OSID ·

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2020.11.036

降解玉米芯木质纤维素放线菌的筛选与发酵条件优化

刘晓飞侯 艳 马京求 关桦楠 张 娜 马永强 (哈尔滨商业大学食品工程学院,哈尔滨 150076)

摘要: 玉米芯是一种重要的木质纤维素生物质农业废弃物,因其降解困难、利用率较低而未得到充分利用。从寒地 黑土中筛选出一株高效降解木质纤维素的放线菌 GS-3-39,对其进行生物学形态鉴定及 16S rRNA 分子生物学鉴 定,判定 GS-3-39 属于链霉菌属。采用单因素结合响应曲面法对其发酵条件进行优化,并对降解前后的玉米芯 进行红外和电镜观察。结果表明:当培养基初始 pH 值为 5.06、发酵温度 28.22℃、发酵转速 163.98 r/min、接菌量 为 3.09%时,玉米芯木质纤维素降解率理论最优值为 26.881%,重复试验得到降解率为 27.264%。在此条件下对 玉米芯进行降解,结果表明,放线菌 GS-3-39 对玉米芯木质纤维素具有降解作用。

关键词:玉米芯;纤维素;放线菌;降解;响应曲面优化

中图分类号: S216.2; X712 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2020)11-0329-09

Efficient Degradation and Optimization of Fermentation Conditions of Actinomycetes from Corn Cob

LIU Xiaofei HOU Yan MA Jingqiu GUAN Hua'nan ZHANG Na MA Yongqiang (School of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: Corn cob is an important agricultural waste of lignocellulosic biomass, which contains a large amount of cellulose, hemicellulose and lignin. However, because of its degradation difficulty, it is not fully utilized, resulting in resource waste. A high efficient degradation of cellulose actinomycetes strains GS - 3 - 39 was selected from the cold region and black glebe, its biological morphology and molecular biology of 16S rRNA were identified, the single factor experiment was done, significantly higher factors were selected by Plackett Burman, its fermentation conditions were optimized by response surface method (RSM), scanning electron microscope (SEM) and Fourier IR characterization were determined before and after degradation of corn cob. The results showed that GS - 3 - 39 was identified as streptomyces after morphological observation and molecular biological identification. After optimization by RSM, when the initial pH value of the medium was 5.06, the fermentation temperature was 28.22°C, the fermentation revolution was 163.98 r/min, and the inoculated-pathogen quantities was 3.09%, the maximum degradation rate of GS - 3 - 39 pair of corn cob was 27.264%, and the degradation rates of cellulose, hemicellulose and lignin in the corn cob were 39.84%, 38.33% and 47.38%, respectively. The results of SEM and IR on corn cob before and after degradation showed that actinomycetes GS - 3 - 39 had significant degradation effect on corn cob cellulose.

Key words: corn cob; cellulose; actinomycetes; degradation; response surface methodology

0 引言

全球玉米的年产量超过 10.3 亿 t,其中近 50% 由玉米芯、秸秆等组成^[1]。玉米芯是玉米生产过程 中产生的具有高木糖含量的能量密集型农业废弃 物^[2],也是一种木质纤维素材料,其成分主要有纤 维素、半纤维素和木质素^[3]。玉米芯能量密度比常 见的生物质(如玉米秸秆和柳枝稷)高出近两倍。 与玉米秸秆和柳枝稷相比,玉米芯中木质素含量较 低,是开发生物转化技术产品的适宜原料^[4],可作

收稿日期: 2020-01-06 修回日期: 2020-02-09

基金项目:黑龙江省"百千万"工程科技重大专项(2019ZX08B02)

作者简介:刘晓飞(1980—),女,副教授,主要从事农业废弃物利用研究,E-mail: liuxiaofei72@163.com

通信作者:张娜(1979—),女,教授,主要从事农产品物料特性与发酵技术研究,E-mail: foodzhangna@163.com

为一种可再生生物质生产可溶性糖,还可以通过化 学、微生物降解等发酵方法生产液体生物燃料,如乙 醇等^[5-7]。文献[8]以 O₂为氧化剂,在水溶液中将 玉米芯转化为甲酸和乙酸。文献[9]以硫酸为催化 剂,通过水解玉米芯生产乙酰丙酸。

由于玉米芯中木质纤维素生物质的复杂性和顽 固性,在温和条件下将其转化为有价值、高收率、高 选择性的化工产品还面临诸多挑战,尤其是在前期 预处理阶段^[10-11]。文献[12]通过研发3种不同的 微波辅助碱盐预处理方法来提高玉米芯废料的糖产 量,这些预处理方法可有效提高木质纤维素糖的回 收效率,可用于可溶性糖、微生物燃料的生产。文 献[13]研发了一种利用表面活性剂(吐温 80)同时 进行玉米芯预处理和糖化来提高生物乙醇产量的方 法,结果表明,添加10%的吐温80进行预处理和糖 化,得到的葡萄糖和木糖产量最大,乙醇产量也有所 提高。近年来研究发现,许多微生物具有纤维素降 解能力,并且可应用于玉米芯的降解。文献[14]构 建了一株具有天然木糖醇积累能力的产木糖醇工业 酵母菌株 PE-2,用来降解玉米芯、生产木糖醇。文 献[15]利用经生物整合处理的纤维素水解梭状芽 胞杆菌发酵玉米芯,生产正丁醇。

放线菌通过提高纤维素的水溶性、增强菌丝穿透性从而降解纤维素,且在高温及高碱等极端环境下对木质素仍具有显著的降解作用。本文从东北寒地黑土中筛选得到一株具有高效降解纤维素的放线菌GS-3-39,将其作为玉米芯工业生产的预处理剂,以提高玉米芯木质纤维素降解率,从而提高其利用率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 样品来源

土壤样品来自黑龙江省牡丹江市(43°24′N, 128°2′E),玉米芯产自黑龙江省哈尔滨市。

1.1.2 仪器与设备

LDZX - 75KBS 型立式压力蒸汽灭菌器(济南鑫 贝西生物技术有限公司);DHG - 9123A 型电热恒温 培养箱(深圳市中盛科仪科技有限公司);ZHJH -C1115B 型超净工作台(上海双旭有限公司); TG16 - WS 型台式高速离心机(山东博科科学仪器 有限公司);PerkinElmer UATR Two 型红外光谱仪 (珀金埃尔默企业管理(上海)有限公司);S - 3400N II 型扫描电镜(苏州佐藤精密仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 培养基制备

GS 固体培养基:可溶性淀粉 6 g, KNO₃ 0.3 g,

NaCl 0. 15 g, K₂ HPO₄ · 3H₂O 0. 15 g, MgSO₄ · 7H₂O 0. 15 g, FeSO₄ · 7H₂O 0. 003 g, 琼脂 5.4 g, pH 值 7. 2 ~ 7.4。

燕麦汁琼脂(ISP3)固体培养基:燕麦片 20.0g, KNO₃ 1.0g,K₂HPO₄·3H₂O 0.8g,NaCl 0.8g,琼脂 粉 20.0g,pH 值 7.2~7.4。

GY液体培养基:酵母浸粉1g,葡萄糖1g, MgSO₄·7H₂O 0.05g,K₂HPO₄·3H₂O 0.05g,pH 值 7.2~7.4。

发酵培养基:玉米秸秆2g,(NH₄)₂SO₄0.4%, KH₂PO₄0.2%,MgSO₄·7H₂O0.05%,蛋白胨1%,牛 肉膏0.5%,pH值7.2~7.4。

CMC 培养基:CMC(羧甲基纤维素钠) 1.5%, 酵 母膏 0.1%, NH₄ NO₃0.1%, MgSO₄·7H₂O 0.02%, K₂HPO₄ 0.05%, pH 值 7.2~7.4。

1.2.2 菌种的分离、纯化

土样经自然风干,研磨后取5g与45mL无菌水 混合,加适量玻璃珠于28℃、180r/min振荡30min, 过滤后得到质量分数10%原液,原液依次稀释至质 量分数0.1%、0.01%、0.001%,分别取200μL于培 养基上进行涂布,于28℃条件下倒置培养15d,然 后将培养基上长出的放线菌挑入ISP3培养基进行 单一菌的筛选。

1.2.3 刚果红染色试验

将筛选出的菌种接入 CMC 培养基中培养 15 d, 进行刚果红染色试验,进行纤维素降解能力的测定。 1.2.4 菌种鉴定

形态学鉴定:将菌株接入 ISP3 固体培养基上, 28℃下恒温培养3~4d后,观察菌落大小、颜色、边 缘状况;将菌株接入 GY 液体培养基中,28℃、 180 r/min 恒温振荡条件下培养3~4d,取适量菌液 于载玻片上,固定后用番红染色,观察菌丝形态。

分子生物学鉴定:参照文献[16]并加以修改进行 16S rRNA 分子生物学鉴定。将获得的单菌株进行 DNA 提取,连接 T 载体,热转化后挑取阳性克隆,进行 PCR 扩增;送到检测机构测序,构建该菌株的系统发育树。

1.2.5 单因素试验

以玉米芯木质纤维素降解率为指标,研究发酵 时间(1、3、5、7、9d)、培养基初始pH值(4、5、6、7、 8)、发酵转速(120、140、160、180、200 r/min)、发酵 温度(24、26、28、30、32℃)及接菌量(玉米芯发酵培 养基中菌质量分数为1%、2%、3%、4%、5%)对玉 米芯木质纤维素降解率的影响,按照上述单因素依 次进行试验并测定玉米芯木质纤维素降解率,且后 续单因素试验均在前一因素试验的较优结果上 进行。

1.2.6 玉米芯木质纤维素降解率测定

$$Y = (m - m_3) / m \times 100\%$$
(1)

式中 m——培养基中玉米芯粉末质量,g

1.2.7 发酵条件响应曲面法优化

利用 Design-Expert 8.0 软件对发酵条件进行优化^[17]。确定玉米芯木质纤维素降解率最优发酵条件。

1.2.8 玉米芯中主要成分的测定

采用范氏洗涤法^[18]测定降解前、后玉米芯中纤 维素、半纤维素、木质素和灰分的含量。

1.2.9 扫描电镜观察

参照文献[19]处理玉米芯,在响应曲面法确定 的最优条件下发酵玉米芯,对玉米芯降解前后进行 扫描电镜观察。

1.2.10 红外光谱观察

参照文献[20]处理玉米芯,在响应曲面法确定 的最优条件下发酵玉米芯,对玉米芯降解前后进行 红外光谱观察。

- 2 结果与分析
- 2.1 菌株 GS-3-39 刚果红染色结果

筛选出一株纤维素降解能力较强的放线菌,命 名为 GS-3-39,其刚果红染色结果如图 1 所示。

由图 1 得到透明圈与菌落直径比值最大的菌





株,该菌株刚果红染色后透明圈的直径 D 为 (22.63±2.36)mm,菌落生长的直径为(4.93± 0.74)mm,其透明圈与菌落直径比值为4.62± 0.26,说明GS-3-39具有较好的纤维素降解能力。

- 2.2 菌种鉴定结果
- 2.2.1 形态学鉴定结果

菌株形态学鉴定如图 2、3 所示。



图 2 单菌落形态 Fig. 2 Morphology of single colony



图 3 番红染色镜检图 Fig. 3 Gram staining microscopy

由图 2 可知该菌株在 ISP3 固体培养基上的生 长形态,菌体呈黄色且周围产生黄色孢子,图 3 为番 红染色结果,该菌可产生均匀菌丝,可初步鉴定该菌 为放线菌属。

2.2.2 分子生物学鉴定结果

(1) 菌株的 PCR 扩增结果

菌株的 PCR 扩增结果如图 4 (图中 Marker 为 DL2000 DNA Marker, 1、2 均为菌株 GS - 3 - 39 的 PCR 扩增结果)所示。图 4 中 1 500 bp 左右有一个 明亮且清晰的条带。

(2)菌株的质粒提取结果

质粒提取结果如图 5(图中 Marker 为 DL5000 DNA Marker,1、2 均为菌株 GS-3-39 的质粒提取 结果)所示。由图 5 可知,质粒条带清晰,外送测序。

(3)系统发育树的构建

系统发育树的构建结果如图 6 所示。由图 6 可 确定菌株 GS-3-39 为放线菌属。



2.3 单因素试验结果分析

2.3.1 发酵时间

发酵时间对玉米芯木质纤维素降解率的影响结 果如图7所示。





由图 7 可知,玉米芯木质纤维素降解率随发酵时间的延长而增大,在发酵 5 d 时降解率达到 16.95%。原因可能是放线菌 GS-3-39 繁殖数量 增多,产酶量增多,降解率增大。后随着时间的增长 降解率虽有提高但并不显著,考虑到成本问题,将最 佳发酵时间定为5d。

2.3.2 培养基初始 pH 值

培养基初始 pH 值对玉米芯木质纤维素降解率的影响结果如图 8 所示。



Fig. 8 Effect of initial pH value of medium on cellulose degradation rate of corn cob

由图 8 可知,在培养基初始 pH 值为 5 时达到 木质纤维素降解率的最高值 18.355%。原因可能 是放线菌 GS-3-39 生长最适 pH 值为 5。

2.3.3 发酵转速

发酵转速对玉米芯木质纤维素降解率的影响结



degradation rate of corn cob

由图9可知,在转速为160r/min时达到最高降 解率19.485%。原因可能是随着发酵转速的增大, 放线菌GS-3-39产的木质纤维素酶与玉米芯充分 接触,使木质纤维素的降解率逐渐增大,当转速再增 大时,致使菌细胞壁破裂,菌种死亡,降解率下降。

2.3.4 发酵温度

发酵温度对玉米芯木质纤维素降解率的影响结 果如图 10 所示。



Fig. 10 Effect of fermentation temperature on cellulose degradation rate of corn cob

由图 10 可知,在 28℃ 时达到降解率最高值 20.57%。原因可能是此温度是放线菌 GS-3-39 最适生长温度,此温度下酶作用能力最强。

2.3.5 接菌量

接菌量对玉米芯木质纤维素降解率的影响结果 如图 11 所示。

由图 11 可知,当接菌量为 3% 时达到最高的降 解率 21.335%。原因可能是接菌量逐渐增加,酶浓 度增大使降解率增大,当接菌量继续增加时,菌数量 过多培养基营养不足造成菌间竞争增大,菌大量死 亡使降解率下降。

2.4 响应曲面法发酵条件优化结果分析

根据上述单因素试验结果可知,玉米芯木质纤 维素降解率最佳发酵时间为5d,因此选择培养基初 始pH值、发酵转速、发酵温度、接菌量作为响应面



优化的影响因素。确定玉米芯木质纤维素降解率最 佳提取的条件为培养基初始 pH 值为 5、发酵转速为 160 r/min、发酵温度为 28℃、接菌量为 3%,各因素 在最佳条件点左右分别选取 1 个试验点,进行四因 素三水平的响应面试验,如表1所示。使用Design-

表 1 响应面因素与编码 Tab.1 Response surface factors and coding

	因素				
编码值	培养基初始	发酵转速/	发酵温度/	接菌量/	
	pH 值	(r•min ⁻¹)	°C	%	
- 1	4	140	26	2	
0	5	160	28	3	
1	6	180	30	4	

表 2 响应面试验设计与结果

Tab. 2 Response surface test design and results

试验序号	A	В	С	D	降解率 Y/%
1	0	0	1	- 1	17.879
2	1	1	0	0	20.960
3	- 1	- 1	0	0	17.690
4	0	- 1	- 1	0	19.347
5	- 1	0	0	- 1	16.876
6	1	0	0	1	19.354
7	- 1	0	1	0	21.378
8	1	0	- 1	0	21.760
9	1	- 1	0	0	18.766
10	1	0	1	0	21.897
11	0	1	- 1	0	21.795
12	0	- 1	1	0	20.357
13	0	0	- 1	- 1	19.403
14	0	1	0	1	20.967
15	1	0	0	- 1	17.664
16	- 1	0	0	1	18.032
17	0	1	1	0	22.566
18	0	0	0	0	26.805
19	0	- 1	0	1	16.997
20	0	- 1	0	- 1	16.607
21	0	0	0	0	26.899
22	0	1	0	- 1	18.776
23	0	0	0	0	26.773
24	0	0	0	0	26.324
25	0	0	0	0	26.576
26	- 1	0	- 1	0	19.670
27	0	0	- 1	1	18.876
28	0	0	1	1	21.674
29	- 1	1	0	0	20.996

Expert 8.0 软件对表 2(表中 A、B、C、D 分别表示培养基初始 pH 值、发酵转速、发酵温度、接菌量的编码值)中试验数据进行响应面回归分析,得到该试验的回归模型方程

 $Y = 26.\ 68 + 0.\ 48A + 1.\ 36B + 0.\ 41C + 0.\ 72D - 0.\ 28AB - 0.\ 39AC + 0.\ 13AD - 0.\ 060BC + 0.\ 45BD + 1.\ 08CD - 3.\ 55A^2 - 3.\ 45B^2 - 2.\ 11C^2 - 5.\ 04D^2$

对试验所得的数据进行方差分析和显著性检验,结果如表3所示。

表 3 响应面试验结果方差分析 Tab. 3 Variance analysis of response surface test results

				-		
方差来源	平方和	自由度	均方	F	Р	显著性
模型	281.70	14	20.12	228.64	< 0.0001	***
A	2.76	1	2.76	31.41	< 0.0001	***
В	22.13	1	22.13	251.46	< 0.0001	***
С	2.00	1	2.00	22.74	0.0003	***
D	6.30	1	6.30	71.59	< 0.0001	***
AB	0.31	1	0.31	3.51	0.0819	
AC	0.62	1	0.62	7.01	0.0191	*
AD	0.071	1	0.071	0.81	0.3833	
BC	0.014	1	0.014	0.16	0. 693 2	
BD	0.81	1	0.81	9.21	0.0089	**
CD	4.67	1	4.67	53.06	< 0.0001	***
A^2	81.87	1	81.87	930. 25	< 0.0001	***
B^2	77.43	1	77.43	879.82	< 0.0001	***
C^2	28.82	1	28.82	327.44	< 0.0001	***
D^2	165.09	1	165.09	1 875.86	< 0.0001	***
残差	1.23	14	0.088			
失拟项	1.02	10	0.10	1.95	0.2717	
纯误差	0.21	4	0.052			
总和	282.93	28				

注:***表示差异极显著(P<0.001);**表示差异高度显著(P<0.01);**表示差异高度显著(P<0.01);*表示差异显著(P<0.05)。

由表3可以看出,玉米芯木质纤维素降解率回归 方程 P <0.0001,表明玉米芯木质纤维素降解率的回 归方程与全部自变量间的关系极为显著,方程极显 著;而玉米芯木质纤维素降解率回归方程的失拟项 P >0.05,差异性不显著,这表示上述4个因素对试验 结果的干扰不明显,残差由随机误差引起,表示该回 归模型与实测值能够较好地拟合。获得的响应曲面 图如图 12~14 所示。

运用 Design-Expert 8.0 软件,设置玉米芯木质 纤维素降解率同时达到极大值时,求解得到玉米芯 木质纤维素降解的理论最优条件为:培养基初始 pH 值 为5.06、发酵温度 28.22℃、发酵转速 163.98 r/min、接 菌量为 3.09%,在此条件下的玉米芯木质纤维素降 解率理论值为 26.881%。在该条件下做重复试验 得到降解率为 27.264%,与理论值相差不大,证明 该模型有效。



图 12 培养基初始 pH 值、发酵温度对玉米芯木质 纤维素降解率的等高线及响应曲面

Fig. 12 Contour line and response surface of initial pH value of medium and fermentation temperature on cellulose degradation rate of corn cob



图 13 发酵转速、接菌量对玉米芯木质纤维素降 解率的等高线及响应曲面

Fig. 13 Contour line and response surface of fermentation revolution and inoculation amount on cellulose degradation rate of corn cob

2.5 玉米芯主要成分的测定

玉米芯降解前后成分及其含量如表 4 所示。由表 4 可知,接种放线菌 GS-3-39 降解后,玉米芯中纤维素的降解率为 39.84%、半纤维素的降解率为 38.33%、木质素的降解率为 47.38%,说明





Fig. 14 Contour line and response surface of fermentation temperature, inoculation amount and cellulose degradation rate of corn cob

表 4 玉米芯降解前后成分质量分数 Tab. 4 Components of corn cob before and after

	%			
成分	纤维素	半纤维素	木质素	灰分
降解前	33.26 ± 1.35	38. 14 ± 1. 23	19.67 ± 0.95	2.05 ± 0.43
降解后	20.01 ± 1.42	23.52 ± 1.17	10.35 ± 1.08	1.83 ± 0.25

GS-3-39 对纤维素、半纤维素、木质素均具有一定的降解作用。文献[21]采用连续碱挤压降解玉米芯中木质纤维素,结果表明:处理后纤维素质量分数从(42.0±0.15)%降至(37.6±1.22)%,半纤维素质量分数从(45.9±0.1)%降至(39.4±1.2)%,比较可知,GS-3-39对纤维素、半纤维素的降解效果均比该方法高。文献[22]评估不同玉米芯的预处理方法,其中碱性过氧化法效果最好,纤维素质量分数从16%增加至59%,木质素降解率约78%,半纤维素溶解高达79%,虽然木质素及半纤维素降解率较高,但增加了纤维素含量,预处理较困难,而GS-3-39对纤维素、半纤维素、木质素均有降解作用。

2.6 玉米芯降解前后扫描电镜观察结果

玉米芯降解前、后表面组织结构扫描电镜结果如图 15、16 所示。由图 15、16 可得,降解前玉米芯表面结构呈紧密、平整排列,降解后结构遭到破坏,裂解且多孔,说明 GS-3-39 对玉米芯中的结构成分就有降解作用。

2.7 玉米芯降解前后红外光谱观察结果

玉米芯降解前后红外光谱如图 17 所示。由



图 15 降解前玉米芯表面组织结构





图 16 降解后玉米芯表面组织结构 Fig. 16 Surface structure of corn cob after degradation

图 17 可知,在 3 413.42 cm⁻¹处为玉米芯中—OH 的 伸缩振动峰,在 2 920.34 cm⁻¹处为 CH₃的对称伸缩 振动峰,在 1 637.02 cm⁻¹处为 C == C 的伸缩振动 峰,在 1 053.89 cm⁻¹处为 C == C 的伸缩振动 GS - 3 - 39 降解后 1 637.02 cm⁻¹处 C == C 的伸缩振 动峰相对增强,这是由玉米芯中 C == C 的伸缩振 了 == C 键所致,表明菌株 GS - 3 - 39 降解木质纤维 素的 C == C 键,形成不稳定的 C == C,从而有效降解 木质纤维素材料。



3 讨论

玉米芯是玉米生产的副产物,是重要的木质纤 维素资源,木质纤维素是自然界中最为丰富的有机 物质,它的生物降解是许多需氧、兼性厌氧和专性厌 氧细菌和真菌的特征^[23]。木质纤维素经预处理后 可以作为原料生产生物质能源。如纤维素燃料乙 醇^[24],是指充分利用纤维素原料(如玉米芯)中的纤 维素及半纤维素,使之经水解、糖化后,再经糖发酵 过程生产的一种燃料乙醇。文献[25]以玉米芯为 原料,研究了木素磺酸盐(SLQA)和十二烷基二甲 基甜菜碱(BS12)对乙醇产量的影响。结果表明, SLQA和1g/LBS12通过促进酶解,可有效提高乙 醇产量。文献[26]以玉米芯为原料,研究利用农业 废弃物生产木糖醇。优化预处理方法得到最佳木糖 醇的产率为85%。因此找到一种有效降解玉米芯 中的木质纤维素成分的方法成为当前的研究重点。 本文研究放线菌 GS-3-39 对其的降解作用,未来 可利用 GS-3-39 作玉米芯生产生物能源的预处理

剂,或通过基因工程改造技术,使其降解木质纤维素 能力更强。

4 结束语

本文筛选出一株高效降解纤维素的放线菌 GS-3-39,运用 Design-Expert 8.0 软件,得到最优 组合条件下玉米芯木质纤维素降解率的理论最优值 为 26.881%。在最优条件下进行重复试验得到降 解率为 27.264%,且 GS-3-39 对玉米芯中纤维 素、半纤维素、木质素降解率分别为 39.84%、 38.33%、47.38%。

- 参考 文献
- [1] USDA. World agricultural supply and demand estimates [R]. Washington, DC: USDA, 2017.
- [2] BRAR K K, KAUR S, CHADHA B S. A novel staggered hybrid SSF approach for efficient conversion of cellulose/ hemicellulosic fractions of corncob into ethanol[J]. Renewable Energy, 2016, 98: 16-22.
- [3] POINTNER M, KUTTNER P, OBRLIK T, et al. Composition of corncobs as a substrate for fermentation of biofuels [J]. Agronomy Research, 2014, 12(2): 391-396.
- [4] SEWSYNKER-SUKAI Y, GUEGUIM K E B. Optimization of a novel sequential alkalic and metal salt pretreatment for enhanced delignification and enzymatic saccharification of corn cobs[J]. Bioresource Technology, 2017, 243: 785 - 792.
- [5] MUKTHAM R, BHARGAVA S K, BANKUPALLI S, et al. A review on 1st and 2nd generation bioethanol production-recent progress[J]. Journal of Sustainable Bioenergy Systems, 2016(6): 72 - 92.
- [6] 马欢,杨军磊,刘伟伟,等. 玉米芯碳基固体酸含盐氛围水热法制备[J/OL]. 农业机械学报,2018,49(6):340-346.
 MA Huan, YANG Junlei, LIU Weiwei, et al. Hydrothermal preparation of corncob-derived solid acid catalysts under saline condition[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018, 49(6): 340 346. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag = 1&file_no = 20180640&journal_id = jcsam. DOI: 10.6041/j.issn. 1000-1298.2018.06.040. (in Chinese)
- [7] 曹红亮,杨龙元,袁巧霞,等. 稻草、玉米芯调理牛粪堆肥成型育苗基质试验[J/OL]. 农业机械学报,2015,46(3):197-202.
 CAO Hongliang, YANG Longyuan, YUAN Qiaoxia, et al. Experimental research of seedling substrate compressed of cattle manures[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015, 46(3): 197-202. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag = 1&file_no = 20150328&journal_id = jcsam. DOI: 10.6041/j.issn. 1000-1298.2015.03.028. (in Chinese)
- [8] LU T, HOU Y C, WU W Z, et al. Formic acid and acetic acid production from corn cob by catalytic oxidation using O₂[J]. Fuel Processing Technology, 2018, 171: 133 139.
- [9] LIANG C, HU Y D, WANG Y, et al. Production of levulinic acid from corn cob residue in a fed-batch acid hydrolysis process [J]. Process Biochemistry, 2018, 73: 124 - 131.
- [10] 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/OL]. 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/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2015,46(6): 193 200. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag = 1&file_no = 20150627&journal_id = jcsam. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2015.06.027. (in Chinese)
- [11] 黄艳琴,魏志国,阴秀丽,等. 玉米芯稀酸水解残渣热解特性[J/OL]. 农业机械学报,2012,43(6):86-91.
 HUANG Yanqin, WEI Zhiguo, YIN Xiuli, et al. Pyrolysis characteristics of corncob dilute-acid hydrolysis residue[J/OL].
 Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2012, 43(6): 86-91. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag = 1&file_no = 20120616&journal_id = jcsam. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2012.06.
 016.(in Chinese)
- [12] SEWSYNKER-SUKAI Y, GUEGUIM K E B. Microwave-assisted alkalic salt pretreatment of corn cob wastes: process optimization for improved sugar recovery [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 125: 284 - 292.
- [13] KLEINGESINDS E K, JOSÉ Á H M, BRUMANO L P, et al. Intensification of bioethanol production by using Tween 80 to enhance dilute acid pretreatment and enzymatic saccharification of corncob[J]. Industrial Crops and Products, 2018, 124: 166-176.
- [14] BAPTISTA S L, CUNHA J T, ROMANÍ ALOIA, et al. Xylitol production from lignocellulosic whole slurry corn cob by engineered industrial, Saccharomyces cerevisiae, PE - 2[J]. Bioresource Technology, 2018, 267: 481-491.
- [15] OU J F, XU N N, ERNST P, et al. Process engineering of cellulosic n-butanol production from corn-based biomass using Clostridium cellulovorans[J]. Process Biochemistry, 2017, 62: 144 - 150.
- [16] 朱琳,曾椿淋,高凤,等.水稻秸秆堆肥发酵粗制肥料中微生物多样性研究[J/OL].农业机械学报,2018,49(7):228-234.
 ZHU Lin, ZENG Chunlin, GAO Feng, et al. Characteristic analysis of microbial diversity in crud fertilizer from compost of rice

straw[J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018,49(7):228 - 234. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? file_no = 20180727&flag = 1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2018.07.027. (in Chinese)

- [17] BEZERRA M A, SANTELLI R E, OLIVERIRA E P, et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry [J]. Talanta, 2008, 76(5): 965 - 977.
- [18] VAN SOEST P J, ROBERTSON J B, LEWIS B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. Journal of Dairy Science, 1991, 74(10): 3583 - 3597.
- [19] 孙玲,吴景贵,李建明,等. 纤维素降解细菌对玉米秸秆的降解效果[J]. 吉林农业大学学报, 2019, 41(4):402-407. SUN Ling, WU Jinggui, LI Jianming, et al. Effects of cellulose-degrading bacteria on degradation of corn stalk[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2019, 41(4): 402-407. (in Chinese)
- [20] AZTATZI-RUGERIO L, GRANADOS-BALBUENA S Y, ZAINOS-CUAPIO Y, et al. Analysis of the degradation of betanin obtained from beetroot using Fourier transform infrared spectroscopy [J]. Journal of Food Science and Technology, 2019, 56(8): 3677 - 3686.
- [21] PÉREZ-RODRÍGUEZ N, GARCÍA-BERNET D, DOMÍNGUEZ J M. Extrusion and enzymatic hydrolysis as pretreatments on corn cob for biogas production[J]. Renewable Energy, 2017, 107: 597 - 603.
- [22] AYENI A O, DARAMOLA M O. Lignocellulosic biomass waste beneficiation: evaluation of oxidative and non-oxidative pretreatment methodologies of South African corn cob[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2017, 5(2): 1771 – 1779.
- [23] MCDONALD J E, ROOKS D J, MCCARTHY A J. Methods for the isolation of cellulose-degrading microorganisms [J]. Methods in Enzymology, 2012, 510: 349 - 374.
- [24] 朱青,王庆申,赵书阳,等. 我国纤维素燃料乙醇工艺概况和经济性分析[J].石油石化绿色低碳, 2018,3(3):1-5.
 ZHU Qing, WANG Qingshen, ZHAO Shuyang, et al. Technology and economic analysis of cellulosic fuel ethanol in China
 [J]. Green Petroleum & Petrochemicals, 2018, 3(3):1-5. (in Chinese)
- [25] LOU H M, HE X X, CAI C, et al. Enhancement and mechanism of lignin amphoteric surfactant on the production of cellulosic ethanol from high solid corncob residue [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(22): 6248 - 6256.
- [26] KUMAR V, KRISHAINA M, PREET S P, et al. Efficient detoxification of corn cob hydrolysate with ion-exchange resins for enhanced xylitol production by *Candida tropicalis* MTCC 6192[J]. Bioresource Technology, 2018, 251: 416-419.

(上接第 417 页)

- [16] GURUBASAVARAJU T M, KUMAR H, MAHALINGAM A. An approach for characterizing twin-tube shear-mode magnetorheological damper through coupled FE and CFD analysis [J]. Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering, 2018, 40: 139.
- [17] 冯志敏,孙捷超,赵洪洋,等.温度效应下磁流变阻尼器动力学仿真建模与试验[J/OL]. 农业机械学报, 2018, 49(9): 382-388.

FENG Zhimin, SUN Jiechao, ZHAO Hongyang, et al. Dynamic simulation modeling and test of MR damper under temperature effect [J/OL]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2018,49(9):382 - 388. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx? flag = 1&file_no = 20180945&journal_id = jcsam. DOI: 10.6041/j.issn.1000-1298.2018.09.045. (in Chinese)

- [18] CESMECI S, ENGIN T. Modeling and testing of a field-controllable magnetorheological fluid damper[J]. International Journal of Mechanical Sciences, 2010, 52(8): 1036-1046.
- [19] MADDAH A A, HOJJAT Y, KARAFI M R, et al. Reduction of magneto rheological dampers stiffness by incorporating of an eddy current damper [J]. Journal of Sound and Vibration, 2017, 396: 51-68.
- [20] CHOOI W W, OYADIJI S O. Mathematical modeling, analysis, and design of magnetorheological (MR) dampers [J]. Journal of Vibration and Acoustics, 2009, 131(6); 061002.
- [21] YANG G, SPENCER J B F, CARLSON J D. Large-scale MR fluid dampers: modeling and dynamic performance considerations [J]. Engineering Structures, 2002, 24(3): 309 - 323.
- [22] YU Miao, WANG Siqi, FU Jie, et al. Unsteady analysis for oscillatory flow of magnetorheological fluid dampers based on Bingham plastic and Herschel-Bulkley models [J]. Journal of Intelligent Material Systems, 2013, 24(9): 1067-1078.
- [23] MOUKALLED F, MANGANI L, DARWISH M. The finite volume method in computational fluid dynamics [M]. Springer International Publishing Switzerland, 2016.
- [24] PAPANASTASIOU T C, BOUDOUVIS A G. Flows of viscoplastic materials: models and computations [J]. Rheology Reviews, 1997, 64(4): 135-178.
- [25] ZHENG Jiajia, LI Yancheng, LI Zhaochun, et al. Transient multi-physics analysis of a magnetorheological shock absorber with the inverse Jiles-Atherton hysteresis model [J]. Smart Materials and Structures, 2015, 24(10): 105024.
- [26] ISMAIL Ş, ENGIN T, ÇEŞMECI Ş. Comparison of some existing parametric models for magnetorheological fluid dampers [J]. Smart Materials and Structures, 2010, 19(3): 035012.