

不同类型低共熔溶剂预处理对玉米秸秆酶解效率的影响

洪元芳¹, 雷永伟¹, 安艳霞^{1,2*}, 赵阳¹, 张剑^{1,2}

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南郑州 450002)

(2. 农业农村部大宗粮食加工重点实验室, 河南郑州 450002)

摘要: 为探索不同类型低共熔溶剂 (DES) 预处理提高生物质酶解效率的机制, 该研究选取两类 DES 即酸性 (氯化胆碱(ChCl)-乳酸(Lac)、甜菜碱(B)-Lac) 和碱性 DES (ChCl-乙醇胺(M)、ChCl-N-(2-羟乙基)乙二胺(CN-2)) 预处理玉米秸秆, 对比研究不同酸碱性的 DES 对玉米秸秆组分和酶解效果的影响。研究表明碱性 DES 预处理和酶解效果较好, 多糖含量从未处理时 51.59% 提高到 81.33%~83.36%, 木质素去除率 71.35%~89.72%, 多糖降解较为完全。红外光谱显示预处理中大量木质素和半纤维素的链接键发生断裂, 糖苷键吸收峰显著增强; X-射线衍射表明玉米秸秆结晶度数值由 32.99 增至处理后的 53.60, 但晶体结构未改变。与酸性 DES 相比, 碱性 DES 处理后外观色泽较浅, 扫描电镜显示与未处理相比, 预处理后的纤维疏松且粗糙。两类 DES 均是高效的预处理溶剂, 碱性 DES 除本身碱性外, 还可选择性的去除木质素, 破坏半纤维素和木质素间链接键, 纤维素与酶的接触面增大, 从而酶解效率显著提高。该研究为生物质预处理新型 DES 溶剂的设计和选择提供一定的理论参考。

关键词: 低共熔溶剂; 预处理; 玉米秸秆; 木质素去除率; 酶解

文章编号: 1673-9078(2023)07-162-169

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.7.0928

Effects of Different Deep Eutectic Solvent Pretreatments on the Efficiency of Corn Stover Enzymolysis

HONG Yuanfang¹, LEI Yongwei¹, AN Yanxia^{1,2*}, ZHAO Yang¹, ZHANG Jian^{1,2}

(1.College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

(2.Key Laboratory of Staple Grain Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: To elucidate the mechanism by which deep eutectic solvent (DES) pretreatments improve enzymolysis efficiency, acidic (choline chloride-lactic acid (ChCl-Lac), betaine (B)-Lac), alkaline (ChCl-ethanolamine (ChCl-M), and ChCl-N-(2-hydroxyethyl) ethylenediamine (ChCl-N-2)) DESs were used to pretreat corn stover and the effects of acidic/basic DESs on corn stover composition and enzymolysis efficiency were compared. Results indicated that alkaline DES is more effective in improving enzymolysis efficiency, with increased polysaccharide content (from 51.59% (untreated) to 81.33%~83.36%), lignin removal rates of 71.35%~89.72%, and the near-complete degradation of all polysaccharides. Fourier transform infrared (FT-IR) analysis indicated that pretreatment cleaved many of the lignin-hemicellulose bonds and enhanced the absorption peak associated with glycosidic bonds. X-ray diffraction (XRD) analysis demonstrated an increase in the crystallinity index (CrI) of corn stover following pretreatment, from 32.99 to 53.60, with no associated changes in the crystal structure. Furthermore, corn stover that is pretreated with alkaline DESs is lighter in color than that treated with acidic DESs, and scanning electron microscopy (SEM) indicated that DES-pretreated corn stover comprises looser and coarser fibers than untreated corn stover. Although

引文格式:

洪元芳,雷永伟,安艳霞,等.不同类型低共熔溶剂预处理对玉米秸秆酶解效率的影响[J].现代食品科技,2023,39(7):162-169.

HONG Yuanfang, LEI Yongwei, AN Yanxia n, et al. Effects of different deep eutectic solvent pretreatments on the efficiency of corn stover enzymolysis [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(7): 162-169.

收稿日期: 2022-07-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (21706052; 22278114); 河南农业大学创新基金项目 (KJXC2017C05)

作者简介: 洪元芳 (1996-), 女, 在读研究生, 研究方向: 农产品加工, E-mail: hyf2021@126.com

通讯作者: 安艳霞 (1977-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 生物催化, 谷物化学、农产品加工及副产物的高值化利用, E-mail: yanxiaan@henau.edu.cn

acidic and alkaline DESs are both highly efficient pretreatment solvents, the intrinsic alkalinity of the latter renders it able to selectively remove lignin, cleave hemicellulose-lignin bonds, and increase the area of contact between the cellulose and biodegradation enzymes, greatly increasing the enzymolysis efficiency. The findings of this study are expected to serve as a theoretical reference for the design and selection of novel biomass pretreatment DESs.

Key words: deep eutectic solvent; pretreatment; corn stover; lignin removal rate; enzymolysis

木质纤维素生物质结构复杂^[1],由纤维素(30%~50%)、半纤维素(20%~30%)和木质素(15%~30%)等组分构成^[2],是生物精炼的理想来源,但本身含有特殊的三维网状结构,质构极为紧密,给后续组分的分离、转化及高值化利用造成极大的困难。过去常采用酸法、碱法、有机溶剂法和微波、超声、蒸汽爆破等技术手段对生物质进行预处理以获取各组分,然而上述方法或多或少存在能耗高、成本高、效率低、污染环境、分离组分的结构被破坏等缺陷^[3],因此对预处理的方法仍在不断探索。21世纪初,Rogers等^[4]首次将离子液体用于纤维素的研究,该类溶剂虽然“绿色”,但具有潜在的生物毒性、不可再生、生物降解性差、多数离子液体合成的材料来源仍是传统的石化资源等缺点,无疑造成能源危机和环境危害,若要实现真正的“绿色”,尚需开发出新的溶剂体系^[5]。2003年,Abbott等^[6]首次报道了新型绿色DES溶剂体系,被称为“类离子液体”,具有成本低、毒性小、易生物降解、合成简单快捷、可循环使用等优点,用于生物质预处理时能最大限度的保留纤维素,同时有选择性地去除半纤维素和木质素^[7]。

据DES本身酸碱性的差异,分为酸性、碱性和中性体系。Tan等^[8]合成6种DES,酸性DES(ChCl-Lac和Lac-葡萄糖Glu)、碱性DES(ChCl-尿素(Urea)和甘油(Gly)-碳酸钠)和中性DES(ChCl-Glu和ChCl-Gly)用于油棕空果壳的预处理,发现经ChCl-Lac处理后纤维素回收率53.10%,木质素和半纤维素去除率分别为88%和100%,而中性ChCl-Gly预处理效果差。刘洪杰等^[9]以ChCl-1,4-丁二醇预处理玉米芯,纤维素回收率44.60%,木质素和半纤维素去除率高达95%和75%。Zhao等^[3]以ChCl-M预处理小麦秸秆,纤维素回收率93.70%,酶解率显著提高,木质素去除率为71.40%。解先利等^[10]以ChCl-M预处理甘草渣,纤维素回收率83.89%,木质素去除率78.42%。董艳梅等^[11]以ChCl-乙二胺预处理小麦秸秆,木质素去除率83.14%。宋振龙等^[12]以ChCl-香豆酸预处理中药渣合欢皮,对木质素和半纤维素去除率分别为59.11%和100%。杨宇辰等^[13]以ChCl-Lac预处理玉米芯发现酸溶性木质素(ASL)和酸不溶性木质素(AIL)去除率分别为80.51%和64.42%。因中性DES预处理效果相

对较差^[14],若与其它溶剂或催化剂联合使用则导致处理过程冗长繁琐^[15],因此中性DES在本研究中未涉及。

本文以玉米秸秆为研究对象,选用ChCl-Lac、B-Lac、ChCl-M、ChCl-N-2预处理玉米秸秆,对比研究不同酸碱性的DES对玉米秸秆组成成分、化学结构、外观形貌及后续酶解过程的影响规律,以期为生物质加工、组分分离及高值化利用提供思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玉米秸秆由河南农业大学原阳实验基地赠送,清洗晾晒后粉碎过60目筛,用甲苯/无水乙醇(体积比2/1)脱蜡,干燥后于干燥器中密封保存备用。纤维素酶购于诺维信公司,氯化胆碱、甜菜碱、乙醇胺、乳酸、柠檬酸、柠檬酸钠等均购于阿拉丁试剂有限公司,N-(2-羟乙基)乙二胺($\geq 98\%$)购于国药集团化学试剂有限公司,其它试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 DES的制备

以ChCl为氢键受体(HBA)和以Lac、M、N-2为氢键供体(HBD)以及以B为HBA,以Lac为HBD按一定摩尔比置于磨口瓶中混合,一定温度下加热至混合体系呈均匀透明、澄清的液态状。将制备的DES分别置于真空干燥箱中干燥,然后于干燥器中冷却保存备用。

1.2.2 预处理

参照Liu等^[16]的方法做适当修改。将玉米秸秆或经Lac预先处理后的玉米秸秆(90℃、2h)与上述DES以料液比1/20混合均匀进行预处理,酸性DES预处理条件(120℃、6h)和碱性DES预处理(90℃、4h)。预处理后用蒸馏水/无水乙醇(体积比9/1)离心至上清液呈中性,将离心后的沉淀真空冷冻干燥后备用,分别记为[CC]-[Lac]、[B]-[Lac]、[CC]-[Lac]₂、[B]-[Lac]₂、[CC]-[M]和[CC]-[N-2](₂表示玉米秸秆预先经Lac处理)。

1.3 分析方法

1.3.1 成分分析

参照美国国家可再生能源实验室^[17] (National Renewable Energy Laboratory, NREL) 分析方法测定生物质中组分含量, 稍有修改。

1.3.2 红外光谱 (FT-IR) 分析

预处理前后的生物质样品用 Nicolet 8700 型傅里叶变换红外光谱仪进行化学结构测定。采用压片法将样品与溴化钾以 1/100 (*m/m*) 的比例充分混合压制薄片, 扫描波段为 4 000~400 cm^{-1} , 分辨率为 4 cm^{-1} , 32 次扫描, 采用透光率分析模式。

1.3.3 X-射线衍射 (XRD) 分析

采用 X-射线衍射分析仪 (D8 型) 测定样品衍射图谱, 扫描角度为 5~60°, 采样时间 0.5 s, 电压 40 kV, 电流 40 mA。结晶度 (*CrI*) 采用峰高法^[18] 计算公式如下:

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

式中:

CrI——结晶度, %;

*I*₀₀₂——样品中 002 晶面 ($2\theta \approx 22.5^\circ$) 的衍射强度;

*I*_{am}——无定形区 ($2\theta \approx 18.2^\circ$) 的衍射强度。

1.3.4 扫描电镜 (SEM) 分析

将样品粉末分散贴于导电胶的金属工作台上, 喷金后借助扫描电镜 (JSM-6701) 观察样品表面形貌, 测试倍数分别为 500 倍、1 000 倍和 2 000 倍。

1.3.5 酶解分析

分别称取 40 mg 未处理和预处理后样品、40 FPU/g 的纤维素酶、14 mL 预热的柠檬酸缓冲液 (50 mmol/L, pH 值 4.8)、20 $\mu\text{g/mL}$ 的叠氮化钠于具塞锥形瓶中, 置于 50 °C、200 r/min 的恒温摇床中进行酶解, 定时 (0、2、6、8、12、24、48、72 h) 分别取样 300 μL , 沸水灭活终止酶解反应。酶解液离心后取上层清液, 用 DNS 法^[19] 测定样品中还原糖浓度。木质素提取率 (*LeR*)、多糖损失率 (*PIR*)、多糖降解率 (*PdR*) 及还原糖收率 (*RsY*) 计算公式如下:

$$LeR = \left(1 - \frac{A}{B}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式中:

LeR——木质素提取率, %;

A——预处理后样品中木质素的量, mg;

B——未处理样品中木质素的量, mg。

$$PIR = \left(1 - \frac{C \times D}{E}\right) \times 100\% \quad (3)$$

式中:

PIR——多糖损失率, %;

C——残渣回收量, mg;

D——残渣中多糖的含量, mg;

E——未处理原始样品中多糖总量, mg。

$$PdR = \frac{F}{G} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

PdR——多糖降解率, %;

F——残渣回收量 DNS 法测酶解过程还原糖浓度换算所得多糖含量, mg;

G——用于酶解样品中多糖的总量, mg。

$$RsY = \frac{H \times \frac{I}{K}}{\frac{J}{0.9}} \times 100\% \quad (5)$$

式中:

RsY——还原糖收率, %;

H——DNS 法测还原糖总量, mg;

I——回收残渣量, mg;

J——酶解所用残渣的量, mg;

K——理论中未处理样品中多糖总量, mg。

1.4 数据处理

样品测试次数至少 2 次, 数据结果以平均数±标准偏差 ($\bar{X} \pm SD$) 采用 Origin 2021、Excel 2019、SPSS 20.0 统计软件整理和分析数据处理作图。

2 结果与分析

2.1 DES 预处理对玉米秸秆组分的影响

将上述制备的 DES 分别预处理玉米秸秆, 预处理后富含纤维素组分 (残渣) 回收率及组分分析结果如表 1 所示, 经 DES 预处理后, 玉米秸秆残渣回收率为 49.11%~60.07%, 多糖含量均有不同程度的提高, 由未处理时的 51.59% 提升到 53.95%~83.36%。经 ChCl-Lac_2 预处理后, 其残渣回收率最低仅为 49.11%, 经 B-Lac_2 预处理时回收率由 B-Lac 处理的 60.07% 下降到 52.99%, 发现生物质经 Lac 预先处理后, 促进了生物质中的半纤维素组分的溶出, 再次经 DES 处理后残渣回收率有所降低^[20], 本研究与该报道的结果相一致。其原因是底物首先经乳酸处理时与乳酸接触并作用, 玉米秸秆有了充分的溶胀, 乳酸对底物中组分的溶出有一定的促进作用, 接着又经 ChCl-Lac 处理时玉米秸秆的木质素和半纤维素更容易游离出来, 如表 1 结果所示, 两次预处理后 AIL 由 18.67% (11.97%) 下降到 8.55% (7.73%)。经过不同酸碱性 DES 预处理后的玉米秸秆残渣中 ASL 和 AIL 均呈下降趋势, 尤其经碱性 ChCl-M 、 ChCl-N-2 预处理后的玉米秸秆中 AIL 含量仅为 4.28%~6.33%, 远低于未处理时的

21.90%，这是由于碱性 ChCl-M、ChCl-N-2 预处理过程中去除了 71.35%~89.72% 的木质素，明显高于以 Lac 为 HBA 的酸性 DES 对木质素的去除率 30.14%~63.55%，由于 DES 的碱性越强，越有助于木质素组分的去除^[21]。溶剂的酸碱性与去除半纤维素和木质素的能力有一定的相关性，直接影响后续的酶解效率^[22]，酸性 DESChCl-Lac 和 B-Lac 体系有效去除了半纤维素组分，而碱性 DES（ChCl-M 和 ChCl-N-2）体

系预处理可能类似于传统的碱性预处理，去除了大量木质素组分，木质素聚合物链接键在碱性体系中容易发生断裂，促进了木质素的解离^[8]。该结果与董艳梅等^[11]经 DES 预处理后小麦秸秆的多糖含量增加的趋势相一致，尤其是经 ChCl-M 保留了 90% 以上的纤维素，例如，ChCl-N-2 的木质素提取率接近小麦秸秆 81.41%（玉米秸秆 71.35%），而 ChCl-M 的木质素提取率为小麦秸秆 82.03%（玉米秸秆 89.72%）。

表 1 DES 预处理对玉米秸秆组成成分的影响

Table 1 Effect of DESs pretreatment on the composition of corn straw

DESs	木质素提取率/%	残渣回收率/%	残渣中组分含量 C/%		
			多糖	AIL	ASL
未预处理(U)	0 ^f	100 ^a	51.59±0.06 ^e	21.90±0.93 ^a	1.65±0.09 ^a
ChCl-Lac ^A	30.14±5.43 ^e	56.40±4.01 ^{bc}	53.95±0.12 ^{de}	18.67±2.55 ^b	0.44±0.02 ^d
ChCl-Lac ₂ ^A	59.00±3.05 ^c	49.11±1.23 ^d	56.45±3.17 ^d	8.55±0.03 ^d	1.03±0.03 ^b
B-Lac ^A	37.44±1.47 ^d	60.07±3.02 ^b	63.81±0.81 ^c	11.97±0.38 ^c	0.66±0.07 ^c
B-Lac ₂ ^A	63.55±2.33 ^c	52.99±3.11 ^{cd}	67.56±1.23 ^b	7.73±0.60 ^{de}	0.70±0.02 ^c
ChCl-M ^B	89.72±1.83 ^a	50.52±2.19 ^d	81.33±0.35 ^a	4.28±0.97 ^f	0.81±0.01 ^c
ChCl-N-2 ^B	71.35±2.08 ^b	59.63±3.21 ^b	83.36±2.89 ^a	6.33±0.64 ^e	0.78±0.20 ^c

注：A 为 600 mg 玉米秸秆原料（<150 μm）添加至 9.0 g DES 中，120 ℃下处理 6 h；B 为 600 mg 玉米秸秆原料（<150 μm）添加至 9.0 g DES 中，90 ℃下处理 4 h；C 为参照 NREL 法（稍作修改，多糖含量测定采用 DNS 法）测定（LAP 2008 版本），数据结果以残留物的百分比表示。平均值±标准差；同列不同字母表示差异性显著，显著水平 $P<0.05$ 。

2.2 FT-IR 和 XRD 分析

玉米秸秆经上述 DES 预处理后多糖的含量由 51.59% 提升到 53.95%~92.11%，而木质素则由 23.55% 下降到 5.09%~19.11%。借助 FT-IR 和 XRD 对玉米秸秆预处理前后的化学结构进行表征，对其组成的变化进行印证，结果如图 1 所示，红外吸收峰的位置根据参考文献^[23,24]进行归属，预处理后的特征吸收峰在 900 cm^{-1} 、1 154 cm^{-1} 、2 920 cm^{-1} 处明显增强，尤其是 900 cm^{-1} 处半纤维素和木质素的连接键（ β -糖苷键）特征峰明显增强，表明预处理后多糖含量明显增加，经 ChCl-Lac₂ 和 ChCl-N-2 预处理后的样品该处的吸收峰信号更强，该结果与表 1 中预处理后多糖含量增加的结果相一致。1 240 cm^{-1} 处明显发生变化，是由于木质素中 C-O-C 芳香醚键的破坏相关。1 370 cm^{-1} 是 C-H 的伸展振动吸收峰，此范围附近的峰与结晶纤维素有关。1 450 cm^{-1} 、1 510 cm^{-1} 、1 595 cm^{-1} 为木质素中芳烃的骨架结构，伴随着微弱的芳烃 C=C 伸缩振动，除 [CC]-[Lac]₂ 外其它样品的木质素特征峰强度均呈现明显减弱趋势，表明这四种 DES 预处理玉米秸秆过程中均有木质素去除能力^[25]。在 1 734 cm^{-1} 处酸性 DES 预处理后 [CC]-[Lac]、[CC]-[Lac]₂、[B]-[Lac]、[B]-[Lac]₂ 的吸收峰强度明显减弱甚至消失，是由于木质素与半

纤维素之间的酯键连接发生断裂^[26]，半纤维素去除，导致羰基伸缩振动吸收峰减弱。

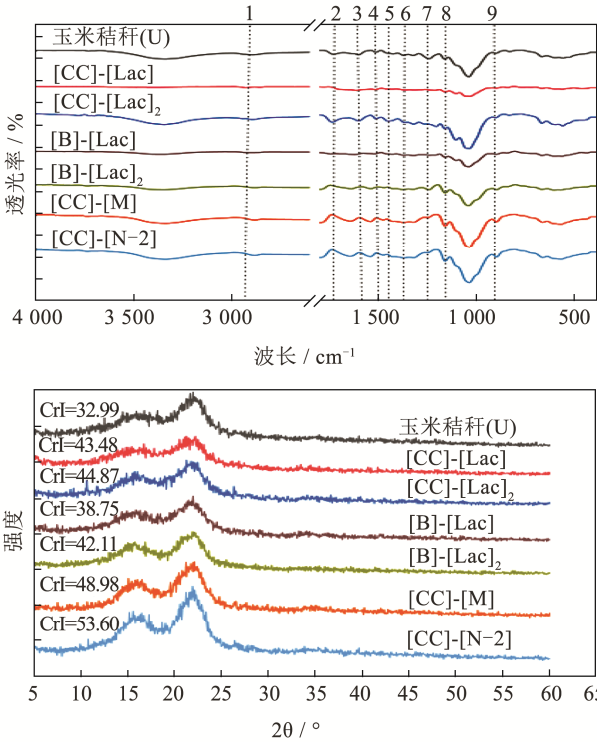


图 1 DES 预处理玉米秸秆前后的红外光谱图和 X 射线衍射图
Fig.1 FT-IR and XRD spectra of untreated and pretreated corn stalk with DESs

结晶度是影响材料力学性能和热性能的因素之一^[27], 预处理中两个竞争决定了玉米秸秆的结晶度值: 结晶纤维素的部分溶胀或溶解去除及木质素或半纤维素无定型部分的去除。玉米秸秆预处理前后 X-射线衍射图谱的变化规律如图 1 所示, 玉米秸秆样品在 $2\theta=16.15^\circ$ 和 22.3° 是纤维素的特征衍射峰, 为天然纤维素 I 型结构^[28], 未见其它纤维素晶型的衍射峰, 上述 DES 预处理过程中纤维素组分的结晶结构未发生改变, 与 FT-IR 结果一致, 但衍射峰的强度发生了不同程度的变化。玉米秸秆的 CrI 由未处理时的 32.99, 分别增加到经酸性 DES 预处理后的 [CC]-[Lac]、[CC]-[Lac]₂、[B]-[Lac]、[B]-[Lac]₂ 的 CrI 分别为 43.48、44.87、38.75、42.11, 经碱性 [CC]-[M]、[CC]-[N-2] DES 预处理后的 CrI 分别为 48.98 和 53.60, 上述结果表明经碱性 DES 预处理样品的 CrI 显著高于酸性 DES 预处理的, 究其原因可能是由于在碱性 DES 预处理过程中无定型半纤维素和木质素组分的大量去除, 导致 CrI 的增加^[29]。以 Lac 为 HBD 的酸性 DES 中, Lac 在预处理过程中对生物质组分的溶解力较差弱, 因此预处理后残渣中木质素和半纤维素含量较高, 随之 CrI 也较低^[30], 该结论与表 1 中成分分析结果相吻合。

2.3 外观色泽及 SEM 形貌分析

2.3.1 外观色泽

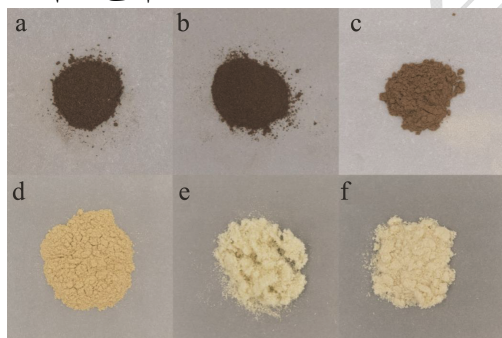


图 2 不同 DES 预处理玉米秸秆前后的外观形态

Fig.2 Morphology of pretreated corn straw with DESs

注: a 为 [CC]-[Lac]; b 为 [B]-[Lac]; c 为 [CC]-[Lac]₂; d 为 [B]-[Lac]₂; e 为 [CC]-[M]; f 为 [CC]-[N-2]。

不同 DES 对玉米秸秆预处理后的残渣的外观形态用数码相机拍摄图片如图 2 所示, 发现经不同 DES 处理后的玉米秸秆所得残渣色泽有明显的差异, 经酸性 DES 预处理后的残渣颜色较深, 原因可能是在酸的预处理条件下, 羧基被激活, 释放二氧化碳, 导致生物质焦化^[20,31]; 酸性预处理对玉米秸秆的破坏程度强, 导致木质素上生成的助色基团和发色基团的种类和数量有一定的差异^[32]; 不同 DES 对木质素的萃取率不同, 木质素本身的颜色为黑色, 预处理后的玉米秸秆

颜色逐渐变浅, 说明预处理后残渣组分中残余的木质素含量逐渐降低^[30]。而经碱性 DES 预处理后的玉米秸秆颜色较浅, 其原因可能是木质素的去除较为完全所致, 该现象与表 1 中预处理后残渣中木质素的含量结果相吻合。与 AN 等^[33]预处理水稻秸秆类似, 经胆碱精氨酸离子液体预处理后, 水稻秸秆颜色变得很浅接近白色, 这是由于木质素的大量去除导致色泽变浅。

2.3.2 SEM 分析

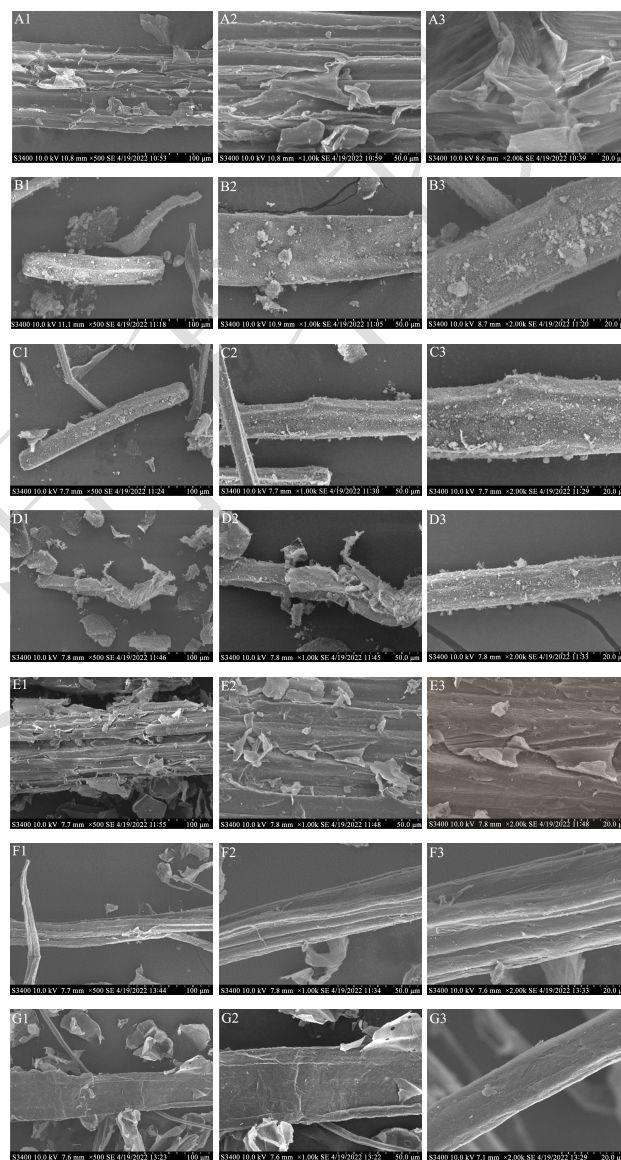


图 3 DES 预处理玉米秸秆前后的扫描电镜图

Fig.3 SEM images of untreated and pretreated corn straw with DESs

注: A 为 Untreated; B 为 [CC]-[Lac]; C 为 [B]-[Lac]; D 为 [CC]-[Lac]₂; E 为 [B]-[Lac]₂; F 为 [CC]-[M]; G 为 [CC]-[N-2]。×500 表示 500 倍, ×1.00 k 表示 1 000 倍, ×2.00 k 表示 2 000 倍。

经 SEM 观察玉米秸秆经 DES 预处理前后的微观形貌结构如图 3 所示, 未处理的玉米秸秆表面平滑、结构较完整, 且观察不到明显的纤维结构^[27], 对酶解

不利。经 DES 预处理后的玉米秸秆表面结构变得粗糙,且表面细小的片状颗粒大小和分布相对均一,纤维结构絮聚明显,内部纤维裸露清晰可见,如 [B]-[Lac]₂ 整体块状被剥离成小碎片状,有明显的孔洞, [CC]-[M]、[CC]-[N-2] 中也有明显的孔洞出现,经酸碱性 DES 处理后,残渣均呈现明显的束状纤维结构,甚至分裂成长束状,与 FT-IR 和 XRD 分析结果一致,原因是木质素和半纤维素的去除导致的结果,去除的越多,样品的表面积就越大,裸露出的纤维素越多,则增加了纤维素酶和纤维素的接触机会,因此酶解效率提高,与表 1 的数据相印证。该研究与 Hou 等^[25]预处理水稻秸秆研究结果相一致,SEM 分析发现,未经处理的稻草秸秆呈现出完整有序的纤维结构,预处理后稻草秸秆变得多孔粗糙,纤维结构遭到破坏。

2.4 酶解分析

对未处理和经 DES 预处理的玉米秸秆进行酶解分析,结果如图 4 所示,酶解过程中,所有样品多糖降解率和还原糖收率均呈上升趋势,从图中可以观察到经碱性和酸性 DES 处理后的样品在酶解过程存在明显的差异,主要归因于样品中半纤维素和木质素的去除程度不同导致的^[21]。经不同酸碱性 DES 预处理后可以有效去除木质素或半纤维素,去除的越多预处理后的样品表面积增加的越大,因此酶解时纤维素与纤维素酶的接触面积有不同程度的增加,从而促使酶解效率提高。如图 4a、4b 经碱性 DES 处理后的 [CC]-[M]、[CC]-[N-2] 在酶解 12 h 时,多糖降解率和还原糖收率基本达到平衡,发现在 0~2 h 内多糖降解率和还原糖收率呈现急剧增长趋势,是因为底物中木质素含量低,对酶的吸附性和阻碍作用小,因而还原糖释放速度快,进而酶解效率高;酸性 DES [CC]-[Lac]、[B]-[Lac] 预处理的玉米秸秆在酶解过程 0~2 h 内多糖降解率和还原糖收率仅有小幅度的提升,仅提高至 20%~30%,这与木质素的含量有一定的相关性^[3],原因可能是 [CC]-[Lac]、[B]-[Lac] 中残留的木质素组分可能对纤维素酶产生非特异性吸附,从而降低了酶对纤维素的可达性^[29],导致酶解过程时间延长。表 1 中碱性 [ChCl]-[M]、[ChCl]-[N-2] 体系对木质素去除率在 70%~90%,而酸性 [ChCl]-[Lac]、[B]-[Lac] 体系对木质素去除率在 30%~63%。结合图 4a 和 4b 分析得知,木质素的去除率越高,多糖降解率就越高,二者具有一定的相关性^[29]。如图 4c 不同 DES 预处理前后玉米秸秆的多糖损失率由低到高依次为 [B]-[Lac]₂ < [CC]-[N-2] < [B]-[Lac] < [CC]-[Lac]₂ < [CC]-[M] < [CC]-[Lac], 通过对比分析发现,碱性 [ChCl]-[N-2] 对木质素的去除率

较高为 71.35%,多糖损失率较低为 28.44%,酶解 12 h 时还原糖收率高达 71.50%。综上研究得知,两种碱性 DES 预处理玉米秸秆的效果及酶解效率较佳。

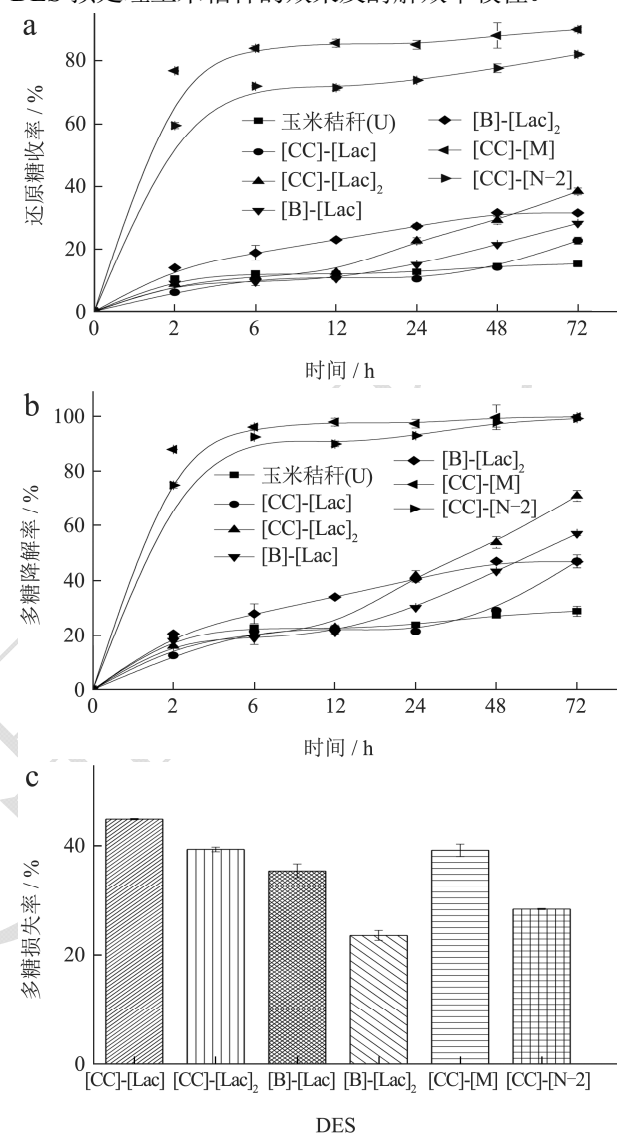


图 4 DES 预处理玉米秸秆前后的还原糖收率、多糖降解率和损失率

Fig.4 Yield of reducing sugar and degradation rate and loss rate of polysaccharide of untreated and pretreated corn straw with DESs

注: 酶解条件, 40 mg 样品, 20 μg/mL Na₂CO₃, 40 FPU/g 纤维素酶, 14 mL 柠檬酸盐缓冲液 (50 mmol/L, pH 值 4.8), 50 °C, 200 r/min。

3 结论

本文对比研究了酸性和碱性 DES 对玉米秸秆预处理效果的影响,以木质素去除率、残渣中多糖含量、多糖收率及多糖损失率评价对玉米秸秆组分、酶解效率的影响,两种类型的 DES 均可作为生物物质的高效预处理溶剂,其中碱性 ChCl-M 和 ChCl-N-2 预处理效果

较佳。借助 FT-IR、XRD 及 SEM 考察玉米秸秆预处理前后化学结构、组成、纤维素结晶度及外观形貌的变化规律。研究发现与酸性 DES 相比,碱性 DES 具有优异的木质素去除效果同时大部分纤维素保留,多糖含量为 81.33%~83.36%,且多糖降解较为彻底。FT-IR 显示经两类 DES 预处理过程中木质素和半纤维素的链接键断裂或解聚,纤维素多糖的特征吸收峰明显增强。XRD 表明经碱性 DES 预处理的玉米秸秆的 CrI (48.98 和 53.60)明显高于酸性 DES(38.75~44.87),但纤维素晶型结构未改变。外观形貌观察到经碱性 DES 预处理后的玉米秸秆色泽较浅,SEM 表明玉米秸秆的微观结构由未处理时的光滑完整、紧密有序变为预处理后的疏松且粗糙。该研究有助于理解不同类型 DES 预处理生物质的机制,为理性设计新型 DES 提供思路,新型 DES 体系的应用将促进生物质预处理、组分分离及生物质的高值化利用。

参考文献

- [1] XU Airong, CAO Lili, WANG Bingjun, et al. Facile cellulose dissolution without heating in $[\text{C}(4)\text{mim}][\text{CH}_3\text{COO}]/\text{DMF}$ solvent [J]. Carbohydrate Polymers Scientific and Technological Aspects of Industrially Important Polysaccharides, 2015, 125: 249-254.
- [2] 田锐,胡亚洁,刘巧玲,等.低共熔溶剂在木质纤维生物质预处理领域的研究进展[J].中国造纸,2022,41(3):78-86.
- [3] ZHAO Zheng, CHEN Xiaochun, Ali M F, et al. Pretreatment of wheat straw using basic ethanolamine-based deep eutectic solvents for improving enzymatic hydrolysis [J]. Bioresource Technology, 2018, 263: 325-333.
- [4] Swatloski R P, Spear S K, Hobrey J D, et al. Dissolution of cellulose with ionic liquids [J]. Green Chemistry, 2002, 124: 4947-4975.
- [5] 唐悦,叶国华,胡渝杰,等.离子液体在萃取分离中的应用现状与发展趋势[J].矿冶,2021,30(6):54-62.
- [6] 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.
- [7] 竹源,齐本坤,梁欣泉,等.有机酸及多元醇类低共熔溶剂预处理木质纤维素研究进展[J].应用化工,2021,10(10):2786-2796.
- [8] Tan Y T, Cheng N G, May C. Evaluation of fractionation and delignification efficiencies of deep eutectic solvents on oil palm empty fruit bunch [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 123: 271-277.
- [9] 刘洪杰,邢山川,张思思,等.深度共熔溶剂分离提取玉米芯纤维素的研究[J].河北科技大学学报,2017,38(6):548-554.
- [10] 解先利,刘云云,余强,等.低共熔溶剂预处理提高甘草渣酶解效果优化[J].化工进展,2022,41(3):1349-1356.
- [11] 董艳梅,洪元芳,马阳阳,等.基于乙醇胺的深度共熔溶剂预处理小麦秸秆提高其多糖酶解效率[J].现代食品科技,2021, 37(7):46-56.
- [12] 宋振龙,王帆,陈小燕,等.氯化胆碱/对香豆酸低共熔溶剂预处理中药渣提高木质素脱出率的研究[J].太阳能学报,2022, 43(1):191-195.
- [13] 杨宇辰,鄢贵龙,杨依晶,等.氯化胆碱类低共熔溶剂处理对玉米芯的影响[J].食品工业,2022,43(1):194-198.
- [14] 赵峥.离子液体及低共熔溶剂用于麦秸预处理的研究[D].北京:北京化工大学,2018.
- [15] 赵天畅,王杰,侯海旭,等.三元低共熔溶剂高效预处理提高杨木酶水解效率[J].林业工程学报,2022,7(3):86-92.
- [16] Liu X, Li T, Wu S, et al. Structural characterization and comparison of enzymatic and deep eutectic solvents isolated lignin from various green processes: Toward lignin valorization [J]. Bioresource Technology, 2020, 310: 123460.
- [17] NREL/TP-510-42618, Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass [S].
- [18] Segal L, Creely J, Martin A, 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.
- [19] MENG Qingshan, ZHANG Fei, LIU Chenguang, et al. Measurement of cellulase and xylanase activities in trichoderma reesei [J]. Methods in Molecular Biology, 2021, 2234: 135-146.
- [20] Zhang C W, Xia S Q, Ma P S. Facile pretreatment of lignocellulosic biomass using deep eutectic solvents [J]. Bioresource Technology, 2016, 219: 1-5.
- [21] HUANG Zijian, FENG Guojian, LIN Kai-peng, et al. Significant boost in xylose yield and enhanced economic value with one-pot process using deep eutectic solvent for the pretreatment and saccharification of rice straw [J]. Industrial Crops and Products, 2020, 152: 112515.
- [22] HOU Xuedan, LI Aolin, LIN Kaipeng, et al. Insight into the structure-function relationships of deep eutectic solvents during rice straw pretreatment [J]. Bioresource Technology, 2018, 249: 261-267.
- [23] Da Costa Lopes A M, Joao Karen G, Rubik D F, et al. Pre-treatment of lignocellulosic biomass using ionic liquids: Wheat straw fractionation [J]. Bioresource Technology, 2013, 142(8): 198-208.

- [24] Deracheva Olga, Sukhov Dmitry. Investigation of lignins by FT-IR spectroscopy [J]. *Macromolecular Symposia*, 2008, 265(1): 61-68.
- [25] HOU Xuedan, Thomas, LI Ning, 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.
- [26] REN Huan, Zong Minhua, WU Hong, et al. Efficient pretreatment of wheat straw using novel renewable cholinium ionic liquids to improve enzymatic saccharification [J]. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 2016, 55(6): 1788-1795.
- [27] QI Letian, LIU Jinke, Peng Jianmin, et al. The dual effect of ionic liquid pretreatment on the eucalyptus Kraft pulp during oxygen delignification process [J]. *Polymers*, 2021, 13(10): 1600.
- [28] Faix O. Classification of lignins from different botanical origins by FT-IR spectroscopy [J]. *Holzforschung*, 1991, 45(s1): 21-28.
- [29] AN Yanxia, LI Ning, ZONG Minhua, et al. Easily measurable pH as an indicator of the effectiveness of the aqueous cholinium ionic liquid-based pretreatment of lignocelluloses [J]. *RSC Advances*, 2014, 4(98): 55635-55639.
- [30] 白有灿.氯化胆碱类低共熔溶剂高效分离木质纤维素及纤维素组分的利用[D].广州:华南理工大学,2018.
- [31] 杨露敏.深度共熔溶剂结构性质对甘蔗渣预处理效率的影响研究[D].广州:广东工业大学,2020.
- [32] 谭惠珊.碱法制浆黑液中木质素的提取与纯化[D].天津:天津科技大学,2017.
- [33] AN Yanxia, ZONG Minhua, WU Hong, et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass with renewable cholinium ionic liquids: Biomass fractionation, enzymatic digestion and ionic liquid reuse [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 192: 165-171.