

低共熔溶剂(DES)分级分离木质纤维素组分新技术

王冬梅 刘 云*

(北京化工大学 生命科学与技术学院, 北京 100029)

摘 要: 采用低共熔溶剂(DES)预处理木质纤维素,以提高残渣纤维素的酶解糖化效率。以稻壳为原料,从6种DES(乳酸-甘氨酸、草酸-氯化胆碱、甲酸-氯化胆碱、乙酸-氯化胆碱、甘油-氯化胆碱、乳酸-氯化胆碱)中,筛选脱木素效果最好的两种DES,即甲酸-氯化胆碱和乳酸-氯化胆碱;然后,利用上述2种DES预处理稻壳、玉米芯、樟木、杉木、800 kGy 玉米芯等5种生物质原料,评价DES预处理生物质分离“三素”效果,结果表明甲酸-氯化胆碱预处理玉米芯分离“三素”效果最好;最后,优化了甲酸-氯化胆碱预处理玉米芯分离“三素”工艺参数,最佳参数为:时间120 min,温度115 ℃,投料量10% (质量分数)。在优化条件下,残渣纤维素含量74.31%,木质素脱除率81.49%,木质素纯度77.07%,半纤维素完全水解。XRD分析表明,残渣纤维素为I型纤维素,结晶度48.57%;残渣纤维素酶解糖化效率为98.56%。

关键词: 木质纤维素; 低共熔溶剂; 预处理; 组分分离; 糖化

中图分类号: S216.2 **DOI:** 10.13543/j.bhxbzr.2018.06.007

引 言

化石能源的枯竭和日益严重的环境污染问题阻碍着社会经济的可持续发展,因此,寻找清洁可再生能源具有重要意义。木质纤维素作为一种丰富的可再生有机碳源,年产量约1 700亿吨,能够生产燃料和高附加值化学品,已引起了人们的极大关注^[1]。然而,截至目前只有约3%的木质纤维素被利用^[2],究其原因木质纤维素结构紧密、组成复杂^[3],难以实现组分分离和酶的高效糖化。木质纤维素主要由纤维素、半纤维素、木质素3种含氧高分子有机聚合物组成,通常纤维素含量为30%~50%,半纤维素含量为20%~25%,木质素含量为15%~30%^[4]。因此,对木质纤维素组分进行有效分级分离,是其高效利用的前提条件。木质纤维素预处理主要包括蒸汽爆破^[5]与利用离子液体^[6]、有机溶剂^[7]、稀酸和稀碱^[8]预处理等方法。然而,这些传统预处理方法存在能耗大、价格昂贵和潜在的环境污染等问题。近年来,低共熔溶剂(deep eutectic solvents, DES)由于具有溶解木质素能力强、绿色无

污染等优势,逐渐成为一种良好的生物质预处理溶剂。2003年,Abbott等^[9]首次报道了DES的概念,并制备了氯化胆碱与尿素物质的量比1:2的DES溶剂。随后,Francisco等^[10]首次利用苹果酸-脯氨酸DES溶解木质素,当苹果酸-脯氨酸物质的量比1:3,温度100 ℃时,木质素溶解度为14.9%。Fang等^[11]利用氯化胆碱-甘油按物质的量比1:2制备DES,并对木质纤维素进行预处理,残渣中纤维素含量34.4%,木质素移除率22%。Procentese等^[12]利用氯化胆碱-咪唑物质的量比3:7制备DES预处理木质纤维素,木质素移除率23.8%,残渣中纤维素含量41.1%。为了进一步开发更高效率的DES溶解木质素,实现“三素”分离的DES预处理方法,本文制备并筛选了6种DES溶剂,对5种生物质原料进行预处理以评价它们的“三素”分离效果;以优选的DES预处理玉米芯,优化预处理工艺参数,获得最佳工艺条件。另外,还初步研究了残渣纤维素的酶解糖化效果和糖化的影响因素,以为木质纤维素的生物炼制提供技术基础。

1 实验部分

1.1 材料

乳酸、甲酸、草酸、乙酸、甘油、乙醇、浓硫酸均为分析纯,北京化工厂;氯化胆碱、甘氨酸均为分析纯,国药集团药业股份有限公司;稻壳(RH)和玉米芯

收稿日期: 2018-03-08

基金项目: 国家自然科学基金(21476016/21776009)

第一作者: 女,1992年生,硕士生

* 通信联系人

E-mail: liuyun@mail.buct.edu.cn

(CB), 湖南农业科学院核农所; 800 kGy 处理玉米芯 (800 kGy CB), 为经 800 kGy 高能辐射的玉米芯原料, 湖南长沙辐照中心; 杉木 (CEW) 和樟木 (CAW), 广西高峰林场。

1.2 DES 的制备与筛选

1.2.1 DES 的制备

按照表 1 所示配制 6 种 DES 溶剂。在圆底烧瓶中加入一定物质的量比的氢供体和氢受体试剂, 60 ℃ 下恒温搅拌 2 h, 即得室温下呈液态的 DES 溶剂。氢供体试剂为草酸、甲酸、乙酸、乳酸和甘油, 氢受体试剂为甘氨酸和氯化胆碱。

表 1 DES 溶剂的制备

Table 1 DES preparation and its ingredients

| 氢供体 | 氢受体 | 物质的量比 | 温度/℃ | 简称 |
|-----|------|-------|------|------|
| 乳酸 | 甘氨酸 | 9:1 | 60 | LaG |
| 草酸 | 氯化胆碱 | 1:1 | 60 | OaCh |
| 甲酸 | 氯化胆碱 | 2:1 | 60 | FaCh |
| 乙酸 | 氯化胆碱 | 2:1 | 60 | AaCh |
| 甘油 | 氯化胆碱 | 2:1 | 60 | GCh |
| 乳酸 | 氯化胆碱 | 5:1 | 60 | LaCh |

1.2.2 原料处理与组分测定

为了评价辐照处理对预处理木质纤维素分离“三素”效果的影响, 对玉米芯进行辐照处理^[13]: 将玉米芯切成 5 ~ 10 cm 碎片, 用 60 Co- γ 辐照进行处理, 辐照剂量约为 800 kGy, 每次处理原料 2 kg, 处理时间 20 d。生物质原料组分测定参照美国国家可再生能源实验室方法^[14]。木质素含量采用酸不溶性木质素表示, 酸水解后, 糖含量采用 1500 型高效液相色谱 (HPLC, 美国科学系统仪器公司) 测定。HPLC 分析条件为: 示差折光检测器和紫外检测器, 色谱柱 HPX-87H, 柱温箱 55 ℃, 流动相 5 mmol/L H₂SO₄, 流速 0.5 mL/min, 示差检测器温度 40 ℃, 紫外检测器波长 210 nm。

1.2.3 DES 筛选

以稻壳为原料, 初步筛选表 1 所列 6 种 DES 脱木质素效果。称取 8 g 稻壳、80 g DES 于 500 mL 圆底烧瓶中, 115 ℃ 油浴加热搅拌反应 6 h。反应结束后, 趁热过滤, DES 淋洗 3 次。残渣用去离子水洗涤 3 次, 冷冻干燥再于 105 ℃ 烘干, 用于组分测定 (操作同 1.2.2 节), 评价“三素”分离的效果。

1.2.4 DES 预处理生物质效果评价

利用 1.2.3 节筛选出的 3 种 DES (FaCh、AaCh、

LaCh) 预处理不同生物质原料 (玉米芯、杉木、樟木、800 kGy 玉米芯), 脱除木质素, 进一步优选出最适 DES 试剂。

1.3 FaCh 预处理玉米芯的工艺参数优化

FaCh 预处理玉米芯的工艺参数优化方案见表 2, 主要影响因素包括反应温度、时间及投料量 (固体原料相对于 DES 溶液的质量分数)。

表 2 FaCh 预处理玉米芯的工艺参数优化方案

Table 2 Experimental design of FaCh pretreatment of the corncob

| 方案 | 温度/℃ | 时间/min | 投料量/% |
|----|------|--------|-------|
| 1 | 115 | 30 | 10 |
| 2 | 115 | 60 | 10 |
| 3 | 115 | 90 | 10 |
| 4 | 115 | 120 | 10 |
| 5 | 115 | 240 | 10 |
| 6 | 115 | 360 | 10 |
| 7 | 70 | 120 | 10 |
| 8 | 85 | 120 | 10 |
| 9 | 100 | 120 | 10 |
| 10 | 115 | 120 | 10 |
| 11 | 130 | 120 | 10 |
| 12 | 115 | 120 | 6 |
| 13 | 115 | 120 | 8 |
| 14 | 115 | 120 | 10 |
| 15 | 115 | 120 | 12 |

1.4 残渣纤维素酶解糖化

取残渣纤维素 100 mg 加入至 15 mL 离心管中, 再加入 5 mL 柠檬酸缓冲液和 2 mg 纤维素酶蛋白。将离心管固定在转盘上旋转, 转速 180 r/min, 在 50 ℃ 下糖化 72 h, 利用 HPLC 测定酶解液中的糖含量。

1.5 糖化影响因素分析

通过 1.4 节残渣纤维素酶解糖化实验, 得到不同预处理条件的纤维素残渣, 分别再用 50 mmol/L、pH 4.8 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液洗涤 3 遍。称取不同预处理条件下所得纤维素残渣 100 mg, 加入 50 mL 的离心管中, 按照每 g 纤维素 20 mg 酶蛋白的标准加入纤维素酶, 再加入 10 mL、50 mmol/L、pH 4.8 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液; 混合均匀再放入摇床 (50 ℃, 180 r/min) 中, 吸附反应 5 h 后离心取上清液。分别取 1 mL 上清液与 5 mL 事先准备好的考马斯亮蓝溶液混合, 反应 2 min, 用紫外分光光度计测

定吸光度,再依据标准曲线计算蛋白含量。

将未经处理的玉米芯和纤维素残渣均匀地贴在有双面胶的金属样品台上,固定、喷金。随后于扫描电子显微镜下观察样品的形貌结构,照片放大倍数为 3 000 倍。

将 50 mmol/L、pH 4.8 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液与低共熔溶剂一起配置低共熔溶剂质量分数分别为 1%、2%、5%、10%、20%、30% 的缓冲液,并用 NaOH 调节 pH 为 4.8。在 50 mL 离心管中加入 5 mL 的缓冲液(低共熔溶剂与 50 mmol/L、pH 4.8 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液的混合液)、1 g 的微晶纤维素,再加入 20 mg 纤维素酶。混合均匀再放入摇床(50 ℃,180 r/min)中,糖化 72 h 后取出,用 HPLC 测定反应液的糖释放量。

利用 XRD-6000 X-射线衍射仪(日本岛津公司)对 DES 预处理前后的玉米芯进行 XRD 分析,以 10(°)/min 从 10°扫描至 40°,间隔 0.02°,扫描电压 40 kV,扫描电流 40 mA。结晶度利用高度法计算^[15],如式(1)所示

$$C = (I_{002} - I_{am}) / I_{002} \times 100\% \quad (1)$$

式中, C 为结晶度; I_{002} 为 002 区的晶格衍射强度($2\theta = 22.6^\circ$); I_{am} 为无定形区强度($2\theta = 18^\circ$)。

1.6 FaCh 溶解木质素的回收

FaCh 预处理玉米芯原料后,过滤,向滤液中加入 3~5 倍的乙醇/水溶剂(体积比 9:1)^[16],静置过夜,木质素沉淀析出,使用冷冻高速离心机离心得到木质素。将木质素置于恒温干燥箱中,105 ℃干燥 4 h,测定其纯度。按式(2)计算木质素移除率^[17]。

$$R = \left(1 - \frac{m_{\text{残渣}}}{m_{\text{原料}}}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式中, R 为木质素移除率; $m_{\text{残渣}}$ 为残渣木质素质量,g, $m_{\text{原料}}$ 指生物质原料中木质素质量,g。

离心得到的滤液用于总糖含量的测定:取 3 mL 滤液至 15 mL 耐压瓶中,加入 105 μL 72% 的硫酸混合均匀,在高灭菌锅中 121 ℃水解 60 min,冷却后采用 HPLC 定量测定糖含量。

2 结果与讨论

2.1 DES 溶解木质素效率

如图 1 所示,由于氢受体与氢供体混合加热后氢键的相互作用,DES 在室温下呈现为透明液体状态^[17-18]。木质纤维素原料(稻壳、玉米芯、800 kGy 玉米芯、杉木、樟木)组分测定结果见图 2。用 1.2.1

节中 6 种 DES 预处理稻壳生物质评价 DES 分离“三素”效果,以优选出最适 DES 溶剂。从图 3 可知,溶解木质素最好的前两位 DES 溶剂为 FaCh 和 LaCh,它们移除木质素的效率分别为 61.58% 和 51.82%。研究表明,DES 在预处理木质纤维素过程中,生物质结构中连接纤维素与木质素的半纤维素被降解,从而使木质素与纤维素分离;连接木质素与半纤维素的酯键也被打断,从而使木质素与半纤维素分离^[19];在 DES 溶剂中,半纤维素水解为低聚糖;通过氢键和 $\pi-\pi$ 键相互作用,DES 溶解木质素,并使其发生部分解聚^[20]。Alvarez-Vasco 等^[16]利用 DES 预处理杨木生物质,在分离纯化木质素过程中将木质素大分子内醚键打断,得到分子量 890 g/mol 的木质素,相比于未处理木质素的分子量(2 950 g/mol)要小得多。

由于稻壳含有大约 20% 的硅在纤维素周围与半纤维素和木质素相互连接^[21],DES 预处理过程不能有效破坏木质纤维素的刚性结构,导致预处理效果不好。采用酸或碱预处理生物质时,禾本科类生物质结构相对于软木和硬木更容易被破坏^[22]。综上,优选出 LaCh、FaCh 溶剂进行后续实验。

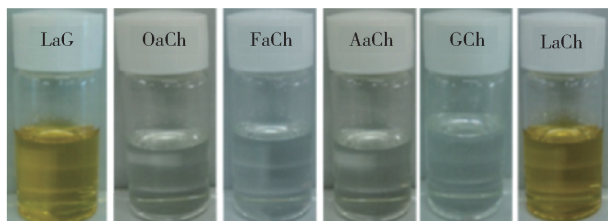


图 1 DES 溶剂

Fig. 1 Pictures of DES solvents

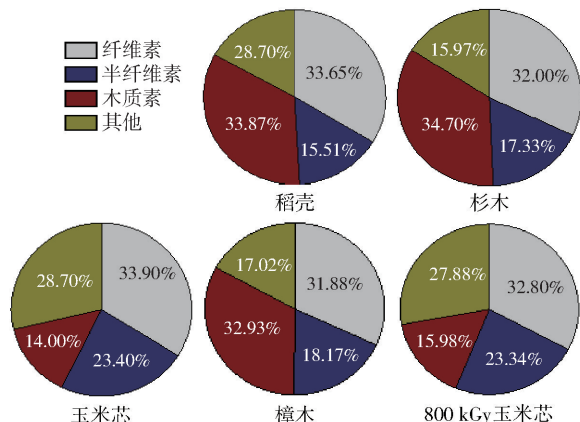


图 2 原料组分测定

Fig. 2 Composition of biomass feedstocks

2.2 DES 分离生物质“三素”组分

通过 2.1 节优选出的 2 种 DES 溶剂,即 LaCh

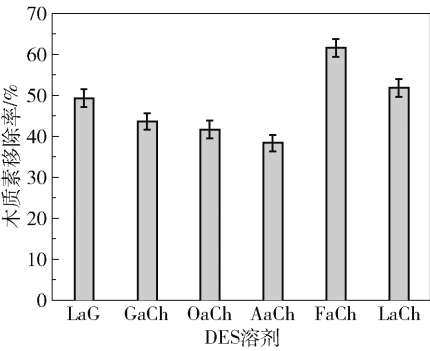


图 3 DES 预处理稻壳的木质素移除率

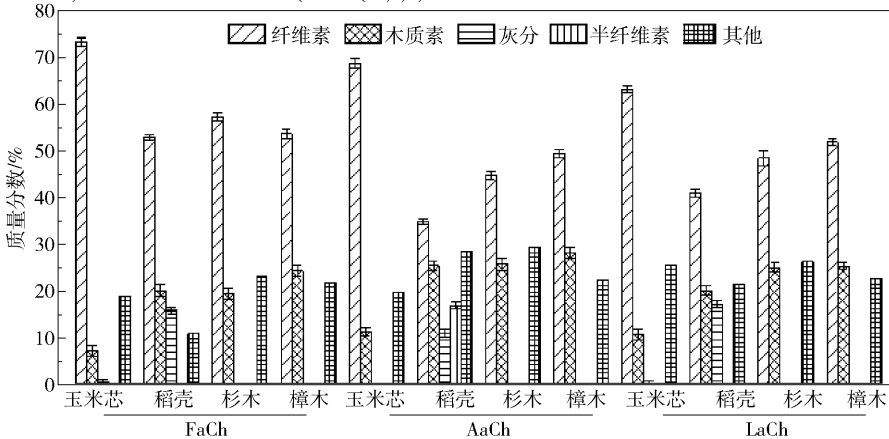
Fig. 3 Removal of lignin from rice bran by DES

和 FaCh,以脱稻壳木质素效果最差的 AaCh 为对照,探讨 DES 预处理其他木质纤维素原料,分级分离“三素”效果,结果见图 4(a)和(b)。在对 4 种原料(玉米芯、稻壳、杉木、樟木)的 DES 预处理中,LaCh、AaCh 和 FaCh 处理玉米芯得到的残渣纤维素含量很高,脱木质素效果明显好于其他生物质原料,残渣纤维素含量分别为 52.99% ,68.74% 和 73.20% (图 4(a)),

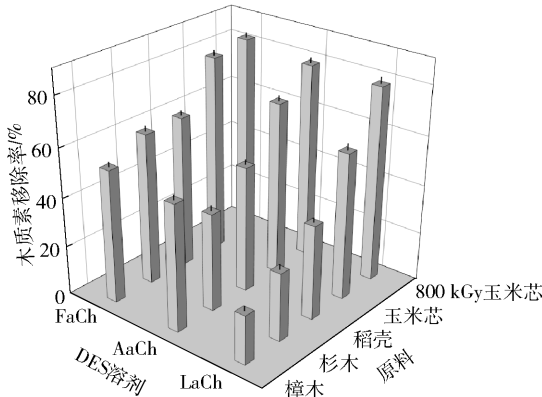
木质素移除率分别为 68.9% ,70.06% 和 84.29% (图 4(b))。这是因为 FaCh 中较强的氢键能在短时间内将半纤维素水解,并通过氢键和 $\pi-\pi$ 键的相互作用溶解木质素。

以玉米芯原料为对象,比较了辐照预处理对 DES 分离“三素”效果的影响,结果见图 4(c)。玉米芯经辐照处理后,残渣纤维素含量几乎没有变化^[23],木质素的移除率有所增加,其中 FaCh 脱除木质素效率最高,为 89.55% (图 4(b))。Yin 等^[24]的报道中提到,辐照处理在一定程度上有利于木质素的脱除和提高残渣纤维素的酶解糖化效果。木质素的脱除效果主要取决于木质素与半纤维素的分离以及溶剂对木质素的溶解能力。有文献报道,DES 对木质素有较好的溶解能力,木质素溶解度能达到每 g DES 14.9 g 木质素^[10]。

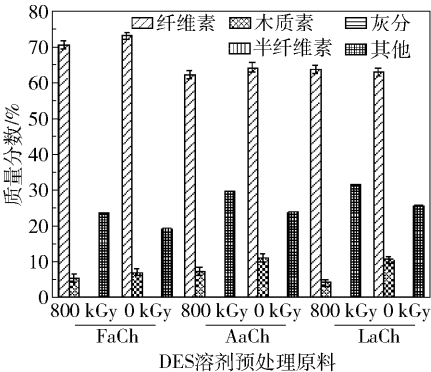
综上,FaCh 分级分离玉米芯的“三素”效果最佳。



(a) 3种DES预处理4种原料残渣组分



(b) DES 预处理生物质木质素的移除率



(c) 3种DES预处理800 kGy玉米芯与玉米芯残渣组分

图 4 DES 分离生物质“三素”组分

Fig. 4 Efficiency of lignin removal from biomass by DES

2.3 FaCh 分离玉米芯“三素”工艺优化

FaCh 分离“三素”的主要影响因素包括时间、温度和投料量,按照表 2 的实验方案设计,对上述因素进行单因素优化,以期获得最适工艺参数。

2.3.1 预处理时间

固定玉米芯 8 g, FaCh 80 g, 反应温度 115 ℃ 的条件下, 优化处理时间 (360 min、240 min、120 min、90 min、60 min、30 min) 对木质素移除率和组分流向的影响, 结果见表 3。从表 3 可以看出, 处理时间增加到 120 min 后纤维素含量明显提高, 继续增加处理时间, 残渣纤维素含量并没有明显提高。由于甲酸的水解作用, 半纤维素和少量纤维素被水解成单糖和低聚糖, 木质素移除率随着时间延长而增加, 当处理时间为 120 min 时, 纤维素含量为 74.31%, 木质素移除率为 81.48%。根据以上结果最佳时间确定为 120 min。根据 Vasco 等^[16]的报道, 采用 LaCh 在

145 ℃ 下预处理白杨木 360 min, 木质素移除率为 78.50%。由此可见, 本文 FaCh 的预处理效果较好。

2.3.2 预处理温度

固定玉米芯 8 g, FaCh 80 g, 反应时间 120 min 等条件, 优化反应温度 (130 ℃, 115 ℃, 100 ℃, 85 ℃, 70 ℃) 对木质素移除率和组分流向的影响, 结果见表 3。对比方案 7 (反应温度 70 ℃) 和 10 (反应温度 115 ℃), 温度升高到 115 ℃ 后, 残渣纤维素含量明显增加 (从约 34% 提高到约 74%), 进一步升高温度至 130 ℃, 残渣纤维素含量并没有增加 (为 73.74%)。木质素移除率受温度影响较大, 100 ℃ 时, 约 50% 的木质素被移除, 温度升至 115 ℃, 木质素移除率达 81.48%。但是预处理温度过高会加剧半纤维素水解物 C5 糖转化呋喃类物质糖醛并吸附在残渣纤维素上, 抑制后续糖化过程中的酶活性^[25]。因此, 最佳处理温度确定为 115 ℃。

表 3 FaCh 预处理玉米芯优化过程中组分流向与木质素的移除率和纯度
Table 3 Composition, lignin removal ratio and purity of corncob pretreated with FaCh

| 方案 | 纤维素/g | | 木质素/g | | 半纤维素/g | | 残渣纤维素 | 木质素 | 木质素 |
|----|-------|------|-------|-------|--------|------|-------|-------|-------|
| | 残渣 | 滤液 | 残渣 | 反相沉淀物 | 残渣 | 滤液 | 含量/% | 移除率/% | 纯度/% |
| 1 | 2.12 | 0.33 | 0.59 | 0.43 | 0.54 | 1.20 | 46.17 | 47.44 | 72.83 |
| 2 | 2.12 | 0.34 | 0.51 | 0.50 | 0.57 | 1.27 | 47.82 | 54.25 | 71.27 |
| 3 | 2.13 | 0.34 | 0.25 | 0.76 | 0 | 1.71 | 64.45 | 77.61 | 70.07 |
| 4 | 2.15 | 0.37 | 0.20 | 0.90 | 0 | 1.70 | 74.31 | 81.48 | 77.07 |
| 5 | 2.10 | 0.39 | 0.25 | 0.93 | 0 | 1.72 | 72.88 | 77.63 | 84.07 |
| 6 | 1.87 | 0.61 | 0.19 | 0.85 | 0 | 1.72 | 73.20 | 84.29 | 77.37 |
| 7 | 2.51 | 0 | 1.12 | 0.43 | 0.54 | 0 | 33.75 | — | — |
| 8 | 2.49 | 0 | 1.06 | 0.50 | 0.57 | 0.23 | 37.70 | 4.94 | 50.54 |
| 9 | 2.45 | 0 | 0.64 | 0.76 | 0.59 | 1.14 | 49.54 | 42.67 | 71.79 |
| 10 | 2.15 | 0.40 | 0.21 | 0.90 | 0 | 1.74 | 74.31 | 81.48 | 77.07 |
| 11 | 2.11 | 0.41 | 0.16 | 0.93 | 0 | 1.74 | 73.74 | 85.45 | 84.07 |
| 12 | 1.89 | 0.55 | 0.20 | 0.87 | 0 | 1.70 | 68.94 | 81.10 | 59.17 |
| 13 | 1.95 | 0.54 | 0.21 | 0.89 | 0 | 1.68 | 70.07 | 81.25 | 76.00 |
| 14 | 2.15 | 0.37 | 0.21 | 0.91 | 0 | 1.70 | 74.31 | 81.49 | 77.07 |
| 15 | 2.19 | 0.28 | 0.33 | 0.76 | 0.39 | 0.87 | 57.10 | 70.32 | 69.27 |

2.3.3 原料投料量

固定反应温度 115 ℃, 反应时间 120 min, FaCh 80 g 等条件, 优化玉米芯原料投料量 (9.6 g, 8 g, 6.4 g, 4.8 g) 对木质素移除率和组分流向的影响, 结果见表 3。当投料量为 12% 时, 纤维素的含量由最高的 74.31% 降至 57.10%, 木质素移除率从最高时的

81.4% 降低至 70.32%, 半纤维素也没有完全水解, 未水解的半纤维素与纤维素、木质素以一定的刚性结构存在, 预处理效果不理想。分析原因, 可能是 FaCh 溶剂具有一定黏度 (29.90 mPa·s, 115 ℃), 投料量过大会导致搅拌不均匀, FaCh 溶解木质素效果差, 影响预处理效果。当投料量为 10% 时, 半纤维

素完全水解。因此,最佳投料量确定为 10%。

2.3.4 实验验证

在最优条件(预处理时间 120 min、温度 115 ℃、投料量 10%)下,进行 3 次验证实验,取平均值。结果表明,FaCh 预处理玉米芯后,残渣纤维素含量 74.31%,半纤维素全部移除,木质素移除率 81.49%,纯度 77.07%。

2.4 残渣纤维素的酶解效果及影响因素

对 FaCh 不同预处理条件得到的玉米芯残渣进行酶解糖化,结果见表 4。相对于未处理玉米芯原料(对照组),FaCh 处理后残渣纤维素酶解率得到提高。酶解糖化效果最好的是方案 5,糖化率为 98.56%,其次为方案 4,糖化率为 93.23%。

木质纤维素经预处理后,半纤维素与木质素的去除使得大部分纤维素发生一定的溶胀,比表面积增加^[25]。也有研究报道,即便是木质素在细胞壁的存在位置发生细微的变化,也会使酶解效率得到有效提升^[26-28]。不同预处理条件下得到的纤维素残渣对纤维素酶吸附率如图 5(a)所示。未对玉米芯进行任何处理时,其纤维素酶吸附率为 18.72%,预处理后纤维素残渣对纤维素酶吸附率均有提高,最高吸附率为 24.98%。残渣纤维素对酶吸附率的提

高,有利于纤维素酶解糖化。

SEM 分析(图 5(b))表明,未处理玉米芯保留着完整和有序的纤维结构,而 DES 预处理后,玉米芯原有的纤维结构受到不同程度的破坏。XRD 分析(图 5(c))表明,DES 处理没有改变纤维素的晶相,处理前后均为天然 I 型纤维素,结晶度分别为 41.25% 和 48.57%,变化不大。这一现象表明,DES 对纤维素的结晶状态(包括结晶区和无定形区)影响很小^[19-20]。

同时,我们还考察了 DES 残留对纤维素酶活的影响,结果见图 5(d)。由图可知,当 DES 残留量低

表 4 FaCh 预处理玉米芯所得残渣纤维素的酶解效果

| Table 4 Enzymatic hydrolysis of residue solid of corncob pretreated with FaCh | | |
|---|---------|-------|
| 方案 | 纤维素含量/% | 糖化率/% |
| 3 | 64.45 | 73.60 |
| 4 | 74.31 | 93.23 |
| 5 | 72.88 | 98.56 |
| 9 | 49.54 | 71.14 |
| 11 | 73.74 | 81.39 |
| 对照组 | 33.90 | 50.69 |

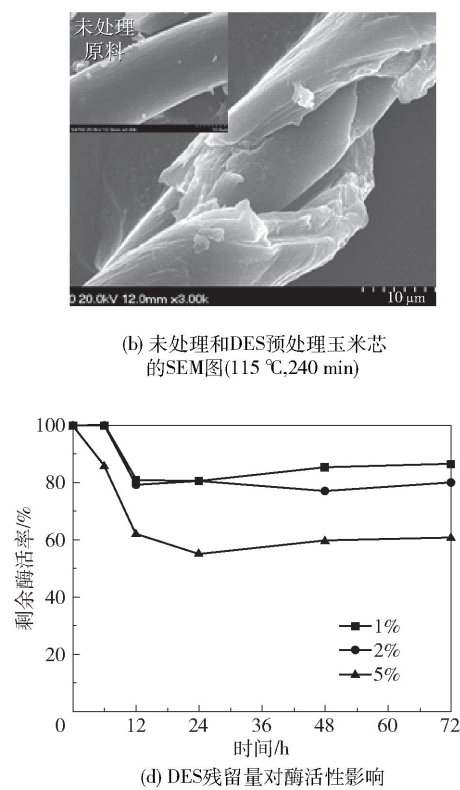
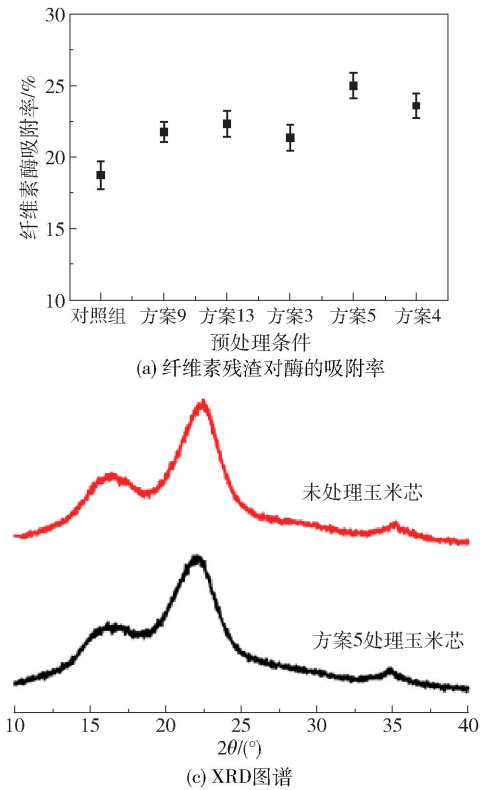


图 5 残渣纤维素糖化和结构特性

Fig. 5 Saccharification and structural properties of cellulose residue after pretreatment with DES

于 2% 时,糖化 6 h 后纤维素酶活性不受影响。进一步延长糖时间至 72 h,纤维素酶活性降低至原来的 80% 左右。

3 结论

(1) 从 6 种 DES 溶剂中筛选两种分离“三素”效果较好的 DES 即 LaCh、FaCh,以这 2 种 DES 预处理樟木、杉木、玉米芯、稻壳、800 kGy 玉米芯等 5 种生物质原料,结果表明,FaCh 预处理玉米芯的“三素”分离效果最佳。

(2) FaCh 预处理玉米芯最优工艺参数为:时间 120 min,温度 115 ℃,投料量 10%。在此条件下,残渣纤维素含量 74.31%,木质素移除率 81.49%,木质素纯度 77.07%。

(3) 对 DES 预处理玉米芯残渣进行酶解糖化,最高糖化率为 98.56%。SEM 分析显示,DES 预处理使纤维素结构发生断裂。XRD 分析结果表明,DES 预处理不会改变纤维素晶型。

(4) DES 预处理后,残渣纤维素对酶吸附效率有所提升。当 DES 残留含量低于 2% 时,糖化 6 h 后纤维素酶活性不受影响。

参考文献:

[1] CHATTERJEE C, PONG F, SEN A. Chemical conversion pathways for carbohydrates [J]. *Green Chemistry*, 2015, 17(1): 40–71.

[2] CORMA A, IBORRA S, VELTY A. Chemical routes for the transformation of biomass into chemicals [J]. *Chemical Reviews*, 2007, 107(6): 2411–2502.

[3] UPTON B M, KASKO A M. Strategies for the conversion of lignin to high-value polymeric materials: review and perspective [J]. *Chemical Reviews*, 2016, 116(4): 2275–2306.

[4] MOSIER N, WYMAN C, DALE B, et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass [J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96(6): 673–686.

[5] ZHAO W, YANG R J, ZHANG Y Q, et al. Sustainable and practical utilization of feather keratin by an innovative physicochemical pretreatment: high density steam flash-explosion [J]. *Green Chemistry*, 2012, 14(12): 3352–3360.

[6] DA COSTA LOPES A M, JOÃO K G, BOGEL-LUKASIK E, et al. Pretreatment and fractionation of wheat straw using various ionic liquids [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(33): 7874–7882.

[7] ZHOU H, ZHANG R L, ZHAN W, et al. High biomass loadings of 40 wt% for efficient fractionation in biorefineries with an aqueous solvent system without adding adsorptive catalyst [J]. *Green Chemistry*, 2016, 18(22): 6108–6114.

[8] CUVILAS C A, YANG W L. Spruce pretreatment for thermal application: water, alkaline, and diluted acid hydrolysis [J]. *Energy & Fuels*, 2012, 26(10): 6426–6431.

[9] ABBOTT A P, CAPPER G, DAVIES D L, et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures [J]. *Chemical Communications*, 2003, 9(1): 70–71.

[10] FRANCISCO M, VAN DE BRUINHORST A, KROON M C. New natural and renewable low transition temperature mixtures (LTTMs): screening as solvents for lignocellulosic biomass processing [J]. *Green Chemistry*, 2012, 14(8): 2153–2157.

[11] FANG C J, THOMSEN M H, FRANKER C G, et al. Reviving pretreatment effectiveness of deep eutectic solvents on lignocellulosic date palm residues by prior recalcitrance reduction [J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2017, 56(12): 3167–3174.

[12] PROCENTESE A, JOHNSON E, ORR V, et al. Deep eutectic solvent pretreatment and subsequent saccharification of corncob [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 192: 31–36.

[13] LIU Y, GUO L J, WANG L Y, et al. Irradiation pretreatment facilitates the achievement of high total sugars concentration from lignocellulose biomass [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 232: 270–277.

[14] SLUITER A, HAMES B, RUIZ R, et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass [M]. Golden: National Renewable Energy Laboratory, 2008: 1–18.

[15] SEGAL L, CREELY J J, MARTIN A E J, et al. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-Ray diffractometer [J]. *Textile Research Journal*, 1959, 29(10): 786–794.

[16] ALVAREZ-VASCO C, MA R S, QUINTERO M, et al. Unique low-molecular-weight lignin with high purity extracted from wood by deep eutectic solvents (DES): a source of lignin for valorization [J]. *Green Chemistry*, 2016, 18(19): 5133–5141.

[17] GE X, GU C D, WANG X L, et al. Deep eutectic solvents (DESs)-derived advanced functional materials for energy and environmental applications: challenges, opportunities, and future vision [J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2017, 5(18): 8209–8229.

[18] XU G C, DING J C, HAN R Z, et al. Enhancing cellu-

- lose accessibility of corn stover by deep eutectic solvent pretreatment for butanol fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 203: 364–369.
- [19] HOU X D, SMITH T J, LI N, et al. Novel renewable ionic liquids as highly effective solvents for pretreatment of rice straw biomass by selective removal of lignin [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2012, 109(10): 2484–2493.
- [20] NINOMIYA K, YAMAUCHI T, KOBAYASHI M, et al. Cholinium carboxylate ionic liquids for pretreatment of lignocellulosic materials to enhance subsequent enzymatic saccharification [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2013, 71: 25–29.
- [21] LIU N, HUO K F, MCDOWELL M T, et al. Rice husks as a sustainable source of nanostructured silicon for high performance Li-ion battery anodes [J]. *Scientific Reports*, 2013, 3: 1919.
- [22] BRANDT A, GRÄSVIK J, HALLETT J P, et al. Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids [J]. *Green Chemistry*, 2013, 15(3): 550–583.
- [23] GUO X Y, ZHANG T, SHU S T, et al. Compositional and structural changes of corn cob pretreated by electron beam irradiation [J]. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 2017, 5: 420–425.
- [24] YIN Y N, WANG J L. Enhancement of enzymatic hydrolysis of wheat straw by gamma irradiation-alkaline pretreatment [J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2016, 123: 63–67.
- [25] ANTARELLA M, CANTARELLA L, GALLIFUOCO A, et al. Comparison of different detoxification methods for steam-exploded poplar wood as a substrate for the bioproduction of ethanol in SHF and SSF [J]. *Process Biochemistry*, 2004, 39(11): 1533–1542.
- [26] TONG X, MA Y, LI Y. Biomass into chemicals: conversion of sugars to furan derivatives by catalytic processes [J]. *Applied Catalysis A: General*, 2010, 385(1/2): 1–13.
- [27] HAMELINCK C N, VAN H G, FAAIJ A P C. Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2005, 28(4): 384–410.
- [28] LYND L R, LASER M S, BRANSBY D, et al. How biotech can transform biofuels [J]. *Nature Biotechnology*, 2008, 26(2): 169–172.

Fractionation of lignocellulose with deep eutectic solvent (DES)

WANG DongMei LIU Yun*

(College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Owing to the shortage of fossil fuels and serious environmental problems associated with their use, clean renewable biobased energy has attracted great interest in recent years. A key issue is how to efficiently utilize lignocellulosic biomass, an abundant renewable feedstock in nature. In this work, a deep eutectic solvent (DES) was used to fractionate lignocellulose to improve the saccharification efficiency of residual cellulose. Using rice husk as the raw material, two types of DES (formic acid-choline chloride and lactic acid-choline chloride) with good fractionation efficiency were identified by screening six types of DES (lactic acid-glycine, oxalic acid-choline chloride, and glycerin-choline chloride were found to be less effective). Then, five different biomass materials (rice husk, corncob, camphorwood, cedar wood and 800 kGy-corn-cob) were treated with the two types of DES; formic acid-choline chloride (FaCh) was found to have the highest efficacy. Finally, the key parameters—temperature, time and solid loading—were optimized by single-factor experimental design. The optimal conditions were found to be: reaction time of 120 min, temperature of 115 °C, and a solid loading of 10%. Under the optimum conditions, the cellulose content in the residual solid was 74.31%, the lignin removal ratio reached 81.49%, and the purity of lignin obtained by anti-phase precipitation was 77.07%. Furthermore, the cellulose was enzymatically hydrolyzed and the maximum saccharification yield was 98.56%. The probable reason for such a high yield is the fact that the cellulose surface becomes more accessible to the enzyme after DES treatment.

Key words: lignocellulose; deep eutectic solvents (DES); pretreatment; fractionation; saccharification

(责任编辑: 吴万玲)