



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107916279 A

(43)申请公布日 2018.04.17

(21)申请号 201610886906.7

(22)申请日 2016.10.11

(71)申请人 中国科学院大连化学物理研究所
地址 116023 辽宁省大连市中山路457号

(72)发明人 张宗超 刘秀梅 毛燎原

(74)专利代理机构 沈阳晨创科技专利代理有限
责任公司 21001

代理人 郑虹

(51)Int.Cl.

C12P 7/10(2006.01)

C12R 1/865(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页 附图4页

(54)发明名称

一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵法

(57)摘要

本发明提供了一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法。该方法为：在木质纤维素水解液中添加适量木质素作为脱毒试剂，在发酵过程中对发酵液进行原位脱毒，在减少木质纤维素水解液中存在的毒性化合物对乙醇发酵的抑制、改善乙醇生产效率。本发明无需对木质纤维素水解液进行额外脱毒处理、节省设备投资；脱毒试剂来源广泛、成本低廉、可回收利用。本发明具有如下优点：(1)工艺简单、操作方便。(2)操作时间短、设备投资低、节约能源；(3)有效提高乙醇发酵效率、降低工业生产成本，对降低木质纤维素生产乙醇的成本具有重要意义。

1. 一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于按照以下步骤进行:

- (1) 预处理的木质纤维素经过降解后得到的水解浆液;
- (2) 将获得的水解浆液进行过滤去除固体残渣,得到木质纤维素水解液;
- (3) 然后向木质纤维素水解液中添加木质素、酿酒酵母进行发酵处理,得到燃料乙醇。

2. 按照权利要求1所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征是:所述步骤(1)木质纤维素生物质的降解方法是矿物质降解、水热二氧化硫水解法、酸性汽爆法和酶解法中的一种或几种的组合。

3. 按照权利要求1所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于:所述的木质素为布劳斯天然木素、诺德木素、贝克曼木素、纤维素酶水解木素、乙醇木素、二氧己环木素、琉基乙酸木素、酚木素、木素磺酸、碱木素、硫化木素、氯化木素、硫酸木素、盐酸木素、铜氨木素、过碘酸盐木素中的一种或几种。

4. 按照权利要求1所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于:所述的木质纤维素为原生生物质原料中木质素,所述原生生物质原料为各种树木,农作物秸秆,农产品加工业副产品、畜禽粪便和能源作物中的一种或者几种混合物,所述种树木为软木或/和硬木。

5. 按照权利要求1所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于:所述的木质纤维素来自农业废弃物、林业废弃物、专门的能源作物或/和各种含纤维素的废弃物。

6. 按照权利要求5所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于:所述农业废弃物为小麦秸秆、玉米秸秆或/和稻草。

7. 按照权利要求5所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于:所述林业废弃物为伐木产生的枝叶、废弃木头或/和木屑。

8. 按照权利要求5所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于:所述专门的能源作物为甜高粱或/和柳枝稷。

9. 按照权利要求5所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于:所述各种含纤维素的废弃物为城市固体垃圾、废纸或/和甘蔗渣。

10. 按照权利要求1所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于:所述的木质素质量与木质纤维素水解液的体积之比为0.5-20%g/ml。

11. 按照权利要求1所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于:步骤(3)中所述的酿酒酵母的细胞密度的OD₆₀₀值为:0.2~20,发酵温度为28-40℃、发酵时间为2-120小时。

12. 按照权利要求11所述的一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵方法,其特征在于:所述的酿酒酵母的细胞密度的OD₆₀₀值优选为8~10。

一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物质原料降解通过发酵工艺生产燃料乙醇领域,具体涉及一种木质纤维素水解液的原位脱毒发酵法。

背景技术

[0002] 随着化石能源的日益枯竭和环境污染的日益加剧,可再生清洁能源燃料乙醇的开发和利用受到了人们的广泛关注。传统的乙醇发酵以糖或淀粉为原料,二者都是食物的主要来源,以粮食为原料生产燃料乙醇已经对世界粮食安全构成了威胁,寻找其它原料替代粮食势在必行。木质纤维素作为自然界最为丰富且廉价的再生资源,其主要成分纤维素半纤维素是潜在的燃料乙醇的生产原料,利用木质纤维素生产燃料乙醇成为世界各国研究的热点。

[0003] 但是木质纤维素材料中纤维素、半纤维素和木质素三者链接紧密,只有对木质纤维素原料进行预处理、破坏高度聚合的木质素、纤维素和半纤维素的结构,才能使其进行酶水解获得可发酵糖。酸解或蒸汽爆破等热-化学预处理过程的高温、高压、低pH等条件会使水解液中生成或释放有机酸类、呋喃类和酚类化合物等抑制因子,这些抑制因子对酿酒酵母发酵产生强烈抑制作用,从而影响酵母菌的正常生长和随后的发酵过程。

[0004] 传统的去除抑制因子的方法包括活性炭吸附、离子交换、氢氧化钙中和、过氧化酶处理等。但是,这些方法往往成本较高,且处理过程中产生大量的废水或固体废物。还有很多研究报道通过优化木质素生物质预处理过程以减少水解液中的抑制物浓度,或者改良发酵菌种对抑制物的耐受性,这些方法都会大幅度增加成本、并且尚处于研发阶段。

发明内容

[0005] 针对上述技术问题,本发明提供了一种木质纤维素生物质水解液的原位脱毒发酵新方法,能够有效降低抑制物对发酵的影响,提高木质纤维素生物质发酵生产燃料乙醇的效率。

[0006] 一种木质纤维素生物质水解液的原位脱毒发酵方法,采用的技术方案是:

[0007] (1) 预处理的木质纤维素经过降解后得到的水解浆液;

[0008] (2) 将获得的水解浆液进行过滤去除固体残渣,得到木质纤维素水解液;

[0009] (3) 然后向木质纤维素水解液中添加木质素、酿酒酵母进行发酵处理,得到燃料乙醇。

[0010] 步骤(1)所述的预处理的木质纤维素适用的预处理方法包括化学法、物理法、化学-物理法以及生物法等。

[0011] 步骤(1)所述的木质纤维素生物质的降解方法是矿物质降解、水热二氧化硫水解法、酸性汽爆法和酶解法中的一种或几种的组合。

[0012] 步骤(3)具体为:木质纤维素水解液pH为3.5-5.5,添加的木质素作为脱毒试剂,木质素的质量与木质纤维素水解液体积为0.5%-20%g/ml,然后添加酿酒酵母,酿酒酵母的

细胞密度的OD₆₀₀为0.2~20,在温度为28-40℃条件下进行发酵,发酵时间为2-120小时,产乙醇。

[0013] 所述的木质素的质量与木质纤维素水解液体积的优选比例为1.0~10%g/ml。

[0014] 所述的酿酒酵母的细胞密度的OD₆₀₀值为:0.2~20,优选为8~10。

[0015] 所述的木质素为布劳斯(Brauns)天然木素(BNL)、诺德(Nard)木素、贝克曼(Bjorkman)木素(MWL)、纤维素分解酶木素(CHL)、乙醇木素、巯基乙酸木素、酚木素、木素磺酸、碱木素(Kraft木素)、硫化木素、氯化木素、硫酸木素(Klason木素)、盐酸木素、铜氨木素、过碘酸盐木素中的一种或几种。

[0016] 所述的木质纤维素来自小麦秸秆、玉米秸秆或/和稻草;伐木产生的枝叶、废弃木头或/和木屑;甜高粱或/和柳枝稷或者城市固体垃圾、废纸或/和甘蔗渣。

[0017] 所述的木质纤维素来自农业废弃物、林业废弃物、专门的能源作物或/和各种含纤维素的废弃物。

[0018] 所述农业废弃物为小麦秸秆、玉米秸秆或/和稻草。

[0019] 所述林业废弃物为伐木产生的枝叶、废弃木头或/和木屑。

[0020] 所述专门的能源作物为甜高粱或/和柳枝稷。

[0021] 所述各种含纤维素的废弃物为城市固体垃圾、废纸或/和甘蔗渣。

[0022] 本发明提供了一种木质纤维素水解液原位脱毒发酵的新方法,该方法以具有吸附性能的木质素为脱毒试剂对木质纤维素水解液中的毒性物质进行发酵过程中的原位脱毒,从而高效发酵生产燃料乙醇。相对现有技术,与已有的木质纤维素水解液发酵方法相比较,本发明水解液无需脱毒处理可直接用于发酵,简化生产工艺、减少设备投资;而且脱毒试剂成本低廉、来源广泛,易回收利用。

附图说明

[0023] 图1是实施例1与对比例1中模拟的木质纤维素水解液发酵产乙醇过程中碱木素对乙醇浓度的影响;

[0024] 图2是实施例1与对比例1中模拟的木质纤维素水解液发酵产乙醇过程中碱木素对葡萄糖浓度的影响;

[0025] 图3是实施例2与对比例2中模拟的木质纤维素水解液发酵产乙醇过程中碱木素对乙醇浓度的影响;

[0026] 图4是实施例2与对比例2中模拟的木质纤维素水解液发酵产乙醇过程中碱木素对葡萄糖浓度的影响;

[0027] 图5是实施例3与对比例3中模拟的木质纤维素水解液发酵产乙醇过程中酶解木素对乙醇浓度的影响;

[0028] 图6是实施例3与对比例3中模拟的木质纤维素水解液发酵产乙醇过程中酶解木素对葡萄糖浓度的影响;

[0029] 图7是实施例4与对比例4中玉米秸秆水解液发酵产乙醇过程中酶解木素对乙醇浓度的影响;

[0030] 图8是实施例4与对比例4中玉米秸秆水解液发酵产乙醇过程中酶解木素对葡萄糖浓度的影响。

具体实施方式

[0031] 下面结合具体实施例对本发明进行进一步描述,但本发明的保护范围不受实施例的限制,下述实施例和说明书中描述的内容只是说明本发明的原理,在不脱离本发明精神和范围的前提下,本发明还会有各种变化和改进,这些变化和改进都落入要求保护的本发明的范围内。本发明要求保护范围由所附的权利要求书及其等效物界定。

[0032] 实施例1

[0033] 本实施例中,模拟的木质纤维素水解液由葡萄糖、PH为4.5的缓冲液组成;量取模拟的木质纤维素水解液10毫升,添加碱木素0.7克、酿酒酵母的细胞密度OD₆₀₀为0.16,在发酵温度为33℃、发酵时间为72小时条件下发酵生产乙醇。

[0034] 对比例1

[0035] 本实施例是上述实施例1的对比实施例。在本实施例中除了未加入木质素,其余步骤与实施例1完全相同。量取模拟的木质纤维素水解液10毫升,添加酿酒酵母的细胞密度OD₆₀₀为0.16,在发酵温度为33℃、发酵时间为72小时条件下发酵生产乙醇。

[0036] 上述实施例1与对比实施例1中发酵72小时后葡萄糖与乙醇浓度如图1、2所示。有图1、2可知葡萄糖溶液在碱木素存在的条件下发酵24即可完全发酵生成乙醇,与对比例相比较,发酵终点缩短24小时。

[0037] 实施例2

[0038] 本实施例中,模拟的木质纤维素水解液由葡萄糖、2.0克/L苯酚、PH为4.5的缓冲液组成;量取模拟的木质纤维素水解液10毫升,添加碱木素0.7克、酿酒酵母的细胞密度OD₆₀₀为0.16,在发酵温度为33℃、发酵时间为72小时条件下发酵生产乙醇。

[0039] 对比例2

[0040] 本实施例是上述实施例2的对比实施例。在本实施例中除了未加入木质素,其余步骤与实施例2完全相同。量取模拟的木质纤维素水解液10毫升,添加酿酒酵母的细胞密度OD₆₀₀为0.16,在发酵温度为33℃、发酵时间为72小时条件下发酵生产乙醇。

[0041] 上述实施例2与对比实施例2中发酵72小时后葡萄糖与乙醇浓度如图3、4所示。有图3、4可知2.0克/L苯酚抑制葡萄糖发酵,发酵48小时后只有18克/升乙醇产生;可是当加入0.7克碱木素后,葡萄糖发酵效率明显改善,发酵48小时后乙醇浓度明显提高到26克/升。这充分说明了碱木素对2.0克/升的苯酚起到了明显的原位脱毒作用。

[0042] 实施例3

[0043] 本实施例中,模拟的木质纤维素水解液由葡萄糖、2.0克/L苯酚、PH为4.5的缓冲液组成;量取模拟的木质纤维素水解液10毫升,添加纤维素酶解木素0.7克、酿酒酵母的细胞密度OD₆₀₀为0.16,在发酵温度为33℃、发酵时间为72小时条件下发酵生产乙醇。

[0044] 对比例3

[0045] 本实施例是上述实施例3的对比实施例。在本实施例中除了未加入木质素,其余步骤与实施例3完全相同。量取模拟的木质纤维素水解液10毫升,添加酿酒酵母的细胞密度OD₆₀₀为0.16,在发酵温度为33℃、发酵时间为72小时条件下发酵生产乙醇。

[0046] 上述实施例3与对比实施例3中发酵72小时后葡萄糖与乙醇浓度如图5、6所示。有图5、6可知2.0克/L苯酚抑制葡萄糖发酵,发酵48小时后只有18克/升乙醇产生;可是当加入

0.7克纤维素酶解木素后,葡萄糖发酵效率明显改善,发酵48小时后乙醇浓度明显提高到26克/升。这充分说明了纤维素酶解木素对2.0克/升的苯酚也起到了明显的原位脱毒作用。

[0047] 实施例4

[0048] 本实施例中,木质纤维素生物质为玉米秸秆。玉米秸秆经蒸酸性汽爆破除去半纤维素后进行纤维素酶解获得木质纤维素水解浆液,然后过滤除去残渣剩余液体进行发酵得到乙醇。量取木质纤维素水解液10毫升,添加纤维素酶解木素0.7克、酿酒酵母的细胞密度 OD_{600} 为0.16,在发酵温度为33℃、发酵时间为72小时条件下发酵生产乙醇。

[0049] 经测试,玉米秸秆水解液中主要含有如下发酵抑制物:苯酚、愈创木酚、香草醛、丁香醛、糠醛、5-羟甲基糠醛、苯甲酸。

[0050] 对比例4

[0051] 本实施例是上述实施例4的对比实施例。在本实施例中除了未加入木质素,其余步骤与实施例4完全相同。量取木质纤维素水解液10毫升,添加酿酒酵母的细胞密度 OD_{600} 为0.16,在发酵温度为33℃、发酵时间为72小时条件下发酵生产乙醇。

[0052] 上述实施例4与对比实施例4中经过发酵后体系中乙醇及葡萄糖浓度变化曲线如图7、8所示。有图7、8可知,发酵96小时后乙醇浓度为30克/升,而未经过脱毒的发酵液中乙醇含量仅为3.9克/升。这充分说明了纤维素酶解木素对木质纤维素水解液中含有的苯酚、愈创木酚、丁香醛、糠醛、5-羟甲基糠醛等抑制发酵的毒性化合物起到了明显的原位脱毒作用。

[0053] 以上所有的实施例对本发明的技术方案进行了详细说明,应理解的是以上所述仅为本发明的具体实施例,并不用于限制本发明,凡在本发明的原则范围内所作的任何修改、补充或类似方式替代等,均应包含在本发明的保护范围之内。

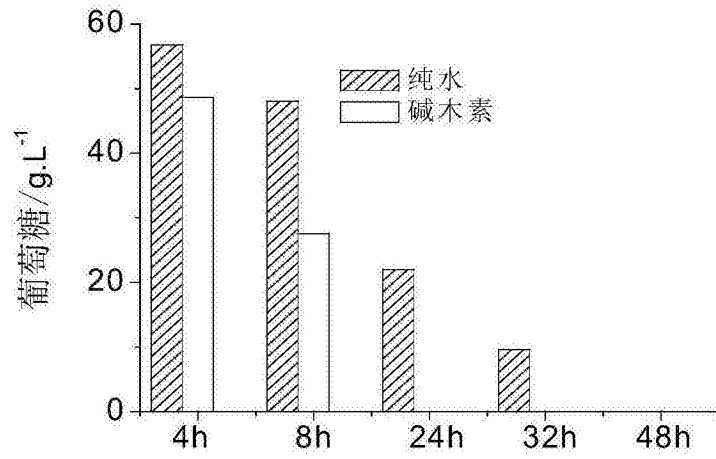


图1

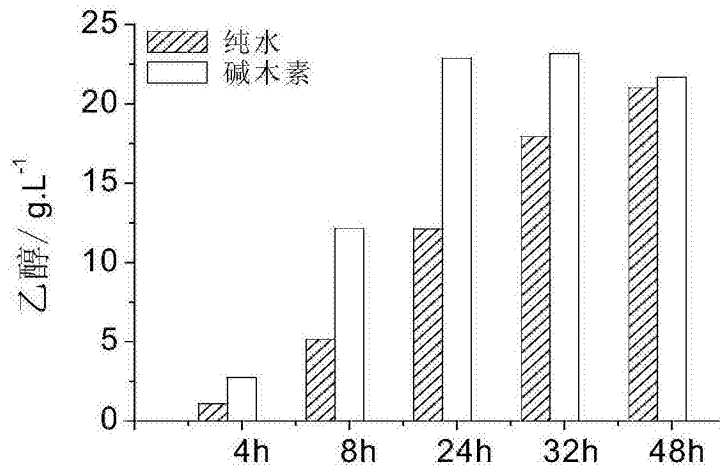


图2

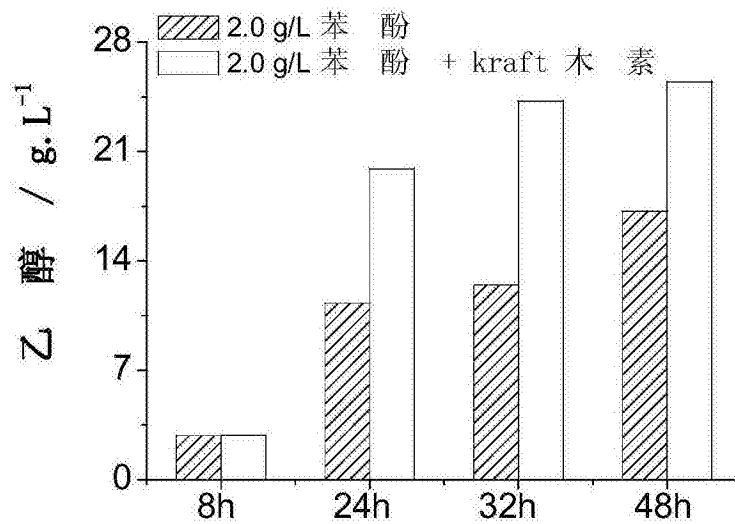


图3

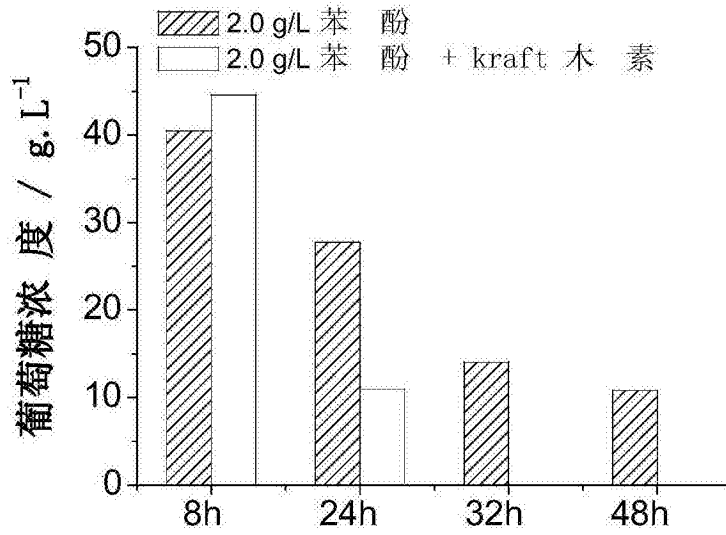


图4

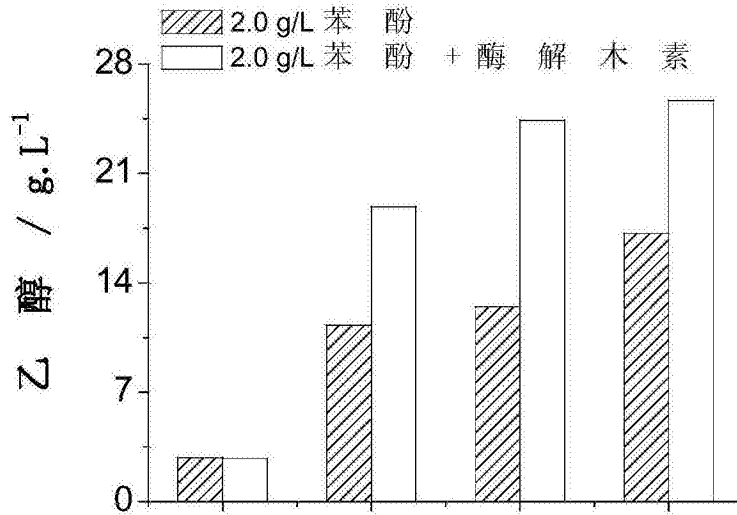


图5

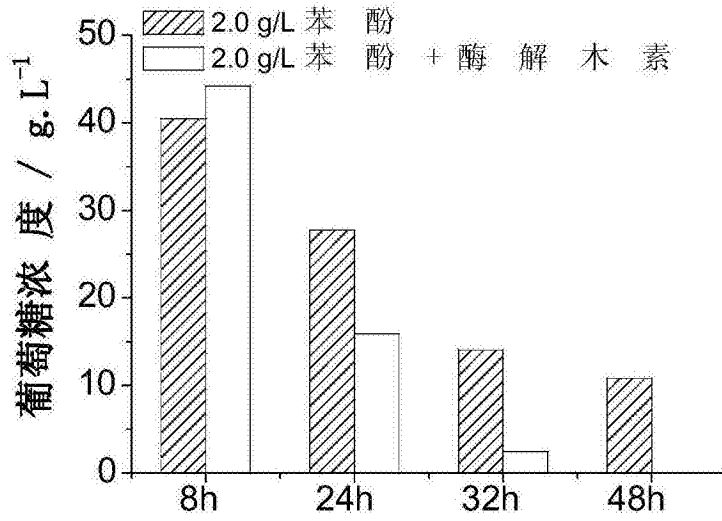


图6

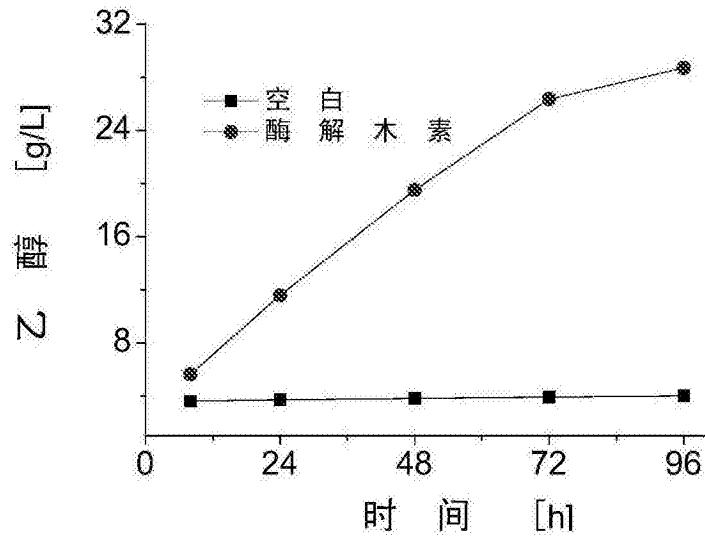


图7

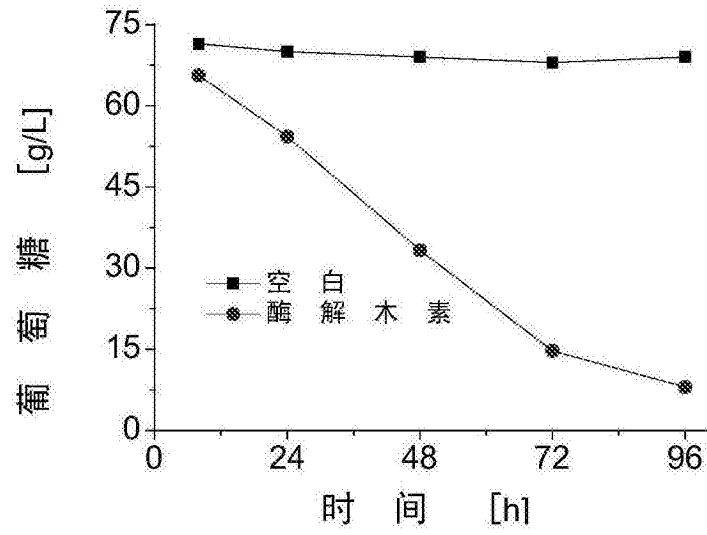


图8