

稻草酸水解制还原糖的工艺条件*

李 慧, 郭建平, 尹笃林, 龚 妍

(湖南师范大学化学化工学院, 湖南 长沙, 410081)

摘 要 研究了用稀 H_2SO_4 直接酸解稻草制还原糖的最佳条件, 探讨了酸浓度、酸解温度和酸解时间等因素对还原糖含量的影响。实验表明, 用稀 H_2SO_4 直接酸解稻草省去了预处理步骤, 能获得较大的还原糖收率。采用正交实验法, 以总还原糖浓度为考察指标, 对实验结果进行方差分析, 得出稀 H_2SO_4 酸解稻草的最适宜工艺条件为: 硫酸质量分数 20%, 水解温度 60 $^{\circ}\text{C}$, 水解时间 36 h, 稻草与硫酸量比为 1 : 10, 可获得还原糖浓度为 23.835 g/L。对于稻草水解过程, 认为 4 h 前主要为半纤维素水解, 16~36 h 主要为纤维素水解, 36 h 后水解基本完成。

关键词 稻草, 酸水解, 还原糖, 工艺条件

稻草的研究与开发已得到国内外研究者的广泛重视, 已经成为竞相研究的热点, 如制取燃料乙醇、生物油或开发利用木质素等^[1~5]。国内外对生物质的研究以玉米秸秆为主, 因为其纤维素、半纤维素、淀粉含量较高, 相对其他生物质能够较易转化为生物质燃料。而稻草木质素含量高, 处理后易产生多种抑制物。目前对生物质预处理方法有蒸汽爆破法、微波法、酸法、碱法和酶法等^[6~8], 其中酸法和酶法应用最广。传统的酸预处理法是在高温高压下用超低酸(0.5% H_2SO_4)处理稻草, 酸解半纤维素为还原糖或去除半纤维素减少发酵抑制物的产生, 再用酶法转化还原糖^[9]。酶法所用纤维素酶存在活性低、成本高、回收利用难、生产周期长等问题^[10,11], 目前工艺尚未成熟。本文采用的酸水解法, 旨在改变反应条件, 在常压和较高温度下用稀 H_2SO_4 水解稻草, 省去预处理步骤, 直接将半纤维素和纤维素转化为还原糖, 通过对其含量进行分析和研究, 探索酸水解稻草最适宜工艺条件, 为后续发酵和制取燃料乙醇的研究奠定基础。

1 实验部分

1.1 材 料

稻草, 取自长沙市郊, 洗净, 烘干, 粉碎至 20~40 目备用。

1.2 仪器与试剂

AGILENT8453 紫外可见分光光度计(UV), 安

捷伦科技有限公司; 电子天平, 北京赛多利斯天平有限公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市予华仪器有限公司; SHZ-D(III) 循环水式真空泵, 巩义市予华仪器有限公司。

3,5-二硝基水杨酸(DNS), 酒石酸钾钠, 重蒸苯酚, Na_2SO_3 , NaOH , H_2SO_4 , 葡萄糖。所用试剂均为分析纯。

1.3 实验方法

1.3.1 稀 H_2SO_4 水解稻草实验^[12]

稀 H_2SO_4 水解稻草的主要影响因素为 H_2SO_4 浓度、酸解时间、酸解温度及液固比。分别按相应条件将稻草和稀 H_2SO_4 按一定液固比加入到三颈烧瓶中, 在一定时间和温度下置于水浴磁力搅拌器进行加热酸水解反应, 反应完毕, 冷却、抽滤得水解液。

1.3.2 还原糖浓度测定

DNS 法^[12]。

1.3.3 还原糖含量的计算

用紫外分光光度法测定吸光度, 在葡萄糖标准曲线上分别查出对应的还原糖含量, 计算出样品中还原糖百分含量。

$$\text{还原糖}/\% = \frac{\text{查得的还原糖量} \times \text{稀释倍数}}{\text{酸解稻草质量}} \times 0.9 \times 100$$

$$\text{还原糖浓度}/\text{g} \cdot \text{L}^{-1} = \frac{\text{查得的还原糖量} \times \text{稀释倍数}}{\text{酸解液体积}}$$

2 结果讨论

2.1 葡萄糖溶液标准曲线

用 UV 测定一系列不同含量的葡萄糖标准溶液的吸光度, 将所得吸光度(Y)对葡萄糖浓度(X)作图, 结果见图 1。其标准曲线方程为: $Y = 0.5225X -$

第一作者: 硕士研究生(郭建平教授为通讯作者)。

* 国家自然科学基金资助(20572021), 湖南省教育厅科研项目资助(07C0131)

收稿日期: 2008-07-30, 改回日期: 2008-11-14

0.028 88, $R^2=0.999\ 0$ 。

2.2 硫酸水解稻草研究

2.2.1 水解时间对还原糖含量的影响

在 60 ℃ 下,分别用质量分数(下同)10%和 20% H_2SO_4 水解 1g 稻草,考察水解时间对水解液中还原糖含量的影响,实验结果如图 1 所示。

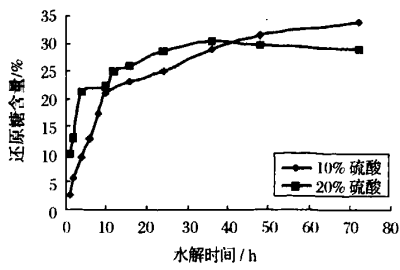


图 1 还原糖含量随酸水解时间的变化

从图 1 可见,采用 10% H_2SO_4 水解时,总的还原糖含量随水解时间的延长不断增加。用 20% H_2SO_4 水解,在 36 h 有最大值 30.41%,之后还原糖含量呈下降趋势,其原因可能是在 H_2SO_4 浓度和还原糖浓度较高时,糖类化合物会发生复合和分解反应,戊糖和己糖降解分别产生糠醛、羟甲基糠醛和酚类等化合物^[13,14]。10% H_2SO_4 水解 72 h 还原糖含量为 33.81%,加热时间增加 1 倍仅有 3.40% 还原糖含量增加。因此正交实验选取 24、36、48h 3 个水平。

2.2.2 H_2SO_4 质量分数对还原糖含量的影响

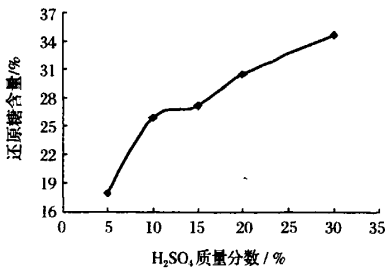


图 2 还原糖含量随 H_2SO_4 浓度的变化

在 60 ℃ 下,用不同质量分数 H_2SO_4 水解 1g 稻草 36 h,所得的水解液中还原糖含量与 H_2SO_4 质量分数的关系如图 2 所示。

从图 2 可知,随 H_2SO_4 质量分数的增加,还原糖含量不断增加。当 H_2SO_4 质量分数 20% 时,还原糖含量为 30.41%, H_2SO_4 质量分数继续增加至 30% 时,还原糖含量达到 34.62%。在实验中发现,用 30% H_2SO_4 水解 24 h 后,酸水解液的颜色逐渐加深,发生稻草液棕色化反应^[9],酸的质量分数太高,对设备腐蚀严重。综合考虑各因素,正交实验选取浓度 15%、20%、25% H_2SO_4 3 个水平。

2.2.3 水解温度对还原糖含量的影响

不同温度下用 20% H_2SO_4 水解 1g 稻草 36 h,考察水解温度对还原糖含量的影响(图 3)。

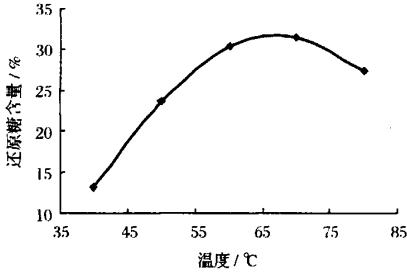


图 3 还原糖含量随水解温度的变化

由图 3 可知,随着水解温度的增加,化学反应速率加快,还原糖含量先是快速上升,60 ℃ 时,还原糖含量为 30.41%,当温度升高至 70 ℃ 时,达最大值 31.56%,之后略有下降。加热温度为 70 ℃ 时,随着加热时间的延长出现较明显的稻草酸水解液棕色化反应,对后续发酵的菌种有害。因此正交实验选取酸水解温度的 3 个水平为 50、60、70℃。

2.2.4 稻草与稀硫酸量比值对还原糖含量的影响

取不同质量的稻草,在 60℃ 温度下用 70 mL 20% H_2SO_4 水解 36 h,分别采用不同的质量体积比(下同)考察稻草与稀硫酸的最适宜配比。实验结果如下表 2 所示。

表 1 稻草与稀硫酸量比值对还原糖含量的影响

稻草(g):稀 H_2SO_4 (mL)	1:70	2:70	3:70	4:70	5:70	6:70	7:70	8:70
还原糖量/mg	304.190	540.755	802.128	938.511	996.318	1 440.684	1 668.438	1 538.853
还原糖浓度/ $g \cdot L^{-1}$	4.346	7.725	11.459	13.407	14.233	20.581	23.835	21.984

由表 1 可知,随着稻草量的增加,还原糖含量增加。当取稻草 7 g,稻草与稀 H_2SO_4 比值为 1:10 时,还原糖含量为 1.67 g,还原糖浓度为 23.835 g/

L。实验中发现,若采用过高的稻草用量,稻草在稀硫酸中难以均匀混合,对水解不利,因此本研究认为稻草与稀 H_2SO_4 采取 6:70、7:70 和 8:70 较为合

理。

2.3 H₂SO₄ 催化水解稻草的正交实验

对单因素结果进行分析,采用 L₉(3⁴)型正交表进行酸解实验的优化设计,结果与分析如表 2。

表 2 稻草水解正交实验及结果分析

实验号	(A)时间 / h	(B)浓度 / %	(C)温度 / ℃	(D)固液比 (g:mL)	还原糖含量 / %	还原糖总浓度 / g · L ⁻¹
1	24	15	50	6:70	9.689	8.074
2	24	20	60	7:70	25.576	22.921
3	24	25	70	8:70	14.165	15.739
4	36	15	60	8:70	18.786	18.264
5	36	20	70	6:70	14.646	16.273
6	36	25	50	7:70	16.649	13.874
7	48	15	70	7:70	16.008	17.787
8	48	20	50	8:70	17.096	14.247
9	48	25	60	6:70	15.437	15.008
K ₁	46.734	44.125	36.195	39.355		
K ₂	48.411	53.441	56.193	54.582		
K ₃	47.042	44.621	49.799	48.25		
k ₁	15.578	14.708	12.065	13.118		
k ₂	16.137	17.814	18.731	18.194		
k ₃	15.681	14.874	16.600	16.083		
R	0.559	3.105	6.666	5.076		

从表 2 的极差 R 大小可以看出,对酸解稻草制 还原糖影响的因素大小依次为 C>D>B>A,即反应

温度>固液比>硫酸浓度>反应时间。

表 3 方差分析表

方差来源	离差平方和(SS)	自由度 df	均方 MS	F	临界值	显著性
时间	0.531 262	2	0.265 631			
浓度	18.314 030	2	9.157 015	34.472 719	F _{0.01} =99	*
温度	69.541 340	2	34.770 670	130.898 50	F _{0.05} =19	**
固液比	39.008 531	2	19.504 265	73.426 226	F _{0.1} =9	*
误差	0.531 261 6	2	0.265 630 8			
总变异	142.187	8				

从表 3 可以看出,反应温度对实验结果影响极其显著,固液比和 H₂SO₄ 质量分数对反应影响显著,反应时间对实验结果影响不显著,与直观分析的结果一致。

正交实验判定最佳酸解条件为 A₂B₂C₂D₂,即采用 H₂SO₄ 质量分数为 20% H₂SO₄ 反应温度为 60℃、稻草与硫酸的固液比为 7:70、酸解时间为 36 h,与之前单因素试验得出的结论一致,最大还原糖浓度为 23.835 g/L。在此条件下,得到的还原糖收率为 30.41%。由正交试验可见,在硫酸体积一定时,酸解 1 g 稻草比酸解 7g 稻草更充分,得到的还原糖收率大得多,但随着稻草克数的增加,总还原糖浓度上升较大。

2.4 稻草酸水解失重分析

准确称取 2.2.1 中用 20% H₂SO₄ 水解之后的稻

草残渣,将残渣质量与水解时间作图,得稻草酸水解失重曲线(见图 4)。

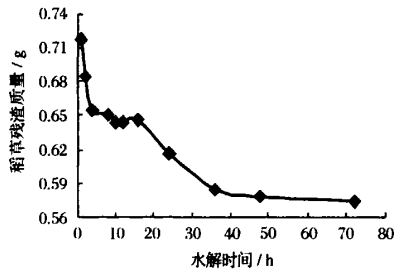


图 4 稻草酸水解残渣质量随水解时间的变化
酸水解后稻草残渣的成分主要为未分解完的纤维素、木质素和其他组分^[9],36 h 后残渣质量基本不变,可认为在此条件下水解已基本结束。稻草酸水解失重分析见表 4。

表4 稻草酸解阶段分析

酸解时间/h	1~4	4~16	16~36	36~72
还原糖增量/%	9.99~21.31	21.31~26.05	26.05~30.41	30.41~28.99
水解期	加速期	缓和期	后加速期	结束期
水解成分	半纤维素	半纤维素+纤维素	纤维素水解	水解结束

3 结 论

在常压下用稀 H_2SO_4 直接水解稻草,采用 DNS 法对稻草酸解液中的还原糖含量进行了测定。采用正交实验法,以总还原糖浓度和还原糖收率为考察指标,对 H_2SO_4 水解稻草制还原糖工艺条件进行直观分析和方差分析得出最佳工艺条件,最适宜工艺条件为 $\text{A}_2\text{B}_2\text{C}_2\text{D}_2$,即 H_2SO_4 质量分数 20%,水解温度 60℃,酸水解时间 36 h,固液比 1:10,在此条件下得到稻草酸解液有最大还原糖浓度 23.835 g/L。随着稀 H_2SO_4 中稻草用量的增加,还原糖总含量增加,但每克稻草的还原糖收率降低较多,由最大 30.410%降低至 25.576%。由稻草失重曲线分析,认为 4 h 前主要为半纤维素水解,16 h 至 36 h 主要为纤维素水解,36 h 后水解基本完成。

参 考 文 献

- Narendra Reddy, Yang Y Q. Properties of High-quality long natural cellulose fibers from rice straw[J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54: 8 077~8 081
- Sun X F, Sun R C, Paul Fowler, et al. Extraction and characterization of original lignin and hemicelluloses from wheat straw [J]. *Agricultural and Food Chemistry*. 2005, 53: 860~870
- Lu Yulin, Nathan S M. Biomimetic catalysis for hemicellulose hydrolysis in corn stover[J]. *Biotechnol. Prog.* 2007, 23, 116~123
- 钱名字,张 晶,刘继开,等. 木质纤维素稀酸水解液乙醇发酵的新方法[J]. *太阳能学报*, 2006, 27(6): 618~622
- 李言郡,刘小杰,陈启和. 利用稻草粉酶解产乙醇的初步研究[J]. *中国酿造*, 2006(9): 16~18
- Chen H Z Wang H, Zhang A J, et al. Biogasification of steam-exploded wheat straw by a two-phased digestion system[J]. *Transactions of the CSAE*, 2005, 21 (11): 116~120
- Michael E Himmel, Shi-You Ding, David K Johnson, et al. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production[J]. *Science*, 2007, 15, 804~807
- 鲁 杰,石淑兰,邢效功,等. NaOH 预处理对植物纤维素酶解特性的影响[J]. *纤维素科学与技术*, 2004, 12(1): 1~6
- 陈洪章. 秸秆资源生态高值化理论与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006. 52~62
- 罗 鹏,刘 忠. 木质生物资源的水解[J]. *生物质化学工程*, 2006, 26(2): 99~104
- 余志晟,张洪勋. 纤维素热解液发酵制乙醇[J]. *过程工程学报*, 2002, 6(2): 553~557
- 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术[M]. 北京: 科学出版社, 2002
- Palmqvist E, Hahn Hagerdal B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates: II. Inhibitors and mechanisms of inhibition[J]. *Bioresource Technology*, 2000, 74: 25~33
- 林 贝,赵心清,葛旭萌. 玉米秸秆酸解副产物对重组酿酒酵母 6508-127 发酵的影响[J]. *中国生物工程杂志*, 2007, 27(7): 61~67

Study on Process of Reducing Sugar by Acid Hydrolysis of Rice Straw

Li Hui, Guo Jianping, Yin Dulin, Gong Yan

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

ABSTRACT The experiments of catalytic hydrolysis of rice straw by dilute sulfuric acid were performed. The influences of dilute sulfuric acid mass fraction, reaction temperature, reaction time on hydrolysis were discussed. The result showed that rice straw directly treated by dilute sulfuric acid can save the pretreatment step, and obtain good yield of reducing sugar. With the orthogonal test and the variance analysis of the experimental, the optimum reaction conditions were: dilute sulfuric acid mass fraction 20%, reaction temperature 60℃, reaction time 36 h, the ratio of solid to liquid (W/V) was 1:10, the concentration of reducing sugar can reach 23.835 g/L. For the total progress, we believed that the hemicellulose acid hydrolysis was happened at the first 4 h, cellulose acid hydrolysis was between 16 h and 36 h, the whole progress was finished after 36 h.

Key words rice straw, acid hydrolysis, reducing sugar, progress conditions