

不同预处理对猴头菇菌渣及水稻秸秆水解性能的影响

任桂英¹, 张凯², 董毛村², 王冰^{1,2}, 雷云辉^{3*}

(1. 重庆市农业科学院, 重庆 401329; 2. 农业废弃物资源化利用技术与设备研发

重庆市重点实验室, 重庆 401329; 3. 农业农村部农村可再生资源开发利用重点实验室, 四川成都 610041)

摘要 以猴头菇菌渣和水稻秸秆为原料, 以纤维素酶和表面活性剂为水解剂, 研究了添加水解剂对还原糖含量、CMC 酶活性、底物回收率等的影响。结果表明, 添加表面活性剂的纤维素酶降解秸秆纤维素产糖的效率高于未添加表面活性剂的降解产糖效率, 纤维素酶降解试验底物回收率大小顺序为 TU2>TU1>CK>HOU2>HOU1; 猴头菇菌渣降解率远远高于碱处理水稻秸秆, 在酶解试验中产糖量大小顺序为 HOU2>TU2>TU1>CK>HOU1。菌渣中酶和加入的酶液共同降解底物产糖效率高于其他组, 在酶解试验中酶活性大小顺序为 HOU1>TU2>TU1>HOU2>CK。纤维素酶降解纯菌渣 CMC 酶活性最高。

关键词 猴头菇菌渣; 水稻秸秆; 纤维素酶; 表面活性剂; 水解

中图分类号 X 712 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)16-0198-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.16.056



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Effects of Different Pre-treatments on Hydrolysis of *Hericium erinaceus* Residue and Rice Straw

REN Gui-ying¹, ZHANG Kai², DONG Mao-cun² et al (1. Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Chongqing 401329; 2. Agricultural Waste Recycling Technology and Equipment R&D Chongqing Key Laboratory, Chongqing 401329)

Abstract In this study, we used *Hericium erinaceus* residue and rice straw as raw materials, used cellulase and surfactant as hydrolyzers, the effects of adding hydrolyzers on reducing sugar, CMC enzyme activity and substrate recovery rate were studied. The results showed that the sugar-producing efficiency of cellulase with adding surfactant was higher than that without surfactant in the degradation of straw cellulose. The order of substrate recovery rate in cellulase degradation experiment was TU2 > TU1 > CK > HOU2 > HOU1. The degradation rate of *H. erinaceus* residue was much higher than that of alkali-treated rice straw. In the enzymolysis experiment, the order of sugar production was HOU2 > TU2 > TU1 > CK > HOU1. The sugar-producing efficiency of common degradation substrate of enzyme in the bacterial residue and the added enzyme solution was higher than that of other groups. In the enzymatic hydrolysis experiment, the enzyme activity order was HOU1 > TU2 > TU1 > HOU2 > CK. CMC enzyme activity of pure bacterial residue degraded by cellulase was the highest.

Key words *Hericium erinaceus* residue; Rice straw; Cellulase; Surfactant; Hydrolysis

食用菌因含高蛋白、低脂肪、低能量且富含矿物元素和维生素等, 已成为人们日常食材。我国是食用菌生产大国, 但随着食用菌产业的日益发展, 食用菌菌渣产量逐渐提升, 即食用菌栽培收获后剩下的培养基废料^[1]。我国是食用菌生产大国, 食用菌产量占世界总产量的 70% 以上^[2], 若菌渣不能妥善处理, 容易造成环境污染和能源浪费^[3-8]。近年来, 食用菌菌渣作为一种新能源被广泛重视, 其循环再利用研究成为农业、环保等学科研究的重点课题, 其利用方式也逐步多样化, 如菌渣厌氧发酵制取沼气、好氧发酵生产有机肥等^[9]。此外, 我国也是水稻种植大国, 水稻秸秆的产量约占我国秸秆总量的 33%^[10]。秸秆的再利用方式多样化, 如直接还田、厌氧产沼气、青贮饲料等, 但因秸秆组分和结构的特殊性, 导致其在厌氧发酵过程中的发酵效率受到严重制约。在厌氧发酵过程中, 有机物首先被水解酸化, 为加快菌渣和秸秆的水解速率, 需要通过一定的预处理手段。笔者以猴头菇菌渣和水稻秸秆为研究对象, 对比研究了和氏壁酶(纤维素酶的一种)和表面活性剂吐温 80 对其水解性能的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料 水稻秸秆、猴头菇菌渣、表面活性剂吐温

基金项目 农业部农村可再生资源开发利用重点实验室开放课题基金资助项目(2018014); 重庆市技术创新与应用示范项目(cstc2018jcsx-zdyfxmX0009); 重庆市人力资源和社会保障局 2019 年留创计划创新类项目(cx2019057)。

作者简介 任桂英(1971—), 女, 重庆人, 正高级工程师, 从事农业机械研究与固体废弃物处理工作。*通信作者, 研究员, 硕士, 从事沼气工程产品设计和控制系统开发。

收稿日期 2019-12-30

80、和氏壁酶粉。

1.2 仪器 pH 计、纯水仪、电子天平、电子炉、恒温振荡箱、恒温水浴锅、冷冻离心机、紫外可见分光光度计。

1.3 试验方法

1.3.1 预试验。 水稻秸秆采自重庆市白市驿镇九里村皇田, 采集后用清水洗净, 自然风干后, 将其剪短至 3~5 cm, 经粉碎机粉碎, 过 40 目筛备用。用 2% 稀氢氧化钠, 固液比 1:15 (mg/mL), 室温浸泡 48 h。水稻秸秆经 2% 氢氧化钠碱性溶液预处理后, 破坏秸秆内部组织结构使生物酶更大程度地降解。猴头菇菌渣样取自于璧山区菌菇养殖场, 风干后经研钵过 40 目筛备用。

1.3.2 酶液制备。 和氏壁酶(纤维素酶的一种)粉经研磨后称取 1.000 g 溶于 pH 4.8 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液中并定容至 25 mL, 充分搅拌后过滤, 取滤液置于 4 °C 冰箱中保存备用。

1.3.3 纤维素酶配合表面活性剂的水解试验。 ①对照组(CK): 称取 0.5 g 碱预处理秸秆原料, 加入 1 mL 纤维素酶液, 用 pH 4.8 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液定容至 25 mL。30 °C 恒温振荡, 分别水解 0、24、48、72 h, 测定还原糖含量、纤维素酶活和 pH。②表面活性剂处理试验 1 组(TU1): 称取 0.5 g 碱预处理秸秆原料, 加入 1 mL 纤维素酶液, 用 pH 4.8 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液定容至 25 mL。秸秆及表面活性剂按 1:0.05 (m/m) 加入; 30 °C 恒温振荡, 分别水解 0、24、48、72 h, 测定还原糖含量、纤维素酶活和 pH。③表面活性剂处理试验 2 组(TU2): 称取 0.5 g 碱预处理秸秆原料, 加入 1 mL 纤维素酶

液,用 pH 4.8 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液定容至 25 mL。秸秆及表面活性剂按 1:0.5(m/m)加入;30 ℃ 恒温振荡,分别水解 0、24、48、72 h,测定还原糖含量、纤维素酶活和 pH。④猴头菇菌渣水解试验 1 组(HOU1):称取 0.5 g 猴头菇原料,加入 1 mL 纤维素酶液,用 pH 4.8 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液定容至 25 mL;30 ℃ 恒温振荡,分别水解 0、24、48、72 h,测定还原糖含量、纤维素酶活和 pH。⑤猴头菇菌渣水解试验 2 组(HOU2):称取 0.5 g 碱预处理水稻秸秆原料,加入 1 mL 纤维素酶液,用 pH 4.8 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液定容至 25 mL。秸秆及猴头菇按 1:0.5(m/m)加入。30 ℃ 恒温振荡,分别水解 0、24、48、72 h,测定还原糖含量、纤维素酶活和 pH。水解试验参数设置具体见表 1。

表 1 水解试验参数设置

Table 1 The setting of parameters in hydrolysis experiment

处理 Treatment	水稻秸秆 添加量 Adding amount of rice straw//g	猴头菇 添加量 Adding amount of <i>H. erinaceus</i> g	酶液体积 Volume of enzyme liquid//mL	吐温 80 添加量 Adding amount of Tween 80//g
CK	0.5	0	1	0
TU1	0.5	0	1	0.03
TU2	0.5	0	1	0.25
HOU1	0	0.50	1	0
HOU2	0.5	0.25	1	0

2 结果与分析

2.1 水稻秸秆酶解产糖量的变化 纤维素酶降解水稻秸秆过程中产糖量随时间的变化见图 1。从图 1 可以看出,在反应初始阶段还原糖含量明显增加,随着降解过程反应的进行,24 h 后酶解液中的还原糖含量呈现明显上升趋势。HOU2 酶解液中还原糖含量在 72 h 时高达 42.7 mg/mL。其次,TU2 纤维素酶降解碱处理秸秆加吐温 80 酶解液中还原糖含量高于其他对照组。添加表面活性剂提高了纤维素转化率,这与 Da Costa Nogueira 等^[11]对绿色椰壳进行稀碱预处理并添加 3%(m/m)吐温 80 的研究结果相一致。在酶解试验中各处理产糖量从高到低依次为 HOU2、TU2、TU1、CK、HOU1。

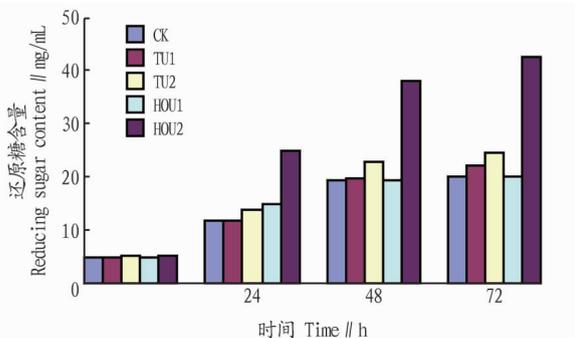


图 1 纤维素酶降解水稻秸秆产糖量的变化

Fig.1 The changes of sugar production of rice straw degraded by cellulase

2.2 酶解过程中 CMC 酶活性的变化 纤维素酶降解水稻

秸秆过程中 CMC 酶活性的变化见图 2。从图 2 可以看出,降解反应各组酶解液中初始 CMC 酶活性最高。随着时间的延长,CMC 酶活性逐渐降低,48 h CMC 酶活性达到最低。随着降解试验的进行,各处理 CMC 酶活性开始逐渐增大。HOU1 处理 CMC 酶活性变化量较 CK、TU1、TU2、HOU2 处理小。在酶解试验中,各处理 CMC 酶活性从大到小依次为 HOU1、TU2、TU1、HOU2、CK。

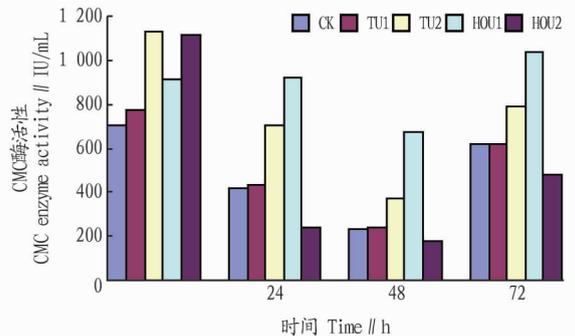


图 2 纤维素酶降解水稻秸秆过程中 CMC 酶活性的变化

Fig.2 The changes of CMC enzyme activity in the degradation process of rice straw by cellulase

2.3 酶降解过程中 pH 的变化 纤维素酶降解水稻秸秆过程中 pH 的变化见图 3。从图 3 可以看出,在反应初始阶段 pH 明显升高,随着降解过程反应的进行,24 h 时对对照组(CK)酶解液 pH 升高最快,48 h 后酶解液中的 pH 升至 4.83 左右,趋于稳定。TU2 处理 pH 达到最大值(4.83)。纤维素酶降解碱处理秸秆 TU2 酶解液中 pH 与初始值变化最大。各处理酶解液中 pH 大小顺序为 TU2>CK = TU1 = HOU2>HOU1。

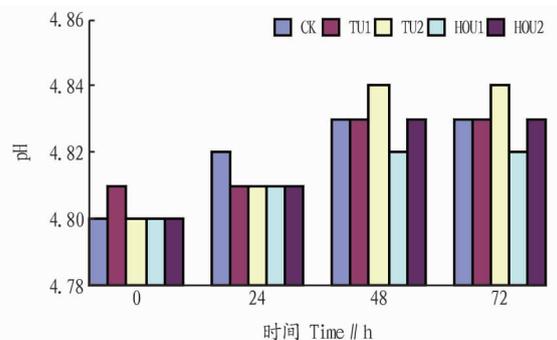


图 3 纤维素酶降解水稻秸秆过程中 pH 的变化

Fig.3 Changes of pH in cellulase degradation process of rice straw

2.4 秸秆及菌渣的降解与回收 以碱处理水稻秸秆、猴头菇菌渣作为底物,纤维素酶降解试验底物回收率见图 4。从图 4 可以看出,纤维素酶加高浓度表面活性剂底物秸秆回收率最高,达 85.02%;纤维素酶降解猴头菇菌渣底物菌渣回收率仅为 59.2%。各处理纤维素酶降解试验底物回收率从高到低依次为 TU2、TU1、CK、HOU2、HOU1。

3 结论

笔者研究了在恒温(30 ℃)下纤维素酶添加表面活性剂降解碱预处理水稻秸秆及猴头菇菌渣为底物的产糖及酶活

性试验,对酶解液中还原糖含量、CMC 酶活性、pH、底物回收率进行了初步测定。结果表明,随着降解反应的进行,还原糖含量先增加后趋于稳定,CMC 酶活性先降低后逐渐增加,pH 增加并趋于稳定;添加表面活性剂降解试验的底物回收率最高;纤维素酶降解秸秆纤维是一个产糖的过程,并且环境 pH 较为稳定。

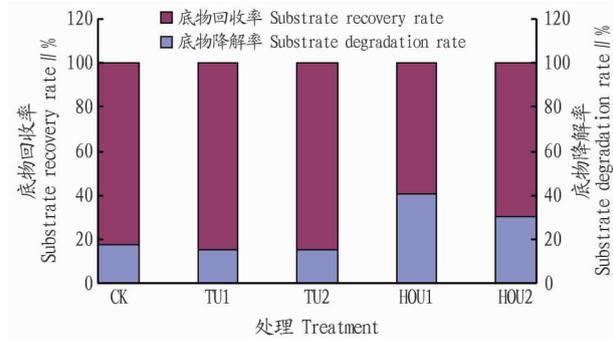


图 4 各处理底物回收率与降解率比较

Fig.4 The comparison of substrate recovery rate and degradation rate among five treatments

(1) 随着反应的进行,各处理反应酶解液还原糖逐渐增大,猴头菇菌渣 CMC 初始酶活性高于其他组,说明食用菌菌渣中含有分解纤维的酶。由于加入表面活性剂酶活性要比对照组低,说明吐温 80 表面活性剂对纤维素酶有较好的吸附作用。当酶解液中还原糖浓度达到一定浓度后对 CMC 酶活性产生一定的抑制作用,进而影响秸秆纤维降解的速度。

(2) 纤维素酶降解底物纤维产物对环境 pH 的影响不大。

(3) 添加表面活性剂的纤维素酶降解水稻秸秆纤维素产糖效率高于未添加表面活性剂的降解产糖效率;各处理纤维素酶降解试验底物回收率从大到小依次为 TU2、TU1、CK、HOU2、HOU1。猴头菇菌渣降解率远远高于碱处理水稻秸秆降解率,在酶解试验中产糖量从高到低依次为 HOU2、TU2、TU1、CK、HOU1。菌渣中含有的酶与试验加入的酶液具有协同作用,共同降解底物产糖效率高于其他组。在酶解试验中酶活性从高到低依次为 HOU1、TU2、TU1、HOU2、CK,纤维素酶降解纯菌渣其 CMC 酶活性最高。

参考文献

- [1] 张庆玉,陈诚,李小林,等.金针菇菌渣不同处理方式对环境的影响[J].西南农业学报,2015,28(2):822-825.
- [2] 张亭,韩建东,李瑾,等.食用菌菌渣综合利用与研究现状[J].山东农业科学,2016,48(7):146-150.
- [3] 翁伯琦,雷锦桂,江枝和,等.东南地区农田秸秆菌业现状分析及研究进展[J].中国农业科技导报,2008,10(5):24-30.
- [4] 罗涛,王飞.福建农业资源与生态环境发展研究[M].北京:中国农业科学技术出版社,2013.
- [5] 翁伯琦,雷锦桂,江枝和,等.东南地区农田秸秆菌业循环利用技术体系构建与应用前景[J].农业系统科学与综合研究,2009,25(2):228-232.
- [6] 翁伯琦,廖建华,罗涛,等.发展农田秸秆菌业的技术集成与资源循环利用管理对策[J].中国生态农业学报,2009,17(5):1007-1011.
- [7] 李学梅.食用菌菌渣的开发利用[J].河南农业科学,2003(5):40-42.
- [8] 栗方亮,王焯平,张青,等.菌渣对土壤性状和作物的影响及其再利用研究进展[J].中国农业科技导报,2015,17(3):100-106.
- [9] 黄武强,周红.提高环境效益的食用菌菌渣循环再利用方式[J].中国食用菌,2019,38(1):104-106.
- [10] 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.
- [11] DA COSTA NOGUEIRA C, DE ARA ÚJO PADILHA C E, DE SÁ LEITÃO A L, et al. Enhancing enzymatic hydrolysis of green coconut fiber-pretreatment assisted by tween 80 and water effect on the post-washing[J]. Industrial crops and products, 2018, 112: 734-740.

(上接第 161 页)

究结果一致。其中 T_3 、 T_4 、 T_5 处理与农户习惯施肥处理差异显著,较农户习惯施肥处理分别增加了 7.91%、9.31% 和 10.32%,而一次性施肥处理(T_6)的产量较农户习惯施肥处理虽增加了 4.9%,但差异不显著。穗数的增加是控失肥处理产量增加的主要原因,该研究结果表明,控失肥处理(T_3 、 T_4 、 T_5 、 T_6)较农户习惯施肥(T_2)穗数均有所提高,其中 T_4 处理和 T_5 处理分别显著提高了 8.19% 和 9.36%。

该试验中,控失肥处理(T_3 、 T_4 、 T_5 、 T_6)相较于农户习惯施肥(T_2),有利于提高水稻的纯收益,与章辉^[10]研究结果一致,控失肥通过添加控失剂生产而成,其价格高于普通复合肥,但控失肥养分释放缓慢,减少养分的流失,提高了肥料利用率,增加了产量,从而提高了收益。尤其是 T_4 和 T_5 处理水稻纯收益较农户习惯施肥(T_2)分别增加了 10.11% 和 10.97%。因此在水稻生产过程中应用控失增效肥料,不仅增产增收,还能提高肥料利用率,减少面源污染,为实现农业节

本增效提供了重要的施肥技术途径。

参考文献

- [1] 邹禹,钱宝云,占新春,等.安徽省水稻品种种植风险评估的技术措施[J].安徽农业科学,2019,47(10):47-48,52.
- [2] 陈勇,束维正.控失性复合肥料的研制与评价[J].化肥工业,2012,39(6):46-48.
- [3] 刘荣豪,陈永莲,梁晶,等.控失肥面源污染防治技术应用及发展对策研究[J].生态经济,2013(1):89-90,113.
- [4] 李磊,安浩军,岳茂武,等.控失肥与普通复合肥对小麦生长发育及产量的影响[J].中国农学通报,2017,33(24):1-6.
- [5] 白珊珊,万书勤,康跃虎,等.不同控失肥对冬小麦产量和肥料农学效率的影响[J].华北农学报,2017,32(1):149-155.
- [6] 殷寒旭,马友华,杨书运,等.控失复合肥对稻田 CH_4 排放和水稻产量的影响研究[J].磷肥与复肥,2016,31(1):49-52.
- [7] 胡鹏.控失肥用量对水稻产量及经济效益的影响[J].现代农业科技,2019(13):15,17.
- [8] 吴敏,田霞.水稻施用控失性肥料试验[J].安徽农学通报,2014,20(10):30-31.
- [9] 吴跃进,杨惠成,余增亮.“控失化肥”示范应用效果及机理研究综述[J].安徽农学通报,2007,13(24):22-24.
- [10] 章辉.控失肥对单季稻生长发育、产量及效益的影响研究[J].安徽农学通报,2013,19(14):80-81.