

DOI: 10.11949/0438-1157.

二乙胺/氯化铜预处理玉米秸秆强化酶解性能

濮阳鑫¹, 桂铮¹, 刘婷婷¹, 张雯雯¹, 杨文静¹, 杨荣玲¹, 贺爱永², 罗洪镇¹(¹ 淮安大学生命科学与食品工程学院, 江苏 淮安 223003; ² 淮阴师范学院化学化工学院, 江苏 淮安 223300)

摘要: 木质纤维素是最丰富的可再生资源, 可为燃料和生物基化学品生产提供发酵原料, 但利用效率严重受限于其复杂的致密结构, 通常需要预处理破解木质纤维素的抗降解屏障, 提高纤维素酶对底物的可及性。基于此, 利用二乙胺-水体系预处理玉米秸秆, 考察不同条件对秸秆组分和酶解性能的影响。结果表明, 使用40%二乙胺和60%水作为共溶剂, 在110℃下处理2 h后的木质素脱除率达86.4%, 经酶解后的葡萄糖得率为99.3%。在此基础上, 加入20 mM路易斯酸氯化铜可有效降低预处理中的反应压力, 固体残渣中的葡聚糖含量增至47.7%, 酶解后葡萄糖产量达26.6 g/100 g玉米秸秆。表征结果表明, 二乙胺/氯化铜预处理能够破坏秸秆表面结构, 促进木质素和半纤维素脱除, 提高纤维素可及性和酶解效率。综上, 该预处理体系将为木质纤维素高效利用提供技术借鉴。

关键词: 生物质; 生化工程; 酶; 预处理; 胺类化合物; 路易斯酸

中图分类号: TQ 352

文献标志码: A

文章编号: 0438-1157 (XXXX) XX-0001-11

Diethylamine/CuCl₂ pretreatment of corn stover for enhancing the enzymatic hydrolysis efficiency

PUYANG Xin¹, GUI Zheng¹, LIU Tingting¹, ZHANG Wenwen¹, YANG Wenjing¹, YANG Rongling¹, HE Aiyong², LUO Hongzhen¹(¹ School of Life Science and Food Engineering, Huai'an University, Huai'an 223003, Jiangsu, China; ² School of Chemistry and Chemical Engineering, Huaiyin Normal University, Huai'an 223300, Jiangsu, China)

Abstract: Lignocellulosic biomass is the most abundant renewable resource. It is mainly composed of cellulose, hemicellulose, and lignin, and the polysaccharide components can be hydrolyzed into fermentable sugars. The association between polysaccharides and lignin in lignocellulose gives rise to the recalcitrant structure that impedes efficient degradation. Therefore, developing efficient pretreatment to deconstruct its structure is of great significance for achieving comprehensive biomass utilization. Herein, using corn stover as the raw material, pretreatment with diethylamine/water was conducted to investigate the effects of pretreatment conditions on compositional changes and enzymatic hydrolysis. The results showed that using 40% diethylamine and 60% water as co-solvent to pretreat corn stover at 110°C for 2 h achieved the lignin removal of 86.4% and glucose yield of 99.3% was obtained after 72 h enzymatic hydrolysis. Furthermore, the effects of Lewis acid addition were investigated. With the addition of 20

收稿日期: 2026-05-11 修回日期: 2026-07-07

通信作者: 罗洪镇(1988—), 男, 博士, 副教授, hzluo@hyit.edu.cn

第一作者: 濮阳鑫(2003—), 女, 硕士研究生, xpuyang@163.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(22578155); 淮安市自然科学基金项目(HAB2024051); 2026年江苏高校“青蓝工程”中青年学术带头人项目资助

引用本文: 濮阳鑫, 桂铮, 刘婷婷, 张雯雯, 杨文静, 杨荣玲, 贺爱永, 罗洪镇. 二乙胺/氯化铜预处理玉米秸秆强化酶解性能[J]. 化工学报, XXXX, XX(X): 1–11

Citation: PUYANG Xin, GUI Zheng, LIU Tingting, ZHANG Wenwen, YANG Wenjing, YANG Rongling, HE Aiyong, LUO Hongzhen. Diethylamine/CuCl₂ pretreatment of corn stover for enhancing the enzymatic hydrolysis efficiency[J]. CIESC Journal, XXXX, XX(X): 1–11

mM CuCl_2 , the pressure during pretreatment was effectively reduced and the glucan content in the solid fraction reached 47.7%, and the glucose production after pretreatment and enzymatic hydrolysis increased to 26.6 g/100 g corn stover. Some characterization techniques were used to elucidate the mechanisms of diethylamine-based pretreatment that enhances the enzymatic hydrolysis efficiency of corn stover. Characterization results revealed that the pretreatment disrupted the dense surface structure of corn stover, promoted the removal of lignin and hemicellulose, and improved cellulose accessibility and enzymatic hydrolysis efficiency. In summary, this proposed pretreatment system provides a technical reference for the efficient utilization of lignocellulosic biomass.

Keywords: biomass; biochemical engineering; enzyme; pretreatment; amine compound; Lewis acid

引 言

利用可再生资源生产清洁燃料、化学品和先进材料,是实现国家“碳达峰碳中和”目标的重要途径之一。木质纤维素类生物质是地球上储量最丰富的可再生资源,目前的主要利用方式是直接焚烧,不可避免地出现环境和资源浪费问题。我国每年产生的农业秸秆类生物质高达9亿吨,将其转化为能源、发酵糖或碳基功能材料,具有显著的学术价值和社会意义^[1,2]。然而,木质纤维素中的木质素与纤维素、半纤维素紧密交联形成了天然抗降解结构,如何有效解构并分级利用各组分是生物质转化面临的首要问题^[3]。

针对上述问题,研究者们开发了面向不同应用场景的预处理技术,主要分为物理法、化学法和生物法。从生物炼制路径来看,将纤维素等多糖组分转化为单糖是保证后续微生物发酵的关键。Mosier等^[4]总结了稀酸法的优缺点,该方法尽管能有效提高糖化效率,但易造成纤维素降解并产生抑制物,导致发酵性能较低。Chen等^[5]指出蒸汽爆破预处理可改善半纤维素利用效率,但对木质素脱除有限且需配套高压设备,通常与其他技术联用。近年来,离子液体、低共熔溶剂、 γ -戊内酯等绿色溶剂在生物质预处理方面引起广泛关注^[6,7]。Luo等^[8]制备了氯化胆碱-丁二酸-甘油三元低共熔溶剂,预处理后葡聚糖保留率为88.7%,经酶解后的葡萄糖得率达94.7%。木质素是影响纤维素酶解效率的主要因素,氢氧化钠、氨水等化学预处理方法是当前提高木质素脱除率和酶解性能的有效途径,但该过程存在腐蚀性高、环境不友好等问题。近期,Lin等^[9]合成了吡唑-乳酸基低共熔溶剂,在145℃下预处理小麦秸秆9 h,木质素脱除率达93.7%。然而,低共熔溶剂存在成本高、黏度大等缺点,使得整个转化路径缺乏竞争力。

利用易回收且具有成本优势的溶剂进行预处理是解决上述问题的有效途径。例如,广东工业大学邱学青/楼宏铭团队建立了二乙胺-水共溶剂体系,该系统在保证木质素高效脱除的前提下,实现了木质素催化合成单酚和吡啶,预处理后的固体组分在高固含量酶解下的得率达到80%以上^[10]。该研究思路为生物质高值化利用提供了重要参考。另一方面,路易斯酸如 AlCl_3 、 CuCl_2 等作为辅助剂也被证实可以有效脱除木质素,该类物质与生物质中的含氧官能团发生配位作用,破坏木质素-碳水化合物复合结构,提高纤维素可及性和酶解效率。在200℃、乙醇-水体系下添加25 mM AlCl_3 可以实现超过90%的木质素脱除^[11]。根据前期研究结果推测,利用胺类溶剂/路易斯酸体系有可能在温和条件下实现可发酵糖的高效生产。然而,该组合型的胺类预处理工艺尚未见诸报道。基于此,本文以玉米秸秆为研究对象,探讨了利用二乙胺-水共溶剂体系拆分玉米秸秆的性能,在此基础上评估了路易斯酸 CuCl_2 存在下的预处理和酶解性能。通过多尺度表征分析,对酶解性能强化机理进行解析。研究结果为农业秸秆的高值化转化提供技术支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

玉米秸秆源自江苏连云港农田,二乙胺、 CuCl_2 试剂采购于麦克林(上海)生化科技有限公司,纤维素酶 Cellic CTec3 购自诺维信(中国)生物技术有限公司,其他试剂购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 玉米秸秆预处理 为考察二乙胺/水比例、反应时间和温度对玉米秸秆预处理的影响,按固液比1:10进行试验。首先配制不同浓度的二乙胺溶液,二乙胺与水的质量比包括100:0、80:20、60:40、50:50和40:60(w:w,%)。然后取2.5 g玉米秸秆与25 g二

乙胺溶液置于高压反应釜(SLF-45-260, 贵州闪励实验仪器有限公司), 在110℃、130℃和150℃下分别反应1 h和2 h。将反应后的混合物用去离子水反复冲洗并抽滤至pH为6~7。将洗至中性的固体残渣放于85℃烘箱下干燥8 h备用。对比不同浓度二乙胺预处理玉米秸秆的葡聚糖保留率和酶解效率等参数变化, 确定二乙胺-水预处理条件。在二乙胺-水共溶剂体系中加入5 mM、10 mM、20 mM和40 mM的路易斯酸CuCl₂, 分析二乙胺/CuCl₂复合体系对玉米秸秆结构拆分和酶解性能的影响。

1.2.2 生物质酶解 称取0.5 g干燥后的预处理固体残渣置于三角瓶中, 加入25 mL pH 4.8的柠檬酸钠缓冲液充分混合。随后按20 FPU/g-物料的酶用量加入纤维素酶。将样品置于50℃、150 rpm的恒温摇床中酶解72 h。酶解过程中每隔12 h取样, 于10000 rpm转速下离心8 min, 取上清液测量葡萄糖和木糖浓度。

1.2.3 玉米秸秆的结构表征 采用多种表征手段包括扫描电子显微镜(SEM, ZEISS, 德国)、X射线衍射(XRD, SmartLab SE, 日本)、红外吸收光谱(FTIR, Thermo Scientific Nicolet iS20, 美国), 从宏观到微观、从形貌到分子结构层面对样品进行分析。玉米秸秆的结晶度(CrI)的计算参照前期文献^[12]。

1.3 分析方法

利用美国可再生能源实验室发布的规程NREL/TP-510-42618, 测定木质纤维素中的纤维素、半纤维素和木质素含量。葡萄糖含量利用生物传感仪测定(S-10, 深圳市西尔曼科技有限公司)。样品的组分测定平行三次。在预处理和酶解过程中, 固体保留率、葡聚糖保留率、木质素脱除率、酶解效率等参数的计算方法参照实验室前期研究^[12]。

2 结果与分析

2.1 二乙胺-水共溶剂预处理对玉米秸秆各组分含量的影响

以胺类化合物为溶剂时, 因其较好的组分分离能力和温和反应特点, 能够促进木质素脱除、提高碳水化合物酶解效率, 并改善木质素后续利用潜力, 已成为当前生物质精炼领域的重要研究方向。由于二乙胺沸点仅为55.5℃, 在前期报道中采用130℃进行预处理可能存在过程压力高、操作风险大等问题^[10]。因此, 将预处理温度范围从相对温和的

110℃逐步提至150℃, 考察二乙胺浓度、反应时间对秸秆的影响, 分析木质素脱除、葡聚糖保留及酶解中葡萄糖得率等参数变化, 确定可发酵糖高产的二乙胺预处理工艺。

二乙胺-水预处理1 h后玉米秸秆的组分变化结果如表1所示。在1 h预处理过程中, 玉米秸秆中各组分的含量变化和脱除效果随温度及二乙胺/水比例的改变而呈现明显差异。在110℃条件下, 加入适量水有助于提高预处理效果。由于缺乏水分子的辅助作用, 纯二乙胺体系对秸秆内部结构的作用较弱, 木质素脱除率仅为43.4%, 预处理后固体中葡聚糖含量为35.2%。提高水含量明显促进木质素脱除。当二乙胺-水比例为50:50时, 木质素脱除率达85.9%, 葡聚糖保留率为87.4%。当水比例提高至60%时, 木质素含量和脱除率分别为5.5%和87.3%, 为110℃处理组中的最高值(表1)。上述结果表明, 在110℃下, 水的加入能够促进二乙胺体系对木质素的去除, 但过高水比例可能会损失部分多糖组分^[13]。当温度升高至130℃时, 预处理强度进一步增大, 各组分变化更加明显。除纯二乙胺体系外, 其余体系下木质素脱除率均保持在83.4%~85.2%(批次6~8, 表1)。批次7条件下木聚糖脱除率达到54.6%, 为1 h预处理组中的最高值; 此时葡聚糖保留率为84.6%, 低于110℃条件下的87.4%($P < 0.05$, 批次3)。这表明130℃虽然有利于去除木质素和木聚糖, 但也会增加部分碳水化合物损失。当温度提高至150℃时, 秸秆组分损失更加明显, 批次10~12条件下的葡聚糖含量升至42%以上(表1), 但葡聚糖含量升高主要是由于木质素和部分半纤维素脱除所致。该温度下固体回收率明显降低, 在二乙胺-水40:60条件下仅为45.0%(批次12), 且葡聚糖保留率也普遍低于110℃和130℃下多数处理组(72.7%~76.1%)。这说明过高温度并未进一步提高木质素选择性脱除效果, 反而可能造成秸秆结构过度破坏和多糖组分损失增加。

综上所述, 批次1-12的结果表明, 适当升高温度和调节二乙胺-水比例可增强玉米秸秆组分分离效果, 但过高温度会导致固体回收率和葡聚糖保留率下降。在110℃条件下, 适宜的二乙胺-水比例能够在有效去除木质素的同时较好保留葡聚糖, 表现出较好的预处理效果。而当温度升高至130℃和150℃时, 半纤维素脱除增强, 但固体损失和葡聚糖损失逐渐增加, 不利于秸秆资源的充分利用。

表1 二乙胺-水共溶剂体系预处理玉米秸秆的化学组成变化

Table 1 Chemical composition changes of corn stover pretreated with DEA-H₂O co-solvent

批次	二乙胺:水/wt: wt, %	处理条件	化学组分含量/%			固体回收 率/%	脱除率/%		葡聚糖保留 率/%
			葡聚糖	木聚糖	木质素		木聚糖	木质素	
秸秆	—	—	27.1±0.3 ⁱ	28.4±0.4 ^e	21.9±0.9 ^a	—	—	—	—
1	100:0	110℃, 1 h	35.2±0.6 ^e	25.6±0.3 ⁱ	17.3±0.1 ^b	71.7±0.2 ^a	35.4±0.8 ^e	43.4±0.5 ^j	93.1±0.5 ^a
2	60:40	110℃, 1 h	42.5±0.2 ^e	36.7±0.6 ^b	8.3±0.3 ^g	52.6±0.1 ^d	32.0±0.4 ⁱ	80.1±0.8 ^e	82.5±0.5 ^e
3	50:50	110℃, 1 h	46.7±0.4 ^e	30.2±0.4 ^f	6.1±0.6 ^b	50.7±0.7 ^{ef}	46.1±0.9 ^b	85.9±0.1 ^b	87.4±0.3 ^c
4	40:60	110℃, 1 h	41.4±0.1 ^f	38.9±0.7 ^a	5.5±0.2 ^j	50.7±0.8 ^e	30.6±0.7 ^j	87.3±0.8 ^a	77.5±0.8 ^f
5	100:0	130℃, 1 h	34.1±0.7 ^e	26.9±0.5 ^{gh}	15.1±0.8 ^e	70.7±0.4 ^b	33.0±0.8 ^h	51.3±0.4 ⁱ	89.0±0.4 ^b
6	60:40	130℃, 1 h	47.6±0.9 ^a	31.8±0.8 ^e	7.3±0.4 ^g	49.8±0.5 ^{ef}	44.2±0.6 ^c	83.4±0.6 ^d	87.5±0.7 ^{bc}
7	50:50	130℃, 1 h	46.6±0.6 ^b	26.2±0.2 ^{hi}	6.6±0.3 ^b	49.2±0.9 ^f	54.6±0.9 ^a	85.2±0.2 ^{bc}	84.6±0.2 ^d
8	40:60	130℃, 1 h	46.6±0.5 ^{bc}	35.3±0.9 ^e	7.1±0.7 ^g	47.4±0.4 ^g	41.1±0.5 ^e	84.6±0.8 ^c	81.5±0.7 ^e
9	100:0	150℃, 1 h	29.2±0.2 ^b	35.1±0.4 ^d	12.0±0.5 ^d	65.4±0.3 ^c	19.2±0.1 ^k	64.2±0.1 ^h	70.5±0.9 ^j
10	60:40	150℃, 1 h	43.6±0.7 ^d	38.1±0.8 ^a	9.8±0.2 ^f	47.3±0.6 ^g	36.5±0.4 ^g	78.8±0.9 ^f	76.1±0.4 ^g
11	50:50	150℃, 1 h	42.7±0.4 ^e	38.1±0.7 ^a	10.7±0.8 ^e	46.3±0.8 ^h	37.9±0.5 ^f	77.4±0.7 ^g	73.0±0.6 ^h
12	40:60	150℃, 1 h	43.8±0.8 ^d	36.4±0.3 ^{bc}	10.8±0.6 ^e	45.0±0.5 ⁱ	42.3±0.2 ^d	77.8±0.3 ^g	72.7±0.1 ⁱ

注:数据以三次测定的平均值±标准差表示(n=3),同一列中不同上标字母表示差异显著(P<0.05)

当预处理时间为2 h时,考虑到纯二乙胺体系在较高温度和长时间反应中易汽化,使反应釜内压力接近最大值。因此,在2 h预处理实验中未继续采用纯二乙胺体系,而是将二乙胺-水质量比为80:20的体系进行研究。如表2所示,当预处理时间延长至2 h后,溶剂对玉米秸秆的作用明显增强,各组分变化更加显著;同时批次13-24在预处理过程中的压力明显高于批次1-12。在110℃条件下,二乙胺-水质量比为40:60时的葡聚糖含量达到46.7%(批次16),木质素含量降至6.0%,木质素脱除率达到最大值86.4%。从葡聚糖保留情况来看,批次16的葡聚糖保留率达到85.8%,优于同温度下的批次15。因此,该条件的优势并不在于获得最高葡聚糖保留率,而在于实现较高木质素脱除率的同时仍能维持较好的葡聚糖保留水平。已有研究表明,在二乙胺-水体系预处理玉米秸秆时,水的加入可提高木质素在二乙胺体系中的溶解性;经预处理后,木质素脱除率约为74%^[10]。本研究中,110℃、二乙胺-水40:60、2 h条件下木质素脱除率达到86.4%,进一步说明适当提高水的添加比例并延长反应时间,有助于增强二乙胺体系对玉米秸秆木质素的选择性脱除。

当温度升高至130℃和150℃时,预处理作用进一步增强,固体中葡聚糖相对含量继续升高。但这种升高并不完全代表葡聚糖得到更好保留,而是与前期报道类似源于木质素和木聚糖大量脱除^[14]。特

别是在150℃条件下,固体回收率明显下降,说明高温虽然能够促进杂质组分去除,但也会造成秸秆结构的过度破坏,使部分多糖组分随之损失。因此,高温处理下葡聚糖相对含量的升高,主要来源于其他组分的优先降解造成相对富集现象,同时可能伴随着有效碳源的损失。此前已有研究表明,随着预处理强度提高,虽然半纤维素和木质素去除效果提高,但过高温度也会导致纤维素降解和固体回收率下降。根据上述结果可知,长时间预处理能够进一步增强二乙胺-水体系对玉米秸秆的组分分离作用。在110℃、二乙胺-水40:60、2 h条件下表现最优的木质素选择性脱除效率,又保持了较高的葡聚糖保留率(批次16,表2),更有利于玉米秸秆资源的有效利用。

2.2 二乙胺-水共溶剂预处理对玉米秸秆酶解效率的影响

为评估预处理对玉米秸秆酶解效率的影响,对不同条件下预处理底物的葡萄糖得率与产量进行分析,结果如图1所示。未经预处理的原始秸秆酶解葡萄糖得率和总糖得率仅为20.6%和11.7%。这表明原始秸秆结构较为致密,纤维素酶难以充分作用于纤维素,导致酶解效率较低^[13]。经二乙胺-水体系预处理后,底物酶解性能显著改善(图1),说明该体系能有效破坏秸秆的抗降解屏障,提高纤维素对酶的可及性。在1 h预处理条件下,不同预处理条件对酶解效果影响明显。110℃时,随着水比例增

表2 二乙胺-水共溶剂体系预处理玉米秸秆的化学组成变化

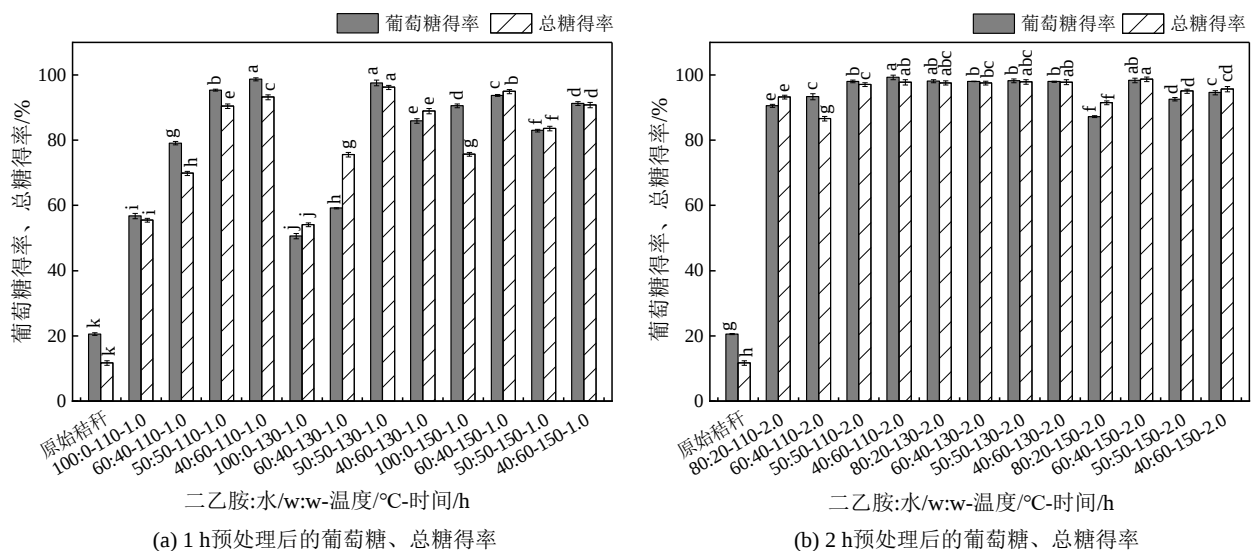
Table 2 Chemical composition changes of corn stover pretreated with DEA-H₂O co-solvent

批次	二乙胺:水/wt: wt, %	处理条件	化学组分含量/%			固体回收 率/%	脱除率/%		葡聚糖保留 率/%
			葡聚糖	木聚糖	木质素		木聚糖	木质素	
秸秆	-	-	27.1±0.3 ^g	28.4±0.4 ^{fg}	21.9±0.9 ^a	-	-	-	-
13	80:20	110℃, 2 h	41.6±0.7 ^f	41.7±0.9 ^e	5.8±0.3 ^h	55.6±0.6 ^a	18.4±0.4 ⁱ	85.3±0.4 ^b	85.3±0.5 ^e
14	60:40	110℃, 2 h	45.8±0.9 ^d	46.5±0.7 ^a	7.5±0.4 ^g	53.0±0.8 ^c	13.2±0.2 ^j	81.8±0.7 ^{cd}	89.6±0.6 ^a
15	50:50	110℃, 2 h	41.7±0.6 ^{ef}	41.8±0.3 ^e	12.6±0.7 ^b	54.1±0.4 ^b	20.4±0.5 ^h	68.9±0.9 ⁱ	83.2±0.9 ^e
16	40:60	110℃, 2 h	46.7±0.3 ^c	42.8±0.8 ^b	6.0±0.5 ^h	49.8±0.5 ^f	24.9±0.9 ^g	86.4±0.9 ^a	85.8±0.2 ^{bc}
17	80:20	130℃, 2 h	41.7±0.5 ^f	26.8±0.2 ^b	9.4±0.3 ^d	55.2±0.9 ^a	47.9±0.6 ^c	76.3±0.6 ^g	84.9±0.4 ^d
18	60:40	130℃, 2 h	42.6±0.8 ^e	29.0±0.5 ^f	8.7±0.1 ^e	52.0±0.7 ^d	46.9±0.6 ^c	79.3±0.5 ^e	81.7±0.3 ^f
19	50:50	130℃, 2 h	42.5±0.2 ^e	28.2±0.3 ^g	8.7±0.7 ^{ef}	50.8±0.3 ^e	49.6±0.7 ^b	79.8±0.6 ^e	79.7±0.1 ^g
20	40:60	130℃, 2 h	42.7±0.1 ^e	28.0±0.6 ^g	8.3±0.2 ^e	49.1±0.9 ^f	51.6±0.5 ^a	81.4±0.1 ^d	77.4±0.8 ^h
21	80:20	150℃, 2 h	45.8±0.4 ^c	38.4±0.1 ^a	9.4±0.5 ^d	51.4±0.7 ^{de}	30.5±0.4 ^f	77.9±0.5 ^f	86.9±0.4 ^b
22	60:40	150℃, 2 h	48.0±0.6 ^b	41.3±0.7 ^c	8.0±0.7 ^{fg}	47.5±0.8 ^g	30.9±0.1 ^f	82.6±0.3 ^c	84.1±0.6 ^e
23	50:50	150℃, 2 h	50.1±0.9 ^a	40.3±0.6 ^d	7.3±0.8 ^g	46.4±0.4 ^g	34.2±0.8 ^e	84.5±0.1 ^b	85.8±0.5 ^{cd}
24	40:60	150℃, 2 h	50.0±0.8 ^a	38.3±0.3 ^e	11.7±0.4 ^e	45.2±0.1 ^h	39.0±0.7 ^d	75.9±0.2 ^h	83.4±0.7 ^e

注:数据以三次测定的平均值±标准差表示(n=3),同一列中不同上标字母表示差异显著($P<0.05$)

加,葡萄糖得率和总糖得率整体升高,其中二乙胺-水 40:60 条件下的葡萄糖得率达 98.9%,总糖得率达到 93.2%,明显高于纯二乙胺体系。随着温度升高至 130℃和 150℃,虽然多数预处理仍能保持较高的葡萄糖得率,但高温会造成部分碳水化合物组分损失,会使得葡萄糖总产量降低。当预处理时间延长

至 2 h 后,酶解效果更高且更稳定。110℃条件下,二乙胺-水 40:60 处理组葡萄糖得率和总糖得率分别达到 99.3%和 97.8%,为该温度下最优结果(图 1b)。与 1 h 处理相比,适当延长预处理时间能够进一步提高木质素的选择性脱除,改善后续酶解过程,同时避免高温造成的碳水化合物降解。

图1 二乙胺-水预处理对玉米秸秆葡萄糖和总糖得率的影响(同一参数不同小写字母代表差异显著, $P<0.05$)Fig. 1 Effects of diethylamine-water pretreatment on glucose yield and total sugar yield of corn stover (different letters in the same column represent significant differences, $P<0.05$)

在木质纤维素预处理过程中,通常将木质素脱除与酶解效率进行比较分析。例如,在N-杂环基低共熔溶剂体系中,预处理后木质素的脱除效率与葡

萄糖得率、总糖得率存在显著的线性关系($R^2>0.91$)^[12]。对不同预处理条件下的木质素脱除率与酶解性能分析发现,二乙胺-水共溶剂体系也存在

线性关系(图2),该结果为胺类预处理工艺优化提供一定指导。与近年来报道的胺类预处理相比,本研究所得葡萄糖得率具有一定优势。Liu等^[15]利用二乙胺对玉米秸秆进行预处理,酶解后葡萄糖得率达到96%;Xu等^[10]利用二乙胺水溶液对玉米秸秆进行预处理,在130℃、1 h和30%固含量下的葡萄糖得率为85.9%。相比之下,本研究在更低温度110℃下,通过优化二乙胺-水共溶剂比例并将预处理时间延长至2 h,葡萄糖得率提升至99.3%,表明该条

件可以保证玉米秸秆纤维素酶解的高转化效率。因此,110℃、二乙胺-水40:60、2 h是较优的预处理条件,能够在保持较高葡聚糖保留率的基础上,提高酶解效率并获得更高的葡萄糖产量。另一方面,需要说明的是,二乙胺的易挥发性使得预处理过程中的反应压力较高(>8 MPa),对操作过程的安全性带来了一定隐患;能否在保证预处理和酶解性能不降低的前提下,通过优化预处理环境降低反应压力将是本研究需要考虑的问题。

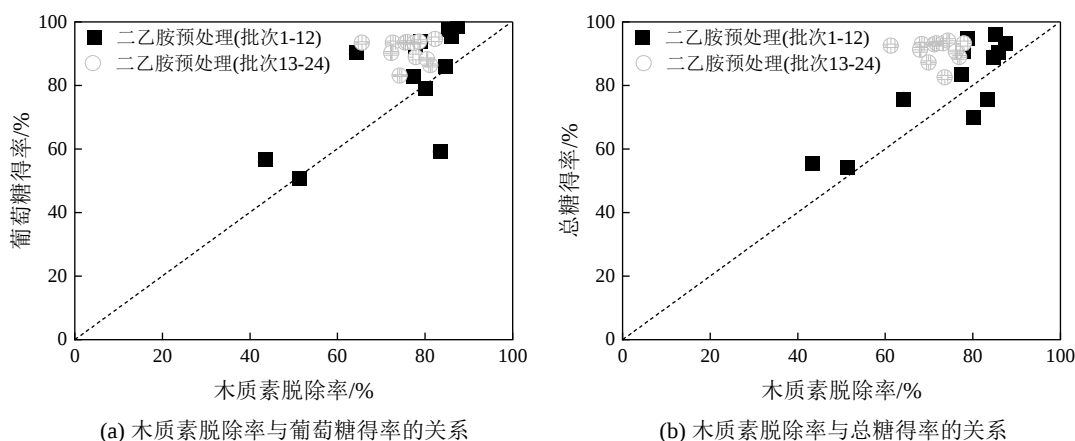


图2 二乙胺-水预处理体系下木质素脱除率与酶解效率之间的关系

Fig. 2 Correlation between lignin removal and enzymatic efficiency in diethylamine-water pretreatments

2.3 二乙胺/路易斯酸体系对玉米秸秆组分含量和酶解效率的影响

根据前期实验结果,110℃、2 h下40%的二乙胺预处理效果较优。因此,后续的预处理试验均在该条件下进行。在二乙胺-水共溶剂体系中加入5 mM、10 mM、20 mM和40 mM CuCl_2 ,考察其对玉米秸秆组分变化及后续酶解效果的影响。 CuCl_2 作为一种路易斯酸,能够在一定程度上促进木质素和半纤维素的去除,并改善纤维素结构,因此常被用于提高木质纤维素原料的酶解转化效率^[16]。理论上,碱性的二乙胺与路易斯酸会发生配位络合反应,可能会降低反应过程的压力,有效缓解上述预处理中存在的问题。从组分含量和脱除效果来看(图3a、图3b),与单纯二乙胺-水预处理条件相比,加入 CuCl_2 后固体中葡聚糖含量有所提高。同时, CuCl_2 添加后葡聚糖保留率高于未添加 CuCl_2 组,其中5 mM、20 mM和40 mM处理组分别达到90.0%、89.2%和88.9%,均高于未添加 CuCl_2 组的85.8%(图3a);固体回收率也由49.8%提高至50.2%–52.5%。这说明适量 CuCl_2 的加入能够在预处理过程中减少纤维

素损失,提高固体残渣中葡聚糖的保留效率。从木质素脱除情况来看, CuCl_2 的加入并未进一步提高木质素脱除率。在操作过程中,反应压力大幅降低至6 MPa附近,缓解了无 CuCl_2 条件下二乙胺预处理的高压环境。因此,在本研究的二乙胺-水体系中, CuCl_2 的主要作用并非强化木质素去除,而是侧重于降低反应压力、提高葡聚糖保留效率并维持底物酶解性能。类似地,Zhao等^[17]构建了由三乙基苄基氯化铵、 CuCl_2 和乙二醇组成的三元低共熔溶剂体系用于玉米秸秆预处理,该体系能够有效促进木质素去除并保留纤维素组分,该结果说明 CuCl_2 在不同溶剂体系中可能通过不同机制影响生物质预处理效果。

酶解结果显示(图3c),单纯二乙胺-水预处理的生物质已具备很高的葡萄糖得率和总糖得率。加入 CuCl_2 后,各处理组仍保持较高的葡萄糖得率,其中20 mM和40 mM CuCl_2 处理组葡萄糖得率均达到99%以上,与对照组基本相当。这表明 CuCl_2 的加入并未削弱预处理底物的酶解性能,且在提高葡聚糖保留率的同时,仍能够保持较高的酶解转化水平。当利用枸杞枝为生物质原料时,Sun等^[18]发现在

氯化胆碱-甘油低共熔溶剂体系中添加 CuCl_2 , 可以将葡萄糖酶解得率从 38% 大幅提高至 70% - 90%。因此, 20 mM CuCl_2 为二乙胺-水共溶剂预处理条件

下较适宜的添加浓度, 该预处理体系能够在较好保留葡聚糖的基础上, 有效促进木质素脱除并降低反应过程压力, 进而改善玉米秸秆的酶解效果。

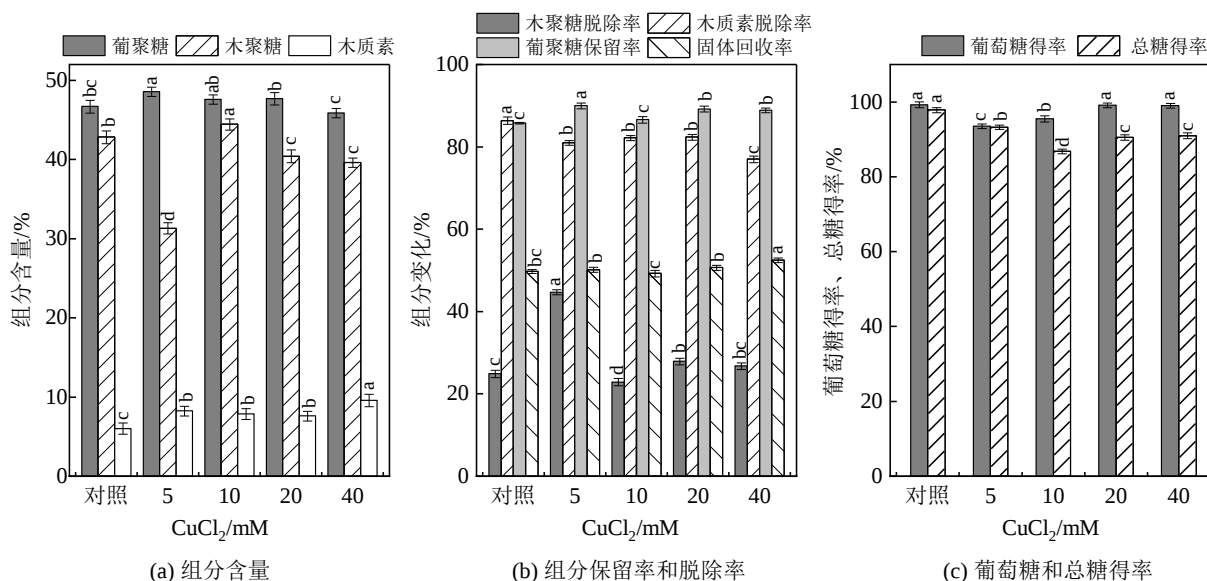


图3 二乙胺/ CuCl_2 预处理对玉米秸秆组分及酶解产糖性能的影响

Fig. 3 Effects of diethylamine/ CuCl_2 pretreatment on components and enzymatic performance of corn stover

2.4 胺类预处理强化玉米秸秆酶解性能的机理解析

2.4.1 SEM 的表征分析 采用 SEM 观察玉米秸秆预处理前后的表面形貌变化, 结果如图 4 所示。分别选择原始玉米秸秆、二乙胺-水共溶剂预处理秸秆(110℃、2 h、二乙胺含量 40%)、 CuCl_2 辅助二乙胺-水共溶剂预处理秸秆(110℃、2 h、二乙胺含量 40%、20 mM CuCl_2 添加量)作为分析对象。由图 4a 和图 4d 可以看出, 未经预处理的玉米秸秆表面较为平整、致密, 纤维排列紧密, 仅可观察到少量裂隙和孔洞。这种紧密结构会限制纤维素酶与内部纤维素的接触, 从而导致原始玉米秸秆酶解效率较低。经二乙胺-水共溶剂预处理后, 玉米秸秆表面形貌发生明显变化。如图 4b 和图 4e 所示, 样品表面由原来的平整致密变得粗糙不均, 出现较多裂纹、孔隙和碎片状结构, 说明预处理破坏了秸秆原有的紧密结构, 使内部纤维结构部分暴露出来。这有利于纤维素酶进入秸秆内部并与纤维素充分接触, 因此预处理后样品的酶解效果明显提高, 葡萄糖得率和总糖得率均可达到 90% 以上。该预处理下的玉米秸秆形态与其他胺类化合物(N,N-二甲基乙醇胺)预处理后的特征相似^[19]。与单纯二乙胺-水预处理相比, 加入 CuCl_2 后样品表面破坏程度进一步加深。如图

4c 和图 4f 所示, 玉米秸秆表面孔隙和裂纹更加明显, 并出现层状剥离和结构松散现象, 说明 CuCl_2 的加入能够进一步促进秸秆结构打开, 使原本致密的表面屏障被更充分破坏。该结构变化为纤维素酶提供了更多可及的活性位点, 从而促进酶解^[20]。SEM 结果表明, 二乙胺-水共溶剂预处理能够有效破坏玉米秸秆表面的致密结构, 增加其粗糙度和孔隙数量; 而 CuCl_2 的加入进一步增强了该作用, 使纤维素更容易暴露并被酶降解。SEM 微观分析结果佐证了 CuCl_2 辅助二乙胺预处理体系能够进一步改善玉米秸秆的酶解性能。

2.4.2 XRD 和 FTIR 表征分析 为进一步分析二乙胺及 CuCl_2 /二乙胺体系对玉米秸秆结构的影响, 本研究采用 XRD 和 FTIR 对预处理前后的样品进行了表征, 结果如图 5 所示。图 5a 展示了底物的结晶结构变化。所有样品在 2θ 为 15.7° 和 22.5° 附近均出现了纤维素 I 型衍射特征^[21]。原始玉米秸秆的结晶指数(CrI)为 40.89%; 经二乙胺-水共溶剂预处理后, CrI 提升至 51.42%, 这主要是由于无定形区的木质素和半纤维素被大量脱除, 使固体残渣中纤维素相对含量提高。而引入 CuCl_2 协同处理后, CrI 下降至 47.18%, 说明 Cu^{2+} 介入在促进木质素和半纤维素脱除的同时, 也可能对纤维素内部结构产生一定影

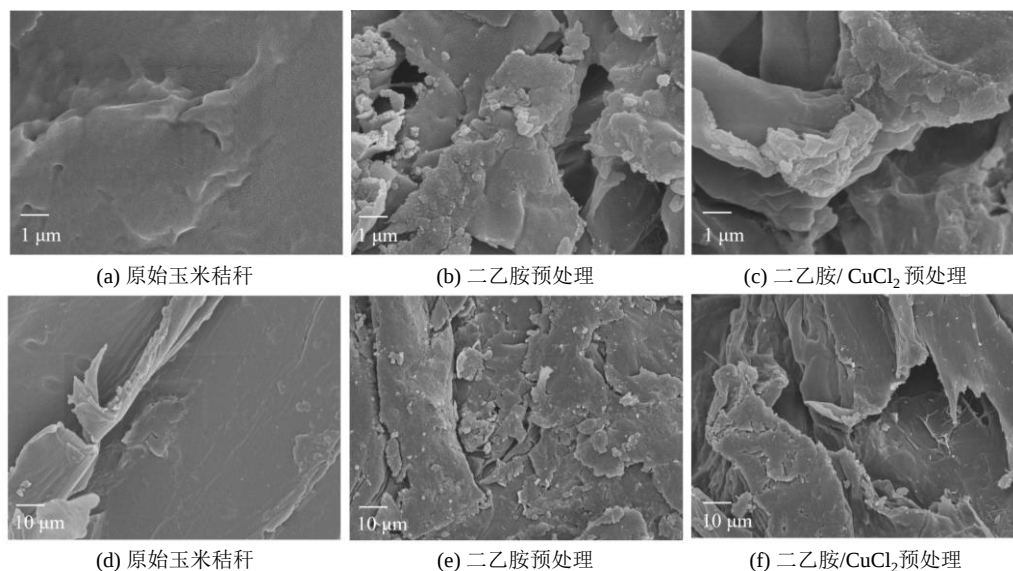


图4 二乙胺及二乙胺/CuCl₂预处理对玉米秸秆微观表面结构的影响

Fig. 4 Effects of diethylamine and diethylamine/CuCl₂ pretreatment on the microscopic surface structure of corn stover

响,使部分有序结构发生松散。适度降低结晶度有利于增加纤维素与酶的接触机会,从而为后续酶解效率的提高提供结构基础^[22]。

图5b为不同样品的FTIR图谱。3420 cm⁻¹处对应纤维素分子间和分子内O-H伸缩振动^[23],预处理后峰形变宽,表明氢键作用受到一定破坏,纤维素结构变得更加松散。2922 cm⁻¹处的吸收峰与C-H键振动有关,预处理后峰强度减弱,表明半纤维素和木质素中的部分侧链结构发生断裂与溶出,从而削弱了木质素-碳水化合物复合物(LCC)结构^[24]。1736 cm⁻¹处为半纤维素乙酰基的C=O伸缩振动峰,预处理后该峰明显减弱甚至基本消失,说明半纤维素被有效去除^[25]。1516 cm⁻¹附近的吸收峰主要归属

于木质素芳香环骨架C=C伸缩振动,1248 cm⁻¹附近的吸收峰与木质素愈创木基环伸缩振动及芳香醚C-O键振动有关,预处理后峰强度减弱,说明木质素结构被破坏或部分脱除^[26]。此外,898 cm⁻¹处的吸收峰与纤维素β-1,4-糖苷键有关^[27],预处理后该峰相对增强,说明木质素和半纤维素去除后,更多纤维素结构暴露出来^[28]。XRD和FTIR结果共同表明,二乙胺预处理能够有效去除玉米秸秆中的木质素和半纤维素,使纤维素相对富集;而CuCl₂的加入进一步改善了秸秆结构,使纤维素更容易暴露并与酶接触。这些结构变化有助于提高后续酶解过程中葡萄糖的释放效率。

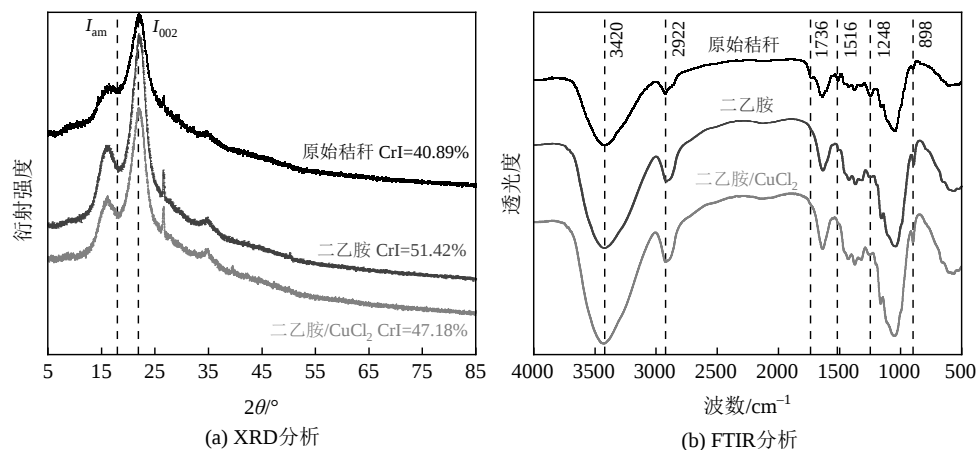


图5 不同预处理条件下玉米秸秆XRD和FTIR分析

Fig. 5 XRD and FTIR analysis of corn stover samples under different pretreatments

2.5 不同预处理工艺下的物料衡算及比较分析

图6为二乙胺预处理及二乙胺/ CuCl_2 预处理下的玉米秸秆物料衡算关系。结果表明,未添加 CuCl_2 时,酶解后葡萄糖和木糖产量分别为25.6 g和23.9 g,总糖产量达到49.5 g,说明二乙胺-水预处理能够有效改善秸秆底物的酶解可及性,促进纤维素和半纤维素组分转化为可发酵糖(图6a)。在此基础上,添加20 mM CuCl_2 后,葡萄糖产量进一步提高至

26.6 g,而木糖产量降至19.7 g,总糖产量为46.3 g(图6b)。虽然总糖产量略有下降,但葡萄糖/木糖产量比值由1.07提高至1.35,提高约26.2%,表明 CuCl_2 的加入改变了酶解产物分布,使糖液组成更偏向葡萄糖富集。生物炼制微生物通常存在葡萄糖效应,因此较高葡萄糖比例的可发酵糖溶液有利于能源产品和化学品的发酵生产。

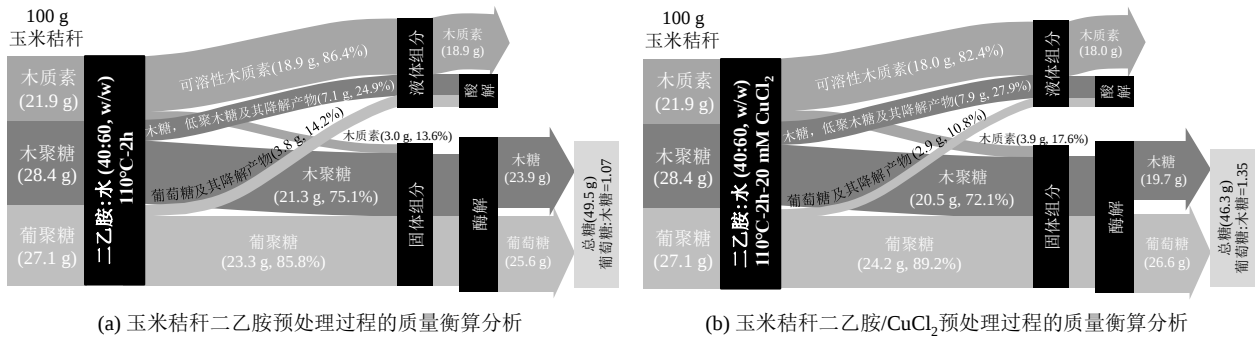


图6 玉米秸秆经不同预处理及酶解过程的质量衡算分析

Fig. 6 Mass balance for pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover

近年来,基于胺类化合物的预处理广泛用于木质纤维素高效生物转化,如乙二胺-碳酸钠^[29]、氯化胆碱-尿素-乙二胺^[30]、N,N-二甲基乙醇胺^[19]、乙醇胺^[31]、二乙胺^[10]、乙二胺^[32]等。不同体系下的预处理性能如表3所示。利用乙二胺基低共熔溶剂预处理玉米秸秆时^[30],虽然预处理时间仅需90 min,但酶解过程中使用的纤维素酶量较高(30 FPU/g-底物),且

木质素脱除率73.1%和酶解得率91.0%均低于本研究所得结果。当利用乙醇胺预处理蓖麻茎秆时,酶解得率可以达到100%^[31],但预处理过程使用的160°C高温环境对设备有更高要求。综上,本研究建立的二乙胺/ CuCl_2 预处理工艺可以在相对温和、安全环境下实现玉米秸秆各组分的高效拆分和酶解糖化。

表3 胺类化合物预处理木质纤维素的综合性能比较

Table 3 Performance comparison of amine-based pretreatment of lignocellulose

原料	预处理体系	预处理条件	R_{L} , R_{C}	预处理后的酶解条件	Y_{Glc}	文献
玉米秸秆	乙二胺-碳酸钠	$R_{\text{S/L}}$ 1:1.5, 85°C, 4 h	85.2%, 90.0%	CTec3, 10 FPU/g-葡聚糖, $R_{\text{S/L}}$ 1:40	92.6%	[29]
玉米秸秆	氯化胆碱-尿素-乙二胺	$R_{\text{S/L}}$ 1:15, 110°C, 90 min	73.1%, 88.4%	CTec3, 30 FPU/g-底物, $R_{\text{S/L}}$ 1:23	91.0%	[30]
玉米秸秆	N,N-二甲基乙醇胺	$R_{\text{S/L}}$ 1:10, 130°C, 2 h	91.2%, 89.7%	CTec3, 20 FPU/g-底物, $R_{\text{S/L}}$ 1:50	96.0%	[19]
蓖麻茎秆	乙醇胺	$R_{\text{S/L}}$ 1:9, 160°C, 1 h	69.2%, 91.2%	CTec3, 15 FPU/g-底物, $R_{\text{S/L}}$ 1:50	100%	[31]
玉米秸秆	二乙胺-水	$R_{\text{S/L}}$ 1:2.3, 130°C, 1 h	74%, 84%	CTec2, 8 FPU/g-葡聚糖, $R_{\text{S/L}}$ 1:50	83%	[10]
玉米秸秆	二乙胺	$R_{\text{S/L}}$ 1:1, 分阶段预处理	26.9%, 94.8%	复合酶, 27 mg-蛋白/g-底物, $R_{\text{S/L}}$ 1:100	84%	[32]
玉米秸秆	二乙胺-水	$R_{\text{S/L}}$ 1:10, 110°C, 2 h	86.4%, 85.8%	CTec3, 20 FPU/g-底物, $R_{\text{S/L}}$ 1:50	99.3%	本文
玉米秸秆	二乙胺-水/ CuCl_2	$R_{\text{S/L}}$ 1:10, 110°C, 2 h, 20 mM CuCl_2	82.4%, 89.2%	CTec3, 20 FPU/g-底物, $R_{\text{S/L}}$ 1:50	>99%	本文

注: R_{L} :木质素脱除率; R_{C} :葡聚糖保留率; Y_{Glc} :葡萄糖酶解得率; $R_{\text{S/L}}$:固液比

3 结论

(1)利用二乙胺-水共溶剂预处理玉米秸秆时(40:60、110°C、2 h),木质素脱除率为86.4%,葡聚糖保留率为85.8%,酶解后葡萄糖得率达到99.3%,证

实了二乙胺-水共溶剂体系能够有效破坏玉米秸秆抗降解结构,提高底物酶解可及性。

(2)加入20 mM CuCl_2 至二乙胺-水体系中可以有效降低预处理反应压力,降低操作潜在风险,并可以提高葡聚糖含量至47.7%,葡聚糖保留率达到

89.2%;该过程提高了原料结晶度(47.18%),最终使得酶解得率>99%。研究结果与近期胺类预处理效果相比具有一定优势。

(3)本研究未对预处理溶剂的循环利用效果作系统探究,将来应关注溶剂回收及分离木质素的结构特征,以期综合评价该工艺的应用前景。

参考文献

- [1] Ren N Q, Zhao L, Chen C, et al. A review on bioconversion of lignocellulosic biomass to H_2 : Key challenges and new insights[J]. *Bioresource Technology*, 2016, **215**: 92–99.
- [2] 计宇轩, 郑云, 蒋永琪, 等. 生物炭基双金属催化剂的制备及其对左氧氟沙星的高效催化降解[J]. *南京工业大学学报(自然科学版)*, 2025, **47**(4): 459–468.
Ji Y X, Zheng Y, Jiang Y Q, et al. Preparation of biochar-based bimetallic catalyst and its high efficiency catalytic degradation of levofloxacin[J]. *Journal of Nanjing Tech University (Natural Science Edition)*, 2025, **47**(4): 459–468.
- [3] Long B, Zhang F Z, Dai S Y, et al. Engineering strategies to optimize lignocellulosic biorefineries[J]. *Nature Reviews Bioengineering*, 2025, **3**(3): 230–244.
- [4] Mosier N, Wyman C, Dale B, et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass[J]. *Bioresource Technology*, 2005, **96**(6): 673–686.
- [5] Chen H Z, Liu Z H. Steam explosion and its combinatorial pretreatment refining technology of plant biomass to bio-based products[J]. *Biotechnology Journal*, 2015, **10**(6): 866–885.
- [6] Verda Bárbarú P, Choudhary H, Nakasu P S, et al. Recent advances in the use of ionic liquids and deep eutectic solvents for lignocellulosic biorefineries and biobased chemical and material production[J]. *Chemical Reviews*, 2025, **125**(12): 5461–5583.
- [7] 喻赛波, 张雄, 金勇, 等. 深度共熔溶剂选择性脱除烟梗木质素[J]. *化工学报*, 2026, **77**(2): 726–737.
Yu S B, Zhang X, Jin Y, et al. Delignification from tobacco stalks using deep eutectic solvents[J]. *CIESC Journal*, 2026, **77**(2): 726–737.
- [8] Luo H Z, Zhou T R, Zhang R, et al. Conversion of biomass to biofuels: Integration of a ternary deep eutectic solvent pretreatment and microbial fermentation for C2–C4 bioalcohols production from lignocellulose[J]. *Industrial Crops and Products*, 2024, **220**: 119271.
- [9] Lin K T, Wang C X, Guo M F, et al. Lignin with controlled structural properties by N-heterocycle-based deep eutectic solvent extraction[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2023, **120**(32): e2307323120.
- [10] Xu L, Cao M F, Zhou J F, et al. Aqueous amine enables sustainable monosaccharide, monophenol, and pyridine base coproduction in lignocellulosic biorefineries[J]. *Nature Communications*, 2024, **15**: 734.
- [11] Huang X Y, Fan M S, Xie J, et al. High titer ethanol production from poplar by aluminum chloride catalyzed organosolv pretreatment and simultaneous saccharification and fermentation [J]. *Industrial Crops and Products*, 2022, **181**: 114803.
- [12] Wang J B, Zhou X, Zhang R, et al. N-heterocycle-based deep eutectic solvent-driven lignocellulosic biomass valorization: Efficient extraction of lignin facilitates enzymatic hydrolysis to produce bioethanol and butyric acid from corn stover[J]. *Renewable Energy*, 2026, **262**: 125361.
- [13] Zhang D P, Liu J, Xu H X, et al. Improving saccharification efficiency of corn stover through ferric chloride-deep eutectic solvent pretreatment[J]. *Bioresource Technology*, 2024, **399**: 130579.
- [14] Li W H, Tan X S, Miao C L, et al. Mild organosolv pretreatment of sugarcane bagasse with acetone/phenoxyethanol/water for enhanced sugar production[J]. *Green Chemistry*, 2023, **25**(3): 1169–1178.
- [15] Liu S C, Shi T, He Z J, et al. Ethylenediamine pretreatment simultaneously improved carbohydrate hydrolysis and lignin valorization[J]. *Bioresource Technology*, 2023, **386**: 129552.
- [16] Han X Y, Zhang X B, Dai T, et al. Enhancing the co-production of sugars from sugarcane bagasse via $CuCl_2$ -catalyzed organosolv pretreatment and additives[J]. *Fuel Processing Technology*, 2023, **241**: 107629.
- [17] Zhao K, Zhao S S, Liu Q W, et al. Ternary deep eutectic solvent (T- $CuCl_2$ -EG) for lignin removal from corn straw[J]. *Journal of Biotechnology*, 2026, **409**: 195–201.
- [18] Sun B X, Jiang H T, Jin G P, et al. Lewis acid-mediated choline chloride-glycerol deep eutectic solvent pretreatment for Goji berry branches: Enhancing enzymatic saccharification and high-value utilization of lignin[J]. *Biomass and Bioenergy*, 2026, **210**: 109072.
- [19] Zhang C, Wang J B, Shao Y, et al. Utilization of N, N-dimethylethanolamine for deconstruction of lignocellulose by removing lignin to enhance enzymatic hydrolysis efficiency and microbial fermentability for bioalcohol production[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2026, **14**(19): 9328–9338.
- [20] Zhao C B, Mai S Y, Fan M S, et al. Effects of metal chloride salt pretreatment and additives on enzymatic hydrolysis of poplar[J]. *Fermentation*, 2023, **9**(12): 1022.
- [21] Sun B J, Zhang Y T, Li W P, et al. Facile synthesis and light-induced antibacterial activity of ketoprofen functionalized bacterial cellulose membranes[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2019, **568**: 231–238.
- [22] Xu H F, Che X P, Ding Y, et al. Effect of crystallinity on pretreatment and enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass based on multivariate analysis[J]. *Bioresource Technology*, 2019, **279**: 271–280.
- [23] Vu A N, Nguyen N T, Nguyen T T, et al. Effect of bleaching process on the allomorph, crystalline index, morphology, and thermal stability of cellulose nanocrystals derived from rice straw [J]. *RSC Advances*, 2026, **16**(18): 16344–16357.
- [24] Deng Y, Zhao Q S, Nian S, et al. Preliminary investigation into the use of amino-acid-derived ionic liquids for extracting cellulose from waste biomass to prepare cellulose aerogel adsorbents[J]. *Gels*, 2025, **11**(3): 210.
- [25] Wang N, Xu B M, Wang X H, et al. Chemical and structural elucidation of lignin and cellulose isolated using DES from bagasse based on alkaline and hydrothermal pretreatment[J]. *Polymers*, 2022, **14**(14): 2756.
- [26] Kukreti N, Kumar P, Kataria R. A sustainable synthesis of

- polyhydroxyalkanoate from stubble waste as a carbon source using *Pseudomonas putida* MTCC 2475[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2024, **12**: 1343579.
- [27] Yao Z Y, Chong G, Guo H X. Deep eutectic solvent pretreatment and green separation of lignocellulose[J]. *Applied Sciences*, 2024, **14**(17): 7662.
- [28] Madadi M, Liu D, Qin Y H, et al. Integrated pretreatment of poplar biomass employing p-toluenesulfonic acid catalyzed liquid hot water and short-time ball milling for complete conversion to xylooligosaccharides, glucose, and native-like lignin[J]. *Bioresource Technology*, 2023, **384**: 129370.
- [29] Yang C R, Xing Z H, Zhou D Y, et al. Mild synergistic ethylenediamine-sodium carbonate pretreatment for high glucose yield and lignin degradation mechanism[J]. *Industrial Crops and Products*, 2026, **241**: 122825.
- [30] Ma J X, Ma N L, Zhang W Q, et al. Highly efficient conversion of cellulose and hemicellulose using an innovative ternary deep eutectic solvent: Achieving the green and complete use of lignocellulose[J]. *Industrial Crops and Products*, 2025, **230**: 121091.
- [31] He Y L, Xing Y K, Shao L P, et al. Enhancing enzymatic conversion of castor stalk through dual-functional ethanolamine pretreatment[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, **279**: 135293.
- [32] Qin L, Li W C, Zhu J Q, et al. Ethylenediamine pretreatment changes cellulose allomorph and lignin structure of lignocellulose at ambient pressure[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2015, **8**(1): 174.