

## 蒸汽爆破预处理对玉米秸秆化学组成 及纤维结构特性的影响



CHEN Shang-xing

陈尚钊<sup>1,2</sup>, 勇强<sup>2</sup>, 徐勇<sup>2</sup>, 朱均均<sup>2</sup>, 余世袁<sup>2\*</sup>

(1. 江西农业大学 江西省竹子种质资源与利用重点实验室, 江西 南昌 330045;  
2. 南京林业大学 林木遗传与生物技术省部共建教育部重点实验室, 江苏 南京 210037)

**摘要:** 研究了蒸汽爆破预处理对玉米秸秆化学组成变化及纤维素酶水解得率的影响, 并采用扫描电镜(SEM)、X射线衍射仪(XRD)和红外光谱(IR)对玉米秸秆纤维结构特性进行了分析。结果表明, 蒸汽爆破预处理对纤维素影响不显著, 半纤维素含量大幅度降低, 木质素含量也有所降低。纤维素酶水解得率随着爆破压力的增大和维压时间的延长而增加, 当蒸汽压力为 1.6 MPa, 维压时间 9 min 时所得固体渣经纤维素酶水解, 得率最大为 75.76%。蒸汽爆破预处理后玉米秸秆纤维表面和细胞壁受到不同程度的破坏, 表面积增大, 孔洞增加, 纤维素的结晶度降低, 有利于纤维素酶水解作用的进行。蒸汽爆破是一种有效的木质纤维预处理方法。

**关键词:** 玉米秸秆; 蒸汽爆破; 纤维素酶水解; 化学组成; 纤维结构

中图分类号: TQ353.14

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2009)S0-0033-06

## Effect of Steam-explosion Pretreatment on Chemical Components and Cellulosic Structure of Corn Stalk

CHEN Shang-xing<sup>1,2</sup>, YONG Qiang<sup>2</sup>, XU Yong<sup>2</sup>, ZHU Jun-jun<sup>2</sup>, YU Shi-yuan<sup>2</sup>

(1. Jiangxi Provincial Key Laboratory for Bamboo Germplasm Resources and Utilization, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Key Laboratory of Forest Genetics & Biotechnology, Ministry of Education, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

**Abstract:** The effects of steam-explosion pretreatment on composition and enzymatic hydrolysis rate of solid residues for corn stalk were investigated and the fiber structure of pretreated residues were studied with scanning electron microscopy (SEM), infrared (IR) and X-rays diffraction spectrum methods. There was no significant difference in cellulose content. Hemicellulose was largely degraded, and a portion of lignin was also solubilized. The digestibility of solid residues after steam explosion increased with the increase of steaming pressure and residence time. When an enzyme loading of cellulase 20 FPIU/g of cellulose was applied and hydrolyzed for 72 h, the highest enzymatic hydrolysis yield 75.76% was obtained when corn stalk was pretreated at 1.6 MPa for 9 min. The results indicated that fiber surface and cellular wall of corn stalk are broken in various extents, such as the increasing of specific surface area and pore volume, the decreasing of crystallinity of cellulose, which are favorable to increase the enzymatic hydrolysis rate. Steam explosion is one of the effective pretreatment methods for pretreating lignocellulosic biomass.

**Key words:** corn stalk; steam explosion; enzymatic hydrolysis; chemical composition; cellulosic structure

人类社会进入 21 世纪以来, 能源供需矛盾日益突出, 寻找可再生替代能源成为人类面临的重要任务之一<sup>[1-2]</sup>。来源于生物质资源的燃料乙醇以其可再生性、无污染性和不引起温室效应等特点而被公认为最有工业应用前景的可再生能源之一, 得到了广泛的研究<sup>[3-4]</sup>。利用木质纤维原料生产燃料乙醇, 主要包括原料预处理、纤维素酶水解和戊糖己糖发酵等工艺<sup>[5-6]</sup>。由于木质纤维原料致密复杂的结构

收稿日期: 2009-06-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30871922); 国家 863 计划资助(2008AA05Z401)

作者简介: 陈尚钊(1976-), 男, 江西九江人, 讲师, 博士, 从事林产生物化学加工研究; E-mail: csxing@126.com

\* 通讯作者: 余世袁, 教授, 博士生导师, 主要从事林产生物化学加工研究; E-mail: syu@njfu.edu.cn.

及纤维素分子的高度结晶特性,十分不利于酶的作用。因而,木质纤维原料在酶水解前必须经过预处理,以提高酶对纤维素的可及度,从而提高酶解的效率和得率。木质纤维原料预处理的方法主要有物理法、化学法、生物法和联合预处理法等<sup>[7]</sup>,其中蒸汽爆破预处理方法是近年来研究应用较多的一种方法。本研究以我国丰富的农业废弃物玉米秸秆为原料,研究了蒸汽爆破预处理条件对玉米秸秆的化学组成、物理化学结构特性的影响,以期玉米秸秆转化为乙醇提供一定的理论依据。

## 1 实验

### 1.1 材料和仪器

玉米秸秆,2007年9月份收集于内蒙古呼和浩特市。就地粉碎至颗粒度为5~10 cm,在自然状态下风干至水分小于10%。随后运至南京林业大学生物化工研究所,常温干燥环境条件下贮存,备用。纤维素酶:由里氏木霉(*Trichoderma reesei*) RUTC-30生产制备。仪器:日立HCP-2临界点干燥器、日立E-1010离子溅射仪、飞利浦quanta 200电子显微镜;日本理学D/max-2500型X射线衍射仪;美国Analect REX-65A FTIR。

### 1.2 蒸汽爆破预处理

经粉碎至3~5 cm的玉米秸秆于压力1.2~1.6 MPa、停留时间1~9 min条件下蒸汽爆破预处理。

### 1.3 纤维素酶水解

称取相当于2.0 g绝干玉米秸秆的预处理渣,加入1 mol/L柠檬酸缓冲溶液1 mL,按20 FPIU/g纤维素的用量加入纤维素酶,置于50℃、振幅80的恒温水浴中反应48 h。反应结束后于3 000 r/min下离心10 min,取上清液测定水解糖浓度。纤维素酶水解得率计算公式:

$$Y = (c \times 0.02 \times 0.9) / (m \times W) \times 100\%$$

式中:Y—纤维素酶水解得率,%;c—水解液中葡萄糖和纤维二糖质量浓度,g/L;0.9—纤维素和葡萄糖之间的转换系数;m—原料质量,g;W—原料中纤维素的质量分数,%。

### 1.4 化学组成分析

玉米秸秆原料及蒸汽爆破后的样品化学组成(纤维素、半纤维素和木质素的分析)参照文献[8] NREL法测定。

### 1.5 物理化学结构特性分析

**1.5.1 电镜扫描(SEM)分析** 预处理前后原料进行电子显微镜(SEM)观察,处理步骤:粘台、导电处理。观察预处理后原料表面形貌的变化。

**1.5.2 X射线衍射光谱分析** 预处理前后原料进行X射线衍射分析,Cu靶,石墨单色滤光片,狭缝SS/DS 1°,RS 0.15 mm,管压40 kV,电流200 mA,扫描范围3~40°,扫描速率3(°)/min,步进扫描,步宽0.02°。采用衍射曲线拟合分峰计算来表征纤维素的结晶度变化。

**1.5.3 红外光谱(FT-IR)分析** 预处理前后原料进行红外光谱分析,采用固体KBr压片,检测样品得到FT-IR谱图。

## 2 结果与分析

### 2.1 化学组成分析

玉米秸秆于不同压力(1.2、1.4、1.6 MPa)下维压5 min和1.6 MPa压力下维压不同时间(1、5、9 min)蒸汽爆破处理前后各化学成分分析见表1。从表1可以看出,蒸汽爆破条件不同,处理后各成分的含量变化也不相同。这主要由于木质纤维原料中纤维素、半纤维素和木质素对蒸汽爆破处理的敏感性不一样。蒸汽爆破预处理主要是利用高温高压水蒸气处理纤维原料,并通过瞬间泄压过程实现原料

中纤维素、半纤维素和木质素组分分离和结构变化。在蒸汽爆破过程中,物理和化学的作用使半纤维素水解成单糖和低聚糖,部分木质素溶解而提高了酶对纤维素的可及性,使得原料适合于纤维素酶的作用<sup>[8-9]</sup>。从表1可知,蒸汽爆破预处理后的固体渣中半纤维素的含量减少得最多,同时,也有部分木质素在减少,纤维素的含量也有少量损失。随着蒸汽爆破压力增大、维压时间的延长,纤维素、半纤维素和木质素的含量逐渐降低。纤维素的减少量较半纤维素和木质素少,因而,蒸汽爆破后所得固体渣中纤维素的相对含量有所提高,有利于纤维素酶利用的进行<sup>[10]</sup>。

表1 蒸汽爆破预处理条件对玉米秸秆成分的影响(100 g 绝干原料)

Table 1 Effect of steam explosion conditions on the composition of corn stalk (100 g oven dry matter)

蒸汽爆破条件 steam explosion conditions		固体渣化学组成/g solid residue composition			
爆破压力/MPa steam pressure	维压时间/min retention time	纤维素 cellulose	半纤维素 hemicellulose	酸不溶木质素 acid-insoluble lignin	酸溶木质素 acid-soluble lignin
未处理 untreated		37.17	22.84	17.01	4.54
1.2	5	36.63	5.99	15.40	4.18
1.4	5	35.15	5.34	14.39	3.80
1.6	1	36.55	11.56	15.74	3.54
1.6	5	34.54	4.65	14.05	3.25
1.6	9	34.02	3.33	13.50	3.01

## 2.2 蒸汽爆破条件对纤维素酶水解的影响

对蒸汽爆破后的汽爆料进行水洗,然后进行纤维素酶水解的水解反应,纤维素酶水解反应在0~24 h时得率变化最大,24 h后水解得率变化趋于平缓,主要是因为随着底物浓度的降低、水解产物单糖浓度的增加,产物抑制作用的不断增强及部分纤维素酶在水解过程中的失活,水解的速率逐渐减慢。随着爆破压力的增大和维压时间的延长,纤维素酶水解得率也逐渐增大。由图1可知,维压时间5 min,当蒸汽压力由1.2 MPa升到1.6 MPa时,水解72 h,酶水解得率从60.04%增加至75.76%;蒸汽爆破压力1.6 MPa,维压时间对酶水解得率的影响也是如此,当维压时间从1 min延长至9 min时,酶水解得率从56.29%增加至75.76%。蒸汽压力为1.6 MPa,处理时间9 min后,酶水解48和72 h,水解得率分别达70.03%和75.76%,仅增加了5.73个百分点。继续延长酶解时间,酶水解得率变化不是很大,因此,蒸汽爆破预处理玉米秸秆后,酶水解时间不宜过长,可选48 h为宜。

## 2.3 物理化学结构特性分析

### 2.3.1 电镜扫描分析

蒸汽爆破过程中物料受到化学分解和机械分裂的双重作用,纤维、细胞壁S1和S2层均受到不同程度的破坏。用300倍电镜扫描图片(图2)结果显示,经过蒸汽爆破预处理的玉米秸秆,纤维在胞间层分离,纤维束相互分开松散。纤维的解离分散程度与爆破压力有着密切关系。随着反应条件剧烈程度的提高,其纤维分离程度相应提高,并在纤维上有球形沉淀物形成。在经过蒸汽爆破的纸浆中也发现了类似的球形沉淀物,这可能是木质素在温度高于软化点(130~190℃)时发生结晶的结果。从5000倍电镜扫描图(图2)观察单根纤维,未爆破的玉米秸秆纤维表面很光滑,而爆破处理后的纤维出现不同程度的分丝和细纤维化现象,表面还呈现被撕裂的迹象,且表现出随着爆破处理强度的加大而加剧的现象。

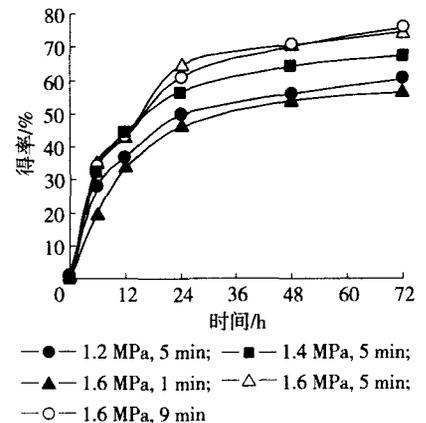
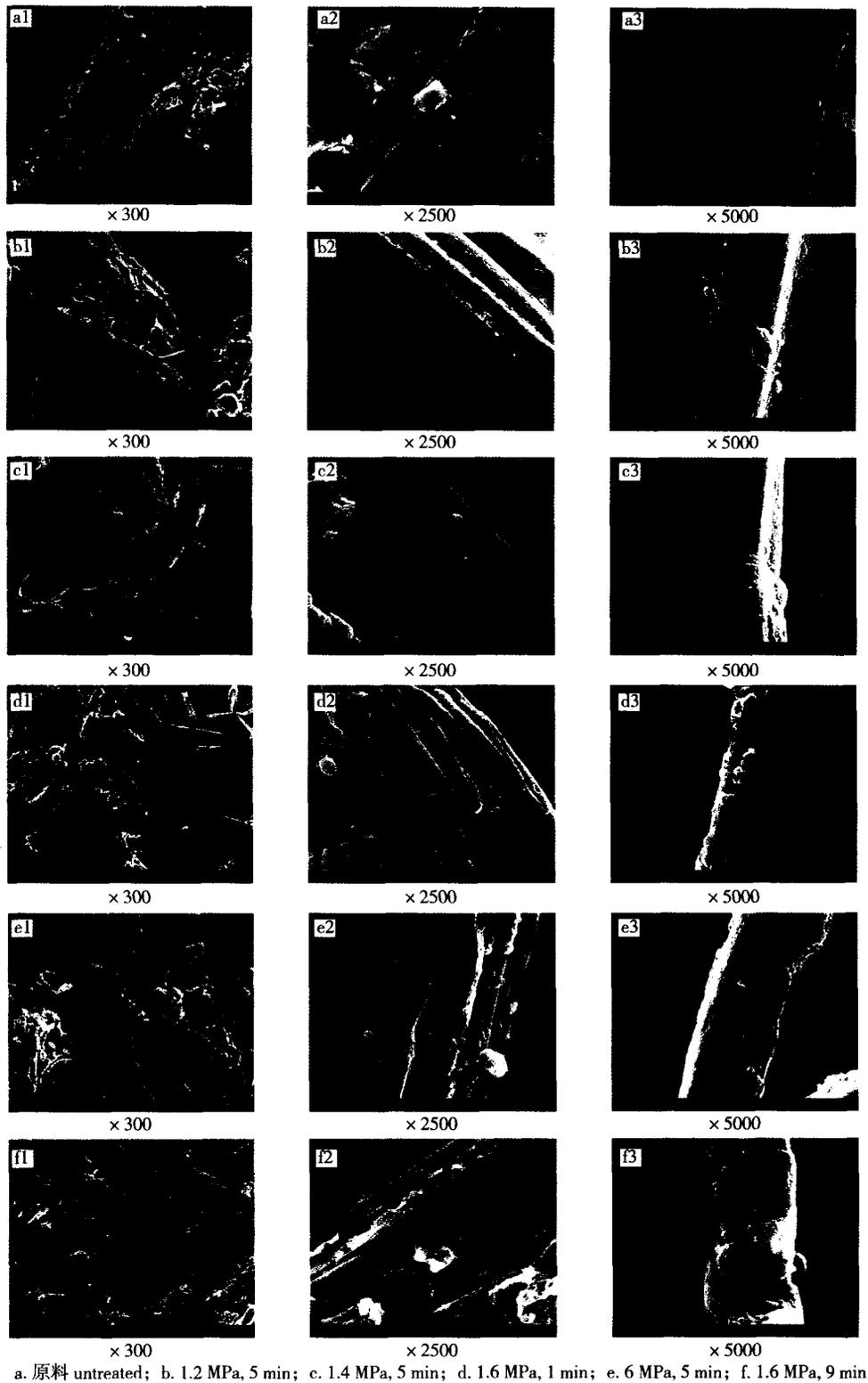


图1 蒸汽爆破条件对纤维素酶水解得率的影响  
Fig. 1 Effect of steam explosion conditions on the enzymatic hydrolysis rate of solid residues



a. 原料 untreated; b. 1.2 MPa, 5 min; c. 1.4 MPa, 5 min; d. 1.6 MPa, 1 min; e. 6 MPa, 5 min; f. 1.6 MPa, 9 min

图2 蒸汽爆破预处理前后玉米秸秆电镜扫描图

Fig.2 Scanning electron micrographs of untreated and steam-explosion pretreated corn stalk

2.3.2 X射线衍射分析 玉米秸秆蒸汽爆破处理前后的X射线衍射图见图3。从图3可以看出,经爆破处理后,玉米秸秆的X射线衍射峰变得突出(更为尖锐),衍射强度有所增强。在 $2\theta$ 衍射角的16和

22°处两个衍射峰没有发生多大变化,但是在27°处产生了新的小衍射峰,这说明在爆破处理过程中有少量结晶生成或结晶重定向<sup>[11]</sup>。

玉米秸秆经过蒸汽爆破处理后的相对结晶度(对已分解的纤维素、无定形纤维素不进行质量校正)与未爆破玉米秸秆相比有所增大,而且随蒸汽爆破压力增大和增压时间的延长,结晶度值有所增加。而绝对结晶度(对已分解部分纤维素进行质量校正)都有所下降,这说明经过蒸汽预蒸煮和激烈的爆破作用,纤维的部分结晶结构遭到破坏,绝对结晶度下降。蒸汽爆破处理时因原料已除去半纤维素和部分无定形纤维素,使得无定型区的比例升高,相对结晶度增加,但绝对结晶度是下降的<sup>[12]</sup>。

蒋建新等<sup>[13]</sup>研究结果均表明,蒸汽爆破处理木质纤维原料会导致相对结晶度升高,绝对结晶度降低。此外,李卫等<sup>[14]</sup>研究表明,纤维素结晶度的改变主要是在一定压力下的蒸汽蒸煮阶段形成的,与爆破发生与否关系不大。

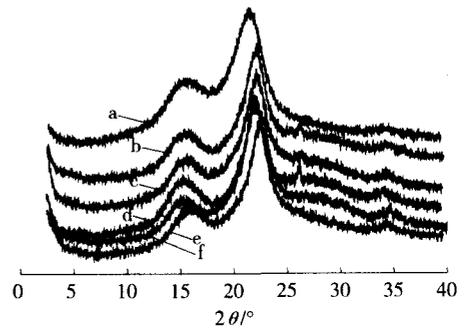
总之,蒸汽爆破预处理使半纤维素和木质素部分降解,且破坏了木质素与半纤维素对纤维素的包裹作用,使纤维素的结晶区受到破坏,原料的孔隙率和内表面积增大,因而更有利于后续纤维素的酶水解作用进行。

**2.3.3 红外光谱分析** 据资料表明<sup>[15]</sup>,在纤维原料的红外光谱中,纤维素的特征峰为2920、1425和1374  $\text{cm}^{-1}$ ;半纤维素木聚糖的特征峰为1730  $\text{cm}^{-1}$ ;1515和1650  $\text{cm}^{-1}$ 的吸收峰则为木质素的特征峰,且半纤维素和木质素在1237  $\text{cm}^{-1}$ 处都有吸收; $\beta$ -D-葡萄糖苷键的特征峰为897  $\text{cm}^{-1}$ 。

由图4可知,原料中1730  $\text{cm}^{-1}$ 处有明显的吸收峰,为羧基基团,爆破处理后几乎全部消失,该基团主要为半纤维素的特征峰,说明大部分半纤维素在高压下发生脱乙酰化作用,半纤维素由于其自身的低聚合度很容易受到破坏而发生降解。木质素的特征峰为1515和1605  $\text{cm}^{-1}$ 处的芳环振动吸收,两吸收峰似乎变化不明显,但从图4可以看出,其相对吸收强度还是有一定减弱,证明木质素分子结构受到了一定破坏。同时,从图4中可以看出,原料在经1.6 MPa、1 min爆破处理后1456  $\text{cm}^{-1}$ 处无吸收峰,其它的条件处理后产生了此吸收峰,此吸收峰为木质素苯环的振动,说明经较强烈的蒸汽爆破预处理后原料中的木质素发生了部分变化。有研究认为<sup>[16]</sup>,当蒸汽压力达到木质素的玻璃化转变温度( $T_g$ )时,木质素的脱除程度最高;当预处理压力保持不变时, $T_g$ 峰值在时间达到2 min时上升,超过2 min后,开始下降;当时间保持不变时, $T_g$ 峰值随着预处理

压力的提高而上升,这种现象被称为木质素的重新聚合,产生新的吸收峰,与前面化学分析结论一致。897  $\text{cm}^{-1}$ 处的吸收为 $\beta$ -D-葡萄糖糖苷键的特征峰,从图4可以看出此吸收值也随着爆破强度的增大有所增强,表明纤维素在爆破处理后结构也发生了相应的变化。

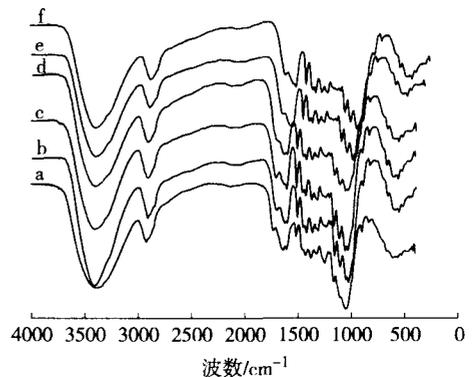
由文献可知,1033  $\text{cm}^{-1}$ 处吸收来自纤维素、半纤维素和木质素产生的C=O伸缩振动。从图4可以



a. 原料 untreated; b. 1.2 MPa, 5 min; c. 1.4 MPa, 5 min; d. 1.6 MPa, 1 min; e. 1.6 MPa, 5 min; f. 1.6 MPa, 9 min

图3 蒸汽爆破预处理前后玉米秸秆 X 射线衍射图

Fig. 3 X-ray diffraction spectra of untreated and steam-explosion pretreated corn stalk



a. 原料 untreated; b. 1.2 MPa, 5 min; c. 1.4 MPa, 5 min; d. 1.6 MPa, 1 min; e. 1.6 MPa, 5 min; f. 1.6 MPa, 9 min

图4 蒸汽爆破预处理前后玉米秸秆红外光谱图

Fig. 4 FT-IR spectra of untreated and steam-explosion pretreated corn stalk

看出,经爆破处理后产生了此吸收峰,可能由于在预处理条件下破坏了半纤维素和木质素的部分基团会重新缩合造成的。

此外,图4也显示,蒸汽爆破后纤维素在 $1160\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收强度也明显减弱,且随着爆破压力的增加和维压时间的延长逐渐减弱,说明C—O—C键有不同程度的断裂。C—O—C键是纤维素超分子链上的主要结合键,它的断裂意味着纤维素分子的聚合度有所降低,这对后续的水解能起到促进作用。

### 3 结论

**3.1** 在蒸汽爆破过程中,由于物理和化学的作用使绝大部分半纤维素发生降解和部分木质素溶解。随着爆破压力的增加和维压时间的延长,得到的物料半纤维素和木质素的含量逐渐降低。

**3.2** 玉米秸秆经蒸汽爆破处理后,纤维素酶水解得率随着蒸汽压力的增大和维压时间的延长而增大;当蒸汽压力为 $1.6\text{ MPa}$ ,时间 $9\text{ min}$ 时,纤维素酶水解 $72\text{ h}$ 后得率最大为 $75.76\%$ 。

**3.3** 玉米秸秆蒸汽爆破处理后利用电镜扫描、X射线衍射和红外光谱等手段对物料的形态结构、物理特性及化学组成的变化进行分析。经蒸汽爆破预处理后,物料的粒度变小、纤维束相互分开松散、纤维比表面积增大、表面孔洞增加;纤维结构的无定型区比例升高、纤维的部分结晶结构破坏、结晶度下降;物料中半纤维素和部分木质素被降解以及纤维素内部氢键的破坏等,有利于增加纤维素酶的可及度,提高纤维素酶水解效率和酶水解得率。

#### 参考文献:

- [1] GRAY K A, ZHAO L, EMPTAGE M. Bioethanol[J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2006(10):141-146.
- [2] 勇强, 徐勇, 宋向阳, 等. 玉米秸秆生物法制取酒精的中间试验[J]. *纤维素科学与技术*, 2006, 14(3):37-41.
- [3] KIM S, DALE B E. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues[J]. *Biomass and Bioenergy*, 2004(26):361-375.
- [4] KADAM K L, MCMILLIAN J D. Availability of corn stover as a sustainable feedstock for bioethanol production[J]. *Bioresource Technology*, 2003(88):17-25.
- [5] 陈尚研, 勇强, 徐勇, 等. 玉米秸秆稀酸预处理的研究[J]. *林产化学与工业*, 2009, 29(2):27-32.
- [6] LEE J. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol[J]. *Journal of Biotechnology*, 1997(56):1-24.
- [7] GALBE M, ZACCHI G. Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production[J]. *Adv Biochemistry Engineering/Biotechnology*, 2007, 108:41-65.
- [8] KIM T H, TAYLOR F, HICKS K B. Bioethanol production from barley hull using SAA(soaking in aqueous ammonia) pretreatment[J]. *Bioresource Technology*, 2008(99):5694-5702.
- [9] SHAHBAZIP A, LI Y B, MIMS M R. Application of sequential aqueous steam treatments to the fractionation of softwood[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2005(121):973-988.
- [10] 黄崇杏, 王双飞, 杨崎峰, 等. 低压蒸汽爆破处理对蔗渣浆化学组分的影响[J]. *造纸科学与技术*, 2005, 24(2):16-18.
- [11] ZHAO H B, KWAK J H, ZHANG Z C. Studying cellulose fiber structure by SEM, XRD, NMR and acid hydrolysis[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2007(68):235-241.
- [12] XU W L, KE G Z, WU J H, et al. Modification of wool fiber using steam explosion[J]. *European Polymer Journal*, 2006(42):2168-2173.
- [13] 蒋建新, 刘圣英, 马雅琦, 等. 蒸汽爆破预处理对沙柳组成及纤维结构性能影响研究[J]. *现代化工*, 2008, 28(增刊):49-53.
- [14] 李卫, 吕福荫, 陆熙娴. 落叶松蒸汽爆破法制浆(SEP)的研究[J]. *中国造纸*, 1996, 15(3):25-27.
- [15] 陈嘉翔, 余家鸾. 植物纤维化学结构的研究方法[M]. 广州:华南理工大学出版社, 1989.
- [16] PAN X J, ZHANG X, GREGG D J, et al. Enhanced enzymatic hydrolysis of steam-exploded Douglas fir wood by alkali-oxygen post-treatment[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2004(113/114/115/116):1103-1114.