

秸秆稀酸水解液中抑制物的研究

孙多志, 黄清发, 王复*, 颜涌捷

(华东理工大学能源系, 上海 200237)

摘要:采用气相色谱/质谱(GC/MS)法对秸秆稀酸水解液中主要抑制物进行分析与鉴定,得到主要抑制物为乙酸、糠醛、乙酰丙酸和 5-羟甲基糠醛。用气相色谱法定量乙酸、糠醛、乙酰丙酸和 5-羟甲基糠醛的线性范围分别为 0.07~0.51、0.05~0.351、0.11~0.85、0.08~0.63 mg/mL,相关系数大于 0.995。对秸秆稀酸水解液进行测定的结果表明,不同温度下木糖和葡萄糖降解有着不同变化规律,为秸秆稀酸水解工艺的改进提供了参考。

关键词:秸秆;水解液;抑制物;气相色谱法

中图分类号:O657.63 **文献标识码:**A

生物质是潜在的可再生能源,利用生物质生产燃料乙醇具有广阔的前景和应用价值^[1]。纤维素类物质稀酸水解液中的酚类、呋喃类化合物、有机酸和盐类是乙醇发酵工艺中的抑制物^[2],这些物质影响细胞的生物学活性,使得他们的存活率下降,进而降低了乙醇的产量和质量^[3]。测定有机酸、糠醛及酚类化合物的方法有液相色谱法^[4-7]和气相色谱法^[8-10]。

本文对秸秆水解液中抑制物进行了研究,采用气相色谱/质谱(GC/MS)法分析水解液中的抑制物,然后用 GC 法定量测定秸秆稀酸水解液中各抑制物的浓度,得到了木糖和葡萄糖降解产物的变化规律。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

PerkinElmer Clarus 500 型气相色谱/质谱联用仪;安捷伦 Agilent 6820 型气相色谱仪,采用氢火焰离子化检测器(FID)。

糠醛(Sigma-Aldrich 公司)、乙酰丙酸(Fluka 公司)、乙酸和 5-羟甲基糠醛(Acros Organics 公司),分析纯丙酮,甲醇,二次蒸馏水。

1.2 气相色谱条件

Innowax 毛细管柱(30 m ×0.32 mm ×0.25 μm),初始柱箱温度 120 (保持 3 min),以 50 /min 的速率升到 250 (保持 5 min);进样口温度 250 ;检测器:氢火焰离子化检测器(FID),检测器温度 300 ;载气(N₂)流量:1 mL/min,不分流进样 1 μL。

1.3 质谱条件

电离方式:电子轰击,电离(EI)能量:70 eV,离子源温度:220 ,传输线温度:220 ,扫描范围(m/z):33~550,倍增器电压:300 V。

2 结果与讨论

2.1 秸秆水解液中抑制物的 GC/MS 定性分析

取 12 个秸秆稀酸水解液样品,进行 GC/MS 分析,反复的对比,有代表性的水解液的 GC/MS 总离子

收稿日期:2007-11-02 修回日期:2008-01-31

基金项目:国家“863”重大课题(No. 2003AA514020)

*通讯联系人:王复,男,高级工程师,主要从事有机质谱分析研究。

流图如图 1。

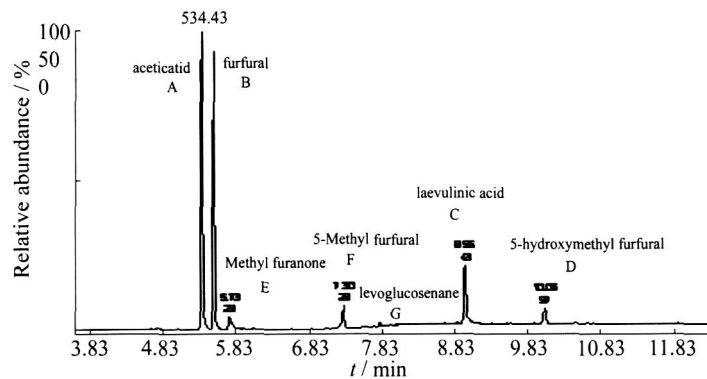


图 1 秸秆水解液中抑制物的总离子流图

Fig. 1 Total ion current of inhibitor in dilute acid hydrolysate of Corn Stover

在秸秆的稀酸水解工艺中,当酸浓度和水解温度提高时木糖和葡萄糖会发生分解,木糖脱水变成糠醛,而葡萄糖降解成 5-羟甲基糠醛,进一步分解成乙酰丙酸。秸秆中有大量的乙酰基团,经过酸水解之后从大的分子断裂变成乙酸^[11],还有一些含量较少的甲基呋喃酮、5-甲基糠醛和左旋葡萄糖酮等。

在生物质燃料乙醇的发酵工艺中,秸秆水解液中的主要抑制物为乙酸、糠醛、乙酰丙酸和 5-羟甲基糠醛,对发酵产生抑制作用^[12]。Palmqvist^[12]认为发酵抑制物影响糖发酵微生物在细胞膜中传输的表达和活性,并对发酵微生物的生长和乙醇生产及产量的影响进行了研究。

2.2 样品前处理

秸秆稀酸水解液是水相,而且含有一定量的单糖。在进行气相色谱分析时样品中大量的水会影响气相色谱的重复性。单糖不溶于乙醇,但是由于样品中含有有机酸,用醇类作溶剂会使有机酸酯化。试验中发现使用丙酮也可以使单糖析出,而且随着溶剂中丙酮比例的增加气相色谱的重复性越好。因此,实验中用丙酮:水=9:1(V/V)的混合溶剂,一方面可满足气相色谱分析的条件,同时可去除水解液中的单糖。

2.3 气相色谱柱的选择

分别试验了 HP-5 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)和 Innowax 毛细管柱(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm),实验显示在 HP-5 非极性色谱柱上的乙酸和乙酰丙酸的前伸峰明显,乙酸和丙酮的分离不好。而在 Innowax 极性色谱柱上四种物质的峰形对称,每种物质都达到基线分离,因此,在本实验中选择极性的 Innowax 毛细管柱。

2.4 标准曲线

配制一系列标准溶液,进行 GC 测定,得到各个抑制物的线性回归方程、线性范围和相关系数见表 1。

表 1 秸秆水解液中四种主要抑制物的线性回归方程、线性范围和相关系数

Table 1 The linear regression equations, linear ranges and correlation coefficients of the main inhibitors in dilute acid hydrolysate of Corn Stover

Compound	Linear regression equation	Linear range (mg/mL)	R^2
Acetic acid	$y = 1\ 683x - 50.68$	0.07 ~ 0.51	0.9994
Furfural	$y = 3\ 729x - 29.93$	0.05 ~ 0.35	0.9990
Laevulinic acid	$y = 2\ 011x - 181.4$	0.11 ~ 0.85	0.9957
5-(hydroxymethyl) furfural	$y = 2\ 298x - 70.25$	0.08 ~ 0.63	0.9987

2.5 精密度及回收率

用上述气相色谱分析条件,进样 1 μL 抑制物标准样品,重复测定 10 次,秸秆水解液抑制物乙酸、糠醛、乙酰丙酸和 5-羟甲基糠醛的相对标准偏差(RSD)分别为 1.36%、1.40%、2.48%和 2.99%。

任意选取 5 个水解液样品,测定其浓度;然后在已经测定过浓度的 5 个样品中再加入一定量的标准样

品,再测定其浓度,乙酸、糠醛、乙酰丙酸和5-羟甲基糠醛的平均回收率分别为95.57%、95.58%、94.86%和97.58%。

2.6 秸秆水解液的测定

分析了5组低温段和高温段的秸秆水解液,总共10个样品,用气相色谱法测得各抑制物的浓度,用液相色谱法测到10个样品的木糖或者葡萄糖浓度,秸秆稀酸水解液中糖浓度与抑制物浓度的关系见图2。

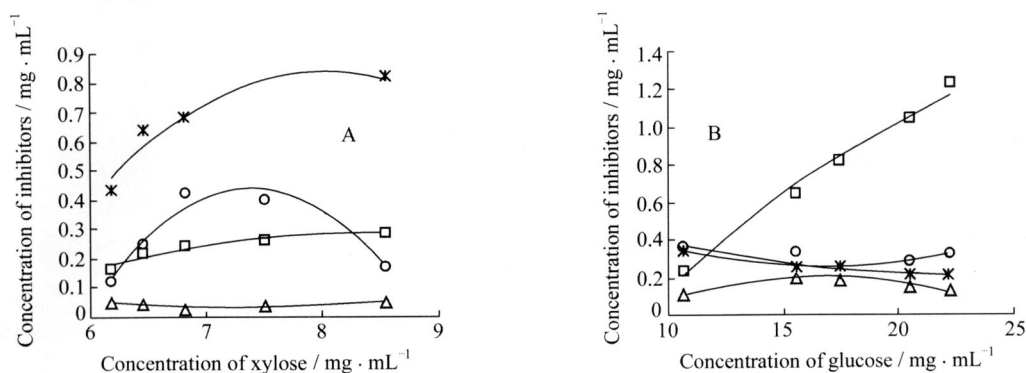


图2 秸秆稀酸水解液低温段(A)和高温段(B)各抑制物与单糖浓度的关系

Fig. 2 The relationship of the concentration of xylose (A) and glucose (B) and inhibitors in dilute acid hydrolysate of Corn Stover by lower and higher temperature respectively

* acetic acid; o furfural; □ laevulinic acid; Δ 5-(hydroxymethyl)furfural.

由上述数据得知,低温段乙酸的浓度高于高温段,说明乙酰基团在低温下就能分解。糠醛、乙酰丙酸和5-羟甲基糠醛随着水解温度的升高它们的含量也相应的增大,说明温度提高增加水解能力的同时也加速了水解液中木糖和葡萄糖的降解。

在低温段,随着木糖浓度的增加,乙酸和乙酰丙酸的浓度也增加,糠醛的浓度先增大然后减小,5-羟甲基糠醛的浓度先减小后增大。在高温段,随着葡萄糖浓度的增加,乙酸的浓度减小,乙酰丙酸的浓度增加,糠醛的浓度先减小后增大,5-羟甲基糠醛先增大后减小。说明在水解过程中木糖和葡萄糖发生了反应,木糖脱水变成5-羟甲基糠醛,进而分解成糠醛,葡萄糖脱水变成乙酰丙酸等物质。在水解过程中糠醛和5-羟甲基糠醛的变化有最大值或最小值,而且在低温段和高温段有不同的变化规律,说明木糖的降解受实验条件的影响较大。

参考文献:

- [1] YUAN Quan(袁权). Advances in Energy Chemistry(能源化学进展)[M]. Beijing(北京):Chemical Industry Press(化学工业出版社),2005:194.
- [2] Klinke H B, Thomsen A B, Ahring B K. Appl. Microbiol. Biotechnol. [J], 2004, **66**:10.
- [3] Palmqvist E, Hahn Hagerdal B. Bioresour Technol. [J], 2000, (74):25.
- [4] Lopez M J, Nichols N N, Dien B S, Moreno J. Appl. Microbiol. Biotechnol. [J], 2004, **64**:125.
- [5] Carlos Martín, Marcelo Marcet, Oscar Almazan, Ief J. Jonsson. Bioresource Technology[J], 2007, **98**:1767.
- [6] SHI Zeng-qi(石增起), YANG Guang-rui(杨光瑞), LIU Qiao-ru(刘巧茹). Chinese Journal of Analysis Laboratory(分析实验室)[J], 2006, **25**(6):73.
- [7] LAN Ling-yang((赖玲杨). Chinese Journal of Health Laboratory Technology(中国卫生检验杂志)[J], 2005, **15**(9):1082.
- [8] HE Ai-ming(何爱民), SU Guo-sui(苏国岁). Analysis and Testing Technology and Instruments(分析测试技术与仪器)[J], 2005, **11**:120.
- [9] ZHAO Hui-ju(赵惠菊). Journal of Analytical Science(分析科学学报)[J], 2003, **19**(5):451.
- [10] Teixdo E, Santos F J, Puignou L, et al. Journal of Chromatography A[J], 2006, (1):85.
- [11] Torry-Simith M, Sommer P, Ahring B K. Biotech. Bioeng. [J], 2003, **84**:7.
- [12] Palmqvist E, Hahn Hagerdal B. Bioresour Technol. [J], 2000, (74):17.

Study on the Inhibitors in Diluted Acid Hydrolysate of Corn Stover

SUN Duo-zhi, HUANG Qing-fa, WANG Fu*, YAN Yong-jie

(Energy Department, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

Abstract: Diluted acid hydrolysate of Corn Stover was studied and identified by means of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Four mainly inhibitors were analyzed by GC-MS, including acetic acid, furfural, laevulinic acid and 5-(hydroxymethyl) furfural. The linear ranges for above four inhibitors were 0.07 ~ 0.51, 0.05 ~ 0.35, 0.11 ~ 0.85 and 0.08 ~ 0.63 mg/mL, respectively, with $R^2 > 0.995$. A series of diluted acid hydrolysate of corn stover were analyzed, and it was found that the concentrations of four inhibitors were different due to the condition of hydrolysis technology, which provides an effective information to improve the hydrolysis technology.

Keywords: Corn Stover; Hydrolysate; Inhibitors; GC

《分析科学学报》征稿简则

《分析科学学报》是经国家科技部(原国家科委)批准,教育部主管,由武汉大学、北京大学、南京大学三校共同主办的分析科学领域的综合性学术刊物。本刊为中文核心期刊,教育部和湖北省优秀科技期刊。

《分析科学学报》重点报道我国在分析科学领域里有关物质的定性、定量和结构分析的理论、方法、试剂、仪器和技术中具有创造性和先进性的研究成果,反映国内外分析科学前沿领域的进展和动向。读者对象为从事分析科学的教学、科研、生产和管理人员。本刊为双月刊,公开发行人。

1 刊登文稿的形式

1.1 研究报告 报道具有创造性和先进性的研究成果,全文(包括图、表、参考文献、中英文摘要)不超过1万字。

1.2 研究简报 报道具有一定创造性和在前人工作基础上有较大改进的研究成果,全文(包括图、表、参考文献、中英文摘要)不超过8千字。

1.3 仪器研制与实验技术 报道新分析仪器的研制、性能及其应用,全文(包括图表、参考文献、中英文摘要)不超过8千字。

1.4 综述与评论 要求结合自己的工作,对国内外分析科学的前沿领域的进展和动向进行评述,全文(包括图、表、参考文献、中英文摘要)不超过1.2万字。

1.5 技术交流 刊登对分析方法作了改进且有一定应用价值的文章,全文(包括图、表、参考文献、中英文摘要)在4~6千字以内。

1.6 动态与信息之窗 会议信息等,1千字以内。

2 来稿要求及注意事项

2.1 来稿须附单位推荐信,证明稿件无泄密问题以及作者署名的真实性。

2.2 来稿须一式两份,打印或用稿纸抄写,要求字迹工整、清楚。

2.3 文中插图尺寸为5×5 cm或10×10 cm,图中坐标、标目、标值应准确、齐全。插图置正文相应处,图题、图注及图内文字应用中、英文分别表述。文中表格一律采用三线制列出,表题、表注以及表内文字也应用中、英文分别表述。

2.4 文中使用的名词术语、计量单位应按国家标准规范书写,外文字母、符号应分清语种、大小写和正斜体,上下角的字母、数码及符号其位置高低必须规范清楚。

2.5 参考文献只列出主要的、较新的相关文献,并按引用的先后顺序编号且置正文相应处。文献作者应全部列出。作者姓名(包括外国人)均采用姓前名后书写。文献后应给出文献类型标识(专著[M]、学位论文[D]、报告[R]、期刊文章[J]、标准[S]、专刊[P])。

2.6 来稿请署作者真实姓名并指定通讯联系人。

3 稿件处理

编辑部收到作者的稿件后进行登记编号,并立即送有关专家评审。一般在3个月内函告审理结果。作者收到稿件审理意见后,应根据评审意见对原文逐条进行修改,修改稿连同原稿及打印磁盘应尽快寄回编辑部,如修改稿在三个月内仍未寄回编辑部,按作者自动退稿处理。稿件若未被录用,编辑部将及时通知作者,原稿恕不退还,请作者自留底稿。凡录用的稿件,一般在12~15个月内刊出。作者在收到校样和应付版面费通知后,应立即支付版面费,并将签有校对姓名和日期的校样尽快寄回编辑部。论文刊出后将按规定付给作者稿酬。

来稿请寄:湖北武汉 武汉大学化学系《分析科学学报》编辑部

邮政编码:430072 电话:(027)68752248 传真:(027)68752248

E-mail: fxxxb@chem.whu.edu.cn