

# 木薯秸秆发酵产糖预处理工艺的研究

沈娟<sup>1</sup>, 唐楚颖<sup>2</sup>, 董梦依<sup>2</sup>

(1. 南京农业大学农业部肉及肉制品质量监督检验测试中心(南京), 江苏南京 210095)

(2. 南昌大学资源环境与化学工程学院, 江西南昌 330031)

**摘要:** 为了充分利用生物质资源, 本文对农产废弃物-木薯秸秆的水解产糖工艺进行了研究。首先, 以纤维素的含量为指标, 研究了常规碱处理、微波/碱处理和超声波/碱处理三种方法对木薯秸秆进行预处理的效果。结果显示: 经过 2% (m/m) NaOH 溶液结合微波处理 40 min 后得到的木薯秸秆, 其纤维素含量最高(54.1%), 但重量损失也最大(61.3%)。这是由于微波辐射增加了半纤维素在碱液中的溶解度, 而使半纤维素被除去, 纤维素含量相对增加。然后, 对三种预处理方法得到的木薯秸秆进行发酵产糖研究, 实验显示微波/碱处理得到的底物经绿色木霉降解可得到最高的还原糖产量, 而对木薯秸秆糖化所得残渣的主要化学成分进行分析也证明了这一点。因此, 为有利于后期木薯秸秆的发酵产糖, 微波/碱处理是木薯秸秆糖化前的一种理想的预处理方法。

**关键词:** 木薯秸秆; 预处理; 糖化

文章编号: 1673-9078(2018)01-176-180

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.1.027

## Pretreatment Technology for Saccharification by Fermentation of Cassava Straw

SHEN Juan<sup>1</sup>, TANG Chu-ying<sup>2</sup>, DONG Meng-yi<sup>2</sup>

(1. Supervision, Inspection and Testing Center for Quality of Meat-Products, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)(2. Nanchang University, School of Environmental and Chemical Engineering, Nanchang 330031, China)

**Abstract:** The technology for hydrolysis and saccharification of cassava straw, a kind of agricultural waste, was investigated in this paper for making full use of biomass resources. The effects of conventional alkali treatment, microwave/alkali treatment and ultrasonic/alkali treatment on the pretreatment of cassava straw were studied first by using the cellulose content as an index. The results showed that the cassava straw, obtained by the treatment of 2% (m/m) NaOH solution and microwave for 40 min, had the highest cellulose content (54.1%) and weight loss (61.3%). This was because that the microwave radiation increased the solubility of hemicellulose in alkali solution, which removed the hemicellulose and increased the cellulose content. Then, the cassava straw, obtained by three pretreatment methods, was fermented for saccharification, and results showed that the substrates, obtained after microwave/alkali treatment, would have the highest content of reducing sugar with the treatment of degradation by *Trichoderma viride*. Consequently, microwave/alkali treatment was an ideal pretreatment method for the pre-saccharification of cassava straw, which was beneficial to the fermentation of cassava straw in the future.

**Key words:** cassava straw; pretreatment; saccharification

当前, 人们对化石能源过分依赖, 其过度消耗的同时还带来严重的环境污染, 这促使各国不得不将目光投向各种新能源的开发, 其中生物质能源这一领域越来越受到人们的关注。生物质能源经转化可成为清洁的二次能源, 主要包括固体燃料、液体燃料和气体燃料。燃料乙醇是指添加到汽油, 柴油作为燃料的乙醇, 其可以代替部分石油, 缓解石油资源的短缺, 是

第二代生物燃料的主体, 其按照一定比例和汽油混合, 可得到一种缓和的燃料-乙醇汽油, 其对环境污染较小且是可再生的资源, 同时农林生产中大量生物质(包括木质纤维素)的遗弃, 使得燃料乙醇的开发应用具有巨大潜力。

作为制备燃料乙醇最主要原料之一的木薯, 在华东一带农村山区被广泛种植<sup>[1]</sup>。而木薯采收后的主要废弃部分-木薯秸秆, 通常用于动物饲料或回田, 甚至直接焚烧, 这些处理方法不仅浪费能源, 还会导致环境污染。因此, 寻找有效处理木薯秆的方法成为木薯工业中一个亟待解决的问题。而采用微生物降解木质

收稿日期: 2017-09-18

基金项目: 江西省科技厅重点研发项目(20171BBF60005)

作者简介: 沈娟(1981-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品质量安全

通讯作者: 董梦依(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物化工

纤维素产糖以及相应的木质纤维素的预处理是目前研究最为广泛的课题之一<sup>[2-4]</sup>。

传统预处理方法包括物理预处理法、物理化学预处理法、化学预处理法和生物预处理法<sup>[5]</sup>。但是传统的预处理方法不利于脱除木质素，物理化学爆破法成本高，生物预处理法周期长，处理效率较低，化学预处理法环境污染大<sup>[4,6]</sup>。本文参考其它文献，提出用联合预处理的方法处理木薯秸秆，将常规碱预处理、微波/碱预处理、超声波/碱预处理三种方法进行比较研究，并在此基础上对不同预处理后的木薯秸秆进行了糖化比较，以获得有利于糖化的最佳预处理条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

木薯秸秆，原料取自江西东乡，冲洗干净于 105 °C，24 h 烘干至恒重后磨粉并过 40 目筛备用。测得木薯秆有关化学组分的含量分别为：纤维素 28.8±0.2%，半纤维素 19.2±0.4%，木质素 10.2±0.7% 以及灰分 0.50±0.1%。

绿色木霉（中国工业微生物菌种保藏中心，菌种编号 CICC 40202）。

实验中所用其它试剂均为分析纯。

### 1.2 常规碱预处理工艺

取一定量的木薯秸秆于不同浓度的 NaOH 溶液中（固液比 1:8 *m/m*），充分混匀并煮沸一定的时间（20~70 min），残渣用水洗至中性，105 °C 干燥至恒重并称量。

### 1.3 微波/碱预处理工艺

本实验用微波炉（KD23B-DA，广东美的微波炉制造有限公司）控制微波条件，并将微波炉的功率设为 800 W。具体实验过程为取一定量的木薯秸秆于不同浓度的 NaOH 溶液中（固液比 1:10 *m/m*），充分混匀并微波处理一定的时间（20~70 min），残渣用水洗至中性，105 °C 干燥至恒重并称量。

### 1.4 超声波/碱预处理工艺

本实验用超声仪（KQ-300VED，中国昆山超声仪器有限公司）控制超声波条件，并将超声仪的功率设为 100 W。具体实验过程为取一定量的木薯秆于不同浓度的 NaOH 溶液中（固液比 1:10 *m/m*），充分混匀并超声波处理一定的时间（20~70 min），同时加热至 80 °C，残渣用水洗至中性，105 °C 干燥至恒重并称

重。

### 1.5 微生物发酵经预处理的木薯秸秆产糖

#### 1.5.1 发酵培养基

木薯秸秆 7.5 g，(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2.8 g，MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.3 g，CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.4 g，KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0 g，尿素 0.3 g，吐温 80 2.0 g，微量元素液 1 mL，水 1000 mL，pH 4.5。

微量元素液：FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 5.0 g，MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 1.6 g，ZnCl<sub>2</sub> 1.4 g，水 1000 mL。

#### 1.5.2 发酵条件

在接种量 11 mL 孢子悬浮液（菌体浓度 5×10<sup>5</sup> CFU/mL），装液量 100 mL，初始 pH 4.6，发酵温度 30 °C，摇床转速 150 r/min 的条件下进行培养。每 12 h 取一次样，每个样品均先用 45 μm 的滤膜进行过滤以除去菌体，再于 3000 r/min 的条件下离心 30 min，取上层清液进行还原糖分析。当还原糖的产量最高时，取残留物冲洗至中性，烘干至恒重并进行化学组分含量的测定。

### 1.6 分析方法

纤维素、半纤维素及灰分含量的测定采用范式（Van Soest）改良法<sup>[7]</sup>，木质素含量的测定采用 72% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的方法<sup>[8]</sup>。还原糖含量的测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法（DNS 法）<sup>[9]</sup>。

### 1.7 数据分析

所以实验均进行 3 次重复实验。数据报道的表示形式为：平均值±方差。本文中木薯秸秆及其水解残留物的化学组分均为干重。

## 2 结果与讨论

### 2.1 碱浓度及操作条件对预处理木薯秆的重量损失的影响

由图 1 可以看出，1%、2%和 3% NaOH 溶液分别常规碱处理木薯秆 60 min 后，木薯秆的重量损失值稳定在 52.2%、56.3%和 57.7%几乎保持不变。由图 2 可以看出，经 1%、2%、3% NaOH 溶液微波/碱处理木薯秆 40 min 后，再延长处理时间，木薯秆的重量损失没有再增加，而是保持在 59.3%、61.1%和 61.3%。由图 3 可以看出，在 1%、2%和 3% NaOH 溶液超声波/碱处理木薯秆 40 min 后，木薯秆的重量损失值分别稳定在 44.9%、48.6%和 52.3%。由此可得，第一，经微波/碱处理方法得到的木薯秆的重量损失明显高于常规碱处理和超声波/碱处理，这是由于微波辐射提高了

木薯秆与处理过程的温度，并且增强了预处理过程中的某些化学反应。第二，在三种碱预处理过程中，碱浓度对重量损失有着较大的影响，并且随着碱浓度的增加，重量损失也在不断增加，但增加的程度在不断地减少。因为木薯秆在预处理过程中的重量损失是由于木薯秆中的某些化学组分（如木质素）在 NaOH 溶液中发生化学反应而溶于其中所致，所以碱浓度的增加有助于该化学反应的进行，但当碱浓度增加的一定程度时，这方面的影响就较小。例如，2%、3% NaOH 溶液微波/碱处理木薯秆 40 min 后的重量损失为 61.1%和 61.3%，仅增加了 0.20%，几乎没有变化，但是碱浓度却增加了 50%，并对后续的处理也增加了相当高的成本，因此，在此时，2% NaOH 溶液进行预处理要优于 3% NaOH 溶液。

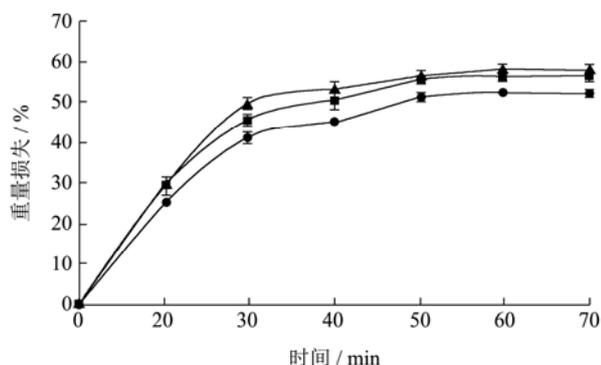


图1 不同浓度碱溶液常规碱处理木薯秆重量损失的过程曲线

Fig.1 Process curve of weight loss of cassava straw with different concentrations of alkali solution by conventional alkali treatment

注：●表示 1% NaOH 溶液，■表示 2% NaOH 溶液，▲表示 3% NaOH 溶液。

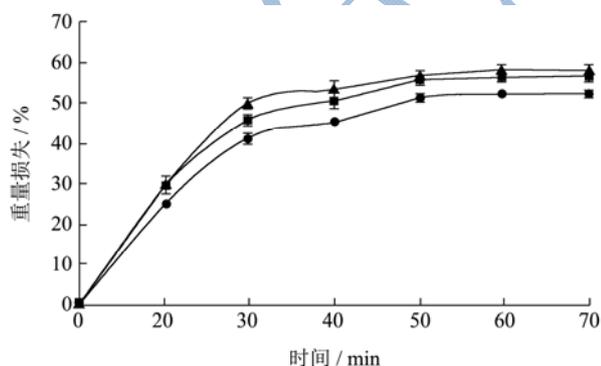


图2 不同浓度碱溶液微波/碱处理木薯秆重量损失的过程曲线

Fig.2 Process curves of weight loss of cassava straw with different concentrations of alkali solution by microwave/alkali treatment

注：●表示 1% NaOH 溶液，■表示 2% NaOH 溶液，▲表示 3% NaOH 溶液。

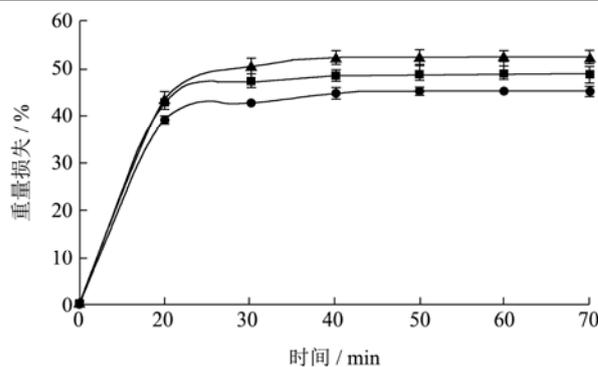


图3 不同浓度碱溶液超声波/碱处理木薯秆重量损失的过程曲线

Fig.3 Process curves of weight loss of cassava straw with different concentrations of alkali solution by ultrasonic/alkali treatment

注：●表示 1% NaOH 溶液，■表示 2% NaOH 溶液，▲表示 3% NaOH 溶液。

## 2.2 碱浓度及操作条件对预处理木薯秆的化学组分的影响

由表 1 可以看出，第一，当处理方法和处理时间相同时，随着碱浓度的增加，或者是处理方法和碱浓度相同时，随着处理时间的增加，纤维素和灰分的含量在不断增加，而木质素的含量是在不断降低的，但是增加以及减少的程度在不断地降低。木质素含量的降低是由于其在碱溶液中发生化学反应而不断溶于碱中。纤维素和灰分含量的增加则是由于其他组分不断溶于碱溶液所致；

第二，在处理时间相同时，随着碱浓度的增加，或者是碱浓度相同时，随着处理时间的增加，在常规碱处理及微波/碱处理条件下，半纤维素的含量在不断增加，而在超声波/碱处理条件下，半纤维素的含量在不断减少，这可能是由于超声波改变了纤维素与半纤维素之间的结构，是半纤维素的含量随着碱处理时间和碱浓度的增加而不断溶于碱液中<sup>[10]</sup>；第三，将三种处理方法得到的木薯秆的成分对比发现，经微波/碱处理方法得到的木薯秆的纤维素含量最高，半纤维素含量最低。这是由于微波辐射增加了半纤维素在碱液中的溶解度，而使半纤维素含量降低，纤维素含量相对增加。将图 1~3 和表 1 进行联合比较可以发现，在相同的处理方法下，随着碱浓度和处理时间的增加，纤维素含量和重量损失均在不断增加，但这种增加的程度却在减少，因此，考虑到成本及环境影响的因素，

选择 2% NaOH 溶液常规碱处理 60 min, 2% NaOH 溶液微波/碱处理 40 min, 2% NaOH 溶液超声波/碱处理

40 min 为改处理方法下的最佳处理条件, 并取经这三种方法处理得到的木薯秆进行后续糖化水解实验。

表 1 碱浓度及操作条件对预处理木薯秆的化学组分的影响

Table 1 Effects of concentrations of alkali solution and operating conditions on chemical components of pretreatment cassava straw

处理方法	NaOH 溶液的浓度	处理时间/min	化学组分/%			
			纤维素	半纤维素	木质素	灰分
未处理	-	-	28.8±0.20	19.2±0.40	10.2±0.70	0.50±0.10
常规碱处理	1%	30	42.5±0.60	21.0±0.50	6.20±1.30	1.20±0.10
	1%	60	45.7±0.40	21.8±0.60	4.90±1.20	1.50±0.20
	2%	30	44.2±0.80	21.4±1.10	5.00±0.80	1.40±0.10
	2%	60	48.6±0.20	22.7±0.50	4.10±0.40	1.60±0.10
	3%	30	48.2±0.50	22.4±1.30	4.40±0.80	1.60±0.10
	3%	60	49.4±0.30	23.1±0.90	3.80±0.40	1.70±0.10
微波/碱处理	1%	20	47.5±0.50	7.90±0.30	7.70±0.80	1.40±0.20
	1%	40	52.9±0.80	10.3±0.60	5.50±0.50	1.50±0.10
	2%	20	52.1±0.40	9.90±0.70	5.80±0.60	1.50±0.20
	2%	40	54.1±0.70	11.9±0.50	3.80±0.40	1.70±0.10
	3%	20	53.7±0.60	11.4±0.40	4.20±0.30	1.70±0.10
	3%	40	54.2±0.50	12.2±0.80	3.60±0.60	1.80±0.20
超声波/碱处理	1%	20	40.9±0.50	25.8±0.30	8.90±0.90	1.30±0.10
	1%	40	43.4±0.40	24.1±0.50	7.60±0.60	1.40±0.10
	2%	20	43.6±0.70	24.9±0.40	7.80±0.80	1.40±0.10
	2%	40	46.9±0.20	22.4±0.70	6.50±0.50	1.50±0.20
	3%	20	45.2±0.30	22.8±0.80	7.00±1.00	1.50±0.10
	3%	40	47.4±0.10	21.1±0.30	6.30±0.90	1.50±0.10

### 2.3 微生物发酵经预处理的木薯秸秆产糖

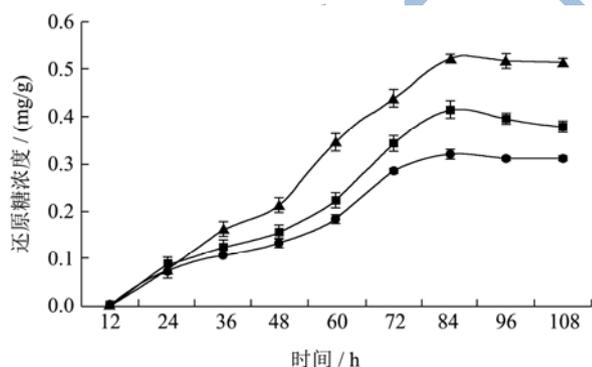


图 4 绿色木霉发酵产糖过程曲线

Fig.4 Process curves of saccharification fermented by

*Trichoderma viride*

注: ●表示 2% NaOH 溶液常规碱处理 60 min 的木薯秆(底物 a); ■表示 2% NaOH 溶液超声波/碱处理 40 min 的木薯秆(底物 b); ▲表示 2% NaOH 溶液微波/碱处理 40 min 的木薯秆(底物 c)。

由图 4 可得, 第一, 在 84 h 左右, 三种不同底物的发酵液的还原糖产量达到最高, 此后随培养时间的

增加产糖没有明显升高, 其原因可能为菌体利用还原糖生长, 并产生反馈抑制减少酶的释放, 使还原糖产量降低。第二, 底物 c 的还原糖产量最高, 达到 0.522 mg 还原糖/g 木薯秆, 这是由于微波辐射增加了半纤维素在碱液中的溶解度, 是半纤维素含量最少, 而纤维素含量相对达到最高, 而绿色木霉只能产生降解纤维素的酶系, 不能降解半纤维素<sup>[11]</sup>。第三, 从表 1 可得, 底物 b 的纤维素含量低于底物 a, 但是在图 4 中底物 b 的还原糖产量却明显高于底物 a, 具体原因还有待进一步研究, 可能是由于超声波的作用改变了纤维素与半纤维素间的结构, 使得经超声波/碱处理的底物更易被绿色木霉降解为还原糖。

表 2 木薯秆的糖化残渣主要化学成分

Table 2 Main chemical components of saccharification residue

in cassava straw

处理方法	化学组分/%			
	纤维素	半纤维素	木质素	灰分
常规碱处理	40.1±0.30	23.4±0.30	8.10±0.60	1.50±0.20
超声波/碱	36.8±0.40	23.2±0.70	10.2±0.80	1.60±0.10
微波/碱处理	35.9±0.50	17.1±0.40	9.90±0.90	1.70±0.10

另外,将表2与表1对比得到,微波/碱处理方法得到的底物c的水解率最高,因此可以说在这三种预处理方法中,微波/碱处理是最佳的预处理方法,而2% (m/m) NaOH 溶液微波/碱处理 40 min 是最佳的碱处理条件。

### 3 结论

3.1 随着化石能源(石油和煤炭等)的日益匮乏,人们将关注的目光转向了可替代其的能源-生物能源<sup>[12,13]</sup>。而木质纤维素的大量存在以及低廉的价格,使其成为新一代生物能源(包括燃料乙醇)原料研究的主要方向<sup>[14]</sup>。木薯秸秆木薯工业的废弃产物,被大量堆积或者用于生产菌类,不仅能源利用度低,还会导致环境污染。故而,本文以木薯秸秆为原料,研究其原料预处理以及降解产糖的工艺,为发展工业化降解木薯秸秆提供理论依据及技术支持。在木薯秸秆里,木质素与半纤维素之间形成了稳定结构,其严重地阻碍了纤维素的降解,故必须在水解前进行预处理工艺。但由于半纤维素易于去除,因而一般将木质素作为影响纤维素水解的最主要因素。同时,在选择预处理方法是还应注意其他碳水化合物损失的多少以及性价比。目前,预处理技术主要包括物理、物理化学、化学、生物以及组合预处理法等。

3.2 本文研究三种不同预处理工艺(常规碱、微波/碱和超声波/碱),并以重量损失、处理后的化学组分、还原糖产量为重要指标以确定最佳操作条件为2% NaOH 微波/碱处理 40 min,经该工艺处理得到的底物经分步糖化发酵得到的还原糖产量为3.38 mg 还原糖/g 木薯秸秆,同时其产糖率比未优化的1.74 mg 还原糖/g 木薯秸秆增加了94.25%。微波/碱处理与超声波/碱处理和常规碱处理相比,可以去除更多的半纤维素和较多的木质素,这使得微波/碱处理得到的底物经绿色木霉降解可得到最高的还原糖产量,而木薯秆的糖化残渣主要化学成分的分析也证明了这一点,因此,可以说微波/碱处理是最佳的预处理方法。另一方面,碱浓度和处理时间的增加可导致纤维素含量和重量损失均在不断增加,但这种增加的程度却在不断降低,因此,考虑到后续处理工艺及环境影响的因素,选择2% (m/m) NaOH 溶液微波/碱处理 40 min 为最佳的碱处理条件。

### 参考文献

[1] Duong N K, Hans W. Performance of growing heifers fed urea treated fresh rice straw supplemented with fresh, ensiled or pelleted cassava foliage [J]. *Livestock Science*, 2006,

102(1): 130-139

- [2] Hatakka A I. Pretreatment of wheat straw by white-rot fungi for enzymatic saccharification of cellulose [J]. *Applied Microbiology and biotechnology*, 1983, 18: 350-357
- [3] Kumar A G, Sekaran G, Krishnamoorthy S. Solidstatefermentation of Achras zapota lignocellulose by Phanerochaete chrysosporium [J]. *Bioresource Technology*, 2006, 97(13): 1521-1528
- [4] Chosdu R, Hilmy N, Erlinda T B, et al. Radiation and chemical pretreatment of cellulosic waste [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 1993, 42(4-6): 695-698
- [5] 胡蝶,杨青丹,刘洪,等.木质纤维素预处理技术研究进展[J]. *湖南农业科学*,2010,19:105-108  
HU Die, YANG Qing-dan, LIU Hong, et al. Research progresses of the pretreatment technology of lignocellulose [J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2010, 19: 105-108
- [6] Shengdong Z, Yuanxin W, Ziniu Y, et al. Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymic hydrolysis [J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40(9): 3082-3086
- [7] 李华,孔新刚,王俊.秸秆饲料中纤维素、半纤维素和木质素的定量分析研究[J].*新疆农业大学学报*,2007,30(3):65-68  
LI Hua, KONG Xin-gang, WANG Jun. Study on quantitative analysis of hemicellulose and cellulose and lignin in roughage of cereal straw [J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2007, 30(3): 65-68
- [8] 唐楚颖,马春燕,陆豫,等.绿色木霉降解木薯秆产糖及其工艺优化研究[J].*安徽农业科学*,2011,39(31):19310-19312  
TANG Chu-ying, MA Chun-yan, LU Yu, et al. Saccharification of cassava straw by trichoderma viride and optimization of hydrolysis conditions by RSM [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(31): 19310-19312
- [9] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination sugars and related substance [J]. *Journal Analytical Chemistry*, 1956, 28: 350-356
- [10] Coughlan M P. Cellulases: production, properties and applications [J]. *Biochemical Society Transactions*, 1985, 13: 405-406
- [11] Takashi K, Shin-ichiro F. Separation and enzymatic Saccharification of cellulose from Wakame(Undaria Pinnaifida) [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2000, 13(5): 865-871
- [12] 康鹏,郑宗明,董长青,等.木质纤维素蒸汽爆破预处理技术的研究进展[J].*可再生能源*,2010,28(3):112-116  
KANG Peng, ZHENG Zong-ming, DONG Chang-qing, et al. Review on steam explosin of lignocellulose for pretreating [J].

Renewable Energy Resources, 2010, 28(3): 112-116

Energy., 2009, 86: 77-85

[13] Tian Y, Zhao L, Meng H, et al. Estimation of un-used land potential for biofuels development in China [J]. Applied

[14] Mandels M. Applications of cellulases [J]. Biochemical Society Transactions, 1985, 13(2): 414-415

