

# BPSS&CF秸秆纤维燃料乙醇 生产工艺的试验研究

Experimental studies on the technics  
of cellulose fuel ethanol production  
from straw with BPSS&CF

张百良教授

Pro. Zhang Bailiang

河南农业大学

Henan Agricultural University

# 报告主要内容

- ④一、引言
- ④二、材料与方法
- ④三、工艺流程总体设计
- ④四、工艺流程
- ④五、主要操作要点及技术指标
- ④六、主要结果与分析
- ④七、小结与讨论

# 一、引言

## ➤ 1 中国的能源安全问题

- ❖ 能源安全问题
- ❖ 中国的能源供需状况
- ❖ 解决中国能源安全问题的途径

节能技术推广、能源供应多元化、石油进口多元化和建立战略石油储备

## ➤ 2 能源消费与环境的关系问题

### ➤ 3 生物质液体燃料的现状

- ❖ 生物质液体燃料的转化技术

  - 微生物发酵技术

- ❖ 燃料乙醇的优越性和使用现状

### ◆ 4 生物质（秸秆）资源

- ❖ 资源的丰富性

- ❖ 生物质（秸秆）利用的不合理性

- ❖ 秸秆造成的危害











## ▶ 5 制约生物质纤维燃料乙醇生产的关键-----原料的预处理

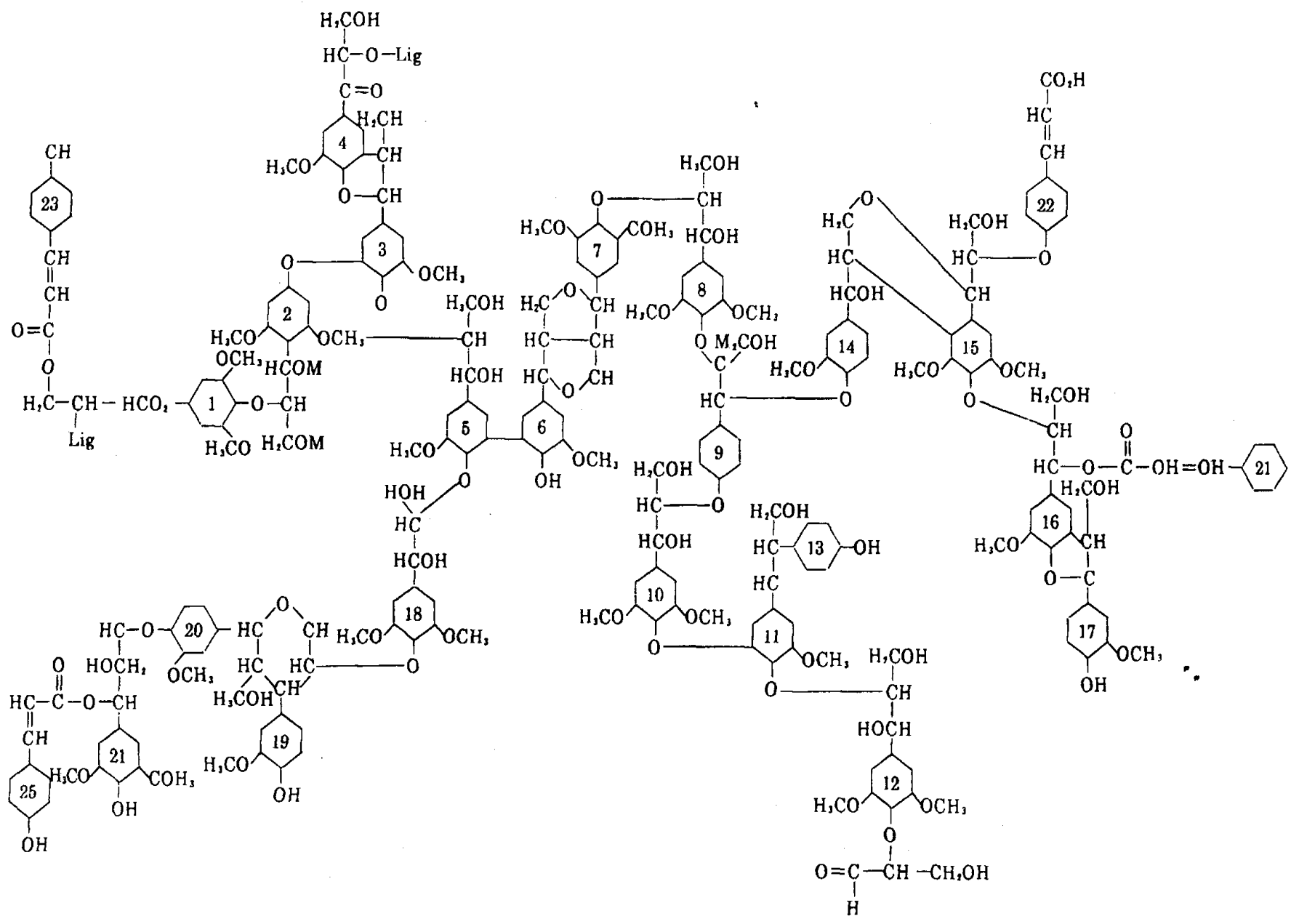
### ❖ 秸秆中的主要成分及其转化

#### (1) 主要成分

17%半纤维素、39%纤维素、10%木质素

#### (2) 转化阻碍

特殊结构、对酶的吸附和钝化作用



### (3) 转化阻碍

木质素的特殊结构（上页）

纤维素、半纤维素和木质素在秸秆中的状态：呈不连续的层状结构，彼此黏结又互相间断，木质素和半纤维素是纤维之间的填充剂和黏结剂的特殊结构

波尔屯模型：木质素对酶的吸附和钝化作用

最终影响纤维素和半纤维素的糖化

## ▶ 6原料的预处理

### ❖ 6.1现状

(1) 物理法：球磨、压缩球磨、爆破粉碎、冷冻粉碎、声波、电子射线。弊端：效果不明显、处理成本高、条件苛刻

(2) 化学法：酸、碱、有机溶剂。弊端：环境污染严重、设备要求高、损失大、收率低。

(3) 理化法

(4) 生物法 新方法

## ❖ 6.2 木质素生物降解的研究状况

- (1) 木质素降解微生物 白腐真菌为主
- (2) 木质素降解酶类 Lacs、Lips、MnPs等
- (3) 木质素降解条件
- (4) 木质素降解分子生物学

## ❖ 6.3 本文拟解决途径

通过生物预处理来对木质素进行生物降解以达到纤维燃料乙醇生产的无污染化和低成本化

## 二、材料与amp;方法

### ▶ 1 材料

#### ❖ 1.1 菌种

(1) 黄孢原毛平革菌 (*Phanerochete chrysosporium*) 和 杂色云芝 (*Coridus versicolor*), 由中国农科院上海食用菌研究所惠赠。

(2) 嗜鞣管囊酵母P-01 (*Pachysolen tannophilus* P-01), 河南农业大学筛选的可同步发酵戊糖和己糖的菌株。

## ❖ 1.2 培养基

(1) 固态稻草降解培养基：每个300ml三角瓶中装入20g稻草粉，60ml水，0.4g葡萄糖和0.006g氯化氨，均匀配制后于121℃下灭菌2h。

(2) 粗漆酶发酵培养基：葡萄糖2g/l，酒石酸铵12mmol/L，pH4.5乙酸-乙酸钠缓冲液10mmol/L， $\text{KH}_2\text{PO}_4$   $1.47 \times 10^{-2}$ mol/L， $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$   $2.03 \times 10^{-3}$ mol/L， $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   $6.8 \times 10^{-4}$ mol/L， $\text{VB}_1$   $2.97 \times 10^{-6}$ mol/L，微量元素混合液7ml/L，吐温80 1g/L。每250ml三角瓶装50ml培养基，121℃灭菌30min，备用。

(3) 粗过氧化物酶发酵培养基：葡萄糖 10g/L，酒石酸铵 2mmol/L，pH 4.5 乙酸-乙酸钠缓冲液 10 mmol/L， $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2g/L， $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g/L， $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.1g/L，VB1 1mg/L，黎芦醇 3mmol/L，微量元素混合液 7ml/L，吐温 80 1g/L。每250ml三角瓶装50ml培养基，121℃灭菌 30min，备用。

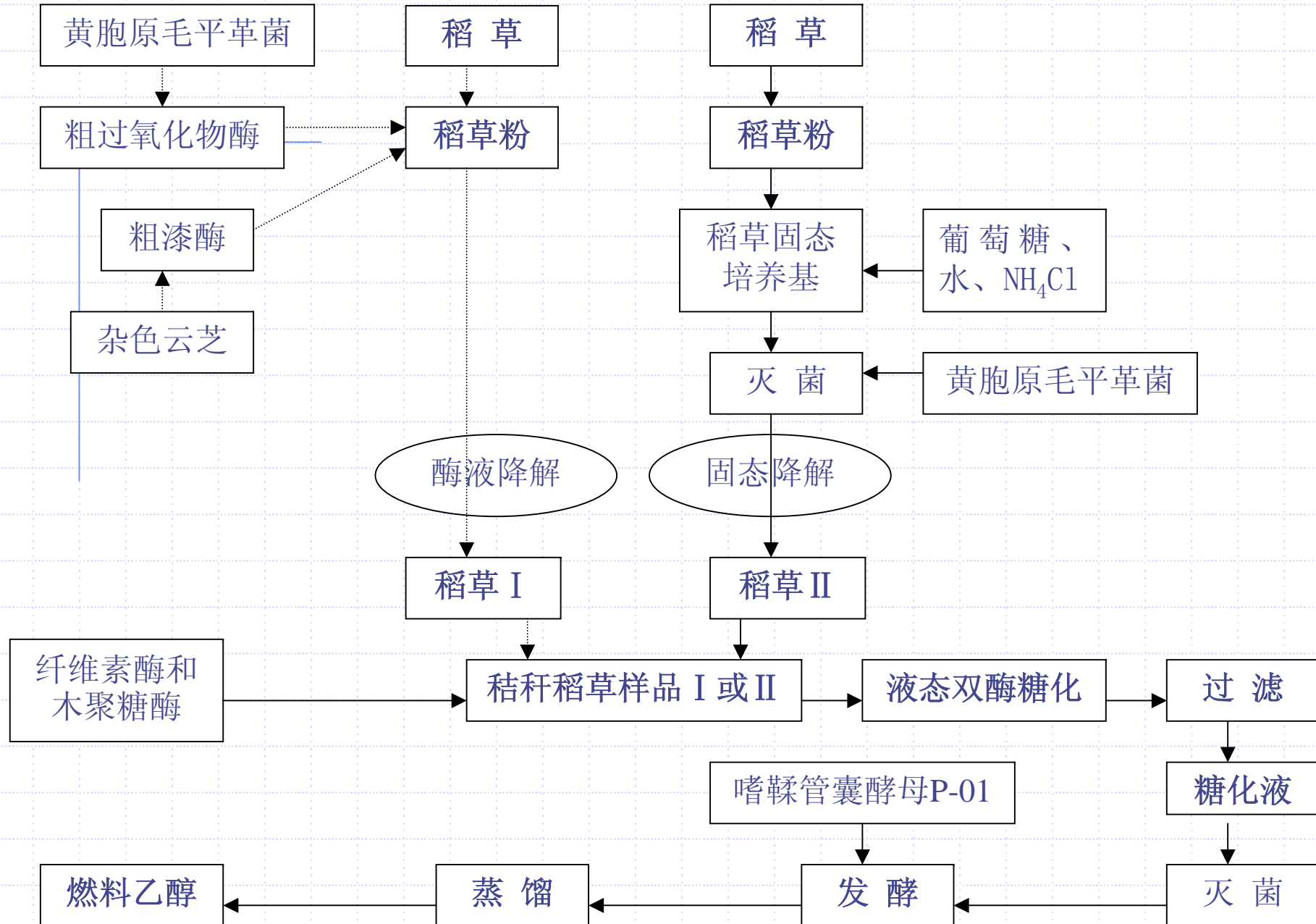
(4) 发酵用种子培养基 (g/100ml)：  
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05， $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.01， $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5，NaCl 0.01，木糖 2%，琼脂 2.0，pH 5.0，每250ml三角瓶分装50ml培养基，121℃，30min灭菌。



## 三、工艺流程总体设计

- ▶ 1、总体思路：采用生物预处理原料、先糖化后戊糖和己糖同步发酵的工艺，即 BPSS&CF (Bio-pretreated、Seperated Saccharification & Co-fermentation pentose and hexose)工艺。
- ▶ 2、原料秸秆的预处理采用生物预处理工艺即：采用固态培养降解木质素的预处理和液态酶液降解木质素的预处理两种工艺。对照处理的原料是未经任何预处理的秸秆。
- ▶ 3、原料的秸秆糖化采用纤维素酶和木聚糖酶共同作用的双酶糖化工艺。
- ▶ 4、发酵采用以嗜鞣管囊酵母 P-01 为菌种的 BPSS&CF 戊糖和己糖同步发酵工艺。

## 四、工艺流程



# 五、主要操作要点及技术指标

## ➤ 1、粉碎

秸秆稻草经锤式粉碎机粉碎，过筛成20~40目稻草粉。

## ➤ 2、原料预处理

### ❖ 2.1 液态酶液降解预处理

(1) 菌种培养 将杂色云芝斜面保藏菌种于28℃活化后转接于PDA试管斜面上，并放于28℃温箱中培养，待菌丝长好后，转接到PDA平板上，28℃培养6~8d，用无菌打孔器将平板菌种制成直径12mm厚2mm的菌种塞，备用。黄孢原毛平革菌与杂色云芝活化和平板培养方法同，但黄孢原毛平革菌培养温度为37~39℃，接种时用的是孢子，培养好的菌种，备用。

(2) 粗漆酶发酵 将杂色云芝按每个三角瓶接3个菌塞，28~30℃，150rpm振荡培养7d，滤去菌丝，得粗漆酶。该发酵液中Lacs活力为2066.116u/ml，Lips活力为0.215u/ml，MnPs活力为0.256u/ml。

(3) 粗过氧化物酶发酵 将黄孢原毛平革菌按每个三角瓶接3环孢子，37~39℃，静止培养9d，滤去菌丝，得粗过氧化物酶（包括Lips和MnPs）。该发酵液中Lips活力为0.537u/ml，MnPs活力为20.513u/ml，未测到Lacs活力。

(4) 降解操作 准确称取秸秆稻草粉1.0000g于试管中，加入甲苯0.1ml，粗漆酶1ml，粗过氧化物酶1ml，蒸馏水13ml，调整pH4.5,混匀，用封口膜密封，于45℃降解72h，获得稻草样品 I。

## ❖ 2.2 固态培养降解预处理

向固态稻草降解培养基中接3环黄孢原毛平革菌孢子,于37~39℃培养32d，进行降解预处理，获得稻草样品 II。

### ➤ 3、双酶糖化

在纤维素酶1%、木聚糖酶0.01%、45℃、pH4.5、150rpm、液固比（稻草粉与液体之比）为15，糖化72h。

### ➤ 4、过滤和灭菌

对秸秆的糖化液经过滤后除去固态不溶物后成为澄清的糖化液，向其中加入酵母浸汁0.3%，蛋白胨0.5%，尿素0.02%， $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  0.01%，调整pH5.5，每250ml三角瓶分装50ml。121℃，30min灭菌处理，供发酵用。

## ➤ 5、发酵

将P-01斜面菌种接入发酵用种子培养基中，于28~30℃，150rpm摇床培养24~30h，培养后的液态菌种按10%的接种量接入无菌糖化液中（操作的过程中严格注意无菌操作），在30℃、摇床转速120rpm的条件下发酵84h。

## ➤ 6、蒸馏

采用釜式蒸馏的操作进行燃料乙醇的提取和测定。



# 六、结果与分析

## ➤ 1 秸秆稻草预处理和糖化结果

预处理方式	纤维素含量	半纤维素含量	木质素含量	木质素降解率	糖化率
对照（未处理）	39.22%	16.94%	10.25%	-	8.9%
固态培养降解法（稻草 II）	27.55%	14.11%	6.9%	32.7%	27.3%
液态酶液降解法（稻草 I）	39.22%	16.94%	7.41%	27.7%	19.6%

由上表可以看出：

(1) 原料秸秆经生物降解的方法进行预处理后，秸秆中的木质素得到了不同程度的降解，固态培养降解后的稻草 II 的木质素降解率为 32.7%，木质素的含量为 6.9%；液态酶液降解后的稻草 I 的木质素的降解率为 27.7%，木质素的含量为 7.41%。

(2) 经过生物预处理后的秸秆稻草样品的糖化率较未处理的样品得到了一定的提高，稻草 I 的糖化率提高了 10.7 个百分点，达到了 19.6%；稻草 II 的糖化率提高了 18.4 个百分点，达到了 27.3%。

## ➤ 2 燃料乙醇发酵结果

工艺	原料	预处理	燃料乙醇产率 (%)	相当于理论产率 (%)	产品吨成本 (元)
1	原稻草	-	3.33	11.91	3150
2	稻草 I	液态酶液降解	7.31	26.14	2540
3	稻草 II	固态培养降解	10.28	36.76	2027

由上表可以看出：

(1) 从3个秸秆纤维燃料乙醇生产的工艺的试验结果来看，采用第3个工艺（BPSS&CF-2）路线的燃料乙醇产率最高，为10.28%。

(2) 经过生物预处理工艺的原料的燃料乙醇产率明显高于未经过生物预处理的；采用固态培养降解木质素预处理工艺的原料的燃料乙醇产率明显高于采用液态酶液降解木质素预处理工艺的；

(3) 采用生物预处理工艺生产的纤维燃料乙醇的成本明显低于未经预处理的工艺的产品。

# 七、小结与讨论

## ➤ 1 小结

采用BPSS&CF秸秆纤维燃料乙醇工艺生产燃料乙醇时，燃料乙醇产率为10.28%。

## ➤ 2 讨论

在纤维燃料乙醇的生产中，对原料进行生物预处理是提高乙醇产率的一种环境友好的工艺，但目前燃料乙醇的产率还不能和对原料进行化学法、物理法预处理的工艺相比，今后要通过筛选木质素降解的优良微生物、优化木质素降解的工艺条件来提高原料中木质素的降解率，最终达到纤维燃料乙醇产率的提高，为早日实现纤维燃料乙醇生产的低成本和无污染化奠定技术准备。



祝：各位专家身体健康！

Best wishes to you!