

产油微生物利用餐厨垃圾生产油脂的研究进展

张勇¹, 和杨斌², 杨雯¹, 谭法启¹, 李微微¹, 王秋珍²

1 国家海洋局秦皇岛海洋环境监测中心站, 河北 秦皇岛 066002

2 河北农业大学 海洋学院, 河北 秦皇岛 066000

张勇, 和杨斌, 杨雯, 谭法启, 李微微, 王秋珍. 产油微生物利用餐厨垃圾生产油脂的研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(2): 565-577.

ZHANG Y, HE YB, YANG W, TAN FQ, LI WW, WANG QZ. Lipid production by oleaginous microorganisms using food wastes: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(2): 565-577.

摘要: 餐厨垃圾中含有丰富的营养物质, 经生物转化过程可以合成对人类有用的化学品。某些产油微生物可以处理餐厨垃圾生产油脂, 同时合成高附加值代谢产物如多不饱和脂肪酸、角鲨烯和类胡萝卜素等。这不仅能够降低生产成本, 而且提高了产物的经济价值, 具有极大的工业化应用潜力。文中主要概括了目前餐厨垃圾的处理研究现状, 综述了产油微生物发酵餐厨垃圾生产油脂的研究进展, 并结合笔者的工作对未来该领域的发展进行了总结与展望, 以期为今后的相关研究提供有益借鉴。

关键词: 产油微生物; 餐厨垃圾; 油脂; 混合培养

Lipid production by oleaginous microorganisms using food wastes: a review

ZHANG Yong¹, HE Yangbin², YANG Wen¹, TAN Faqi¹, LI Weiwei¹, WANG Qiuzhen²

1 Marine Environment Monitoring Central Station of Qinhuangdao, SOA, Qinhuangdao 066002, Hebei, China

2 Ocean College, Hebei Agricultural University, Qinhuangdao 066000, Hebei, China

Abstract: Food wastes are rich in nutrients and can be used for producing useful chemicals through biotransformation. Some oleaginous microorganisms can use food wastes to produce lipids and high value-added metabolites such as polyunsaturated fatty acids, squalene, and carotenoids. This not only

Received: March 16, 2021; **Accepted:** June 8, 2021; **Published online:** June 18, 2021

Supported by: Natural Science Foundation of Hebei Province, China (D2019204215); Marine Science and Technology Project of North Sea Bureau of Ministry of Natural Resources of China (202014)

Corresponding author: WANG Qiuzhen. Tel/Fax: +86-335-3150004; E-mail: qqzz1990@163.com

基金项目: 河北省自然科学基金 (D2019204215); 自然资源部北海局海洋科技项目 (202014)

reduces the production cost, but also improves the economic value of the products, thus has large potential for commercial production. This review summarized the advances in food waste treatment, with a focus on the lipid production by oleaginous microorganisms using food wastes. Moreover, challenges and future directions were prospected with the aim to provide a useful reference for related researchers.

Keywords: oleaginous microorganisms; food wastes; lipid; mixed culture

经济水平的提高带动了食品消费, 餐桌饮食愈加丰富, 同时餐厨垃圾的产量猛速增加, 组成也更加多样和复杂。餐厨垃圾含有丰富的有机物和无机物成分, 如果处理不当极易造成环境污染, 并对人类健康构成威胁。餐厨垃圾的合理利用是解决“能源危机”和“环境污染”两大难题的重要出路。传统的餐厨垃圾处理方法包括填埋、焚烧和厌氧处理等, 并产生了越来越多的经济和环境压力。据统计, 由于食物的生产、加工、分配、消费和处置等过程, 每年大约产生 13 亿 t 的食品废弃物, 占据总生产食物的近三分之一^[1]。然而, 餐厨垃圾富含的营养物质可以作为微生物发酵生产多种功能化学品、能源物质和生物材料等的廉价底物, 以此通过微生物转化实现资源的再利用。

1 餐厨垃圾的处理研究现状

餐厨垃圾主要由糖类、油脂、蛋白质、无机盐和纤维素等成分组成, 其中碳水化合物约占 30%–60%, 蛋白质占 6%–10%, 油脂占 7%–30%, 具有微生物生长所需要的丰富的营养物质^[2]。餐厨垃圾可以作为各类病原菌的载体, 容易促进疾病的传播, 对人们的健康构成威胁。传统的餐厨垃圾处理手段主要包括焚烧、填埋和堆肥等。虽然传统的填埋和堆肥技术, 利用厌氧微生物的高效发酵可以将餐厨垃圾转化为沼气、沼渣和沼液等, 进而为人类的生活所利用。但是由于餐厨垃圾含有大量的水分和有机物, 在填埋和堆肥处理过程中不仅极易腐烂,

释放难闻的气味, 而且渗滤液的积累会影响周围环境^[3]; 在焚烧处理时, 水分挥发需要额外消耗大量的能量^[4]; 并且厌氧生物转化处理时间长、占用土地^[5]。因此, 目前针对传统生物转化技术的研究重点在于大规模厌氧发酵技术的开发^[6], 以及发酵体系内部物化性质、抗性基因和菌群动态变化等的研究^[7-9]。此外, 随着现代生物技术的发展, 微生物在有氧条件下发酵餐厨垃圾的研究得到了越来越多的关注。一方面, 微生物能够分泌淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶和纤维素酶等多种酶类, 水解餐厨垃圾中的大分子营养物质生成葡萄糖、氨基酸等小分子物质; 另一方面, 这些小分子物质又可被微生物细胞所吸收, 经胞内一系列生化反应转化生成各种次级代谢产物并释放能量。以此不仅促进微生物的生长代谢, 而且实现了餐厨垃圾的生物转化 (图 1)。

餐厨垃圾可以转化生成高分子生物材料 (聚羟基丁酸酯、丁二酸、塑化剂、清洁剂)^[10-12]、能源物质 (氢气、甲烷、生物柴油等)^[13-15]和功能化学品 (多不饱和脂肪酸、角鲨烯、类胡萝卜素等)^[16-18], 在化工、材料、能源和食品等领域具有重要的应用价值。微生物对大分子营养物质的降解效率普遍较低, 是限制餐厨垃圾高效转化的关键, 因此, 通过预处理方式将餐厨垃圾中的大分子有机物转化为小分子物质是提高其转化效率的重要步骤。预处理方法主要包括物理学 (垃圾分选、粉碎、水热法等)、化学 (酸解) 和生物学 (酶解、微生物发酵) 方法。

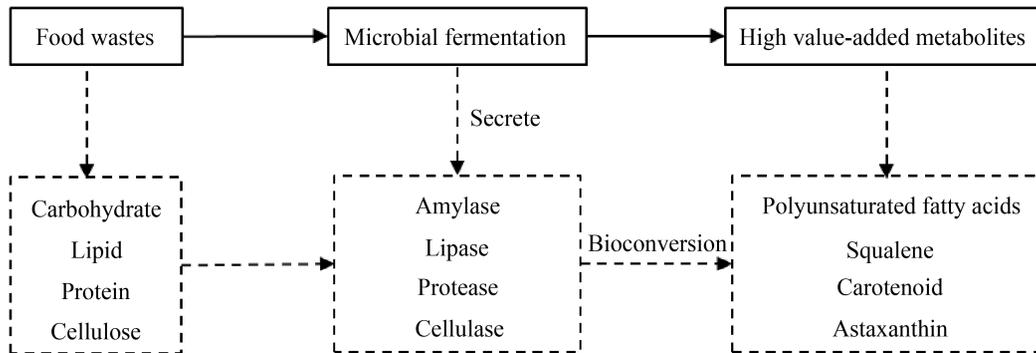


图1 餐厨垃圾中营养物质的生物转化过程

Figure 1 Biotransformation process of nutrients in food wastes.

其中生物学方法是目前应用最广泛的预处理方法，然后依次为化学法和物理学方法。槐糖脂是研究最多的糖脂类生物表面活性剂，餐厨垃圾酶解物经球拟假丝酵母 (*Starmerella bombicola*) 发酵处理 92 h 后，其浓度和生产率高达 115.2 g/L 和 1.25 g/(L·h)^[19]。甘露糖赤藓糖醇脂是一种独特的生物表面活性剂，由于底物价格较高限制了其商业化生产。近期的研究表明，烹饪过的废油可以用于酵母菌 (*Pseudozyma aphidis*) ZJUDM34 发酵生产甘露糖赤藓糖醇脂的可替代底物，目标产物产量最高达到 61.50 g/L^[20]。餐厨垃圾含有丰富的油脂、糖类、蛋白质等成分，但是不同来源的餐厨垃圾由于各成分的组成不同，可应用于不同的工业生产领域。例如，饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸有利于生物柴油的生物转化；而多不饱和脂肪酸有利于提高聚氯乙烯等多聚物的稳定性和柔韧性^[21]。因此，餐厨垃圾的来源和组成影响目标产物的合成与特性，在生产实践中控制餐厨垃圾来源的稳定性，有利于保证代谢产物的产量和产品质量。

在餐厨垃圾发酵处理过程中，可以通过控制发酵条件 (温度、pH、碳源、接种量等)^[22-23]、操作模式 (分批发酵、补料分批发酵、半连续

发酵等)^[19,21,24]和发酵方法 (纯种培养与混合培养、分阶段培养)^[14,23]，实现餐厨垃圾的有效降解与目标产物的高效转化。利用半连续发酵模式和混合营养发酵方法培养小球藻，当餐厨垃圾水解液底物中起始葡萄糖浓度为 10 g/L 时，小球藻的生物量、油脂和叶黄素浓度分别为 6.1 g/L、2.5 g/L 和 38.5 mg/L；而当水解液底物中起始葡萄糖浓度为 20 g/L 时，其生物量、油脂和叶黄素浓度分别为 6.9 g/L、1.8 g/L 和 63.0 mg/L^[25]，因此餐厨废弃物水解液中葡萄糖含量影响微生物的生长和代谢产物的合成。餐厨垃圾的碳氮比 (C/N)、脂质、碳水化合物和蛋白质的含量影响餐厨垃圾厌氧共消化 (AcoD) 体系甲烷的产率，在 C/N 25、脂质、碳水化合物和蛋白质比例为 (63.25 : 22.62 : 14.13) 条件下，甲烷的产量最高 (595 mL CH₄/g VS)^[26]。解脂耶氏酵母 (*Yarrowia lipolytica*) W29 可以通过分泌胞外脂肪酶水解底物中的废烹饪油，并且脂肪酶活性受溶解氧的影响，在 9–16 h⁻¹ 范围内，随着传质溶氧系数 k_La 的增加，*Y. lipolytica* W29 的胞内油脂产量明显增加；当 k_La 增加到 16 h⁻¹ 时，脂肪酶活性达到最大值 (12 000 U/L)，此时其对废油脂底物的水解效率最高；但是随着 k_La 的进一步增加，油脂的累积却受到抑制。因此，

探究微生物处理餐厨垃圾的最优发酵参数,能够促进废弃物的高效利用和目标产物的有效累积^[27]。

2 产油微生物发酵餐厨垃圾生产油脂的研究

产油微生物是指油脂含量占细胞干重 20% 以上的微生物。产油微生物的种类很多,主要包括产油微藻、产油酵母和产油细菌。产油微藻和产油酵母是研究得最早和最多的产油微生物,尤其是微藻油,目前已经应用于生物柴油和航空燃油的工业化生产。此外,笔者在前期研究中发现,一些原生生物如破囊壶菌、盘根足虫等,也能够合成占其细胞干重 20% 以上的油脂,其中长链多不饱和脂肪酸能够达到总脂肪酸的 50%,是工业化生产 DHA 等多不饱和脂肪酸的潜力菌^[28];其细胞内丰富的长链饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸,如棕榈酸 (C16:0)、十四烷酸 (C14:0)、硬脂酸 (C18:0)、油酸 (C18:1) 等,则可作为工业化生产生物柴油的原料^[29]。目前,产油微生物发酵产油的研究热点在于寻找来源广泛、价格低廉且能被微生物高效利用的发酵底物,以此实现油脂的经济、高效、可持续大规模生产。

利用某些微生物将餐厨垃圾转化成多不饱和脂肪酸、角鲨烯和类胡萝卜素等高附加值产物,不仅可以缩短处理时间、降低生产成本,而且更符合可持续发展的理念。近几年,更多的研究利用三角褐指藻、小球藻等藻类^[16,23],浅白隐球酵母、圆红冬孢酵母等酵母^[30-32],采用纯培养或混合培养的方式,发酵餐厨垃圾生产油脂。

2.1 产油微藻

微藻是一类广泛分布于淡水和海洋环境

的可进行光合作用的单细胞微生物,某些藻类细胞内油脂含量可以占到细胞干重的 20% 以上^[33]。产油微藻是自然界中 ω -3 多不饱和脂肪酸的主要生产者,是鱼、虾等水生动物通过食物链富集多不饱和脂肪酸的重要来源。微藻细胞可以产生较高含量的多不饱和脂肪酸,某些海洋微藻如等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*)、定鞭金藻 (*Pavlova gyran*) 和三角褐指藻 (*Phaedacturum tricorntutum*) 细胞内多不饱和脂肪酸的相对含量 (占总脂肪酸的含量) 可达到 50% 以上;多不饱和脂肪酸主要由二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA)、二十碳五烯酸 (eicosapentaenoic acid, EPA)、花生四烯酸 (arachidonic acid, AA) 和 γ -亚麻酸 (gamma-linolenic acid, GLA) 组成^[34]。而紫球藻 (*Porphiridium cruentum*) 的多不饱和脂肪酸组成比较简单,主要包括 EPA 和 AA,相对含量分别为 29.5% 和 29%^[35]。微藻对周围环境的适应能力较强,在自养、异养和混合营养条件下均能够进行生长和脂质合成^[36-37]。与传统油料植物相比,微藻生长迅速,可利用工农业废弃物作为发酵原料,不占用耕地面积,不与人类竞争食物原料;与细菌相比,微藻具有较高的生物量,可作为高附加值代谢产物合成的细胞工厂。因此,产油微藻在食品、饲料和能源等行业具有重要的应用价值。

产油微藻的底物来源广泛,纤维素类和糖类农业废弃物、富含无机盐的工业废弃物以及水产养殖废水等均可作为其发酵生产油脂的廉价原料。随着世界范围内食物垃圾产量的增加,以食物垃圾作为产油微藻的发酵原料用于油脂生产的研究日益增多 (表 1)。餐厨垃圾通常经一定的预处理,借助厌氧发酵、堆肥、真菌有氧发酵、酶解等手段,转化成餐厨垃圾水解液^[16,21,38];少数研究采用物理学方法去除餐厨垃圾中的无

机盐、油脂等成分后^[39],再用于微藻油脂的生物转化过程。经泡盛曲霉 (*Aspergillus awamori*) 和米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 水解的餐厨垃圾水解液,可以用于海洋原甲藻 (*Phaeodactylum tricorutum*) CCMP-2561 发酵产油,培养 7 d 后其油脂含量占细胞干重的 51.1%^[16]。经过厌氧细菌氨化预处理获得的餐厨垃圾水解液,可以用作杜氏盐藻 (*Dunaliella tertiolecta*) 和蓝藻 (*Cyanobacterium aponinum*) 的发酵底物。在分批培养条件下,杜氏盐藻 *D. tertiolecta* 和蓝藻 *C. aponinum* 可以利用餐厨垃圾水解液进行生长和油脂合成,发酵 4 d 后,杜氏盐藻 *D. tertiolecta* 在 50% (V/V) 餐厨垃圾水解液中的生物量达到 3.52 g/L,油脂浓度为 0.56 g/L;蓝藻 *C. aponinum* 在 30% (V/V) 餐厨垃圾水解液中的生物量达到 1.56 g/L,油脂浓度为 0.11 g/L^[40]。利用物理方法去除无机物和油脂的固体餐厨垃圾,可以直接用于小球藻 (*Chlorella vulgaris*) 的发酵产油过程,培养 144 h 后其生物量和油脂含量分别达到 1.2 g/L 和 31%^[39]。此外,多数研究将餐厨垃圾的暗发酵(即厌氧处理)与微藻产油过程分成两个阶段,第一个阶段先对餐厨垃圾进行厌氧、堆肥或酶解等预处理,后经离心、过滤等获得餐厨垃圾水解物^[41];第二个阶段再利用餐厨垃圾水解物进行微藻的发酵产油。但是厌氧发酵预处理过程会产生大量的挥发性有机酸,有机酸在发酵体系的积累会引起发酵液 pH 值的降低,并对厌氧发酵过程产生反馈抑制^[42]。此外,厌氧发酵过程产生的很多水溶性成分如氮和磷等,可以被微藻利用。在两阶段培养法和共培养发酵基础上开发的集成暗发酵与微藻生物反应器,能够用于暗发酵过程与微藻产油过程偶联进行^[43]。集成暗发酵与微藻生物反应器将暗发酵室与微藻光照培养室用 0.22 μm 滤膜隔开,营养物质可以通过滤膜进行交换。

利用该体系,栅藻 *Scenedesmus* sp. R-16 的最大油脂产量达到 515.6 mg/L^[43]。在集成暗发酵与微藻生物反应器中,暗发酵过程产生的挥发性酸等物质可以直接被微藻利用,以此不仅可以促进餐厨垃圾的高效利用和油脂的合成,而且简化操作程序、节约发酵成本。

餐厨垃圾水解物可以直接或经稀释后用作产油微藻的发酵底物^[16,38],也可通过添加基础培养基成分,或同其他种类废弃物混合发酵^[16,25],以此提高微藻的生长和油脂合成速率。餐厨垃圾堆肥处理 24 h 并经过滤后获得堆肥有机混合液(简称餐厨垃圾堆肥液),小球藻 *C. vulgaris* FSP-E 可以以不同浓度(15%、25%、35%、50%、75%和 100%, V/V) 的餐厨垃圾堆肥液作为发酵底物进行生长和油脂合成,并且在 25%餐厨垃圾堆肥液条件下其生物量和油脂含量均较高,分别为 1.7 g/L 和 22%^[38]。餐厨垃圾水解物能够明显促进三角褐指藻 *P. tricorutum* 的细胞生长和脂肪酸累积,当以餐厨垃圾水解物与粗甘油的混合物为发酵底物时,与前者相比其 DHA、ARA 和 EPA 含量(占藻体重量的比例)增加近一倍,总脂肪酸含量也显著增加^[16]。当向餐厨垃圾水解物与粗甘油的混合发酵液中加入抗氧化剂时,*P. tricorutum* 的 DHA、ARA 和 EPA 含量进一步增加 20%以上^[16]。Pleissner 等研究了氮和/或磷限制对蛋白核小球藻 *C. pyrenoidosa* 脂肪酸累积的影响,结果表明在营养充足的分批培养条件下其油脂含量(103.8 mg/g)比在营养限制条件下高 3 倍^[21]。因此,发酵底物中餐厨垃圾的物质组成和营养状态是影响产油微藻生长和油脂累积的关键因素。

2.2 产油酵母

除了产油微藻外,产油酵母是微生物油脂生产中最常用的产油微生物。与产油微藻相比,产油酵母生长周期更短,不依赖于季节和光照;

表 1 文献报道的产油微藻发酵餐厨垃圾生产油脂的研究

Table 1 Summary of lipid production by oleaginous microalgae using food wastes

Oleaginous microalgae	Food waste	Source of food wastes	Culture mode	Culture time	Lipid (g/L)	Lipid (% g/g)	References
<i>Chlorella vulgaris</i> FSP-E	Food waste compost (100%)	Cafeteria in the University of Nottingham	Batch	15 d	0.03	8.60	[38]
	Food waste compost (75%)	Malaysia campus			0.24	17.80	
	Food waste compost (50%)				0.31	19.80	
	Food waste compost (35%)				0.34	20.80	
	Food waste compost (25%)				0.37	22.00	
	Food waste compost (15%)				0.37	21.50	
	<i>Chlorella vulgaris</i>	Food waste			A canteen catering several thousand people per day in Shandong University	Batch	
<i>Chlorella</i> sp. GY-H4	Fasal medium supplemented with food waste hydrolysate (with an initial glucose concentration of 20 g/L)	A student canteen at International College of Hong Kong, China	Semi-continuous and mixotrophic cultivation	18 d	1.80	26.10	[25]
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Food waste hydrolysate	A canteen in Science Park, Shatin, Hong Kong, China, from the same canteen at different dates	Nutrient sufficient batch culture	2.8 d	–	10.40	[21]
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Food waste leachate	Slag separator of the food waste collection point	Batch	4 d	0.56	16.00	[40]
<i>Cyanobacterium aponinum</i>			Batch	4 d	0.11	7.00	
<i>Phaeodactylum tricorutum</i> (CCMP-2561)	3% food wastes hydrolysate	Canteen of International College Hong Kong (Sha Tau Kok, Hong Kong, China)	Batch	7 d	–	51.10	[16]
<i>Scenedesmus</i> sp. R-16	Stimulated food waste	Mixture of cassava starch, corn starch, mung bean starch, pea starch, potato starch, sweet potato starch and wheat starch	Separated in two chambers with batch mode	144 h	0.51	38.93	[43]

并且产油酵母同样具有广泛的底物选择性,能够利用很多廉价底物进行生长和油脂合成。产油酵母的脂肪酸组成比较简单,主要以饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸为主。笔者前期的研究发现,红冬孢酵母 (*Rhodospiridium*) TJUWZ4 的脂肪酸主要由油酸 (18:1)、棕榈酸 (C16:0) 和亚油酸 (18:2) 组成,三者之和能占到总脂肪酸的 90%,极具工业化生产生物柴油的潜力^[44]。然而,多数产油酵母由于缺乏膜结合的脱饱和酶而不能合成多不饱和脂肪酸,但经基因修饰后的工程菌株可以进行多不饱和脂肪酸的生产。解脂耶氏酵母工程菌 *Y. lipolytica* 是研究最多的产油酵母,其细胞内 EPA 可占总脂肪酸的 56.6%–58.0%,已被应用于 EPA 的工业化生产^[45]。高山被孢霉工程菌株 (*Mortierella alpina*) 1S-4 细胞内的多不饱和脂肪酸相对含量可以达到 60% 以上,其主要组成为 EPA、AA (20.3%–44.0%) 和 GLA (7.1%)^[46-47]。采用基因工程方法进行基因编辑与修饰,是提高产油酵母产油性能的重要手段。

利用产油酵母处理餐厨垃圾研究最多的是红冬孢酵母属 (*Rhodospiridium*)。在餐厨垃圾糖化液(经葡糖淀粉酶水解糖化)中发酵 6 d 后,圆红冬孢酵母 (*Rhodospiridium toruloides*) 2.1389 的油脂含量高达 50% 以上,生物量和油脂浓度分别为 12.09 g/L 和 6.37 g/L^[31,48]。当采用两阶段培养法(即先在 30 g/g C/N 比值条件下发酵以促进菌体增殖,然后换成高 73 g/g C/N 比值条件以促进油脂合成)时,*R. toruloides* 2.1389 的油脂浓度最高达到 9.19 g/L,油脂产量达到 0.204 g/g 葡萄糖;与传统的分批发酵方法相比,分别提高了 44.27% 和 60.63%^[48]。而且补料分批发酵操作比分批发酵操作更有利于圆红冬孢酵母的生长和油脂累积,2 种发酵操作模式下

的生物量和油脂含量分别为 53.9 g/L 和 49.5%、32.9 g/L 和 36.5%^[49]。可见,产油酵母的生长和油脂合成可以通过改变发酵条件和操作模式进行调控。同样地,当以餐厨垃圾废弃物作为发酵底物组分时,球拟假丝酵母 *S. bombicola* ATCC 22214 的槐糖脂产量在补料分批发酵方式下 (115 g/L) 比分批发酵方式下 (28.15 g/L) 提高 4 倍^[19]。因此,在利用产油酵母处理餐厨废弃物时,选择适宜的操作模式和发酵条件能够实现废弃物的高效利用。如表 2 所示,产油酵母既可以直接利用餐厨垃圾,也可以发酵经物理、化学和酶解等方法预处理后的餐厨垃圾水解物。餐厨垃圾经去除塑料、筷子、牙签、纸和骨头并均质化处理后,可被酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 有效处理和利用^[50]。餐厨垃圾经热水处理和厌氧消化后产生的挥发性脂肪酸,可用作红球菌属酵母 *Rhodococcus* sp. YHY01 的发酵底物,分批发酵 72 h 后,其细胞内油脂含量高达 69%^[51]。圆红冬孢酵母 *R. toruloides* Y2 在经硫酸水解的餐厨垃圾水解物中发酵 45 h 后,其生物量和细胞内油脂浓度高达 32.1 g/L 和 7.3 g/L^[22]。此外,真菌 *P. aphidis* ZJUDM34 可以经物理过滤、蒸馏、脱色和脱酸处理后的废烹饪油为发酵原料,生产大量的甘露糖甾醇脂 (60 g/L)^[20]。虽然多数学者直接采用餐厨垃圾水解物作为发酵原料,但也有少数研究在餐厨垃圾水解物中添加部分营养物质,以促进脂质的合成。在经蛋白酶、脂肪酶和葡糖淀粉酶水解后的餐厨垃圾水解物中添加葡萄糖和油酸作为发酵原料,球拟假丝酵母 *S. bombicola* ATCC 22214 可以合成大量的槐糖脂 (115 g/L 和 0.26 g SL/g 碳源)^[19]。

此外,餐厨垃圾的成分比较复杂,传统的单一微生物处理可能无法将其中的所有营养成分进行有效的降解和利用。微藻通常对废弃物

中有机物的处理能力较弱,对营养盐成分利用效率较高,而酵母正好与之相反^[52]。所以将产油微藻与产油酵母进行混合培养,通过两者的营养互补可以高效处理餐厨垃圾中的有机和无机成分。例如,利用圆红冬孢酵母 *R. toruloides* 和小球藻 *C. vulgaris* 混合培养体系,在无光照、分批发酵条件下处理餐厨垃圾水解物时,混合培养体系的氮利用率、还原糖利用率和油脂产量分别比 *R. toruloides* 单一培养体系提高了 23%、17%和 12%,而且处理时间也缩短了

40%^[23]。同时,比较混合培养体系在有、无光照条件下微生物的生长和油脂累积特征,发现有光照条件下 (14.9 g/L 和 25.5%) 的生物量和油脂含量均高于无光照条件 (13.9 g/L 和 24.1%)^[32]。在有光照条件下,酵母可以通过呼吸作用为微藻提供二氧化碳,而微藻经光合作用产生的氧气能够进一步促进酵母和微藻自身的生长与代谢^[53]。因此,光照条件下藻菌混合培养可以作为提高餐厨垃圾处理效率和油脂转化率的有效手段之一,并具有广阔的应用前景。

表 2 文献报道的产油酵母发酵餐厨垃圾生产油脂的研究

Table 2 Summary of lipid production by oleaginous yeasts using food wastes

Oleaginous yeasts	Food waste substrates	Source of food wastes	Culture modes	Culture time	Lipid (g/L)	Lipid (% g/g)	References
<i>Rhodosporidium toruloides</i> 2.1389	Food waste saccharified liquid	A canteen in the University of Science and Technology Beijing	Batch	6 d	6.37	52.67	[31]
<i>Rhodosporidium toruloides</i> 2.1389	Food waste saccharified liquid	A canteen in the University of Science and Technology in Beijing	Batch in two stage fermentation	9 d	9.19	0.20 g/g total sugar	[48]
			Batch with one stage fermentation	6 d	6.37	0.13 g/g total sugar	
<i>Rhodosporidium toruloides</i> Y-27012	Food waste hydrolysate	Food waste discarded by the hospitlality sector	Batch	192 h	12.00	36.50	[49]
			Fed-batch	116 h	26.70	49.50	
<i>Rhodosporidium toruloides</i> Y2	Food waste hydrolysate	The refectory of Sichuan University	Batch	45 h	7.30	22.90	[22]
<i>Rhodosporidium toruloides</i> and <i>Chlorella vulgaris</i>	Food waste hydrolysate without detoxification and nutrient addition	The refectory of Sichuan University	Batch in dark	5 d	3.40	24.10	[23]
			Batch in light	5 d	3.80	25.50	
<i>Rhodosporidium toruloides</i>			Batch in dark	5 d	3.30	23.50	
<i>Rhodococcus</i> sp. YHY01	Food waste-derived volatile fatty acids	A gift from Dr. Mi-Sun Kim (Korea institute of energy research, Daejeon)	Batch	72 h	2.20	69.00	[51]

(待续)

(续表 2)

Oleaginous yeasts	Food waste substrates	Source of food wastes	Culture modes	Culture time	Lipid (g/L)	Lipid (% g/g)	References
<i>Rhodotorula glutinis</i> (DSM 10134)	Post consumption food waste	Student canteen at Hong Kong Baptist University, Hong Kong, China	Batch	6 d	3.69	30.00	[54]
<i>Yarrowia lipolytica</i> (DSM 8218)	leachate		Batch	6 d	10.20	48.90	
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Supernatant of food waste fermentation effluent	Dongcun solid waste treatment plant (Beijing)	Batch	72 h	0.37	18.23	[55]
<i>Starmerella bombicola</i> ATCC 22214	Food waste hydrolysate, glucose, oleic acid	Chinese restaurant	Batch	72 h	28.15 (sophorolipids)	0.26 (g/g carbon source)	[19]
			Fed-batch	92 h	115.00 (sophorolipids)	0.33 (g/g carbon source)	
<i>Cryptococcus albidus</i> (ATCC 10672)	Fermentation supernatant of food waste	The Columbia University cafeteria	Batch	96 h	0.14	14.90	[30]
<i>Pseudozyma aphidis</i> ZJUDM34	Waste cooking oil	Major restaurant in Hangzhou with soybean oil in the preparation of cooked food	Batch	10 d	60.00 (mannosylerythritol lipids)	–	[20]
<i>Trichosporon fermentans</i> (CICC 1368)	Refined soybean oil wastewater	The original wastewater was obtained from a soybean oil refinery plant in Jilin City, China	Batch	96 h	3.40	43.00	[56]
<i>Rhodotorula gracilis</i> ATCC 10788	Potato waste water and glycerol fraction	Industrial wastes	Batch at 28 °C	96 h	3.14	16.33	[18]
			Batch at 20 °C	96 h	4.26	19.55	

2.3 破囊壶菌

破囊壶菌是一类单细胞异养原生生物，可以合成大量的多不饱和脂肪酸、角鲨烯和类胡萝卜素等活性产物，能够高效利用甘蔗渣、作物秸秆汁等农业废弃物以及粗甘油、养殖废水等工业废弃物合成脂肪酸，具有重要的生物技术应用潜力^[57-62]。破囊壶菌利用食品废弃物的

研究始于 2000 年，Fan 等发现破囊壶菌 (*Schizochytrium* sp.) 可以利用食品废弃物生产 DHA，当分别以面包皮、豆渣粉和酿酒粮食废弃物为底物时，其 DHA 含量分别为 12.6 mg/g、7.3 mg/g 和 6.2 mg/g，说明食品废弃物种类影响 DHA 的合成；但与葡萄糖-酵母提取物培养条件相比，破囊壶菌 *S. sp.* 以食品废弃物为底

物时的 DHA 含量明显偏低, 分别为 203 mg/g 和 6.2–12.3 mg/g^[63]。然而, Pleissner 等的研究发现, 在以餐厨垃圾水解物 (餐厨垃圾经真菌水解预处理) 为底物的条件下破囊壶菌 (*Schizochytrium mangrovei*) 的油脂和 DHA 含量 ((164.9±81.9) mg/g 和 (40.3±23.5) mg/g), 均比在传统的葡萄糖-酵母提取物条件下高 ((124.9±43.1) mg/g 和 (30.2±2.3) mg/g)^[64]。由此说明, 食品废弃物的水解预处理能够提高破囊壶菌的发酵利用效率。最新的研究表明, 破囊壶菌 (*Aurantiochytrium* sp.) T66 可以发酵餐厨垃圾获得更高的油脂和 DHA 含量 (431.3 mg/g 和 150 mg/g), 同时油脂和 DHA 浓度达到 6.34 g/L 和 2.15 g/L; 此外, 还可以合成较多的副产物角鲨烯 (69.31 mg/g 和 1.05 g/L), 进一步提高了工业化生产的经济价值^[17]。以上结果表明, 虽然破囊壶菌在餐厨垃圾处理方面的研究不多, 但有限的研究证明了破囊壶菌利用低成本的餐厨垃圾生产高附加值代谢产物 (DHA 和角鲨烯) 的可行性和广阔的发展空间。

此外, 细菌广泛应用于餐厨垃圾的厌氧处理技术。一方面通过添加活性污泥或厌氧功能细菌 (如产甲烷菌) 培养物, 经无氧发酵将餐厨垃圾转化成生物甲烷、生物氢气等; 另一方面, 利用厌氧细菌的氨化等代谢反应, 初步处理餐厨垃圾获得水解物, 并进一步将餐厨垃圾水解物应用于有氧发酵过程。然而, 在有氧条件下利用产油细菌发酵餐厨垃圾生产油脂的研究尚且缺乏。在食品废弃物应用方面, 盐沉积物慢生芽孢杆菌 (*Lentibacillus salarius*) NS12HTR 可以利用小麦麸皮水解物、橙皮水解物和芒果皮水解物, 但其生物量 ((3.96±0.009) g/L、(0.96±0.012) g/L 和 (0.96±0.015) g/L) 和油脂产量 ((0.7±0.029) g/L、(0.16±0.01) g/L 和 (0.20±0.02) g/L) 均较低^[65]。因此, 利用产油细菌处理餐厨垃圾生产油脂的

应用技术还有待进一步开发。

3 总结与展望

餐厨垃圾含有丰富的碳水化合物、蛋白质和油脂等成分, 可以直接或经水解处理后作为产油微生物发酵生产油脂的廉价底物。首先, 产油微藻和产油酵母是处理餐厨垃圾应用最广泛的产油微生物, 合成的大量油脂可作为生物柴油的生产原料; 并且某些产油微藻还可以合成 50% (占总脂肪酸的比例) 以上的多不饱和脂肪酸, 大幅度提高了其经济价值。未来的研究方向在于, 筛选能够高效降解餐厨垃圾的产油微生物, 探究适宜的发酵操作模式与发酵条件, 以促进餐厨垃圾的高效转化。其次, 异养原生生物破囊壶菌也可以处理餐厨垃圾, 同时生产大量的高附加值代谢产物 (如 DHA 和副产物角鲨烯), 是处理餐厨垃圾生产油脂极具工业化应用价值的潜力菌。最后, 藻菌混合培养技术利用不同微生物 (如微藻与酵母菌) 对营养需求的互补作用高效处理餐厨垃圾中的有机和无机成分, 是处理餐厨废弃物非常高效的方法, 仍有待深入研究。

REFERENCES

- [1] Gustavsson J, Cederberg C, Sonesson U, et al. Global food losses and food waste—extent, causes and prevention. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2011.
- [2] Lau KY, Pleissner D, Lin CSK. Recycling of food waste as nutrients in *Chlorella vulgaris* cultivation. *Bioresour Technol*, 2014, 170: 144-151.
- [3] Herrero M, Laca A, Díaz M. Food Industry Wastes. Life cycle assessment focusing on food industry wastes. Amsterdam: Elsevier, 2013: 265-280.
- [4] Bernstad A, la Cour Jansen J. Review of comparative LCAs of food waste management systems — current status and potential improvements. *Waste Manag*, 2012, 32(12): 2439-2455.

- [5] Yin K, Li L, Giannis A, et al. High-quality fuel from food waste—investigation of a stepwise process from the perspective of technology development. *Environ Technol*, 2017, 38(13/14): 1735-1741.
- [6] Huang JJ, Feng HJ, Huang LJ, et al. Continuous hydrogen production from food waste by anaerobic digestion (AD) coupled single-chamber microbial electrolysis cell (MEC) under negative pressure. *Waste Manag*, 2020, 103: 61-66.
- [7] Jang HM, Lee J, Shin SG, et al. Comparing the fate of antibiotic resistance genes in two full-scale thermophilic anaerobic digestion plants treating food wastewater. *Bioresour Technol*, 2020, 312: 123577.
- [8] Wang P, Qiao Z, Li X, et al. Functional characteristic of microbial communities in large-scale biotreatment systems of food waste. *Sci Total Environ*, 2020, 746: 141086.
- [9] Ma J, Wang P, Gu W, et al. Does lipid stress affect performance, fate of antibiotic resistance genes and microbial dynamics during anaerobic digestion of food waste? *Sci Total Environ*, 2021, 756: 143846.
- [10] Pleissner D, Lam WC, Han W, et al. Fermentative polyhydroxybutyrate production from a novel feedstock derived from bakery waste. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 819474.
- [11] Leung CCJ, Cheung ASY, Zhang AYZ, et al. Utilisation of waste bread for fermentative succinic acid production. *Biochem Eng J*, 2012, 65: 10-15.
- [12] Pleissner D, Lau KY, Zhang C, et al. Plasticizer and surfactant formation from food-waste- and algal biomass-derived lipids. *Chem Sus Chem*, 2015, 8(10): 1686-1691.
- [13] Rafieenia R, Pivato A, Lavagnolo MC. Optimization of hydrogen production from food waste using anaerobic mixed cultures pretreated with waste frying oil. *Renew Energy*, 2019, 139: 1077-1085.
- [14] Yue LC, Cheng J, Hua JJ, et al. Improving fermentative methane production of glycerol trioleate and food waste pretreated with ozone through two-stage dark hydrogen fermentation and anaerobic digestion. *Energy Convers Manag*, 2020, 203: 112225.
- [15] Carmona-Cabello M, García IL, Papadaki A, et al. Biodiesel production using microbial lipids derived from food waste discarded by catering services. *Bioresour Technol*, 2021, 323: 124597.
- [16] Wang X, Balamurugan S, Liu SF, et al. Enhanced polyunsaturated fatty acid production using food wastes and biofuels byproducts by an evolved strain of *Phaeodactylum tricornutum*. *Bioresour Technol*, 2020, 296: 122351.
- [17] Patel A, Rova U, Christakopoulos P, et al. Mining of squalene as a value-added byproduct from DHA producing marine thraustochyrid cultivated on food waste hydrolysate. *Sci Total Environ*, 2020, 736: 139691.
- [18] Kot AM, Błazejak S, Kieliszek M, et al. Production of lipids and carotenoids by *Rhodotorula gracilis* ATCC 10788 yeast in a bioreactor using low-cost wastes. *Biocatal Agric Biotechnol*, 2020, 26: 101634.
- [19] Kaur G, Wang HM, To MH, et al. Efficient sophorolipids production using food waste. *J Clean Prod*, 2019, 232: 1-11.
- [20] Niu Y, Wu J, Wang W, et al. Production and characterization of a new glycolipid, mannosylerythritol lipid, from waste cooking oil biotransformation by *Pseudozyma aphidis* ZJUDM34. *Food Sci Nutr*, 2019, 7(3): 937-948.
- [21] Pleissner D, Lau KY, Ki Lin CS. Utilization of food waste in continuous flow cultures of the heterotrophic microalga *Chlorella pyrenoidosa* for saturated and unsaturated fatty acids production. *J Clean Prod*, 2017, 142: 1417-1424.
- [22] Zeng Y, Bian DL, Xie Y, et al. Utilization of food waste hydrolysate for microbial lipid and protein production by *Rhodospiridium toruloides* Y2. *J Chem Technol Biotechnol*, 2017, 92(3): 666-673.
- [23] Zeng Y, Xie TH, Li PY, et al. Enhanced lipid production and nutrient utilization of food waste hydrolysate by mixed culture of oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* and oleaginous microalgae *Chlorella vulgaris*. *Renew Energy*, 2018, 126: 915-923.
- [24] Nwoba EG, Mickan BS, Moheimani NR. *Chlorella* sp. growth under batch and fed-batch conditions with effluent recycling when treating the effluent of food waste anaerobic digestate. *J Appl Phycol*, 2019, 31(6): 3545-3556.
- [25] Wang X, Zhang MM, Sun Z, et al. Sustainable lipid and lutein production from *Chlorella* mixotrophic fermentation by food waste hydrolysate. *J Hazard Mater*, 2020, 400: 123258.
- [26] Xue S, Wang Y, Lyu X, et al. Interactive effects of carbohydrate, lipid, protein composition and carbon/nitrogen ratio on biogas production of different food wastes. *Bioresour Technol*, 2020, 312: 123566.
- [27] Lopes M, Miranda SM, Alves JM, et al. Waste cooking oils as feedstock for lipase and lipid-rich biomass

- production. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2019, 121(1): 1800188.
- [28] Wang QZ, Ye HK, Xie YX, et al. Culturable diversity and lipid production profile of *Labyrinthulomycete protists* isolated from coastal mangrove habitats of China. *Mar Drugs*, 2019, 17(5): 268-285.
- [29] Wang QZ, Sen B, Liu XH, et al. Enhanced saturated fatty acids accumulation in cultures of newly-isolated strains of *Schizochytrium* sp. and *Thraustochytriidae* sp. for large-scale biodiesel production. *Sci Total Environ*, 2018, 631/632: 994-1004.
- [30] Vajpeyi S, Chandran K. Microbial conversion of synthetic and food waste-derived volatile fatty acids to lipids. *Bioresour Technol*, 2015, 188: 49-55.
- [31] Ma XY, Gao Z, Gao M, et al. Microbial lipid production from food waste saccharified liquid and the effects of compositions. *Energy Convers Manag*, 2018, 172: 306-315.
- [32] Li Q, Kamal R, Wang Q, et al. Lipid production from amino acid wastes by the oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides*. *Energies*, 2020, 13(7): 1576-1584.
- [33] Kothri M, Mavrommati M, Elazzazy AM, et al. Microbial sources of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and the prospect of organic residues and wastes as growth media for PUFA-producing microorganisms. *FEMS Microbiol Lett*, 2020, 367(5): fnaa028.
- [34] Xie D, Jackson EN, Zhu Q. Sustainable source of omega-3 eicosapentaenoic acid from metabolically engineered *Yarrowia lipolytica*: from fundamental research to commercial production. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99(4): 1599-1610.
- [35] Fujita T, Kawashima H, Sakuradani E, et al. Essential fatty acids for oleaginous fungus *Mortierella alpina*. *Biocatal Agric Biotechnol*, 2016, 8: 167-170.
- [36] Morales-Sánchez D, Martínez-Rodríguez OA, Martínez A. Heterotrophic cultivation of microalgae: production of metabolites of commercial interest. *J Chem Technol Biotechnol*, 2017, 92(5): 925-936.
- [37] Song MM, Pei HY. The growth and lipid accumulation of *Scenedesmus quadricauda* during batch mixotrophic/heterotrophic cultivation using xylose as a carbon source. *Bioresour Technol*, 2018, 263: 525-531.
- [38] Chew KW, Chia SR, Show PL, et al. Food waste compost as an organic nutrient source for the cultivation of *Chlorella vulgaris*. *Bioresour Technol*, 2018, 267: 356-362.
- [39] Hou QJ, Pei HY, Hu WR, et al. Mutual facilitations of food waste treatment, microbial fuel cell bioelectricity generation and *Chlorella vulgaris* lipid production. *Bioresour Technol*, 2016, 203: 50-55.
- [40] Wu KC, Yau YH, Sze ETP. Application of anaerobic bacterial ammonification pretreatment to microalgal food waste leachate cultivation and biofuel production. *Mar Pollut Bull*, 2020, 153: 111007.
- [41] Ren HY, Liu BF, Kong FY, et al. Favorable energy conversion efficiency of coupling dark fermentation and microalgae production from food wastes. *Energy Convers Manag*, 2018, 166: 156-162.
- [42] Bundhoo MAZ, Mohee R. Inhibition of dark fermentative bio-hydrogen production: a review. *Int J Hydrog Energy*, 2016, 41(16): 6713-6733.
- [43] Ren HY, Kong F, Cui Z, et al. Cogeneration of hydrogen and lipid from stimulated food waste in an integrated dark fermentative and microalgal bioreactor. *Bioresour Technol*, 2019, 287: 121468.
- [44] Wang QZ, Cui Y, Sen B, et al. Characterization and robust nature of newly isolated oleaginous marine yeast *Rhodospiridium* sp. from coastal water of Northern China. *AMB Express*, 2017, 7(1): 1-13.
- [45] Suh SS, Kim SJ, Hwang J, et al. Fatty acid methyl ester profiles and nutritive values of 20 marine microalgae in Korea. *Asian Pac J Trop Med*, 2015, 8(3): 191-196.
- [46] Patil V, Källqvist T, Olsen E, et al. Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. *Aquac Int*, 2007, 15(1): 1-9.
- [47] Kikukawa H, Sakuradani E, Ando A, et al. Arachidonic acid production by the oleaginous fungus *Mortierella alpina* 1S-4: a review. *J Adv Res*, 2018, 11: 15-22.
- [48] Ma XY, Gao Z, Gao M, et al. Microbial lipid production from food waste saccharified liquid under two-stage process. *Bioresour Technol*, 2019, 289: 121626.
- [49] Carmona-Cabello M, García IL, Sáez-Bastante J, et al. Food waste from restaurant sector-characterization for biorefinery approach. *Bioresour Technol*, 2020, 301: 122779.
- [50] Suwannarat J, Ritchie RJ. Anaerobic digestion of food waste using yeast. *Waste Manag*, 2015, 42: 61-66.
- [51] Bhatia SK, Gurav R, Choi TR, et al. Effect of synthetic and food waste-derived volatile fatty acids on lipid accumulation in *Rhodococcus* sp. YHY01 and the properties of produced biodiesel. *Energy Convers Manag*, 2019, 192: 385-395.
- [52] Ling J, Nip S, Cheok WL, et al. Lipid production by a mixed culture of oleaginous yeast and microalga from

- distillery and domestic mixed wastewater. *Bioresour Technol*, 2014, 173: 132-139.
- [53] Cheirsilp B, Kitcha S, Torpee S. Co-culture of an oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and a microalga *Chlorella vulgaris* for biomass and lipid production using pure and crude glycerol as a sole carbon source. *Ann Microbiol*, 2012, 62(3): 987-993.
- [54] Johnravindar D, Karthikeyan OP, Selvam A, et al. Lipid accumulation potential of oleaginous yeasts: a comparative evaluation using food waste leachate as a substrate. *Bioresour Technol*, 2018, 248(pt a): 221-228.
- [55] Gao RL, Li ZF, Zhou XQ, et al. Oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica* culture with synthetic and food waste-derived volatile fatty acids for lipid production. *Biotechnol Biofuels*, 2017, 10(1): 1-15.
- [56] Yu DY, Wang XN, Fan X, et al. Refined soybean oil wastewater treatment and its utilization for lipid production by the oleaginous yeast *Trichosporon fermentans*. *Biotechnol Biofuels*, 2018, 11: 299.
- [57] Nguyen HC, Su CH, Yu YK, et al. Sugarcane bagasse as a novel carbon source for heterotrophic cultivation of oleaginous microalga *Schizochytrium* sp.. *Ind Crop Prod*, 2018, 121: 99-105.
- [58] Liang Y, Sarkany N, Cui Y, et al. Use of sweet sorghum juice for lipid production by *Schizochytrium limacinum* SR21. *Bioresour Technol*, 2010, 101(10): 3623-3627.
- [59] Unagul P, Assantachai C, Phadungruengluij S, et al. Coconut water as a medium additive for the production of docosahexaenoic acid (C22:6 n3) by *Schizochytrium mangrovei* Sk-02. *Bioresour Technol*, 2007, 98(2): 281-287.
- [60] Ethier S, Woisard K, Vaughan D, et al. Continuous culture of the microalgae *Schizochytrium limacinum* on biodiesel-derived crude glycerol for producing docosahexaenoic acid. *Bioresour Technol*, 2011, 102(1): 88-93.
- [61] Jung IS, Lovitt RW. Integrated production of long chain polyunsaturated fatty acids (PUFA)-rich *Schizochytrium* biomass using a nutrient supplemented marine aquaculture wastewater. *Aquac Eng*, 2010, 43(2): 51-61.
- [62] 宁耀东, 王秋珍, 何艺科, 等. 破囊壶菌利用工农业废弃物生产脂肪酸的研究进展. *微生物学通报*, 2020, 47(1): 234-243.
- Ning YD, Wang QZ, He YK, et al. Progress in fatty acids production by thraustochytrids using industrial and agricultural wastes. *Microbiol China*, 2020, 47(1): 234-243 (in Chinese).
- [63] Fan KW, Chen F, Jones EBG, et al. Utilization of food processing waste by thraustochytrids. *Fungal Divers*, 2000, 5: 185-194.
- [64] Pleissner D, Lam WC, Sun Z, et al. Food waste as nutrient source in heterotrophic microalgae cultivation. *Bioresour Technol*, 2013, 137: 139-146.
- [65] Singh N, Choudhury B. Valorization of food-waste hydrolysate by *Lentibacillus salarius* NS12IITR for the production of branched chain fatty acid enriched lipid with potential application as a feedstock for improved biodiesel. *Waste Manag*, 2019, 94: 1-9.

(本文责编 郝丽芳)