

橡实淀粉生料酒酒精发酵与传统酒精发酵的能耗和成分组成比较

李安平^{1,2}, 田玉峰¹, 谢碧霞¹, 林亲录^{1,2}

(1. 中南林业科技大学, 湖南 长沙 410004; 2. 粮食深加工与品质控制湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410004)

摘要:对橡实淀粉酒精生料发酵法和传统酒精发酵法的酒精转化率、能耗和发酵醪液的组成成分进行比较研究。结果表明: 生料发酵法与传统发酵法在酒精转化率方面没有显著性差异 ($P > 0.05$), 但生料发酵省去了蒸煮、液化和糖化等几道工序, 减少了能耗。以 50 g 橡实为原料加工成酒精, 生料发酵法比传统发酵法节省热能消耗 182.215 kJ。HPLC 及 GC-MS 色谱显示, 生料发酵法与传统发酵法相比, 两者所产酒精量接近, 但酒精质量更高。

关键词:橡实淀粉; 生料发酵; 能耗; GC-MS

中图分类号: TQ223.12⁺2 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2012)05-1032-07

Comparison of the Energy Consumption and Composition of Acorn Starch Alcoholic Fermentation of Two Materials

LI An-ping^{1,2}, TIAN Yu-feng¹, XIE Bi-xia¹, LIN Qin-lu^{1,2}

(1. Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China; 2. Food Processing and Quality Control Key Laboratories of Hunan Province, Changsha 410004, China)

Abstract: The alcohol conversion rate, energy consumption and the composition of alcoholic fermentation liquid of uncooked and cooked acorn starch were investigated. The results showed that: the alcohol fermentation conversion rates of the two materials were not significantly different ($P > 0.05$), and the uncooked acorn starch fermentation eliminated the need for cooking, liquefaction and saccharification, reducing energy consumption. Processing 50 g acorns into ethanol saved 182.215 kJ compared with the whole process of fermentation process. HPLC and GC-MS chromatogram showed that the uncooked fermentation method, compared with the traditional fermentation method, produced a similar amount of alcohol, but its quality was higher.

Key words: acorn starch; uncooked fermentation; energy consumption; GC-MS

燃料酒精一般通过微生物发酵制得, 可以是原料经过蒸煮糖化后发酵(传统发酵法), 也可以是无蒸煮直接生料发酵(生料发酵法)^[1]。原料蒸熟糊化需要消耗一定的能源和相应的设备投入, 而生料发酵法却可利用生淀粉直接发酵, 而无需糊化和糖化等工序, 相对而言操作工序更为简便^[2-3]。在酒精发酵产物中, 除主要的酒精和二氧化碳外, 同时也产生多种副产物, 包括醇(杂醇油、甲醇、丙醇)、醛(巴豆醛、乙醛)、酸(丁酸、醋酸)、酯(乙酸甲酯、乙酸乙酯)等 4 类^[4]。这些副产物主要与所用原料、酵母菌种和发酵途径有关, 其含量高低影响着酒精质量。

收稿日期: 2012-03-14 修回日期: 2012-05-11

基金项目: 国家林业局林业公益性行业科研专项(200804033)和湖南省科技计划项目(2010NK3040)

作者简介: 李安平(1967—), 男, 教授, 博士, 主要从事林副产品深加工研究, E-mail: lianpinglianping@yahoo.com.cn。

橡实是泛指除大量栽培种板栗以外的壳斗科(Fagaceae)植物种仁的总称^[5]。我国橡实资源非常丰富,年产橡实估计在60~70亿kg。橡实种仁中淀粉含量高达50%~75%,然而大多数橡实种仁苦涩味重,不能直接食用,实际利用较少。以橡实淀粉为原料生产生物燃料酒精则是一条较好的利用途径。栓皮栎是橡实中较具代表性的品种,因此,本文以栓皮栎为原料发酵生产燃料酒精,比较生料发酵与传统发酵间在工艺参数、能耗和化学成分等方面的差异,以期为橡实燃料酒精发酵工艺生产提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

菌种:耐高温型酿酒活性干酵母,湖北安琪酵母股份有限公司。原料:栓皮栎(*Quercus variabilis* Blume)采自湖南省南岳衡山。酶制剂:糖化酶5000 U/mL,上海瑞丰生物工程有限公司;α-淀粉酶5000 U/mL,无锡赛德生物工程有限公司;酸性蛋白酶20000 U/g,无锡杰能科生物工程有限公司。

标样:无水乙醇为AR级,葡萄糖、果糖、乳酸、琥珀酸、甘油和乙酸均为HPLC级。主要实验仪器与amp;设备采用LC-20A高压液相色谱仪:日本岛津公司;Agilent 7890A气质联用仪:Agilent公司。

1.2 发酵方法

1.2.1 生料发酵工艺 橡实淀粉(50 g)→加水调配→同时加入α-淀粉酶、糖化酶、酸性蛋白酶、酵母菌株→发酵→蒸馏→酒精。

1.2.2 传统发酵工艺 橡实淀粉(50 g)→加水调配→蒸煮→冷却→液化→糖化→调pH→接种→发酵→蒸馏→酒精。

1.3 酒精浓度和酒精转化率的测定^[6]

取100 mL成熟的发酵醪液到蒸馏瓶中,加100 mL水,混匀后蒸馏。馏出液到100 mL时,用酒精比重计测定馏出液中的酒精浓度。

酒精转化率 = [酒精体积(mL) × 酒精体积分数(%)] / 淀粉含量(g) × 100%

1.4 发酵醪液组分的测定^[6-9]

色谱条件:流动相0.01 mol/L H₂SO₄;流量0.7 mL/min;柱温60 °C;进样量20 μL。

样品的预处理:将发酵醪液稀释100倍后,准确量取2 mL稀释后的发酵醪液,经5000 r/min离心10 min后取上清液,经0.22 μm水系膜过滤后进样。

1.5 发酵醪液挥发性组成的测定^[8-9]

质谱条件:(质谱仪默认条件)电离方式:EI⁺;发射电流:200 μA;电子能量:70 eV;接口温度:250 °C;离子源温度:200 °C;检测器电压:350 V。

色谱条件:起始温度35 °C,保留时间3 min,升温速率5 °C/min,停止温度50 °C,升温速率6 °C/min,停止温度130 °C,升温速率:10 °C/min,停止温度230 °C,保留时间8 min。

进样条件:进样温度250 °C;载气He;载气流量0.8 mL/min。

样品处理:固相微萃取,取10 mL样品置于15 mL顶空瓶中,45 °C水浴,用100 μm PDMS萃取头吸附40 min后,自动进样,解析3 min。

结果处理:化合物的定量使用Hewlett-Packard软件按峰面积归一化法计算各峰峰面积的相对百分含量,并根据上述条件下获得的MS图谱,结合色谱保留规律,与NIST谱库作对比,确定化合物成分。

1.6 热量计算方法^[10]

(1) 水吸收热量 Q_c 计算公式为: $Q_c = C \cdot m \cdot \Delta t$

其中: Q_c 为热量, kJ; C 为水的比热容, 4.2 kJ/(kg · °C); m 为质量, kg; Δt 为变化的温度, °C。

(2) 水散热量 Q_u 计算公式为: $Q_u = U \cdot A \cdot \Delta T \cdot h$

其中: Q_u 为热量, kJ, 不考虑热辐射、对流等因素影响; U 为空气与水间之热传系数, 50 W/(m² · K); A 为接触表面积, m²; ΔT 为变化的温度, °C; h 为传热时间, h。

(3) 各个工艺段所需热量 Q 为醪液达到一定温度所需热量与恒温时段所需补充的热量之和。即: $Q = Q_c + Q_u$ 。

(4) 蒸煮工段消耗热量 Q : $Q = Q_c + Q_u = Cm\Delta t + UA\Delta Th$

(5) 液化工段消耗热量 Q : 液化时,不需要将醪液从 25 °C 加热到 60 °C,只需从蒸煮后的 100 °C 冷却到 60 °C,再恒温 0.5 h,所以 $Q = Q_u = UA \Delta Th$ 。

(6) 糖化工段消耗热量 Q : $Q = Q_u = UA \Delta Th$ 。

(7) 主发酵工段消耗热量 Q : 由于向醪液中添加酵母需要在室温下进行,所以,要先让醪液降温至室温,再加热至所需温度,并恒温。 $Q = Q_c + Q_u = Cm \Delta t + UA \Delta Th$ 。

1.7 数据统计分析

实验结果采用 $\bar{X} \pm S$ 表示,数据用 SPSS 17 for Windows 软件中的独立样本 t 检验分析。

2 结果与分析

2.1 生料发酵法与传统发酵法对橡实淀粉酒精转化率的影响

分别以等量的橡实(50 g)进行生料酒精发酵法和传统酒精发酵法实验,实验条件和结果见表 1。可看出,生料发酵糖化酶用量略大于传统发酵,达到发酵终点的时间稍长于传统发酵。生料发酵时间长是因为橡实淀粉没有经过高温蒸煮,即淀粉没有糊化,酵母在开始发酵时可资利用的葡萄糖较少,因此生料发酵需要消耗更多的糖化酶。生料发酵法的工序比传统发酵法的工序简单,减少了蒸煮、液化、糖化和调节初始 pH 等 4 个步骤,相应降低了对厂房、设备需求和人力的需求,从而降低了生产成本。生料发酵法与传统发酵法的料液比从 1:2.8 递增至 1:4,即使生料发酵法所需的水较少,对资源也是一种节约。实验结果显示,生料发酵的酒精度和酒精转化率均略低于传统发酵,但两者无显著性差异($P > 0.05$)。结果基本接近,然而生料发酵法所需能耗却低,工序更少。

表 1 生料发酵与传统发酵的工艺参数和酒精转化率的对比

Tab.1 Comparison of the process parameters and alcohol conversion rate on the uncooked and cooked acorn starch fermentation technology

项目 Item	工艺参数 Process parameters	
	生料发酵法工艺参数 ^[5] Uncooked fermentation	传统发酵法工艺参数 ^[6] Cooked fermentation
	实验条件 Experimental conditions	
原料粒度/目	100	100
料液比	1:2.8	1:4
蒸煮温度/°C		100
蒸煮时间/min		60
液化酶添加量/(U·g ⁻¹)	9	10
液化温度/°C		60
液化时间/min		30
糖化酶添加量/(U·g ⁻¹)	200	150
糖化温度/°C		60
糖化时间/min		60
酸性蛋白酶添加量/(U·g ⁻¹)	36	—
初始 pH		4.5
酵母添加量/(w/w)	0.3	0.3
发酵时间/h	96	60
发酵温度/°C	36	36
实验结果 Experimental results		
酒精浓度/(v/v)	14.6 ± 0.09	15.3 ± 0.16
酒精转化率/%	83.73 ± 1.47	86.6 ± 1.94

2.2 生料发酵法与传统发酵法的热能消耗对比

在发酵温度为 36 °C 左右,橡实原料为 50 g,反应容器为 250 mL 锥形瓶进行实验。反应容器如果转换成等体积的长方形容器(长 × 宽 × 高 = 0.05 m × 0.05 m × 0.1 m),其表面积为 0.022 5 m²。生料

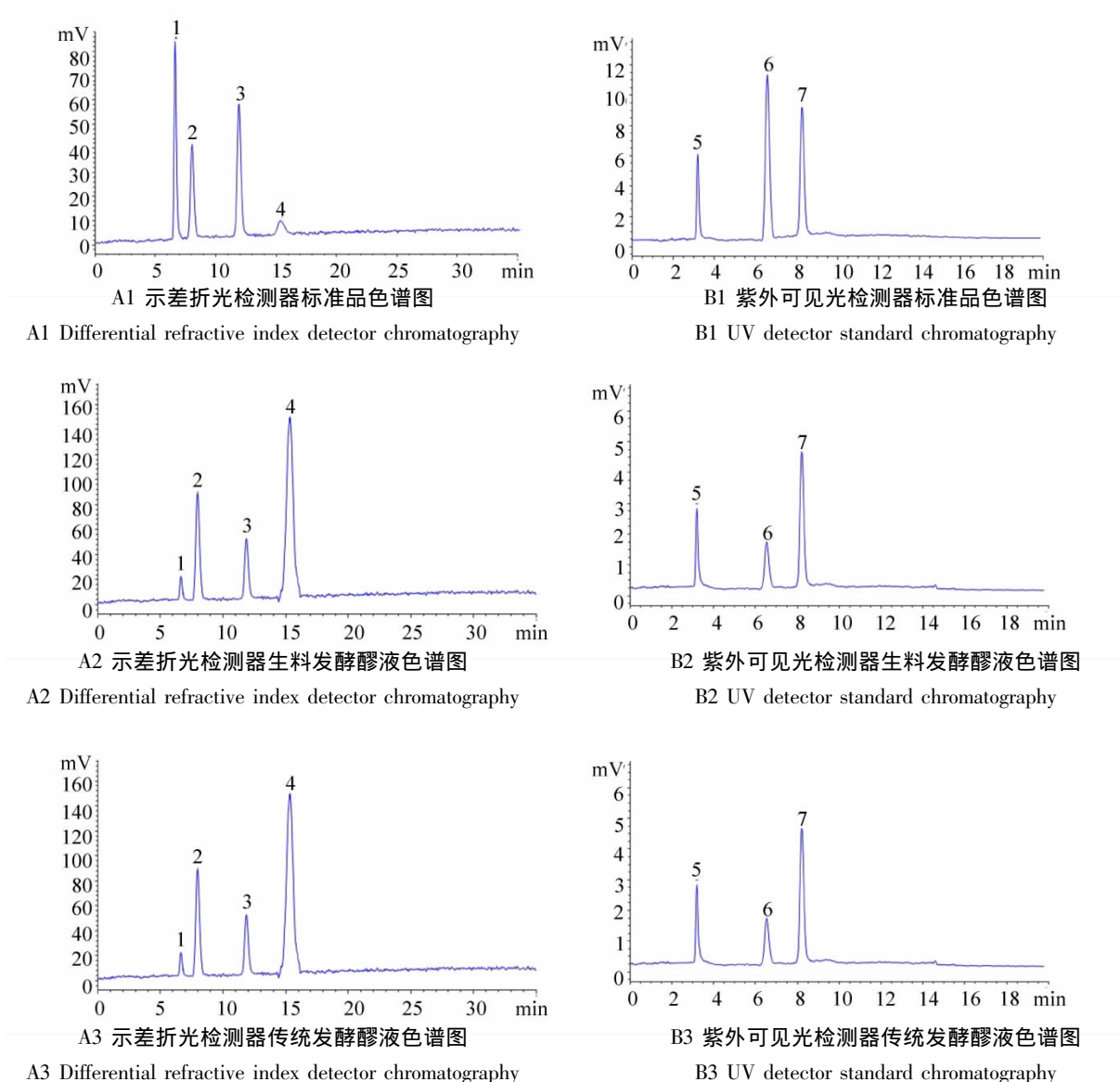


图 1 生料发酵法与传统发酵法所得发酵醪液组分 HPLC 图

Fig. 1 Comparison of HPLC chromatograph of the fermented liquors on uncooked and cooked acorn starch fermentation technology

表 2 生料发酵法与传统发酵法的能量消耗比较

Tab. 2 Comparison on the energy consumption on uncooked and cooked acorn starch fermentation technology

项目名称 Item	加工 50 g 原料生产酒精 50 g raw material production		生料发酵工艺节省量 Saved energy consumption
	生料发酵法 Uncooked fermentation	传统发酵法 Cooked fermentation	
蒸煮工段热能消耗/kJ Energy consumption during cooking process	—	147.375 ± 2.76	147.375 ± 2.76
液化工段热能消耗/kJ Energy consumption in fluidify process	—	19.688 ± 0.18	19.688 ± 0.18
糖化工段热能消耗/kJ Energy consumption during saccharify process	—	17.923 ± 0.23	17.923 ± 0.23
主发酵工段热能消耗/kJ Energy consumption during main fermentation process	897.468 ± 4.16	900.240 ± 5.97	2.772 ± 0.13
总计/kJ Sum	897.468 ± 4.16	1 085.226 ± 9.14**	182.215 ± 3.34

** 表示差异 1% 水平显著性。 ** significant at 0. 05 level.

发酵法和传统发酵法的拌料用水分别为 1:2.8 和 1:4 的情况下,拌料水消耗分别为 0.14 和 0.20 kg,其热能消耗结果见表 2。

由表 2 可知,利用 50 g 橡实原料酿造成酒,2 种发酵方法在主发酵工段热能消耗没有显著差异 ($P > 0.05$),但在总的热能消耗方面有显著差异 ($P < 0.05$)。传统发酵法比生料发酵法多了 3 道工序,包括蒸煮工段、液化工段和糖化工段,热能消耗增加了 184.986 kJ。在酿造过程中,生料发酵法比传统发酵法节省热能消耗共计 182.215 kJ。通过换算,即加工 1 t 橡实原料,生料发酵可节省热能 3.8×10^6 kJ,相当于节省 164.8 kg 标煤(煤的燃烧值为 23 000 kJ/kg)。因此,生料发酵法能减少热能消耗,降低生产成本。

2.3 生料发酵法与传统发酵法所得发酵醪液组分比较

发酵醪液组成成分的纯度在一定程度上反映了酒精的质量好坏,因此,通过 HPLC 对 2 种发酵方法产生的醪液组分进行了分析。由于待测定的葡萄糖、果糖、乙醇及甘油等均不含共轭双键,无紫外光吸收,故选用示差折光检测器检测。对于其它的有机酸,因羧基中氧上孤对电子的跃迁,使其在 205 ~ 215 nm 有紫外吸收峰,所以选用紫外检测器检测,并将波长设定为均有较大吸收的 205 nm。结果见图 1 和表 3。图中 A1、A2、A3 分别为用示差折光检测器检测的标准样品、生料发酵醪液和传统发酵的发酵醪液的色谱图,B1、B2、B3 分别为用紫外可见检测器检测的标准品、生料发酵醪液和传统发酵醪液的色谱图。

由进样量为 100 mg/L 的标样色谱图可知,图 1 中的峰 1 代表果糖、峰 2 代表葡萄糖、峰 3 代表甘油、峰 4 代表乙醇、峰 5 代表乙酸、峰 6 代表乳酸、峰 7 代表琥珀酸。由图 1 中的 A2 和 A3 比对,B2 和

表 3 生料发酵法与传统发酵法所得发酵醪液组分含量
Tab.3 Comparison of ingredients of the fermented liquors on uncooked and cooked acorn starch fermentation technology

样品成分 Composition	含量/(g · L ⁻¹) Content	
	生料发酵 Uncooked fermentation	传统发酵 Cooked fermentation
葡萄糖 Glucose	19.84	27.20
果糖 Fructose	2.34	2.52
琥珀酸 Succinic acid	5.12	5.42
乳酸 Lactic acid	0.93	1.95
甘油 Glycerol	8.65	10.19
乙酸 Acetic acid	4.76	6.37
乙醇 Ethanol	149.57	153.03

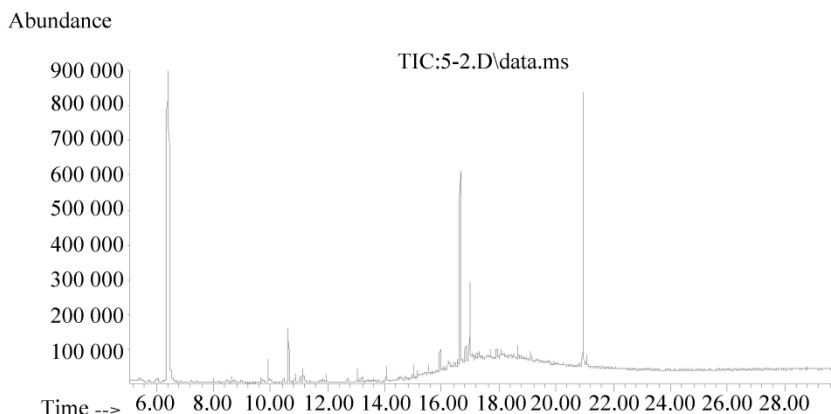


图 2 生料发酵 GC-MS 图谱

Fig.2 GC-MS chromatograph of the uncooked acorn starch fermented liquors

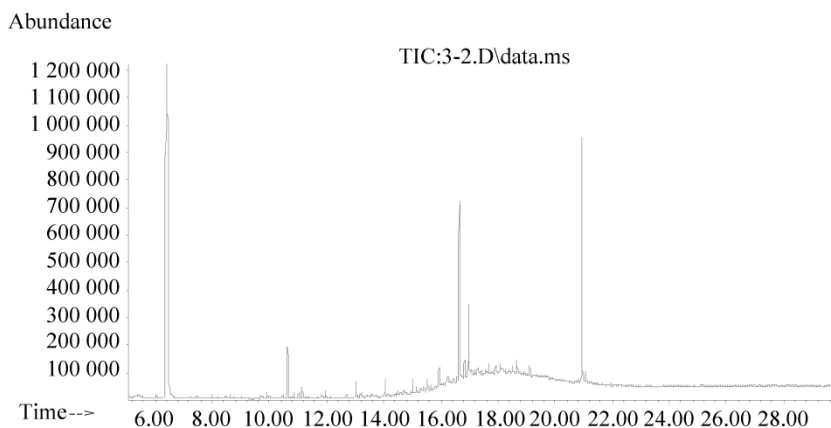


图 3 传统发酵 GC-MS 图谱

Fig.3 GC-MS chromatograph of the cooked acorn starch fermented liquors

B3 比对可以看出 稀释 100 倍后的传统发酵醪液中的葡萄糖、甘油、乙酸、乳酸、琥珀酸含量均高于生料发酵醪液 而果糖、乙醇含量则差别不大。HPLC 的分析表明生料发酵法与传统发酵法的主要产物均是乙醇 主要副产物是乙酸、甘油、乳酸和琥珀酸。生料发酵法醪液的杂质如酸类、甘油、糖类均低于传统发酵工艺。

2.4 生料发酵法与传统发酵法中发酵醪液挥发性组分的比较

生料发酵法与传统发酵法两种不同工艺对酒精质量的影响在一定程度上可通过发酵醪液的挥发性成分反映出来。GC-MS 的分析结果见图 2 和图 3 表 3、表 4 和表 5。

表 4 生料发酵 GC-MS 成分

Tab.4 Ingredients of the liquors of uncooked acorn starch fermented by GC-MS

序号 No.	保留时间/min Retention time	相对峰面积 Major peaks	相对百分含量/% Content	物质名称 Compound
1	6.394	57 394 949	63.931	乙醇
2	10.639	2 672 820	2.884	乙酸乙酯
3	11.137	921 359	0.994	2-羟基丙腈
4	13.029	571 688	0.617	丁酸
5	14.043	670 198	0.723	正戊醇
6	15.011	613 194	0.662	乙基正己酸酯
7	15.941	1 227 235	1.324	乙酸
8	16.642	8 996 344	8.707	仲丁基甲醇
9	16.833	835 851	0.902	苯乙醇
10	16.974	3 544 875	3.825	2-壬酮
11	18.660	931 737	1.005	乙醛
12	20.938	13 234 089	13.280	2,3-丁二醇

表 5 传统发酵 GC-MS 成分

Tab.5 Ingredients of the liquors of cooked acorn starch fermented by GC-MS

序号 No.	保留时间/min Retention time	相对峰面积 Major peaks	相对百分含量/% Content	物质名称 Compound
1	6.405	76 364 869	64.511	乙醇
2	10.641	2 950 901	2.493	乙酸乙酯
3	11.138	912 736	0.771	2-羟基丙腈
4	13.030	825 883	0.698	丁酸
5	14.044	1 075 421	0.908	正戊醇
6	15.013	927 020	0.783	乙基正己酸酯
7	15.539	955 561	0.807	3-乙氧基丙醇
8	15.944	1 334 886	1.128	乙酸
9	16.644	10 374 550	8.764	仲丁基甲醇
10	16.833	978 708	0.827	苯乙醇
11	16.977	4 375 915	3.697	2-壬酮
12	18.665	708 919	0.599	乙醛
13	19.114	714 914	0.604	3-甲基-3-丁烯醇
14	20.941	14 962 526	12.640	2,3-丁二醇
15	21.063	911 799	0.770	乳酸

从表 4、表 5 的 GC-MS 分析结果可以看出, 橡实淀粉的生料发酵液法与传统发酵法的醪液均检出了 12 种化合物, 包括乙醇、乙酸乙酯、2-羟基丙腈、丁酸、正戊醇、乙基正己酸酯、乙酸、仲丁基甲醇、苯乙醇、2-壬酮、乙醛、2,3-丁二醇, 其主要挥发性组分均有乙醇、2,3-丁二醇、仲丁基甲醇等, 但生料发酵液法比传统发酵法的醪液少检出 3-乙氧基丙醇、3-甲基-3-丁烯醇和乳酸外。

由表 6 可看出, 橡实淀粉生料发酵法和传统发酵法的醪液相比, 各挥发性物质在各自发酵醪液中所占比例基本接近。

表 6 生料发酵与传统发酵成熟醪 GC-MS 综合比较

Tab. 6 Systematic comparison of raw material and classical technology by GC-MS

工艺条件 Process conditions	相对百分含量/% Relative content				
	乙醇 Ethanol	杂醇油 Fusel oil	酯类 Esters	酸类 Acids	其它物质 Other
生料发酵 Uncooked fermentation	63.931	24.756	3.546	1.941	5.824
传统发酵 Traditional fermentation	64.511	24.550	3.276	2.587	5.067

3 小 结

橡实不仅资源丰富, 而且淀粉含量高, 以橡实淀粉为原料生产燃料酒精具有广阔的前景, 可作为我国绿色能源供应多元化战略的有益补充。生料发酵法和传统发酵法相比, 工艺更为简便, 设备投入更少, 能耗更低, 具有比较优势。GC-MS 及 HPLC 分析显示, 与传统发酵法相比, 生料发酵法虽然所产生的酒精含量接近, 但酒精质量更优。

参考文献:

- [1]张桥, 周礼红, 康冀川. 生物转化淀粉产燃料乙醇的研究进展[J]. 长江大学学报: 自然科学版, 2007, 4(1): 88-91.
- [2]卢晓霞, 张太日, 闫俊, 等. 玉米生料发酵生产燃料乙醇工艺研究[J]. 中国酿造, 2007(7): 128-133.
- [3]张梁, 陈蕴, 石贵阳, 等. HPLC 法测定玉米浓醪发酵酒精醪液中的纤维二糖和蜜二糖[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(2): 89-93.
- [4]段钢, 许宏贤. 大米生料发酵酒精生产的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(1): 95-102.
- [5]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, 30(12): 92-98.
- [6]王金鹏. 生料淀粉发酵生产酒精的研究[D]. 天津: 天津大学, 2004.
- [7]陈发河. 毛细管气相色谱法测定白酒中的甲醇、乙酸乙酯和杂醇油[J]. 食品科学, 2007, 28(1): 232.
- [8]谢定, 钟海雁, 刘永乐, 等. 早籼米及其自然发酵液挥发性成分分析[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(2): 1-4.
- [9]胡国栋, 张晓磊. 顶空固相微萃取——气相色谱/质谱分析啤酒微量香味组分的研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(2): 1-5.
- [10]董丹丹, 赵黛青, 廖翟萍, 等. 生物基燃料乙醇生产工艺的能耗分析与节能技术综述[J]. 化工进展, 2007, 26(11): 1596-1602.
- [11]李安平, 谢碧霞, 田玉峰, 等. 橡实淀粉生料发酵生产燃料酒精工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(3): 91-94.