

辐照与粉碎对玉米秸秆酶解葡聚糖转化率的影响

郭栋豪¹,陈 亮²,武小芬²,齐 慧²,王克勤^{2*}

(1. 湖南大学 隆平分院,湖南 长沙 410125; 2. 湖南省农业科学院 核农学与航天育种研究所
农业生物辐照工程技术研究中心,湖南 长沙 410125)

摘要:为探明辐照剂量与粉碎粒径对玉米秸秆酶解效果的影响,以玉米秸秆为材料,设置0、400、800 kGy辐照剂量和不同粒径进行酶解试验,测定了不同处理的粒径分布状况和酶解葡聚糖转化率。结果表明,随着辐照剂量提高,样品中小颗粒所占比重逐渐增加,0、400、800 kGy辐照剂量的玉米秸秆在同一粉碎条件下获得粒径 $r < 0.075$ mm颗粒的比重依次为15.03%、53.22%、63.09%;0、400 kGy辐照剂量处理玉米秸秆的酶解葡聚糖转化率随粒径的减小而提高,当粒径由 $r > 0.450$ mm减小至 $r < 0.075$ mm时,转化率分别由16.01%、31.54%显著提高至30.25%、59.71%,且辐照与粉碎对玉米秸秆酶解葡聚糖转化率具有协同作用;800 kGy处理的不同粒径玉米秸秆酶解葡聚糖转化率差异不明显,且辐照与粉碎无协同作用。0、400 kGy辐照下的玉米秸秆,粉碎粒径越小,酶解转化率越高,在优化预处理和酶解糖化工艺等方面具有一定价值。

关键词:玉米秸秆; γ 射线辐照; 粒径; 酶解; 葡聚糖转化率

中图分类号: S124.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2018)01-0139-07

Effects of Irradiation and Smash on the Glucan Conversion Rate by Enzymatic Hydrolysis of Corn Stalk

GUO Donghao¹, CHEN Liang², WU Xiaofen², QI Hui², WANG Keqin^{2*}

(1. Longping Branch, Hunan University, Changsha 410125, China; 2. Engineering Technology Research Center of Agricultural Biological Irradiation, Institute of Nuclear Agricultural Science & Space Mutation Breeding, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, China)

Abstract: To clarify the effect of irradiation dose and particle size on the enzymatic hydrolysis of corn stalk, different irradiation doses of 0, 400, 800 kGy and different particle sizes of corn straw were used for enzymatic hydrolysis test, and the particle size distribution and the conversion rate of enzymatic glucan of different treatments were determined. The results showed that the proportion of small particles in the samples increased gradually with the increase of irradiation dose. Under the same pulverization condition, the percentage of $r < 0.075$ mm particle in 0, 400, 800 kGy samples were 15.03%, 53.22%, 63.09% respectively. The conversion rate of hydrolyzed glucan in 0 kGy and 400 kGy treatments increased with the decrease of particle size. When the particle size was reduced from $r > 0.450$ mm to $r < 0.075$ mm, the conversion rate significantly increased from 16.01% and 31.54% to 30.25% and 59.71% respectively, and there were synergistic effects on the enzymatic hydrolysis of corn stalks between irradiation and smash. There was no significant difference in the glucan conversion rate of different particle size treated with 800 kGy, and irradiation and smash had no synergistic effect. The smaller the particle size of the corn stalk under 0 and 400 kGy irradiation, the higher the enzymatic conversion rate, which showed a good

收稿日期:2017-07-26
基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201503135-12)
作者简介:郭栋豪(1991-),男,河南洛阳人,在读硕士研究生,研究方向:核技术在生物质能源中的应用。
E-mail:chuhao678@163.com
* 通讯作者:王克勤(1964-),男,湖南沅江人,研究员,博士,主要从事核技术在生物质能源中的应用研究。
E-mail:wkq6412@163.com

potential value in pretreatment optimization and enzymolysis saccharification process.

Key words: Corn stalk; γ -ray irradiation; Particle size; Enzymolysis; Glucan conversion rate

木质纤维素燃料乙醇具有可再生、清洁环保的优势,对于缓解能源危机、气候变暖、环境污染具有重要意义^[1-2]。玉米秸秆是我国仅次于水稻秸秆的第二大作物秸秆,具有产量大、价格低廉等特点^[3]。现阶段,玉米秸秆的主要利用方式为秸秆还田(直接、间接)、畜牧业饲料、工业利用(造纸、建材)、生物燃料等,其中利用玉米秸秆生产燃料乙醇是清洁生产的主要发展方向,其工艺流程为:预处理—糖化—发酵—纯化^[4]。但玉米秸秆主要由结构致密的木质纤维素(纤维素、半纤维素和木质素)组成,纤维素、半纤维素被木质素包裹其中,分子结晶度高,直接进行水解还原糖得率极低,因此,需先对原材料进行预处理,增加纤维原料多孔性,提高水解反应的糖得率^[4-5]。木质纤维素预处理方法主要有生物法(白腐菌、褐腐菌和软腐菌等)、化学法(酸处理、碱处理、臭氧解等)、物理法(精磨、高压、热水、微波、射线等)、物理化学法等^[10-13]。但这些预处理方法均存在一些不足,无法满足现代农业高效、清洁的生产要求,如生物法预处理耗时长,碱处理污染环境,酸水解会产生抑制糖化发酵的副产物,精磨能耗高,蒸汽爆破对设备要求高等^[10-19]。 γ 射线辐照预处理在常温常压下进行,具有环境友好、能耗低、抑制物少、转化率高等优势,目前已广泛应用于木质纤维素材料的预处理^[20-24]。一般认为,辐照预处理可以破坏生物质结构,从而提高其酶解效率。易锦琼^[25]研究表明,随着辐照剂量的增大玉米秸秆结晶度逐渐降低,2 000 kGy 辐照处理时,结晶度由未经辐照的 22.64% 降低至 3.85%。Liu 等^[26]、蒋怡乐等^[27]认为,微晶纤维素聚合度随着预处理辐照剂量的提高而降低,即辐照剂量越高,降解程度越高。陈静萍等^[28]研究表明,随着辐照剂量的提高,稻草酶解纤维素转化率逐渐提高,当辐照剂量为 1 500 kGy 时,纤维素转化率由未辐照的 19.5% 提高至 88.7%。

辐照对木质纤维素材料粒径也有影响,在一定辐照剂量范围内,随着辐照剂量的提高,小颗粒所占比重逐渐增大。唐洪涛等^[29-31]研究发现,玉米秸秆经辐照预处理后,其粒径向细颗粒方向迁移,800 kGy 处理秸秆粒度 $< 75\ \mu\text{m}$ 的颗粒占比由 7.60% (未辐照) 增大到 42.4%,沈志强^[32]、杨春平等^[33]利用辐照预处理麦秸时也得到了一致的结论。陈军等^[34]研究表明,随着玉米秸秆粒径的减小,其酶解还原糖得率提高,酶解不同粒径的秸秆微观形貌也有一定的差异。但辐照剂量与粉碎粒径对木质纤维

素酶解转化率是否存在协同效应,目前还没有文献报道。鉴于此,以玉米秸秆为材料,经过不同剂量的辐照、粉碎处理后,以粒径和酶解葡聚糖转化率为主要指标,研究辐照和粉碎对秸秆类木质纤维素酶解转化率的影响,旨在为基于辐照技术的秸秆能源化利用提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料及设计

供试玉米(品种为中单 3880)秸秆(秆和叶)为 2016 年湖南省作物研究所秋季秸秆,辐照剂量设置为 0(对照)、400、800 kGy,粒径设置为 $r > 0.450\ \text{mm}$ 、 $0.180\ \text{mm} < r < 0.450\ \text{mm}$ 、 $0.125\ \text{mm} < r < 0.180\ \text{mm}$ 、 $0.075\ \text{mm} < r < 0.125\ \text{mm}$ 、 $r < 0.075\ \text{mm}$,试验于 2017 年 4 月 26 日—7 月 6 日在湖南省农业科学院核农学与航天育种研究所进行。

试剂:D-无水葡萄糖(Sigma)、D-木糖(Rubibio)、纤维素酶(北京高瑞森科技有限公司)、硫酸(衡阳市凯信化工试剂股份有限公司)、甲醇(安徽天地高纯溶剂有限公司)、乙酸(国药集团化学试剂有限公司)、无水乙酸钠(天津大茂化学试剂厂),均为分析纯。

供试仪器:中草药粉碎机(FW177,天津市泰斯特仪器有限公司)、电热恒温鼓风干燥器(GZX-9246MBE,上海博讯实业有限公司医疗设备厂)、恒温摇床(HZQ-F100,常州诺基仪器有限公司)、立式压力蒸汽灭菌箱(YXQ-LS-50S11,上海博讯实业有限公司医疗设备厂)、台式高速离心机(TG16-II,长沙平凡仪器仪表有限公司)。

辐射源: ^{60}Co ,源强 $2.96 \times 10^{16}\ \text{Bq}$ 。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理 玉米秸秆收获后,自然晒干,切成 5 cm 左右的小段,每个处理 2 kg,装入金属样品盒,常温下进行辐照。取 0、400、800 kGy 辐照的玉米秸秆各 100 g,用中草药粉碎机在 24 000 r/min 下粉碎 30 s,依次过 0.450、0.180、0.125、0.075 mm 筛,收集粒径 $r > 0.450\ \text{mm}$ 、 $0.180\ \text{mm} < r < 0.450\ \text{mm}$ 、 $0.125\ \text{mm} < r < 0.180\ \text{mm}$ 、 $0.075\ \text{mm} < r < 0.125\ \text{mm}$ 、 $r < 0.075\ \text{mm}$ 的样品并称质量。

1.2.2 水提与水提液酸水解 取上述粒径的 0、400、800 kGy 辐照玉米秸秆 3 g(精确至 0.000 1 g)置于具塞三角瓶中,加入 90 mL 蒸馏水,于 50 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 条件下提取 2 h 后过滤,滤渣烘干至恒质量,滤液测定葡萄糖和木糖含量,同时取上清液

14 mL,加入 0.5 mL 72% 硫酸,置于高压灭菌锅中,121 ℃ 条件下反应 1 h 后离心,取上清液测定酸水解后水提液中葡萄糖和木糖含量,计算样品中可溶性葡聚糖、木聚糖含量^[35],公式如下:

可溶性葡聚糖含量 = (水提液酸水解后葡萄糖含量 - 水提液葡萄糖含量) × 0.9 / 样品质量 × 100% ,

可溶性木聚糖含量 = (水提液酸水解后木糖含量 - 水提液木糖含量) × 0.88 / 样品质量 × 100% 。

1.2.3 水提液滤渣酸水解 水提后烘干滤渣,称取 0.3 g (精确至 0.000 1 g),加入 3 mL 72% 硫酸,30 ℃ 水浴条件下反应 1 h,加入 84 mL 蒸馏水,置于高压灭菌锅中 121 ℃ 条件下反应 1 h,然后取出冷却过滤,收集滤液,测定葡萄糖、木糖含量,计算样品中不溶性葡聚糖和木聚糖含量^[35]。

不溶性葡聚糖含量 = 滤渣酸水解后葡萄糖含量 × 0.9 / 样品质量 × 100% ,

不溶性木聚糖含量 = 滤渣酸水解后木糖含量 × 0.88 / 样品质量 × 100% 。

1.2.4 酶解 称取不同粒径的 0、400、800 kGy 辐照的玉米秸秆 2.0 g 于具塞三角瓶中,按固液比 1: 15 加入 30 mL 0.1 mol/L 的乙酸 - 乙酸钠缓冲液 (pH 值为 4.8),纤维素酶加入量为 20 FPU/g,摇匀后置于 50 ℃、130 r/min 条件下进行酶解反应。在反应时间 24、48、72、96 h 各取样 0.5 mL,离心后取上清液 0.2 mL,加入 0.8 mL 0.005 mol/L 硫酸溶液,测定葡萄糖和木糖含量,计算酶解葡聚糖转化率。

葡聚糖含量 = 可溶性葡聚糖含量 + 不可溶性葡聚糖含量,

葡聚糖转化率 = (酶解液葡萄糖含量 - 水提液葡萄糖含量) × 0.9 / 样品葡聚糖含量 × 100% 。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 纤维素酶活 根据 Ghose^[36] 的滤纸底物法 (FPA) 测定纤维素酶活,其中以高效液相色谱 (HPLC) 代替 3,5 - 二硝基水杨酸法来测定还原糖浓度。

1.3.2 葡萄糖、木糖含量 参照陈亮等^[35] 采用 HPLC 法测定。色谱条件为流动相 0.005 mol/L H₂SO₄、流速 0.600 mL/min、柱温 55 ℃,色谱柱为 Aminex HPX - 87H,检测器为示差折光检测器。

1.3.3 辐照剂量与粉碎粒径交互作用对葡聚糖酶解转化率的影响 首先对以葡聚糖转化率为因变量、辐照剂量和粉碎粒径为影响因子的试验数据做两因素方差分析,判断辐照剂量与粉碎粒径之间是否存在交互作用。在两者具有交互作用前提下,用 *S* 值来判断相互作用的性质,用 *A* 值大小来度量交互作用的强弱,计算公式:

$$S = \Delta\alpha_{r_{ij},d_{mn}} - (\Delta\alpha_{r_{ij}} + \Delta\alpha_{d_{mn}}) \begin{cases} > 0, \text{协同} \\ < 0, \text{拮抗} \end{cases} \quad (1)$$

$$A = \frac{S}{\Delta\alpha_{r_{ij}} + \Delta\alpha_{d_{mn}}} \times 100\% \quad (2)$$

各公式符号意义见表 1。

表 1 符号说明

符号	意义
r_i	粒径范围
d_m	辐照剂量
$\Delta\alpha_{r_{ij}}$	辐照剂量不变,粒径由 r_i 变为 r_j 时葡聚糖转化率变化量
$\Delta\alpha_{d_{mn}}$	粉碎粒径不变,辐照剂量由 d_m 变为 d_n 时葡聚糖转化率变化量
$\Delta\alpha_{r_{ij},d_{mn}}$	粒径由 r_i 变为 r_j 且辐照剂量由 d_m 变为 d_n 时葡聚糖转化率变化量

注: $r_1、r_2、r_3、r_4、r_5$ 依次表示 $r > 0.450$ mm、 0.180 mm $< r < 0.450$ mm、 0.125 mm $< r < 0.180$ mm、 0.075 mm $< r < 0.125$ mm、 $r < 0.075$ mm; $d_1、d_2、d_3$ 依次表示辐照剂量 0、400、800 kGy。

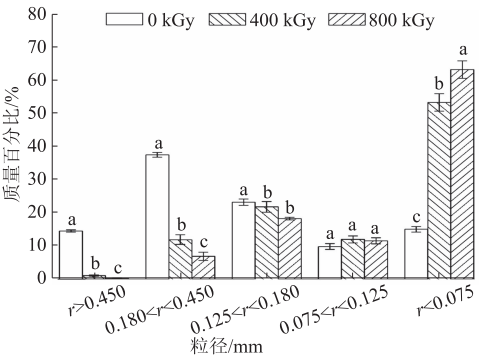
1.4 数据处理

采用 Excel 2010 和 SPSS 18.0 软件进行数据统计分析,Duncan 氏法进行多重比较,采用 Origin 8.0 软件进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 辐照对玉米秸秆粒度分布的影响

由图 1 可知,与对照(0 kGy)相比,辐照处理后粒径 $r > 0.450$ mm、 0.180 mm $< r < 0.450$ mm 的颗粒含量随辐照剂量提高显著减小;粒径 $r < 0.075$ mm 范围内的秸秆颗粒所占比重随辐照剂量提高而显著增加,0、400、800 kGy 辐照剂量的玉米秸秆在同一粉碎条件下获得粒径 $r < 0.075$ mm 颗粒的比重依次为 15.03%、53.22%、63.09%,400、800 kGy 辐照处理较对照分别显著增加 38.19、48.06 个百分点,即样品中小颗粒比重随辐照剂量的增大而增大。说明辐照处理的玉米秸秆其粉碎后的粒径向小颗粒方向迁移。



不同小写字母表示不同辐照条件下差异显著 ($P < 0.05$)

图 1 辐照对玉米秸秆粒径分布的影响

2.2 辐照对玉米秸秆葡聚糖和木聚糖含量的影响

由表 2 可知,0、400、800 kGy 辐照处理水提液中葡萄糖和木糖含量均较低,0 kGy 辐照处理葡萄糖、木糖含量均随粒径减小而提高,400 kGy 辐照处理葡萄糖和木糖含量随粒径减小而降低,800 kGy 辐照处理各粒径间无明显规律。与酸水解前样品相比,酸水解后 0、400、800 kGy 辐照处理葡萄糖和木糖含量分别提高了 0.01 ~ 8.10、2.66 ~ 8.32、9.99 ~

17.36倍和 0.94 ~ 1.95、2.06 ~ 4.79、8.39 ~ 10.67 倍,且提高幅度随着辐照剂量升高而增加。不同辐照剂量下,各粒径样品中可溶性葡聚糖和木聚糖含量表现为 800 kGy > 400 kGy > 0 kGy。同一粒径不同辐照剂量下,葡聚糖和木聚糖含量均存在显著差异,且与对照相比,800 kGy 辐照处理葡聚糖、木聚糖含量分别提高了 14.01 ~ 426.00、3.17 ~ 5.99 倍。

表 2 辐照对玉米秸秆葡聚糖和木聚糖含量的影响 mg/g

辐照剂量/kGy	粒径/mm	水提液中糖含量		酸水解后糖含量		可溶性聚糖含量	
		葡萄糖	木糖	葡萄糖	木糖	葡聚糖	木聚糖
0	$r > 0.450$	$0.60 \pm 0.03f$	$6.35 \pm 0.11f$	$5.46 \pm 0.53gh$	$18.75 \pm 0.02fg$	$4.37 \pm 0.23g$	$10.91 \pm 0.75e$
	$0.180 < r < 0.450$	$1.05 \pm 0.09f$	$7.69 \pm 0.57e$	$4.90 \pm 0.28h$	$14.90 \pm 0.01h$	$3.47 \pm 0.31g$	$6.35 \pm 1.14f$
	$0.125 < r < 0.180$	$3.50 \pm 1.22e$	$8.04 \pm 0.44de$	$4.34 \pm 0.34h$	$15.79 \pm 0.02gh$	$0.76 \pm 0.79h$	$6.82 \pm 0.11f$
	$0.075 < r < 0.125$	$7.46 \pm 0.50a$	$10.25 \pm 0.04c$	$7.57 \pm 0.59fg$	$20.79 \pm 0.02ef$	$0.10 \pm 0.07h$	$9.28 \pm 0.48ef$
	$r < 0.075$	$7.84 \pm 0.50a$	$11.79 \pm 0.03b$	$8.12 \pm 0.20f$	$23.77 \pm 0.02e$	$0.25 \pm 0.20h$	$10.54 \pm 1.22e$
400	$r > 0.450$	$7.95 \pm 0.32a$	$13.29 \pm 0.21a$	$29.06 \pm 0.79e$	$40.68 \pm 0.04d$	$19.00 \pm 0.70f$	$24.10 \pm 0.38d$
	$0.180 < r < 0.450$	$6.29 \pm 0.48b$	$13.50 \pm 0.16a$	$27.25 \pm 0.64e$	$45.29 \pm 0.05c$	$18.86 \pm 0.46f$	$27.96 \pm 0.71c$
	$0.125 < r < 0.180$	$5.10 \pm 0.84c$	$9.30 \pm 0.03cd$	$28.83 \pm 0.39e$	$48.80 \pm 0.05b$	$21.36 \pm 0.70e$	$34.76 \pm 5.07b$
	$0.075 < r < 0.125$	$4.82 \pm 0.48c$	$8.52 \pm 0.93de$	$32.99 \pm 0.41d$	$47.07 \pm 0.05bc$	$25.35 \pm 0.23d$	$33.92 \pm 1.26b$
	$r < 0.075$	$3.60 \pm 0.17e$	$8.24 \pm 0.02de$	$33.56 \pm 0.63d$	$47.72 \pm 0.05bc$	$26.96 \pm 0.69d$	$34.74 \pm 2.14b$
800	$r > 0.450$	$4.76 \pm 0.19cd$	$5.69 \pm 0.34fg$	$87.39 \pm 0.98a$	$57.44 \pm 0.06a$	$74.37 \pm 0.95a$	$45.54 \pm 0.40a$
	$0.180 < r < 0.450$	$4.83 \pm 0.06c$	$6.01 \pm 0.07fg$	$62.60 \pm 4.04b$	$56.42 \pm 0.06a$	$51.99 \pm 4.06b$	$44.36 \pm 0.25a$
	$0.125 < r < 0.180$	$4.18 \pm 0.07d$	$4.76 \pm 0.01g$	$52.77 \pm 0.03c$	$55.55 \pm 0.06a$	$43.73 \pm 0.01c$	$44.70 \pm 0.01a$
	$0.075 < r < 0.125$	$4.70 \pm 0.43cd$	$4.97 \pm 0.86g$	$51.67 \pm 0.08c$	$55.04 \pm 0.06a$	$42.27 \pm 0.67c$	$40.06 \pm 1.06a$
	$r < 0.075$	$4.82 \pm 0.02c$	$5.34 \pm 0.03fg$	$61.49 \pm 0.42b$	$56.44 \pm 0.06a$	$51.00 \pm 0.42b$	$44.97 \pm 0.15a$

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.3 粉碎粒径与辐照剂量对玉米秸秆酶解葡聚糖转化率的影响

2.3.1 粉碎粒径的影响 由图 2 可知,未辐照玉米秸秆其酶解葡聚糖转化率随着粒径的减小呈升高趋势,且不同粒径间葡聚糖转化率差异显著。当粒径由 $r > 0.450$ mm 减小到 $r < 0.075$ mm 时,其酶解葡聚糖转化率由 16.01% 提高至 30.25%,显著增加了 14.24 个百分点。400 kGy 辐照处理的玉米秸秆酶解葡聚糖转化率随粒径的减小而提高,当粒径由 $r > 0.450$ mm 减小到 $r < 0.075$ mm 时,其酶解葡聚糖转化率由 31.54% 提高至 59.71%,显著增加了 28.17 个百分点。除 $0.180 \text{ mm} < r < 0.450 \text{ mm}$ 与 $0.125 \text{ mm} < r < 0.180 \text{ mm}$ 的酶解葡聚糖转化率无显著差异外,其余粒径间差异显著。800 kGy 辐照处理的玉米秸秆不同粒径间酶解葡聚糖转化率无显著差异。

2.3.2 辐照剂量的影响 由图 3 可知,不同粒径范围内,玉米秸秆酶解葡聚糖转化率均随辐照剂量的增加而提高,辐照处理葡聚糖转化率较对照显著提

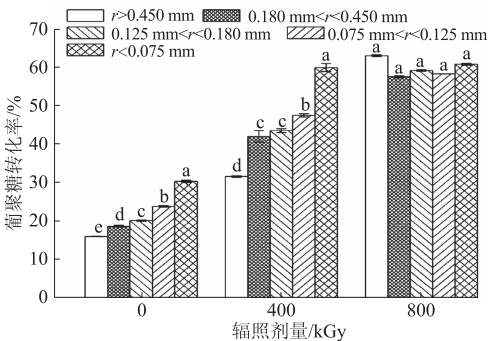


图 2 粉碎粒径对玉米秸秆酶解葡聚糖转化率的影响

高 15.53 ~ 46.80 个百分点。除粒径 $r < 0.075$ mm 外,其余粒径下,不同辐照处理间差异显著。粒径 $r < 0.075$ mm 在 400、800 kGy 辐照处理下葡聚糖转化率显著高于对照,但两者间无显著差异。400 kGy 处理的最佳粒径为 $r < 0.075$ mm,此时葡聚糖转化率较对照提高了 29.46 个百分点;800 kGy 处理的最佳粒径为 $r > 0.450$ mm,此时葡聚糖转化率较对照提高了 46.80 个百分点。

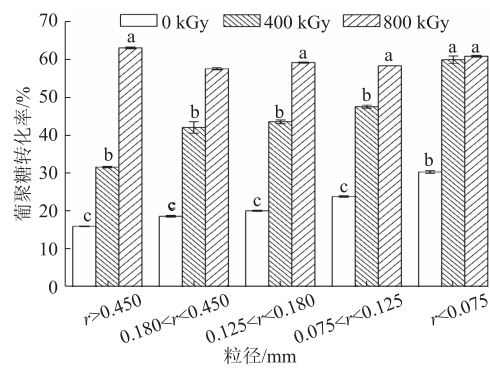


图 3 辐照剂量对玉米秸秆酶解葡聚糖转化率的影响

2.3.3 辐照剂量与粉碎粒径交互作用的影响 由辐照剂量与粉碎粒径对玉米秸秆酶解葡聚糖转化率影响试验的两因素方差分析可知,辐照剂量、粉碎粒径及两者交互对玉米秸秆酶解葡聚糖转化率均有显

著影响。400 kGy 辐照时,粉碎粒径与辐照剂量对玉米秸秆葡聚糖转化率呈协同作用,粉碎粒径由 $r > 0.450\text{ mm}$ 分别减小至 $0.180\text{ mm} < r < 0.450\text{ mm}$ 、 $0.125\text{ mm} < r < 0.180\text{ mm}$ 、 $0.075\text{ mm} < r < 0.125\text{ mm}$ 、 $r < 0.075\text{ mm}$ 时,协同作用较强,增长率依次为 42.80%、39.95%、34.65%、46.82%;800 kGy 辐照时,粒径由 $0.180\text{ mm} < r < 0.450\text{ mm}$ 减小至 $0.125\text{ mm} < r < 0.180\text{ mm}$ 时,粉碎粒径与辐照剂量对玉米秸秆葡聚糖转化率呈协同作用,其余粉碎粒径与辐照剂量对玉米秸秆葡聚糖转化率有拮抗作用(表 3)。400 kGy 和 800 kGy 辐照剂量与粉碎粒径交互作用相对于单独辐照和单独粉碎处理增长率分别为 0.24% ~ 46.82% 和 -26.90% ~ 0.42%。

表 3 辐照剂量与粉碎粒径交互作用对玉米秸秆酶解葡聚糖转化率的影响

比较剂量/kGy		$\Delta\alpha_{r_{ij}}$	$\Delta\alpha_{d_{mn}}$	$\Delta\alpha_{r_{ij}} + \Delta\alpha_{d_{mn}}$	$\Delta\alpha_{r_{ij},d_{mn}}$	S	交互作用	A/%
0 与 400	$\Delta\alpha_{r_{12}}$	2.61	15.53	18.14	25.90	7.76	+	42.80
	$\Delta\alpha_{r_{13}}$	4.06	15.53	19.58	27.41	7.82	+	39.95
	$\Delta\alpha_{r_{14}}$	7.77	15.53	23.30	31.37	8.07	+	34.65
	$\Delta\alpha_{r_{15}}$	14.23	15.53	29.76	43.69	13.93	+	46.82
	$\Delta\alpha_{r_{23}}$	1.44	23.29	24.73	24.79	0.06	+	0.24
	$\Delta\alpha_{r_{24}}$	5.16	23.29	28.45	28.76	0.31	+	1.08
	$\Delta\alpha_{r_{25}}$	11.62	23.29	34.91	41.08	6.17	+	17.67
	$\Delta\alpha_{r_{34}}$	3.72	23.35	27.07	27.31	0.25	+	0.92
	$\Delta\alpha_{r_{35}}$	10.18	23.35	33.53	39.64	6.11	+	18.23
0 与 800	$\Delta\alpha_{r_{45}}$	6.46	23.60	30.06	35.92	5.86	+	19.50
	$\Delta\alpha_{r_{12}}$	2.61	46.80	49.41	41.34	-8.07	-	-16.33
	$\Delta\alpha_{r_{13}}$	4.06	46.80	50.85	42.95	-7.90	-	-15.54
	$\Delta\alpha_{r_{14}}$	7.77	46.80	54.57	42.11	-12.46	-	-22.83
	$\Delta\alpha_{r_{15}}$	14.23	46.80	61.03	44.61	-16.42	-	-26.90
	$\Delta\alpha_{r_{23}}$	1.44	38.73	40.17	40.34	0.17	+	0.42
	$\Delta\alpha_{r_{24}}$	5.16	38.73	43.89	39.50	-4.39	-	-10.00
	$\Delta\alpha_{r_{25}}$	11.62	38.73	50.35	42.00	-8.35	-	-16.58
	$\Delta\alpha_{r_{34}}$	3.72	38.89	42.61	38.05	-4.56	-	-10.69
	$\Delta\alpha_{r_{35}}$	10.18	38.89	49.07	40.55	-8.52	-	-17.36
	$\Delta\alpha_{r_{45}}$	6.46	34.34	40.80	36.84	-3.96	-	-9.71

注:“+”表示协同作用,“-”表示拮抗作用。

3 结论与讨论

辐照预处理对木质纤维素微观形貌、化学组分、热稳定性、化学稳定性等理化特性产生影响^[21-22,25-26]。本研究结果表明,0 ~ 800 kGy 辐照处理后玉米秸秆中的小颗粒所占比重随着辐照剂量的增加而增大,这与前人的研究结果^[26-30]一致。易锦琼^[25]利用扫描电镜观察 0 ~ 2 000 kGy 辐照剂量处理后的玉米秸秆微观形貌发现,玉米秸秆表面出现沟痕和坑穴,结构变得疏散,在 1 600 ~ 2 000 kGy 辐照下,纤维原有整齐束状结构被打断,扭曲成蜂窝状,因此,更加易于粉碎获得细小颗粒。本研究,各辐照剂量样品水提液中葡萄糖和木糖含量均较

低,水提液酸水解后葡萄糖和木糖含量均增加,且增加倍数随着辐照剂量的提高而增大,原因可能是辐照作用将玉米秸秆总纤维素降解为可溶性聚糖,提高了可溶性葡萄糖和木糖含量,进而提高了秸秆酶解转化率。0、400 kGy 辐照处理的秸秆酶解转化率随粉碎粒径的减小而提高,辐照剂量和粉碎粒径对酶解葡聚糖转化率有显著影响,且大多为协同作用,这与前人研究结果^[29-33]一致。一般认为,粉碎的机械力对纤维的冲击和剪切作用可破坏纤维原有结构使其比表面积增加,从而提高纤维素酶与底物分子结合的概率,进而提高了酶解转化率^[37-38],但 800 kGy 辐照的玉米秸秆不同粒径酶解转化率无显著差异,且辐照与粉碎粒径几乎没有协同作用。说明此

时辐照的影响已经远远大于粉碎,这可能是当辐照剂量增大到一定程度,玉米秸秆结构发生破坏,导致粗颗粒内部产生多孔性结构,从而增加其比表面积,提高了酶与底物的接触概率。有学者研究发现,采用扫描电镜研究辐照微晶纤维素、木聚糖和半纤维素表观结构时发现,当剂量大于 800 kGy 时,微晶纤维素、木聚糖以及半纤维素表面变得粗糙,出现许多孔洞或裂纹^[39-41],说明辐照剂量较大时,木质纤维素材料会出现疏松多孔结构,从而提高其酶解效率。

0、400 kGy 辐照下的玉米秸秆,粉碎粒径越小,酶解转化率越高,这在优化预处理和酶解糖化工艺等方面具有一定价值。但 800 kGy 辐照下玉米秸秆不同粒径酶解转化率无显著差异,其机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 梁刚,裴国平,王宇. 2013 年全球油气储量、石油产量增长平缓[J]. 国际石油经济,2014(1):186-189.
- [2] 朱剑明,彭代勇. 世界能源现状与内燃机的发展机遇[J]. 内燃机工程,2011,32(2):81-84.
- [3] 左旭,王红彦,王亚静,等. 中国玉米秸秆资源量估算及其自然适宜性评[J]. 中国农业资源与区划,2015,36(6):5-10.
- [4] 张爱萍,谢君. 生物质制乙醇预处理方法的研究进展[J]. 华南农业大学学报,2014,35(4):77-84.
- [5] 陈洪章. 纤维素生物技术[M]. 2 版. 北京:化学工业出版社,2010:15-36.
- [6] 陈明. 利用玉米秸秆制取燃料乙醇的关键技术研究[D]. 杭州:浙江大学,2007.
- [7] 胡秋龙,熊兴耀,谭琳,等. 木质纤维素生物质预处理技术的研究进展[J]. 中国农学通报,2011,27(10):1-7.
- [8] Silveira M H, Morais A R, Da C L A, *et al.* Current pretreatment technologies for the development of cellulosic ethanol and biorefineries [J]. *ChemSusChem*, 2015, 8(20):3366-3390.
- [9] Nadeem A, Kanika G, Dinesh G, *et al.* Recent advances in pretreatment technologies for patefficient hydrolysis of lignocellulosic biomass[J]. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 2016, 35(2):489-511.
- [10] Badal C S, Gregory J K, Nasib Q, *et al.* Biological pretreatment of corn stover with phlebia brevispora NRRL-13108 for enhanced enzymatic hydrolysis and efficient ethanol production[J]. *Biotechnology Progress*, 2017, 33(2):365-374.
- [11] 谢茂芳,吴坤,薛保国. 参与玉米秸秆降解的真菌类型研究[J]. 河南农业科学,2012,41(12):81-84.
- [12] 郭海鹏,李秀欣,马海燕,等. 不同方法糖化玉米秸秆的工艺优化[J]. 河南农业科学,2014,43(4):137-140.
- [13] 孙芹音,葛春梅,张洁,等. 微生物转化玉米秸秆用于饲料生产的研究[J]. 河南农业科学,2011,40(6):149-152.
- [14] 李冬梅. 玉米秸秆为原料燃料乙醇制备的关键技术研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学,2008.
- [15] Pang F, Xue S L, Yu S S, *et al.* Effect of microwave and microwave irradiation time on pretreatment efficiency and characteristics of corn stover using combination of steam explosion and microwave irradiation (SE-MI) pretreatment[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 118:111-119.
- [16] Qing Q, Zhou L, Guo Q, *et al.* Milk alkaline presoaking and organosolv pretreatment of corn stover and their impacts on corn stover composition structure, and digestibility[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 233:284-290.
- [17] Nawa R B, Ajay S. Comparative techno-economic analysis of explosion dilute sulfuric acid, ammonia fiber explosion and biological pretreatments of corn stover [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 232:331-343.
- [18] Balan V, Bals B, Chundawat S P, *et al.* Lignocellulosic biomass pretreatment using AFEX [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2009, 581:61-77.
- [19] Anil K M, Binod P, Rajeev K S, *et al.* An evaluation of dilute acid and ammonia-fiber explosion pretreatment for cellulosic ethanol production[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 199:13-20.
- [20] Karimi M, Jenkins B, Strove P. Ultrasound irradiation in the production of ethanol from biomass[J]. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 2014, 40:412-421.
- [21] 张春艳. 辐照预处理对油菜秸秆降解产糖效果的影响及机理研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2016.
- [22] Wang K Q, Xiong X Y, Chen J P, *et al.* Comparison of gamma irradiation and steam explosion pretreatment for ethanol production from agricultural residues[J]. *Biomass & Bioenergy*, 2012, 46(1):301-308.
- [23] Yang G S, Zhang Y P, Wei M Y, *et al.* Influence of γ -ray radiation on the structure and properties of paper grade bamboo pulp [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 81:114-119.
- [24] 杨青丹,王克勤,胡春婷,等. 稻草秸秆辐照酶解工艺优化[J]. 可再生能源,2011,29(5):75-78.
- [25] 易锦琼.⁶⁰Co- γ 辐照降解玉米秸秆纤维质及其机理研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2011.
- [26] Liu Y, Chen J P, Wu X F, *et al.* Insights into the effects of γ -irradiation on the microstructure, thermal stability and irradiation derived degradation components of microcrystalline cellulose (MCC) [J]. *Royal Society of Chemistry*, 2015, 5:34353-34363.

参考文献:

- [1] 罗丹,吴俊,全学军,等. 淀粉类酶降解烤烟中淀粉的研究[J]. 重庆理工大学学报(自然科学版),2016,30(7):64-68.
- [2] 王怀珠,杨焕文,郭红英,等. 不同烘烤条件下烟叶淀粉降解酶活性变化[J]. 河南农业科学,2005(6):30-33.
- [3] 王瑞新. 烟草化学[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [4] Weeks W W. Chemistry of tobacco constituents influence flavor and aroma[J]. Recent Advance of Tobacco Science,1985(11):175-200.
- [5] Green C R, Rodgman A. The tobacco chemists research conference: A half century forum for advances in analytical methodology of tobacco and its products[J]. Recent Advances in Tobacco Science,1996,22(1):131-306.
- [6] Leffingwell J C. Chemical and sensory aspects of tobacco flavor—An overview[J]. Rec Adv Tob Sci,1988,14:169-218.
- [7] 齐雪峰. 烟草中淀粉成分的研究及其对烟草的影响[D]. 上海:上海交通大学,2008.
- [8] 贺帆,王涛,王梅,等. 烤烟烟叶淀粉颗粒结构特征与基本特性[J]. 中国烟草学报,2013,19(3):49-53.
- [9] 刘雷,黄立栋. 变黄阶段温度和空气相对湿度对烟叶淀粉含量的影响[J]. 河南农业科学,2007(6):46-48.
- [10] 王晓宾,孙福山,王松峰,等. 烤烟中淀粉的影响因素及其调控研究进展[J]. 中国烟草科学,2008,29(2):53-57.
- [11] 段丽斌,崔国民,赵昶灵,等. 烤烟烘烤中烟叶淀粉降解的研究进展[J]. 中国农学通报,2013,29(18):180-186.
- [12] 赵铭钦,李芳芳. 微生物和酶学技术在烟草发酵中的应用及展望[J]. 中国农学通报,2007,23(1):314-318.
- [13] 雷丽萍,郭荣君,缪作清,等. 微生物在烟草生产中应用研究进展[J]. 中国烟草学报,2006,12(4):47-51.
- [14] 李少鹏. 利用生物技术降解烟叶淀粉和蛋白质含量研究[D]. 郑州:河南农业大学,2006.
- [15] 王瑞新,韩富根,杨素勤,等. 烟草化学品质分析法[M]. 郑州:河南科学出版社,1990.
- [16] 胥海东. 枯草芽孢杆菌降解片烟中淀粉和蛋白质的研究[D]. 武汉:湖北工业大学,2011.
- [17] 赵铭钦,李晓强,王豹祥,等. α -淀粉酶和蛋白酶高产菌株的诱变选育[J]. 烟草科技,2008(8):53-57.
- [18] 余玉莎,孙媛,李祖红,等. 米根霉发酵对烟叶常规成分及主要致香成分的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学版),2017,32(2):189-195.
- (上接第 144 页)
- [27] 蒋怡乐,李清明,苏小军,等. 芦苇 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照降解副产物的分析[J]. 激光生物学报,2013,23(4):323-328.
- [28] 陈静萍,王克勤,熊兴耀,等. $^{60}\text{Co}-\gamma$ 辐照对稻草纤维组织及酶解效果的影响[J]. 核农学报,2008,22(3):304-309.
- [29] 唐洪涛,哈益明. γ 射线辐照玉米秸秆预处理对酶解产糖的影响[J]. 辐照研究与辐射工艺学报,2011,29(5):308-313.
- [30] 唐洪涛. 辐照预处理对玉米秸秆酶解产糖率的影响[D]. 北京:中国农业科学院,2012.
- [31] 唐洪涛,王峰,李伟明,等. γ 射线辐照与 NaOH 协同预处理对玉米秸秆预处理对酶解产糖及微观结构的影响[J]. 核农学报,2012,26(3):535-542.
- [32] 沈志强. 辐照预处理提高小麦秸秆酶解产糖的研究[J]. 长沙:湖南大学,2008.
- [33] 杨春平,沈志强,喻国策,等. γ 射线辐照预处理对麦秸纤维素酶水解产糖的影响[J]. 原子能科学技术,2009,43(1):37-40.
- [34] 陈军,赵晓燕,王宪昌,等. 超微粉碎对酶解玉米秸秆粉纤维的影响研究[J]. 生物技术,2014,24(3):74-78.
- [35] 陈亮,苏小军,熊兴耀,等. 辐照预处理水稻秸秆酶解糖化与发酵产乙醇工艺[J]. 核农学报,2015,29(4):704-709.
- [36] Ghose T K. Measurement of cellulase activities[J]. Pure and Applied Chemistry,1987,59(2):257-268.
- [37] Igathinathanea C, Womacb A R, Sokhansanjc S, et al. Size reduction of high-and low-moisture corn stalks by linear knife grid system[J]. Biomass and Bioenergy,2009,33(4):547-557.
- [38] Igathinathanea C, Womacb A R, Sokhansanjc S. Corn stalk orientation effect on mechanical cutting[J]. Biosystems Engineering,2010,107(2):97-106.
- [39] 武小芬,陈亮,陈静萍,等. γ 射线辐照降解木聚糖的机理研究[J]. 核农学报,2017,31(5):889-898.
- [40] 陈亮,武小芬,陈静萍,等. γ 射线辐照降解微晶纤维素的研究[J]. 核农学报,2016,30(9):1731-1737.
- [41] Chen J P, Wang L Y, Su X J, et al. Structure, morphology and irradiation mediated degradation fractions of hemi-cellulose treated with γ -irradiation[J]. Waste and Biomass Valorization,2016,7(6):1415-1425.