

微波预处理对水稻秸秆糖化率与成分和结构的影响*

马欢¹ 刘伟伟^{2,3} 刘萍⁴ 程备久¹ 朱苏文¹ 吴跃进⁵

(1. 安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230036; 2. 安徽农业大学工学院, 合肥 230036;
3. 中国科学院等离子体物理研究所, 合肥 230031; 4. 莱斯大学生物工程学院, 休斯敦 77030;
5. 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)

摘要: 利用微波辐照对水稻秸秆进行预处理,研究了优化条件下以水为媒介的微波辐照对秸秆酶解糖化率及酶吸附能力的影响。通过预处理前后秸秆主要化学成分的变化,以及 FTIR、XRD 和 AFM 对其表面形貌结构的表征,研究了微波促进水稻秸秆酶解的机制。结果表明:微波辐照可以破坏水稻秸秆表面特殊的“角质-双硅层”结构和木质素-半纤维素复合体,去除部分硅和木质素含量,因此能有效减少秸秆对酶的吸附,同时提高纤维素酶的酶解效率。

关键词: 水稻秸秆 微波 预处理 糖化率 表征

中图分类号: S216; X712 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)10-0180-07

引言

水稻秸秆是我国产量最丰富的农业废弃物之一,其平均年产量高达 $1.8 \times 10^8 \text{ t}^{[1]}$ 。其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。破坏秸秆内聚合体的复杂结构并释放出更多的单糖,是水稻秸秆利用技术中的首要难题。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^[2-9]。这些方法的中心思想均是通过去除或改变半纤维素和木质素以及降低纤维素结晶度,来增加酶或微生物与秸秆的接触面积^[6-10]。然而,大多数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,会对后续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。此外,从水稻秸秆自身的成分和结构出发,其为典型的喜硅作物,根部及秸秆中硅的含量可高达 10%,这些硅质体与木质纤维素结构共同形成了致密的保护膜,增加了处理难度。因此,硅是影响水稻秸秆结构破坏的另一个限制性因素^[11-14],对硅的处理也应该列入预处理技术考察的范围之内。因此,针对水稻秸秆自身特点,探寻环境友好的技术方法,提高后续酶水解效率,是水稻秸秆预处理技术研究的关键^[15-16]。

微波辐照因为与传统的加热方法不同,已成功应用于诸多领域。其特有的热效应和非热效应是由微波的加热速率,形成的“热区”,离子的加速运动,分子之间的剧烈碰撞以及极性分子的快速转动(例如水分子在微波的辐照下会以 24.5 亿次/s 的频率进行转动)而引起的^[17]。Pan 等^[18]和 Zehra^[19]的研究已经表明微波辐照在木质纤维素类生物物质的高效利用上起到了积极的作用,同时它是一种颇具潜力的新型处理方法。特别是在纯水相处理体系中,微波辐照对水稻秸秆表面物理化学特性影响的研究还未见报道,更缺少对秸秆结构中硅的考察和分析。

基于前期对纯水相体系中(不加入其他化学试剂)微波处理条件的优化^[1],本文将分析微波辐照对秸秆酶解糖化率及酶吸附能力的影响。通过预处理前、后秸秆木质纤维素、纤维素、半纤维素和硅等主要化学成分的变化,以及 FTIR、XRD 和 AFM 对其表面形貌结构的表征,研究微波促进水稻秸秆酶解的机制。

1 实验材料与方法

1.1 水稻秸秆

水稻秸秆取自本实验室实验田(10月收割后),秸秆收集后在室外晾干,粉碎至 20~40 目,常温下于实验室密封保存。水稻秸秆原料的组成成分:固体质量分数为 94.6%,其中 70.1% 为中性洗涤纤

收稿日期:2014-03-04 修回日期:2014-04-08

* 安徽省科技计划资助项目(11010402100)和安徽省高校省级自然科学基金资助项目(KJ2014A073)

作者简介:马欢,讲师,博士,主要从事生物质资源转化与利用研究,E-mail: mahuan@ahau.edu.cn

通讯作者:朱苏文,教授,主要从事辐射生物物理和生物技术及生物质材料研究,E-mail: zhusuwen@126.com

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%。

1.2 微波辐照处理秸秆

秸秆的微波处理是在 Galanz/WP800T 型微波炉(格兰仕公司,广东顺德)中进行,微波频率为 2.45 GHz。微波炉有 6 个不同能量的设置,最大能量为 800 W。秸秆和水的混合物放置于密封的玻璃容器中,按照本课题组前期的研究结果^[1]进行辐照处理,即:微波辐照强度 680 W,辐照 24 min,水稻秸秆底物浓度为 75 gTS/L。处理结束,混合物用 Whatman 滤纸过滤。收集上清液,测定微波处理阶段葡萄糖和木糖的产量;滤渣在 35℃ 干燥至恒质量,用于后续的纤维素酶发酵。

1.3 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。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 5.82×10^4 unit/mL、826 FPU/mL、9.1 unit/mL 和 285 unit/mL。酶解实验在 100 mL 锥形瓶中进行,由 1.0 g 秸秆、600 μ L 纤维素酶液和 20 mL 醋酸缓冲溶液(pH 值 4.8)组成。其中,缓冲溶液中添加 40 mg/L 四环素类抗生素和 30 mg/L 放线菌酮以防止微生物的污染。混合物放置于气浴摇床中 40℃ 培养,摇床转速为 110 r/min。酶解 100 h 后,样品收集并离心用于糖含量分析。每组实验 3 个平行,以未经低温等离子体预处理的水稻秸秆为对照。

1.4 纤维素酶吸附实验

按照 1.3 节中的比例,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℃ 培养,摇床转速为 110 r/min。以不加入秸秆样品的为对照。培养 90 min 后^[20-21],取样并于 15 000 r/min 离心 10 min,并测定上清液中葡萄糖内切酶活力。每组实验 3 个平行。

纤维素酶吸附率根据吸附实验前后上清液中酶活力的变化为

$$A = \frac{U_0 - U}{U_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中 A ——纤维素酶吸附率

U ——酶水解 90 min 后上清液中葡萄糖内切酶活力

U_0 ——培养液中最初的酶活力

1.5 糖化率的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,将收集到的上清液用针管吸出 25 μ L,注入传感器中即可。木糖含量

利用间苯三酚法测定^[22]。葡萄糖内切酶(CMC 糖化酶)活力测定按照 Mandels 等的方法^[23]。

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^[24],即

$$R_{CS} = \frac{0.9G}{C} \times 100\% \quad (2)$$

式中 R_{CS} ——纤维素糖化率 G ——葡萄糖的质量
 C ——秸秆中纤维素的质量

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^[25],因此水稻秸秆的 HS 由木糖进行计算,即

$$R_{HS} = \frac{0.88S}{H} \times 100\% \quad (3)$$

式中 R_{HS} ——半纤维素糖化率 S ——木糖的质量
 H ——秸秆中半纤维素的质量

1.6 水稻秸秆成分测定及表征

秸秆水分含量,总固体量和挥发性固体含量根据 NREL Laboratory analytical procedures (LAP) 012^[26]进行测定。中性洗涤纤维、酸性洗涤纤维、纤维素和半纤维素含量按照范氏洗涤法^[27]进行分析。酸溶木质素、酸不溶木质素、酸不溶灰分和酸溶灰分根据 NREL LAP 003 和 014 关于木质素测定的标准方法^[28]进行测定。

红外光谱分析是用美国 NICOL ET 公司的 NEXU 型傅里叶红外拉曼光谱仪(FTIR),采用 KBr 压片法,波数范围 400 ~ 4 000 cm^{-1} ,分辨率高于 0.09 cm^{-1} 。

X-ray 衍射是由多功能 X 射线系统衍射仪(Philips, Netherlands)完成。Cu/K α 放射源波长为 1.541 8 Å,在电流 40 mA·h,电压 45 kV 下记录光谱。扫描范围 2θ 为 $5^\circ \sim 40^\circ$,步宽为 0.03° ,扫描速率为 10.0 s/step。纤维素结晶度(CrI)在衍射图谱的基础上根据 Segal^[29]提出的方法计算,即

$$Q_{CrI} = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100\% \quad (4)$$

式中 Q_{CrI} ——纤维素结晶度

I_{002} —— 2θ 在 22° 的峰强度

I_{am} —— 2θ 在 $18^\circ \sim 19^\circ$ 的峰强度

原子力显微镜照片是用 Nanofirst-3100 型扫描探针显微镜(Haizisi Photoelectricity Technology Co.),采用的成像模式为 Tapping mode,选用单晶硅

悬臂探针,扫描区域为 $5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$,记录的扫描信号类型为高度图,像素为 512×512 。

2 结果与讨论

2.1 微波预处理对秸秆糖化率及其纤维素酶吸附能力的影响

生物质资源的利用尤其是在燃料乙醇的生产过程中,纤维素酶的成本十分高昂,而预处理技术不仅影响到酶的催化效率,而且也影响到酶的用量及回收问题^[30]。因此,综合考虑目标物的得率和纤维素酶的用量,是衡量和评估预处理方法可行性的重要指标。葡萄糖内切酶(CMC糖化酶)的酶活变化可以很好地体现酶水解过程中整个纤维素酶各成分被吸附的情况^[20,23]。基于此,本研究不仅对微波处理前后秸秆的酶解糖化率进行测定,而且也考察了酶解过程中秸秆对纤维素酶的吸附情况。

由表1可以得出,在本课题组前期研究的微波辐照优化条件下^[1],即:微波辐照强度 680 W,辐照 24 min,水稻秸秆底物浓度为 75 gTS/L,水稻秸秆纤维素糖化率、半纤维素糖化率和总糖化率分别为 $(37.8 \pm 0.1)\%$ 、 $(20.2 \pm 0.3)\%$ 和 $(31.8 \pm 0.2)\%$,比未经任何处理的对照组提高了 $(30.6 \pm 0.4)\%$ 、 $(43.3 \pm 0.8)\%$ 和 $(30.3 \pm 0.6)\%$ (表1),说明微波预处理能够有效提高酶对水稻秸秆的糖化效率。

表1 优化条件下微波辐照前后水稻秸秆糖化率的变化

Tab.1 Predicted and experimental CS and HS under optimum conditions %

指标	对照 a	实验组 b	提高率
纤维素糖化率	28.9 ± 0.1	37.8 ± 0.1	30.6 ± 0.4
半纤维素糖化率	14.1 ± 0.2	20.2 ± 0.3	43.3 ± 0.8
总糖化率	24.4 ± 0.1	31.8 ± 0.2	30.3 ± 0.6

注:对照 a 为未经过微波预处理的水稻秸秆;以上各组均为 5 组重复的标准偏差。

微波处理前后秸秆纤维素糖化率、半纤维素糖化率以及其对酶的吸附率如图1所示。可以看出:未经处理的秸秆在酶解进行 90 min 后对纤维素酶的吸附率为 78.64%,远远高于微波处理后秸秆的 27.82%;而对对照秸秆纤维素和半纤维素的糖化率却分别比微波处理后低 23.5% 和 30.2%。由此可以得出,微波辐照后的秸秆能够明显减少酶的吸附,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。

2.2 微波辐照前后秸秆成分的变化

表2中秸秆成分的含量,均是在样品干物质质量(TS)的基础上计算得到的。可以明显看出:

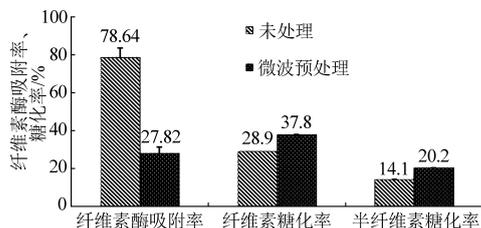


图1 微波处理对水稻秸秆糖化率及纤维素酶吸附率的影响

Fig.1 Effect of microwave pretreatment on endoglucanase activity binding to rice straw

表2 处理前后水稻秸秆化学成分变化(干物质计算)
Tab.2 Chemical composition (percent by dry weight) of rice straw %

成分	未处理秸秆	微波处理秸秆
水分	5.4 ± 0.2	6.1 ± 0.3
干物质质量	94.6 ± 0.2	93.9 ± 0.3
挥发性物质含量	83.8 ± 0.2	86.7 ± 0.5
灰分	16.2 ± 0.2	13.3 ± 0.5
中性洗涤纤维	70.1 ± 1.3	84.0 ± 0.7
酸性洗涤纤维	53.9 ± 1.2	60.5 ± 1.0
半纤维素	16.2 ± 0.2	23.6 ± 1.3
纤维素	33.4 ± 0.9	41.8 ± 0.3
酸溶木质素	2.1 ± 0	1.9 ± 0
酸不溶木质素	6.8 ± 0.8	6.9 ± 0.4
酸溶灰分	5.3 ± 0.9	3.2 ± 1.1
酸不溶灰分	10.9 ± 0.1	10.1 ± 0.5

① 水稻秸秆的中性洗涤纤维由微波处理前 70% 提高到处理后的 84%,说明微波处理能够增加蛋白质、淀粉、糖和脂肪等物质的溶解。② 酸溶木质素从 2.1% 降到 1.9%,酸溶灰分从 5.3% 降到 3.2%。③ 纤维素、半纤维素含量分别由 33.4% 增加到 41.8%,16.2% 增加到 23.6%,这主要是因为木质素、灰分等成分的减少,增加了纤维素和半纤维素的相对含量。前人的研究说明,半纤维素、纤维素和木质素相互之间通过共价键、离子键等化学键以及范德华引力形成致密的有机体。木质素的损失意味着微波辐照过程中,秸秆木质纤维素的致密结构被破坏,增大了纤维素与酶接触的表面积。同时,木质素的去除可以减少纤维素酶与木质素的无效吸附^[31],提高了酶生物催化的能力和目标产物的产量,并且有助于酶的回收,从而减少酶糖化过程的成本。

另一方面值得注意的是,微波预处理去除了水稻秸秆中 7.5% 的酸不溶灰分(主要是二氧化硅),这同样有助于秸秆的酶解。因为水稻吸收的硅中有相当部分沉积在叶片表面,形成“角质—双硅层”结构,起到了如同木质素一样的保护作用,这也是秸秆降解的另一个物理屏障。

2.3 预处理前后秸秆傅里叶红外光谱分析

图 2 是水稻秸秆在微波处理前后的傅里叶红外光谱图,测定波数范围为 $4\ 000 \sim 400\ \text{cm}^{-1}$ 。由图可以看出,2 个光谱有很多相似之处,表明微波处理后秸秆结构中的主要基团没有发生明显变化。但各基团透射率的相对强度却改变了,说明秸秆的成分在量上发生了明显变化。

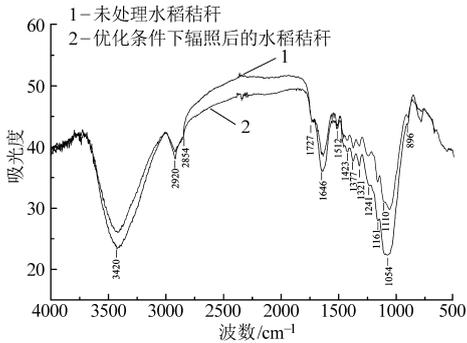


图 2 水稻秸秆的傅里叶红外光谱图

Fig. 2 FTIR transmission spectra of rice straw samples

如图 2 所示,光谱 2 中波数 $2\ 920\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰低于光谱 1,说明来自秸秆表面蜡质中的亚甲基基团在微波处理过程中有所减少^[32]。 $1\ 650$ 和 $1\ 423\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰,是由木质素中芳环骨架振动引起的,这 2 个峰在光谱 2 中均明显低于光谱 1;而同样是由木质素芳环骨架振动引起的吸收峰于 $1\ 512\ \text{cm}^{-1}$ 处却没有变化。这可能是因为一些具有特殊结构的木质素(如酸溶木质素),在微波辐照过程中因为水的作用首先被降解或溶解,并且这一现象与表 2 中秸秆成分化学分析结果相吻合。同时,光谱 2 中吸收峰在 $1\ 321$ 、 $1\ 241$ 、 $1\ 161$ 和 $896\ \text{cm}^{-1}$ 处降低,而在 $1\ 110\ \text{cm}^{-1}$ 处出现小峰,均表明水稻秸秆中一些碳水化合物或者秸秆表面不同的脂肪族成分在微波辐照下有明显分解的现象,并且释放出一些新的物质^[33]。值得注意的是,光谱 2 中秸秆于 $1\ 054\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰明显减小,表明微波辐照破坏了水稻秸秆的“角质—双硅层”结构,引起硅的减少,这一结果也和化学成分的分析一致^[34]。

2.4 预处理前后秸秆 XRD 分析

构成秸秆木质纤维素结构的主要成分纤维素,具有结晶区和无定形区两相结构。结晶纤维素呈现出一种非常规则有序的排列,而无定形纤维素则是不规则排列的,比表面积较大,且内部结构疏松。纤维素的无定形区比结晶区更容易被酶利用,因此结晶纤维素转化为无定形纤维素是生物或化学降解过程中的限速步骤,纤维素的结晶度也是影响木质纤维素酶水解的重要因素。

图 3 为水稻秸秆在微波处理前后的 X 射线衍

射图谱。与纯纤维素样品不同的是,水稻秸秆的 XRD 图谱中,衍射角 2θ 在 15.0° 和 16.4° 左右的吸收峰(图 3)是互相交叠形成的一个宽峰,这是因为样品中同时存在半纤维素和木质素而造成的。因此,纤维素结晶度反映的是纤维素中结晶区所占的相对比例,而不是绝对比例。大量研究表明^[35-36]:无定形木质素和半纤维素的减少也同样会影响样品中纤维素结晶区的比例。根据 XRD 分析和式(4)计算出水稻秸秆中纤维素的结晶度。秸秆经微波辐照处理后,纤维素结晶度(CrI)反而由 41.2% 上升到 46.4% ,提高了 12.5% 。这可能是因为,在微波的辐照下,未处理秸秆中高含量的非纤维成分在水分子快速振动的作用下被分解。

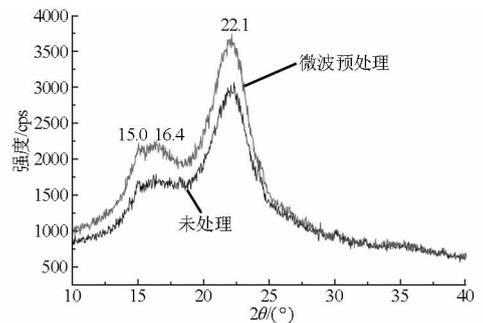


图 3 水稻秸秆的 XRD 图谱

Fig. 3 XRD of rice straw after microwave pretreatment

2.5 秸秆处理前后原子力显微镜图像分析

原子力显微镜(AFM)是近十几年发展并应用于物体表面纳米尺度形貌信息研究的强有力工具。它具有较高的分辨率及可用于生物非导电样品分析的特点,可以用来直接观察单个及完整的生物多聚糖的详细结构。AFM 已经被广泛用于研究木质纤维素类生物物质的表面特性和主要成分,如纤维素、半纤维素、木质素以及秸秆表面蜡质等提取物^[37-39]。与扫描电子显微镜(SEM)和透射电子显微镜(TEM)不同的是,利用 AFM 进行分析时,样品不需要经过任何特殊的处理,从而避免了因为镀金、切片等前处理对样品真实结构产生信息干扰。

本研究利用 AFM 观察微波处理后秸秆表面性质的基本变化。图 4a、4b 为未预处理的水稻秸秆表面 AFM 高度图。可以看出,未经过预处理的秸秆表面被大块片状物质和不规则的粒状物覆盖。这些颗粒状物质的直径在 $100 \sim 500\ \text{nm}$ 之间。片状物质分布疏松,且亮度较大,说明其位置相对较高;颗粒状物质排列紧密,分布致密,亮度相对较低,说明其处于相对较低的位置。片状物质或覆盖或与颗粒物质相互连接交织附着于秸秆表面。根据前人研究,秸秆有多层结构组成^[37-39]。最外层为非纤维组成的覆盖在外层细胞壁上的一种膜状表皮,这层表皮的

厚度因植物种类而异,从 $0.1 \sim 20 \mu\text{m}$ 不等。表皮覆盖的薄膜主要是蜡类物质,表皮的蜡类物质分子水平上可分为3类:长链脂肪酸规则排列构成晶体形状,具有很少流动性的固体无序状态以及可流动的液体形态。因此,根据高度图综合判断,图中片状物质可能为一些蜡类和脂类物质^[38-39],而团状颗粒则可能是由木质素与少量半纤维素及抽提物相互粘连形成的复合体^[35]。

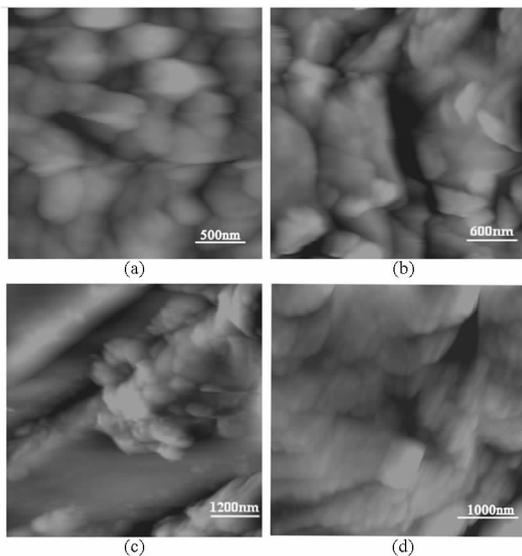


图4 水稻秸秆的原子力显微镜高度图

Fig.4 AFM height images of rice straw samples

- (a) 未预处理的秸秆,图像尺寸 $5 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$,高度 500 nm
 (b) 未预处理的秸秆,图像尺寸 $4 \mu\text{m} \times 4 \mu\text{m}$,高度 300 nm
 (c) 微波处理的秸秆,图像尺寸 $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$,高度 500 nm
 (d) 微波处理的秸秆,图像尺寸 $5 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$,高度 300 nm

图4c、4d为经微波处理后的水稻秸秆AFM高度图,可以观察到处理后的秸秆表面产生了很大变化,表面的高度差增大。表面的片状物质和粒状物质明显减少,由图4c可以清楚地看到:部分粒状和片状物质脱落后留下的夹缝和小坑,与未脱落的部分形成鲜明对比;部分木质素等覆盖物损失后,暴露出相对光滑的表面。但是从图4c(图像尺寸 $10 \mu\text{m} \times$

$10 \mu\text{m}$)中仍然可以观察到一些颗粒状物质明显的簇集在秸秆的表面,这些颗粒和未预处理秸秆表面的颗粒直径一致,均在 $100 \sim 500 \text{ nm}$ 之间。将图4c中木质素和一些抽提物去除后光滑的表面继续放大,得到图4d(图像尺寸 $5 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$)。可发现光滑表面呈现出很多排列整齐的节状纤维束结构,这些纤维状物质直径在 $20 \sim 100 \text{ nm}$ 之间,与微纤维束的特征相符(图4d)。

与傅里叶红外光谱和化学分析的结果一致,原子力显微镜的表征同样显示:微波预处理对秸秆糖化率的提高有促进作用。尽管水稻秸秆表面颗粒状的非纤维物质并不能完全去除,但在微波辐照下,水分子快速剧烈的振动以及不均一的温度的确能为破坏水稻秸秆刚性结构提供有利环境。

3 结论

(1)在微波辐照的优化条件下,水稻秸秆纤维素糖化率、半纤维素糖化率和总糖化率分别为 37.8% 、 20.2% 和 31.8% ,比对照提高了 30.6% 、 43.3% 和 30.3% 。表明微波预处理能够有效地提高水稻秸秆的糖化率。

(2)微波处理后水稻秸秆对纤维素酶的吸附率由 78.64% 降低至 27.82% ,说明微波辐照能够明显减少秸秆对酶的吸附,很大程度上提高纤维素酶的酶解效率。

(3)通过对秸秆化学成分的测定及相关的结构表征,研究了微波辐照促进水稻秸秆酶解的机制。结果表明:微波预处理可以破坏水稻秸秆表面特殊的“角质-双硅层”结构和木质素-半纤维素复合体,能够去除部分硅和木质素含量,减少此类物质对纤维素酶的无效吸附。

(4)微波处理对纤维素的结晶区没有明显的影响,因此对于纤维素结晶度的降低还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Ma Huan, Liu Weiwei, Chen Xing, et al. Enhanced enzymatic saccharification of rice straw by microwave pretreatment [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(3): 1279 - 1284.
- 2 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.
Li Gang, Li Dongliang, Wang Xutao, et al. Technology evaluation of steam exploded corn stalk anaerobic fermentation [J]. *Transactions of the CSAE*, 2011, 27(1): 286 - 290. (in Chinese)
- 3 Gu Feng, Wang Wangxia, Jing Lei, et al. Effects of green liquor pretreatment on the chemical composition and enzymatic digestibility of rice straw [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 149: 375 - 382.
- 4 Chiang Kung-Yuh, Chien Kuang-Li, Lu Cheng-Han. 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.
- 5 罗立娜,李文哲,徐名汉,等. 预处理方式对水稻秸秆厌氧发酵产气特性的影响[J]. *农业机械学报*, 2012, 43(11): 152 - 155.

- Luo Lina, Li Wenzhe, Xu Minghan, et al. Effect of pretreatment methods on anaerobic fermentation characteristics from rice straw [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(11): 152 - 155. (in Chinese)
- 6 孙辰,刘荣厚,覃国栋. 芦笋秸秆预处理与厌氧发酵制取沼气试验[J]. 农业机械学报,2010,41(8): 94 - 99.
Sun Chen, Liu Ronghou, Tan Guodong, Experiments on pretreatment and anaerobic digestion of asparagus stalk for biogas production [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(8): 94 - 99. (in Chinese)
- 7 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)
- 8 Hahn-Hägerdal B, Galbe M, Gorwa-Grauslund M F, et al. Bio-ethanol-the fuel of tomorrow from the residues of today [J]. Trends in Biotechnology, 2006, 24(12): 549 - 556.
- 9 张强,庄莉,Anne Belinda Thomsen. 玉米秸秆水解液脱毒处理发酵生产酒精研究[J]. 农业机械学报,2012,43(7):108 - 111.
Zhang Qiang, Zhuang Li, Anne Belinda Thomsen. Ethanol production from detoxified corn stover hydrolysate [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(7): 108 - 111. (in Chinese)
- 10 Henning J, Jan B K, Claus F. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities [J]. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 2007, 1(2): 119 - 134.
- 11 Flore Guntzer, Catherine Keller, Jean-Dominique Meunier. Benefits of plant silicon for crops: a review [J]. Agronomy for Sustainable Development, 2012, 32(1): 201 - 213.
- 12 Agbagla-Dohnani A, Noziere P, Gaillard-Martinié B, et al. Effect of silica content on rice straw ruminal degradation [J]. The Journal of Agricultural Science, 2003,140(2): 183 - 192.
- 13 Shen H S, Sundstøl F, Eng E R, et al. Studies on untreated and urea-treated rice straw from three cultivation seasons: 3. Histological investigations by light and scanning electron microscopy [J]. Animal Feed Science and Technology, 1999,80(2): 151 - 159.
- 14 Masaomi Yamamura, Soichiro Noda, Takefumi Hattori, et al. Characterization of lignocellulose of *Erianthus arundinaceus* in relation to enzymatic saccharification efficiency [J]. Plant Biotechnology, 2013, 30(1): 25 - 35.
- 15 Amrita Ranjan, Vijayanand S Moholkar. Comparative study of various pretreatment techniques for rice straw saccharification for the production of alcoholic biofuels [J]. Fuel, 2013, 112: 567 - 571.
- 16 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.
Yang Xuehui, Tang Lijuan, Zhang Rong, et al. Review on progress of crop straws surface modification[J]. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition, 2013,37(3):157 - 161. (in Chinese)
- 17 Banik S, Bandyopadhyay S, Ganguly S. Bioeffects of microwave: a brief review [J]. Bioresource Technology, 2003, 87: 155 - 159.
- 18 Pan Weiguo, Ren Jianxing, Li Yongguang. A study of biomass material pretreatment by microwave-based heating [C] // International Conference on Energy, Environment and Sustainable Development; Advanced Materials Research, 2012, 347: 2991 - 2995.
- 19 Zehra Sapci. The effect of microwave pretreatment on biogas production from agricultural straws [J]. Bioresource Technology, 2013, 128: 155 - 159.
- 20 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.
- 21 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.
- 22 Ashwell G. Determination of aldopentoses[J]. Methods in Enzymology, 1996, 8: 85 - 95.
- 23 Mandels M, Andreotti R, Roche C. Measurement of saccharifying cellulose [J]. Biotechnology and Bioengineering Symposium, 1976, 6: 21 - 33.
- 24 Brown L, Torget R. Enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass [R]. National Renewable Energy Laboratory (NREL), Golden, Co. 1996.
- 25 Karimi K, Kheradmandinia S, Taherzadeh M J. Conversion of rice straw to sugars by dilute-acid hydrolysis [J]. Biomass & Bioenergy, 2006, 30(3): 247 - 253.
- 26 Yue Z B, Yu H Q, Hu Z H, et al. Surfactant-enhanced anaerobic acidogenesis of *Canna indica* L. by rumen cultures [J]. Bioresource Technology, 2008, 99: 3418 - 3423.
- 27 Ehrman T. Standard test method for moisture, total solids, and total dissolved solids in biomass slurry and liquid process samples [R]. National Renewable Energy Laboratory (NREL), Golden, Co. 1994.
- 28 Hyman D, Sluiter A, Crocker D, et al. Determination of acid soluble lignin concentration curve by UV-vis spectroscop [R]. National Renewable Energy Laboratory, Golden, Co. 2007.

- 29 Browning B L. Crystallinity and accessibility [M] // Wiley J. Methods of wood chemistry, New York: Interscience Publishers, USA, 1967: 499 – 518.
- 30 Sun Y, Cheng J Y. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review [J]. *Bioresource Technology*, 2002, 83: 1 – 11.
- 31 Senta Heiss-Blanquet, Dan Zheng, Nicolas Lopes Ferreira, et al. Effect of pretreatment and enzymatic hydrolysis of wheat straw on cell wall composition, hydrophobicity and cellulase adsorption [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102: 5938 – 5946.
- 32 Bailey M J, Biely P, Poutanen K. Inter-laboratory testing of methods for assay of xylanases activity [J]. *Journal of Biotechnology*, 1992, 23(3): 257 – 270.
- 33 Zaccaro P, Cabassa G, Riccab G, et al. Decomposition of organic residues in soil: experimental technique and spectroscopic approach [J]. *Organic Geochemistry*, 2002, 33(3): 327 – 345.
- 34 Baddia G A, Alburquerque J A, González J, et al. Chemical and spectroscopic analyses of organic matter transformations during composting of olive mill wastes [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2004, 54(1): 39 – 44.
- 35 Park S, Baker J, Himmel M, et al. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulose performance [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2010, 3(1): 25.
- 36 Hu Qiulong, Su Xiaojun, Tan Lin. Effects of a steam explosion pretreatment on sugar production by enzymatic hydrolysis and structural properties of reed straw [J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2013, 77(11): 2181 – 2187.
- 37 Dhirendra Nath Barman, Md Azizul Haque, Tae Ho Kang, et al. Effect of mild alkali pretreatment on structural changes of reed (*Phragmites communis* Trinius) straw [J]. *Environmental Technology*, 2014, 35(2): 232 – 241.
- 38 Gustafsson J, Ciovica L, Peltonen J. The ultrastructure of spruce kraft pulps studied by atomic force microscopy (AFM) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) [J]. *Polymer*, 2003, 44(3): 661 – 670.
- 39 Zhang Mengmeng, Chen Guojun, Rajeev Kumar. Mapping out the structural changes of natural and pretreated plant cell wall surfaces by atomic force microscopy single molecular recognition imaging [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2013, 6: 147 – 158.

Effects of Microwave Pretreatment on Enzymatic Saccharification and Lignocellulosic Structure of Rice Straw

Ma Huan¹ Liu Weiwei^{2,3} Liu Ping⁴ Cheng Beijiu¹ Zhu Suwen¹ Wu Yuejin⁵

(1. School of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

2. School of Engineering, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

3. Institute of Plasmas Physics, Academia Sinica, Hefei 230031, China

4. Department of Bioengineering, Rice University, Houston 77030, USA

5. Institute of Technical Biology & Agriculture Engineering, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China)

Abstract: Microwave irradiation was employed as pretreatment for rice straw. The effects of microwave on enzymatic saccharification and lignocellulosic structure of rice straw, as well as its adsorption ability of enzyme, were investigated under the optimal conditions of pretreatment. The chemical composition analysis and structural properties determination by Fourier transform infrared spectroscopy and atomic force microscopy further confirmed that microwave pretreatment could disrupt the silicified waxy surface, break down lignin-hemicellulose complex and partially remove silicon and lignin, which could be favorable for the enhancement of enzymatic saccharification of rice straw and reduction of its adsorption of enzymes. However, X-ray diffraction analysis revealed that microwave irradiation had no significant influence on crystalline structure of cellulose.

Key words: Rice straw Microwave Pretreatment Saccharification Characterization