

白腐真菌预处理对玉米秸秆厌氧发酵产甲烷影响实验*

柳珊^{1,2} 吴树彪¹ 张万钦¹ 庞昌乐¹ 邓宇² 董仁杰¹

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 农业部农村可再生能源开发利用重点实验室, 成都 610041)

摘要: 为研究真菌预处理秸秆的发酵产甲烷特性, 采用白腐真菌固态发酵对玉米秸秆进行预处理, 考察生物预处理对干黄和青贮玉米秸秆生物降解性及其厌氧发酵产甲烷性能的影响。真菌预处理 15 d 的干黄玉米秸秆纤维素、半纤维素和木质素降解率为 38.3%、42.2% 和 39.1%, 青贮玉米秸秆纤维素、半纤维素和木质素降解率分别为 9.9%、23.2% 和 15.2%, 且预处理的青贮和干黄玉米秸秆酶水解还原糖产量分别为 195.8 mg/g 和 67.7 mg/g, 表明预处理过程中干黄玉米秸秆的组分降解较多, 预处理后保留在青贮玉米秸秆中可利用组分多于干黄玉米秸秆。后续厌氧发酵实验结果表明预处理青贮玉米秸秆发酵 21 d 的 VS 产甲烷量为 215.5 mL/g, 相对于未处理青贮玉米秸秆提高 29.2%, 且占 60 d 总产甲烷量的 73.1%, 而预处理干黄玉米秸秆产气量未提高; 由此可见, 通过白腐真菌预处理可以提高青贮玉米秸秆的生物降解性, 进一步促进秸秆生物质转化为甲烷。

关键词: 玉米秸秆 厌氧发酵 预处理 白腐真菌

中图分类号: S216.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2013)S2-0124-06

Effect of White-rot Fungi Pretreatment on Methane Production from Anaerobic Digestion of Corn Stover

Liu Shan^{1,2} Wu Shubiao¹ Zhang Wanqin¹ Pang Changle¹ Deng Yu² Dong Renjie¹

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. Key Laboratory of Development and Application of Rural Renewable Energy, Ministry of Agriculture, Chengdu 610041, China)

Abstract: The microbial pretreatment of yellow corn stover and corn stover silage was achieved via the solid-state cultivation of white-rot fungi. Pretreatment effects on the biodegradability and subsequent anaerobic production of methane were investigated. The white-rot fungi pretreatment of yellow corn stover was accompanied by 38.3% cellulose, 42.2% hemicellulose, and 39.1% lignin degradation, while the degradation of corn stover silage was 9.9% cellulose, 23.2% hemicellulose, and 15.2% lignin. The reducing sugar yield of pretreatment yellow corn stover and corn stover silage after enzymatic hydrolysis was 195.8 mg/g and 67.7 mg/g respectively. These indicated much more composition of yellow corn stover was degraded, and more available composition retained in the corn stover silage after pretreated. The results showed that the total VS methane production of pretreated corn stover silage was 215.5 mL/g after 21 d anaerobic digestion, which increased by 29.2% more than the untreated ones and accounting 73.1% for 60 d total methane production. The biogas production of pretreated yellow corn stover was not increased. So microbial pretreatment of corn stover silage by white-rot fungi could increase substrate biodegradability, and further stimulate methane production.

Key words: Corn stover Anaerobic digestion Pretreatment White-rot fungi

收稿日期: 2013-06-25 修回日期: 2013-07-01

* 农业部农村可再生能源开发利用重点实验室开放课题基金资助项目、“十二五”农村领域国家科技计划课题(2012AA101803)和中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2013YJ007)

作者简介: 柳珊, 博士生, 主要从事农业废弃物沼气化利用研究, E-mail: liu610shan@163.com

通讯作者: 庞昌乐, 副教授, 博士, 主要从事废弃物处理与资源化利用研究, E-mail: pangcl@cau.edu.cn

引言

秸秆是一类重要的木质纤维素生物质资源,可以为生物转化(如生物柴油、生物乙醇、沼气、生物氢等)提供丰富的多聚糖^[1~2]。我国农业废弃物数量大、种类多,每年产生大约 8 亿 t 的农业作物废弃物,其中玉米秸秆和小麦秸秆分别高达 2.16 亿 t 和 1.35 亿 t^[3]。如果采用厌氧发酵转化为甲烷和沼液沼渣还田施用的循环利用模式充分利用这些农业废弃物,既缓解了农村能源紧张,又可以改善生态环境,有助于我国农业结构调整,尽快实现向可持续性农业的转型。

秸秆中纤维素和半纤维素在厌氧发酵条件下可以被降解产生沼气,而木质素则很难被降解和利用^[4]。由于秸秆中的纤维素被木质素和半纤维素包裹着,木质素在纤维素纤丝中,阻碍了微生物和酶与易降解纤维素的接触,造成原料对厌氧消化的抗性。可见,木质素结构的破坏及纤维素和半纤维素的水解是此类原料生物转化的限速步骤。常见的预处理方法为物理预处理(例如机械粉碎、研磨、蒸汽爆破)、化学预处理(酸、碱)、生物预处理(复合菌剂、白腐真菌、酶)和组合预处理(如超声波与碱法联合预处理)。相比较而言,生物预处理方法因具有低能耗和环境友好的特点,近年来成为国内外研究的热点,但到目前为止,应用于厌氧甲烷发酵前处理的有效生物学方法还不充分。

生物预处理方法中酶法虽然高效,但酶的成本高,工程应用不经济。而白腐真菌生物预处理是一种可替代的方法,可通过真菌微生物自身分泌的酶系(木质素降解酶、葡糖苷酶、纤维二糖酶等)有效

矿化木质素并将多聚糖降解为可利用的单糖^[5~6]。真菌预处理的相关研究大多集中在酶水解和生物乙醇的应用方面^[7~12],很少有报道生物预处理用于产沼气的研究,其中主要的问题点是真菌培养过程中导致大量的综纤维素的损失^[5~6,11~13],可能会对产甲烷量造成影响。真菌生物预处理的主要影响因素是菌种、培养条件和木质纤维生物质原料类型^[6,14~15],其中不同原料自然抗性差异性对木质纤维素原料的生物降解性及随后的厌氧消化特性产生较大的影响。目前,有部分白腐真菌预处理秸秆厌氧发酵产沼气的报道,但是鲜见关于白腐真菌生物预处理青贮玉米秸秆的相关研究。

本文利用白腐真菌固态发酵对青贮玉米秸秆和干黄玉米秸秆进行预处理,比较生物预处理前后两种玉米秸秆的物化特性,并结合后续的厌氧发酵产甲烷特性,分析真菌生物预处理对玉米秸秆厌氧发酵产甲烷的影响。旨在通过降解木质素来提高玉米秸秆的生物降解性,达到改善秸秆原料厌氧发酵甲烷化性能的目标,以期为玉米秸秆的资源化利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

干黄玉米秸秆来自于黑龙江省,秸秆风干后粉碎至 5 mm × 2 mm 左右,于 60℃ 干燥至含水率为 10% 以下备用。青贮玉米秸秆取自河北省滦县沼气工程站的青贮地窖,青贮玉米秸秆出窖后经过揉丝机粉碎至 5 mm × 2 mm 左右,立即采用真空包装袋密封备用。干黄玉米秸秆和青贮玉米秸秆的组成成分如表 1 所示。

表 1 玉米秸秆各成分的含量(质量分数)

Tab.1 Composition content of corn stover

%

原料	纤维素	半纤维素	木质素	水溶性碳水化合物	粗蛋白	粗脂肪	总固体	可挥发性固体
干黄玉米秸秆	45.30	26.49	8.48	7.63	3.41	0.28	91.50	83.61
青贮玉米秸秆	35.00	25.24	4.32	2.67	6.45	0.07	23.69	86.81

菌种与活化:采用白腐菌典型菌种黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*, CGMCC 5.077 6),购自中国科学院微生物所国家菌种保藏中心。真菌于 28℃ PDA 培养基上培养 5~7 d,用无菌水冲洗培养基表面并混合均匀制备孢子悬浮液(血球计数板计数为 5 × 10⁶ 孢子/mL),用于后续接种。

1.2 秸秆真菌生物预处理

将干黄玉米秸秆和青贮玉米秸秆制备成含水率为 75% 的湿秸秆,分别取 50 g(干基质量 12.5 g)湿秸秆置于 300 mL 的三角瓶中,于 121℃

下高压灭菌 30 min,冷却至室温后于超净工作台向三角瓶中接种 8 mL 上述制备好的白腐真菌孢子悬浮液,未处理组(对照)用 8 mL 的无菌水代替,于 28℃ 下固态发酵 15 d。即实验设置 4 个处理组,分别为:未预处理干黄玉米秸秆 A1、预处理干黄玉米秸秆 A2、未预处理青贮玉米秸秆 B1、预处理青贮玉米秸秆 B2,每个处理组设置 3 个重复。预处理完成后,指标测定需要处理为干样品的秸秆于 60℃ 下干燥至恒质量,用于厌氧消化的原料于 -20℃ 冷冻贮存。

1.3 厌氧发酵产甲烷的实验

批式实验采用 1 L 厌氧发酵瓶,有效容积 800 mL,厌氧活性污泥取自中国农业大学生物质工程中心中温沼气发酵罐,污泥挥发性固体(Volatile solids,VS)质量比为 29.34 g/kg。玉米秸秆的进料负荷为 10 g/L,污泥的接种量为 20 g/L,对照组为只接种污泥,分别添加蒸馏水补到 800 mL 的体积,于中温(35±2)℃下厌氧发酵 60 d,每个处理 2 个重复。每个厌氧反应瓶的盖子上开 2 个孔,分别用于气体和液体采样,气孔处接有 1 L 的集气袋,前 21 d 每天(21 d 后每 3 d)气体取样测定产气量与甲烷体积分数。每隔 3 d 用注射器采集 4 mL 发酵液,测定发酵液 pH 值、化学需氧量(COD)、挥发性有机酸含量,厌氧发酵完成时测定总固体(Total solids,TS)及 VS 的质量。

1.4 分析方法

1.4.1 秸秆木质纤维素成分和干物质损失测定

将干燥后的玉米秸秆粉碎过 1 mm 筛孔,准确称取 0.5 g,装入 F57 专用袋中,封口,根据改进的范氏洗涤法,用 ANKOM A200i 型纤维分析仪(USA)测定半纤维素、纤维素和木质素含量。其纤维组分的降解率表示为

$$D = \frac{M_0 - M_1}{M_0} \times 100\% \tag{1}$$

式中 D——纤维组分降解率,%

M_0 ——未处理秸秆组分质量,g

M_1 ——预处理秸秆组分质量,g

干物质(Dry matter,DM)损失由 105℃干燥至恒质量后计算质量损失率。

1.4.2 酶水解性测定

先用 50 mmol/L 柠檬酸钠缓冲液(pH 值 4.8)制备质量分数 2.5%的秸秆溶液 100 mL,向秸秆溶液中按体积比 1:2 添加诺维信纤维素酶 Celluclast 1.5 L(95 FPU/mL)与 Novozyme 188,于 50℃水浴锅中,150 r/min 振荡水解 72 h。向溶液中添加 100 μg/mL 氨基苄防止酶解过程中细菌的生长,水解完成后于沸水中煮沸 10 min 钝化酶活,冷却之后取悬浮液 8 000 r/min 离心 10 min,过 0.2 μm 的滤膜,采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量,每个样品 3 个重复。酶水解性由水解后产生的还原糖量表示

$$H = \frac{CV}{M_i} \tag{2}$$

式中 H——水解产生的还原糖量,mg/g

C——水解后还原糖质量浓度,mg/mL

V——酶水解溶液的体积,mL

M_i ——秸秆固体的干基质量,g

1.4.3 FTIR 波谱分析

取少量未预处理和预处理的玉米秸秆样品,加入质量约为秸秆质量 100 倍的溴化钾粉末于玛瑙研钵,磨细,压片,采用美国 PerkinElmer Spectrum 100 型傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectrum,FTIR)扫描波数为 400~4 000 cm⁻¹的官能团,分析波数为 600~2 000 cm⁻¹的木质纤维素的特征官能团变化。

1.4.4 扫描电子显微镜观察

取少量未预处理和预处理秸秆样品进行临界点干燥,经喷金制样,用荷兰 FEI 公司 Quanta200 型扫描电子显微镜进行扫描,放大 1 000 倍观察样品的表观物理形态。

1.4.5 沼气产量和甲烷含量的测定

批次厌氧发酵的产气量通过排水法测定;沼气中甲烷含量采用气相色谱(北京北分,sp-2100)测定。

1.4.6 厌氧发酵液中挥发酸的测定

将秸秆厌氧发酵液 8 000 r/min 离心 5 min,取上清液过孔径 0.2 μm 滤膜,采用日本岛津公司生产的 GC-2010 Plus 型气相色谱仪测定挥发性有机酸的含量。测定条件:该系统使用氢火焰离子化检测器,分析柱为 rtx-wax(30 m×0.25 mm×0.25 μm)毛细管柱。柱箱温度 60℃(保持 2 min)以 10℃/min 升温速率升到 140℃(保持 2 min),以 20℃/min 升温速率升到 230℃(保持 5 min);进样器和检测器的温度分别为 230℃和 250℃;高纯氮气作为载气,流速为 40 mL/min,分流比为 30;进样量 2 μL。

1.4.7 其他指标的测定

发酵液中 COD 的测定采用重铬酸钾法,将发酵液以 8 000 r/min 离心 5 min,取上清液用 COD 测定仪测定;TS 测定方法同 DM 的测定;VS 测定于(600±5)℃马弗炉中烧至恒质量。

2 结果与分析

2.1 玉米秸秆的生物预处理

2.1.1 秸秆生物预处理后主要化学组分降解变化

利用白腐真菌固态发酵对玉米秸秆进行 15 d 生物预处理后,对未处理和预处理的玉米秸秆化学组分进行测定,结果为:干黄玉米秸秆中纤维素、半纤维素和木质素的降解率分别为 38.3%、42.2%和 39.1%,而青贮玉米秸秆中的纤维素、半纤维素和木质素的降解率分别为 9.9%、23.2%和 15.2%,且干黄玉米秸秆的 DM 损失(36.1%)明显高于青贮玉米秸秆(10.5%)。表明真菌预处理对干黄玉米秸

秆细胞壁成分生物降解性的影响显著高于青贮玉米秸秆。

红外光谱分析 (FTIR) 是一项广泛应用于分析组分中主要基团变化的技术,与木质纤维素相关的几个特征吸收峰归属为^[16]:1 738 cm⁻¹表征木聚糖(半纤维素)的未键合 C=O 伸缩振动,或羧酸脂类化合物和酮类化合物中的 C=O 伸缩振动;1 600 和 1 512 cm⁻¹表征木质素中苯环骨架的伸缩振动;1 375 cm⁻¹表征纤维素和半纤维素中 C—H 的变形;1 122 cm⁻¹表征木质素中芳香骨架及 C—O 的伸缩振动;898 cm⁻¹表征纤维素及糖类中环振动产生的 C—H 变形峰。

预处理与未预处理玉米秸秆的 FTIR 光谱分析如图 1 所示,从图 1 中 A1 和 A2 的变化可以看出,预处理的干黄玉米秸秆在 1 600 cm⁻¹、1 512 cm⁻¹和 1 122 cm⁻¹处的吸收峰强度减弱,表明干黄玉米秸秆中木质素发生降解,同时 1 738 cm⁻¹、1 375 cm⁻¹和 898 cm⁻¹处的吸收峰强度不同程度的减弱,也表明玉米秸秆纤维素和半纤维成分也被降解,这与真菌预处理过程中干黄玉米秸秆具有较高木质纤维素降解率的结果一致。从图 1 中 B1 和 B2 光谱图观察到 1 600 cm⁻¹、1 512 cm⁻¹、1 122 cm⁻¹、1 738 cm⁻¹、1 375 cm⁻¹和 898 cm⁻¹处的吸收峰强度也有所减弱,但减弱程度不及预处理干黄玉米秸秆,这与真菌生物预处理青贮玉米秸秆中相对较低的木质纤维素降解率的结果一致。

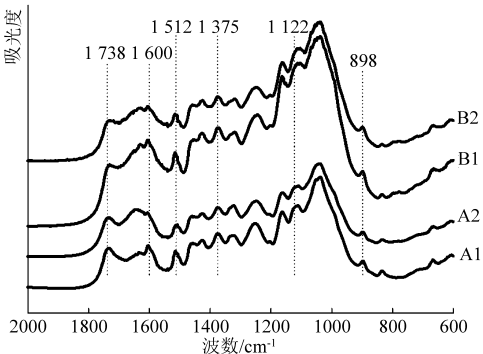


图 1 未预处理和预处理玉米秸秆的 FTIR 图谱
Fig. 1 Fourier transform infrared spectrum of untreated and pretreated corn stovers

2.1.2 秸秆生物预处理的表观形态结构变化

玉米秸秆真菌预处理后细胞壁成分被降解,会导致秸秆表面的物理结构发生变化,其未预处理和预处理玉米秸秆表观形态结构如图 2 所示,由图 2 中 A1 和 A2 图像可以看出,未经微生物预处理的干黄玉米秸秆的表面结构紧密规整,而生物预处理后的玉米秸秆表面结构已被破坏,存在很多的裂缝和孔洞;同时裂缝旁还有菌丝和孢子存在。观察 B1

和 B2,发现相比未预处理的青贮玉米秸秆,预处理的青贮玉米秸秆纤维素结构遭到严重的破坏,秸秆纤维碎片和细小孔洞增多。生物预处理后干黄玉米秸秆和青贮玉米秸秆的物理结构变化表明木质纤维素结构遭到破坏,真菌通过生长代谢过程中分泌的酶系对玉米秸秆中木质纤维素成分进行了有效的降解。

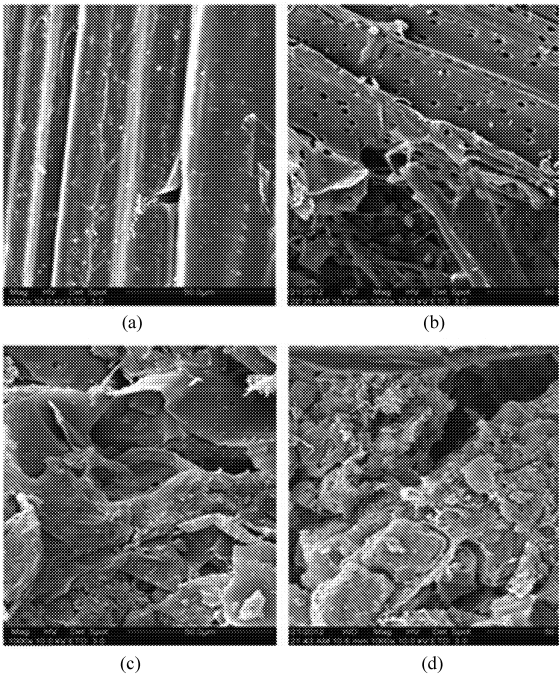


图 2 预处理与未预处理的秸秆扫描电镜图像
Fig. 2 Electric microscope scanning grape of untreated and pretreated corn stovers
(a) A1 (b) A2 (c) B1 (d) B2

2.1.3 生物预处理玉米秸秆的酶水解性

为了表征玉米秸秆生物预处理后的生物降解特性,对未经预处理和预处理后的玉米秸秆原料进行了酶水解性测定。未经预处理的干黄玉米秸秆和青贮玉米秸秆酶水解后产生的还原糖量为 127.7 mg/g 和 269.8 mg/g,而经过生物预处理后的干黄玉米秸秆和青贮玉米秸秆酶水解后产生的还原糖量为 67.7 mg/g 和 195.8 mg/g,表明青贮玉米秸秆的酶水解性优于干黄玉米秸秆,能够在后续厌氧发酵过程中为产甲烷菌提供更多底物。另外,预处理后玉米秸秆酶水解产糖量的降低进一步证明了生物预处理过程中秸秆细胞壁多聚糖成分被降解,干黄玉米秸秆的降解程度高于青贮玉米秸秆。

2.2 厌氧发酵产甲烷

真菌预处理的结果表明,生物预处理能够有效降解玉米秸秆的细胞壁成分,且青贮玉米秸秆的酶水解性优于干黄玉米秸秆。为进一步考察真菌生物预处理对后续厌氧发酵产甲烷的影响,对玉米秸秆

进行厌氧发酵实验。在 60 d 厌氧发酵过程中,20 d 后的日产气量和产甲烷体积分数变化不大。因此,本部分重点分析发酵 21 d 过程中产气量与发酵液组分的变化。

2.2.1 厌氧发酵过程中产气量

批次厌氧发酵日产气量如图 3 所示,未经预处理和预处理的玉米秸秆在接种后第 1 天开始产生沼气,随后产气量波动上升,达到峰值后产气量逐渐下降,其日产气量的区别在于最大日产气量和产气持续时间。玉米秸秆在 21 d 厌氧发酵过程中出现两次产气高峰,青贮玉米秸秆的两次产气高峰分别在第 3 天和第 11 天,而干黄玉米秸秆的两次产气高峰分别出现在第 4 天和第 12 天。未经预处理和预处理青贮玉米秸秆的最大日产气量分别为 385 mL 和 455 mL,而未经预处理和预处理干黄玉米秸秆的最大日产气量分别为 233 mL 和 182 mL,且青贮玉米秸秆组厌氧发酵前 7 d 的日产气量高于干黄玉米秸秆组。由图 4 可见,未经处理和预处理的玉米秸秆产生的沼气中甲烷含量呈上升趋势,厌氧发酵第 6~7 天时 4 组玉米秸秆甲烷体积分数均达到最大值,随后保持变化不大,其中预处理青贮玉米秸秆和干黄玉米秸秆的最大产甲烷体积分数分别为 62.6% 和 58.4%。日产气量和甲烷含量的结果表明,预处理过程能够明显提高青贮玉米秸秆的产甲烷量,对后续厌氧发酵产甲烷有益。

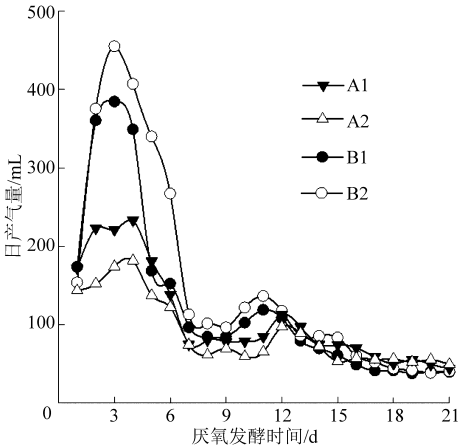


图 3 厌氧发酵过程中预处理和未预处理秸秆日产气量
Fig.3 Daily biogas production of untreated and treated corn stover during anaerobic digestion

厌氧发酵总产气量和总产甲烷量如表 2 所示,对于预处理青贮玉米秸秆而言,21 d 发酵总产气量和总甲烷量分别为 401.3 mL/g 和 215.5 mL/g,比未预处理的分别提高 21.7% 和 29.2%,而当厌氧发酵时间延长到 60 d 时,总产气量和总甲烷量分别为 533.0 mL/g 和 295.3 mL/g,相对未预处理的分别提高 13.6% 和 18.6%;未预处理和预处理青贮玉米秸

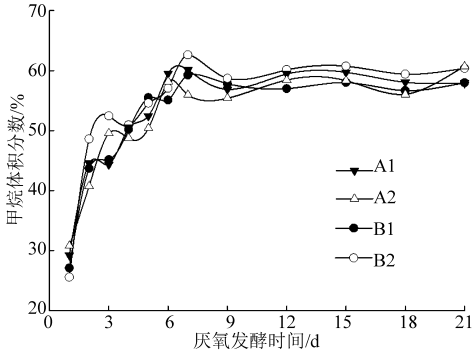


图 4 厌氧发酵过程中甲烷含量的变化
Fig.4 Changes of methane content during anaerobic digestion

秆 21 d 产甲烷总量占 60 d 总产甲烷量的 67.0% 和 73.1%。然而,厌氧发酵 60 d 的预处理干黄玉米秸秆总产气量和总甲烷量相比未经预处理的减少了 4.5% 和 3.5%;未预处理和预处理干黄玉米秸秆厌氧发酵 21 d 产甲烷量占 60 d 总产甲烷量的 62.9% 和 54.1%。厌氧发酵产气结果表明,生物预处理后的青贮玉米秸秆总产气量和产甲烷量明显高于未预处理组和干黄玉米秸秆组,显著提高厌氧发酵产甲烷率,73.1% 的甲烷于厌氧发酵前 21 d 产生。干黄玉米秸秆在真菌预处理过程中较高的 DM 损失^[9,13],可能由于真菌固态发酵过程中提高秸秆生物降解性所增加的产甲烷量不足以补偿 DM 损失所减少的产甲烷量,导致生物预处理对提高干黄玉米秸秆的产甲烷含量作用不明显。

表 2 玉米秸秆厌氧发酵 21 d 和 60 d 总产气量和总产甲烷量

Tab.2 Total biogas productions and total methane productions during anaerobic digestion mL/g				
组别	厌氧发酵 21 d		厌氧发酵 60 d	
	总产气量	总产甲烷量	总产气量	总产甲烷量
A1	281.0 ± 6.0	147.1 ± 2.0	429.3 ± 12.3	234.0 ± 5.1
A2	234.0 ± 9.4	121.8 ± 3.8	409.8 ± 10.5	225.8 ± 3.8
B1	329.5 ± 4.5	166.8 ± 3.4	469.0 ± 1.4	248.9 ± 1.6
B2	401.3 ± 6.9	215.5 ± 2.6	533.0 ± 8.1	295.3 ± 3.4

2.2.2 厌氧发酵液 COD 与挥发性有机酸分析

发酵液 COD 和挥发性有机酸是表征厌氧发酵过程中水解酸化程度的一个重要指标。如图 5 所示,未预处理的和预处理的玉米秸秆厌氧发酵液中的 COD 随着厌氧发酵的进行先上升后下降,均在第 3 天左右达到最大值,预处理的青贮玉米秸秆和干黄玉米秸秆的最大 COD 值分别为 10 621 mg/L 和 6 008 mg/L。第 3 天后 COD 逐渐下降,厌氧发酵第 15 天,COD 保持在 3 000 mg/L 左右。发酵液中 COD 的变化与日产气量的变化趋势一致。

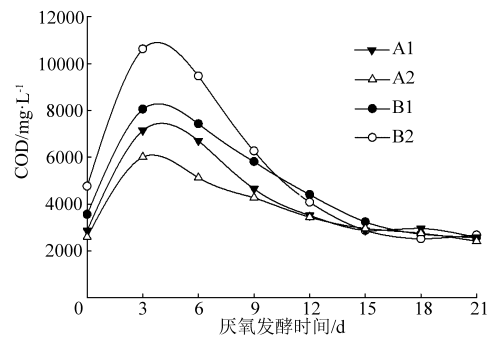


图 5 玉米秸秆厌氧消化过程中 COD 的变化
Fig.5 Changes of chemical oxygen demand (COD) during anaerobic digestion of corn stovers

在厌氧消化液中检测出 3 种含量相对较高的挥

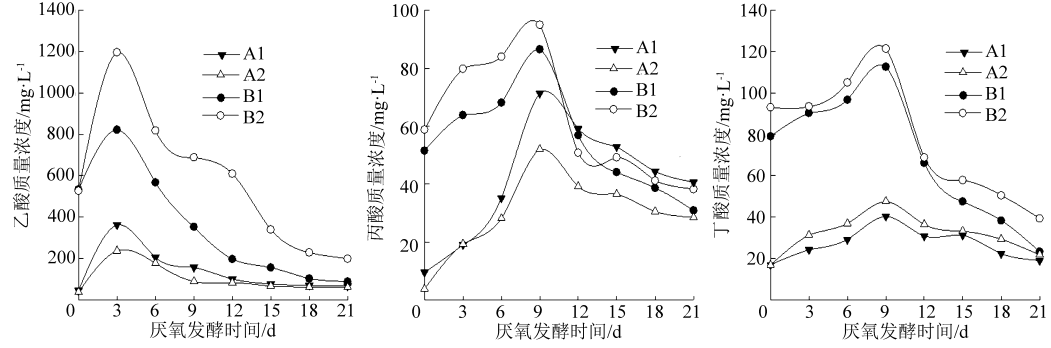


图 6 秸秆厌氧消化过程中发酵液挥发性产物
Fig.6 Quantitative analysis of major volatile products anaerobic digestion of corn stovers

本研究中,生物预处理不仅可以改变玉米秸秆的化学组成、化学结构和物理性质,同时提高了原料消化性,使其在后续厌氧发酵过程中大量产生有益的短链挥发性产物,如乙酸和丁酸,而不利甲烷发酵的丙酸产量却很低^[17]。厌氧发酵过程中检测发酵液的 pH 值保持在 7.4 ~ 8.0,符合微生物高效产甲烷 pH 值为 6.5 ~ 8.5 的区间^[18]。厌氧发酵结束时,未预处理和预处理干黄玉米秸秆的去除率为 45.7% 和 41.7%,而未预处理和预处理的青贮玉米秸秆的 VS 去除率为 47.8% 和 54.9%。

3 结论

(1)白腐真菌生物预处理能够有效降解玉米秸秆中的植物细胞壁中成分,且干黄玉米秸秆中木质

发性产物,如图 6 所示,各挥发性产物均表现出先增加后降低的趋势,乙酸在发酵第 3 天达到最大值,丙酸和丁酸约在第 9 天时达到最大值。预处理青贮玉米秸秆达到最大值时各有机酸质量浓度分别是乙酸 1 196.7 mg/L、丙酸 94.9 mg/L 和丁酸 121.4 mg/L,预处理干黄玉米秸秆达到最大值时各有机酸的质量浓度分别是乙酸 236.9 mg/L、丙酸 51.9 mg/L 和丁酸 47.6 mg/L。COD 和发酵液中挥发性产物定量分析表明青贮玉米秸秆厌氧发酵的前期具有较高的 COD 和挥发性有机酸含量,能够为产甲烷菌提供较多的底物,这与预处理青贮玉米秸秆具有较高产甲烷量的结果是相一致的。

纤维素的降解率显著高于青贮玉米秸秆。

(2)预处理过程中玉米秸秆中多聚糖成分被降解,导致预处理后的玉米秸秆酶水解还原糖产量降低;而预处理青贮玉米秸秆酶水解过程中转化还原糖的产率高于干黄玉米秸秆。

(3)微生物预处理能够有效提高青贮玉米秸秆的产气量和产甲烷量,最大产气量出现在厌氧发酵第 3 天,厌氧发酵 21 d 中产甲烷率提高 29.2%,占发酵 60 d 总产甲烷量的 73.1%。

(4)青贮玉米秸秆组中产甲烷量、COD、挥发性产物的含量及 VS 去除率均高于干黄玉米秸秆组,表明青贮玉米秸秆中的组分更容易被产甲烷菌利用转化为甲烷。

参 考 文 献

1 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.

2 Lavigne A, Powers S E. Evaluating fuel ethanol feedstocks from energy policy perspectives: a comparative energy assessment of corn and corn stover[J]. Energy Policy, 2007, 35(11): 5 918 ~ 5 930.

3 国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京:中国统计出版社,2010.

4 Fernandes T V, Klaasse Bos G J, Zeeman G, et al. Effects of thermochemical pretreatment on anaerobic biodegradability and hydrolysis of lignocellulosic biomass[J]. Bioresource Technology, 2009, 100 (9):2 575 ~ 2 579.

5 Pinto P A, Dias A A, Fraga I, et al. Influence of ligninolytic enzymes on straw saccharification during fungal pretreatment[J]. Bioresource Technology, 2012, 111: 261 ~ 267.

- Zhou Wei, Dong Baocheng, Qi Yue. The biogas production of different treated straw under mesophilic and anaerobic condition[J]. China Biogas, 2010, 28(3): 22 ~ 24. (in Chinese)
- 21 Quintero M, Castro L, Ortiz C, et al. Enhancement of starting up anaerobic digestion of lignocellulosic substrate; fique's bagasse as an example [J]. Bioresource Technology, 2012, 108(3): 8 ~ 13.
- 22 Baserba M G, Angelidaki I, Karakashev D. Effect of continuous oleate addition on microbial communities involved in anaerobic digestion process[J]. Bioresource Technology, 2012, 106(2): 74 ~ 81.
- 23 高鑫, 晏水平, 贺清尧, 等. 温度和搅拌对甘蔗渣厌氧发酵[J]. 同济大学学报: 自然科学版, 2012, 40(增刊2): 40 ~ 46.
- Gao Xin, Yan Shuiping, He Qingyao, et al. Effect of temperature and stirring on biogas production by anaerobic fermentation with bagasse[J]. Journal of Tongji University: Natural Science, 2012, 40 (Supp. 2): 40 ~ 46. (in Chinese)
- 24 Taherzadeh M J, Karimi K. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production; a review [J]. International Journal of Molecular Science, 2008, 9(9): 1 621 ~ 1 651.
- 25 Kaparaju P, Serrano M, Thomsen A B, et al. Bioethanol, biohydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(9): 2 562 ~ 2 568.
- 26 吕黄珍, 韩鲁佳, 杨增玲. 猪粪麦秸反应器好氧堆肥工艺参数优化[J]. 农业机械学报, 2008, 39(3): 101 ~ 105.
- Lü Huangzhen, Han Lujia, Yang Zengling. Optimization of aerobic composting parameters on pig slurry-wheat straw reactor[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2008, 39(3): 101 ~ 105. (in Chinese)
- 27 袁巧霞, 田纯炎, 陈钢, 等. 调理料对猪粪耗氧堆肥特性的影响试验[J]. 农业机械学报, 2012, 43(1): 108 ~ 114.
- Yuan Qiaoxia, Tian Chunyan, Chen Gang, et al. Effects of different materials addition on the aerobic composting [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(1): 108 ~ 114. (in Chinese)
- ~~~~~

(上接第 129 页)

- 6 Keller F A, Hamilton J E, Nguyen Q A. Microbial pretreatment of biomass[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2003, 105(1 ~ 3): 27 ~ 41.
- 7 Lee J. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol[J]. Journal of Biotechnology, 1997, 56(1): 1 ~ 24.
- 8 Yu H, Guo G, Zhang X, et al. The effect of biological pretreatment with the selective white-rot fungus *Echinodontium taxodii* on enzymatic hydrolysis of softwoods and hardwoods[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(21): 5 170 ~ 5 175.
- 9 Yu J, Zhang J, He J, et al. Combinations of mild physical or chemical pretreatment with biological pretreatment for enzymatic hydrolysis of rice hull[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(2): 903 ~ 908.
- 10 Taniguchi M, Suzuki H, Watanabe D, et al. Evaluation of pretreatment with *Pleurotus ostreatus* for enzymatic hydrolysis of rice straw[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005, 100(6): 637 ~ 643.
- 11 Shrestha P, Rasmussen M, Khanal S K, et al. Solid-substrate fermentation of corn fiber by *Phanerochaete chrysosporium* and subsequent fermentation of hydrolysate into ethanol [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(11): 3 918 ~ 3 924.
- 12 Bak J S, Ko J K, Choi I G, et al. Fungal pretreatment of lignocellulose by *Phanerochaete chrysosporium* to produce ethanol from rice straw [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2009, 104(3): 471 ~ 482.
- 13 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(1): 88 ~ 96.
- 14 Xu C, Ma F, Zhang X, et al. Biological pretreatment of corn stover by *Irpex lacteus* for enzymatic hydrolysis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(20): 10 893 ~ 10 898.
- 15 Wan C, Li Y. Microbial delignification of corn stover by *Ceriporiopsis subvermispura* for improving cellulose digestibility[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2010, 47(1): 31 ~ 36.
- 16 Pandey K, Pitman A. FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2003, 52(3): 151 ~ 160.
- 17 刘震东, 李文哲, 刘爽, 等. 高效木质纤维素分解菌复合系的发酵特性[J]. 东北农业大学学报, 2009, 40(8): 105 ~ 109.
- Liu Zhendong, Li Wenzhe, Liu Shuang, et al. Characteristic of an efficient microbial system with cellulose degradation bacteria [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2009, 40(8): 105 ~ 109. (in Chinese)
- 18 Lee D H, Behera S K, Kim J W, et al. Methane production potential of leachate generated from Korean food waste recycling facilities; a lab-scale study[J]. Waste Management, 2009, 29(2): 876 ~ 882.