

以纤维素类物质为原料发酵生产燃料乙醇的研究进展*

马晓建 赵银峰 祝春进 吴 勇 牛青川

(郑州大学化工学院, 郑州, 450002)

摘 要 燃料乙醇是清洁汽油的主要代替物。其生产方法根据原料区分有:糖蜜类、谷物淀粉类和纤维素类。以植物秸秆、木材等纤维素类物质为原料生产乙醇是最具挑战性的课题,目前用纤维素类物质制造乙醇的关键问题是纤维素原料的预处理和高效的发酵工艺。文中就综述了纤维素类物质的发酵机制、发酵工艺和发酵方式,对进一步实现工业化提供一些借鉴。

关键词 燃料乙醇,纤维素,半纤维素,木质素,预处理

目前,美国主要以玉米为原料生产燃料乙醇,巴西以甘蔗、糖蜜、砂糖为主要原料,日本则采用农、林产废物等未利用资源直接发酵生产乙醇。2001年4月,我国河南天冠集团公司和黑龙江华润金玉实业有限公司老厂变性燃料乙醇改扩建项目已相继投产,分别具有20万t和10万t生产能力,生产规模预计还会扩大,主要以陈粮小麦、玉米等淀粉质原料生产燃料乙醇;吉林省60万t变性燃料乙醇新建项目也已经进入投产期,主要以玉米为原料;其他省市的燃料乙醇项目也在积极的筹备之中。

植物的秸秆、枝叶等纤维物质是地球上最大的可再生资源,以纤维素类物质生产燃料乙醇的研究越来越受到重视^[1~3]。

1 纤维素类物质生产乙醇的发酵机制

1.1 纤维素类物质

纤维素类物质(秸秆、蔗渣、木材等)主要有3种成分组成:纤维素,大约占干重的45%;半纤维素,占干重的30%;木质素,占干重的25%。还有少量的蛋白质、灰分、淀粉等组成。纤维素和半纤维素可作为乙醇发酵的原料。纤维素是一种有1 000~10 000个葡萄糖单体以 β -1,4糖苷键连接的直链多糖,多个分子平行紧密排列成丝状不溶性微小纤维,其基本组成单位是纤维二糖,它是地球上最丰富的聚合体。

半纤维素是一类高度分支的杂多糖,糖残基有己糖(如D-半乳糖、L-半乳糖等)、戊糖(D-木糖、L-阿拉伯糖)和糖醛酸。半纤维素的组成依原料的不同而有所差别。木质素不是由碳水化合物组成,而是由苯丙烷结构单元组成的近似球状的高聚体,对水解纤维素起到屏障作用。到目前为止,还未发现能利用木质素的单聚体来生产乙醇的微生物。

1.2 发酵机制

以纤维类物质为原料发酵生产燃料乙醇,在其发酵机制方面也有不少的研究^[4~6]。在工业上,纤维素经酸解、碱解或酶解预处理后,释放出的葡萄糖可进入乙醇发酵途径。产纤维素酶的微生物有真菌、酵母菌和细菌。目前,人们研究最多且最有工业应用前景的是木糖发酵产乙醇的微生物,有管囊酵母(*Pachysolen tannophilus*)、树干毕赤酵母(*Pichia stipitis*)、卡尔酵母(*Sac. carisbergensis*)和休哈塔假丝酵母(*Candida shechatae*)等。刘健等^[7]选育出一株优良的木糖发酵菌株树干毕赤酵母菌7124,利用海藻酸钠固定化在半纤维素水解液中进行乙醇发酵的初步研究,基本达到了纯木糖发酵的效果。半纤维素组分中木糖的有效利用有可能使乙醇燃料的生产成本大大降低。正常情况下,纤维素类物质中微量物质对发酵过程影响很小。纤维素类物质的发酵机制如图1所

第一作者:硕士,教授。

* 河南省重点科技攻关项目(No. 0323023000)

收稿时间:2004-06-29,改回时间:2004-09-10

示。

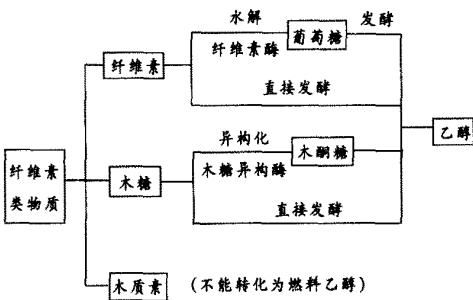


图 1 纤维素类物质发酵生产乙醇的路线

2 以纤维素类物质为原料发酵生产燃料乙醇的工艺

2.1 预处理

预处理的主要目的是降低纤维素的分子质量,打开其密集的晶状结构,以利于进一步的分解和转化。预处理过程中,半纤维素通常直接被水解成了各种单糖(如木糖,阿拉伯糖等),剩下的不溶物质主要是纤维素和木质素。在原料预处理方面常见的方法如表 1 所示。

表 1 以纤维素类物质为原料的几种预处理方法

方法	例 证
热机械法	碾磨、粉碎、抽取
自动水解法	蒸汽爆破、超临界 CO ₂ 爆破
酸处理法	稀酸(H ₂ SO ₄ 、HCl)、浓酸、乙酸等
碱处理法	NaOH、碱性过氧化氢、氨水
有机溶剂处理法	甲醇、乙醇、丁醇苯

2.2 发酵方式

2.2.1 酸、碱水解再经酵母发酵生成法

在热酸作用下,纤维素被降解主要转化成葡萄糖;半纤维素则生成多种单糖(木糖、阿拉伯糖、甘露糖等)。木质素则降解成多种单环芳香族化合物。另外还有一些如甲酸、乙酸、糠醛、羟甲基糠醛、糖醛酸、己糖酸等不稳定生成物。在发酵工业上,把这些物质分为 2 大类:可发酵性糖,主要有葡萄糖、木糖、阿拉伯糖以及甘露糖等;酒精发酵工业上所谓的“有毒物质”,主要包括各种有机酸、醛类、醇类化合物以及一些无机离子等。

纤维素的酒精发酵传统上以酸法水解工艺

为主^[8]。稀酸水解要求在高温和高压下进行,反应时间几秒或几分钟,在连续生产中应用较多;浓酸水解相应地要在较低的温度和压力下进行,反应时间比稀酸水解长得多。由于浓酸水解中的酸难以回收,目前主要用的是前者。杨斌等^[9]研究了硫酸和磷酸水解蔗渣的动力学,并建立了模型。目前生产中存在的主要问题就是酸解条件苛刻,对设备有腐蚀作用,需要耐酸耐压设备和解决水解产物对发酵微生物的“毒性问题”。碱水解也存在着与酸水解同样的问题。

近年来,对于纤维素酸解产物毒性问题的研究取得了一定的进展^[10]。现在,基本上明确了这种毒性是来源于酸解过程中产生的一些有机酸、醛类化合物。对于它们的作用机理也进行了深入研究,并在此基础上研究了相应的各种解毒方案。但是,更加经济适用的解毒方案还有待于进一步研究。

2.2.2 酶水解方式

2.2.2.1 直接发酵法

嗜热菌(40~65℃)和极端嗜热菌(65℃)能直接利用纤维素生产乙醇,不需要经过酸解或酶解前处理过程。研究最多的是用热纤梭菌(*Clostridium thermocellum*),它是嗜热产芽孢的严格厌氧菌,革兰氏染色呈阳性,它能分解纤维素,并能使纤维二糖、葡萄糖、果糖等发酵。目前看来,它是将纤维素直接转化为乙醇的最有效菌种。

吕福英^[11,12]介绍了热纤梭菌的生理生化特性及发酵生产的研究进展,并对热纤梭菌发酵生产乙醇的因素以及乙醇等发酵产物对热纤梭菌的抑制作用作了概述。此外分离出能直接发酵纤维素生产乙醇的高纯富集物。目前,从发酵工艺看,此类工艺方法设备简单,成本低廉。但热纤梭菌产生乙醇也存在以下问题:①碳水化合物发酵不完全,乙酸、乳酸、氢的形成导致乙醇产率低;②纤维素发酵速度慢,容积生产力低;③终产物乙醇和有机酸对细胞有相当大的毒性。

利用混合菌直接发酵,能解决酒精产率不

高和有机酸等副产物的存在问题。大多数的研究是与另一种不分解纤维素的嗜热厌氧菌进行共培养,该菌能利用热纤梭菌分解纤维素时所产生的游离单糖产生乙醇。已研究过的能在共培养体系中增加乙醇产量的微生物有嗜热厌氧杆菌(*Thermoanaerobacter ethanolicus*)、嗜热硫化氢梭菌(*Clostridium thermohydrosulfuricum*)、嗜热解糖梭菌(*Clostridium thermosaccharolyticum*)。Hogsett等^[13]利用嗜热解糖梭菌和热纤梭菌直接转化纤维性物质为乙醇方面作了研究,能提高乙醇产量。

2.2.2.2 间接发酵法

间接法即糖化、发酵二段发酵法,它是用纤维素酶水解纤维素,收集酶解后的糖液作为酵母发酵的碳源,也是目前研究最多的一种方法^[14]。为了克服乙醇产物的抑制,必须不断地将其从发酵罐中移出,采取的方法有:减压发酵法、快速发酵法和阿尔法-拉伐公司的 Biostile 法。对细胞进行循环利用,可以克服细胞浓度低的问题。筛选在高糖浓度下存活并能利用高糖的微生物突变株,以及使菌体分阶段逐步适应高基质浓度,可以克服基质抑制。

纤维素酶法糖化中,目前常用的菌种多来自木霉属、曲霉属和青霉属。纤维素的降解需要一系列酶的共同作用才能完成,这些酶包括:内切葡聚糖酶,外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶,这3种酶协同作用,缺一不可。纤维二糖的积累会抑制内切和外切葡聚糖酶的催化作用,将其水解成葡萄糖,会减少这种抑制作用。葡萄糖的积累对于 β -葡萄糖苷酶的催化也有一定的抑制作用。

人们对半纤维素酶法糖化的研究机理不如对纤维素酶的研究深入,其中未知的东西更多,木聚糖分子比纤维素分子具有结构多样和组分复杂性,因而其降解难度更大。水解木聚糖分子的酶则主要由 β -1,4木聚糖和 β -木糖苷酶构成,并且所生成戊糖不宜被酵母发酵利用,需要木糖异构酶将木糖异构成木酮糖,再被酵母利用生成乙醇。

2.2.2.3 同时糖化发酵法(SSF法)

为了克服反馈抑制作用,Gauss等^[15]提出了在同一个反应罐中进行纤维素糖化和乙醇发酵的同时糖化发酵法(simultaneous saccharification and fermentation, SSF)。其特点是纤维素酶对纤维素的水解和酵母发酵生成乙醇在同一容器内连续进行,这样酶水解的产物——葡萄糖由于酵母的发酵不断地被利用,这就消除了葡萄糖浓度过高对纤维素酶的反馈抑制,这是目前最有前途的方法。在工业生产上,该法简化了设备,降低了能源的消耗,节约了总生产时间,提高了生产效率,但存在一些如糖化和发酵温度不协调等抑制因素。

张继泉等^[16]作了有关玉米秸秆同时糖化发酵生产燃料乙醇的研究,利用正交试验对玉米秸秆发酵生产燃料乙醇的条件进行了摇瓶试验,但具体应用到工业中尚需时日。张德强等^[17]以汽爆毛白杨木粉为原料,采用正交实验法进行同时糖化发酵(SSF)来生产乙醇。通过考察反应温度、pH值、酶浓度和酵母用量来寻找绿色木霉纤维素酶和酿酒酵母同时糖化发酵转化汽爆毛白杨木粉成乙醇的最佳条件。

在纤维素酶的糖化过程中,纤维素酶的最适温度为50℃左右,而酵母发酵的控制温度是37~40℃,解决这2个过程温度不协调的方法有:采用耐热酵母(如假丝酵母、克劳森氏酵母);进一步选育耐热酵母;耐热酵母与普通酵母混合发酵。Zhangwen Wu^[18]采取了非等温同时糖化发酵法(nonisothermal simultaneous saccharification and fermentation, NSSF)很好地解决了纤维素酶这一矛盾。

2.2.3 其他

邓旭等^[19]将酿酒酵母和毕赤酵母经海藻酸钙固定化后,分别装入2个串联的固定床内,依次用酿酒酵母代谢葡萄糖,及毕赤酵母代谢木糖,研究了混合糖连续发酵生产乙醇的新工艺。杨斌等^[20]提出了分别以 *P. stipitis* Y-7124 和 *S. cerevisiae* 为菌株,采用气升柱发酵木糖和溢流柱发酵葡萄糖的串联发酵工艺。

在固定化酶及细胞发酵方面,研究最多的是酵母和运动发酵单孢菌的固定化。最近有报

道,将微生物固定在汽液界面上进行发酵的研究报道,微生物活性比固定在固体介质上高。固定化细胞的新动向是混合固定细胞发酵,如酵母与纤维二糖酶一起固定化,将纤维二糖基质转化成乙醇。

3 以纤维素类物质为原料发酵生产燃料乙醇所采用的微生物

利用纤维素类物质为原料发酵生产乙醇,对微生物的要求是很高的。由于自然界中缺乏可以利用纤维素类物质原料有效发酵生产乙醇的微生物,因此有必要对不同微生物进行代谢工程改造,以便构造出更有效的微生物。刘翔等^[21]综述了纤维素类物质生产乙醇的代谢工程条件,简要描述了一个强调过程整体化的模型,并展望了这一领域今后的发展趋势。由于乙醇耐受性的分子基础还不清楚,所以利用突变和筛选还是非常有效的。近几十年来,人们发现许多微生物可以很好地利用纤维素类物质,但迄今为止,人们将主要精力集中在3种微生物上,即酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、运动发酵单胞菌(*Zymomans mobilis*)和大肠杆菌(*Escherichia coli*)。

Ingram^[22]将携带有运动发酵单胞菌(*Z. mobilis*)的操纵子(operon)和丙酮酸脱羧酶植入其他菌种,来发酵各种糖类。同时对含有各种酶的生物体(organisms)进行了研究,以用来水解纤维素和半纤维素,理论上,乙醇转化率为90%以上。

4 结论和展望

纤维素类物质发酵生产燃料乙醇的研究已经成为全世界研究的热点课题之一。该领域今后的研究方向主要有以下几个方面:①在预处理方面,单纯的物理法和化学法不足以破坏纤维素晶体结构以及去除半纤维素和木质素。应在物理法与化学法相结合的优化方面多进行一些研究工作,而使纤维素和半纤维素更易被水解和发酵。②在化学法(酸水解)发酵生产燃料乙醇方面,应着重研究解决如何减少酸的用量,

如何高效、经济地回收酸,以及酸解产物毒性问题的解决方案。③在生物法(酶工艺发酵)方面,同时糖化发酵法和微生物直接转化法中不同菌种的共培养和不同酶系的协同作用和反应动力学是研究重点。④酶的价格直接决定着纤维素类物质发酵生产燃料乙醇的成本,因而纤维素酶和半纤维素酶及微生物应用技术方面的研究也是今后的热门课题,研究内容有对微生物的选择和培养、试验各种形式的发酵器、开发各种酶的回收方法(超滤、再吸附等)、制取纤维素酶及半纤维素酶基因工程菌,还有纤维素酶、半纤维素酶及微生物细胞固定化方面的研究。而混合固定化细胞发酵是固定化细胞的一个新动向,如酵母与纤维二糖酶一起固定化,将纤维二糖基质转化成乙醇。此方法用于同时糖化发酵法,是最有前途的。⑤化学法(酸水解)与生物法(酶水解、微生物直接发酵等)能否有机地结合,也值得研究。

纤维素类物质是自然界中最丰富的可再生资源之一。近年来,随着人们环境意识的不断增强以及政府对环境问题的日益关注,以纤维素类物质为原料生产燃料乙醇的研究逐渐受到重视。从目前研究结果和发展趋势来看,以纤维素类物质发酵生产燃料乙醇不久将会实现工业化。

参 考 文 献

- 1 Su T M. Bioconversion of plant biomass to ethanol [J]. AIChE Symposium Series, 1978, 74(181): 75~78
- 2 Wyman, Charles E. Alternative transportation fuels from biomass [J]. Proceedings of the Intersociety Energy Conversion Engineering Conference, 1994 (3): 1090~1095
- 3 邓良伟. 纤维素类物质生产燃料酒精研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 1995, (5): 69~72
- 4 常秀莲. 木质纤维素发酵酒精的探讨 [J]. 酿酒科技, 2001 (2): 39~42
- 5 Jeffrey S. Tolan. Iogen's Process for producing ethanol from cellulosic biomass [J]. Clean Technology Environment Policy, 2002 (3): 339~345
- 6 Szczdrak, Fiedurek. Technology for conversion of lignocellulosic biomass to ethanol [J]. Biomass and Bioenergy, 1996, 10(5~6): 367~375

- 7 刘 健,陈洪章,李佐虎.木糖发酵生产乙醇的研究[J].工业微生物,2001,31(2):30~32
- 8 Paszner. AcoS-acceleratd hydrolysis of wood by acid catalysed organosolvmeans[J]. International Symposium on Wood and Pulping Chemistry, 1985: 235 ~ 240
- 9 杨 斌,高孔荣.浓酸水解蔗渣纤维质的动力学研究[J].华南理工大学学报,1997,25(8):10~15
- 10 潘进权,刘 耘.酸解纤维素酒精发酵的毒性问题[J].生物技术,2002,12(1):45~47
- 11 吕福英,闵 航,陈美慈.热纤梭菌分解纤维素生产乙醇的研究进展[J].食品与发酵工业,1996,(6):43~49
- 12 吕福英,闵 航,陈美慈.一个高温厌氧直接转化纤维素为乙醇的高纯富集物[J].浙江大学学报,2000,26(1):56~60
- 13 Hogsett D A, Ahn H J, Bernardez T D. Direct microbial conversion: Prospects, progress and obstacle[J]. Biotechnology, 1992, 34(35): 527~541
- 14 王 丹,林建强,张 萧.直接生物转化纤维素资源生产燃料乙醇的研究进展[J].山东农业大学学报(自然科学版),2002,33(4):525~529
- 15 Gauss W F, S. Suzuki, M. Takagi. Manufacture of alcohol from cellulosic materials using plural ferments [P]. US : 3990~994, 1976
- 16 张继泉,王瑞明,关凤梅.玉米秸秆同时糖化发酵生产燃料酒精的研究[J].纤维素科学与技术, 2002, 10(3):35~39
- 17 张德强,张志毅,黄镇亚.木质纤维生物量一步法(SSF)转化成乙醇的研究(Ⅲ)[J].北京林业大学学报,2000,22(6):50~54
- 18 Zhangwen Wu, Lee L L. Nonisothermal simultaneous saccharification and fermentation for direct conversion of lignocelulosic biomass to ethanol[J]. Applied Biochemistry and Biotechnonogy, 1998, (70~72): 479~492
- 19 邓 旭,郑重鸣,岑沛霖.双底物双菌种固定化生产乙醇串联发酵的新工艺[J].食品与发酵工业, 1995,(6):39~43
- 20 杨 斌,吕燕萍,高孔荣.蔗渣水解液发酵乙醇的研究[J].生物工程学报,1997,13(4):380~384
- 21 刘 翔,何国庆.利用木素纤维素生产燃料乙醇的微生物代谢工程[J].粮油加工与食品机械,2003,(8):67~69
- 22 Ingram Lonnie O. Genetic engineering of bacteria for lignocellulose conversion to ethanol[J]. Preprints ~ Division of Petroleum Chemistry, American Chemical Society, 1993,38(2):291~293
- 23 Ho Chen, Brainard. Genetically engineered Saccharomyces yeast capable of effective cofermentation of glucose and xylose[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998,64(5): 1852~1859

Research on the Production of Fuel Alcohol from the Material of Cellulose

Ma Xiaojian Zhao Yinfeng Zhu Chunjin Wu Yong Niu Qingchuan

(Institute of Chemical Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT The fuel ethanol is a main substitute of the clean petrol. According to the characteristics of raw materials, the production method of the fuel alcohol distinguishes molasses, the starch of grain and cellulose. The most challenging subject is using cellulose type materials such as plant straw, timber, etc, in the production of alcohol. Cellulose's pretreatment and highly efficient fermentation technologies are the key problems for producing alcohol from cellulose kinds of material at present. This paper briefly narrated fermentation mechanism, the fermentation process and fermentation way with cellulose. Another purpose of this paper is to offer some references to further industrialization. The paper is concluded by putting forward the author's expectations.

Key words fuel alcohol, cellulose, hemi-cellulose, lignin, pretreatment

信
息
窗

气泡防伪塑料标签在法国问世

最近,法国蒙托邦一家包装塑胶设备公司发明并生产了一种难以仿造的气泡防伪塑料标签,用于食品、电子产品、纺织品及手表等的外包装。

据介绍,这种气泡防伪塑料标签是直径1~10mm的塑料圆片,在冷却过程中,会随机形成各种气泡图案。由于气泡图案相同的几率极小,且图案和序号都记录在数据库里,消费者购买商品时,只需核查商品塑料标签中的气泡图案是否与数据库里记录的气泡图案一致,就能辨别真伪。此外,这种气泡防伪标签技术还可用在护照及钞票上。