

生产废水清液和二次凝水回用对燃料乙醇发酵的影响

周 勇

(中粮生物科技股份有限公司, 安徽蚌埠 233010)

摘要:为研究燃料乙醇生产废水回用的可行性,以燃料乙醇生产发酵过程中产生的清液和二次凝水为研究对象,分析其有机酸组成,并研究单一有机酸和经 D318 离子交换树脂处理前后的清液和二次凝水对酿酒酵母 *Saccharomyce cerevisiae* NJ-2019 生长和发酵生产乙醇的影响。结果显示,乙酸、乳酸、丙酸和柠檬酸是清液中的主要有机酸,乙酸和乳酸是二次凝水中的主要有机酸;乳酸和丙酸对酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 的生长和发酵过程表现出显著抑制作用,其最低抑制浓度分别为 7.0 g/L 和 1.0 g/L;清液和二次凝水分别直接回用时,清液对乙醇发酵过程的抑制作用更强;去除或者部分去除有机酸能使清液和二次凝水回用时的乙醇产量分别提高 10.11% 和 9.85%。燃料乙醇发酵过程产生的清液和二次凝水具有回用的潜力,有利于实现乙醇生产过程节能减排。

关键词:燃料乙醇 清液 二次凝水 回用 节能减排 有机酸 发酵

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2020)02-0188-07

DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20200422.002

0 引言

随着人们对环境保护和可持续发展关注度的提高,燃料乙醇生产过程中存在的废水排放污染和水处理成本高等问题日益凸显^[1]。每生产 1 t 燃料乙醇约产生 20 t 废水^[2],且随着燃料乙醇生产规模扩大,待处理废水量也逐年增加。燃料乙醇清洁生产迫在眉睫。

燃料乙醇生产过程产生的废水包括清液和二次凝水等。其中,清液含有丰富的营养物质,若能被回用作为酵母菌的发酵培养基溶剂,可以降低生产用水成本^[3];二次凝水具有固形物含量少、金属离子浓度

低等特点,具有再生回用潜力^[4]。但是,乙醇生产废水中可能含有对酵母菌生长和生产乙醇具有抑制作用的有机酸等组分。这些有机酸的来源包括发酵培养基组分和酵母菌细胞自身的新陈代谢产物^[5-6]。目前,尚未见清液中有机酸种类和含量的报道,但 Sagne 等^[7]和 Couallier 等^[8]在二次凝水中已检测出甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、戊酸和己酸,且乙酸、丙酸、丁酸、戊酸和己酸对酵母菌发酵表现出不同程度的抑制作用。这些有机酸属于弱电解质,在水溶液中发生不完全解离^[9]。其中,未解离的有机酸通过扩散方式进入胞内,并在胞内发生解离,导致胞内质子浓度增加,膜电位降低;为维持最佳胞内酸碱水平,细胞必须通过 ATP 产生更多能量,使过量的质子被运出胞外;

【作者简介】

周 勇(1975—),男,高级工程师,主要从事生物化工研究,E-mail:zy197579@163.com。

【引用本文】

周勇. 生产废水清液和二次凝水回用对燃料乙醇发酵的影响[J]. 广西科学, 2020, 27(2): 188-194.

ZHOU Y. Effects of Supernatant and Secondary Condensate from Industrial Waste Water on Fuel Ethanol Fermentation [J]. Guangxi Sciences, 2020, 27(2): 188-194.

当培养基中的营养物质供给不足时,细胞代谢水平降低,酵母菌发酵过程受阻^[2,10]。因此,去除部分有机酸有利于酵母菌生长和发酵^[6]。目前,发酵废水的处理方法主要有膜分离和离子交换等^[7,11-13]。膜分离法对小分子化合物的选择性分离仍较困难,且存在膜污染等问题;离子交换法的处理速率快,但需要筛选合适的树脂,即要求粒度均匀、强度好、耐温性能好、水处理量大等^[14-15]。因此,本研究以夏季和秋季燃料乙醇生产过程的清液和二次凝水为研究对象,分析样品中的有机酸种类及含量,解析不同有机酸对酵母菌生长和乙醇生产的影响,并对 D318 离子交换树脂处理前后水样回用于乙醇发酵过程的结果进行比较,评价清液和二次凝水回用于酵母菌乙醇发酵过程的可行性。

1 材料与方 法

1.1 材 料

水样:二次凝水和清液分别于 2019 年 5 月(夏季)和 8 月(秋季)取自中粮生物化学(安徽)股份有限公司的乙醇生产车间。

菌株:酿酒酵母 *Saccharomyce cerevisiae* NJ-2019,分离自安琪耐高温酿酒高活性干酵母,燃料乙醇工业生产菌株。

试剂:酵母膏、蛋白胨、葡萄糖、氢氧化钠、盐酸、琥珀酸、乙酸、丙酸、乳酸、柠檬酸、延胡索酸、苹果酸、磷酸二氢钾、磷酸均为国产分析纯。乙腈和甲醇为国产色谱级。

仪器:离心机(Avanti J-26S XP,Beckman)、恒温培养箱(LRH-150 型,上海一恒科学仪器有限公司)、恒温摇床(QHZ-98BS 型,常州普天仪器制造有限公司)、超净工作台(YJ-VS-2 型,无锡一净净化设备有限公司)、酶标仪(Multiskan FC 型,Thermo Fisher Scientific)、液相色谱(1290 型,Agilent)、生物传感仪(SBA-40C 型,山东微生物研究所)。

1.2 方 法

1.2.1 种子培养

培养基:1%酵母膏,2%蛋白胨,2%葡萄糖。

培养条件:自然 pH 值,温度 30℃,200 r/min,培养至对数生长中期,作为备用菌种。

1.2.2 乙醇发酵

培养基:1%酵母膏,2%蛋白胨,20%葡萄糖。

培养条件:分别以纯水、清液、二次凝水,以及处理后的清液和二次凝水为溶剂配制发酵培养基,用

2%盐酸溶液或者 2%氢氧化钠溶液调整培养基 pH 值至 3.7;接种(接种量为 10%)后置 30℃,100 r/min 摇床发酵;每隔 4—6 h 取样,于 600 nm 处测定样品 OD 值;将样品在 8 000×g 条件下离心,取上清液,用 SBA-40C 生物传感仪检测上清液中的乙醇浓度和葡萄糖浓度^[16-17]。

1.2.3 有机酸的测定

(1)标准溶液配制

以流动相溶解各种有机酸标准品,定容至 25 mL 容量瓶中,此溶液为 1.0 mg/mL 单标储备液。其中,乙酸、琥珀酸、丙酸、苹果酸和柠檬酸流动相为甲醇-水(V:V=55:45),延胡索酸流动相为乙腈-0.4%磷酸二氢钾溶液(V:V=20:80),乳酸流动相为 0.05%磷酸-甲醇(V:V=90:10)。临用前用流动相稀释浓度依次为 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mg/mL 标准液,测定 3 组平行数据,取平均值绘制标准曲线。

(2)样品测定

乙酸、琥珀酸、丙酸、苹果酸和柠檬酸用液相色谱法测定;色谱柱为 Prevail 有机酸分析柱(5 μm,250 mm×4.6 mm,Grace,USA),流动相流速为 1 mL/min,进样体积为 20 μL,柱温为 25℃,利用紫外检测器检测,波长为 215 nm。其中,琥珀酸、丙酸和柠檬酸的最低检出限为 0.05 g/L;乙酸、苹果酸的最低检出限为 0.02 g/L。

延胡索酸:采用 C18 色谱柱,流动相:乙腈-0.4%磷酸二氢钾溶液(V:V=20:80),检测波长 210 nm,其他条件同上。延胡索酸的最低检出限为 0.000 5 g/L。

乳酸:C18 色谱柱,流动相为 0.05%磷酸-甲醇(V:V=90:10),检测波长为 210 nm,其他条件同上。乳酸的最低检出限为 0.02 g/L。

1.2.4 单一种有机酸对乙醇生产的影响

为评估清液和二次凝水的回用潜力,分别考察单一种有机酸对酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 生长和发酵生产乙醇的影响。根据清液和二次凝水样品有机酸检测结果,分别设置单一种有机酸在发酵培养基中的初始浓度梯度,考察其对酵母 OD_{600} 值和乙醇产量的影响。培养基中初始有机酸浓度为 0 时的 OD_{600} 值和乙醇产量计为 100%。

1.2.5 清液和二次凝水直接回用对乙醇生产的影响

在 1.2.4 节的试验基础上,进一步考察混合有机酸对乙醇生产的影响。以纯水为溶剂配制发酵培养

基作为对照;以混合有机酸-水溶液为溶剂配制发酵培养基,使培养基中乙酸、丙酸、乳酸、柠檬酸、琥珀酸的浓度与样品清液或二次凝水相同,获得模拟清液和模拟二次凝水;分别以清液和二次凝水样品为溶剂,配制发酵培养基。将上述发酵培养基用于发酵生产乙醇,研究其对酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 生长和发酵生产乙醇的影响。其中酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 比生长速率 μ 被定义为单位质量的细胞在单位时间内所增加的细胞质量,

$$\mu = (\ln N_t - \ln N_0) / t, \quad (1)$$

其中, μ 为比生长速率, h^{-1} ; N_0 、 N_t 分别为培养前后的生物量, t 为时间, h 。

1.2.6 有机酸的分离

利用大孔弱碱性阴离子交换树脂(D318,安徽皖树化工有限公司)对夏季取样的清液和二次凝水进行静态吸附处理,即将树脂与待处理液体以质量体积比 1:20 充分混匀,密塞,置于水浴振荡器中,30℃ 振荡 2 h,然后过滤获得滤液。滤液用流动相稀释,离心、定容、摇匀后,经 0.45 μm 滤膜过滤后测定其有机酸含量。

1.2.7 处理后的清液和二次凝水回用对乙醇生产的影响

以处理后的水样作为溶剂,配制酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 的发酵培养基;以未处理清液和二次凝水为溶剂时的酵母菌比生长速率为对照,测定和比较酵母菌培养 8 h 时的比生长速率,以及发酵 8 h 时的乙醇产量。

2 结果与分析

2.1 标准曲线测定结果

根据测试结果计算和拟合得到的乙酸、琥珀酸、

表 2 清液和二次凝水中有有机酸种类及含量(g/L)

Table 2 Composition and content of organic acids in supernatant and secondary condensate (g/L)

水样 Water samples	季节 Seasons	乙酸 Acetic acid	琥珀酸 Succinic acid	乳酸 Lactic acid	丙酸 Propionic acid	延胡索酸 Fumaric acid	苹果酸 Malic acid	柠檬酸 Citric acid
清液 Supernatant	夏季 Summer	2.83±0.02	0.42±0.03	7.02±0.02	2.28±0.02	—	—	2.12±0.03
	秋季 Autumn	0.54±0.02	—	2.06±0.04	0.20±0.01	0.01±0.01	0.29±0.01	1.19±0.02
二次凝水 Secondary condensate	夏季 Summer	0.81±0.01	—	0.03±0.01	—	—	—	—
	秋季 Autumn	0.18±0.01	—	—	—	—	—	—

注:“—”表示低于检出限

Note: “—” indicated that the sample concentration was lower than the detection limit

丙酸、苹果酸、柠檬酸、延胡索酸和乳酸的回归方程和相关系数如表 1 所示。从表 1 可以看出,7 种有机酸在浓度为 0.2—1.0 mg/mL 时,液相色谱的峰面积与其浓度均呈线性关系,且此测试条件下获得的相关系数均大于 0.999 5。说明该测试方法适用于含 7 种有机酸的样品检测。

表 1 不同有机酸的回归方程和相关系数

Table 1 Regression equation and correlation coefficient of different organic acids

有机酸 Organic acids	回归方程 Regression equations	相关系数 Correlation coefficients
乙酸 Acetic acid	$y = 477.85x - 0.25$	$R^2 = 1.0000$
琥珀酸 Succinic acid	$y = 675.35x - 1.67$	$R^2 = 0.9998$
丙酸 Propionic acid	$y = 484.15x - 1.99$	$R^2 = 0.9999$
苹果酸 Malic acid	$y = 848.3x - 0.46$	$R^2 = 1.0000$
柠檬酸 Citric acid	$y = 1244.9x - 2.67$	$R^2 = 1.0000$
延胡索酸 Fumaric acid	$y = 114044x + 66.61$	$R^2 = 0.9998$
乳酸 Lactic acid	$y = 719x + 1.78$	$R^2 = 1.0000$

2.2 样品中有机酸含量测定结果

如表 2 所示,乙酸、乳酸、丙酸和柠檬酸是清液中的主要有机酸。现有报道中,乙酸、琥珀酸、乳酸、丙酸、延胡索酸、苹果酸和柠檬酸对酵母菌产生抑制作用的临界浓度分别为 2, 2, 4, 1.5, 10, 5 和 15 g/L^[2,18-20]。表明清液中的乙酸、乳酸、丙酸和柠檬酸可能是酵母菌生长和发酵的抑制剂。乙酸和乳酸是二次凝水样品中的主要有机酸,且含量低于目前报道的抑制临界浓度,表明二次凝水可能具有良好的回用潜力。

2.3 单一有机酸对乙醇生产的影响

2.3.1 乙酸

根据夏季和秋季的清液和二次凝水样品中检测到的乙酸浓度,设计乙酸在培养基中的初始浓度梯度为0.0, 0.2, 1.0, 3.0 g/L,考察乙酸浓度对酵母 OD_{600} 值和乙醇产量的影响。结果如图1所示:当初始乙酸浓度从0.0 g/L递增至3.0 g/L时,菌体 OD_{600} 值略有降低,而乙醇产量无明显变化。当初始乙酸浓度为0.2 g/L时, OD_{600} 值降低2.46%;初始乙酸浓度为3.0 g/L时, OD_{600} 值降低4.16%。表明乙酸单独存在于发酵培养基中时,对酿酒酵母*S. cerevisiae* NJ-2019发酵生产乙醇未表现出明显的抑制作用。

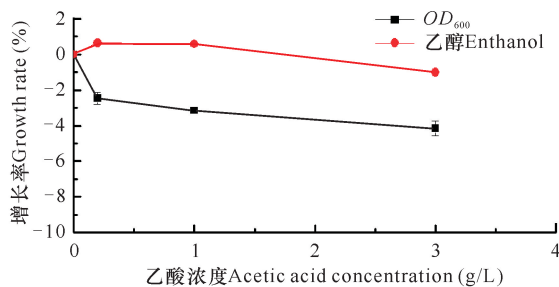


图1 乙酸对酿酒酵母*S. cerevisiae* NJ-2019生长及其发酵生产乙醇的影响

Fig. 1 Effects of acetic acid on the growth and ethanol production of *S. cerevisiae* NJ-2019

2.3.2 乳酸

根据夏季和秋季的清液和二次凝水样品中检测到的乳酸浓度,设计乳酸在培养基中的初始浓度分别为0.0, 0.2, 2.0, 7.0 g/L,考察乳酸浓度对酵母 OD_{600} 值和乙醇产量的影响。结果如图2所示:当乳酸初始浓度在0.0—2.0 g/L时,乳酸对酵母 OD_{600} 值和乙醇产量无显著影响;当乳酸初始浓度为7.0 g/L时, OD_{600} 值降低8.15%,乙醇产量降低4.66%,表明培养基中乳酸初始浓度达到7.0 g/L时,单一的乳酸可以明显抑制乙醇生产。

2.3.3 丙酸对乙醇生产的影响

根据夏季和秋季的清液和二次凝水样品中检测到的丙酸浓度,设计丙酸在培养基中的初始浓度分别为0.0, 0.2, 1.0, 2.5 g/L,考察丙酸浓度对酵母 OD_{600} 值和乙醇产量的影响。结果如图3所示:当丙酸初始浓度在0.0—0.2 g/L时,丙酸对 OD_{600} 值和乙醇产量无显著影响;当丙酸初始浓度为1.0 g/L时, OD_{600} 值降低20.71%,乙醇产量降低16.49%,表明培养基中丙酸浓度达到1.0 g/L时,单一的丙酸

对乙醇生产抑制作用明显。

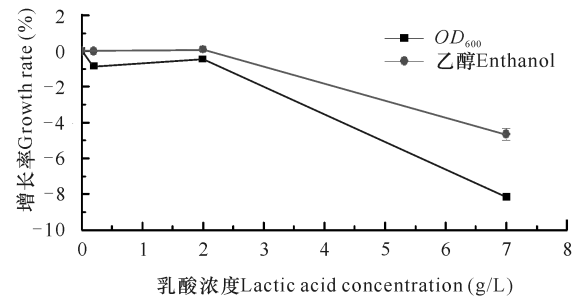


图2 乳酸对酿酒酵母*S. cerevisiae* NJ-2019生长及其发酵生产乙醇的影响

Fig. 2 Effects of lactic acid on the growth and ethanol production of *S. cerevisiae* NJ-2019

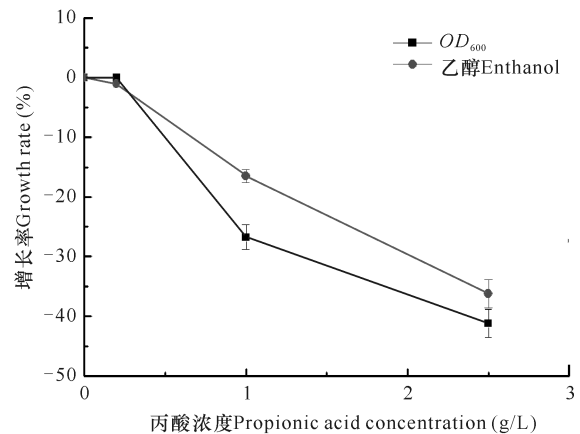


图3 丙酸对酿酒酵母*S. cerevisiae* NJ-2019生长及其发酵生产乙醇的影响

Fig. 3 Effects of propionic acid on the growth and ethanol production of *S. cerevisiae* NJ-2019

2.3.4 柠檬酸对乙醇生产的影响

根据夏季和秋季的清液和二次凝水样品中检测到的柠檬酸浓度,设计柠檬酸在培养基中的初始浓度分别为0.0, 0.2, 1.5, 2.5 g/L,考察柠檬酸浓度对酵母 OD_{600} 值和乙醇产量的影响。结果如图4所示:当柠檬酸初始浓度为0.0—2.5 g/L时,发酵结束后菌体 OD_{600} 值和乙醇产量无显著变化。表明单一的柠檬酸对乙醇生产无显著影响。

2.3.5 琥珀酸对乙醇生产的影响

根据夏季和秋季的清液和二次凝水样品中检测到的琥珀酸浓度,设计琥珀酸在培养基中的初始浓度分别为0.0, 0.2, 0.5, 1.0 g/L,考察琥珀酸浓度对酵母 OD_{600} 值和乙醇产量的影响。结果如图5所示:当琥珀酸初始浓度为0.0—1.0 g/L时,发酵结束后菌体 OD_{600} 值和乙醇产量无显著变化。表明单一的琥珀酸未对乙醇生产产生显著影响。

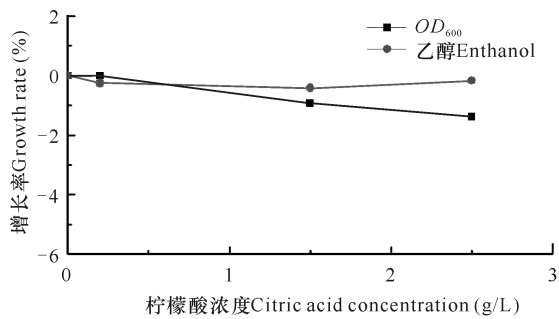


图4 柠檬酸对酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 生长及其发酵生产乙醇的影响

Fig. 4 Effects of citric acid on the growth and ethanol production of *S. cerevisiae* NJ-2019

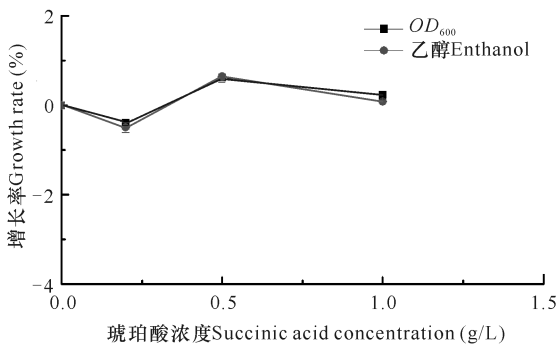


图5 琥珀酸对酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 生长及其发酵生产乙醇的影响

Fig. 5 Effects of succinic acid on the growth and ethanol production of *S. cerevisiae* NJ-2019

2.4 清液和二次凝水直接回用对乙醇生产的影响

如图6所示,对照组酵母菌 *Saccharomyce* NJ-2019 的比生长速率 μ 为 0.21,模拟清液和模拟二次凝水的比生长速率分别为 0.18 和 0.19,混合有机酸对酵母菌的生长表现出明显的抑制作用,这可能是由于有机酸之间的协同作用^[21-22]。从图6还可以看出,模拟清液和模拟二次凝水得到的比生长速率 μ 均大于对应的清液和二次凝水样品,表明在清液和二次凝水中还含有其他种类的抑制剂。在进行样品成分分析时,在清液、二次凝水中也检测出了糠醛、杂醇等物质,这些物质可以通过与有机酸的协同作用来增强有机酸的抑制能力。因此,考虑去除或者部分去除清液和二次凝水中的有机酸。

经过离子交换处理后,清液中除了仍含有 2.13 g/L 的乳酸,其余有机酸均低于检测限,而二次凝水中均未检测出有机酸。表明样品中的乙酸、乳酸、丙酸、柠檬酸和琥珀酸已被大部分去除。

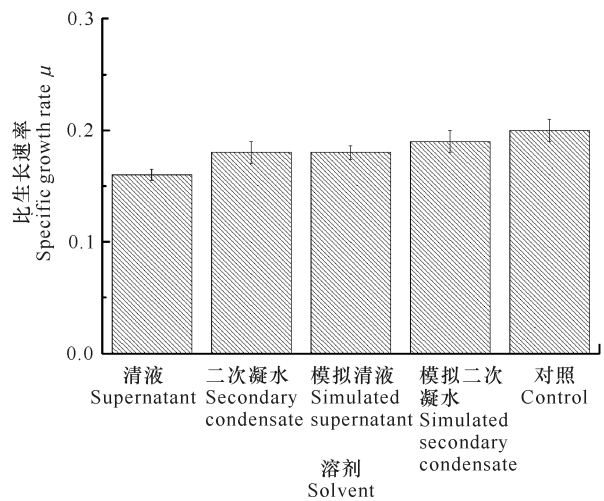


图6 模拟液对酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 生长的影响

Fig. 6 Effects of simulated liquids on the growth of *S. cerevisiae* NJ-2019

2.5 处理后清液和二次凝水回用对乙醇生产的影响

如表3所示,处理后的清液和二次凝水分别使酵母菌比生长速率提高 14.22% 和 13.23%;其乙醇产量虽然仍低于纯水,但与清液和二次凝水直接回用相比,可使乙醇发酵产量分别提高 10.11% 和 9.85%。

表3 处理后清液和二次凝水回用对酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 生长和乙醇产量的影响

Table 3 Effects of reusing treated supernatant and secondary condensate on the growth and ethanol production of *S. cerevisiae* NJ-2019

溶剂 Solvent	比生长速率 μ Specific growth rate μ	乙醇产量 Ethanol production (%)
纯水 Pure water	0.21±0.02	13.66±0.12
清液 Supernatant	0.16±0.03	10.50±0.34
处理后清液 Treated supernatant	0.183±0.01	11.56±0.33
二次凝水 Secondary condensate	0.18±0.02	11.68±0.21
处理后二次凝水 Treated secondary condensate	0.204±0.01	12.83±0.13

3 结论

本研究以燃料乙醇实际工业生产过程排放的清液和二次凝水为研究对象,分析其有机酸组成及其对酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 乙醇发酵过程的影响,确定单一的乳酸和丙酸组分即可显著抑制乙醇生

产,乳酸和丙酸对酿酒酵母 *S. cerevisiae* NJ-2019 生长和发酵的最低抑制浓度分别为 7.0 g/L 和 1.0 g/L。去除或者部分去除清液和二次凝水中的有机酸能使乙醇发酵产量分别提高 10.11% 和 9.85%。表明燃料乙醇发酵过程产生的清液和二次凝水具有回用的潜力,有利于实现乙醇生产过程节能减排。

参考文献

- [1] KLEMES J J, VARBANOV P S, HUISINGH D. Recent cleaner production advances in process monitoring and optimization [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2012, 34:1-8.
- [2] 韩秀丽,赵浩浩,鲁峰,等.有机酸对纤维素酶解和纤维乙醇发酵的影响[J].*郑州大学学报:工学版*,2015,36(6):5-9.
- [3] 赵江,赵华.酒糟滤液全回用技术在酒精发酵上的应用[J].*食品研究与开发*,2008,29(6):75-78.
- [4] 李静,刘景洋,乔琦,等.反渗透膜处理含有机酸凝结水技术[J].*化工进展*,2012,31(12):2648-2651.
- [5] NARENDRANATH N V, THOMAS K C, INGLEDEW W M. Effects of acetic acid and lactic acid on the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in a minimal medium [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2001,26(3):171-177.
- [6] OMAR F N, RAHMAN N A, HAFID H S, et al. Separation and recovery of organic acids from fermented kitchen waste by an integrated process [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2009,8(21):5807-5813.
- [7] SAGNE C, FARGUES C, LEWANDOWSKI R, et al. Screening of reverse osmosis membranes for the treatment and reuse of distillery condensates into alcoholic fermentation [J]. *Desalination*, 2008,219:335-347.
- [8] COUALLIER E M, RUIZ B S, LAMELOISE M L, et al. Usefulness of reverse osmosis in the treatment of condensates arising from the concentration of distillery vinasses [J]. *Desalination*, 2006,196(1):306-317.
- [9] PUNITA V V, SHAH B G, TRIVEDI G S, et al. Separation of inorganic and organic acids from glyoxal by electro dialysis [J]. *Desalination*, 2001,140(1):47-54.
- [10] OLIVA J M, NEGRO M J, SÁEZ F, et al. Effects of acetic acid, furfural and catechol combinations on ethanol fermentation of *Kluyveromyces marxianus* [J]. *Process Biochemistry*, 2006,41(5):1223-1228.
- [11] MAVROV V, BIHRES E. Reduction of water consumption and wastewater quantities in the food industry by water recycling using membrane processes [J]. *Desalination*, 2000,131:75-86.
- [12] LI X M, LI W F, WANG S J, et al. Treatment of stainless steel pickling wastewater by ion resin exchange and activated carbon adsorption [J]. *Advanced Materials Research*, 2012,518-523:2956-2960.
- [13] ZENG Y G, LI L. Study on treatment of heavy metal ions of chemical wastewater by ion exchange resin [J]. *Advanced Materials Research*, 2014, 955-959:2230-2233.
- [14] LU J, QIN Y Y, WU Y L, et al. Recent advances in ion-imprinted membranes; Separation and detection via ion-selective recognition [J]. *Environmental Science: Water Research and Technology*, 2019,5:1626-1653.
- [15] TAN HENRY K S. Ion exchange accompanied by neutralization reaction; Removal of dilute acids by anion exchange [J]. *Separation Science and Technology*, 2000,35(1):23-38.
- [16] 何珣,蒋学剑,花加伟,等.原位预处理甘蔗糖蜜对耐高温酿酒酵母突变株 *Saccharomyces cerevisiae* AQ 生产乙醇的影响[J].*广西科学*,2016,23(1):1-6.
- [17] 任婷月,周万里,张利群,等.一种检测葡萄糖氧化酶活力的新方法[J].*食品与发酵工业*,2015,41(1):212-215.
- [18] 王宝石,李林波,武忠伟,等.高浓度柠檬酸对酿酒酵母生长的抑制效应[J].*中国酿造*,2018,37(6):56-60.
- [19] 孜力汗.废液全循环工艺中有机酸积累对自絮凝颗粒酵母酒精连续发酵影响的研究[D].大连:大连理工大学,2002.
- [20] 赵伟,赵兵涛,次仁潘多,等.酿酒酵母代谢有机酸对乙醇发酵的影响[J].*可再生能源*,2017,35(7):971-977.
- [21] 任立伟.纤维质酒精发酵的菌种选育及发酵条件的研究[D].长春:吉林农业大学,2003.
- [22] 秦艳,申乃坤,莫勇生,等.黄浆水与木薯粉混合发酵高浓度乙醇的发酵条件[J].*广西科学*,2012,19(3):249-252.

Effects of Supernatant and Secondary Condensate from Industrial Waste Water on Fuel Ethanol Fermentation

ZHOU Yong

(Cofco Biotechnology Co., Ltd., Bengbu, Anhui, 233010, China)

Abstract: In order to study the feasibility of reusing the waste water from fuel ethanol production, the organic acids in the supernatant and secondary condensate samples produced during the process of fuel ethanol fermentation were taken as the research object to analyze the compositions of organic acids in these samples as well as to investigate the effects of single organic acid, water samples before and after D318 ion exchange resin treatment on the growth and ethanol production of *S. cerevisiae* NJ-2019. Results showed that acetic acid, lactic acid, propionic acid and citric acid were the main organic acids in the supernatant, but the main organic acids in the secondary condensate were acetic acid and lactic acid. Lactic acid and propionic acid showed significant inhibition on the growth and fermentation of *S. cerevisiae* NJ-2019, with the minimum inhibitory concentrations of 7.0 and 1.0 g/L, respectively. When the supernatant and secondary condensate samples were reused directly, the supernatant presented stronger inhibition on ethanol fermentation process. However, removal or partial removal of organic acids in the supernatant and secondary condensate samples could increase ethanol production by 10.11% and 9.85%, respectively. Therefore, both the supernatant and the secondary condensate produced in the fuel ethanol fermentation had potential for reuse, which was conducive to energy conservation and emission reduction in the ethanol production process.

Key words: fuel ethanol, supernatant, secondary condensate, reuse, energy conservation and emission reduction, organic acids, fermentation

责任编辑: 陆雁

(上接第 181 页 Continued from page 181)

Optimization of Enzymatic Hydrolysis for Rice Protein via Response Surface Methodology

HUANG Yanyan¹, WANG Sheng², FENG Tao³, TANG Zhihui³, MO Junming^{3,4}

(1. National Engineering Research Centre for Non-food Biorefinery, State Key Laboratory of Non-food Biomass and Enzyme Technology, Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China; 2. Nanning Pangbo Biological Engineering Co., Ltd., Nanning, Guangxi, 530004, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University for Nationalities, 530006, China; 4. Nanning Chemmatic Biotec Co., Ltd., Nanning, Guangxi, 530006, China)

Abstract: In order to improve the degree of rice protein hydrolysis and extraction rate, response surface method was used to optimize the hydrolysis process of rice proteins. In this study, first of all, the single factor experiment method was used to analyze the effect of enzyme addition amount, temperature, pH value and enzymatic hydrolysis time on rice protein hydrolysis. Furthermore, on the basis of single factor experiment, Box-Behnken method was used to design the experiment to investigate the influence of the above four factors on the degree of rice protein hydrolysis and protein extraction rate. The results showed that the optimum conditions of enzymatic hydrolysis were temperature 62°C, enzyme addition 2.5%, pH 8.2, and hydrolysis time 10.5 h. Under this condition, the degree of hydrolysis of rice protein could reach 41.5%, and the rate of protein extraction could reach 93.1%. The research results can provide references for the industrial application of soluble rice protein peptide prepared by enzymatic hydrolysis.

Key words: response surface method, rice protein, enzymatic hydrolysis, degree of hydrolysis, protein extraction rate

责任编辑: 米慧芝