

高瑞芳, 张腾飞, 张建国. 用于乙醇生产的‘热研4号’王草石灰预处理条件优化研究[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(4): 103-108.

用于乙醇生产的‘热研4号’王草石灰预处理 条件优化研究

高瑞芳, 张腾飞, 张建国

(华南农业大学 农学院/农业部能源植物资源与利用重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】提高‘热研4号’王草 *Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No. 4 生产乙醇的转化率。【方法】采用石灰进行预处理, 对时间、温度、石灰用量、固液比 4 个因素进行单因素和正交优化试验分析。【结果和结论】最优预处理条件为: 时间 3 h, 温度 125 °C, 原料的石灰用量 $0.15 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, 固液比 ($m:V$) 1:12 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。此时‘热研4号’王草的干基失质量率、木质素移除率、半纤维素移除率和纤维素移除率分别为 28.1%、65.4%、37.5% 和 6.1%。预处理的‘热研4号’王草经酶解后, 半纤维素、纤维素和总酶解得率分别为 43.5%、85.7% 和 55.2%, 比未经处理的酶解得率分别提高了 18.1、4.5 和 4.4 倍。此外, 影响酶解得率的主要因素是预处理时间和温度, 其次是石灰用量和固液比。

关键词: ‘热研4号’王草; 石灰; 预处理; 乙醇生产

中图分类号: TQ353.42

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2014)04-0103-06

Lime pretreatment optimization of *Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No. 4 for ethanol production

GAO Ruifang, ZHANG Tengfei, ZHANG Jianguo

(College of Agriculture, South China Agricultural University/Key Laboratory of Energy Plant Resources and Utilization, Ministry of Agriculture, P. R. China, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】The pretreatment of *Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No. 4 was studied with lime to improve the conversion rate for ethanol production. 【Method】The effects of pretreatment time, temperature, the lime dosage, and solid-to-liquid ratio as well as the orthogonal optimization test on the composition and the following enzymatic hydrolysis of ‘Reyan No. 4’ were investigated. 【Result and conclusion】The optimal pretreatment conditions were as follows: pretreatment time 3 h, temperature 125 °C, solid-to-liquid ratio 1:12 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) and the lime dosage of material $0.15 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$. Under the optimal condition, dry mass loss was 28.1% in lime pretreatment, and the removal rates of lignin, hemicellulose and cellulose were 65.4%, 37.5%, 6.1%, respectively. The yields of hemicellulose, cellulose and total residue were 45.5%, 85.7%, 55.2%, respectively; in the following enzymatic hydrolysis, they increased 18.1 times, 4.5 times and 4.4 times, respectively, compared with those of untreated ‘Reyan No. 4’. The primary factors influencing enzymatic hydrolysis yield were temperature and time, followed by lime dosage and solid-to-liquid ratio.

收稿日期: 2013-12-18 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.2014.04.019.html>

作者简介: 高瑞芳 (1987—), 女, 硕士, E-mail: 740753128@qq.com; 通信作者: 张建国 (1968—), 男, 教授, 博士, E-mail: zhangjg@scau.edu.cn

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划 (2011BAD17B02-05)

Key words: *Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No. 4; lime; pretreatment; ethanol production

随着能源危机、粮食短缺和环境污染等问题的日益突显,各国纷纷开始研究可替代石油等石化资源且适合本国国情的生物质能源,其中,将生物乙醇作为可再生液体燃料资源逐渐引起各国的关注^[1-3]. 因此,为了使燃料乙醇得到大规模的推广应用,应寻求不与粮食争地的乙醇生产原料^[4-5]. 木质纤维原料富含纤维素和半纤维素,如王草 *Pennisetum purpureum* × *P. americanum*、柳枝稷 *Panicum virgatum*、芦竹 *Arundo donax*、芒草 *Miscanthus* spp. 等,因其丰富、廉价,将其作为生产燃料乙醇可再生原料具有广阔的发展前景^[6].

木质纤维原料细胞壁结构复杂,主要由纤维素、半纤维素和木质素组成,其中木质素作为黏合剂包裹在纤维素和半纤维素周围,使得纤维素的可及度极低. 因此,纤维素酶对纤维素的水解率极低,一般为10%~20%^[7],因而需对原料进行预处理,除去木质素或破坏木质素层,使结晶纤维素成为无定型纤维素,以提高纤维素酶对纤维素的水解糖化效率^[8-9]. 石灰预处理可除去生物质中所有的乙酰基和部分木质素,促进纤维素和半纤维素的水解^[10],有利于后续的糖化和发酵^[11]. 石灰预处理的温度范围较宽(25~130℃),处理时间从几小时到几周,适当提高处理温度可缩短处理时间^[12]. 其优点还在于成本低、使用安全,且石灰溶液与二氧化碳反应生成的碳酸钙可利用石灰窑技术重新获得石灰^[13]. Liang等^[14]和 Sierra等^[15]研究表明,采用石灰代替氢氧化钠,可减弱预处理过程对设备的腐蚀作用,明显提高预处理后物料的酶解转化效率. Karr等^[13]使用石灰对玉米秸秆进行了预处理,在固液比($m:V$)1:5($g \cdot mL^{-1}$)、每克原料的石灰用量0.075 g、120℃条件下处理4 h,其酶解率提高了9倍. Chang等^[16]在150℃条件下用石灰处理薄白杨木板5 h,木质素去除率达77.5%,葡萄糖的酶解得率从7%提高到了77%.

‘热研4号’王草 *Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No. 4 是禾本科狼尾草属高秆多年生草本,原产于热带非洲,是象草 *P. purpureum* 和美洲狼尾草 *P. americanum* 的杂交种,以优质、高产而著称,被誉为“草中之王”^[17]. 1984年中国热带牧草研究中心从哥伦比亚引种到海南岛,试种成功

后逐步在全国各地推广. 现已在海南、广东、广西、福建、四川、江西等地广泛栽培^[18]. ‘热研4号’王草形似甘蔗,根系发达,植株高1.5~4.5 m. 具有光合作用能力和生物量较高,利用年限长,再生能力、适应性和抗逆性强等特点^[3,19-20]. 李高杨等^[21]探讨了优质能源植物的筛选及评价指标,结果表明‘热研4号’王草是最适宜生产清洁生物质能源的能源草之一. 本研究采用石灰对‘热研4号’王草进行预处理,对温度、时间、石灰用量、固液比4个因素进行了单因素和正交优化试验分析,以期对‘热研4号’王草作为能源草生产燃料乙醇提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

‘热研4号’王草来自中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所. 于2012年2月29日种植,试验小区面积为14 m²(3.5 m × 4.0 m),3次重复,小区间距100 cm. 采用粗壮、无病害的茎芽作种茎,株行距60 cm. 种植后于3月14日施肥、浇水,施肥量每小区均为622 g(N-P₂O₅-K₂O有效养分质量分数为36%).

1.2 样品处理

将株高3 m的‘热研4号’王草收获后带回实验室,机械切段1~2 cm,70℃烘干、粉碎、过40目筛,保存备用.

1.3 试验方法

1.3.1 单因素试验 在高压灭菌锅(YXQ-LS-50S II,博迅实业有限公司医疗设备厂,上海)中,选取时间、温度、固液比、石灰用量4个因素在不同水平条件下进行预处理(表1). 反应结束后,冷却、中和、抽滤,收集滤液,用于测定干基失质量率,木质素、纤维素及半纤维素移除率.

表1 单因素试验选取的水平
Tab. 1 Levels of single-factor tests

水平	t/h	$\theta/^\circ C$	固液比($m:V$)/ ($g \cdot mL^{-1}$)	石灰用量/ ($g \cdot g^{-1}$)
1	2	90	1:5	0.05
2	4	100	1:10	0.10
3	6	110	1:15	0.15
4	8	120	1:20	0.20
5	10	130	1:25	0.25

1.3.2 正交试验 在单因素优化的基础上,选取时间、温度、固液比和石灰用量4个因素作为研究对象,设计 $L_9(3^4)$ 的正交试验(表2),研究其对‘热研4号’王草各组分的影响。

表2 石灰预处理的正交试验因素及水平

Tab.2 The factors and levels of lime pretreatment orthogonal test

水平	t/h	$\theta/^\circ\text{C}$	固液比($m:V$)/ ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	石灰用量/ ($\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	3	115	1:12	0.125
2	4	120	1:15	0.150
3	5	125	1:18	0.175

1.3.3 酶解试验 将预处理的烘干样1.0 g放入50 mL锥形瓶中,加入pH 4.8(0.05 mol/L柠檬酸缓冲液)含有纤维素酶20 U/g的酶液,固液比($m:V$)1:20($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$),在温度45 $^\circ\text{C}$ 、转速150 r/min的条件下酶解48 h,每试验重复3次。酶解结束后过滤酶解液,使用高效液相色谱仪(岛津-GL,化兴科学仪器有限公司,广州)测定酶解液中的还原糖含量。

1.4 测定项目及方法

1.4.1 化学组分分析 纤维素、半纤维素和木质素含量在Van Soest法的基础上使用改进的滤袋分析法测定^[22];灰分含量采用灼烧法测定^[23]。

1.4.2 还原糖含量测定 还原糖含量采用高效液相色谱仪测定,色谱条件:岛津色谱柱(3.5 $\mu\text{m}\times 4.6\text{ mm}\times 250\text{ mm}$ 氨基柱);RID-10A示差折光检测器;流动相为超纯水;流速1.0 mL/min;柱温45 $^\circ\text{C}$;进样量20 μL 。

1.4.3 计算 纤维素(半纤维素)酶解得率($\%$)= $(V\times\rho\times 0.9)/(m\times w\times 1\ 000)$;总酶解得率($\%$)= $[(w_1+w_2)\times 0.9]/(m\times w_3)$ 。其中, V 为酶解液体积,mL; ρ 为酶解液葡萄糖(木糖)质量浓度,g/L; m 为预处理后残渣质量,g; w 为残渣中纤维素(半纤维素)质量分数, $\%$; w_1 、 w_2 分别为纤维素、半纤维素质量分数, $\%$; w_3 为残渣中纤维素和半纤维素质量分数之和, $\%$ 。

1.5 统计分析

采用Excel和SPSS17.0软件对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

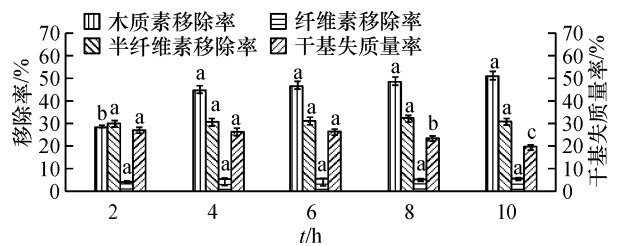
2.1 ‘热研4号’王草原料的化学组分

‘热研4号’王草原料(干物质)的纤维素和半纤

维素质量分数较高,可达39.9%和28.2%;木质素和灰分质量分数均较低,分别为11.6%和5.4%,所以比较适宜作为生产生物乙醇的原料。

2.2 单因素试验

2.2.1 预处理时间对‘热研4号’王草化学组分的影响 随着时间的延长,干基失质量率逐渐下降,其原因可能是石灰转化为不可溶性盐后,以盐的形式与草粉结合^[24]。木质素的移除主要是在前4 h,0~2 h移除率为28.1%,2~4 h移除率增加17.5%,且4 h移除率显著高于2 h($P<0.05$),4~10 h间无显著差异($P>0.05$)。半纤维素的移除主要是在前2 h,移除率为30.1%;纤维素的移除量较少,主要是在前4 h,移除率仅为4.3%,各时间段均无显著差异($P>0.05$)(图1)。综合3种组分的去除效果,并考虑缩短时间和节约成本,采用4 h进行其他单因素试验。



同一组分,指标的柱子,上方,凡具有一个相同小写英文字母者表示差异不显著($P>0.05$, Duncan's 方法)。

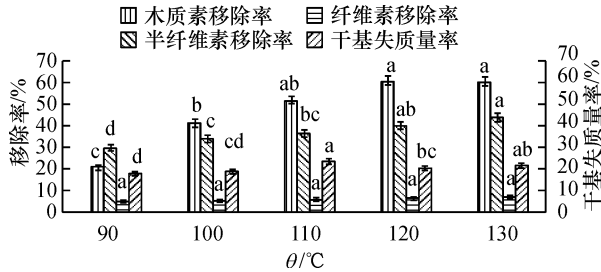
图1 预处理时间对‘热研4号’王草化学组分的影响

Fig.1 Effects of pretreatment time on the chemical composition of ‘Reyan No.4’

2.2.2 预处理温度对‘热研4号’王草化学组分的影响 随着温度的升高,干基失质量率维持在17%~23%的水平。木质素移除率在90~120 $^\circ\text{C}$ 条件下由20.5%迅速上升到60.1%,120~130 $^\circ\text{C}$ 条件下无显著差异($P>0.05$)。半纤维素移除率在90~130 $^\circ\text{C}$ 条件下由29.7%增至43.7%,其中90~120 $^\circ\text{C}$ 条件下移除率迅速增大,120~130 $^\circ\text{C}$ 无显著差异($P>0.05$),说明温度对木质素和半纤维素的移除影响较大。纤维素的移除率在90~130 $^\circ\text{C}$ 间均无显著差异($P>0.05$),130 $^\circ\text{C}$ 移除率最高,仅为6.9%(图2)。所以,综合以上结果,采用120 $^\circ\text{C}$ 进行其他单因素试验。

2.2.3 预处理固液比对‘热研4号’王草化学组分的影响 随着固液比($m:V$)在1:5~1:15($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)间干基失质量率从17.9%增至27.7%,差异显著($P<0.05$),而在固液比1:15~1:25($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)间无显著差异($P>0.05$)。固液比在1:5~1:15($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)间木质素移除率由20.9%上升至57.7%,半纤维素

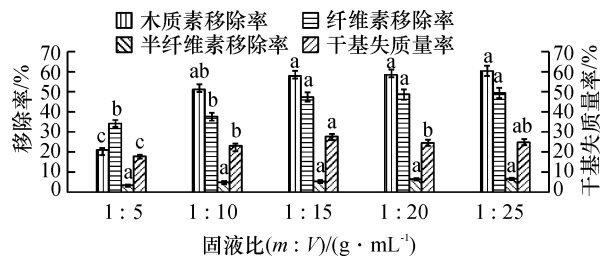
移除率由 34.4% 增高到 47.8%, 处理效果较好; 而在固液比 1:15 ~ 1:25 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 间木质素和半纤维素的移除率仅分别增加 2.4% 和 1.9%, 处理效果无显著差异 ($P > 0.05$). 纤维素移除率在固液比 1:5 ~ 1:25 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 间均无显著差异 ($P > 0.05$) (图 3). 综合以上结果和从节约成本角度出发, 采用固液比 1:15 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 进行其他单因素试验.



同一组别、指标的柱子上方, 凡具有一个相同小写英文字母者表示差异不显著 ($P > 0.05$, Duncan's 方法).

图 2 预处理温度对‘热研 4 号’王草化学组分的影响

Fig. 2 Effects of pretreatment temperature on the chemical composition of ‘Reyan No. 4’



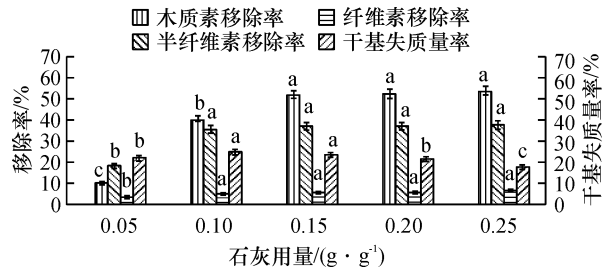
同一组别、指标的柱子上方, 凡具有一个相同小写英文字母者表示差异不显著 ($P > 0.05$, Duncan's 方法).

图 3 预处理固液比对‘热研 4 号’王草化学组分的影响

Fig. 3 Effects of solid-to-liquid ratio on the chemical composition of ‘Reyan No. 4’

2.2.4 预处理石灰用量对‘热研 4 号’王草化学组分的影响 随着石灰用量的增加, 干基失质量率基本维持在 25% 左右, 对木质素、半纤维素和纤维素的影响均较大. 当原料的石灰用量为 $0.05 \sim 0.15 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 木质素移除率由 7.9% 增至 51.2%, 去除效果良好, 木质素移除率在石灰用量为 $0.15 \sim 0.25 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 间无显著差异 ($P > 0.05$); 当石灰用量为 $0.05 \sim 0.10 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 半纤维素移除率由 18.1% 增至 37.8%, 半纤维素移除率在石灰用量为 $0.10 \sim 0.25 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 间无显著差异 ($P > 0.05$). 纤维素移除率在石灰用量为 $0.05 \sim 0.10 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 时显著提高, 但随后变化不大, 最高仅为 6.3% (图 4). 综合以上结果和从节约成本角度出发, 采用石灰用量为 $0.15 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$

进行其他单因素试验.



同一组别、指标的柱子上方, 凡具有一个相同小写英文字母者表示差异不显著 ($P > 0.05$, Duncan's 方法).

图 4 预处理原料的石灰用量对‘热研 4 号’王草化学组分的影响

Fig. 4 Effects of the lime dosage of material on the chemical composition of ‘Reyan No. 4’

2.3 正交试验

根据以上单因素试验结果, 选取对木质素去除影响较明显的时间、温度、固液比和石灰用量作为研究对象, 设计 $L_9(3^4)$ 正交试验, 并对总酶解得率进行极差分析, 结果如表 3 所示. 4 个因素对总酶解得率影响的主次顺序为 $A > B > D > C$, 即时间 > 温度 > 石灰用量 > 固液比, 其中: 时间和温度是主要因素, 其次是石灰用量和固液比; 且最优预处理组合为 $A_1B_3C_1D_2$, 即时间 3 h、温度 $125 \text{ }^\circ\text{C}$ 、固液比 ($m:V$) 1:12 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)、原料的石灰用量为 $0.15 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$. 试验 4 的木质素移除率较高, 但半纤维素移除率较低, 所以总酶解得率较低. 试验 3、5、8 的木质素移除率和总酶解得率均较高, 可见, 木质素的位阻效应及木质素与纤维素竞争吸附酶会导致纤维素酶的水解效率降低. 所以, 木质素的移除对酶解有较大的促进作用, 木质素移除越多, 酶与底物越容易发生接触, 使之酶解, 纤维素和半纤维素更易转化为葡萄糖和木糖.

2.4 预处理最终效果比较

对最优条件下预处理和未经处理的‘热研 4 号’王草进行酶解, 结果显示其预处理前后的化学组分和酶解得率均存在极显著差异 ($P < 0.01$) (表 4). 预处理后, ‘热研 4 号’王草干质量降低了近 30%; 木质素和半纤维素质量分数极显著降低, 纤维素移除较少, 其移除率分别为 65.4%、37.5%、6.1%. 预处理后, 半纤维素、纤维素和总的酶解得率分别提高了 18.1、4.5 和 4.4 倍. 可见, ‘热研 4 号’王草经石灰预处理可显著提高酶解效率, 其中半纤维素的酶解效果最为明显.

表3 ‘热研4号’王草石灰预处理正交试验及酶解结果¹⁾

Tab.3 The results of lime pretreatment orthogonal test and the following enzymatic hydrolysis of ‘Reyan No.4’

试验号	因素				干基失质量率/%	移除率/%			酶解得率/%		
	t/h (A)	θ/°C (B)	固液比 (m:V)/ (g·mL ⁻¹) (C)	石灰用量/ (g·g ⁻¹) (D)		半纤维素	纤维素	木质素	半纤维素酶	纤维素酶	总酶
1	3	120	1:18	0.125	31.4	36.6	8.4	60.4	31.8	80.6	50.9
2	3	125	1:12	0.150	28.1	37.5	6.1	65.4	43.5	85.7	55.2
3	3	115	1:15	0.175	26.1	34.4	5.0	60.5	46.5	82.2	53.3
4	4	120	1:12	0.175	23.9	34.8	4.0	63.0	37.1	75.1	45.5
5	4	125	1:15	0.125	25.9	38.9	4.2	62.5	40.7	80.1	50.2
6	4	115	1:18	0.150	25.7	33.4	3.7	58.9	50.8	78.2	48.8
7	5	120	1:15	0.150	25.2	36.3	6.1	58.4	37.2	77.1	47.1
8	5	125	1:18	0.175	18.2	37.0	5.9	60.1	32.0	81.6	51.7
9	5	115	1:12	0.125	27.8	36.4	9.2	57.0	38.7	81.1	50.4
K ₁	53.10	50.85	50.37	50.52							
K ₂	48.20	47.83	50.19	50.35							
K ₃	49.75	52.37	50.48	50.18							
极差	4.90	4.54	0.29	0.34							

1) K_i 表示各因素在 i 水平时所对应试验的总酶解得率平均值。

表4 ‘热研4号’王草预处理前后组分和酶解效果比较¹⁾

Tab.4 The composition and enzymatic hydrolysis of pretreated and untreated ‘Reyan No.4’

预处理	干基失质量率/%	w/%			酶解得率/%		
		木质素	半纤维素	纤维素	半纤维素	纤维素	总纤维原料
处理前	0.0b	11.6a	28.2a	39.9b	2.3b	15.5b	10.0b
处理后	28.1a	5.5b	22.7b	51.9a	43.5a	85.7a	55.2a

1) 表中同列数据后,凡具有一个相同小写英文字母者表示在 P < 0.01 水平差异不显著 (Duncan’s 方法)。

3 讨论与结论

本试验研究了石灰预处理中4个因素对‘热研4号’王草总酶解得率的影响,其影响大小为:时间 > 温度 > 石灰用量 > 固液比. 该结果与 Chang 等^[16] 研究石灰预处理影响杨树酶解得率因素的结果一致,且时间和温度是主要因素,其次是石灰用量和固液比.

Karr 等^[13] 使用石灰对玉米秸秆进行了预处理,在固液比 (m:V) 1:5 (g·mL⁻¹)、原料的石灰用量 0.075 g·g⁻¹、120 °C 条件下处理 4 h,其酶解得率提高了 9 倍. 陈明^[25] 使用与 Karr 等^[13] 相同的石灰预处理条件处理玉米秸秆,结果其木质素、半纤维素的脱除率分别为 38.4%、14.8%,纤维残渣 48 h 后的酶解得率为 52.9%. Kim 等^[26] 使用超临界 CO₂ 预处理白杨和南方松,以提高纤维素酶水解效率,结果显示:在 165 °C、21 MPa 条件下预处理 30 min 后,白杨

和南方松还原糖产量可分别达理论值的 84.7% 和 27.3%. 本试验中,‘热研4号’王草经石灰预处理后,木质素、半纤维素和纤维素移除率分别为 65.4%、37.5% 和 6.1%,半纤维素、纤维素和总酶解得率分别提高了 18.1、4.5 和 4.4 倍. 这与陈明^[25]、Karr 等^[13] 的研究结果较相似,石灰预处理均可脱除木质素和半纤维素,提高酶解得率. 所以,‘热研4号’王草经石灰预处理可显著提高酶解效率,其中半纤维素酶解效果最为明显.

‘热研4号’王草是生产燃料乙醇的优良能源植物,其纤维含量较高,利用石灰预处理可有效去除木质素,提高纤维素酶对原料组分的可及度. 最优预处理条件为:时间 3 h,温度 125 °C,固液比 (m:V) 1:12 (g·mL⁻¹),原料的石灰用量 0.15 g·g⁻¹. 此条件下‘热研4号’王草的木质素、半纤维素和纤维素移除率分别为 65.4%、37.5% 和 6.1%;半纤维素、纤维素和

总纤维原料的酶解得率分别为 43.5%、85.7% 和 55.2%，比未处理的‘热研4号’王草酶解得率分别提高了 18.1、4.5 和 4.4 倍。此外，影响酶解得率的主要因素是预处理时间和温度，其次是石灰用量和固液比。

参考文献:

- [1] 于建仁, 张曾, 迟聪聪. 生物质精炼与制浆造纸工业相结合的研究[J]. 中国造纸学报, 2008, 23(1): 80-84.
- [2] LEE J. Biological conversion of lignocellulosic biomass to ethanol[J]. J Biotechnol, 1997, 56(1): 1-24.
- [3] NAGLE N, IBSEN K, JENNINGS E. A process economic approach to develop a dilute-acid cellulose hydrolysis process to produce ethanol from biomass[J]. Appl Biochem Biotechnol, 1999, 77/78/79: 595-607.
- [4] 孙君社, 苏东海, 刘莉. 秸秆生产乙醇预处理关键技术[J]. 化学进展, 2007, 19(7/8): 1122-1128.
- [5] 刘杰, 郑士梅, 李原有, 等. 利用甜高粱茎秆提取乙醇的实验报告: 第 I 报: 不同品种乙醇提取量的实验[J]. 酿酒科技, 2007(5): 51-53.
- [6] 黎先发, 张颖, 罗学刚. 利用木质纤维素生产燃料酒精研究进展[J]. 现代化工, 2009, 29(1): 20-26.
- [7] YANG Xuexia, CHEN Hongzhang, GAO Hongliang, et al. Bioconversion of corn straw by coupling ensiling and solid-state fermentation[J]. Bioresour Technol, 2001, 78(3): 277-280.
- [8] 陈洪章. 纤维素生物技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 126-132.
- [9] LISSENS G, THOMSEN A B, DEBAERE L, et al. Thermal wet oxidation improves anaerobic biodegradability of raw and digested biowaste[J]. Environ Sci Technol, 2004, 38(12): 3418-3424.
- [10] CHANG V S, HOLTZAPPLE M T. Fundamental factors affecting biomass enzymatic reactivity [C] // FINKELSTEIN M. Twenty-First Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals. Passaic: Humana Press, 2000: 5-37.
- [11] KIM T H. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass [C] // YANG Shangtian. Bioprocessing technologies in biorefinery for sustainable production of fuels, chemicals, and polymers. Hoboken: John Wiley & Sons Inc., 2013: 91-110.
- [12] KIM S, HOLTZAPPLE M T. Lime pretreatment and enzymatic hydrolysis of corn stover [J]. Bioresour Technol, 2005, 96(18): 1994-2006.
- [13] KAAR W E, HOLTZAPPLE M T. Using lime pretreatment to facilitate the enzymic hydrolysis of corn stover [J]. Biomass Bioenergy, 2000, 18(3): 189-199.
- [14] LIANG Y, SIDDARAMU T, YESUF J, et al. Fermentable sugar release from Jatropha seed cakes following lime pretreatment and enzymatic hydrolysis [J]. Bioresour Technol, 2010, 101(16): 6417-6424.
- [15] SIERRA R, GRANDA C, HOLTZAPPLE M T. Short-term lime pretreatment of poplar wood [J]. Biotechnol Progr, 2009, 25(2): 323-332.
- [16] CHANG V S, NAGWANI M, KIM C H, et al. Oxidative lime pretreatment of high-lignin biomass: Poplar wood and newspaper [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2001, 94(1): 1-28.
- [17] 孙凡. 草中之王——皇竹草 [J]. 农技服务, 2004(9): 21-22.
- [18] 刘国道. 热带牧草栽培学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 66-67.
- [19] 吴国江, 刘杰, 姜治平, 等. 能源植物的研究现状及发展建议 [J]. 科技与社会, 2006, 21(1): 53-57.
- [20] 高瑞芳, 张建国. 能源草研究进展 [J]. 草原与草坪, 2013, 33(1): 89-96.
- [21] 李高扬, 李建龙, 王艳, 等. 优良能源植物筛选及评价指标探讨 [J]. 可再生能源, 2007, 25(6): 84-89.
- [22] 吕文龙, 刁其玉, 闫贵龙. 布氏乳杆菌对青玉米秸青贮发酵品质和有氧稳定性的影响 [J]. 草业学报, 2011, 20(3): 143-148.
- [23] 张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2003: 46-75.
- [24] 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.
- [25] 陈明. 利用玉米秸秆制取燃料乙醇的关键技术研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- [26] KIM K H, HONG J. Supercritical CO₂ pretreatment of lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis [J]. Bioresour Technol, 2001, 77(2): 139-144.

【责任编辑 李晓卉】