

引用格式:朱盛伟,展旺,于鸿飞,等.甲酸法绿色分离缅甸黄花梨中木质素和纤维素的研究[J].北京化工大学学报(自然科学版),2019,46(2):57-63.

ZHU ShengWei, ZHAN Wang, YU HongFei, et al. Fractionation of lignin and cellulose from *Pterocarpus macarocarpus* Kurz using formic acid[J]. Journal of Beijing University of Chemical Technology (Natural Science), 2019, 46(2): 57 - 63.

# 甲酸法绿色分离缅甸黄花梨中木质素和纤维素的研究

朱盛伟 展 旺 于鸿飞 刘 云\*

(北京化工大学 生命科学与技术学院, 北京 100029)

**摘 要:**采用甲酸法处理缅甸黄花梨生物质,分离木质素和纤维素,探究了甲酸浓度、反应温度和时间对木质素分离效果的影响,结果表明最佳工艺参数为:甲酸质量分数88%,反应温度110℃,反应时间2 h。在此条件下的纤维素得率为89.56%,木质素含量(质量分数)为90%。傅里叶转换红外光谱(FT-IR)和高效液相色谱(HPLC)的分析表明,经过甲酸处理得到的纤维素和木质素都发生了不同程度的甲酰化修饰改性。X射线衍射(XRD)结果显示,经甲酸法处理后,纤维素的结晶度增大。以上结果可为生物质组分分离及其功能性材料制备提供技术支撑。

**关键词:**甲酸法;木质素;分离;纤维素;甲酰化改性

**中图分类号:** TK6 **DOI:** 10.13543/j.bhxbzr.2019.02.009

## 引 言

木质纤维素是自然界中分布最为广泛的可再生资源,主要由纤维素(30%~40%)、半纤维素(20%~25%)和木质素(15%~25%)构成<sup>[1-3]</sup>,其中,纤维素可以降解为葡萄糖,半纤维素可以降解为木糖和阿拉伯糖等五碳糖,木质素可降解为多酚类化合物。这些降解小分子化合物是重要的平台化合物,可进一步衍生为生物燃料、生物基材料和化学品<sup>[4]</sup>。因此,木质纤维素的高效利用,对于能源结构的改善和社会经济的可持续发展具有举足轻重的作用<sup>[5]</sup>。

然而,木质纤维素结构复杂,直接利用难以体现其价值,往往需要进行预处理。预处理方法包括物理法、化学法、生物法和联合法<sup>[6]</sup>。每一种预处理方法均有其优缺点,例如,蒸汽爆破法很容易将木质纤维素中的半纤维素水解为单糖或寡糖,却需高温和高压,能耗大<sup>[7]</sup>;化学法可高效脱除木质素,残渣

主要为纤维素和少量半纤维素,但对设备具有一定的腐蚀性<sup>[8]</sup>;有机溶剂法也可使木质素溶剂化,具有易回收、可循环利用、价廉等优点,但是有机溶剂大都来源于石化资源,有易燃和爆炸的缺陷,存在安全隐患<sup>[9]</sup>。

甲酸(FA)是一种来源于生物质的有机酸,价格低廉、沸点较低(100.8℃),通过蒸馏可回收利用,适用于低温常压下处理生物质。据文献报道,甲酸能够断裂木质素 $\beta$ -O-4键,同时将半纤维素水解为单糖和寡聚体,使得木质素和半纤维素溶解于甲酸溶液,而纤维素得到较好保留,从而有效实现生物质的“三素”分离<sup>[10-12]</sup>。然而截止目前,鲜有关于甲酸法分离生物质的产物流向和物料衡算的报道。因此,本文以红木锯屑为原料,探索了甲酸法分离木质素的最佳工艺参数,分析了甲酸处理后木质素和残渣纤维素的特性,以及甲酸法分离木质素的产物流向和物料平衡,以期与其他生物质的利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

缅甸黄花梨红木锯屑,北京市红木家具厂提供

收稿日期:2018-09-30

基金项目:国家自然科学基金(21476016/21776009)

第一作者:男,1994年生,硕士生

\*通信联系人

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

(北京大兴),锯木渣经粉碎处理,过 40 目筛(孔径 375  $\mu\text{m}$ ),105  $^{\circ}\text{C}$  烘干备用。经美国国家可再生能源实验室(NREL)方法<sup>[13]</sup>分析原料组分结果如下(质量分数):纤维素 33.27%,半纤维素 8.97%,木质素 40.03%,灰分 3.63%,其他 14.1%。

甲酸,88%,拉丁生化股份科技有限公司;硫酸,98%,北京化工厂。

1.2 仪器设备

油浴锅,DF-101S,巩义市予华仪器公司;分光光度计,756CRT,上海佑科仪器仪表公司;天平,ME-T,瑞士梅特勒-托利多公司;傅里叶转换红外光谱(FT-IR),VERTEX70/70V,德国布鲁克公司;高效液相色谱(HPLC),Series 1500,美国 Altch;X 射线衍射 XRD,D/max-Ultima III,日本 Rigaku。

1.3 甲酸法处理生物质

甲酸法处理生物质工艺方案如表 1 所示。具体步骤为,称取 10 g 红木锯屑,放入 500 mL 圆底烧瓶中,加入不同质量分数(30%、60%、88%)的甲酸,在一定温度条件下(80  $^{\circ}\text{C}$ 、95  $^{\circ}\text{C}$ 、110  $^{\circ}\text{C}$ )进行反应,分别设定反应时间为 1 h、2 h、3 h。反应结束后,冷却并过滤,依次用甲酸溶液和去离子水洗涤残渣 3 次,每次用量 10 mL,收集滤液。残渣于 105  $^{\circ}\text{C}$  烘箱中干燥至恒重,计算残渣得率,分析残渣中化学成分。

表 1 甲酸法处理生物质工艺方案

Table 1 Experimental design of formic acid treatment of biomass

质量分数/%	反应温度/ $^{\circ}\text{C}$	反应时间/h
30	80	1
60	95	2
88	110	3

1.4 甲酸滤液中木质素和可溶性糖的分离

取 1.3 节中所得甲酸滤液,80  $^{\circ}\text{C}$  下旋蒸回收甲酸,木质素发生沉淀,然后加入 100 mL 去离子水,超声振荡充分溶解其中的可溶性糖。4 000 r/min 离心,收集上清液,用 HPLC 测定糖含量。离心所得的木质素用去离子水洗涤 3 次,冷冻干燥得到木质素。计算木质素得率,分析其含量。

1.5 可溶性糖的 HPLC 分析

可溶性糖的测定采用 HPLC 法。甲酸滤液中的可溶性单糖经 0.25  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后,用 HPLC 法测定单糖含量。滤液中低聚糖的测定过程为先用稀酸进行水解<sup>[1]</sup>,然后利用 HPLC 分析单糖含量,低聚糖浓度通

过酸水解前后单糖的浓度差来计算。HPLC 测定条件如下:葡萄糖和木糖使用示差折光检测器,Alltech Chrom H+8 $\mu$  色谱柱,柱温 55  $^{\circ}\text{C}$ ,2.5 mmol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$  为流动相,流速 0.5 mL/min,示差检测器温度 60  $^{\circ}\text{C}$ 。

1.6 纤维素、半纤维素和木质素的组分测定

生物质“三素”组分测定参照美国国家可再生能源实验室(NREL)所述方法<sup>[13]</sup>。准确称取 0.3 g 生物质,放入 100 mL 厚壁耐压瓶中,30  $^{\circ}\text{C}$  水浴保温 1 h,同时加入 3 mL 72%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,搅拌,之后再加入 84 mL 去离子水,充分混合后,于 121  $^{\circ}\text{C}$  灭菌锅中反应 1 h;冷却至室温,使用坩埚真空过滤,从滤液取样以测定单糖和酸溶性木质素在生物质中的含量,再通过单糖含量计算纤维素和半纤维素含量。残渣于 105  $^{\circ}\text{C}$  下恒重,计算酸不溶性木质素含量。

1.7 甲酸处理后残渣中纤维素和木质素的结构分析

采用 FT-IR 和 XRD 分析甲酸法处理生物质所得残渣纤维素和木质素的结构特征<sup>[4]</sup>。将待测样品于 105  $^{\circ}\text{C}$  下干燥,称量 1 mg 样品和 200 mg KBr 粉末,在玛瑙研钵中充分研磨,压片后,进行 FT-IR 测定。XRD 测定条件为:Cu 靶,管压 40 kV,管流 40 mA,扫描范围 5 $^{\circ}$ ~90 $^{\circ}$ ,扫描速度 10( $^{\circ}$ )/min。

对于残渣纤维素和木质素表面的甲酰化现象,其甲酰基含量测定采用 HPLC 方法<sup>[13]</sup>,即通过测定水解后的甲酸含量来推断甲酰化修饰改性程度。

1.8 数据统计

每组实验至少重复 2 次,取平均值,偏差在 5% 之内作为最后实验数值。

2 结果与讨论

2.1 甲酸法处理生物质残渣得率以及残渣中组分含量的影响因素

研究表明,影响甲酸法分离木质素和纤维素效果的主要因素包括甲酸浓度、反应时间和反应温度<sup>[14-15]</sup>。选取三因素三水平进行单因素实验,以残渣得率为指标,探讨酸法分离木质素效果,结果见图 1。

在甲酸质量分数 88%,反应温度 80  $^{\circ}\text{C}$ ,处理 3 h 条件下,残渣得率为 86.79%,缩短处理时间至 1 h 时,残渣得率为 95.27%;类似地,固定甲酸质量分数为 88% 和反应时间为 3 h,升高反应温度至 95  $^{\circ}\text{C}$  和 110  $^{\circ}\text{C}$ ,残渣得率分别为 77.33% 和 66.13%。如果降低甲酸浓度至 30% 时,升高反应温度和延长反应时间,残渣得率呈下降趋势,由 89.56% (处理 2 h) 下降至 86.79% (处理 3 h)。因此,甲酸法处理生物质的效

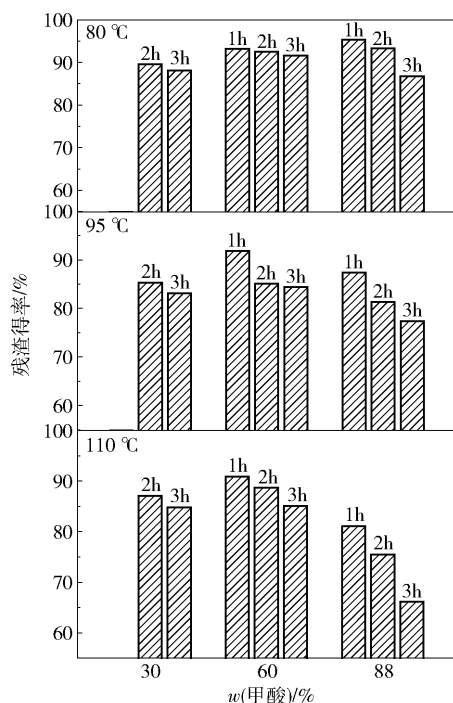


图 1 甲酸法处理生物质单因素实验结果

Fig. 1 Single factor experiment results of formic acid treatment of biomass

果和残渣得率与甲酸浓度、处理温度和时间密切相关<sup>[13]</sup>。

进一步分析残渣中组分(纤维素、半纤维素和木质素)含量,优化甲酸法分离木质素工艺参数,结果见图 2。

图 2(a) ~ (c) 为不同反应条件对残渣中纤维素含量的影响,可以看出,固定甲酸浓度和反应温度,延长反应时间,残渣纤维素含量呈下降趋势。当甲酸质量分数 88%, 温度 110 °C 时,残渣纤维素含量最高,约为 95%; 当甲酸质量分数低于 60%, 温度高于 95 °C 时,残渣纤维素含量最低,约为 60% ~ 75%。分析原因,可能是随着反应的进行,残渣纤维素发生甲酰化和微量酸解,导致甲酸浓度降低<sup>[11]</sup>。由此可见,随着反应时间的延长,残渣中纤维素含量降低;在较高甲酸浓度和较高反应温度的条件下,残渣中纤维素含量较高;在较低甲酸浓度和较低反应温度的条件下,残渣中纤维素含量较低。

图 2(d) ~ (f) 为不同反应条件对残渣中半纤维素含量的影响。固定甲酸浓度和反应温度,随着反应时间延长,残渣中半纤维素几乎全部水解。由图可知,半纤维素最少的区域为甲酸质量分数  $w \geq 88\%$  和温度  $T \geq 95$  °C; 在  $w < 30\%$ ,  $T < 95$  °C 的区域内,半纤维素含量较高,说明在低浓度甲酸和低温下

处理时,不易使半纤维素降解,而在高浓度甲酸、高温下处理时,半纤维素容易降解。

图 2(g) ~ (i) 表示不同反应条件对残渣中木质素含量的影响。当甲酸质量分数为 88%, 温度大于 95 °C 时,残渣中木质素的总含量最低,说明木质素在高甲酸浓度、高温下的溶解能力更强。当甲酸质量分数为 30% 和 60% 时,在高温区域残渣中木质素含量较高。由此可以推测,甲酸浓度是影响木质素溶出的主要因素。这一结论与 Zhang 等<sup>[11]</sup> 的研究结果一致,其研究指出,在 88% 的甲酸、60 °C 条件下处理玉米穗 6 h 后,木质素得率超过 70%。

## 2.2 甲酸法处理生物质溶液中的糖含量

采用甲酸法处理生物质,进行不同工艺条件下溶液中单糖和寡糖的成分分析,结果见图 3。

图 3(a) 表示不同处理条件下,甲酸溶液中木糖和低聚木糖( $C_5$  糖)的含量。由图可知,木糖和低聚木糖含量随着甲酸浓度的升高、反应时间的延长和反应温度的升高而增加。在 88% 甲酸和 95 °C 条件下,反应 1 h,约 54% 的半纤维素降解成可溶性糖,其中木糖占 25.66%,低聚木糖占 28.33%; 延长反应时间至 3 h,约 62.21% 的半纤维素降解为可溶性糖,其中木糖占 44.33%,低聚木糖占 17.87%。提高反应温度至 110 °C,溶液中木糖和低聚木糖的总含量为 77.5%,部分单糖在酸性环境下转化为呋喃类化合物。

图 3(b) 表示不同处理条件下,甲酸溶液中低聚葡萄糖和葡萄糖单糖( $C_6$  糖)的含量。由图可知,甲酸溶液中没有检出葡萄糖单糖,表明小部分纤维素被水解为低聚糖,大部分以固体残渣形式保留了下来。具体而言,在 110 °C 88% 甲酸处理 1 h,溶液中低聚葡萄糖含量为 2.19%,当延长反应时间至 3 h,低聚葡萄糖含量增加至 4.58%。

## 2.3 甲酸法处理生物质中木质素的含量与结构

采用甲酸法处理生物质,在不同工艺条件下回收甲酸后沉淀木质素,研究木质素的含量及结构变化,结果见图 4。

图 4(a) 为实验条件下分离所得木质素的组分分析结果。从图中可知,在本文实验范围内,木质素含量较高,其纯度保持在 90% 左右。FT-IR 分析(图 4(b)) 表明,木质素结构被甲酰化改性,甲酰化程度随着甲酸浓度的升高而增大。从图 4(b) 可知,波数为  $838\text{ cm}^{-1}$  处的特征峰归属于愈创木基环 C—H 平面外变形振动,波数为  $1034\text{ cm}^{-1}$  处的特征峰为愈创木基环中 C—H 平面内变形振动,它们的峰值随着



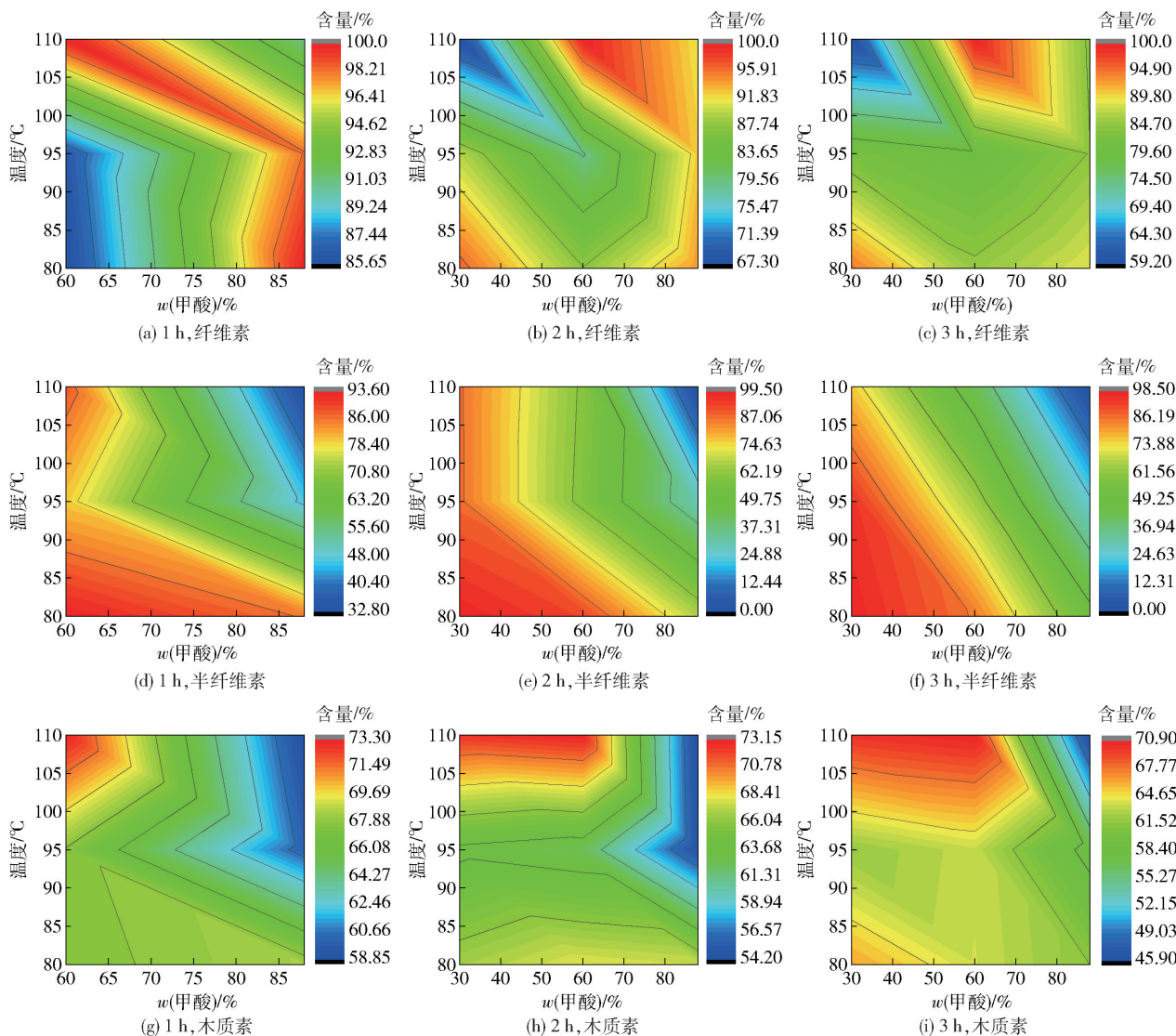


图2 甲酸法处理各因素对残渣组分含量的影响

Fig. 2 Effect of formic acid treatment on the composition of the residue

甲酸浓度的升高而稍有下降,说明通过甲酸法分离木质素的纯度随着甲酸浓度的升高而降低。波数  $1717\text{ cm}^{-1}$  处为酯基中非共轭羰基  $\text{C}=\text{O}$  的伸缩振动<sup>[15]</sup>,其峰值随着甲酸浓度的升高而升高,说明甲酰化程度随着甲酸浓度升高而增大。

## 2.4 残渣纤维素的结构

为探讨甲酸法处理生物质不同工艺条件下残渣纤维素的结构变化以及产物流向,采用 HPLC 分析纤维素水解后甲酸含量,以表征甲酸法处理生物质对纤维素的甲酰化修饰程度。测得甲酸含量越高,甲酰化改性程度越大,结果见图 5。

由图 5(a)可知,甲酸处理后,纤维素表面发生了不同程度的甲酰化修饰<sup>[12]</sup>,其中,经 88% 甲酸处理后残渣纤维素的甲酰基峰值最高,即甲酰化表面

修饰程度最大。研究表明,甲酰化修饰纤维素将会对后续酶解产生影响<sup>[11]</sup>。进一步分析甲酸处理后纤维素结晶度的变化。由图 5(b)可知,经过甲酸处理后,纤维素结晶度由原来 56.33% 提高至 67.26%。纤维素结晶度的提高不利于纤维素酶水解成发酵糖<sup>[4]</sup>。

为了直观证明纤维素表面的甲酰化修饰,采用 FT-IR 分析甲酸法处理后的纤维素结构官能团。由图 5(c)可知,  $2922\text{ cm}^{-1}$  处特征峰归属于甲基和亚甲基基团( $\text{C}-\text{H}$ )的伸缩振动,  $1598\text{ cm}^{-1}$  处特征峰归属于芳香族骨架的伸缩振动<sup>[14]</sup>,  $1728\text{ cm}^{-1}$  处特征峰归属于  $\text{C}=\text{O}$  的伸缩振动<sup>[15]</sup>,且均随着甲酸浓度的增加而逐渐增强,这一结果与 HPLC 检测结果一致。甲酸处理后,原料中各组分含量变化及

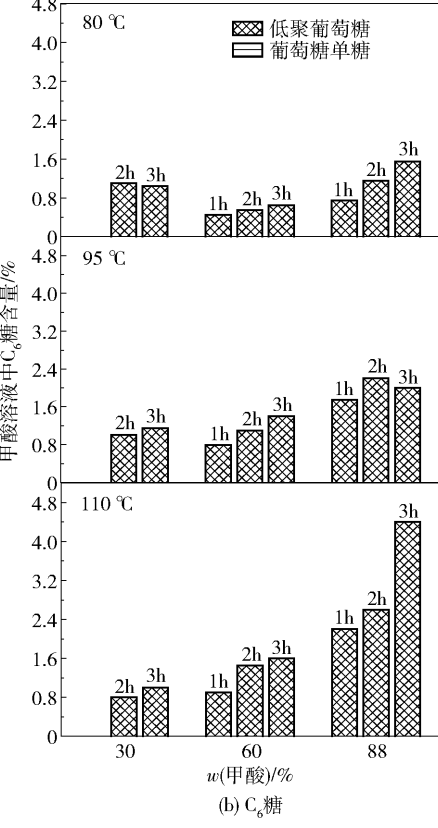
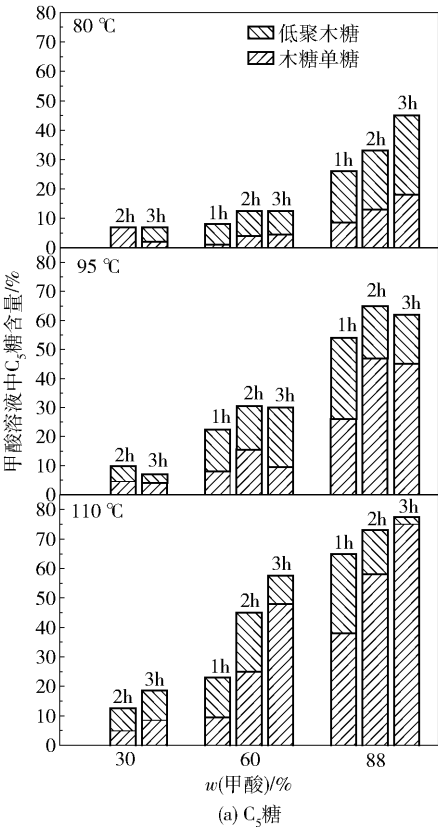


图 3 甲酸法处理生物质溶液中糖含量  
Fig. 3 Sugar concentration in solution after formic acid treatment

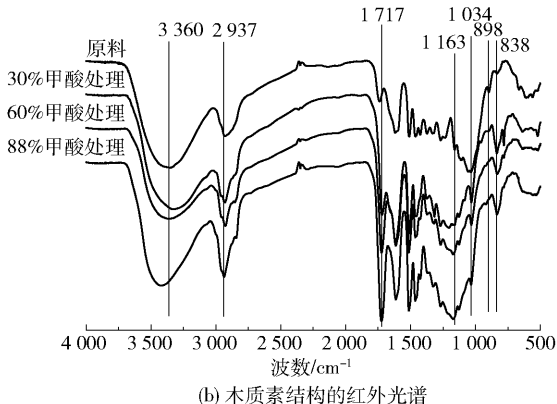
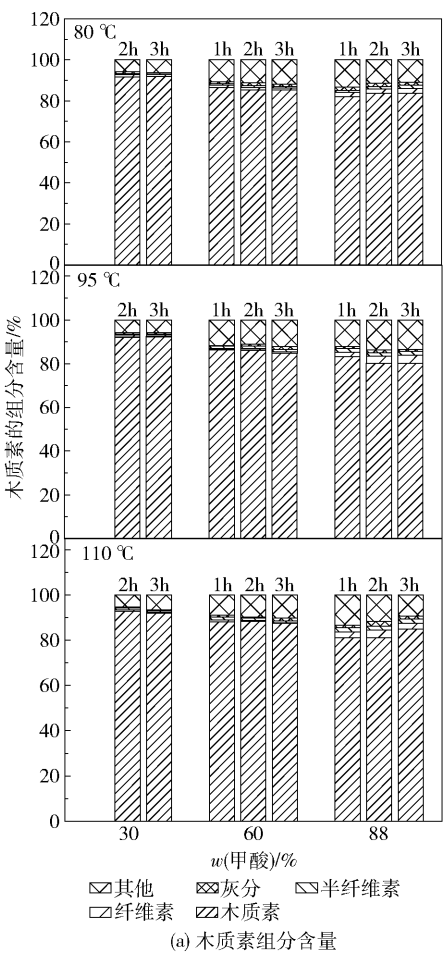
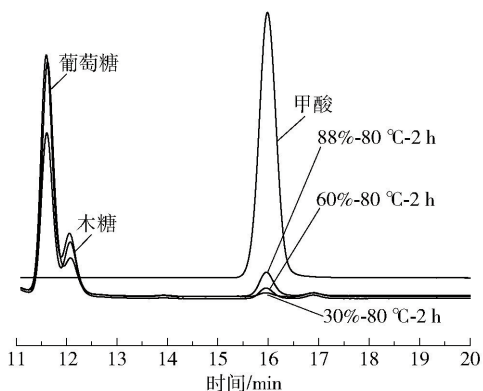


图 4 甲酸法处理生物质时木质素的组分含量与结构  
Fig. 4 The content of lignin and its structure after formic acid treatment

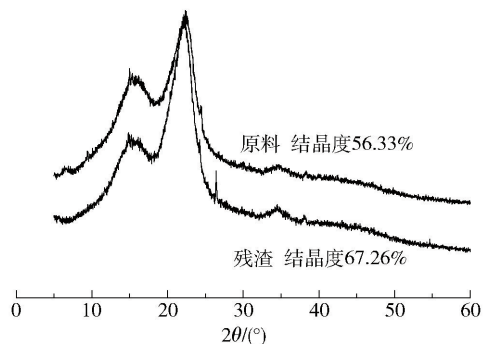
各级产物流向见图 5(d)。2.1 ~ 2.3 节结果表明，纤维素得率最高可达 95%，木质素的纯度可达 90%，糖溶液中主要有木糖、低聚木糖和低聚葡萄糖。

3 结论

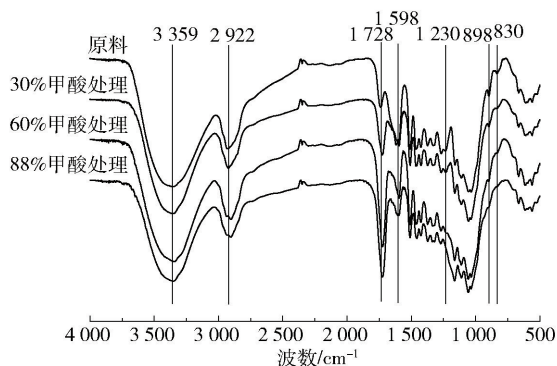
(1) 甲酸法处理生物质最优工艺参数为甲酸质



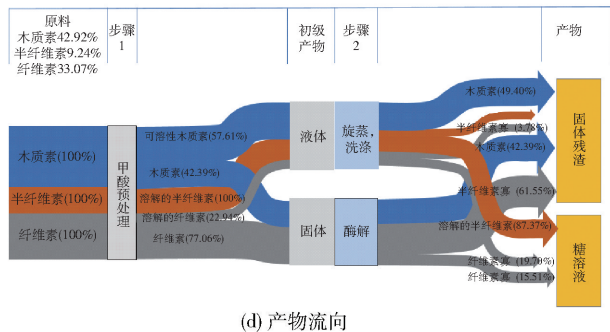
(a) 甲酰化HPLC分析



(b) XRD分析



(c) FT-IR分析



(d) 产物流向

图5 甲酸法处理生物质时残渣纤维素结构分析与产物流向

Fig.5 Cellular structure and product downstream after formic acid treatment

量分数88%、反应温度110℃、反应时间2h。

(2)甲酸法分离得到的木质素纯度较高,达90%。FT-IR结果表明,木质素发生了不同程度甲

酰化修饰改性,且甲酰化修饰程度随甲酸浓度、反应温度和时间的增加而增大。

(3)经HPLC和FT-IR分析表明,甲酸法分离得到的纤维素表面发生了甲酰化修饰改性,经88%甲酸处理后,残渣纤维素的甲酰化改性程度最大。XRD分析表明,纤维素结晶度比处理前有所提高,由原来的56.33%提高至67.26%。纤维素结晶度的提高不利于后续的酶解糖化,然而通过甲酸法分离得到的纤维素和木质素存在一定程度的甲酰化,可用于功能性生物基材料的开发。

### 参考文献:

- [1] LIU Y, ZHOU H, WANG L Y, et al. Improving *Saccharomyces cerevisiae* growth against lignocellulose-derived inhibitors as well as maximizing ethanol production by a combination proposal of  $\gamma$ -irradiation pretreatment with *in situ* detoxification [J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 287: 302–312.
- [2] DEN W, SHARMA V K, LEE M, et al. Lignocellulosic biomass transformations via greener oxidative pretreatment processes: access to energy and value-added chemicals [J]. Frontier in Chemistry, 2018, 6: 141.
- [3] DING S Y, LIU Y S, ZENG Y, et al. How does plant cell wall nanoscale architecture correlate with enzymatic digestibility? [J]. Science, 2012, 338: 1055–1060.
- [4] ZHOU H, ZHANG R L, ZHAN W, et al. High biomass loadings of 40wt% for efficient fractionation in biorefineries with an aqueous solvent system without adding adsorptive catalyst [J]. Green Chemistry, 2016, 18: 6108–6114.
- [5] CHU S, CUI Y, LIU N. The path towards sustainable energy [J]. Nature Material, 2017, 16: 16–22.
- [6] TIAN S Q, ZHAO R Y, CHEN Z C. Review of the pretreatment and bioconversion of lignocellulosic biomass from wheat straw materials [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2018, 91: 483–489.
- [7] SIEVERSD A, KUHN E M, TUCKER M P, et al. Effects of dilute-acid pretreatment conditions on filtration performance of corn stover hydrolyzate [J]. Bioresource Technology, 2017, 243: 474–480.
- [8] DA COSTA SOUSA L, JIN M J, CHUNDAWAT S P S, et al. Next-generation ammonia pretreatment enhances cellulosic biofuel production [J]. Energy & Environmental Science, 2016, 9: 1215–1223.
- [9] ZHAO X B, LI S M, WU R C, et al. Organosolv fractionating pre-treatment of lignocellulosic biomass for effi-

- cient enzymatic saccharification: chemistry, kinetics, and substrate structures[J]. *Biofuels, Bioproducts & Biorefining*, 2017, 11: 567–590.
- [10] LI M F, SUN S N, XU F, et al. Formic acid based organosolv pulping of bamboo (*Phyllostachys acuta*): comparative characterization of the dissolved lignins with milled wood lignin[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2012, 179(4): 80–89.
- [11] ZHANG M J, QI W, LIU R, et al. Fractionating lignocellulose by formic acid: characterization of major components[J]. *Biomass & Bioenergy*, 2010, 34: 525–532.
- [12] 何伟, 耿莉莉, 曾永明, 等. 甲酸法分离棉秆木质素的条件优化[J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(8): 383–385, 388.
- HE W, GENG L L, ZENG Y M, et al. Optimization on fractionation of lignin through formic acid proposal from cotton stalk[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44(8): 383–385, 388. (in Chinese)
- [13] SLUITER A, HAMES B, RUIZ R, et al. Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples[R]. Golden, Colorado: National Renewable Energy Laboratory, 2016.
- [14] SUN X F, XU F, SUN R C, et al. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw [J]. *Carbohydrate Research*, 2005, 340: 97–106.
- [15] SUN S N, CAO X F, SUN S L, et al. Improving the enzymatic hydrolysis of thermo-mechanical fiber from *Eucalyptus urophylla* by a combination of hydrothermal pretreatment and alkali fractionation[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2014, 7(1): 116.

## Fractionation of lignin and cellulose from *Pterocarpus macarocarpus* Kurz using formic acid

ZHU ShengWei ZHAN Wang YU HongFei LIU Yun\*

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

**Abstract:** Lignin is the most dominant aromatic compound in nature; it has great potential applications in the fields of energy, pharmaceuticals, food and fine chemicals. Therefore, it is of great significance to develop the efficient green fractionation of lignin from biomass. In this work, formic acid was used as a solvent to fractionate lignin and cellulose from *Pterocarpus macarocarpus* Kurz biomass. The key factors affecting fractionation efficiency were investigated, including formic acid concentration, reaction time and temperature. The results showed that the optimum conditions were: 88% formic acid, temperature of 110 °C and reaction time of 2 h. Under the optimized conditions, 89.56% of cellulose was obtained, and the lignin purity was 90%. FT-IR and HPLC analyses revealed that the structure of both cellulose and lignin was formylated by treatment with formic acid. XRD curves showed that the crystallinity of cellulose increased after formic acid treatment. The findings in this work provide a novel way to fractionate lignin and cellulose from biomass in a green and sustainable fashion.

**Key words:** formic acid method; lignin; fractionation; cellulose; formylation modification

(责任编辑:吴万玲)