

刘海燕,黄 泉,高星爱,等. 农作物秸秆酶解制糖研究进展[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):10-12.

农作物秸秆酶解制糖研究进展

刘海燕,黄 泉,高星爱,赵新颖,谢 娇,张永锋

(吉林省农业科学院农村能源研究所,吉林长春 130033)

摘要:制糖是农作物秸秆生产燃料乙醇、化工醇等工业产品的关键步骤,其中采用酶解法实现农作物秸秆有效糖化是该领域的研究热点。简单介绍了酶解机理,并对直接酶解与预处理酶解的研究进展进行了综述。

关键词:农作物秸秆;酶解制糖;有效糖化

中图分类号: TQ914.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)03-0010-03

我国是农业大国,每年可产生农作物秸秆 7 亿多 t,近年来,随着我国农村能源结构的变化与集约化生产的发展,秸秆逐步成为一种无用的负担物,秸秆就地焚烧日趋严重,产生的烟雾已成为一大社会公害^[1]。每年有大量的秸秆被就地燃烧,既污染环境,又浪费资源^[2]。秸秆的主要成分为纤维、半纤维和木质素,以其为原料,通过酸解或酶解法结合生物转化法制备 2,3-二丁醇、乙醇、甘油三酯、化工醇等工业产品原料,既可避免环境污染,又可实现生物质能源的高效利用,带来较大的经济和社会效益^[3]。然而,无论利用农作物秸秆生产何种产品,纤维原料制糖(包括葡萄糖和木糖)率都是影响整条工艺生产线的重要因素^[4]。只有当木质纤维素通过酶解作用转化为葡萄糖、木糖等单糖后,才能通过发酵过程转化为各种生物能源。因此,在木质纤维素转化能源的过程中,纤维素的酶解糖化是最关键的步骤,也是木质纤维素能源化转化过程中的限制性步骤。目前,纤维素水解糖化的主要途径有化学法水解和酶法水解。酶法水解因其工艺条件温和、设备要求简单、能耗低、副产物较少、对环境友好等优点得到广泛的应用^[5],如何采用酶解方式实现玉米秸秆有效糖化仍然

是该领域的研究热点^[6]。

1 酶解机理

玉米秸秆、麦类秸秆、水稻秸秆等均属木质纤维类生物物质,主要成分为纤维素(约占 40%)、木质素(20%~30%)和半纤维素(20%~30%),这 3 种成分的重量占植物纤维质原料总重量的 80%~95%^[7]。纤维素降解木质纤维素的酶主要有降解纤维素的纤维素酶、降解半纤维素的木聚糖酶和降解木质素的漆酶^[1]。

纤维素酶是将纤维素降解为葡萄糖过程中起作用的几个酶的总称,包括内切葡聚糖酶(1,4- β -D-glucan glucanohydrolase, EC 3.2.1.4)、外切葡聚糖酶(1,4- β -D-glucan cellobiohydrolase, EC 3.2.1.91)和纤维二糖酶(1,4- β -D-glucosidase, EC 3.2.1.21)。纤维素酶水解纤维素的机制至今尚不十分清楚,普遍认为是 3 种酶组分的协同作用的结果,但各组分是如何作用的,尤其是对 C_1 、 C_x 的作用方式,许多专家学者持有不同的看法。一种观点是改进的 C_1 - C_x 假说: C_1 酶首先作用于纤维素的结晶区,使其膨胀变成无定型纤维素,再由 C_x 分解无定型纤维素为纤维二糖,最后由 β -葡萄糖苷酶分解为葡萄糖;另一种观点是顺序作用的 C_x - C_1 假说:首先由 C_x 酶在纤维素的非结晶区部位切割,产生带有非还原性末端的小纤维素分子,再由 C_1 酶以纤维二糖为单位,从末端进行切割,最后由 β -葡萄糖苷酶水解为葡萄糖^[8]。

半纤维素的主要组成成分是木聚糖,半纤维素成分的复杂结构也决定它们的降解需要多种酶的协同作用。降解酶包括内切酶 β -木聚糖酶(1,4- β -D-xylanxylanohydrolase, EC 3.2.1.8)、 β -甘露聚糖酶(1,4- β -D-mannanmanno-

收稿日期:2013-08-02

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAD14B05);中国农业科技东北创新中心博士后科研工作站项目(编号:129080);吉林省人社厅博士后项目。

作者简介:刘海燕(1976—),女,吉林蛟河人,博士,副研究员,从事农作物秸秆能源化利用的研究。Tel:(0431)87063806。

通信作者:张永锋,研究员,从事循环农业方面的研究。Tel:(0431)85077001;E-mail:nkyzhf@126.com。

[60] Werck-Reichhart D, Feyereisen R. Cytochromes P450: a success story[J]. Genome Biol, 2000, 1(6): 1-9.

[61] Sung P H, Huang F C, Do Y Y, et al. Functional expression of geraniol 10-hydroxylase reveals its dual function in the biosynthesis of terpenoid and phenylpropanoid[J]. J Agr Food Chem, 2011, 59(9): 4637-4643.

[62] Wang J F, Liu Y L, Cai Y F, et al. Cloning and functional analysis of geraniol 10-hydroxylase, a cytochrome P450 from *Swertia mussotii* Franch[J]. Biosci Biotech Bioch, 2010, 74(8): 1583-1590.

[63] Katano N, Yamamoto H, Iio R, et al. 7-deoxyloganin 7-hydroxylase in *Lonicera japonica* cell cultures[J]. Phytochemistry, 2001, 58

(1): 53-58.

[64] Saigo H, Hattori M, Kashima H, et al. Reaction graph kernels predict EC numbers of unknown enzymatic reactions in plant secondary metabolism[J]. BMC Bioinformatics, 2010, 11(Suppl 1): S31-S37.

[65] Sun Y Z, Luo H M, Li Y, et al. Pyrosequencing of the *Camptotheca acuminata* transcriptome reveals putative genes involved in camptothecin biosynthesis and transport[J]. BMC Genomics, 2011, 12(Suppl 2): S533-S540.

[66] Yamamoto H, Katano N, Ooi A, et al. Secologanin synthase which catalyzes the oxidative cleavage of loganin into secologanin is a cytochrome P450[J]. Phytochemistry, 2000, 53(1): 7-12.

hydrolase, EC 3. 2. 1. 78), 主要水解半纤维素中的甘露聚糖; β -木糖苷酶, 主要作用于木聚糖, 属于外切酶, 是一个多功能的酶, 木二糖是 β -木糖苷酶的最佳底物。首先由内切 β -木聚糖酶随机短裂聚糖骨架, 产生木聚糖, 降低聚合度, 然后由外切 β -木糖苷酶将木寡糖和木二糖分解为木糖; 在降解过程中同时也需要 α -L- α -阿拉伯糖苷酶、 α -D-葡萄糖醛酸酶、乙酸脂酶以及阿魏酸脂酶的协同作用, 解除侧链取代基对木聚糖酶的抑制作用^[8]。

木质素的降解酶系是个非常复杂的系统, 其中最主要也是研究最透的木质素降解酶有 3 种, 即木质素过氧化物酶 (EC 1. 11. 1. 14, LiP)、锰过氧化物酶 (EC 1. 11. 1. 13, MnP) 和漆酶 (EC 1. 10. 3. 2, Lac)^[1]。一般认为, 木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶、漆酶和 H_2O_2 产生系统构成降解木质素的主要成分。木质素过氧化物酶直接与木质素的芳环底物反应, 从芳环上取得电子, 使木质素形成阳离子自由基, 从而发生一系列的裂解反应。

2 农作物秸秆酶解研究进展

2.1 直接酶解

在对秸秆进行转化时, 为了提高糖化率, 一般要对秸秆进行预处理, 但是预处理工艺存在处理成本高、环境污染严重等缺点, 因此直接对秸秆进行糖化是当前研究的热点问题。为了减少环境污染, 目前对秸秆不经预处理直接转化成糖的首选方法是酶解, 然而对于酶解糖化秸秆的研究主要集中在用单一纤维素酶进行酶解糖化, 个别添加半纤维素酶, 因而存在糖化效率低的问题。宋安东等利用双酶(纤维素酶、木聚糖酶)对秸秆直接糖化的条件进行研究, 在优化条件下, 作用 72 h 的秸秆糖化率达到 10.815%^[9]。易锦琼等研究发现, 纤维素酶酶解玉米秸秆的最佳条件为: 反应时间 48 h, 酶解温度为 55℃, 底物浓度 20 g/L, 速度 130 r/min, 酶用量为 200 U/g^[10]。有研究发现, 水稻秸秆最佳酶解工艺为: 酶用量 150 U/g, 固液比 1 g : 20 mL, 酶解时间 48 h, 酶解温度 50℃^[11]。有学者采用响应面分析法对秸秆酶解条件进行优化, 得到最佳工艺条件, 糖化率可达到 42.15%^[12]、还原糖最大产率为 42.97%^[13]。

2.2 预处理酶解

近年来, 酶解工艺发展迅速, 但由于天然纤维素结构复杂的特性, 降低了纤维素酶系与纤维素的有效接触, 增加了酶解的难度, 未经处理的玉米秸秆直接进行酶解的效率很低, 纤维素酶解得率为 24.18%, 半纤维素酶解得率为 14.76%, 总糖得率仅为 20.20%, 因此需要在酶解之前进行必要的预处理, 以改变天然纤维素的结构, 降低结晶度, 脱去木质素, 从而提高酶解效率^[14]。

2.2.1 物理方法 物理处理将部分半纤维素从生物质秸秆中分离、降解, 从而增加酶对纤维素的可触及性, 提高纤维素的酶解转化率, 目前研究较多的有蒸汽爆破、膨化、射线辐照、微波等方法。蒸汽爆破法是一种有效的预处理方法, 其能耗低, 对环境影响小。植物纤维素原料经过蒸汽爆破, 半纤维素降解, 结构遭到破坏, 纤维素酶分子与底物的接触位点增加, 能显著提高酶解效率^[15-17]。黄之文采用蒸汽爆破法对玉米秸秆进行预处理, 结果表明, 酸法汽爆固形物酶解 72 h 后, 酶

解率为 77.0%; 而直接汽爆法为 68.3%^[18]。李彬等的结果表明, 原始水稻秸秆最大酶解还原糖产量约为 9.7%, 蒸汽爆破水稻秸秆最大酶解还原糖产量约为 34.3%, 蒸汽爆破预处理能够显著提高水稻秸秆的酶解还原糖产量, 并缩短酶解反应时间^[19]。宁欣强等对玉米秸秆进行蒸汽爆破预处理, 酶解 24 h 的试验结果表明, 与未处理秸秆相比, 汽爆处理样品的还原糖产率提高了 97%, 化学与物理分析结果表明, 处理后的物料半纤维素及可溶性物质质量分数减小, 纤维素质量分数增加 29.7%, X 射线衍射仪 (XRD) 和扫描电镜 (SEM) 结果表明纤维素致密结构被破坏^[20]。

寇巍等采用膨化技术对玉米秸秆木质纤维素进行预处理, 结果玉米秸秆的纤维素受到破坏, 木质素包裹作用减弱, 纤维素酶的空间作用面积提高, 有部分半纤维素和少量木质素水解, 纤维素结晶度降低了 12.68%, 与未处理的相比, 膨化处理后原料酶解时间可缩短 16 h, 未经膨化处理的原料还原糖酶解产率为 13.48%, 膨化处理后的原料还原糖酶解产率可达 24.91%^[21]。伦晓中等的试验结果表明, 在酶解最佳工艺条件下, 还原糖转化率达到 28.98%, 膨化后的玉米秸秆纤维素酶解充分^[22]。

不同辐照剂量处理对玉米秸秆水解及酶解还原糖产量的影响结果表明, 辐照后玉米秸秆易酶解, 随着辐照剂量的增大, 酶解产糖量显著增加, 在较高剂量下, 辐照-酶解复合降解玉米秸秆效果优于单一的辐照处理和单一酶处理, 辐照后的玉米秸秆和酶解后的玉米叶处理的还原糖含量均有所增加, 提高了纤维素原料的利用率^[23-24]。辐照-酶解复合降解能有效破坏稻草的纤维组织结构, 特别是稻草表面硅晶结构和纤维结构^[25]。

2.2.2 化学方法 化学处理可使纤维素、半纤维素和木质素膨胀并破坏其结晶性, 使天然纤维素溶解, 从而增加其降解率, 化学预处理研究开展的时间早, 且一直研究的有酸处理、碱处理, 最近大多采用稀酸水解处理技术, 该方法可高效破坏植物纤维结构, 提高木聚糖转化成木糖的转化率; 碱处理可以移除玉米秸秆中的木质素, 破坏天然纤维素复杂的刚性结构, 从而有益于酶解效率的提高和糖的利用^[26]。化学方法虽然存在弊端, 但取得了较好的处理效果和研究进展。

宋安东等用稀盐酸预处理玉米秸秆, 总糖产率达 48.5%, 纤维素和半纤维素的转化率达 80.8%^[27]。在稀硫酸法-酶法结合处理小麦秸秆的最优条件下, 水解 12 h, 葡萄糖得率为 34.5%, 比未经酸处理直接酶解葡萄糖的得率高 50%^[28], 木糖得率达到 84.90%, 酶水解率达到 91.71%^[29]。曾青兰首先在常压温和条件下用磷酸对小麦秸秆进行预处理, 结果表明, 在最优条件下, 小麦秸秆酶解 50 min 时, 糖化率从未经预处理的 25.4% 提高到预处理的 70.3%; SEM 分析结果表明, 经磷酸预处理后的小麦秸秆崩解为碎片^[30]。然后曾青兰等采用磷酸-丙酮对水稻秸秆进行预处理的研究, 预处理的水稻秸秆纤维素酶水解糖化率从未经处理的 18.6% 提高到预处理后的 65.4%; SEM 分析结果表明, 经磷酸-丙酮预处理的水稻秸秆晶状结构遭到破坏, 并崩解为碎片, 从而使后续的纤维素酶水解糖化率显著提高^[31]。

李辉勇等对水稻秸秆弱碱性过氧化预处理条件进行了优化, 结果表明, 在最优预处理条件下, 水稻秸秆的酶解糖化率

达到了 83.23% ;而在相同酶解条件下,经氢氧化钠处理后的水稻秸秆的酶解糖化率为 70.38% ,弱碱性过氧化预处理水稻秸秆的糖化率明显高于碱性预处理水稻秸秆的糖化率^[32]。欧阳嘉等研究了碱法-酶法制糖工艺,结果表明,水解 48 h 后纤维素酶解得率从 24.18% 上升至 71.29% ,半纤维素酶解得率达到 78.85% ,整个工艺总糖得率为 66.86% ,较未处理样品提高 46.66%^[4]。

2.2.3 多种方法联合 物理、化学预处理方法各有利弊,因此,有学者将其中 2 种或更多方法结合起来对秸秆进行酶解前的预处理,以弥补单一预处理方法的缺陷。柯静等初步比较了不同化学方法在促进玉米秸秆酶解糖化方面的效果,得到最佳预处理方案,产糖量提高了 83.51% ,此时的木质素降解量也最大,达到了 49.8%^[33]。宋安东等用盐酸、亚硫酸、甲酸、氢氧化钠、双氧水与氢氧化钠混合液、硫化钠与碳酸氢钠混合液对玉米秸秆进行预处理,结果表明,在最优条件下,糖化 48 h 后玉米秸秆的总糖产率达 48.5% ,纤维素和半纤维素的转化率达 80.8%^[27],并能有效除去包裹在纤维素基质外面的木质素和半纤维素,提高基质的酶解糖化效率^[34]。

3 研究展望

农作物秸秆纤维素的利用已经成为国内外一个热门的研究课题,无论是用来生产燃料乙醇,还是用来生产生物化工醇,都会对工业生产、农民收入、环境保护等带来多方面的显著效益,对能源的战略发展也会是一个质的飞跃。如何采用多种预处理方法相结合,最大化提高糖化率,降低生产成本,简化生产工艺,是农作物秸秆酶解制糖技术所要解决的问题,也是未来研究发展的趋势。

参考文献:

- [1] 陈洪章. 秸秆资源生态高值化理论与应用[M]. 北京:化学工业出版社,2006:94.
- [2] 范 娟,李建龙,余 醉,等. 不同生育时期玉米秸秆酸解还原糖产量变化及工艺条件优化[J]. 江苏农业科学,2011,39(2): 377-379.
- [3] 韩鲁佳,闫巧娟,刘向阳,等. 中国农作物秸秆资源及其利用现状[J]. 农业工程学报,2002,18(3):87-91.
- [4] 欧阳嘉,李 鑫,董郑伟,等. 碱法-酶法处理玉米秸秆的制糖工艺研究[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2010,34(3):1-5.
- [5] 何 珣,缪冶炼,陈介余,等. 纤维素酶用量和底物浓度对玉米秸秆酶解的影响[J]. 食品科技,2010,35(2):47-51,55.
- [6] 黄爱玲,周美华. 玉米秸秆酶水解影响因素的研究[J]. 中国资源综合利用,2004,31(8):25-27.
- [7] 孙 然,冷云伟,赵 兰,等. 秸秆原料预处理方法研究进展[J]. 江苏农业科学,2010(6):453-455.
- [8] 张 强,陈 合. 玉米秸秆的酶法降解机理研究[J]. 玉米科学,2007,15(5):148-152.
- [9] 宋安东,王明道,任天宝,等. 秸秆双酶糖化条件试验研究[J]. 信阳师范学院学报:自然科学版,2006,19(2):181-184.
- [10] 易锦琼,贺应龙,苏小军,等. 玉米秸秆酶解工艺条件优化[J]. 中国酿造,2011(3):24-27.
- [11] 杨青丹,胡婷春. 稻草秸秆酶解工艺优化研究[J]. 食品与发酵科技,2010,46(5):24-27.
- [12] 余先纯,李湘苏,龚铮午. 响应面法优化玉米秸秆酶解糖化工艺

- 的探讨[J]. 食品科技,2010,35(5):148-151.
- [13] 刘庆玉,卜文静,胡艳清,等. 响应面法优化玉米秸秆酶水解条件的研究[J]. 沈阳农业大学学报,2012,43(1):76-80.
- [14] 吴 坤,张世敏,朱显峰. 木质素生物降解研究进展[J]. 河南农业大学学报,2000,34(4):349-354.
- [15] Li D M, Chen H Z. Biological hydrogen production from steam-exploded straw by simultaneous saccharification and fermentation[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2007, 32(12): 1742-1748.
- [16] Chen H Z, Liu L Y, Yang X X, et al. New process of maize stalk amination treatment by steam explosion[J]. Biomass and Bioenergy, 2005, 28(4):411-417.
- [17] Jin S Y, Chen H Z. Superfine grinding of steam-exploded rice straw and its enzymatic hydrolysis[J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, 30(3):225-230.
- [18] 黄之文. 玉米秸秆蒸汽爆破预处理酶解制糖的研究[J]. 安徽农学通报:上半月刊,2010,16(15):33-34.
- [19] 李 彬,高 翔,孙 倩,等. 基于 3,5-二硝基水杨酸法的水稻秸秆酶解工艺[J]. 农业机械学报,2013,44(1):106-112.
- [20] 宁欣强,王远亮,曾国明,等. 蒸汽爆破玉米秸秆提高酶解还原糖产率的研究[J]. 精细化工,2010,27(9):862-865.
- [21] 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.
- [22] 伦晓中,寇 巍,赵 勇,等. 膨化预处理玉米秸秆的还原糖酶解工艺[J]. 环境工程学报,2013,7(1):317-322.
- [23] 唐洪涛,哈益明,王 锋. γ 射线辐照玉米秸秆预处理对酶解产糖的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报,2011,29(5):307-313.
- [24] 易锦琼,贺应龙,苏小军,等. 辐照预处理促进玉米秸秆酶解糖化[J]. 农产品加工·学刊,2011,2(2):8-10,14.
- [25] 陈静萍,王克勤,彭伟正,等. $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线处理稻草秸秆对其纤维质酶解效果的影响[J]. 激光生物学报,2008,17(1):38-42.
- [26] Selig M J, Vinzant T B, Himmel M E, et al. The effect of lignin removal by alkaline peroxide pretreatment on the susceptibility of corn stover to purified cellulolytic and xylanolytic enzymes[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2009, 155(1/2/3): 397-406.
- [27] 宋安东,任天宝,谢 慧,等. 化学预处理对玉米秸秆酶解糖化效果的影响[J]. 化学与生物工程,2006,23(8):31-33.
- [28] 龚大春,王 栋,田毅红,等. 稀酸法-酶法处理小麦秸秆木质纤维素的最优条件[J]. 湖北农业科学,2008,47(4):463-466.
- [29] 章冬霞,张素平,许庆利,等. 酶酸联合水解玉米秸秆的实验研究[J]. 太阳能学报,2010,31(4):478-481.
- [30] 曾青兰. 磷酸预处理对小麦秸秆酶解糖化的影响[J]. 湖北农业科学,2012,51(15):3311-3314.
- [31] 曾青兰,李晓宏. 磷酸-丙酮预处理对水稻秸秆酶解糖化的影响[J]. 华中农业大学学报,2013,32(3):77-81.
- [32] 李辉勇,金 密,魏琴琴,等. 弱碱性过氧化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.
- [33] 柯 静,徐春燕,杨 娜,等. $\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}_2$ 预处理促进玉米秸秆酶解产糖工艺条件的研究[J]. 可再生能源,2008,26(2):46-49.
- [34] 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.