

DOI: 10.13332/j.1000-1522.20150456

# 碱性亚硫酸盐耦合低压蒸汽预处理慈竹及其纤维素酶解转化

秦书百川<sup>1</sup> 刘彦涛<sup>1</sup> 卜令习<sup>2</sup> 赵鹏翔<sup>2</sup> 蒋建新<sup>1</sup>

(1 北京林业大学材料科学与技术学院, 林业生物质材料与能源教育部工程中心)

(2 国网节能服务有限公司北京生物质能源技术中心)

**摘要:**慈竹作为一种富含纤维素、分布广泛的草类资源,是生产纤维素燃料乙醇的潜在原料。本文采用碱性亚硫酸盐法与低压蒸汽爆破相结合对慈竹原料进行预处理,在保留碳水化合物的同时能够有效脱除大量木质素进而提升后续的纤维素酶水解效率。通过正交试验确定最优工艺条件为反应温度140℃、亚硫酸盐用量40%、氢氧化钠用量15%。水解试验中加入质量分数5%的最优工艺条件预处理慈竹原料72 h,纤维素酶解生成葡萄糖得率达到88.54%。在此基础上将碱性亚硫酸盐与低压蒸汽爆破预处理相耦合,有效简化了预处理工艺并降低成本,可实现慈竹原料“一步法”高效预处理,纤维素保留率为89.25%,葡萄糖得率达87.25%。

**关键词:**慈竹; 纤维素燃料乙醇; 低压蒸汽爆破预处理; 碱性亚硫酸盐法; 耦合

中图分类号:S785; TQ353.4<sup>+1</sup> 文献标志码:A 文章编号:1000-1522(2016)07-0098-07

QIN Shu-bai-chuan<sup>1</sup>; LIU Yan-tao<sup>1</sup>; BU Ling-xi<sup>2</sup>; ZHAO Peng-xiang<sup>2</sup>; JIANG Jian-xin<sup>1</sup>. **Alkaline sulfite and low-pressure steam coupled pretreatment on *Neosinocalamus affinis* and its enzymatic hydrolysis.** *Journal of Beijing Forestry University* (2016)38(7) 98-104 [Ch, 16 ref.]

1 College of Materials Science and Technology, MOE Engineering Research Center of Forestry Biomass Material and Bioenergy, Beijing Forestry University, Beijing, 100083, P. R. China;

2 Beijing Biomass Energy Technology Center, State Grid Energy Conservation Service Ltd., Beijing 100053, P. R. China.

*Neosinocalamus affinis*, a widely distributed grassy material rich in cellulose, is a potential resource for cellulose ethanol production. In this study, a coupled pretreatment of low-pressure steam explosion (SE) and alkaline sulfite (AS) was applied to *N. affinis* in order to protect carbohydrates against degradation and increase delignification, which is useful for subsequent enzymatic hydrolysis. The optimal conditions of SE-AS were explored using the orthogonal experiment. It was found that the optimum condition of SE-AS process was 140℃ in 40% dry substrate Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> and 15% dry substrate NaOH. A final glucose yield of 88.54% was achieved during the 72-h enzymatic hydrolysis process (substrate concentration was 5%). Further simplification by combining low-pressure SE and AS into one-step pretreatment with a similar glucose yield of 87.25% was achieved with 89.25% of cellulose retention rate.

**Key words** *Neosinocalamus affinis*; cellulosic bioethanol; low-pressure steam explosion; alkaline sulfite; coupling

收稿日期: 2015-12-20 修回日期: 2016-03-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31070510)、国家国际科技合作专项(2014DFG32550)、国网科技项目(SGECS56-2014)。

第一作者: 秦书百川。主要研究方向:生物质能源及化学品。Email:bjfu\_qsbc@163.com 地址:100083 北京市海淀区清华东路35号北京林业大学材料科学与技术学院。

责任编辑: 蒋建新,教授,博士生导师。主要研究方向:林产化工及生物质能源。Email:jiangjx@bjfu.edu.cn 地址:同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

化石能源的不可再生性和环境恶化效应迫使人们重新审视和调整长期以来实行的化石能源发展战略,可再生的生物质能源成为人类社会21世纪能源研究发展热点<sup>[1]</sup>。生物质能源具有丰富性、可替代性、清洁性等一系列优点<sup>[2]</sup>,酶解糖化能够利用纤维原料中的纤维素及半纤维素生产单糖、低聚糖、有机酸等高附加值产品<sup>[3-4]</sup>,提高其利用率。但是天然纤维原料对生物酶具有阻抗作用,直接酶解效率低<sup>[5]</sup>,必须对原料进行一定程度预处理,增加纤维表面与酶的结合程度。

竹子是一种广泛分布的禾本科原料,遍布亚洲和南美洲的大部分区域。竹子已经被广泛地应用于造纸、纺织、食品、运输、增强纤维等各个行业。同时,生长周期短(3~5年)、择伐间期短以及方便运输等优点,使竹子被认为是生物质能源和生物质材料行业极具潜力的原料之一。就我国而言,竹材的年均生产量高,适合我国南方大部分地区栽培。众生竹如大木竹(*Bambusa rutila*)年产量高达60 t/hm<sup>2</sup>,远高于欧美国家作为生物质原料种植的芒属类植物(20 t/hm<sup>2</sup>左右)和柳枝稷(*Panicum virgatum*)<sup>[6-7]</sup>。另外,在浙江、福建、四川、湖南等地有大量的竹制品加工产业,其大量的剩余物可作为纤维素燃料乙醇的补充原料。

蒸汽爆破是一种采用物理爆破和化学分解相结合的方法,通过低压和高压相互转化使纤维原料的结构降解和疏松,从而增强酶对纤维组分的可及性,提升酶解转化率<sup>[7]</sup>。蒸汽爆破已经被广泛的试用于各种不同的植物,对生产二代乙醇和其他副产品是一种有效预处理途径<sup>[8]</sup>。碱性亚硫酸盐法结合了氢氧化钠对木素的碱化断裂作用和亚硫酸钠对木素的磺化溶解作用,预处理pH值可适当降低,在大量脱木素的前提下,能够防止碳水化合物的降解,使得竹材纤维素和半纤维素在整个过程中的总回收率得到提高<sup>[9]</sup>。研究表明,碱性亚硫酸盐预处理低压蒸汽爆破后的竹材,可提高纤维素的回收率以及糖化过程酶解效率<sup>[9]</sup>,是一种有效的方法,而优化碱性亚硫酸盐预处理过程并探索最优条件是十分重要的。

慈竹(*Neosinocalamus affinis*)结构致密,其预处理比农业废弃物和其他种类的木材更加困难,因此慈竹往往需要更高的酶解条件来达到一定程度的水解。比如,Chen等<sup>[10]</sup>通过实验发现不添加任何化学药剂的低强度蒸汽爆破能够导致小麦(*Triticum aestivum*)秸秆中的碳水化合物无障碍转化为单糖,在酶解中纤维素转化为葡萄糖得率可以达到90%以上。相比而言,采用243℃高温进行的高强度竹材蒸汽爆破只能得到42.6%的葡萄糖得率<sup>[7]</sup>。因

此,采用酸或碱的方法与低强度的蒸汽爆破相结合,是一种有效可行的预处理方法。本文在先前试验研究基础上,采用碱性亚硫酸盐法处理低压(1.25 MPa)蒸汽爆破后的慈竹,再经酶解生产可发酵糖,通过改变反应温度、亚硫酸钠用量、氢氧化钠用量3个变量,研究最佳的预处理条件。进一步将碱性亚硫酸盐耦合到低压蒸汽爆破预处理过程中,形成流程简化、操作方便的一步法预处理工艺。最后试验比较各预处理底物的酶解效果。为了进一步增强后续酶解效果,在酶解过程中添加表面活性剂。表面活性剂在生物质原料酶解过程中是一种很重要的添加剂,能够降低酶对底物中木质素的无效吸附,提高酶解过程中酶对底物的酶解程度<sup>[11]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料和试剂

原料:慈竹,采自贵州赤水。

试剂:72%浓硫酸、亚硫酸钠(固体)、氢氧化钠(固体)、纤维素酶、纤维素二糖酶、冰醋酸、醋酸钠(固体)、实验室自配无患子皂素(由无患子果皮制备,纯度76.7%,固体)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 蒸汽爆破预处理

新鲜慈竹剪切成20 mm×2 mm规格竹片备用,在1.25 MPa、4 min条件下蒸汽爆破预处理竹片得爆破原料。

#### 1.2.2 碱性亚硫酸盐预处理及工艺条件优化

爆破原料平衡水分后进行碱性亚硫酸盐预处理(分步预处理)。碱性亚硫酸盐预处理在均相反应器中进行,物料和反应液均放置于200 mL聚四氟乙烯反应罐中。为了获得碱性亚硫酸盐处理低压蒸汽爆破慈竹的最佳工艺条件,以反应温度、亚硫酸钠用量、氢氧化钠用量作为3个考察因素、选取3个水平(表1)设计L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交试验(表2)。所有预处理的处理时间相同(10 min升至预定温度,并保温2 h),

表1 正交试验因素水平表

Tab. 1 Factors and levels for orthogonal array design

| 水平 Level | 因素 Factor |     |     |
|----------|-----------|-----|-----|
|          | A/℃       | B/% | C/% |
| 1        | 120       | 20  | 5   |
| 2        | 140       | 40  | 10  |
| 3        | 160       | 80  | 15  |

注:A为反应温度,B为亚硫酸钠用量(相对爆破原料的质量分数),C为氢氧化钠用量(相对爆破原料的质量分数)。Note:A represents reaction temperature, B represents the sulfite loading (quality score of steam explosion pretreated raw material), and C represents the sodium hydroxide loading (quality score of steam explosion pretreated raw material).

表2  $L_9(3^3)$  正交试验设计Tab. 2  $L_9(3^3)$  orthogonal array design

| 试验号 Test number | A | B | C |
|-----------------|---|---|---|
| 1               | 1 | 1 | 3 |
| 2               | 1 | 2 | 2 |
| 3               | 1 | 3 | 1 |
| 4               | 2 | 1 | 1 |
| 5               | 2 | 2 | 3 |
| 6               | 2 | 3 | 2 |
| 7               | 3 | 1 | 2 |
| 8               | 3 | 2 | 1 |
| 9               | 3 | 3 | 3 |

试验中加入质量分数为 5% 的爆破原料。预处理结束后,用定量滤纸过滤收集固体残渣,再用去离子水将固体残渣洗至中性。洗涤后的固体残渣在 4 ℃下贮藏,固体得率根据式(1)进行计算,纤维素保留率根据式(2)进行计算。

$$\text{固体得率} = \frac{\text{预处理的残渣质量}}{\text{原料的质量}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{纤维素保留率} = \frac{\text{预处理后纤维素质量}}{\text{预处理前纤维素质量}} \times 100\% \quad (2)$$

### 1.2.3 纤维素酶解

预处理后的慈竹在 100 mL 密闭的锥形瓶中进行酶解试验,锥形瓶被放在 48 ℃ 的振动培养箱(HZQ-F160)中以 150 r/min 的转速反应 72 h。纤维素酶用量按之前试验的标准加入<sup>[9]</sup>。加入一定量 pH 为 4.8 的醋酸-醋酸钠缓冲液至 80 mL,试验中加入质量分数为 5% 经过分步预处理(先进行低压蒸汽爆破预处理,后进行亚硫酸盐预处理)的原料。在 0、1、

12、24、36、48、72 h 时取酶解样品(大约 2 mL),通过 HPLC 计算该时间点酶解的葡萄糖含量。葡萄糖的得率和总葡萄糖回收率通过式(3)、(4)进行计算:

$$\text{葡萄糖得率} = \frac{\text{实际葡萄糖含量}}{\text{理论可获得葡萄糖含量}} \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{总葡萄糖回收率} = \text{纤维素保留率} \times \text{葡萄糖得率} \times 100\% \quad (4)$$

### 1.2.4 一步低压蒸汽爆破-碱性亚硫酸盐耦合预处理

将竹片浸渍到调配好的预浸渍液中(预浸渍液成分为:质量分数为 2% 的亚硫酸钠,质量分数为 0.75% 的氢氧化钠),保持原竹片的质量分数为 5%,整个体系在常温 25 ℃ 下放置 12 h。将预浸渍后的竹片在压滤机中进行压榨处理,脱除部分水分,控制含水率 40%,置于蒸汽爆破设备中 1.25 MPa 下进行 4 min 蒸汽爆破预处理。处理结束,分别收集反应液和固体残渣。液体可进行木素磺酸盐和碱木素的进一步提取,本文中不涉及。将固体残渣压滤脱除部分水分,加水浸泡并混匀后再次压榨水分,直到流出液体的 pH 值为中性后,再用去离子水充分洗涤压榨 1 次。得到的固体平衡水分后测其含水率和组分,并进行酶水解试验。试验中经过一步预处理的慈竹质量分数为 5%(用 pH 为 4.8 的醋酸钠缓冲液调节),温度为 48 ℃,水解时间 72 h,同时加入 0.5 g/L 无患子皂素溶液作为表面活性剂做对照试验,在 0、1、12、24、36、48、72 h 取样品(大约 2 mL),通过 HPLC 分析该时刻下的葡萄糖得率。试验流程如图 1 所示。

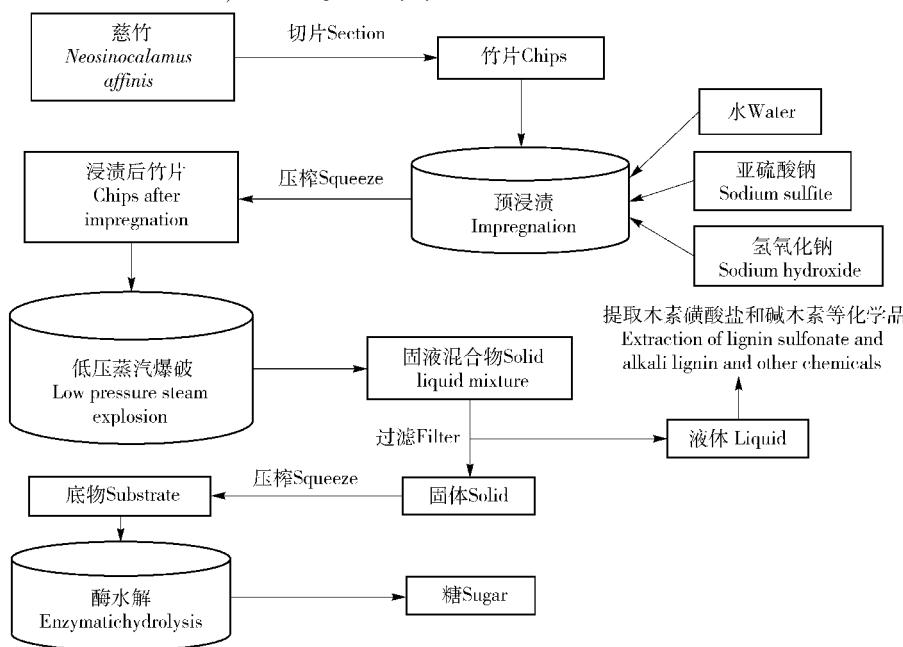


图 1 碱性亚硫酸盐耦合低压蒸汽爆破预处理流程

Fig. 1 Process of combined low-pressure SE-AS pretreatment

### 1.3 分析方法

#### 1.3.1 组分分析

按照美国再生能源实验室的方法分析原料、爆破原料、分步预处理原料中的纤维素、半纤维素、木素和灰分的含量<sup>[12]</sup>。取绝干样品( $0.3 \pm 0.0001$ )g,加入3mL 72%硫酸,在30℃的恒温水浴摇床(HZ-9212S)中水解1h,每隔10~15min搅拌1次。然后水解液中加入84mL去离子水将酸稀释到3%,放入全自动灭菌锅(YSQ-LS-5),在121℃下反应1h。取2mL上清液使用碳酸钙中和至中性。酶解液经0.22μm滤膜过滤,使用HPLC(Waters 2695e)分析纤维素与半纤维素含量,分析条件为:美国伯乐公司Aminex HPX-87P( $300 \times 7.8$  mm)柱,柱温85℃,示差折光检测器温度为35℃,去离子水流速为0.6mL/min,10μL进样量。另外,剩余的酶解液使用砂芯漏斗过滤,去离子水洗至中性,在105℃烘箱(DF-240)中烘干直至质量不再变化。最后在600℃马弗炉中煅烧6h,冷却,称重。灰分和酸不溶木素的质量都是在绝干基础上计算<sup>[13-14]</sup>。

#### 1.3.2 酶解样品糖含量分析

酶解液在离心机(L-550)中3000r/min离心3

min,使得固液分离。上清液通过0.22μm的滤头注射Waters 2695e的高效液相色谱检测葡萄糖含量。HPLC分析条件同组分分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 碱性亚硫酸盐法对爆破原料组成的影响

从表3可以看出:低压蒸汽爆破只起到了疏松慈竹结构的作用,半纤维素的含量由17.88%降至11.18%,而木素的变化量并不大。碱性亚硫酸盐预处理低压蒸汽爆破竹材,随着温度升高以及化学药品用量的增加,木素的脱除量有不同程度的增加,这是碘化脱木素和碱化断裂脱木素共同作用的结果。在温度最高、化学药品用量最大(实验号9)的反应条件下,木素的去除量是最大的;同时,温和的碱性环境使得木素不会发生缩合反应,从而导致了大量木素被脱除。另一方面,碳水化合物在整个预处理过程中并没有很大程度的降解。这可能是由于在温和的碱性环境下,NaOH对碳水化合物的剥皮反应被削弱;同时Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>的碘化作用补偿了脱木素量。这保证了大量脱木素前提下,纤维素具有高保留率。

表3 不同条件预处理下竹材的化学组成和得率

Tab. 3 Chemical composition and yield of bamboo sample of different conditions

%

| 样品<br>Sample | 葡聚糖<br>Glucan | 木聚糖<br>Xylan | 酸不溶木素<br>Acid insoluble<br>lignin | 酸溶木素<br>Acid soluble<br>lignin | 阿拉伯聚糖<br>Araban | 半乳聚糖<br>Galactan | 甘露聚糖<br>Mannan | 灰分<br>Ash   | 得率<br>Yield  |
|--------------|---------------|--------------|-----------------------------------|--------------------------------|-----------------|------------------|----------------|-------------|--------------|
| RM           | 43.59 ± 1.42  | 17.88 ± 0.74 | 25.87 ± 0.82                      | 3.91 ± 0.28                    | 1.16 ± 0.09     | 0.24 ± 0.05      | 0.74 ± 0.02    | 1.32 ± 0.10 | 100          |
|              | 50.89 ± 1.72  | 11.18 ± 0.53 | 26.15 ± 0.84                      | 4.29 ± 0.26                    | 0.97 ± 0.10     | 0.20 ± 0.03      | -              | 0.88 ± 0.05 | 85.61 ± 1.34 |
| SE           | 60.59 ± 2.01  | 8.67 ± 0.44  | 17.49 ± 1.34                      | 3.25 ± 0.67                    | 0.56 ± 0.01     | -                | -              | 1.44 ± 0.01 | 70.42 ± 1.19 |
|              | 57.98 ± 1.50  | 10.39 ± 0.56 | 18.53 ± 1.25                      | 3.31 ± 0.56                    | 0.76 ± 0.00     | -                | -              | 1.54 ± 0.02 | 72.84 ± 0.79 |
| 1            | 57.51 ± 1.71  | 10.40 ± 0.34 | 19.88 ± 0.97                      | 2.98 ± 0.28                    | 0.44 ± 0.00     | -                | -              | 0.89 ± 0.01 | 75.23 ± 1.01 |
|              | 65.12 ± 1.81  | 9.31 ± 0.45  | 10.58 ± 0.78                      | 3.12 ± 0.38                    | 0.45 ± 0.01     | -                | -              | 0.97 ± 0.06 | 65.34 ± 0.98 |
| 2            | 70.49 ± 1.45  | 9.21 ± 0.76  | 6.78 ± 0.88                       | 2.57 ± 0.14                    | 0.65 ± 0.01     | -                | -              | 1.21 ± 0.02 | 58.53 ± 1.03 |
|              | 70.25 ± 1.29  | 10.23 ± 0.19 | 7.63 ± 0.95                       | 2.67 ± 0.08                    | 0.31 ± 0.01     | -                | -              | 1.43 ± 0.01 | 59.85 ± 0.84 |
| 3            | 70.40 ± 1.64  | 11.16 ± 0.26 | 6.56 ± 1.05                       | 2.86 ± 0.10                    | -               | -                | -              | 0.78 ± 0.00 | 58.35 ± 1.23 |
|              | 70.04 ± 1.90  | 10.33 ± 0.61 | 6.75 ± 0.74                       | 2.52 ± 0.21                    | 0.21 ± 0.00     | -                | -              | 0.89 ± 0.01 | 57.36 ± 0.94 |
| 4            | 70.42 ± 1.88  | 9.58 ± 0.19  | 6.14 ± 1.16                       | 3.01 ± 0.08                    | -               | -                | -              | 1.04 ± 0.00 | 56.87 ± 1.21 |
|              |               |              |                                   |                                |                 |                  |                |             |              |

注:RM为慈竹原料,SE为低压蒸汽爆破后的慈竹原料。Notes: RM represents raw material bamboo, and SE represents bamboo after low-pressure steam explosion.

## 2.2 碱性亚硫酸盐法处理条件的优化

从表4可以看出:3个因素对酶解过程72 h后葡萄糖得率的影响大小依次为:反应温度(*A*)>氢氧化钠用量(*C*)>亚硫酸钠用量(*B*)。3个因素中,反应温度的影响最为显著。在试验设计范围内,得到最佳预处理条件为*A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>*,即反应温度为160℃、亚硫酸盐用量为80%、氢氧化钠用量为15%。

**表4 碱性亚硫酸钠预处理低压蒸汽爆破竹材工艺 L9(3<sup>3</sup>)极差分析**

Tab. 4 L9(3<sup>3</sup>) orthogonal array analysis of low-pressure SE-AS pretreatment of bamboo

| 极差分析 Range analysis   | A      | B      | C      |
|-----------------------|--------|--------|--------|
| <i>k</i> <sub>1</sub> | 173.80 | 231.34 | 222.18 |
| <i>k</i> <sub>2</sub> | 249.01 | 231.26 | 229.25 |
| <i>k</i> <sub>3</sub> | 274.90 | 235.11 | 246.28 |
| <i>K</i> <sub>1</sub> | 57.93  | 77.11  | 74.06  |
| <i>K</i> <sub>2</sub> | 83.00  | 77.09  | 76.42  |
| <i>K</i> <sub>3</sub> | 91.63  | 78.37  | 82.09  |
| R                     | 33.70  | 1.28   | 8.03   |

注:*k<sub>x</sub>*为对应因素下*x*水平所对应的试验指标之和,*K<sub>x</sub>*为*k<sub>x</sub>*的平均值,R为极差。Notes: *k<sub>x</sub>* represents sum of experimental value of level *x* under corresponding factor, *K<sub>x</sub>* represents average value of *k<sub>x</sub>*, and *R* represents range.

从图2可以看出:对*A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>*进行3次平行试验其葡萄糖得率的平均值为93.15%,高于其他条件下的酶解得率,故*A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>*为最佳提取工艺条件。样品5、7、8、9在72 h后葡萄糖得率分别为88.54%、91.52%、90.23%、93.15%。4组试验结果相差不到5%,而样品5的试验所采用的反应温度和化学药品用量均小于其他3组试验。从能源消耗和节约成本的角度考虑,反应温度为140℃、亚硫酸盐用量为40%、氢氧化钠用量为15%的预处理条件(试验号5)更为合理。所以,试验号5的条件为本研究的

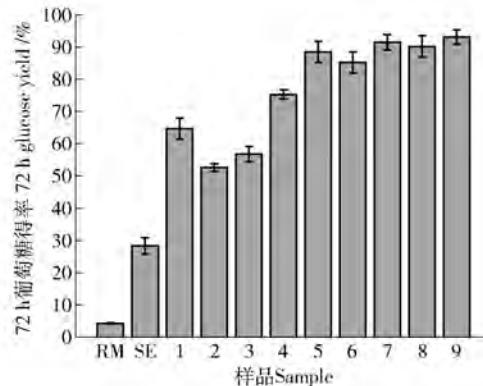


图2 碱性亚硫酸盐预处理对底物酶解效果的影响

Fig. 2 Effects of AS pretreatment on the enzymatic hydrolysis of substrates

最优工艺条件。

从图3可以看出:72 h后慈竹原料的葡萄糖得率只有5.23%;而通过低强度蒸汽爆破,葡萄糖得率仅为29.01%。竹材通过蒸汽爆破后增加碱性亚硫酸盐预处理,可以在后续酶解过程中大幅度提高酶解效率。对于竹材原料,木素的脱除率对于提高竹材的酶解效率是一个关键因素,这和竹材结构组成致密有关。单独采用磺化预处理,即使采用蒸汽爆破先疏松其结构,药液浸渍效果仍然很差,磺化作用从胞间层开始脱木素,浸渍效果差导致不能有效地脱除木素,甚至木素间产生缩合导致木素更难脱除<sup>[9]</sup>。

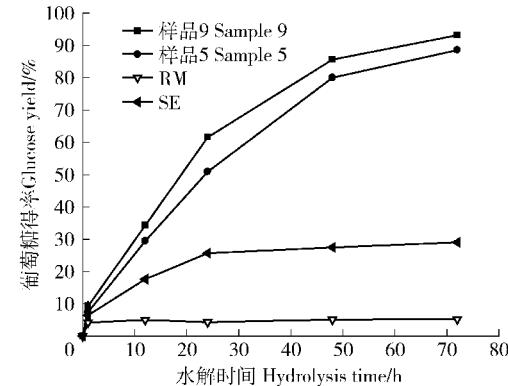


图3 不同条件预处理下竹材的酶解过程

Fig. 3 Enzymatic hydrolysis profiles of pretreated bamboo under different conditions

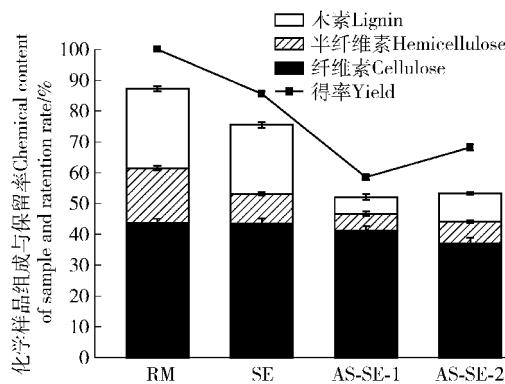
采用碱性亚硫酸盐预处理,氢氧化钠具有较强的浸渍效果和润张纤维作用,同时也能进行碱化断裂的脱木素方式,配合亚硫酸盐的磺化效果,能在保证碳水化合物保留率的前提下大量脱除木素,保证了整个流程中的总葡萄糖回收率。从图3、表3可推算出,样品5和9的总葡萄糖回收率为83.85%和85.62%。

## 2.3 慈竹的酶解效果分析

慈竹先经过低压蒸汽爆破,再用碱性亚硫酸盐进行预处理后,能够在后续糖化酶解过程中得到很高的葡萄糖得率和总葡萄糖回收率。将碱性亚硫酸盐预处理耦合到低压蒸汽爆破预处理形成一步预处理,可简化工艺流程、降低预处理成本、提高纤维素转化率。

从图4可以看出:相比原料而言,经过低压蒸汽爆破预处理的慈竹主要溶出了部分的半纤维素,半纤维素的溶出、结构的疏松和纤维素比表面积的增大可以促进后续的脱木素和酶解过程。与低压蒸汽爆破预处理的慈竹相比,分步低压蒸汽爆破-碱性亚硫酸盐耦合预处理慈竹中大量的木素和半纤维素被脱除。NaOH具有强浸渍效果,12 h常温浸渍过

程能够使竹材组分得到充分润胀作用,这对于后续的蒸汽爆破处理是十分必要的。充分润胀作用不仅能够导致蒸汽爆破过程木质素迅速大量的脱除,也能够防止高温下木素产生缩合,避免生成更难脱除的木素<sup>[16]</sup>。同时在浸渍过程中已经有小部分木素溶解。一步低压蒸汽爆破-碱性亚硫酸盐耦合预处理慈竹脱除了大量的木素和半纤维素,同时最大程度保留了纤维素,纤维素的保留率高达 89.25%,这与分步预处理的效果相似。由此推断,碱性亚硫酸盐浸渍对慈竹纤维素具有一定的保护作用,通过耦合 2 种预处理,使竹材能够在蒸汽爆破同时进行充分碱性亚硫酸盐脱木素。



AS-SE-1 为分步低压蒸汽爆破-碱性亚硫酸盐耦合预处理, AS-SE-2 为一步低压蒸汽爆破-碱性亚硫酸盐耦合预处理。AS-SE-1 represents two-step combination of low-pressure steam explosion and alkaline sulfite, AS-SE-2 represents one-step combination low-pressure steam explosion and alkaline sulfite.

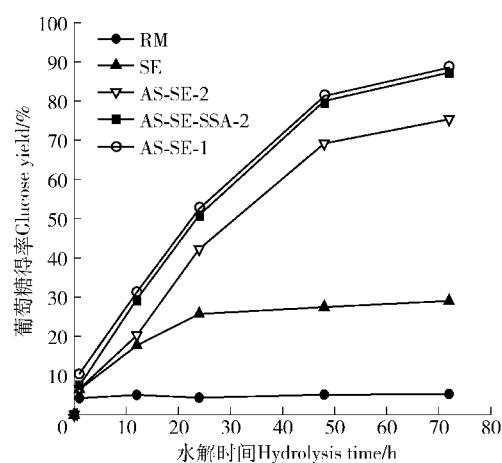
图 4 不同预处理下竹材主要化学组成和保留率

Fig. 4 Solids yield and retention of main components of bamboo sample of the one-step low-pressure SE-AS pretreated bamboo

从图 5 可以看出:耦合预处理大幅度提高了葡萄糖得率。一步低压蒸汽爆破-碱性亚硫酸盐耦合预处理慈竹的葡萄糖得率提高至 75.34%,相比慈竹原料提高了 13 倍。这得益于木素和半纤维素的大量脱除以及原料的结构疏松和纤维润胀,但是由于木素脱除量仍然低于最优条件下分步预处理,其酶解效果较差。在酶解过程中添加实验室自配的无患子皂素表面活性剂,改善了这一状况。表面活性剂可以减少酶对木素的无效吸附,使得酶与纤维素接触几率提高,从而提升酶解效率。一步预处理慈竹中添加无患子皂素酶解,其最终葡萄糖得率达到 87.25%,与分步预处理的葡萄糖得率基本持平。

### 3 结 论

1)采用最优工艺条件碱性亚硫酸盐预处理低压蒸汽爆破慈竹原料,在有效保留碳水化合物同时脱除大部分木质素和部分半纤维素,可将慈竹原料



AS-SE-SSA-2 为一步低压蒸汽爆破-碱性亚硫酸盐耦合预处理在后续酶解过程中添加表面活性剂。AS-SE-SSA-2 represents adding SSA in enzymatic hydrolysis of one-step combination of low-pressure steam explosion and alkaline sulfite.

图 5 不同条件下竹材的酶解过程

Fig. 5 Enzymatic hydrolysis profiles of the one-step low-pressure SE-AS pretreated bamboo

中的纤维素含量提高至 70.42%,而木聚糖和木质素的含量分别被降低至 9.58% 和 6.14%。

2)碱性亚硫酸盐预处理低压蒸汽爆破慈竹原料的最优工艺条件为反应温度 140 °C、亚硫酸盐用量 40%、氢氧化钠用量 15%。最优工艺条件预处理慈竹原料 72 h, 纤维素酶解生成葡萄糖得率达到 88.54%。

3)采用碱性亚硫酸盐与低压蒸汽爆破耦合可实现“一步法”预处理,并达到分步预处理相同的生产效果,显著简化了生产工艺并降低生产成本。一步法预处理慈竹在酶解过程中添加无患子皂素表面活性剂后,纤维素酶水解葡萄糖得率达 87.25%。

### 参 考 文 献

- [1] 蒋剑春. 生物质能源转化技术与应用 [J]. 生物质化学工程, 2007, 41(3): 59-65.  
JIANG J C. Biomass energy conversion technology and application [J]. Biomass Chemical Engineering, 2007, 41(3): 59-65.
- [2] 蒋建新, 卜令习, 于海龙, 等. 木糖型生物质炼制原理与技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2013.  
JIANG J X, BU L X, YU H L, et al. Xylose biomass refining principle and technology [M]. Beijing: Beijing Science Press, 2013.
- [3] ALMEIDA E, SILVA J B, LIMA U A, et al. Use of response surface methodology for selection of nutrient level for culturing *Paecilomyces variotii* in eucalyptus hemicellulosic hydrolyzate [J]. Bioresource Technology, 2003, 87(1): 45-50.
- [4] 张晓燕, 赵广杰. 木质生物质的生物分解及生物转化研究进展 [J]. 林业科学, 2006, 42(3): 85-93.  
ZHANG X Y, ZHAO G J. Woody biomass biodegradation and biotransformation research progress [J]. Scientia Silvae Sinicae,

- 2006,42(3):85-93.
- [5] ZHU J Y, PAN X J, WANG G S, et al. Sulfite pretreatment (SPORL) for robust enzymatic saccharification of spruce and red pine[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(8):2411-2418.
- [6] 蒋建新,杨中开,朱莉伟,等.竹纤维结构及其性能研究[J].北京林业大学学报,2008,30(1):128-132.  
JIANG J X, YANG Z K, ZHU L W, et al. Bamboo fiber structure and performance study[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2008, 30(1):128-132.
- [7] 苏文会,顾小平,马灵飞.大木竹化学成分的研究[J].浙江林学院学报,2005,22(2):180-184.  
SU H W, GU X P, MA L F. Chemical research of *Bambusa wenchouensis*[J]. Journal of Zhejiang Forestry College, 2005, 22(2):180-184.
- [8] OLIVEIRA F, PINHEIRO I O, SOUTO-MAIOR, et al. Industrial-scale steam explosion pretreatment of sugarcane straw for enzymatic hydrolysis of cellulose for production of second generation ethanol and value-added products [J]. Bioresource Technology, 2012, 130:168-173.
- [9] QIN S B C, WANG Y M, XING Y, et al. Comparison of enzymatic hydrolysis of bamboo using steam explosion and acid sulfite, alkali, and alkaline sulfite pretreatments[J]. Bioresources, 2015, 10(4):7580-7590.
- [10] CHEN H Z, LIU L Y. Unpolluted fractionation of wheat straw by steam explosion and ethanol extraction [J]. Bioresource Technology, 2007, 98(13):666-676.
- [11] ZHANG M, OUYANG J, LIU B T, et al. Comparison of hydrolysis efficiency and enzyme adsorption of three different cellulosic materials in the presence of poly (ethylene glycol)[J]. Bioenergy Research, 2013, 6:1252-1259.
- [12] SLUITER A, HAMES B, RUIZ R, et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass [R]. Colorado: NREL, 2008.
- [13] YU H L, XING Y, LEI F H, et al. Improvement of the enzymatic hydrolysis of furfural residues by pretreatment with combined green liquor and ethanol organosolv[J]. Bioresource Technology, 2014, 167:46-52.
- [14] XING Y, YU H L, ZHU L W, et al. Efficient enzymatic hydrolysis of bamboo by pretreatment with steam explosion and alkaline peroxide[J]. Bioresources, 2013, 8(4):5329-5408.
- [15] SHUAI L, YANG Q, ZHU J Y, et al. Comparative study of SPORL and dilute-acid pretreatments of spruce for cellulosic ethanol production[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(9): 3106-3114.
- [16] LI Z Q, JIANG Z H, FEI B H, et al. Comparison of bamboo green, timber and yellow in sulfite, sulfuric acid and sodium hydroxide pretreatments for enzymatic saccharification [J]. Bioresource Technology, 2014, 151:91-99.

(责任编辑 李文军  
责任编委 赵广杰)