

木薯发酵丙酮丁醇工艺优化与放大

沈兆兵¹, 刘 钺¹, 杜风光^{1,2}, 陈 波¹, 张宏武¹, 董青山¹, 李荣秀²

(1. 河南天冠企业集团有限公司车用生物燃料技术国家重点实验室, 河南 南阳 473000;
2. 上海交通大学, 上海 200240)

摘要:通过对木薯和玉米原料的成分分析,发现木薯原料中氮质量分数明显低于玉米中的氮质量分数,进一步的实验证明,木薯原料中氮质量分数低是影响产丙酮丁醇的主要原因。设计了木薯原料直接用于丙酮丁醇发酵的工艺并通过添加氮源进行优化,丙酮丁醇产量约 20 g/L,与纯玉米原料相当,可节省原料成本 20% 以上。在 5 t 和 50 t 发酵罐上中试放大,完全可以重复小试研究结果。

关键词:丙酮丁醇;木薯;氮源;产量;经济性;中试

中图分类号:TQ923

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2011)10-0069-03

Optimization and enlargement of acetone-butanol fermentation process from cassava

SHEN Zhao-bing¹, LIU Yue¹, DU Feng-guang^{1,2}, CHEN Bo¹, ZHANG Hong-wu¹,
DONG Qing-shan¹, LI Rong-xiu²

(1. State Key Laboratory of Motor Vehicle Biofuel Technology, Henan Tianguan Group Co., Ltd.,
Nanyang 473000, China; 2. Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: The nitrogen content in cassava is much lower than that in corn by analyzing the component of cassava and corn. The low nitrogen content in cassava has great influence on the generation of acetone-butanol. Therefore, the acetone-butanol fermentation process from cassava was designed and optimized by adding nitrogen source. The production of acetone-butanol is about 20 g/L when adding nitrogen source to the cassava. Compared with the fermentation process from corn, the feedstock cost from cassava can be saved by about 20%. The result of lab is tested successfully in the pilot plant of 5 and 50 tons of fermentation tanks as well.

Key words: acetone-butanol; cassava; nitrogen; yield; economy; pilot plant

丙酮、丁醇和乙醇都是重要的有机溶剂和化工原料,广泛应用于喷漆、炸药、塑料、制药、植物抽提取及有机玻璃、合成橡胶等工业。丙酮可作为制造醋酸纤维素胶片薄膜、塑料和涂料的溶剂,又可用于生产甲基丙烯酸甲酯(MMA)、双酚 A、醇醛缩合物等化工产品。丁醇是新一代的生物燃料,与现有的生物燃料相比,丁醇与汽油的混合比更高,无需对车辆进行改造,同时具有显著的环境效益,能降低温室气体的排放,因此,丁醇在未来的运输燃料结构中将会占有重要的比重。乙醇是良好的有机溶剂和消毒剂,其杀菌作用较快,消毒效果可靠,对人体刺激性小,无毒,对物品无损害,多用于皮肤消毒以及医疗器械临床的消毒。

随着石油资源的日趋枯竭以及人类对环保要求的不断提高,丙酮丁醇的发酵法生产越来越得到各国研究机构和企业的重视,过去主要是用玉米和糖蜜 2 种原料,但是前者成本很高,后者资源紧张,因此原料成本成为了制约发酵生产和石油化工法生产

的竞争能力,影响其产业化的主要原因。针对这种情况,现在很多科研机构、企业都在大量研究,开始尝试用其他非粮淀粉质原料和玉米混合发酵,在一定程度上降低生产成本。另外,也有人在研究利用秸秆等纤维素质水解液发酵丙酮丁醇,但技术还不成熟,成本过高。

针对目前的问题,本文研究了单独用木薯原料不能够发酵丙酮丁醇的原因,提出了木薯原料直接用于丙酮丁醇发酵的工艺并优化,和玉米发酵相比,大大降低了发酵成本,为现阶段丙酮丁醇的产业化奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 培养基

(1) 平板培养基:葡萄糖 4 g/100 mL;蛋白胨 0.6 g/100 mL;醋酸铵 0.3 g/100 mL;酵母粉 0.2 g/100 mL;硫酸镁 0.02 g/100 mL;磷酸氢二钾 0.05 g/100 mL;硫酸亚铁 0.001 g/100 mL;琼脂

收稿日期:2011-05-05;修回日期:2011-06-29

基金项目:国家“863”计划项目(2011AA02A208)

作者简介:沈兆兵(1978-),男,硕士,工程师,研究方向为生物丁醇、生物乙醇,021-50797772-803,shenzhaobing@gmail.com。

2.5 g/100 mL, pH 6.8。

(2) 试管种子培养基: 5 g/100 mL 的玉米醪。

(3) 玉米发酵培养基: 8 g/100 mL 的玉米醪。

(4) 木薯培养基: 8 g/100 mL 的木薯, 硫酸铵, 氯化铵, 稀氨水, 尿素, 麸皮, 豆粕。

1.2 培养基配制方法

玉米试管培养基: 称取一定量的玉米粉按照 5 g/100 mL 的比例加水糊化, 121℃ 蒸煮灭菌 1 ~ 1.5 h。

玉米发酵培养基: 称取一定量的玉米粉按照 8 g/100 mL 的比例加水糊化, 121℃ 蒸煮灭菌 1 ~ 1.5 h。

木薯发酵培养基: 称取一定量的木薯粉等按照 8 g/100 mL 的比例加水添加氮源糊化, 121℃ 蒸煮灭菌 1 ~ 1.5 h。

1.3 发酵方法

蒸煮灭菌后的培养基冷却到 38℃, 接试管种, 接种量在 3%, 37 ~ 38℃ 条件下, 静置培养。

1.4 分析方法

(1) 玉米、木薯成分分析

淀粉质量分数测定采用淀粉酶糖化酶酶解, 然后用费林法滴定还原糖质量分数, 再计算得到淀粉质量分数^[1]。蛋白质质量分数测定采用 BUCHI 凯氏定氮仪测定蛋白质量分数。脂肪测定采用 BUCHI 脂肪测定仪测定脂肪质量分数。纤维素测定采用 FOSS 的木质纤维素测定仪测定纤维素质量分数。灰分测定马弗炉煅烧后测定灰分。水分测定利用水分测定仪测定。

(2) 发酵溶剂测定

溶剂分析采用岛津气象色谱仪测定, 色谱柱用 restek 毛细管柱, 汽化温度 200℃, 载气为氮气, 数据分析采用岛津气相色谱工作站的分析软件。

(3) 糖的测定

发酵醪和发酵液盐酸水解后用费林法滴定分析。

2 结果与讨论

2.1 玉米和木薯原料的成分分析

玉米是丙酮丁醇发酵的理想培养基, 而单独木薯发酵结果远不及玉米, 但是在木薯原料中混合一定比例玉米粉就可以同玉米原料一样正常发酵, 为了弄清楚木薯原料不能单独发酵丙酮丁醇的原因, 对玉米和木薯原料的成分进行了分析比较, 结果如表 1。

表 1 玉米和木薯的化学成分质量分数比较 %

项目	淀粉	蛋白质	脂肪	纤维素	灰分	水分
玉米	65.00 ~ 70.00	12.50	4.50	2.50	1.40	12.50
木薯	72.00 ~ 76.00	2.60	0.80	3.30	2.40	13.70

从表 1 中结果可知, 玉米中的蛋白质和脂肪要明显高于木薯原料, 氮质量分数这一指标可能是影响丙酮丁醇菌种不能在木薯培养基中正常生长的主要原因, 也就是木薯原料的碳氮比不适合丙酮丁醇菌的生长发酵。

2.2 验证碳氮比对木薯发酵的影响

针对 2.1 分析的原料成分结果, 首先利用木薯进行实验, 进行发酵验证, 对照组为单纯玉米培养基和单纯木薯培养基, 实验组是木薯中添加无机氮源硫酸铵发酵, 结果如表 2。

表 2 验证碳氮比对木薯发酵丙酮丁醇的影响

项目	丙酮质 量浓度/ g·L ⁻¹	乙醇质 量浓度/ g·L ⁻¹	丁醇质 量浓度/ g·L ⁻¹	总溶剂质 量浓度/ g·L ⁻¹	残糖质 量分数/ %	糖利用 率/%
玉米粉	4.73	1.39	13.82	19.94	0.45	92.51
玉米粉	4.77	1.38	14.27	20.42	0.39	92.58
玉米粉	4.80	1.27	14.17	20.24	0.41	91.85
木薯	1.29	0.41	4.87	6.57	3.52	37.49
木薯	1.12	0.30	4.30	5.72	4.33	31.58
木薯	1.16	0.26	4.25	5.67	3.71	36.52
添加硫酸铵	4.37	1.47	12.9	18.74	0.51	91.86
添加硫酸铵	4.18	1.31	13.59	19.08	0.48	92.48
添加硫酸铵	4.25	1.29	13.40	18.94	0.43	91.95

从表 2 的结果可以看出, 单纯木薯发酵总溶剂产量以及糖利用率明显低于玉米发酵, 残留总还原糖质量浓度明显高于玉米发酵, 镜检菌体生长明显不及玉米培养基中的菌体状态, 综合这些可以看出, 单纯木薯培养基不适合丙酮丁醇菌的生长发酵。木薯添加硫酸铵的实验组中总溶剂产量、糖利用情况均比单纯木薯发酵理想, 和玉米发酵结果相当。

2.3 优化木薯发酵丙酮丁醇的碳氮质量比

从 2.2 的结果中糖的利用率可以明显看出, 木薯原料的碳氮比不匹配是影响丙酮丁醇菌发酵的主要因素。为了进一步提高木薯发酵丙酮丁醇的产量, 降低氮源成本, 对碳氮比做进一步的优化, 氮元素的用量分别为培养基初始糖质量分数的 0.3%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、3.0%、5.0%, 结果如表 3。

表 3 木薯培养基中不同氮源量对发酵的影响

项目	丙酮质	乙醇质	丁醇质	总溶剂质	残糖质	糖利用 率/%
	量浓度/ g·L ⁻¹	量浓度/ g·L ⁻¹	量浓度/ g·L ⁻¹	量浓度/ g·L ⁻¹	量分数/ %	
0.3%	3.72	0.91	11.89	16.52	1.12	79.64
0.5%	4.03	1.01	12.77	18.01	0.81	85.27
1.0%	4.59	1.03	14.06	19.68	0.40	92.73
1.5%	4.44	0.86	12.98	18.28	0.69	87.46
2.0%	3.97	0.87	11.95	16.79	1.08	80.36
3.0%	3.13	0.82	11.31	15.26	1.48	73.09
5.0%	2.01	0.65	7.31	9.97	2.81	48.91

由表 3 中的结果可知,当氮元素的用量为初始糖质量分数的 1.0%,发酵总溶剂产量最高,糖利用率 92.73%,当氮元素的量偏低和偏高都会影响菌体的生长和丙酮丁醇发酵的正常进行,碳氮比对丙酮丁醇发酵的影响很大。

2.4 木薯中添加不同的氮源对丙酮丁醇发酵的影响

前面的实验结果,证明了氮含量低是影响木薯正常发酵丙酮丁醇的主要原因,硫酸铵是一种合适的外加氮源。为了拓展外加氮源的种类,降低木薯发酵丙酮丁醇的成本,在木薯原料中添加不同的氮源进行发酵实验,结果见表 4。

表 4 木薯中添加不同的外加氮源对丙酮丁醇发酵的影响

项目	丙酮质	乙醇质	丁醇质	总溶剂质	残糖质	糖利用 率/%
	量浓度/ g·L ⁻¹	量浓度/ g·L ⁻¹	量浓度/ g·L ⁻¹	量浓度/ g·L ⁻¹	量分数/ %	
木薯	1.80	0.65	6.45	8.90	3.51	35.21
添加麸皮	4.41	2.01	12.78	19.20	0.56	92.35
添加豆粕	5.36	1.81	13.21	20.38	0.45	93.51
添加米糠	4.89	1.91	13.01	19.81	0.58	91.82
添加氯化铵	4.21	1.74	14.02	19.97	0.61	91.57
添加氨水	5.13	3.34	12.01	20.48	0.42	93.45
添加尿素	3.33	3.31	14.30	20.94	0.38	93.89

从表 4 中的结果可以看出,木薯发酵丙酮丁醇,外加氮源可以是无机氮也可以是有机氮,在外加不同氮源的木薯培养基中,菌种可以正常的生长,丙酮丁醇的产量明显高于不加氮源的单纯木薯发酵,达到玉米原料的发酵水平。

2.5 木薯和玉米发酵的成本比较

从表 5 中的数据可以看出利用木薯发酵丙酮丁醇大大降低了发酵法生产丙酮丁醇的原料成本,缓解了粮食资源紧张问题,为丙酮丁醇的发酵法生产起到了极大的推动作用。

表 5 玉米和木薯原料发酵丙酮丁醇的原料成本对比

原料	项目	用量/t	单价/元·t ⁻¹	金额/元
玉米	玉米	4.5	1700	7650
	成本			7650
木薯	木薯	4.5	1300	5850
	25%氨水	0.1	800	80
	成本			5930
木薯	木薯	4.5	1300	5850
	氯化铵	0.1	700	70
	碳酸钙	0.2	500	100
	成本			6020
木薯	木薯	4.5	1300	5850
	硫酸铵	0.1	700	70
	碳酸钙	0.2	500	100
	成本			6020

2.6 中试实验

利用前面小试实验得到的实验结果,在 5 t 和 50 t 发酵罐上进行中试放大验证,验证实验结果见表 6。

表 6 丙酮丁醇梭菌 5 t 和 50 t 罐发酵放大验证

项目	丙酮质	乙醇质	丁醇质	总溶剂质	残糖质	糖利用 率/%
	量浓度/ g·L ⁻¹	量浓度/ g·L ⁻¹	量浓度/ g·L ⁻¹	量浓度/ g·L ⁻¹	量分数/ %	
5 t 罐	5.13	3.34	12.01	20.48	0.35	95.64
5 t 罐	4.36	2.21	12.72	19.29	0.24	92.76
50 t 罐	4.87	2.25	12.49	19.61	0.37	93.85
50 t 罐	3.33	3.31	14.30	20.94	0.56	92.13

从表 6 中结果看出,5 t 和 50 t 罐放大发酵实验完全可以验证小试发酵的结果。

3 结论

通过木薯原料和玉米原料的成分分析,以及发酵培养基工艺的研究,确定木薯原料中氮质量分数低是影响其发酵生产丙酮丁醇的主要原因,补加外加氮源后,木薯原料和玉米原料一样适合丙酮丁醇的正常发酵,外加的氮源可以是无机氮源也可以是有机氮源,氮元素的补加量根据木薯原料中的氮质量分数不同而有相应的变化。通过经济性分析比较,用木薯为原料比玉米原料发酵成本可以节省 20% 以上,小试实验结果在 5 t 和 50 t 发酵罐中放大,完全可以重复小试研究结果。

在目前,玉米类粮食资源紧张,秸秆类资源研究还不够成熟的情况下,木薯资源成功地用于丙酮丁醇的生产可以有效地降低发酵原料成本,有力地推动了发酵法丙酮丁醇的产业化。■