

Research Progress in the Preparation of Fuel Ethanol from Renewable Biomass

Lei Xu^{1,2}, Yongbin Meng^{1,2}, Zidong Zhang^{1,2}, Ying Liu^{1,2}, Ying Zhang^{1,2}, Qinghuan Meng^{1,2}, Siming Nie^{1,2}, Qi Lu^{1,2}

¹National-Local Joint Engineering Laboratory for Ecological Use of Biological Resources, Harbin Heilongjiang

²Key Laboratory of Forest Plant Ecology of Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

Email: 1316279116@qq.com, ¹luqi42700473@126.com

Received: Dec. 9th, 2015; accepted: Dec. 23rd, 2015; published: Dec. 30th, 2015

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Cellulose is one of the most widely used renewable resources in the world. In this article, we reviewed the research progress of cellulose as raw materials to develop the alternative energy sources, and focused on the research progress and development trend of cellulose enzymatic hydrolysis and ethanol production. In this paper, the latest development of cellulosic ethanol is reviewed, and the application of cellulose in the preparation of fuel ethanol is described.

Keywords

Cellulose, Ethanol, Fuel, Enzymolysis

再生生物质制备燃料乙醇的研究进展

徐 蕾^{1,2}, 孟永斌^{1,2}, 张子东^{1,2}, 刘 英^{1,2}, 张 莹^{1,2}, 孟庆焕^{1,2}, 聂思铭^{1,2}, 路 祺^{1,2*}

¹生物资源生态利用国家地方联合工程实验室, 黑龙江 哈尔滨

²东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨

Email: 1316279116@qq.com, ¹luqi42700473@126.com

收稿日期: 2015年12月9日; 录用日期: 2015年12月23日; 发布日期: 2015年12月30日

*通讯作者。

文章引用: 徐蕾, 孟永斌, 张子东, 刘英, 张莹, 孟庆焕, 聂思铭, 路祺. 再生生物质制备燃料乙醇的研究进展[J]. 可持续能源, 2015, 5(6): 69-75. <http://dx.doi.org/10.12677/se.2015.56009>

摘要

纤维素是世界上存在最广泛的可再生生物质资源。本文综述了以纤维素为原料,开发替代能源研究进展,重点介绍了纤维素酶解和发酵生产乙醇研究进展与发展趋势,评述了纤维素制备乙醇的最新进展,旨在全面阐述纤维素在燃料乙醇制备中的应用。

关键词

纤维素, 乙醇, 能源, 酶解

1. 引言

随着人们生活水平的提高,整个社会对能源的需求与日聚增。乙醇作为一种替代或部分替代的可再生能源,可以在一定程度上缓解石油、天然气等不可再生化石能源日渐枯竭带来的能源压力。因此,可再生资源的生物质正在逐渐取代化石能源被人类作为未来能源利用[1] [2]。

纤维素、半纤维素、木质素是世界上存在最广泛的可再生生物质资源。可以利用的纤维类生物质资源很多,包括各种农业残余物,林业残余物,专门栽培的作物以及各种废弃物(包括城市固体垃圾、废纸、甘蔗渣、玉米纤维和造纸废液等)。目前,这些资源多半尚未得到充分的开发利用,有些还造成污染,如秸秆就地焚烧、农产品加工废物和城市丢弃有机垃圾等。利用木质纤维素为原料,综合利用生物酶工程技术、微生物发酵技术等,可以成功地制备乙醇燃料、生物柴油及氢[3]-[8]。

本文综述了纤维素为原料,开发替代能源研究进展,重点介绍了纤维素酶解和发酵生产乙醇研究进展与发展趋势,评述了纤维素制备乙醇的最新进展,旨在全面阐述纤维素在燃料乙醇制备中应用。

2. 纤维素在能源领域应用

目前,植物纤维资源转化液体燃料主要通过两条途径:热裂解和生物转化。其中,燃料乙醇的发酵生产由于具有产物得率高、品质好,已经成为生物质资源开发的主要研究热点。

1) 纤维素制备汽油

Huber等将柳枝稷、白杨树等植物的木质纤维素转化为汽油。这种反应的关键是:加入固体催化剂ZSM5后,迅速加热水解植物的纤维素;ZSM5可以加速反应减少纤维素浪费。在反应结束之后,迅速的冷却即后得到分解的产物,其中包含有多个汽油成分的混合物质。纤维素汽油是绿色的汽油,能够直接用于现有的发动机的引擎。所以纤维素汽油是具有发展前景的替代能源[9]。

2) 纤维素制备氢气

氢气是新型的绿色燃料,使用氢气作为燃料与传统燃料汽油等相比较具有高效清洁、绿色环保等优点。制备氢气的方法与传统的热分解法、石油裂化法和电解水制备氢等常用的制备方法相比较,利用纤维素为原料微生物发酵制备的氢有能量消耗较少,制备反应的条件温和等特点[10]。

3) 从纤维素制备生物柴油

生物柴油与传统石油蒸馏得到的柴油相比其具有良好的润滑性能和低温发动机就能够启动的优良性能。生物制备的柴油硫元素含量很低,燃烧后产生有毒物质如二氧化硫和硫等含量较少,并且燃烧充分,废气中微颗粒含量也大量降低,同时废气中并不含有碳氢化合物。绿色柴油燃料能够降低对生态环境地污染;氧含量高,燃烧的产生烟尘废气等也更少。现代制备生物柴油使用食用油作为原料不仅价格昂贵,并且其还具有与人争粮等缺点。因此使用较廉价且易于取材的原材料用来制备生物柴油是其发展的关键。

世界上利用植物纤维素来制备生物柴油的研究及应用仍然处于初期的探索阶段。目前生物柴油的大规模的工业化生产还有一定地距离，利用天然纤维素制备生物柴油的发展具有广阔的前景。

4) 纤维素制备生物乙醇

乙醇作为燃料能够替代汽油、柴油等燃料直接进行燃烧使用，同时亦作为民用和工业的燃料，故称燃料乙醇[11]。每公斤的乙醇点燃充分燃烧后释放约三万千焦耳的热量，同时其并不含有硫化物和灰分；产能高、是极具发展潜力，可以工业化生产地新型能源燃料[12]。当今世界使用生物乙醇发酵的主要原材料为玉米、土豆、糖类作物和植物纤维原料。植物纤维素具有贮存量、易于取材，且不与人类争粮的优点，具有更广阔的发展前景。

3. 纤维素发酵生产乙醇工艺

植物纤维发酵生产乙醇的技术起步较晚，但是由于植物纤维是现代含量丰富地可再生资源，统计数据表明，每年由绿色植物通过光合作用生产地纤维素重量达 $10^{11} \sim 10^{12}$ t，为自然界贮存量最多的可再生材料。而农作物剩余物是贮存量丰富取材方便、价格低廉的生产乙醇的原材料。随着植物纤维发酵制乙醇的研究深入，大规模生产乙醇技术也日趋完善；其流程图如图 1 所示。

1) 植物纤维素原料

植物原料由纤维素、半纤维素和木质素等形成的结构复杂的超分子化合物，并进一步形成形态多样的细胞壁结构[13]。天然的木质纤维素分子间纤维素微纤丝之间的结构紧密孔隙狭小，并且经常伴随着其他次生物质填充。预处理纤维素改变天然纤维素的复杂结构，降低纤维素的结晶区的结晶程度，除去木质素、半纤维素等；增加水解效率。常用预处理有物理和化学等方法；如放射、磨、高压热水解、有机溶剂萃取、稀酸水解、浓酸低温水解、酸催化水解和粉碎等方法。

2) 纤维素酶水解

纤维素原料添加纤维素酶混合后通过水解地方式把原材料转化为能够发酵的糖，然后经过微生物发酵将糖制备乙醇。酶水解与酸水解植物纤维素的方法相比较后可以得知酶法水解具有反应条件平和，并且不会产生有毒的降解物质，还原糖转化产率高、投资的硬件设备的成本较低等优点。

3) 纤维素水解发酵生产乙醇工艺流程

通过纤维素酶地水解作用，能够将纤维降解为简单地糖类如葡萄糖、木糖等，通过连续发酵或间歇发酵生产乙醇，整个过程与淀粉糖化发酵过程基本相似。纤维发酵制备乙醇 3 种工艺：①分别水解发酵工艺，纤维素原料与纤维素酶作用得到可发酵的糖，然后利用微生物进行发酵制备乙醇，两步反应分别在地不同地容器内进行。②同步水解发酵，使用混合细菌来水解纤维素产生单糖转化为乙醇发酵同时，生产乙醇的过程有含有综合的发酵副产品。③城市废物复合水解和发酵纤维废料为原料，用有机溶剂萃取木质素作为预处理；脱木素后在酶解槽中酶作用下进行水解糖化反应。采用高温单芽孢菌属和热纤梭菌复合菌株发酵来产生乙醇。

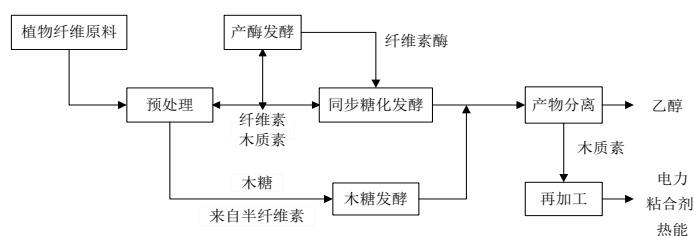


Figure 1. Main process flow chart of alcohol transformation from biomass of plant cellulose

图 1. 植物纤维类生物质转化为乙醇的主要工艺流程

4) 五碳糖的乙醇发酵

半纤维素虽然容易被分解，但是其水解产物中含有大量地戊糖，而戊糖一般不能被普通地酿酒酵母直接利用发酵制备乙醇。事实上，自然界存在若干能够发酵木糖制备乙醇的菌。但是，这些菌株需要严格的微氧条件，且不能受高浓度酒精及预处理产生的毒素[14]。

目前用纤维素生产燃料乙醇的技术已日趋完善，在生物质利用的关键技术方面，木质纤维素水解、微生物利用、生物反应器与产品提纯等技术都取得长足的发展，但其中用于纤维素发酵的生物酶价格过高，纤维素乙醇的价格无法与粮食乙醇相匹敌，也很难实现工业化生产。

4. 纤维素酶水解纤维素研究

纤维素酶糖化过程是纤维素生产乙醇发酵过程中的一个关键环节，酶水解效率直接接影响乙醇产率。纤维素酶是复合酶系统[15] [16]。植物纤维素的分解需要酶系统内的内切葡聚糖酶(EG)，外切葡聚糖酶(CBH)和 β -糖苷酶酶(BG)各种组分的协同作用完成植物纤维素的酶解反应，最终生产葡萄糖[17]。

1). 纤维素酶研究进展

纤维素酶最早是由 Serlliere 在 1906 年在蜗牛的消化液中发现的。李师翁等[18]从青藏高原牦牛粪便检查了强大活性的植物纤维素酶，其为低温放线菌，经典 16SrDNA 序列测定，表明其链霉菌属。目前，国内文献报道的纤维素酶到目前为止仍然不能实现工业化生产，市场供应不足。现在占据大部分酶制剂在中国市场是在丹麦诺和诺德公司，这一现象导致一直进口的纤维素酶的价格很高。国内生产纤维素酶厂家使用菌种和生产技术落后，生产纤维素酶成本高、活性也较低，纤维素酶未能产业化生产。我国对纤维素酶的需求量高，这种供不应求状况促使人们对纤维素酶的探究更加深入。

2). 纤维素酶水解过程研究

酶水解纤维机理及过程见图 2，将纤维素酶水解为可发酵性还原糖三个步骤：第一步，不能溶解地纤维素进行物理和化学处理。第二步，开始初始酶水解，可溶性物质利用酶水解纤维素得到可溶性的中间产物。第三，由上步反应所得的可溶性中间产物进行再次酶解，得到还原糖[19]。首先在葡聚糖酶内切的作用下从纤维素内部的开始工作，削减非晶区域，使原料生成新的分子量低的葡聚糖。外切葡聚糖酶进一步分解纤维素再次降低纤维素聚合度。我们可以从下面的现象进行判断，即纤维素水解后的时期，其末端含量大，推断出在酶水解开始时，酶复合系统内的内切葡聚糖酶在第一步水解过程中起到主要作用，而外切葡聚糖酶和 β -葡萄糖苷酶在第二步酶解过程中起作用。

3). 影响纤维素酶的主要因素

有许多因素可以影响纤维素酶水解的效率，纤维素的聚合度和晶度等材料，木质素纤维素材料的量，反应温度和 pH 值，底物的浓度等[20]。

4). 底物浓度对反应速度的影响

酶浓度不变时，纤维素浓度与反应速度关系为矩形双曲线，即当纤维素浓度较低时，酶的水解速度

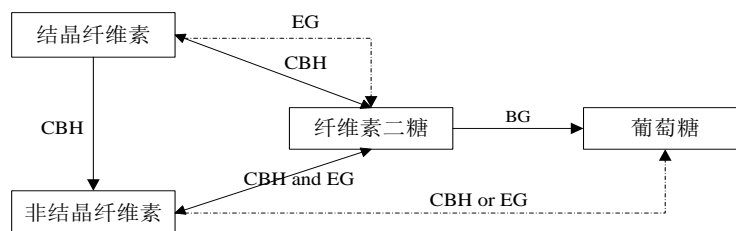


Figure 2. Mechanism and process of enzymatic hydrolysis of cellulose

图 2. 酶水解纤维素机理及过程

随着纤维素浓度的增加而增加；此后，随着纤维素浓度的继续增加，反应的速度增加量逐渐地减少；最后，当纤维素浓度增加至一定量时，反应的速度达到最大值后不再随纤维素浓度的增加而增加。根据实验的结果，Michaelis & Menten 在 1913 年推导出了米氏方程为矩形双曲线的数学表达式。 $V = V_{max}[S]/(K_m + [S])$ 。

式中， V_{max} 为最大地反应速度， K_m 为米氏常数。其二者意义：① $V = V_{max}/2$ 时， $K_m = [S]$ 。 K_m 等于酶促反应地速度达最大值的一半时的纤维素浓度。② 当 $k_{-1} \gg k_{+2}$ 时， $K_m = k_{-1}/k_{+1} = K_s$ 。 K_m 可以表示酶与纤维素亲和力的大小；其值越小，则表示酶与纤维素的亲和力越大；反之，则越小。③ 因此，可用 K_m 来判断纤维酶的最适作用底物；当纤维素酶有多种不同的酶解底物存在时，则 K_m 值最小者，为该酶的最适作用底物。利用 Lineweaver-Burk 双倒数作图方法和 Hanes 作图方法[21]可以测定 K_m 和 V_{max} 地值。

5). 酶浓度对反应速度的影响

在一定范围内纤维素酶浓度越高，纤维素水解速率越快。随着底物与酶解结合位点达到饱和时，纤维素酶浓度增加纤维素水解速率不在增加。因此确定适宜酶浓度即增加水解速率同时节约酶用量。

6). 酶解温度对反应速度的影响

酶促反应速率随温度增加水解速率的增加，酶解效率最大时的温度即酶最适温度。纤维素酶本质为蛋白质，达到最适温度之后继续增加温度蛋白质逐渐不可逆的变性、反应速度迅速下降。酶的最适温度与实验条件有关，低温酶活化分子数目较少，反应速率降低，但低温对酶解效率的影响为可逆性的，恢复至适宜温度后酶活性不变。

7). pH 对酶促反应速度的影响

酶的本质为蛋白质，因此 pH 值大小对蛋白质的活性影响很大。pH 值的高、低均影响酶的活性，酶反应时催化活性最高的 pH 值的被称为该酶的最佳 pH 值。植物体内地大多数酶的最佳 pH 值在 4.5~6.5 之间。

5. 纤维素酶解液酵母发酵制乙醇

纤维素酶解后产生可发酵的糖，在酵母作用下可以发酵制备乙醇。乙醇是无色透明的液体。有刺激性气味，吸湿性强，易挥发，易燃烧，乙醇与空气混合形成爆炸性气体，蒸汽爆炸极限为 3.5%~18%。乙醇可以使蛋白质变性和凝固。乙醇制备方法主要有两种：微生物发酵和化学合成。化学合成生产乙醇，主要利用石油裂解的乙烯与水加成反应生产乙醇。天然的纤维素制备生物燃料乙醇的过程主要包括：纤维素预处理、发酵和蒸馏回收乙醇三个阶段。预处理可降低纤维素的分子量；发酵则是利用酵母等微生物将可发酵的糖转化为乙醇，最后经过蒸馏方式得到纯度较高的乙醇。

葡萄糖通过发酵转换为乙醇都是用酵母作为菌种，很少利用细菌。工业生产主要用酵母属酿酒酵母，酵母能够发酵包括蔗糖和麦芽糖这两种二糖，葡萄糖、果糖、半乳糖、麦芽三糖和木酮糖这些底物。1810 年，Gay-Lussac 建立了酵母菌发酵葡萄糖生产乙醇的反应方程式，计算出乙醇的理论产量，反应式见公式(1)。由公式可以看出，100 g 的葡萄糖能够产生乙醇 51 g，二氧化碳 49 g；乙醇理论产量以重量计为 51%。在发酵罐中也发生其他生化反应，产生少量的副产品如甘油、杂醇油和 2,3-丁二醇等对乙醇产率有着直接或间接的影响[22]。



影响酵母发酵的因素有温度、pH 值、时间等。酵母的重复利用可以采用固定化酵母。固定化酵母技术是在 1960 年代生物技术、生物工程研究领域的重要开发之一。近年来，固定化酵母发酵利用不溶性材

料将其从发酵液中回收,效率高,特异性,可回收,容易反应过程流水线,连续和自动控制等优点。

我国在固定化酵母发酵研究较全面。温惠云等[23]利用海藻酸钠和壳聚糖为载体, Fe_3O_4 磁性材料粉末,地衣芽孢杆菌细菌干为模型,制备磁性细胞微胶囊,实现发酵产品的分离和纯化的目的。

6. 展望

我国是一个农业大国,有着丰富的农业纤维剩余物生物质资源,大力发展以纤维剩余物为原料制备的生物乙醇,对于解决当前石油资源短缺、增加农民收入以及减少环境污染等方面具有十分重要的意义。找到一种可工业化实施的酶水解及水解发酵技术是纤维素乙醇产业化生产的技术瓶颈。因此,加强选育纤维素酶,更好的降低纤维素酶的生产成本;研究更高效的固体发酵技术解决污染和回收成本问题;进一步开发出经济、节能、环保的工业化纤维素酶水解工艺势在必行。除上述问题外,纤维素原料的收集、贮藏和运输也是制约产业化的关键问题。

生物燃料乙醇的开发利用仍处于发展初期,需要科研工作者集中力量进行开发,实现纤维素剩余物制备燃料乙醇技术上的突破,为纤维素乙醇产业提供技术支撑;解决制约纤维素乙醇产业发展的原料供应问题,并逐步建立工业示范装置,为纤维素乙醇产业发展提供实践经验。

参考文献 (References)

- [1] British Petroleum Company (2013) BP Statistical Review of World Energy 2014. BP Plc., London, 1-5.
- [2] Field, C.B., Campbell, J.E. and Lobell, D.B. (2008) Biomassenergy: The Scale of the Potential Resource. *Trends in Ecology & Evolution*, **23**, 65-72.
- [3] 卢华平, 李文帆. 纤维素综合性应用与发展[J]. 轻纺工业与技术, 2013(3): 74-76.
- [4] Ragauskas, A.J., Williams, C.K., Davison, B.H., Britovsek, G., Cairney, J., Eckert, C., *et al.* (2006) The Path Forward for Biofuel and Biomaterials. *Science*, **311**, 484-489.
- [5] Koonie, S.E. (2006) Getting Serious about Biofuels. *Science*, **311**, 435.
- [6] Wyman, C.E. (2007) What Is (and Is Not) Vital to Advancing Cellulosic Ethanol. *Trends Biotechnology*, **25**, 153-157. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.02.009>
- [7] Chisti, Y. (2007) Biodiesel from Microalgae. *Biotechnology Advances*, **25**, 294-306. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
- [8] Levin, D.B., Pitt, L. and Love, M. (2004) Biohydrogen Production: Prospects and Limitations Topractical Application. *International Journal of Hydrogen Energy*, **29**, 173-185. [http://dx.doi.org/10.1016/s0360-3199\(03\)00094-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0360-3199(03)00094-6)
- [9] Carlson, T.R., Vispute, T.P. and Huber, G.W. (2008) Green Gasoline by Catalytic Fast Pyrolysis of Solid Biomass Derived Compounds. *ChemSusChem*, **1**, 397-400.
- [10] 李冬敏, 陈洪章. 变温调控对汽爆秸秆发酵产氢的影响[J]. 生物质化学工程, 2007, 3(41): 11-14.
- [11] Lee, J. (1997) Biological Conversion of Lignocellulosic Biomass to Ethanol. *Journal of Biotechnology*, **56**, 1-24.
- [12] Tilman, D., Hill, J. and Lehman, C. (2006) Carbon-Negative Biofuels from Low-Input High-Diversity Grassland Biomass. *Science*, **314**, 1598-1600. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1133306>
- [13] 冯国东, 周永红, 胡立红. 木质素液化技术研究进展[J]. 生物质化学工程, 2009(3): 37-41.
- [14] 李盛贤, 贾树彪, 顾立文, 等. 利用纤维素原料生产燃料酒精的研究进展[J]. 酿酒, 2005(2): 13-16.
- [15] Davies, G. and Henrissat, B. (1995) Structures and Mechanisms of Glycosyl Hydrolases. *Structure*, **3**, 853-859.
- [16] Lynd, L.R., Weimer, P.J., van Zyl, W.H. and Pretorius, I.S. (2002) Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **66**, 506-577.
- [17] 陈洪章. 纤维素生物技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 1-155.
- [18] 李师翁, 孔凯, 冯佳丽, 等. 产低温纤维素酶放线菌的筛选、鉴定及酶学性质初步研究[J]. 生物技术通报, 2010(7): 216-220.
- [19] Zhang, Y.H. and Lynd, L.R. (2004) Toward an Aggregated Understanding of Enzymatic Hydrolysis of Cellulose: Noncomplexed Cellulase Systems. *Biotechnol. Bioeng.*, **88**, 797-824.

-
- [20] Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., *et al.* (2005) Features of Promising Technologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. *Bioresource Technology*, **96**, 673-686. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2004.06.025>
- [21] 杨玉琼. 影响酶催化反应速率因素的探讨[J]. 贵州教育学院学报(自然科学), 2006(2): 66-68.
- [22] 曹利民. 基于代谢工程理论构建酵母菌株提高乙醇产量的研究[D]: [博士学位论文]. 天津: 天津大学, 2008: 101-102.
- [23] 温惠云, 齐智涛, 薛伟明, 等. Fe₃O₄-海藻酸盐微胶囊固定化细胞生长特性[J]. 环境工程学报, 2008, 2(6): 861.