

膨化预处理玉米秸秆提高还原糖酶解产率的效果

寇巍, 赵勇, 闫昌国, 李世密, 张晓健, 张大雷^{*}

(辽宁省能源研究所, 营口 115003)

摘要: 为了提高玉米秸秆的可发酵还原糖转化率, 采用膨化技术对玉米秸秆木质纤维素进行预处理。扫描电镜观察, 玉米秸秆的纤维束受到破坏, 木质素包裹作用减弱, 纤维素酶的空间作用面积提高。红外光谱分析表明有部分半纤维素和少量木质素水解; X 射线衍射测定纤维素结晶度降低了 12.68%。通过进一步纤维素酶解试验, 与未处理的相比膨化处理后原料酶解时间可缩短 16 h, 未经膨化处理原料还原糖的酶解产率为 13.48%, 膨化处理后原料还原糖的酶解产率可达 24.91%。结果表明, 膨化预处理技术可明显提高玉米秸秆木质纤维素的能源化利用效率。该试验为膨化玉米秸秆酶解工艺的进一步研究提供依据。

关键词: 秸秆, 膨化, 纤维素, 木质纤维素, 预处理, 还原糖, 酶解产率

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2010.11.046

中图分类号: S216.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2010)-11-0265-05

寇巍, 赵勇, 闫昌国, 等. 膨化预处理玉米秸秆提高还原糖酶解产率的效果[J]. 农业工程学报, 2010, 26(11): 265—269.
Kou Wei, Zhao Yong, Yan Changguo, et al. Corn straw expansion pretreatment to improve enzymolysis reducing sugar yield[J]. Transactions of the CSAE, 2010, 26(11): 265—269. (in Chinese with English abstract)

0 引言

农作物秸秆的主要成分为纤维素、半纤维素和木质素, 三者占秸秆总量的 80%, 其中纤维素占 30%~40%, 半纤维素占 25%~30%, 木质素占 10%~15%。自然条件下, 天然植物秸秆中的纤维素、半纤维素和木质素都是性质稳定的高聚物, 很难溶于水、稀酸、稀碱和一般有机溶剂。三组分结构复杂, 彼此关联, 共同构成植物秸秆的结构主体。纤维素和半纤维素链内和链间主要是通过氢键连接, 而木质素内部除了有强大的氢键连接外, 还与半纤维素形成稳定的木质素-碳水化合物复合体。纤维素、半纤维素和木质素相互交织的结构决定了任何一类成分的降解必然受到其他成分的制约, 如木质素对纤维素和半纤维素酶解过程的空间位阻作用^[1-2]。由于农作物秸秆的化学结构和性质的不同, 难以直接利用, 只有通过破坏或者改变部分结构才能实现^[3]。因此, 木质纤维原料的预处理技术成为解决秸秆高效利用中的重要手段。

常规的物理法能耗高、木质纤维素结构没有明显变化而不利于后续水解过程; 化学法效率高, 但设备腐蚀和环境污染严重; 单纯的生物法还存在纤维素酶活性低, 纤维素酶难以直接作用于纤维素酶解位点等问题而影响实际应用。因此, 研究能耗低、可以使木质素和纤维素、半纤维素结构分离并使纤维素聚合度下降的物理法连续

预处理技术对促进纤维素乙醇技术的发展具有一定的实际应用意义^[4-5]。

膨化技术是结合了物理与生化的复合效应, 依靠浸湿秸秆与膨化机挤压腔中螺套壁及螺杆之间的相互挤压、摩擦作用, 产生高温水蒸汽和压力, 当秸秆被挤出喷嘴后, 压力骤然下降, 从而使秸秆体积膨大的工艺操作^[6]。膨化预处理目的是解除秸秆中木质素对纤维素和半纤维素的包裹以及致密的纤维素结晶区结构, 使原料的物理结构发生变化, 增加对微生物和酶的可及性, 提高底物的利用率, 降低秸秆转化利用过程中的技术处理难点, 从而根本上节约秸秆利用过程中的技术成本^[7-8]。本文采用膨化技术处理玉米秸秆, 对处理后的原料进行成分与结构分析对比, 并通过纤维素酶解试验, 探讨膨化技术对玉米秸秆转化利用的效果。

1 材料与方法

1.1 试验材料

玉米秸秆取自辽宁省营口市城郊, 挑选干净样品去根干燥后, 分别经粉碎机与膨化机处理后备用。

纤维素酶购自枣庄市凯特生物化工有限公司, 酶活为 20 000 U/g。

1.2 试验设备

粉碎机(黄华县齐家务科学仪器厂)、秸秆膨化机(辽宁省能源研究所, LNSNYS-P01)、紫外可见分光光度计(UV-1601, 北京北分瑞丽分析仪器公司)、粗纤维测定仪(FIWE6, VELP)、扫描电子显微镜(SSX-550, Shimadzu)、X 射线衍射仪(PW3040, Panalytical.B.V)、傅立叶红外光谱仪(Spectrum 100, PerkinElmer)、烘箱(YXQG01, 上海精宏实验设备有限公司)、马福炉(SX-5-12, 上海洪纪仪器设备有限公司)、电热恒温水浴

收稿日期: 2010-03-02 修订日期: 2010-05-13

基金项目: 国家“863”专题课题(2009AA10Z4483690)

作者简介: 寇巍(1981—), 男, 辽宁沈阳人, 主要研究方向为沼气和纤维素乙醇技术。营口 辽宁省能源研究所, 115003。Email: kouwei6@126.com

*通信作者: 张大雷(1963—), 男, 辽宁营口人, 研究员, 博士, 博士生导师, 研究方向为生物质能应用技术。营口 辽宁省能源研究所, 115003。Email: daleizhang@163.com

锅(天津市泰斯特仪器有限公司)、调温调湿培养箱(天津市试验设备厂)、电子天平(BS223S, Sartorius)。

1.3 试验内容与方法

1.3.1 玉米秸秆预处理

玉米秸秆粉碎处理:将干燥玉米秸秆经粉碎机处理,成直径1~2 mm 原料颗粒。

玉米秸秆膨化处理:玉米秸秆切段成5~10 cm,按原料与水质量比1:3加水浸湿过夜,后经膨化机膨化处理。

1.3.2 玉米秸秆产还原糖酶解试验

分别称取粉碎与膨化处理后秸秆原料,按原料与水质量比1:10加水浸泡,按原料质量10%加入纤维素酶混匀,后于恒温培养箱中50℃条件下酶解处理。

1.3.3 木质素、纤维素及半纤维素质量分数测定

分别取膨化处理前后的秸秆,和经进一步酶解后秸秆各10 g。对3种样品的纤维素、半纤维素和木质素质量分数进行测定,测定方法采用GB/T20806-2006和GB/T20805-2006。

1.3.4 还原糖质量分数分析

膨化后秸秆和酶解后秸秆样品,还原糖质量分数测定采用3,5-二硝基水杨酸法进行测定。

1.3.5 扫描电镜分析

对膨化前后的和酶解前后的秸秆进行扫描电镜分析,观察其内部纤维素束的结构变化。

1.3.6 膨化处理前后结晶度的变化对比

取部分膨化前后的秸秆,烘干、粉碎、过筛,采用X射线衍射法测定秸秆纤维的结晶度。

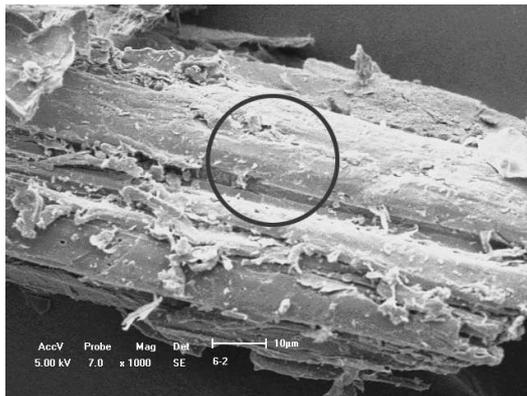
1.3.7 红外光谱分析

将膨化处理前后样品分别采用美国Nicolet 560型傅立叶变换红外光谱仪进行分析,KBr压片,扫描范围4 000~450 cm⁻¹。

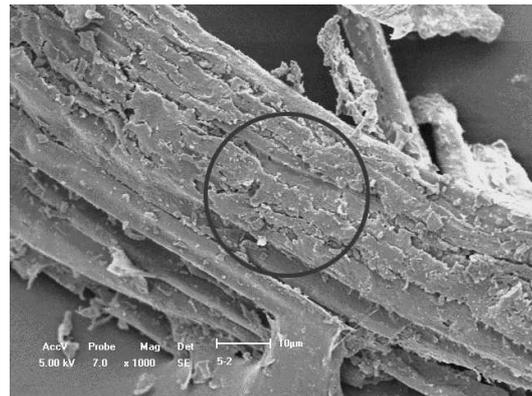
2 结果与分析

2.1 膨化处理前后扫描电镜图像

粉碎玉米秸秆与经膨化处理后玉米秸秆的扫描电镜观察见图1,可以看出,粉碎玉米秸秆成纤维束状且表面光滑,个体结构紧密,表现出明显的机械剪应力作用后形态。经膨化预处理后原料,纤维变得蓬松、柔软,表面呈明显的沟壑与细纤维化现象,可见木质纤维的包裹结构有一定的破坏^[9]。这种膨化后的结构将提高纤维素酶的可及性,有利于下一阶段酶解的进行。



a. 粉碎玉米秸秆



b. 膨化预处理后玉米秸秆

图1 玉米秸秆膨化与粉碎扫描电镜图像对比

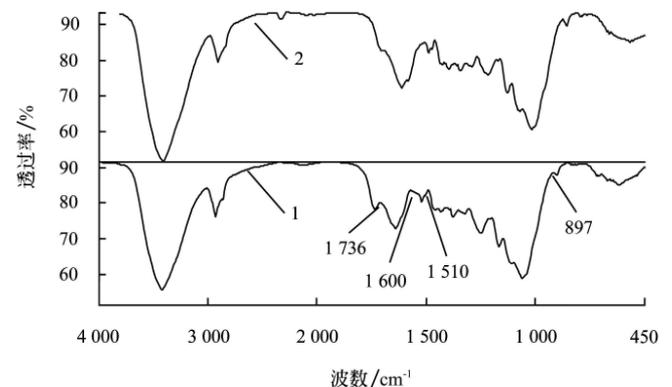
Fig.1 Comparison of scanning electron microscope pictures between expanded straw and crushed straw

2.2 膨化处理前后红外光谱

在纤维原料的红外光谱中, β -D-葡萄糖苷的特征峰为897 cm⁻¹的吸收峰;木素的特征峰为1 510和1 600 cm⁻¹处的芳环振动吸收;1 736 cm⁻¹处的吸收峰则为半纤维素的特征峰。1 045、1 248及1 270 cm⁻¹代表C-H, O-H或CH₂键的伸展振动^[10]。

未经膨化的玉米秸秆及膨化后玉米秸秆的红外光谱分析图谱见图2。未膨化玉米秸秆(波线1)在1 736 cm⁻¹处的吸收峰为羧基团,膨化处理后峰值明显变小,说明大部分半纤维素在高压下发生脱乙酰化作用,半纤维素由于其自身的低聚合度易受到破坏而发生降解^[11]。在纤维原料的红外光谱中, β -D-葡萄糖苷的特征峰为897 cm⁻¹处的吸收峰,膨化后该峰强度略有减小,说明在膨化前后纤维素结构中糖苷键稍有破坏但不明显。从木质素的特征峰1 510和1 600 cm⁻¹处的峰值来看,两吸收峰似乎变化不明显,但其相对吸收强度有一定减弱,证明

木质素分子结构受到了一定破坏^[12]。



注:波线1为未经膨化样品,波线2为膨化后样品

图2 玉米秸秆膨化前后的红外图谱

Fig.2 Infrared red spectra of corn straw before and after expanded

2.3 膨化处理前后秸秆组成

由图 3 可以看出。玉米秸秆经膨化预处理前后，还原糖产量略有增加，其质量分数由膨化前的 0.46% 升至 2.48%。半纤维素质量分数由 20.67% 降低至 15.94%，木

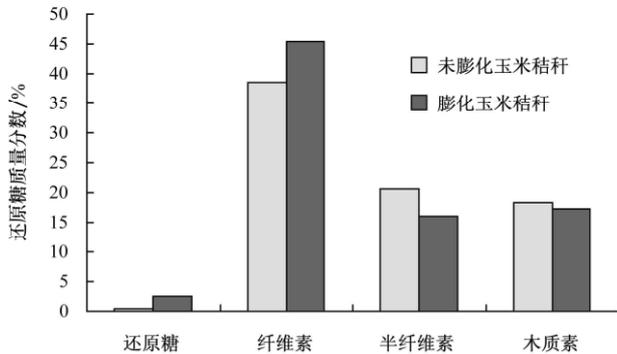


图 3 膨化处理前后还原糖质量分数比较

Fig.3 Comparison of reducing sugar content between expanded straw and raw straw

质素质量分数由 18.43% 降低至 17.28%，而纤维素的质量分数却由 38.64% 升高到 45.32%。说明膨化预处理主要破坏的是半纤维素和木质素，由于木质素结构为芳香族环状化合物，其破坏后不能够直接转变为还原糖。而半纤维素由于其结构是同时含有五碳糖和六碳糖的杂多糖，断裂后可部分转变为还原糖，表明膨化后还原糖的增加是由半纤维素转化而来的。

2.4 膨化处理后秸秆结晶度的去除率

纤维素结晶部分占纤维素总质量的百分比即纤维素的结晶度^[13]。利用 X 射线衍射法，以结晶度为 50% 的标准谱图作为参比，将待测样品粉末从 10°~30°X 射线扫描，然后根据 Segal 公式计算结晶度。图 4 为膨化处理后与未膨化处理样品的 X 射线衍射图，从图中可看出，在 2θ 衍射角的 16°、22° 和 27° 处有 3 个衍射峰都发生了变化，这说明在爆破处理过程中有部分结晶区变为无定形区。经 Segal 公式计算得出，未膨化的玉米秸秆结晶度为 12.14%，膨化后为 10.60%，由此可以看出玉米秸秆经膨化后纤维素的结晶度降低了 12.68%。

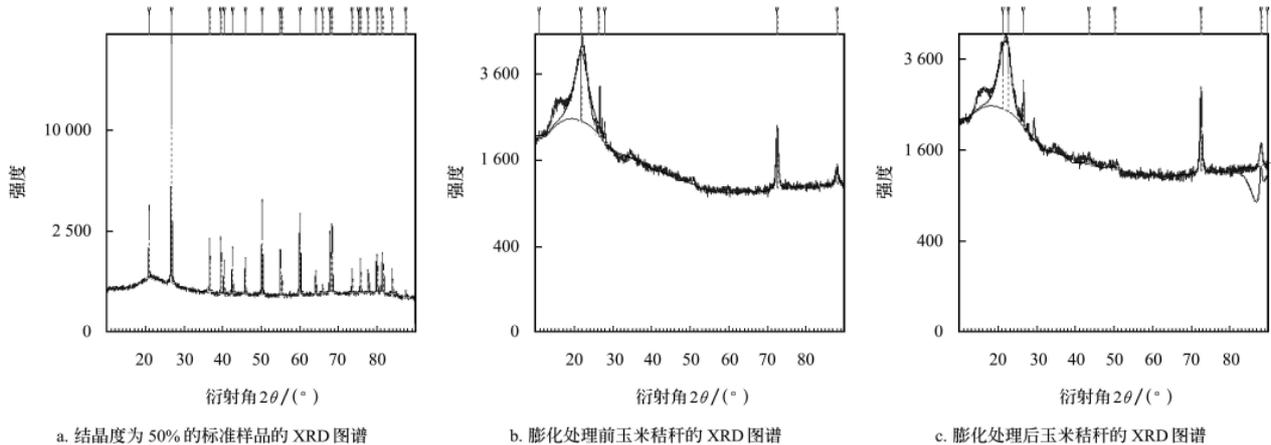


图 4 膨化前后玉米秸秆的 XRD 图谱分析

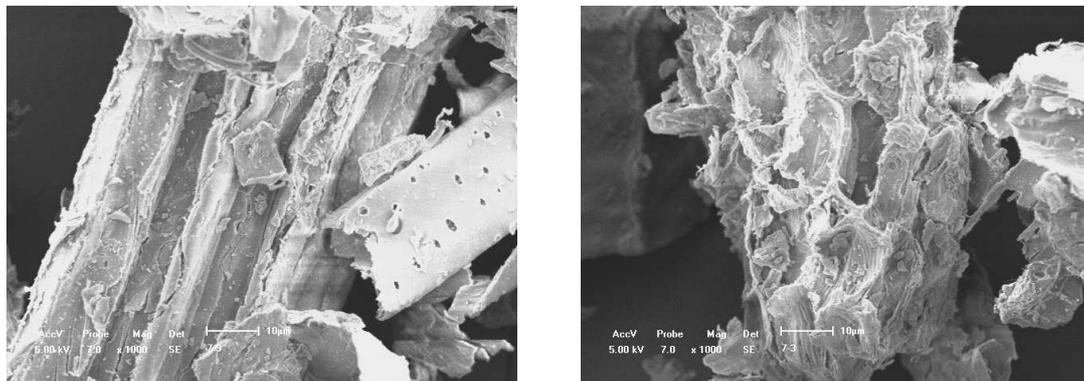
Fig.4 XRD map analysis of expanded straw and raw straw

2.5 秸秆膨化后酶解试验研究结果

2.5.1 酶解后秸秆纤维的扫描电镜图像

图 5 为经粉碎与膨化预处理后的酶解效果电镜图片。可以看出，未膨化酶解虽也可观察到酶解作用后的孔洞，

但仍有较明显纤维木质结构。而经膨化后原料由于提高纤维素酶的可及性，使得纤维素酶将原料内部纤维素充分水解，从而形成许多大孔洞。这说明经膨化处理后的玉米秸秆更加适用于经生物处理的能源转化^[14]。



a. 粉碎玉米秸秆酶解后的扫描电镜图像

b. 膨化玉米秸秆酶解后的扫描电镜图像

图 5 粉碎与膨化预处理后酶解效果对比

Fig.5 Comparison of enzymolysis result between expanded straw and crushed straw

2.5.2 玉米秸秆还原糖酶解转化试验

将经过膨化预处理后的玉米秸秆与未经膨化处理的玉米秸秆原料进行酶解产还原糖试验。经过纤维素酶进一步的水解作用试验,其还原糖产率的变化趋势由图6所示。可以看出,膨化处理后还原糖转化完成时间比未处理原料缩短16h左右,每100g秸秆还原糖产率为24.91%,较未经处理原料的13.57%提高83.57%。水解转化率的提高,证明了经膨化处理后酶作用可及性增加了。

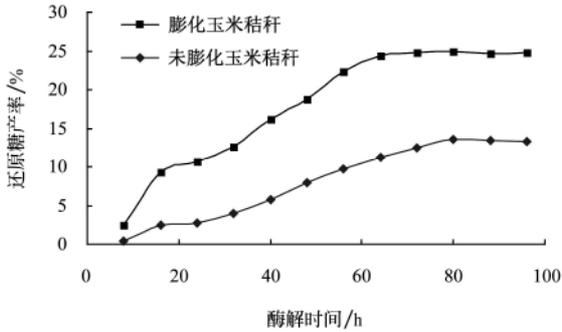


图6 秸秆酶解后还原糖产率随时间变化曲线

Fig.6 Enzymolysed straw's reducing sugar productivity trend chart

3 结论与讨论

玉米秸秆的膨化预处理技术可以破坏玉米秸秆中木质素对纤维素和半纤维素的包裹保护作用,并使得纤维素的结晶度降低12.68%,进而提高了生物酶的可及性。在缩短纤维素酶解时间16h的同时,还使得玉米秸秆的还原糖转化效率由13.48%提高到24.91%。

目前,与直接采用稀酸、稀碱等化学方法相比,经膨化预处理的秸秆纤维素还原糖转化率还是偏低的,但由于膨化处理后的原料没有化学污染问题,今后可以对膨化后纤维素酶解工艺方面进行进一步的研究^[15]。从微生物的还原糖发酵利用角度考虑,木质素的水解伴随苯环类有毒物质的产生^[16],在进一步的木质纤维素转化研究方面还应该同时考虑个别对微生物有抑制作用的化学元素处理。

[参 考 文 献]

[1] Ming W Lau, Bruce E Dale. Cellulosic ethanol production from AFEX-treated corn stover using *Saccharomyces cerevisiae* 424A(LNH-ST)[J]. PNAS, 2009, 106 (5): 1368—1373.

[2] Laura C, López G D. Assessment of size reduction as a preliminary step in the production of ethanol from lignocellulosic wastes[J]. Biological Wastes, 1989, 30(2): 153—157.

[3] 王许涛,周恒涛,张百良. 秸秆生产乙醇的预处理方法分析[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(22): 6883—6884.

Wang Xutao, Zhou Hengtao, Zhang Bailiang. Analysis of pretreatment methods in ethanol production process with straw[J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2007, 35(22): 6883—

6884. (in Chinese with English abstract)

[4] Mihaela Unciuleac, Matthias Boll. Mechanism of ATP-driven electron transfer catalyzed by the benzene-reducing enzyme benzoyl-CoA reductase[J]. PNAS, 2001, 98(24): 13619—13624.

[5] 赵志刚,程可可,张建安,等. 木质纤维素可再生生物质资源预处理技术的研究进展[J]. 现代化工, 2006, 26(2): 39—44.

Zhao Zhigang, Cheng Keke, Zhang Jian'an, et al. Advances in pretreatment technology of lignocellulose renewable biomass[J]. Modern Chemical Industry, 2006, 26(2): 39—44. (in Chinese with English abstract)

[6] 张鑫,刘岩. 木质纤维素原料预处理技术的研究进展[J]. 节能环保, 2005, 3(8): 19—21.

Zhang Xin, Liu Yan. Development of pretreatment technology of woodiness cellulose[J]. Energy Conservation and Environmental Protection, 2005, 3(8): 19—21. (in Chinese with English abstract)

[7] Neves L, Ribeiro R, Oliveira R, et al. Enhancement of methane production from barley waste[J]. Biomass and Bioenergy, 2006, 30(6): 599—603.

[8] 秦虎,汪旭光,熊代余. 爆炸波膨化法对木质纤维材料形态结构的影响[J]. 纤维素科学与技术, 2008, 16(1): 54—57.

Qin Hu, Wang Xuguang, Xiong Daiyu. Influence of explosive wave treatment on wood fabric material[J]. Journal of Cellulose Science and Technology, 2008, 16(1): 54—57. (in Chinese with English abstract)

[9] Christofer Karlsson, Matthias Morgelin, Mattias Collin, et al. SufA—a bacterial enzyme that cleaves fibrinogen and blocks fibrin network formation[J]. Microbiology, 2009, 155(1): 238—248.

[10] Masahisa Wada, Takeshi Okano. Synchrotron-radiated X-ray and neutron diffraction study of native cellulose[J]. Cellulose, 1997, 4(3): 221—232.

[11] 宋安东,王磊,王凤芹,等. 微生物处理对秸秆结构的影响[J]. 生物加工过程, 2009, 7(4): 72—76.

Song Andong, Wang Lei, Wang Fengqin, et al. Influence of microbial treatment methods on the structure of rice straw[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2009, 7(4): 72—76. (in Chinese with English abstract)

[12] 张晓梅,原思训. 利用X射线衍射光谱研究丝织品的老化[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(1): 262—265.

Zhang Xiaomei, Yuan Sixun. Research on the silk aging with X-Ray diffraction spectra[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2010, 30(1): 262—265. (in Chinese with English abstract)

[13] 杨崎峰,王双飞,黄崇杏,等. 蒸汽爆破蔗渣浆的微观研究[J]. 中国造纸学报, 2005, 20(2): 27—30.

Yang Qifeng, Wang Shuangfei, Huang Chongxing, et al. Micro-level study of explosion pulp of bagasse[J]. Transaction of China Pulp and Paper, 2005, 20(2): 27—30. (in Chinese with English abstract)

[14] Himmelsbach D S, Khalili S, Akin D E. The use of FT-IR

- microspectroscopic mapping to study the effects of enzymatic retting of flax (*Linum usitatissimum* L.) stems[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2002, 82(7): 685—696.
- [15] 蔡彦, 马玉龙, 张作义, 等. 化学法预处理麦秸纤维素的效果比较研究[J]. *化学与生物工程*, 2009, 26(10): 63—65.
Cai Yan, Ma Yulong, Zhang Zuoyi, et al. Comparative study on pretreatment of wheat straw cellulose with chemical methods[J]. *Chemistry and Bioengineering*, 2009, 26(10): 63—65. (in Chinese with English abstract)
- [16] Kaveh Emami, Evangelos Topakas, Tibor Nagy, et al. Regulation of the Xylan-degrading apparatus of *Cellvibrio japonicus* by a novel two-component system[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(2): 1086—1096.

Corn straw expansion pretreatment to improve enzymolysis reducing sugar yield

Kou Wei, Zhao Yong, Yan Changguo, Li Shimi, Zhang Xiaojian, Zhang Dalei^{*}

(*Liaoning Institute of Energy Resource, Yingkou 115003, China*)

Abstract: In order to improve fermentable reducing sugar yield of corn straw, corn straw lignocellulose was pretreated by expansion technology. Scanning electron microscope pictures showed that the corn straw fibre bundle was destroyed and the wrapped function of lignin was weakened, so that to improve space effect of cellulase. Infrared spectrum analysis showed that some hemicellulose and small amounts of lignin were hydrolysed. X-ray diffraction showed the crystalline degree of cellulose decreased by 12.68%, respectively. By means of further cellulose enzyme solution experiment, expansion treatment of raw material's enzymolysis time could be reduced 16 h. Without expansion material's reducing sugar productivity was 13.48%, and expanded material's reducing sugar productivity was 24.91%. The results show that the expansion pretreatment technology can obviously increase the corn straw lignocellulose energy-oriented utilization efficiency. The experiment provided a basis for further research on expanded corn straw enzymolysis.

Key words: straw, expansion, cellulose, lignocellulose, pretreatment, reducing sugar, enzymolysis yield