

磁场流化床反应器大规模糖蜜酒精发酵可行性的研究

王 锋^{1,5}, 吴天祥^{1,2}, 刘巍峰³, 陈海滨⁴, 欧阳藩¹, 刘春朝^{1,5*}

(1. 中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室, 北京 100080; 2. 贵州大学化学工程学院, 贵州 贵阳 550003; 3. 山东大学生命科学学院微生物技术国家重点实验室, 山东 济南 250100; 4. 广西 京龙集团有限责任公司, 广西 柳州 545006; 5. 中国科学院研究生院, 北京 100093)

摘 要: 采用磁性固定化酵母细胞技术, 对大规模磁场流化床反应器糖蜜酒精发酵工艺进行了研究, 并对其经济可行性进行了分析。结果表明, 采用磁场流化床反应器糖蜜酒精发酵工艺, 糖的转化率可达 92 % 以上, 残糖浓度在 1.5 % 以下, 最终乙醇浓度可达 9.5 % (v/v) 以上, 处理能力为 240 L 乙醇/d, 生产能力为 15.2 L 乙醇/m³ 反应器·h。经济评价表明, 磁场流化床反应器糖蜜酒精发酵具有很好的经济效益。

关键词: 酒精发酵; 磁性固定化酵母细胞; 磁场流化床反应器; 糖蜜

中图分类号: TS262.2; TS261.1; TQ920 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2006)06-0032-03

Study on the Feasibility on Large-scale Molasses Ethanol Fermentation by Magnetic-field Fluidized Bed Reactor

WANG Feng^{1,5}, WU Tian-xiang^{1,2}, LIU Wei-feng³ and CHEN Hai-bin⁴ et al.

(1. State Key Lab of Biochemical Engineering, Institute of Process Engineering of CAS, Beijing 100080; 2. Chemical Engineering College of Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550003; 3. State Key Lab of Microbial Technology, School of Life Sciences, Shandong University, Jinan Shandong 250100; 4. Guangxi Jinglong Co.Ltd, Liuzhou, Guangxi 545006; 5. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Large-scale molasses ethanol fermentation by magnetic-field fluidized bed reactor was studied by the use of magnetic immobilized yeast cells technique and its economic feasibility was also analyzed. The results showed that the transform rate of sugar was above 92 % and the concentration of the residual sugar is below 1.5 % with the utilization of such method, and the final ethanol concentration was no less than 9.5 % (v/v) and the disposal capability could reach 240 L ethanol/ per day and its productivity got to 15.2 L ethanol / (m³ reactor · h). Accordingly, It was concluded that such method could produce satisfactory economic benefits.

Key words: ethanol fermentation; magnetic immobilized yeast cells; magnetic-field fluidized bed reactor; molasses

固定化细胞技术, 是指利用物理或化学手段将游离的细胞或酶与固态的不溶性载体相结合, 使其保持活性并可反复使用的一种技术^[1]。利用固定化细胞生产酒精具有速度快、效率高、易控制、污染少等特点, 固定化技术在酒精发酵中得到了广泛的应用。目前, 已经研究的酒精发酵的固定化材料主要包括: PVA 聚乙烯醇^[2-4]、海藻酸钠/钙^[5-9]、聚苯乙烯^[6]、聚乙酸乙烯酯^[10]和天然硅酸盐类^[11]等, 多种材料的配合使用以成为固定化技术的发展趋势之一; 采用的固定化方法有包埋法、吸附法和

共价偶联法; 用于固定化的菌种不仅仅局限于酿酒酵母, 还包括面包酵母^[6]、运动发酵单胞菌^[2]、马克斯克鲁维酵母^[10]等。

要实现固定化细胞发酵酒精的工业化, 关键的问题是解决大规模制备高活性、长寿命的固定化细胞和开发合适的发酵生物反应器。中科院过程所在“七五”国家技术攻关的基础上, 经过不断的试验和完善, 成功进行了磁场流化床反应器大规模糖蜜酒精发酵的中试试验。本文主要探讨了磁场流化床反应器大规模糖蜜酒精发酵

收稿日期: 2006-03-20

作者简介: 王峰 (1979-), 男, 江苏镇江人, 在读博士。

* 通讯作者: 刘春朝。

的工艺和经济上的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

菌种: 酿酒酵母 Y2002-2, 由中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室保藏。

海藻酸钠: 沈阳化学试剂厂。

糖蜜: 广西京龙集团有限责任公司提供。

斜面培养基: 麦芽汁琼脂培养基。

种子培养基 (%, w/w): 总糖 5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.1, 尿素 0.05。

增殖培养基 (%, w/w): 总糖 5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.05, 尿素 0.01。

发酵培养基 (%, w/w): 总糖 10~18, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.05, 尿素 0.01。

1.2 试验方法

1.2.1 磁性固定化酵母颗粒的制备

采用包埋法制备磁性固定化酵母颗粒, 固定化方法见图 1。大规模的制备过程采用自行研制的压力式制粒设备 (见图 2), 磁性固定化酵母的平均粒径为 2.5 mm (见图 3)。

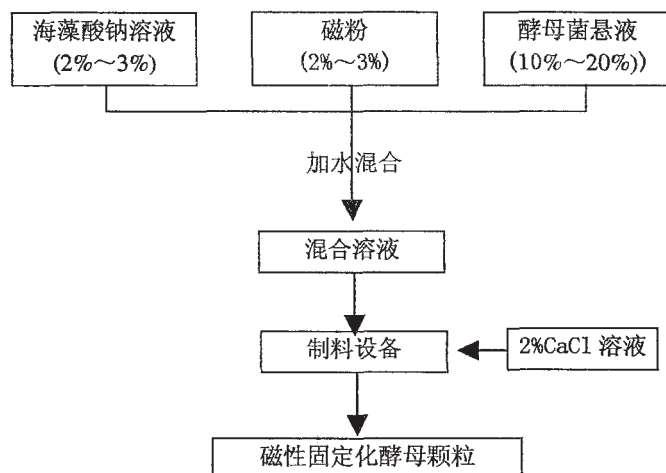


图1 磁性固定化酵母颗粒的制备工艺

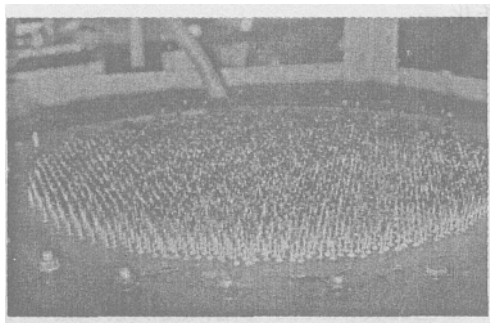


图2 大规模磁性固定化酵母的制粒装置

1.2.2 中试规模连续发酵酒精试验

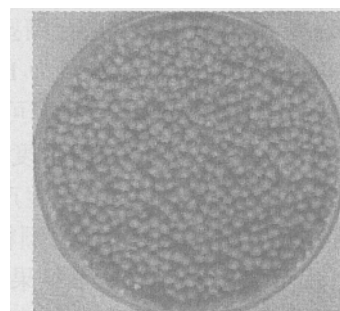
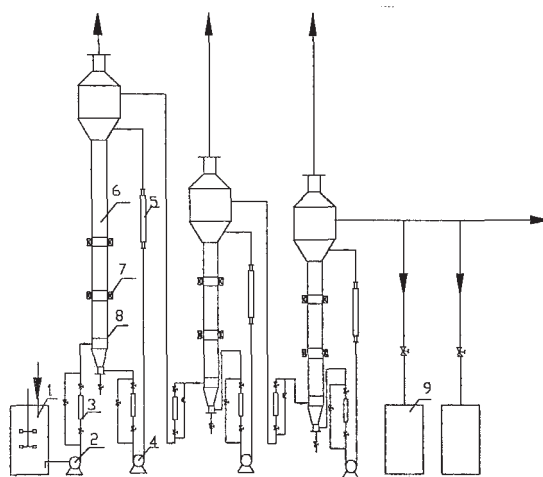


图3 磁性固定化酵母颗粒

试验采用未蒸煮或无灭菌处理的糖蜜为原料, 利用磁性固定化酵母在三级串联磁场流化床反应器发酵生产酒精。中试试验装置流程见图 4。主体流化床反应器为直立圆柱结构, 直径 300 mm, 总有效体积 655 L。各级反应器均用夹套换热器进行外循环冷却换热。



1-拌料罐 2-进料泵 3-液体流量计 4-循环泵 5-夹套换热器 6-三层流化床反应器 7-磁场线圈 8-液体分布板 9-出料罐

图4 磁场流化床反应器中试规模反应流程

1.2.3 分析方法

发酵酒精含量与残总糖的测定参考文献[12]。

2 结果与分析

2.1 中试连续发酵酒精结果

利用固定化酵母发酵生产酒精过程, 由于反应产生的 CO_2 气体在颗粒内部、表面和颗粒间聚集; 若单纯采用外循环流化床, 带有气泡的颗粒将逐渐浮起, 在反应器上端形成一漂浮的颗粒层, 导致反应速率降低, 床层流化不正常。磁场振荡流化床反应器的液相流动呈返混较小的活塞流形式, 颗粒与流体之间的相互作用较强, 故发酵反应产生并附着在颗粒表面的 CO_2 气体较易脱离并迅速排出反应器, 大大降低了发酵反应的传质阻力。经过不断的研究和完善, 磁场振荡发生器部分的工业放大问题已经解决。

中试采用磁场流化床反应器进行糖蜜酒精连续发酵,以含糖 16 %左右的糖蜜进料,流量为 100~110 L/h,连续运转 80 d。结果表明,糖的转化率可达到 92 %以上,残糖浓度在 1.5 %以下,最终乙醇浓度可达到 9.5 % (v/v) 以上,处理能力为 240 L 乙醇 /d,生产能力为 15.2 L 乙醇 /m³ 反应器·h。磁性固定化酵母颗粒磁场流化床反应器连续发酵糖蜜生产酒精的中试结果见图 5。该结果已经完全达到了现有大型糖蜜酒精发酵企业的生产要求,在残糖和糖的转化率等指标上具有明显的优势。

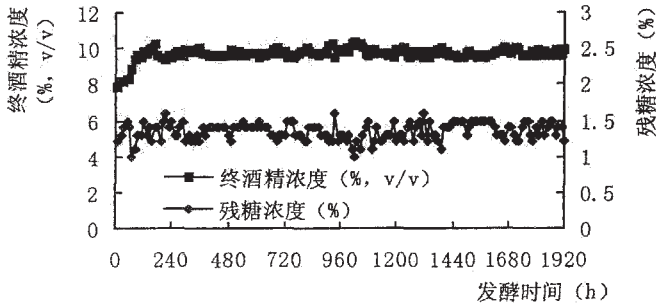


图 5 磁性固定化酵母颗粒磁场流化床反应器连续发酵糖蜜生产酒精的中试结果

2.2 利用磁场流化床反应器进行糖蜜酒精发酵的经济分析

本工艺在糖蜜酒精产区具有较高的工业化推广价值。以广西为例,2005~2006 年榨季广西全区共榨甘蔗 3600 多万吨,产生糖蜜 1000 万吨左右。目前广西 95 % 的糖蜜酒精的市场价格为 4400 元 / 吨,以年产 10 万吨酒精的糖蜜酒精企业为例,采用磁场流化床反应器进行糖蜜酒精发酵可以获得 6700 万元 / 年的经济效益,而且本工艺和设备易于实现连续化、自动化操作。由于本工艺染菌几率较低,其对硫酸的需求较小,因此,糖蜜废水中的硫酸根污染将大幅度降低。表 1 为固定化细胞粒子制备的成本(以生产 100 kg 磁性固定化颗粒为例),表 2 为流化床糖蜜酒精发酵的成本分析(以生产 1 t 95 % 的糖蜜酒精为例)。

表 1 固定化细胞粒子制备的成本

原材料	单价(元/kg)	用量(kg)	成本(元)
海藻酸钠	24	3	72
无水氯化钙	7	2	14
磁粉	2	2	4
总计			90

注:100 kg 磁性固定化颗粒可用于生产 5 t 95 % 的酒精。

综上所述,将磁场流化床反应器糖蜜酒精发酵推广应用于工业生产,在经济上切实可行。

3 讨论

根据中试试验研究发现,磁场流化床反应器新工艺存在着一些工艺设备和放大等方面的技术问题。为保证

表 2 流化床糖蜜酒精发酵的成本分析

项目	单价(元)	1 t 酒精消耗量	成本(元)
糖蜜(t)	800	4	3200
硫酸(kg)	0.58	9.2	5.34
尿素(kg)	1.73	1.42	2.46
磷酸氢二钠(kg)	1.7	0.71	1.21
硫酸镁(kg)	0.85	2.84	2.41
固定化细胞(kg)	0.9	20	18
生产成本			500
总成本			3730

注:罐度为 85Bx 的糖蜜按 800 元 / t 的价格计算;生产成本包括制粒及酒精的生产成本。

中试连续稳定运转,进行了反复的条件实验,解决了工程及工艺问题,现将主要问题讨论如下。

3.1 制粒工艺与工程放大问题

大规模的制备磁性固定化酵母颗粒,其活性及颗粒球形度的好坏直接影响到流化床的流化质量和发酵活性。为了避免这一问题的发生,中试特制了一台搅拌式混合罐,并通过调节合适的制粒压力、喷口速度和进入固化液的高度等,使制备粒子的速度快,且粒子的球形度较好。

3.2 管道系统

磁性固定化细胞粒子与底物糖蜜表观比重相差不大,以防粒子漂浮严重造成操作困难,本设备设计了振荡磁场发生设备,磁场方向可进行规律性切换。通过中试考察表明,以上设计是合理可行的。

3.3 CO₂ 的排除

酒精发酵过程中 CO₂ 的排除是非常重要的。对本装置而言,只要循环口低于气液分离面,保持一定的液封,以保证床层流动良好,则反应器连续运转平稳,CO₂ 排放无阻碍。

3.4 杂菌的防治

控制杂菌污染也是该工艺技术成败的关键之一。实验前期,为防止杂菌污染,开车前整个设备管道用蒸汽灭菌,以后在连续进料的底物中添加少量硫酸调节 pH,保证了中试的顺利进行。

3.5 活化

中试试验结果表明,固定化酵母粒子要进行周期性的清洗、活化,活化用增殖培养基同前,葡萄糖或糖蜜均可作为增殖用碳源。

通过对磁场流化床反应器糖蜜酒精发酵的中试工艺及其经济可行性的研究,结果表明,采用磁场流化床反应器生产糖蜜酒精工业化放大的条件已经成熟;在经济上,本工艺比传统的固定化糖蜜酒精发酵具有更高的经济效益。

(下转第 38 页)

酸酯 C-O。

在二维相关红外谱图中, 如果一个一维光谱中的重叠峰中的各个子峰与其他峰的相关性不同, 它们在二维谱中将变得可以区分, 因此二维相关光谱可以大大提高红外光谱的分辨率。如在图 3 的 A 图上, 1184 cm^{-1} 和 1292 cm^{-1} 处自动峰不出现在一维谱图上, 这是由于各个官能团对热的敏感性不同而造成的。

3 结论

采用宏观红外光谱三级鉴定对金士力酱香型酒进行鉴定, 一维红外光谱展现了白酒宏观指纹特征; 二阶导数谱进一步提高了—维谱图的分辨率; 二维相关红外谱图通过特征的自动峰和交叉峰直接展示白酒的指纹特征, 同时又揭示白酒中官能团之间的变化顺序。

参考文献:

- [1] 孙素琴, 周群, 梁曦云, 杨显荣. 七种花旗参茶包的 FTIR 光谱无损鉴别[J]. 光谱学与光谱分析, 2002, 22(4): 600-602.

- [2] 吴谨光, 近代傅里叶变换红外光谱技术和应用[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1994.
- [3] SADTLER. Standard Infrared Grating spectra, 16802K, 21282K, 20263K [M]. 1980.
- [4] I. Noda, Two-dimensional infrared spectroscopy[J]. J. Amer. Chem. Soc., 1989, 111(21): 8116.
- [5] Noda I. Generalized two-dimensional correlation method applicable to infrared, Raman, and other types of spectroscopy[J]. Appl. Spectrosc., 1993, 47(9): A1329- A1336
- [6] Marcott C., Dowrey A. E., Noda I. Dynamic 2-dimensional IR Spectroscopy[J]. Anal. Chem., 1994, 66(21): A1065- A1075.
- [7] P.Wu, H.W. Siesler. Two-dimensional correlation analysis of ariable-temperature Fourier-transform mid- and near-infrared spectra of polyamide 11[J]. Journal of molecular structure, 2000(521) : 37.
- [8] I. Noda, Appl[J]. Spectrosc. 1990(44) : 550.
- [9] 华瑞, 孙素琴, 周群. 运用二维相关红外光谱分析技术研究卢丁的热微扰过程[J]. 分析化学, 2003, (5): 541- 547.

(上接第 34 页)

参考文献:

- [1] 孙清, 代廷广, 王君玲. 固定化细胞技术在能源与环境工程上的应用[J]. 农村能源, 2002, (2): 22- 23.
- [2] M. Rebroš, M. Rosenberg, R. Stloukal, L. Kristofikova. High efficiency ethanol fermentation by entrapment of Zymomonas mobilis into LentiKats(R) [J]. Letters in Applied Microbiology, 2005, 41 (5): 412- 416.
- [3] 陈学鹏. 固定化酵母在(糖蜜)酒精连续发酵生产中的应用[J]. 酿酒科技, 2001, (2): 43- 44.
- [4] 梁金钟, 王建华, 刘复军, 等. PVA 幅膜载体固定化酵母糖蜜酒精连续发酵研究[J]. 工业微生物, 1993, (23): 19- 24.
- [5] G. Najafpour, H. Younesi, K. S. K. Ismail. Ethanol fermentation in an immobilized cell reactor using Saccharomyces cerevisiae [J]. Bioresource Technology, 2004, 92 (3): 251- 260.
- [6] M. Yoshida, E. Mardiyati, D. Tenokuchi, Y. Uemura, Y. Kawano, A. Hatate. Structural control of core/shell polystyrene microcapsule-immobilized microbial cells and their application to polymeric microbioreactors[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2003, 89 (7): 1966- 1975.
- [7] L. Jamai, K. Sendide, K. Ettayebi, F. Errachidi, O. Hamdouni-

- Alami, M. A. Tahri-Jouti, T. McDermott, M. Ettayebi. Physiological difference during ethanol fermentation between calcium alginate-immobilized Candida tropicalis and Saccharomyces cerevisiae[J]. Fems Microbiology Letters, 2001, 204 (2): 375- 379.
- [8] 翁庆北, 纪黔生, 赵维娜. 固定化酵母发酵废糖蜜生产酒精[J]. 贵州师范大学学报, 2000, 18(3): 49- 51.
- [9] 施庆珊, 冯杰雄, 岑英华, 简浩然. 固定化酵母细胞工业性生产糖蜜酒精的研究[J]. 工业微生物, 1995, (25): 20- 24.
- [10] S. Gough, N. Barron, A. L. Zubov, V. I. Lozinsky, A. P. Mchale. Production of ethanol from molasses at 45 degrees C using Kluyveromyces marxianus IMB3 immobilized in calcium alginate gels and poly(vinyl alcohol) cryogel[J]. Bioprocess Engineering, 1998, 19 (2): 87- 90.
- [11] S. Shindo, S. Takata, H. Taguchi, and N. Yoshimura. Development of novel carrier using natural zeolite and continuous ethanol fermentation with immobilized Saccharomyces cerevisiae in a bioreactor[J]. Biotechnology Letters, 2001, 23 (24): 2001- 2004.
- [12] 蔡定域. 酿酒工业分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1988.

贵州茅台股改方案获高票通过

本刊讯: 贵州茅台酒股份有限公司(600519)股改方案以 99.7% 的赞成率通过。据贵州茅台 5 月 15 日公告称, 该公司 2006 年第二次临时股东大会暨相关股东会议于 2006 年 5 月 12 日在贵州省仁怀市茅台镇召开。经股东会议审议并采用现场投票、委托董事会投票和网络投票相结合的方式, 审议通过了贵州茅台的股改方案, 赞成比例为 99.7%, 其中非流通股和流通股股东的赞成率分别为 100% 和 98.71%。前十大流通股股东全部投了赞成票。

贵州茅台的 2005 年度现金红利派发于 5 月 23 日进行, 以 2005 年末公司总股本 4.719 亿股为基数, 向全体股东每 10 股派发现金红利 3 元(税前)。(小砂)