

自絮凝颗粒酵母发酵菊芋汁生产乙醇

常宝磊, 袁文杰, 赵心清, 任剑刚, 白凤武

(大连理工大学生物科学与工程系, 辽宁 大连 116023)

摘要: 分别采用分批和连续发酵方式, 对自絮凝颗粒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* flo 发酵菊芋汁生产乙醇的条件进行了优化. 与先酶解菊芋汁后再用自絮凝酵母发酵的分步糖化发酵相比, 分批发酵过程中同时加入菊粉酶和自絮凝酵母的同步糖化发酵乙醇得率高, 发酵时间短. 当菊芋汁总糖浓度分别为 105 和 179 g/L 时, 同步糖化发酵的最高乙醇浓度达 50 和 82.5 g/L, 比分步糖化发酵高 6.4% 和 13.8%. 在连续发酵过程中应用同步糖化发酵法, 当稀释率为 0.02 h⁻¹ 时, 乙醇浓度约为 90 g/L 时达到稳定状态, 乙醇得率达到理论值的 90%, 生产强度达 2.12 g/(L·h).

关键词: 菊芋汁; 自絮凝颗粒酒酵母; 乙醇发酵

中图分类号: Q815 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-606X(2009)04-0796-05

1 前言

利用酵母细胞自絮凝形成颗粒作为固定化方法的自固定化酵母细胞乙醇连续发酵新技术^[1]具有发酵罐中酵母细胞高密度、发酵时间短、乙醇发酵过程副产的酵母能以自沉降方式从发酵系统回收的突出优点, 已在安徽丰原大型燃料乙醇生产中得到应用. 但由于原料成本的限制, 必须开发粮食替代资源.

菊芋(*Jerusalem artichoke*)俗名洋姜, 属菊科向日葵属多年生草本植物, 生物质产量高, 块茎的主要成分是菊粉, 占干重的 60%~70%^[2]. 菊粉由 D-果糖经 β -2,1 糖苷键脱水缩合而成, 末端连接 1 个葡萄糖单元, 可通过酸解或酶解转化为易利用的果糖和葡萄糖混合物, 与目前国内普遍关注的秸秆类生物质相比, 不需要复杂的预处理, 且水解产物也不含难以利用的五碳糖^[3,4]. 菊芋耐贫瘠、干旱和盐分, 能在荒漠和盐碱地等不适宜粮食和经济作物种植的边际土地上种植, 是我国燃料乙醇及其他生物基化学品生产的良好粮食替代原料, 且鲜菊芋块茎压榨得到的菊芋汁基本不含固型物, 非常适合自絮凝酵母乙醇发酵对原料的要求.

以菊芋为原料的乙醇发酵工艺研究集中在 3 个方面: 菊粉酶或用能产生菊粉酶的微生物菌种先进行多聚果糖的降解, 然后利用酿酒酵母进行乙醇发酵^[5]; 利用产菊粉酶的菌株和酿酒酵母进行混菌培养的共发酵^[6]; 利用同时具有产菊粉酶和乙醇发酵能力的克鲁维酵母进行乙醇发酵^[7]. 由于菊粉酶成本或乙醇耐性问题, 上述工艺均没有达到工业化应用的要求.

本工作在获得了高菊粉酶活力酶液的基础上, 研究了自絮凝颗粒酵母以分步水解发酵(*Separate Hydrolysis*

and Fermentation, SHF)和同步糖化发酵(*Simultaneous Saccharification and Fermentation, SSF*)两种方式发酵菊芋汁生产乙醇, 为高效转化菊芋生产燃料乙醇奠定基础.

2 材料与方法

2.1 实验材料

2.1.1 菌种

自絮凝颗粒酵母(*Saccharomyces cerevisiae* flo)是粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)变异株和酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)变异株通过原生质体融合技术选育得到的融合株, 具有良好的自絮凝特性和优良的乙醇发酵性能^[8], 由大连理工大学生物工程系保藏.

2.1.2 菊粉酶和菊芋汁

菊粉酶和新鲜菊芋汁均由中国科学院大连化学物理研究所杜昱光研究员提供, 菊粉酶酶活为 640 U/mL, 菊芋汁总糖浓度为 100 g/L 左右; 浓缩菊芋汁由本实验室经减压蒸发制得, 总糖浓度根据乙醇发酵要求控制为 220 g/L.

2.1.3 培养基

摇瓶种子培养基: 葡萄糖 30 g/L, 酵母粉 3 g/L, 蛋白胨 3 g/L, 121℃ 灭菌 20 min, 供自絮凝颗粒酵母种子扩大培养使用.

摇瓶发酵培养基: 同步糖化发酵用培养基直接由新鲜菊芋汁配制, 先糖化后发酵用培养基是将新鲜菊芋汁在 250 mL 摇瓶中经菊粉酶在 60℃ 下糖化得到.

连续发酵培养基: 将发酵用菊芋汁真空浓缩到 220 g/L 左右, 灭菌后供连续发酵使用.

2.2 实验方法

2.2.1 菊芋汁的糖化

将菊粉酶液经 0.22 μm 膜过滤除菌后按一定比例添加到装有 100 mL 菊芋汁的锥形瓶中,置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴摇床内进行糖化.菊芋汁初始自然 pH 为 4.6 左右,可以满足菊粉酶糖化要求.每隔 50 min 取样测定菊芋汁中还原糖和葡萄糖浓度.

2.2.2 自絮凝酵母种子培养及接种

自絮凝酵母种子培养方法见文献[9].培养 24 h 后,用 0.1 mol/L 柠檬酸钠解絮凝,以保证接种量可控,然后按 10% 接种量接入发酵培养基中进行发酵,接种到培养基中后柠檬酸钠被稀释,解离的酵母可重新絮凝^[10].

2.2.3 菊芋汁批式发酵

菊芋汁批式发酵在 250 mL 摇瓶中进行,发酵条件参照文献[9],30 $^{\circ}\text{C}$,自然 pH 值(4.6 左右),摇瓶转速 160 r/min,使用厌氧密封口,分别采用 SHF 和 SSF 技术路线.采用 SHF 技术路线时,先用菊粉酶完全糖化菊芋汁,进行灭菌灭酶处理后,接种自絮凝颗粒酵母,进行乙醇发酵.SSF 技术路线的菊芋汁中加入菊粉酶后随即接种自絮凝酵母,进行乙醇发酵,菊粉的水解糖化与酵母的乙醇发酵同步进行.为便于技术经济分析,SHF 和 SSF 过程菊粉酶添加量相同.由于 SSF 工艺中菊粉酶糖化菊芋汁得到的糖随即被酵母利用,系统中没有可发酵性糖积累,因此原料菊芋汁可能不需灭菌处理,实验分别考察了原料菊芋汁灭菌和不灭菌直接发酵.

2.2.4 连续发酵

有效容积为 2 L 的发酵罐中加入 1 L 灭菌处理的新鲜菊芋汁,接入经摇瓶培养 24 h 后得到的自絮凝酿酒酵母颗粒和 7000 U 的菊粉酶液(经滤膜过滤,发酵罐中菊粉酶浓度约 7 U/mL).发酵罐温度控制在 30 $^{\circ}\text{C}$,pH 控制在 4.5,转速为 150 r/min,总残糖降到 20 g/L 时流加灭菌处理的浓缩菊芋汁,稀释速率为 0.02 h⁻¹,通气量为 0.02 L/min.每隔 12 h 测乙醇、还原糖及总糖.

2.2.5 分析方法

(1) 菊粉酶活测定方法:将培养液离心分离,上清液作为粗酶液,取适当稀释的酶液 0.5 mL,加入 2% 的菊粉溶液 0.5 mL,按文献[11]的方法测定酶活.反应体系中 1 min 产生 1 μmol 己糖所需酶量为 1 个酶活单位.

(2) 乙醇测定方法:乙醇浓度利用 SBA 生物传感分析仪(山东省科学院生物研究所)测定.

(3) 还原糖、葡萄糖及总糖测定方法:还原糖采用 DNS 法测定^[12],葡萄糖由 SBA-50B 生物传感分析仪测定,总糖经酸水解后用 DNS 法测定.

(4) 酵母干重测定方法:取样后置于预先烘干称重

的滤纸上过滤,用蒸馏水洗涤菌体 2~3 次,然后置于 80 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温箱中烘干至恒重后称重.

3 结果与讨论

3.1 菊芋汁的菊粉酶糖化

新鲜菊芋汁总糖浓度实测为 103.0 g/L,其中还原糖 8.2 g/L,占总糖的 8%,葡萄糖 1.6 g/L,占还原糖的 20% 左右.使用的菊粉酶酶活为 640 U/mL,添加不同体积后使其终酶活分别为 3.2, 6.4, 9.6 和 12.8 U/mL,实验结果如图 1 和表 1 所示.可见随菊粉酶酶活增加,菊粉水解速度不断增加.且由表 1 可看出,当菊粉酶酶活达 6.4 U/mL 时,继续提高菊粉酶酶活,糖化速率变化不大,说明糖化新鲜菊芋汁的菊粉酶浓度已接近饱和浓度.发酵过程中,糖化速度太快或初始还原糖浓度过高容易对酵母的生长和代谢产生抑制,浓度过低会使酵母营养不良.因此,综合糖化后还原糖浓度对后续发酵的影响和降低发酵用酶成本,初始酶活为 6.4 U/mL 最佳.

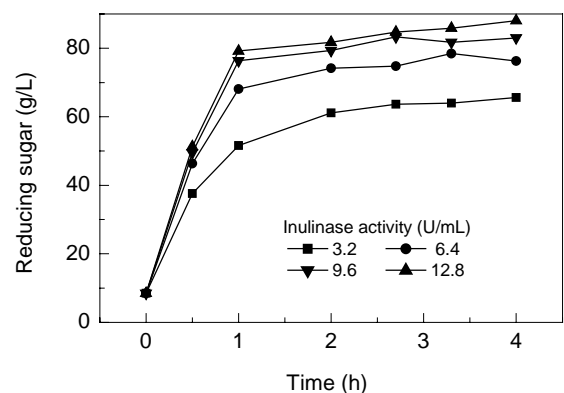


图 1 菊粉酶酶活对菊芋汁糖化的影响

Fig.1 Effect of inulinase activity on saccharification of Jerusalem artichoke juice

表 1 菊粉酶酶活对菊芋汁糖化的影响结果

Table 1 Effect of inulinase activity on saccharification of Jerusalem artichoke juice

Inulinase activity (U/mL)	Reducing sugar (g/L)	Saccharification rate [g/(L·min)]
3.2	61.1	0.43
6.4	75.8	0.56
9.6	79.3	0.59
12.8	81.6	0.60

3.2 菊芋汁的 SHF 和 SSF 批式发酵

自絮凝颗粒酵母以 SHF 和 SSF 两种不同方式发酵菊芋汁时糖消耗、乙醇生成和生物量生长情况如图 2 所示(由于水解完全,总糖与还原糖浓度一致).表明在初始菊芋汁浓度为 105 g/L 时,采用 SHF 和 SSF 两种工艺,*S. cerevisiae flo* 发酵菊芋汁表现出相似的规律,都可快速将菊芋汁发酵成为乙醇.在发酵的前 18 h,乙醇浓度

不超过 40 g/L 时, 菊芋汁中的还原糖迅速消耗, 乙醇浓度相应增加, 酵母生物量逐渐达到平衡期, 还原糖浓度在酵母的对数生长期之前降低到 20 g/L 左右, 有效地降低了高还原糖浓度对酵母生长的抑制, 为主发酵阶段;

18 h 后, 乙醇对酵母细胞生长和发酵的抑制效应开始显现, 糖消耗速率和乙醇生成速率都变得越来越慢, 至 26 h 时都达到发酵终点.

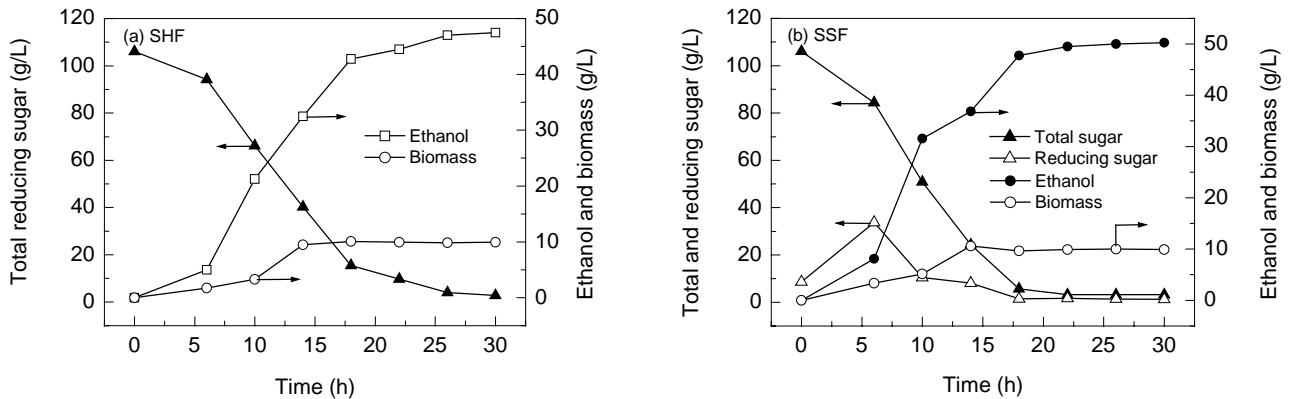


图 2 *S. cerevisiae flo* 以 SHF 方式和 SSF 方式发酵菊芋汁生产乙醇

Fig.2 Ethanol fermentation of Jerusalem artichoke juice with *S. cerevisiae flo* by SHF and SSF processes

对比 2 种工艺发酵终点乙醇浓度、总残糖浓度、乙醇得率和生产强度等工艺技术指标(表 2), 发现 SSF 中由于没有还原糖的积累, 发酵过程受底物抑制作用较弱, 乙醇发酵速率一直高于 SHF; 且由于菊粉酶的糖化力得以保留, 发酵终点的总残糖明显低于 SHF, 乙醇浓度达到 50.0 g/L, 同比高出 6.4%, 乙醇收率提高 3.7%.

表 2 采用 SSF 和 SHF 发酵鲜菊芋汁生产乙醇的实验结果比较
Table 2 Ethanol fermentation of fresh Jerusalem artichoke with *S. cerevisiae flo* by SSF and SHF

Parameter	SSF		SHF
	Medium sterilized	Medium unsterilized	
Ethanol (g/L)	50.0	49.3	47.0
Ethanol yield (%)	98.3	95.4	94.8
Residual total sugar (g/L)	3.5	2.0	6.0
Biomass (g/L)	9.8	10.2	9.9
μ_{max} (h^{-1})	0.067	0.069	0.068
Ethanol productivity [g/(L·h)]	1.9	1.9	1.8

采用 SSF 方式, 菊芋汁是否进行灭菌处理对发酵进程和技术指标影响不大. 未经灭菌处理的菊芋汁加入菊粉酶接种酵母后, 乙醇发酵过程中未观察到杂菌污染导致乙醇对糖收率降低的现象, 发酵技术指标与经过灭菌处理的菊芋汁没有明显差异.

虽然目前的淀粉质原料乙醇发酵糖化醪也不进行专门的灭菌处理, 但粉浆在糖化前需进行喷射液化处理, 温度通常为 110℃, 平均停留 10 min 左右, 闪蒸使温度降低到 90~95℃以保护淀粉酶的活性, 继续液化 60 min 左右, 此过程相当于对物料进行了灭菌处理, 保证了后续乙醇发酵的安全运行. 菊芋的主要成分菊粉的聚合度非常低, 一般不超过 20, 因此不需要淀粉质原料那样的液化处理, 可直接用菊粉酶糖化. 未灭菌处理的菊

芋汁能直接进行发酵而不发生杂菌污染, 使菊芋为原料的燃料乙醇生产在节能方面更具竞争力.

由于新鲜菊芋汁糖浓度较低, 为提高发酵终点乙醇浓度, 节省后续乙醇精馏操作能耗, 减少废糟液总量, 对菊芋汁进行真空蒸发浓缩, 目标是使总糖浓度提高到 180 g/L(实测为 179 g/L). 考察同步糖化发酵性能, 其时间与低浓度新鲜菊芋汁发酵相似, 结果如表 3 所示.

表 3 浓缩菊芋汁乙醇发酵工艺指标的比较
Table 3 Ethanol fermentation of concentrated Jerusalem artichoke juice with *S. cerevisiae flo*

Parameter	SSF		SHF
	Medium sterilized	Medium unsterilized	
Ethanol concentration (g/L)	82.5		72.5
Ethanol yield (%)	92.4	88.9	89.2
Residual total sugar (g/L)	4.3	2.8	20.0
Ethanol productivity [g/(L·h)]	2.75	2.67	2.42

综合以上结果, 自絮凝颗粒酵母发酵菊芋汁生产乙醇, SSF 优于 SHF. SHF 糖化时间较长, 不仅增加了设备的投资, 且由于菊芋汁中可发酵性糖浓度较高, 易被杂菌污染, 必须对发酵底物进行灭菌处理, 增加了能耗; 而 SSF 可有效克服这些缺点, 以菊芋为原料生产燃料乙醇的经济性明显改善.

3.3 浓缩菊芋汁连续发酵

连续发酵效率高, 生产负荷均衡, 已在糖质和淀粉质原料燃料乙醇生产中得到应用. 为提高菊芋汁乙醇发酵技术的水平, 进行了浓缩菊芋汁连续发酵研究. 为防止连续发酵长期运行的杂菌污染, 菊芋汁进行灭菌处理, 发酵结果如图 3 所示.

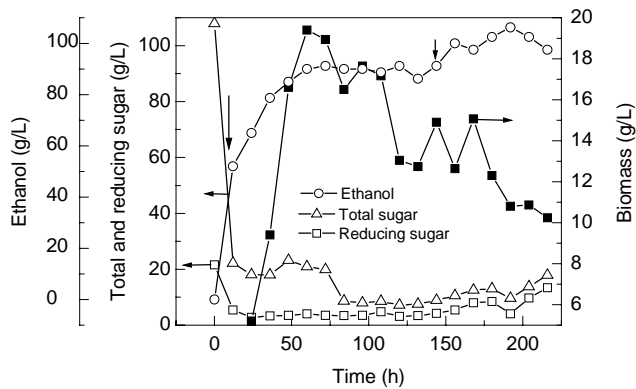


图3 自絮凝颗粒酵母采用SSF连续发酵浓缩菊芋汁生产乙醇
Fig.3 Continuous ethanol fermentation of concentrated Jerusalem artichoke juice with *S. cerevisiae flo* for SSF

在实验的起始阶段,将自絮凝酿酒酵母加入新鲜菊芋汁中进行种子培养,酵母的生长速度较以前实验中^[13]以葡萄糖为培养基时快,在生物量由1.3 g/L迅速升至5.2 g/L的过程中,乙醇生产强度达到5.2 g/(L·h),10 h内总残糖降至22 g/L,还原残糖降至5 g/L。因此,在第10 h开始流加含菊粉酶的浓缩菊芋汁(菊糖浓度为220 g/L),稀释速率为0.02 h⁻¹,从而维持发酵罐中还原糖浓度保持在3~4 g/L,乙醇浓度达90 g/L以上。在连续流

加的前120 h,生物量维持在13~16 g/L,菌种活力较高,总残糖维持在10 g/L以下,在该稀释率下,发酵达到恒化状态,乙醇生产强度达到1.82 g/(L·h)。在发酵的150 h后流加菊芋汁的菊糖浓度提高到230 g/L时,乙醇浓度缓慢上升至100 g/L左右,乙醇浓度最高可达106 g/L,达到理论转化率的90%,且乙醇生产强度达到2.12 g/(L·h),总残糖维持在20 g/L左右。但由于发酵罐中乙醇浓度太高导致酵母活性下降,游离酵母增加,从而使生物量逐渐降低,也导致总残糖逐渐升高,这与自絮凝酿酒酵母利用葡萄糖发酵生产乙醇^[13]是一致的。与Xu等^[14]的自絮凝酵母SPSC01在组合反应器系统中乙醇连续发酵的结果对比可以看出,本实验的生产强度较高。如果建立多级串联搅拌式反应器系统,会进一步减弱乙醇的抑制作用,从而得到更高的乙醇浓度和更大的生产强度。

实验结果与现有乙醇连续发酵工艺的比较见表4。可以看出,与Galindo等^[15]的实验结果相比,在果糖/葡萄糖基本相同的情况下,本研究得到了更高的乙醇生产强度,这也进一步说明了发酵液中初始菊糖的聚合度越低,对乙醇发酵越有利,因为将菊糖水水解成酵母可利用的单糖是乙醇发酵的限速步骤。

表4 不同乙醇发酵工艺实验结果的比较

Table 4 Comparison of different fermentation strategies

Parameter	Ref.[15]	Ref.[14]	This work
Ethanol concentration (g/L)	49.2	90.8	106
Fermentation time (h)	50	50~60	50
Productivity [g/(L·h)]	0.984	1.65	2.12
Residual total sugar (g/L)	Unavailable	5	7.2~13.0
Biomass (g/L)	Unavailable	3.0~5.0	10~15
Substrate	Jerusalem artichoke juice	Glucose	Jerusalem artichoke juice

将实验结果与本实验室以自絮凝酵母以淀粉质原料的乙醇连续发酵工艺^[14]相比,乙醇浓度及生产强度都有明显优势,且本实验的更大优势在于原料独特,不需添加任何营养成分。总残糖较高的原因在于菊芋汁中含有除葡萄糖之外的其他酵母不可利用的糖,如纤维二糖等。因此在现有以粮食为原料的燃料乙醇规模化发展受到制约、纤维素乙醇成本依然较高的背景下,利用滩涂种植、不适于食品加工使用的廉价菊芋为原料生产燃料乙醇,对我国燃料乙醇产业的规模化发展,乃至社会和经济的可持续发展,都有十分重要的意义。

4 结论

(1) 在分批发酵过程中,无论是利用新鲜菊芋汁还是经过浓缩的菊芋汁,自絮凝酵母加入初始酶活为6.4 U/mL的菊粉酶,菊芋汁总糖浓度分别为105和179 g/L时,同步糖化发酵的最高乙醇浓度达到50和82 g/L,

比分步糖化发酵高出6.4%和13.8%。采用同步糖化工艺发酵生产乙醇,各项技术经济指标都优于分步水解发酵工艺,且可在较低pH下采用生料发酵。

(2) 在220 g/L浓缩菊芋汁连续发酵过程中,稀释率为0.02 h⁻¹,乙醇浓度在90 g/L左右时达到恒化状态,达到理论转化率的90%,乙醇生产强度达到2.12 g/(L·h)。

参考文献:

- [1] Bai F W, Anderson W A, Moo-Young M. Ethanol Fermentation Technologies from Sugar and Starch Feedstocks [J]. *Biotechnol. Adv.*, 2008, 26(1): 89-105.
- [2] Szambelan K, Nowak J, Czarniecki Z. Use of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces cerevisiae* Mixed with *Kluyveromyces fragilis* for Improved Ethanol Production from Jerusalem Artichoke Tubers [J]. *Biotechnol. Lett.*, 2004, 26(10): 845-848.
- [3] Wymen C E, Dale B E, Elander R T, et al. Coordinated Development of Leading Biomass Pretreatment Technologies [J]. *Bioresour. Technol.*, 2005, 96(18): 1959-1966.
- [4] Szambelan K, Nowak J, Jelen H. The Composition of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Spirits Obtained from

- Fermentation with Bacteria and Yeasts [J]. *Eng. Life Sci.*, 2005, 5(1): 68–71.
- [5] Guiraud J P, Caillaud J M, Galzy P. Optimization of Alcohol Production from Jerusalem Artichokes [J]. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1982, 14(2): 81–85.
- [6] Ge X Y, Zhang W G. A Short Cut to the Production of High Ethanol Concentration from Jerusalem Artichoke Tubers [J]. *Food Technol. Biotechnol.*, 2005, 43(3): 241–246.
- [7] 袁文杰, 任剑刚, 赵心清, 等. 一步法发酵菊芋生产乙醇 [J]. *生物工程学报*, 2008, 24(11): 1931–1936.
- [8] Hu C K, Bai F W, An L J. Enhancing Ethanol Tolerance of a Self-flocculating Fusant of *Schizosaccharomyces pombe* and *Saccharomyces cerevisiae* by Mg^{2+} via Reduction in Plasma Membrane Permeability [J]. *Biotechnol. Lett.*, 2003, 25(14): 1191–1194.
- [9] 王江龙, 孜力汗, 白凤武. 絮凝酵母 SPSC01 连续培养最适生长条件的研究 [J]. *微生物学报*, 2004, 44(1): 93–95.
- [10] Ge X M, Bai F W. Intrinsic Kinetics of Continuous Growth and Ethanol Production of a Flocculating Fusant Yeast Strain SPSC01 [J]. *J. Biotechnol.*, 2006, 124(2): 363–372.
- [11] Singh R S, Dhaliwal R, Puri M. Production of Inulinase from *Kluyveromyces marxianus* YS-1 Using Root Extract of *Asparagus Racemosus* [J]. *Process Biochem.*, 2006, 41(5): 1703–1707.
- [12] Ohta K, Hamada S, Nakamura T. Production of High Concentrations of Ethanol from Inulin by Simultaneous Saccharification and Fermentation Using *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1993, 59(3): 729–733.
- [13] Bai F W, Jin Y, Feng P S. Studies of Ethanol Fermentation Using a Fusant SPSC Flocs: Description of Flocs, Growth and Ethanol Fermentation Kinetics [J]. *Chin. J. Biotechnol.*, 1999, 15(4): 455–460.
- [14] Xu T J, Zhao X Q, Bai F W. Continuous Ethanol Fermentation Using Self-flocculating Yeast Strain and Bioreactor System Composed of Multi-stage Tanks in Series [J]. *Chin. J. Biotechnol.*, 2005, 21(1): 114–117.
- [15] Galindo S S, Ghommidh C, Guiraud J P. Influence of Yeast Flocculation on the Rate of Jerusalem Artichoke Extract Fermentation [J]. *Curr. Microbiol.*, 2000, 41(2): 89–95.

Ethanol Fermentation from Jerusalem Artichoke Juice with Self-flocculating Yeast *Saccharomyces cerevisiae* flo

CHANG Bao-lei, YUAN Wen-jie, ZHAO Xin-qing, REN Jian-gang, BAI Feng-wu

(Department of Bioscience and Bioengineering, Dalian University of Technology, Dalian, Liaoning 116023, China)

Abstract: Batch and continuous processes were studied for ethanol production by fermentation of Jerusalem artichoke juice with self-flocculating yeast *Saccharomyces cerevisiae* flo. In the batch fermentation, ethanol production was more efficient with the simultaneous saccharification and fermentation (SSF), compared with the separate hydrolysis fermentation (SHF). The highest ethanol concentrations of 50 and 82 g/L were achieved within 26 and 34 h when Jerusalem artichoke juice containing total sugar concentrations of 105 and 179 g/L was used in the batch SSF, 6.4% and 13.8% higher than those achieved in the corresponding SHF. When the continuous SSF was applied, steady state was observed when the dilution rate of fermentation system was maintained at 0.02 h^{-1} , and 90 g/L ethanol was produced in the effluent, being equivalent to 90% of its theoretical value. The ethanol productivity was further calculated to be 2.12 g/(L·h). Moreover, the fermentation of unsterilized raw Jerusalem artichoke juice was examined and no contamination was observed, indicating that such a process could be more competitive in saving energy consumption.

Key words: Jerusalem artichoke juice, self-flocculating yeast, ethanol fermentation