

稻秆盐酸预处理产还原糖的工艺优化

崔茂金, 黄明贤, 邓月娥

(河南科技学院化学化工学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 为了提高稻秆的糖化率, 采用正交实验和响应曲面法优化稻秆盐酸(HCl)预处理条件。首先通过正交实验研究了预处理温度、HCl 浓度、预处理时间和稻秆浓度四个因素对总还原糖的影响; 然后在正交实验的基础上采用 Box-Behnken 设计对 HCl 预处理条件进行进一步优化。研究结果表明: HCl 预处理条件主次因素为预处理温度、预处理时间、HCl 浓度和稻秆浓度; 稻秆 HCl 预处理最佳条件是预处理温度 133.80 °C、HCl 浓度 7.28% (W/V) 和预处理时间 51.12 min, 此时总还原糖量为 549.42 mg·g⁻¹, 是未预处理稻秆总还原糖浓度的 6.01 倍, 这说明 HCl 预处理对于提高稻秆的糖化率是有必要的。

关键词: 稻秆; HCl 预处理; 总还原糖; 正交实验; Box-Behnken 设计

中图分类号: X712 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2014)03-0613-04 doi:10.11654/jaes.2014.03.031

Optimization of Conditions for Producing Reducing Sugar from Rice Straw Pretreated with Hydrochloric Acid

CUI Mao-jin, HUANG Ming-xian, DENG Yue-e

(Department of Chemistry and Chemical Engineering, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

Abstract: Producing bioenergy from agricultural wastes (e.g. rice straw) is a way to kill two birds with one stone by recycling agricultural wastes and obtaining new energy. To improve saccharification efficiency of rice straw, orthogonal design and response surface methodology were used to optimize temperature, time and concentration of hydrochloric acid (HCl) pretreatment and rice straw rates. Box-Behnken design was then employed to further optimize the HCl pretreatment conditions. The factors influencing production of total reducing sugar were in order of temperature>HCl concentration>time>rice straw rates. The optimal conditions for HCl pretreatment of rice straw were temperature of 133.80 °C, HCl concentration of 7.28% (W/V) and time of 51.12 min. The maximum concentration of total reducing sugar was 549.42 mg·g⁻¹ under the optimal conditions, which was 6.01 times of that from raw materials. The results indicate that HCl pretreatment is necessary for higher saccharification of rice straw.

Keywords: rice straw; HCl pretreatment; total reducing sugar; orthogonal design; Box-Behnken design

目前, 能源危机已经全面影响到经济的发展和人类生产生活, 为应对此危机, 寻找并开发高效、清洁、可再生的新能源成为关注的焦点。生物质能源是以生物质为载体, 通过光合作用将太阳能贮存起来的能源。生物质具有资源丰富、来源广泛、可再生等优点, 发展生物质能源对于缓解能源危机、保护环境以及国家能源安全等方面都有着极其重要的意义。农业中的废弃物如稻秆、麦秆、棉秆等都可以作为生物质能源开发的原料来源。我国是农业大国, 农作物秸秆资源丰富, 其中稻秆年产量为 $6.50 \times 10^8 \sim 9.75 \times 10^8$ t^[1]。因此寻找一种有效的方法将稻秆糖化, 通过发酵工艺转化为清洁能源, 可以达到变废为宝的目的, 取得一举两

得的效果。

木质纤维素结构特点决定了其转化利用必须经过预处理、酶解和发酵三个过程。木质纤维素类生物质结构复杂、性质稳定, 很难被酶或者微生物直接降解, 因此在酶解或者发酵前必须对其进行预处理^[2]。预处理可以改变木质纤维素类生物质的理化结构、降低结晶度、增加孔隙率、提高酶与之接触比表面积, 从而提高酶解效率^[3]。木质纤维素类生物质中糖含量较低, 预处理还可以将部分的半纤维素和纤维素转化为可溶性的糖, 木质纤维素的预处理可通过物理法、化学法、物理化学法或者生物法等来实现^[4-5]。文献报道的常见的预处理方法有: 酸预处理、碱预处理、蒸汽爆破、生物预处理等方法^[6-14]。稻秆中半纤维素(24.09%)和纤维素(35.89%)的含量较高, 木质素(5.28%)的含量较低, 是产清洁能源的很好的原料^[1]。合理的利用稻

收稿日期: 2013-09-24

作者简介: 崔茂金(1980—), 男, 山东人, 博士, 讲师, 研究方向为农林生物质资源化。E-mail: cuimaolin@163.com

秆生产清洁能源作为化石能源的替代品,已经受到人们的广泛关注,符合人类可持续发展的理念,有广阔的应用前景。

本实验利用稀 HCl 对稻秆预处理条件进行优化。首先用四因素三水平正交实验研究了预处理温度、HCl 浓度、预处理时间和稻秆浓度对总还原糖量的影响。然后在正交实验的基础上,通过 Box-Behnken 设计对预处理条件进一步优化。本研究为稻秆在新能源方面的开发应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

稻秆取自河南省新乡市延津县大佛村,自然晾干,粉碎后过 20 目筛,然后放在干燥箱中 100 ℃下干燥至恒重,备用。稻秆中灰分含量为 13.93%。

1.2 实验步骤

分别称取粉碎干燥后的不同质量的稻秆于圆底烧瓶(上接冷凝装置)中,加入 20 mL 不同浓度的 HCl,在恒温搅拌油浴锅中不同的温度下放置不同的时间,搅拌速度为 300 r·min⁻¹,冷却后取上清液稀释一定的倍数测总还原糖的吸光度。实验数据均为平行测定三次后的平均值。预处理前后水稻秸秆中总还原糖的测定采用苯酚-浓硫酸法^[15]。

1.3 实验设计

1.3.1 正交实验

以预处理温度、HCl 浓度、预处理时间和稻秆浓度为四个因素,每个因素选取三个水平,设计了四因素三水平 L₉(3⁴)正交表,如表 1 所示。

表 1 HCl 预处理正交实验因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	预处理温度/℃	HCl 浓度(W/V)/%	预处理时间/min	稻秆浓度/g·L ⁻¹
1	120	4	12	5.0
2	140	6	36	7.5
3	160	8	60	10.0

1.3.2 响应曲面法

在正交实验的基础上,以预处理温度、HCl 浓度和预处理时间为三个因素,每个因素选取三个水平,以(-1,0,1)编码,进行 Box-Behnken 设计,如表 2 所示。

2 结果与讨论

2.1 正交实验

未处理的稻秆中总还原糖的浓度为 91.42 mg·g⁻¹。四因素三水平 L₉(3⁴)正交实验设计及实验结果如表 3

表 2 Box-Behnken 设计因素与水平

Table 2 Factors and levels of Box-Behnken design

因素	水平		
	-1	0	1
预处理温度 X ₁ /℃	120	140	160
HCl 浓度(W/V)X ₂ /%	2	6	10
预处理时间 X ₃ /min	12	36	60

所示。从表 3 可以看出,在预处理温度为 160 ℃、HCl 浓度为 8%、预处理时间为 36 min 和稻秆浓度为 5.0 g·L⁻¹ 时总还原糖浓度最大为 522.71 mg·g⁻¹。通过极差分析可以得出,四个因素对总还原糖浓度影响的主次顺序为预处理温度>预处理时间>HCl 浓度>稻秆浓度。

表 3 L₉(3⁴)正交实验设计及结果

Table 3 Experimental results of L₉(3⁴) orthogonal design

实验号	预处理温度/℃	HCl 浓度(W/V)/%	预处理时间/g·L ⁻¹	稻秆浓度/g·L ⁻¹	总还原糖浓度/mg·g ⁻¹
1	120	4	12	5.0	389.29
2	120	6	36	7.5	428.52
3	120	8	60	10.0	423.93
4	140	4	36	10.0	427.68
5	140	6	60	5.0	439.61
6	140	8	12	7.5	429.93
7	160	4	60	7.5	446.63
8	160	6	12	10.0	426.97
9	160	8	36	5.0	522.71
k ₁	413.91	421.20	415.40	450.54	
k ₂	432.41	431.70	459.64	435.03	
k ₃	465.44	458.86	436.72	426.19	
极差	51.53	37.66	44.24	24.35	
主次因素	预处理温度>预处理时间>HCl 浓度>稻秆浓度				

2.2 响应曲面实验

稻秆 HCl 预处理三因素三水平的 Box-Behnken 实验设计及结果如表 4 所示。从表 4 可以看出,17 组实验分为析因点和零点,12 组是析因实验,5 组是中心实验,中心实验重复 5 次,以估计实验误差。以总还原糖浓度为响应值,通过统计软件 Design-Expert 对表 4 进行回归拟合后得到回归方程:

TRS=423.70+13.68X₁+24.51X₂+18.62X₃+22.85X₁X₂-12.54X₁X₃-14.71X₂X₃+20.93X₁²-12.58X₂²-14.15X₃² (1)
式中:TRS 为总还原糖浓度,mg·g⁻¹;X₁ 为预处理温度,℃;X₂ 为 HCl 浓度(W/V),%;X₃ 为预处理时间,min。

当某一因素固定时,任意其他两个因素对总还原糖浓度影响的响应面如图 1~图 3 所示。从图 1~图 3 可以看出,当某一因素固定时,随着其他两个因素的

表 4 Box-Behnken 实验设计及结果
Table 4 Experimental results of Box-Behnken design

序号	X_1	X_2	X_3	TRS/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$
1	1	1	0	516.82
2	0	1	-1	423.99
3	0	0	0	431.78
4	-1	-1	0	410.99
5	0	0	0	433.28
6	0	1	1	425.40
7	1	-1	0	410.52
8	0	-1	-1	357.14
9	0	0	0	430.98
10	-1	1	0	425.87
11	0	0	0	433.78
12	1	0	-1	434.93
13	1	0	1	453.51
14	-1	0	-1	400.36
15	0	0	0	433.67
16	-1	0	1	469.11
17	0	-1	1	417.37

增加,总还原糖浓度先逐渐增加,然后有所降低,这是因为过高的预处理条件导致还原糖被降解为 HMF 等副产物^[16]。各实验因子对响应值的影响不是简单的线性关系,可以利用回归方程确定最佳预处理条件。

对回归方程(1)求一阶偏导数得:

$X_1=-0.31 \quad X_2=0.32 \quad X_3=0.63$

通过回归方程求得的编码值均在实验所选的条件范围内,从而求得稻秆的最佳盐酸预处理工艺条件为: $T=133.80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $[\text{HCl}]=7.28\%$ 、 $t=51.12\text{ min}$,此时总还原糖量为 $549.42\text{ m} \cdot \text{g}^{-1}$,是未预处理的稻秆总还原糖浓度的 6.01 倍,这说明 HCl 预处理对于提高稻秆的糖化率是有必要的。

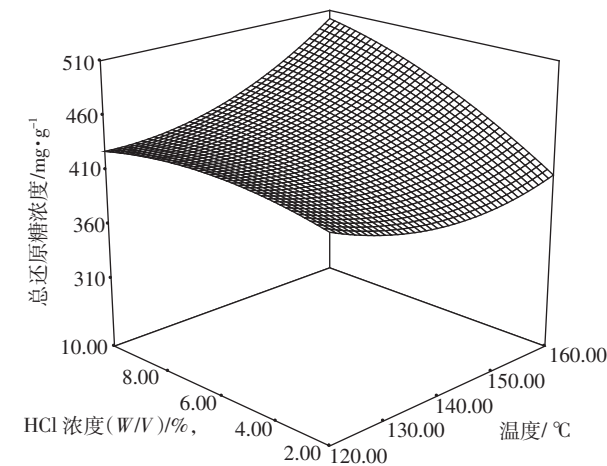


图 1 温度和 HCl 浓度对总还原糖浓度的影响
Figure 1 Effects of temperature and HCl concentrations on total reducing sugar yields

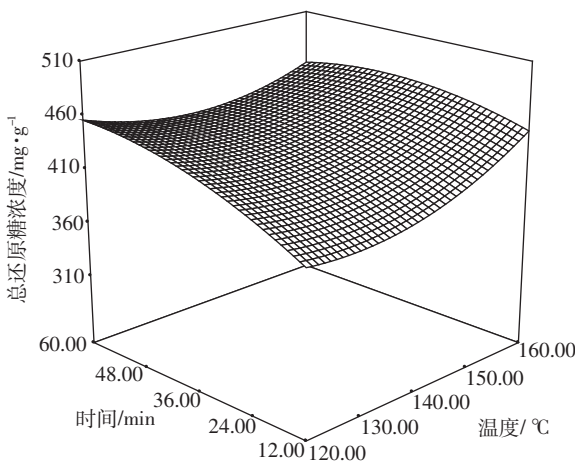


图 2 温度和时间对总还原糖浓度的影响
Figure 2 Effects of temperature and time on total reducing sugar yields

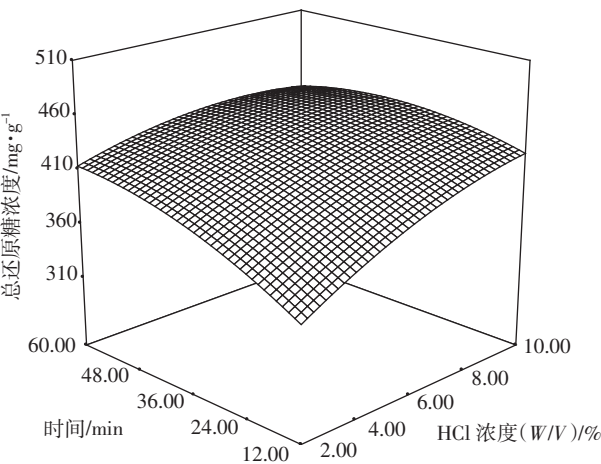


图 3 HCl 浓度和时间对总还原糖浓度的影响
Figure 3 Effects of HCl concentrations and time on total reducing sugar yields

表 5 回归分析结果
Table 5 ANOVA results

方差来源	自由度	平方和	均差	F 值	P 值	显著度
模型	9	15 852.86	1 761.43	12.38	0.001 6	极显著
X_1	1	1 497.41	1 497.41	10.52	0.014 2	显著
X_2	1	4 804.94	4 804.94	33.77	0.000 7	极显著
X_3	1	2 774.01	2 774.01	19.50	0.003 1	极显著
X_1X_2	1	2 089.40	2 089.40	14.69	0.006 4	极显著
X_1X_3	1	629.26	629.26	4.42	0.073 5	不显著
X_2X_3	1	864.95	864.95	6.08	0.043 1	显著
X_1^2	1	1 844.00	1 844.00	12.96	0.008 7	极显著
X_2^2	1	665.84	665.84	4.68	0.067 3	不显著
X_3^2	1	842.77	842.77	5.92	0.045 2	显著
残差	7	995.92	142.27			
总和	16	16 848.77				

注: $P<0.05$ 为显著, $P<0.01$ 为极显著。

回归分析结果如表5所示。从表5可以看出,回归方程(1)描述各因子与响应值之间的关系时,因变量和全体自变量之间的线性关系显著($r=15\ 852.86/16\ 848.77=0.94$)。 $r=0.94$,说明响应值(总还原糖的浓度)有94%来源于所选的变量,即预处理温度、HCl浓度和预处理时间。回归方程各变量对响应值影响的显著性由 P 值来判断, P 值越小,说明相应变量的显著程度越高^[17]。从表5可以看出,一次项 X_2 、 X_3 ($P<0.01$)影响极显著,一次项 X_1 ($P<0.05$)影响显著;交互项 X_1X_2 ($P<0.01$)影响极显著, X_1X_3 影响不显著($P>0.05$), X_2X_3 影响显著($P<0.05$);二次项 X_1^2 ($P<0.01$)影响极显著, X_2^2 影响不显著($P>0.05$), X_3^2 影响显著($P<0.05$)。

3 结论

通过正交实验和响应曲面法研究了稻秆HCl预处理产还原糖的最佳条件,得出如下结论:

(1)影响稻秆HCl预处理四个因素的主次顺序为预处理温度、预处理时间、HCl浓度和稻秆浓度。

(2)稻秆HCl预处理的最佳预处理工艺条件是预处理温度133.80℃、HCl浓度7.28%和预处理时间51.12 min,此时总还原糖量为549.42 mg·g⁻¹,是未预处理的稻秆总还原糖浓度的6.01倍,这说明HCl预处理对于提高稻秆的糖化率是有必要的。

参考文献:

- [1] 段晓健,居学海,张长波,等.酸碱结合预处理对水稻秸秆纤维素乙醇转化率的影响[J].化学与生物工程,2013,30(2):83-86.
DUAN Xiao-jian, JU Xue-hai, ZHANG Chang-bo, et al. Effect of pre-treatment of alkali combined with acid on ethanol conversion rate of cellulose from rice straw[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2013, 30(2): 83-86.
- [2] 崔美,黄仁亮,苏荣欣,等.木质纤维素新型预处理与顽抗特性[J].化工学报,2012,63(3):677-687.
CUI Mei, HUANG Ren-liang, SU Rong-xin, et al. An overview on lignocellulose pretreatment and recalcitrant characteristics[J]. *CIESC Journal*, 2012, 63(3): 677-687.
- [3] 段超,冯文英,张艳玲.木质生物质精炼预处理技术研究进展[J].中国造纸,2013,32(1):59-64.
DUAN Chao, FENG Wen-ying, ZHANG Yan-ling. Research progress in pretreatment technologies for woody biomass biorefinery[J]. *China Pulp & Paper*, 2013, 32(1): 59-64.
- [4] 赵律,李志光,李辉勇,等.木质纤维素预处理技术研究进展[J].化学与生物工程,2007,24(5):5-8.
ZHAO Lü, LI Zhi-guang, LI Hui-yong, et al. Research progress on pre-treatment technologies of lignocellulose[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2007, 24(5): 5-8.
- [5] 张元晶,魏刚,张小冬,等.木质纤维素生物质预处理技术研究现

- 状[J].中国农学通报,2012,28(11):272-277.
ZHANG Yuan-jing, WEI Gang, ZHANG Xiao-dong, et al. Status in pre-treatment technologies of lignocellulosic biomass[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(11): 272-277.
- [6] 王永忠,冉尧,陈蓉,等.不同预处理方法对稻草秸秆固态酶解特性的影响[J].农业工程学报,2013,29(1):225-231.
WANG Yong-zhong, RAN Rao, CHEN Rong, et al. Effects of different pretreatment methods on enzymolysis characteristics of rice straw in solid state[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2013, 29(1): 225-231.
- [7] CUI Mao-jin, YUAN Zhu-liang, ZHI Xiao-hua, et al. Optimiazation of biohydrogen production from beer lees using anaerobic mixed bacteria[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2009, 34(19): 7971-7978.
- [8] CUI Mao-jin, SHEN Jian-quan. Effects of acid and alkaline pretreatments on the biohydrogen production from grass by anaerobic dark fermentation[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2012, 37(1): 1120-1124.
- [9] 闫志英,姚梦吟,李旭东,等.稀硫酸预处理玉米秸秆条件的优化研究[J].可再生能源,2012,30(7):104-110.
YAN Zhi-ying, YAO Meng-yin, LI Xu-dong, et al. Optimization study on dilute sulphuric acid pretreatment of corn straw[J]. *Renewable Energy Resource*, 2012, 30(7): 104-110.
- [10] 马兴元,马君,刘琪.小麦秸秆的氨化厌氧发酵工艺及其影响因素[J].农业环境科学学报,2012,31(11):2265-2271.
MA Xing-yuan, MA Jun, LIU Qi. Process and influence factors of ammoniation anaerobic fermentation with wheat straw[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(11): 2265-2271.
- [11] 杨懂艳,李秀金,庞云芝,等.氨化预处理参数对麦秆厌氧消化产气性能的影响[J].农业环境科学学报,2013,32(1):185-190.
YANG Dong-yan, LI Xiu-jin, PANG Yun-zhi, et al. Research of ammonia pretreatment parameters on biogasification efficiency of wheat straw[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(1): 185-190.
- [12] Öhgren K, Bura R, Saddler J, et al. Effect of hemicellulose and lignin removal on enzymatic hydrolysis of steam pretreated corn stover[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98: 2503-2510.
- [13] Dashbani M, Schraft H, Qin W S. Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities & perspectives[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2009, 5(6): 578-595.
- [14] Singh P S A, Tiwari P, Arya N, et al. Biological pretreatment of sugar-cane trash for its conversion to fermentable sugars[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2008, 24(5): 667-673.
- [15] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Anal Chem*, 1956, 28: 350-356.
- [16] Thomsen A B, Thygesen A, Bohn V, et al. Effects of chemical-physical pre-treatment processes on hemp fibres for reinforcement of composites and for textiles[J]. *Industrial Crops and Products*, 2006, 24(2), 113-118.
- [17] 钱俊青,周文武,匡春兰.响应曲面法优化丁酸缩水甘油酯的酶法拆分工艺[J].生物工程学报,2008,24(6):1062-1067.
QIAN Jun-qing, ZHOU Wen-wu, KUANG Chun-lan. Optimization of enzymatic resolution technique of glycidyl butyrate via response surface methodology[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2008, 24(6): 1062-1067.