

蔗渣(髓)水解制备生物乙醇的研究进展*

Advances in Production of Bio-Ethanol from Sugarcane Bagasse (Pith) Hydrolysis

梁杰珍, 陈小鹏**, 王琳琳, 童张法

LIANG Jie-zhen, CHEN Xiao-peng, WANG Lin-lin, TONG Zhang-fa

(广西大学化学化工学院 广西石化资源加工及过程强化技术重点实验室, 广西南宁 530004)
(Guangxi Key Laboratory of Petrochemical Resource Processing and Process Intensification Technology, School of Chemistry & Chemical Engineering of Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530004, China)

摘要:蔗渣(髓)是丰富而廉价的可再生生物质资源,利用蔗渣(髓)代替传统的玉米等粮食作物为原料生产生物乙醇已成为研究热点。蔗渣(髓)转化为生物乙醇主要包括3个步骤:预处理脱去木质素、蔗渣(髓)中纤维素水解成还原糖、糖发酵成乙醇。本文阐述蔗渣(髓)经水解转化为生物乙醇处理技术的新进展,并展望其发展前景。

关键词: 蔗渣 蔗髓 生物乙醇 预处理 水解 发酵

中图分类号:TK6,TQ35 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2015)01-0071-07

Abstract: Sugarcane bagasse is an abundantly available, cheap and renewable resource, and its bioconversion to bio-ethanol has become the research hot spot. The bioconversion of sugarcane bagasse to bio-ethanol can be divided into three technological processes as follows: pretreatment for delignification, hydrolysis of cellulose in sugarcane bagasse to produce reducing sugars and fermentation of reducing sugars to produce bio-ethanol. New advances on the bioconversion technology of sugarcane bagasse to bio-ethanol were reviewed in this paper. And the prospect for application was discussed.

Key words: sugarcane bagasse, bagasse pith, bio-ethanol, pretreatment, hydrolysis, fermentation

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.2015.01.004

0 引言

能源短缺和环境污染是人类当今面临的两大难

题,而传统能源消耗大,污染重,发展新型的清洁可再生能源已成为全球关注的焦点^[1,2]。植物纤维素作为一种可固定碳的可再生能源,因其高效转换和洁净利用,日益受到全世界的重视。生物乙醇由于其成熟的生产应用技术和丰富的原料来源已成为世界各国首选的生物能源。从生物质光合作用、生物质制备生物乙醇到乙醇燃烧,整个过程在自然界形成了CO₂的闭合循环,可缓解地球的温室效应。目前,巴西和美国是主要的生物质乙醇生产国家,其产量占世界产量的62%,原料分别主要来源于巴西的蔗糖和美国的玉米。然而使用玉米和蔗糖存在与人争粮、与粮争地的问题,难以满足长期的能源需求^[3]。含纤维素的生物质废弃物是生物乙醇生产的另一巨大原料来源,它包括农作物秸秆、林业加工废料、甘蔗渣及城市垃

收稿日期:2014-11-08

修回日期:2014-12-09

作者简介:梁杰珍(1982-),女,实验师,主要从事天然产物深加工研究。

*国家自然科学基金项目(31060102,20976031),广西自然科学基金重点项目(2014GXNSFDA118010),广西自然科学基金项目(2013GXNSFAA019050,2013GXNSFBA019037)和广西石化资源加工及过程强化技术重点实验室主任课题基金项目(2012Z02)资助。

**通讯作者:陈小鹏(1954-),男,教授,博士研究生导师,主要从事天然产物深加工研究,E-mail:lilm@gxu.edu.cn。

圾中所含的废弃生物质等^[4]。据 Kim^[5] 估算,采用全球农作物废弃物生产生物乙醇的潜在生产能力可达 3928 亿 t 生物乙醇每年,减少 90% 的二氧化碳排放量。

在各种农作物废弃物中,蔗渣具有来源集中,产量大,纤维含量高,储存、运输方便等优势,是生产生物乙醇的理想原料。我国是仅次于巴西和印度的世界第三甘蔗种植大国,每年甘蔗种植面积约 120 万 hm^2 ,甘蔗榨汁制糖后可得甘蔗渣约 900 万 t ^[6]。目前蔗渣有利用价值的部分是纸浆造纸,而大多数蔗渣(髓)则是被用作燃料烧掉。然而,蔗渣(髓)作为燃料并不是很经济的利用方式,因为从热值来看,含水分 50% 的蔗渣(髓),其燃烧值约为 9211~9839 kJ/kg ,与其它燃料相比较,1 t 蔗渣仅相当于:天然气 0.15 t,燃料油 0.18 t,烟煤 0.28 t,木材 0.55 t(文献^[7])。可见,利用蔗渣(髓)作锅炉燃料是不经济的,没有做到物尽其用,而且蔗渣(髓)燃烧还产生大量 CO_2 和“雾霾”。因而利用蔗渣(髓)生产生物乙醇有着重要的现实意义和广阔的发展空间,而且还有着潜在的资源优势:蔗渣(髓)原料在蔗糖的生产过程中已集中在糖厂,不像其它农作物废弃物(如秸秆)需收集集中,节省了运输费用;蔗渣(髓)在榨糖时已粉碎为细小颗粒,不需像其它农作物废弃物(如玉米芯)那样需要粉碎处理,生产成本上远低于秸秆、玉米芯等原料。因此,以蔗渣(髓)为原料生产生物乙醇,既充分高效地利用糖厂每年产生的大量蔗渣(髓)废弃物,减少燃烧蔗渣(髓)产生大量 CO_2 和“雾霾”,其生产的生物乙醇又减少化石燃料的使用,使制糖行业的粉状废弃物蔗渣(髓)变废为宝,实现环境友好和经济价值的双重效益。

蔗渣结构复杂,主要由纤维素(40%~45%)、半纤维素(30%~35%)和木质素(20%~30%)组成,蔗髓成分与蔗渣相似。蔗渣(髓)原料含灰分较低,仅为 1.9%,与其他农作物废弃物如稻草(含灰分 16%)、稻秆(含灰分 14.5%)和麦秆(含灰分 9.2%)相比更具优势^[8]。蔗渣(髓)原料与其他木质纤维原料比较,其组分和结构大致一样,由其转化为还原糖和乙醇的过程与其他木质纤维相似,主要包括 3 个步骤:蔗渣(髓)原料的预处理、纤维素水解成可发酵的糖和糖发酵成乙醇。本文阐述了这 3 个步骤所含技术的新进展,并展望其发展前景。

1 蔗渣(髓)预处理

蔗渣(髓)转化为生物乙醇过程中最重要和最富

有挑战性的是对其进行预处理。预处理的目的是打破纤维素-半纤维素-木质素的复杂结构,降低纤维素的结晶度,增加无定形纤维素的比列,并将木质纤维素中的木质素脱去,从而提高纤维素酶对蔗渣原料的可及度,进一步改善水解的效率。已报道的蔗渣(髓)原料预处理的方法主要有酸处理法^[9~15]、碱处理法^[13,16,17]、蒸汽爆破法^[18,19]、湿式氧化法^[20~23]、有机溶剂处理法^[24~27]、水热处理法^[18,27,28]和生物处理法^[29~31]等。蔗渣(髓)原料预处理方法及相应的工艺条件如表 1 所示。

1.1 酸处理

酸处理法也叫酸水解,通常采用 1%~10% 的硫酸、盐酸或乙酸等稀酸在较温和的温度下(100~150 $^{\circ}\text{C}$)对半纤维素部分进行水解。蔗渣(髓)原料中半纤维素约占 35%,稀酸较易将其水解成单糖。但液固比较高时酸水解所得还原糖的浓度较低。在进一步发酵之前一般先进行水解液的浓缩^[9]。

由于半纤维素没有纤维素的结构坚硬,是无定形、无结晶的结构,在稀酸条件下易被水解为单糖。而木质素含量不变,纤维素的聚合度下降,反应能力增大^[10,11]。稀酸水解产物中的液相主要由糖类(如葡萄糖、木糖和阿拉伯糖)、半纤维素的降解产物(如聚合物降解为低聚物和与糖联接的乙酰基水解生成的乙酸)和单糖的降解产物(如戊糖的水解产物糠醛和己糖的水解产物 5-羟甲基糠醛)组成。这些产物会抑制微生物的生长,对后续发酵产生影响。稀酸水解最常用的是 H_2SO_4 ,也可用 HCl 和 HNO_3 。

1.1.1 硫酸法

Pattra 等^[12] 研究在高压釜中采用不同浓度 H_2SO_4 (0.25%~7.0%,V/V),121 $^{\circ}\text{C}$,1.5 kg/cm^2 条件下水解蔗渣 15~240 min,确定最优条件为 0.5% H_2SO_4 (V/V)水解 60 min,所得总糖收率为 24.5 g/L,此时获得的葡萄糖浓度最高达 11 g/L,木糖为 11.29 g/L,阿拉伯糖为 2.22 g/L,乙酸为 2.48 g/L,糠醛为 0.12 g/L。 H_2SO_4 浓度(V/V)从 0.5%增加到 1.0%时对蔗渣半纤维素水解产物葡萄糖浓度影响不大,但从 1.0%增加到 5%时,葡萄糖浓度反而下降了,是因为此时半纤维素水解产物主要为木糖。为提高蔗渣水解所得还原糖的收率和酸的回收率,Cheng 等^[9] 提出酸回收循环过程以及采用电渗析脱去水解液中的有毒物质。用酸来处理木质纤维面临的主要问题是易生成呋喃衍生物和其它未知的有毒物质。

表 1 蔗渣(髓)原料预处理方法及相应的工艺条件

Table 1 Pretreatment methods and the relative conditions for sugarcane bagasse (pith) exploitation

Pretreatment	Agent	Conditions	Yield	Remarks	References
Dilute acid	H ₂ SO ₄	Acid concentration 1.25% (W/W), 121°C, 2 h, solid to liquid ratio of 1 : 10	Yield of total sugar 59.1 g/L	—	[9]
		Acid concentration 0.5% (V/V), 121°C, 1 h, 1.5 kg/cm ²	Yield of total sugar 24.5 g/L	—	[12]
	H ₃ PO ₄	Acid concentration 4% (W/W), 122°C, 5 h, liquid to solid ratio of 8 : 1	Yield of total sugar 23.2 g/L	—	[11]
	HCl	Acid concentration 1.2% (V/V), acid solution of bagasse by weight: 15 : 1, 121°C, 4 h, 1.1 kg/cm ²	Hydrolysis rate 37.21%	More than 30% by weight was converted to reducing sugars	[13]
		Acid concentration 2.5% (V/V), fibers size between 2.2 mm and 10 mm, 140°C, 30 min, solid to liquid ratio of 1 : 10	Yield of total sugar 30.29 g/L	—	[14]
HNO ₃	Acid concentration 6% (W/W), 122°C, 9.3 min, liquid to solid ratio of 8 : 1	Yield of total sugar 23.51 g/L	—	[15]	
Alkaline -enzyme pretreatment	NaOH	Base concentration 2% (W/V), 121°C, 4 h, liquid to solid ratio of 5 : 1, 1.1 kg/cm ² , 0.19 mL of enzyme per gram of bagasse	Hydrolysis rate 13%~18%	—	[13]
Alkaline pretreatment	NaOH	Base concentration 3% (W/V), 50°C, 3 h, solid to liquid ratio of 1 : 25	Hydrolysis rate 27.65%	74.9% of the original hemicelluloses were hydrolyzed. Xylose was the predominant sugar (79.2%~96.7% of total sugars)	[16]
Steam explosion	Water	121°C, 4 h, 1.1 kg/cm ²	—	—	[13]
	Water, SO ₂ , H ₂ SO ₄	SO ₂ concentration 2% by weight of water in the bagasse, 180°C, 5 min, acid concentration 0.25 g H ₂ SO ₄ per 100 g dry matter	—	Glucose and xylose yields were 86.3% and 72.0%, respectively	[18]
Wet oxidation	Water, oxygen	195°C, 15 min, alkaline pH, oxygen pressure: 12 bar	Hydrolysis rate 11.6%	Hemicelluloses solubilization: 93%, lignin solubilization: 50%, yielding a solid material with nearly 70% cellulose content, enzymatic convertibility of cellulose of 75%	[20]
	Water, oxygen	185°C, 5 min, acidic pH, oxygen pressure: 12 bar	Hydrolysis rate 16.1%	Xylose was the main sugar obtained	[20]
Organosolv pretreatment	Supercritical CO ₂ and 1-butanol -water mixture	190°C, 7 MPa, 105 min, 60% of butanol in the solvent mixture	—	Delignification extent: 94.5%	[24]
	Supercritical CO ₂ and Ethanol -water mixture	190°C, 16.0 MPa, 30~150 min, ethanol-water (1 : 1, V/V)	—	Pulping yield: 32.7%, residual klason lignin: 8.7%, delignification extent: 88.4%	[25]
	Dimethyl formamide	200~210°C, 150 min, 40%~60% DMF	—	Delignification extent: 82.7%, solid material with nearly 83.53% of cellulose	[27]

1.1.2 盐酸法

HCl 已广泛用于高粱秸秆、蔗渣、黑麦草和棕榈叶等不同木质纤维的预处理, 但因其强腐蚀性、且污染环境而被限制了应用。采用 HCl 水解木质纤维的结果如表 1 所示, 与其他木质纤维相比, HCl 水解蔗渣可获得较高收率, 超过 30% (W/W) 蔗渣可转化为还原糖^[13]。

1.1.3 磷酸法

酸预处理过程采用 H₃PO₄ 主要因为是它可以跟碱水解过后的 NaOH 中和生成磷酸钠(磷酸钠在水解液中可作为微生物的营养成分)。因此, 该法水解后无需对水解液进行过滤, 避免了盐的移除, 减少了后续发酵所需营养物的量, 从而提高了过程的经济性; 同时所生成的磷酸钠无须排出, 对环境有积极作用。Gómez 等^[11] 采用 H₃PO₄ 在较温和条件下对蔗渣进行了水解, 生成 17.6 g/L 木糖、2.6 g/L 阿拉伯

糖、3.0 g/L 葡萄糖、1.2 g/L 糠醛和 4.0 g/L 乙酸, 反应效率为 4.46 g 糖/g 抑制剂, 溶解的固体中糖的质量分数达到 55%。木糖的生成速率随 H_3PO_4 浓度的增加而增加, H_3PO_4 浓度(W/W)为 2%, 4% 和 6% 时水解蔗渣 60 min 所得木糖浓度分别为 6.1 g/L、7.3 g/L 和 8.6 g/L。

1.1.4 硝酸法

Rodriguez-Chong 等^[15] 研究表明, 在酸浓度 2%~6%、反应时间 0~300 min、反应温度 100~128°C 条件下, 采用 HNO_3 水解与采用 H_2SO_4 、 HCl 水解得到的结果接近, 并由动力学模型获得最优条件为 122°C, 6% HNO_3 (W/W) 和水解时间 9.3 min, 该条件下可获得 18.6 g/L 木糖、2.04 g/L 阿拉伯糖、2.87 g/L 葡萄糖、0.9 g/L 乙酸和 1.32 g/L 糠醛。当反应时间为 180 min 时, 所得木糖浓度最高达 21.0 g/L。

1.2 碱处理法

碱预处理主要是去除蔗渣(髓)中的木质素, 增加酶对纤维素和半纤维素的可及度^[17]。稻秆和甘蔗渣(髓)等木质纤维素物质的碱处理是通过对其半纤维素、木质素和硅的溶解、糠醛和乙酸酯的水解以及纤维素的膨胀来破坏细胞壁, 从而降低了纤维素的结晶度。碱处理后稻秆和甘蔗渣(髓)水解物可分馏为碱性木质素、半纤维素和残渣, 提高了它们的利用价值。最后的残渣主要为纤维素, 它不仅可用于造纸, 也可用于生产纤维素衍生物。最近, 文献^[16] 报道了应用半纤维素生产木聚糖, 其生产工程依次用水, 1% 和 3% 的 $NaOH$ 溶液(W/V) 对脱蜡蔗渣进行处理, 分别脱除 25.1% 木质素和 74.9% 的半纤维素, 说明 1% 和 3% 的 $NaOH$ 溶液能促进半纤维素多糖和木质素大分子的大量溶解。

1.3 湿式氧化处理法

湿式氧化处理法是用 120°C 以上的水和空气(或氧气) 处理蔗渣(髓)的过程, 该过程发生两种反应: 低温水解反应和高温氧化反应。湿式氧化法处理中半纤维素水解的产物不是单糖, 而是低聚糖^[20]。Martin 等^[21] 在压力保持 12 bar 不变的情况下改变 pH 值、反应温度和反应时间(反应过程加入 Na_2CO_3 或 H_2SO_4 调节 pH 值), 考察不同湿式氧化处理条件对蔗渣分解、酶转化和发酵的影响。在 195°C 及碱性 pH 条件下处理 15 min, 纤维素质量分数最高为 70%, 半纤维素和木质素的溶解率为 93%~94% 和 40%~50%; 而在 185°C 及酸性 pH 条件下处理 5 min, 糖的产率最高为 16.1 g/100 g 蔗渣, 半纤维素和木质素的溶解率分别为 30% 和 20%, 由于半纤维

素和木质素的溶解, 从固相转移到液相, 而纤维素极少发生水解, 使得蔗渣的纤维素含量增加, 并有效地解除了木质素、半纤维素对纤维素的束缚, 从而提高纤维素酶的可及性。文献还报道了不同氧化剂如 N-甲基吗啉-N-氧化物^[22]、次氯酸钠和过氧化氢^[23] 对蔗渣的氧化性。

1.4 有机溶剂处理法

制浆生产过程中碱法和硫酸盐法脱除木质纤维素一般采用有机溶剂法或有机溶剂制浆技术。工业生产中回收制浆中无机物最重要的方法是燃烧, 利用有机溶剂和水的混合物, 通过燃烧和蒸馏可将木质素与有机溶剂分离。已有文献报道采用典型的有机溶剂甲酸在常压下进行蔗渣纤维的制浆。Pasquini 等^[24,25] 采用高压二氧化碳与甲醇-水、乙醇-水和丙醇-水等溶剂混合物相结合处理蔗渣脱木素, 不同醇类脱木素的程度相差不大, 但醇链越长制浆产率反而下降。Tu 等^[26] 研究表明甲酸浓度达到 90% (V/V) 时可有效地进行蔗渣的制浆, 90% 甲酸处理蔗渣约 80 min 可几乎完全脱木素。二甲基酰胺也可用作蔗渣制浆的有机溶剂, 有机溶剂与超临界二氧化碳相结合也是可行的^[27]。

1.5 热处理法

通过对热处理木质纤维材料的分馏、溶解的实验表明, 该技术可有效提高半纤维素的萃取率。Sendelius 等^[18] 以蔗渣为原料, 采用蒸汽预处理考察了温度(180°C, 190°C 和 205°C)、时间(5 min 和 10 min) 和浸渍液(水; SO_2 : 蔗渣含水量的 2%; H_2SO_4 : 每 100g 绝干物质取 0.25g) 等因素对最终乙醇产率的影响, 得到最优条件为 180°C, SO_2 浸渍 5 min, 可得葡萄糖平均收率为 86.3%, 木糖平均收率为 72.0%, 水解液经发酵后乙醇的总产率为 80%。Boussarsar 等^[28] 采用水热法处理蔗渣, 发现: 170°C 处理 2 h, 比 150°C 处理时半纤维素的溶解率高, 且单糖降解率低于 190°C。但该方法发现有木聚糖低聚物和聚合物的存在。

1.6 生物处理法

生物法预处理是使蔗渣(髓)中木质素在微生物作用下被降解。生物预处理中研究最多的是白腐菌, 白腐菌分解木质素能力较强, 能有效地选择性分解木质纤维物质中的木质素。张变英等^[29] 比较了白腐菌、黑曲霉对甘蔗渣降解能力, 发现白腐菌对甘蔗渣的降解能力比黑曲霉高。Camassola 等^[30] 用白腐菌凤尾菇 PS2001 对蔗渣进行预处理, 并加入了尖苞谷青霉菌(产生纤维素酶和木聚糖酶)。该法处理条件温和, 对环境无污染, 但白腐菌凤尾菇 PS2001 在降

解木质素过程中会消耗部分纤维素和半纤维素,影响糖得率。刘健等^[31]利用一株产木质素降解酶的白腐菌 *Ceripriopsis* sp. 以固态发酵形式对甘蔗渣进行预处理,选择性降解其中的木质素,获得最佳条件为培养基中含水量为 80%,麸皮含量为 5%,初始 pH=4.0,培养温度为 28℃,发酵时间为 14 d,获得的糖产率最大达 20.6%。生物预处理的优点是条件温和、能耗低、对环境无污染,但处理周期长,且水解得率很低。

2 纤维素水解制备还原糖

纤维素水解是利用蔗渣(髓)生产生物乙醇的关键步骤,预处理获得的纤维素经水解转化为单糖。最早的纤维素水解是采用浓酸或稀酸水解,在 200~240℃、酸浓度为 1.5%(V/V)的条件下(H₂SO₄、HCl 等稀酸)可实现纤维素晶体的水解,但该条件下葡萄糖会降解生成 HMF 和其它副产物^[8]。Ojumu 等^[32]认为间歇水解过程需要非常低的酸性和高温条件。而高度专一的纤维素酶的出现使纤维素酶法水解得以实现,虽然酶水解过程较酸水解过程所需时间长,但酶水解过程葡萄糖不会进一步降解为其他物质,从而更有利于下一步的糖发酵。

酶水解是建立在纤维素酶对底物的高度专一性上的,其中纤维素酶和半纤维素酶分别降解纤维素和半纤维素。纤维素中含有葡聚糖,半纤维素含有多种不同的糖,如甘露聚糖、木聚糖、葡聚糖、半乳聚糖和阿拉伯糖等。纤维素分解酶包括内切、外切葡聚糖酶

和 β-1,4-葡萄糖苷酶,而半纤维素酶类更为复杂,至少由 8 种酶组成,其中包括 β-木聚糖酶、β-甘露聚糖酶等内切型酶和 β-葡萄糖苷酶、β-木糖苷酶、β-甘露糖苷酶等外切型酶以及阿拉伯糖苷酶、半乳糖苷酶、乙酰木聚糖苷酶等^[33]。已有文献报道商业酶可将蔗渣转化为可发酵性糖。纤维素酶对纤维素原料进行酶水解,产率高且经济可行。Hernández-Salas 等^[13]对蔗渣和酶水解过程中纤维素酶、脂肪酶和戊聚糖复合酶的不同配方进行了优化,在碱-酶水解过程中,蔗渣所得还原糖产率为 11%~20%,水解液中葡萄糖浓度较高。Martín 等^[34]采用纤维二糖酶的混合物对蔗渣进行预处理,使其糖化,所得水解液中糖的组成与报道的化学法处理相似。他们同时研究了湿式氧化预处理对蒸馏的影响及对蔗渣酶转化的影响,湿式氧化预处理可促进纤维素的酶转化,在 195℃及碱性 pH 条件下处理 15 min,纤维素转化率最高达 74.9%,并发现木聚糖也有部分转化^[20]。在水解时间 24 h 后纤维素大部分已转化,而水解时间从 24 h 增加到 48 h,转化率仅有少量增加。

3 糖发酵生产生物乙醇

经水解糖化过后的生物质,在多种微生物共同作用下便可发酵生产生物乙醇,其发酵工艺如表 2 所示。纤维素水解产物常用的发酵方法是分步糖化和发酵(SHF)、同步糖化发酵法(SSF)、同时糖化和共发酵法(SSCF)以及联合生物加工(CBP)法^[33]。

表 2 蔗渣(髓)水解液发酵工艺

Table 2 Fermentation of hydrolysis from sugarcane bagasse (pith)

Previous pretreatment	Microorganism	Conditions	Ethanol yield	References
Acid hydrolysis with H ₂ SO ₄	<i>Pachysolen tannophilus</i> DW06	Batch fermentation at 30℃, 14 h, pH value 5, air flow 0.1 vvm, 150 r/min	Ethanol yield of 34%, concentration of 19 g/L	[9]
Acid hydrolysis with HCl	Non-recombinant <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Batch fermentation at 30℃ during 48 h	Ethanol yield of 14.11%, concentration of 5 g/L	[13]
	<i>Candida shehatae</i> NCIM 3501	Batch fermentation at 30℃, 24 h, 150 r/min	Ethanol yield of 48%, concentration of 8.67 g/L	[14]
Alkaline treatment and enzymatic saccharification	Non-recombinant <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Batch fermentation at 30℃ during 48 h	Ethanol yield for depithed bagasse of 32.57%, concentration of 12.5 g/L; Ethanol yield for pith bagasse of 25.76%, concentration of 12.9 g/L	[15]
H ₂ SO ₄ -catalysed steam pretreatment	Adapted xylose-utilizing recombinant <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30℃, 24 h	Ethanol yield of 38%	[39]
	Non-adapted xylose-utilizing recombinant <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	30℃, 24 h	Ethanol yield of 18%	[39]

SHF 糖化和发酵是在不同反应器中进行的,该法最常用的微生物是酿酒酵母,而酿酒酵母只能发酵水解液中的己糖,对戊糖不起作用。其优点是糖化和发酵都可在最佳条件下进行,但由于水解产物的积累会对纤维素酶的活力产生抑制作用,导致产率降低、成本大大增加^[33]。Detroy 等^[35]采用分步水解发酵法对稻壳和蔗渣进行处理,添加 10 FPU/g 固体物的酶,在 50℃ 发酵 72 h,酶解率低于 10%。

在 SHF 糖化和发酵过程中产生的纤维二糖、葡萄糖等会对纤维素酶产生抑制作用,使得 SSF 得到了发展。SSF 是将糖化和发酵在同一个反应器内完成,这样水解产生的葡萄糖可被酵母菌株直接发酵利用,能减轻葡萄糖对纤维素酶的抑制作用,并且发酵后产生的乙醇可避免发酵液被微生物侵袭^[36],从而提高糖化和乙醇发酵效率。但由于最佳水解温度(45~50℃)和最佳发酵温度(20~30℃)不一致,SSF 通常在 35~38℃ 下进行。该法需要一种耐热的发酵乙醇的微生物。

随着基因工程技术的发展和应用,出现了能同时发酵戊糖和己糖的工程菌如大肠杆菌 K011,使戊糖和己糖在同一反应器中发酵成为可能,从而实现了同步糖化共发酵(SSCF)^[37]。与 SHF 和 SSF 相比,该法减轻了水解产物抑制作用,简化了设备,缩短了发酵周期。2003 年,Teixeira 等^[38]以白杨木和甘蔗渣为原料同步糖化共发酵生产生物乙醇,并对过氧乙酸与碱预处理相结合的有效性进行了评价。分别采用 6%(W/W)的 NaOH 与 15%(W/W)的过氧乙酸预处理和只用 15%(W/W)的过氧乙酸预处理过的白杨木和甘蔗渣,在发酵单胞菌 CP4/pZB5 作用下,进行同步糖化共发酵,所得乙醇产率分别为 92.8%和 91.9%。

CBP 方法的特点是纤维素酶的产生、水解糖化和乙醇发酵在同一个反应器中进行。该法不需购买酶,生产成本较其他方法低,但由于未找到具有高乙醇产率、高乙醇耐受性且能产生 CBP 全过程所需酶的微生物或微生物群落,CBP 技术目前仍不成熟,周期长(8~12 d)、发酵的乙醇浓度产量都较低^[33]。

4 展望

由于化石燃料将不可避免地耗尽,生物乙醇作为理想的替代能源之一受到越来越多的关注。但目前大部分生物乙醇都利用粮食原料生产而来,其产量已不能满足日益增长的能源需求,来源丰富价格低廉的蔗渣(髓)是生产生物乙醇最适合替代原料之一。

蔗渣(髓)生产生物乙醇的研究与应用虽已取得

了一定的进展,但仍有一些需要解决的关键问题,如预处理能耗过大,如何降低其成本;纤维素水解糖化过程中酸的回收和设备腐蚀;低成本高活性纤维素酶的生产技术;如何降低纤维素酶成本;如何提高酶催化效率,使纤维素半纤维素高效解聚产生可发酵单糖;如何获得高效的戊糖和己糖的混合糖发酵乙醇工艺等等,都还有待深入研究。

参考文献:

- [1] 庄新妹,王树荣,袁振宏,等. 纤维素超低酸水解产物的分析[J]. 农业工程学报,2007,23(2):177-182.
Zhuang X S, Wang S R, Yuan Z H, et al. Analysis of cellulose hydrolysis products in extremely low acids[J]. Transactions of the CSAE, 2007, 23(2): 177-182.
- [2] 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(7/8):1141-1146.
He B H, Lin L, Sun R C, et al. Chemical hydrolysis of lignocellulosics into fermentable sugars[J]. Progress in Chemistry, 2007, 19(7/8): 1141-1146.
- [3] 李盛贤,贾树彪,顾立文. 利用纤维素原料生产燃料酒精的研究进展[J]. 酿酒,2005,32(2):13-16.
Li S X, Jia S B, Gu L W. The research headway of producing fuel alcohol from cellulose[J]. Liquor Making, 2005, 32(2): 13-16.
- [4] 杨艳,卢滇楠,李春,等. 面向 21 世纪的生物能源[J]. 化工进展,2002,21(5):299-322.
Yang Y, Lu D N, Li C, et al. Promising bioenergy in the 21st century[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2002, 21(5): 299-322.
- [5] Kim S, Dale B E. Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues[J]. Biomass Bioenergy, 2004, 26(4): 361-375.
- [6] 马改艳,徐学荣. 对当前我国甘蔗产业发展形势的分析[J]. 云南农业大学学报:社会科学版,2013,7(6):29-35.
Ma G Y, Xu X R. Analysis and deliberation on the current development situation of China's sugar industry[J]. Journal of Yunnan Agricultural University: Social Science, 2013, 7(6): 29-35.
- [7] 姜毅,雷光鸿,魏承厚,等. 甘蔗渣高值化综合利用对策的研究[J]. 轻工科技,2013(11):11-12.
Jiang Y, Lei G H, Wei C H, et al. Comprehensive utilization of bagasse high value countermeasure research[J]. Light Industry Science and Technology, 2013(11): 11-12.
- [8] Cardona C A, Quintero J A, Paz I C. Production of bioethanol from sugarcane bagasse: Status and perspectives[J]. Bioresource Technology, 2010, 101: 4754-4766.
- [9] Cheng K K, Cai B Y, Zhang J A, et al. Sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for ethanol production by acid
Guangxi Sciences, Vol 22 No 1, February 2015

- recovery process[J]. *Biochem Eng J*, 2008, 38:105-109.
- [10] Gámez S, Ramírez J A, Garrote G, et al. Manufacture of fermentable sugar solutions from sugar cane bagasse hydrolyzed with phosphoric acid at atmospheric pressure[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52:4172-4177.
- [11] Gámez S, González-Cabriaes J J, Ramírez J A, et al. Study of the hydrolysis of sugarcane bagasse using phosphoric acid[J]. *J Food Eng*, 2006, 74:78-88.
- [12] Pattra S, Sangyoka S, Boonmee M, et al. Bio-hydrogen production from the fermentation of sugarcane bagasse hydrolysate by *Clostridium butyricum* [J]. *Int J Hydrogen Energy*, 2008, 33:5256-5265.
- [13] Hernández-Salas J M, Villa-Ramírez M S, Veloz-Rendón J S, et al. Comparative hydrolysis and fermentation of sugarcane and agave bagasse [J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100, 1238-1245.
- [14] Chandel A K, Kapoor R K, Singh A, et al. Detoxification of sugarcane bagasse hydrolysate improves ethanol production by *Candida shehatae* NCIM 3501 [J]. *Bioresour Technol*, 2007, 98:1947-1950.
- [15] Rodriguez-Chong A, Ramirez J A, Garrote G, et al. Hydrolysis of sugarcane bagasse using nitric acid: A kinetic assessment [J]. *J Food Eng*, 2004, 61:143-152.
- [16] Peng F, Ren J L, Xu F, et al. Comparative study of hemicelluloses obtained by graded ethanol precipitation from sugarcane bagasse [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(17):6305-6317.
- [17] Pandey A, Soccol C R, Nigam P, et al. Biotechnological potential of agro-industrial residues. I. sugarcane bagasse [J]. *Bioresour Technol*, 2000, 74 (2):69-80.
- [18] Sendelius J. Steam Pretreatment Optimisation for Sugarcane Bagasse in Bioethanol Production [D]. Sweden: Master of Science Thesis Lund University, 2005.
- [19] Martín C, Galbe M, Nilvebrant N O, et al. Comparison of the ferment ability of enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse pretreated by steam explosion using different impregnating agents [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2002, 98-100:699-716.
- [20] Martín C, Klinke H B, Thomsen A B. Wet oxidation as a pretreatment method for enhancing the enzymatic convertibility of sugarcane bagasse [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2007, 40:426-432.
- [21] Martín C, González Y, Fernández T, et al. Investigation of cellulose convertibility and ethanolic fermentation of sugarcane bagasse pretreated by wet oxidation and steam explosion [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 2006, 81:1669-1677.
- [22] Kuo C H, Lee C K. Enhanced enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse by N-methylmorpholine-N-oxide pretreatment [J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100:866-871.
- [23] Lee Y J, Chung C H, Day D F. Sugarcane bagasse oxidation using a combination of hypochlorite and peroxide [J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100, 935-941.
- [24] Pasquini D, Pimenta M T B, Ferreira L H, et al. Sugarcane bagasse pulping using supercritical CO₂ associated with co-solvent 1-butanol/water [J]. *J Supercrit Fluids*, 2005, 34:125-131.
- [25] Pasquini D, Pimenta M T B, Ferreira L H, et al. Extraction of lignin from sugarcane bagasse and *Pinus taeda* wood chips using ethanol-water mixtures and carbon dioxide at high pressures [J]. *J Supercrit Fluids*, 2005, 36:31-39.
- [26] Tu Q, Fu S, Zhan H, et al. Kinetic modeling of formic acid pulping of bagasse [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56:3097-3101.
- [27] Rezayati-Charani P, Mohammadi-Rovshandeh J, Hashemi S J, et al. Influence of dimethyl formamide pulping of bagasse on pulp properties [J]. *Bioresour Technol*, 2006, 97, 2435-2442.
- [28] Boussarsar H, Rogé B, Mathlouthi M. Optimization of sugarcane bagasse conversion by hydrothermal treatment for the recovery of xylose [J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100(24):6537-6542.
- [29] 张变英, 王世长, 王芳, 等. 白腐真菌和黑曲霉对甘蔗渣降解的影响研究 [J]. *饲料工业*, 2006, 27(20):18-20.
Zhang B Y, Wang S C, Wang F, et al. Effect research of fomes lignosus coke and *Aspergillus niger* van tieghem on bagasse degradation [J]. *Feed Industry*, 2006, 27(20):18-20.
- [30] Camassola M, Dillon A J P. Biological pretreatment of sugar cane bagasse for the production of cellulases and xylanases by *Penicillium echinulatum* [J]. *Ind Crops Prod*, 2009, 29:642-647.
- [31] 刘健, 邬小兵, 龙传南, 等. 白腐菌预处理甘蔗渣促进水解的研究 [J]. *化工进展*, 2012, 31(s):104-107.
Liu J, Wu X B, Long C N, et al. Research on pretreatment by white-rot fungi for the contribution to hydrolysis of bagasse [J]. *Chemical Industry And Engineering Progress*, 2012, 31(s):104-107.
- [32] Ojumu T V, Ogunkunle O A. Production of glucose from lignocellulosic under extremely low acid and high temperature in batch process, autohydrolysis approach [J]. *J Appl Sci*, 2005, 5(1):15-17.
- [33] 樊超, 邱忠平, 华建军. 农业废弃物发酵生产乙醇研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(32):19961-19964.
Fan C, Qiu Z P, Hua J J, et al. Research progress of ethanol production from the fermentation of agricultural wastes [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(32):19961-19964.

(下转第 93 页 Continue on page 93)

- [5] Behr A, Eilting J, Irawadi K, et al. Improved utilisation of renewable resources: New important derivatives of glycerol [J]. *Green Chem*, 2008, 10: 13-30.
- [6] Zhou C H, Beltramini J N, Fan Y, et al. Chemoselective catalytic conversion of glycerol as a biorenewable source to valuable commodity chemicals [J]. *Chem Soc Rev*, 2008, 37: 527-549.
- [7] Kusunoki Y, Miyazawa T, Kunimori K, et al. Highly active metal-acid bifunctional catalyst system for hydrogenolysis of glycerol under mild reaction conditions [J]. *Catalysis Communications*, 2005, 6: 645-649.
- [8] Cho M H, Joen S I, Pyo S H, et al. A novel separation and purification process for 1,3-propanediol [J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41: 739-744.
- [9] Miyazawa T, Koso S, Kunimori K, et al. Development of a Ru/C catalyst for glycerol hydrogenolysis in combination with an ion-exchange resin [J]. *Applied Catalysis A: General*, 2007, 318: 244-251.
- [10] Huang L, Zhu Y L, Zheng H Y, et al. Direct conversion of glycerol into 1,3-propanediol over Cu-H₄SiW₁₂O₄₀/SiO₂ in vapor phase [J]. *Catal Lett*, 2009, 131: 312-320.
- [11] Vasiliadou E S, Heracleous E, Vasalos I A, et al. Ru-based catalysts for glycerol hydrogenolysis—Effect of support and metal precursor [J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2009, 92: 90-99.
- [12] Qin L Z, Song M J, Chen C L. Aqueous-phase deoxygenation of glycerol to 1,3-propanediol over Pt/WO₃/ZrO₂ catalysts in a fixed-bed reactor [J]. *Green Chem*, 2010, 12: 1466-1472.
- [13] Gong L F, Lua Y, Ding Y J, et al. Selective hydrogenolysis of glycerol to 1,3-propanediol over a Pt/WO₃/TiO₂/SiO₂ catalyst in aqueous media [J]. *Applied Catalysis A: General*, 2010, 390: 119-126.
- [14] Nakagawa Y, Shinmi Y, Koso S, et al. Direct hydrogenolysis of glycerol into 1,3-propanediol over rhenium-modified iridium catalyst [J]. *J Catal*, 2010, 272(2): 191-194.
- [15] Bolado S, Treviño R E, García-Cubero M T, et al. Glycerol hydrogenolysis to 1,2-propanediol over Ru/C catalyst [J]. *Catalysis Communications*, 2010, 12: 122-126.
- [16] Amada Y, Shinmi Y, Koso S, et al. Reaction mechanism of the glycerol hydrogenolysis to 1,3-propanediol over Ir-ReOx/SiO₂ catalyst [J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2011, 105: 117-127.

(责任编辑: 尹 闯)

(上接第 77 页 Continue from page 77)

- [34] Martín C, Galbe M, Nilvebrant N O, et al. Comparison of the ferment ability of enzymatic hydrolysates of sugarcane bagasse pretreated by steam explosion using different impregnating agents [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2002, 98-100: 699-716.
- [35] Detroy R W, Lindenfelser L A, Julian J R, et al. Saccharification of wheat-straw cellulose by enzymatic hydrolysis following fermentative and chemical pretreatment [J]. *Biotechnology and Bioengineering Symposium*, 1980, 10: 135-148.
- [36] 卓治非, 房桂干, 施英乔, 等. 木质纤维转化制燃料乙醇的研究进展 [J]. *黑龙江造纸*, 2013, 41(3): 7-12.
Zhuo Z F, Fang G G, Shi Y Q, et al. Research advances in production of fuel ethanol from lignocellulosic [J]. *Heilongjiang Pulp & Paper*, 2013, 41(3): 7-12.
- [37] 王璀璨, 王义强, 陈介南, 等. 木质纤维生产燃料乙醇工艺的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2010(2): 51-57, 62.
Wang C C, Wang Y Q, Chen J A, et al. Research progress of technological processes in fuel ethanol production from lignocellulosic biomass [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2010(2): 51-57, 62.
- [38] Teixeira L C, Linden J C, Schroeder H A. Optimizing peracetic acid pretreatment conditions for improved simultaneous saccharification and co-fermentation (SS-CF) of sugarcane bagasse to ethanol fuel [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2003, 84-86 (1-9): 111-127.
- [39] Martín C, Marcet M, Almazán O, et al. Adaptation of a recombinant xylose-utilizing *Saccharomyces cerevisiae* strain to a sugarcane bagasse hydrolysate with high content of fermentation inhibitors [J]. *Bioresour Technol*, 2007, 98: 1767-1773.

(责任编辑: 米慧芝, 黎贞崇)