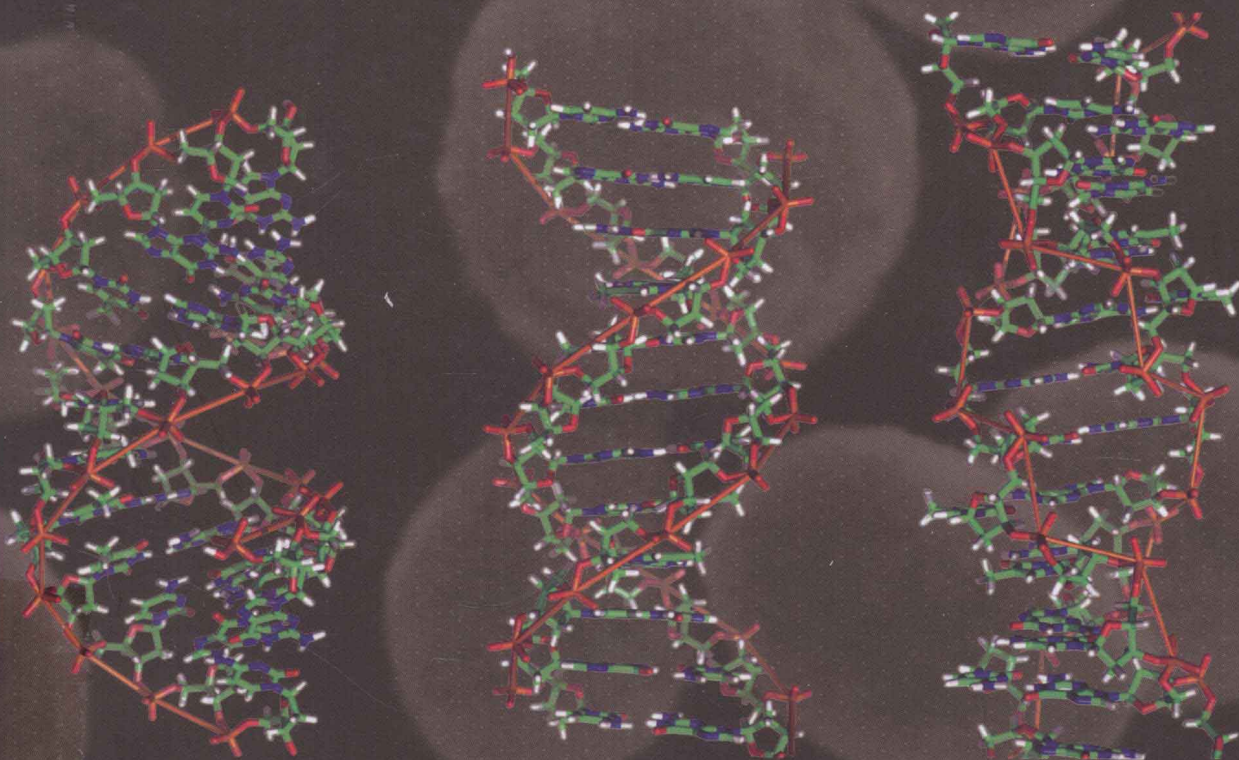


Energy Microbiology

广州市科学技术协会
广州市南山自然科学学术交流基金会 资助出版
广州市合力科普基金

能源微生物学

袁振宏 等编著



化学工业出版社

广州市科学技术协会
广州市南山自然科学学术交流基金会 资助出版
广州市合力科普基金

能源微生物学

袁振宏 等编著



化学工业出版社

· 北 京 ·

本书从能源转化的微生物学角度,分析能源转化过程中所涉及的微生物种类和酶类,阐述能源转化的机理和生化历程,并结合菌种选育、应用示范等,系统地介绍了生物质预处理及水解微生物、乙醇发酵微生物、丁醇发酵微生物、油脂转化及产油微生物、沼气发酵微生物、产氢微生物、产电微生物及化石能源转化微生物等方面的基础理论、工艺流程和应用实践等。全书集成了可再生能源及化石能源微生物转化的最新理论、工艺、方法和进展。

本书可作为生物化工、能源环保等领域科研人员、生产技术人员参考书,也可作为高等院校生物科学、生物技术、生物化工、能源工程、环境工程和资源利用等专业教师、研究生和本科生的教学用书。

图书在版编目(CIP)数据

能源微生物学/袁振宏等编著. —北京:化学工业出版社, 2012.3

ISBN 978-7-122-13333-5

I. 能… II. 袁… III. 生物能源-转化-研究
IV. TK6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 017856 号

责任编辑:陈 蕾 侯玉周

文字编辑:谢蓉蓉

责任校对:陶燕华

装帧设计:尹琳琳

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷:北京永鑫印刷有限责任公司

装 订:三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 22¼ 字数 395 千字 2012 年 6 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价: 69.00 元

版权所有 违者必究

《能源微生物学》编写人员

(以姓氏笔画为序)

王忠铭	亓 伟	孔晓英	吕鹏梅	朱顺妮
庄新姝	许敬亮	孙永明	李 东	李连华
张 宇	陈新德	尚常花	罗 文	袁振宏
徐惠娟	郭 颖	梁翠谊		

序 言

能源是人类赖以生存、社会赖以发展的重要物质基础，影响着人类生活的方方面面。随着世界化石能源的日渐枯竭，能源问题已成为制约社会经济快速发展的瓶颈。所以，开展能源资源清洁利用的新技术研究和开发，对于发展循环经济、缓解能源供给压力和减轻环境污染都十分重要。

微生物作为一种简单的生命形式，从文明之初被人类无意识地利用到今天被大规模地系统开发利用，在人类的生存、生产和生活中发挥了至关重要的作用。在能源方面的作用亦不例外，微生物通过自身的生长活动或其产生的代谢酶类，在生物质能利用、石油开采和煤炭液化等方面所发挥的催化转化功能，已经并将不断促进能源资源的可持续生产和利用效率的提高。

《能源微生物学》一书系统地介绍了微生物在生物质液体燃料、气体燃料、产电和化石能源利用等方面的能源转化原理、工艺流程和应用实践。全书图文并茂、内容翔实、编排合理，既强调能源微生物学理论的基础性，又注重能源转化工艺的实用性及其研究开发的新颖性，可为生物化工和能源环保等领域研究人员、工程技术人员以及经营管理人员提供很好的专业指导和参考。

《能源微生物学》的作者，认真总结了国际和我国微生物学工作者在能源领域研究的成果，扩展了我国微生物学研究领域的内涵。衷心希望，该书的出版，将有力推动我国正在兴起的能源生化转化事业的长期发展。同时，期望本书的面世，亦能对国家建设低碳、节能型的可持续发展的现代社会，有所裨益。

赵国屏

序 言

2010 年,我国石油进口量大幅增长,原油净进口量首次突破 2 亿吨,对外依存度更是超过 55%,是世界上仅次于美国的能源消费大国。而且随着我国经济持续的高位运行和增长,以及汽车保有量的继续增加,我国的石油对外依存度将继续攀升。预计到 2020 年中国的石油对外依存度将超过 65%。能源短缺不仅给我国的能源战略安全构成潜在的威胁,而且能源消费所引起的环境问题也已成为制约我国经济、社会持续、快速、健康发展的瓶颈。加快发展生物质能,提高化石能源的利用效率,对于维护我国能源安全有着极为重要的意义。

《能源微生物学》一书顺应时代发展的需要,从能源转化的微生物学角度,分析能源转化过程中所涉及的微生物种类和酶类,阐述能源转化的机理和生化历程,并结合菌种选育、应用示范等,系统地介绍了能源微生物转化的基础理论、工艺流程和应用实践等。本书集成了可再生资源及化石能源微生物转化的最新理论、工艺、方法和进展,翔实地展现了能源微生物学的全貌。全书内容丰富、编排合理、叙述流畅,既考虑了能源微生物学的基础性、系统性和完整性,又注意了撰写内容的实用性和新颖性。

本书的编写人员由长期从事在一线研究的专家、学者组成,具有丰富的理论知识和实践经验,对相关研究领域发展概况和研究进展有清晰的把握。他们不辞辛劳,为读者撰写了这本不可多得的专著。相信该专著的面世,将会有力推动我国能源生化转化事业的发展。建议此书可作为生物化工、能源环保等领域科研人员、生产技术人员参考书,也可作为高等院校生物科学、生物技术、生物化工、能源工程、环境工程和资源利用等专业教师、研究生和本科生的教学用书。



前 言

能源是人类社会赖以生存和发展的重要物质基础,也是当今国际政治、经济、军事和外交关注的焦点,影响着人类生活的方方面面。当前,世界能源的供应主要依赖于化石能源。化石能源作为一种不可再生资源,其广泛使用所带来的一系列生态环境污染问题,也正日益严重地困扰着整个人类社会的和谐发展。所以,寻找高效、清洁的能源转化技术,对于缓解能源供给压力、提高能源转换效率、减轻生态环境污染具有十分积极的意义。

出于能源安全和环境保护等国家发展战略层面的需要,我国政府已充分认识到开发使用“绿色能源”的重要性,大力发展生物质液体燃料、生物燃气和微生物燃料电池等生物能源的开发计划已被列入计划日程。利用现代生物技术进行生物质、化石资源的高效清洁利用是最终形成人类社会发展和自然界循环和谐统一的最重要的可持续发展途径。微生物及其产生的酶类,在能源转化过程中起着关键性的作用。它们可以利用自然界中丰富的农林废弃物、生活垃圾等资源,转化为燃料乙醇、丁醇、生物柴油、沼气和氢气等清洁能源。对于改善生态环境、发展社会经济等具有重要的战略意义和现实意义。

近年来,随着系统生物学、合成生物学和代谢工程等学科突飞猛进的发展,人们可以根据自己的需要,利用微生物或其产生的酶类来设计、开发相关的能源产品。在世界范围内,每年都有大量的文章、专利报道能源生化转化技术的最新进展。鉴于微生物在能源转化过程中的重要性,我们组织了一批长期从事在一线研究的专家、学者组成编撰团队,试图从能源转化的微生物学角度,分析能源转化过程中所涉及的微生物种类和酶类,阐述能源转化的机理和生化历程,并结合菌种选育、应用示范等,系统介绍能源微生物转化的基础理论、工艺流程和应用实践等。

本书第一章绪论部分概括介绍了能源微生物转化的全貌,由亓伟和庄新姝撰写;第二章微生物学基础知识,详细介绍了原核微生物、真核微生物、微生物生长和代谢以及遗传育种方面的微生物学基础知识,由袁振宏撰写;第三章生物质预处理及水解微生物,详细介绍了淀粉、木质素、纤维素和半纤维素水解(降解)微生物及其酶类,由许敬亮、张宇、梁翠谊撰写;第四章乙醇发酵微生物,详细介绍了六碳糖、五碳糖、合成气发酵微生物及乙醇发酵生产工艺与应用,由徐惠娟、朱顺妮撰写;第五章丁醇发酵微生物,详细介绍了丁醇发酵研究历史、生化历程及工艺应用等,由陈新德和许敬亮撰写;第六章油脂转化及产油微生物,详细介绍了产脂肪酶微生物、产油微藻和产油真菌,由吕鹏梅、王忠铭、罗文和尚常花撰写;第七章沼气发酵微生物,详细介绍了沼气厌氧发酵原理、产酸和产甲烷微生物等,由孙永明和李连华撰写;第八章产氢微生物,详细介绍了氢化酶、固氮酶、光合产氢、暗发酵产氢及一氧化碳营养产氢微生物等,由李东撰写;第九章产电微生物,概括介绍了微生物燃料电池的研究概况、群落分析和产电微生物应用等,由孔晓英撰写;第十章化石能源转化微生物,概括介绍了石油开采和煤炭转化微生物,由许敬亮和郭颖负责撰写。

作者试图努力使本书为从事和关心能源转化工作的人们提供一些有益的帮助,包括从事科学研究、技术开发和企业界的人士等,甚至希望本领域高等院校教师和学生也能够从中受益。但是,本领域科技发展日新月异,对最新科技进展介绍,难免有疏漏之处。同时,由于作者水平有限,书中难免存在不妥之处,敬请广大读者批评指正。也希望此书的出版能够起到“抛砖

引玉”的作用，促进我国能源生化转化事业更好、更快地发展。

在本书即将出版之际，原中国微生物学会理事长、中国科学院院士赵国屏研究员和南京工业大学校长、中国工程院院士欧阳平凯教授欣然为本书作序，我们在此深表感谢！首都师范大学的杨秀山教授和田沈教授对本书的审稿、校对做了大量工作，刘云、何敏超等也参与了本书的统稿校对工作。王闻、张猛、张明婷、潘微和熊莲等同学也参与了本书部分编撰工作。同时，向所有对本书给予支持、关心和帮助过的领导、长者、朋友和同事们表达我们最衷心的感谢。

编者

2012年3月

目 录

第一章 绪论	1	二、淀粉酶分类	70
本章导读	1	三、淀粉分解微生物选育	76
第一节 能源与微生物	1	四、淀粉酶应用	76
一、能源及其转化方法	1	第二节 木质素降解微生物及木质素酶类	78
二、能源微生物	3	一、木质素及其降解微生物	78
第二节 能源微生物的应用现状及发展前景	7	二、木质素降解酶及其作用机制	81
一、能源微生物在传统化石能源开采中的		三、木质素降解微生物的选育	84
应用	7	四、木质素降解酶应用	85
二、能源微生物在醇类燃料转化中的应用	7	第三节 纤维素分解微生物及纤维素酶类	85
三、能源微生物在油类燃料转化中的应用	8	一、纤维素分解微生物	86
四、能源微生物在生物燃气转化中的应用	9	二、纤维素酶系及其水解机制	89
五、能源微生物在燃料电池中的应用	10	三、纤维素酶的分子育种	94
参考文献	10	四、纤维素酶应用	95
第二章 微生物学基础	11	第四节 半纤维素分解微生物及半纤维素	
本章导读	11	酶类	96
第一节 原核微生物	11	一、半纤维素的组成和结构	96
一、细菌	11	二、半纤维素分解微生物	98
二、古细菌	17	三、半纤维素酶	99
三、放线菌	18	四、半纤维素酶的分子育种	101
第二节 真核微生物概述	20	五、半纤维素酶应用	102
一、真菌	21	参考文献	103
二、黏菌	26	第四章 乙醇发酵微生物	106
三、藻类	26	本章导读	106
四、原生动物	28	第一节 六碳糖发酵微生物	106
第三节 病毒	28	一、六碳糖发酵微生物种类	107
一、病毒学基础	28	二、六碳糖乙醇发酵机理	108
二、噬菌体	30	三、六碳糖乙醇发酵菌种的选育	115
第四节 微生物的生长与代谢	32	第二节 五碳糖发酵微生物	118
一、微生物营养	32	一、五碳糖发酵微生物	118
二、微生物生长繁殖	33	二、五碳糖乙醇发酵机理	120
三、微生物培养	37	三、五碳糖乙醇发酵菌种的选育	125
四、微生物代谢	38	第三节 合成气发酵微生物	133
第五节 微生物遗传变异和育种	52	一、利用合成气产乙醇的微生物	133
一、遗传物质基础及遗传信息传递	52	二、合成气乙醇发酵机理	136
二、微生物育种	55	第四节 乙醇发酵生产工艺与应用	138
三、菌种保藏	66	一、糖质原料乙醇发酵工艺	138
参考文献	68	二、纤维质原料乙醇发酵工艺	142
第三章 生物质预处理及水解微生物	69	三、合成气乙醇发酵工艺及反应器	143
本章导读	69	参考文献	144
第一节 淀粉分解微生物及淀粉酶类	69	第五章 丁醇发酵微生物	148
一、淀粉分解微生物	69	本章导读	148

第一节 丁醇发酵工业概况	148	一、产酸发酵细菌	217
一、丁醇的性质和用途	148	二、产氢产乙酸菌	218
二、丁醇的生产方法	150	三、同型产乙酸菌	220
三、发酵法生产丁醇发展史	151	四、产酸发酵细菌种群生态学	220
四、我国丁醇发酵工业概况	151	第三节 产甲烷微生物分类	221
第二节 丁醇发酵微生物	153	一、甲烷杆菌目	221
一、丁醇发酵微生物种类	153	二、甲烷球菌目	225
二、丙酮-丁醇发酵机理	156	三、甲烷微菌目	228
第三节 丙酮-丁醇发酵过程	160	四、甲烷八叠球菌目	231
一、发酵过程变化	161	五、甲烷火菌目	234
二、丙酮-丁醇发酵过程主要影响因素	164	第四节 产甲烷菌甲烷形成途径	234
三、丁醇对细胞的毒性	166	一、由 H_2 和 CO_2 形成甲烷	234
四、丁醇比例的影响因素	166	二、甲酸产甲烷途径	239
五、丁醇发酵微生物选育	167	三、甲醇和甲胺产甲烷途径	239
第四节 丙酮-丁醇发酵生产工艺与应用	169	四、乙酸产甲烷途径	241
一、分批发酵	169	五、产甲烷菌基因组研究	244
二、连续发酵	173	第五节 沼气发酵微生物生态学及其应用	244
三、流加发酵	176	一、沼气发酵微生物生态学	244
四、生物长链醇的合成	177	二、沼气发酵应用	245
参考文献	178	参考文献	248
第六章 油脂转化及产油微生物	182	第八章 产氢微生物	250
本章导读	182	本章导读	250
第一节 产脂肪酶微生物	182	第一节 氢化酶和固氮酶	250
一、产脂肪酶微生物分类	182	一、氢化酶	250
二、脂肪酶催化油脂转化过程	184	二、固氮酶	260
三、脂肪酶固定化	185	第二节 光合产氢微生物	265
四、产脂肪酶菌种选育	190	一、光能营养微生物与光合作用	265
五、产脂肪酶菌株发酵	193	二、真核藻类产氢	278
第二节 产油微藻	193	三、蓝细菌产氢	282
一、产油微藻的分类	193	四、光合细菌产氢	285
二、微藻合成油脂的机理	194	第三节 暗发酵产氢微生物	288
三、产油微藻的选育	195	一、暗发酵产氢微生物	288
四、微藻油脂生产工艺	200	二、暗发酵产氢机制	290
第三节 产油真菌	206	三、混合菌种暗发酵制氢	293
一、产油真菌种类	206	第四节 一氧化碳营养产氢菌	295
二、产油真菌合成油脂机理	207	一、一氧化碳营养产氢菌	295
三、产油真菌油脂合成代谢调控	208	二、一氧化碳营养产氢菌的生物合成	296
四、影响产油真菌油脂合成因素	210	三、一氧化碳营养产氢菌水气转化产 氢机理	298
五、产油真菌选育	211	第五节 生物制氢应用前景	299
参考文献	212	参考文献	301
第七章 沼气发酵微生物	216	第九章 产电微生物	303
本章导读	216	本章导读	303
第一节 沼气微生物厌氧发酵原理	216	第一节 微生物燃料电池基础	303
一、沼气发酵的两阶段理论	216	一、微生物燃料电池研究发展历程	303
二、沼气发酵的三阶段理论	216	二、MFC 结构和工作原理	304
三、沼气发酵的四阶段理论	217	三、产电微生物电子传递机理	305
第二节 产酸发酵微生物	217		

第二节 产电微生物	306	三、生物传感器	326
一、产电微生物分类	306	四、生物修复	327
二、产电微生物性质及电化学活性	307	五、MFC 制氢	327
第三节 产电微生物的分离与选育	316	六、水质淡化	327
一、产电微生物富集培养基	316	七、小结	328
二、产电微生物的分离	317	参考文献	328
三、菌悬液电化学活性考察	318	第十章 化石能源转化微生物	331
第四节 MFC 中阳极菌群的群落分析	318	本章导读	331
一、乙酸钠为底物产电微生物的群落分析	318	第一节 石油开采微生物	331
二、葡萄糖为底物 MFC 中阳极的微生物群落分析	320	一、微生物采油技术发展历程	331
三、人工废水 MFC 中微生物的群落分析	320	二、石油开采微生物分类	332
四、以河水为底物的 MFC 阳极微生物的群落分析	321	三、微生物开采石油的机理	334
五、以厌氧出水为底物的 MFC 阳极微生物群落分析	322	四、微生物开采石油方法和技术	337
六、产电微生物在 MFC 中的产电能力	324	五、现代技术在微生物采油中的应用	338
第五节 产电微生物应用	325	第二节 煤炭转化微生物	339
一、污水处理	325	一、煤的形成与微生物转化	339
二、产生电能	326	二、煤炭微生物转化分类	341
		三、煤炭微生物转化机理	342
		四、煤炭转化微生物选育	343
		五、煤炭微生物转化技术应用	344
		参考文献	345

第一章 绪 论

本章导读

能源是维持人类生存的物质基础，也是促进人类物质文明发展的动力之源。当前，人类能源利用主要以化石能源消费为主。随着人类经济、社会的快速发展，化石能源作为一种不可再生能源，已无法满足人们日益增长的能源需求。所以，开发生物质能等可再生能源及化石能源清洁利用技术，对于缓解当前能源供给压力、发展循环经济等具有十分重要的意义。

地球上所有自然存在的物质和人工合成的每一种化合物，基本上都能被微生物所降解转化，这也是生命世界物质循环能得以持续进行的一个重要环节。微生物及其产生的酶类，在能源转化过程中起着关键性的作用。它们可以利用自然界中丰富的农林废弃物、生活垃圾等资源，转化为燃料乙醇、丁醇、生物柴油、沼气和氢气等清洁能源。对于改善生态环境、发展社会经济等具有重要的战略意义和现实意义。

与传统的微生物学书籍不同，本书试图从能源转化的微生物学角度，分析微生物在能源转化过程中所涉及的种类、转化机理和生化历程，并结合菌种选育、应用示范等，系统地介绍能源微生物转化的基础理论、工艺流程和应用实践等，在满足读者了解能源微生物学基础知识需求的同时，还可以达到把握科技前沿的目的。

第一节 能源与微生物

一、能源及其转化方法

大自然赋予人们的多种多样的能源，有的已被开发和利用，如煤炭、石油、天然气、水力等常规能源，以及生物质能、核能、潮汐能、太阳能、地热能、风能等新能源。根据各种能源的特点和合理利用的要求，可以从不同的角度对能源进行分类，如表 1-1 所示。

从能源获得方式的角度，可把能源分为自然界现存的一次能源和由一次能源加工转换而成的二次能源。一次能源指的是以现存的形式存在于自然界中的能源，如煤、石油、天然气、生物质能、地热、核能、风能等；二次能源指的是由一次能源直接或间接转换成的其他种类和形式的人工能源，如电能、氢能、汽油、煤气、乙醇等。

从能源是否能循环再生的角度，可将能源分为可再生能源和不可再生能源。可再生能源一般是指不会随人类的开发利用而日益减少的能源，通常包括生物质能、水力、潮汐、太阳辐射、风力、地下热水、沼气等；不可再生能源指的是随人类的开发利用会逐渐减少甚至枯竭的能源，最为典型的就煤炭、石油和天然气。

表 1-1 能源分类

依 据	类 别
按获得方式划分	一次能源、二次能源
按产生能量的根源划分	来自地球以外的能源、来自地球内部的能源、来自其他天体对地球作用的能源
按是否能够再生划分	可再生能源(循环能源)、不可再生能源(消耗性能源)
按使用情况划分	燃料能源、非燃料能源
按储存和输送的性质划分	含能体能源、过程性能源
按利用状况划分	常规能源、新能源
按污染程度划分	清洁能源、非清洁能源

从污染程度的角度，可以将能源分为清洁能源和非清洁能源，人们也将清洁能源称为绿色能源。“绿色能源”有两层含义：一是利用现代技术开发干净、无污染的新能源，如生物质能、太阳能、风能、地热能等；二是化害为利，将发展能源同改善环境相结合，充分利用城市垃圾、农林废弃物等废弃物中所蕴藏的能源。煤炭、石油等在被利用时能给环境带来污染的能源属于非清洁能源。

能源的分类有很多种，对于任何一种具体的能源，都可以因为分类角度不同而兼属各种类别。如生物质能，既是新能源，又是可再生能源；既是清洁能源，又是一次能源，并且其转化而成的乙醇又被称为二次能源。

随着社会的发展，一次能源已经远远不能满足人们的需要，同时一次能源的使用对生态环境造成了极大的危害，因此需要采取一定的方法将一次能源转化为二次能源才能使用。化石燃料虽然在人类文明和社会进步发展中发挥了不可磨灭的作用，但是其不可再生性也为人类的大肆使用敲响了警钟。另外，化石燃料的大肆滥用，也给环境造成了极大的压力。风能、太阳能和生物质能等可再生能源在未来替代化石能源已成为必然趋势。

生物质能源是可再生能源中唯一的碳能源，可通过各种转化途径生产出人类需要的各类能源产品，包括气、固、液三种形态的燃料，也可以生产电力，直接在现行的能源利用终端上替代石油和煤炭等化石燃料。同时，作为含碳资源，可以通过生物炼制过程生产出各类高附加值的化学品，替代矿物资源。而且，开发生物质能源有利于温室气体减排、治理环境污染，也有利于生态恢复、促进新农村建设和农村经济发展。

我国可利用的生物质资源十分丰富，据中国农业大学近期的统计数据，我国每年农业废弃物量达 7.4 亿吨，除去用作饲料、造纸、合理还田和工业原料外，3.9 亿吨农作物秸秆可用作能源，约折合 2 亿吨标准煤；工业有机废水和畜禽养殖场废水资源理论上可产沼气 800 亿立方米，相当于 5700 万吨标准煤；薪炭林和林业及木材加工废弃物资源相当于 3 亿吨标准煤；城市垃圾发电每年可替代 1300 万吨标准煤；此外，一些油料、含糖或淀粉类作物也可用于制取液体燃料。近期内，我国每年可以利用的生物质能源总量约为 5 亿吨标准煤，如果全部加以合理利用，可解决目前中国 20% 以上的能源消费量，且每年至少可减少二氧化碳排放量近 35 亿吨，减少二氧化硫、氮氧化物、烟尘的排放量近 2500 万吨。

目前，生物质资源得到了大规模的利用，开发了多种利用技术，如生物质气化发电、生物质热解制取气体和液体燃料、生物质制取化学品等。生物质气化是一种热化学转换技术，可将体积庞大、能量密度低、不易燃烧或燃烧效率低的生物质原料转化为能量密度高、适于储存、运输和使用的气体燃料，大大提高了能源利用的品质和效率，同时也拓宽了生物质能的利用范围。燃料乙醇是生物质制取的液体燃料中的一种，可利用化学和物理的方法将生物质原料水解为可发酵性糖后，再经过微生物发酵制取乙醇，这也是与能源微生物联系最密切的一种能源。自 20 世纪 70 年代起，为应对世界石油危机，巴西和美国都成立了专门机构以促进燃料乙醇的发展，并把目光转向本国相对丰裕的农作物（巴西的甘蔗和美国的玉米）。我国也相继发展了陈化粮制燃料乙醇工业，并且取得了飞速的发展。2010 年，全球燃料乙醇的产量达到 858 亿升。但受我国国情的限制，我国不能走美国以玉米为原料的道路。大力发展木质纤维素类生物质等非粮原料燃料乙醇、丁醇等醇类生产技术，将是我国未来醇类燃料生产的必然选择。目前，我国生物质制取燃料乙醇的技术已经接近成熟，未来几年将是生物质制取燃料乙醇发展的黄金时期。

生物柴油可以替代石化柴油，以弥补石油资源的短缺，是一种环境友好的生物质液体燃料。在美国和欧洲，生物柴油主要利用大豆油或菜籽油作为生产原料，昂贵的原料价格决定了欧美生物柴油生产企业只有在政府的财政补贴下才能生存。我国高昂的食用油价格也无法实现

生物柴油生产的经济化运行，而且食用油料植物存在“与粮争地”、“与人争油”的问题。为此，国内积极参与市场竞争的是以地沟油等废油脂为原料油的生产企业，废油脂资源的数量和区域性限制了生物柴油产业的长足发展。生物柴油也是生物质利用的一个重要方向，可以将诸如麻风树、微藻等富含油分的生物体通过生化或化学方法转化为生物柴油，目前国内外对该技术展开了广泛的研究。

生物质能源的利用与能源微生物相关性较大，有很多种形式的生物燃料可经微生物（或其产生的酶类）作用得到，比如燃料乙醇、燃料丁醇、氢气、甲烷等。同时，微生物在化石能源清洁利用中也发挥着重要作用，比如微生物采油和煤炭液化等。

二、能源微生物

所谓能源微生物，是指那些与自然资源或废弃物资源化利用密切相关的微生物的统称，主要包括细菌、真菌和微藻等。本书所介绍的微生物类型主要是指那些在目前科学技术条件下，能用于或有可能用于促进能源转化过程，生产出清洁能源产品的微生物。主要涉及生物质能源转化，少量与石油和煤炭转化有关。

1. 能源微生物的来源及选育

微生物是地球上分布最广、物种最丰富的生物群体，种类之多，至今仍是一个难以估计的未知数。它们除了能生活在动物、植物可以生长的环境中外，还可以生活在不适宜动植物生长的厌氧、高温、高盐等极端环境中。为适应环境对它们生存造成的压力，它们在进化过程中会产生出许多具有特殊活性的物质，以抵御外界环境压力。所以，微生物在过去、现在及将来都是人类获取能量和生物活性物质的丰富源泉。

(1) 微生物的来源 工业发酵所采用的微生物通常称为菌种，菌种的来源主要分为以下三类。

① 自然环境 目前，工业生产过程中的微生物，最初都来源于自然环境，包括从土壤、水、动物、植物、矿物及空气等样品中分离筛选得到，后根据人类的生产、生活需要，经过一系列的培育改良等，发展成为今天广为使用的菌种。

在采集菌种标本时，取材的来源越广泛，越有可能获得新的菌种。特别是在一些极端环境中，如高温、高压、高盐、高 pH、低 pH 以及海洋中，存在着大量适应了各种环境压力的微生物类群，这些都是尚待开发的重要菌种资源。

② 收集菌株筛选 如果已知所需发酵产品的产生菌的种名，则应尽量多地收集该种菌的不同菌株。通过向世界各地微生物培养保藏单位、各种微生物实验室免费索取或购置，然后对目标菌株进行筛选、分析、改良等，逐步淘汰不符合生产需求的菌株，选择经系列试验验证符合生产需要的菌株作为生产菌种。

③ 购置生产菌种 通常是指购置专利菌种，或向生产单位购置性能优越的菌种。生物技术方面的发明专利申请专利有特殊要求：如果它的实现涉及微生物或其他生物培养物，仅依靠专利申请说明书不能获得发明权，为此，大多数国家的专利法规定，涉及生物培养物的发明专利，此生物培养物又为公众所不知，申请人除了提供专利说明书之外，还要向专利局规定的菌种保藏机构提供用于所申请专利保护的生物培养物，给予保藏。需要生产菌种可向专利发明人购置，由保藏该专利菌种的机构提供。另外，根据情况不同，菌株还可以通过个人交流以及惠赠的方式获得。

(2) 微生物的选育 尽管生产菌种最初均是来自于自然界，但天然菌种的生产性能一般比较低。20 世纪 40 年代抗生素工业的兴起，推动了微生物遗传学的快速发展，也为微生物发酵工业优良菌种的人工选育奠定了理论基础。近年来，随着系统生物学、合成生物学和蛋白质工程等现代生物工程技术的快速发展，使微生物育种技术也不断前进，人们可以根据需要，研

制开发出符合生产要求的工程菌株。目前，自然选育、诱变选育、抗噬菌体菌种的选育、杂交育种、原生质体融合技术和基因工程技术等在微生物菌种选育上应用颇为广泛。

① 自然选育 不经人工处理，利用微生物的自然突变进行菌种选育的过程称为自然选育 (spontaneous mutation)。这类突变没有人工参与，一般认为自然突变有两种原因引起，即多因素低剂量的诱变效应和互变异构效应。所谓多因素低剂量的诱变效应，是指在自然环境中存在着低剂量的宇宙射线、各种短波辐射、低剂量的诱变物质和微生物自身代谢产生的诱变物质等的协同作用导致的突变；互变异构效应是指 4 种碱基第 6 位上的酮基或氨基的瞬间变构，会引起碱基的错配。

自然变构可能会产生两种截然不同的结果，一种是菌种退化而导致目标产物产量或质量下降；另一种是对生产有益的突变。为了保证生产水平的稳定和提高，应经常地进行生产菌种自然选育，以淘汰退化菌株，选出优良的菌种。

② 诱变选育 微生物在长期的进化过程中，形成了一套严密的代谢调控机制。其自身代谢过程是被严格调控的，并且还存在着代谢产物的分解途径，所有的代谢产物都不会过量积累。因此从自然环境中分离所得的菌种，生产能力有限，一般不能满足实际生产的需要。诱变育种是提高菌种生产能力，使所需要的某一特定的代谢产物过量积累的有效方法之一。

③ 杂交育种 生产上，长期使用诱变剂处理会使菌种的活力下降，如生长周期延长、孢子量减少、代谢减慢、产量增加缓慢等，因此有必要利用杂交育种的方法，提高菌种的生产能力。杂交育种的目的是将不同菌株的遗传物质进行交换、重组，使不同菌株的优良性状集中在重组体内，克服长期诱变引起的活力下降等缺陷。通过杂交还可以扩大变异范围，改变产品的产量和质量，甚至创造出新品种。由于多种微生物尚未发现有性世代，因此直接亲本菌株应具有适当的遗传标记，如颜色、营养要求（即营养缺陷标记）或耐药性等。

④ 原生质体融合技术 对微生物育种来说，有性重组的局限性很大，这是因为迄今发现有杂交现象的微生物并不多，这就妨碍了基因重组在微生物育种中的应用。原生质体融合技术提供了充分利用遗传重组杂交的方法。原生质体融合技术首先是在动植物细胞融合研究的基础上发展起来的，然后应用于真菌、细菌和放线菌。由于这一技术可以打破种属间的界限，提高重组频率，扩大重组幅度而备受关注。

⑤ 基因工程技术 将外源 DNA 通过体外重组后，导入受体细胞，使其在受体细胞中复制、转录、翻译、表达的技术称为基因工程或 DNA 体外重组技术。这项在微生物遗传学和分子生物学基础理论上发展起来的新兴技术，不仅是生命科学研究发展的里程碑，也使现代生物技术产业发生了革命性的变化。

基因工程菌构建的主要步骤包括目的基因克隆、DNA 重组体体外构建、重组 DNA 导入宿主细胞以及阳性克隆的选择等。在构建过程中，应重点考察目的基因的表达产量、表达产物的稳定性、产物的生物活性和产物的分离纯化等对工业生产具有指标意义的性能。因此，在进行基因工程菌构建时，必须综合考虑各种影响因素，选择最佳的基因表达系统。

2. 能源微生物的分类

研究微生物分类理论和技术方法的科学称为微生物分类学 (microbial taxonomy)。分类学内容涉及 3 个相互依存又有区别的组成部分：分类、命名和鉴定。分类 (classification) 是指根据一定的原则（特征的相似性或系统发育相关性）对微生物进行分群归类，根据相似性或相关性水平排列成系统，并对各个分类群的特征进行描述，以便查考或对未被分类的微生物进行鉴定。命名 (nomenclature) 是根据命名法规，给每一个分类群一个专有的名称。鉴定 (identification 或 determination) 则是借助于现有的微生物分类系统，通过特征测定，确定新发现的或未明确分类地位的微生物所应归属分类群的过程。

能源微生物的分类情况十分复杂。在本书的介绍中,为了方便查阅,按照其功能,即代谢产生何种能源产品或作用方式进行分类,能源微生物主要分为以下八类。

① 生物质预处理及水解微生物,包括淀粉分解微生物及淀粉酶类、木质素降解微生物及木质素降解酶类、纤维素分解微生物及纤维素酶类、半纤维素分解微生物及半纤维素酶类。

② 乙醇发酵微生物,包括己糖发酵微生物、戊糖发酵微生物和合成气发酵微生物。

③ 丁醇发酵微生物。

④ 油脂转化及产油微生物,包括产脂肪酶微生物、产油微藻、产油酵母和产油霉菌。

⑤ 沼气发酵微生物,包括产酸发酵微生物和产甲烷微生物等。

⑥ 产氢微生物,包括光合产氢微生物、暗发酵产氢微生物和一氧化碳营养菌等。

⑦ 产电微生物。

⑧ 化石能源转化微生物,包括采油微生物和煤炭转化微生物。

在以上每一类中又可分为几十种微生物转化菌株,例如六碳糖发酵制取乙醇的微生物,在自然界中存在很多种类,但其中只有部分能应用于工业化生产中,目前的研究主要集中在酵母(酿酒酵母、卡尔斯伯酵母、鲁氏酵母、粟酒裂殖酵母、克鲁维酵母等)和细菌(运动发酵单胞菌、热纤维梭菌、热硫化氢梭菌等)。在后面章节,将依据不同的能源产品,对涉及的能源微生物进行详细的介绍。

3. 能源微生物转化原理

与所有的微生物一样,能源微生物的生长繁殖主要是依赖于两种代谢途径,即分解代谢和合成代谢。微生物通过分解代谢将从环境中吸收的各种碳源、氮源等物质降解,为细胞的生命活动提供能源和小分子中间体。分解代谢包括各种中心途径如柠檬酸循环(TCA)、糖酵解途径(EMP)和戊糖磷酸途径(HMP),以及外周途径(指其他碳源、氮源物质通过分解后进入中心途径)。微生物的合成代谢是利用分解代谢的能量和中间体合成氨基酸、核酸等单体物质及蛋白质、核酸、多糖等多聚物。因此,微生物的分解代谢和合成代谢相互关联、相互制约成为其生命活动的基础。本部分将对能源微生物的转化机理做一总体介绍,以下各章节中将具体到在各种能源微生物中分类介绍。

微生物的产能代谢是指物质在生物体内经过一系列连续的氧化还原反应,逐步分解并释放能量的过程,这是一个产能代谢过程,又称为生物氧化。在生物氧化过程中释放的能量可被微生物直接利用,也可通过能量转换储存在高能化合物(如ATP)中,以便逐步被利用;还有部分能量以热的形式释放到环境中。不同类型微生物进行生物氧化所利用的物质不同,异养微生物利用有机物,自养微生物则利用无机物。

(1) 异养微生物的生物氧化 异养微生物将有机物氧化,根据氧化还原反应中电子受体的不同,可将微生物细胞内发生的生物氧化反应分成发酵和呼吸两种类型,而呼吸又可分为有氧呼吸和无氧呼吸两种形式。

① 发酵 发酵是指微生物细胞将有机物氧化释放的电子直接交给底物本身未完全氧化的某种中间产物,同时释放能量并产生各种不同的代谢产物。在发酵条件下,有机物只是部分地被氧化,因此,只释放出小部分的能量。发酵过程的氧化与有机物的还原相偶联,被还原的有机物来自于初始发酵的分解代谢产物,不需要外界提供电子受体。

发酵的种类有很多,可发酵的底物有糖类、有机酸、氨基酸等,其中以微生物发酵葡萄糖最为重要。生物体内葡萄糖被降解成丙酮酸的过程称为糖酵解(glycolysis),主要分为4种途径:EMP途径、HMP途径、ED途径及磷酸解酮酶途径。

② 呼吸作用 微生物在降解底物的过程中,将释放出的电子交给 NAD(P)^+ 、FAD或FMN等电子载体,再经电子传递系统传给外源电子受体,从而生成水或其他还原型产物并

释放出能量的过程称为呼吸作用。其中，以分子氧作为最终电子受体的呼吸称为有氧呼吸 (aerobic respiration)，以氧化型化合物作为最终电子受体的呼吸称为无氧呼吸 (anaerobic respiration)。呼吸作用与发酵作用的根本区别在于：电子载体不是将电子直接传递给底物降解的中间产物，而是交给电子传递系统，逐步释放出能量后再交给最终电子受体。

许多不能被发酵的有机化合物能够通过呼吸作用而被分解，这是因为在呼吸作用的生物电子传递系统中发生了 NADH 的再氧化和 ATP 的生产。因此，只要生物体内有一种能将电子从该化合物转移给 NAD^+ 的酶存在，而且该化合物的氧化水平低于 CO_2 即可。能通过呼吸作用分解的有机物包括某些碳氢化合物、脂肪酸和许多醇类。但某些人造化合物对微生物的呼吸作用具显著抗性，可在环境中积累，造成有害的生态影响。

(2) 自养微生物的生物氧化 一些微生物可以氧化无机物而获得能量，同化合成细胞物质，这类细菌称为化能自养微生物。它们在无机能源氧化过程中通过氧化磷酸化产生 ATP。

① 氨的氧化 氨 (NH_3) 同亚硝酸 (NO_2^-) 是可以用作能源的最普通的无机氮化物，能被硝化细菌所氧化。硝化细菌可分为两个亚群：亚硝化细菌和硝化细菌。氨氧化为硝酸的过程可分为两个阶段，即先由亚硝化细菌将氨氧化为亚硝酸，再由硝化细菌将亚硝酸氧化为硝酸。

② 硫的氧化 硫杆菌能够利用一种或多种还原态或部分还原态的硫化物 (包括硫化物、元素硫、硫代硫酸盐、多硫酸盐和亚硫酸盐) 作为能源。 H_2S 首先被氧化成元素硫，然后被硫氧化酶和细胞色素系统氧化成亚硫酸盐，放出的电子在传递过程中可以偶联产生 4 个 ATP。亚硫酸盐的氧化可分为两条途径，一是直接氧化成 SO_4^{2-} 的途径，由亚硫酸盐-细胞色素 C 还原酶和末端细胞色素系统催化，产生 1 个 ATP；二是经磷酸腺苷硫酸的氧化途径，每氧化 1 分子 SO_4^{2-} 产生 2.5 个 ATP。

③ 铁的氧化 从亚铁到高价铁的氧化，对于少数细菌来说也是一种产能反应，但在这种氧化中只有少量的能量可以被利用。

④ 氢的氧化 氢细菌都是一些呈革兰阴性的兼性化能自养菌。它们能利用分子氢氧化产生的能力同化 CO_2 ，也能利用其他有机物生长。氢细菌的细胞膜上有泛醌、维生素 K_2 及细胞色素等呼吸链组分。氢细菌的电子可以直接从氢传递至电子传递系统，电子在呼吸链传递过程中产生 ATP。

4. 能源微生物转化的优越性

微生物是地球生物圈中生命形式的组成部分，是地球化学作用 (主要是生物化学作用) 的主要参与者。地球上最主要和最旺盛的元素循环就是碳循环。这种碳循环的周转速率非常快，并且周转量很大。在大多数陆圈和水圈的环境中，初级生产者主要是高等植物。在水圈的深层，微生物是主要的初级生产者。在碳循环的过程中，微生物也起着巨大的作用，因为在生物圈的整个食物链中，微生物扮演着最终分解者的角色。

能源微生物不仅在可再生能源的生产转化中扮演了重要角色，在传统能源的开发中也起到了举足轻重的作用，主要是因为微生物在能源转化利用中具有突出优点。

(1) 目标产物收率高，基本不产生副产物 微生物的代谢产物单一，具有非常高的定向性。比如利用木质纤维素类生物质制取燃料乙醇的工艺中，将生物质中的半纤维素和纤维素水解为可发酵单糖是至关重要的一步。采用传统的化学处理法，虽然处理效率高，但在转化过程中难免会产生一些对后续发酵过程有抑制作用的化合物。而利用纤维素酶来水解纤维素就不存在这样的问题，纤维素酶可以定向地将纤维素水解为可发酵糖，在反应过程中基本不产生其他副产物。

(2) 变废为宝，清洁生产 随着人口城市化和生活现代化进程的迅速发展，城市垃圾量也迅速增加，成为人类必须面对的头等大事。可以利用填埋技术，将垃圾堆积封闭在经过防渗处