



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104561190 B

(45)授权公告日 2018.07.27

(21)申请号 201410831516.0

(22)申请日 2014.12.26

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104561190 A

(43)申请公布日 2015.04.29

(73)专利权人 中国林业科学研究院林产化学工业研究所

地址 210042 江苏省南京市锁金五村16号

(72)发明人 杨静 卫民 张宁 蒋剑春 赵剑

(74)专利代理机构 南京瑞弘专利商标事务所
(普通合伙) 32249

代理人 冯慧

(51)Int.Cl.

C12P 19/14(2006.01)

C12P 7/10(2006.01)

(56)对比文件

CN 101824436 A,2010.09.08,

CN 102994572 A,2013.03.27,

WO 2013082616 A2,2013.06.06,

诸力等.竹子蒸汽爆破法预处理及酶解获取可发酵单糖.《农业工程学报》.2011,第27卷(第12期),302-306.

刘建军.不同预处理对禾本绿竹生产纤维素乙醇糖化效果的比较研究.《三明学院学报》.2011,第28卷(第5期),56-60.

审查员 陈中伟

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法

(57)摘要

本发明公开了一种竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,先用0.75%~2%g/ml的稀H₂SO₄或NaOH浸渍24~48h,随之进行蒸汽爆破法再处理;然后利用载量为5~30FPU/克预处理原料的纤维素酶和β-葡萄糖苷酶组合酶水解。本发明所用稀酸/碱联合蒸汽爆破预处理可同步高效移除竹材纤维原料中的半纤维素和木素,经过预处理后竹材纤维素经酶水解所得葡萄糖产率大大提高。本发明有利于降低石化资源的过度开发,缓解日益严重的能源与环境危机,利用林业废弃物生产燃料乙醇,变废为宝,解决了燃料与人争粮的问题,有利于实现可持续发展。

1. 一种竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,其特征在于,包括两步法预处理及纤维素酶水解,具体步骤如下:

(1) 准备原料:将自然风干的竹材废弃物切片,粉碎、过筛得竹粗粉;

(2) 稀碱预处理:用稀碱充分浸渍竹粗粉,水洗至中性;

(3) 蒸汽爆破再处理:将稀碱预处理的竹粗粉,利用蒸汽爆破法进行再处理,竹粗粉质量和水体积的比为1:10~20g/ml,蒸汽爆破的压力为1.0~2.0MPa,持续时间为6~10min,温度为118℃;之后水洗至中性,烘干;

(4) 酶水解:每克蒸汽爆破再处理原料中加入5~30FPU的纤维素酶和β-葡萄糖苷酶,于45~60℃,100~150 r/min 水解48~72 h。

2. 按照权利要求1所述的竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,其特征在于,所用竹材废弃物为来自四川成都的慈竹加工下脚料。

3. 按照权利要求1所述的竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,其特征在于,步骤(4)中纤维素酶活力为19.6FPU/g,β-葡萄糖苷酶活力为9.3 CBU/mg。

4. 按照权利要求1所述的竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,其特征在于,准备原料步骤中得到的竹粗粉的粒径为0.6~0.85mm。

5. 按照权利要求1所述的竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,其特征在于,所述的稀碱为0.75%~2%g/ml的NaOH水溶液。

6. 按照权利要求1所述的竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,其特征在于,稀碱预处理步骤中,竹粗粉质量和稀碱体积的比为1:10~20g/ml。

7. 按照权利要求1所述的竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,其特征在于,纤维素酶和β-葡萄糖苷酶的混合比例为1:1。

一种竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法

技术领域

[0001] 本发明涉及燃料乙醇的制备工艺,具体涉及一种高效竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法。

发明内容

[0002] 多年来,传统能源的大量使用导致了能源危机以及环境恶化。为了实现经济和环境的可持续发展,可再生、无污染的生物质能源已成为当今的研究热点。

[0003] 木质纤维素是地球上数量最大的可再生能源物质,据初步统计全世界每年产量大约为100亿t。利用农林废弃物作为原料生产乙醇,实现生物质资源的高值化利用,有利于改善生态环境,符合循环经济发展的要求,还可以增加农民的收入。

[0004] 竹子是森林资源的重要组成部分,作为世界上竹子资源最丰富的国家,我国是竹子的中心产区之一,素有“竹子王国”的美誉。目前,我国的竹材人造板行业90%以上以毛竹为原料,而大部分杂竹,尤其是小径杂竹、丛生竹并没有得到有效利用。在面临森林资源不足的情况下,如何充分有效地利用这些竹料,已成为竹材综合利用的一个很值得探讨的紧迫问题,也具有广阔的前景。竹子是速生型植物资源,具有生长快、易繁殖、单产高、成本低、生产周期短等优点;同时竹子富含半纤维素和纤维素且廉价易得,利用竹材加工剩余物及小径杂竹、丛生竹生产生物乙醇可谓一条有效途径。竹子具有密度大、硬度高和强度好等特点,再加上竹材特殊的化学结构,对酶和微生物入侵具有“顽抗性”,酶解比较困难。

[0005] 天然纤维素类物质含有木质素、纤维素和半纤维素,纤维素的有效水解受木质素的空间障碍和纤维素本身高结晶度和聚合度的阻碍,因此,欲水解纤维素必须对原料进行预处理。常用的预处理的方法主要有物理法、化学法、生物法和联合预处理法等。蒸汽爆破是采用饱和水蒸汽加热原料至一定的压力,高压蒸汽渗入纤维内部,以气流的方式从封闭的孔隙中释放出来,使纤维发生一定的机械断裂,然后骤然减压至大气压的生物质预处理手段,是木质纤维素原料预处理的有效方法之一。

发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种高效竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,将林业废弃物变废为宝,降低燃料乙醇的生产成本,提高燃料乙醇的生产过程的经济性。

[0007] 本发明的技术方案为:一种竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,包括两步法预处理及纤维素酶水解,具体步骤如下:

[0008] (1) 准备原料:将自然风干的竹材废弃物切片,粉碎、过筛得竹粗粉;

[0009] (2) 稀酸或碱预处理:用稀碱或稀酸充分浸渍竹粗粉;

[0010] (3) 蒸汽爆破再处理:将稀酸或稀碱预处理的竹粗粉,利用蒸汽爆破法进行再处理,竹粗粉质量和水体积的比为1:10~20g/ml,蒸汽爆破的压力为1.0~2.0MPa,持续时间为6~10min,之后水洗至中性,烘干;

[0011] (4) 酶水解:每克蒸汽爆破再处理原料中加入5~30FPU的纤维素酶和β-葡萄糖苷酶,于45~60℃,100~150r/min水解48~72h。

[0012] 所用竹材废弃物为来自四川成都的慈竹加工下脚料。

[0013] 步骤(4)中纤维素酶活力为19.6FPU/g,β-葡萄糖苷酶活力为9.3CBU/mg。

[0014] 准备原料步骤中得到的竹粗粉的粒径为0.6~0.85mm

[0015] 所述的稀碱或稀酸为0.75%~2%g/ml的H₂SO₄或NaOH水溶液。

[0016] 稀碱或稀酸预处理步骤中,竹粗粉质量和稀碱或稀酸体积的比为1:10~20g/ml。

[0017] 纤维素酶和β-葡萄糖苷酶的混合比例为1:1。

[0018] 有益效果:本发明所用稀酸/碱联合蒸汽爆破预处理可同步高效移除竹材纤维原料中的半纤维素和木素,经过预处理后竹材纤维素经酶水解所得葡萄糖产率大大提高。竹子的固体回收率>91%、酶水解得率>57%、总葡萄糖得率>52%;较未处理过的原料大大提高。本发明有利于降低石化资源的过度开发,缓解日益严重的能源与环境危机,利用林业废弃物生产燃料乙醇,变废为宝,解决了燃料与人争粮的问题,有利于实现可持续发展。

具体实施方式

[0019] 以下实施例用于说明本发明,但不用来限制本发明的范围。

[0020] 本发明高效竹子生物质废弃物酶水解产可发酵糖的两步预处理方法,包括以下内容,稀酸/碱浸渍预处理、蒸汽爆破再处理、纤维素酶水解步骤。

[0021] 本发明方法中,以慈竹下脚料(也适用于其它非木材生物质)为原材料,将其切片、烘干、粉碎、过20-40目筛。

[0022] 本发明方法中,用0.75%~2%(g/ml)的稀H₂SO₄或NaOH进行稀酸/碱预处理,在室温下分别浸渍竹粗粉,时间为24~48h,竹粗粉质量和水体积的比为1:10~1:20(g:ml);

[0023] 本发明方法中,将稀酸/碱预处理的竹粗粉,利用蒸汽爆破法进行再处理,竹粉质量和水体积的比为1:10~1:20(g:ml),蒸汽爆破的压力为1.0~2.0MPa,持续时间为6~10min,之后水洗至中性,烘干;

[0024] 本发明方法中,纤维素酶水解方法为:每克预处理原料加入5~30FPU的纤维素酶和β-葡萄糖苷酶(比例为1:1),于45~60℃,100~150r/min水解48~72h;

[0025] 本发明方法中,纤维素回收率(y_{rec} ,%)的计算公式为:

$$[0026] \quad y_{rec} = \frac{M_{pret} \times C_{pret}}{M_{or} \times C_{or}} \times 100\%$$

[0027] 式中: M_{pret} —预处理后原料干重,g; M_{or} —未处理原料干重,g; C_{pret} —预处理原料纤维素含量,%; C_{or} —未处理原料纤维素含量,%。

[0028] 酶水解得率(y_{eeh} ,%)的计算公式为:

$$[0029] \quad y_{eeh} = \frac{G_{eh} \times 0.9}{M_{ch} \times C_{pret}} \times 100\%$$

[0030] 式中: M_{eh} —样品干重,g; G_{eh} —葡萄糖含量,g/L;0.9为纤维素和葡萄糖之间的转换系数; C_{pret} —样品中纤维素的质量分数,%。

[0031] 总体葡萄糖产率(y_p ,%)的计算公式为:

$$[0032] \quad y_p = \frac{y_{eeh} \times y_{rec}}{100\%}$$

[0033] 式中： y_{rec} —纤维素回收率，%； y_{eeh} —酶水解得率，%。

[0034] 以下实施例中，各种糖以及乙醇的含量均采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定。色谱条件如下：色谱仪：Agilent1100 高效液相色谱仪；色谱柱：Bio-Rad Aminex HPX-87H；流动相：0.005mol/L 硫酸，流速：0.6mL/min；柱温：55℃；检验器：示差折光检验器；进样量：10μL。外标法测定。

[0035] 实施例1

[0036] 将慈竹下脚料切片、烘干，用粉碎机粉碎过筛得0.6~0.85mm的竹粗粉备用。用浓度为0.75% (g/ml) 的NaOH处理橡子壳，固液比1:10 (g/ml)，室温静止浸渍48h。处理结束后，用蒸馏水将原料洗至中性，过滤，50℃烘干。取稀碱预处理原料进行蒸汽爆破，温度为118℃，压力为1.0MPa，持续8min，竹粉质量和稀碱体积比为1:20 (g:ml)。处理结束后，过滤，所得部分固体预处理原料于-20℃保存待酶水解，取部分烘干测定酸不溶木素含量并计算固体回收率。称取一定量的样品，加入0.1M, pH 4.8的柠檬酸缓冲液，固液比为5% (g/ml)，加入酶，载量为20FPU纤维素酶和20CBUB-葡萄糖苷酶每克预处理原料，于50℃，150r/min水解72h。结束后，立即用冰块终止酶水解，过滤，进行高效液相色谱分析。

[0037] 结果表明，经过0.75%NaOH预浸渍以及蒸汽爆破处理条件，竹子的固体回收率为91.4%，酶水解得率为57.1%，总葡萄糖得率为52.2%，较未处理原料(34.5%)提高了51.3%。

[0038] 实施例2

[0039] 将慈竹下脚料切片、烘干，用粉碎机粉碎过筛得0.6~0.85mm的竹粗粉备用。用浓度为2% (g/ml) 的NaOH处理橡子壳，固液比1:10 (g/ml)，室温静止浸渍48h。处理结束后，用蒸馏水将原料洗至中性，过滤，50℃烘干。取稀碱预处理原料进行蒸汽爆破，温度为118℃，压力为1.0MPa，持续6min，竹粉质量和水体积比为1:20 (g:ml)。处理结束后，过滤，所得部分固体预处理原料于-20℃保存待酶水解，取部分烘干测定酸不溶木素含量并计算固体回收率。称取一定量的样品，加入0.1M, pH 4.8的柠檬酸缓冲液，固液比为5% (g/ml)，加入酶，载量为20FPU纤维素酶和20CBUB-葡萄糖苷酶每克预处理原料，于50℃，150r/min水解72h。结束后，立即用冰块终止酶水解，过滤，进行高效液相色谱分析。

[0040] 结果表明，经过2%NaOH预浸渍以及蒸汽爆破处理条件，竹子的固体回收率为93.1%，酶水解得率为61.4%，总葡萄糖得率为57.2%，较未处理原料(34.5%)提高了65.8%。

[0041] 实施例3

[0042] 将慈竹下脚料切片、烘干，用粉碎机粉碎过筛得0.6~0.85mm的竹粗粉备用。用浓度为2% (g/ml) 的NaOH处理橡子壳，固液比1:10 (g/ml)，室温静止浸渍48h。处理结束后，用蒸馏水将原料洗至中性，过滤，50℃烘干。取稀碱预处理原料进行蒸汽爆破，温度为118℃，压力为1.0MPa，持续6min，竹粉质量和水体积比为1:20 (g:ml)。处理结束后，过滤，所得部分固体预处理原料于-20℃保存待酶水解，取部分烘干测定酸不溶木素含量并计算固体回收率。称取一定量的样品，加入0.1M, pH 4.8的柠檬酸缓冲液，固液比为5% (g/ml)，加入酶，载量为20FPU纤维素酶和20CBUB-葡萄糖苷酶每克预处理原料，于50℃，150r/min水解72h。结

束后,立即用冰块终止酶水解,过滤,进行高效液相色谱分析。

[0043] 结果表明,经过2%NaOH预浸渍以及蒸汽爆破处理条件,竹子的固体回收率为86.4%,酶水解得率为67.1%,总葡萄糖得率为58.0%,较未处理原料(34.5%)提高了68.1%。