

提高麦草可酶解性的常压甘油自催化预处理

孙付保^{1,2}, 陈晓旭¹, 娄秀萍^{1,2}, 洪嘉鹏¹, 蔡宇杰^{1,2}, 廖祥儒^{1,2}

(1. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122;
2. 江南大学糖化学与生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要:针对小分子有机溶剂预处理时存在的缺陷, 尝试高沸点甘油预处理木质纤维素以提高其可酶解性的研究。通过对预处理时一些关键参数进行初步优化, 获得适宜预处理条件为: 质量分数 70% 甘油溶液、液固比(麦草与甘油水溶液的质量比) 20、蒸煮温度 230℃ 和保温 1 h; 麦草纤维素保留率约 92%, 木质素脱除率达 74%; 常压甘油自催化预处理麦草在纤维素酶 5 FPU/g 干底物时, 48 h 纤维素酶解转化率为 41.3%。结合电镜观察和红外光谱分析, 初步认为常压甘油自催化预处理通过脱除木质纤维素原料中不利于纤维素酶解的组分及打破其致密不均一结构, 从而提高了木质纤维素的酶解性。

关键词: 麦草; 常压甘油自催化预处理; 酶解

中图分类号: TQ352.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2011)09-0035-04

Atmospheric glycerol autocatalytic pretreatment to improve the digestibility of lignocellulosic biomass

SUN Fu-bao^{1,2}, CHEN Xiao-xu¹, LOU Xiu-ping^{1,2}, HONG Jia-peng¹, CAI Yu-jie^{1,2}, LIAO Xiang-ru^{1,2}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology of Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Key Laboratory of Carbohydrate Chemistry & Biotechnology of Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: To avoid some drawbacks existing in small molecular organosolvent pretreatment, an atmospheric glycerol autocatalytic pretreatment (AGAP) is used to enhance the enzymatic hydrolysis of lignocelluloses. With a preliminary optimization of some key operation parameters, the optimal pretreatment is shown as follows: 70% of glycerol liquor, 20 of liquid-solid ratio, 230℃ of cooking temperature and 1 h of holding time. For the pretreated fiber, the retention rate of wheat straw cellulose is about 90% and removal efficiency of lignin is 74%. At the cellulase loading of 5 FPU/g dry substrate, its cellulose-to-glucose conversion can achieve 41.3% after 48 h. With a scanning electronic microscope and infrared spectroscopic analysis, it is suggested that the AGAP can improve the digestibility of lignocellulose by removing some enzyme-inhibitive components and disrupting the recalcitrant heterogenic structure.

Key words: wheat straw; atmospheric glycerol autocatalytic pretreatment; lignocellulosic digestibility

在木质纤维类生物质预处理方面, 目前的一些代表性方法在经济性、有效性、安全性和环境友好及对后续工艺影响等, 都不同程度地存在着问题, 尤其是经济成本方面, 难以满足生物炼制的要求, 与理想预处理技术还有一定的距离^[1-4]。小分子有机溶剂制浆由于具有预处理选择性好和便于回收等特点, 在相当一段时间内引起了广泛的关注, 比如 AL-CELL 法和 ACETOSOLV 法等, 但它们在工程放大时凸现出一些不足, 如易挥发、易泄漏、易燃易爆和有毒及高压运行等。针对此问题, 一些研究者开始对纤维质进行了高沸点有机溶剂制浆的研究, 但仍然存在着加压、加酸/碱等催化剂以及蒸煮溶剂成本过高的问题^[5-7]。

另一方面, 工业甘油作为生物柴油的副产品(1/4 生物柴油产量), 产量随着全球生物柴油的日

益剧增而不断攀升, 出现了严重的供大于求^[8], 而且这些低品级甘油精制到食品和医药级 (~99.5%) 需要先进的技术和高昂的投资成本^[9]。鉴于此, 课题组成员先前已利用这些低品级工业甘油作蒸煮剂, 开展了木质纤维素原料预处理以提高木质纤维素可酶解性的探索^[10-11]。在此基础上, 笔者采用麦草作为木质纤维素原料, 以工业甘油作蒸煮剂, 继续开展常压甘油自催化预处理提高木质纤维素可酶解性的研究。

1 实验部分

1.1 主要试剂与仪器

风干麦草, 产于河南平顶山; 工业甘油(质量分数 >95.0%), 江苏扬州飞扬化工有限公司。荷兰 FEI 公司 Quzifa-200 扫描电子显微镜; 美国 Thermo

收稿日期: 2011-05-30

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(20906041)

作者简介: 孙付保(1975-), 男, 博士, 副教授, 主要从事生物质制糖工程和能源生物技术方面的研究, fubaosun@jiangnan.edu.cn。

Nicolet 公司 NICOLET NEXUS 470 傅里叶红外光谱仪;美国 DIONEX 公司高效液相色谱仪。

1.2 实验方法

1.2.1 麦草的常压甘油预处理

称取 10 g 干麦草,放入带搅拌的 1 L 三孔烧瓶中,然后加入一定量甘油溶液,放在数显恒温加热套上进行加热升温,达到设定温度后进行保温蒸煮。蒸煮结束后,停止加热冷却约 10 min 后加入 100 mL 质量分数 40% 的甘油溶液,快速搅拌使纤维充分分离,趁热用砂芯漏斗抽滤洗涤,用开水洗涤 3~5 次,即获得常压甘油自催化预处理麦草纤维。

1.2.2 预处理后麦草的酶解

精确称取上述麦草干料 0.5 g 放入 150 mL 的三角瓶中,加入一定量 pH 4.8 柠檬酸缓冲液,使底物质量分数为 2%,充分振荡使物料混匀后按 5 FPU/g 底物加入纤维素酶,在转速 150 r/min 和 50℃ 进行酶解。定时取样进行葡萄糖含量分析测定。

1.3 分析测定方法

麦草主要组成:麦草用自来水清洗,沥水后于 105℃ 下烘至恒重,按改进的连续重量法测得麦草三大组分含量(质量分数 44.5% 纤维素,质量分数 32.1% 半纤维素和质量分数 17.2% 木质素)。

(上接第 34 页)

42.61、7.11 和 70.14。而 4A 沸石含量继续提高,CO₂/N₂、O₂/N₂ 和 H₂/N₂ 的选择性下降,这是因为 4A 沸石含量过高,团聚作用加强,使选择性降低。

表 3 沸石含量对 HTPB-PU/4A 杂化膜的气体渗透性能的影响

沸石添加 的质量分 数/%	渗透性/Barrer				选择性			
	CO ₂	O ₂	N ₂	H ₂	CO ₂ / N ₂	O ₂ / N ₂	H ₂ / CO ₂	H ₂ / N ₂
0	9.62	1.07	0.242	15.6	39.75	4.42	1.62	64.46
3	9.36	1.17	0.231	15.1	40.52	5.06	1.61	65.37
5	9.35	1.32	0.223	14.9	41.93	5.92	1.59	66.82
10	8.99	1.50	0.211	14.8	42.61	7.11	1.64	70.14
30	10.93	1.83	0.283	18.4	38.63	6.46	1.68	65.02

3 结语

两步法制备了 4A 沸石填充 HTPB-PU 杂化膜。添加 4A 沸石后,膜的热稳定性明显提高,且沸石与膜的相容性较好。该膜对 CO₂/N₂、O₂/N₂ 和 H₂/N₂ 有较高的选择性,加入 4A 沸石可显著改善膜的 O₂

葡萄糖含量测定:酶解结束后,取样放入沸水浴煮沸 10 min,冷却至室温,然后膜过滤,利用高效液相色谱仪测糖,流动相为 5 mmol/L 稀硫酸溶液,流速为 0.6 mL/min,柱温 60℃。

纤维素转化率的计算见式(1)。

$$\text{纤维素转化率} = (\text{葡萄糖产量} \times 0.9) / (\text{物料中纤维素质量} \times 100\%) \quad (1)$$

预处理前后麦草的电镜观察:取少量烘干麦草,在真空条件下进行镀膜处理,待其表面形成一层导电膜后,用扫描电子显微镜在不同放大倍数下进行观察。

预处理前后麦草的红外光谱分析:将少量麦草粉末加入适量 KBr 中,干燥条件下混合均匀压片,然后用傅里叶红外光谱仪测定。

2 结果与讨论

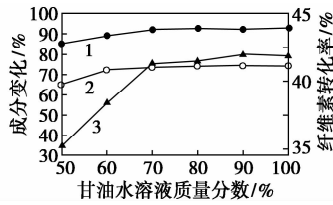
2.1 甘油浓度对麦草酶解的影响

本实验中首选考察了甘油浓度对预处理麦草可酶解性的影响。由图 1 可以看出,在确定预处理条件(蒸煮温度 230℃、液固比 20 和蒸煮时间 1 h)下,在甘油浓度较低时预处理选择性不高,导致纤维素保留率和木质素脱除均较低;随着甘油浓度升高,纤维素保留率和木质素脱除均增大,纤维素转化率

渗透性及 O₂/N₂ 选择性,最大选择性达到 7.11。

参考文献

- [1] 张秋根,陈建华,周国波,等.填充型有机:无机杂化分离膜研究进展[J].现代化工,2006,26(7):22-26.
- [2] Wolińska-Grabczyk A, Jankowski A. Gas transport properties of segmented polyurethanes varying in the kind of soft segments[J]. Separation and Purification Technology, 2007, 57(3):413-417.
- [3] Patrício P S O, de Sales J A, Silva G G, et al. Effect of blend composition on microstructure, morphology and gas permeability in PU/PMMA blends[J]. Journal of Membrane Science, 2006, 271(1/2):177-185.
- [4] Park H B, Kim C K, Lee Y M. Gas separation properties of polysiloxane-polyether mixed soft segment urethane-urea membranes [J]. Journal of Membrane Science, 2002, 204(1/2):257-269.
- [5] Jiang X, Ding J F, Kumar A. Polyurethane-poly(vinylidene fluoride) (PU-PVDF) thin film composite membranes for gas separation[J]. Journal of Membrane Science, 2008, 323(2):371-378.
- [6] Yong H H, Park H C, Kang Y S, et al. Zeolite filled polyimide membrane containing 2,4,6-triaminopyrimidine [J]. Journal of Membrane Science, 2001, 188:151-163.
- [7] 王楠,王同华,李琳,等. Y 型沸石/炭杂化膜的制备及其气体分离性能[J]. 高校化学工程学报, 2009, (1):126-130. ■



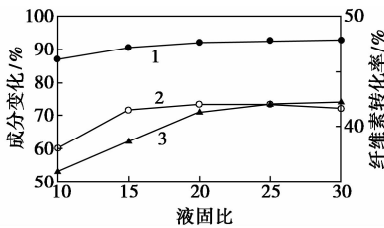
1—纤维素保留率;2—木质素脱除率;3—纤维素转化率

图 1 甘油浓度对麦草处理之后成分及其纤维素转化率的影响

提高的最为明显,它们均在质量分数为 70% 甘油浓度时达到最大值;此后进一步提高甘油浓度,它们均无明显提高。所以今后实验中,选用质量分数 70% 甘油水溶液作为预处理溶剂。

2.2 液固比对麦草酶解的影响

图 2 为蒸煮温度 230℃ 和保温蒸煮 1 h 时初始液固比对纤维素保留率、木质素脱除及纤维素转化率的影响。当初始液固比较低时,该预处理方法也从麦草中脱除了木质素,但木质素脱除率较低,相应的纤维素转化率也不高;随着初始液固比的增加,木质素脱除和纤维素转化率均明显提高,直至液固比为 20;随后进一步提高初始液固比,木质素脱除和纤维素转化率均没有明显的提高。因此,常压甘油自催化预处理时甘油水溶液添加量为 20 g/g 物料比较适宜。



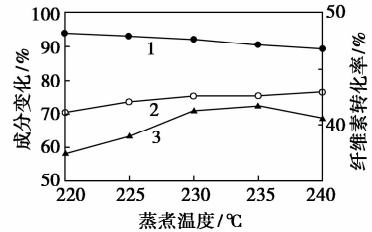
1—纤维素保留率;2—木质素脱除率;3—纤维素转化率

图 2 预处理液固比对处理之后麦草成分和纤维素转化率的影响

2.3 蒸煮温度对麦草酶解的影响

在自催化乙醇法制浆中,木素脱出是一个自由基反应过程,木素溶出依赖于体系 pH、反应温度及乙醇浓度^[12]。同样在甘油蒸煮麦草过程中,蒸煮温度也是重要的过程参数。图 3 为质量分数 70% 甘油溶液(初始液固比 20)在不同蒸煮温度保温 1 h 时的纤维素保留、木质素脱除和纤维素转化率。在 220℃ 时,纤维素保留率很高,此时也脱除了大部分木质素,但此时纤维素转化率不高,约为 35%;当升高温度到 230℃ 时,纤维素保留率稍减少,而木质素

脱除率和纤维素转化率均达到较高水平,此时木质素脱除率约为 73%,纤维素转化率达到 41.5%;当温度超过 230℃ 时,进一步升温导致麦草纤维素保留率下降,木质素脱除没明显上升,纤维素转化率有下降趋势。所以,常压甘油自催化预处理选择蒸煮温度 230℃ 较为适宜。



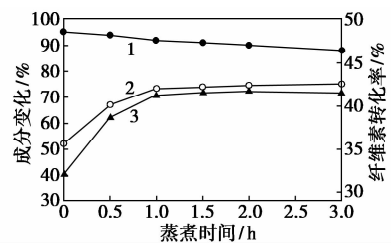
1—纤维素保留率;2—木质素脱除率;3—纤维素转化率

图 3 蒸煮温度对处理之后麦草成分和纤维素转化率的影响

2.4 蒸煮时间对麦草酶解影响

张美云教授在研究非木材纤维素原料制浆时发现,保温蒸煮初期(约 30 min),浆中木素及聚戊糖含量快速下降,此后二者溶出变慢,蒸煮 120 min 后,纤维素大分子受破坏程度加剧^[13-14]。所以预处理时选择合适的蒸煮时间对常压甘油自催化预处理过程是必要的。

图 4 为液固比和温度一定时,蒸煮时间对麦草处理和酶解的影响。纤维素保留率是随着蒸煮时间延长而降低,在蒸煮 1 h 前,纤维素转化率和木质素脱除率随着温度升高而增加,在 1 h 时,达到最高值,此后继续延长蒸煮时间,纤维素转化率无明显增大。徐永健在研究麦草乙醇制浆时也发现,麦草乙醇制浆蒸煮脱木素历程可分为 2 个阶段,第 1 阶段从开始脱木素到保温 20 min 为大量脱木素阶段,总木素脱除率为 75.4%;第 2 阶段为残余木素脱除阶段,从保温 20 min 到蒸煮结束,共 50 min,脱木素率达到 85.2%^[15]。在麦草的常压甘油自催化预处理过程中也同样存在类似情况。所以,甘油溶液蒸煮



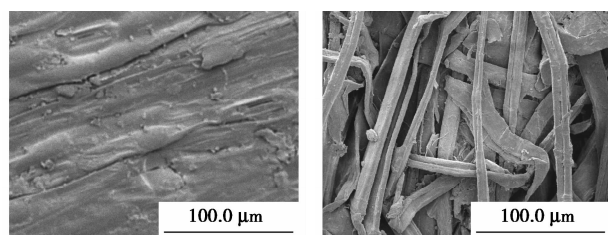
1—纤维素保留率;2—木质素脱除率;3—纤维素转化率

图 4 蒸煮时间对处理之后麦草成分和纤维素转化率的影响

麦草在此温度下的最适宜时间为 1 h。

2.5 麦草在甘油蒸煮前后的电镜照片比较

图 5 为原麦草和常压甘油自催化预处理麦草的扫描电镜照片,可以明显看出,原麦草形成了难破坏的致密结构;经常压甘油自催化预处理后,麦草整齐的纤维结构被撕裂成单个或者体积较小的纤维束,纤维束更松散,更细小,有着更多的粗糙度和比表面积,从而增加纤维素酶的结合位点,提高了纤维素酶的可及性。

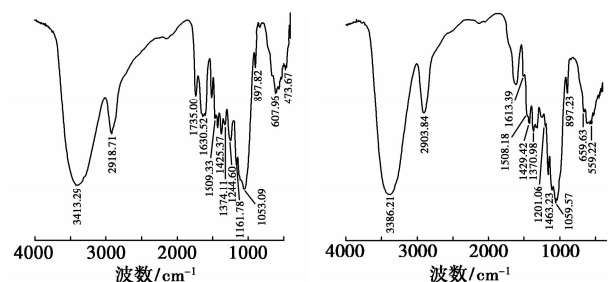


(a) 原麦草 (b) 常压甘油自催化处理麦草

图 5 常压甘油自催化预处理前后麦草的扫描电镜图

2.6 麦草在甘油蒸煮前后的红外图谱比较

图 6 为麦草在常压甘油自催化预处理前后红外光谱图。图谱分析发现,原麦草在 1735 cm^{-1} 附近有强烈吸收峰,吸收峰为酯键的特征吸收峰,而预处理后此峰基本消失。 1244 cm^{-1} 为醚键的特征峰,通过对比说明 $\beta\text{-O-4}$ (芳基甘油- β -芳基)、 $\alpha\text{-O-4}$ 等醚键也在处理过程中被打断。原麦草 1509 cm^{-1} 附近有较强特征吸收峰,此峰是苯环骨架的伸缩振动,代表木质素组分的伸展,甘油处理之后的麦草在此吸收峰不明显,说明后者基本除去木质素。



(a) 未处理麦草 (b) 甘油处理之后的麦草

图 6 麦草秸秆甘油处理前后的红外光谱图

3 结语

麦草经过甘油溶液蒸煮后可提高其酶解性,其蒸煮的适宜条件为:甘油水溶液的质量分数 70%,液固比为 20,蒸煮温度 230°C ,蒸煮 1 h。在此

条件下获得纤维素保留率 90% 以上,木质素脱除率 74% 以上。预处理后纤维在纤维素酶用量 5 FPU/g 干底物条件下酶解 48 h 的纤维素转化率大于 40.0%。

初步推断常压甘油自催化预处理可提高木质纤维素可酶解性的原因是,常压甘油自催化预处理能脱除木质纤维素原料中不利于纤维素酶解的理化组分,并打破其致密不均一结构,减小纤维平均尺寸,增加纤维比表面积和粗糙度,加大纤维素酶与底物的接触机会,从而提高了木质纤维素的可酶解性。

致谢:感谢江苏高校优势学科建设工程项目的资助。

参考文献

- [1] 靳胜英,张福琴,张礼安. 木质纤维原料制乙醇原料预处理技术[J]. 现代化工,2008,10(11):82-88.
- [2] 庄军平,林鹿,庞春生,等. 木质纤维素稀水解液脱毒研究进展[J]. 现代化工,2009,29(2):19-23.
- [3] 杜风光,冯文生. 秸秆生产乙醇示范工程进展[J]. 现代化工,2009,29(1):16-19.
- [4] 黎先发,张颖,罗学刚. 利用木质纤维素生产燃料酒精研究进展[J]. 现代化工,2009,29(1):20-26.
- [5] Rezayati-Charani P, Mohammadi-Rovshandeh J, Hashemi S J, et al. Influence of dimethyl formamide pulping of bagasse on pulp properties[J]. Bioresource Technology,2006,97(18):2435-2442.
- [6] Rodriguez A, Serrano L, Moral A, et al. Use of high-boiling point organic solvents for pulping oil palm empty fruit bunches[J]. Bioresource Technol,2008,99:1743-1749.
- [7] 陈为健,程贤甦. 竹子高沸醇溶剂法制备纸浆纤维与木质素的研究[J]. 林产化学与工业,2004,24(1):34-38.
- [8] O'Driscoll C. Seeking a new role for glycerol[J]. Biofuel, Bioprod Bioref,2007,1:6-7.
- [9] Pachauri N, He B. Value-added utilization of crude glycerol from biodiesel production; A survey of current research activities[C]// 2006 ASABE Annual International Meeting. Portland, Oregon, America,2006.
- [10] Sun F B, Chen H Z. Evaluation of enzymatic hydrolysis of wheat straw pretreated by atmospheric glycerol autocatalysis[J]. J Chem Technol Biotechnol,2007,82:1039-1044.
- [11] Sun F B, Chen H Z. Enhanced enzymatic hydrolysis of wheat straw by aqueous glycerol pretreatment[J]. Bioresource Technol,2008,99:6156-6161.
- [12] 蒲文娟,徐永建,张美云. 非木材纤维原料乙醇制浆的发展前景与展望[J]. 中国造纸,2007,26(8):52-56.
- [13] 张美云,谭国民. 龙须草自催化乙醇法制浆工艺参数的优化[J]. 中国造纸,2002,(4):23-26.
- [14] 岳小鹏,张美云,徐永建. 热置换自催化麦草乙醇法制浆蒸煮历程的研究[J]. 中国造纸学报,2007,22(4):32-36.
- [15] 徐永建,任维菱,刘书钗. 麦草自催化乙醇制浆及反应历程的研究[J]. 中国造纸学报,1999,14:13-18. ■