

学校代码：10251

学 号：Y45170540

華東理工大學

碩 士 学 位 论 文

论文题目：纤维素乙醇废水在生物炼制预处理
过程中的循环利用

工程领域：生物工程

研究方向：生物炼制

论文作者：郑理想

学校导师：鲍杰 教授

企业导师：刘鲁民 教授

定稿日期：2020 年 05 月 22 日

分类号: _____ 密级: _____

UDC: _____

华东理工大学

工程硕士学位论文

纤维素乙醇发酵废水在生物炼制预处理
过程中的循环利用

郑理想

指导教师姓名: 鲍杰 教授 生物工程学院

刘鲁民 教授 青岛和协生物科技有限公司

申请学位级别: 硕士 工程领域: 生物工程

论文定稿日期: 2020.05.22 论文答辩日期: 2020.06.15

学位授予单位: 华东理工大学

学位授予日期: _____

答辩委员会主席: 董宏伟 高级工程师

评阅人: 高旻天 教授

黄亦钧 高级工程师

谢静莉 副研究员

华东理工大学研究生学位论文提交要求

根据校学位评定委员会要求，研究生学位论文全文（含纸质版和电子版）必须提交档案馆保存。

研究生学位论文全文电子版由档案馆按_____①_____（选择以下一项）方式，转交或不转交图书馆，并提供公开阅览服务。

- ① 可以公开
- ② 3年后公开
- ③ 10年后公开
- ④ 不公开

注：选择②、③或④的需经学校国家技术转移中心备案，以为学校技术转移提供服务。

学位论文作者签名：郑理想

2020年6月16日

指导教师签名：鲍杰

2020年6月16日

国家技术转移中心负责人签名：

（公章）

年 月 日

作者声明

我郑重声明：本人恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的结果。除文中明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何他人已经发表或撰写过的内容。论文为本人亲自撰写，并对所写内容负责。

论文作者签名：郑理想

2020年6月16日

纤维素乙醇发酵废水在生物炼制预处理过程中的循环利用

摘要

木质纤维素生物质生产纤维素燃料乙醇会产生大量高 COD 发酵废水，其处理工艺复杂且成本高昂。纤维素乙醇工厂由于受到原料收集半径的限制，一般建在距离原料产地较近但基础设施薄弱的农村地区，高废水排放的技术特征使得纤维素乙醇产业难以大规模展开。为了寻找一条切实可行的纤维素乙醇废水排放途径，本文尝试将纤维素乙醇发酵废水循环回用至生物炼制的预处理阶段，用于配制预处理所需的稀酸催化剂，并研究和测试其技术可行性。

本文第一部分探究了乙醇发酵废水直接循环回用至预处理阶段进行生物炼制的可行性。收集乙醇发酵废水，在下一轮生物炼制过程的预处理阶段直接使用，并以此方式反复循环回用。经过两轮废水循环回用后发现，纤维素乙醇产量随废水直接回用次数的增加而不断降低，其幅度为每次回用后的乙醇产量比上一次降低约 5%。对发酵废水直接循环回用的乙醇产量降低的原因进行探究，发现废水中的金属盐离子随循环回用次数的增加而快速富集，从而导致乙醇发酵效率和产量的逐渐下降。

本文第二部分对乙醇发酵废水的循环回用进行了改进，即在每一次循环回用前对废水进行蒸发和冷凝以去除废水中的金属盐离子，得到的蒸馏水在下一轮生物炼制中回用至预处理阶段。废水回用的发酵结果显示：3 轮废水回用的乙醇浓度分别为 76.42 g/L、76.61 g/L、75.82 g/L，与新鲜水预处理物料发酵的乙醇浓度（77.85 g/L）十分接近，废水回用生产乙醇能正常进行。每生物炼制 1 t 麦秆，新鲜水的使用量由原来的 2.868 t 减少到 0.423 t，废水回用还降低了新鲜水的使用。蒸发和冷凝极其有效的解决了发酵废水回用中金属盐离子的富集问题，保障了生物炼制的效率，但其蒸汽能耗巨大。其合理性的依据在于木质纤维素生物炼制过程的独特性。乙醇精馏渣经过固液分离会产生大量高热值的木质素残渣，其热量足够为发酵废水的蒸发和冷凝提供能量，并在产热后仍有 60% 的木质素残渣剩余。

综上所述，本论文成功将纤维素乙醇发酵废水在生物炼制的预处理过程循环回用，每次回用后的乙醇产量都与正常生物炼制的乙醇产量十分接近。循环回用有效降低了乙醇生产成本，为纤维素乙醇废水的处理提供了合理有效的解决方案。

关键词：木质纤维素；纤维素乙醇；废水；干酸预处理；金属盐离子

Multiple Recycling of Cellulose Ethanol Fermentation Wastewater in Biorefinery Pretreatment Process

Abstract

The production of cellulose fuel ethanol from lignocellulosic biomass feedstock will produce a large amount of high COD fermentation wastewater. Wastewater treatment process is complicated and expensive. Different from corn ethanol, cellulosic ethanol factory are generally built in rural areas where are close to raw materials due to the limitation of the raw material collection radius. Rural areas have weak infrastructure. The technical characteristics of high wastewater discharge make it difficult for the cellulosic ethanol industry to expand on a large scale. In order to find a practical way to discharge cellulose ethanol wastewater, this paper attempts to recycle cellulose ethanol fermentation wastewater to the pretreatment stage of biorefinery. Cellulose ethanol fermentation wastewater is used to configure the dilute acid catalyst of pretreatment. Study the feasibility of wastewater recycling.

The first part of this paper study the feasibility of directly recycling cellulose ethanol fermentation wastewater to the pretreatment stage of biorefinery. The cellulose ethanol fermentation wastewater is used directly in the pretreatment step of the next round of biorefinery process, and it is recycled repeatedly in this way. After two rounds of recycling, it was found that the production of cellulose ethanol decrease with the increase in the number of direct use of fermentation wastewater, the magnitude of which was that the ethanol production after each reuse was about 5 % lower than the previous one. The reason why the decrease in the ethanol production for the direct recycling of fermentation wastewater was found. It was found that the concentration of metal salt ions in the fermentation wastewater was rapidly enriched with the number of direct cycles, resulting in ethanol fermentation efficiency and the gradual decline in production.

In the second part of this paper, an improved experiment was conducted on the recycling of ethanol fermentation wastewater. Before each cycle, the fermentation wastewater was evaporated and condensed to remove metal salt ions in the wastewater. Distilled water was used in the next round of pretreatment step. The fermentation results of wastewater reuse showed that the ethanol concentration in the three cycles of wastewater reuse was 76.42 g/L, 76.61 g/L, and 75.82 g/L, respectively close to the ethanol concentration of normal biorefinery (77.85 g/L). Wastewater reuse to produce ethanol can proceed normally. For every 1 t of wheat straw biorefinery, the amount of fresh water used is reduced from 2.868 t to 0.423 t. The reuse of wastewater reduces the use of fresh water. This solution is extremely effective in solving the

problem of rapid enrichment of metal salt ions in the reuse of fermentation wastewater. The biological refining efficiency is effectively guaranteed, but the steam energy consumption is huge. The rationality is based on the uniqueness of lignocellulose biological refining process. After cellulose ethanol rectification, solid-liquid separation will produce a large amount of lignin residue with high calorific value. The heat is enough to provide energy for the evaporation and condensation of fermentation wastewater, and 60 % of the lignin residue remains after heat production.

In summary, this paper successfully recycles the cellulose ethanol fermentation wastewater in the biorefinery pretreatment process. The ethanol production after each reuse is very close to the normal biorefinery ethanol production. The recycling of cellulose ethanol wastewater effectively reduces the production cost of ethanol and provides a reasonable and effective solution for the treatment of cellulose ethanol wastewater.

Key words: Lignocellulose; Cellulose ethanol; Wastewater; Dry acid pretreatment; Metal salt ion

目录

第 1 章 绪论.....	1
1.1 前言.....	1
1.2 木质纤维素生物炼制技术.....	1
1.2.1 木质纤维素的组成.....	1
1.2.2 生物炼制的定义.....	2
1.2.3 预处理.....	2
1.2.4 脱毒.....	3
1.2.5 糖化和发酵.....	4
1.2.6 乙醇精馏.....	4
1.2.7 干法生物炼制技术.....	4
1.3 纤维素乙醇废水的来源及特点.....	6
1.3.1 纤维素乙醇废水的来源.....	6
1.3.2 纤维素乙醇废水的特点.....	6
1.4 纤维素乙醇废水处理技术.....	7
1.4.1 农田灌溉法.....	7
1.4.2 浓缩燃烧法.....	8
1.4.3 物理化学法.....	8
1.4.4 生物处理技术.....	8
1.5 废水循环回用研究进展.....	9
1.5.1 废水循环回用技术.....	9
1.5.2 纤维素乙醇废水循环回用技术.....	9
1.6 本文立题依据和主要研究内容.....	10
第 2 章 纤维素乙醇发酵废水在预处理过程中的直接回用及可行性分析	12
2.1 引言.....	12
2.2 材料与方法.....	13
2.2.1 原料.....	13
2.2.2 纤维素酶和试剂.....	13
2.2.3 菌种和培养基.....	13
2.2.4 试验废水.....	14
2.2.5 预处理.....	14
2.2.6 生物脱毒.....	14
2.2.7 发酵种子的培养.....	14
2.2.8 同步糖化共发酵 (SSCF) 的方法.....	15
2.2.9 乙醇精馏.....	15
2.2.10 葡萄糖、木糖、抑制物和乙醇分析方法.....	15
2.2.11 金属盐离子含量检测方法.....	15
2.3 结果与分析.....	16
2.3.1 收集纤维素乙醇发酵废水.....	16
2.3.2 纤维素乙醇发酵废水在预处理阶段直接循环回用及预处理后物料评价.....	16
2.3.3 每次废水循环回用后预处理后物料 SSCF 结果.....	18

2.3.4 探究废水循环回用后 SSCF 乙醇产量降低的原因.....	19
2.3.5 提高废水循环回用后乙醇产量的改进方法.....	21
2.4 本章小结.....	26
第 3 章 去离子乙醇发酵废水在生物炼制预处理过程的循环回用.....	27
3.1 引言.....	27
3.2 材料与方法.....	27
3.2.1 原料.....	27
3.2.3 菌种和培养基.....	27
3.2.4 试验废水.....	27
3.2.5 预处理.....	27
3.2.6 生物脱毒.....	28
3.2.7 发酵种子的培养.....	28
3.2.8 同步糖化共发酵 (SSCF) 的方法.....	28
3.2.9 乙醇蒸馏.....	28
3.2.10 蒸发和冷凝法去除金属盐离子.....	28
3.2.11 葡萄糖、木糖、抑制物和乙醇分析方法.....	28
3.2.12 金属盐离子含量检测方法.....	28
3.3 结果与分析.....	28
3.3.1 改良后的废水循环回用实验.....	28
3.3.2 去离子废水循环过程中预处理后物料的材料评价.....	29
3.3.3 改良后的每次废水循环过程中预处理后物料 SSCF 结果.....	30
3.3.4 去离子废水循环回用过程废水及精馏渣中金属盐离子浓度.....	31
3.4 物料平衡和能量平衡计算.....	34
3.5 本章小结.....	36
第 4 章 结论与展望.....	37
4.1 结论.....	37
4.2 展望.....	39
参考文献.....	40
附录 I 主要试剂.....	49
附录 II 仪器设备.....	50
硕士期间取得成果.....	51
致谢.....	52

第 1 章 绪论

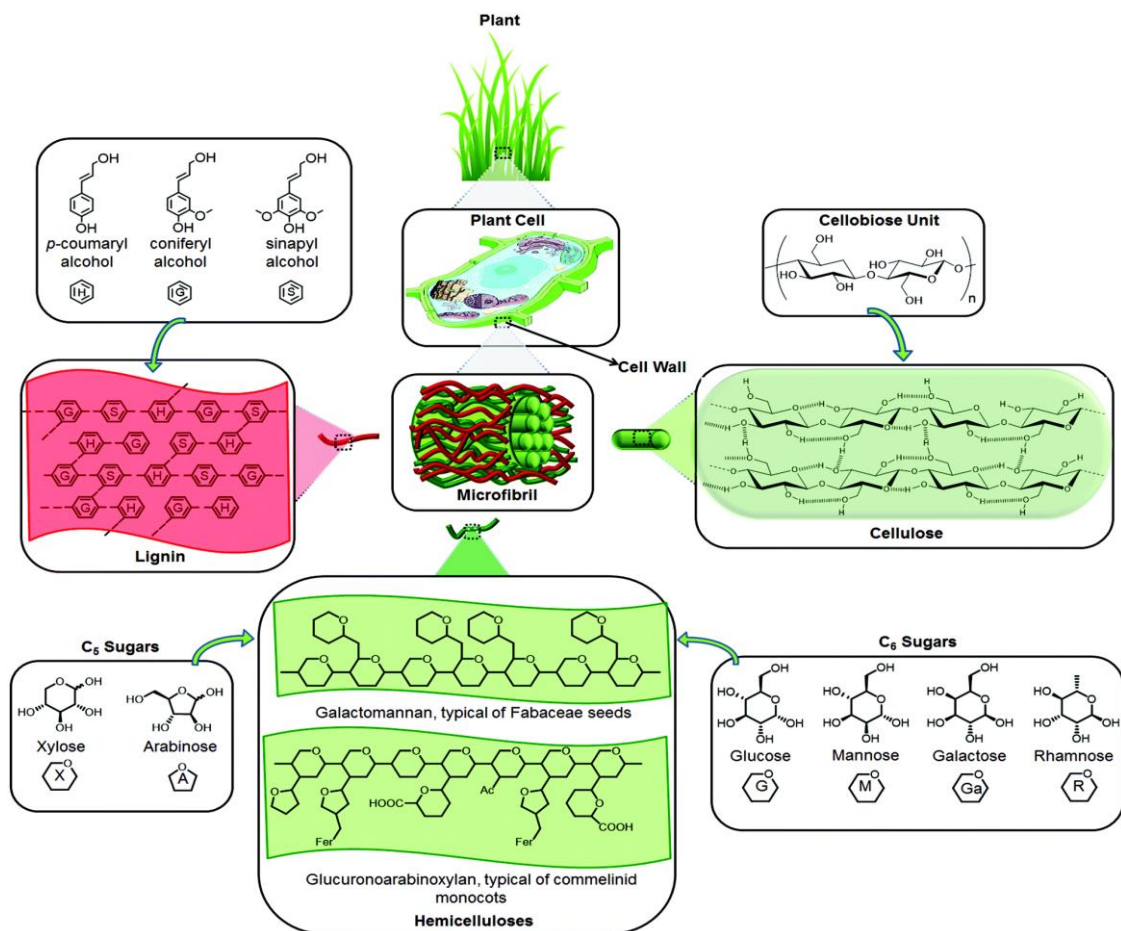
1.1 前言

随着全球人口激增和世界经济的快速增长,化石燃料日渐枯竭。化石燃料过度消耗的同时,还引发了环境危机,如温室效应的增强和大气污染的加剧^[1]。因此,绿色可再生新能源的开发成为世界各国稳定繁荣发展的基础,与人民幸福、环境保护、科技发展息息相关。相较于日益稀少且不可再生的化石燃料,木质纤维素生物质来源广、储量足且可再生,具有很好的生物转化应用潜能。通过生物炼制技术将木质纤维素转化为乙醇、柴油等生物基化学品,能够在一定程度上解决能源短缺和环境问题^[2,3]。

1.2 木质纤维素生物炼制技术

1.2.1 木质纤维素的组成

木质纤维素生物质主要由纤维素、半纤维素和木质素三种聚合物构成^[4],如图 1.1 所示。这三种主要成分的比例与生物质的类型和所采集植物的部位均有联系。例如,榛子壳中木质素含量高达 51.3%,而树叶则不含木质素^[5]。木质纤维素原料中的纤维素是一种线性多糖,通常由数千种 D-葡萄糖单体构成,也是木质纤维素生物质中占比最大的单一组分。纤维素分子内部的众多氢键帮助纤维素本身形成了致密的晶体结构,并因此具有很高的机械强度和化学稳定性^[6]。半纤维素是由 50-200 个糖单体构成的多糖。其糖单体主要包括葡萄糖和木糖^[7]。由于其无定形结构,所以半纤维素通常更容易降解。木质素是由三种酚类单体(松柏醇、p-香豆醇、芥子醇)组成的芳香族化合物^[8]。由于其无规则三维网络结构,所以更难分解。除上述三种主要组分外,木质纤维素生物质中还含有少量果胶、无机化合物和提取物^[9]。

图 1.1 木质纤维素生物质的结构图^[4]Fig. 1.1 Structure of lignocellulose biomass^[4]

1.2.2 生物炼制的定义

关于生物炼制的定义，存在几种不同的版本。其中 IEA(International Energy Agency) 和 NREL (National Renewable Energy Laboratory) 对于生物炼制的定义被使用的最为广泛。IEA 将生物炼制定义为：生物炼制是将生物质加工成多种可销售商品和能源的过程^[10]。NREL 将生物炼制定义为：生物炼制集合了生物转化以及设备工艺，用于生成燃料、电力等物质^[11]。木质纤维素生物炼制指经过预处理、脱毒、酶解等过程，将价格低廉的木质纤维素转变为高价值化学品的工艺。

1.2.3 预处理

预处理的主要作用是分离木质纤维素原料的主要组分，破坏其结构，从而使纤维素更易于被酶水解为可发酵的糖类^[12]。良好的预处理方法其特点有^[3]：（1）能够降低木质纤维素颗粒；（2）产生较少的抑制物；（3）低能耗；（4）使用价格低廉的催化剂；（5）操作简单且成本低。随着燃料乙醇的蓬勃发展，各种预处理方法被开发出来了。常用的技术有物理法^[13]（机械剪切^[14]、超声波处理^[15]等）、化学法（酸预处理^[16]、碱预处理^[17]等）、物化法^[18]（汽爆^[19]、氨纤维爆破^[20]等）、生物处理法^[21]。

物化法是较为常用的预处理技术,包括汽爆、氨纤维膨爆、水热法。汽爆是在高温、高压、高蒸汽浓度条件下,通过迅速释放压力使热能转变为机械能以达到原料组分分离和结构变化的目的^[19]。氨纤维膨爆过程是在中等压力(100至400 psi)和一定温度(70至200 °C)下将液氨添加到木质纤维素原料中^[20]。这个过程使纤维素去结晶化,半纤维素被水解,木质素被解聚并去除,还增加了细胞壁微孔的大小和数量,从而显着提高了后续酶水解和糖化效率^[22]。水热法是在高压的环境下通过升高水的温度来蒸煮木质纤维素原料,在这个过程中,半纤维素被降解成单糖并保留在水中。而且这种预处理方式只会生成极少的抑制物,对接下来的发酵阶段影响较小^[23]。但是水热预处理的主要缺点是大量水溶液的使用会稀释可发酵糖的浓度,从而使得产物浓度偏低。

本课题组在2011年自主研发了一套新的干酸预处理技术^[24]。它是在传统酸预处理基础上对其加以改良而建立的。主要是将粉碎的木质纤维素原料、酸液等置于含有螺旋式搅拌桨的预处理反应器中,从而实现了物料、稀酸与低压蒸汽的高度混合。首先,传统稀酸预处理的液固比为6:1~10:1,而干酸预处理的液固比只有1:2,因此预处理后的物料均以高固含量的形式而存在。其次,酸用量的减少可以降低酸液对仪器的侵蚀^[25]。再次,整个干酸预处理过程无任何废水产生,并且预处理过程中还会产生许多呋喃类、酚类和有机酸类抑制物,有利于物料的长期高密度储存^[26]。最后,干酸预处理在实现半纤维素高度转化的同时,还保留了原料中大部分的多糖组分。

1.2.4 脱毒

尽管预处理过程能够改变生物物质的致密组成方式,有效提升纤维素酶的酶解效率,但由于其高温、高压的条件,往往会造成原料过度降解,从而生成严重影响糖化、发酵阶段进行的抑制物^[27]。抑制物主要分为三类:呋喃类抑制物、有机酸类和酚类抑制物。呋喃类抑制物主要有糠醛和5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethylfurfural, 5-HMF),它们分别是由半纤维素和纤维素过度降解产生;有机酸类抑制物是指甲酸和乙酰丙酸等。它们是通过乙酸、糠醛、5-HMF分解而产生;酚类抑制物包括香草醛和丁香醛,它们是由木质素过度降解产生^[28]。

目前常用的脱毒方法包括水洗^[29]、过碱中和^[30]、离子交换吸附^[31]和微生物脱毒^[32]等。水洗脱毒法操作简单,可以洗掉大部分抑制物,但会产生大量废水,并且水洗会带走物料中部分可溶性糖,导致产物浓度偏低;氢氧化钙过碱化法与活性炭吸附法都具有操作简单、高效快捷、成本低、应用广的特点,但增加了去除碱和活性炭的步骤;离子交换吸附法也会产生大量废水且设备价格昂贵^[33]。与上述的几种方法比较,微生物脱毒法具有成本低、反应条件温和、不需要添加特别的化学试剂等优点,因此受到更多科研工作者的关注^[34]。

本实验室早在2010年便通过筛选得到一株树脂枝孢霉 *Amorphotheca resinae* ZN1^{[34][34]}用于生物脱毒。该菌可以优先利用预处理后物料中的抑制物以进行生长,从而达到脱毒的目的。本课题组以 *Amorphotheca resinae* ZN1 为脱毒菌株分别建立了两套完善的生物脱毒体系,它们分别是静态生物脱毒和快速生物脱毒^[35]。两者的区别在于,快

速生物脱毒必须在指定的脱毒反应器中进行,且需要通气。通气可以加速脱毒菌株的生长,从而提高脱毒效率^[35],所以快速生物脱毒比静态生物脱毒速度更快。本论文使用的脱毒方式就是快速生物脱毒。

1.2.5 糖化和发酵

虽然预处理阶段已经把木质纤维素转化为纤维素和半纤维素,但在发酵之前还需要将其进一步降解为可发酵的单糖,这一过程就是糖化阶段。糖化完后物料进入发酵阶段,即微生物利用各种可发酵的单糖生产乙醇燃料或者其他生物基化学品。

糖化发酵方式主要有两种^[36,37,38,39]:分步糖化与发酵(Separate Hydrolysis and Fermentation, SHF)和同步糖化与发酵(Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF)。SHF是糖化与发酵分开进行的糖化发酵方式,首先将脱毒后的物料水解得到可发酵的糖类,然后再向其中接入微生物进行发酵。这种方式的亮点是糖化和发酵均可以自由控制在最优的条件。它的缺点是糖化阶段产生的大量单糖会削弱了纤维素酶的活性。同时,高糖还会减弱菌株的发酵潜力。SSF则结合糖化与发酵两个步骤,主要过程是脱毒后的物料在降解为可发酵单糖的同时,也供给微生物生长和发酵。这种方法实现了糖化和发酵同时进行。SSF的优点是糖化与发酵可以在同一个发酵罐中开展,极大地缩减了生产成本;边糖化边发酵还避免了高糖的积累,从而避免了高糖对纤维素酶的负反馈作用和对发酵菌株的负面影响,进而加速了糖化,减少了发酵周期。SSF的缺点是糖化阶段和发酵阶段的最适条件(温度、PH等)往往不一致,若想达到最佳的发酵结果,必须对SSF条件不断调整。

1.2.6 乙醇精馏

乙醇发酵液主要由水、乙醇、固体杂质和其他可挥发性物质组成,这些组分的比例随原料和技术工艺的不同会有明显差异^[40]。精馏发酵液可以去除水、固体残渣和可挥发杂醇,得到纯净的纤维素乙醇^[41]。乙醇精馏是根据各组分的沸点各异而起到分离纯化的作用。当下,较为主流的乙醇精馏步骤由粗馏、精馏和分子筛脱水构成^[42]。

精馏操作首先通过粗馏对乙醇发酵液进行简单分离纯化。粗馏可以将乙醇、部分水及其他挥发成分和固体杂质分离,从而获得浓度较低的乙醇粗液^[43]。粗馏之后开始精馏操作,去除粗液中的可挥发性杂醇和部分水,以获得浓度更高的乙醇。精馏后的乙醇浓度能够达到95.57%^[44]。最后经过分子筛脱水处理,得到浓度高达99.5%的纤维素乙醇。

常压下,当溶液中的乙醇浓度达到95.57%时,水和乙醇会形成共沸化合物,此时一般的精馏方式将不会提高乙醇浓度。为了进一步提高乙醇浓度,需要使用特别的乙醇脱水工艺^[45]。乙醇脱水的方法很多,主要包括固态吸附剂脱水法(生石灰、分子筛吸附法、离子交换法)、液态吸附剂脱水法等方法,其中分子筛吸附法最常被使用^[46]

1.2.7 干法生物炼制技术

传统的生物炼制技术存在几个缺点:(1)预处理阶段常伴随大量酸性废水排出。酸性废水会腐蚀设备从而减少设备寿命。(2)脱毒阶段常采用水洗或碱液的手段去除预处理阶段的抑制物,会流失部分可溶性发酵糖,产生大量脱毒废水。(3)因为预处理和水

洗脱毒阶段产生的低固含量物料，所以传统生物炼制技术很难实现高固含量发酵，导致发酵产物产量偏低。

针对以上几点问题，本课题组自主研发了一套干法生物炼制技术，由干酸预处理、固态生物脱毒、高固含量糖化发酵组成。第一，干酸预处理主要是将粉碎的木质纤维素原料、酸液等置于含有螺带式搅拌桨的预处理反应器中，从而实现了物料、稀酸与低压蒸汽的高度混合。首先，传统稀酸预处理的液固比为 6:1~10:1，而干酸预处理的液固比只有 1:2，因此预处理后的物料均以高固含量的形式而存在^[24]。其次，酸用量的减少可以降低酸液对仪器的侵蚀^[25]。再次，整个干酸预处理过程无任何废水产生，并且预处理过程中还会产生许多呋喃类、酚类和有机酸类抑制物，有利于物料的长期高密度储存^[26]。最后，干酸预处理在实现半纤维素高度转化的同时，还保留了原料中大部分的多糖组分。第二，本课题组通过筛选得到一株树脂枝孢霉 *Amorphotheca resinae* ZN1^[34]用于生物脱毒。该菌可以优先利用预处理后物料中的抑制物进行生长，无需添加新鲜水，无废水产生。脱毒过程仅需通气，且脱毒后物料无需灭菌便可进入糖化和发酵^[47,48]。第三，经过干酸预处理和固态生物脱毒后的物料以固态形式存在，固含量一般高达 50 % (w/w)，可直接用于糖化和发酵工段，实现高固含量的生物转化目的。

使用干法生物炼制的手段生物转化木质纤维素，能够低成本且高效的得到各种生物能源或生物基产品，如乙醇^[49,50]、油脂^[51]、乳酸^[52,53]、柠檬酸^[54]等。例如使用干法生物炼制技术生产纤维素乙醇，如图 1.2 所示，原料依次经干酸预处理、生物脱毒、磨浆、同步糖化共发酵过程，最终得到和玉米乙醇类似的发酵结果（11~13 %，v/v）。其中，磨浆的作用是降低木质纤维素纤维长度，有利于预处理过程酸、蒸汽和原料的混合，也促进纤维素酶水解过程^[49]。

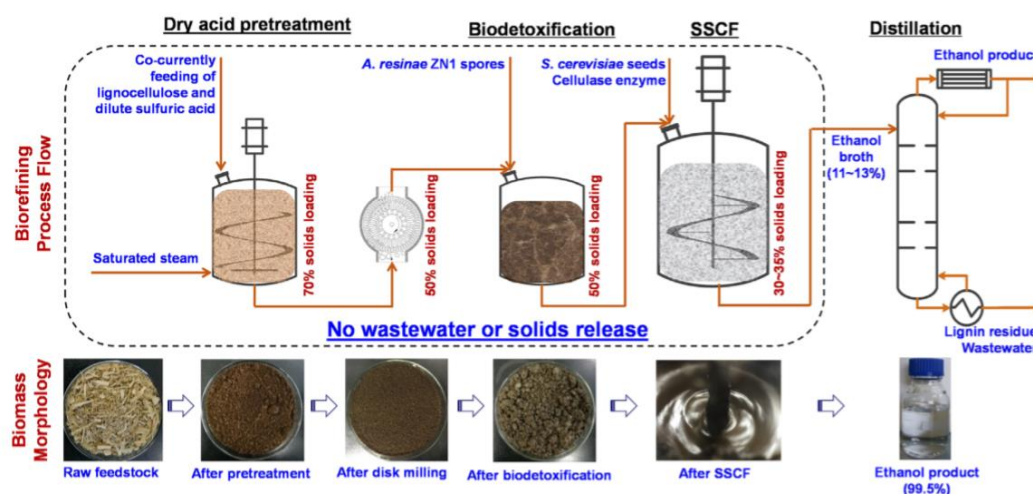


图 1.2 干法生物炼制技术乙醇生产工艺流程图^[49]

Fig. 1.3 Diagram of DryPB biorefining process for cellulosic ethanol production^[49]

1.3 纤维素乙醇废水的来源及特点

1.3.1 纤维素乙醇废水的来源

从图 1.3 可以看出，在传统生物炼制过程中，纤维素乙醇废水主要来自于：（1）预处理过程产生的废水；（2）预处理后物料脱毒阶段；（3）乙醇发酵结束后设备冲洗水；（4）乙醇精馏阶段乙醇精馏渣固液分离^[55]。据统计，每产 1 t 纤维素乙醇，使用酸预处理的纤维素乙醇生产工艺会产生 15 t 废水^[56]。其他纤维素乙醇技术还有氨纤维爆破^[20]、蒸汽爆破^[19]等。每产一吨纤维素乙醇，氨纤维爆破会产生 20 t 废水；蒸汽爆破会产生 115 t 废水。我们课题组自主研发的干法生物炼制技术每生产一吨纤维素乙醇，也会产生 8.7 t 废水^[56]。

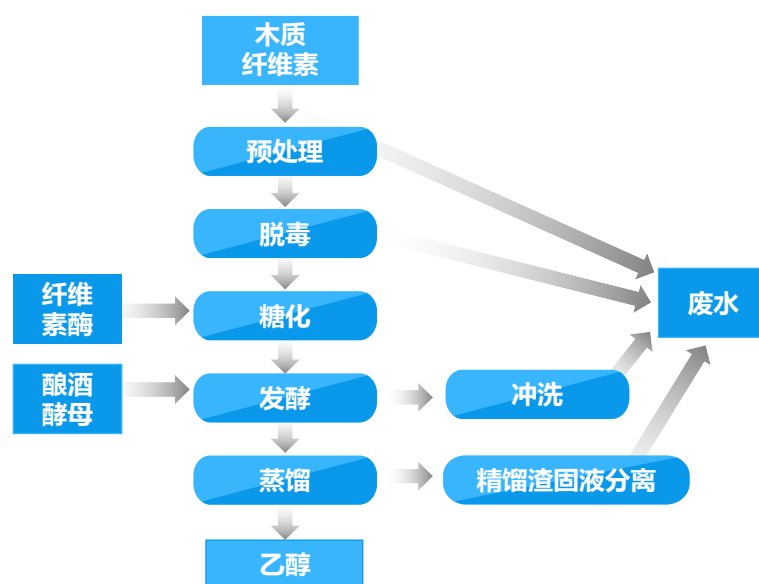


图 1.3 传统生物炼制过程废水来源示意图

Fig. 1.3 Schematic diagram of wastewater sources in the traditional biorefinery process

本课题组自主研发的干法生物炼制技术实现了在干酸预处理、固态生物脱毒、发酵阶段无任何废水产生，仅在乙醇精馏后的乙醇精馏渣固液分离阶段产生少量废水。本文的试验废水即来自于上述精馏渣固液分离过程。

1.3.2 纤维素乙醇废水的特点

木质纤维素原料转化为纤维素乙醇会有大量废水产生。同时，纤维素乙醇工厂分布的地域不同。这导致纤维素乙醇废水也有些许差异。造成这些差异的原因是选用的原材料以及生物炼制工艺的不同。酸预处理技术是当前纤维素乙醇工业中最常用的预处理技术之一，使用这种技术每生产一吨纤维素乙醇至少会产生 16 t 废水，其它技术还会产生更多废水。纤维素乙醇废水具有高 COD、高 BOD、高盐离子、高有机物的特点。此外，废水中还含有许多未被利用的原料分解产物^[57,58,59,60]。

(1) 高 COD、BOD

和以粮食生产的燃料乙醇废水特点类似，纤维素乙醇废水也含有很高的化学需氧量（chemical oxygen demand, COD）和生化需氧量（biological oxygen demand, BOD）。

由于木质纤维素原料种类的不同（如玉米秸秆、小麦秸秆、稻草等）以及生产技术工艺的差异，纤维素乙醇废水的 COD 和 BOD 的数值会有所不同。通常来说，它们 COD 含量大约在 15.53~98 mg/L 之间，BOD 的含量大约在 12.8~27.6 mg/L 之间^[61,62]。

（2）高有机物含量

废水中还富含多种有机物：（1）在乙醇发酵过程中产生的有机酸（如乳酸、乙酸、甲酸、丁酸等）会流入乙醇废水中，它们是可以被生化降解的；（2）在预处理过程中木质纤维素过分降解，会释放出一些不利于微生物发酵的抑制物（如酚类等）^[63]，这些抑制物难被生化降解；（3）没有经过固液分离的纤维素乙醇精馏渣废液中还含有许多木质素、纤维素和半纤维素。它们的质量百分比分别是：木质素约占 79%，纤维素约占 8.3%，半纤维素约占 3.6%。而经过固液分离得到的纤维素乙醇废水中仍然含有这三种物质，还含有未被完全利用的可发酵单糖如葡萄糖和木糖等^[64]。

（3）含有大量金属盐离子

木质纤维素生物质中含有约占总干重 3%-20% 的灰分^[65]。这些灰分中含有大量金属盐离子，如 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 K^+ ，它们随生物炼制过程最终流入纤维素乙醇废水中。预处理或脱毒过程也会引入金属盐离子，与生物炼制技术有关。金属盐离子是微生物生长所必须的，可作为重要发酵酶的辅助因子，还可以作为环境压力的调节剂。然而高浓度的金属盐离子对细胞的生长有严重毒害作用，降低乙醇发酵性能^[66]。

（3）有刺激性气味，高色度、高浊度

乙醇废水的颜色为深棕色，具有明显的臭味，其色度可至 20000 以上，浊度可达 6500 NTU (Nephelometric Turbidity Unit, 比浊法浊度单位) 以上^[67,68,69]。从目前的研究中可以推断，造成乙醇废水颜色为深棕色的原因可能是：（1）原料预处理过程释放出来的酚类物质如单宁和腐植酸^[70]；（2）糖和蛋白质发生的美拉德反应^[67]；（3）糖类物质加热后变成了焦糖^[67,79]。

本研究使用的纤维素乙醇废水和其它生物炼制工艺产生的废水在组分上稍有不同，但也具有高色度、高浊度、刺激性气味、高 COD、高 BOD、高盐度和高有机物的特点。

1.4 纤维素乙醇废水处理技术

木质纤维素生物质生产纤维素乙醇的废水产生量巨大，这种废水具有高浊度、高盐度、高 COD、高有机物、难降解的特征^[60]。随着纤维素乙醇开始迈向产业化，其废水的治理显得尤为重要，因此探寻合适的废水治理方式是十分有必要的。目前，常见的纤维素乙醇废水治理技术包括农田灌溉法^[71]、浓缩燃烧法^[72]、物化法^[73]、生物处理法^[74]。

1.4.1 农田灌溉法

纤维素乙醇废水中不仅含有大量的有机物，还含有许多金属盐（如钾盐、磷酸盐等），这使得该废水应用于农田灌溉变得可能。纤维素乙醇废水在经过普通的降解治理后，可以作为肥料排放到田地。目前，巴西、澳大利亚等国都使用农田灌溉法处理纤维素乙醇废水。农田灌溉法成本低廉、技术要求极低。但是这种方式的技术含量低，仅使用普通

的物理方法降解废水, 如果处理效果不好, 不但会损害农田、农作物, 还可能对地下水以及周围环境造成污染^[75]。

1.4.2 浓缩燃烧法

当溶液中的有机物含量超过 10% 或者其 COD 高于 300 g/L 时, 该溶液就可以燃烧。浓缩燃烧法正是利用这一点进行废水处理。浓缩燃烧法是指将纤维素乙醇废水投入到特定的蒸发器中, 然后将其浓缩至含水量低的泥块, 再放进燃烧炉里进行燃烧。泥块产热生成的能量可以回用于蒸煮废水, 蒸煮后的泥块又可以燃烧产热循环使用^[72]。这样就形成了良好的热交换循环网络, 在保证废水处理的同时, 还能减少额外的能量输入。浓缩燃烧法操作简单, 保证零废水产生, 是现今国内外较为推荐的废水处理方式。但是浓缩燃烧法的设备成本较高, 因此这种方法的推广受到了阻碍。

1.4.3 物理化学法

物化法通常结合生物法使用, 作为生物法降解废水的前处理阶段。目前, 广泛使用的物化前处理技术包括臭氧氧化法^[76,77]、絮凝沉淀法^[73,78]、Fenton 氧化法^[79,80]等。物理化学法不但可以减少或除去纤维素乙醇废水中有毒害作用的物质, 还能够提高废水的可降解性, 提升废水的可生化性, 从而使生物法降解达到更优质的治理效果。

1.4.4 生物处理技术

生物法包括厌氧处理法^[81]、好氧处理法^[82]以及厌氧-好氧联用^[74]的处理方法。

厌氧生物法指在无氧的环境下, 将纤维素乙醇废水中的有机物质转化为甲烷和 CO₂ 等气体, 从而起到去除有机物质、废水治理的作用^[83]。厌氧生物法的处理过程可分为 3 个步骤: 第一步是水解和酸化过程, 即产氢产乙酸的细菌将大分子物质降解为小分子物质; 第二步是利用产酸菌群将第一步中的产生的小分子物质转化为氢气、CO₂ 和少量乙酸; 第三步是产甲烷细菌将第二步中产生的氢气、CO₂、乙酸等转变为甲烷, 这一步在整个厌氧处理过程中最为重要^[84]。

好氧生物法的发展历程可以追溯到一百多年前, 那时就已经有人利用该方法治理水污染, 直至今日。好氧生物法指在有氧环境下, 好氧微生物将废水中的有机物质作为营养物质^[85], 使有机物质被降解, 从而实现降低有机物质浓度、改善水质的目的^[86]。好氧生物法一般包括活性污泥法^[87]和生物膜法^[88]两大类。活性污泥是指悬浮生长的微生物絮体, 它由好气微生物和它生长所利用的有机物、无机物构成。活性污泥法正是运用这种微生物絮体治理废水。生物膜法是利用细菌在污染物周围吸附成长, 从而实现降解和治理的目的。生物膜法广泛应用于固定床生物处理技术和流化床生物处理技术中, 如生物滤池、生物转盘、生物接触氧化、生物流化床等工艺^[88,89]。

厌氧生物处理具有污泥剩余量少、能耗小、处理成本低等优点, 但其缺点是启动时间和反应时间很长, 并且处理效果一般, 所以出水质量很差。好氧生物处理的优点是废水处理效率较高、反应时间少、出水质量很好, 但缺点是能耗大、处理成本高^[90]。综上所述, 好氧生物法以及厌氧生物法优点和缺点都很明显, 在治理废水效果上恰好互补。随着生物法治理纤维素乙醇废水技术的广泛应用, 更多的人把厌氧生物法及好氧生物法

联用来处理这种高有机物含量的废水。厌氧-好氧共同使用的方法不仅实现了较好的废水治理效果，还减少了废水治理成本。因此，厌氧及好氧共同使用技术成为现阶段废水治理领域最常使用的技术。

Wang^[60]使用 *Trichosporon cutaneum* ACCC20271 油脂酵母对纤维素乙醇发酵废水实行生化降解，最终废水的 COD 含量降低了 55.05%，脂质回收率为 2.16 g/L。虽然实现了油脂的生产，但废水的处理效果不佳。

Wang 和 Zheng^[91]使用厌氧活性污泥（UASB）和生物膜反应器（MBR）处理纤维素乙醇发酵废水，废水的 COD 去除率达到了 99%^[92]。虽然实现了很好的废水治理效果，但依然无法进行对外排放，且处理时间较长。

1.5 废水循环回用研究进展

1.5.1 废水循环回用技术

由于全球淡水资源有限，许多国家仍然面临着水资源短缺的问题，这就导致社会的发展受到了严重的阻碍。如果建立正确的废水循环回用理论与方法，并对废水进行多次开发利用，这样就可以节约新鲜水的使用，也就不需要担心水资源短缺的问题^[93]。因此，废水循环回用显得日益重要起来。对于废水循环利用，最为重要的是利用现代回用方法使循环利用效率提高。现阶段废水循环回用仍处于起步阶段，还有许多问题亟需研究解决^[94]。

废水循环回用是指将工业生产废水经过特殊处理达到使用标准后，再把处理后的废水应用到正常的工业生产中，以实现废水处理、节约用水的目的。一般来说，即使是经过物化前处理、生物处理法的高浓度有机废水依然很难达到国家规定的排放标准，还需要采用物化深度法进一步降解废水中的污染物。这样不仅会增大废水处理成本，还可能会浪费废水这一巨大的水资源。因此，针对这类高浓度的有机废水，循环回用是一个极具潜力的解决方案。

Xu^[95]等循环回用了柠檬酸废水，先对柠檬酸废水进行厌氧消化和气提等前处理，然后回用至柠檬酸发酵过程中。经过循环回用 10 次，作者发现使用柠檬酸废水的柠檬酸平均产量略高于传统柠檬酸发酵工艺的柠檬酸产量，并且还去除了废水中 95% 的 COD

Song^[96]等将 DHA（二十二碳六烯酸）和 ARA（花生四烯酸）生产过程中产生的废水循环回用至多元不饱和脂肪酸发酵生产过程中。研究发现，循环回用了废水的 DHA 和 ARA 的产量与传统工艺的产量几乎没有差异，但新鲜水消耗量却减少了一半。

循环回用在一定程度上可以解决高浓度废水的排放问题，但前处理废水阶段一般需要巨大的能耗。因此，若不解决高能耗的问题，废水循环回用将失去其意义，循环回用将难以开展。

1.5.2 纤维素乙醇废水循环回用技术

木质纤维素产乙醇常常伴随大量废水生成，这种废水难处理且处理成本巨大。所以为了提高纤维素乙醇经济上的竞争力、解决废水产生量大的问题，循环回用纤维素乙醇

废水是一种可行的方案。当下,关于纤维素乙醇废水循环回用的技术也还处在开始阶段,有关的研究较少。

于丽新^[97]等将膨胀颗粒污泥床(EGSB)、序列间歇式污泥床(SBR)废水循环回用至纤维素乙醇生产工艺的水洗和发酵阶段。研究表明,这两种废水都不会抑制乙醇发酵性能,还略微提高了乙醇发酵的最终乙醇产量。

赵伟^[98]等把物化法降解后的纤维素乙醇废水循环回用至乙醇发酵阶段。研究结果显示,纤维素乙醇废水对纤维素酶的酶解能力有略微的促进作用,还能够增强乙醇发酵潜力,得到更高浓度的纤维素乙醇。

1.6 本文立题依据和主要研究内容

木质纤维素原料作为一种来源广、储量足的可再生资源,具有很好的生物转化潜能。通过生物炼制方法将木质纤维素转化为燃料乙醇,能够在一定程度上解决化石能源枯竭和环境污染问题。因此纤维素乙醇生产受到了越来越多人的关注。然而新鲜水使用量大和废水产生量高是阻碍纤维素乙醇工业化的一大障碍。据统计,每生产一吨纤维素乙醇,使用酸预处理技术的纤维素乙醇生产工艺需要消耗 15 t 新鲜水,会产生 16 t 废水^[43];使用氨纤维爆破^[20]技术需要消耗 19 t 新鲜水,会产生 20 t 废水;使用蒸汽爆破^[19]需要消耗 112 t 新鲜水,会产生 115 t 废水。本课题组自主研发的干法生物炼制技术每生产一吨纤维素乙醇,需要消耗 8 t 新鲜水,也会产生 8.7 t 废水,跟粮食乙醇技术生产 1 t 乙醇的用水量(7.9 t)和废水生成量(8.3 t)已经十分接近^[56],但大量废水的产生依旧是一大重要的难题。此外,与玉米乙醇不同的是,纤维素乙醇工厂由于受到原料收集半径的影响,燃料乙醇年产能一般不超过 10 万吨,一般建在距离原料产地较近的农村。这些地区基础设施薄弱,废水处理系统不完善。因此高废水排放的纤维素乙醇工业难以开展。

纤维素乙醇废水处理成本高且工艺复杂,目前国内外对纤维素乙醇废水的处理方式主要是采用物化法和生物法处理。但物化法工艺要求较高且治理的效果较差,只能作为生物法处理的前处理步骤。常用的生物法包括好氧生物处理和厌氧处理,两种方法通常联合使用。生物法的降解效果较为明显,可以减少至少 90% 的 COD 含量。但是纤维素乙醇废水的 COD 能够达到 125 g/L 以上,所以即使降低了 90% 的 COD 依然无法达到国家正常废水排放标准(100 mg/L)。所以为了完全处理大量难降解的废水,循环回用乙醇废水是一个可行的方案。

乙醇废水循环回用有两条路径,一条是回用至发酵阶段,另一条是预处理阶段。因为发酵废水中含有多种微生物杂菌,若直接回用至发酵阶段不利于酿酒酵母生产乙醇,所以回用到发酵阶段不是一个最好的方案。而回用至预处理阶段可以有效解决废水中微生物残留的问题,因为预处理的高温高压环境可以有效杀死废水中的微生物,所以回用至预处理阶段是最合理的方案。当然,回用至预处理阶段也存在几个问题:第一点是废水中含有的单糖、寡糖和聚糖杂质在预处理过程中会形成新的呋喃类抑制物;第二点是废水中的木质素及其降解产物在预处理过程中会形成酚类、呋喃类、有机酸类抑制物;

第三点是废水中含有金属盐离子，在每次循环回用过程中不断富集会影晌后续乙醇发酵；第四点是使用蒸发和冷凝去除废水中的金属盐离子，需要消耗大量能量。这些问题都在本论文得以解决。本研究就是为了探究纤维素乙醇废水循环回用是否可行，从而找到一个合适的解决废水排放问题的新方法。

本论文的研究内容具体如下：

(1) 先按照正常的生物炼制流程进行乙醇生产操作，收集乙醇精馏渣固液分离后产生的乙醇发酵废水。

(2) 将这种废水循环回用至预处理阶段用于代替新鲜水配制预处理所需的稀酸催化剂。预处理后，继续进行磨浆、固态生物脱毒、高固含量发酵、乙醇精馏等生物炼制操作。

(3) 再次收集乙醇精馏渣固液分离后产生的乙醇发酵废水，并继续将该废水循环回用至预处理工段进行生物炼制操作。

(4) 如此循环回用乙醇发酵废水，并比较每次废水循环回用后预处理物料的组分、酶水解得率以及乙醇发酵乙醇浓度和乙醇得率，以此来判断乙醇发酵废水循环利用是否合理。若乙醇发酵废水直接循环回用导致乙醇产量偏低，则必须先对乙醇发酵废水前处理，再把废水回用至预处理阶段进行正常的生物炼制操作，并探究其可行性。

第 2 章 纤维素乙醇发酵废水在预处理过程中的直接回用及可行性分析

2.1 引言

由于化石能源的日益匮乏,纤维素乙醇作为最有潜力的替代能源,受到越来越多人的关注。工业生产纤维素乙醇大多采用酸预处理技术,按照这种技术每生产一吨纤维素乙醇需要消耗 15 t 新鲜水,产生 16 t 废水。新技术—干法生物炼制每生产一吨纤维素乙醇,需要消耗 8 t 新鲜水,产生 8.7 t 废水^[56]。以上这仅仅是工艺平衡用水,实际用水量及废水产生量可能远超工艺平衡用水。此外,与玉米乙醇不同的是,纤维素乙醇工厂由于受到原料收集半径的影响,单个工厂的燃料乙醇年产能不超过 10 万吨,一般建在距离原料产地较近的农村或农场附近。在这些基础设施薄弱的地区难以开展高废水排放的纤维素乙醇产业^[99]。因此,如若在产能受限的同时还存在着高额的新鲜水投入成本和废水处理成本,必将大幅拉低纤维素乙醇生产在经济上的竞争力。

废水的 COD 高达 125 g/L,富含许多有机物,还具有刺激性气味、高盐度、高浊度的特征^[100]。当下,对这种污水的治理大多是采用物化前处理加生物法处理^[101]。物化法主要有 Fenton 氧化法^[79,102]、铁碳电解^[103]、絮凝剂沉淀^[78,104]和臭氧氧化^[76,105]。常用的生物法有好氧生物处理和厌氧处理以及联用厌氧—好氧法^[106]。虽然这种处理方法效果较好,但由于木质纤维素废水 COD 含量极高,处理后依然无法达到国家废水排放标准^[107,108]。所以为了彻底解决纤维素乙醇废水排放问题,循环回用是一个很有潜力的方法。

循环回用的路径有两条:第一条路径是循环回用至乙醇发酵阶段,用于配制乙醇发酵所需的培养基、营养盐和种子液;另外一条路径则是回用至预处理阶段,用于代替新鲜水配制预处理所需的稀酸催化剂。由于发酵废水中含有多种微生物杂菌和糠醛、酚类等抑制物,若直接回用至发酵阶段,会抑制发酵菌株的生长和乙醇生产,因此循环回用至发酵阶段不是一个最好的方案。相反,回用至预处理阶段可以有效解决杂菌和抑制物残留的问题。因为我们采用的干酸预处理是在高温条件下进行的,高温可以有效杀死废水中残留的微生物。其次,预处理后的物料需要进行固态生物脱毒,脱去预处理物料中的糠醛、5-羟甲基糠醛等物质。这样就解决了废水中残留的杂菌和抑制物问题。

本章节的研究内容如下:

(1) 先按照干法生物炼制流程进行乙醇生产操作,收集乙醇精馏渣固液分离后产生的乙醇发酵废水。

(2) 将这种废水直接循环回用至预处理阶段,用于代替新鲜水配制干酸预处理所需的稀酸催化剂。

(3) 预处理后,继续进行磨浆、固态生物脱毒、高固含量发酵、乙醇精馏等生物炼制操作。

(4) 再次收集乙醇精馏渣固液分离后产生的乙醇发酵废水,并继续将该废水循环回用

至预处理工段进行生物炼制操作。

(5) 如此循环回用, 并比较每次废水循环回用后预处理物料的组分、酶水解得率以及乙醇发酵的乙醇浓度和乙醇得率, 以此来评判乙醇发酵废水循环的合理性。

研究发现, 直接回用纤维素乙醇发酵废水至预处理过程, 最终导致乙醇产量随循环次数的增加而降低。通过测定每次循环废水中盐离子含量及实验验证发现: 纤维素乙醇发酵废水中存在的金属盐离子, 在循环回用中不断富集, 对酶水解得率和乙醇产量造成严重影响。

2.2 材料与方法

2.2.1 原料

本论文使用的原料都是麦秆。小麦秸秆原料均产自中国山东省青岛市(收获于 2018 年秋季)。刚购得的小麦秸秆原料为直径高于五厘米的长状秸秆, 为了方便预处理操作、提高预处理效率, 所以使用前先用锤式粉碎机将收集的小麦秸秆原料粗粉碎, 并通过网眼筛, 此时小麦秸秆原料的直径只有不到一厘米。然后置于塑料袋中常温储存待用。

小麦秸秆原料的组分测定的方法是按照 NREL 提供的测定方法^[109,110], 组分测定的方法是先将木质纤维素原料烘至 6 h 以上, 然后量取 400 mg 烘干的小麦秸秆原料, 添加 4 mL 质量分数为 72 % 的 H_2SO_4 , 于 30 °C 水中水浴 1 h, 过程中不停搅动原料。然后转移至容量瓶中, 并加 112 mL 去离子水使硫酸浓度稀释到 4 %, 缠上纱布, 左右摇动以混合均匀, 在 121 °C 酸解 1 h。酸解后取出容量瓶, 不断摇晃以混匀酸解液, 然后对反应液进行抽滤操作, 取适量抽滤液用于测定其葡萄糖和木糖含量。抽滤后多次冲刷容量瓶以完全收集木质素残渣, 然后把残渣连同抽滤用纸放进 105 °C 烘箱中烘干。取出烘干后的滤纸及残渣, 此时的残渣的主要成分是酸不溶性木质素和灰分, 然后将残渣和滤纸一并放入坩埚中并在马弗炉中灼烧, 空白滤纸是对照组, 灼烧掉的部分则是木质素。原料灰分的测定就是直接在马弗炉中灼烧烘干的原料, 烧剩下的部分即为原料的灰分。

本章节后半部分实验用到的物料为除尘后小麦秸秆。工业上常用的物料除尘方法是通风除尘法, 主要是通过风机将物料上的不溶性灰分清除。然而由于本研究为实验室小式规模, 所以本研究中的除尘方式均以水洗的方式代替。

2.2.2 纤维素酶和试剂

商业纤维素酶 Cellic CTec 2.0 购买于 Novozymes (中国) 投资有限公司。根据 NREL 方案 LAP-006^[111]测定, 滤纸活性为每毫升纤维素酶 203.2 FPU。使用牛血清白蛋白(BSA)作为蛋白参照物, 通过 Bradford^[112]方法测得的纤维素酶总蛋白含量为 87.3 mg/ml。

所用试剂有 KH_2PO_4 , $(NH_4)_2SO_4$, $MgSO_4$, $Fe_2(SO_4)_3$ 等均购买于当地制造商, 详情请见附录 I。

2.2.3 菌种和培养基

本课题组在以往的研究中分离得到了一株生物脱毒真菌树脂枝孢霉 *A.resinae* ZN1, 并将其存储在中国通用微生物收集中心 (CGMCC, 北京, 中国), 注册号为 7452^[113]。

树脂枝孢霉 *A.resinae* ZN1 保存在马铃薯葡萄糖琼脂培养基 (PDA) 斜面上。PDA 斜面制备方法是將土豆去皮、清洗、切片，称取 200 g 于 1 L 去离子水中蒸煮 60 min，滤除土豆渣滓，加水至 1 L，添入 20 g 葡萄糖和 15 g 琼脂。

乙醇发酵菌株酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* XH7 来自野生型二倍体酿酒酵母 BSIF，是通过合理设计的遗传修饰与木糖的适应性进化相结合而得到的^[114]。*Saccharomyces cerevisiae* XH7 保存于 YPD 培养基 (葡萄糖 20 g/L，蛋白胨 20 g/L，酵母提取物 10 g/L)。

2.2.4 试验废水

本论文使用的纤维素乙醇废水完全来自本课题组自主研发的生物炼制过程。该废水是乙醇精馏后乙醇精馏渣固液分离得到的乙醇发酵废水。它的 COD 高达 170 g/L，还有许多有机物，颜色呈黑褐色，有刺鼻的味道，还含有少量金属盐离子。

2.2.5 预处理

本研究使用的预处理技术是干酸预处理(DDAP)，方法依据 Zhang^[115,116]。物料与酸液按照固液比 2:1 (w/w) 的比例混合并加入到体积为 20 L 的预处理反应器中，稀硫酸的浓度并非固定，需要根据原料种类和性质进行测定。操作步骤是先加入原料，然后在搅拌状态下加入稀酸催化剂，搅拌转速是 50 rpm，保持 3 min，目的是使纤维素原料和稀硫酸混合均匀。然后在 50 rpm 搅拌的状态下升温至 175 °C，维持 5 min 内温度上升至 175 °C。最后以搅拌速度 50 rpm，温度 175 °C 的状态反应 5 min。预处理后的纤维素物料是呈蓬松疏散的固态小颗粒，含水量约为 50%，pH 约为 2.0。预处理过程中不会有任何废水产生。

2.2.6 生物脱毒

预处理后的物料采用生物脱毒的方式去除糠醛、乙酸等抑制物,方法依据 Zhang^[117]。选用的脱毒真菌为树脂枝孢霉 *A.resinae* ZN1，它可以优先利用物料中的抑制物 (糠醛、乙酸、5-羟甲基糠醛) 进行生长从而达到脱除抑制物的作用。生物脱毒的主要步骤：先配制 20% 的 Ca(OH)₂ (20 g Ca(OH)₂ 粉加 80 g 去离子水)，然后用 Ca(OH)₂ 溶液调节预处理后物料的 pH 至 5.5 (脱毒真菌 *A.resinae* ZN1 的最适 pH)，然后物料与 *A.resinae* ZN1 按照质量比 10:1 的比例混合均匀并加入至体积为 15 L 的脱毒反应器中，在温度为 28 °C、通气量 1.0 vvm 的环境下进行生物脱毒。期间每隔 12 h 在搅拌转速为 50 rpm 状态下搅拌 3 min，当监测到物料中的三种主要抑制物 (糠醛、乙酸、5-羟甲基糠醛) 已被完全去除后可停止脱毒，脱毒时间一般为 2-3 天。

2.2.7 发酵种子的培养

乙醇发酵菌株 *Saccharomyces cerevisiae* XH7 在超低温-80 °C 冰箱环境中保藏，发酵种子的培养包括 XH7 的活化、二级种子液、三级种子液。发酵种子的培养步骤是：将 XH7 的冻存管于 YPD 中在 30 °C、200 rpm 的条件下活化 12 h；然后转接到二级种子液中继续培养 12 h；然后继续转移到三级液中培养 24 h。所有的转接都按照 10% (v/v) 的接种量进行。

2.2.8 同步糖化共发酵 (SSCF) 的方法

SSCF 是在 5 L 的发酵罐中进行的^[118]。SSCF 首先是预糖化, 将经过脱毒后物料加入到生物反应器内开始预糖化, 预糖化在温度为 50 °C、发酵罐转速为 200 rpm、pH 为 4.8 的条件下进行 12 h, 固含量为 30 %; 糖化完成后将三级种子培养液接入到发酵罐中开始进行同步糖化共发酵, 温度控制在 30 °C, 搅拌转速维持在 200 rpm, 用 5 M 的 NaOH 调节发酵液 pH 至 5.5, 在此状态下发酵 72 h, 每隔 12 h 取适量样品用于后期检测。

乙醇得率的计算方法参考 Zhang 和 Bao(2012)^[119]的方法计算。

2.2.9 乙醇精馏

精馏塔的型号为 YH 系列, 规格为 2000ML。主要过程是:取适量乙醇发酵液于加料口处加进球体塔釜中, 打开电热套使塔釜温度上升, 当塔釜达到 78 °C 时乙醇开始蒸发, 控制回流比使乙醇产品纯度更高, 持续蒸发直到发酵液中乙醇全部蒸发。蒸馏后乙醇纯度可达 99.57 %。塔釜的水固性浆液经过固液分离得到固体木质素残渣和乙醇发酵废水。木质素残渣可以作为燃料发电供能^[120]。乙醇发酵废水循环回用至预处理阶段进行实验研究。

2.2.10 葡萄糖、木糖、抑制物和乙醇分析方法

葡萄糖、木糖、抑制物、乙醇的浓度是通过 HPLC(LC-20AD pump, RID-10A refractive index detector, Shimadzu, Kyoto, Japan)进行定量分析。所使用的检测器型号是 RID-10A。色谱分析柱的型号是 HPX-87H(300 mm×7.8 mm)。样品先在 2000 ×g 转速下离心 5 min, 取清液, 然后用去离子水稀释, 再通过孔径为 0.22 μm 的一次性滤膜进行杂质去除, 最后进样检测成分信息。HPLC 的检测条件为: 柱温为 65 °C, 流动相是 5 mM 的 H₂SO₄, 流动相流速为 0.6 mL/min, 进样量为每针 20 μL, 共进三针。

2.2.11 金属盐离子含量检测方法

废水中的金属盐离子包括 Mg²⁺、Mn²⁺、Fe³⁺、K⁺、Cl⁻、NO₃⁻、PO₄³⁻等。金属盐离子含量检测方法参照 Han^[121]的方法。

阳离子 Mg²⁺、Mn²⁺、Fe³⁺、K⁺浓度通过等离子体发射光谱(725 ICP-OES, 安捷伦, 美国)测得, 检测器为 CCD 检测器, 功率为 1.2 kW, 等离子体气体流速为 15 L/min, 泵速为 15 rpm, 样品延滞时间为 35 s, 稳定时间 10 s。样品前处理步骤: 称量约 0.1 g 左右的待测物(固态或液态均可), 添加 3 mL HNO₃ 和 1 mL 高氯酸, 电炉上蒸煮 4 h, 稀释至 25 mL 并检测。

阴离子 Cl⁻、NO₃⁻、PO₄³⁻使用离子色谱仪(Dionex ICS-1100, Thermo Fisher Scientific, MA)测得, 检测器为电导检测器(AERS 500, 4 mm), 分析柱为 IonPac AS11(4 × 250 mm), 柱温为 65 °C, 液体流速为 1 mL/min。梯度洗脱的方法: 10 mM KOH 溶液洗脱 12 min, 6 s 内替换为 25 mM KOH 溶液, 洗脱 12 min, 6 s 内再改为 10 mM KOH 溶液, 洗脱 6 min^[121]。

2.3 结果与分析

2.3.1 收集纤维素乙醇发酵废水

为了得到本研究所用的纤维素乙醇发酵废水，首先用新鲜水配制稀酸催化剂并对麦秆原料进行干酸预处理操作，然后按照干法生物炼制的顺序依次进行磨浆、固态生物脱毒、SSCF、乙醇精馏等操作，固液分离乙醇精馏渣，收集分离后产生的废水。这种废水即为本研究所用的乙醇发酵废水，称之为第一次废水。

将第一次废水回用至预处理阶段，继续进行磨浆、固态生物脱毒、SSCF、乙醇精馏等生物炼制操作，得到的废水称为第二次废水；将第二次废水回用至预处理阶段，继续进行磨浆、固态生物脱毒、SSCF 等生物炼制操作，固液分离乙醇精馏渣得到的废水称为第三次废水，以此类推。

纤维素乙醇发酵废水具有以下几个特性：（1）含有细胞悬浮物；（2）含有多种有机物，主要是那些容易生化降解的物质，包括葡萄糖、木糖、甘油、乙酸（如表 2.1 所示）；（3）还含有一些难生化降解的木质素；（4）还含有一些酚醛类（糠醛、酚类、5-羟甲基糠醛等）抑制物；（5）还含有一些金属盐离子，包括 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 K^+ 、 Cl^- 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 。

表 2.1 废水的主要有机物组成及 pH

Tab. 1 The content of main organic matter in wastewater

Component	Composition in wastewater (g/L)
Glucose	3.63
Xylose	4.07
Ethanol	0.10
Acetic acid	3.84
Glycerin	8.72

The pH of wastewater is 5.15.

注：此废水为第一次废水，原料使用的是未除尘小麦秸秆

2.3.2 纤维素乙醇发酵废水在预处理阶段直接循环回用及预处理后物料评价

为了探究废水直接循环回用的可行性，这一阶段进行了两轮废水回用，即先将第一次废水回用至预处理阶段并进行生物炼制生产乙醇，再收集第二次废水，回用至下一轮生物炼制的预处理阶段。比较每轮废水回用过程中预处理后物料的组成、酶解得率和 SSCF 乙醇浓度，依此判定废水直接回用是否可行。每轮废水循环回用，预处理后物料的组成、酶水解得率的结果见图 2.1。

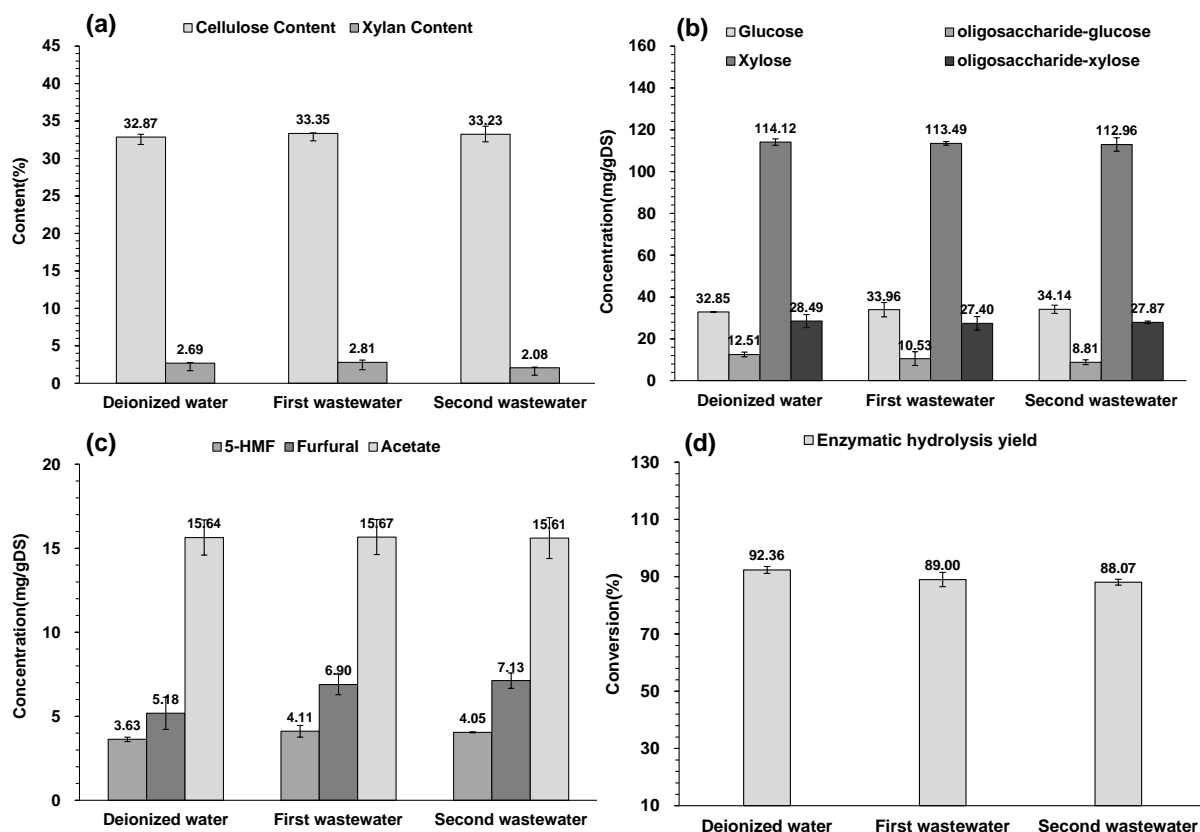


图 2.1 废水及新鲜水进行预处理后物料评价结果

Fig. 2.1 Pretreatment efficiency assay of wastewater pretreated wheat stover and tap water pretreated wheat stover.

Deionized water 指使用新鲜水进行预处理操作得到的物料；First wastewater 指使用第一次废水进行预处理操作得到的物料；Second wastewater 指使用第二次废水进行预处理操作得到的物料。（a）表示新鲜水预处理后物料、第一次废水预处理后物料、第二次废水预处理后物料中纤维素含量和木聚糖含量；（b）表示这三种预处理后物料中葡萄糖含量、木糖含量、葡寡糖含量、木寡糖含量；（c）表示这三种预处理后物料中的主要抑制物含量（乙酸、5-羟甲基糠醛、糠醛）；（d）表示这三种物料的酶水解评价结果。酶水解条件：固含量为 2.5 % (w/v)、酶用量为 20 FPU/g DM、酶水解时间为 72 h、温度 50 °C、摇床转速为 150 rpm。

图 2.1 表示以未除尘的麦秆为原料，以新鲜水、第一次废水、第二次废水配制稀酸催化剂进行干酸预处理，预处理后物料的组分测定和酶水解结果。从图中可以看出：新鲜水预处理后物料、第一次废水预处理后物料、第二次废水预处理后物料的纤维素、木糖、葡萄糖、木聚糖等含量十分相近；乙酸、5-羟甲基糠醛含量也极为相似；糠醛含量呈略微上升趋势。这些组成的含量如此接近说明发酵废水中的残余糖含量相对较低，在预处理过程中不会对预处理物料的组分产生较大影响，也不会降解产生许多抑制物。从图 2.1 的 d 图可以看出，三种物料的酶水解得率分别为 92.36 %、89.00 %、88.07 %，呈逐渐下降趋势。废水预处理后物料的酶水解得率明显低于正常物料，且随着废水循环回用次数的增加，酶水解得率依次下降。导致酶水解得率降低的原因可能是废水中存在某

些抑制纤维素酶活性的物质。

2.3.3 每次废水循环回用后预处理后物料 SSCF 结果

图 2.2 表示以新鲜水、第一次废水、第二次废水预处理后物料进行 SSCF 的结果对比图。从图 2.2 可以看出:新鲜水、第一次废水、第二次废水预处理后物料发酵中的初始葡萄糖、初始木糖浓度极为接近,表示三种物料的预处理和预糖化效果差距较小,均产生了浓度相近的可发酵糖;三种物料的发醇趋势(糖耗、乙醇生成)也十分相似;三种物料的最终乙醇浓度依次下降,即新鲜水预处理后物料的最高,第一次废水和第二次废水的乙醇浓度不断降低。

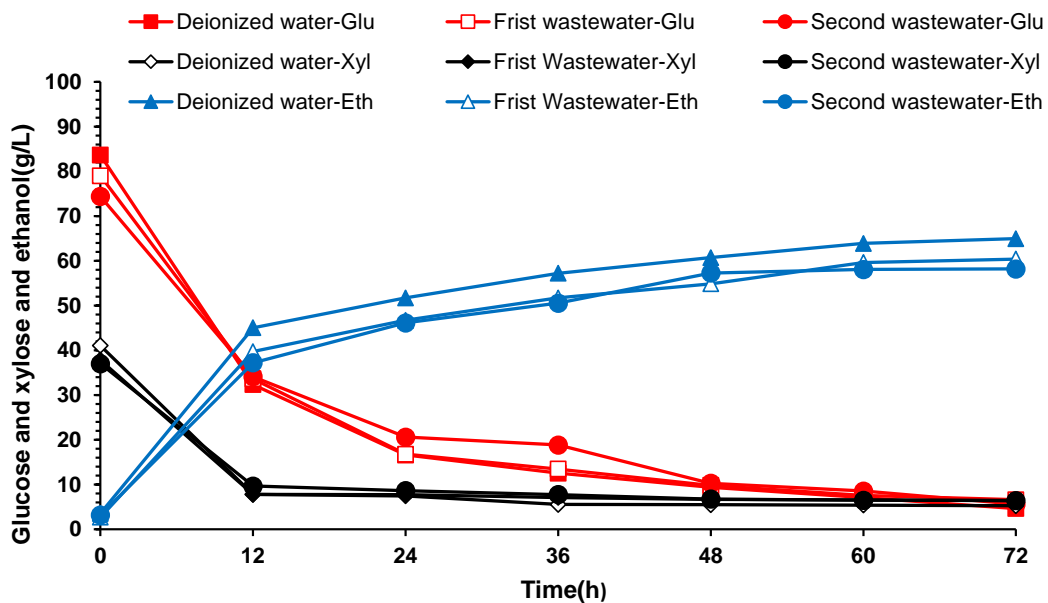


图 2.2 新鲜水、第一次废水、第二次废水预处理后小麦秸秆发酵性能

Fig. 2.2 SSCF of the two times wastewater pretreated and tap water pretreated wheat stover.

Deionized water-Glu, Deionized water-Xyl, Deionized water-Eth 分别表示使用新鲜水预处理后物料发酵时的葡萄糖浓度、木糖浓度、乙醇浓度; First wastewater-Glu, First wastewater-Xyl, First wastewater-Eth 表示使用第一次废水预处理后物料发酵时的三种物质浓度; Second wastewater-Glu, Second wastewater-Xyl, Second wastewater-Eth 表示使用第二次废水预处理后物料发酵时的三种物质浓度。同步糖化发酵条件: 固含量为 30%, 纤维素酶用量为 10 mg total protein/g cellulose, 预糖化温度为 50 °C、pH 4.8、200 rpm、反应 12 h, 同步糖化发酵温度为 30 °C、pH 5.5、200 rpm、发酵 72 h, 发酵菌株为 *Saccharomyces cerevisiae* XH7。

图 2.3 表示新鲜水、第一次废水、第二次废水预处理后物料 SSCF 的最终乙醇浓度。由图 2.3 可以直观的看出三种预处理后物料的乙醇发酵性能: 新鲜水预处理后物料的最终乙醇产量为 65.34 g/L; 第一次废水预处理后物料的最终乙醇产量为 60.27 g/L; 第二次废水预处理后物料的最终乙醇产量为 57.78 g/L。尽管图 2.2 的结果显示, 废水物料 SSCF 在糖耗和乙醇产生趋势上与新鲜水的保持一致, 但是每轮废水回用后, 预处理后物料 SSCF 的最终乙醇产量都比上一轮降低了约 5%。这表明纤维素乙醇废水对乙醇发酵有明显的抑制作用, 可能是废水中存在某些影响酵母菌或纤维素酶活性的物质, 在接

下来的研究中将对此进行探究。

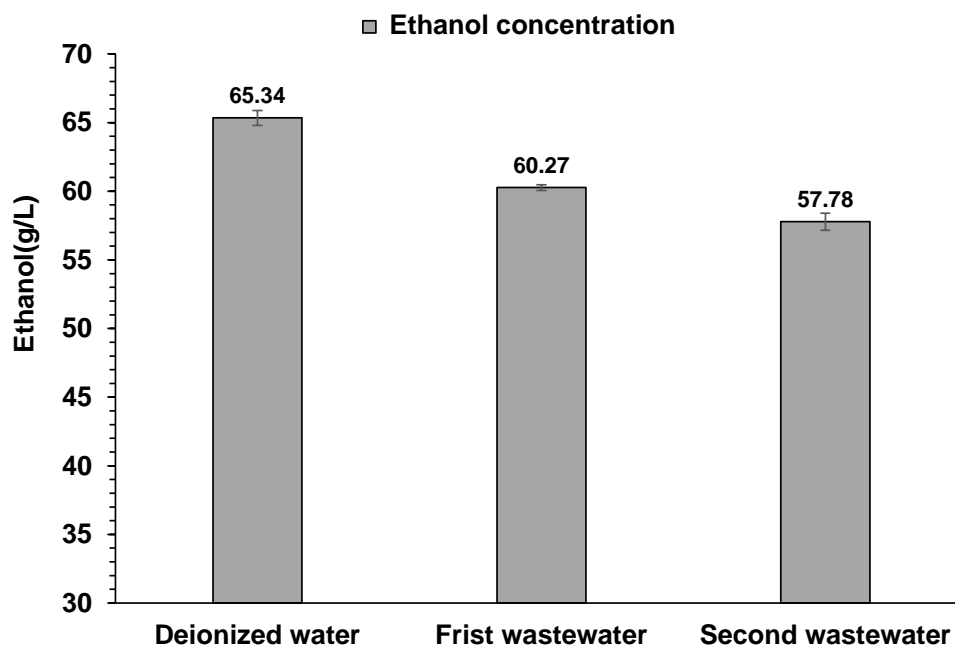


图 2.3 新鲜水、第一次废水、第二次废水预处理后小麦秸秆最终乙醇浓度

Fig. 2.3 Ethanol concentration of the two times wastewater pretreated and tap water pretreated wheat stover.

Deionized water 指使用新鲜水预处理后物料发酵的乙醇浓度；First wastewater 指使用第一次废水预处理后物料发酵的乙醇浓度；Second wastewater 指使用第二次废水预处理后物料发酵的乙醇浓度。同步糖化共发酵条件：固含量为 30%，纤维素酶用量为 10 mg total protein/g cellulose，预糖化温度为 50 °C、pH 4.8、200 rpm、反应 12 h，同步糖化共发酵温度为 30 °C、pH 5.5、200 rpm、发酵 72 h，发酵菌株为 *Saccharomyces cerevisiae* XH7。

2.3.4 探究废水循环回用后 SSCF 乙醇产量降低的原因

从每轮废水直接回用后，物料的组分测定、酶水解得率和 SSCF 结果可以看出：废水循环回用至预处理在整体上是可行的，但会导致乙醇产量随着循环次数的增加而不断降低。这就严重限制了废水循环回用的次数，导致废水无法一直回用下去。针对纤维素乙醇废水降低 SSCF 乙醇产量这一现象，本文猜测了几个可能的原因。由于废水中主要含有残糖、抑制物、金属盐离子，本文优先考虑是这些物质导致乙醇产量不断降低，并对其进行分析。首先，残糖在预处理的高温环境下会降解产生抑制物，影响生物脱毒的正常进行。其次，废水中的抑制物和预处理阶段新生成的抑制物含量较高，增加生物脱毒的难度，从而间接影响乙醇发酵性能。但研究发现，由于本实验室的生物脱毒过程和生物脱毒菌株 *A.resinae* ZN1 强大的脱毒能力，抑制物可被完全脱除，因此残糖和抑制物都不是造成乙醇产量降低的主要原因。最后，对于金属盐离子，微量的金属盐离子有促进细胞生长的作用，但较高含量的金属盐离子则导致细胞活性降低。因此，猜测金属盐离子是造成乙醇产量不断降低的主要原因。

首先测定了几次废水中的金属盐离子含量。图 2.4 展示的是第一次废水、第二次废

水、第三次废水中主要的金属盐离子浓度。其中阳离子包括 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 K^+ 、 Na^+ ；阴离子包括 Cl^- 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-} 。从图中可以看出：随着废水循环回用次数的增加，废水中的阴、阳离子都在不断富集。金属盐离子的不断富集可能是造成乙醇浓度和乙醇得率降低的主要原因。接下来将实验验证此猜想的正确性。

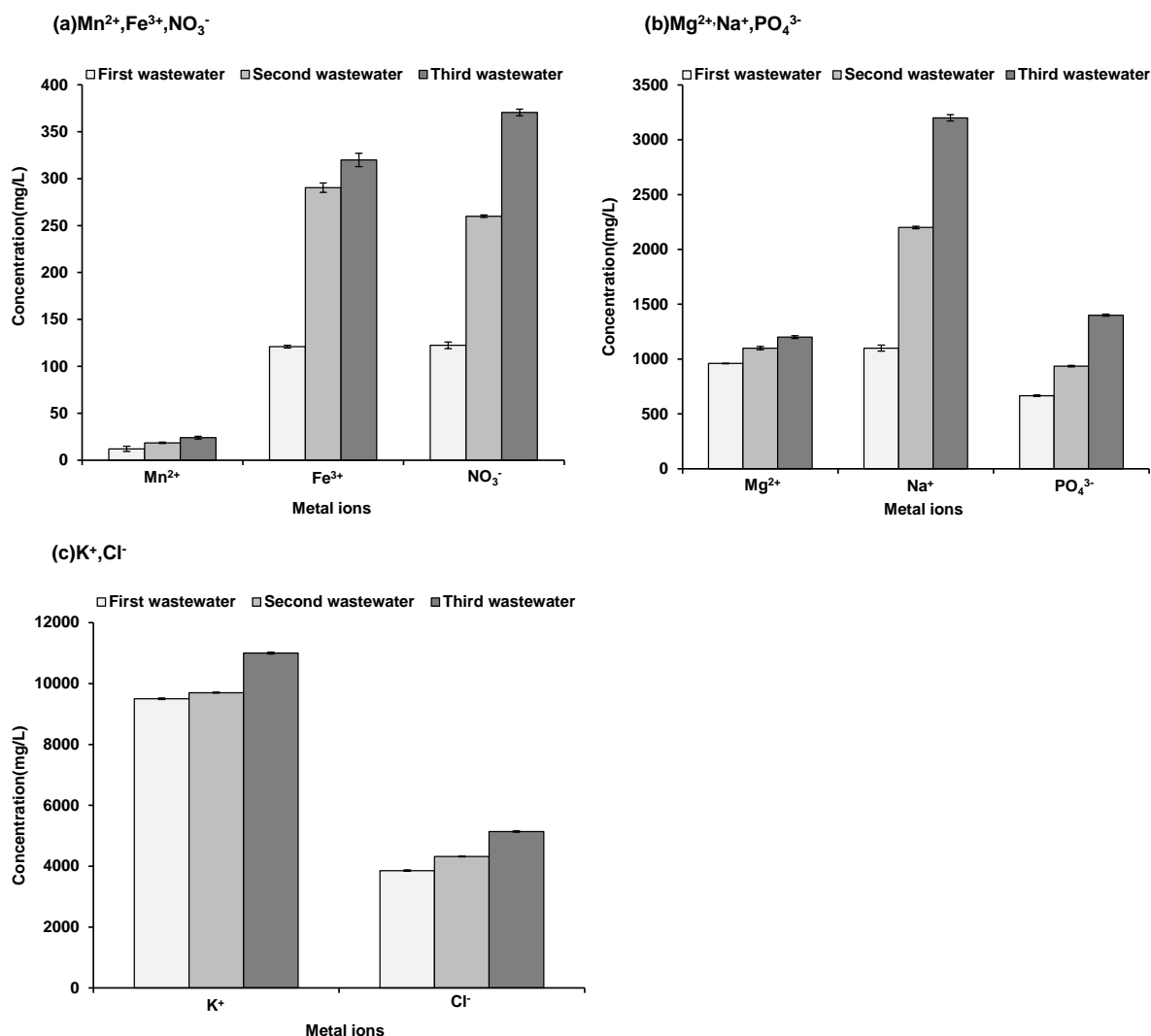


图 2.4 第一次废水、第二次废水、第三次废水中金属盐离子浓度

Fig. 2.4 The concentration of main salt ions in the first, second and third wastewater

(a) 展示的是废水中 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 NO_3^- 的含量；(b) 展示的是废水中 Mg^{2+} 、 Na^+ 、 PO_4^{3-} 的含量；(c) 展示的是废水中 K^+ 、 Cl^- 的含量。阳离子检测条件：等离子体气体流速为 15 L/min，泵速为 15 rpm，样品延滞时间为 35 s，稳定时间 10 s。样品前处理步骤：称量约 0.1 g 左右的待测物（固态或液态均可），添加 3 mL HNO_3 和 1 mL 高氯酸，电炉上蒸煮 4 h，稀释至 25 mL 并检测。阴离子检测条件：柱温为 65 °C，液体流速为 1 mL/min。梯度洗脱的方法：10 mM KOH 溶液洗脱 12 min，6 s 内替换为 25 mM KOH 溶液，洗脱 12 min，6 s 内再改为 10 mM KOH 溶液，洗脱 6 min

为了验证猜想——金属盐离子的不断富集是导致 SSCF 乙醇产量降低的主要原因，我们设计了盐离子浓度与 SSCF 关系的探究性实验。实验主要内容是：(1) 选用 5 种常见的盐试剂 ($MgCl_2$ 、 $FeCl_3$ 、 KCl 、 $NaCl$ 、 $MnSO_4$)，模拟几轮废水中金属盐离子浓度，

即分别配制和第一次废水、第二次废水、第三次废水、第四次废水相同盐离子浓度的溶液；（2）用上述 4 种溶液替代新鲜水直接进行 SSCF，与新鲜水 SSCF 的最终乙醇浓度进行比较，并分析金属盐离子浓度和 SSCF 的关系。

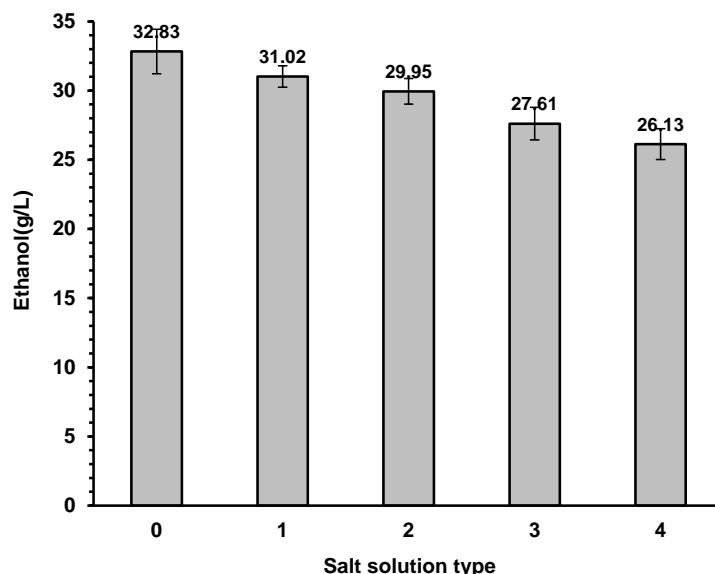


图 2.5 不同金属盐离子浓度下 SSCF 结果

Fig. 2.5 Changes of ethanol concentration under different salt ion concentrations.

0 代表新鲜水即金属盐离子浓度为 0；1 代表和第一次废水相同的盐离子浓度；2 代表和第二次废水相同的盐离子浓度；3 代表和第三次废水相同的盐离子浓度；4 代表和第四次废水相同的盐离子浓度。SSCF 条件：固含量为 10%，纤维素酶用量为 10 mg total protein/g cellulose，预糖化温度为 50 °C、pH 4.8、200 rpm、反应 12 h，同步糖化发酵温度为 30 °C、pH 5.5、200 rpm、发酵 72 h，发酵菌株为 *Saccharomyces cerevisiae* XH7。

图 2.5 表示的是在不同金属盐离子浓度下，SSCF 乙醇浓度的变化情况。结果显示：新鲜水发酵 72 h 的乙醇浓度为 32.83 g/L；依次增大盐离子浓度后乙醇浓度分别为 31.02 g/L、29.95 g/L、27.61 g/L、26.13 g/L。从实验结果可以看出，随着金属盐离子浓度的不断增大，乙醇浓度呈下降趋势。因此，确定了废水中金属盐离子的富集是造成乙醇发酵产量降低的主要原因。有研究显示，金属盐离子是微生物生长所必须的，可作为重要发酵酶的辅助因子，还可以作为环境压力的调节剂。然而高浓度的金属盐离子会增大环境的渗透压，造成细胞失水而发生质壁分离，甚至死亡^[66]。因此，高浓度的金属盐离子会抑制乙醇发酵。若想完全实现纤维素乙醇废水循环回用，必须解决金属盐离子在废水中的富集问题。

2.3.5 提高废水循环回用后乙醇产量的改进方法

金属盐离子富集的原因可能有三点：（1）未除尘原始小麦秸秆中含有约 10% 的灰分，其中含有较多的金属盐离子；（2）预处理工段，酸催化剂侵蚀金属设备而产生的金属盐离子；（3）发酵过程中使用的营养盐。

我们之前的研究显示，未除尘的麦秆原料中含有约 10% 的灰分，这些灰分中含有大量的金属盐离子。图 2.6 表示的是未除尘小麦秸秆和除尘小麦秸秆中主要金属盐离子

(Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 、 NO_3^- 、 PO_4^{3-}) 含量。浅灰色的柱状图代表的是未除尘小麦秸秆，深灰色代表的是除尘小麦秸秆。从图中可以看出，未除尘小麦秸秆中的金属盐离子含量均远远高于除尘小麦秸秆，所以除尘可以有效降低原料中的金属盐离子含量。灰分主要来源于庄稼种植的土壤中，这些灰分和废水中的金属盐离子在每一次循环过程中不断累积，造成每一次循环回用乙醇浓度都不断降低。所以要想得到高产乙醇，实现乙醇浓度不随废水循环而降低，首先要做的就是物料除尘，尽可能除去灰分中的金属盐，降低金属盐离子在循环废水中的富集现象。

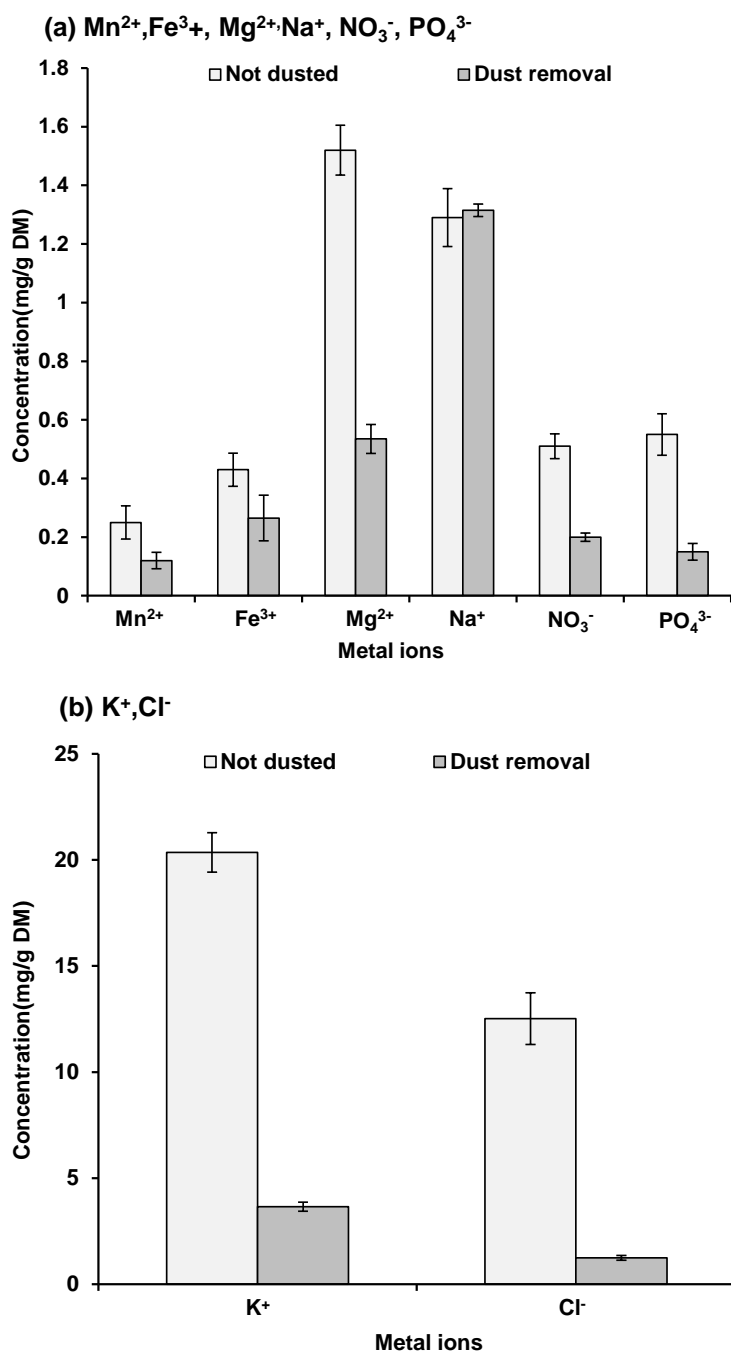


图 2.6 除尘和未除尘麦秆中的主要金属盐离子浓度

Fig. 2.6 The concentration of salt ions in the dusted wheat straw and the dust removal wheat straw

(a) 展示的是原料中 Mn^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Na^+ , NO_3^- 、 PO_4^{3-} 的含量, (b) 展示的是原料中 K^+ , Cl^- 的含量。“Not dusted”表示未除尘小麦秸秆原料,“Dust removal”表示除尘小麦秸秆原料。阳离子检测条件:等离子体气体流速为 15 L/min,泵速为 15 rpm,样品延滞时间为 35 s,稳定时间 10 s。样品前处理步骤:称量约 0.1 g 左右的待测物(固态或液态均可),添加 3 mL HNO_3 和 1 mL 高氯酸,电炉上蒸煮 4 h,稀释至 25 mL 并检测。阴离子检测条件:柱温为 65 °C,液体流速为 1 mL/min。梯度洗脱的方法:10 mM KOH 溶液洗脱 12 min,6 s 内替换为 25 mM KOH 溶液,洗脱 12 min,6 s 内再改为 10 mM KOH 溶液,洗脱 6 min。

除了检测除尘物料和未除尘物料中的金属盐离子,我们还对除尘小麦秸秆和未除尘小麦秸秆进行了干酸预处理和 SSCF 操作,比较了两种预处理后原料的组分测定、酶解得率、SSCF 乙醇产量。

图 2.7 表示的是未除尘和除尘麦秆预处理后物料组分测定及酶水解评价结果。左侧柱形图代表的是未除尘麦秆预处理后物料,右侧柱形图代表的是除尘麦秆预处理后物料。由图可知,经过除尘操作的麦秆预处理物料含有更多的纤维素和木糖,含有较少的抑制物(糠醛、5-羟甲基糠醛);除尘后麦秆预处理物料的酶水解得率(94.11%)明显高于未除尘麦秆的酶解得率(92.36%)。因此,除尘后麦秆的预处理效果明显高于未除尘麦秆的预处理效果。

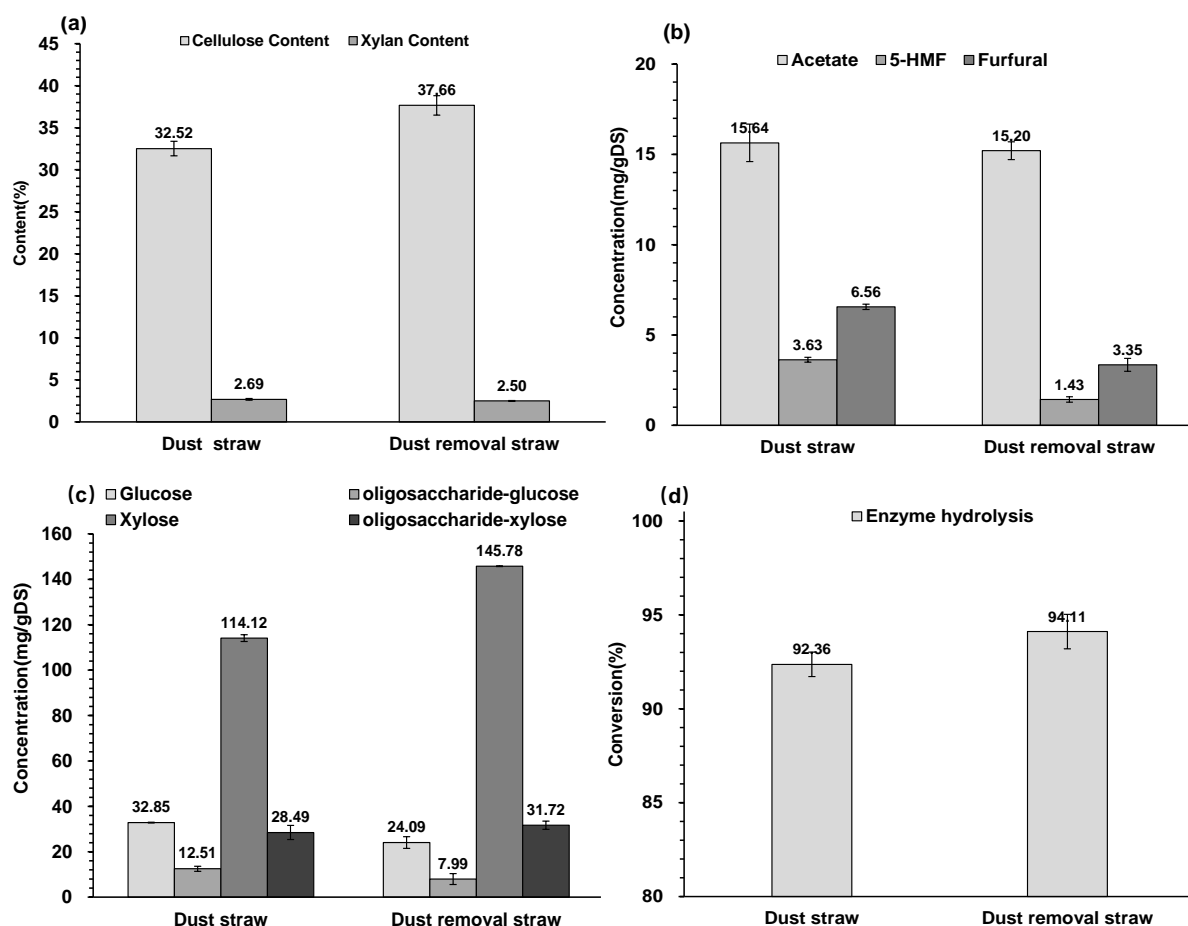


图 2.7 未除尘麦秆和除尘麦秆预处理后物料组分测定及酶水解评价

Fig. 2.7 Pretreatment efficiency assay of wastewater pretreated wheat stover and tap water pretreated wheat stover.

a 图表示的是未除尘麦秆和除尘麦秆预处理后物料纤维素含量和木聚糖含量；b 图表示的是未除尘麦秆和除尘麦秆预处理后物料三种抑制物（乙酸、糠醛、5-羟甲基糠醛）含量；c 图表示的是未除尘麦秆和除尘麦秆预处理后物料葡萄糖、木糖、葡寡糖、木寡糖含量。d 图表示的是未除尘和除尘麦秆预处理后物料的酶解情况。酶水解评价的条件是：2.5% (w/v) 固含量、20 FPU/g DM 酶用量、酶解时间 72 h、温度为 50 °C、200 rpm。

图 2.8 表示的是未除尘麦秆预处理后物料 SSCF 和除尘麦秆预处理后物料 SSCF 过程中葡萄糖、木糖、乙醇变化情况。由图可知，除尘后麦秆预处理后物料 SSCF 的初始葡萄糖、木糖含量远远高于未除尘麦秆的初糖浓度。在前 12 h，两种物料的 SSCF 乙醇产生情况基本保持一直，但随着发酵的进行，除尘麦秆的乙醇产生量要远远高于未除尘麦秆的。未除尘麦秆 SSCF 72 h 的乙醇浓度是 63.83 g/L，乙醇得率是 78.46 %；除尘麦秆 SSCF 72 h 的乙醇浓度是 77.08 g/L，乙醇得率是 88.18 %。相较未除尘，除尘后麦秆表现出更强大的发酵潜能。

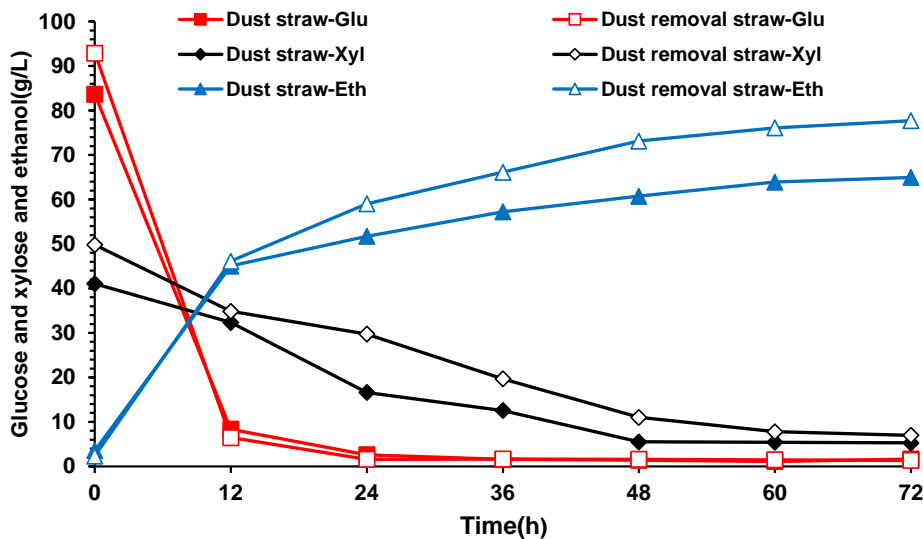


图 2.8 未除尘麦秆预处理物料和除尘麦秆预处理物料发酵性能

Fig. 2.8 Results of SSCF of non-dusted wheat straw and dusted wheat straw pretreatment material.

Dust straw-Glu、Dust straw-Xyl、Dust straw-Eth 分别表示使用未除尘麦秆 SSCF 葡萄糖浓度、木糖浓度、乙醇浓度；Dust removal straw-Glu、Dust removal straw-Xyl、Dust removal straw-Eth 分别表示使用除尘麦秆 SSCF 葡萄糖浓度、木糖浓度、乙醇浓度。同步糖化发酵条件：固含量为 30%，纤维素酶用量为 10 mg total protein/g cellulose，预糖化温度为 50 °C、pH 4.8、200 rpm、反应 12 h，同步糖化发酵温度为 30 °C、pH 5.5、200 rpm、发酵 72 h，发酵菌株为 *Saccharomyces cerevisiae* XH7。

相较于未除尘麦秆，除尘麦秆表现出更好的发酵潜能，产生更高浓度的乙醇，这说明除尘可以提高乙醇的产量，是获得高产乙醇的有效步骤。然而比较除尘麦秆第一次废水和未除尘麦秆第一次废水中的盐离子浓度（图 2.9）可知，除尘没有办法彻底去除金属盐离子，因为金属离子是结构性灰分，任何除尘方法都无法彻底去除，一定会导致金

属离子或者其它不挥发组分的积累。

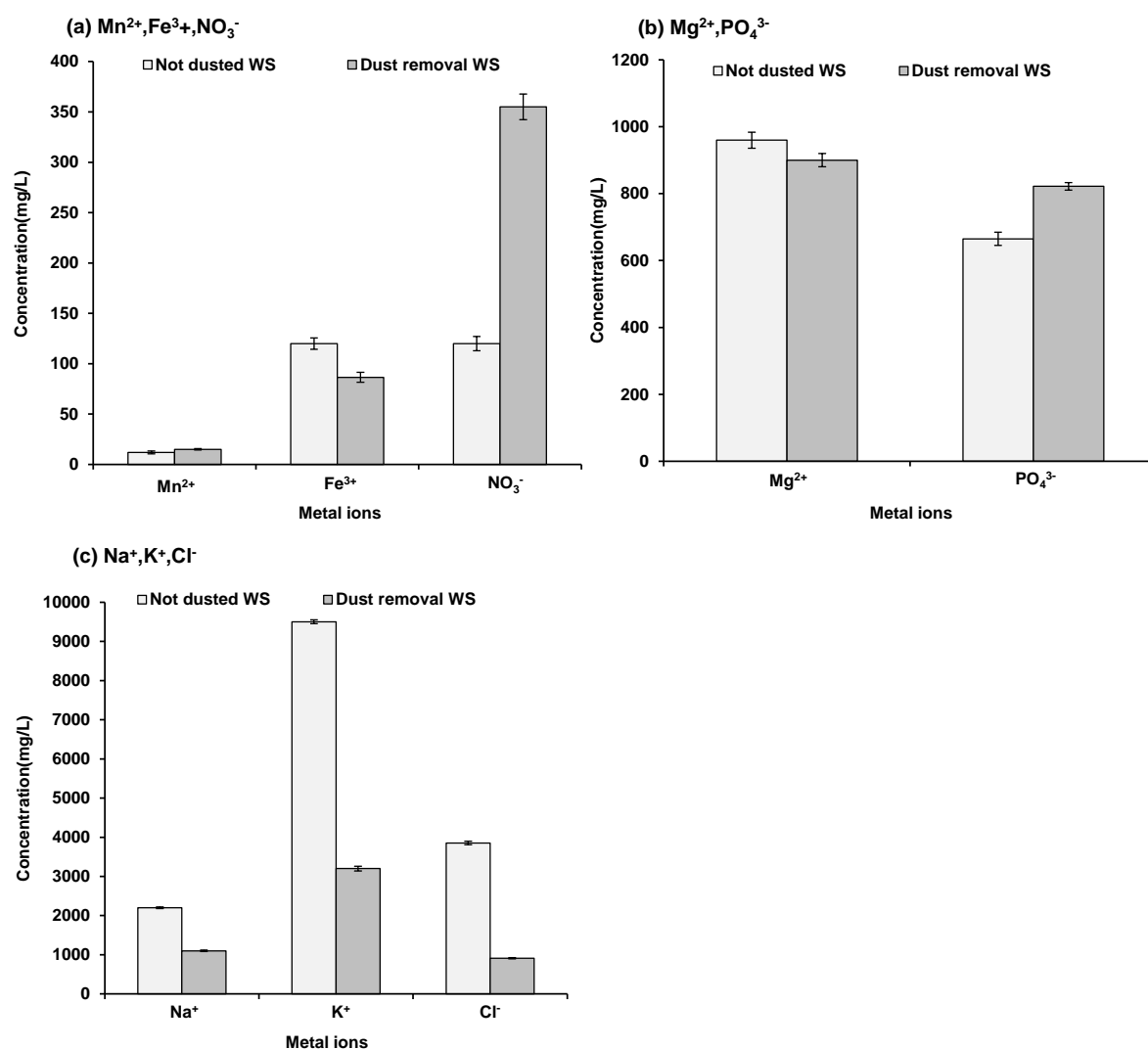


图 2.9 未除尘和除尘麦秆发酵废水中金属盐离子浓度

Fig. 2.9 The concentration of main salt ions in the original wheat straw wastewater and dust removal wheat straw wastewater.

(a) 展示的是废水中 Mn^{2+} , Fe^{3+} , NO_3^- 的含量; (b) 展示的是废水中 Mg^{2+} , PO_4^{3-} 的含量; (c) 展示的是废水中 Na^+ , K^+ , Cl^- 的含量。Not dusted WS 代表使用未除尘麦秆发酵的第一次废水, Dust removal WS 代表使用除尘麦秆发酵的第一次废水。阳离子检测条件:等离子体气体流速为 15 L/min, 泵速为 15 rpm, 样品延滞时间为 35 s, 稳定时间 10 s。样品前处理步骤: 称量约 0.1 g 左右的待测物(固态或液态均可), 添加 3 mL HNO_3 和 1 mL 高氯酸, 电炉上蒸煮 4 h, 稀释至 25 mL 并检测。阴离子检测条件: 柱温为 65 °C, 液体流速为 1 mL/min。梯度洗脱的方法: 10 mM KOH 溶液洗脱 12 min, 6 s 内替换为 25 mM KOH 溶液, 洗脱 12 min, 6 s 内再改为 10 mM KOH 溶液, 洗脱 6 min

比较除尘麦秆第一次废水和未除尘麦秆第一次废水中的金属盐离子含量, 可以看出, 物料除尘后, 得到的废水中离子富集现象有所改善, 这表明降低金属盐离子的富集程度有利于循环回用的进行。此结果说明了之前的猜想是正确的。但是除尘对于去除金属离

子的作用是有限的,仅可以提高循环回用的次数,无法彻底解决离子浓度随着循环的进行不断富集的问题,因此还需要直接去除废水中的金属盐离子。

2.4 本章小结

本章节固液分离乙醇精馏渣从而得到纤维素乙醇发酵废水,直接循环回用至预处理阶段并进行其他生物炼制操作。收集每轮循环回用后产生的乙醇发酵废水,并在下一轮继续回用。经过多轮废水循环回用后得出了以下结论:

(1) 在纤维素乙醇发酵废水未经处理的情况下,直接将废水循环回用会导致乙醇产量降低。几乎每轮循环回用后的乙醇浓度都比上一轮降低约 5 %。

(2) 纤维素乙醇发酵废水中含有金属盐离子,它们随循环回用次数增加而快速富集,最终导致乙醇发酵的乙醇产量偏低。

(3) 纤维素原料中含有约 10 % 的灰分,这些灰分中含有大量金属盐离子。灰分中的金属盐离子会随生物炼制流入纤维素乙醇发酵废水中。物料除尘可以减少废水中金属盐离子富集的程度。

(4) 除尘操作只能去除原料中部分灰分,许多结构性灰分无法被其去除。这些结构性灰分依然会导致废水中金属盐离子富集问题。因此,为了完全实现纤维素乙醇废水的循环回用,必须直接去除废水中的盐离子。

第 3 章 去离子乙醇发酵废水在生物炼制预处理过程的循环回用

3.1 引言

第 2 章将纤维素乙醇发酵废水在生物炼制的预处理过程中直接循环回用, 结果发现乙醇产量随循环次数的增加而不断降低。虽然循环回用可以进行, 但无法实现纤维素乙醇发酵废水一直循环利用的目的。通过探究实验发现, 废水中金属盐离子随循环回用的进行而不断富集, 对乙醇发酵产生抑制作用, 导致乙醇产量偏低。金属盐离子是造成乙醇产量随废水循环次数的增加而不断降低的主要原因。

本章节为了解决金属盐离子富集的问题, 对废水循环回用实验进行了改良: (1) 使用除尘后的麦秆进行生物炼制, 以减少金属盐离子的富集; (2) 在每一轮废水循环回用之前, 增设一个蒸发和冷凝去除金属盐离子的步骤。在去除了废水中的金属盐离子之后, 循环回用废水至生物炼制的预处理阶段, 用来代替新鲜水配制预处理的稀酸催化剂。进行多轮废水循环回用, 比较每轮循环回用后预处理物料的组分、酶水解得率以及乙醇发酵的乙醇产量。

研究发现: 去除废水中的金属盐离子之后, 每轮废水循环回用过程, 预处理物料的组分、酶水解得率及乙醇发酵的乙醇浓度均没有发生明显变化; 蒸发和冷凝后的废水完全足够供给生物炼制的预处理过程, 多余的废水还可以在脱毒和发酵阶段使用, 每次循环仅需额外添加少量新鲜水; 蒸发和冷凝废水消耗大量能量, 但由于木质纤维素生物炼制特殊性, 乙醇精馏渣燃烧提供的能量足够供给蒸发和冷凝阶段, 且仍有部分残渣剩余, 还可以用于对外供电。

3.2 材料与方法

3.2.1 原料

本章节中使用到的木质纤维素原料都是除尘后的小麦秸秆, 产自中国山东省青岛市 (收获于 2018 年秋)。小麦秸秆原料的组分测定的方法是按照 NREL 提供的测定方法^{[108][109,110]}。组分测定的具体步骤与 2.2.1 相同。本章节使用的原料均为除尘麦秆, 工业上常用的物料除尘方法是通风除尘法, 主要是通过风机将物料上的不溶性灰分清除。然而由于本研究为实验室小式规模, 所以本章节中的除尘方式均以水洗的方式代替。

本章节使用的纤维素酶和试剂详见 2.2.2。

3.2.3 菌种和培养基

本章节使用的生物脱毒菌株树脂枝孢霉 *A.resinae* ZN1 和乙醇发酵菌株 *Saccharomyces cerevisiae* XH7 与 2.2.3 相同。

3.2.4 试验废水

本章节使用的废水与 2.2.4 相同。

3.2.5 预处理

小麦秸秆的预处理方式和 2.2.5 相同。

3.2.6 生物脱毒

预处理后的物料采用静态脱毒的方式去除糠醛、5-羟甲基糠醛等抑制物,方法依据 Zhang^[117]。具体操作步骤详见 2.2.6。

3.2.7 发酵种子的培养

乙醇发酵菌株 *Saccharomyces cerevisiae* XH7 的培养方式与 2.2.7 一致。

3.2.8 同步糖化共发酵 (SSCF) 的方法

SSCF 的具体步骤详见 2.2.8。乙醇得率的计算方法参考 Zhang 和 Bao(2012)^[119]的方法计算。

3.2.9 乙醇蒸馏

乙醇蒸馏的方法和主要步骤与 2.2.9 相同。

3.2.10 蒸发和冷凝法去除金属盐离子

纤维素乙醇发酵中含有金属盐离子,它们随循环回用次数增加而快速富集,最终导致乙醇发酵的乙醇产量偏低。所以在循环前需清除废水中的盐离子。使用的方法是蒸发和冷凝。原理是通过蒸汽加热的方式使废水沸腾,汽化后经过冷凝管道冷凝成液态水,金属离子及其它木质素杂质留在蒸发容器内。蒸发-冷凝法的主要过程是将一定量的废水通入加热器器皿中,升温至 100℃使废水水相部分汽化成水蒸气,再由管道进入冷却系统转变为至蒸馏水。这样就可以得到不含有金属盐离子的废水。

3.2.11 葡萄糖、木糖、抑制物和乙醇分析方法

分析方法与 2.2.10 相同。

3.2.12 金属盐离子含量检测方法

废水中的金属盐离子的检测方法与参照 Han^[121]的方法,步骤与 2.2.11 一致。

3.3 结果与分析

3.3.1 改良后的废水循环回用实验

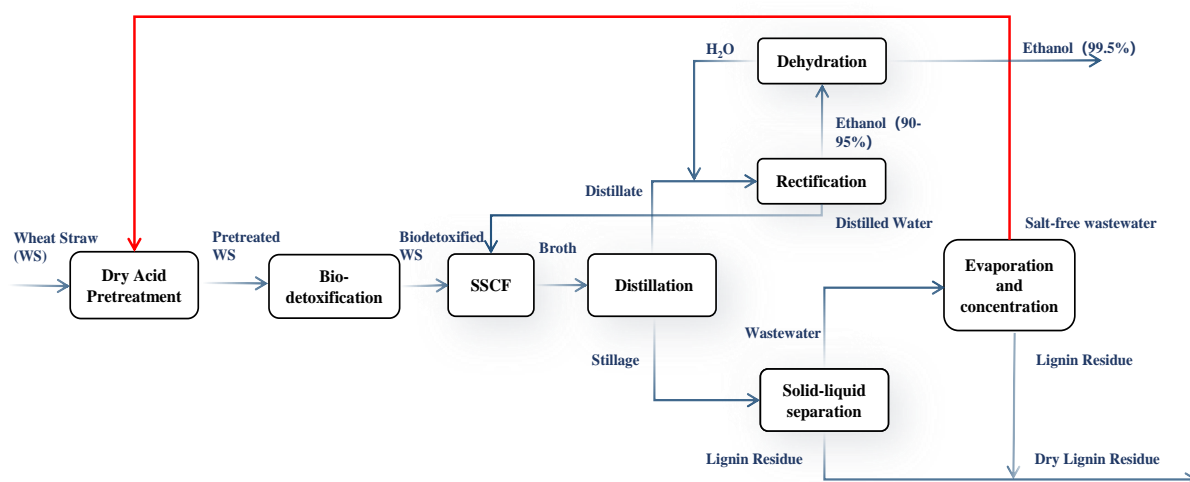


图 3.1 改良后的废水循环回用流程图

Fig. 3.1 Improved wastewater recycling flowchart

图 3.1 表示的是改良后的废水循环回用实验流程图。如图所示，麦秆原料按照生物炼制的顺序进行干酸预处理、生物脱毒、SSCF、乙醇精馏等操作。精馏后的路线有两条：一条是进行精馏及分子筛脱水操作，得到浓度高达 99.5 % 的乙醇产品；另一条是固液分离乙醇精馏渣，得到木质素残渣和乙醇发酵废水。第二章的研究是将该废水直接回用至预处理阶段，结果表明直接回用会降低乙醇发酵的乙醇产量。因此，需要对废水循环回用实验进行改良。改良后的循环实验是在废水回用前，增设一套蒸发和冷凝设备，以去除废水中的金属盐离子。想要彻底解决金属离子随循环进行不断富集的问题，必须直接对废水进行处理。所以使用了蒸发和冷凝废水的方法。这个方法的原理是：废水经过蒸发设备被加热成水蒸气，然后经过冷凝设备冷凝成不含有金属离子的蒸馏水。除此之外，精馏和分子筛脱水阶段都会产生少量纯净的水，这些水都可以直接回用至发酵阶段。

3.3.2 去离子废水循环过程中预处理后物料的材料评价

本章节按照上述流程图的顺序，以除尘麦秆为原料进行生物炼制，固液分离乙醇精馏渣得到纤维素乙醇废水，蒸发和冷凝废水，将冷凝后的废水回用至预处理阶段，继续生物炼制操作。本章节的废水循环回用一共进行了三轮，比较了每轮废水回用后预处理物料的组分、酶解效果和 SSCF 乙醇产量，其结果如下。

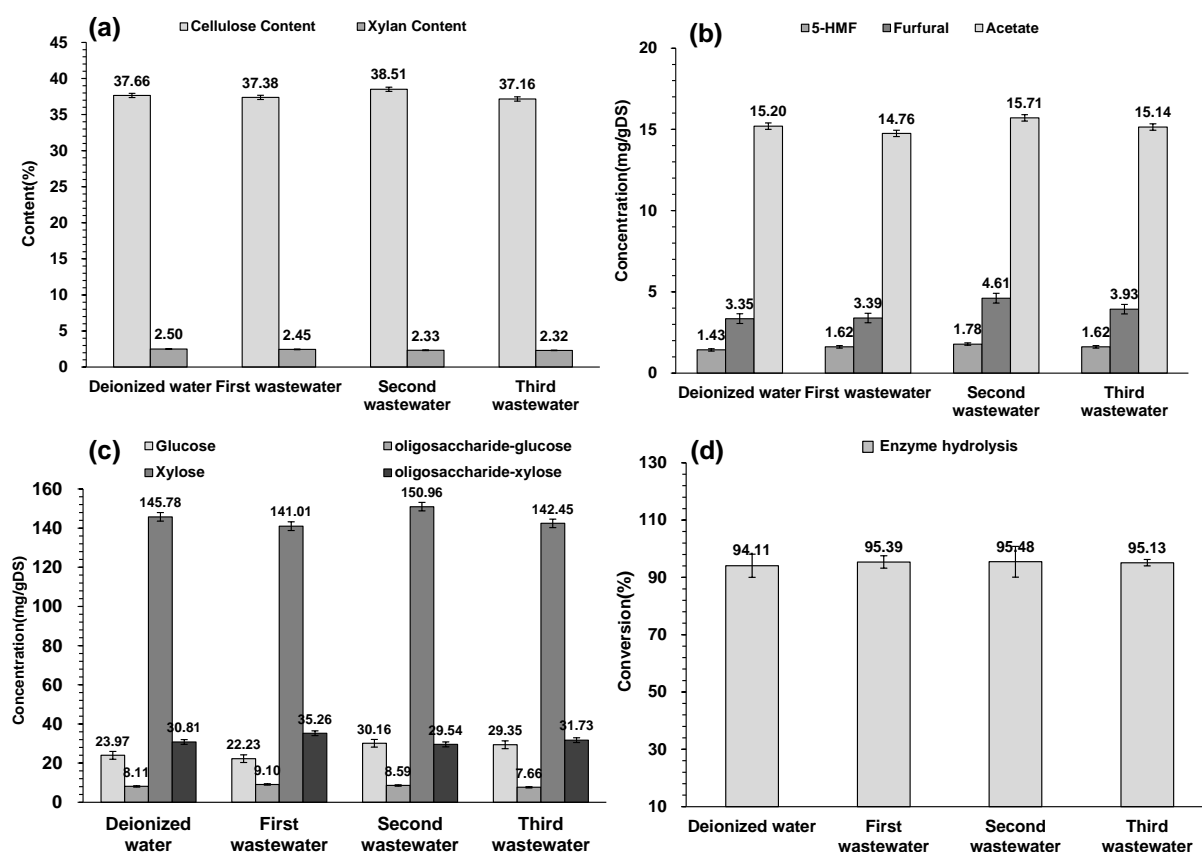


图 3.2 新鲜水、第一次废水、第二次废水、第三次废水预处理物料组分测定和酶水解评价

Fig. 3.2 Pretreatment efficiency assay of wastewater pretreated wheat stover and tap water pretreated wheat stover.

Deionized water 指使用新鲜水进行预处理操作得到的物料；First wastewater 指使用第一次废水进行

预处理操作得到的物料；Second wastewater 指使用第二次废水进行预处理操作得到的物料。Third wastewater 指使用第三次废水进行预处理操作得到的物料。(a) 图代表新鲜水、第一次废水、第二次废水、第三次废水预处理后物料的纤维素、木聚糖含量；(b) 图代表三种预处理物料的抑制物(糠醛、乙酸、5-羟甲基糠醛)含量；(c) 图代表三种预处理物料的葡萄糖、木糖、葡寡糖、木寡糖含量；(d) 图代表三种预处理物料的酶水解评价结果。酶水解评价的条件是：2.5% (w/v)固含量、20 FPU/g DM 酶用量、酶解时间 72 h、温度为 50 °C、转速为 200 rpm。

图 3.2 表示的是新鲜水预处理后物料、一次废水预处理后物料、二次废水预处理后物料和三次废水预处理后物料组分测定和酶解结果。从 a、b、c 图中可以看出，四种物料的纤维素、木糖、抑制物等含量均相似。从 d 图可以看出：新鲜水预处理后物料的酶解得率是 94.11%，一次废水预处理物料的酶解得率是 95.39%，第二次废水预处理物料的酶解得率为 95.48%，第三次废水预处理物料酶解得率为 95.13%。与新鲜水预处理物料酶水解评价相比，3 轮废水预处理物料酶水解得率没有明显的区别，均达到了 94% 以上的高酶水解得率，都具有良好发酵的潜能。

3.3.3 改良后的每次废水循环过程中预处理后物料 SSCF 结果

图 3.3 表示新鲜水、第一次废水、第二次废水、第三次废水预处理后物料 SSCF 结果。从图中可知：这四种物料的初始葡萄糖浓度和初始木糖浓度极为相近，这说明四种物料的预处理和糖化效果差距很小，都含有近似含量的可发酵糖类；四种物料的 SSCF 趋势如糖消耗速率也十分相似；四种物料发酵完后剩余糖含量也极为接近；四种预处理物料的乙醇产生速率和最终乙醇浓度也十分接近。

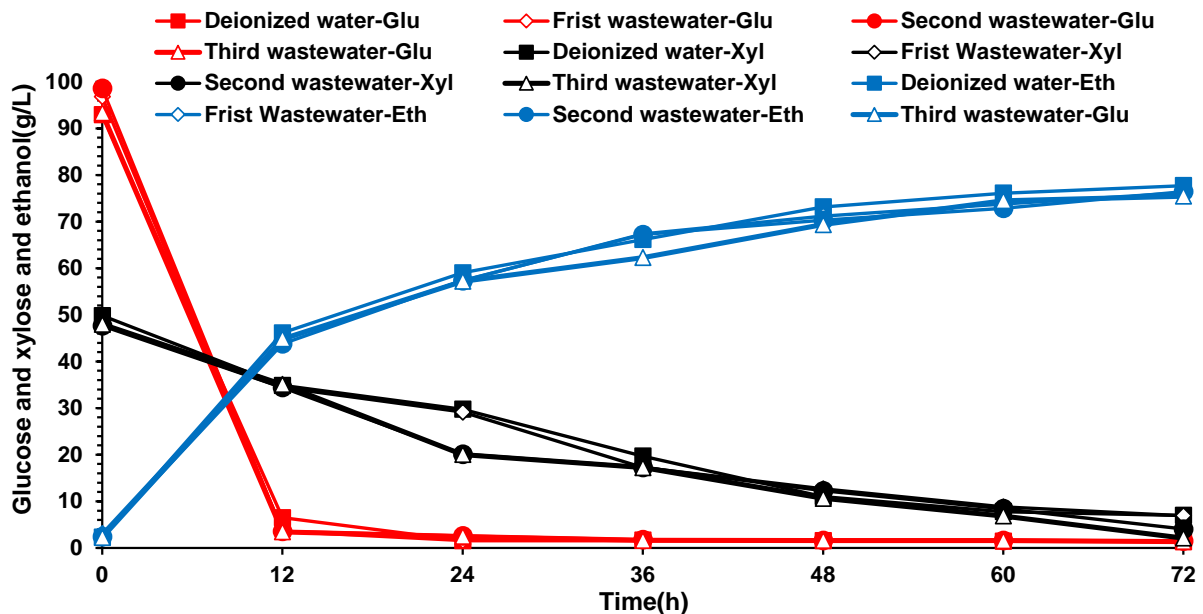


图 3.3 新鲜水、第一次废水、第二次废水、第三次废水预处理物料 SSCF 性能

Fig. 3.3 SSCF of the three times wastewater pretreated and tap water pretreated wheat stover

Deionized water-Glu, First wastewater-Glu, Second wastewater-Glu, Third wastewater-Glu 分别表示新鲜水、第一次废水、第二次废水、第三次废水预处理物料 SSCF 葡萄糖浓度；Deionized water-Xyl, First

wastewater-Xyl, Second wastewater-Xyl, Third wastewater-Xyl 表示四种物料 SSCF 木糖浓度; Deionized water-Eth, First wastewater-Eth, Second wastewater-Eth, Third wastewater-Eth 分别表示四种物料 SSCF 乙醇浓度。同步糖化发酵条件: 固含量为 30%, 纤维素酶用量为 10 mg total protein/g cellulose, 预糖化温度为 50 °C、pH 4.8、200 rpm、反应 12 h, 同步糖化发酵温度为 30 °C、pH 5.5、200 rpm、发酵 72 h, 发酵菌株为 *Saccharomyces cerevisiae* XH7。

图 3.4 表示循环回用第一次废水、第二次废水、第三次废水的乙醇发酵结果, 并与新鲜水预处理物料乙醇发酵结果比较。从这张图中可以直观的看到四种物料的发醇结果。如图所示, 新鲜水预处理后麦秆 SSCF 乙醇浓度为 77.85 g/L, 第一次废水预处理麦秆 SSCF 乙醇浓度为 76.42 g/L, 第二次废水预处理麦秆 SSCF 乙醇浓度为 76.61 g/L, 第三次废水预处理麦秆乙醇浓度为 75.82 g/L。四种物料的乙醇产量都十分接近。此外, 四种物料发酵 72 h 的乙醇得率分别为 88.18%、89.15%、86.97%、87.84%。四种物料的最终乙醇浓度和乙醇得率基本保持一致, 说明去除盐离子后废水循环回用可以正常进行。

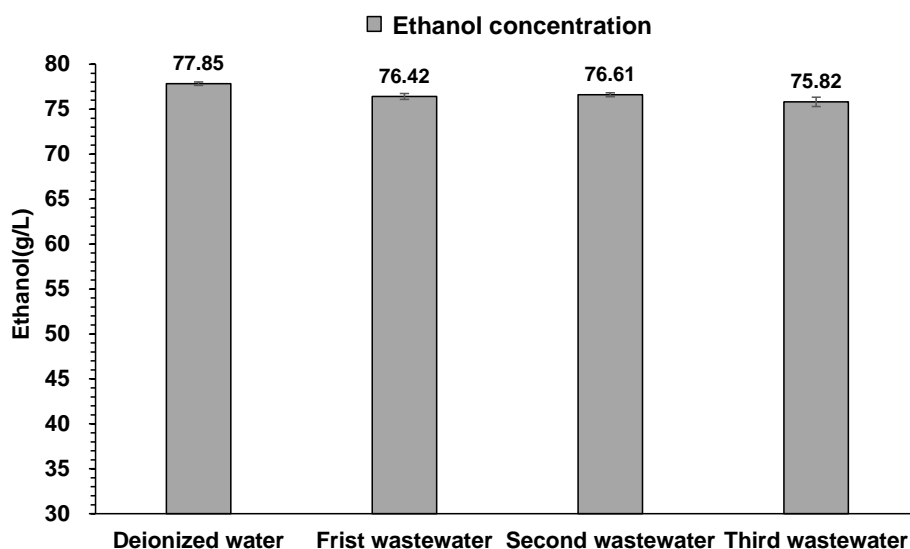


图 3.4 新鲜水、第一次废水、第二次废水、第三次废水预处理物料最终乙醇浓度

Fig. 3.4 Ethanol concentration of the three times wastewater pretreated and tap water pretreated
同步糖化发酵条件: 固含量为 30%, 纤维素酶用量为 10 mg total protein/g cellulose, 预糖化温度为 50 °C、pH 4.8、200 rpm、反应 12 h, 同步糖化发酵温度为 30 °C、pH 5.5、200 rpm、发酵 72 h, 发酵菌株为 *Saccharomyces cerevisiae* XH7。

3.3.4 去离子废水循环回用过程废水及精馏渣中金属盐离子浓度

为了进一步验证金属盐离子富集是造成乙醇产量降低的主要原因, 检测了去离子废水回用阶段的 3 次废水以及 3 次乙醇精馏渣 (乙醇精馏渣固液分离后的固体部分) 中的金属盐离子浓度。检测结果见图 3.5 和图 3.6。

图 3.5 和图 3.6 分别表示第一次废水、第二次废水、第三次废水和第一次精馏渣、第二次精馏渣、第三次精馏渣中主要金属盐离子浓度。从图中可以看出第一次废水、第二次废水和第三次废水中各种金属盐离子浓度基本一致; 第一次精馏渣、第二次精馏渣和第三次精馏渣中各种金属盐离子浓度也基本保持一致。结果显示: (1) 使用蒸发和冷

凝法可以高效去除金属盐离子；(2) 进一步说明金属盐离子富集是造成乙醇产量下降的主要原因。

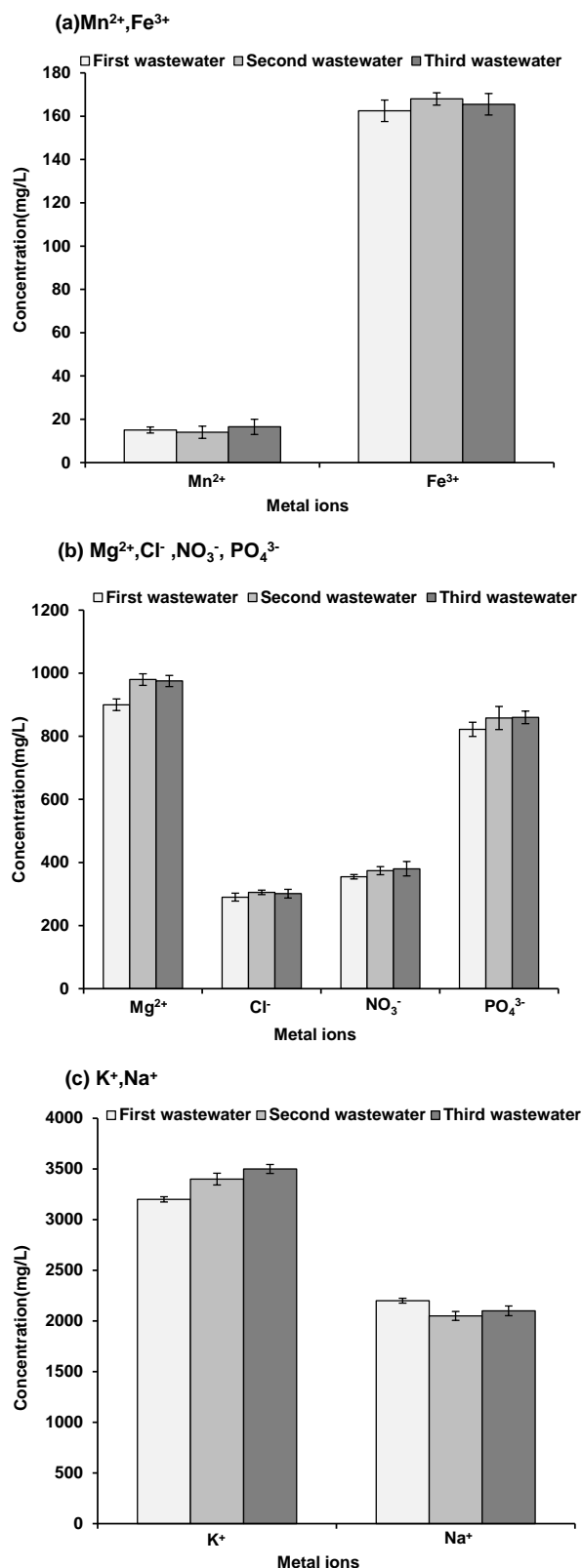


图 3.5 第一次、第二次、第三次废水中主要盐离子浓度

Fig. 3.5 The concentration of main salt ions in the first, second and third wastewater

(a) 展示的是 Mn^{2+} , Fe^{3+} 的含量; (b) 展示的是 Mg^{2+} , Cl^{-} , NO_3^{-} , PO_4^{3-} 的含量; (c) 展示的是 K^{+} ,

Na⁺的含量。阳离子检测条件:等离子体气体流速为 15 L/min, 泵速为 15 rpm, 样品延滞时间为 35 s, 稳定时间 10 s。样品前处理步骤: 称量约 0.1 g 左右的待测物(固态或液态均可), 添加 3 mL HNO₃ 和 1 mL 高氯酸, 电炉上蒸煮 4 h, 稀释至 25 mL 并检测。阴离子检测条件: 柱温为 65 °C, 液体流速为 1 mL/min。梯度洗脱的方法: 10 mM KOH 溶液洗脱 12 min, 6 s 内替换为 25 mM KOH 溶液, 洗脱 12 min, 6 s 内再改为 10 mM KOH 溶液, 洗脱 6 min。

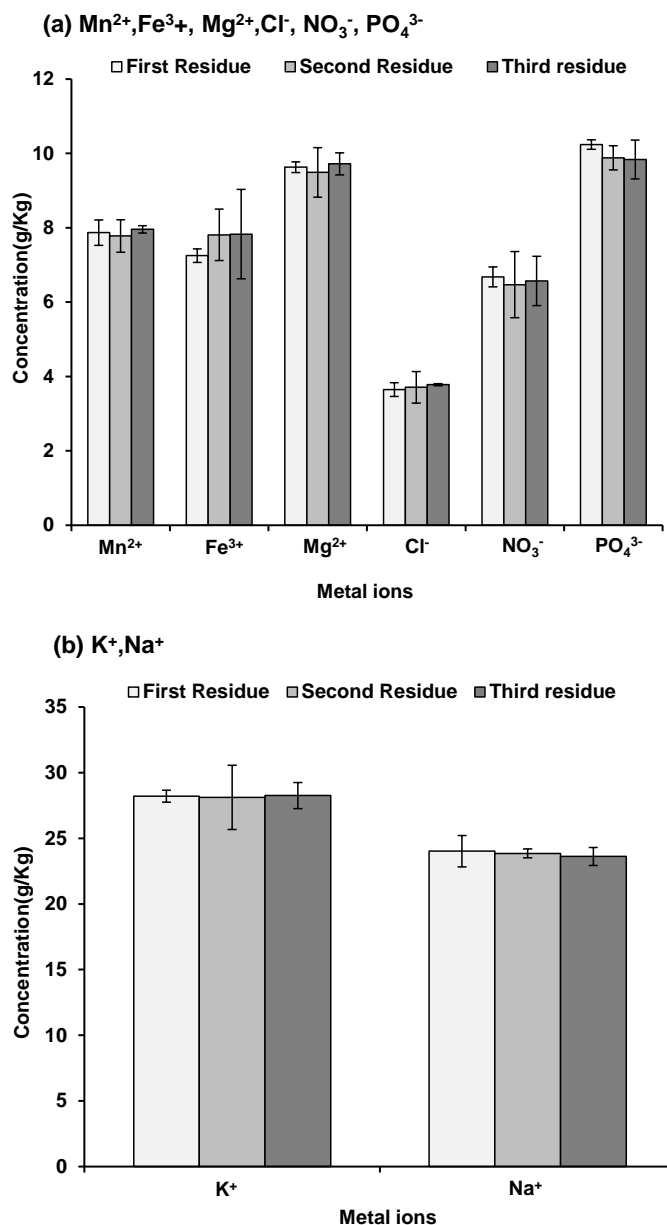


图 3.6 第一次残渣、第二次、第三次残渣中主要盐离子浓度

Fig. 3.6 The concentration of main salt ions in the first, second and third residue

(a) 展示的是 Mn²⁺, Fe³⁺, Mg²⁺, Cl⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻的含量; (b) 展示的是中 K⁺, Na⁺的含量。First Residue 第一次残渣指废水第一次循环回用阶段乙醇精馏渣固液分离得到的固体木质素残渣; Second Residue 第二次残渣指废水第二次循环回用阶段乙醇精馏渣固液分离得到的固体木质素残渣; Third Residue 第三次残渣指废水第三次循环回用阶段乙醇精馏渣固液分离得到的固体木质素残渣; 阳离子检测条件: 等离子体气体流速为 15 L/min, 泵速为 15 rpm, 样品延滞时间为 35 s, 稳定时间 10 s。

样品前处理步骤：称量约 0.1 g 左右的待测物（固态或液态均可），添加 3 mL HNO₃ 和 1 mL 高氯酸，电炉上蒸煮 4 h，稀释至 25 mL 并检测。阴离子检测条件：柱温为 65 °C，液体流速为 1 mL/min。梯度洗脱的方法：10 mM KOH 溶液洗脱 12 min，6 s 内替换为 25 mM KOH 溶液，洗脱 12 min，6 s 内再改为 10 mM KOH 溶液，洗脱 6 min。

3.4 物料平衡和能量平衡计算

图 3.7 表示的是干法生物炼制 1 t 麦秆的物料平衡和能量平衡图。1 t 麦秆按照干法生物炼制的顺序，经过干酸预处理、固态生物脱毒、同步糖化发酵、乙醇精馏等操作得到浓度为 99.5 % 的乙醇产品。乙醇精馏渣固液分离得到木质素残渣和纤维素乙醇废水。残渣具备很高的热值，可作为燃料供能。纤维素乙醇废水经过蒸发和冷凝得到蒸馏水，循环回用至预处理、脱毒、同步糖化发酵阶段。由物料平衡和能量平衡图可知：

（1）生物炼制 1 t 麦秆原料，一共需要消耗 2.868 t 新鲜水，会产生 3.135 t 废水，其中部分废水随乙醇精馏渣蒸发散失，剩余可循环回用的废水量为 2.073 t。废水经过蒸发和冷凝后得到 2.047 t 蒸馏水，蒸馏水可以循环回用至预处理工段、生物脱毒工段、发酵工段，且完全足够供给前两个工段的水需求。每次循环回用仅需在发酵工段额外添加 0.423 t 的新鲜水，极大降低了新鲜水的使用。

（2）生物炼制 1 t 麦秆原料，能收集得到 2.073 t 乙醇发酵废水。蒸发和冷凝 2.073 t 乙醇发酵废水需要消耗 4.299 GJ 能量。乙醇精馏渣固液分离过程会产生大量高热值的木质素残渣，共计 0.769 t，完全燃烧能够释放 13.434 GJ 热量。蒸发和冷凝废水阶段消耗的 4.299 GJ 能量完全可以由木质素残渣提供，且仅需消耗 40 % 的木质素残渣，产热后仍有 60 % 剩余残渣可以供给其他生物炼制过程或对外发电。蒸发和冷凝极其有效的解决了废水回用中金属盐离子的快速富集问题，保障了生物炼制的有效进行，但是蒸汽能耗巨大。由于木质纤维素生物炼制过程的特殊性，即乙醇精馏阶段会产生大量高热值的木质素残渣，使得蒸发冷凝废水变得合理可行。

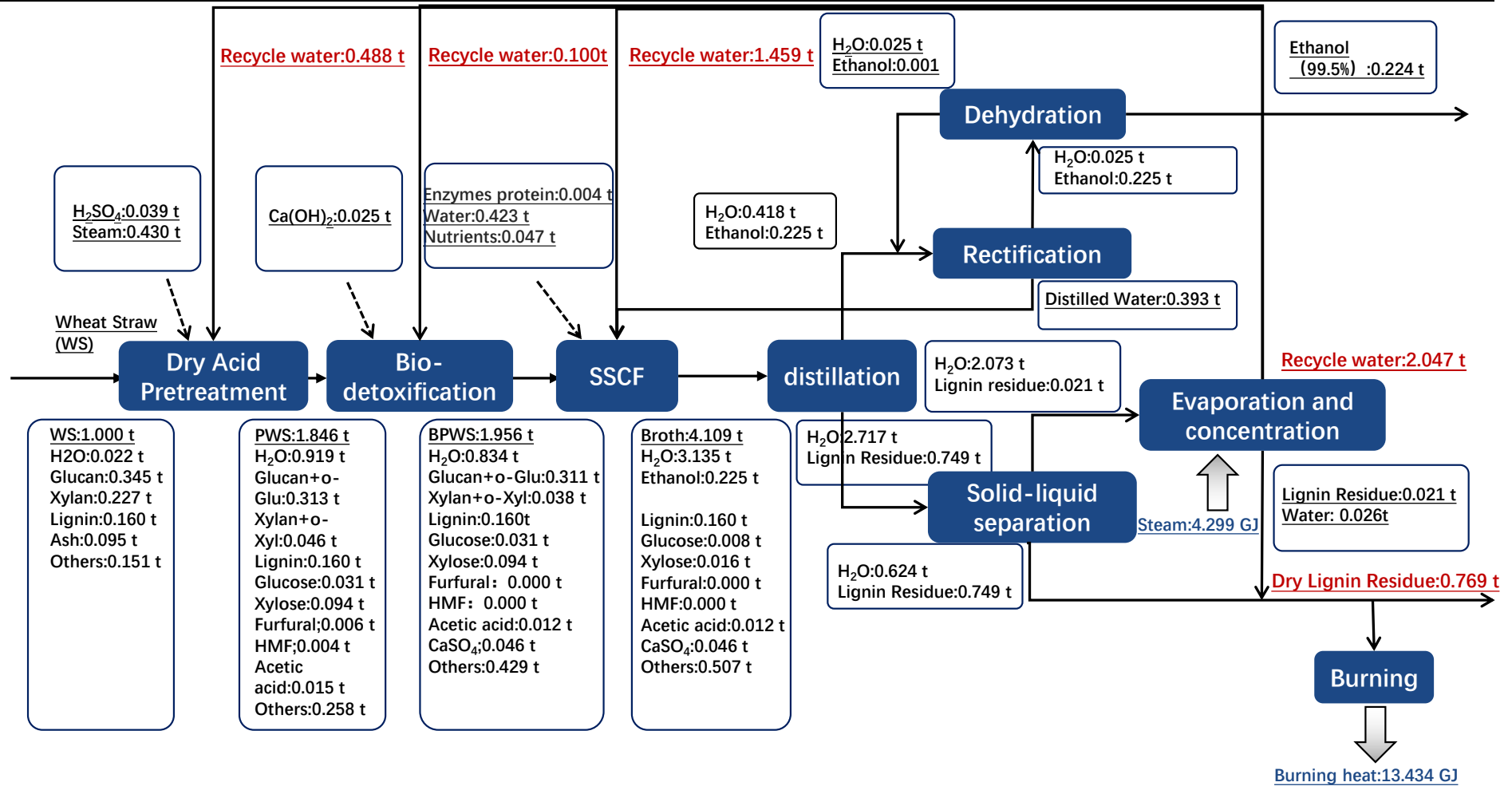


图 3.7 废水回用物料平衡和能量平衡

Fig. 3.7 Material balance calculation and Energy consumption

3.5 本章小结

本章节首先去除纤维素乙醇发酵废水中的金属盐离子，选择的方法是蒸发和冷凝法，然后将蒸发冷凝后的废水循环回用至生物炼制预处理过程。每一轮循环回用得到的纤维素乙醇废水继续回用至下一轮，废水循环回用一共进行了 3 轮。通过比较每轮预处理物料的组分、酶水解得率、乙醇发酵的乙醇浓度和乙醇得率以及分析物料和能量平衡图，我们得出以下结论：

(1) 将去除了金属盐离子的纤维素乙醇发酵废水循环回用至生物炼制的预处理阶段，结果发现：每轮废水循环回用，预处理物料的组分、酶解得率均与新鲜水预处理物料的组分、酶解得率相似；乙醇发酵的乙醇得率和乙醇浓度也和新鲜水乙醇发酵的结果保持一致。

(2) 纤维素乙醇发酵废水的循环回用不仅实现了燃料乙醇的正常生产，还降低了新鲜水的使用量。每生物炼制 1 t 小麦秸秆原料，循环回用纤维素乙醇发酵废水，仅需在发酵阶段额外使用 0.423 t 的新鲜水。

(3) 每生物炼制 1 t 小麦秸秆，乙醇精馏渣的固液分离过程都会产生约 0.769 t 的木质素残渣，残渣燃烧释放的能量完全足够供给废水蒸发和冷凝阶段，并且仍有 60% 的残渣剩余。

第 4 章 结论与展望

4.1 结论

木质纤维素生产纤维素乙醇不仅耗水量大,而且废水产生量大。这些废水属于典型的难降解、高有机物含量的工业污水,若想完全处理废水并达到国家排放标准不仅需要先进的技术还需要高额的成本。然而纤维素乙醇工厂由于受到原料收集半径的影响,一般都建在距离原料产地较近的农村地区,这些地方基础设施薄弱、废水处理系统不完善。因此,纤维素乙醇产业很难开展。本研究的目的是解决其高废水排放的问题。研究方法是纤维素乙醇废水循环回用至生物炼制的预处理阶段。以下是本研究的主要结论:

(1) 直接回用纤维素乙醇发酵废水可以进行,但随着循环次数的增加,乙醇产量不断降低。这样就无法一直循环回用下去,也就无法解决纤维素乙醇生产高废水排放问题。

(2) 检测发现废水中含有许多金属盐离子,并且这些离子会随循环次数的增加而不断富集。有文献报道,盐离子是微生物生长所必须的,可作为发酵酶的辅助因子,还可以作为环境压力的调节剂,然而高浓度的金属盐离子对细胞的生长有严重毒害作用。我们通过“金属盐离子浓度影响乙醇发酵”实验最终确定:金属盐离子的富集会降低乙醇发酵的性能,导致乙醇产量变低,从而严重制约了废水循环回用的可行性。

(3) 废水中的盐离子大部分来自于原料的灰分。除尘操作可以降低物料中灰分含量,但无法完全去除。因此,在原料除尘的基础上还需对废水展开除金属盐离子操作。我们选用的方法是蒸发和冷凝。这种方法可以有效去除废水中的金属盐离子。

(4) 去除纤维素乙醇发酵废水中的金属盐离子之后,循环回用至生物炼制预处理阶段,研究发现:每轮废水循环,SSCF 阶段的乙醇得率和乙醇浓度均于新鲜水的结果保持一致。循环回用可以正常进行。

(5) 循环回用还可以降低新鲜水的消耗。每生物炼制 1 t 麦秆原料,循环回用废水,仅需在发酵阶段额外使用 0.423 t 新鲜水。

(6) 乙醇精馏阶段的乙醇精馏渣固液分离会产生木质素残渣,可以用于燃烧供能。蒸发冷凝废水阶段所需要的能量完全可以由木质素残渣燃烧提供,且每轮废水循环都有 60% 木质素残渣剩余。

国内也有许多关于纤维素乙醇废水回用的研究,如于丽新^[97]等将膨胀颗粒污泥床(EGSB)、序列间歇式污泥床(SBR)废水循环回用至纤维素乙醇生产工艺的水洗和发酵阶段。其研究表明,这两种废水都不会抑制乙醇发酵性能,还略微提高了乙醇发酵的最终乙醇产量。赵伟^[98]等把物化法降解后的纤维素乙醇废水循环回用至乙醇发酵阶段。其研究结果显示,纤维素乙醇废水对纤维素酶的酶解能力有略微的促进作用。虽然他们的研究都取得了良好的结果,但其废水前处理阶段都需要存在能耗巨大或处理时间长的问題。EGSB 和 SBR 处理周期一般很长,并且工业应用上还需要建设大型废水处理池,占地面积巨大。物化法不仅技术要求较高,并且成本巨大。

综上所述，循环回用纤维素乙醇发酵废水切实可行，不仅实现了燃料乙醇的正常生产，还有效减少了生物炼制过程新鲜水的消耗。在有效降低成本的同时，废水循环回用使纤维素乙醇在经济上更具有竞争性，更为纤维素乙醇废水处理提供了合理有效的解决方案。

4.2 展望

纤维素乙醇发酵废水是在乙醇精馏工段的精馏渣固液分离中产生的。纤维素乙醇发酵废水具有高盐离子浓度、高 COD、高有机物、刺激性气味、高浊度的特征，是一种典型的工业有机废水。要想完全处理这种乙醇发酵废水以达到国家排放标准，不仅需要高额的处理成本，还需要先进的技术工艺。然而在生物质生产量大的发展中国家农村地区，废水处理技术非常薄弱。因此，在这些地区实施高废水排放的乙醇产业是完全不可能的。所以在从木质纤维素商业化产乙醇之前，必须找到一种可行的废水循环利用方案。本实验的主旨就是解决乙醇发酵废水回用问题，即将乙醇发酵废水回用至预处理工段进行生物炼制操作。实验结果表明，纤维素乙醇废水循环回用至预处理阶段确实可行，不仅不会降低乙醇产量，还能节约新鲜水的使用，为纤维素乙醇废水的治理提供了合理有效的解决方案。

当然本研究依然有一些需要改良的地方：

(1) 首先，每次废水循环回用的生物炼制过程都会产生 0.769 t 的木质素残渣，这些残渣可以用来燃烧供能。但由于在本研究需要蒸发和冷凝废水去除金属盐离子，所以导致 40% 的木质素残渣被用来供给蒸发冷凝过程。这样就会导致部分木质素残渣的能量丢失，从而降低了木质素残渣对外的能耗输出。

(2) 其次，纤维素乙醇发酵废水中含有较高浓度的有机物和金属盐离子。高温蒸发纤维素乙醇废水会发生积垢的现象，产生许多粘稠物质贴附在蒸发设备底部，腐蚀设备，减少设备使用时间，增加生产成本。因此，在之后的研究中我们会改进蒸发冷凝设备以避免仪器的损伤，或者选用其他更高效的除金属盐离子的方法。

(3) 再次，本研究虽然确定了金属盐离子的不断富集导致乙醇产量降低，但并未更进一步探究金属盐离子如何影响乙醇发酵的进行。在之后的试验中，可以对其影响机理做进一步探究。

(4) 另外，乙醇精馏和废水蒸发冷凝的过程中都会伴随酚醛类有毒抑制物的挥发。因此，在之后的研究中，可以额外添加一个尾气处理装置以除去这些有毒气体。

(5) 最后，在废水蒸发和冷凝过程中，纤维素乙醇发酵废水首先被加热成水蒸气的状态，这些高热的水蒸气是可以能量再利用的。因此，在后续的研究中，我们想设计一套完整的热交换网络，即把这些水蒸气的热量回用至预处理、发酵、乙醇蒸馏等过程，以实现能量的充分利用，并极大缩减乙醇生产成本。

参考文献

- [1] Zhang YP. Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2008, 35: 367-375.
- [2] Baños R, Manzano-Agugliaro F, Montoya FG, et al. Optimization methods applied to renewable and sustainable energy: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2011, 15: 1753-1766.
- [3] De Bhowmick G, Sarmah AK, Sen R. Lignocellulosic biorefinery as a model for sustainable development of biofuels and value added products. *Bioresource Technology*. 2018, 247: 1144-1154.
- [4] Isikgor FH, Becer CR. Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers. *Polymer Chemistry*. 2015, 6(25): 4497-4559.
- [5] Haykiri-Acma H, Yaman S, Kucukbayrak S. Comparison of the thermal reactivities of isolated lignin and holocellulose during pyrolysis. *Fuel Process Technol*. 2010, 91: 759–64.
- [6] Harmsen P. Literature review of physical and chemical pretreatment processes for lignocellulosic biomass. Wageningen UR, Food & Biobased Research. 2010.
- [7] Jie Yu, Nigel Paterson, John Blamey, Marcos Millan. Cellulose, xylan and lignin interactions during pyrolysis of lignocellulosic biomass. *Fuel*. 2017, 191: 140-149.
- [8] Fuqaha AH. Sustainable lignin fractionations with ultrafiltration. *Italic*. 2011.
- [9] Gall DL, Ralph J, Donohue TJ, et al. Biochemical transformation of lignin for deriving valued commodities from lignocellulose. *Current Opinion in Biotechnology*. 2017, 45: 120-126.
- [10] IEA (International Energy Agency) Bioenergy Task 42 on Biorefineries. Minutes of the third Task meeting, Copenhagen, Denmark, 25 and 26 March (2008).
- [11] Erin E. Dooley. EHPnet: NREL Biomass Research. 2008, 116(6): 243-243.
- [12] Mosier Nathan, Wyman Charles, Dale Bruce, Elander Richard, Lee Y Y, Holtzapple Mark, Ladisch Michael. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*. 2005, 96(6).
- [13] Barakat A, de Vries H, Rouau X. Dry fractionation process as an important step in current and future lignocellulose biorefineries: A review. *Bioresource Technology*. 2013, 134: 362-373.
- [14] Zhu J, Wang G, Pan X, et al. Specific surface to evaluate the efficiencies of milling and pretreatment of wood for enzymatic saccharification. *Chemical Engineering Science*.

- 2009, 64: 474-485
- [15] Bussemaker MJ, Zhang D. Effect of ultrasound on lignocellulosic biomass as a pretreatment for biorefinery and biofuel applications. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2013, 52: 3563-3580.
- [16] Kim JS, Lee YY, Kim TH. A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*. 2016, 199: 42-48.
- [17] Cao S, Pu Y, Studer M, et al. Chemical transformations of *Populus trichocarpa* during dilute acid pretreatment. *Royal Society of Chemistry Advances*. 2012, 2: 10925-10936.
- [18] Wyman CE, Dale BE, Elander RT, et al. Coordinated development of leading biomass pretreatment technologies. *Bioresource Technology*. 2005, 96: 1959-1966.
- [19] Singh J, Suhag M, Dhaka A. Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: a review. *Carbohydrate Polymers*. 2015, 117: 624-631.
- [20] Modenbach AA, Nokes SE. The use of high-solids loadings in biomass pretreatment - a review. *Biotechnology and Bioengineering*. 2012, 109: 1430-1442.
- [21] Chen H, Liu J, Chang X, et al. A review on the pretreatment of lignocellulose for high-value chemicals. *Fuel Processing Technology*. 2017, 160: 196-206.
- [22] Bryan Bals, Chad Rogers, Mingjie Jin, Venkatesh Balan, Bruce Dale. Evaluation of ammonia fibre expansion (AFEX) pretreatment for enzymatic hydrolysis of switchgrass harvested in different seasons and locations. *BioMed Central*. 2010, 3(1).
- [23] Kim Y, Mosier N S, Ladisch M R. Enzymatic digestion of liquid hot water pretreated hybrid poplar. *Biotechnology Progress*. 2009, 25(2): 340-348.
- [24] Zhang J, Wang X, Chu D, et al. Dry pretreatment of lignocellulose with extremely low steam and water usage for bioethanol production. *Bioresource Technology*. 2011, 102(6): 4480-4488.
- [25] Shuai Shao, Jian Zhang, Jie Bao. Reduction of reactor corrosion by eliminating liquid phase existence in dry dilute acid pretreatment of corn stover. *Energy & Fuels*. 2017, 31(6): 6140-6144.
- [26] Jian Zhang, Shuai Shao, Jie Bao. Long term storage of dilute acid pretreated corn stover feedstock and ethanol fermentability evaluation. *Bioresource Technology*. 2016, 201, 355-359.
- [27] Jönsson LJ, Alriksson B, Nilvebrant NO. Bioconversion of lignocellulose: inhibitors and detoxification. *Biotechnology for Biofuels*. 2013, 6: 16.
- [28] Palmqvist E, Hahnhägerdal B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource Technology*. 2000, 74(1): 25-33.
- [29] Larsson S, Reimann A, Nilvebrant NO, et al. Comparison of different methods for the

- detoxification of lignocellulose hydrolysates of spruce. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 1999, 77: 91-103.
- [30] Martinez A, Rodriguez ME, York SW, et al. Effects of Ca(OH)₂ treatments (“overliming”) on the composition and toxicity of bagasse hemicellulose hydrolysates. *Biotechnology and Bioengineering*. 2000, 69: 526-536.
- [31] Nilvebrant NO, Reimann A, Larsson S, et al. Detoxification of lignocellulose hydrolysates with ion-exchange resins. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2001, 91-93: 35-49.
- [32] Parawira W, Tekere M. Biotechnological strategies to overcome inhibitors in lignocellulose hydrolysates for ethanol production: review. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2011, 31(1): 20-31.
- [33] Dong HW, Bao J. Biofuel via biodetoxification. *Nature Chemical Biology*. 2010, 6: 316-318.
- [34] Jian Z, Zhu Z, Wang X, et al. Biodetoxification of toxins generated from lignocellulose pretreatment using a newly isolated fungus, *Amorphotheca resiniae* ZN1, and the consequent ethanol fermentation. *Biotechnology for Biofuels*. 2010, 3(1): 26.
- [35] He Y Q, Zhang J, Bao J. Acceleration of biodetoxification on dilute acid pretreated lignocellulose feedstock by aeration and the consequent ethanol fermentation evaluation. *Biotechnology for Biofuels*. 2016, 9(1): 1-13.
- [36] Wingren A, Galbe M, Zacchi G. Techno-economic evaluation of producing ethanol from softwood: comparison of SSF and SHF and identification of bottlenecks. *Biotechnology Progress*. 2003, 19(4): 1109-1117.
- [37] Cotana F, Cavalaglio G, Gelosia M, et al. A comparison between SHF and SSSF processes from cardoon for ethanol production. *Industrial Crops and Products*. 2015, 69: 424-432.
- [38] Ask M, Olofsson K, Felice TD, et al. Challenges in enzymatic hydrolysis and fermentation of pretreated *Arundo donax* revealed by a comparison between SHF and SSF. *Process Biochemistry*. 2012, 47(10): 1452-1459.
- [39] Alfani F, Gallifuoco A, Saporosi A, et al. Comparison of SHF and SSF processes for the bioconversion of steam-exploded wheat straw. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2000, 25(4): 184-192.
- [40] Paulova L, Patakova P, Branska B, et al. Lignocellulosic ethanol: Technology design and its impact on process efficiency. *Biotechnology Advances*. 2015, 33(6): 1091-1107.
- [41] Reynaldo Palacios-Bereche, Adriano V. Ensinas, Marcelo Modesto, Silvia A. Nebra. Double-effect distillation and thermal integration applied to the ethanol production process. *Energy*. 2015, 82.

- [42] Yuelel Yang, Kevin Boots, Dan Zhang. A Sustainable Ethanol Distillation System. *Sustainability*. 2012, 4(1).
- [43] Xiaojing Shi, Xiuyu Zhu, Xiaoxiao Zhao, Zhishan Zhang. Performance evaluation of different extractive distillation processes for separating ethanol/tert-butanol/water mixture. *Process Safety and Environmental Protection*. 2020, 137.
- [44] 贾剑辉, 李鹏辉, 杨松泉, 王岭, 雷洁琼. 燃料乙醇三塔差压蒸馏工艺模拟研究. *化学工程*. 2018, 46(09): 73-78.
- [45] 李鑫钢, 李学刚, 李洪. 节能型乙醇蒸馏及脱水集成工艺. *化工进展*. 2010, 29(01): 178-182.
- [46] S. AL-Asheh, F. Banat, N. AL-Lagtah. Separation of ethanol-water mixtures using molecular sieves and biobased adsorbents. *Chemical Engineering Research and Design*. 2004, 82(7): 855-864.
- [47] Wang X, Gao Q, Bao J. Transcriptional analysis of *Amorphotheca resinae* ZN1 on biological degradation of furfural and 5-hydroxymethylfurfural derived from lignocellulose pretreatment. *Biotechnology for Biofuels*. 2015, 8: 1-13.
- [48] Gao X, Gao Q, Bao J. Tolerance response and metabolism of acetic acid by biodegradation fungus *Amorphotheca resinae* ZN1. *Journal of Biotechnology*. 2018, 275: 31-39.
- [49] Liu G, Zhang Q, Li H, et al. Dry biorefining maximizes the potentials of simultaneous saccharification and co-fermentation for cellulosic ethanol production. *Biotechnology and Bioengineering*. 2018, 115: 60-69.
- [50] Zhang Q, Bao J. Industrial cellulase performance in the simultaneous saccharification and co-fermentation (SSCF) of corn stover for high titer ethanol production. *Bioresources and Bioprocessing*. 2017, 4: 17.
- [51] Wang J, Gao Q, Zhang H, et al. Inhibitor degradation and lipid accumulation potentials of oleaginous yeast *Trichosporon cutaneum* using lignocellulose feedstock. *Bioresource Technology*. 2016, 218: 892-901.
- [52] Qiu Z, Gao Q, Bao J. Engineering *Pediococcus acidilactici* with xylose assimilation pathway for high titer cellulosic L-lactic acid fermentation. *Bioresource Technology*. 2018, 249, 9-15.
- [53] Qureshi AS, Zhang J, Sousa LDC, et al. Antibacterial peptide secreted by *Pediococcus acidilactici* enables efficient cellulosic open L-lactic acid fermentation. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 2017, 5: 9254-9262.
- [54] Zhou P, Meng J, Bao J. Fermentative production of high titer citric acid from corn stover feedstock after dry dilute acid pretreatment and biodegradation. *Bioresource Technology*. 2017, 224: 563-572.

- [55] Jinnan G. Research Progress on the Treatment of Cellulosic Ethanol Wastewater. *Hubei Agricultural Sciences*. 2013, 52(9): 1998-1992.
- [56] Gang Liu, Jie Bao. Maximizing cellulosic ethanol potentials by minimizing wastewater generation and energy consumption: Competing with corn ethanol. *Bioresource Technology*. 2017, 245: 18-26.
- [57] Nibedita Sarkar, Sumanta Kumar Ghosh, Satarupa Bannerjee, Kaustav Aikat. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy*. 2011, 37(1): 19-27.
- [58] Qi Hu, Liru Fan, Dawen Gao. Pilot-scale investigation on the treatment of cellulosic ethanol biorefinery wastewater. *Chemical Engineering Journal*. 2017, 309: 409-416.
- [59] Lili Shan, Junfeng Liu, John J. Ambuchi, Yanling Yu, Linlin Huang, Yujie Feng. Investigation on decolorization of biologically pretreated cellulosic ethanol wastewater by electrochemical method. *Chemical Engineering Journal*. 2017, 323: 455-464.
- [60] Wang J, Hu M, Zhang H, et al. Converting Chemical Oxygen Demand (COD) of Cellulosic Ethanol Fermentation Wastewater into Microbial Lipid by Oleaginous Yeast *Trichosporon cutaneum*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2017, 182(3): 1121-1130.
- [61] Mc Gee C, Hilton A B C. Analysis of federal and state policies and environmental issues for bioethanol production facilities. *Environmental Science & Technology*. 2011, 45(5): 1780-1791.
- [62] Tian Z, Mohan G R, Ingram L, etc. Anaerobic digestion for treatment of stillage from cellulosic bioethanol production. *Bioresource Technology*. 2013, 144: 387-395.
- [63] Palmqvist E, Hahn-H A Gerdal B A R. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. *Bioresource technology*. 2000, 74(1): 25-33.
- [64] Baral N R, Wituszynski D M, Martin J F, etc. Sustainability assessment of cellulosic biorefinery stillage utilization methods using emergy analysis. *Energy*. 2016, 109: 13-28.
- [65] Xushen Han, Jie Bao. General Method to Correct the Fluctuation of Acid Based Pretreatment Efficiency of Lignocellulose for Highly Efficient Bioconversion. *ACS Sustainable Chemistry Engineering*. 2018, 6: 4212-4219.
- [66] Walker GM. Metals in yeast fermentation processes. *advances in applied microbiology*. 2004, 54(1): 197-229.
- [67] Wilkie A C, Riedesel K J, Owens J M. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. *Biomass and Bioenergy*. 2000, 19(2): 63-102.
- [68] Mohana S, Acharya B K, Madamwar D. Distillery spent wash: treatment technologies and potential applications. *Journal of Hazardous Materials*. 2009, 163(1): 12-25.

- [69] Kharayat Y. Distillery wastewater: bioremediation approaches. *Journal of Integrative Environmental Sciences*. 2012, 9(2): 69-91.
- [70] Kort M J. Colour in the sugar industry. London: Applied Science. 1979: 97-130.
- [71] 郑超, 马晓建, 郜晋楠. 纤维乙醇废水处理研究进展. *湖北农业科学*. 2013, 52(09): 1988-1992.
- [72] 耿士锁, 袁嗣兵, 高浓度酒糟废水的综合利用. *江苏环境科技*. 1997(02): 29-32.
- [73] Wang Jian-Ping, Chen Yong-Zhen, Wang Yi, Yuan Shi-Jie, Yu Han-Qing. Optimization of the coagulation-flocculation process for pulp mill wastewater treatment using a combination of uniform design and response surface methodology. *Water research*. 2011, 45(17): 5633-5640.
- [74] Aziz Asad, Basheer Farrukh, Sengar Ashish, Irfanullah, Khan Saif Ullah, Farooqi Izharul Haq. Biological wastewater treatment (anaerobic-aerobic) technologies for safe discharge of treated slaughterhouse and meat processing wastewater. *The Science of the total environment*. 2019, 686: 681-708.
- [75] Callander I J, Clark T A, Mc Farlane P N, etc. Anaerobic digestion of stillage from a pilot scale wood-to-ethanol process I. Stillage characterisation. *Environmental Technology Letters*. 1986, 7(1-12): 325-334.
- [76] 邱松, 李昕阳, 魏令勇, 杨芳芳, 卢姝. 臭氧氧化—A/O 工艺处理 PVA 废水. *化工环保*. 2018, 38(4): 403-407.
- [77] Wang Jianlong, Chen Hai. Catalytic ozonation for water and wastewater treatment: Recent advances and perspective. *The Science of the total environment*. 2020, 704.
- [78] 杨长生. 多步絮凝吸附法处理高浓度有机废水. *黑龙江生态工程职业学院学报*. 2019, 32(4): 4-6.
- [79] 王世宇, 秦雪, 张佩佩, 欧洋, 赵伟国. 高级氧化法在难降解废水处理领域的研究进展. *广东化工*. 2019, 46(6): 140-141,162.
- [80] Meng-hui Zhang, Hui Dong, Liang Zhao, De-xi Wang, Di Meng. A review on Fenton process for organic wastewater treatment based on optimization perspective. *Science of the Total Environment*. 2019, 670(20): 110-121.
- [81] Wei Xiong, Luxi Wang, Nan Zhou, Aili Fan, Shaojie Wang, Haijia Su. High-strength anaerobic digestion wastewater treatment by aerobic granular sludge in a step-by-step strategy. *Journal of Environmental Management*. 2020, 262.
- [82] Chunmao Chen, Jie Ming, Brandon A. Yoza, Jiahao Liang, Qing X. Li, Hongqiao Guo, Zhiyuan Liu, Jingmin Deng, Qinghong Wang. Characterization of aerobic granular sludge used for the treatment of petroleum wastewater. *Bioresource Technology*. 2019, 271: 353-359.
- [83] Lettinga G, Van Velsen A F, Hobma S W, et al. Use of the Upflow Sludge Blanket (USB)

- reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. *Biotechnology and Bioengineering*. 1980, 22(4): 699-734.
- [84] Harper S R, Pohland F G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. *Biotechnology and Bioengineering*. 1986, 28(4): 585-602.
- [85] 纪小波, 崔娟娟. 浅析煤化工废水处理技术研究及应用. *中国化工贸易*. 2017, (16): 124.
- [86] Lapara T M, Alleman J E. Thermophilic aerobic biological wastewater treatment. *Water Research*. 1999, 33(4): 895-908.
- [87] 徐亚同, 史家梁, 张大鹏. 废水处理 第五篇 废水好氧生物处理的方法(一)——活性污泥法. *上海化工*. 1998(17): 39-42.
- [88] 徐亚同, 史家梁, 张大鹏. 废水处理 第六篇 废水好氧生物处理的方法(二)——生物膜法. *上海化工*. 1998(18): 38-40.
- [89] 李春光. 生物膜法在城市污水处理中的研究. *商品与质量*. 2019, (19): 245.
- [90] Ponsa S, Gea T, Alerm L, et al. Comparison of aerobic and anaerobic stability indices through a MSW biological treatment process. *Waste Management*. 2008, 28(12): 2735-2742.
- [91] Wang, Z., & Zheng, W.. Study on the treatment of wastewater from cellulose ethanol production and its engineering application. *Industrial Water Treatment*. 2012, 32(8): 88-91.
- [92] Liu, J, Zhang, C., Zhang, G., Gan, H. Reclaiming bioenergy from alcohol wastewater by upflow anaerobic solid reactor process and high value use of biogas. *International Conference on New Technology of Agricultural Engineering, Zibo, China*. 2011: 537-539.
- [93] 陈亚萍, 康永祥. 城市污水回用及其途径. *干旱区研究*. 2005(03): 382-386.
- [94] 程玉芝. 城市污水回用及其途径研究. *环境科学与管理*. 2017, 42(11): 122-125.
- [95] Xu Jian, Su Xian-Feng, Bao Jia-Wei, Zhang Hong-Jian, Zeng Xin, Tang Lei, Wang Ke, Zhang Jian-Hua, Chen Xu-Sheng, Mao Zhong-Gui. A novel cleaner production process of citric acid by recycling its treated wastewater. *Bioresource technology*. 2016, 211.
- [96] Xiaojin Song, Zengxin Ma, Yanzhen Tan, Huidan Zhang, Qiu Cui. Wastewater recycling technology for fermentation in polyunsaturated fatty acid production. *Bioresource Technology*. 2017, 235: 79-86.
- [97] 于丽新. 纤维素燃料乙醇废水处理及回用实验研究. 黑龙江: 哈尔滨工业大学. 2010.
- [98] 赵伟. 物化/生化耦合技术用于纤维素乙醇生产废水处理研究. 黑龙江: 哈尔滨大学. 2012.

- [99] Jian Zhang, Shuai Shao, Jie Bao. Long term storage of dilute acid pretreated corn stover feedstock and ethanol fermentability evaluation. *Bioresource Technology*. 2016, 201, 355-359.
- [100] Juan Wang, Mingshan Hu, Huizhan Zhang, Jie Bao. Converting chemical oxygen demand (COD) of cellulosic ethanol fermentation wastewater into microbial lipid by oleaginous yeast *Trichosporon cutaneum*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2017, 182: 1121-1130.
- [101] Hermine RZ Tadros, Samia Kh Hamdona, Mary G Ghobrial, Mona F El-Naggar, Omayma H Abd El-Hamid. Wastewater Treatment of Mariout Lake Drains Using Combined Physical, Chemical, and Biological Methods in Microcosm Experiments. *Aquatic Science and Technology*. 2019, 7(2): 46-70.
- [102] Ebrahiem E. Ebrahiem, Mohammednoor N. Al-Maghrabi, Ahmed R. Mobarki. Removal of organic pollutants from industrial wastewater by applying photo-Fenton oxidation technology. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017, 10: 1674-1679.
- [103] Xiaoyan Wu, Chunxue Lv, Shoufu Yu, Mi Li, Jian Ye, Xiaowen Zhang, Yong Liu. Uranium (VI) removal from aqueous solution using iron-carbon micro-electrolysis packing. *Separation and Purification Technology*. 2020, 234.
- [104] Sandhya Rao Poleneni, Enos Inniss, Honglan Shi, John Yang, Bin Hua, Joseph Clamp. Enhanced Flocculation Using Drinking Water Treatment Plant Sedimentation Residual Solids. *Water*. 2019, 11(9).
- [105] Wang Jianlong, Chen Hai. Catalytic ozonation for water and wastewater treatment: Recent advances and perspective. *The Science of the total environment*. 2020, 704.
- [106] Han Yuefei, Yang Linyan, Chen Xueming, Cai Yu, Zhang Xinyue, Qian Mengcheng, Chen Xingkui, Zhao Huihui, Sheng Mei, Cao Guomin, Shen Genxiang. Removal of veterinary antibiotics from swine wastewater using anaerobic and aerobic biodegradation. *The Science of the total environment*. 2020, 709.
- [107] Liu, J, Zhang, C., Zhang, G., Gan, H.. Reclaiming bioenergy from alcohol wastewater by upflowanaerobic solid reactor process and high value use of biogas. *International Conference on New Technology of Agricultural Engineering, Zibo, China*. 2011: 537–539.
- [108] Sarkar, N., Ghosh, S. K., Bannerjee, S., & Aikat, K.. Bioethanol production from agricultural wastes: an overview. *Renewable Energy*. 2012, 37(1): 19–27.
- [109] Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D, Crocker D. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. NREL/TP-510-42618. National Renewable Energy Laboratory, Golden CO. 2002.
- [110] Adney B, Baker J. Measurement of Cellulase Activities. AP-006. NREL. Analytical

- Procedure. National Renewable Energy Laboratory, Golden CO. 1996.
- [111] Adney B, Baker J. Measurement of Cellulase Activities. AP-006. NREL. Analytical Procedure. National Renewable Energy Laboratory, Golden CO. 1996.
- [112] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 1976, 72: 248-254.
- [113] Jian Zhang, Zhinan Zhu, Xiaofeng Wang, Nan Wang, Wei Wang, Jie Bao. Biodetoxification of toxins generated from lignocellulose pretreatment using a newly isolated fungus *Amorphotheca resinae* ZN1 and the consequent ethanol fermentation. *Biotechnology for Biofuels*. 2010, 3: 26.
- [114] LiH, Wu M, Xu L, et al. Evaluation of industrial *Saccharomyces cerevisiae* strains as the chassis cell for second-generation bioethanol production. *Microbial Biotechnology*. 2015, 82: 66.
- [115] Jian Z, Wang X S, Chu D Q, et al. Dry pretreatment of lignocellulose with extremely low steam and water usage for bioethanol production. *Bioresource Technology*. 2011, 102(6): 4480-8.
- [116] He Y, Zhang J, Bao J. Dry dilute acid pretreatment by co-currently feeding of corn stover feedstock and dilute acid solution without impregnation. *Bioresource Technology*. 2014, 158: 360-364.
- [117] Zhang J, Zhu Z, Wang X, Wang N, Wang W, Bao J. Biodetoxification of toxins generated from lignocellulose pretreatment using a newly isolated fungus *Amorphotheca resinae* ZN1 and the consequent ethanol fermentation. *Biotechnology for Biofuels*. 2010, 3: 26.
- [118] Deqiang Chu, Jian Zhang, Jie Bao. Simultaneous saccharification and ethanol fermentation of corn stover at high temperature and high solids loading by a thermotolerant strain *Saccharomyces cerevisiae* DQ1. *Bioenergy Research*. 2012, 5: 1020-1026.
- [119] Jian Zhang, Jie Bao. A modified method for calculating practical ethanol yield at high lignocellulosic solids content and high ethanol titer. *Bioresource Technology*. 2012, 116: 74-79.
- [120] Gang Liu, Jie Bao. Evaluation of electricity generation from lignin residue and biogas in cellulosic ethanol production. *Bioresource Technology*. 2017, 243: 1232-1236.
- [121] Xushen Han, Jie Bao. General Method to Correct the Fluctuation of Acid Based Pretreatment Efficiency of Lignocellulose for Highly Efficient Bioconversion. *ACS Sustainable Chemistry Engineering*. 2018, 6: 4212-4219.

附录 I 主要试剂

试剂	规格	生产厂家
酵母提取物	生化试剂	Oxoid Ltd
蛋白胨	生化试剂	Oxoid Ltd
琼脂	生化试剂	上海杰瑞生物有限公司
硫酸	分析纯	上海凌峰化学试剂有限公司
氢氧化钠	分析纯	上海凌峰化学试剂有限公司
氢氧化钙	分析纯	上海凌峰化学试剂有限公司
磷酸二氢钾	分析纯	上海凌峰化学试剂有限公司
硫酸铵	分析纯	上海凌峰化学试剂有限公司
碳酸钙	分析纯	上海凌峰化学试剂有限公司
柠檬酸	分析纯	上海凌峰化学试剂有限公司
柠檬酸三钠	分析纯	上海凌峰化学试剂有限公司
木糖	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
无水乙醇	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
甘油	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
七水合硫酸镁	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
氯化钠	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
葡萄糖	分析纯	国药集团化学试剂有限公司

附录 II 仪器设备

名称	型号	生产厂家
超声波清洗机	SB-5200D	宁波新芝生物科技
超高速离心机	J-26	Beckman
立式震荡培养箱	HZ-2111KB	江苏太仓华利达
台式高速冷冻离心机	CT15RE	HITACHI 日立, 妙生科技有限公司
-80 oC 冰箱	Forma-86C	Thermo Scientific
超纯水制造机	Milli-Q Synthesis	德国 Millipore 有限公司
电热恒温鼓风干燥箱	DHG-9140A	上海一恒科学仪器有限公司
隔水式培养箱	GHP-9160	上海一恒科学仪器有限公司
电子天平	BS223S	瑞士梅特勒-托利多
自动灭菌锅	TOMY-SX-700	天美科技有限公司
粉碎机	SF	上海科太粉碎设备厂
隔水式恒温培养箱	DK-8D	上海一恒科学仪器有限公司
洗衣机	BC-96A	青岛海尔股份有限公司
超净工作台	SW-CJ-1FD	上海苏洁实业有限公司
恒温水浴锅	ZC	宁波天恒仪器厂
烘干机	DCY7402GXSB1	上海倍科贸易有限公司
高效液相色谱	LC-20AT 紫外检测器	岛津企业管理有限公司
冰箱	BCD-239VC	青岛海尔股份有限公司
冷柜 (海尔)	BC/BD-518A	青岛海尔股份有限公司
密度计	DMA501	奥地利安东帕有限公司
台式粉碎机	HR2094	飞利浦家用电器有限公司
玻璃精馏塔	ANKOM220	学校玻璃工坊
电子秤	AOS-15A	上海三积分电子有限公司
电子天平	BS224S	瑞典梅特勒
马弗炉	SX2-2.5-10	上海博迅实业医疗设备有限公司
发酵罐蒸汽发生器	HX-7.5D	上海华征特种锅炉制造有限公司
pH 计	PHS-3C	上海雷磁电科学仪器有限公司
四联发酵罐	BIOTECH-3BG	上海保兴生物设备工程有限公司

硕士期间取得成果

待发表论文:

(第一作者) **Recycling distillation wastewater to pretreatment operation in cellulosic ethanol biorefining process.** Bioresource Technology. (对应本论文的第二章、第三章)

(第二作者) **The long-term storage of dry-acid pretreated crop residues in the main cultivation areas of China.** Nature Communication.

致谢

2017年三月，刚收到华理考研复试通知的我一边准备着复试一边苦恼于选导师这件事情。当我在华理研究生官网点击鲍杰老师的词条后，我被弹出的导师介绍文字所吸引，于是便决定去拜访一下鲍老师。记得第一次见鲍老师是在复试的前一天下午，他跟我介绍了许多生物能源方面的知识，我完完全全被鲍老师散发出来的对科研的热爱和专注所感染。我深信那些只要提到自己研究项目就微笑激动到踱步的老师绝对会是最理想的导师。

考研复试结束后，我如愿以偿的加入到了生物能源与生物炼制大家庭，开启了三年的研究生之旅。实验室的科研风气很浓厚，身边的老师和师兄师姐都十分刻苦自律。老师们经常来的比学生还要早，节假日也总能看到老师在办公室工作的背影；师兄师姐们工作日常常忙到深夜，周末也鲜有休息。也许这就是对科研的“真爱”吧！如果说大学四年是被社团活动和学生组织包围的四年，那研究生三年就是沉浸在实验室的三年。多少个上罐发酵的日子里，陪伴我的是一一个个发酵罐和一份份烤肉饭外卖。总要担心接种后的几个小时发酵罐冲罐，还要担心接种的菌体是否正常发酵。多少次抓狂于被纤维素酶腐蚀了新买的裤子，多少次感动于实验顺利进行。实验室的生活让我感受到了工作的辛苦与快乐，是我人生旅程中异常重要的一段。

感谢鲍老师。感谢鲍老师给予我的信任和帮助，老师是我崇拜的学者，更是我永远的榜样。希望老师以后多注意身体，别那么操劳。感谢奇奇同学。你是我来上海交到的第一个好朋友，你总爱带我这个路痴到处逛吃逛吃，辛苦你每次都要坐好久的地铁陪我看电影和吃饭（虽然我也要坐好久），感谢你这三年的温暖陪伴。感谢我们的三人帮：我、方纯、卢敏萍。感谢纯每次都那么照顾我们，祝福你在北京工作顺利，你是我们这一届最努力、最有能力的一个，当然要好好的呀。感谢小敏。感谢你的善解人意，祝你幸福顺心，广州再见。感谢黄振。你是很棒的饭友、影友、朋友。感谢园园。你是我们欢乐的源泉，总能在不经意间逗笑我们，带给我们快乐。感谢王江师弟。感谢你代替我成为我们四个人里地位最低的那一个人。感谢涛涛。感谢你替我分担实验压力。感谢韩师兄。感谢你在我刚进实验室时带着我做实验，祝你工作顺利、多发论文。感谢实验室其他师兄师姐、师弟师妹在科研中的帮助、生活里的关心。感谢我的两位姐姐。感谢你们给予我物质和精神上的支持。感谢我的爸爸和妈妈，感谢你们的无私奉献。

天上浮云似白衣，斯须改变如苍狗。但愿人长久，千里共婵娟。

郑理想

2020年4月20日 于蚌埠

卷内备考表

本卷情况说明

本卷共 伍拾贰 页

立卷人_____

检查人_____

立卷时间_____