DOI:10.3969/j.issn. 1673–1689.2017.12.016

乙醇–沼气双发酵耦联工艺对酒糟蛋白饲料的影响

王 柯[1,2]， 张建华[1,2]， 毛忠贵[1,2]

（1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室，江苏 无锡 214122；2. 江南大学 生物工程学院，江苏 无锡 214122）

摘要：乙醇–沼气双发酵耦联工艺可有效解决玉米乙醇生产过程存在的能耗大、废水处理成本高的问题。作者研究了耦联工艺对玉米乙醇生产过程的主要副产物酒糟蛋白饲料的影响。结果表明，与传统的干磨工艺比较，耦联工艺所得的酒糟蛋白饲料含有较高质量分数的蛋白质和氨基酸，较低质量分数的盐，因此拥有更高的营养价值。利用电子鼻和气质联用对酒糟蛋白饲料气味进行分析，发现循环批次所得酒糟蛋白饲料与第一批在气味上表现出一定的差异，但是不会影响家畜的食用。

关键词：乙醇发酵；厌氧消化；废水处理；酒糟蛋白饲料；电子鼻

中图分类号：TQ 920.6　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1673—1689(2017)12—1330—06

Effect of Integrated Ethanol–Methane Fermentation Process on Dried Distillers´ Grains

WANG Ke[1,2]， *ZHANG Jianhua*[1,2]， *MAO Zhonggui*[1,2]

（1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China）

Abstract: The integrated ethanol-methane fermentation process can efficiently resolve the problems of massive energy consumption and high cost for wastewater treatment faced by corn ethanol production process. In this paper, effect of the integrated process on the quality of the dried distillers' grains (DDG) was studied. Results showed that DDG obtained from the integrated process contained higher concentration of protein and amino acid and lower concentration of inorganic salt, thereby having higher nutritional value compared with the conventional dry-grind process. Electronic nose and GC/MS were used to analyze the odor of the DDG, and it was found that DDG of the recycling batches showed some different with the first batch of DDG. However, feed intake of domestic animals was not influenced.

Keywords: ethanol fermentation, anaerobic digestion, wastewater treatment, dried distillers' grains, electronic nose

收稿日期：2015–07–16

基金项目：苏州市科技支撑项目(SS201412)；江南大学自主科研计划青年基金项目(1012050205150710)。

作者简介：王 柯(1986—)，男，江苏徐州人，工学博士，讲师，主要从事发酵工业清洁生产方面的研究。E–mail：kewang@jiangnan.edu.cn

引用本文：王柯，张建华，毛忠贵. 乙醇–沼气双发酵耦联工艺对酒糟蛋白饲料的影响[J]. 食品与生物技术学报，2017，36(12)：1330–1335.

生物质乙醇作为燃料具有清洁、可再生的特点,是很好的化石燃料替代品,其产量在过去的 10 年间得到了大幅度提高[1]。2014 年,全球的生物质乙醇产量达到了 7 400 万 t,其中约 60%为玉米原料乙醇[2]。对于玉米乙醇,目前大部分生产厂采用干磨工艺(较湿磨工艺具有较低的投资成本)[3-4]。在该工艺中(图 1a),玉米经粉碎、液化、糖化、发酵和蒸馏的过程最终获得乙醇,剩下的蒸馏废液(全酒糟)经过固液分离处理得到酒糟清液和湿酒糟渣(Wet distillers' grains,WDG)。酒糟清液的一部分可直接回用于乙醇发酵过程,但回用比例一般不能超过 50%,否则酒糟清液中固形物、乙酸、乳酸和钠盐等物质会积累而毒害乙醇发酵酵母[5-7]。剩余部分经蒸发获得糖浆和冷凝水,冷凝水回用于乙醇发酵过程,而糖浆和湿酒糟渣混合干燥制成酒糟蛋白饲料(DDGS)。该工艺可实现废水的零排放,但是酒糟清液蒸发和糖浆干燥会消耗大量能量,是造成乙醇生产过程低净能量平衡比的主要原因之一[8]。因此,学者和乙醇生产商们试图开发新的酒糟清液处理工艺以提高乙醇生产过程的净能量平衡比。将酒糟清液蒸发后燃烧获得能量是其中的一个选择,但是该方法运行成本非常高且会引起空气污染,引入加强型热氧化系统可减轻空气污染,但需要高成本投入。酒糟清液的厌氧消化被认为是一种更佳的处理方式,因为酒糟清液中所含的高浓度有机物可被转化为绿色能源物质——沼气。另外,对于生物质乙醇生产过程整体可持续性的严格控制也促使将厌氧消化工艺应用于其生产过程。例如,欧盟已经在"可再生能源指令 2009/28/EG"中对生物质燃料生产厂提出了更高的可持续性标准,规定从 2018 年起,新建立的生物质乙醇厂必须实现减少 60%温室气体排放的目标[9]。对于采用传统工艺的乙醇厂来说,这一标准非常难以达到[10]。因此将厌氧消化应用于乙醇生产工艺是改善乙醇生产过程净能量平衡和进一步减少温室气体排放的一次很好的机会。大量的研究工作已证明厌氧消化可有效处理玉米酒糟清液[11-15],但是这些研究并没有给出进一步处理厌氧消化出水的方法。

在中国,很多乙醇生产厂采用"厌氧消化–好氧消化–深度处理–排放"的酒糟清液处理工艺。该工艺存在的主要问题是,好氧消化过程的能耗大,与厌氧消化所得沼气产生能量基本相当,而且会产生大量剩余污泥需要处理,极大地增加了运行成本。为此,我们提出了玉米乙醇–沼气双发酵耦联工艺以解决上述问题(图 1(b))。在该工艺中,酒糟清液先经厌氧消化处理,产生的沼气可满足生产过程部分能量需求;而厌氧消化出水可回用于下一批的乙醇发酵过程,从而消除废水的排放并减少水资源的消耗。前期小试和中试实验已经证明,该工艺循环过程中乙醇发酵正常,酒糟清液厌氧消化处理稳定高效[16]。但是工艺的改变同时会造成副产物酒糟蛋白饲料成分的变化,因此作者研究玉米乙醇–沼气双发酵耦联工艺对酒糟蛋白饲料的影响。

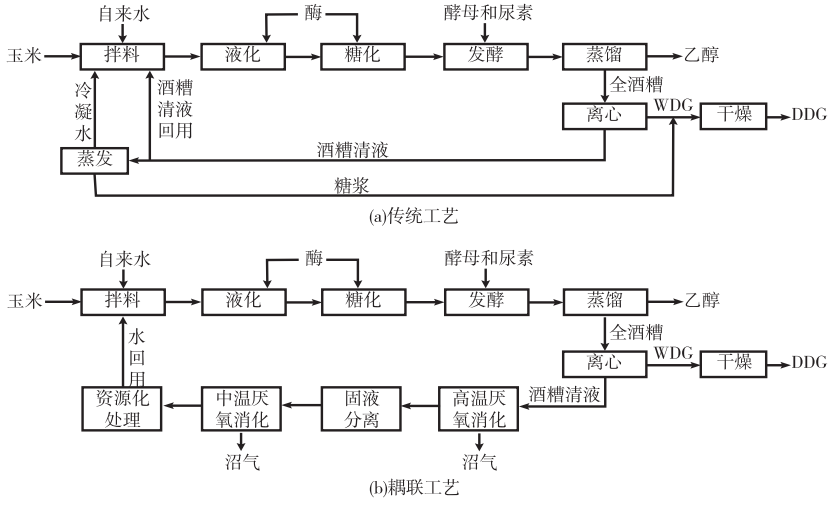


图 1 传统玉米乙醇干磨工艺与玉米乙醇–沼气双发酵耦联生态系统流程图

Fig. 1 Process diagrams of conventional dry–mill corn grain–to–ethanol process and integrated corn ethanol–methane fermentation ecosystem

1 材料与方法

1.1 材料

酒糟蛋白饲料（DDG）：在 1 L 乙醇发酵罐和 20 L-5 L 高温-中温两级厌氧消化反应器中连续运行乙醇-沼气双发酵耦联工艺 10 批次[16]，分别对第 1 批和第 10 批获得的酒糟蛋白饲料进行取样。

其它试剂均为分析纯或优级纯市售商品。

1.2 方法

氨基酸：采用氨基酸分析仪测定(Hitachi 835-50,Japan)。

DDG 基本成分：采用标准方法分析[17]。

电子鼻(αFOX 4000,Alpha M.O.S,France)检测条件：采用顶空自动进样法；载气采用合成干燥空气；流速为 150 mL/min；注射体积为 2.5 mL；注射速度为 1 mL/s；注射针温度为 70 ℃；获取时间为 120 s。

顶空固相微萃取气质联用（Headspace solid-phase microextraction gas chromatography -mass spectrometry,HS-SPME-GC-MS)(Agilent,USA)检测条件：萃取头(CAR/PDMS)；SPME 萃取头解析时间 10 min；GC 条件：HP-5ms(5%-苯基-甲基聚硅氧烷)毛细管柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm 厚)；进样口温度 250 ℃；载气 He；流量 1.0 mL/min；不分流进样；柱初温 40 ℃保持 3 min，以 8 ℃/min 上升到120 ℃保持 2 min，再以 10 ℃/min 上升至 230 ℃保持 8 min；MS 条件：电子轰击(EI)离子源；电子能量 70 eV；离子源温度 250 ℃；扫描范围 33~350 m/z。

2 结果与讨论

在传统的乙醇发酵干磨工艺中，酒糟清液蒸发得到的糖浆和湿酒糟渣混合，干燥制成酒糟蛋白饲料(DDGS)。而在耦联工艺中，酒糟清液不再蒸发而直接进入厌氧消化反应器处理，因此最终得到的酒糟蛋白饲料为 DDG。郭福存和江南[18]对 DDG 和 DDGS 的基本成分进行了比较，发现 DDG 中含有较高质量分数的蛋白质和氨基酸，较低质量分数的盐，见表 1。Kim 的研究也得到了同样的结果[19]。据报道，糖浆中的某些高质量分数盐，例如钾盐，还会对动物饲料造成不良影响[20]。DDG 的这些特征使其比 DDGS 更适合作为动物饲料。另外，在耦联工艺中，厌氧消化出水的循环使用可能会引起循环批次的 DDG 与第 1 批的 DDG 在基本成分和气味上存在差异。表 1 显示，两者在基本成分上的区别主要在于粗脂肪的质量分数。

表 1 酒糟蛋白饲料 DDG 和 DDGS 成分分析比较

Table 1 Analysis and comparison of composition of DDG and DDGS

质量分数/%

成分	本实验		参考文献[173]	
	DDG1	DDG10	DDG	DDGS
干物质	96	96	94	90
粗蛋白	31.4	31.8	30.6	28.3
粗脂肪	9.3	3.3	14.6	13.7
粗纤维	7.4	6.3	11.5	7.1
灰分	2.6	3.0	3.6	4.1
无氮浸出物	45.3	51.6	33.7	36.8
钙	0.18	0.07	0.41	0.2
磷	0.38	0.40	0.66	0.74
氯	0.68	0.67	--	--
天冬氨酸	2.07	2.06	--	--
谷氨酸	6.48	6.48	--	--
丝氨酸	1.60	1.59	--	--
组氨酸	1.03	1.08	0.72	0.59
甘氨酸	1.34	1.32	--	--
苏氨酸	1.29	1.27	1.17	0.92
精氨酸	1.38	1.35	0.98	0.98
丙氨酸	2.56	2.58	--	--
酪氨酸	0.99	1.04	1.30	1.37
胱氨酸	0.20	0.19	0.48	0.39
缬氨酸	1.89	1.89	1.66	1.3
蛋氨酸	0.29	0.64	0.80	0.59
苯丙氨酸	1.64	1.64	1.76	1.93
异亮氨酸	1.40	1.40	1.31	0.98
亮氨酸	4.44	4.48	4.44	2.63
赖氨酸	0.90	0.72	0.51	0.59
脯氨酸	3.80	3.29	--	--
色氨酸	0.02	0.02	--	0.19

为了比较循环批次 DDG 与第 1 批 DDG 在气味上的差别，采用了电子鼻与顶空固相微萃取气质联用相结合的分析手段。电子鼻是利用气体传感器阵列的响应曲线来识别气味的电子系统，因此它可给予被测样品挥发性成分的整体信息(即“指纹数据”)，而非各成分信息。利用电子鼻可对不同样品的气味信息进行比较分析，具有检测速度快、灵敏度高、重现性好、对样品不需要预处理等优点[21]。因此本研究先利用传感器型电子鼻对第 1 批和第 10 批的 DDG 进行整体气味信息的分析比较。

图 2 为 DDG 样品的电子鼻传感器信号图,可以看出两批次的 DDG 在信号强度上有一定的差异。为了能更好的观察和分析电子鼻的 18 个金属氧化物传感器 (Metal oxide semiconductor,MOS)对不同批次 DDG 的变化,又进行了样品的电子鼻传感器信号数据的雷达图见图 3。第 1 批和第 10 批

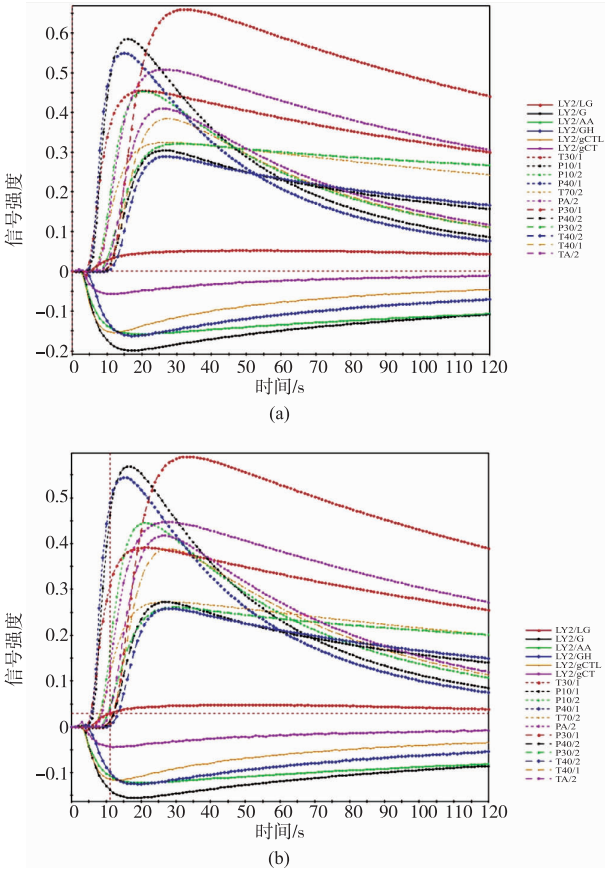


图 2 第 1 批和第 10 批 DDG 样品的雷达图

Fig. 2 Radar map of the first and tenth batch of DDG

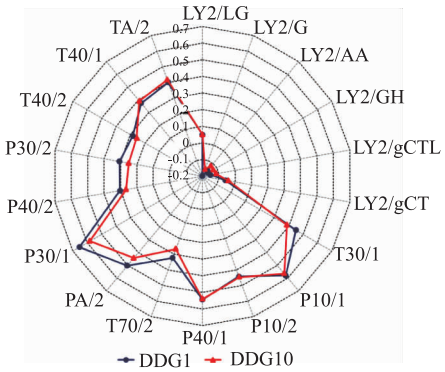


图 3 第 1 批和第 10 批 DDG 样品的传感器信号强度图

Fig. 3 Sensor intensity of the first and tenth batch of DDG

DDG 间的差异主要表现在 T30/1、T70/2、PA/2、P30/1、P40/2、P30/2 和 T40/2 七种传感器上。主成分分析 (Principle component analysis,PCA) 是一种多元统计方法,当没有或缺乏有关样品信息时,PCA 能迅速浏览所有数据,找出样品间相关联的特征,并从中总结出有关样品的信息[22]。在本研究中,它将所提取的电子鼻传感器多指标的信息进行数据转换和降维,并对降维后的特征向量进行线性分类,最后在 PCA 分析图上显示主要的二维图,结果见图 4。可以看出,两 DDG 样品的主成分 1(PC1)和主成分 2(PC2)的累积方差贡献率为 96.155%,大于 85%,这说明 PC1 和 PC2 已经包含了很大的信息量,能够反映样品的整体信息,该图表明,两批 DDG 样品有较明显的差异。

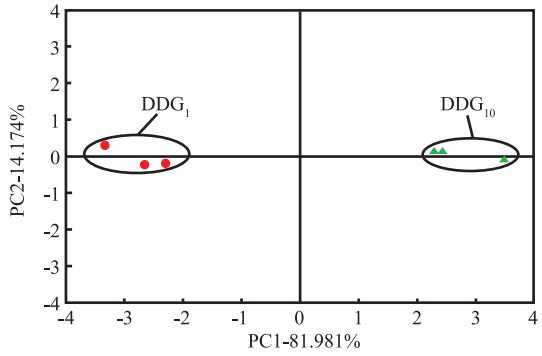


图 4 第 1 批和第 10 批 DDG 样品 PCA 分析

Fig. 4 PCA analysis of the first and tenth batch of DDG

采用顶空固相微萃取气质联用技术对两批次 DDG 中的具体挥发性成分进行检测。两 DDG 样品测定的总离子流色谱图见图 5。通过计算机检索及数据库比对,选取匹配度大于 50 的定性结果,从而确定了两个 DDG 的挥发性成分组成,并用峰面积归一化法计算出了各组分的相对含量,见表 2。从总离子流色谱图可以看出,DDG 挥发性组分很丰富,各成分的峰尖且窄,相邻峰几乎完全得到分离,已定性组分峰面积之和占总离子流色谱峰面积的 90%以上。说明实验用萃取条件和气质分析条件能够满足 DDG 挥发性成分分离的要求。

从两批次 DDG 样品中总共定性出 33 种挥发性成分。其中第 1 批 DDG 有 26 种,第 10 批 DDG 有 24 种,两者共有组分有 16 种,占已定性组分数的 48%,说明两个 DDG 样品在挥发性组分上有一定的差异。电子鼻和 GC/MS 检测结果都说明,第 1 批和第 10 批 DDG 在挥发性成分上存在一定的差

异，而造成这种差异的主要原因有两个:1）厌氧消化出水中的部分挥发性物质进入 DDG 中;2）厌氧消化出水回用对酵母的代谢副产物产生了一定的影响。但是用中试获得的 DDG 作为饲料添加剂对猪进行了饲喂实验,发现猪的生长正常,并没有受到不良影响。

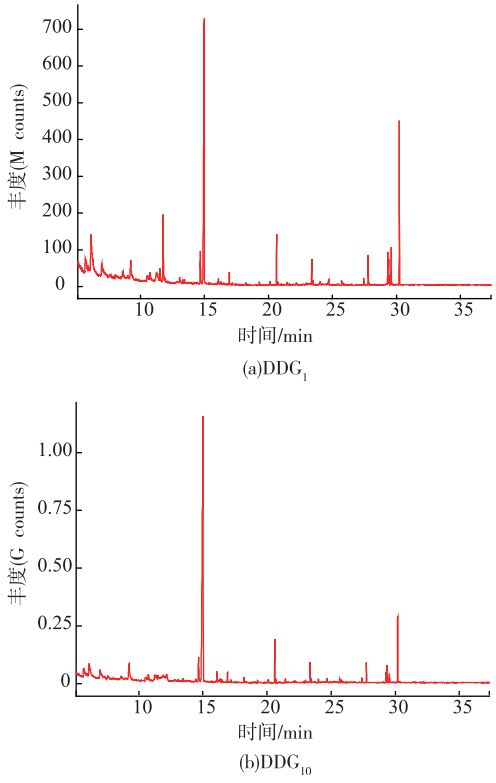


图 5　第 1 批和第 10 批 DDG 样品挥发性成分GC/MS 总离子流色谱图

Fig. 5　GC/MS total ion chromatogram ofvolatile compounds in the first and tenth batch of DDG

表 2　第 1 批和第 10 批 DDG 挥发性成分及其相对含量

Table 2　Volatile compounds and relativecontent in the first and tenth batch of DDG

序号	化合物	相对含量/%	
		DDG_1	DDG_{10}
1	1-丙炔	0.12	--
2	正己醛	2.60	1.75
3	糠醛	--	4.52
4	呋喃甲酸	3.59	--
5	糠醇	--	0.81
6	2-辛酮	0.03	--
7	methyl-tert-butylisopropoxyborane	--	0.01
8	丁内酯	1.51	3.08

续表

序号	化合物	相对含量/%	
		DDG_1	DDG_{10}
9	二氢-2(3H)-呋喃酮	0.01	--
10	苯甲醛	1.18	--
11	正己酸	--	0.49
12	己酸乙酯	9.17	--
13	4-羟基丁酸乙酯	0.41	--
14	Hepranoicacid	--	0.12
15	单醋酸甘油酯	--	0.33
16	壬醛	3.88	3.37
17	基乙醇	42.97	62.97
18	N-异戊基乙酰胺	0.19	--
19	辛酸	0.39	0.49
20	辛酸乙酯	0.99	0.89
21	乙酸苯乙酯	0.22	0.44
22	4-乙烯基-2-甲氧基苯酚	0.27	0.17
23	硅酸乙酯	3.38	2.84
24	1-糠基-2-甲酰吡咯	--	0.17
25	香叶基丙酮	--	0.24
26	月桂酸乙酯	1.59	1.19
27	十四酸乙酯	0.35	0.24
28	棕榈酸	0.56	0.30
29	棕榈酸乙酯	1.79	1.26
30	乌头酸	1.87	0.64
31	柠檬酸丁酯	2.40	0.61
32	乙酰柠檬酸三丁酯	12.43	5.00
总计		91.89	91.93

3 结　语

玉米乙醇-沼气双发酵耦联工艺为解决传统干磨工艺存在的能耗大、废水处理成本高的问题提供了一条全新的思路。该工艺的可行性也得到了小试和中试实验的验证。但是对于该工艺,值得注意的是工艺改变对主要副产物酒糟蛋白饲料质量的影响。通过对酒糟蛋白饲料成分和气味分析,发现耦联工艺所得的酒糟蛋白饲料较传统工艺含有更高质量分数的蛋白质和氨基酸，更低质量分数的盐,拥有更高的营养价值。虽然循环批次所得酒糟蛋白饲料与第一批在气味上表现出一定的差异,但是不会影响家畜的食用。

参考文献:

[1] MUSSATTO S I,DRAGONE G,GUIMARAES P M R,et al. Technological trends,global market,and challenges of bio-ethanol production[J]. **Biotechnology Advances**,2010,28(6):817-830.

[2] RENEWABLE F A. Ethanol Industry Outlook 2014[EB/OL]. http://www.ethanolrfa.org/pages/annual-industry-outlook,2014.

[3] BOTHAST R J,SCHLICHER M A. Biotechnological processes for conversion of corn into ethanol[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**,2005,67(1):19-25.

[4] BELYEA R L,CLEVENGER T E,SINGH V,et al. Element concentrations of dry-grind corn-processing streams[J]. **Applied Biochemistry and Biotechnology**,2006,134(2):113-128.

[5] EGG R P,SWEETEN J M,COBLE C G. Grain sorghum stillage recycling:effect on ethanol yield and stillage quality[J]. **Biotechnology and Bioengineering**,1985,27(12):1735-1738.

[6] SHOJAOSADATI S A,SANAEI H R,FATEMI S M. The use of biomass and stillage recycle in conventional ethanol fermentation[J]. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**,1996,67(4):362-366.

[7] SUNG S,SANTHA H. Performance of temperature-phased anaerobic digestion (TPAD) system treating dairy cattle wastes[J]. **Water Research**,2003,37(7):1628-1636.

[8] INGE R. The Alcohol Textbook[M]. Nottingham:Nottingham University Press,2003. 85-119.

[9] DROSG B,FUCHS W,MEIXNER K,et al. Anaerobic digestion of stillage fractions-estimation of the potential for energy recovery in bioethanol plants[J]. **Water Science & Technology**,2013,67(3):494-505.

[10] SCHNOOR J L. The debate is over[J]. **Environmental Science Technology**,2006,40(9):2861-2861.

[11] AGLER M T,GARCIA M L,LEE E S,et al. Thermophilic anaerobic digestion to increase the net energy balance of corn grain ethanol[J]. **Environmental Science Technology**,2008,42(17):6723-6729.

[12] SCHAEFER S H,SUNG S. Retooling the ethanol industry:thermophilic anaerobic digestion of thin stillage for methane production and pollution prevention[J]. **Water Environment Research**,2008,80(2):101-108.

[13] LEE P H,BAE J,KIM J,et al. Mesophilic anaerobic digestion of corn thin stillage:a technical and energetic assessment of the corn-to-ethanol industry integrated with anaerobic digestion[J]. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**,2011,86(12):1514-1520.

[14] ALKAN O A,KARTHIKEYAN K. Anaerobic digestion of thin stillage for energy recovery and water reuse in corn-ethanol plants[J]. **Bioresource Technology**,2011,102(21):9891-9896.

[15] NASR N,ELBESHBISHY E,HAFEZ H,et al. Comparative assessment of single-stage and two-stage anaerobic digestion for the treatment of thin stillage[J]. **Bioresource Technology**,2012,111:122-126.

[16] WANG K,ZHANG J,TANG L,et al. Establishment and assessment of a novel cleaner production process of corn grain fuel ethanol[J]. **Bioresource Technology**,2013,148:453-460.

[17] AOAC. Official Methods of Analysis[M]. Arlington:Association of Official Analytical Chemists,1995.

[18] GUO F C,JIANG N. Limiting factors and nutritional value of DDGS[J]. **China Poultry**,2007,29(10):43-44.(in Chinese)

[19] KIM Y,MOSIER N S,HENDRICKSON R,et al. Composition of corn dry-grind ethanol by-products:DDGS,wet cake,and thin stillage[J]. **Bioresource Technology**,2008,99(12):5165-5176.

[20] RAUSCH K D,BELYEA R L. The future of coproducts from corn processing[J]. **Applied Biochemistry and Biotechnology**,2006,128(1):47-86.

[21] WU Shouyi,ZOU Xiaobao. Progress in the application research of electronic nose for foods[J]. **JournaI of Jiangsu University of Science and Technology:Natural Science**,2000,21(6):13-17.(in Chinese)

[22] CHEN Xiaoming,MA Minghui,LI Jingming,et al. Application of electronic nose equipment on identification of natural apple essence[J]. **Food Science**,2007,28(3):261-265.(in Chinese)