

发酵法生产乙醇研究进展*

秦庆军 贾鸿飞 王宇新

(天津大学化学工程研究所, 天津, 300072)

提要 介绍了固定化细胞发酵, 细胞循环发酵、固体发酵、高温发酵等乙醇发酵新工艺, 系统地阐述了乙醇发酵与吸附分离耦合、乙醇发酵与膜分离耦合、萃取发酵、真空发酵及乙醇气提发酵及其与分离技术的耦合等过程的研究。乙醇发酵与分离技术的耦合过程可以提高发酵速率, 降低乙醇回收过程的能耗, 实现过程的连续操作, 降低设备投资和操作费, 具有很广的应用前景。

关键词 乙醇, 发酵, 固定化细胞, 吸附, 膜分离, 耦合过程

乙醇是用途最广和用量最大的有机溶剂之一。尽管目前发酵法在整个乙醇生产中占很小比例, 但由于发酵原料来源于可再生的植物, 所以发酵法乙醇就被视为可长期持续供应的清洁能源, 从而广受重视, 有关研究亦很活跃。针对间歇发酵周期长, 发酵液中酵母细胞密度低; 由于发酵液中乙醇对酵母细胞的抑制作用, 发酵速率低, 发酵醪蒸馏的能耗大等缺点。学者们提出了许多新的乙醇发酵工艺, 并将乙醇发酵与分离技术进行耦合。

1 乙醇发酵新工艺

1.1 固定化细胞发酵系统

固定化酵母技术是近年来发展起来的一种生物技术, 即将细胞用载体固定。该法可使细胞浓度增加, 不会引起细胞流失, 易从发酵液中分离, 而且可以多次使用, 减少酵母增殖消耗的糖分, 从而既增加了发酵强度, 又提高了底物的转化率。根据固定原理可分为吸附法、包埋法和共价键交联法 3 大类^[1]。

1.2 细胞循环发酵系统

细胞循环是从发酵罐流出液中回收部分或全部细胞送回发酵罐, 以提高发酵液中细胞浓度。用细胞循环法可以得到相当于简单连续发

酵 3 倍的细胞浓度和 4 倍的产物产率^[2], 这种方法的不足在于高的细胞循环速率增加了细胞循环的负担。

1.3 固体发酵系统

低水含率的底物发酵称为固体发酵。固态底物含水量很少, 减少了反应的体积; 还可减少原料的预处理的费用; 另外, 使得可转化为乙醇的原料的范围也扩大了。K. Sato 等人^[3]用淀粉质固体原料进行乙醇发酵, 然后用循环惰性气将产生的乙醇移出, 发酵效率达 80% 以上。

1.4 耐高温酵母和细菌发酵的研究

高温发酵可利用酵母发酵反应所产生的热量, 可省去传统发酵所需要的大量冷却水, 对于提高发酵效率和乙醇的分离都是有利的。Mulholland^[4]用酵母 *S. Cerevicae* (ATCC4126、4132) 在 40℃ 进行了气提发酵研究。J. Christison 等人^[5]对 23 种酵母进行了筛选, 得到了 4 种较为理想的菌种。据他们报道, 温度越高, 酵母对酒精越敏感, 即耐酒精度越低, 但发酵速率却越高。

高温细菌的分解代谢能力强, 发酵时间短, 生产能力高; 氧溶解度降低; 发酵液的粘度降低, 搅拌所需动力减少; 发酵原料液在灭菌后

秦庆军 男, 29 岁, 硕士。现在中国石化总公司信息中心工作。

* 天津市自然科学基金项目。

1998-03-12 收修改稿。

冷至适当温度所需移走的能量少。一种名为发酵细胞单胞菌 (*Zymomonas mobilis*) 的细菌具有很强的酒精发酵能力^[6]。该菌种具有糖的吸收速率快, 酒精得率高 (1 mol 葡萄糖可生成 1.9 mol 酒精), 酒精生产强度高, 发酵温度高等优点。细菌容易进行遗传工程处理, 可望得到耐高温、耐酒精、能利用多种碳源的优良菌株。能够发酵生成乙醇的细菌很多, 可分为中温菌和高温菌两大类。文献 [6] 给出了部分已发现的中温和高温菌种。

1.5 耐酒精酵母的研究

提高酵母细胞的耐乙醇能力可以使发酵液中的乙醇浓度增高, 从而节省乙醇蒸馏的消耗, 日本有学者以 Saich. Sake 为菌种, 培养出的酵母在 20℃ 下清酒发酵 20d 可得到的酒精体积分数为 19.0 %^[1]。

2 乙醇发酵-分离耦合过程

2.1 乙醇发酵与吸附耦合过程的研究

这种方法是选择一种吸附剂 (通常是固体), 能优先将乙醇 (或水) 从液相 (或气相) 中有选择地吸附出来, 又能将吸附物在一定条件下解吸。P. K. Walsh^[7]进行了乙醇 CO₂ 气提发酵与吸附耦合过程的研究。他先用活性炭吸附 CO₂ 从发酵液中带来的乙醇和水, 再解吸到载气中用植物纤维吸附水蒸气, 最后可得到乙醇的质量含量为 95% 的冷凝液。浙江大学的岑沛霖^[8]等人也进行了 CO₂ 气提游离细胞、固定化细胞发酵和活性炭吸附耦合过程的研究。

2.2 乙醇发酵与膜分离耦合过程的研究

膜分离技术具有在常温下操作, 能耗低, 膜组件形式多样等优点, 应用该技术与乙醇发酵耦合, 可有多种形式。

2.2.1 渗透蒸发-细胞循环发酵 在发酵的同时, 发酵液连续通过渗透装置使产物及时分离出去, 而发酵残液和微生物细胞则返回发酵罐内继续发酵。对该过程的研究表明^[9], 利用聚四氟乙烯作透醇膜可得质量分数 22.5 % 的酒精, 釜内细胞质量分数可达 16.58 %。

2.2.2 中空纤维膜-细胞固定发酵 将固定化细胞技术应用于发酵, 其目的在于不使细胞流失, 可重复使用, 保持高的细胞浓度, 提高反应速度, 同时产物及时脱离细胞表面, 解除产物抑制效应。但这种反应器效率低, 在发酵过程中, 料液和产物都要进行扩散, 其反应速度受到扩散速度的制约。另外, 还存在细胞退化、泄漏和堵塞等问题。

2.2.3 超滤-细胞循环发酵 该过程是在发酵的同时, 将含细胞的发酵液通过超滤装置, 部分发酵液挟带产物透过膜, 而细胞则被膜截流, 返回发酵罐内继续发酵。Garcia^[10]推荐了一套超滤系统, 操作压力为 3.45~6.89 MPa, 膜通量为 0.05~0.06 L/(m²·min), 产物回收率为 70 %。

2.2.4 膜蒸馏-乙醇发酵系统 膜蒸馏是利用疏水性多孔膜两侧温度的不同而产生的蒸汽压差作为驱动力, 使蒸汽通过多孔膜来实现溶液的分离。H. Udriot 等人^[11]报道, 酵母细胞在无膜蒸馏下培养 22h, 葡萄糖转化率、乙醇浓度、细胞浓度和乙醇产率分别为 60%、24.4 g/L、2~3 g/L 和 0.99 g/(L·h)。而在有膜蒸馏的情况下连续培养 18h, 对应指标为 100%、32.0 g/L、7.3 g/L、1.85 g/(L·h), 乙醇产率提高了 1.87%。但该系统长期操作存在膜污染和渗透通量下降的问题。

2.3 乙醇发酵与萃取耦合过程的研究

溶剂萃取与乙醇发酵耦合过程就是将微生物发酵过程与溶剂萃取相结合。该过程具有以下优点: (1) 可消除产物的抑制作用; (2) 能维持高的细胞比生长速率; (3) 便于乙醇的回收。

萃取发酵有两种基本形式: (1) 将萃取剂引入发酵系统; (2) 将发酵液引出发酵系统, 经离心机离心后, 酵母细胞送回发酵罐, 离心液与萃取剂混合, 分层后, 萃取了乙醇的溶剂送去蒸馏, 发酵清液送回发酵罐继续发酵。萃取发酵可以是间歇的, 也可以与固定化细胞相结

合连续操作。据报道^[12], 萃取发酵乙醇产率可达 11.2 g/(L·h), 发酵液中葡萄糖浓度可达 400 g/L。欲将萃取发酵扩大到工业规模, 须将萃取与连续搅拌罐发酵 (Continuous Stirred Tank Fermenter-CSTF) 过程相结合, 目前尚未发现有关此过程成功的报道, 主要原因是难以确定合适的萃取剂。

2.4 真空发酵工艺的研究

Cysewski 和 Wilke^[2]在 4~5.3 kPa 的压力下进行发酵, 冷凝液含乙醇 160~200 g/L, 发酵液中乙醇浓度少于 15g/L, 细胞浓度为 5~10 g/L, 乙醇发酵产率可达 40 g/(L·h)。与酵母细胞循环方法相结合, 乙醇产率可达 82 g/(L·h)。但是, 该耦合过程的研究尚处于实验室研究阶段, 因为: (1) 维持真空所需要的能耗非常高; (2) 需向发酵罐中鼓纯氧以满足细胞生长的要求; (3) 长期操作会积累一些有毒副产物。

2.5 乙醇气提发酵 (GSEF) 过程的研究 (Gas Stripping Ethanol Fermentation-GSEF)

P. K. Walsh 等人^[7]为了消除发酵液中溶解的底物和酵母细胞的悬浮对吸附剂的影响, 提出了以 CO₂ 作为载气进行循环, 将发酵液中的乙醇以蒸汽的形式抽提出来, 然后吸附蒸气中的乙醇的操作方式。由于发酵产生的乙醇都被 CO₂ 循环带走, 发酵液中产物可以保持较低水平, 减小甚至消除了乙醇对酵母细胞的抑制, 使细胞活性增强, 提高了乙醇发酵产率; 另一方面, 细胞活性增强又促使细胞密度增加, 提高了乙醇体积产率, 细胞活性和密度的增加又能促进底物的充分利用。

Hwai-Shen Liu 和 Haien-Wen Hsu^[13]在理论上对乙醇气提发酵过程进行了较为详细的研究。他们对 GSEF 过程进行了数学模型的模拟, 提出了气提因子(为综合载气量、发酵温度、反应器有效体积、发酵液性质等因素的常数)的概念, 并分析了气提因子对发酵过程的影响。

2.5.1 GSEF 与吸附分离耦合过程的研究

P. K. Walsh 等人^[7]提出的 GSEF-吸附过程在底物浓度为 300 g/L、CO₂ 流率为 20.8 L/min、发酵体积为 0.8~1.2 L 的条件下操作, 发酵速率可达 3.9~4.6 g/(L·h)。若将解吸出的蒸汽直接送去蒸馏, 则能耗为传统工艺的 77%。浙江大学的岑沛霖^[8]等人对 CO₂ 气提游离及固定化细胞发酵与吸附耦合过程的研究表明: CO₂ 气提乙醇对固定化酵母发酵的影响要比对游离细胞发酵的影响小得多。

2.5.2 GSEF-单级冷凝耦合过程的研究 K. Sato 等人^[3]进行了 CO₂ 循环气提固体发酵-单级冷凝过程的研究。在 15~16 d 的连续气提发酵实验中, 90% 以上的乙醇被回收, 冷凝液浓度达 205~265 g/L, 发酵效率达 80%。但过程的发酵速率低于传统间歇发酵。

D. L. Mulholland^[14]采用置有内导流筒的气升式反应器在常压下对乙醇 CO₂ 气提发酵-单级冷凝过程进行了研究, 他发现: 一定发酵温度下, 在气流率为 0.1~2V/min (V 为反应器体积) 范围内, 气相中乙醇浓度和冷凝液中的乙醇浓度为常数; 蒸发速率和冷凝速率与气流率成线性关系; 在 40~60 °C 发酵温度范围内, 每增加 10 °C, 蒸发速率(冷凝速率)增加 1 倍; 气相组成和蒸发速率(冷凝速率)不随循环载气种类的不同而有所变化; 建立的数学模型可预测 40~60 °C 范围内的蒸发速率(冷凝速率)。他还在理论上分析并简单描述了发酵液的汽液平衡关系, 求取了反应动力学数据。

受 Mulholland 的启发, Dr. J. Christison^[5]也进行了乙醇 CO₂ 气提发酵-单级冷凝过程的研究。他除对耐高温菌种进行筛选外, 还对该过程进行了数学模拟, 他注意到了冷凝器效率对过程操作的影响。在他的实验中, 当发酵液中乙醇浓度为 20 g/L 时得到的冷凝液乙醇浓度为 100 g/L。传统的乙醇间歇发酵-蒸馏回收流程的能耗为 2660 MJ/h, 该过程为 980 MJ/h。

2.5.3 GSEF-载气蒸馏耦合过程的研究 秦

庆军等^[15]利用发酵过程中所产生的 CO₂ 作为载气, 挟带乙醇和水蒸气进入发酵反应器之上的蒸馏塔, 在塔顶得到浓缩的乙醇, 而水被分离下来返回发酵反应器内, 不凝载气则由气体压缩机沿循环回路打入发酵反应器继续气提乙醇, 即将 GSEF 与载气蒸馏进行耦合。载气循环满足了发酵所要求的较低温度和蒸馏所需的较大汽化量, 从而使耦合过程得以实现。乙醇和水的蒸发还利用了发酵反应所产生的热量。该研究采用循环气升式反应釜和板式蒸馏塔实验验证了该耦合过程的可行性。在塔顶得到了流率稳定的浓缩乙醇, 并使发酵液中的乙醇浓度低到不足以对酵母细胞产生抑制。还进行了过程的模拟研究, 探讨了多种因素对该耦合过程的影响及其规律。另外, 将实验数据和模拟结果进行对比, 发现二者可较好吻合。研究表明, 选用耐高温的酵母菌种或嗜热细菌, 实行高温发酵, 是提高该耦合过程效率, 从而提高其经济性的关键。

3 结束语

消除产物对酵母细胞的抑制作用, 实现高底物浓度、高细胞浓度发酵, 提高发酵速率, 降低乙醇回收过程中的能耗, 是当前发酵法生产乙醇研究的重点。所提出的乙醇发酵新工艺和发酵与分离耦合过程都能在一定程度上达到上述目的, 然而, 它们又有各自的缺陷。如膜分离与发酵耦合过程中, 膜面易产生浓差极化而堵塞, 且膜面易污染; 萃取发酵中难以找到毒性小而又分离系数大的萃取剂; 真空发酵的高能耗等。若欲消除乙醇对酵母细胞的抑制, 需将发酵液中的乙醇浓度降低, 由此会引起乙醇回收过程能耗的升高, 在此意义上, 提高酵母细胞的发酵速率与降低乙醇回收过程的能耗存在一定的矛盾。因此, 研究耐高温和耐乙醇的菌种是提高乙醇发酵及回收效率的关键。在菌种的筛选及用基因工程开发新型菌种方面还有待人们进一步探索。

尽管所提出的乙醇发酵新工艺和发酵与分离耦合过程仍存在许多问题需改进, 但它们为提高乙醇生产的发酵速率和降低乙醇回收过程中的能耗提供了新途径。

4 参考文献

- 1 章克昌主编, 酒精与蒸馏酒工艺学, 北京: 轻工业出版社, 1995. 1
- 2 Cysewski G R, Wilke C R. Rapid Ethanol Fermentation Using Vacuum and Cell Recycle, *Biotech Bioeng*, 1977 (19): 1125
- 3 Sato K, Nakamura K, Sato S. Solid-State Ethanol Fermentation by Means of Inert Gas Circulation, *Biotech Bioeng*, 1985, 27: 1312
- 4 Mulholland, D L. Development of A Low-cost process for Ethanol Recovery, NRC Final Report, 1984
- 5 Christison J, Hayes W C. Continuous Production of Ethanol Using The Hyperferm Process, *Can. Bioenergy P&R Sciece(Proc.)* 5th, 1984. 521
- 6 陈驹声主编. 传统和最新的酒精生产技术, 北京: 化学工业出版社, 1990. 5
- 7 Walsh P K, LIU C. P, Findley M E, et al. Ethanol Separation from Water in a Two-Stage Adsorption Process, *Biotech Bioeng Symp*, 1983, (13): 629
- 8 张民权, 慎学峰, 赵学法等. 同时进行发酵和分离的 CO₂ 气提、活性炭吸附乙醇发酵动力学研究(二)、(三), *化学反应工程与工艺*, 1990(6): 1, 34
- 9 Matsumun M, Mark H. Elimination of Ethanol Inhabitation By Penetration, *Biotech. Bioeng*, 1986, (16): 534
- 10 Garcia H M, et al. Use of *Candida Rugosa* Lipase Immobilized in A Spiral Wound Membrane Reactor for The Hydrolysis of Milkfat, *Enzyme Microb Tech.* 1992, (14): 535
- 11 Udriot H, Ampuere, S, Marison I W. Extractive Fermentation of Ethanol Using Membrane Distillation, et al. *Extractive Biotech Lett*, 1989, 11(7): 509
- 12 Gyamerah M, Glover, J. *Advances in Fermentation'83*, Chelsea College, London, 1983
- 13 Hwai-shen Liu, Hsien-wen Hsu. Analysis of Gas Stripping During Ethanol Fermentation-I. In a Continuous Stirred Tank Reactor, *Chemical Engineering Science*, 1990, 45. (5): 1289
- 14 Mulholland D L. Studies of A Novel Fermentation Purifier, *Process Biochem. Intn*, 1990, 25(2): 61
- 15 秦庆军, 乙醇气提发酵-载气蒸馏耦合过程的研究, [学位论文], 天津大学, 1997

Advances in Ethanol Production by Fermentation

Qin Qingjun, Jia Hongfei, Wang Yuxin

(Institute of Chemical Engineering, Tianjing University, Tianjing, 300072)

Abstract In this paper, processes for biological production of ethanol were reviewed. These include immobilized cell fermentation, cell recycling fermentation, solid fermentation, high temperature fermentation and fermentation coupled with separation. The coupled processes were reviewed in more detail. *In situ* removal of ethanol from the broth by means of absorption, extraction, gas stripping, vacuum, evaporation, distillation etc. were discussed, Showing advantages to different extent over traditional production, new processes have wide potential of application in future industrial ethanol production.

Key words ethanol, fermentation, immobilized cell, absorption, extraction fermentation, coupled process

(上接第 18 页)

3 结语

膜分离虽然原理简单,且可以应用于化工、食品、医药、环保等行业的物质分离、提纯、净化,尤其是在生物工程中的应用更能显示其优越性。但是由于生物过程产物的种类繁多,各种菌体或产物的性质各异,对膜分离产生各种各样的影响,如吸附、使膜孔堵塞等,使膜的过滤流速下降,甚至使膜产生劣化,所以要想很好地利用膜分离这一技术,当务之急是针对具体过程、研究开发各种能有效地防止吸附,浓差极化和减少污垢阻力的各种装置和探讨各种有效的操作控制方法,可为膜分离在我国化工、生物过

程的应用和解决实际问题提供有意义的参考。

4 参考文献

- 1 Gekas V, Zhang W. *Process Biochemistry*, 1989, 24(5): 159~166
- 2 清水康利. 膜. 1990, 5(3): 179~187
- 3 Aygerinos G C. *Bio/Technology*, 1990, 8(1): 54~60
- 4 Nakanishi K, Kessler H G. *J Food Sci*, 1985, 50(6): 1726~1731
- 5 Maiorella B. *Biotechnol Bioeng*, 1991, 37(2): 121~126
- 6 Riesmeier B. *J Biotechnol*, 1989, 12(2): 153~172
- 7 Matsumoto K, et al. *J Ferment Technol*, 1987, 65: 77~82
- 8 Matsumoto K. *J Ferment Technol*, 1986, 64(6): 487~492
- 9 Kroner K H. *Bio/Technology*, 1987, 5(9): 921~926
- 10 Luong J H T, Male K B, Nguyen A. L. *Biotechnol. Bioeng.* 1988, 31(5): 439~446
- 11 中尾真一. *化学工学*, 1986, 50(8): 545~549

The Problems in the Application of Membrane Separation of Biological Engineering and the Way to Solve Them

Gu Jin

(Chemical Engineering Department, Wuxi University of Light Industry, Wuxi, 214036)

Abstract In this paper, the problems which are present in the application of membrane separation of biological engineering are pointed out. The methods which solve these problems are analysed.

Key words membrane separation, biological engineering, the flow rate of membrane filtration, the resistance of membrane filtration