

文章编号:0254-0096(2020)07-0009-08

# 浓 $\text{H}_3\text{PO}_4$ 联合 $\text{H}_2\text{O}_2$ 预处理能源植物地肤的性能研究

郑循雯<sup>1</sup>, 彭天娇<sup>1</sup>, 邱婧雯<sup>1,2</sup>, 沈 飞<sup>1,2</sup>, Jinguang Hu<sup>3</sup>

(1. 四川农业大学环境学院, 成都 611130; 2. 四川农业大学生态环境研究所, 成都 611130;

3. Department of Wood Science, University of British Columbia, Vancouver V6T 1Z4, BC, Canada)

**摘 要:** 采用  $\text{H}_3\text{PO}_4$  联合  $\text{H}_2\text{O}_2$  (简称 PHP) 预处理地肤, 基于木质素、半纤维素去除率、纤维素回收率、酶水解率等, 研究温度、时间、 $\text{H}_3\text{PO}_4$  与  $\text{H}_2\text{O}_2$  浓度对比对预处理效果的影响。结果表明: 提升预处理温度、时间和  $\text{H}_3\text{PO}_4$  浓度对比对半纤维素和木质素去除率有明显的促进作用, 半纤维素和木质素去除率最大可达 100.0% 和 90.7%, 但也会加剧纤维素的损失。过高的  $\text{H}_3\text{PO}_4$  浓度对比 ( $\geq 70\%$ ) 不利于半纤维素和木质素去除。除 10 °C 外, 其他条件下, 酶水解率差异不显著 ( $> 90\%$ ), 但过高强度会导致一定程度的水解速率下降。

**关键词:** 生物质; 解构; 脱木质素; 酶水解; 脱半纤维素; 能源植物

**中图分类号:** TK6

**文献标志码:** A

## 0 引 言

化石燃料消耗及产生的环境问题, 使生物能源开发成为热点<sup>[1]</sup>。生物乙醇以替代性强、环境友好等优势而广受关注<sup>[2]</sup>。目前, 中国已实现粮食生物乙醇的商业化, 但因“与人争粮, 与粮争地”而严重限制其推广<sup>[3]</sup>。因此, “非粮”乙醇开发具有现实意义。木质纤维素能源植物是生物乙醇生产的重要原料<sup>[2]</sup>。但长期单一化的种植, 造成物种锐减、病虫害严重, 直接影响作物产量。因此, 新型能源植物开发可丰富物种, 稳定原料供给。地肤 (*Kochia scoparia*) 为藜科一年生  $\text{C}_4$  植物, 在干旱、高盐碱条件下, 生物量(干重)可达 12 t/hm<sup>2</sup><sup>[4-5]</sup>, 且具有良好的修复土壤功能<sup>[6-7]</sup>和能源生产、生态修复双重功能。

预处理、酶水解及发酵是木质纤维素乙醇转化的基本步骤<sup>[8]</sup>。预处理是高效转化的关键<sup>[9]</sup>。目前, 有关机械、蒸汽、酸、碱、有机溶剂以及氧化等方法的研究广泛, 但在效果、能耗、成本等方面表现出不同程度的优势和劣势<sup>[10]</sup>。近年来, 浓  $\text{H}_3\text{PO}_4$  联合  $\text{H}_2\text{O}_2$  (PHP) 法因具有条件温和、原料通适、性能高效等特点, 被认为是一种绿色的预处理方式<sup>[11-12]</sup>。本研究选择时间、温度和  $\text{H}_3\text{PO}_4$  与  $\text{H}_2\text{O}_2$  配比这 3 个关键因素为研究对象, 以木质素、半纤

维去除率、纤维素回收率及酶水解率作为考察指标, 评估 PHP 预处理地肤效果, 以期后续乙醇转化提供必要支撑。

## 1 实 验

### 1.1 材 料

地肤种植于四川农业大学现代农业科技园区, 2016 年 11 月收获。经自然风干后, 粉碎过 40 目筛, 室温保存备用。研究中涉及的  $\text{H}_3\text{PO}_4$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  等化学试剂均为分析纯, 购于成都科龙化工试剂厂。酶水解所用纤维素酶 (Celluclast 1.5 L, 700 FPU/mL) 和  $\beta$ -葡萄糖苷酶 (Novozyme 188, 300 IU/mL), 购于 Sigma-Aldrich 公司。

### 1.2 PHP 预处理

将粉碎后的地肤 16.0 g (干重) 按固液比 1:10 (质量比) 加入盛有 PHP 溶液的反应瓶。密封后, 置于恒温空气浴振荡培养箱 (ZWY-2102C, 智城, 中国上海), 在 180 r/min 转速下反应。为考察温度, 设置其为 10、30、50 °C, 固定  $\text{H}_3\text{PO}_4$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  配比 (质量比) 为 80.0%/1.8%, 时间为 5 h; 为考察预处理时间, 设置其为 1、3、5 h, 固定  $\text{H}_3\text{PO}_4$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  配比为 80%/1.8%, 温度为 50 °C; 为考察预处理  $\text{H}_3\text{PO}_4$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  配比, 设置其为 50.0%/

收稿日期: 2018-01-08

基金项目: 国家自然科学基金(21978183); 四川省科技厅国际合作项目(2017HH0047); 国家级大学生创新创业训练计划(201710626028)

通信作者: 沈 飞(1980—), 男, 博士研究生、教授, 从事生物质能源高效转化与利用方面的研究。fishen@sicau.edu.cn

12.4%、60.0%/8.8%、70.0%/5.3%、80.0%/1.8%，固定温度为 50 ℃、时间为 5 h。预处理后，将所有物质转移至 0.88 L 蒸馏水中，经充分搅拌，真空抽滤获得固渣。蒸馏水洗至 pH 值为 6.0~6.5，固渣保存在冰箱中(4 ℃)，用于组分测定和酶水解。

### 1.3 酶水解

0.25 g(干基重)固渣在 0.05 mol/L 的 CH<sub>3</sub>COOH-CH<sub>3</sub>COONa 缓冲液(pH 值 5.0)中酶水解，纤维素酶和 β-葡萄糖苷酶用量为 20 FPU/g 纤维素和 40 IU/g 纤维素。水解前添加 0.1 mL(40 mg/L)四环素。水解体积为 20 mL。酶水解在 50 ℃、150 r/min 恒温空气浴振荡培养箱进行 24 h。在 4、8、12、24 h 分别取样 1.0 mL。样品在 100 ℃金属浴中灭活 5.0 min 后，置于 13000 r/min，4 ℃离心 5 min(Allegra64, Beckman, 美国)。上清液 -20 ℃保存，用于葡萄糖浓度测定。

### 1.4 分析方法

#### 1.4.1 组分分析

预处理前后地肤组分分析采用美国国家可再生能源实验室(National Renewable Energy Laboratory, NREL)标准方法<sup>[13]</sup>。其中，木素去除率、半纤维去除率和纤维素回收率通过式(1)~式(3)计算：

$$\text{木素去除率} = \left( 1 - \frac{\text{预处理后木素质量}}{\text{预处理前木素质量}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{半纤维素去除率} = \left( 1 - \frac{\text{预处理后半纤维素质量}}{\text{预处理前半纤维素质量}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{纤维素回收率} = \left( \frac{\text{预处理后纤维素质量}}{\text{预处理前纤维素质量}} \right) \times 100\% \quad (3)$$

#### 1.4.2 葡萄糖浓度测定

高效液相色谱仪(Flexar, PerkinElmer, 美国)测定酶水解中葡萄糖浓度。0.05 mol/L 稀 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 为流动相(0.8 mL/min)，色谱柱(SH1011, Shodex, 日本)和视差折光检测器温度分别为 60 ℃和 50 ℃。以 0.5 g/L 乳糖为内标物，每个样品重复测定 2 次。

#### 1.4.3 统计分析

采用 SPSS 软件(Version 20.0)进行单因素方差分析，差异显著性采用 Duncan 多重比较。

## 2 结果与讨论

### 2.1 地肤的基本组成特征

由表 1 可见，地肤主要化学组成与传统的木质纤维

素原料无明显差异，但主要比例有一定特征，其纤维素含量为 27.2%、半纤维素含量为 21.6%，可用于糖转化的综纤维含量约占整个植株干质量的 48.8%，说明具有较好的乙醇转化物质基础，但其值略低于常规的能源植物(52.1%~69.4%)<sup>[14]</sup>。木质素含量为 22.5%，相比传统能源植物(17.3%~23.0%)，其含量较高，这在一定程度上可能会增加预处理和后续酶水解难度。地肤中乙醇抽提物含量偏高，这与其角质层较厚、含晶细胞的解剖学特性相吻合，同时也反映出其良好的耐旱、耐盐碱性生理特性<sup>[15]</sup>。此外，较高的灰分含量(5.2%)，再次证明其可能有较好的盐、碱及矿物质吸收能力。

表 1 地肤基本化学组分(%)

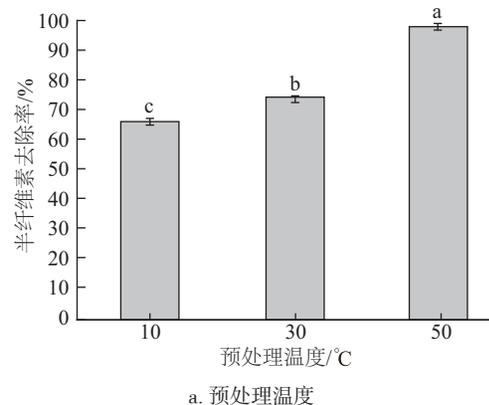
Table 1 Basic composition of *Kochia scoparia*(%)

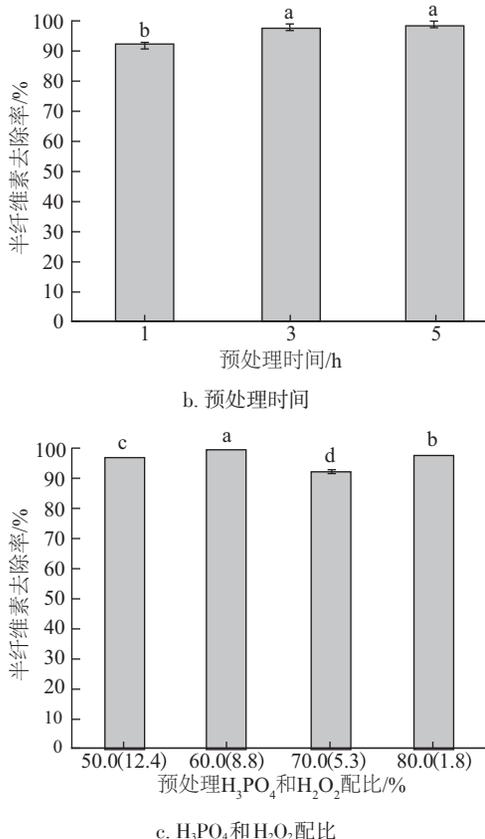
化学组成	木质素	半纤维素	纤维素	乙醇抽提物	灰分
含量	22.5±0.2	21.6±0.6	27.2±0.4	10.3±0.2	5.2±0.3

### 2.2 关键预处理因子对半纤维素去除的影响

在木质纤维素结构中，半纤维素与纤维素之间是氢键链接，并以共价键的形式与木质素结合形成“天然屏障”将纤维素包裹，从而阻碍酶与纤维素的有效接触<sup>[9]</sup>。同时，辛东林<sup>[16]</sup>研究发现，半纤维素成分及其水解产物在一定程度上会抑制纤维素酶的水解效率。因此，脱除半纤维素是木质纤维素预处理的关键之一。对地肤进行 PHP 预处理时，温度、时间、H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对比对半纤维素去除的影响如图 1 所示。柱上的字母是实验差异显著性统计分析的基本结果表述，相同字母代表 2 个实验组在 p=0.05 水平上，差异不显著；相反，不同字母代表在 p=0.05 水平上差异显著。

从图 1a 可见，在 PHP 预处理中半纤维素的去除率与预处理温度呈明显的正相关性。当预处理温度由 10 ℃升至 50 ℃时，半纤维素去除率由 66.3% 增至 98.3% (p<0.05)，与以小麦、橡木、竹子等为原料的 PHP 预处理获得的结果较为一致<sup>[11]</sup>。这主要由于半纤维素自身的热稳定性较差，同时在浓 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 环境下，提





图中括号内代表相应  $H_3PO_4$  浓度配比下  $H_2O_2$  浓度配比  
图1 关键预处理因素对半纤维素去除的影响

Fig. 1 Effects of key pretreatment factors on hemicellulose removal

升温度增强了  $H_3PO_4$  的酸水解作用,从而促进半纤维素的降解。当预处理时间为 1 h 时(见图 1b),地肤中 92.1% 的半纤维可被去除,延长预处理时间 3 h 时,半纤维几乎可被全部去除(97.6%),且继续延长对半纤维素去除影响不显著( $p > 0.05$ )。由此可见,采用 PHP 预处理地肤,其所需的预处理时间仍可进一步优化缩短。相比于半纤维素去除效率较好的预处理方法(如热水预处理、蒸汽爆破预处理),其预处理温度多维持在 170~210  $^{\circ}C$  之间,甚至更高,而 PHP 预处理有效去除半纤维素,无需较高的能量投入,且可通过延长预处理时间提升半纤维去除效果<sup>[17-18]</sup>。

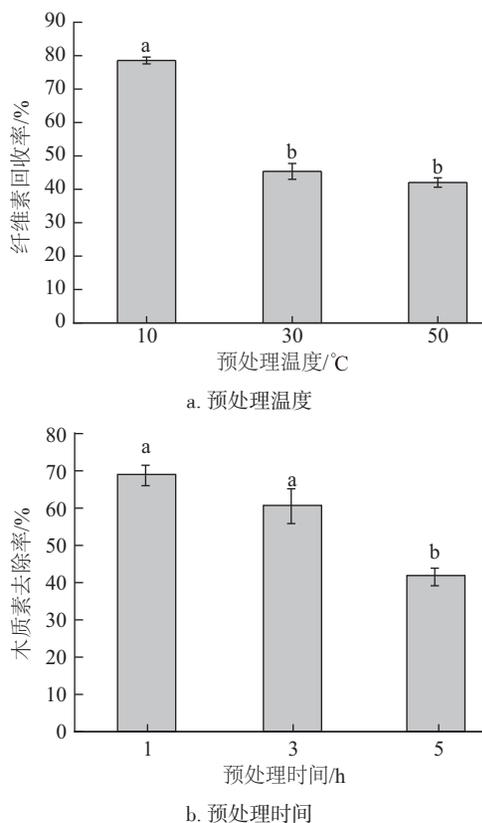
基于图 1c 可知,半纤维素去除率随预处理  $H_3PO_4$  浓度配比的增大而增大,其半纤维素去除率基本维持在 90% 以上。当  $H_3PO_4$  浓度配比由 50% 增至 60% 时,半纤维素去除率可由 96.7% 增至 99.8% ( $p < 0.05$ )。继续提升  $H_3PO_4$  浓度配比至 70% 时,则半纤维素去除率减至 92.3%。继续增大  $H_3PO_4$  配比至 80% 时,半纤维素又可提升至 98.3%。众所周知,浓  $H_3PO_4$  对于半纤维素的去

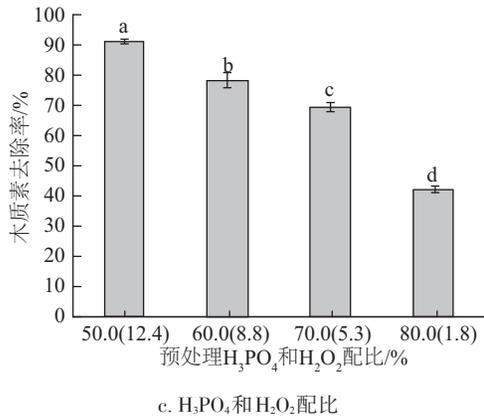
除主要来源于溶解和水解作用。在  $H_2O_2$  的参与下,反应体系的氧化性增加。因此,PHP 预处理中,半纤维素的去除机制,应受浓  $H_3PO_4$  溶解、水解以及体系的氧化作用共同控制。当  $H_3PO_4$  浓度由 50% 增至 80% 时,相应的  $H_2O_2$  浓度由 12.4% 减至 1.8%。可见,PHP 溶液的溶解、水解作用随  $H_3PO_4$  配比的增加而增强,而氧化作用将减弱。因此,可以推断,当 PHP 预处理中  $H_3PO_4$  和  $H_2O_2$  配比为 70.0%/5.3% 时,存在半纤维素的氧化和溶解机制的转换,但此过程尚需进一步证明。

### 2.3 关键预处理因子对木质素去除的影响

在木质纤维素酶水解过程中,由于木质素对纤维素的包裹作用以及对纤维素酶的非特异性吸附会降低纤维素酶的水解效能<sup>[8]</sup>。因此,脱除部分木质素对解除木质素对纤维素的保护、提高纤维素酶的及性和转化效率具有重要作用。基于此,通过探讨 PHP 预处理的温度、时间、 $H_3PO_4$  和  $H_2O_2$  配比来分析该预处理方法对木质素去除的影响,结果如图 2 所示。

从图 2a 可见,随着 PHP 预处理温度的升高,木质素去除率整体上呈显著上升趋势( $p < 0.05$ )。当预处理温度为 50  $^{\circ}C$  时,可去除地肤中约 80% 的木质素,该结果与王卿等<sup>[11]</sup>对小麦秸秆、玉米秸秆、橡木木屑等预处理的结果一致。此外,依据 PHP 预处理去除木质素的可能机制,在预处理过程中  $H_2O_2$  和浓  $H_3PO_4$  可生成过





图中括号内代表相应H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>浓度配比下H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度配比  
图2 关键预处理因素对木质素去除的影响

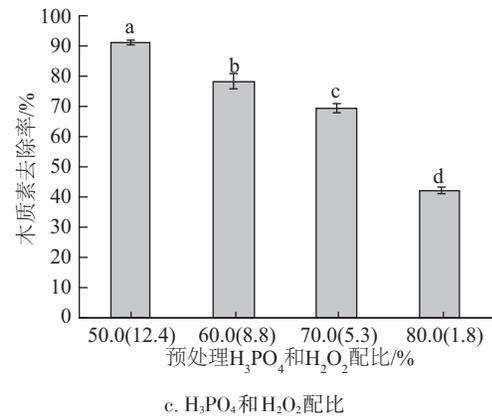
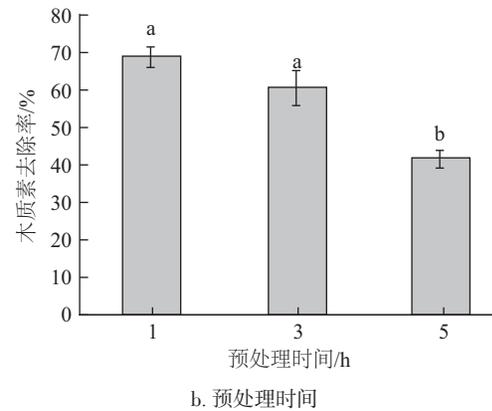
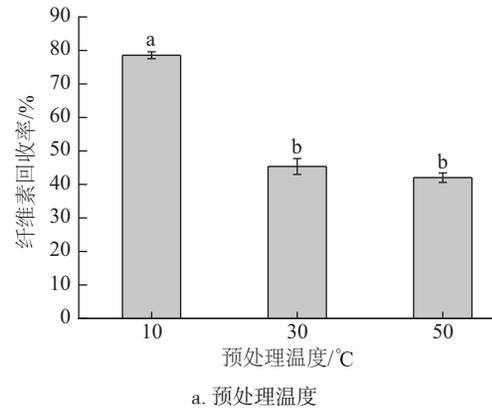
Fig. 2 Effects of key pretreatment factors on lignin removal

氧化酸(如 H<sub>3</sub>PO<sub>5</sub> 和 H<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 等)。过氧酸通过异裂的方式可形成水合氢离子(HO<sup>+</sup>)<sup>[19-20]</sup>。而 HO<sup>+</sup>对木质素中的芳环、不饱和键等亲核结构具有特异性氧化攻击作用,从而实现木质素降解<sup>[21]</sup>。由此可见,升高温度可加速氧化性酸和 OH<sup>+</sup>的生成,对促进木质素的降解具有重要作用<sup>[22]</sup>。从图 2b 可明显观察到,木质素去除率随预处理时间的延长而明显增大,继续延长预处理时间至 5 h,对于木质素的去除率影响不显著( $p > 0.05$ ),这与邱靖雯等<sup>[23]</sup>的研究结果一致。由此可见,PHP 预处理中,可氧化木质素物质可在较短时间内生成,并产生快速氧化作用,而延长预处理时间对于提升其氧化性、去除木质素并不起作用。基于图 2c,适当增加 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 浓度配比至 60%~70%,可提升木质素去除率至 88.9%~90.7%。而继续增大 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 浓度,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度相应降低,导致 PHP 体系中氧化性物质降低,从而降低了木质素的去除效果。此外,较低的 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 浓度配比也可能会导致过氧酸难以形成,进而降低木质素的去除率<sup>[24]</sup>。

#### 2.4 关键预处理因子对纤维素回收的影响

木质纤维素预处理的主要目的是降低木质纤维素的“顽抗性”,实现木质素、半纤维素和纤维素的分离,同时保证纤维素的较高效回收,从而提高纤维素酶的水解性能、增加葡萄糖收率。虽然提高预处理强度可加速半纤维素和木质素的去除,但会使纤维素造成一定损失,进而对可发酵糖的回收会产生不利影响。基于此,探究 PHP 预处理温度、时间、H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 配比对纤维素回收率的影响,结果如图 3 所示。

由图 3a 可见,纤维素回收率与预处理温度呈负相关性。当预处理温度从 10℃ 升至 30℃ 时,纤维素回



图中括号内代表相应H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>浓度配比下H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度配比  
图3 关键预处理因素对纤维素回收的影响

Fig. 3 Effects of key pretreatment factors on cellulose recovery

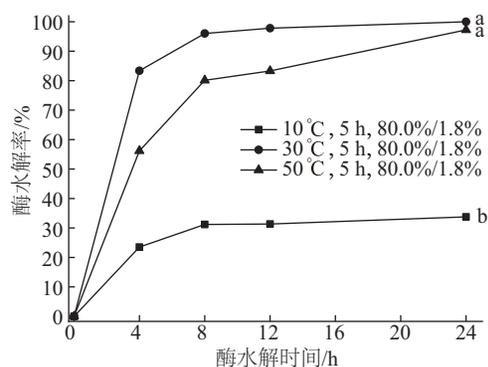
收率从 78.6% 减至 45.4%, 相对减小了 42.3% ( $p > 0.05$ )。由此可见,作为一种纤维素溶剂,H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 溶解性随温度的升高而增强。继续升温至 50℃,纤维素回收率与 30℃ 相比,仅降低了 3% ( $p > 0.05$ )。可以推断,H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 实现了对无定形纤维素的快速溶解后,对剩余的结晶纤维素的溶解减弱,从而减缓了纤维素的损失。图 3b 表示不同预处理时间对纤维素回收率的影响,可见预处理时间与纤维素回收率也呈现明显的负相关。当预处理时间由 1 h 延长至 3 h,纤维素回收率由

69.2%减至 61.2%,但减小趋势不显著 ( $p > 0.05$ )。然而延长至 5 h 时,纤维素回收率由 61.2%显著减至 42.0% ( $p > 0.05$ )。结合图 1b 和图 2b 分析可知,PHP 预处理能高效打破木质纤维素的“天然屏障”,同时通过去除纤维素的氢键,降低纤维素的结晶度<sup>[25]</sup>,因此延长预处理时间将增加  $H_3PO_4$  与纤维素的反应时间,导致纤维素的溶解量增加。基于图 3c 可知,纤维素回收率与  $H_3PO_4$  浓度呈明显负相关性。当  $H_3PO_4$  浓度由 50% 提升到 80% 时,纤维素回收率由 91.3% 显著降至 42.0% ( $p < 0.05$ )。有研究表明, $H_3PO_4$  对于纤维素的作用机制受  $H_3PO_4$  浓度限制,当浓度低于 80% 时主控机制为溶胀作用,而浓度高于 80% 时则为溶解作用<sup>[26]</sup>。因此,较低的  $H_3PO_4$  浓度水平下,仅发生溶胀并能保留大量纤维素固形物。从图 3 还可看出,在 PHP 预处理中  $H_3PO_4$  浓度对于控制纤维素至关重要,其次是预处理温度和时间,这与当前相关研究结果一致<sup>[23]</sup>。除此之外,在 PHP 预处理中各因素对于纤维素的回收率低于单独浓  $H_3PO_4$  的作用,这在一定程度上说明形成的氧化体系也会对纤维素造成一定程度的降解<sup>[27]</sup>。

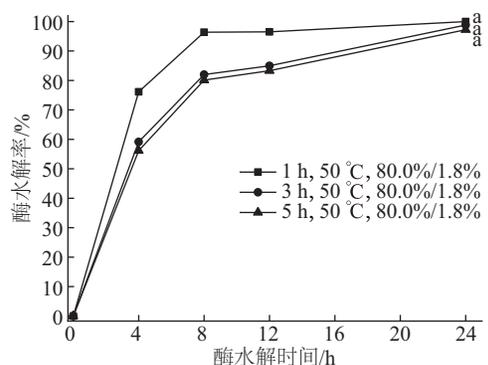
## 2.5 关键预处理因子对酶水解的影响

以 PHP 处理后的地肤为原料,在 2% 的基质浓度、纤维素酶和  $\beta$ -1,4 糖苷酶使用量分别为 20 FPU/g 和 40 IU/g 条件下水解 24 h,用于评价其纤维素-葡萄糖的转化能力,结果如图 4 所示。整体上,预处理温度对后续的酶水解影响较为明显。当预处理温度由 10 °C 升至 30 °C 时,24 h 的酶水解率从 33.8% 可显著增至 100%,然而继续升温至 50 °C 时,酶水解率略有降低,但差异不显著 ( $p > 0.05$ ),其酶水解速率却明显降低(见图 4a)。由图 4b 可见,当预处理时间为 1 h 时,预处理后的地肤在 24 h 内的酶水解率即可实现 100%,且通过延长预处理时间,24 h 酶水解率未发生明显变化 ( $p > 0.05$ ),但酶水解速率也出现明显降低。基于图 4c 可知,当  $H_3PO_4$  浓度由 50% 增至 70% 时,酶水解率随预处理  $H_3PO_4$  浓度的增加有一定程度的提升(由 96.2% 提升至 100%)。而继续增大  $H_3PO_4$  浓度至 80%,其 24 h 酶水解率降低至 97.2%。但整体对酶水解率的影响不显著。通过以上分析可发现,适当提高 PHP 预处理的强度(增高温度、延长处理时间或提升  $H_3PO_4$  浓度),可提升后续的酶水解效率,但过高的预处理强度,不仅会造成明显的纤维素损失,同时也会导致酶水解效率减小,这与文献[23]的报道一致。

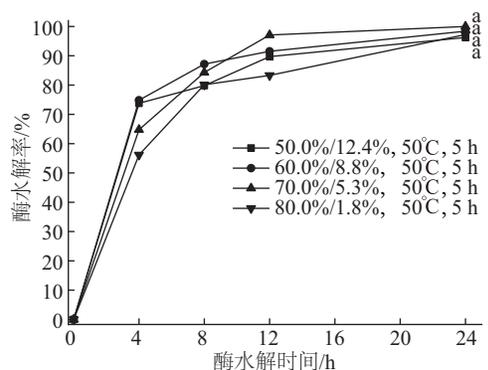
此外,通过图 1 和图 2 中预处理对半纤维和木质素去除的分析可发现,预处理强度提升后续纤维素酶水解的作用主要来源于屏障组分的有效脱除,从而降低半纤维素对纤维素酶的位阻效应和木质素对纤维素酶的无效吸附,增加纤维素酶对纤维素可及度<sup>[16,28]</sup>。然而,过高的预处理强度会在一定程度上减缓酶水解速率。其主要原因可能为预处理强度的增加,半纤维素和木质素脱除效果明显,回收固体中纤维素含量增高,这使得纤维素间的氢键再次结合并增强,从而减弱酶水解速



a. 预处理温度



b. 预处理时间



c.  $H_3PO_4$  和  $H_2O_2$  配比

图4 关键预处理因素对酶水解率的影响

Fig. 4 Effects of key pretreatment factors on enzymatic hydrolysis

率<sup>[12,23]</sup>。另外,木质素作为一种疏水性物质,少量存在于预处理后的固体中,有利于阻碍纤维素氢键的再次形成,从而一定程度上促进了底物的水解<sup>[29]</sup>。因此,采用 PHP 对地肤原料进行预处理时,预处理强度仍需进一步调控与优化以实现较高的酶水解效率和葡萄糖回收率。

### 3 结 论

采用浓  $H_3PO_4$  联合  $H_2O_2$  法 (PHP) 对地肤进行预处理,研究温度、时间、 $H_3PO_4$  与  $H_2O_2$  浓度对比对预处理和酶解效果的影响,得到如下主要结论:

1) 预处理温度 (10~50 °C) 和预处理时间 (1~5 h) 均对半纤维去除和木质素去除呈正向调节。此外,中浓度  $H_3PO_4$  (60.0%~70.0%) 条件下,对地肤中半纤维去除和木质素去除效果较好。除在较低预处理温度外,其他预处理条件对后续酶水解转化葡萄糖效率影响不显著。

2) 在 PHP 预处理过程中,过高的预处理烈度将导致纤维素的明显损失,从而对葡萄糖收率产生不利影响。

3) PHP 预处理地肤的条件需进一步调控与优化,在降低原料成本、减少能耗的同时,保证酶水解率和葡萄糖回收量。

#### [参考文献]

- [1] 闫金定. 我国生物质能源发展现状与战略思考[J]. 林产化学与工业, 2014, 34(4): 151-158.  
YAN J D. Biomass to energy in China: development status and strategic consideration[J]. Chemistry and industry of forest products, 2014, 34(4): 151-158.
- [2] 谭芙蓉, 吴波, 代立春, 等. 纤维素类草本能源植物的研究现状[J]. 应用与环境生物学报, 2014, 20(1): 162-168.  
TAN F R, WU B, DAI L C, et al. Research and prospect of cellulosic herbaceous energy plant[J]. Chinese journal of applied environmental biology, 2014, 20(1): 162-168.
- [3] 李振宇, 李顶杰, 黄格省, 等. 燃料乙醇发展现状 & 思考[J]. 化工进展, 2013, 32(7): 1457-1467.  
LI Z Y, LI D J, HUANG G S, et al. Insights on current development of fuel ethanol [J]. Chemical industry and engineering progress, 2013, 32(7): 1457-1467.
- [4] KAFI M, GUL B, SALEHI M. Kochia (*Kochia scoparia* (L.) Schrad) unwanted or wanted plant for forage production in harsh environments[J]. Sabkha ecosystems, 2014, 47: 155-174.
- [5] KAFI M, ASADI H, GANJEALI A. Possible utilization of high-salinity waters and application of low amounts of water for production of the halophyte *Kochia scoparia* as alternative fodder in saline agroecosystems [J]. Agricultural water management, 2010, 97(1): 139-147.
- [6] SMITH R C, WALDRON B L, CREECH J E, et al. Forage Kochia and Russian wildrye potential for rehabilitating Gardner's saltbush ecosystems degraded by halogeton [J]. Rangeland ecology & management, 2016, 69(5): 390-398.
- [7] SMITH R C. Potential of forage Kochia and other plant materials in reclamation of Gardner saltbush ecosystems invaded by halogeton [D]. Logan: Utah State University, 2015.
- [8] 岳军, 胡世洋, 惠继星, 等. 木质纤维素材料预处理研究进展[J]. 现代化工, 2014, 34(10): 31-35.  
YUE J, HU S Y, HUI J X, et al. Progress of pretreatment for lignocellulosic biomass [J]. Modern chemical industry, 2014, 34(10): 31-35.
- [9] 李鑫, 付永前. 木质纤维素原料预处理技术研究进展 [J]. 广州化工, 2014, 42(22): 16-18.  
LI X, FU Y Q. Research progress in pretreatment techniques for lignocellulosic materials [J]. Guangzhou chemical industry, 2014, 42(22): 16-18.
- [10] 阎金龙, 王艳君, 马烽, 等. 木质纤维素原料预处理技术相关研究进展 [J]. 中国酿造, 2013, 32(11): 7-10.  
YAN J L, WANG Y J, MA F, et al. Research progress on pretreatment technology for lignocellulosic materials [J]. China brewing, 2013, 32(11): 7-10.
- [11] WANG Q, WANG Z H, SHEN F, et al. Pretreating lignocellulosic biomass by the concentrated phosphoric acid plus hydrogen peroxide (PHP) for enzymatic hydrolysis: evaluating the pretreatment flexibility on feedstocks and particle sizes [J]. Bioresource technology, 2014, 166: 420-428.
- [12] WANG Q, HU J G, SHEN F, et al. Pretreating wheat straw by the concentrated phosphoric acid plus hydrogen peroxide (PHP): investigations on pretreatment conditions and structure changes [J]. Bioresource technology, 2016, 199: 245-257.
- [13] SLUITER A, HAMES B, RUIZ R O, et al.

- Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass [EB/OL]. <https://www.nrel.gov/docs/gen/fy13/42618.pdf>.
- [14] 李高扬, 李建龙, 王艳, 等. 优良能源植物筛选及评价指标探讨[J]. 可再生能源, 2007, 25(6): 84-89.  
LI G Y, LI J L, WANG Y, et al. Study on the selection and evaluation on fine energy plants[J]. Renewable energy resources, 2007, 25(6): 84-89.
- [15] 李洪波, 胡春元, 贺晓, 等. 木地肤茎、叶解剖结构的观察[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2007, 28(4): 85-88.  
LI H B, HU C Y, HE X, et al. Observation on the anatomical structure of the stem and leaf of *Kochia prostrata* [J]. Journal of Inner Mongolia Agricultural University (natural science edition), 2007, 28(4): 85-88.
- [16] 辛东林. 木聚糖对纤维素酶水解的抑制及其缓解方法研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.  
XIN D L. Reduction of xylan inhibition in enzymatic hydrolysis of cellulose [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2015.
- [17] 彭锦星, 邵千钧. 水热预处理竹子促进酶解的效果及其影响因素[J]. 化工学报, 2013, 64(7): 2656-2663.  
PENG J X, SHAO Q J. Hydrothermal pretreatment for enhancing enzymatic hydrolysis of bamboo and sugar recovery[J]. CIESC journal, 2013, 64(7): 2656-2663.
- [18] 杨静, 蒋剑春, 张宁, 等. 蒸汽爆破预处理对橡子壳酶水解效果的影响[J]. 太阳能学报, 2014, 35(12): 2565-2569.  
YANG J, JIANG J C, ZHANG N, et al. Effect of steam-explosion pretreatment on enzymatic hydrolysis oak shell [J]. Acta energiae solaris sinica, 2014, 35(12): 2565-2569.
- [19] RUBIN E M. Genomics of cellulosic biofuels [J]. Nature, 2008, 454(7206): 841-845.
- [20] YOUNG R A, AKHTA M. Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry [M]. New York: John Wiley & Sons, Inc, 1998, 157-190.
- [21] ZHANG X, TU M B, PAICE M G. Routes to potential bioproducts from lignocellulosic biomass lignin and hemicelluloses [J]. Bioenergy research, 2011, 4(4): 246-257.
- [22] HORTLING B, POPPIUS-LEVLIN K. Reactions of conventional kraft and superbatches pulp residual lignins with peroxyformic acid[J]. Journal of wood chemistry & technology, 2003, 23(3): 305-323.
- [23] QIU J W, WANG Q, SHEN F, et al. Optimizing phosphoric acid plus hydrogen peroxide (PHP) pretreatment on wheat straw by response surface method for enzymatic saccharification [J]. Applied biochemistry & biotechnology, 2017, 181(3): 1123-1139.
- [24] HENDRIKS A T, ZEEMAN G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass [J]. Bioresource technology, 2009, 100(1): 10-18.
- [25] 沈飞, 王卿, 曾咏梅, 等. 一种浓磷酸联合过氧化氢预处理木质纤维素类原料用于酶水解的方法: CN 201310545845[P]. 2013-11-06.  
SHEN F, WANG Q, ZENG Y M, et al. A lignocellulosic feedstock pretreatment method for enzymatic hydrolysis using concentrated phosphoric acid plus hydrogen peroxide: CN 201310545845 [P]. 2013-11-06.
- [26] ZHANG Y H P, CUI J B, LYND L R, et al. A transition from cellulose swelling to cellulose dissolution by phosphoric acid: evidence from enzymatic hydrolysis and supramolecular structure [J]. Biomacromolecules, 2006, 7(2): 644-648.
- [27] WANG Q, SHEN F, YANG G, et al. Pretreating luffa sponge (*Luffa cylindrica* L.) with concentrated phosphoric acid and subsequent enzymatic saccharification [J]. Bioresources, 2016, 11(1): 899-912.
- [28] LEU S Y, ZHU J Y. Substrate-related factors affecting enzymatic saccharification of lignocelluloses: our recent understanding [J]. Bioenergy research, 2013, 6(2): 405-415.
- [29] 闫智培, 李纪红, 李十中, 等. 木质素对木质纤维素降解性能的影响[J]. 农业工程学报, 2014, 30(19): 265-272.  
YAN Z P, LI J H, LI S Z, et al. Effect of lignin on recalcitrance of lignocellulose [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2014, 30(19): 265-272.

## PERFORMANCE OF PRETREATING ENERGY PLANT OF *Kochia scoparia* VIA PHP( CONCENTRATED H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> PLUS H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Zheng Xunwen<sup>1</sup>, Peng Tianjiao<sup>1</sup>, Qiu Jingwen<sup>1,2</sup>, Shen Fei<sup>1,2</sup>, Jinguang Hu<sup>3</sup>

(1. School of Environment, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2. Institute of Ecological and Environmental Sciences, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

3. Forest Products Biotechnology, Department of Wood Science, University of British Columbia, Vancouver V6T 1Z4, BC, Canada)

**Abstract:** In this work, *Kochia scoparia* is pretreated with PHP (concentrated H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> plus H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) to investigate the effects of 3 key parameters, including temperature, duration, ratio of H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, on delignification and hemicellulose removal, cellulose recovery, and the subsequent enzymatic hydrolysis. Results indicate that promoting pretreatment temperature, duration, and the ratio of phosphoric acid can improve the hemicellulose removal and delignification significantly, and result in the cellulose loss greatly. Maximal on hemicellulose removal and delignification of 100% and 90.7% can be achieved. In addition, the extra high ratio of phosphoric acid (higher than 70%) is negative to remove hemicellulose and lignin. The investigated parameters do not significantly affect the subsequent enzymatic hydrolysis (>90% cellulose-glucose conversion) except for the lower temperature of 10 °C. However, the dramatic severities will decrease the enzymatic hydrolysis in a certain degree.

**Keywords:** biomass; decomposition; delignification; enzymatic hydrolysis; hemicellulose removal; energy plant