

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2016.07.027

# 液氨预处理工艺对五节芒酶解糖化效果的影响

彭何欢<sup>1</sup> 邵千钧<sup>1,2</sup> Farman Ali Chandio<sup>3</sup> 赵超<sup>1</sup> 李彬<sup>1</sup> 马中青<sup>1</sup>

(1. 浙江农林大学工程学院, 杭州 311300; 2. 宁波大学机械工程与力学学院, 宁波 315211;

3. 信德农业大学农业工程学院, 登多贾姆 70060)

**摘要:** 为提高五节芒可发酵单糖的产量, 采用液氨对其进行预处理。选用预处理温度  $T$ 、五节芒含水率  $M$ 、驻留时间  $t$  和液氨用量比  $k$  为变量因素, 在试验范围内  $T(70 \sim 170 \text{ }^\circ\text{C})$ 、 $M(20\% \sim 200\%)$ 、 $t(5 \sim 30 \text{ min})$ 、 $k(0.5 \sim 5.0)$  通过对各因素的不同取值, 分析上述因素对五节芒酶解效果的影响。结果表明: 在  $T = 130 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $M = 80\%$ 、 $t = 10 \text{ min}$ 、 $k = 2.0$  的条件下预处理, 五节芒 72 h 的葡聚糖和木聚糖酶解率分别为 72.1% 和 82.5%, 即 100 g 干基原材料可获得可发酵单糖 55.8 g, 是未经预处理样品酶解率的 3.65 倍。因此, 液氨预处理能够有效促进五节芒的酶解单糖转化率。

**关键词:** 五节芒; 预处理; 液氨; 酶解

中图分类号: TK6; S216 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2016)07-0196-06

## Effects of Liquid Ammonia Treatment on Enzymatic Hydrolysis to Fermentable Sugars of *Miscanthus floridulus*

Peng Hehuan<sup>1</sup> Shao Qianjun<sup>1,2</sup> Farman Ali Chandio<sup>3</sup> Zhao Chao<sup>1</sup> Li Bin<sup>1</sup> Ma Zhongqing<sup>1</sup>

(1. School of Engineering, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China

2. College of Mechanical Engineering and Mechanics, Ningbo University, Ningbo 315211, China

3. Faculty of Agricultural Engineering, Sindh Agricultural University, Tandojam 70060, Pakistan)

**Abstract:** To effectively improve the enzymatic hydrolysis rate of carbohydrates in lignocelluloses, the liquid ammonia treatment (LAT) was employed as pretreatment for *Miscanthus floridulus*. The pretreatment temperature  $T$ , *Miscanthus floridulus* moisture  $M$ , residence time  $t$  and the ratio of ammonia to biomass (dry basis)  $k$  were chosen as variable factors. In the experimental ranges of  $T$  (70 ~ 170  $^\circ\text{C}$ ),  $M$  (20% ~ 200%),  $t$  (5 ~ 30 min) and  $k$  (0.5 ~ 5.0), the influences of different variable factors on enzymatic hydrolysis of *Miscanthus floridulus* were investigated. The chemical composition analysis showed that the chemical constitution of *Miscanthus floridulus* was close to *Saccharum arundinaceum* and *Miscanthus sinensis*, and it could be a prior species of plant energy. The pretreatment methods and effects of these biomasses could be used as reference for each other. The parameter optimization results show that the optimal LAT pretreatment conditions for *Miscanthus floridulus* were 130 $^\circ\text{C}$ , 80% moisture content, 10 min residence time and 2.0 ammonia to biomass ratio. Enzymatic hydrolysis using cocktail enzymes including cellulase,  $\beta$ -glucosidase and xylanase for 72 h after pretreatment under optimal conditions, the glucan and xylan hydrolysis rates of LAT-treated *Miscanthus floridulus* achieved 72.1% and 82.5%, which were 3.3-fold and 4.3-fold than those of untreated biomass respectively. The total fermentable monosaccharides after pretreatment under optimal conditions following enzymatic hydrolysis was 55.8 g per 100 g of dry raw material. Compared with untreated substrates, it was about 3.65-fold in sugar yield for LAT-treated substrates. As a result, the LAT process significantly reduced the recalcitrance of *Miscanthus floridulus* and facilitated biomass conversion to fermentable sugars.

**Key words:** *Miscanthus floridulus*; pretreatment; liquid ammonia; enzymatic hydrolysis

收稿日期: 2016-01-19 修回日期: 2016-02-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(31500491)和浙江农林大学生物质利用研究中心预研项目(2013SWZ03)

作者简介: 彭何欢(1969—),男,高级讲师,主要从事生物质能源转换技术与利用研究,E-mail: peng6907hh@163.com

通信作者: 赵超(1980—),男,讲师,博士,主要从事生物质能源转换技术与利用研究,E-mail: zhaochao@zafu.edu.cn

## 引言

五节芒 (*Miscanthus floridulus*) 是多年生芒属植物,其生长适应性强、产量高,广泛分布在我国热带、温带及其之间的广大区域,年最高产量可达  $49.0 \text{ t/hm}^2$ <sup>[1]</sup>。其生长原理采用  $C_4$  光合作用路径,比采用  $C_3$  能量获取方式生长的草本植物具有更高的光合作用效率与固碳能力。加之其种植成本较低,使其成为重要的能源植物优先品种。

各种草木本原料作为生物质能源利用的前提是预先降低其抗水解屏障,提高其酶解单糖的产量<sup>[2]</sup>,以进一步发酵产乙醇,或合成各种工业产品<sup>[3-5]</sup>。木质纤维素原料转化为纤维素乙醇需要经过预处理、酶解、发酵等关键技术环节。预处理是降解木质纤维原料高分子结构和提升酶解单糖得率的有效手段,因此成为生物质资源转化为能源的关键技术之一<sup>[6-8]</sup>。目前常用的预处理方法主要有酸预处理、碱预处理、热水预处理和蒸汽爆破法预处理等,针对不同的植物品种,其处理效果不一。研究表明,在碱预处理中,以氨为介质处理各种草本类原料具有较高的酶解得率。根据其处理工艺的不同,主要有氨纤维膨胀法 (Ammonia fiber explosion, AFEX)、氨循环渗透法 (Ammonia recycle percolation, ARP)、氨水浸泡法 (Soaking in aqueous ammonia, SAA) 和低水分液氨法 (Low moisture anhydrous ammonia, LMAA) 等<sup>[9-13]</sup>。AFEX 预处理法就是用一定温度 ( $70 \sim 150^\circ\text{C}$ ) 和高压 ( $1.4 \sim 2.1 \text{ MPa}$ ) 下的液态无水氨处理生物质 10 min 后再快速泄压,现已被应用于玉米秸秆、柳枝稷等的研究之中,但其工艺控制较难、对设备要求高,不适合常规工业化用途<sup>[14-15]</sup>。

液氨处理法 (Liquid ammonia treatment, LAT) 是在 AFEX 的基础上作了改进,即提高了预处理温度范围,去掉了爆破工艺,将氨的快速释放改为缓慢释放,降低了工艺控制难度与处理成本<sup>[16]</sup>。本课题组在前期研究中,曾采用液氨预处理能源植物斑茅,结果表明在纤维素酶添加量为  $15 \text{ FPU/g}$  (当量葡聚糖)、预处理原料含水率为 80%、预处理温度为  $130^\circ\text{C}$ 、预处理驻留时间为 10 min、液氨与生物质的质量比例为 2.0 时,葡聚糖和木聚糖的总转化率分别为 69.34% 和 82.60%,相比于未预处理的原料分别提高了 573% 和 1056%,单糖产量提高 8 倍<sup>[16]</sup>。但斑茅是禾本科甘蔗属多年生、密丛高大草本植物,因其年产量较低、取材不便等因素难以作为能源优选品种。本文以适应性更强、产量更高、固碳能力更强的五节芒为研究对象,并通过预处理温度、含水

率、驻留时间和液氨用量比等关键因素的选取及工艺参数的优化,分析上述因素及取值对五节芒酶解糖化效果的影响,为能源植物预处理工艺的选择提供参考依据。

## 1 试验材料与与方法

### 1.1 试验材料

试验所使用的五节芒、芒、斑茅及玉米秸秆均采自浙江省临安市 (北纬  $30.23^\circ$ 、东经  $119.72^\circ$ ), 采收期为 2012 年 12 月初,生长周期约为 1 年。选用植株的地上部分作为试验材料,收割取材后,先将其切割成  $1 \sim 2 \text{ cm}$  的长条状,后置于烘箱,在  $40^\circ\text{C}$  恒温条件下干燥至含水率小于 15%,继而用粉碎机将其粉碎,过 100 目筛。并根据试验设计确定的不同含水率,分别用塑料袋密封,置于  $-20^\circ\text{C}$  冷藏柜内冷藏备用。

试验设备:高压反应釜 (GCF 型,大连自控设备厂)、高精度电子天平 (精度  $0.0001 \text{ g}$ ,梅特勒-托利多仪器上海有限公司)、电热恒温鼓风干燥箱 (101-2A 型,上海东星建材试验设备有限公司)、抽滤瓶、滤纸及常规化学实验室仪器。

试验试剂:葡萄糖、木糖 (Sigma - Aldrich 公司)、纤维素酶、 $\beta$ -葡萄糖苷酶 (诺维信 (中国) 有限公司提供)、木聚糖酶 (山东泽生生物科技有限公司)、氨、硫酸等。以上试剂均为分析纯。

### 1.2 试验方法

参照美国国家可再生能源实验室 NREL 制定的 LAP 试验规程<sup>[17]</sup>,单糖的检测方法采用高效液相色谱 (High performance liquid chromatography, HPLC) 法,因考虑到设备的可操作性、试验结果的精度及试验的可重复性等因素,特在试验的过程中作了如下改进:首先采用天平称量的方法,使得氨用量更为精确,其次当驻留时间大于 15 min 时,预处理时间从低于设定温度  $5^\circ\text{C}$  开始计时,使得在整个驻留时间内平均温度约等于试验所设定的温度,以保证试验的精度。

#### 1.2.1 组分分析

碳水化合物、酸不溶性木质素 (Klason 木质素) 分别采用 LAP002 与 LAP003 进行测定<sup>[17]</sup>。具体过程如下:称量一定含水率并去除可溶抽提物的五节芒  $0.3 \text{ g}$ ,加入质量分数 72% 的  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液  $3 \text{ mL}$ ,在  $30^\circ\text{C}$  水浴环境中停留 2 h,加去离子水  $84 \text{ mL}$  (稀释至质量分数 4% 的稀  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液),放入灭菌锅中加热至  $121^\circ\text{C}$  停留 1 h。反应后的样品置于抽滤瓶之内,真空抽滤,将滤纸上的固形物在热风干燥箱内干燥至恒质量。用 HPLC 法测定各样品单糖的含量,

计算出葡聚糖、木聚糖含量,由滤纸上的固形物质量确定不溶性木质素含量。具体计算式为

$$F_g = \frac{C_g \times 87/1\ 000 \times 162/180}{0.3} \times 100\% \quad (1)$$

$$F_x = \frac{C_x \times 87/1\ 000 \times 132/150}{0.3} \times 100\% \quad (2)$$

式中  $C_g$ ——葡萄糖质量浓度, g/L

$C_x$ ——木糖质量浓度, g/L

$F_g$ ——葡聚糖质量分数, %

$F_x$ ——木聚糖质量分数, %

灰分采用 LAP005 法进行测定<sup>[17]</sup>。精确称取 1.0 g 已知含水率的样品原料,将其放入陶瓷坩埚,然后置入箱式电阻炉(YFX 7/10Q - GC 型,上海意丰)中,按照程序设计进行缓慢升温,在约 2 h 时间内升温至 575℃,并保持此温度 4 h。后关闭电源,坩埚放入干燥瓶内室温冷却至恒质量,称量冷却后的质量并计算灰分的含量。

$$Y = \frac{G}{G_1(1-M)} \times 100\% \quad (3)$$

式中  $Y$ ——灰分质量分数, %

$G$ ——灰渣质量, g

$G_1$ ——试样质量, g

$M$ ——样品含水率, %

### 1.2.2 LAT 预处理

LAT 预处理方法如下:根据试验设计的液氮用量比分别将定量的液氮注入采样钢瓶(BPA - 1000 型,抚顺博瑞特),将待处理的五节芒原料放入高压反应釜中,首先加热钢瓶至 50 ~ 60℃,增大瓶内压力,以便能更容易将氨注入高压反应釜,分别加热到试验设计相应温度,然后保留试验设计相应的时间,打开反应釜的开口,将氨缓慢释放。待温度降低,取出原料,并在室温下放置 12 h 以逸出原料中的氨。称量并测得含水率,计算预处理后生物质原料固体回收率  $S_r$ ,然后将处理后的原料放入 -20℃ 冷柜冷藏备用。

$$S_r = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (4)$$

式中  $S_r$ ——固体回收率, %

$m_1$ ——预处理后生物质质量(干基), g

$m_2$ ——预处理前生物质质量(干基), g

### 1.2.3 试验设计

参考 AFEX 法、ARP 法等的研究方法,选择温度、含水率、驻留时间、液氮用量比等 4 个因素作为 LAT 预处理的变量因素。其中,液氮用量比为液氮质量与五节芒原材料质量(干基)比。如表 1 所示,采用单因素分析法,进行试验和数据分析。

表 1 试验设计

Tab.1 Experimental design

温度/℃	干基含水率/%	驻留时间/min	液氮用量比
70	20	5	0.5
90	40	10	1.0
110	60	15	2.0
130	80	20	3.0
150	100	30	5.0
170	150		
	200		

### 1.2.4 酶解

酶解方法参照 LAP009 进行<sup>[17]</sup>,考虑到多次取样会导致酶解液减少而影响酶解效果,故将酶解取液 10 mL 改进为 15 mL。具体过程如下:精确称取 0.15 g 当量葡聚糖的五节芒放入 20 mL 酶解瓶,依次加入蒸馏水、柠檬酸钠缓冲溶液(平衡后 pH 值为 4.8)、抗生素(四环素和环己酰亚胺),振荡培养 1 h 后添加纤维素酶、β-葡萄糖苷酶和木聚糖酶,其中纤维素酶的添加量为 15 FPU/g(当量葡聚糖),β-葡萄糖苷酶的添加量为 64 CBU/g(当量葡聚糖),木聚糖酶添加量为 1 000 IU/g(当量葡聚糖),酶解温度 50℃,恒温孵育器转速 150 r/min,酶解取样时间分别为 24 h、72 h。

取样:取 1 mL 酶解液样放入离心管,在加热器(温度 99℃)上加热 20 min,使酶蛋白变性失效,继而放入 -20℃ 冷柜冷却 5 min,然后放入离心机(艾本德 5424 型,转速 14 500 r/min)离心 5 min,再经 0.22 μm 一次性针头过滤器过滤(聚醚砜膜)后转入 HPLC 样品瓶,放于 -20℃ 冷柜内保存,用于后续 HPLC 的分析。

### 1.2.5 单糖的测定

酸解液与酶解液中的单糖定量分析采用 HPLC 法,色谱仪为 Agilent Technologies 1200 系列,采用 Bio-Rad 公司的 HPX - 87H 色谱柱,流动相为 0.005 mol/L 稀硫酸,流速为 0.60 mL/min,柱温为 50℃。

### 1.2.6 酶解率

酶解率为酶解液中获得单糖量与原料中理论最高可得单糖含量之比,其中理论含糖量根据原材料的组分分析获得。总糖产量定义为 100 g 干基原材料经预处理与酶解后所获得葡萄糖和木糖的质量总和。

$$d_g = \frac{15/1\ 000 \times 162/180}{0.375 F_g/100} C_g \times 100\% \quad (5)$$

$$d_x = \frac{15/1\ 000 \times 132/150}{0.375 F_x/100} C_x \times 100\% \quad (6)$$

式中  $d_g$ ——葡聚糖酶解率, %

$d_x$ ——木聚糖酶解率, %

## 2 结果与讨论

### 2.1 原材料成分分析

五节芒、芒、斑茅和玉米秸秆 4 种原材料的组分分析结果如表 2 所示。由表 2 可知, 芒属和斑茅等能源植物的组分含量总体上相近, 而玉米秸秆的葡聚糖和木质素含量略低。在 4 种原材料中五节芒的可转化单糖总量最大, 其有效组分葡聚糖和木聚糖总量约占 66%, 即每 100 g 干基五节芒经预处理酶解后可得到可发酵单糖 73.0 g 左右。从原材料成分分析来看, 五节芒可以作为能源植物的优先品种。

表 2 生物质原材料成分分析(干基)

Tab. 2 Compositional analysis of biomass (dry basis)

组分	原材料种类			
	五节芒	芒	斑茅	玉米秸秆
葡聚糖	43.70 ± 0.23	42.29 ± 0.25	42.88 ± 1.58	39.6 ± 3.5
木聚糖	22.22 ± 0.04	21.75 ± 0.11	22.83 ± 0.14	22.1 ± 1.5
Klason				
木质素	22.97 ± 0.15	23.51 ± 0.13	24.50 ± 0.42	21.8 ± 1.9
灰分	6.67 ± 0.08	6.52 ± 0.12	5.19 ± 0.10	7.3 ± 0.5

### 2.2 温度对酶解率的影响

温度对 LAT 预处理五节芒聚糖酶解率的影响如图 1 所示(其他预处理条件: 含水率为 80%、预处理驻留时间为 10 min、液氨与原材料比例为 2.0, UT 代表未处理, 后文同)。由图可知, 随着温度  $T$  从 70℃ 升至 130℃, 葡聚糖和木聚糖酶解率同时增加。当预处理温度为 130℃ 时, 葡聚糖和木聚糖 72 h 酶解率达到最大值, 分别为 72.1% 和 82.5%, 分别是未处理样品的 3.3 倍和 4.3 倍。可见, 温度升高能有效地促进聚糖的转化, 特别是木聚糖的转化。温度的升高会加速生物质内化学键的断裂, 实现化学反应速度和程度同时增加, 以有利于后续酶解<sup>[18]</sup>。当温度高于 130℃ 时, 聚糖的转化率开始下降, 特别是葡聚糖, 这说明高温引起了半纤维素和葡聚糖的解聚。KIM 等<sup>[10]</sup> 和 BANERJEE 等<sup>[19]</sup> 得到了类似的结论。因此, 温度高于 130℃ 并不能增加收益反而增加了不必要的能耗。

### 2.3 含水率对酶解率的影响

含水率对 LAT 预处理五节芒聚糖酶解率的影响如图 2 所示(其他预处理条件: 温度为 130℃、预处理驻留时间为 10 min、液氨与原材料比例为 2.0), 试验中的含水率为水分与干基物料质量比, 即干基含水率, 结果表明: 聚糖酶解率在含水率为 80% ~ 150% 之间处于较高区域, 此时其总糖产量十分接近, 为了减少水耗和简化后续酶解发酵流程, 本

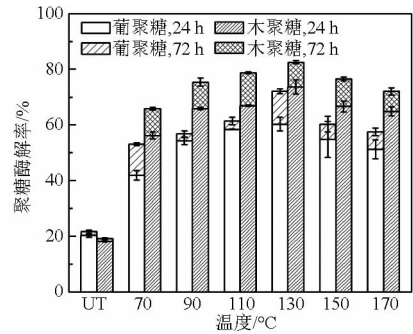


图 1 温度对五节芒葡聚糖/木聚糖的酶解率的影响  
Fig. 1 Effects of temperature on glucan/xylan conversion of LAT treated *Miscanthus floridulus*

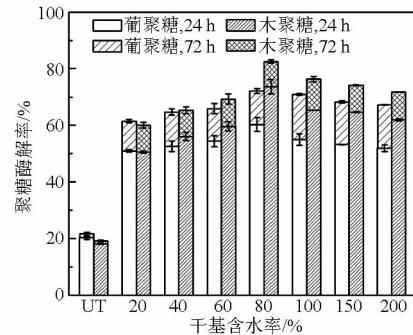


图 2 干基含水率对五节芒葡聚糖/木聚糖的酶解率的影响

Fig. 2 Effects of moisture content on glucan/xylan conversion of LAT treated *Miscanthus floridulus*

研究选择了 80% 的含水率为优化条件。YOO 等<sup>[12]</sup> 认为水在预处理过程中发挥重要作用, 生物质在水合作用下引起结晶纤维素结构肿胀进而增加酶的可及性。但 BALS 等<sup>[20]</sup> 研究发现: 在玉米秸秆低温长时的 AFEX 预处理中, 含水率对木聚糖没有酶促作用, 而对葡聚糖的酶促作用也十分有限。

### 2.4 驻留时间对酶解率的影响

驻留时间对 LAT 预处理五节芒聚糖酶解率的影响如图 3 所示(其他预处理条件: 温度为 130℃、含水率为 80%、液氨与原材料比例为 2.0)。当驻留时间小于 10 min 时, 聚糖酶解率随着驻留时间增加而升高; 当驻留时间在 10 ~ 15 min 时, 聚糖酶解率变化不大; 当驻留时间大于 15 min 时, 聚糖酶解率快速下降。ZHAO 等<sup>[21]</sup> 的研究认为, 液氨预处理驻留时间小于 15 min 有利于木质素的移除和聚糖的保留; 而驻留时间高于 20 min 时, 葡聚糖和木聚糖含量快速下降。综合考虑后, 在其他试验方案中选择了较短的预处理时间(10 min)。

### 2.5 液氨用量比对酶解率的影响

液氨用量比对 LAT 预处理五节芒聚糖酶解率的影响如图 4 所示(其他预处理条件: 温度为 130℃、含水率为 80%、预处理驻留时间为 10 min)。

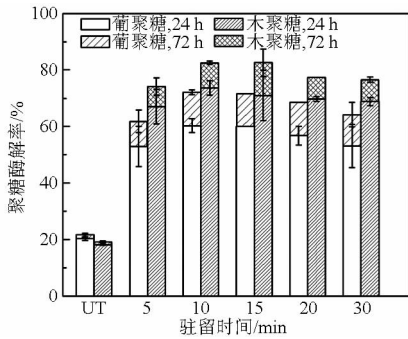


图3 滞留时间对五节芒葡聚糖/木聚糖的酶解率的影响

Fig. 3 Effects of residence time on glucan/xylan conversion of LAT treated *Miscanthus floridulus*

由图可知,随着液氨用量比从0.5增加至3.0时,葡聚糖和木聚糖酶解率同时增加。葡聚糖酶解率的最大值出现在液氨用量比为3.0时,此时葡聚糖酶解率从未处理的21.7%增加至75.8%;木聚糖酶解率的最大值出现在液氨用量比为2.0时,此时木聚糖酶解率从未处理的19.1%增加至82.5%。总糖产量在液氨用量比为3.0时最大,每100g干基五节芒经预处理酶解后可得到可发酵单糖57.4g,相较于液氨用量比2.0时的可发酵单糖55.8g,总糖产量仅提高2.86%。然而,高的氨用量比意味着大量化学剂的投入和预处理系统的高压操作,鉴于此,2.0的液氨用量比作为LAT预处理的优化条件。文献[22-23]指出农作物秸秆类最佳液氨用量比为1.0,竹子和斑茅最佳液氨用量比为2.0,可见五节芒的预处理条件在氨的用量上与斑茅和竹子类似。这表明优化条件与生物质种类具有较强的相关性:能源植物的预处理条件高于农作物秸秆。

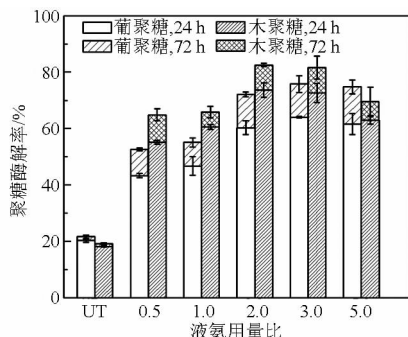


图4 液氨用量比对五节芒葡聚糖/木聚糖的酶解率的影响

Fig. 4 Effects of ammonia loading on glucan/xylan conversion of LAT treated *Miscanthus floridulus*

因氨能有效地打破木质素和半纤维素之间的碱不稳定的化学键;同时打破纤维素的氢键连接破坏其结晶结构;显著地增加了生物质的孔隙度,进而增大了生物质对酶的可及性,以提高酶解率<sup>[23-24]</sup>。采

用液氨预处理五节芒后,取得了一个较高的聚糖酶解率。CONDE-MEJÍA等<sup>[25]</sup>认为液氨预处理依赖于能量的消耗和氨的价格,因此,有效的氨回收过程会使这种方法更经济,更加实际可行。氨回收利用系统的实现可以大大降低预处理系统氨的使用量,目前,CAMPBELL等<sup>[26]</sup>已经对此系统的模型进行了相关的研究,有望进行后续的工业化生产。

## 2.6 质量平衡

为了追踪五节芒预处理及酶解过程中碳水化合物变化与降解,对未处理五节芒及经LAT预处理的样品进行了质量平衡,如图5所示。质量平衡的预处理条件为LAT预处理在试验范围内优化的结果,采用复合酶系酶解72h,酶添加量分别为:纤维素酶15 FPU/g(当量葡聚糖), $\beta$ -葡萄糖苷酶64 CBU/g(当量葡聚糖),木聚糖酶1000 IU/g(当量葡聚糖)。

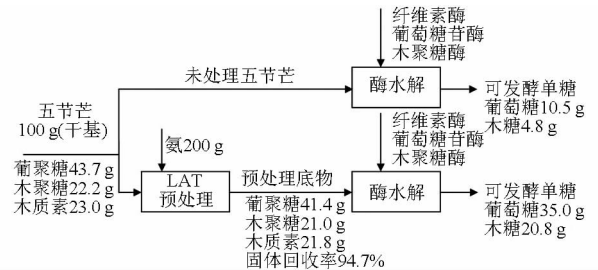


图5 五节芒未处理/LAT预处理及酶解质量平衡图  
Fig. 5 Overall mass balance for untreated/LAT treated and enzymatic hydrolysis of *Miscanthus floridulus*

由图5可知,100g干基五节芒经LAT预处理及酶解后可获得可发酵单糖55.8g,而未处理五节芒的可发酵单糖的获得量为15.3g,预处理后五节芒的总糖产量提高了2.65倍。此时,葡萄糖的产量从未处理的10.5g提高到35.0g;木糖的产量从未处理的4.8g提高到20.8g;葡萄糖和木糖的产量分别是未处理的3.33倍和4.33倍。

## 3 结论

(1)从化学成分分析可见,五节芒可以作为能源植物的优先品种,其与芒、斑茅等在化学组分上比较接近,在预处理方法与效果可以相互参考借鉴。

(2)采用LAT法在温度130℃、含水率80%、滞留时间10min、液氨用量比2.0的条件下预处理五节芒,是一个较优的工业化处理工艺。

(3)在上述条件下的预处理底物经复合酶系酶解72h后其葡聚糖和木聚糖酶解率达72.1%和82.5%,分别是未处理的3.3倍和4.3倍,100g干基原材料可获得可发酵单糖55.8g,是未经预处理样品酶解率的3.65倍。

## 参 考 文 献

- 1 周婧,李巧云,肖亮,等. 芒和五节芒在中国的潜在分布[J]. 植物生态学报, 2012,36(6): 504-510.  
ZHOU Jing, LI Qiaoyun, XIAO Liang, et al. Potential distribution of *Miscanthus sinensis* and *M. floridulus* in China [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2012,36(6): 504-510. (in Chinese)
- 2 HIMMEL M E, DING S, JOHNSON D K, et al. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production [J]. Science, 2007, 315(5813): 804-807.
- 3 SHAO Q, CHENG C, ONG R G, et al. Hydrogen peroxide presoaking of bamboo prior to AFEX pretreatment and impact on enzymatic conversion to fermentable sugars[J]. Bioresource Technology, 2013, 142: 26-31.
- 4 马欢,刘伟伟,刘萍,等.微波预处理对水稻秸秆糖化率与成分和结构的影响[J].农业机械学报, 2014,45(10):180-186.  
MA Huan, LIU Weiwei, LIU Ping, et al. Effects of microwave pretreatment on enzymatic saccharification and lignocellulosic structure of rice straw[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2014, 45(10):180-186. (in Chinese)
- 5 杨培周,姜绍通,潘丽军,等.玉米芯糖化微波与酸/碱联合预处理效果实验分析[J].农业机械学报, 2010,41(7): 101-104.  
YANG Peizhou, JIANG Shaotong, PAN Lijun, et al. Experiment analysis on pretreatment of corn cob saccharification by acid and alkali coordination with microwave[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010,41(7): 101-104. (in Chinese)
- 6 YANG B, WYMAN C E. Pretreatment: the key to unlocking low-cost cellulosic ethanol[J]. Biofuels Bioproducts and Biorefining, 2008, 2(1): 26-40.
- 7 ZHAO C, SHAO Q, MA Z, et al. Physical and chemical characterizations of corn stalk resulting from hydrogen peroxide presoaking prior to ammonia fiber expansion pretreatment[J]. Industrial Crops and Products, 2016, 83: 86-93.
- 8 ZHAO C, MA Z, SHAO Q, et al. Enzymatic hydrolysis and physiochemical characterization of corn leaf after H-AFEX pretreatment[J]. Energy & Fuels, 2016, 30(2): 1154-1161.
- 9 TEYMOURI F, LAUREANO-PEREZ L, ALIZADEH H, et al. Optimization of the ammonia fiber explosion (AFEX) treatment parameters for enzymatic hydrolysis of corn stover[J]. Bioresource Technology, 2005, 96(18): 2014-2018.
- 10 KIM T H, LEE Y Y. Pretreatment and fractionation of corn stover by ammonia recycle percolation process [J]. Bioresource Technology, 2005, 96(18): 2007-2013.
- 11 KIM T H, KIM J S, SUNWOO C, et al. Pretreatment of corn stover by aqueous ammonia [J]. Bioresource Technology, 2003, 90(1): 39-47.
- 12 YOO C G, NGHIEM N P, HICKS K B, et al. Pretreatment of corn stover using low-moisture anhydrous ammonia (LMAA) process [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(21): 10028-10034.
- 13 赵超,邵千钧,曹艳,等.液氨过氧化氢联合预处理对玉米芯酶解的影响[J].农业机械学报, 2015, 46(6): 193-200.  
ZHAO Chao, SHAO Qianjun, CAO Yan, et al. Effects of combined hydrogen peroxide and liquid ammonia treatment on enzymatic hydrolysis of corn cob [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(6): 193-200. (in Chinese)
- 14 GARLOCK R J, BALAN V, DALE B E. Optimization of AFEX pretreatment conditions and enzyme mixtures to maximize sugar release from upland and lowland switchgrass [J]. Bioresource Technology, 2012, 104: 757-768.
- 15 ZHAO C, SHAO Q, LI B, et al. Comparison of hydrogen peroxide and ammonia pretreatment of corn stover: solid recovery, composition changes, and enzymatic hydrolysis [J]. Energy & Fuels, 2014, 28(10): 6392-6397.
- 16 刘建军,彭何欢,赵相君,等.斑茅酶解转化可发酵单糖的液氨预处理及参数优化[J].生物工程学报, 2013,29(3): 233-241.  
LIU Jianjun, PENG Hehuan, ZHAO Xiangjun, et al. Optimization of liquid ammonia treatment for enzymatic hydrolysis of *Saccharum arundinaceum* to fermentable sugars [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2013,29(3): 233-241. (in Chinese)
- 17 NREL. Standard biomass analytical procedures (LAPs) [R]. NREL (National Renewable Energy Laboratory), 2010.
- 18 ZHANG C, PANG F, LI B, et al. Recycled aqueous ammonia expansion (RAAE) pretreatment to improve enzymatic digestibility of corn stalks [J]. Bioresource Technology, 2013, 138: 314-320.
- 19 BANERJEE G, CAR S, SCOTT-CRAIG J S, et al. Alkaline peroxide pretreatment of corn stover: effects of biomass, peroxide, and enzyme loading and composition on yields of glucose and xylose [J]. Biotechnology for Biofuels, 2011, 4(1): 16.
- 20 BALS B D, TEYMOURI F, CAMPBELL T, et al. Low temperature and long residence time AFEX pretreatment of corn stover [J]. Bioenergy Research, 2012, 5(2): 372-379.
- 21 ZHAO C, DING W, CHEN F, et al. Effects of compositional changes of AFEX-treated and H-AFEX-treated corn stover on enzymatic digestibility [J]. Bioresource Technology, 2014, 155: 34-40.
- 22 LI X A, KIM T H. Low-liquid pretreatment of corn stover with aqueous ammonia [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(7): 4779-4786.
- 23 MOSIER N, WYMAN C, DALE B, et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass [J]. Bioresource Technology, 2005, 96(6): 673-686.
- 24 CHUNDAWAT S P, BELLESIA G, UPPUGUNDLA N, et al. Restructuring the crystalline cellulose hydrogen bond network enhances its depolymerization rate [J]. Journal of the American Chemical Society, 2011, 133(29): 11163-11174.
- 25 CONDE-MEJÍA C, JIMÉNEZ-GUTIÉRREZ A, EL-HALWAGI M. A comparison of pretreatment methods for bioethanol production from lignocellulosic materials [J]. Process Safety and Environmental Protection, 2012, 90(3): 189-202.
- 26 CAMPBELL T J, TEYMOURI F, BALS B, et al. A packed bed ammonia fiber expansion reactor system for pretreatment of agricultural residues at regional depots [J]. Biofuels, 2013, 4(1): 23-34.