

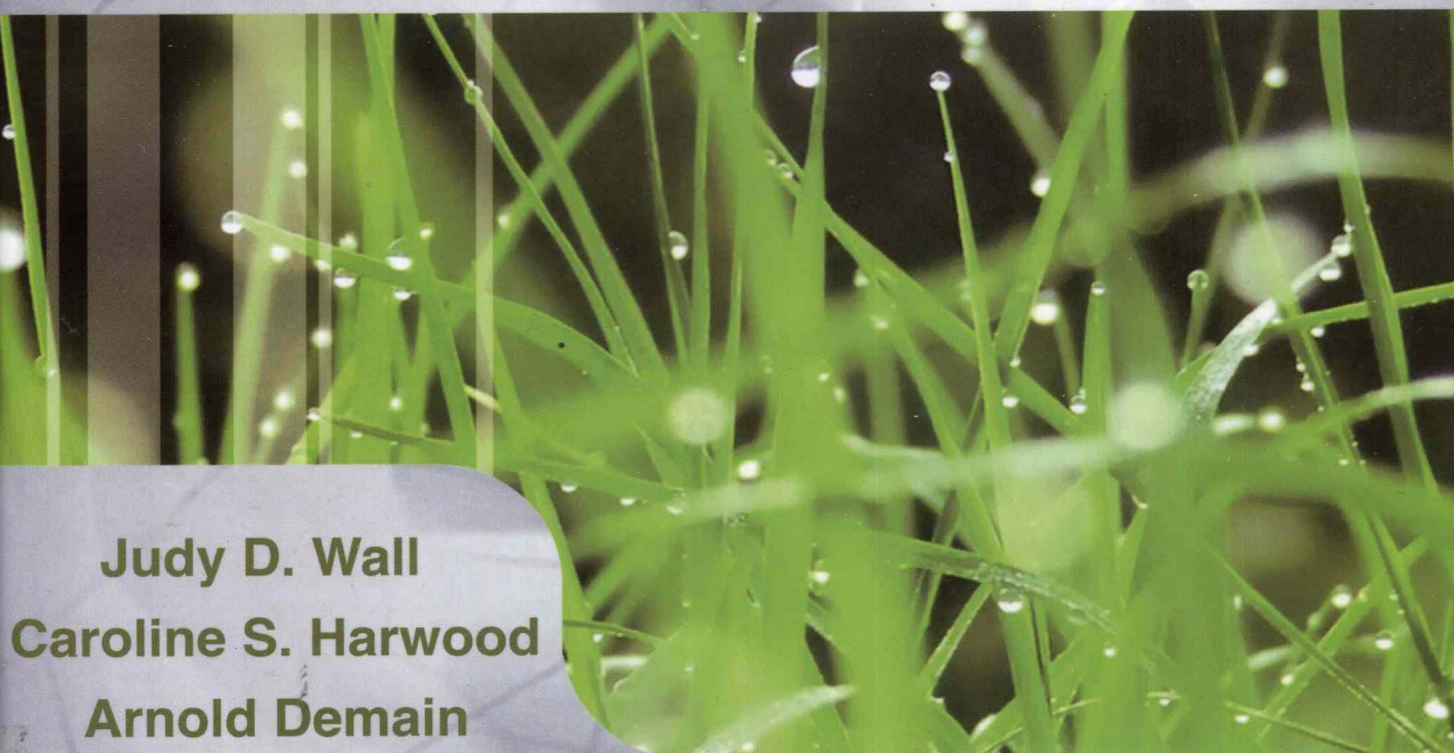


新能源技术应用系列

· 导读版 ·

生物能源

BIOENERGY



Judy D. Wall

Caroline S. Harwood

Arnold Demain



原版引进



科学出版社

新能源技术应用系列

Bioenergy

生物能源

EDITED BY

Judy D. Wall

University of Missouri-Columbia

Caroline S. Harwood

University of Washington, Seattle

Arnold Demain

Drew University, Madison, NJ

科学出版社

北 京

图字:01-2011-2228 号

This is an annotated version of

Bioenergy

by Judy D. Wall, Caroline S. Harwood and Arnold Demain

Copyright © ASM Press, 2008. All rights reserved. Translated and published by arrangement with ASM Press, Washington, DC; USA.

ISBN: 978-1-55581-554-7

No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopy, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher.

AUTHORIZED EDITION FOR SALE IN P. R. CHINA ONLY

本版本只限于在中华人民共和国境内销售

图书在版编目(CIP)数据

生物能源=Bioenergy:英文/(美)华尔(Wall, J. D.)等编. —北京:科学出版社, 2011
ISBN 978-7-03-030841-2

I. ①生… II. ①华… III. ①生物能源-研究-英文 IV. ①TK6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 070458 号

责任编辑:贾明月/责任印制:钱玉芬

封面设计:耕者设计工作室

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京佳信达欣艺术印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011 年 6 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2011 年 6 月第一次印刷 印张:30 插页:4

印数:1—2 000 字数:710 000

定价:128.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

序

《生物能源》一书简明扼要地介绍了通过微生物转化的各类可再生能源。每一章都由从事相关研究的资深专家撰写,这些专家同时也是未来研究方向的奠基人。本书并没有打算将生物能源领域全部囊括,新的科技前沿应由创造力无限的读者自己去发掘。

在编写本书的过程中,这些微生物学者意识到,我们有义务为能减少化石燃料需求的碳中立可再生能源发展开拓新道路。我们当中的许多人还能清楚记得 1973~1974 年美国的石油危机,当时油价狂飙,加油站前等着加油的汽车排成巨龙长队。而现在,油价又再次飙升,但这次并非政治原因,而是由于对石油的需求增加,同时供应量减少。如果任由其发展下去,其经济影响会导致社会结构的崩坏甚至大混乱,而且这次危机不会仅限于美国,会波及全球。我们现在迫切需要快速开发替代燃料以度过过渡期,从而避免因燃料严重短缺造成的不稳定性。

毫无疑问,单一的替代能源不可能满足所有需求,所以任何一种可用的能源都不应被忽视。在漫长的进化史中,微生物通过几乎每个化学反应来生成养分;而现在,我们须重点关注这些数量非常丰富的资源,以有效地满足对能源的庞大需求。由光合作用生成的生物物质是其中一种理想的资源,而微生物转化生物物质的过程已被证实颇有成效。

因此,这本书首先以 10 章来介绍比玉米乙醇更加经济可行且可持续的纤维素乙醇;紧接着,我们将探讨在开发中或仍在构思中的各个阶段的能源现状,包括甲烷、甲醇、氢能、电力、丁醇等。这些章节都反复强调,所有的这些能源都亟需进一步开发。我们希望这份关于所有进行中的研究的汇总,能给拥有先见之明的科学家一点启发和灵感,进而帮助突破一些颇具影响力的技术问题。大概浏览一下目录,对此感兴趣的业外人士就会发现,众多值得注意的微生物活动都具有为生物燃料生产作贡献的潜力。

我们要感谢美国微生物科学院在 2006 年 3 月举办的一次名为“微生物能源转化”的关键问题座谈会,本书的三个编辑都出席了此会。我们特别感谢科学院院长 Carol Colgan,其卓越的组织能力保证了整个讨论会的圆满成功。本次座谈会同意编写一本能概括微生物在生物燃料制造中的参与和作用,并指出未来发展方向的著作,《生物能源》便是这次初步商谈的结晶。

具有讽刺意义的是,1973~1974 年的石油危机也促成了一次专业座谈会的举办,当时顶尖的微生物学家和工程师都有出席。主办方是联合国训练研究所(UNITAR)和联邦德国研究技术部,主旨是回顾生物物质生产和将生物物质转化为能源中包含的微生物反应过程。这个座谈会的讨论结果也汇总成一本值得推荐阅读的书,名为《微生物能源转换》(*Microbial Energy Conversion*),编者是 H. G. Schlegel 和 J. Barnea,在 1977 年经 Gamon Press 出版。两本书的主题相近,均强调了过去对支持生物能源发展的疏忽,我们由于能源的暂时满足而缺少发展替代能源的紧迫感。

对替代能源的忽视只是过去专属的奢侈,这种情况绝不会重现了。

(李十中 译)

第一卷 生物乙醇

第一章 从玉米、甘蔗生产燃料乙醇

出于经济、能源安全和环境等方面的考虑,燃料乙醇的生产和使用在全世界范围内扩大增产。在美国,乙醇被用作充氧物以减少汽车尾气排放、对进口石油的依赖以及国内石油生产干扰的风险。使用乙醇的另外一个优势是拉动农村经济。巴西和美国是世界上两个最大的乙醇生产国和消费国。以 10%~22% 的比率掺混的乙醇可被传统的汽车发动机兼容,更高比率的燃料可在“灵活燃料车”中使用。

本章从乙醇发酵的生物学理论入手,介绍了从玉米淀粉转化成可发酵糖(葡萄糖和蔗糖),再从可发酵糖转化成乙醇的过程,特别介绍了能够参与其中的酵母菌。

其后描述了玉米乙醇工艺,这项传统工艺可分成干法研磨和湿法研磨两种。前者分为淀粉转化、糖化作用和发酵、蒸馏和脱水、釜馏物加工和动物饲料生产几个方面;后者着重于浸泡、油/纤维/谷蛋白分离和淀粉转化过程。最后介绍了玉米乙醇工艺的未来发展动向:如用转基因方法可针对性改良玉米品种以方便提取糖分;在低温下固态淀粉水解,无需蒸汽液化以达到发酵最佳温度;以及结合了湿法研磨和分馏技术的干法研磨,以提高副产品产量等。

甘蔗乙醇被巴西大规模使用,本章介绍了甘蔗在发酵前的加工处理、原料制备、发酵过程、蒸馏和脱水、釜馏物加工、蔗渣处理等环节。

燃料乙醇的生产和使用可持续增长。改良作物品种、酶制剂和原料等可提高乙醇工艺的生产力,工艺的改进也可为产品增值。未来,能够加工整株玉米(淀粉、纤维和秸秆)或甘蔗的生物炼制厂可同时生产液体燃料、食用油或糖、动物饲料、粉末、聚合物或化学中间产物等。即使木质纤维素原料也进入生产环节,淀粉和糖分会一直在乙醇生产中发挥重要作用。

第二章 通过 *Saccharomyces* 酵母菌转化的木质纤维素生物质

包括木质纤维素材料和农林残留物在内的可再生生物质是生物乙醇生产的廉价原料。其中,农业残留物(玉米、小麦和水稻等的秸秆)、农业加工副产品(玉米纤维、稻壳和蔗渣等)、能源作物(如柳枝稷)都可用来当作糖分的廉价来源,用于生产生物燃料。目前,木质纤维素生物质到可发酵糖的转化存在着一定的技术和经济难题,其成功相当程度上取决于高效的预处理程序,随后的木质纤维素底物也需要高效的酶制剂转化成可发酵糖;另外还取决于具胁迫耐受性的微生物催化剂。木质纤维素生物质在预处理基础上能自动或在酶水解作用下生成一系列的五碳糖和六碳糖。传统的 *Saccharomyces cerevisiae* 酿酒酵母能将葡萄糖高速高效地发酵成乙醇,但在五碳糖(木糖和阿拉伯糖)中它产出乙醇的功能就很有限。虽然有些酵母菌种(*Pachysolen tannophilus*、*Pichia stipilis* 和 *Candida shehatae*)拥有将木糖转化成乙醇的能力,但大多数菌种耐受性较差,乙醇发酵率低。经基因改造的 *S. cerevisiae* 被证实能够将木糖转化成乙醇(Kötter et al., 1990)。由于它的乙醇生产能力和对抑制物的高耐受性,它被认作是从木质纤维素衍生的水解物中所含

六碳糖的最佳发酵酵母菌种。

具成本效益的可持续木质纤维素生物质转化成乙醇的工艺在未来主要存在两项挑战:异源糖的利用,和用于生物乙醇生产的催化发酵菌的胁迫耐受性基因工程。在这一章里,我们回顾了木质纤维素生物质的组成和结构的现有知识,它的预处理,酶参与的糖化作用(把纤维素和半纤维素转成单糖),把玉米纤维转化成乙醇,*S. cerevisiae* 利用木糖、葡萄糖和异源糖的发酵,原位脱毒的原理,通过定向进化性适应的菌种改良,产乙醇酵母的功能基因组学等。

为了实现具成本效益的稳定的生物质-乙醇工业,需要一支跨领域的团队在研究开发上不懈努力;同时也需要及时到位的研究资源和资金。基因工程是充实产乙醇菌种 *S. cerevisiae* 的综合遗传学背景知识的关键所在。从基因上改造的定向进化性适应,聚焦在特定分子功能改良和在实验室设定下的代谢动态,是一个改良和开发理想菌种的强大工具。这项技术与常规的遗传学研究知识结合,能为我们开拓产乙醇酵母 *S. cerevisiae* 的新视野。一个全面的基因组工程可使我们在往后 10 年或更远的未来更有把握迎接高效木质纤维素生物质转化乙醇技术的挑战。

第三章 用于半纤维素水解物发酵的毕赤酵母基因组工程

毕赤酵母(*Pichia stipitis*)是一种半子囊类真菌,与几种内共生的酵母相近,这种甲虫生长在腐烂的白色硬木中,并靠分解木头为生。这些真菌貌似非常适应这种环境,因为 *P. stipitis* 的基因组序列中显示了许多能在木栖昆虫的体内存活和生长的特征。因此它能够在木聚糖上生长并让其发酵,且能够利用木材里存在的所有主要糖种(木糖和纤维素多糖)。它能够同化并发酵纤维二糖。另外,据研究报告,在有氧培养下,它能够将低分子量的木质素相关的芳香醛,如 3,4-二甲氧基苯甲醛和 3-甲氧基-4-羟基苯甲醛转化成相对应的醇类和酸类。

本章着重分析毕赤酵母的遗传系统、遗传转化、代谢调节、基因组结构,对麦芽糖、半乳糖和甘露糖的利用,糖同化途径以及葡萄糖和木糖运输等。这种酵母的乙醇产率比较高且能够代谢所有常见的糖种。科学家们开发了一种特殊的遗传系统,包含营养缺陷型标记 *URA3* 和 *LEU3*,还有抗腐草霉素 D1 标记的修改型 *Sh ble* 和 *Cre* 重组酶。这个系统被用于扰乱真菌呼吸能力,从而提高发酵率。基于表达序列标签和基因芯片的表达分析可指导进一步的基因改造。*P. stipitis* 的许多基因位于功能性相关的基因簇上。我们需要进一步的代谢工程和菌种选育以增加总体发酵率和 *P. stipitis* 对乙醇的耐受性,以实现半纤维素水解物的商业性生物转化。

第四章 乙醇,生物质和梭菌

近 30 年来,以乙醇为代表的生物燃料与石油的竞争和替代问题已成为全世界经济和政治争论的重点。然而,如果要继续满足运输业对燃料的需求增长,目前的生物燃料产业必须从谷物粮食原料转移到替代的可再生原料,如非粮食木质纤维素生物质。非粮生物燃料拥有众多优点,如原料成本低廉、可持续性较高、加强能源安全、减少温室气体等。但目前在纤维素水解反应解开可发酵糖分的过程中存在一定困难。现研究者正积极开发高

效的预处理过程,以破坏木质素外层的晶体结构,增加气孔数量,使半纤维素和纤维素溶解,且使酶制剂易于接近目标聚合物。

目前有一种基于热纤梭菌(*Clostridium thermocellum*)的无氧共培养技术,可以生产木质纤维素乙醇,它可以将糖化和发酵结合到一起。热纤梭菌含有的独特的纤维体(cel-lulosome)是一个蛋白质复合体,能够增强酶与纤维素的亲和力。这个合并的生物工艺的特色包括:①嗜热厌氧菌 *C. thermocellum* 能同时产纤维素酶和半纤维素酶;②将纤维素转化成纤维寡糖和纤维二糖;③将包括阿拉伯木聚糖的半纤维素转化成单体木聚糖、木二糖、木寡糖和五碳糖;④*C. thermocellum* 从纤维素分解产物转化到乙醇;⑤结合嗜热厌氧解糖菌(*Thermoanaerobacterium saccharolyticum*)将半纤维素分解产物转化成乙醇。

这个无氧嗜热共培养系统的优点在于:①单步式实现糖化和乙醇生产,且减免了真菌酶制剂的成本;②不需要昂贵的氧气运输;③减少污染问题;④最低的冷却需求;⑤微生物的嗜热性方便了乙醇的转移与回收;⑥细胞产量少,相对更多的底物就能转化成乙醇;⑦利用纤维素的生產率和代谢率都相当高;⑧能够利用纤维素、半纤维素、葡萄糖、淀粉、木聚糖、木糖、甘露糖、半乳糖和阿拉伯糖。

第五章 利用嗜热性细菌纤维素生物质联合生物工艺产乙醇

阻挡生物燃料产业发展的直接原因其实是加工费用,而非原料费用(纤维素生物质原料价格仅为 3 美元/GJ,相当于 17 美元/桶的石油价格)。在降低从生物质转化成糖分的工艺成本方面,无添加糖分解酶的一步是微生物转化,又称作联合生物工艺(CBP),因其拥有革命性突破的潜力,已经得到了越来越多的认可。当高级同步糖化与共发酵过程被成熟的 CBP 技术代替,每生产 1 加仑的乙醇所需酶成本仅需 0.10 美元,CBP 在生物加工环节中开支可为原来的 1/4,总体运行开支为原来的一半。

但这一工艺亟需一种配套的微生物,能够从经过预处理的生物质中迅速利用纤维素等成分,同时产出大量高浓度的乙醇。目前在自然界中尚未发现拥有双重特点的微生物,于是科学家们在能够产乙醇或利用纤维素的微生物身上进行基因工程,企图使其同时具备两种能力。

由于与温度成正相关的微生物水解结晶纤维素作用,嗜热菌成为科学家在 CBP 的研究兴趣之一。代谢需走发酵途径而非呼吸途径才能大量产出乙醇,热纤梭菌(*Clostridium thermocellum*)正是表征最详细的分解纤维素的发酵嗜热性微生物,且其纤维素利用率是目前观测的最高值之一。除此之外,一些嗜温性细菌(最佳生长环境接近 60℃)和一些极耐高温的分解纤维素细菌也可用作潜在的 CBP 宿主。

这一章在 CBP 的配置下关注嗜热性细菌产乙醇,重点是作为开发 CBP 配套微生物中的最大技术挑战——纤维素转化,特别是微生物分解纤维素过程近年来的进展。本章强调了非葡萄糖组分的糖分转化,因这类转化是 CBP 的必要缓解;对近年用嗜热性微生物在这方面的进展也作了概括。在 CBP 背景下,本章回顾了嗜热性细菌的多样性和生态学、对非葡萄糖成分的利用及对乙醇的耐受性;介绍了微生物纤维素转化的基础知识,包括底物同化作用和生物能量学、酶-微生物协同作用、底物捕获、对合成纤维素酶的调节和纤维素利用率等。接着回顾了与 CBP 配套微生物有关的非特异性基因位点突变、遗传系统开发和代谢工程的新近进展。最后,我们对 CBP 的可行性、可取性和障碍、不确定性等

发表了最新的观点。

第六章 纤维体增强型生物质转化:通往生物乙醇的道路

作为热纤梭菌(*Clostridium thermocellum*)的纤维素酶系统优点之一的纤维体(*celulosome*)在对付顽抗纤维素方面的更大潜力被重点提出。本章首先介绍了 *C. thermocellum* 的原型,接着介绍纤维体的趋异、组成部分及这些组成部分在各种微生物里的调节和表达,包括 *C. thermocellum*、*C. cellulovorans*、*C. cellulolyticum* 等。本章还探讨了共培养发酵的潜力,*C. thermocellum* 和其他分解糖分产乙醇的细菌一起培养,可共享纤维二糖、纤维寡糊精等,达到更高的生长率和生产力。未来,纤维体在生物质转化中的应用有好几种可能性,如设计人造纤维体(从基因重组的纤维体组分上构成不同纤维素酶和其他相关酶的复合体),以及在不能自然降解纤维素但可产生合意生物质产品的微生物细胞表面植入人造纤维体。

第七章 中温菌的纤维体

中温菌的细胞体外壁也镶嵌有纤维素酶复合体——纤维体。这一章只讨论表征完毕的拥有两个组成部分的中温菌纤维体。这些组分包括:①一种或几种含有酶结合位点(cohesin)的支架蛋白(scaffoldin);②含有对接域(dockerin domain)的纤维体酶。支架蛋白的酶结合位点和纤维体酶的对接域的互动作用,让细胞体外的多亚单位酶复合体(纤维体)组装起来。讨论主要针对的是纤维体的酶和催化特性。

对中温菌的纤维体的基础研究又如何联系到我们社会的能源需求呢?为此,纤维体的研究应至少提供以下信息:①纤维体酶和非纤维体酶对生物质降解的协同作用;②拥有特定功能的人为设计纤维体的构建;③利用纤维体酶对植物细胞壁进行自溶作用;④用作生产理想产品的纤维体酶异源表达。

第八章 酶结合位点-对接域的相互作用和纤维体蛋白折叠

这一章详细叙述了两种蛋白的特定位点间的相互作用如何生成纤维体,介绍了对接域(dockerin)和酶结合位点(cohesin)的初级结构、结合特异性、亲和力、对接域的 ST 基序在不同菌种的特异性、酶结合位点的分子结构以及酶结合位点-对接域复合体的分子结构等。

通过众多研究小组约 20 年来对纤维体的研究,纤维体组装的机理谜团终于被揭开。在 *C. thermocellum* 中,I 型和 II 型的酶结合位点-对接域复合体给予了不同菌种的结合特异性,实现了纤维体的有序布局。纤维体的催化性亚基通过在各亚基上的 I 型对接域和 CipA 的 I 型酶结合位点的相互作用,组装成纤维体。另一方面,纤维体通过 CipA 的 II 型对接域和表层蛋白如 SdbA 等的 II 型酶结合位点的相互作用锚定在细胞表面。值得注意的是,酶结合位点和对接域序列的轻微变化就可造成种内和种间的特异性,为纤维体组装奠定了基础。

第九章 功能域相互作用和钙结合对碳水化合物活性酶的稳定性的作用

这一章概述了碳水化合物活性酶的模块结构,并分析了功能域间的相互作用对这些既有趣又重要的蛋白质的结构、稳定性和功能性的影响。虽然这些蛋白质中的大多数都是较为复杂的分子机器,但当中的催化域被不同的非催化性的辅助模块所包围,它们位于蛋白质内的一个特定位置,常与旁边特定的模块相关联。模块长度不等,拥有各种不同的功能,参与复杂的通信和互动作用。一系列的特定域间的相互作用大大稳定了整个蛋白质分子。大型的纤维体催化酶(如 *C. thermocellum* 的 CbhA)的模块间的结构和通信由钙结合来调节。域间相互作用和串扰的复合体性质已被结构和构象分析并确定了。甚至域间的接头对于碳水化合物活性酶的功能性也是非常重要的,这些接头可当做“分子弹簧”,让催化部位能接触继而水解糖苷键。这些研究结果的结论可概括为:模块式的碳水化合物水解酶中的域间相互作用增强了催化部位的活性。

第十章 产乙醇细菌在燃料乙醇生产上的开发

最近在能源界发生的事件、气候变化和环保需求等,刺激了利用植物衍生材料作为液体燃料生产燃料的各项技术的发展。其中影响最大的事件当属石油的成本上升,其原因不仅是供应的不稳定性和不确定性,也因为全世界对内燃机燃料需求量的急剧增加。

目前对于开发可再生的国产燃料供应的关注影响着政府和金融机构的行动,其背后所需的技术也已经开发了多年。本章的重点放在了两种已证实可在将植物原料转化成液体燃料的化学和物理过程中发挥作用的高效微生物:大肠杆菌(*Escherichia coli*)和产酸克雷伯菌(*Klebsiella oxytoca*)。

能高效地将生物质来源里的所有主要糖分高效转化的生物催化剂的开发,是可再生资源生产乙醇产业化的关键一步。尽管如此,在评估这种未来技术的经济价值时,还是必须全局考虑。有些科学家首先选定一种工艺,然后再设计合适的生物催化剂以优化预设的工艺。本章所介绍的是另一种方式,即先选择一种高效的微生物,然后建起一套能利用该微生物的特性优势的工艺。作者相信这条途径是实现首创木质纤维素乙醇工厂的最快方法。

第十一章 金孢子菌属纤维素酶和木聚糖酶产纤维素生物燃料

纤维素酶和半纤维素酶是非常活跃的解聚酶系统,通过合作和动态协同作用,将生物质多糖转化成可发酵的单糖,如葡萄糖、木糖和其他相关的六碳糖、五碳糖等寡糖。纤维素酶和半纤维素酶因此在许多行业有广泛的应用,如食品、饮料、纺织、饲料和造纸等。

金孢子菌属 *Chrysosporium lucknowense* 是纤维素酶和半纤维素酶的真菌性过剩生产者。在每升的发酵液中,*C. lucknowense* 能产出超过 100 g 的蛋白质,分泌的蛋白质的主要成分正是纤维素酶和半纤维素酶。*C. lucknowense* 的酶配制剂在纤维素糖化过程中效率较高,总的来说,*C. lucknowense* 的纤维素酶和半纤维素酶在降解木质纤维素材料方面有很大的潜力。

本章分别介绍了 *C. lucknowens* 的这两种酶,特别是纤维二糖水解酶、内切葡聚糖酶、纤维素酶之间的协同作用和 *C. lucknowens* 纤维素酶在水解纤维素的潜力。

细丝状真菌是自然界中最常见的木质纤维素生物质分解者。这些真菌细胞工厂是各种糖基水解酶的复杂组合,如纤维素酶、半纤维素酶和其他辅助酶。科学家证明了真菌多酶复合体在纤维素生物质糖化过程中的水解效率,这个协同作用机理很大程度上取决于每个单一酶组分的性质和它们在混合酶配制剂中的比例。预处理、酶糖化和发酵过程等的低成本综合运用,在纤维素乙醇和其他替代性发动机生物燃料及化学品的商业化进程上开拓了一条有希望的道路。所有这些努力的结果会最终促进石油经济成功过渡到生物质燃料经济。

第十二章 从合成气产乙醇

在木质纤维素生物质发酵的研究中,另有一种称作间接发酵的方法,即生物质首先在气化炉中经热裂解转化成主要由一氧化碳、二氧化碳和氢气(如在气化炉中使用空气而非氧气,还含有氮气)组成的合成气。合成气可送入发酵过程,或转化成一系列其他所需产品,包括乙醇。另外一个有吸引力的潜在用途是把一氧化碳充入生物燃料电池中用来发电。

用厌氧性细菌把一氧化碳发酵成乙醇是仅仅不久前才发现的生化过程。这些细菌全都是产乙酸菌,它们的产乙醇功能是后来才发现的。一氧化碳本身的存在对于产乙酸菌生产乙醇代替醋酸是关键。目前的猜测是,一氧化碳充当了一种有效的还原剂。这一章里介绍了三种被确定能从一氧化碳生产乙醇的微生物:*Butyribacterium methylotrophicum*、*Clostridium ljungdahlii* 和 *Clostridium carboxidivorans*。

间接发酵对比起直接发酵有几个优点。生物质到合成气的热裂解反应被很广泛认为是一种成熟技术,如煤炭的气化工艺。热裂解是一种快速的放热过程,一个相对较小的单位可以处理大量的生物质。例如,一个直径才 25 cm 的气化炉中试装置每天能处理重达 1000 公斤的生物质。相比之下,直接发酵需要大发酵罐和相对较长的处理时间才能糖化生物质。即使完成了糖化,生物质的木质素依然保留;但在气化炉内,这些木质素和纤维素、半纤维素一起统统转化成合成气。这就诠释了气化炉为何能把任何可燃物甚至通常认为不可燃的原料产出合成气,如废水中的淤泥等。但由于生产率较低,而且产物在液体中的浓度较低,所以其发展受到了限制。

第二卷 甲烷生产

第十三章 乙酸产甲烷

地球的生物圈每年大概产出 10 亿公吨的甲烷。甲烷(沼气)是厌氧环境下的复杂有机物分解后的最终产物,这个过程是全球碳循环的重要一环。

生物性制沼法被用于处理有机废物和生产甲烷生物燃料。市政污泥处理厂开发了这一工艺,用于民用和工业废物的大型处理,减少了 75% 的可挥发固体数量,与此同时用沼气发电支持工厂电力运作。垃圾填埋场生产的甲烷也为当地能源需求作出重大贡献。在发展中国家,该工艺用于家居废物的小型处理和家庭的供热做饭等。因此,可持续生产植物生物质的生物性制沼法具有替代化石燃料的潜质。甲烷的能量含量是等重氢气的三倍,且甲烷易于存放运输;而且,有可能通过催化重整技术,将甲烷转化成甲醇原料,进一步减少对石油的依赖性。这一章发掘了乙酸转化成甲烷过程的微生物学和生物化学,并为促进改良该工艺成为化石燃料的有力竞争替代品的目标而作一个基本的背景介绍。

通过发酵性和产乙酸厌氧菌的作用从复杂的生物质产乙酸,以及随后从乙酸转化成甲烷的过程,是生物性制沼法最具重要性的部分。乙醇分解型甲烷生成(aceticlastic methanogenesis)是控制该过程的速度和可靠性的主要因素;因此,对这些产烷生物的全面了解对于开发一套高效工艺,用于从可再生和废弃生物质生产生物燃料的生物性制沼法是首要任务。虽然甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)的从乙酸到甲烷的反应酶化学已被充分了解,但只有少数几个研究报告针对能量守恒和基因表达调控的机理。全球蛋白质组学和基因芯片分析已经识别了甲烷八叠球菌属的一组蛋白质和基因,其中许多拥有未知但也许重要甚至是必需的功能。所幸的是,科学家控制了甲烷八叠球菌属的健全的遗传系统,对纠正这些缺陷拥有相当的把握,同时也为工序改进提供了基因操作的可能性。另一方面,人们对甲烷鬃菌(*Methanosaeta*)的微生物学、生物化学、分子生物学和遗传学了解甚少,因此为控制将生物质转化成甲烷生物燃料的工艺并将产量最大化,有必要将研究兴趣放在深入认识乙醇分解型甲烷的生成上。

第十四章 产甲烷给料网络的能量学

从燃料总产出的角度上看,有机质的产甲烷型降解,似乎是将大多数有机废料高效转化成能源燃料的绝佳反应过程。在此方面,产甲烷型降解比其他发酵产氢气、乙醇、丁醇或丙酮等的过程更加高效。活体生物质和有机废料的所有主要构成部分都可被转化成甲烷加 CO_2 , 唯独木质素和木质纤维素除外。高转化效率是通过许多不同类型的发酵型细菌和产乙醇古细菌的协作实现的;它们完成大量特定反应,重新安排代谢功能模块,将多样性极高的主要生物质组成部分转化成越来越简单的中间产物。由于产甲烷型发酵的能量总产出较小,每个在这个交互共生网络内的生物体只有很少的可用能量用以催化特定的反应步骤。过程中需要好几个步骤才能产出刚好足够的能量供给生物体的催化反应,并满足合成 ATP 和生长所需的最低能量需求,即每摩尔反应的能量约为 $-15 \sim -20 \text{ kJ}$ 。

护环境,创造就业并促进当地经济发展。

第十七章 来自气体水化物的甲烷

在本书的这一卷里,甲烷水合物被认为是一个棘手的难题。水合物在生产方面更类似于化石燃料;它们存在于自然界,多出现在有限的地下矿床,和天然气或石油类似,必须先经过勘探,然后钻洞,再从钻井中开采出来。但是,它们可以被归类成生物能源资源,因其形成主要归因于近期(以地质期计算)和当前活跃的生物过程。

就像从生物质产甲烷一样(但规模更大),困在气体水合物中的甲烷主要是细菌对有机物的自然分解物。从陆地上冲进水中,并沉积到古代和现代的海盆,有机物碎屑沉积物形成各种活跃的地表下细菌群落的基本食料。在无氧条件下,通过各种中间产物代谢途径,不同的细菌种类互相合作,逐渐将复杂的有机大分子还原成甲烷气。在深海和极地永久冻土的低温高压环境中,这些甲烷与沉积物间隙水混合,形成了笼形包含水合物(clathrate hydrate),即由水分子“笼子”困住外来气体所组成的冰晶状化合物。这种水合物在沉积物空隙中增长,相当数量的甲烷可积聚成可开采的潜力矿藏。

如果能捕获并储存那些释放出来的 CO_2 (通过燃烧或重整产氢气),如在地层中(例如陈化石油储备、地下含盐蓄水层,或者作为海床的 CO_2 水合物等),那么甲烷水合物便能作为一个清洁、潜在储量庞大的待开发的替代品。低碳沼气可用来产生能量,其比传统储油量能维持更久时间。

这一章的目的是概述自然界中存在的甲烷水合物:它们的物理性质、形成、在自然环境中的分布、目前的储量估计以及开采潜力等。

只有以如此高的能量效率才能使整个过程变得有可能,但同时它限制了动力的用途。

第十五章 优化混合培养生物工艺将废料转化成生物能源

本章从介绍两种自然界中能够将顽固的植物大部分聚合物分解的模式群落开始,向读者展示通过分泌胞质或胞外的酶把聚合物分解成水溶物的微生物混养。人们利用这个优势设计出了一系列能产出各种化工产品,如甲烷、氢气、电力、溶剂和液体燃料等的生物工艺,其大部分利用无光厌氧发酵过程。将有机废料转化成生物燃料的效率和经济可行性由废料的特点决定,尤其是可转化成能源产品的化学成分和相关浓度等。所利用的原料包括低强度废料、高强度废料和固体废料等。强度高低取决于生化需氧量(BOD)或化学需氧量(COD)。

因为混养发酵涉及庞大的微生物群落,所以只能生产某几种化合物。有一些产物无法得到,因为它们以比形成速度更高的速度被混合培养转化成其他化合物。当清楚确定合适微生物群落的挑选标准并通过生物反应器设计改良后,可优化某种特定的理想产品产量。从理论上来说,应该应用对群落成员有利的直接选择压力来催化理想反应,但这种对理想产品(如能作为生物燃料的醇类)的标准还未被验明,包括甲烷、燃料醇类和电力等生物衍化能源载体的生产工艺在本章里会一一介绍。

被深入研究的厌氧消化罐内的食物链随不同营养类群的有用的相互作用而定。虽然微生物燃料电池中的食物链未被详细了解,但微生物燃料电池很明显包含能够比单一菌种系统产生更多电力的混合培养。这一章也概述了混养系统的优点。

过去,生物工程师并未意识到工艺改进效果能影响微生物群落的结构。在缺乏对这些系统的微生物学的基本认识的情况下,这些工程师试图通过优化反应器配置或反应器操作来提高转化率。在这些选择中,后者包括了电子受体的适当选择,加上了指向某特定营养类群(如产甲烷生物)的抑制剂。另外,近年分子生物学发生了不少进步,例如发现了能操作微生物群落组成的新方法,监控关于群落组成的工艺改进效果,选择特定的发酵产品,以及优化转化率和产量。这一章最后以介绍两种能够操作微生物群落构成的方法结束,包括水平基因转移的生物强化(bioaugmentation)和噬菌体生物防治。

第十六章 来自生物质、生物废料和生物燃料的生物甲烷

从农业、城市、工业废料生产沼气是制造生物燃料的一个好法子,可用于过程加热、发电和汽车燃料。沼气可被升级并注入天然气管道中,促使现有的配送基础设施的改变。液体、淤泥、固体和气体垃圾都可送进厌氧消化罐加工成沼气。人们开发了好几种消化罐设计,以优化不同原料的加工工艺。消化罐的尺寸可根据应用来订造,集中生产设施和混合废物共消化能够帮助实现规模经济效益,且改进性能。由于生产生物乙醇、生物柴油、生物氢气和合成气的副产品也同样适用于厌氧发酵,甲烷生产也可整合到生物炼制厂中,能提高能量净产出和为农作物生产再回收有价值的养分。最后,用陆生或海生的能源作物加工成生物甲烷可比其他生物燃料产出更高的能量。考虑到原料丰富和产物回收轻便,从能源作物和有机废料生产的甲烷提供了一种主要的可持续能源解决方案,并具有可再生、二氧化碳中立和就地取材等优点,可把能源产生有效分散和分配到当地市场,能保

第三卷 甲 醇

第十八章 来自生物质的甲醇

本章的作者提议采用甲醇作为乙醇的部分替代产品,利用如下反应链:二氧化碳/水/太阳能→生物质→甲烷→甲醇。首先介绍了在控制气候变化的背景下甲醇的生产和使用,包括甲醇的性质、制造,和将含碳原料(如煤炭、石油、天然气、二氧化碳等)转化成甲醇的实践方法。随后介绍了甲醇生产的未来潜在渠道,即从生物质和煤炭、气化工艺、合成甲醇、生物甲烷以及近期形成的二氧化碳等生产甲烷。接着是甲醇生产的生物反应实施,涉及从可再生原料产沼气,从生物质产氢气等。最后,作者介绍了甲烷转化成甲醇的生物途径的前景和考虑因素,包括甲烷转甲醇的氧化反应,从有机物产甲醇的还原-发酵反应,还有还原-碳酸盐呼吸作用产甲醇。

第十九章 甲醇生产的前景展望

能源与环境是改善生活品质的最关键的先决条件。全球变暖和能源危机令那些能提供高效碳中立燃料来源的新技术增值,这些技术于是成为了维持全球单碳种类的氧化和还原反应途径平衡的绝对必要因素。持续增长的人口和工业化造成能源需求扩大,自然资源迅速耗尽。同样地,对化石能源的利用增加,释放过量的二氧化碳到环境中,也造成了全球变暖现象。在可预见的未来,预计化石能源的利用仍会持续一段时间,这是因为目前代用燃料的经济可行性不高,且只占总能源经济的一小部分。减少全球 CO_2 排放的长期战略在于可再生能源资源,尤其是它们的碳中立性。同样地,面临化石资源耗尽的趋势,我们急需替代能源解决方案。从长期看来,随着世界通过利用替代燃料资源以减少 CO_2 水平,替代燃料逐渐取代化石燃料目前的地位,人们迫切需要创新型可持续碳管理策略。然而这很有可能要首先树立一个未来能源技术过渡示范。考虑到燃料缺乏和全球变暖的严重威胁,我们需要颠覆性的技术革新,而非生物能源产生的增量式改进。

长期的环境和能源可持续性的问题涉及复杂的相互依赖的变量平衡,今后的关键技术将利用协同增效的方式维持和谐大局。改良的可再生燃料资源对持续经济增长和清洁、安全、可靠且具竞争力而无须牺牲环境的能源供应方式进展尤为重要。在这个前提下,本章描述的仿生法(biomimetic method)有望提供必需的解决方案,满足能源需求,无须损害环境的完整性。温室气体 CO_2 转化成高价值燃料(如甲醇等)能成为有前景的一个途径,不但能回收再利用温室气体,还能生产代用燃料资源。 CO_2 到甲醇的酶转化类似于能将 CO_2 转化成糖分的光合作用。包含在溶胶基体中的三种不同的脱氢酶对二氧化碳相继的还原反应能提高甲醇的产量。甲醇的高效生产可建立一个便捷的渠道,不仅能从现成的资源就地生产甲醇,还可联系到相关的有潜力的能源技术利用,以及环境中的二氧化碳固定等。酶工艺对比起其他工艺而言非常重要的优势,在于它的特定性、选择性,还有能量强度较小的外界温度-压力操作条件。微生物或酶制剂产燃料的大型应用目前仍处于初级阶段,重大进展和突破仍需普遍的认可以及生产能源的可替代策略方案。新型绿色燃料技术要想在长期获得成功,那它们必须具有和目前的工艺方法匹敌的竞争力。新

式仿生法要求具有长期经济可持续性,以取代当前的制造工序。仿生能源转化中利用酶的关键推动力在于资本和其他资源的投资,以大型生产达到必需的技术框架以及具成本效益的可持续发展为目的。在今后长期内,随着适当的资源分配,酶作用的生物甲醇生产可望实现自我持续的技术实践发展。

第四卷 氢能生产

第二十章 氢能生产中的氢化酶工程

未来可取代排放温室气体的化石燃料中,一个引起人们关注的选项是分子氢,其前提是以清洁和可再生的方式生产。目前科学家对其生产、使用和储存进行了大量研究。新的生物技术的工艺发展是为满足未来的能源需求而设计,运用能在生物进化初期便能够利用 H_2 的微生物。许多生物体(包括某些细菌、古生菌和低等真核生物)都拥有活跃有效的氢代谢,利用 H_2 分子的键裂,在其变成两个电子和两个质子的同时得到能量,或释放还原能力。在生物系统中,该反应由含金属的氢化酶催化进行。

目前找到三类按所含金属划分的氢化酶:①含两个铁原子的活性位点、对氧敏感的[FeFe]氢化酶;②含有异源双原子核镍-铁活性位点、更健全的[NiFe]氢化酶;③亚甲基四氢甲醇蝶呤(methylenetetrahydromethanopterin)氢化酶。虽然[FeFe]氢化酶貌似最适合用来生产氢气,但因为它们对氧化性损害极为敏感,关于这类酶的工程研究还十分有限,其生化特质不能够确定。这就是为什么这一章的重点放在大多数研究中稳定性较强的[NiFe]氢化酶上。

目前来说,氢化酶的构效关系还处于基础研究阶段,目的在于了解酶的催化机理。但这些研究只局限于少数几个酶模型,因为使用常规的异源宿主[如大肠杆菌(*E. coli*)]制造基因重组氢化酶存在巨大的困难。虽然[NiFe]氢化酶操纵子是一个在进化史上高度保守的序列,也表现出高度的相似性,但每个蛋白质成熟系统都仅限于相对应的酶。这种特定性障碍造成了氢化酶无法在异源宿主内成熟。然而,这个基本研究的深层发掘是许多生物技术应用的主要挑战,拥有最优氢化酶的微生物因此可在氢能燃料生产中发挥重要作用。

为使酶的效率达到满意的水平以及技术的完善,氢化酶必须从机能上优化,其需通过改进从电子供体的电子传递(即改变酶的动力学参数)或改进对 O_2 的耐受性来实现。这些待攻克的难题可通过基因工程的两种策略达到:在细胞水平上,通过代谢工程,可为底物还原创造适宜条件,或避免接触 O_2 ;在酶水平上,通过蛋白质工程,目的是改进氢化酶,使其可以比其他酶在争夺底物上更有优势,或使用对热力学有利的底物,或变得 O_2 耐受性更强,或生产 H_2 的效率比摄取 H_2 的更高等等。在这一章中,我们概括了氢化酶的构效关系研究,改进的酶的新特性可作为生物技术工艺中氢化酶合理最优化的灵感源泉。

蛋白质副产物可参与新型氢能经济发展。如能有利于分子研究的[NiFe]氢化酶,为促进仿生催化剂发展而研究催化原理、机体工程等,其他问题也是当前研究的重点对象。

第二十一章 紫色无硫光合细菌用固氮酶催化产氢气

氢气在作为石油的替代品方面,得到了相当的重视。它是一种完全燃烧燃料载体,可在氢燃料电池中转化成电能,用作汽车动力或其他电力驱动的进程。推广氢气的部分原因在于它可从一系列的原料制造出来,包括天然气、煤炭、化石燃料、生物质和太阳能。这一章着重于氢能生产的生物过程、利用环保的生物质和太阳能。

一种被称作紫色无硫细菌(PNSB)的不生氧光合作用细菌在正常的生长条件下产生大量的氢气,利用固氮酶而非氢化酶。目前已发现超过 20 个属的 PNSB,它们全部都能在固氮实验条件下生长并释放氢气,作为这种生长模式的副产物。PNSB 使用无氧光合作用产生 ATP,供应固氮酶催化的氢气生产。PNSB 通常获取低电势电子,通过氧化有机物产氢气,但它们也能够氧化选定的几种无机化合物达到此目的。大多数菌种能氧化发酵工艺废物流中的化合物。因此,PNSB 可作为双重用途生物体,在废水处理与伴随的氢气生产中有应用潜力。

这一章回顾了 PNSB 固氮酶催化产氢气的基础生物学。作者还介绍了几种改进和稳定这类细菌产氢气的基本策略,还有构建高效低成本产氢气生物反应器的策略。科学家相当了解产氢气所需的固氮酶调控、代谢过程、光合磷化作用,但他们普遍尚未在深入了解产氢气的系统生物学的前提下研究这类课题。从实验台到大型反应器,菌种改良和生物反应器的设计需要有计划有步骤。在实施时须以整个细菌细胞的生理特征为出发点,而不能只关注产氢气的几个小部分。

第二十二章 光合水裂解产氢气

生物产氢是本章的主要话题,重点是与绿藻相关的太阳能直接转化过程(阳光加上水通过光合作用直接联系到氢化酶的功能)。本章作者认为藻类所含的[FeFe]氢化酶优于固氮酶和存在于蓝藻及光合细菌中的[NiFe]氢化酶,水可作藻类的反应底物而无需其他有机物参与;藻类的氢气生产理论效率比蓝藻的固氮酶系统高出好几倍。而且同样在很多细菌体内也出现的[FeFe]氢化酶,能够比[NiFe]氢化酶更容易地表达在基因重组或非原生的生物体中,[NiFe]氢化酶通常需要好几种某生物体特定的蛋白质成熟基因的联合表达。最后,藻类中的[FeFe]氢化酶的最大活性与含氧光合作用的最高速度相匹配。

这一章着重介绍产氢气的生物体的光生物学,和能够将光合作用的水氧化直接联系到[FeFe]氢化酶催化产氢气功能的过程。首先介绍一系列背景知识,包括产氢气的生物种类、产氢酶、含氧光合作用、产氢途径、在铁氧化还原蛋白层面对还原剂的竞争、产氢气的效率和能量学、影响因素等。其后重点描述[FeFe]氢化酶,包括它的遗传学、基因表达,以及蛋白质成熟、结构和建模等。另外,多个产氢气的物种的基因组的测定,也为藻类产氢研发相关的转录物组、蛋白质组、代谢物组以及计算系统生物学等奠定了实验检测的基础。最后作者点明了在实际运用中需要注意的一些问题,譬如[FeFe]氢化酶对氧气非常敏感,所以需要从反应混合物中移走 O_2 以维持光生物原理的 H_2 生产。一个比较有效的办法是剥夺绿藻的含硫养分,其对含氧光合作用有可逆性抑制作用,因此氧气消耗率比生产率高,造成绿藻封闭培养内的缺氧环境,因而启动氢化酶途径。还有就是减少每个细胞对光的吸收度,以增加绿藻大量培养中的透射度和照射利用率,因为绿藻的光合作用在阳光全面照射的五分之一强度便已经饱和。