

玉米秸秆氨化汽爆处理及其固态发酵

杨雪霞, 陈洪章, 李佐虎

(中国科学院化工冶金研究所生化工程国家重点实验室, 北京 100080)

摘要: 在加氨条件下对玉米秸秆进行了汽爆处理(简称氨化汽爆)和固态发酵. 结果表明: 氨化汽爆同样可使秸秆中的半纤维素降解, 并使玉米秸秆的酶解率提高到 42.97%, 同时可使秸秆的有机氮含量提高 1.27 倍. 利用氨化汽爆秸秆进行固态发酵, 可提高蛋白含量到 23.45%, 比不加氨汽爆的玉米秸秆提高了 1 倍. 而加过氧化氢的氨化汽爆不利于微生物发酵.

关键词: 秸秆; 氨化汽爆; 固态发酵

中图分类号: TQ353.9 文献标识码: A 文章编号: 1009-606X(2001)01-0086-04

1 前言

农作物秸秆中 60% 是碳水化合物, 可作为发酵工业原料, 特别是在饲料行业中, 如果能把这些秸秆转化为饲料粮, 将节约大量粮食, 解决人畜争粮问题, 也能解决秸秆焚烧引起的环境污染问题. 秸秆作为饲料直接饲喂效果较差. 为改善秸秆作为饲料的低营养价值现状, 人们采用各种手段改变其天然结构, 富集营养. 常用的有化学、物理、生物处理方法. 秸秆氨化技术是近年来推广较多的化学处理方法, 能增加秸秆的含氮量, 部分地改变其天然结构, 增加其消化率, 但秸秆营养价值提高十分有限^[1]. 通过秸秆的微生物发酵, 对秸秆进行生物转化是一种较好的提高秸秆营养价值的方法. 但秸秆这种天然纤维性材料是复杂的立体结构, 特别是木质素的屏障作用, 使微生物很难将其快速转化. 蒸汽爆碎预处理是一种集物理化学作用为一体的秸秆预处理方法, 在高温高压的作用下, 秸秆中的半纤维素发生水解, 木质素也部分解聚, 加上突然的减压喷放所产生的机械破坏作用, 使整个底物可降解性大大提高^[2]. 目前, 针对秸秆汽爆预处理的研究主要集中在汽爆后汽爆材料的酶解率^[3], 而对汽爆处理是否有利于微生物的固态发酵或在汽爆处理中提高微生物所需的营养等的研究较少. 本文采用蒸汽爆碎处理装置对秸秆进行氨化处理, 并对氨化处理后的秸秆进行固态发酵, 以期提高秸秆的营养性, 并考察对固态发酵蛋白饲料的影响.

2 材料与方法

2.1 材料

玉米秸秆: 取自北京郊区, 粉碎.

菌种: 斜卧青霉菌(*Penicillium decumbens* JU-A10), 黄孢原毛平革菌(*Phanerochate chrysosporium* ME-446).

2.2 实验及分析方法

汽爆氨化处理: 使用汽爆罐. 玉米秸秆 300 g, 添加不同的氨水及过氧化氢溶于水中, 固液比 1:1, 拌匀, 压实密封, 预浸过夜后汽爆, 或拌匀后立即汽爆.

氨化秸秆水抽提：1 g 处理后的干料，加水 20 ml，浸泡 3 h，过滤，测滤液总糖和还原糖。

$$\text{水提得糖率} = \frac{\text{水提总糖}}{\text{秸秆材料质量}} \times 100\%, \quad \text{还原糖含量} = \frac{\text{还原糖质量}}{\text{材料质量}} \times 100\%.$$

酶解：称取一定质量的底物和纤维素酶，加入到 pH 为 4.8 的 0.2 mol/L 的乙酸-乙酸钠缓冲液中，使底物和酶的浓度分别为 2% 和 0.2%。于 50°C 下在转速 160 r/min 的摇床上进行酶解，

$$\text{酶解率} = \frac{\text{酶解产生的还原糖}}{\text{材料质量}} \times 100\%.$$

固态发酵：4.5 g 氨化秸秆，0.5 g 麸皮，0.25 g (NH₄)₂SO₄，0.1 g K₂HPO₄，0.08 g KH₂PO₄，0.01 g MgSO₄·2H₂O，固液比 1:2.5，拌匀，灭菌，接种，27°C 发酵 4 d。

纤维素、半纤维素、木质素的测定见文献[4]；总糖分析用酚-H₂SO₄法，还原糖用 DNS 法^[5]测定；氮的测定：秸秆经水洗后测得的氮为不溶性氮，总氮减去不溶性氮为可溶性氮；蛋白含量的测定用凯氏定氮法^[6]。

3 结果和讨论

3.1 氨化汽爆对玉米秸秆化学成份和酶解率的影响

3.1.1 氨化汽爆对玉米秸秆化学成份和酶解率的影响

在对秸秆汽爆处理条件进行了一定研究^[2]的基础上，本实验选择汽爆条件为：压力 1.5 MPa，时间 8 min，固液比 1:1。由于常规的秸秆氨化处理氨水的添加量一般为 15%，因此，本实验选择氨水的用量为 5% 和 15%。表 1 为实验结果。

表 1 氨化汽爆玉米秸秆的化学组份变化

Ammonia	Hemicellulose	Cellulose	Lignin	Total sugar	Reduced sugar	Enzymatic hydrolysis	Total nitrogen	Soluble nitrogen	Insoluble nitrogen
0	35.38	26.03	6.83	4.07	5.32	12.89	1.06	0.02	1.04
5	18.93	26.80	11.30	4.99	4.05	38.68	1.62	0.62	1.01
15	16.93	27.15	12.43	5.41	2.41	41.98	2.41	1.23	1.18

从表 1 可以看出，同未处理的原料相比，氨化汽爆大大提高了半纤维素的降解率，而且氨水浓度的增加也有利于提高半纤维素的降解率，当氨水浓度为 5% 和 15% 时，半纤维素降解率分别为 46.5% 和 52.2%。氨化汽爆处理对纤维素含量改变不大，但却使木质素增加。这可能是由于汽爆过程中产生的所谓“假木素”的原因，即汽爆处理中，木质素部分醚键断裂使之反应活性增强，与降解的半纤维素形成腐殖酸类物质^[2]。

原料经氨化汽爆后，总糖含量均比未处理原料高，这是由于半纤维素的降解产生了大量单糖与寡糖。氨水浓度分别为 5% 和 15% 时，总糖含量比未处理原料高 22.6% 和 32.3%。但原料经氨化汽爆后，还原糖含量却显著减少，其原因尚需进一步研究。

氨化汽爆处理后，秸秆的酶解率大大增加，氨水浓度分别为 5% 和 15% 时，酶解率比未处理原料分别提高了 3 倍和 3.25 倍。这表明原料经氨化汽爆后，其结构和化学组成发生了明显变化，这些变化有利于酶解的进行。

在氨化处理过程中，添加氨水主要是为了增加秸秆的含氮量。本实验中，氨水浓度为 5% 和 15% 时，总氮量分别为 1.62% 和 2.41%，比未处理原料分别提高了 0.52 倍和 1.27 倍。

3.1.2 添加过氧化氢的氨化汽爆对玉米秸秆化学成份和酶解率的影响

氨化过程中, 氮的固定是发生在木质素的一些羰基和羧基上, 氧化剂的存在能增加这些基团的数目, 从而增加氨化效果^[7], 故本实验又考察了添加过氧化氢时氨化汽爆对玉米秸秆化学成份的影响, 结果见表 2.

表 2 添加过氧化氢的氨化汽爆玉米秸秆的化学组份变化
Table 2 Chemical composition change of ammoniated corn straw by steam explosion with H₂O₂ added (% dry matter)

Ammonia	H ₂ O ₂	Hemicellulose	Cellulose	Lignin	Total sugar	Reduced sugar	Enzymatic hydrolysis	Total nitrogen	Soluble nitrogen	Insoluble nitrogen
0	0	35.38	26.03	6.83-	4.07	5.32	12.89	1.06	0.02	1.04
5	10	16.03	27.77	10.67	6.08	4.55	40.35	1.85	0.73	1.12
15	10	15.87	25.63	11.65	5.41	2.91	42.97	2.52	1.23	1.29
15 ¹⁾	10	15.02	29.52	10.93	5.41	2.47	40.94	2.46	1.18	1.29

Note: 1) No impregnating treatment.

从表 1, 2 对比来看, 当氨水浓度相同时, 添加过氧化氢对秸秆的半纤维素降解、总糖和还原糖的含量及酶解率以及总氮含量均有影响. 氨水浓度为 5% 时, 添加过氧化氢后半纤维素降解率可达 54.7%, 总糖含量比未处理的原料增加 49.4%, 还原糖含量减少 16.9%, 酶解率提高 3.13 倍, 总氮含量增加 0.75 倍. 这些指标均比单独氨化汽爆明显提高. 当氨水浓度为 15% 时也有相同的趋势.

秸秆氨化汽爆未进行预浸时, 半纤维素降解率更高, 达 57.6%.

总之, 采用氨化汽爆处理, 能在高温下短时间(8 min) 氨化秸秆, 同常温氨化(30 d)相比, 不仅缩短氨化时间, 而且氨化后秸秆中氮含量成倍提高, 再加上汽爆引起的纤维天然结构的改变, 使处理后的秸秆是一种富集了大量可发酵性碳源、氮源的丰富的基质.

3.2 氨化汽爆秸秆的固态发酵蛋白饲料

3.2.1 氨化汽爆秸秆的固态发酵

对氨化汽爆后的秸秆进行固态发酵(Solid state fermentation, SSF), 发酵后秸秆组份见表 3. 固态发酵后, 半纤维素和纤维素进一步被降解. 氨水浓度为 5% 和 15% 时, 固态发酵后半纤维素分别降解了 26.5% 和 28.2%, 纤维素分别降解了 43.6% 和 55.5%. 而未处理的秸秆固态发酵后, 半纤维素、纤维素的降解率很低, 分别为 3.53% 和 7.15%. 可见, 经氨化处理后, 改变了秸秆的天然结构, 更有利于微生物对纤维素、半纤维素的分解利用.

表 3 固态发酵后组份的变化
Table 3 Chemical composition change of steam exploded ammoniated corn straw after SSF (% dry matter)

Ammonia	H ₂ O ₂	Hemicellulose	Cellulose	Lignin	Dry matter loss	Protein
0	0	34.13	24.17	12.57	18.4	11.55
5	0	13.92	15.12	14.08	24.0	18.90
15	0	12.15	12.08	14.70	25.2	23.80

固态发酵中由于微生物的生长代谢, 部分原料分解为水和二氧化碳等, 从而引起原料失重. 从微生物代谢的角度讲, 微生物生长繁殖越旺盛, 失重现象越严重, 它反映了微生物代谢活跃. 从表 3 可以看出, 秸秆经氨化汽爆处理后, 发酵后基质的失重率明显增加, 而且氨水浓度提高, 失重率增加更多, 氨水浓度分别为 5% 和 15% 时, 失重率分别为 24% 和 25.2%.

发酵后木质素含量相对增加, 这是由于实验中所采用的微生物不能利用木质素, 故原料中的木质素含量不变, 而发酵中发酵基质的失重, 使得木质素含量相对增加.

3.2.2 添加过氧化氢氨化汽爆秸秆的固态发酵

添加过氧化氢氨化汽爆的秸秆固态发酵结果见表 4。经过固态发酵，纤维素和半纤维素进一步被降解，但从发酵后干物质的丢失来看，添加过氧化氢处理不利于微生物发酵，5%氨水时，添加过氧化氢后，失重率为 21.6%，无过氧化氢时失重率为 24%；15%氨水添加过氧化氢处理，失重率为 16.8%，无过氧化氢失重率为 25.2%。这表明添加过氧化氢不利于微生物的生长代谢，这可能是由于在氨化过程中过氧化氢氧化分解木质素，产生一些小分子的物质对微生物生长有抑制作用。

表 4 添加过氧化氢氨化汽爆秸秆固态发酵后组份的变化
Table 4 Chemical composition change of ammoniated corn straw by steam explosion with H₂O₂ added after SSF (% dry matter)

Ammonia	H ₂ O ₂	Hemicellulose	Cellulose	Lignin	Dry matter loss	Protein
0	0	34.13	24.17	12.57	18.4	11.55
5	10	11.75	12.4	12.3	21.6	20.65
15	10	10.37	12.23	14.03	16.8	23.45
15 ¹⁾	10	14.45	15.73	9.83	17.6	21.7

Note: 1) No impregnating treatment.

4 结论

(1) 采用氨化汽爆处理，能在高温下短时间氨化秸秆(8 min)，同常温氨化(30 d)相比，不仅缩短氨化时间，而且氨化后秸秆中氮含量成倍提高，再加上汽爆引起的纤维天然结构的改变，使处理后的秸秆是一种富集了大量可发酵性碳源、氮源的丰富的基质。

(2) 利用氨化汽爆秸秆进行固态发酵，初步实验表明，可提高蛋白含量到 23.45%，比不加氨汽爆的玉米秸秆提高了 1 倍。

(3) 加过氧化氢的氨化汽爆不利于微生物发酵。

参考文献:

- [1] 时宜, 时郁松. 秸秆氨化和青贮饲料技术, 第二版 [M]. 郑州: 中原农民出版社, 1996. 8-24.
- [2] 陈洪章, 李佐虎. 秸秆蒸汽爆碎的研究 [J]. 纤维素科学与技术, 1998, 7(2): 60-67.
- [3] Moniruzzaman M. Effect of Steam Explosion on the Physicochemical Properties and Enzymatic Saccharification of Rich Straw [J]. Appl. Biochem. Biotechnol., 1996, 59(1): 283-297.
- [4] 王玉万, 徐文玉. 木质纤维素固体基质发酵物中半纤维素、纤维素、木素的定量分析程序 [J]. 微生物学通报, 1987, 14(2): 81-83.
- [5] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术 [M]. 南京: 浙江大学出版社, 1994. 13-14.
- [6] 北京大学生物系生物化学教研室. 生物化学实验指导 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1980. 87-93.
- [7] Dietrich M, Virgilio Z P, Fekipe Ramirez-Cano. Conversion of Technical Lignins into Slow Release Nitrogenous Fertilizers by Ammoxidation in Liquid Phase [J]. Bioresource Technology, 1994, 49(2): 121-128.

Steam-explosion of Ammoniated Corn Straw and Subsequent Solid State Fermentation

YANG Xue-xia, CHEN Hong-zhang, LI Zuo-hu

(Inst. Chem. Metall., Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract: Corn straw was ammoniated and steam-exploded. This pretreatment resulted in degradation of hemicellulose and less degradation of cellulose and lignin. In addition, substrate hydrolysis was enhanced, the content of nitrogen was increased. After solid state fermentation of pretreated corn straw, the content of protein was increased and the content of cellulose was reduced. Steam-explosion of ammoniated corn straw is suitable for bioconversion.

Key words: corn straw; steam-explosion; ammoniation; solid state fermentation