

# 木质纤维素稀水解液脱毒研究进展

庄军平, 林鹿, 庞春生, 刘颖, 孙勇

(华南理工大学制浆造纸工程国家重点实验室, 广东广州 510641)

**摘要:**稀酸水解作为一种广泛使用的木质纤维原料的预处理方法,已在生产中得到广泛应用,但由于木质纤维素经稀酸水解预处理后,水解液中会产生大量的对发酵有毒的物质如乙酸、糠醛、酚类物质等,从而影响进一步发酵。主要综述了木质纤维素稀酸水解的原理、发酵抑制物的产生及种类、发酵抑制物抑制发酵的原因及发酵液中发酵抑制物的脱毒方法进行了综述,并对脱毒发展前景做了展望。

**关键词:**木质纤维素;稀酸水解;发酵抑制物;脱毒

**中图分类号:** O636.2; TQ35

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-4320(2009)02-0019-05

## Research advances in detoxification of lignocellulose hydrolysates-making

ZHUANG Jun-ping, LIN Lu, PANG Chun-sheng, LIU Ying, SUN Yong

(State Key Laboratory of Pulp and Paper Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

**Abstract:** Dilute-acid hydrolysis of lignocellulose to hydrolysates intended for production of fuel ethanol and chemicals as a simple and fast pretreatment method has been used, in addition to fermentable sugar, some of the byproducts, such as phenolic compounds and furan aldehydes, are inhibitory to the fermenting microorganism. In this paper, the research progress in the mechanisms of dilute-acid hydrolysis of lignocelluloses, the generation and kinds of inhibitors during the degradation of lignocellulose, the effect of these on fermentation and methods of detoxification are reviewed, and the countermeasures are also forecasted.

**Key words:** lignocelluloses; dilute-acid hydrolysis; fermentative inhibitors; detoxification

木质纤维素综合利用的一个有效途径是将其转化为糖,进而转化为其他附加值较高的产物,如乙醇和有机酸物质<sup>[1]</sup>。稀酸水解是被广泛使用的一种木质纤维素处理产生糖的方法,是指用质量分数小于10%的硫酸或盐酸等无机酸为催化剂将纤维素、半纤维素水解成单糖的方法,反应温度100~240℃,压力大于液体饱和蒸汽压,一般高于10个大气压<sup>[2]</sup>。稀酸处理由于所用酸质量分数较低,一般不会超过10%,故不需要回收,直接中和就可以满足要求,还可通过加FeCl<sub>2</sub>等助催化剂提高产物转化率<sup>[3]</sup>,因此自1856年由法国科学家梅尔森斯提出以来,已在生产中得到广泛应用。但由于木质纤维素经稀酸水解预处理后,水解液中会产生大量的甲酸、乙酸、糠醛、5-羧甲基糠醛(5-HMF)和苯系化合物等物质,这类物质能抑制微生物发酵。据报道,0.11 g/L的糠醛就会对微生物造成抑制作用<sup>[4]</sup>。故纤维素水解产物中发酵抑制物的存在一直以来是阻碍纤维素水解发酵产生乙醇及其他化学品的主要因素<sup>[5-7]</sup>。本文

就木质纤维素稀酸水解液中发酵抑制物产生的原因、种类及去除方法等加以综述。

## 1 水解原理及发酵抑制物的产生

稀酸水解是木质生物质原料水解较为成熟的方法<sup>[8]</sup>。一般认为木质纤维稀酸水解的原理为:在木质纤维素的稀酸水解过程中,水中的氢离子(即水合氢离子)可和纤维素上的氧原子相结合,使其变得不稳定,从而容易和水反应,纤维素长链在该处断裂,又放出氢离子,同时所得葡萄糖还会进一步反应,从而实现纤维素长链的连续解聚,直到分解成为最小的单元。

木质纤维素一般包括纤维素、半纤维素和木质素3种主要物质,此外还含有少量的灰分和抽提物<sup>[9]</sup>。在酸水解过程中,纤维素水解主要转化成葡萄糖,同时半纤维素、木质素等也会发生不同程度的降解,生成的多种单糖在酸性条件下并不稳定,继续降解生成5-羟甲基糠醛(HMF)、甲酸和乙酰基丙酸

收稿日期:2008-11-18

基金项目:国家自然科学基金(50776035, U0733001);教育部博士点基金(20070561038)和创新团队研究计划(IRT0552);“863”计划(2007AA05Z408)和国家科技支撑计划(2007BAD34B01)资助项目

作者简介:庄军平(1971-),男,博士,主要从事植物资源化学方面的研究,020-22236719, zhuangjp@scut.edu.cn。

等发酵抑制物。木质纤维素酸水解生成发酵抑制物的具体过程如下:①纤维素。纤维素水解生成葡萄糖,在酸性条件下继续降解,生成 5-羟甲基糠醛(HMF)、甲酸和乙酰基丙酸等物质。②半纤维素。半纤维素水解生成多种单糖,主要有木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖、葡萄糖和少量的乙酸,由半纤维素水解生成的多种单糖在酸性条件下并不稳定,继续降解生成 5-羟甲基糠醛(HMF)、甲酸和乙酰基丙酸等物质。③木质素。木质素也发生少量降解,其降解的主要产物为多种单环芳香族类化合物,在这些物质中一般认为一些低分子质量的酚类物质对发酵有抑制作用<sup>[10-13]</sup>。④灰分和抽提物,主要生成酚类物质。

由于稀酸水解容易形成大量的发酵抑制物,故在实际生产中常采用两步法工艺以减少发酵抑制物的产生<sup>[14]</sup>,具体工艺如下:第一步稀酸水解在较低的温度下进行,在此过程中半纤维素非常容易被水解得到木糖等五碳糖产物;第二步稀酸水解是在较高的温度下进行,重新加酸水解残留固体(主要为微晶纤维素),得到可发酵水解产物葡萄糖。一般认为两步法所得发酵糖得率高,且可减少发酵抑制物的产生,故其总体效果优于一步水解法。

## 2 发酵抑制物类型、产生及抑制发酵的原因

木质纤维素在稀酸水解过程中生成的发酵抑制物主要包括甲酸、乙酸、糠醛、羟甲基糠醛、糖醛酸、己糖酸和芳香族类树脂等。根据发酵抑制物的性质,一般将其分为酸类物质、酚类物质、醛类物质这三大类。

### 2.1 酸类物质

酸类物质主要包括乙酸、甲酸和乙酰丙酸等,其中乙酸不但可在水解阶段产生,同时也是后续发酵阶段产生的一种副产物,研究表面水解产物中乙酸的质量浓度可达 10 g/L<sup>[15]</sup>。一般认为,酸类物质对发酵的抑制主要是在酸性条件下,有机酸分子可以通过简单扩散方式跨过细胞膜而进入细胞。由于胞内 pH 较高(接近中性),因此大多数有机酸分子在胞内离解,使得胞内  $H^+$  浓度增加,从而破坏了胞内外存在的  $H^+$  梯度,膜电位降低。为了维持膜电位,以推动一些营养物质的跨膜运送,必须将胞内过量的  $H^+$  排出胞外。此时仅依靠电子传递质子泵已经难以达到目的,在这种情况下细胞将利用水解 ATP 来驱动 ATP 合成酶质子泵反转,将胞内  $H^+$  排出胞外。由于 ATP 的大量消耗,又不能从呼吸偶联作用

得到补充,使得在胞内用于代谢的 ATP 供应不足,从而导致一些必需的酶、辅酶以及一些营养物质缺乏,使得细胞代谢缓慢,原料利用速率下降,甚至引起细胞死亡<sup>[16]</sup>。根据这一假说,有机酸对于微生物生长的抑制作用大小应与其疏水性相关。疏水性不同,则它们主动扩散的强度不同。因此对  $H^+$  梯度的破坏程度不同,从而表现出不同的抑制强度。如在研究纤维素水解产物中各种有机酸对于 *E1 coli* LY01 生长及发酵的抑制作用时发现,各种有机酸对菌体生长的抑制随 pH 的升高而减弱,并且不同有机酸抑制作用与其疏水性直接相关,疏水性强则其抑制作用也强。另外,这一假说也可以很好地解释低浓度有机酸对酵母或 *E1 coli* LY01 菌的生长及酒精发酵的促进作用<sup>[5,7]</sup>。这主要是由于低浓度有机酸引起的  $\Delta H^+$  破坏,增加了 ATP 的消耗,从而刺激了 ATP 的合成反应(即底物水平磷酸化),使得底物的利用速度加快。因此酒精的生成速率增加。但是随着酸浓度的增加,ATP 的需求也随之增大,一旦这种需求超过某一极限(ATP 底物水平磷酸化的极大值),则酸对发酵过程将产生明显的抑制作用,表现出细胞生长缓慢,营养物质的利用速率以及酒精生成速率下降。

### 2.2 醛类物质

糠醛和 5-羟甲基糠醛(HMF)是水解液中的 2 种主要呋喃类发酵抑制物,且其在水解液中的含量较大,糠醛主要抑制一些与糖代谢有关的酶,如己糖激酶、醛缩酶、磷酸果糖激酶、磷酸丙糖脱氢酶、乙醇脱氢酶等酶的活性,特别是对后 2 种酶的抑制尤其明显,从而抑制发酵<sup>[17-19]</sup>。醛类物质对发酵的抑制主要有以下方面的原因:①由于醛是一种化学活性物质,可以转化生成多种生物分子,包括核酸、脂、蛋白质等。因此有人推测醛对微生物酒精发酵的抑制作用可能与其分子活性有关。在研究醛对菌体生长的抑制时,如果人为地在发酵液中加入一定量的亚硫酸氢钠,使之与醛形成缩合物,以除去醛的活性。结果发现,醛的抑制作用有所减弱,菌体生长速度加快。这一实验结果在一定程度上说明醛的抑制作用与其分子活性有关。②醛在一定程度上可以破坏原生质膜的完整性,使细胞膜的通透性增加,尤其使得  $Mg^{2+}$  的通透性增加,使得糖酵解途径中的一些酶活性降低。③对糖代谢途径的直接或间接抑制。研究表明,虽然醛类物质对糖代谢途径有抑制作用,但绝大多数醛(除糠醛外)并非是通过直接影响糖代谢途径而起作用的,仅有糠醛对于糖酵解途径中的

各种酶有直接作用。

### 2.3 酚类物质

酚类物质主要来源于木质素的降解。酚类物质作为酸水解的主要发酵抑制物,虽然含量很低,一般只有 mg/L,但却严重影响水解液的后续发酵,其中以一些低分子质量的酚类物质如香草醛和丁香醛对发酵抑制物的抑制作用最强<sup>[20]</sup>。有关酚类化合物对发酵的影响一般认为是由于该物质能渗透到细胞膜内,破坏细胞膜结构的完整性,从而影响发酵微生物的正常生长,降低发酵效率。

## 3 抑制物的去除方法

### 3.1 物理方法

由于纤维素稀酸水解液中存在许多易挥发的有机物,如乙酸、糠醛和醛类物香草醛等,故通过旋转蒸发可很大程度上降低此类抑制物在水解液中的浓度,以利于发酵,但许多研究发现虽然旋转蒸发可降低一部分易挥发发酵抑制物的浓度,但又同时增加了来自于木质素和抽提物中的一些物质,从而也导致发酵效率降低。Larsson 等 1999 年研究发现,通过旋转蒸发可除去水解液中 90% 的糠醛,但对羟甲基糠醛的去除率仅为 4%<sup>[9]</sup>。Silva 等<sup>[21]</sup>研究发现,旋转蒸发由于增加了难挥发性发酵抑制物的浓度,从而也严重制约木糖发酵生产木糖醇。Converti 等<sup>[22]</sup>在 2000 年也研究证明,旋转蒸发只适用于乙酸、糠醛等易挥发性物质的去除。

活性炭由于具有较强的吸附特性,常被用作酸水解液的脱毒,但活性炭对抑制物的吸附除受抑制物性质的影响外,还与水解液的 pH、处理温度、时间和活性炭的浓度有关。

溶剂萃取法也是有效的解毒方法,此外还有一些其他方法,如溶剂萃取法、汽提法、闪蒸法和活性炭吸附或离子交换树脂方法等。常用的有机溶剂为醚、乙酸乙酯等易挥发的试剂,也有用碳酸氢钠水溶液作萃取剂的<sup>[1]</sup>;汽提法是利用水蒸气将乙酸、糠醛和酚等有害物质蒸发脱除;闪蒸法是将水解液经历一个闪蒸过程,脱除相当部分的有害物质。离子交换树脂处理也可除去水解液中大部分醋酸、糠醛和木质素分子降解片段<sup>[1]</sup>。

### 3.2 化学方法

化学方法主要是通过化学反应通过化学沉淀或通过改变 pH 以及一些抑制物的电离特性,从而达到降低毒性的目的。这种方法中以改变水解液 pH 从而降低发酵抑制物的毒性的方法在生产中应用最

为广泛,且效果较好,其中最常用的是使用过量的固体  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  预处理酸解液,这种方法在工业上已经有应用。许多研究均表明,用过量的固体  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  处理过的水解液,其发酵能力明显增强。Roberto 等 1991 年研究发现,用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  先将甘蔗渣酸水解液 pH 调节至 10,然后再用  $\text{H}_2\text{SO}_4$  调节至 6.5,可明显去除水解液中的酚类物质,提高发酵效率<sup>[23]</sup>。Nilvebrant 用 NaOH 和  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  调节云杉稀酸水解液的 pH 至 10,可降低糠醛和 5-羟甲基糠醛 20% 以上。Martinez 等用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  将蔗渣酸水解液 pH 调节至 9,同时将水解液温度升至 25℃ 和 60℃。研究发现,60℃ 下的去毒效果明显好于 25℃ 下的处理效果,其对醛类和酚类物质的去除率达 51% 和 41%,且糖的损失率较低,仅为 8.7%<sup>[24]</sup>。有关  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  处理的脱毒机理研究表明,该机理可能是利用  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  或 CaO 处理除去了水解液中存在的一些无机离子,而这些离子可能对发酵有抑制作用;另外  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  也调节了水解液的 pH,从而使一些有毒物抑制作用减弱。该方法的缺点是由于钙离子的沉淀,易对后续的蒸馏、旋转蒸发等设备不利<sup>[25]</sup>。

### 3.3 生物方法

生物方法是指用一些特定的酶或微生物作用于发酵抑制物,通过改变抑制物的结构而降低其毒性。生物脱毒法一般又可分为酶处理法和微生物处理法 2 种。

#### 3.3.1 酶处理

酶由于具有特异的催化活性,在酶的作用下一些有机物得以分解,如漆酶可氧化水解液中的酚类物质,故处理法也是去除酸水解液中发酵抑制物的常用方法。

由于酶具有专一性,所以酶处理也只能去除特定的抑制物质,如白腐菌主要降解乙酸、糠醛和芳香酸类化合物,而漆酶可氧化水解液中的酚类物质,故该方法在实施过程中常加入以上 2 种酶,从而达到较好的脱毒效果。Jönsson 等研究发现经过过氧化物酶和漆酶处理后,通过木腐菌(*Trametes versicolor*)发酵柳树的半纤维素水解产物,乙醇的产率能提高 2~3 倍<sup>[26]</sup>。

#### 3.3.2 微生物处理

白腐菌是微生物处理脱毒中常用的一种微生物。研究表明,白腐菌具有降解乙酸、糠醛和芳香酸类化合物的能力,经过白腐菌处理过的水解液发酵效率能提高约 4 倍;有的研究是把能够吸收苯系化合物的微生物作为发酵菌种,丝状软腐菌 *Trichoderma*

*reesei* 能够降解蒸汽预处理过的柳树半纤维素水解所产生的抑制物质,能够把乙醇的最大产率提高 3 倍,最大产量提高 4 倍<sup>[27]</sup>。与用漆酶处理的相对比,用 *T. reesei* 处理的木质纤维素水解液,在 280 nm 处的吸收减少了 30%,表明所去除的抑制物质是不同的。通过 *T. reesei* 处理,乙酸、糠醛和安息香酸衍生物被从水解产物中除去。

除了用微生物直接脱毒外,有研究还表明通过提高发酵菌种的接种量也可提高乙醇产量<sup>[28]</sup>,这可能是因为水解液的这种抑制作用主要存在于发酵初期,随着发酵的进行,抑制作用逐渐减弱,依靠细胞的繁殖弥补死亡或受到抑制的细胞数量,从而维持一定的细胞浓度,一旦抑制物质的浓度很小后,抑制作用消除,活性细胞就大量增殖,使发酵恢复正常。

### 3.4 综合方法

由于酸水解液中发酵抑制物的种类包含三大类十几种物质,因此在实际生产中单一的脱毒方法的脱毒效果很难满足发酵过程中对发酵抑制物最低浓度的要求,故在生产中常利用以上各种优点,取长补短加以混合使用,从而达到脱毒要求。如吴真<sup>[29]</sup>对麦草酸水解液脱毒研究发现,电渗析法可很好脱除水解液中的甲酸,甲酸浓度越高,电渗析法对甲酸的去除效果越明显,甲酸质量浓度为 100 g/L 时可以去除约 45% 的甲酸,而当甲酸质量浓度为 10 g/L 时只能去除约 17% 的甲酸。采用 D311 树脂脱毒,可以基本去除甲酸,但不能完全去除糠醛、乙酸以及酚类物质,采用过量碱法与 D311 树脂交换法联用处理水解液,甲酸根、糠醛、乙酸以及酚类物质的去除率分别达到 77.78%、90.36%、96.29%、77.44%。

## 4 木质纤维稀酸水解发酵生产燃料乙醇的前景展望

利用地球上含量最丰富的可再生资源纤维素生产乙醇以及其他化学品以补充或替代石油化学品已得到了全世界的认可和重视,稀酸水解作为一种木质纤维素处理产生糖的方法,虽已在生产中得到应用,但由于水解液中发酵抑制物的存在,极大地降低了水解液的发酵效率,限制了其在生产中的广泛应用。因此,笔者认为纤维素稀酸水解后发酵生产乙醇及其他化学品作为一个系统工程,包含多个反应步骤,故降低发酵抑制物对后续发酵的影响也应作为一个系统工程考虑,要求脱毒工艺既要达到有效脱毒效果,又要尽可能减少发酵糖浓度的降低,除对在对水解液发酵前去毒以提高发酵效率外,还可从

以下几个方面着手:

(1)探索出新的、有效的可减少发酵抑制物产生的木质纤维素稀酸水解的新方法和新工艺。研究发现采取两步工艺法对木质纤维素进行稀酸水解,即第一步用低浓度稀酸和较低的温度先将半纤维素水解,主要水解产物为五碳糖;第二步以较高的温度及酸浓度再次处理,得到纤维素的水解产物葡萄糖,该方法可极大地提高纤维素的转化率,同时降低来自于半纤维素中的发酵抑制物如甲酸、糠醛等。钱名宇等研究发现,对木质纤维素稀酸水解液采用间隔补料批式乙醇发酵方法,可进一步减少抑制剂对乙醇发酵的影响,使发酵顺利进行<sup>[30]</sup>。同步糖化发酵法(Simultaneous saccharification and fermentation, SSF)是指糖化和发酵在同一个反应器中进行,省略了糖化工段,不但能耗降低,且受发酵抑制物影响较少,研究也表明 SSF 模式比先糖化后发酵(Separate hydrolysis and fermentation, SHF)模式更经济<sup>[25]</sup>。高温热水法又称自动水解,是指完全以液态水来水解生物物质中的半纤维素,通常作为二步水解法中的预处理方法。因在高温、高压下,水会解离出  $H^+$  和  $OH^-$ ,具备酸碱自催化功能,从而完成半纤维素的水解。该法用于酶水解的预处理,与其他方法相比具有成本低廉、产物中发酵抑制物含量低、木糖回收率高等优点。

(2)筛选有抗性的发酵微生物。除了在发酵之前对水解液进行脱毒处理外,对菌种驯化也是提高菌种对水解液中抑制因子耐受能力从而提高发酵效率最有效的方法。通过对菌种进行驯化,可在乙醇产率和发酵速度方面得到很大提高。

(3)改变发酵方式,对发酵方式的改变也是提高乙醇产量的重要手段,现有的发酵方式主要有批式发酵、连续发酵和补料批式发酵。补料批式发酵是一种介于批式发酵和连续发酵之间的发酵方式<sup>[31]</sup>。补料批式发酵同传统的批式发酵相比其优势明显。它可以解除底物的抑制、产物的反馈抑制和葡萄糖分解阻遏效应等。与连续发酵相比,补料批式发酵不需要严格的无菌条件,也不会产生菌种老化和变异问题。补料批式发酵现在已经被广泛应用于发酵生产氨基酸、抗生素、维生素、有机酸、单细胞蛋白以及高聚物等,但是将其应用于乙醇的生产还罕有报道。

纤维素稀酸水解产物中发酵抑制物的存在一直是制约纤维素乙醇工业发展的因子之一,随着对酸水解机理、水解和脱毒方法和工艺研究的不断深入,

特别是利用现代分子生物学技术,培育、筛选出高效的、且对发酵抑制物有较强抗性的发酵微生物菌种并选择适宜的发酵方式,制约纤维素乙醇工业发展的瓶颈必将逐步得以解决,纤维素乙醇也将会逐步代替现有的以淀粉为原料的生物质燃料乙醇的生产方式,从而造福人类。

### 参考文献

- [1] 何北海,林鹿,孙润仓,等.木质纤维素化学水解产生可发酵糖研究[J].化学进展,2007,19(4):1141-1146.
- [2] Korbitz W. Biodiesel production in Europe and North America, an encouraging prospect[J].Renewable Energy,1999,16:1078-1083.
- [3] 颜涌捷.纤维素连续催化水解研究[J].太阳能学报,1999,20(1):55-58.
- [4] Alterthum F,Ingram L O. Efficient ethanol production from glucose, lactose, and xylose by recombinant *Escherichia coli*[J]. Applied and Environmental Microbiology,1989,55(8):1943-1948.
- [5] Zaldivar J, Martinez A, Ingram L O. Effect of selected aldehydes on the growth and fermentation of ethanologenic *Escherichia coli*[J]. Biotechnol Bioeng,1999,65:24-33.
- [6] Zaldivar J, Martinez A, Ingram L O. Effect of alcohol compounds found in hemicellulose hydrolysate on the growth and fermentation of ethanologenic *Escherichia coli*[J]. Biotechnol Bioeng,2000,68:524-530.
- [7] Zaldivar J, Ingram L O. Effect of organic acids on the growth and fermentation of ethanologenic *Escherichia coli* LY01[J]. Biotechnol Bioeng,1999,66:203-210.
- [8] Mielenz J R. Ethanol production from biomass: technology and commercialization status[J]. Ecology and Industrial Microbiology,2001,4(3):324-329.
- [9] Hendriks A T W M, Zeeman G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass[J]. Bioresource Technology,2009,100:10-18.
- [10] Clark T A, Mackie K L. Fermentation inhibitors in wood hydrolysates derived from the softwood *Pinus radiata*[J]. Chem Technol Biotechnol,1984,34(B):101-110.
- [11] Janshekar H, Fiechter A. Lignin: Biosynthesis, application, and degradation[J]. Adv Biochem Eng Biotechnol,1983,27:120-174.
- [12] Ando S, Arai I, Kiyoto K, et al. Identification of aromatic monomers in steam-exploded poplar and their influences on ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. J Ferment Technol,1986,64(6):567-570.
- [13] Taherzadeh M J, Keikhosro K. Acid-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic materials: a review[J]. BioResources,2007,2(3):472-499.
- [14] Sharma A, Khare S K, Gupta M N. Hydrolysis of rice hull by crosslinked *Aspergillus niger* cellulase[J]. Bioresource Technology,2001,78(3):281-284.
- [15] Taherzadeh M J, Niklasson C, Lidén G. Acetic acid: friend or foe in anaerobic batch conversion of glucose to ethanol by *Saccharomyces cerevisiae*? [J]. Chem Eng Sci,1997,52(15):2653-2659.
- [16] Palmqvist E, Grage H. Main and interaction effects of acetic acid, furfural and p-hydroxybenzoic acid on growth and ethanol productivity of yeasts[J]. Biotechnol Bioeng,1999,63(1):446-551.
- [17] Taherzadeh M J, Niklasson C, Lidén G. On-line control of fed-batch fermentation of dilute-acid hydrolysates[J]. Biotech Bioeng,2000,69:330-338.
- [18] Modig T, Lidén G, Taherzadeh M J. Inhibition effects of furfural on alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase and pyruvate dehydrogenase[J]. Biochem J,2002,363(3):769-776.
- [19] Banerjee N, Bhatnagar R, Viswanathan L. Inhibition of glycolysis by furfural in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Eur J Appl Microbiol Biotechnol,1981,11(4):224-228.
- [20] Larsson S, Palmqvist E, Hahn-Hägerdal, et al. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood[J]. Enzyme Microb Technol,1999,24:151-159.
- [21] Silva C J, Roberto I C. Statistical screening method for selection of important variables on xylitol biosynthesis from rice straw hydrolysate by *Candida guilliermondii* FTI 20037[J]. Biotechnol Tech,1999,13:743-747.
- [22] Converti A, Domínguez J M, Perego P, et al. Wood hydrolysis and hydrolysate detoxification for subsequent xylitol production[J]. Chem Eng Technol,2000,23:1013-1020.
- [23] Roberto I C, Felipe M G, Laci L C, et al. Utilization of sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate by *Candida guilliermondii* for xylitol production[J]. Bioresource Technol,1991,36:271-275.
- [24] Martínez A, Rodríguez M E, Wells M L, et al. Detoxification of dilute acid hydrolysates of lignocellulose with lime[J]. Biotechnol Progr,2001,17:287-293.
- [25] Olofsson K, Bertilsson M, Lidén G. A short review on SSF-an interesting process option for ethanol production from lignocellulosic feedstocks[J]. Biotechnology for Biofuels,2008,1(7):1-14.
- [26] Jönsson L J, Palmqvist E, Nilvebrant N O. Detoxification of wood hydrolysates with laccase and peroxidase from the white-rot fungus *Trametes versicolor*[J]. Appl Microbiol Biotechnol,1998(49):691-697.
- [27] Palmqvist E, Hägerdal B, Szengyel Z, et al. Simultaneous detoxification and enzyme production of hemicellulose hydrolysates obtained after steam pretreatment[J]. Enz Microb Technol,1997(20):286-293.
- [28] 潘进权,刘耘.酸解纤维素酒精发酵的毒性问题[J].生物技术,2002,12(1):45-47.
- [29] 吴真.麦草在甲酸溶液中的水解及水解液脱毒发酵产木糖醇的研究[D].广州:华南理工大学,2008.
- [30] 钱名宇,张晶,刘继开,等.木质纤维素稀酸水解液乙醇发酵的新方法[J].太阳能学报,2006,6(6):618-622.
- [31] Longobardi G P. Fed-batch versus batch fermentation[J]. Bioprocess Engineering,1994,10:185-194. ■