

运动发酵单胞菌酒精发酵糟液的全回流技术\*

石贵阳<sup>1</sup> 陶 飞<sup>1</sup> 蔡宇杰<sup>2</sup> 徐 柔<sup>1</sup> 章克昌<sup>2</sup>

1( 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 无锡, 214036 )  
2( 江南大学生物工程学院, 无锡, 214036 )

摘 要 酒精生产会产生大量的酒糟废液, 若不适当处理, 将会对环境造成严重的污染。文中将细菌酒精发酵废液经过过滤后, 代替拌料用水, 循环用于酒精生产。回流发酵进行了 8 批, 酒精产量没有降低, 体积分数稳定在 7.3% 左右。发酵液残糖和最终 pH 也趋于稳定, 分别在 1.5 g/L 和 4.0 上下波动。相对于酵母酒糟回流技术, 细菌酒糟回流技术所需的处理过程更简单。而且在回流中, 不需要每次都添加氮源, 这样可以减少发酵有害物质的积累, 有利于实现酒糟滤液全回流。  
关键词 运动发酵单胞菌, 酒精发酵, 闭路循环

运动发酵单胞菌( *Zymomonas mobilis* )的发酵周期短, 酒精产率高, 为酵母的 2~2.5 倍<sup>[4]</sup>。发酵过程不需要通气, 设备工艺比较简单。有利于采用连续发酵, 无载体固定化等先进的控制工艺, 具有良好的应用前景<sup>[5]</sup>。

将细菌酒精发酵与酒糟全回流技术<sup>[6~9]</sup>结合, 必将提升其在酒精发酵中的优势。文中对细菌酒精发酵酒糟滤液的全回流过程进行了研究。在回流发酵中, 酒精废液经过滤分离, 每隔几个批次进行适当的氮源补充。实验证明, 此工艺减轻了发酵中有害物质<sup>[1~3, 7]</sup>的积累, 为酒糟滤液全回流创造了有利条件。

1 材料与方法

1.1 菌 种

运动发酵单胞菌( *Zymomonas mobilis*, ATCC 31821 ), 由江南大学生物工程学院生物资源研究室保藏。

1.2 培养基及培养条件

种子培养基: 葡萄糖 10%, 蛋白胨 1.0%, 酵母膏 1.5%, pH6.0, 37℃ 培养 12 h。

发酵培养基: 葡萄糖 15%, 蛋白胨 2.5%, 酵母膏 0.5%, pH5.0, 37℃ 发酵 48 h。

1.3 分析方法

酒精体积分数、菌体浓度、还原糖浓度的测定按参考文献[5]的方法测定。pH 用 PHS-3TC 精密数显酸度计测定( 上海天达仪器厂 )。

2 结果与讨论

2.1 不同培养基组成对全回流发酵的影响

用酒糟滤液代替拌料用水, 培养基中的营养成分发生了变化。因此, 考察了第 1 批回流发酵时, 由酒糟滤液组成的培养基, 在不同的营养条件下, 发酵 32 h, 细菌生产酒精的情况。实验结果见表 1。

表 1 培养基组成对酒糟回流液发酵的影响

培养基	初糖浓度	残糖浓度	酒精含量	最终 pH	糖利用率
	/g·L <sup>-1</sup>	/g·L <sup>-1</sup>	/g·L <sup>-1</sup>		/%
1( 对照 )	135.3	6.95	60.1	4.57	91.6
2	135.9	7.03	60.7	4.07	92.2
3	137.5	7.14	61.6	4.15	92.5
4	134.7	6.73	60.9	4.4	93.1

注 培养基组成: 1) 蛋白胨 2.5%, 酵母膏 0.5%, 拌料用水; 2) 蛋白胨 2.5%, 酵母膏 0.5%, 酒糟滤液; 3) 蛋白胨 2.5%, 酒糟滤液; 4) 酒糟滤液。

氮源从培养基 2 开始是逐渐减少的, 培养基 3 中, 没有添加酵母膏, 培养基 4 中, 只是在酒糟滤液中添加了葡萄糖。从表 1 可以看出, 用酒糟滤液代替拌料用水, 并且减少了氮源, 细菌的产酒精性能没有降低, 都维持在 60~62 g/L 左右。而糖的利用率却是升高的, 从 91.6% 升高到 93.1%。与文献[1]的报道一致。

因为酒糟滤液中含有未被细菌利用的残余

第一作者: 博士, 副教授。

\* 江苏省自然科学基金( No. BQ1998039 )

收稿时间: 2003-05-22

还原糖、氮源、有机酸、B 族维生素以及一些代谢中间体,有些是发酵原料,有些则可促进发酵<sup>[7]</sup>。

表 1 中的培养基 4,在酒糟滤液中,只加入了葡萄糖进行发酵,结果并没有因为少加了氮源,而使发酵变差。这表明,在酒糟滤液培养基中已含有合适浓度的氮源,可以使发酵正常进行。因此在细菌发酵全回流过程中,并不需要每次都添加氮源。这有利于减少在高温灭菌时,由美拉德反应生成的色素等物质。减少了发酵有害物质的积累,为全回流发酵的顺利进行创造了条件。

## 2.2 酒糟滤液对细菌生长和发酵的影响

培养基中,用酒糟滤液代替拌料用水,对细菌的生长和发酵会产生影响。实验中测定了第 1 批回流时,细菌生长和发酵的变化,结果见图 1 和图 2。

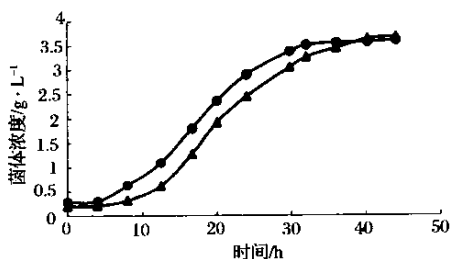


图 1 细菌生长曲线  
注:所用的培养基为表 1 中的 1 和 2

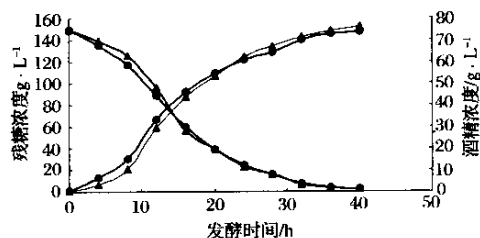


图 2 发酵中残糖与酒精变化曲线  
注:所用的培养基为表 1 中的 1 和 4

图 1 表明,酒糟滤液延长了 *Zymomonas mobilis* 的延迟期 3~4 h,但对最后的菌体浓度没有影响。图 2 表明,酒糟滤液全回流对 *Zymomonas mobilis* 的发酵几乎没有抑制,与对照组的发酵性能接近。这主要是由于酒糟中含有对发酵有利的物质,促进了发酵。这与文献

[1,7] 中有关酵母酒糟回流的报道一致。

## 2.3 回用次数对残糖含量的影响

从实验可知,在全回流发酵过程中,开始几批不添加氮源,发酵也可以正常进行。因此,在 8 批全回流发酵实验中,所用的培养基为表 1 中的培养基 4。只有在发酵结束,残糖升高后(第 5 批),才补充 1 次氮源,然后再进行发酵和回流。

各批次发酵 48 h 后,残糖浓度的变化趋势如图 3 所示。可以看出,在全回流的酒精发酵过程中,从第 1 批到第 4 批,残糖浓度趋于平衡。第 5 批的残糖浓度升高了。但是在补充了氮源后(第 6 批),残糖浓度又回到了较低的水平,回流液的发酵恢复了正常。

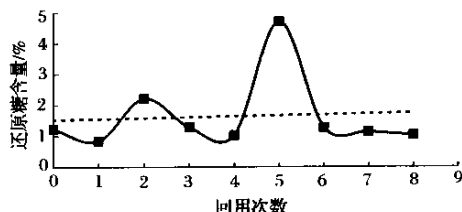


图 3 滤液全回流对残糖含量的影响

根据图 3 的实验结果,提出了 1 种有利于回流,而且节约原料中氮源的工艺。即在回流发酵的批次中,每隔几个批次才添加氮源。实验表明,这是可行的。因为在起初的几批回流发酵中,酒糟培养基中的氮源已经能满足细菌生长和发酵的需要。而且这有利于减少对发酵有害的色素物质的积累,为全回流发酵的顺利进行创造了条件。

## 2.4 回用次数对酒精产率的影响

酒糟滤液的回流,影响着细菌产酒精的能力。在回流中,酒精产量如图 4 所示。

由图 4 可以看出,没有回流的发酵,酒精最终体积分数为 7.3%。回流到第 4 批时,酒精最终体积分数已上升至 7.6%,最后酒精体积分数在 7.5% 左右,趋于平衡状态。

## 2.5 各批次滤液 pH 变化趋势

在酒糟滤液全回流中,发酵结束时的 pH 值的变化情况如图 5 所示。随着酒糟滤液回用次数的增多,滤液的 pH 值趋向于平稳。pH 值

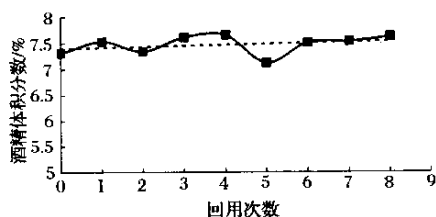


图4 滤液全回流对酒精产率的影响

在4.0左右处于动态平衡。这与不回流的发酵没有显著的区别。

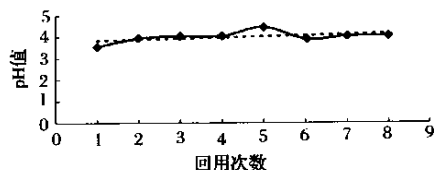


图5 滤液全回流对滤液 pH 值的影响

### 3 结 语

以葡萄糖为原料,采用细菌进行酒精发酵,产生的酒糟经过简单过滤,滤液全部回用,发酵了8批,最后得到了趋于稳定的酒精产量。相对对照实验,酒精产量有所提高(体积分数从7.3%增加到7.5%)。而且在回流的过程中,

减少了对发酵有害物质的积累,节省了氮源。由此可以看出,对细菌有抑制作用的物质,在回流发酵中的浓度低于细菌受抑制的临界浓度,全回流技术应用于一定批次的细菌酒精发酵是可行的。

### 参 考 文 献

- 1 Tzu-Yin Hsiao, Charles E Glatz. Broth recycle in a yeast fermentation[J]. Biotech & Bioeng, 1994, 44: 1228~1234
- 2 Converti A, Perego P, Lodi A. In-situ ethanol recovery and substrate recycling during continuous alcohol fermentation[J]. Bioproc Eng, 1991(7): 3~10
- 3 Babu P S R, Panda T. Effect of recycling of fermentation broth for the production of *Penicillin amidase* [J]. Proc Biochem, 1991 36: 7~14
- 4 Rogers P L. Biotechnol Lett, 1986(7): 477~480
- 5 石贵阳. 博士学位论文[D]. 无锡轻工大学, 1995
- 6 吴 星, 章克昌. 酒精厂酒糟全回流新工艺固体废物循环分析[J]. 无锡轻工大学学报, 1993, 12(4): 276~280
- 7 黄君成, 李干孙. 蕃薯酒精废液闭路循环新工艺的研究[J]. 中国酿造, 1989(6): 36~42
- 8 谢 林, 张 禾. 对酒糟离心液回流工艺的探讨[J]. 酿酒科技, 1999(5): 81~82
- 9 黄 敏, 熊明飞. 糖蜜酒精废液治理新技术[J]. 广西轻工业, 2000(1): 41~44

## Study on Recycling Process of the Stillage in the Ethanol Fermentation by *Zymomonas mobilis*

Shi Guiyang<sup>1</sup> Tao Fei<sup>1</sup> Cai Yujie<sup>2</sup> Xu Rou<sup>1</sup> Zhang Kechang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(The Key Laboratory of Industry Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi, 214036)

<sup>2</sup>(School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi, 214036)

**ABSTRACT** Ethanol production could carry out large amount of ethanol stillage, which is one of main pollution sources in ethanol fermentation. But if the filtrate from stillage is used to replace process water in the ethanol fermentation, the pollution can be eliminated and the nutrients in the stillage can be re-used. In this paper, the filtrate of the ethanol stillage is used as water and nourishment for ethanol production. The average value with 7.3% (v/v) was obtained from eight recycle periods by the new process. By the same token, the residual sugar of 1.5 g/L and final pH of 4.0 were observed. The new *Zymomonas mobilis* fermentation process only needs a simple apparatus for filtration of the fermented broth; the nitrogen sources, such as peptone and yeast extract, can be reused each time. As a result, this new process eliminates pollution and reduces the cost of ethanol production.

**Key words** *Zymomonas mobilis*, ethanol fermentation, stillage, recycling