

纤维素乙醇关键技术及进展

林鑫, 武国庆

[1.国家能源生物液体燃料研发(实验)中心, 北京 100020; 2.中粮营养健康研究院生物技术中心, 北京 102209]

近四十年以来, 为保障能源安全、减少大气污染及发展农村经济, 燃料乙醇异军突起, 乙醇汽油应用规模逐步增加, 使得传统酿酒工艺进入液体能源领域。伴随原料的转换, 在化学工程和发酵工程等学科的交叉带动下, 逐步孕育了纤维素乙醇工程这一新的分支。

2012年完成的中试经济评价为纤维素乙醇产业化奠定了基础, 在技术指标上虽与玉米乙醇有一定距离, 但已初步具备产业化条件。文章概述了纤维素乙醇工业化在原料、酶制剂成本、发酵效率、能耗和水耗、专用装备方面所面临的主要挑战, 在此基础上总结了纤维素乙醇预处理、酶解、发酵关键技术的研发进展及其在产业中的应用, 讨论了研发的热点和难点, 并对产业化发展模式及今后的技术发展方向作了展望。

自20世纪70年代以来, 为缓解石油短缺、解决“三农”问题、推进生态环保, 燃料乙醇产业得以发展, 使用量逐年增加, 2014年世界燃料乙醇产量已达到7400万吨, 由传统的酿造领域跨入液体运输燃料领域。近十年来, 在向非粮原料转换的过程中, 纤维素乙醇工程这一新兴学科分支逐步形成。

纤维素乙醇较第一代燃料乙醇在能量投入产出、温室气体减排方面有较大的优势, 作为第二代燃料乙醇已在美国、巴西、欧洲、中国等国家/地区建成上百套中试装置, 2012年纤维素乙醇完成中试技术经济验证后, 示范装置也已陆续开始建设。截至2014年底, 世界已有8套装置投入试运行, 累计产能超过40万吨/年。表1列出了世界主要纤维素乙醇示范装置, 预计到2017年, 全球至少有25个项目投产, 纤维素乙醇年生产能力超过100万吨。

表1 世界主要纤维素乙醇示范装置^{①-⑧}

投资方及项目地点	规模及投资	原料及产品方案	技术方案	投产时间
Ineos Bio 美国	2.4 万吨/年, 1.32 亿美元 (DOE0.5 ^① , USDA0.75 ^②)	植物及木材废料, 乙醇+6MW 电力	热化学气化和细菌发酵技术生产乙醇	2013.08
Beta-Renewables 意大利	6 万吨/年, 2.5 亿美元	芦竹, 乙醇+电力	PROESA 中性汽爆预处理, 纤维素酶解, 戊糖/己糖共发酵	2013.10
POET-DSM 美国	7.5 万吨/年, 2.5 亿美元	玉米秸秆、玉米芯, 乙醇+沼气	稀酸汽爆预处理, 纤维素酶解, 戊糖/己糖共发酵	2014.09
Granbio 巴西	6.5 万吨/年, 1.9 亿美元 +0.75 亿美元 ^③	蔗渣、秸秆, 乙醇 +135GW-h/a 电力	PROESA 预处理技术, 诺维信公司酶制剂, DSM 公司共发酵菌株	2014.09
Abengoa 美国	7.5 万吨/年, 3.5 亿美元 (DOE 1.34 ^④)	玉米秸秆、麦秸, 乙醇+21MW 电力	稀酸汽爆预处理, 纤维素酶解, 戊糖/己糖共发酵, Cargill C ₅ /C ₆ 菌株	2014.10
Iogen & Raizen 巴西	3.16 万吨/年, 1 亿美元	蔗渣、秸秆, 乙醇	Iogen 技术, 稀酸汽爆、酶解、共发酵, Raizen 公司甘蔗乙醇厂扩建	2014.12
Dupont 美国	8.3 万吨/年, 2.76 亿美元	玉米秸秆、玉米芯, 乙醇	氨爆预处理, 纤维素酶解, 戊糖/己糖共发酵	2015 年初
Beta-Renewables 美国	6 万吨/年, 1.70 亿美元 (USDA 0.99 ^⑤)	芒草和柳枝稷, 乙醇	中性汽爆预处理, 纤维素酶解, 戊糖/己糖共发酵	2015 年

经过多年中试研发的努力, 示范装置的技术水平已达到较高的程度, 采用先进技术的纤维素乙醇酶解底物固含量已达到25%, 得到糖浓度达140g/L, 发酵后乙醇浓度接近6% (质量分数)。然而, 这与技术成熟、发酵乙醇浓度超过15% (质量分数) 的玉米乙醇相比, 整体经济性还有待提升。

1 纤维素乙醇工业化遇到的主要挑战

剖析纤维素乙醇的各个工艺过程, 遇到的主要问题可以归纳为以下五个。

一是原料。包括所需原料的获取以及收储运的专用设备与设施。在我国, 农民家庭是农业中最主要的生产经营主体, 2012年农村居民家庭经营耕地面积为2.34亩/人(1亩约为666.67平方米), 这种经营方式导致原料来源分散, 加之一些地区道路情况复杂, 原料受气候条件限制, 可收集时间较短, 收集条件较为苛刻; 另外, 国产机械设备相对落后, 技术及质量标准体系不完善, 使这一问题格外突出。国家发展改革委、农业部、财政部在2011年11月发布的《“十二五”农作物秸秆综合利用实施方案》中提出“秸秆收储运体系工程”的概念, 要求探索建立有效的秸秆田间处理、收集、储存及运输系统模式。因此, 应加快建立以市场需求为引导, 企业为龙头, 专业合作经济组织为骨干, 农户参与, 政府推动, 市场化运作, 多种模式互为补充的秸秆收集储运管理体系。此外, 若能在家庭经营基础上推进农业经营体系的创新, 推进耕地的适度规模经营, 不仅可增加农民收入, 也无形中增加了可获取农林废弃物资源量, 降低收集难度, 取得双赢效果。

二是纤维素酶成本。酶成本(占总成本的20%~30%)是仅次于原料成本的另一项大支出。由于纤维素酶的比活力明显低于淀粉酶, 从而使纤维素乙醇的用酶量是淀粉乙醇用酶量的25~50倍。除了酶的自身生产成本外, 酶制剂的精制、运输等过程的成本约占总成本1/3以上。根据酶的不同活性, 在高干物浓度条件下, 纤维素酶加入量通常约占木质纤维素原料总质量的5%~10%, 而且酶解72h或者更长时间原料到糖的转化率才超过85%。同时与淀粉酶相比, 纤维素酶转化效率 $[g糖/(g酶 \cdot h)]$ 低99%以上, 成本高出约20~30倍。表2对比了淀粉乙醇和纤维素乙醇酶解指标。

表2 淀粉乙醇和纤维素乙醇酶解指标对比

	反应时间/h	葡萄糖转化率/%	酶加量/%	转化效率 /[g糖/(g酶·h)]	酶制剂成本 /(元/吨)
淀粉乙醇	13	90	0.2	38.5	60~70
纤维素乙醇	72	85	5~10	0.13	1200~2000

表3 淀粉乙醇和纤维素乙醇发酵指标对比

	反应时间/h	乙醇浓度 /%(质量分数)	发酵效率/[g乙醇/(L·h)]
淀粉乙醇	60~70(同步糖化共发酵)	15	2.4
纤维素乙醇	60	5	0.8

三是发酵效率。目前先进的玉米乙醇技术, 发酵60~70h醪液乙醇浓度可达到15%(质量分数), 发酵效率达到2.4g乙醇/(L·h)。而纤维素酶解液中混合糖浓度偏低(约14%), 经预处理产生的乙酸等醇

母抑制物浓度较高(2~5g/L), 同时, 基因工程菌株对戊糖、己糖代谢的不同步性也延缓了整个发酵过程, 因此, 一般发酵60h后, 乙醇浓度仅达到5%(质量分数), 发酵效率约0.8g乙醇/(L·h), 仅为玉米乙醇的1/3。可见, 无论是发酵菌株, 还是发酵工艺还有较大的提升潜力。表3对比了淀粉乙醇和纤维素乙醇发酵指标。

四是能耗和水耗。能耗方面, 主要是预处理和低浓度发酵液精馏的蒸汽消耗。为了保证纤维素原料的糖化效率, 预处理过程必须维持足够强度。从精馏的角度考虑能耗时, 问题则更为突出, 乙醇浓度小于5%时, 乙醇浓度每提高1个百分点精馏能耗都会明显下降。乙醇浓度的提高将使水耗成比例下降。

五是专用装备。预处理物料酶解时, 20%~30%浓度的底物起始黏度高达5000~8000mPa·s, 但在酶解2~5h后, 黏度会迅速降低至100mPa·s以下。为使高固、高黏物系下, 酶和物料快速均匀混合, 充分发挥酶的作用, 必须深入研究模拟高固、高黏物料流变性质, 为开发高效的酶解反应器提供设计依据。

2 纤维素乙醇关键技术进展

2.1 预处理

纤维素原料由纤维素、半纤维素和木质素3部分组成,木质素和半纤维素形成的结合层紧紧地包围着纤维素,阻碍了纤维素酶与纤维素的接触,处理过程中可溶性抑制物的形成使得原料预处理成为纤维素乙醇发展的瓶颈。研究证实,预处理过程的费用占总成本的20%左右,是除了原料和酶制剂之外成本比例最大的部分。因此,开发一种高效率、低能耗、低成本的预处理方法是研究重点。

为此,各国研究者尝试了大量预处理方法。已有的处理方法分为物理、化学和生物法或者是它们的综合使用。主要有机械粉碎、蒸汽爆破、氨爆破、稀酸处理、碱处理、湿氧化处理、超临界二氧化碳处理、超临界水处理、有机溶剂处理、生物降解等,现有示范装置考虑到经济性一般采用蒸汽爆破的方法。实现纤维素乙醇的生产,要求预处理尽可能提高纤维素和半纤维素收率,保证后续酶解获得更多的可发酵糖,避免使用对环境污染严重和对反应器要求较高的化学品,处理条件应相对温和。

原料固体含量的提高会产生一些反应器设计和生物过程操作上的工程问题。“气-液-固”多相发酵体系的黏度急剧增加,会使系统混合、传质和传热效率急剧下降。

另外,预处理不仅对过程本身具有重要影响,还几乎影响到纤维素乙醇工程的其他所有部分,包括纤维素生物质原料选择、预处理水解液脱毒、预处理后物料的酶解发酵水平、精制过程能耗、废水处理工艺等,需要在整体工艺、技术经济层面作综合考量。

2.2 酶解

纤维素酶解及酶制剂是当前纤维素乙醇工程的一个核心课题。木质纤维素的特殊结构使纤维素酶水解反应的可及性差,酶解前原料必须进行预处理。反应过程中酶的活性降低,需要消耗较多的酶制剂,反应时间长,而且酶解转化的效率低。特别是目前的酶制剂成本仍偏高。另外,木质纤维素原料一般含有较多的半纤维素,为提高原料利用率和乙醇产量,还要用到降解半纤维素的 β -木糖苷酶和木聚糖酶等。实际中,酶解过程由一系列酶蛋白协同完成木质纤维素的降解。

长期以来,酶制剂成本问题一直是阻碍纤维素乙醇产业发展的障碍。20世纪90年代,1加仑(1加仑=3.785升,下同)纤维素乙醇的酶成本约为5美元。为了降低酶费用,美国能源部为诺维信和杰能科公司提供资金研究纤维素糖化酶,2012年诺维信公司推出酶制剂产品Cellic CTec3,其转化效率比上一代CTec2提高了50%,拓宽了温度和酸碱度的适应范围,将纤维素乙醇的生产成本由2.5美元/加仑降至2.0美元/加仑。杰能科公司在同年推出的纤维素复合酶Accellerase® TRIO在Accellerse DUET基础上,提高了处理高浓度底物的能力,酶用量减少一半,可用于同步糖化共发酵(SSCF)工艺。荷兰帝斯曼公司也推出了商业应用的纤维素水解酶。诺维信公司和帝斯曼公司酶制剂产品针对稀酸汽爆预处理底物进行复配,杰能科公司被杜邦公司并购后,主要针对氨爆预处理底物复配优化酶制剂。中性预处理物料需要酶制剂有更高的半纤维素酶活力和更强的抑制物能力。这些成果都为纤维素乙醇的商业化奠定了基础。表4详细列出了主要的商业化纤维素酶生产商的产品及应用。

2.3 发酵

国内外对纤维素乙醇发酵的研究主要集中在两个方面:一是高产和高耐受力菌株的选育,二是发酵工艺的研究。

过去十几年的研发重点是菌株。菌株来源可以是自然界微生物资源中筛选的各种细菌、酵母、丝状真菌,也可以是现有乙醇发酵工业菌株。对于近千年人工筛选的酿酒酵母和经历几十年选育的运动发酵单胞菌这类工业菌株来说,具有发酵浓度高、耐受环境胁迫能力强的先天优势。因此,目前纤维素乙醇工业化菌株大多来源于工业酵母。通过基因工程技术改造普通酿酒酵母使其能够代谢戊糖生产乙醇的研究已持续了近20年。表5为几种主要商业化共发酵菌株性能的比较。经过基因改造和环境筛选,工业菌株已具备耐受高浓度抑制物、同时利用C5和C6糖、不通气条件发酵的能力,糖醇转化率可达40%~48%。共发酵菌株的优势是非常明显的,2013年在4000吨/年的纤维素乙醇试验装置上进行的测试表明,C5/C6糖共发酵菌株较之前的C6发酵菌株的乙醇得率提高40%。

表4 主要的商业化生物炼制纤维素酶生产商的产品及应用^⑤

公司名称	微生物菌种	代表酶产品	酶制剂应用
诺维信	里氏木霉 (<i>T. reesei</i>)、长枝木霉 (<i>T. longibrachiatum</i>)、黑曲霉 (<i>A. niger</i>)	Cellic CTec3、Cellic HTec3、Cellic CTec2、Cellic HTec2、Celluclast、Novozymes 188、Viscozyme L	木质纤维素底物水解
杜邦	<i>T. reesei</i> 、 <i>T. longibrachiatum</i>	Accellerase [®] TRIO、Accelerase DUET、Spezyme CP、Accelerase [®] 1500Multifect CL	专门开发第二代生物燃料的市售生物酶
Dyadic 公司	<i>T. longibrachiatum</i>	AlternaFuel [®] 100P、AlternaFuel [®] 200P	木质纤维素通过葡萄糖发酵转化为乙醇
天野酶	<i>A. niger</i>	Cellulase DS、Cellulase AP 30K	木质纤维素转化为可发酵糖
AB Enzymes	<i>T. longibrachiatum</i> 、 <i>T. reesei</i>	ROHAMENT [®] CL	特殊耐热纤维素酶的生物糖化
Specialty Enzymes & Biotechnologies Co.	芽孢杆菌 (<i>Bacillus</i> sp.)	SEBfuel G、SEB Amyl GA200、CelluSEB Fuel	液化和糖化
Iogen	<i>T. reesei</i>	Ultra-Low Microbial (ULM)	生物质糖化
Biocatalysts 公司	木霉菌 (<i>Trichoderma</i> sp.)	Cellulase 13P、13L	纤维素的完全降解

表5 几种主要商业化共发酵菌株性能比较^{③-④}

共发酵菌株	技术来源	原料	预处理	菌株性能
424A (LNH-ST)	普度大学	玉米秸秆	氨爆	总糖利用率 88.1%，乙醇转化率 44.0%
Z. mobilis 8b	NREL、Dupont	玉米秸秆	稀酸、氨爆	木糖到乙醇转化率 42.9%，纤维素到乙醇转化率 48.0%
Royal Nedalco	帝斯曼	玉米秸秆	稀酸	总糖利用率 95.4%，乙醇转化率 45.4%
CB1	嘉吉	玉米秸秆	稀酸	时空产率 >0.5g/(L·h)，乙醇转化率 >40.9%
CIBTS0735	诺维信和上海工业生物技术研发中心	玉米秸秆	稀酸	发酵液中 8.4 g/L 乙酸、2.6 g/L HMF 条件下，转化 82.3 g/L 葡萄糖 +46.7g/L 木糖为 51.8 g/L 乙醇，转化率 40.2%

菌株改造的方式多种多样，成熟的有诱变育种、定向筛选、代谢工程等，此类方法常常面临后续繁重的筛选工作，且容易在过量表达某些靶基因后引起整个代谢网络的失调，而不能达到预期效果。新兴的系统生物学、合成生物学的方法对此进行了补充和提升，可以通过系统生物学的方法充分理解细胞的整体代谢网络，以及环境胁迫因素对其内部调控的影响；通过合成生物学设计新的代谢途径，使用更有效的不同源或修饰后的酶系统，避开原有代谢通路的限制。这些方法的应用，预计会解决目前的一些难题，如C5/C6糖的发酵不同步（引进外源木糖高效专一转运系统）、抑制剂导致的C5糖转化效率低等，从而大幅提高产品的得率及生产效率。

发酵工艺研究十分活跃，有时也将酶解与发酵两步工艺一起考虑。已有的工艺主要包括：分步糖化发酵（SHF）、同步糖化发酵（SSF）、同步糖化共发酵（SSCF）和统合生物加工（CBP）工艺等。虽然SSF工艺可消除酶制剂的部分产物抑制作用，减少酶制剂用量，缩短反应周期，节省设备投资，但由于目前酶解和发酵反应的最优温度相差较大，商业化的纤维素乙醇装置一般使用SHF工艺。CBP工艺化繁为简，将多糖水解酶的生产、水解糖化、C5/C6共发酵等

多个过程使用一种或多种微生物在同一反应器内一步完成，是发酵工艺的终极目标，但难度很大。目前的CBP工艺尚未成熟，乙醇终浓度较低，其主要原因是尚未开发出既能有效分泌全部CBP所需的酶，又具备高产、高耐受能力的微生物或微生物集群。但CBP工艺仍是未来的发展方向，有研究预计，若采用成熟的CBP工艺取代SSCF工艺，生物转化过程将节约3/4的成本，木质纤维素生产乙醇的整体工艺将节约1/2的成本。

3展望

目前的示范装置仍处于技术经济考核阶段，还会出现一些新问题，若能从整体工艺优化、整个系统经济性的角度出发，可能会采用更有效的组合方式降低预处理强度，提高酶制剂和发酵菌株的性能。如在预处理过程中，不同工艺及条件的选择不仅会关系到处理效果的好坏，也会影响处理原料的要求，酶解所需酶制剂的复配方式和用量（涉及不同酶蛋白类型和数量的组合），发酵液中抑制物的浓度，以及污水中的COD、硫酸根或氨氮负荷强度，因此预处理和其他工段需要加强协同和配合，以最终的能耗和经济性为目标，找到整体工艺的平衡点。

在纤维素乙醇示范装置的建设中，跨行业企业的合作已经越来越多，商业运作模式在未来将进一步完善，纤维素乙醇生产商与酶制剂公司及乙醇菌株公司将进一步加强合作，发展原位产酶/菌株、用酶/菌株的模式，从而大幅度降低酶制剂/菌株在精制、运输和包装方面的成本。

截至2012年底，世界纤维素乙醇专利申请已超过4000件，新型预处理技术、新菌株、新型酶制剂、代谢途径等相关研究成果不断涌现。随着新技术的发展、成熟，相关的技术成果会在工业界得到应用。如通过理性设计的蛋白质工程技术提高生物过程的效率和稳定性；利用合成生物学等尖端技术补充成熟基因工程的方法，通过自下而上重新修改和组装细胞工厂的单元、部件，一方面可提高生物系统中目标产物（如乙醇）的产率，将副产物（如乙酸、甘油等）通过重组体系也转化为目标产物，另一方面，优化胁迫耐受性的基因组成和表达调控方式，使菌株更好地适应工业生产过程（如温度波动、低pH、抑制物、杂菌等）。

此外，乙醇发酵碳原子利用效率的问题也有望通过设计新的代谢途径加以解决。有研究构建了非氧化糖酵解（NOG）途径，可使戊糖、己糖中全部的碳转化为乙酰辅酶A（CoA），并可与CO₂的固定及其他C₁化合物的同化途径相结合，实现100%的碳转化为所需的燃料和化学品。还有研究在酵母代谢途径中插入外源酶基因，将抑制物乙酸转化为乙醇，同时消耗在木糖代谢过程中可能盈余的NADPH，使辅酶利用更加平衡，木质纤维素发酵生产乙醇的产量增加10%。

随着整体工艺优化的不断探索和实践、传统能源化工企业与生物技术企业更紧密合作模式的建立，以及新技术、新成果在产业化装置的应用，纤维素乙醇的技术经济性有望实现突破，从而推动纤维素燃料乙醇产业的健康发展。

原文地址：<http://www.china-nengyuan.com/tech/98248.html>