

发酵增强剂在酒精生产中的应用*

张强¹, 陆军¹, 侯霖¹, 金花¹, 朴敬慧¹, 凌丰², 李洪来², 于秀荣²

(1. 吉林省轻工业设计研究院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林省天合酒精厂, 吉林 吉林 132101)

摘要: 在酒精生产中添加果胶酶等5种发酵增强剂, 可显著提高原料出酒率, 发酵时间缩短5 h, 降低生产成本约3.2%。试验表明, 5种发酵增强剂的最佳添加量分别为: (1) 果胶酶12 u/g, 在原料预处理时添加, 作用时间1 h, 能降醪液粘度。(2) 纤维素酶50 u/g, 加入到液化罐中, 可大大降低液化时间。(3) 植酸酶8 u/g, 在发酵中加入。(4) 酸性蛋白酶15 u/g, 在发酵开始时加入。(5) 克菌灵6 mg/g, 在发酵前期添加。(丹妮)

关键词: 酒精生产; 燃料酒精; 出酒率; 发酵增强剂; 酶制剂

中图分类号: TS262.2; Q55 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-9286(2004)02-0054-04

Application of Fermentation Intensifier in the Production of Alcohol

ZHANG Qiang¹, LU Jun¹ and HOU Lin¹ et al.

(1. Jilin Provincial Light Industry Design & Research Institute, Changchun, Jilin 130021; 2. Tianhe Alcohol Distillery, Jilin, Jilin 132101, China)

Abstract: The addition of five kinds of fermentation intensifier including pectase etc. in the production of alcohol could remarkably increase the output of raw materials, shorten 5 h fermentation time, and reduce about 3.2% production costs. The experiments indicated that the optimal addition quantities of the five kinds of fermentation intensifier were as follows: 1. pectase 12 u/g, added in pretreatment of raw materials and the action time was 1 h. Its addition could reduce the viscosity of mash liquid; 2. cellulase 50 u/g, added in liquefied pot, which could reduce liquefaction time greatly; 3. phytase 8 u/g, added during fermentation; 4. acid protease 15 u/g, added at the beginning of fermentation; 5. Kejunling 6 mg/g, added in the early period of fermentation. (Tran. by YUE Yang)

Key words: alcohol production; fuel alcohol; liquor yield; fermentation intensifier; zymmin

发展燃料酒精不但可以促进农业种植业的持续发展, 并且可以作为清洁燃料替代汽油或作为汽油添加剂减轻汽车尾气的污染, 保护环境。同时也可缓解战备物资原油进口的压力。目前我国还没有规模化将酒精用作汽车燃料, 主要原因是价格问题, 降低酒精生产成本已成为当务之急。

我们分别在原料处理、液化、发酵等过程加入酸性蛋白酶、果胶酶、纤维素酶、植酸酶、克菌灵作为发酵增强剂, 可将原料中的纤维素、半纤维素等成分降解为可发酵性糖, 释放部分包夹的淀粉蛋白质等大分子物质。同时为发酵微生物提供营养物质氨基酸。另外可将原料中的果胶质分解成果胶酸和甲醇, 降低醪液粘度。还可对酒精发酵过程中存在的有害细菌诸如乳酸菌、醋酸菌、丁酸菌起到抑制作用。国内只有单一酶应用在酒精生产中, 没有多种酶共同使用的报道。使用这5种发酵增强剂增加了发酵强度, 提高原料利用率3.6%, 缩短发酵时间5 h, 降低酒精生产成本约3.2%。

1 材料与方

1.1 原料

玉米面: 淀粉含量69.5%, 吉林天合酒精厂生产。

1.2 菌种

安琪耐高温酒用酵母: 湖北安琪酵母股份有限公司生产。

1.3 酶制剂

糖化酶: 江苏宏达酶制剂厂生产, 酶活力100000 u/ml。

液化酶: NOVO公司生产, 酶活力35000 u/ml。

酸性蛋白酶: 酶活力30000 u/g, 由天津诺沃公司提供, 经我所预处理。

植酸酶: 酶活力500 u/g, 由天津诺沃公司提供, 经我所预处理。

果胶酶: 酶活力30000 u/g, 由天津诺沃公司提供, 经我所预处理。

纤维素酶: 酶活力8000 u/g, 由天津诺沃公司提供, 经我所预处理。

克菌灵: 由广西轻工业研究所提供。

1.4 仪器

NDJ-79型粘度计。

1.5 分析方法

1.5.1 粘度测定: 250 g玉米面加入500 g水并加入果胶酶, 45℃保温1 h, 然后液化, 糖化, 将醪液冷却到20℃, 用粘度计测其粘度。

1.5.2 酒精浓度测定: 取100 ml成熟发酵液于蒸馏瓶中加入100 ml蒸馏水, 然后蒸馏出100 ml溶液, 利用酒精比重计(标温20℃)测定此溶液中的酒精浓度。

1.5.3 残还原糖和残总糖测定: 利用费林试剂滴定法。

1.5.4 原料出酒率及淀粉出酒率:

原料出酒率 = 酒精产量 / 原料重量 × 100%

淀粉出酒率 = 原料出酒率 / 淀粉含量 × 100%

2 结果与讨论

* 本课题为国家“十五”攻关重大课题——玉米变性淀粉与酒精深加工技术与开发, 课题编号: 2001BA501A01。

收稿日期: 2003-12-09; 修回日期: 2004-01-14

作者简介: 张强(1969-), 男, 硕士, 工程师。

2.1 果胶酶的添加试验

玉米原料中含有一定量的果胶质和少量β-葡萄糖粘性物质,它们以大量不稳定的果胶状态存在醪液中,使粘度增大,它们也粘附在有效物质外表,而阻碍了其他酶类与有效物质的接触,使得糖化发酵过程速度减缓,不利于原料出酒率的提高^[1-3]。我们所用果胶酶最适温度为45℃,在最适温度下,果胶酶添加量和作用时间是主要影响因素。

果胶酶作用时间对粘度的影响见图1。

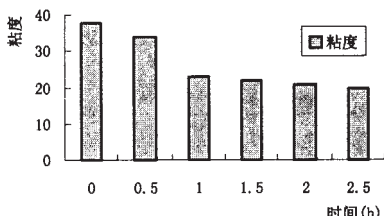


图1 果胶酶作用时间对粘度影响

在45℃下,每1g原料添加10u的果胶酶水解,定时检测醪液粘度变化情况。结果如图2,当作用时间延长到1h,醪液粘度急剧下降。继续延长时间,醪液粘度变化不大。可见,添加果胶酶可解除果胶、β-葡萄糖等粘性物质的阻碍,增强其他酶类与工艺有效物质的接触效果,从而提高酶反应速率,起到协同作用。同时可降低醪液粘度,减小输送动力消耗,提高原料出酒率。因此,它的最佳作用时间为1h(见表1)。

表1 果胶酶用量对粘度作用效果

实验序号	果胶酶添加量(u/g)	粘度(厘泊)
1	0	36
2	1	32
3	3	30
4	8	24
5	12	24
6	15	23
7	20	22
8	30	21
9	40	21

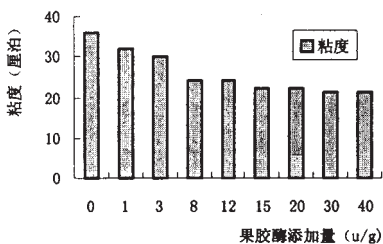


图2 果胶酶添加量对粘度作用效果

由图2可见,料水比为1:2时,液化后醪液粘度很大,当果胶酶添加量为1~3u/g原料时,与空白对照相比,醪液粘度下降幅度不大。当果胶酶用量为8u/g原料时,醪液粘度急剧下降。当果胶酶用量继续增加,醪液粘度变化不大。由此可以看出,果胶酶用量为8u/g原料,作用时间为1h,原料中存在的果胶绝大部分已被分解。因此,当料水比为1:2时,果胶酶适宜添加量为8u/g原料。

2.2 纤维素酶添加试验

纤维素酶是一种复合酶,具有极高的活力,在糖化及发酵过程中,将原料中的纤维素、半纤维素及其他成分降解为可发酵性的糖^[4],见表2。

表2 使用纤维素酶试验结果 (%)

使用方法	还原糖	酒度	原料利用率
1	0.13	15.1	36.3
2	0.16	15.3	36.9
3	0.17	15.5	37.8

注(1)表中数据为3次实验平均值(2)方法1指未使用纤维素酶(3)方法2指纤维素酶加入发酵罐(4)方法3指纤维素酶加入液化罐。

从表2可看出,试验中使用纤维素酶优于未使用,而纤维素酶加入液化罐优于加入发酵罐,在原料液化糖化的同时协同作用,水解各种难以水解的纤维素、半纤维素、磷酸糊精等高分子碳水化合物,并通过酶的作用,破坏细胞壁,使其内容物充分释放出来,转化为可发酵的糖,使酵母可利用的碳源增加,从而提高原料利用率。因此该纤维素酶以加入液化罐为最好,见表3。

表3 纤维素酶加量的影响

纤维素酶添加量(u/g)	还原糖(%)	酒度(%)	原料出酒率(%)
0	0.20	14.8	35.7
4	0.19	15.0	36.3
8	0.19	15.1	36.6
12	0.18	15.3	37.2
16	0.17	15.3	37.2

从表3可以看出,加入纤维素酶可大大降低液化时间,12u/g原料较为合适。

2.3 植酸酶添加试验

植物中的磷大部分以植酸磷形式存在,它不能被微生物利用,既浪费了资源,又对环境造成污染。

2.3.1 不同添加时间对植酸酶作用效果的影响(发酵理化指标,见表4)

表4 植酸酶添加时间对植酸酶作用效果的影响

项目	植酸酶添加时间		
	未加	糖化开始加	发酵开始时加
酒度(%)	15.0	15.1	15.3
还原糖(%)	0.16	0.15	0.12

从表4可以看出,加入比未加入者效果要好。另外发酵时加入效果较好。所以采用植酸酶,它能将肌醇六磷酸(植酸)分解成为肌醇和磷酸。将植酸分子上的磷酸基团逐个切下,形成中间产物IP5, IP4, IP3, IP2, IP。终产物为肌醇和磷酸。释放出磷,提高植酸磷的利用率,减少环境污染^[5]。

2.3.2 不同植酸酶添加量的影响(酒精发酵指标,见表5)

表5 不同植酸酶添加量的影响

项目	编号			
	1	2	3	4
植酸酶添加量(u/g原料)	0	5	10	15
酒精度(% v/v)	14.9	15.2	15.5	15.5
还原糖(%)	0.16	0.15	0.14	0.14
原料出酒率(%)	36.0	36.6	37.8	37.8

注:此数据为3次实验平均结果。

从表5可以看出,加入植酸酶比未加入效果好,加入10u/g原料效果较好。

2.4 酸性蛋白酶添加试验

微生物的发育需要有蛋白质为其提供氮源及能量。由于加入

酸性蛋白酶,使原料中的蛋白质得以更好的分解,为酵母菌提供了更多的游离氨基氮(FAN)^[6-7]。在实验中其影响因素主要考虑为添加量和作用时间。

2.4.1 不同酸性蛋白酶添加量的酒精发酵试验(见表6)

项目	1	2	3	4	5	6
酸性蛋白酶添加量(u/g)	0	3	5	10	15	20
还原糖(%)	0.20	0.23	0.23	0.24	0.24	0.23
酒精度(% v/v)	15.2	15.4	15.8	16.0	16.0	16.0
原料出酒率(%)	36.6	37.7	38.4	39.0	39.0	39.0

* 本实验结果为3次实验平均结果。

表6试验结果表明,添加定量酸性蛋白酶,酒度和原料出酒率有明显提高,当添加量达10 u/g原料时,原料出酒率最高,此后增加酸性蛋白酶,原料出酒率不再提高,可见适宜的酸性蛋白酶为10 u/g。

2.4.2 不同添加时间对酸性蛋白酶作用效果影响

为了探讨酸性蛋白酶最适添加时间,试验设计了不同添加方案,即糖化时添加、发酵开始时、发酵5 h后,添加量为10 u/g原料(见表7)。

项目	糖化开始时	发酵开始时	发酵5 h后
酒精度(% v/v)	15.1	15.9	15.5
还原糖(%)	0.20	0.24	0.22
原料出酒率(%)	36.3	38.7	37.8

注:表中数据为3次实验平均值。

表7表明,不同时间添加酸性蛋白酶,对其作用效果有一定影响,其中以发酵开始时添加酸性蛋白酶的作用效果最好。在糖化时添加酸性蛋白酶,由于温度较高,酸性蛋白酶很容易失活,因而作用效果差,发酵一段时间后添加,则由于不利于发酵前期酵母细胞的生长和增殖,强化了酒精代谢,从而可以提高对原材料的利用率。

2.5 克菌灵添加试验

克菌灵是从美国引进的高科技产品,它具有广谱高效杀菌作用,对酒精发酵中出现的杂菌有特效。它通过对细菌(包括球菌和杆菌)的细胞膜合成的抑制或干扰,最终达到杀菌目的。它独特的选择性杀菌作用对酵母没有毒副作用,不会影响酵母的生长繁殖。可大大降低酸的用量,提高发酵强度。

酒精发酵一般分为3个时期,前发酵期一般始于封罐至12 h,此时期酵母菌利用醪液的溶解氧,开始繁殖,耗糖甚少,由于酵母数量尚未达到最多数量,酒精发酵缓慢,酒精与CO₂的产量很少,发酵表面比较平静,此时易感染杂菌,因此在前发酵期添加较为合适^[8],见表8。

项目	克菌灵添加量(mg/kg)				
	0	1	3	6	9
还原糖(%)	0.24	0.23	0.23	0.16	0.16
酒精度(% v/v)	15.0	15.0	15.2	15.3	15.3
原料出酒率(%)	36.2	36.2	36.6	36.9	36.9

* 本实验结果为3次实验平均结果。

从表8可以看出,试验组比未加入组成熟醪酒度指标较好,加

入量为6 mg/kg时抑制杂菌效果较明显。

2.6 发酵增强剂组合正交试验及稳定试验

我们摸清了每种发酵增强剂的最佳用量及添加时间、作用时间等条件后,进行了正交试验,结果见表9,表10。

水平	因素				
	果胶酶	纤维素酶	植酸酶	酸性蛋白酶	克菌灵(mg/kg)
1	5	8	8	5	3
2	8	12	10	10	6
3	12	16	12	15	9

序号	因素					酒精含量(%)
	果胶酶	纤维素酶	植酸酶	酸性蛋白酶	克菌灵	
1	1	1	1	1	1	16.3
2	1	2	2	2	2	15.6
3	1	3	3	3	3	15.1
4	2	1	1	2	2	15.3
5	2	2	2	3	3	15.4
6	2	3	3	1	1	15.6
7	3	1	2	1	3	15.4
8	3	2	3	2	1	15.8
9	3	3	1	3	2	16.4
10	1	1	3	3	2	15.8
11	1	2	1	1	3	15.3
12	1	3	2	2	1	14.0
13	2	1	2	3	1	14.7
14	2	2	3	1	2	14.3
15	2	3	1	2	3	14.2
16	3	1	3	2	3	14.8
17	3	2	1	3	1	15.1
18	3	3	2	1	2	14.7

$K_1=92.2$ $K_1=92.5$ $K_1=92.65$ $K_1=91.75$ $K_1=91.65$
 $K_2=89.65$ $K_2=91.7$ $K_2=90.0$ $K_2=89.8$ $K_2=92.25$
 $K_3=92.45$ $K_3=90.1$ $K_3=91.65$ $K_3=92.75$ $K_3=90.4$
 $R=2.8$ $R=2.4$ $R=2.65$ $R=2.95$ $R=1.85$

从以上正交试验极差结果分析来看,我们优选了5种发酵增强剂的最佳添加量。即果胶酶12 u/g,纤维素酶8 u/g,植酸酶8 u/g,酸性蛋白酶15 u/g,克菌灵6 mg/kg。

2.7 稳定试验结果

根据正交试验结果,进行了5批次稳定试验,见表11,表12。

批次	酒精含量(%)	残还原糖(%)	pH	原料出酒率(%)
1	15.3	0.20	4.5	36.9
2	15.1	0.21	4.6	36.3
3	15.3	0.19	4.5	36.9
4	15.2	0.18	4.6	36.6
5	15.1	0.20	4.5	36.3
平均	15.2	0.19	4.5	36.6

表 12 添加发酵增强剂试验结果

批次	酒精含量(%)	残还原糖(%)	pH	原料出酒率(%)
1	16.4	0.18	4.6	39.9
2	16.6	0.17	4.5	40.5
3	16.4	0.18	4.6	39.9
4	16.5	0.19	4.6	40.2
5	16.6	0.18	4.6	40.5
平均	16.5	0.18	4.6	40.2

连续 5 批次实验结果表明, 添加发酵增强剂的效果是很明显的, 主要技术指标酒精含量平均提高 1.3%, 原料出酒率平均提高 3.6%。

2.8 发酵增强剂对淀粉出酒率及发酵时间的影响

2.8.1 根据以上稳定试验, 得出淀粉出酒率: 淀粉出酒率(空白)为 51.2%; 淀粉出酒率(增强剂)为 56.2%。

添加发酵增强剂后淀粉出酒率比空白组高出 4%。

2.8.2 添加发酵增强剂对发酵时间影响的实验, 结果见表 13 和图 3。

表 13 发酵增强剂的发酵实验

发酵时间(h)	酒度(%)	残糖(%)
50	15.6	0.24
53	15.9	0.20
55	16.5	0.16
58	16.3	0.16
60	16.3	0.15

注: 以上数据为 5 次试验平均结果。

从图 3 中可以看出, 发酵时间为 55 h, 酒精含量最高, 随着时间的增加, 酒精含量逐步下降, 主要因为添加发酵增强剂后, 发酵强度增大, 到达 55 h 后, 糖原减少, 酵母将利用酒精为碳源, 导致酒精产量下降。

2.9 经济效益分析

从以上计算可知, 吨酒精可节约粮食 0.25 t, 可提高酒精产量

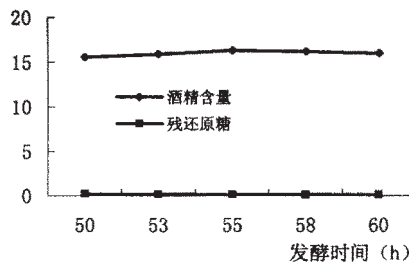


图 3 添加发酵增强剂的发酵图

0.1 t, 可增加效益 380 元(以现价吨酒精按 3800 元计), 扣除发酵增强剂成本约 260 元, 吨酒精实际可降低成本 120 元, 即 3.2%。

3 结论

3.1 添加各种发酵增强剂后, 降低了醪液粘度, 实现了浓醪发酵, 酒精含量达到 16.5%。

3.2 添加发酵增强剂, 酒精含量达到 16.5%, 淀粉出酒率达到 56.2%, 发酵时间缩短 5 h。

3.3 酒精生产成本降低约 3.2%, 能够推动燃料酒精发展, 有利于农业种植业的发展及保护环境。

参考文献:

- [1] 王晓霞, 等. 酒精浓度发酵过程中果胶酶应用的研究[J]. 食品与发酵工业, 2000, (27): 44-46.
- [2] Yamamoto et al. Ferment Technol. 1981, (6): 485-487.
- [3] Nobayahi. Ferment Technol, 1984, (2): 61-62.
- [4] 皇甫亚柱. 复合纤维系酶在酒精生产中的应用试验[J]. 酿酒科技, 2001, (3): 44-46.
- [5] 马玺, 等. 植酸酶研究进展及其在饲料工业中的应用[J]. 粮食与饲料工业, 2001, (4): 27-30.
- [6] 周恒刚. 酸性蛋白酶在酿酒上的功用[J]. 酿酒科技, 1998, (6): 15.
- [7] 肖冬光, 等. 酒用酸性蛋白酶在酒精生产中应用技术的研究[J]. 酿酒科技, 2000, (3): 36-38.
- [8] 李继德. 青霉素在酒精发酵中的应用[J]. 酿酒科技, 2001, (4): 49-51.

(上接第 60 页)

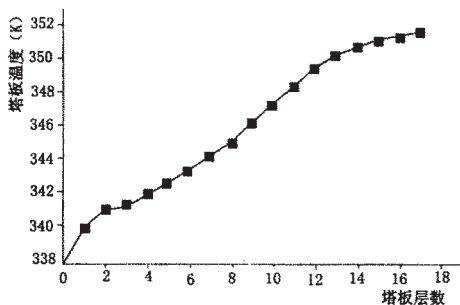


图 6 塔内温度分布图

件, 在初始进料条件不变的前提下, 可以通过改变理论塔板数来得到不同的计算结果, 选择合理满意的塔板数目。同时, 这个计算模型也计算了不同的初始条件对操作的影响, 分析对比了不同的原因和结果。

建立的数学模型能够很好地计算出各个理论塔板上的气液相组成、理论塔板温度分布等, 动态计算能够简单清楚地模拟不同条

件下恒沸精馏塔内部三元组分的状况。该计算模型的建立有助于了解各种条件下精馏塔内部的情况, 为恒沸精馏选择和设计提供一个很好的参考。

参考文献:

- [1] GB18350-2001, 变性燃料乙醇标准[S].
- [2] GB18351-2001, 车用乙醇汽油标准[S].
- [3] Kevin N.Rask. Clean air and renewable fuels: the market for fuel ethanol in the USA from 1984 to 1993[J]. Energy Economic, 1998, (20): 325-345.
- [4] 国家经贸委, 国家计委, 国家质量监督检验检疫总局, 国家环保局. 车用乙醇汽油使用试点方案[N]. 国家质量技术监督局公报, 2002-04-12.
- [5] 侯虞均, 张彬, 唐宏青. 马丁-侯状态方程向液相扩展[J]. 化工学报, 1981, 32(1): 1-10.
- [6] 邓修, 吴俊生. 化工分离过程(第一版)[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [7] 刘芙蓉, 金鑫丽, 王黎. 分离工程及系统模拟(第一版)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [8] 谭天恩, 麦本熙, 丁惠华. 化工原理(下册)第二版[M]. 北京: 化学工业出版社, 1998.