

3种低温等离子体技术对水稻秸秆糖化率的影响

刘伟伟¹, 程备久², 马欢^{2*}, 朱苏文², 吴跃进³, 任兆杏⁴, 杨智良¹

(1. 安徽农业大学工学院, 合肥 230036; 2. 安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230036;

3. 中国科学院合肥物质科学研究院技术生物与农业工程研究所, 合肥 230031; 4. 安徽循环经济技术工程院, 合肥 230031)

摘要: 为探寻环境友好的秸秆预处理方法, 提高秸秆等生物质资源的利用效率, 以水稻秸秆为原料, 采用3种不同的低温等离子体装置: 灭菌柜、介质阻止放电及射频电容耦合对其进行预处理, 分别对3种方法的处理条件进行优化, 并在此基础上考察预处理后秸秆对纤维素酶的吸附能力及纤维素和半纤维素的糖化效率。结果表明, 与未处理的秸秆对照相比, 3种方法均可以降低水稻秸秆对纤维素酶的吸附能力, 同时提高秸秆中纤维素和半纤维素的糖化率; 其中, 介质阻挡空气放电对秸秆的处理效果最好, 秸秆对酶的吸附率比未处理秸秆的对照组降低了67.6%, 而纤维素和半纤维素的糖化率分别比未处理秸秆的对照组提高了34.6%和44.7%。该研究为今后利用低温等离子体预处理秸秆相关技术的改进和深入研究提供了参考。

关键词: 水稻秸秆; 低温等离子体; 预处理; 糖化率

中图分类号: X712

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2014)06-1046-09

Effects of three low temperature plasma pretreatments on enzymatic saccharification of rice straw

LIU Weiwei¹, CHENG Beijiu², MA Huan², ZHU Suwen², WU Yuejin³, REN Zhaoxing⁴, YANG Zhiliang¹

(1. School of Engineering, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. School of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

3. Institute of Technical Biology & Agriculture Engineering, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031;

4. Anhui Academy of Engineering & Circular Economy, Hefei 230031)

Abstract: A key issue for utilization of lignocellulosic biomass is the disruption of complex matrix of polymers to liberate the monosaccharides. Thus, development of pretreatment methods that increase the material digestibility for the subsequent enzymatic hydrolysis becomes a focus in this research field. In order to enhance the enzymatic saccharification of rice straw, three low temperature plasma technologies including low temperature plasma sterilizer (LTPS), dielectric barrier discharge plasma (DBD), and capacitively coupled radio-frequency discharge plasma (CCRFD) were employed to pretreat rice straw. Firstly, the operating conditions for each of the three plasma technologies were investigated. The optimum parameters were found to be: (1) Low temperature plasma sterilizer: discharging with a power of 360 W and reaction time of 10 min; (2) Dielectric barrier discharge plasma: discharging in air with a voltage of 45 V and electric current of 3.53 A; (3) Capacitively coupled radio-frequency discharge plasma: discharging with a power of 10 W, reaction time of 5 min and discharge pressure of 20 Pa. Secondly, the effects of plasma pretreatments on enzyme adsorption ability and enzymatic saccharification of rice straw were investigated based on the optimum operating conditions. The results indicated that all of the three plasma pretreatments could reduce the enzyme adsorption and enhance enzymatic saccharification of rice straw, among which dielectric barrier discharge plasma had the highest efficiency. Compared to the untreated rice straw, dielectric barrier discharge plasma contributed to a 67.6% reduction of enzyme adsorption, and increases of 34.6% of cellulose saccharification and 44.7% of hemicelluloses saccharification, respectively. The effect of capacitively coupled radio-frequency discharge plasma on saccharification of rice straw was less than dielectric barrier discharge plasma, which led to a 58.4%

收稿日期: 2014-08-23

基金项目: 农业科技成果转化资金项目(2013C3008002)资助。

作者简介: 刘伟伟, 博士, 讲师。E-mail: liuww@ahau.edu.cn

* 通信作者: 马欢, 博士, 讲师。E-mail: mahuan@ahau.edu.cn

reduction of enzyme adsorption, and increases of 22.5% of cellulose saccharification and 19.2% of hemicelluloses saccharification, respectively. The cellulose and hemicelluloses saccharification of rice straw pretreated by low temperature plasma sterilizer were only increased by 12.1% and 14.2%, although the enzyme adsorption of it was reduced by 48.9%. These results indicated that low temperature plasma pretreatment may partially disrupt the lignin structure and expose more accessible surface area of cellulose to cellulase. Furthermore, lignin removal could also reduce unproductive binding of cellulase to lignin. Consequently, it improved enzymatic biocatalysis, increased the yields of desired products, and recycled more cellulase. Thus, the costs associated with enzymatic saccharification of biomass could be remarkably reduced. The present work may provide reference for further improvement of low temperature plasma technology in straw pretreatment.

Key words: rice straw; low temperature plasma; pretreatment; enzymatic saccharification

木质纤维素是自然界中最廉价、最丰富的可再生有机资源, 中国每年仅农作物秸秆产量就达到 7×10^9 t 以上^[1-2]。秸秆复杂刚性结构中包裹的有效糖分可以被转化成许多有价值的产物(乙醇, L-乳酸等), 因此秸秆的高效利用引起了广泛关注。然而, 破坏秸秆内聚合体的复杂结构并释放出更多的单糖, 是秸秆利用技术中一个首要的难题, 所以发展秸秆预处理技术, 提高后继酶水解效率是该领域研究的焦点^[2-4]。目前, 非催化汽爆、稀酸水解、湿氧化和氨化等方法已被广泛用于木质纤维素的预处理研究中^[5-8]。这些方法的中心思想均是去除和改变半纤维素及木质素, 降低纤维素的结晶度, 增加酶或微生物与秸秆接触的表面积^[9-10]。然而, 大部分的预处理方法具有以下缺点: 需要高温/高压, 能耗较高; 需要加入一定剂量的化学试剂, 会对后继酶或微生物发酵产生毒害作用; 而有毒物质的去除又会使得处理方法繁琐且成本高昂。因此, 探寻环境友好、且能应用于秸秆预处理的新技术, 是提高秸秆原料利用效率、实现秸秆资源多级利用的必经途径。

低温等离子是随着科技发展应运而生的一项重要技术, 可以使物质通过吸收电能进行气相干式化学反应, 具有节水省能、有效利用资源、有益环境保护的绿色化学特征^[11], 已广泛应用于材料、化工、纺织及环保等领域^[12-14]。其所含有的高能粒子, 一般具有约为几至几十电子伏特能量, 大于聚合物材料分子的结合键能(几至十几电子伏特), 完全可以使有机大分子链发生断裂^[15]。因此, 常被应用于材料的表面改性处理中, 具有广阔的发展前景。从物理过程看, 低温等离子体粒子可以将自身的能量传递给材料表面的原子或分子, 在表面产生刻蚀、解吸、溅射、掺杂等过程; 从化学过程看, 低温等离子体在材料表面产生自由基, 通过自身所具有的自由基离解能引起材料表面各种化学反应, 如脱氢、加成、氧化等^[16-18]。通过上述 2 种过程, 达到改善材料表面的亲水性、黏合性以及吸附性的目的。目

前, 低温等离子技术在秸秆转化中的相关研究主要集中在 2 方面^[19-23]: (1)通过低温等离子体改性秸秆表面, 提高秸秆胶合强度, 解决其在复合材料产业利用中胶合困难的问题。(2)利用低温等离子体, 进行生物质液化新技术研究。已有研究报道表明^[22]: 低温等离子体处理可以有效破坏秸秆表面的弱界面层, 并引入羟基、羰基和羧基等含氧官能团, 从而提高秸秆的表面活性。然而, 将低温等离子技术应用于秸秆预处理, 通过改善秸秆表面结构, 提高其后继酶糖化效率的研究, 目前还鲜有报道。

基于以上背景, 本研究根据放电原理的不同, 选用低温等离子灭菌柜、介质阻挡放电等离子体和射频电容耦合等离子体 3 种不同装置对秸秆进行预处理。分别对 3 种处理方法的条件和参数进行了优化, 并在此基础上考察了预处理后秸秆对纤维素酶的吸附能力以及秸秆中纤维素和半纤维素的糖化率, 旨在综合评价 3 种低温等离子装置对水稻秸秆的预处理效果, 以期为后继相关技术的改进和深入研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 低温等离子体装置及试验设计

3 种低温等离子装置均由中国科学院等离子体物理研究所低温等离子体应用研究室研制。

1.1.1 低温等离子灭菌柜 如图 1 所示, 低温等离子灭菌装置主体为两个不锈钢圆柱电极, 内径约 150 mm, 深度 300 mm。内电极接射频电源, 外电极接地, 由于内电极是网状结构的, 在两电极之间产生的等离子体通过扩散进入内电极腔体, 形成均匀的等离子体, 从而与样品支架台上的样品进行反应。放电条件: 采用 13.56 MHz 的射频(RF)电源, 功率 360 W。

试验设计: 通过单因子试验考察不同预处理时间(0~30 min)对水稻秸秆纤维素糖化率、半纤维素糖化率以及纤维素酶吸附能力的影响。

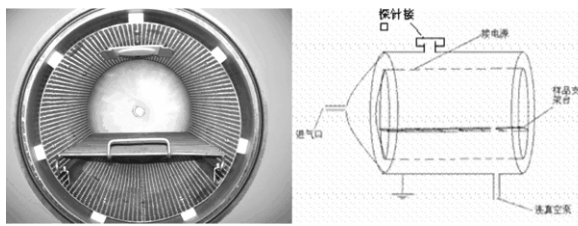


图 1 低温等离子灭菌装置

Figure 1 Low temperature plasma sterilizer

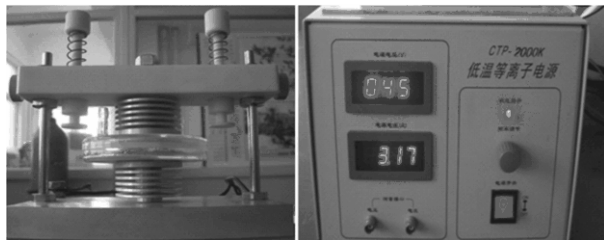


图 2 介质阻挡放电等离子装置

Figure 2 Dielectric barrier discharge plasma

1.1.2 介质阻挡放电等离子装置 (DBD) 图 2 为试验装置示意图, 采用介质阻挡放电形式, 放电在两个不锈钢平板电极间发生, 电极直径为 5 cm, 上、下电极分别覆盖直径为 10 和 9 cm 的石英玻璃培养皿作为阻挡介质, 介质厚度分别为 2 和 1 mm。试验中放电间距取为 4 mm。电压测量采用 Tek6015A 高压探头, 带宽 75 MHz, 分压比 1000 : 1; 电流测量取串联在回路中的阻值为 0.0256 Ω 的无感电阻两端的电压; 放电电量通过测量电路中电容值为 0.47 μF 两端的电压。测量的信号存储到二通道的 Tektronix TDS 3032B 数字示波器中, 其带宽 300 MHz, 采样频率为 2.5 GHz。放电条件: 电源为 μs 级中频谐振高压电源, 输出电压峰值最高 30 kV; 频率范围 42~70 kHz, 试验中电源频率设定为 60 kHz; 采用多种气体放电, 包括: 空气、氮气、氦气、氩气以及氦气和氧气的混合气 (流量比为 500 mL/min : 16 mL/min)。不同气体放电时的最佳电压和电流见表 1。

试验设计: (1) 根据表 1 中气体的放电电压和电流, 考察上述 5 种不同气体在相同的放电时间下 (10 min) 对水稻秸秆预处理效果的影响。(2) 基于 1) 获得最佳放电气体, 通过单因素试验考察不同放电时间 (0~30 min) 对秸秆预处理效果的影响。

1.1.3 射频电容耦合等离子体 (CCRFD) 如图 3 所示, 试验装置主要由供气系统、真空系统、电源系统以及反应室等部分组成。在该试验装置上, 真空泵可使反应室达到 2 Pa 的本底真空。反应室呈圆

柱形, 直径为 20 cm, 高为 15 cm, 主体由不锈钢制成。在反应室正面有一个活动的样品窗口兼石英玻璃制成的观察窗口。试验中样品通过样品窗口进出反应室, 通过观察窗口观察反应室中的等离子体状态以及获取等离子体放电过程中的光谱信息。反应室内部有两块平行不锈钢板, 它们为等离子体放电时的上下极板。上极板直径为 9 cm, 试验时接射频电源; 其内部中空, 试验中通入冷却水对其进行水冷。下极板直径 10 cm, 同反应室外壳一起接地。上下两极板之间的距离一直保持在 5 cm。放电条件: 电源系统为 13.56 MHz 射频电源; 电源功率可调为 0~30 W。

表 1 不同气体放电的最佳电压和电流

Table 1 Optimum gas discharging electric voltage and current

放电气体 Discharging gas	电压 U/V	电流 I/A
空气 Air	45	3.53
氮气 Nitrogen	45	3.53
氦气 Argon	45	1.60
氩气 Helium	45	1.36
氦气/氧气 Helium/Oxygen	45	1.36

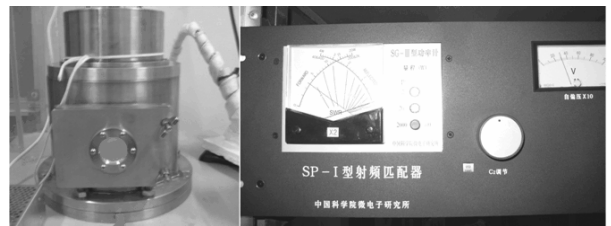


图 3 射频电容耦合等离子装置

Figure 3 Capacitively coupled radio-frequency plasma

试验设计: (1) 在放电电压 20 Pa, 放电时间 10 min 的条件下, 考察放电功率 (0~30 W) 对水稻秸秆预处理效果的影响。(2) 基于 (1) 中获得的最佳放电功率, 通过单因素试验考察不同放电时间 (0~30 min) 对秸秆预处理效果的影响。

1.2 试验原料

农业废弃物—水稻秸秆取自本试验室试验田 (2012 年 10 月收割后), 秸秆收集后在室外晾干, 粉碎至 20~40 目, 常温下密封保存。表 2 为水稻秸秆的组成成份。固体质量分数为 94.6%, 其中 70.1% 为中性洗涤纤维, 纤维素、半纤维素和木质素的质量分数分别为总固体的 33.4%、16.2%和 8.9%。

1.3 试验方法

1.3.1 低温等离子处理秸秆 秸秆分别在上述 3 种低温等离子装置中进行预处理。利用单因子试验研

究每种装置不同的操作条件对秸秆后继糖化率的影响。分别称取 1.0 g 秸秆粉, 平铺于直径为 10 cm 的石英玻璃培养皿中, 放置在反应腔内, 反应结束后, 直接将各组样品进行下一步酶解试验。每组试验 3 个平行。

表 2 水稻秸秆化学成分 (以干物质计算)

Table 2 Chemical composition (calculated by dry weight) of rice straw

成分 Composition	质量分数/% Content
水分 Moisture	5.4±0.2
干物质量 Total solids	94.6±0.2
挥发性物质含量 Volatile solids	83.8±0.2
灰分 Ash	16.2±0.2
纤维素 Cellulose	33.4±0.9
半纤维素 Hemicellulose	16.2±0.2
酸溶木质素 Acid-soluble lignin	2.1±0.0
酸不溶木质素 Acid-insoluble lignin	6.8±0.8

1.3.2 秸秆的纤维素酶水解 纤维素酶是由广州东莞高宝生物技术有限公司惠赠的李氏木酶纤维素酶液 (高宝纤维素酶)。该酶葡萄糖内切酶 (CMC 糖化酶) 活力、滤纸酶活力、纤维二糖酶活力和半纤维素酶活力分别为 $5.82 \times 10^4 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $826 \text{ FP U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $9.1 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $285 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。酶解试验在 100 mL 的锥形瓶中进行, 由 1.0 g 秸秆、600 μL 纤维素酶液和 20 mL 醋酸缓冲溶液 (pH 4.8) 组成。其中, 缓冲溶液中添加 40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 四环素类抗生素和 30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 放线菌酮以防止微生物的污染。混合物放置气浴摇床中 40°C 酶解, 摇床转速为 $110 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。酶解 100 h 后, 样品收集并离心用于糖含量分析。每组试验 3 个平行, 以未经低温等离子体预处理的水稻秸秆为对照。

1.3.3 纤维素酶吸附试验 将秸秆样品称量并一次加入醋酸缓冲溶液和纤维素酶液, 放入 100 mL 锥形瓶中于气浴摇床中 40°C 吸附, 摇床转速为 $110 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。以不加入秸秆样品的为对照。培养 90 min 后^[24-25], 取样并于 $15000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 并测定上清液中葡萄糖内切酶酶活。每组试验 3 个平行。

1.4 分析测试及计算方法

葡萄糖浓度由 SBA-40C 生物传感器 (山东省科学院生物研究所) 进行分析, 将收集到的上清液稀释后用针管吸出 25 μL , 注入传感器中即可。木糖含量利用间苯三酚法测定^[26]。葡萄糖内切酶 (CMC 糖化酶) 活力测定按照 Mandels 的方法^[27]。

分别在葡萄糖和木糖产量的基础上, 计算秸秆

的纤维素糖化率 (CS) 和半纤维素糖化率 (HS)。CS 是指生物质 (未处理或处理过的水稻秸秆) 所含纤维素中被消化纤维素所占的总量。纤维素在水解过程中因水的加入而产生的误差, 可以通过葡萄糖量乘以系数 0.9 进行修正^[28]。具体见下式:

$$\text{CS}\% = \frac{\text{葡萄糖量 (g)} \times 0.9}{\text{秸秆中纤维素的量 (g)}} \times 100\%$$

尽管半纤维素是由多种糖组成的聚糖混合物, 但因木糖是水稻秸秆半纤维素中最重要的糖, 也是含量较高的糖^[29], 因此水稻秸秆的 HS 由木糖进行计算, 计算公式如下^[30-31]:

$$\text{HS}\% = \frac{\text{木糖的量 (g)} \times 0.88}{\text{秸秆中半纤维素的量 (g)}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 低温等离子灭菌柜处理秸秆的条件优化

低温等离子灭菌柜的主要特点是能够大批量处理样品, 但由于是在低气压下放电, 因此需要抽真空。内外两电极之间产生的等离子体, 通过网状的内电极扩散进入反应腔, 形成均匀的等离子体, 与样品支架台上的秸秆进行反应。由于电源功率不可调, 固定为 360 W, 因此只能通过调节放电时间对处理效果进行研究。

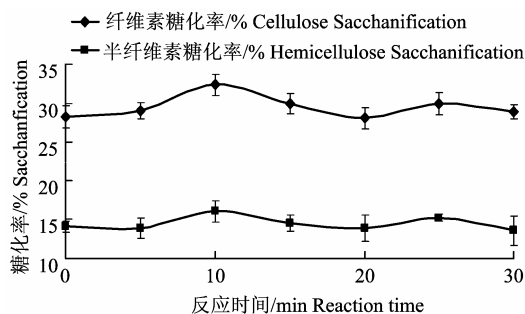


图 4 低温等离子灭菌柜处理时间对秸秆糖化率的影响
Figure 4 Effect of reaction time on straw saccharification in low temperature plasma sterilizer

图 4 为反应时间对秸秆糖化率的影响, 可以看出无论纤维素糖化率还是半纤维素糖化率, 均随放电时间的变化而呈现出马鞍形曲线, 在 10 min 时两者均达到最大值, 而 25 min 时又达到第 2 个相对较小的波峰。有关研究表明处于非热力学平衡状态下的低温等离子体中, 电子具有较高能量, 其加热和刻蚀作用可以断裂材料表面分子的化学键, 提高其他粒子的化学反应活性^[32]。同时低温等离子体可以发射出红外光、可见光和紫外光^[33], 尤其是紫外光的比例大、强度高, 被秸秆吸收后容易在表面产生

自由基，从而减弱和破坏木质纤维素微纤维之间的连接。因此，在一定的反应时间内，低温等离子体的处理有利于秸秆表面结构的破坏，增加秸秆酶解的糖化率。然而，随着反应时间的增加，自由基引起的一系列反应继续进行，而纤维素分子之间也不可避免的产生交联甚至聚合反应，因此反而增加了纤维素酶解的难度，出现图中的波谷。

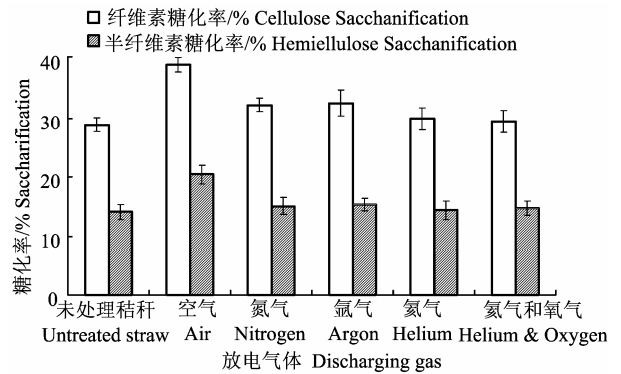
2.2 介质阻挡放电等离子体处理秸秆的条件优化

与电子束辐射相比，介质阻挡放电设备结构简单、系统造价低，且由于电极间绝缘介质的存在，避免了电晕放电过程中易出现的局部放电或弧光放电，系统可靠性强^[34-35]。本研究使用的介质阻挡放电等离子体装置可以适用于多种气体的放电，且放电时不需要抽真空，方便适用。可以通过选择适合的气体和反应时间，从而考察秸秆的处理效果。

本研究分别选择空气、氮气、氦气、氩气以及氮气和氧气的混合气体作为放电气体对秸秆进行预处理。图 5 为上述各气体放电 10 min 对秸秆酶解的效果，可以看出各种气体放电处理，对秸秆的糖化率均比对照高，其中空气处理的效果最佳，尤其是对半纤维素的糖化率影响较大。氮气和氩气相当，尽管在试验过程中可以观察到氦气的放电是最均匀的，但是其对秸秆的处理效果相对较差。利用 Excel 软件中单因素方差分析命令，分别对未处理秸秆和不同气体处理的秸秆组中数据进行方差分析，结果表明：空气组、氮气组以及氩气组纤维素糖化率及半纤维素糖化率 F 统计量值分别为 2901.34 和 1900.01、331.9 和 34.62、484.90 和 73.02，均大于临界值 $F_{0.05} = 7.71$ 和 $F_{0.01} = 21.20$ ，说明以空气、氮气和氩气作为放电气体进行预处理，秸秆的纤维素糖化率和半纤维素糖化率均与未处理的对照组有极显著性差异。此外，氦气组和混合气体组（氮气和氩气）的纤维素糖化率与半纤维素糖化率 F 统计量值分别为 28.20 和 3.10、7.51 和 19.96。说明氦气对纤维素糖化率具有极显著影响，而混合气体组对半纤维素糖化率具有显著影响。通过对不同放电气体各组之间的方差分析表明：只有空气组与其他各组中的纤维素糖化率及半纤维素糖化率均存在极显著性差异。这进一步说明，相对于其他气体，以空气作为放电气体能够极显著的改善水稻秸秆的预处理效果，使得秸秆纤维素糖化率及半纤维素糖化率得到明显提高。

以空气为载体进行放电，其放电时间对秸秆的处理效果的影响见图 6。与低温等离子体灭菌柜的处

理情况相似，当空气放电对秸秆处理 10 min 时，秸秆的纤维素和半纤维素糖化率均最好，分别为 38.9% 和 20.4%。



预处理的各组放电电压均为 45 V，电流分别为：空气 3.53 A，氮气 3.53 A，氦气 1.60 A，氩气 1.36 A，氦气/氧气 1.36 A

Discharge voltages of different groups in pretreatments were of 45 V, and electric current were: air, 3.53; nitrogen, 3.53; argon, 1.60A; helium, 1.36; helium/oxygen, 1.36

图 5 介质阻挡放电等离子体中不同放电气体对秸秆糖化率的影响

Figure 5 Effects of different discharging gases on straw saccharification in dielectric barrier discharge plasma

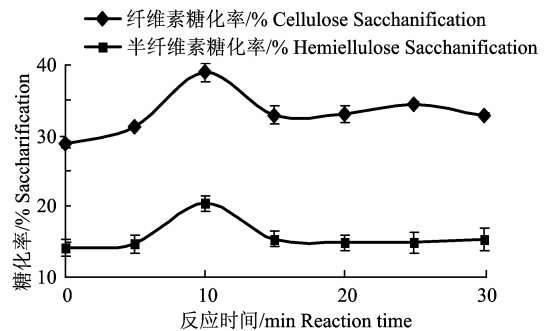


图 6 介质阻挡放电等离子体反应时间对秸秆糖化率影响

Figure 6 Effect of reaction time on straw saccharification in dielectric barrier discharge plasma

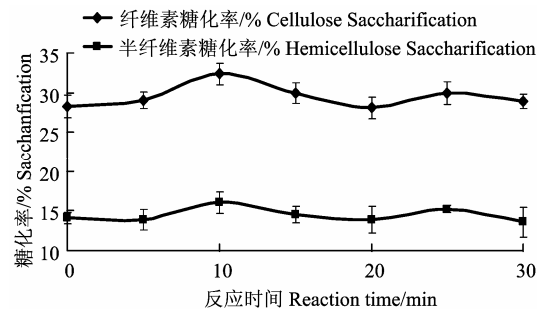


图 7 射频电容放电等离子体放电功率对秸秆糖化率影响

Figure 7 Effect of discharging power on straw saccharification in capacitively coupled radio-frequency discharge

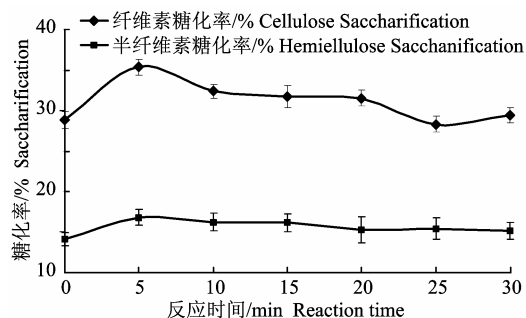


图 8 射频电容放电等离子体放电时间对秸秆糖化率影响
Figure 8 Effect of reaction time on straw saccharification in capacitively coupled radio-frequency discharge

2.3 射频电容放电等离子体处理秸秆的条件优化

射频电容放电等离子体装置相对复杂, 气体放电在低压下进行, 因此需要真空处理。与低温等离子灭菌柜不同的是, 放电过程中的离子及所发射的光是直接作用于样品表面, 而不需要经过扩散, 因此, 放电区域内的活性粒子密度相对较高。可以通过调控放电功率和放电时间对样品进行处理。

图 7 是放电气压在 20 Pa, 放电时间 10 min 的条件下, 不同放电功率对秸秆处理效果的影响。可以看出随着放电功率的增大, 秸秆的糖化率也有所提高, 当功率达到 10 W 时达到最大, 而继续增加功率, 糖化率却呈现出下降的趋势。同样如图 8 所示, 在放电气压 20 Pa, 放电功率 10 W 时, 处理 5 min 的秸秆糖化率最高, 继续增加时间反而降低了秸秆的酶解效果。这主要是因为随着功率和反应时间的增加, 输入反应器的能量增大, 产生的高能电子和自由基增多, 放电区域内活性粒子的密度提高, 这些活性组分在电场作用下定向迁移时增大了与秸秆的碰撞几率, 因此反应腔内粒子的刻蚀等物理作用以及高能粒子对表面分子化学键的断链等化学作用加强, 使得秸秆表面覆盖的蜡质甚至木质纤维素本身的复杂结构在某种程度上得以破坏, 增加了纤维素酶与纤维的接触面积, 促进糖化率的提高。然而有关研究表明^[36], 随着处理功率的增加, 高能粒子具有很高的化学活性, 可以参加各种化学反应, 除直接促使样品表面发生聚合外, 还可以使表面分子之间形成交联, 从而增加样品的机械和物化性能。因此在本研究中, 随着功率和反应时间的增加, 反而得到了较低的秸秆糖化率。

2.4 3 种低温等离子体处理前后秸秆对纤维素酶吸附能力的变化及糖化率比较

在生物质资源的利用, 尤其是燃料乙醇的生产过程中, 纤维素酶的成本十分高昂, 而预处理技术

的好坏直接影响到后继酶的催化效率、用量以及回收问题^[26]。因此, 综合考虑目标产物的得率和纤维素酶的用量, 是评估预处理方法可行性的一个重要的指标。酶解体系液相中葡萄糖内切酶(CMC 糖化酶)酶活力的变化可以用于评估秸秆吸附纤维素酶的能力^[24,27]。基于此, 本研究考察了预处理前后秸秆对纤维素酶的吸附率以及酶解后样品纤维素、半纤维素糖化率, 并共同罗列在图 9 中进行比较。秸秆的 3 种预处理均在 3 种低温等离子体的优化条件下进行, 即: 1) 低温等离子体灭菌柜电源功率 360 W, 处理 10 min; 2) 介质阻挡放电, 以空气为放电气体, 电压 45 V, 电流 3.53A, 处理 10 min; 3) 射频电容放电, 放电气压 20 Pa, 放电功率 10 W, 处理 5 min。吸附率、纤维素糖化率及半纤维素糖化率的测定结果为 3 组平行的平均值。

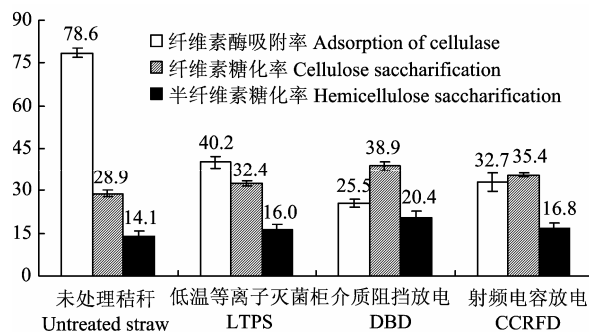


图 9 3 种低温等离子体对水稻秸秆吸附纤维素酶能力及糖化率的影响

Figure 9 Effect of plasma pretreatments on enzyme adsorption ability of rice straw

分析图 9 数据可以得知, 酶解 90 min 后, 未经预处理的秸秆对纤维素酶的吸附率为 78.6%, 远远高于低温等离子处理后的秸秆; 而其纤维素和半纤维素的糖化率却均低于等离子处理后的秸秆, 分别为 28.9%和 14.1%。3 种低温等离子体装置中, 经介质阻挡放电预处理的秸秆对纤维素酶的吸附率最低(仅为 25.5%), 比对照降低了 67.6%; 而其纤维素和半纤维素糖化率却最高, 分别达到了 38.9%和 20.4%, 分别比对照提高了 34.6%和 44.7%。射频电容放电预处理的效果次之, 其秸秆对纤维素酶的吸附率降低了 58.4%, 而纤维素和半纤维素糖化率分别提高了 22.5%和 19.1%; 低温等离子体灭菌柜处理效果一般, 纤维素糖化率和半纤维素糖化率只分别提高了 12.1%和 14.2%, 尽管其处理后的秸秆对酶的吸附降低了 48.9%。分别对未处理秸秆和 3 种等离子体处理的秸秆组中的数据进行分析, 结

果表明:纤维素酶吸附率、纤维素糖化率及半纤维素糖化率经低温等离子灭菌柜、介质阻挡放电和射频电容放电后 F 统计量值分别为 7973.22、561.80 和 177.05, 44748.02、4530.05 和 1009.83, 24876.64、1552.36 和 252.35, 均大于临界值 $F_{0.05} = 7.71$ 和 $F_{0.01} = 21.20$, 说明通过 3 种等离子体技术对水稻秸秆进行预处理, 均能够对秸秆的纤维素酶吸附能力、纤维素糖化率和半纤维素糖化率产生极显著的影响。此外, 对 3 组经预处理的秸秆之间进行方差分析得出: 除了射频电容放电和低温等离子体对秸秆半纤维素糖化率的影响存在显著性差异之外 (F 统计量值为 17.06), 其余各组之间均存在极显著性差异 (F 统计量值均远高于 $F_{0.01} = 21.20$)。综合图 9 试验结果可知, 相对于低温等离子灭菌柜和射频电容放电技术, 介质阻挡放电对水稻秸秆的预处理效果具有极显著的促进作用。

木质素是水稻秸秆的天然屏障, 不仅能够阻止纤维素酶和纤维素成分的有效结合, 而且其本身对纤维素酶具有很强的吸附能力, 降低了体系中纤维素酶的有效浓度^[10]。由图 9 可知, 3 种低温等离子体预处理方法均可以降低水稻秸秆对纤维素酶的吸附, 并提高纤维素和半纤维素的糖化率。其主要原因可能是: 3 种低温等离子体装置在预处理过程中产生的活性粒子(电子、光子、自由基等)可以通过轰击、刻蚀等作用破坏水稻秸秆表面的木质素、蜡质等天然抗降解屏障, 增加纤维素的可及度。因此, 经过预处理后的秸秆中木质素对纤维素酶的无效吸附减少, 同时木质素的破坏增加了纤维素与酶的接触面积, 导致水稻秸秆糖化率增加。

经过综合比较可以得知: 在 3 种等离子体装置中, 介质阻挡放电预处理后的秸秆不仅能够明显减少酶的吸附, 而且在很大程度上提高了纤维素酶的酶解效率, 这对于实际应用中酶的回收、用量以及成本都是有利的。造成以上现象的主要原因可能与不同的低温等离子体装置所产生的高能粒子密度和强度有关。介质阻挡放电所产生的粒子能够更有效的破坏秸秆表面木质素结构, 减少了木质素以及蜡质等提取物对纤维素酶的无效吸附, 使得更多的酶残留在溶液中。而低温等离子灭菌柜, 由于其所产生的离子是通过扩散的形式进入反应腔内, 因此作用于秸秆上的粒子密度和强度都相对较低, 处理效果一般。

3 讨论

在本研究考察的 3 种低温等离子体中, 介质阻

挡放电是通过绝缘介质插入放电空间的气体放电, 具有很高的击穿电场强度、高电子密度以及特殊的光、热、电、自溅射等物理化学过程。因此, 相对射频电容放电和低温等离子灭菌柜, 其对水稻秸秆表面木质纤维素结构的加热和刻蚀作用更加明显, 能够更有效的断裂秸秆表面分子的化学键; 通过减弱和破坏水稻秸秆表面的木质素、蜡质等结构, 减少此类秸秆对纤维素酶的无效吸附, 提高酶分子对纤维素的可及度以及水稻秸秆的糖化率。同时, 介质阻挡放电还具有设备结构简单、系统造价低、可靠性强、适用于多种气体放电、不需要抽真空及方便适用等特点, 具有较好的应用前景。与低温等离子灭菌柜不同, 射频电容放电在两电极之间产生的等离子体不需要通过扩散进入反应腔内再与秸秆上化学键反应, 其所产生的离子与所发射的光是直接作用于样品表面, 因此放电区域内的活性粒子密度、作用强度以及由此导致的秸秆糖化率都相对高于低温等离子灭菌柜。然而, 3 种低温等离子体技术对水稻秸秆的预处理作用机理还需要进一步通过秸秆结构成分、纤维素结晶区变化等方面的表征以及低温等离子体在线监测技术的完善等 2 方面进行深入的研究和验证。

此外, 改变和去除木质纤维素结构的天然屏障, 一直是生物质资源高效炼制研究领域的重点^[37]。由于低温等离子体中的绝大多数活性粒子能量高于生物质原料中常见的化学键键能^[38], 因此在合适的条件下, 其具有足够的能量断开生物质原料中的化学键。在生物质炼制领域具有广阔的应用前景。与微波纯水相预处理技术相比^[3], 介质阻挡放电预处理水稻秸秆具有以下优势: (1) 可以获得更高的纤维素糖化率(微波处理为 37.8%, 介质阻挡处理为 38.9%) 以及与微波处理效果相当的半纤维素糖化率(微波处理为 20.2%, 介质阻挡处理为 20.4%)。通过方差分析可知: 2 种方法对纤维素糖化率的影响具有极显著性差异 (F 统计量值为 25.13, 大于临界值 $F_{0.01} = 21.20$)。 (2) 介质阻挡放电能更有效减少秸秆对纤维素酶的吸附率(微波处理为 27.82%, 介质阻挡处理为 25.5%, 方差分析得到 F 统计量值为 199.01, 大于临界值 $F_{0.01} = 21.20$)。 (3) 介质阻挡放电技术具有反应速度快、温度低、能量高、低腐蚀性、低成本等一系列优点。

尽管如此, 目前利用低温等离子体对木质纤维素类原料进行预处理的研究还较少。相对于传统的化学酸碱处理法, 低温等离子体技术预处理秸秆的效果还有待进一步提高。因此, 针对木质纤维素原料

的结构特点, 选择合适的低温等离子技术, 并且设计结构和大小更为合理的低温等离子体处理装置; 或将低温等离子体预处理技术与其他生物质炼制技术相结合, 设计合理的工艺流程, 发挥该技术清洁、高能量反应的优势, 将成为今后主要的研究方向。

4 结论

本研究选择了 3 种不同的低温等离子装置对水稻秸秆进行预处理, 在对 3 种处理方法进行优化的基础上, 考察了预处理后秸秆对纤维素酶的吸附能力以及纤维素和半纤维素的糖化率, 并将结果与未经处理的秸秆进行比较, 主要结论如下:

(1) 3 种低温等离子装置均可以显著降低水稻秸秆对纤维素酶的吸附能力 (比未处理秸秆的对照组降低 48.9~67.6%), 同时明显提高秸秆中纤维素糖化率 (比未处理秸秆的对照组增加了 12.1~34.6%) 和半纤维素糖化率 (比未处理秸秆的对照组增加了 14.2~44.7%)。

(2) 介质阻挡空气放电对秸秆的处理效果最好, 能够有效减少秸秆对酶的吸附 (比对照降低了 67.6%), 同时极显著的提高纤维素酶的酶解效率, 纤维素和半纤维素糖化率分别比对照提高了 34.6% 和 44.3%。射频电容放电处理的效果次之, 低温等离子灭菌柜处理效果一般。

参考文献:

[1] 毕于运, 高春雨, 王亚静, 等. 中国秸秆资源数量估算[J]. 农业工程学报, 2009, 25(12): 211-217.

[2] 刘伟伟, 马欢, 曹成茂, 等. 太阳能蒸汽爆破和微波预处理对玉米秸秆产沼气的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(22): 227-234.

[3] Ma H, Liu W W, Chen X, et al. Enhanced enzymatic saccharification of rice straw by microwave pretreatment[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100 (3): 1279-1284.

[4] Hendriks A, Zeeman G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100 (1): 10-18.

[5] 李刚, 李东亮, 王许涛, 等. 玉米秸秆蒸汽爆破用于厌氧发酵的技术评价[J]. 农业工程学报, 2011, 27(1): 286-290.

[6] Gu F, Wang W X, Jing L, et al. Effects of green liquor pretreatment on the chemical composition and enzymatic digestibility of rice straw[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 149: 375-382.

[7] Chiang K Y, Chien K L, Lu C H. Characterization and comparison of biomass produced from various sources: Suggestions for selection of pretreatment technologies in biomass-to-energy[J]. *Applied Energy*, 2012, 100: 164-171.

[8] Wyman C E, Dale B E, Elander R T, et al. Coordinated

development of leading biomass pretreatment technologies[J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96: 1959-1966.

[9] Hahn-Hägerdal B, Galbe M, Gorwa-Grauslund M F, et al. Bio-ethanol-the fuel of tomorrow from the residues of today[J]. *Trends Biotechnol*, 2006, 24: 549-556.

[10] Henning J, Jan B K, Claus F. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities [J]. *Biofuels Bioprod Bioref*, 2007(1): 119-134.

[11] Odeyemi F, Pekker M, Rabinovich A, et al. Low temperature plasma reforming of hydrocarbon fuels into hydrogen and carbon suboxide for energy generation without CO₂ emission[J]. *Ieee Transactions on Plasma Science*, 2012, 40(5): 1362-1370.

[12] 章蓉, 汤丽娟, 周晓燕, 等. 氧冷等离子体处理条件对杨木单板表面润湿性的影响[J]. 木材加工机械, 2010, 21(4): 25-27.

[13] Gu R, Yu J, Hu C, et al. Surface treatment of para-aramid fiber by argon dielectric barrier discharge plasma at atmospheric pressure[J]. *Applied Surface Science*, 2012, 258(24): 10168-10174.

[14] Jia C X, Chen P, Wang Q, et al. Wetting and adhesion behavior of armos fibers after dielectric barrier discharge plasma treatment[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2012, 125 (1): 433-438.

[15] Baltazary-Jimenez A, Bistriz M, Schulz E, et al. Atmospheric air pressure plasma treatment of lignocellulosic fibres: Impact on mechanical properties and adhesion to cellulose acetate butyrate[J]. *Composites Science and Technology*, 2008, 68: 215-227.

[16] Vel Leitner N K, Syoen G, Romat H, et al. Generation of active entities by the pulsed arc electrohydraulic discharge system and application to removal of atrazine[J]. *Water Res*, 2005 (39): 4705-4714.

[17] Kirkpatrick M J, Locke B R. Hydrogen, oxygen, and hydrogen peroxide formation in aqueous phase pulsed corona electrical discharge[J]. *Ind Eng Chem Res*, 2005 (44): 4243-4248.

[18] Turishchev S Y, Terekhov V A, Parinova E V. Surface modification and oxidation of Si wafers after low energy plasma treatment in hydrogen, helium and argon[J]. *Materials Processing*. 2013, 16 (6): 1377-1381.

[19] Tao K, Ohta N, Liu G Q. Plasma enhanced catalytic reforming of biomass tar model compound to syngas[J]. *Fuel*, 2013, 104: 53-57.

[20] Hrabovsky M, Hlina M, Konrad M, et al. Thermo-plasma gasification of biomass for fuel gas production[J]. *High Temperature Material Processes*. 2009, 13 (3): 299-313.

[21] Shie J L, Tsou F J, Lin K L, et al. Bioenergy and products from thermal pyrolysis of rice straw using plasma torch[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101 (2): 761-768.

[22] 王秋颖, 顾璠. 介质阻挡放电等离子体生物物质的液化[J]. 农业工程学报, 2010, 26(2): 290-294.

[23] 杨雪慧, 汤丽娟, 章蓉, 等. 农作物秸秆表面改性处理

- 的研究进展[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2013, 37(3): 157-161.
- [24] Zhou X H, Chen H Z, Li Z H. CMCase activity assay as a method for cellulose adsorption analysis[J]. *Enzyme and Microbial Technology*. 2004, 35: 455-459.
- [25] Kristensen J B, Borjesson J, Bruun M H, et al. Use of surface active additives in enzymatic hydrolysis of wheat straw lignocelluloses[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007, 40: 888-895.
- [26] Ashwell G. Determination of aldopentoses[J]. *Methods in Enzymology*, 1996, 8: 85-95.
- [27] Mandels M, Andreotti R, Roche C. Measurement of saccharifying cellulose[J]. *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, 1976, 6: 21-33.
- [28] Brown L, Torget R. Enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass[R]. National Renewable Energy Laboratory (NREL), Golden, CO. 1996.
- [29] Karimi K, Kheradmandinia S, Taherzadeh M J. Conversion of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis[J]. *Biomass Bioenergy*, 2006, 30: 247-253.
- [30] Sluiter A, Hames B, Ruiz R, et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass[R]. National Renewable Energy Laboratory (NREL), Golden, CO. 2012.
- [31] 秦伟军, 陈叶福, 赵换英, 等. 玉米芯碱液预处理条件优化[J]. *农业工程学报*, 2010, 26(4): 248-253.
- [32] Kogelschatz U. Filamentary and diffuse barrier discharges: Their history, discharge physics, and industrial applications[J]. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2003, 23: 1-46.
- [33] Shenton M J, Lovell-Hoare M C, Stevens G C. Adhesion enhancement of polymer surfaces by atmospheric plasma treatment[J]. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 2001, 34: 2754-2760.
- [34] Tu X, Whitehead J C. Plasma-catalytic dry reforming of methane in an atmospheric dielectric barrier discharge: Understanding the synergistic effect at low temperature[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2012, 125: 439-448.
- [35] Hong Y, Pan J, Lu N. Low temperature air plasma jet generated by syringe needle-ring electrodes dielectric barrier-discharge at atmospheric pressure[J]. *Thin Solid Films*, 2013, 548: 470-474.
- [36] 彭华峰, 汪少朋, 黄关葆. 低温等离子体处理纤维素纤维的机理和性能研究[J]. *化学工程师*, 2007, 146: 59-62.
- [37] 付小果, 陈洪章. 低温等离子体生物质炼制技术[J]. *生物工程学报*, 2014, 30(5): 1-10.
- [38] 孟月东, 钟少锋, 熊新阳. 低温等离子体技术应用研究进展[J]. *物理*, 2006, 35(2): 140-146.