



引用格式:宋丽丽,张志平,王光路,等.不同预处理方法对烟杆酶解产糖和结构特征的影响[J].轻工学报,2019,34(3):52-59.

中图分类号:TS49;TK6 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2019.03.006

文章编号:2096-1553(2019)03-0052-08

不同预处理方法 对烟杆酶解产糖和结构特征的影响

Effect of different pretreatment methods to the enzymatic hydrolysis and structural characteristic of tobacco stalks

宋丽丽,张志平,王光路,杨旭,张靖楠

SONG Lili, ZHANG Zhiping, WANG Guanglu, YANG Xu, ZHANG Jingnan

郑州轻工业大学 食品与生物工程学院/烟草工业生物技术重点实验室,
河南 郑州 450001

College of Food and Biological Engineering /Key Laboratory of Biotechnology in Tobacco Industry, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China

摘要:以烟草加工副产物烟杆为原料,将酸处理、碱处理和微波处理对烟杆酶解产糖的影响进行比较,并分析处理前后烟杆组分和微观结构的变化.结果表明,3种预处理方法中,碱处理对烟杆转化效率提升的作用较为显著,以质量分数为1%的NaOH溶液于75℃处理烟杆120min,每g烟杆酶解液中葡萄糖质量为334.69mg,较对照样品提高了118.37%.组分分析表明,碱处理对烟杆木质素的降解较为明显,降解率为46.45%.碱处理不仅破坏了烟杆木质素苯环骨架,还对苯环侧链基团进行了改性,造成木质素大分子结构解体,烟杆酶解抗性屏障作用降低,从而提高了烟杆的转化效率.碱处理并未改变烟杆纤维素结晶度,而微波处理和酸处理导致的结晶度升高反而会提升烟杆酶解效率产生负面影响.

关键词:

烟杆;酶解产糖;预处理;结构特征

Key words:

tobacco stalk;
enzymatic hydrolysis;
pretreatment; structural characteristic

收稿日期:2018-10-15

基金项目:国家自然科学基金项目(21706244);河南省科技攻关项目(152102110104);郑州轻工业学院博士基金项目(2013BSJJ005)

作者简介:宋丽丽(1987—),女,河南省信阳市人,郑州轻工业大学讲师,博士,主要研究方向为烟草废弃物综合利用.

Abstract: The effects of acid treatment, alkali treatment and microwave treatment on the enzymatic hydrolysis of tobacco stalks were studied by using tobacco processing by-product tobacco rods as raw materials, and the changes of composition and microstructure of tobacco stalks before and after treatment were analyzed. The results showed that the alkali treatment had a significant effect on the conversion efficiency of tobacco stalks in the three pretreatment methods. The tobacco stalks were treated with a mass fraction of 1% NaOH solution at 75 °C for 120 min, and the glucose content in the hydrolysate was 334.69 mg/g tobacco stalks increased by 118.37% compared to the control sample. The composition analysis showed that the degradation of tobacco lignin by alkali treatment was more obvious, and the degradation rate was 46.45%. Alkali treatment not only destroyed the tobacco lignin benzene ring skeleton, but also modified the benzene ring side chain group, resulting in the disintegration of the lignin macromolecular structure, and the tobacco stalks enzymatic resistance barrier function was reduced, thereby improving the conversion efficiency of tobacco stalks. Alkali treatment did not change the crystallinity of tobacco stalks cellulose, and the increase in crystallinity caused by microwave and acid treatment would adversely affected the efficiency of enzymatic hydrolysis of tobacco stalks.

0 引言

我国烟草资源丰富,烟草的种植量和生产量都居世界首位,而烟杆作为烟草种植加工的副产物,绝大部分都未被合理地利用^[1],这不仅造成烟草秸秆资源的浪费,而且秸秆焚烧也破坏了生态环境.如何变废为宝,充分利用烟杆,发挥其潜在资源价值,是当前烟草行业急需解决的问题.烟杆的成分主要由纤维素、半纤维素和木质素构成,其中纤维素含量为 38.0% ~ 45.0%^[2].目前,烟杆类资源主要的利用途径有提取重要化合物、制备高附加值产品、制备生物质燃料等.近年来,环境友好的生物炼制技术逐渐成为木质纤维素类废弃物资源化利用的发展趋势^[3-4].该技术通常利用纤维素酶和微生物将木屑、秸秆等废弃物转化为糖、乙醇、乳酸等生物基产品^[5-6].糖和乙醇是烟草加工过程中的两类重要辅料,通常应用于美拉德反应、香料提取等.因此,如果利用生物炼制技术将烟杆合理高效转化,不仅有助于实现废弃物资源的增值化利用,又能为烟草企业提供廉价的辅料来源,这对提高烟草行业资源化循环利用水平具有重要的意义.生物炼制技术将为烟杆废弃物的资源化利用、促进烟草行业的绿色生产提供一条新的途径.

高效利用与转化纤维素生产葡萄糖等单糖是生物炼制产糖的重要方式.天然木质纤维素由于具有复杂的物理结构及各组分间的特殊化学连接方式,在其生物转化过程中易产生极高的抗性,使得其利用效率较低.因此必须采用一定的预处理手段以降低木质纤维素的酶解抗性屏障,增加原料的多孔性,降低纤维素的结晶度,从而释放出更多可利用的底物^[7].常用的预处理方法包括物理预处理、化学预处理、理化结合及生物预处理等^[8-11].不同的预处理方法对生物质改性的方式不同,原料的转化效率也不同.因此,选择适当的预处理方法将有助于提高烟杆生物转化效率,实现烟杆的高效生物炼制.

本研究拟通过比较烟杆和其他农林废弃物的组分差异,探讨烟杆生物炼制的可行性,分别研究酸、碱、微波 3 种预处理方式对烟杆酶解产糖的影响,并探究不同预处理方式对烟杆结构特征的影响,从而为高效的烟杆木质纤维素废弃物生物转化提供参考.

1 材料与amp;方法

1.1 主要材料与仪器

主要材料:烟杆,来自河南中烟工业有限责任公司,采收于 2017 年;稻草秸秆、玉米秸秆、小麦秸秆,来源于河南信阳.将采收的各类秸秆

自然晒干后,粉碎过 20 目筛,保存备用;纤维素酶,购买于 Sigma 公司,经测定其总纤维素酶酶活为 $100 \text{ FPU} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

主要试剂: NaOH, 质量分数 98% 的浓 H_2SO_4 , 冰醋酸, 醋酸钠, 3,5-二硝基水杨酸, 酒石酸钾钠, 无水亚硫酸钠, 苯酚等, 均购自天津科密欧化学试剂有限公司。以上试剂均为分析纯。

实验仪器: TENSOR 27 型傅里叶红外光谱分析仪、D8ADVANCE 型 X 射线衍射仪, 德国 Bruker 公司产; T6 紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司产; 101-1A 型电热鼓风干燥箱, 北京中兴伟业仪器有限公司产; HH-S 型恒温水浴锅, 江苏省金坛市医疗器械有限公司产; EG720FA4-NR 型微波炉, 美的集团产。

1.2 实验方法

1.2.1 烟杆与秸秆样品组成成分测定

天然木质纤维素主要包括纤维素、半纤维素和木质素三大组分, 不同种类木质纤维素三组分含量差异较大。其中纤维素是由 β -1,4-糖苷键连接而成的葡聚糖大分子, 是生物炼制中重要的糖平台底物来源, 纤维素含量越高, 所获得的转化产物越多^[12]。烟杆中可利用底物含量的多少是决定其是否适合作为生物炼制原料的关键。分别称取适量烟杆、玉米秸秆、麦秆和稻秆样品, 利用美国可再生能源实验室制定的标准方法测定各类秸秆中纤维素、半纤维素和木质素的含量^[13]。

1.2.2 预处理方法

1) 微波处理: 称取 10 g 烟杆, 按照 $m(\text{烟杆}) : V(\text{水}) = 1 : 2$ 搅拌均匀, 300 W 微波分别处理 1 min, 3 min, 5 min, 60 °C 烘干至恒重, 备用。

2) NaOH 处理: 称取 10 g 烟杆, 适量质量分数 1% 的 NaOH, 按 $m(\text{烟杆}) : V(\text{NaOH}) = 1 :$

15 的比例于 75 °C 分别处理 15 min, 30 min, 60 min 和 120 min, 反应完毕将样品水洗至中性, 烟杆残渣于 60 °C 烘干后备用。

3) 稀 H_2SO_4 处理: 以质量分数 1% 的 H_2SO_4 溶液处理, 方法同 NaOH 处理。

1.2.3 酶解糖化

将用酸处理、碱处理和微波处理后的烟杆以 $m(\text{烟杆}) : V(\text{醋酸}-\text{醋酸钠缓冲溶液}) = 1 : 50$ 的固液比置于 50 mmol/L, pH = 4.8, 纤维素酶负荷为 30 FPU/g 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液中, 50 °C 反应 72 h, 离心取上清液, 利用高效液相色谱 (HPLC) 测样品中葡萄糖的含量。色谱条件: Bio-Rad HPX-87C 色谱柱, 示差折光检测器 (RID), 柱温 75 °C, 检测器温度 35 °C, 流动相为超纯水, 流速为 0.6 mL/min, 样品进样量为 10 μL 。

1.2.4 计算方法

参照 1.2.1 实验方法测定经酸处理、碱处理和微波处理后烟杆成分的变化, 各组分的降解率计算公式如下:

纤维素降解率 =

$$\frac{\text{原料秸秆纤维素含量} - \text{预处理后秸秆纤维素含量}}{\text{原料秸秆纤维素含量}} \times 100\%$$

半纤维素降解率 =

$$\frac{\text{原料秸秆半纤维素含量} - \text{预处理后秸秆半纤维素含量}}{\text{原料秸秆半纤维素含量}} \times 100\%$$

木质素降解率 =

$$\frac{\text{原料秸秆木质素含量} - \text{预处理后秸秆木质素含量}}{\text{原料秸秆木质素含量}} \times 100\%$$

1.2.5 预处理烟杆微观结构分析方法

1.2.5.1 红外光谱分析 (FTIR) 木质素大分子结构中含有多种不同价键和功能基团, 在红外图谱上可显示有特征的“指纹吸收峰”, 利用红外光谱技术可以分析烟杆结构中羰基、羟基、甲氧基、苯环骨架和 C=C 双键的变化情况。

用傅里叶变换红外光谱仪进行红外光谱分析。将样品和 KBr 混合研磨, 10 MPa 保持 3 ~

4 min,制成均匀透明膜片测样.检测条件为:谱区范围 $400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$;采样速率 80 张谱/s;分辨率 0.4 cm^{-1} ,得到经不同预处理后烟杆的 FTIR 谱图.

1.2.5.2 X-射线衍射分析(XRD) 纤维素高度有序的结构是影响物质转化的重要因素之一,其内部或相邻纤维素间较易形成氢键,使纤维素内部链状结构及各条链之间形成高度结晶化结构^[14].结晶结构是纤维素聚合物显示出刚性和高度水不溶性的关键因素,破坏结晶结构,释放纤维素,是提高酶水解的重要步骤.因此,结晶度是影响酶解糖化效率的要素之一.

用 X 射线衍射仪对样品进行结晶度分析.样品制样后放至扫描仪中,设置 X 光管为 Cu 靶,电压 40 kV,电流 30 mA,扫描衍射角 2θ 为 $10^\circ \sim 50^\circ$,扫描速率为 0.02 mm/s ,得到衍射图谱.结晶度指数 $CrI = \frac{I_{002} - I_{001}}{I_{002}} \times 100\%$, I_{002} ($2\theta = 22.5^\circ$) 为结晶区的峰值强度, I_{001} ($2\theta = 18.6^\circ$) 为非晶区的峰值强度.

2 结果与分析

2.1 实验烟杆组成成分分析

烟杆与其他秸秆样品的组成成分见表 1.由表 1 可知,烟杆的组成成分与麦秆、稻秆和玉米秸秆相似,即主要由纤维素、半纤维素和木质素组成,另外还含有少量的灰分.烟杆糖组分(纤维素和半纤维素)的含量为 54.25%,其中纤维素的主要组成成分是葡聚糖,含量为 38.39%,与稻秆接近,高于玉米秸秆和麦秆,而半纤维素的主要组成成分为木聚糖,含量仅为 15.86%,显著低于其他秸秆;木质素含量为 18.83%,接近于麦秆中木质素的含量.在木质纤维素大分子中,木质素和半纤维素通常与纤维素交联在一起,构成致密的结构,阻碍纤维素酶对纤维素底物的吸附,从而影响生物转化的效率^[15-16].因此,木质素或半纤维素含量越低

表 1 烟杆与其他秸秆样品的组成成分

Table 1 The composition of tobacco stalks and other straw samples

样品	灰分含量	葡聚糖(纤维素)含量	木聚糖(半纤维素)含量	木质素含量
麦秆	6.10	35.94	21.45	18.54
稻秆	7.32	38.71	20.27	13.71
玉米秸秆	3.70	36.43	22.83	17.05
烟杆	4.61	38.39	15.86	18.83

的原料生物转化越容易.烟杆中有较高的纤维素含量和较低的半纤维素含量,具有较大的糖平台转化优势,是一种较有潜力的生物炼制原料.

2.2 不同预处理方式对烟杆酶解产糖的影响

经不同预处理后的烟杆酶解液中葡萄糖的含量如图 1 所示.由图 1 可知,微波处理 1 min 和 3 min 时,葡萄糖产量都有不同程度的下降,处理 5 min 时,葡萄糖产量上升了 12.25%.整体来讲,微波处理的效果并不明显.这与岳建芝等^[17]研究微波辐射处理高粱秸秆对酶水解的影响得出的单一微波处理对酶解的促进作用不明显的结论一致.

随着酸预处理时间的延长,烟杆酶解液中葡萄糖的生成量逐渐增加,但整体而言葡萄糖的产量较原料都有一定程度的下降.其原因是酸处理主要溶出秸秆中的半纤维素,而酸浓度、处理时间、处理温度等对秸秆预处理效果均有影响^[5].I. Dogaris 等^[18]利用稀酸对高粱和甘蔗渣进行预处理(温度 210°C ,时间 10 min)能够将高粱和甘蔗渣的高半纤维素分解,但也会产生低抑制剂,影响酸的水解效率.本实验采用的酸处理温度为 75°C ,较温和,故处理效果较差.

碱预处理中的烟杆,当反应时间为 15 min 时,每 g 烟杆葡萄糖的质量为 114.19 mg,较原料降低了 25.50%.随着处理时间的增加,每 g 烟杆样品中葡萄糖的质量分别为 261.26 mg, 281.33 mg 和 334.69 mg,较对照样品分别提高了 70.46%,83.55% 和 118.37%.碱处理效果

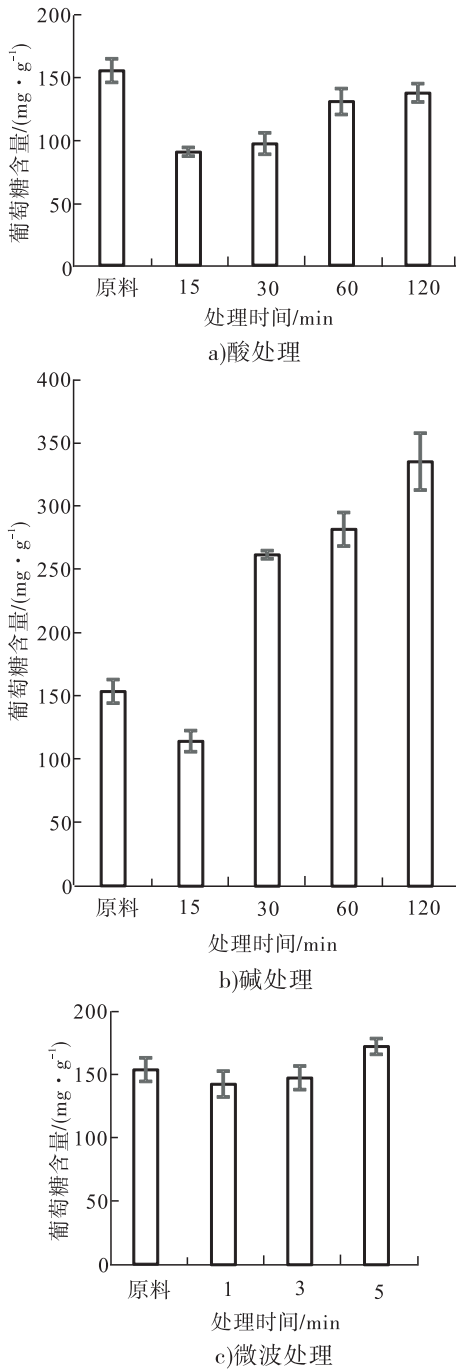


图1 不同预处理方式对烟杆酶解产糖的影响
Fig. 1 Effect of different pretreatment on the enzymatic hydrolysis of tobacco stalks

随着处理时间的延长而提高,可能是因为 NaOH 逐渐突破烟杆的表面屏障,与内部结构发生充分反应使木质纤维素结构裂解,降低了木质纤维素的酶解抗性,提高了烟杆的水解效率.

与酸预处理和单独微波预处理相比,碱预

处理对烟杆转化效率的提升更加显著.研究表明,酸预处理通过水解木质纤维素中的半纤维素,破坏木质纤维素的致密结构并增加其多孔性,从而增强酶转化效率^[19];微波预处理可以降解部分木质素和纤维素,改变超分子结构,从而增加纤维素对酶的可及度.但微波预处理通常要与其他化学预处理联合使用,其效果才较为明显^[17].碱处理主要是通过碱的去木质化作用去除部分木质素,并断裂木质素和半纤维素之间的连键,同时部分半纤维素与碱发生“剥皮反应”,溶解在碱液中,从而增强纤维素酶和纤维素底物的亲和力^[7,20].

2.3 预处理后烟杆各组分的变化

分别测定微波处理 5 min,碱处理 120 min,酸处理 120 min 后烟杆中纤维素、半纤维素和木质素的降解率,结果如表 2 所示.由表 2 可知,经预处理后,烟杆中纤维素、半纤维素和木质素的含量都出现不同程度的变化.微波处理后 3 种成分的含量变化都不大且呈现同步降解,纤维素、半纤维素和木质素分别降解了 9.42% ,5.68% 和 7.40% ,说明微波处理还不足以完全破坏木质纤维素的复杂结构.酸处理主要是降解了烟杆中的半纤维素,半纤维素组分含量降低了 31.45% ,纤维素和木质素分别降解了 6.33% 和 9.72% .这与文新亚等^[21]稀酸处理可有效去除半纤维素而对于木质素的脱除效果较差的研究结论一致.酸处理通过对烟杆中纤维素与半纤维素之间的氢键发生作用,使其断裂,将半纤维素释放出来,并溶解部分木质素.经碱处理的样品中木质素的含量明显下降,说明在碱处理过程中,NaOH 主要对木质素起作用,使木质素与碳水化合物的结构链分离,破坏了木质素的结构,而木质素的降解是提升烟杆酶解转化效率的关键.

本研究中,微波处理对烟杆组分的降解作用不显著,而酸处理主要脱除了烟杆中的半纤

表2 不同预处理后烟杆各组分的降解率

Table 2 Effect of different pretreatment method on the degradation rate of components

in tobacco stalks		%	
预处理	纤维素	半纤维素	木质素
酸处理	6.33	31.45	9.72
碱处理	7.86	13.63	46.45
微波处理	9.42	5.68	7.40

纤维素,尽管半纤维素和木质素对木质纤维素的生物炼制都会产生阻碍作用,但由于半纤维素的水解,往往导致处理后基质木质素含量显著上升.对于烟杆而言,木质素的选择性降解对烟杆酶解糖化的影响较半纤维素更加显著.因此,碱处理较酸处理和微波处理更适合增强烟杆的糖平台转化.

2.4 预处理烟杆微观结构分析

烟杆在预处理过程中除了化学组分含量会发生变化外,微观结构也会发生改变,从而影响酶解糖化效率.下面针对微波处理 5 min,碱处理 120 min,酸处理 120 min 3 种预处理方式对烟杆微观结构的改变进行分析.

2.4.1 红外光谱分析结果

经不同预处理的烟杆其红外图谱如图 2 所示.由图 2 可知,经碱处理后,烟杆在 1735 cm^{-1} 处特征吸收峰完全消失, 1735 cm^{-1} 处吸收峰代表的是 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动,关系到半纤维素与木质素之间的连接^[22],这一特征峰的完全消失说明半纤维素 $\text{C}=\text{O}$ 结构被破坏,同时半纤维素与木质素之间的复合结构在碱处理的条件下解聚. 1510 cm^{-1} 处吸收峰代表木质素苯环 $\text{C}=\text{C}$ 双键振动形成的吸收峰^[23],此处吸收峰强度减弱,表明在经过 NaOH 处理后,烟杆木质素中的苯环结构被破坏,木质素大分子空间结构被打开,有利于木质素的降解. 1249 cm^{-1} 处吸收峰代表的是木质素中紫丁香基芳环与甲氧基键合的 $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 键发生不对称伸缩振动^[24],与原料相比,处理后样品的峰强度显著

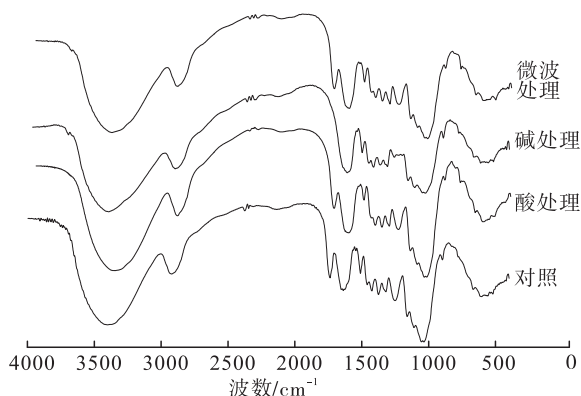


图2 经不同预处理后烟杆的红外图谱

Fig. 2 Infrared spectra of tobacco stalks after different pretreatment methods

降低,说明 NaOH 对木质素中紫丁香基苯环和侧链基团(如 $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}-\text{O}-\text{C}$) 均有一定程度的影响.

经微波处理后,烟杆样品的红外图谱峰型并未明显改变,仅在 1510 cm^{-1} (木质素苯环特征吸收峰)和 1161 cm^{-1} (纤维素、半纤维素 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 结构^[25]) 处吸收峰强度有轻微的降低,即微波处理仅破坏少量木质素、纤维素和半纤维素结构,对秸秆复杂大分子结构并未有显著的改性作用.烟杆样品经酸处理后,在 1735 cm^{-1} 处木聚糖的 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动峰降低,表明酸处理降解了烟杆中的半纤维素; 1630 cm^{-1} 处吸收峰是木质素中与芳香环相连的共轭 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰^[25],经酸处理后这一吸收峰强度增加,说明苯环的侧链基团修饰生成了羰基结构.C. L. Li 等^[26] 的研究结论也表明酸处理对苯环结构单元并没有明显的改变,酸处理仅降解半纤维素并对烟杆木质素的苯环侧链结构进行修饰.

2.4.2 X-射线衍射分析结果

不同预处理后烟杆结晶度有不同的变化:经酸处理后的烟杆结晶度为 36.78%,比原料结晶度(34.54%)升高了 6.49%, H_2SO_4 能断裂纤维素分子中的 $\beta-1,4$ -糖苷键,迅速降低纤维素聚合度,处理后纤维素相对结晶度增加

可能是因为纤维素分子的无定形区遭到破坏,使之发生重取向或呈更为有序的状态^[27];经过微波处理 5 min 后,结晶度为 35.44%,与原料相比,提高了 2.61%。经碱处理后烟杆的结晶度为 34.77%,并未有显著的变化,仅比原料提高了 0.67%。L. Q. Chu 等^[28]研究表明,NaOH 脱除木质素的效果与预处理时间成正比,而纤维素则无明显变化,高浓度的 NaOH 预处理才会导致纤维素晶型的改变。本研究中碱处理并未改变烟杆纤维素结晶度,而微波处理和酸处理导致的结晶度升高反而会对提升烟杆酶解效率产生负面影响。

3 结论

本文通过比较烟杆和其他秸秆的组分差异,探讨了烟杆生物炼制的可行性,并对比酸处理、碱处理和微波处理对烟杆酶解产糖的影响,确定了最适合烟杆的预处理方法,进一步分析处理前后烟杆组分和微观结构变化,确定了与烟杆转化效率密切相关的关键结构因素,主要结论如下:

1) 实验烟杆的组成成分类似于麦秆、稻秆和玉米秸秆等农作物秸秆,含有较多的纤维素多糖组分,适合作为生物炼制的原料。

2) 碱预处理对烟杆生物转化效率的提升较酸处理和微波处理更为显著,适合作为烟杆生物炼制的预处理方式。经质量分数 1% 的 NaOH 溶液于 75 ℃ 处理 120 min 后,每 g 烟杆酶解液中的葡萄糖质量可达 334.69 mg,较未处理烟杆提高 118.37%。

3) 碱处理主要降解烟杆中的木质素,降解率达到 46.45%;碱处理在破坏烟杆木质素苯环骨架的同时,对苯环的侧链基团进行修饰,以破坏木质素与半纤维素之间的链接,达到了降低烟杆酶解抗性的目的,碱处理并未改变烟杆纤维素结晶度,而微波处理和酸处理导致的结晶度升高反而会对提升烟杆酶解效率产生负面影响。

本研究给出的碱处理技术提高了烟杆的生物转化效率,适合于高效的烟杆生物炼制过程,有助于烟草废弃物的资源化利用,为促进烟草行业的绿色生产水平提供新的途径,为获得高效的烟草废弃物生物转化工艺奠定基础。

参考文献:

- [1] 付晨青,仝银杏,王凤芹,等. 我国烟秆资源分布与利用途径[J]. 纤维素科学与技术,2015,23(2):74.
- [2] 赵德清,戴亚,冯广林,等. 烟秆的化学成分、纤维形态与生物结构[J]. 烟草科技,2016,49(4):80.
- [3] COSTA C A E, COLEMAN W, DUBE M, et al. Assessment of key features of lignin from lignocellulosic crops: stalks and roots of corn, cotton, sugarcane, and tobacco[J]. Industrial Crops and Products, 2016, 92: 136.
- [4] KAPARAJU P, SERRANO M, THOMSEN A B, et al. Bioethanol, biohydrogen and biogas production from wheat straw in a biorefinery concept[J]. Bioresource Technology, 2009, 100: 2562.
- [5] SUN Y, CHENG J Y. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review[J]. Bioresource Technology, 2002, 83(1): 1.
- [6] STEPHANOPOULOS G. Challenges in engineering microbes for biofuels production[J]. Science, 2007, 315(5813): 801.
- [7] HIMMEL M E, DING S Y, JOHNSON D K, et al. Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production[J]. Science, 2007, 315(5813): 804.
- [8] 秦梦彤,胡婧,李冠华. 生物质生物预处理研究进展与展望[J]. 中国生物工程杂志, 2018, 38(5): 85.
- [9] YANG B, WYMAN C E. Pretreatment: the key to unlocking low-cost cellulosic ethanol[J]. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 2008, 2(1): 26.

- [10] HENDRIKS A T, ZEEMAN G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(1):10.
- [11] KUMAR R, MAGO G, BALAN V, et al. Physical and chemical characterizations of corn stover and poplar solids resulting from leading pretreatment technologies [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(17):3948.
- [12] PU Y Q, ZHANG D C, SINGH P M, et al. The new forestry biofuels sector [J]. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2008, 2(1):58.
- [13] SLUITER A, HAMES B, RUIZ R, et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass [J]. *Laboratory Analytical Procedure*, 2008, 1617:1.
- [14] SILVA G G D, ROUAU S G. Successive centrifugal grinding and sieving of wheat straw [J]. *Powder Technology*, 2011, 208(2):266.
- [15] KUMAR R, WYMAN C E. Cellulase adsorption and relationship to features of corn stover solids produced by leading pretreatments [J]. *Biotechnol Bioengineering*, 2009, 103(2):252.
- [16] BALAT M, BALAT H, ÖZ C. Progress in bioethanol processing [J]. *Progress in Energy and Combust*, 2008, 34(5):551.
- [17] 岳建芝, 徐桂转, 李刚, 等. 微波辐射预处理高粱秸秆对酶水解的影响 [J]. *河南农业大学学报*, 2010, 44(5):549.
- [18] DOGARIS I, GKOUNTA O, MAMMA D, et al. Bioconversion of dilute acid pretreated sorghum bagasse to ethanol by *Neurospora crassa* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 95(2):541.
- [19] LLOYD T A, WYMAN C E. Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids [J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96(18):1967.
- [20] BJERRE A B, OLESEN A B, FERNQYIST T, et al. Pretreatment of wheat straw using combined wet oxidation and alkaline hydrolysis resulting in convertible cellulose and hemicellulose [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1996, 49(5):568.
- [21] 文新亚, 李燕松, 张志鹏, 等. 酶解木质纤维素的预处理技术研究进展 [J]. *酿酒科技*, 2006(8):97.
- [22] 娄瑞, 武书彬, 吕高金, 等. 草本类木素的化学结构与热化学性质 [J]. *华南理工大学学报(自然科学版)*, 2010, 38(8):1.
- [23] PANDEY K K, PITMAN A J. FTIR studies of the changes in wood chemistry flowing decay by brown-rot and white-rot fungi [J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2003, 52:151.
- [24] XU C Y, MA F Y, ZHANG X X. Lignocellulose degradation and enzyme production by *Irpex lacteus* CD2 during solid-state fermentation of corn stover [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2009, 108(5):372.
- [25] ZHANG X Y, YU H B, HUANG H Y, et al. Evaluation of biological pretreatment with white rot fungi for the enzymatic hydrolysis of bamboo culms [J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2007, 60(3):159.
- [26] LI C L, SUN L, SIMMONS B A, et al. Comparing the recalcitrance of eucalyptus pine and switchgrass using ionic liquid and dilute acid pretreatment [J]. *Bioenergy Research*, 2013, 6(1):14.
- [27] CARA C, RUIZ E, OLIVA J M, et al. Conversion of olive tree biomass into fermentable sugars by dilute acid pretreatment and enzymatic saccharification [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(6):1869.
- [28] CHU L Q, MASYUKO R, SWEEDLER J V, et al. Base-induced delignification of *Miscanthus x giganteus* studied by three-dimensional confocal Raman imaging [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(13):4919.