

稀酸浸渍气爆预处理对纤维素乙醇同步糖化发酵的影响

赵鹏翔, 吴毅, 李强*

(国网新源控股有限公司北京非粮醇电联产技术研发中心, 北京 100053)

摘要:纤维素乙醇预处理过程效率偏低是影响纤维素乙醇发展的一个重要因素。通过改进传统蒸汽爆破预处理方法,在蒸汽爆破前加入稀酸浸渍,有效地提高了后续同步糖化发酵的水平。采用硫酸浸渍气爆预处理后的草浆同步糖化发酵乙醇质量浓度达到 27.5 g/L,达到葡萄糖乙醇理论产率的 81%;采用乙酸浸渍气爆预处理后的草浆同步糖化发酵乙醇质量浓度达到 25.5 g/L,达到葡萄糖乙醇理论产率的 77%;相比传统气爆草浆用于同步糖化发酵,稀酸预处理能有效地减少抑制物的生成,提高后续直接利用草浆进行同步糖化发酵的水平,从而提高生产效率,降低生产成本,是可应用于工业化纤维素乙醇生产的重要方法。

关键词:纤维素乙醇;稀酸浸渍;同步糖化发酵

中图分类号:TQ35

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2013)03-0046-04

Influence of dilute acid impregnation/steam-explosion pretreatment on simultaneous saccharification and fermentation of cellulosic ethanol

ZHAO Peng-xiang, WU Yi, LI Qiang*

(State Grid Xin Yuan Co., Ltd., Beijing 100053, China)

Abstract: Ethanol produced by lignocellulose takes the most attention of the fuel ethanol. The low efficiency of the pretreatment process limits the development of cellulosic ethanol. In this study, the traditional steam explosion pretreatment process is improved by introducing dilute acid impregnation, which enhances the simultaneous saccharification and fermentation (SSF) of cellulosic ethanol effectively. The final ethanol concentration after the SSF using sulfuric acid and acetic acid impregnation reaches 27.5 g/L and 25.5 g/L, respectively, which corresponds to 81% and 77% of the theoretical ethanol yield as well. However, by using the traditional steam explosion pretreatment, the final ethanol concentration is only 17.5 g/L, which is 63% of the theoretical ethanol yield. Compared with the traditional steam explosion pretreatment, dilute acid impregnation can effectively improve the result of steam explosion pretreatment and reduce the formation of the inhibitors, thereby increasing the production efficiency and reducing costs. This new method has potential to be applied to the industrialized production of cellulosic ethanol.

Key words: cellulosic ethanol; dilute acid impregnation; SSF

随着化石能源的日渐枯竭,新能源的开发日益受到重视。燃料乙醇作为目前最为成熟的生物燃料,主要以粮食或甘蔗为原料。但粮食安全问题受到越来越多的国家的重视,加上日益高涨的粮食价格,让燃料乙醇的生产原料受到限制。开发新的燃料乙醇生产技术尤其是纤维素燃料乙醇技术是燃料乙醇未来发展的主要方向,并受到世界范围内各个国家的关注^[1]。木质纤维素来源广泛,产量大,不会产生粮食安全问题,是近几十年来研究最为丰富的领域之一。

在利用木质纤维素生物转化生产乙醇的过程中,需对其进行预处理以破坏木质纤维素原料的抗生物降解屏障,从而提高后续纤维素酶解发酵性能^[2-5]。利用气爆技术对木质纤维素进行预处理能有效地破坏木质纤维素的结构,降解部分半纤维素,

减小原料粒径,提高可接触比表面积,从而提高纤维素的酶解发酵性能^[6-7],且成本相对较低,是目前最为接近工业化的预处理方法^[7-11]。但蒸汽爆破技术所产生的副产物较多,糠醛等物质对发酵影响较大,导致同步糖化发酵过程的乙醇得率还不够高。笔者对小麦秸秆的气爆预处理进行了改进,通过稀酸浸渍,再进行气爆,并对气爆后的产物同步糖化发酵进行了研究。考察了不同种类的稀酸浸渍对同步糖化发酵的影响,并与传统气爆进行了对比。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 小麦秸秆

实验用小麦秸秆来自于河南鹿邑农村,秸秆中各物质质量分数如表 1 所示。

收稿日期:2012-09-06

作者简介:赵鹏翔(1975-),男,高级工程师,主要研究方向为纤维素乙醇工艺开发和醇电联产工艺开发, pengxiang-zhao@sgxy.sgcc.com.cn;

李强(1986-),博士,工程师,通讯联系人, liqiangkyo@gmail.com。

表1 小麦秸秆干物质组分及其质量分数

组成	葡聚糖	木聚糖	半乳聚糖	阿拉伯糖聚糖
质量分数/%	29.0	23.4	0	4.7
组成	甘露聚糖	淀粉	灰分	酸不溶木质素
质量分数/%	0	1.1	1.8	16.7
组成	酸溶木质素	水提取物	乙醇提取物	总量
质量分数/%	5.5	9.4	4.0	95.5

1.1.2 酶制剂

纤维素酶制剂为丹麦诺维信生产的 Cellic Ctec2。

1.1.3 酵母菌

酵母菌为酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*。该酵母仅能利用葡萄糖而不能利用木糖进行乙醇发酵。

1.1.4 酵母菌培养液

菌种培养分2个阶段进行。首先在30℃和pH=5的情况下进行培养。无菌介质由20.0 g/L葡萄糖、22.5 g/L硫酸二铵、10.5 g/L磷酸氢钾、2.2 g/L硫酸镁、60.0 mL/L微量元素液及6.0 mL/L维生素溶液组成。在葡萄糖反应耗尽后,开始投入预处理过程后的水解液。水解液由68.0 g/L葡萄糖、11.3 g/L硫酸二铵、5.3 g/L硫酸氢钾及1.1 g/L硫酸镁组成,水解液的pH通过流加10%的氢氧化钠调整为5。

1.1.5 酵母菌营养液

酵母菌营养液由磷酸氢二铵和硫酸镁溶液构成,在进行发酵时,加入营养液使发酵液中两者的终质量浓度分别为0.5 g/L和0.025 g/L。

1.2 实验方法

1.2.1 稀硫酸浸渍蒸汽爆破预处理

将小麦秸秆压碎并研磨成2~10 mm的碎片,在室温下,加入0.2%硫酸,固液比为1:20,在密封桶中处理2 h。然后在27 MPa的压力下加压成干料,使其固形物质量分数为47%~52%。将处理后的干料在190℃的温度下进行蒸汽爆破。

1.2.2 稀乙酸浸渍蒸汽爆破预处理

将小麦秸秆压碎并研磨成2~10 mm的碎片,在室温下,加入1%乙酸,固液比为1:20,在密封桶中处理1 h。然后在27 MPa的压力下加压成干料,使其固形物质量分数为47%~52%。将处理后的干料在200℃的温度下进行蒸汽爆破。

1.2.3 同步糖化发酵

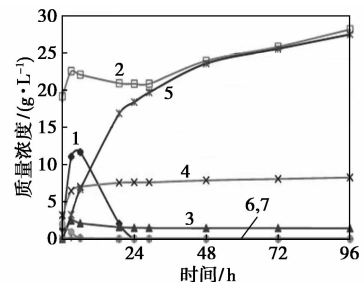
先将预处理后的所有产物或固形物发酵,纤维素酶与底物同时添加。同步糖化发酵温度为35℃,

利用10%的NaOH溶液调节pH=5。加入营养液后磷酸氢二铵和硫酸镁的质量浓度分别为0.5 g/L和0.025 g/L。在实验中的酵母菌质量浓度为3 g/L。所用酶为丹麦诺维信的 Cellic Ctec2,所用酶量为10 FPU/g(固形物)。

2 实验结果与讨论

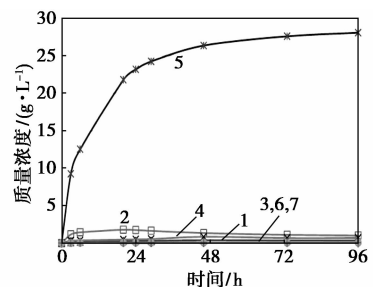
2.1 稀硫酸浸渍气爆预处理产物同步糖化发酵

稀硫酸浸渍气爆预处理后的所有产物和分离清洗后的固形物分别进行同步糖化发酵,发酵过程中各组分质量浓度随时间的变化关系如图1~图2所示。



1—葡萄糖;2—木糖;3—乳酸;4—乙酸;5—乙醇;
6—糖醛;7—HMF

图1 小麦秸秆稀硫酸浸渍气爆预处理草浆同步发酵各组分质量浓度随时间变化(固形物质量分数9.7%)



1—葡萄糖;2—木糖;3—乳酸;4—乙酸;5—乙醇;
6—糖醛;7—HMF

图2 小麦秸秆稀硫酸浸渍气爆预处理固形物同步发酵各组分质量浓度随时间变化图(固形物质量分数10%)

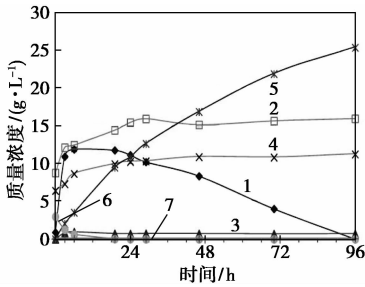
将硫酸浸渍预处理过的原料直接用于同步糖化发酵,乙醇终质量浓度达到27.5 g/L,达到葡萄糖乙醇理论产率的81%。从图1中可以发现,木糖质量浓度呈现小幅上涨趋势,所用酵母为酿酒酵母,并不能利用木糖进行发酵,因此木糖没有在发酵过程中被利用。而葡萄糖在经历了发酵初期的一段小幅上涨后迅速接近0值。反应后期葡萄糖发酵消耗速率

大于纤维素水解速率。葡萄糖的消耗消除了对纤维素酶的抑制作用,从而使得纤维素水解效率提高,加速了反应的进行。这也是同步糖化发酵的关键优势。

将硫酸浸渍气爆预处理过的原料通过固液分离后,将清洗过的固形物用于同步糖化发酵,乙醇终质量浓度达到 28.1 g/L,达到清洗后固形物中葡萄糖乙醇理论产率的 83%。固形物主要由纤维素和木质素构成,半纤维素质量分数很低,因此在发酵过程中木糖质量浓度非常低。而仅用固形物进行同步糖化发酵也减少了预处理产生的乙酸、糠醛等物质对酵母发酵的影响,因此,乙醇终质量浓度和产率都有所提高。

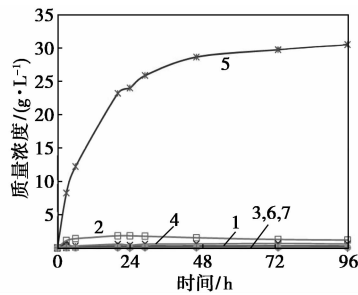
2.2 稀乙酸浸渍气爆预处理产物同步糖化发酵

稀乙酸浸渍气爆预处理后的所有产物和分离清洗后的固形物分别进行同步糖化发酵,发酵过程中各组分质量浓度随时间变化如图 3 ~ 图 4 所示。



1—葡萄糖;2—木糖;3—乳酸;4—乙酸;5—乙醇;
6—糠醛;7—HMF

图 3 稀乙酸浸渍气爆预处理草浆同步发酵各组分浓度随时间变化(固形物浓度 8.49%)



1—葡萄糖;2—木糖;3—乳酸;4—乙酸;5—乙醇;
6—糠醛;7—HMF

图 4 稀乙酸浸渍气爆预处理固形物同步发酵各组分浓度随时间变化(固形物质量分数为 10%)

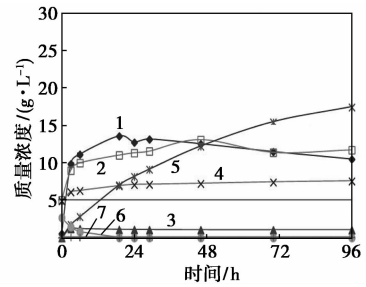
将乙酸浸渍预处理过的原料直接用于同步糖化发酵,乙醇终质量浓度达到 25.5 g/L,达到葡萄糖乙醇理论产率的 77%。由于进行了乙酸浸渍,乙酸质量浓度比硫酸浸渍预处理后的乙酸质量浓度略高,

发酵乙醇终质量浓度和乙醇得率比硫酸浸渍预处理发酵的略低,主要是由于乙酸质量浓度较高对发酵有一定程度的抑制作用,发酵进行的较为缓慢。

将稀乙酸浸渍气爆预处理过的原料中的固形物用于同步糖化发酵,乙醇终质量浓度达到 30.6 g/L,达到葡萄糖乙醇理论产率的 90%。优于利用预处理后产物直接发酵,也优于稀硫酸浸渍预处理方法。

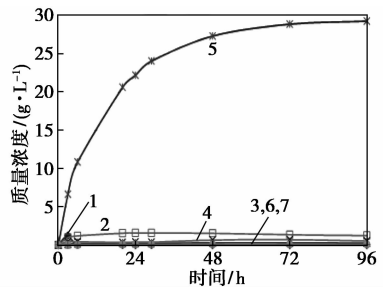
2.3 2 种新型预处理方法与传统气爆预处理同步糖化发酵对比

传统气爆处理结果如图 5 ~ 图 6 所示,采用传统气爆所得草浆直接用于同步糖化发酵所得的乙醇最终质量浓度为 17.5 g/L,葡萄糖转化为乙醇仅达到理论产率的 63%。而利用固形物进行同步发酵乙醇最终质量浓度为 29.2 g/L,达到理论产率的 85%。



1—葡萄糖;2—木糖;3—乳酸;4—乙酸;5—乙醇;
6—糠醛;7—HMF

图 5 传统气爆预处理草浆同步发酵各组分质量浓度随时间变化(固形物质量分数为 10%)



1—葡萄糖;2—木糖;3—乳酸;4—乙酸;5—乙醇;
6—糠醛;7—HMF

图 6 传统气爆预处理固形物同步发酵各组分质量浓度随时间变化(固形物质量分数为 10%)

3 种预处理方法发酵结果对比如表 2 所示。由表 2 可知,传统气爆预处理直接用水进行浸泡,而通过加入硫酸、乙酸等稀酸浸渍,在进行气爆后,利用草浆进行同步糖化发酵,均能起到更好的效果,乙醇质量浓度及葡萄糖转化为乙醇的转化率均得到提高。而利用固形物发酵,三者差距并不明显。

表2 稀酸浸渍气爆预处理与传统气爆预处理方法
对同步糖化发酵的影响比较

发酵原料	浸渍试剂	乙醇终质量浓度/(g·L ⁻¹)	乙醇得率/%
整个草浆	硫酸	27.5	81
	乙酸	25.5	77
	水	17.5	63
仅固形物	硫酸	28.1	83
	乙酸	30.6	90
	水	29.2	85

目前气爆预处理方法进行纤维素乙醇生产主要采用固形物同步糖化发酵技术,利用固形物进行发酵可有效地去除预处理过程中所产生的乙酸、糠醛等抑制物,从而达到较高的发酵水平。但固形物的过滤、清洗过程中,一方面提高了能耗以及对水的需求,另一方面,清洗过程中还会洗脱部分可溶性纤维素,部分保留在液体中的葡萄糖和大量的木糖无法得到利用,造成浪费,降低了整个过程中糖的得率。因此,如何控制发酵抑制物的生成,提高直接使用草浆发酵的发酵水平,是纤维素乙醇工业发展的关键。

通过稀酸浸渍能够在破坏木质纤维素结构的同时,减少水解、发酵抑制物的生成。对比图1、图3、图5可以发现,木糖质量浓度高低依次为硫酸预浸渍、乙酸预浸渍和传统气爆。而气爆预处理过程中的抑制物主要来自于木糖和木质素的分解,木糖质量浓度低则分解产生的抑制物质量浓度高,因此利用草浆发酵时,利用硫酸预浸渍方法进行预处理的同步糖化发酵效果最好,乙酸次之,传统蒸汽爆破效果最差。直接利用草浆进行发酵,乙醇终质量浓度、乙醇得率均有较大幅度提高。

当仅利用固形物发酵时,由于洗去了抑制物,三者的差距则体现在不同的方法对木质纤维素结构的破坏程度上。其中,硫酸浸渍和传统气爆的乙醇得率分别为83%和85%,没有明显差距。而利用乙酸浸渍可以达到90%的乙醇得率,说明在预浸渍的作用下,乙酸能够更好的破坏木质纤维素的内部结构,增加可接触面积,从而获得更高的乙醇质量浓度和乙醇得率。

3 结论

笔者在传统气爆预处理的基础上加入稀酸浸渍,通过硫酸和乙酸的浸渍处理后,利用草浆直接进行同步糖化发酵能够有效地提高乙醇的转化率,且发酵乙醇终质量浓度明显提高,对后续乙醇精制工

艺减少能耗提供了便利。采用硫酸浸渍气爆预处理后的草浆同步糖化发酵乙醇质量浓度达到27.5 g/L,达到葡萄糖乙醇理论产率的81%;而利用其固形物同步糖化发酵,乙醇质量浓度达到28.1 g/L,达到葡萄糖乙醇理论产率的83%。采用乙酸浸渍气爆预处理后的草浆同步糖化发酵乙醇质量浓度达到25.5 g/L,达到葡萄糖乙醇理论产率的77%;而利用其固形物同步糖化发酵,乙醇质量浓度达到30.6 g/L,达到葡萄糖乙醇理论产率的90%。相比之下,传统气爆草浆用于同步糖化发酵,乙醇质量浓度仅为17.5 g/L,葡萄糖转化为乙醇仅达到理论产率的63%;利用其固形物同步糖化发酵,乙醇质量浓度达到29.2 g/L,达到葡萄糖乙醇理论产率的85%。通过稀酸浸渍,能够在破坏木质纤维素结构的同时,减少水解、发酵抑制物的生成,有效提高利用整个草浆进行同步糖化发酵的水平,提高乙醇质量浓度和乙醇得率,从而提高生产效率,降低生产成本,是可应用于工业化纤维素乙醇生产的重要方法。

参考文献

- [1] 陈洪章. 纤维素生物技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [2] Lee R, Lynd, Paul J Weimer, et al. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2002, 66(3): 506-577.
- [3] Zhao X B, Zhang L H, Liu D H. Biomass recalcitrance. Part I: the chemical compositions and physical structures affecting the enzymatic hydrolysis of lignocellulose [J]. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 2012, DOI: DOI: 10. 1002/ bbb. 1331.
- [4] 高凤芹, 孙启忠, 荆启明. 木质纤维素乙醇的研究进展[J]. 农业科技与信息, 2009, (4): 54-56.
- [5] 王倩, 张伟, 王颖, 等. 生物质生产酒精的研究进展[J]. 酿酒科技, 2003, (3): 56-58.
- [6] 罗鹏, 刘忠. 用木质纤维原料生产乙醇的预处理工艺[J]. 酿酒科技, 2005, 134(8): 42-47.
- [7] Morjanoff P J, Gray P P. Optimization of steam explosion as a method for increasing susceptibility of sugarcane bagasse to enzymatic saccharification [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1987, 29(6): 733-741.
- [8] Nathan Mosier, Charles Wyman, et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass [J]. Bioresource Technology, 2005, 96: 673-686.
- [9] 阴春梅, 刘忠, 齐宏升. 生物质发酵生产乙醇的研究进展[J]. 酿酒科技, 2007, 151(1): 87-90.
- [10] 董平, 邵伟, 马同庆, 等. 纤维素乙醇生产技术与产业化现状[J]. 石油化工, 2011, 40(10): 1127-1132.
- [11] 马晓轩, 范代娣, 马沛, 等. 秸秆微生物降解及发酵生产乙醇的研究[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2009, 39(1): 171-174.
- [12] Sun Y, Cheng J Y. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review [J]. Bioresource Technology, 2002, 83: 1-11.