

冻干预处理对烤后废弃烟叶产甲烷潜力的影响

徐建雪, 薛寒光, 黄弘毅, 何岳巍, 韩睿, 彭星, 黎娟

引用本文:

徐建雪, 薛寒光, 黄弘毅, 何岳巍, 韩睿, 彭星, 黎娟. 冻干预处理对烤后废弃烟叶产甲烷潜力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(5): 1122-025-1.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0858>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

汽爆预处理对废弃烤后烟叶产甲烷潜力的影响

黄弘毅, 薛寒光, 李超, 黎娟, 王冠华, 邵思

农业环境科学学报. 2020, 39(8): 1854-1861 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0310>

碱预处理稻秆与猪粪混合厌氧发酵特性研究

付嘉琦, 夏嵩, 陈小平, 付尹宣, 晏恒, 吴九九

农业环境科学学报. 2018, 37(6): 1255-1261 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1498>

UPLC-MS/MS直接进样快速测定水体中41种初级芳香胺

王璐, 贺泽英, 孙小杰, 史小萌, 何沛桥, 王策, 刘潇威

农业环境科学学报. 2020, 39(9): 2098-2104 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0082>

蒸汽爆破/氧化钙联合预处理对水稻秸秆厌氧干发酵影响研究

王星, 李强, 周正, 贺静, 邓雅月, 张敏, 尹小波

农业环境科学学报. 2017, 36(2): 394-400 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1387>

不同黄贮预处理对水稻秸秆干法厌氧发酵特性的影响

王振旗, 张敏, 沈根祥, 王晨, 钱晓雍, 倪远之, 张心良

农业环境科学学报. 2021, 40(4): 894-901 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1100>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

徐建雪, 薛寒光, 黄弘毅, 等. 冻干预处理对烤后废弃烟叶产甲烷潜力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(5): 1122–1130.

XU J X, XUE H G, HUANG H Y, et al. Effects of pretreatment by freeze–vacuum drying on the biochemical methane potential of waste cured tobacco leaves[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(5): 1122–1130.



开放科学 OSID

冻干预处理对烤后废弃烟叶产甲烷潜力的影响

徐建雪^{1,2}, 薛寒光², 黄弘毅¹, 何岳巍², 韩睿³, 彭星⁴, 黎娟^{1,2*}

(1. 湖南农业大学农学院, 长沙 410128; 2. 湖南碧臣环境能源有限公司, 长沙 410100; 3. 青海大学农林科学院, 青海省蔬菜遗传与生理重点实验室, 西宁 810016; 4. 湖南联合餐厨垃圾处理有限公司, 长沙 410022)

摘要:为探究冷冻真空干燥预处理对烤后废弃烟叶产甲烷潜力的影响,实现烤后废弃烟叶的资源化利用,促进碳中和背景下烟草行业绿色清洁生产体系的发展,对烤后废弃烟叶分别进行0、1、3、5、10 h冷冻真空干燥预处理(L1~L5),比较了预处理前后烤后废弃烟叶表面微观结构、木质纤维素结构、总糖含量、烟碱含量等的变化,并对烤后废弃烟叶进行了产甲烷潜力(BMP)测试分析。结果显示:未预处理(L0)与L1~L5处理烤后废弃烟叶BMP值(以单位质量挥发性固体在厌氧条件下的产甲烷量表示)分别为200.74、208.64、220.98、224.28、211.11、209.30 mL·g⁻¹,预处理较未预处理BMP分别增加了3.94%、10.08%、11.73%、5.16%及4.26%。经冷冻真空干燥预处理后,烟叶表面呈现褶皱和卷曲,产生疏松多孔的物理结构,有效增大了微生物接触面积。但长时间的真空干燥除了较大程度增加预处理能耗,还会造成烟叶有机成分的损失。因此,基于预处理能耗成本和甲烷产量效益的综合考虑,应控制冻干时长,进一步优化预处理工艺。

关键词:厌氧发酵;烤后废弃烟叶;冷冻真空干燥;产甲烷潜力

中图分类号:X795 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)05-1122-09 doi:10.11654/jaes.2021-0858

Effects of pretreatment by freeze–vacuum drying on the biochemical methane potential of waste cured tobacco leaves

XU Jianxue^{1,2}, XUE Hanguang², HUANG Hongyi¹, HE Yuewei², HAN Rui³, PENG Xing⁴, LI Juan^{1,2*}

(1. College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Hunan BISEN Environmental & Energy Co., Ltd., Changsha 410100, China; 3. Qinghai Key Laboratory of Vegetable Genetics and Physiology, Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Qinghai University, Xining 810016, China; 4. Hunan United Kitchen Waste Treatment Co., Ltd., Changsha 410022, China)

Abstract: This study aimed to explore the effect of pretreatment by freeze–vacuum drying on the biochemical methane potential (BMP) of waste cured tobacco leaves, in order to improve their utilization and promote the development of a greener and cleaner production system that would help tobacco companies around the world fulfil their pledges on carbon neutrality. Waste cured tobacco leaves were pretreated by freeze–vacuum drying for 0, 1, 3, 5 h, and 10 h. The surface microstructures, lignocellulosic structures, total sugar contents, and nicotine contents of the samples were compared, and their BMP were calculated. The BMP of waste cured tobacco leaves were 200.74, 208.64, 220.98, 224.28, 211.11 mL·g⁻¹, and 209.30 mL·g⁻¹ (calculated by CH₄ production per gram of volatile solid), respectively. Compared with that of untreated leaves, the BMP of waste cured tobacco leaves pretreated for 0, 1, 3, 5 h, and 10 h increased by 3.94%, 10.08%, 11.73%,

收稿日期: 2021-07-30 录用日期: 2021-12-03

作者简介: 徐建雪(1996—),女,云南施甸人,硕士研究生,研究方向为农作废弃物厌氧消化处理。E-mail: xujianxue6@163.com

*通信作者: 黎娟 E-mail: adalee619@163.com

基金项目: 湖南省“湖湘青年英才”计划项目(2020RC3073);长沙市科技重点项目(khl1902215);青海省自然科学基金面上项目(2021-ZJ-921);湖南省自然科学基金项目(2019JJ50239)

Project supported: The Hunan (Hu–Xiang) Youth Talent Program (2020RC3073); Science and Technology Key Program of Changsha (khl1902215); The Natural Science Foundation of Qinghai Province, China (2021-ZJ-921); The Natural Science Foundation of Hunan Province, China (2019JJ50239)

5.16%, and 4.26%, respectively. After freeze-vacuum drying, the surface of the leaves became wrinkled and curled, and presented a loose and porous physical structure, which could effectively increase the area of contact with microorganisms. However, long-term freeze-vacuum drying not only increased the energy consumption to a large extent, but also caused the loss of organic components of the material. Finally, the recommended pretreatment time was calculated based on the balance between the energy derived from methane production and that required for freeze-vacuum drying, which is essential for assessing the sustainability of this process.

Keywords: anaerobic digestion; waste cured tobacco leave; freeze-vacuum drying; biochemical methane potential

烤后废弃烟叶是指烟草行业中烘烤后不能使用的低等级或等级外烟叶,以及卷烟企业积存的霉变烟叶、烟末、烟梗等^[1-2]。烟叶在烘烤过程中,经特定的温度和湿度调节不断脱水干燥,外观质量及内部化学成分都会发生变化,因此烤后废弃烟叶具有以下特点:(1)烟叶叶色发黄,叶片收缩干燥,出现沟壑^[3];(2)有机质含量丰富。鲜烟叶内淀粉、蛋白质等大分子物质在烘烤过程中转化为小分子的糖及氨基酸^[4],烤后烟叶总糖含量为15%~35%^[5],果糖与葡萄糖含量分别为烘烤前的5.51倍和8.31倍^[6]。烟草废弃物属于非卖品,需要规避流入市场造成假烟泛滥^[7],目前对于烤后废弃烟叶的处理方法主要有焚烧、水浸、毁形及填埋等,这些处理方法不仅会造成烤后废弃烟叶资源的巨大浪费,而且会产生浓烟、污水等环境污染物。

厌氧生物降解技术具有可回收生物质能源^[8]、提供优质沼肥^[9]、杀灭病原菌^[10]等优点,甲烷作为其主要生物质能源,可实现与其他能源载体的灵活转换,是可再生能源规模化发展的必要支撑^[11]。据统计,我国年产烟叶约480万t,在烟叶加工过程中会产生20%~25%的烟叶废弃物^[1],环境污染问题突出。利用烤后废弃烟叶进行厌氧发酵,能产生甲烷等清洁能源,沼渣、沼液制成有机肥还能用于改良烟田土壤。目前学术界和工业界大量厌氧消化的应用研究都是以粮食作物秸秆和养殖等农业废弃物为研究对象,而对烟草等经济作物废弃物的资源化利用研究较少。黄弘毅等^[12]利用烤后废弃烟叶进行甲烷潜力测试,发现烤后废弃烟叶产甲烷潜力为252.7 mL·g⁻¹(以挥发性固体计),是良好的生物质原料。然而,烤后废弃烟叶属纤维素类原料,内部紧密相连的木质素、纤维素与半纤维素阻碍了微生物和酶对物料的降解^[13]。合理的预处理可以破坏木质纤维素结构、增大接触面积、提高产气效率^[14]。纤维素类物料的预处理方法主要有物理法、化学法、生物法以及物理化学法^[15]。化学预处理需投入较高成本的化学试剂,操作复杂,易产生抑制物。生物预处理周期较长,生物酶及菌剂的成本高,难以大规模投入生产^[16-18]。物理化学预处理强度

一般较高,物料有机成分易损失或变性转化,且伴随有抑制物生成等问题。物理预处理可降低生物质的粒度或结晶度,破坏半纤维素和木质素的结合层,增大物料的比表面积,提高纤维素的酶解转化率。AL AFIF等^[19]通过简单的物理预处理技术减小棉花籽粒径不仅能增加甲烷产量,还能有效缩短棉花籽发酵周期。因此,找到一种既能保持烤后废弃烟叶有机成分又能有效提高产甲烷效率的预处理方法尤为重要。

冷冻真空干燥(冻干)技术克服了传统预处理高温、高强度运行条件导致的有机化学成分流失、转化等问题,该技术利用水的三相原理,可在高真空、低温状态下,达到物料水分冰晶升华干燥的目的^[20]。冻干技术不仅能有效保持物料营养成分,还能在升华过程中留下冰晶孔隙,保持物质外观形态^[21]。目前,冻干技术已广泛应用于制药与食品行业^[22],冻干处理除了能够较好地保持蛋白质、脂肪及总酚等营养物质,增加还原糖含量,还能保持疏松多孔的组织结构^[23]。低温条件下热敏物质不易变形,挥发性有机物质不易挥发,从而有利于充分保持物料有机质含量及原有特性^[24]。冻干预处理除了能保持物料特性与原有结构,还能对物料中纤维素降解产生一定的影响。ROONI等^[25]通过对小麦秸秆进行冷冻预处理得到结论:冷冻预处理对小麦秸秆纤维素含量无明显影响,但能显著增加纤维素的降解能力。QI等^[26]的研究表明,花生壳经过冷冻预处理后,细胞发生分层与剥离,从而提高了生物质回收效率。尽管我国真空冷冻干燥装备产业齐全,在食品和中医药加工领域冻干技术也有广泛的应用,但鲜有利用冻干预处理技术辅助农业废弃物转化为高效、清洁生物质能源的相关研究。

本研究旨在利用冻干技术既能保持物料物理形态结构,又能最大程度保持发酵物料营养成分的特点^[27],通过对烤后废弃烟叶进行不同时长的冻干预处理,进行各表征参数分析,探索冻干预处理对烤后废弃烟叶产甲烷潜力(BMP)的影响,以期冻干预处理技术应用于厌氧发酵产甲烷及废弃烟叶资源化利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用烤后废弃烟叶为湖南省郴州市桂阳县白云村当季烘烤不合格烟叶,手动将烤后废弃烟叶裁剪为约1 cm×1 cm方形薄片后混合均匀,平均分成6等份,置于4℃冰箱中储存备用。

实验用接种物取自中国山东民和牧业大型沼气发电一期工程中以鸡粪与废水为原料的厌氧污泥,样品置于4℃冰箱中储存备用。实验开始前一周将接种泥在中温(37℃)厌氧条件下进行驯化,以消耗接种物中的残留有机物,减小实验误差。预培养结束后,对接种物pH、总固体含量(Total solid, TS)、挥发性固体含量(Volatile solid, VS)进行测定,结果显示接种物pH为7.34, TS为2.46%, VS为1.33%。

1.2 实验方法

1.2.1 冷冻干燥预处理

本实验采用冻干机(SCIENTZ-18N, 宁波新芝生物科技股份有限公司)进行样品冷冻真空干燥预处理,设备主要由制冷系统、真空系统、加热系统以及电器仪表控制系统组成,实验过程示意图见图1。将裁剪好的6份烤后废弃烟叶中的5份放入-20℃冰箱中

冷冻24 h,冷冻结束后其中1份直接常温解冻备用(L1),其余4份样品分别在最低压强20 Pa、最低温度-50℃的冻干机中进行不同时长(1、3、5、10 h)的冻干预处理,编号分别为L2、L3、L4、L5(表1)。

1.2.2 物料产甲烷潜力测试

采用全自动甲烷潜力测试仪(MultiTalent-203, Nova Skantek 碧臣仪器)对烤后烟叶进行BMP测试。全自动甲烷潜力测试仪由A单元(发酵单元)、B单元(CO₂等酸性气体吸附单元)、C单元(气体计量及数据处理采集单元)3个单元构成,见图1。A单元由恒温水浴锅、发酵瓶和机械搅拌系统组成,恒温水浴锅保

表1 预处理条件及烟叶含水率
Table 1 Pretreatment settings and moisture content of cured tobacco leaves

处理 Treatment	预冻温度 Temperature of pre-freezing/℃	预冻时间 Time of pre-freezing/h	冻干时间 Time of freeze vacuum drying/h	含水率 Moisture content/%
L0	—	—	—	17.12
L1	-20	24	—	15.17
L2	-20	24	1	7.91
L3	-20	24	3	7.03
L4	-20	24	5	7.20
L5	-20	24	10	6.98

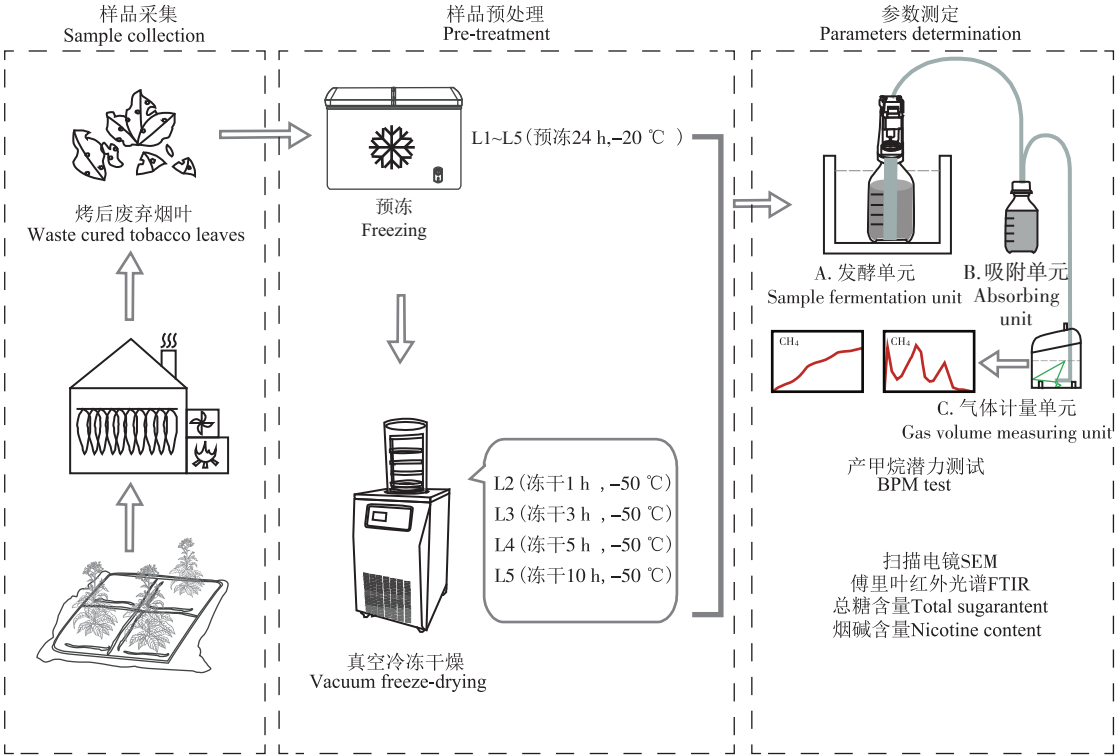


图1 实验过程示意图

Figure 1 Schematic representation of the experimental processes

证发酵温度,机械搅拌防止物料结壳、酸化;B单元配备100 mL玻璃瓶,其中的 $3\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液用以吸附沼气中的 CO_2 及 H_2S 等酸性气体;C单元为甲烷气体计量装置,内置脉冲信号数据自动采集系统及温度、压力传感器,最终记录结果为标准状况下($0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 101.3 kPa)的甲烷累积体积。

参考德国VDI 4630^[28]标准进行BMP测试,相关测试的主要参数见表2。500 mL批式玻璃发酵瓶内添加接种泥和烤后废弃烟叶混合物400 g,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中进行厌氧发酵,接种泥VS质量与烤后废弃烟叶VS质量为2:1。设置纯接种泥厌氧发酵为空白对照,以消除接种物内源性甲烷产量对物料BMP的影响;设置标准纤维素(Sigma-C6288)作为对照试验物料,用于检测接种物活性;每个处理进行3次重复。设备安装完毕后,检查设备气密性,设置发酵瓶搅拌

时间为 5 min ,搅拌速率为 $40\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,间隔时间为 $1\ 500\text{ s}$ 。当连续3 d甲烷单日产量小于总产气量1%时结束实验。

1.3 分析方法

物料及接种物的TS、VS采用质量法测定^[29],在 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干至质量恒定后测定TS,在马弗炉中 $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灼烧至质量恒定后称质量计算VS。扫描电镜(Scanning electron microscope, SEM)结果由扫描电子显微镜(日立TM3030)扫描烤后废弃烟叶表面得到。傅里叶红外光谱(FTIR)分析采用固体溴化钾压片法^[30],取 $400\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$ 波长进行色谱分析。烟碱含量采用紫外分光光度法测定^[31],准确称取 1 g 干燥烤后废弃烟叶粉末于 250 mL 锥形瓶,加入蒸馏水、沸石与饱和HCl振荡摇匀,过滤定容至 250 mL 锥形瓶,用紫外分光光度仪测定样品溶液烟碱含量。总糖含量采用流动分析法测定^[32],精确称取 0.5 g 干燥烤后废弃烟叶粉末于锥形瓶,加入3%醋酸水溶液 100 mL ,振荡摇匀 30 min ,过滤后得醋酸样液,然后采用流动分析仪进行检测。对每个处理均进行3组重复样品测定,测定结果取平均值。

2 结果与讨论

2.1 烤后废弃烟叶表面微观结构变化

SEM是观察物料物理结构变化的有效方法之一^[33]。为深入探究冻干预处理对烤后烟叶微观表面结构变化与BMP的关系,对预处理前后烤后废弃烟叶进行SEM分析,结果如图2所示。由SEM图可知,未经预处理的烤后废弃烟叶L0表面结构纹理饱满整齐;经预处理后的烤后废弃烟叶表面变得皱缩粗糙,且伴随有颗粒状的析出物。这表明在冷冻过程中烤后废弃烟叶结构受损、细胞膜碎片化,导致细胞损伤和失水,出现组织收缩和细胞塌陷变形,这与SEMENOV等^[34]的研究结果一致。在冻干技术的真空升华过程中,烤后废弃烟叶内部多余水分直接升华,水分冰晶化时表面呈现褶皱和卷曲,但孔洞和裂隙结构被保留下来^[35],从而产生疏松多孔的物理结构。冻干预处理与冷冻预处理相比,表面析出物更少,且随着冻干时间的增加,表面颗粒状物质越来越少。在冷冻过程中,由于细胞失水,烟叶细胞组织出现不同程度的损伤,营养物质随水分析出至表面^[36];在升华及解析干燥过程中,温度升高及压差作用造成挥发性有机物质部分损失^[37],所以干燥时间越长,烤后废弃烟叶表面颗粒物越少。

表2 BMP测试条件设置		
Table 2 Conditions used to BMP test		
实验条件 Experimental condition	参数 Parameter	具体说明 Specific instruction
接种物	来源	中温厌氧污泥
	TS	2.46%
	VS	1.33%
	pH	7.34
	预培养	$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预培养7 d
对照实验	物料类型	标准纤维素
	TS	97.12%
	VS	96.96%
	产甲烷潜力	$307.23\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$
实验物料	类型	烤后废弃烟叶
	未处理及预处理烤后废弃烟叶的TS和VS	L0:82.88%和73.11%
		L1:84.83%和74.51%
		L2:92.09%和81.74%
		L3:92.97%和82.13%
		L4:92.48%和80.99%
实验设置	重复次数	3次
	测量方法	排水法
	气体类型	甲烷
	接种物与物料VS之比	2:1
	反应器规格	500 mL
	温度	$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴
	搅拌	每1 h搅拌10 min
其他	pH调节	无
	顶空气体吹洗	100% N_2
	营养物质添加	无

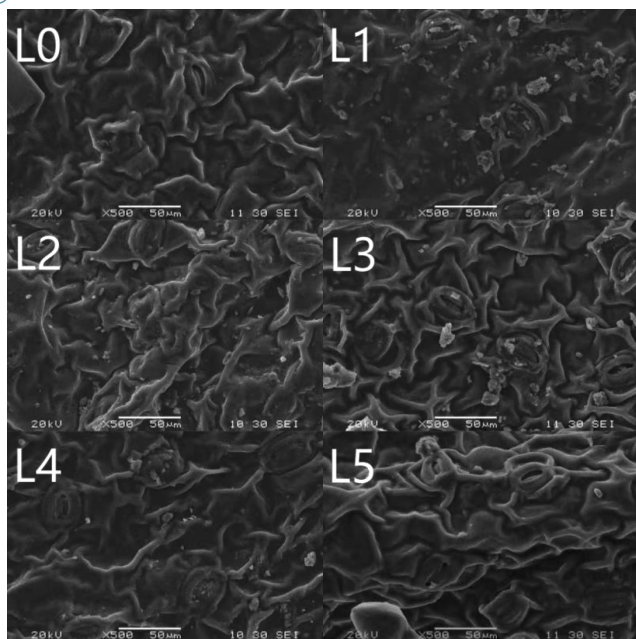
图2 烤后烟叶扫描电镜图($\times 500$ 倍)

Figure 2 Scanning electron microscope of cured tobacco leaves ($\times 500$ times)

2.2 烤后废弃烟叶木质纤维素结构变化

FTIR能够直观地对木质素结构中的基团和化学键进行表征^[38],图3为未预处理及预处理烟叶的FTIR图,为 $400\sim 4\,000\text{ cm}^{-1}$ 之间的变化曲线。由图3可知,未处理与预处理烤后废弃烟叶FTIR特征吸收峰大致相同,说明经预处理后烤后废弃烟叶结构没有发生显著变化,仅内部木质纤维素化学结构发生了改变,表现为特征吸收峰的增强或减弱。 $3\,370\text{ cm}^{-1}$

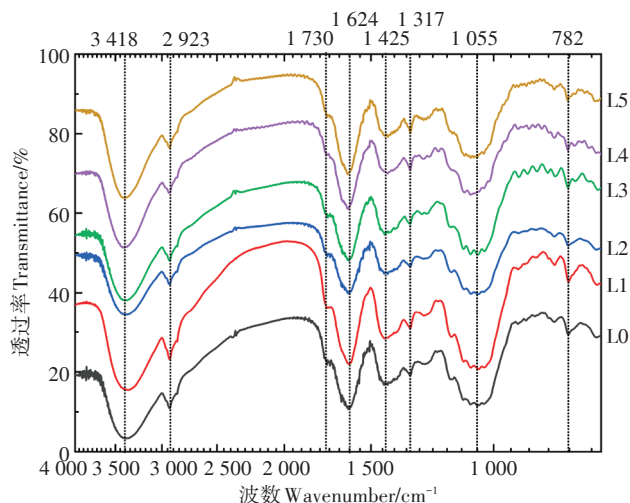


图3 烟叶傅里叶红外光谱图

Figure 3 FTIR spectra of raw and steam explosion pre-treated cured tobacco leaves

处为分子内羟基($-\text{OH}$)伸缩振动峰^[38], $2\,919\text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰代表纤维素中亚甲基($-\text{CH}_2$)和甲基($-\text{CH}_3$)^[39],两处吸收峰减弱,说明冻干预处理作用下纤维素中的一部分氢键、甲基、亚甲基发生断裂,纤维分子结构遭到破坏,纤维素降解。 $1\,726\text{ cm}^{-1}$ 处特征吸收峰为非共轭氢键,代表半纤维素中木聚糖乙酰基^[40],冻干预处理后此处特征吸收峰减弱,证明预处理后乙酰基断裂,半纤维素降解。 $1\,416\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,373\text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰分别与木质素中芳香环和 $\text{C}-\text{H}$ 键振动有关^[41],两处特征吸收峰无明显变化,说明预处理后烟叶木质素基本不变。 $1\,162\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,050\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰表示有纤维素和半纤维素 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 键的存在,总体上表示有中性多糖的存在^[42],此处吸收峰呈现减弱趋势,说明冷冻干燥预处理技术有利于纤维素、半纤维素中 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 的断裂。由FTIR图谱可知,冻干预处理使烤后废弃烟叶内部部分化学键断裂,增加了葡萄糖和木糖的溶出物,达到了降解纤维素的目的,但对木质素等大分子结构无降解效果,该结果与ROONI等^[25]利用冷冻预处理技术处理纤维物料后纤维素含量不变但纤维素有明显降解的研究结果一致。

2.3 烤后废弃烟叶总糖及烟碱含量

烟叶经烘烤后,淀粉含量减少,糖类物质增加,在烘烤过程中,占烟叶干物质质量约25%的淀粉转化为糖,烤后烟叶总糖含量为25%~35%,是良好的厌氧生物发酵原料^[12]。由图4可知,与未处理烟叶L0相比,冷冻与冻干烤后废弃烟叶总糖含量降低,且随着冻干时间的延长,总糖含量逐渐降低。L0总糖含量最高,为19.78%,分别高出L1、L2、L3、L4及L5处理0.33、0.66、0.57、1.09、1.04个百分点。HARGUINDE-GUY等^[21]的研究表明,在冷冻过程中葡萄糖、蔗糖及麦芽糖等碳水化合物会随水分析出,从而造成部分营

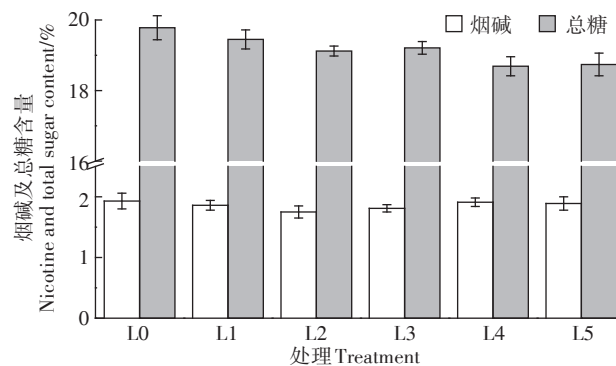


图4 烟叶烟碱及总糖含量

Figure 4 Nicotine and total sugar content of cured tobacco leaves

营养成分流失。张康逸等^[43]采用冻干处理技术对谷物营养品质进行研究,长时间冻干会导致谷物营养成分损失。在本研究中的解析干燥阶段,由于内外压差与浓度差较大,物质发生扩散,疏松多孔的良好蜂窝状结构使烤后废弃烟叶中的糖类物质更容易逸出^[44]。

烟碱是烟草中特有的次生代谢产物,在烟草多种生物碱中烟碱所占比例最高,超过90%,占烟草植株干质量的0.6%~3.0%^[45]。由图4可知,L0烟碱含量最高为1.93%,其次为L4、L5、L1、L3,L2烟碱含量最低,为1.75%,随着冻干时间的延长,L3、L4、L5处理的烟碱含量略有升高。烟碱在60℃时能与水反应生成相应的水合物^[46],但是低温环境下烟碱不易溶于水,且冻干预处理烟叶在干燥过程中糖类有机物质损失,烟碱相对含量增加,所以经过长时间冷冻干燥预处理后烟碱含量略有增加。

2.4 不同处理烟叶的BMP

BMP指标标准状况下单位质量VS在厌氧条件下的产甲烷量($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)^[47]。BMP测试可以评估厌氧条件下有机物料的生物可降解性及产甲烷潜力^[48],还可以监测发酵过程中的微生物抑制及毒性作用^[49]等,是评判物料厌氧发酵可行性的一大重要指标。

经23 d厌氧发酵后,不同处理烤后废弃烟叶每日甲烷产量及单位VS累积甲烷产量如图5和图6所示。由图5可知,所有处理均在第3天时达到甲烷产气高峰,且L3产气速率($83.51 \text{ mL} \cdot \text{d}^{-1}$)最快,较其他处理高13.89%~25.33%。包括L0在内的所有处理每日产甲烷速率均呈现相同趋势,即前期快速增长,发酵第3 d达到产气高峰后缓慢下降。造成烤后废弃烟叶产气前期快后期缓慢的原因是:发酵前期,水解酸化菌在短暂的适应期后快速繁殖,将纤维素、半纤维素等易分解有机物分解转化为产甲烷菌可直接利用的乙酸等有机物。易降解有机物水解酸化结束后,相对难降解的有机物才逐步被分解,所以此时产气速率缓慢下降,并逐渐趋零^[33]。

由图6可知烤后废弃烟叶经23 d厌氧发酵后,L0处理的BMP($200.74 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$)最低,L3处理的BMP($224.28 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$)最高,其次为L2、L4、L5和L1。与L0相比,其他处理烤后废弃烟叶BMP显著增加($P < 0.05$),其中L2及L3处理的BMP与L0呈极显著差异,L1、L4及L5处理呈现显著差异。与L0相比,L1处理BMP增加3.94%,L3处理BMP增加11.73%,其他冻干预处理BMP增加4.26%~10.08%,L2、L4与L5处理

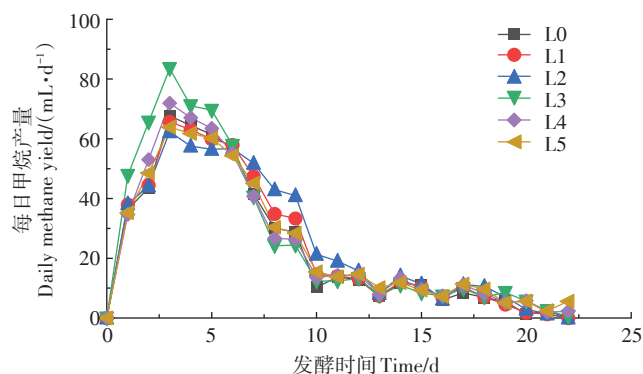


图5 烟叶每日甲烷产量

Figure 5 Daily methane yields of cured tobacco leaves

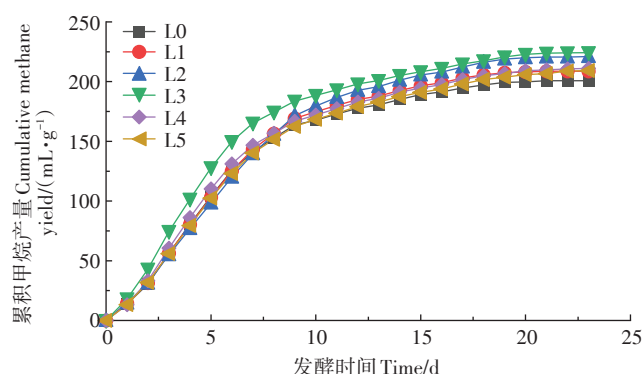


图6 烟叶累积甲烷产量

Figure 6 Cumulative methane yields of cured tobacco leaves

BMP分别为 220.98 、 $211.11 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $209.30 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 。冻干预处理烤后废弃烟叶水分从冰晶状直接升华,所占空间仍然保留,物料疏松多孔,收缩较小^[50],疏松多孔的蜂窝结构有利于微生物与物料接触,有利于烟叶降解^[21],所以冻干预处理烤后废弃烟叶累积甲烷产量大于冷冻预处理。然而,冻干时间超过3 h后,随冻干预处理时间增加烤后废弃烟叶累积甲烷产量逐渐降低。造成BMP随冻干时间延长而下降的原因主要有3个方面:第一方面为烤后废弃烟叶有机物损失。延长冻干时间后,由于较大的内外压差与浓度差,物质发生扩散,烤后废弃烟叶糖类物质及挥发性有机物逸出^[43];第二方面是烤后废弃烟叶热敏物质变性。烤后废弃烟叶经过烘烤后含水量较低,所需干燥时间比含水量丰富的新鲜菠菜(干燥时间5~6 h)^[51]、新鲜香椿(干燥时间5 h)^[52]等叶片类物料短,约在3 h时烤后废弃烟叶已完成干燥,进行解析干燥的温度逐渐升高会造成蛋白质等热敏物质变性,使烤后废弃烟叶营养品质下降^[53],影响产气效率;第三方面为烟碱抑制作用。由于长时间的解析干燥,烤后废弃烟叶中的糖类等有

机质损失,烟碱相对含量增加,而LIU等^[10]研究表明烟碱对厌氧微生物种群活性有一定程度的抑制作用,与本文结果一致,所以烟碱含量越高,甲烷产量越低。

3 结论

(1)冻干预处理不仅能很好地保持烤后废弃烟叶的营养品质,还能有效增大微生物接触面积,增加甲烷产量。与未处理烟叶相比,预处理烤后废弃烟叶整个发酵周期无抑制和滞后现象,产甲烷潜力提高了3.94%~11.73%。

(2)冻干预处理具有低温、高真空的特点,因此能耗较高,且随着冻干预处理时间的延长,在相对内外压差与浓度差较大的环境中,物质发生扩散,容易造成有机物质损失。在烤后废弃烟叶冻干预处理的后续研究中,应定量分析预处理过程中有机物损失情况;并平衡好甲烷产量提升与预处理能耗的关系,控制预处理时间,优化冻干工艺。

(3)冷冻预处理能解除烤后废弃烟叶水解限速,对甲烷产量有一定的提升作用。对于寒温带及中温带等冬季温度较低的地区,可结合自然气候条件对纤维类农业废弃物进行室外冷冻存储,优化沼气工程原料供应及运输调配,提升酸化水解效率,促进农业废弃物资源化高效利用。

参考文献:

- [1] 李军, 李吉昌, 吴晓华, 等. 烟草废弃物利用研究[J]. 云南化工, 2010, 37(2):44-49. LI J, LI J C, WU X H, et al. Research on utilization of tobacco waste[J]. *Yunnan Chemical Technology*, 2010, 37(2): 44-49.
- [2] 夏鸣, 汪云, 孙运兰. 烟草废弃物厌氧发酵产沼气的研究进展[J]. 中国新技术新产品, 2018(18):90-91. XIA M, WANG Y, SUN Y L. Research progress on anaerobic fermentation of tobacco waste to produce biogas[J]. *Chinese New Technology and New Products*, 2018(18): 90-91.
- [3] 苑亚汝. 烟叶烘烤过程中叶片组织结构变化动态研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2018. YUAN Y R. Dynamic change of leaf tissue structure during tobacco curing[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2018.
- [4] 杨树勋. 烟叶烘烤的理论与实践[J]. 作物研究, 2020, 34(3):297-301. YANG S X. The theory and practice of tobacco curing[J]. *Crop Research*, 2020, 34(3):297-301.
- [5] 齐娜. 烟叶烘烤过程中主要物理参数及化学物质变化动态研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2015. QI N. Studies on the change of the main physical parameters and chemical dynamics during the tobacco curing[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2015.
- [6] 赵会纳, 蔡凯, 秦嘉, 等. 烟叶烘烤前后主要代谢产物的差异分析[J]. 烟草科技, 2017, 50(9):61-67. ZHAO H N, CAI K, QIN J, et al. Variance analysis of main metabolites in tobacco leaves before and after curing[J]. *Tobacco Science & Technology*, 2017, 50(9):61-67.
- [7] 公安部: 严厉打击非法经营烟叶原料违法犯罪[J]. 中国防伪报道, 2016(9):80. Ministry of Public Security: Strictly crack down on illegal business of tobacco raw materials[J]. *China Anti-Counterfeiting Report*, 2016(9):80.
- [8] LI C, ZHOU Y, LU W J, et al. Enhancement of the solid-state anaerobic digestion of rice straw by liquor supplementation[J]. *Bioresource Technology Reports*, 2019, 5:59-65.
- [9] 刘焯. 农业废弃物厌氧发酵及沼肥利用过程碳氮变化研究[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2018. LIU Y. Changes of carbon and nitrogen during anaerobic fermentation of agricultural residues and utilization of biogas fertilizer[D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University, 2018.
- [10] LIU Y, DONG J X, LIU G J, et al. Co-digestion of tobacco waste with different agricultural biomass feedstocks and the inhibition of tobacco viruses by anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 189: 210-216.
- [11] 王利宁, 彭天铎, 向征, 等. 碳中和目标下中国能源转型路径分析[J]. 国际石油经济, 2021, 29(1):2-8. WANG L N, PENG T D, XIANG Z J, et al. Analysis of Chinese energy transition pathways under the goal of carbon neutrality[J]. *International Petroleum Economics*, 2021, 29(1):2-8.
- [12] 黄弘毅, 薛寒光, 李超, 等. 汽爆预处理对废弃烤后烟叶产甲烷潜力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(8):1854-1861. HUANG H Y, XUE H G, LI C, et al. Assessment of biomethane production from cured tobacco leaves using steam explosion pretreatment[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(8):1854-1861.
- [13] 田宜水, 孟海波, 孙丽英, 等. 秸秆能源化技术与工程[M]. 北京: 人民邮电出版社, 2010. TIAN Y S, MENG H B, SUN L Y, et al. Energy technology and engineering of straw[M]. Beijing: Posts & Telecom Press, 2010.
- [14] 张晓燕. 不同预处理方法对玉米秸秆和沙柳纤维素降解率和乙醇产量的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古工业大学, 2017. ZHANG X Y. The effect of different pretreatment methods on cellulose degradation ratio and ethanol production for corn straw and *Salix psammophila*[D]. Hohhot: Inner Mongolia University of Technology, 2017.
- [15] THUNGKLIN P, SITTIJUNDA S, REUNGSANG A. Sequential fermentation of hydrogen and methane from steam-exploded sugarcane bagasse hydrolysate[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2018, 43(21):9924-9934.
- [16] JÖNSSON L J, MARTÍN C. Pretreatment of lignocellulose: Formation of inhibitory by-products and strategies for minimizing their effects[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 199:103-122.
- [17] 曹运齐, 解先利, 郭振强, 等. 木质纤维素预处理技术研究进展[J]. 化工进展, 2020, 39(2):489-495. CAO Y Q, XIE X L, GUO Z Q, et al. Research progress on lignocellulose pretreatment technology[J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2020, 39(2):489-495.
- [18] 邹书珍. 不同预处理工艺厌氧发酵产气效率及其综合效益评价[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017. ZOU S Z. Biogas production efficiency in anaerobic digestion and comprehensive evaluation of dif-

- ferent pretreatment process[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2017.
- [19] AL AFIF R, PFEIFER C. Enhancement of methane yield from cotton stalks by mechanical pre-treatment[J]. *Carbon Resources Conversion*, 2021, 4:164-168.
- [20] 郭雷. 冷冻真空干燥技术在我国农产品加工中的应用[J]. 现代农业科技, 2020(3):219-220. GUO L. Application of vacuum freeze-drying technology in the processing of agricultural products in China[J]. *Modern Agricultural Technology*, 2020(3):219-220.
- [21] HARGUINDEGUY M, FISSORE D. On the effects of freeze-drying processes on the nutritional properties of foodstuff: A review[J]. *Drying Technology*, 2020, 38(7):1-23.
- [22] 杨长平, 顾思远, 黄文刚, 等. 松茸的冷冻真空干燥特性研究[J]. 食品科技, 2019, 44(5):43-46. YANG C P, GU S Y, HUANG W G, et al. Study on vacuum freeze-drying characteristics of *Tricholoma matsutake*[J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(5):43-46.
- [23] 许晴晴, 陈杭君, 邵海燕, 等. 真空冷冻和热风干燥对蓝莓品质的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(5):64-68. XU Q Q, CHEN H J, GAO H Y, et al. Effects of vacuum freeze-drying and hot-air drying on the quality of blueberry fruit[J]. *Food Science*, 2014, 35(5):64-68.
- [24] 魏庆霞. 黄芪冷冻真空干燥试验研究[D]. 晋中:山西农业大学, 2015. WEI Q X. Experimental study on vacuum freeze-drying of *Astragalus*[D]. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2015.
- [25] ROONI V, RAUD M, KIKAS T. The freezing pre-treatment of lignocellulosic material: A cheap alternative for Nordic countries[J]. *Energy*, 2017, 139:1-7.
- [26] QI N, HU X M, XIN X T, et al. Mechanisms of biohydrogen recovery enhancement from peanut shell by *C. guangxiense*: Temperature pre-treatment ranges from -80 to 100 °C[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 304.
- [27] 毕超. 冷冻真空干燥技术在生物制药中的应用研究[J]. 生物化工, 2018, 4(2):132-134. BI C. Studies on the application of vacuum freeze-drying technology in biopharmaceutical production[J]. *Biological Chemical Engineering*, 2018, 4(2):132-134.
- [28] Verein Deutscher Ingenieure. Fermentation of organic materials: Characterisation of the substrate, sampling, collection of material data, fermentation tests: VDI 4630[S], 2016.
- [29] 于佳动. 纤维质农业废弃物微好氧酸化机理及高含固率两相厌氧发酵工艺研究[D]. 北京:中国农业大学, 2017. YU J D. Characterization of microaerobic acidification and high solid content two-phase anaerobic digestion technology using lignocellulosic agricultural waste [D]. Beijing: Chinese Agricultural University, 2017.
- [30] 郑续, 王慧梅, 刘忠, 等. 小麦秸秆的蒸汽爆破及其产物表征[J]. 天津科技大学学报, 2020, 35(4):26-30. ZHENG X, WANG H M, LIU Z, et al. Steam explosion of wheat straw and characterization of its products[J]. *Journal of Tianjin University of Science & Technology*, 2020, 35(4):26-30.
- [31] 韩良. 紫外分光光度法测定烟茎中烟碱含量[J]. 山东化工, 2020, 49(10):96-99. HAN L. Determination of nicotine content in tobacco-stem by UV spectrophotometry[J]. *Shandong Chemical Industry*, 2020, 49(10):96-99.
- [32] 杜瑞华, 周明松. 连续流动分析法在烟草分析中的应用[J]. 中国测试技术, 2007, 33(3):76-78. DU R H, ZHOU M S. Summary of continuous flow analytical method used in tobacco analysis[J]. *China Measurement Technology*, 2007, 33(3):76-78.
- [33] 罗娟, 赵立欣, 孟海波, 等. NaOH 预处理提高甘蔗叶产甲烷性能及其机理分析[J]. 农业工程学报, 2019, 35(24):262-270. LUO J, ZHAO L X, MENG H B, et al. Improving methane production performance via NaOH pretreatment of sugarcane leaves and its mechanism analysis[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2019, 35(24):262-270.
- [34] SEMENOV G V, KRASNOVA I S, KHVYLIA S I, et al. Freezing and freeze-drying of strawberries with an additional effect of micro-vibrations[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, 58(8):3192-3198.
- [35] 孙浪涛. 低温冷冻处理对桑蚕丝纤维结构的影响[J]. 棉纺织技术, 2014, 42(12):1-8. SUN L T. Influence of low temperature freezing treatment to mulberry silk fiber structure[J]. *Cotton Textile Technology*, 2014, 42(12):1-8.
- [36] 余驰. 多次冻融对小青菜营养成分、质构特性和微观结构的影响[D]. 上海:上海交通大学, 2016. YU C. Effects of freezing/ thawing cycles on nutritional content, texture properties and microstructure of pakchoi[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2016.
- [37] 刘军, 彭润玲, 谢元华. 冷冻真空干燥[M]. 北京:化学工业出版社, 2015:9. LIU J, PENG R L, XIE Y H. Freeze vacuum drying[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2015:9.
- [38] 盛凯, 冉毅, 艾平, 等. 不同压缩比和青贮时间下玉米秸秆厌氧发酵性能研究[J]. 农业机械学报, 2020, 51(7):338-345. SHENG K, RAN Y, AI P, et al. Anaerobic digestion performance of corn stalk under different compression ratio and silage time[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2020, 51(7):338-345.
- [39] 罗冬, 谢翼飞, 谭周亮, 等. NaOH 改性玉米秸秆对石油类污染物的吸附研究[J]. 环境科学与技术, 2014, 37(1):28-32. LUO D, XIE Y F, TAN Z L, et al. Optimization of NaOH modified corn stalk and its adsorption of petroleum pollutants[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 37(1):28-32.
- [40] LI C, LIU G G, NGES I A, et al. Enhanced biomethane production from *Miscanthus lutarioriparius* using steam explosion pretreatment[J]. *Fuel*, 2016, 179:267-273.
- [41] WANG G, CHEN H. Fractionation of alkali-extracted lignin from steam-exploded stalk by gradient acid precipitation[J]. *Separation and Purification Technology*, 2013, 105:98-105.
- [42] 李红亚, 李术娜, 王树香, 等. 解淀粉芽孢杆菌 MN-8 对玉米秸秆木质纤维素的降解[J]. 应用生态学报, 2015, 26(5):1404-1410. LI H Y, LI S N, WANG S X, et al. Degradation of lignocellulose in the corn straw by *Bacillus amyloliquefaciens* MN-8[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(5):1404-1410.
- [43] 张康逸, 何梦影, 杨帆, 等. 冷冻真空干燥条件对多谷物全粉品质影响的研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(7):163-171. ZHANG K Y, HE M Y, YANG F, et al. Effect of vacuum freeze-drying on the quality characteristics of blended whole cereal flour[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2017, 33(7):163-171.

- [44] 王海鸥, 谢焕雄, 陈守江, 等. 不同干燥方式对柠檬片干燥特性及品质的影响[J]. 农业工程学报, 2017, 33(14): 292–299. WANG H O, XIE H X, CHEN S J, et al. Effect of different drying methods on drying characteristics and qualities of lemon slices[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2017, 33(14): 292–299.
- [45] 谢志坚, 涂书新, 张嵒, 等. 影响烤烟烟碱合成与代谢的因素及其机理分析[J]. 核农学报, 2014, 28(4): 714–719. XIE Z J, TU S X, ZHANG Q, et al. Factors and mechanism analysis of nicotine synthesis and metabolism in flue-cured tobacco[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2014, 28(4): 714–719.
- [46] 王美兰. 烟碱的提取与纯化[D]. 无锡: 江南大学, 2007. WANG M L. Extraction and purification of nicotine in tobacco[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2007.
- [47] 成喜雨, 李超, 李兵, 等. 物料产甲烷潜力分析技术及设备评述[J]. 可再生能源, 2013, 31(5): 72–79. CHENG X Y, LI C, LI B, et al. Technologies and equipments used testing biochemical methane potential (BMP): A review[J]. *Renewable Energy Resources*, 2013, 31(5): 72–79.
- [48] WANG B, NGES I A, NISTOR M, et al. Determination of methane yield of cellulose using different experimental setups[J]. *Water Science & Technology*, 2014, 70(4): 599–604.
- [49] LESTEUR M, BELLON-MAUREL V, GONZALEZ C, et al. Alternative methods for determining anaerobic biodegradability: A review[J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(4): 431–440.
- [50] 邓媛元, 汤琴, 张瑞芬, 等. 不同干燥方式对苦瓜营养与品质特性的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(2): 362–371. DENG Y Y, TANG Q, ZHANG R F, et al. Effects of different drying methods on the nutrition and physical properties of *Momordica charantia*[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(2): 362–371.
- [51] 殷锦捷. 绿叶蔬菜冷冻真空干燥实验研究[J]. 吉林大学学报(工学版), 2003, 33(3): 110–112. YIN J J. Experimental study on vacuum freeze-drying greenery vegetable[J]. *Journal of Jilin University (Engineering and Technology Edition)*, 2003, 33(3): 110–112.
- [52] 李斐. 果蔬冷冻真空干燥工艺参数试验研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2014. LI F. Experiment and study on vacuum freeze-drying technological parameters of fruits and vegetables[D]. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2014.
- [53] 赵海山, 曹彦清. 树莓冷冻真空干燥工艺的研究[J]. 食品工业, 2013, 34(6): 94–97. ZHAO H S, CAO Y Q. Research on the technology of producing raspberry by vacuum freeze-drying[J]. *Food Industry*, 2013, 34(6): 94–97.

(责任编辑: 李丹)