

酶制剂废液促进木薯酒精生产的发酵工艺

尹明

(青岛酒店管理职业技术学院烹饪学院, 山东青岛 266100)

摘要: 为实现木薯酒精发酵中原材料利用的降本增效, 该研究将木薯作为原料进行酒精发酵条件实验, 确定液化温度为 95.0 °C 时, 液化时间为 70.0 min; 糖化温度为 60.0 °C 时, 糖化时间为 40.0 min; 在上述条件下木薯淀粉最高产酒率为 54.01%, 淀粉的利用率达 89.25%。在此基础上, 研究了酶制剂废液(包括糖化酶废液、淀粉酶废液)应用于木薯酒精生产。结果表明, 添加糖化酶废液后, 每吨酒精可以节省淀粉酶 1320 mL, 糖化酶 316.8 mL, 同时可免去尿素、硫酸镁等营养盐的添加, 出酒率提高至 54.64%。因此, 采用酶制剂废液可大大减少木薯酒精生产中新鲜糖化酶和淀粉酶的用量, 降低了营养盐的添加, 同时原料出酒率也得到了有效提高。本研究不仅为酶制剂工业生产中酶制剂废弃资源的有效利用提供了新途径, 也为木薯酒精发酵工业发展提供了新的理论支持。

关键词: 木薯; 酶废液; 发酵; 酒精; 利用率

文章编号: 1673-9078(2021)09-59-66

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.9.0674

Application of Liquid Wastes from Enzyme Production to Enhance Cassava-based Alcohol Production

YIN Ming

(College of Cuisine, Qingdao Hotel Management Vocational and Technical College, Qingdao 266100, China)

Abstract: To reduce the cost and increase the efficiency of raw material utilization in the production of alcohol from cassava, various conditions in the alcoholic fermentation of this starchy tuber were examined. The optimal fermentation conditions were determined to be a liquefaction temperature of 95.0°C and a liquefaction time of 70.0 min. Additionally, at the saccharification temperature of 60.0°C, the saccharification time was 40.0 min. Under these conditions, the highest alcohol yield reached 54.01%, with a cassava starch utilization rate of 89.25%. On the basis of these findings, the application of liquid wastes generated from the production of various enzymes (viz., glucoamylase and amylase) in cassava-based alcohol production was studied for the first time. Following the addition of liquid waste from glucoamylase production to the alcoholic fermentation process, 1320 mL of amylase and 316.8 mL of glucoamylase were saved per ton of alcohol produced, and the addition of nutrient salts, such as urea and magnesium sulfate, was no longer required. Meanwhile, the alcohol yield had increased by 54.64%. Therefore, the utilization of fresh glucoamylase and amylase in the alcoholic fermentation of cassava can be greatly reduced by using the waste liquids from enzyme production, and the need for nutrient salts can be reduced. Furthermore, given the same quantity of raw materials, the alcohol yield can also be effectively enhanced. This study not only highlights the effective utilization of waste resources from the enzyme production industry but also provides theoretical support for new ways in which efficiency in the cassava-based alcohol production industry can be developed.

Key words: cassava; enzyme production waste; fermentation; alcohol; utilization rate

引文格式:

尹明.酶制剂废液促进木薯酒精生产的发酵工艺[J].现代食品科技,2021,37(9):59-66

YIN Ming. Fermentation technology of enzyme preparation waste liquid to promote cassava alcohol production [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(9): 59-66

木薯是一种高产量、高淀粉含量的作物, 是生产酒精广泛使用的原料, 也是我国重要的经济农作物之

收稿日期: 2021-06-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31501413)

作者简介: 尹明 (1977-), 男, 讲师, 研究方向: 轻工技术与工程, Email:

136452893@qq.com

一; 尽管利用木薯发酵生产酒精已经取得了一定的进展, 但如何利用廉价原料实现降本增效仍然是该技术产业化应用中急待解决的问题。由于石油作为不可再生资源已经不能满足国家能源和战略安全需求, 国内能源供应十分紧张, 因此研究新能源代替石油已迫在眉睫。酒精既是目前产量最大的发酵产品之一, 又是

十分重要的清洁能源,广泛应用于食品、化工等各个行业,开发前景十分巨大。

我国目前主要用发酵法生产酒精^[1],一般不采用合成法,因此酒精产量少,年产量不到5%。近年来,随着研究和应用的不断深入,在菌种选育、节能减排及新型发酵技术等方面都取得了许多成绩^[2]。但目前酒精发酵工业中依然存在发酵浓度偏低,能耗高,污染大、原料的利用率低等问题,制约了我国酒精工业的进一步发展。很多国家的工程技术人员从菌种角度,创新酒精发酵方法^[3],比如,在工业生产中AADY发酵法、固定化细胞酒精发酵法得到广泛应用^[4]。此外,酶制剂工业的兴起促进了酶法酒精生产工艺的发展,主要方法为双酶法,一些发达资本主义国家以及中国均使用此法^[5]。因原料糖化作用、液化作用中酶的副反应较少,专一性强,出酒率大。目前采用双酶法时可提高淀粉出酒率达56%左右^[6]。同时,为了降低成本,也有很多研究者聚焦于廉价、可大量供应的原料的应用研究,在该方面目前主要涉及城市废纤维垃圾、乳清液等,在适当处理后,这些原料均可付诸于酒精生产^[7]。目前,开发新原料、发展酒精发酵新工艺已成为酒精工业发展中的关键,预期进展将为酒精发酵生产工业带来新的突破^[8]。

木薯(Manihot)主要生长在亚热带和热带丘陵,是一种适应性很强的植物^[8]。其根茎淀粉含量可达30%,木薯干所含淀粉则达70%^[9];不仅如此,木薯原料容易粉碎,糊化温度低,易蒸煮。据统计,目前,我国生产乙醇有三成是以木薯为原料。木薯酒精发酵工艺的产业化研究,有助于我国减少环境污染,解决石油危机,因此具有十分重要的战略意义和经济效益^[10]。木薯酒精发酵工艺目前研究较多,中如何进一步降低成本是一个极具挑战性的问题^[11]。使用其他发酵工业废料作为木薯酒精发酵中的部分原料是一种既可以降低木薯酒精发酵本身成本,同时实现其他发酵废料再利用的一种新思路。

酶制剂工业是目前发展迅速的发酵工业之一,广泛涉及食品、酿造、味精、有机酸、皮革、洗涤剂、保健品及制药等领域,对我国经济发展起着重要作用^[12]。但其废液排放量随着应用领域的不断扩大也在不

断增加。酶废液是高浓度的有机废水,自然环境中直接排放会对水资源造成严重影响,这就要求在大力发展酶制剂工业的基础上必须符合工业“三废”排放标准。因此,如何对酶制剂废液进行综合利用是酶制剂行业实现节能减排、降本增效过程中面临的亟待解决的问题。

本研究从资源再生利用的角度认为酶废液又是宝贵资源,其含有的各种无机盐可为微生物提供除氮、碳源以外的各种重要元素;另外,酒精生产中糖的消耗量可以提高,酶废液中的剩余酶可替代部分酶,降低生产成本。因此,针对木薯酒精发酵工艺革新的需求和酶制剂工业废液排放的问题,创新性地不同种类的酶制剂废液应用于木薯酒精发酵过程中,拟研究木薯酒精发酵工艺特性及不同酶制剂对木薯酒精生产的影响,并进而建立一种新型的添加酶制剂废液的木薯酒精生产工艺。本研究不仅将为木薯酒精发酵生产提供一种降本增效的新工艺,同时也为酶制剂工业在环保治理与能源利用矛盾方面带来新突破。

1 材料与方法

1.1 实验原材料

木薯原料,由乐陵市永兴和食品有限公司提供;燕山高活性干酵母,购自河北马利食品有限公司; α -淀粉酶、淀粉酶废液、高转化率糖化酶(100000 U/mL)、糖化酶废液、 α -淀粉酶稀释液、高转化率糖化酶稀释液购自山东隆大生物工程有限公司;硫酸镁、磷酸二氢铵、尿素等均为分析纯。

1.2 实验仪器及设备

酒精计,江苏宝丰仪表有限公司;调温电热套,郑州生化仪器有限公司;高速中药粉碎机,江苏博肖机械有限公司;隔水式恒温培养箱,上海赫田科学仪器有限公司;电子恒温水浴锅,上海赫田科学仪器有限公司;电子天平,沈阳龙腾电子有限公司;立式电热压力蒸汽灭菌器,青岛明博环保科技有限公司。

1.3 本实验的酒精发酵工艺流程

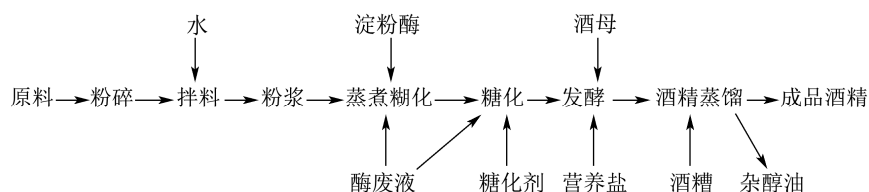


图1 酒精发酵工艺流程图

Fig.1 Flow chart of alcohol fermentation process

1.4 糖化酶废液对酒精发酵的影响

实验方案按照工艺流程进行, 实验所加入的具体的营养盐与酶剂的添加量以及酶废液添加量, 根据表 1 中的数据, 设 3 个平行实验进行添加, 实验结果取平均值。按照表 1 所示, 将木薯原料液化糖化后, 与酵母连接, 在培养箱中发酵 64~66 h, 温度设置 30 ℃, 然后进行蒸馏并测定酒精含量。同时, 加入糖化酶废液进行液化。考虑糖化酶废液的不耐高温、液化易失活特性, 本实验特别研究了糖化酶废液中无机盐对酒精发酵的影响。通过比较木薯 1 号和 2 号的酒精产率, 研究了营养盐对木薯酒精发酵的影响。通过比较 1 号和 2 号的酒精含量, 研究了糖化酶废液对木薯酒精发酵的影响。通过比较 2 号和 3 号的酒精含量, 比较两者对酒精发酵的影响。

表 1 发酵培养基的配置方案

Table 1 Allocation scheme of fermentation medium

编号	1	2	3
木薯粉/g	100	100	100
水/mL	260	260	260
α -淀粉酶稀释液/mL	5.0	5.0	-
淀粉酶废液/mL	-	-	5.0
糖化酶废液/(100000 U/mL)	-	-	15.0
95 ℃水浴液化 80 min, 冷却至 60 ℃			
高转化率糖化酶/mL	10.0	10.0	10.0
无机盐/mL	-	10.0	-
水/mL	15.0	5.0	-
60 ℃水浴糖化 1 h, 冷却至 30 ℃			
酵母液/mL	2.0	2.0	2.0

1.5 淀粉酶废液对酒精发酵的影响

表 2 发酵培养基的配置方案

Table 2 Allocation scheme of fermentation medium

编号	1	2	3
木薯粉/g	100	100	100
水/mL	260	260	260
α -淀粉酶稀释液/mL	5.0	5.0	-
淀粉酶废液/mL	-	-	5.0
糖化酶废液/(100000 U/mL)	-	15.0	15.0
95 ℃水浴液化 80 min, 冷却至 60 ℃			
高转化率糖化酶/mL	10.0	10.0	10.0
无机盐/mL	10.0	-	-
水/mL	5.0	-	-
60 ℃水浴糖化 1 h, 冷却至 30 ℃			
酵母液/mL	2.0	2.0	2.0

根据实验方案流程, 各种物质的添加量按照表 2 中的数据添加, 取 3 个平行实验的平均值, 用淀粉酶废液替代 α -淀粉酶稀释液 (两种液体酶活单位均为 100 U/mL) 进行全程液化。按照表 2 物质用量进行实验, 将液化和糖化好的木薯原料添加酵母在培养箱中进行培养, 设定温度为 30 ℃, 培养发酵 65 h, 然后进行蒸馏测定。根据 1 号和 2 号对比所产酒精的量, 对比糖化酶废液和无机盐对酒精发酵的影响; 根据 2 号和 3 号的产量, 观察两者同时添加对酒精发酵的影响。

表 3 发酵培养基的配置方案

Table 3 Configuration scheme of fermentation medium

编号	1	2	3	4
木薯粉/g	100	100	100	100
水/mL	260	260	260	260
α -淀粉酶稀释液/mL	5.0	5.0	-	-
淀粉酶废液/mL	-	-	5.0	5.0
95 ℃水浴液化 80 min, 冷却至 60 ℃				
糖化酶废液/(100000 U/mL)	15.0	-	15.0	-
高转化率糖化酶/mL	8.8	10.0	8.8	10.0
无机盐/mL	-	10.0	-	10.0
水/mL	1.2	5.0	1.2	5.0
60 ℃水浴糖化 1 h, 冷却至 30 ℃				
酵母液/mL	2.0	2.0	2.0	2.0

表 4 培养基配置表

Table 4 Allocation scheme of fermentation medium

编号	1	2
木薯粉/g	100	100
水/mL	260	260
α -淀粉酶稀释液/mL	5.0	-
淀粉酶废液/mL	-	5.0
糖化酶废液/(100000 U/mL)	-	15.0
95 ℃水浴液化 80 min, 冷却至 60 ℃		
高转化率糖化酶/mL	10.0	10.0
无机盐/mL	10.0	-
水/mL	5.0	-
60 ℃水浴糖化 1 h, 冷却至 30 ℃		
酵母液/mL	2.0	2.0

1.6 糖化酶废液对糖化作用的影响

根据实验工艺流程, 酶剂、营养盐以及酶废液添加量如表 3 所示。根据糖化酶废液的酶活单位低的特性来调整糖化酶的添加量, 按照表 3, 木薯原料经液化、糖化后与酵母连接, 置于 30 ℃恒温箱中发酵 65 h, 蒸馏测定酒精含量, 观察液化过程和糖基化过程加入

糖化酶废液的区别。以 1.1 为基础, 观察酶废液对糖基化反应的影响。与 1 号和 2 号相比, 1 号添加了含有营养盐的糖基化酶废液, 无需单独添加营养成分。2 号只添加高转化糖基化酶, 为与 1 号比较, 分别添加 10 mL 营养盐。对比结果, 取平均值。

1.7 酶废液对酵母生长的影响

研究未添加酶废液和添加酶废液酵母的生长情况, 发酵培养基组成比例见表 4, 每 12 h 测量一次酵母细胞数量。

1.8 数据处理与分析

所有数据均为 3 个平时实验结果的平均值±标注差, 并用 Excel 2016 软件对结果进行统计学分析, 采用 GraphPad Prism6 软件处理对实验数据绘图, SPSS 19.0 进行单因素方差分析, $p < 0.05$ 认为显著性差异, 通过拟合后线性关系制作响应曲面图。

2 结果与讨论

2.1 木薯酒精发酵工艺中关键反应时间的确定

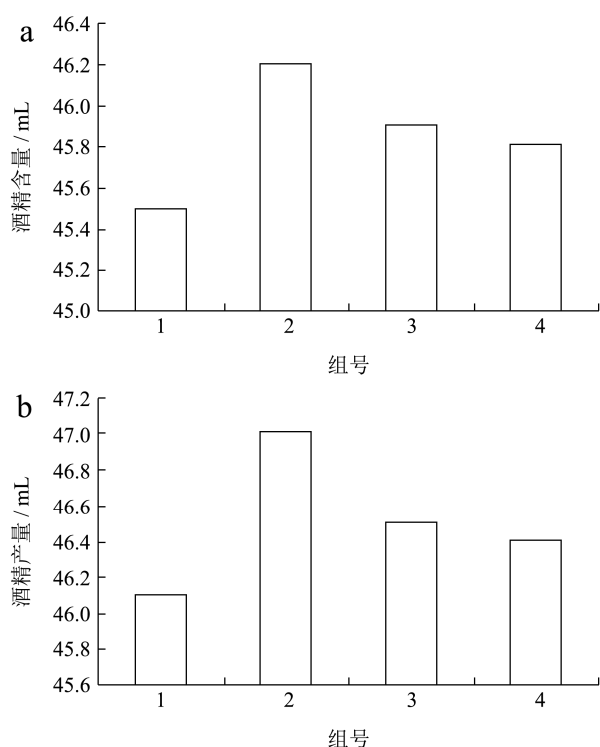


图 2 不同糖化时间(a)和液化时间(b)下的木薯酒精产量
Fig.2 Cassava ethanol production at different saccharification times (a) and liquefaction times (b)

在木薯酒精生产中, 液化时间和糖化时间直接关

系到淀粉原料的利用率和酒精的生产周期, 因此, 在目前已有的研究工艺基础上, 对本研究所用木薯原料的发酵工艺中液化时间和糖化时间进行了研究。

2.1.1 木薯淀粉液化时间对酒精生产的影响

如果液化时间太短, 淀粉转化成小分子糊精的可能性较小, 影响后期糖化速度, 淀粉利用率也会降低, 酒精产量就会减少, 这样既浪费了资源, 又增加了生产成本。液化时间过长, 不利于提高生产效率, 同时还浪费了蒸煮热能。通过设定不同液化时间, 发酵 65 h 后, 蒸馏醪液, 最后取平均值, 对比发酵产量。实验结果如图 2a 所示。在三个试剂瓶中 2 号瓶的酒精产量最高, 其中, 2 号瓶酒精产量比 1 号瓶高 0.7 mL, 比 3 号瓶高 0.3 mL, 比第 4 号瓶高 0.4 mL。另外, 出酒率不但不会随着液化时间的延长和酒精产量的增加而增加, 反而还会下降。主要问题在于原料液化时间较短, 形成生料, 导致发酵过程染菌; 相反, 液化时间过长则容易产生焦化反应, 因此, 液化最佳时间为 70 min。

在生产中, 如果原料的糖化时间太短, 所需营养就不能满足酵母的生长。但是, 如果糖化时间过长, 不仅会增加糖分限量, 而且在 59 °C 左右温度下糖化酶易变性、失活。因此, 糖化时间对酒精发酵有直接影响作用, 根据记录情况, 由图 2b 结果表明, 在糖化过程中, 酒精度出现先升后降现象。2 号瓶比 1 号瓶多 0.7 mL, 比 3 号瓶多 0.4 mL, 比 4 号瓶多 0.5 mL, 在 30 min 到 40 min 糖化过程中, 酒精产量迅速增加。由此看来, 延长糖化时间, 不但不能使酒精产量提高, 反而还会降低。因此, 40 min 时糖化最彻底。

2.1.2 木薯淀粉在最佳液化时间下的利用率和出酒率

实验中所用 100 g 木薯原料中含有 72 g 淀粉, 该数量淀粉理论上可生产无水酒精:

$$\frac{92 \times 72}{162} = 40.889 \text{ (g)}; \text{理论上可产生 } 96\% \text{ (V) 酒精:}$$

$$\frac{40.889}{0.9385} = 43.568 \text{ (g)}。$$

木薯原料在液化时间 70 min 时, 酒精产量为 46.2 mL, 则: $m = 46.2 \text{ mL} \times 0.789 \text{ g/mL} = 36.45 \text{ g}$ (0.789 g/mL 代表无水酒精的密度)。

72 g 淀粉在液化时间为 70 min 时, 可产生上述浓度酒精量为:

$$\frac{36.45}{0.9385} = 38.84 \text{ (g)}。$$

$$\text{理论出酒率} / \% = \frac{43.568}{72} \times 100\% = 60.51\%$$

$$\text{实际出酒率} / \% = \frac{38.84}{72} \times 100\% = 53.94\%$$

$$\text{淀粉利用率}/\% = \frac{\text{实际出酒率}}{\text{理论出酒率}} \times 100\% = \frac{53.94}{60.51} \times 100\% = 89.15\%$$

$$\text{原料出酒率}/\% = \frac{96\%(V)\text{酒精产量}(t)}{\text{耗用原料量}(t)} \times 100\% = \frac{38.84}{100} \times 100\% = 38.84\%$$

2.1.3 淀粉在最佳糖化时间下的利用率

按照所含 72% 淀粉的木薯来生产酒精，理论上可生产无水酒精为： $\frac{92 \times 72}{162} = 40.889$ (g)。淀粉为 72 g 时

理论上可产生酒精： $\frac{40.889}{0.9385} = 43.568$ (g) (浓度为 96%)。

糖化、液化时间分别为 40 min、70 min 时，木薯原料可发酵生产酒精 47.0 mL，则： $m = 47.0 \text{ mL} \times 0.789 \text{ g/mL} = 37.08 \text{ g}$ (0.789 g/mL 为无水酒精的密度)。在液化时间为 70 min 时，72 g 淀粉，可产生上述浓度酒精为： $\frac{37.08}{0.9385} = 39.51$ (g)。

$$\text{理论出酒率}/\% = \frac{43.586}{72} \times 100\% = 60.51\%$$

$$\text{实际出酒率}/\% = \frac{39.51}{72} \times 100\% = 54.88\%$$

$$\text{淀粉利用率}/\% = \frac{\text{实际出酒率}}{\text{理论出酒率}} \times 100\% = \frac{54.88}{60.51} \times 100\% = 90.70\%$$

$$\text{原料出酒率}/\% = \frac{96\%(V)\text{酒精产量}(t)}{\text{耗用原料量}(t)} \times 100\% = \frac{39.51}{100} \times 100\% = 39.51\%$$

2.2 添加糖化酶废液对酒精产量的影响

糖化酶废液含有各种无机盐；而微生物的代谢活动离不开各种无机盐的参与，为微生物的生长繁殖提供各类元素，可以作为维持酶活性的重要组成部分，还可以参与构成菌体成分、渗透压调节等。因此，将无机盐和糖化酶废液用于酒精生产，对比两者对木薯原料酒精发酵的不同。

表 5 糖化酶废液对酒精发酵结果分析

Table 5 Effects of waste saccharifying enzyme solution on alcohol fermentation

编号	A/%	B/%	酒精产量/mL	备注
1	38.0	6.5	44.5	未加营养盐
2	37.9	7.1	45.0	加营养盐
3	38.4	7.1	45.5	加糖化酶废液

注：A、B 分别为 20 °C 下 100 mL 酒精馏分的标准酒精度。

按图 1 所示发酵流程，木薯原料酒精发酵 65 h 后，对发酵醪进行蒸馏；实验结果见表 5 所示。可以看出，3 组酒精发酵产量不同，第 1 组小于第 2 组，说明营养盐可促进酒精发酵。第 2 组小于第 3 组，说明酶解废液代替无机盐用于酒精发酵是可以的。酶废液中的

营养盐对微生物生长有助推作用。第 3 组所产酒精之所以比第 2 组高，一是能提供丰富的营养盐，二是在含有糖化酶的基础上又提供了无机盐和糖化酶，比第 2 组糖化更完，更有助于后期发酵反应。

2.3 糖化酶废液添加对木薯酒精发酵中原料

利用率及无机盐用量的影响

根据 2.1 实验结果，可通过分析对比无机盐和糖化酶废液对出酒率的影响。计算出提高的出酒率百分比，由此得出发酵过程中无机盐的可节约用量。

(1) 只添加无机盐时

可产生 45.0 mL 的纯酒精，换算成质量为： $m = 45.0 \text{ mL} \times 0.789 \text{ g/mL} = 35.50 \text{ g}$ (0.789 g/mL 为无水酒精的密度)。理论上，淀粉为 72 g 时可生产酒精： $\frac{40.889}{0.9385}$

43.568 (g) (浓度为 96%)。

$$\text{实际产量} = \frac{35.50}{0.9385} = 37.83(\text{g})$$

$$\text{实际出酒率}/\% = \frac{37.83}{72} \times 100\% = 52.54\%$$

$$\text{淀粉利用率}/\% = \frac{\text{实际出酒率}}{\text{理论出酒率}} \times 100\% = \frac{52.54}{60.51} \times 100\% = 86.83\%$$

$$\text{原料出酒率}/\% = \frac{96\%(V)\text{酒精产量}(t)}{\text{耗用原料量}(t)} \times 100\% = \frac{37.83}{100} \times 100\% = 37.83\%$$

(2) 只添加糖化酶废液时

可产生 45.5 mL 的纯酒精，质量换算： $m = 45.5 \text{ mL} \times 0.789 \text{ g/mL} = 35.90 \text{ g}$ (0.789 g/mL 为无水酒精的密度)。添加糖化酶废液后，72 g 淀粉在实际生产中可产酒精： $\frac{35.90}{0.9385} = 38.25$ (g) (浓度为 96%)。

$$\text{实际出酒率}/\% = \frac{38.25}{72} \times 100\% = 53.13\%$$

$$\text{淀粉利用率}/\% = \frac{\text{实际出酒率}}{\text{理论出酒率}} \times 100\% = \frac{53.13}{60.51} \times 100\% = 87.80\%$$

$$\text{原料出酒率}/\% = \frac{96\%(V)\text{酒精产量}(t)}{\text{耗用原料量}(t)} \times 100\% = \frac{38.25}{100} \times 100\% = 38.25\%$$

对比以上两个计算结果，不难看出原料利用率提高了 1.1%，该结果对工业生产有很好的利用价值。

(3) 无机盐节约量分析

由 (1) 可知，添加无机盐可使原料出酒率达到 37.83%，生产 1 t 酒精所需原料为： $\frac{100}{37.83} = 2.64 \text{ t}$ 。

本试验以含有磷酸二氢铵、硫酸镁、尿素的原料进行添加，可得：

$$\text{节省磷酸二氢铵的量} = \frac{5 \times 2.64}{15} = 0.88(\text{kg})$$

$$\text{节省硫酸镁的量} = \frac{2 \times 2.64}{15} = 0.33(\text{kg})$$

$$\text{节省尿素的量} = \frac{10 \times 2.64}{15} = 1.76(\text{kg})$$

其中：15 为各种原料吨数，5、2、10 分别代表所含上述无机盐的量。

因淀粉的出酒率在添加糖化酶废液时为 53.13%，添加无机盐时为 52.54%，提高了 1.11%，假如某企业年产 6×10^4 t 酒精，每吨酒精需要 2.64 t 原料来计算，则需要原料 1.58×10^5 t，酒精产量每年可提高 1754 t，以每吨酒精 5000 元计算，每年可增加 877 万元收益。

因此，为了节约生产成本，在酒精生产中可用糖化酶液代替无机盐，而且，由于无机盐多为固态，在

调制溶液时容易混合不均匀，不利于后续发酵，而添加糖化酶废液，既可以减少步骤，又缩短了时间，还能减少溶解无机盐所需的耗能。

2.4 淀粉酶废液添加对木薯酒精发酵中酒精产量的影响

淀粉酶是产量大和应用广的一种酶，而且废液营养丰富，充分利用这些有机营养成分，不但可以提高酒精的出酒率，还可以给企业带来不错的收益。同时，发酵废液的处理也在很大程度上降低了环境的污染程度，而且酒糟要比发酵废液更容易处理。考虑到淀粉酶废液含有大量无机盐，将其用于酒精生产，对比其和仅添加无机盐对酒精发酵的影响。发酵 65 h 后，然后蒸馏醪液，实验结果见表 6。

表 6 糖化酶废液作用于酒精发酵结果分析

Table 6 Effects of waste saccharifying enzyme solution on alcohol fermentation

编号	A/%	B/%	酒精产量/mL	淀粉酶	营养盐
1	37.5	6.4	43.9	α-淀粉酶稀释液	未加营养盐
2	37.7	6.8	44.5		糖化酶废液
3	39.0	6.8	45.8	淀粉酶废液	

注：A、B 分别为 20 °C 下前后 100 mL 酒精馏分的标准酒精度。

由表 6 中数据可知，添加糖化酶废液时酒精产率要比添加无机盐高，由此说明添加糖化酶废液作为酵母营养盐的效果要比无机盐，更有利于酵母繁殖、发酵，与 2.3 中的实验结果一致。按照第 1 组的 3 次平行实验，可得出 3 号酒精产量最高，2 号次之，3 号添加淀粉酶废液酒精产量最高，说明酶废液活性要高于稀释剂的活性，对淀粉液化有利。

2.5 淀粉酶废液添加对木薯酒精发酵中原料

利用率及无机盐用量的影响

分析表 6 中 3 号实验结果数据，得出节省淀粉酶的量。结果如下：

(1) 加入淀粉酶稀释液时酒精产量为 44.5，换算成酒精质量为： $m=44.5 \text{ mL} \times 0.789 \text{ g/mL}=35.11 \text{ g}$ (0.789 g/mL 为无水酒精的密度)。在添加淀粉酶稀释液后，72 g 淀粉实际可生产酒精： $\frac{35.11}{0.9385}=37.41 \text{ (g)}$ (浓度为 96%)。

$$\text{实际出酒率} / \% = \frac{37.41}{72} \times 100\% = 51.96\%$$

$$\text{淀粉利用率} / \% = \frac{\text{实际出酒率}}{\text{理论出酒率}} \times 100\% = \frac{51.96}{60.51} \times 100\% = 85.87\%$$

$$\text{原料出酒率} / \% = \frac{96\%(V)\text{酒精产量}(t)}{\text{耗用原料量}(t)} \times 100\% = \frac{37.41}{100} \times 100\% = 37.41\%$$

(2) 添加酶废液后酒精产量为 45.8 mL，则 $m=45.8 \text{ mL} \times 0.789 \text{ g/mL}=36.14 \text{ g}$ (0.789 g/mL 为无水酒精的密度)。添加淀粉酶废液后，72 g 淀粉实际可生产酒精： $\frac{36.14}{0.9385}=38.51 \text{ (g)}$ (浓度为 96%)。

$$\text{实际出酒率} / \% = \frac{38.51}{72} \times 100\% = 53.48\%$$

$$\text{淀粉利用率} / \% = \frac{\text{实际出酒率}}{\text{理论出酒率}} \times 100\% = \frac{53.48}{60.51} \times 100\% = 88.39\%$$

$$\text{原料出酒率} / \% = \frac{96\%(V)\text{酒精产量}(t)}{\text{耗用原料量}(t)} \times 100\% = \frac{38.51}{100} \times 100\% = 38.51\%$$

(3) 节约淀粉酶的量计算

根据上面的计算结果可知，生产 1 t 酒精所用原料为 2.64 t，以淀粉酶含量为 5 U/g 的原料进行换算，可节约淀粉酶： $\frac{5 \times 2.64 \times 1000 \times 1000}{20000} = 1320 \text{ mL}$ 。

由 (1) ~ (3) 的结果不难看出，原料利用率提高了 2.9%，效果明显；另外，酶废液的使用减少了淀粉酶用量，生产成本也随之降低。

2.6 糖化酶废液对发酵中糖化作用的影响结果

表7 糖化酶废液对糖化作用影响分析

Table 7 Results of the effect of waste saccharifying enzyme solution on saccharification

编号	A/%	B/%	酒精产量/mL	高转化率糖化酶	淀粉酶	营养盐
1	37.5	7.8	45.3	8.8	α-淀粉酶稀释液	糖化酶废液
2	36.9	7.5	44.4	10.0		营养盐
3	39.0	7.0	46.0	8.8	淀粉酶废液	糖化酶废液
4	37.8	7.2	45.0	10.0		营养盐

注：A、B 分别为 20℃ 下前后 100 mL 酒精馏分的标准酒精度。

表8 酶废液对酵母细胞数的作用分析

Table 8 Effects of enzyme waste solution on yeast cell count

编号	2 h/(10 ⁷ 个)	12 h/(10 ⁷ 个)	24 h/(10 ⁸ 个)	36 h/(10 ⁸ 个)	48 h/(10 ⁸ 个)	60 h/(10 ⁸ 个)	84 h/(10 ⁸ 个)	94 h/(10 ⁸ 个)
1	7.1	9.0	1.5	2.6	2.4	2.2	2.3	2.4
2	4	4.9	1.5	2.0	2.0	1.1	1.5	1.6

本实验中，木薯酒精发酵 65 h 后，蒸馏醪液，实验结果见表 7 所示。根据表 7 中数据，获知第 1 组的酒精产率高于第 2 组，说明添加糖化酶废液比添加无机盐更利于酵母发酵。分析酒精产量，第 1 组低于第 3 组，第 2 组低于第 4 组，说明酶废液比酶稀释剂具有更高的活性、更高的液化度和更高的淀粉转化率。2 组和 4 组的产量低于 1 组和 3 组，说明糖化酶液比无机盐效果更好，不仅具有糖化效果，节省糖化酶，降低生产成本，而且说明在酵母的营养供给不足的情况下即使淀粉酶活性再高，糊化度再好，也不利于酒精的生产。

分析上述实验结果，得出节约糖化酶的量。具体计算如下：

(1) 添加糖化酶废液和淀粉酶废液，酒精产量为 46.0 mL，则 $m=46.0 \text{ mL} \times 0.789 \text{ g/mL}=36.29 \text{ g}$ (0.789 g/mL 为无水酒精的密度)。

添加高活性淀粉酶后，72 g 淀粉实际可生产酒精：
 $\frac{36.29}{0.9385}=38.67 \text{ (g)}$ (浓度为 96%)

$$\text{实际出酒率} / \% = \frac{38.67}{72} \times 100\% = 53.71\%$$

$$\text{淀粉利用率} / \% = \frac{\text{实际出酒率}}{\text{理论出酒率}} \times 100\% = \frac{53.71}{60.51} \times 100\% = 88.76\%$$

$$\text{原料出酒率} / \% = \frac{96\% (V) \text{酒精产量} (t)}{\text{耗用原料量} (t)} \times 100\% = \frac{38.672}{100} \times 100\% = 38.67\%$$

(2) 糖化酶用量节省计算

生产 1 t 酒精用 2.64 t 原料，糖化酶用量(100 U/g)为： $100 \times 2.64 \times 10^6 = 2.64 \times 10^8 \text{ U}$ ，节约用量为总量的 0.12 倍，且糖化酶的活力为 100000 U/mL，则节约糖化酶的体积为： $0.12 \times \frac{264 \times 1000 \times 1000}{100000} = 316.8 \text{ mL}$ 。

2.7 酶废液添加对酵母群体生长的影响研究

为了深入探讨酶制剂废液添加对木薯酒精发酵的影响，研究了木薯酒精发酵菌种酵母菌的群体生长规律。通过每隔 12 h 取样稀释并采用血球计数法，如表 8。

根据表中数据绘制酵母的生长曲线，如图 3 所示。从图 3 可以看出，在木薯酒精发酵过程中，酵母细胞的数量在最初的 10 h 内缓慢增加。在 10 h~36 h，酵母增殖迅速，细胞呈指数分裂，酶系异常活跃；约 36 h 左右，数量达到峰值。在 36 h 后的时间内，属于稳定期，新增细胞与衰退细胞数量相当，正负生长处于动态平衡状态。此刻是酵母进行酒精发酵的最佳时期。

分析结果，当未添加酶废液时，酵母生长良好，添加酶废液细胞数反而减少，这很可能是酶废液中的有害成分抑制了酵母的生长，或者缺少酵母赖以生长的无机盐，或者两者兼有。但是，这两种条件下酵母细胞的数量级是相同的，均在 (10⁷) 上。

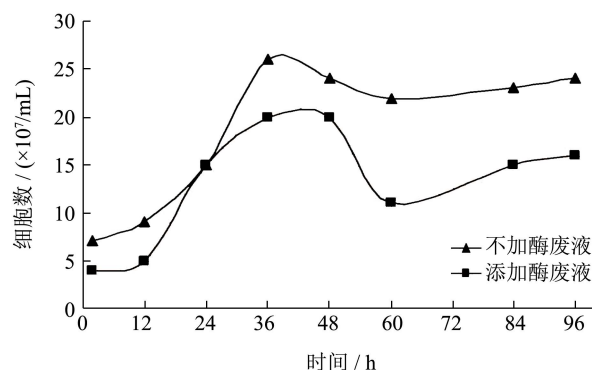


图3 酵母在木薯酒精发酵过程中的生长曲线

Fig.3 Growth curve of yeast during alcoholic fermentation of cassava

3 结论

3.1 本研究分析了液化和糖化对酒精发酵的影响。通过试验确定了酒精生产的最佳液化时间为 70 min，糖

化时间为 40 min, 既保证了完全液化和糖化, 又降低了能耗, 具有实际生产意义。实验表明, 添加酶废液不仅解决了环境污染问题, 而且还提高了酒精的产量, 降低了生产成本, 对实际生产具有重要意义。结果表明, 每吨酒精生产中添加酶废液可节约淀粉酶 1320 mL (2 万 U/mL) 和糖酶 316.8 mL (1 万 U/mL), 且无需添加磷酸二氢铵、硫酸镁、尿素等营养盐。

3.2 当前, 木薯酒精发酵技术被广泛研究, 但要使木薯酒精成为具有市场竞争力的生物能源, 必须降低木薯酒精的生产成本。将酶制剂废液用于木薯酒精发酵是本研究的一个突破, 使淀粉利用率得以提高, 社会效益得以扩大, 另外, 用酶废液代替淀粉酶和糖酶, 还可以降低成本。本文所作研究结果对木薯燃料酒精的工业化应用具有一定的借鉴作用。同时, 本研究为提高酶制剂工业废液综合利用, 增效减排也有深远的意义。

参考文献

- [1] 陆家禛, 罗燕春, 文峰. 木薯固定化酵母酒精发酵技术的研究进展[J]. 农业研究与应用, 2013, 4: 56-58
LU Jia-zhen, LUO Yan-chun, WEN Feng. Research progress on alcohol Fermentation technology of cassava immobilized yeast [J]. Agricultural Research and Application, 2013, 4: 56-58
- [2] 岳军, 徐友海, 王继艳, 等. 木薯酒精渣的预处理及补料同步糖化发酵制取乙醇[J]. 化工进展, 2018, 37(1): 276-282
YUE Jun, XU You-hai, WANG Ji-yan, et al. Pretreatment of cassava alcohol residues and ethanol production by simultaneous saccharification and fermentation [J]. Advance in Chemical Industry, 2018, 37(1): 276-282
- [3] Ilaria Benucci, Vittorio Fiorelli, Claudio Lombardelli, et al. Kinetic characterization of arginase from *Saccharomyces cerevisiae* during alcoholic fermentation at different temperatures [J]. LWT - Food Science and Technology, 2017, 82(1): 268-273
- [4] 钟坤, 谭德冠, 孙雪飘, 等. 木薯淀粉生料发酵生产酒精研究[J]. 中国农学通报, 2014, 30(6): 119-123
ZHONG Kun, TAN De-guan, SUN Xue-piao, et al. Research on ethanol production by cassava starch fermentation [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(6): 119-123
- [5] Marco Antônio Campos Benvença, André Felipe Henriques Librantz, José C Curvelo Santana, et al. Genetic algorithm applied to study of the economic viability of alcohol production from cassava root from 2002 to 2013 [J]. Journal of Cleaner Production, 2016, 113: 483-494
- [6] Fabíola Azanha de Carvalho, Ana Paula Bilck, Fabio Yamashita, et al. Baked foams based on cassava starch coated with polyvinyl alcohol with a higher degree of hydrolysis [J]. Journal of Environmental Polymer Degradation, 2018, 26(4): 1-8
- [7] 张树河, 李海明, 吴松海, 等. 木薯淀粉制燃料酒精的技术研究[J]. 福建农业学报, 2010, 2: 163-166
ZHANG Shu-he, LI Hai-ming, WU Song-hai, et al. Research on the technology of cassava Starch to fuel alcohol [J]. Acta Agriculturae Fujian, 2010, 2: 163-166
- [8] Jirasak Kongkiattikajorn. Production of amylase from *Saccharomyces diastaticus* sp. and hydrolysis of cassava pulps for alcohol production [J]. Journal of Agricultural Science and Technology B, 2012, 2(8): 909-918
- [9] 朱元芳, 张华, 王旭初, 等. 木薯块根贮藏物质的研究进展[J]. 热带农业科学, 2006, 26(1): 64-68
ZHU Yuan-fang, ZHANG Hua, WANG Xu-chu, et al. Advances in cassava root storage [J]. Science of Tropical Agriculture, 2006, 26(1): 64-68
- [10] Josemar Raimundo da Silva, Pery Francisco Assis Shikida, Stefan Hoppe. Economic and financial analysis of distillery for alcohol from cassava establishing [J]. Revista Brasileira de Gestão Urbana, 2009, 1(2): 245-257
- [11] Lee Tin Sin, W A W A Rahman, A R Rahmat, et al. Determination of thermal stability and activation energy of polyvinyl alcohol - cassava starch blends [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 83(1): 303-305
- [12] 冯波, 刘族安. 利用木薯淀粉及木薯酒精工业废水制备车用生物天然气及其纯化技术[J]. 轻工科技, 2014, 2: 79-80, 104
FENG Bo, LIU Zu-an. Preparation and purification of autobiogas from cassava starch and cassava alcohol wastewater [J]. Light Industry Science and Technology, 2014, 2: 79-80, 104