

固定化酵母粒子强化及其对甜高粱茎秆汁液乙醇发酵的影响

沈 飞, 刘荣厚^{*}

(上海交通大学农业与生物学院生物质能工程研究中心, 上海 201101)

摘 要: 采用正交试验设计开展了三亚乙基四胺(TTA)和戊二醛(GLU)的浓度和处理时间对海藻酸钙固定化酵母粒子的化学强度影响的试验研究, 并以甜高粱茎秆汁液为原料, 在 5 L 的反应器中进行乙醇发酵试验, 考察强化后的固定化酵母粒子对乙醇发酵的影响。结果表明, 最优的固定化酵母粒子强化处理的方案为: TTA 浓度为 0.5%, 处理时间为 120 min; GLU 浓度为 0.5%, 处理时间为 8 min。连续 8 批次的甜高粱茎秆汁液乙醇发酵试验结果表明, 最优组合强化后固定化酵母粒子用于乙醇发酵时, 平均乙醇得率和变异系数(CV%)分别为 84.78% 和 8.08%, 而未强化的固定化酵母粒子为 84.32% 和 9.68%, 可见, 最优组合强化后的固定化酵母粒子的发酵性能略优于未强化的固定化酵母粒子。该文为固定化酵母发酵甜高粱茎秆汁液制取生物乙醇技术的研究提供了参考。

关键词: 固定化酵母; 强化; 甜高粱茎秆汁液; 乙醇发酵

中图分类号: S216.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2007)5-0180-05

沈 飞, 刘荣厚. 固定化酵母粒子强化及其对甜高粱茎秆汁液乙醇发酵的影响[J]. 农业工程学报, 2007, 23(5): 180-184.

Shen Fei, Liu Ronghou. Stabilization of immobilized yeast and its influence on ethanol fermentation from sweet sorghum stalk juice[J]. Transactions of the CSAE, 2007, 23(5): 180-184. (in Chinese with English abstract)

0 引 言

在化石能源日益匮乏, 环境污染日益严重的今天, 生物能源的开发和利用对于缓解能源危机的压力和减轻化石能源消耗造成的环境污染具有十分重要的作用。生物乙醇作为一种可再生的清洁能源, 正成为一种有效的替代化石能源^[1]。目前, 生物乙醇一般由微生物发酵糖类、淀粉质和纤维素原料获得。甜高粱是一种具有较高生物学产量和糖产量的作物, 其茎秆产量一般可达 60000~75000 kg/hm², 茎秆汁液富含糖分, 且较容易转化成乙醇^[2], 此外, 甜高粱易栽培, 适应性广。因而, 甜高粱茎秆汁液发酵制取生物乙醇具有较为广阔的应用前景^[3,4]。就甜高粱茎秆汁液发酵制取生物乙醇的工艺而言, 利用固定化酵母细胞进行乙醇发酵比传统的乙醇发酵具有反应器内细胞浓度高, 发酵速度快, 生产周期短, 以及固定化酵母细胞可以重复利用等优点。同时固定化酵母发酵生产乙醇可以实现连续化、小型化和自动化的操作^[5]。因此, 此法将会成为生物乙醇生产工艺改革的一种趋势。但是在应用固定化技术中, 有三个问

题必须逐步得到解决, 即: 固定化粒子的强度、活性和寿命^[6]。

酶和细胞等生物催化剂可以通过不同的方法固定在不同的载体材料上, 在这些方法中, 用海藻酸钙包埋固定化细胞的方法是最广泛使用的方法之一^[7], 但是海藻酸盐制成的固定化酵母的化学和物理稳定性较差^[8], 尤其是在含多价阴离子(磷酸盐、柠檬酸盐、硫酸盐等), 以及在较高浓度的电解质(K⁺、Na⁺等)溶液中不稳定、易变软、裂口、甚至溶解^[6]; 特别是在发酵过程中, 由于菌体的繁殖和 CO₂ 的产生, 颗粒更容易破碎, 影响使用寿命^[9]; 另外在机械搅拌式、流化床等反应器中, 还容易出现搅伤、破碎等方面的问题。这些问题的存在很大程度上限制了固定化技术在乙醇生产中的应用。

固定化酵母粒子强化的目的是增强其化学强度, 延长使用寿命, 但并不降低酵母粒子的发酵性能。近年来, 关于强化海藻酸盐固定化细胞粒子, 以提高其强度、稳定性和使用寿命的研究报道不多, Veliky 等^[10]报道了聚乙烯亚胺对海藻酸钙凝胶固定化细胞的强化作用; 杨雪蕊等^[11]通过聚乙烯亚胺交联强化法对海藻酸固定化酵母细胞的强化作用进行了研究; 但是, 此类研究多针对于固定化细胞粒子的强度及确定化学药剂的使用量方面, 而对固定化细胞粒子的使用性能等方面报道较少。本文用三亚乙基四胺(TTA)处理海藻酸钙固定化酵母粒子, 然后用戊二醛(GLU)做进一步交联海藻酸钙固定化酵母粒子, 并对固定化酵母粒子的强度、乙醇发酵能力、发酵稳定性等方面进行了研究, 以期固定

收稿日期: 2006-08-22 修订日期: 2006-12-11

项目基金: 欧盟资助项目(ICA4-2002-10023)

作者简介: 沈 飞(1980-), 男, 安徽蚌埠人, 博士研究生, 主要从事生物质能方面的研究。上海 上海交通大学农业与生物学院, 201101。Email: shau407@163.com

^{*}通讯作者: 刘荣厚(1960-), 男, 辽宁辽阳人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事可再生能源和环境工程的研究与教学工作。上海 上海交通大学农业与生物学院生物质能工程研究中心, 201101。

Email: liurhou@sjtu.edu.cn

化技术在甜高粱茎秆汁液制取生物乙醇工艺中的应用和推广提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1) 化学试剂

海藻酸钠(化学纯), 氯化钙(分析纯), 三亚乙基四胺(化学纯), 戊二醛(25%溶液, 生物试剂), 磷酸氢二钾(分析纯), 磷酸二氢钾(分析纯), 酵母膏(生物试剂), 蛋白胨(生物试剂), 无水乙醇(分析纯, 99.9%)。

2) 菌种及培养基

南阳混合酵母(上海交通大学生物物质能实验室保藏)。

固体斜面培养基: 葡萄糖 5.0%, 酵母膏 0.5%, 蛋白胨 0.5%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%, 琼脂 2.0%。

种子培养基: 葡萄糖 5.0%, 酵母膏 0.5%, 蛋白胨 0.5%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1%。

3) 发酵原料

沈农甜杂2号甜高粱, 采收于上海交通大学农业与生物学院实验农场, 经压榨后汁液添加 0.2% 的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、0.125% 的 K_2HPO_4 和 0.05% 的 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 作为营养盐, 经灭菌, 冷却, 贮藏于 4℃ 冰箱中。

1.2 仪器与设备

分光光度计(Unico2000, 尤尼柯仪器有限公司); 高压灭菌锅(CRD-280型, 上海申安医疗器械厂); 往复式恒温水浴振荡器(WHY-2型, 江苏金坛金城国胜实验仪器厂); 三辊式甘蔗压榨机(130型, 广西德宝县机械厂); 生物发酵罐(GUJS-5C型, 镇江东方生物工程设备有限公司); 物性测试仪(TA-XT型, Stable Microsystems)。

1.3 方法

1) 菌种的培养

将培养成熟的南阳混合酵母在无菌条件下, 从固体斜面培养基上接种 1~2 环到锥形瓶中的种子培养基中, 然后置于恒温水浴振荡器中培养。培养条件: 转速: 140~160 r/min, 恒温(30±1)℃, 培养 10~15 h, 液面冒出大量的白色泡沫, 经血球计数板镜检计数, 当酵母数达到 108 个/mL 以上时酵母菌液即培养成熟, 置于 4℃ 冰箱中备用。

2) 固定化酵母粒子的制备

将培养成熟的酵母菌液和 2.5% 的海藻酸钠溶液按照一定的比例混合制成含酵母细胞的海藻酸钠溶液, 将该溶液成滴的滴入 2.0% 的氯化钙溶液中, 使之形成白色的粒径为 3 mm 左右的海藻酸钙凝胶粒子, 并继续

在氯化钙溶液中放置 12 h, 然后用无菌水洗涤置于 4℃ 冰箱中备用。以上操作在无菌条件下进行。

3) 固定化酵母粒子的强化

取一定量的固定化酵母粒子, 按照实验设计分别置于不同浓度的 TTA 和 GLU 溶液中处理不同时间得到供试的固定酵母粒子。

4) 固定化酵母粒子化学强度的测定^[7,11]

用清水洗涤固定化酵母粒子后, 用布式漏斗过滤并保留清液, 用分光光度计在 660 nm 处测定清液中的混浊程度(透光度), 然后将一定质量的固定化酵母粒子浸泡在 50 mL 的 0.1 mol/L 的 pH 值为 7.0 的磷酸盐缓冲溶液中, 在往复式振荡器上在转速为 150 r/min 条件下振荡 1 h 后, 用分光光度计在 660 nm 条件下测定清液的混浊程度(透光度), 用两者的比值(G%)作为判别固定化酵母细胞被磷酸盐解体的程度, 即:

$$G = \frac{\text{磷酸盐缓冲溶液溶解后清液透光度}}{\text{清水洗涤后清液透光度}} \times 100\%$$

用 G 作为衡量固定化酵母粒子的化学强度的指标, 对强化后的固定化酵母粒子和未强化的固定化酵母粒子分别用此法测定并计算 G 值。

5) 固定化酵母粒子物理强度测定

固定化酵母粒子的物理强度是指固定化酵母粒子的抗机械损伤的能力, 在本研究中通过使用物性测试仪测定固定化酵母粒子的在一定形变范围内的抗压能力以表征其物理强度。测试中, 随机选取 10 粒固定化酵母粒子, 用吸水纸吸干表面的水份, 置于物性测试仪平台上, 在形变范围 2 mm 内测定其可承受的最大压力。

6) 乙醇浓度测定

采用蒸馏法测定^[12]。

7) 糖浓度测定

采用 3,5-二硝基水杨酸法(DNS法)^[13,14]。

1.4 试验设计

为了使强化后的固定化酵母粒子获得较佳的强度, 对试验所选用的 TTA 和 GLU 两种试剂的处理浓度和处理时间作为实验考察的 4 个因素, 在实验中选择 4 因素 3 水平($L_9(3^4)$)正交设计表作为试验方案。表 1 为固定化酵母粒子强化试验设计因素水平表。

表 1 固定化酵母粒子强化试验设计因素水平表

Table 1 Factors and levels of the experiments for the stabilization of immobilized yeast particles

水平	因素 A	因素 B	因素 C	因素 D
	TTA 浓度 /%	TTA 处理时间 /min	GLU 浓度 /%	GLU 处理时间 /min
1	0.5	30	0.5	4
2	1	60	1	8
3	2	120	2	16

2 结果与分析

2.1 TTA 和 GLU 对固定化酵母粒子化学强度的影响

海藻酸钠是由 β -1, 4-D 甘露糖醛酸(M) 和 α -1, 4-L 古洛糖醛酸(G) 组成的线性高聚物, 他们按照以下的次序排列: 甘露糖醛酸块-M-M-M-, 古洛糖醛酸块-G-G-G-, 交替块后形成-M-G-M-G-。海藻酸盐分子链 G 块很容易与 Ca^{2+} 作用, 在两条分子链 G 块间形成一个洞, 结合 Ca^{2+} 形成“蛋盒”模型^[15]。TTA 是一种胺类有机化合物, 易和醛基发生缩合反应; GLU 为醛基有机化合物, 性质活泼, 易聚合氧化, 与含有活泼氧和含有氮的化合物容易反应。由于 TTA 和 GLU 的性质, 在理论上具有提高海藻酸钙固定化酵母粒子强度的作用。

按照固定化酵母粒子强化试验设计和固定化酵母粒子化学强度的测定方法, 进行固定化酵母粒子强化试验, 表 2 为固定化酵母粒子化学强度正交试验及极差分析结果。

表 2 固定化酵母粒子化学强度正交试验及极差分析结果

Table 2 Results and analysis of orthogonal test for chemical stabilization of immobilized yeast

实验号	A	B	C	D	化学强度(G)/%	
					I	II
1	1	1	1	1	83.03	82.84
2	1	2	2	2	69.67	68.69
3	1	3	3	3	91.11	91.10
4	2	1	2	3	53.68	53.53
5	2	2	3	1	59.79	61.20
6	2	3	1	2	88.15	83.60
7	3	1	3	2	58.97	61.70
8	3	2	1	3	53.96	53.39
9	3	3	2	1	68.17	71.41
K_1	486.44	393.76	444.97	426.44		
K_2	399.96	366.70	385.16	430.78		
K_3	367.60	493.54	423.87	396.78		
k_1	81.07	65.63	74.16	71.07		
k_2	66.66	61.12	64.19	71.80		
k_3	61.27	82.26	70.65	66.13		
R	19.80	21.14	9.95	5.67		
Q	A ₁	B ₃	C ₁	D ₂		

注: I、II 为两个试验重复;

空白化学强度(G) I、II 分别为: 44.75% 和 42.82%。

由表 2 可知各个因素对固定化酵母粒子化学强度(G) 的影响按照大小顺序是 A(TTA 浓度) > B(TTA 处理时间) > D(GLU 处理时间) > C(GLU 浓度)。从而确定通过 TTA 和 GLU 强化处理海藻酸钙的固定化酵母粒子的最优方案是: A₁B₃C₁D₂, 即: TTA 浓度为 0.5%, TTA 处理时间为 120 min, GLU 浓度为 0.5% 以

及 GLU 处理时间为 8 min。该最优组合的试验在表 2 虽然没有出现, 但和表 2 中的 3 号试验组合(A₁B₃C₃D₃) 和 6 号试验组合(A₂B₃C₁D₂) 较相似, 而 3 号和 6 号试验的结果在整个试验中为最高值和次高值, 这说明 A、B 两因素在整个试验 4 个影响因素中为主要的因素。然后根据分析得出的最优试验组合(A₁B₃C₁D₂) 进行了强化试验并测定其化学强度指标, 得到两试验重复的 G 值分别为: 95.94% 和 94.69%, 均高于表 2 中的各 G 值, 因此, 在实际应用中应采用正交试验得出的最优组合(A₁B₃C₁D₂)。通过 TTA 和 GLU 联合处理海藻酸钙固定化酵母粒子, 不同的组合在不同程度上都能提高粒子的强度, 其可能的原因是, 一方面在 TTA 处理海藻酸钙固定化酵母粒子过程中, TTA 中的胺分子有可能扩散到海藻酸钙的三维网格中和带正电的凝胶形成离子键^[16], 另一方面, 用 GLU 进一步处理时, GLU 的醛基和 TTA 的胺基可以发生缩合反应形成共价键, 起到交联的作用, 这种作用在粒子的三维网格内扩展, 形成了三维网格的刚性支撑体, 可有效的防止溶液中的 PO_4^{3-} 等阴离子与 Ca^{2+} 结合以及 K^+ , Na^+ 等阳离子与 Ca^{2+} 交换, 而导致粒子溶解破坏^[17]。

为了验证试验各个因素对固定化酵母粒子强化后化学强度影响的显著性, 对正交试验的结果进行方差分析, 结果见表 3。

表 3 固定化酵母粒子化学强度正交试验方差分析结果

Table 3 Results of variance analysis of orthogonal test of stabilization of immobilized yeast

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	临界值
TTA 浓度	2952.66	2	1476.33	908.13*	$F_{0.01}(2, 9) = 8.02$
TTA 处理时间	1635.01	2	817.51	502.87*	
GLU 浓度	142.13	2	71.06	43.71**	
GLU 处理时间	434.92	2	217.46	133.77*	
误差	29.26	9	1.63		

由表 3 可知, 试验中 4 个因素的 F 值分别为 $F_{TTA\text{浓度}} = 908.13 > F_{0.01}(2, 9) = 8.02$, $F_{TTA\text{处理时间}} = 502.87 > F_{0.01}(2, 9)$, $F_{GLU\text{浓度}} = 43.71 > F_{0.01}(2, 9)$ 以及 $F_{GLU\text{处理时间}} = 133.77 > F_{0.01}(2, 9)$ 。对每个因素的 F 值进行排序可以知道这些因素对于固定化酵母粒子化学强度影响的大小顺序为: TTA 浓度 > TTA 处理时间 > GLU 处理时间 > GLU 浓度, 且 TTA 浓度、TTA 处理时间、GLU 处理时间以及 GLU 浓度对于固定化酵母粒子化学强度的影响都极显著。

2.2 强化后的固定化酵母粒子对甜高粱茎秆汁液乙醇发酵的影响

以甜高粱茎秆汁液为原料, 在 5 L 的生物发酵罐中用最优组合(A₁B₃C₁D₂) 强化后的固定化酵母粒子进行

了8批次的乙醇发酵试验,同时用未强化的固定化酵母粒子作空白实验进行对比,目的在于考察固定化酵母粒子的发酵性能。图1为固定化酵母发酵甜高粱茎秆汁液乙醇得率和发酵批次的关系。

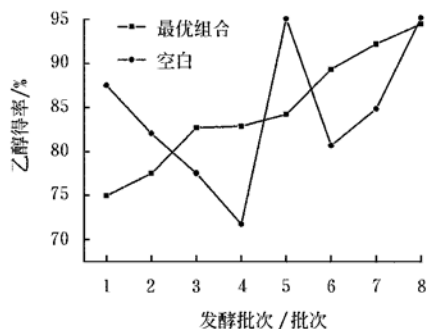


图1 两种固定化酵母发酵甜高粱茎秆汁液乙醇得率及其与发酵批次的关系

Fig. 1 Ethanol yield vs. batches of ethanol fermentation from sweet sorghum stalk juice by immobilized yeast

由图1可知,最优组合($A_1B_3C_1D_2$)强化后的固定化粒子用于发酵甜高粱茎秆汁液时,乙醇得率随着发酵批次的增加有上升趋势,而空白的固定化粒子用于发酵甜高粱茎秆汁液时,乙醇得率在一定的范围内上下波动。对8批次固定化酵母发酵的乙醇得率进行分析可知,最优组合强化后的固定化酵母粒子的发酵甜高粱茎秆汁液制取乙醇的平均乙醇得率为84.78%,而空白为84.32%,以最优组合强化后的固定化酵母粒子发酵时的乙醇生产能力略高于空白;从发酵稳定性方面分析,最优组合强化后固定化酵母粒子在8批次甜高粱茎秆汁液发酵中乙醇得率的变异系数(CV%)为8.08%,而空白为9.68%。可见,最优组合强化后的固定化酵母粒子在发酵过程中,其发酵稳定性略优于空白。由于强化后的固定化酵母粒子具有较好的化学强度,对酵母的保持能力较好,因而发酵连续进行时,酵母细胞在固定化粒子内生长、繁殖,粒子中心内部的细胞向外迁移,并在粒子表面形成一层凝聚的酵母细胞,耗糖速率加快,乙醇得率增加。多批次发酵后,强化后的固定化酵母粒子的发酵性能趋于稳定^[18,19]。

2.3 多批次发酵对固定化酵母粒子物理强度的影响

用物性测定仪测定用于8批次发酵甜高粱茎秆汁液制取乙醇的最优组合($A_1B_3C_1D_2$)强化后固定化酵母粒子和未强化的固定化酵母(以下称空白)物理强度。图2为固定化酵母粒子用于甜高粱茎秆汁液乙醇发酵过程中物理强度和发酵批次关系。

由图2可知,两种酵母粒子在发酵过程中物理强度都随着发酵批次的增加而呈现下降的趋势。在发酵前,强化后的固定化酵母粒子的物理强度为132.38

kg/cm²,而空白为71.05 kg/cm²,强化后的固定化酵母粒子的物理强度高于空白46.32%;发酵8批后,强化后的固定化酵母粒子的物理强度下降至100.98 kg/cm²,降低率为23.72%,空白的物理强度降低至43.87 kg/cm²,降低率为38.26%。因此,经强化处理的固定化酵母粒子具有较好的抗机械损伤能力。在TTA和GLU的交联作用下,在固定化酵母粒子内部形成的三维刚性结构是维持强化后的固定化粒子物理强度的重要原因^[17]。

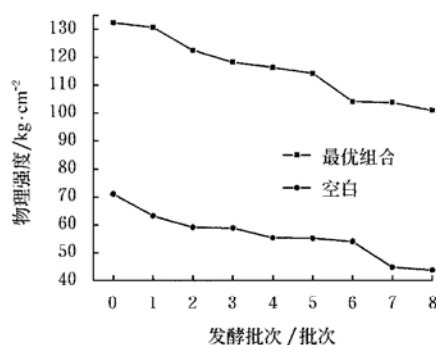


图2 固定化酵母粒子用于甜高粱茎秆汁液乙醇发酵过程中物理强度和发酵批次关系

Fig. 2 Physical stabilization of immobilized yeast vs. batches of ethanol fermentation from sweet sorghum stalk juice

3 结论和讨论

1) 本试验表明:固定化酵母粒子强化,最优处理组合为 $A_1B_3C_1D_2$,即:TTA浓度为0.5%,TTA处理时间为120 min, GLU浓度为0.5%, GLU处理时间为8 min。最优组合强化的固定化酵母粒子具有较高的化学强度。上述4个因素对固定化酵母粒子化学强度影响的主次顺序为:TTA浓度>TTA处理时间>GLU处理时间>GLU浓度,且此4因素对试验结果影响极显著。

2) 以甜高粱茎秆汁液为原料,在5L的搅拌式生物智能发酵罐中用最优组合($A_1B_3C_1D_2$)强化后的固定化酵母粒子进行8批次的乙醇发酵试验。结果显示,最优组合强化后的固定化酵母粒子的乙醇得率的变异系数为8.08%,而未强化的固定化酵母粒子为9.68%,最优组合平均乙醇得率为84.78%,而未强化的固定化酵母粒子为84.32%,说明最优组合强化后的固定化酵母粒子用于乙醇发酵,其发酵性能略优于未强化的固定化酵母粒子。

3) 通过多批次发酵后的固定化酵母粒子物理强度的测定,结果显示,最优组合($A_1B_3C_1D_2$)强化后的固定化酵母粒子发酵前物理强度比未强化的固定化酵母粒子高46.32%,发酵8批后结果表明,强化后的固定化

酵母粒子的物理强度下降了 23.72%, 而未强化的固定化酵母粒子的物理强度下降了 38.26%。表明经最优组合强化后的固定化酵母粒子较未强化的固定化酵母粒子具有较高抗机械损伤能力。

4) 在固定化酵母发酵甜高粱茎秆汁液制取乙醇的生产工艺中, 采用固定化酵母粒子强化技术对固定化酵母发酵甜高粱茎秆汁液制取乙醇技术的推广具有重要的理论意义与实践价值。

[参 考 文 献]

- [1] 田 沈, 王 菊, 陈新芳, 等. 固定化运动发酵单细胞菌乙醇发酵研究[J]. 太阳能学报, 2005, 26(2): 119– 223.
- [2] 刘荣厚, 李金霞, 沈 飞, 等. 甜高粱茎秆汁液固定化酵母酒精发酵的研究[J]. 农业工程学报, 2005, 21(9): 137– 140.
- [3] 黎大爵, 廖馥荪. 甜高粱及其应用[M]. 北京: 北京科学出版社, 1992.
- [4] Mamma D, Koullas D, Fountoukida G, et al. Bioethanol from sweet sorghum: simultaneous saccharification and fermentation of carbohydrates by a mixed microbial culture[J]. Process Biochemistry, 1996, 31: 377– 381.
- [5] Tzeng J W, Fan L S. Ethanol fermentation using immobilized cells in a multistage bed bioreactor[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1991, 38: 1253– 1258.
- [6] 尹淑媛, 张 栋, 戴卫国. 固定化酵母细胞改良及其特性的研究[J]. 成都科技大学学报, 1991, (1): 11– 15.
- [7] Arpita Gupte, Stanislaus F. D'Souza. Stabilization of alginate beads using radiation polymerized polyacrylamide [J]. Journal of Biochemical Biophysical Methods, 1999, 40: 39– 44.
- [8] Pieter J Verbelen, David P De Schutter, Filip Delvaux, et al. Immobilized yeast cell systems for continuous fermentation applications[J]. Biotechnology Lett, 2006, 28: 1515 – 1525.
- [9] 杨启瑞, 张伟心. 固定化酵母强化技术的研究[J]. 工业微生物, 1993, 23(1): 24– 26.
- [10] Veliky I A, Williams R E. Study on the Polyethylene imine of B. Coli Alginate Gel Immobilized cells [J]. Biotechnology Lett, 1997, (5): 227– 280.
- [11] 杨雪蕊, 孙达远, 罗 艺, 等. 聚乙烯亚胺对海藻酸固定化酵母细胞的强化作用[J]. 海南大学学报自然科学版, 1999, 17(1): 47– 49.
- [12] GB/T 15038– 2005, 葡萄酒、果酒通用试验方法[S].
- [13] 胡明方. 食品分析[M]. 重庆: 西南师范大学出版社, 1993.
- [14] Miller G L. Using of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar[J]. Anal Chem, 1959, 31: 428– 426.
- [15] 阚建全. 食品化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [16] 任玲玲, 何 静, 马润宇, 等. 固定化青霉素酰化酶的新载体[J]. 北京化工大学学报, 2002, 29(1): 64– 67.
- [17] 孙 艳, 谭立扬. 用于生物降解酚类毒物的固定化细胞性能改进的研究[J]. 环境科学研究, 1998, 11(1): 59– 62.
- [18] 王岁楼. 固定化增殖细胞在微生物生化过程中应用的研究[J]. 天津微生物, 1983, (1): 21– 30.
- [19] 张淑惠, 郝春生, 徐义勤. 酒精酵母固定化后强化技术的研究[J]. 食品与发酵工业, 1985, (3): 1– 5.

Stabilization of immobilized yeast and its influence on ethanol fermentation from sweet sorghum stalk juice

Shen Fei, Liu Ronghou^{*}

(Biomass Energy Engineering Research Centre, School of Agriculture and Biology,
Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201101, China)

Abstract: Triethylene-tetramine(TTA) and glutaraldehyde(GLU) were used to stabilize immobilized yeast particles. The orthogonal experiments were carried out to determine the effects of concentrations and treatment time of TTA and GLU on chemical stabilization of the immobilized yeast. The ethanol fermentation experiments were conducted in a 5 L bioreactor to investigate the influence of the stabilized immobilized yeast on ethanol fermentation of sweet sorghum stalk juice. The results showed that the optimum treatment for chemical stabilization of immobilized yeast particles was as follows: TTA concentration of 0.5%, TTA treatment time of 120 min, GLU concentration of 0.5% and GLU treatment time of 8 min. Eight batches ethanol fermentation results of sweet sorghum stalk juice in the 5 L bioreactor showed that the average yield of ethanol and coefficient of variation (CV%) were 84.78% and 8.08%, respectively, when the immobilized yeast particles stabilized by the optimum treatment were used for fermentation, while those of blank treatment were 84.32% and 9.68%, respectively. Therefore, the behavior of the stabilized immobilized yeast was slightly better than that of blank treatment. The research has provided a scientific reference for the researches of refining bioethanol from sweet sorghum stalk juice by immobilized yeast.

Key words: immobilized yeast; stabilization; sweet sorghum stalk juice; ethanol fermentation