

李天沛, 丁为民, 熊佳定, 等. 氨水低温冻融联合预处理对高粱秸秆酶解产糖的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2020, 41(4): 104-110.
LI Tianpei, DING Weimin, XIONG Jiading, et al. Effect of pretreatment using ammonia water combined with freezing and thawing on enzymatic hydrolysis and sugar production of sorghum straw[J]. Journal of South China Agricultural University, 2020, 41(4): 104-110.

氨水低温冻融联合预处理对高粱 秸秆酶解产糖的影响

李天沛, 丁为民, 熊佳定, 王文鑫

(南京农业大学 工学院, 江苏 南京 210031)

摘要:【目的】降低预处理成本、提高秸秆预处理后的酶解效果, 模拟自然界低温环境并结合氨水对高粱秸秆进行预处理。【方法】通过单因素试验分别探究氨水低温冻融预处理中浸泡液的液固质量比、冷冻温度、冷冻时长、氨水质量分数对高粱秸秆酶解的影响, 采用正交试验对预处理条件进行优化, 对预处理前后高粱秸秆的成分采用范式法测定, 物理化学结构用红外光谱和 X 射线衍射分析。【结果】单因素试验中, 浸泡液的液固质量比、冷冻温度、冷冻时长和氨水质量分数在不同水平下均显著提高了高粱秸秆酶解还原糖的产量 ($P < 0.05$)。正交试验最优预处理条件为浸泡液的液固质量比 12, 冷冻时长 12 h, 冷冻温度 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 氨水质量分数 8%。相较于未进行预处理的秸秆, 氨水低温冻融处理的秸秆半纤维素含量下降 42.42%; 木质素含量下降 50.76%; 秸秆的还原糖产量为 $302.87\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 较未预处理组提高了 80.34%; 纤维素结晶度提高了 57.02%。【结论】氨水低温冻融预处理能有效破坏高粱秸秆木质纤维素间原有的连接结构, 溶解半纤维素, 木质素的单体和聚合结构被破坏, 提高了高粱秸秆的酶解还原糖得率以及纤维素结晶度。

关键词: 高粱秸秆; 低温冻融; 氨水; 预处理; 酶解

中图分类号: TK6;S216.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2020)04-0104-07

Effect of pretreatment using ammonia water combined with freezing and thawing on enzymatic hydrolysis and sugar production of sorghum straw

LI Tianpei, DING Weimin, XIONG Jiading, WANG Wenxin

(College of Engineering, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210031, China)

Abstract: 【Objective】 To reduce the cost of pretreatment and improve the enzymatic hydrolysis effect after straw pretreatment, sorghum straw was pretreated with simulated natural low temperature environment and ammonia water. 【Method】 We studied the effects of the liquid-solid ratio in soaking solution, freezing temperature, freezing time and ammonia content in pretreatment using ammonia water combined with freezing and thawing on enzymatic hydrolysis of sorghum straw through single factor tests. We optimized the pretreatment conditions using orthogonal test design. The compositions of sorghum straw before and after pretreatment were measured using normal form method, and the physical and chemical structures were investigated using infrared spectrum and X-ray diffraction analyses. 【Result】 In single factor tests, liquid-solid ratio in soaking solution, freezing temperature, freezing time and ammonia content at different levels all

收稿日期: 2019-09-11 网络首发时间: 2020-06-17 15:57:52

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.S.20200617.1316.006.html>

作者简介: 李天沛 (1994—), 男, 硕士研究生, E-mail: 2386944416@qq.com; 通信作者: 丁为民 (1957—), 男, 教授, 博士, E-mail: wmding@njau.edu.cn

基金项目: 国家科技支撑计划 (2013BAD08B04)

significantly increased the production of reducing sugar through enzymatic digestion($P<0.05$). The optimum pretreatment conditions of the orthogonal test were 12 liquid-solid ratio in soaking solution, 12 h freezing time, 10 °C freezing temperature, and ammonia content of 8%. Compared with straw without pretreatment, in straw with pretreatment using ammonia water combined with freezing and thawing, the hemicellulose content decreased by 42.42%, the lignin content decreased by 50.76%, the yield of reducing sugar for straw was 302.87 mg·g⁻¹, which was 80.34% higher than that of straw without pretreatment, and the crystallinity of cellulose increased by 57.02%. 【Conclusion】 The pretreatment using ammonia water combined with freezing and thawing can effectively destroy the original connection structure between lignocellulose of sorghum straw, dissolve hemicellulose, destroy the monomer and polymeric structure of lignin. It improves the yield of reducing sugar by enzymatic hydrolysis of sorghum straw, and also improves the crystallinity of sorghum straw cellulose.

Key words: sorghum straw; freezing and thawing; ammonia water; pretreatment; enzymatic hydrolysis

当今世界,社会发展严重依赖以石油为主的化石能源,导致能源、资源、环境危机成为当下制约人类经济可持续发展的主要瓶颈^[1]。木质纤维素作为地球上最丰富的可再生资源,通过生物质炼制技术将其转化为可再生的清洁能源成为世界各国科研机构研究的热点^[2]。高粱 *Sorghum bicolor* 是禾本科 Gramineae 旱栽作物,是五大粮食作物之一,排在小麦、稻谷、大麦、玉米之后^[3],其光合作用能力强、生长周期短,仅仅 3~5 个月便可以成熟,耐旱耐盐碱^[4],可作为白酒的优质原料。2016 年高粱产量达 298.50 万 t^[5],根据秸秆系数算法^[6-7],与此同时产生了约 388.05 万 t 的高粱秸秆,相当于 194.03 万 t 标准煤。对此类生物质能源加以合理利用,通过生物质炼制技术将其转化为沼气或乙醇等清洁能源,必将对解决资源和能源危机以及环保问题做出贡献^[8-9]。

木质纤维素原料主要成分包括纤维素、半纤维素和木质素,实现生物转化的关键是通过预处理破坏其复杂化学结构,脱除木质素,打破其抗降解屏障^[10]。预处理技术主要分为物理法、化学法、物理化学综合法和生物法,其中物理法如振荡球磨^[11]效率高但能耗也高,设备投入大;化学法如离子液体处理^[12]木质纤维素组分损失率小但成本高,污染环境且对后续酶解和发酵有抑制作用;生物法如白腐真菌预处理^[13]条件温和、专一性强、能耗低,不会产生环境污染,但是处理时间长、酶活性低;通过将物理和化学法联合起来,以简单的物理预处理和易回收化学药品达到高效降解纤维素、脱除木质素的目的的物理化学综合法成为秸秆预处理的不错选择。预处理低温冻融技术多应用于矿业^[14]、路桥^[15]、建筑^[16]等行业研究中,研究发现低温冻融对于矿体、沥青、钢筋混凝土等物料在微观结构上有较大的破坏。我国北方地区冬季寒冷、资源丰富,其中,作为高粱的主产区,我国东北、华北地区最低月平均气温-10 °C

左右,华北地区平均气温也在-4~0 °C 左右^[17],因此利用我国寒冷地区冷资源成为降低预处理能耗的不错选项。另外,众多研究^[18]发现氨水分子可以有效破坏木质素中的 C—O—C 键、酯键和醚键等化学键^[19],对稻秸中木质素的最高去除率为 60%,且处理成本低,易回收^[20]。

本文通过模拟自然界的低温环境,结合氨水浸泡预处理,采用低温冻融技术对高粱秸秆进行冻融处理,使秸秆微细结构中的内外游离水结冰后体积膨胀,进而破坏秸秆晶体结构,降解半纤维素和木质素,打破其抗降解屏障,增加后续酶解时酶与纤维素的接触面积,提高酶解效率和还原糖得率,为后续利用酶解产物制备甲烷创造条件。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料取自内蒙古自治区赤峰巴林左旗,取材时间为 10 月中旬,高粱品种为‘绿宝红’,自然风干后用铡刀将高粱秸秆剪切成 0.5~1.0 cm 的小段,在粉碎机中粉碎,过 40 目筛后置于烘箱中烘干,80 °C 条件下烘 12 h,测定含水率等理化指标后用密封袋存放于-20 °C 冰箱备用。

试验采用国药集团化学试剂有限公司生产的纤维素酶,活性大于 15 U·mg⁻¹。氨水购自南京化学试剂有限公司,氨水质量分数为 25%~28%。其他化学试剂均为分析纯。

1.2 试验设备

连续投料粉碎机(HCL-5,北京华宏金城商贸有限公司)、温度计(-40~300 °C,深圳市拓尔为电子科技有限公司)、离心机(H1650,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)、粗纤维测定仪(FIWE6,VELP)、压片机(YP-2,上海山岳科学仪器有限公司)、X射

线衍射仪 (X'Pert Pro, 荷兰帕纳科公司)、傅里叶红外变换光谱仪 [Nicolet iS10, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司]、紫外可见分光光度计 [UV2000, 尤尼柯(上海)仪器有限公司]。

1.3 试验方法

1.3.1 氨水低温冻融预处理 室温下称量 10 g 高粱秸秆置于 250 mL 蓝盖瓶中, 加入氨水试剂, 并用去离子水定容。用温度计对设定温度后的冰箱进行校准, 将室温浸泡 12 h 后的秸秆置入冰箱中进行冷冻处理。冷冻处理结束后自行解冻, 置于 60 °C 烘箱中烘 48 h 至恒质量, 用自封袋收集样品置于 -20 °C

冰箱中保存, 便于后续进行成分分析或酶解。

1.3.2 单因素试验设计 对浸泡液的液固质量比、冷冻时长、冷冻温度和氨水质量分数进行单因素试验。液固质量比分别为 6:1、8:1、10:1 和 12:1, 冷冻时长分别为 0.5、4.0、12.0 和 24.0 h, 冷冻温度分别为 -5、-10、-15 和 -20 °C, 氨水质量分数分别为 2%、4%、6% 和 8%。

1.3.3 正交试验设计 在单因素试验基础上选取正交试验因素水平, 如表 1 所示。采用 Design-Expert 8.0.6 设计 $L_9(3^4)$ 正交试验, 对高粱秸秆氨水低温冻融预处理条件进行优化。

表 1 高粱秸秆氨水低温冻融联合预处理正交试验因素与水平

Table 1 Orthogonal test factors and levels of pretreatments of sorghum straw using ammonia water combined with freezing and thawing

水平 Level	液固质量比 Liquid-solid ratio	冷冻时长/h Freezing time	冷冻温度/°C Freezing temperature	氨水质量分数/% Ammonia content
1	8 : 1	4.0	-10	4
2	10 : 1	12.0	-15	6
3	12 : 1	24.0	-20	8

1.3.4 高粱秸秆酶解产还原糖试验 四分法取样后, 分别精确称取未处理 (CK) 和处理过的样品各 0.2 g, 放入 50 mL 三角瓶中, 按原料质量的 10% 加入纤维素酶, 以 pH 为 4.8 的 HAc-NaAc 缓冲溶液定容, 混匀后置于电热恒温水浴箱中, 50 °C 条件下反应 72 h。所有酶解试验设置 3 组重复。

还原糖测定采用 3,5-二硝基水杨酸法^[21], 将反应后的试验样品隔 4、12、24、48、72 h 各取 1 次样, 将样品冷却至室温后置于 10 000 r·min⁻¹ 的离心机中离心 10 min, 取上清液测量还原糖浓度。

1.3.5 高粱秸秆成分分析 四分法称取未处理和处理的秸秆样品各 1 g, 采用范氏 (Van Soest) 法^[22] 对样品的主要成分纤维素、半纤维素、木质素和灰分的含量进行测定。

1.3.6 高粱秸秆物理化学结构特性分析 红外光谱分析: 将预处理前后的高粱秸秆置于烘箱中干燥, 各取 3 组平行样品, 与溴化钾混匀后用玛瑙研钵研磨至白色粉末, 用压片机 20 MPa 条件下压片, 后采用傅里叶变换红外光谱仪进行分析, 每个样品重复扫描 3 次, 扫描范围 400~4 000 cm⁻¹, 分辨率 4 cm⁻¹。

X 射线衍射光谱分析: 将预处理前后的高粱秸秆在 105 °C 烘箱中干燥 4 h 至恒质量, 用研钵研磨成粉末后在玻片凹槽中均匀压实后扫描。X 射线衍射光谱扫描条件为 Cu 靶, $\lambda=0.154$ nm, 管压 40 kV, 电流 40 mA, 扫描步长 0.02 °, 扫描角度为 2θ , 其扫描范围为 10~50 °。

纤维素结晶度使用 Segal 经验法^[23] 计算:

$$CrI = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{am}} \times 100\%$$

式中: CrI 为 X 射线结晶度; I_{002} 为 2θ 在 22° 和 23° 之间衍射强度的最大值; I_{am} 为 2θ 在 18° 和 19° 之间衍射强度的最小值。

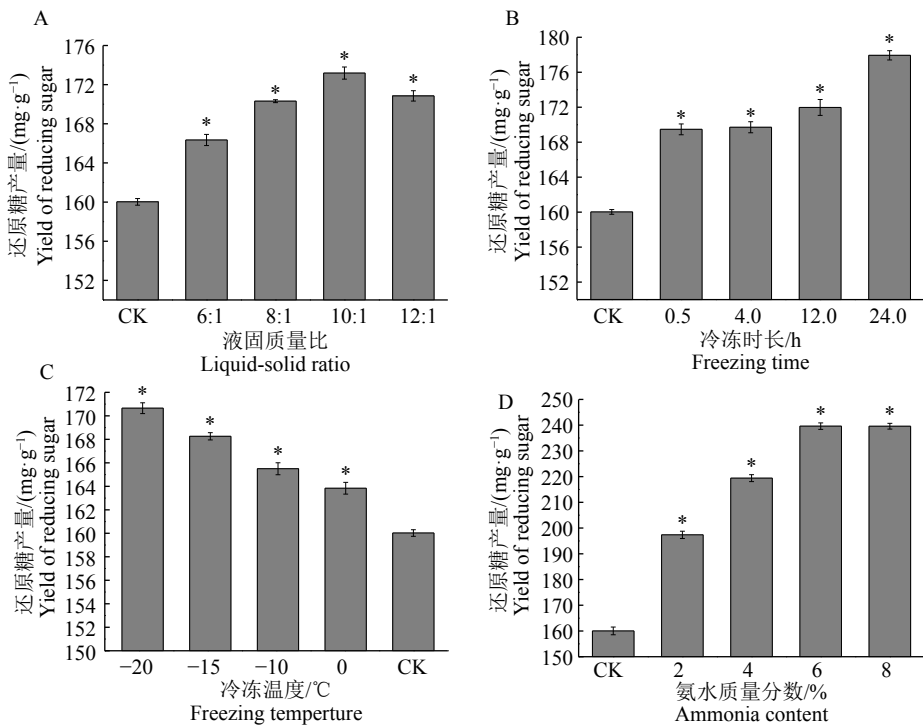
1.4 数据分析

采用 Excel 2019 和 SPSS 21.0 软件对酶解试验数据进行统计分析和正交试验分析, 采用 Origin 9.0 软件作图, 采用 t 检验比较未处理秸秆和处理过的秸秆的差异。

2 结果与分析

2.1 氨水低温冻融预处理对酶解的影响

2.1.1 单因素试验 从图 1 可以看出, 当浸泡液的液固质量比由 6:1 增加到 10:1 时, 秸秆酶解还原糖产量逐渐增加, 但液固质量比由 10:1 增加到 12:1 时, 还原糖产量呈下降趋势; 冷冻时长由 0.5 h 增加到 4.0 h 时, 还原糖产量无明显变化, 在 4.0 h 到 12.0 h 的过程中, 还原糖产量开始缓慢增加, 而在冷冻时长由 12.0 h 增加到 24.0 h 的过程中, 还原糖产量增加趋势明显; 当冷冻温度从 -20 °C 升高到 -10 °C 时, 还原糖产量下降速率明显, 从 -10 °C 升高到室温的过程中, 还原糖产量下降速率减缓; 当氨水质量分数由 2% 增加到 6% 的过程中, 还原糖产量增幅较大, 但当氨水质量分数由 6% 增加到 8%



“*”表示与 CK 差异显著 ($P < 0.05$, t 检验)

“*” indicates significant difference from CK ($P < 0.05$, t test)

图 1 不同单因素对高粱秸秆酶解还原糖产量的影响

Fig. 1 Effect of different single factor on the yield of reducing sugar by enzymatic hydrolysis of sorghum straw

时, 还原糖产量基本保持不变。

所有单因素试验组的秸秆酶解还原糖产量较未预处理高粱秸秆都显著提高了 ($P < 0.05$)。这说明了通过冷冻或者添加氨水都能够提高高粱秸秆纤维素酶的使用效率。说明通过冷冻或者添加氨水预处理

高粱秸秆具有可行性, 为下一步正交试验提供了依据。

2.1.2 正交试验 在单因素试验的基础上选取合适的正交试验因素和水平设计 $L_9(3^4)$ 正交试验, 正交试验结果的直观分析和极差分析见表 2。

表 2 高粱秸秆氨水低温冻融联合预处理正交表及分析结果

Table 2 Orthogonal table and analysis result for pretreatment of sorghum straw using ammonia water combined with freezing and thawing

试验号 Test No.	因素及水平 Factor and level				还原糖产量/(mg·g ⁻¹) Yield of reducing sugar
	液固质量比 Liquid-solid ratio	冷冻时长 Freezing time	冷冻温度 Freezing temperature	氨水质量分数 Ammonia content	
1(CK)					167.94
2	1	1	1	1	235.11
3	1	2	2	2	235.04
4	1	3	3	3	248.54
5	2	1	2	3	291.45
6	2	2	3	1	224.36
7	2	3	1	2	243.72
8	3	1	3	2	248.49
9	3	2	1	3	302.87
10	3	3	2	1	251.93
K_1	239.56	258.35	260.57	237.13	
K_2	253.18	254.09	259.47	242.42	
K_3	267.76	248.06	240.47	280.95	
R	28.20	10.29	20.10	43.82	

由表 2 可知, 预处理的各试验因素对高粱秸秆酶解还原糖产量的影响程度为: 氨水质量分数 > 液固质量比 > 冷冻温度 > 冷冻时长, 且这 4 个因素影响都达到了显著 ($P < 0.05$), 氨水质量分数对高粱秸秆预处理影响较大。正交试验分析结果表明, 理论最优预处理条件为液固质量比 12:1, 冷冻时长 4.0 h, 冷冻温度 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 氨水质量分数 8%, 该条件下理论秸秆酶解还原糖产量为 $269.77\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。各试验组酶解还原糖产量相较于未进行预处理秸秆的酶解还原糖产量 ($167.94\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 提高了 33.6%~80.34%, 差异显著 ($P < 0.05$), 且试验最优预处理条件为液固质量比 12:1, 冷冻时长 12.0 h, 冷冻温度 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 氨水质量分数 8%, 酶解还原糖产量为 $302.87\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 较未预处理组还原糖产量提高了 80.34%。理论最优预处理条件下酶解还原糖产量相比于试验最优酶解还原糖产量降低了 12.27%, 说明了冷冻时长增加, 游离态的水分子对于秸秆微结构的破坏作用更明显, 而冷冻时长减少会降低冷冻对于秸秆的预处理

效果。因此, 将液固质量比 12:1, 冷冻时长 12.0 h, 冷冻温度 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, 氨水质量分数 8% 作为最优预处理条件。

2.2 氨水低温冻融预处理对秸秆化学成分的影响

使用范式法分别测定未处理的高粱秸秆与试验最优预处理高粱秸秆成分, 结果如表 3 所示。由表 3 可以看出, 经氨水低温冻融预处理后, 高粱秸秆纤维素含量下降 8.05%, 半纤维素含量下降 42.42%, 木质素含量下降 50.76%, 灰分含量上升 2.06%。在物理结构层面, 氨分子渗透到高粱秸秆的纤维结构中使得秸秆微细结构膨胀, 增加了生物质表面积^[24], 经低温冷冻后, 秸秆内外游离水结冰使得秸秆微细结构进一步膨胀^[25]; 在化学结构层面, 氨选择性地与木质素的 C—O—C 键、酯键和醚键等发生化学反应^[16], 这也是木质素得到有效去除的主要原因。综上, 氨水低温冻融预处理对高粱秸秆的化学成分作用明显, 为酶解产还原性糖提供了较好的条件。

表 3 氨水低温冻融联合预处理对高粱秸秆成分变化的影响

Table 3 Influence of pretreatment using ammonia water combined with freezing and thawing on compositional change of sorghum straw

秸秆 Straw	纤维素 Cellulose	半纤维素 Hemicellulose	木质素 Lignin	灰分 Ash
未处理 Untreated	42.23±1.78	28.57±0.14	14.46±1.75	0.97±0.02
试验最优 Best in test	38.83±1.56	16.45±0.58	7.12±1.82	0.99±0.01

2.3 氨水低温冻融预处理对秸秆化学结构特性的影响

傅里叶红外变换光谱可以对木质纤维原料进行扫描, 通过对比高粱秸秆预处理前后的谱图, 准确分析秸秆化学结构的变化。由图 2 可见, 氨水低温冻融预处理前后除某些特征峰的消失或吸收强度的变化外, 红外吸收峰形状基本相同。经过氨水低温冻融联合预处理后, 波数 830 cm^{-1} 处 C—H 弯曲振动增强, 899 cm^{-1} 处的 β -1,4 糖苷键振动吸收峰^[26] 增强, 表明秸秆中的聚糖降解, 官能团更充分地暴露出来。与未处理秸秆相比, 波数 1050 cm^{-1} 处的 C—O 和 $-\text{CH}_2$ 的伸缩振动吸收峰^[27] 经预处理后明显上升, 说明了氨水低温冻融联合预处理能够使晶体结构遭到有效破坏, 从而使纤维素聚合度下降。波数 1250 cm^{-1} 处的谱峰为乙酰脂键、酚类 C—O 振动和 $-\text{OH}$ 的变形振动^[28], 经预处理后在该处的峰明显减弱, 这说明部分半纤维素和木质素得到有效降解。波数 1380 和 1610 cm^{-1} 处小峰和宽峰均为木质纤维素中的 COO^{-1} 对称伸缩振动吸收特征峰, 与未处理秸秆的谱图相比, 经预处理后在该处附近的峰明显增强, 这是预处理对木质纤维素的结

构进行有效破坏的结果。波数 1510 cm^{-1} 处的谱峰为木质素振动吸收峰, 此处吸收峰主要为 $-\text{CH}_2$ 、C—O 和苯环中的 C—C, 表明在预处理过程中部分木质素聚合体被破坏, 聚合度下降。波数 1730 cm^{-1} 处的单肩谱峰是 COOH 上的 C=O 键的伸缩振动吸收峰^[29], 与未处理秸秆的谱图比, 预处理后该处

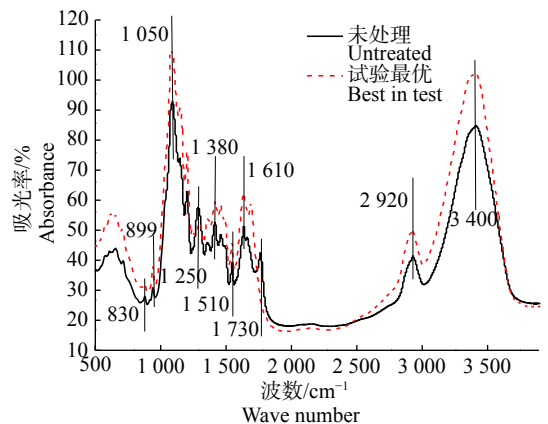


图 2 高粱秸秆氨水低温冻融联合预处理前后傅里叶红外光谱图

Fig. 2 Fourier infrared spectra of sorghum straw before and after pretreatment using ammonia water combined with freezing and thawing

谱峰基本消失,这表明了预处理使半纤维素中酯键发生了断裂,半纤维素降解。波数 $2\ 920\ \text{cm}^{-1}$ 处为木质纤维素结构中的—CH、—CH₂ 的对称和不对称伸缩振动吸收峰。波数 $3\ 400\ \text{cm}^{-1}$ 处为木质纤维素中酚羟基—OH 的振动吸收峰,与未处理秸秆的图谱相比,经氨水低温冻融预处理后破坏了木质纤维素的氢键,并有酚羟基或脂肪族羟基产生。

红外光谱图分析结果表明,氨水低温冻融联合预处理对高粱秸秆木质纤维素之间的氢键进行了有效破坏,部分半纤维素因 C=O 键断开而溶解;同时,高粱秸秆中木质素的—CH₂、C—O,苯环中 C—C 键充分暴露出来,对木质素的单体和聚合结构均有一定程度的破坏;纤维素中的 β -1,4 糖苷键、—CH₂ 和—OH 原有连接结构被打破。预处理前后的化学结构特性变化有效破坏了高粱秸秆的抗降解屏障,提高了纤维素酶对秸秆微观结构的可及度,降低了传质阻力,提高了酶解效率和还原糖得率。

2.4 氨水低温冻融预处理对秸秆结晶度的影响

木质纤维原料的主要组分是纤维素,纤维素按不同尺度结构单元在空间的相对排列位置及形态特征分为链结构和聚集态结构,是一种高分子化合物,在聚集态中具有晶体、非晶体、取向态和液晶 4 种结构^[3]。结晶度是表征纤维素超分子结构的重要参数,采用 X 射线衍射法可以准确测定秸秆的纤维素结晶度。诸多研究^[30-32]表明,纤维素的结晶度与纤维素酶的酶解效率密切相关。

图 3 是未处理原料和氨水低温冻融联合预处理后的 X 射线衍射图谱。如图 3 所示,试验最优预处理和未处理的衍射峰在 16.0° 附近的峰型基本一致,但试验最优预处理样品的衍射强度明显减弱。试验最优预处理组在 $2\theta=18.0^\circ$ 的波谷较未处理组位置向左偏移,这表明纤维素无定形区单体结构产

生变化。在 $2\theta=22.0^\circ$ 处出现明显的衍射强度单峰,预处理后样品衍射峰强度显著增强,根据公式计算出未处理组纤维素结晶度为 24.36%,试验最优预处理后秸秆纤维素的结晶度为 38.25%,提高了 57.02%,这表明高粱秸秆在预处理后,半纤维素和木质素 2 种无定形区降解溶出并暴露在外,纤维素相对含量增加并导致纤维素基质的部分重结晶,纤维结构发生重排,原料的有序结构受到破坏,部分结晶区变为无定形区且有少量结晶生成或结晶重定向,使该衍射角度下吸收强度大幅增加,这与红外光谱图中 $1\ 050$ 、 $1\ 380$ 和 $2\ 920\ \text{cm}^{-1}$ 处的木质纤维素化学基团的吸收峰增强相对应。由图可以看到试验最优预处理后在 $2\theta=28.0$ 、 30.5 和 34.5° 处的衍射峰相较于未处理组基本消失,这表明氨水低温冻融联合预处理使纤维素的结晶结构产生显著变化。

X 射线衍射分析结果表明,氨水低温冻融联合预处理对秸秆的纤维素结晶度有双重作用,一方面经过预处理破坏纤维素结晶区的氢键降低了结晶度,但与此同时无定形区木质素的去除和半纤维素的溶解使总体的结晶度大于对结晶区的破坏而升高,这与 Kim 等^[30]采用氨水、陈尚钐等^[31]采用稀酸、Pang 等^[32]采用微波蒸汽联合预处理玉米秸秆时均发现了预处理使秸秆纤维素结晶度上升或者具有双重作用的事实一致。

3 讨论与结论

高粱秸秆经氨水低温冻融联合预处理的最优预处理条件为浸泡液的液固质量比 12:1,冷冻时长 12.0 h,冷冻温度 -10°C ,氨水质量分数 8%,其中氨水质量分数对处理作用效果最明显。预处理后的高粱秸秆干物质经纤维素酶解,其还原糖产量为 $302.87\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,是未进行预处理秸秆的 1.8 倍。在最优预处理条件下,半纤维素的去除率为 42.42%,木质素去除率为 50.76%,还原糖得率为 30.29%,还原糖产量优于 Yang 等^[33]应用 γ 射线和机械粉碎结合预处理小麦酶解的 10.24% 还原糖得率。

对高粱秸秆进行预处理前后的化学成分变化分析可以得出,氨水低温冻融预处理虽然没有对高粱秸秆的纤维素造成明显破坏,但对高粱秸秆中半纤维素和木质素的去除作用显著,氨水低温冻融预处理对高粱秸秆的物理结构和化学结构 2 个层面都有积极的破坏作用。

红外光谱分析结果表明经氨水低温冻融联合预处理后有效破坏了高粱秸秆木质纤维素间的氢键,纤维素原有连接结构被打破,部分半纤维素溶解,木质素的单体和聚合结构被破坏,有效降低了

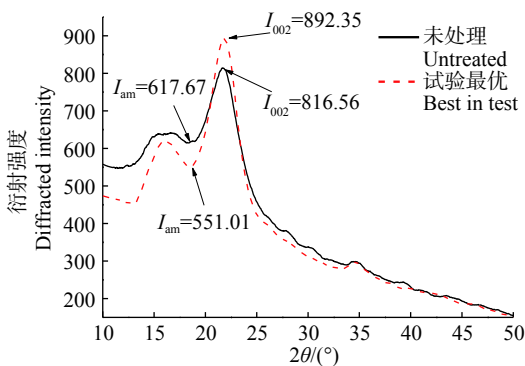


图 3 高粱秸秆氨水低温冻融联合预处理前后 X 射线衍射图谱

Fig. 3 X-ray diffraction pattern of sorghum straw before and after pretreatment using ammonia water combined with freezing and thawing

高粱秸秆的抗降解屏障,降低了传质阻力,提高了酶解效率和还原糖得率。

X 射线衍射分析结果表明,高粱秸秆经氨水低温冻融联合预处理后,纤维素结晶度提高了 13.89%。从结晶区和无定形区的累积衍射强度看,该预处理方法对木质纤维素的结晶度有积极影响。

参考文献:

- [1] CABELL C, LAHERRERE J. The end of cheap oil: Global production of conventional oil will begin to decline sooner than most people think, probably within 10 years[J]. *Sci Am*, 1998, 3: 78-83.
- [2] 李洪飞, 孙大庆, 曹龙奎. 高粱秸秆预处理方法的研究进展[J]. *安徽农学通报*, 2018, 24(9): 93-95.
- [3] 刘一星, 赵广杰. 木质资源材料学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2004:4-26.
- [4] 漆楚生. 生物质秸秆-高密度聚乙烯定向秸塑板的制备及其热压成材机理研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013: 5.
- [5] 中华人民共和国农业农村部种植业管理司. 农作物数据库 [DB/OL]. (2017-01-25)[2018-08-17]. <http://www.zzys.moa.gov.cn/>.
- [6] 谢光辉, 韩东倩, 王晓玉, 等. 中国禾谷类大田作物收获指数和秸秆系数[J]. *中国农业大学学报*, 2011, 16(1): 1-8.
- [7] 王晓玉, 薛帅, 谢光辉. 大田作物秸秆量评估中秸秆系数取值研究[J]. *中国农业大学学报*, 2012, 17(1): 1-8.
- [8] ABDESHAHIAN P, LIM J S, HO W S, et al. Potential of biogas production from farm animal waste in Malaysia[J]. *Renew Sust Energy Rev*, 2016, 60: 714-723.
- [9] ARAMRUEANG N, ZICARI S M, ZHANG R. Characterization and compositional analysis of agricultural crops and residues for ethanol production in California[J]. *Biomass Bioenergy*, 2017, 105: 288-297.
- [10] 姜岷, 曲音波, 等. 非粮生物质炼制技术: 木质纤维素生物炼制原理与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2017: 4-28.
- [11] 邓良伟. 纤维素类物质生产燃料酒精研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 1995(5): 60-72.
- [12] LI Q, HE Y C, XIAN M, et al. Improving enzymatic hydrolysis of wheat straw using ionic liquid 1-ethyl-3-methyl imidazolium diethyl phosphate pretreatment[J]. *Bioresource Technol*, 2009, 100(14): 3570-3575.
- [13] WAKSMAN S A, CORDON T C. Thermophilic decomposition of plant residues in composts by pure and mixed cultures of microorganisms[J]. *Soil Sci*, 1939, 47(3): 217-226.
- [14] 武世亮. 冻融对煤体损伤及瓦斯放散影响实验研究[D]. 徐州: 中国矿业大学, 2017: 9-15.
- [15] 常睿, 郝培文. 盐冻融循环对沥青混合料低温性能的影响[J]. *建筑材料学报*, 2017, 20(3): 481-488.
- [16] 陈曦. 低温环境下钢筋混凝土轴拉构件试验研究及有限元分析[D]. 天津: 天津大学, 2017: 3-9.
- [17] 任国玉, 初子莹, 周雅清, 等. 中国气温变化研究最新进展[J]. *气候与环境研究*, 2005, 10(4): 701-716.
- [18] 王殿龙, 艾平, 鄢烈亮, 等. 稻秸厌氧消化纤维制取乙醇实验研究[J]. *农业机械学报*, 2015, 46(5): 156-163.
- [19] 王殿龙, 艾平, 张衍林. 稻秸酶解和沼气发酵臭氨水联合预处理技术研究[J]. *农业机械学报*, 2018, 49(9): 295-301.
- [20] KO J K, BAK J S, JUNG M W, et al. Ethanol production from rice straw using optimized aqueous-ammonia soaking pretreatment and simultaneous saccharification and fermentation processes[J]. *Bioresource Technol*, 2009, 100(19): 4374-4380.
- [21] TOMA R B, LEUNG H K. Determination of reducing sugars in French fried potatoes by 3, 5-dinitrosalicylic acid[J]. *Food Chem*, 1987, 23(1): 29-33.
- [22] VANSOEST P J, ROVERTSON J B, LEWIS B A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition[J]. *J Dairy Sci*, 1991, 74(10): 3583-3597.
- [23] SEGAL L, CREELY J J, MARTIN A E JR, et al. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer[J]. *Text Res J*, 1959, 29: 786-794.
- [24] GAO A H, BULE M V, LASKAR D D, et al. Structural and thermal characterization of wheat straw pretreated with aqueous ammonia soaking[J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(35): 8632-8639.
- [25] 邓媛方, 邱凌, 王雅君, 等. 低温冻融-酶解预处理对稻秆厌氧发酵产气特性的影响[J]. *农业机械学报*, 2017, 48(10): 260-265.
- [26] GUO X, YANG F, LIU H, et al. Prediction of cellulose crystallinity in liquid phase using CBS-GFP probe[J]. *Macromol Res*, 2019, 27(4): 377-385.
- [27] LAUREANO-PEREZ L, TEYMOURI F, ALIZADEH H, et al. Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass: Characterization of pretreated corn stover[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2005, 121(1/2/3): 1081-1100.
- [28] 赵超, 邵千钧, 曹艳, 等. 液氨过氧化氢联合预处理对玉米芯酶解的影响[J]. *农业机械学报*, 2015, 46(6): 193-200.
- [29] 胡林潮, 陈莉娜, 尹勇, 等. 水稻秸秆田间焚烧残留物的结构特征初探[J]. *光谱学与光谱分析*, 2015, 35(7): 1844-1847.
- [30] KIM T H, LEE Y Y. Pretreatment and fractionation of corn stover by ammonia recycle percolation process[J]. *Bioresource Technol*, 2005, 96(18): 2007-2013.
- [31] 陈尚研, 勇强, 徐勇, 等. 稀酸预处理对玉米秸秆纤维组分及结构的影响[J]. *中国粮油学报*, 2011, 26(6): 13-19.
- [32] PANG F, XUE S, YU S, et al. Effects of combination of steam explosion and microwave irradiation(SE-MI) pretreatment on enzymatic hydrolysis, sugar yields and structural properties of corn stover[J]. *Ind Crop Prod*, 2013, 42: 402-408.
- [33] YANG C P, SHEN Z Q, YU G C, et al. Effect and after effect of γ -radiation pretreatment on enzymatic hydrolysis of wheat straw[J]. *Bioresource Technol*, 2008, 99: 6240-6245.