

# 微波酸预处理玉米秸秆纤维素酶水解条件研究

李红艳<sup>a</sup>, 张增强<sup>b</sup>, 李荣华<sup>b</sup>, 孙西宁<sup>b</sup>, 高锦明<sup>b</sup>

(西北农林科技大学 a 生命科学学院, b 理学院, 陕西 杨凌 712100)

**[摘要]** 【目的】将预处理过的玉米秸秆的髓、皮和叶子分别进行纤维素酶解处理, 确定纤维素酶水解预处理后玉米秸秆不同部分的最适条件, 找出最适合做燃料酒精原料的部分。【方法】分别对微波酸预处理后的玉米秸秆髓、叶子、皮纤维素酶水解的酶用量、pH 值、温度、时间 4 个因素进行单因素试验和正交试验, 并对正交试验结果进行验证。【结果】4 个因素对玉米秸秆髓、叶子和皮纤维素酶解的影响顺序均为酶用量>温度>时间>pH。玉米秸秆髓、叶子和皮的最佳纤维素酶用量分别为 3 000, 3 500, 4 000 U/g, 最佳温度分别为 44, 44, 47 °C, 最佳水解时间分别为 84, 96, 96 h, 最佳 pH 分别为 5.2, 5.4, 5.4, 在最佳水解条件下, 水解液中还原糖含量分别为 3.468 7, 3.101 6, 1.828 1 mg/mL。【结论】玉米秸秆的髓和叶子适合制备燃料酒精, 秸秆皮所用的纤维素酶用量最大, 但水解液中还原糖含量最低, 不适合作燃料酒精的原料。

**[关键词]** 玉米秸秆; 纤维素酶; 水解; 正交试验

**[中图分类号]** S216.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2009)12-0181-07

## Study on cellulase enzymatic hydrolysis of microwave-acid pretreated corn stalk

LI Hong-yan<sup>a</sup>, ZHANG Zeng-qiang<sup>b</sup>, LI Rong-hua<sup>b</sup>, SUN Xi-ning<sup>b</sup>, GAO Jin-ming<sup>b</sup>

(a College of Life Science, b College of Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** 【Objective】Pretreated corn stalk leaf, skin and core were investigated by cellulase hydrolysis respectively to confirm the optimal hydrolysis condition of different parts of pretreated corn stalk, and select the most suitable part for the fuel-ethanol. 【Method】The effect of each factor was investigated by single factor experiment and orthogonal experiment, and the result of orthogonal experiment was confirmed by the verification experiment. 【Result】The effect order of the four factors mentioned above to enzymatic hydrolysis of pretreated corn stalk was shown as enzyme-load>temperature>time> pH. The optimal enzyme-load of the corn stalk core, leaf and skin was 3 000, 3 500 and 4 000 U/g, while the optimal temperature was 44, 44 and 47 °C, the optimal time 84, 96 and 96 h, and the optimal pH 5.2, 5.4 and 5.4 respectively. The sugar content of the hydrolysis under the optimal enzymatic hydrolysis condition of the corn stalk core, leaf and skin was 3.468 7, 3.101 6 and 1.828 1 mg/mL. 【Conclusion】The corn stalk cores and leaves are suitable for the fuel-ethanol production, but the corn stalk skin is not the suitable substance for producing fuel ethanol.

**Key words:** corn stalk; cellulase; enzymatic hydrolysis; orthogonal experiment

\* [收稿日期] 2009-04-08

[基金项目] 西北农林科技大学科研专项(07ZR049)

[作者简介] 李红艳(1983—), 女, 山西高平人, 在读硕士, 主要从事玉米秸秆制备燃料乙醇研究。

E-mail: lihongyan19830825@yahoo. cn

[通信作者] 张增强(1963—), 男, 陕西扶风人, 教授, 博士生导师, 主要从事固体废物资源化与环境修复研究。

E-mail: zhangzq58@126. com

农业秸秆的处置与资源化利用是农业、资源和环境领域的研究热点之一。我国是一个农业大国,有丰富的植物纤维资源,如农作物秸秆、林产品加工工业的下脚料等,其中,仅秸秆一项就达 7 亿 t 以上,玉米秸秆约 2.2 亿 t<sup>[1]</sup>。目前,大部分秸秆以堆积、焚烧等形式被直接倾入环境,造成了极大地污染和资源浪费,如果将其转化成气体或液体燃料,如酒精、氢气、柴油等,不但可以缓解人类所面临的能源短缺、环境污染、资源危机等问题,而且还能实现人类社会的可持续发展<sup>[2-4]</sup>。

用可再生木质纤维素生物质生产乙醇的关键在于水解环节,只有用催化剂时纤维素水解才能达到经济可行的产量<sup>[5]</sup>。目前,用于纤维素水解的催化剂主要有酶、酸和碱 3 种,其中酶水解的成本较酸或碱都低,主要是因为酶解的反应条件温和,酶的专一性较高,因此少量酶就可产生高含量的糖且无腐蚀性<sup>[6]</sup>;但酶水解也存在一些缺点,主要是纤维素酶成本较高,占燃料乙醇成本的较大部分<sup>[7]</sup>。纤维素酶系与其他生物酶一样,有最佳酶解条件,不同微生物产生的酶活性不同,酶解条件也不同<sup>[8]</sup>。张继泉等<sup>[1]</sup>对玉米秸秆纤维素酶解条件的研究,吕学斌等<sup>[9]</sup>对玉米秸秆酶水解条件优化的研究和黄爱玲等<sup>[10]</sup>对玉米秸秆酶水解影响因素的研究,都是将玉米秸秆作为一个整体来研究。然而,玉米秸秆主要组成成分髓、叶子和皮具有不同的纤维素、半纤维素和木质素含量,因而这些不同的组分生产燃料乙醇的潜力可能不同,但目前有关这方面的研究较少。本研究将玉米秸秆髓、叶子和皮分离,分别对预处理后的玉米秸秆髓、叶子和皮进行酶解,探讨了酶用量、温度、pH 值及酶解时间对纤维素酶酶解玉米秸秆的影响,确定了最适宜酶解条件,比较玉米秸秆的髓、叶子和皮生产燃料乙醇的潜力,以期利用玉米秸秆制备燃料乙醇及环境保护提供一定参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 玉米秸秆 玉米秸秆(地上全株)取自陕西杨凌张家岗村,分别剥取叶子、髓和皮,用去离子水洗去表面尘土后,于 65 ℃ 下烘干 48 h,然后用微型植物试样粉碎机粉碎。供试玉米秸秆叶子半纤维素含量 320.5 g/kg,纤维素含量 214.3 g/kg,木质素含量 49.8 g/kg;玉米秸秆髓半纤维素含量 262.6 g/kg,纤维素含量 199.7 g/kg,木质素含量 28.5 g/kg;玉米秸秆皮半纤维素含量 293.5 g/kg,纤维

素含量 296.3 g/kg,木质素含量 63.2 g/kg。

1.1.2 主要试剂与仪器 纤维素酶:根霉纤维素酶,酶活为 10 000 U/mg(Sigma 公司);0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液、3,5-二硝基水杨酸等试剂均为分析纯。FZ102 型微型植物试样粉碎机,北京中兴伟业仪器有限公司;MAS-I 型常压微波合成反应仪,上海新仪微波化学有限公司;HZQ-R 振荡器,中国哈尔滨东联电子技术开发有限公司;紫外可见分光光度计 UV-120-02,日本岛津公司。

### 1.2 玉米秸秆微波酸预处理

玉米秸秆微波酸预处理的方法为:叶子在体积分数 5.0% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 温度 75 ℃, 时间 30 min, 料液比 1:15.0, 搅拌速度 800 r/min 的条件下微波酸预处理;髓在体积分数 4.0% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 温度 75 ℃, 时间 25 min, 料液比 1:20.0, 搅拌速度 1 000 r/min 的条件下微波酸预处理;皮在体积分数 9.0% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 温度 72 ℃, 时间 30 min, 料液比 1:17.1, 搅拌速度 2 000 r/min 的条件下微波酸预处理。经处理的玉米秸秆残渣用去离子水洗涤,直至滤液 pH 呈中性,然后过滤,留取滤渣在 65 ℃ 下烘干至恒质量,用带自封口的聚乙烯袋干燥保存、备用。

### 1.3 方 法

1.3.1 不同因子对玉米秸秆水解影响的单因素试验 (1)酶用量。准确称量 1.00 g 预处理过的玉米秸秆髓、叶子、皮,放入 150 mL 三角瓶中,分别加入 pH 为 4.8,酶用量分别为 250,500,1 000,1 500,2 000,2 500,3 000,3 500,4 000 和 4 500 U/g 的纤维素酶溶液 100.00 mL,在温度为 50 ℃,转速 80 r/min 条件下水解 72 h。水解液过滤后,测定滤液中还原糖含量。每处理设 3 个重复,取平均值。

(2)pH 值。准确称量 1.00 g 预处理过的玉米秸秆髓、叶子、皮,放入 150 mL 三角瓶中,分别加入酶用量为 3 500 U/g,柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液制备的 pH 分别为 4.4,4.6,4.8,5.0,5.2,5.4,5.6,5.8,6.0,6.2 的纤维素酶溶液 100.00 mL,在温度 50 ℃,转速 80 r/min 条件下水解 72 h。水解液经过滤后,测定滤液中还原糖含量。每处理设 3 个重复,取平均值。

(3)温度。准确称量 1.00 g 预处理过的玉米秸秆髓、叶子、皮,放入 150 mL 三角瓶中,分别加入酶用量为 3 500 U/g,pH 5.4 的纤维素酶溶液 100.00 mL,控制温度分别为 41,44,47,50,53,56 和 59 ℃,在转速 80 r/min 的条件下水解 72 h。水解液经过滤后,测定滤液中还原糖含量。每处理设 3 个重复,

取平均值。

(4)时间。准确称量 1.00 g 预处理过的玉米秸秆髓、叶子、皮,放入 150 mL 三角瓶中,分别加入酶用量为 3 500 U/g,pH 5.4 的纤维素酶溶液 100.00 mL,在温度 47 ℃,转速为 80 r/min 的条件下水解 12,24,36,48,60,72,84,96 和 108 h。水解液经过滤后,测定滤液中还原糖含量。每处理设 3 个重复,

表 1 玉米秸秆  $L_9(3^4)$  的正交试验因子和水平

Table 1  $L_9(3^4)$  design of four factors and three levels in the orthogonal experiment of corn stalk core

样品 Sample	水平 Level	温度/℃ Temperature	时间/h Time	pH	酶用量/(U·g <sup>-1</sup> ) Enzyme-load
髓 Core	1	44	60	5.2	2 000
	2	47	72	5.4	2 500
	3	50	84	5.6	3 000
叶子 Leaf	1	44	72	5.2	2 500
	2	47	84	5.4	3 000
	3	50	96	5.6	3 500
皮 Skin	1	44	72	5.2	3 000
	2	47	84	5.4	3 500
	3	50	96	5.6	4 000

1.3.3 正交试验结果的验证 在 1.3.2 正交试验所得最优预处理条件下,水解玉米秸秆。每处理设 3 个重复,取平均值。

#### 1.4 测定项目及方法

还原糖含量用 DNS(3,5-二硝基水杨酸)比色法测定<sup>[11-12]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同因子对玉米秸秆水解影响的单因素试验结果

2.1.1 酶用量 纤维素酶用量对玉米秸秆髓、叶子、皮水解影响的单因素试验结果见图 1。

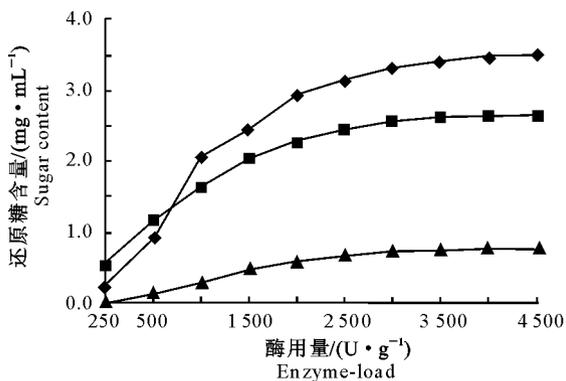


图 1 酶用量对玉米秸秆水解的影响

—◆—, 髓; —■—, 叶子; —▲—, 皮

Fig. 1 Effect of enzyme-load to corn stalk hydrolysis

—◆—, Core; —■—, Leaf; —▲—, Skin

由图 1 可以看出,玉米秸秆髓、叶子、皮水解液

取平均值。

### 1.3.2 不同因子对玉米秸秆水解影响的正交试验

根据 1.3.1 单因素试验结果,选取 4 个因素各自最佳值附近的 3 个水平,采用 4 因素 3 水平的  $L_9(3^4)$  正交表进行正交试验,优化试验结果。玉米秸秆髓、叶子、皮的正交试验因素水平见表 1。

中还原糖含量均随酶用量的增加而增大,秸秆髓的还原糖含量在酶用量为 3 000 U/g 时达最大值。秸秆叶子的还原糖含量在酶用量为 3 500 U/g 时基本趋于平缓,且还原糖含量较高,说明秸秆叶子的纤维素酶解基本完全。秸秆皮还原糖含量在酶用量为 4 000 U/g 时基本趋于平缓,而且水解液中还原糖含量较低,说明秸秆皮生产乙醇的潜力较低。因此,酶解玉米秸秆髓、叶子和皮的最佳纤维素酶用量分别定为 3 000,3 500,4 000 U/g。

2.1.2 pH 纤维素酶对 pH 值比较敏感,只有在一定的 pH 值范围内才表现较高的催化活性。pH 值对玉米秸秆髓、叶子、皮纤维素酶水解影响的单因素试验结果见图 2。由图 2 可以看出,玉米秸秆髓、叶子、皮水解液中还原糖含量均随 pH 的增大而增大,且在 pH 为 5.4 时,玉米秸秆髓、叶子、皮水解液中还原糖含量均达到最大;随着 pH 的继续增大,水解液中还原糖含量均减小;说明玉米秸秆髓、叶子、皮的最适 pH 均为 5.4。

2.1.3 温度 温度升高,纤维素酶的催化水解能力增大,有利于酶水解反应的进行,但温度过高会改变纤维素酶的结构,使酶变性失活。温度对玉米秸秆髓、叶子、皮纤维素酶水解影响的单因素试验结果见图 3。由图 3 可以看出,随温度升高,玉米秸秆髓、叶子、皮水解液中还原糖含量均呈抛物线型变化,且其最适水解温度均为 47 ℃,高于或低于 47 ℃ 均不利于纤维素酶的水解。因此,为了充分发挥纤维素酶的水解能力,将水解温度定为 47 ℃。

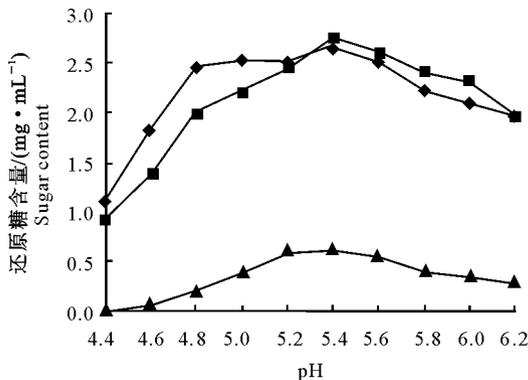


图 2 pH 对玉米秸秆纤维素酶水解的影响

—◆—, 髓; —■—, 叶子; —▲—, 皮

Fig. 2 Effect of pH on corn stalk hydrolysis

—◆—, Core; —■—, Leaf; —▲—, Skin

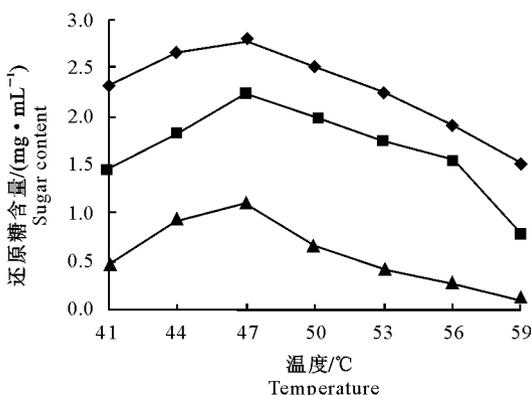


图 3 温度对玉米秸秆纤维素酶水解的影响

—◆—, 髓; —■—, 叶子; —▲—, 皮

Fig. 3 Effect of temperature on corn stalk hydrolysis

—◆—, Core; —■—, Leaf; —▲—, Skin

2.1.4 时 间 不同的酶, 由于其酶活和性质不同, 其最适酶解时间也不同。酶解时间对玉米秸秆髓、叶子、皮纤维素酶水解影响的单因素试验结果见图 4。由图 4 可以看出, 玉米秸秆髓、叶子和皮分别在 72, 84, 84 h 内, 随水解时间的延长, 水解液中还原糖含量逐渐增加; 超过 72, 84, 84 h 后, 水解液中还原糖含量基本上不再随水解时间的延长而增加。因此, 纤维素酶酶解预处理过的玉米秸秆髓、叶子和皮的最佳反应时间分别为 72, 84 和 84 h。

2.2 不同因子对玉米秸秆水解影响的正交试验结果

2.2.1 玉米秸秆髓 根据预处理过玉米秸秆髓的单因素试验结果, 采用 4 因素 3 水平的 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) 正交表进行正交试验, 结果见表 2。由正交试验极差分析结果可知, 4 个因素对纤维素酶水解玉米秸秆髓的影响顺序依次为: 酶用量 > 温度 > 时间 > pH, 最

佳水解条件为: 酶用量 3 000 U/g, 温度 44 °C, 时间 84 h, pH 5.2。

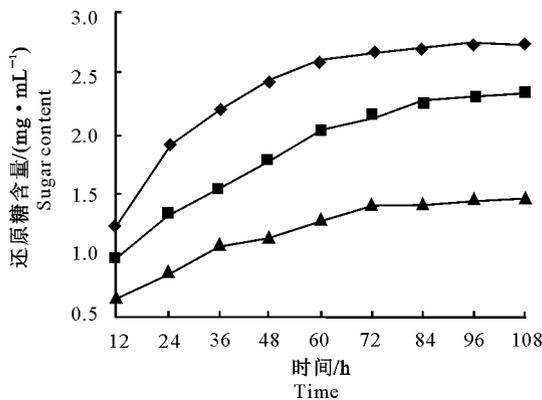


图 4 时间对玉米秸秆纤维素酶水解的影响

—◆—, 髓; —■—, 叶子; —▲—, 皮

Fig. 4 Effect of time on corn stalk hydrolysis

—◆—, Core; —■—, Leaf; —▲—, Skin

表 2 预处理过玉米秸秆髓纤维素酶水解正交试验结果

Table 2 Results of the orthogonal experiment of hydrolyzing pretreated corn stalk cores

编号 Code	温度/°C Temperature	时间/h Time	pH	酶用量/(U · g <sup>-1</sup> ) Enzyme-load	还原糖含量/(mg · mL <sup>-1</sup> ) Sugar content
1	44	60	5.2	2 000	2.783 6
2	44	72	5.4	2 500	3.258 4
3	44	84	5.6	3 000	3.130 7
4	47	60	5.4	3 000	3.154 7
5	47	72	5.6	2 000	2.639 9
6	47	84	5.2	2 500	3.338 2
7	50	60	5.6	2 500	2.679 8
8	50	72	5.2	3 000	3.078 9
9	50	84	5.4	2 000	2.596 0
K <sub>1</sub>	3.058	2.873	3.067	2.673	
K <sub>2</sub>	3.044	2.992	3.003	3.092	
K <sub>3</sub>	2.785	3.022	2.817	3.121	
R	0.273	0.149	0.025	0.448	

2.2.2 玉米秸秆叶子 玉米秸秆叶子的单因素  $L_9(3^4)$  正交试验结果见表 3。由正交试验极差分析结果可知,4 个因素对纤维素酶水解玉米秸秆叶子

的影响顺序依次为:酶用量>温度>时间>pH,最佳水解条件为:酶用量 3 500 U/g,温度 44 ℃,时间 96 h,pH 5.4(表 3)。

表 3 预处理过玉米秸秆叶子纤维素酶水解正交试验结果

Table 3 Results of the orthogonal experiment of hydrolyzing pretreated corn stalk leaves

编号 Code	温度/℃ Temperature	时间/h Time	pH	酶用量/(U·g <sup>-1</sup> ) Enzyme-load	还原糖含量/(mg·mL <sup>-1</sup> ) Sugar content
1	44	72	5.2	2 500	2.666 7
2	44	84	5.4	3 000	2.852 2
3	44	96	5.6	3 500	2.991 9
4	47	72	5.4	3 500	2.850 2
5	47	84	5.6	2 500	2.652 7
6	47	96	5.2	3 000	2.820 3
7	50	72	5.6	3 000	2.596 8
8	50	84	5.2	3 500	2.734 5
9	50	96	5.4	2 500	2.574 9
K <sub>1</sub>	2.837	2.705	2.741	2.631	
K <sub>2</sub>	2.774	2.746	2.759	2.756	
K <sub>3</sub>	2.635	2.796	2.747	2.859	
R	0.202	0.091	0.018	0.228	

2.2.3 玉米秸秆皮 玉米秸秆皮的单因素  $L_9(3^4)$  正交试验结果见表 4。由正交试验极差分析结果可知,4 个因素对纤维素酶水解玉米秸秆皮的影响顺

序依次为:酶用量>温度>时间>pH,最佳水解条件为:酶用量 4 000 U/g,温度 47 ℃,时间 96 h,pH 5.4(表 4)。

表 4 预处理过玉米秸秆皮纤维素酶水解正交试验结果

Table 4 Results of the orthogonal experiment of hydrolyzing pretreated corn stalk skins

编号 Code	温度/℃ Temperature	时间/h Time	pH	酶用量/(U·g <sup>-1</sup> ) Enzyme-load	糖含量/(mg·mL <sup>-1</sup> ) Sugar content
1	44	72	5.2	3 000	1.301 4
2	44	84	5.4	3 500	1.390 2
3	44	96	5.6	4 000	1.554 8
4	47	72	5.4	4 000	1.538 8
5	47	84	5.6	3 000	1.318 4
6	47	96	5.2	3 500	1.408 2
7	50	72	5.6	3 500	1.210 6
8	50	84	5.2	4 000	1.373 2
9	50	96	5.4	3 000	1.220 6
K <sub>1</sub>	1.415	1.350	1.361	1.280	
K <sub>2</sub>	1.422	1.361	1.383	1.336	
K <sub>3</sub>	1.268	1.395	1.361	1.489	
R	0.154	0.045	0.022	0.209	

### 2.3 正交试验结果的验证

在 2.2 正交试验所得最佳水解条件下,测定玉米秸秆髓、叶子、皮水解液中还原糖含量,结果见表

5。由表 5 可知,玉米秸秆髓、叶子、皮水解液中还原糖含量略高于正交试验时的最高糖含量,从而验证了 2.2 中正交试验结果。

表 5 最佳水解条件下玉米秸秆水解液中的还原糖含量

Table 5 Reducing sugar content of corn stalk hydrolysis under optimal enzymatic hydrolysis condition

样品 Sample	温度/℃ Temperature	时间/h Time	pH	酶用量/(U·g <sup>-1</sup> ) Enzyme-load	还原糖含量/(mg·mL <sup>-1</sup> ) Sugar content
髓 Core	44	84	5.2	3 000	3.468 7
叶子 Leaf	44	96	5.4	3 500	3.101 6
皮 Skin	47	96	5.4	4 000	1.828 1

## 3 讨论

### 3.1 纤维素酶用量对玉米秸秆水解的影响

本试验在研究纤维素酶用量对玉米秸秆水解影

响时发现,秸秆皮水解液中还原糖含量在 3 种组分中最低,说明秸秆皮生产乙醇的潜力有限。这可能是由于秸秆皮中纤维素分子的酶结合位点较少,纤维素酶不能很好地接触秸秆皮中的纤维素,或者是

由于纤维素酶对纤维素的不可逆吸附所致。因为纤维素酶用于降解天然纤维素原料时,主要分 3 步:首先纤维素酶吸附在纤维素底物的表面,然后纤维素降解成可发酵的糖,最后纤维素酶从纤维素底物中释放到酶解液中<sup>[13-14]</sup>。在一定酶浓度范围内,随着酶用量的增加,纤维素酶解率增大;但一定量的纤维素在一定条件下,纤维素分子能与酶分子结合的点数有限,当这些结合点全被纤维素酶分子占据后,再增加纤维素酶用量,起不到酶解作用<sup>[15-16]</sup>;即纤维素酶与底物的吸附作用具有一定的饱和度,当纤维素酶用量达到饱和时,增加酶用量对秸秆水解作用影响不大<sup>[17]</sup>。

### 3.2 pH 值对玉米秸秆水解的影响

酶的催化活性与环境 pH 值有密切关系。目前普遍认为,pH 值从 2 个方面影响纤维素酶的水解能力<sup>[18]</sup>:一是破坏酶的空间结构,使酶变性失活;二是 pH 值改变了酶、底物以及酶-底物络合物的解离状态时。只有在最适 pH 值下,酶与底物分子处于最佳的电离状态,才有利于两者的结合及催化反应的进行。因此,应用缓冲溶液配制酶处理液,可以防止在酶处理过程中 pH 值发生较大变化。不同种类的纤维素酶及同类纤维素酶的不同亚组分对应的最适 pH 也不一样<sup>[8]</sup>。吕学斌等<sup>[9]</sup>用纤维素酶水解玉米秸秆时的最适 pH 为 4.8,黄爱玲等<sup>[10]</sup>研究认为,Cellusoft-L 水解玉米秸秆时的最适 pH 为 4.8,Su-hong cellusoft-L 水解玉米秸秆时的最适宜 pH 值为 4.4;陈洪章等<sup>[19]</sup>用纤维素酶水解汽爆麦草的 pH 值为 4.4;Xu 等<sup>[20]</sup>用纤维素酶水解预处理过的秸秆时,最适 pH 也为 4.8;郭德宪等<sup>[21]</sup>用纤维素酶水解小麦秸秆的最适 pH 值为 5.0。本研究中,玉米秸秆髓、叶子、皮纤维素酶水解的最佳 pH 分别为 5.2,5.4,5.4。由此可见,纤维素酶酶解 pH 与底物的关系不大,其最适 pH 值仅与其自身的性质有关。

### 3.3 温度对玉米秸秆水解的影响

酶作为生物催化剂与一般催化剂一样具有温度效应,一般而言,温度主要影响酶的稳定性、酶蛋白的热稳定性、酶与底物的结合。当温度升高时,除水解速度提高外,纤维素酶变性,酶活性下降的速度也加快。只有在最适温度时酶活性最高,高于或低于此温度都会降低酶的反应活性。Mussatto 等<sup>[22]</sup>研究表明,最适宜纤维素酶水解的温度范围为 45~55℃,当温度高于 60℃时,酶活力急剧下降;宋向阳等<sup>[23]</sup>用纤维素酶水解玉米秸秆时的最适温度为 45℃;吕学斌等<sup>[9]</sup>用纤维素酶水解玉米秸秆时的最适

温度为 48℃。本研究中,玉米秸秆髓、叶子和皮纤维素酶水解的最适温度分别为 44,44,47℃,这可能与秸秆的预处理方法有关。

### 3.4 时间对玉米秸秆水解的影响

本研究发现,纤维素酶酶解预处理过的玉米秸秆髓、叶子和皮时,最佳反应时间分别为 84,96 和 96 h。有研究者<sup>[1,19]</sup>指出,水解玉米秸秆时,纤维素酶酶解的最适时间为 24 h。郭德宪等<sup>[21]</sup>用纤维素酶水解小麦秸秆的最适时间为 48 h。吕学斌等<sup>[9]</sup>用纤维素酶水解玉米秸秆的最适时间为 49 h。而 Mussatto 等<sup>[22]</sup>用里氏木霉纤维素酶水解酒糟的最适时间为 96 h。Shi 等<sup>[24]</sup>用里氏木霉纤维素酶和黑曲霉  $\beta$ -葡萄糖苷酶,水解微生物预处理过的粒径为 3.00 mm 棉花秆的最适时间为 72 h,Saha 等<sup>[25]</sup>用多种酶协调水解石灰水预处理过的粒径为 1.27 mm 稻壳的最适时间为 72 h。总体来看,不同研究者得到的最适酶解时间相差较大,其原因可能是酶不同、底物不同或底物预处理方法不同所致。

## 4 结 论

玉米秸秆髓、叶子和皮生产燃料乙醇的潜力不同,玉米秸秆的髓和叶子适合制备燃料酒精,玉米秸秆皮的纤维素酶酶用量最大,但水解液中还原糖含量最低,因此不适宜作燃料酒精的原料。

### [参考文献]

- [1] 张继泉,孙玉英,关凤梅,等.玉米秸秆纤维素酶解条件的初步研究[J].粮食与饲料工业,2002(4):21-23.  
Zhang J Q,Sun Y Y,Guan F M,et al. Preliminary study on the conditions of hydrolyzing corn straw with cellulase [J]. Cereal & Feed Industry,2002(4):21-23. (in Chinese)
- [2] 张强,陆军,侯霖,等.玉米秸秆发酵法生产燃料酒精的研究进展[J].饲料工业,2005,26(9):20-23.  
Zhang Q,Lu J,Hou L,et al. Research progress of alcoholic fermentation of corn stalk [J]. Feed Industry,2005,26(9):20-23. (in Chinese)
- [3] 武秀琴,马灿玲.玉米秸秆发酵生产燃料酒精研究现状及前景[J].现代农业科技,2008(13):240-243.  
Wu X Q, Ma C L. Research progress and prospect on alcoholic fermentation of corn stalk [J]. Modern Agricultural Science and Technology,2008(13):240-243. (in Chinese)
- [4] 陶荣,白晓峰,蒋磊.未来可持续发展的新动力:秸秆发酵制酒精[J].酿酒,2006,33(3):45-48.  
Tao R, Bai X F, Jiang L. New energy of sustainable development in future: production of alcohol fermented by stover [J]. Liquor Making,2006,33(3):45-48. (in Chinese)
- [5] Orozco A,Ahmad M,Rooney D,et al. Dilute acid hydrolysis of

- cellulose and cellulosic bio-waste using a microwave reactor system [J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2007, 85 (B5): 446-449.
- [6] Duff S J B, Murray W D. Bioconversion of forest products industry waste cellulose to fuel ethanol: A review [J]. *Biore-source Technol*, 1996, 55(1): 1-33.
- [7] 张亮, 伍小兵, 翟井振. 玉米秸秆发酵生产燃料乙醇的研究综述 [J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(11): 3365-3366.  
Zhang L, Wu X B, Zhai J Z. Research review of fuel alcohol production from corn stalk [J]. *Journal of Anhui Agri Science*, 2007, 35(11): 3365-3366. (in Chinese)
- [8] 周建, 罗学刚, 苏林. 纤维素酶法水解的研究现状及展望 [J]. *化工科技*, 2006, 14(2): 51-56.  
Zhou J, Luo X G, Su L. Research progress and prospect on the enzymatic hydrolysis for cellulose [J]. *Science and Technology in Chemical Industry*, 2006, 14(2): 51-56. (in Chinese)
- [9] 吕学斌, 张毅民, 杨静, 等. 玉米秸秆酶水解条件的优化研究 [J]. *化学工程*, 2008, 36(2): 59-62.  
Lü X B, Zhang Y M, Yang J, et al. Study of optimal conditions for enzymatic hydrolysis of corn stalk [J]. *Chemical Engineering*, 2008, 36(2): 59-62. (in Chinese)
- [10] 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(8): 25-27.  
Huang A L, Zhou M H. Study on affecting factors of enzymatic hydrolysis corn stalk [J]. *China Resources Comprehensive Utilization*, 2004(8): 25-27. (in Chinese)
- [11] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 97-100.  
Chen Y Q. *Experimental methods and techniques of biochemistry* [M]. Beijing: Science Press, 2002: 97-100. (in Chinese)
- [12] 李稳宏, 吴大雄, 高新, 等. 麦秸秆纤维素酶解法产糖预处理工艺条件研究 [J]. *西北大学学报: 自然科学版*, 1997, 27(3): 227-230.  
Li W H, Wu D X, Gao X, et al. A study of operating conditions in the pretreatment process to produce glucose from the cellulose of wheat straw [J]. *Journal of Northwest University: Natural Science Edition*, 1997, 27(3): 227-230. (in Chinese)
- [13] 陈洪章, 王岚. 生物质能源转化技术与应用Ⅷ: 生物质的生物转化技术原理与应用 [J]. *生物质化学工程*, 2008, 42(4): 67-72.  
Chen H Z, Wang L. Conversion technology and utilization of biomass energy Ⅷ: Principle and application for biomass bio-conversion technology [J]. *Biomass Chemical Engineering*, 2008, 42(4): 67-72. (in Chinese)
- [14] 许凤, 孙润仓, 詹怀宇. 木质纤维原料生物转化燃料乙醇的研究进展 [J]. *纤维素科学与技术*, 2004, 12(1): 45-54.  
Xu F, Sun R C, Zhan H Y. Progress in bioconversion of ligno-cellulosic materials for fuel ethanol [J]. *Cellulose Science and Technology*, 2004, 12(1): 45-54. (in Chinese)
- [15] 王超, 章超桦. 酶解纤维素类物质生产燃料酒精的研究进展 [J]. *纤维素科学与技术*, 2003, 11(4): 52-59.  
Wang C, Zhang C H. Research progress on the producing fuel-ethanol by hydrolyzing in the cellulose [J]. *Cellulose Science and Technology*, 2003, 11(4): 52-59. (in Chinese)
- [16] 宋贤良, 温其标, 朱江. 纤维素酶法水解的研究进展 [J]. *郑州工程学院学报*, 2001, 22(4): 67-71.  
Song X L, Wen Q B, Zhu J. Study progress of enzymatic hydrolysis for cellulose [J]. *Journal of Zhengzhou Institute of Technology*, 2001, 22(4): 67-71. (in Chinese)
- [17] 徐忠, 杨雪欣, 汪群慧. 大豆秸秆纤维素酶水解条件的研究 [J]. *食品工业科技*, 2004(3): 58-59.  
Xu Z, Yang X X, Wang Q H. Enzymatic hydrolysis of pretreated soybean straw [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2004(3): 58-59. (in Chinese)
- [18] 商显芹, 郝龙云, 房宽峻, 等. 纤维素酶水解能力的影响因素研究 [J]. *针织工业*, 2008(4): 58-61.  
Shang X Q, Hao L Y, Fang K J, et al. Study on affecting factor of enzymatic hydrolysis for cellulose [J]. *Knitting Industry*, 2008(4): 58-61. (in Chinese)
- [19] 陈洪章, 李佐虎. 影响纤维素酶解的因素和纤维素酶被吸附性能的研究 [J]. *化学反应工程与工艺*, 2000, 16(1): 30-35.  
Chen H Z, Li Z H. Factors of enzymatic hydrolysis for cellulose and adsorption of cellulose [J]. *Chemical Reaction Engineering and Technology*, 2000, 16(1): 30-35. (in Chinese)
- [20] Xu Z, Wang Q H, Jiang Z H. Enzymatic hydrolysis of pretreated soybean straw [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2007, 31: 162-167.
- [21] 郭德宪, 曹健, 曾实, 等. 里氏木霉纤维素酶降解小麦秸秆的研究 [J]. *粮食与饲料工业*, 2003(3): 25-27.  
Guo D X, Cao J, Zeng S, et al. Study on wheat straw degradation by trichoderma reesei cellulase [J]. *Cereal & Feed Industry*, 2003(3): 25-27. (in Chinese)
- [22] Mussatto S I, Fernandes M, Milagres A M F, et al. Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2008, 43: 124-129.
- [23] 宋向阳, 余世袁. 玉米秸秆酶水解正交试验的研究 [J]. *生物学杂志*, 2000, 17(5): 31-32.  
Song X Y, Yu S Y. The study of best productive technology conditions by hydrolysis fo corn stover [J]. *Journal of Biology*, 2000, 17(5): 31-32. (in Chinese)
- [24] Shi J, Sharma-Shivappa R R, Chinn M, et al. Effect of microbial pretreatment on enzymatic hydrolysis and fermentation of cotton stalks for ethanol production [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2009, 33: 88-96.
- [25] Saha B C, Cotta M A. Lime pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of rice hulls to ethanol [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2008, 32: 971-977.