

## 基于全溶体系的毛竹竹材木质素分离方法

吴文娟, 闫雪晴, 邹春阳, 王博伟, 何 贤

(南京林业大学 江苏省林业资源高效加工利用协同创新中心, 江苏 南京 210037)

**摘要:**【目的】以毛竹 *Phyllostachys edulis* 竹材为原料, 经球磨分别通过 LiCl/DMSO 溶剂体系的溶解、再生处理、纤维素酶水解, 得到的酶解残渣进行溶剂抽提、纯化, 分离出竹材中的再生酶解木质素(RCEL)。【方法】木质素化学成分按照标准方法测定, 木质素结构单元的变化通过红外、碱性硝基苯氧化、核磁共振波谱分析, 采用 X 射线衍射比较再生前后的纤维素结晶区变化。用凝胶渗透色谱测定木质素的分子量及其分布。【结果】经由化学成分结果得知: RCEL 的得率和纯度都较高。经红外、元素分析、硝基苯氧化、凝胶渗透色谱、核磁共振等手段表征表明: 分离得到的竹材 RCEL 为 GSH 型木质素, 缩合程度略高于纤维素酶解木质素(CEL), 其中, 紫丁香基结构单元含量较高, 达 50%, 分离过程中结构单元比例没有变化。从分子量及其分布来看, 竹材 RCEL 数均分子量和重均分子量都较高, 分离过程中木质素降解较少。经 X 射线衍射分析, 经 LiCl/DMSO 体系溶胀处理后纤维素的结晶度有所下降。RCEL 木质素热失重温度为 200~600 °C, 600 °C 后失重趋于稳定, 木质素缩合程度不同会导致不同的热解特性。【结论】基于 LiCl/DMSO 溶剂体系的分离方法, 对木质素大分子结构有较好的保护作用, 对碳水化合物有很好的降解作用, 可以改变纤维素结晶区的结构, 降低结晶度, 从而能促进纤维素的降解, 提高酶解效率, 有利于高效分离 CEL。与传统分离方法得到的球磨木质素(MWL)、CEL 相比, 经过 LiCl/DMSO 溶剂体系处理后得到的竹材 RCEL, 能较好地代表竹材的木质素。图 4 表 5 参 23

**关键词:** 林业工程; 木质素; LiCl/DMSO; 分离; 竹材

**中图分类号:** S781.4      **文献标志码:** A      **文章编号:** 2095-0756(2020)02-0335-08

## A isolation method of lignin from bamboo based on complete dissolution

WU Wenjuan, YAN Xueqing, ZOU Chunyang, WANG Bowei, HE Xian

(Jiangsu Co-Innovation Center of Efficient Processing and Utilization of Forest Resources, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

**Abstract:** [Objective] To obtain regenerated cellulolytic enzyme lignin (RCEL), ball-milled bamboo (*Phyllostachys edulis*) was dissolved, regenerated, and subjected to cellulose enzymatic hydrolysis in a lithium chloride/dimethyl sulfoxide (LiCl/DMSO) solvent system before the enzymatic residue is extracted and purified in the solvent. [Method] First, the chemical composition of lignin was determined with the standard method. Then, the structures and contents of the isolated lignin were analyzed by means of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, alkaline nitrobenzene oxidation and proton nuclear magnetic resonance (<sup>1</sup>H NMR). Afterwards, gel permeation chromatography (GPC) was conducted to analyze the molecular weight and polydispersity of lignin while X-ray diffraction was used to evaluate the effect of dissolution and regeneration of bamboo on the cellulose crystallinity. [Result] (1) In terms of the chemical composition, the yield and purity of RCEL were higher. (2) The isolated bamboo RCEL lignin was GSH lignin whose condensation degree was slightly higher than that of cellulolytic enzyme lignin (CEL), the content of Syringyl structural unit was higher, almost reaching 50% (*w/w*), and the proportion of structural unit did not change during the separation process. (3) In

收稿日期: 2019-05-27; 修回日期: 2019-07-27

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目(21704045); 江苏省高等学校大学生创新创业训练计划项目(201910298034Y)

作者简介: 吴文娟, 副教授, 博士, 从事生物质资源化学与工程研究。E-mail: wenjuanwu@njfu.edu.cn

terms of molecular weight and its distribution, both of the average molecular weight and weight average molecular weight of bamboo RCEL lignin were high, and there was no occurrence of lignin degradation during the separation process. (4) The crystallinity of cellulose decreased after swelling treatment of LiCl/DMSO solvent system with X-ray diffraction. (5) The thermogravimetric temperature of RCEL lignin was between 200 °C and 600 °C and different pyrolysis features are presented with different condensation degrees of lignin. [Conclusion] This separation method based on LiCl/DMSO solvent system had a good protective effect on the macromolecular structure of lignin while caused damage in carbohydrates structure. It could change the cellulose crystallization region and reduce the degree of crystallization, thus promoting the degradation of cellulose and improving the efficiency of enzyme hydrolysis, which were beneficial to the efficient separation of CEL. Compared with milled wood lignin (MWL) and CEL isolated with the traditional separation method, the RCEL lignin separated using the current separation method could better represent the protolignin of bamboo. [Ch, 4 fig. 5 tab. 23 ref.]

**Key words:** forest engineering; lignin; LiCl/DMSO; isolation; bamboo

木质素是一种广泛分布于植物细胞壁中无定形的芳香性高聚物,是除纤维素外自然界中储量位居第2位的可再生资源。随着木质素化学分解方法研究的进展以及光谱、色谱等分析技术在木质素化学研究中的广泛应用,对木质素化学结构的认识也越加深刻。但是,人们对木质素结构的认识在很大程度上是基于对分离木质素的研究,而木质素主要分布在植物细胞的微纤丝之间,并且与高聚糖有着复杂的化学或物理链接,迄今为止尚未找到一种理想的分离方法,使木质素完全地无变化地从植物原料中分离出来<sup>[1-2]</sup>,因此,分离方法在很大程度上影响着木质素的结构研究。一直以来都是用球磨木质素(MWL)来分析木质素的化学结构<sup>[3-4]</sup>,但因为得率低,MWL是否能代表植物原料中全部原本木质素也存有争议<sup>[5]</sup>,纤维素酶解木质素(CEL)因为得率高,且结构与MWL相似,被认为可代表植物中的原本木质素<sup>[6]</sup>。CEL的一个主要缺点为酶水解过程中的酶不能在后期分离纯化时完全除去。WU等<sup>[7]</sup>在此基础上提出了一种从阔叶木、针叶木中有效分离木质素的新方法:EMAL(enzymatic /acidolysis lignins)。该分离方法结合酶处理与温和酸水解,使木质素-碳水化合物间的化学链接能在温和的化学条件下,选择性地有效打开,为木质素高效分离提供了保证。相对于传统的球磨木质素,该分离方法通过球磨、酶水解及温和酸水解的协同作用,可以明显提高木质素的得率。但众所周知,酸处理将导致木质素 $\alpha$ -醚键的断裂。LEE等<sup>[1]</sup>和MESHITSUKA等<sup>[8]</sup>研究表明:球磨后木质纤维原料木质素在二氧六环-水溶液中的溶出与球磨时间有关,胞间层木质素较易溶出,随着球磨时间的延长,次生壁木质素的溶出逐渐增多。因此,利用传统方法分离木质素,缩短球磨时间不仅降低了分离木质素的得率,也使得到的木质素缺乏代表性。木质纤维原料由纤维素、半纤维素和木质素构成,纤维素大部分分子规律性排列形成结晶结构,只有部分分子规律性差,形成无定形区。纤维素酶只能作用于植物原料的非结晶区,对于结晶区并不起作用,如果直接将木质纤维素用于酶解,效果很差。因此,在酶解前必须先改变纤维素的晶体结构,才能促进纤维素的降解,达到提高酶解效率的作用。选用合适溶剂进行溶解再生来改善结晶区的结构可以提高酶解效率<sup>[9-10]</sup>。WANG等<sup>[11]</sup>提出的LiCl/DMSO全溶体系,作用于球磨木粉,结果表明:再生前后的木质素结构单元没有发生变化,而纤维素的结晶区受到一定程度的破坏。本研究以毛竹 *Phyllostachys edulis* 竹材为原料,借助LiCl/DMSO溶剂体系溶解再生处理,通过纤维素酶水解分离出非木材木质纤维原料中的木质素,并与传统方法得到的MWL和CEL进行了比较。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

试验毛竹竹材产自浙江安吉,人工劈成长3~4 cm,宽、厚2~4 mm的小竹条。上述风干原料用Wiley微型粉碎机粉碎,取40~80目组分,用苯醇(2:1, V/V)抽提8 h,经真空干燥后,储存于带磨砂玻璃塞的广口瓶中,供分析使用。

## 1.2 球磨

竹粉的球磨在德国 Fritsch 微型行星式高能球磨机中进行。称取 2 g 真空干燥后的脱脂竹粉装入容积为 45 mL 氧化锆制的罐子，内装 18 只内径 1 cm 的氧化锆球，以  $600 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  进行不同时间的球磨。球磨在冷库 ( $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 进行，每运行 15 min，休停 5 min，以避免过热。磨后竹粉经干燥后，备用。

## 1.3 LiCl/DMSO 溶解和再生

球磨 2 h 的竹粉以质量分数 7.5% 溶于 8% LiCl/DMSO 溶剂体系，室温下搅拌 48 h，在  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  继续搅拌 24 h。LiCl/DMSO 处理后，将溶解物置入透析袋，放入装有去离子水容器中，用新鲜去离子水更换容器中透析出来的水数次，直至用硝酸银无法检测出透析液中氯离子 ( $\text{Cl}^-$ )。再生的原料经冷冻干燥后，得到再生原料，再生得率为 86.0%，高聚糖的得率 81.0%。再生原料室温保存，作酶水解备用。

## 1.4 木质素的分离

竹材 MWL 的分离方法参照文献[3-4]。球磨 2 h 的竹粉 10 g，用 96% 二氧六环/水 (V/V) 室温下提取 24 h，离心分离后，残渣继续用 96% 二氧六环/水 (V/V) 体系提取 1 次，离心分离残渣。收集 2 次离心后的上清液，在  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  下旋转蒸发浓缩至干，在室温下真空干燥后，溶于体积分数为 90% 醋酸溶液中，离心分离，上清液缓缓滴加至 10 倍体积的水中，沉淀下来的固体残渣用水离心洗涤 3 次后真空干燥。干燥后的木质素溶于 1,2-二氯乙烷/乙醇 (2:1, V/V) 的混合液中，离心后，上清液于大量乙醚中沉淀，沉淀物用乙醚洗 3 次，五氧化二磷真空烘干箱干燥，得到竹材 MWL，得率为 5.1% (基于竹材 Klason 木质素)。

竹材 CEL 的分离方法参照文献[6]。取球磨竹粉和再生球磨竹粉各 10 g 于 500 mL 锥形瓶中，加入一定量纤维素酶酶活 (以滤纸酶活计) 为  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混合酶液 (Novozymes 提供)，以每克绝干葡聚糖为基准，酶用量均为  $30 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ ，补充一定量的 pH 4.8 的醋酸-醋酸钠缓冲液，调节酶水解底物质量分数为 5%，将锥形瓶置于恒温振荡器 (SHA-C) 中，在  $180 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ， $50 \text{ }^\circ\text{C}$  下振荡 72 h。水解后在  $5000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$  下离心 15 min，分离酶水解液。残渣用蒸馏水离心洗涤 3 次后，经冷冻干燥和五氧化二磷真空干燥后，用 96% 二氧六环/水 (V/V) 提取，得到粗竹材 CEL 和再生酶解木质素 (RCEL)。经上述纯化步骤后，得到竹材 CEL 和 RCEL，得率分别为 25.3% 和 48.2% (基于竹材 Klason 木质素)。

## 1.5 木质素的乙酰化反应

木质素的乙酰化参考文献[12]。称取 300 mg 木质素样品于 50 mL 三角烧瓶中，加入 15 mL 吡啶/乙酸酐 (1:1, V/V)，盖紧瓶塞，搅拌，室温下反应 24 h。反应结束后，用无水乙醇将反应体系蒸发至干，至无吡啶气味。加入 1 mL 氯仿完全溶解，并滴入 100 mL 乙醚中沉淀出乙酰化木质素，用乙醚洗涤沉淀多次后，置入  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  真空干燥箱中干燥。乙酰化木质素用于凝胶渗透色谱 (GPC) 和核磁共振氢谱 ( $^1\text{H NMR}$ ) 的测定。

## 1.6 分析方法

1.6.1 化学成分测定 木质素含量、灰分的含量按照文献[13]的方法测定。称取样品 0.300 0 g，加入 3 mL 质量分数为 72% 硫酸，在  $18\sim 20 \text{ }^\circ\text{C}$  下水解 3 h。期间定时搅拌，然后转入 100 mL 玻璃瓶中，加水将硫酸稀释至质量分数为 4%，密封后置于灭菌锅 (DSX-280B) 内，在  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  下水解 1.5 h。用已恒质量的 G3 砂芯漏斗分离残渣和水解液，收集滤液测定酸溶木质素和高聚糖质量分数。残渣用热蒸馏水洗涤至滤液，用质量分数为 10% 氯化钡检测无白色沉淀，在恒温干燥箱中于  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  下恒量，称量后转入马弗炉中于  $575 \text{ }^\circ\text{C}$  灼烧至恒量，测定木质素中的灰分质量分数。计算 Klason 木质素质量分数时扣除灰分的质量分数。以质量分数为 4% 硫酸为参比，用日本岛津公司的 UV-240 紫外-可见分光光度计测定水解液在波长 205 nm 处的吸光度，计算酸溶木质素的质量分数。

还原糖的测定参考文献[14]。取水解液 5 mL，加入内标 1 mL 肌醇溶液 (质量浓度为  $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ )，用饱和氢氧化钡溶液调节 pH 至 5.5，离心分离除去沉淀，加入 20 mg 硼氢化钠于清液中，静置 24 h。加入 1 mL 醋酸后，旋转蒸发至浆状，再加入甲醇继续蒸发至干， $1 \text{ mL}\cdot\text{次}^{-1}$ ，连续 3 次。将蒸干体系于  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  烘干 15 min 以确保体系完全无水。加入 1 mL 乙酸酐后密封，在  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  下反应 3 h。用日本岛津公司的 GC-14b 气相色谱仪分析还原糖。气相色谱条件如下：毛细管柱 TC-17 ( $0.25 \text{ mm}\times 30 \text{ m}$ )；FID 检测器；柱温程序， $220 \text{ }^\circ\text{C}$  保留 20 min。进样温度为  $220 \text{ }^\circ\text{C}$ ，检测温度为  $230 \text{ }^\circ\text{C}$ ；气相色谱 GC 分析得到的单糖均转换为高聚糖。同时进行 2 次测定，取其平均值。



1.6.2 硝基苯氧化 木质素的结构变化可以通过硝基苯氧化结果来分析。硝基苯氧化操作参照文献[15]。取样品 40 mg 于 10 mL 不锈钢制的罐子里,依次加入硝基苯 0.25 mL, 2.0 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠 4 mL。将上述混合体系密封置于 170 °C 油浴中反应 2 h。冷却至室温,加入 1 mL 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 氢氧化钠配制的内标 3-乙氧基-4-羟基苯甲醛(0.2~0.4 g·L<sup>-1</sup>)。用二氯甲烷萃取 3 次, 15 mL·次<sup>-1</sup>, 弃油相取水相,用 4.0 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸调节 pH 至 1.0,依次用二氯甲烷萃取 2 次, 20 mL·次<sup>-1</sup>, 乙醚 1 次, 15 mL。收集有机相共 55 mL,用去离子水 20 mL 洗涤有机相,经无水硫酸钠干燥,过滤,滤液蒸发至干,加入 100 μL N,O-双(三甲基硅)乙酰胺衍生试剂(BSA)于 100 °C 反应 10 min。产物用日本岛津公司的 GC-17A 气相色谱仪进行分析。气相色谱条件如下:毛细管柱 NB-1(0.25 mm × 30 m); FID 检测器;柱温程序,150 °C 保留 15 min 后,以 3 °C·min<sup>-1</sup> 升温到 180 °C,继而以 10 °C·min<sup>-1</sup> 升温到 280 °C,保留 5 min。进样温度为 250 °C,检测温度为 280 °C。同时进行 2 次测定,取其平均值。

1.6.3 元素分析 用德国 Elementar 公司的 EL III 型元素分析仪来检测样品中规定碳、氢、氮和氧的质量分数。

1.6.4 热重分析 采用 Henven 公司的热重分析仪进行木质素样品热失重分析,实验温度为 30~900 °C,升温速率为 20 °C·min<sup>-1</sup>,高纯氮气保护。

1.6.5 红外光谱 采用 KBr 压片法在日本 JASCO IR-615 型红外光谱仪上测定样品,波长范围为 4 000~400 cm<sup>-1</sup>。

1.6.6 凝胶渗透色谱(GPC)分析 用美国 Waters 公司 1515 型凝胶渗透色谱分析系统来测定木质素的分子量和分子量分布。GPC 分析在 Waters 2414 折射只是检测器上进行,采用 Styragel® HR1, HR3 和 HR4 色谱柱(7.8 mm × 300.0 mm),测定质量浓度 5~10 g·L<sup>-1</sup>,用四氢呋喃作为溶剂,溶剂流速在 30 °C 为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>。以标准聚苯乙烯(分子量范围为 100~500 000)作为标准样品制备标准曲线。

1.6.7 X 射线衍射 纤维结晶指数分析在日本理学 Ultima IV 组合型多功能水平 X 射线衍射仪上进行,采用粉末法。测试条件: X 光管为 CuKα 靶(λ= 0.154 18 nm),用石墨单色器消除 CuKα 辐射,管电压 40 kV,管电流 40 mA,测量方法采用 θ/2θ 联动扫描,索拉狭缝为 0.04 rad,接收狭缝 0.15 mm,发射和防散射狭缝 1°,扫描范围为 2θ=5°~40°,扫描步长为 0.02°,扫描速率为 5°·min<sup>-1</sup>,记录“衍射强度-2θ”曲线。结晶指数可以根据 Segal 公式<sup>[16]</sup>进行计算:

$$I_G = \frac{I_{002} - I_{amorph}}{I_{002}} \times 100\%$$

其中:  $I_G$  为结晶指数,  $I_{amorph}$  为 2θ 为 18° 时无定形区衍射峰的强度,  $I_{002}$  为主结晶峰 002 的最大衍射强度。

1.6.8 <sup>1</sup>H NMR 测定 将乙酰化木质素溶于氘代氯仿(CDCl<sub>3</sub>),在日本 JEOL 公司的 Alpha 500 型核磁共振仪上进行测样。以三甲基硅烷作为内标。

## 2 结果与分析

### 2.1 竹材木质素的特性

2.1.1 竹材 CEL 和 RCEL 的得率、化学组成 相对于传统的木质素分离技术,由于部分木质素和碳水化合物间存在着共价键链接<sup>[17]</sup>,又有部分的木质素-碳水化合物复合体(LCC)溶于二氧六环与水的溶液中<sup>[18-19]</sup>,使得从纤维原料中分离得到高纯度、高得率木质素受到一定局限。经比较分析,利用 LiCl/DMSO 溶剂体系对球磨竹粉的溶解再生可高效分离木质素。对竹材来说,球磨 2 h 再经 LiCl/DMSO 溶剂体系的溶解再生分离得到的木质素得率可达 48.2%,是 CEL 方法的 2 倍多,是 MWL 方法(得率为 5.1%)的 9 倍。球磨时间的缩短,木质素的溶出可借助于 LiCl/DMSO 溶剂体系对物料的渗透润胀来改善,使之有更多的木质素裸露出来,通过聚糖的酶解来提高木质素在有机溶剂中的溶出,这样可以避免因为长时间的球磨带来木质素结构上的损伤。所以 LiCl/DMSO 溶剂体系的处理有助于提高竹材木质素的得率。另外,从表 1 可看出:竹材的 RCEL 总糖质量分数为 9.0 g·kg<sup>-1</sup>,CEL 为 12.0 g·kg<sup>-1</sup>。RCEL 的纯度略高于 CEL。

由表 2 可以看出:碳、氢和氧元素质量分数差别不大,竹材 CEL 和 RCEL 的氮质量分数均为 3 g·

kg<sup>-1</sup>，氮元素在木质素中质量分数均在 10 g·kg<sup>-1</sup> 以下，不会影响到其化学结构的分析<sup>[20]</sup>。

表 1 竹材 CEL 和 RCEL 的得率和纯度

Table 1 Isolation yield and sugar content of purified lignin samples from bamboo

样品	得率/%	葡聚糖/(g·kg <sup>-1</sup> )	木聚糖/(g·kg <sup>-1</sup> )	总糖/(g·kg <sup>-1</sup> )
CEL	25.3	1.0	5.0	12.0
RCEL	48.2	6.0	1.0	8.0

表 2 竹材 CEL 和 RCEL 的元素分析

Table 2 Element analysis of CEL and RCEL isolated from bamboo

样品	碳/(g·kg <sup>-1</sup> )	氢/(g·kg <sup>-1</sup> )	氮/(g·kg <sup>-1</sup> )	氧/(g·kg <sup>-1</sup> )
CEL	588	58	3	351
RCEL	588	57	3	352

2.1.2 分子量分析 凝胶渗透色谱(GPC)是一种木质素分子量快速测定的简单可靠的方法。但是木质素是不均一的高聚物，分析其不均匀性，即多分散性对了解整个木质素分子量的变化有重要影响。由表 3 可以看出：竹材的 CEL 和 RCEL 的重均分子量( $M_w$ )和数均分子量( $M_n$ )相近，数均分子量约 6 000，重均分子量 12 000。RCEL 的得率高于 CEL。LiCl/DMSO 溶剂体系的溶解润胀，一方面破坏了部分与木质素相连的纤维素结晶区，纤维素被酶水解成单糖溶出，木质素则留在底物里；另一方面，通过破坏纤维素结晶区，会将原来彼此包覆的木质素释放出来。最终都会导致分离木质素得率的增加。从表 3 看到：RCEL 的重均分子量高、分散性大，说明非木材纤维原料的木质素大分子之间仍存在着较大的差异，体现了非木材纤维原料木质素大分子结构的复杂性。竹材 RCEL 的分散性与 CEL 一致，都为 2.0。

表 3 竹材 CEL 和 RCEL 分子量

Table 3 Average molecular weight and polydispersity index ( $M_w/M_n$ ) of CEL and RCEL from bamboo

样品	$M_n$	$M_w$	$M_w/M_n$
CEL	6 118	12 265	2.0
RCEL	6 013	12 237	2.0

2.1.3 红外光谱分析 红外光谱能反映木质素的微细结构，根据木质素红外光谱特征吸收谱带测定分析木质素所带有的功能基，例如羰基、羟基、甲氧基、C—H 键和 C—C 键等<sup>[21]</sup>。由图 1 可看出：竹材 CEL 和 RCEL 红外光谱特征峰基本一致，表明两者的官能团组成基本相同，CEL 和 RCEL 在其结构上没有明显的差异：表征苯环骨架伸缩振动的 1 597、1 512 和 1 419 cm<sup>-1</sup> 吸收峰均显示出较强的吸收，这是木质素结构的基本特征峰，说明其苯环骨架结构保存完好。在 1 704 cm<sup>-1</sup> 出现明显吸收峰，这些吸收峰是非共轭羰基、酯基的特征吸收峰；另外，在 1 327 cm<sup>-1</sup> 有紫丁香基的吸收，愈创木基单元的伸缩振动在 1 234 cm<sup>-1</sup> 也有明显吸收，表明 CEL 和 RCEL 中均含有一定量的愈创木基单元、紫丁香基单元。木质素芳环单元结构在 LiCl/DMSO 溶解再生过程中没有明显破坏。对吸收峰归属的划分结果见表 4。

2.1.4 X 射线衍射分析 图 2 为原料竹材、球磨竹材及溶解后再生竹材的 X 射线衍射曲线，未经任何处理的原料竹粉(B)结晶度( $I_c$ )为 58.4%，再生竹材(RMB)与球磨竹材(MB) $I_c$  分别为 26.5%和 24.6%。由图 2 可以看出：竹材的曲线明显不同于球磨竹材和再生竹材。结合表 5 的结晶度可以看出：对于溶解后再生的球磨竹材原料，其得率为 86.0%，高聚糖的得率 81.0%，即处于无定形区的部分碳水化合物会在

表 4 竹材 CEL 和 RCEL 的红外光谱图解析

Table 4 Assignment of FTIR spectra of CEL and RCEL isolated from bamboo

序号	波数/cm <sup>-1</sup>		谱峰归属
	CEL	RCEL	
1	3 425	3 425	羟基中的 O—H 伸缩振动
2	2 939, 2 854	2 939, 2 854	甲基、亚甲基中的 C—H 伸缩振动
3	1 704	1 704	非共轭酮，羰基和脂中 C=O 伸缩振动
4	1 597	1 597	芳香环的伸缩振动和 C=O 振动
5	1 512	1 512	芳香环骨架伸缩振动
6	1 458	1 458	甲基或亚甲基的 C—H 变形振动
7	1 419	1 419	芳香环上的 C—H 平面变形振动
8	1 327	1 327	缩合的 S 和 G 型(G 型 5 位缩合)
9	1 234	1 234	愈创木基环和 C=O 伸缩振动
10	1 126	1 126	S 型特征，仲醇和 C=O 伸缩
11	1 049	1 049	在仲醇和脂肪醚中的 C—O 变形振动
12	833	833	C—H 平面外的变形

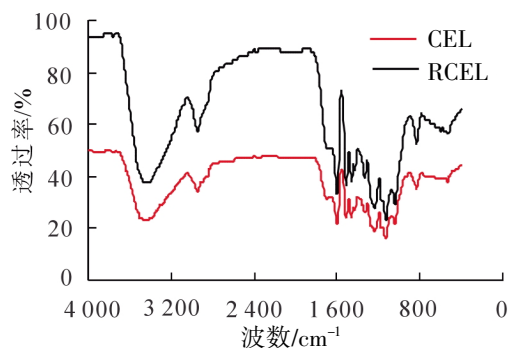


图1 竹材 CEL 和 RCEL 的红外谱图

Figure 1 FT-IR spectra of CEL and RCEL isolated from bamboo

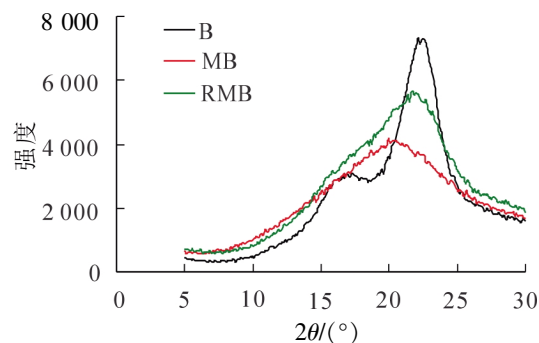


图2 竹材(B)、球磨竹材(MB)及再生竹材(RMB)的X射线衍射图

Figure 2 X-ray pattern of original bamboo (B), ball milled bamboo (MB), and regenerated bamboo with ball milling (RMB)

LiCl/DMSO 处理过程中溶出, 因而其结晶度略高于球磨样品。与 40~80 目的原料相比, 结晶区有了明显的破坏。对于经过溶解再生后的样品, 一方面可改善聚糖的酶水解, 另一方面溶剂体系的深入渗透, 会有更多的木质素敞露出来, 有利于后续有机溶剂的提取、分离。

2.1.5 木质素结构单元 碱性硝基苯氧化一般用于木质素的结构单元分析, 未缩合的对羟基苯基(H)、愈创木基(G)和紫丁香基单元(S)在碱性高温条件下分别氧化为对羟基苯甲醛、香草醛和紫丁香醛。木质素结构中未缩合单元含量越高, 则木质素的缩合程度越低。表 5 显示了酶解木质素和溶解再生后的酶解木质素的碱性硝基苯氧化结果。从表 5 可以看出: 竹材 CEL 的得率为 2.7%, RCEL 为 2.5%, CEL 的未缩合程度要高于 RCEL。另外, 硝基苯氧化的结果表明: 竹材 CEL 和 RCEL 均属于 GSH 类型的木质素, 含有丰富的紫丁香基单元, 其中紫丁香基单元在未缩合单元中的占比达一半。从对羟基苯基、愈创木基和紫丁香基单元的得率、比例及紫丁香基单元的质量分数可说明 2 种分离出来的木质素的结构单元比例没有明显的不同。

表 5 竹材 CEL 和 RCEL 的硝基苯氧化产物的得率及 S/G

Table 5 Nitrobenzene oxidation products yields and S/G molar ratio of CEL and RCEL isolated from bamboo

样品	得率/%			合计	$r_H:r_G:r_S$	$r_S/r_G$
	$r_H$	$r_G$	$r_S$			
CEL	0.6	0.8	1.3	2.7	20:31:49	1.6
RCEL	0.6	0.7	1.2	2.5	23:28:49	1.7

说明: H 表示对羟基苯基, G 表示愈创木基, S 表示紫丁香基单元

2.1.6 木质素的热稳定性 木质素是一种复杂、非结晶性的空间立体结构的大分子有机物, 以苯基丙烷单元为主体, 经各种醚键、碳碳键等连接而成, 且含有丰富的羟基和甲氧基等官能团, 结构的复杂性会影响其热裂解<sup>[22]</sup>。由图 3 可以看出: 竹材 CEL 和 RCEL 的热解曲线在 100~800 °C 的热重曲线大致相同。在 200~600 °C 内, 残余物质量分数由 94.4% 减少至 33.2%, 减少了 63.9%。超过 600 °C 时, 木质素中热解残余物中已不存在木质素苯丙烷单元, 此时的苯丙烷单元组成的大分子结构发生了彻底的解构<sup>[23]</sup>。在 600~800 °C 内 RCEL 残余物质量分数的减少值为 5.0%, CEL 为 7.0%, 此热解特性的差异主要在于木质素中化学结构的不同。经前述分析, 竹材 RCEL 的缩合程度要高于 CEL, 从而导致其热解需要更高的能量。分析结果表明: 竹材 CEL 和 RCEL 的热分解过程主要发生在

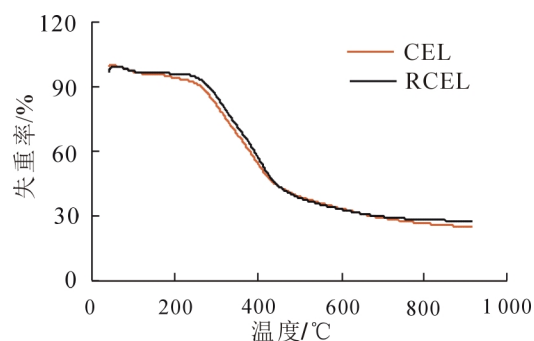


图3 竹材 CEL 和 RCEL 的 TG 曲线

Figure 3 Thermogravimetric analyses of CEL and RCEL of bamboo

200~600 ℃。

2.1.7  $^1\text{H}$  NMR 分析 由图 4 可看出：竹材 CEL 和 RCEL 在结构单元方面没有任何差异，化学位移在  $6.25\times 10^{-6}\sim 6.80\times 10^{-6}$ 、 $6.80\times 10^{-6}\sim 7.20\times 10^{-6}$  及  $7.30\times 10^{-6}\sim 7.60\times 10^{-6}$  分别对应于紫丁香基、愈创木基及对羟基苯基单元，分离出来的 CEL 和 RCEL 都属于 GSH 型木质素。化学位移处在  $3.48\times 10^{-6}\sim 4.00\times 10^{-6}$  有较强烈的谱峰吸收，应归属于甲氧基上质子。从图 4 发现：2 种分离木质素 CEL 和 RCEL 的各种官能团包括羟基和甲氧基峰形都十分明显，表现出丰富的官能团特征，表明分离木质素的官能团保持较好。另外，化学位移在  $1.60\times 10^{-6}\sim 2.22\times 10^{-6}$  内为芳基侧链脂肪族醋酸酯上质子， $2.22\times 10^{-6}\sim 2.50\times 10^{-6}$  的谱峰归于芳香族醋酸酯上质子。

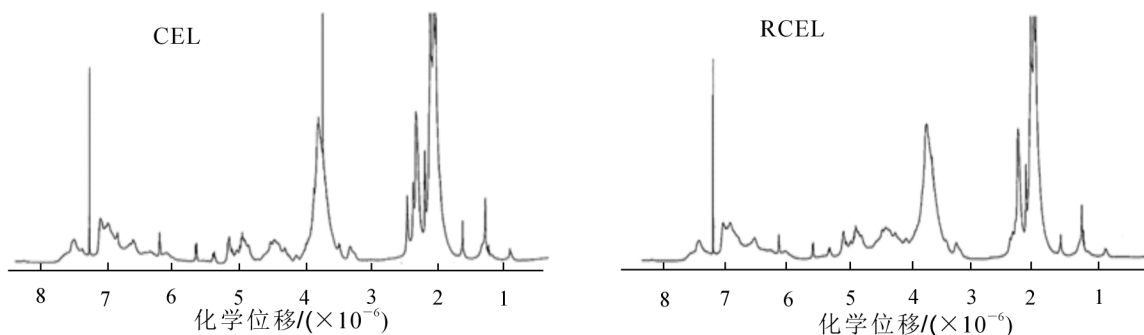


图 4 竹材 CEL 和 RCEL 的  $^1\text{H}$  NMR 谱图

Figure 4  $^1\text{H}$  NMR spectra of CEL and RCEL of bamboo

### 3 结论

以竹材为原料，经球磨、LiCl/DMSO 溶剂体系溶解、再生处理、酶水解得到了 RCEL。与传统的方法相比，RCEL 得率和纯度都较高。经表征，此分离方法对木质素大分子结构有较好的保护作用，对碳水化合物有很好的降解作用，RCEL 能较好地代表竹材的木质素。

分离得到的竹材木质素为 GSH 型木质素，缩合程度略高，竹材 RCEL 中紫丁香基结构单元含量较高，并占到一半。从分子量分布来看，竹材 RCEL 数均分子量和重均分子量都较高，分离过程中木质素降解较少。热解特性曲线分析表明：热失重温度为 200~600 ℃，600 ℃后失重趋于稳定。在 800 ℃，竹材 RCEL 未被分解的质量分数为  $241\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。木质素缩合程度的不同决定了其热解特性的差异。

### 4 参考文献

- [1] LEE Z Z, MESHITSUKA G, CHO N S, *et al.* Characteristics of milled wood lignins isolated with different milling times [J]. *Mokuzai Gakkaishi*, 1981, **27**: 671 - 677.
- [2] IKEDA T, HOLTMAN K, KADLA J F, *et al.* Studies on the effect of ball milling on lignin structure using a modified DFRC method [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, **50**(1): 129 - 135.
- [3] BJÖRKMAN A. Studies on finely divided wood ( I ) Extraction of lignin with neutral solvents [J]. *Svensk Papperstidn*, 1956, **59**: 477 - 485.
- [4] BJÖRKMAN A. Lignin and lignin-carbohydrate complexes extraction from wood meal with neutral solvents [J]. *Ind Eng Chem*, 1957, **49**: 1395 - 1398.
- [5] HU Zhoujian, YEH T F, CHANG Houmin, *et al.* Elucidation of the structure of cellulolytic enzyme lignin [J]. *Holzforchung*, 2006, **60**(4): 389 - 397.
- [6] CHANG Houmin, COWLING E B, BROWN W. Comparative studies on cellulolytic enzyme lignin and milled lignin of sweetgum and spruce [J]. *Holzforchung*, 1975, **29**(5): 153 - 159.
- [7] WU S, ARGYROPOULOS D. An improved method for isolating lignin in high yield and purity [J]. *J Pulp Pap Sci*, 2003, **29**(7): 235 - 240.
- [8] MESHITSUKA G, NAKANO J. Structure characteristics of compound middle lamella lignin [J]. *J Wood Chem Tech-*

- nol*, 1985, **5**(3): 391 – 404.
- [9] PAPA G, VARANASI P, SUN L, *et al.* Exploring the effect of different plant content and composition on ionic liquid pretreatment efficiency and enzymatic saccharification of *Eucalyptus globules* L. mutants [J]. *Bioresour Technol*, 2012, **117**: 352 – 359.
- [10] SUN Shaoni, LI Mingfei, YUAN Tongqi, *et al.* Effect of ionic liquid/organic solvent pretreatment on the enzymatic hydrolysis of corncob for bioethanol production. Part 1: structural characterization of the lignins [J]. *Ind Crops Prod*, 2013, **43**: 570 – 577.
- [11] WANG Zhiguo, YOKOYAMA T, CHANG Houming, *et al.* Dissolution of beech and spruce milled woods in LiCl/DM-SO [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, **57**(14): 6167 – 6170.
- [12] LUNDQUIST K. Acidolysis [C]//LIN S Y, DENCE C W. *Methods in Lignin Chemistry*. Berlin: Springer-Verlag, 1992: 242 – 249.
- [13] DENCE C W, LIN S Y. *Introduction in Methods in Lignin Chemistry* [M]. Heidelberg: Springer Verlag Press, 1992.
- [14] BORCHARDT L G, PIPER C V. A gas chromatographic method for carbohydrates as alditol-acetates [J]. *TAPPI J*, 1970, **53**: 257 – 260.
- [15] CHEN C L. Nitrobenzene and cupric oxide oxidations [C]//LIN S Y, DENCE C W. *Methods in Lignin Chemistry*. Berlin: Springer-Verlag, 1992: 301 – 321.
- [16] SEGAL L, Jr CREELY J, MARTIN A E J, *et al.* An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer [J]. *Text Res J*, 1959, **29**(10): 786 – 794.
- [17] YAKU F, YAMADA Y, KOSHIJIMA T. Lignin-carbohydrate complex. Part IV. Lignin as a side chain of the carbohydrate in Björkman LCC [J]. *Holzforschung*, 1981, **35**(4): 177 – 181.
- [18] IVERSEN T, WESTERMARK U, SAMUELSSON B. Some comments on the isolation of galactose containing lignin carbohydrate complexes [J]. *Holzforschung*, 1987, **41**(2): 119 – 121.
- [19] KOSHIJIMA T, YAKU F, TANAKA R. Fractionation of Björkman LCC from *Pinus densiflora* [J]. *Appl Polym Symp*, 1976, **28**: 1025 – 1039.
- [20] ARGYROPOULOS D S, BOLKER H I, HEITNER C, *et al.* 31P-NMR spectroscopy in wood chemistry. Part V. Qualitative analysis of lignin functional groups [J]. *J Wood Chem Technol*, 1993, **13**(2): 187 – 212.
- [21] 宋春财, 胡浩权. 秸秆及其主要组分的催化热解及动力学研究[J]. *煤炭转化*, 2003, **26**(3): 91 – 97.  
SONG Chuncai, HU Haoquan. Catalytic pyrolysis and kinetics of agricultural stalks and their main components [J]. *Coal Convers*, 2003, **26**(3): 91 – 97.
- [22] 孔晓英, 武书彬, 唐爱民, 等. 农林废弃物热解液化机理及其主要影响因素[J]. *造纸科学与技术*, 2001, **20**(5): 22 – 26.  
KONG Xiaoying, WU Shubin, TANG Aimin, *et al.* Pyrolysis products and its characteristics of wheat straw in tube furnace [J]. *Paper Sci Technol*, 2001, **20**(5): 22 – 26.
- [23] 娄瑞, 武书彬, 谭扬. 毛竹酶解/温和酸解木素的热解特性[J]. *南京理工大学学报(自然科学版)*, 2009, **33**(6): 824 – 828.  
LOU Rui, WU Shubin, TAN Yang. Pyrolysis characteristics of bamboo enzymatic/mild acidolysis lignin [J]. *J Nanjing Univ Sci Technol Nat Sci*, 2009, **33**(6): 824 – 828.