

文章编号:1673-1689(2009)03-0413-05

## 新鲜木薯直接转化生产乙醇

段钢<sup>1</sup>, 许宏贤<sup>1</sup>, 阮振华<sup>1</sup>, Jay Shetty<sup>2</sup>

(1. 无锡杰能科生物工程有限公司, 江苏 无锡 214028; 2. 美国杰能科生物工程有限公司, Palo Alto, 美国)

**摘要:**介绍了利用新鲜木薯生产乙醇的新工艺:用真菌 $\alpha$ 淀粉酶和降粘酶预处理新鲜木薯浆液,后加入颗粒淀粉水解酶 STARGEN<sup>TM</sup>进行酵母酒精发酵。该工艺可直接利用新鲜木薯进行酒精发酵;相比传统高温工艺,该发酵新工艺过程中新鲜木薯浆液粘度显著降低,有更多可发酵性糖被利用,并且最终发酵效率显著提高。

**关键词:**新鲜木薯;发酵;乙醇

**中图分类号:**TS 201.25

**文献标识码:**A

### Direct Conversion of Fresh Cassava Root to Ethanol

DUAN Gang<sup>1</sup>, XU Hong-xian<sup>1</sup>, RUAN Zhen-hua<sup>1</sup>, Jay Shetty<sup>2</sup>

(1. Genencor, A Danisco Division, Wuxi 214028, China; 2. Genencor, Palo Alto, America)

**Abstract:**In this study, a novel process for directly convert the granular starch of fresh cassava roots to alcohol was described. Viscosity reducing enzymes and a fungal alpha amylase are used during pre-treatment stage, followed by adding granular starch hydrolyzing enzymes during yeast fermentation. The results proven that the novel process can decreased viscosity, make more fermentable sugar utilized and increased the fermentation d fermentation efficiency.

**Key words:** fresh cassava, fermentation, ethanol

为降低对石油的依赖和使用石油对环境产生的负面影响,利用农业原料特别是谷物原料生产燃料乙醇正成为一种趋势。同时木薯生产国也在积极探索用木薯生产乙醇<sup>[1-5]</sup>。表 1 是玉米和木薯的化学组成比较<sup>[6]</sup>,容易看出被誉为“淀粉含量之王”的木薯,其淀粉含量比目前最受欢迎的燃料乙醇淀粉生产原料玉米的要高出很多(以干重计),而蛋白质和脂肪含量要低很多(以干重计)。两者的灰分含量基本没有差异,而粗纤维含量木薯干要高于玉米,这可能是木薯干不容易被生淀粉水解酶水解的

原因之一。表 2 是玉米和木薯生产乙醇的经济性分析<sup>[7]</sup>,从中容易看出淀粉含量很高的木薯是乙醇生产非常适宜的原料。

目前在乙醇工业生产中主要使用木薯干,而鲜木薯加工成木薯干的传统干燥过程非常消耗人力、物力,且该过程的能耗也很高。用该工艺得到的木薯干通常质量较差,容易被真菌或细菌污染,且干燥过程中由于淀粉易与纤维结合使得淀粉的利用率降低<sup>[8,9]</sup>。当前利用木薯干为原料来生产乙醇的传统工艺如图 1 所示。

收稿日期:2008-05-15

作者简介:段钢(1966-),男,辽宁沈阳人,工学博士,杰能科亚太技术总监,主要从事工业酶应用与开发。

Email: Gang · Duan@Danisco. com

表1 玉米和木薯干的化学组成比较

Tab.1 Chemical composition of corn grain and cassava chips

成分	质量分数/%	
	玉米	木薯干
水分	7~23	7~11
淀粉	64~78	75~85
蛋白	8~14	1.5~3
脂肪	3.1~5.7	0.2
灰分	1.1~3.9	2~4
粗纤维	1.8~3.5	3~4

表2 玉米和木薯生产乙醇的经济性分析

Tab.2 Corn and cassava ethanol production economic

经济指标	木薯	玉米
每公顷产量/t	25	11
每吨作物价格/\$	25	81
每公顷作物收入/\$	625	900
每吨作物糖产量/kg	270	675
每公顷作物糖产量/t	6.8	7.5
每吨作物酒精产量/L	151	379
每公顷作物酒精产量/L	3 785	4 207
每升酒精原料成本/\$	0.17	0.21
每升酒精副产品收益/\$	-0.017	-0.063
每升酒精生产过程费用/\$	0.21	0.16
每升酒精生产成本/\$	0.36	0.31
L 酒精的收益计算(每公顷土地按 0.6 \$)/\$	1363	1311

先用充分粉碎的木薯干粉配制干物质质量浓度为 20-30 g/dL 的醪液,然后调节 pH 至 5.8-6.2,加入耐高温  $\alpha$  淀粉酶(如丹尼斯克子公司杰能科公司的 SPEZYME XTRA),加热木薯醪液至 75~85℃,维持 20~45 min;将醪液升温在 105~107℃ 下保持 3~5 min 后降温维持在 95~100℃;再次加入耐热  $\alpha$  淀粉酶,在 95~100℃ 下保持 90~120 min 得到液化液。将液化液降温至 60℃,用硫酸调整 pH 值至 4.2 后加入糖化酶(如丹尼斯克子公司杰能科公司的乙醇生产用酶 G Zyme™ 480),进一步冷却至 32℃ 加入活性干酵母进行发酵,通过传统的蒸馏方式将乙醇从发酵液中分离出来。

木薯酒精糟是以木薯为原料生产酒精的副产物,通常水分含量较高,营养价值低,特别是粗纤维很难被利用,容易造成环境的污染,同时极有可能

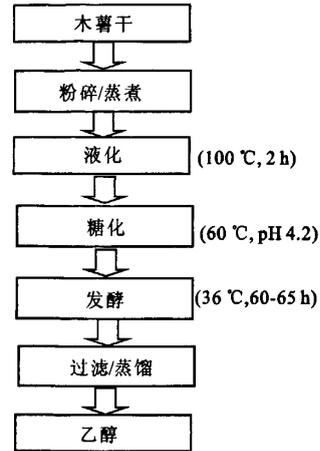


图1 木薯干生产乙醇传统工艺

Fig. 1 Conventional Process for alcohol production using cassava chips

导致动物酒精中毒。而利用好氧发酵、纤维素酶酶解等方法处理木薯酒精糟,生产饲料可以较好的解决这些问题,大大提高其利用价值和范围。综上所述,若利用新鲜木薯直接转化法生产乙醇,无疑可以克服木薯加工处理过程中出现的诸如干燥、高温蒸煮过程耗能巨大、原料变化导致产率下降等问题。由于新鲜木薯自身含有质量分数超过 75% 的水分,在研磨制浆及进一步加工处理生产乙醇的过程中只需要加少量的水。但新鲜木薯不易贮存,生产乙醇过程中存在粘度较大等问题。作者介绍应用生料颗粒淀粉水解酶(STARGEN™ 001)一步法发酵新鲜木薯生产乙醇的新工艺。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 原料

新鲜木薯来自泰国,品种为 Rayong 9 (CST-RU, Bangkok),其化学组成如表 3 所示。

表3 新鲜木薯化学组成

Tab.3 Chemical composition of fresh cassava root

成分	质量分数/%
水分(湿重)	70.3
淀粉	21.5
游离糖(蔗糖、葡萄糖、果糖)	5.1
蛋白质	0.5~2.0
脂肪	0.05
粗纤维	0.5~2.0
灰分	0.5~2.0

STARGEN™ 001: 由源自 *Aspergillus kaw*

chi 的  $\alpha$ -淀粉酶和来自黑曲霉的糖化酶复合;耐热真菌淀粉酶 GC626:来源于 *Aspergillus kawachi*;高温  $\alpha$  淀粉酶 SPEZYME XTRA:来源于地衣芽孢杆菌;糖化酶 G-ZYME 480:来源于黑曲霉、地衣芽孢杆菌和里氏木霉;降粘酶 LAMINEX™ Super:来源于木霉

1.2 方法

1.2.1 STARGEN™001 工艺直接转化新鲜木薯生产乙醇 STARGEN™ 001 直接转化新鲜木薯生产乙醇的工艺流程图如图 2 所示。将新鲜木薯洗净切块,加入少量水进行匀浆粉碎,通过孔径为 0.9 mm 的筛子,再用质量分数为 26% 的硫酸将新鲜木薯醪液的 pH 调至 5.0。加入杰能科公司的耐热真菌淀粉酶 GC626 和降粘酶 LAMINEX™ Super 在 60 ℃ 进行预处理 2 h。将已经经过预处理的木薯醪液冷却至 32 ℃,调整 pH 至 4.0。每个摇瓶中加入 200 g 新鲜木薯醪液,发酵过程中恒定磁力搅拌速度为 150 r/min,以新鲜木薯中水分质量分数 70% 计,分别加入 0.75 kg/MT STARGEN™001 和质量分数为 0.24% 的高活性酿酒干酵母进行发酵。发酵过程中定期取样,采用 HPLC 色谱法分析糖和乙醇的质量分数。

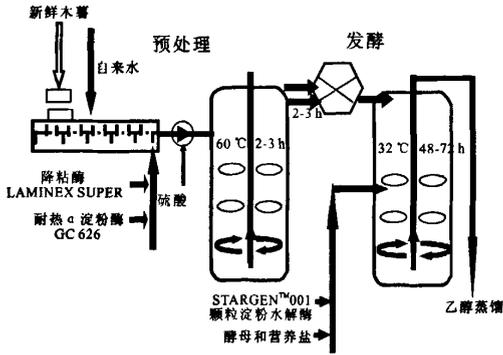


图 2 STARGEN™001 工艺直接转化新鲜木薯生产乙醇

Fig. 2 STARGEN™ 001 Process in the direct conversion cassava root to alcohol

1.2.2 HPLC 色谱分析 将发酵液取样进行 HPLC 高压液相色谱分析。HPLC 分析条件:Bio-Rad Aminex HPX-87H, 426610 柱 D 7.8 mm × 300 mm;柱温为 60 ℃;流动相为 0.01 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶液;体积流量为 0.6 mL/min;RI 检测器;检测温度为 60 ℃;进样量为 20 μL。

1.2.3 乙醇蒸馏 取 100 mL 发酵结束后的发酵液进行传统酒精蒸馏,控制馏出液的体积在 100 mL 左右,定容,用酒精度计测量其酒精含量并且校正到标准温度 20 ℃。

万方数据

2 结果与讨论

2.1 传统工艺和 STARGEN™001 工艺木薯醪液粘度比较

由于新鲜木薯醪液含有较多的非淀粉类多糖如  $\beta$ -葡聚糖和果胶类物质,导致新鲜木薯醪液粘度很大,这是利用新鲜木薯为原料来生产乙醇的瓶颈之一。新鲜木薯醪液的高粘度容易引起料液混合、液化、糖化及发酵等存在较大困难,特别是大规模发酵的操作难题,这无疑会增加操作成本。因此,对于新鲜木薯酒精发酵,需要使用非淀粉类多糖水解酶如纤维素酶、 $\beta$  葡聚糖酶和果胶酶等来降低其粘度从而使相关操作可行。降粘酶 LAMINEX™ Super 包含多种酶活性,能够有效地水解非淀粉质多糖、破坏细胞结构,从而大幅降低新鲜木薯醪液的粘度。

传统工艺过程:将新鲜木薯洗净后粉碎匀浆,将 pH 调至 5.6,加入耐热  $\alpha$  淀粉酶 SPEZYME XTRA 在沸水浴中进行液化至碘试合格。将液化液冷却至 32 ℃,调 pH 至 4.2。每个三角瓶装量为 200 g。

STARGEN™M001 工艺过程:将新鲜木薯洗净后粉碎匀浆,将 pH 调至 pH 5.0,加入降粘度酶 LAMINEX™ Super、耐热  $\alpha$  淀粉酶 GC626 在 60 ℃ 水浴中进行预处理。预处理结束后将醪液冷却至 32 ℃,调 pH 至 4.2。每个三角瓶装量为 200 g。

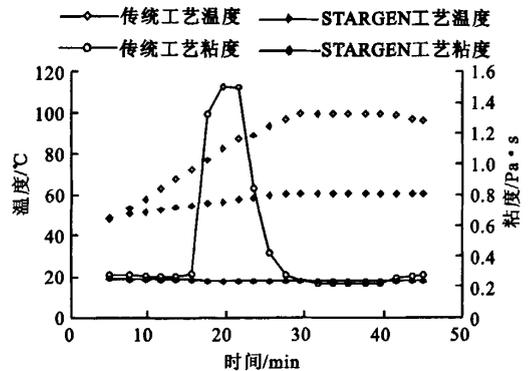


图 3 STARGEN™001 工艺和传统工艺对木薯醪液粘度的影响

Fig. 3 Viscosity profile of STARGEN™ 001 process and conventional process

图 3 所示的是 STARGEN™ 001 生料工艺和传统高温蒸煮工艺过程中木薯醪液粘度的变化。空心的点表示传统高温蒸煮工艺过程中粘度和温度的变化;实心的黑点所连曲线表示 STARGEN™001 生料工艺过程中处理温度和相应醪液粘度的变

化趋势。如图 3 所示的研究结果,在传统高温蒸煮工艺中,木薯淀粉糊化导致木薯醪液粘度急剧增高,峰值可达到 1.5 Pa·s,如此高粘度的醪液很难进行工业化操作。而 STARGEN™001 生料工艺整个过程中木薯醪液的粘度一直保持在较低水平,并且此过程中的粘度最高值仍低于传统高温工艺中的粘度最低值。STARGEN™001 生料工艺过程中木薯醪液的粘度显著低于传统高温蒸煮工艺过程。总体上,传统高温蒸煮工艺需要大量热能使不溶性淀粉颗粒溶解,而 STARGEN™001 生料工艺可以在低于淀粉糊化温度的条件下进行催化,STARGEN™001 复合酶包括 α 淀粉酶和糖化酶,两者能协同作用于颗粒淀粉,在颗粒淀粉上钻孔或将淀粉颗粒一片片削落,缓慢释放葡萄糖,使发酵顺利进行。STARGEN™001 工艺可以去除传统工艺中淀粉糊化、液化所需的高能耗,提供更经济的葡萄糖来生产乙醇和/或其它生物制品。由于预处理和发酵可以在同一个反应器中同时进行,因此 STARGEN™001 工艺可以有效地降低新工厂的固定资产投资。

图 4 所示的是 STARGEN™001 生料工艺中添加 LAMINEX™ Super 对木薯醪液粘度的改善作用。黑色连线表示木薯醪液处理温度的变化趋势,空心点表示添加 GC626 和 LAMINEX™ Super 的条件下木薯醪液粘度的变化,黑色的实心点表示只添加 GC626,不添加 LAMINEX™ Super 的研究条件下木薯醪液粘度的变化趋势。由图 4 可见,在 STARGEN™001 生料工艺中添加 LAMINEX™

Super 降粘酶,新鲜木薯醪液的粘度能够得到进一步改善。

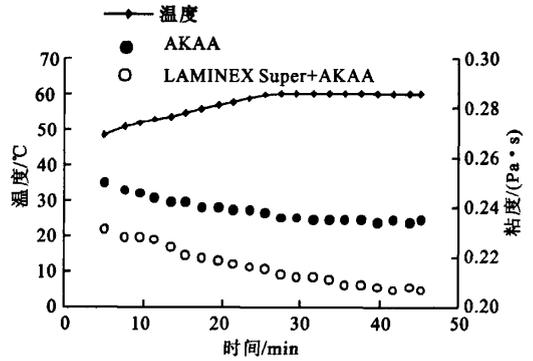


图 4 预处理工艺中 LAMINEX™ Super 对木薯醪液粘度的影响

Fig. 4 STARGEN™ 001 process viscosity profile of the slurries with and without LAMINEX™ Super

### 2.2 传统工艺和 STARGEN™001 工艺酒精产量比较

分别采用传统工艺和 STARGEN™001 工艺发酵生产乙醇,在 66 h 左右停止发酵,收集发酵液进行 HPLC 色谱分析,同时进行酒精蒸馏,结果见表 4。与传统工艺相比,STARGEN™001 生料工艺可以显著提高乙醇的产量,具体来说,在不添加 LAMINEX™ Super 的情况下,传统工艺一吨鲜木薯产体积分数为 95.5%乙醇 210 L,STARGEN™001 生料工艺为 220 L,对于添加 LAMINEX™ Super 而言,传统工艺中鲜木薯乙醇的产出为 216 L/t,STARGEN™001 生料工艺为 228 L。

表 4 新鲜木薯发酵液 HPLC 色谱分析和乙醇蒸馏结果

Tab. 4 HPLC analysis and ethanol distillation results of fresh cassava root fermentation broth

不同工艺对比	质量浓度/(g/dL)										乙醇产率/(L/t)(以新鲜木薯计)
	三糖以上	三糖	二糖	葡萄糖	果糖	琥珀酸	乳酸	甘油	乙酸	乙醇	
GC 626 0.16 kg/MT STARGEN™ 0.75 kg/MT	0.30	0.00	0.02	0.00	0.00	0.13	0.09	0.72	0.00	8.66	220
GC 626 0.16 kg/MT STARGEN™ 0.6 kg/MT	0.20	0.00	0.02	0.00	0.00	0.12	0.08	0.68	0.00	8.55	217
GC 626 0.16 kg/MT+ 0.2 kg/MT LAMINEX Super STARGEN™ 0.75 kg/MT	0.19	0.02	0.03	0.02	0.02	0.12	0.09	0.70	0.01	8.52	228
GC 626 0.16 kg/MT+ 0.2 kg/MT LAMINEX Super STARGEN™ 0.6kg/T	0.18	0.02	0.03	0.00	0.00	0.12	0.09	0.70	0.01	8.55	215
不添加 LAMINEX Super	0.18	0.02	0.07	0.07	0.10	0.09	0.07	0.65	0.01	8.56	210
添加 LAMINEX Super	0.42	0.03	0.24	0.11	0.10	0.09	0.06	0.64	0.01	8.60	216

如表4所示,STARGEN™001生料工艺中葡萄糖的质量浓度在整个发酵过程中一直维持在很低的水平(低于0.02 g/dL)。在酵母的对数生长期,葡萄糖的质量浓度维持在低水平有利于酵母的繁殖,有利于限制杂菌的生长。利用STARGEN™001生料工艺使得在醪液粘度很低的水平下进行浓醪发酵成为可能。醪液中固形物含量的低溶出和葡萄糖质量浓度的低水平,可以大大降低酵母生长环境的渗透压,可以大幅度提高酒精的产出。同时,低的渗透压有助于酵母减少发酵副产物如甘油或/和其它醇类的产生,有助于发酵效率的提高。

### 2.3 传统工艺和STARGEN™001工艺乙醇蒸馏过程泡沫水平比较

将新鲜木薯乙醇发酵液进行传统的蒸馏测定分析。准确量取100 mL发酵醪液,加入100 mL蒸馏水进行蒸馏。在开始蒸馏之前,打开冷凝水,将100 mL的接收量筒置于冷凝器下。打开电炉,开始加热蒸馏。在蒸馏过程中随时调解电炉火力大

小,保证蒸馏平稳进行,保证没有溢出等异常情况发生。

通过比较传统工艺和STARGEN™001生料工艺所得到的发酵液在乙醇蒸馏过程之间的差异,较明显的是泡沫水平,而泡沫的高低直接影响蒸馏的效率和可操作性。在乙醇蒸馏过程中,传统工艺所得发酵液的泡沫要远远高于STARGEN™生料工艺所得到的发酵液。

## 3 结 语

STARGEN™001生料工艺为新鲜木薯直接进行酒精发酵提供了可能,该工艺无需将新鲜木薯制成木薯干片,减少可发酵性糖的损失,生产过程能耗低,提高酒精产量,粉碎和加工过程中水耗低。

致谢:泰国SIAM Chemical and CSTRU提供了新鲜木薯样品,谨在此表示感谢。

## 参考文献(References):

- [1] Ernesto J del Rosario, Roberto L Wong. Conversion of dextrinized cassava starch into ethanol using cultures of *Aspergillus awamori* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Enzyme Microb Technol*, 1984, 6:60-64.
- [2] Rubo Leng, Chengtao Wang, Cheng Zhang, et al. Life cycle inventory and energy analysis of cassava based Fuel ethanol in China[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2008, 16:374-384.
- [3] Zhiyuan Hu, Piqiang Tan, Gengqiang Pu. Multi-objective optimization of cassava based fuel ethanol used as an alternative automotive fuel in Guangxi, China[J]. *Applied Energy*, 2006, 38:819-840.
- [4] Du Dai, Zhiyuan Hu, Gengqiang Pu, et. al. Energy efficiency and potentials of cassava fuel ethanol in Guangxi region of China[J]. *Energy Conversion and Management*, 2006, 47:1686-1699.
- [5] Thu Lan T Nguyen, Shabbir H Gheewala. Fossil energy, environmental and cost performance of ethanol in Thailand[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2008, 1-8.
- [6] Watson S A. Corn and Sorghum Starches; Production in Starch. Chemistry and Technology[M]. New York: Academic Press, 1984.
- [7] Gang Duan, Sophia Xu, Bruce Ruan, et al. Direct conversion of Fresh Cassava root to Alcohol, 58 th Detmold Bioethanol Technology Meeting and Starch Convention[C]. Detmold, 2008.
- [8] K A Jacques, TP Lyons, D R Kelsall. The Alcohol Textbook[M]. Nottingham: Nottingham University Press, 2003.
- [9] A J Alexander Essers, Remco M Van der Grift, Alphons G J Voragen. Cyanogen removal from cassava roots during sun-drying[J]. *Food Chemistry*, 1996, 55(4):319-325.

(责任编辑:朱明)