 取样用于监测厌氧消化体系中 SCOD、可溶性总糖、可溶性蛋白、VFAs 的浓度和 pH 值.同时,在相同条件下将仅添加厌氧污泥的组设置为空白组,以实验组和空白组的差值表示甲烷产量.

### 1.4 分析方法

1.4.1 理化指标分析方法 SCOD 和 VFAs 的浓度使用哈希试剂盒(Hach,美国)进行测定;采用高效液相色谱(LC2030,岛津,日本)测定葡萄糖浓度<sup>[13]</sup>;分别以甘氨酸、葡萄糖和牛血清蛋白为标品,采用茚三酮法、苯酚-硫酸法和 Lowery 法测定游离氨基氮(FAN),可溶性总糖和可溶性蛋白浓度<sup>[14]</sup>;pH 值利用 pH 计(PHSJ-4,雷磁,中国)测定.

1.4.2 餐厨垃圾表征方法 采用荧光分光光度计(F-7000FL,日立,日本)测定预处理液体的三维激发-发射矩阵(3D-EEM)荧光光谱,同时利用 DOMFluor 工具箱对荧光区域积分(FRI)和腐殖化指数(HIX)进行分析<sup>[15-16]</sup>.采用傅立叶变换红外光谱仪(FTIR)(Nicolet iS50,Thermo Scientific,美国)表征预处理固体的功能基团,通过 2D Shige 软件建立二维相关光谱(2D-COS),进一步通过 PeakFit v4.12 软件对 1600~1700cm<sup>-1</sup> 区间进行拟合,分析预处理固体中蛋白质二级结构的变化.采用场发射扫描电子显微镜(MAIA3LMH, TESCAN, 捷克)观察预处理固体的

表面形态.

1.4.3 微生物群落测定方法 厌氧消化结束后,从厌氧消化体系中取 2mL 样品,6000r/min,4℃离心 5min 收集菌体进行微生物群落分析.采用 E.Z.N.A. 试剂盒(Omega Bio-tek, Norcross,美国)提取 DNA,并用紫外-可见分光光度计(NanoDrop 2000, Thermo Scientific,美国)检测 DNA 浓度和纯度.使用 338F/806R 引物扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3~V4 区域,使用 524F/958R 引物扩增古菌 16S rRNA 基因的 V4~V5 区域.利用 MiSeq PE300 平台(Illumina,美国)进行测序,测序数据已上传至 NCBI 数据库(项目号 PRJNA1172554).通过 Fastp 0.19.6 和 Flash 1.2.11 软件对序列进行质控和拼接,并利用 RDP Classifier 2.13 软件对每个操作分类单元(OUTs)进行分类分析.

1.4.4 数据分析 所有实验独立平行三次,采用 GraphPad Prism 8 软件进行单因素方差分析,采用 LSD 法进行组间多重比较,当  $p < 0.05$  时认为具有显著性差异.

## 2 结果与分析

### 2.1 超声波联合菌基复合酶预处理对餐厨垃圾产甲烷效能的影响

如图 1 所示,超声波联合菌基复合酶预处理强化了餐厨垃圾的产甲烷效能.在厌氧消化初期,甲烷快速累积,所有实验组均没有出现停滞期,这可能是因为厌氧污泥的活性较强,且占比较高,可以将餐厨垃圾快速转化为甲烷.1d 时,各组甲烷产量之间无明显差异,这是因为餐厨垃圾初始的 SCOD 较高,可能已达到产甲烷菌群的代谢极限.厌氧消化结束时,预处理组的甲烷产量均明显增加,其中 U 组获得的累积甲烷产量为(279.07±4.46)mL/g VS,E1 组和 E10 组的甲烷产量分别为(310.04±0.26)和(322.91±1.31)mL/g VS,说明酶预处理比超声波预处理更有利于甲烷生产,而 UE1 组和 UE10 组甲烷产量分别为(353.43±3.63)和(369.86±14.06)mL/g VS,说明超声波联合菌基复合酶预处理的餐厨垃圾比单一的超声波预处理或酶预处理的餐厨垃圾具有更高的产甲烷效能.值得注意的是,当酶投加量为 1%(E1 组)和 10%(E10 组)时,甲烷产量相对于 Control 组分别提升了 31.79%和 37.26%,然而联合超声波预处理后,酶投

加量为 1%(UE1 组)和 10%(UE10 组)时的甲烷产量相对于 Control 组分别提升了 50.23%和 57.21%,上述结果表明增加酶的投加量可以促进餐厨垃圾的产甲烷效能,而超声波联合菌基复合酶预处理比单一的增加酶的投加量更有利于提升餐厨垃圾的产甲烷效能,这是因为酶预处理破坏餐厨垃圾结构的能力有限,当酶与底物的可及性达到上限时,增加酶的投加量无法大幅提升水解效率,而联合预处理后超声波有效破坏了餐厨垃圾结构,增加了酶与底物的接触面积,进而明显提升了餐厨垃圾的水解效率和甲烷产量<sup>[17]</sup>.

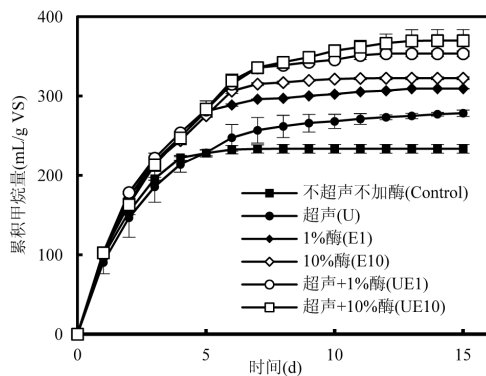


图1 不同的预处理方式对餐厨垃圾累积甲烷产量的影响  
Fig.1 Effect of different pretreatment ways on cumulative methane yield of food waste

厌氧消化过程中 SCOD、可溶性总糖、可溶性

蛋白、VFAs 和 pH 值的变化可以反映餐厨垃圾的降解情况. SCOD 浓度随着甲烷的生成逐渐降低, Control 组、U 组、E1 组和 UE1 组在 5d 达到了最低值,而 E10 组和 UE10 组在 10d 才达到最低值(图 2(a)),这可能是因为 10%的酶预处理可以将餐厨垃圾中更多的有机物释放到液体中,需要更长的转化时间,而 1%的酶预处理和超声波预处理后溶解性有机物含量较低,可被快速转化为甲烷.结合图 1 可以发现,SCOD 浓度达到最低值后仍然有甲烷产生,表明此时甲烷主要来源于餐厨垃圾的固体部分,且有机物释放和甲烷生产达到了动态平衡状态.此外,绝大部分的可溶性总糖和可溶性蛋白在 1d 内被消耗(图 2(b、c)),说明预处理后可溶性总糖和可溶性蛋白具有良好的生物可降解性.在甲烷生产过程中,有机物会以 VFAs 作为中间体,再进一步转化为甲烷.本研究中,餐厨垃圾中的有机物被快速转化,导致 VFAs 在 1d 快速积累,随后逐渐转化为甲烷.由于预处理可促进餐厨垃圾的溶解并提升其生物可降解性,所有预处理组的 VFAs 在 1d 的浓度均大于 Control 组,其中 UE10 组积累 VFAs 浓度最高,为  $(1102.67 \pm 58.94) \text{mg/L}$ ,这与 UE10 组较高的甲烷产量相一致(图 2(d)).同时,当 VFAs 积累时,厌氧消化体系的 pH 值随之降低,随着 VFAs 的消耗,pH 值随之升高,但整个厌氧消化过程的 pH 值均维持在 6.7~7.1,表明厌氧消化的体系相对稳定(图 2(e)).

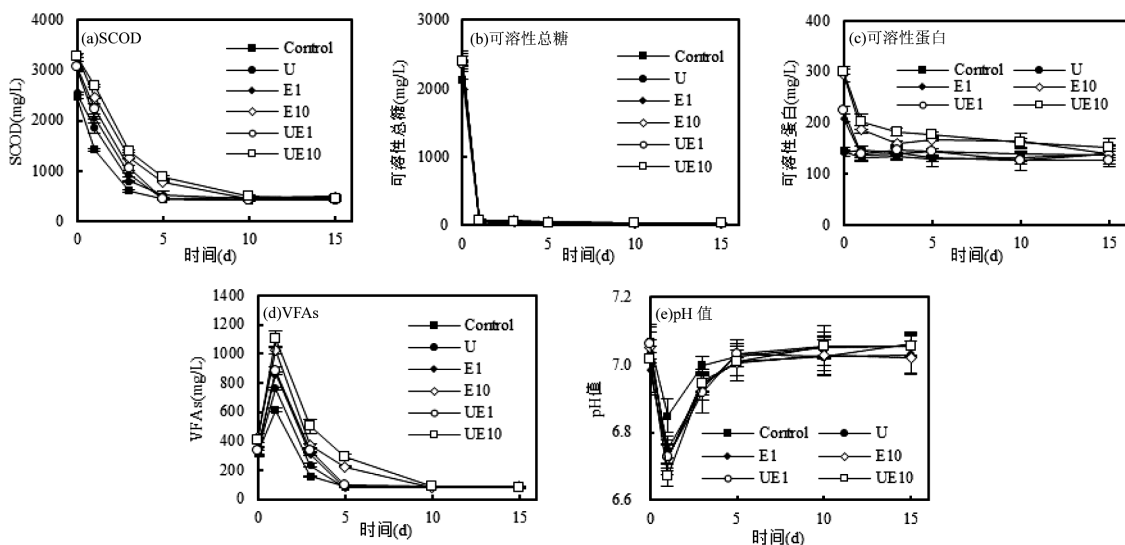


图2 不同的预处理方式对餐厨垃圾厌氧消化过程中 SCOD、可溶性总糖、可溶性蛋白、VFAs 浓度和 pH 值的影响  
Fig.2 Effect of different pretreatment ways on SCOD, soluble carbohydrates, soluble proteins, VFAs concentrations, and pH value during anaerobic digestion of food waste

## 2.2 餐厨垃圾水解液的特性分析

**2.2.1 溶解性分析** 为了探究超声波联合菌基复合酶预处理对餐厨垃圾水解的作用机制,对预处理液体中溶解性有机物的浓度进行了分析.经预处理后,SCOD 的浓度由 61.49g/L 提高至 64.05~82.34g/L (图 3(a)),表明超声波预处理、酶预处理以及联合预处理均可将餐厨垃圾固体中的有机物释放到液体中,进而提高甲烷的生产效率.相比于 Control 组,U 组 SCOD 浓度提升了 4.16%,而 E1 组提升了 22.90%,说明酶预处理比超声波预处理更有助于餐厨垃圾中有机物的溶解和释放.此外,当酶的投加量为 1% 时,超声波联合酶预处理(UE1 组)比单一预处理(U 组和 E1 组)获得了更高的 SCOD 浓度,但当酶的投加量提升至 10% 时,超声波联合酶预处理(UE10 组)和单一酶预处理(E10 组)的 SCOD 相当,这可能是由于酶预处理的效率较高,提高酶的投加量就可以实现餐厨垃圾固体中有机物的最大化溶解和释放.

糖类和蛋白质是餐厨垃圾的主要成分,也是制备甲烷的主要营养来源,分析预处理液体中糖类和蛋白质的浓度对探究预处理强化产甲烷效能十分必要.如图 3(b)所示,可溶性总糖浓度在预处理后显著升高,但超声波预处理、酶预处理和联合预处理三者之间无显著性差异,这是由于餐厨垃圾中的糖类

物质易于溶解,不同预处理均可促进其溶解,即使不进行预处理,其浓度也高达(50.87±1.61)g/L.与可溶性总糖不同的是,超声波预处理无法提升可溶性蛋白质的浓度,但其可以辅助酶预处理获得更高的可溶性蛋白,例如 UE1 组的可溶性蛋白浓度显著高于 E1 组,这可能是因为餐厨垃圾的结构被超声波破坏,增加了蛋白酶与蛋白质的接触面积,进而促进了蛋白质的溶解(图 3(c)).

除此之外,酶预处理和联合预处理还可以将溶解性有机物进一步降解为各自的单体,即淀粉和纤维素可以降解为葡萄糖,蛋白质可以降解为 FAN,进而更易于被厌氧菌群转化为甲烷.可以发现,相比于 E1 组,E10 组中葡萄糖和 FAN 的浓度分别提升了 69.82%和 92.43%,表明增加酶的投加量可以显著提升单体的生成.然而,U 组中葡萄糖和 FAN 的浓度相比于 Control 组均没有显著提升,且 UE1 组和 UE10 组中葡萄糖和 FAN 的浓度相比于 E1 组和 E10 组也没有显著提升,说明超声波预处理无法促进单体的生成,且无法辅助酶预处理获得更高的单体浓度,这是因为酶具有选择性和专一性,可定向水解餐厨垃圾中的有机物,而在本研究设定的条件下,超声波只能促进糖类溶解,无法进一步将有机物转化为可供微生物直接利用的单体形式(图 3(b、c)).

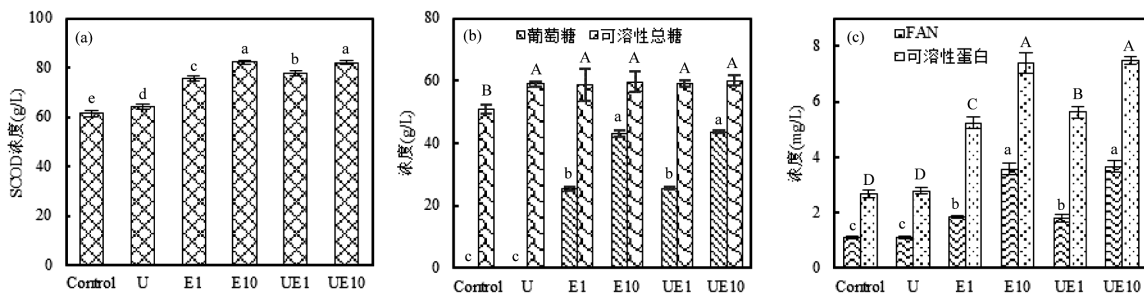


图3 餐厨垃圾预处理液体中 SCOD、葡萄糖和可溶性总糖以及 FAN 和可溶性蛋白的浓度变化

Fig.3 The change of SCOD, glucose and soluble carbohydrates, and FAN and soluble proteins concentrations in the food waste pretreated liquid

相同填充柱子上的不同小写或大写字母,分别代表各组之间在  $P < 0.05$  水平上存在显著差异

**2.2.2 生物可降解性分析** 餐厨垃圾的生物可降解性与其产甲烷效能密切相关,本研究通过 3D-EEM 荧光光谱对预处理液体的生物可降解性进行了分析.一般情况下,3D-EEM 荧光光谱谱图可以根据激发波长( $Ex$ )和发射波长( $Em$ )分为 5 个区域,分别代表 5 类相应的物质,即区域 I( $Ex/Em=200\sim$

250nm/250~330nm)代表酪氨酸类蛋白;区域 II( $Ex/Em=200\sim250nm/330\sim380nm$ )代表色氨酸类蛋白;区域 III( $Ex/Em=200\sim250nm/380\sim550nm$ )代表富里酸类物质;区域 IV( $Ex/Em=250\sim340nm/250\sim380nm$ )代表可溶性微生物副产物类物质;区域 V( $Ex/Em=250\sim450nm/380\sim550nm$ )代表腐殖酸类物质<sup>[15]</sup>.其中,

酪氨酸类蛋白(区域 I)和可溶性微生物副产物类物质(区域 IV)被认为是生物可降解的物质<sup>[18]</sup>。

根据 3D 谱图(图 4(a~f))可以发现,预处理后各个区域的荧光强度均有所增强,其中 E10 组和 UE10 组的增量最为明显,与这两组 SCOD 浓度较高的结果相一致(图 3(a)),这也印证了预处理可以促进餐厨垃圾固体中的有机物向液体中释放。进一步对各个区域的体积进行积分(图 4(g)),结果显示 E1 组区域 I 和区域 IV 的荧光强度分别增加了 64.98%和 72.31%,而 E10 组分别增加了 137.70%和 196.62%,表明随着酶投加量的增加,预处理液体中生物可降解的有机物含量也随之增加,这可能与 E10 组预处理液体中高浓度的单体物质有关(图 3(b、c))。此外,UE1 组区域 I 和区域 IV 的荧光强度分别增加了 81.65%和 105.75%,其增量均大于 E1 组,说明当酶投加量为 1%时,超声波预处理可以辅助酶预处理获得更多生物可降解的有机物。

HIX 指数常被用于评价溶解有机物的腐殖化程度,其值越高表示溶解有机物的腐殖化程度越大,此时溶解有机物趋于稳定难以被进一步降解,其值越低表示溶解有机物的腐殖化程度越小,此时溶解有机物具有更高的生物可降解性,易于被降解<sup>[19-20]</sup>。由图 4(h)可以看出,预处理液体的 HIX 指数由大到小依次为:Control 组(0.28)>U 组(0.24)>E1 组(0.19)>E10 组(0.18)>UE1 组(0.16)>UE10 组(0.15),表明所有预处理均可提升餐厨垃圾预处理液体的生物可降解性,且超声波联合 10%的酶预处理具有最高的生物可降解性,这与其最高的甲烷产量相一致。

综上,相比于单一的超声波预处理和酶预处理,超声波联合酶预处理不仅能促进餐厨垃圾固体中有机物的溶解和释放,且可将溶解的有机物进一步降解为其单体形式,提升了预处理液体的生物可降解性,进而强化餐厨垃圾的产甲烷效能,而增加酶的投加量可进一步提升甲烷产量。

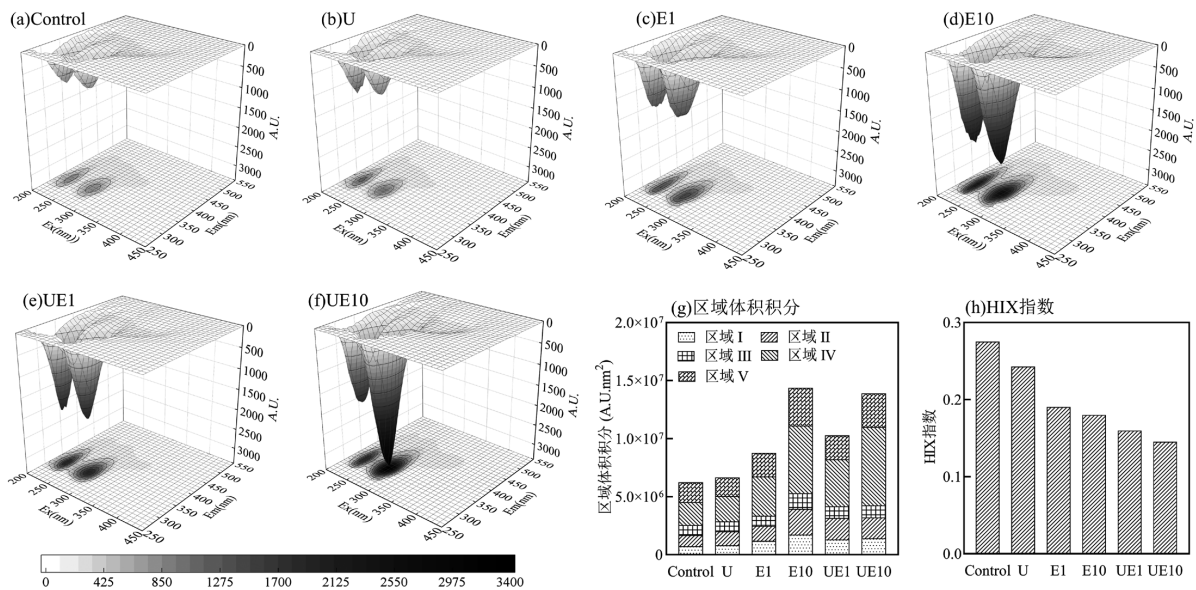


图 4 餐厨垃圾预处理液体的 3D-EEM 谱图、区域体积分和 HIX 指数

Fig.4 3D-EEM spectra, regional volume integration and HIX index of food waste pretreated liquid

## 2.3 餐厨垃圾预处理固体特性分析

### 2.3.1 特征官能团分析

除了预处理液体,超声波联合菌基复合酶预处理也会影响餐厨垃圾中固体的特性,本研究对各种预处理固体中的官能团进行了分析,以探究餐厨垃圾中主要组分(即淀粉、蛋白质和油脂)的变化。如 FTIR 谱图(图 5(a))所示,1021 和 1153 $\text{cm}^{-1}$  处的特征峰分别与淀粉中 C-O-C 键和

C-O-H 键的伸缩振动有关<sup>[21]</sup>;1656,1540 和 1238 $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰分别与蛋白质中酰胺 I 带的 C=O 键伸缩振动、酰胺 II 带的 C-N 键伸缩振动和酰胺 III 带的 N-H 键弯曲振动有关<sup>[22]</sup>;1742 $\text{cm}^{-1}$  处是羧酸中 C=O 键的振动峰<sup>[23]</sup>;1460,2859 和 2927 $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰与油脂相关,代表着甲基/亚甲基官能团中 C-H 键的振动峰<sup>[23]</sup>。上述特征峰的强度在预处理

后发生了变化,表明预处理可以破坏餐厨垃圾中主要组分的结构,并且可能会促进糖类和蛋白质的溶解,进而提升餐厨垃圾的产甲烷效能。

**2.3.2 餐厨垃圾降解过程分析** 为了提升 FTIR 谱图的分辨率,捕获更详细的信息,本研究建立了 900~1800 $\text{cm}^{-1}$  区间的 2D-COS 用于解析预处理过程中餐厨垃圾的动态变化(图 5(b~f)).在所有预处理组的同步图中, 1021 $\text{cm}^{-1}$  处自动峰的响应程度最强,即淀粉中 C-O-C 键具有最强的反应强度,表明预处理过程中淀粉可能比餐厨垃圾中的其它组分降解的更彻底.此外,根据 Noda 规则<sup>[24]</sup>可以发现,U 组中各个谱带的响应顺序依次是:1540 $\text{cm}^{-1}$ →1656 $\text{cm}^{-1}$ →1238 $\text{cm}^{-1}$ →1021 $\text{cm}^{-1}$ →1460 $\text{cm}^{-1}$ →1153 $\text{cm}^{-1}$ ,说明超声波预处理过程中餐厨垃圾中各个组分的降解顺序依次为:蛋白质→淀粉→油脂.同理,根据谱带的响应顺序发现,E1 组、E10 组、UE1 组和 UE10 组中餐厨垃圾各个组分的降解顺序均为:蛋白质→油脂→淀粉,说明投加酶的情况下,油脂的降解先于淀粉,且

不同的酶投加量不会影响降解顺序,在联合预处理过程中,超声波也并未改变酶对餐厨垃圾各个组分的降解顺序.值得注意的是,所有预处理中都是蛋白质先降解,说明相比于其他组分,预处理过程中蛋白质最为敏感,这可能对餐厨垃圾降解起着至关重要的作用,有必要进一步探究。

因此,本研究利用二阶导数和去卷积分析了 1600~1700 $\text{cm}^{-1}$  区间的谱图,探究了预处理后蛋白质二级结构的变化<sup>[25]</sup>.如表 2 所示,预处理固体中蛋白质二级结构主要为  $\alpha$ -螺旋、无规卷曲和  $\beta$ -折叠,其中  $\alpha$ -螺旋含量越低,无规卷曲和  $\beta$ -折叠含量越高,代表着蛋白质结构越松散<sup>[25]</sup>,所以本研究采用  $\alpha$ -螺旋/(无规卷曲+ $\beta$ -折叠)的比值综合评价蛋白质的松散程度.结果显示,预处理后该比值从 54.04%降低到了 41.33%~53.34%,说明所有预处理均可破坏蛋白质的结构,并且高比例的酶投加量(E10 组和 UE10 组)作用效果更显著,可促进更多的蛋白质溶解(图 3(c)).

表 2 餐厨垃圾预处理固体中蛋白质二级结构相对含量

Table 2 The percentage of protein secondary structure of food waste pretreated solid

| 蛋白质二级结构(波数, $\text{cm}^{-1}$ )   | Control(%) | U(%)  | E1(%) | E10(%) | UE1(%) | UE10(%) |
|----------------------------------|------------|-------|-------|--------|--------|---------|
| 聚合链(1610~1625)                   | 13.12      | 12.28 | 11.48 | 12.67  | 10.34  | 12.56   |
| $\beta$ -折叠(1630~1640)           | 19.05      | 19.64 | 20.83 | 24.24  | 20.13  | 23.80   |
| 无规卷曲(1640~1645)                  | 20.39      | 21.78 | 21.18 | 19.80  | 20.82  | 20.07   |
| $\alpha$ -螺旋(1648~1657)          | 21.31      | 22.10 | 22.31 | 18.20  | 21.70  | 18.27   |
| 3-转角螺旋(1659~1666)                | 16.41      | 16.31 | 16.28 | 15.68  | 17.61  | 15.91   |
| 反平行 $\beta$ -折叠/聚合链(1680~1695)   | 9.71       | 7.88  | 7.93  | 9.41   | 9.40   | 9.38    |
| $\alpha$ -螺旋/( $\beta$ -折叠+无规卷曲) | 54.04      | 53.34 | 53.09 | 41.33  | 52.99  | 41.65   |

根据 1600~1700 $\text{cm}^{-1}$  区间的 2D-COS 发现,U 组中主要蛋白质二级结构的自动峰响应程度依次为:无规卷曲(1640~1645 $\text{cm}^{-1}$ )> $\beta$ -折叠(1630~1640 $\text{cm}^{-1}$ )> $\alpha$ -螺旋(1648~1657 $\text{cm}^{-1}$ ),E1 组和 UE1 组的响应程度依次为: $\alpha$ -螺旋>无规卷曲> $\beta$ -折叠,而 E10 组和 UE10 组的响应程度依次为: $\beta$ -折叠>无规卷曲> $\alpha$ -螺旋.同时,预处理过程中蛋白质二级结构的响应顺序也有所不同,E1 组和 UE1 中蛋白质二级结构的响应顺序为: $\beta$ -折叠→ $\alpha$ -螺旋→无规卷曲,U 组、E10 组和 UE10 组的响应顺序为: $\beta$ -折叠→无规卷曲→ $\alpha$ -螺旋.以上结果进一步表明预处理可以破坏餐厨垃圾中蛋白质的结构,且增加酶的投加量可以改变蛋白质二级结构的反应强度和反

应顺序,但联合超声波并不会影响酶预处理过程中蛋白质二级结构的反应强度和反应顺序.此外,蛋白质结构的破坏可能会驱动后续蛋白质和糖类的水解,提高餐厨垃圾的生物可利用度,进而提升厌氧消化效率<sup>[26]</sup>.

**2.3.3 外貌形态分析** 由图 5(g)可以看出,餐厨垃圾的外貌形态在预处理前致密而光滑,预处理后变得松弛且粗糙,进一步证明了预处理对餐厨垃圾组成和结构具有破坏作用,其中 UE1 组和 UE10 组中餐厨垃圾表面具有更多的孔隙和裂缝,这可以增加酶的可及性,进而提高预处理效率.此外,粗糙的结构也可以在厌氧消化过程中为功能微生物提供更多的附着点,进而促进餐厨垃圾的产甲烷效能<sup>[27]</sup>.

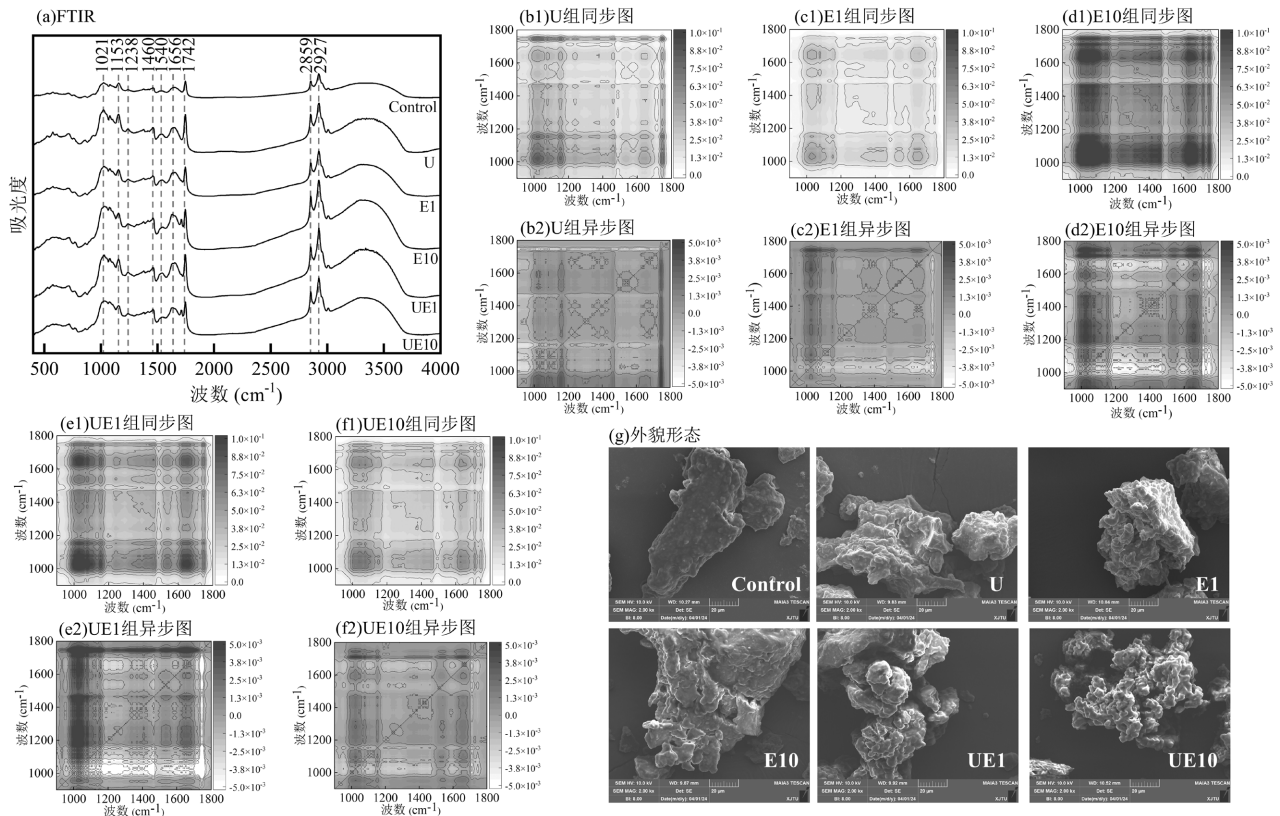


图5 餐厨垃圾预处理固体的 FTIR 图谱,2D-COS 图谱和外貌形态

Fig.5 FTIR spectra, 2D-COS spectra and surface morphology of food waste pretreated solid

## 2.4 微生物群落分析

**2.4.1 细菌群落分析** 厌氧消化过程中,微生物群落的组成和丰度对甲烷的生产起着至关重要的作用,本研究分别在不同分类水平上对细菌群落和古菌群落进行了分析(图6)。在细菌群落的门水平上(图6(a)),*Chloroflexi* 普遍存在于中温厌氧消化体系,具有降解淀粉的功能<sup>[28]</sup>。相较于 Control 组,预处理后 *Chloroflexi* 的丰度从 39.18%降低至 22.28%~37.27%,这可能是由于预处理过程已经将大部分淀粉降解,没有更多的淀粉提供给 *Chloroflexi* 利用或降解,导致其丰度下降。*Bacteroidota* 和 *Synergistota* 均为产酸细菌,可将糖类和蛋白质转化为乙酸、丙酸和丁酸供产甲烷菌利用,加速甲烷生产<sup>[29-30]</sup>。结果表明, *Bacteroidota* 和 *Synergistota* 的总丰度在预处理后均有所增加,且 E10 组(41.88%)高于 E1 组(33.29%), UE10(34.03%)组高于 UE1 组(33.57%),说明预处理后的餐厨垃圾更易于酸化,且增加酶投加量可进一步提升酸化效率,这可能与预处理液体更高的生物可降解性和预处理固体更粗糙的表面结构有关。*Firmicutes* 可以分泌多种水解酶(蛋白酶、纤维素

酶和脂肪酶等),进而提升厌氧消化过程中有机物的水解效率<sup>[29]</sup>。预处理后, *Firmicutes* 的丰度为 11.35%~20.23%,较高的丰度说明预处理后的餐厨垃圾中仍然有部分有机物需要进一步被厌氧微生物降解。

在属水平上(图6(b)),*norank\_o\_\_SBR1031* 可以降解多种有机物,尤其是惰性有机物<sup>[31]</sup>,其丰度在预处理后由 33.37%降低至 18.45%~31.12%,这可能是由于预处理率先降解了餐厨垃圾中的惰性有机物,导致厌氧消化过程中 *norank\_o\_\_SBR1031* 因底物(即惰性有机物)减少而降低了其在细菌群落中的竞争力。此外, *Clostridium\_sensu\_stricto\_1* 普遍存在于厌氧消化体系中,能够将各种碳源高效转化为乙酸、丁酸和  $H_2/CO_2$ <sup>[32]</sup>, *Petrimonas* 可将糖类转化为乙酸和  $H_2/CO_2$ ,并可能参与直接种间电子传递<sup>[33]</sup>, *Proteiniphilum* 可以将复杂的蛋白类底物转化为 VFAs<sup>[34]</sup>,除了 UE10 组外,以上 3 种产酸细菌的丰度之和在预处理后增加了 8.17%~30.51%,表明预处理有利于产酸细菌的富集,进而促进餐厨垃圾的酸化。

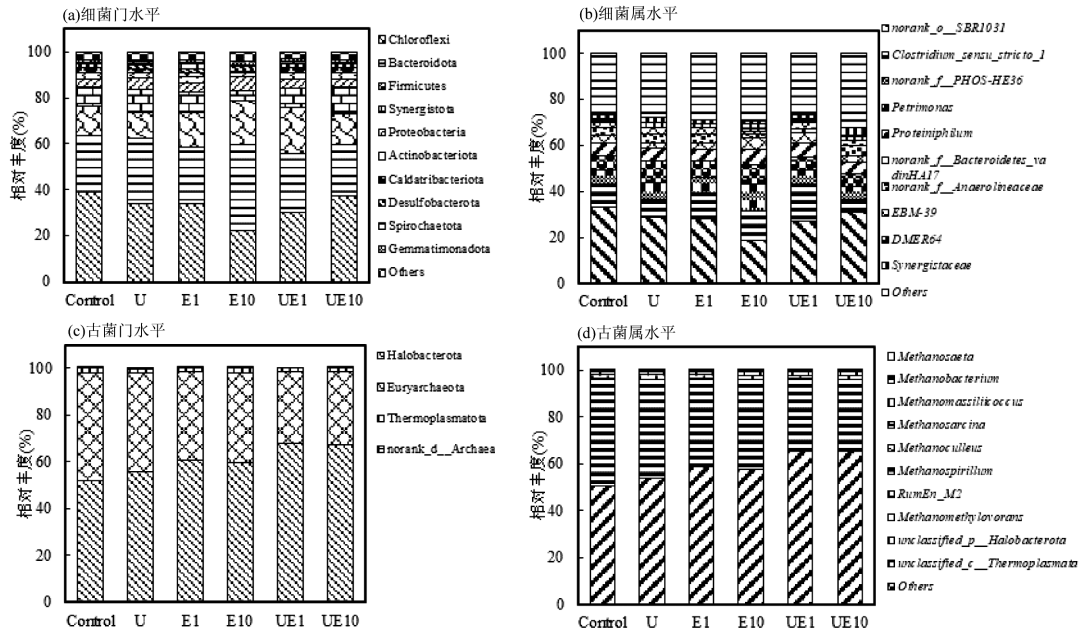


图 6 细菌群落及古菌群落在门和属水平的组成与相对丰度

Fig.6 Composition and relative abundance of bacterial and archaeal community at phylum and genus level

综上,预处理后水解细菌丰度降低,酸化细菌丰度增加,说明预处理可以重塑厌氧消化过程中细菌群落结构,这可能是由于预处理改变了餐厨垃圾中糖类和蛋白质的生物可降解性和可及性,导致厌氧消化过程中水解细菌的丰度因底物减少而降低,酸化细菌的丰度因底物可利用性提高而增加,进而克服了传统厌氧消化过程水解周期较长的问题,提升了餐厨垃圾的转化效率和甲烷产量。

**2.4.2 古菌群落分析** 在古菌群落中,门水平上主要为 Halobacterota 和 Euryarchaeota,约占总古菌数的 98%(图 6(c)),二者均可将乙酸、 $H_2/CO_2$  和甲基化合物(如甲酸、甲醇和甲胺)转化为甲烷。此外, Halobacterota 还可以提升直接种间电子传递效率, Euryarchaeota 还具备还原硝酸盐、固氮、代谢硫和铁的功能<sup>[35-36]</sup>。结果显示,预处理后 Halobacterota 的丰度从 52.23%上升至 55.61%~67.71%,其中 E1 组(60.86%)和 E10 组(59.58%)的丰度相当, UE1 组(67.71%)和 UE10 组(67.48%)的丰度相当,说明酶预处理过程中增加酶的投加量不会富集更多的 Halobacterota,而联合预处理有利于 Halobacterota 的富集,这可能会增强厌氧微生物的直接种间电子传递,进而提升甲烷产量。

在属水平上,古菌以 *Methanosaeta*(隶属于 Halobacterota 门)和 *Methanobacterium*(隶属于

Euryarchaeota 门)为主(图 6(d))。 *Methanosaeta* 为乙酸型产甲烷菌,可直接将乙酸转化为甲烷,而 *Methanobacterium* 为氢型产甲烷菌,只能利用  $H_2$  和  $CO_2$  生产甲烷。预处理后, *Methanosaeta* 的丰度从 50.63%增加至 53.94%~65.64%,而 *Methanobacterium* 的丰度从 45.95%减少至 30.81%~42.30%,表明预处理重塑了厌氧消化过程中古菌的群落结构,有利于乙酸型产甲烷菌的富集,进一步提升了餐厨垃圾的产甲烷效能<sup>[14]</sup>。此外, *Methanosaeta* 的变化趋势与 Halobacterota 门的变化趋势一致,即 *Methanosaeta* 在 E1 组(58.94%)和 E10 组(57.70%)中丰度相当,在 UE1 组(65.64%)和 UE10 组(65.39%)中丰度相当,说明酶预处理过程中增加酶的投加量不会富集更多的 *Methanosaeta*,而联合预处理有利于其富集,这进一步表明联合预处理比单一的酶预处理更有助于提升餐厨垃圾产甲烷效能。

### 3 结论

**3.1** 超声波联合菌基复合酶预处理后的餐厨垃圾比单一的超声波预处理和酶预处理后的餐厨垃圾具有更高的产甲烷效能,最大甲烷产量可达  $(369.86 \pm 14.06) \text{ mL/g VS}$ ,较未预处理提高了 57.21%。

**3.2** 超声波联合菌基复合酶预处理可以通过增强餐厨垃圾中有机物的溶解,促进糖类和蛋白质的降

解,提升预处理液体的生物可降解性,改变蛋白质的结构,以及破坏餐厨垃圾的外貌形态,进而强化餐厨垃圾产甲烷的效能。

**3.3 超声波联合菌基复合酶预处理重塑了厌氧消化过程中微生物的群落结构,水解细菌的丰度因底物减少而降低,酸化细菌的丰度因底物可利用度提高而增加,进而提升了厌氧消化效率,而乙酸型产甲烷古菌 *Methanosaeta* 的富集则进一步提升了餐厨垃圾的产甲烷效能。**

#### 参考文献:

- [1] 杜学勋,史晶晶,张斯颖.生物强化促进餐厨垃圾高温厌氧消化产甲烷性能的研究 [J]. 环境卫生工程, 2023,31:46-53.  
Du X X, Shi J J, Zhang S Y. Study on bioaugmentation to promote methanogenic performance of thermophilic anaerobic digestion of food waste [J]. Environmental Sanitation Engineering, 2023,31:46-53.
- [2] Wang D H, Lian S J, Wang R N, et al. Enhanced anaerobic digestion of food waste by metal cations and mechanisms analysis [J]. Renewable Energy, 2023,218:119386.
- [3] Gnaoui Y E, Karouach F, Bakraoui M, et al. Mesophilic anaerobic digestion of food waste: Effect of thermal pretreatment on improvement of anaerobic digestion process [J]. Energy Reports, 2020,6:417-22.
- [4] Hu Y, Liu S, Wang X, et al. Enhanced anaerobic digestion of kitchen waste at different solids content by alkali pretreatment and bentonite addition: Methane production enhancement and microbial mechanism [J]. Bioresource Technology, 2023,369:128369.
- [5] Ma Y Q, Liu Y. Turning food waste to energy and resources towards a great environmental and economic sustainability: An innovative integrated biological approach [J]. Biotechnology Advances, 2019,37:107414.
- [6] Chen J, Zhang B, Luo L, et al. A review on recycling techniques for bioethanol production from lignocellulosic biomass [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2021,149:111370.
- [7] Meng S, Yin Y, Yu L. Exploration of a high-efficiency and low-cost technique for maximizing the glucoamylase production from food waste [J]. RSC Advances, 2019,9:22980-22986.
- [8] Ma Y Q, Yin Y, Liu Y. New insights into co-digestion of activated sludge and food waste: Biogas versus biofertilizer [J]. Bioresource Technology, 2017,241:448-53.
- [9] Kiran E U, Trzcinski A P, Liu Y. Enhancing the hydrolysis and methane production potential of mixed food waste by an effective enzymatic pretreatment [J]. Bioresource Technology, 2015,183:47-52.
- [10] Li X, Mettu S, Martín G J O, et al. Ultrasonic pretreatment of food waste to accelerate enzymatic hydrolysis for glucose production [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2019,53:77-82.
- [11] Eniyan M C, Edwin M, Rajesh B J. Non-ionic surfactant integrated ultrasonic pretreatment on food waste for biomethane production: Process optimization and its impact on solubilization [J]. Energy Conversion and Management, 2024,311:118545.
- [12] Ciggin A S, Yılmaz F, Perendeci N A. Efficient environmentally friendly enzymatic and ultrasonic pretreatment of lignocellulosic wastes for enhanced methane production [J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2024, 14:24021-24039.
- [13] Chen J, Zhang B, Liu B, et al. Full components conversion of lignocellulose via a closed-circuit biorefinery process on a pilot scale [J]. Environmental Research, 2022,214:113946.
- [14] Chen J, Cui L, Yan Y, et al. In situ preparation of oriented microbial consortium-based compound enzyme strengthens food waste disintegration and anaerobic digestion: Performance, mechanism, microbial communities and global metabolic pathways [J]. Chemical Engineering Journal, 2024,486:150208.
- [15] Chen W, Westerhoff P, Leenheer J A, et al. Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter [J]. Environmental Science & Technology, 2003,37:5701-5710.
- [16] Stedmon C A, Bro R. Characterizing dissolved organic matter fluorescence with parallel factor analysis: a tutorial [J]. Limnology and Oceanography: Methods, 2008,6:572-579.
- [17] Chew K R, Leong H Y, Khoo K S, et al. Effects of anaerobic digestion of food waste on biogas production and environmental impacts: a review [J]. Environmental Chemistry Letters, 2021,19:2921-2939.
- [18] Sun J, Guo L, Li Q, et al. Three-dimensional fluorescence excitation-emission matrix (EEM) spectroscopy with regional integration analysis for assessing waste sludge hydrolysis at different pretreated temperatures [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016,23:24061-24067.
- [19] Ma Y Q, Gu J, Liu Y. Evaluation of anaerobic digestion of food waste and waste activated sludge: Soluble COD versus its chemical composition [J]. Science of the Total Environment, 2018,643:21-27.
- [20] Xu M, Yang M, Sun H, et al. Role of multistage inoculation on the co-composting of food waste and biogas residue [J]. Bioresource Technology, 2022,361:127681.
- [21] Jingyi Y, Reddy C K, Fan Z, et al. Physicochemical and structural properties of starches from non-traditional sources in China [J]. Food Science and Human Wellness, 2023,12:416-423.
- [22] Han Y, Wang J, Li Y, et al. Circular dichroism and infrared spectroscopic characterization of secondary structure components of protein Z during mashing and boiling processes [J]. Food Chemistry, 2015,188:201-209.
- [23] Chen J, Yan Y, Cui L, et al. Impact of pH-mediated *in situ* enzymatic pretreatment on food waste decomposition and biomethane production: Performance, mechanism, and key metabolic pathways [J]. Chemical Engineering Journal, 2024,490:151931.
- [24] Noda I. Generalized two-dimensional correlation method applicable to infrared, raman, and other types of spectroscopy [J]. Applied Spectroscopy, 1993,47:1329-1336.
- [25] Hou X, Liu S, Zhang Z. Role of extracellular polymeric substance in determining the high aggregation ability of anammox sludge [J]. Water Research, 2015,75:51-62.
- [26] Pang H, Jiao Q, Wei Q, et al. Feasibility of membrane distillation brine assistant anaerobic fermentation for enhancing carbon migration and recovery from excess sludge: Two wastes into one resource [J].

- Chemical Engineering Journal, 2023,462:142264.
- [27] Dhull P, Lohchab R K, Kumar S, et al. Anaerobic digestion: Advance techniques for enhanced biomethane/biogas production as a source of renewable energy [J]. BioEnergy Research, 2024,17:1228-1249.
- [28] Niu C, Pan Y, Lu X, et al. Mesophilic anaerobic digestion of thermally hydrolyzed sludge in anaerobic membrane bioreactor: Long-term performance, microbial community dynamics and membrane fouling mitigation [J]. Journal of Membrane Science, 2020,612:118264.
- [29] Zhu L, Wu B, Liu Y, et al. Strategy to enhance semi-continuous anaerobic digestion of food waste by combined use of calcium peroxide and magnetite [J]. Water Research, 2022,221:118801.
- [30] 耿涛,赵立欣,姚宗路,等.水热炭强化秸秆厌氧发酵产甲烷效能及作用机制 [J]. 中国环境科学, 2024,44(8):4415-4424.  
Geng T, Zhao L X, Yao Z L, et al. Effect and the mechanism of hydrochars on methane production of cornstalk digestion [J]. China Environmental Science, 2024,44(8):4415-4424.
- [31] Liu X, Zhu X, Yellezuome D, et al. Effects of adding *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* in the hydrogen production stage of a two-stage anaerobic digestion system on hydrogen-methane production and microbial communities [J]. Fuel, 2023,342:127831.
- [32] Li J, Li C, Li Y, et al. Elucidation of high removal efficiency of dichlorophen wastewater in anaerobic treatment system with iron/carbon mediator [J]. Journal of Cleaner Production, 2022,330:129854.
- [33] Zhao Z, Zhang Y. Application of ethanol-type fermentation in establishment of direct interspecies electron transfer: A practical engineering case study [J]. Renewable Energy, 2019,136:846-855.
- [34] Fernandez G N, Pedizzi C, Lema J M, et al. Air-side ammonia stripping coupled to anaerobic digestion indirectly impacts anaerobic microbiome [J]. Microbial Biotechnology, 2019,12:1403-1416.
- [35] Nobu M K, Narihiro T, Mei R, et al. Catabolism and interactions of uncultured organisms shaped by eco-thermodynamics in methanogenic bioprocesses [J]. Microbiome, 2020,8:111.
- [36] Fan Q, Fan X, Fu P, et al. Anaerobic digestion of wood vinegar wastewater using domesticated sludge: Focusing on the relationship between organic degradation and microbial communities (archaea, bacteria, and fungi) [J]. Bioresource Technology, 2022,347:126384.

**作者简介:** 陈佳新(1995-),男,宁夏银川人,博士在读,研究方向为有机固体废物废弃物处置与资源化.发表论文 8 篇.jiaxin.chen@stu.xjtu.edu.cn.