

蒸汽爆破玉米芯水解液脱毒及其发酵生产燃料丁醇

王风芹, 仝银杏, 李传斌, 谢 慧, 宋安东*

(河南农业大学生命科学学院/农业部农业微生物酶工程重点实验室, 郑州 450002)

摘要: 为探究以玉米芯为原料生产燃料丁醇的最佳工艺技术, 该研究对蒸汽爆破玉米芯水解液的脱毒方式及脱毒后的水解液的丙酮丁醇发酵进行了研究。结果表明: D301 树脂对玉米芯水解液进行脱毒的综合效果最好, 甲酸、乙酸和总酚的脱除率分别达到 60%、46.04%和 56.31%, 香草醛脱除率为 100%, 对糠醛和 5-HMF 的脱除率分别达到了 82.95%和 87.52%; 同时总糖的损失率为 4.38%。D301 树脂脱毒后的水解液经 *C. acetobutylicum* CICC 8016 发酵丁醇和总溶剂产量分别为 5.2 和 7.5 g/L, 葡萄糖和总糖的利用率分别达到 100%和 73.67%。当 D301 树脂脱毒的玉米芯水解液初始糖的质量浓度为 50 g/L 时, 丁醇和总溶剂(丙酮、丁醇和乙醇)的质量浓度分别达到最大 9.7 和 14.6 g/L。该研究为利用玉米芯工业化生产燃料丁醇提供了可靠的技术支持。

关键词: 燃料; 发酵; 蒸汽; 爆破; 玉米芯; 脱毒

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2016.05.037

中图分类号: TQ923; TQ353.4+2; TQ353.7

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2016)-05-0257-06

王风芹, 仝银杏, 李传斌, 谢 慧, 宋安东. 蒸汽爆破玉米芯水解液脱毒及其发酵生产燃料丁醇[J]. 农业工程学报, 2016, 32(5): 257-262. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2016.05.037 <http://www.tcsae.org>

Wang Fengqin, Tong Yinxing, Li Chuanbin, Xie Hui, Song Andong. Hydrolysate detoxified from steam exploded corn cob and its fermentation producing butanol fuels[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2016, 32(5): 257-262. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2016.05.037 <http://www.tcsae.org>

0 引言

传统化石能源的日益枯竭, 使得各国都十分重视生物质能源的开发与利用^[1-3]。丙酮-丁醇发酵(actone-butanol fermentation)曾是仅次于乙醇发酵的第二大发酵产业, 其发酵产物主要包括丙酮(actone)、丁醇(butanol)和乙醇(ethanol)^[4], 又称为总溶剂(ABE或total solvent)。燃料丁醇和燃料乙醇相比具有热值更高, 不腐蚀设备, 更利于管道运输^[5]等优点。在能源危机日益严重的当下, 丙酮丁醇发酵受到越来越多的关注。

玉米芯作为一种丰富且廉价的生物质资源, 是生产生物质能源的重要原料^[6-10]。然而, 玉米芯作为木质纤维素材料, 结构非常复杂, 需经过适当预处理才能被高效利用。蒸汽爆破具有节时高效、设备腐蚀低、环境友好的优点, 被广泛应用于木质纤维素的预处理领域^[11]。在玉米芯等木质纤维素的预处理和酶水解过程中会产生酸类、醛类和酚类等抑制微生物生长和发酵的有毒物质^[12-14], 它们通过影响微生物酶活性、改变细胞 H⁺ 梯度等使丙酮丁醇的发酵受到抑制。故寻找一种高效的脱毒技术是纤

维丁醇发酵顺利进行的关键性步骤之一。Lu Congcong 等^[15]用离子交换树脂对山毛榉等木材的纤维水解液进行脱毒处理并旋转蒸发浓缩, 使 *Clostridium beijerinckii* 分批发酵产溶剂量提高了 68%, 从 6.73 g/L 增加到了 11.35 g/L。Zhuang 等^[16]将经过甲酸预处理的水解液通过 D311 树脂脱除甲酸, 结果甲酸脱除率达 94%, 同时, 葡萄糖损失率为 15%。徐勇等^[17]对 D201、D293、D301、D315 4 种离子交换树脂的脱毒性能进行了比较, 结果表明 D301 树脂对酸、醛类抑制物的总脱除率可达 70.2%。Ge 等^[18]对玉米芯水解液进行氢氧化钙过饱和处理(over-liming), 使得糠醛和酚类物质的脱除率分别达到 99%和 16.7%。Zhang 等^[19]采用氢氧化钙对玉米秸秆水解液进行脱毒处理, 使糖利用率提高了 27.3%, 总溶剂产量达到 16 g/L。

本研究探索了 Overliming、D301 树脂、Overliming-D301 树脂和 Overliming-NKA II 树脂 4 种不同的脱毒方式对玉米芯水解液脱毒的效果及其对丙酮丁醇发酵的影响, 并对 *C. acetobutylicum* CICC 8016 利用高浓度脱毒水解液进行丙酮丁醇发酵进行了研究, 以期获得利用蒸汽爆破玉米芯水解液进行丙酮丁醇的最佳脱毒方式和最适的初始水解糖浓度, 为纤维燃料丁醇的工业化生产提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

菌种: *C. acetobutylicum* CICC 8016 购自工业微生物菌种保藏中心;

玉米芯: 取自河南林州市玉米种植区, 自然风干后

收稿日期: 2015-07-31 修订日期: 2015-12-23

基金项目: 科技部 863 项目子课题(2014AA021903-06), 河南省科技开发合作项目(142106000189), 河南省高校科技创新团队(15IRTSTHN014)

作者简介: 王风芹, 女(汉族), 河南林州人, 副教授, 博士, 主要从事纤维质原料生产燃料乙醇、丁醇研究。河南省郑州市农业路 63 号, 450002。

Email: w_fengqin@163.com

※通信作者: 宋安东, 男(汉族), 河南信阳人, 教授, 博士, 主要从事农业生物质转化和生物能源技术研究。河南省郑州市农业路 63 号, 450002。

Email: song1666@126.com

粉碎至 1 cm³ 备用;

离子交换树脂: D301 树脂和 NKA II 树脂均购自安徽三星树脂科技有限公司。树脂的预处理: 将树脂置于大的滴漏试管中, 按体积比 1:2 加入去离子水水洗, 按体积比 1:1 加入 1 mol/L 的盐酸洗脱, 然后按 1:2 加入去离子水洗脱, 再按 1:1 体积加入 1 mol/L 的氢氧化钠洗脱, 最后加入体积比 1:2 的去离子水洗脱树脂, 用盐酸和氢氧化钠洗脱时控制流速为 3 mL/min, 去离子水洗脱时控制流速为 10 mL/min。潮湿状态的树脂密封后备用。

1.2 培养基

1.2.1 5%玉米醪

称取一定质量玉米粉, 按质量体积分数 5%加入蒸馏水中, 搅拌均匀, 加热至沸腾并保持 2 min, 在此过程中不间断用玻璃棒搅拌。然后将玉米醪液分装到 18 mm×180 mm 的试管中, 每支试管约 10 mL, 121℃灭菌 20 min。

1.2.2 玉米芯水解液发酵培养基

将经脱毒或未脱毒的玉米芯水解液调节 pH 值为 7, 然后按 1 g/L 的量加入酵母粉, 115℃灭菌 15min, 冷却后, 加入经过滤除菌的缓冲液、维生素和无机盐储存液各 10 mL/L。储存液配方: 缓冲液 (KH₂PO₄ 50 g/L, K₂HPO₄ 50 g/L, 乙酸铵 220 g/L), 维生素 (对氨基苯甲酸 0.1 g/L, 维生素 B₁ 0.1 g/L, 生物素 0.001 g/L), 无机盐 (MgSO₄·7H₂O 20 g/L, MnSO₄·H₂O 1 g/L, FeSO₄·7H₂O 1 g/L, NaCl 1 g/L)。

1.3 玉米芯蒸汽爆破预处理与酶水解

1.3.1 蒸汽爆破预处理

采用鹤壁正道生物能源有限公司生产的 QB-20B 型号的蒸汽爆破设备。采用蒸汽爆破条件为: 爆破压力 1.4 MPa, 保压时间 300 s^[20]。

1.3.2 蒸汽爆破玉米芯酶水解

固液质量体积比为 1:8, pH 值为 4.8, 纤维素酶加剂量 15 FPU/g 干物料, 木聚糖酶 200 U/g 干物料, 置于摇床 120 r/min, 48℃, 水解 48 h。经过滤后得玉米芯水解液, 备用。

1.3.3 补料酶水解

同 1.3.2 酶水解条件相同, 48 h 后每隔 24 h 补料 8% (质量体积比), 并调节 pH 值, 同时加入相应的酶量, 共补料 3 次。

1.4 玉米芯水解液脱毒

1.4.1 Overliming 脱毒处理

向玉米芯水解液中加入干燥粉状氢氧化钙使 pH 值至 11, 然后放入 60℃水浴锅中, 水浴 30 min, 抽滤去除固体沉淀, 最后用硫酸调节 pH 值至 7, 备用。

1.4.2 D301 树脂脱毒处理

将处理好的 D301 树脂按 20% (质量体积比) 加入玉米芯水解液中, 在 37℃振荡培养箱中, 以 150 r/min 转速振荡 1 h。然后滤去树脂, 调节 pH 值至 7, 备用。

1.4.3 Overliming-D301 树脂脱毒

玉米芯水解液先用 1.4.1 方法处理, 再按 1.4.2 方法处理, 备用。

1.4.4 Overliming-NKA II 树脂脱毒

先用 1.4.1 方法处理糖化液, 再用 NKA II 树脂脱毒, 具体条件为: 加入 20% (质量体积比) 大孔吸附树脂 NKA II, 48℃振荡培养箱中以 120 r/min 转速振荡 1 h, 然后滤去树脂, 调节 pH 值至 7, 备用。所有脱毒研究设置 3 个重复。

1.5 丁醇发酵

1.5.1 菌种活化

将培养好的玉米醪试管菌种, 按 10% (体积分数) 接种量接种到 5%玉米醪试管活化培养基中, 沸水浴热激 80 s 后急速用水冷却, 37℃培养箱中静置培养 48 h。

1.5.2 种子液制备

采用 300 mL 三角瓶配制 300 mL 5%玉米醪种子液培养基, 121℃灭菌 20 min, 冷却后, 按接种量 10%接入活化好的试管菌种, 37℃静置培养 24 h。

1.5.3 水解液丁醇发酵

按照 1.2.2 配制玉米芯水解液发酵培养基, 采用 300 mL 三角瓶进行发酵, 装液量为 300 mL, 接入体积比 10%的种子液, 置于 37℃温箱中静置发酵。每 24 h 取样 2 mL, 9 000 r/min 离心, 转移上清至新的离心管, -20℃保存待测。

1.6 测定方法

1.6.1 糖及有毒物质测定

Dionex P680 高效液相色谱仪, 氢离子交换柱 (Aminex HPX-87H), 柱温 55℃, 流动相 0.005 mol/L 的 H₂SO₄, 流速 0.6 mL/min; 糖的测定使用示差检测器 (RI), 甲酸、乙酸、糠醛、5-HMF、香草醛、香豆酸的测定使用紫外检测器 (UV), 波长为 210 nm。

1.6.2 总酚测定

采用 Folin-Ciocalteu 法, 具体步骤参见文献[21]。

1.6.3 丙酮、丁醇和乙醇测定

采用气相色谱仪, 色谱柱选用 HP-FFAP, FID 检测器 250℃, 进样器温度 200℃, 氮气的流速为 1.5 mL/min, 氢气流速为 30 mL/min, 空气的流速为 350 mL/min, 进样量为 0.2 μL, 柱箱温度 200℃。

2 结果与分析

2.1 不同脱毒方式对蒸汽爆破玉米芯水解液脱毒效果

将蒸汽爆破 (压力 1.4 MPa、保压时间 300 s) 处理的玉米芯进行酶水解, 水解液组成成分见表 1。

表 1 蒸汽爆破玉米芯酶水解液的组成成分
Table 1 Compositions in hydrolysate of steam exploded corn cob

组成成分 Composition		含量 Concentration/(g·L ⁻¹)
糖 Sugar	纤维二糖 Cellose	7.26±0.30
	葡萄糖 Glucose	24.07±0.63
	木糖 Xylose	17.44±0.57
	总糖 Total sugar	49.7±1.45
有毒物质 Toxic substance	甲酸 Formic acid	0.39±0.023
	乙酸 Acetic acid	3.64±0.315
	5-羟甲基糠醛 5-HMF	0.24±0.090
	糠醛 Furfural	0.68±0.004
	香草醛 Vanilline	0.57±0.022
	总酚 Total phenols	1.19±0.048

其中甲酸浓度已经明显超过了报道中导致丙酮丁醇发酵“酸崩溃”的质量浓度 0.04 g/L^[22]；香草醛及总酚也都超过了报道中 ABE 发酵及细胞生长的抑止浓度 0.5 和 1 g/L^[23-24]。通过 Overliming、D301 树脂、Overliming-D301 树脂、Overliming-NKA II 树脂 4 种脱毒方式对玉米芯水解液进行脱毒处理。

2.1.1 不同脱毒方式对糖损失的影响

通过测定脱毒前后水解液中葡萄糖、木糖、总糖的含量，考察 4 种脱毒方式对水解液糖含量的影响。经 4 种脱毒方式处理后，玉米芯水解液均有不同程度糖损失，其总糖损失率达到 2.46%~35.61%，其中 Overliming-D301 脱毒方式糖损失率最大，葡萄糖损失率为 41.6%，木糖损失率为 15.9%，而 Overliming 或 D301 树脂单独脱毒总糖的损失率分别为 2.46%和 4.38%（表 2）。

2.1.2 不同脱毒方式对有毒物质的脱除效果

通过测定脱毒前后水解液中甲酸、乙酸、5-HMF、糠醛、香草醛和总酚的含量，进一步考察 4 种脱毒方式

对水解液中有毒物质的脱除效果（表 3）。4 种脱毒方式对水解液中各种有毒物质具有不同的脱除效果。D301 树脂脱毒对甲酸、乙酸和总酚的脱除效果最好，分别达到 60%、46.04%和 56.31%，对香草醛的脱除率达到了 100%，对糠醛和 5-HMF 的脱除率分别达到了 82.95%和 87.52%。Overliming 对各种有毒物质的脱除效果均不及 D301 树脂，经 Overliming 处理后水解液中的乙酸含量增加了 48.67%。联合脱毒处理略优于单一脱毒处理。

表 2 四种脱毒方式糖损失率的对比

脱毒方式 Detoxification method	糖损失率 Sugar loss rate/%		
	总糖 Total sugar	葡萄糖 Glucose	木糖 Xylose
Overliming	2.46±0.13d	6.31±0.14c	0c
D301	4.38±0.09c	4.84±0.25d	4.66±0.09b
Overliming-D301	35.61±1.21a	41.59±2.34a	15.88±0.34a
Overliming-NKA II	27.10±2.10b	38.41±1.21b	4.85±0.18b

注：不同小写字母表示差异达 5%显著水平，下同。
Note: Different small letters are significantly different at $P<0.05$. The same as below.

表 3 四种脱毒方式的有毒物质脱除效果的对比
Table 3 Comparison of effects of four detoxification ways

脱毒方式 Detoxification method	有毒物质脱除率 Removal rate of toxic substances/%					
	甲酸 Formic acid	乙酸 Acetic acid	5-羟甲基糠醛 5-HMF	糠醛 Furfural	香草醛 Vanilline	总酚 Total phenols
Overliming	20.06±0.12 d	-48.76±1.22 b	79.34±2.02 b	84.18±0.98 c	28.03±0.38 c	3.59±0.21 c
D301	60.00±1.42 a	46.04±4.04 a	82.95±4.21 b	87.52±2.78 b	100±0 a	56.31±0.08 a
Overliming-D301	52.94±2.04 b	-1.58±0.35 b	93.75±2.32 a	93.76±1.24 a	100±0 a	56.02±2.24 a
Overliming-NKA II	35.29±0.57 c	-19.34±2.20 b	94.42±3.68 a	95.41±2.02 a	53.23±1.22 b	22.27±0.98 b

2.1.3 不同脱毒方式对丙酮丁醇发酵的影响

为进一步评价脱毒方式的优劣，对不同脱毒方式处理后的玉米芯水解液进行了丙酮丁醇发酵研究，结果见图 1。

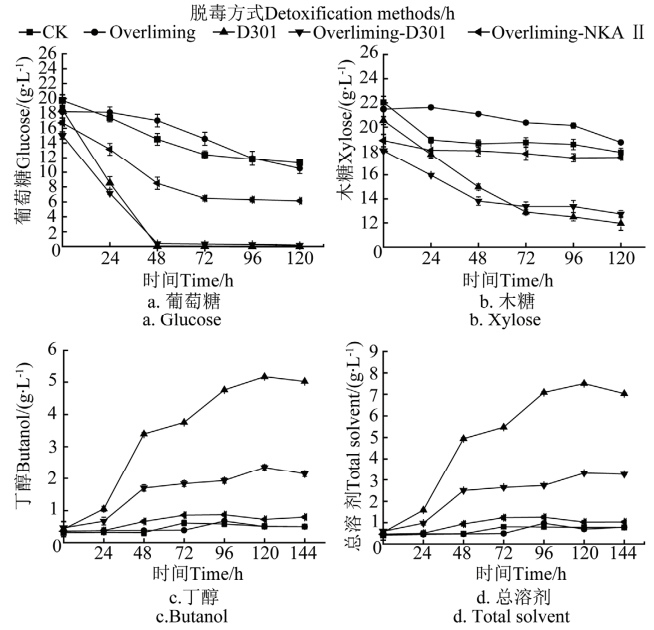


图 1 不同脱毒方式对玉米芯水解液丙酮丁醇发酵的影响
Fig.1 Effect of different detoxification methods on acetone-butanol fermentation in corncob hydrolysate

Overliming-NKA II 处理、Overliming 单独处理及未经脱毒处理（CK）的葡萄糖利用率相对较低，分别为 62%、42%、39%，木糖利用率均低于 15%。D301 树脂、Overliming-D301 树脂处理后的丁醇发酵葡萄糖利用率分别达到了 100%和 98.9%；木糖利用率分别为 42%和 33%，均显著高于对照（ $P<0.05$ ）（图 1a、b）。玉米芯水解液经发酵后丁醇和总溶剂的产量见图 1c 和 d，D301 脱毒处理的水解液丁醇发酵产量最高，经过 120 h 发酵丁醇和总溶剂浓度达到最大，分别为 5.2 和 7.5 g/L，也显著高于其他脱毒处理的水解液（ $P<0.05$ ）。其次是 Overliming-D301 树脂脱毒处理，其丁醇和总溶剂产量分别为 2.4 和 3.3 g/L。Overliming 和 Overliming-NKA II 2 种脱毒方式的丁醇发酵效果较差，丁醇产量均在 1 g/L 以下。

综上所述，D301 树脂脱毒具有糖损失小、有毒物质脱除效率高的优势，且脱毒后丁醇产量有显著地提高，因此选择 D301 脱毒为蒸汽爆破玉米芯水解液丙酮丁醇发酵的最佳脱毒方式。

2.2 高浓度脱毒水解液的丙酮丁醇发酵

为获得更高的丁醇及溶剂浓度，通过补料酶水解得到高浓度蒸汽爆破玉米芯水解液，其总糖浓度最高达 171 g/L，葡萄糖和木糖最高分别为 81 和 61 g/L。水解液经 D301 树脂脱毒后，进行适当稀释，以研究更高浓度脱毒水解液的丙酮丁醇发酵效果，结果如图 2 所示。

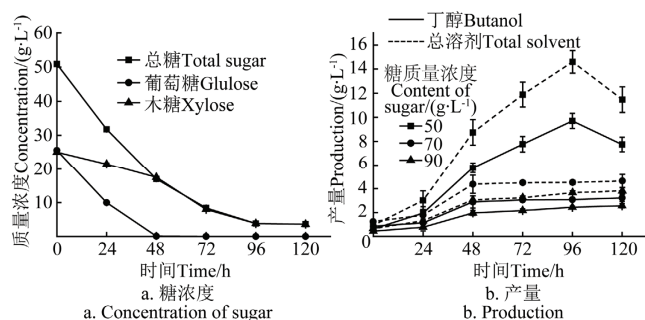


图2 高糖浓度水解液的丙酮丁醇发酵

Fig.2 High concentration hydrolysate of acetone-butanol fermentation

当初始发酵糖质量浓度为 50 g/L 时, 发酵效果最好, 发酵 48 h 时葡萄糖已基本完全利用; 木糖在 96 h 时剩余 3.8 g/L, 并趋于平缓; 总糖质量浓度从 50.9 g/L 降为 96 h 的 3.8 g/L, 这时葡萄糖利用率为 100%, 木糖的利用率为 85%。在发酵 96 h 时丁醇和总溶剂浓度达到最大, 分别为 9.7 和 14.6 g/L。初始发酵总糖质量浓度为 90 g/L 两组, 在发酵 120 h 时丁醇质量浓度分别仅 3.2 和 2.6 g/L。

3 讨论

目前, 应用较多的木质纤维素水解液脱毒方法有旋转蒸发、活性炭吸附、溶剂萃取、离子交换、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 过中和法 (overliming) 等。

Overliming 法采用过量的 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 对木质纤维素水解液处理, 使 pH 值升高至 10~12, 利用其对某些有毒物质沉淀作用和高 pH 值环境中某些有毒物质化学性状不稳定进行脱毒。该方法操作简单, 成本低, 对糠醛、5-HMF 和酚类物质的去除效果显著, 但对有机酸的去除效果并不明显^[25], 甚至有升高的趋势。Nilvebrant 等^[26] 研究发现, 当 Overliming 脱毒处理的温度低于 30℃, pH 值为 9~12 时, 可以避免糖损失及甲酸和乙酸的生成; 高温及高 pH 值 (60~80℃) 有利于糠醛和 5-HMF 的分解, 但会导致糖的大量降解及有机酸尤其是乙酸的大量生成。本研究中 Overliming 脱毒处理采用 pH 值为 11, 温度 60℃ 处理 30 min, 糠醛和 5-HMF 的脱除率为 84.18% 和 79.34%, 但乙酸含量反而增加了 48.76% (表 3)。少量糖及糠醛和 5-HMF 的降解可能是导致水解液中乙酸含量增加的主要原因。

离子交换树脂具有作用快、效率高、耐受性好、易再生和成本低廉的优势, 在生产中应用广泛^[17]。D301 树脂为大孔型苯乙烯系列弱碱性阴离子交换树脂, 由于有机酸、呋喃醛和酚类物质的酸性基团发生解离, 与阴离子交换树脂上的离子交换吸附, 从而达到脱毒的目的; NKA II 树脂是一种大孔树脂, 其吸附性能属于物理吸附, 对糠醛和 5-HMF 的吸附作用强, 但对有机酸和酚类物质的吸附效果较 D301 树脂差。Overliming 与树脂联合脱毒可以增强有毒物质尤其是乙酸、糠醛和 5-HMF 的脱除效果, 同时也造成了糖的大量损失, 糖损失量大于 2 种单独脱毒方法糖损失的叠加值, 分析其原因可能在于,

Overliming 去除了水解液中的部分有毒物质, 从而使离子交换树脂脱毒过程中有更多的吸附基团或吸附位点吸附水解液中的糖, 从而使糖损失率升高。

D301 树脂对有机酸、醛类和酚类物质均有显著的脱除作用, 且对水解液中糖的损失较低, 脱毒水解液发酵后丁醇和总溶剂产量最高, 分别为 5.2 和 7.5 g/L。D301 树脂脱毒后的高浓度水解液丙酮丁醇发酵结果表明, 当底物质量浓度为 50 g/L 时, 丁醇和总溶剂的产量可以分别达到 9.7 和 14.6 g/L。Overliming 和 D301 离子交换树脂联合脱毒较单独的离子交换树脂脱毒效果好, 但糖损失过大 (Overliming-D301 树脂联合脱毒葡萄糖的损失率达到了 41.59%), 导致发酵后丁醇和总溶剂产量降低。Overliming-NKA II 联合脱毒对糠醛和 5-HMF 的脱除率与 Overliming-D301 联合脱毒相当, 但对有机酸和酚类物质的脱除效果较差, Overliming-NKA II 联合脱毒处理丁醇产量显著低于 Overliming-D301 联合脱毒的处理, 表明有机酸和酚类物质是抑制丁醇发酵的关键抑制物 (图 1)。

总之, 蒸汽爆破玉米芯水解液经 D301 树脂脱毒后发酵效果得到显著提高, D301 树脂脱毒可作为一种有效脱毒方式应用于 *C. acetobutylicum* CICC 8016 的汽爆玉米芯水解液丙酮丁醇发酵过程。本研究为利用蒸汽爆破玉米芯进行丙酮丁醇发酵提供了理论技术支持, 在此基础上可对后续的发醇技术做进一步改进, 以推动玉米芯丙酮丁醇发酵的工业的发展。

4 结论

本研究通过 4 种脱毒方式处理蒸汽爆破玉米芯水解液并进行丙酮丁醇发酵, 结果表明 D301 树脂脱毒效果明显, 其中甲酸、乙酸和总酚的脱除率分别达到 60%、46.04% 和 56.31%, 香草醛的脱除率达到 100%, 糠醛和 5-HMF 也达到了 82.95% 和 87.52%, 同时, 总糖损失率仅 4.38%; 丁醇发酵比其他处理水解液有了极显著的提高。当玉米芯水解液初始糖质量浓度为 50 g/L 时, *C. acetobutylicum* CICC 8016 发酵, 丁醇和总溶剂质量浓度在 96 h 时达到最大, 分别为 9.7 和 14.6 g/L。

[参 考 文 献]

- [1] 胡理乐, 李亮, 李俊生. 生物质能源的特点及其环境效应[J]. 能源与环境, 2012(1): 47-49.
Hu Lile, Li Liang, Li Junsheng. The characteristics and environmental effects of biomass energy[J]. Energy and Environment, 2012(1): 47-49. (in Chinese with English abstract)
- [2] 闫逢柱, 乔娟. 国际生物质能源发展的评价: 动机、支持措施及对世界粮食供求影响视角[J]. 财贸研究, 2009, 20(3): 53-60.
Yan Fengzhu, Qiao Juan. Remark on development of biomass energy in the world: a view on its motivation, support measures and impacts on world's food security[J]. Finance and Trade Research, 2009, 20(3): 53-60. (in Chinese with English abstract)
- [3] 刘宁, 张忠法. 国外生物质能源产业扶持政策[J]. 世界林业研究, 2009(1): 77-80.

- Liu Ning, Zhang Zhongfa. International supporting policies for biomass energy industry[J]. World Forestry Research, 2009(1): 77—80. (in Chinese with English abstract)
- [4] 陆祖琪. 发酵法丙酮和丁醇生产技术[M]. 化学工业出版社, 1991.
- Lu Zuqi. Production technology of acetone and butanol by fermentation process[M]. Chemical Industry Press, 1991.(in Chinese with English abstract)
- [5] 黄格省, 李振宇, 张兰波, 等. 生物丁醇的性能优势及技术进展[J]. 石化技术与应用, 2012, 30(3): 254—259.
- Huang Gexing, Li Zhenyu, Zhang Bolan, et al. Performance advantage and technology progress in biobutanol[J]. Petrochemical Technology and Application, 2012, 30(3): 254—259.(in Chinese with English abstract)
- [6] Sánchez C, Serrano L, Andres M A, et al. Furfural production from corn cobs autohydrolysis liquors by microwave technology[J]. Industrial Crops and Products, 2013, 42: 513—519.
- [7] Nwadiogbu J O, Okoye P A C, Ajiwe V I, et al. Hydrophobic treatment of corn cob by acetylation: Kinetics and thermodynamics studies[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2014, 2(3): 1699—1704.
- [8] 王东美, 刘桂艳, 李春, 等. 响应面法优化酶解蒸汽爆破玉米芯产木糖[J]. 林产化学与工业, 2010, 30(5): 76—80.
- Wang Dongmei, Liu Guiyan, Li Chun, et al. Responses surface methodology for xylose production from corn cob pretreated by steam explosion[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2010, 30(5): 76—80.(in Chinese with English abstract)
- [9] 倪慎军, 徐霞. 河南农业生物质能源现状与应用技术浅析[C]// 2008 中国农村生物质能源国际研讨会暨东盟与中日韩生物质能源论坛论文集, 2008.
- Ni Shenjun, Xu Xia. The analysis on Henan agricultural biomass energy resources and application of technology[C]// Memoir of 2008 International Seminar on Chinese Rural Biomass Energy & ASEAN Biomass Energy Forum, 2008.(in Chinese with English abstract)
- [10] 魏萍. 河南玉米: 产量与需求紧平衡[J]. 农产品市场周刊, 2011(48): 38—39.
- Wei Ping. Henan corn: Production and demand balance[J]. Agricultural Product Market Weekly, 2011(48): 38—39.(in Chinese with English abstract)
- [11] 许丙磊, 彭奇均. 玉米芯蒸汽爆破处理的研究及响应曲面法优化[J]. 林产化学与工业, 2010, 30(6): 82—88.
- Xu Binglei, Peng Qijun. Studies on steam explosion of corncob and its optimization by response surface methodology[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2010, 30(6): 82—88.(in Chinese with English abstract)
- [12] 任天宝, 邱盼, 任秀娟, 等. 蒸汽爆破预处理玉米芯及其酶解工艺研究[J]. 可再生能源, 2012, 30(5): 59—63.
- Ren Tianbao, Qiu Pan, Ren Xiujian, et al. Steam explosion pretreatment and zymohydrolysis of corn cobs[J]. Renewable Energy, 2012, 30(5): 59—63.(in Chinese with English abstract)
- [13] 丁兴红, 夏黎明, 薛培俭. 半纤维素水解液发酵木糖醇的关键因子[J]. 浙江大学学报: 工学版, 2007, 41(4): 683—687.
- Ding Xinghong, Xia Liming, Xue Peijian. Key factors affecting xylitol fermentation from hemicellulosic hydrolysate by *Candida sp.* zu-04[J]. Journal of Zhejiang University: Engineering Science, 2007, 41(4): 683—687.(in Chinese with English abstract)
- [14] 姚嘉旻, 姜岷, 吴昊, 等. 稀酸水解玉米芯制备丁二酸[J]. 生物加工过程, 2010, 8(3): 66—72.
- Yao Jiamin, Jiang Min, Wu Hao, et al. Preparation of saccharification liquid for succinic acid by fermentation from corn cob sulfuric acid hydrolysis[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2010, 8(3): 66—72. (in Chinese with English abstract)
- [15] Lu Congcong, Dong Jie, Yang Shangtian. Butanol production from wood pulping hydrolysate in an integrated fermentation-gas stripping process[J]. Bioresource Technology, 2013, 143: 467—475.
- [16] Zhuang Junping, Lin Lu, Pang Chunsheng, et al. Detoxification of wheat straw hydrolysis in formic acid reaction system by D311 ion-exchange Resin[C]// Digital Manufacturing and Automation(ICDMA), 2010 International Conference on IEEE, 2010, 1: 522—525.
- [17] 徐勇, 江寅申, 左志凤, 等. 阴离子交换树脂对玉米秸秆蒸汽爆破预处理液的选择性脱毒[J]. 林产化学与工业, 2012, 32(5): 11—18.
- Xu Yong, Jiang Yinshen, Zuo Zhifeng, et al. Selective detoxification of steam explosion pretreated stream from corn stover with anion exchange resin[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2012, 32(5): 11—18. (in Chinese with English abstract)
- [18] Ge Jingping, Cai Baiyan, Liu Guoming, et al. Comparison of different detoxification methods for corn cob hemicellulose hydrolysate to improve ethanol production by *Candida shehatae* ACCC 20335[J]. African Journal of Microbiology Research, 2011, 5(10): 1163—1168.
- [19] Zhang Wanlu, Liu Ziyong, Liu Zhen, et al. Butanol production from corncob residue using *Clostridium beijerinckii* NCIMB 8052[J]. Letters in Applied Microbiology, 2012, 55(3): 240—246.
- [20] Teng Chao, Yan Qiaojuan, Jiang Zhengqiang, et al. Production of xylooligosaccharides from the steam explosion liquor of corncobs coupled with enzymatic hydrolysis using a thermostable xylanase[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(19): 7679—7682.
- [21] 林金梅, 卢家炯, 赵迎春. Folin-Ciocalteu 法测定甘蔗糖厂制品的总酚含量[J]. 食品科技, 2010(6): 278—280.
- Lin Jinmei, Lu Jiajiong, Zhao Yingchun. Determination of total phenolics in cane sugar product by Folin-Ciocalteu colorimetry[J]. Food Science and Technology, 2010(6): 278—280. (in Chinese with English abstract)
- [22] Wang Shaohua, Zhang Yanping, Dong Hongjun, et al. Formic acid triggers the “acid crash” of acetone-butanol-ethanol fermentation by *Clostridium acetobutylicum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(5): 1674—1680.
- [23] Ezeji T, Qureshi N, Blaschek H P. Butanol production from agricultural residues: impact of degradation products on

- Clostridium beijerinckii* growth and butanol fermentation[J]. Biotechnology and bioengineering, 2007, 97(6): 1460—1469.
- [24] Cho D H, Lee Y J, Um Y, et al. Detoxification of model phenolic compounds in lignocellulosic hydrolysates with peroxidase for butanol production from *Clostridium beijerinckii*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 83(6): 1035—1043.
- [25] Martinez A, Rodriguez M E, Wells M L, et al. Detoxification of dilute acid hydrolysates of lignocellulose with lime[J]. Biotechnology Progress, 2001, 17(2): 287—293.
- [26] Nilvebrant N O, Persson P, Reimann A, et al. Limits for alkaline detoxification of dilute-acid lignocellulose hydrolysates[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2003, 107(1/2/3): 615—628.

Hydrolysate detoxified from steam exploded corn cob and its fermentation producing butanol fuels

Wang Fengqin, Tong Yinxing, Li Chuanbin, Xie Hui, Song Andong*

(College of Life Science, Henan Agricultural University, Key Laboratory of Agricultural Microbial Enzyme Engineering of the Ministry of Agriculture, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The development and utilization of biomass have been paid great attention by many countries with the depletion of fossil energy sources. Due to the recalcitrant and complex structure of lignocellulosic biomass, various pretreatment methods are adopted to help biomass carbohydrate's hydrolysis. Pretreatment can increase the biomass digestibility for efficient fermentable sugar production, but many fermentation inhibitors are also produced during this process, such as furan derivatives (furfural and 5-hydroxymethylfurfural), mini-molecule organic acid (acetic acid and formic acid), and lignin degradation products (coumaric acid, vanillin and other phenolics). Therefore, the detoxification process which removes fermentation inhibitors from hydrolysates is essential for the production of biomass energy; at the same time, for different fermentations have different adaptability of initial sugar concentration in fermentation liquor, the studies about the optimal initial sugar fermentation concentration are also meaningful. In order to study the best technology of butanol fuel production from steam exploded corn cob, 4 detoxification methods, which were over liming, D301 resin, over liming combined with D301 resin, and over liming combined with NKAII macro porous resin, were used to detoxify the hydrolysate of steam exploded corn cob, and their effects on butanol production were also determined in this research. The results showed that the D301 resin detoxification was the most efficient way to detoxify the hydrolysate of steam exploded corn cob. The removal ratio of vanillin could reach 100%; the removal ratio of formic acid, acetic acid, total phenol, furfural and 5-hydroxymethylfurfural reached 60%, 46.04%, 56.31%, 82.95% and 87.52%, respectively. At the same time, total sugar lost ratio was only 4.38%. Finally, butanol and ABE (actone, butanol, ethanol) production were 5.2 and 7.5 g/L by fermentation with *C. acetobutylicum* CICC 8016, and the utilization rate of glucose and total sugar reached 100% and 73.67%, respectively. When the initial sugar concentration was 50 g/L in the detoxified corn cob hydrolysate, the maximum concentrations of butanol and total solvent were 9.7 and 14.6 g/L respectively after 96 h fermentation. The over liming and over liming combined with NKAII macro porous resin had poor inhibitor removal ratio and lower butanol production (no more than 1.0 g/L butanol was produced). Although over liming combined with D301 resin had higher inhibitor removal ratio, only 2.4 g/L butanol and 3.3 g/L ABE were produced because of high sugar lost ratio (about 41.59% glucose and 15.88% xylose were lost during the detoxification). In conclusion, the D301 resin detoxification is an idea process for butanol production from lignocellulose hydrolysate because of its high microbial inhibitor removal ratio and low sugar loss. This research provides a reliable detoxification method for butanol fermentation with the hydrolysate of steam exploded corn cob.

Keywords: fuels; fermentation; steam; explosion; corncob; detoxification