

侯彬彬,宋江涛,马 骁,等. 复合溶剂预处理对葵花秆木质素去除率和结构的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(3):136-140.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.03.039

复合溶剂预处理对葵花秆木质素去除率和结构的影响

侯彬彬, 宋江涛, 马 骁, 陈福欣, 周安宁

(西安科技大学化学与化工学院,陕西西安 710054)

摘要:采用 NaOH、乙醇复合溶剂对葵花秆进行预处理,通过单因素试验研究了反应时间、温度、固液比、溶剂质量分数及复合溶剂比例对葵花秆木质素去除率的影响,然后利用正交试验法对预处理条件进行优化,得到最佳预处理条件为温度 170 ℃,2% NaOH 和 70% 乙醇的复合溶剂体积比为 2:1,固液比 1:25(g:mL),反应时间 1 h,该条件下木质素去除率为 53.75%。酶解试验表明,木质素去除率越高,葡萄糖产率越高。最后通过红外光谱、扫描电镜对预处理前后的葵花秆进行结构分析,发现预处理后的葵花秆结构遭到破坏,出现不规则的裂痕,木质素与半纤维素之间的结构被破坏,暴露出更多的纤维素和半纤维素。

关键词:葵花秆;预处理;复合溶剂;酶解;木质素

中图分类号:TS721⁺.1;TQ914.1

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2017)03-0136-05

中国作为传统的农业大国,每年葵花秆产量约 7 亿多 t^[1]。葵花秆作为一种重要的生物综合利用资源,在农村多数被就地焚烧或弃置腐烂,不仅浪费资源,也污染环境。葵花秆的主要成分为木质素、纤维素等,可作为生产生物质能

源的重要原料^[2]。在制备生物乙醇方面,关键步骤是将纤维素、半纤维素水解为单糖,而在自然状态下,木质素像保护层一样包围在纤维素和半纤维素之间,且有很高的结晶度^[3],导致纤维素酶对其水解能力变弱,所以有必要对葵花秆进行木质素脱除。对秸秆木质素进行预处理的方法较多,较早的方法是机械处理法^[4],但成本高;蒸汽爆破处理法^[5-6]木质素转化及半纤维素溶解效果好,但易产生有毒物质;微波加热法速率快,所需能量少^[7],可以破坏纤维素的结晶区,降低表皮木质素含量^[8],但对酶水解促进作用小;生物法主要利用白腐菌、褐腐菌、软腐菌、木腐菌对秸秆木质素进行预处理^[9-12],其优点是条件温和,环境友好,但缺点是受菌种及其分泌酶状况的影响,且处理周期长,水解得率较低;碱法可以发生溶剂化、皂化作用,导致生物质膨胀,可有效脱除木质素,

收稿日期:2016-04-28

基金项目:国家自然科学基金(编号:51174279);教育部博士学科专项基金(编号:20116121110005)。

作者简介:侯彬彬(1991—),男,陕西榆林人,硕士研究生,主要从事煤炭基精细化学品合成及有机合成研究。E-mail:774716071@qq.com。

通信作者:周安宁,博士,教授,博士生导师,主要从事煤及生物质多联产转化与功能材料制备研究。E-mail:psu564@139.com。

从而提高对所有病原的抗性,其作用机制有待于深入研究。

3.2 添加剂提高家蚕的蚕茧产量和质量

Ni 等研究表明,用低浓度 TiO₂ NPs 添食家蚕,可以促进家蚕丝蛋白的合成^[9],本研究开发的添加剂也具有相同的效果,可以提高蚕茧的产量。Zhang 等研究表明,添食 TiO₂ NPs 可以提高家蚕的饲料效率^[8],本研究发现添食添加剂后可以明显提高蚕茧的茧层量、茧层率,这对于以生产茧丝为目的的蚕丝业来说是非常重要的,可以提高产丝量。另外,之前的相关研究表明,TiO₂ NPs 添食可以促进丝蛋白的合成,本研究发现可以提高蚕茧的产量,至于 TiO₂ NPs 添食对丝蛋白的分泌是否具有调节作用,还有待深入研究。

参考文献:

- [1] 朱融融,汪世龙,姚思德. 纳米二氧化钛的生物学效应[J]. 生命的化学,2005,25(4):344-346.
- [2] 刘小强,杜仕国,闫 军,等. 纳米二氧化钛改性及其在涂料中的应用[J]. 化学时刊,2004,18(11):13-16.
- [3] 徐存英,段云彪. 纳米二氧化钛在防晒化妆品中的应用[J]. 云南化工,2004,31(3):36-38.

- [4] Zhang R, Niu Y, Li Y, et al. Acute toxicity study of the interaction between titanium dioxide nanoparticles and lead acetate in mice[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2010, 30(1):52-60.
- [5] 韩建兵,苏海佳,谭天伟. 纳米 TiO₂/壳聚糖复合膜对大肠杆菌杀菌作用的研究[J]. 化工新型材料,2006,34(7):65-68.
- [6] 张 萍,崔海信,李玲玲. 纳米 TiO₂ 半导体溶胶的光生物学效应[J]. 无机材料学报,2008,23(1):55-60.
- [7] 占鹏飞,李 兵,费建明. 家蚕添食纳米 TiO₂ 后体内解毒酶活性及相关基因转录水平的变化[J]. 蚕业科学,2014,40(3):458-461.
- [8] Zhang H, Ni M, Li F, et al. Effects of feeding silkworm with nanoparticulate anatase TiO₂ (TiO₂ NPs) on its feed efficiency[J]. Biological Trace Element Research, 2014, 159(1/2/3):224-232.
- [9] Ni M, Li F, Tian J, et al. Effects of titanium dioxide nanoparticles on the synthesis of fibroin in silkworm (*Bombyx mori*) [J]. Biological Trace Element Research, 2015, 166(2):225-235.
- [10] Li B, Xie Y, Cheng Z, et al. BmNPV resistance of silkworm larvae resulting from the ingestion of TiO₂ nanoparticles[J]. Biological Trace Element Research, 2012, 150(1/2/3):221-228.
- [11] 李 兵,沈卫德,洪法水. 一种家蚕增产添加剂: ZL201310569044[P]. 2015-02-18.

与酸法比较,对纤维素、半纤维素的破坏程度较轻,而且会导致纤维素变得比天然纤维素更致密、稳定^[13-14]。Mathew 等开展了 NaOH 预处理油菜秸秆用于评价葡萄糖产率的研究,发现碱预处理比酸预处理效果好,碱预处理下产率为 44% 左右^[15]。有机溶剂能断裂秸秆内部木质素与纤维素之间的酯键,增大葡萄糖产率^[16],还可通过减压蒸馏进行回收,降低成本,且提取的木质素纯度高,可避免阻碍微生物生长、酶法水解和发酵的化合物生成^[17]。Neilson 等使用乙醇预处理来脱除木质素,可以提高木材的酶解率^[18]。虽然各种预处理方法各有优势,但单一的预处理方式有局限性,文献中也多次报道组合试剂法,Dai 等采用 NaOH、尿素对水稻秸秆预处理,发现其有协同效应,明显提高了糖产率^[19]。He 等用离子液体 1-丁基-3-甲基咪唑氯盐与 NaOH 处理玉米秸秆,酶促水解 2 d,生物质转化成还原糖的产率为 95.1%^[20]。基于溶剂法和碱法的各自优势,尝试选用复合溶剂法进行葵花秆的预处理。本研究选用 NaOH、乙醇复合溶剂对葵花秆进行预处理,研究预处理时间、温度、固液比、碱醇比以及碱和乙醇浓度对木质素去除率的影响,并通过正交试验确定最佳条件,比较复合溶剂与单溶剂预处理对葵花秆酶解制糖的影响,以期提高木质素的去除率,进一步提高酶解制糖产率。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

材料:葵花秆取自陕西省神木县,用粉碎机粉碎后过 40~80 目筛,主要成分如下:水分 12.51%、综纤维素 48.84%、木质素 13.26%、灰分 4.24%;纤维素酶来源于黑曲霉(载体为淀粉),粉末,购自于阿拉丁公司;氢氧化钠、无水乙醇、葡萄糖、3,5-二硝基水杨酸、柠檬酸钠、柠檬酸、盐酸、丙酮、硫酸均为分析纯。

仪器:恒温油浴锅(DF-101S 型),离心机(SK-1 型),恒温水浴振荡器(DKZ 系列),鼓风干燥箱(101-3 型),旋转蒸发器(RE-2000B 型),电子天平(FA-2004 型),双光束紫外可见分光光度计(TU-1901 型),马弗炉(XSI-25-1200 型),傅里叶红外光谱仪(EQUINOX55 型),扫描电镜(JSM 6460 LV 型)。

1.2 葵花秆预处理

取一定量葵花秆,在鼓风干燥箱中烘干至恒质量。取 2 g 葵花秆置于三口烧瓶中,加入预处理液,在一定温度下反应一段时间。反应结束冷却至室温后抽滤,用超纯水将滤饼洗涤至中性,收集滤液、滤饼。滤饼在 105℃ 下烘干至恒质量。滤液用旋转蒸发器减压蒸馏,回收乙醇,然后在滤液中加入浓硫酸使木质素析出沉淀,最后回收木质素,木质素去除率计算方法如下:

$$\text{木质素去除率} = \left(1 - \frac{\text{溶剂法处理后木质素质量}}{\text{葵花秆中木质素质量}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

1.3 滤纸酶活力的测定

参照 QB 2583—2003《纤维素酶制剂》的方法配制 DNS 试剂、柠檬酸缓冲液、葡萄糖标准储备溶液(10 mg/mL)及葡萄糖标准使用溶液,绘制葡萄糖标准曲线。参照 QB 2583—2003《纤维素酶制剂》的方法,制备待测酶样和滤纸条,利用

下式计算滤纸酶活力:

$$X_1 = A \times 1/0.5 \times n_0 \quad (2)$$

式中: X_1 为滤纸酶活力(FPA); A 为由测得吸光度计算的还原糖量; $1/0.5$ 为酶液的稀释倍数。

1.4 酶解试验

分别取 50 mg 未经处理的葵花秆、经 2% NaOH 溶液处理、经 70% 乙醇溶液处理、经 2% NaOH 溶液和 70% 乙醇溶液协同处理的葵花秆各 4 组,共 16 组于试管内,对其进行编号。在每只试管中加入一定量柠檬酸缓冲液和 90 U/g 的纤维素酶,混匀,盖塞,置于 50℃ 的恒温水浴振荡器中酶解,每隔 12 h 各取 4 种原料中的 1 支试管,加入 DNS 试剂,在沸水浴中加热 10 min 使酶失活。然后在冷水浴中使其降到室温,加水至 25 mL 混匀,使用双光束紫外可见分光光度计测定溶液在波长 540 nm 下的吸光度,将该吸光度代入标准葡萄糖曲线的线性回归方程,计算出葡萄糖产量。

2 结果与分析

2.1 各因素对葵花秆木质素去除率的影响

2.1.1 水解温度、水解时间对木质素去除率的影响 水解温度选择:称取 2 g 葵花秆,加入 90% 乙醇、2% NaOH 复合溶剂($V:V=1:1$)40 mL,分别在 140、150、160、170℃ 下水解 1 h,测其木质素去除率。如图 1-a 所示,随着温度升高,木质素去除率不断提高,但是当温度进一步提高时,木质素去除率上升缓慢。说明随着温度升高,预处理反应越来越剧烈,温度到 160℃ 时反应剧烈程度趋于饱和,所以木质素去除率的上升速率变慢。

水解时间选择:称取 2 g 葵花秆,加入 90% 乙醇、2% NaOH 复合溶剂($V:V=1:1$)40 mL,在 160℃ 下,分别水解 0.5、1.0、1.5、2.0 h,测其木质素去除率。如图 1-b 所示,随着处理时间延长,木质素去除率呈现迅速增大而后趋于平缓增长的趋势。处理时间越长,木质素去除率越高。当处理时间超过 1.5 h 后,反应液中的木质素含量趋于饱和,时间过长可能会阻止木质素的继续溶出。

2.1.2 溶剂质量分数、体积分对木质素去除率的影响 乙醇体积分数选择:称取 2 g 葵花秆,分别加入 60%、70%、80%、90% 乙醇和 2% NaOH 的复合溶剂($V:V=1:1$)40 mL,在 160℃ 下水解 1 h,测其木质素去除率。如图 2-a 所示,随着乙醇浓度增大,木质素去除率先升高后降低,当乙醇体积分数为 70% 时,木质素去除率最高。这与有机溶剂乙醇破坏了木质素之间的连接键、半纤维素之间的糖苷键以及木质素和半纤维素之间的醚键、4-O-甲基葡萄糖醛酯键,加速木质素的溶出有关,所以乙醇体积分数不宜过高或过低,结合实际生产成本,选择乙醇体积分数为 70%。

NaOH 质量分数选择:称取 2 g 葵花秆,分别加入 70% 乙醇和 0.5%、1.0%、2.0%、3.0% NaOH 的复合溶剂($V:V=1:1$)40 mL,在 160℃ 下水解 1 h,测其木质素去除率。如图 2-b 所示,随着 NaOH 浓度增大,木质素去除率不断上升,但是上升趋势不断减缓。氢氧化钠导致木质素膨胀、纤维素内表面积增加以及聚合度和结晶度降低,从而引发木质素结构的断裂,考虑到实际成本,选择 NaOH 溶液浓度为 2.0%。

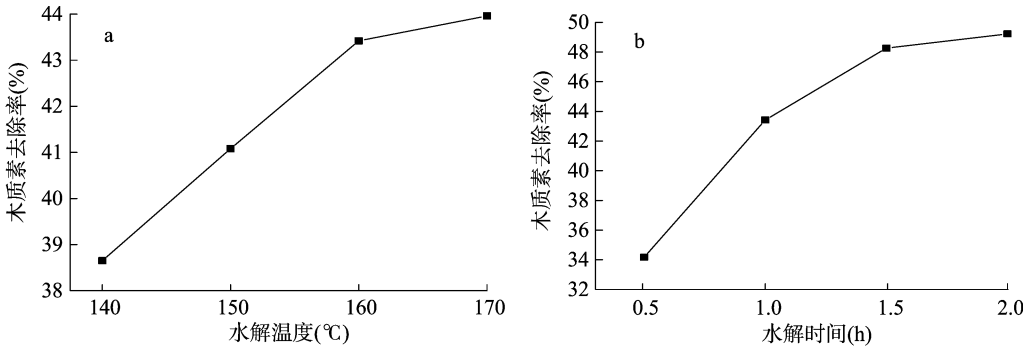


图1 水解温度、水解时间对木质素去除率的影响

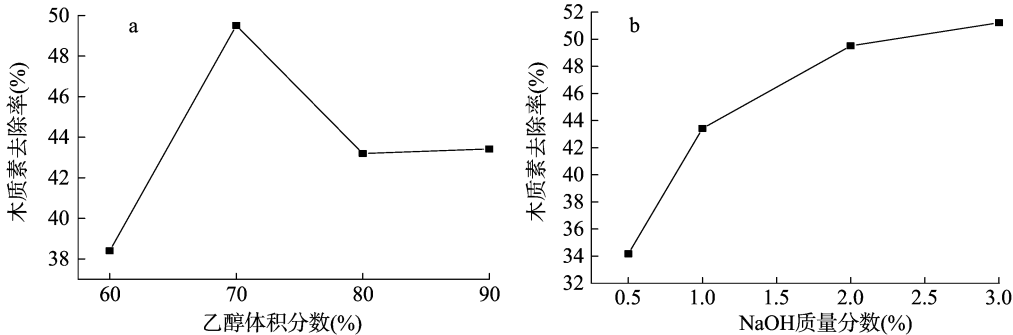


图2 乙醇体积分数、NaOH 质量分数对木质素去除率的影响

2.1.3 固液比和复合溶剂体积比对木质素去除率的影响

固液比选择:称取 2 g 葵花籽,分别加入 70% 乙醇、2% NaOH 复合溶剂($V:V=1:1$) 30、40、50、60 mL,在 160 °C 下水解 1 h,测其木质素去除率。如图 3 - a 所示,随着固液比的增加,木质素去除率先升高后缓缓下降。由于乙醇可以溶解木质素,因此增大固液比有利于木质素的溶出,但到一定程度就会饱和。当固液比为 1 : 25 (g : mL) 时,木质素去除率最高。

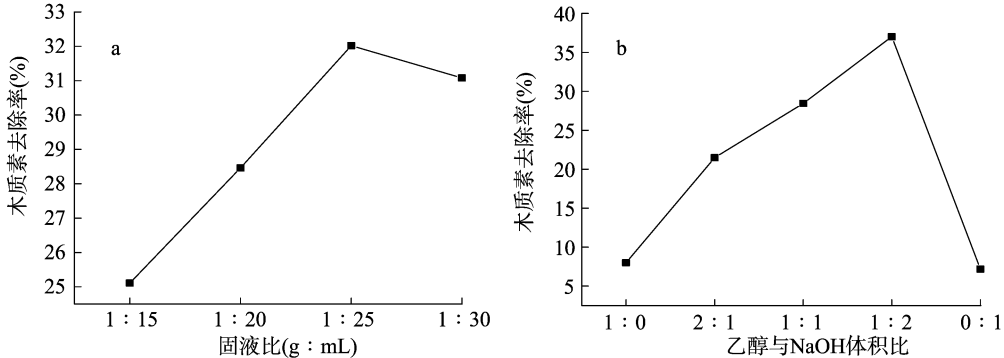


图3 固液比和复合溶剂体积比对木质素去除率的影响

2.1.4 正交试验 根据单因素试验结果,分别将 NaOH 浓度、乙醇浓度确定为 2%、70%,将考察因素定为温度、时间、复合溶剂(2% NaOH、70% 乙醇)比例、固液比,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,因素水平见表 1,正交试验结果见表 2。

由表 2 可知,4 个因素对葵花籽木质素去除率影响大小次序为时间 > 复合溶剂体积比 > 固液比 > 温度。优化得到的最佳条件为 $A_3B_2C_1D_1$,即加热温度 170 °C,时间 1 h,2% NaOH、70% 乙醇体积比 2 : 1,固液比为 1 : 25 (g : mL)。使用该最优条件进行试验验证,得到的木质素去除率为 53.75%,高于表 2 中所有结果,验证了正交试验结果的正确性。

乙醇与 NaOH 体积比的选择:称取 2 g 葵花籽,分别加入 70% 乙醇、2% NaOH 复合溶剂($V:V=1:0,2:1,1:1,1:2,0:1$) 40 mL,在 160 °C 下水解 1 h,测其木质素去除率。如图 3 - b 所示,单独用 2 种溶液进行预处理时,木质素去除率很低;当 2 种溶液进行复合处理时,木质素去除率有较大提升,说明复合溶剂有协同作用,当乙醇溶液与 NaOH 溶液体积比为 1 : 2 时,木质素去除率最高。

表 1 复合溶剂对葵花籽预处理正交试验因素水平				
水平	因素			
	A: 温度 (°C)	B: 时间 (h)	C: 复合溶剂 体积比	D: 固液比 (g : mL)
1	160	1.5	2 : 1	1 : 25
2	150	1.0	1 : 1	1 : 20
3	170	2.0	1 : 2	1 : 30

2.2 葵花籽预处理前后的结构变化

2.2.1 红外光谱分析 从图 4 可以看出,水解前后的葵花籽红外谱图基本相似,3 370 cm^{-1} 为分子内羟基 O—H 伸缩振动

表 2 复合溶剂对葵花秆预处理正交试验结果

序号	因素水平				木质素去除率(%)
	A:温度	B:时间	C:复合溶剂体积比	D:固液比	
1	1	1	1	1	41.80
2	1	2	2	2	49.51
3	1	3	3	3	25.56
4	2	1	2	3	27.03
5	2	2	3	1	43.20
6	2	3	1	2	37.00
7	3	1	3	2	29.34
8	3	2	1	3	48.98
9	3	3	2	1	40.74
k_1	38.96	32.72	42.59	41.91	
k_2	35.74	47.23	39.09	38.62	
k_3	39.69	34.43	32.70	33.86	
R	3.95	14.51	9.89	8.05	

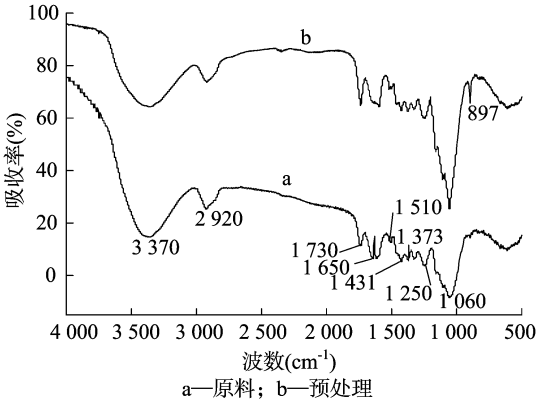
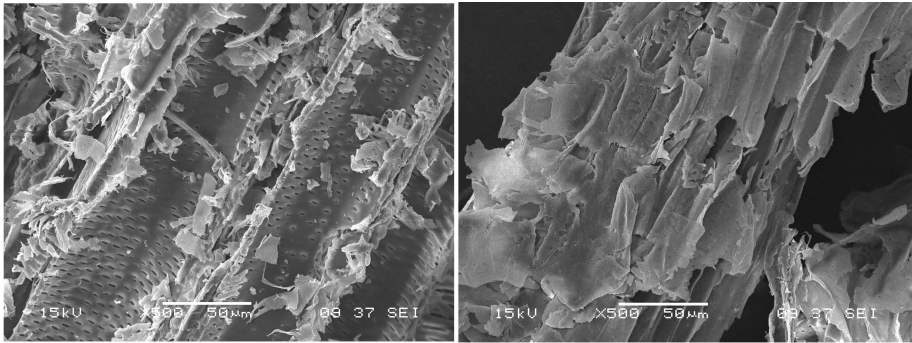


图4 预处理前后葵花秆的红外谱图



a.未处理的葵花秆
b.预处理的葵花秆
图5 葵花秆和预处理葵花秆的电镜扫描图

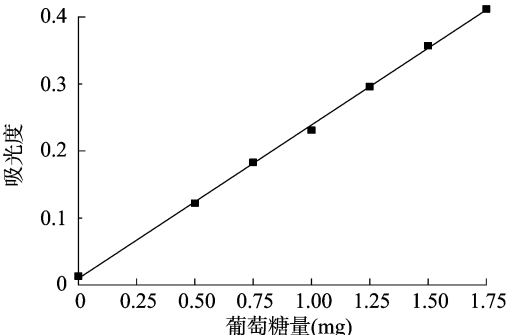


图6 葡萄糖标准曲线

谱带,2 920 cm^{-1} 为—CH、—CH₂ 伸缩振动的吸收峰,波数 1 720 ~ 1 733 cm^{-1} 处的吸收峰表征与木质素或半纤维素有关的非共轭酮基、羰基及酯键的 C=O 伸缩振动^[21],1 650 cm^{-1} 处的吸收峰由木质素中共轭羰基伸缩振动所导致^[22]。经预处理后,发现其特征吸收峰基本消失不见,说明木质素的结构被破坏,1 510 cm^{-1} 为木质素苯环骨架振动的特征吸收峰,经预处理后也基本消失,说明脱出了木质素。1 250 cm^{-1} 愈创木基的苯环伸缩振动引起,1 060 ~ 1 062 cm^{-1} 为葵花秆的中纤维素与半纤维素的特征光谱带,897 cm^{-1} 为纤维素中 β -D-葡萄糖苷的特征峰^[23-24],预处理的特征峰与原样品相比有了更明显的变化,这可能是因为经过碱和有机溶剂协同预处理,断裂了木质素与半纤维素间的连接键,使部分木质素得以去除。消除了木质素的包裹,纤维素和半纤维素暴露出来的部分越来越多,所以其特征峰更加明显。

2.2.2 扫描电镜分析 在植物细胞壁中,纤维素被木质素伸展蛋白、半纤维素、果胶质组成的基质所包埋,这样可以增强植物细胞壁的抗拉强度和机械性能,所以在图 5-a 中所看到的葵花秆结构致密,纤维素紧密排列在一起,高度有序。如图 5-b 所示,经过氢氧化钠、乙醇复合溶剂预处理后,葵花秆结构被破坏,表面出现不规则的裂痕和孔洞、褶皱,大量木质素被降解,木质素与半纤维素之间的空间立体交联结构被破坏,内部纤维素骨架显现,暴露出更多纤维素^[25],比表面积增大,纤维素酶与纤维素的接触面增加,增大了酶解制糖的产率。

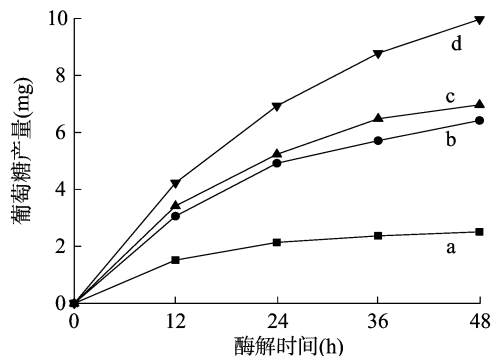
2.3 不同预处理方法对葵花秆酶解制糖的影响

以吸光度为纵坐标,葡萄糖含量为横坐标,绘制葡萄糖标准曲线(图 6),回归方程为 $y = 0.229\,2x + 0.009\,6$,线性回归系数为 $r^2 = 0.999\,01$ 。通过测定分析得出,本试验所用的纤

维素滤纸酶活力为 546 U/g。

以未处理的葵花秆、经过 2% NaOH 预处理的葵花秆、70% 乙醇预处理的葵花秆、2% NaOH 和 70% 乙醇协同预处理的葵花秆为原料进行酶解试验。由图 7 可知,所有曲线都呈上升趋势,并且上升速率越来越小。未经过预处理的葵花秆相关曲线上升幅度和速率都最小,可能是由于木质素的阻挡,酶与纤维素接触受阻,酶解率也低。对于单溶剂来说,利用 2% NaOH 处理的葵花秆,其葡萄糖产率比 70% 乙醇处理的葵花秆稍高一些,这是由于 2% NaOH 预处理葵花秆时,其木质素脱除率略高于 70% 乙醇溶剂。用 2% NaOH、70% 乙醇共同预处理葵花秆,其葡萄糖产率明显比单一溶剂预处

理的效果好,这是由于用混合溶剂预处理葵花秆时,木质素的脱除率最高。



a—未处理的葵花秆; b—70%乙醇处理;
c—2%NaOH处理; D—2% NaOH、70%乙醇处理

图7 不同预处理方法下葵花秆酶解曲线

3 结论

本研究表明,2% NaOH、70%乙醇复合溶剂预处理葵花秆时,木质素去除率显著高于2%氢氧化钠或70%乙醇溶剂单独处理;通过正交试验优化后的最佳预处理条件是:加热温度170℃,时间1h,2% NaOH溶液、70%乙醇体积比为2:1,固液比为1:25(g:mL),该条件下木质素去除率为53.75%;葵花秆预处理后,其木质素去除率越高,酶解后葡萄糖的产率越高。

参考文献:

- [1] 刘海燕,刘鹏,王秀飞,等. 利用农作物秸秆生产原料糖的研究进展[J]. 材料导报,2015,29(9):97-101.
- [2] 王凤芹,全银杏,李传斌,等. 蒸汽爆破玉米芯水解液脱毒及其发酵生产燃料丁醇[J]. 农业工程学报,2016,32(5):257-262.
- [3] 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.
- [4] Ibrahim A H. Pretreatment of straw for bioethanol production[J]. Energy Procedia,2012,14(14):542-551.
- [5] Agudelo R, García - Aparicio M, Gírgens J. Steam explosion pretreatment of triticale (× Triticosecale Wittmack) straw for sugar production[J]. New Biotechnology,2016,33(1):153-163.
- [6] López - Linares J, Ballesteros I, Tourín J, et al. Optimization of uncatalyzed steam explosion pretreatment of rapeseed straw for biofuel production[J]. Bioresource Technology,2015,190:97-105.
- [7] Huang Y F, Chiueh P T, Kuan W H, et al. Microwave pyrolysis of lignocellulosic biomass: heating performance and reaction kinetics[J]. Energy,2016,100(92):137-144.
- [8] 高杨,郝一男,王虎军,等. 不同处理方法对玉米秸秆表面性能的影响[J]. 包装工程,2016,37(3):13-17.
- [9] Rouches E, Herpoel - Gimbert I, Steyer J P, et al. Improvement of anaerobic degradation by white - rot fungi pretreatment of lignocellulosic biomass: a review [J]. Renewable and Sustainable Energy

Reviews,2016,59:179-198.

- [10] Schilling J, Ai J, Blanchette R, et al. Lignocellulose modifications by brown rot fungi and their effects, as pretreatments, on cellulolysis [J]. Bioresource Technology,2012,116(7):147-154.
- [11] Hamed S A. In - vitro studies on wood degradation in soil by soft - rot fungi: *Aspergillus niger* and *Penicillium chrysogenum* [J]. International Biodeterioration & Biodegradation,2013,78(2):98-102.
- [12] Singh A P, Singh T. Biotechnological applications of wood - rotting fungi: a review [J]. Biomass and Bioenergy,2014,62(352):198-206.
- [13] Hendriks A M, Zeeman G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass [J]. Bioresource Technology,2009,100(1):10-18.
- [14] Mosier N, Wyman C, Dale B, et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass [J]. Bioresource Technology,2005,96(6):673-686.
- [15] Mathew A, Chaney K, Crook M, et al. Alkaline pre - treatment of oilseed rape straw for bioethanol production: evaluation of glucose yield and pre - treatment energy consumption [J]. Bioresource Technology,2011,102(11):6547-6553.
- [16] Imman S, Arnthong J, Burapatana V, et al. Fractionation of rice straw by a single - step solvothermal process: effects of solvents, acid promoters, and microwave treatment [J]. Renewable Energy,2015,83:663-673.
- [17] 于雪. 绿色溶剂中木质纤维素原料预处理及其酶解研究 [D]. 大连:大连工业大学,2013.
- [18] Neilson M, Shafizadeh F, Aziz S, et al. Evaluation of organosolv pulp as a suitable substrate for rapid enzymatic hydrolysis [J]. Biotechnology and Bioengineering,1983,25(2):609-612.
- [19] Dai Y, Si M, Chen Y, et al. Combination of biological pretreatment with NaOH/Urea pretreatment at cold temperature to enhance enzymatic hydrolysis of rice straw [J]. Bioresource Technology,2015,198:725-731.
- [20] He Y, Liu F, Gong L, et al. Significantly improving enzymatic saccharification of high crystallinity index's corn stover by combining ionic liquid [Bmim] Cl - HCl - water media with dilute NaOH pretreatment [J]. Bioresource Technology,2015,189:421-425.
- [21] Gastaldi G, Capretti G, Focher B, et al. Characterization and properties of cellulose isolated from the *Crambe abyssinica* hull [J]. Industrial Crops and Products,1998,8(3):205-218.
- [22] 池玉杰. 6种白腐菌腐朽后的山杨木材和木质素官能团变化的红外光谱分析[J]. 林业科学,2005,41(2):136-140.
- [23] Karlsson C, Mörgelin M, Collin M, et al. SufA—a bacterial enzyme that cleaves fibrinogen and blocks fibrin network formation [J]. Microbiology,2009,155(1):238-248.
- [24] Wada M A, Okano T A, Sugiyama J U. Synchrotron - radiated X - ray and neutron diffraction study of native cellulose [J]. Cellulose,1997,4(3):221-232.
- [25] 马海元,林燕,张伟,等. NaOH预处理小麦秸秆对纤维素酶水解的影响[J]. 湖北农业科学,2013,52(18):4355-4358.