

鲜甘薯原料的运动发酵单胞菌 快速乙醇发酵条件*

申乃坤^{1,2} 赵海^{1**} 甘明哲^{1,2} 靳艳玲^{1,2} 周玲玲^{1,2} 戚天胜³

(¹中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

(²中国科学院研究生院 北京 100049)

(³成都固生科技发展有限公司 成都 610041)

摘要 对运动发酵单胞菌232B同步糖化发酵(SSF)鲜甘薯快速生产燃料乙醇的条件进行了研究. 通过单因素试验和正交试验获得了乙醇发酵的最佳参数为: 初始pH值6.0~7.0, 硫酸铵5.0 g/kg, 糖化酶量1.6 AUG/kg淀粉, 初始总糖浓度200 g/kg, 接种量 $\phi=12.5\%$. 经过21 h发酵, 乙醇浓度为95.15 g/kg, 发酵效率可达94%. 同时对不灭菌发酵也进行了研究, 发酵效率可达92%. 残糖的HPLC分析结果说明, 发酵液中已没有葡萄糖存在, 经酸水解后又出现了葡萄糖、半乳糖、甘露糖等成分, 说明发酵结束后的残糖是多种低聚糖. 图4 表4 参19

关键词 鲜甘薯; 运动发酵单胞菌; 同步糖化发酵; 乙醇发酵

CLC TK6 : S531.099 : TQ920.6

Rapid Ethanol Production from Fresh Sweet Potato by *Zymomonas mobilis**

SHEN Naikun^{1,2}, ZHAO Hai^{1**}, GAN Mingzhe^{1,2}, JIN Yanling^{1,2}, ZHOU Lingling^{1,2} & QI Tiansheng³

(¹Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

(²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

(³Chengdu Gusheng Sci & Tech Development Co., Ltd., Chengdu 610041, China)

Abstract The ethanol production with simultaneous saccharification and fermentation (SSF) by *Zymomonas mobilis* 232B using fresh sweet potato as raw material was studied. The effects of various factors on the yield of ethanol were investigated with the single factor and the orthogonal experiments. As a result, the optimal technical conditions were obtained from those experiments: Initial pH value 6.0~7.0, nitride 5.0 g/kg ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), glucoamylase 1.6 AUG/kg starch and inoculums $\phi=12.5\%$. The ethanol yield by *Z. mobilis* 232B reached 95.15 g/kg, with 94% of the theoretical yield, after 21 h fermentation. The non-sterilized fermentation was also studied and its yield of ethanol reached 92% g/kg. The analysis of residual sugars by HPLC showed that there was no glucose existing in the fermentation liquor. The glucose, galactose and mannose appeared after being hydrolyzed by acid. It is indicated that the residual sugars in the final fermentation liquor were oligosaccharides. Fig 4, Tab 4, Ref 19

Keywords fresh sweet potato; *Zymomonas mobilis*; simultaneous saccharification and fermentation (SSF); ethanol fermentation

CLC TK6 : S531.099 : TQ920.6

我国在“十一五”可再生能源规划中明确指出要大力发展以甘薯等非粮能源作物为原料的燃料乙醇. 甘薯是一种富含淀粉的块根作物, 鲜甘薯一般含淀粉15%~25%, 我国常年种植面积逾 $460 \times 10^4 \text{ hm}^2$, 收获 $1.1 \times 10^8 \text{ t}$ 以上, 占世界甘薯产量的80%以上^[1]. 与使用薯干(含水量约10%)相比, 鲜甘薯(含水量约为70%)发酵生产乙醇可以节约60%的发酵用水, 能够进一步降低乙醇生产成本. 由于收获季节在初冬, 甘薯易于冻伤和腐烂, 每年腐烂的甘薯约占总产量的30%~50%. 而采用干燥保存甘薯, 成本高, 能源消耗大, 不具有经济性, 也不

符合燃料乙醇生产所遵循的净能源产出最大化原则. 此外, 目前乙醇发酵强度较高的方法大多是采用以固定化或自絮凝菌体为基础的糖质原料及淀粉质原料的糖化清液连续发酵技术. 由于甘薯的脂肪和蛋白质含量相对较低, 分离产品附加值低, 若进行固液分离会增加能耗, 提高乙醇生产成本, 故固定化和自絮凝技术不适合鲜甘薯乙醇发酵. 因此, 迫切需要开发适合鲜甘薯全原料的快速乙醇发酵技术.

运动发酵单胞菌(*Zymomonas mobilis*)是一种革兰氏阴性、兼性厌氧菌. 与传统生产乙醇的酵母相比, 该菌显示出多方面的优越性, 如转化率高, 副产物少, 且发酵过程中不需要通气, 设备工艺比较简单, 可以降低乙醇生产的成本等^[2]. 但*Z. mobilis*乙醇发酵的缺点是碳源利用范围窄, 仅限于葡萄糖、果糖和蔗糖; 营养条件苛刻, 常需添加多种营养物质. 目前国内乙醇发酵生产多以酵母为主, 生产周期长(大于40

收稿日期: 2008-04-18 接收日期: 2008-05-06

*国家科技支撑计划项目(No. 2007BAD78B04)和四川省科技攻关项目(No. 027. X028-037)资助. Supported by the National Key Sci & Tech Project of the 11th 5-year Plan of China (No. 2007BAD78B04) and the Provincial Key Sci & Tech Project of Sichuan, China (No. 027. X028-037)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: zhaohai@cib.ac.cn)

h)、效率低(小于85%)、乙醇浓度较低($\phi=11\%\sim12\%$)^[3-5];对甘薯原料的研究多以甘薯干为主。以鲜甘薯为原料、利用细菌同步糖化发酵生产乙醇的研究还未见报道。

本文通过单因素和正交试验对运动发酵单胞菌发酵鲜甘薯生产燃料乙醇的条件进行了优化,同时对不灭菌发酵也进行了研究,取得了良好效果,为运动发酵单胞菌的工业化应用提供了依据。在发酵过程中采用低温液化(85℃)和同步糖化发酵(SSF)模式,大大降低了乙醇生产中的能耗,实现了鲜甘薯快速高效转化生产燃料乙醇,有利于减轻甘薯储存压力和部分解决我国燃料乙醇生产中长期存在的发酵周期长、生产成本高等问题。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 运动发酵单胞菌(*Z. mobilis* 232B),由本实验室保藏菌株Zy-1经紫外诱变和化学诱变后选育得到的乙醇高产菌株^[6]。

1.1.2 种子培养基及培养条件 保存培养基($\rho/\text{g L}^{-1}$):葡萄糖100,酵母粉5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1, KH_2PO_4 1, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5;保存试管放置于4℃冰箱中。

种子培养基($\rho/\text{g L}^{-1}$):与保存培养基相同,于30℃培养16 h。

1.1.3 酶制剂 液化酶: Liquezyme Supra, 购自诺维信公司。标准酶活力为90 KNU/g (KNU为诺维信液化酶的专有单位)。1 KNU指在37℃、pH 5.6时,每小时水解5.26 g淀粉所需的酶量。

糖化酶: Suhong GA II, 购自诺维信公司。标准酶活力为500 AGU/mL (AGU为诺维信糖化酶专有单位)。1 AGU是指在25℃、pH 4.3标准条件下,每分钟水解1 mol麦芽糖所需的酶量。

1.1.4 发酵培养基制备 鲜甘薯打浆后,按照一定比例加水,液化酶的量120 KNU/kg醪液,于80℃液化10 min (与碘液反应的颜色为红棕色)。液化后添加所需营养物质,于115℃灭菌15 min,冷却后接入菌体和糖化酶,采用同步糖化发酵,发酵温度为30℃,除特殊说明外,初始糖浓度为180 g/kg,接种量为10%,硫酸铵5.0 g/kg。

1.2 分析方法

1.2.1 还原糖测定 采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法^[7]。

1.2.2 总糖测定 采用酸水解法。取样品约10 g,加100 mL蒸馏水,用 H_2SO_4 调节pH=1.0,沸水浴水解1 h后,NaOH调pH至中性,醋酸铅沉淀除去蛋白质,再用硫酸钠中和和去除多余的铅离子^[8]。利用测定还原糖的方法(DNS)测定总糖。

1.2.3 乙醇浓度测定 采用气相色谱法。以正丙醇为内标,氢火焰离子化检测器, GDX103填充柱,柱箱温度150℃,检测器温度250℃,进样器250℃,进样量3 μL ^[4]。

1.2.4 粘度测定 采用NDJ-1旋转式粘度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2.5 残糖成分分析 采用液相色谱(HPLC)法。色谱条件:水为流动相,流速0.6 mL/min, Bio-Rad Aminex HPX-87P糖分析

柱(300×7.8 mm),柱温85℃,进样量10 μL ,蒸发光检测器ELSD 2000,漂移管110℃。

1.2.6 pH检测 采用pHS-3C型数字酸度计。

2 结果与分析

2.1 pH对运动发酵单胞菌232B乙醇发酵的影响

与酵母菌相比,运动发酵单胞菌对外界环境更为敏感,发酵培养基的pH值对其生长和发酵的影响较大^[9]。调节发酵的pH并加入缓冲液使其维持在一定水平,初始糖浓度为180 g/kg,酵母粉5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1 g/kg, KH_2PO_4 1 g/kg, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g/kg,接种量为10%。发酵结果见图1。

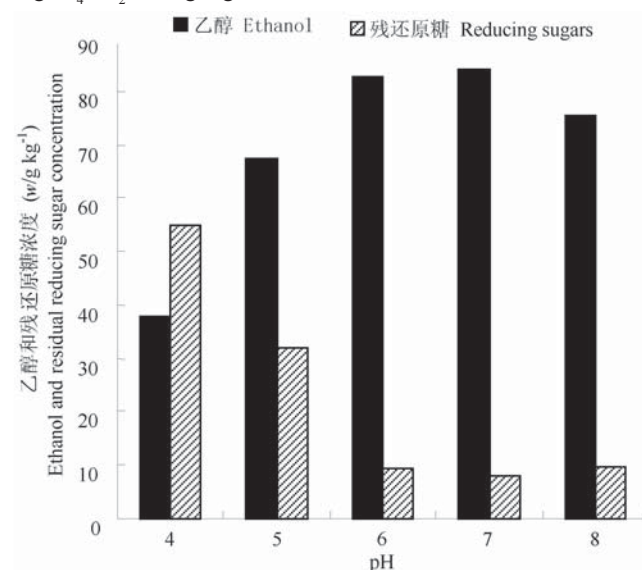


图1 pH对运动发酵单胞菌乙醇发酵的影响

Fig. 1 Effect of pH on ethanol fermentation by *Z. mobilis*

从图1可以看出, pH值从4增加到6的过程中乙醇和残糖浓度变化很大,乙醇由38.47 g/kg增加到82.62 g/kg,残糖浓度由55.12 g/kg下降到9.3 g/kg。但pH值大于7时,乙醇浓度降低,残糖浓度升高。所以运动发酵单胞菌发酵所需的最适pH为6.0~7.0, pH过高或过低都不利于该菌的生长和发酵。

2.2 氮源对运动发酵单胞菌232B乙醇发酵的影响

氮源是构成菌体物质和一些代谢产物的必需营养元素,薯类原料虽然淀粉含量较高,但含氮量低(0.3%以下),所以在其乙醇发酵中常需添加氮源^[10]。氮源可分为无机氮源和有机氮源两类,由于有机氮源成分复杂,成本较高,不利于工业生产,因而选择无机氮源作为发酵培养基的氮源,其中尿素和硫酸铵是最常用的两种无机氮源,所以选择这两种氮源作为研究对象,以不添加氮源和酵母膏的培养基作为对照。发酵结果见表1。

从表1中可以看出,随着硫酸铵和尿素浓度从2.5 g/kg增加到5.0 g/kg,发酵时间缩短,乙醇浓度升高,残糖浓度降低。这说明在氮源含量较低时,所提供的氮源不能完全支持酵母的生长和发酵,当到一定阶段,由于氮源被耗尽,菌体不能继续生长,导致发酵时间延长和最终乙醇浓度较低,但当氮源浓度过高时乙醇产量反而下降,这一抑制机制还有待进一步研究。因此,添加氮源有利于提高乙醇发酵效率,添加酵母

表1 不同氮源对运动发酵单胞菌乙醇发酵的影响
Table 1 Effect of different nitride sources on ethanol fermentation by *Z. mobilis*

氮源	Nitride source	CK	酵母膏	Yeast extract	(NH ₄) ₂ SO ₄			CO(NH ₂) ₂		
添加量	Content (w/g kg ⁻¹)	0.00		5.00	2.50	5.00	7.50	2.50	5.00	7.50
初糖浓度	Initial sugar concentration									
(I.S.C., w/g kg ⁻¹)		180.00		180.00	180.00	180.00	180.00	180.00	180.00	180.00
乙醇浓度	Ethanol concentration									
(E.C., w/g kg ⁻¹)		78.73		85.27	83.24	84.44	83.20	80.21	82.33	80.39
发酵时间	Fermentation time									
(F.T., t/h)		20.00		18.00	19.00	18.00	19.00	19.00	18.00	19.00
发酵效率	Fermentation efficiency									
(F.E., P/%) ¹⁾		85.6		93.70	90.50	92.80	90.37	87.20	90.60	89.40
残还原糖	Residual reducing sugars									
(R.S., w/g kg ⁻¹)		9.71		7.44	8.62	8.15	8.73	9.08	9.44	9.67
残总糖	Residual total sugars									
(R.T.S., w/g kg ⁻¹)		18.95		15.72	17.83	16.81	17.44	18.26	17.57	18.31

1) 发酵效率=实际酒精产量/理论酒精产量×100%, 下同 1) F.E.=Actual ethanol yield / Theoretical ethanol yield×100%. The same below

粉的效果最好^[11], 其次为5 g/kg的硫酸铵. 考虑到价格因素, 选择添加5 g/kg的硫酸铵作为运动发酵单胞菌乙醇发酵的氮源.

2.3 无机盐对运动发酵单胞菌232B乙醇发酵的影响

无机盐类是微生物生命活动不可缺少的物质, 其主要功能是参与构成菌体成分、作为酶的组成部分, 或维持酶的活性、调节渗透压等. 其中, MgSO₄、KH₂PO₄和CaCl₂对微生物的生长和发酵影响最大. 为了考察不同无机盐对鲜甘薯乙醇发酵的影响, 分别向培养基中添加5.0 g/kg的KH₂PO₄、MgSO₄和CaCl₂, 以不添加无机盐的培养基作为对照. 发酵结果见图2.

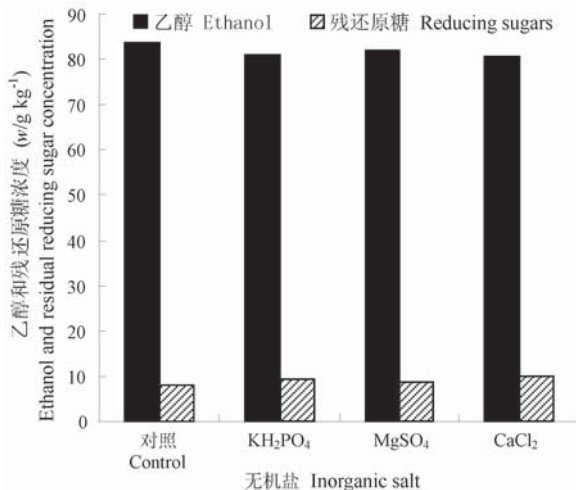


图2 无机盐对运动发酵单胞菌乙醇发酵的影响

Fig. 2 Effect of inorganic salts on ethanol fermentation by *Z. mobilis*

从图2可以看出, 添加无机盐的试验组乙醇产量比不添加的对照要低或者差别不大, 说明鲜甘薯本身含有足够量无机盐能满足运动发酵单胞菌生长和发酵的需要, 在鲜甘薯乙醇发酵中无需外加氮源.

2.4 初始总糖浓度(料水比)对运动发酵单胞菌232B乙醇发酵的影响

初始总糖浓度的高低直接影响菌体的生长和发酵. 乙醇发酵是典型的产物抑制, 在乙醇含量达到4%左右时就开始产生抑制^[12], 发酵速度逐渐降低直至发酵停止. 为了避免原

料利用不完全, 工业上常常通过增大加水量来降低初始总糖浓度, 但加水量的增加不可避免地造成成熟发酵醪液的乙醇含量低, 增大了蒸馏的能耗. 本试验分别选择180、200、220、240 g/kg初始总糖浓度进行发酵试验, 结果见图3.

从图3可以看出, 当初始总糖浓度≤200 g/kg时, 菌体能正常发酵, 但当总糖浓度超过220 g/kg时, 菌体的发酵受到影响, 主要是由于菌体受到底物和产物的双重抑制, 再加上初始总糖浓度过高时, 培养基的粘度很高, 严重影响了CO₂的逃逸, 从而使发酵不能正常进行. 考虑到原料的利用率和乙醇后处理的成本, 确定鲜甘薯细菌发酵的最适初始总糖浓度在200 g/kg左右. 这个值高于目前运动发酵单胞菌采用葡萄糖培养基或粗原料先糖化后发酵(SHF)的初总糖浓度(150~180 g/kg)^[9, 13], 是由于SSF模式没有单独的糖化过程, 使葡萄糖可保持较低的浓度, 在较低的加水比下, 也不会因葡萄糖浓度过高而对菌体发酵产生抑制. 因此, SSF模式比SHF模式节约用水量, 同时提高了最终发酵醪液中乙醇的浓度, 从而可显著降低乙醇生产的成本.

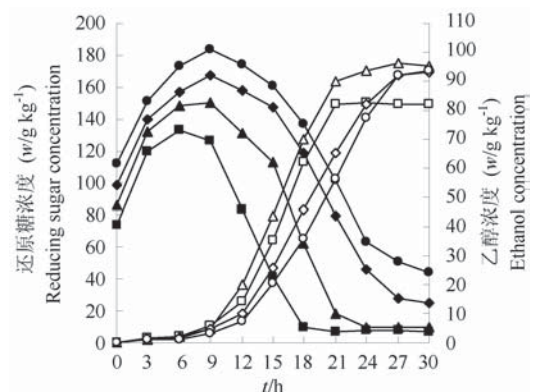


图3 初始总糖浓度(180、200、220、240 g/kg)对运动发酵单胞菌乙醇发酵的影响

Fig. 3 Effect of different initial total sugar concentrations (180, 200, 220, 240 g/kg) on ethanol fermentation by *Z. mobilis*

还原糖 Reducing sugars: ■, ▲, ◆, ●; 乙醇 Ethanol: □, △, ◇, ○

2.5 糖化酶添加量、添加时间和接种量对运动发酵单胞菌232B乙醇发酵影响的正交试验

从以上试验可以知道, 运动发酵单胞菌在乙醇发酵中

存在一个较长的延滞期(约9 h),而且发酵后残糖较高,分析其原因可能是:一是初始糖浓度过高抑制了发酵,可通过加酶时间后移解决;二是接种量不够,菌体需要一个较长时间的积累过程,可通过增加接种量来解决;三是糖化酶的量不够,淀粉水解不完全,增加了残糖,从而降低了原料的利用率,可以通过增加酶量解决。所以本研究通过正交试验(表2)对糖化酶添加量、添加时间和接种量进行优化,以缩短发酵过程中的延滞期和降低发酵液的残糖。

表2 正交试验因子与水平
Table 2 Factors and levels of orthogonal experiment

水平 Level	A: 糖化酶量 Glucoamylase dose (AUG/kg starch)	B: 加酶时间 Time of adding enzyme (t/h)	C: 接种量 Inoculums (ϕ /%)
1	0.8	0	7.5
2	1.6	3	10
3	3.2	6	12.5

从表3的极差(R)可以看出,3个因素对菌体发酵的影响依次为接种量>糖化酶量>加酶时间。接种量增大能显著降低细菌的延滞期。在一定范围内增加糖化酶的量会降低残总糖,但糖化酶用量过大时会对细菌生长和发酵产生明显的抑制作用(如No. 8);这与酵母发酵时添加糖化酶可降低残糖,但糖化酶对酵母菌并无抑制作用的结果不同^[14],关于糖化酶对运动发酵单胞菌抑制的机理还要进一步研究。加酶时间对发酵结果影响不大,说明延滞期较长不是由糖浓度较高引起的,可能与生物量的积累和菌体发酵状态的调整有关。综合考虑,最佳糖化酶的添加量为1.6 AUG/kg淀粉,加酶时间为0 h,最佳接种量为 $\phi=12.5\%$ 。

2.6 灭菌和不灭菌对运动发酵单胞菌232B乙醇发酵的影响

与酵母乙醇发酵的pH (5.0左右)相比,运动发酵单胞菌

的初始pH较高(6.0~7.0),发酵时很容易染菌,这是影响其工业化应用的主要原因之一。但由于运动发酵单胞菌耗糖速度快,可竞争性抑制杂菌生长。于是我们对不灭菌对发酵的影响作了初步研究,初始糖浓度都为200 g/kg,结果见表4。

从表4可以看出,不灭菌发酵的效率仍可达到93.76%,是否灭菌对发酵的结果影响不大。这是由于发酵时间较短(仅21 h),再加上在80 ℃液化时杂菌的营养细胞被杀死,而多数孢子还没有萌发时,发酵已经结束。与灭菌发酵相比,不灭菌发酵的粘度较高,可能是灭菌(115 ℃、15 min)过程中的高温使淀粉和果胶物质部分溶解,从而降低了发酵液的粘度。粘度较高时会影响发酵液的传质和糖化效果,导致不灭菌发酵时残总糖较高。

2.7 残糖成分分析

发酵结束后DNS测定结果为残还原糖8 g/kg、残总糖14 g/kg左右。又经HPLC测定,没有发现葡萄糖和常见的单糖(图4-C);经糖化酶水解后仍没有葡萄糖存在,说明该菌能够彻底地利用葡萄糖;但经酸水解后又出现了葡萄糖(图4-B),葡萄糖含量为9 g/kg左右,高于DNS测定的还原糖量,但低于DNS测定的水解后总糖量,说明发酵结束后的残糖中含有由特殊糖苷键相连的二糖或二糖以上的低聚糖结构。有关残糖的结构还需进一步研究。可以通过开发低聚糖高效降解酶系,减少发酵液中的残糖,从而提高原料的利用率;同时还可以发酵废液降低COD 9.0×10^3 mg/L以上(1%的葡萄糖可以产生COD 1.1×10^4 mg/L),减少污水处理负荷。

3 讨论

根据本研究结果分析得到鲜甘薯运动发酵单胞菌232B乙醇发酵的最佳工艺如下:pH值为6.0~7.0,氮源为5.0 g/kg的硫酸铵,无需添加无机盐,糖化酶量为1.6 AUG/kg淀粉,接种量 $\phi=12.5\%$ 。经过21 h发酵可以产生乙醇95.15 g/kg,发酵效率

表3 正交试验结果
Table 3 Results of orthogonal experiment

No.	A	B	C	F.T. (t/h)	E.C. (w/g kg ⁻¹)	R.T.S. (w/g kg ⁻¹)	F.E. (P/%)	发酵强度 Fermentation intension (F.I., w/g kg ⁻¹ h ⁻¹) ¹⁾
1	0.8	0	7.5	24	90.01	20.08	88.07	3.75
2	0.8	3	10	24	89.70	14.97	87.77	3.74
3	0.8	6	12.5	21	89.09	14.99	87.17	4.24
4	1.6	0	10	24	92.73	14.22	90.73	3.86
5	1.6	3	12.5	21	94.66	13.66	92.62	4.51
6	1.6	6	7.5	24	91.91	15.51	89.93	3.83
7	3.2	0	12.5	21	87.41	16.92	85.53	4.16
8	3.2	3	7.5	24	39.65	102.10	38.79	1.65
9	3.2	6	10	24	90.03	17.80	88.09	3.75
R1	3.72	3.73	2.84					
R2	3.98	3.13	3.61					
R3	2.96	3.74	4.21					
R	1.02	0.61	1.37					

1)发酵强度=发酵结束时乙醇浓度/发酵时间。下同。1) F.I.=Final ethanol concentration / Fermentation time. The same below

表4 灭菌和不灭菌对运动发酵单胞菌发酵结果的影响
Table 4 Effect of sterilization and non-sterilization on ethanol fermentation by *Z. mobilis*

	F.T. (t/h)	E.C. (w/g kg ⁻¹)	R.T.S. (w/g kg ⁻¹)	F.E. (P/%)	pH	粘度 Viscosity (η /mPa.s)
灭菌 Sterilization	21	94.51	17.34	95.15	5.25	5.5×10^4
不灭菌 Non-sterilization	21	92.78	18.59	93.76	5.36	8.4×10^4

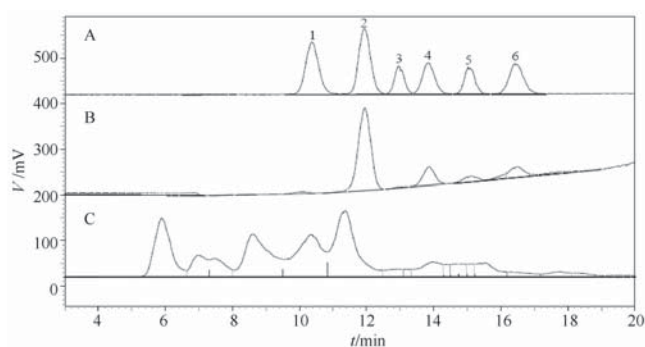


图4 鲜甘薯乙醇发酵残糖的HPLC分析图谱

Fig. 4 Analysis of reducing sugars for ethanol fermentation from fresh sweet potato by HPLC

A为糖的标准品: 1. 麦芽糖, 2. 葡萄糖, 3. 木糖, 4. 半乳糖, 5. 阿拉伯糖, 6. 甘露糖; B为酸水解后的残糖; C为残糖

A: Standard sugars: 1. Maltose, 2. Glucose, 3. Xylose, 4. Galactose, 5. Arabinose, 6. Mannose; B: Residual sugars by acid hydrolysis; C: Residual sugars

可达95%, 发酵强度可达 $4.51 \text{ g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ 。而目前国内粗原料乙醇发酵水平是: 发酵时间40 h以上, 乙醇浓度为8~9 g/L, 发酵效率在90%以下, 发酵强度小于 $3.0 \text{ g kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ^[15, 16]。利用优化后的条件运动发酵单胞菌232B能快速、高效地将鲜甘薯转化为乙醇, 发酵时间缩短了10 h以上, 发酵效率提高了近5%, 发酵过程的水耗也比普通的发酵技术要低。因此, 运动发酵单胞菌232B可用于鲜甘薯快速发酵, 以减少能耗和提高设备利用率; 但其存在的主要问题是底物利用范围过窄, 容易染菌, 发酵过程中的延滞期较长(9 h)以及发酵结束时残总糖过高(18 g/kg)。

与酵母菌最适pH值(4~5)相比, 运动发酵单胞菌232B发酵最适pH(6~7)较高, 容易染菌, 但由于发酵时间较短, 运动单胞菌能竞争性地抑制其它杂菌生长, 再加上液化时大多数杂菌的营养细胞被杀死, 因此不灭菌试验也取得了良好效果。此外, 引起污染的菌大多数为革兰氏阳性的乳酸杆菌(*Lactobacillus*)^[17], 而运动发酵单胞菌为革兰氏阴性菌, 所以还可以通过添加青霉素来防止污染, 进一步降低染菌的几率。总之, 利用该菌进行不灭菌大规模发酵是可行的, 可以大大降低乙醇生产中的能耗和发酵罐耐压设备的投资, 从而显著降低乙醇生产的成本。

运动发酵单胞菌232B的底物利用范围较窄, 加上发酵结束后的残糖多为一些不能被利用的低聚糖, 所以发酵结束后残糖较高。低聚糖中有葡萄糖的存在, 可以通过寻找合适的低聚糖降解酶系, 将原料中的低聚糖充分水解释放葡萄糖以降低残糖, 提高原料的利用率; 也可以通过突变或转基因工程技术拓宽自身底物的利用范围^[18, 19]。运动发酵单胞菌232B耗糖速度很快, 但存在一个较长的延滞期, 会影响整体发酵时间, 可以通过添加生长刺激剂(如生物素等)使菌体迅速积累, 或通过理化因素(如培养条件、培养基组成等)调整菌体的发酵状态, 使菌体尽早进入乙醇发酵状态, 以缩短发酵过程中的延滞期。总之, 运动发酵单胞菌Zy-232B是一株能快速发酵生产乙醇的优良菌株^[6], 降低发酵液的残糖和缩短发酵过程中的延滞期是将来的研究方向。

References

1 Yuan JW (袁敬伟), Li CL (李春玲), Liu H (刘辉). Study on the ethanol fermentation with rice. *Liquor-Making* (酿酒), 2003, **30** (2): 30~31

2 Rogers PL, Lee KJ, Skotnicki ML. Ethanol production by *Zymomonas mobilis*. *Adv Biochem Eng*, 1982, **23**: 37~84

3 Wu TX (吴天祥), Zhang KC (章克昌), Liu CZ (刘春朝). Study on the property of *Canna edulis* Ker & its application in ethanol fermentation. *Liquor-making Sci & Technol* (酿酒科技), 2005, **136** (10): 40~42

4 Tao F, Miao JY, Shi GY, Zhang KC. Ethanol fermentation by an acid-tolerant *Zymomonas mobilis* under non-sterilized condition. *Proc Biochem*, 2005, **40**: 183~187

5 Zhu ZX (朱秀珍), Wang SB (王随保), Tian XW (田希武), Xiao JH (肖俊红), Chen YJ (陈永杰), Wang Y (王毅), Tian WW (田玮玮). Selection of new sweet potato variety Linshu-2 with high starch. *J Shanxi Agric Sci* (山西农业科学), 2007, **35** (5): 21~23

6 Liu Y (刘艳), Zhao H (赵海), Qi TS (戚天胜), Tang QL (唐秋琳), Hang YF (黄宇峰). Fast production of ethanol by *Zymomonas mobilis* (Zy-1). *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2007, **13** (1): 69~72

7 张惟杰. 复合多糖生化研究技术. 上海: 上海科学技术出版社, 1987. 13

8 Wang LS, Ge XY, Zhang WG. Improvement of ethanol yield from raw corn flour by *Rhizopus* sp. *World J Microbiol Biotechnol*, 2007, **23**: 461~465

9 Lawford H, Ruggiero A. Production of fuel alcohol by *Zymomonas mobilis*: Effect of pH on maintenance and growth-associated metabolism. *Biotech Appl Biochem*, 1990, **12**: 206~211

10 Wang FQ, Gao CJ, Yang CY. Optimization of an ethanol production medium in very high gravity fermentation. *Biotechnol Lett*, 2007, **29**: 233~236

11 Othumpangat S, Nagin C, Sidappa CB. Optimization and inactivation of media components in ethanol production using *Zymomonas mobilis* by response surface methodology. *J Biosci & Bioengin*, 1999, **88** (3): 334~338

12 Nellaiah H, Gunasekaran P. Fuel ethanol production from cassava hydrolyzates by *Zymomonas mobilis*. *Indian J Microbiol*, 1992, **32** (4): 435~442

13 Bravo S, Mahn A, Shene C. Effect of feeding strategy on *Zymomonas mobilis* CP4 fed-batch fermentations and mathematical modeling of the system. *Appl Microbiol & Biotechnol*, 2000, **54**: 487~493

14 Liu Z (刘振), Wang JP (王金鹏), Zhang LF (张立峰), Zeng AW (曾爱武), Yuan XG (袁希钢). Production of ethanol by simultaneous saccharification and fermentation from cassava. *Chin J Proc Engin* (过程工程学报), 2005, **5** (3): 353~357

15 Zhu HL (朱浩里), Wang ZY (王泽云), Zhang J (张君), Liu DH (刘德华). Fermentation of ethanol using saccharification solution of early-rice by different microbes. *Liquor-Making* (酿酒), 2003, **30** (1): 17~20

16 Meng QH (孟庆恒), Zheng JH (郑津辉), Zhang JY (张景媛). Effects of starch hydrolyzates in ethanol fermentation by *Zymomonas mobilis*. *J Tianjin normal Univ* (天津师范大学学报), 1997, **17** (3): 45~58

17 Dennis P, Bayrock W, Michael I. Inhibition of yeast by lactic acid bacteria in continuous culture: nutrient depletion and/or acid toxicity. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2004, **31**: 362~368

18 Zhang M, Eddy C, Deanda K. Metabolic engineering of a pentose metabolism pathway in ethanologenic *Zymomonas mobilis*. *Science*, 1995, **267** (5195): 240~243

19 Mohagheghi A, Evans K, Chou YC. Cofermentation of glucose, xylose, and arabinose by genomic DNA—Integrated xylose/arabinose fermenting strain of *Zymomonas mobilis* AX101. *Appl Biochem Biotechnol*, 2002, **98**: 885~898