

纤维素生物技术

陈洪章 著



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

纤维素生物技术

陈洪章 著



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

纤维素生物技术/陈洪章著. 北京: 化学工业出版社, 2005.5
ISBN 7-5025-7018-7

I. 纤… II. 陈… III. 生物技术-应用-纤维素-原料 IV. TQ352.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 041950 号

纤维素生物技术

陈洪章 著

责任编辑: 莫小曼

责任校对: 顾淑云 于志岩

封面设计: 关 飞

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京市兴顺印刷厂印装

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 15 $\frac{3}{4}$ 字数 392 千字

2005 年 7 月第 1 版 2005 年 7 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-7018-7

定 价: 45.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前言

生物质是指由植物或动物生命体而衍生得到的物质的总称，主要由有机物组成。我国年产生物质总量近 50 亿吨（干重），含有的潜能相当于 20 亿吨石油，为我国当前一次性能源耗量的 3 倍。其中植物生物质如农作物秸秆、蔗渣、芦苇和竹子等，总量已超过 10 亿吨。就植物生物质的结构来看，主要由纤维素、半纤维素和木质素组成，本书姑且称这类生物质为天然纤维素原料。

绿色化学的兴起，循环经济和可持续发展战略的提出，使天然纤维素原料转化和利用的研究受到高度重视和广泛应用。特别是随着生物技术的兴起与发展，为天然纤维素原料的充分利用提供了更为广阔的技术平台。关于生物技术在天然纤维素原料中应用的报道很多，但遗憾的是，国内至今没有一本关于天然纤维素原料生物技术方面的专著或出版物。为弥补这一缺憾，也为了将我们几十年来对天然纤维素原料生物技术进行大量研究所积累下的一些经验与国内的同行进行交流，在查阅大量文献的基础上，结合我们自身的工作，撰写了本书，希望借此书抛砖引玉，为我国在生物质利用技术方面得到更快的发展而尽绵薄之力！由于国内已经习惯将“天然纤维素原料、植物纤维原料或木质纤维素”统称为“纤维素”，因此把书名定为《纤维素生物技术》。本书首先从天然纤维素原料化学结构入手，接着重点介绍其生物学基础，而更大的篇幅则留给了生物技术在天然纤维素原料开发中的应用。

作者在此领域十几年工作的成效，得益于山东大学微生物技术国家重点实验室高培基教授和曲音波教授的入门指导，得益于中国科学院过程工程研究所李佐虎研究员给予的工程学教育和无私帮助，使本人得到纤维素生物技术很好的系统培训；作者在该领域的研究得到了国家重点基础研究发展计划（“973”计划）（2004CB719700）、国家高技术研究发展计划（“863”计划）（2003AA514023）和中国科学院知识创新工程重要方向性项目（KJ CX2-SW-206）的资助；另外，我的十几位研究生的研究工作对本书出版做出了重要贡献，特别是博士研究生徐建、刘丽英、李冬敏、靳胜英、丁文勇、迟菲以及博士后杨森参与本书中部分章节的写作和许多文字工作；在本书编著过程中，参考了大量国内外前辈和同行们撰写的书籍和期刊论文资料。在此一并表示衷心的感谢。

书中有不当之处，诚请读者批评指正，并欢迎来函指导。

陈洪章

2004 年 12 月于北京市中关村北二条 1 号（100080）

中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室

E-Mail: hzchen@home.ipe.ac.cn

内 容 提 要

植物纤维是地球上最为丰富的可再生资源，具有转变成能源、食品、饲料、化工原料的巨大潜力，利用生物技术可使这个转变过程高效、清洁地进行。

本书从植物纤维的主要组成（如纤维素、半纤维素和木质素）及其结构入手，提出了天然纤维素原料“组分分离”、“分层、多级利用”、“生物量全利用”等新概念，并在此基础上，重点介绍生物技术在天然纤维素原料中的应用。从中可以看到，将纤维素原料当成多级资源，通过生物技术的转化使其在生态农业、清洁能源、材料化工、制浆造纸等行业充分发挥作用，进而形成别具特色的天然纤维素原料生态工业园。

本书可供从事纤维素科学研究、教学的科技人员及研究生阅读，也可从事农业资源利用和产业开发的科技人员和管理人员提供参考。

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 天然纤维素原料定义及特点	1
1.2 纤维素生物技术的重要性	2
1.3 纤维素生物技术的发展现状与前景	4
第 2 章 天然纤维素原料化学组成与结构	8
2.1 天然纤维素原料的主要成分	8
2.2 植物细胞壁生物结构	8
2.3 纤维素.....	10
2.4 半纤维素.....	20
2.5 木质素.....	23
第 3 章 纤维素生物学基础	37
3.1 降解天然纤维素原料的生物.....	37
3.2 纤维素酶学性质与酶解机制.....	46
3.3 纤维素酶解糖化.....	57
3.4 半纤维素生物转化.....	61
3.5 木质素生物转化.....	63
3.6 纤维素生物生态学基础.....	64
第 4 章 天然纤维素原料预处理与组分分离	68
4.1 天然纤维素原料组分分离概念的提出.....	68
4.2 天然纤维素原料预处理的必要性.....	68
4.3 天然纤维素原料预处理技术.....	69
4.4 组分分离	74
第 5 章 纤维素生物技术与生态农业	76
5.1 生物饲料.....	76
5.2 半纤维素与单细胞蛋白.....	93
5.3 生物肥料.....	96
5.4 生物农药	101
第 6 章 纤维素生物技术与清洁能源	107
6.1 乙醇的发酵制备	107
6.2 生物制氢	113
6.3 沼气的发酵制备	124
6.4 生物柴油	127
第 7 章 纤维素生物技术与材料化工	129
7.1 丙酮、丁醇的发酵生产	130
7.2 柠檬酸的发酵生产	132

7.3	乳酸和聚乳酸的发酵生产	133
7.4	半纤维素发酵生产化工原料	135
7.5	木质素生物转化化工产品	140
第8章	纤维素生物技术与制浆造纸	144
8.1	生物制浆	144
8.2	生物漂白	159
8.3	酶法脱墨	165
第9章	纤维素生物技术在其他工业中的应用	170
9.1	在纺织工业中的应用	170
9.2	在环境保护中的应用	173
9.3	在食品工业中的应用	176
9.4	在中药加工中的应用	180
9.5	在烟草加工中的应用	181
9.6	在发酵工业中的应用	182
第10章	纤维素生物技术生态工业模式	186
10.1	工业生态学	186
10.2	生态工业园区	191
10.3	天然纤维素原料生态工业园建设的关键技术	197
10.4	天然纤维素原料生物量全利用与生态工业工艺过程的分析	198
10.5	天然纤维素原料生物量全利用存在的问题	205
10.6	生态工业理念在纤维质原料生物量全利用技术中的应用	206
第11章	纤维素生物技术实验技术	211
11.1	纤维素酶发酵工程实验技术	211
11.2	分解纤维素原料相关酶系的测定方法	227
11.3	天然纤维素原料成分分析方法	231
11.4	纤维素结构仪器分析方法	233
参考文献		238

第 1 章 绪 论

1.1 天然纤维素原料定义及特点

生物量 (biomass) 的概念最先应用于生态学,但现在很多是从资源利用或工业观点出发而加以利用的,也被称作生物质。在美国国家能源安全条例中,生物质的定义是指能再生的有机物质,包括农产品及农业废料、木材及木材废料、动物废料、城镇垃圾及水生植物。日本工业标准中将生物量定义为加入地球生物圈内物质循环系统的生物体派生的有机物的总称。生物量基本上是植物利用太阳能、水和二氧化碳经光合作用合成所获得的植物体,其最重要的特点是可再生性,故又称之为可再生性资源 (renewable resource)。如果能将植物所捕获的太阳能全部用于人类的营养,足以供应 1500 亿人口的需要,超过现有世界人口的 28 倍。

在生物质资源中,从可作为以生物技术进行转化利用的资源观点来说,主要指蛋白质、淀粉、脂肪等动植物体内的能量储存物质和做植物骨架结构的纤维素、半纤维素和木质素等植物细胞壁的主要成分。蛋白质、淀粉和脂肪等已获得广泛、有效的利用,这方面已有大量文献报道以及专著问世。本书则主要讲述在开发尚未被充分利用的由纤维素、半纤维素和木质素伴生形成的天然纤维素原料中生物技术的应用。这里所用的天然纤维素原料主要有两层含义,一是指绿色植物通过光合作用形成的一大类可再生资源;二是指这类资源具有复杂的结构,即由纤维素、半纤维素和木质素交织在一起而形成。

天然纤维素原料是地球上最丰富的可再生的有机物质。在全世界通过光合作用产生的植物物质每年约高达 10 000 亿吨,其中 89% 目前未被人类利用,只有 11% 用作农作物产品、饲草、造纸和建筑原料。绝大部分的天然纤维素原料在自然环境中被各种微生物分解转化,最终形成 CO_2 和 H_2O 。虽然这是生态系统中碳循环的一个重要环节,但从人类利用自然资源角度讲,无疑是巨大的浪费。

中国的天然纤维素原料也很丰富,每年产量是 11.45 亿吨,仅农作物秸秆、皮壳一项,每年就可达 7 亿多吨,其中玉米秸秆占 35%,小麦秸秆占 21%,稻草占 19%,大麦秸秆占 10%,高粱秸秆占 5%,谷草占 5%,燕麦秸秆占 3%,黑麦秸秆占 2%。可见,玉米秸秆、小麦秸秆和稻草是中国最主要的三大秸秆。此外,来自于林业副产品、城市垃圾和工业废物中的天然纤维素原料数量也相当可观。

天然纤维素原料的特点如下:

- ① 来源丰富,数量巨大,具有可再生性;
- ② 分散于符合某种条件的地区,生产有季节性。原料的供应、集约生产规模可灵活掌握;
- ③ 原料形态多种多样,不同原料其纤维素、半纤维素和木质素组成和结构有一定的差别;
- ④ 原料的比容大;
- ⑤ 原料的价格低廉,现大多作为废弃物。

这些特点说明天然纤维素原料具有解决当前世界面临的粮食短缺、能源危机和环境污染

等问题的巨大潜力，但同时造成利用生物技术转化天然纤维素原料的困难。

在中国，大部分秸秆和林副产品被用作燃料或在田间被直接烧掉，不但破坏了生态平衡，使土壤肥力衰竭，造成农业上的恶性循环，而且污染环境，还存在火灾隐患。同时，以其作燃料由于秸秆燃烧热能利用率极低（在 10% 以下），对资源也是极大的浪费。发展和利用生物技术分解和转化天然纤维素原料既是资源利用的有效途径，对于解决环境污染、食品短缺和能源危机也具有重大的现实意义。

1.2 纤维素生物技术的重要性

1.2.1 在自然界物质循环中的作用

微生物在自然界物质循环中起着十分重要的作用。微生物对有机物的分解以及动植物的呼吸作用都要放出 CO_2 ，其中 80% 以上是微生物的活动产生的。如果没有微生物分解有机物，地球上的有机物将越来越多，不仅空气中有限的 CO_2 会很快被植物光合作用所耗尽，地球生态系统中其他的无机元素循环也将中断。

由初级生产者绿色植物利用光合作用所合成的有机物中 80% 左右是天然纤维素原料，不易被动物消化吸收，必须通过降解天然纤维素原料的微生物来完成分解。如果不能及时分解、积累，则将对自然界的碳素循环过程产生重大影响。大部分植物残体进入土壤而完成能量与物质循环，这是一个极缓慢而人类又无法直接获得所需要的能量和物质的过程；部分植物残体过腹还田，能量利用较低；直接燃烧还田，能量被浪费，并且植物残体中氮、磷类物质成为氧化性的难溶盐类亦是重大损失。

如何将天然纤维素原料的微生物转化纳入自然界物质循环过程中，使之达到自然再生产和经济再生产协调发展呢？在人类进化的历史长河中，人类与自然的关系经历了以下几个发展阶段：第一阶段人类主要依靠直接攫取自然现成的动植物来获得生活资料，当消耗掉一定量的资源后，自然具有再生能力。人类所使用的技术是采集狩猎业技术；第二阶段人类主要通过通过对动植物的生长过程进行干预来获得生活资料，以农业生产技术为主；第三阶段人类主要通过通过对自然物质的加工来获得生活资料，大规模地开发了自然力，创造了自然界从未有过的大量物质材料，人类的物质文明与日俱增。但这种工业生产技术体系自身的否定因素也在急剧成长，其根本缺陷在于完全忽视了自然资源的再生能力，从而违背了生态学规律。因此，当今国际上出现了“清洁生产工艺”的新概念。若从动力学和生态学角度来看，将工业生产纳入自然物质循环中的一部分，用工业手段加速自然循环，使自然物流和经济物流之间协调发展将是新的人类发展阶段——生态工业。

在农业生态系统中，农作物经光合作用合成有机物只有 50% 可供人类直接需要，剩余的 50%（如秸秆）人类不能利用，大多要经过土壤中的多种微生物协同作用使之返回自然界。这种返回过程伴随着物质转化和能量的损失，并且分解缓慢（表 1.1）。这对人类来说，是一种巨大的浪费。若经人工选择的营养级生物种群把秸秆转化为多种可供人类利用的产品，无疑是对人类生存发展的一个巨大贡献，这也是天然纤维素原料微生物转化的重大意义之所在。

表 1.1 秸秆中的成分及其分解速度

秸秆中成分	水溶性物质	纤维素	半纤维素	木质素
含量/%	8~12	38~44	32~36	10~15
分解速度	数天	数月	数月	数年

1.2.2 在绿色化学和工程中的地位与作用

20 世纪 90 年代后期兴起的绿色化学 (green chemistry) 是从源头清除污染的一项措施, 为人类解决化学工业对环境的污染、实现经济和社会可持续发展提供了有效的手段。目前, 绿色化学已成为化学研究的热点和前沿, 是 21 世纪化学发展的重要方向之一。绿色化学又称环境无害化学 (environmentally harmless chemistry)、环境友好化学 (environmentally friendly chemistry)、清洁化学 (clean chemistry)。绿色化学即是用化学的技术和方法去消除或减少那些对人类健康、社区安全、生态环境有害的原料、催化剂、溶剂和试剂在生产过程中的使用, 同时在生产过程中不再产生有毒、有害的副产物, 废物和产品。绿色化学的理想在于不使用有毒、有害的物质, 不产生废物, 不处理废物。从科学观点看, 绿色化学是化学科学基础内容的更新; 从环境观点看, 它是从源头上消除污染; 从经济观点看, 它合理地利用资源和能源, 降低生产成本, 符合经济可持续发展的要求。朱清时院士提出了 21 世纪化学发展趋势——“化学的绿色化和绿色植物的化学转化”。

绿色化学的战略任务是用生物质 (biomass) 作化工原料。150 年前, 工业有机化学物品大多数来自植物提供的生物质, 少数来自动物物质。后来煤被用作化学原料。在发明了从地下抽取石油的便宜方法之后, 石油又成了主要的化学原料。今天 95% 以上的有机化学物品来自石油, 但是地球上的煤和石油储量有限。而且从 20 世纪 60 年代末以来, 人类已经逐渐认识到煤和石油化学工业对环境的负面影响, 因此科学家们已经开始考虑如何重新利用生物质代替煤和石油来生产人类需要的化学物质。

从生物质中提取出的蔗糖和葡萄糖可以作为原料, 在微生物发酵和/或酶催化作用下生产出所需要的化学物质。生物质主要有两类: 淀粉和木质纤维素。玉米、小麦和马铃薯是淀粉类的代表, 农业废弃物 (例如玉米秸秆和麦草秸秆等)、林木废弃物和草类是木质纤维素的典型代表。淀粉和木质纤维素都含有糖类聚合物, 把它们分解成单体后就可用于发酵。目前美国政府补贴的用玉米生产燃料乙醇就是一例。他们先用人们熟知的湿磨和干磨技术磨粉, 然后把淀粉转化成葡萄糖, 再用酵母发酵。地球上最多的生物质是木质纤维素, 其中最丰富的成分是纤维素, 事实上, 纤维素是生物质中最丰富的有机结构, 因此探索如何利用它们作为便宜的化学原料是将来用生物质代替煤和石油的关键之一。与淀粉一样, 也可以用纤维素生产葡萄糖, 但更困难。目前, 已有多种预处理技术可以有效地对天然纤维素原料的三种成分进行有效分离, 得到的纯净纤维素能够十分有效地转化成葡萄糖, 而木质素可通过传统的化学方法生产许多化学物品。当得到葡萄糖之后, 就可以把它转化成需要的有机化学物品。不仅可以生产乙醇, 还可以借助生物催化方法 (如用细菌或酶) 得到许多其他化学物品。得克萨斯州立大学的 Ihlhapde 教授, 发展了一套用石灰处理和细菌发酵等把废弃生物质转化成动物饲料、工业试剂和燃料的简单技术, 被授予首届美国总统绿色化学挑战奖的学术奖。他的工作只是人类在这个重大问题上的一个初步尝试。

过去, 石油化学工业的发展耗费了人类一个多世纪的时间, 现在的生物质化学工业从设想变成现实可能需要至少几十年的努力。

1.2.3 在循环经济中的地位与作用

作为陆生植物的骨架材料, 亿万年的长期历史进化使植物纤维类物质具有非常强的自我保护功能。其三类主要成分——纤维素、半纤维素和木质素本身均为具有复杂空间结构的高分子化合物, 它们相互结合形成复杂的超分子复合物, 并进一步形成各种各样的植物细胞壁结构。这些复杂的三维空间结构使植物体得以避免微生物及各种物理化学因素的攻击; 木质

纤维素材料的这种难降解性是其未得到有效利用的主要原因。由此可见,充分利用生物质资源的主要难题是如何克服天然纤维素原料的这种难降解性。由葡萄糖组成的纤维素被有效利用的最大障碍,是它被难以降解的木质素所包被。目前,在工农业生产中纤维素利用所遇到的障碍多由此而来。例如,未木质化的牧草中的纤维素 80% 可由牛羊体内的微生物分解消化,而木质化的麦秆纤维素的可消化率仅为 20%,已有各类提高其消化率的物理、化学预处理方法,但往往因为能耗大、成本高、污染环境等问题未能得以实际应用,而实现这一目标,是需要对相关酶类对木质纤维素材料降解过程有非常深入的了解的。目前国外在这方面的研究异常活跃,国内也已有了良好的开端。

妨碍木质纤维素资源生物转化技术实际应用的另一个主要障碍,是自然界中的主要纤维降解酶类的比活通常都较低,致使酶的生产成本较高,影响了酶的广泛使用。随着人们对纤维降解酶的立体结构和作用机制认识的深入,以及基因工程、蛋白质工程技术的迅速发展,改造微生物结构、提高酶比活也已成为可能。国内外有不少研究工作,已有应用蛋白质工程菌而使其性能得到改善的成功报道。

总之,生物质资源有效转化的最佳途径是使用现代生物技术。而生物技术成功的关键是提高生物转化的效率。组织生物、化学、轻工、化工等多学科、多专业科技人员的大规模合作研究,努力搞清生物质自我保护功能的结构基础,深入探讨生物质资源降解的机制,研究固体纤维材料加工中的生化工程基础问题,探寻生物质资源转化和废弃物资源化的新技术,是解决上述资源环境问题的关键。

1.2.4 化学工业、发酵工业的战略转移

石油是现代社会的最主要支柱之一,是化学工业的主要生产原料,人口的增长和人们生活水平的不断提高,对能源和化工原料的需求不断增长,而当前化学工业能耗很高,并且污染环境。面对石油价格上涨、能源紧缺、环境保护日益受到重视的形势,化学工业必须为自身发展寻找新的出路。可以肯定地说,21 世纪将是以生物量为原料的化学工业正规化的时期。化学工业的战略转移目标是生物化工。

正在迅速崛起,规模日益膨胀的发酵工业主要以淀粉为基本原料,每年耗粮高达数十亿吨,与人、畜争粮,限制了自身的发展。

中国政府对天然纤维素原料的开发极其重视,在“中国 21 世纪议程——中国 21 世纪人口、环境与发展白皮书”中已明确指出:中国要实现经济快速发展,就必须将开发利用新能源和再生资源放到国家能源发展战略的优先地位,加强生物质能源的开发利用,开发利用生物质生产清洁液体燃料的技术。依靠生物技术开发天然纤维素原料生物量的综合利用,改造依赖粮食为原料的传统产业,以带动化学工业的战略转移。不难理解,在人类物质文明的进程中,天然纤维素原料必将成为化学工业和发酵工业原料的共同代替品。

天然纤维素原料的纤维素和半纤维素都是多糖,水解后可生成葡萄糖、木糖等糖类。这些糖类经微生物发酵转化为乙醇、丙酮、丁醇、乙酸、丁二醇等液体燃料和化工原料;也可作为抗生素、有机酸、单细胞蛋白(SCP)、酶制剂的发酵原料。木质素的单体是苯丙烷衍生物,这些物质可进一步转化为其他化工产品,用作有机化学工业的基本原料。

1.3 纤维素生物技术的发展现状与前景

1.3.1 天然纤维素原料转化研究的发展

自从纤维素的化学组成、结构基本弄清楚以后,人们自然想到如何利用其组成糖的可能

性。这些糖类较易经微生物转化为乙醇、饲料等，其生产工艺较成熟。因此，天然纤维素原料转化研究的发展表现为对纤维素糖化的研究。

1.3.1.1 酸水解工艺

1819年，Braconnot发现浓酸可以使纤维素降解成糖。同年，Simonant首次用稀酸使木材糖化。1910年Heinerch等利用木材酸水解生产饮料酵母和乙醇。其后，酸水解在前苏联发展成为一个重要的工业部门。中国在20世纪50年代末建成了南岔水解厂，每年由木材加工废料生产酵母和乙醇数千吨。

酸水解技术由高温稀酸水解工艺发展到低温二段式浓酸水解工艺。稀酸高温水解工艺主要有两种操作方式，即渗滤水解法和栓流式高温稀酸法。稀酸高温水解法存在的问题有：①在高温酸性条件下，产生的单糖会进一步降解生成糠醛和5-羟甲基糠醛，使糖的得率较低（40%~48%）。糠醛类物质还会抑制酵母的乙醇发酵，需要排毒处理；②稀酸水解的酸浓度较低，无法回收。水解后要经碱中和，耗用大量酸、碱，中和产物造成污染；③稀酸得到的糖液浓度较低（2.5%~4%），需要巨大的发酵容器，发酵产物浓度低，使蒸馏成本提高。低温二段式浓酸水解工艺是当前酸水解法较先进的工艺，它分为两大步：预水解和水解，整个过程连续操作。由于较易水解的半纤维素和较难水解的纤维素分别在不同条件下分两次水解，水解温度又都较低，水解反应中的副产物浓度都很低，因而糖得率提高。通过提高固体浓度等措施，可使预水解液和水解液的单糖浓度分别达12%和38%。高的糖浓度可大大减小发酵设备，降低能源消耗。由于酸浓度较高（14mol/L），可以通过电渗析等方法来回收酸。低温二段式浓酸水解法现已通过中间试验，经济分析显示良好前景，正在进行工业的最后冲刺。

目前，低温二段式酸水解工艺的工业化也存在不少困难：①目前的工艺用酸还只能回收约75%的用酸量，仍然要消耗大量硫酸和石灰，并造成环境污染；②该工艺要使用大量高度耐腐蚀的材料，酸回收装置也价格昂贵，要求巨额的工程投资。每年由玉米秸秆生产10.8万吨乙醇、2.28万吨糠醛的工厂，总投资需1.72亿美元；③由于天然纤维素原料产地分散，运输和贮藏的费用很高，故该工艺设备投资较大，对生产规模要求较高。

1.3.1.2 酶水解工艺

由于酶水解工艺条件温和，专一性很强，副产物少，糖得率高，设备简单，不需要耐腐蚀材料和酸回收装置，无环境污染，可以在原料产地小规模就地生产，特别适于在中国农村地区发展乡镇工业。因此，20世纪80年代后，酶水解工艺的研究受到了广泛重视和深入研究。

早在1850年，Mitscherlich就已观察到微生物分解纤维素的现象。但纤维素酶的研究是从1906年Seilliere在蜗牛的消化液中发现了分解纤维素的纤维素酶后，才逐步受到世界重视的。1912年，Pringsheim开始进行纤维素微生物的酶学研究。此后纤维素微生物的研究大致经历了三个高峰发展时期，20世纪50年代以前主要是研究防止微生物对天然纤维的破坏作用和土壤微生物对枯物残体的分解；60~70年代纤维素微生物转向工业微生物方向上，针对世界人口的剧增，主要研究利用纤维素酶解发酵得到单细胞蛋白；70年代以后，随着能源危机和环境污染的日益严重，研究的重点逐步转移到开辟新能源和防止环境污染上来。由于煤、石油等矿物原料在数百年后必将耗尽，而在中国以粮食为原料生产化工原料和发酵产品又不可能有较大发展，加上环境污染问题日益加剧，因此，可再生的天然纤维素原料通过微生物转化是解决当前世界面临的食品短缺、能源危机和环境污染问题的最有前途的

方法之一。

1.3.2 天然纤维素原料微生物转化存在的问题及前景

20 世纪 70 年代初,世界石油危机曾推动刚刚兴起的生物技术大力研究天然纤维素原料综合利用技术,发达国家纷纷建立专门研究机构。中国在“六五”、“七五”期间曾掀起高潮,由于技术经济久攻不破,近期无效益的现实使这一刚刚燃起的火焰萎缩下来。但作为一项跨世纪的重大战略科技难题,有远见的科技人员,应有从低谷中崛起的决心和勇气。人们已普遍预测到 2010 年这项技术会发生根本性的突破,我们应该早做准备,迎接并推动这一转变。世界各国都将天然纤维素原料的微生物转化作为 21 世纪重大的战略性课题,它是今天的技术、明天的产业。

在理论上,天然纤维素原料的生物降解不存在原则性困难,可一旦将其工业化时就会出现技术经济难以过关的障碍,所以问题的实质是技术经济如何过关。与当今的石油价格、淀粉价格比较,现有的生物转化技术在经济效益上还难以在竞争中立足。目前,存在两种发展趋势:一是等待下一次能源危机或粮食危机的到来,使生物转化技术产业有利可图;二是加速综合利用技术和工程技术的研究,以降低生产成本、提高产品附加值为目标,争取早日在竞争中立住脚跟,为下个世纪做好技术准备。

基础研究不充分、缺少创新技术是造成天然纤维素原料微生物转化迟迟不能走出经济低谷的主要原因,具体表现在:

① 只强调了纤维素组分的利用,其他组分则作为废弃物,既造成环境污染,又造成资源浪费,这些所谓的“废弃物”不但没有成为提高经济效益的重要角色,反而成为效益的负担。现在半纤维素和木质素利用的技术确实还不成熟;

② 纤维素酶的生产成本高,用酶量过大,生产技术不成熟;

③ 纤维素、半纤维素和木质素三组分分离技术研究薄弱,以前称之为预处理技术,也不是综合利用各组分的方法。三者不能有效分离、回收,不仅资源浪费,而且也增加了纤维素酶解难度,影响酶解液的浓度与纯度,使下一步生物转化过程的难度增加,效益降低;

④ 产品耦合回收研究不够,能耗过大;

⑤ 缺少工程研究的配合,往往由已有的常规技术与设备简单组合,缺乏系统研究与优化研究。

综上所述,天然纤维素原料的生物转化研究思路应该是将多学科、多技术、多产品、高附加值技术相结合,根据产业化要求,进行技术优化综合,以突破技术经济难关;另外,必须把长远目标和近期目标相结合,稳定当前利用天然纤维素原料生产行业,及时引进先进技术,进一步完善清洁制纸技术、秸秆蛋白饲料生产技术及纤维素酶在各有关行业的应用等研究。在近期目标的产业规模基础上实现长远目标,如新型清洁能源、生物化工原料等。

1.3.3 酶——打开生物质资源宝库的钥匙

植物资源的利用需要将组成植物体的淀粉、纤维素、半纤维素、木质素等大分子物质转化为葡萄糖等低分子物质,以便作为燃料和有机化工原料使用。目前已研究的方法包括物理法、化学法和生物转化法。

物理法和化学法是通过热裂解、分馏、氧化还原降解、水解和酸解等方法将纤维素、木质素等大分子生物质降解成低分子量的碳氢化合物、可燃性气体和可燃性液体,直接作为能源或经分离提纯后作为化工原料。物理法和化学法一般能耗高、产率低且过程污染较严重,因此单独使用一般缺乏实用性,往往是作为生物转化法的辅助手段。

生物转化法是将生物质降解为葡萄糖，然后转化为各种化学品。在各种转化过程中酶都起关键作用，比如淀粉和纤维素水解成葡萄糖分别需要在淀粉酶和纤维素酶的作用下才能顺利进行，而葡萄糖的进一步转化依赖的是各种微生物，微生物将其摄入细胞内，在细胞内酶的作用下转化为人们所需要的各种化学产品。

许多化学反应均需要在催化剂的作用下才能顺利进行。酶也是催化剂，尽管它比普通化学催化剂复杂得多，它们是存在于生物细胞中的特殊蛋白质，生物体内的一切化学反应几乎都是在酶催化下进行的。

在各种高效酶或含酶微生物的作用下，生物质才能高效、清洁、经济地转化为那些原本来自矿物原料（如石油、天然气、煤）的有用化学物质，可再生生物质资源的利用才具有实际经济价值。因此可以说酶是打开生物质可再生资源利用的钥匙。

本书则从天然纤维素原料的组成、结构、理化性质出发，重点介绍天然纤维素原料开发过程中的生物技术原理及其在开发中的应用。

第 2 章 天然纤维素原料化学组成与结构

2.1 天然纤维素原料的主要成分

纤维素、半纤维素和木质素共同构成了植物细胞壁的主要成分，亦即天然纤维素原料的主要组成成分。纤维素的分子排列规则、聚集成束，由此决定了细胞壁的构架。在纤丝构架之间充满了半纤维素和木质素。植物细胞壁的结构非常紧密，在纤维素、半纤维素和木质素分子之间存在着不同的结合力。纤维素和半纤维素或木质素分子之间的结合主要依赖于氢键；半纤维素和木质素之间除氢键外，还存在着化学键的结合，致使从天然纤维素原料中分离的木质素总含有少量的碳水化合物。半纤维素和木质素间的化学键结合主要在半纤维素分子支链上的半乳糖基和阿拉伯糖基与木质素之间，主要是通过分离的木质素-碳水化合物复合体 (lignin-carbohydrate complex, LCC) 进行研究的。表 2.1 总结了植物细胞壁中纤维素、半纤维素和木质素的结构和化学组成。

表 2.1 植物细胞壁中纤维素、半纤维素和木质素的结构和化学组成

项 目	木 质 素	半 纤 维 素	纤 维 素
结构单元	愈创木基丙烷(G)、紫丁香基丙烷(S)、对羟基苯丙烷(H)	D-木糖、甘露糖、L-阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖醛酸	吡喃型 D-葡萄糖基
结构单元间连接键	多种醚键和碳-碳键主要是 β -O-4 型醚键	主链大多为 β -1,4 糖苷键、支链为 β -1,2 糖苷键、 β -1,3 糖苷键、 β -1,6 糖苷键	β -1,4 糖苷键
聚合度	4 000	200 以下	几百到几万
聚合物	G 木质素、GS 木质素、GSH 木质素	木聚糖类、半乳糖葡萄糖甘露聚糖、葡萄糖甘露聚糖	β -1,4-葡聚糖
结构	不定形的、非均一的、非线性的三维立体聚合物	有少量结晶区的空间结构不均一的分子,大多为无定形	由结晶区和无定形区两相组成立体线性分子
三类成分之间的连接	与半纤维素有化学键结合	与木质素有化学键结合	无化学键结合

纤维素、半纤维素和木质素相互交织而形成的植物细胞壁，任何一类成分的降解必然受到其他成分的制约。如木质素对纤维素酶和半纤维素酶降解天然纤维素原料中的碳水化合物有空间阻碍作用，致使许多纤维素分解菌不能侵袭完整的天然纤维素原料。天然纤维素原料的主要结构成分是化学性质很稳定的高分子化合物，不溶于水，也不溶于一般的有机溶剂，在常温下，也不为稀酸和稀碱所水解。三类主要组分纤维素、半纤维素和木质素的一般组成比例为 4 : 3 : 3，但不同来源的原料其比例存在差异，硬木、软木、草本会有所不同。

天然纤维素原料除上述三大类组分外，尚含有少量的果胶、含氮化合物和无机物成分等。其元素组成一般碳约为 50%，氢约为 6%，氧约为 44%，氮约为 0.05%~0.4%。了解天然纤维素原料的化学组分、各组分的性质特点以及各组分之间的相互关系，有利于天然纤维素原料微生物转化的研究开发工作。

2.2 植物细胞壁生物结构

植物细胞壁中最主要的成分是纤维素，它决定了细胞壁的结构，纤维素由葡萄糖分子串

联而成。电子显微镜下对细胞壁结构的研究指出,构成细胞壁的结构单位是微纤丝(microfilament),微纤丝相互交织成网状,构成了细胞壁的基本构架,其直径约10~25nm。在微纤丝的某些区域,纤维素分子排列得非常有序,从而使纤维素具有晶体性质,微纤丝中这种有序排列的纤维素分子结构称为微团(micelle)。微纤丝互相缠绕构成了直径约为0.5 μ m、长度约为4 μ m的大纤丝(macrofilament),以这种方式聚合而成的纤维素分子,其强度超过了同样粗细的钢丝。纤维素的网络结构中交联着非纤维素分子的基质,这些分子包括半纤维素和果胶类物质等。

细胞壁的另一个重要组成分子是木质素,它是除纤维素外,细胞壁中含量最多的高分子化合物。从物理特性上看,木质素非常坚硬,从而增加了细胞壁的硬度。通常,在那些具有支撑作用和机械作用的植物细胞的细胞壁中,含有较多的木质素。在植物保护组织的细胞壁中,通常还含有角质(cutin)、栓质(suberin)和蜡质(wax)等脂类物质。例如,表皮细胞的细胞壁表面覆盖着角质,次生保护组织木栓细胞的壁中含有栓质,角质和栓质往往与蜡质结合在一起,这些物质极大地降低了植物体内水分的丧失。

细胞壁可分为初生壁(primary wall)和次生壁(secondary wall),前者在外,后者在内。胞间层在初生壁的外围,但它们之间的界限往往难以辨明,当细胞形成次生壁后尤其如此。胞间层主要由果胶类物质组成,这是一种无定形胶质,有很强的亲水性和可塑性,多细胞植物依靠它使相邻的细胞黏结在一起。果胶易被酸或酶分解,从而导致细胞分离。当细胞木质化时,胞间层首先木质化,然后是初生壁,次生壁的木质化最后发生。

初生壁是细胞生长过程中由原生质体分泌形成的,除纤维素、半纤维素和果胶外,初生壁中还有多种酶类和糖蛋白,在大多数开花植物中,果胶类多糖是初生壁中含量最多的基质成分。活跃分裂的细胞通常只有初生壁,与光合作用、呼吸作用和分泌作用有关的成熟细胞也是如此。这些不具有次生壁的生活细胞可以改变其特化的细胞形态,恢复分裂能力并分化成不同类型的细胞。因此,这些只有初生壁的细胞与植物的愈伤反应和再生作用有关。通常初生壁生长时并不是均匀增厚的,初生壁上有一些非常薄的区域,称为初生纹孔场(primary pit field),连接相邻细胞原生质体的胞间连丝往往集中在这一区域。

在植物体中很多细胞只有初生壁,但另一些细胞有次生壁,次生壁是在细胞停止生长、初生壁不再增加表面积后,由原生质体代谢产生的细胞壁物质沉积在细胞壁的内侧而形成,与细胞质膜相邻。次生壁对于那些具有机械加固作用的特化细胞以及与水分的输导有关的细胞尤为重要。次生壁的纤维素含量大于初生壁,而且缺乏果胶类物质。因此,次生壁更加坚硬,延展性较差,次生壁中也不存在各种酶和糖蛋白,它的基质成分是半纤维素。次生壁通常分为三层,即内层(S_3)、中层(S_2)和外层(S_1),其纤维素微纤丝的排列方向各不相同,这种分层叠加的结构使细胞壁强度大大增加。

次生壁形成时,初生纹孔场不被次生壁物质覆盖,结果形成许多凹陷的区域,成为纹孔(pit)。有时纹孔也可发生在没有初生纹孔场的区域。细胞壁上的纹孔往往与相邻细胞壁上的纹孔相对,两个纹孔间的细胞间层和两层初生壁成为纹孔膜,两个相对的纹孔加上纹孔膜称纹孔对(pit-pair)。次生壁上的纹孔有单纹孔(simple pit)和具缘纹孔(bordered pit)两种类型,它们之间的基本区别是具缘纹孔四周的次生加厚壁向中央隆起,悬在纹孔腔上,形成一个穹形的边缘,从而使纹孔口明显变小,而单纹孔没有这样的穹形边缘。

细胞壁的生长包括表面积的增加和壁的加厚,其生长过程受原生质体生物化学反应的严格控制。细胞壁生长时必须保持松弛状态,同时呼吸强度提高,蛋白质合成以及水分吸收相

应增加。大多数新合成的微纤丝叠加在原来的细胞壁上,但也有少数插入原来的细胞壁物质中。在那些大致均匀生长的细胞,如髓细胞、贮藏细胞和组织培养的细胞中,细胞壁的微纤丝沿各个方向随机排列,形成不规则的网络。相反,在延长生长的细胞中,侧壁上微纤丝的沉积与细胞伸长的方向成锐角。当细胞表面积增加时,外部微纤丝的排列方向逐渐与细胞的长轴平行。细胞壁基质(果胶类物质和半纤维素)和糖蛋白主要由高尔基体小泡运送到细胞壁中,基质的种类取决于细胞的发育阶段。例如,当细胞扩大时,基质中果胶类物质占优势,反之,半纤维素更多一些。

2.3 纤维素

纤维素是D-葡萄糖以 β -1,4糖苷键结合起来的链状高分子化合物,在常温下不溶于水、不溶于稀酸和不溶于稀碱。由Anselme Payen于1839年首次用木材经硝酸、氢氧化钠溶液交替处理后,分离出一种均匀的化合物。纤维(fiber)是形态学上的概念,是指细而长的物质。植物纤维是指植物体内细而长的细胞。它是植物细胞壁的主要成分,尽管某些动物(如被囊动物)和某些细菌也含有纤维素,但与植物纤维素相比是微不足道的。尽管植物细胞壁的结构和组成差异很大,但纤维素的含量一般都占到其干重的35%~50%。棉花纤维素几乎是100%的纯纤维素。但更多的情况下,纤维素是被半纤维素(干物质含量为20%~35%)和木质素(干物质含量在5%~30%)包裹的。纤维素是目前制浆造纸工业、纺织工业和纤维化工的重要原料,纤维素形式的生物能源也将作为日后重要的清洁能源。

2.3.1 纤维素的化学结构

纤维素分子含有碳、氢、氧三种元素。其中碳含量为44.44%,氢含量为6.17%,氧含量为49.39%,其化学式为 $C_6H_{10}O_5$,化学结构的实验分子式为 $(C_6H_{10}O_5)_n$ (n 为聚合度)。

早在20世纪20年代,就证明了纤维素由纯的脱水D-葡萄糖的重复单元所组成。也已证明纤维素的重复单元是纤维二糖(图2.1)。纤维二糖的 C_1 位上保持着半缩醛的形式,有还原性,而在 C_4 上留有一个自由羟基。组成纤维素的 β -D-吡喃葡萄糖三个游离基位于 C_2 、 C_3 、 C_6 三个碳原子上,经证明分别为位于 C_2 、 C_3 上的仲羟基和位于 C_6 上的伯羟基。这三个羟基的酸性大小按 C_2 、 C_3 、 C_6 位排列,反应能力也不同, C_6 位上羟基的酯化反应速度比其他两位羟基约快10倍, C_2 位上羟基的酯化反应速度比 C_3 位上的羟基快两倍以上。

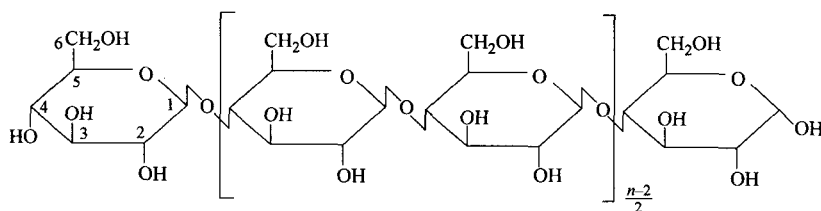


图 2.1 纤维素分子链结构式

一般认为纤维素分子约由8000~12000个左右的葡萄糖残基所构成。

用氢氧化钠溶液在不同浓度和不同温度下处理,用以溶解不同聚合度的纤维素。利用特定条件下不同的溶解度,将纤维素人为地划分为:① α -纤维素,指在20℃下不溶于16.5%NaOH溶液的纤维素部分;② β -纤维素,将萃取碱液用酸中和后所沉淀出的部分;③ γ -纤维素,残留在中和溶液中未沉淀出的部分。Staudinger等曾用黏度法测定这三种纤维素的聚