

热过氧化氢预处理对花生秸秆酶解的影响

熊佳定, 丁为民, 王文鑫, Muhammad Hassan, 孙元昊, 李志伟

(南京农业大学工学院, 南京 210031)

摘 要: 以花生秸秆为原料,通过单因素试验探究热 H_2O_2 预处理对花生秸秆酶解的影响,结果表明所有试验组均显著($p<0.05$)可提高酶解还原糖产量,进一步设计正交试验对预处理条件进行优化,结果表明:100 °C, 2 h, 6% H_2O_2 可作为最优预处理条件,在该预处理条件下酶解还原糖产率相比于未处理秸秆,提高 154.56%。分别对预处理前后花生秸秆成分、化学特性以及物理结构进行测定,并分析热 H_2O_2 能有效提高花生秸秆酶解效率的原因。

关键词: 过氧化氢; 热处理; 酶解; 结构特征; 花生秸秆

中国分类号: S216.2; TK6 **文献标识码:** A

0 引 言

花生是中国四大油料经济作物之一,每年花生秸秆的产量为 2700~3000 万 t。由于国家油脂安全战略转走“花生路线”,花生的种植面积不断扩大,导致花生秸秆产量不断增加^[1,2]。尤其在山东、河南、黑龙江等北方主要花生种植地。花生秸秆是一种营养物质丰富的生物质可再生资源,含有 15.9% 粗蛋白、4% 粗脂肪、46.8% 碳水化合物^[3],但目前对这种资源的利用率相对较低,除少部分被用作动物饲料外,绝大多数都以焚烧或废弃的形式浪费,不仅造成资源的浪费,还污染环境。因此把花生秸秆作为替代粮食的物质用于制备燃料乙醇,是花生秸秆资源化利用,保护环境的有效途径。而木质纤维原料乙醇化的生化转化路线主要包括预处理、酶水解和发酵 3 个主要步骤,其中预处理是实现高效酶解的关键技术^[4-6]。秸秆中的纤维素、半纤维素、木质素三者组成结构复杂,相互交织连接,形成稳定的复合体^[7],且纤维素和半纤维素被木质素包裹,阻碍纤维素酶对纤维素的作用。通过对花生秸秆进行预处理,使纤维素、半纤维素与木质素分离,增加酶与纤维素的接触面积,从而提高酶解效率,有利于纤维素的利用和转化。目前预处理秸秆的方法主要有物理法、化学法、生物法^[8],具体的方法名称有蒸汽爆破法^[9]、稀酸处理^[10]、碱处理^[11]、氧化处

理^[12]、超声波处理^[13]等。目前国内外学者对小麦、玉米、稻草秸秆的预处理方面有较深入研究^[9-13],但目前国内外对花生秸秆预处理的研究鲜有报道。

在以往研究中,Hassan 等^[14,15]采用热化学的方法对小麦秸秆和玉米秸秆进行预处理,在 100 °C 和 80 °C、7.5% H_2O_2 条件下,小麦秸秆和玉米秸秆的消化性能显著提升。本文也欲借助于 H_2O_2 极易分解生成羟自由基(OH^\cdot)、氢过氧负离子(HOO^-)和超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)^[12],加热能有效促进过 H_2O_2 的分解率,分解的活性基团具有降解和氧化木质素、打破纤维素的晶体结构的特殊化学性质。同时预处理过程对环境较友好、不存在预处理后溶液的洗涤或中和等步骤。在常压下探究热 H_2O_2 处理对花生秸秆的可行性,对处理后的秸秆进行成分和结构的分析,并通过纤维素酶酶解试验,试图优化热 H_2O_2 对花生秸秆转化利用的条件,为后续花生秸秆乙醇化利用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

花生秸秆取自湖北省麻城市郊区自然风干的秸秆,将收集的花生秸秆用铡刀切成 2~3 cm 的小段,置烘箱中 60 °C 烘焙约 12 h,经粉碎机粉碎过 40 目筛后,测定含水率等理化指标后置于冰箱-20 °C

收稿日期: 2017-07-31

基金项目: 国家科技支撑计划(2013BAD08B04)

通信作者: 丁为民(1957—),男,博士、教授,主要从事于生物质能源转化与利用方面的研究。wmding@njau.edu.cn

冷藏备用。

纤维素酶·绿色木霉,购自国药集团化学试剂有限公司,其活性大于 15 U/mg。H₂O₂,购自广州市金华大化学试剂有限公司,浓度为 30%。其他化学试剂均为分析纯。

1.2 试验设备

电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9240A,上海精宏实验设备有限公司)、粗纤维测定仪(FIWE6, VELP)、连续投料粉碎机(HCL-5,北京华宏金城商贸有限公司)、FA1004N 电子天平(0.0001 g,常州市衡正电子仪器有限公司)、压片机(YP-2,上海山岳科学仪器有限公司)、X 射线衍射仪(X'Pert PRO,荷兰帕纳科公司)、傅里叶红外光谱仪(Nicolet iS10,赛默飞世尔科技(中国)有限公司)、紫外可见分光光度计(UV-2000,尤尼柯(上海)仪器有限公司)、数显恒温水浴锅(HH-2,邦西仪器科技(上海)有限公司)、离心机(湘仪 H1650,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)等。

1.3 试验内容与方法

1.3.1 热 H₂O₂ 预处理

在室温下将 10 g 花生秸秆(干物质)置于 250 mL 蓝盖瓶中,加去离子水使其固液质量比为 1:10 预浸混合均匀,置于设定温度的电热箱中预热 15 min 后取出,加入一定量的 H₂O₂ 试剂,再放回设定温度的电热箱中并保持一定时间。处理结束后置于烘箱中 60 ℃ 烘 48 h 至恒重,用自封袋收集样品置于冰箱-20 ℃ 保存便于成分分析或酶水解。

1.3.2 试验设计

首先分别对 H₂O₂ 的质量分数(w/v),预处理温度,预处理时间进行单因素试验,然后在单因素基础上选取正交试验因素水平,如表 1 所示。

表 1 热 H₂O₂ 预处理正交试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test of thermo H₂O₂ pretreatment

水平	试验因素		
	H ₂ O ₂ 质量分数/%	温度/℃	时间/h
1	3.0	80	1
2	4.5	90	2
3	6.0	100	3

用 Design-Expert 8.0.5 设计 L₉(3⁴) 正交试验,对花生秸秆的热过氧化氢预处理条件进行优化。

1.3.3 花生秸秆酶解产还原糖试验

分别精确称取干燥、过 40 目筛、四分法之后的未处理和处理过的样品 0.2 g,放入 50 mL 的三角瓶内,按原料质量 10% 加入纤维素酶,以 pH 值为 4.8 的 HAc-NaAc 缓冲溶液定容。混匀后置电热恒温箱反应 48 h,酶解温度控制为 50 ℃。酶解试验采用 3 组重复,试验结果以平均值表示。

还原糖测定:将上述反应后的试验样品取出冷却至室温,取经离心机离心 10 min(10000 r/min)后的上清液(浓度较高的需进行预稀释)测量还原糖浓度。还原糖的测定采用 3,5-二硝基水杨酸法^[16]。还原糖产率为还原糖产量与原料干物质质量之比。

1.3.4 预处理前后花生秸秆成分分析

分别称取一定量预处理前后的秸秆,对样品的纤维素、半纤维素和木质素质量分数进行测定,测定方法采用 Van Soest 法^[17]。

1.3.5 预处理前后物理化学结构特性分析

1) 红外光谱分析

将预处理前后样品干燥研磨后,分别采用美国 Nicolet iS10 型傅里叶变换红外光谱仪进行分析,KBr 压片,扫描范围 400~4000 cm⁻¹,分辨率为 2 cm⁻¹。

2) X 射线衍射光谱分析

将预处理前后的花生秸秆置于烘箱中 105 ℃ 干燥 4 h 至恒重后研磨成粉末,在玻片凹槽中均匀压实后扫描。具体条件为:Cu 靶,λ=0.154 nm,管压 40 kV,电流 40 mA,扫描步长 0.02°,扫描范围 10°~45°。

纤维素结晶度使用 Segal 经验法计算:

$$\text{X 射线结晶指数} = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100\% \quad (1)$$

式中, I_{002} —— 2θ 在 22°~23° 之间的最大衍射强度;
 I_{am} —— 2θ 在 18°~19° 之间的最小衍射强度。

1.3.6 数据分析

采用 IBM SPSS Statistics 22 软件进行统计分析,使用 Origin Pro 9.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 热 H₂O₂ 预处理对酶解的影响

2.1.1 单因素试验

从图 1 可看出,当 H₂O₂ 质量分数从 1.5% 增大

到 6.0% 的过程中,还原糖质量浓度不断增大,但 H_2O_2 质量分数从 6.0% 增大到 7.5% 的过程中还原糖质量浓度基本保持不变;当预处理温度从 60 $^{\circ}\text{C}$ 升高到 100 $^{\circ}\text{C}$ 时,还原糖质量浓度不断增大,由于该试验是在常压下进行加热 H_2O_2 来处理秸秆,因此选取试验温度范围为 60~100 $^{\circ}\text{C}$;当预处理时间从 0 h 增加到 1 h 后,还原糖质量浓度的增幅较大,在 1~3 h 内,其质量浓度增幅变缓,超过 3 h 后,还原糖质量浓度呈下降趋势。

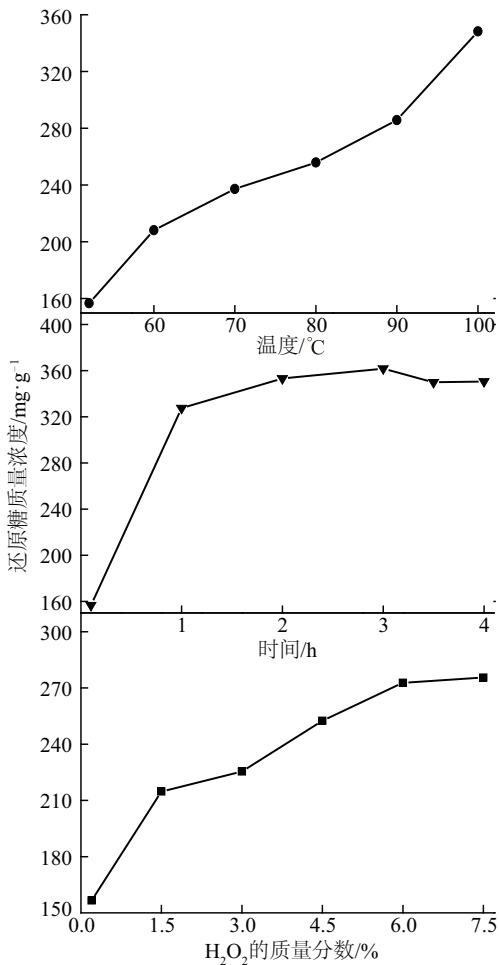


图1 温度、时间、 H_2O_2 质量分数单因素对花生秸秆酶解还原糖产率的影响

Fig. 1 Effect of temperature, time, concentration of H_2O_2 solution of the single factor on reducing sugar yield of peanut straw enzyme

所有单因素试验组的酶解原糖质量浓度较未处理花生秸秆的还原糖质量浓度显著增大($p<0.05$)。这说明热 H_2O_2 能提高花生秸秆纤维素酶解效率。证明花生秸秆热 H_2O_2 预处理的可行性,并且能显著

提高花生秸秆纤维素酶解还原糖产量。

2.1.2 正交试验

在单因素试验的基础上,选取合适正交试验因素和水平,设计了 $\text{L}_9(3^4)$ 正交试验,正交试验结果的直观分析和极差分析见表 2。

表2 花生秸秆热过氧化氢预处理正交试验结果

Table 2 Orthogonal test results of pretreatment of peanut straw with thermo hydrogen peroxide

试验号	H_2O_2 质量 分数/%	温度/ $^{\circ}\text{C}$	时间/h	还原糖质量 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
0	0	0	0	156.60
1	1	1	1	252.67
2	1	2	2	325.66
3	1	3	3	362.09
4	2	1	2	305.57
5	2	2	3	388.07
6	2	3	1	359.01
7	3	1	3	350.04
8	3	2	1	340.66
9	3	3	2	398.65
K_1	313.47	302.76	317.45	
K_2	350.88	351.47	343.30	
K_3	363.12	373.25	366.73	
R	49.65	70.49	49.28	

注: K 、 R —还原糖质量浓度的平均值与极差。

从表 2 可知,预处理各试验因素对花生秸秆酶解还原糖质量浓度影响程度:温度 $>\text{H}_2\text{O}_2$ 质量分数 $>$ 时间,且这 3 个试验因素影响均达到显著($p<0.05$),温度对 H_2O_2 预处理影响程度较大。正交试验分析理论最佳预处理条件为温度 100 $^{\circ}\text{C}$,时间 3 h, H_2O_2 质量分数 6%,在此预处理条件下花生秸秆酶解还原糖质量浓度为 407.49 mg/g。从正交试验结果可看出,各试验组酶解还原糖质量浓度相比于未处理秸秆酶解还原糖质量浓度 156.60 mg/g,显著($p<0.05$)提高了 61.35%~154.56%,且试验最佳预处理条件为温度 100 $^{\circ}\text{C}$,时间 2 h, H_2O_2 质量分数 6%,酶解还原糖质量浓度为 398.62 mg/g,是未处理秸秆酶解还原糖质量浓度的 2.55 倍。理论最佳预处理条件下酶解还原糖质量浓度相比于试验最佳预处理条件下酶解还原糖质量浓度提高了 2.22%,但未达

到显著差异性。可能在 100 ℃下 H₂O₂ 分解速度加快,预处理能力受到一定影响,因此预处理时间从 2 h 延长到 3 h,预处理效果并未明显提高。考虑到延长预处理时间会增加能耗,为了缩短预处理时间,可将处理温度 100 ℃,时间 2 h, H₂O₂ 质量分数 6%作为最优预处理条件。

2.2 热 H₂O₂ 预处理对花生秸秆化学成分的影响

使用范式法分别测定未处理的花生秸秆与试验最佳预处理和理论最佳预处理的花生秸秆成分如表 3 所示。由表 3 可看出,在试验条件范围内,花生秸秆木质的去除率为 30.00%和 44.82%,这说明热 H₂O₂ 预处理能有效去除花生秸秆中部分木质素,这与赵超等^[18]、李辉勇等^[19]的研究结论一致,

H₂O₂ 预处理能有效去除秸秆中的木质素。但去除程度不一致,造成该差异的原因可能是花生秸秆的木质素结构组成及连接键的形式与其他秸秆不同。这与 Zeng 等^[20]的研究结论一致,不同木质素单体结构对预处理的响应及对纤维素利用的阻碍作用有待更深入的研究。热 H₂O₂ 预处理秸秆的半纤维素含量相比于未处理秸秆,下降了 54.56%和 58.95%,这相比于木质素的去除效果,热 H₂O₂ 对半纤维素的降解效果更为显著。这与 Song 等^[21]在用 H₂O₂ 处理秸秆过程中发现其对半纤维素的降解效果最好一致。预处理后纤维素含量相比于未处理秸秆,提高了 21.29%和 30.07%,而纤维素含量的增大,也说明了热 H₂O₂ 预处理有利于花生秸秆酶解还原糖转化。

表 3 热过氧化氢对花生秸秆成分变化的影响

Table 3 Effect of thermo hydrogen peroxide on changes of peanut straw composition

	纤维素含量/%	半纤维素含量/%	木质素含量/%	灰分含量/%
未处理秸秆 R	26.80±0.42 ^a	15.47±1.17 ^a	8.30±0.11 ^a	2.01±0.61 ^a
试验最佳秸秆 A	33.31±0.27 ^b	7.03±0.01 ^c	5.81±0.03 ^d	1.96±0.02 ^c
理论最佳秸秆 B	34.86±0.21 ^c	6.35±0.69 ^c	4.58±0.13 ^e	1.99±0.07 ^c

注:各处理组之间差异的多重对比采用 Dunnett 检验($p<0.05$)。

2.3 热 H₂O₂ 预处理对花生秸秆化学结构特性的影响

采用傅里叶红外变换光谱(FTIR)分别对未处理的花生秸秆以及试验最佳条件和理论最佳条件预处理的花生秸秆化学结构进行分析。由图 2 可见,热 H₂O₂ 处理前后红外吸收峰形状基本相同,差异在于某些特征峰的消失或吸收强度的变化。纤维素大分子中每个基环都含有 3 个醇羟基,羟基中的氢原子与相邻的氧原子间距小于 0.28~0.30 nm 时都可能形成氢键,因此纤维素分子链间及分子链与表面水分子间都可形成氢键,氢键是导致反应试剂如厌氧菌、降解酶等对纤维素的可及度低,反应性能差的原因之一^[22]。经热 H₂O₂ 处理后,波数 3414 cm⁻¹ 处木质纤维素分子内羟基 O—H 伸缩振动谱带减弱,说明部分纤维素之间的氢键连接被打破。而部分氢键的破坏使酶的可及度增加,有利于纤维素的降解和转化。波数 2920 cm⁻¹ 的谱峰是木质纤维结构中—CH、—CH₂ 的伸缩振动吸收峰,与未处理秸秆相比,热 H₂O₂

预处理后秸秆的该吸收峰明显下降,这说明热 H₂O₂ 预处理能有效破坏部分纤维素和木质素中的—CH、—CH₂。波数 1720~1733 cm⁻¹ 的谱峰为木质素或半纤维素有关的羰基 C=O 伸缩振动^[22],相比于原料谱图,经预处理后在 1733 cm⁻¹ 处的峰强度都有一定程度的减弱,而在波数 1720 cm⁻¹ 处的峰已基本消失,这说明部分半纤维素得到降解。波数 1650 cm⁻¹ 的谱峰为木质素振动吸收特征峰^[18],与未处理谱图相比,经预处理后在 1650 cm⁻¹ 附近的峰型明显变缓,强度显著减弱且有部分吸收峰消失,这表明热 H₂O₂ 预处理能有效去除木质素,且部分剩余木质素的结构遭到破坏。波数 1430 cm⁻¹ 处的谱峰是纤维素结构的特征吸收峰,此吸收峰在预处理过程中变化较大,这也说明了在预处理过程中部分纤维素大分子的结构发生变化。波数 1060 cm⁻¹ 的谱峰是碳水化合物 C—O 的伸缩振动吸收峰^[22],与原料的谱图相比,预处理后此峰吸收区域增大,强度减弱,这表明预处理使木质素-碳水化合物内的酯键发生断裂。

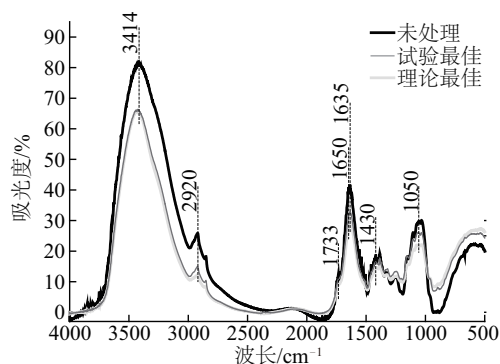


图2 花生秸秆热过氧化氢预处理前后傅里叶变换红外光谱图

Fig. 2 FTIR spectra of peanut straw after thermo peroxide pretreatment

红外光谱图2分析结果表明,热 H_2O_2 预处理使花生秸秆纤维素之间的氢键发生断裂,在有效去除花生秸秆中的木质素和溶解部分半纤维素的同时还能对部分残余木质素单体结构造成一定程度的破坏;并破坏了部分纤维素和木质素中的 $-CH$ 、 $-CH_2$ 基团和木质素-碳水化合物内的 $C=O$ 连接。预处理前后的化学结构特性变化有效地减弱了秸秆水解的阻碍,进一步提高了酶解产糖率。

2.4 热 H_2O_2 预处理对花生秸秆结晶度的影响

木质纤维原料的主要成分纤维素具有结晶区和无定形区的两相结构体,其结晶度是纤维素结晶区占其整体的百分比^[23]。在结晶区内,纤维素分子结构紧密且排列有序,不利于酶解的可及性。纤维素的结晶度与可及性紧密相关,因此广泛认可的是:纤维素的结晶度与酶解效率负相关^[24]。图3是花生秸秆热 H_2O_2 预处理前后的X射线衍射图谱,预处理条件为试验最佳处理条件和理论最佳处理条件。由图3可看出,理论最佳预处理和未处理的图谱在 $2\theta=16.0^\circ$ 附近的衍射峰基本无变化,而试验最佳预处理的衍射峰峰型变缓,强度减弱。预处理前后在 $2\theta=18.0^\circ$ 的波谷发生了位置偏移,说明无定形区部分单体结构发生改变。对于 $2\theta=22.0^\circ$ 附近,相较于未处理组,试验最佳条件预处理后的秸秆的衍射峰强度减弱,理论最佳条件预处理后的秸秆的衍射峰波幅变宽且有分峰现象,这说明花生秸秆在预处理前后有部分结晶区变成无定形区也有少量结晶发生了重组,这也与FTIR图谱中纤维素分子间氢键连接发生了断裂相对应。经预处理后,在 $2\theta=27.0^\circ$

和 34.5° 附近的衍射峰基本消失,对于 $2\theta=37.0^\circ$ 附近,与未处理相比,理论最佳预处理后的衍射峰基本消失,而试验最佳预处理后的衍射峰基本不变,这也说明预处理破坏了结晶结构,而且不同预处理条件可能导致其破坏的程度也不一致。花生秸秆以试验最佳预处理和理论最佳预处理后的结晶度比未处理秸秆都有所上升。这可能是热 H_2O_2 对花生秸秆的结晶度具有双重影响,在破坏部分结晶区引起结晶度下降的同时也是无定形区部分木质素的去除和半纤维素的溶解导致结晶度上升。也有其他研究学者发现:在对木质纤维素原料进行预处理后引起结晶度升高,如 Kim 等^[25] 和 Zhang 等^[26] 发现木质纤维素预处理去木质素后纤维素结晶度增加的事实。

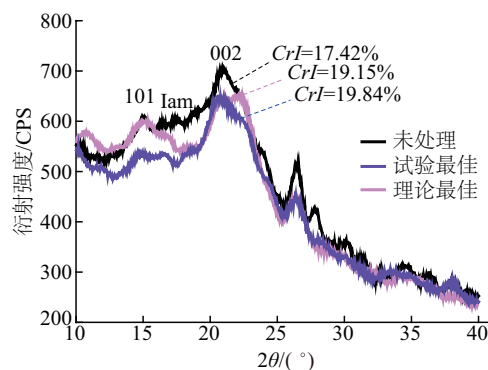


图3 花生秸秆热过氧化氢预处理前后X射线衍射图谱

Fig. 3 X ray diffraction pattern of peanut straw after thermo peroxide pretreatment

X射线衍射分析结果表明,热 H_2O_2 预处理前后结晶结构有明显变化,理论最佳条件下预处理对纤维素结晶结构破坏程度大于试验最佳条件下预处理的破坏程度,这也是前者酶解还原糖产率多于后者且都远远多余未处理组的原因之一,这与赵超等^[18]采用液氨 H_2O_2 处理玉米芯时发现预处理对结晶度影响具有双重作用的结论类似,也证实了酶解率与结晶度大小无直接关系,但与结晶区的破坏程度紧密相关。

3 结 论

1)热 H_2O_2 预处理能显著提高花生秸秆的酶解产糖,温度对处理效果的影响程度最大。最优预处理条件为温度 $100^\circ C$,时间 $2 h$, $6\% H_2O_2$,在此条件下,木质素的去除率为 30% ,纤维素提高了 21.29% ,

1000 g 花生秸秆干物质纤维素酶解可获得还原糖 398.65 g, 是未处理的 2.55 倍。

2) 热 H_2O_2 预处理能有效去除花生秸秆中部分木质素, 降低半纤维素含量、提高纤维素含量; 能有效破坏花生秸秆的纤维素结晶结构和纤维素、半纤维素、木质素分子内部以及分子间的连接, 这也是花生秸秆酶解还原糖得到显著提高的根本原因。

[参考文献]

- [1] 张 峰, 李保普, 王 昆, 等. 花生秧的营养特点及其在畜牧生产中的应用[J]. 中国饲料, 2006, 17(11): 38—39.
- [1] Zhang Feng, Li Baopu, Wang Kun, et al. Nutrition characteristics of peanut seedlings and their application in livestock production[J]. China Feed, 2006, 17(11): 38—39.
- [2] 刘太宇, 郭 孝. 花生秧饲料化利用技术研究[J]. 中国农学通报, 2003, 19(5): 17—19.
- [2] Liu Taiyu, Guo Xiao. The studies on rational utilization for green fodder of peanut vite[J]. China Agricultural Science Bulletin, 2003, 19(5): 17—19.
- [3] 张 峰, 吴占军, 刘小虎, 等. 甘薯秧、花生秧的营养特点及其在奶牛养殖中的应用[J]. 中国奶牛, 2009, 27(5): 58—60.
- [3] Zhang Feng, Wu Zhanjun, Liu Xiaohu, et al. Nutrition characteristics of sweet potato seedlings and peanut seedlings and their application in dairy farming[J]. Chinese Dairy Cattle, 2009, 27(5): 58—60.
- [4] Yang B, Wyman C E. Pretreatment: The key to unlocking low-cost cellulosic ethanol[J]. Biofuels Bioproducts and Biorefining, 2008, 2(1): 26—40.
- [5] 王振斌, 张 杰, 王世清, 等. 超声波预处理对固定化纤维素酶活性的影响[J]. 农业机械学报, 2011, 42(3): 150—155.
- [5] Wang Zhenbin, Zhang Jie, Wang Shiqing, et al. Effect on activity of immobilized cellulase by ultrasound assisted pretreatment[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2011, 42(3): 150—155.
- [6] 王殿龙, 艾 平, 鄢烈亮, 等. 稀酸稀碱预处理的稻秸两步厌氧发酵性能分析[J]. 农业机械学报, 2015, 46(2): 168—175.
- [6] Wang Dianlong, Ai Ping, Yan Lieliang, et al. Property analysis of two-step anaerobic digestion of rice straw pretreated by dilute acid and dilute alkali[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(2): 168—175.
- [7] 武崇辉, 武瑞娟, 刘懿霆, 等. 酸碱预处理后玉米秸秆的酶解工艺优化[J]. 太阳能学报, 2016, 37(6): 1528—1533.
- [7] Wu Chonghui, Wu Ruijuan, Liu Yiting, et al. Enzymatic hydrolysis optimization of corn straw in acid and alkali pretreatment[J]. Acta Energetica Solaris Sinica, 2016, 37(6): 1528—1533.
- [8] 覃国栋, 刘荣厚, 孙 辰. NaOH 预处理对水稻秸秆沼气发酵的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(S1): 59—63.
- [8] Qin Guodong, Liu Ronghou, Sun Chen. Effects of different concentrations of NaOH pretreatment on anaerobic digestion of rice straw for biogas production[J]. Transactions of the CSAE, 2011, 27(Sup 1): 59—63.
- [9] Laser M, Schulman D, Ailen S, et al. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol[J]. Bioresources Technology, 2002, 81(1): 33—44.
- [10] Qing Qing, Guo Qi, Zhou Linlin, et al. Comparison of alkaline and acid pretreatments for enzymatic hydrolysis of soybean hull and soybean straw to produce fermentable sugars[J]. Industrial Crops & Products, 2017, 109(15): 391—397.
- [11] Chang V S, Nagwani M, Holtzapfel M T. Lime pretreatment of crop residues bagasse and wheat straw[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1998, 74(3): 135—159.
- [12] Cabrera Emir, Munoz Maria J, Martin Ricardo, et al. Alkaline and alkaline peroxide pretreatments at mild temperature to enhance enzymatic hydrolysis of rice hulls and straw[J]. Bioresources Technology, 2014, 167(1): 1—7.
- [13] 王永忠, 冉 尧, 陈 蓉, 等. 不同预处理方法对稻草秸秆固态酶解特性的影响[J]. 农业工程学报, 2013, 29(1): 225—231.
- [13] Wang Yongzhong, Ran Yao, Chen Rong, et al. Effects of different pretreatment methods on enzymolysis characteristics of rice straw in solid state[J]. Transactions of the CSAE, 2013, 29(1): 225—231.
- [14] Hassan M, Ding Weimin, Bi Jinhua, et al. Methane enhancement through oxidative cleavage and alkali solubilization pre-treatments for corn stover with anaerobic activated sludge[J]. Bioresource Technology, 2016, 200(2): 405—412.

- [15] Hassan M, Ding Weimin, Shi Zhendan, et al. Methane enhancement through co-digestion of chicken manure and thermo-oxidative cleaved wheat straw with waste activated sludge: A C/N optimization case[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 211(13): 534—541.
- [16] Toma R B, Leung H K. Determination of reducing sugars in French fried potatoes by 3,5-dinitrosalicylic acid[J]. *Food Chemistry*, 1987, 23(1): 29—33.
- [17] Van Soest P J, Rovertson J B, Lewis B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74(10): 3583—3597.
- [18] 赵超, 邵千钧, 曹艳, 等. 液氨过氧化氢联合预处理对玉米芯酶解的影响[J]. *农业机械学报*, 2015, 46(6): 193—200.
- [18] Zhao Chao, Shao Qianjun, Cao Yan, et al. Effects of combined hydrogen peroxide and liquid ammonia treatment on enzymatic hydrolysis of corn cob[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2015, 46(6): 193—200.
- [19] 李辉勇, 金密, 魏琴琴, 等. 弱碱性过氧化氢预处理对稻草秸秆酶解糖化的影响[J]. *生物质化学工程*, 2011, 45(5): 11—16.
- [19] Li Huiyong, Jin Mi, Wei Qinqin, et al. Effects of mild alkaline peroxide pretreatment on enzymatic saccharification of rice straw[J]. *Biomass Chemical Engineering*, 2011, 45(5): 11—16.
- [20] Zeng Yining, Zhao Shuai, Yang Shihua, et al. Lignin plays a negative role in the biochemical process for producing lignocellulosic biofuels[J]. *Current Opinion in Bio-technology*, 2014, 27(3): 38—45.
- [21] Song Zilin, Yang Gaihe, Feng Yongzhong, et al. Pretreatment of rice straw by hydrogen peroxide for enhanced methane yield[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2013, 12(7): 101—108.
- [22] 郑明霞, 李来庆, 郑明月, 等. 碱处理对玉米秸秆纤维素结构的影响[J]. *环境科学与技术*, 2012, 35(6): 27—31.
- [22] Zheng Mingxia, Li Laiqing, Zheng Mingyue, et al. Effect of alkali pretreatment on cellulosic structural changes of corn stover[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 35(6): 27—31.
- [23] 詹怀宇. 纤维素化学与物理[M]. 北京: 科学出版社, 2005, 109.
- [24] Zhu Li, O'Dwyer J P, Chang V S, et al. Structural features affecting biomass enzymatic digestibility[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(9): 3817—3828.
- [25] Kim T H, Lee Y Y. Pretreatment and fractionation of corn stover by ammonia recycle percolation process[J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96(18): 2007—2013.
- [26] Zhang Chao, Pang Feng, Li Bing, et al. Recycled aqueous ammonia expansion (RAAE) pretreatment to improve enzymatic digestibility of corn stalks[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 138(13): 314—320.

EFFECTS OF THERMO-HYDROGEN PEROXIDE PRETREATMENT ON ENZYMATIC HYDROLYSIS OF PEANUT STRAW

Xiong Jiading, Ding Weiming, Wang Wenxin, Muhammad Hassan, Sun Yuanhao, Li Zhiwei
(College of Engineering, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210031, China)

Abstract: In this study, single factor test was used to investigate the effect of thermo-hydrogen peroxide pretreatment on enzymatic hydrolysis of peanut straw. The results showed that all the test groups are significantly ($p < 0.05$) increased the reducing sugar yield; further design of the pretreatment conditions is optimized by orthogonal test, and the results showed that the optimal pretreatment conditions are 100 °C, 2 h, 6% H_2O_2 . Compared with untreated straw, enzymatic hydrolysis sugar yield increased 154.56% under optimal conditions. The composition, chemical properties and physical structure of pretreated and untreated peanut straw were compared respectively, and the reason that thermo-hydrogen peroxide can effectively improve the efficiency of enzymatic hydrolysis of peanut straw was analyzed.

Keywords: hydrogen peroxide; thermal treatment; enzymatic hydrolysis; structural properties; peanut straw