

文章编号:0254-0096(2018)06-1675-06

# 蒸汽爆破预处理对玉米芯酶水解的影响

王风芹, 谢 慧, 仝银杏, 李传斌, 任天宝, 宋安东

(河南农业大学生命科学学院/农业部农业微生物酶工程重点实验室, 郑州 450002)

**摘 要:** 采用不同的蒸汽爆破条件对玉米芯进行预处理,研究蒸汽爆破对玉米芯理化性质和酶水解的影响。结果表明:蒸汽爆破条件为 1.4 MPa, 300 s 时,玉米芯酶水解液中总糖浓度最高为 58.17 g/L。蒸汽爆破预处理主要引起半纤维素大量降解,但过高的压力或过长的保压时间会使木糖进一步降解,从而使玉米芯水解糖得率降低。X-衍射结果表明:经 1.4 MPa, 300 s 蒸汽爆破的玉米芯结晶度由对照的 24.49% 提高到 43.09%。由扫描电镜可知,蒸汽爆破可提高玉米芯的孔隙度和表面积,从而提高酶水解效率。

**关键词:** 农业剩余物; 废物利用; 酶水解; 玉米芯; 蒸汽爆破预处理

**中图分类号:** TQ923

**文献标识码:** A

## 0 引 言

随着石化资源消耗的加剧以及环境污染的日益严重,利用可再生农林业废弃物等木质纤维素资源生产生物燃料和生物基化学品引起世界范围的广泛关注<sup>[1]</sup>。玉米是我国第 3 大农作物,每年仅玉米芯产量就约有 2000 万 t<sup>[2]</sup>。玉米芯是工业上生产木糖、木糖醇和低聚木糖等的主要原料,还可用于生产乙醇、丁醇、微生物油脂、琥珀酸、2, 3-丁二醇、糠醛等生物燃料和生物基化学品。玉米芯由纤维素、半纤维素和木质素组成,其致密结构需经化学、物理或生物的方法进行预处理以提高玉米芯的利用效率。

目前玉米芯工业化预处理主要采用稀硫酸法,即 1%~2% (w/v) 稀硫酸 121 °C 热处理 1~2 h,该过程能耗高,而且由于会产生大量含酸或盐的废水,对环境危害严重。因此寻找高效、低污染、绿色环保的预处理方法是推动玉米芯生物炼制进程的重要举措<sup>[3]</sup>。蒸汽爆破预处理是将木质纤维素原料经高温高压蒸汽加热至一定温度和压力,并在该条件下保持一定时间,然后骤然降压,使物料爆破,以提高纤维素、半纤维素和木质素的分离效果和转化效率的一种方法。该方法不添加或很少添加化学物质,

被认为是能耗较低、环境友好、最具应用前景的预处理技术之一<sup>[4,5]</sup>。

本文采用瞬时弹射式蒸汽爆破技术(压力释放时间为 0.00875 s)对玉米芯进行预处理,研究蒸汽爆破对玉米芯酶水解的影响,并通过对爆破物料的化学组成分析和物理结构表征,揭示其对玉米芯酶水解的影响机制,以期对玉米芯的工业化应用构建经济、高效和环保的预处理技术体系。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

玉米芯:取自河南林州,自然风干后粉碎至 1 cm<sup>3</sup> 的颗粒备用,玉米芯含半纤维素 32.92%,纤维素 37.01%,木质素 17.03%。

纤维素酶:购自尤特尔生物工程公司,滤纸酶活 180 FPU/mL。

木聚糖酶:购自杰能科(中国)生物工程有限公司,酶活 10000 U/mL。

### 1.2 玉米芯蒸汽爆破预处理

设置蒸汽爆破压力为 1.4、1.8、2.2 MPa,保压时间为 60、120、180、240、300 s,对蒸汽爆破预处理条件进行优化,所用设备为农业部可再生能源重点实

收稿日期: 2016-04-15

基金项目: 国家自然科学基金(21406055); 国家高技术研究发展(863)计划(2014AA021903-06); 河南省高等学校重点科研项目(15A180004); 河南省高校科技创新团队(15IRTSTHN014)

通信作者: 宋安东(1972—), 男, 博士、教授, 主要从事农业生物质转化和生物能源技术方面的研究。song1666@126.com

验室与鹤壁正道重型机械厂研发的工艺试验台。爆破后的物料 70 ℃烘干至恒重后进行酶解糖化、化学组成和理化结构分析。

### 1.3 蒸汽爆破玉米芯的酶解糖化

蒸汽爆破后的玉米芯置于 500 mL 三角瓶中,用去离子水调整固液质量比 1:8,调节 pH 值为 4.8,每克干物料分别添加纤维素酶和木聚糖酶 15 U/g(FPA)和 200 U/g,于 48 ℃、120 r/min 酶解糖化 48 h;8000 r/min 离心,取上清,于-20 ℃保存,待测糖含量。

### 1.4 测定方法

#### 1.4.1 纤维素、半纤维素和木质素含量测定

称取经烘干至恒重的自然玉米芯及蒸汽爆破玉米芯 10 g,用去离子水 100 mL 水洗,然后用砂芯漏斗过滤,收集残渣和水洗液,保存备用。将残渣烘干至恒重,粉碎至 60 目,准确称取 0.5 g,采用 NREL 法测定其中的纤维素、半纤维素和木质素含量<sup>[6,7]</sup>。

#### 1.4.2 糖含量测定

葡萄糖、木糖、纤维二糖和阿拉伯糖含量采用 P680 高效液相色谱(Diodex)进行测定,检测器为 RI101 示差折光检测器(Shodex);氢离子交换色谱柱 Aminex HPX-87H;流动相为 0.005 mol/L 的 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,流速 0.6 mL/min,柱温 55 ℃。

低聚木糖和低聚葡萄糖含量测定:取 2 mL 爆破玉米芯水洗液,加入等体积 4% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,121 ℃处理 20 min<sup>[1]</sup>,然后按照葡萄糖和木糖的测定方法进行测定,酸水解后及酸水解前测出的葡萄糖浓度差即为低聚葡萄糖含量,而酸水解后与酸水解前测出的木糖浓度差即为低聚木糖浓度。

#### 1.4.3 有毒物质含量测定

甲酸、乙酸含量测定:方法同糖含量测定方法,采用 Rezex ROA-Organic Acid H<sup>+</sup>柱,紫外检测器 (SPD-15C UV-210 nm)。

糠醛和 5-羟甲基糠醛(5-HMF)含量测定:采用 Waters 2695 高效液相色谱仪(HPLC),Waters Sunfire C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm),Waters 2996 二极管矩阵检测器。流动相:令 A 为 1%乙酸、B 为甲醇,梯度洗脱:0~15 min,72% A,28% B;15~35 min,

53% A,47% B。流速:0.6 mL/min,柱温:30 ℃,检测波长:280 nm,进样量:10 μL。

总酚含量测定:采用 Folin-Ciocalteu 法<sup>[8]</sup>。

### 1.5 玉米芯物理结构表征

#### 1.5.1 扫描电镜(SEM)分析

将玉米芯粉碎过 60 目筛网,在 102 ℃电热鼓风干燥箱中烘干至恒重,喷金处理后进行电镜扫描。

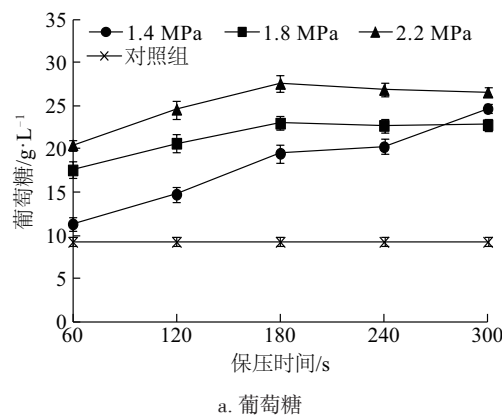
#### 1.5.2 X-射线衍射(XRD)分析

取干燥的过 60 目筛网的玉米芯粉末 0.5 g,置于 X 射线衍射仪器所用的小平盘内,压平,扫描。设置的仪器参数为:狭缝宽度 0.5°,电压 40 kV,2θ 为 5°~60°,扫描速度为 4.8°/min,λ 为 0.154 nm。采用 Segal 的公式进行 XRD 结晶度的计算<sup>[9-11]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 蒸汽爆破对玉米芯酶解糖化的影响

蒸汽爆破压力和保压时间是影响玉米芯蒸汽爆破效果和酶水解效率的重要因素。本文研究 3 个蒸汽爆破压力(1.4、1.8、2.2 MPa)和 5 个保压时间(60、120、180、240、300 s)对玉米芯酶水解效果的影响,结果如图 1 所示。在蒸汽爆破压力和保压时间分别为(1.4 MPa,300 s)、(1.8 MPa,180 s)和(2.2 MPa,180 s)时,葡萄糖产量达到最高,分别为 24.68、22.98 和 27.58 g/L(图 1a)。高压不利于木糖的产生,3 个蒸汽爆破压力下,保压时间分别为 300、300、180 s 时木糖产量达到最高,分别为 23.31、23.96 和 17.73 g/L(图 1b)。总糖浓度在这 3 个条件下也分别达到该压力下的最大值,分别为 58.17、55.84、56.97 g/L(图 1c)。



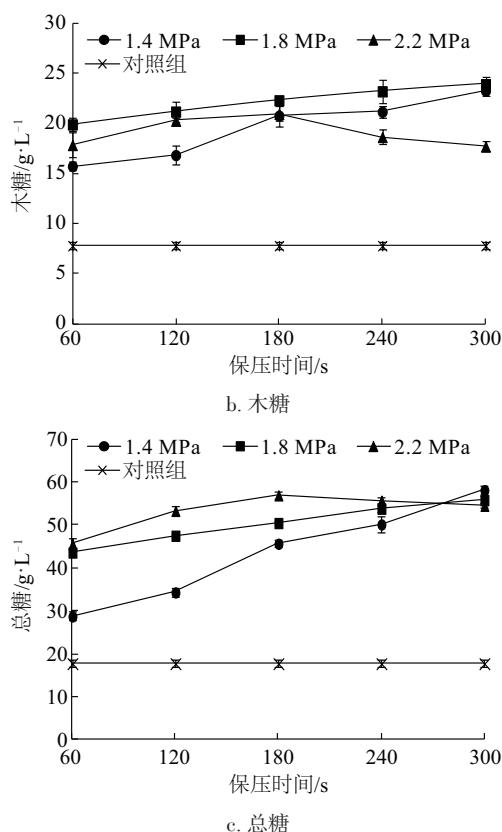


图1 不同蒸汽爆破条件下玉米芯酶水解液组成

Fig. 1 Sugar contents of corncob enzymatic hydrolysates with different steam explosion conditions

## 2.2 蒸汽爆破对玉米芯化学组成的影响

### 2.2.1 蒸汽爆破玉米芯组成

蒸汽爆破玉米芯的纤维素、半纤维素和木质素组成见图2。蒸汽爆破对半纤维素的破坏最为显著,其含量随着爆破压力的增大和保压时间的延长而急剧下降。经蒸汽爆破处理后,物料中半纤维素含量由对照的 35.67 g/100 g 减至 28.91~1.35 g/100 g。当爆破压力为 1.4 MPa 时,爆破玉米芯中纤维素含量为 39.30~41.75 g/100 g,接近或略高于对照;当爆破压力增至 1.8 或 2.2 MPa 时,爆破玉米芯中纤维素含量随保压时间的延长,先增大而后逐渐减小,(1.8 MPa, 180 s)和(2.2 MPa, 60 s)时纤维素含量分别达到最高 46.50 和 46.52 g/(100 g 蒸汽爆破玉米芯)。木质素是木质纤维素中结构最稳定的组成部分,蒸汽爆破压力为 1.4 MPa 时,蒸汽爆破玉米芯中木质素含量为 16.79~17.54 g/100g,略高于对照的 15.49 g/100 g;但当蒸汽爆破压力升高到 1.8 MPa 或 2.2 MPa 时,爆破玉米

芯中木质素含量随保压时间的延长急剧增大,(2.2 MPa、300 s)时木质素含量达到 23.36 g/100 g。表明较高蒸汽爆破压力和较长保压时间不仅会破坏半纤维素,也会破坏纤维素。

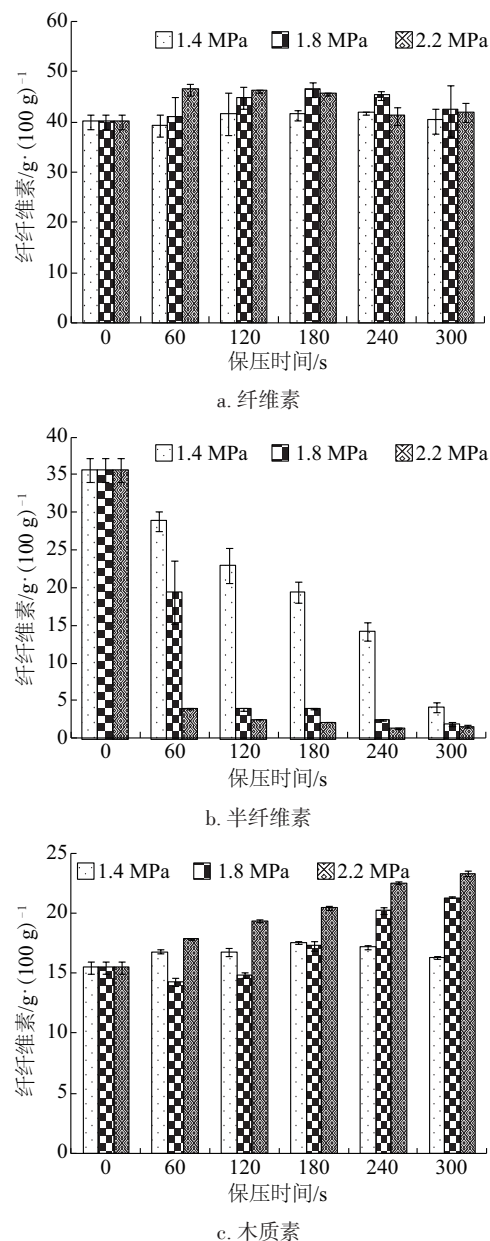


图2 蒸汽爆破前后玉米芯的纤维素、半纤维素和木质素含量

Fig. 2 Cellulose, hemicellulose and lignin contents in corncob before and after steam explosion

### 2.2.2 蒸汽爆破玉米芯中可溶性糖及有毒物质含量

选择(1.4 MPa, 120 s)、(1.4 MPa, 180 s)、(1.4 MPa, 300 s)、(2.2 MPa, 180 s)4个蒸汽爆破条件,研



究蒸汽爆破玉米芯中可溶性糖和有毒物质含量,结果见表1。葡萄糖和葡聚糖含量随蒸汽爆破压力的增大和保压时间的延长逐渐增大,(2.2 MPa, 180 s)条件下,葡萄糖和葡聚糖含量分别为 0.42 g/100 g 和 2.23 g/100 g,表明蒸汽爆破对纤维素的破坏不显著,约有 5%的纤维素变为水溶性糖。蒸汽爆破玉米芯中可溶性木聚糖含量在(1.4 MPa, 300 s)蒸汽爆破条件下达到 12.79 g/100 g,而(2.2 MPa, 180 s)时只有

4.82 g/100 g,这可能是由于在较强爆破条件下木聚糖进一步水解为木糖,从而使木糖含量逐渐增大;蒸汽爆破条件为(2.2 MPa, 180 s)时,木糖和木聚糖的总量只有 10.23 g/100 g,较(1.4 MPa, 300 s)的 16.52 g/100 g 减小了 38.1%,表明在较强的爆破条件下大量木糖被进一步分解破坏。随着蒸汽爆破强度的增强,蒸汽爆破玉米芯中甲酸、乙酸、糠醛、5-HMF 和总酚的含量显著增多。

表1 蒸汽爆破玉米芯可溶性糖与有毒物质含量(g/100 g)

Table 1 Production of soluble sugars and major toxicants from steam exploded corn cob (g/100 g)					
可溶性组分		(1.4 MPa, 120 s)	(1.4 MPa, 180 s)	(1.4 MPa, 300 s)	(2.2 MPa, 180 s)
可溶性糖	葡萄糖	0.16±0.02 aA	0.22±0.03 bB	0.25±0.02 cB	0.42±0.04 dC
	低聚葡萄糖	1.29±0.09 aA	1.96±0.10 bB	2.28±0.01 cB	2.23±0.13 cB
	木糖	0.68±0.04 aA	2.42±0.11 bB	3.73±0.08 cC	5.41±0.16 dD
	木聚糖	5.16±0.47 aA	9.11±0.99 bB	12.79±0.37 cC	4.82±0.39 dD
	阿拉伯糖	0.22±0.03 aA	0.87±0.08 bB	0.31±0.05 cC	0.16±0.02 dD
有毒物质	甲酸	0.65±0.01 aA	1.60±0.12 bB	2.29±0.20 cC	3.61±0.17 dD
	乙酸	0.07±0.00 aA	0.71±0.02 bB	1.42±0.08 cC	2.56±0.20 dD
	糠醛	0±0 aA	0±0 aA	0.38±0.02 bB	0.62±0.03 cC
	5-羟甲基糠醛	0.05±0.01 aA	0.13±0.01 bB	0.34±0.01 cC	0.61±0.04 dD
	总酚	0.01±0.00 aA	0.02±0.00 bB	0.02±0.00 cB	0.03±0.01 cB

注:不同小写字母代表同一组分不同爆破条件下在 0.5%水平上差异显著;不同大写字母代表同一组分不同爆破条件下在 0.01%水平上差异显著。

2.3 蒸汽爆破玉米芯结构表征

2.3.1 扫描电镜

为了直观地观察蒸汽爆破对玉米芯物理结构的影响,选取自然风干玉米芯、(1.4 MPa, 300 s)和(2.2 MPa, 180 s)蒸汽爆破玉米芯进行扫描电镜分析,结果如图3所示。玉米芯经蒸汽爆破后颗粒变小(图3a左、图3b左、图3c左);自然玉米芯颗粒结构致密、表面光滑,经蒸汽爆破后玉米芯表面粗糙并形成许多蜂窝状小孔(图3a右、图3b右、图3c右)。这是由于在蒸汽爆破过程中,高温高压蒸汽通过亲水

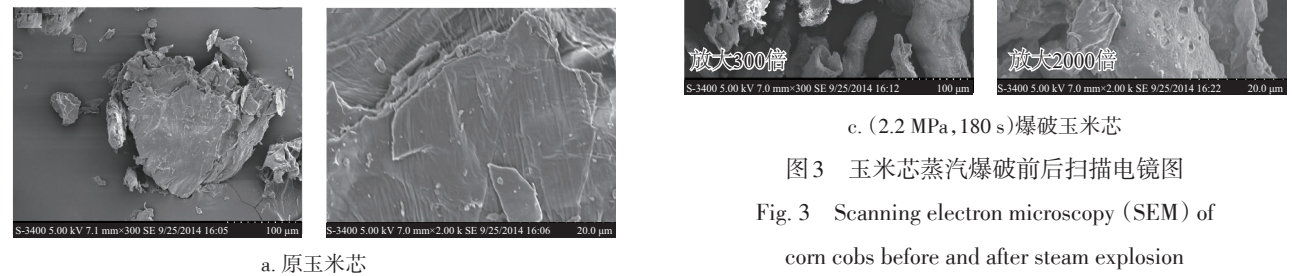


图3 玉米芯蒸汽爆破前后扫描电镜图

Fig. 3 Scanning electron microscopy (SEM) of corn cobs before and after steam explosion

性缝隙进入了细胞壁内部,使半纤维素大幅降解,当压力突然降低时,在高压蒸汽剪切力作用下将玉米芯破碎,颗粒表面呈现出似蜂巢的多孔状结构,从而使细胞壁中未被降解的纤维素充分暴露,更有利于纤维素酶与底物的充分接触和高效酶解。

### 2.3.2 X射线衍射结果分析

自然玉米芯、(1.4 MPa, 300 s)和(2.2 MPa, 180 s)蒸汽爆破后玉米芯X射线衍射图谱见图4。3个样品衍射角 $2\theta$ 在 $16^\circ$ 和 $22^\circ$ 有明显吸收峰,且整体峰型一致,表明玉米芯经蒸汽爆破后,纤维素整体晶型并无显著改变。然而,经过蒸汽爆破后,结晶峰衍射强度增大,峰型更为尖锐,表明蒸汽爆破使原材料中不稳定成分汽化损失及半纤维等非结晶区降解,导致纤维素相对结晶度增加。由Segal公式计算可得,自然玉米芯、(1.4 MPa, 300 s)和(2.2 MPa, 180 s)蒸汽爆破后玉米芯结晶度分别为24.49%、43.09%和38.16%。(2.2 MPa, 300 s)爆破玉米芯结晶度较(1.4 MPa, 300 s)低的原因,可能是较高的爆破压力不仅会导致半纤维素降解,同时能提高纤维素的降解程度。

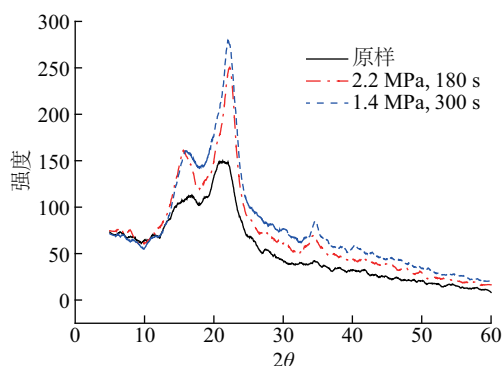


图4 玉米芯蒸汽爆破前后的X射线衍射图谱

Fig. 4 The X-ray diffraction (XRD) pattern of corn cobs before and after steam explosion

本研究表明蒸汽爆破处理玉米芯生产木糖与低聚木糖是可行的。蒸汽爆破主要降解玉米芯中的半纤维素,在(1.4 MPa, 300 s)爆破条件下纤维素保留率高达95%。该技术完全有潜力取代传统的酸处理产木糖和低聚木糖工艺,生产木糖与低聚木糖的玉米芯残渣可通过进一步酶水解及发酵生产乙醇、丁醇等生物基产品;酶解渣几乎全是木质素,而木质素在工业、医药等方面均有重要的价值<sup>[12]</sup>。本研究为玉米芯的全组分高效利用提供了技术

支撑。

## 3 结 论

蒸汽爆破条件为(1.4 MPa, 300 s)时,玉米芯酶水解液中总糖浓度最高为58.17 g/L,在该爆破条件下玉米芯爆破物料中纤维素、半纤维素和木质素含量分别由对照的39.98%、35.67%和15.49%变为40.22%、4.10%和16.28%,结晶度由对照的24.49%升高为43.09%。表明蒸汽爆破主要破坏玉米芯中的半纤维素,对纤维素和木质素的降解较少。蒸汽爆破后的玉米芯经浸提、酶解等步骤可实现半纤维素、纤维素和木质素的分级利用。

### [参考文献]

- [1] Fan Xiaoguang, Cheng Gang, Zhang Hongjia, et al. Effects of acid impregnated steam explosion process on xylose recovery and enzymatic conversion of cellulose in corncob [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 114: 21—26.
- [2] Gu Hanqi, Zhang Jian, Bao Jie. Inhibitor analysis and adaptive evolution of *Saccharomyces cerevisiae* for simultaneous saccharification and ethanol fermentation from industrial waste corncob residues [J]. Bioresource Technology, 2014, 157(2): 6—13.
- [3] Zhang Hongjia, Fan Xiaoguang, Qiu Xueliang, et al. A novel cleaning process for industrial production of xylose in pilot scale from corncob by using screw-steam-explosive extruder [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2014, 37(12): 2425—2436.
- [4] 罗 鹏, 刘 忠. 蒸汽爆破法预处理木质纤维原料的研究[J]. 林业科技, 2005, 30(3): 53—56.
- [4] Luo Peng, Liu Zhong. Steam explosion of biomass as a pretreatment for conversion to ethanol [J]. Forstry Science & Technology, 2005, 30(3): 53—56.
- [5] Cotana F, Buratti C, Barbanera M, et al. Optimization of the steam explosion and enzymatic hydrolysis for sugars production from oak woods [J]. Bioresource Technology, 2015, 198: 470—477.
- [6] 张红漫, 郑荣平, 陈敬文, 等. NREL法测定木质纤维素原料组分的含量[J]. 分析试验室, 2010, 29(11): 15—18.
- [6] Zhang Hongman, Zheng Rongping, Chen Jingping, et al. Investigation on the determination of lignocelluloses' components by NREL method [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2010, 29(11): 15—18.

- [7] Hyman D, Sluiter A, Crocker D, et al. Determination of acid soluble lignin concentration curve by UV-Vis spectroscopy; laboratory analytical procedure (LAP) [R]. NREL Technical Report NREL/TP- 510- 42620, 2007.
- [8] Singleton V L, Rossi J J A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic- phosphotungstic acid reagents[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 1965, 16(3): 144—158.
- [9] 郑 志, 李超孟, 杨培周, 等. 不同预处理对玉米芯酶解特性和形态结构的影响研究[J]. 可再生能源, 2012, 33(3): 43—48.
- [9] Zheng Zhi, Li Chaomeng, Yang Peizhou, et al. Effects of different pretreatment methods on enzymatic digestibility and configuration of corn cob [J]. Renewable Energy Resources, 2012, 33(3): 43—48.
- [10] 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.
- [10] 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.
- [11] Yamashike T, Matsui T, Saitoh M, et al. Characterization of cellulose treated by the steam explosion method (1) : Influence of cellulose resources on changes in morphology, degree of polymerization, solubility and solid structure [J]. British Polymer Journal, 1990, 22(1): 73—83.
- [12] Fanny M R, Phuong M, Ye M, et al. Isolation and characterization of herbaceous lignins for applications in biomaterials[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 41(1): 356—364.

## EFFECT OF STEAM EXPLOSION PRETREATMENT ON CORNCOB ENZYMATIC HYDROLYSIS

Wang Fengqin, Xie Hui, Tong Yinxing, Li Chuanbin, Ren Tianbao, Song Andong

(College of Life Science, Henan Agricultural University, Key Laboratory of Agricultural Microbial Enzyme

Engineering of the Ministry of Agriculture, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** Corncob was pretreated at different steam explosion conditions and the effect of steam explosion on the physical and chemical properties and enzymatic hydrolysis of pretreated corncob was studied in this research. The results showed that the highest total sugar concentration was 58.17 g/L in enzymatic hydrolysate of corncobs when the steam explosion was carried out at 1.4 MPa for 300 s. The steam explosion pretreatment mainly causes heavy degradation of hemicellulose, however, excessive pressure or long holding time will further degrade xylose and reduce the hydrolysis sugar yield of corncob. The results of X-ray diffraction showed that the crystallinity of corncob after steam explosion at 1.4 MPa for 300 s increased from 24.49% to 43.09%. Scanning electron microscopy showed that steam explosion increased the porosity and surface area of the corncobs, thereby increasing the efficiency of enzymatic hydrolysis.

**Keywords:** agricultural residues; waste utilization; enzymatic hydrolysis; corncob; steam explosion pretreatment