



宋丽丽,霍姍浩,冯梦琪,等. 乳白耙菌预处理对烟秆发酵产乳酸的影响[J]. 轻工学报,2023,38(6):85-92.  
SONG L L, HUO S H, FENG M Q, et al. Effect of pretreatment with *Irpex lacteus* on lactic acid production from tobacco stalks[J]. Journal of Light Industry, 2023, 38(6):85-92. DOI:10.12187/2023.06.011

# 乳白耙菌预处理对烟秆发酵产乳酸的影响

宋丽丽,霍姍浩,冯梦琪,杨旭,张志平,张靖楠,魏涛

郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001

**摘要:**针对烟秆结构致密、尼古丁抑制作用强及纤维质糖类物质转化效率低等问题,采用乳白耙菌预处理烟秆,比较预处理前后烟秆组分和结构变化,研究乳白耙菌预处理对烟秆酶解糖化效果的影响,并进一步比较不同发酵方式下(同步糖化发酵、分批发酵)凝结芽孢杆菌发酵烟秆后乳酸的转化率。结果表明:经乳白耙菌预处理20 d后,烟秆中木质素质量分数较原料烟秆降低了44.90%,乳白耙菌可选择性地破坏木质素大分子结构,木质素苯环及侧链基团均存在不同程度的降解;乳白耙菌预处理后的烟秆纤维素可反应性提升,葡萄糖的产量为260 mg/g,较原料烟秆提高了2.25倍;相较于分批发酵,同步糖化发酵的乳酸产量较高(392.16 mg/g),乳酸转化率达到86.95%,较原料烟秆提高了3.78倍。乳白耙菌预处理可选择性降解烟秆木质素,降低烟秆酶解糖化抗性,提升烟秆乳酸的转化率。

**关键词:**烟秆;乳白耙菌;木质素;葡萄糖;乳酸

**中图分类号:**TS49 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1553(2023)06-0085-08

## 0 引言

以生物质可再生资源为原料,通过生物技术加工制造生物能源和生物材料产品,是实现资源可持续发展和解决环境污染问题的重要途径。烟秆是烟草农业的主要废弃物,全球每年可产生约 $2.6 \times 10^8$  t烟秆废弃物<sup>[1]</sup>,烟秆中含有大量的纤维素、半纤维素和木质素,是潜在的高值化生物质资源。但与玉米秸秆、麦秆等普通农作物秸秆不同,如果将烟秆直接还田,它含有的尼古丁成分对土壤及水环境均会产生一定程度的污染,从而带来严重的环境问

题<sup>[2]</sup>。因此,发展烟秆高值化清洁利用是实现烟草废弃物绿色低碳循环发展的重要研究方向。

乳酸是一种重要的有机酸,广泛存在于人体、动植物及微生物中,在食品、制药、纺织、皮革、卷烟等工业中有广泛应用<sup>[3]</sup>。以L-乳酸为原料合成的聚乳酸制品具有环保、无毒、可降解、食用后可代谢等特点,受到行业的广泛关注<sup>[4]</sup>。传统乳酸生产所用的原料主要为淀粉和糖,不仅生产成本较高,还存在与人争粮等问题<sup>[5]</sup>。因此,发展以非粮低成本木质纤维素作为原料发酵产乳酸成为当前的研究重点<sup>[6-8]</sup>。烟秆中含有的纤维素、半纤维素等物质,可

收稿日期:2023-04-03;修回日期:2023-05-27;出版日期:2023-12-15

基金项目:国家自然科学基金项目(21706244);河南省科技攻关项目(222102320331,232102321144,232102110150)

作者简介:宋丽丽(1987—),女,河南省信阳市人,郑州轻工业大学讲师,博士,主要研究方向为烟草生物技术。E-mail:sll@zzuli.edu.cn

通信作者:魏涛(1980—),男,河南省焦作市人,郑州轻工业大学教授,博士,主要研究方向为烟草生物技术。E-mail:weit8008@zzuli.edu.cn

作为微生物发酵生产乳酸潜在的底物来源<sup>[9]</sup>。但由于烟秆存在抗性屏障作用强、可利用底物释放难度大、尼古丁抑制作用强等问题<sup>[1-2,9]</sup>,需采用一定的预处理手段,促进糖类物质释放,以供微生物发酵生产乳酸。常规理化预处理手段(如酸处理、碱处理等)虽然能破坏木质纤维素的屏障作用,提升纤维素酶解转化效率,但酸碱反应过程会产生对后期发酵存在抑制性的副产物(如糠醛、5-羟甲基糠醛、酚类物质等),加大了生物脱毒的难度<sup>[10-11]</sup>。相较于常规理化预处理手段,生物预处理具有反应条件温和、能耗低、无污染、抑制物少等优点<sup>[12]</sup>。Y. L. Su等<sup>[2]</sup>以烟秆为基质,对比分析了白腐菌 *Trametes versicolor*、*T. hirsute* 和 *Phanerochaete chrysosporium* 对烟秆的降解及产酶情况,发现3种白腐菌不仅能降解烟秆中的尼古丁,还能选择性降解烟秆中的木质素,为烟秆脱毒及资源化利用提供了新思路。乳白耙菌(*Iprex lacteus*)作为一种高效木质素降解菌,具有较强的抗逆性、抗杂能力和选择性<sup>[13-15]</sup>,在生物质炼制<sup>[16]</sup>、环境污染物降解<sup>[17]</sup>等方面具有良好的应用价值。

糖类物质在发酵转化为乳酸的过程中存在糖化酶解与发酵温度不一致、糖类物质共利用困难、易发生糖类底物抑制等问题<sup>[3,18]</sup>。与目前乳酸工业生产菌种(乳酸杆菌属细菌)相比,凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)发酵生产乳酸具有营养要求低、木糖利用高效、发酵温度高、生长快速等优势<sup>[19]</sup>,且对各种抑制物的耐受力较强<sup>[20]</sup>,适用于木质纤维素乳酸转化。基于此,本文拟采用乳白耙菌预处理烟秆,比较处理前后烟秆组成、结构及酶解产糖效率的变化情况,分析可利用糖类释放机制,并利用凝结芽孢杆菌发酵烟秆产乳酸,比较不同发酵方式下乳酸的转化率,以期对烟秆的资源化利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

主要材料:烟秆,取自河南郑州,于60℃干燥箱中烘干至恒重,置于干燥处备用。乳白耙菌、凝结芽孢杆菌,保存于郑州轻工业大学食品与生物工程学院。

主要试剂:纤维素酶、木聚糖酶,美国 Sigma-

Aldrich 试剂公司;葡萄糖、木糖、阿拉伯糖和乳酸标准品,均为色谱纯,美国 Sigma-Aldrich 试剂公司;其他化学试剂均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

S20145927 型电热恒温鼓风干燥箱、TY283788298 型生化培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;TY014003862 型无菌操作台,郑州长城科工贸有限公司;Vertex70 型傅里叶红外光谱仪,德国布鲁克公司;Agilent-1290 型高效液相色谱(HPLC)仪,美国安捷伦公司。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 培养基制备** 马铃薯液体培养基(PDY)(1 L):20 g 马铃薯浸出液,2 g 蔗糖,121℃灭菌20 min。

马铃薯固体培养基(PDA)(1 L):20 g 马铃薯浸出液,2 g 蔗糖,2 g 琼脂,121℃灭菌20 min。

乳酸菌厌氧培养基(MRS)(1 L):蛋白胨10 g,牛肉膏10 g,酵母粉5 g,  $K_2HPO_4$  2 g,柠檬酸二铵2 g,乙酸钠5 g,葡萄糖20 g,吐温-80 1 mL,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.58 g,  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  0.25 g,调节pH值至6.2~6.4,121℃灭菌20 min。

烟秆培养基:称取10 g 烟秆装入250 mL 三角瓶,加入10 mL 蒸馏水,塑料膜封口,121℃灭菌30 min。

**1.3.2 烟秆预处理** 将乳白耙菌斜面上划分的小块接种至PDY培养基,摇床(28℃、120 r/min)培养7 d,吸取4份5 mL 菌球至烟秆培养基中,28℃分别静置培养5 d、10 d、15 d和20 d后,将各样品于60℃干燥箱中烘干至恒重,备用。

**1.3.3 烟秆物化性能测定** 1)组分测定。参考美国国家可再生能源重点实验室(NREL)方法测定烟秆中纤维素的质量分数<sup>[21]</sup>,通过下式计算纤维素降解率。

$$\text{纤维素降解率} = \frac{(\text{原料烟秆中纤维素质量分数} - \text{预处理后烟秆中纤维素质量分数})}{\text{原料烟秆中纤维素质量分数}} \times 100\%$$

半纤维素、木质素降解率计算方法同上。

2)结构表征。乳白耙菌能够选择性降解烟秆木质素,较多地保留纤维素和半纤维素作为可发酵

底物的来源,但由于烟秆是异质性大分子结构,各组分被生物降解的同时,其内部化学结构也会发生变化,这对后期酶解糖化及乳酸发酵的影响也至关重要。将烟秆样品与纯 KBr 研磨均匀,制成薄而透明的圆形薄片置于傅里叶红外光谱仪中进行红外光谱分析<sup>[22]</sup>,扫描波数范围为 4000~400 cm<sup>-1</sup>。

**1.3.4 烟秆的酶解糖化** 以烟秆为基质发酵产乳酸的过程中,糖含量的高低直接影响乳酸转化率,因此,对乳白耙菌预处理后的烟秆进行酶解糖化,探究乳白耙菌转化烟秆的产糖能力,有助于进一步研究乳酸转化率。

以 1:20 的固液比(0.45 g 烟秆:9 mL 复合酶液)将烟秆样品置于复合酶液中,其中纤维素酶和木聚糖酶的酶活均为 30 U/(g 基质),45 °C 静置酶解 72 h,离心,取上清,使用 HPLC 法测定酶解液中葡萄糖和木糖的质量。

HPLC 检测条件:HPX-87H 色谱柱(300 mm×7.8 mm,Bio-Rad),柱温为 80 °C;采用示差折光检测器(RID),温度为 35 °C;流动相为 5 mmol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,流速为 0.65 mL/min。

烟秆酶解后葡萄糖、木糖产量及葡萄糖转化率计算公式为:

$$\text{葡萄糖产量} = \frac{\text{酶解后葡萄糖质量}}{\text{酶解前称取的基质质量}}$$

$$\text{木糖产量} = \frac{\text{酶解后木糖质量}}{\text{酶解前称取的基质质量}}$$

$$\text{葡萄糖转化率} = \frac{\text{酶解后葡萄糖质量}}{\text{烟秆中纤维素质量}} \times 100\%$$

**1.3.5 烟秆发酵产乳酸** 与其他产乳酸工业菌种(*Lactobacillus rhamnosus*、*Lactococcus lactis*)相比,凝结芽孢杆菌可同时代谢己糖和戊糖产乳酸,一方面提高了酶解效率,另一方面也避免了发酵过程中高浓度戊糖的反馈抑制作用<sup>[23]</sup>,实现烟秆的高效转化。发酵过程如下:

1) 凝结芽孢杆菌活化与培养。吸取 250 μL 的 *B. coagulans* 甘油管菌液于 MRS 培养基中,30 °C 静置培养 16 h,获得凝结芽孢杆菌发酵种子液。

2) 烟秆同步糖化发酵产乳酸。以 1:20 的固液比将 0.45 g 烟秆样品置于 9 mL 复合酶液中,其中纤维素酶和半纤维素酶的负荷均为 30 U/(g 基

质),CaCO<sub>3</sub> 添加量为 40 g/L,按 10%的接种比例接入凝结芽孢杆菌种子液,45 °C 厌氧发酵 48 h,离心,取上清,使用 HPLC 法测定发酵液中的乳酸质量,测试条件同 1.3.4。

3) 烟秆分批发酵产乳酸。将 1.3.4 的酶解液离心后取上清液,加入 40 g/L CaCO<sub>3</sub>,按 10%的接种比例接入凝结芽孢杆菌种子液,45 °C 厌氧发酵 48 h,离心,取上清,测定发酵液中的乳酸质量。

4) 乳酸产量及转化率计算公式为:

$$\text{乳酸产量} = \frac{\text{发酵后乳酸质量}}{\text{发酵前称取的烟秆质量}}$$

$$\text{乳酸转化率} = \frac{\text{乳酸质量}}{(\text{烟秆中纤维素质量} + \text{半纤维素质量})} \times 100\%$$

## 2 结果与分析

### 2.1 乳白耙菌预处理对烟秆组分的影响

经乳白耙菌预处理前后烟秆中各组分测定结果见表 1。由表 1 可知,原料烟秆中纤维素和半纤维素的质量分数分别为 37.24%和 19.24%,表明烟秆中含有丰富的可发酵底物。乳白耙菌预处理初期(5 d),木质素的质量分数无显著性变化( $P>0.05$ ),而半纤维素作为主要消耗底物,其降解率为 7.74%,表明该阶段乳白耙菌利用半纤维素作为碳源与能源进行菌体生长。当预处理 10 d 后,木质素的质量分数显著下降,其降解率为 27.99%,表明乳白耙菌发生了与木质素降解相关的次级代谢反应<sup>[24]</sup>。预处理 20 d 后,乳白耙菌对 3 种组分均有不同程度的降解,纤维素、半纤维素和木质素的降解率分别为 16.91%、27.81%和 44.90%。随着处理时间的延长,木质素与多糖的比值逐渐降低,说明乳白耙菌在以烟秆为底物的生长过程中,能够选择性地降解木质素,较大程度保留糖类物质作为可发酵底物的来源。而木质素作为影响生物质转化的关键制约因素,其降解率的提升对后期烟秆酶解糖化及发酵产乳酸具有较好的促进作用<sup>[25]</sup>。

### 2.2 乳白耙菌预处理对烟秆结构的影响

乳白耙菌预处理前后烟秆的红外光谱图见图 1。参考相关文献<sup>[26-28]</sup>总结红外光谱吸收峰归属,结果见表 2。由图 1 和表 2 可知,乳白耙菌处理前



表 1 乳白耙菌预处理前后烟秆中各组分测定结果  
Table 1 The determination results of various components in tobacco stalks before and after pretreatment with *I. lacteus*

处理时间/d	质量分数/%			降解率/%			木质素质量分数/多糖质量分数
	纤维素	半纤维素	木质素	纤维素	半纤维素	木质素	
0	37.24±0.36	19.24±0.17	18.22±0.46	0	0	0	0.33
5	35.96±0.97	17.75±0.37	17.49±0.36	3.44±0.01	7.74±0.25	4.01±0.08	0.32
10	33.63±0.42	16.54±0.13	13.12±0.16	9.69±0.04	14.03±0.89	27.99±1.12	0.26
15	32.79±0.56	14.19±0.42	10.66±0.44	11.95±0.24	26.25±1.24	41.49±1.46	0.23
20	31.21±1.21	13.89±0.45	10.04±0.74	16.19±0.90	27.81±1.54	44.90±2.14	0.22

后的烟秆表现出相似的红外光谱特征,仅在特征峰强度上有差异,表明乳白耙菌预处理并未改变烟秆生物质的基本结构。其中,与木质素相关的特征峰主要有 1630  $\text{cm}^{-1}$  处的苯环共轭 C=O 伸缩振动峰,1515  $\text{cm}^{-1}$  处的苯环骨架伸缩振动峰,1463  $\text{cm}^{-1}$  处的苯环甲基亚甲基侧链基团伸缩振动峰<sup>[26]</sup>,这些特征峰强度均有不同程度的降低,表明乳白耙菌破坏了烟秆木质素大分子中的苯环结构。1245  $\text{cm}^{-1}$  处的紫丁香基与甲氧基 C—O—C 伸缩振动峰强度均有所降低,说明乳白耙菌对木质素紫丁香基结构及其侧链基团也有一定程度的降解作用。1320  $\text{cm}^{-1}$  处的木质素甲氧基特征吸收峰<sup>[28]</sup>强度降低,说明发生了脱甲氧基反应。木质素特征吸收峰不仅表现为苯环骨架的断裂,其连接键如 C—C、C—O 键强度均有所降低。木质素作为异质性大分子物质,会阻碍酶解反应的进行,乳白耙菌预处理对烟秆木质素的改性作用较为显著,木质素的大分子结构被破坏,抗性屏障作用降低。1734  $\text{cm}^{-1}$  处为半纤维素 C=O 伸缩振动峰<sup>[29]</sup>,经乳白耙菌预处理 20 d 后此峰的强度显著降低,表明半纤维素与木质素间的连接键结构被破坏。

### 2.3 乳白耙菌预处理烟秆酶解糖化效果

**2.3.1 乳白耙菌预处理对烟秆酶解产糖的影响** 乳白耙菌预处理对烟秆酶解产糖的影响如图 2 所示。由图 2 可知,未经处理的烟秆,由于其结构致密,酶解抗性作用显著,葡萄糖和木糖产量分别为 80 mg/g 和 32 mg/g,表明原料烟秆酶解效率较低。随着乳白耙菌预处理时间的延长,葡萄糖和木糖产量逐步提升,当处理 20 d 后,葡萄糖和木糖产量分别达到 260 mg/g 和 112 mg/g,较原料烟秆分别提高了 2.25 倍和 2.50 倍。其原因可能是乳白耙菌

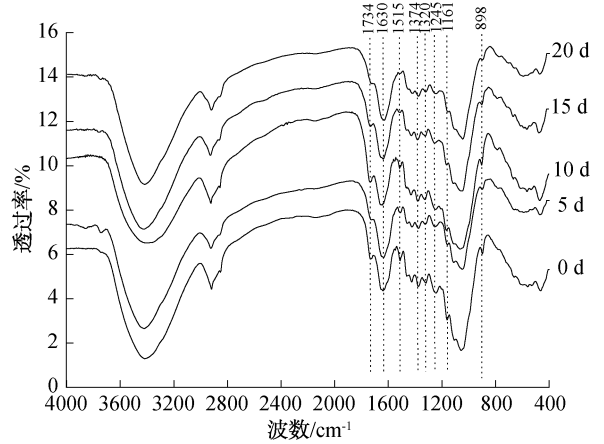


图 1 乳白耙菌处理后烟秆的红外光谱  
Fig. 1 Infrared spectrum of tobacco stalks pretreated with *I. lacteus*

表 2 红外光谱特征吸收峰及归属  
Table 2 FTIR adsorption peak location and assignment

波数/ $\text{cm}^{-1}$	特征峰归属
3416	—OH 的伸缩振动(纤维素、半纤维素和木质素)
2914	C—H 伸缩振动
1734	C=O 伸缩振动(半纤维素)
1630	苯环 C=O 共轭伸缩振动(木质素)
1515	苯环骨架伸缩振动
1463	苯环—CH <sub>3</sub> , CH <sub>2</sub> 不对称伸缩振动
1426	CH <sub>2</sub> 的弯曲振动(纤维素、木质素)
1374	C—H 弯曲振动(纤维素和半纤维素)
1320	碳水化合物中—OH 基变形振动,紫丁香基衍生物中 C—O 振动
1245	紫丁香基芳环与甲氧基键合的 C—O—C 键不对称伸缩振动
1161	C—O—C 伸缩振动(纤维素、半纤维素)
1110	脂肪族化合物和脂肪环中的醚键 —O— 的非对称伸缩振动
1050	C-3 位的 C—O 伸缩振动
898	纤维素及一些糖类 $\beta$ -糖苷键伸缩振动

预处理过程能够选择性降解木质素,使秸秆多孔性增加,提升纤维素酶和半纤维素酶的有效吸附效率<sup>[30]</sup>,进而提高葡萄糖和木糖的产量。

**2.3.2 烟秆酶解糖化动力学研究** 酶反应动力学研究最早使用的是经典 Henri-Michaelis-Menten 模型,但研究表明,在复杂非均相条件下发生酶催化反应时, Henri-Michaelis-Menten 模型对酶反应动力学的表征会出现偏差,不适合复杂木质纤维素反应的<sup>[31]</sup>动力学研究。B. Nidetzky 等<sup>[32]</sup>通过对小麦秸秆的酶解研究,将木质纤维素与纤维素酶的反应描述为二级反应,通过该模型揭示了经白腐菌处理后,不同木质纤维素基质可反应纤维素占总纤维素比率的变化。本研究基于文献<sup>[32]</sup>所提出的酶解二级反应理论,利用二级反应动力学模型对烟秆酶解过程进行数据拟合,酶解动力学曲线和参数如图3和表3所示。由表3可知,相关系数  $R^2$  均在 0.98 以上,说明数据拟合度较高。由此可以确定烟秆和纤维素酶的反应特征参数  $P$  和  $K$ 。

$P$  为烟秆中可反应纤维素占总纤维素的比例(%),反映烟秆对纤维素酶的可接触性。木质纤维素的天然结构致密复杂、秸秆表层蜡质的保护作用及木质素空间位阻障碍等对纤维素酶解糖化产生极大的抗性,阻止纤维素酶与纤维素相互作用,仅有部分纤维素大分子可与纤维素酶直接接触发生水解作用<sup>[33]</sup>。随着乳白耙菌预处理时间的延长,  $P$  有不同程度的增加,当乳白耙菌预处理 20 d 后,  $P$  达到 72.42%,比原料烟秆提高了 2.47 倍,说明经乳白耙

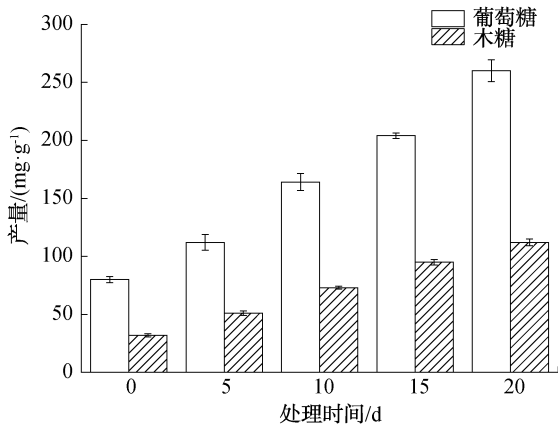


图2 乳白耙菌预处理对烟秆酶解产糖的影响  
Fig. 2 Effect of pretreatment with *I. lacteus* on enzymatic hydrolysis of tobacco stalks

菌预处理能够增加烟秆中纤维素的暴露性,提升可反应纤维素的比例,有效提高纤维素的水解效率。

$K$  为达到最大纤维素水解率一半时的水解时间(h),随着预处理时间的延长,  $K$  值也随之增大。A. Romani 等<sup>[34]</sup>用碱和水热处理燕麦秸秆,其酶解反应动力学参数  $K$  较对照均有所提升;余洪波<sup>[35]</sup>研究了白腐菌改性木质纤维素对纤维素酶反应性变化的影响,结果表明,基于二级反应模型得出的反应动力学参数  $K$  随处理时间的延长而增加,这与本文的研究结果基本一致。

## 2.4 乳白耙菌预处理对烟秆发酵产乳酸的影响

不同发酵方式对烟秆乳酸产量的影响结果如表4所示。由表4可知,原料烟秆经发酵后乳酸产量较低;经乳白耙菌预处理 20 d 后,烟秆的结构抗性屏障被破坏,纤维素酶能充分与底物接触,酶解糖化效率提升,乳酸产量也有较大幅度的升高,较原料烟秆提升了 2.79~3.59 倍。其中,同步糖化发酵的乳酸产量达到 376.17 mg/g,较分批发酵提高了 38.75%,说明发酵前期,葡萄糖和木糖的积累对烟

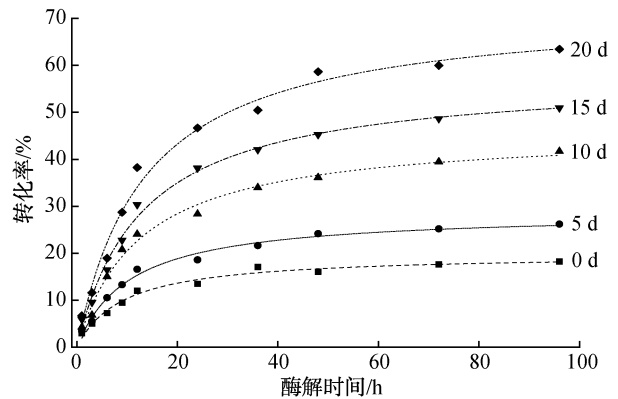


图3 烟秆酶解反应动力学曲线  
Fig. 3 Kinetic curve of enzymatic hydrolysis reaction of tobacco stalks

表3 烟秆和纤维素酶反应的<sup>[32]</sup>动力学参数  
Table 3 Kinetics parameters of cellulase conversion of tobacco stalks

处理时间/d	$P$ /%	$K$ /h	$R^2$
0	20.89	9.16	0.981 8
5	28.77	10.53	0.988 7
10	46.18	12.51	0.989 7
15	57.79	13.03	0.992 5
20	72.42	13.51	0.987 2

秆发酵产乳酸产生了抑制作用。与其他乳酸菌相比,本研究使用的凝结芽孢杆菌发酵温度为 45 ℃,其耐高温的特性避免了由于酶解和发酵温度不一致而导致的酶解效率低下的问题<sup>[23]</sup>,提高了纤维素酶和半纤维素酶的利用效率,提升了乳酸转化率。相较于分批发酵,同步糖化发酵操作过程简单,乳酸产量高,更适用于工业化生产。

以乳白耙菌预处理 20 d 的烟秆为样品,进一步采用同步糖化发酵法测定不同时间点发酵液中乳酸与残糖含量,结果如图 4 所示。由图 4 可知,发酵前 12 h,乳酸含量较低,说明菌体前期处于适应期。发酵 12~24 h,乳酸含量快速提高,葡萄糖的积累趋于 0 mg/g,而木糖持续累计到 18 h,说明凝结芽孢杆菌优先利用葡萄糖发酵产乳酸,葡萄糖的存在抑制了木糖的利用率。发酵 60 h 后,乳酸产量为 392.16 mg/g,乳酸转化率为 86.95%,较原料烟秆提高了 3.78 倍。同理化预处理<sup>[36]</sup>相比,乳白耙菌预处理免去了水洗脱毒步骤,发酵后期乳酸得率高,具有生产工艺简化,绿色无污染的优势。

表 4 不同发酵方式对烟秆乳酸产量的影响

Table 4 Effects of different fermentation methods on lactic acid production of tobacco stem

处理时间/d	乳酸产量/(mg·g <sup>-1</sup> )	
	同步糖化发酵	分批发酵
0	82.03±2.45	71.53±6.46
20	376.17±14.74	271.12±10.36

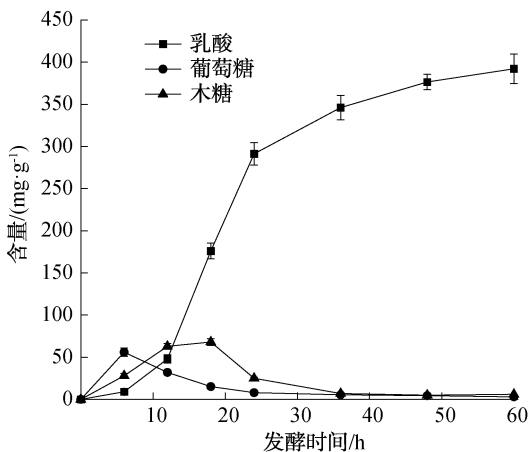


图 4 乳白耙菌预处理烟秆发酵液中乳酸与残糖含量

Fig. 4 The content of lactic acid and residual sugar in fermentation broth of tobacco stalks pretreated with *I. lacteus*

### 3 结论

本文研究了乳白耙菌预处理对烟秆结构特征和酶解产糖效率的影响,并比较了不同发酵方式下烟秆发酵产乳酸的转化率。结果表明,经乳白耙菌预处理 20 d 的烟秆中纤维素、半纤维素和木质素的降解率分别为 16.19%、27.81% 和 44.90%,乳白耙菌能够选择性地降解木质素,破除木质素的结构屏障;乳白耙菌能够有效破坏木质素的苯环骨架结构,并对木质素侧链基团等有一定程度的降解,同时对半纤维素的结构也有一定程度的破坏;经预处理后的烟秆结构抗性屏障作用解除,酶解糖化效果较原料烟秆显著提升,葡萄糖产量达到 260 mg/g,木糖产量为 112 mg/g,较原料烟秆分别提高了 2.25 倍和 2.50 倍。进一步研究酶解反应动力学特征,乳白耙菌预处理能够增加纤维素的暴露性,增加可反应纤维素比例,进而提升烟秆酶解糖化效果。以凝结芽孢杆菌发酵烟秆产乳酸,预处理后烟秆乳酸产量较未处理提高了 2.79~3.59 倍,相较于分批发酵,同步糖化发酵的乳酸产量提升效果更明显,发酵 60 h 后乳酸产量为 392.16 mg/g,乳酸转化率为 86.95%。后续可对乳酸发酵条件进行优化,为烟秆资源化利用提供参考和依据。

### 参考文献:

- [1] GUO G N, LIU X, LI R, et al. Characterization of tobacco stalk lignin using nuclear magnetic resonance spectrometry and its pyrolysis behavior at different temperatures [J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2019, 142: 104665.
- [2] SU Y L, XIAN H, SHI S J, et al. Biodegradation of lignin and nicotine with white rot fungi for the delignification and detoxification of tobacco stalk [J]. BMC Biotechnology, 2016, 16: 81.
- [3] 龚贵平, 吴波, 刘林培, 等. 秸秆基乳酸微生物细胞工厂研究进展 [J]. 南京工业大学学报(自然科学版), 2022, 44(5): 556-565.
- [4] AJALA E O, OLONADE Y O, AJALA M A, et al. Lactic acid production from lignocellulose: A review of major challenges and selected solutions [J]. ChemBioEng Reviews, 2020, 7(2): 38.
- [5] ESQUIVEL-HERNÁNDEZ D A, GARCÍA-PÉREZ J S,

- LÓPEZ-PACHECO I Y, et al. Resource recovery of lignocellulosic biomass waste into lactic acid-trends to sustain cleaner production[J]. Journal of Environmental Management, 2022, 301: 113925.
- [6] ABDEL-RAHMAN M A, TASHIRO Y, SONOMOTO K, et al. Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: Overview and limits[J]. Journal of Biotechnology, 2011, 156(4): 286-301.
- [7] KUO Y C, YUAN S F, WANG C A, et al. Production of optically pure L-lactic acid from lignocellulosic hydrolysate by using a newly isolated and D-lactate dehydrogenase gene-deficient *Lactobacillus paracasei* strain [J]. Bioresource Technology, 2015, 198: 651-657.
- [8] NWAMBA M C, SUN F B, MUKASEKURU M R, et al. Trends and hassles in the microbial production of lactic acid from lignocellulosic biomass [J]. Environmental Technology and Innovation, 2021, 21: 101337.
- [9] 宋丽丽, 张志平, 王光路, 等. 不同预处理方法对烟秆酶解产糖和结构特征的影响[J]. 轻工学报, 2019, 34(3): 52-59.
- [10] 秦梦彤, 胡婧, 李冠华. 生物质生物预处理研究进展与展望[J]. 中国生物工程杂志, 2018, 38(5): 85-91.
- [11] KANT B S, AHUJA V, CHANDEL N, et al. Advances in algal biomass pretreatment and its valorisation into biochemical and bioenergy by the microbial processes[J]. Bioresource Technology, 2022, 358: 127437.
- [12] DHARMARAJA J, SHOBANA S, ARVINDNARAYAN S, et al. Lignocellulosic biomass conversion via greener pretreatment methods towards biorefinery applications [J]. Bioresource Technology, 2023, 369: 128328.
- [13] NIU D Z, YU C Y, ZHENG M H, et al. Effects of ensiling on *Irpex lacteus* fermentation in wheat straw: Chemical composition, in vitro rumen digestibility, and fungal community[J]. Animal Feed Science and Technology, 2022, 292: 115433.
- [14] SONG L L, YU H B, MA F Y, et al. Biological pretreatment under non-sterile conditions for enzymatic hydrolysis of corn stover[J]. Bioresources, 2013, 8(3): 3802-3816.
- [15] BRETHAUER S, ROBERT L S, MICHAEL H S. Enhanced simultaneous saccharification and fermentation of pretreated beech wood by in situ treatment with the white rot fungus *Irpex lacteus* in a membrane aerated biofilm reactor[J]. Bioresource Technology, 2017, 237: 135-138.
- [16] DAVINIA S, ALICIA P, EUGENIA V M, et al. Sugar recoveries from wheat straw following treatments with the fungus *Irpex lacteus* [J]. Bioresource Technology, 2013, 131: 218-225.
- [17] MALACHOVA K, RYBKOVA Z, SEZIMOVA H, et al. Biodegradation and detoxification potential of rotating biological contactor (RBC) with *Irpex lacteus* for remediation of dye-containing wastewater [J]. Water Research, 2013, 47(19): 7143-7148.
- [18] 王凯军, 石川, 刘越. 有机固废厌氧发酵产物的转化制备与应用进展[J]. 环境工程学报, 2021, 15(6): 1840-1861.
- [19] 陈铭浩, 刘志豪, 王永红. 凝结芽孢杆菌混合碳源乳酸发酵研究[J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 155-161.
- [20] ZHANG Y M, CHEN X R, LUO J Q, et al. An efficient process for lactic acid production from wheat straw by a newly isolated *Bacillus coagulans* strain IPE22 [J]. Biore-source Technology, 2014, 158: 396-399.
- [21] SLUITER A, HAMES B, RUIZ R, et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass [J]. Laboratory Analytical Procedure, 2008, 1617(1): 1-16.
- [22] 宋丽丽, 霍姍浩, 孙永威, 等. 复合菌群协同发酵烟梗的降解特性及微生物多样性研究[J]. 轻工学报, 2023, 38(1): 63-70.
- [23] JIANG S, XU P, TAO F. L-lactic acid production by *Bacillus coagulans* through simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulosic corncob residue [J]. Bioresource Technology Reports, 2019, 6: 131-137.
- [24] ZHAO L, ZHANG J Y, ZHAO D Y, et al. Biological degradation of lignin: A critical review on progress and perspectives [J]. Industrial Crops and Products, 2022, 188: 115715.
- [25] BASAK B, KUMAR R, BHARADWAJ S, et al. Advances in physicochemical pretreatment strategies for lignocellulose biomass and their effectiveness in bioconversion for biofuel productions [J]. Bioresource Technology, 2023, 369: 128413.
- [26] SINGH R, SINGH S, TRIMUKHE K D, et al. Lignin-carbohydrate complexes from sugarcane bagasse: Preparation, purification, and characterization [J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 62: 57-66.
- [27] SCHMATZ A A, SALAZAR-BRYAM A M, CONTIERO J, et al. Pseudo-lignin content decreased with hemicellulose and lignin removal, improving cellulose accessibility, and enzymatic digestibility [J]. Bioenergy Research, 2021, 14: 106-121.
- [28] HIDALGO D, CASTRO J, DÍEZ D, et al. Torrefaction at low temperature as a promising pretreatment of lignocellulosic biomass in anaerobic digestion [J]. Energy, 2023, 263: 125822.
- [29] BENITO-GONZÁLEZ I, JAÉN-CANO C M, LÓPEZ-RUBIO A, et al. Valorisation of vine shoots for the development of cellulose-based biocomposite films with improved performance and bioactivity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165: 1540-1551.
- [30] MOONEY C A, MANSFIELD S D, TOUHY M G, et al. The effect of initial pore volume and lignin content on the enzymatic hydrolysis of softwoods [J]. Bioresource Tech-



nology, 1998, 64(2): 113-119.

- [31] 解先利, 刘云云, 曹运齐, 等. 木质纤维素酶水解分形动力学的研究进展[J]. 新能源进展, 2021, 9(5): 426-433.
- [32] NIDETZKY B, STEINER W, HAYN M. Enzymatic hydrolysis of wheat straw after steam pretreatment: Experimental data and kinetic modelling[J]. Bioresource Technology, 1993, 44(1): 25-32.
- [33] YANG B, WYMAN C E. BSA treatment to enhance enzymatic hydrolysis of cellulose in lignin containing substrates[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2006, 94

(4): 611-61.

- [34] ROMANÍ A, TOMAZ P D, GARROTE G, et al. Combined alkali and hydrothermal pretreatments for oat straw valorization within a biorefinery concept[J]. Bioresource Technology, 2016, 220: 323-332.
- [35] 余洪波. 三种类型木质纤维素的白腐菌降解异质性研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2007.
- [36] RAWOOF S A A, KUMAR P S, VO D V N, et al. Production of optically pure lactic acid by microbial fermentation: A review [J]. Environmental Chemistry Letters, 2021, 19: 539-556.

## Effect of pretreatment with *Irpex lacteus* on lactic acid production from tobacco stalks

SONG Lili, HUO Shan hao, FENG Mengqi, YANG Xu, ZHANG Zhiping, ZHANG Jingnan, WEI Tao

College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

**Abstract:** To solve the problems of dense structure of tobacco stalk, strong nicotine inhibition and low conversion efficiency of cellulosic sugars, the tobacco stalks were pretreated with *Irpex lacteus*. The composition and structure changes of tobacco stalks before and after pretreatment were compared to study the effects of *I. lacteus* pretreatment on enzymatic hydrolysis and saccharification of tobacco stalks. The conversion rate of lactic acid from tobacco stalks fermented by *Bacillus coagulans* under different fermentation conditions (simultaneous saccharification fermentation, batch fermentation) was further compared. The results showed that the mass fraction of lignin in the tobacco stalks was reduced by 44.90% compared with that of the raw tobacco stalks. Biological pretreatment using *I. lacteus* could selectively destroy the macromolecular structure of lignin, and the benzene ring structure and side chain groups of lignin were also degraded. The reactivity of cellulose in tobacco stalks was improved after pretreatment with *I. lacteus* and the yield of glucose was 260 mg/g, which was enhanced by 2.25 times compared with raw tobacco stalks. Compared with batch fermentation, the lactic acid yield of simultaneous saccharification fermentation was higher (392.16 mg/g), and the conversion rate of lactic acid reached 86.95%, which was 3.78 times higher than that of raw tobacco stalks. The pretreatment of *I. lacteus* could selectively degrade lignin of tobacco stalks, reduce the resistance of enzymatic hydrolysis to saccharification of tobacco stalks and increase the conversion rate of lactic acid of tobacco stalks.

**Key words:** tobacco stalk; *Irpex lacteus*; lignin; glucose; lactic acid

(责任编辑: 吴晓亭)