

橡子粉乙醇化试验条件研究

栾泰龙, 郑焕春, 李淑玲, 赵禹宁 (黑龙江省牡丹江林业科学研究所, 黑龙江牡丹江 157009)

摘要 [目的] 研究优化橡子粉发酵乙醇的试验条件。[方法] 以采于牡丹江林口的橡子为原料, 以乙醇浓度为指标, 通过单因素和正交试验考察发酵时间、接种量、转速及发酵温度 4 个因素对橡子粉发酵后乙醇浓度的影响。[结果] 试验确定了各因素对原料发酵的影响程度大小依次为: 发酵时间、发酵温度、转速、接种量; 橡子粉发酵生产乙醇的最佳条件: 发酵液接种量 3%, 摇床转速 120 r/min, 发酵温度 32 ℃, 发酵时间为接种培养开始至 96 h 结束, 此条件下橡子粉的酒精转化率约为 16.37%。[结论] 研究可为橡子原料量化生产燃料乙醇奠定基础。

关键词 橡子; 乙醇化; 试验研究

中图分类号 S789.7 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)26-323-03

Experimental Study on the Acorn Powder Ethanol
LUAN Tai-long, ZHENG Huan-chun, LI Shu-ling et al (Mudanjiang Forestry Science Research Institute in Heilongjiang Province, Mudanjiang, Heilongjiang 157009)

Abstract [Objective] To optimize experimental conditions of ethanol fermentation by acorn powder. [Method] With acorn collected from Linkou, Mudanjiang as raw material, ethanol concentration as indicator, through single factor and orthogonal test, the effects of fermentation time, inoculation amount, rotation speed and fermentation temperature on ethanol concentration were investigated. [Result] The order of influence factors is; fermentation time, fermentation temperature, rotation speed, inoculation amount; the optimal conditions ethanol fermentation by acorn powder are; fermentation broth 3%, shaking speed 120 r/min, fermentation temperature 32 ℃, fermentation time 96 h, under the above conditions, alcohol conversion rate of acorn powder is about 16.37%. [Conclusion] The research can lay the foundation for the production of fuel ethanol with acorn.

Key words Acorn; Ethanol; Experimental study

橡子种仁中淀粉含量高, 是良好的淀粉质原料, 也是代替粮食作物制备燃料乙醇的理想来源。东北林区橡实资源丰富, 利用橡子作为燃料乙醇的原料, 可充分利用林区非林木资源生产清洁燃料, 节约大量粮食。因此, 以橡子为原料发酵生产燃料乙醇是橡子较好的利用途径之一。

橡子淀粉经糖化处理后转化为可供酵母发酵的糖类(主要是单糖及部分二糖和三糖), 其后通过酵母对糖化液进行乙醇化发酵。发酵时, 酵母主要通过糖酵解途径进行同型酒精发酵, 即由 EMP 途径代谢产生丙酮酸并经过脱羧释放 CO₂, 在这个过程中, 中间产物乙醛被还原成乙醇, 同时释放出热量。

笔者对橡子粉发酵乙醇的试验条件进行研究, 通过试验确定了具体条件对原料发酵的影响程度, 橡子粉以最佳条件发酵生产乙醇, 能提高橡子淀粉的酒精转化率, 为橡子原料量化生产燃料乙醇奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌种及原料。供试菌种南阳 6 号, 由黑龙江省微生物研究所提供。原料橡子, 采于牡丹江林口, 晒干后脱壳, 粉碎后烘干备用。

1.1.2 主要试剂。葡萄糖、酵母膏、蛋白胨等均为分析纯; 淀粉酶, 5 000 U/g, 北京东华强盛试剂有限公司; 糖化酶, 50 000 U/g, 湖南省津市市新型发酵有限公司。

1.1.3 主要仪器。JG200 型多功能粉碎机, 上海广沙工贸有

限公司; 电子天平, 梅特勒-托利多公司; 手提式压力蒸汽灭菌器, 浙江新丰医疗器械有限公司; 电热恒温水浴锅, 上海一恒科学仪器有限公司; 摇床, 上海智城分析仪器制造有限责任公司; 糖度计、温度计等。

1.1.4 菌种活化培养基。蛋白胨 2%, 酵母膏 1%, 葡萄糖 2%, pH 6.0(固体培养基加琼脂 1.5%~2.0%), 115 ℃ 灭菌 15 min。发酵液制备: 取经过处理的橡子粉 20 g, 将橡子粉水解后配制成发酵液, 调节 pH 为 6.0, 并分装于 250 ml 三角瓶中, 冷却后在无菌条件下接入活化好的酵母菌种。

1.2 方法

1.2.1 单因素试验。以乙醇浓度为指标, 考察发酵时间、接种量、转速及发酵温度 4 个单因素对发酵后乙醇浓度的影响。发酵时间的考察范围为 48~96 h; 接种量的考察范围为 1%~3%; 转速的考察范围为 80~120 r/min; 发酵温度的考察范围为 28~36 ℃。

1.2.2 正交试验。在单因素试验的基础上, 以乙醇浓度为考察目标, 选定发酵时间、接种量、转速、温度为考察因素, 设计 4 因素 3 水平 L₉(3⁴) 正交试验。各因素和水平见表 1。

表 1 正交试验因素水平设计

水平	因素			
	发酵时间 (A) // h	接种量(B) %	转速(C) r/min	发酵温度 (D) // ℃
1	48	1	80	28
2	72	2	100	32
3	96	3	120	36

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 发酵时间对乙醇浓度的影响。固定种液接种量为

2%, 温度为 28 ℃, 转速为 80 r/min, 以乙醇浓度为指标, 考察 48、72、96 h 不同发酵时间对发酵的影响。由图 1 可见, 发酵到 48 h 时, 乙醇浓度值较低, 发酵速率慢, 处于酵母发酵的前期, 乙醇浓度较低的原因可能是菌体利用其葡萄糖进行自身的生长; 48~72 h 时, 乙醇浓度增长迅速, 发酵速率增加, 此时发酵速率最快, 为主发酵期; 从 72~96 h 时, 乙醇浓度增长趋于平缓, 发酵速率变化不大, 可以看出发酵时间对橡子原料发酵的影响较大。

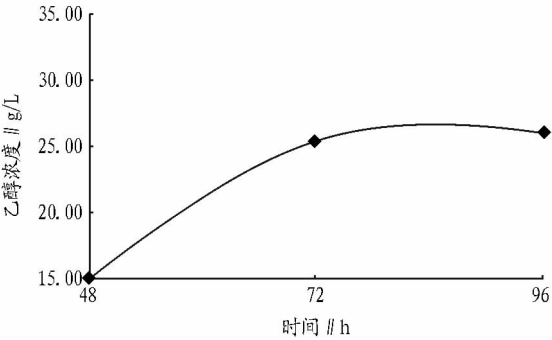


图 1 发酵时间对乙醇浓度的影响

在发酵过程中, 如果时间太短, 会造成发酵液中糖分的利用不完全, 残糖量较高, 原料利用率低; 而发酵时间过长, 则会引起产物分解, 酒精挥发, 过多副产物会抑制发酵进行, 不利于酒精的积累。因此发酵时间在 72~96 h 范围内较适宜。

2.1.2 接种量对乙醇浓度的影响。固定发酵时间为 72 h, 温度为 28 ℃, 转速为 80 r/min, 以乙醇浓度为指标, 考察 1%、2%、3% 不同接种量对发酵的影响。由图 2 可见, 随着接种量增加, 乙醇浓度增加; 接种量在 1%~2% 范围时, 乙醇浓度随着接种量的增加增长较快; 接种量在 2%~3% 范围时, 乙醇浓度随着接种量的增加而缓慢增长, 此时菌种主要利用发酵液中葡萄糖进行自身菌体生长。接种量过多或过少, 都会影响菌体发酵作用, 接种量太小, 会延长发酵周期、降低酵母菌种活力; 接种量过大, 易导致菌种衰老, 不利于酒精高产。因此选择接种量在 2%~3% 为较适宜的接种范围, 保证在较短的发酵周期内得到较高的乙醇产率。

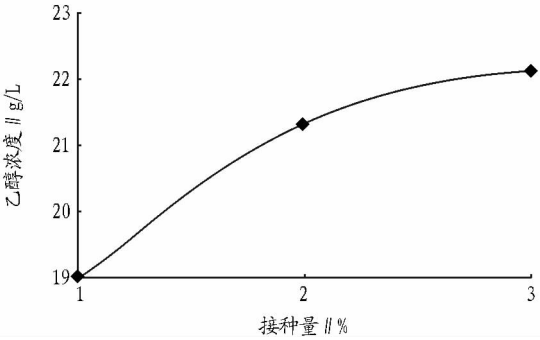


图 2 接种量对乙醇浓度的影响

2.1.3 不同转速对乙醇浓度的影响。转速在发酵过程中也会对发酵结果产生一定影响, 增加摇床转速会增加营养物质在酵母细胞的传递流动性, 促进生成的乙醇向胞外释放, 减

小酒精对酵母细胞抑制作用, 但过高的转速会增加发酵液对酵母细胞的剪切力, 从而影响发酵活性。

固定发酵时间 72 h, 温度 28 ℃, 接种量 2%, 以乙醇浓度为指标, 考察 80、100、120 r/min 不同转速对发酵的影响。由图 3 可见, 在低供氧条件下, 酵母发酵葡萄糖产生少量乙醇, 乙醇产量随着转速增加而不断增加, 当转速为 100~120 r/min 时, 乙醇含量趋于平缓, 残葡萄糖浓度下降缓慢。因此, 转速宜选择在 100 r/min 左右。

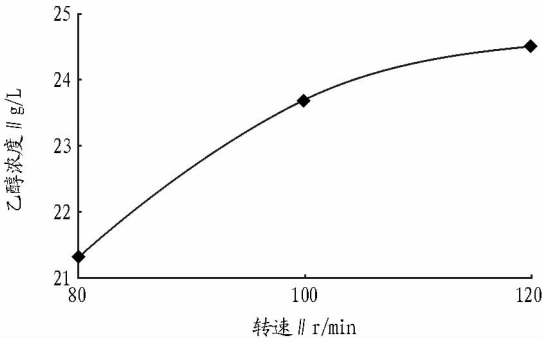


图 3 转速对乙醇浓度的影响

2.1.4 不同温度对发酵结果的影响。固定发酵时间 72 h, 接种量 2%, 摇床转速 100 r/min, 以乙醇浓度为考察指标, 比较不同发酵温度对发酵的影响。由图 4 可见, 起初乙醇浓度随着温度的升高而升高, 温度为 32 ℃左右时, 酵母菌发酵生产乙醇能力最佳, 随着温度进一步升高, 菌体发酵产生乙醇能力下降, 葡萄糖出现剩余, 说明酵母在 36 ℃以上温度时的发酵情况较差。试验表明了温度也是影响酵母生长和酒精代谢酶系统的重要因素, 酵母在较低温度下生长受到抑制, 乙醇产量相应较低, 温度过高, 酵母细胞的酶活性受到明显影响。因此, 该试验发酵温度宜选择在 32 ℃左右是适于酵母生长和酶活性较高的温度。

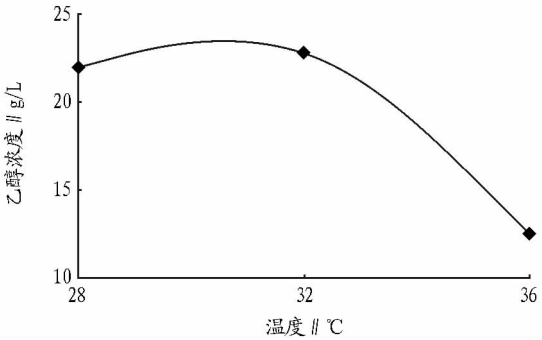


图 4 温度对乙醇浓度的影响

2.1.5 其他影响因素。通常情况下, 较低的初始 pH 会抑制酵母细胞的生长, 影响营养物质在发酵基质与细胞之间的交换, 较高的 pH 会增加感染杂菌几率, 两者都会导致乙醇浓度偏低。该试验中, 橡子粉在制备发酵液前经过水解糖化过程, pH 调节为 6.0, 降低了 pH 对后续发酵的影响。

综上所述, 发酵时间、接种量、发酵温度、摇床转速等都是影响发酵效果的重要指标, 通过单因素试验初步确定了各参数的最佳范围, 在这样的条件下进行发酵可以获得较高的

酒精产率。

2.2 正交试验结果 改变发酵温度、时间、接种量等条件,测定不同发酵条件下所能得到的乙醇浓度,并通过对试验水平的筛选得到最佳组合条件,使发酵后的乙醇浓度达到最大,正交试验结果见表 2。

由表 2 的极差分析结果可以看出,对橡子粉发酵产生乙醇浓度的影响顺序大小依次为:A、D、C、B,即发酵时间、发酵温度、转速、接种量,最优组合为 A₃B₃C₃D₂。发酵时间和发酵温度是影响橡子淀粉发酵后乙醇产量的主要因素。

表 2 正交试验结果

试验号	因素				乙醇浓度 g/L
	发酵时间 (A)	接种量 (B)	转速 (C)	发酵温度 (D)	
1	1	1	1	1	11.34
2	1	2	2	2	18.15
3	1	3	3	3	12.63
4	2	1	2	3	13.42
5	2	2	3	1	20.52
6	2	3	1	2	18.94
7	3	1	3	2	26.05
8	3	2	1	3	14.21
9	3	3	2	1	25.26
k ₁	14.040	16.937	14.830	19.040	
k ₂	17.627	17.627	18.943	21.047	
k ₃	21.840	18.943	19.733	13.420	
极差 R	7.800	2.006	4.903	7.627	

2.3 最佳试验条件的验证 由正交试验结果分析得出发酵最优条件组合为 A₃B₃C₃D₂,即发酵时间 96 h,接种量 3%,转速 120 r/min,发酵温度 32 ℃。通过试验验证,在此条件下发酵后乙醇浓度值约为 26.83 g/L,其值是各组中最高的。

2.4 酒精转化率的计算 由上述试验得到橡子粉发酵后的乙醇浓度值约为 26.83 g/L,此时,以粗淀粉产率为 62.10% 计算,利用橡子粉发酵乙醇的酒精转化率约为 16.37%。

酒精转化率(%) = [酒精体积(ml) × 酒精度(%)] / 淀粉含量(g) × 100%

3 结论

通过单因素及正交设计试验结果确定了试验条件对发酵结果的影响程度大小依次为:发酵时间、发酵温度、转速、接种量。橡子淀粉发酵生产乙醇的最优组合条件为,发酵液接种量 3%,摇床转速为 120 r/min,发酵温度为 32 ℃,发酵时间为接种培养开始至 96 h 结束,在该条件下橡子粉的酒精转化率约为 16.37%。

参考文献

[1] 范红岩,宫殿良. 橡子发酵转化燃料乙醇的工艺研究[J]. 化学工程师, 2013(5):76-78.
[2] 程荷芳,卫民,蒋剑春,等. 橡子淀粉性质及酶解液化条件的优化[J]. 食品科技,2010(10):102-105.
[3] 韩梅,戴速航,林荣峰,等. 甜菜乙醇发酵条件的研究[J]. 可再生能源, 2010(4):72-75.
[4] 谢碧霞,李安平,田玉峰,等. 响应面法优化橡实淀粉生料发酵生产燃料酒精工艺[J]. 中南林业科技大学学报,2010(12):92-97.
[5] 梁玮,施翔星. 木薯干发酵生产燃料乙醇潜力研究[J]. 中外能源,2010(5):31-34.

(上接第 308 页)

衡型、劣势型 3 大类,在此基础上利用产业结构有序度测度模型测算三次产业产业结构类型的产业结构有序度,并进行分析评价。根据类型划分及产业结构合理性评价结果,对比以往研究成果及云南省 25 个边境县域实际情况,该研究具有一定的科学性。首先,云南省 25 个边境县域中,经济发展最好、竞争力最强的为腾冲县、景洪市,与实际相符;其次,劣势型产业结构类型县域产业结构极为不合理,产业结构发育层次低、模式多样、演进混乱,阻碍了县域经济又好又快发展,但其经济社会基础比劣势型产业结构型县域要好。

随着“桥头堡”战略及国家级开放开发区建设的推进,“中缅石油管道”的运营,云南省边境县域经济社会发展迎来机遇,打破经济发展瓶颈,依据自身特点制定发展计划,形成特色,促进边境县域经济社会发展又好又快。产业结构类型划分及合理性评价影响因素众多,进行相关研究很难做到全面、系统,该研究选取指标是根据云南省边境县域实际情况及数据的可获取性进行取舍,研究方法具有一定的科学性,但在推广到其他区域研究时有待进一步完善。

参考文献

[1] 李继云,孙良涛. 云南产业结构与经济增长关系的实证分析[J]. 工业技术经济,2005,24(8):90-91.
[2] 史红亮,蒋永宁. 云南省地州(市)产业竞争力比较分析[J]. 云南农业大学学报(社会科学版),2008(4):10-12.
[3] 骆华松,谢洪忠. 云南省高新技术产业及支柱产业发展分析[J]. 云南财贸学院学报,2002,18(3):51-56.
[4] 王丽红,骆华松,杨琳,等. 云南省经济增长与产业结构的区域差异与协调性分析[J]. 工业技术经济,2011(3):15-24.
[5] 杨艳俊,骆华松,刘韬,等. 县域产业结构空间差异分析:以昆明市为例[J]. 工业技术经济,2012(3):82-88.
[6] 杨艳俊,骆华松,柳德江,等. 基于偏离-份额空间拓展模型的云南省边境县域经济空间差异分析[J]. 世界地理研究,2012,21(4):48-56.
[7] NAZARA S, HEWINGS G J D. Spatial structure and taxonomy of decomposition in shiftshare analysis[J]. Growth and change,2004,35:476-490.
[8] 吴继英,赵喜仓. 偏离-份额分析法空间模型及其应用[J]. 统计研究, 2009,26(4):73-79.
[9] 刘思峰. 我国产业结构的有序度研究[J]. 经济动态,2014(5):53-56.
[10] 简新华,李雪. 新编产业经济学[M]. 北京:高等教育出版社,2009:127-130.
[11] 刘俊娟,李炳军. 河南省产业结构有序度的测度与分析[J]. 工业技术经济,2006(8):45-48.
[12] 胡荣,陈圻,袁鹏. 江苏省产业结构有序度的测度与分析[J]. 统计与决策,2008(1):114-115.
[13] 张金水. 可计算非线性动态投入产出模型[M]. 北京:清华大学出版社,2000.