

水热-乙醇提取处理玉米秸秆促进酶解效率

李梓木¹, 于艳玲^{1,2*}, 赵桂红^{1,3}, 孙嘉星², 李冬梅⁴, 黄玉东², 冯玉杰^{1*}

(1.哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室, 哈尔滨 150090; 2.哈尔滨工业大学化工学院, 哈尔滨 150001; 3.黑龙江科技大学环境与化工学院, 哈尔滨 150022; 4.哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090)

摘要:针对水热预处理不能明显移除木质素、木质素在较高温条件下从细胞壁中分解游离并重新聚合的特点,采用水热-乙醇提取处理玉米秸秆,与水热预处理的效果进行了对比,并对乙醇过程进行了优化。结果表明:水热-乙醇提取能够移除部分木质素,提高预处理后固体中纤维素含量以及纤维素的酶解效率,水热-乙醇提取后秸秆的木质素移除率随水热预处理温度的增加而增大。乙醇提取的较优工艺条件是液固比 25、室温、120 r·min⁻¹,提取 10 h。经 210 ℃、20 min 预处理的秸秆再经乙醇提取后,酸不溶木质素含量由 30.5%下降为 18.2%,纤维素含量由 62.2%提高到 73.6%,酶解率为 93.2%(15 FPU·g⁻¹ 纤维素),酶解时间由 48 h 缩短至 24 h。

关键词:生物质;水热;预处理;乙醇抽提;玉米秸秆;酶解

中图分类号:X712 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2015)06-1210-07 doi:10.11654/jaes.2015.06.027

Enhancement of Enzymatic Hydrolysis of Corn Stover by Liquid Hot Water Pretreatment and Ethanol Extraction

LI Zi-mu¹, YU Yan-ling^{1,2*}, ZHAO Gui-hong^{1,3}, SUN Jia-xing², LI Dong-mei⁴, HUANG Yu-dong², FENG Yu-jie^{1*}

(1.State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 2.School of Chemical Engineering & Technology, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, China; 3.College of environmental and chemical engineering, Heilongjiang University of Science and Technology; Harbin 150022, China; 4.School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: Lignin could not be significantly removed from lignocellulose by liquid hot water (LHW) pretreatment, but lignin would migrate from cell wall and redeposit on the surface of cell wall at high temperature during pretreatment. To take advantage of this characteristic, we examined the changes of main components and enzymatic hydrolysis of corn stover pretreated by LHW pretreatment before and after ethanol extraction. Ethanol extraction process was also optimized. Compared to LHW pretreatment, ethanol extraction removed some lignins from, increased cellulose content in and improved cellulose digestibility of corn stover. Lignin removal increased with increasing temperature of LHW pretreatment. The optimal ethanol extraction was as follows: 25 of liquid-solid ratio, room temperature, 120 r·min⁻¹, and 10 h. For corn stover pretreated at 210 ℃ for 20 min, ethanol extraction decreased lignin from 30.5% to 18.2%, while increased cellulose content from 62.2% to 73.6%. After ethanol extraction, the enzymatic hydrolysis time was shortened from 48h to 24h. The cellulose digestibility reached 93.2%(15 FPU·g⁻¹ cellulose).

Keywords: biomass; hydrothermal; pretreatment; ethanol extraction; corn stover; enzymatic hydrolysis

收稿日期:2015-03-13

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51108116);国家杰出青年科学基金(51125033);黑龙江省博士后面上基金(LBH-Z12132);上海市城市化生态过程与生态恢复重点实验室开放课题(SHUES2014A02)

作者简介:李梓木(1985—),男,在读博士,主要研究方向为生物质废弃物的资源化利用。E-mail: zimu686868@126.com

*通信作者:冯玉杰 E-mail: yujief@hit.edu.cn; 于艳玲 E-mail: yyl0206@163.com

化石能源在促进人类社会发展和满足能源需求的同时也带来了环境、资源、可持续发展等问题^[1]。生物质能具有满足当今世界(特别是发展中国家)对能源巨大需求的潜力^[2],利用生物质能够减少对化石能源等非可再生资源的依赖^[3-5]。

玉米秸秆是我国农业生产中剩余的一种重要生物质资源,2013年产量约为2.2亿t,且具有不断增长的趋势^[6-7]。玉米秸秆不加以有效利用或处理不当,不但浪费资源还可能造成环境污染。玉米秸秆等木质纤维素类生物质由纤维素、半纤维素和木质素等成分构成。纤维素经酶水解可产生葡萄糖,再经酵母菌发酵即可产生乙醇,这是目前利用木质纤维素类生物质的主要途径^[8]。但是由于纤维素、半纤维素和木质素在结构上相互包裹缠绕,使得纤维素直接被酶水解的效率较低,必须在酶水解之前通过预处理减小半纤维素和木质素对纤维素的保护作用,增大纤维素酶对纤维素的可及性,才能获得较高的酶解效率^[9]。

与酸碱等预处理方法相比,水热预处理的主要优点是不使用酸碱等催化剂,无需抗腐蚀设备^[10-11]。目前,水热预处理已用于促进玉米秸秆、稻秆、甘蔗渣、棉秆等木质纤维素生物质的纤维素酶解^[12-15]。水热预处理不能明显移除木质素,且在较剧烈的条件下由于糖降解形成假木质素,木质素含量反而有所增加^[10,12,16]。木质素和假木质素不仅对纤维素酶具有空间阻碍作用,木质素还能够竞争性地吸附纤维素酶进一步降低纤维素的酶解效率^[16-19]。目前,针对水热预处理的这些不足进行改进的文献报道较少。Yu等^[20]应用水热-氨水联合预处理甘蔗渣,经180℃、30min水热预处理和140℃、30min 25%氨水预处理后移除了约80%半纤维素(以木聚糖计算)和约30%木质素,在添加木聚糖酶情况下获得纤维素酶解率约70%(15 FPU·g⁻¹干固体)。Kim等^[21]应用流动式水热-氨水联合预处理玉米秸秆,经180℃、30min、流速5.0 mL·min⁻¹、压力2.5 MPa水热预处理和170℃、60min、流速5.0 mL·min⁻¹、15%NH₃预处理后获得纤维素酶解率约85%(15 FPU·g⁻¹纤维素)。本研究根据木质素在较高温条件下从细胞壁中分解游离并重新聚合以及预处理过程中糖降解形成假木质素的特点^[12,22-23],在前期研究的基础^[12]上尝试应用无水乙醇在室温下提取水热预处理后重新聚合形成的木质素和假木质素,并优化提取过程,以期移除部分木质素和假木质素,提高水热预处理后秸秆的酶解效率。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米秸秆样品(采自黑龙江省绥化市)粉碎后过2 mm筛,取粒度为420~250 μm的颗粒于-20℃保存备用。主要成分采用美国可再生能源实验室标准分析方法进行测定^[24-26]。秸秆主要成分见表1(表中数据为两次测定结果平均值)^[12]。

表1 玉米秸秆组成成分(以干重计)
Table 1 Composition of corn stover(dry weight basis)

组成成分	干重/%
纤维素	40.4
半纤维素	24.2
木聚糖	20.2
阿拉伯聚糖	1.0
半乳聚糖	1.5
甘露聚糖	1.5
木质素	19.3
酸可溶木质素	1.3
酸不溶木质素	18.0

1.2 水热预处理

水热预处理在316 L不锈钢水热合成反应釜(内径2.54 cm,长度11.43 cm)中进行。反应釜内添加3 g秸秆和27 mL去离子水,通过油浴(HH-S油浴锅)加热至目标温度,预处理完成后将反应釜浸入室温水以终止反应,处理温度分别为180、190、200、210℃,处理时间均为20 min。分离预处理后的固液混合物,液体部分用于测定乙酸等预处理副产物,固体部分以80~90℃200 mL去离子水洗涤,35℃烘干24 h,用于酶解及成分测定。

1.3 乙醇提取

四种条件下预处理后秸秆以液固比35(105 mL:3 g)与无水乙醇混合置于密闭容器(250 mL蓝盖螺口玻璃瓶),室温(10~30℃)、120 r·min⁻¹提取12 h,105℃烘干,测定乙醇提取前后木质素质量并计算木质素移除率。无水乙醇通过减压蒸馏回收以循环使用。

210℃、20 min预处理后秸秆分别以液固比10、15、20、25、30、35与无水乙醇混合置于密闭容器(250 mL蓝盖螺口玻璃瓶),室温(10~30℃)、120 r·min⁻¹提取12 h,105℃烘干,测定乙醇提取前后木质素质量并计算木质素移除率。无水乙醇通过减压蒸馏回收以循环使用。

210 ℃、20 min 预处理后秸秆以液固比 25 与无水乙醇混合置于密闭容器(250 mL 蓝盖螺口玻璃瓶),室温(10~30 ℃)、120 r·min⁻¹ 分别提取 2、4、6、8、10、12 h,105 ℃烘干,测定乙醇提取前后木质素质量并计算木质素移除率。无水乙醇通过减压蒸馏回收以循环使用。

1.4 酶解实验

酶解实验在 50 mmol·L⁻¹ 柠檬酸盐缓冲液(pH 4.8)中进行。酶解缓冲液配制方法如下:分别配制 0.1 mol·mL⁻¹ 的柠檬酸溶液及柠檬酸钠溶液,以 9.2:10.8 比例混合柠檬酸溶液和柠檬酸钠溶液,加入与混合溶液等体积的去离子水稀释混匀即得。纤维素基质与 50 mL 酶解反应缓冲液按 0.01 g 纤维素·mL⁻¹ 缓冲液的比率混匀并加入到 125 mL 锥形瓶中,50 ℃、150 r·min⁻¹,酶解 72 h。纤维素酶(Celluclast 1.5 L)和 β-葡萄糖苷酶(Novozyme 188)添加量均为 15 U·g⁻¹ 纤维素。抗生素添加量为 40 μg 四环素·mL⁻¹ 缓冲液和 30 μg 放线菌酮·mL⁻¹ 缓冲液。酶解率以玉米秸秆原料中纤维素质量为基准进行计算,计算公式如下:

酶解率=(酶解实验中释放的葡萄糖质量×0.9)/原料秸秆中的纤维素质量×100%

1.5 分析方法

纤维素、半纤维素和木质素含量采用美国可再生能源实验室标准分析方法^[24]进行测定。纤维素、半纤维素经酸水解后的糖浓度及酶解实验中葡萄糖浓度应用高效液相色谱(Shimadzu LC-10A,岛津公司,日本)进行测定。色谱条件:色谱柱为 BioRadAminex HPX-87P,流动相为去离子水,流速为 0.6 mL·min⁻¹,柱温及示差检测器温度设定为 80 ℃^[24]。

乙酸、甲酸、糠醛、5-羟甲基糠醛含量应用高效液相色谱(Shimadzu LC-10A)进行测定。色谱条件:色谱柱为 BioRadAminex HPX-87H,流动相为 5 mmol·L⁻¹ H₂SO₄,流速为 0.6 mL·min⁻¹,柱温及示差检测器温度设定为 50 ℃^[26]。

1.6 扫描电镜分析

样品以导电胶固定在铝箔上,经喷金处理后以扫描电镜分析预处理后秸秆及水热-乙醇提取秸秆的显微结构变化和表面特征(Helios-600i,FEI 公司,美国)。加速电压为 20 kV,放大倍数分别为 2000 倍和 20 000 倍。

2 结果与讨论

2.1 水热预处理

水热预处理后半纤维素和木质素的移除率如图

1 所示^[12]。半纤维素移除率随预处理条件剧烈程度增大而增加。但木质素在预处理后并未被明显移除且经较高温度预处理后含量反而有所增加。这是因为在较高温度下糖类在预处理过程中发生分解,分解产物经缩聚或聚合形成了假木质素^[17,23]。预处理液中的副产物浓度及 pH 值如表 2 所示。预处理液的 pH 值随预处理剧烈程度的增大而降低,pH 值小于 4 时乙酸等对酶解和发酵具有抑制作用的副产物产量增加较为明显,与 Mosier 等^[27]的报道一致。针对水热预处理这一特点,Li 等^[28]通过向预处理底物中加入少量 NaOH 的方法控制水热预处理过程中的 pH,减少了副产物的产量。

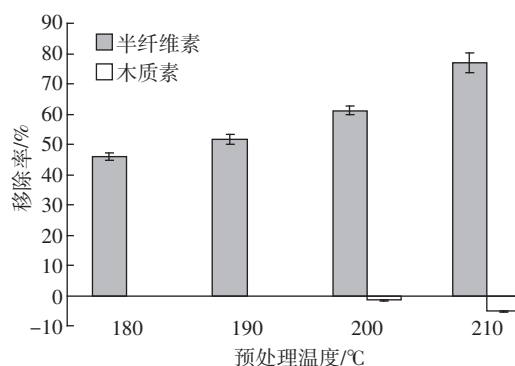


图1 预处理后半纤维素和木质素的移除率

Figure 1 Removal of hemicellulose and lignin after LHW pretreatment

表2 预处理液中的副产物浓度及 pH 值

Table 2 pH and by-product concentrations of hydrolysates

温度/℃	时间/min	乙酸/g·L ⁻¹	甲酸/g·L ⁻¹	糠醛/g·L ⁻¹	5-羟甲基糠醛/g·L ⁻¹	pH
180	20	0.338	0.105	0.034	未检测到	4.7
190	20	0.428	0.124	0.151	未检测到	4.3
200	20	1.781	0.67	0.32	0.4	3.9
210	20	3.121	1.33	0.52	1.5	3.3

2.2 乙醇提取

四种条件预处理后秸秆经乙醇提取后的木质素移除率如图 2 所示。四种条件预处理后秸秆均有部分木质素经乙醇提取后被移除,可能是由分解游离并重新聚合的木质素和假木质素溶解于乙醇造成。另外,四种条件预处理后秸秆经同样提取方法提取后,木质素移除率随预处理温度的提高而增大,可能是因为木质素的分解游离、重新聚合以及假木质素的形成均与温度呈正相关^[17,22-23]。较高温度条件下,有较多的木质

素分解游离和重新聚合,并且假木质素的形成量也较多。这些分解游离和重新聚合的木质素以及假木质素在乙醇提取过程中均被乙醇溶解。

由于 210 ℃、20 min 预处理后秸秆经乙醇提取后木质素移除率最大,而且前期研究^[12]确定了 210 ℃、20 min 为水热预处理后进行酶解的较优条件,因而以 210 ℃、20 min 预处理后秸秆为底物进行提取过程的优化。不同液固比提取预处理后秸秆的木质素移除率如图 3 所示。当液固比从 10 提高到 25 时,木质素移除率也随之增大,但液固比大于 25 时,木质素移除率几乎无变化。不同时间提取预处理后秸秆的木质素移除率如图 4 所示。当提取时间从 2 h 提高到 10 h,木质素移除率也随之增大,但提取时间大于 10 h 时,木质素移除率几乎无变化。这是因为分解游离和重新聚合的木质素以及假木质素中可溶于乙醇的部分在液固比 25 的条件下,经 10 h 提取已完全溶于乙醇。因此,确定液固比 25、提取时间 10 h 为较优的乙醇提取

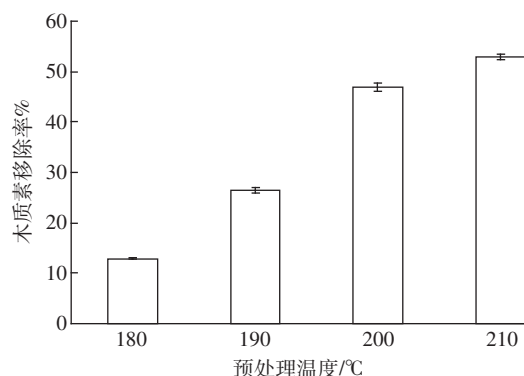


图2 水热-乙醇提取后的木质素移除率
Figure 2 Lignin removals after LHW pretreatment-ethanol extraction

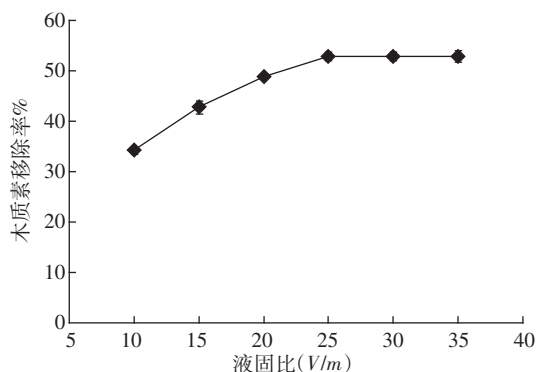


图3 不同液固比提取预处理后秸秆的木质素移除率
Figure 3 Lignin removals after ethanol extraction at different liquid-solid ratios

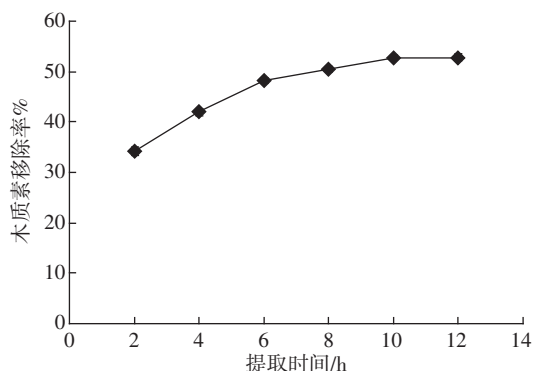


图4 不同时间提取预处理后秸秆的木质素移除率
Figure 4 Lignin removals after ethanol extraction for different time

方法。

210 ℃、20 min 预处理后秸秆和经液固比 25、10 h 乙醇提取后预处理秸秆的主要成分含量如图 5 所示。水热-乙醇提取达到了移除部分木质素并提高固体中纤维素含量的效果。210 ℃、20 min 预处理秸秆经乙醇提取后,酸不溶木质素含量由 30.5%下降为 18.2%,同时由于木质素被部分移除,纤维素含量由 62.2%提高到 73.6%。半纤维素含量则变化较小,由 2.1%提高到 2.5%。

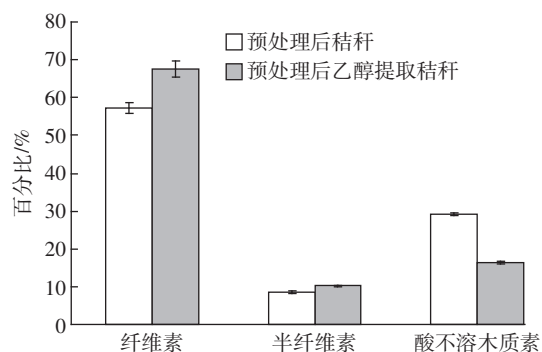


图5 乙醇提取前后预处理秸秆中三种主要成分含量
Figure 5 Content of three main components in LHW pretreated corn stover before and after ethanol extraction

2.3 酶解实验

四种条件水热预处理后秸秆以及水热-乙醇提取秸秆的纤维素酶解率如图 6 所示。水热-乙醇提取秸秆的纤维素酶解率与水热预处理秸秆相比均有所提高。这可能是由于乙醇提取移除了部分分解游离并重新聚合的木质素和假木质素,减小了纤维素酶与纤维素接触的空间阻碍^[17,22-23]。另外,越高温度预处理后的秸秆经乙醇提取后,纤维素酶解率增幅越大。纤维素酶解率的增大幅度与预处理后秸秆经乙醇提取后的

木质素移除率具有相同的趋势,可能是由于较高温度条件分解游离和重新聚合的木质素以及假木质素较多。这些分解游离和重新聚合的木质素以及假木质素被乙醇溶解后纤维素酶与纤维素的空间阻碍更小,纤维素酶解率提高更多。

210 °C、20 min 预处理后秸秆和经液固比 25、10 h 乙醇提取后 210 °C、20 min 预处理秸秆在酶水解过程中葡萄糖浓度随时间变化如图 7 所示。与 210 °C、20 min 预处理后秸秆相比,乙醇提取后 210 °C、20 min 预处理秸秆经酶解后获得较高的葡萄糖浓度。这是因为乙醇提取移除了部分木质素,使得纤维素含量有所增加且纤维素酶解率也得到提高。另外,乙醇提取后 210 °C、20 min 预处理秸秆酶解 24 h 后葡萄糖浓度基本不变,说明 24 h 酶解基本完成;而 210 °C、20 min 预处理后秸秆在 48 h 后葡萄糖浓度基本不变,说明 48 h 酶解基本完成。这可能是由于分解游离和重新聚合的木质素竞争性地吸附纤维素酶因而降

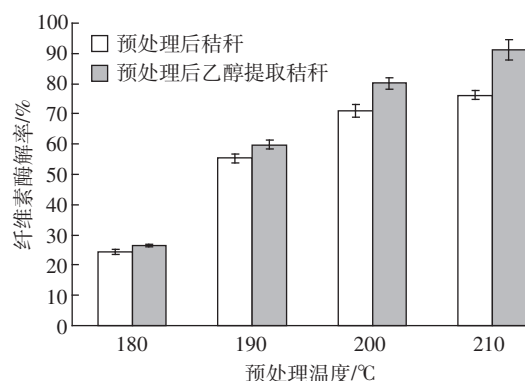


图 6 乙醇提取前后纤维素酶解率对比

Figure 6 Cellulose digestibility of LHW pretreated corn stover before and after ethanol extraction

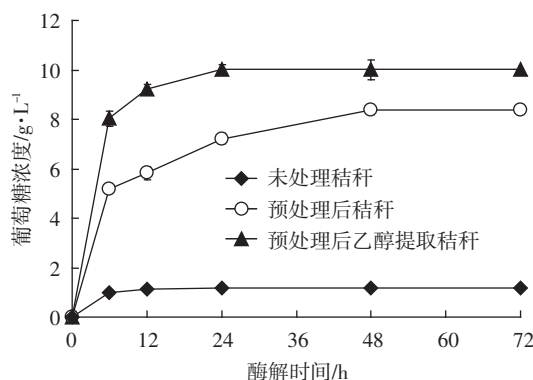


图 7 预处理后秸秆与预处理后乙醇提取秸秆的酶解液中葡萄糖浓度

Figure 7 Glucose concentrations in enzymatic hydrolysate of LHW-pretreated corn stover before and after ethanol extraction

低了纤维素酶的酶解效率^[17-19]。

210 °C、20 min 预处理秸秆经液固比 25、10 h 常温乙醇提取后酶解 24 h 获得酶解率 93.2% (15 FPU·g⁻¹ 纤维素)。Kim 等^[21]应用流动式水热-氨水联合预处理玉米秸秆,经 180 °C、30 min、流速 5.0 mL·min⁻¹、压力 2.5 MPa 水热预处理和 170 °C、60 min、流速 5.0 mL·min⁻¹、15% NH₃ 预处理后获得纤维素酶解率约 85% (15 FPU·g⁻¹ 纤维素)。

水热预处理过程中预处理液的 pH 随预处理剧烈程度的增大而降低,pH 值小于 4 时乙酸等对酶解和发酵具有抑制作用的副产物将大量产生,需通过某种方法控制预处理液的 pH 值大于 4^[28]或者当预处理液的 pH 值小于 4 时应用热水洗涤预处理后固体以去除乙酸等副产物^[29]。由于乙酸等副产物在乙醇中均具有较高的溶解度,本研究考察了预处理液 pH 值小于 4 时对应两种条件(200 °C、20 min 和 210 °C、20 min)预处理后秸秆直接应用乙醇提取(固液分离后未经热水洗涤及烘干)后的纤维素酶解率,结果发现酶解率与经固液分离、热水洗涤、烘干再进行乙醇提取的酶解率一致,说明液固比 25、10 h 乙醇提取水热预处理后秸秆可以去除乙酸等副产物。

2.4 扫描电镜分析

210 °C、20 min 预处理后秸秆和经液固比 25、10 h 乙醇提取后 210 °C、20 min 预处理秸秆的扫描电镜图片如图 8 所示。未处理秸秆(图 8a 和 8b)表面较为光滑无明显颗粒状沉淀,也无孔洞和裂痕。经 210 °C、20 min 预处理后秸秆(图 8c 和 8d)表面被颗粒状沉淀所覆盖。这些沉淀即为分解游离和重新聚合的木质素和假木质素^[17,22-23],不但对纤维素酶与纤维素的接触具有空间阻碍作用,其中的木质素还能够竞争性地吸附纤维素酶。经液固比 25、10 h 乙醇提取后,210 °C、20 min 预处理秸秆(图 8e 和 8f)表面颗粒状沉淀消失。

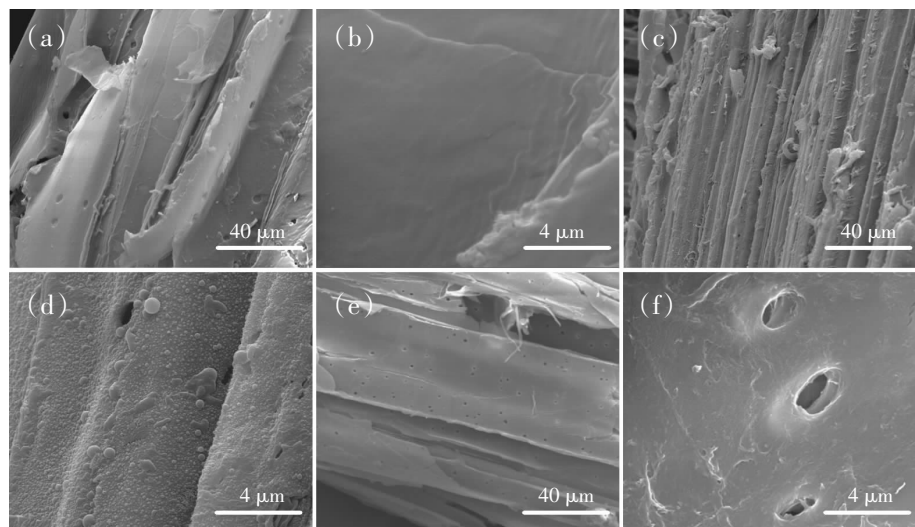
3 结论

(1)乙醇提取能够移除水热预处理后分解游离和重新聚合的木质素及假木质素。

(2)乙醇提取水热预处理后秸秆的木质素移除率随水热预处理温度的增加而增大。

(3)较优的乙醇提取条件为液固比 25、120 r·min⁻¹,室温(10~30 °C)提取 10 h。经较优提取条件提取后,木质素移除率最大。

(4)预处理后秸秆经乙醇提取后纤维素酶解率均



(a)未处理秸秆(2000×);(b)未处理秸秆(20 000×)

(c)210 °C、20 min 预处理后秸秆(2000×);(d)210 °C、20 min 预处理后秸秆(20 000×)

(e)210 °C、20 min 预处理后乙醇提取秸秆(2000×);(f)210 °C、20 min 预处理后乙醇提取秸秆(20 000×)

图 8 预处理后秸秆与预处理乙醇提取秸秆的扫描电镜图片

Figure 8 Scanning electron microscope images of LHW pretreated corn stover before and after ethanol extraction

有所增加,较高温度预处理后秸秆经乙醇提取后纤维素酶解率增幅较大。

(5)210 °C、20 min 预处理后秸秆经乙醇提取后纤维素含量由 62.2%提高到 73.6%,酸不溶木质素含量由 30.5%下降为 18.2%,经酶解后获得酶解率 93.2%,酶解时间由 48 h 缩短至 24 h。

参考文献:

- [1] Kaygusuz K. Energy for sustainable development: A case of developing countries[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2012, 16(2): 1116–1126.
- [2] Ong H C, Mahlia T M I, Masjuki H H. A review on energy scenario and sustainable energy in Malaysia[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2011, 15(1): 639–647.
- [3] Buruiana C T, Vizireanu C, Garrote G, et al. Optimization of cornstover-biorefinery for coproduction of oligomers and second generation bioethanol using non-isothermal autohydrolysis[J]. *Industrial Crops and Products*, 2014, 54(3): 32–39.
- [4] 王 华,许红霞,周大云,等. 棉花秸秆超声波碱处理研究[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(2): 400–406.
WANG Hua, XU Hong-xia, ZHOU Da-yun, et al. Study of ultrasonic-assisted alkali pretreatment on cotton stalk[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(2): 400–406.
- [5] 崔茂金,黄明贤,邓月娥. 稻秆盐酸预处理产还原糖的工艺优化[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(3): 613–616.
CUI Mao-jin, HUANG Ming-xian, DENG Yue-e. Optimization of conditions for producing reducing sugar from rice straw pretreated with hydrochloric acid[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(3): 613–616.
- [6] 国家统计局. 2014 年中国统计年鉴[M/OL]. [2015-03-05]. <http://www.stats.gov.cn/tjsj/ndsj/2014/in-dexch.htm>.
National Bureau of Statistics of the People's Republic of China. China statistical yearbook (2014) [M/OL]. [2015-03-05]. <http://www.stats.gov.cn/tjsj/ndsj/2014/in-dexch.htm>.
- [7] 王晓玉,薛 帅,谢光辉. 大田作物秸秆量评估中秸秆系数取值研究[J]. *中国农业大学学报*, 2012, 17(1): 1–8.
WANG Xiao-yu, XUE Shuai, XIE Guang-hui. Value-taking for residue factor as a parameter to assess the field residue of field crops[J]. *Journal of China Agriculture University*, 2012, 17(1): 1–8.
- [8] Kumar P, Barrett D M, Delwiche M J, et al. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2009, 48(8): 3713–3729.
- [9] Rohowsky B, Häßler T, Gladis A, et al. Feasibility of simultaneous saccharification and juice co-fermentation on hydrothermal pretreated sweet sorghum bagasse for ethanol production [J]. *Applied Energy*, 2013, 102(2): 211–219.
- [10] Carvalheiro F, Duarte L C, Girio F M. Hemicellulose biorefineries: A review on biomass pretreatments[J]. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 2008, 67(11): 849–864.
- [11] Laser M, Schulman D, Allen S G, et al. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol[J]. *Bioresource Technology*, 2002, 81(1): 33–44.
- [12] 李梓木,于艳玲,孙嘉星,等. 水热预处理工艺参数对玉米秸秆组分与酶解效率的影响[J]. *化工学报*, 2015, 66(4): 1529–1536.
LI Zi-mu, YU Yan-ling, SUN Jia-xing, et al. Effects of liquid hot water pretreatment process parameters on compositions and cellulose di-

- gestibility of corn stover[J]. *Journal of Chemical Industry and Engineering(China)*, 2015, 66(4):1529–1536.
- [13] Akihiro H, Hiroyuki I, Takashi Y, et al. Combination of hot compressed water treatment and wet disk milling for high sugar recovery yield in enzymatic hydrolysis of rice straw[J]. *Bioresource Technology*, 2012(1), 104:743–748.
- [14] Zhang H D, Xu S H, Wu S B. Enhancement of enzymatic saccharification of sugarcane bagasse by liquid hot water pretreatment[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 143(9):391–396.
- [15] Jiang W, Chang S L, Li H Q, et al. Liquid hot water pretreatment on different parts of cotton stalk to facilitate ethanol production[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 176(1):175–180.
- [16] Brownell H H, Saddler J N. Steam pretreatment of lignocellulosic material forenhanced enzymatic hydrolysis[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1987, 29(2):228–235.
- [17] Hu F, Jung S, Ragauskas A. Pseudo-lignin formation and its impact on enzymatic hydrolysis[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 117(8):7–12.
- [18] Sutcliffe R, Saddler J N. The role of lignin in the adsorption of cellulases during enzymatic treatment of lignocellulosic material[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1986(2), 17:749–762.
- [19] Yang B, Wyman E C. Effect of xylan and lignin removal by batch and flow through pretreatment on enzymatic digestibility of corn stover cellulose[J]. *Biotechnology Bioenergy*, 2004, 86(1):88–95.
- [20] Yu Q, Zhuang X S, Yuan Z H, et al. Pretreatment of sugarcane bagasse with liquid hot water and aqueous Ammonia[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 144(9):210–215.
- [21] Kim T H, Lee T H. Fractionation of corn stover by hot-water and aqueous ammonia treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2006, 97(2):224–232.
- [22] Donohoe B S, Decker S R, Tucker M P, et al. Visualizing lignin coalescence and migration through maize cell walls following thermochemical pretreatment[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2008, 101(5):913–925.
- [23] Sannigrahi P, Kim D H, Jung S, et al. Pseudo-lignin and pretreatment chemistry[J]. *Energy & Environmental Science*, 2011, 4(4):1306–1311.
- [24] Sluiter A, Hames B, Ruiz R, et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass[R/OL]. [2015–03–05]. <http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/42618.pdf>.
- [25] Sluiter A, Ruiz R, Scarlata C, et al. Determination of extractives in biomass[R/OL]. [2015–03–05]. <http://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42619.pdf>.
- [26] Sluiter A, Hames B, Ruiz R, et al. Determination of sugars, byproducts, and degradation products in liquid fraction process samples[R/OL]. [2015–03–05]. <http://www.nrel.gov/docs/gen/fy08/42623.pdf>.
- [27] Mosier N, Hendrickson R, Ho N, et al. Optimization of pH controlled liquid hot water pretreatment of corn stover[J]. *Bioresource Technology*, 2005, 96(18):1986–1993.
- [28] Li H Q, Jiang W, Jia J X, et al. pH pre-corrected liquid hot water pretreatment on corn stover with high hemicellulose recovery and low inhibitors formation[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 153(2):292–299.