

doi:10.11707/j.1001-7488.20180311

毛竹预处理黑液木质素和酶解木质素的结构与热学性质^{*}

黄曹兴^{1,2} 何娟¹ 赖晨欢¹ Narron Robert² Chang Houmin² 勇强¹

(1. 南京林业大学林业资源高效加工利用协同创新中心 南京 210037; 2. 美国北卡罗来纳州立大学森林材料系 罗利 27695)

摘 要: 【目的】研究毛竹低用碱量硫酸盐法处理的黑液木质素和残留在浆料中木质素结构特征和热学性质,为竹材工业木质素利用提供理论参考。【方法】采用 12% 有效碱的硫酸盐法处理毛竹竹屑,通过酸化和酶解得到硫酸盐木质素(KL)和酶解木质素(EHL)。利用有机溶剂对 2 种木质素进行纯化后,采用凝胶渗透色谱分析仪(GPC)测定木质素分子质量大小,运用核磁共振定量碳谱(¹³C 谱)、二维碳氢相关谱(2D-HSQC)和定量磷谱(³¹P 谱)对木质素结构的键型连接、内部连接键含量和官能团含量进行定量分析,应用热重分析仪(TGA)和差示扫描量热仪(DSC)分别对木质素的热稳定性和玻璃化转变温度进行分析比较。【结果】GPC 测定结果表明,KL 的重均分子质量为 5 414 g·mol⁻¹,低于 EHL 的重均分子质量(7 673 g·mol⁻¹)。利用定量³¹P 谱,结合定量¹³C 谱和 2D-HSQC 谱分析可知,EHL 中的脂肪族羟基含量(4.87/100 C₉)高于 KL 中的脂肪族羟基含量(3.13/100 C₉),而总酚羟基含量(1.58/100 C₉)低于 KL 中的总酚羟基含量(3.09/100 C₉);EHL 内部木质素单元连接键含量高于 KL 内部木质素单元连接键含量,EHL 的 β—O—4 芳基醚键、β—β、β—5 和 β—1 含量分别为 30.85/100C₉、7.43/100C₉、2.40/100C₉ 和 0.19/100C₉,而 KL 这些连接键含量仅为 11.75/100C₉、2.35/100C₉、0.71/100C₉ 和 0.09/100C₉。热学性质分析表明,在加热条件下 KL 和 EHL 的木质素玻璃化转变温度分别为 135 ℃ 和 162 ℃,最大失重率温度分别为 339 ℃ 和 361 ℃。【结论】竹屑经低用碱量硫酸盐法预处理后,溶解在黑液中的木质素分子质量大小、内部连接键含量均低于残留在浆料中木质素的含量;而黑液木质素具有更多的酚羟基和羧基,脂肪族羟基含量较少。黑液木质素可能比残留在浆料中的木质素更有优势用来制备热塑性材料,因为其具有更低热稳定性和低玻璃化转变温度的特性。

关键词: 硫酸盐法预处理;木质素;分子质量;木质素连接键;官能团;热学性质

中图分类号: S785 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-7488(2018)03-0108-09

Structure Characteristics and Thermal Properties of Black Liquor Lignin and Enzymatic Hydrolysis Lignin from Moso Bamboo Pretreated by Kraft Pulping

Huang Caoxing^{1,2} He Juan¹ Lai Chenhuan¹ Narron Robert² Chang Houmin² Yong Qiang¹

(1. Co-Innovation Center for Efficient Processing and Utilization of Forest Products, Nanjing Forestry University Nanjing 210037;
2. Forest Biomaterial Department, North Carolina State University Raleigh 27695)

Abstract: 【Objective】The present research is for further understanding the structure characteristics and thermal properties of soluble lignin and insoluble lignin of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) by low alkaline charge kraft pulping to provide theoretical reference to the application of lignin from bamboo. 【Method】The moso bamboo was pretreated by kraft pulping with effective alkalinity of 12%. To isolate the soluble lignins, black liquor was acidified to precipitate black liquor lignin, namely kraft lignin (KL). Enzymatic hydrolysis was performed on the solid pulp to obtain residual insoluble lignin in pulp, namely enzymatic hydrolysis lignin (EHL). Organic solvent purification was utilized on the lignin isolates to ensure the absence of unbound carbohydrates. The molecular weights of KL and EHL were determined by gel permeation chromatography (GPC). ³¹P nuclear magnetic resonance (NMR) and the combination of ¹³C and 2D-HSQC NMR were performed to quantify the amount and variety of hydroxyl functional groups and inter-lignin linkages respectively. Thermal properties of KL and EHL were measured by thermogravimetric analysis (TGA) to determine the thermostability and

收稿日期: 2016-06-20; 修回日期: 2016-08-02。
基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31570561); 江苏省高校优势学科建设工程资助项目。
^{*} 勇强为通讯作者。

differential scanning calorimetry (DSC) for estimating glass transition temperature. 【Result】The approximate values of molecular weights of KL and EHL obtained by GPC were $5\,414\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ and $7\,673\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ respectively. Hydroxyl quantification from ^{31}P NMR indicated a greater amount of aliphatic hydroxyl in EHL ($4.87/100\text{ C}_9$) than in KL ($3.13/100\text{ C}_9$). As for phenolic hydroxyl, an opposite trend was shown, $1.58/100\text{ C}_9$ for EHL and $3.09/100\text{ C}_9$ for KL. Quantification of inter-lignin linkages through the combination of 2D-HSQC and ^{13}C NMR spectra showed the inter-lignin linkages in EHL were $30.85/100\text{ C}_9$ for $\beta\text{—O—}4$, $7.43/100\text{ C}_9$ for $\beta\text{—}\beta$, $2.40/100\text{ C}_9$ for $\beta\text{—}5$, and $0.19/100\text{ C}_9$ for $\beta\text{—}1$. KL, bearing less inter-lignin linkages, was found to contain $11.75/100\text{ C}_9$ of $\beta\text{—O—}4$, $2.35/100\text{ C}_9$ of $\beta\text{—}\beta$, $0.71/100\text{ C}_9$ of $\beta\text{—}5$, and $0.09/100\text{ C}_9$ of $\beta\text{—}1$. The thermal property measurement under heating showed that the greatest weight losses with EHL and KL occurred at $361\text{ }^\circ\text{C}$ and $339\text{ }^\circ\text{C}$ respectively, and the glass transition temperatures were 162°C and 135°C respectively. 【Conclusion】Low alkaline charge kraft pulping of moso bamboo yields liquor-soluble lignin which has lower molecular weight and less inter-lignin linkage than the residual lignin in pulp. Phenolic hydroxyl groups have the greater functionality in the black liquor lignin, than aliphatic hydroxyl groups in the residual lignin in pulp. The black liquor lignin has greater advantage for the preparation of the lignin-polymer thermoplastic material than the residual lignin in the pulped bamboo, due to lower thermostability and glass transition temperature.

Key words: kraft pulping; lignin; molecular weight; lignin linkages; functional group; thermal property

木质素是植物纤维原料中除了纤维素之外的第二大有机资源,是自然界中最丰富的天然芳香族化合物。木质素可以看作是苯丙烷结构的高分子酚类聚合物,主体结构由键能较高的碳—碳键和醚键连接而成,并具有酚羟基、醇羟基、羧基和甲氧基等多种官能团(秦特夫, 1999; 李忠正, 2012)。改性之后的木质素应用范围较广,可用作水泥减水剂、表面活性剂和制备酚醛树脂、分散剂、活性炭等(Tejado *et al.*, 2007; 闫伟等, 2011; 季栋等, 2013; He *et al.*, 2015)。同时,木质素在聚合物—木质素基热塑性产品中也得到了广泛研究,主要与聚乙烯、聚环氧乙烷、聚对苯二甲酸酯和聚苯乙烯等混合制备热塑性材料(Mohanty *et al.*, 2002; Alekhina *et al.*, 2015)。据统计,我国竹材制浆企业排出的绝大部分工业木质素通过碱回收系统作为热源烧掉,仅10%左右作为化工原料被再利用,因此,高效利用竹材工业木质素成为了近年来的研究热点。

黄曹兴等(2015)研究发现,低用碱量(10%~12%)硫酸盐蒸煮可作为毛竹(*Phyllostachys edulis*)纤维糖化生产可发酵性单糖的预处理方法。在蒸煮过程中,60%~75%的木质素通过碎片化溶解在黑液中,25%~40%的木质素残留在预处理浆料中。黑液中溶解的木质素可通过酸化、分离和洗涤等步骤得到纯度高的硫酸盐木质素;预处理竹材中高聚糖经过纤维素酶糖化后可以可发酵性单糖形式溶解在水解液中,剩余部分主要为高木质素含量的酶解残渣。在生物炼制过程中,可发酵性单糖可用于生产燃料乙醇、乳酸和糖酸等化工产品,而酶解残渣的有效利用也是一个待解决问题(陈介南等, 2007;

Zhang *et al.*, 2015)。由于木质素来源和制备方法不同会导致其结构和性能存在一定差异,进而影响应用效果(Mohanty *et al.*, 2002),因此研究竹材硫酸盐木质素和酶解木质素的结构和性能是解决其在工业上应用的首要任务。本研究利用低用碱量硫酸盐法处理毛竹竹屑,通过酸化和酶解得到硫酸盐木质素和酶解木质素,并对2种木质素分子质量、键型连接、官能团含量以及热学性能(热稳定性和玻璃化转变温度)进行研究,以期竹材工业木质素利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

竹屑,毛竹工业加工剩余物,由福建何其昌竹业有限公司提供,化学成分(干基)为:葡聚糖40.43%、木聚糖19.18%、木质素30.43%、苯—醇抽出物5.01%。

硫酸、硫化钠、氢氧化钠、二氧六环等购于南京化学试剂有限公司,均为化学纯;苯乙烯、氘代吡啶、氘代氯仿、N—羟基—5—降冰片烯—2,3—二酰亚胺溶液、三价乙酰丙酮化铬、2—氯—1,3,2—二噁磷杂戊环和DMSO-d₆购于Sigma-Aldrich,均为分析纯。

纤维素酶(C2730),滤纸酶活力 $117\text{ FPU}\cdot\text{g}^{-1}$, β -葡萄糖苷酶活力 $22.50\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$; β -葡萄糖苷酶(NZ188), β -葡萄糖苷酶酶活力 $323\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$;木聚糖酶(X2753),木聚糖酶酶活力 $174.5\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$,购于Sigma公司。

1.2 试验方法

1.2.1 低用碱量硫酸盐法预处理 $1\,000\text{ g}$ 绝干竹

屑装入 15 L 立式电加热蒸煮锅中,按固液比 1:5 加入含 NaOH 和 Na₂S 的蒸煮液,其中硫化度为 20%、碱用量为 10% (指 NaOH + Na₂S 含量,以 Na₂O 计)。80 ℃空转 20 min 后,以 2 ℃·min⁻¹ 的速率升温至 150 ℃,保温 1 h。反应结束后用布袋过滤蒸煮物料,得到竹屑黑液和预处理竹屑。黑液用布氏漏斗再次过滤,除去细小的纤维颗粒。用稀硫酸调节黑液 pH 到 2~3 沉淀出木质素,用水洗涤木质素至 pH 5~6,所得到的硫酸盐木质素在室温下风干备用。预处理竹屑用水洗净,离心脱水后取部分样品用于成分分析,剩余部分用双圆盘磨浆机(磨盘直径 300 mm,磨片间距 0.04 mm,转速 3 000 r·min⁻¹) 疏解成浆,重复磨浆 2 次,所得浆料经离心脱水、撕碎后置于密封袋中平衡水分备用。

1.2.2 酶解木质素制备 预处理竹屑酶解体系为 1 L,酶解条件为底物浓度 5% (W/V)、纤维素酶用量 20 FPU·g⁻¹ 葡聚糖、β-葡萄糖苷酶用量 20 IU·g⁻¹ 葡聚糖、木聚糖酶用量 120 IU·g⁻¹ 葡聚糖、pH 4.8、150 r·min⁻¹、50 ℃、72 h。酶解结束后将酶水解液和残渣混合物移至离心瓶中,5 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,弃上清液得到酶解残渣。残渣用水清洗,室温下风干备用。取 5 g 酶解残渣,按固液比 1:10 (g:mL) 加入二氧六环/水 (96:4, V/V) 溶剂于 30 ℃ 搅拌提取。提取 24 h 后,离心分离出上清,残渣加入新鲜的二氧六环/水 (96:4, V/V) 溶剂搅拌 24 h,提取 3 次。合并 3 次提取液,用旋转蒸发器旋蒸出溶剂即得到粗酶解木质素。

1.2.3 木质素纯化 硫酸盐木质素和粗酶解木质素纯化依据 Björkman (1954) 方法操作。按照每克木质素 20 mL 比例加入 90% 乙酸 (V/V) 溶解粗木质素,将溶解液逐滴加入到 100 mL 蒸馏水中,沉淀出木质素。过滤分离出沉淀的木质素,按照每克木质素 10 mL 比例加入二氯乙烷/乙醇 (2:1, V/V) 溶解木质素。离心除去不溶物后,木质素溶液逐滴加入到 100 mL 乙醚中,沉淀出木质素;用 200 mL 乙醚洗涤、过滤沉淀木质素 3 次,然后用 200 mL 石油醚洗涤、过滤 1 次。沉淀物自然风干后即得到纯化的硫酸盐木质素 (KL) 和酶解木质素 (EHL)。

1.3 分析方法

1.3.1 化学组成分析 竹屑原料、预处理物料及纯化的硫酸盐木质素和酶解木质素中葡聚糖、木聚糖、木质素含量分析均按美国能源部可再生能源实验室 (NREL) 的方法 (Sluiter *et al.*, 2005) 进行测定。

1.3.2 中性糖的测定 竹屑原料、预处理物料和 2 种木质素经 NREL 方法酸水解后,水解液中的葡萄

糖和木糖定量分析在美国 Agilent 1260 型高效液相色谱仪上进行。采用 Bio-Rad HPX-87H 柱 (7.8 mm × 300 mm),柱温 55 ℃,流动相为 5 mmol·L⁻¹ 的硫酸,流速 0.6 mL·min⁻¹,上样量 10 μL,示差折光检测器,采用外标法测定。

1.3.3 木质素分子质量测定 采用凝胶渗透色谱分析仪 (GPC) 测定硫酸盐木质素和酶解木质素的分子质量。色谱仪: Waters 高效液相色谱仪;色谱柱: Styragel HR-1、Styragel HR-2 两根柱子串联;流动相: 四氢呋喃,流速 1 mL·min⁻¹;柱温: 35 ℃;示差检测器检测;标准样品: 苯乙烯 (分子质量为 580~19 000 g·mol⁻¹)。

1.3.4 木质素碳谱 (¹³C 谱) 和二维碳氢相关谱 (2D-HSQC) 分析 木质素样品的定量 ¹³C 谱和 2D-HSQC 核磁共振谱均采用布鲁克 (德国) 600 兆超导核磁共振仪在 30 ℃ 进行采集,用 DMSO-d₆ 作为溶剂。定量 ¹³C 谱样品制备: 称取 160 mg 木质素样品溶解于 0.5 mL DMSO-d₆ 中,并加入 20 μL 0.01 mol·L⁻¹ 三价乙酰丙酮化铬的 DMSO-d₆ 溶液作为弛豫剂。采样条件为: 30° 脉冲,弛豫时间 2 s,采样点数 64 000 点,采样次数 30 000 次。2D-HSQC 谱样品制备: 称取 20 mg 木质素样品溶解在 DMSO-d₆ 中。采样条件为: ¹H 和 ¹³C 谱宽分别为 3 497 和 18 750 Hz,采样点数分别为 1 024 和 256 点,¹H 弛豫时间为 1.5 s,扫描次数分别为 128 和 257 次 (黄曹兴等, 2016)。

1.3.5 木质素定量磷谱 (³¹P 谱) 分析 准确称取 40 mg 绝干木质素于核磁管中,加入 0.5 mL 氘代吡啶/氘代氯仿 (1.6:1, V/V) 溶液溶解木质素。加入 0.2 mL 内标试剂 N-羟基-5-降冰片烯-2,3-二酰亚胺溶液 (e-NHI, 9.23 mg·mL⁻¹) 和 0.05 mL 弛豫试剂三价乙酰丙酮化铬溶液 (5.6 mg·mL⁻¹),充分混合后加入 0.1 mL 磷化试剂 2-氯-1,3,2-二噁磷杂戊环进行磷化处理,15 min 后分析 (Cui *et al.*, 2014)。

1.3.6 木质素热重分析 木质素样品热重 (TG) 采用热重分析仪 (TA-Q500, 美国 TA 公司) 进行检测。测试前木质素样品在 105 ℃ 下干燥 2 h。测试时取 10 mg 样品于铂金盘中,在氮气保护下由室温加热到 800 ℃,氮气流速为 40 mL·min⁻¹,加热速率为 10 ℃·min⁻¹。

1.3.7 木质素玻璃化转变温度分析 木质素样品的玻璃化转变温度 (T_g) 采用差示扫描量热仪 (TA-Q2000, 美国 TA 公司) 进行检测。测试时取 10 mg 样品于铝盘中,在流速为 50 mL·min⁻¹ 氮气保护下

加热 2 个循环。第 1 循环：以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 加热速率升温至 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 20 min 后,以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 降温速率降温至 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ；第 2 循环：以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 加热速率升温至 $195\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min 后,以 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 降温速率降温至 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。采用第 2 循环数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 木质素成分分析及分子质量分布

由表 1 可知,硫酸盐木质素(KL)和酶解木质素(EHL)经过有机溶剂纯化后仍有部分中性糖残留在木质素样品中,KL 和 EHL 碳水化合物含量分别为 1.88% 和 4.05%。残留的碳水化合物可能以苯苷键、苯醚键和酯键等形式与木质素相连,称为木质素-碳水化合物复合物(LCCs)(Balakshin *et al.*, 2011)。通过纯化后,KL 和 EHL 木质素含量分别为

97.21% 和 94.03%,高纯度木质素有利于后续的结构表征和分析。从表 1 可以看出,KL 的重均分子质量为 $5\,414\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$,低于 EHL 的重均分子质量($7\,673\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$)。2 种木质素样品分子质量分布均比较宽(>2),KL 和 EHL 的多分散性系数分别为 2.95 和 4.66。

2.2 NMR 分析

2.2.1 定量 ^{13}C 谱分析 采用核磁共振 ^{13}C 谱研究硫酸盐木质素(KL)和酶解木质素(EHL)的结构特征。KL 和 EHL 的定量 ^{13}C 谱如图 1 所示,谱图中大部分信号参考现有文献(Villaverde *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2010; Wen *et al.*, 2013a; Huang *et al.*, 2016)进行归属。为了便于比较木质素各个信号峰的变化,处理谱图时 2 个谱图峰强比例保持一致。

表 1 KL 和 EHL 成分分析与分子质量分布^①

Tab.1 The composition analysis and the molecular weight distribution of the KL and EHL

样品 Sample	成分 Composition			分子质量 Molecular weight		
	葡聚糖 Glucan(%)	木聚糖 Xylan(%)	木质素 Lignin(%)	$\bar{M}_w/(g\cdot mol^{-1})$	$\bar{M}_n/(g\cdot mol^{-1})$	$\bar{M}_w/\bar{M}_n$
KL	0.65	1.23	97.21	5 414	1 835	2.95
EHL	2.44	1.61	94.03	7 673	1 645	4.66

①KL 为硫酸盐木质, EHL 为酶解木质素。木质素包括酸溶木质素和酸不溶木质素。 $\bar{M}_w$ 为重均分子质量, $\bar{M}_n$ 为数均分子质量, $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ 为多分散性系数。KL is referred to kraft lignin; EHL is referred to enzymatic hydrolysis lignin. Lignin includes the acid soluble lignin and acid insoluble lignin. $\bar{M}_w$ is referred to the weight-average molecular weight; $\bar{M}_n$ is referred to the number-average molecular weight; $\bar{M}_w/\bar{M}_n$ is referred to polydispersity index.

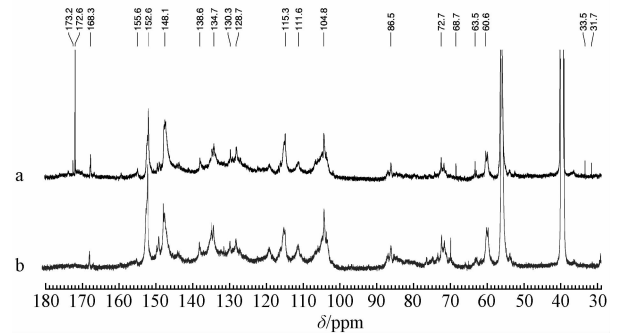


图 1 KL(a)和 EHL(b)定量 ^{13}C 谱

Fig.1 The quantitative ^{13}C spectra of KL (a) and EHL (b)

在 KL 的 ^{13}C 谱中,木质素的吸收峰与 EHL 的 ^{13}C 谱基本相似,但部分峰强度不同。KL 在 173.01 ppm 处有一个强烈的羧基信号峰,而在 EHL 中几乎没有,说明 KL 中含有较多的羧基。在 KL 和 EHL 的 ^{13}C 谱的芳环区(160 ~ 100 ppm)出现明显的木质素 3 个基本单元结构信号,为紫丁香基单元(S)、愈创木基单元(G)和对羟基苯基单元(H)信号峰。S 型结构单元的信号峰分别为 152.3 (C-3/C-5, 醚化的)、147.7 (C-3/C-5, 非醚化的)、138.3 (C-4, 醚化的)、134.5 (C-1, 醚化的)和 104.4 ppm (C-2/C-

6);G 型结构单元的信号峰分别为 149.3 (C-3, 醚化的)、147.7 (C-4, 醚化的)、145.4 (C-4, 非醚化的)、134.5 (C-1, 醚化的)、119.5 (C-6)、115.3 (C-5)和 111.2 ppm (C-2);H 型结构单元 C-2/C-6 位 2 个弱的信号峰在 128.1 ppm。位于 86.1、72.2 和 71.4 ppm 的信号属于 $\beta\text{-O-4}$ 芳基醚键信号。在 EHL 的 ^{13}C 谱中这些信号强度均大于 KL,说明 KL 中 $\beta\text{-O-4}$ 芳基醚键含量低于 EHL 中的含量,这是由于溶出的木质素不断发生碎片化导致的。

表 2 KL 和 EHL 中连接键定量分析结果(100 C₉)

Tab.2 The quantitative results of lignin linkages in the KL and EHL

木质素结构连接键 Lignin linkages	KL	EHL
芳环 C—O 键 Aromatic C—O linkage	204.71	196.78
芳环 C—C 键 Aromatic C—C linkage	205.12	193.65
芳环 C—H 键 Aromatic C—H linkage	208.63	217.54
$\beta\text{-O-4}$ (A/A')	11.75	30.85
$\beta\text{-}\beta$ (B)	2.35	7.43
$\beta\text{-5}$ (C)	0.71	2.40
$\beta\text{-1}$ (D)	0.09	0.19

依据 Capanema 等(2004)积分方法对 2 种木质素定量¹³C 谱的芳环 3 个区域进行定量分析,即 160 ~ 140(氧化的芳基碳区域,C—O 键)、140 ~ 123(芳环碳碳区域,C—C 键)和 123 ~ 103 ppm(芳环亚甲基碳,C—H 键),积分结果如表 2 所示。由表 2 可知,KL 中的芳环 C—C 键含量高于 EHL 中的芳环 C—C 键含量,而芳环 C—H 键含量低于 EHL 中的芳环 C—H 键含量,即 KL 的缩合程度比 EHL 高。这是由于经过碎片化后的木质素之间会通过 C_α—C₅ 和 C_α—C₁ 连接键发生缩合反应,同时碎片化的木质素也会与黑液中的甲醛发生缩合反应(Robert *et al.*,

1984)。

2.2.2 2D-HSQC 分析 为了更深层次分析 2 种木质素的结构特点和内部基本连接键含量,采用二维核磁共振(2D-HSQC)对 KL 和 EHL 进行检测,谱图如图 2 所示;结合定量¹³C 谱和 2D-HSQC 谱β—O—4 芳基醚键、β—β、β—5、β—1 等连接键进行定量分析,结果如表 2 所示。二维谱图分为侧链区域(δ_C/δ_H 50 ~ 90/2.5 ~ 6.0 ppm)和芳香环区(δ_C/δ_H 90 ~ 160/6.0 ~ 8.0 ppm),图中大部分信号参考现有文献(Villaverde *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2010; Wen *et al.*, 2013a; Huang *et al.*, 2016)进行归属。

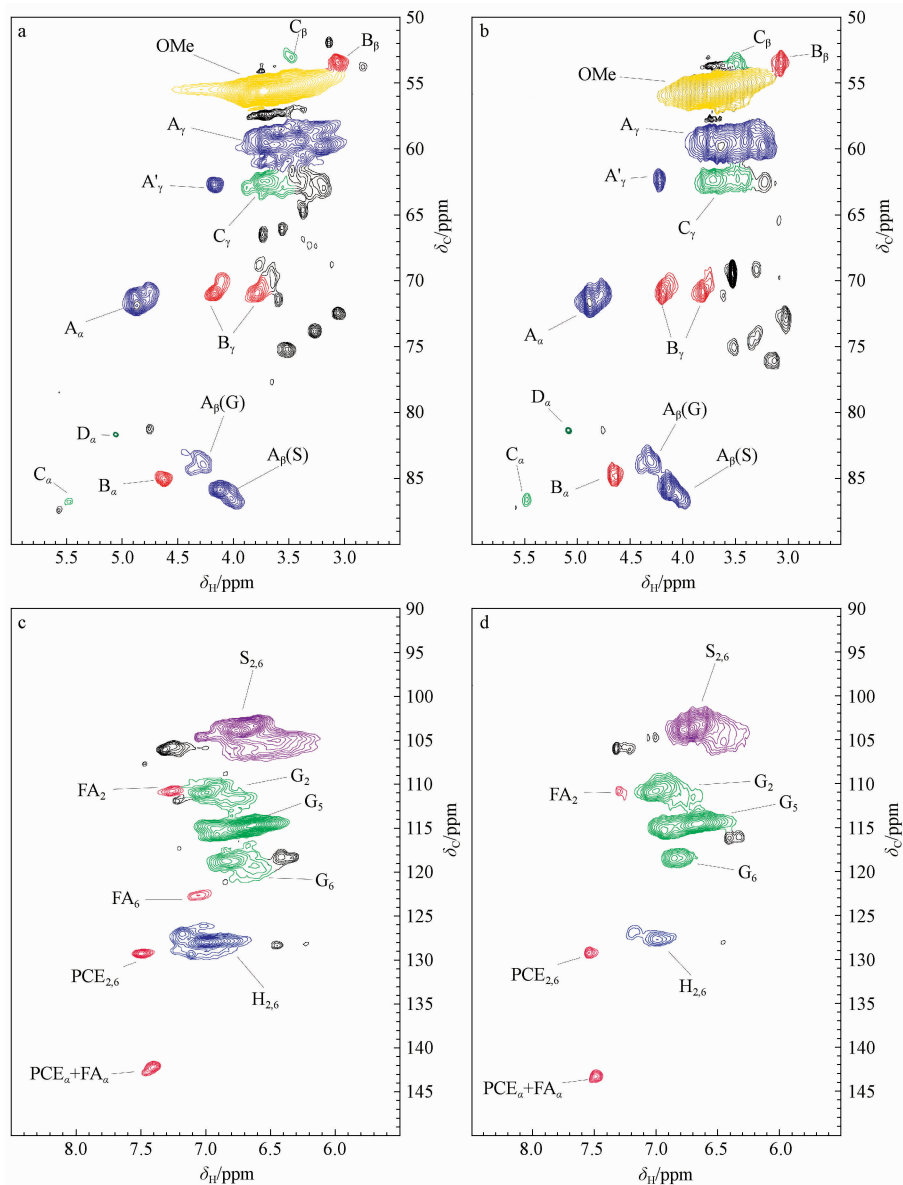


图 2 KL(a、c)和 EHL(b、d)2D-HSQC 谱

Fig. 2 The 2D-HSQC spectra of KL(a, c) and EHL(b, d)

A. β—O—4 芳基醚键 β—O—4 aryl ether bond; B. β—β 连接键 β—β linkage; C. β—5 连接键 β—5 linkage; D. β—1 连接键 β—1 linkage. H. 对羟基苯基单元 p-hydroxyphenyl units; G. 愈创木基结构 Guaiacyl units; S. 紫丁香基结构 Syringyl units; PCE. 对香豆酯 p-coumarates ester; FA. 阿魏酸 Ferulic acid; X. 木聚糖 Xylan.

在 KL 和 EHL 二维谱图的侧链区域(图 2a,b), 显示出 β —O—4 醚键(A 和 A')、 β — β 连接键(B)、 β —5 连接键(C)和 β —1 连接键(D)的吸收峰。化学位移 59.6 ~ 60.8/3.37 ~ 3.72 ppm 为 γ 位未酰化的 β —O—4 醚键(A)的信号; 83.9/4.30 ppm 为 β —O—4 醚键与木质素愈创木基相连的 β 位的信号(A); 86.0/4.11 ppm 为 β —O—4 醚键与木质紫丁香基(S)相连的 β 位的信号(A)。同时,在 2 个谱图中均发现 β —O—4 醚键结构 γ 位酯化的信号(A',63.6/4.36 ppm),主要为对香豆酸酯化在木质素的该位置(Wen *et al.*, 2013b)。这说明在低用碱量硫酸盐法蒸煮过程中,部分酯化的对香豆酸会随着木质素碎片化而被脱除,有一部分对香豆酸仍以酯化形式存在于浆料中。 β — β 连接键(B)的 α 、 β 和 γ 位的相关信号峰分别在 84.9/4.69、53.7/3.05 和 71.3/4.18、3.82 ppm 位置可以识别。在 2 个谱图中也可以清晰看到 β —5(C)和 β —1(D)连接键的信号,其 α 位的化学位移在 86.8/5.49 和 81.2/5.09 ppm 位置, β 的化学位移在 53.1/3.49 和 59.8/2.78 ppm 位置。

在 KL 和 EHL 二维谱图的芳环区域(图 2c,d), 可以清晰看到紫丁香基(S)、愈创木基(G)和对羟基苯基(H)3 种木质素结构单元。S 型结构单元 2、6 位的相关信号在 104.1/6.74 ppm 位置; G 型结构单元 2、5、6 位的相关信号在 111.0/7.01、114.4/6.73 和 119.0/6.82 ppm 位置; H 型结构单元 2、6 位的相关信号在 127.8/7.22 ppm 位置。另外,在木质素谱图中还发现 106.6/7.32 ppm 位置的信号,为 α 位为酮基的 S 型单元(S')2、6 位的信号。除上述基本结构单元外,在 KL 和 EHL 的 2D-HSQC 谱的芳环区域还检测到对香豆酸酯(PCE)和阿魏酸(FA)2 种物质。对香豆酸酯的 2、6 和 α 位的相关信号分别

在 δ_c/δ_H 130.1/7.48 和 113.8/6.29 ppm 位置,阿魏酸的 2、6 位的信号分别在 δ_c/δ_H 111.1/7.34 和 123.1/7.19 ppm 位置。该结果表明,竹屑经过低用碱量硫酸盐法预处理后,仍有一部分对香豆酸和阿魏酸存在于浆料中。

2.2.3 定量³¹P 谱分析 定量核磁共振³¹P 谱是一种有效的木质素官能团测定方法,能测定木质素脂肪族羟基、酚羟基和羧基的绝对含量($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$)。木质素分子中官能团含量多少是衡量其溶解性能和反应能力的指标之一,直接影响木质素的应用和化学改性(秦特夫, 1999; 李忠正, 2012),因此,本文对低用碱量硫酸盐法预处理竹屑的硫酸盐木质素(KL)和酶解木质素(EHL)进行定量核共振³¹P 谱分析。如图 3 所示,其中 152 ppm 为内标信号峰,150.8 ~ 145.0 ppm 为脂肪族羟基信号峰,144.3 ~ 140.3 和 140.3 ~ 137.2 ppm 分别为缩合型和非缩合型酚羟基信号峰,135.6 ~ 134.0 ppm 为羧基信号峰(Argyropoulo *et al.*, 2002; Cui *et al.*, 2014)。通过³¹P 谱积分计算得到的官能团含量如表 3 所示。

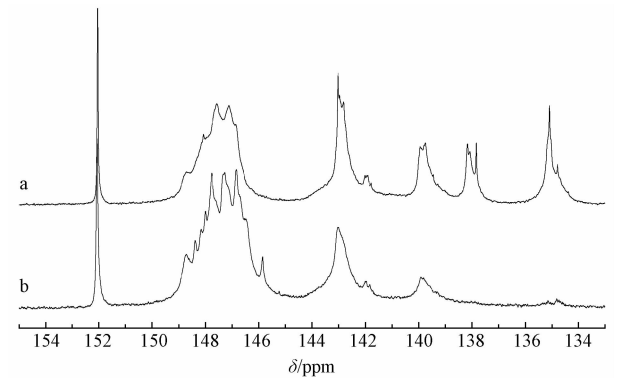


图 3 KL(a)和 EHL(b)定量³¹P 谱
Fig. 3 The quantitative ³¹P spectra of KL(a) and EHL(b)

表 3 KL 和 EHL 官能团含量					
Tab.3 Functional group contents of the KL and EHL					
样品 Sample	羟基含量 OH content				羧基 COOH
	脂肪族羟基 Aliphatic OH	缩合型酚羟基 Condensed phenolic OH	非缩合型酚羟基 Noncondensed phenolic OH	总酚羟基 Total OH	
KL	3.13	1.76	1.33	3.09	1.41
EHL	4.87	0.97	0.61	1.58	0.33

由表 3 可知, KL 的脂肪族羟基含量(3.13 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$) 略低于 EHL 的脂肪族羟基含量(4.87 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$),而羧基含量为 EHL 的 4.27 倍。KL 中脂肪族羟基含量低可能是脂肪族羟基在碱性条件下能被氧化为羧基,而相应的羧基含量增加。这与刘玉等(2006)对三倍体毛白杨(*Populus tomentosa*)硫

酸盐蒸煮(KP)过程中木质素结构变化研究结果相一致,即黑液溶出木质素中脂肪族羟基的含量比 KP 纸浆残余木质素的含量略低,而羧基含量明显提高,为 4 倍左右。如表 3 所示, KL 中缩合型酚羟基和非缩合型酚羟基含量分别为 1.76 和 1.33 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$, EHL 含有 0.97 $\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ 的缩合型酚羟基和

0.61 mmol·g⁻¹的非缩合型酚羟基,KL 的总酚羟基含量明显高于 EHL 中的总酚羟基含量。

2.3 木质素热学性质

热重分析仪(TGA)能检测出木质素热降解速率和热稳定性;差示扫描量热仪(DSC)能反映出木质素无定形部分从冻结状态(玻璃态)到解冻状态(高弹态)的变化过程,其中玻璃化转变温度(T_g)是高聚物应用的重要工艺指标之一(Sameni *et al.*, 2013; Alekhina *et al.*, 2015)。本文为了进一步了解低用碱量硫酸盐蒸煮得到的 KL 和 EHL 的热学性质,利用 TGA 和 DSC 对 KL 和 EHL 的热稳定性和玻璃化转变温度进行研究,结果如图 4、5 所示。

从 KL 和 EHL 的失重率曲线(DTG)(图 4)可知,木质素发生降解的温度主要在 200 ~ 600 ℃之

间。当温度从 200 ℃升到 339 ℃时,KL 热降解率呈现快速上升趋势,达到最大值0.43 %·℃⁻¹;当温度超过 339 ℃时,KL 热降解率呈现下降趋势;对于 EHL 而言,当温度从 200 ℃升到 361 ℃时,热降解率达到最大值 0.54 %·℃⁻¹,而后随着温度升高逐渐降低。因此可以看出,KL 和 EHL 2 种木质素最大失重率温度分别为 339 ℃和 361 ℃。由于木质素的热稳定性可以通过木质素的最大失重率来表示,因此可推断出 EHL 的热稳定性高于 KL。对图 5 的 DSC 曲线分析可知,KL 和 EHL 的 T_g 分别为 135 ℃和 162 ℃,该结果与文献(Sameni *et al.*, 2013; Alekhina *et al.*, 2015)所报道的木质素玻璃化转变温度相一致,即在 90 ~ 180 ℃之间。

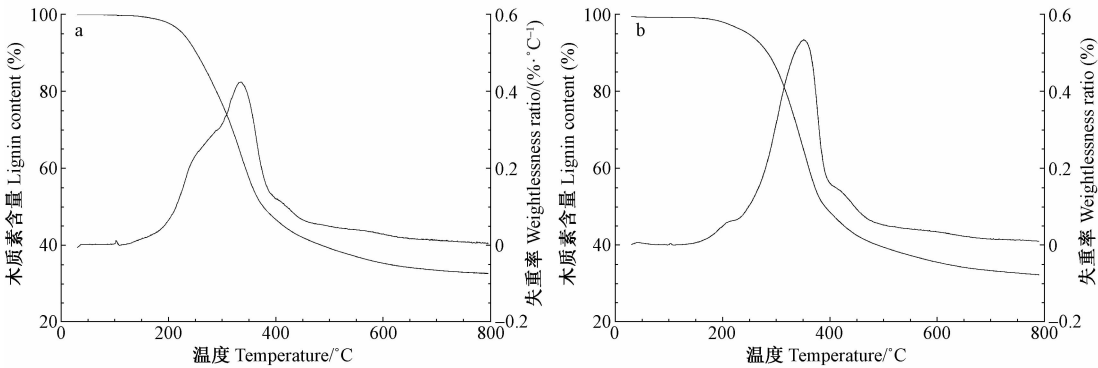


图 4 KL(a) 和 EHL(b)DTG 曲线
Fig.4 The DTG curves of KL (a) and EHL (b)

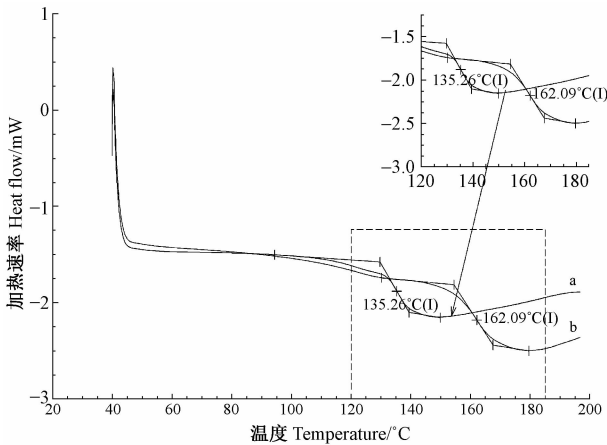


图 5 KL(a) 和 EHL(b)DSC 曲线
Fig.5 The DSC curves of KL (a) and EHL (b)

3 讨论

在硫酸盐预处理过程中,蒸煮液中的亲核离子(OH⁻和 SH⁻)会与木质素 β—O—4 芳基醚键发生亲核断裂反应使木质素碎片化,小分子质量的木质素溶解在黑液中,而大分子质量的木质素仍残留在

浆料中,因此本研究中黑液木质素(KL)的重均分子量(5 414 g·mol⁻¹)低于酶解木质素(EHL)的重均分子量(7 673 g·mol⁻¹)。除了 β—O—4 芳基醚键外,木质素内部连接键 β—β、β—5 和 β—1 在碎片化过程中也会发生断裂,如表 2 定量分析所示,EHL 中这些连接键的含量均高于 KL 中连接键的含量。残留在浆料中酶解木质素(EHL)β—O—4 芳基醚键含量为 30.85/100C₉,而黑液木质素(KL)β—O—4 芳基醚键含量仅为 11.75/100 C₉。KL 中 β—β、β—5 和 β—1 连接键含量仅为 2.35/100 C₉、0.71/100 C₉ 和 0.09/100C₉,远低于 EHL 中这 3 种连接键含量。从定量³¹P 谱分析结果可知,经过碎片化后 KL 中的总酚羟基含量明显高于 EHL 中的总酚羟基含量,这是因为在硫酸盐蒸煮过程中,木质素结构 α-和 β-芳基醚键的大量断裂,会导致溶出木质素的酚羟基含量升高。此外,硫酸盐预处理浆料中木质素和碳水化合物会以醚键形式连接(LCC 结构),这种醚键的存在会使木质素羟基结构减少(刘玉等,2006)。同时,从预处理竹屑中得到的 EHL

非缩合酚羟基含量明显低于 KL 中的非缩合酚羟基含量。与其他木质纤维原料的黑液木质素相比,本研究 EHL 中的非缩合酚羟基含量也较低。据报道,大麦 (*Hordeum vulgare*) 秸秆黑液木质素 (Yang *et al.*, 2014)、南方松 (*Pinus spp.*) 黑液木质素 (Cui *et al.*, 2014)、挪威云杉 (*Picea abies*) 黑液木质素 (Cui *et al.*, 2014) 和三倍体毛白杨黑液木质素 (刘玉等, 2006) 通过定量 ^{31}P 谱测得的非缩合酚羟基含量分别为 1.19、1.99 ~ 2.10、1.93 和 2.61 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。对于木质素的应用,孙润仓等 (2014) 已经实现了木质素基酚醛树脂胶黏剂的工业应用,其中,木质素非缩合酚羟基含量是影响胶黏剂合成反应位点的重要因素之一。因此,要实现竹屑酶解木质素在胶黏剂领域的应用,需利用改性技术增加木质素的反应活性。

由于木质素的热稳定性可以通过其最大失重率来表示,因此从热重分析结果可推断出 EHL 的热稳定性高于 KL,即 KL 在加热过程中发生解聚所需温度低于 EHL 解聚所需温度。对 2 种木质素的 DTG 曲线分析可知,在木质素的热降解最初阶段 (200 ~ 360 $^{\circ}\text{C}$),EHL 的热降解率比 KL 大,这是由于在该阶段主要为木质素 $\beta\text{—O—}4$ 芳基醚键的降解,EHL 的 $\beta\text{—O—}4$ 芳基醚键含量 (30.85/100C₉) 高于 KL (11.75/100C₉)。当温度升高到 600 $^{\circ}\text{C}$ 后,2 种木质素的热降解率趋于零,此时 KL 和 EHL 的残炭率分别为 37.51% 和 36.01%,2 种木质素残碳率不同可能与木质素结构中 C—C 键含量和分子质量大小有关 (Sameni *et al.*, 2013)。DSC 分析结果表明,KL 在发生木质素玻璃化转变时,所需温度低于 EHL 所需温度。Alekhina 等 (2015) 对多种木质素进行研究发现,木质素玻璃化转变温度与其分子质量大小呈正相关关系,而非缩合酚羟基含量呈负相关关系。Hatakeyama 等 (2004) 也指出,由于分子间距的原因,木质素结构中非缩合酚羟基含量增加会使其玻璃化转变温度向低温转移。因此可以推断出,本研究中 EHL 的玻璃化转变温度比 KL 高可能是由于 EHL 的分子质量 (7 673 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$) 大于 KL 的分子质量 (5 414 $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)、EHL 的非缩合酚羟基含量 (0.66 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) 低于 KL 的非综合酚羟基含量 (1.33 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) 所导致的。Ibrahim 等 (2011) 指出,当木质素与其他高聚物混合制备热塑性材料时,高玻璃化转变温度的木质素需要更多能量来使其主链发生旋转和产生更多的自由体积,因此,当 KL 和 EHL 用于制备聚合物—木质素基热塑性材料时,EHL 可能需要更多的能量才能实现木质素无定形

部分从玻璃态到高弹态转变。从 TGA 和 DSC 分析结果可以推断,KL 可能比 EHL 更有优势用来制备热塑性材料,因为其具有更低热稳定性和低玻璃化转变温度的特性。

4 结论

1) 竹屑经低用碱量硫酸盐法预处理后,溶解在黑液中的木质素分子质量大小、内部连接键含量均低于残留在浆料中木质素的含量。

2) 与残留在浆料中的木质素相比,黑液木质素具有更多的酚羟基和羧基,而脂肪族羟基含量较少。

3) 黑液木质素可能比残留在浆料中的木质素更有优势用来制备热塑性材料,因为具有更低热稳定性和低玻璃化转变温度的特性。

参 考 文 献

- 陈介南,王义强,何 钢,等. 2007. 木质纤维生产燃料乙醇的生物转化技术. 林业科学,43(5): 99–105.
- (Chen J N, Wang Y Q, He G, *et al.* 2007. Bioconversion of lignocellulose to ethanol. Scientia Silvae Sinicae,43(5): 99–105. [in Chinese])
- 黄曹兴,谢益晖,李 鑫,等. 2015. 蒸煮助剂对低用碱量硫酸盐法预处理毛竹竹屑的影响. 生物质化学工程,49(1): 33–38.
- (Huang C X, Xie Y H, Li X, *et al.* 2015. Effect of cooking additives on moso bamboo residues pretreated by kraft pulping with low alkali dosage. Biomass Chemical Engineering, 49(1): 33–38. [in Chinese])
- 黄曹兴,何 娟,闵斗勇,等. 2016. 稀酸预处理对毛竹竹黄木质素结构的影响. 林业工程学报,1(1): 55–60.
- (Huang C X, He J, Min D Y, *et al.* 2016. Effect of dilute acid pretreatment on the lignin structure of moso bamboo inner skin. Journal of Forestry Engineering,1(1): 55–60. [in Chinese])
- 季 栋,马宏明,史以俊,等. 2013. 造纸黑液磺化及其改性氨基系减水剂的研究. 林业工程学报,27(1): 78–81.
- (Ji D, Ma H M, Shi Y J, *et al.* 2013. Sulphonation of black liquor and its modification on sulphanilic acid phenol formaldehyde condensates. Journal of Forestry Engineering,27(1): 78–81. [in Chinese])
- 李忠正. 2012. 可再生生物质资源——木质素的研究. 南京林业大学学报: 自然科学版,36(1): 1–7.
- (Li Z Z. 2012. Research on renewable biomass resource-lignin. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Science Edition, 36(1): 1–7. [in Chinese])
- 刘 玉,詹怀宇,陈嘉川,等. 2006. 三倍体毛白杨 KP 法蒸煮中木素结构的变化. 中国造纸学报,21(4): 14–18.
- (Liu Y, Zhan H Y, Chen J C, *et al.* 2006. The change of lignin structure of the triploid of *Populus tomentosa* during kraft pulping. Transactions of China Pulp and Paper, 21(4): 14–18. [in Chinese])
- 秦特夫. 1999. 杉木和“三北”一号杨磨木木质素化学官能团特征的研究. 林业科学,35(3): 69–75.

- (Qin T F. 1999. The chemical structures and characteristics of the MWLs of Chinese Fir (*Cunninghamia lanceolata*) and poplar “Sanbei” No. 1 (*Populus nigra* × *P. simonii*) wood. *Scientia Silvae Sinicae*, 35(3): 69 – 75. [in Chinese])
- 孙润仓,袁同琦,杨 昇,等. 2014. 一种木质素基环保酚醛树脂胶黏剂的制备方法. 中国专利,公开号: CN 201410018573.
- (Sun R C, Yuan T Q, Yang S, *et al.* 2014. Preparation method of lignin-based environmental phenolic resin adhesive. Chinese Patent, Application number: CN 201410018573. [in Chinese])
- 同 伟,张 艳,杨建华,等. 2011. 磷酸活化草浆黑液木质素制备活性炭的研究. *林产化学与工业*, 31(5): 81 – 84.
- (Yan W, Zhang Y, Yang J H, *et al.* 2011. Preparation of activated carbon from straw black liquor lignin impregnated by phosphoric acid. *Chemistry and Industry of Forest Product*, 31(5): 81 – 84. [in Chinese])
- Alekshina M, Erdmann J, Ebert A, *et al.* 2015. Physico-chemical properties of fractionated softwood kraft lignin and its potential use as a bio-based component in blends with polyethylene. *Journal of Materials Science*, 50(19): 6395 – 6406.
- Argyropoulos D S, Sun Y, Palus E. 2002. Isolation of residual kraft lignin in high yield and purity. *Journal of Pulp and Paper Science*, 28(2): 50 – 54.
- Balakshin M, Capanema E, Grac H, *et al.* 2011. Quantification of lignin-carbohydrate linkages with high-resolution NMR spectroscopy. *Planta*, 233(6): 1097 – 1110.
- Björkman A. 1954. Isolation of lignin from finely divided wood with neutral solvents. *Nature*, 174: 1057 – 1058.
- Capanema E A, Balakshin M Y, Kadla J F. 2004. A comprehensive approach for quantitative lignin characterization by NMR spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(7): 1850 – 1860.
- Cui C, Sun R, Argyropoulos D S. 2014. Fractional precipitation of softwood kraft lignin: isolation of narrow fractions common to a variety of lignins. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(4): 959 – 968.
- Hatakeyama T, Hatakeyama H. 2004. Lignin. Thermal properties of green polymers and biocomposites. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 171 – 215.
- He W, Fatehi P. 2015. Preparation of sulfomethylated softwood kraft lignin as a dispersant for cement admixture. *RSC Advances*, 5(58): 47031 – 47039.
- Huang C, He J, Du L, *et al.* 2016. Structural characterization of the lignins from the green and yellow bamboo of bamboo culm (*Phyllostachys pubescens*). *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 36(3): 157 – 172.
- Ibrahim M N M, Zakaria N, Sipaut C S, *et al.* 2011. Chemical and thermal properties of lignins from oil palm biomass as a substitute for phenol in a phenol formaldehyde resin production. *Carbohydrate polymers*, 86(1): 112 – 119.
- Kim H, Ralph J. 2010. Solution-state 2D NMR of ball-milled plant cell wall gels in DMSO-d₆/pyridine-d₅. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 8(3): 576 – 591.
- Mohanty A K, Misra M, Drzal L T. 2002. Sustainable bio-composites from renewable resources: opportunities and challenges in the green materials world. *Journal of Polymers and the Environment*, 10(1/2): 19 – 26.
- Robert D R, Bardet M, Gellerstedt G, *et al.* 1984. Structural changes in lignin during kraft cooking part 3. On the structure of dissolved lignins. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 4(3): 239 – 263.
- Sameni J, Krigstin S, dos Santos Rosa D, *et al.* 2013. Thermal characteristics of lignin residue from industrial processes. *BioResources*, 9(1): 725 – 737.
- Sluiter A, Ruiz R, Scarlata C, *et al.* 2005. Determination of extractives in biomass. Laboratory Analytical Procedure (LAP) (issue date: 07/17/2005). United States: National Renewable Energy Laboratory Golden, CO.
- Tejado A, Pena C, Labidi J, *et al.* 2007. Physico-chemical characterization of lignins from different sources for use in phenol-formaldehyde resin synthesis. *Bioresource Technology*, 98(8): 1655 – 1663.
- Villaverde J J, Li J, Ek M, *et al.* 2009. Native lignin structure of *Miscanthus × giganteus* and its changes during acetic and formic acid fractionation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14): 6262 – 6270.
- Wen J L, Sun S L, Xue B L, *et al.* 2013a. Quantitative structural characterization of the lignins from the stem and pith of bamboo (*Phyllostachys pubescens*). *Holzforschung*, 67(6): 613 – 627.
- Wen J L, Xue B L, Xu F, *et al.* 2013b. Unmasking the structural features and property of lignin from bamboo. *Industrial Crops and Products*, 42: 332 – 343.
- Yang S, Wen J L, Yuan T Q, *et al.* 2014. Characterization and phenolation of biorefinery technical lignins for lignin-phenol-formaldehyde resin adhesive synthesis. *RSC Advances*, 4(101): 57996 – 58004.
- Zhang L, Li X, Yong Q, *et al.* 2015. Simultaneous saccharification and fermentation of xylo-oligosaccharides manufacturing waste residue for L-lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. *Biochemical Engineering Journal*, 94: 92 – 99.

(责任编辑 石红青)