

文章编号:0254-0096(2017)05-1447-06

CaO/MgO 复合固体碱预处理杂交狼尾草提高酶解率

赵月^{1,2}, 谭雪松¹, 亓伟¹, 王琼¹, 庄新姝¹, 袁振宏¹

(1. 中国科学院广州能源研究所, 中国科学院可再生能源重点实验室, 广州 510640;

2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要:以杂交狼尾草为原料,采用CaO/MgO复合固体碱为催化剂,通过水相环境下高温处理,研究反应条件对狼尾草酶解效率及总糖收率的影响。研究表明:在催化剂含量20%,温度110℃,时间80 min,固液比1:20的条件下预处理狼尾草,木质素去除率高达54.18%。加酶量为40 FPU/g,酶解72 h,葡聚糖收率从未处理时的41.23%增大到81.04%;CaO/MgO固体碱预处理可破坏杂交狼尾草原本的致密结构,暴露更多的纤维素,破坏纤维素中的分子内和分子间的化学基团。CaO/MgO固体碱循环使用4次后无明显失活。

关键词:固体碱;酶解;杂交狼尾草;预处理

中图分类号: TK6

文献标识码: A

0 引言

利用木质纤维素类生物质生产燃料乙醇的主要步骤为原料预处理、糖化和发酵。未经预处理的木质纤维素类生物质原料酶解产糖率不到理论值的20%,故预处理是关键环节^[1]。固体碱预处理是一种环境友好的预处理方法,在高温蒸煮生物质原料过程中,固体碱可夺取木质素的活泼氢并引发醚键水解,从而去除木质素,提高酶解效率。固体碱在有效催化降解木质素的同时,还可防止纤维素和半纤维素碳化。固体碱具有可回收、腐蚀性低、后续工艺简单、成本低、对农林废弃物残渣更有效等优点^[2-4]。

能源草因生物量大、木质纤维素含量高、适应性好及环境友好等因素成为重要的能源植物,因而被开发利用^[5,6]。目前已有固体碱预处理木质纤维素的报道^[7,8],但其工艺较复杂,对设备密封性要求高。本研究以杂交狼尾草为原料,CaO/MgO为催化剂,运用简单固体碱预处理工艺,提高原料酶解效率。通过对预处理前后狼尾草表面结构、组成部分、结晶度及酶解效率进行分析比较,阐明预处理

与酶解效率关系并确定最优工况,为该技术的进一步发展打下基础。

1 实验

1.1 主要试验试剂

杂交狼尾草,粉碎,于80℃烘箱中烘干至恒重;纤维素酶,其滤纸酶活为151.7 FPU/g。0.2 mol/L 醋酸/醋酸钠缓冲溶液:取11.484 g 醋酸钠和3.54 mL 的醋酸溶于750 mL 去离子水中,转移至1 L 容量瓶中,定容至刻度线处后调pH值为4.8±0.05 备用。其他化学试剂均为分析纯。

1.2 主要设备仪器

DF-101D 集热式恒温加热磁力搅拌器及油浴锅(巩义市予华仪器有限公司)、100 mL 厚壁耐压管(北京欣维尔玻璃仪器有限公司)、分析天平(BSA2245-CW, Sartorius)、高效液相色谱仪(HPLC, Waters2498)、场发射扫描电镜(S4800, Hitachi)、X射线衍射仪(PW3040/60, Philips, Holand)、傅里叶变换红外光谱仪(FTIR, TENSOR27, Bruker)、波长色散X射线荧光光谱仪(WDXRF, AxiosmAX Petro, Holand)。

收稿日期: 2015-05-13

基金项目: 国家自然科学基金(51476179; 21476233); 江苏省生物质能源与材料重点实验室开放基金(JSBEM201508); 广东省自然科学基金(2015A030311022)

通信作者: 庄新姝(1970—), 女, 博士、研究员、博士生导师, 主要从事纤维素乙醇方面的研究。zhuangxs@ms.giec.ac.cn

1.3 试验方法

1.3.1 催化剂制备

取一定量碱式 $MgCO_3$ 在 $500\text{ }^\circ\text{C}$ 下煅烧 4 h 获得 MgO , 浸渍在醋酸钙溶液中, 静置 6 h 后 $120\text{ }^\circ\text{C}$ 下充分干燥, 粉碎后过筛, 取 80 目以下的样品在 $700\text{ }^\circ\text{C}$ 下煅烧 12 h, 获得 CaO/MgO 质量比为 0.08 的固体碱催化剂, 密封保存备用^[9]。

1.3.2 预处理方法

取粉碎狼尾草 40~60 目之间的部分彻底干燥, 称取一定量的绝干物料和催化剂一同放入耐压管中, 按照一定的固液比加入足量的去离子水。将耐压管放入油浴锅中, 高温条件下搅拌一定时间, 反应结束后, 将耐压管内物质过筛, 充分水洗, 分离狼尾草及催化剂。将残渣充分干燥后备用。催化剂干燥煅烧后重复利用。

1.3.3 酶解方法

取预处理后的狼尾草残渣置于 0.2 mol/L 醋酸/醋酸钠缓冲液中, 调节 pH 值至 4.8~5.0, 加入一定量纤维素酶, 使其酶活为 40 FPU/g (绝干物料), 在 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 下, 150 r/min 摇床中酶解 72 h。

1.4 计算公式

$$\text{木聚糖转化率} = \frac{\text{酶解液中总木聚糖质量}}{\text{酶解底物中总木聚糖质量}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{葡聚糖转化率} = \frac{\text{酶解液中葡聚糖质量}}{\text{酶解底物中葡聚糖质量}} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{木质素脱除率} = \frac{\text{原料木质素质量} - \text{残渣木质素质量}}{\text{原料中木质素质量}} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{总糖收率} = \frac{\text{水解液及酶解液中总糖质量}}{\text{原料中总糖质量}} \times 100\% \quad (4)$$

$$CrI = \frac{I_{\text{crystalline}(002)} - I_{\text{amorphous}}}{I_{\text{crystalline}(002)}} \times 100\% \quad (5)$$

式中, CrI ——结晶指数, %; $I_{\text{crystalline}(002)}$ ——结晶区强度 ($2\theta=22^\circ$), a.u.; $I_{\text{amorphous}}$ ——非结晶区强度 ($2\theta=18^\circ$), a.u.。

2 结果与分析

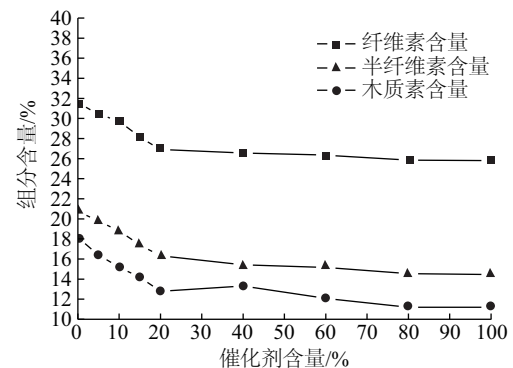
2.1 预处理工艺条件初步探究

以狼尾草为实验原料, 以总糖收率、木聚糖转化率、葡聚糖转化率及木质素脱除率为评价指标, 考察催化剂含量、温度、时间及固液比对预处理效

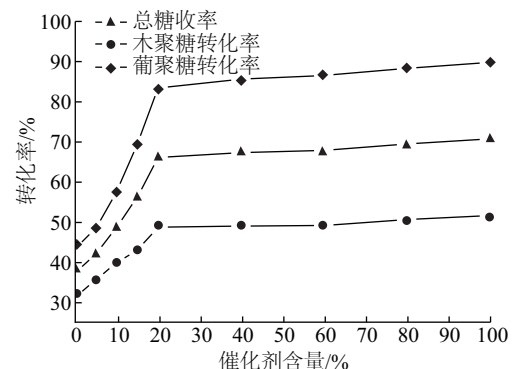
果的影响。

2.1.1 催化剂含量

在温度为 $120\text{ }^\circ\text{C}$, 固液比 1:20 条件下处理 1 h, 改变催化剂含量考察其对预处理及酶解效果的影响, 其结果如图 1 所示。由图 1 可看出, 在 $120\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下, 随着催化剂加入量的增多, 狼尾草中纤维素、半纤维素及木质素含量逐渐减小。催化剂加入量为 0~20% 时, 木质素脱除率迅速增大至 47.3%, 酶解转化率也在急剧升高, 总糖收率在催化剂加入量 20% 时达到 66.13%, 葡聚糖转化率为 83.44%; 随着催化剂量的继续增加, 木质素脱除率和酶解液含糖成分的增大趋于平缓, 这可能是由于催化剂含量的增大使木质素继续降解为分子量更小的醇酚类化合物, 而降解产物被吸附在催化剂上使活性位减少, 影响催化反应的继续。在催化剂含量 100% 时, 木质素脱除率最高为 54.06%, 此时葡聚糖糖收率为 89.80%。由此看来催化剂的加入对预处理及后续酶解效果影响显著, 结合纤维素、半纤维素损失及



a. 各组分含量



b. 酶解转化率

图 1 催化剂含量对各组分含量及酶解转化率的影响

Fig. 1 Effect of catalyst content for pretreatment on the content of each component and enzymatic hydrolysis conversion rate

催化剂成本等问题,选取催化剂加入量 20%作为后续研究条件。

2.1.2 温度影响

在催化剂含量 20%,固液比 1:20,反应时间 1 h 的条件下改变反应温度,考察不同温度对预处理及酶解效果的影响。图 2 为不同温度下各组分含量及酶解转化率的变化情况。由图 2a 可看出,随着温度的升高,木质素脱除率先较快增长而后趋于平缓,转折点为 110 °C。这是因为高温不仅可提供木质素降解所需的能量,还可使溶剂与产物在密闭条件下生成气体,系统内部压力增大,便于催化剂与原料充分接触,但温度过高会使木质素降解反应更彻底,体系中小分子产物的存在抑制反应继续进行,同时高温也会加剧纤维素及半纤维素的损失。在 110 °C 时,木质素脱除率为 46.58%,对酶解液检测,总糖收率为 65.79%,葡聚糖和木聚糖转化率为 83.71%和 47.88%,与最高温度 140 °C 时的 85.46% 和 52.96% 相差不大,考虑能耗因素,选取催化剂含量 20%,温度 110 °C 进一步研究。

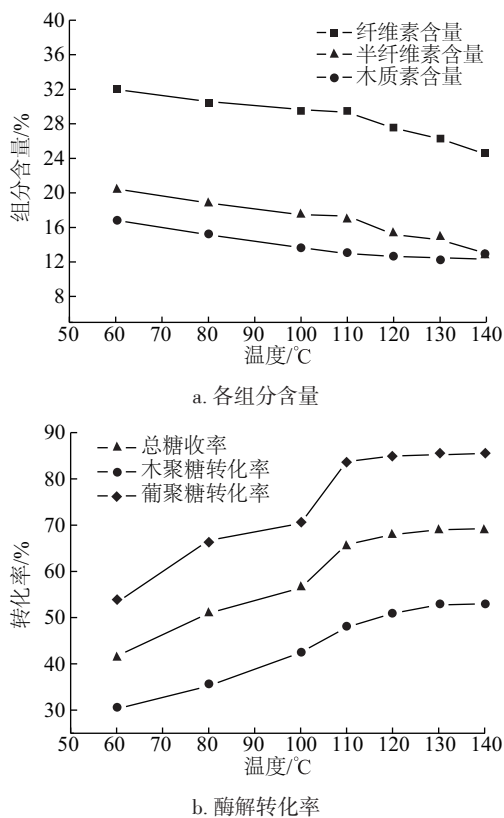


图2 预处理温度对各组分含量及酶解转化率的影响
Fig. 2 Effect of temperature for pretreatment on the content of each component and enzymatic hydrolysis conversion rate

2.1.3 时间影响

反应时间是预处理过程的重要影响因素,时间不足,预处理不够充分,时间过长则浪费资源。在已得较优工况下,进一步试验,在 110 °C 下加入 20% 催化剂,保持固液比为 1:20,改变反应时间,观察其各成分变化情况。图 3 是不同时间段下残渣各组分含量及酶解转化率变化情况。随着时间的延长,木质素脱除率增大。80 min 时,木质素脱除率为 49.11%,酶解后总糖收率为 63.57%,葡聚糖和木聚糖转化率达 80.64% 和 46.51%;在 80 min 后,延长保温时间对木质素脱除影响不大,但纤维素损失却持续增大,分析原因是随着时间的累积,体系内木质素降解产物不断累积浓度增大,对催化剂有毒害作用,同时也抑制反应平衡的正向进行。故选取催化剂含量 20%,温度 110 °C,时间 80 min 为最佳条件。

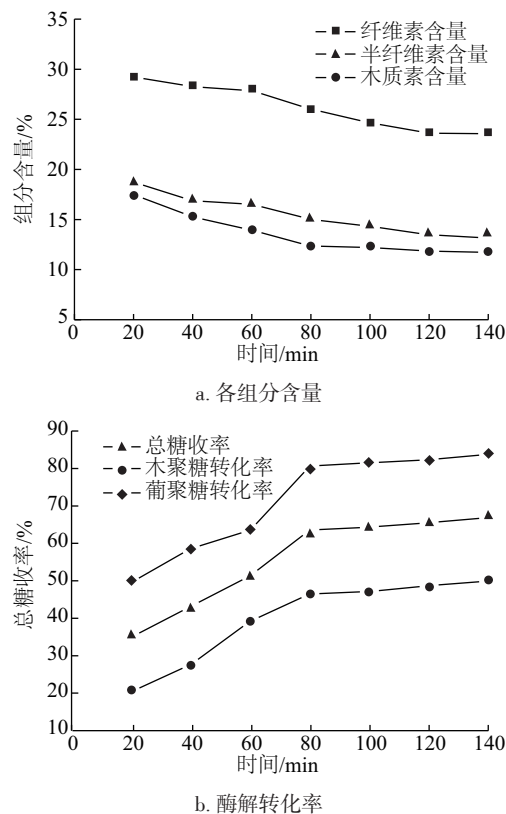


图3 预处理时间对各组分含量及酶解转化率的影响
Fig. 3 Effect of temperature for pretreatment on the content of each component and enzymatic hydrolysis conversion rate

2.1.4 固液比影响

在 110 °C 下加入 20% 催化剂,反应时间为 80 min,改变固液比,分别选取 1:10、1:15、1:20 及 1:25,观

察其各成分变化情况。图 4 为不同固液比下残渣各组分含量及酶解转化率变化情况。可以看出,改变固液比,预处理后残渣中纤维素含量变化不显著,但木质素含量逐渐减小,固液比 1:20 时脱除率最高,达到 54.18%,而此时酶解液中总糖收率、葡聚糖转化率及木聚糖转化率分别为 66.18%、81.04%、51.33%。固液比过低时,催化剂浓度较低,催化效率不显著;固液比过高时,底物浓度高,降解副产物浓度大抑制反应进行。故选取催化剂含量 20%,温度 110 °C,时间 80 min,固液比 1:20 为最佳条件。

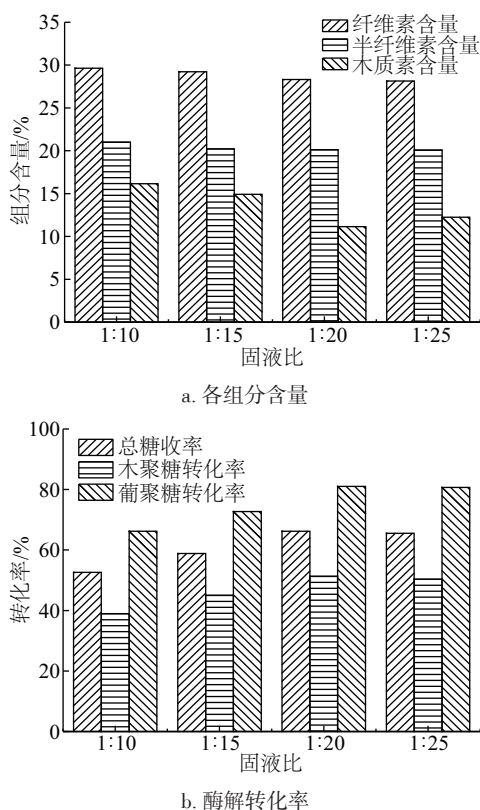
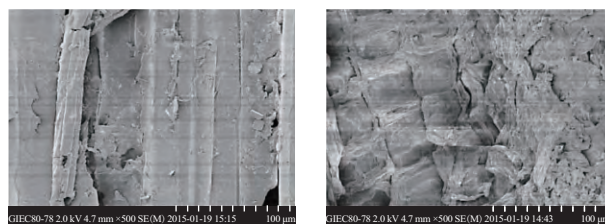


图 4 固液比对各组分含量及酶解转化率的影响
Fig. 4 Effect of solid loading for pretreatment on the content of each component and enzymatic hydrolysis conversion rate

2.2 预处理对杂交狼尾草结构的影响

杂交狼尾草固体碱预处理后的残渣表面变化情况可通过扫描电镜观察,结果如图 5 所示。从图 5a 中可看出,未处理的杂交狼尾草纹理清晰、结构致密、平行延展,表面较平整只有少量碎屑,无明显孔隙;图 5b 为经 CaO/MgO 处理后的残渣,纤维素结构完全松散,表面条状物被分解为凹坑,出现卷曲翻转,呈碎片层状,还可看到向内部延伸的缝隙,表面积明显增大,比原料更柔软,利于纤维素酶与其充

分接触,这可能是由于部分组分被脱除的缘故。

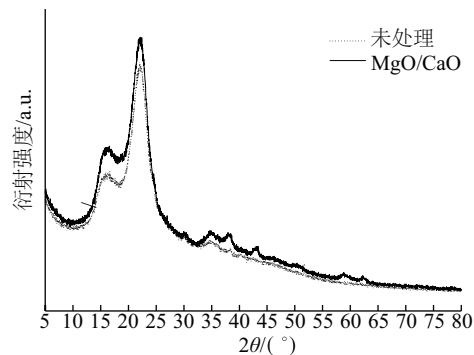


a. 杂交狼尾草原料 b. CaO/MgO 固体碱处理后残渣
图 5 杂交狼尾草原料和固体碱处理后残渣的
电镜观察图

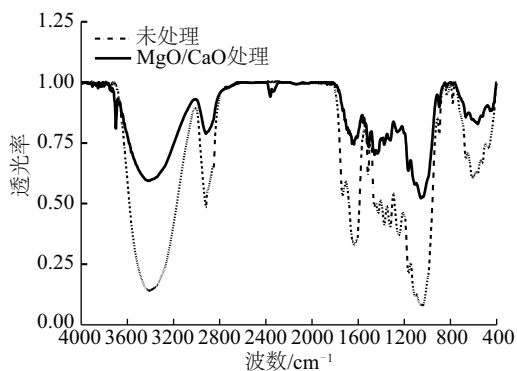
Fig. 5 SEM micrographs of raw material and its pretreated residues

由 X 射线衍射(XRD)分析结果可知,杂交狼尾草纤维素结晶类型为 I 型,且特征峰未发生偏移或者衍射,说明预处理未改变纤维素晶型^[10,11]。未经 CaO/MgO 固体碱预处理的狼尾草中的纤维素由于被半纤维素及木质素包裹镶嵌,而经处理的狼尾草由于半纤维素及木质素的减少,特征峰峰型变尖,半峰宽减小,响应增强。经计算发现,预处理后结晶度由之前的 40.99%变为 47.05%,说明用固体碱处理后的残渣中纤维素相对含量增加,提高了结晶度。

从图 6b 中可看出预处理前后红外吸收强度变化很大。在 400~700 cm^{-1} 处的吸收峰代表 C—C 伸缩振动,1159 cm^{-1} 处吸收峰代表吡喃糖环的 C—O—C 伸展振动或脂族基团 C=O 伸展振动,这两处强度增强说明预处理后水的可及度增加。在 1633 cm^{-1} 处吸收峰代表吸附水的 O—H 弯曲振动,3000~3600 cm^{-1} 处吸收峰代表 O—H 伸展振动,这两处红外吸收透射带变窄,说明纤维素 O—H 在预处理后有一定损耗。在 1112 cm^{-1} 处代表芳环不对称的摇摆振动,强度减弱可能是木质素苯环结构被破坏及木质素结构减少所致。这说明 MgO/CaO 固体碱预处理破坏了狼尾草原料中的半纤维素及木质素,相



a. X 射线衍射图



b. 傅里叶红外光谱图

图6 杂交狼尾草原料和预处理残渣的X射线衍射图和傅里叶红外光谱图

Fig. 6 XRD and FTIR of raw material and pretreated residues

表1 使用次数对催化活性的影响及回收催化剂各组分含量(%)

Table 1 The influences of use time on catalyst activity and each component content of recovery catalysts components(%)

次数	[MgO]	[CaO]	[NaCl]	[SiO ₂]	[Al ₂ O ₃]	其他	催化剂活性
0	91.980	7.348	0.364	0.083	0.014	0.211	—
1	92.391	5.764	0.372	0.152	0.016	1.305	100.00
2	93.815	4.395	0.341	0.166	0.013	1.270	92.76
3	94.940	2.974	0.336	0.189	0.012	1.549	89.96
4	95.841	2.037	0.345	0.213	0.014	1.550	87.23

3 结论

1) CaO/MgO 固体碱预处理可破坏杂交狼尾草原有致密结构,部分去除半纤维素和木质素。在 CaO/MgO 加入量为 20%,温度 110 °C,固液比 1:20,处理时间 80 min 的条件下反应,木质素脱除率达到 54.18%,固体碱催化剂循环使用 4 次后无明显失活。

2) 碱预处理后可显著改善狼尾草的形态和结构,暴露纤维素,提高酶解转化率。预处理狼尾草,在 40 FPU/g, 50 °C 下,酶解 72 h,总糖收率为 66.18%,葡聚糖转化率及木聚糖转化率分别为 81.04%和 51.33%。

[参考文献]

- [1] Kim K H, Hong J. Supercritical CO₂ pretreatment of lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis [J]. *Bioresource Technology*, 2001, 77(2): 139—144.
- [2] Cheng Yushen, Zheng Yi, Yu Chaowei, et al. Evaluation of high solids alkaline pretreatment of rice

对原料透射强度明显增强,纤维素分子更易断裂水解,但主要峰谱位置大致相同,说明原有的纤维素结构未被破坏。

2.3 催化剂的回收再利用

催化剂的回收再利用可提高固体碱预处理的经济性,节约资源、降低成本。因此,重复使用时的催化效率及催化剂的回收是十分重要的课题。在已确定的最优工况下对催化剂进行重复利用实验,由表 1 可看出,催化剂在重复使用过程中循环 4 次后无明显失活,可循环使用 4 次。CaO/MgO 催化剂的部分失活可能是由于 CaO 流失造成的^[12]。通过 XRF 分析结果显示,催化剂循环使用过程中,CaO 含量明显减少,而 MgO 相对含量增加。

straw [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2010, 162(6): 1768—1784.

- [3] 谢土均,林鹿,庞春生,等.甘蔗渣活性氧固体碱蒸煮的脱木素动力学[J]. *中国造纸学报*, 2012, 27(3): 1—5.
- [3] Xie Tujun, Lin Lu, Pang Chunsheng, et al. Delignification kinetics of active oxygen solid base cooking of bagasse [J]. *Transactions of China Pulp and Paper*, 2012, 27(3): 1—5.
- [4] Choudary B M, Kantam M L, Santhi P L. New and ecofriendly options for the production of speciality and fine chemicals [J]. *Catalysis Today*, 2000, 57(1-2): 17—32.
- [5] Masse D, Gilbert Y, Savoie P, et al. Methane yield from switchgrass and reed canarygrass grown in Eastern Canada [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(22): 10286—10292.
- [6] Somerville C, Youngs H, Taylor C, et al. Feedstocks for lignocellulosic biofuels [J]. *Science*, 2010, 329(5993): 790—792.
- [7] 王研,陈咏梅,万平玉,等. CaO/MgO 复合固体碱

- 催化剂催化降解木质素的研究[J]. 林产化学与工业, 2012, 32(3): 81—86.
- [7] Wang Yan, Chen Yongmei, Wan Pingyu, et al. Degradation behaviors of lignin catalyzed by CaO/MgO composite as solid base catalyst[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2012, 32(3): 81—86.
- [8] Xie Tujun, Lin Lu, Pang Chunsheng, et al. Efficient enzymatic hydrolysis of the bagasse pulp prepared with active oxygen and MgO-based solid alkali[J]. Carbohydr Polym, 2013, 94(2): 807—813.
- [9] 刘 晔, 杨 浩, 佘珠花, 等. 用于麻疯树籽油醇解的 CaO/MgO 固体碱催化剂的制备[J]. 粮油加工, 2006, 12: 47—49.
- [9] Liu Ye, Yang Hao, She Zhuhua, et al. Preparation of solid base catalyst CaO/MgO used for jatropha seed oil alcoholysis[J]. Cereals and Oils Processing, 2006, 12: 47—49.
- [10] Zhao Haibo, Kwak Ja Hun, Zhang Z Conrad, et al. Studying cellulose fiber structure by SEM, XRD, NMR and acid hydrolysis[J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 68(2): 235—241.
- [11] Park S, Baker J O, Himmel M E, et al. Cellulose crystallinity index: Measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance[J]. Biotechnology for Biofuels, 2010, 3(10): 1—10.
- [12] 刘 晔, 杨 浩, 佘珠花, 等. 麻疯树籽油甲醇解固体催化剂 CaO/MgO 的性能评价[J]. 粮油加工, 2007, (6): 85—88.
- [12] Liu Ye, Yang Hao, She Zhuhua, et al. Performance evaluation of solid catalyst CaO/MgO used for methanolysis of jatropha curcas seed oil[J]. Cereals and Oils Processing, 2007, (6): 85—88.

THE PRETREATMENT OF PENNISETUM HYBRID BY USING COMPOSITE SOLID BASE-CaO/MgO TO ENHANCE ENZYMATIC DIGESTIBILITY

Zhao Yue^{1,2}, Tan Xuesong¹, Qi Wei¹, Wang Qiong¹, Zhuang Xinshu¹, Yuan Zhenhong¹

(1. Key Laboratory of Renewable Energy, Guangzhou Institute of Energy Conversion, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China;

2. University of Chinese Academic of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The effects of the reaction conditions on enzymatic digestibility and total sugar yield of Pennisetum hybrid pretreated in high temperature aqueous environment with composite solid alkali-CaO/MgO as the catalyst are investigated in this paper. The results indicated that 20% catalyst content, 110 °C, 80 min and 1:20 ratio of solid are the optimal pretreatment conditions, whose lignin removal rate is up to 54.18%. When the enzyme loading is 40 FPU/g, 72 h enzymatic digestibility increases from 41.23% to 81.04%, substrates can be fully hydrolyzed. After pretreatment, the compact structure is damaged, more fibers expose, the chemical groups are destroyed like hydrogen bond in molecular. The catalysts CaO/MgO can be recovered and regenerated.

Keywords: solid base; enzymolysis; Pennisetum hybrid; pretreatment