

张爱萍, 谢君. 生物质制乙醇预处理方法的研究进展[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(4): 77-84.

生物质制乙醇预处理方法的研究进展

张爱萍, 谢君

(华南农业大学 新能源与新材料研究所, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】为应对日益严峻的能源和环境污染问题,综述了木质纤维生物质制备乙醇的原料预处理方法,为广大科研工作者提供了该研究领域的最新研究进展,展望了可再生木质纤维原料高值化利用的新思路 and 新技术。【方法】查阅了国内外生物质原料预处理制备生物乙醇的主要研究方法,并进行了归纳总结,提出各种预处理方法存在的优缺点。【结果和结论】利用可再生的木质纤维生物质发酵制取乙醇得到了广泛的研究,由于木质纤维原料结构复杂,直接转化效率低,木质素和半纤维素水解产物对纤维素水解和发酵具有明显的抑制作用。木质纤维原料预处理是提高乙醇得率的有效途径,通过预处理,去除植物细胞壁中木质素和半纤维素组分,降低木质素和半纤维素水解产物对后续乙醇发酵的抑制作用,同时降低纤维素结晶度,提高原料的多孔性,从而提高纤维素酶对纤维素的水解效率。

关键词:木质纤维生物质; 预处理; 乙醇

中图分类号:S789

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2014)04-0077-08

Pretreatment method for production of bioethanol with lignocellulosic material

ZHANG Aiping, XIE Jun

(Institute of New Energy and New Material, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】With the increasing concerns on energy crisis and environmental problems, the production of bioethanol from renewable and readily available lignocellulosic biomass has received considerable attention around all over the world. The pretreatment methods of lignocelluloses for bioethanol production are reviewed in this paper to provide the new progress and new ideas for the production of value-added products from lignocellulosic materials. 【Method】The primary pretreatment methods of lignocelluloses from the literatures are discussed and their advantages and disadvantages are comparatively investigated. 【Result and conclusion】Because of the complex structure, the conversion of lignocellulose into bioethanol is inefficient due to the crystalline structure of cellulose. The degraded hemicelluloses and lignin in the hydrolyzates produced also cause inhibition in the subsequent fermentation stage and lead to a low bioethanol yield. To obtain a high overall bioethanol yield and achieve an economically feasible production process, the destruction of cellulose crystalline structure and the removal of lignin and hemicelluloses prior to fermentation has the potential to provide the effective bioethanol production. Therefore, many pretreatment methods are applied to destroy the crystalline structure of cellulose, improve the accessibility and hydrolysis efficiency of interior cellulosic macromolecules, and remove lignin and hemicellulo-

收稿日期:2013-10-09 优先出版时间:2014-06-03

优先出版网址:<http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7671/j.issn.1001-411X.2014.04.015.html>

作者简介:张爱萍(1980—)女,教授,博士,E-mail: aiping@scau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金(31170555);教育部博士点新教师基金(20114404120011);广东省教育厅育苗工程项目(LYM11028)

ses as well as avoid the inhibitory degradation products.

Key words: lignocellulosic material; pretreatment; bioethanol

随着社会的发展和人口的增加,能源与环境问题成为制约人类可持续发展的主要因素.发展生物能源替代不可再生矿物能源是解决这一问题的有效途径.生物乙醇是一种重要的生物能源,并且随着社会的发展需求量持续升高.传统制取生物乙醇的材料主要是可食用的原料,例如蔗糖和玉米淀粉等.而利用可食用原料制取乙醇,原料供应难以满足日益增长的乙醇的需求,且生产乙醇的成本高,其中原料的费用占生产乙醇成本的40%~70%.而生物质,如农林废弃物等作为一种可再生资源用来开发制取乙醇既可以解决废弃物对环境的影响,又可以使之变废为宝,具有经济和对环境友好的特点.

利用生物质纤维原料制取乙醇的主要挑战是:如何经济、有效地将植物细胞壁中的纤维素转化成可发酵的糖,以利于后续生物菌对其发酵制取乙醇.纤维素、半纤维素和木质素是植物细胞壁中的三大主要组分,其中纤维素主要由吡喃型葡萄糖酐组成,可以在适当的条件下转化成葡萄糖,而葡萄糖是发酵制乙醇的主要物质.半纤维素主要由六碳糖和五碳糖组成,主要包括葡萄糖、甘露糖,阿拉伯糖和木糖,其中木糖占比例最大.而目前,将五碳糖转化发酵制取乙醇的技术还不够成熟.木质素是由苯基丙烷结构单元通过碳碳键和醚键连接而成的具有三维空间结构的芳香族高分子化合物.在现有技术条件下,它不能直接或间接地转化成乙醇^[1].木质素将纤维素和半纤维素粘合在一起,在植物中起到保持植物的挺拔性、结构的紧实度和防止植物润胀的作用.而木质素在植物细胞壁中的含量和分布,是限制酶对生物质原料的可及性及抵抗酶降解生物质原料的主要问题.因此,对生物质中的木质素进行降解,可以提高生物酶对纤维素和半纤维素的可及性.直接用生物质纤维原料发酵制取乙醇,乙醇得率非常低.开发经济有效的方法对生物质纤维原料进行预处理以除掉原料中的木质素或/和半纤维素、降低纤维素的结晶度、使原料多孔性,从而提高酶对纤维素的水解释放出更多的糖^[2],有利于后续过程中生物酶发酵葡萄糖制取乙醇,提高乙醇得率的技术被广大研究者重视.目前预处理技术主要分为以下几种:生物预处理、物理预处理、化学预处理和物理-化学预处理.

1 生物预处理技术

生物预处理技术主要是利用可对纤维素、半纤维素或木质素产生降解的菌或者生物酶处理植物纤维原料,以促进其后酶对碳水化合物水解和发酵.

在低温下,利用酶作催化剂直接将纤维素转化成葡萄糖,可以在得到高得率糖的同时减少毒性化合物的生成,是一种较有潜力的预处理方法.但是,利用纤维素酶直接处理原料,纤维素转化成单糖的速率非常慢,这是因为纤维素被半纤维素和木质素包裹,纤维素酶难以接触到纤维素.因此,为了提高纤维素酶的水解效率需要将纤维素暴露出来,或者增加原料的多孔性,使酶能较易接触到纤维素,从而将其水解成单糖.

研究者利用白腐菌 *Phanerochaete chrysosporium*、褐腐菌 *Monilia fruticola* 和软腐菌 *Aspergillus niger* 对木质纤维原料进行处理,发现白腐菌是对生物质原料预处理最有效的菌种^[3].因为它可以选择性地对原料中的木质素产生降解.如今,利用白腐菌对纤维原料预处理得到了广泛的研究^[4-5],其中利用平菇菌 *Pleurotus florida* 对麦草原料处理60 d,约30%的纤维素水解成葡萄糖^[6].Hattaka等^[7]对平菇菌 *P. ostreatus* 预处理麦草原料进行了研究,发现处理35 d后,植物细胞壁中35%的纤维素转化成了葡萄糖.研究发现,利用对木质素产生降解的菌种处理原料,并非其对木质素降解程度越高,后续纤维素酶水解时糖的得率越高^[8-9].生物法降解木质纤维原料是一个复杂的过程,影响因素较多,包括腐菌的种类、处理条件、菌分泌酶的情况和氧化机理等^[10-11].

利用不同菌种分泌的纤维素酶混合物或者纤维素酶与其他酶混合协同作用水解木质纤维原料得到了广泛的研究.据研究,较里氏木霉 *Trichoderma reesei* 纤维素酶体系单独水解,将 β -葡聚糖酶添加到里氏木霉纤维素酶体系中共同水解植物纤维原料可以达到更好的糖化效果,这是因为 β -葡聚糖酶可以水解能抑制纤维素酶活性的纤维二糖^[12].而将半纤维素酶或者果胶酶与纤维素酶共同作用于植物纤维原料可以进一步提高纤维素的转化^[13].将菌种焦曲霉 *Aspergillus ustus* 和绿色木霉 *T. viride* 中产生的纤维素酶混合在一起,水解经质量分数为8%的氢氧化

钠处理过的甘蔗渣,可以将原料中90%的纤维素糖化^[14].

生物预处理技术虽然被认为是一种从原料中释放出糖的有效方法,且具有低能耗、无化学药品添加和对环境友好的优点,但是由于耗时长、费用高等缺点而制约其工业化应用.

2 物理预处理技术

物理预处理技术主要是指利用机械作用力、蒸汽和热解等方法使原料粉碎或者表面性能发生物理变化产生多孔性或者降低纤维素的结晶度等. 主要手段有:精磨、热水、高压、 γ -射线、微波等.

对生物质原料进行精磨可以改变原料的超微结构、结晶度和降低原料的尺寸,从而提高纤维素酶对纤维素的可及性. 研究发现,颗粒分别为53~75 μm 和425~710 μm 的玉米秆,经同样条件的热水处理和酶解后,前者乙醇得率为后者的1.5倍^[15]. 利用震荡球磨机对原料进行精磨较其他球磨方式具有更好地降低纤维素结晶度的作用,从而可进一步提高纤维素酶对纤维素的降解性. 而精磨做为一种预处理技术,其缺点为高能耗,并且经磨制后原料中的木质素不能除掉,从而限制了纤维素酶对纤维素的作用^[16]. 利用 γ -射线预处理生物质原料可以破坏纤维素的结晶区,提高酶对生物质原料的水解效果. 研究发现,利用照射的方法对蔗渣原料进行预处理,葡萄糖得率为未进行 γ -射线照射样品的2倍^[17]. 但是,利用照射的方法预处理成本较高,难以进行工业应用.

利用热水对木质纤维原料进行蒸煮,早在几十年前已用于制浆工业. 水在高压下可以渗透进入生物质原料中,除掉半纤维素和部分木质素. 利用热水对生物质原料预处理的主要优点是:无需添加化学药品,无需抗腐蚀材料制成的反应釜,且不需要将原料加工粉碎成细的粉末. 经热水预处理后,半纤维素变成水溶性寡糖,较易从非水溶性的木质素和纤维素中分离出来,同时热水预处理增加了酶对纤维素的可及性. 与蒸汽预处理相比,热水预处理后戊聚糖的回收率高并且生成的酶抑制组分较低. 温度为160 $^{\circ}\text{C}$,利用热水预处理无淀粉的玉米20 min,可以溶解原料中75%的木聚糖^[18]. 在220 $^{\circ}\text{C}$,未添加任何化学药品的条件下,热水预处理苜蓿草2 min即可溶解原料中所有的半纤维素并除掉部分木质素^[19]. Laser等^[20]比较了热水预处理和蒸气预处理蔗渣的效果,发现2种方法均可以提高后续酶的水解,但是,热水

预处理木聚糖的回收率较蒸汽预处理高. 其中蒸气预处理的适宜条件为温度高于220 $^{\circ}\text{C}$,处理时间小于2 min和较低的固体浓度(质量分数小于5%). 据报道,热水处理过程中金属助催化剂的加入可以明显提高半纤维素的转化率和糖的得率^[21-22]. Yu等^[23]考察了7种无机金属盐对甜高粱渣高温液态水水解的影响,发现与碱金属盐(NaCl和KCl)和碱土金属(CaCl_2 和 MgCl_2)相比,过渡金属盐(FeCl_3 、 FeCl_2 和 CuCl_2)能更好地促进单糖释放,这可能是在高温液态水中过渡金属与多糖之间形成的稳定配合物中间体可以促进水解反应的进行.

近几年,利用离子液体预处理生物质原料得到了研究^[24-25]. 研究者认为,离子液体可以破坏聚糖链之间的氢键,降低纤维素的紧度,从而使碳水化合物组份易于水解. 近期研究发现,离子液体中添加金属或者酸催化剂,可以进一步提高离子液体处理后木质纤维原料中碳水化合物的转化率.

将软枝草 *Panicum virgatum* 溶解在咪唑类离子液体中,并向其中加入一定比例的盐酸和水,对软枝草进行酸解,然后向上述反应体系中加入氢氧化钠对酸解后释放出的糖进行萃取回收,最高可得到53%的葡萄糖和88%的木糖^[26].

Li等^[27]在离子液体1-丁基-3-甲基咪唑氯盐中加入盐酸作为催化剂,对棉秆、稻草、松木和甘蔗渣在100 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下水解60 min,总还原糖的得率可达81%. 另有研究表明,温度为120 $^{\circ}\text{C}$ 时,利用盐酸在离子液体中催化水解火炬松,所有的碳水化合物组分均可以转化成水溶性的产物(单糖、低聚糖、糠醛和羟甲基糠醛)^[28]. 向加有酸催化剂的离子液体1-乙基-3-甲基咪唑氯盐中逐渐加入水,生物质原料可以转化成高得率的单糖,反应温度105 $^{\circ}\text{C}$,离子液体中水的体积分数为43%时,葡萄糖的得率可达90%^[29].

物理预处理技术由于其不能直接对纤维中的木质素作用,而木质素的存在对后续纤维素酶的水解造成极大的抑制作用,因此物理预处理技术一般跟化学预处理方法相结合才能达到较理想的效果.

3 化学预处理技术

化学预处理技术主要是利用化学试剂对原料中的半纤维素或木质素作用,以提高后续处理中纤维素的水解效率. 此外,还可以选用可溶解纤维素的溶剂,将纤维素从原料中溶出,以利于后续纤维素酶对纤维素的水解. 常见的化学预处理技术主要包括:酸

水解、碱水解、臭氧解和氧化预处理等方法。

3.1 酸水解

在一定条件下,利用酸对生物质原料进行处理,可以溶解半纤维素,从而提高后续处理过程中纤维素酶对纤维素的可及性。所使用的酸包括:硫酸、盐酸、氢氟酸、磷酸、硝酸和甲酸,其中使用得最多的是硫酸。酸预处理过程中既可以使用稀酸也可以使用浓酸。酸预处理过程中发生的主要反应是半纤维素的水解,生成糠醛等可挥发性的产物,同时会有部分溶解的木质素发生缩合沉淀^[30]。这些反应在强酸预处理过程中较稀酸预处理过程中更易发生。

在低温下,利用浓酸水解生物质原料,糖的得率较高,但是高浓度的酸容易腐蚀设备^[31]。稀酸预处理原料最大的优点在于其较低的酸消耗量。但是,只有在较高的温度下,纤维素才可以水解得到高得率的葡萄糖,而同时,高温可以造成半纤维素水解糖的沉积以及设备的腐蚀,水解后糖的降解产物也会抑制后续发酵。高温处理,在较短的时间内葡萄糖的得率即可达到最高值,但是葡萄糖的得率也只有理论得率的50%~60%。

为了最大限度地提高纤维素和半纤维素中糖的回收率,研究者开发了不同的预处理条件。Nguyen等^[32]利用2段稀酸预处理的方法水解质量分数分别为70%的杉木和30%的松木。第1段预处理是利用质量分数为2.66%的硫酸,在180℃的条件下处理4min,第2段预处理是利用质量分数为2.5%的硫酸,在215℃的条件下处理1.5min,半纤维素糖和葡萄糖的得率为理论得率的82%。Söderström等^[33]研究了利用二氧化硫在不同的条件下分2段预处理原料,得出最佳条件为:质量分数为3%的二氧化硫,在190℃的条件下处理2min,然后在220℃的条件下处理5min,糖的得率为理论得率的80%,而1段预处理糖的得率仅为66%。2段预处理技术因为其高的乙醇得率、原料的高效利用等得到了广泛关注。

Shuai等^[34]提出了一种利用硫酸(绝干原料质量的5%)中加入亚硫酸钠(绝干原料质量的9%)的方法(SPOLR)对植物细胞壁进行预处理,并将该方法与稀酸预处理的方法相比较,在180℃的条件下处理磨碎后过40木筛的花旗松 *Pseudotsuga menziesii* 30min,该方法不但可以溶解原料中的半纤维素、对纤维素进行解聚,还可以溶解原料中32%的木质素,且磺化原料中残余的木质素,从而降低酶和木质素间的疏水作用。预处理后的原料中五碳糖和六碳糖的回收率是87.9%。而利用稀酸(绝干原料质量的5%)来处理该原料,仅回收得到56.7%的糖。利用酶

对回收所得糖进行发酵,其中利用SPOLR方法预处理得到的残余物中纤维素转化成葡萄糖的得率为91%,而稀酸预处理所得底物中纤维素糖化所得葡萄糖的得率为55%。目前,该方法被认为是较有发展潜力的预处理方法。

酸预处理的重大优势在于可以溶解细胞壁中的半纤维素,从而增加酶对纤维素的可及性。但是在处理过程中部分溶解的木质素沉淀会降低原料的可降解性。稀酸较强酸预处理更有发展潜力,因为稀酸预处理过程中可以避免上述二次反应的发生。

3.2 碱水解

碱处理生物质原料可以降解植物细胞壁中的木质素和半纤维素,从而提高后续过程中酶对纤维素的水解效率。常用的碱有氢氧化钠、氢氧化钙或者氨等,经过碱处理后,原料的糖化效率显著提高,葡萄糖得率显著增加。但是碱处理较适宜禾本科原料,而对木材原料效果相对较差。

碱处理一般是在低温、高浓度的条件下处理相对较长的时间或者高温的条件下处理相对较短的时间。例如,在室温下,将豆秆浸泡在质量分数为10%的氨水中24h,原料中半纤维素和木质素含量分别降低41.45%和30.16%^[35]。Gáspár等^[36]利用不同质量分数(w 分别为1%和2%)的氢氧化钾和氢氧化钠,对脱淀粉后的玉米纤维在120℃、200kPa的条件下处理1h后,可将其中的半纤维素分离出来,该方法从碱处理后的溶液中回收大约80%的半纤维素,剩余的玉米纤维利用纤维素酶水解和糖化,其乙醇得率为理论得率的90%(相对于预处理后原料中葡萄糖的含量)。Silverstein等^[37]比较了硫酸、氢氧化钠、过氧化氢和臭氧处理棉秆对提高后续酶处理效果的作用。结果显示,氢氧化钠预处理脱木质素率和纤维素的转化率最高,分别为65%和60.8%。与其他预处理方法相比,碱预处理是最有效的断裂木质素与纤维素、半纤维素间酯键连接的方法^[36]。但是碱处理也会引起木质素的缩合和纤维素结晶结构的变化。这些反应的发生会降低木质素的去除率和纤维素的润胀作用,并且提高了纤维素的热稳定性^[38]。此外,碱处理会造成环境的污染。

3.3 氧化预处理

过氧化物预处理是通过将原料中的木质素氧化降解和降低纤维素结晶度,来提高后续纤维素酶对纤维素水解效率的方法^[39]。

氧化预处理是指添加氧化性化合物,例如过氧化氢和过氧乙酸,对原料进行处理的方法。主要的目的是除掉原料细胞壁中的半纤维素和木质素,提高

纤维素酶对纤维素的可及性. 氧化预处理过程中发生的主要反应是亲电取代、侧链的去除、脂肪醚键的断裂或者芳香环结构的裂解.

Zhao 等^[40] 比较了过氧乙酸、氢氧化钠和硫酸在相同的处理条件下处理紫茎泽兰 *Eupatorium adenophorum* 茎秆提高其酶水解效果的作用, 发现过氧乙酸预处理更有利于提高酶对预处理后原料的糖化, 纤维素的糖化率为 50%.

Teixeira 等^[41] 研究了在室温下过氧乙酸对桉木和蔗渣混合原料进行预处理的效果, 过氧乙酸对木质素有较好的选择性, 不会对碳水化合物作用, 造成碳水化合物的严重损失. 采用用量为绝干桉木质量 21% 的过氧乙酸预处理原料 120 h, 纤维素的酶水解得率由对照浆的 6.8% 提高到 98.3%.

Gould^[42] 研究发现过氧化氢脱木质素作用的最适 pH 为 11.5. 在 pH 低于 10 和高于 12.5 时, 利用过氧化氢预处理原料, 对提高后续酶的水解效率无效果. 依据 Gould 的研究, 利用过氧化氢处理生物质原料时, 过氧化氢的质量分数不得低于 1%, 并且过氧化氢和原料的质量比为 0.25 时, 脱木质素效果最佳. 在满足上述条件, 温度 25 °C 条件下, 对原料处理 18 ~ 24 h, 大约一半的木质素被降解. 利用体积分数为 7.5% 的过氧化氢, 在 pH 11.5、温度 35 °C 的条件下处理稻壳 24 h, 经酶水解后, 稻壳转化成糖的得率为理论值的 96%^[43]. Sun 等^[44] 研究蒸汽预处理和碱性(过氧化氢)预处理相结合对麦草进行作用发现, 蒸汽预处理过程中, 半纤维素损失严重, 同时有 11% ~ 12% 的木质素也被去除, 而在碱性(过氧化氢)处理阶段, 约有 81% ~ 88% 的木质素被除掉.

过氧化物预处理的优点在于不需要高的预处理温度和高的反应压强等, 但是过氧化物在处理生物质原料时用量大且处理时间长, 因此成本较高.

3.4 臭氧解

臭氧被广泛应用于木质纤维原料中木质素和半纤维素的降解. 利用臭氧处理木质纤维原料, 细胞壁中的木质素可以发生部分降解, 而半纤维素有少量的降解, 基本不会对纤维素产生降解. 利用臭氧处理桉木木粉, 木质素质量分数由 29% 降低为 8% 时, 酶对原料进行水解, 其水解得率由 0% 提高到 57%^[45]. 臭氧水解的主要优点是: 可以有效去除木质素, 而且处理过程中不会产生有毒物质并且臭氧处理可以在室温和常压下进行. 而其主要缺点是: 臭氧需要量大, 使得成本较高.

4 物理化学预处理技术

物理化学预处理技术是指将物理和化学处理过

程相结合的预处理技术. 常见的物理化学预处理技术主要有蒸汽爆破预处理方法(自动水解)、蒸汽爆破加二氧化硫预处理技术、氨爆破、二氧化碳爆破技术、液态热水预处理、超声-化学预处理技术.

4.1 蒸汽爆破预处理

蒸汽爆破预处理过程中, 压力被瞬间释放, 使得原料经受爆发性减压. 蒸汽爆破预处理一般是在高压情况下, 温度在 160 ~ 260 °C (相应的压强为 0.69 ~ 4.83 MPa) 之间对原料进行几秒或者几十分钟的处理^[3]. 该技术可以对原料中的半纤维素进行降解和改变木质素的结构, 并且压力的瞬间释放使得原料表面变得疏松、多孔, 从而提高酶的水解效率. 蒸汽爆破预处理具有相对能耗低、效果好的特点, 目前已在多个实验室进行研究, 并且进行了中试. 经研究发现, 适当提高蒸汽预处理温度, 可以提高半纤维素糖的释放量, 但是进一步提高温度, 会降低糖的回收率. 在 180 ~ 230 °C 温度下, 利用蒸汽爆破预处理向日葵秆, 当温度为 220 °C 时, 葡萄糖的得率最高, 而温度为 210 °C 时, 半纤维素糖的得率最高. 利用蒸汽爆破预处理方法, 在 210 °C 条件下, 对杨木处理 4 min, 纤维素的回收率为 95%, 酶水解后糖的得率为 60%, 木糖的回收率为 41%^[46].

蒸汽预处理原料时发现, 要提高糖的回收率, 纤维素和半纤维素的处理条件有所不同, 纤维素较半纤维素需要更高的处理温度. 蒸汽预处理过程中, 从原料中释放出的糖会进一步降解, 例如, 从纤维素中释放出的葡萄糖会进一步降解成 5-羟甲基糠醛、乙酰丙酸和甲酸, 半纤维素中释放出的五碳糖转化成糠醛和乙酸. 这些降解产物和木质素降解产物对后续的酶水解和发酵过程会产生抑制作用. 为了提高后续酶对纤维素的消化能力, 基于纤维素和半纤维素最佳预处理条件的不同, Kim 等^[47] 提出 2 步预处理的方法, 第 1 步主要是为了提高半纤维素糖的回收率, 第 2 步是为了提高纤维素糖的回收率. 第 1 步是在较不强烈的条件下水解半纤维素, 后将残留物进行洗涤以回收半纤维素糖, 并可防止其在后续处理中进一步降解产生酶抑制物. 第 2 步是将洗涤后的残留物再进行处理, 使纤维素软化, 从而提高其酶解效率.

蒸汽预处理或热水预处理过程中加入酸催化剂硫酸或者二氧化硫, 可以提高纤维素和半纤维素的回收率和酶解率. Eklund 等^[48] 对柳木进行蒸汽爆破预处理过程中添加了二氧化硫或者硫酸, 以提高纤维素和半纤维素的回收率, 当二氧化硫的用量为 1%, 温度为 200 °C 时, 葡萄糖的回收率最高为 95%,

但是木糖的得率不如利用稀硫酸处理高. 而 Nguyen 等^[32]研究发现, 利用 2 段酸水解预处理生物质可以使得木糖、半乳糖、甘露糖和阿拉伯糖的回收率达到 70% ~ 98%, 但是葡萄糖的回收率仅为 50%.

蒸汽爆破预处理的优点为低能耗且不会对环境造成危害, 研究发现该技术对阔叶木和草类原料效果优于其对针叶木的预处理效果^[49]. 而蒸汽爆破预处理的缺点为预处理过程中会生成抑制酶作用的化合物, 因此为了提高酶的处理效果, 需要在预处理后利用水洗处理后的生物质原料, 而在水洗的过程中, 有部分半纤维素水解后产生的水溶性糖会被一起洗涤掉, 降低了糖化率. 约占起始原料 20% ~ 25% 的组分在洗涤时被损失掉^[50].

4.2 氨纤维爆裂法

氨纤维爆裂方法是一种物理化学相结合的预处理方法. 在 90 ~ 100 °C 的条件下, 将生物质原料浸泡于液态氨中 30 min, 后瞬间减压. 经氨纤维爆裂法处理过的原料, 细胞壁中木质素的结构被改变, 或者木质素含量降低. 而纤维素和半纤维素组分基本不变. 经该法处理后的原料, 酶的水解效率被显著提高. 氨纤维爆裂法的一个主要优点是, 预处理后的原料不会形成任何抑制酶水解的副产物. 但是, 部分木质素酚型分子片段和植物细胞壁的抽出物会留在原料表面. 因此, 预处理后, 需要对原料进行水洗, 以除掉这些组分^[51]. 用氨纤维爆裂法处理过的百慕大草(木质素质量分数为 5%) 和蔗渣(木质素质量分数为 15%) 经酶水解后, 可以得到超过 90% 的纤维素和半纤维素水解产物. 而利用该方法处理木质素含量较高的新闻纸(木质素质量分数为 18% ~ 30%) 和桉木木片, 纤维素和半纤维素酶水解产物的得率均低于 50%^[52]. 而且, 为了减少成本和降低环境污染, 需要对氨水进行循环利用. 与其他预处理试剂相比, 氨具有以下几个优点: 对生物质原料较好的润胀性能; 选择性降解脱木质素的特性; 对碳水化合物的较低反应性能和高的挥发性. 氨对木质素作用主要是通过断裂木质素间碳碳键和醚键连接, 以及木质素与碳水化合物之间的醚键和酯键连接^[53]. 木质素被认为是抑制生物酶对生物质原料发酵过程的主要因素^[54], 因此, 在发酵前尽量多地除掉木质素是提高发酵过程中乙醇得率的重要手段. Kim 等^[55]开发了一种利用液态氨水来预处理生物质原料发酵乙醇的方法. 在室温、常压状态下, 将秸秆浸泡于液氨中 10 ~ 60 d, 无需搅拌, 即可除掉原料中 55% ~ 74% 的木质素, 而原料中的葡聚糖基本不变, 木聚糖的含量为预处理前的 85%. 预处理后的原料利用纤维素酶(Spe-

zyme CP) 水解, 再利用酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* D5A 糖化和发酵, 乙醇得率为理论得率的 73% (理论得率是按照葡聚糖的含量计算而得). 木糖在糖化和发酵过程中似乎会抑制纤维素酶水解葡聚糖的活性, 从而降低了乙醇得率. 而在糖化和发酵过程中利用酿酒酵母 D5A 和大肠埃希菌 *Escherich coli* KO11 相结合, 可以使葡聚糖和木聚糖很好地转化, 乙醇得率为理论值的 77% (该理论得率是按照葡聚糖和木聚糖的总含量计算而得). 该方法使得木糖也可以跟葡萄糖同时转化发酵制乙醇, 不需要从预处理溶液中分离再回收, 因此在预处理过程中木聚糖可以保留. 后来, Kim 等^[56]将预处理条件进行优化, 利用质量分数为 15% 的氨水, 在 60 °C 的条件下, 预处理秸秆 12 h, 可以除掉原料中 62% 的木质素, 预处理后原料中葡聚糖和木聚糖的含量分别为预处理前原料中对应成分的 100% 和 85%, 经发酵后乙醇得率为理论得率的 77% (理论得率是按照葡聚糖和木聚糖的总含量计算而得).

5 展望

在过去的一段时间, 生物质预处理方法得到了广泛的研究, 提高了酶处理过程中糖的回收率, 乙醇得率有所提高. 但是, 大多数的预处理方法仅在实验室进行了研究, 均存在不适宜大规模工业化推广的缺点, 限制了其工业应用. 例如, 稀酸水解法处理生物质原料易产生有毒副产物糠醛和乙醛, 该产物不但降低了糖的得率, 而且会对酶的水解和发酵产生污染. 蒸汽爆破预处理、氨爆破预处理需要在高温高压的情况下进行, 使得纤维原料细纤维化, 且对设备要求较高. 氧化预处理成本较高. 氨水预处理相对成本较低, 但是其预处理效果有待于进一步提高. 不同的预处理方法其处理效果跟原料的组分和处理条件有很大的关系, 因此, 应根据原料的类型来选择适合的预处理方法. 目前, 利用生物质预处理后发酵制取乙醇的工业生产还面临一定的挑战, 预处理方法的优化以及能将木糖和戊糖转化成乙醇的菌种的工业生产技术的实现均是加快这一步骤的有利手段.

参考文献:

- [1] HU Gang, HEITMANN J A, ROJAS O J. Feedstock pretreatment strategies for producing ethanol from wood, bark, and forest residues[J]. *Bioresources*, 2008, 3(1): 270-294.
- [2] MOSIER N, WYMAN C, DALE B, et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass[J]. *Bioresour Technol*, 2005, 96(6): 673-686.

- [3] SUN Ye, CHENG Jiayang. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: A review[J]. *Bioresour Technol*, 2002, 83(1): 1-11.
- [4] 潘亚杰,张雷,郭军,等. 农作物秸秆生物法降解的研究[J]. *可再生能源*, 2005, 3(121): 33-35.
- [5] 杜甫佑,张晓昱,王宏勋,等. 白腐菌降解木质纤维素顺序规律的研究[J]. *纤维素科学与技术*, 2005, 13(1): 17-25.
- [6] MULLER H W, TROSCH W. Screening of white-rot fungi for biological pretreatment of wheat straw for biogas production[J]. *Appl Microbiol Biot*, 1986, 24(2): 180-185.
- [7] HATAKKA A I, PIRHONEN T I. Cultivation of wood-rotting fungi on agricultural lignocellulosic materials for the production of crude protein[J]. *Agric Wastes*, 1985, 12(2): 81-97.
- [8] CAPELARI M, ZADRAZIL F. Lignin degradation and in vitro digestibility of wheat straw treated with Brazilian tropical species of white rot fungi[J]. *Folia Microbiol*, 1997, 42(5): 481-487.
- [9] SHI Jian, CHINN M S, SHARMA-SHIVAPPA R R. Microbial pretreatment of cotton stalks by solid state cultivation of *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99(14): 6556-6564.
- [10] GUILLEN F, MUNOZ C, GOMEZ-TORIBIO V, et al. Oxygen activation during oxidation of methoxyhydroquinones by laccase from *Pleurotus eryngii*[J]. *Appl Environ Microb*, 2000, 66(1): 170-175.
- [11] WAN Caixia, LI Yebo. Microbial pretreatment of corn stover with *Ceriporiopsis subvermisporea* for enzymatic hydrolysis and ethanol production[J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101(16): 6398-6403.
- [12] ZHAO Xin, QU Yinbo, GAO Peiji. Acceleration of ethanol production from paper mill waste fiber by supplementation with β -glucosidase[J]. *Enzyme Microb Technol*, 1993, 15(1): 62-65.
- [13] BELDMAN G, ROMBOUTS F M, VORAGEN A G J, et al. Application of cellulase and pectinase from fungal origin for the liquefaction and saccharification of biomass[J]. *Enzyme Microb Technol*, 1984, 6(11): 503-507.
- [14] MONONMANI H K S K R. Saccharification of sugar-cane bagasse with enzymes from *Aspergillus ustus* and *Trichoderma viride*[J]. *Enzyme Microb Technol*, 1987, 9(8): 484-488.
- [15] ZENG Meijuan, MOSIER N S, HUANG Chiaping, et al. Microscopic examination of changes of plant cell structure in corn stover due to hot water pretreatment and enzymatic hydrolysis[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2007, 97(2): 265-278.
- [16] MOONEY C A, MANSFIELD S D, BEATSON R P, et al. The effect of fiber characteristics on hydrolysis and cellulase accessibility to softwood substrates[J]. *Enzyme Microb Technol*, 1999, 25(8/9): 644-650.
- [17] KUMAKURA M, KAETSU I. Effect of radiation pretreatment of bagasse on enzymatic and acid hydrolysis[J]. *Biomass*, 1983, 3(3): 199-208.
- [18] DIEN B S, LI X L, ITEN L B, et al. Enzymatic saccharification of hot-water pretreated corn fiber for production of monosaccharides[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2006, 39(5): 1137-1144.
- [19] SREENATH H K, KOEGEL R G, MOLDES A B, et al. Enzymic saccharification of alfalfa fibre after liquid hot water pretreatment[J]. *Process Biochem*, 1999, 35(1/2): 33-41.
- [20] LASER M, SCHULMAN D, ALLEN S G, et al. A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol[J]. *Bioresour Technol*, 2002, 81(1): 33-44.
- [21] LIU Li, SUN Junshe, CAI Chengye, et al. Corn stover pretreatment by inorganic salts and its effects on hemicellulose and cellulose degradation[J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100(23): 5865-5871.
- [22] LIU Li, SUN Junshe, LI Min, et al. Enhanced enzymatic hydrolysis and structural features of corn stover by $FeCl_3$ pretreatment[J]. *Bioresour Technol*, 2009, 100(23): 5853-5858.
- [23] YU Qiang, ZHUANG Xinshu, YUAN Zhenhong, et al. The effect of metal salts on the decomposition of sweet sorghum bagasse in flow-through liquid hot water[J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(3): 3445-3450.
- [24] SWATLOSKI R P, SPEAR S K, HOLBREY J D, et al. Dissolution of cellulose with ionic liquids[J]. *J Am Chem Soc*, 2002, 124(18): 4974-4975.
- [25] BOSE S, ARMSTRONG D W, PETRICH J W. Enzyme-catalyzed hydrolysis of cellulose in ionic liquids: A green approach toward the production of biofuels[J]. *J Phys Chem B*, 2010, 114(24): 8221-8227.
- [26] SUN Ning, LIU Hanbin, SATHITSUKSANO N, et al. Production and extraction of sugars from switchgrass hydrolyzed in ionic liquids[J]. *Biotechnol Biofuels*, 2013, 6: 39-52.
- [27] LI Changzhi, WANG Qian, ZHAO Z K. Acid in ionic liquid: An efficient system for hydrolysis of lignocellulose[J]. *Green Chem*, 2008, 10(2): 177-182.
- [28] MARZIALETTI T, OLARTE M B V, SIEVERS C, et al. Dilute acid hydrolysis of Loblolly pine: A comprehensive approach[J]. *Ind Eng Chem Res*, 2008, 47(19): 7131-7140.
- [29] BINDER J B, RAINES R T. Fermentable sugars by chemical hydrolysis of biomass[J]. *PNAS*, 2010, 107(10):

- 4516-4521.
- [30] LIU Chaogang, WYMAN C E. The effect of flow rate of compressed hot water on xylan, lignin, and total mass removal from corn stover[J]. *Ind Eng Chem Res*, 2003, 42(21): 5409-5416.
- [31] JONES J L, SEMRAU K T. Wood hydrolysis for ethanol production previous experience and the economics of selected processes[J]. *Biomass*, 1984, 5(2): 109-135.
- [32] NGUYEN Q A, TUCKER M P, KELLER F A, et al. Dilute acid hydrolysis of softwoods[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 1999, 77(1/2/3): 133-142.
- [33] SÖDERSTRÖM J, PILCHER L, GALBE M, et al. Two-step steam pretreatment of softwood by dilute H₂SO₄ impregnation for ethanol production[J]. *Biomass Bioenerg*, 2003, 24(6): 475-486.
- [34] SHUAI Li, YANG Qiang, ZHU Junyong, et al. Comparative study of SPORL and dilute-acid pretreatments of spruce for cellulosic ethanol production [J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101(9): 3106-3114.
- [35] XU Zhong, WANG Qunhui, JIANG Zhaohua, et al. Enzymatic hydrolysis of pretreated soybean straw[J]. *Biomass Bioenerg*, 2007, 31(2/3): 162-167.
- [36] GÁSPÁR M, KALMAN G, RECZEY K. Corn fiber as a raw material for hemicellulose and ethanol production[J]. *Process Biochem*, 2007, 42(7): 1135-1139.
- [37] SILVERSTEIN R A, CHEN Ye, SHARMA-SHIVAPPA R R, et al. A comparison of chemical pretreatment methods for improving saccharification of cotton stalks[J]. *Bioresour Technol*, 2007, 98(16): 3000-3011.
- [38] GREGG D J, SADDLER J N. Factors affecting cellulose hydrolysis and the potential of enzyme recycle to enhance the efficiency of an integrated wood to ethanol process[J]. *Biotechnol Bioeng*, 1996, 51(4): 375-383.
- [39] GOULD J M. Studies on the mechanism of alkaline peroxide delignification of agricultural residues[J]. *Biotechnol Bioeng*, 1985, 27(3): 225-231.
- [40] ZHAO Xuebing, ZHANG Lihua, LIU Dehua. Comparative study on chemical pretreatment methods for improving enzymatic digestibility of crofton weed stem[J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99(9): 3729-3736.
- [41] TEIXEIRA L C, LINDEN J C, SCHROEDER H A. Alkaline and peracetic acid pretreatments of biomass for ethanol production[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 1999, 77(9): 19-34.
- [42] GOULD J M. Alkaline peroxide delignification of agricultural residues to enhance enzymatic saccharification[J]. *Biotechnol Bioeng*, 1984, 26(1): 46-52.
- [43] SAHA B C, COTTA M A. Enzymatic saccharification and fermentation of alkaline peroxide pretreated rice hulls to ethanol[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2007, 41(4): 528-532.
- [44] SUN Xiaofeng, XU Feng, SUN Runcang, et al. Characteristics of degraded cellulose obtained from steam-exploded wheat straw[J]. *Carbohydr Res*, 2005, 340(1): 97-106.
- [45] VIDAL P F, MOLINIER J. Ozonolysis of lignin improvement of in vitro digestibility of poplar sawdust [J]. *Biomass*, 1988, 16(1): 1-17.
- [46] NEGRO M J, MANZANARES P, BALLESTEROS I, et al. Hydrothermal pretreatment conditions to enhance ethanol production from poplar biomass [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2003, 105(1/2/3): 87-100.
- [47] KIM K H, TUCKER M P, KELLER F A, et al. Continuous countercurrent extraction of hemicellulose from pretreated wood residues[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2001, 91/92/93: 253-267.
- [48] EKLUND R, GALBE M, ZACCHI G. The influence of SO₂ and H₂SO₄ impregnation of willow prior to steam pretreatment[J]. *Bioresour Technol*, 1995, 52(3): 225-229.
- [49] CLARK T A, MACKIE K L. Steam explosion of the softwood pinus radiata with sulphur dioxide addition: I: Process optimisation[J]. *J Wood Chem Technol*, 1987, 7(3): 373-403.
- [50] MES-HARTREE M, DALE B E, CRAIG W K. Comparison of steam and ammonia pretreatment for enzymatic hydrolysis of cellulose [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1988, 29(5): 462-468.
- [51] CHUNDAWAT S P S, VENKATESH B, DALE B E. Effect of particle size based separation of milled corn stover on AFEX pretreatment and enzymatic digestibility [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2007, 96(2): 219-231.
- [52] EGGEMAN T, ELANDER R T. Process and economic analysis of pretreatment technologies[J]. *Bioresour Technol*, 2005, 96(18): 2019-2025.
- [53] CHANG V S, HOLTZAPPLE M T. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2000, 84/85/86: 5-37.
- [54] SCHWALD W, BROWNELL H, SADDLER J. Enzymatic hydrolysis of steam treated aspen wood: Influence of partial hemicellulose and lignin removal prior to pretreatment[J]. *J Wood Chem Technol*, 1988, 8(4): 543-560.
- [55] KIM T H, LEE Y Y. Pretreatment of corn stover by soaking in aqueous ammonia[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2005, 121/122/123/124: 1119-1132.
- [56] KIM T H, LEE Y Y. Pretreatment of corn stover by soaking in aqueous ammonia at moderate temperatures [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2007, 137(7): 81-92.

【责任编辑 李晓卉】