

酒精发酵技术的进展

刘 振,曾爱武,袁希钢

(化工联合国家重点实验室,天津大学化工学院,天津 300072)

摘要: 介绍了对酒精发酵技术传统工艺的各个方面改进,系统阐述了真空发酵、固定化、萃取发酵、气提发酵、膜分离等发酵新技术的原理及其发展状况,并对以后的研究提出了方向。

关键词: 酒精; 发酵工艺; 传统工艺改进; 新技术

中图分类号: TS262.2; TS261.4; TQ920.6

文献标识码: D

文章编号: 1001-9286(2004)06-0065-03

Evolution of Ethanol Fermentation Techniques

LIU Zhen, ZENG Ai-wu and YUAN Xi-gang

(Chemical Engineering Union National Key Lab, Chemical Engineering College of Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: The innovation and improvement of traditional ethanol fermentation techniques were introduced. Besides, the principles and the development of new fermentation techniques including vacuum fermentation, immobilization, extract fermentation, stripping fermentation and membrane separation were illustrated. Finally, the research objectives in the future were also put forward in this paper. (Tran. by YUE Yang)

Key word: ethanol; fermentation techniques; innovation and improvement of traditional techniques; new techniques

在科技发展、社会进步、人类生活丰富方便的同时,能源短缺、环境恶化越来越威胁人类的生存。寻找清洁可再生的能源,成为各国科技工作者面临的重大课题。发酵法生产乙醇再次引起大家的注意。

发酵法制乙醇有悠久的历史,但传统工艺生产效率低,能耗高造成成本过高。为了降低发酵法生产乙醇的成本,各国学者进行了大量的研究,提出了许多新的方法和工艺。

1 传统工艺的改进

传统的发酵工艺包括原料预处理、高温蒸煮、糖化、发酵、蒸馏等工序。最初原料不经粉碎直接蒸煮,能耗很高,现在基本被先粉碎后蒸煮工艺所取代。有人提出了膨化发酵技术,即采用加热挤压技术使玉米瞬间膨化,这样不仅改变了玉米的外形,也改变了它们的淀粉和蛋白质的微观结构,为淀粉酶系统的作用创造了条件。美国已将此技术用于纤维素制酒精的预处理上。孙福来等^[1]对此进行了研究,得出了最佳的工艺条件,结果表明,比低温蒸煮工艺提高出酒率5%左右。

为了降低高温蒸煮的能耗,研究者提出了低温蒸煮和生料发酵工艺。比较成熟的有德国和美国合作开发的90~95℃液化(LBW)工艺和无锡轻工大开发的80~85℃糊化工艺^[2]。池振明^[3]设计了一种在80℃下液化30min,在55℃下糖化30min,发酵70h的低温蒸煮工艺,也取得了不错的效果。

普通的酒精发酵过程是先糖化后发酵,近来同时糖化发酵(SSF)过程也受到人们的重视。它使糖化和发酵在同一个反应器中进行,减少了总的反应器的体积;另外降低了高浓度的葡萄糖对于酶水解和酒精发酵的抑制,加快了过程的速度^[4]。Montesinos^[5]以先经95℃液化后的小麦面粉为原料,比较了先糖化6h再进行SSF,先糖化后发酵及直接SSF3种过程,发现直接SSF过程发酵周期最短,而先糖化6h再SSF的发酵过程周期却延长很多。L.

Peeva^[4]用已有的模型对SSF过程进行了模拟,计算结果与实验很吻合。

随着生料糖化酶的出现,集液化、糖化、发酵于一体的生料发酵工艺也受到广泛的重视。Ueda^[5]从A.awamori和A.niger中得到糖化酶可以糖化生淀粉,成功地实现了生料发酵。Mikuni^[7]也从Chalara paradoxa中发现了新的生淀粉糖化酶,并确定了最佳的生料发酵条件,但发酵时间需要5d。除了利用生淀粉糖化酶外,还有人利用嗜热厌氧细菌进行生料发酵^[8]。池振明^[9]使用了商品化的糖化酶和构建的二倍体的酵母进行了生料高浓度发酵,96h可以产18%(v/v)的乙醇。薛正莲^[10]用复合酶来增强生淀粉的糖化效果,并确定各种酶的配比。Mural^[11]利用基因的手段把米根霉中糖化酶的基因导入酵母中,利用这样构建的酵母直接进行生料发酵。Mural指出用这样的酵母具有防止染菌的优点,因为释放在酵母表面葡萄糖会方便快速被酵母利用。但用此酵母发酵速度很慢,最终酒精的浓度也较低。G.Verma^[12]利用糖化酵母和啤酒酵母混合培养进行生料发酵,但效率还是低于传统发酵。由于生料发酵能耗低,工艺简单,设备投资省等优点,具有良好的应用前景,如何提高生产效率是研究的重点。

为了提高发酵能力,广大的微生物工作者对于菌种进行了改良。由于目前常用的酵母,适宜的发醇温度是30℃左右,发酵过程中产生大量的热,需要通入大量的冷却水保持其活性,另外酵母耐酒精能力低,限制了最终醪液中的酒精浓度,导致蒸馏过程需要消耗大量的能量。因而,选育耐高温耐酒精的酵母及其应用会极大地降低生产的成本。文铁桥^[13]利用原生质体融合构建了在45℃下发醇产酒精体积分数为7.4%的酵母菌株。J.R.Ernandes^[14]从自然界分离出了耐受酒精浓度超过20%(v/v)的酵母。但温度越高,酵母对酒精越敏感,这与酵母细胞的结构有关。与此同时,人们把目光也转向其他的菌种,由于细菌容易进行遗传工程的处理,细菌发酵

收稿日期:2004-05-27

作者简介:刘振(1977-),男,河南洛阳人,博士。

的研究也活跃起来。细菌资源丰富,嗜热乙醇发酵菌株不断被发现^[15],另外,细菌可利用的底物广泛,有望实现纤维素生产酒精。但细菌发酵代谢副产物多,酒精产率低,目前还难以与酵母竞争。

2 新的发酵技术

造成传统工艺发酵效率低的原因,一方面是产物乙醇对于酵母发酵的抑制;另外,连续发酵稀释率的影响,无法保持高的细胞浓度。为此,出现了真空发酵、萃取发酵、固定化、气提发酵、膜分离等新技术。

2.1 真空发酵

早在1948年就有人提出通过抽真空使发酵产生的酒精不断的逸出,从而消除对酵母的抑制。Cysewski^[16]实现了在真空发酵下生产酒精 $82\text{ g/h}\cdot\text{L}$,但需不断移出 CO_2 保持低压,并通入 O_2 保持酵母的活性,维持此系统很困难,能耗很高。人们对此进行了改进,将发酵罐和闪蒸罐串连。常压发酵的醪液进入闪蒸罐,除去酒精,糖液再回发酵罐继续发酵。K. Ishida等^[17]对于闪蒸发酵系统提出新的间歇操作方式,酒精的生产率为 $12\text{ g/h}\cdot\text{L}$ 。Francisco Maugeri等^[18,19]设计了由发酵罐、闪蒸罐、离心机、处理罐4个部分组成的系统,进行连续发酵,并用数学方法模拟优化了该过程,酒精的生产率可达 $23\text{ g/h}\cdot\text{L}$ 。

2.2 固定化发酵

发酵罐中酵母的数量直接影响发酵速度。在游离发酵过程中,酵母随着醪液流出,造成酵母细胞迅速降低,发酵速度变慢。因而出现了细胞循环发酵技术,Cysewski^[16]用细胞循环法得到了相当于连续发酵3倍的细胞浓度和4倍的产物产率,但细胞循环增加了设备的负担。人们从固定化酶技术得到启发,使酵母一直停留在发酵罐中,保持高的反应速度。常用的方法有吸附、包埋、交联等,可用的固定载体多种多样,如海藻酸钠^[20,21]、琼脂、果胶^[22]、PVA^[23]、活性炭、纤维素等。还有人利用中空纤维膜、陶瓷膜反应器^[24]进行固定化发酵。但这些方法,使用了载体材料,增加了附加成本;载体固定化细胞的传递性能差,整体的活性较低,还存在细胞退化的问题;大规模的制备过程容易出现染菌现象。近些年来,利用某些酵母的自身的絮凝能力^[25],形成颗粒无载体固定的方法,以其方法简单、不增加成本、生物活性高等优点受到重视和得到应用^[26-29]。

2.3 萃取发酵

为了原位解除产物酒精的抑制,人们又提出了萃取发酵,最初的形式就是将萃取剂直接加入发酵系统中。M.Minier^[30]研究指出醇类的碳链为2~12之内时会抑制细胞的生长,大于此范围,对于细胞无害。并成功利用十二醇作为萃取剂进行萃取发酵。但乙醇在十二醇与水之间的分配系数不高,发酵需要消耗大量的十二醇。Masatoshi^[31]测试了几种萃取剂对于酒精的分配系数和对细胞的毒性,发现高的酒精萃取能力的溶剂都对细胞生长有抑制。为了减轻溶剂对于细胞的毒性,Masatoshi利用中空纤维膜把溶剂与发酵液隔开,通过膜的渗透进行萃取,酒精的生产能力达到 $48\text{ g/h}\cdot\text{L}$,但依然需要不断地消耗萃取剂。P.Chnsten^[32]设计了新的渗透装置,中间用萃取剂作为液膜隔开,一面通入发酵液进行萃取,另一面通入气体(或水溶液)进行反萃取,大大降低萃取剂的用量。

2.4 气提发酵

利用气提的方法,解除产物对于细胞的抑制,已应用于发酵生产,比如丙醇、丁醇^[33]等。Walsh^[34]利用 CO_2 对发酵液进行气提,使发酵产生的乙醇被 CO_2 带走,减少甚至消除了乙醇对于酵母的抑制,使细胞活性增强,提高了乙醇发酵产率,另外细胞活性增强又促进细胞密度增加,提高了乙醇体积产率,促进底物的充分利用。Hwai-Shen Liu^[35]首先从理论上对乙醇气提过程进行了较为详细

的研究。沈文豪^[36,37]对气提发酵系统的多重定态现象进行了探讨。对于酒精的回收,岑沛霖等^[38,39]用活性炭进行吸附,秦庆军^[40]利用了载气蒸馏。Dominguez^[41]设计了带侧臂的气升循环式发酵罐,提高了气提发酵的效率。Taylor^[42,43]为了避免气提发酵过程中,气体压缩机高能量的消耗,提出循环发酵醪通过气提塔,进行了中试实验,并对其动力学进行了研究。高温发酵无疑对气提发酵有利,一方面升高温度使易挥发组分(乙醇)的蒸汽压提高,利于其移出回收,另外升温会改变发酵液的物理性质,促进底物在发酵液的溶解。寻找耐高温发酵菌株是实现气提发酵良好操作的关键。

2.5 膜分离

膜在酒精发酵中的应用很多,比如前文提到的中空纤维膜固定化、膜萃取等。作为分离手段,由于具有常温操作、能耗低的优点,有望代替传统的蒸馏分离。在酒精发酵中,利用膜分离的方式有两种,一是利用渗透汽化,另外一个膜蒸馏。

渗透汽化应用很多,它利用聚四氟乙烯(PTFE)、聚丙烯(PP)等微孔疏水膜,上游一侧为发酵液,下游维持很低的蒸汽压,使酒精以蒸汽移出。最初的效率不高,之后人们对膜进行了修饰,如Mori^[8]在PTFE膜孔填充硅橡胶来提高对酒精的选择性,Ikegame^[44]利用涂有硅橡胶硅质岩膜,回收的酒精浓度达70%(w/w)。Nomura^[45]报道的硅质岩沸石膜对酒精的分离因子超过218。

膜蒸馏(MD)是利用疏水性多孔膜两侧温度的不同而产生的蒸汽压差作为驱动力,使蒸汽通过多孔膜来实现溶液的分离。Gryta^[46]的实验表明,膜蒸馏乙醇的生产速率可达 $2.5\sim 4\text{ g/dm}^3\cdot\text{h}$ 。但长期操作出现渗透通量下降的现象。MD操作20h后效率从95%降到50%以下^[47]。

膜污染是影响工业广泛应用的原因,另外高性能膜的成本也偏高。

3 结束语

引入新的技术,改变当前高耗、低效的生产方式是酒精工艺发展的趋势。对于淀粉质原料,无蒸煮、高细胞浓度、乙醇原位不断移出、膜分离等技术,都可以起到降低能耗,提高生产效率的作用。但目前制约、限制的因素很多,短期还难以实现工业化。另外新技术配合使用的研究还较少,比如固定化与同时发酵分离技术的配合等,这些都值得各国研究者继续研究。

参考文献:

- [1] 孙福来,杨文,朱琴,等.玉米挤压膨化酒精发酵的研究[J].江苏农学院学报,1997,18(3):68-72.
- [2] 章可昌.酒精与蒸馏酒工艺学[M].北京:中国轻工业出版社,1995.
- [3] 池振明,刘自熔.利用低温蒸煮工艺进行高浓度酒精发酵[J].食品与发酵工业,1993,(4):29-32.
- [4] L.Peeva and D.Vankov,Modelling of simultaneous hydrolysis and fermentation of maltodextrines to ethanol[J].Bioprocess Engineering,2000,22:397-401.
- [5] T.Montesinos and J.Navarro,Production of alcohol from raw wheat flour by Amyloglucosidase and Saccharomyces cerevisiae[J].Enzyme and Microbial Technology,2000,27:362-370.
- [6] Seinosuke Ueda, Cellia T. Zenin, Domingos A.Monteiro et al,Production of Ethanol from Raw Cassava Starch by a Nonconventional Fermentation Method[J].Biotechnology and Bioengineering,1981,23:291-299.
- [7] Katsuhiko Mikuni, Mitsuru Monma and Keiji Kainumal,Alcohol Fermentation of Corn Starch Digested by Chalarax paradoxa Amylase Without Cooking[J].Biotechnology and Bioengineering,1987,29:729-732.

- [8] Yutaka Mori and Toshiharu Inaba, Ethanol Production from Starch in a Pervaporation Membrane Bioreactor Using *Clostridium thermo-hydrosulfuricum* [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1990, 36, 849-853.
- [9] 池振明, 刘自熔. 生淀粉高浓度酒精发酵的研究[J]. *生物工程学报*, 1994, 10(2): 130-134.
- [10] 薛正莲. 玉米原料无蒸煮酒精发酵工艺的研究[J]. *工业微生物*, 1999, 29(4): 31-36.
- [11] Toshiyuke Mural, Tomoko Yoshino, Mitsuyoshi Ueda et al. Evaluation of the Function Arming Yeast Displaying Glucoamylase on Its Cell Surface by Direct Fermentation of Corn to Ethanol [J]. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1998, 86(6): 569-572.
- [12] G..Verma, Poonam Nigam, Dalel Singh et al. Biocconversion of starch to ethanol in a single-step process by coculture of amylolytic yeasts and *Saccharomyces cerevisiae* 21 [J]. *Bioresource Technology*, 2000, 72: 261-266.
- [13] 文铁桥, 赵学慧. 酵母菌属间原生质体融合构建高温酵母菌株[J]. *微生物学报*, 1999, 39, 141-147.
- [14] J.R.Ernandes, M.Matulionis, S.H.Cruz et al. Isolation of new ethanol-tolerant yeasts for fuel ethanol production from sucrose [J]. *Biotechnology Letters*, 1990, 12(6): 463-468.
- [15] 吕福英, 闵航, 陈美慈. 嗜热性乙醇发酵的研究进展[J]. *工业微生物*, 1997, 27(4): 37-43.
- [16] Cysewski, G. R., and Wilke, C. R. Ethanol Fermentation Using Vacuum and Cell Recycle [J]. *Biotech. Bioeng.*, 1977, 19: 1125-1143.
- [17] K.Ishida and K.Shimizu. Novel repeated batch operation for Flash fermentation system: experimental data and mathematical modeling [J]. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 1996, 66: 340-346.
- [18] Aline C. Costa, Daniel I.P. Atala, Francisco Maugeri et al. Factorial design and simulation for the optimization and determination of control structures for an extractive alcoholic fermentation [J]. *Process Biochemistry*, 2001, 37: 125-137.
- [19] Flavio L Honorato da Silva, Maria I Rodrigues and Francisco Maugeri. Dynamic modeling simulation and optimization of an extractive continuous alcoholic fermentation process [J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 1999, 74: 176-182.
- [20] Gulnur Birol, Pemra Doruker, Betul Kirdar et al. Mathematical description of ethanol fermentation by immobilised *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Process Biochemistry*, 1998, 33(7): 763-771.
- [21] 钟光祥, 李祥麟. 固定化酵母糖化醪生产酒精及其动力学研究[J]. *微生物学通报*, 1994, 21(1): 19-22.
- [22] Antonio R. Navarro, Maria C. Rubio and Danley A.S. Callieri. Production of ethanol by yeasts immobilized in pectin [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1983, 17: 148-151.
- [23] 杨萍, 董家灿, 刘士清. 酵母细胞固定化新方法——PVA包埋-吸附[J]. *工业微生物*, 1992, 22(6): 12-19.
- [24] Ryo Ohashi, Yuya Kamoshita, Michimasa Kishimoto et al. Continuous production and separation of ethanol without effluent wastewater using a distiller integrated SCM-reactor system [J]. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1998, 86(2): 220-225.
- [25] Iraj Nahvi Giti Emtiazi and Lila Alkabi. Isolation of a flocculating *Saccharomyces cerevisiae* and investigation of its performance in the fermentation of beet molasses to ethanol [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2002, 23: 481-486.
- [26] S.C.Oliveira. Continuous ethanol fermentation in a tower reactor with flocculating yeast recycle: scale-up effects on process performance, kinetic parameters and model predictions [J]. *Bioprocess Engineering*, 1999, 20: 525-530.
- [27] 秦金来, 白凤武, 谢健, 等. 絮凝颗粒酵母均匀悬浮体系生长动力学的研究 [J]. *生物工程学报*, 1995, 11(2): 139-144.
- [28] 李东侠, 白凤武, 宋琪, 等. 自絮凝颗粒酵母酒精连续发酵过程精馏废液循环回用工艺的研究 [J]. *应用与环境微生物学报*, 1999, 5(5): 533-536.
- [29] 刘传斌, 白凤武, 邵梅, 等. 自絮凝颗粒酵母酒精高浓度连续发酵的研究 [J]. *微生物学报*, 2001, 41(3): 367-371.
- [30] M.Miner and G.Goma. Ethanol production by extractive fermentation [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1982, 24, 1565-1579.
- [31] Masatoshi Matsumura and Herbert Markl. Elimination of ethanol inhibition by perstraction [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1986, 28, 534-541.
- [32] P.Chnsten, M.Minier and H.Renon. Ethanol extraction by supported liquid membrane during fermentation [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1990, 36: 116-123.
- [33] N.Qureshi and H.P.Blaschek. Recovery of butanol from fermentation broth by gas stripping [J]. *Renewable Energy*, 2001, 22: 557-564.
- [34] P. K. Walsh, Liu C P, Findley M E et al. Ethanol separation from water in a two-stage adsorption process [J]. *Biotech. Bioeng. Symp*, 1983, 13: 629-647.
- [35] Hwai-shen Liu and Hsien-wen Hsu. Analysis of gas stripping during ethanol fermentation, in a continuous stirred tank reactor [J]. *Chemical Engineering Science*, 1990, 45(5): 1289-1299.
- [36] Shen Wenhao, Vincent Van Bruut and Xu Xianwen. Dynamic analysis of gas stripping during ethanol fermentation in CSTR [J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 1996, 4(3): 236-245.
- [37] 沈文豪, 肖希和, 杭建忠, 等. 发酵过程中气提的动力学行为探讨 [J]. *高校化学工程学报*, 2003, 17(2): 166-172.
- [38] 岑沛霖, 顾兵, 王衍平, 等. CO₂循环、活性炭吸附酒精发酵的研究 [J]. *化学反应工程与工艺*, 1988, 4(1): 30-35.
- [39] 张民权, 赵学法, 慎学峰, 等. 同时进行发酵分离的CO₂气提、活性炭吸附乙醇发酵动力学研究(二)、(三) [J]. *化学反应工程与工艺*, 1990, 6(1): 34-41.
- [40] 秦庆军, 贾鸿飞, 王宇新. 乙醇气提发酵与载气蒸馏耦合过程的实验 [J]. *过程工程学报*, 2002, 2(1): 58-61.
- [41] Jose M. Dominguez, Ningjun Cao, Cheng S. Gong et al. Ethanol production from Xylose with the Yeast *Pichia stipitis* and Simultaneous Product Recovery by Gas Stripping Using a Gas-Lift Loop Fermentor with Attached Side-Arm (GLSA) [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2000, 67(3): 336-343.
- [42] Frank Taylor, Michael J. Kurantz, Neil Goldberg et al. Dry-Grind Process for Fuel Ethanol by Continuous Fermentation and Stripping [J]. *Biotechnology Progress*, 2000, 16: 541-547.
- [43] Frank Taylor, Michael J. Kurantz, Neil Goldberg et al. Kinetics of continuous fermentation and stripping of ethanol [J]. *Biotechnology Letters*, 1998, 20(1): 67-72.
- [44] Toru Ikegami, Hiroshi Yanagishita, Dai Kitamoto et al. Concentration of fermented ethanol by pervaporation using silicalite membranes coated with silicone rubber [J]. *Desalination*, 2002, 149: 49-54.
- [45] Mikihiro Nomura, Tang Bin and Sin-ichi Nakao. Selective ethanol extraction from fermentation broth using a silicalite membrane [J]. *Separation and Purification Technology*, 2002, 27: 59-66.
- [46] Marek Gryta, Antoni Waldemar Morawski and Maria Tomaszewske. Ethanol production in membrane distillation bioreactor [J]. *Catalysis Today*, 2000, 56: 159-165.
- [47] Marek Gryta. The fermentation process integrated with membrane distillation [J]. *Separation and Purification Technology*, 2001, 24: 283-296.