

水热亚硫酸预处理菊芋秸秆的高浓底物酶水解试验*

沈飞^{1,2} 王卿¹ 李阳¹ 李秀金² Hu Jinguang³

(1. 四川农业大学资源环境学院, 成都 611130; 2. 北京化工大学化学工程学院, 北京 100029;

3. 不列颠哥伦比亚大学林学院, 温哥华 V6T1Z4)

摘要: 为了有效改善菊芋秸秆用于乙醇转化过程中的酶水解糖化性能, 对经水热 H_2SO_3 预处理的秸秆进行高浓底物酶水解试验, 研究了适合的预处理条件及其底物质量分数提高潜力以及酶使用量缩减潜力。结果显示: 在 $180^\circ C$ 条件下, 添加 2.0% 的 H_2SO_3 进行水热预处理后的菊芋秸秆, 其组分中的半纤维素可被完全去除。并且在底物质量分数为 2.0%、纤维素酶和纤维二糖酶使用量分别为 20 FPU/g 和 40 CBU/g 条件下, 获得 90.0% 的最大酶水解率。在此条件下预处理后的菊芋秸秆, 酶水解的底物质量分数可提高的潜力为 12%。在此底物质量分数下进行酶水解, 纤维素酶使用量可缩减为 15 FPU/g, 纤维二糖酶使用量可缩减至 20 CBU/g。在此酶使用量条件下, 虽然纤维素酶和纤维二糖酶分别减少了 25% 和 50%, 酶水解率仍可达 88.3%。相比最大水解率, 仅降低 1.8%。

关键词: 菊芋茎秆 H_2SO_3 催化 水热预处理 高浓底物 酶水解

中图分类号: S216.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)03-0168-06

引言

菊芋 (*Helianthus tuberosus* L.) 属菊科多年生草本植物, 生长适应性强, 适合在沙漠、滩涂、盐碱荒地等非宜农土地上生长, 具有耐寒、耐旱以及耐盐碱的特点。其生物学产量较高, 一般块茎产量可达 $50 \sim 77 t/hm^2$, 秸秆产量可达 $20 \sim 28 t/hm^2$ ^[1]。菊芋的块茎中菊粉含量丰富, 占其干基质量的 70% ~ 90%; 菊芋秸秆以木质纤维素为主, 其中碳水化合物占其干基质量的 60% ~ 65%^[2]。因此, 菊芋已经被视为一种较有发展前途的能源作物。以菊芋块茎为原料进行生物乙醇开发, 在 20 世纪 80 年代就已开始^[3-4], 主要是利用生物酶解(菊粉酶)或者酸解的方式将菊粉转化成单糖, 并通过微生物将其转化成生物乙醇^[5]。然而, 对菊芋的木质纤维素部分的茎秆, 由于其结构紧密, 进行生物乙醇转化工艺较为复杂, 目前研究较少。通常情况下, 木质纤维素乙醇转化必须对原料进行预处理, 现有的预处理方法很多, 其中, 水热预处理法是在 $160 \sim 240^\circ C$ 条件下, 使半纤维素部分或全部溶解, 木质素实现部分脱除, 降低半纤维素对酶的位阻效应和木质素对酶的吸附效应, 从而实现纤维素酶水解效率的提高^[6-7]。然而, 在处理过程中过高的烈度(提高温度或延长处理时间)会导致碳水化合物的损失和抑制物的大量产

生, 对后续的发酵产生严重影响^[8]。因此, 在水热处理过程中, 常通过添加催化剂的方式, 以较低的烈度获得与高烈度相同的预处理效果, 并可减少抑制物的产生。目前, 在水热预处理木质纤维素常用催化剂多为酸, 其中以稀硫酸水热和 SO_2 蒸汽预处理较为典型^[9]。稀硫酸(0.5% ~ 2.0%)水热预处理可以在 $210^\circ C$ 处理很短时间(5 ~ 10 min), 也可以在 $120^\circ C$ 处理很长时间(30 ~ 90 min), 获得较好的预处理效果^[10-11]。 SO_2 催化的蒸汽预处理技术可以在 $180 \sim 210^\circ C$ 的条件下预处理 5 ~ 15 min, 实现半纤维素溶解和部分木质素脱除功能^[12-13]。目前, 有报道采用 2.5% 的稀 H_2SO_3 在 $100^\circ C$ 下, 处理 120 min 方式预处理新鲜的甜高粱茎秆, 可以提高茎秆整体乙醇产量 1.1 倍, 且在此条件, 典型抑制物糠醛以及 5-羟甲基糠醛产生的质量浓度均低于 $0.4 g/L$ ^[14]。该研究采用的预处理温度较低、预处理时间较长, 其目的在提高新鲜甜高粱茎秆中纤维素转化的同时, 减少茎秆中的不溶性碳水化物的降解。然而, 在液态高温水中添加 H_2SO_3 的水热催化预处理木质纤维素研究目前较少。

本文为改善水热预处理的效果, 采用 H_2SO_3 催化并提高水热环境温度, 对菊芋秸秆进行预处理, 并评估预处理效果。在此基础上, 通过提高底物浓度进行酶水解, 以评价 H_2SO_3 催化水热预处理后的菊

收稿日期: 2013-11-11 修回日期: 2013-12-18

* 国家自然科学基金资助项目(21306120)和中国博士后科学基金资助项目(2012M520145)

作者简介: 沈飞, 副教授, 北京化工大学博士后, 主要从事生物质能源工程研究, E-mail: fishen@sicau.edu.cn

芋秸秆用于酶水解时,其底物浓度提高潜力。并对酶水解过程中的酶用量进行减量筛选,以寻求高浓度底物酶水解过程中,水解酶使用量缩减的潜力。

1 材料与方法

1.1 材料

菊芋(南菊芋1号)种植于四川农业大学成都校区附近苗圃空地,于2012年11月收获。将收获后的菊芋秸秆自然风干,机械粉碎过20目筛室温保存,供实验使用。

1.2 预处理

粉碎后的60.0 g(干质量)菊芋秸秆中加入2%的 H_2SO_3 1 200 mL,置于2 L的高温反应釜(6JF型,大连自控设备厂),以约 $10^\circ C/min$ 的升温速率升温至180、195、210 $^\circ C$ 后处理10 min。同时以180 $^\circ C$,不添加 H_2SO_3 作为对照。预处理后,反应釜内经冷水盘管急冷至70~80 $^\circ C$ 后,转移预处理后物料,经真空过滤,反复洗涤10~15遍至洗出液pH值为6.0~6.5后,收集预处理后的固体置于4 $^\circ C$ 冰箱保存,用于组分测定和酶水解。

1.3 酶水解

将预处理后的基质0.400 0 g(干质量)加入至 $CH_3COOH-CH_3COONa$ (pH值4.8,0.05 mol/L)缓冲溶液中进行酶水解,水解体积控制为20 mL。封口后置于50 $^\circ C$ 、150 r/min的恒温空气浴摇床(HZQ-QX型,哈尔滨东联技术开发有限公司)水解72 h。水解过程中定时取样0.8 mL,密封置于100 $^\circ C$ 恒温金属浴(K30型,杭州奥盛仪器有限公司)灭活10 min后,于13 000 r/min、4 $^\circ C$ 离心5 min(Allegra 64R型,Beckman Coulter Ltd. Co.,美国)。取上清液置于-18 $^\circ C$ 冰箱保存,用于葡萄糖浓度测定。研究所采用的酶分别为纤维素酶、葡萄糖和纤维二糖酶(购于Sigma公司),分别产自里氏木霉(*Trichodema reesei* ATCC26924)和黑曲霉(*Aspergillus niger*)。

1.4 分析方法

(1) 物料组分分析。预处理前后物料组分分析采用NREL(National renewable energy laboratory)的木质纤维素原料碳水化合物及木质测定标准方法^[8]。

(2) 水解液中葡萄糖浓度的测定。采用高效液相色谱仪(Flexar, PerkinElmer, Inc., Waltham, MA, USA),以0.5 g/L的乳糖溶液为内标进行测定。每次进样量为0.1 mL,采用色谱柱为Shodex SH1011糖柱,流动相为0.05 mol/L的 H_2SO_4 ,流速为0.8 mL/min,柱温设置为60 $^\circ C$ 。采用示差折光检测器检测,检测器温度为50 $^\circ C$ 。

2 结果与讨论

2.1 菊芋秸秆组分分析

采用NREL方法对菊芋秸秆的主要组分进行测定,结果如表1所示。

表1 菊芋秸秆基本组分含量

Tab.1 Basic composition of Jerusalem artichoke stalk

主要组成		质量分数/%
纤维素	葡聚糖	40.5 ± 0.13
	木聚糖	16.2 ± 0.07
	甘露聚糖	2.0 ± 0.28
	半乳聚糖	0.99 ± 0.01
半纤维素	阿拉伯聚糖	0.42 ± 0.00
	酸性不溶木质素	29.7 ± 0.19
	酸性可溶木质素	2.3 ± 0.03
其他	抽提物	6.1 ± 0.15
	灰分	2.9 ± 0.03

菊芋秸秆中的纤维素主要以葡聚糖形式存在,质量分数为40.5%。半纤维素主要以木聚糖、半乳聚糖、阿拉伯聚糖以及甘露聚糖等4种聚糖形式存在,质量分数为19.6%。碳水化合物的总量约占整个茎秆干质量的60.1%,这决定它具有较好的生物能源转化的物质基础。菊芋秸秆的木质素质量分数为32.0%,其中酸性不溶木质素为29.7%,酸性可溶木质素为2.3%。根据菊芋秸秆组成的3大组分可以看出,与传统的农作物秸秆相比^[15-17],碳水化合物的总量与玉米、小麦以及水稻等相当,其中纤维素质量分数高于常规农作物秸秆(34%~36%)。半纤维素的各种聚糖组成与农作物秸秆相似,且木聚糖以阿拉伯糖基-4-O-甲基-葡萄糖醛酸基-木聚糖形式存在,占半纤维素80%以上,但其半纤维素质量分数低于常规的农作物秸秆(24%~29%)。较高的纤维素质量分数,可提高纤维素向葡萄糖转化的物质潜力,同时较低的半纤维素质量分数,可降低预处理难度,减少后续酶水解过程中的位阻效应^[9]。菊芋茎秆中木质素的质量分数明显高于传统农作物秸秆(12%~17%),这在一定程度上会潜在地增加其预处理和后续酶水解的难度。

2.2 水热 H_2SO_3 预处理对菊芋秸秆组分的影响

置菊芋秸秆于反应釜,在180 $^\circ C$ 、195 $^\circ C$ 、210 $^\circ C$ 经 H_2SO_3 催化处理10 min后测定各组分,其中木质素、纤维素、半纤维素等质量分数及其固形物回收率如表2所示。

通过比较表1和表2组分变化,发现水热预处理(CK)后菊芋秸秆的木质素和半纤维素相比未处理秸秆降低6.4%、5.2%,相应的纤维素质量分数

表2 不同条件预处理菊芋秸秆各组分质量分数及回收率

Tab.2 Composition of pretreated Jerusalem artichoke stalk

预处理条件	木质素		纤维素		半纤维素	
	质量分 数/%	回收 率/%	质量分 数/%	回收 率/%	质量分 数/%	回收 率/%
180℃ (CK)	25.6	64.2	46.2	93.1	14.4	76.5
180℃ +2% H ₂ SO ₃	32.9	50.4	64.3	79.0	0.0	0.0
195℃ +2% H ₂ SO ₃	40.5	48.1	54.3	51.9	0.0	0.0
210℃ +2% H ₂ SO ₃	79.9	35.4	7.6	5.8	0.0	0.0

增加了5.7%，经此条件处理后，木质素、纤维素和半纤维素的固体回收率为64.2%、93.1%和76.5%，说明水热预处理可一定程度上去除部分木质素、半纤维素，与文献[18]得出的结论一致。虽然采用了较高的预处理温度，但仅用高温水热的方式，对菊芋秸秆中半纤维素的去除效果不明显。对比180℃条件下，添加和未添加2% H₂SO₃水热预处理后菊芋秸秆的3大组分质量分数发现，半纤维素可被完全去除，纤维素和木质素质量分数相应提高至64.3%和32.9%，此时其固体回收率为79.0%和50.4%。可见，H₂SO₃的添加，加速了木质素和半纤维素的去除，同时部分纤维素也在此条件下降解。在添加H₂SO₃条件下，将预处理温度从180℃提高至210℃后，秸秆中纤维素含量呈明显下降趋势，而木质素相应提高。且纤维素的固体回收率由79.0%降低至5.8%，而木质素的固体回收率由50.4%降低至35.4%。综上所述，H₂SO₃的添加可以加速半纤维素溶出，且在水热预处理条件下，随着温度的升高，纤维素损失明显，木质素对预处理的敏感性最低。这些结果与Kristensen等^[19]的研究一致。因此，从碳水化合物回收的角度，采用水热H₂SO₃对木质纤维素原料进行预处理时，处理烈度需适当控制和优化，以降低过程中的糖损失。

2.3 不同预处理条件对水解性能的影响

将不同温度下水热预处理后的菊芋秸秆，在纤维素酶和纤维二糖酶使用量分别为20 FPU/g和40 CBU/g条件下水解72 h。并在2、6、12、24、48、72 h分别取样测定葡萄糖浓度计算水解率，用于评价其水解性能，结果如图1所示(图中a、b、c表示差异显著标准)。

由图1表明，未经预处理和未经H₂SO₃催化预处理的菊芋秸秆72 h的酶水解率分别为16.7%和36.9%，由此说明，单纯的水热预处理可以提升菊芋秸秆酶水解率，但水解率提升的潜力较低。这主要由于木质纤维素结构，仅在180℃的预处理条件下，没有发生明显改变(见表2中CK各组分固体回收率)。当在180℃时添加H₂SO₃进行预处理，菊芋秸秆的酶水解率显著提高至90.0% ($p < 0.05$)。在添

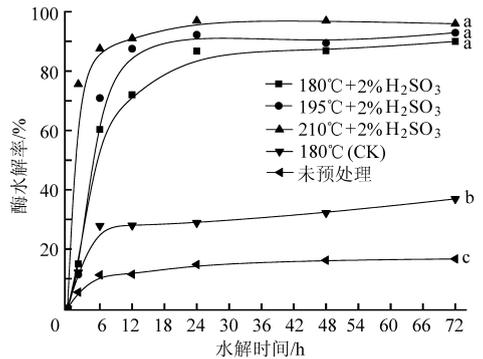


图1 不同温度水热预处理后的菊芋秸秆酶水解曲线

Fig.1 Enzymatic hydrolysis of Jerusalem artichoke stalk after pretreated with different temperatures

加H₂SO₃条件下，进一步提高预处理温度至210℃，预处理后菊芋秸秆达到最大水解率的平衡时间由约24 h缩短至约6 h，可见，酶水解速率可随预处理温度升高而有效改善。另外，72 h时的酶水解率由90.0%提高至96.0%，但其差异不显著($p > 0.05$)。结合表2中预处理前后秸秆组分变化，水热预处理过程中，H₂SO₃的添加可以促进半纤维素的溶解和纤维素氢键的断裂，破坏纤维素的结晶结构，减弱木质纤维素的结构对纤维素酶的空间阻碍^[20]，从而有利于酶水解的进行，使得原料的水解性能提高。综合表2中葡聚糖的回收率以及酶水解率评价，在180℃条件下，添加2% H₂SO₃的水热预处理菊芋秸秆，既可获得较好的酶水解性能，同时也保证了较高的糖回收率。

2.4 水热H₂SO₃预处理的菊芋秸秆酶水解底物质量分数提高的潜力

在木质纤维素乙醇生产工艺中，纤维素底物质量分数的有效提高，有利于糖浓度的提高，进而改善乙醇转化系统效率，降低后续的乙醇蒸馏成本。通过将底物质量分数从2%提高至16%用于酶水解，在较高的纤维素酶和纤维二糖酶用量，分别为20 FPU/g和40 CBU/g的条件下，进行水解72 h。考察添加H₂SO₃在180℃水热预处理的菊芋秸秆的酶水解，用以明确底物质量分数提高的潜力，当底物质量分数为2%、8%、12%、16%时酶水解率分别为90.0%、90.0%、88.8%、63.9%。

底物从2%增至12%，酶水解率虽由90.0%降低至88.8%，但差异不显著($p > 0.05$)。当底物由12%继续提高至16%后，水解率则由88.8%显著的降低至63.9% ($p < 0.05$)。现有研究表明，在高浓度酶水解体系中，积累的木质素对纤维素酶的吸附，预处理过程产生的毒性物质及酶水解产物的抑制，均会导致酶水解率降低^[21]。此外，提高底物质量分数，体系的流动性变差，严重影响酶与底物表面

反应位点接触,使系统水解液化困难,也导致了水解效率降低^[21]。通常,在无特殊搅拌装置使用的情况,12%~15%为纤维素酶水解底物质量分数的上限^[7,21-22]。因此,采用180℃和2% H₂SO₃水热预处理后菊芋秸秆,酶水解的底物质量分数可提高的潜力为12%。在此底物质量分数下,经72 h酶水解后,水解液中葡萄糖质量浓度可达85.7 mg/mL。

2.5 菊芋秸秆高浓底物酶水解纤维素酶减量潜力

纤维素酶的成本在纤维素乙醇生产过程中占有较大的比重。因此,在保证较高水解效率的基础上,尽可能减少酶的使用量,对于纤维素乙醇生产成本的控制具有重要意义。以180℃添加2% H₂SO₃水热预处理后的菊芋秸秆为底物,以12%为较高的底物质量分数,纤维二糖酶使用量为40 CBU/g,并将纤维素酶使用量由2.5 FPU/g增加至20 FPU/g,进行相应的酶水解。经72 h后水解结果如图2所示。

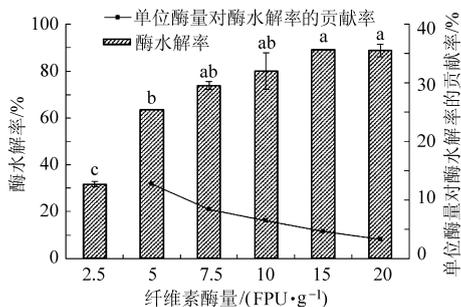


图2 不同纤维素酶使用量对菊芋秸秆酶水解的影响

Fig.2 Influences of cellulose loading on enzymatic hydrolysis of pretreated Jerusalem artichoke stalk

由图2可知,相对于2.5 FPU/g,纤维素酶使用量由5.0 FPU/g增至20 FPU/g时,酶水解率不断增加,且差异显著($p < 0.05$)。然而,当纤维素酶投入量从15 FPU/g增加至20 FPU/g后,水解率增加不显著($p > 0.05$)。此外,通过比较增加单位纤维素酶使用量对酶水解率的贡献时,纤维素酶使用量由2.5 FPU/g增至5、7.5、10、15、20 FPU/g,单位纤维素酶使用量对酶水解率提高的贡献率分别为12.7%、8.4%、6.4%、4.6%和3.3%。可见,随着纤维素酶使用量的不断增加,虽然酶水解率不断增大,但单位纤维素酶使用量对酶水解改善所做的贡献不断降低。当纤维素酶使用量增加到15 FPU/g以后,来自于纤维素酶量增加所产生的酶水解的改善已不明显。由此,对于水热H₂SO₃预处理后的菊芋秸秆,在12%这样较高质量分数底物条件下,水解所需较少的纤维素酶使用量可以缩减至15 FPU/g。

2.6 菊芋秸秆高浓底物酶水解的纤维二糖酶减量潜力

纤维二糖酶在纤维素水解中主要功能是将由纤

维素酶水解产生的纤维二糖进一步水解成葡萄糖,用于后续乙醇发酵。它也是纤维素乙醇生产中主要成本之一。因此,以添加2% H₂SO₃在180℃水热预处理后菊芋秸秆,12%为较高底物质量分数,在纤维素酶使用量为15 FBU/g条件下,通过改变纤维二糖酶使用量0~60 CBU/g,进行酶水解。72 h后的水解率如图3所示。

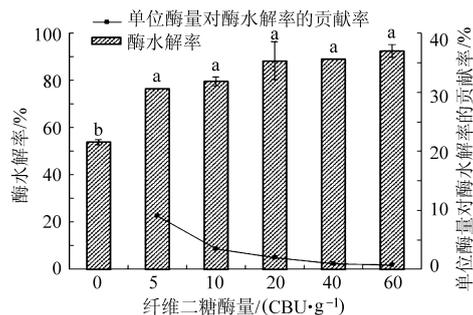


图3 不同纤维二糖酶使用量对菊芋秸秆酶水解的影响

Fig.3 Influences of cellobiase loading on enzymatic hydrolysis of pretreated Jerusalem artichoke stalk

由图3可知,随着纤维二糖酶使用量的不断增大,菊芋秸秆酶水解率呈现上升趋势。和不添加纤维二糖酶组相比,酶水解率均有显著提高($p < 0.05$)。而比较纤维二糖酶由5 CBU/g增加到60 CBU/g,酶水解率差异不显著($p > 0.05$)。然而,通过分析单位纤维二糖酶使用量对菊芋秸秆酶水解率所做的贡献发现,随着纤维二糖酶使用量增加,来自纤维二糖酶增加所产生酶水解的贡献率提高9.0%、3.4%、2.0%、0.8%和0.6%。可见,纤维二糖酶使用量大于20 CBU/g以后,单位纤维二糖酶使用量对酶水解的改善所做的贡献趋近于零。因此,在较高底物纤维素酶水解过程中,虽然可通过适当增加纤维二糖酶来保持纤维二糖的高效水解,维持纤维素-纤维二糖-葡萄糖水解体系的平衡,但过量的纤维二糖酶对较高质量分数底物的酶水解效率改善不明显^[23]。综上可见,在统计学上,虽然增加纤维二糖酶用量对酶水解率的影响差异不显著。然而考虑到纤维二糖酶量增加至20 CBU/g时,增加单位酶量对酶水解改善的贡献仍较大。而且此后继续增加纤维二糖酶使用量,对酶水解改善的贡献已不明显。因此,菊芋秸秆酶水解纤维二糖酶的使用量缩减至20 CBU/g较为合理。

因此,采用减量后的纤维素酶量15 FPU/g和纤维二糖酶量20 CBU/g,酶水解率仍可达88.3%,水解液中葡萄糖质量浓度为85.2 mg/mL。相比相同预处理条件下,2%的底物质量分数获得的最大水解率(90.0%),仅降低1.8%;相比传统的纤维素酶用量20 FPU/g和纤维二糖酶用量40 CBU/g的水解率

(88.8%)几乎没有降低。此时,纤维素酶和纤维二糖酶的使用量却减少了25%和50%。此外,有研究显示,以5% SO_2 催化蒸汽水热预处理后的甜高粱茎秆(190℃, 5 min),用12%底物质量分数进行酶水解,纤维二糖酶和纤维素酶使用量之比在1.3:1被确定为较合理搭配,相应的纤维素酶和纤维二糖酶的用量分别为7.5 FBU/g和10 CBU/g。此配比可较好地缓解酶水解过程中纤维二糖对纤维素酶的反馈性抑制,实现纤维素-纤维二糖-葡萄糖转化体系的平衡和稳定,本研究结果所获得配比与文献[22]研究结果相似。

3 结 论

(1) 通过比较菊芋秸秆在不同条件下预处理后组分变化和对后续酶水解的评估,在180℃时添加

2% H_2SO_3 水热预处理菊芋秸秆,可以有效地去除其半纤维素,实现在2%底物质量分数下,最大酶水解率达90%。增加预处理温度,虽可小幅度的改善菊芋秸秆的水解性能,但会造成葡聚糖的大量降解和损失。

(2) 采用添加2% H_2SO_3 在180℃水热预处理后的菊芋秸秆,通过不同底物质量分数酶水解评估,用于酶水解的较高底物质量分数潜力可提高到12%。

(3) 在12%的较高底物质量分数条件,纤维素酶和纤维二糖酶使用量可以分别缩减至15 FPU/g和20 CBU/g。在此条件下,可实现酶水解率为88.3%。相比相同预处理条件下最大酶水解率(2%底物质量分数),仅降低1.8%;相比传统的纤维素酶和纤维二糖的使用量,分别缩减了25%和50%,而且此时酶水解率几乎没有降低。

参 考 文 献

- Matías J, Gonzalez J, Royano L, et al. Analysis of sugars by liquid chromatography-mass spectrometry in Jerusalem artichoke tubers for bioethanol production optimization [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2011, 35(5): 2006 - 2012.
- Kim S, Park J M, Kim C H. Ethanol production using whole plant biomass of Jerusalem artichoke by *Kluyveromyces marxianus* CBS1555 [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2013, 169(5): 1531 - 1545.
- Favela-Torres E, Allais J J, Baratti J. Kinetics of batch fermentations for ethanol production with *Zymomonas mobilis* growing on Jerusalem artichoke juice [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1986, 28(6): 850 - 856.
- Kim K, Hamdy M K. Acid hydrolysis of Jerusalem artichoke for ethanol fermentation [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1986, 28(1): 138 - 141.
- Lim S H, Ryu J M, Lee H, et al. Ethanol fermentation from Jerusalem artichoke powder using *Saccharomyces cerevisiae* KCCM50549 without pretreatment for inulin hydrolysis [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(2): 2109 - 2111.
- 杜金峰, 张万忠, 王云山. 不同预处理方法对玉米秸秆酶解和乙醇发酵的影响[J]. *沈阳农业大学学报*, 2011, 42(2): 195 - 199.
Du Jinfeng, Zhang Wanzhong, Wang Yunshan. Effects of different pretreatment on enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation in maize straw [J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2011, 42(2): 195 - 199. (in Chinese)
- 余强, 庄新妹, 袁振宏, 等. 木质纤维素类生物质高温液态水预处理技术[J]. *化工进展*, 2010, 29(11): 2177 - 2181.
Yu Qiang, Zhuang Xinshu, Yuan Zhenhong, et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass with liquid hot water [J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2010, 29(11): 2177 - 2181. (in Chinese)
- Sluiter A, Hames B, Ruiz R, et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass [R]. *Laboratory Analytical Procedure*, 2008.
- Alvira P, Tomás-Pejó E, Ballesteros M, et al. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(13): 4851 - 4861.
- Cara C, Ruiz E, Oliva J, et al. Conversion of olive tree biomass into fermentable sugars by dilute acid pretreatment and enzymatic saccharification [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(6): 1869 - 1876.
- Saha B, Iten L, Cotta M, et al. Dilute acid pretreatment, enzymatic saccharification and fermentation of wheat straw to ethanol [J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40(12): 3693 - 3700.
- Pan X, Xie D, Gilkes N, et al. Strategies to enhance the enzymatic hydrolysis of pretreated softwood with high residual lignin content [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2005, 124(2): 1069 - 1079.
- Shen F, Saddler J, Liu R, et al. Evaluation of steam pretreatment on sweet sorghum bagasse for enzymatic hydrolysis and bioethanol production [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 86(4): 1542 - 1548.
- Yu J, Zhong J, Zhang X, et al. Ethanol production from H_2SO_3 -steam-pretreated fresh sweet sorghum stem by simultaneous saccharification and fermentation [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2010, 160(2): 401 - 409.
- Talebna F, Karakashev D, Angelidaki I. Production of bioethanol from wheat straw: an overview on pretreatment, hydrolysis and fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(13): 4744 - 4753.
- Wyman C E. Aqueous pretreatment of plant biomass for biological and chemical conversion to fuels and chemicals [M]//Wyman C E, Dale B E, Balan V, et al. Comparative performance of leading pretreatment technologies for biological conversion of corn

- stover, poplar wood, and switchgrass to sugars. Chichester: John Wiley & Sons, 2013: 239 – 259.
- 17 Binod P, Sindhu R, Singhania R R, et al. Bioethanol production from rice straw: an overview [J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(13): 4767 – 4774.
- 18 Thomsen M H, Thygesen A, Thomsen A B. Hydrothermal treatment of wheat straw at pilot plant scale using a three-step reactor system aiming at high hemicellulose recovery, high cellulose digestibility and low lignin hydrolysis [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(10): 4221 – 4228.
- 19 Kristensen J B, Thygesen L G, Felby C, et al. Cell-wall structural changes in wheat straw pretreated for bioethanol production [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2008, 1(5): 1 – 9.
- 20 陈洪章, 李佐虎. 影响纤维素酶解的因素和纤维素酶被吸附性能的研究[J]. *化学反应工程与工艺*, 2000, 16(1): 31 – 37.
Chen Hongzhang, Li Zuohu. Factors of enzymatic hydrolysis for cellulose and adsorption of cellulose [J]. *Chemical Reaction Engineering and Technology*, 2000, 16(1): 31 – 37. (in Chinese)
- 21 Kristensen J B, Felby C, Jrgensen H. Yield-determining factors in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulose [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2009, 2(1): 11 – 20.
- 22 Shen F, Zhong Y, Saddler J N, et al. Relatively high-substrate consistency hydrolysis of steam-pretreated sweet sorghum bagasse at relatively low cellulase loading [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2011, 165(3/4): 1024 – 1036.
- 23 Tengborg C, Galbe M, Zacchi G. Influence of enzyme loading and physical parameters on the enzymatic hydrolysis of steam pretreated softwood [J]. *Biotechnology Progress*, 2001, 17(1): 110 – 117.

Relatively High-substrate Consistency Hydrolysis of Hydrothermal Pretreated Jerusalem Artichoke Stalk with H_2SO_3 Catalysis

Shen Fei^{1,2} Wang Qing¹ Li Yang¹ Li Xiujin² Hu Jinguang³

(1. College of Resources and Environment, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

2. School of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

3. Faculty of Forestry, University of British Columbia, Vancouver V6T1Z4, Canada)

Abstract: In order to improve the performance of saccharification of Jerusalem artichoke stalk in bioethanol production, the hydrothermal pretreatment of stalk with H_2SO_3 catalysis and high-substrate consistency enzymatic hydrolysis were performed. Based on this work, the suitable pretreatment conditions, the high substrate consistency potential and the enzymes input lowering potential were determined. The results indicate that the suitable pretreatment should be carried out at 180°C with 2% H_2SO_3 catalysis, by which the hemicellulose in stalk could be completely removed. Consequently, the maximum hydrolysis ratio of 90.0% could be achieved with 2.0% substrate consistency, 20 FPU/g cellulose loading and 40 CBU/g cellobiase loading. The high substrate consistency potential of pretreated Jerusalem artichoke stalk was suggested as 12% for enzymatic hydrolysis. The cellulase and the cellobiase input at this consistency could be lowered to 15 FPU/g and 20 CBU/g, by which the hydrolysis ratio of 88.3% could be achieved, with only 1.8% decrease compared with the maximum hydrolysis ratio. Correspondingly, the cellulase and the cellobiase loading is reduced by 25% and 50%, respectively.

Key words: Jerusalem artichoke stalk H_2SO_3 catalysis Hydrothermal pretreatment High-substrate consistency Enzymatic hydrolysis