

木薯酒精生产中厌氧消化液的回用工艺研究

张成明, 翟芳芳, 张建华*, 毛忠贵 (江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏无锡 214036)

摘要 [目的]对厌氧消化液作为生产用水回用的可行性进行研究。[方法]在相同的试验条件下,分别用自来水和厌氧消化液作为配料水进行试验,观察厌氧消化液对酵母生长、糖化、液化及发酵过程的影响。[结果]厌氧消化液对糖化、液化过程没有抑制作用。以厌氧消化液作配料水得到的完全糖化液为底物测定酵母的生长曲线,平衡期酵母数量达到 1.24 亿个/ml,比以自来水作配料水的对照样的 1.01 亿个/ml 多 22.8%。在相同的发酵条件下,消化液样的残总糖和残还原糖含量分别为 1.97% 和 0.32%,自来水样的残总糖和残还原糖含量分别为 3.78% 和 2.07%,前者比后者的残糖含量分别降低了 50.8% 和 84.5%。[结论]厌氧消化液可以做为配料水进行回用可以促进酒精发酵。

关键词 木薯;酒精;厌氧消化液;清洁生产

中图分类号 S216 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)17-07417-04

Study on the Recycling Process of Anaerobic-digested Alcohol Effluent in Cassava Ethanol Fermentation

ZHANG Cheng-ming et al (Ministry of Education Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214036)

Abstract [Objective] The research aimed to study the feasibility of anaerobic-digested alcohol effluent being used as burden water. [Method] The influences of anaerobic-digested alcohol effluent on yeast growth, liquefaction process, saccharification process and ferment process were observed in the same experimental conditions when tap water and anaerobic-digested alcohol effluent were used as burden water respectively. [Result] It was not found the inhibitory effects of anaerobic-digested alcohol effluent on liquefaction process, saccharification process and ferment process. The growth curve was determined when the yeasts were cultivated on the anaerobic-digested alcohol effluent saccharification liquid and tap water saccharification liquid. On the equilibrium phase, the yeast amount of the former was 1.24×10^8 /ml, which was 22.8% more than the latter which was 1.01×10^8 /ml. Under the same condition, the residual total sugar content and residual reducing sugar content of the anaerobic-digested alcohol effluent sample was 1.97% and 0.32% respectively, and the tap water sample was 3.78% and 2.07%. The residual total sugar content and residual reducing sugar content of the former was 50.8% and 84.5% less than the latter respectively. [Conclusion] The alcohol fermentation process would be promoted when anaerobic-digested alcohol effluent was used as burden water.

Key words Cassava; Alcohol; Anaerobic-digested alcohol effluent; Cleaner production

近几十年来,由于燃料酒精不仅能缓解能源短缺的问题,而且可缓解因地球温室效应加剧带来的气温升高及地球气候恶化等严重问题,因此酒精生产受到世界各国的普遍关注^[1]。由于我国地少人多,用粮食原料生产酒精存在着与人畜争粮、争地的问题。而木薯作为一种非主粮的淀粉质原料,具有淀粉含量高、成分单一等特点,十分适合作为酒精生产的原料。

然而,木薯原料酒精生产过程中存在严重的环境污染问题,生产 1 t 酒精可排放高浓度废水 13~16 t,其中 COD_{Cr} 约 5 万~7 万 t, BOD₅ 约 2 万~4 万 t^[2]。我国已制定了严格的污水排放标准,木薯原料酒精的污水要想达标排放,必须要经过厌氧、好氧等生化处理。传统的厌氧-好氧生化处理工艺投资大,运行费用高,尤其是好氧处理部分,要占据大量土地面积,而且由于要进行曝气处理,消耗大量的能量,其成本占整个污水处理过程的 2/3,增加了酒精生产成本。与好氧处理相比,在污水处理的厌氧阶段,由于可回收可观的沼气,因此结合沼气高压锅炉热电联产,可大幅度降低生产中的煤耗、电耗,故酒精废水的厌氧处理阶段是有利可图的。

显然,如何革除高消耗、无产出的好氧废水处理工序,并合理利用低 COD_{Cr} 的厌氧发酵后的厌氧消化液,是实现木薯燃料酒精清洁生产的关键。为此,笔者在大量试验的基础上,提出了厌氧消化液回用工艺,即将厌氧处理后的消化液作为配料用水,研究了消化液作为配料用水对液化、糖化和发酵的影响,并分别将消化废液和自来水作为配料水配料进行对比发酵试验,探讨了消化液回用的可行性,旨在

合理利用沼气,降低生产能耗的同时,避开好氧处理的投入和消耗,节约宝贵的水资源。

1 材料与方 法

1.1 材料 *Saccharomyces cerevisiae*,由安琪酵母股份有限公司生产。木薯及酒精厌氧消化液由江苏省花厅酒厂提供;耐高温 α -淀粉酶(2 万 U/ml)、糖化酶(13 万 U/ml),为无锡杰能科生物工程有限公司市售商品;其余均为市售化学试剂。

1.2 方 法

1.2.1 液化。将木薯粉碎,过 40 目筛,称取适量,分别用自来水和厌氧消化液调浆,搅拌均匀后用稀 H₂SO₄ 或 NaOH 溶液调 pH 值 6.0~6.4。按试验需要添加耐高温 α -淀粉酶,沸水浴液化,用稀碘液判断液化终点。

1.2.2 糖化。将按“1.2.1”方法液化的液化液快速降温至 60 °C,并用稀 H₂SO₄ 调 pH 值 4.2~4.4。按试验需要添加糖化酶,搅拌均匀后 60 °C 水浴保温糖化。

1.2.3 发酵条件。将糖化液冷却至 30 °C 并接入 10%(V/V) 的酵母种子液,30 °C 恒温静止发酵 60 h。

1.3 测定项目与方法 还原糖、总糖测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法^[3];乙醇测定采用酒精度法^[4];微生物数量测定采用平板计数法^[5]。

2 结果与分析

2.1 消化液成分分析 由表 1 可知,只经厌氧处理的酒精蒸馏废液的各项指标均无法达到排放标准,需进一步通过好氧处理才可以达标排放,但在好氧阶段的投入比较大,增加了生产酒精的成本。而在消化液回用工艺中,除了对悬浮物的指标有要求外,对其他指标并无限制,消化液回用不仅可以节约污水处理的成本,也可以节约生产用水的成本。

2.2 不同料水比对配料 pH 值的影响 从图 1 可以看出,

作者简介 张成明(1983-),男,河北石家庄人,硕士研究生,研究方向:清洁生产。* 通讯作者,博士,讲师。

收稿日期 2008-04-16

表 1 消化液的常规排放指标分析

Table 1 Analysis of conventional emission index of digestive juice

指标 Index	含量 Content//mg/kg
CODcr	4 210.00
色度 Chroma	1 024.00
氨氮 Ammonia nitrogen	290.00
磷酸盐 Phosphate	30.20
悬浮物 Suspended substance	1 140.00
总氯化物 Total chloride	0.04
硫酸盐 Sulphate	9.68

料水混合后配料的 pH 值均明显下降,消化液的 pH 值在 8.12。不同料水比的消化液配料调浆后的 pH 值在 6.87~6.50,接近液化酶的最佳作用 pH 值,或者只经过添加少量的硫酸就可以达到。而自来水的 pH 值为 6.40,调浆后的 pH 值在 5.16~4.99,需要加碱进行调节。因此,从不希望增加过多的无机离子和减少辅料消耗的角度来看,消化液回用不仅可行,而且优于自来水。

2.3 不同配料水对液化时间和 DE 值的影响 在沸水浴条件下,以 1:3 的料水比进行调浆,加入不同量的液化酶进行液化试验,终点用稀碘液判断,分析对液化时间和 DE 值的影响,结果见图 2,对液化液中糖分的分布情况的分析结果

见表 2。

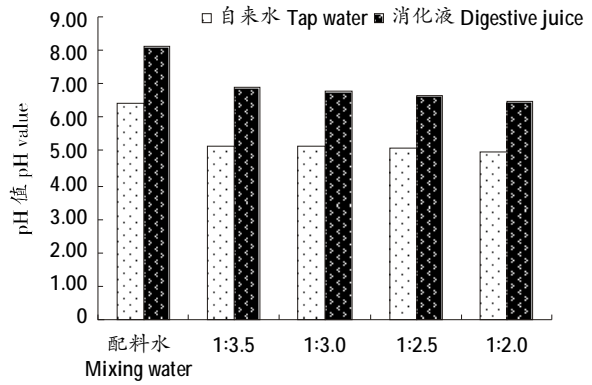


图 1 不同料水比对配料 pH 值的影响

Fig. 1 Effects of material-water ratios on pH value of mash

从图 2 可以看出,将消化液作为配料水进行调浆并液化,达到液化终点的时间和自来水的相差很小,甚至略有提前。可见,消化液的回用对原料的液化不会产生影。此外,液化到终点时,2 个样中的 DE 值均较低。从液化时间和液化效果角度来看,消化液的回用对液化过程没有影响。

从表 2 可以看出,分别用自来水和消化液作配料水时,

表 2 不同配料水时的液化液成分分析

Table 2 Analysis of liquefaction liquid components in different kinds of mixing water

试验号 Test No.	保留时间 Retention time //min	峰面积 Peak area	某糖分的峰面积占所有糖分出峰面积的百分数 Proportion in total sugar content//%		还原糖种类 Types of reducing sugar
			自来水样 Tap water sample	消化液样 Digestive juice	
1	6.231	15 002 775	90.73	88.89	四糖及四糖以上 Tetrasaccharide and above
2	9.623	1 509 467	6.33	7.32	三糖 Trisaccharide
3	10.878	540 016	2.27	2.76	二糖 Disaccharide
4	13.100	56 086	0.24	0.61	葡萄糖 Glucose
5	16.200	104 102	0.44	0.43	果糖 Fructose

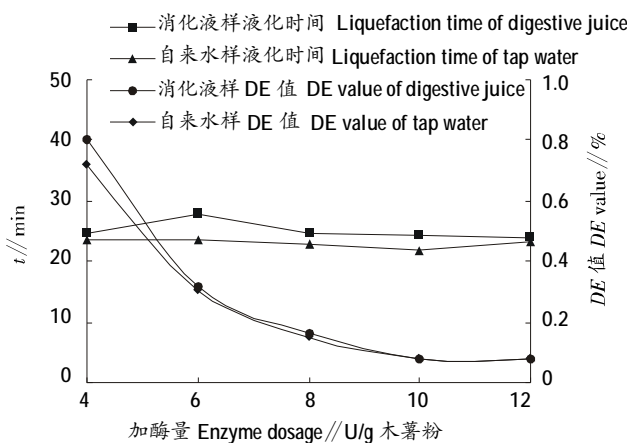


图 2 不同配料水对液化时间和 DE 值的影响

Fig. 2 Effects of different mixing water on liquefaction time and DE value

液化液中单糖、二糖及三糖和三糖以上的比例分别为 0.68%、2.27%、97.06%和 1.04%、2.76%、96.21%。从液化液中糖分的分布来看,无论是单糖、二糖还是三糖及三糖以上的含量,在 2 个液化液样中的比例都很接近。从液化液中各种糖分所占的比例来看,消化液的回用对液化过程没有影响。

2.4 不同配料水对糖化结果的影响 将液化完全的液化液迅速冷却至 60 ℃,调 pH 值 4.0,按 120 U/g 木薯粉添加液化酶,并在不同的时间点测定还原糖含量,其结果见图 3。对糖化液成分的分析结果见表 3。

从图 3 可以看出,分别以自来水和消化液为配料水进行糖化时,二者在糖化速率和最终的糖化效果上差异不大。这说明消化液的回用对糖化过程没有抑制作用。

从表 3 可以看出,糖化终点时,自来水样和消化液样的葡萄糖含量分别占总糖量的 87.32%和 86.26%,二糖和三糖及三糖以上的含量分别占总糖量的 0.96%、9.65%和 1.04%、9.78%,各成分的比例十分接近。这充分说明消化液的回用

表 3 不同配料水时的糖化液成分分析

Table 3 Analysis of saccharification liquid components in different kinds of mixing water

试验号 Test No.	保留时间 Retention time //min	峰面积 Peak area	某糖分的峰面积占所有糖分出峰面积的百分数 Percentage of the peak value in total sugar content//%		还原糖种类 Types of reducing sugar
			自来水样 Tap water	消化液样 Digestive juice	
1	6.231	15 002 775	8.98	8.82	四糖及四糖以上 Tetrasaccharide and above
2	9.623	1 509 467	0.67	0.96	三糖 Trisaccharide
3	10.878	540 016	0.96	1.04	二糖 Disaccharide
4	13.100	56 086	87.32	86.26	葡萄糖 Glucose
5	16.200	104 102	0.86	0.72	果糖 Fructose

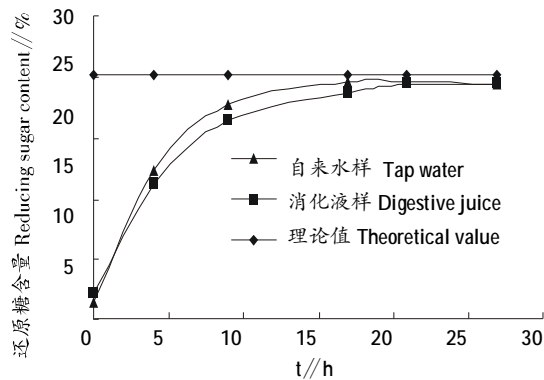


图3 不同配料水对糖化结果的影响

Fig. 3 Effects of different kinds of mixing water on saccharification

对糖化过程不会产生负面的影响。

在污水处理过程中,金属离子往往难以去除,而在该文的循环工艺中,有害金属离子的累积是一个必须要考虑的因素,过高浓度的金属离子将对液化酶、糖化酶的酶活产生负面作用,同时会造成渗透压的升高,进而影响酵母的生长和发酵。因此,在多批次的循环试验中应该注意金属离子的累积情况。

2.5 不同配料水对酵母生长的影响 分别取不同配料水的完全糖化液,10 000 r/min 离心后用滤纸过滤,并用蒸馏水稀释至糖浓度为5%左右,在600 nm处测定吸光度,作生长曲线,结果见图4。

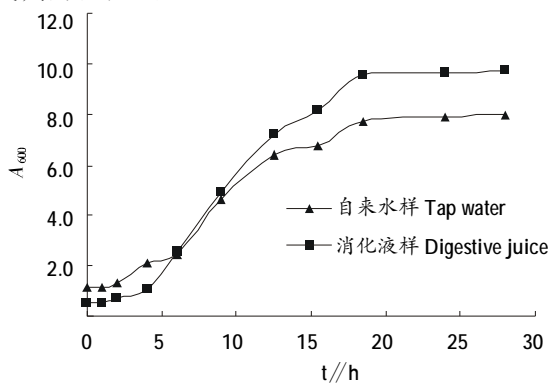


图4 不同配料水对酵母生长生长曲线

Fig. 4 Growth curve of yeast in different kinds of mixing water

从图4可以看出,当用消化液作配料水时,酵母的对数生长期较自来水的略长,使得平衡期的酵母数量多于自来水。通过血球计数板测得的自来水样和消化液样中的酵母细胞数量分别是1.01亿、1.24亿个/ml,后者比前者多出22.8%。这说明消化液中残留的氮和磷可以作为酵母的氮源和磷源被酵母吸收利用,促进了酵母的增殖,同时消化液中的金属离子也对酵母的生长起到了促进作用。单从消化液对酵母生长的影响来看,消化液的回用是可行并且有利的。

分析其原因可能是在对酒精蒸馏废液进行厌氧处理时,相关的菌体自溶使得消化液中含有一定量的氨基酸,而这部分氨基酸又促进了酵母的生长。此外,木薯原料中含有的蛋白质含量很低,在实际中以木薯为原料生产酒精时要添加一定的氮源以满足酵母的生长和发酵的需要。而在酒精蒸馏废液的处理过程中,厌氧处理阶段只能有效地去除COD_{Cr}的含量,氮的去除率介于20%~40%,磷的去除率仅为5%~

20%,而进一步地去除均包含一个好氧处理的阶段^[9]。在厌氧处理后残留的氮和磷也可能成为酵母的营养物质。而由于需要曝气,好氧处理阶段的动力投入成本要比厌氧阶段大得多。如果采用消化液的回用工艺,则可以很好地解决这2方面的问题:一方面,消化液的回用不经过好氧处理,节约了污水处理的成本;另一方面,消化液中在厌氧阶段难以去除的氮和磷,又可以成为酵母生长和发酵的良好营养,在一定程度上还可以减少生产中氮和磷的成本投入。

2.6 不同配料水对发酵的影响 从图5可以看出,在发酵初期(前12h)二者差别不大,但从12h以后,2者的发酵就表现出明显的不同。自来水样在12h时即达到发酵的最高峰,之后开始逐渐变缓,而消化液样在12~18h发酵程度进一步增强,在18~24h的失重速率也比自来水样高峰期时略高。这说明消化液对酵母的发酵过程有十分明显的促进作用。其原因可能是消化液中的氮源起到了促进酵母发酵的作用^[6-9]。在36h后,消化液样的失重速率明显低于自来水样,这说明此时消化液样的发酵已经基本结束,而自来水样的发酵还在持续。从图6可以看出,消化液样的发酵在36h后变得缓慢,而自来水样的发酵仍保持较快的速度,这是由于消化液中的还原糖含量已经很低造成的。

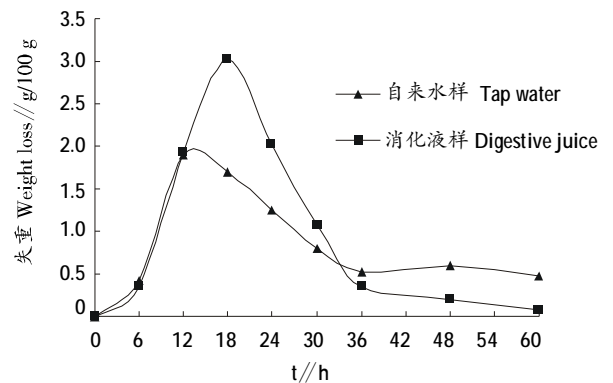


图5 不同配料水对失重速率的影响

Fig. 5 Effects of different kinds of mixing water on weight loss rate

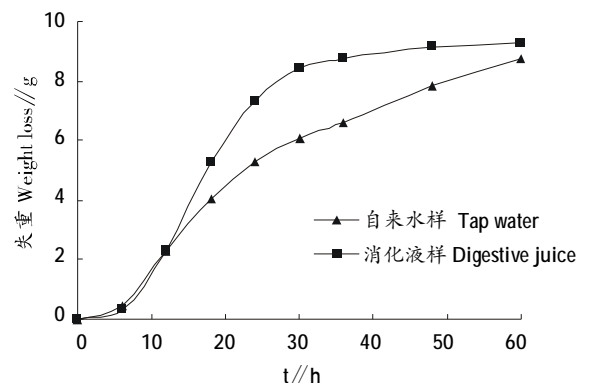


图6 不同配料水对失重的影响

Fig. 6 Effects of different kinds of mixing water on weight loss

从图7、8可以看出,用消化液作配料水时,对酵母的发酵产生了明显的促进作用。一方面,酵母的发酵速度明显加快,相同时间下将更多的还原糖转化成了酒精。另一方面,由于发酵的加快,使消化液的最后残留还原糖和总糖含量均低于对照的自来水样。在发酵60h时,残留总糖和还原

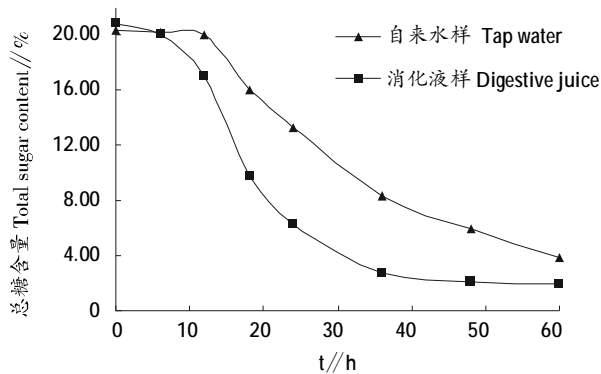


图7 不同配料水对残留总糖含量的影响

Fig. 7 Effects of different kinds of mixing water on residual total sugar content

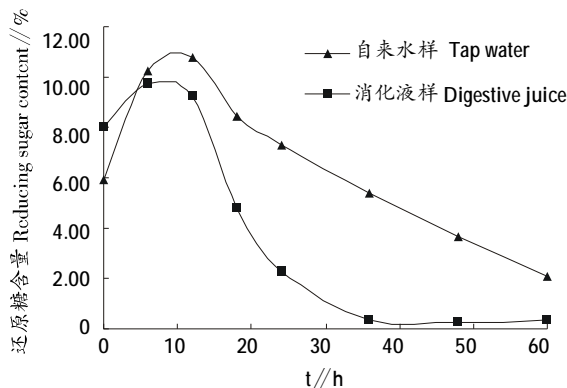


图8 不同配料水对残留还原糖含量的影响

Fig. 8 Effects of different kinds of mixing water on residual reducing sugar content

糖,自来水样的分别为 3.78%和 2.07%,消化液样的分别为

1.97%和 0.32%,后者的残糖比前者分别降低了 50.8%和 84.5%。从发酵的效果来看,消化液的回用对酵母的发酵没有抑制作用,反而可以有效地促进酵母的发酵。

3 结论与讨论

试验证明,以消化液作为配料用水,对淀粉液化、糖化没有影响,而对酵母发酵生产有一定的促进作用。该工艺中液化、糖化及发酵过程与传统的酒精工艺差别不大,厌氧消化液中的细菌污染问题可以通过传统的灭菌工艺来解决。由于厌氧消化液中含有丰富的氨基酸、无机盐等营养物质,所以回用时能促进酵母的生长,提高单位体积发酵液中酵母的细胞数,在相同的条件下降低残糖含量。该工艺既解决了酒精生产中高浓度蒸馏废液处理时,好氧阶段投入成本高的问题,又节约了大量的水资源。和传统“末端治理”工艺比较,还可节省可观的废水治理费用,给企业带来良好的经济效益和社会效益。

参考文献

- [1] 章克昌.发展“燃料酒精”的建议[J].中国工程科学,2000,2(6):89-94.
- [2] 张建华,段作营,李永飞,等.酒精蒸馏废液全循环工艺研究[J].食品与发酵工业,2006,32(4):31-34.
- [3] 王福荣.酿酒分析与检测[M].北京:化学工业出版社,2005:260-263,267-268.
- [4] 诸葛健,王正祥.工业微生物实验技术手册[M].北京:中国轻工业出版社,1994:238-240
- [5] 陈坚.环境生物技术[M].北京:中国轻工业出版社,1999:188-189.
- [6] 吕欣.氮源与无机盐对高浓度酒精发酵的影响[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2003,31(4):159-162.
- [7] 郑淑芳.营养因素和环境因素对酵母菌生长的影响[J].山西食品工业,1995(4):26-29.
- [8] JONES A M,INGLEDEW W M.Fuel alcohol production: Appraisal of nitrogenous yeast foods for very high gravity wheat mash fermentation [J].Process Biochem,1994(29):483-488.

(上接第 7404 页)

黄酮具有一定的抗氧化作用。

表2 葛根总黄酮和BHT浓度梯度及抑制率

Table 2 Total flavonoid in puerarin, BHT concentration gradient and inhibition rate %

浓度 Concentration //mg/ml	对 O ₂ · 的抑制率 Inhibition rate of O ₂ ·		对 ·OH 的抑制率 Inhibition rate of ·OH	
	葛根总黄酮 Total flavonoid in puerarin	BHT	葛根总黄酮 Total flavonoid in puerarin	BHT
2.3	62.56	32.07	30.14	50.04
4.7	65.11	60.99	51.53	54.71
9.4	66.57	62.45	75.23	59.79
14.1	70.37	66.74	83.29	68.70
18.8	73.03	71.89	87.97	70.56
23.0	76.51	74.77	92.32	75.33

3 结论

(1)通过正交试验确定葛根总黄酮的最佳提取条件为:温度 80℃、乙醇浓度 70%、固液比 1:8、提取 3 次、时间 3 h。在该条件下葛根总黄酮的提取率为 22.9%,样品纯度为 15.5%;经过柱层析纯化后,样品纯度为 46.2%。

(2)试验结果表明,葛根总黄酮对 O₂· 和 ·OH 抑制率随着浓度的增大而增大,且抑制率强于 BHT,表明葛根总黄酮

具有抗氧化作用。

参考文献

- [1] 顾志平,连文琐,陈碧珠.中药葛根资源的调查研究[J].中药材,1993,16(8):13.
- [2] 孙克杰,汤坚.黄酮化合物在不同氧化体系中的作用研究[J].食品科学,2001,22(3):22-26.
- [3] LUYR,FOOYL.Antioxidant activities of poly phenols from sage (Salvia officinalis) [J].Food Chemistry,2001,75:197-202.
- [4] ZAKI M,SHI H,A B.Determination of isoflavones in pulses and pulse products by HPLC [J].Nagoya-shi Eisei Kenkyushoho,2000,46:2327-2331.
- [5] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].广州:广东科学技术出版社,1995:297.
- [6] 张丽梅,祁警宇.正交试验法优选野马追总黄酮提取工艺[J].齐鲁药事,2005,24(11):693-695.
- [7] 张仲伦.微弱发光分析技术原理及应用实例(一)[J].生物化学与生物物理进展,1999,26(4):17-23.
- [8] GEORGETTI SANDRA R,CASAGRANDE RÙBIA,MAMBRO VALÈRIA M D,et al.Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method [J].AAPS Pharm Sci,2003,5(2):20.
- [9] TRIANTIS T M,YANNAKOPOULOU E,NIKOKAVOURA A,et al. Chemiluminescent studies on the antioxidant activity of amino acids[J].Analytica Chimica Acta,2007,591:106-111.
- [10] 严建刚,张名位,杨公明,等.芹菜提取物清除自由基作用研究[J].食品科学,2004,25(8):39-42.