

# 玉米生料发酵生产乙醇的研究

代养勇, 董海洲, 刘传富

(山东农业大学食品科学与工程学院, 山东泰安, 271018)

**摘 要** 通过单因素试验和正交试验分析了不同因素对生料发酵法的发酵乙醇体积分数、淀粉利用率等指标的影响, 提出了生料发酵生产乙醇的优化条件: 糖化酶添加量 250 U/g, 酵母添加量 0.1%, 水料比 3 mL/g。试验证明, 生料发酵生产乙醇不仅简化了生产工序, 而且淀粉利用率和发酵乙醇乙醇体积分数均高于熟料发酵生产乙醇。

**关键词** 乙醇, 生料发酵, 淀粉利用率, 乙醇体积分数

利用生物质原料发酵法生产乙醇是全世界目前解决“能源危机”和“石油危机”最有效的途径之一<sup>[1]</sup>。但是传统的乙醇发酵由于能量和劳动力消耗太大, 导致燃料成本太高, 是制约乙醇生产企业发展主要原因<sup>[2,3]</sup>。此外, 传统法生产乙醇, 糊化后粘度太高是造成很难实现浓醪发酵的主要制约因素<sup>[4~6]</sup>。

生料发酵生产乙醇, 可以实现浓醪发酵, 省略了糊化和糖化 2 个工序, 不仅节约了近 40%~50% 蒸汽消耗和 37.5% 劳动强度, 而且使乙醇的生产成本降低约 10%<sup>[2,3]</sup>。但目前国内外尚缺乏对生料酿酒的系统研究。本试验采用脱脂玉米为原料, 进行生料液态发酵制备乙醇的研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材 料

脱胚玉米(水分含量 13.27%, 淀粉含量 71.36%), 泰安凌志生物公司提供; 酶活为  $10 \times 10^4$  U 的糖化酶, 无锡酶制剂厂; 酿酒高活性干酵母, 湖北安琪酵母有限公司。

### 1.2 试验仪器

分样筛, 浙江慈溪纱筛厂; SC202 型电热恒温培养箱, 浙江省嘉兴新睦电热仪器厂; 高压灭菌锅, 北京将台医疗仪器厂; MC 乙醇计, 河北省河间市仪表厂。

### 1.3 方 法

#### 1.3.1 生料发酵生产乙醇工艺流程及操作要点

##### 1.3.1.1 工艺流程

脱胚玉米→粉碎→加酵母糖化酶→加水配料→搅拌→封膜→发酵→粗馏→精馏→成品乙醇

##### 1.3.1.2 操作要点

第一作者: 硕士, 讲师(董海洲教授为本文通讯作者)。

收稿日期: 2007-08-28, 改回日期: 2007-10-18

称取 200 g 玉米粉置于 1 000 mL 的大烧杯中, 加入一定量的酵母、糖化酶和蒸馏水, 置于 30 ℃ 的水浴锅里不断搅拌至恒温, 密封放入恒温培养箱 30 ℃ 进行发酵; 每隔 24 h 在 30 ℃ 水浴锅搅拌至恒温, 共搅拌 3 次。基本无气泡产生, 上部为淡黄色清亮液体, 酒香突出, 底部沉淀用手捏有疏松感, 此时发酵已完成。

#### 1.3.2 淀粉含量的测定<sup>[7]</sup>

采用盐酸水解法。淀粉含量为 71.36%。

#### 1.3.3 糖化酶活力测定<sup>[8]</sup>

经测定该糖化酶的实际活力为  $9.83 \times 10^4$  U。

#### 1.3.4 乙醇体积分数的测定<sup>[7]</sup>

取 100 mL 成熟发酵醪液于 500 mL 圆底蒸馏瓶中, 加 50 mL 蒸馏水, 用容量瓶接 100 mL 馏出液, 用乙醇比重计测定此溶液的乙醇浓度以及温度, 查表校正后得到发酵醪的乙醇体积分数。

#### 1.3.5 淀粉利用率的计算

淀粉利用率=

$$\frac{\text{乙醇体积分数} \times \text{发酵醪体积} \times 0.789\ 3}{200 \times 0.715\ 5 \times 0.568\ 2}$$

## 2 结果与分析

### 2.1 粉碎粒度对生料发酵的影响

脱胚玉米粉 200 g, 糖化酶 150 U/g(原料), 酵母 0.2%, 水料比 3:1, 不同粉碎粒度的试验, 结果见图 1。

由图 1 可以看出, 淀粉利用率随粉碎粒度目数的增大而升高, 物料粉碎的越细越有利于物料的浸润, 有利于糖化酶和酵母的溶解和与物料的充分接触, 有利于代谢产物的扩散, 因此淀粉利用率逐渐增大。但是粉碎越细, 粉碎时耗电量越大。而且当粉碎粒度目数大于 40 目时, 发酵醪中乙醇体积分数和淀粉利用

率变化不大。综合考虑,生产中采用 40 目较合适。

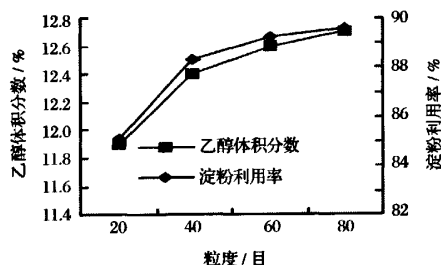


图1 粉碎粒度对生料发酵的影响

## 2.2 水料比对生料发酵的影响

40 目脱胚玉米粉 200g, 糖化酶 150U/g(原料), 酵母 0.2%, 不同水料比的生料发酵试验, 结果见图 2。

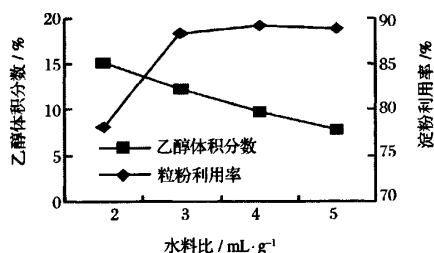


图2 水料比对生料发酵的影响

由图 2 可以看出, 当水料比小于 4 时, 增大水料比可以提高淀粉利用率。水料比大有利于物料的浸润和流动, 减少产物乙醇对酵母生长和代谢的抑制作用, 从而提高了淀粉的利用率。但是水料比过大会降低发酵醪中乙醇体积分数, 这就意味着蒸馏时能耗增大。综合考虑, 合适的水料比应在 3 左右。

## 2.3 糖化酶添加量对生料发酵的影响

40 目脱胚玉米粉 200 g, 酵母 0.2%, 水料比 3 : 1, 不同加酶量的试验, 结果见图 3。

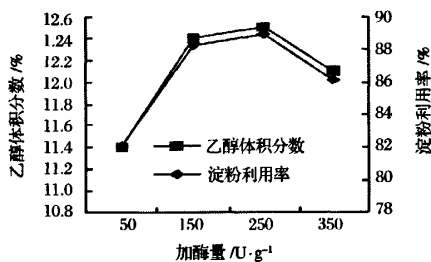


图3 加酶量对生料发酵的影响

由图 3 可以看出, 当加酶量小于 250U/g 时, 随加酶量的增大, 醪液中乙醇体积分数和淀粉利用率均

升高。可见增加糖化酶的用量, 有利于淀粉的糖化, 从而提高了淀粉利用率。当糖化酶的添加量大于 250U/g 时, 可能发酵醪中糖化酶过多, 导致了糖化过程太快, 破坏了边糖化边发酵的平衡过程, 反而不利于酵母的发酵, 降低了乙醇体积分数和淀粉利用率。

## 2.4 酵母添加量对生料发酵的影响

40 目脱胚玉米粉 200 g, 糖化酶 150U/g 原料, 水料比 3 : 1, 不同酵母量的试验, 结果见图 4。

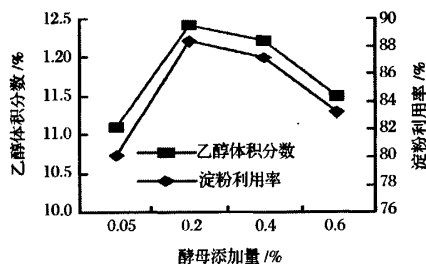


图4 酵母添加量对生料发酵的影响

由图 4 可以看出, 当酵母添加量小于 0.2% 时, 乙醇体积分数和淀粉利用率随酵母添加量的增大而升高, 可见适当地增加酵母添加量发酵越充分。当酵母添加量大于 0.2% 时, 可能是发酵醪中酵母太多, 造成发酵醪中糖等营养物的不足而引起酵母过早的衰老, 影响其发酵力, 此外, 酵母添加量过多, 其生长和繁殖所消耗的可溶性糖也会增加, 因而导致发酵醪中乙醇体积分数和淀粉的利用率下降。

另外, 在试验中还发现, 当酵母添加量在 0.05% 时, 发酵醪很难澄清, 说明发酵不完全, 而且发酵醪出现了异味, 说明酵母添加量太低时易染杂菌。所以在生料发酵生产乙醇时, 为了保证发酵醪不受杂菌的污染, 酵母添加量应当较高一些。

## 2.5 生料发酵条件的优化

根据单因素试验结果, 确定了 A: 加酶量(U/g), B: 酵母量(%), C: 水料比(mL/g) 为影响发酵条件的主要因素, 各因素的水平见表 1, 采用四因素三水平的正交表  $L_9(3^4)$  进行正交试验, 结果见表 2~表 4。

表1 正交试验因素水平表

| 水平 | (A)加酶量<br>/U·g <sup>-1</sup> | (B)酵母量<br>/% | (C)水料比<br>/mL·g <sup>-1</sup> |
|----|------------------------------|--------------|-------------------------------|
| 1  | 150                          | 0.1          | 2.7                           |
| 2  | 200                          | 0.2          | 3.0                           |
| 3  | 250                          | 0.3          | 3.3                           |

表2 正交试验结果表

| 试验号 | A | B | C | D | 乙醇体积分数<br>/% | 淀粉利用率<br>/% |
|-----|---|---|---|---|--------------|-------------|
| 1   | 1 | 1 | 1 | 1 | 13.7         | 87.6        |
| 2   | 1 | 2 | 2 | 2 | 12.8         | 88.3        |
| 3   | 1 | 3 | 3 | 3 | 11.6         | 87.9        |
| 4   | 2 | 1 | 2 | 3 | 13.1         | 88.9        |
| 5   | 2 | 2 | 3 | 1 | 12.0         | 88.8        |
| 6   | 2 | 3 | 1 | 2 | 13.5         | 87.1        |
| 7   | 3 | 1 | 3 | 2 | 12.0         | 88.9        |
| 8   | 3 | 2 | 1 | 3 | 13.8         | 87.9        |
| 9   | 3 | 3 | 2 | 1 | 12.8         | 88.2        |

表3 淀粉利用率的正交试验结果极差分析表

|       | A    | B    | C    |
|-------|------|------|------|
| $k_1$ | 87.8 | 88.5 | 87.4 |
| $k_2$ | 88.3 | 88.3 | 88.5 |
| $k_3$ | 88.4 | 87.7 | 88.6 |
| R     | 0.6  | 0.8  | 1.2  |

表4 乙醇体积分数的正交试验极差分析表

|       | A    | B    | C    |
|-------|------|------|------|
| $k_1$ | 12.7 | 12.9 | 13.7 |
| $k_2$ | 12.9 | 12.9 | 12.9 |
| $k_3$ | 12.9 | 12.6 | 11.9 |
| R     | 0.2  | 0.3  | 1.8  |

极差分析结果表明,高淀粉利用率的发酵优化条件为  $A_3B_1C_3$ ,各因素对结果的影响次序为:  $C>B>A$ 。为得到发酵醪高乙醇体积分数,发酵的优化条件为  $A_{2/3}B_1C_1$ ,各因素对结果的影响次序为:  $C>B>A$ 。综合分析,生料发酵生产乙醇的优化条件为  $A_3B_1C_2$ ,即糖化酶添加量 250U/g,酵母添加量 0.1%,水料比 3 mL/g。在此条件下发酵结果为:乙醇体积分数为 13.0%,淀粉利用率为 89.1%。

由表3还看到,A因素  $k_2$  与  $k_3$  数值相近,表4中A因素  $k_2 = k_3$ ,说明糖化酶添加量 200 U/g 和 250 U/g 对淀粉利用率的影响不大,在糖化酶添加量 200 U/g,酵母添加量 0.1%,水料比 3 mL/g 的条件下试验结果为:发酵醪中乙醇体积分数为 13.0%,淀粉利用率为 89.0%,该结果与最优条件结果相近。

## 2.6 生料发酵与熟料发酵生产乙醇的比较

在糖化酶添加量 200U/g,酵母添加量 0.1%,水料比 3 mL/g 的条件下,原料经过蒸煮,压力为 98 066.26Pa 时,不同蒸煮时间再发酵生产乙醇与直接生料发酵生产乙醇的结果见表5。

由表5发现,生料发酵比熟料发酵生产乙醇发酵醪中乙醇体积分数和淀粉利用率均高。究其原因,可能是糊化后的淀粉由于没有使用  $\alpha$ -淀粉酶,冷却后部

表5 生料发酵与熟料发酵生产乙醇的比较

| 蒸料时间/min | 乙醇体积分数/% | 淀粉利用率/% |
|----------|----------|---------|
| 0(生料)    | 13.0     | 89.0    |
| 15       | 12.4     | 86.3    |
| 30       | 12.3     | 85.8    |
| 60       | 12.6     | 87.3    |
| 120      | 12.7     | 87.8    |

分糊化淀粉发生淀粉回生现象,回生后的淀粉更不容易被糖化酶作用,而导致淀粉利用率下降。原因之二,商品糖化酶中存在多种淀粉水解酶,这些酶具有协同作用,可以大大提高水解淀粉的能力,而这种协同作用对蒸煮过的淀粉不起作用<sup>[9]</sup>。由于以上原因,导致生料发酵生产乙醇发酵醪中乙醇体积分数和淀粉利用率都高于熟料。

## 3 结 论

(1) 与传统法相比,生料发酵生产乙醇不仅简化了生产工序和节约了能量,而且可以提高淀粉利用率和乙醇体积分数。

(2) 生料发酵生产乙醇,原料未经蒸煮灭菌,酵母添加量应当较高一些,否则发酵醪易受到杂菌的污染。

(3) 正交试验的结果表明:生料液态法制备燃料乙醇的最优条件为:糖化酶添加量 250U/g,酵母添加量 0.1%,水料比 3 mL/g。

## 参 考 文 献

- Shigechi H, Koh J, Fujita Y, et al. Direct production of ethanol from raw corn starch via fermentation by use of a Novel Surface-engineered yeast strain Codisplaying Glucoamylase and  $\alpha$ -Amylase[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(8): 5 037~5 040
- Kenryo N, Kenji K, Masaru N, et al. Production of shochu spirit from crushed rice by non-cooking fermentation [J]. Agricultural Research Quarterly, 1999, 33(1): 69~75
- Shigechi H, Fujita Y, Jun K, et al. Energy-saving direct ethanol production from low-temperature-cooked corn starch using a cell-surface engineered yeast strain co-displaying glucoamylase and  $\alpha$ -amylase[J]. Biochem Eng J, 2004, 18(2): 149~153
- Matsumoto N, Fukushi O, Miyana M, et al. Industrialization of a non-cooking system for alcoholic fermentation from grains[J]. Agric Biol Chem, 1982, 46: 1 549~1 558
- Matsumoto N, Yoshizumi H, Miyata S, et al. Development of the non-cooking and low temperature cooking systems for alcoholic fermentation of grains[J]. Nippon Nogeikagaku Kaishi, 1985, 59: 291~299
- Ashikari T, Kunisaki S, Matsumoto N, et al. Direct fermentation of raw corn to ethanol by yeast transformants

- containing a modified *Rhizopus glucoamylase gene*[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1989, 32: 129~133
- 7 蔡定域. 酿酒工业分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1988. 85~89
- 8 吴国峰, 李国全, 马永强. 工业发酵分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006. 47~53
- 9 王怀能, 王辉. 生淀粉糖化酶的研究[J]. 酿酒科技, 2000, 99(3): 32~34

## Study on Production of Alcohol from Maize by Non-cooking Fermentation System

Dai Yangyong, Dong Haizhou, Liu Chuanfu

(Food College, Shandong Agricultural University 1, Taian 271018)

**ABSTRACT** Alcohol was produced from extruded maize sterilized by uncooked fermentation system. Through single-factor experiments and orthogonal experiment, influences of some factors on ethanol concentration of fermenting mash and use ratio of amylum were studied. The optimized conditions were as following: addition of glucoamylase 250U/g, addition of ADY 0.1%, ratio of water to meal 3 mL/g. It was found that ethanol concentration and use ratio of amylum by uncooked fermentation system were higher than by cooking fermentation system.

**Key words** alcohol, non-cooking fermentation system, use ratio of amylum, ethanol concentration

市场动态

### 甘氨酸正在步入黄金时代

2007年以来,国内市场草甘膦价格上涨迅速,截至2007年12月已达58 000元/t左右,比2006年的均价上涨了100%。随着转基因耐除草剂作物、生物能源的高速发展,及世界上最大的草甘膦生产企业美国孟山都公司放弃对草甘膦的扩产投入,从而拓宽了草甘膦市场。

目前国内80%的甘氨酸用于生产草甘膦,不仅为中国一跃成为草甘膦最大出口国奠定了基础,而且也使中国成为世界出口量最大的甘氨酸生产大国。

以甘氨酸为原料合成的草甘膦是目前应用最为广泛的高效、低残毒、广谱的除草剂。甘氨酸作为最大的农药中间体。我国的甘氨酸生产企业目前大约有20余家,由于受成本和环保因素的制约,甘氨酸的供给量刚刚超过10万t/年,并且大多是工业级产品,食品级及医药级甘氨酸主要依靠进口。

由于甘氨酸在农药、饲料、食品、医药、日用化工等方面广泛的用途以及下游产业链的不断拓展与延伸,全球市场需求旺盛,国内市场需求更是增长较快。仅从农药需求来看,据不完全统计,我国目前有草甘膦总产量约32万t,也就意味着近23万t草甘膦采用甘氨酸生产路线。而国内甘氨酸的供给量每年在10万t左右,缺口很大。虽然,氯乙酸制甘氨酸路线经过国内企业的多年摸索,通过优化生产工艺条件,采用先进的大型设备和DCS自控,产品收率、原材料消耗等方面不断提升,生产成本得以降低,副产物氯甲烷等的综合利用也有明显进步,但相对于草甘膦货缺价升的状态,仍旧无法满足需求。

2008年,我国草甘膦在建产能在10万t以上,总量将超过40万t,预计对甘氨酸的消费量将超过20万t。到2010年,甘氨酸消费量大约为49万t。甘氨酸产业的发展正在步入一个黄金时代。目前,国内市场工业级甘氨酸的价格在1.9万元/t左右。

### 蓝莓在我国开发前景良好

近年来,蓝莓业的开发利用在我国东北地区受到青睐。由于蓝莓果具有极高的抗氧化活性,其果肉细腻、甜酸适度,经过科学调配后,用先进的无菌罐装生产出的蓝莓系列饮品具有宜人的清香,很受消费者欢迎。

蓝莓,在美国已有100年的历史,我国仅有20年的历史,引种主要来自美国。我国野生蓝莓资源丰富,多生在我国东北大、小兴安岭的原始森林地带,为多年生落叶或常绿果树,又名越橘,俗称都市果,其果实为浆果,呈蓝色,近圆形。

市场上的蓝莓加工的产品共有五大类20种,包括果酒、果汁饮料、乳制品、糖果、干果、烘焙食品、保健品和化妆品以及果酱,产品类型比较丰富。

蓝莓野果味酸甜,风味独特,营养丰富,被誉为“浆果之王”。目前,全球有30多个国家进行蓝莓栽培,总面积约12万2hm<sup>2</sup>,市场供不应求。蓝莓鲜果的销售价格在美国约10~20美元/kg,在日本约15~30美元/kg,在香港约120港币/kg。蓝莓发展在我国的种植生产的主要以企业化和规模化的方式进行,一般起点66.67hm<sup>2</sup>。产品主要有4种:鲜果、冷冻果、蓝莓色素和加工果酒。鲜果:90%出口日本,10%供应北京和上海,冷冻果80%出口,20%供应国内食品企业用作加工原料。蓝莓酒主要供应国内市场,小部分外销日本,蓝莓色素:100%出口欧美市场。

目前,蓝莓在国际市场上供不应求。根据世界蓝莓发展规律和中国蓝莓产业发展预测,中国规蓝莓发展面积2万hm<sup>2</sup>为适度规模,要达到这一规模,至少需要20~30年时间,开发潜力巨大。