

# 酸预处理麦秆半同步和同步糖化发酵制乙醇条件优化

崔茂金,张瑞晓,刘亚南,陈亚新,封亚融

(河南科技学院 化学化工学院,河南 新乡 453003)

**摘要:**麦秆首先进行盐酸预处理,然后以盐酸预处理麦秆为底物通过正交实验优化了底物半同步和同步糖化发酵制乙醇条件。利用 XRD 对原料、酸预处理麦秆和发酵麦秆的结构特征进行分析。结果表明:盐酸预处理的麦秆半同步糖化发酵制乙醇的最佳条件为发酵温度 36 ℃、酵母接种量 0.1%、酶质量浓度 0.8 g/L 和发酵时间 2 d,此时乙醇含量为 19.16 g/L;盐酸预处理的麦秆同步糖化发酵制乙醇的最佳条件为发酵温度 39 ℃、酵母接种量 0.1%、酶质量浓度 0.5 g/L 和发酵时间 4 d,此时乙醇含量为 19.44 g/L;同步糖化发酵优于半同步糖化发酵;XRD 分析表明酸预处理和发酵后,麦秆的结晶度降低。

**关键词:**麦秆;盐酸预处理;半同步糖化发酵;同步糖化发酵;正交实验;XRD

中图分类号:X712;S216.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)09-0062-04

## Optimization of semi-simultaneous and simultaneous saccharification and fermentation conditions of acid pretreated wheat straw to produce ethanol

CUI Maojin, ZHANG Ruixiao, LIU Yanan, CHEN Yaxin, FENG Yarong

(Department of Chemistry and Chemical Engineering, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, Henan, China)

**Abstract:**Wheat straw was first pretreated by hydrochloric acid, and then the semi-simultaneous and simultaneous saccharification and fermentation conditions to produce ethanol were optimized by orthogonal experiment using hydrochloric acid pretreated wheat straw as substrate. XRD was used to analyze the structural characteristics of raw material, acid pretreated wheat straw and fermented wheat straw. The results showed that the optimal semi-simultaneous saccharification and fermentation conditions of hydrochloric acid pretreated wheat straw to produce ethanol were obtained as follows: fermentation temperature 36 ℃, yeast inoculation amount 0.1%, enzyme mass concentration 0.8 g/L and fermentation time 2 d. Under these conditions, the ethanol content was 19.16 g/L. The optimal simultaneous saccharification and fermentation conditions of hydrochloric acid pretreated wheat straw to produce ethanol were obtained as follows: fermentation temperature 39 ℃, yeast inoculation amount 0.1%, enzyme mass concentration 0.5 g/L and fermentation time 4 d. Under these conditions, the ethanol content was 19.44 g/L. Simultaneous saccharification and fermentation was superior to semi-simultaneous saccharification and fermentation. XRD analysis showed that the crystallinity of acid pretreated wheat straw and fermented wheat straw reduced.

**Key words:**wheat straw; hydrochloric acid pretreatment; semi-simultaneous saccharification and fermentation; simultaneous saccharification and fermentation; orthogonal experiment; XRD

乙醇作为一种清洁能源,有“绿色石油”和“液

体黄金”之称<sup>[1]</sup>。纤维素乙醇作为二代燃料乙醇较一代燃料乙醇(粮食乙醇)具有来源广、可再生、环保等优势。农作物秸秆如麦秆、稻秆、玉米秸秆等是一种产量大、分布广、可再生的生物质资源。我国是农业大国,农作物秸秆的年产量 9.88 亿 t<sup>[2]</sup>,然而绝

收稿日期:2018-01-28;修回日期:2018-03-12

作者简介:崔茂金(1980),男,讲师,博士,研究方向为农林生物质资源化(E-mail)cuimaojin@163.com。

大多数农作物秸秆被丢弃在田间或直接燃烧,对生物质资源造成极大浪费。如果能将农作物秸秆转化为燃料乙醇,将会取得变废为宝的效益。麦秆是我国北方地区常见的一种农业生物质资源,其主要由纤维素(33%~40%)、半纤维素(20%~25%)和木质素(15%~20%)组成<sup>[3]</sup>,纤维素含量较大,是一种很好的纤维素乙醇原料。

由于生物质的结构比较复杂,所以生物质原料生物转化为乙醇主要分为3个阶段:预处理、酶解和发酵<sup>[4]</sup>。常用的纤维素乙醇发酵工艺主要有半同步糖化发酵和同步糖化发酵<sup>[5-8]</sup>。半同步糖化发酵是在原料最佳酶解条件下酶解糖化到一定程度后降低温度加入酵母进行乙醇发酵,使得乙醇发酵尽可能达到最大水平。同步糖化发酵是原料的酶水解和乙醇发酵在同一装置内同时进行,酶水解得到的糖可以直接被乙醇发酵利用。

基于此,本研究以盐酸预处理的麦秆为底物通过四因素三水平正交实验对其半同步和同步糖化发酵工艺条件进行了优化和比较。最后利用XRD对预处理前后和发酵后的样品的结晶度进行分析和比较。以期为农林生物质转化为清洁能源的生产提供有价值的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

麦秆于2017年5月取自河南新乡郊区,自然晾干粉碎后于105℃干燥至恒重,放在干燥器中备用;纤维素酶,购于西安沃尔森生物技术有限公司;安琪耐高温酿酒高活性干酵母,购于安琪酵母股份有限公司。盐酸、无水乙醇、重铬酸钾、硫酸、柠檬酸、柠檬酸三钠,均为分析纯。

FA1004型分析天平;101型电热鼓风干燥箱;FZ102型植物粉碎机;WFJ7200型可见分光光度计;SHA-C型水浴恒温振荡器;DF-101S型数显集热式磁力搅拌器;DX-2700B型X射线衍射仪。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 酸预处理

盐酸预处理条件为预处理温度154.6℃、盐酸体积分数6.1%、预处理时间42.2 min、麦秆与盐酸溶液质量体积比9.2:1 000。将酸预处理后的麦秆用蒸馏水洗至中性,105℃干燥至恒重作为底物做发酵实验。

#### 1.2.2 半同步糖化发酵

称取1 g的底物放入100 mL三角瓶中,然后分别加入45 mL用0.1 mol/L pH为4.8的柠檬酸-柠檬酸三钠缓冲溶液配制的不同质量浓度纤维素酶

溶液,将三角瓶放入水浴恒温振荡器中,在50℃酶解2 d,再分别加入5 mL不同接种量的用葡萄糖活化的酵母,再将三角瓶放入水浴恒温振荡器中,在一定温度下发酵一段时间。每组实验重复3次取平均值。乙醇含量的测定采用重铬酸钾法<sup>[9]</sup>。

#### 1.2.3 同步糖化发酵

称取1 g的底物放入100 mL的三角瓶中,然后分别加入45 mL用0.1 mol/L pH为4.8的柠檬酸-柠檬酸三钠缓冲溶液配制的不同质量浓度的纤维素酶,再分别加入5 mL不同接种量的用葡萄糖活化的酵母,将三角瓶放入水浴恒温振荡器中,在一定温度下发酵一段时间。每组实验重复3次取平均值。

#### 1.2.4 结晶度分析

原料、酸预处理样品和发酵样品的结晶度通过XRD测定。测定时扫描步长0.02(°)/s,扫描范围5°~60°。根据Segal公式计算样品的相对结晶度:

$$CrI = (I_{002} - I_{am}) \times 100\% / I_{002}$$

式中:CrI表示相对结晶度; $I_{002}$ 为002面衍射峰的极大强度( $2\theta = 22.5^\circ$ ); $I_{am}$ 为衍射角18°时非结晶背景的散射强度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 糖化发酵实验

#### 2.1.1 半同步糖化发酵正交实验优化

利用四因素三水平正交实验对盐酸预处理的麦秆的半同步糖化发酵工艺进行优化。选取发酵温度、酵母接种量、酶质量浓度和发酵时间4个发酵条件为因素,每个因素选取3个水平,设计了四因素三水平的正交实验。正交实验设计如表1所示,正交实验设计及结果如表2所示,方差分析如表3所示。

表1 正交实验设计

水平	A 发酵温度/℃	B 酵母接种量/%	C 酶质量浓度/(g/L)	D 发酵时间/d
1	33	0.1	0.2	2
2	36	0.3	0.5	3
3	39	0.5	0.8	4

从表2可以看出,半同步糖化发酵的最佳条件为发酵温度36℃、酵母接种量0.1%、酶质量浓度0.8 g/L和发酵时间2 d,此时乙醇含量为19.16 g/L。从表2可以看出,第6组实验即发酵温度36℃、酵母接种量0.5%、酶质量浓度0.2 g/L和发酵时间3 d,乙醇含量最大为18.81 g/L,此值比最佳条件下的乙醇含量小。从极差分析可以看出,4个因素对酸预处理的麦秆半同步糖化发酵影响的主次顺序为发酵温度、酵母接种量、酶质量浓度和发酵时间。

表2 半同步糖化发酵正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	D	乙醇含量/(g/L)
1	1	1	1	1	17.89
2	1	2	2	2	14.50
3	1	3	3	3	16.89
4	2	1	2	3	18.60
5	2	2	3	1	18.55
6	2	3	1	2	18.81
7	3	1	3	2	18.29
8	3	2	1	3	15.63
9	3	3	2	1	15.44
$k_1$	16.43	18.26	17.44	17.29	
$k_2$	18.65	16.23	16.18	17.20	
$k_3$	16.45	17.05	17.91	17.04	
R	2.22	2.03	1.73	0.25	

表3 半同步糖化发酵的方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	显著性
A	9.80	2	4.90	98.00	**
B	6.28	2	3.14	62.80	**
C	4.81	2	2.41	48.20	**
D(误差)	0.10	2	0.05	1.00	
总和	20.99	8			

注: $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.1}(2,2) = 9$ ; \*\*  $F > F_{0.05}$  极显著;  
\*  $F_{0.1} < F < F_{0.05}$  显著;  $F < F_{0.1}$ , 不显著。下同。

从表3可以看出,各因素对酸预处理的麦秆半同步糖化发酵影响的主次顺序为发酵温度、酵母接种量、酶质量浓度和发酵时间,与表2极差分析结果一致。发酵温度、酵母接种量和酶质量浓度3个因素对酸预处理的麦秆半同步糖化发酵影响极显著,发酵时间影响不显著。

### 2.1.2 同步糖化发酵正交实验优化

选取发酵温度、酵母接种量、酶质量浓度和发酵时间4个发酵条件为因素,每个因素下选取3个水平,设计四因素三水平的盐酸预处理麦秆同步糖化发酵正交实验。正交实验设计如表1所示,正交实验设计及结果如表4所示,方差分析如表5所示。

从表4可以看出,同步糖化发酵的最佳条件为发酵温度39℃、酵母接种量0.1%、酶质量浓度0.5 g/L和发酵时间4 d,此时乙醇含量为19.44 g/L。从表4可以看出,第7组实验即发酵温度39℃、酵母接种量0.1%、酶质量浓度0.8 g/L和发酵时间3 d,乙醇含量最大为18.92 g/L,此值比最佳条件下的乙醇含量小。从极差分析可以看出,4个因素对酸预处理的麦秆同步糖化发酵影响的主次顺序为发酵温度、酵母接种量、酶质量浓度和发酵时间。

表4 同步糖化发酵正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	D	乙醇含量/(g/L)
1	1	1	1	1	14.56
2	1	2	2	2	14.67
3	1	3	3	3	13.71
4	2	1	2	3	17.64
5	2	2	3	1	15.79
6	2	3	1	2	15.44
7	3	1	3	2	18.92
8	3	2	1	3	18.68
9	3	3	2	1	18.91
$k_1$	14.31	17.04	16.23	16.42	
$k_2$	16.29	16.38	17.07	16.34	
$k_3$	18.84	16.02	16.14	16.68	
R	4.53	1.02	0.93	0.34	

表5 同步糖化发酵的方差分析

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	显著性
A	30.85	2	15.43	171.44	**
B	1.61	2	0.81	9.00	
C	1.60	2	0.80	8.89	
D(误差)	0.18	2	0.09	1.00	
总和	34.24	8			

从表5可以看出,各因素对酸预处理的麦秆同步糖化发酵影响的主次顺序为发酵温度、酵母接种量、酶质量浓度和发酵时间,这与表4极差的分析结果是一致的。发酵温度对酸预处理的麦秆同步糖化发酵影响极显著,其他3个因素影响不显著。对于酸预处理麦秆来说,发酵温度对半同步糖化发酵和同步糖化发酵影响都很显著,发酵时间影响都不显著。酵母接种量和酶质量浓度对半同步糖化发酵影响显著,而对同步糖化发酵影响不显著。

通过极差和方差分析可知影响酸预处理的麦秆半同步和同步糖化发酵的各因素的主次顺序是一致的。盐酸预处理麦秆同步糖化发酵最佳条件和半同步糖化发酵最佳条件不同,这是由于发酵的起始糖浓度不同。盐酸预处理麦秆同步糖化发酵制乙醇产量高于半同步发酵的产量,这说明对于盐酸预处理的麦秆来说同步糖化发酵优于半同步糖化发酵。这可能是由于半同步糖化发酵的起始糖浓度较大,抑制了酵母对糖的利用率。影响酸预处理的麦秆的同步糖化发酵的各因素的主次顺序与影响碱预处理的麦秆的是一致的<sup>[10]</sup>,这说明预处理方法对各因素的主次顺序是没有影响的。

### 2.2 麦秆原料、酸预处理样品和发酵样品结晶度分析

生物质中纤维素的结晶度对其酶解和发酵产率

影响较为显著。原料、酸预处理样品和发酵样品的XRD谱图如图1所示。

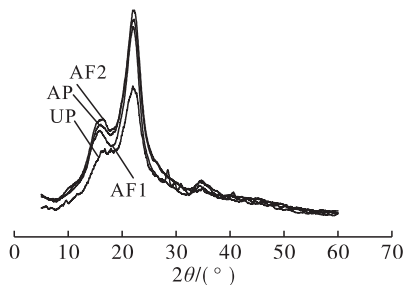


图1 原料(UP)、酸预处理样品(AP)、半同步糖化发酵(AF1)和同步糖化发酵(AF2)样品的XRD谱图

从图1可以看出,酸预处理和发酵后的麦秆和原料相比,其在 $2\theta = 18^\circ$ 和 $2\theta = 22^\circ$ 的衍射峰强度明显增加,尤其是代表结晶区强度的002面衍射峰( $2\theta = 22^\circ$ )强度增加的更为明显,这是因为酸预处理使得麦秆中的半纤维素大部分降解和木质素部分降解,从而使得纤维素相对含量增加。通过Segal公式计算可知原料的相对结晶度为66.07%,酸预处理样品的相对结晶度为50.43%,半同步糖化发酵样品的相对结晶度为39.02%,同步糖化发酵样品的相对结晶度为45.83%,酸预处理降低半纤维素和木质素的含量,使得预处理样品中结晶态纤维素结构变得松散多孔,相对结晶度降低。结晶度降低,使得更多的纤维素暴露在表面,提高了酶解和发酵效率。半同步糖化发酵样品的相对结晶度低于同步糖化发酵样品的相对结晶度,这是由于半同步糖化发酵前对底物在 $50^\circ\text{C}$ 下酶解2 d,纤维素酶在 $50^\circ\text{C}$ 下的活性较高,从而使得底物中的纤维素酶解较多。同步糖化发酵是在较低的温度下进行的,纤维素酶的活性较低,降解的纤维素较少,而酵母不能直接利用纤维素进行发酵产乙醇,从而使得同步糖化发酵样品的相对结晶度较高。

### 3 结论

本文采用正交实验优化了盐酸预处理麦秆半同

步和同步糖化发酵制乙醇的工艺,得出以下结论:①影响盐酸预处理的麦秆半同步和同步糖化发酵各因素的主次顺序均为发酵温度、酵母接种量、酶质量浓度和发酵时间。②盐酸预处理的麦秆半同步糖化发酵最佳条件为发酵温度 $36^\circ\text{C}$ 、酵母接种量0.1%、酶质量浓度0.8 g/L和发酵时间2 d,此时乙醇含量为19.16 g/L。盐酸预处理的麦秆同步糖化发酵最佳条件发酵温度 $39^\circ\text{C}$ 、酵母接种量0.1%、酶质量浓度0.5 g/L和发酵时间4 d,此时乙醇含量为19.44 g/L。同步糖化发酵优于半同步糖化发酵。③XRD谱图分析表明酸预处理和发酵后,麦秆结晶度降低。

### 参考文献:

- [1] 徐超,关东明,朱汉青,等. 木质纤维素制燃料乙醇的预处理研究[J]. 绿色科技, 2012(3):280-283.
- [2] 付小果. 生物质预处理过程及酶解发酵乙醇的研究[D]. 北京:中国科学院大学, 2016.
- [3] PRASAD S, SINGH A, JOSHI H C. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues[J]. Resour Conserv Recy, 2007, 50(1):1-39.
- [4] 孙保剑,王新明,肖林,等. 玉米秸秆发酵生产乙醇的研究[J]. 山东化工, 2014,43(12):27-29,33.
- [5] 田亚红,常李新,王丽萍,等. 玉米秸秆、玉米芯发酵生产乙醇的研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(3):47-50.
- [6] 杨德良,储秋露,赖晨欢,等. 玉米秸秆半同步和同步糖化发酵的研究[J]. 林产化学与工业, 2015, 35(3):55-59.
- [7] 相瑞娟,尹思静,侯胜博,等. 菊芋秸秆的稀酸水解及乙醇发酵[J]. 现代化工, 2015, 35(5):81-84.
- [8] 张敬芝. 基于木质纤维素能源作物预处理及发酵转化乙醇的过程强化[D]. 北京:北京化工大学, 2017.
- [9] 王福荣. 酿酒分析与检测[M]. 北京:化学工业出版社, 2005.
- [10] 崔茂金,李长恭,祝勇,等. 麦秆碱预处理和同步糖化发酵工艺优化研究[J]. 中国油脂, 2017, 42(8):98-102.

欢迎订阅2019年度《中国油脂》

欢迎关注中国油脂微信公众号

扫一扫

