

餐厨垃圾发酵生产生物活性蛋白饲料的工艺研究

龚仁 宋鹏 陈五岭

摘要 对热带假丝酵母、黑曲霉、枯草芽孢杆菌、解脂假丝酵母在经处理后的餐厨垃圾上混合发酵,将餐厨垃圾转化为生物活性蛋白饲料的工艺条件进行了试验研究。得到其试验最佳工艺条件为:以2:2:1的黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌为混合菌剂,接种量1%,添加1.5%尿素,30℃发酵48 h后晾晒烘干,所得生物蛋白饲料粗蛋白、粗脂肪、灰分、粗纤维、水分含量分别为28.57%、2.16%、1.27%、2.09%、15.73%,且有酒香味,适口性好。

关键词 餐厨垃圾;菌体蛋白;混合发酵;蛋白饲料

中图分类号 Q93

伴随着经济的发展和城市化进程的加快,城市生活垃圾的排放量愈来愈大,其中餐厨垃圾的比例日渐上升,占到了城市生活垃圾的37%~62%。餐厨垃圾主要是指厨房的下脚料和餐余的废弃物^[1],包括油、水、果皮、蔬菜、米面、鱼、肉、骨头以及废餐具、塑料、纸巾等多种物质的混合物。餐厨垃圾中含有大量的糖、淀粉、蛋白质,且盐分和油脂含量也很高。如果不加处理,餐厨垃圾极易变质、腐烂、发酵,滋生蚊蝇,产生大量毒素及散发恶臭气体,污染水体和大气,直接排入下水道还会引起下水道堵塞^[2]。传统的处理方法,主要集中在直接或加热后用于饲喂,但由于其来源复杂,含有各种细菌和病原菌,可能因食物链危害人体健康。近年来,为了规范养殖业,防止畜禽养殖污染,餐厨垃圾直接用于饲喂畜禽已受到很大限制^[3]。但餐厨垃圾具有丰富营养元素,高有机物及无机盐含量,若能有效处理是具有一定的利用价值的。

1 材料与方法

1.1 原材料

餐厨垃圾,由银川市保绿特生物技术公司提供。餐厨垃圾样品经过固液分离→蒸汽加热除油→固体处理(去除动物硬骨、废餐具、纸巾及其它杂质)→液体的油水分离(油液制取精制滴水油;污水经二次发酵工艺转化成液体生物菌肥)^[4]。经过以上方法处理的固体原料为本试验所需材料。本试验样品的成分如表1所示。

表1 经处理后的餐厨垃圾主要成分及含量(%)

项目	含量
水分	75.23
粗脂肪(干物质)	3.57
粗蛋白(干物质)	20.57
粗纤维(干物质)	3.26
粗灰分(干物质)	1.97

1.2 菌种

热带假丝酵母(*Candida tropicalis*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、解脂假丝酵母(*Candida lipolytica*)。

本试验所用菌种均为农业部关于微生物饲料生物安全通用技术准则附录中规定使用的生产菌种。

1.3 培养基

PDA培养基(马铃薯葡萄糖培养基):马铃薯(去皮)200 g、蔗糖(或葡萄糖)20 g、水1 000 ml;pH值自然,用于培养黑曲霉。

牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏3 g、蛋白胨10 g、NaCl 5 g、琼脂、水1 000 ml,pH值7.0~7.2,用于培养枯草芽孢杆菌。

豆芽汁琼脂培养基:黄豆芽100 g、葡萄糖20 g、水1 000 ml,pH值自然,用于培养酵母菌。

固体发酵培养基:经过预处理的餐厨垃圾,在接种前,向固体物料中添加1%~3%的尿素,10%~40%的秸秆、绒糠、果渣辅料将其C/N调节到30~35:1,含水率降低至40%~50%。

1.4 试验方法

将一定量的经处理后的餐厨垃圾加不同的氮源作为发酵培养基,分别接入一定量的热带假丝酵母、黑曲霉、枯草芽孢杆菌、解脂假丝酵母,在一定的培养条件下进行发酵培养。测定发酵产物中的蛋白含量,

龚仁,西北大学生命科学学院,710069。

宋鹏,陈五岭(通讯作者),单位及通讯地址同第一作者。

收稿日期:2008-08-11

据此确定最适发酵工艺条件^[5]。

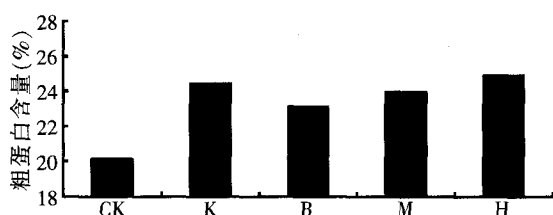
1.5 试验分析方法

发酵产品用蒸馏水漂洗3次,离心弃去上清液,以除去其中的无机氮。沉淀物于60~65℃烘干并粉碎。粗蛋白、粗脂肪、灰分、粗纤维、水分的测定分别采用微量凯氏定氮法(GB 6432—94)、索氏提取法(GB 6433—86)、高温灼烧法(GB 6438—86)、酸碱洗涤法(GB/T 6434—94)和105℃恒温烘干失重法(GB 6435—86)^[6]。

2 试验分析

2.1 菌种发酵试验

2.1.1 单一菌种发酵试验(见图1)



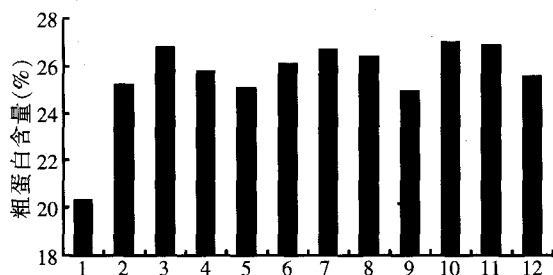
注:CK-对照,K-枯草芽孢杆菌、B-热带假丝酵母、M-解脂假丝酵母、H-黑曲霉。

图1 不同接入菌的发酵产品的粗蛋白含量的影响

称固体发酵培养基500g,尿素7.5g;单菌发酵每瓶接1%酵母菌悬液,细菌发酵每瓶接1%细菌菌悬液,霉菌发酵每瓶接1%孢子悬液,30℃培养48h,测定粗蛋白含量。

由图1可知,向固体发酵培养基中接入各种供试菌种均能显著提高发酵产品的粗蛋白含量。

2.1.2 混合菌种发酵试验(见图2)



注:1-对照,2-黑曲霉+热带假丝酵母,3-黑曲霉+解脂假丝酵母,4-黑曲霉+枯草芽孢杆菌,5-热带假丝酵母+解脂假丝酵母,6-热带假丝酵母+枯草芽孢杆菌,7-解脂假丝酵母+枯草芽孢杆菌,8-黑曲霉+热带假丝酵母+解脂假丝酵母,9-黑曲霉+解脂假丝酵母+枯草芽孢杆菌,10-黑曲霉+热带假丝酵母+枯草芽孢杆菌,11-热带假丝酵母+解脂假丝酵母+枯草芽孢杆菌,12-黑曲霉+热带假丝酵母+解脂假丝酵母+枯草芽孢杆菌。

图2 不同菌种组合发酵产品粗蛋白含量的影响

称固体发酵培养基500g,尿素7.5g,分别接入1%不同组合的混合菌种,各菌种之间的比例为1:1:1:1,pH值自然,30℃培养48h后观察培养物的外观及测定粗蛋白含量。

图2显示,在不同组合的混合菌种中,黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌混合发酵得到的发酵产物粗蛋白含量最高,达到27.01%。

2.1.3 接种量试验(见图3)

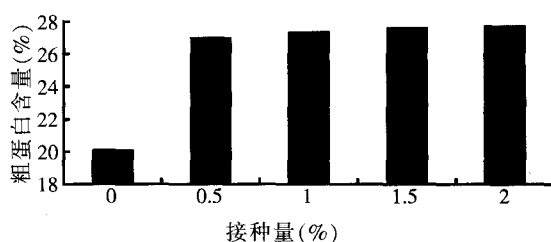
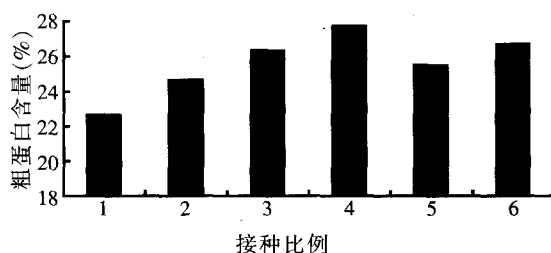


图3 不同接种量对发酵产物粗蛋白含量的影响

称固体发酵培养基500g,尿素7.5g,无菌操作分别接入0.5%、1%、1.5%、2%的黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌混合菌剂,各菌种比例为1:1:1,pH值自然,30℃培养48h后观察培养物的外观及测定粗蛋白含量。

不同的接种量对发酵产物中的粗蛋白含量具有一定的影响,由图3可以看出,接种量1%的发酵产物粗蛋白含量较高,但是接种量超过1%以后,发酵产物中粗蛋白含量并没有明显增加。因此,从经济及生产实践的角度来看,选择接种量1%较为适宜。

2.1.4 接种比例试验(见图4)



注:黑曲霉:热带假丝酵母:枯草芽孢杆菌接种比例分别为1-1:1:1,2-1:1:2,3-1:2:1,4-2:2:1,5-1:2:2,6-3:1:2。

图4 不同接种比例对发酵产物粗蛋白含量的影响

称固体发酵培养基500g,尿素7.5g;无菌操作接入黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌混合菌剂,接种比例分别为1:1:1、1:1:2、1:2:1、1:2:2、2:2:1和3:1:2,pH值自然,30℃培养48h后

观察培养物的外观及测定蛋白含量。

由图4可以看出,当黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌之间的比例为2:2:1时,其发酵产物中的粗蛋白含量最高,达到27.49%。试验中还观察到,当菌种配比为2:2:1时,发酵产品感官明显改善。因此,采用2:2:1为黑曲霉、热带假丝酵母和枯草芽孢杆菌的最佳比例。

2.2 混合菌种发酵条件的试验

2.2.1 氮源的选择及加入量的确定(见图5)

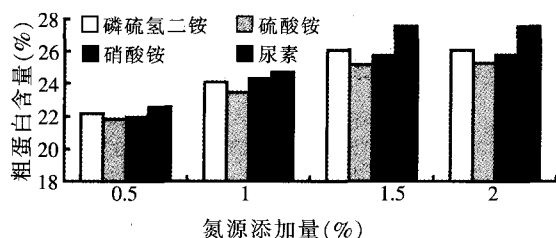


图5 不同氮源及添加量对发酵产物粗蛋白的影响

氮源的选择直接影响菌体蛋白的合成,在等量氮的条件下,加入不同氮源时发酵产物粗蛋白含量存在一定差别,因此,我们对添加氮源的种类和添加量进行了研究。

在干热灭菌广口瓶加入50 g固体发酵培养基,再分别添加不同量的硝酸铵、尿素、磷酸氢二铵、硫酸铵,按照优化的菌种组合、比例,接入通过扩大培养的黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌混合菌剂,接种量1%,pH值自然,30℃培养48 h后测定粗蛋白含量。

由图5可以看出,磷酸氢二铵、硫酸铵、硝酸铵、尿素这4种氮源均可以提高发酵产物粗蛋白的含量,在等氮量的情况下,尿素对发酵产物的粗蛋白含量的增幅高于其它氮源。当尿素添加量为1.5%时,发酵产品的粗蛋白含量可达27.76%。但是添加量超过1.5%时,尿素残留量上升,发酵产品有刺鼻氨水味。因此采用1.5%为最佳尿素添加量。

2.2.2 发酵基质含水量对发酵产品粗蛋白含量的影响(见图6)

发酵底物为固体餐厨垃圾,按照优化的菌种组合、比例,接入通过扩大培养的黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌混合菌剂,接种量为1%,pH值自然,30℃培养48 h,取含水量20%、30%、40%、50%、60%、70%发酵基质进行固体发酵实验,微量凯氏定氮法测定产品粗蛋白含量。

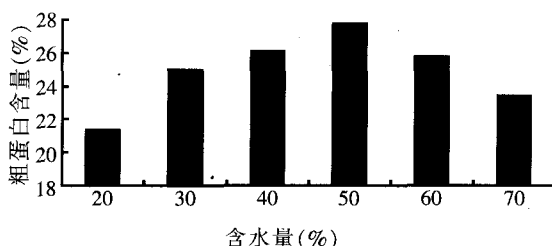


图6 不同含水量对发酵产物蛋白质含量的影响

含水量过低,造成基质膨胀程度低,微生物生长受抑制;含水量过高,会导致基质多孔性降低,发酵物粘度过大,减少基质内气体的体积和气体交换,难以通风、降温,产品粗蛋白含量明显降低,而且增加了杂菌污染的危险。

由图6可以看出,随着含水量的增加,粗蛋白含量升高,含水量达到50%时,粗蛋白含量最高,为27.78%。但是当含水量超过50%粗蛋白含量降低,这是因为随着水分的增加,发酵基质的粘度增大,发酵物料的通气量受到影响。因此,采用50%为发酵底物最佳含水量。

2.2.3 发酵温度对发酵产品粗蛋白含量的影响(见图7)

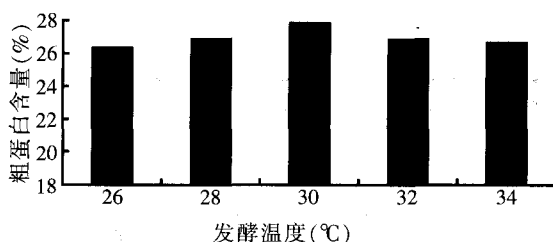


图7 不同发酵温度对发酵产物蛋白质含量的影响

在干热灭菌广口瓶中加入50 g固体发酵培养基,0.75 g尿素,按照优化的菌种组合、比例,接入通过扩大培养的黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌混合菌剂,接种量为1%,pH值自然,分别在26、28、30、32、34℃发酵48 h,测定粗蛋白含量。

温度是微生物正常生长的必要保障,每种微生物都有其最适的生长温度,由于混合发酵涉及多种微生物的共同生长,因而选择合适的发酵温度,平衡各个微生物之间的生长繁殖,将会对发酵产品的质量有着十分重要的影响。

由图7可以看出,一开始随着温度的升高,发酵产物粗蛋白含量逐渐升高,在30℃达到最高值,粗蛋白含量达到27.85%。但继续升高温度,反而抑制了部分微生物的生长,使得粗蛋白含量反而有所下降。因

此,生产中采用 30 ℃ 较为合适。

2.2.4 发酵时间对发酵产品粗蛋白含量的影响(见图 8)

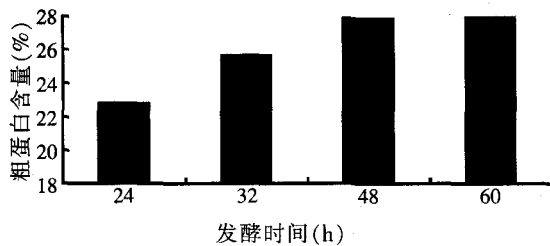


图 8 不同发酵时间对发酵产物蛋白质含量的影响

在干热灭菌广口瓶中加入 50 g 固体发酵培养基,0.75 g 尿素,按照优化的菌种组合、比例,接入通过扩大培养的黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌混合菌剂,接种量为 1%,pH 值自然,30 ℃ 分别培养 24、32、48、60 h,观察培养物的外观及测定粗蛋白含量。

由图 8 可以看出,随着发酵时间的增长,发酵产物粗蛋白含量升高,培养 48 h 时发酵产物的粗蛋白含量达到 27.91%。随着发酵时间的增加,粗蛋白含量没有明显的提高。因此,采用 48 h 为最适发酵时间。

2.2.5 正交试验结果(见表 2)

表 2 正交试验

试验号	因素				粗蛋白含量(%)
	A 接种量	B 发酵时间	C 发酵温度	D 含水量	
1	1(0.5%)	1(24 h)	1(30 ℃)	1(60%)	24.32
2	1	2(32 h)	2(32 ℃)	2(50%)	25.47
3	1	3(48 h)	3(34 ℃)	3(40%)	26.43
4	2(1%)	1	2	3	24.81
5	2	2	3	1	26.32
6	2	3	1	2	28.57
7	3(1.5%)	1	3	2	26.43
8	3	2	2	3	24.17
9	3	3	1	1	27.54
K ₁	22.41	22.19	24.26	23.13	
K ₂	23.95	22.32	21.82	24.21	
K ₃	23.11	24.97	23.39	22.14	
R	1.54	2.78	2.44	2.07	

从 R 值分析可知,影响试验结果的因素依次为 B>C>D>A,即对发酵产物粗蛋白含量影响由大到小依次为发酵时间、温度、含水量、接种量。从 K 值可以看出 A₂B₃C₁D₂ 的发酵产物粗蛋白含量最多,即以含水 50% 的餐厨垃圾固体成分为原料,接入混合菌剂 1%,在 30 ℃ 下发酵 48 h。从正交试验结果也可以看出 A₂B₃C₁D₂ 为最优试验条件,与上文所得结论相符。

2.2.6 发酵产物指标的测定结果

经过前期处理的餐厨垃圾,以 2:2:1 的黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌为混合菌剂,接种量 1%,添加 1.5% 尿素,30 ℃ 发酵 48 h,发酵产物经过晾晒、烘干,即制成生物蛋白饲料,并对其进行各项指标的测定,结果见表 3。

由表 3 可以看出,餐厨垃圾固体经过微生物发酵制备的生物蛋白饲料粗蛋白含量为 28.57%,粗脂肪为 2.16%,灰分为 1.27%,粗纤维 2.09%,水分 15.73%。发酵产物有酒香味,无霉味。

表 3 蛋白饲料各项指标的测定(%)

项目	发酵原料	蛋白饲料
水分	75.23	15.73
粗脂肪	3.57(干物质)	2.16(干物质)
粗蛋白	20.57(干物质)	28.57(干物质)
粗纤维	3.26(干物质)	2.09(干物质)
粗灰分	1.97(干物质)	1.27(干物质)

3 小结

以处理过的餐厨垃圾固体成分为原料,通过生物量观察试验、固体发酵试验和正交试验,确定了发酵最优工艺条件:以 2:2:1 的黑曲霉、热带假丝酵母、枯草芽孢杆菌为混合菌剂,接种量 1%,添加 1.5% 尿素,30 ℃ 发酵 48 h 后晾晒、烘干,所得生物蛋白饲料粗蛋白含量为 28.57%,粗脂肪为 2.16%,灰分为 1.27%,粗纤维 2.09%,水分 15.73%。发酵产物有酒香味,无霉味。实际生产时,需鼓风或搅拌以提高生产效率。

参考文献

- [1] 吕凡,何晶晶,邵立明,等.餐厨垃圾高温好氧生物消化工艺控制条件优化[J].同济大学学报,2003,31(2): 233-238.
- [2] 王星,王德汉,徐菲,等.餐厨垃圾厌氧消化的工艺比选研究[J].能源工程,2005(5):27-31.
- [3] 孙向军,冯蒂,吴冰丝,等.上海市泔脚垃圾的处理及管理[J].环境卫生工程,2002(9):130-132.
- [4] 李孜男,顾玉祥.餐厨垃圾综合处理利用[J].上海建设科技,2007(1):57-59.
- [5] 高再兴,陈五岭,段东霞,等.微生物发酵果渣蛋白饲料Ⅱ:发酵工艺条件的研究[J].西北大学学报(自然科学版),2003,33(6):701-704.
- [6] 陈五岭,段东霞,高在兴.微生物发酵果渣蛋白饲料Ⅰ:菌种选育及理化性质测定[J].西北大学学报(自然科学版),2003,33(1): 91-93.

(编辑:徐世良,fi-xu@163.com)