

淺談生質酒精

◎中國醫藥大學藥用化妝品學系·趙國評

◎台北縣永和市永和國小·邱喚文

國際能源機構(International Energy Agency, IEA)位於法國巴黎的總部,於2006年7月發布"未來5年全球能源展望"報告中指出,2005年全球生物燃料每日生產65萬桶,比2000年的產量成長4倍之多,預計到2011年將達到每日生產120萬桶。在國際油價居高不下之情形下,生物燃料產量將持續成長並逐漸替代傳統化石燃料。生物燃料主要係指生質酒精與生質柴油。早在1908年,美國福特公司就已製造出可供汽油與純酒精混合使用的汽車。二次大戰後隨著廉價中東原油的大量開發,此類生質燃料漸漸被世人輕忽。近年來受到石油危機與能源短缺之影響,生質酒精的開發技術開始又受到人類之青睞。對許多無石油資源的國家而言,發展生質酒精不僅可減少對進口石油的依賴,在保護環境方面也比傳統化石燃料具有優勢,燃燒酒精放出的有害氣體與溫室氣體CO₂遠比燃燒汽油少得很多。

巴西是全世界利用生質酒精最普遍的一個國家,據統計2004年全球生產乙醇約為2150萬噸,而巴西年產即有1020萬噸,約為世界產量之半,其主要以蔗糖和糖蜜為原料,目前巴西有300萬輛乙醇車,160萬輛生物燃料與酒精混合之燃料車。而美國是可再生能源的最大生產國,於生質酒精生產方面,每年即有1000萬噸玉米生質酒精之生產量,其中912萬噸添加入汽油中當作燃料,但由於其所利用之生質並非生質廢棄物而是可供人類食用之物資,此舉對於現今世上仍有許多地區存在食物短缺的情況之下,利用

食品轉換為能源之開發,易受到衛道人士異議。因此目前有許多科學家將研究焦點集中於開發生產食物之副產品,以及含木質纖維素或多醣之生質廢棄物作為生質酒精之原料。它的來源包括農作物秸稈、林業加工廢料、甘蔗渣、藻類及城市垃圾中所含的廢棄生質等。據統計若將美國的廢棄生物質加以利用,將可替代40%的汽油。

由於木質纖維主要是由單糖所聚合而成的高分子,生質酒精的原理即是將生質中的木質纖維降解為單糖,再將單糖發酵製成酒精。雖然原物料價格便宜,但生產成本卻很高。木質纖維主要組成成分包括纖維素、半纖維素和木質素等三大部分,而在不同的生質中其比例含量不同。纖維素是由葡萄糖高度聚合而成的晶體架構,此種結構使得纖維素的性質非常穩定。只有在無機酸或是纖維素酶的存在下,纖維素的降解反應才會顯著地進行。而半纖維素是由不同的多聚醣以直鏈或是支鏈聚合而成的混合物,其降解產物包括2種五碳糖(木糖和阿拉伯糖)和3種六碳糖(葡萄糖、半乳糖和甘露糖),各種糖所占比例隨生質不同而有所變異。半纖維素的聚合度較低,也無晶體架構,較易水解。但因生質裡的半纖維素和纖維素互相纏繞在一起,故只有當纖維素被水解時,半纖維素才能水解完全。理論上每162kg纖維素水解可得180kg葡萄糖,每132kg木聚醣水解可得150kg木糖。木質纖維的另一個組成分為木質素,其是由苯基丙烷架構單元透過碳-碳鍵連接而成的三度空間高分子化合物,木質素無法被降

解為單糖，且在纖維素周遭形成保護層，影響纖維素水解。但木質素中氧之含量低，熱值(27MJ/kg)比纖維素(17MJ/kg)高，因此，水解中留下之木質素殘渣常用作燃料。

木質纖維之酸解

木質纖維或多糖的降解可分為酸解與酶解；酸解又可分為濃酸水解和稀酸水解，它們有不同的機制。濃酸水解在19世紀即已提出，結晶纖維素在較低的溫度下可完全溶解於72%的硫酸或42%的鹽酸中，轉化成含幾個葡萄糖單元的低聚糖，把此溶液加水稀釋並加熱，經一定時間後就可把低聚糖水解為葡萄糖，並得到較高的收率。對含矽高的原料(如稻草)可先利用鹼溶液處理固體殘渣，然後在鹼液中加入HCl或H₂SO₄，使H₂SiO₃沈澱回收。剩下的溶液可再調節NaOH濃度到5%~10%，用於處理新的固體原料。酸水解的特點是糖的回收率高(最高可達90%以上)，但所需時間長，而且酸必須回收。影響水解效率的主要因素包括：

1. 原料粉碎程度：原料顆粒越細，與酸液的接觸面積就越大，其水解效果就越好；但過細之原料有耗工時之虞。
2. 液固比：一般液固比增加，單位原料的產糖量也增加，但水解成本上升，且所得糖液濃度下降，增加了後續發酵和精餾程序的費用，常用液固比在8~10之間。
3. 反應溫度及時間：一般認為溫度對水解的影響是溫度上升10℃水解速度可提升0.5~1倍，故當水解溫度高時，水解時間可以縮短。
4. 酸種類及濃度：理論上，酸濃度提升1

倍而其它條件不變時，水解時間可縮短1/3~1/2。但酸濃度提高，設備抗腐蝕性也將提升，導致成本增加，一般常用酸濃度不超過3%。

木質纖維之酶解

自然界中有一些細菌、霉菌和放射線菌都能利用纖維素作為碳源和能量的來源，因為這些微生物能產生將纖維素分解為單糖的纖維素酶。纖維素酶主要包括內切葡萄糖酶(endo-glucanase)、外切葡萄糖酶(exo-glucanase)和β-葡萄糖苷酶(β-glucanase)；其中內切葡萄糖酶的作用是隨機地切割β-1,4-葡萄糖苷鍵，使纖維素長鏈斷裂，斷裂的分子鏈具有一個還原端和一個非還原端。外切葡萄糖酶包含兩個組分，其作用是分別從纖維素長鏈的還原端切割下葡萄糖和纖維二糖(兩個葡萄糖的聚合物)，而β-葡萄糖苷酶的作用是把纖維二糖和短鏈低聚糖分解成葡萄糖。

與酸解相較，酶解的優點是，它可在常溫下進行、微生物的培養與維持僅需較少的原料，能量消耗低。酶的專一性高，可生成單一產物，故糖產率很高(>95%)。由於酶解中的副產物很少，純化過程簡單，污染機會少。但酶解的最大缺點是所需時間長(一般要幾天)、酶的生產成本高，且原料需經前處理。酶解過程包括原料前處理、酶生產和纖維素水解等部分。

酶解的前處理

由於生質中纖維素、半纖維素和木質素間互相纏繞，且纖維素本身存在晶體結構，會阻止酶接近纖維素表面，故生物質直接酶

解時效率很低。透過前處理可除去大部分的木質素、同時溶解半纖維素或破壞纖維素的晶體結構，從而增大其可接觸表面積，提升酶解收率。

目前常用前處理方法大致上可分為物理法、物理-化學法和化學法：

1. 物理法：主要是利用機械粉碎，使生質原料的顆粒變小，增加和酶的接觸表面積，更重要的是破壞纖維素的晶體結構，但是粉碎生質原料所需耗能較大。
2. 物理-化學法：主要包括蒸汽爆裂、氨纖維爆裂、CO₂爆裂等。其原理為利用蒸汽或其它氣體將生質原料加熱後，並保持一定時間，利用高溫和高壓導致木質素的軟化，然後迅速開閥降壓，造成纖維素晶體的爆裂，達到木質素和纖維素分離的結果。
 - (1) 蒸汽爆裂法的優點是耗能低，可批式或連續式操作，主要適合於硬木原料和農作物秸稈，但對軟木的效果較差；其缺點是木糖損失多，容易產生對發酵有害的物質。
 - (2) 氨纖維爆裂不產生有害物質，半纖維素中的糖損失也少。但經此處理的半纖維素並未分解，需另用半纖維素酶水解，故處理成本較大。
 - (3) CO₂爆裂效果不如氨纖維爆裂。
3. 化學法包括鹼處理、稀酸處理及臭氧處理等。
 - (1) 鹼處理法是利用木質素能溶解於鹼性溶液的特點，破壞其中木質素的結構，從而便於酶水解的進行。
 - (2) 稀酸前處理類似於酸解，將原料中

的半纖維素水解為單糖，達到使原料結構鬆散的目的，水解得到的糖液也可以用來發酵製造酒精。

- (3) 臭氧處理可有效地除去木質素，反應在常溫常壓下進行，也不會產生有害物質，但成本太高，不實用。

酶解效能的提昇

量產纖維素酶的兩個主要關鍵，就是篩選高效產酶的微生物和降低產酶的成本。大部分細菌無法分解晶體結構的纖維素，因為它們的酶系統不完善。但有些霉菌能分泌水解纖維素所需的全部酶，這些霉菌對於纖維素酶生產十分重要。目前用得最多的是木霉菌(*Trichoderma reesei*)，透過傳統的突變和菌株篩選，已從早期的野生菌株進化出很多如QM9414、L-27、RutC30這樣的優良變種。各種微生物所分泌的纖維素酶不完全相同。如某些木霉菌株可產生高活性的內切葡萄糖酶和外切葡萄糖酶，但它們所產生的β-葡萄糖酶的活性較差。而屬於*Aspergillus*系的霉菌雖水解纖維素的能力差，但分解纖維二糖的能力卻很強。在生產纖維素酶時就可把這兩類菌株放在一起培養。

酶的生產方法

纖維素酶的生產分為固態發酵和液態發酵兩種方式，固態發酵是指微生物在沒有游離水的固體基質上生長，它的優點是耗能低，對原料品質要求低，產品中酶濃度高，可直接用於水解；缺點是所需人工多，污染控制不易，產品品質不均，適合小量生產。然而，目前大規模生產纖維素酶之產業多以

液態發酵法為主。其優點為所需人工少，適合大量生產，污染控制容易，產品品質再現性佳；缺點為耗能大，原料要求高，產品中酶濃度低。目前酶的生產成本仍然太高，這是阻礙生質酶水解製造酒精發展的重要因素。很多研究者正在從事這方面的改進工作，包括對微生物的篩選和培養以增加酶的產率和提高酶的活性，利用廉價的工農業廢棄物作為微生物培養基質，試驗各種形式的發酵器等。目前通過重組DNA技術已能把纖維素酶中的特定基因轉殖在原來不產酶的微生物內，進而生產出更具優勢的酶，以便更廣泛地應用於酶解工程。

纖維素的酶解和一般的酶反應不同，它的酶作用物-纖維素是不溶性的，只有酶吸附在纖維素表面後才起作用，同時酶也會吸附在木質素上，這是影響酶水解效率的重要因素。其次水解產物像是酸、強氧化劑、還原劑、金屬離子等物質對纖維素酶的活性皆有阻礙作用。除此之外纖維素的酶解速度還與纖維素濃度、酶活性、水解溫度和pH值、發酵設備等之條件有關。

糖化發酵

從70年代以來，人們開始研究細菌的發酵作用。運動發酵單胞菌(*Zymomonas mobilis*)受到了重視。這是早期主要用於生產酒精飲料的細菌，它具有高的發酵選擇性和酒精產率，能耐高濃度的酒精和低的pH值，對水解糖液中的有害物有較強的耐受力。和一般酵母菌相比，它的酒精轉化率可提升5%~10%。在葡萄糖的發酵中，酒精的收率可達到97%，並能產生12%的酒精濃度(W/V)。轉殖基因的

大腸桿菌(*Escherichia coli*)也常用於纖維素製酒精的流程中。如僅考慮葡萄糖的發酵，一般都用酵母菌，像是*Sacchromyces cerevisical*便是相當好的菌種。

天然的*Z. mobilis*對葡萄糖有很強的發酵能力，但它對木糖不起作用。而自然界存在的幾種大腸桿菌不但能利用葡萄糖，也能利用木糖，但它們的代謝產物除了酒精和CO₂外，還包括大量的乙酸、乳酸、琥珀酸和氫。因此，研究人員者將*E. coli*中木糖的基因選殖於*Z. mobilis*中，使其具有代謝木糖的能力。類似的研究也把*Z. mobilis*的相關基因表達在*E. coli*中改變了*E. coli*代謝木糖和葡萄糖的途徑，使其代謝產物僅限於酒精和CO₂，進而大幅提高了酒精的轉化率。目前重組基因的*Z. mobilis*和*E. coli*已被廣泛應用於生物質製酒精的流程中。隨著菌種的培養，木糖的發酵效率已經接近葡萄糖。而能同時發酵葡萄糖和阿拉伯糖的轉基因*Z. mobilis*和*E. coli*菌種也已開發成功，但轉換效率還不太高。

結論

生質酒精的開發，長久以來研究焦點著重在可提供為食物之資源，像是蔗糖與玉米(澱粉質)，其因組成單純，且糖化發酵較為容易，若改以生質廢棄物或作物之副產品為來源，所面對的將是複雜的組成分與糖化發酵過程，因此必須藉由生物科技，開發多元微生物混合發酵系統以及選殖酶解效率更高、產能更大的纖維素酶基因，相信生質酒精提供人類使用世世代代的時期將指日可待。⊙