

## 亚硫酸盐废液中戊糖己糖同步酒精发酵中间试验

勇 强 余世袁 刘 琦 刘明生

(南京林业大学 南京 210037)

**关键词** 亚硫酸盐废液, 戊糖, 己糖, 酒精, 发酵

**分类号** Q939.97 **文献标识码** A **文章编号** 1000-3061(1999)01-0124-27

木材在亚硫酸盐法制浆过程中, 占木材干重 20%~30% 的半纤维素降解成单糖而溶于废液中, 废液中单糖的利用, 不仅能够充分利用生物质资源, 而且对于后续产品木质素的深加工十分必要。废液中糖主要由己糖和戊糖组成, 近年来, 随着阔叶材在制浆原料中的比例不断增加, 废液中戊糖的比例随之增加, 达 60% 左右。传统工业中只能发酵己糖的酿酒酵母已经不适合废液的酒精发酵。采用 1 株戊糖、己糖同步酒精发酵菌种休哈塔假丝酵母 R, 能将废液中的戊糖、己糖同步发酵成酒精。本文在前期研究的基础上, 建立一套亚硫酸盐废液中试发酵工艺, 为该技术的工业放大提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 菌种

休哈塔假丝酵母 R (*Candida shehatae* R)<sup>[1]</sup>, 来源于美国标准菌种库库藏菌株 *Candida shehatae*, ATTC 22984 于 4℃ 在斜面培养基上保存。

#### 1.2 亚硫酸盐制浆废液

固形物为 9.0%~10.0% 的杨木、白松亚硫酸盐制浆废液, 蒸发浓缩到 13.0%~15.0%, 石灰乳中和至 pH 值 5.20~5.50, 澄清后用于发酵。

#### 1.3 间歇发酵

亚硫酸盐废液的酒精发酵在 5 m<sup>3</sup> 发酵罐中进行。种母扩大培养达到所需浓度后, 在发酵罐中加入种母和营养盐, 流加中和液至 4 m<sup>3</sup>, 通入少量空气发酵, 搅拌转速 200 r/min, 温度 38 ± 1 (℃)、发酵周期 18~22 h。发酵结束后, 醪液经离心机分离, 酵母浓液返回到发酵罐进行下一轮发酵。

#### 1.4 分析方法

比重法测定酒精浓度; 单糖浓度的测定在 Waters HPLC234 高效液相色谱仪上用 Bio-Rad HPX-87P 糖柱 (7.8 mm × 300 mm) 测定; 醋酸、糠醛浓度的测定在 GC-7A 气相色谱仪上进行, 采用 80~100 目 Porapak-PS 玻璃填充柱分析<sup>[2]</sup>。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 间歇发酵

亚硫酸盐制浆废液浓缩后 pH 值为 2~3, 经真空浓缩和石灰乳中和后, 发酵抑制物大大减少。在 5 m<sup>3</sup> 发酵罐中, 休哈塔假丝酵母 R 发酵 pH 值 5.20~5.50、含糖 25.0~26.0 g/L 的亚硫酸盐废液, 控制通风量为 0.4~0.8 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>·h, 使得发酵液中溶解氧浓度维持在 0.9~1.0 mg/L。表 2 是休哈塔假丝酵母

收稿日期: 1997-12-19, 修回日期: 1998-07-08。

R 对亚硫酸盐废液 10 批发酵结果。

休合塔假丝酵母转化 1 g 戊糖可生成 0.46 g 酒精,1g 己糖可得 0.5 lg 酒精<sup>[3]</sup>。由表 1 知,废液在湿酵母重 29~32g/L 和适当通风的条件下连续发酵 10 轮,发酵结果稳定。22h 可将废液中单糖从 25.0~26.0g/L 降至 1.9~2.6g/L,糖利用率达 89%~93%左右,酒精浓度达 1.15%~1.38%(φ),酒精得率是理论得率的 81%~94%。

表 1 亚硫酸盐制浆废液 5 m<sup>3</sup> 发酵结果

No.	t/h	Moist yeast density (g·L <sup>-1</sup> )	pH	Sugar conc. (g·L <sup>-1</sup> )	Ethanol conc. /%	Utilization of sugars /%	Ethanol yield/ Theoretical yield /%
1	22	30	5.47	3.00	1.150	88.6	80.9
2	22	24	5.78	2.69	1.187	90.0	82.1
3	22	30	6.10	2.59	1.263	90.2	87.7
4	22	30	6.13	2.40	1.160	90.7	82.3
5	22	31	6.18	1.99	1.382	92.5	93.6
6	22	31	6.04	2.00	1.363	92.4	93.5
7	18	31	5.74	1.91	1.263	89.1	88.8
8	22	32	5.70	1.82	1.230	93.1	84.0
9	22	32	5.40	2.21	1.214	91.5	84.7
10	22	29	5.48	2.61	1.224	90.0	86.4

亚硫酸盐制浆废液戊糖、己糖酒精发酵小试是在 1.5L、带有 6 叶平直轮搅拌器的发酵罐中进行的,完成一个发酵周期需 34h。本次工厂试验中,发酵罐采用空气分散与溶解效果较好的涡轮空气分散轮,与小试发酵罐相比,其结构更适合于亚硫酸盐废液的酒精发酵。因此,工厂试验完成一个发酵周期仅需 22h,酒精得率与理论得率之比也优于小试结果<sup>[4]</sup>。从试验结果可知,工厂试验不仅验证了小试结果,而且实现了从实验室向工业化的过渡,为进一步工业放大提供了理论依据。

2.2 典型发酵分析

间歇发酵过程中,发酵液中湿酵母重、单糖浓度、酒精浓度、pH 值等随时间变化规律如图 1 和表 3。

由图 1 和表 3 可知,在 5m<sup>3</sup> 发酵罐中,休哈塔假丝酵母 R 发酵亚硫酸盐制浆废液,酵母浓度维持在 29~32 g/L 之间,发酵过程中 pH 值、单糖和酒精浓度的变化规律与小试一致<sup>[5]</sup>。发酵 22 h 可将单糖从 26.3 g/L 降至 1.91 g/L,糖利用率为 92.7%,酒精浓度达 1.36%,酒精得率是理论得率的 93.5%。从酒精浓度变化曲线知,酒精浓度随着糖的不断消耗而逐渐提高,发酵 22h 残糖浓度为 1.91g/L 时,酒精浓度达到 1.36% 的最高值,继续延长发酵时间,糖浓度基本保持不变,而酒精浓度却随发酵时间的延长而

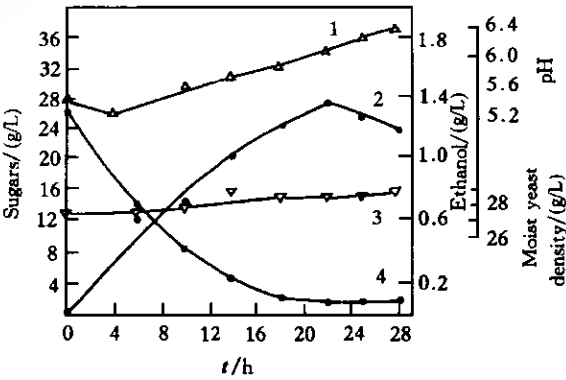


图 1 5m<sup>3</sup> 发酵各参数随时间变化规律

●—● Total sugars, ▲—▲ pH,  
○—○ Ethanol, △—△ Moist yeast density

降低,这是由于在发酵后期,残糖浓度低时,酵母可利用酒精作为碳源<sup>[4]</sup>,因此,控制一定的发酵时间对于获得最大的酒精浓度十分重要。

表 2 5 m<sup>3</sup> 发酵过程中单糖浓度随时间变化规律

Monosaccharides	t/h					
	0	6	10	14	18	22
Glucose	2.52	0	0	0	0	0
Mannose	6.49	0	0	0	0	0
Galactose	1.93	1.69	1.36	1.12	0.69	0.48
Xylose	14.57	11.63	6.38	3.30	1.09	0.90
Arabinose	0.80	0.80	0.70	0.61	0.58	0.53
Total	26.31	14.12	8.44	5.03	2.36	1.91

单位:(g/L)

与传统的酒精发酵不同,休哈塔假丝酵母 R 发酵亚硫酸盐制浆废液过程中,发酵液 pH 值在发酵前期略有下降,随着废液中糖的不断消耗,pH 值呈大幅度上升,这是由于在发酵后期糖浓度低的情况下,酵母还利用废液中的酸性非糖还原物和醋酸等作碳源<sup>[5]</sup>,从而导致 pH 值在发酵后期上升。

由表 2 知,休哈塔假丝酵母可将废液中各种单糖同步代谢成酒精,酵母对废液中各种单糖的利用速度依次为葡萄糖和甘露糖、木糖、半乳糖、阿拉伯糖。酵母利用葡萄糖和甘露糖的速率很快,0~6h 就被消耗,而酵母在发酵前期利用木糖速率慢,因为酵母在木糖诱导下合成代谢木糖的酶需要一个过程。酵母利用阿拉伯糖的速率最慢,一般认为,休哈塔假丝酵母利用阿拉伯糖仅仅作为碳源而维持自身的新陈代谢<sup>[6]</sup>。

### 3 结 论

杨木、白松混合亚硫酸盐制浆废液中单糖含量为 25.0~26.0g/L,其中 58.4% 是戊糖,休哈塔假丝酵母 R 在 38±1℃、“限制性供氧”条件下可将废液中的戊糖、己糖同步发酵成酒精。

在 5 m<sup>3</sup> 发酵罐中,亚硫酸盐制浆废液经休哈塔假丝酵母发酵 22 h,废液中还原糖从 25.0~26.0 g/L 降到 1.9~2.6 g/L,糖利用率达 89%~93% 左右,酒精浓度达 1.15%~1.38% (ρ),酒精得率是理论得率的 81%~94%。

休哈塔假丝酵母可同时利用亚硫酸废液中的戊糖和己糖,但对各种单糖的利用速率不同,休哈塔假丝酵母利用各种单糖的速率依次为葡萄糖和甘露糖、木糖、半乳糖、阿拉伯糖。

### 参 考 文 献

- [1] S. Yu, K. Wayman, K. Sarad. *Biotechnol. Bioeng.*, 1987, 29(7): 1144~1150.
- [2] 余世袁. 色谱, 1990, 8(2): 119~120.
- [3] C. S. Gong, G. T. Tsao. In: H. E. Duckworth Eds, *Conversion of D-xylose to Ethanol by yeasts*, 1983, 525~555.
- [4] 勇 强. 林产化学与工业, 1995, 15(1): 9~14.
- [5] 勇 强. 南京林业大学学报, 1994, 18(4): 73~78.
- [6] J. P. Delgenes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1988, 29: 155~161.

## A Pilot Scale of Ethanol Fermentation for Simultaneous Utilizing Pentoses and Hexoses in Spent Sulfite Liquor

Yong Qiang Yu Shiyuan Liu Qi Liu Minsheng

(Nanjing Forestry University, Nanjing 210037)

**Abstract** Pentoses and hexoses in spent sulfite liquor were fermented to ethanol simultaneously with a pentose-fermentable yeast *Candida shehatae* R in a batch system based on the results of 1.5 L fermentor. The spent sulfite liquor was neutralized to pH 5.20~5.50, followed by fermentation for 22 h at  $38^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  controlling the amount of air supply in  $5\text{m}^3$  fermentor. The concentration of sugars in the spent liquor was decreased from 25.0~26.0 g/L to 1.9~2.6 g/L, with a sugars consumption of 89%~93%. The final ethanol concentration was 1.15%~1.38%, which is 81%~94% of the theoretical yield.

**Key words** Spent sulfite liquor, pentose, hexose, ethanol, fermentation