

酸-超声波预处理及糖化水解稻草研究

康广博, 袁兴中, 曾光明, 刘 佳

(湖南大学环境科学与工程学院, 湖南 长沙 410082)

摘 要:采用室内实验方法,研究了酸-超声联合预处理稻草对其化学组成以及糖化效果的影响,并与传统酸预处理法的效果进行了对比。结果表明,与未经处理的稻草相比,经酸-超声波处理的稻草其半纤维素、木质素含量最高分别减少了 64.46%、62.19%,纤维素含量最高则上升了 73.20%,而酸处理的稻草相应数值只能达到 56.72%、59.90%及 53.41%。同时分别对两种方法的稻草糖化的工艺条件通过正交试验进行了优化,得出两种方法的稻草最佳糖化条件均为:pH 值为 4.8,温度为 45 ℃,酶浓度为 20 mg·g⁻¹。在该条件下,对于酸-超声波预处理稻草,在糖化 108 h 以后还原糖浓度稳定并达到最大值 26.4 g·L⁻¹,而对于酸预处理稻草,在糖化 120 h 以后还原糖浓度才稳定并达到最大值 26.2 g·L⁻¹,且前者能比后者产生更多的葡萄糖以及更少的木糖,更有利于提高后续酒精发酵的效率。

关键词:稻草;酸-超声波预处理;酸预处理;酶水解

中图分类号:X712 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)02-0375-05

Study on Ultrasound-assisted Acid Pretreatment of Rice Straw and Its Enzymatic Hydrolysis

KANG Guang-bo, YUAN Xing-zhong, ZENG Guang-ming, LIU Jia

(College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China)

Abstract: The effect of combination pretreatment with ultrasound and acid to the chemical composition of rice straw and its enzymatic hydrolysis were investigated. Meanwhile it was compared with the acid-alone pretreated process. The results showed that in contrast to the untreated rice straw, both the content of hemicelluloses and lignin in the pretreated rice straw decreased at a maximum of 64.46% and 62.19% with the ultrasound-assisted acid respectively, and the content of cellulose increased at a maximum of 73.20%, while the rice straw pretreated by acid only were 56.72% (hemicelluloses), 59.90% (lignin) and 53.41% (cellulose) respectively. The enzymatic hydrolysis conditions of these two pretreatments were optimized by an orthogonal test. Both methods of the optimal enzymatic hydrolysis conditions were the same: pH 4.8, temperature 45 ℃ and enzyme loading 20 mg·g⁻¹ substrate. Finally, it was indicated by the results that rice straw pretreated by ultrasound-assisted had the highest concentration of reducing sugar by 26.4 g·L⁻¹ after an 108 h enzymatic hydrolysis, and the rice straw pretreated by acid only had 26.2 g·L⁻¹ after an 120 h enzymatic hydrolysis. The rice straw was pretreated by ultrasound-assisted had a higher hydrolysis rate and produced a hydrolysate with higher glucose content and lower xylose content which was more suitable for subsequent fermentation in comparison with the one by acid alone.

Keywords: rice straw; ultrasound-assisted acid pretreatment; acid pretreatment; enzymatic hydrolysis

众所周知,我国是一个以稻米为主食的粮食生产大国,而每年随之产生的稻草即占世界每年产生稻草的四分之一以上,因此此类纤维素资源极为丰富^[1]。然而长久以来,这些稻草大部分均未得到充分合理的利

用。目前,在我国大部分稻草用作燃料或在田间被直接燃烧,不但破坏了生态平衡,使土壤肥力衰竭,造成农业上的恶性循环,而且污染环境,还存在火灾隐患。同时,以其作燃料由于秸秆燃烧热能利用率甚至低于 10%^[2],对资源也是极大的浪费。因此,寻找出一种先进实用的技术高效地将稻草糖化,进而通过微生物发酵生产燃料酒精,对于解决环境污染和能源危机具有重大的现实意义^[3]。而一些传统常用的预处理方法如物理、化学和生物等,均存在着处理成本较高、处理条件难以达到和控制以及污染毒性较高等问题而难以

收稿日期:2008-05-19

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50678062);教育部科学技术研究重点项目(108100)

作者简介:康广博(1984—),男,湖南长沙人,硕士生,研究方向为农业废物的处理与利用。E-mail:guangbokang@hotmail.com

通讯作者:袁兴中 E-mail:yxz@hun.cn

在工业中大规模推广^[4],因此有必要更进一步研究出一种成本相对较低、条件更易达到及控制、污染毒性相对较小的预处理方法,从而使糖化速率更快,效果更好,而在工业等具体实际应用中得到大规模推广。

超声波作为一种运用日益广泛的能源,具有方便、高效、清洁等特点。超声处理是通过超声对物质的作用来改变或加速改变物质的一些物理、化学、生物特性或状态的技术,它不仅可以改善反应条件,加快反应速度和提高反应产率,还能使一些难以进行的化学反应得以实现。目前对超声的研究已涉及到有机合成、生物化学、分析化学、高分子化学、高分子材料、表面加工、生物技术及环境保护等方面。现已证明超声波几乎能够应用于化学的各个领域中,逐渐形成了一门将超声学及超声波技术与化学紧密结合的崭新的科学——超声化学^[5]。近年来,将超声波处理技术运用于纤维素预处理糖化已经引起了研究者的关注,有文献报道,经过超声波预处理可以促进纤维素糖化效率^[6-8],而将超声技术与化学预处理法联用,直接运用于植物纤维素预处理及糖化的研究,特别是用于稻草的处理至今还未见报道。本文研究了酸-超声波联合预处理稻草对其化学组成以及糖化效果的影响,并与传统酸预处理法的效果进行了对比,以期在实际应用中,与传统的预处理法相比较,进一步提高纤维素糖化效率,为纤维素预处理糖化提供基础数据,为工业化大规模纤维素产酒精工艺的应用提供新思路和新方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

稻草由长沙县的农户提供,将其用微型植物粉碎机粉碎后过 40 目筛,用自来水洗净,风干备用。所用稻草的主要成分:含水率 9.06%,纤维素 31.60%,半纤维素 27.38%,木质素 15.71%。采用上海贝塔生物技术有限公司生产的由绿色木霉(*Trichoderma viride*)产的纤维素酶,滤纸酶活力、CMC 糖化酶活力和纤维二糖酶活力分别为 $0.48 \text{ FPU} \cdot \text{mg}^{-1}$ 、 $12 \text{ IU} \cdot \text{mg}^{-1}$ 、 $0.17 \text{ CBU} \cdot \text{mg}^{-1}$ 。

1.2 酸预处理

称取 5 g 洗净风干粉碎的稻草,加入盛有 50 mL 一定浓度(0.5%~2.0%) H_2SO_4 的 100 mL 烧杯中,加热煮沸一定时间(15~60 min),滤干后用自来水冲洗数次直至 pH 值呈中性,55 °C 干燥,分析处理后稻草主要化学成分,并作为稻草糖化的底物。

1.3 酸-超声波联合预处理

1.3.1 仪器

本实验所用超声波发生器为美国 Branson 公司生产的 Branson Sonifier 450 型细胞破碎机(探头式),功率 0~400 W,频率 20 kHz。

1.3.2 酸-超声波处理方法

称取 5 g 洗净风干粉碎的稻草,加入盛有 50 mL 一定浓度(0.5%~2.0%) H_2SO_4 的 100 mL 烧杯中,置于超声波探头下,按照设定的时间与功率进行超声波处理,取出滤干后用自来水冲洗数次直至 pH 值呈中性,55 °C 干燥。分析处理后稻草主要化学成分,并作为稻草糖化的底物。

1.4 糖化水解

取上述经预处理的稻草 1 g,加入装有 20 mL 的一定 pH 值(4.4~5.2)的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 柠檬酸与柠檬酸钠缓冲液的 50 mL 的三角瓶中,加入少量抗生素防止糖化过程中微生物污染,然后加一定量(10~30 mg)纤维素酶,置于恒温水浴振荡器中,一定温度(40~50 °C)和 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 转速条件下糖化,隔 12 h 取样测定还原糖浓度,当还原糖浓度基本保持稳定时,停止糖化。糖化产物离心分离,取清液(糖化液)进行葡萄糖和木糖的浓度分析。

1.5 分析方法

1.5.1 稻草主要化学成分分析

稻草含水率采用 105 °C 干燥失重的方法进行测定^[4]。稻草中半纤维素、纤维素、木质素含量采用 Goering and Van Soest 法^[9]通过半自动纤维素测定仪 Foss Fibertec 2010 测得。灰分含量通过将稻草置于 550 °C 下 6 h 后计算质量之差测得。

1.5.2 糖化液还原糖浓度分析

将样品加热至 100 °C 约 2~3 min 使纤维素酶变性,冷却至室温,然后离心取上清液进行还原糖分析。还原糖采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定^[10]。

1.5.3 糖化液葡萄糖和木糖浓度分析

葡萄糖浓度按照葡萄糖氧化法进行测定^[11],木糖浓度按照间三酚比色法进行测定^[12]。

2 结果与分析

2.1 预处理及其处理条件对稻草主要化学组成的影响

2.1.1 酸预处理及其处理条件对稻草主要化学组成的影响

预处理中所采用的酸的浓度、预处理时间是影响预处理效果的关键因素,本实验测定了不同酸浓度及处理

时间对稻草主要化学组成的影响,其具体情况见表 1。

表 1 酸处理浓度与处理时间对稻草主要化学组成的影响

Table 1 Effect of concentration and pretreatment time of acid pretreatment of rice straw on its main composition

实验号	H ₂ SO ₄ 浓度/%	时间/ min	化学组成/%				
			含水率	半纤维素	纤维素	木质素	灰分
0	0	0	9.06	27.38	31.60	15.71	3.03
1	0.5	15	6.47	31.58	38.68	12.63	5.10
2	0.5	30	5.89	32.96	39.95	9.98	5.11
3	0.5	60	5.86	28.35	41.46	9.92	2.03
4	1.0	15	6.45	31.67	39.05	8.65	5.61
5	1.0	30	5.86	28.07	41.87	7.64	4.32
6	1.0	60	5.74	22.50	44.37	7.08	2.09
7	2.0	15	7.66	29.27	40.02	8.19	2.37
8	2.0	30	7.41	16.62	46.76	7.40	2.49
9	2.0	60	6.73	11.85	48.48	6.30	3.19

注:0 号为未经任何处理的稻草化学组成。下同。

从表 1 看出,随着处理浓度以及处理时间的增加,酸预处理后的稻草组分中半纤维素的含量呈下降趋势,在处理浓度为 2%、处理时间为 60 min 时,稻草中半纤维素、木质素的含量与原稻草相比下降得最多,分别下降了 56.72%、59.90%;而处理后稻草组分中纤维素含量有上升趋势,在上述同样的处理条件下,纤维素含量上升得最多,与原稻草组分相比,上升了 53.41%。因此,在下面与超声波结合处理稻草以及糖化研究时,均选择该最佳酸处理效果的处理条件: H₂SO₄ 浓度为 2%,处理时间为 60 min。

2.1.2 酸-超声波预处理及其处理条件对稻草主要化学组成的影响

预处理中所采用的超声波功率、预处理时间是影响预处理效果的关键因素,本实验测定了不同超声波功率及处理时间对稻草主要化学组成的影响,其具体情况见表 2。

从表 2 看出,对于酸-超声波预处理稻草来说,3 种不同的超声波发射功率水平,均有其最佳处理时间,在一定范围内,功率越高,对应的最佳处理时间越短。在超声波发射功率分别为 60 W 处理 60 min 以及 120 W 处理 30 min 以后,均能达到在相应条件下的最佳处理效果,处理后稻草主要化学组分与原稻草相比,半纤维素以及木质素含量分别减少了 64.46%、62.19%,而纤维素含量上升了 73.20%,与酸处理法相比,经酸-超声波处理过的稻草其化学组成中有更多的纤维素含量、更少的半纤维素及木质素含量,处理

表 2 超声波功率与处理时间对稻草主要化学组成的影响

Table 2 Effect of irradiation power and time of ultrasound-assisted acid pretreatment of rice straw on its main composition

实验号	功率/ W	时间/ min	化学组成/%				
			含水率	半纤维素	纤维素	木质素	灰分
0	—	0	9.06	27.38	31.60	15.71	3.03
1	60	15	8.95	22.26	38.84	11.49	2.65
2	60	30	7.44	17.11	49.10	8.93	2.21
3	60	45	6.63	13.33	51.43	7.25	2.26
4	60	60	5.07	9.79	54.68	6.07	3.11
5	90	15	7.47	20.00	42.32	10.08	3.12
6	90	30	6.58	13.27	51.49	7.12	2.33
7	90	45	6.49	9.53	45.71	5.44	2.19
8	120	15	7.48	17.16	48.97	8.85	2.72
9	120	30	5.11	9.73	54.73	5.94	3.03

效果均要好于酸预处理法。

同时,从表 2 可以看出,在酸-超声波预处理稻草时,一定范围内,在能量消耗相同的情况下(即时间×功率相同),功率的变化对稻草主要化学组分的含量几乎没有影响,且处理效果随着能量的增加而增大。但超过一定范围,如功率为 90 W 处理 45 min 时,纤维素的含量反而出现了下降,这可能是过多能量的超声处理加剧了超声波的空化作用^[13],使得处理过程中发生了其他反应从而导致纤维素被降解的缘故。目前发生该现象的具体原因尚不清楚,还有待于进一步研究。因此,在下面糖化的研究中,综合考虑在一定条件下最佳处理效果和最短处理时间两个因素,选用超声波功率为 120 W、处理时间为 30 min 的稻草作为酸-超声波处理稻草糖化的底物。

2.2 稻草糖化水解工艺条件的优化

在已确定糖化底物浓度为 50 g·L⁻¹、糖化水解时间为还原糖浓度基本保持稳定的时间的情况下,考虑到糖化 pH 值、水解温度、水解酶浓度这 3 个影响糖化水解过程最重要的因素,为考察这些因素对糖化过程的影响程度,优化工艺条件,每个因素选取 3 个水平,设计了 L⁹(3³)正交实验,酸预处理稻草糖化以及酸-超声波预处理稻草糖化正交实验的结果分别见表 3、表 4。

由表 3 实验结果可知,各因素的影响程度为:酶浓度>温度>pH 值。根据表 3 中各因素在不同水平稻草糖化的平均还原糖浓度(k 值)可以确定在上述给定的条件中的最佳工艺条件,由此确定给定的条件中的糖化最佳工艺条件为:pH 值为 4.8,温度为 45 ℃,酶浓度为 20 mg·g⁻¹。表 3 中 4 号实验条件正好与正

表 3 优化酸处理稻草糖化条件正交试验结果

Table 3 Result of the orthogonal experiment of optimization for enzymatic hydrolysis of acid pretreated rice straw

实验号	pH 值	温度/℃	酶浓度/mg·g ⁻¹	还原糖浓度/g·L ⁻¹
1	4.4	45	10	15.1
2	4.4	50	20	16.4
3	4.4	55	30	10.2
4	4.8	45	20	26.2
5	4.8	50	30	24.5
6	4.8	55	10	7.4
7	5.2	45	30	21.0
8	5.2	50	10	9.9
9	5.2	55	20	17.3
K ₁	41.7	62.3	32.4	
K ₂	58.1	50.8	59.9	
K ₃	48.2	34.9	55.7	
k ₁	13.9	20.8	10.8	
k ₂	19.4	16.9	20.0	
k ₃	16.1	11.6	18.6	
S	2.77	4.60	4.96	

交试验确定糖化最佳工艺条件一致,其还原糖浓度为 26.2 g·L⁻¹,在所有实验中为最高。在接下来的酸处理稻草糖化分析比较过程中,均采用上述最佳的糖化条件糖化水解。

由表 4 实验结果可知,各因素的影响程度为:温度>酶浓度>pH 值。根据表 4 中各因素在不同水平稻草

表 4 优化酸-超声波处理稻草糖化条件正交试验结果

Table 4 Result of the orthogonal experiment of optimization for enzymatic hydrolysis of ultrasound-assisted acid pretreated rice straw

实验号	pH 值	温度/℃	酶浓度/mg·g ⁻¹	还原糖浓度/g·L ⁻¹
1	4.4	45	10	12.4
2	4.4	50	20	15.5
3	4.4	55	30	5.4
4	4.8	45	20	26.4
5	4.8	50	30	26.1
6	4.8	55	10	7.4
7	5.2	45	30	20.2
8	5.2	50	10	11.1
9	5.2	55	20	14.8
K ₁	33.3	59.0	30.9	
K ₂	59.9	52.7	56.7	
K ₃	46.1	27.6	51.7	
k ₁	11.1	19.7	10.3	
k ₂	20.0	17.6	18.9	
k ₃	15.4	9.2	17.2	
S	4.45	5.56	4.54	

糖化的平均还原糖浓度(k 值)可以确定在上述给定的条件中最佳工艺条件,由此确定给定的条件中糖化最佳工艺条件为:pH 值为 4.8,温度为 45 ℃,酶浓度为 20 mg·g⁻¹。表 4 中 4 号实验条件正好与正交试验确定的糖化最佳工艺条件一致,其还原糖浓度为 26.4 g·L⁻¹,在所有实验中为最高,且高于酸预处理稻草糖化所产生的还原糖浓度。在后文的酸-超声波处理稻草糖化分析比较过程中,均采用上述最佳的糖化条件糖化水解。

2.3 两种不同预处理稻草糖化水解结果的比较

将经过两种不同预处理方法的稻草作为糖化水解的底物。预处理方法均采用上述实验优化出来的最佳方法,糖化条件也采用上述实验优化出来的最佳条件。糖化水解结果见图 1。

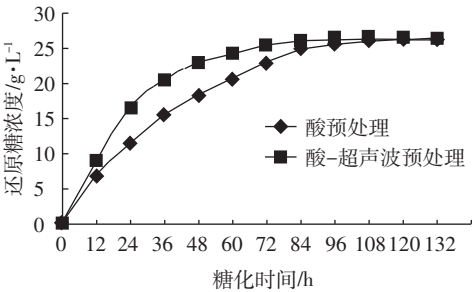


图 1 不同处理方式对稻草糖化的影响

Figure 1 Effect of different treatment methods on enzymatic hydrolysis of rice straw

从图 1 可以看出,酸-超声波预处理稻草的糖化速度明显要比酸预处理稻草的糖化速度快。这也能说明酸-超声波预处理法与酸预处理法相比能够除去稻草中更多的半纤维素和木质素,因为除掉更多的木质素与半纤维素,才能破坏纤维素的微晶结构,增加原料的孔隙率,从而增大酶接触的表面积,更有利于糖化水解的速度^[7,14-15]。因此有理由推断,与酸处理法相比,经超声波处理后的稻草内部植物纤维的孔径更大,可及性也更大,使得酶能够更多更快地渗入内部,导致糖化效率更大。对于酸-超声波预处理稻草,在糖化 108 h 以后还原糖浓度稳定并达到最大值 26.4 g·L⁻¹,而对于酸预处理稻草,在糖化 120 h 以后还原糖浓度才稳定并达到最大值 26.2 g·L⁻¹,显然糖化过程中,与酸预处理稻草糖化相比,经过酸-超声波联合预处理的稻草糖化速率明显要快于前者,且能比前者产生更多的葡萄糖以及更少的木糖,更有利于提高后续酒精发酵的效率。

将最终糖化产物作葡萄糖及木糖浓度分析,分析结果见表 5。

表 5 两种预处理稻草糖化液产物主要化学成分

Table 5 Chemical composition of the hydrolysate for two different pretreatment methods

预处理方法	还原糖浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	葡萄糖浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	木糖浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
酸预处理	26.2	15.4	3.0
酸-超声波预处理	26.4	18.2	1.8

注：酸预处理及酸-超声波预处理稻草糖化时间分别为 120 h 及 108 h。

从表 5 可以很明显看出,与常规酸预处理稻草糖化相比,酸-超声波预处理稻草糖化最终能产生更多的葡萄糖浓度和相对较少的木糖浓度。显然,酸-超声波预处理稻草更有利于以后酒精发酵过程,进而提高酒精发酵速率以及产率。

3 结论

本实验研究了传统酸及酸-超声联合预处理稻草对其化学组成以及糖化效果的影响,并在两种方法之间的处理效果上进行了对比。研究结果表明:

(1)酸预处理最佳条件为 H_2SO_4 浓度为 2.0%,处理时间为 60 min。而酸-超声波预处理最佳条件为 H_2SO_4 浓度为 2.0%,超声波功率为 120 W,超声波处理时间为 30 min。

(2)与未经处理的稻草相比,经酸-超声波处理的稻草其半纤维素、木质素含量分别减少了 64.46%、62.19%,纤维素含量则上升了 73.20%,而酸预处理的稻草相应数值只能达到 56.72%、59.90%及 53.41%。

(3)对于超声波处理,在一定范围内,超声波处理功率越高,对应的最佳处理时间越短,相同能量消耗的情况下,功率的变化对稻草主要化学组分的含量几乎没有影响。

(4)经过正交实验,确定在给定的条件中,两种预处理法稻草糖化最佳工艺条件均为:pH 值为 4.8,温度为 45 $^{\circ}\text{C}$,酶浓度为 20 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

(5)在所给定的条件下选定的最佳工艺条件下,对于酸-超声波预处理稻草,在糖化 108 h 以后还原糖浓度稳定并达到最大值 26.4 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,而对于酸预处理稻草,在糖化 120 h 以后还原糖浓度才稳定并达到最大值 26.2 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

超声波处理改变稻草糖化水解后的化学组成及糖化效率的具体机理还有待于进一步深入研究。随着超声波技术的不断发展,其在植物纤维预处理及糖化发酵酒精领域具有很好的应用前景。

参考文献:

- [1] 管小冬. 农作物秸秆资源利用浅析[J]. 农业工程学报, 2006, 22(1): 104-106.
GUAN Xiao-dong. Analysis of crop stalk utilization[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2006, 22(1): 104-106.
- [2] 李 静, 杨红霞, 杨 勇, 等. 微波强化酸预处理玉米秸秆乙醇化工工艺研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(6): 199-202.
LI Jing, YANG Hong-xia, YANG Yong, et al. Acid-pretreatment of maize stalk by microwave-acceleration in ethanolization process[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2007, 23(6): 199-202.
- [3] 陈洪章. 纤维素生物技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
CHEN Hong-zhang. Biological technology of lignocelluloses[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [4] Zhu Sheng-dong, Wu Yuan-xin, Yu Zi-niu, et al. Pretreatment by microwave/alkali of rice straw and its enzymatic hydrolysis[J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40: 3082-3086.
- [5] 陈贵虹, 王西奎, 孙士青, 等. 超声化学的基本原理及其在化学合成和环境保护方面的应用[J]. 山东科学, 2004, 17(1): 51-54.
CHEN Guan-hong, WANG Xi-kui, SUN Shi-qing, et al. The principal of ultrasound chemistry and the applications in chemosynthesis and environmental protection[J]. *Shandong Science*, 2004, 17(1): 51-54.
- [6] Aliyu M, Hephher M J. Effects of ultrasound energy on degradation of cellulose material[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2000, 7: 265-268.
- [7] Masanao I, Kohei I, Isao S. High-performance hydrolysis of cellulose using mixed cellulase species and ultrasonication pretreatment[J]. *Biochemistry Engineering Journal*, 2004, 17: 79-83.
- [8] Mahinpour R, Sarbolouki M N. Enzymatic Hydrolysis of cellulose by ultrasonic pretreatment[J]. *Iranian Journal of Chemistry & Chemical Engineering-International English Edition*, 1998, 17(1): 8-13.
- [9] Goering H K, Van Soest P J. Agricultural handbook Forage fiber analyses: apparatus, reagentes procedures and some applications[J]. *Agricultural Handbook Washington: USDA*, 1970, 379: 20.
- [10] 刘宪华, 鲁逸人. 环境生物化学实验教程[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
LIU Xian-hua, LU Yi-ren. Environmental biochemistry experiment courses[M]. Beijing: Science Press, 2006.
- [11] Mccleary B V, Shammer I, Glennie H M. Measurement of (1-3), (1-4)-b-D-glucan[J]. *Methods Enzymol*, 1988, 160: 545-551.
- [12] Ashwell G. Determination of aldopentoses[J]. *Methods Enzymol*, 1966, 8: 85-95.
- [13] 赫尔福斯特 L, 温特尔 H M. 超声的基本原理与应用[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1961.
Herfoster L, Wintel H M. The basic principle and application of ultrasound[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1961.
- [14] Sun Y, Cheng J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review[J]. *Bioresource Technology*, 2002, 83: 1-11.
- [15] 张裕卿, 付二红, 梁江华. 超声波对木质纤维素糖化过程影响的研究[J]. 中国生物工程杂志, 2007, 27(9): 81-84.
ZHANG Yu-qing, FU Er-hong, LIANG Jiang-hua. Study on the saccharification processes of ligocellulose brought about ultrasonic wave[J]. *China Biotechnology*, 2007, 27(9): 81-84.