

文章编号:0254-0096(2018)07-1924-06

微波水热处理提高玉米芯总糖收率的研究

朱银萍^{1,2}, 余 强², 袁振宏², 庄新姝², 卞士祥^{1,2}, 王 琼²

(1. 中国科学技术大学纳米科学技术学院, 合肥 230009; 2. 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, 广东省新能源和可再生能源研究开发与应用重点实验室, 广州 510640)

摘 要: 借助微波水热法在温度 160~200 °C、反应时间 10~60 min、固液比 1:20~1:5 条件下处理玉米芯, 以提高其总糖收率。结果表明: 温度与时间是影响微波水热处理的主要因素, 在 180 °C、30 min、固液比 1:8 条件下, 总糖收率为 75.67%, 72 h 酶解率为 82.42%; 固体残渣微观结构形貌分析表明, 相对于高压釜水热反应, 微波水热可显著改变纤维素的结晶度、破坏物料表面结构并增大比表面积, 有助于提高残渣的酶解率。

关键词: 生物质; 酶水解; 生物乙醇; 预处理

中图分类号: TK6

文献标识码: A

0 引 言

木质纤维素类生物质生化炼制能源及高附加值化学品对发展替代能源、减少环境污染具有重要意义^[1,2]。纤维素-半纤维素-木质素紧密的空间三维结构组成了木质纤维生物质的天然抗降解屏障^[3], 而预处理是打破该抗降解屏障、降低生化转化成本、提高转化效率的必要工序^[4,5]。在众多预处理方法中, 水热预处理过程因其零化学试剂添加成为国内外研究热点^[6]。传统的水热体系以高压釜水热反应为主, 存在升温时间长、能耗较高等缺点^[7,8], 不利于其工业化应用。有报道称微波辐射过程升温速率快、能瞬间启动和终止反应, 具有耗能低、加热均匀且可选择性加热等特点^[9,10], 作为辅助手段, 可提高生物质酸、碱或离子液体预处理效果^[11,12]。而微波与水热预处理结合的相关报道目前较少。

本研究以玉米芯为原料, 通过微波水热预处理考察其对提高总木糖收率和残渣纤维素酶解率的作用。在优化微波水热预处理条件的基础上, 对固体残渣结构形貌特性进行分析, 通过与传统水热反应效果的比较, 明确微波水热预处理机理, 为其工业化应用提供理论基础。

1 材 料 和 方 法

1.1 材 料

玉米芯购于山西, 20~60 目过筛, 于 80 °C 烘箱中 24 h 烘干至恒重备用。采用美国可再生能源实验室标准测定方法^[13](LAP, NREL)对原料成分进行分析, 玉米芯中含纤维素 41.9%, 半纤维素 35.5%, 酸不溶木质素 14.4%, 水-乙醇抽提物 5.6%, 灰分含量 2.1%。

纤维素酶购于宁夏和氏璧生物技术有限公司, 酶活为 113.2 FPU/g。

1.2 预 处 理 方 法

微波消解仪(MWave-5000 型, 上海新仪微波化学科技有限公司)自带磁力搅拌和温度探针, 微波强度和辐射时间通过控制面板设置。反应结束仪器自带冷却装置冷却至室温后打开微波炉门和反应装置, 分离水解液和固体残渣分析。高压水热釜(大连通达反应釜厂 CJF-01 型)自带磁力旋转搅拌, 升温程序: 15 min (160 °C) 或 20 min (180 °C、200 °C) 由室温升至 $T_w/2$, 然后 25 min 内升至 $(T_R-20\text{ °C})$, 最后 15 min 达到反应温度 T_R 。

收稿日期: 2016-04-20

基金项目: 国家自然科学基金(21476233); 广州市珠江科技新星专项(201610010110); 广东省特支计划科技创新青年拔尖人才项目(2016TQ03N647); 中国科学院青年创新促进会(2015289)

通信作者: 袁振宏(1953—), 男, 博士、研究员, 主要从事生物质能利用方面的研究。yuanzh@ms.giec.ac.cn

1.3 酶解方法

原料及预处理残渣,按5%底物浓度加入0.2 mol, pH值为4.8的柠檬酸钠缓冲液。在50 mL锥形瓶中50℃、150 r/min摇床反应72 h,每24 h取酶解液HPLC分析葡萄糖含量,酶负载量为40 FPU/g底物,每组做2个平行实验结果,取其平均值。酶解率按酶解液中葡萄糖含量占原料中葡萄糖含量的比率计算。

1.4 分析测定方法

预处理后的水解液离心后采用高效液相色谱(HPLC, Waters 2498)测定其中的糖及副产物。具体条件:使用Shodex sugar SH-1011柱,以0.005 mol/L H₂SO₄为流动相,流量0.5 mol/min,UV-RI和RI检测器,检测器温度为50℃。总糖测定通过将水解液中低聚糖用4% H₂SO₄于121℃二次水解1 h换算得到。

固体残渣的形态结构由X射线衍射(XRD)、扫描电子显微镜(SEM)及比表面积(BET)测定分析。XRD(PW3040/60, Philips, Holand)用于对比分析原料及处理后固体残渣的纤维素结晶指数的变化:

$$CrI = \frac{I_c - I_a}{I_c} \quad (1)$$

式中, CrI ——结晶指数; I_c ——结晶区强度($2\theta = 22.5^\circ$), I_a ——非结晶区强度($2\theta = 18^\circ$)。

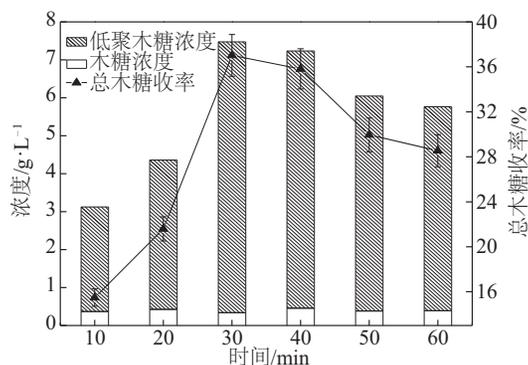
另外,采用全自动比表面积及孔径分析仪(SI-MP-10/PoreMaster33, QuantachromeUSA)对固体物料的比表面积及内部孔径分布进行分析,样品需经脱气和液氮处理。

固体表面的形貌则通过场发射扫描电镜(S4800, Hitachi)观察,样品干燥后在真空条件下喷金,在2.0 kV加速电压下获得影像。

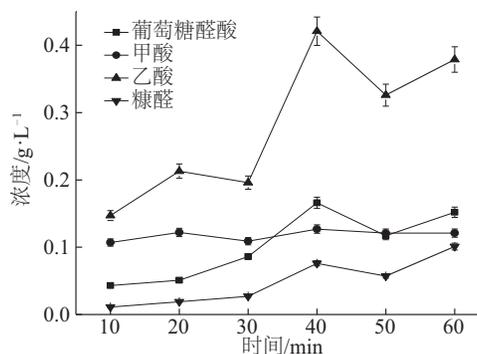
2 结果与讨论

2.1 微波水热预处理优化

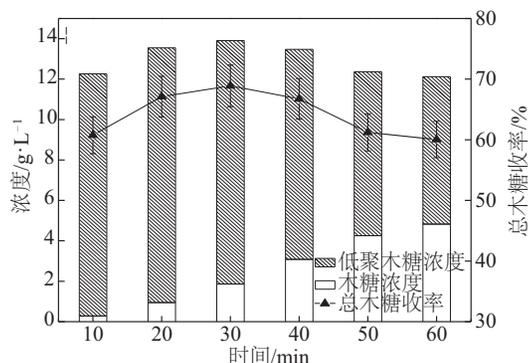
图1分别为玉米芯在5%底物浓度下总木糖的浓度和收率随反应温度和时间变化情况。160℃时随着反应时间的延长,总木糖浓度和收率均呈先增大后减小的趋势,其中30 min时可溶性木糖浓度达到最高值7.48 g/L,总木糖收率达到37.00%。低温下木糖降解速率低,糠醛浓度低于0.027 g/L,故木糖浓度变化较小(如图1a,图1b)。当反应温度为180℃时(图1c),最高总木糖收率在30 min时可



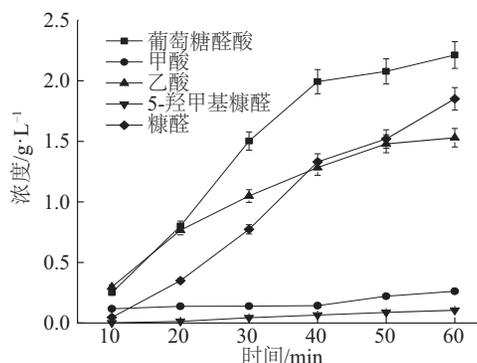
a. 160℃条件下糖产物分布



b. 160℃条件下糖降解产物分布



c. 180℃条件下糖产物分布



d. 180℃条件下糖降解产物分布

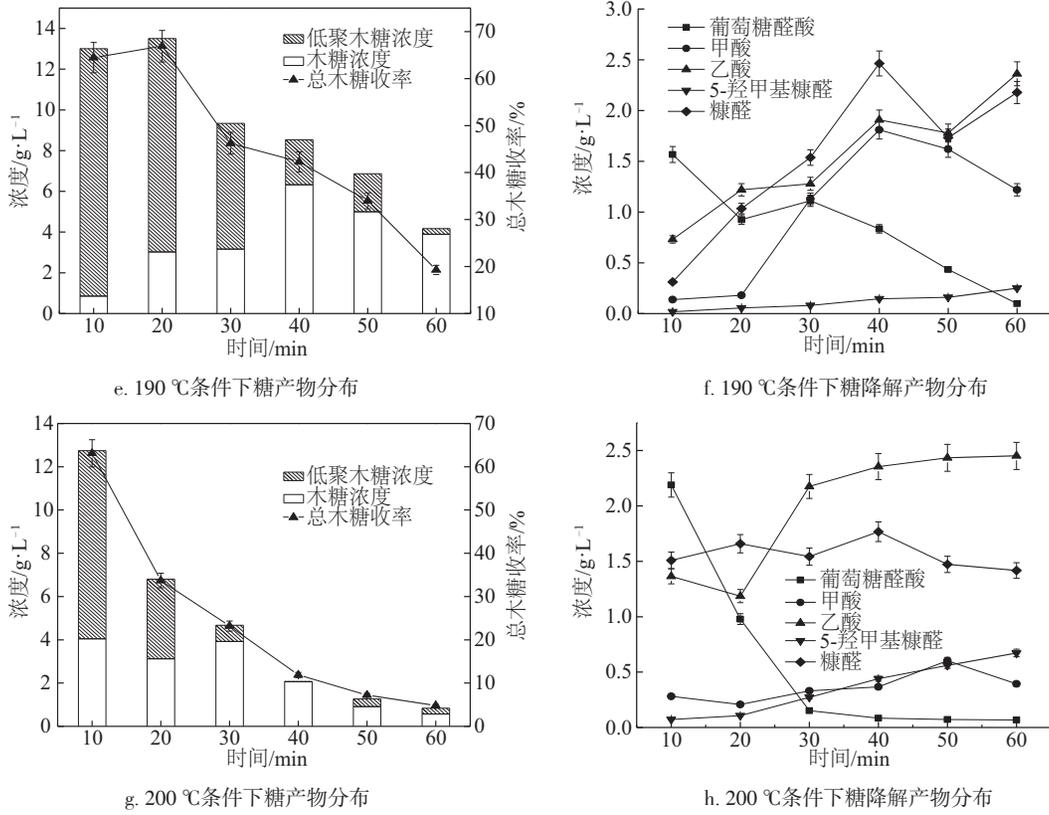
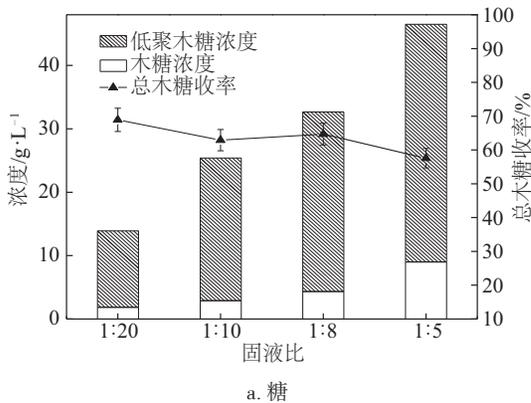


图1 糖及其降解产物随微波水热反应温度和时间变化情况

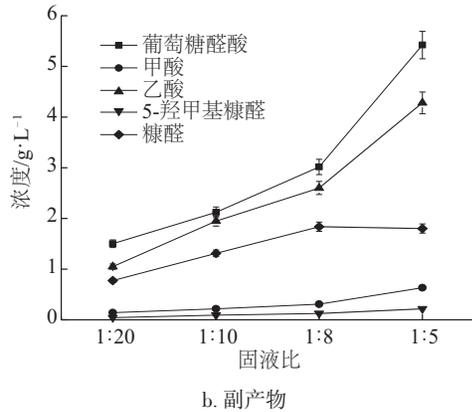
Fig. 1 Effect of reaction temperature and time on the yield of sugar and its by-products in the microwave-hydrothermal process

达 68.89%,且随着反应的继续,木糖含量逐渐增大,同时木糖和葡萄糖脱水缩合速率增大,副产物浓度如 5-HMF、HMF 等递增(图 1d),这使总木糖收率不断减小。当反应温度上升至 190 °C 以上时(图 1e、图 1g),木聚糖解聚为单糖的速率增大,副反应剧烈,总木糖收率显著减小。

综上所述,反应温度越高,总木糖收率达到最高点所需的时间越短,副产物和木糖生成量越多。综合糖收率和经济性考虑,选取 180 °C、30 min 为玉米芯微波水热预处理较优条件。



a. 糖



b. 副产物

图2 不同固液比下糖(a)和副产物生成情况(b)

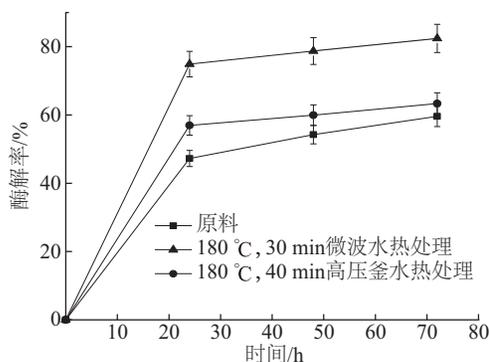
Fig. 2 Effect of solid /liquid ratio the yield of sugar (a) and by-products (b) in the microwave-hydrothermal process

在上述基础上,进一步考察固液比 1:20、1:10、1:8、1:5 对糖收率的影响。水解液中随着固液比的增加,总木糖浓度呈倍数增长(图 2a),但高固液比情况下体系传质特性变差,使总木糖收率由固液比 1:20 时的 68.89%减小到 1:5 时的 57.56%,且副产物糠醛浓度由 0.77 g/L 增大到 1.81 g/L,葡萄糖醛酸

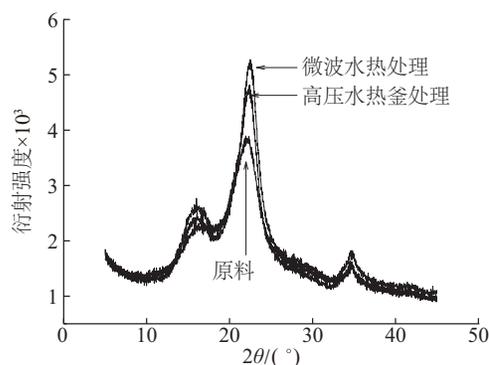
增大了4倍。固液比为1:8条件时总木糖收率为64.70%,仅次于固液比1:20,且可减少大量水耗,加之副产物的递增幅度(图2b)也显示1:8是理想的微波预处理玉米芯的固液比条件。

2.2 残渣酶解效果评价

为进一步考察水热预处理的效果,分别对原料和不同形式水热处理后的固体残渣进行酶解评价。如图3a所示,微波水热处理后的玉米芯残渣72h的酶解率达82.42%,而高压釜水热的处理残渣仅为63.33%。一般认为木质素降低了物料对纤维素酶的可及性^[3],表1所示为2种形式下预处理效果的比较。其中微波水热处理后原料中木质素脱除率为13.83%,而高压釜水热的脱除率仅为10.31%,这与二者残渣酶解率相呼应。



a. 残渣酶解情况



b. XRD 谱图变化

图3 玉米芯预处理前后残渣酶解情况(a)和 XRD 谱图变化(b)

Fig. 3 The enzymatic digestibility(a) and XRD pattern of an untreated and treated corn cob(b)

此外,木质纤维素的结晶度被认为是阻碍酶解的一个重要因素。预处理后玉米芯在结晶区 $2\theta = 22.5^\circ$ 处吸收强度相对于原料明显增强(图3b)。

半纤维素和木质素在预处理过程中被不同程度地脱除,结晶纤维素暴露,结晶指数增大,且木质素和半纤维素脱除效果越好^[14],纤维素的结晶指数越高,微波水热预处理后纤维素的结晶指数54.90%,远大于原料的41.87%。可见,微波水热处理残渣的结晶指数与酶解率并无直接关系。

表1 玉米芯不同反应形式的水热预处理对比

Table 1 Comparisionof pretreatments for corncob in different reactors

参数	原料	微波 ^a	高压釜 ^b
总木糖收率/%	—	64.7	60.86
糠醛浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	—	1.83	1.94
72 h 残渣酶解率/%	59.62	82.42	63.33
总糖收率/%	—	75.67	63.44
木聚糖含量/%	35.55	9.71	14.21
木质素脱除率/%	—	13.83	10.31

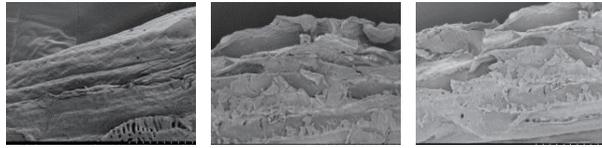
注:a 反应条件为微波水热 180 °C,时间 30 min;b 反应条件为高压釜水热 180 °C,时间 40 min,固液比均为 1:8。

2.3 微观结构变化分析

为了明确微波水热预处理机理对不同水热处理后的固体残渣和原料进行 BET 比表面积测定。原料的比表面积和孔容分别为 $1.33 \text{ m}^2/\text{g}$ 和 $3.78 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{g}$,而经过微波水热处理后比表面明显增大,其中微波的作用加剧了水热反应的剧烈程度,比表面积和孔容分别为 $2.05 \text{ m}^2/\text{g}$ 和 $9.55 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{g}$,孔容比原料增大了 2.5 倍,而高压釜水热处理结果仅为 $1.79 \text{ m}^2/\text{g}$ 和 $7.64 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{g}$,孔容比原料增加了 2 倍。可见,微波水热预处理可使残渣的比表面积变大,增强了酶与底物的可及度,有利于纤维素酶解。

为了更直观地观察微波水热预处理对生物质表面结构的改变,对原料和水热处理后的固体残渣进行形貌观察。未处理的玉米芯原料表面纤维结构较致密(图4a),经高压釜水热 180 °C、40 min 处理后的残渣表面变得疏松粗糙(图4b),形成裂隙断层状,增大了纤维素酶对底物残渣的可及性,从而提高了酶解率。而微波水热 180 °C、30 min 预处理后的残渣表面裂解明显(图4c),微波的作用加大了水热对于底物的破坏性,半纤维素和木质素的脱除

率增加,且残渣表面出现较多的孔环状,纤维素的酶解率也更高。



a. 原料 b. 高压釜水热 c. 微波水热
图4 玉米芯不同预处理前后表面形貌(900倍)

Fig. 4 SEM images of an untreated and treated corncob (900 times)

3 结 论

在 180 ℃,反应 30 min,固液比 1:8 的微波水热条件下,玉米芯总木糖收率为 64.7%,酶解率为 82.42%。而在高压水热釜预处理的较优条件下,玉米芯的总木糖收率为 60.86%,酶解率为 63.33%。相对于高压釜水热反应,微波水热过程增大了比表面积和孔容孔径,促进了木质素的迁移脱除,有利于后续残渣纤维素酶解。

[参考文献]

- [1] Chris S, Heather Y, Caroline T, et al. Feedstocks for lignocellulosic biofuels[J]. Science, 2010, 329(5993): 790—792.
- [2] Behera S, Arora R, Nandhagopal N, et al. Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass[J]. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 2014, 36(7): 91—106.
- [3] Zhuang Xinshu, Yu Qiang, Yuan Zhenhong, et al. Effect of hydrothermal pretreatment of sugarcane bagasse on enzymatic digestibility [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2015, 90(8): 1515—1520.
- [4] Ragauskas A J, Beckham G T, Biddy M J, et al. Lignin valorization: Improving lignin processing in the biorefinery [J]. Science, 2014, 344(6185): 1246843—124683.
- [5] Jin Qiang, Zhang Hongman, Xu Rui, et al. Kinetics of hemicellulose hydrolysis by dilute acid with cycle spray flow-through [J]. Ciesc Journal, 2011, 62(1): 103—110.
- [6] 余 强, 庄新姝, 袁振宏, 等. 高温液态水中甜高粱渣半纤维素水解及其机理[J]. 化工学报, 2012, 63(2): 599—605.
- [6] Yu Qiang, Zhuang Xinshu, Yuan Zhenhong. Hydrolysis of sweet sorghum bagasse hemicelluloses with liquid hot water and its mechanism[J]. Journal of Chemical Industry and Engineering, 2012, 63(2): 599—605.
- [7] 吕双亮, 庄新姝, 余 强, 等. 渗滤与间歇高温液态水预处理甘蔗渣的对比研究[J]. 太阳能学报, 2015, 36(3): 664—670.
- [7] Lyu Shuangliang, Zhuang Xinshu, Yu Qiang. Comparison of liquid hot water pretreatment with flow-through and batch reactor for sugarcane bagasse[J]. Acta Energetica Solaris Sinica, 2015, 36(3): 664—670.
- [8] Yu Guoce, Yano Shinichi, Inoue Hiroyuki, et al. Pretreatment of rice straw by a hot-compressed water process for enzymatic hydrolysis [J]. Applied Biochemistry & Biotechnology, 2009, 160(2): 539—551.
- [9] Taherzadeh M J, Karimi K. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2008, 9(9): 1621—1651.
- [10] Gabriel C, Gabriel S, Grant E H, et al. Dielectric parameters relevant to microwave dielectric heating [J]. Chemical Society Reviews, 1998, 27(3): 213—224.
- [11] Janker- Obermeier I, Sieber V, Faulstich M, et al. Solubilization of hemicellulose and lignin from wheat straw through microwave-assisted alkali treatment[J]. Industrial Crops & Products, 2012, 39(1): 198—203.
- [12] Xu Jikun, Chen Jinghuan, Sun Runcang. Hydrothermal microwave valorization of eucalyptus using acidic ionic liquid as catalyst toward a green biorefinery scenario[J]. Bioresource Technology, 2015, 193(10): 119—127.
- [13] Sluiter A, Hames B, Ruiz R, et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass [R]. Technical Report NREL/TP-510-42623, 2008.
- [14] Yu Qiang, Zhuang Xinshu, Yuan Zhenhong, et al. Two-step liquid hot water pretreatment of *Eucalyptus grandis* to enhance sugar recovery and enzymatic digestibility of cellulose[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(13): 4895—4899.

MICROWAVE-HYDROTHERMAL PRETREATMENT OF CORNCOB TO ENHENCE ITS TOTAL SUGAR RECOVERY

Zhu Yinping^{1,2}, Yu Qiang², Yuan Zhenhong², Zhuang Xinshu², Bian Shixiang^{1,2}, Wang Qiong²

(1. *Nano Science and Technology Institute, University of Science and Technology of China, Hefei 230009, China;*

2. *Guangzhou Institute of Energy Conversion, Key Laboratory of Renewable Energy, Chinese Academy of Sciences, Guangdong Key Laboratory of New and Renewable Energy Research and Development, Guangzhou 510640, China)*

Abstract: Corncob was pretreated with microwave-hydrothermal system to improve its total sugar recovery. The effect of reaction temperature (160-200 °C), time (10-60 min) and solid-liquid ratio (from 1:5 to 1:20) on the yield of total xylose were investigated. The results show that the reaction temperature and time contributed more on the hemicellulose hydrolysis than solid-liquid ratio. The maximum total sugar yield of 75.67% and 72 h enzymatic digestibility of 82.42% was achieved at 180 °C for 30 min with solid to liquid ratio of 1:8. Moreover, the changes on morphology and structure of the solid residues were evaluated. Compared with results of high-pressure kettle hydrothermal pretreatment, there was a significant change in cellulose crystallinity and surface structure after the microwave-hydrothermal pretreatment. All of these modification of substrates would be helpful to improve the accessibility of cellulose to enzyme.

Keywords: biomass; enzymatic hydrolysis; bioethanol; pretreatment