

## 用固定化增殖细胞由甜高粱汁制取燃料酒精

段俊英 柴明 何秀良 胡连生 鞠京丽

(中国科学院林业土壤研究所, 沈阳)

侯振彪 曹玉瑞 车芙蓉 李超英

(沈阳农业大学, 沈阳)

为开拓生物质能源的新途径, 我们应用固定化增殖细胞技术由甜高粱茎秆汁液发酵制取燃料酒精的研究。

固定化细胞的制备: 菌种采用适于甜高粱 (Rio品种) 汁液酒精酵母, 川 102 菌株, 包埋载体为海藻酸钠 (大连水产化工厂产销)。取活化 24h 的种菌, 接于含 100 ml 菌体培养液的 500ml 三角瓶中, 摇床培养 24h 左右 (rpm 80—100, 30°C)。菌体自然沉降或离心获得, 制成约含细胞干物重为 20—25% 的细胞悬浮液。配制 2.5% 的海藻酸钠溶液, 60°C 左右加热溶解后, 待冷却至 40°C 左右, 以海藻酸钠与菌悬浮液之比为 100:30, 加入菌悬液, 用自制制粒器将海藻酸钠菌悬液滴入灭菌的 2%  $\text{CaCl}_2$  溶液中, 使成海藻酸钙凝胶小球。小球粒径为 2—3mm。将固定化凝胶小球置增殖培养液中振荡增殖 48h 左右。每隔 12h 更换一次新鲜增殖液, 并测定小球中的菌数和出芽率, 一般细胞增殖数可由  $10^6$  个/ml 到  $10^8$  个/ml 左右, 出芽率可达 30% 左右。

酒精发酵试验: 我们先后用葡萄糖、蔗糖和甜高粱汁液在小三角瓶和小型生物反应器 (1.8L 和 30L) 进行了固定化酵母发酵酒精试验, 发酵基质的糖浓度为 10% 左右, 发酵温度 35°C 左右, 发酵液的 pH 4.5 左右。用气相色谱法和蒸馏法测定乙醇产量。

试验结果表明: 当发酵液的 pH 为 4.5 左右, 发酵温度为 35°C 时, 乙醇产量最高。不同金属离子对固定化细胞粒子强度的影响试验证明: 用  $\text{CaCl}_2$  作交联液, 固定化凝胶粒子的强度最佳。其次是  $\text{CuSO}_4$  和  $\text{ZnSO}_4$ 。为观察固定化细胞粒子的稳定性, 我们用 10% 的葡萄糖发酵液进行了三个多月的小瓶连续观察试验。共发酵 117 轮次。每轮试验 1—2h。在 30 轮之前, 乙醇产量为 40—42 mg/ml·h, 也多次达到 45mg/ml·h, 可达理论转化率 95% 左右。发酵液中的残糖达 1% 左右。在第 30 轮之后, 乙醇产率有所下降, 可降低 7—20%。在第 60 轮之后, 发现小球出现裂纹, 细胞渗漏较多。但是小球仍保持着完整状态。在用小反应器的连续发酵 30 余天的试验中, 乙醇生产率未见明显下降, 凝胶小球虽有小量裂纹, 但未破碎。

在上述适宜的发酵条件下, 用 10% 的葡萄糖和蔗糖以及 14% 左右的甜高粱汁在小瓶发酵时, 2h 左右乙醇产量的转化率可达 90%。用 1.8L 容积的反应器对 15% 蔗糖液发酵和 14% 的甜高粱液发酵结果: 当固定化凝胶粒子的填充系数为 35% 时, 发酵 5h, 蔗糖转化为乙醇的转化率为 95% 左右

本文于 1986 年 12 月 15 日收到。

本工作承沈阳农大农工系鲁楠教授、马志泓副教授大力支持; 蔡崇光同志参加工作, 特此致谢。

〔产乙醇量7%(W/V)左右〕,甜高粱汁产乙醇6%左右,转化率约85%,与用30 L反应器的试验结果相仿,提高由甜高粱

汁连续发酵乙醇的产量(转化率)正在进一步研究中。

### 参 考 文 献

- 〔1〕 Frieda, B.K.: *Process Biochemistry*, 15(7): 2-8, 1981.
- 〔2〕 Jain, V.K. et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, 27(3): 273-279, 1985.
- 〔3〕 千畑一郎: 発酵と工業, 65(5): 445-455, 1985.
- 〔4〕 楠浩一郎: 化学工学, 50(1): 23-28, 1986.

JOURNALS.IM.AC.CN