

# 基于乙醇胺的深度共熔溶剂预处理小麦秸秆 提高其多糖酶解效率

董艳梅<sup>1</sup>, 洪元芳<sup>1</sup>, 马阳阳<sup>1</sup>, 安艳霞<sup>1,2</sup>

(1. 河南农业大学食品科学技术学院, 河南郑州 450002)

(2. 农业农村部大宗粮食加工重点实验室, 河南郑州 450002)

**摘要:** 为了探索基于乙醇胺的深度共熔溶剂预处理生物质的作用机制, 本研究以氯化胆碱为氢键受体 (HBA), 以乙醇胺的化合物为氢键供体 (HBD), 合成了 7 种 DES 对其理化特性进行了测定, 对比研究不同 DES 对小麦秸秆组分和酶解效率的影响。结果表明: 30 °C 下, DES 的粘度介于 0.04~1.37 Pa·s, 导电率 0.29~3.57 ms/cm, 5 mM DES 的 pH 值介于 7.41~11.02; 90 °C 下对木质素和木聚糖的溶解度高达 425 mg/g 和 523 mg/g, 而对纤维素几乎不溶; 经这些 DES 预处理后, 小麦秸秆中的多糖酶解效率得到了显著提高, 并且 DES 的预处理效果依赖于 pH 值, 其中[氯化胆碱]:[乙二胺]为最适小麦秸秆预处理溶剂, 90 °C 下预处理 4 h 后木质素去除率 83.14%, 还原糖收率为 93.88%。该类 DES 可选择性地从小麦秸秆中除去大量木质素和部分木聚糖, 而未改变纤维素的晶体结构, 从而提高后续酶解效率显著, 并发现该类 DES 对禾本科类生物质和桉木有良好的预处理效果, 预处理后糖收率明显提高 (57.10%~98.13%), 但对松木效果不佳。本研究可为用于生物质预处理的新型 DES 的合理设计提供一定的理论参考。

**关键词:** 深度共熔溶剂; 预处理; 木质纤维素; 酶解反应

文章编号: 1673-9078(2021)07-46-56

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.7.1180

## Ethanolamine-based Deep Eutectic Solvent Pretreatment of Wheat Straw to Improve Its Polysaccharide Enzymatic Hydrolysis Efficiency

DONG Yan-mei<sup>1</sup>, HONG Yuan-fang<sup>1</sup>, MA Yang-yang<sup>1</sup>, AN Yan-xia<sup>1,2</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

(2. Key Laboratory of Staple Grain Processing, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** In order to explore the mechanism of deep eutectic solvents (DESs) pretreatment of lignocellulosic biomass, seven DESs with choline chloride (ChCl) as hydrogen bond acceptor (HBA) and seven DESs with ethanolamine compounds as hydrogen bond donor (HBD) were employed to pretreat wheat straw. Their physical and chemical properties were measured, and the effects of different DES on the components and enzymatic hydrolysis efficiency of biomass were studied. The results indicated that the viscosity of DES was between 0.04~1.37 Pa·s, the conductivity was 0.29~3.57 ms/cm, and the pH of 5 mM DES was between 7.41~11.02 at 30 °C; it was effective for lignin and xylan. The solubility of DES was as high as 425 mg/g and 523 mg/g at 90 °C, and it was almost insoluble to cellulose. After these DES pretreatments, the enzymatic hydrolysis efficiency of polysaccharides in wheat straw was significantly improved, and the pretreatment effect depended on the pH value. Among them, [Choline chloride]: [ethylenediamine] was the most suitable solvent for pretreatment of wheat straw. After 4 h of pretreatment at 90 °C, the removal rate of lignin was 83.14% and the yield of reducing sugar was 93.88%. A large amount of lignin and part of xylan were selectively removed from wheat straw without changing the crystal structure of cellulose, and the efficiency of

引文格式:

董艳梅, 洪元芳, 马阳阳, 等. 基于乙醇胺的深度共熔溶剂预处理小麦秸秆提高其多糖酶解效率[J]. 现代食品科技, 2021, 37(7): 46-56

DONG Yan-mei, HONG Yuan-fang, MA Yang-yang, et al. Ethanolamine-based deep eutectic solvent pretreatment of wheat straw to improve its polysaccharide enzymatic hydrolysis efficiency [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(7): 46-56

收稿日期: 2020-12-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (21706052); 河南农业大学创新基金项目 (KJCX2017C05)

作者简介: 董艳梅 (1995-), 女, 在读研究生, 研究方向: 农产品加工

通讯作者: 安艳霞 (1977-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 生物催化, 谷物化学、农产品加工及副产物的高值化利用

subsequent enzymatic hydrolysis was significantly improved. It found that this type of DES is good for grass biomass and eucalyptus. After the pretreatment, the sugar yield was obviously improved (57.10~98.13%), but it was not effective for pine. This work would provide a theoretical basis for rational design novel DESs for biomass pretreatment.

**Key words:** deep eutectic solvents; pretreatment; lignocellulose; enzymatic hydrolysis

生物精炼中预处理是木质纤维素生物质转化过程的关键步骤之一, 生物质要转化为生物能源及生物基材料, 必须对其进行预处理, 以破坏其三维网状结构, 减弱木质素和半纤维素对纤维素的屏蔽作用或降低纤维素的结晶度, 从而增加酶解反应位点, 进而提高后续酶解效率<sup>[1-3]</sup>。小麦秸秆属于农业废弃物, 在世界范围内, 每年全球产生约 5.29 亿 t, 小麦秸秆由纤维素(30%~40%)、半纤维素(20%~25%)和木质素(15%~22%)组成, 本身固有的顽固性结构限制了纤维素的酶解, 严重影响了生物燃料的转化, 其原因主要是因木质素和半纤维素基质是纤维素的障碍, 妨碍了酶和纤维素的接触。因此, 通过预处理去除木质素或半纤维素是提高多糖产量必不可少的关键步骤<sup>[4,5]</sup>。

近年来, 深度共熔溶剂(DES)预处理木质纤维素受到人们的关注, 它是由氢键受体(HBA)和氢键供体(HBD)组成的一类低熔点共晶混合物, DES 通常由两到三种廉价的绿色组分组成, 通过氢键相互作用形成均一稳定的溶剂体系<sup>[6]</sup>, 通常称之为类离子液体(IL)<sup>[3,7-9]</sup>。随后, DES 逐渐成为有机溶剂和传统 IL 的替代溶剂, 并因其独特的性能引起了众多学者的关注。DES 不仅保留了 IL 的优点, 蒸汽压低、不易燃烧, 且具有制备简单快捷、无需纯化、价格低廉等优势。

如预期的一样, DES 在生物质预处理方面具有独特的性能, 然而 DES 预处理尚处于起步阶段。基于氯化胆碱(ChCl)的 DES, 例如酸性 DES ([ChCl]:乳酸)、[ChCl]:草酸)、[ChCl]:乙醇酸)、[ChCl]:乙酰丙酸)、[ChCl]:2-氯丙酸)、[ChCl]:丙二酸)、[ChCl]:戊二酸); 弱碱性 DES, 例如 ([ChCl]:尿素)等和中性的 DES ([ChCl]:甘油)、[ChCl]:乙二醇)等。将 DES 用于水稻秸秆、小麦秸秆、玉米秸秆和玉米芯等农业废弃物预处理的报道较多, 在 80~120 °C 条件下, 基于 ChCl 的 DES 预处理后的生物质经酶解后, 20%~90%的纤维素能转化为葡萄糖, 只有 4%~20%的木聚糖能转化为木糖<sup>[3,10-14]</sup>。显然, DES 用于提高预处理效率具有很大的空间, 例如中性和弱碱性 DES 对生物质的预处理效果不佳, 而酸性 DES 会使大量多糖降解, 从而降低可发酵糖的产量; 碱性 DES 具有优异的溶解木质素的性能和保护多糖的能力<sup>[15-17]</sup>。

本研究以 ChCl 为 HBA, 以单乙醇胺(M)、二乙醇胺(D)、三乙醇胺(T)、乙二胺(N-2)、尿素(U)和乙酰

胺(AT)为 HBD, 合成基于乙醇胺的 DES, 命名为 [CC]:[M]、[CC]:[D]、[CC]:[T]、[CC]:[N-2]、[CC]:[U]和[CC]:[AT] (图 1 和图 2), 系统地探讨了上述 DES 的 pH、粘度、密度和电导率等理化性质, 接着研究温度、时间和生物载量对小麦秸秆预处理的影响, 并对预处理后的样品进行了酶解, 同时, 将其用于其他生物质的预处理中, 并借助傅立叶变换红外光谱(FT-IR)、X 射线衍射(XRD)和扫描电子显微镜(SEM)对预处理前后的生物质进行了分析表征。通过考察小麦秸秆的化学结构、结晶结构和表面形貌的变化, 进一步阐明基于乙醇胺的 DES 体系预处理生物质的作用机理。

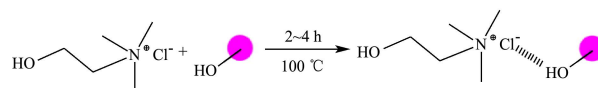


图 1 氯化胆碱与 HBD 合成 DES 示意图

Fig.1 Schematic diagram of synthesis DES of choline chloride and HBD

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

小麦秸秆由河南农业大学小麦实验基地赠送, 晒干后经粉碎脱蜡, 收集 250~400 μm 的粉末, 于 60 °C 烘箱干燥, 然后置干燥器中保存备用。纤维素酶, 购于诺维信公司; 氯化胆碱、乳酸、苹果酸、草酸、乙醇酸、柠檬酸、柠檬酸钠和各种氨基酸均购于阿拉丁试剂有限公司; 其他试剂均为分析纯。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 DES 的制备

[CC]:[M], [CC]:[D], [CC]:[T], [CC]:[N-2], [CC]:[U]和[CC]:[AT]的以摩尔比为 1:5、1:6、1:2、1:4、1:2、1:2 混合, 在 80 °C 下搅拌直到形成均一透明的液态, 置于干燥器内室温保存备用。

#### 1.2.2 差示扫描量热分析(DSC)

上述 DES 测试前需在 70 °C 真空干燥箱干燥 48 h, 按照差示扫描仪 DSCQ200 使用方法, 在 N<sub>2</sub> 保护下, 以 10 °C/min 的速度从室温升到 100 °C 保留 30 min, 以去除残留的水分, 然后降温到 -80 °C 并保持 30 min,

接着以 5 °C/min 的速度升到 100 °C, DSC 曲线的峰谷处的温度为熔点。

### 1.2.3 粘度的测定

上述 DES 测试前需在 70 °C 真空干燥箱干燥 48 h, 滴加适量的 DES 溶剂于台面上, 以 10 °C/min 的速度从室温升到 100 °C 保留 30 min, 以去除微量水分, 然后降温到 20 °C 并保持 10 min, 接着以 5 °C/min 的速度升到 80 °C。

### 1.2.4 电导率的测定

上述 DES 测试前需在 70 °C 真空干燥箱干燥 48 h, 取一定体积的 DES 于细口瓶中并置于恒温槽内, 不同的温度下保持 20 min, 使用雷磁电导率仪测定不同温度下 DES 的电导率数值。

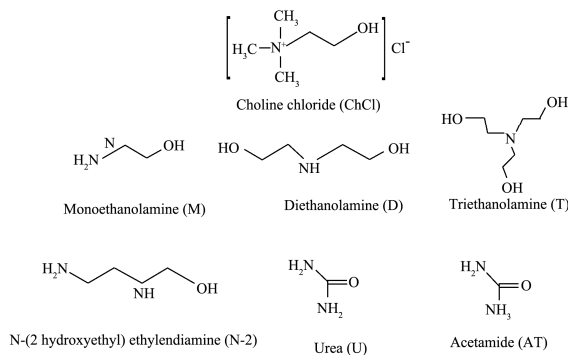


图 2 基于氯化胆碱的 DES 化学结构示意图

Fig.2 Structure of DESs based on ChCl

### 1.2.5 密度的测定

上述 DES 测试前需在 70 °C 真空干燥箱干燥 48 h, 取体积为 5 mL 的比重瓶, 利用比重法测定 DES 的密度, 具体如下: 干燥的比重瓶 (空) 为  $M_{瓶}$ , 在比重瓶里注满密度为  $\rho_{水}$  的蒸馏水, 室温下测定其总质量为  $M_{水}$ , 则  $M_{水} = M_{瓶} + \rho_{水} \cdot V_{瓶}$ , 将比重瓶里的水倒空, 干燥; 再将待测密度为  $\rho_x$  的 DES 注入比重瓶, 然后称重  $M_x = M_{瓶} + \rho_x \cdot V_{瓶}$ , 由以上两式可得 DES 的密度:

$$\rho_x = \rho_{水} \frac{M_x - M_{瓶}}{M_{水} - M_{瓶}}$$

### 1.2.6 预处理

将上述 DES 和样品按一定比例混合, 一定温度下预处理一定时间, 预处理后加入适量的温水, 多次洗涤并分离出不溶物至上层清液的 pH 显示中性。最后将不溶物干燥, 置于干燥器中保存供后续酶解及成分分析使用。

### 1.2.7 组分分析

组分含量测定参照 NREL 并进行了适当修改<sup>[18]</sup>, 未处理或预处理后小麦秸秆样品用 72%  $H_2SO_4$  于 30 °C 下水解 1 h, 接着调节酸浓度至 4%, 121 °C 下处理 1 h。采用 DNS 法测定酶解液中还原糖的浓度, 计

算样品中多糖含量。酶解液在 320 nm 下稀释一定的倍数测定其吸光值, 据摩尔吸光系数 30 L/(g·cm) 得出酸溶性木质素 (ASL) 含量; 酸解后的不溶物于 105 °C 干燥 4 h, 然后置于马弗炉中 575 °C 处理 3~4 h, 据两次的质量差, 得到酸不溶木质素 (AIL) 含量。计算公式如下:

$$\text{木质素提取率}/\% = \left(1 - \frac{\text{预处理后样品中木质素的含量}}{\text{未处理样品中木质素的含量}}\right) \times 100\%$$

$$\text{多糖损失率}/\% = \left(1 - \frac{\text{预处理后样品中多糖的含量}}{\text{未处理样品中多糖的含量}}\right) \times 100\%$$

### 1.2.8 酶解分析

将 20 mg 样品置于三角瓶中, 14 mL 柠檬酸缓冲液 (pH 4.8) 并添加 20 FPU/g 纤维素酶, 混匀置于恒温振荡器 (50 °C, 200 r/min)。定时取样 300  $\mu$ L (0.5, 2、6、12、24 和 48 h), 沸水中灭活 5 min 使酶解反应终止, 离心后取上清液, 用于后续 DNS 的测定, 得还原糖含量。计算公式如下:

$$\text{多糖消解率}/\% = \frac{\text{水解后多糖的量}}{\text{用于酶解中生物质多糖的量}} \times 100\%$$

$$\text{还原糖收率}/\% = \frac{\text{测定的还原糖的量}}{\text{理论中未处理样品中还原糖的量}} \times 100\%$$

### 1.2.9 X 射线衍射分析 (XRD)

采用 D8 衍射仪, 配以密封管 Cu-K 射线源, 对预处理前后的样品进行了 XRD 分析。扫描速度为 5 次/min, 扫描范围为 5°~50°。

$$\text{CrI}/\% = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} \times 100\%$$

其中 CrI 为结晶度指数,  $I_{002}$  为结晶度峰在  $2\theta = 22.51^\circ$  时的强度,  $I_{am}$  为无定形纤维素、半纤维素和木质素在  $2\theta = 18.22^\circ$  时的强度。

### 1.2.10 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR)

采用 Nicolet 8700 型光谱仪进行 FT-IR 分析, 扫描范围为 400~4000  $cm^{-1}$ , 分辨率为 2  $cm^{-1}$ , 样品用 KBr 粉末压成薄片, 扫描 32 次。

### 1.2.11 扫描电子显微镜 (SEM)

采用 SEM (JSM-6701), 观察预处理前后样品的表面形貌, 样品分散在导电材料上, 并进行喷金处理。

### 1.2.12 数据处理

测试次数至少 2 次, 结果以平均数  $\pm$  标准偏差 ( $X \pm SD$ ) 表示, Excel 和 SPSS 统计软件整理和分析, 采用 Origin 9.0 绘制图表。

## 2 结果与讨论

### 2.1 DES 的理化特性

DES 已被广泛应用于许多领域, 但关于其理化性质鲜有报道<sup>[19,20]</sup>。类似 ILs, DES 的形成取决于各组分, 同时也受到 HBD 与 HBA 交互作用的影响<sup>[20]</sup>, 另外晶格能和熵的变化也起着重要的作用, 决定着 DES 的熔点<sup>[21]</sup>, DES 的熔点如表 1 所示。DES 的熔点均低于单个组分的熔点, 例如 DES 由 ChCl 和 U 组成 (分别为 302 °C 和 133 °C), 而 [CC]:[U] 的熔点为 12.50 °C, 与 Zhao<sup>[22]</sup> 的报道相吻合, DES 形成后熔点的降低是由于 U 和 ChCl 的 Cl<sup>-</sup> 之间的相互作用导致的<sup>[23,24]</sup>。离子尺寸越大, 电荷越小, 化学键破坏所需的能量就越少<sup>[25]</sup>。

表 1 DESs 或构成组分的热特性

Table 1 The thermal properties of the DESs or individual substances

DESs 或其构成组分	T <sub>m</sub> <sup>a</sup> /°C
ChCl	302
M	10.50
ChCl:M	0.64
D	28.00
ChCl:D	18.71
T	21.20
ChCl:T	17.81
N-2	20.00
ChCl:N-2	32.12
U	133
ChCl:U	12.50
AT	82.30
ChCl:AT	26.30

注: a: 熔点。

溶剂体系的粘度取决于氢键、范德华力、静电相互作用及分子之间的作用力, 与 IL 类似, DES 的粘度通常大于常规溶剂<sup>[19,20]</sup>。DES 的粘度对温度较为敏

感, 粘度随温度的变化趋势如图 3a 所示, 20 °C 时, [CC]:[D] 和 [CC]:[T] 的粘度分别为 0.55 Pa·s 和 0.56 Pa·s, 70 °C 时粘度降低到 0.06 Pa·s 和 0.08 Pa·s。由于范德华力和氢键相互作用力的减弱, 粘度随温度升高有明显降低的趋势。这是因为分子获得了足够的能量足以克服分子间的作用力并允许自由运动, 另外羟基的存将产生更多的氢键, 增加分子间的吸引力, 溶剂粘性增大, 例如 [CC]:[M], [CC]:[D] 及 [CC]:[T] 随着羟基数目的增多, 粘度逐步增大由 0.05 Pa·s 增加到 0.32 Pa·s, 有趣的是当引入胺基时, 粘度急剧下降, 例如: [CC]:[N-2] 的粘度为 0.17 Pa·s。

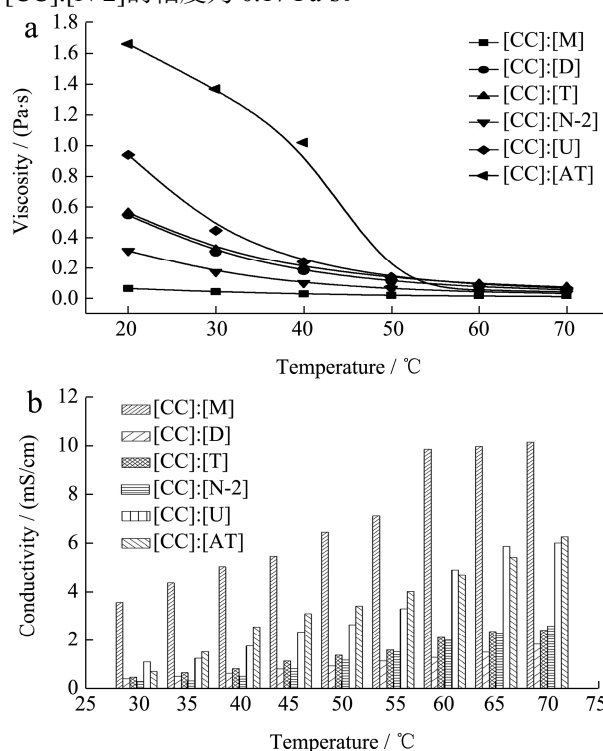


图 3 温度对 DES 的粘度 (a) 和电导率 (b) 的影响

Fig.3 Effect of temperature on the viscosity (a) and conductivity (b) of DESs

表 2 DES 的理化特性测定

Table 2 Physiochemical parameters of DESs

DES (摩尔比)	密度 <sup>a</sup> /(g/cm <sup>3</sup> )	T <sub>m</sub> /°C	粘度 <sup>a</sup> /(Pa.s)	导电性 <sup>a</sup> /(ms/cm)	水分含量/%	pH <sup>b</sup>
[CC]:[M] (1:5)	1.05	0.64	0.05	3.57	2.81±0.03	10.80
[CC]:[D] (1:6)	1.09	18.72	0.30	0.41	1.58±0.04	10.60
[CC]:[T] (1:2)	1.12	17.84	0.32	0.47	1.72±0.05	7.71
[CC]:[N-2] (1:4)	1.05	32.07	0.17	0.29	2.41±0.04	11.02
[CC]:[U] (1:2)	1.19	23.86	0.45	1.11	1.68±0.05	8.30
[CC]:[AT] (1:2)	1.08	26.25	1.37	0.71	1.91±0.02	7.41

注: a: 30 °C 测定; b: 5 mM DES 水溶液的 pH 值。

此外, 还研究了电导率和温度之间的关系, 如图 3b 所示, 当温度升高时, 粘度下降, 电导率增加, 其原因可能是温度升高产生的动能增加了分子间碰撞的

频率, 导致分子间作用力变弱和电导率增加<sup>[26]</sup>。低粘度的 DES 电导率较高, 与 Walden 定律相一致, 电导率与粘度之间存在负相关。另外发现 [CC]:[M] 比

[CC]:[D]和[CC]:[T]具有更高的电导率,其原因可能是后者 HBD 中含有更多的羟基,羟基越多产生的氢键就越多,从而导致离子迁移率和电导率减小。此外发现含胺基数越多,电导率就越高。例如[CC]:[U]含两个胺基,其电导率为 1.11,而[CC]:[AT]含一个胺基,电导率为 0.71。[CC]:[U]的电导率大于[CC]:[AT],结果与相关报道一致,DES 构成成分的结构、尺寸和形状明显影响 DES 体系的电导率<sup>[27]</sup>。

通常情况下,DES 的密度大于水和传统有机溶剂<sup>[28]</sup>,上述 DES 的理化特性如表 2 所示,DES 体系中羧基的存在和氢键变化均会使密度增大。例如[CC]:[M]的密度远低于其他 DES,可能是由于[CC]:[M]中氨基数目较多,而[CC]:[D]和[CC]:[T]中发现羧基引入时密度增加,与 Florindo 的研究<sup>[29]</sup>结果相一致,此外,密度还取决于自由体积和孔体积理论,可用于解释粘度、电导率和密度等相关问题<sup>[30,31]</sup>,该理论提出了液体中的流动空隙或孔的大小和位置是随机的且杂乱无章的。如果孔的大小等于或大于其相邻离子的大小,则离子可以移动;温度升高,离子间的弱作用力会引起空位或空穴发生变化,并且 DES 体系中阴离子和阳离子的振动会引起分子重排,导致密度和粘度的降低以及电导率的提高<sup>[32]</sup>。

## 2.2 DES 对生物质组分溶解性的影响

生物质组分(木质素、木聚糖和微晶纤维素)在上述 DES 中的溶解性如表 3 所示,木质素的溶解度 60 °C 时为 234~321 mg/g,而 90 °C 时为 325~425 mg/g,另外 DES 对木质素溶解性可能与溶剂碱性强弱有关,发现碱性越强,即 pH 值越大,对木质素的溶解性就越高。有趣的是,发现[CC]:[M]和[CC]:[N-2]中均含有羟基和胺基,对木质素和木聚糖具有较强的溶解性能,特别是[CC]:[N-2],在 90 °C 时木聚糖的溶解度高达 523 mg/g,此外发现上述 DES 与胆碱类 ILs 类似,对纤维素的溶解性均很差(<5 mg/g)<sup>[33]</sup>。因此,预测基于乙醇胺的新型 DES 可能是一类有潜力的溶剂体系<sup>[34,35]</sup>。

表 3 木质素、木聚糖和纤维素在 DES 中的溶解性

Table 3 Solubility of lignin, xylan and cellulose in DESs

DESs	木质素/(mg/g)		木聚糖/(mg/g)		纤维素/(mg/g)
	60 °C	90 °C	60 °C	90 °C	90 °C
[CC]:[M]	321±5	405±5	424±5	500±5	<5
[CC]:[D]	269±5	334±5	451±5	514±5	<5
[CC]:[T]	234±5	325±5	321±5	381±5	<5
[CC]:[N-2]	304±5	425±5	459±5	523±5	<5
[CC]:[U]	177±5	268±5	283±5	423±5	<5
[CC]:[AT]	224±5	314±5	383±5	514±5	<5

## 2.3 DES 预处理对小麦秸秆组成和酶解效率的影响

基于乙醇胺的 DES 用于小麦秸秆的预处理,预处理后组成和酶解结果如表 4 所示,未经处理时含 55.32%的多糖和 22.50%的木质素(纤维素 34.42%和木聚糖 23.41%,HPLC 方法测定)与之前的结果相一致<sup>[36,37]</sup>。经以上 DES 预处理后小麦秸秆的多糖含量均增加,是由于 DES 对纤维素的影响较小,对木质素和木聚糖的影响较大,尤其是经基于乙醇胺的 DES 预处理后,提取了 35.10%~82.03%的木质素,并保留了 90%以上的纤维素,值得注意的是,这三种 DES 高效地除除了木质素和木聚糖。例如,[CC]:[N-2]的木质素提取率和多糖损失分别接近 81.41%和 20.31%,而[CC]:[D]的分别为 63.39%和 9.51%, [CC]:[M]的去除率分别为 82.03%和 22.52%。另外发现随 HBD 中羟基数目的增加,木质素提取率呈下降趋势([CC]:[M]>[CC]:[D]>[CC]:[T]),从电子效应上讲,羟基对于 N 原子来说属于吸电子基团,羟基增多,N 原子上的电子云密度减小,其给电子能力下降,不利于质子结合,从而木质素的提取率下降。Hou 也提出乳酸:盐酸胍与乳酸:U 对比,前者包含更多的电子供体,在预处理中表现的更好<sup>[38]</sup>。从空间位阻上分析,羟基越多空间位阻越大,不利于木质素的提取<sup>[39]</sup>。N-2 与 D 结构组成上分别为一个氨基,一个羟基,N 原子的给电子能力大于 O 原子,即氨基亲电性强于羟基,所以木质素提取率[CC]:[N-2]>[CC]:[D]。

众所周知,木质素属于碱性生物大分子,氨基可改善溶剂的碱性,碱性的提高有助于预处理效果<sup>[40]</sup>。有趣的是[CC]:[N-2]具有优异的提取木质素的能力,效果与 [Ch][Arg] 相当(81.41%比 79.61%)<sup>[41]</sup>。与 [CC]:[N-2] 相比, [CC]:[T] 和 [CC]:[AT] 仅提取了 43.41%~47.12%的木质素,表现出较差的预处理功效。同样,低碱性的[CC]:[U]对木质素的萃取性较差为 35.10%,其原因可能是烷基引入后空间位阻增大,并且最近 Hou 也证实了烷基的引入对木质素的去除有负面影响<sup>[40]</sup>。碱性条件下,木质素中醚键的断裂以及木质素与半纤维素之间酯键的断裂导致木质素的解离<sup>[42-46]</sup>。如表 2 所示, [CC]:[N-2]的水溶液的 pH 值高于其他 DES,因此基于胺基的 DES 中, [CC]:[N-2]表现出最强的木质素去除能力,之前的研究中,已观察到类似现象,即强碱性胆碱氨基酸-甘油混合物导致木质素去除率高<sup>[46]</sup>。此外, Li 课题组表明 IL 对木质素(商品木质素)的溶解性能和去木质素率(生物质中的木



木质素)之间没有特定的线性相关性,可能是因为碱性木质素与木质纤维素生物质中未修饰的木质素的结构

不同,生物质中的半纤维素和木质素相互缠绕、相互交联<sup>[40]</sup>。

表4 几种DES对小麦秸秆预处理及后续酶解的影响

Table 4 Effect of different DESs pretreatment on the composition and enzymatic hydrolysis of wheat straw

DESs	预处理 <sup>a</sup>			残渣中组分含量/% <sup>b</sup>			酶解残渣 <sup>c</sup>
	木质素提取率/%	残渣回收率/%	CrI	多糖	AIL	ASL	还原糖收率/%
Untreated	0	100	38.70	55.32±3.01	21.31±1.0	1.29±0.0	26.03±0.41
[CC]:[M]	82.03±1.51	53.11±0.01	52.81	81.02±1.50	6.70±0.50	1.00±0.1	86.31±2.41
[CC]:[D]	63.39±5.20	65.02±0.80	49.60	77.61±4.11	11.81±1.78	0.98±0.0	98.21±1.62
[CC]:[T]	43.41±3.71	74.38±0.20	43.51	73.62±0.70	16.12±1.10	1.10±0.0	82.61±3.12
[CC]:[N-2]	81.41±3.30	54.69±0.11	55.32	82.01±1.61	7.30±0.31	0.99±0.1	93.50±3.24
[CC]:[U]	35.10±1.10	75.73±0.51	42.80	68.21±1.92	18.31±0.32	1.05±0.0	56.81±1.60
[CC]:[AT]	47.12±0.51	70.51±0.10	41.71	73.71±0.33	15.81±0.20	1.12±0.0	85.12±3.31

注: a: 300 mg 小麦秸秆原料 (<150 μm) 添加至 4.50 g DES 中, 90 °C 下搅拌 4 h; b: 参照 NREL 法 (稍作修改, 糖含量测定采用 DNS 法) 测定 (LAP 2008 版本)。数据结果以残留物的百分比表示。AIL: 酸不溶木质素; ASL: 酸溶木质素。C: 酶解条件: 40 mg 小麦秸秆样品, 20 μg/mL NaN<sub>3</sub>, 40 FPU/g 纤维素酶, 14 mL 柠檬酸盐缓冲液 (50 mM, pH 4.8), 50 °C, 200 r/min。

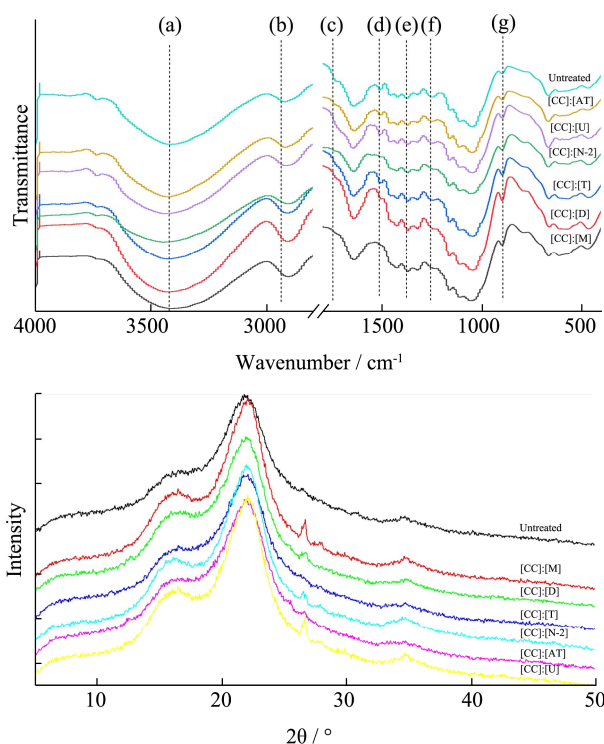


图4 预处理前后小麦秸秆的傅里叶红外图谱和 X-射线衍射图谱

Fig.4 FTIR and XRD spectra of untreated and pretreated wheat straw with DESs

注: (a) 3400 cm<sup>-1</sup>; (b) 2903 cm<sup>-1</sup>; (c) 1732 cm<sup>-1</sup>; (d) 1512 cm<sup>-1</sup>; (e) 1320 cm<sup>-1</sup>; (f) 1250 cm<sup>-1</sup>; (g) 898 cm<sup>-1</sup>。

小麦秸秆经上述 DES 预处理后多糖含量从未处理时的 55.32% 增加到 68.21%~82.01%, 而木质素则从 22.60% 下降到 7.70%~19.36% (表 2)。预处理前后化学结构和组成的变化可通过 FT-IR 进行印证 (图 4), 3400 cm<sup>-1</sup> 的吸收峰为 O-H 振动吸收峰, 1600 cm<sup>-1</sup>、

1512 cm<sup>-1</sup> 和 1456 cm<sup>-1</sup> 的谱带为木质素芳环骨架振动吸收峰, 而 1245 cm<sup>-1</sup> 的吸收峰为木质素和半纤维素的醚键<sup>[10,47,48]</sup>。与未处理时相比, 预处理后的四个吸收峰值均降低, 表明在预处理过程中木质素和半纤维素链接键发生了断裂或解聚, 如图 4a、4b 所示, 在 1375 cm<sup>-1</sup> (半纤维素中的羟基) 和 1732 cm<sup>-1</sup> 处信号峰几乎消失, 表明半纤维素的脱乙酰化反应发生在预处理过程中<sup>[10,14,47,49]</sup>。阿魏酸酯基团中酯键的变化如图 4d 所示, 与未处理时相比, 该峰 1512 cm<sup>-1</sup> 经 [CC]:[M] 和 [CC]:[N-2] 预处理后几乎消失, 表明这两种 DES 具有更强的预处理能力。经上述 DES 预处理后, 898 cm<sup>-1</sup> 的特征信号峰 (β-糖苷键如己糖/戊糖) 均增强, 表明多糖含量增加与表 4 中结果相吻合。

预处理过程中有两个竞争的因素决定了小麦秸秆的结晶度: 结晶纤维素部分的溶胀或溶解及无定型部分的去除。小麦秸秆经 DES 预处理后 CrI 从 38.70 增加到 55.32 (表 4, 图 4)<sup>[50,51]</sup>。CrI 值增加, 无定型成分的去除了胜过纤维素的溶胀<sup>[41,48]</sup>。本研究中纤维素几乎不溶于上述 DES (<5 mg/g), 对纤维素本身的结晶度影响不大, 但因去除了大量无定型成分, 例如木质素和木聚糖, 导致样品的 CrI 增加, 与胆碱类离子液体预处理结果类似<sup>[10,14]</sup>。同时, 借助 SEM (文中未附) 考察了上述 DES 预处理前后小麦秸秆的表面形态, 未处理时显示出紧密有序的小纤维束、表面光滑完整的结构。经 DES 预处理后, 纤维束变得疏松而粗糙, 甚至分裂成长束状, 尤其是经 [CC]:[M] 和 [CC]:[N-2] 处理后以无序的状态暴露在外面。与预处理后 XRD 和 FT-IR 表征结果一致, 其原因主要是木质素和木聚糖的去除所致, 去除的越多表面积就越大, 并且暴露

出无序的原纤维, 进而提高了纤维素酶与纤维素的接触机会, 进而提高了酶解效率<sup>[12,14,49]</sup>。

## 2.4 预处理温度对[Ch]:[N-2]预处理过程及后

### 续多糖酶解反应的影响

温度对预处理和酶解的影响如表 5 所示, 随预处理温度的升高, 木质素去除率和木聚糖损失率均呈增加趋势。此外, 当温度高于 50 °C 时, 小麦秸秆的回收率从 66.91% 降至 51.12%, 较高的预处理温度 (>90 °C) 更有利于木质素的去除, 但造成更多的还原糖损失, 此外预处理后的样品酶解性能较好<sup>[8,14]</sup>。然而, 有趣的是, 当温度由 90 °C 升至 130 °C 时, 还原糖的释放初速度逐步增大, 但温度持续上升时对还原糖初速度影响较小。在所研究的温度范围内, 尽管多糖降解度随预处理温度的升高略有提高, 但还原糖收率几乎相当。例如在 90 °C 时还原糖收率为 93.88%,

110 °C 时为 94.79%, 而在 130 °C 时为 94.12%, 以上结果表明完全去除木质素并不是获取多糖转化率的必要条件<sup>[45,46]</sup>。因此, 用[CC]:[N-2]进行预处理时最佳温度选择为 90 °C。

## 2.5 预处理时间对[Ch]:[N-2]预处理过程及后

### 续多糖酶解反应的影响

时间对[CC]:[N-2]小麦秸秆预处理和酶解数据如表 6 所示。随预处理时间的延长, 更多的木质素和木聚糖被去除, 不过, 过长的时间对[CC]:[N-2]预处理小麦秸秆的多糖转化率及木质素去除率影响很小, 预处理 8 h 时残渣(预处理后富含纤维素的组分)的降解率和还原糖收率与 12 h 和 24 h 接近。例如在 8 h 时还原糖收率为 97.31%, 而 12 h 时为 99.01%, 24 h 为 96.31%。在实际生产中, 缩短时间可大大提高生产效率, 因此用[CC]:[N-2]预处理时, 选择 8 h 较为适宜。

表 5 温度对[CC]:[N-2]预处理小麦秸秆及后续酶解的影响

Table 5 Effect of pretreatment temperature on [CC]:[N-2] pretreatment of wheat straw and subsequent enzymatic hydrolysis of polysaccharides

预处理 <sup>a</sup>			残渣中组分含量/% <sup>b</sup>			残渣酶解 <sup>c</sup>
温度/°C	木质素提取率/%	残渣回收率/%	多糖	AIL	ASL	还原糖收率/%
Untreated	0	100	55.32±3.01	21.31±1.01	1.29±0.02	26.03±0.41
50	44.12±1.80	66.91±1.20	69.51±0.72	17.20±0.51	1.74±0.11	84.20±4.11
70	74.21±1.20	56.11±0.12	77.58±1.02	9.21±0.51	1.24±0.02	89.71±3.02
90	83.14±3.30	54.70±0.13	85.81±1.60	7.30±0.30	0.99±0.11	93.88±3.20
110	83.30±3.81	53.31±0.01	84.51±3.10	5.30±1.71	0.99±0.21	94.79±0.31
130	84.02±0.41	51.12±0.50	87.01±0.12	5.80±0.21	0.86±0.01	94.12±1.41

注: a: 600 mg 小麦秸秆原料 (<150 μm) 添加至 9 g DES 中, 不同温度下搅拌 4 h; b: 参照 NREL 法(稍作修改, 糖含量测定采用 DNS 法)测定(LAP 2008 版本)。数据结果以残留物的百分比表示, AIL: 酸不溶木质素; ASL: 酸溶木质素; c: 酶解条件: 40 mg 小麦秸秆样品, 20 μg/mL NaN<sub>3</sub>, 40 FPU/g 纤维素酶, 14 mL 柠檬酸盐缓冲液(50 mM, pH 4.8), 50 °C, 200 r/min。

表 6 时间对[CC]:[N-2]预处理小麦秸秆及后续酶解的影响

Table 6 Effect of pretreatment time on [CC]:[N-2] pretreatment of wheat straw and subsequent enzymatic hydrolysis of polysaccharides

预处理 <sup>a</sup>			残渣中组分含量/% <sup>b</sup>			残渣酶解 <sup>c</sup>
时间/h	木质素提取率/%	残渣回收率/%	多糖	AIL	ASL	还原糖收率/%
未处理	0	100	55.32±3.01	21.31±1.01	1.29±0.02	26.03±0.41
1	76.22±0.40	57.11±1.30	76.12±0.02	8.21±0.23	1.21±0.11	92.81±0.80
4	83.14±3.30	54.70±0.13	85.81±1.60	7.30±0.30	0.99±0.11	93.88±3.20
8	83.82±0.31	55.91±0.31	82.01±0.01	6.71±0.31	0.90±0.13	97.31±3.52
12	85.91±1.62	57.21±0.90	82.31±1.82	4.72±0.72	0.95±0.12	99.01±2.71
24	84.31±0.81	56.32±0.51	82.68±0.21	5.32±0.30	0.98±0.10	96.31±0.84

注: a: 600 mg 小麦秸秆原料 (<150 μm) 添加至 9 g [CC]:[N-2]中, 90 °C 下搅拌一定时间; b: 参照 NREL 法(稍作修改, 糖含量测定采用 DNS 法)测定(LAP 2008 版本)。数据结果以残留物的百分比表示。AIL: 酸不溶木质素; ASL: 酸溶木质素; c: 酶解条件: 40 mg 小麦秸秆样品, 20 μg/mL NaN<sub>3</sub>, 40 FPU/g 纤维素酶, 14 mL 柠檬酸盐缓冲液(50 mM, pH 4.8), 50 °C, 200 r/min。

表7 [CC]:[N-2]对不同生物质预处理的影响

Table 7 Effect of [CC]:[N-2] pretreatment on the composition of different lignocellulose

生物质样品	未经处理时组分含量/%		CrI <sup>a</sup>	预处理后残渣组分含量/% <sup>b,c</sup>		CrI <sup>a</sup>
	多糖	木质素		多糖	木质素	
水稻秸秆	49.41±3.40	16.19±0.79	36.88	74.71±0.71	3.40±0.44	49.42
小麦秸秆	55.32±3.01	22.62±1.02	38.74	82.11±2.02	7.47±1.03	46.37
玉米秸秆	47.02±3.03	16.85±0.28	42.79	84.61±2.30	8.84±0.41	45.55
玉米芯	58.82±2.70	18.94±0.22	28.04	83.91±0.02	9.65±0.95	42.92
苹果渣	54.51±1.52	26.66±0.98	18.62	87.12±1.41	14.45±0.26	44.22
豆渣	82.72±3.21	6.34±0.76	30.05	93.29±0.50	3.94±0.13	61.44
桉木	48.10±1.02	30.38±0.75	50.10	63.70±3.21	22.79±0.56	56.37
松木	47.62±0.81	33.37±1.50	42.50	56.8±1.8	30.31±0.47	46.85

注: a: 根据 XRD 峰高法计算; b: 600 mg 生物质原料 (<150 μm) 添加至 9 g [CC]:[N-2] 中, 90 °C 下搅拌 8 h; c: 参照 NREL 法 (稍作修改, 糖含量测定采用 DNS 法) 测定 (LAP 2008 版本)。数据结果以残留物的百分比表示。AIL: 酸不溶木质素; ASL: 酸溶木质素。

表8 生物质载量对 [CC]:[N-2] 预处理小麦秸秆及后续酶解的影响

Table 8 Effect of biomass load on [CC]:[N-2] pretreatment of wheat straw and subsequent enzymatic hydrolysis of polysaccharides

生物质载量/(wt%)	预处理 <sup>a</sup>		残渣中组分含量/% <sup>b</sup>			残渣酶解 <sup>c</sup>
	木质素提取率/%	残渣回收率/%	多糖	AIL	ASL	还原糖收率/%
Untreated	0	100	55.32±3.01	21.31±1.01	1.29±0.02	26.03±0.41
5.0	89.13±1.90	54.72±0.21	80.11±1.60	3.81±0.80	0.74±0.01	99.71±1.80
6.7	85.91±1.62	57.21±0.90	82.31±1.81	4.70±0.72	0.95±0.10	99.02±2.70
10.0	81.11±2.60	57.31±0.61	77.12±2.01	6.69±1.01	0.81±0.02	98.31±1.12

注: a: 不同载量的小麦秸秆原料 (<150 μm) 添加至 6 g [CC]:[N-2] 中, 90 °C 下搅拌 8 h; b: 参照 NREL 法 (稍作修改, 糖含量测定采用 DNS 法) 测定 (LAP 2008 版本)。数据结果以残留物的百分比表示。AIL: 酸不溶木质素; ASL: 酸溶木质素; c: 酶解条件: 40 mg 小麦秸秆样品, 20 μg/mL Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, 40 FPU/g 纤维素酶, 14 mL 柠檬酸盐缓冲液 (50 mM, pH 4.8), 50 °C, 200 r/min。

## 2.6 [CC]:[N-2] 预处理不同木质纤维素生物质

上述结果表明, [CC]:[N-2] 是一类优异的小麦秸秆预处理溶剂, 接着进一步研究了在其它木质纤维素生物质中预处理的可行性。

采用 [CC]:[N-2] 预处理水稻秸秆、玉米秸秆、玉米芯、豆渣、苹果渣、松木、桉木等生物质, 以拓宽该溶剂对生物质预处理的普适性。由表 7 得知, [CC]:[N-2] 除了对软木 (松木) 预处理效果较差外, 对其他生物质预处理效果均较好。例如, 水稻秸秆有 88.12% 的木质素被提取, 玉米秸秆 77.10%、玉米芯 70.71%、豆渣 75.70%、桉木 42.40%, 而松木仅为 29.20%。与未处理相比, 预处理后 CrI 值均有不同程度的增加, 表明预处理过程中无定型木质素和木聚糖组分有不同程度的去除, 因而预处理后的生物质相对更易降解, 还原糖收率增加了 3~5 倍, 不过松木预处理前后多糖含量几乎不变, 酶解初速度和还原糖收率与未处理时相当。因此, 以上结果表明 [CC]:[N-2] 对禾本科生物质和硬木 (桉木) 等均有良好的预处理效果, 对软木 (松

木) 几乎无作用。该结论与 [Ch][Arg] 预处理其他生物质的效果类似<sup>[42]</sup>。

## 2.7 生物质载量的影响

Blanch 等使用 IL 预处理对木质纤维素生物精炼进行了技术经济分析, 指出载量是影响经济成本的关键因素之一<sup>[52]</sup>, 同时许多研究者尝试用 IL 在高生物量负载下对木质纤维素生物质进行预处理<sup>[47,53,54]</sup>。本文研究了生物质载量 5%~10% 对 DES 预处理及酶解的影响 (表 8)。有趣的是, 在上述载量范围内, DES 的木质素提取率保持在 81.11%~89.13%, 还原糖产率稳定在 98.31%~99.71%, 同时也印证了木质素去除率越大, 后续生物质更易降解。不同载量的底物经 DES 预处理后, 多糖含量增加而木质素含量略有下降, 表明该溶剂体系具有优异的预处理能力。综上, [CC]:[N-2] 具有良好的预处理效果, 从经济学角度考虑, 选择 10% 的生物质载量较为合适。

## 3 结论



基于乙醇胺的 DES 体系是一类优异的木质纤维素预处理溶剂,能够高效、高选择性从小麦秸秆中萃取木质素,破坏其三维结构,提高多糖可及性,从而提高后续多糖酶解效率。并且,该类 DES 的预处理过程完全不同于传统离子液体的,因为利用前者不能显著改变纤维素的晶体结构。DES 体系中 HBD 的化学组成不仅影响其粘度,而且对预处理效果也有显著的影响;另外 DES 的 pH 值、温度和时间等均会影响预处理效果,其中, [CC]:[N-2] 为最优预处理溶剂,在一定范围内提高 DES 体系的碱性有利于去除更多的木质素和木聚糖,可促使纤维素降解度的提高。同时该类 DES 对禾本科类生物质和硬木(桉木)均有良好的预处理效果。此外该研究有助于理解碱性 DES 的预处理机制并为合理设计新型 DES 提供理论基础,基于乙醇胺的 DES 体系的应用将促进生物质预处理及组分分离向绿色、简易、经济、高效的方向发展。

### 参考文献

- [1] Przybysz B K, Kalinowska Halina, Przybysz P, et al. Conversion of various types of lignocellulosic biomass to fermentable sugars using kraft pulping and enzymatic hydrolysis [J]. *Wood Science and Technology*, 2017, 51(4): 873-885
- [2] Brandt A, Grasvik J, Hallett P, et al. Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids [J]. *Green Chemistry*, 2013, 15(3): 550-583
- [3] Wahlstrom R, Hiltunen J, Sirkka Mdpn, et al. Comparison of three deep eutectic solvents and 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate in the pretreatment of lignocellulose: effect on enzyme stability, lignocellulose digestibility and one-pot hydrolysis [J]. *Rsc Advances*, 2016, 6(72): 68100-68110
- [4] Silva-fernandes T, Duarte L C, Carvalheiro F, et al. Biorefining strategy for maximal monosaccharide recovery from three different feedstocks: eucalyptus residues, wheat straw and olive tree pruning [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 183: 203-212
- [5] LIU Xiao-ying, Zicarism, LIU Guang-qing, et al. Pretreatment of wheat straw with potassium hydroxide for increasing enzymatic and microbial degradability [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 185: 150-157
- [6] ZHANG Qing-hua, Vigierk D O, Royers, et al. Deep eutectic solvents: syntheses, properties, and applications [J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(21): 7108-7146
- [7] PAN Ming-zhu, ZHAO Guo-min, DING Chun-xiang, et al. Physicochemical transformation of rice straw after pretreatment with a deep eutectic solvent of choline chloride/urea [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 176: 307-314
- [8] Procentesea, Johnson E, Orr V, et al. Deep eutectic solvent pretreatment and subsequent saccharification of corncob [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 192: 31-36
- [9] XING Wan-ru, XU Guo-chao, DONG Jin-jun, et al. Novel dihydrogen-bonding deep eutectic solvents: pretreatment of rice straw for butanol fermentation featuring enzyme recycling and high solvent yield [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 333: 712-720
- [10] HOU Xue-dan, FENG Guo-Jian, YE Mei, et al. Significantly enhanced enzymatic hydrolysis of rice straw via a high-performance two-stage deep eutectic solvents synergistic pretreatment [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 238: 139-146
- [11] Procentesea, Raganatif, Olivieri G, et al. Deep eutectic solvents pretreatment of agro-industrial food waste [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2018, 11: 37
- [12] ZHANG Cheng-wu, XIA Shu-qian, MA Pei-sheng. Facile pretreatment of lignocellulosic biomass using deep eutectic solvents [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 219: 1-5
- [13] PAN Ming-zhu, ZHAO Guo-min, DING Chun-xiang, et al. Physicochemical transformation of rice straw after pretreatment with a deep eutectic solvent of choline chloride/urea [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 176: 307-314
- [14] XU Guo-chao, DING Ji-cai, HAN Rui-zhi, et al. Enhancing cellulose accessibility of corn stover by deep eutectic solvent pretreatment for butanol fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 203: 364-369
- [15] Mjallif S, Murshid G, Al-zakwani S, et al. Monoethanolamine-based deep eutectic solvents, their synthesis and characterization [J]. *Fluid Phase Equilibria*, 2017, 448: 30-40
- [16] Sarmad Shokat, XIE Yu-jiao, Mikkola Jyri-pekka, et al. Screening of deep eutectic solvents (DESs) as green CO<sub>2</sub> sorbents: from solubility to viscosity [J]. *New Journal of Chemistry*, 2017, 41(1): 290-301
- [17] Warrag Samah E E, Petersc Cor J, Kroon Maaik C. Deep eutectic solvents for highly efficient separations in oil and gas industries [J]. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 2017, 5: 55-60
- [18] Sluiter J B, Ruiz R O, Scarlata C J, et al. Compositional analysis of lignocellulosic feedstocks. 1. Review and

- description of methods [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(16): 9043-9053
- [19] Maugeri Zaira, De Maria Pablo Dominguez. Novel choline-chloride-based deep-eutectic-solvents with renewable hydrogen bond donors: levulinic acid and sugar-based polyols [J]. Rsc Advances, 2012, 2(2): 421-425
- [20] Abbott A P, Boothby D, Capper G, et al. Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids [J]. Journal of the American Chemical Society, 2004, 126(29): 9142-9147
- [21] LI Jin-hua, WANG Chao, YANG Zheng-yu. Production and separation of phenols from biomass-derived bio-petroleum [J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2010, 89(2): 218-224
- [22] ZHAO Bing-yi, XU Pei, YANG Fu-xi, et al. Biocompatible deep eutectic solvents based on choline chloride: characterization and application to the extraction of rutin from *Sophora japonica* [J]. Acs Sustainable Chemistry & Engineering, 2015, 3(11): 2746-2755
- [23] Abbott A P, Capper G, Davies D L, et al. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures [J]. Chemical Communications, 2003, 7(1): 70-71
- [24] Francisco M, Van Den Ba, Kroon M C. Low-transition-temperature mixtures (LTTMs): a new generation of designer solvents [J]. Angewandte Chemie-International Edition, 2013, 52(11): 3074-3085
- [25] Avalos M, Babianor, Cintas P, et al. Greener media in chemical synthesis and processing [J]. Angewandte Chemie-International Edition, 2006, 45(24): 3904-3908
- [26] YU Du-yuan, JING Yan, MA Jun, et al. Physicochemical properties of ionic liquid analogue containing magnesium chloride as temperature and composition dependence [J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2012, 110(2): 773-780
- [27] Bandres I, Montano D F, Gasconi Cea, et al. Study of the conductivity behavior of pyridinium-based ionic liquids [J]. Electrochimica Acta, 2010, 55(7): 2252-2257
- [28] Gorke J T, Surrence F, Kazlauskas R J. Hydrolase-catalyzed biotransformations in deep eutectic solvents [J]. Chemical Communications, 2008, 14(10): 1235-1237
- [29] Florindo C, Oliveira F S, Rebelo L P N, et al. Insights into the synthesis and properties of deep eutectic solvents based on cholinium chloride and carboxylic acids [J]. Acs Sustainable Chemistry & Engineering, 2014, 2(10): 2416-2425
- [30] Abbott A P, Capper G, Davies D L, et al. Ionic liquid analogues formed from hydrated metal salts [J]. Chemistry-A European Journal, 2004, 10(15): 3769-3774
- [31] Abbott A P, Capper G, Gray S. Design of improved deep eutectic solvents using hole theory [J]. Chemphyschem, 2006, 7(4): 803-806
- [32] Abbott A P, Barron J C, Ryder K S, et al. Eutectic-based ionic liquids with metal-containing anions and cations [J]. Chemistry-A European Journal, 2007, 13(22): 6495-6501
- [33] LIU Qiu-ping, HOU Xue-dan, LI Ning, et al. Ionic liquids from renewable biomaterials: synthesis, characterization and application in the pretreatment of biomass [J]. Green Chemistry, 2012, 14(2): 304-307
- [34] Froschauer, Hummel M, Laus G, et al. Dialkyl phosphate-related ionic liquids as selective solvents for xylan [J]. Biomacromolecules, 2012, 13(6): 1973-1980
- [35] Roselli A, Hummel M, Monshizadeh A, et al. Ionic liquid extraction method for upgrading eucalyptus kraft pulp to high purity dissolving pulp [J]. Cellulose, 2014, 21(5): 3655-3666
- [36] Lopes A M D, Joao K G, Bogel-lukasik E, et al. Pretreatment and fractionation of wheat straw using various ionic liquids [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(33): 7874-7882
- [37] FU Dong-bao, Mazza G. Optimization of processing conditions for the pretreatment of wheat straw using aqueous ionic liquid [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(17): 8003-8010
- [38] 黄梓健, 杨露敏, 林凯鹏, 等. 不同类型深度共熔溶剂预处理的甘蔗渣酶解效率差异[J]. 现代食品科技, 2020, 36(6): 60-67
- HUANG Zi-jian, YANG Lu-min, LIN Kai-peng, et al. The difference for enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse pre-treated by different deep eutectic solvents [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(6): 60-67
- [39] ZHAO Zheng, CHEN Xiao-chun, Ali M F, et al. Pretreatment of wheat straw using basic ethanolamine-based deep eutectic solvents for improving enzymatic hydrolysis [J]. Bioresource Technology, 2018, 263: 325-333
- [40] 徐杰, 任欢, 李宁, 等. 胆碱脂肪酸盐离子液体预处理水稻秸秆提高多糖酶解反应的研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(11): 145-150
- XU Jie, REN Huan, LI Ning, et al. Improvement of enzymatic hydrolysis of polysaccharides in rice straw by cholinium alkanoate ionic liquid pretreatment [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(11): 145-150
- [41] AN Yan-xia, ZONG Min-hua, WU Hong, et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass with renewable cholinium ionic

- liquids: biomass fractionation, enzymatic digestion and ionic liquid reuse [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 192: 165-171
- [42] 安艳霞. 基于胆碱离子液体的木质纤维素预处理、酶解及其机制的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016
- AN Yan-xia. Study on pretreatment, enzymatic hydrolysis and mechanism of lignocellulose based on choline ionic liquid [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016
- [43] CHEN Xue, LI Han-yin, SUN Shao-ning, et al. Co-production of oligosaccharides and fermentable sugar from wheat straw by hydrothermal pretreatment combined with alkaline ethanol extraction [J]. *Industrial Crops and Products*, 2018, 111: 70-77
- [44] Copury, Tozluoglu A, Ozyurek O. Sodium borohydrate ( $\text{NaBH}_4$ ) pretreatment for efficient enzymatic saccharification of wheat straw [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 107: 258-266
- [45] HOU Xue-dan, LI Ning, ZONG Min-hua. Significantly enhancing enzymatic hydrolysis of rice straw after pretreatment using renewable ionic liquid-water mixtures [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 136: 469-474
- [46] ZHAO Zheng, YANG Yong-yi, Abdeltawab A A, et al. Cholinium amino acids-glycerol mixtures: New class of solvents for pretreating wheat straw to facilitate enzymatic hydrolysis [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245: 625-632
- [47] REN Huan, ZONG Min-hua, WU Hong, et al. Efficient pretreatment of wheat straw using novel renewable cholinium ionic liquids to improve enzymatic saccharification [J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2016, 55(6): 1788-1795
- [48] SUN Fu-bao, WANG Liang, HONG Jia-peng, et al. The impact of glycerol organosolv pretreatment on the chemistry and enzymatic hydrolyzability of wheat straw [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 187: 354-361
- [49] SUN Fu-bao, ZHAO Xiao-qin, HONG Jia-peng, et al. Industrially relevant hydrolyzability and fermentability of sugarcane bagasse improved effectively by glycerol organosolv pretreatment [J]. *Biotechnol Biofuels*, 2016, 9: 59
- [50] Lee S H, Doherty V, Linhardt, et al. Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009, 102(5): 1368-1376
- [51] WU Hong, Mora-pale M, MIAO Jian-jun, et al. Facile pretreatment of lignocellulosic biomass at high loadings in room temperature ionic liquids [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2011, 108(12): 2865-2875
- [52] Klein-Marcuschamer D, Simmons B A, Blanch H W. Techno-economic analysis of a lignocellulosic ethanol biorefinery with ionic liquid pre-treatment [J]. *Biofuels Bioproducts & Biorefining-Biofpr*, 2011, 5(5): 562-569
- [53] Ninomiya K, Soda H, Ogino, et al. Effect of ionic liquid weight ratio on pretreatment of bamboo powder prior to enzymatic saccharification [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 128: 188-192
- [54] LI Chen-lin, Tanjored, HE Wei, et al. Scale-up and evaluation of high solid ionic liquid pretreatment and enzymatic hydrolysis of switchgrass [J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2013, 6: 154

---

(上接第 114 页)

- [32] Karolina Wojtunik Kulesza, Anna Oniszczyk, Tomasz Oniszczyk, et al. Influence of *in vitro* digestion on composition, bioaccessibility and antioxidant activity of food polyphenols a non-systematic review [J]. *Nutrients*, 2020, 12(5): 1401
- [33] Tomasz Tarko, Aleksandra Duda-Chodak, Natalia Zajac. Digestion and absorption of phenolic compounds assessed by *in vitro* simulation methods. A review [J]. *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, 2013, 64(2): 79-84
- [34] 饶雪甜, 曾新安, 林松毅, 等. 黑果腺肋花楸在体外模拟消化过程中酚类物质及抗氧化性的变化规律[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(12): 77-83
- RAO Xue-tian, ZENG Xin-an, LIN Song-yi, et al. Variation of phenols and antioxidant activities in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* digestion [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36(12): 77-83
- [35] María Janeth Rodríguez-Roque, María Alejandra Rojas-Graü, Pedro Elez-Martínez, et al. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by *in vitro* gastrointestinal digestion [J]. *Food Chemistry*, 2013, 136(1): 206-212