

中国工程科技论坛

减排降耗技术

Jianpai Jianghao Jishu



高等教育出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

中国工程院第147场中国工程科技论坛代表合影 2012年9月 无锡



中国工程科技论坛——减排降耗技术参会人员合影（2012.9.20）



论坛会场

内 容 提 要

本书是中国工程院中国工程科技论坛系列丛书之一。该书汇聚了我国轻工、食品领域 22 名科技专家、学者，以“节能、减排、降耗”为主题的最新学术研究成果报告，覆盖了制浆造纸、生物发酵、食品加工与检测、皮革化学、轻化工程六大学科，代表着相关科技领域最高的学术研究成果水平。 这本书将为各高校、科研院所、企业技术研发中心的中、高级技术人员的学术研究提供导向参考作用，特别将有助于相关学科的博士、硕士研究生及本科大学生对学术方向的选择与把握。 知名专家们所展示的前沿学术成果将成为引领行业进步的源动力，为整个轻工行业的技术提升和转型发挥积极的推动作用。

图书在版编目(C I P)数据

减排降耗技术 / 中国工程院编著. -- 北京 :高等教育出版社, 2013.7
(工程科技论坛)
ISBN 978 - 7 - 04 - 037264 - 9

I . ①减… II . ①中… III . ①节能 - 文集 IV . ①TK01 - 53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 075596 号

总 策 划 樊代明

策划编辑 王国祥 黄慧靖 责任编辑 朱丽虹 封面设计 顾 斌
责任印制

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100120
印 刷
开 本 mm × mm
印 张
字 数 千字
购书热线 010 - 58581118

咨询电话 400 - 810 - 0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landraco.com>
<http://www.landraco.com.cn>
版 次 年 月第 版
印 次 年 月第 次印刷
定 价 60.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题，请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物 料 号 37264 - 00

编辑委员会

主 任：陈克复

副主任：孙宝国 石 碧 瞿金平

委 员：万金泉 马建中 王昌禄 李里特

朱蓓薇 孙润仓 陈 坚 陈洪章

张 辉 吴清平 邱学青 金凤燮

金征宇 赵杰文 赵谋明 姚献平

徐 岩 董晋湘 黄日波

(按姓氏笔画排序)

目 录

第一部分 综述

综 述	3
-----------	---

第二部分 主题报告及报告人简介

基于系统生物学技术的维生素 C 高效发酵和流程重构	陈 坚	11
秸秆酶解发酵关键过程的研究进展	陈洪章	16
天然活性成分生物转化的微生物、特异酶以及其应用	金凤燮	26
科技创新是推动食品产业节能减排技术进步的关键	李里特	38
基于嗅觉可视化技术的猪肉新鲜度检测研究	赵杰文	50
食品微生物安全快速检测与高效控制技术研究	吴清平	58
农产品高值化挤压加工利用技术	金征宇	74
创新行业节能减排降耗,推进酿酒产业可持续发展	徐 岩	92
CMC 改性对脱盐咸蛋清酶解液起泡性影响的动力学研究	赵谋明	109
生物技术在降低产毒霉菌污染粮食中的应用	王昌禄	119
双原位法制备酪素基纳米 SiO ₂ 复合乳液的研究	马建中	128
层状硅酸钠催化的甘油低聚反应研究	董晋湘	140
淀粉衍生物粉体连续流态管道化清洁制备技术	姚献平	148
造纸工业废水中毒性污染物的去除及其环境风险评估	万金泉	155
防油剂中阳离子淀粉对抗油脂食品包装纸张性能影响	龙 柱	165
稻壳制备高度有序介孔二氧化硅材料的研究	陈正行	173
绿色造纸化学品增强助剂的研究进展	赵传山	184
马铃薯淀粉生产过程中薯渣的有效利用技术	顾正彪	191
新型酶膜生物反应器耦合纳滤清洁生产功能性糖研究	江 波	202
系统代谢工程改造工业酒精酵母及展望	石贵阳	209
生物质资源高值化利用的可行途径	黄日波	222
生鲜食品节能保质高效干燥技术的研究进展	张 慤	229

附录 主要参会人员名单	239
-------------------	-----

后记	243
----------	-----

第一部分

综 述

综 述

2012年9月20~23日,第147场中国工程科技论坛“轻工科技发展论坛——减排降耗技术”在无锡召开。本次论坛由中国工程院主办,中国工程院环境与轻纺工程学部、中国工程院科技合作委员会轻工科技发展促进会、中国轻工业联合会轻工表面活性剂应用研究分会、江南大学和北京工商大学共同承办。

论坛由陈克复院士担任大会主席,中国工程院秘书长白玉良出席并作了重要讲话,无锡市政府副市长曹佳中、江南大学党委书记武贵龙出席并致欢迎辞。中国工程院环境与轻纺工程学部周翔、孙晋良、孙宝国、石碧、瞿金平院士和有关高校和企业专家代表出席了本次论坛。来自江南大学、中国农业大学、大连工业大学、江苏大学、华南理工大学、太原理工大学和南京林业大学等高校的16名专家学者分别作了报告。来自中国科学院过程工程研究所、广东省微生物研究所、杭州市化工研究院、湖南省农产品加工研究所、新疆农业科学院生物质能源研究所、仲恺农业工程学院化学化工学院、广东微生物研究所、江南大学、大连工业大学、中国农业大学、江苏大学、天津科技大学、山东轻工业学院、华南理工大学、陕西科技大学、太原理工大学、南京林业大学、四川大学、东华大学、长沙理工大学的专家,及西安开米有限公司和山东太阳纸业有限公司等企业界代表近160余人参加了本次论坛。论坛听众达到260人,其中包括江南大学的90多名师生代表参加了会议,论文集共收录48篇论文。

在论坛开幕式上,陈克复院士指出:这场论坛主题是“节能、减排、降耗”,这个主题是轻工业工程科技两大重点科技工程之一,另一个工程科技的重大工程是提高轻工装备的整体技术水平。中国轻工业联合会步正发会长在最近全国轻工科技大会上总结说,轻工工程科技的发展,推动了轻工业自主创新,加快了产、学、研体系科技创新平台的建设,推动了轻工重点行业节能减排降耗的清洁生产技术的实施,提高了轻工装备整体技术水平。相信通过这次论坛的召开,将对轻工工程科技的发展具有推动作用。报告专家都是轻工各个领域做出突出贡献的知名专家,论坛将为他们提供把自己的研究成果与大家共享交流的平台,希望同时能对广大博士、硕士研究生们的成长起到积极的影响。

大会报告:江南大学陈坚和金征宇教授、中国科学院过程工程研究所陈洪章研究员、大连工业大学金凤燮教授、中国农业大学李里特教授、江苏大学赵杰文

教授、广东省微生物研究所吴清平教授、天津科技大学王硕教授、华南理工大学赵谋明、万金泉、邱学青和孙润仓教授、陕西科技大学马建中教授、华南理工大学邱学青教授、太原理工大学董晋湘教授、杭州市化工研究院姚献平教授、南京林业大学张辉教授等 16 位专家分别作了专题报告。院士和专家们就轻工科技发展面临的问题和对策展开了深入讨论。

江南大学校长陈坚教授作了题为“**基于基因组工程技术实现维生素 C 的高效发酵和流程重构**”的报告。报告提出了维生素 C 生产过程的关键科学与技术问题,介绍了维生素 C 生物合成过程的系统生物学相关研究,并指出了生物技术将来可能的发展方向。陈坚教授提出,今后的研究工作应集中在:(1)确定微生物之间的功能关系,提高效能;(2)构建单菌或一步发酵菌株,实现重大创新。

中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室副主任陈洪章教授作了题为“**秸秆酶解发酵关键过程的研究**”的报告。报告介绍了秸秆等木质素原料酶解发酵制备生物基产品的现状和问题,针对存在的技术成本困难,提出了面向原料、过程、产品的秸秆酶解发酵关键过程研究思路,梳理出秸秆酶解发酵过程的关键问题。创建了基于汽爆技术的组合预处理技术平台,发展和完善了纤维素酶大规模纯种固态发酵平台,建立了高浓度纤维素酶解糖平台;建立了秸秆全生物量多级循环生态产业新模式,为秸秆的大规模资源化利用提供了理论和技术支撑。

大连工业大学金凤燮教授作了题为“**天然活性成分生物转化的微生物、特异酶以及其应用**”的报告。报告指出,大部分天然产物如中草药等,吸收率低、活性低,改变中草药天然成分,制备高活性、易吸收的成分最有效的方法是生物转化法。但是,中草药成分种类多,现有酶、微生物不能解决问题。针对上述问题,他们团队筛选了一批新微生物,发现了一批新型特异的天然成分转化酶,研究了生物转化制备高活性天然成分单体、异构体混合物组分、活性中草药制备。

中国农业大学李里特教授作了题为“**食品领域科技创新是推动节能减排降耗技术进步的关键**”的报告。报告指出,食品产业在节能减排领域面临严重的挑战和机遇,高耗能、高排放、高污染的落后工艺设备面临淘汰,低能耗、低排放、低污染的新技术期待科技创新。报告介绍了他们团队在食品产业节能减排领域有关研究:高产耐热木聚糖酶技术、电渗透脱水技术、电场干燥技术、电场保鲜技术、利用自然冷源果蔬保鲜技术和电生功能水杀菌技术等的研究成果分析,讨论了生物技术、工程物理、理化技术等轻工和食品产业节能减排领域的可能性和巨大潜力。

江苏大学赵杰文教授作了题为“**嗅觉可视化技术及其在食品、农产品质量与安全检测中的应用**”的报告。报告介绍了食品、农产品无损检测技术的主要方

法、优点及其理论价值和社会效益。同时,报告了他们课题组在有关食品、农产品无损检测研究方面所做的工作,利用卟啉类化合物与气体反应时颜色明显变化的性质,将气味变化用颜色变化来呈现的嗅觉图像化技术,并从 200 多种卟啉中筛选出 30 种卟啉制成传感器芯片,针对检测对象,开发出特定的检测装置,实现检测系统小型化、仪器化,该检测系统在食品、农产品质量检测中取得较好的效果。

广东省微生物研究所吴清平教授作了题为“**食品微生物安全快速检测与高效控制技术研究**”的报告。报告指出,食源性致病微生物是影响食品安全的重要因素,高效的现场快速检测及污染控制技术是解决问题的关键。吴清平教授通过他们团队的工作,创新建立了生物发光微生物快速检测技术、致病菌分子检测与显色生化确认技术、诺如病毒和轮状病毒依赖核酸序列的扩增技术、反转录聚合酶链反应技术,提高灵敏度 5 ~ 100 倍,使检测时间由数天缩短到几分钟至几小时。与国内外同类技术相比,研发出更为系统和配套的食源性致病微生物快速检测技术,时间缩短 2/3,特异性显著提高,较好地实现了高通量快速检测;食品微生物高污染高效控制技术突破了消毒剂稳定性差、利用率低和清洗—消毒互相干扰的瓶颈,解决了食品工业中微生物污染难题。

江南大学副校长金征宇教授作了题为“**农产品高值化挤压加工利用技术**”的报告。报告介绍了挤压技术发展动态及我国食品挤压加工存在的四大问题;阐述了挤压技术在碎米原料的综合利用、变性淀粉干法生产、酿造和饲料原料预处理及特种饲料生产等领域的进展,提出了挤压技术在上述领域应用面临的科学问题,并针对农产品高值化挤压加工利用技术的发展趋势进行了展望。金征宇教授建议未来在农产品挤压可视化研究、农产品目标参数关联的自动化控制等方面,加强基础研究和设计工作,为农产品高值化加工利用提供必要的理论指导和新的技术方法。

华南理工大学赵谋明作了题为“**生物活性肽研究概况**”的报告。报告介绍了生物活性肽的主要生理功能、国外生物活性肽的产业化情况、生物活性肽制备关键技术及目前酶法制备功能性肽存在的关键技术瓶颈。报告介绍了他们团队在生物活性肽方面开发的六项技术:1. 蛋白质预处理技术;2. 可控酶解技术;3. 定向分离纯化技术;4. 反向调控技术;5. 风味提升技术;6. 稳态保护技术。为生物活性肽的制备提供一定的理论依据和实践参考。

天津科技大学王昌禄教授作了题为“**生物技术在降低产毒霉菌污染粮食中的应用**”的报告。报告指出,霉菌及代谢产生的毒素是污染粮食、药材、饲料、果蔬等的重要污染源,严重威胁着人类的健康。报告介绍了目前农副产品受霉菌污染的现状,产生霉菌及代谢产物的检测技术、防治技术,特别是生物防治的方

法;同时介绍了他们课题组利用生物技术防治霉菌污染的初步研究成果。王昌禄教授认为降低霉菌污染、减少粮食损失不仅是食品安全的需要,而且也是保障食物供给安全、降低生物产品成本的需要。王教授呼吁全社会,特别是科技工作者对此应给予高度重视。

陕西科技大学马建中教授作了题为“**酪素基 SiO_2 纳米复合皮革涂饰剂的研究**”的报告。报告指出,酪素具有耐打光、耐熨烫、粘合力强、透气性好、可生物降解等优点,成为应用最广泛的水性涂饰材料之一。但纯酪素在成膜后存在硬而脆、耐水性差、延伸性差、易发霉、易裂浆等缺陷,不能满足工业的需要,因此必须对其进行改性。针对目前酪素改性中的问题,课题组采用纳米粒子的前驱体正硅酸乙酯代替市售 SiO_2 粉末,即采用双原位聚合法制备聚丙烯酸酯/纳米 SiO_2 共改性酪素复合乳液。实验结果表明,该方法制备的膜具有更优的热分解稳定性、物理机械力学性能及耐水性。根据以上研究,马建中教授提出了双原位与复配法制备复合乳胶粒的形成机理及成膜机理。

华南理工大学邱学青教授作了题为“**木质素磺酸盐的溶液构形研究**”的报告。报告介绍了他们团队在木质素磺酸盐(NaLS)的溶液构型研究方面所做的工作,以层析提存的窄分布木质素磺酸钠为研究对象,改变盐浓度、添加顺序和 NaLS 溶解时间,利用激光光散射研究了离子强度 NaLS 的动态行为。邱学青教授提出, NaLS 动态分布图中存在快慢两种模式峰,快模式峰对应钠离子与 NaLS 阴离子的耦合扩散,慢模式峰的形成既有静电作用引起的聚电解质效应因素,也有 NaLS 聚集体的贡献。

太原理工大学董晋湘教授作了题为“**层状硅酸钠催化的甘油低聚反应研究**”的报告。报告指出,在目前能源危机背景下,生物柴油的迅速发展为聚甘油醚类表面活性剂的良好应用提供了前景。然而,为了满足绿色化工的要求,寻求高效、易分离、环境友好的甘油低聚催化剂意义十分重大。董晋湘教授认为,多种碱性物质都有催化活性,但同时提高反应活性和选择性并不容易;环境友好、容易制备的层状硅酸钠对二聚甘油和三聚甘油有良好的选择性,是一种具有潜力的催化剂。

杭州市化工研究院姚献平教授作了题为“**淀粉衍生物粉体连续流态管道化清洁制备技术**”的报告。报告介绍了淀粉衍生物粉体连续流态管道化清洁制备新工艺,与传统的湿法和干法工艺比较,具有投资省、反应效率高、速度快、低成本、节能环保突出等优点,尤其是不生产工业废水,产品质量稳定。姚献平教授认为,通过技术创新,提升传统工艺技术水平,实现绿色低碳清洁生产是完全可能的。同时,姚献平教授还强调说,科研开发在产品创新、工艺创新的同时,还要高度重视包括应用技术与装备在内的工程化技术创新,只有这样科技成果才能

实现产业化,我们的技术和产品才有可能参与激烈的国际国内市场竞争,也才有可能进入世界的先进行列。

华南理工大学孙润仓教授作了题为“**生物质资源高值化利用基础科学问题**”的报告。报告介绍了农林废弃生物质工业利用现状与瓶颈,指出未能实现清洁高效分离的根本原因在于农林废弃生物质细胞壁组分和结构的复杂性。报告针对生物质功能利用的关键障碍,从建立生物质高值化材料、能源及化学品理论体系出发,提出了研究总体思路。从生物质复杂性进行深入研究,解译生物超微结构,探索生物质组分清洁温和分离机制,实现生物质组分高效分离;然后探索分离组分的构效关系,构建生物质转化为高值化材料的新理论与新方法,并揭示在全球碳循环背景条件下,生物质转化材料过程的节能与 CO₂ 利用和减排途径。

南京林业大学张辉教授作了题为“**造纸业当今先进可推广高效节能新技术综合**”的报告。报告介绍了我国造纸业能耗现状、“十二五”我国造纸业发展的主要任务、国外推荐和应用的造纸先进有效的节能技术,及近年来国内外造纸业推广应用的节能设备和造纸企业内部生物质能源技术,以及我国造纸企业低碳运行实践。张辉教授认为,中国造纸业必将成为低碳产业。

华南理工大学万金泉教授作了题为“**造纸工业废水中毒性污染物的去除及其环境风险评估**”的报告。报告介绍了以二氧化氯漂白(DED₁D₂)硫酸盐桉木浆废水为研究对象,跟踪分析造纸废水处理过程中污染物的去除及造纸废水毒性变化情况。研究通过斑马鱼(*Brachydanio rerio*)急性毒性实验分析制浆造纸废水的生物毒性大小,并跟踪造纸废水经过初级沉淀、活性污泥法生物处理后,造纸废水对受试生物毒性的变化情况;根据毒性实验所获得的半致死效应的体积百分比浓度,结合毒性单位法对处理过程中造纸废水的生物毒性变化进行环境风险综合评价。研究结果表明:造纸废水中鉴别出有机污染物 88 种,二级出水和排水中的污染物分别减少到 43 种和 26 种;按照生物毒性评价,造纸废水为高毒,一级处理后为高毒,二级处理后为中毒,排放出水为低毒;造纸废水中毒性污染物能在受试鱼各组织器官内产生生物富集,对肝脏组织的富集量最高,并能产生损伤效应。

在论坛交流过程中,会场气氛热烈、学术氛围浓郁,达到了相互学习、相互促进、共同提高的目的。可以说,本次论坛是一次有吸引力、高水平、非常成功的学术研讨会。相信本次论坛的成功召开,必将积极加速我国轻工行业绿色制造技术的创新发展,推动产业经济结构的战略调整,并促进我国乃至全球轻工行业的健康、可持续发展。

第二部分

主题报告及报告人简介

基于系统生物学技术的 维生素 C 高效发酵和流程重构

陈 坚等

江南大学工业生物技术教育部重点实验室
江南大学生物工程学院生物系统与生物加工工程研究室

摘要:维生素 C 是一种重要的有机酸,广泛应用于制药、食品、饮料、化妆品和饲料等工业中。相对于“莱氏法”而言,生物技术法生产维生素 C 具有低成本、高品质等优势。本文主要介绍了维生素 C 生物合成过程的系统生物学相关研究,并给出了生物技术法将来可能的发展方向。

关键词:维生素 C;2-酮基-L-古龙酸;系统生物学;一步发酵

维生素 C (Vitamin C, VC), 又称为 L-抗坏血酸 (L-Ascorbic acid), 是一种人体必需的维生素和抗氧化剂, 广泛应用于医药、食品、饲料和化妆品等工业。我国是世界最大的维生素 C 生产国和出口国, 2011 年维生素 C 出口数量达 10.9 万吨, 出口金额为 6.7 亿美元, 占全球市场的 90% 以上。

随着维生素 C 应用范围不断扩大, 维生素 C 的市场需求量也在不断地增长。最早实现维生素 C 工业化生产的工艺是德国 Reichstein 于 1934 年发明的五步化学反应和一步生物转化, 将葡萄糖转化为 2-酮基-L-古龙酸 (2-Keto-L-Gulonic acid, 2-KLG), 再经酯化生成维生素 C。但该方法存在能耗高、消耗大量有机溶剂、环境污染严重等缺点^[1]。因此需要开发更经济、更具有竞争力的生物转化法或完全生物转化法。由于一直未能发现直接合成维生素 C 的微生物, 所以精力主要集中在利用微生物发酵生产其中间产物, 特别是其直接前体 2-KLG。1972 年, 我国发明了 VC 二步发酵法并很快在全国推广应用。该方法很大程度上简化了莱氏法的生产程序, 并使产品生产成本降低, 转化率提高, 因此得到了国内外 VC 生产厂家的大力推广^[2], 并于 20 世纪 80 年代将技术转让给了世界最大的维生素生产厂家——瑞士 Hoffmann-La-Roche 公司。

在二步发酵法中, 氧化葡萄糖酸杆菌 (*Gluconobacter oxydans*) 首先将 D-山梨醇转化为 L-山梨糖。随后, L-山梨糖经由一个由巨大芽孢杆菌 (*Bacillus*

megaterium) 和普通生酮基古龙酸菌 (*Ketogulonigenium vulgare*) 组成的混菌系统转化为 2-KLG, 经过简单的内酯化即可得到成品维生素 C。在二步发酵法过程中, 存在于氧化葡萄糖酸杆菌中的山梨醇脱氢酶 (Sorbitol dehydrogenase, SLDH) 和存在于普通生酮基古龙酸菌中的山梨糖脱氢酶 (Sorbosose dehydrogenase, SDH)、山梨酮脱氢酶 (Sorbosone dehydrogenase, SNDH), 催化山梨醇生成 2-KLG (图 1)。混菌体系中, 生酮基古龙酸菌为产酸菌, 俗称小菌, 是一种典型的革兰氏阴性细菌, 负责将 D-山梨糖转变为 2-KLG, 其单独培养时生长微弱, 几乎不产酸; 巨大芽孢杆菌为伴生菌, 俗称大菌, 是一种典型的产芽孢革兰氏阳性细菌, 不直接参与 D-山梨糖向 2-KLG 转化过程中的相关酶催化反应过程, 但能在混菌体系中显著促进小菌生长和 2-KLG 的积累^[3]。如果将巨大芽孢杆菌从发酵体系中移除, 生酮基古龙酸菌的生长速率会显著下降, 并几乎完全失去合成 2-KLG 的能力。反之, 在 2-KLG 的发酵中, 生酮基古龙酸菌的存在也对巨大芽孢杆菌的生长具有显著的促进作用^[4]。尽管目前国内 VC 工业化生产所采用的二步发酵工艺具有流程简单、生产周期短、成本低廉等优点, 但同时也存在一些问题, 如: (1) 能耗物耗较高、成本高; (2) 废气、废水和废渣三废排放量大; (3) 小菌产酸性状不稳定, 因而导致生产不稳定, 经常因菌种退化造成倒罐等, 制约了 VC 产业的进一步发展。

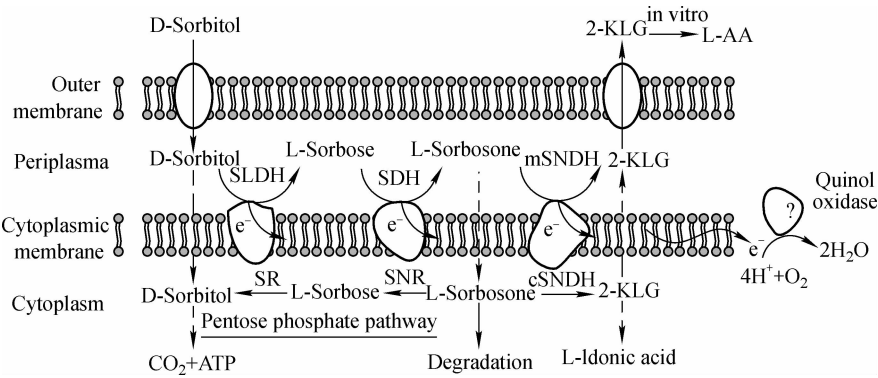


图 1 从 D-山梨醇到 2-KLG 的生物合成途径

近年来, 随着系统生物学和高通量实验技术的迅速发展, 传统二步发酵法生产维生素 C 过程得到了更为深入的研究。针对二步发酵过程进行的转录组、蛋白质组、代谢组以及相互作用组等组学数据的大量积累, 为采用系统生物学策略, 结合传统生化方法, 深入解析 VC 生产中关键途径生理机制, 并对其进行理性调控, 提供了充分的理论依据和方法参考。

维生素 C 生物合成过程的系统生物学研究

通过与国内第二大维生素 C 生产厂家——江山制药有限公司合作,在“十二五”863 项目的资助下,从发酵过程优化、代谢工程和系统生物学等方面进行较为全面的研究。主要研究结果包括:

(1) 维生素 C 二步发酵过程混菌相互作用的微生物生理学研究

维生素 C 第二步发酵过程是一个由巨大芽孢杆菌和普通生酮基古龙酸菌组成的混菌发酵系统,其中前者促进后者的生长和维生素 C 前体 2 - KLG 的合成。混菌相互作用的存在使得常规的菌种选育和发酵过程优化策略均难以实施,理解两菌之间的相互作用变的尤为重要。为了阐明混菌相互作用机制,利用溶菌酶对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌细胞壁作用效果的差异,在发酵过程中添加一定浓度的溶菌酶,将巨大芽孢杆菌迅速裂解,释放胞内物质促进普通生酮基古龙酸菌生长和产酸,证明巨大芽孢杆菌的胞内组分的释放可以显著促进混菌相互作用^[3]。以此为突破,根据巨大芽孢杆菌在发酵过程中会迅速形成芽孢这一现象,推断芽孢形成过程会促进普通生酮基古龙酸菌生长和产酸。为此,开发一种研究混菌相互作用的高通量筛选方法^[5]。利用这一高通量相互作用筛选策略,发现巨大芽孢杆菌的芽孢形成过程和芽孢的稳定性,是促进混菌相互作用的关键^[6]。

(2) 维生素 C 合成关键微生物的功能基因组学研究

在“十一五”863 重点项目的支持下,利用新一代测序技术和传统测序技术相结合的方法,对维生素 C 生产菌氧化葡萄糖酸杆菌 WSH - 003、巨大芽孢杆菌 WSH - 002 和普通生酮基古龙酸菌 WSH - 001 进行了全基因组测序^[7-9],发现了一系列与 2 - KLG 合成、PQQ 代谢和混菌相互作用相关基因,建立了两菌相互作用的半定量代谢网络。对基因组进行了深入分析并发现,普通生酮基古龙酸菌 WSH - 001 缺失了大量与 DNA 复制系统、氨基酸代谢系统、能量代谢系统、辅因子代谢等相关基因^[8]。通过对基因组的系统分析,发现了 7 个 2 - KLG 合成过程涉及的关键脱氢酶基因和关键辅酶 PQQ 合成相关的基因,并分别在大肠杆菌和氧化葡萄糖酸杆菌中构建了从山梨醇到 2 - KLG 的一步发酵工程菌。

(3) 维生素 C 合成关键微生物的蛋白质组学研究

在获取维生素 C 合成关键微生物基因组信息的基础上,研究产酸稳定期普通生酮基古龙酸菌在巨大芽孢杆菌伴生与否时胞内蛋白表达差异情况,并发现,151 种蛋白在巨大芽孢杆菌伴生时表达量显著升高,巨大芽孢杆菌显著促进了普通生酮基古龙酸菌的氨基酸代谢、蛋白质翻译和辅因子代谢。在此基础上,发现外源添加氨基酸可以显著提高 2 - KLG 生产强度。在 200 m³ 工业规模发酵罐上添加 0.8 g/L 明胶,可使 2 - KLG 发酵周期缩短 10% 以上,是目前系统生物学

分析手段成功用于发酵过程优化的少数实例之一^[10]。

上述相关研究,从发酵过程优化、代谢工程和系统生物学等层面,对维生素 C 二步发酵过程进行了深入而细致的研究,在获得 3 种关键微生物全基因组序列和蛋白质组学变化规律的基础上,初步阐明了与 2 - KLG 合成、转运和调控相关的关键基因。今后的研究工作应集中在:① 深入研究以 D - 山梨醇为底物的二步发酵工艺中大小菌混合培养的关系;② 生物技术法生产维生素 C 的关键酶的催化机制和调控机制还需要进一步研究;③ 对一步发酵菌株关于 2 - KGA 生产基因的表达系统继续进行深入的研究,找出影响发酵产率的关键因素。

参考文献

1. Bremus C, Herrmann U, Bringer - Meyer S, et al. The use of microorganisms in L - ascorbic acid production [J]. J. Biotechnol. , 2006, 124 (1): 196 - 205.
2. Zhang J, Liu J, Shi Z, et al. Manipulation of *B - megaterium* growth for efficient 2 - KLG production by *K - vulgare* [J]. Process Biochem. , 2010, 45 (4): 602 - 606.
3. Zhang J, Zhou J, Liu J, et al. Development of chemically defined media supporting high cell density growth of *Ketogulonicigenium vulgare* and *Bacillus megaterium* [J]. Bioresour. Technol. , 2011, 102 (7): 4807 - 4814.
4. Cai L, Yuan M Q, Li Z J, et al. Genetic engineering of *Ketogulonigenium vulgare* for enhanced production of 2 - keto - L - gulonic acid [J]. J. Biotechnol. , 2011, 157 (2): 320 - 325.
5. Zhu Y B, Liu J D, Liu J, et al. A high throughput method to screen companion bacterium for 2 - keto - L - gulonic acid biosynthesis by co - culturing *Ketogulonicigenium vulgare* [J]. Process Biochem. , 2012, 47 (9): 1428 - 1432.
6. Zhu Y B, Liu J, Du G C, et al. Sporulation and spore stability of *Bacillus megaterium* enhance *Ketogulonigenium vulgare* propagation and 2 - keto - L - gulonic acid biosynthesis [J]. Bioresour. Technol. , 2012, 107: 399 - 404.
7. Gao L, Zhou J, Liu J, et al. Draft Genome Sequence of *Gluconobacter oxydans* WSH - 003, a Strain That Is Extremely Tolerant of Saccharides and Alditols [J]. J. Bacteriol. , 2012, 194 (16): 4455 - 4456.
8. Liu L, Li Y, Zhang J, et al. Complete Genome Sequence of the Industrial

Strain *Bacillus megaterium* WSH - 002 [J]. J. Bacteriol. , 2011 , 193 (22) : 6389 - 6390.

9. Liu L , Li Y , Zhang J , et al. Complete Genome Sequence of the Industrial Strain *Ketogulonicigenium vulgare* WSH - 001 [J]. J. Bacteriol. , 2011 , 193 (21) : 6108 - 6109.

10. Liu L M , Chen K J , Zhang J , et al. Gelatin enhances 2 - keto - L - gulonic acid production based on *Ketogulonigenium vulgare* genome annotation [J]. J. Biotechnol. , 2011 , 156 (3) : 182 - 187.



陈坚 1984 年在清华大学获环境工程学士学位, 1986、1990 年在无锡轻工学院获发酵工程硕士、博士学位。现为江南大学生物工程学院教授、博士生导师。长期从事发酵工程和食品生物技术领域的教学和研究工作, 曾获国家杰出青年基金, 现为“973”项目首席科学家, 中国食品科技学会副理事长, 中国生物发酵产业协会副理事长, 国际食品科学院 (IAFoST) 会士 (Fellow), 《Food Bioscience》杂志主编。

秸秆酶解发酵关键过程的研究进展

陈洪章

中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室

摘要: 秸秆等木质纤维素原料酶解发酵制备生物基产品是国际公认的技术难题。本文针对存在的技术成本困境,提出了面向原料、面向过程、面向产品的秸秆酶解发酵关键过程研究思路,梳理出秸秆酶解发酵过程的关键问题。创建了基于汽爆技术的组合预处理技术平台,发展和完善了纤维素酶大规模纯种固态发酵平台,建立了高浓度纤维素酶解糖平台;建立了秸秆全生物量多级循环生态产业新模式,为秸秆的大规模资源化利用提供了理论和技术支撑。

关键词: 秸秆;酶解;发酵;生物量全利用

一、引言

随着世界性的能源、资源和环境危机日益严重,世界各国对光合作用产生的大量生物质资源倍加重视。据估计,地球上植物每年通过光合作用固定的碳达2000亿吨,含能量达 3×10^{18} kJ,约为全世界每年所消耗能量的10倍。而秸秆是第一大生物质资源,仅我国每年就有7亿多吨。如果能将这些丰富的秸秆资源转化为生物及化工产品的原料,将有望解决我国目前面临的资源和能源危机。

然而,虽然许多国家的科学家进行了多年的努力,秸秆的高值化仍然没有实现。其主要障碍是难以突破秸秆转化的技术和经济成本问题。秸秆是由纤维素、半纤维素、木质素等大分子相互交织而成的结构复杂的功能超分子体,难以降解为单糖用于生物发酵。而采用酸碱水解方法不仅污染严重,而且产生的杂质更不利于发酵利用;虽然酶法专一性好,但是酶的成本居高不下。此外,将多组分的秸秆原料通过单一技术转化为单一产品,例如纤维素转化为乙醇,又造成其他组分如木质素、半纤维素的难以利用,因此高成本问题仍然难以解决。

针对上述技术与成本的障碍,实验室提出全新的面向原料、面向过程、面向产品的秸秆酶解发酵关键过程研究思路,开发秸秆资源替代和循环分层多级炼制转化的理论和技术体系,解决现有的秸秆转化成本问题。本成果梳理出秸秆

高值转化过程的共性问题,即:原料特性解析及预处理、纤维素酶高效酶解发酵体系、各组分高值转化与炼制集成、工程装备放大规律及过程集成耦合等;探讨固相复杂原料炼制过程的生化工程基础问题,创建基于汽爆技术的组合预处理技术平台,发展和完善纤维素酶大规模纯种固态发酵平台,建立高浓度纤维素酶解糖平台,创建基于原料特点的各组分炼制转化平台,最终形成秸秆全生物量多级循环生态产业模式,为秸秆的大规模资源化利用提供了理论和技术支撑,真正实现秸秆价值的最大化。

二、基于秸秆原料特性建立无污染低压汽爆为核心的组合预处理技术平台

作为陆生植物的骨架材料,亿万年的长期历史进化使植物纤维素类物质具有非常强的自我保护功能,其纤维素、半纤维素和木质素构成了复杂的功能超分子复合体,这些复杂的三维空间结构使植物体得以避免微生物及各种物理化学因素的攻击,而这种致密的复杂空间结构是造成秸秆难以生物降解的主要原因。在纤维素酶过量(100 FPA IU/g 底物)的条件下,大多数未经预处理原料的酶解率低于10%。因此,为了提高秸秆原料的生物降解性能,必须首先建立有效的预处理手段。从秸秆自身化学组成和结构特点出发,发现秸秆在高温蒸煮因产生酸性物质而引起秸秆的自体水解作用机制,进而发明了不加酸碱的秸秆低压(≤ 1.5 MPa)、无污染(零化学试剂添加)蒸汽爆破预处理技术(简称汽爆技术)。通过有效控制汽爆秸秆含水量,使汽爆压力降至0.6~1.5 MPa,并可实现秸秆中85%左右的半纤维素组分降解为水溶性低分子糖。大量的工作证明,该技术是一种非常有效的打破秸秆结晶结构的预处理方法,成本较低,且从根本上解决了化学试剂的添加造成二次污染问题,几乎达到了污染零排放。

在进一步的研究工作中发现,秸秆等木质纤维素原料的不均一性是制约其高值化转化的关键因素,必须在汽爆预处理的基础上进一步进行集成强化,解决50%~60%剩余原料的综合利用问题。为更充分发挥汽爆的核心作用,本成果从秸秆的化学、组织差异性出发,构建出一整套基于无污染低压汽爆为核心的组合预处理技术,其特点是:1)分子水平上的高效组分分离:发明了以乙醇、离子液体、甘油、碱性双氧水等为溶剂的汽爆-溶剂萃取组合预处理技术,实现原料木质素、纤维素和半纤维素高效分离;2)细胞水平上的高效分离:发明了汽爆-超细粉碎组合预处理技术,实现了秸秆原料的纤维细胞和非纤维细胞的高效分离;3)组织水平组分分离:发明了汽爆-机械梳理分级组合预处理技术,实现原料在组织水平上纤维束组织和杂细胞组织的分离。通过上述系列组合预处理技术,可以实现原料中半纤维素的快速、清洁、高效降解(降解率 $\geq 85\%$),并得到高纯

度木质素 ($\geq 85\%$)、纤维素 ($\geq 80\%$),为解决秸秆生物炼制原料的源头问题奠定了基础。

近年来,在上述研究的基础上已经创建了基于不同原料、不同产品要求的原位汽爆、混合介质汽爆等过程,形成了多原料、多产品、特色化汽爆技术平台,使汽爆技术在农作物秸秆、林业废弃物、油料果实、高淀粉质原料、麻类纤维、中草药、果蔬、烟草等各种原料的高效、高值转化过程中得到广泛应用;并从工程工艺一体化角度突破汽爆技术的产业化放大难题,将汽爆技术成功放大到 1、5、20、30 和 50 m^3 的系列化规模,其中 50 m^3 汽爆罐属于已知国内外最大装置。

三、建立以秸秆为发酵原料的固态发酵纤维素酶、漆酶和阿魏酸酯酶的新工艺

固态发酵提供了微生物最适宜的生长环境,无大量废水产生以及能耗低等优势受到了国内外研究者的广泛关注。但传统的固态发酵技术难以达到纯种培养与大规模产业化这一现代发酵工业的要求。要使固态发酵形成产业化,并在新时代发挥其固有的优势,成功的关键在于反应器,这也是生化工程研究中最具挑战的工程技术难题。我们在多年对固态发酵研究的基础上,针对国内外固态发酵反应器存在的问题,提出了新的“外界周期刺激强化生物反应及细胞内外传递过程”的生物反应器设计新原理,发明设计了气相双动态固态发酵反应器 (Gas double - dynamic sold - state fermentation bioreactor, GDSFB)。

通过现代新技术的应用,对气相双动态固态发酵反应过程表现的机理进行了深入的研究,阐明了气相双动态可以促进发酵基质深层空气的有效置换,强制对流代替分子扩散,从而强化供 O_2 与 CO_2 释放、热量传递、弱化料层的温度梯度、培养基及产物的浓度梯度等。

(1) 解决传统固态发酵反应器环境监测仅限于反应器内部空气压力和培养基温度变化监测的状况,建立了 GDSFB 自动控制和数据采集系统,并为反应器安装了尾气分析和内窥镜系统,对 GDSFB 内部的空气温度、湿度和压力脉动环境进行研究

研究结果表明,气相周期刺激可以有效降低培养基中的浓度梯度(图 1),在空气压力脉动的带动下,反应器内部温度和空气湿度都有周期性的变化,变化的幅度和脉动的压力幅度有明显的相关性。在 $0 \sim 0.2\text{ MPa}$ 的压力脉动幅度的带动下,反应器内部空气温度的变化幅度达到了 $4 \sim 5^\circ\text{C}$,空气湿度的变化幅度为 RH 20%,变化频率和空气压力脉动频率相同。内窥镜观察显示,反应器内部为强法向力、弱剪切力环境,这种环境对微生物菌丝体损伤小,有利于传热、传质。

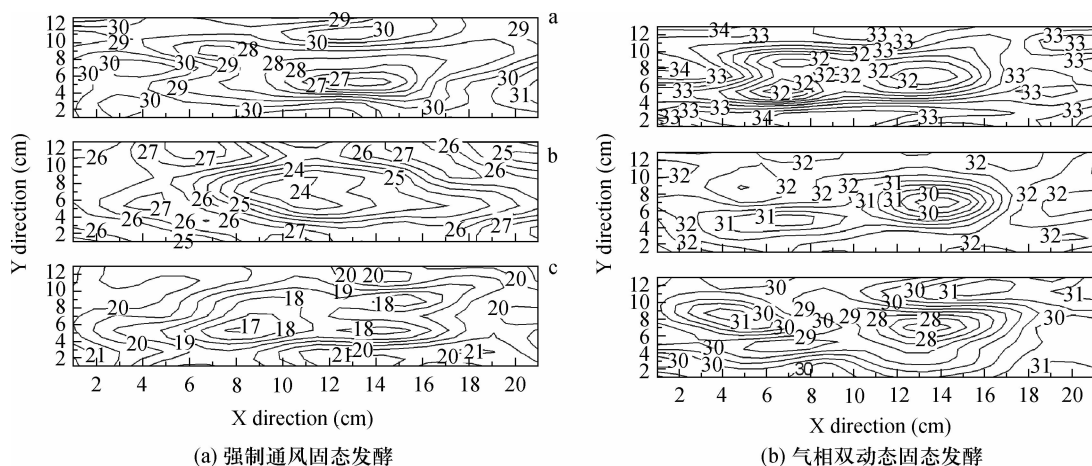


图 1 不同固态发酵方式下第三天生物量分布图

注:图中的数字为生物量的等高分布值,单位为 mg/g,强制通风固态发酵第三天时培养基上、中、下三层的生物量比值分别为 1:0.87:0.67;气相双动态固态发酵第三天时培养基上、中、下三层的生物量比值分别为 1:0.96:0.90,说明气相双动态固态发酵培养条件下生物量的分布更加均匀

(2) 应用分子生物学方法研究固态发酵微生物细胞经受压力脉动刺激后的应激反应,分析应激反应下基因的差异表达、差异蛋白质结构与功能的关系以及细胞内钙信号的传递,进而确定压力脉动对微生物细胞信息传递的影响机理以及分子水平的代谢调节控制机理

以绿色木霉固态发酵纤维素酶为例,阐明气相双动态固态发酵的周期刺激下,微生物细胞膜通透性、己糖激酶活力和三磷酸腺苷酶(ATPase)活性变化规律,为气相双动态固态发酵操作参数提供科学依据。结果表明,较温和的空气压力周期刺激(0.2 MPa)对绿色木霉的细胞膜通透性不产生显著影响;短时间高频率的气相周期刺激对己糖激酶的活力有促进作用,酶活力提高 30.7%,但是微生物在长时间的压力脉动作用下适应了这种周期刺激;长时间气相双动态培养对 ATPase 具有显著的影响,相对于静态培养,在培养的初期(0~3 d)会造成 ATPase 活力的下降,后期(3~6 d)则会使其活力有明显增加,且 ATPase 活力和培养基的失重率呈线性关系,说明气相周期刺激可能通过 ATPase 系统而影响绿色木霉发酵过程中的代谢活性(图 2)。

(3) 气相双动态固态发酵过程中外界周期因素对生物反应产生周期刺激,从而强化发酵过程的供氧,并对微生物代谢途径有所改变

比较了周期换气、强制通风和气相双动态三种固态发酵气相状态对于微生物的呼吸代谢的影响。结果显示(图 3 所示):气相状态对于微生物呼吸代谢的影响显著,三者的 CO₂ 呼吸强度峰值之比为:1:2.1:4.57,CO₂ 产生总量之比为:

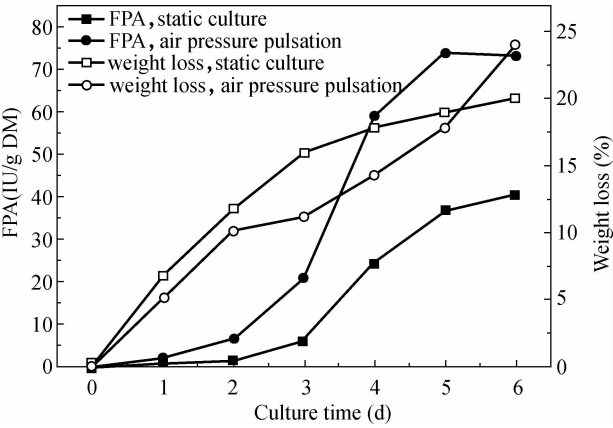


图 2 气相双动态培养和静态培养过程中纤维素酶滤纸酶活 (FPA) 和失重的变化曲线

注:气相周期刺激对发酵过程中纤维素酶的积累有明显影响,与静态培养条件相比,气相周期刺激培养下最高的发酵酶活力提高了 82%

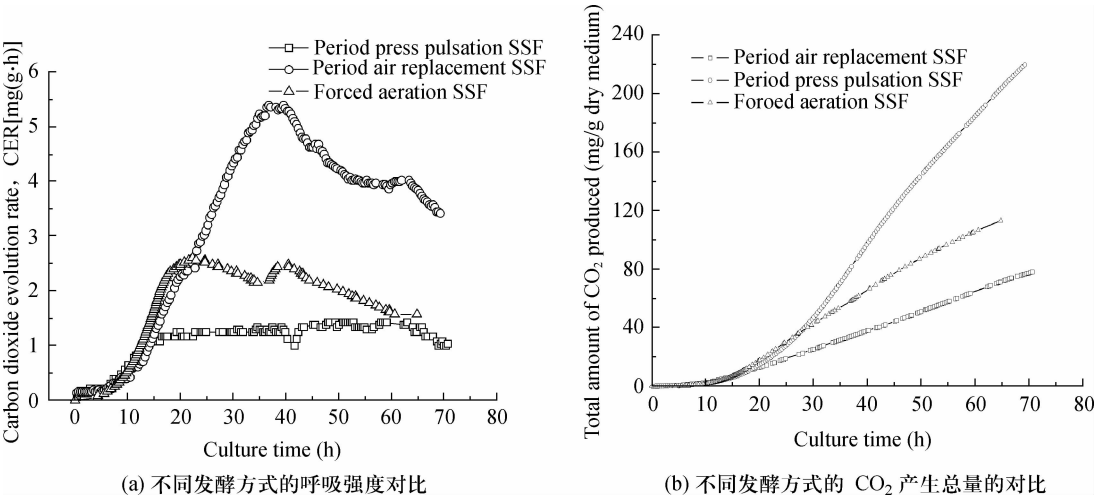


图 3 气相双动态固态发酵过程中外界周期因素对生物反应的强化机理

1:1.45:2.82。对呼吸商的分析亦表明:气相状态对呼吸商曲线的现状和峰值有影响,作为外界周期刺激的气相周期刺激对微生物代谢途径有所改变,并非只强化传热,更增加供氧。

气相双动态固态发酵技术已经实现了纤维素酶、漆酶和阿魏酸酯酶、真菌杀虫剂等的发酵生产,显著降低了酶制剂等的生产成本。目前,气相双动态固态发酵反应器已经成功放大到国内外固态发酵最大工业规模 100 m³,并用于纤维素酶的生产,成本也只有液体发酵法的三分之一。应用该技术与山东泽生生物科技有限公司合作,实现纤维素酶在 100 m³ 固态发酵罐上的产业化生产。

四、高浓度纤维素酶解糖平台的建立及其发酵分离耦合集成技术研究

(一) 外源蛋白质与纤维素酶的协同作用研究

秸秆等木质纤维素原料是由纤维素、半纤维素和木质素为主要成分的高分子复合体,其高效生物转化必须借助多种生物体系才能完成,因此本成果以新的视角从纤维素酶解底物性质研究底物与纤维素酶的作用机制,并构建高效协同酶解体系。首先从新鲜玉米秸秆细胞壁中分离得到四种不具有纤维素酶活性,

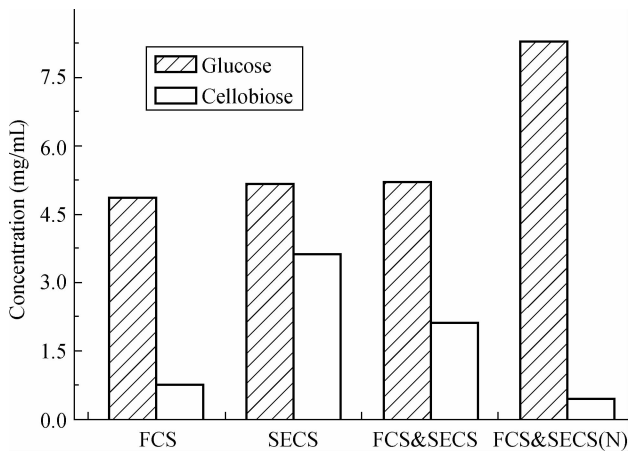


图 4 不同处理玉米秸秆体系的酶解

注:SEC: 汽爆玉米秸秆; FCS: 新鲜玉米秸秆; SEC + FCS: 汽爆玉米秸秆和新鲜玉米秸秆按照干重比 1:1 混合; SEC + FCS (N): 新鲜玉米秸秆先进行细胞壁蛋白的提取,然后与汽爆玉米秸秆按照干重比 1:1; SEC + CWP: 汽爆玉米秸秆和细胞壁蛋白按干重比 1:1 直接混合

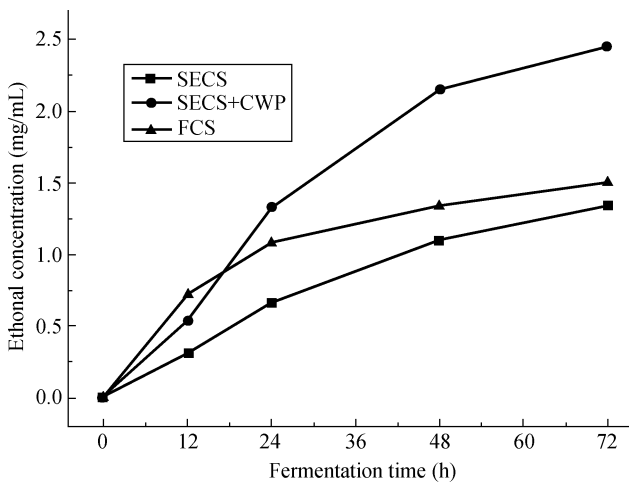


图 5 各体系玉米秸秆同步糖化发酵乙醇(图注同图 4)

但对纤维素酶具有协同作用的协同蛋白,并进一步发现新鲜玉米秸秆的自溶现象,开发基于新鲜玉米秸秆壁蛋白应用的新型酶解、发酵工艺,与对照组相比,酶解工艺中葡萄糖产量提高了 61.2%、发酵工艺中乙醇产量提高了 112.7%。新鲜玉米秸秆壁蛋白的应用丰富了纤维素酶系组成、拓宽了纤维素酶解工艺。

(二) 秸秆纤维素固相酶解—发酵耦合新工艺研究

从工程上解决纤维素酶解(50°C)与发酵温度($35\sim 37^{\circ}\text{C}$)不一致的问题,创建秸秆酶解糖化—发酵—产物吸附分离三重耦合集成技术,该技术已经放大到 110 m^3 工业规模,并成功应用于“3000 吨/年秸秆酶解发酵燃料乙醇示范项目”中,通过在线吸附分离富集,使得乙醇浓度达到 30% ~ 50%,显著降低乙醇蒸馏能耗与成本。

(三) 连续固态分段酶解发酵分离耦合技术的研究

该装置引入热泵技术控制系统,通过液相和气相的相变过程,实现了恒温发酵和发酵过程的传质、传热与发酵生成物乙醇气提分离的耦合。工艺过程以发酵热为主要热源,由发酵、分离的工艺过程和热泵构成了热量闭合循环系统,实现了能量的充分利用和能量的质与量的高效统一。将热泵技术引入固态发酵分离过程,能够有效地实现热泵系统对气提、发酵分离工艺过程的良好适应性,实现了气提固态发酵分离耦合工艺操作的高质能与低质能的高效统一和工艺过程的综合能量效率的充分有效提高。该技术已经放大到 6 m^3 工业化规模。

五、秸秆高值化产业的模式研究

(一) 以秸秆纤维素生物转化燃料乙醇为龙头产品的生态产业链集成模式

综合分析国内外已有纤维素原料转化乙醇的技术路线,其技术经济迟迟不能走出低谷的主要原因有:只强调单一纤维素组分的利用,既造成环境污染,又造成其他组分的资源浪费,虽然也有木糖转化乙醇相关研究,但是到目前为止仍然难以实现木糖发酵乙醇的规模化生产;单一技术无法同时实现纤维素、半纤维素和木质素三组分同时利用的目标,使得秸秆制乙醇成本优势难以体现;套用传统工艺技术,缺乏适于秸秆纤维素原料转化过程关键粘接技术的突破。

将无污染汽爆技术、纤维素酶固态发酵、秸秆纤维素高浓度发酵分离乙醇耦合过程和发酵渣做有机肥料等四个关键过程作为一个有机整体。整条生产线主要包括 5 m^3 汽爆罐、 100 m^3 纤维素酶固态发酵罐、 110 m^3 秸秆固相酶解同步发酵乙醇及乙醇吸附耦合塔。其中汽爆使 85% 左右的半纤维素降解用于制备低

聚木糖;分离出半纤维素的汽爆秸秆原料采用节水节能的固态发酵反应器制备纤维素酶,具有组分齐全、污染小、活性高等优点;汽爆秸秆固相酶解发酵与乙醇分离耦合,采用中空纤维超滤膜将固体酶解区、液体发酵区有效联系,通过酶的循环和酶解糖的在线分离解除酶反馈抑制,再利用二氧化碳夹带乙醇循环在线耦合发酵区和吸附分离区实现酶解糖化—发酵—吸附分离三重耦合,在线吸附分离富集浓缩乙醇,降低乙醇蒸馏成本。

通过目前的全流程运转结果表明,乙醇得率达到 0.15 以上,活性炭吸附解吸乙醇浓度在 69.8% 以上,秸秆纤维素转化率 70% 以上;发酵剩余物的含水量较低,且富含腐殖酸,是制备有机肥料的优良原料。通过上述工艺集成,构建了秸秆生物燃料乙醇、低聚木糖、有机肥料的生态产业链,可实现 3000 吨燃料乙醇,同时联产木糖 250 吨、低聚木糖 200 吨、有机复合肥 3000 吨。通过成本分摊分析,乙醇的生产成本为 5200 元/吨,基本与以粮食为原料生产燃料乙醇成本持平。

表 6 国内外生物乙醇生产技术和规模的比较

关键过程	本项目	Iogen 公司 (加拿大)	Abengoa 公司 (西班牙)	Blue Fire 乙醇公司 (美国)	BP 公司 (英国)	Alico 公司 (美国)
预处理	低压无污染汽爆技术	稀酸预处理	粉碎后预处理	两步酸处理	高压酸处理	1300℃分两步汽化、合成气
纤维素酶生产	气相双动态固态发酵纤维素酶	部分水解渣用于发酵纤维素酶	购买	购买	购买	—
乙醇发酵方式	分区同步糖化发酵:酶解区、发酵区分开,并通过循环实现酶解发酵耦合	C5 糖和 C6 糖共发酵	同步糖化发酵	水解液糖酸分离,糖共发酵乙醇	C5 糖和 C6 糖;分步糖化发酵	合成气过滤后发酵生成乙醇;采用膜系统分离菌株和乙醇
乙醇蒸馏	气提、吸附分离方式	蒸馏、脱水	蒸馏、脱水	蒸馏、脱水	蒸馏、脱水	精馏过程和分子筛等
剩余物利用	多联产木糖、有机肥、饲料等	木质素产汽或发电	—	提取硅成分		冷却热气体产生的蒸汽用于发电
产业化规模现状	3000 吨乙醇/年	年产 26 万加仑(约 1000 吨乙醇/年)	年产 500 万升燃料级乙醇产品(约 5000 吨/年)	—	—	—

2. 以秸秆半纤维素发酵丁醇、纤维素和木质素高值综合利用的生态产业链集成模式

影响秸秆发酵丁醇成本的主要因素有:① 秸秆预处理费用高和污染环境(单一组分利用),② 秸秆发酵丁醇过程中纤维素酶用量大,使用费用高,③ 秸秆丁醇发酵浓度低及溶剂蒸馏能耗高。然而与酵母发酵乙醇相比,丙酮丁醇发酵的优势在于不仅能够利用葡萄糖,还能利用半纤维素的降解产物木糖。

本技术利用丙酮丁醇梭菌的这一特性,通过关键过程的集成,克服现有秸秆丁醇发酵成本过高的制约因素,首次在国际上建立了汽爆稀酸处理半纤维素水解液发酵丙酮丁醇及多联产的产业化技术体系,实现了以秸秆半纤维素水解物发酵丙酮丁醇的规模化生产,并组建出与其技术体系相配套的自主加工的工业化装置系统,形成了以半纤维素发酵丁醇,同时得到副产品糠醛和有机酸;秸秆中保留的纤维素和木质素经过分离、转化可用于造纸以及饲料、高纯木质素等多种产品的生产的生态产业链集成。

依托该技术成果,在吉林松原 2010 年 8 月建成投产“30 万吨/年秸秆炼制生产线”,以玉米秸秆为原料的三组分分离纯化与定向转化 3.5 万吨/年半纤维素生物丁醇,5 万吨生物聚醚多元醇和 2 万吨酚醛树脂的多级循环生态产业链,实现了秸秆资源的全生物量分层多级循环高值化利用。

表 7 国内外生物丁醇产业化建设与规模的比较

企业/机构	产业化现状	产业化推广计划
吉林松原来禾化学有限公司	依托中国科学院过程工程研究所技术,2010 年建成“30 万吨秸秆炼制生产线”,可年产生物丁醇 3.5 万吨,并联产木质素 3 万吨、纤维素 12 万吨	是目前世界上规模最大、率先产业化且具有良好经济效益的秸秆生物炼制生产装置
江苏联海生物科技有限公司	建设中	设计年产 20 万吨正丁醇,目前试车的一期工程年产丁醇 5 万吨
上海凯赛生物产业有限公司	建设中	现有年产 3 万吨淀粉丁醇的生产能力,近期将扩建至年产 20 万吨规模。正在探索用不同原料生产生物丁醇的可能性,包括木质纤维原料
美国密 Gevo 公司	建设中	2009 年 10 月宣布在美国密苏里州投产 100 万加仑/年生物丁醇装置

目前,本技术已经在山东、江西、安徽、湖南、吉林、广州等地建立了以不同原料为龙头或以不同产品为龙头的生态产业化示范生产线,所有生产线均拥有完全自主知识产权,实现了秸秆资源的全生物量分层多级循环高值化利用平台。

六、结论

秸秆等木质纤维素原料酶解发酵的技术经济困境的突破涉及多个单元过程,需要各单元技术取得进展方能克这个世界性难题。上述研究进展表明,面向原料、面向过程、面向产品的秸秆酶解发酵关键过程研究思路和秸秆全生物量多级循环生态产业新模式是切实可行的,为实现秸秆高值化利用的规模化、产业化、低成本生产奠定了基础。



陈洪章 博士,中国科学院过程工程研究所研究员,博士生导师,生化工程国家重点实验室副主任。以新型固态发酵和原料组分分离为核心,研究纤维素生物技术的基础和关键过程。其研究成果获得了国家科学技术进步奖二等奖1项、中国轻工业联合会科学技术奖二等奖1项,北京市科学技术奖二等奖2项。

目前,已发表论文100多篇,其中SCI论文60篇,EI收录论文73篇;出版英文专著1部、英文2个章节,中文专著11部;申请国际发明专利15项(授权3项),国际PCT发明专利3项,申请中国发明专利200多项(授权110项),近百项发明专利得到产业化应用。

天然活性成分生物转化的微生物、特异酶以及其应用

金凤燮等

大连工业大学生物工程学院

摘要:中草药等植物中含有的主要天然活性成分,人体难吸收、活性低。为了得到易吸收、高活性的天然有效成分,本文筛选了一批新微生物,发现一批新型特异的天然成分转化酶;研究了特异的天然成分转化酶的极端发酵产酶,特异的天然成分转化酶的催化理论;研究了生物转化制备高活性天然成分单体、异构体混合物组、活性中草药等;并研究了生物转化制备的高活性天然活性物质在公众营养食品、功能化妆品中的应用。

关键词:天然活性成分;生物转化;天然成分转化酶;新微生物;人参皂苷酶

一、引言

我国中草药植物有万余种,但其中只少部分用于药,大部分用于公众营养和保健食品,用于化妆品以及日用化学制品——牙膏甚至色素和墨水等。这些植物的天然活性成分种类繁多、超过6万余种,可归纳为几大类:配糖体类(包括三萜皂苷和甾醇皂苷)、黄酮类、醌类、苯丙素类、生物碱类、鞣质、酯类等^[1]。但是这些植物主要的天然成分,与化学药不同,化学药口服后直接吸收,起药效;而大部分主要的天然成分人体难吸收、活性低,口服后在消化系统内转化为另一种高活性结构,吸收后起功效;而且人体内这种转化很弱,大部分很难利用^[2-3]。因此,在体外改变低活性、难吸收的天然成分,制备高活性、易吸收的有效成分,对公众营养食品、功能食品和化妆品、日化产品以及中草药行业技术升级意义重大。

改变植物天然活性成分结构,生物转化是很有效的方法。然而,其种类繁多,结构复杂,现有的微生物和酶解决不了中草药天然成分的生物转化,必须开发许多新微生物和新酶类,才能解决天然成分转化,制备易吸收、高活性成分的问题。

为此,为了得到易吸收、高活性的天然有效成分,本文筛选一批新微生物,发现一批新型特异的天然成分转化酶,研究了其特性和应用开发。

二、天然产物生物转化的新微生物筛选、分类鉴定

为了得到易吸收、高活性的天然有效成分,从土壤、人参地、森林地,筛选一批新微生物,确认新筛选菌的产酶和天然成分的转化功能,其中有用的菌进行分类鉴定,确定其新微生物的属名和种名。

(一) 新微生物筛选

土壤中的大部分微生物处于休眠状态、或者目的微生物数量很低,因此本文采用两种方法筛选微生物:富集培养4~5代后分离单菌落;另一种方法是,将土壤样品稀释、涂铺在低营养的培养皿的固体培养基上、长时间培养(培养1~3个月)方法,得到单菌落。为了保险起见,所得到的单菌落在培养皿的固体培养基重新分离单菌落,测定其16S rRNA基因序列,与在NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)的基因库(GenBank)上所登记的已知菌比较;共筛选了与已知菌的16S rRNA基因序列同源性90%以下的菌有25种,90%~95%的有43种,95%~97%的50种,97%~98%的50种的新筛选菌。

一般来说,16S rRNA基因序列同源性(相似度)为95%以下的菌,直接能确定为新属(New Genus)微生物,同源性在95%~97%的菌,直接能确定为新种(New species),同源性97%~99%的菌,借助分子杂交判断是否新菌,碱基序列与已知菌基本不配对的为新菌。

因此,筛选了16S rRNA基因与已知菌相差较大的百余种菌,为筛选天然成分转化酶,提供新微生物资源。

(二) 新筛选菌生物转化产酶功能的确认

上述新筛选微生物,随培养基不同、诱导物不同,所产的天然成分转化酶的种类也不同。上述新筛选的菌种中,选择16S rRNA基因同源性在GenBank库中所登记的已知菌相差较大的、如下20种菌株,研究了产中草药组分水解酶的功能。

例如,20种菌株分别在1%的Trypton/L,0.5%的酵母膏,1%的NaCl和0.02%人参提取物的培养基中培养,与人参皂苷Rb1反应。其结果如下TLC图1。

从图1中可以看到:1、3、9、10、14、18号菌,明显水解人参皂苷Rb1;而且15、16、17和20号菌也水解人参皂苷Rb1,说明这些菌,都产人参皂苷酶。

相同的方法,改变菌和培养基、产酶诱导物的方法,可以确认其他新菌的天然成分转化功能的产酶菌。其中选择有特色、有用的菌,进行分类鉴定,确定新菌。

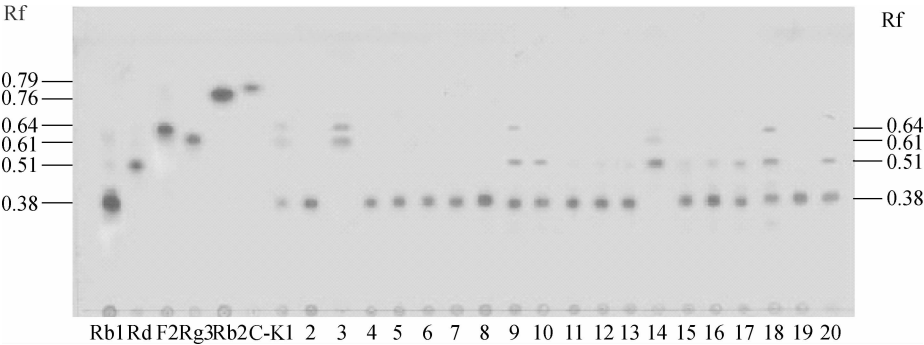


图 1 20 种菌株发酵液对人参皂苷 Rb1 的水解

Rb1、Rd、F2、Rg3、Rh2、C-K 为标准品;1~20,从 1~20 号菌培养液与皂苷 Rb1 的反应

(三) 有用菌的分类鉴定

上述新筛选菌中,选择高产中草药成分酶的有用菌,按照国际上规定的新菌分类鉴定方法,确定其微生物属和种;发表在国际微生物协会新菌刊物 *Int. J. Syst. Evol. Microb* (IJSEM) 等国际微生物学刊物上,填补国际微生物学的新微生物。

例如,作者课题组与韩国 KAIST 的林完泽博士,共同研究了从人参土壤中分离筛选的新细菌 Gsoil 085^T 进行分类鉴定。该菌的种系分析中提取 DNA,其 16S rRNA 基因用 PCR 方法扩充、分离提纯其 16S rRNA 基因,其 16S rRNA 基因序列用 SeqMan software (DNASTAR) 测定;结果是 1463 个碱基对组成;与基因库 (GenBank) 比较:利用 BLAST 在 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 上登记的已知菌比较,该菌属于细菌门 (Phylum Bacteroidetes) 的 Flexibacteraceae 科;与相近的 *Emticicia oligotrophica* GPTSA100-15 菌比较,16S rRNA 的同源性只有 94.6%;与 Flexibacteraceae 科的其他菌相比较,16S rRNA 的同源性为 83.0% 以下;DNA 分子杂交结果,在 16S rRNA 基因水平上 3.0% 的基因序列不相同;在全基因水平上涉及 70% 序列不相同。该菌 16S rRNA 基因序列,在基因库中查找新菌种所对应的系统生物学位置,制作邻近菌的种系发生树 (Neighbour-joining phylogenetic tree),在上述基础上研究了该菌的分类学形态和生化特性。

该菌 DNA 的 G+C 含量为 40.5%,革兰氏阴性 (Gram negative),绝对好氧 (Strictly aerobic),不运动,不利用很多糖;细胞脂肪酸组成不同于相近的 *Emticicia oligotrophica* GPTSA100-15 菌;是新的 *Emticicia* 属中一个新种;命名为 *Emticicia ginsengisoli* sp. nov.。新发现的菌确定其属名和种名,刊登在国际微生物协会新菌刊物 *Int J Syst Evol Microb* 等国际微生物学刊物上,增添国际微生物学的新菌。

本课题组分类鉴定的新菌为:*Emticicia ginsengisoli* sp. nov. 菌 (*Int J Syst Evol*

Microb, 2008, 58, 1100 - 05); *Kaistia granuli* sp. nov. 菌 (*Int J Syst Evol Microb*, 2007, 57: 2280 - 83); *Hymenobacter daecheongensis* sp. nov. 菌 (*Int J Syst Evol Microb*, 2009, 59, 331 - 335); *Spirosoma panaciterrae* sp. nov. 菌 (*Int J Syst Evol Microb*, 2009, 59, 1183 - 7); *Terrabacter ginsenosidimutans* sp. nov. 菌 (*Appl Environ Microb*, 2010, 76, 5827 - 36); *Phycococcus ginsenosidimutans* sp. nov. 菌 (*Int J Syst Evol Microb*, 2011, 61, 524 - 8); 7) *Mucilaginibacter composti* sp. nov. 菌 (*J Microb*, 2011, 49, 393 - 398); *Ramlibacter ginsenosidimutans* sp. nov. 菌 (*J Microbiol Biotechnol* 2012; 22: 311 - 15) 等; 不仅增添国际微生物新菌, 为筛选天然成分转化酶, 提供一批新微生物资源。

三、特异的天然成分转化酶及其特性

上述新微生物和重要的已知菌发酵, 用离子交换柱、凝胶柱、分子筛等的分离方法, 分离纯化得到纯的酶蛋白, 其纯酶与各种天然活性成分的单体分别反应, 确定酶的催化反应, 研究该酶的其他特性, 然后与国际上已公布的酶相比较, 确定是否为新酶。由此, 发现了一批新的特异性天然活性成分转化酶。

(一) 特异的人参、薯蓣、白头翁等皂苷酶

用上述方法, 发现了一批皂苷酶, 其中 4 种人参皂苷酶 I、II、III、IV 型, 其酶分别为:

人参皂苷糖苷酶 I 型^[4], 能水解人参二醇类皂苷 Rb1、Rb2、Rb3、Rc 的 (第 3 碳) 3-O- 的 β - (1 $\rightarrow$ 6) - 葡萄糖苷键; 水解 (第 20 碳) 20-O- 位置的 β - (1 $\rightarrow$ 6) - 葡萄糖苷键、 α - (1 $\rightarrow$ 6) - 阿拉伯糖苷键、 β - (1 $\rightarrow$ 6) - 木糖苷键和 3- 碳 (3-O-) 上的 β - (1 $\rightarrow$ 2) - 葡萄糖苷键等多种糖基, 生成 F2; F2 进一步水解成 C-K 以及皂苷元 (PPD)。其催化反应为:

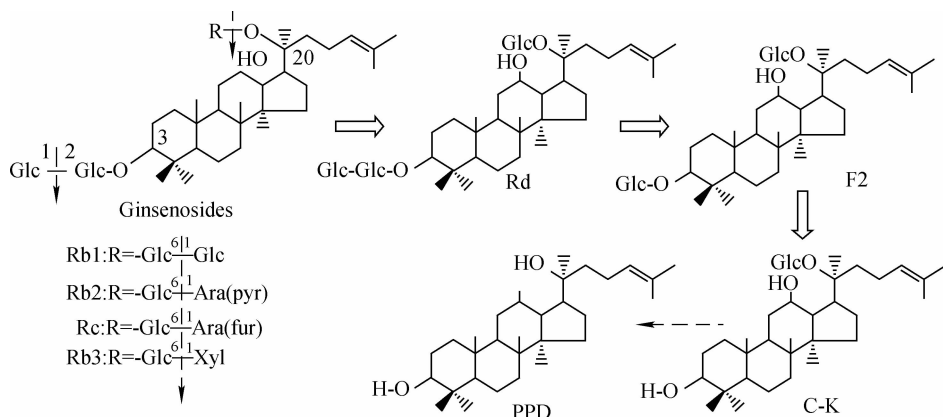


图 2 人参皂苷糖苷酶 I 型催化反应

人参皂苷糖苷酶 II 型^[5],能水解人参二醇类皂苷 Rb1、Rb2、Rb3、Rc 的 20 - *O* - 位置的 β - (1 $\rightarrow$ 6) - 葡萄糖苷键、 α - (1 $\rightarrow$ 6) - 阿拉伯糖苷键、 β - (1 $\rightarrow$ 6) - 木糖苷键等多种糖基,生成 Rd 和 Rg3 皂苷。

人参皂苷糖苷酶 III 型^[6],能水解人参二醇类皂苷的 3 - *O* - 位置的糖基。来源于霉菌的酶水解 Rd 的 3 - *O* - 糖苷,生成 C - K;基因重组酶 III 型(新发现

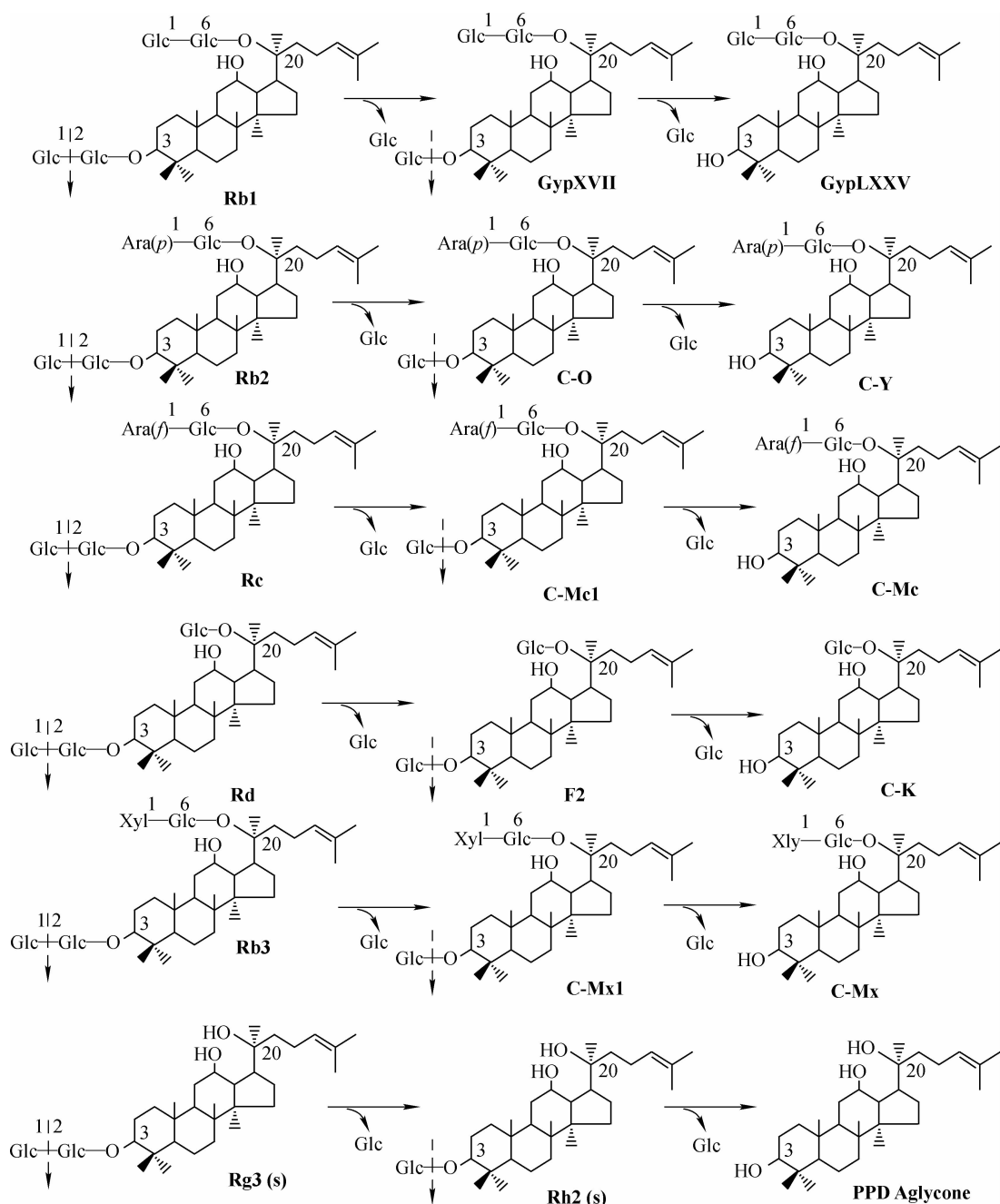


图3 人参皂苷糖苷酶 III 型催化反应

菌 *T ginsenosidimutans* sp. nov. 的 *bgpA* 基因,克隆到 *E. coli* 细胞中表达得到的酶,736 个氨基酸残基,分子量 81 kDa),水解 3 - O - 位置的糖基:水解 Rb1 皂苷 3 - O - 位置的糖基、逐步生成 Gyp17→Gyp75;同样,Rb2 变成 C - O→C - Y;Rc 变成 C - MeI→C - Me;水解 Rd 的 3 - O - 糖基、逐步变成 F2→C - K 皂苷。

人参皂苷酶 IV 型^[7,8],能水解人参三醇类皂苷 Re、R1、Rf、Rg2 皂苷的 6 - O - 位置上的多种糖基。

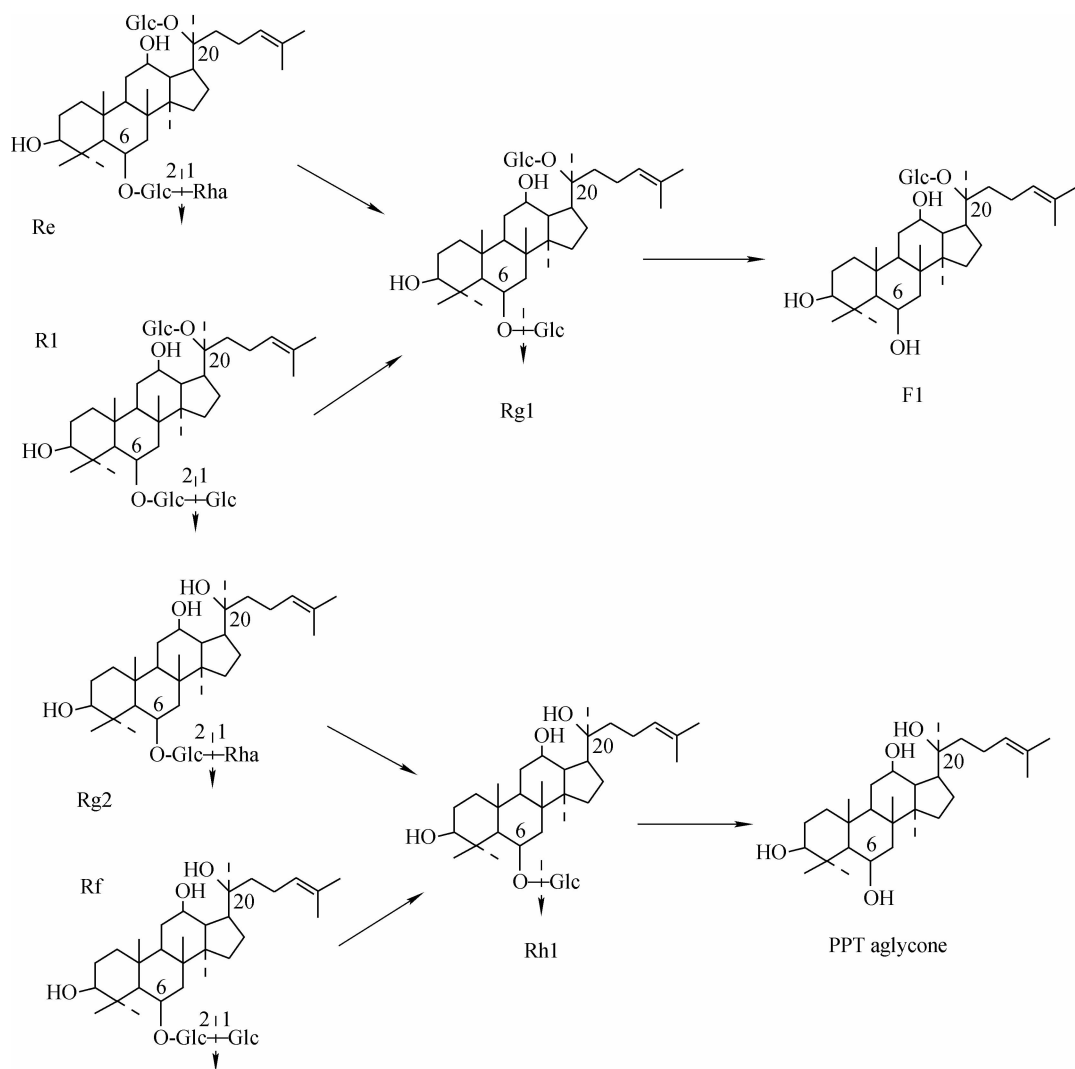


图 4 人参皂苷糖苷酶 IV 型催化反应

归纳人参皂苷酶特性,人参皂苷 I 型酶水解人参皂苷第 3 碳、第 20 碳上的糖基;人参皂苷 II 型酶水解人参皂苷第 20 碳上的多种糖基;人参皂苷 III 型酶水解人参皂苷第 3 碳上的糖基;人参皂苷 IV 型酶水解人参皂苷第 6 碳上的多种糖

基;是新酶。

用上述方法,也发现一些其他皂苷酶:薯蓣(穿山龙)甾醇皂苷酶^[9],能水解薯蓣皂苷 3-碳(3-O-)上的 $\alpha-(1\rightarrow2)$ -鼠李糖苷键、 $\alpha-(1\rightarrow4)$ -鼠李糖苷键和 β -葡萄糖苷键;其催化反应如图 5 所示:

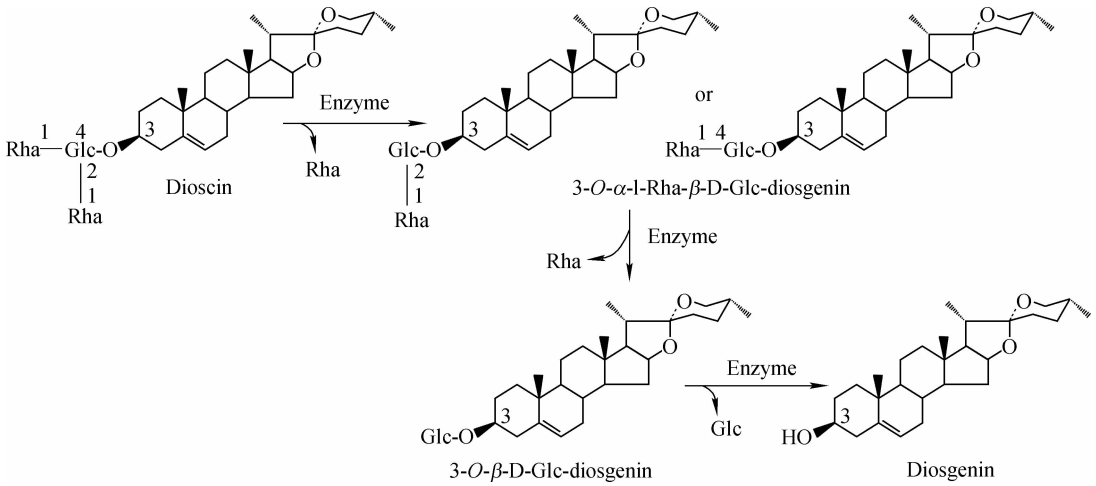


图 5 薯蓣(穿山龙)甾醇皂苷酶催化反应

柴胡皂苷酶^[10],能水解柴胡皂苷的 3-O-上的多种糖基;白头翁皂苷酶,能水解白头翁皂苷的 3-O-和 28-O-上多种糖基;还有黄芪、朱砂根和大豆皂苷酶等。

上述皂苷酶的催化反应共性为,对苷元种类和糖基位置选择性高,对糖基种类(葡萄糖、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖等种类)选择性低,能水解葡萄糖、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖等多种糖基;这与国际酶学上的 160 余种糖苷酶“一种酶水解一种糖基(糖苷键)”(NC-IUBMB in <http://www.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme>)的普遍规律所不同,是一类特异性的新苷酶。增添了国际酶学的一批新的皂苷酶^[11]。

(二) 其他天然活性成分转化酶

用上述方法发现一些其他天然成分转化酶:水解芦丁转化为异槲皮素和槲皮素的芦丁苷酶^[12],黄芩苷转化为抗艾滋病毒的黄芩苷酶,大豆异黄酮的苷酶,红景天苷酶水解和合成酶^[13],丹酚酸 B 转化为丹参素和低聚丹酚酸的丹酚酸酶,制备高活性淫羊藿苷的淫羊藿苷酶;其中大豆异黄酮的苷酶的催化反应为:

以上筛选了一批新的特异的天然成分转化酶,为活性低、难吸收的天然成分转化为高活性的有效成分,提供了一批新酶。

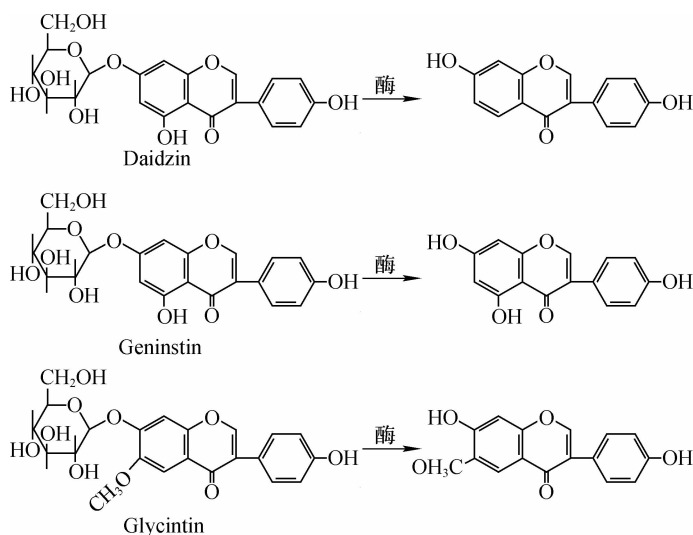


图 6 大豆异黄酮苷酶催化反应

四、特异的天然成分转化酶应用

为了上述新的天然成分转化酶的应用,育种了一些天然成分转化酶的生产菌;发现其酶在普通酶(淀粉、蛋白酶)发酵条件下不产,只有在发酵环境和营养恶劣条件下才产酶;建立了贫营养极端发酵法、生产天然成分转化酶类的方法,建立了从植物中提取天然成分转化酶方法。发现上述新酶抗有机溶剂;建立了酶生产中,用无毒有机溶剂沉淀酶方法,分离酶和产物;建立酶不用固定化、重复使用方法。在此基础上,利用天然成分转化酶生产了高活性天然活性成分;生产了高活性单体成分、高活性组分、高活性成分含量高的中草药和提取物;研究开发了高活性成分的公众营养食品、功能食品和化妆品。

1) 酶转化法生产高活性单体成分:如,酶转化法生产高活性单体皂苷 C - K 和 F1 的制备。人参皂苷 C - K (Compound - K) 在天然人参中并不存在,是原人参二醇类皂苷 (Rb₁、Rb₂、Rc、Rd 等) 在人肠道内代谢的末端产物,是人体吸收的结构,具有抗突变、抗过敏、抗瘙痒、抗败血病、抗糖尿病、抗癌、增强机体免疫力等作用,对保健食品、化妆品、人参药物意义很大,但是尚无产业化大量生产。同样, F1 皂苷在天然的人参中并不存在,是原人参三醇类皂苷 (Re、R1、Rg1 等) 在人肠道内代谢的产物,人体易吸收、具有保肝、益智等药理和保健功能。其结构为:

利用新发现的人参皂苷酶 I 型^[4]和 IV 型^[5],分别转化生产高活性 C - K 和 F1 皂苷;其转化率为 70% ~ 90%;酶不用固定化,反应后,重复使用,酶的回收率

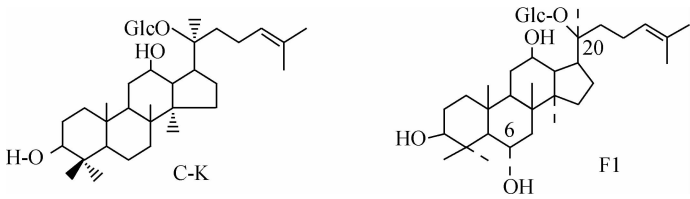


图 7 人参皂苷 C - K 和 F1 的结构

为 70% ~ 80% 。

2) 生物转化法制备四种异构体的 Rg2 组、Rg3 组、Rh1 组等红参稀有皂苷群:如,Rg2 组等由 20(*S*) - Rg2、20(*R*) - Rg2、Rg6 和 Rg4 (F4) 等四种异构体皂苷组成,Rg2 组皂苷的结构与组成,如图 8 所示。

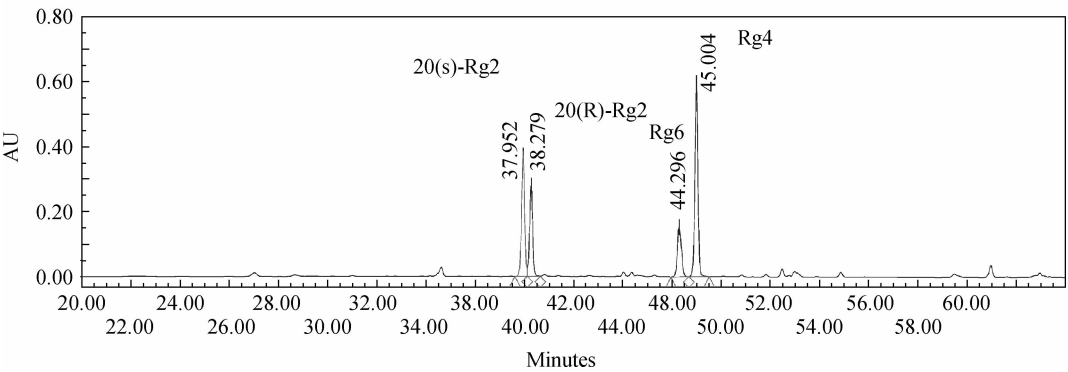
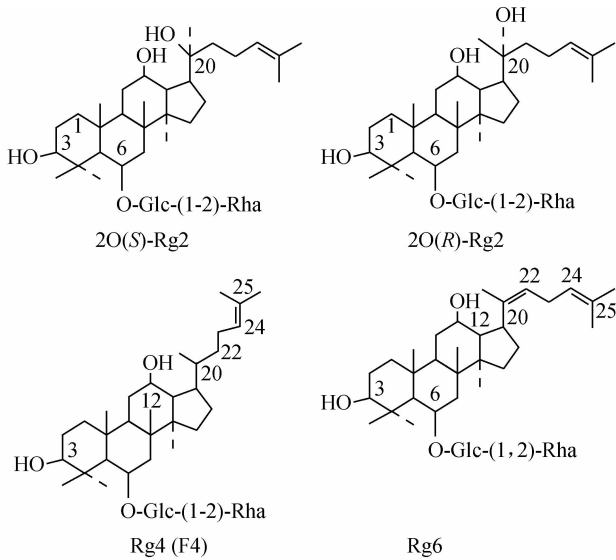


图 8 Rg2 组产品皂苷结构与组成的 HPLC 图

红参稀有皂苷 Rg2 组、Rg3 组、Rh1 组等,由于四种异构体皂苷协同作用而比单体皂苷活性高,水中的溶解度高,更适合于开发人参制品、公众营养食品、化妆品和人参药物。如,红参稀有皂苷 Rg3 组,20(S) - Rg3、20(R) - Rg3、Rk1 和 Rg5 等四种异构体协同作用,比 Rg3 皂苷单体,抗癌、抗血栓、调节胰岛素活性提高较大。

本课题组与企业联合,利用生物转化法分别生产四种异构体含量 90% 以上的 Rg3 组、Rg2 组、Rh1 组等;开发其应用,用于公众营养食品、人参制品、化妆品等添加剂。生物酶转化法,也生产了高活性白头翁皂苷组、高活性大豆异黄酮等,正开发其制品。

3) 利用中草药植物本身含有的自身酶作用,在中药加工过程中发挥自身酶的作用,制备高活性有效成分含量高的中药或者提取物——活性中药。也就是说,中药加工过程中,有目的地发挥自身酶作用,提高活性有效成分的含量,改变了传统的中药加工的炮制和煎制等传统的盲目性的加工方法。

如,人参植物中含有人参自身皂苷酶^[14,15],在传统红参加工过程中激活人参自身皂苷酶,制备活性红参;其活性红参中的稀有皂苷 Rg3、Rg5、Rh2、Rh3、Rg2、Rg4、Rh1、Rh4 含量比传统红参提高十几倍,同时人参中导致部分人上火成分 Re、Rg1 含量,降低到西洋参水平。

同样,也制备了高活性成分含量高的黄芩、丹参等提取物,提取了高活性大豆异黄酮混合物,开发了其公众营养食品、功能化妆品。

总之,为了得到易吸收、高活性的天然有效成分,本文筛选了一批新微生物,发现了一批新型特异的天然成分转化酶,开发了一批高活性的有效天然成分、高活性异构体混合物和活性中药,也开发了一些制品;目前正在拓宽研发范围。

参考文献

1. 金凤燮等. 天然产物生物转化[M]. 北京:化工出版社,2009:6 - 33.
2. Kobashi K. Glycosides are natural products - Evidence using germ - free and gnotobiotic rats associated with a human intestinal bacterium [J]. J Trad Med 1998, 15: 1 - 13.
3. Tawab MA, Bahr U, Karas M, Schubert - Zsilavec M. Degradation of ginsenoside in humans after oral administration [J]. Drug Metab Dispos 2003, 31: 1065 - 1071.
4. Yu H, Zhang C, Liu M, Sun F, Fu Y, Jin F. Purification and characteriza-

tion of ginsenosidase hydrolyzing multi - glycosides of protopanaxadiol ginsenoside, Ginsenoside Type I [J]. Chem Pharm Bull 2007, 55: 231 - 235.

5. Yu H; Liu Q, Zhang C, Lu M Fu Y, Im WT, Lee ST, Jin F. A new ginsenosidase from *Aspergillus* strain hydrolyzing 20 - O - multi - glycoside of PPD ginsenoside [J]. Process Biochem 2009, 44: 772 - 775.

6. Jin X, Yu H, Wang M, Liu T, Liu C, An D, Im WT, Kim SG, Jin F. Kinetics of a Cloned Special Ginsenosidase Hydrolyzing 3 - O - Glucoside of Multi - Protopanaxadiol - Type Ginsenosides, Named Ginsenosidase Type III [J]. J Microbiol Biotechnol 2012; 22: 343 - 351

7. Wang D, Yu H, Song J, Xu Y, Liu C, Jin F. A novel ginsenosidase from an *Aspergillus* strain hydrolyzing 6 - O - multi - glycosides of protopanaxatriol - type ginsenosides, Named Ginsenosidase Type IV [J]. J Microbiol Biotechnol 2011, 21: 1057 - 1063.

8. Wang D, Yu H, Song J, Xu Y, Jin F. Enzyme kinetics of ginsenosidase type IV hydrolyzing 6 - O - multi - glycosides of protopanaxatriol type ginsenosides [J]. Process Biochem 2012, 47:133 - 138.

9. Fu Y, Yu H, Tang S, Hu X, Wang Y, Liu B, Yu C, Jin F, New Dioscin - glycosidase Hydrolyzing Multi - glycosides of Dioscin from *Absidia* Strain [J], J Microbiol Biotechnol 2010, 20(6): 1011 - 1017.

10. Yu H, Song H, Su X, Lu M, Zhang C, Jin F, Purification and characterization of new special saikosaponin - glycosidase [J]. Chemical J Chinese University 2010, 31: 1152 - 1157.

11. Jin F, Yu H, Fu Y, An D, Im WT, Lee ST, Jaime A. Teixeira da Silva: Biotransformation of ginsenosides (ginseng saponins), International J Biomed Pharmac Sci 6 (Special Issue). 2012, p33 - 44 © 2012 Global Science Books.

12. Liu T, Yu H, Zhang C, Liu M, Piao Y, Ohba M, Tang M, Yuan X, Wei S, Wang K, Ma A, Feng X, Qing C, Mukai C, Tsuji A, Jin F, *Aspergillus niger* DL FCC - 90 rhamniside hydrolase, a new type of flavonoid glycoside hydrolase [J]. Appl Environ Microb 2012, 78: 4752 - 4754.

13. Zhang C, Yu H, Lu M, Jin F, Enzyme synthesis of salidoside: Purification and characterization of salidosidase from *Aspergillus niger* [J]. Process Biochem 2005, 40: 3143 - 3147.

14. Zhang C, Yu H, Bao Y, An L, Jin F. Purification and characterization of ginsenoside - β - glucosidase from ginseng [J]. Chem Pharm Bull 2001, 49: 795 - 798.

15. Zhang C, Yu H, Bao Y, An L, Jin F. Purification and characterization of ginsenoid - α - arabiofuranase hygrolyzing ginseoside Rc into Rd from the fresh rood of Panax ginseng [J]. Process Biochem 2002, 37: 793 - 798.



金凤燮 1968 年吉林大学毕业,1989 年在日本东京大学获工学博士学位。现任大连工业大学学术委员会主任,辽宁省发酵工程重点实验室主任。一直从事发酵、酶工程方面的教学科研工作。团队主要成果:发现了一批新微生物和一批新型特异的天然成分转化酶;发现皂苷酶等天然成分转化酶,能水解多种糖基不同于国际酶学会描述的一种酶只水解一种糖基的糖苷酶普遍特性。提高制麦过程中果胶和蛋白酶活力的方法,解决了东北大麦皮厚、浸出率低

等不宜酿造啤酒问题。相关成果,发表论文 253 篇中 SCI 收录 43 篇;出版著作 5 部中在日本出版 2 部。发明专利 23 项中 15 项授权,含欧美日韩专利。省部级以上获奖 9 项中含国际技术发明奖二等奖。

科技创新是推动食品产业 节能减排技术进步的关键

李里特等

中国农业大学食品科学与营养工程学院

摘要:食品产业在节能减排领域面临严重的挑战和机遇,高耗能、高排放、高污染的落后工艺技术设备面临淘汰,低能耗、低排放、低污染的新技术期待科技创新。本文通过笔者研究室有关研究:高产耐热木聚糖酶技术、电渗透脱水技术、电场干燥技术、电场保鲜技术、利用自然冷源果蔬保鲜技术和电生功能水杀菌技术等的研究成果分析,讨论了生物技术、工程物理、理化技术等在轻工和食品产业节能减排领域的可能性和巨大潜力。一些新技术的成熟应用,还需要更深入研究和新的突破。

关键词:节能减排;食品工程新技术;酶工程技术;电渗透;静电场;自然冷源利用;果蔬保鲜;电生功能水

一、前言

随着我国经济不断发展,能源问题、环境污染问题也越来越突出。国际能源署发布的世界能源展望报告称,从2009年开始我国的一次性能源消费已经超过美国,居全球第一。粗放的经济增长方式使得中国的能耗速度超过经济增长速度。而我国和世界一样,化石能源资源十分有限,据统计我国可采的煤炭储量1145亿吨,石油探明储量32亿吨,而我国煤炭和石油年消耗量分别为22亿吨和3亿吨左右。照此计算,我国能源枯竭迫在眉睫。尤其是我国能源利用率与国外相比尚有很大差距,仅为33%,比发达国家低10个百分点。单位产值能耗我国是世界平均水平的2倍多,比美国、欧盟、日本分别高2.5倍、4.9倍、8.7倍,甚至比印度也高出43%。包括轻工行业在内的8大产业主要产品的单位能耗比比国际先进水平高40%^[1]。

我国食品产业也是耗能大户,虽然发展迅猛,但是也存在着原材料投入量大、产出比低及环境污染严重的现象。有调查说明,多数企业年能耗费用支出

占总产值的比率高于企业利润率,经营较好的企业二者的比例才能达到 1:1 的关系。食品贮藏与加工过程涉及的冷冻、冷藏、脱水、干燥、烘烤、汽蒸、分离等都是能耗比较高的操作。我国许多出口产品,例如,脱水蔬菜等也是依赖能源的消耗,发达国家也有把这些高耗能、高排放的产业向发展中国家转移的倾向。因此,依靠科技创新推动食品产业节能减排是走可持续发展之路的必然选择。

二、食品产业节能减排的必要性

近年来我国农产品加工业发展迅速,但在产地初加工领域由于设施简陋、方法原始、工艺落后,导致农产品产后损失严重,品质下降。据专家测算,我国农户储粮、马铃薯、水果、蔬菜的产后损失率分别为 7% ~ 11%、15% ~ 20%、15% ~ 20% 和 20% ~ 25%,远高于发达国家的平均损失率。折算经济损失达 3000 亿元以上,相当于 1 亿多亩耕地的投入和产出被浪费掉。据介绍,农产品产地初加工,主要包括产后净化、分类分级、干燥、预冷、储藏、保鲜、包装等环节^[2]。多年来,由农户和专业合作组织自行完成的比重超过农产品产量的一半,有的品种甚至高达 80% 以上。

由于能耗巨大,中国已成为全球最大的碳排放国。同时,粗放式的经济增长也使得我国工业排污、排水面临巨大的压力。例如,据 2008 年中国环境公报所示,全国地表水污染依然严重。七大水系水质总体为中度污染,即 80% 左右河流受到污染。污染也带来了包括食品安全问题等严重后果。

为此,近十年我国颁布了一系列关于环境保护的法律,2008 年 4 月 1 日起实施新的《节约能源法》,其目的就是推动节约能源工作。要解决好发展经济和节约能源的矛盾,必须首先提高能源的利用率,淘汰落后的耗能过高的工艺设备,采取先进的节能技术^[3]。同时,减少排放和污染也成为我国产业结构转型的重要任务。过去只重视产值,忽视“三高”(高污染、高能耗、高排放)的企业发展模式不仅已经很难在激烈的国际竞争中立足,也面临各种法律、法规制约的压力,很难再有立足之地。

也要看到,争取在节能减排上占据优势,也是企业发展的机遇。“节能减排”就是从生产到消费的各个环节,降低消耗、减少损失和污染物排放、制止浪费,有效、合理地利用能源和资源。无论是提高能源的利用率,还是减排、降耗,都需要更先进的技术支撑。在节能减排领域世界各国和我国都已经开展了多年研究,取得了相当的成果和成就。本文仅就结合笔者实验室的有关研究领域和成果,讨论技术创新对推动节能减排技术进步的重要作用。

三、食品产业节能减排技术

(一) 生物技术对节能降耗的意义

据估计,生物技术工业每年能够减少 10 亿吨的碳排放量。生物技术工业主要以农业废弃物和有机废弃物材料为原料,涉及到应用酶和微生物来开发不同的生物产品,涵盖不同的工业领域。

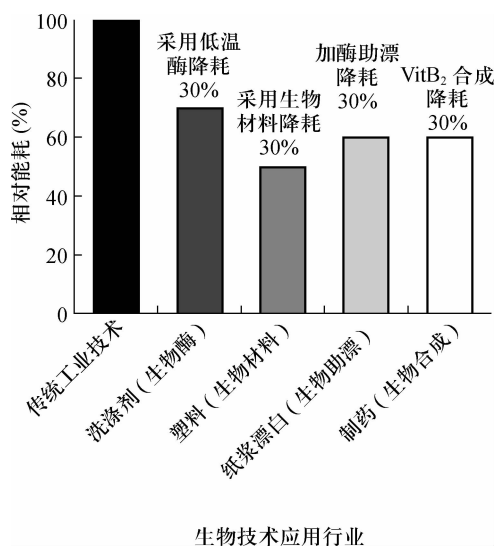


图 1 各行业采用生物技术节能降耗统计图

如图 1 所示,目前,生物技术在很多轻工领域已显示出了良好的节能减排效果。如在纺织业中,生物酶的使用极大降低了洗涤剂中化学品的用量,低温酶的使用进一步使洗涤的温度降低了 10℃,使洗涤过程中的电能节约了 30%,事实上洗涤用酶的开发也是现代生物技术工业最大和最成功的应用之一^[4]。在塑料工业中,某些生物来源的塑料生产能够降低高达 50% 的能量消耗,减少 67% 的 CO₂ 排放量。在制浆造纸工业中,采用生物技术在漂白过程中能够降低 10% ~ 15% 的氯用量,节约 40% 的能源,从而减少碳的排放。在化学工业中,采用生物技术的手段生产维生素 B₂ 相较化学合成法能够减少 40% 的能量消耗,此外还能极大的减少废水的污染。在食品工业中,生物酶的使用显著地降低了焙烤、果汁、奶酪以及植物油等食品加工过程中的能耗,提高了生产效率。

在功能性低聚糖的生产中,我们实验室以农业废弃物为原料,采用微生物酶水解法制备高附加值的功能性糖,不仅实现了农业废弃物的回收利用,而且还减少了废弃物焚烧对环境的污染,很好地实现了节能减排的效果。本研究室在低

聚木糖酶的研究中也发现了生物技术在节能减排降耗方面的巨大潜力。

笔者项目组前期虽攻克酶解专一性难关,选育出橄榄绿链霉菌 *sp. E-86*^[5], 2000 年实现了我国玉米芯转化低聚木糖的工业化生产。然而, *sp. E-86* 产酶需要以木聚糖作底物培养,酶活 1600 U/mL,酶解温度 50 ~ 60℃,致使生产效率和成本不够理想。选育可直接利用玉米芯、秸秆等高产耐热木聚糖酶和适应性强的真菌是各国攻关的焦点。

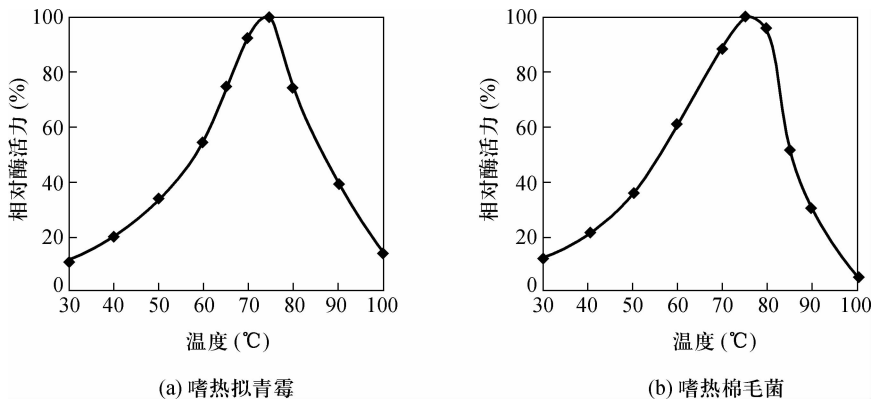


图 2 嗜热拟青霉 (a) 及嗜热棉毛菌 (b) 木聚糖酶的最适反应温度

如图 2 所示,课题组开发了特异性选育嗜热真菌的关键技术,成功选育了 2 株适合工业化生产和应用的高产耐热木聚糖酶嗜热真菌,嗜热拟青霉木聚糖酶温度耐受性为已知真菌酶最高,最适温度 75 ~ 80℃,75℃ 下稳定^[6];嗜热棉毛菌 CAU44 木聚糖酶的最适温度 75℃,70℃ 稳定。由于两种木聚糖酶比商业化木聚糖酶耐热温度高了 15 ~ 20℃,使得水解时间缩短一半,糖浆成本由 2.9 万元/吨,降至 2.0 万元/吨,生产效率提高 25%,可降低 2/3 的生产成本。

课题组的另一个成果是对产耐高温木聚糖酶 (*xynB*) 基因的克隆和在大肠杆菌中的高效表达,重新构建表达载体,将产极耐高温木聚糖酶 (*XynB*) 基因在分泌型寄主中 (毕赤酵母) 高效表达,工程毕赤酵母中 *XynB* 的拷贝数超过 40,并系统地研究了该酶的酶学性质。通过一系列酶学性质分析发现:它的最适酶反应温度为 90℃,且具有良好的 pH 和热稳定性。该酶在造纸漂浆中减少氯的排放和污染,显示很好前景^[7]。

(二) 电磁场处理对脱水干燥节能的效果

电食品工程中许多单元操作:如蒸馏、过滤、压榨、浓缩、干燥、离心分离、沉降分离等,大多数都是固液分离或脱水过程。以往的脱水方法多用机械力或加热的方法达到目的,耗能较大^[8]。作为节能的利用电磁场作用的微能技术引起

广泛重视,主要有电渗透脱水或固液分离的研究、电场蒸发干燥技术等。

电渗透固液分离技术。食品物料往往由带电胶体粒子组成,这些固相的胶体粒子与分散介质液体之间存在着 ζ 电位。当给物料加以静电场时,液相就会在胶粒电位感应下带上相反的电荷,于是固液发生分离的运动,达到低耗能、高效率的脱水目的^[9]。在日本,已开发出一系列实用型电渗透脱水机。试验表明,用压榨的方法,滤饼水分很难降到70%以下,而用这种设备使滤饼水分可降到50%以下。由于其综合经济效益较高,1988年由东京电力公司和富士电机公司共同开发的电渗透带式压榨脱水机获日本节能优秀制品奖。如图3所示,据笔者的试验,当电渗电压为80V时,滤饼的最终水分可达30%以下。这种方法比普通压榨脱水,不仅速度快,脱水率也有明显提高^[10]。

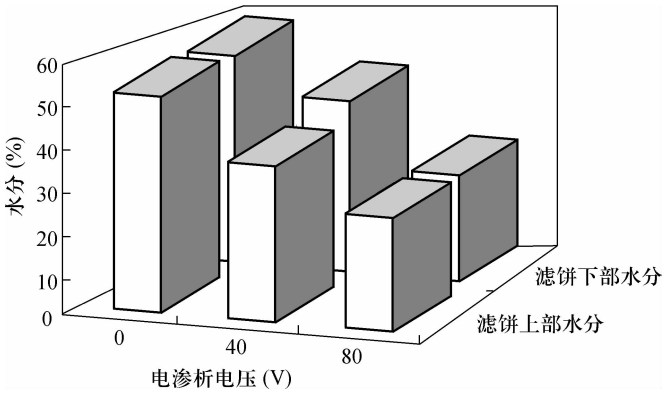


图3 电渗析脱水电压对滤饼各部水分的影响

利用静电场促进蒸发干燥节能技术。Asakawa^[11]发现将蒸馏水在电场中的蒸发速度比没有电场明显加快,因为静电场装置只加电压,没有电流,也就是说在不增加能耗的情况下,水分蒸发速度加快,具有节能的潜力。许多研究者开始研究其机理、效果和应用技术^[12,13]。如图4所示,笔者用针电极和板电极的组合实验,发现与不加电场的对照相比,加静电场的蒸发皿中,水的蒸发速度提高了5~7倍^[14]。施加电场的电流理论上是零,可以忽略不计。也就是说几乎没有附加的能耗。这一技术已经在一些蔬菜的脱水干燥方面得到应用,但是成型设备的研发,尚需要进一步从电场作用机理、规律和装备设计等方面集成创新。

电场处理果蔬保鲜技术。果蔬保鲜是减少果蔬流通中损失的重要手段,通常采用冷藏方法。本课题组研究表明果蔬经一定的电场处理可以明显抑制其采后生理活动,有利于延长保鲜期间。如图5所示,施加电场处理的草莓呼吸强度比对照显著降低^[15]。由于施加电场只提供一定电压,电流微小,因此几乎没有附加能耗。也就是说在没有附加能耗的情况下可以延长果蔬保鲜期。这一技术

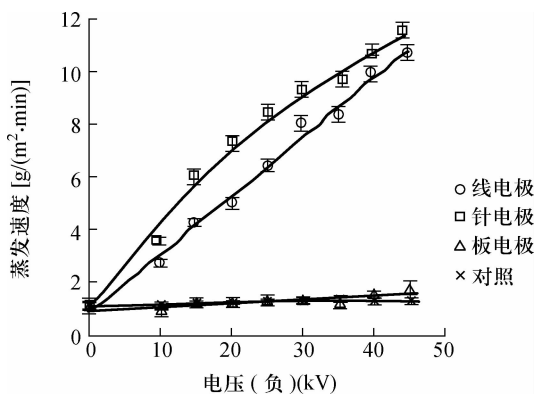


图 4 极间距、电压和电极对水分蒸发速度的影响
注:极间距离 40 mm,环境温度:27℃,40%。

在日本已经应用到小型保鲜库上,对于不同种类果蔬的电场处理条件,目前数据还比较少,研究尚待完善。

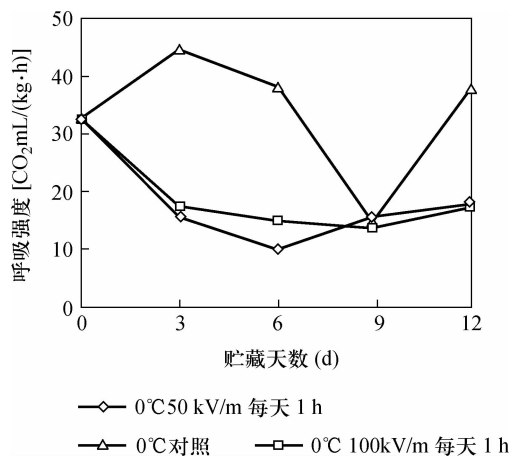


图 5 高压静电场处理对草莓呼吸强度的影响

(三) 利用自然冷源节能保鲜技术

该技术的基本原理是:利用水在固液相变时可以放出或吸收大量潜热的特点,以水为基质,将冬季的冷以冰的形式贮存起来,同时利用其冻结时释放的大量潜热,维持库内果蔬不受冻害;暖季再以这些冰为冷源,维持果蔬贮藏所必要的低温和高湿度条件^[16]。该技术的难点是如何在短暂的冬季利用自然冷风使贮藏室内制得足够数量的冰。笔者发明了水的分层并行差压送风冻结蓄冷方法^[17],1993 年在河北省饶阳县建成世界第一座利用自然冷源大型(贮藏量 1200

吨)果蔬保鲜库(以下简称 ZL1200 库)。运行多年来,ZL1200 库不用任何机械制冷设备,利用自然冷源,在夏季外气温高达 38°C 以上,冬季外气温低至 -12°C 左右的地方,使库内温度始终可保持在 $2\sim 3^{\circ}\text{C}$,尤其是库内相对湿度一直可保持在 90% 以上。这对普通机械制冷库几乎是不可能的。对蜜桃、梨、葡萄、菜花、青椒等的贮藏试验表明,其保鲜期都比普通机械制冷库明显延长,保鲜质量也大大提高。本技术的特点是:① 与同等规模的普通机械制冷(利用氟利昂或氨制冷)保鲜库相比,可以节省电耗约 90% 以上(实际比较,同等规模机械制冷库年耗电约 80 万度,而该库年用电量仅 7000 度左右),而且无污染、运转成本低;② 库内冷源来自冰水混合物,低温稳定、湿度高、保鲜品质好、保鲜期长。该技术可在年平均气温 13°C 以下,冬季最低气温在 -8.0°C 以下的地区建成。

(四) 电生功能水杀菌技术

电生功能水,又称电解离子水,它是指在特殊装置中将含低浓度的电解质水溶液经特殊电解处理,使水的 pH 值、氧化还原电位、有效氯浓度等指标发生改变而产生的、具有特殊功能的酸性离子水和碱性离子水的总称。电生功能水一般又分为供饮用的碱性电生功能水和杀菌消毒用的酸性电生功能水(酸性电生功能水又可细分为强酸性水和微酸水)。酸性水指 $\text{pH} \leq 6.5$ 的水,主要用于洗净、消毒、杀菌^[18]。碱性水指 $\text{pH} \geq 8.5$ 的水。

电生功能水虽然在 20 世纪 60 年代已被发现有杀菌等功效,但直到 1990 年后才在日本首先引起关注,主要是由于其广谱、可靠的杀菌功能,对食品安全有重要意义。包括笔者研究室,有大量研究探讨了其杀菌机理,有低 pH 值环境致死说^[19],有氧化还原电位的强氧化说^[20],次氯酸离子说^[21]等等。目前比较认同的关于机理解释越来越倾向于:酸性电生功能水含有的次氯酸(HClO)所致。 HClO 具有很强的细胞壁穿透性,加之微生物细胞很高的内压,在 HClO 的破坏下引起细胞破裂。当然 pH 值和氧化还原电位也被认为有一定影响。研究表明:有效氯浓度为 40 ppm 的酸性电生功能水比同浓度次氯酸钠消毒液,杀菌效果好 20~80 倍^[22]。本世纪初它已经被日本等国政府卫生部门确认为医疗器械消毒杀菌剂和食品产业杀菌剂(作为食品添加剂)。

笔者研究室自 1994 年来不仅开发了电生功能水发生装置,也通过一系列研究发现和挖掘其在食品安全、降低其他化学药剂消耗和污染方面的用途。实验表明,其主要优点可概括为以下几点:

其一、杀菌适用范围广:通过果蔬、豆腐制作中杀菌消毒实验发现,细菌等植物病原菌种类繁多,一般用一种杀菌剂来抑菌比较困难。酸性离子水对细菌、真菌、病毒等均有高效瞬时的杀菌功效,适用范围广。甚至对高温蒸煮都难以死灭

的耐热芽孢菌也有很好的杀灭效果^[23]。日本群馬县公共卫生与环境科学研究所的实验表明,采用 2 mg/L 有效氯浓度的微酸性电解水处理 H1N1 型病毒 10 分钟,可达到 99% 以上的杀灭率。国外学术界认为由于其特殊的杀菌机理,所有微生物很难对其产生抗药性^[24]。

其二、无污染、无残留:笔者通过酸性电生功能水替代农药进行植物病害防治试验,确认了其良好的病害预防效果。

对已发病的黄瓜植株喷洒电生功能水一个月后,黄瓜叶面的白粉病防治效果均达到 70% 以上,较自来水处理组要高出 40%。电生功能水中的活性成分对白粉病菌起到了有效的杀灭作用^[25]。

电生功能水对于葡萄炭疽病的防治可以起到一定的作用。葡萄炭疽病又名晚腐病,主要危害果穗,发病严重时会造成 30% 的损失,是葡萄的主要病害之一。对“京玉”葡萄进行的炭疽病的防治试验结果表明:电生功能水对葡萄炭疽病的防治效果显著,比常用农药“百菌清”效果高出约 16%^[26]。

防治小麦条锈病。2005 年以来分别在北京小汤山国家精准农业试验基地和甘肃省农科院植保所甘谷试验站同农药进行对照试验,发现强酸水和微酸水对小麦条锈病都具有显著预防效果,采用适当的喷洒规程可达到零病害发生率^[27]。

电生功能水防治温室蔬菜病害试验。2009 年在辽宁盘山县古城子镇古城子村对 5 户农民的温室大棚进行了 10 个对照组试验,蔬菜品种分别是黄瓜、西红柿、甘蓝、芸豆等,结果表明定期喷洒电生功能水替代农药,对温室蔬菜易发生的霜霉病、白粉病、灰霉病、黑星病、斑点病等都具有很好的预防和杀灭作用。据农民观察黄瓜、西红柿产量分别比喷洒农药增加 15%、20% 左右。

电生功能水对果蔬的农药残留有很好的洗脱和消除效果。本研究室对有农药残留的果蔬进行了自来水、普通洗涤液和电生功能水的洗涤对比试验,发现无论碱性电生功能水还是酸性电生功能水都具有极好的消除农药效果。例如,对蔬菜乙酰甲胺磷的消除效果:酸性水和碱性水浸泡 30 min 后的处理样,农药残留率分别为 26% 和 14%,效果大大优于相同处理时间的自来水洗涤和洗涤剂洗涤(农药残留率分别为 78% 和 50%)^[28]。

电生功能水对花生、玉米等粮食感染黄曲霉菌和黄曲霉毒素也表现了很好的杀灭和消除效果。对明显感染黄曲霉毒素的试样,经电生功能水洗涤后,毒素即未检出^[29]。

本研究室以草莓、番茄和葡萄为对象,发现电生功能水对不仅对果蔬产品保鲜具有显著效果。而且,在鲜切菜的消毒洗涤效果之外,还对鲜切蔬菜褐变具有抑制作用^[30,31]。

常用化学灭菌剂,如菌多灵、百菌清等,其半衰期一般都在 3 天以上,且 5 天

内果蔬表面的农药残留率一般都高于我国规定的 MRL 值(最大残留限量)。电生功能水与化学消毒、杀菌药剂有很大的不同,与化学药剂相比,它没有任何残留性,随着与光和空气以及有机物等接触,溶于其中的有效成分会放电分解,其氧化还原电位会逐步下降,最终还原为普通的水,对环境无任何污染^[24]。

相信酸性电生功能水技术应用于食品产业的清洗消毒、植物病害防治等一定会带来更大节能减排效果。

(五) 废弃食用油转化生物柴油技术

随着我国居民生活水平提高,食用油消费大增,由此带来的废弃食用油(俗名地沟油)问题也越来越突出,食用油按 10% 以上的废弃率计算,可达 300 万吨左右。其引起的浪费、污染和食品安全问题不言而喻。本研究室还和日本研究人员合作进行了废弃食用油转化生物柴油的初步探讨,通过对废弃食用油进行静置(沉淀)、离心分离、陶瓷膜过滤和超声波等物理处理和化学酯交换处理,降低其粘度,获得较好着火性和燃烧性。在燃油锅炉中替代普通柴油实验表明,废弃食用油转化的生物柴油 CO 和 CO₂ 排出量比普通柴油燃料低 30% ~ 70%,氮氧化合物排放量比普通柴油减少 85%,且不产生硫化物。生物柴油试样燃烧效率可达 68%,比柴油高出 10%。在额定功率和额定转速的发动机台架试验中,测得废弃食用油转化的生物柴油的输出功率与普通柴油基本相当,但排放也有明显的降低^[32]。

四、总结与展望

节能减排技术目前成为研究的热点之一,出现了大量研究成果。由于篇幅所限本文不多赘述,本文主要以本研究室多年来与节能减排有关研究领域和成果为例说明新技术的进展。如上所述,无论是生物技术、工程热物理技术,还是理化技术的新成果,都显示了很大的节能、减排技术潜力。许多技术已经可以推广应用,有的还需要在工程应用方面继续探索,突破一些关键技术瓶颈,才能发挥作用。因此,推动食品产业节能减排技术进步需要不断创新。

参考文献

1. 张建民. 2005 - 2020 年中国能源需求情景及碳排放国际比较研究[J]. 能源与环境, 2011, 33(1): 33 - 37.
2. 李里特. 中国产地农产品初加工的现状与建议[J]. 农业工程学报, 2012,

28(1): 7-10.

3. 郭其朝. 学习《节约能源法》的思考[J]. 能源与环境, 2008, 4: 4-5.

4. Nielsen PH. Life cycle assessment supports cold-wash enzymes [J]. International Journal for Applied Science, 2005, 131(10): 24-26.

5. Ding CH, Jiang, ZQ, Li, XT, et al. High activity xylanase production by *Streptomyces olivaceoviridis* E-86 [J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2004, 20: 7-10.

6. Li LT, Tian HM, Cheng YQ, et al. Purification and characterization of a thermostable cellulase-free xylanase from the newly isolated *Paecilomyces thermophila* [J]. 2006, 38(6): 780-787.

7. Jiang ZQ, Li XT, Yang SQ, et al. Improvement of the breadmaking quality of wheat flour by the hyperthermophilic xylanase B from *Thermotoga maritima* [J]. Food Research International, 2005, 38(1): 37-43.

8. 任广跃, 张忠杰, 朱文学, 等. 粮食干燥技术的应用及发展趋势[J]. 中国粮油学报, 2011, 26(2): 124-128.

9. 夏彬, 李里特, 李修渠, 等. 电渗透脱水的发展和应用研究[J]. 食品科技, 2000, 5: 10-11.

10. 李里特. 食品蛋白电渗透脱水条件与模型解析[J]. 食品与发酵工业, 1996, 1: 8-13.

11. Asakawa Y. Promotion and retardation of heat transfer by electric fields [J]. Nature, 1976, 261(5557): 220-221.

12. Cao W, Nishiyama Y, Koide S. Electrohydrodynamic drying characteristics of wheat using high voltage electrostatic field [J]. Journal of Food Engineering, 2004, 62(3): 209-213.

13. Li FD, Li LT, Sun JF, et al. Effect of electrohydrodynamic (EHD) technique on drying process and appearance of okara cake [J]. Journal of Food Engineering, 2006, 77(2): 275-280.

14. 孙剑锋, 李里特, 鲁战会, 等. 高压静电场影响蒸馏水蒸发的因素研究[J]. 食品科技, 2004, 149(3): 5-8.

15. 王颀, 李里特, 单阳, 等. 高压静电场处理对果实呼吸作用的影响机理研究[J]. 食品工业科技, 2003, 24(12): 81-84.

16. 李里特, 王颀, 单阳, 等. 我国果品蔬菜贮藏保鲜的现状和新技术[J]. 无锡轻工大学学报, 2003, 22(2): 106-109.

17. 李里特, 贾先斌, 薛文通. 自然冷源利用的模拟试验[J]. 北京农业工程

大学学报,1995, 15(3): 59 - 65.

18. 关东胜,李里特. 强酸化水的制备及其灭菌效果[J]. 中国农业大学学报,1997, 2(2): 109 - 113.

19. McPherson L L. Understanding ORP's role in the disinfection process [J]. Water Engineering and Management, 1993, 140: 29 - 31.

20. Liao L B, Chen W M, Xiao X M. The generation and inactivation mechanism of oxidation - reduction potential of electrolyzed oxidizing water [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(4): 1326 - 1332.

21. Marriott N G, Gravani R B. Principles of food sanitation (5th edition.). New York: Springer.

22. 崛田国元. 强酸性电生功能水の杀菌机构と应用[J]. 食品と开发, 1998, 33(3): 5.

23. Huang Y R, Hung Y C, Hsu S Y, et al. Application of electrolyzed water in the food industry [J]. Food Control, 2008, 19: 329 - 345.

24. Al - Haq M I, Sugiyama J, Isobe S. Application of electrolyzed water in agriculture & food industries [J]. Food Science and Technology Research, 2005, 11(2): 135 - 150.

25. 肖卫华,李里特,王慧敏,等. 电生功能水防治黄瓜白粉病试验初报[J]. 植物保护,2003, 29(2): 50 - 51.

26. 李里特,肖卫华,武龙,等. 电生功能水防治葡萄炭疽病的药效试验[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2005, 2: 33 - 34.

27. 郝建雄,李里特,马占鸿,等. 电生功能水防治小麦条锈病试验研究[J]. 中国植保导刊,2006, 26(6): 21 - 23.

28. 郝建雄,李里特. 电生功能水消除蔬菜残留农药的实验研究[J]. 食品工业科技,2006, 5: 164 - 166.

29. Xiong K, Liu H J, Li L T, et al. Differences in fungicidal efficiency against *Aspergillus flavus* for neutralized and acidic electrolyzed oxidizing waters [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 137: 67 - 75.

30. 武龙,肖卫华,李里特,等. 酸性电解水用于葡萄杀菌保鲜的实验研究[J]. 食品科技,2004, 9: 81 - 83.

31. 李里特,武龙,辰巳英三. 电生功能水用于提高鲜切马铃薯产品品质的试验研究[J]. 食品科学, 2005, 26(5): 139 - 143.

32. 王延耀,李里特,小岛孝之,等. 废食用油转化成柴油机替代燃料的试验研究[J]. 农业工程学报. 2004, (20)(1): 274 - 276



李里特 1981 年底毕业于西北农业大学,1982 年国家教委选派赴日本北海道大学研究生院食品工程专业攻读学位,1988 年获该大学博士学位后归国,在原北京农业大学食品工程系加工工艺教研室任教。历任教研室主任、食品工程系主任,原北京农业大学工程大学副书记、副校长,中国农业大学副书记、副校长等职。

主要研究领域有:① 粮油食品加工工程,尤其对我国传统主食品;② 在食品质量与安全领域开发绿色高效的杀菌技术——电生功能水研究;③ 在我国实现了玉米芯转化低聚木糖工业化生产。获得国家技术发明奖 2 等奖和国家技术进步奖 2 等奖(第一完成人)及省部级科技奖多项,获国际大奖 3 项,获国家授权发明专利 13 项,发表研究论文 300 余篇,SCI 索引论文 60 余篇。著作有:《食品物性学》、《焙烤食品工艺学》、《食品原料学》等大学教材、专著 13 部。目前学术兼职有:国务院学位委员会食品科学与工程学科评议组召集人、国家食物与营养咨询委员会副主任、教育部食品与营养科学教学指导委员会主任等。

基于嗅觉可视化技术的猪肉新鲜度检测研究

赵杰文等

江苏大学食品与生物工程学院

摘要:嗅觉可视化技术是使非可见物质成像(主要是气体成像)的一种无损检测新技术,属人工嗅觉模拟技术的一个新分支。本研究使用吡啉和 pH 指示剂作为嗅觉可视化传感器阵列的气敏材料,检测猪肉中的优势致腐菌和新鲜度。将 3 种优势致腐菌(梭状芽孢杆菌、热死环丝菌、假单胞菌)分别接种至 3 组猪肉样本中,在三种温度(-16°C 、 4°C 和 20°C)条件下分别贮藏不同的时间后,采用扫描仪获取可视化传感器阵列与每个样本反应前后的图像信息;将阵列反应前后的颜色差值作为样本特征值,对不同的猪肉样本经不同贮藏时间后产生的挥发性气味,可视化传感器阵列显示特定的颜色图像与其对应。结果表明,嗅觉可视化技术可以用于检测猪肉的优势致腐菌以及判断猪肉的新鲜度。

关键词:嗅觉可视化技术;猪肉;优势致腐菌;新鲜度

一、引言

中国是猪肉生产和消费的大国,随着人民生活水平的提高,对猪肉品质的要求也越来越高,因而快速无损的检测猪肉变质情况显得尤为重要。猪肉变质的一个主要原因是优势腐败菌利用猪肉中的蛋白质、碳水化合物、脂肪等营养物质进行自身代谢,产生代谢产物如硫化物、胺类等,变质过程中伴随着猪肉气味和 pH 值变化。因此,可以通过微生物计数来判断猪肉的新鲜度,目前常用的方法仍是 GC/MS、HPLC、微生物培养等方法,这些方法能够准确检测猪肉的品质,但检测成本高,动用的仪器昂贵且耗时耗力,检测周期长,不能做到新鲜度的及时判断^[1-8]。因此,寻找一种简便快速,并且在人工嗅觉及味觉尚不能感知猪肉开始变质的初期就能做出判断的新检测手段,对保证肉类食品安全有重要的意义^[9,10]。

嗅觉可视化技术是一种气体成像的新技术,属人工嗅觉模拟技术的一个新分支。嗅觉可视化技术利用气敏化合物(金属吡啉、原吡啉和 pH 指示剂)做显色剂,与受测物质挥发性气体进行显色反应,通过显色剂的显色状况,判断

气体的浓度变化。嗅觉可视化技术有以下特点:① 将嗅觉信息转化为视觉(图像)信息,使气味“看得见”,相对于传统的电子鼻技术,嗅觉成像更加直观、生动^[11-17];② 气味的图像信息可进一步转化为数值信息,有利于数学建模、量化分析及信息的通讯传递;③ 大大缩短了检测时间,降低了检测成本。本研究以猪肉为研究对象,用卟啉和 pH 指示剂制作可视化传感器阵列,通过特定颜色图像的数值化表达,检测 -16℃ 冷冻、4℃ 冷藏和 20℃ 室温三种不同贮藏温度下,三种优势腐败菌梭状芽孢杆菌、热死环丝菌、假单胞菌对猪肉新鲜度的影响。

二、材料与方法

(一) 实验材料与仪器设备

实验中使用的猪肉为屠宰 1~2 h 后的新鲜猪里脊肉,购于菜市场。梭状芽孢杆菌、热死环丝菌及假单胞菌属菌种为实验室分离鉴定后保存的菌种;灭菌后的生理盐水、PCA 培养基(plate count agar)。

主要设备包括压力蒸汽灭菌锅(YM50 型,上海三申医疗器械有限公司);双人单面净化工作台(SW-CJ-2FD 型,苏州净化设备有限公司);生物显微镜(JNOEC XS-212-202);生化培养箱(LRH-150 型,上海一恒科技有限公司)。

(二) 猪肉样本的制备

(1) 优势腐败菌菌液的制备

利用微生物分离的方法获得寄附于猪肉上的三种优势腐败菌:梭状芽孢杆菌、热死环丝菌、假单胞菌,采用平板划线法将菌株置于 20~24℃ 的恒温培养箱中培养 24 h 后,得到三种优势腐败菌苔。将三种菌苔分别接种于 500 mL 的液体培养基中培养 18 h,将三种菌液均稀释至浓度为 10^4 CFU/mL 备用。

(2) 染菌肉块的制备

将猪里脊肉分割成 360 小块,每块 10 g 左右,并将小块猪肉进行表面灭菌。经培养计数,每块猪肉的细菌总数均小于 10^2 CFU/g,证明灭菌效果良好^[18]。灭菌后的 360 块猪肉,分为 3 组,每组 120 块,并将 3 组样品分别放置在 3 种菌液中浸泡 15 s 后沥干。

(三) 致腐菌计数

对本实验不同温度下贮藏不同时间、染有不同菌种的猪肉样本采用相同的致腐菌计数方法:在超净台中将猪肉样本剪碎放入含有 10 mL 灭菌生理盐水的

灭菌乳钵内,经充分研磨制成均匀稀释液。用无菌微量移液器吸取 0.10 ml 样品匀液,沿管壁缓慢注入盛有 10 mL 稀释液的无菌试管中(注意吸管或吸头尖端不要触及稀释液面),使其混合均匀,制成 1:100 的样品匀液。根据对样品污染状况的估计,选择 2 个适宜稀释度的样品匀液,在显微镜下进行计数。

(四) 嗅觉可视化技术

(1) 气敏传感器阵列的制作

为了减少环境湿度对传感器精度的影响,因此选择具有良好疏水性的 C₂ 反相硅胶板作为传感器载体,其微小的孔径可以帮助吸附气体分子加快检测速度。利用毛细管点样法将 4 种吡啶气敏材料和 9 种 pH 指示剂气敏材料固定在传感器载体上,制成由 13 个颜色反应点组成的可视化传感器阵列,如图 1 所示^[19]。

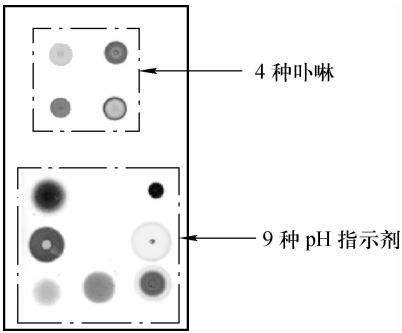


图 1 可视化传感器阵列(由 13 个颜色反应点组成)

(2) 嗅觉可视化技术检测

实验设置三个贮藏温度: -16℃、4℃ 和 20℃,检测猪肉在这三种贮藏条件下的变质情况。贮藏在 -16℃ 条件下的样本,每 72 h 检测一次,跟踪检测 216 h;贮藏在 4℃ 条件下的样本,每 48 h 检测一次,跟踪检测 144 h;贮藏在 20℃ 条件下的样本,每 8 h 检测一次,跟踪检测 24 h,所有试验每次都进行 5 个平行实验。

检测过程如下:首先用氮气分别清洗样品室和气体反应室,用扫描仪获取传感器阵列反应前的图像;将检测对象(猪肉样本)搁置在样品室中密封集气;猪肉的挥发气体以惰性气体(氮气)为载气进入反应室,与传感器上显色材料结合后发生颜色变化;对不同的猪肉样本经不同贮藏时间后产生的挥发性气味,可视化传感器阵列显示特定的颜色图像与其对应,该图像可通过扫描仪扫描获得;测试一次更换一个传感器阵列。

(3) 传感器阵列的特征提取

传感器阵列中每个颜色反应点图像用 R、G、B 3 个颜色分量表达,可采用计

计算机图像处理技术来量化、识别这种变化。由扫描仪获得的图像首先采用中值滤波滤去噪声,用阈值分割法将颜色反应点的图像从背景中分割出来,查找传感器阵列中每个颜色反应点的中心,取每个颜色反应点中心周围约 100 个像素的 R, G, B 均值作为传感器的表征值,这样可有效去除边缘效应的不利影响。将颜色反应点反应前后 R, G, B 值差的绝对值 ($\Delta R = |R_a - R_b|$, $\Delta G = |G_a - G_b|$, $\Delta B = |B_a - B_b|$, 下标 a 表示反应后,下标 b 表示反应前) 作为颜色反应点的响应信号。

三、结果与讨论

(一) 致腐菌的生长情况

当寄附于猪肉上的菌落总数超过 10^7 CFU/g 就认为肉开始变质^[20]。如图 2 所示,在 -16°C 的情况下微生物生长缓慢,各种菌的数量均比较低,细菌总数在第 216 h 时达到 10^7 CFU/g,三种菌的生长速率在 $0.700 \sim 0.820$ 左右,其中假单胞菌生长速率最高;在 4°C 的情况下,细菌总数在第 144 h 时达到 10^7 CFU/g,三种菌的生长速率差距不大,在 $1.071 \sim 1.101$ 左右,其中假单胞菌和热死环丝菌生长速率均较高;在 20°C 的情况下细菌的生长速率明显加快,细菌总数在第 16 h 时即达到 10^7 CFU/g,三种菌的生长速率差距也较大,在 $1.415 \sim 1.661$ 左右,其中假单胞菌生长速率最高。图 2(a)、(b)、(c) 分别为贮藏在 -16°C 、 4°C 和 20°C 条件下各染菌组菌数的变化。

如果把寄附于猪肉中的菌落数 10^7 CFU/g 作为评判猪肉开始变质的临界值,可以认为猪肉在 -16°C 、 4°C 和 20°C 条件下分别贮藏 216 h、144 h 和 16 h 后已经开始变质,此时人工嗅觉尚不能觉察出变化,用嗅觉可视化技术却可将这种变化情况直观地表示出来。同时可以看出,在三种贮藏温度下,假单胞菌的致腐能力最强。

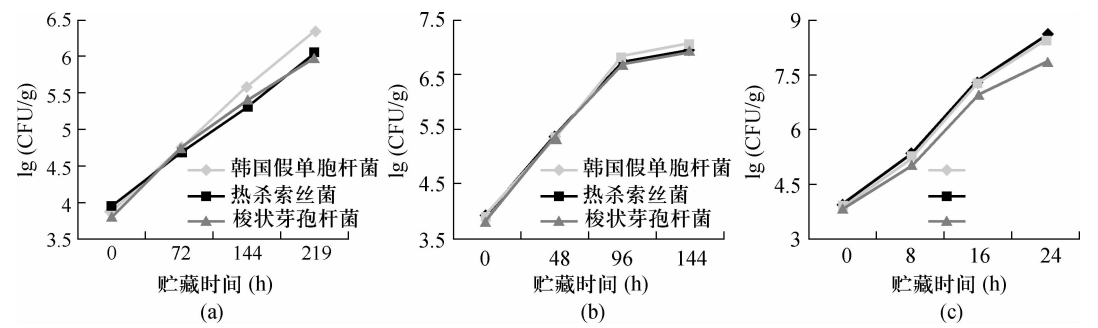


图 2 -16°C (a)、 4°C (b)、 20°C (c) 下猪肉中 3 种致腐菌菌数变化情况

(二) 嗅觉可视化检测结果

由于论文篇幅限制,以下重点分析 20℃ 条件下的嗅觉可视化技术的检测结果。

图 3~5 是嗅觉可视化传感器检测猪肉 20℃ 贮藏条件下产生的挥发气味在 0~24 h 时间段中的几幅特征图像,每幅图的反应变化都有所不同。这是由于不同的菌产生的挥发性气体的百分含量有一定的差异,并且随着贮藏时间的延长,猪肉顶空挥发性气体成分的种类和浓度不断变化引起的。

对于不同组的样本而言,气敏传感器阵列的特征响应值是不同的,同一组样本,在不同的贮藏阶段气敏传感器阵列的特征响应值也是不同的,并且随着时间的推移,猪肉变质程度的加深,特征点的亮度不断加深,即传感器阵列上特征点颜色变化程度不断加深。

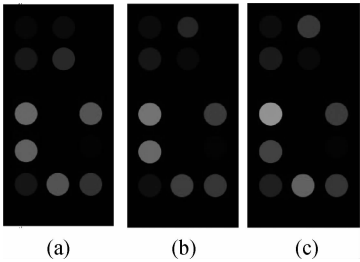


图 3 20℃ 染有梭状芽孢杆菌猪肉
样本 0~24 h 特征图像
(a) 8 h, (b) 16 h, (c) 24 h

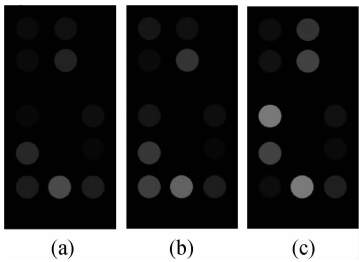


图 4 20℃ 染有热死环丝菌猪肉
样本 8~24 h 特征图像
(a) 8 h, (b) 16 h, (c) 24 h

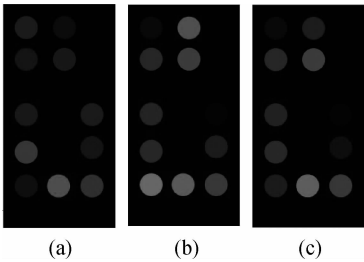


图 5 20℃ 染有假单胞菌猪肉样本 8~24 h 特征图像
(a) 8 h, (b) 16 h, (c) 24 h

通过图 3 至图 5,可以看出传感器阵列上 13 个颜色反应点的颜色变化较为直观地反映了猪肉的新鲜度变化,但尚缺少具体的数据标准。

随贮藏时间的延长、猪肉腐败程度加深,每一个颜色反应点的亮度也在增强,也就是说猪肉新鲜度越低, ΔR 、 ΔG 、 ΔB 响应值越高,因此可以通过传感器阵

列上 13 个颜色反应点的 ΔR 、 ΔG 、 ΔB 响应值的总和来判断猪肉的新鲜度。表 1 和表 2 分别为 20℃ 条件下贮藏 16 h 和 24 h 后各组猪肉样本的菌落数和颜色反应点的 ΔR 、 ΔG 、 ΔB 的总和。对于同一组样本,随着贮藏时间的延长, ΔR 、 ΔG 、 ΔB 的总和也在增加。对照致腐菌生长情况,20℃ 条件下贮藏 16 h 时所有猪肉样本的菌落数达到 10^7 CFU/g 以上,可以把该条件下传感器阵列上 13 个颜色反应点的 ΔR 、 ΔG 、 ΔB 之和的最小值 532(表 1)定为猪肉开始变质的临界点。同样可以得出,贮藏在 -16℃ 条件下猪肉开始变质的临界点为 543;贮藏在 4℃ 条件下猪肉开始变质的临界点为 772,受篇幅所限不再展开来介绍。

表 1 20℃条件下 16 h 时 13 个颜色反应点的 ΔR 、 ΔG 、 ΔB 之和

样本名称	菌落数(lg(CFU/g))	$\Delta R + \Delta G + \Delta B$
染有梭状芽孢杆菌组	7. 3345	572
染有热死环丝菌组	7. 3010	554
染有假单胞菌组	7. 0453	532

表 2 20℃条件下 24 h 时 13 个颜色反应点的 ΔR 、 ΔG 、 ΔB 之和

样本名称	菌落数(lg(CFU/g))	$\Delta R + \Delta G + \Delta B$
染有梭状芽孢杆菌组	7. 8722	726
染有热死环丝菌组	8. 4771	817
染有假单胞菌组	8. 6623	804

四、结论

本文根据微生物计数法分析寄附于猪肉上的微生物菌数及猪肉的变质情况作为背景知识,将 4 种卟啉类化合物以及 9 种 pH 指示剂制成可视化传感器阵列,与 -16℃、4℃ 和 20℃ 三种不同贮藏温度下,染有三种优势致腐菌的猪肉所产生挥发气体发生反应,当寄附于猪肉上的菌落总数达到临界值,猪肉开始变质时,与其对应的特定颜色图像(由 13 个颜色反应点组成)的 $\Delta R + \Delta G + \Delta B$ 值可作为猪肉开始变质的临界判断值, $\Delta R + \Delta G + \Delta B$ 值越大,猪肉新鲜度越低。研究表明,嗅觉可视化技术可直接跟踪猪肉变质过程中挥发性气味的变化,并可实现数字表达,与常用的检测猪肉新鲜度的方法相比,更直观、简便、快速,是一种具有较高的应用前景的食品安全检测技术。

参考文献

1. 彭勇. 冷却猪肉常见腐败微生物致腐能力的研究. 2005,工学硕士:1~16.
2. 马俪珍,南庆贤,戴瑞彤. 冷却猪肉中腐败菌的分离、初步鉴定与初始菌相分析[J]. 天津农学院学报,2005,12(3):43~47.
3. 朱维军,焦镛,石明生等. 冷却肉中常见腐败细菌的分离与鉴定[J]. 中国农学通报,2009,25(18):99~101.
4. Satnam Sagoo, Ron Board, Sibel Roller. Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products[J]. Food Microbiology, 2002, 19(2-3): 175~182.
5. G Vincia, L Antonelli M. Biogenic amines quality index of freshness in red and white meat[J]. Food Control, 2002, 13(8).
6. Dorota M Broda, Karen M De Lacy, Bell R. Graham. Efficacy of heat and ethanol spore treatments for the isolation of[J]. International Journal of Food Microbiology, 1988, 39(1-2):61~68.
7. Borch Elisabeth, Marie - Louise Kant - Muermansb, Ylva Blixta. Bacterial spoilage of meat products[J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 33(1):103~120.
8. Li M. Y., Zhou G. H., Xu X. L. et al. Changes of bacterial diversity and main flora in chilled pork during storage using PCR - DGGE[J]. Food Microbiology, 2006, 23(7):607~611.
9. 李苗云,赵改名,张建威等. 冷却猪肉贮藏过程中主要腐败菌的聚类分析[J]. 中国农业科学,2011,44(12):2531~2536.
10. 李苗云,张秋会,高晓平等. 冷却猪肉贮藏过程中腐败品质指标的关系研究[J]. 食品与发酵工业,2008(7):186~189.
11. 邹小波,张建,赵杰文. 嗅觉可视化技术及其对四种食醋的识别[J]. 农业工程学报,2008(6):173~176.
12. 邹小波,赵杰文,殷晓平等. 嗅觉可视化技术在白酒识别中的应用[J]. 农业机械学报,2009(1):116~119.
13. 赵杰文,张建,邹小波. 嗅觉可视化技术及其对5种化学物质的区分[J]. 江苏大学学报(自然科学版),2008(1):7~10.
14. 赵杰文,邹小波,黄星奕等. 基于气体传感器阵列技术的食品气味快速

无损检测方法及装置. 2003(03131660.3).

15. 邹小波,赵杰文,蔡健荣等. 两种不同气体传感器阵列组合检测气味的方法和装置. 2007(200710024696.1).

16. Di Natale Corrado, Paolesse Roberto, Macagnano Antonella. et al. Characterization and design of porphyrins - based broad selectivity chemical sensors for electronic nose applications[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 1998, 52(1-2): 162~168.

17. Jing Long, Jianhua Xu, Shuang Xia. Volatile Organic Compound Colorimetric Array Based on Zinc Porphyrin and Metalloporphyrin Derivatives[J]. Energy Procedia, 2011, 12: 625~631.

18. 黎园园,董庆利,梁娜等. 解冻猪肉中优势腐败菌致腐能力研究[J]. 食品科学, 2011, 32(5): 123~127.

19. 黄星奕,周芳,蒋飞燕. 基于嗅觉可视化技术的猪肉新鲜度等级评判[J]. 农业机械学报, 2011, 42(05): 142~145.

20. 周芳. 嗅觉可视化技术检测猪肉新鲜度的研究. 2011, 工学硕士: 24~26.



赵杰文 1988年获工学博士学位。1993年晋升教授,1995年聘为博导,享受国务院特殊津贴,是全国第四、五届国务院学位委员会食品学科评议组成员。

从事食品、农产品加工、检测和农业机器人的研究工作。曾在日本京都大学和三重大学开展过合作研究。共主持过6项国家自然科学基金,3项国家“863”项目,3项博士点基金,5项江苏省自然科学基金项目(其中2项重点),2项国家支撑计划。获国家科技发明奖二等奖一项,江苏省科技进步奖一等奖1项、二等奖2项,及中国机械工业科技进步奖一等奖1项,中国轻工业科技发明奖一等奖1项,获中国发明专利28项,国际PCT发明专利5项。发表论文被SCI/EI收录179篇次(他引2160篇次)。SCI收录论文被美、英、德、日、韩、俄等31国学者的453篇论文引用(单篇最高引用64次)。专著6本。培养硕士、博士、博士后55名,指导的博士论文获2008年全国百篇优秀博士论文1篇和2010年全国百篇优秀博士论文提名1篇。

食品微生物安全快速检测与 高效控制技术研究

吴清平

广东省微生物研究所,广东省华南应用微生物
重点实验室—省部共建国家重点实验室培育基地,
广东省菌种保藏与应用重点实验室,
广东省微生物应用新技术公共实验室

摘要:食源性致病微生物是影响食品安全的重要因素,高效的现场快速检测及污染控制技术是解决问题的关键。本研究通过全面进行我国食源性致病微生物在大宗食品、水产品和水体的污染情况调查及相关基础研究,系统地建立了保藏近 5000 株食源性致病菌的菌种库和主要菌株的肠杆菌基因间重复序列聚合酶链反应(ERIC-PCR)指纹图谱,首次系统揭示了大肠杆菌、沙门氏菌、阪崎肠杆菌、铜绿假单胞菌、诺瓦克(诺如)病毒、轮状病毒、星状病毒等常见食源性致病微生物在我国大宗食品和饮用水的污染情况、分布规律、累积机制和风险水平,以及新型大宗食品工业消毒剂及防腐剂的消毒和防腐机理,为致病微生物的快速检测、溯源和研制新型高效消毒剂、防腐剂提供了重要基础数据。创新地建立了生物发光微生物快速检测技术、致病菌分子检测与显色生化确证技术、诺如病毒和轮状病毒依赖核酸序列的扩增技术(NASBA)、反转录聚合酶链反应(RT-PCR)技术,提高检测灵敏度 5~100 倍,使检测时间从数天缩短到几分钟至几小时。研制出浓度为 15%、稳定期一年以上的新型过氧乙酸消毒液和使用效率提高 4~5 倍的新型非酸活化二氧化氯消毒剂及水质快速检测试剂盒,建立了清洗消毒新技术,提高清洗消毒效率 30%~50%,实现了食品生产中清洗消毒的在线监测和控制。通过创新关键生化原料国产化生产技术,节省原材料成本 50% 以上,解决了原料进口和成本较高等问题。通过技术和产品的标准化,为企业解决食品微生物安全问题提供成套解决方案,成功将项目研制的微生物快速检测产品、高效环保消毒剂、清洗剂以及水质快速检测试剂盒等三大系列产品推广到全国 3000 多家用户企业。

与国内外同类技术相比,本研究研发出更为系统和配套的食源性致病微生物

物快速检测技术,时间缩短至少 2/3,特异性显著提高,较好地实现了高通量快速检测;食品微生物污染高效控制技术突破了消毒剂稳定性差、利用率低和清洗—消毒相互干扰的瓶颈,解决了食品工业中微生物污染的难题。

关键词:食源性致病微生物;快速检测技术;高效控制技术

一、引言

生物、化学和物理因素是影响食品安全的三大要素,其中微生物污染是国内外食品安全的主要威胁,据中美两国 CDC 统计,微生物污染造成的食物中毒占食源性疾病恶性事件的 50% 以上;全球每年发生 40 亿~60 亿例食源性腹泻,发展中国家每年有 1800 万人死于食源性腹泻,工业化国家有 30% 以上的人群患食源性疾病,WHO 的报告表明死于食物中毒的儿童 70% 由致病微生物引起。在我国 2008 年食源性疾病监测网共收到食源性疾病事件 406 起,微生物病原约占 54%,2010 年食源性疾病信息报告纳入传染病报告网。另外,每年由于微生物污染造成的食品腐败变质占食品产值的 10%~20%,损失巨大,严重影响了食品行业的长远发展。

由于微生物污染动态存在于食品生产和流通的全过程,难于从源头有效控制,其安全监控较之理化污染具有更多的技术难题:微生物种类繁多容易变异,细微污染可造成重大食品安全事故;新病原的出现及抗性使得现有污染控制技术易失效;病原微生物失活后仍残留毒素,加大控制压力;食品工业集约化生产,食品微生物安全风险不断增加。而国内外食品微生物安全中普遍存在食源性致病微生物污染分布规律不清晰、快速检测及高效控制关键技术滞后、检测灵敏度低、速度慢以及关键生化原料不能满足检测灵敏度要求等监控技术水平低的问题,使食品微生物安全监控严重滞后于食品工业生产和流通过程,从而导致食源性疾病暴发事件的屡屡发生。

近年来制约和影响我国整体食品安全水平提升的最主要因素是食源性危害基础研究中存在很多问题。目前对于食品中的危害形成的因素、规律、来源等各种因素不清楚,以及对问题形成的机制不了解,严重影响了食品安全关键技术的研究和开发。另外,由于包括广东在内的我国南方地处热带、亚热带地区,气候潮湿温暖,微生物区系复杂,适宜微生物生长和传播,其食品中有害微生物污染问题相当突出,极大地加大了微生物安全的压力。因此,系统全面地调查食品微生物的污染情况和水平,建立食源性致病菌专业菌种库,为食品微生物安全快速检测与控制技术的系统研究提供理论支持和基础数据非常必要。纵观目前国内外的食品技术法规和标准,食品中污染微生物的检测仍然主要依据传统的标准

分离和培养检验方法,它们不但时间长、灵敏度低、特异性差、操作复杂,而且通常不同的微生物需要特殊的不同微生物培养基来扩增和培养,以分离食品中存活的真菌和细菌,常规细菌和真菌菌落数量指标需要几天时间才能得出结果,而分离和鉴定食源性致病菌甚至需要 5~7 天,因此只能提供过去的信息,这大大落后于食品工业对微生物分析检测提出的快速、灵敏和高效的要求,不能快速有效地检测食品安全水平和进行全程在线质量安全控制。因此发展先进的微生物快速检测技术,研制相关的便携式快速检测试剂盒,才能不断提高我国食品安全检测技术水平。当前在食品饮料、饮用水、保健品的生产过程中,为使产品达到卫生标准,广泛使用各种消毒剂和防腐剂,它们在生产环境和产品中极少量的残留,不但经常严重干扰传统方法对其中仍然存活的有害微生物的检出,而且容易造成污染微生物产生耐药性,使食品生物安全得不到保证。当前国内在微生物消杀机理方面的基础研究尤其薄弱,消杀产品有效成分单一、生物安全性较低、环保性能较差和微生物的耐药性强,已成为制肘我国食品微生物安全的软肋。因此发展高效安全的控制关键技术是食品生产加工过程中有效控制微生物污染的最终重要落脚点。

二、食品微生物安全基础研究

(一) 食品微生物污染调查与风险评估,为检测和评价提供科学依据

(1) 食源性致病菌调查与分布规律研究以及 ERIC-PCR 分子指纹图谱构建

通过系统全面地调查乳制品、肉、蛋、水产品、食用菌和饮用水等我国主要省市大宗食品中常见食源性致病菌的污染情况、污染水平以及分布情况,发现肉制品沙门氏菌阳性率 11.7%,水产品及肉制品中大肠杆菌污染率分别为 12.0% 和 17.0%,奶粉中阪崎肠杆菌污染率 6.3%,食用菌鲜品单增李斯特菌污染率 17.0%、瓶桶装饮用水水源铜绿假单胞菌污染率 24.4%,调查结果揭示了食源性致病菌在食品、水产品和饮用水中的分布规律;同时,采用食品安全微生物风险分析手段对全国范围内 22 个城市开展了 102 个品牌、544 批次的奶粉中阪崎肠杆菌的风险分析,首次完成了全国奶粉中阪崎肠杆菌风险评估报告,结果表明阪崎肠杆菌的阳性率为 6.25%,污染水平为 1.17 MPN/100g,感染风险最高值 5.2/105 人;此外,分离获得沙门氏菌、大肠杆菌、阪崎肠杆菌、金黄色葡萄球菌、单核细胞增生性李斯特氏菌、副溶血性弧菌和志贺氏菌等食源性致病菌近 5000 株,建立了食源性致病菌专业菌种库,在此基础上选择了来自不同食品种类的 60 株大肠杆菌、30 株沙门氏菌、22 株阪崎肠杆菌、35 株金黄色葡萄球菌、

365 株副溶血弧菌的食品分离株,分别构建了它们的 ERIC - PCR 分子指纹图谱,在食品污染检测、病原溯源和食品安全标准制定中发挥了重要作用。其中 60 株大肠杆菌共分为 6 个聚类簇,54 种分型(图 1a);30 株沙门氏菌共分为 4 个聚类簇,24 种分型(图 1b);22 株阪崎肠杆菌共分为 3 个聚类簇(图 1c)。分型及聚类分析结果表明分离株的指纹图谱与其分离地域和食品种类具有很大的相关性。

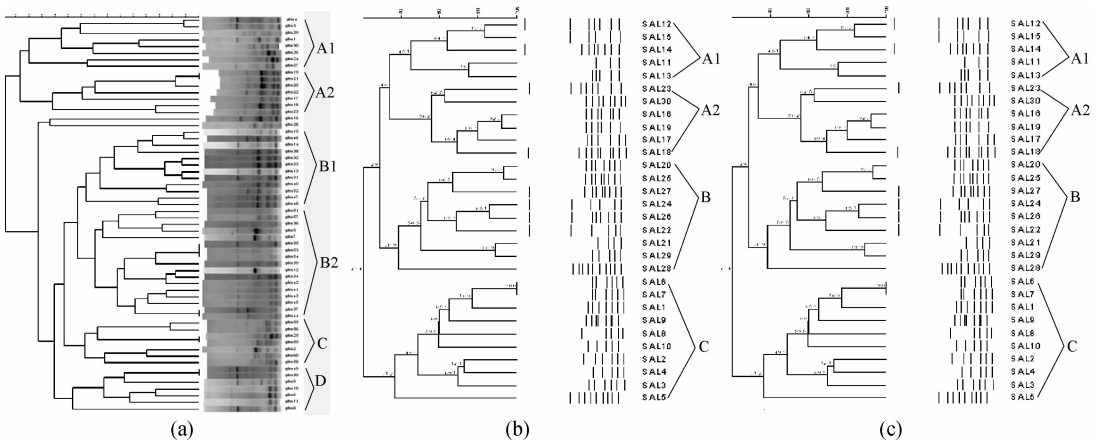


图 1 大肠杆菌、沙门氏菌、阪崎肠杆菌 ERIC - PCR 指纹图谱聚类图

(a) 大肠杆菌指纹图谱;(b) 沙门氏菌指纹图谱;(c) 阪崎肠杆菌指纹图谱

(2) 水体及贝类中食源性病毒调查与分布规律以及诺如病毒稳定机制研究

首次调查了珠江广州段和广东省贝类食源性病毒污染状况,结果表明广州市河涌水 10 个取样点均受到轮状病毒、诺如病毒、星状病毒和甲肝病毒的污染,总样本数 111 个,四种病毒的总阳性数 42 个,总阳性率为 37.8%,四种病毒的阳性数和总阳性率分别为 12,10.8%;11,9.9%;4,3.6%;15,13.5%。另外,病毒污染呈季节性变化,不同季节所流行的病毒有所不同,四种病毒最高检出率出现的时间分别为 10 月、11 月、9 月、8 月,因此秋季食源性病毒污染最为严重。对广东省淡水养殖场、水产市售贝类调查时发现牡蛎检出病毒阳性率最高,表明牡蛎对病毒的浓缩能力非常强,是受病毒污染的高危水产品。在国际上首次研究了诺如病毒 VP2 蛋白对病毒样颗粒稳定性的影响,获得了不含 VP2 蛋白的病毒样颗粒 VLP,以及含有 VP2 蛋白的病毒样颗粒 VLPs,利用透射电子显微镜观察到两种病毒样颗粒的存在;通过圆二色谱仪分析经化学方法处理后的两种病毒样颗粒的二级结构含量变化,证实了 VP2 可在一定程度上稳定 VLP。

(二) 食品微生物消杀和防腐机理,为研制开发新型的消杀防腐技术及产品奠定基础

(1) 二氧化氯消杀机理研究

通过透射电镜、耗氧量测定、流式细胞分析、胞内物质泄漏测定、OD600 测定、蛋白质和质粒释放试验、高效液相色谱(HPLC)、聚合酶链式反应(PCR)、圆二色谱(CD)和质粒转化等方法,首次研究了食品工业大宗使用的消毒剂二氧化氯杀灭白色念珠菌和大肠杆菌的重要生理性损伤机制。二氧化氯对白色念珠菌的细胞膜的完整性没有造成严重破坏,钾离子、镁离子泄漏以及细胞质膜电位的消失是细胞死亡的重要原因。二氧化氯能使大肠杆菌细胞对 NaOH 裂解不敏感,其可能的机制是膜脂和膜蛋白同时受到损伤而发生膜结构重组,阻止了膜由双层结构向囊泡型的转变。二氧化氯能使大肠杆菌对蛋白酶 K 和溶菌酶的裂解敏感性上升,其可能的机制是细胞外膜的通透性上升,或者蛋白的空间结构改变而暴露了酶的结合位点所致。二氧化氯使 dNTPs 的紫外吸收值下降,显示二氧化氯可能对碱基的共轭双键有损伤作用。

(2) 壳聚糖防腐机理研究

在对新型生物防腐剂壳聚糖抑菌机理研究中,系统研究和分析了不同分子量壳聚糖对常见食源性致病菌的抑菌作用,并评估了金属离子对壳聚糖抑菌活性的影响。在研究中首次发现不同分子量壳聚糖引起金黄色葡萄球菌钾离子渗漏的情况,推测大分子量壳聚糖和小分子量壳聚糖可能存在不同的抑菌机制。通过对壳聚糖特性的研究,选用四种金属离子(K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+})研究对壳聚糖抑菌效果的影响,间接证明壳聚糖主要是通过其多聚阳离子结构特征阴阳离子相互作用与细胞外膜结合来实现的;通过对不同分子量壳聚糖引起细菌小分子内容物的渗漏分析,进一步明确了不同分子量壳聚糖可能存在不同的抑菌机制,大分子量壳聚糖主要是通过破坏细胞膜功能抑制微生物生长,而小分子量壳聚糖可能在破坏细胞膜功能的同时能进入细胞引起细胞内核酸和蛋白质生物活性的丧失从而抑制微生物生长,为开发新型、高效、安全的食品防腐剂和提高其使用效果建立了理论基础。

三、食品微生物安全快速检测技术研究

(一) 生物发光法微生物数量快速检测技术的研究

突破了食源性致病菌快速检测和确证技术的瓶颈,首次建立了三磷酸腺苷(ATP)生物发光微生物数量快速检测技术。采用高效细胞 ATP 释放方法测

定细胞 ATP 含量,从浓度为 $10^3 \sim 10^9$ cells/mL 的细菌、霉菌孢子和酵母菌的发光检测结果表明,细菌、霉菌孢子和酵母菌细胞的 ATP 含量分别为 $0.18 \times 10^{-16} \sim 8.75 \times 10^{-16}$ g/cell(平均值约 2.44×10^{-16} g/cell)、 $0.68 \times 10^{-15} \sim 6.30 \times 10^{-15}$ g/cell(平均值约 2.47×10^{-15} g/cell)和 $0.22 \times 10^{-14} \sim 7.79 \times 10^{-14}$ g/cell(平均值约 1.91×10^{-14} g/cell)。霉菌孢子和酵母菌细胞的 ATP 含量约是细菌的 10 ~ 100 倍。微生物细胞 ATP 含量与细胞的代谢状况和菌体的大小均密切相关,不同的菌株间细胞 ATP 含量有一定的差别,但是在数量级上仍然表现出较为恒定的 ATP 水平,因此采用 ATP 生物发光法可以进行微生物数量快速测定。

以 ATP 监测剂、ATP 释放剂和配套试剂构建了微生物数量抗干扰快速检测试剂盒。应用微生物数量抗干扰快速测定试剂盒和便携式生物发光微生物数量快速检测仪 HKM - NRD(I),对标准 ATP 的检测灵敏度可达到 1×10^{-14} mol/mL。当 ATP 浓度为 $1 \times 10^{-10} \sim 1 \times 10^{-14}$ mol/mL 时,测量线性较好。纯培养细菌、酵母和霉菌孢子检测灵敏度分别达 10^4 cells/mL、 10^2 cells/mL 和 10^3 cells/mL;发光仪测量值与培养计数值在数量级上可达到一致,检测所需时间为 15 min 左右,测试简便、快速,稳定性及重复性较好。

对于无干扰的液体样品,微生物数量快速测定程序化方法为:(1) 测定标准 ATP 曲线和回归方程;(2) 将样品稀释或过滤浓缩使微生物数量处于检测范围;(3) 进行样品微生物细胞 ATP 释放处理;(4) 取处理液进行发光测试同时做空白对照;(5) 根据回归方程计算样品中相应微生物细胞 ATP 含量,并换算为细菌、酵母菌或霉菌孢子细胞数量或以 ATP 计的微生物总数。其中步骤(1)和(5)可由发光仪数据处理软件完成并储存结果。

发光检测试剂盒与便携式生物发光微生物数量快速检测仪 HKM - NRD(I) 配套使用时,结合滤膜法富集微生物,可用于水样细菌总数的检测(表 1)。而且,由于普通琼脂平板不能满足实际水样中所有细菌的生长要求,样品中也可能存在菌胶团,故培养的菌落数会小于实际微生物数量。因此 ATP 生物发光法比传统平板法更有可能客观地反映样品中微生物实际情况,并显著缩短检测时间,30 min 内可以完成从样品处理到得出检测结果,简便、灵敏、快速,有利于饮用水生产过程控制、产品质量检测及用户饮水机的微生物污染日常监控。生物发光法微生物数量快速检测试剂盒成套产品见图 2a。

表 1 ATP 生物发光法对水样测试结果

样品 编号	总生物量(以细菌数计)测试结果			
	发光法测试 (cells/mL)	NA	R ₂ A	NA
		50 h (cfu/mL)	12 d (cfu/mL)	24 h/28 h (cfu/mL)
1	1.42×10^4	120	9.16×10^4	34
2	7.13×10^4	420	1.20×10^5	7
3	8.46×10^3	52	1.58×10^4	6
4	1.16×10^4	85	8.10×10^4	70
5	1.39×10^4	3.98×10^3	1.25×10^4	240
6	1.01×10^4	26	1.66×10^4	2
7	3.29×10^4	580	1.25×10^4	350
8	3.52×10^4	5.60×10^4	1.31×10^5	3.10×10^4
9	6.53×10^4	2.67×10^4	8.30×10^4	1.75×10^4
10	1.63×10^4	5.88×10^3	3.54×10^4	300
11	1.31×10^4	1.28×10^3	2.12×10^4	198
12	2.06×10^4	2.63×10^4	6.01×10^4	4.41×10^3

注:编号 1~6 为自来水样测试结果;7~12 为瓶装水样测试结果。

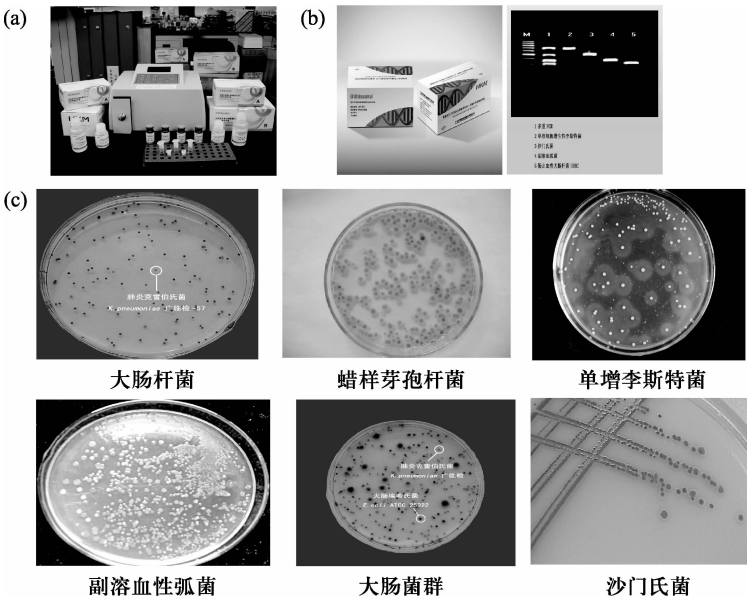


图 2 快速检测技术

(a) 生物发光法微生物数量快速检测试剂盒及测定仪;(b) 食源性致病菌分子检测试剂盒;
(c) 特异性生化显色培养基检测效果

(二) 食源性致病菌分子检测试剂盒的研究

主要针对食源性致病菌和食源性致病病毒,利用特异性的分子片段,通过特异性引物设计后,进行 PCR 检测,无需进行分离培养。系统地建立了常见食源性致病菌的单菌多重 PCR 检测方法以及多菌多重 PCR 检测方法,并建立了应用于畜禽肉同时检测大肠杆菌 O157 和沙门氏菌 2 种致病菌;应用于水产品同时检测大肠杆菌 O157、沙门氏菌和副溶血性弧菌 3 种致病菌;应用于饮用水同时检测大肠杆菌 O157、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、副溶血性弧菌和铜绿假单胞菌等 5 种致病菌的多重 PCR 检测方法。在建立检测方法的基础上,发明了相应的特异性好、灵敏度高的可应用于畜禽肉、水产品和饮用水中分别检测单一致病菌的单菌多重 PCR 检测试剂盒和可同时检测多种致病菌的多重 PCR 检测试剂盒,检测时间为 7 ~ 10 小时,检测限达到 10 ~ 100 cfu/mL。食源性致病菌分子检测试剂盒及其检测结果如图 2b 所示。

对 342 份婴幼儿奶粉样品,经过单重 PCR 筛选后,有 37 份疑似阳性的样品,利用所建立的免疫磁珠方法进行分离后,从阪崎肠杆菌显色培养基平板上挑取疑似菌落,利用 API 20E 系统进行鉴定,结果有 11 份样品为阳性,并得到分离株。双重 PCR 方法和传统方法作为免疫磁珠分离方法的对照,检测阳性结果分别为 16 份和 5 份。结果表明,本研究建立的 PCR 检测方法,结合免疫磁珠样品前处理及显色培养基确证技术,检测效率大大优于传统的检测方法。3 种检测方法的结果比较见表 2。

表 2 阪崎肠杆菌 3 种检测方法结果比较

实验号	单重 PCR 检测 阳性样品	免疫磁珠 + 显色培养基	双重 PCR + 序列测定	传统方法
1	133	+ ^a	+	+
2	167	+	+	+
3	289	+	+	+
4	298	+	+	+
5	302	+	+	+
6	6	+	+	-
7	11	+	+	-
8	285	+	+	-

续表

实验号	单重 PCR 检测 阳性样品	免疫磁珠 + 显色培养基	双重 PCR + 序列测定	传统方法
9	290	+	+	-
10	292	+	+	-
11	304	+	+	-
12	8	- ^b	+	-
13	272	-	+	-
14	275	-	+	-
15	284	-	+	-
16	291	-	+	-
17	18	-	-	-
18	88	-	-	-
19	217	-	-	-
20	255	-	-	-
21	259	-	-	-
22	262	-	-	-
23	264	-	-	-
24	265	-	-	-
25	278	-	-	-
26	279	-	-	-
27	286	-	-	-
28	287	-	-	-
29	293	-	-	-
30	296	-	-	-
31	297	-	-	-
32	299	-	-	-
33	300	-	-	-
34	301	-	-	-
35	303	-	-	-
36	305	-	-	-
37	327	-	-	-

注:a 表示检测结果阳性,b 表示检测结果阳性。

(三) 特异性生化显色培养基的研制

目前我国对食源性致病菌的检测主要依靠传统检测方法,检测周期长,操作复杂。显色培养基鉴定微生物是一种新的检测方法,它利用微生物复杂多样的酶系统,通过在分离培养基中加入目标细菌特异性酶的显色底物,特异性酶作用于显色底物后,能在培养后直接观察菌落颜色对菌种做出鉴定,减少生化鉴定和纯培养的步骤。本研究利用细菌和真菌的特异性显色生化反应,研制出集分离培养和生化鉴定于一体的系列化常见食源性致病菌特异性生化显色培养基;对于常见食源性致病菌可以选择增菌和不增菌两种方式,通常采用一步方法实现对食源性致病菌的分离、检测和鉴定,极大地简化了传统食源性致病菌的检测和鉴定方法,使检测所需时间从传统的 7~15 天缩短为 1~2 天,大幅度缩短样品的检测时间。与传统检测手段相比,其检测效果相当(表 3),得到广泛认可和应用。不同致病菌的显色培养基检测结果如图 2c。

表 3 显色培养基与传统培养基、CHROMagar 显色培养基检测效果的比较

编号	样品 (份数)	HKM 显色培养基 株数(阳性率)	传统培养基 株数(阳性率)	CHROMagar 显色培养基 株数(阳性率)
1	40	35(87.5%)	34(85%)	31(77.5%)
2	51	2(4%)	2(4%)	2(4%)
3	62	15(24.2)	15(24.2)	15(24.2)
4	62	2(3.2%)	2(3.2%)	—

注:编号 1 - 沙门氏菌,传统培养基为 DHL;编号 2 - 副溶血型弧菌,传统培养基为 TCBS;编号 3 - 单增李斯特菌,传统培养基为 OXA、MMA;编号 4 - 蜡样芽孢杆菌,传统培养基为 MYP。

(四) 食源性病毒快速检测技术的研究

利用免疫组织化学方法对牡蛎不同组织进行系统分析,发现在鳃、胃肠、消化盲囊和外套膜上前纤毛均有诺如(诺瓦克)病毒的累积和分布。以人工污染和实际牡蛎样本为研究对象,发现鳃是适合利用 RT-PCR 方法检测食源性病毒污染牡蛎的组织靶位点(图 3a)。利用分子生物学方法获得诺如病毒衣壳蛋白编码基因 ORF2(EF535854)和 ORF3(EF635440),并分别获得其主要衣壳蛋白编码基因 ORF2 的表达产物。以纯化的原核表达产物为抗原,免疫动物后获得

兔多克隆抗体和 5 株单克隆抗体细胞;抗体的特异性较好。在国内首次建立了贝类中诺如病毒和轮状病毒的 NASBA 检测技术(图 3b)以及诺如病毒、轮状病毒、甲肝病毒和星状病毒 4 种食源性病毒的单一及多重 RT-PCR 检测技术(图 3c);建立了贝类中诺瓦克病毒普通 RT-PCR 方法,以可检测到的病毒 RNA 量为检测限指标,轮状病毒和诺瓦克病毒的 NASBA 检测限均为 5 pg。在单一 RT-PCR 中,诺瓦克病毒和星状病毒的最低检测限为 5 pg,轮状病毒和甲肝病毒最低检测限为 10 pg;在多重 RT-PCR 中,轮状病毒、诺瓦克病毒和星状病毒的最低检测限为 50 pg,甲肝病毒为 100 pg。对广东省部分地区市售牡蛎随机采样,进行诺如病毒、甲型肝炎病毒和轮状病毒的检测,发现牡蛎食源性病毒的总检出率为 14.71%。其中,汕头污染最轻(8.57%);珠海污染最重(20.69%)。另外,3 种食源性病毒的检出率分别为 1.47%、5.15% 和 8.82%。

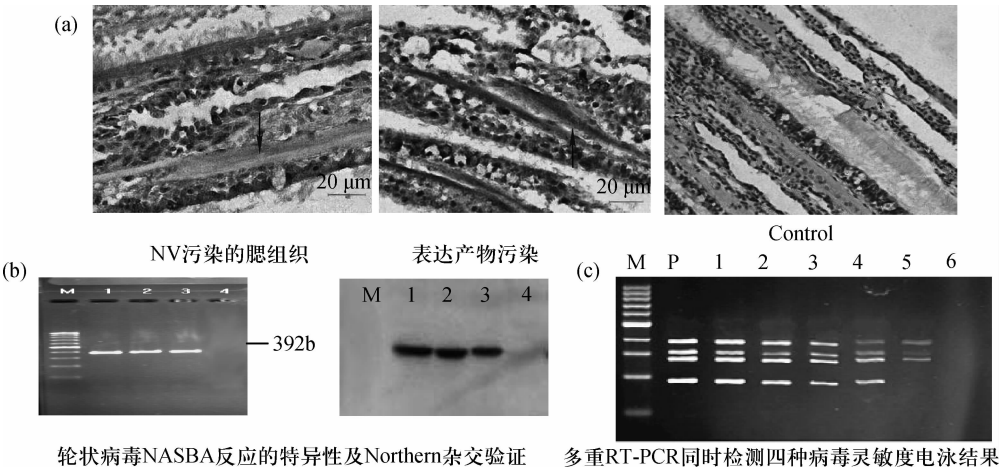


图3 食源性病毒快速检测技术的研究

四、食品微生物污染高效控制技术的研究

(一) 高效环保污染微生物消杀技术的研制

通过建立过氧化物稳定性的数学模型及其相关主要参数,研制出新型稳定性过氧化物消毒剂,使过氧化物消毒剂的稳定期可达到一年以上(表 4),对微生物杀灭效果与美国知名厂商艺康过氧乙酸相媲美(表 5),有效解决了目前市售过氧乙酸需要使用前 24 小时配置和容易发生爆炸的危险,同时用于轮换现有消毒剂,极大地减少了污染微生物的耐药性。通过开展环保安全高效消毒剂研制,形成了类别差异较大、作用机制不同和环保性能较好的系列化新产品,较好地解决了现有消杀产品结构及品种单一,容易造成微生物产生抗药性和环保性能差

的主要问题,尤其是浓度为 15% 的稳定高效过氧乙酸消毒剂,大幅度提高了消毒效率和极大地延长了产品的稳定时间,可以实现一年以上的保存期,腐蚀性大大降低和完全没有爆炸的风险,该产品已被列为国家重点新产品。另外,针对常规使用的二氧化氯消毒剂有效成分活化效率低和气味大的问题,建立起二氧化氯非酸活化新技术,研制出新型高效非酸活化二氧化氯消毒剂,使有效成分的活化效率提高 4~5 倍。环凯牌环保高效消毒剂产品见图 4(a)。

表 4 过氧乙酸消毒液稳定性结果

样品 编号	0 天		30 天		60 天		90 天		120 天	
	含量 (%)	下降率 (%)	含量 (%)	下降率 (%)	含量 (%)	下降率 (%)	含量 (%)	下降率 (%)	含量 (%)	下降率 (%)
1	19.07	—	18.98	0.5	18.81	1.4	18.50	3.0	18.15	4.8
2	18.78	—	18.72	0.3	18.60	0.95	18.12	3.5	17.75	5.5
3	19.25	—	19.15	0.5	19.11	0.7	18.75	2.6	18.06	6.2
平均	19.03	—	18.95	0.4	18.84	1.0	18.46	3.0	17.99	5.5

样品 编号	150 天		180 天		240 天		300 天		360 天	
	含量 (%)	下降率 (%)	含量 (%)	下降率 (%)	含量 (%)	下降率 (%)	含量 (%)	下降率 (%)	含量 (%)	下降率 (%)
1	18.11	5.0	17.77	6.8	17.69	7.2	17.44	8.5	17.23	9.6
2	17.72	5.6	17.61	6.2	17.46	7.0	17.25	8.1	16.99	9.5
3	18.01	6.4	17.90	7.0	17.82	7.4	17.59	8.6	17.30	10.1
平均	17.95	5.7	17.76	6.7	17.66	7.2	17.43	8.4	17.19	9.6

表 5 过氧乙酸消毒液杀灭效果的比对

试验菌株	作用浓度 (mg/L)	作用时间 (min)	消毒剂厂家	杀灭对数值
枯草杆菌黑色变种芽孢 (ATCC9372)	800	3	环凯	3.46
			艺康	3.77
	1000	3	环凯	>5.00
			艺康	>5.00

续表

试验菌株	作用浓度 (mg/L)	作用时间 (min)	消毒剂厂家	杀灭对数值
大肠杆菌(ATCC25922)	250	3	环凯	>5.00
			艺康	>5.00
	500	3	环凯	>5.00
			艺康	>5.00
黑曲霉(ATCC16404)	1500	3	环凯	2.87
			艺康	2.67
	2000	3	环凯	3.94
			艺康	3.84

注:上述表格中菌株的阳性对照菌数分别为 4.51×10^7 cfu/mL、 1.26×10^7 cfu/mL、 5.2×10^5 cfu/mL。

(二) 环保高效清洗剂的研制

针对目前食品工业生产特点和我国消毒剂的现状,创新研制出酸碱两大类环保高效清洗剂系列化产品。因为工业消毒前进行高效清洗是彻底灭菌的关键和前提,而目前主流的食品工业清洗剂多为碱性,消毒剂则多为酸性,造成在工业清洗后,经常由于清洗剂的碱性残留而严重影响要在酸性条件下才能发挥作用的酸性消毒剂的消毒效果,给食品微生物安全带来严重威胁,特别是当前已进入大量百姓家庭和办公场所的大桶装饮用水,由于大桶的回收再利用,因此这方面的问题特别突出。本项目的新型酸性无磷清洗剂的产业化,为较好地解决这些问题奠定了良好基础。在生产过程中,本项目研制的新型消毒剂和清洗剂配套使用,比传统的清洗消毒技术提高效率30%~50%。环凯牌环保高效清洗剂产品见图4(b)。



(a) 牌稳定性过氧化物消毒剂



(b) 高效清洗剂



(c) 消毒剂、清洗剂及水质检测试剂盒

图4 微生物污染高效控制技术相关产品

(三) 消毒剂、清洗剂浓度及水质快速检测试剂盒和袖珍比色计的研制

由于经消毒后的水体中总氯、余氯、臭氧的浓度均比较低,在选择分析检测方法时采用微量分析方法——比色分光光度法,将试剂制成片剂或粉剂再制成检测试剂盒,实现水质现场快速检测。比色分光光度法的主要优点如下:灵敏度高,一般所测试样浓度下限可达 $10^{-5} \sim 10^{-6} \text{ mol/L}$,适用于微量组分的测定;准确度高,比色法相对误差为 $5\% \sim 10\%$,分光光度法为 $2\% \sim 5\%$ 。本研究采用比色分光光度法开发标准色阶(比色卡),与比色管、DPD 混合显色试剂组成过氧乙酸、二氧化氯、臭氧、余氯、总氯、六价铬、氨氮、总砷、总磷、阴离子表面活性剂及亚硝酸盐等 47 种快速测定试剂盒,并开发出袖珍式检测仪,为消毒剂及清洗剂在使用过程中的浓度变化提供了现场快速检测方法,对于确保清洗消毒效果有特别重要的作用,可很好地解决目前食品工业清洗消毒时,缺乏高效现场浓度检测方法,从而造成清洗消毒效果经常不稳定的困难;另外,水质快速检测试剂的产业化,与同类进口产品相比,大幅度降低(约降低 $2/3$)水质检测在食品工业中的使用费用,从而提高食品工业竞争力。清洗剂浓度及水质快速检测试剂盒见图 4(c)。

五、食品微生物安全监测及控制产品关键生化原料的制备技术研究

本研究采用定向选育酵母,发酵糖质原料 48 ~ 72 小时生产微生物生长因子,建立细胞自溶和提取干燥低温技术,较好地确保了产品中的微生物生长因子较为齐全,比国产用于微生物检验的大宗生化原料—牛肉膏和酵母膏等提高检测灵敏度 1000 倍以上,完全达到了法国 Solabia 公司等国外同类产品的技术指标。发明了规模化提取萤火虫荧光素酶和化学合成高活力 D-荧光素的新方法,检测灵敏度达到 10^{-15} mol ATP ,其产品质量完全达到了美国 Premega 公司 FF2020 高检测灵敏度产品的技术水平,其成本仅为进口产品的 $1/3$ 。发明了采用糖质原料发酵 L-苹果酸技术。采用物理及化学诱变选育的曲霉菌种,发酵糖质原料 90 ~ 110 小时,L-苹果酸产率 $100 \sim 120 \text{ g/L}$,其产酸水平达到国际领先水平。发酵液直接过滤后经酸化处理及离子交换得到的 L-苹果酸液,直接应用于消毒剂及清洗剂的生产,大大强化了消毒清洗效果,并节约了成本。本研究通过食品微生物安全监测及控制产品关键生化原料的生产技术研究,并顺利实现了国产化生产,节省原材料成本 50% 以上,解决了关键生化原料依赖进口和价格昂贵的难题,显著提高了产品的市场竞争力。

六、取得的主要成果

本研究的快速检测技术的优越性大大超过传统检测方法(表 6),同时污染

控制关键技术清洗消毒效率显著提高(表7),显著提升了我国食品微生物安全监控技术创新能力,较好地实现了与国际先进水平接轨,大幅度缩小与发达国家的差距,为保障食品安全和有效突破技术壁垒,提供了强有力的技术支撑。同时系统研制出的快速检测技术与高效控制技术产品为我国广大食品饮料、自来水和瓶装水、医药、饲料、化妆品、卫生用品等广大企业,以及从田间到餐桌的无公害绿色农产品的生产,在实施 HACCP 体系认证和管理中,实现现场生产有效在线监控和成品质量控制时,提供了强有力的技术支撑和必备条件;也为质监部门监督产品质量提供了快速、灵敏及高效的分析检测方法和有效控制手段。

表 6 快速检测方法与传统检测方法的主要技术参数比较

主要技术参数	本项目方法	传统方法
检测时间	食源性致病菌 7 ~ 10 小时 微生物数量 10 ~ 30 分钟	食源性致病菌 5 ~ 7 天 微生物数量 1 ~ 3 天
检测灵敏度	10 ~ 100 cfu/mL (g)	10 ~ 100 cfu/mL (g)
检测特异性	高	低
高通量水平	可同时检测大量样品	不能同时检测大量样品
操作性	省时省力	费时费力
现场应用性	强	弱

表 7 高效控制技术与国内外同类技术的先进性比较

主要技术参数	本项目技术	国内传统技术	国外技术
过氧乙酸消毒液稳定性 和保质期	稳定性很强,即配即用,保质期 12 个月	不稳定,需在使用前 48 小时内配制	稳定性强,即配即用,保质期 6 个月
有效成分释放效率比	有效成分释放效率比		
二氧化氯消毒剂有效成分释放和 气味	常规二氧化氯消毒剂提高 50% 以上,基本无气味	有效成分释放效率低,刺鼻酸性气味浓	有效成分释放效率低,刺鼻酸性气味浓
酸性清洗剂	有	无	无
清洗消毒效率	清洗消毒配套技术提高效率 30% ~ 50%	相互干扰,清洗消毒效率低	相互干扰,清洗消毒效率低
操作性	方便、快速	需时长、繁琐	需时长、繁琐
现场应用性	开发出袖珍检测仪,实现在线检测	需实验室进行	需实验室进行



吴清平 广东省微生物研究所所长、博士生导师、国务院政府特殊津贴专家,广东省微生物学会副理事长、广东省食用菌行业协会会长、中国饮料工业协会矿泉水分会副会长和中国食用菌协会副会长。现为国家食品安全标准审评委员会委员、国家食用菌品种认定委员会委员、全国饮料工业标准化委员会委员和广东省食品安全专家委员会专家。

长期从事食品微生物安全和食用菌生物工程技术以及生物技术成果转化工作,解决了我国食品工业中微生物安全监控和食用菌大规模生产两项关键性技术问题,在全国进行了成功的大规模推广应用,取得显著经济和社会效益,其主持的“食品微生物安全快速检测与高效控制技术”和“食用菌优质高效大规模生产关键技术研究”分别获2010年及2007年国家科技进步奖二等奖。2005年获中国饮用天然矿泉水工业“突出贡献者”、2009年获中国饮料工业优秀科技工作者、2010年获全国优秀科技工作者和全国食用菌行业“突出贡献者”。

农产品高值化挤压加工利用技术

金征宇等

江南大学食品科学与技术国家重点实验室

江南大学食品学院

摘要:挤压是一种连续、高效、低耗,集温度、压力、剪切综合作用于一体的加工方法,是食品、饲料等农产品制造中常用的重要加工手段。本文简述了农产品螺杆挤压机的结构特点和挤压膨化原理;阐述了挤压技术在碎米原料的综合利用、变性淀粉干法生产、酿造和饲料原料预处理及特种饲料生产等重要领域的研究进展,提出了挤压技术在上述领域应用面临的科学问题,并针对农产品高值化挤压加工利用技术的发展趋势进行了展望。

关键词:食品;饲料;挤压;膨化

一、引言

2011年,全国农产品加工业产值突破15万亿元,与农业总产值比约为1.5:1(国外约为4.5:1),从业人员达2500万人。可见,我国农产品加工业逐渐成为国民经济发展中总量最大、发展最快、对“三农”带动最大的支柱型产业之一。

挤压是一种温度、压力、剪切综合作用的加工方法,是食品、饲料等农产品制造中常用的重要加工手段。它大大地简化了生产工艺,降低了能耗,且无废水、废气,减少了农产品原料预处理及农产品生产过程中的污染源^[1]。基于挤压加工的种种优势,挤压在材料、工程、医药、生物化学、农学、环境等领域也得到广泛应用(图1)。

目前,挤压技术相关的基础科研炙手可热(图2),主要集中在加拿大多伦多大学、英国剑桥大学、美国阿克伦大学、新加坡国立大学、国内吉林大学、江南大学、华南理工大学等高等院校。部分院校和科研院所在20世纪50年代以前,就将挤压技术应用在宠物食品生产、预煮面条、谷物和油料种子的消毒灭菌等农产品加工领域^[2];20世纪60~80年代,挤压技术相关的研究有了突飞猛进的增长,主要体现在饲料膨化、谷物食品生产和组织化蛋白的挤压预处理技术等方

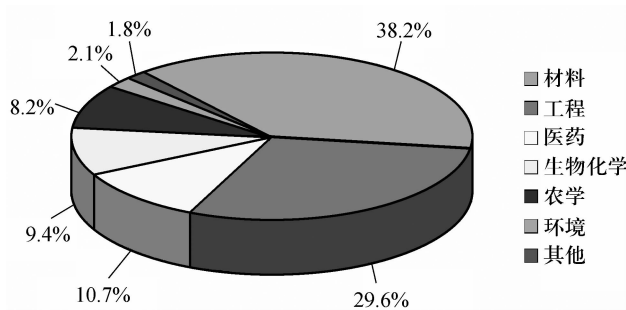


图 1 挤压技术研究在不同领域的分布情况 (数据统计来源于 Scopus 数据库)

面^[3]；然而 20 世纪末期至 21 世纪初期,科学家在农产品挤压加工领域侧重于挤压机可视化研究、挤压作为生化反应器原理以及挤压机内物料特性变化的数学模型等基础研究^[4]。可见,挤压技术基础研究的发展和深入是挤压技术提升的必经阶段。本文即对农产品螺杆挤压机的膨化原理、典型农产品挤压加工机理及关键技术进行了简要阐述,以期对农产品高值化挤压加工利用技术的提升与推广起一定的推动作用。

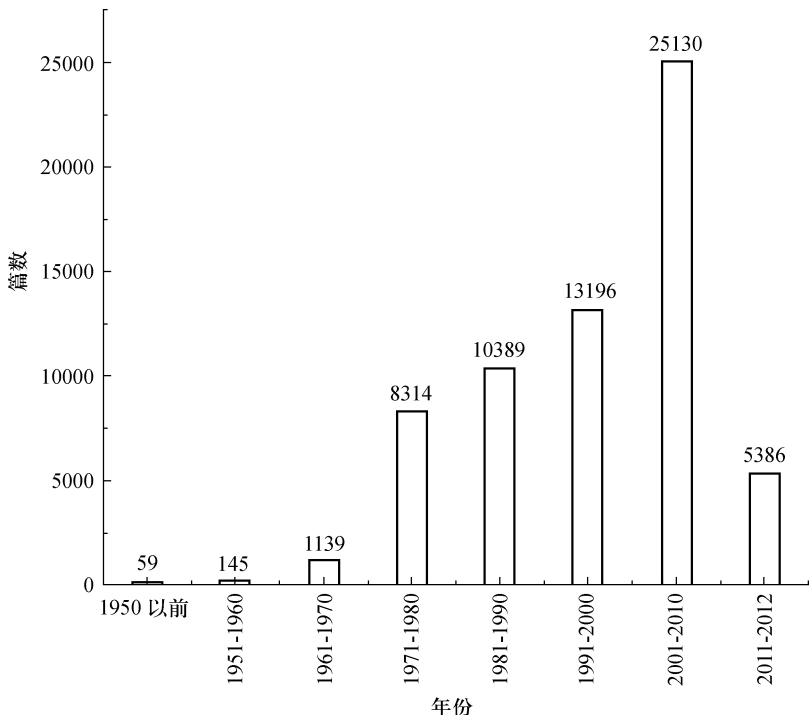


图 2 挤压技术研究论文发表情况 (数据来源于 Scopus 数据库,至 2012 年 8 月)

二、螺杆挤压机构造及挤压膨化原理

(一) 农产品螺杆挤压机结构及挤压系统选择

根据螺杆数目,适用于农产品加工的螺杆挤压机分为单螺杆、双螺杆和多螺杆挤压机。其中,多螺杆挤压机由于制造加工困难,对传动系统要求高,因而在农产品加工行业中极少使用。单螺杆挤压机中物料围绕在螺杆周围形成连续带状物料,当物料与螺杆间的摩擦力大于机筒与物料的摩擦力时,物料将与螺杆一起旋转,造成物料的输送中断。对于双螺杆挤压机而言,由于在 C 形开口处总有另一螺杆的螺旋齿板旋转着,起到了挡板作用,物料不会出现共转^[5]。因此,双螺杆挤压机可将内壁做成光滑的表面,避免不必要的摩擦,降低运转能耗。表 1 列出了单螺杆挤压机与双螺杆挤压机的主要差别。显然,其中物料的允许水分范围以及加工能力的差别应是最值得注意的方面。实际上,农产品原料一般多是不定形、不均匀、高水分、高油分、多成分类的物料。因此,单螺杆挤压机用于农产品加工,可以说在机理上还存在着一定的问题,农产品的挤压膨化、成型加工,更理想的选择是采用双螺杆挤压机^[6]。

表 1 单螺杆与双螺杆挤压机的主要区别^[5,6]

考察项目	单螺杆	双螺杆
物料移动方式	摩擦	滑动
物料允许水分含量(%)	10 ~ 30	5 ~ 90
加工能力	受物料水分、油分限制	一定范围内不受限制
动力消耗(kW/kg)	900 ~ 1500	400 ~ 600
物料内热分布	不均匀	均匀
剪切力	强	弱
逆流漏流程度	高	低
耐久性	强	稍差

挤压机的整体操作成本亦是挤压系统选择的重要指标(表 2)。新一代挤压机操作费用较低,主要是因为资金投入的减少和能源效率的提高。由于每吨产量高出 25% 的资金投入,所以新一代挤压机的资本投入可与天生高操作费用的双螺杆挤压机相媲美^[7]。双螺杆挤压系统若要降低操作费用并提高它的适用

性,则需要在挤压机关键部件上不断改进,比如套筒内壁使用低摩擦系数材料,减少螺杆与机筒的间隙等。

表 2 挤压系统操作费用概算^[7]

费用类别	单位	当今单螺杆 挤压系统	新一代单螺杆 挤压系统	新一代变速单螺杆 挤压系统	双螺杆 挤压系统
生产能力	t/h	11	11	11	8
资金投入	\$ /t	2. 07	1. 68	1. 88	3. 25
维护费	\$ /t	0. 54	0. 52	0. 52	2. 01
劳动力	\$ /t	1. 82	1. 82	1. 82	2. 50
公用品	\$ /t	5. 90	5. 59	5. 59	6. 89
杂费	\$ /t	0. 18	0. 15	0. 16	0. 28
总计	\$ /t	10. 51	9. 75	9. 97	14. 93

(二) 农产品挤压膨化机理

Kokini 等人认为农产品挤压膨化包括 5 个阶段:物料从有序到无序的转变、气核生成、模口膨胀、气泡生长和气泡塌陷(图 3)^[8]。物料由有序到无序的转变,主要指物料在挤压机内的压力、热和剪切作用下发生多种变化,有原料自然结构的破坏和重组,有生物大分子的变性,也有分子水平上的化学变化。其中主要是淀粉的糊化和降解、蛋白的变性,使颗粒状或粉状的物料转变成具有黏弹性的熔融体。最后阶段,由于气泡生长停止后也可能不发生收缩,且气泡塌陷也只是导致收缩的一个原因,故最后一个阶段称为“生长停止或收缩”更合适^[9,10]。

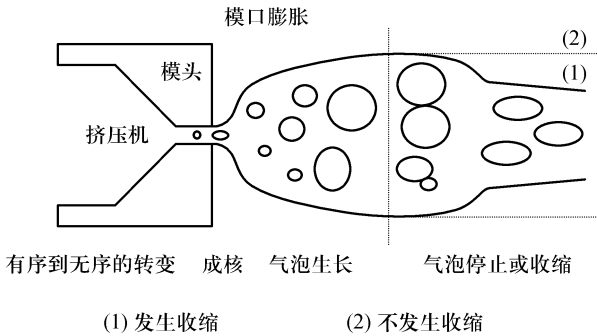


图 3 挤压膨化过程示意图^[10]

下面主要从气核生长的角度论述农产品挤压膨化的机理。

研究表明,挤压过程中捕获于熔融体内的小气泡也可以作为“气核”^[11]。如图4所示,由于食品挤压中通常采用饥饿式喂料,挤压机内不会全部充满物料,根据喂料速度、螺杆转速等挤压条件的不同,挤压机内物料充满段的长度也不一样。物料向前输送到一定位置时开始熔融,其中的一些空气被“捕获”在熔融体中。这时如果充满段的长度大于熔融段的长度,一些物料就会在喂料口和融体输送区之间形成阻隔,防止被捕获的空气返回到喂料口而后逸出。被捕获的空气就可以作为“气核”形成气泡,在随熔融体排出模口后发生膨胀,使挤压产品中气泡较多;相反,如果充满段的长度小于熔融段的长度,喂料口和熔融区之间没有物料形成阻隔,熔融体中的空气就会通过物料与挤压腔内壁之间的间隙经喂料口逃逸出去,挤压产品中的气泡数量就少^[10,11]。

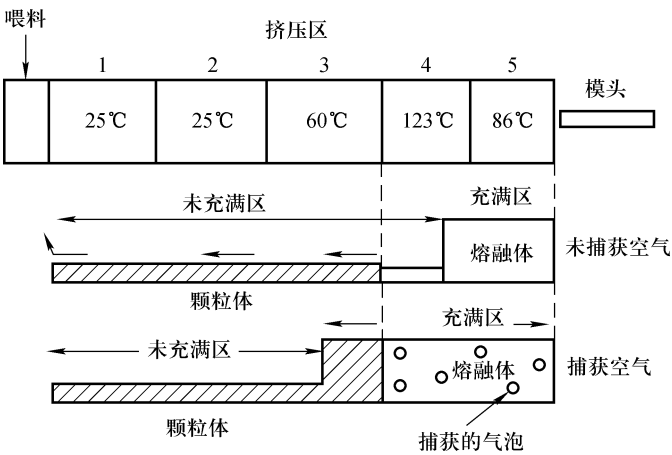


图4 基于充满段长度的空气捕获机理^[10,11]

(三) 系统分析模型及相关参数

Meuser 等人提出的挤压机系统分析模型把影响挤压机加工参数分为操作参数、系统参数和目标参数三个部分(图5)^[12]。过程参数(X)就是挤压机操作过程中加工物料的特性参数和挤压机的特性参数。系统参数(Y)直接受过程参数的影响和控制,对于不同的过程参数,系统参数随之而改变,可以用 $Y=f(X)$ 来表示。而目标参数(Z)可以用系统参数来表示成 $Z=g(Y)$,系统参数直接影响和控制着目标参数。系统分析模型就是将挤压加工参数分成这三大部分。在研究过程中,可以将挤压机分成两部分进行研究,一部分为过程参数与系统参数之间 $Y=f(X)$ 的关系研究,另一部分为系统参数与目标参数之间 $Z=g(Y)$ 的关系研究。这样挤压机的大量参数分析与研究就变得简单化了。

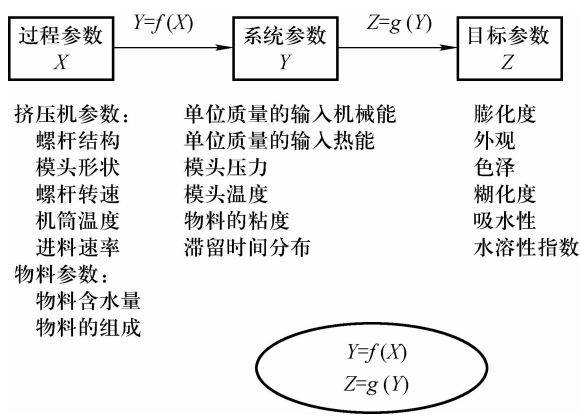


图 5 挤压系统分析模型^[12]

每一种物料配方都有各自的特性,这会影响到怎样准确地利用所给的挤压机操作得到产品目标性质。Strahm 提出,高分子科学的原理可以应用于物料配方中的生物聚合体,比如蛋白质和淀粉^[13]。通过这种方式,可以将总能输入(以机筒内物料温度代替)和物料温度的关系表示出来,得到描述典型的挤压过程的曲线图(图 6)。可以看到,一开始生物料处于玻璃化曲线下方的一点。在进入挤压机机筒前,通过预处理的增塑作用得到又软又湿的原料。在预处理之后,热能和机械能的输入使物料进一步加热和湿化。在模头处失去的水分使物料冷却和脱水,成为柔韧而潮湿的产物。然后,进行干燥和冷却就得到了酥脆(玻璃状)的成品。

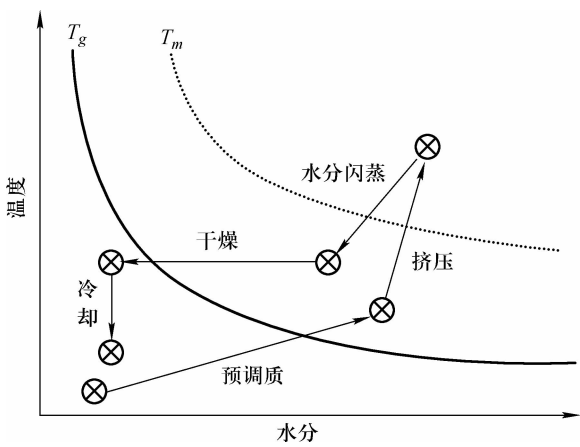


图 6 典型挤压过程的玻璃化和熔化曲线^[13]

三、挤压技术在典型农产品高值化加工过程中的应用实例

(一) 碎米挤压生产复合营养米技术

复合营养米挤压蒸煮技术,是指以碎米或者作为饲料原料的早籼米为原料,添加合理的营养成分或品质改良剂,通过螺杆挤压蒸煮、造粒过程得到具有米饭质构和口感的复合营养米^[14]。具体挤压蒸煮工艺如图 7 所示。

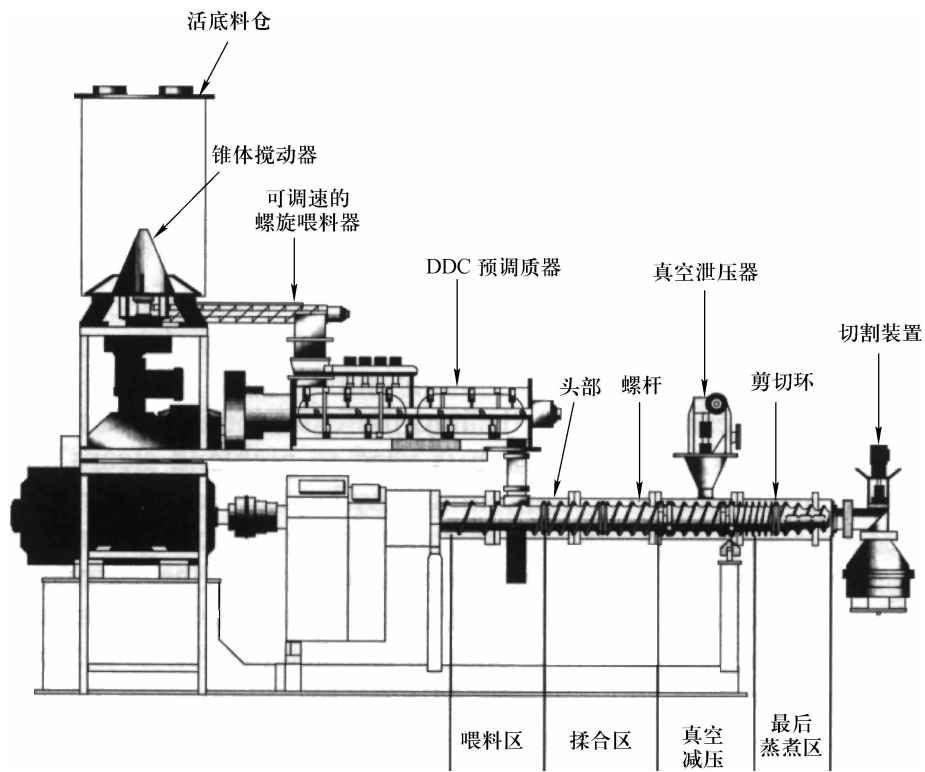


图 7 复合营养米的螺杆挤压蒸煮系统^[14]

在这一领域,国外主要采用单螺杆、双螺杆蒸煮挤压机研究原料在挤压过程中各种营养成分的变化。比如,Moretti 等人利用米粉为载体原料,使用单螺杆挤压机研究了不同的铁化合物对挤压人造米的营养素稳定性的影响,发现通过加入硫酸亚铁挤压强化的人造米,其颜色、口感以及内部结构与没有经过强化的普通大米没有差异,而且其在漂洗过程中铁元素损失率小于 3%^[15]。Lee 等人利用豆类与谷物作为原料,使用双螺杆挤压机制作出挤压“人造米”,并研究了其物理特性及煮制特性。研究表明人造米的形状为中形或长形,在电子显微镜下观察,其内部结构非常紧密,在挤压蒸煮过程中,其外形尺寸增

大了 1.2 ~ 1.3 倍。加水煮制后,人造米比碾制的颜色更加鲜亮。在质构特性方面,重组米的硬度、咀嚼性、胶着性比普通碾制米低,而在粘性和弹性方面则要比普通碾制米高^[16]。Su 等人研究了利用双螺杆挤压机将蛋壳粉添加到大米中的挤压过程^[17],但是对人造米挤压蒸煮过程中基础问题的报道相对较少。

相比而言,国内更侧重于复合营养米挤压蒸煮过程和造粒的研究,特别是如何针对最终产品形态,改进挤压机蒸煮系统的关键部件,并根据产品目标参数建立挤压机操作参数与目标参数之间的联系。比如,江南大学金征宇教授团队针对复合营养米挤压蒸煮技术,发明了复合营养米的造粒模头(图 8),得到复合营养米形状与大米形状极其相似^[14]。

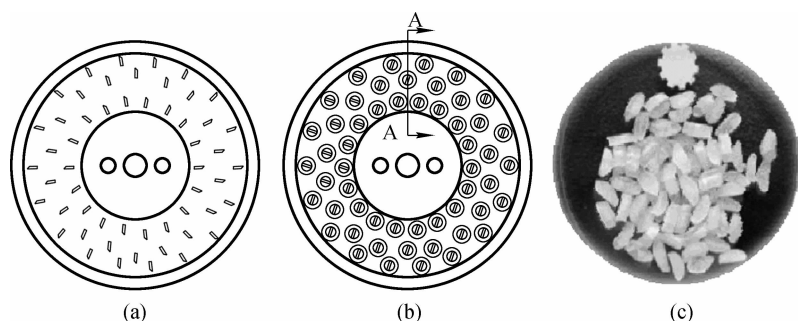


图 8 模头装置示意图和产品

(a) 正面示意图;(b) 反面示意图;(c) 得到复合营养米^[14]

同时,基于 BP 神经网络的 PTW - 24/25D 实验型双螺杆挤压机的人造米挤压系统参数与目标参数预测模型,开发了基于 Matlab GUI 的具有友好的可视化用户交互界面、操作简单、使用方便的挤压蒸煮过程监控系统(图 9)^[14]。从监控图上可以非常直观地看出,各个条件下的扭矩、压强、螺杆转速等指标都是比较平缓的,机筒内物料的温度很好地控制在 $\pm 5^{\circ}\text{C}$ 范围内,说明复合营养米挤压蒸煮过程控制稳定,系统参数对操作参数的反应非常灵敏,螺杆转速的变化会引起扭矩和压强的明显改变。

(二) 螺杆挤压机作为生化反应器技术

(1) 螺杆挤压机作为生化反应器原理

把挤压机与生物、化学转化联系起来始于 20 世纪 80 年代,这一构思突破了传统上把挤压机仅仅作为食品加工机械的观念,将挤压机用于以蛋白质、淀粉、纤维素等聚合物为基质的生物材料进行直接或间接的生物或化学转化,大大拓宽了挤压技术的应用领域。目前,螺杆挤压机作为反应器主要应用在淀粉干法

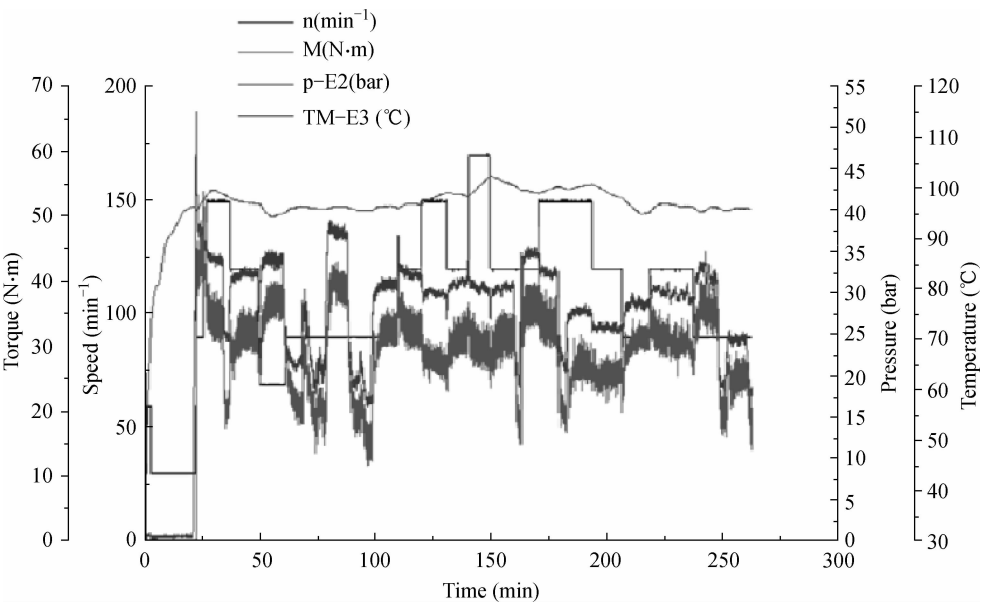


图 9 复合营养米挤压蒸煮过程实时监控图^[14]

变性和酿酒辅料处理等重要领域^[18,19]。图 10 展示了挤压预处理酿造原料的示意图^[19]。

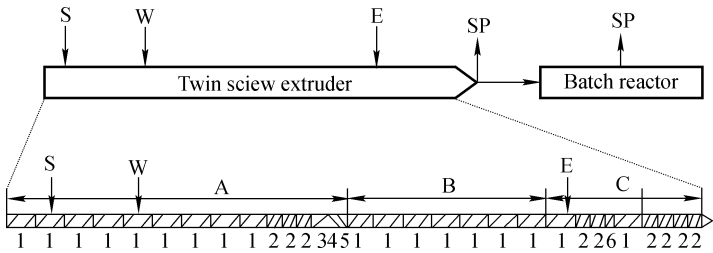


图 10 双螺杆挤压机作为生化反应器示意图^[19]

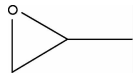
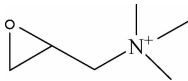
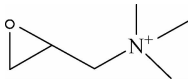
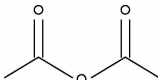
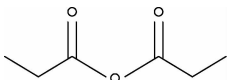
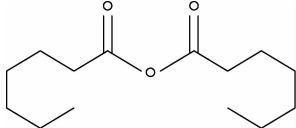
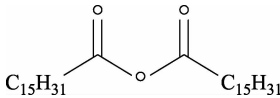
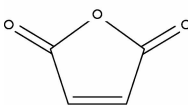
W, 水入口; S, 谷物或淀粉喂料口; E, 酶入口; SP, 取样点。A 区主要用来混合酿造用谷物或淀粉, 以获得 30% ~ 70% 湿度的混合物以便淀粉糊化, 其中物料通过单螺杆或双螺杆传送器从喂料口投料, 水分通过蠕动泵泵入, 根据实际情况确定进料速度和进水量; B 区主要通过温度控制, 实现淀粉糊化, 并且将物料温度控制在 90 ~ 120℃, 以方便后续酶的作用; C 区为酶液化反应区, 此时酶和糊化的淀粉混合、作用, 对淀粉或谷物进行预液化; 发酵反应器主要对挤压预处理的酿造原料进行发酵和酿造, 如加入 α -淀粉酶和糖化酶进行糖化反应生成淀粉糖、加入酵母发酵生产酒精等。

(2) 挤压催化干法制备变性淀粉

淀粉和化学试剂经催化剂作用在挤压的过程中发生了系列反应, 包括环氧化化合物的开环、酯化、磷酸化作用、甲基化等反应, 从而实现制备氧化淀粉、酯化

淀粉、交联淀粉、阳离子淀粉、降解糊精等变性淀粉^[18]。采用挤压催化的方法，具有同时完成多步物理化学反应，工艺简单、生产周期短、设备简单、可以连续化生产、不产生废水、不污染环境、生产成本低等优势。表 3 总结了部分变性淀粉的反应条件及最终产品性质。

表 3 挤压过程中的环氧化物的开环(羟烷基化反应)及淀粉－酸酐的酯化反应

试 剂	催化剂	挤压机	淀粉	取代度	参考文献
	NaOH	双螺杆	马铃薯	0. 25	[20]
	NaOH	双螺杆	马铃薯	0. 04 – 0. 11	[21]
	NaOH	双螺杆	小麦	<0. 1	[22,23]
	NaOH	单螺杆	玉米	0. 01	[24,25]
	NaOH	单螺杆	玉米	0. 01	[24,25]
	NaOH	单螺杆	玉米	0. 01	[24,25]
	NaOH	单螺杆	玉米	0. 01	[24,25]
	NaHCO ₃	双螺杆	马铃薯	0. 25	[26]
	NaHCO ₃	双螺杆	小麦	0. 26	
	NaHCO ₃	双螺杆	玉米	0. 24	

(3) 酿酒辅料的挤压预处理

淀粉糊化和降解液化是谷物在加酶挤压中最重要的变化。水分对淀粉的液化有重要影响。Hakulin 等人发现增加水分、提高温度可以使淀粉完全糊化并且提高液化程度^[27]。Chouvel 等人也发现液化程度随水分含量增加而增加，而且在较低的酶/底物时液化程度更依赖于水分含量；温度对于反应的影响是双面

的,一方面温度影响糊化度,另一方面温度还应控制在酶最适温度范围内^[28]。Tomas 等人研究发现在合适的温度范围内,DE 值随温度增加呈线性增长;酶的种类、用量及物料 pH 都对液化有显著影响,最初的相关研究都集中在温和挤压条件下进行,而随着耐高温 α -淀粉酶的应用,液化程度得到很大提高^[29]。Govindasamy 等人用单螺杆挤压机作为生物反应器研究西米淀粉降解及物化性质的影响因素,发现水分含量和酶浓度是影响所测物化特性的最显著影响因素,而且支链淀粉优先与酶作用发生降解,其挤出物中麦芽三糖、五糖和六糖是最主要低聚糖^[30]。Vasanthan 等人用耐高温 α -淀粉酶对大麦粉进行加酶挤压,测定挤压条件对淀粉水解程度、DE 值以及单糖/二糖/低聚糖组分的影响,研究表明水解度和 DE 值随酶浓度和水分含量增加而增加,而且挤出物中麦芽二糖含量最多,葡萄糖含量最少^[31]。酿造原料的挤压预处理具体实例见表 4。

表 4 酿造用原料挤压预处理应用实例

原料来源	最终产品	技术优势	文献来源
西米淀粉	葡萄糖浆	糖化 24 h,DE 值高达 98%	[32]
大麦	葡萄糖浆	糖化 4 h,DE 值达到 89%	[33]
淀粉质原料	酒精	发酵时间缩短,出酒率提高	[34]
大米	啤酒	麦汁浸出物得率、过滤速度、 碘值均优于传统工艺	[35]
脱胚玉米	玉米糖浆	DE 值、过滤速度、透射比高于传统工艺	[36]
脱胚玉米	酒精	出酒率提高,发酵周期缩短	[37]

(三) 饲料膨化技术

(1) 饲料原料预处理

饲料原料在膨化过程中的热、湿、压力和各种机械作用下,能够提高饲料中淀粉的糊化度,破坏和软化纤维结构的细胞壁部分,使蛋白质变性、脂肪稳定,在饲料资源的开发利用上发挥了重要作用。目前这些原料包括大豆、玉米、米糠、豆粕、蓖麻粕、田菁籽粉、羽毛粉等。具体膨化目的体现在:膨化玉米粉可以让乳猪料变得疏松,适口性好,消化率提高;膨化大豆、豆粕、蓖麻粕、田菁籽粉、羽毛主要目的是达到安全饲喂的要求和增加可消化物质,比如羽毛膨化提高蛋白质

的消化率;将膨化料与其他原料混合制成配合饲料,可以提高仔猪生长效率、养分消化率以及成活率等特点。表 5 总结了部分饲料原料膨化技术原理及获得的技术参数。

表 5 部分饲料原料膨化技术原理及目标参数

原料来源	技术原理	技术参数	文献来源
米糠	钝化脂肪酶,抑制脂肪分解释放游离脂肪酸	米糠在常温下贮藏 3 个月的 FFA、POV 分别由原料米糠的 1 082.3 mgKOH/100g 米糠、12.40 gI ₂ /100g 米糠降至 235.8 mgKOH/100 g 米糠、6.57 gI ₂ /100g 米糠	[38]
米 糠	不溶性膳食纤维松散并切断,持水力增强	不溶性膳食纤维持水力由 185% 增加至 430%	[39]
蓖麻粕	与脱毒试剂相结合	解决了蓖麻饼脱毒饲用问题,提高了蛋白资源利用率	[40]
田菁籽粉	与脱毒试剂相结合	毒性成分的减少导致了蛋白质消化率的提高,由原料的 62.9%、蒸炒样的 71.4% 提高到 86.5%	[41]
羽毛粉	挤压促使蛋白二硫键断裂,内部极性基团暴露,提高了蛋白酶消化率	胃蛋白酶消化率 > 75%;有效光氨酸含量 > 3.0%;产量 380 ± 20 kg/h	[42]
全脂大豆	破坏高油脂的保护,降低尿素酶活性(UA)	UA < 0.4;产量 800 ~ 1000 kg/h	[43]

(2) 特种饲料膨化生产

用挤压蒸煮法加工水产饲料、乳猪饲料、宠物饲料、动物园动物及试验室动物饲料等特种饲料能更好地满足饲喂对象对饲料的各种不同要求。大量文献资料表明:用双螺杆挤压机为主设备所建立的湿法、中温、中剪切的挤压环境尤其有利于获得所需要的产品特性。挤压蒸煮法相比于其他生产方法具有许多优越的加工特点:原料选择范围大、产品物理和机械性质优良、产品生化性能改善、挤出过程稳定和工艺成熟等。特别是双螺杆挤压膨化技术,基于双螺杆的啮合螺

旋结构,既可以用来输送高黏性的物料,也可以用来输送低黏性物料,并具有自清理功能。比如,谢正军等人对国产 PHG135 膨化机进行结构改造,以充当膨胀器生产膨化乳猪料。确定了用 PHG135 挤压机生产膨化乳猪的设备改造要求和生产工艺,打破了乳猪膨化料生产设备完全进口化的现状,为膨胀器的国产化提供了可靠的技术路线和参数^[44]。赵建伟等人建立了沉性/浮性水产饲料的膨化生产关键技术,最终所生产的沉性虾饲料淀粉糊化度达到 90%,浮性牛蛙料 30 分钟颗粒漂浮粒达到 95%^[45]。

四、农产品高值化挤压加工利用技术领域的发展方向

螺杆挤压机最早应用于材料科学,其基础理论起步较早,形成了多种用于描述挤压过程中流动和传热基本原理的数学模型。运用这些模型,可以实现精确的挤压机模拟设计。然而农产品工业应用挤压技术落后于材料科学行业,单纯材料体系的模型不能简单用来应用于复杂的农产品加工体系。这就要求农产品加工领域的工程师和科学家更多注重工程实践,研究特殊物料在挤压过程中的变化规律及挤压参数与农产品性质间的相互关联,并开发相应监控软件,实现挤压过程的自动化控制。因此,笔者认为以下几点值得思考:

(1) 特定农产品挤压膨化过程中的目标参数与过程参数关系研究

产品目标形状和性质如何在复杂的挤压过程中得到保证?这需要挤压物料的基础性质数据和物料在挤压过程中变化的数学模型,并构建物料性质、挤压机参数、系统参数、目标参数间的关联数据库,这也是挤压机自动化控制研究的先决条件。

(2) 农产品螺杆挤压机的自动化控制研究

积极探索计算机在挤压膨化机及其生产线设计、模拟、自动化控制方面的应用,提高整机的自动化水平、稳定性和可靠性,实现自动化开机,研究自动开机阀,简化挤压机在开、停机时的操作步骤,降低物料损失和能量损失。在这一领域,金征宇教授团队和江苏牧羊集团研究了高度柔性分散控制检测和多级分布式通信网络技术与挤压机操作的相互关系,实现了挤压工艺参数自动选择、自动修正和存储,使开机进入稳态时间由传统 6 分钟缩短为 4 分钟。

(3) 农产品挤压加工过程的可视化研究

可视化技术在航空工业的基础研究中很早得到应用,在聚合物成型加工中的研究还属刚起步不久的新技术。若应用于农产品挤压加工过程研究,可以实现直观分析农产品加工的真实过程。

(4) 农产品螺杆挤压机关键部件及挤压机耐磨材料的研发与设计

挤压机的性能在很大程度上取决于螺杆和模头的设计。螺杆参数较多,相

互之间关系复杂,其参数的确定与加工物料、产品的性能均有关系。目前,设计螺杆的主要方法是经验性的,且多数是参照塑料挤压机的设计方法,在适用于农产品的螺杆挤压机中,还缺乏一套成熟的方法。其次,挤压机本身材料也是关键因素。比如,江苏牧羊集团构建了高性能陶瓷涂层和金属陶瓷复合涂层制备新工艺,运用等离子喷涂技术将 TiO_2 、 SiO_2 和 Cr_2O_3 系列氧化物陶瓷复合涂层应用于金属表面改性处理,使螺杆使用寿命由 6000 小时提高至 12 000 小时。

(5) 研制系列多功能、多用途农产品加工膨化机

在挤压机具体设计过程中,要考虑一机多用,如一种规格的挤压机可与几种规格的螺杆或几十种挤压模头相配合,这样即可满足不同用途和要求的用户的需要。还需要重点开发更先进的双螺杆挤压机,提高挤压机的多功能性,扩大挤压机的应用领域。

五、结论

挤压技术研究依旧炙手可热,将在作为生化反应器、农产品原料预处理、挤压食品和膨化饲料等领域发挥不可替代的作用。尽管国内外围绕农产品挤压过程中的原料性质变化,挤压过程黑箱的揭示等方面取得了显著成绩,但挤压机在作为生化反应器具体应用过程中的反应原理、挤压机自动化操作、一机多用等核心问题上还有大量的理论和技术瓶颈亟需突破。本文建议未来在农产品挤压过程可视化研究、农产品目标参数与挤压参数间的关系、基于目标参数和挤压参数关联的自动化控制等方面加强基础研究和设计工作,为推动农产品高值化加工利用进程提供必要的理论指导和新的技术方法。

参考文献

1. van de Voort, F. R. Drying Technology[J]. Food Extrusion Science and Technology, 1993, 11(2):417-418.
2. Rokey, G., Plattner, B. Process description: pet food production[J]. Science of Food and Agriculture, 1995, 3:1-18.
3. Jose, A. G. Extrusion of food proteins[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1992, 32(4): 365-392.
4. Akdogan, H. High moisture food extrusion[J]. Food Science and Technology, 1999, 34:195-207.
5. 邓洁红, 曹乐平. 螺杆挤压机在膨化食品生产中的应用包装与食品机械

[J]. 包装与食品机械, 2004, 22(5): 30 - 32.

6. 焦爱权. 双螺杆二次挤压法生产脱水方便米饭的工艺研究[D]. 江南大学硕士学位论文, 2008.

7. 金征宇. 挤压食品[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.

8. Kokini, J. L., Chang, C. N., Lai, L. S. The role of rheological properties on extrudate expansion[M]. In: Kokini JL, Ho C - T, Karwe MV, eds. Food extrusion science and technology. New York: Marcel Dekker Inc, 1992, 631 - 653.

9. Vergnes, B., Valle, G. D., Colonna, P. Rheological properties of biopolymers and applications to cereal processing[M]. In: Gonül Kaletunc, Ken neth J. Breslauer, eds. Characterization of cereals and flours: properties, analysis, and applications. New York: Marcel Dekker, 2003.

10. 赵学伟. 食品挤压膨化机理研究进展[J]. 粮食加工, 2010, 35(2): 59 - 65.

11. Cisneros, F. H., Kokini, J. L. A generalized theory linking barrel fill length and air bubble entrapment during extrusion of starch[J]. Food Engineering, 2002, 51(2): 139 - 149.

12. Meuser, F., Gimmler, N. Extrusion Science and Technology[M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1992: 619.

13. Strahm, B. Fundamentals of polymer science as an appoied extrusion tool[J]. Cereal foods world, 1998, 43(8): 621 - 625.

14. 庄海宁. 双螺杆挤压机生产和人造米及挤压系统模型的研究[D]. 江南大学博士论文, 2011.

15. Moretti, D., Lee, T. C., Zimmermann, M. B., et al. Development and evaluation of iron - fortified extruded rice grains[J]. Food Science, 2005, 70(5): 330 - 336.

16. Lee, Y. T., Schwarz, P. B. Physical and cooking properties of restructured grain extruded from selected cereal and legume flours[J]. Food Science and Biotechnology, 2004, 13(4): 438 - 442.

17. Su, C. W. Effects of eggshell powder addition on the extrusion behaviour of rice[J]. Food Engineering, 2007, 79: 607 - 612.

18. Moad, G. Chemical modification of starch by reactive extrusion[J]. Progress in Polymer Science, 2011, 36(2): 218 - 237.

19. Baks, T., Kappen, F. H. J., Janssen, A., et al. Towards an optimal process for gelatinisation and hydrolysis of highly concentrated starch - water mixtures

with alpha – amylase from *B. licheniformis*[J]. *Cereal Science*, 2008, 47: 214 – 225.

20. de Graaf, R. A. , Janssen, L. The hydroxypropylation of starch in a self – wiping twin screw extruder[J]. *Advances in Polymer Technology*, 2003, 22(1) : 56 – 68.

21. Radosta, S. , Vorweg, W. , Ebert, A. , et al. Properties of low – substituted cationic starch derivatives prepared by different derivatisation processes [J]. *Starch Starke*, 2004, 56(7) : 277 – 287.

22. Tara, A. , Berzin, F. , Tighzert, L. , Vergnes, B. Preparation of cationic wheat starch by twin – screw reactive extrusion[J]. *Applied Polymer Science*, 2004, 93(1) : 201 – 208.

23. Ayoub, A. , Berzin, F. , Tighzert, L. , Bliard, C. Study of the thermoplastic wheat starch cationisation reaction under molten condition [J]. *Starch Starke*, 2004, 56(11) : 513 – 519.

24. Hanna, M. A. , Fang, Q. Starch esterification by reactive extrusion[J]. *Agrofoodindustry hi – tech*, 2002, 13(2) : 33 – 36.

25. Miladinov, V. D. , Hanna, M. A. Starch esterification by reactive extrusion [J]. *Industrial Crops and Products*, 2000, 11(1) : 51 – 57.

26. Rudnik, E. , Zukowska, E. Studies on preparation of starch succinate by reactive extrusion[J]. *Polimery*, 2004, 49(2) : 132 – 134.

27. Hakulin, S. , Linko, Y. – Y. , Linko, P. , et al. Enzymatic conversion of starch in twin screw HTST extruder[J]. *Starch Starke*, 1983, 35(12) : 411 – 414.

28. Chouvel, H. , Chay, P. B. , Cheftel, J. C. Enzymatic hydrolysis of starch and cereal ? ours at intermediate moisture contents in continuous extrusion reactor [J]. *LWT – Food Science and Technology*, 1983, 16: 346 – 353.

29. Tomas, R. L. , Oliveira, J. C. , McCarthy, K. L. Influence of operating conditions on the extent of enzymatic conversion of rice starch in wet extrusion[J]. *LWT – Food Science and Technology*, 1997, 30(1) : 50 – 55.

30. Govindasamy, S. , Campanella, O. H. , Oates, C. G. . The single screw extruder as a bioreactor for sago starch hydrolysis[J]. *Food Chemistry*, 1996, 60(1) : 1 – 11.

31. Vasanthan, T. , Yeung, J. , Hoover, R. Dextrinization of starch in barley flours with thermostable alpha – amylase by extrusion cooking[J]. *Starch Starke*, 2001, 53(12) : 616 – 622.

32. Mesa - Stonestreet, N. J. , Alavi, S. , Gwirtz, J. Extrusion - enzyme liquefaction as a method for producing sorghum protein concentrates[J]. Food Engineering, 2012, 108: 365 - 375.
33. Govindasamy, S. , Campanella, O. H. , Oates, C. G. High moisture twin screw extrusion of sago starch. II. Saccharification as influenced by thermomechanical history[J]. Carbohydrate Polymers, 1997, 32(3): 267 - 274.
34. Linko, P. , Hakulin, S. , Linko, Y. Y. Extrusion cooking of barley starch for the production of glucose syrup and ethanol[J]. Cereal Science, 1983, 1(4): 275 - 284.
35. Linko, P. , Hakulin, S. , Linko Y. Y. HTST - extrusion cooking in ethanol production from starchy materials[J]. Enzyme and Microbial Technology, 1984, 6(10): 457 - 461.
36. 申德超, 王国庆, 马成业. 低温挤压加酶大米作啤酒辅料的糖化试验[J]. 农业机械学报, 2010, 41(10): 152 - 158.
37. 马成业, 申德超. 脱胚玉米添加中温酶挤出物制取葡萄糖浆试验研究[J]. 农业机械学报, 2010, 41(5): 126 - 130.
38. 徐学明, 李永富, 金征宇, 等. 全脂米糠膨化[J]. 粮食与饲料工业, 1997, (7): 17 - 19.
39. 徐树来. 挤压加工对米糠 IDF 持水力的影响[J]. 农机化研究, 2008, (12): 122 - 124.
40. 朱建津, 徐学明, 谢正军, 等. 膨化蓖麻粕的饲用[J]. 无锡轻工大学学报, 2000, 19(1): 83 - 86.
41. 金征宇, 朱选, 张晓鸣, 等. 挤压机用作反应器对田菁籽粉去毒处理的研究[J]. 中国粮油学报, 1996, 11(6): 55 - 60.
42. 朱选, 金征宇. 羽毛角蛋白挤压机制的研究[J]. 中国粮油学报, 1998, 13(4): 16 - 19.
43. 金征宇, 徐学明, 钱建华, 等. 饲用全脂大豆挤压加工的生产试验研究[J]. 粮食与饲料工业, 1996, (6): 21 - 23.
44. 谢正军, 徐学明, 刘国华. 乳猪料膨化工艺的研究[J]. 粮食与饲料工业, 1998, (12): 22 - 25.
45. 赵建伟, 金征宇. 单螺杆挤压沉性膨化饲料的工艺研究[J]. 饲料工业, 2004, 25(5): 30 - 34.



金征宇 教授,长期从事碳水化合物资源开发与利用领域的教学和科研工作,在农产品高值化挤压技术、淀粉资源加工、环糊精改性与应用等研究领域取得突破。先后主持和承担国家自然科学基金重点、国家 863 计划、国家科技支撑计划等国家级课题 12 项;发表 SCI 论文 118 篇;主编出版教材和科技专著 8 部;获授权国家发明专利 19 项,并获国家科技进步奖二等奖 3 次(2007,2009,2011 年)、国家教学成果奖二等奖 2 次(2001,2005 年)及 2010 年获评全国优

秀博士学位论文指导教师。

创新行业节能减排降耗, 推进酿酒产业可持续发展

徐 岩

江南大学生物工程学院酿酒科学与酶技术中心

一、前言

中国酿酒产业和社会的发展紧密相连,对我国经济、就业、产业发展等方面具有重大推动作用,一直以来酿酒工业为社会经济及国家的发展做出了突出贡献。“十一五”以来,酿酒工业发生了重大变革,在产业规模、技术改造、节能减排、产品质量、食品安全、人才建设、社会责任、经济效益等诸多方面都取得了较好的成绩,全行业保持了良好的发展态势,产业结构得到调整,技术进步加速,产品创新能力不断增强,产业链优势已基本形成,整体经济运行质量保持稳步提高。总体来看,白酒产量稳中有增,低度白酒有了较大的市场空间,品质稳定的优良白酒越来越受到消费者的青睐;啤酒产量稳步上升,连续8年居世界第一,风味向低浓度、低色泽、不同口味、多品种方向发展;葡萄酒产量多年来保持两位数的快速增长,全汁葡萄酒已成为主流,干型、半干型占到总产量的一半以上;黄酒克服地域界限,开始向北方扩张。

行业在“保增长、扩内需、调结构”发展主线上取得了卓著的成效。2011年,酿酒行业规模以上企业2254家,全国饮料酒及发酵酒精生产量达7103万千升,工业总产值6699亿元,主营业务收入6631亿元,利税总额1518亿元,其中利润807亿元。

随着科学发展观的深入,全行业循环经济、清洁生产、节能减排得到加强。“十一五”期间,酿酒行业积极贯彻落实《国务院关于印发节能减排综合性工作方案的通知》,履行淘汰落后产能任务,在酒精、白酒、啤酒、黄酒、葡萄酒、果露酒等行业积极推广循环经济的理念和生产方式,提倡综合利用,搞好“三废”治理,实现清洁生产,取得了显著的效果。

2012年4月25日,中国酿酒工业协会在北京举行的“中国酿酒产业两化融合、两型企业战略推进”会上,北京燕京啤酒股份有限公司、青岛啤酒有限公司、

广州珠江啤酒股份有限公司、四平金士百啤酒股份有限公司、贵州茅台酒股份有限公司、安徽古井贡股份有限公司和安徽丰原生物化学股份有限公司等7家酒企首批进入“资源节约型、环境友好型”试点。又进一步加快、推进了行业节能减排的低碳经济,环境友好发展模式。

二、酿酒行业节能减排现状

近年来,酿酒行业积极贯彻落实了《国务院关于印发节能减排综合性工作方案的通知》,开展了履行淘汰落后产能任务,在酒精、白酒、啤酒、黄酒、葡萄酒、果露酒等行业积极推广循环经济理念和生产方式,提倡资源综合利用,搞好“三废”治理,实现清洁生产,取得了显著的成效,为建设节约型社会做出了应有的贡献。

(一) 白酒

清洁生产和环境保护,一直是白酒行业重点解决的难题。白酒工业在加速结构调整,推动行业整合,促进中国白酒产业升级;积极履行使命,注重质量提升,关注食品安全,坚持诚信经营,营造中国白酒行业良好的竞争环境;彰显以酒文化为核心的软实力,加速企业文化建设,推动文化战略,实现中国白酒发展新突破;要加强品牌整合,参与国际竞争,做大做强做久白酒业民族品牌的同时,更加重视了生态文明建设,环境保护,节能减排和循环经济建设,开创了中国白酒行业发展新途径。

如五粮液股份有限公司、内蒙古河套酒业集团、劲牌有限公司、洋河酒厂股份有限公司、今世缘酒业股份有限公司等一批骨干企业勇于创新,积极投入到白酒机械化生产的研究和成果应用,制曲、发酵、蒸馏工艺、调酒、灌装、包装、成品库智能管理等生产、工艺环节逐步提升了机械化、自动化程度和智能化管理,改变了传统白酒生产机械化、自动化程度低,高消耗、高排放、低效率的粗放型增长方式的传统生产方式。

再如,行业龙头企业茅台开展了“有机原料—白酒—酒糟—蛋白质、有机肥—有机原料”生物质循环为主载体的工农业有机结合的可持续和谐发展循环经济产业链生产模式,利用“酒糟生物质工程蝇转化核心技术”、“有机肥生产加工技术”、“工程蝇活性蛋白加工技术”、“工程蝇壳聚糖加工技术”、“高浓度有机废水再利用技术”等形成实现酒糟的资源化再利用;通过冷却水循环利用及锅底水处理项目;通过对生产车间耗能设备节能改造和全厂照明系统节能灯改造;强化有机农作物种植基地项目等项目集成实施节能降耗,倡导绿色环保、清洁生产的循环经济发展模式,提高了资源的利用效率,实现了经济的有效增长。这些行业大企业开展的节能、减排、降耗等清洁生产、循环经济发展生产模式带动和逐

步引领整个行业生产方式的现代化发展模式。

(二) 啤酒

啤酒企业清洁生产,主要是通过加强用能管理,采用麦汁一段冷却工艺、糖化热能回收、糖化热水回收、热电联供回收系统、沼气回收系统^[1],以及系统技术工艺改造,减少能源的消耗,达到节能、降耗、减污,降低生产成本,增加经济效益目的,同时减少废弃物的排放,保护环境,为人类社会的可持续发展作出贡献。

近年来,我国啤酒行业循环经济取得了显著成效,与未开展循环经济之前相比,11度啤酒耗粮降低了8.4%,取水指标下降了29.7%,电耗下降了12.2%,煤耗下降了14.5%,综合能耗下降了17%;啤酒行业新技术应用发展迅速,蒸汽冷凝水回收利用等新技术被迅速推广;啤酒工业循环经济应用的新技术内容越来越广泛;在原有循环经济项目的基础上,研究创新了许多新技术,并被应用取得了较好效果。青岛啤酒股份有限公司、燕京啤酒(桂林漓泉)股份有限公司、华润雪花啤酒技术中心、广州珠江啤酒公司等企业在节能减排、发展循环经济方面应用了新技术,并取得良好的效果。

啤酒企业开展的清洁生产,实施污染防治,也是实现节能减排目标的重要手段^[2]。如在生产过程,麦芽粉碎采取增湿粉碎;回收利用麦汁煮沸工艺段的煮沸锅的蒸汽废热,还可利用二次蒸汽制冷,用废蒸汽预热蒸发制冷介质;通过压缩提高二次蒸汽的压力和温度,使之直接成为麦汁煮沸的热源。在节能减排方面取得了显著的成绩。

(三) 葡萄酒

通过清洁生产节水、减排、循环再利用的实施,贯彻葡萄酒生产企业清洁生产方针,通过技术改造获得了良好的经济效益^[3];通过示范带动,引导葡萄种植户改善种植方式,引领葡萄酒行业生产向清洁生产,节能减排发展。

(四) 酒精

酒精行业的酒糟是最严重的污染源之一。其污染负荷高,直接排放不仅会造成环境污染,而且将可利用资源白白浪费掉。如何将废渣和沼气进行混合燃烧,以沼气、木薯渣为主要燃料,实现节能目的,是当前亟待解决的技术难题。可以采用新技术新设备对沼气、废渣锅炉混烧,实现节能减排。同时,在酒精生产中合理使用能源,搞好酒精蒸馏工段的余热回收,重复利用余热,既可节约能源,又可降低成本,提高企业经济效益的综合节能技术的应用也得到快速发展^[4]。如:由天冠集团与清华大学合作共同实施的“酒精工业园区资源循环利用关键技

术开发及应用”项目重点研发循环经济关键链接技术如乙醇生产乙烯和生物法1,3-丙二醇技术等,建立生物质炼化系统分析与集成软件平台,在天冠企业集团实施多项先进软、硬支撑技术的集成,建立生物质炼化产业循环经济示范,达到资源、能源的高效利用和废物的减排,实现产业的可持续发展,形成生物质炼化循环经济系统分析集成方法和技术体系,并丰富循环经济和生态工业理论。该项目实施生物质炼化产业循环经济,达到资源、能源的高效利用和废物减排,实现产业的可持续发展,起着很好的推动作用,将为我国循环经济产业的发展做出积极贡献。

三、酿酒行业节能减排关键技术

针对酿酒行业节能减排任务重、压力大,通过产学研联合攻关,加强了科研攻关解决制约行业循环经济发展中的重大关键技术瓶颈问题,如中国白酒行业的“169”计划、“158”;高浓度废水处理关键技术、酒糟资源化再利用产业化示范关键技术等研究及其成果应用。啤酒行业的重点研究课题:麦汁煮沸新技术和二次蒸汽的回收利用;蒸汽冷凝水的高温密闭回收;啤酒废水处理的综合利用(沼气、中水);酒精行业主要淘汰高温蒸煮糊化工艺、低浓度发酵工艺等落后生产工艺装置等。再如,酒精工业开展循环经济的关键技术主要有:酒精浓醪发酵法生产酒精,提高可节水、节能、设备利用率,减少生产排污,降低成本研究应用;采用新工艺、新技术,提高冷却水重复利用率,降低水耗,实现节水及废水回用;以差压蒸馏为主的蒸汽节能技术,通过蒸馏系统中的高、低能级物料耦合,达到节能的效果;采用高效干燥系统以及多效蒸发系统,充分利用干燥二次蒸汽,降低新蒸汽的消耗量,等等。

(一) 白酒行业节能减排关键工艺技术

围绕白酒产业针对固态发酵的原料、酿酒工艺、产品及酿造生态环境等方面对生产工艺与装备的要求,以及能源利用指标、产品指标、污染物产生指标、废物回收利用指标和环境管理等标准要求,进行大量科技攻关,形成完善的系统理论和系列技术研究应用成果,从而促进行业朝着“节能环保、低碳高效、清洁生产、循环经济”方向发展。

(1) DDGS 生产技术

采用 DDGS 生产技术对酒精废液进行处理^[5]。主要包括:酒糟废液的分离、分离液的蒸发缩浓和浓缩液与酒糟混合物的干燥等。其节能方案一般包括工艺方案和设备方案两方面。在工艺上采用多效蒸发工艺;工艺设备选型上采用卧式离心机进行酒糟废液的分离、选择圆盘式干燥器作为干燥设备。

(2) 新型过滤设备

采用 PTFE - NF 聚乙烯树脂高分子材料为滤材,设计研发了 NFGL - 4 型白酒设备综合处理成套设备,并在前端加上水质处理系统和白酒初过滤系统,彻底解决了白酒变温返浊的难题^[6]。该成套设备处理的酒体,符合国家的相关标准,而且对酒质无改变、数量无损耗、防爆节能,提高了白酒的产量和品质,并且可极大降低操作成本,获得了更高的社会效益和经济效益。

(3) 采用中水加压泵变频方式回收水

采用变频组合方式调节系统处理白酒厂废水回用于酒班冷却、住宅楼及厂区冲厕、葡萄园浇地、基建用水、厂区绿化等^[7]。该变频供水系统,在确定变频供水方案时,从工程常用的变频组合方式出发,考虑了水流量范围的流量波动,灵活选泵,使变频调速适用于各种可能的流量,达到充分节能的目的,不仅运行效果稳定,而且有效避免了水泵的频繁启动,可以实现节能,效果明显。

(4) 利用沼气发酵法对白酒酿造废水进行处理

白酒企业酿造过程产生的副产物废水主要是黄水和底锅水,其富含有机物,直接排放会对环境造成严重污染,既浪费了大量的水资源又使黄水和底锅水中的成分未被有效的开发利用。而且酿酒废水为高浓度污水,进入污水处理站会增加污水处理成本^[8,9],而经过沼气池发酵产生沼气后的废水,只需再进行耗氧处理,就可达标排放。因此,利用白酒酿造废水中的有机成分发酵生产沼气,将所产沼气经气水分离,以及脱硫处理后送储气柜,通过管网送锅炉作为燃料烧锅炉,供白酒蒸馏用蒸汽,进行综合利用,可以减少企业煤炭消耗,节约能源,降低生产成本,实现白酒酿造废水的节能减排,从而提高企业经济效益。

据报道白酒龙头企业五粮液日处理高浓度废水 12 000 吨,厌氧发酵日产沼气全部输送到煤沼混烧锅炉生产蒸汽,可替代原煤约 100 吨/d,减少煤渣排放量约 40 吨/d,节约燃料费 3.2 万元/d。剑南春也早在 2004 年就建起了沼气处理酿酒污水工程,年处理酿酒污水 240 万吨,年回收沼气用作烤酒的燃料,创直接经济效益 1000 余万元。可见白酒酿造废水发酵生产沼气的综合利用,可以实现变废为宝,节能减排,清洁生产。

还有,实施“中水综合利用节水技术改造”工程,将原达标排放的水再经石英沙、无烟煤层过滤,最后氯气杀菌消毒,然后变成无毒无害的中水水质完全达到国家饮用水标准,可重复用于蒸馏冷却用水,锅炉除尘、炉渣冲灰,工业园林浇灌,草坪绿化、树木浇灌以及冲洗厕所等^[10]。这也是实现水资源变废为宝、资源循环、无毒无害的节能减排战略。

(5) 废渣

其次是废渣,包括酒糟及炉渣。对酒糟进行综合利用,根治污染,将酒糟转

化为家禽、家畜富含营养、便于长期贮存无污染的混合干饲料,用于养牛、猪、鸡、鱼等饲料,既肥家禽牲畜,又肥田,无毒无害,循环利用^[10]。还可以将酒糟进一步醇溶提香后再制作饲料,使酒糟的利用价值再度提高。

(6) 炉渣、废气

将炉渣“废物变宝”,主要是利用炉渣可制造空心砖、做成较硬的炉渣砖块作为建筑材料或用于屋顶保温层材料。实现节能、降耗,废物综合利用。

对废气进行除尘减污,除尘设备采用湿法水膜除尘,在末级除尘池内添加潜水泵,铺设循环管道,完成除尘水循环再利用,节水增效又环保,一举数得。同时,采用燃气式锅炉,也可彻底解决燃煤的污染^[10]。

(7) 热能回收

热能回收主要是开展提高换热效率,降低能源消耗。通过提高锅炉煤燃烧效率或利用燃气增压热交换系统及其配套系统进行热能的高效利用和回收,实现节能降耗^[10]。

(8) 原粮汽爆熟化技术

2012年,沱牌舍得公司自主研发了原粮汽爆技术。原粮汽爆熟化突破性地采用蒸汽弹射技术,瞬间完成绝热膨胀做功,物料胞间层解分离,使原粮在10秒内完成熟化。具有绿色、低碳、可持续发展特性。汽爆熟化原料出酒率高、生产周期短,疏松度好,可降低1%的糠壳用量,同时提升了传统酿酒工艺机械化、自动化程度,实现能源消耗和废水排量均大幅度降低。原粮汽爆熟化技术具有较好的实用性,在全白酒行业推广应用预计年可净增效益100亿元。

(二) 啤酒行业节能减排关键工艺技术

(1) 原料麦芽粉碎

啤酒生产原料麦芽的粉碎有三种方式:干法粉碎、增湿粉碎和湿法粉碎。采用增湿粉碎,在粉碎之前用水或蒸汽进行增湿处理,使麦皮水分提高,增加其柔韧性,粉碎时达到破而不碎的指标要求,增加粉碎效率,降低粉碎能量^[11-13]。

(2) 应用高效酶制剂

采用在糖化工段添加 β -淀粉酶,增加糖化效果,应用酶制剂可使大麦等谷类替代部分麦芽,改进啤酒工艺,经济效果良好,可以实现啤酒工业节约麦芽,扩大生产,降低成本,实现生产过程的节能减排^[14,15]。

(3) 新技术、新工艺

通过优化麦汁煮沸工艺,在不影响产品质量的前提下,降低煮沸强度,不仅可提高产品的非生物稳定性,改善啤酒口感,还可实现降低消耗、节能增效。

采用麦汁一段冷却新技术,通过氨蒸发制冷,用3~4℃的冰水一次将热麦

汁冷却到 $7 \sim 8^{\circ}\text{C}$, 排出 $75 \sim 80^{\circ}\text{C}$ 的热水, 可以直接进入酿造热水罐, 作洗槽水和糖化下料水。实现麦汁冷却水的充分利用, 大大降低耗水量。该工艺可以降低能耗, 节电 40.5% ; 节约热能, 麦汁热回收率 $90\% \sim 95\%$; 降低水耗, 节约麦汁冷却水 40% ; 降低辅助材料酒精的消耗, 一段冷却以水作载冷剂, 酒精用量分别降低 29% 和 30% ^[16-18]。

(4) 热能回收利用

啤酒生产过程的热能消耗除 CIP 和热水制备外, 主要耗能集中在醪液升温、麦汁升温以及麦汁煮沸等工段。因此, 在麦汁煮沸工段实施节能降耗技术回收煮沸蒸汽节能, 包括采用蒸汽冷凝器回收蒸汽, 采用蒸汽压缩机节能, 采用新型煮沸系统节能, 采用 Merlin 煮沸系统节能, 采用柔和煮沸系统节能, 采用 Stromboli 煮沸系统节能 ^[19,20]。这些节能效果都十分明显。

又如: 青啤人采用“余热制冷”新技术, 利用冷凝水的余热来生产冷却麦汁用的冰水, 大大降低了制冷系统的电耗。以一个 20 万吨的工厂为例, 每年节约资源消耗 100 万元左右。2009 年, 青啤公司重点推行的糖化热能回收、锅炉运行控制优化、二氧化碳节能模块等项节能技术, 共节约成本 7600 多万元。相比 2006 年, 水单耗同比降低 27% , 电单耗同比降低 19% , 标煤单耗同比降低 28.8% 。

(5) CO_2 回收系统节能技术

CO_2 是啤酒发酵过程的副产物, 对 CO_2 的回收利用也是啤酒生产过程的节能增效极点。可以将 CO_2 经过洗涤、净化、压缩、干燥、冷却、液化等过程回收二氧化碳 ^[11]。可以对 CO_2 回收系统中二氧化碳液体汽化过程 ^[21] 进行改造, 通过 CO_2 蒸发冷凝系统和冷量回收利用系统技术, 将传统蒸汽对二氧化碳液体进行加热汽化改为利用二氧化碳作制冷剂, 利用循环高浓酒精进行热交换汽化, 提高二氧化碳回收系统的蒸发效率, 减少 CO_2 汽化时消耗的蒸汽使用量; 利用冷量回收用于糖化制冰水系统来达到节约蒸汽和制冷用电, 减少冷站糖化系统制冰水的耗电量; 提高制冷系统的效率和能力, 这样可以节能, 提高经济效益。

(6) 发酵过程微机自动控制

在啤酒发酵工艺过程涉及很多条件参数。发酵参数的控制, 不但是保障发酵质量的过程, 保证产品质量的控制过程, 同时控制好发酵工艺, 也可以实现节能降耗 ^[22]。发酵过程采用微机自动控制, 使特定阶段条件参数与设定的工艺曲线相吻合以外, 可控制罐内气体的有效排放, 以使罐内压力符合工艺要求, 实现有效节能 ^[23,24]。

(7) 废酵母回收综合利用

采用废酵母回收利用技术, 将废酵母泥干燥生产饲料酵母 ^[25]; 利用酵母破

壁后生产营养液和浸膏、核苷酸类药物;还可制取其他生化药品,可以实现废物利用,增效减排^[26]。

(8) 综合系统技术节水

啤酒厂的节水降耗措施主要包括^[27-29]:(1)生产过程中采用一段冷却法,将回收热水用于糖化投料和其他生产用水。(2)回收麦汁薄板冷却水,用作糖化、糊化下料水或洗槽用水。(3)使用高效泡沫清洗剂清洗糊化锅、糖化锅、煮沸锅、回旋沉清槽等,可以节约冲洗用水。(4)回收发酵罐/清酒罐洗涤水,将前罐最后冲洗水作为下一罐洗罐的头道水或冲地之用;将发酵麦汁管路及清酒过滤机的杀菌用水,用作发酵大罐/清酒罐的清洗用水。(5)采用错流过滤代替硅藻土过滤等用新设备、新技术,可以节约水耗,降低酒损和化学清洗剂用量,降低啤酒浊度。(6)回收洗瓶机后工序漂洗水直接用于洗瓶机前段预洗或冲洗地面。

以上节水措施均可使啤酒生产过程节约大量生产用水,实现降耗。

(9) 污水曝气系统的节能改造

改造啤酒厂污水曝气系统,依据污水站的运行数据计算供气量,确定系统采用的曝气器型号与数量,及离心风机运行参数,合理选择离心鼓风机来匹配曝气系统的运行^[30,31]。实施工艺、设备、降污与增效的合理性、科学性^[32,33]。可以实现节能、稳定生产,降低污水处理用电单耗,具有明显的经济效益^[34]。

(三) 葡萄酒行业节能减排关键工艺技术

(1) 过滤系统改造

通过清洁生产改造,过滤采用进口全自动错流设备来改进过滤工艺、设备装备,减少工艺污染物排放,节约耗材并节约下游膜过滤工序的滤芯耗材,过滤后的固性物可以回收再利用^[3]。

(2) 灌溉方式技术改造节水

灌溉技术主要用于葡萄园的灌溉,通过低压管道系统将水和作物需要的养分均匀而又缓慢地滴入作物根区土壤中的滴灌技术。该方法不会破坏土壤结构,土壤内部水、肥、气、热,可以保持适宜于作物生长的良好状况,蒸发损失小,不产生地面径流,几乎没有深层渗漏,是一种先进的灌溉方式。滴灌技术比传统的灌溉节省用水 70%^[3]。

(3) 污水回收利用

葡萄酒生产过程过滤、清洗等产生大量污水,而且污水处理时存在除色降酸等技术困难,污水处理压力很大。根据生产实际可改进污水处理工艺,增大调节池、好氧池并增加厌氧处理系统,可解决葡萄酒污水脱色和以往工艺不能稳定达标排放的难题。将生产排放的废水经管道汇集后重新进入污水处理系

统。废水集中流入格栅集水井,通过初沉池预处理和调节池处理,再进行 IC 反应处理、好氧处理,进一步去除有机物,达到降污目的^[3]。可以最大限度地使水资源得到充分利用,以最少的环境代价和能源、资源的消耗获得最大的经济发展效益。

(四) 黄酒行业节能减排关键工艺技术

(1) 采用闭路循环节水节能

传统发酵罐的冷却水在生产过程采用自然冷却,换热慢、耗水量大而且冷却水自然排放,导致发酵温度难以控制^[35]。采用闭路循环的冷冻水进行冷却,对发酵罐进行保温,可大大减少冷量损失和污水排放,降低能耗。

(2) 发酵曲房自动控制系统应用

制曲培养实施人工控制,采用通风机不仅功率和能源浪费大,并且稳定性差。因此,在曲房培曲过程采用自动控制系统,根据曲层堆放厚度通风采用变频风机,既保障了制曲的生产,又可降低能耗^[36]。

(3) 灌装

采用坛酒灌装流水线,改变传统手工操作,实现工业化生产,可以节约劳动力 50% 左右;同时,将喷淋用水采用直接加热和循环使用,也大大节约能源。

(4) 余热回收

蒸汽余热回收等节能改造,可节约用电、节约用煤。

(五) 酒精行业

(1) 废水处理

用平板渗透气化膜(PV)分离除水,可实现节水节能 99.3%,相比煮沸蒸馏脱水节能 22.36 倍,比分子筛法节能 13.04 倍,比加盐萃取精馏节能 6.46 倍^[37,38]。

同时,可利用废水含残留糖分、有机酸、氨基酸、酵母碎片等培养嗜酸酵母生产蛋白饲料酵母,可大幅度降低 COD_{CT} 与 BOD_5 ,实现废水废渣综合利用增效^[39]。

(2) 木薯渣颗粒燃料应用

将木薯渣采用分级固液分离后,脱水、挤压成颗粒燃料,其热值可达到 6280 kJ/kg(含水率 60%);1 t 木薯废渣的热值约等于 0.28 t 原煤(原煤热值 23 023 kJ/kg)。应用木薯渣颗粒燃料可以提高锅炉燃烧效率 10% 以上。利用木薯渣燃料后,按每吨酒精生产消耗原煤 150 kg 计算,基本能达到酒精生产用煤的零消耗^[40-42]。并可实施热电联产,实现减排、降耗、节能。

(3) 沼气利用

提高沼气利用率,通过自动调控沼气与空气的混烧比例,实现沼气燃烧系统的优化配置。改变传统链条炉排下送风燃烧方式缺点,在炉膛前、后拱出口处增设二次风装置,提高热能利用效率^[43-45]。利用沼气比燃煤可以减少二氧化碳排放,可实现酒精生产用煤、用电的零消耗,实现真正意义上的循环经济。

(4) 过程工艺优化

将工业乙醇生产的一级精馏系统和燃料乙醇生产的加盐萃取精馏系统合并^[46],在差压精馏节能技术的基础上,对蒸馏工艺的醪塔、精馏塔、萃取剂回收塔最佳理论塔板数、塔顶压力、回流比等参数进行优化,提高生产效率^[47,48]。另外,采用热能耦合、闪蒸技术、设置中间再沸器等一系列节能措施,对热量进行充分利用,使冷却水以及加热蒸汽的用量大大减少^[49,50]。

(5) 热耦合技术应用

如在糖蜜酒精生产过程,采用酒精差压蒸馏和废液浓缩热耦合装置及其工艺可实现热电联产技术^[51]。采用蒸馏加二段浓缩工艺,将糖蜜原料的酒精差压蒸馏和废液浓缩热耦合,实现蒸馏工段与废液蒸发浓缩工段的能量相互匹配利用,从而降低糖蜜原料生产优级食用酒精的蒸馏和废液浓缩处理的蒸汽总消耗,可节省蒸汽约 30% ~ 40%,节约冷却水消耗约 25 t/t 成品酒精,两级多效真空蒸发浓缩,可以延长设备结垢周期,易于检修。

采用多级差压热耦合技术使发酵法生产特优级食用酒精的蒸汽总消耗降到 2.2 ~ 2.5 t 蒸汽/t 成品,比目前国内生产优级食用酒精的 3.0 ~ 4.2 t 蒸汽/t 成品的蒸汽消耗节省约 30% 以上。

(6) 废液焚烧锅炉 + 发电(热电联产)

将从增浓装置出来的浓浆液进废液锅炉进行焚烧处理^[51],燃烧后产生的蒸汽带动汽轮发电机组发电,实现热电联用,比传统浓缩工艺节约 52% 的用汽量。

(7) 玉米酒精糟液污染节能减排技术

玉米酒精糟中含有大量的蛋白质、脂肪等,具有丰富的有机成分,是极好的畜、禽饲料^[52]。目前,主要采取将玉米酒精糟制取全干燥蛋白饲料(DDGS);玉米酒精糟固液分离、滤渣直接做饲料或生产 DDG 蛋白饲料、滤液稀释排放;玉米酒精固液分离、滤渣直接做饲料或 DDG 蛋白饲料、滤液 30% ~ 50% 回用于生产;玉米酒精糟固液分离、滤渣直接做饲料或生产 DDG 蛋白饲料、滤液厌氧发酵生产沼气等四种方式方法。

膜处理技术的使用可最大限度地利用能源和水资源,可大幅提高废水的回用率,大幅减少废水排放量,大幅降低酒精废水处理费用,其环境效益也非常好。采用膜技术处理酒精废糟液,可降低酒精生产成本 100 元/吨酒精,能耗可降低

8%, 水耗量降低 40%, 环保费用降低 40%^[52,53]。

(8) 酸性酒精糟液节能处理

对以玉米为原料发酵生产酒精产生的酸性酒精糟液,其排出时温度为 80 ~ 90℃,含固量为 2%,COD 浓度较高、酸度高。可采用酯基阳离子双子表面活性剂和生物制剂复合对酸性废液进行絮凝处理,具有很好的效果^[54]。处理后的清液无毒可进行回用及利用。处理工艺简单,节省蒸发设备,降低生化处理负荷,实现节能减排。

“酒精工业园区资源循环利用关键技术开发及运用”课题开展了生物质能源与化工产业系统的循环经济研究,研发了产业链接关键技术,建成了具有自主知识产权的万吨秸秆乙醇、五千吨可降解塑料、千吨 1,3 - 丙二醇示范生产线及日产 1 吨生物乙醇 - 乙烯中试生产线。2010 年与 2006 年相比,实现园区每年节水 500 万吨、节能 6.1 万吨标煤;酒精原料消耗降低 10%,万元产值能耗降低 35%,吨乙醇水耗降低 50%,节能减排成效显著,社会、经济、生态环境效益良好,初步形成了酒精工业循环经济示范园区。

四、酿酒行业节能减排应对措施

(一) 科学规划,明确目标

2012 年 3 月 2 日,工业和信息化部等部门公布了《工业清洁生产推行“十二五”规划》,明确了“十二五”期间工业清洁生产总体目标和主要任务。同时,《“十二五”酿酒产业发展规划》进一步明确强调,清洁生产和低碳发展是酿酒行业科技创新和科技进步的重要步骤和手段,也是促进酿酒行业经济发展和方式转变的需要。全行业要从生产、流通、消费等各个环节入手,强调“减量化、再利用、资源化”,减少资源消耗和污染排放。《规划》对“十二五”期间倡导清洁生产、低碳发展,完成节能减排目标做出了具体安排和要求。

白酒行业:将着力解决降低粮耗,提高出酒率;废水综合利用;旧瓶循环利用;建立生态园区和解决 PET 瓶的应用等,实现社会、经济 and 环境的和谐发展。

啤酒工业:推进麦汁煮沸新技术(包括低压煮沸、低压动态煮沸技术、煮沸锅二次蒸汽回收技术),麦汁冷却过程真空蒸发回收二次蒸汽技术、沼气综合利用技术,再生水的回用技术,碱液回收循环利用技术、提高二氧化碳回收率技术等清洁生产技术,达到行业普及率分别提高到 50%、50%、45%、90%、90%、100%。

黄酒行业:到 2015 年达到清洁生产指标的企业达 95%,做到废水治理达标后方可排放;纳入地方废水管网的企业,也要逐年减少排放量。

酒精行业:推进清洁发展战略,引导企业积极开发清洁发展机制(CDM)项

目。淘汰落后产能的目标,坚决淘汰和关闭落后小企业和环保不达标企业,减少污染物排放,降低单位产品能耗、粮耗和水耗;到 2015 年,实现吨酒精(95% V/V)玉米消耗在 3.1 吨以下、能耗消耗在 500 kg 标准煤以下、一次水消耗在 20 kg 以下;主要污染物排放总量减少 20%,污染物排放标准率 100%。

(二) 严格执法,加强监管

一是严格遵守《中华人民共和国节约能源法》、《中华人民共和国清洁生产促进法》,积极开展节能减排和清洁生产工作,对生产全过程实施有效控制,按要求实施清洁生产审核,并通过评估验收。

二是新建和改扩建应严格执行《中华人民共和国环境影响评价法》,依法向环境保护行政主管部门报批环境影响评价文件。按照环境保护“三同时”的要求,建设与项目相配套的环境保护设施并依法申请项目竣工环境保护验收。

三是企业的能耗、水耗应达到国家或地方要求的限额指标。企业在生产过程应严格执行有关污染物排放标准,鼓励企业进行环境管理体系认证。

四是鼓励、引导企业积极采用先进节能、节水以及清洁生产技术、装备,改造淘汰能耗高、污染严重的技术与设备,不断提高节能减排和防控污染的能力。

五是加强行业节能、减排监督、监测管理,确保行业污染物的达标排放。

(三) 加强科技创新与技术应用

要把依靠科技进步,增强自主创新能力作为节能减排,转变经济发展方式的中心环节。加强科技创新,使用清洁能源和原料,采用先进工艺技术与设备,从源头削减污染,提高资源利用效率;围绕节能减排、提高资源综合利用和技术开发、转化、示范与适用性研究及推广运用,走产学研结合;制订清洁生产标准及清洁生产技术规范,重点开展行业关键共性技术研发、研究成果转化、示范及适用性技术研究,最终实现工业企业生产与环境保护的协调发展。

在行业内,组织行业专家和有关工程技术人员共同研讨行业关键技术和共性技术攻关。在节能降耗等清洁生产技术方面取得重大突破,重点加强废水控制、利用技术,大力研发和采用节约资源、保护环境的清洁生产和循环经济技术;积极研发生物技术等,通过技术推广带动整个行业节能减排技术进步。

(四) 树立节能减排理念,倡导低碳环保生产

酿酒行业低碳经济大有作为:经过几十年的发展,酿酒行业的节能减排工作已经取得了成效,但应当注意,未来生活方式的变革将引起酒类消费的变革,酿酒行业的低碳经济发展仍有很长路要走。因此,牢固树立“低碳生产、绿色环保、

节能减排、循环利用”的经营理念。在酿酒行业内实施循环经济资源化方式,强化清洁生产、资源及其废物综合利用、生态化和可持续消费等融为一体,将传统的“资源—产品—废弃物排放”的开环式经济转变为“资源—产品—废弃物—再生资源”的闭环式经济,达到节约能源、资源,保护环境的目的。

从水、能源、污染物排放、包装、日常消费等几方面依托来推动节能减排发展。酿酒要耗费粮食,酿酒行业发展低碳经济不是少生产甚至不生产酒,而是要在生产中节约粮食,以更少的能源生产更多的优质酒。要从生产、流通、消费等各个环节入手,强调“减量化、再利用、资源化”,减少资源消耗和污染排放。

白酒行业:开展并完成“中国白酒 158 计划”,将其成果在全国 60% 规模以上白酒企业推广实施,力争降低劳动强度 60% 以上、节煤 35%、节水 45%、提高优质品率 15% 以上。

啤酒行业:资源消耗水平实现:单位产品取水量 $5.0 \text{ m}^3/\text{kL}$,比“十一五”末年下降 9.1%;综合能耗 68 kg/kL ,比“十一五”末年下降 9.3%;水的重复利用率达 95%;开发废硅藻土的回收处理技术;发展啤酒酵母综合利用; CO_2 的回收普及率达到 100%,回收率提高 30%。

葡萄酒行业:推广葡萄酒生产废水深度处理技术,达到可直接排放;COD 低于 80 mg/L 、氨氮 10 mg/L ,单位产品排水量 2.5 m^3 。

黄酒行业:提高黄酒生产自动化装备水平,有效降低能耗指标,机械化黄酒生产蒸汽回收利用 80% 以上,废水排放实现 100% 处理达标或纳入城市排污管网。

酒精行业:推进酒精行业浓醪发酵技术、离心清液回用、糟液全糟处理等节能减排技术;浓醪发酵技术发酵终了时酒精含量在 15% (V/V) 左右,推广范围达 50% 以上企业;通过节水、节电、节汽技术,节约综合能耗 0.3 吨标准煤/kL 。

配套包装行业:酒类产品包装要推行简约化,减少资源浪费。

五、展望

“十二五”期间我国将继续转变经济发展方式,加快经济结构战略性调整,继续把节能减排作为调结构、扩内需、促发展的重要抓手。同时,节能减排、发展低碳经济是国家“十二五”规划的重要内容,对于酿酒产业来讲,低碳发展的最终目的不仅仅是酿酒行业科技创新和科技进步的重要步骤和手段,也是酿酒行业可持续发展的需要。随着酒类产品产量的增加,酿酒工业污染物总排放量呈现上升趋势。另外,由于历史原因,我国多数中小酿酒企业仍处在高投入、高消耗、高排放、低效率的粗放型发展模式,使酿酒行业的经济效益与环境效益不容乐观。

节能减排是基本国策,产业、行业在发酵过程应正确处理好发展速度、效益和环境质量之间的关系。因此,“十二五”期间,酿酒行业要始终坚决贯彻党中央的可持续发展的战略方针,坚持科学发展观;要倡导清洁生产低碳发展,以科学技术为手段,加强行业节能、减排,努力完成节能减排目标,实现行业可持续发展、健康发展。

参考文献

1. 于秀娟,李亚强.通过清洁生产审核实现啤酒企业的节能降耗[J]. 节能技术,2004(2):30-31.
2. 孙晓峰,李晓鹏.啤酒工业清洁生产技术需求探析[J]. 交流平台,2010(2):49-51.
3. 李静伟.某葡萄酒厂节能技术改造项目可行性研究[J]. 河北化工,2010,33(12):78-80.
4. 杨慧,陈砺,严宗诚,等.燃料乙醇精馏工艺的模拟优化与节能研究[J]. 酿酒科技,2009,184(10):43-47.
5. 王平先.DDGS 生产技术及其节能工艺与设备选择方案[J]. 宿州教育学院学报,2005(3):131-133.
6. LIUJianhua. Design and manufacture of new liquor filter equipment[J]. China Brewing, 2009(10):86-89.
7. 刘滢洁,陈红英,陈宏平.汾酒厂中水加压泵变频方式的选择[J]. 浙江工业大学学报,2002,30(4):387-398.
8. 黄桂珍.利用沼气发酵对白酒酿造废水的处理[J]. 酿酒,2009,36(2):69-70.
9. 杨瑞.周江.白酒生产副产物黄水及其开发利用现状[J]. 酿酒科技,2008(3):90-92.
10. 周丽娜.全面节能减排保护汾酒环境[J]. 酿酒,2008,35(6):29-31.
11. 孙晓峰,李键,李晓鹏.中国清洁生产现状及发展趋势探析[J]. 环境科学与管理,2010,35(11):185-188.
12. 周广田,聂聪,崔云前,等.啤酒酿造技术第一版[M]. 济南:山东大学出版社,2004.
13. 程殿林.啤酒生产技术[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
14. 李永山.耐高温葡聚糖酶在啤酒糖化中的应用研究[J]. 酿酒,2002

(2):81-83.

15. 金立忠,谭雨清. 节能降耗啤酒糖化的应用研究[J]. 食品科技,2007(4):162-163.

16. 郭致远,张文顺. 蒸发式冷凝器在啤酒生产中的应用[J]. 啤酒科技,2007(10):63-65.

17. 李晓东. 制冷原理与设备[M]. 北京:机械工业出版社,2006.

18. 浦占锋,沈炳耘,肖松. 蒸汽冷凝水闭式回收系统在啤酒厂节能中的应用[J]. 能源技术,2006,27(4):177-179.

19. 崔云前,于同立,张志永. 麦汁煮沸节能技术探讨[J]. 酿酒科技,2005,136(10):48-50.

20. 李解放,王海明. 啤酒企业节电措施探讨[J]. 啤酒科技,2009(6):16-20.

21. 王磊,张文顺. 啤酒厂 CO₂ 回收系统节能技术改造[J]. 机电工程技术,2010,39(7):154-155.

22. 郑伟胜,王庆文. 啤酒发酵过程的计算机控制管理系统[J]. 江西教育学院学报(综合),2004,25(3):43-45.

23. 李忆. 自抗扰控制器技术在啤酒发酵罐温控中的应用[J]. 电气转动,2010,40(3):63-65.

24. 姜文佳,姜水健,姜广田,等. 模糊 PID 控制算法改进及在温控系统中的应用[J]. 控制工程,2006,13(4):338-340.

25. 曲志华. 啤酒生产企业发展循环经济的探讨[J]. 改革与探索,2009(5):94-95.

26. 徐慧,刘建军,赵祥颖. 浅谈啤酒废酵母的综合利用[J]. 酿酒,2008,35(1):47-49.

27. 吕丹. 啤酒厂节水减污措施的探讨[J]. 啤酒科技,2004(10):32-33.

28. 万瑾. 啤酒企业的节水[J]. 啤酒科技,2006(12):53-54.

29. 赵志伟. 浅析啤酒瓶清洗的影响因素[J]. 2006,(5):37-38.

30. 曹军,胡慎俭. 啤酒生产废水处理工程实例[J]. 给水排水,2008,34(3):63-65.

31. 张顺文,朱敏. 啤酒厂污水曝气系统的节能改造[J]. 技术交流,2012(4):54-55.

32. 彭涛. 清洁生产在酿酒行业中的应用探讨[J]. 中国酿造,2007,(5):66-68.

33. 王海明,姜宏杰,李久遵. 大麦啤酒的生产[J]. 酿酒科技,2010,192(6):

69 - 71.

34. Clemens Thusing/A, Brewing and Beverage Industry, 2000, (2): 14 - 16.

35. 盛风云, 徐岩, 赵光鳌, 等. 液化法黄酒酿造新工艺中液化程度控制的研究[J]. 中国酿造, 2009, 210(9): 110 - 113.

36. 咏梅, 梁运祥. 液化法无曲黄酒发酵技术的研究[J]. 酿酒科技, 2006(3): 85 - 88.

37. 马赞华. 酒精高效清洁生产新工艺[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 81 - 83.

38. 赵淑芳, 刘宗章, 张敏华. 节能型乙醇脱水技术研究进展[J]. 酿酒科技, 2006, (1): 110 - 113.

39. Pinto R T P, Wolf - Maciel M R, Lintomen L. Saline extractive distillation process for ethanol purification [J]. Computers and Chemical Engineering, 2000, 24(2 - 7): 1689 - 1694.

40. 黎贞崇, 黄志民, 杨登峰, 等. 影响木薯燃料乙醇产业发展的不利因素及对策[J]. 可再生能源, 2008, (3): 110 - 114.

41. 耿云萍. 大力开发绿色节能清洁酒精工业与乙醇汽油、乙醇柴油[J]. 广州化工, 2005, 33(1): 19 - 21.

42. 刘宝菊, 吕惠生. 我国酒精精馏技术的新进展[J]. 酿酒科技, 2002, (6): 45 - 46.

43. 李泉临, 曹军. 利用沼气技术综合治理酒精厂废液[J]. 能源工程, 2001, (3): 24 - 26.

44. 李泉临, 曹军. 利用沼气技术综合治理酒精厂废液[J]. 能源工程, 2001, (3): 24 - 26.

45. 李士林, 张华民, 刘敬芝. 酒精行业沼气、废渣锅炉混烧一发电循环技术的开发与分析[J]. 节能, 2010, 341(12): 58 - 60.

46. 董红星, 刘剑, 裴健. 加盐萃取精馏的研究进展[J]. 化工时刊, 2004, 18(5): 16 - 19.

47. 毛忠贵, 张建华. 燃料乙醇制造的“零能耗零污染”趋势[J]. 生物工程学报, 2008, (1): 946 - 949.

48. 李传林. 应用浓醪发酵技术推动酒精工业节能及清洁生产[J]. 酿酒科技, 2005, 131(5): 107.

49. 黎贞崇. 广西发展燃料乙醇存在的问题及对策[J]. 化工技术与开发, 2007, (8): 26 - 28, 38.

50. 董丹丹, 赵黛青, 廖翠萍, 等. 生物基燃料乙醇生产工艺的能耗分析与节

能技术综述[J]. 化工进展,2007,26(11):1596-1601.

51. 胡彦成,何鹏. 浅谈酒精制造方面的几个关键技术[J]. 广东化工,2010(7):258-260.

52. 杨志强,于涛,张春泓,等. 玉米酒精糟液处理技术研究及展望[J]. 价值工程,2010,29:112-113.

53. 方亚叶,石贵阳. 酒精糟液的综合处理[J]. 酿酒,2003,30(1):74-78.

54. 邢凤兰,刘哲人,翟丽萍,等. 酸性酒精糟液节能处理研究[J]. 黑龙江环境通报,2010,34(4):82-84.



徐岩 1984年毕业于无锡轻工大学发酵工程专业、1990年和1997年分别获得无锡轻工业大学发酵工程专业硕士、博士学位。全国优秀教师(2007年)、国务院政府特殊津贴(2006年)、江苏省有突出贡献中青年专家(2004年)、江苏省“333新世纪科学技术带头人工程”(第二层次)(2002年)、江苏省高校“青蓝工程”省级中青年学术带头人(2002年)、教育部长江学者与创新团队的发展计划团队带头人(2005年),国务院学位评议委员会第五届轻纺组成

员,国家教育部高等学校教学指导委员会生物工程与生物技术专业教学指导委员会委员,中国微生物学会酶工程专业委员会委员,中国酿酒工业协会白酒专业委员会副主任,发酵技术国家工程研究中心技术委员会委员,江苏省酿酒工程技术中心技术委员会主任,日本酿造协会会员、英国酿造协会会员、美国食品技术协会会员。《微生物学报》、《食品生物技术》、《中国酿造》、《食品工业科技》、《酿酒科技》等多个学术期刊编委和多个国际期刊审稿人。

CMC 改性对脱盐咸蛋清酶解液 起泡性影响的动力学研究

赵谋明等

华南理工大学轻工与食品学院

摘要:深度酶解后的脱盐咸蛋清起泡性差,添加一定量的 CMC(蛋白质含量的 2%)可显著提高其起泡性和泡沫稳定性。本研究通过研究 CMC 改性前后脱盐咸蛋清酶解液体系的空气-水界面吸附动力学特性变化,在一定程度上阐明了添加 CMC 提高酶解液起泡性的作用机理。研究发现添加 CMC 后,咸蛋清酶解液体系的扩散速率(k_{diff})变化不显著,但添加一定浓度的 CMC 提高了酶解产物在界面上的展开(k_1)和重排(k_2)速率。可见咸蛋清酶解液起泡性能的改善与其在界面上的去折叠和分子重排的能力的提高存在一定的相关性。

关键词:脱盐咸蛋清;CMC;起泡性;酶解液;空气-水界面;动力学

一、前言

咸蛋是我国主要的蛋制品之一,咸蛋黄是制作月饼的主要原料,每年因生产月饼遗留下近万吨的咸蛋清。咸蛋清含有丰富的优质蛋白,但却因其盐分含量高而无法利用遭到丢弃。前人尝试多种方法利用咸蛋清,如将咸蛋清添加到法兰克福香肠中,利用咸蛋清制备咸蛋清粉等^[1]。但这些利用均未对咸蛋清进行脱盐处理,使其利用受到极大限制。咸蛋清的广泛利用,关键在于咸蛋清的脱盐,酸法脱盐效率高、操作简单、成本低,但所得蛋白功能性差,在食品工业中应用范围窄。目前,关于蛋白质的水解研究已日趋成熟,利用水解可以改善蛋清蛋白质的功能性质^[2],从而可将其应用于更多的食品中。起泡性是蛋白质的重要功能特性,深度酶解后的脱盐咸蛋清起泡性差,极大地限制了其应用范围。

蛋白质分子具有两亲性质,在流体界面(空气-水或油-水)显示出强烈的吸附趋势,产生良好的起泡性和乳化性^[3-5]。多糖具有强吸水性特点,在水相中主要作为增稠剂、胶凝剂和稳定剂控制连续相流变^[6,7]。因此可以利用蛋白质和多糖的相互作用作为稳定和改善蛋白质功能的手段^[6,8]。利用具有强亲水性的

离子型多糖羧甲基纤维素(CMC)对脱盐咸蛋清酶解液进行改性以提高其起泡能力的研究尚未见报道,由于 CMC 具备一定取代度的羧基及其可能参与的酯化、缩合反应,必然对改性产物的性能产生影响,特别是对表面活性产生影响。

本文采用 CMC 对脱盐咸蛋清酶解液进行改性,并对其作用机理进行研究,以开发出具有高起泡能力的蛋清多肽制品,旨在为提高其他可溶性蛋白质起泡能力的研究提供参考。

二、实验部分

(一) 材料

咸蛋清,中山市中国食品工业示范基地开发有限公司提供,加冰运输,采用酸法脱盐,随后储存于 -18°C 冰柜中备用,使用前解冻。

木瓜蛋白酶(Papain),活力为 $7.0 \times 10^4 \text{ U/g}$,由广州仟壹生物技术公司提供。

(二) 主要仪器设备及试剂

DS-1 高速组织捣碎机,上海标本模型厂;CU600 型电热恒温水箱,上海福玛实验设备有限公司;KDN-2C 型定氮仪,上海纤检仪器有限公司;GL-21M 高速冷冻离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司;FJ-200 高速分散均质机,北京精科华瑞科学仪器有限公司;视频光学接触角测量系统 OCA20,德国 DataPhysics 公司。

羧甲基纤维素(CMC),郑州升达食品添加剂有限公司。

实验中所采用其他试剂均为国产分析纯。

(三) 方法

(1) 起泡性的测定^[9]

配制蛋白含量为 2% 的脱盐咸蛋清酶解液 200 mL,在高速均质机中以 12 000 r/min 搅打 30 s,搅打 4 次,共计 2 min。迅速倒入 500 mL 量筒中,记录泡沫体积,表示起泡能力大小,静置 30 min 后,再次测量泡沫体积,此体积与原体积之比为泡沫稳定性。

起泡性(%) = (均质停止时泡沫体积/200) $\times$ 100%

泡沫稳定性(%) = (均质停止 30 min 后时泡沫体积/200) $\times$ 100%

(2) 表面张力测定

采用动态滴形分析法检测脱盐咸蛋清酶解液中蛋白吸附在空气-水界面上

的表面张力(σ)随吸附时间(t)的变化,所采用的检测系统为 OCA20 视频光学接触角测量系统。液滴形成以后,卤灯光源照射液滴,带图像轮廓处理器的 CCD 高速视频摄像系统周期性地采集液滴外形图像,然后由系统软件(SCA20)根据 Young - Laplace 方程对液滴外形图像进行分析,计算出 σ (准确度为 0.01 mN/m) :

$$\sigma = V\rho \cdot g/C \tag{2-1}$$

$$1/x \cdot d/dx(x\sin\theta) = 2/b - C \cdot z \tag{2-2}$$

式(2-1)和(2-2)中, $V\rho$ 为蛋白溶液和空气的密度差; g 为重力加速度; C 为毛细管常数; b 为液滴顶点 P 的曲率半径; x 和 z 为液滴外形轮廓平面图上任意点的纵横坐标; θ 为任意点的弦切角。蛋白溶液的密度采用 DMA35N 型数字便携式密度计(准确度为 0.001 g/cm³)检测。

(四) 脱盐咸蛋清蛋白水解工艺

取解冻后的脱盐咸蛋清蛋白,以料液质量比 1:1.5 加蒸馏水匀浆 1 min,温度为(59 ± 2) °C ,加木瓜蛋白酶,酶量为 4000 U/g 咸蛋清,于水浴中恒温搅拌水解 10 h。酶解完毕,将酶解液于沸水浴中灭酶 15 min,6000 g 离心 15 min,102 定性滤纸过滤,所得滤液为水解度 5.36% 的酶解液。

三、结果与讨论

(一) CMC 添加量对起泡性的影响

配制蛋白含量为 2% 的酶解液,向酶解液中添加 CMC 的量分别为蛋白质含量的 0、0.1%、0.2%、0.3%、0.5%、1%、2%、3%、4%、5%,充分混匀,室温静置 30 min,待其充分反应后测定起泡性和泡沫稳定性,测定结果如图 1 所示:

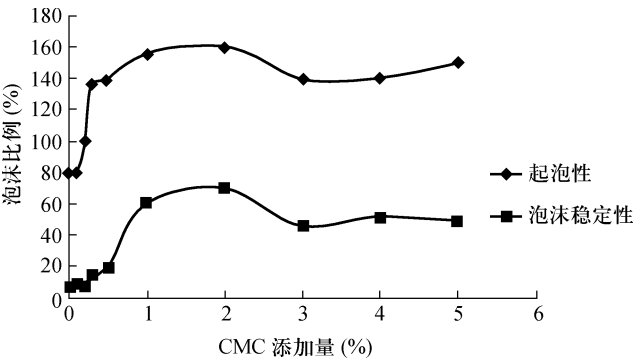


图 1 CMC 添加量对酶解液起泡能力的影响

由图 1 可知,随着 CMC 添加量的增加,酶解液的起泡性和泡沫稳定性均不断提高,但并非 CMC 的添加量越大,起泡性和泡沫稳定性一直升高。当 CMC 的添加量从 0 增加到 2% (蛋白质含量) 时,酶解液的起泡性和泡沫稳定性均迅速上升,在 2% 时达到最大值,此时起泡性和泡沫稳定性分别为 160% 和 70%。随着 CMC 的添加量继续增加,酶解液的起泡性和泡沫稳定性均有下降趋势,最后趋于平稳。

(二) 改性蛋白在空气 - 水界面上的表面压力的变化

蛋白质的表面动力学吸附特性对起泡过程及其稳定性有着重要意义^[3]。蛋白质分子在空气 - 水界面上的吸附是发泡体系形成过程中必不可少的步骤,在食品和医药工业中都有着广泛的应用^[10,11],在泡沫形成过程中,蛋白质必须快速吸附到空气泡的表面,使空气 - 水界面的张力降低,蛋白分散体系的发泡性能很大程度上取决于蛋白质分子在空气 - 水界面上的吸附动力学。

在本实验中,动态表面张力均通过表面压力(π)随吸附时间的变化来表示, $\pi = \sigma_0 - \sigma$, σ_0 为未添加蛋白的水溶液的表面张力。在室温条件下,实验中所用蒸馏水的 σ_0 值为 72 mN/m。图 2 为改性前后酶解液在空气 - 水界面上表面压力(π)随吸附时间的变化。蛋白溶液的初始体相浓度为 1% (质量分数)。由图可知:(1) π 值随着吸附时间的增加均呈升高的趋势,说明蛋白质分子逐渐吸附到空气 - 水界面上,这种行为也表明即使 CMC 存在,也是由蛋白质控制界面膜的动态形成^[12]。(2) $\pi - T$ 曲线大体可以分为两个阶段:快速增加阶段和缓慢增加阶段,吸附初始阶段, π 值迅速增加,达到一定程度后(约 500 s 后) π 值的增加变得缓慢。(3) 吸附 1800 s 后, π 值基本趋于稳定,表明吸附达到了大致的平衡,此时的值理论上等于平衡表面压力值,改性前为 13.5 mN/m 改性后为 16.2 mN/m。

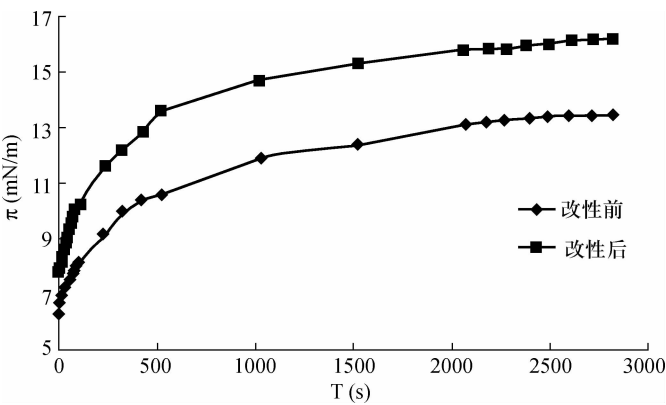


图 2 改性前后酶解液在空气 - 水界面上表面压力随吸附时间的变化

CMC 的存在对动态表面压力有明显的影响。由图 2 可知,添加 CMC 后, π 值随吸附时间增加迅速上升,且在吸附的初始阶段,差别尤为明显。两曲线对比可以看出,无论是吸附速率和 π 值,改性后样品皆比改性前大,说明 CMC 在水相中对酶解液界面特征及其开始进入空气-水界面的能力产生显著的影响^[12]。

(三) 改性蛋白在空气-水界面上扩散动力学的分析

不同的吸附检测方法所得的表面张力或表面压力的结果不完全相同,但界面吸附的过程是基本相同的。MacRitchie 总结了吸附蛋白的主要特性,包括:① 蛋白由水相扩散到界面;② 吸附(渗透),展开,界面折叠,即亲水基团暴露到水相而疏水基团暴露到空气或油相;③ 在界面上聚集(重新排列),多层界面膜的形成,甚至形成界面凝胶。脱盐咸蛋清酶解液的吸附动力学与描述 β -乳球蛋白的行为相似^[13]。以下将定性和定量分析吸附过程中的主要动力学参数。

泡沫形成的最重要步骤是蛋白在空气-水界面的最初吸附^[14],在 π 值相对较低时,扩散分子吸附不可逆,扩散主要由浓度梯度所驱动。如果界面处扩散作用控制吸附过程,可使用改进的 Ward-Tordai 扩散模型^[15]描述 π 随吸附时间的变化:

$$\pi(t) = 2C_0KT(Dt/3.14)^{1/2} \quad (3-1)$$

式中 t 为时间, C_0 为初始体相蛋白溶液的浓度; K 为玻尔兹曼常量; T 为热力学温度; D 为扩散系数。则 $\pi - T^{1/2}$ 曲线线性相关,其线形部分的斜率即扩散速率 k_{diff} 。

改性前后酶解液 $\pi - T^{1/2}$ 曲线如图 3 所示,其特征参数及其相应的线形回归系数见表 1。

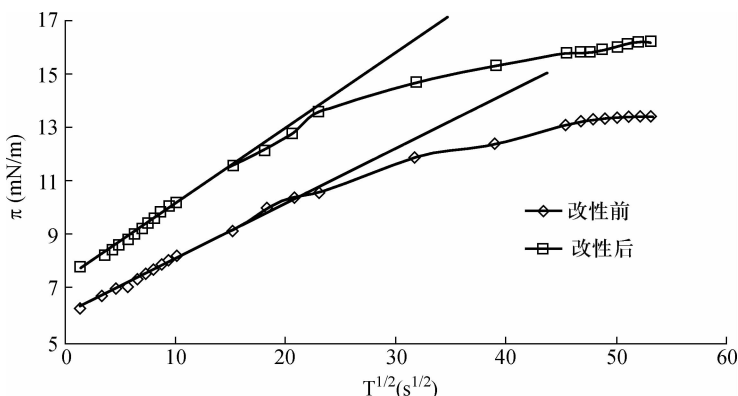


图 3 改性前后酶解液中蛋白向空气-水界面上扩散的动力学特征曲线图

图 3 表明,当 π 小于 10 mN/m 时,实验结果与 Ward - Tordai 扩散方程呈现很好的相关性, $\pi - T^{1/2}$ 曲线呈直线。由此表明,当表面压力较低时,酶解液中蛋白在空气 - 水界面上的吸附动力学受扩散作用所控制。

表 1 CMC 改性对酶解液中蛋白向空气 - 水界面扩散的动力学特征参数的影响

体系	$\pi - T^{1/2}$ 呈线性部分的斜率 $k_{diff}(\text{mN} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1/2})$	LR	$t^D(\text{s})$
改性前酶解液	0. 2068	0. 9962	525
改性后酶解液	0. 2673	0. 9963	525

注:LR——线性回归系数; t^D ——扩散控制吸附动力学的时间。

CMC 的存在对扩散动力学参数有着明显的影响,由表 1 可知:改性后体系 $\pi - T^{1/2}$ 线性部分的斜率较改性前大,这表明 CMC 能提高蛋白分子向界面扩散的速率。另一方面,扩散系数也取决于蛋白质分子的表面特性,尤其是表面疏水性^[16],CMC 存在时,分子更易于向疏水的空气相迁移。因此,改性后的酶解液发泡能力明显提高。

(四) 改性蛋白在空气 - 水界面上展开和重排的动力学分析

随着吸附时间的延长,当表面压力较高(约为 $\pi > 10 \text{ mN/m}$)时, $\pi - T^{1/2}$ 曲线完全偏离直线(如图 3 所示),即扩散不再控制吸附动力学。主要是因为随着 π 的增加,扩散作用的能垒增大。此时,蛋白质分子在界面上获取空间而使得分子展开和重新排列的能力决定了吸附速率^[17]。为了检测蛋白质分子在界面上展开和重排作用的动力学,使用一级动力学方程来进行分析^[14,17]:

$$\ln[(\pi_f - \pi_T)/(\pi_f - \pi_0)] = -k_i T$$

(3-2)

式中 π_f 、 π_0 π_T 和 π_T 分别表示吸附平衡、0s 和任意时间 T 时的表面压力; k_i 是速率常数。

泡沫的稳定性很大程度上取决于蛋白质分子在空气 - 水界面上较长时间内的吸附动力学。为了研究扩散作用之后,改性前后酶解液中蛋白在空气 - 水界面上的吸附动力学,对其 $\ln[(\pi_f - \pi_T)/(\pi_f - \pi_0)] - T$ 曲线进行分析(图 4),其特征参数及其相应的线性回归系数见表 2。

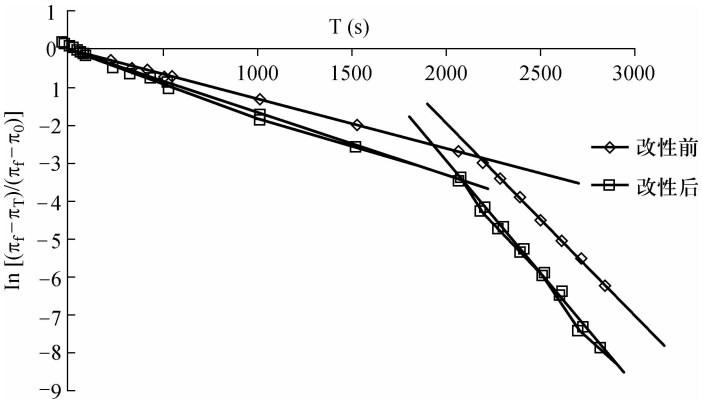


图 4 改性前后酶解液中蛋白向空气 - 水界面上展开和重排的动力学特性图

表 2 CMC 改性对酶解液中蛋白在空气 - 水界面上展开和重排的动力学特征参数的影响

体系	$k_1 \times 10^{-3} (\text{s}^{-1})$	LR_1	$k_2 \times 10^{-3} (\text{s}^{-1})$	LR_1
改性前酶解液	1.4	0.9874	5.0	0.9977
改性后酶解液	1.8	0.9929	5.7	0.9959

注:LR——线性回归系数

由图 4 可以看出,当 π 值大于 10 mN/m 的检测体系,扩散控制吸附过程之后, $\ln[(\pi_f - \pi_T)/(\pi_f - \pi_0)] - T$ 曲线均产生两个线性区域,分别对应于蛋白质分子在空气 - 水界面上展开(k_1)和重排(k_2)的第一速率常数。由此可以推断,酶解液中蛋白分子扩散到空气 - 水界面之后,展开和重排机制控制吸附动力学。由表 2 可知,改性后酶解液体系的 k_1 和 k_2 均大于改性前的体系,即改性后体系的蛋白分子更容易在界面上展开和重排。从动力学角度分析,CMC 的存在使扩散作用加快,因而分子的疏水基团暴露到空气相的几率较大,展开和重排速率很可能也因此而增加。

综上所述,通过动态表面压力(π)的测定,随着吸附时间的延长,表面压力(π)增加,蛋白质分子逐渐从体相溶液吸附到空气 - 水界面上, $\pi - t$ 曲线大致可以分为快速增加阶段和缓慢增加阶段。当 π 值小于 10 mN/m 时, π 随吸附时间的变化符合 Ward - Tordai 扩散模型 $\pi(T) = 2C_0KT(DT/3.14)^{1/2}$, $\pi - T^{1/2}$ 曲线呈直线,扩散控制吸附动力学。改性后体系的 π 值和扩散速率 k_{diff} 均比改性前高,因此,改性后体系的起泡性明显高于改性前体系。而当 π 大于 10 mN/m 时, π 随吸附时间的变化符合第一速率方程 $\ln[(\pi_f - \pi_T)/(\pi_f - \pi_0)] = -k_1T$, $\ln[(\pi_f - \pi_T)/(\pi_f - \pi_0)] - T$ 曲线均产生两个线形区域,即扩散控制吸附动力学之后,

蛋白质分子在界面上的展开和重排机制控制吸附动力学。改性后酶解液体系的 k_1 和 k_2 均大于改性前的体系。

四、结语

脱盐咸蛋清酶解液经过 CMC 改性后,起泡性和泡沫稳定性显著提高。通过吸附动力学研究显示,CMC 与蛋清多肽的相互作用对吸附动力学参数产生明显影响,吸附动力学参数的改变对起泡过程及其稳定性有着重要意义。CMC 改性可作为高效提高咸蛋清酶解液起泡性的优良方法,本研究可为提高其他可溶性蛋白质溶液起泡性能提供理论和方法上的参考。

参考文献

1. 马美湖. 禽蛋制品生产技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,2003
2. 田波, 迟玉杰. 蛋清蛋白质酶改性条件的研究[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(2): 30 - 32.
3. Carrera C, & Rodríguez Patino J M. Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate by protein concentration in solution[J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19:407 - 416.
4. Dickinson E. Milk protein interfacial layers and the relationship to emulsion stability and rheology[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2001, 20(3):197 - 210.
5. Mellema M, & Isenbart J G. Effect of acidification and heating on the rheological properties of oil - water interfaces with adsorbed milk proteins[J]. Journal of Dairy Science, 2004, 87:2769 - 2778.
6. Dickinson E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems[J]. Food Hydrocolloids, 2003, 17:25 - 40.
7. McClements D J. Comments on viscosity enhancement and depletion flocculation by polysaccharides[J]. Food Hydrocolloids, 2000, 14:173 - 177.
8. Mishra S, Mann B, & Joshi V K. Functional improvement of whey protein concentrate on interaction with pectin[J]. Food Hydrocolloids, 2001, 15:9 - 15.
9. Dutta J R, Dutta P K, Banerjee R. Optimization of culture parameters for extracellular protease production from a newly isolated *Pseudomonas* sp. using response surface and artificial network models[J]. Process Biochemistry, 2004, 39: 2193 -

2198.

10. Dickinson E. Adsorbed protein layers at fluid interfaces: interactions, structure and surface rheology[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1999, 15: 161 – 176.

11. El Krat K, Chauvet JP, Roux B et al. Streptomyces chromofuscus phospholipase D interaction with lipidic activators at the air – water interface[J]. Biochimica et BioPhysica Acta, 2004, 1661: 144 – 153.

12. Perez AA, Carrara CR, Sunchen cc et al. Interfacial dynamic properties of whey protein concentrate/polysaccharide mixtures at neutral pH[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23: 1253 – 1262.

13. Baeza R I, Carrera C, Pilosof A M R & Rodri'guez Patino J M. Interactions of polysaccharides with β – lactoglobulin adsorbed films at the air – water interface [J]. Food Hydrocolloids, 2005, 19: 239 – 248.

14. Rodri'guez Patino J M, Rodri'guez Nin ~ o M R & Carrera C. Implications of interfacial characteristics of food emulsifiers in foam formulations[J]. Advances in Colloid Interface Science, 2008, 140: 95 – 113.

15. Wadr A F H & Todrai L. Time dependence of boundary tensions of solutions. The role of diffusion in time effects[J]. Journal of Chemistry and Physics, 1946, 14: 453 – 461.

16. Molina Ortiz S E, Carrera Sa'nchez C, Rodri'guez Nino Ma et al. Structural characterization and surface activity of spread and adsorbed soy globulin films at equilibrium[J]. Colloids and Surface B: Biointerfaces, 2003, 32: 57 – 67.

17. Rodri'guez Patino J M, Rodri'guez Nino M R & Carrera Sanchez C. Adsorption of Whey protein isolate at the Oil – water interface as a function of processing conditions: a rheokinetic study[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47: 2241 – 2248.



赵谋明 汉族,1964年9月生,工学博士、教授、博士生导师,长江学者特聘教授,国务院政府特殊津贴专家,新世纪百千万人才工程国家级培养对象,第十届广东省丁颖科技奖获奖者,现任华南理工大学轻工与食品学院副院长、国家重点学科——食品科学——食品生物技术学科带头人。兼任中国粮油学会食品专业分会第六届常务理事,中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程分会常务理事,国家食品标准化委员会委员、广东省科技战略专家、多个省部

级重点实验室的学术委员会委员、广东省食品学会常务理事,国内多个期刊编委和国外期刊如《*Food Chemistry*》,《*Journal of Agricultural and Food Chemistry*》等特约审稿人。

生物技术在降低产毒霉菌污染粮食中的应用

王昌禄等

食品营养与安全教育部重点实验室

摘要:霉菌及其代谢产生的毒素是极为常见的污染粮食、药材、饲料、果蔬等污染源之一,严重威胁着人类的健康。本文综述了目前农副产品受霉菌污染的现状、产毒霉菌及其代谢产物的检测技术、防治技术特别是生物防治的方法;介绍了本研究室利用生物技术防治霉菌污染的初步研究成果;阐述了降低霉菌污染、减少粮食损失不仅是食用安全的需要,而且也是保障食物供给安全、降低生物产品成本的需要,应引起全社会特别是科技工作者的高度重视。

关键词:霉菌污染;毒素;生物技术;链霉菌

一、前言

我国是拥有 13 亿人口的大国,由于社会经济发展和人口增加拉动的粮食消费增长,粮食缺口呈逐步扩大趋势。“十一五”以来,我国政府开展“粮食丰产科技工程”,通过增加三农投入、完善农业补贴奖励政策、加强基础设施建设、抓好市场调控等措施,累计实现粮食增产 4000 余万吨。科技创新在促进粮食丰产、保障粮食安全方面发挥了重要作用。“十二五”明确了继续依靠科技手段,实现粮食安全和丰产的目标。

2012 年 7 月初,在北京举办的“2012 农业科技创新发展论坛暨第三届中国现代农业产业投融资峰会”上,农业部农产品加工局局长张天佐透露,我国农产品每年粮食的损失量高达 500 亿斤,产后损失率超过 8%,果蔬损失率更逼近 20%,其中很大一部分由于采收后储存霉变所致。国际上,据联合国粮食与农业组织(FAO)统计,世界上每年平均有 2% 的谷物由于霉变而不能食用;约有 25% 的谷物不同程度地受到霉菌毒素的污染,造成的经济损失高达数千亿美元^[1,2]。这些惊人的数字提醒着人们,在利用高科技创收粮食产量的同时,减少霉变造成的损耗同样至关重要!

二、粮谷霉变的危害与检测

(一) 降低粮谷感官品质和营养价值

粮谷中的碳水化合物会在霉菌的分解作用下产生酸类、醇类、醛酮类等带有刺激性气味的物质;霉变严重的粮谷中,蛋白质被分解成氨化物、硫化物等异味物质;许多青霉菌自身可散发出强烈霉味,吸附在谷物中无法消除。同时,粮谷霉变后发生颜色异常、黏稠污秽、结块霉烂等一系列变化,使其感官和适口性严重下降。霉变后的粮谷干物质减少,脂肪酸增加,蛋白质和多种维生素含量降低,营养成分被严重破坏。研究证实^[3],串珠镰刀菌可使被污染饲料中维生素 B1 含量显著下降,从而引起动物维生素 B1 缺乏症。Bartov 和 Paster^[4] 研究结果表明,未经抑霉菌剂处理的饲料在贮存 40d 后可引起脂肪和胡萝卜素含量下降^[5]。

(二) 对畜禽的危害

霉菌在以谷物为基质生长繁殖过程中会产生一种或多种有毒次级代谢产物,即真菌毒素。常见的谷物污染真菌毒素有:黄曲霉毒素(Aflatoxin, AFT)、赭曲霉毒素(Ochratoxin, OT)、杂色曲霉毒素(Sterigmatocystin, ST)、伏马菌素(Fumonisin, FB)、玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEN)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(Deoxynivalenol, DON)、T-2 毒素(T-2 toxin)、麦角毒素(Ergotoxin)等。含有真菌毒素的粮谷作为饲料喂养畜禽,不仅使饲料产出率下降,还会损害其生理机能,导致急性或慢性中毒。如玉米赤霉烯酮,能降低猪的生殖能力;饲喂含单端孢霉烯族化合物(T-2 毒素)日粮的产蛋鸡表现生长速度缓慢、产蛋量急剧下降^[6];饲料中含有 0.25 $\mu\text{g/g}$ 呕吐毒素时猪即表现出拒食症状。

(三) 对人类的危害

霉菌毒素及其代谢产物可以通过肉、蛋、奶等动物性食品进入人体,产生致癌、致畸、肝肾毒性、基因毒性和免疫抑制等毒害作用,对人类生命健康造成严重威胁。黄曲霉毒素 B1 (AFB1) 是目前已知毒性最强的真菌毒素,其诱发肝癌的能力比二甲基亚硝胺高 75 倍;流行病学调查结果发现,我国部分地区人群的胃癌与肝癌的高发与杂色曲霉毒素有密切联系^[7];在食道癌高发的南非特兰斯凯地区^[8]和中国河南省林县^[9]调查发现,伏马菌素检出率及污染水平显著高于低发区。据报道,国内外发生过多起重大真菌毒素中毒事故:1960 年,英国一农场 10 万只火鸡因食用含有黄曲霉毒素的花生饼粉突然大规模死亡;1974 年,印度

西部某地居民因食用雨后霉变玉米,造成流行肝炎暴发,397 人感染,106 人死亡;2011 年,我国蒙牛乳业(眉山)有限公司生产的一批次液体乳产品被检出黄曲霉毒素 M1 超标 140%,调查显示,主要原因是奶牛长期食用霉变饲料导致原奶受到污染。可见,防治粮谷霉变具有重要意义。

(四) 真菌毒素检测方法简介

(1) 薄层层析法(TLC)

TLC 法是将经过分离提取的毒素粗样品在薄层板上层析展开,实现组分分离,再利用真菌毒素的显色性或荧光性进行测定的方法。Sokolović 等^[10]采用 TLC 法检测克罗地亚地区 465 份谷物饲料中单端孢霉烯类化合物中的 T-2 毒素、蛇形毒素和呕吐毒素污染情况,发现阳性样本与实际畜禽中毒情况相关性良好,证实了此法的可靠性。宋家玉等^[11]建立了饲料中串珠镰刀菌素(Moniliformin, MON)TLC 检测法,实现定性、半定量分析。该法所需设备简单,快速经济,但准确性较低,重现性差,对毒素含量低的样品无法进行定量分析,在真菌毒素研究中的应用逐渐减少。

(2) 酶联免疫法(ELISA)

酶联免疫法是抗原(或抗体)吸附剂和用酶标记的抗体(或抗原)与标本中的待测物(抗原和抗体)起特异的免疫学反应,用测定酶活力的方法来增加测定的敏感度,是一种定性或半定量的方法。国内基于 ELISA 原理研制真菌毒素测试盒技术已逐渐趋于成熟。陈福生等^[12,13]采用 Mannich 法构建得到 AFB1 等真菌毒素的完全抗原,开发出 AFB1 无毒 ELISA 试剂盒并实现产业化;王硕等^[14]开发的基于膜基质的胶体金免疫检测技术能在 20 min 内快速完成伏马菌素 B1(FB1)测定。ELISA 法特异性强,灵敏度高,操作简便,适合批量样品筛检。

(3) 仪器分析法

高效液相色谱法(HPLC)是定量分析真菌毒素的常用方法,根据被测分子本身的理化性质选择合适的色谱柱、流动相和检测器,实现样品的分离检测。HPLC 法灵敏、准确,分辨率高,重现性好,成为部分真菌毒素的国家行业标准检测方法^[15]。其他检测方法还包括气相色谱(GC)、液相色谱-质谱联用(LC-MS)、毛细管电泳(CZE)、近红外光谱分析、表面等离子体共振等多种传统和革新检测技术。但由于大型精密仪器设备昂贵,对技术水平要求高,在实际应用中具有一定局限性。

三、粮谷防霉脱毒措施

(一) 田间防霉

粮谷防霉需从田间抓起。农业防霉的主要方法是遵守良好生产操作规范,选择抗真菌优良品种。但由于自然环境的限制,田间植物的霉菌污染仍不可避免。为防治农作物病虫害,每年要生产高达 200 多万吨农药,以保证农业的丰产和稳产。其中主要使用的是化学农药,销售额每年高达 160 亿美元^[16]。化学农药具有防效高、速度快、杀虫抗菌谱广、成本低、使用简单等优点,但由于长期大量使用化学农药,产生了许多负面影响,如,有害微生物和害虫的后代出现了选择性进化优势,产生了抗药性。20 世纪 50 年代以来,抗药性害虫已从 10 种增加到目前的 417 种,生产者必须加大药物剂量来控制病虫害,不仅导致这些药物在农产品中大量积累,而且还影响农产品质量,引起人畜中毒。全世界每年约有 200 万人农药中毒,其中大约 4 万人死亡^[17]。此外,农药还会作用于非靶标生物和环境,造成环境污染,破坏生态平衡,影响农业的可持续发展。特别是我国加入 WTO 之后,在国际农产品贸易中,世界各国对农产品中农药残留检测标准越来越严格。对外贸易中,我国农作物及其相关制品因为农残超标问题造成了大量的经济损失^[18]。

(二) 仓储防霉

人们通过控制原料水分、低温储粮等措施防止霉菌生长,并通过物理、化学方法消减真菌毒素含量^[19,20],但这些方法具有破坏营养、脱毒不彻底、成本高等缺陷,实际应用效果不理想。目前,仓储防霉的主要手段是添加防霉剂。但大多数防霉剂属于有机酸及其盐、酯类,抗菌谱窄,有效 pH 范围窄,价格贵,毒性大。有些品种如苯甲酸钠、脱氢醋酸钠等已被世界卫生组织(WHO)限用。

(三) 生物防治

随着科技的不断进步和农业可持续发展的要求,在作物生长及储藏中减少化学品用量,大力开发高效低毒环保的防霉产品,成为国内外科学工作者的重要研究课题之一。生物防治是指利用有益生物及其代谢产物和基因产品控制有害生物的方法,以其高效、无公害、无环境污染等优点越来越受到人们的重视。其中生物农药表现出巨大的应用潜力。苏云金芽孢杆菌(Bt)是我国菌剂类农药研发成功的代表,已实现了商品化、规范化生产,并由单一粉剂型发展为粉剂、乳剂和水剂多个品种,已成为应用最广、产量最大的微生物制剂^[21];井冈霉素、灭瘟

素、春日霉素、多氧霉素、中生霉素等农用抗生素品种相继研制和利用,为农作物生长、贮藏期间防治各种致病霉菌带来了显著效益。

四、生物农药防治粮谷霉变及毒素产生

(一) 生物防霉研究现状

生物防治粮谷霉害的机制主要有: 抗生作用^[22]、重寄生作用^[23]、空间竞争^[24]、营养竞争^[25]等。Binder 等从牛瘤胃内容物中分离到 BBSH 797, 具有将单端孢霉烯分子结构进行转化进而达到脱毒的目的, 已将此菌株作为饲料添加剂进行了生产应用^[26]。Hormisch 等^[27]以荧蒽为唯一碳源, 从煤田附近污染的土壤样品中分离到一株能够同时降解荧蒽和黄曲霉毒素 B1 的分支杆菌, 进一步试验证明, 其对黄曲霉毒素的降解是生物酶解作用。在国内, 计成等^[28]对橙红色黏球菌产生的降解黄曲霉毒素的胞外酶进行了初步分离纯化, 得到分子量为 60 kDa、32 kDa 和 25 kDa 的 3 条蛋白带, 通过对比解毒酶处理前后质谱和红外光谱变化, 推测其作用机理与黄曲霉毒素中氧杂萜邻酮环的芳香内酯和甲氧基发生改变有关, 这是一种新的解毒途径。周启升等^[29]从泰山林地土壤中分离出一株白网链霉菌 (*Streptomyces albireticuli*) 近似种拮抗链霉菌 S24, 该菌株同时产生四烯和五烯两类多烯大环内酯类抗生素, 对黄曲霉、赭曲霉、黑曲霉等粮食和饲料中常见曲霉菌具有较强的拮抗作用。魏赛金等^[30]从江西农业大学棉花土壤中分离筛选到链霉菌株 702, 其发酵液产生的制霉色素 (fungichromin) DZP - 9, 具有显著抗尖孢镰刀菌活性^[31]。

(二) 放线菌 TD - 1 防霉研究概述

近年来, 本研究室从饲料厂附近土壤中分离筛选出一株放线菌 TD - 1, 其代谢产物对黄曲霉 (*Aspergillus flavus*)、黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、构巢曲霉 (*Aspergillus nidulans*)、米曲霉 (*Aspergillus oryzae*)、赭曲霉 (*Aspergillus ochraceus*)、纯绿青霉 (*Penicillium verrucosum*)、串珠镰刀菌 (*Fusarium moniliforme*)、茄腐镰刀菌 (*Fusarium solani*) 等多种常见粮谷有害真菌污染均有良好的抑制作用。所申请的“一种具有抗粮谷类饲料及粮食中污染霉菌的放线菌”目前已获得中华人民共和国国家知识产权局授权专利 (ZL 201110094008. 5), 该菌种已由中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心 (CGMCC) 保藏, 编号 CGMCC No. 4666。

本研究室前期研究成果表明^[32-34], TD - 1 菌株为链霉菌属 (*Streptomyces* sp.), 菌丝体的有机相及水相提取物均具有良好的抑菌作用; 石油醚相对赤拟谷盗、谷蠹等储粮害虫有良好的触杀作用; 以麦粒为生长基质的固态培养物挥发性

物质(Volatile Organic Compounds, VOCs)能显著抑制串珠镰刀菌等多种污染粮食霉菌的生长;对南方根结线虫二龄幼虫的熏蒸杀线率达100%。可见,放线菌TD-1在农业病虫害生物防治方面具有较大的开发潜力和潜在的应用价值。目前,课题组已通过薄层层析、化学成分分析、捷克八溶剂纸层析等方法对次生代谢物进行定性分析;应用超滤、柱层析、制备型高效液相色谱等技术结合紫外红外光谱、质谱及核磁共振等技术对活性物质进行分离纯化和结构鉴定;从分子水平和基因水平探索TD-1活性代谢产物的抑菌杀虫等机理。

五、生物防霉存在的问题及展望

一些生物农药特别是菌剂或蛋白类物质,只有在适宜的温、湿度条件下才能发挥理想的抑菌、杀菌效果,对环境要求较为苛刻,从而限制了其应用范围。放线菌是目前发现抗生素种类最多的一类微生物,具有较高的使用价值和经济价值,在植物病虫害生物防治中具有开发应用前景^[35]。在放线菌这一资源宝库中,又以链霉菌产生的抗生素最多,占总数的52%,是发现新型先导化合物的重要源泉,成为生防研究领域的重要微生物类群^[36]。

目前,人们只分离到大约10%~20%土壤放线菌,80%以上的未知菌种有待开发。高拮抗菌株的缺乏直接限制了我国放线菌研究水平的提高和抗生素工业的发展,导致我国具有原创性和自主知识产权的抗生素很少。因此,筛选高拮抗菌株,研发抗菌活性物质,以其作为先导成分合成高效环保生物农药和绿色防霉剂,为栽培、加工、运输和贮藏过程中保证粮食作物安全提供技术保障,具有重要的社会效益和经济效益。

农业是支撑国民经济建设发展的基础,是人类的衣食之源,生存之本。工业化农业的发展,在促进了生产力大幅度提高的同时也带来了环境污染、生态失调等问题。目前,在发展中国家,还有8亿以上人口未达到粮食安全线,还有1.8亿学龄前儿童营养失调,数以亿计的人们正遭受饥饿和营养不良的折磨。在发展工业化农业,提高粮食作物产量的同时更应该避免由霉变等因素造成的不必要的损失,通过高科技等现代手段走出一条经济效益好、资源消耗低、环境友好的可持续发展的新型工业化之路!

参考文献

1. Sarah Mello. Biotransformation in mycotoxin control[J]. Feed Tech, 2003, 7(5): 26-27.

2. Eduardo, S, Norma, H. , Santos, G. Inhibition of growth and mycotoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* by extracts of *Agave* species[J]. International Journal of Food Microbiology, 2005, 98: 271 – 279.
3. J C Fritz, P. B. Mislivec, G. W. Pla, et al. Toxicogenicity of Moldy Feed for Young Chicks[J]. Poult. Sci. , 1973, 52(4) : 1523 – 1530.
4. N. Paster, I. Bartov, A. Perelman. Studies of the Fungistatic Activity of Antifungal Compounds in Mash and Pelleted Feeds[J]. Poult Sci, 1985, 64(9) : 1673 – 1677.
5. Nahm. K. H. Efficient feed nutrient utilization to reduce pollutants in poultry and swine manure[J]. Critical Review in Environmental Science and Technology, 2002, 32(1) : 1 – 16.
6. 李俊波. 霉菌吸附剂对肉鸡生产性能的影响[J]. 饲料工业, 2000, 21(6) : 40 – 41.
7. 姚勤, 黄章根. 霉菌对饲料的污染及防治[J]. 现代农业科技, 2006, 4: 76 – 77.
8. Rheeder J P, Marasas W F O, Thiel P G, et al. Fusarium moniliforme and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei[J]. Phytopathology, 1992, 82: 353 – 357.
9. Chu F S, Li G Y. Simultaneous occurrence of fumonisin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the Peoples Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer[J]. Appl Environ Microbiol, 1994, 60: 847 – 852.
10. Marijana Sokolović, Borka Šimpraga. Survey of trichothecene mycotoxins in grains and animal feed in Croatia by thin layer chromatography[J]. Food Control, 2006, 17(9) : 733 – 740
11. 宋家玉, 林艺. 薄层色谱法测定中毒饲料中串珠镰刀菌素[J]. 卫生研究, 1998, 27: 142.
12. Youxiang Zhou, Jiaia Wu, Fusheng Chen, et al. Preparation for aflatoxin B1 – cationized bovine serum albumin based on Mannich – type reaction[J]. Journal of Immunological Methods, 2007, 328(1 – 2) : 79 – 88.
13. Yang Ye, Ping Wang, Fusheng Chen, et al. Evaluation of latex agglutination inhibition reaction test for rapid detection of aflatoxin B1 [J]. Food Control, 2011, 22(7) : 1077 – 1077.
14. Shuo Wang, Ying Quan, Nanju Lee, et al. Rapid Determination of Fumonisin B1 in Food Samples by Enzyme – Linked Immunosorbent Assay and Colloidal Gold

Immunoassay[J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(7): 2491 – 2495.

15. SN/T 1572 – 2005. 进出口粮谷、饲料中伏马毒素检测方法. 液相色谱法[S].

16. 陆庆光. 50 年来中国生物防治回顾[J]. 世界农业. 1999, 245(9): 19 – 21.

17. 闫恂. 蔬菜病虫害发生及生物防治技术的应用[C]. 面向 21 世纪的植物保护发展战略. 北京:中国科学技术出版社, 2001, 517 – 522.

18. 冯平章. 浅谈生物农药的科技创新与产业化进程[C]. 面向 21 世纪的植物保护发展战略. 北京:中国科学技术出版社, 2001, 125 – 199.

19. 冯定远. 花生饼中黄曲霉毒素物理去毒的试验[J]. 广东饲料, 1995, 6: 11.

20. McKenzie K S, Kubena L F, Denvir A J, et al. Aflatoxicosis in Turkey Poults is Prevented by Treatment of Naturally Contaminated Corn with Ozone Generated by Electrolysis[J]. Environment and Health, 1998, 77: 1094 – 1102.

21. 姚琳. 微生物生物防治的研究综述[J]. 林区教学, 2009, 5: 123 – 125.

22. Rothrock, C. S., Gottlieb, D. Role of antibiosis in antagonism of *Streptomyces hygroscopicus* var *geldanus* to *Rhizoctonia solani* in soil[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1984, 30: 1440 – 1447.

23. 乔宏萍, 宗兆锋. 重寄生放线菌 F46 和 PR 对灰葡萄孢的抑制作用[J]. 西北农林科技大学学报, 2004, 32(11): 23 – 26.

24. Deborah A Samac, Amy M Willert, Matthew J McBride, Linda L Kinkel. Effects of antibiotic – producing *Streptomyces* on nodulation and leaf spot in alfalfa [J]. Applied Soil Ecolog, 2003, 22(1): 55 – 56.

25. Stephen Bentley, Matthew Holden, Mohammed Sebahia, Ana Cerdeño – Tárraga, Julian Parkhill. Genome giants[J]. Trends in Microbiology, 2002, 10(7): 309 – 310.

26. Fuchs E, Binder EM, Heidler D, et al. Characterisation of metabolites after the microbial degradation of A – and B – trichothecenes by BBSH 797[J]. Mycotoxin Research, 2000, 16(1): 66 – 69.

27. Hormisch D, Brost I, Kohring G W, et al. *Mycobacterium fluoranthenorivorans* sp. nov., a fluoranthene and aflatoxin B1 degrading bacterium from contaminated soil of a former coal gas plant [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2004, 27(6): 653 – 660.

28. 计成, 赵丽红, 马秋刚, 等. 黄曲霉毒素生物降解的研究及前景展望

[J]. 中国家禽, 2009, 31(21): 6-9.

29. 周启升, 曹宁宁, 仇念全, 等. 拮抗链霉菌 S24 抗菌物质的提取及其部分理化性质[J]. 生物工程学报, 2010, 26(3): 350-356.

30. 魏赛金, 熊智强, 张智平, 等. 链霉菌 702 菌株所产抗真菌单体组分 DZP-8 和 DZP-9 的分离纯化与制备[J]. 广东农业科学, 2011, 16: 4-7.

31. 魏赛金, 张智平, 涂晓嵘, 等. 链霉菌 702 抗尖孢镰刀菌次级代谢产物的分离鉴定及活性研究[J]. 江西农业大学学报, 2011, 33(5): 0982-0986.

32. 刘春静, 王昌禄, 陈勉华, 等. 串珠镰刀菌拮抗菌的分离筛选及其抑菌作用[J]. 粮食与饲料工业, 2011, (1): 41-42.

33. 杨晓静, 王昌禄, 王志芳, 等. 链霉菌 TD-1 菌株抑菌活性物质发酵条件的优化[J], 北京工商大学学报, 2012 年第 3 期.

34. 刘春静, 王昌禄, 李凤娟, 等. 链霉菌 TD-1 代谢产物对饲料中污染霉菌的抑制作用及其稳定性[J], 北京工商大学学报, 2012 年第 4 期.

35. Dekker J. Bacterial plant disease control fungicides[J]. World Review of Pest Control, 1971, 10: 9-23.

36. 傅俊曾, 冀兰鑫, 谢春峰. 链霉菌属微生物来源的生物活性天然产物[J]. 药物评价研究, 2010, 33(2): 153-158.



王昌禄 1960 年生于秦皇岛市, 天津科技大学“海河学者”特聘教授, 博士生导师。UNIDO 中国投资与技术促进处绿色产业专家委员会委员, 中国农业工程学会农产品加工及贮藏工程专业委员会副理事长, 中国保健协会专家委员会委员, 天津市学位与研究生教育学会副秘书长, 天津市食品工业协会专家委员会副主任等。《氨基酸和生物资源》、《中国酿造》等杂志编委。曾获天津市科技进步奖一、三等奖, 河北省科技进步奖二等奖, 全国农牧渔业丰收奖

二等奖, 中国轻工业联合会科技进步奖三等奖, 第二届天津青年科技奖, 天津市优秀共产党员, 天津市劳动模范等。长期从事学科建设、学位与研究生教育等管理工作并在食品生物技术等方向招收硕士、博士研究生并进行科研工作。

双原位法制备酪素基 纳米 SiO_2 复合乳液的研究

马建中等

陕西科技大学资源与环境学院

摘要:采用双原位法制备了酪素基纳米二氧化硅复合乳液,主要研究了乳液的稳定性及成膜的各项性能,并对复合材料通过傅里叶红外光谱(FT-IR)、透射电镜(TEM)、动态激光光散射(DLS)、热重分析(TGA)等手段进行了表征。为进一步考察双原位法制备复合材料的综合性能,将其与采用常规复配法制备的复合材料进行了对比。结果显示:采用双原位法制备的复合乳胶粒呈规则核壳型球状,粒径约为 80 nm,且粒子大小分布均一。而常规复配法所得乳胶粒粒径在 180 nm 左右,且粒子大小分布均一性较差。与复配法相比,该方法制备的复合材料稳定性更优,粒径更小,且成膜具有更为优异的耐热稳定性、耐水性及物理机械力学性能。

关键词:酪素;纳米二氧化硅;复合乳液;双原位聚合;复配

一、前言

近年来,具有生物相容性和降解性的高分子聚合物越来越受到关注。酪素作为一种从牛奶中提取的天然蛋白质,其成膜具有黏结力强,耐温性能好,涂层光泽柔和自然,卫生性能好等优点,因而可以作为涂层材料被广泛应用于造纸、包装、皮革等领域。然而,酪素成膜也存在一些不足,因酪素分子中含有较多的羟基、羧基、氨基等极性基团,所以造成了其成膜吸湿性强,且耐湿摩擦较差;同时酪素分子链的极性基团之间存在着大量的氢键和其他次级键,使得酪素分子主链的柔顺性不良,肽链之间的相对滑动性较差以至于使其成膜硬脆,延伸性小,易断裂^[1],因此,必须对酪素进行改性以提升其使用价值。

国内外科研工作者对酪素的改性主要集中在化学改性和物理共混改性,改性材料多采用增塑剂^[2-4]、交联剂^[4]、聚氨酯^[5]及蒙脱土^[6]等。作者所在课题组多年来也致力于酪素的改性研究,主要通过常规乳液聚合或无皂乳液聚合的方

式将己内酰胺、丙烯酸酯、聚氨酯等^[7-8]引入酪素基体对其进行改性,并将改性材料应用于皮革涂饰剂的成膜组分。研究结果显示改性材料的机械力学性能及耐水性有一定提高,但卫生性能往往有所下降。

纳米二氧化硅(SiO_2)作为一种独特的纳米粒子,其具有特殊的表面效应、量子尺寸效应和体积效应,将其引入有机聚合物,可以同时改善聚合物的化学性能、机械性能和光学性能等^[9]。课题组前期分别采用了物理共混和溶胶凝胶法等制备聚丙烯酸酯/纳米 SiO_2 复合材料,结果发现纳米 SiO_2 能提高材料的透水汽性、透气性和耐水性等^[10]。课题组也曾将市售纳米 SiO_2 粉体引入酪素基材,通过单原位聚合法制备出了疏水性、耐热性及耐屈挠性较优异的复合材料^[11],但是由于无机粉体与聚合物基体之间作用力较弱,导致复合材料的储存稳定性较差,同时,由于纳米粉体的部分团聚导致成膜力学性能较差。为了克服上述研究中存在的问题,本课题拟在前期研究基础上,采用纳米粒子的前驱体正硅酸乙酯代替市售 SiO_2 粉体,即采用双原位聚合法制备聚丙烯酸酯/纳米 SiO_2 共改性酪素复合乳液。为了验证该方法制备乳液的优势,我们将其与采用常规复配法制备出的聚丙烯酸酯/纳米 SiO_2 共改性酪素复合乳液进行了对比分析。

二、材料与方法

(一) 材料与试剂

酪素,精一级,浙江华天精细化工有限公司;三乙醇胺,分析纯,天津市登丰化学制品有限公司;丙烯酸类单体,分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;正硅酸乙酯,分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;硅烷偶联剂,分析纯,曲阜市万达化工有限公司;过硫酸铵,分析纯,天津市化学试剂六厂。

(二) 仪器与设备

H-7605 型透射电子显微镜,日本日立;nano-ZS 动态光散射粒度仪,英国 MALVERN 公司;V70 型傅里叶变换红外光谱仪,德国 Bruker;TGA-Q500 型热重分析仪,美国 TA 公司

(三) 方法

(1) 乳液合成

① 双原位法

首先,在装有搅拌器和冷凝装置的 250 mL 三口烧瓶加入一定量的酪素、三

乙醇胺和部分去离子水,升温至 65℃。搅拌 2 h 后,升至 75℃,以滴加方式加入一定量的正硅酸乙酯和硅烷偶联剂混合液;随后滴加单体和引发剂水溶液,保温反应一定时间,停止反应,室温冷却,出料。

② 复配法

在装有搅拌器和冷凝装置的 250 mL 三口烧瓶中加入一定量的酪素、三乙醇胺和部分去离子水,升温至 65℃。搅拌 2 h 后,升温至 75℃,滴入一定量的二氧化硅前驱体和硅烷偶联剂混合液,反应一定时间得到乳液 A;另外,按照双原位中丙烯酸酯类单体的聚合工艺,在装有搅拌器和冷凝装置的 250 mL 三口烧瓶中加入单体和引发剂反应一定时间得到乳液 B。将乳液 A 和乳液 B 按 1:1 质量比复配后搅匀即得目标乳液。

(2) 乳液稳定性测试

① 离心稳定性

取 4 mL 的试样于 10 mL 的离心管中,进行离心沉降,速度为 3000 r/min,时间为 30 min,停机取出,观察离心管中是否有分层或沉淀,若无,则表示稳定性好。

② 化学稳定性(酸、碱、盐)

取 4 mL 试样于 10 mL 具塞试管中,加入 1 mol/L 的 HCl /NaOH/ CaCl₂ 溶液 1 mL,塞紧量筒塞,上下翻动 1 min (约 30 次),搅拌摇匀,放置 24 h,观察试管中是否有分层或破乳现象,若无,则表示稳定性好。

(3) 乳液成膜性能测试

取 20 g 纳米复合乳液倒入直径为 90 mm 的圆形培养皿中,室温下自然干燥;

① 膜的耐水性

截取边长为 2 cm 的薄膜,准确称量薄膜质量,记为 m_1 ,室温下将膜在去离子水中浸泡 24 h 后,用滤纸擦干膜的表面,称其质量,记为 m_2 ,按式(2-1)计算膜的吸水率。

$$w = [(m_2 - m_1) / m_1] \times 100\% \quad (2-1)$$

② 力学性能测定

将成膜按所需测试项目用模刀切取试样后进行空气调节 48 h,试样进行空气调节的条件是:温度为 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、相对湿度为 $(65 \pm 2)\%$ 。按照标准 QB/T 3812.5-99 对膜样进行机械性能测试。

(4) 表征

① 透射电子显微镜(TEM)测试:将待测样品稀释到质量分数为 3%,吸取少量测试液于铜网上,采用 1% 磷钨酸对其进行负染色 15 min,随后在 H-7605 型

透射电子显微镜下观察。

② 动态激光光散射 (DLS) 测定: 将乳液稀释至浓度为 0.5%, 采用英国 MALVERN 公司 Nano-ZS 动态光散射粒度仪测试。

③ 红外光谱 (FT-IR) 测试: 取干燥的膜样品直接放在 Bruker V70 型傅里叶变换红外光谱仪的衰减全反射 (ATR) 采样器的锗晶体上, 旋转 ATR 采样器按钮压住样品, 在 4500 ~ 500 cm⁻¹ 范围内扫描, 采集样品的红外光谱。

④ 热重分析法 (TGA) 测试: 取干燥后的膜样品 5 ~ 10 mg, 采用美国 TA 公司的 TGA-Q500 型热重分析仪进行热稳定性分析, 升温速率为 10℃, 升温范围为常温至 600℃。

三、结果与分析

(一) 乳液稳定性

表 1 结果显示: 采用双原位法及复配法制备的乳液均具有较好的耐碱及耐电解质稳定性, 而耐酸稳定性较差, 这主要由于酪素是一种等电点在 pH = 4.8 左右的两性蛋白质, 其在弱酸中会沉淀。和复配法制备的乳液相比, 采用双原位法所制备的乳液离心稳定性较好, 这是因为双原位法制备的乳液中, 酪素与聚丙烯酸酯及二氧化硅之间产生了较强的化学结合作用, 有机相与无机相之间不是孤立存在的, 而是有机地结合为一体。然而, 在复配法制备的乳液中, 酪素与二氧化硅之间有着较强的化学键合作用, 而与聚丙烯酸酯之间则仅仅是通过物理作用共混的, 这就导致有机相和无机相的相容性与结合牢度较低, 因此, 在高速离心的作用下乳液会出现分层甚至破乳。

表 1 乳液稳定性对比结果

乳液	离心稳定性	耐酸稳定性	耐碱稳定性	耐电解质稳定性
双原位制得乳液	稳定	不稳定	稳定	稳定
复配法制得乳液	不稳定	不稳定	稳定	稳定

(二) 乳胶粒结构组成、微观形貌与粒径表征

为了深入研究乳胶粒的结构、微观形貌及粒径大小与分布情况, 我们主要通过 FT-IR、TEM、DLS、TGA 等手段对两种方法制备的乳液进行了表征, 并对表征结果进行了对比分析。

(1) FT - IR

对比图 1 中乳胶膜的 FT - IR 曲线可知:两种方法制得乳胶膜的 FTIR 谱图出峰位置基本吻合,说明样品中主要官能团基本一致。首先,两条曲线均含有酪素的特征吸收峰: 1651 cm^{-1} 处的吸收峰是酪素酰胺 I 的特征吸收峰, 1240 cm^{-1} 是酪素酰胺 II 的特征吸收峰, 672 cm^{-1} 是酪素酰胺 V 的特征吸收峰。酪素酰胺键上的 N - H 伸缩与弯曲振动峰则分别出现在 3305 cm^{-1} 与 1541 cm^{-1} 处。不同的是,在复配法制备乳胶膜中,酪素酰胺在 1651 cm^{-1} 处的吸收峰较强,而在双原位法制备的乳胶膜中,该吸收峰明显较低,说明未参加化学反应的酪素基体减少。另外,两条曲线均在 1730 cm^{-1} 附近出现丙烯酸酯链段上的 -C=O 伸缩振动吸收峰,表明复合材料中均含有聚丙烯酸酯链段。两条曲线在 1620 cm^{-1} 处均未出现特征峰,表明材料中不存在 C=C 基团,即不存在未反应的丙烯酸酯类单体,这就说明了丙烯酸酯类单体较完全地发生了聚合反应。与此同时,我们可以看到,两条曲线均在 1089 cm^{-1} 与 806 cm^{-1} 附近出现了 Si-O-Si 吸收峰的伸缩与弯曲振动峰。由此可以证实成功获得了聚丙烯酸酯/纳米二氧化硅共改性酪素复合材料。

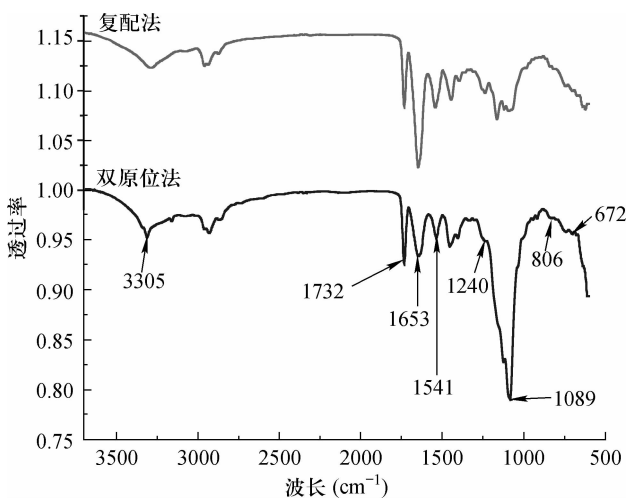


图 1 乳胶膜的 FT - IR 对比图

(2) TEM

图 2 显示了两种方法所得乳胶粒的 TEM 图,从图中可以看出:双原位法与复配法制得乳胶粒均呈明显的核壳结构,但粒径大小差异较大。双原位法制备的乳液乳胶粒较小,粒径为 80 nm 左右,其乳胶粒核层和壳层分别为聚丙烯酸酯改性酪素和二氧化硅;而复配法制备的乳胶粒大部分粒径较大,在 180 nm 左右,其乳胶粒核层和壳层分别为酪素和二氧化硅;同时可看到:有较少量的

小粒径乳胶粒散乱分布在大粒径粒子周围,分析该小粒径乳胶粒可能为聚丙烯酸酯粒子。

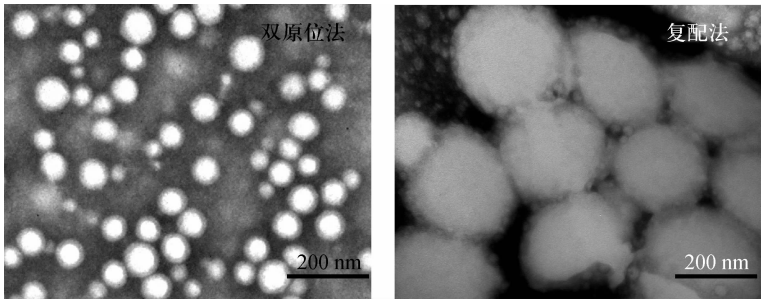


图 2 乳胶粒的 TEM 对比图

(3) DLS

由图 3 可得:采用双原位法制备的乳胶粒粒径小于复配法所制备的乳胶粒粒径,且双原位法制备乳胶粒的粒径分布也较窄。这与 TEM 结果是基本吻合的,进一步印证了双原位法制备乳胶粒的尺寸与均一性优势所在。

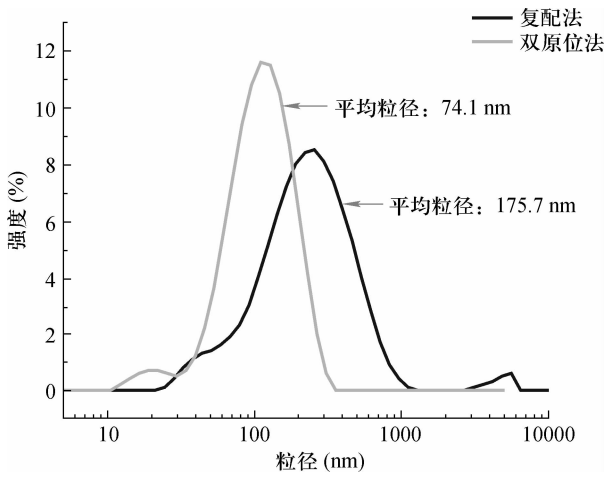


图 3 乳胶粒的 DLS 对比图

(4) 乳胶粒形成机理

结合 TEM 及 DLS 结果,为了更直观地解释两种不同方法制得乳胶粒其微观形貌的差异,笔者分别探讨了两种制备方法中乳胶粒的形成机理。

我们认为:在双原位法制备乳液的过程中,引入正硅酸乙酯形成壳层之前,丙烯酸酯类单体已经经过了较好的乳化,这对于单体发生聚合极其有利,同时对后期形成粒径小且分布均匀的聚合物乳胶粒起了一定的促进作用,因此所得乳

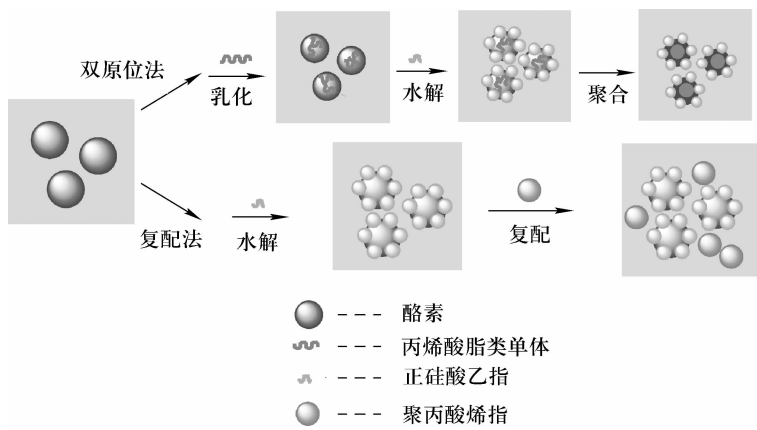


图 4 乳胶粒的形成机理模拟图

胶粒粒径小,分布均一;而在复配法制备乳液的过程中,聚丙烯酸酯与基体之间只发生了简单的物理共混作用,因此,体系中主要存在有较大粒径的酪素/二氧化硅粒子,而聚丙烯酸酯粒子则零乱分布在改性酪素粒子周围。

(三) 乳胶膜表征与性能检测

(1) TGA

为了考察乳胶膜的耐热稳定性,我们采用 TGA 对乳胶膜进行了表征,结果见图 5。由图 5 可知:两种方法制备的乳胶膜其热失重均主要发生在 200 ~ 400℃ 范围内,曲线均只有一个拐点,说明所有样品都一步分解。经测量,双原位法与复配法所得乳胶膜的最大分解速率时的热分解温度分别为 376. 81℃ 与 366. 22℃,说明双原位法制备的材料热失重温度较高,热稳定性较好。原因可能是采用双原位方法制备的乳胶粒,其有机相与无机相产生了较强的化学结合从而形成了稳固的网络结构,二氧化硅作为交联点使得乳胶粒所成复合薄膜的网络交联程度较高,分子链的运动受到了很大程度的束缚。而复配法所得乳胶膜由于有机相与无机相主要是物理作用,这使得分子链更容易滑动而导致热稳定性较弱。

(2) 乳胶膜性能测试

本研究涉及的乳液成膜性能主要是指物理机械力学性能和耐水性,其中,物理机械力学性能包括抗张强度和断裂伸长率,耐水性则主要是通过膜的吸水率大小来衡量。对于乳胶膜来说,其断裂伸长率值较大,说明其具有较好的弹性或韧性;抗张强度值较大,则意味着其具有较高的强度。吸水率越低,则表示膜的耐水性越好。测试结果见表 2。

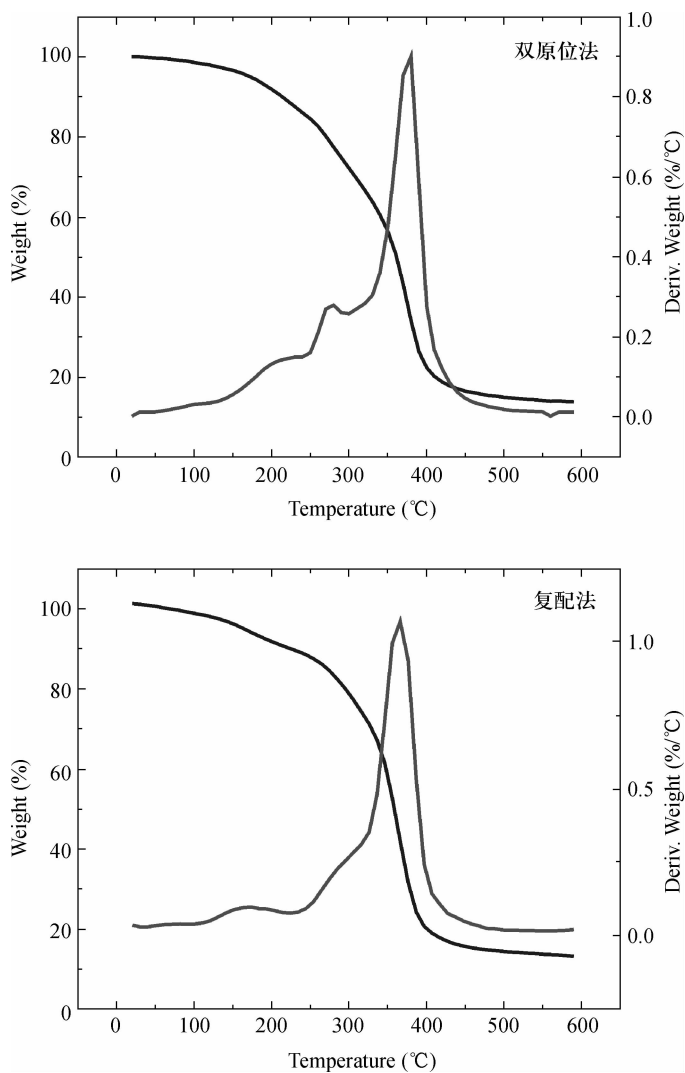


图 5 乳胶膜的 TG 与 DTG 对比图

表 2 乳胶膜性能对比结果

乳液	抗张强度(MPa)	断裂伸长率(%)	吸水率(%)
双原位制得乳液	3.55	187.41	49.80
复配法制得乳液	0.64	149.32	81.41

从表 2 可以看出,双原位法制备的乳胶膜具有较优的物理机械力学性能和耐水性,而复配法制备的乳胶膜综合性能较差。分析原因为,双原位法制备乳胶膜中有机、无机相通过化学键结合,且形成的乳胶膜具有一定的网络交联结

构^[12],同时,从 TEM 图中可看出二氧化硅粒子在体系中的分布均一,并未发生粒子的团聚现象,说明无机粒子与有机基体的相容性较好,这些均为纳米二氧化硅粒子在复合材料中发挥增强增韧作用提供了有利条件。

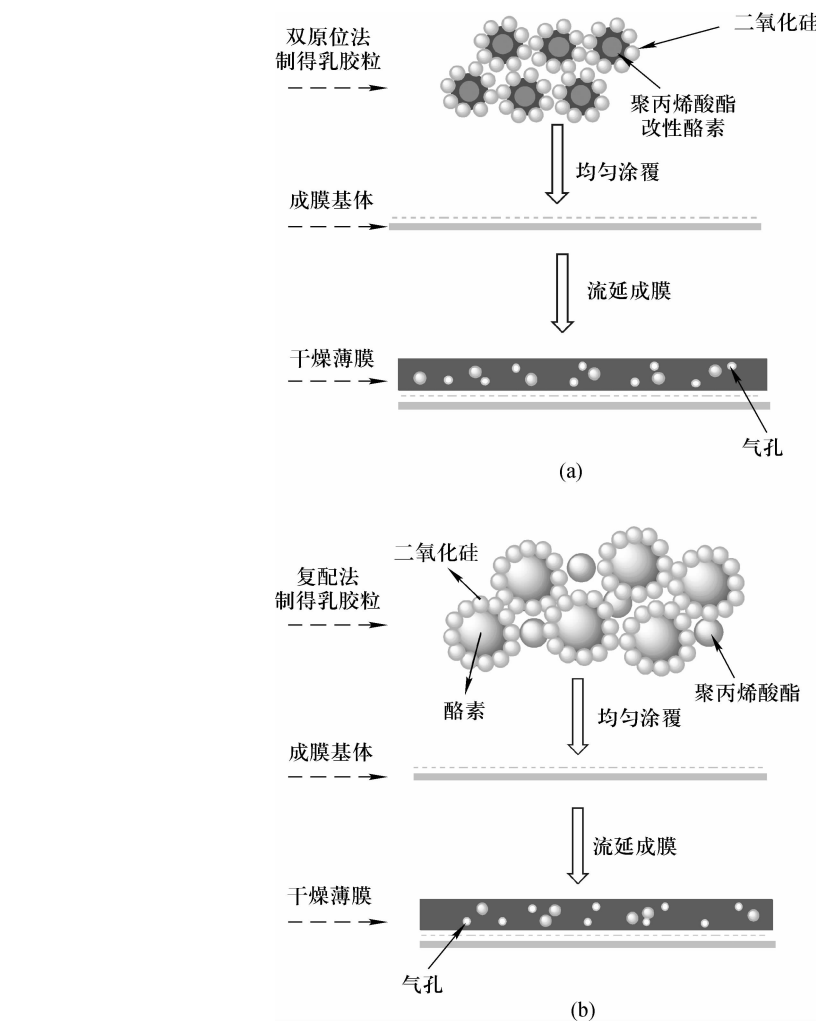


图 6 双原位法 (a) 与复配法 (b) 制备乳胶粒成膜机理模型图

(4) 成膜机理探讨

为了进一步解释双原位法与复配法制备的乳胶膜性能差异,我们对两种乳液成膜的机理进行了分析,并建立了乳胶粒成膜机理模型图(见图 6)。从化学成膜角度来讲,乳液成膜是一种聚合物分子链凝聚现象,是一个从乳胶颗粒相互接触、变形到分子链相互贯穿、扩散的过程。对于高分子乳液体系来讲,其成膜性能与乳胶粒中聚合物链段上的活性基团、聚合物链段的扩散速率和交联速率有着直接的关系。在图 6 中,所示气孔是由于脲素不连续成膜造成的,这是

酪素成膜本身的性质。对比图 6(a) 和图 6(b), 可以发现: 双原位制备的复合乳胶粒是一个均一的整体, 因此其在变形、融合、交联成膜的过程中, 核层与壳层组分的迁移速率始终是保持一致的, 所以其干燥后所成乳胶膜也是均匀的有机-无机杂化膜, 同时, 均匀分布的无机二氧化硅作为交联点增强了杂化膜的交联程度, 且赋予基材较明显的增强增韧作用, 这就解释了为什么双原位法制备的乳液成膜机械力学性能、耐水性及耐热稳定性都较高。在复配法制备的乳液中, 体系是非均一的, 即其成膜过程同时包括酪素/二氧化硅核壳乳胶粒和聚丙烯酸酯乳胶粒两个不同组分的变形与融合; 由于组分差异较大, 其随着水分的挥发迁移速率是不一致的, 这就导致一方面乳胶膜组分不均匀, 另一方面无机粒子在有机基体中分布不均一甚至有可能严重团聚, 造成乳胶膜中有机与无机组分之间相容性变差, 从而影响了乳胶膜的机械力学性能、耐水性及耐热性能。

四、结论

采用双原位法成功制备了酪素基二氧化硅纳米复合乳液, 其乳胶粒呈规则的核壳型球状, 粒径约为 80 nm 左右, 且粒子大小分布均一。与复配法制备的乳液相比, 双原位法制备的乳液乳胶粒更小, 分布更为均一, 成膜具有更优的热分解稳定性、物理机械力学性能及耐水性。根据以上结果, 提出了双原位与复配法制备复合乳胶粒的形成机理及成膜机理。

参考文献

1. 申晓庆, 兰云军, 许晓红. 酪素改性的技术手段与改性产品的性能特点[J]. 西部皮革, 2009, 31(3): 30-32.
2. Audic J L, Chaufer B, Daufin G. Non-food applications of milk components and dairy co-products: a review[J]. Lait, 2003, 83, 417-438.
3. Barreto P L M, Pires A T N, Soldi V. Thermal degradation of edible films based on milk proteins and gelatin in inert atmosphere[J]. Polym. Degrad. Stab. 2003, 79, 147-152.
4. Ghosh A, Ali M A, Dias G J. Effect of Cross-Linking on Microstructure and Physical Performance of Casein Protein[J]. Biomacromolecules, 2009, 10, 1681-1688.
5. Wang N G, Zhang L, Lu Y S, et al. Properties of crosslinked casein/water -

borne polyurethane composites[J]. J. Appl. Polym Sci, 2004, 91: 332 - 338.

6. Tassawuth Pojanavaraphan, Rathanawan Magaraphan, et al. Development of Biodegradable Foamlike Materials Based on Casein and Sodium Montmorillonite Clay [J]. Biomacromolecules, 2010, 11, 2640 - 2646.

7. Jianzhong Ma, Qunna Xu, Dangge Gao, Jianhua Zhou. Blend Composites of Caprolactam - modified Casein and Waterborne Polyurethane for Film - forming Binder: Miscibility, Morphology and Properties[J]. Polymer Degradation and Stability, 2012. 97(8): 1545 - 1552.

8. Ma Jian - zhong, Xu Qun - na, Gao Dang - ge. Study on Synthesis and Performances of Casein Resin Grafting Modified by Caprolactam/Acrylic Esters /Vinyl Acetate/Organic Silicone[J]. Advanced Materials Research, 2010, 123 - 125: 1267 - 1270.

9. 安秋凤, 郭锟. 纳米 SiO_2 表面改性及其应用在复合材料中的研究进展无皂乳液聚合体系稳定性的研究与发展[J]. 纳米科技, 2007, 4(5): 9 - 15.

10. Jing Hu, Jianzhong Ma, Weijun Deng. Properties of acrylic resin/nano - SiO_2 leather finishing agent prepared via emulsifier - free emulsion polymerization [J]. Materials Letters, 2008, 62: 2931 - 2934.

11. Xu Qunna, Ma Jianzhong, Zhou Jianhua, Li Na. Synthesis and performance of polyacrylate modified casein/nano SiO_2 leather finishing agent using soap - free emulsion polymerization[C]. Functional Materials and Applications, 2011, 554 - 557.

12. 周建华, 张琳. 纳米 SiO_2 改性硅丙无皂乳液皮革涂饰剂的合成和应用[J]. 中国皮革, 2010, 39(11): 41 - 44.



马建中 教授/博导, 陕西科技大学副校长, 享受国务院特殊津贴。国家技术发明奖二等奖(排名第一)、国家科技进步奖二等奖(排名第一)、陕西省先进工作者、陕西省优秀留学归国人才、国家教育部新世纪优秀人才支持计划获得者。国务院学位委员会学科评议组成员, 教育部科技委化学化工学部委员, 教育部教学指导委员会委员, 中国工程院产业工程科技委员会轻工绿色化学品研究开发促进会副理事

长,中国皮革协会技术委员会主任,中国洗协科技委副主任委员,全国工业表面活性剂理事会副理事长,西安纳米科技学会副理事长,《皮革科学与工程》杂志副主编,《中国皮革》杂志编审,《日用化学工业》等杂志社编委,*Carbohydrate polymers*、*Chemical Engineering Journal*、*BioResources* 等国际杂志审稿专家。

层状硅酸钠催化的甘油低聚反应研究

董晋湘等

太原理工大学 精细化工研究所

摘要:以 Na_2CO_3 为对比,考察了层状硅酸钠的 α 、 β 、 δ 三种晶型及其两种改性材料 Kanemite ($\text{NaHSi}_2\text{O}_5 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 和 Magadiite ($\text{Na}_2\text{Si}_{14}\text{O}_{29} \cdot n\text{H}_2\text{O}$) 作为甘油低聚反应的催化剂对反应的影响,采用高效液相色谱分析产物组成。实验表明,不同类型层状硅酸钠的相对催化活性为: $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 \approx \beta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 \approx \alpha - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 > \text{Kanemite} > \text{Magadiite}$ 。催化活性较高的 $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 对二聚甘油和三聚甘油有良好的选择性,以 2 wt% $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 作为催化剂,在 260°C 反应 5 小时,甘油转化率为 71.7%,二聚甘油和三聚甘油选择性为 83.8%,并对反应前后催化剂结构的变化进行了表征。

关键词:甘油;低聚反应;层状硅酸钠; $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$

一、前言

在能源危机的背景下,生物柴油成为生物质能源中发展最迅速的产品之一。在这一过程中每生产 1 t 生物柴油就会产生 100 kg 粗甘油^[1]。伴随着生物柴油需求的不断增长,全球甘油产量猛增,甘油的价格下降^[2],这为聚甘油类表面活性剂的发展提供了一个很好的契机。目前,该类表面活性剂主要有聚甘油脂肪酸酯和脂肪醇聚甘油醚,通过调节甘油的聚合度可以得到不同性能的产品,其中二聚和三聚甘油相应的表面活性剂有良好的表面活性,随着甘油聚合度增大,表面活性逐渐降低^[3,4]。因此控制聚甘油的聚合度,是制备甘油基表面活性剂的关键。

甘油聚合催化剂,主要是酸碱催化剂如硫酸、氢氧化钠等,但反应产物多为直链、支链和环状聚甘油的混合物^[5]。为了直接获得二聚甘油和三聚甘油,人们采用多孔固体催化剂对甘油聚合反应进行了大量研究,期望利用其孔择性,增强反应选择性。Harris 等^[6]人分别采用 NaA 沸石、NaX 沸石作为催化剂考察了其对于甘油低聚反应中二聚产物的选择性。Yuni^[7]等人报道了碱金属 (Na^+ 或 Cs^+) 交换过的沸石催化剂 (FAU 或 BEA) 对甘油聚合反应过程及产物选择性的影响,

研究表明,260℃下甘油转化率为40%~50%时,二聚甘油(包括环状的和线性的)的选择性接近100%,但随着转化率的提高,选择性明显下降。

尽管多孔固体催化剂对低聚甘油表现出良好的选择性,但催化活性不高,甘油转化率较低。为了满足绿色化工的要求,寻求一种高效、易分离、环境友好的甘油低聚反应催化剂十分重要。层状硅酸钠材料环境友好,容易制备,因此本文以层状硅酸钠为催化剂,研究了层状硅酸钠晶体结构种类对催化反应的影响。重点考察了 δ - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 作为催化剂的聚甘油反应条件,并对反应前后催化剂结构的变化进行了表征。

二、实验部分

(一) 原料

甘油,分析纯,北京化工厂;氢氧化钠,分析纯,天津化学试剂一厂;无水乙醇,分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司;乙腈,色谱纯,阿拉丁试剂有限公司; δ - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$,山东胜通集团股份有限公司; α - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 、 β - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 、 $\text{NaHSi}_2\text{O}_5 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Kanemite)、 $\text{Na}_2\text{Si}_{14}\text{O}_{29} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (Magadiite)均为自制。

(二) 表征

聚甘油样品 HPLC 分析采用 Shimadzu 高效液相色谱仪 LC-20AD;色谱柱:Agela 氨基柱 Venusil XBP NH_2 D4.6 mm $\times$ 250 mm;流动相:乙腈-水体系(体积比为85:15);柱和流动池温度皆为40℃;示差折光检测器(Shimadzu)灵敏度为3;体积流量为1.0 mL/min。

层状硅酸钠的物相分析采用日本 Rigaku Mini Flex II 进行 X 射线粉末衍射分析,Cu 靶 $\text{K}\alpha$ 射线,工作电压30 kV,工作电流15 mA,步长为0.01°,扫描范围 $2\theta = 3^\circ \sim 40^\circ$,扫描速度为1°/min,样品仔细研细压片后测试。

利用 JSM-6360LV 型扫描电子显微镜观测层状硅酸钠催化反应前后的形貌,操作电压为25 kV,样品表面经过喷金处理后进行测试。

(三) 实验方法

在装有分馏装置的四口烧瓶中加入100 g甘油和所需比例催化剂,加热,搅拌(转速200 r/min),通入 N_2 (流速:0.6 mL/min),升温至实验温度,保持实验所需时间。取少量样品进行 HPLC 分析,产物溶于无水乙醇后过滤风干得到反应后的催化剂,用 XRD 和 SEM 表征。

三、结果

(一) 不同晶型层状硅酸钠的催化效果

层状硅酸钠具有多种晶型,本实验选取了层状硅酸钠的 α 、 β 、 δ 三种晶型及其两种改性材料 Kanemite ($\text{NaHSi}_2\text{O}_5 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 和 Magadiite($\text{Na}_2\text{Si}_{14}\text{O}_{29} \cdot n\text{H}_2\text{O}$) 作为甘油低聚反应的催化剂。在 $260\text{ }^\circ\text{C}$ 和催化剂用量为 $2\text{ wt}\%$ 的条件下反应 5 h ,以 Na_2CO_3 作对比,利用高效液相色谱分析了反应产物的组成,其结果如表 1 所示。

表 1 不同晶型层状硅酸钠催化甘油低聚反应的性质

催化剂	转化率(%)	选择性(%)			
		二聚甘油	三聚甘油	四聚甘油	其他
$\alpha - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$	70.4	49.5	35.0	8.9	6.6
$\beta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$	71.1	45.7	35.0	10.9	4.6
$\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$	71.7	49.7	34.1	11.6	4.6
Kanemite	19.9	93.3	6.7	0	0
Magadiite	8.0	93.2	6.8	0	0
Na_2CO_3	93.6	27.7	18.4	10.0	43.9

表 1 表明在相同的实验条件下, Na_2CO_3 的催化活性最高,反应 5 h 甘油的转化率达到 93.6% ,明显高于其他 5 种硅酸盐。 $\alpha -$ 、 $\beta -$ 和 $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 具有相似的催化性质,甘油的转化率和产物的选择性很接近,这与它们具有相近的碱性是一致的。由于 Kanemite 和 Magadiite 的碱性较弱,它们催化得到的甘油转化率分别为 19.9% 和 8.0% 。因此表 1 中 6 种催化剂的活性顺序可表示如下: $\text{Na}_2\text{CO}_3 > \delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 \approx \beta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 \approx \alpha - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 > \text{Kanemite} > \text{Magadiite}$ 。从产物分布上看, $\alpha - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 、 $\beta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 和 $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 对二聚甘油、三聚甘油的选择性明显高于 Na_2CO_3 。Kanemite 和 Magadiite 为催化剂时,由于转化率比较低,产物中主要以二聚甘油为主,其对二聚甘油的选择性分别达到了 93.3% 和 93.2% 。

(二) $\delta\text{-Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 催化甘油低聚反应的规律

(1) 反应时间对反应的影响

考察了 $\delta\text{-Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 与 Na_2CO_3 在 $260\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $2\text{ wt}\%$ 用量时,反应 6 小时的过程中,对甘油聚合反应的催化性能差异,其结果见图 2。

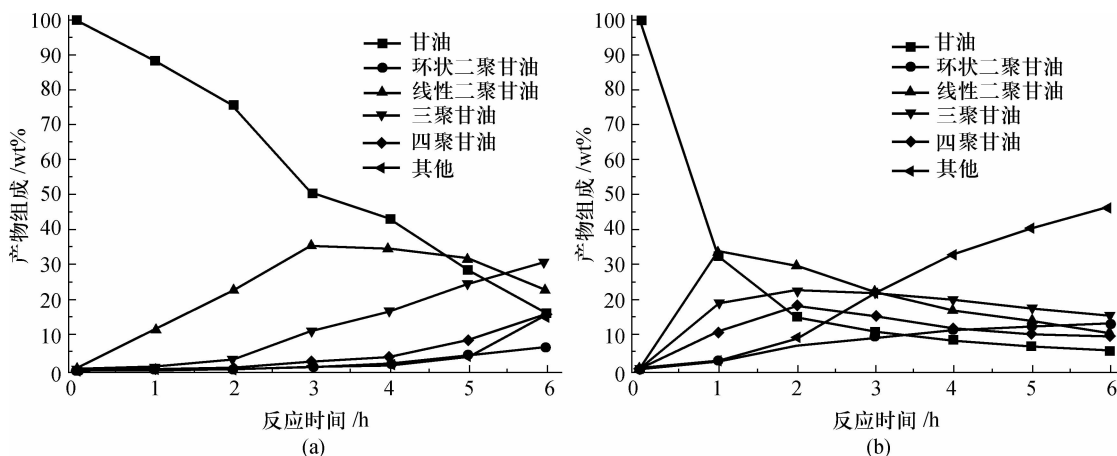


图 1 反应时间对产物组成的影响

(a) $\delta\text{-Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$; (b) Na_2CO_3

图 1 表明,在 $260\text{ }^\circ\text{C}$ 时, Na_2CO_3 具有很高的催化活性,反应 6 小时后,甘油的转化率已经超过了 90.0% 。然而由于 Na_2CO_3 的强碱性和易溶解性,催化过程中更易生成环状二聚甘油,如在 6 小时时,环状二聚甘油在反应体系中的含量已达 13.0% ,而 $\delta\text{-Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 催化产生的环状二聚甘油仅为 6.4% 。

将上述两种催化剂对二聚甘油和三聚甘油的选择性与甘油的转化率之间的关系进行对比,如图 2 所示。

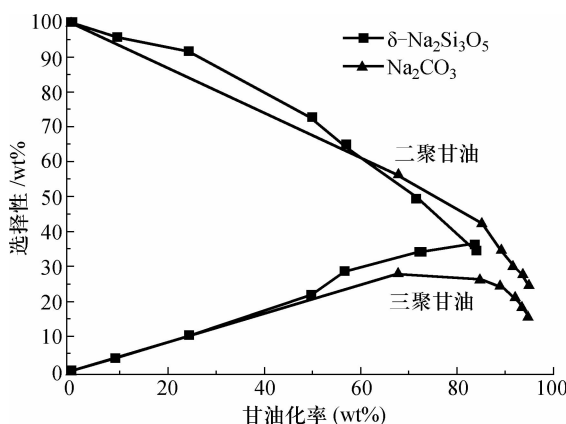


图 2 $\delta\text{-Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 与 Na_2CO_3 对二聚甘油和三聚甘油选择性的比较

结合图 1 与图 2 可知,在相同条件下, $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 的活性虽低于 Na_2CO_3 ,但是其对二聚甘油的选择性在甘油转化率小于 60% 时,均高于 Na_2CO_3 ,显示出了相对较好的选择性。此后,反应中产生的二聚甘油继续与未反应的甘油进一步聚合生成三聚甘油,因此在反应后期, $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 又表现出对三聚甘油的较好选择性。反应 5 小时后, $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 催化甘油的转化率达到 71.7%,此时二聚甘油和三聚甘油两者占产物的比例达 83.8%。相比之下, Na_2CO_3 为催化剂时,甘油转化率超过 70% 后,二聚甘油和三聚甘油的选择性均急剧下降。

(2) 反应温度对反应的影响

以 $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 为催化剂,固定反应时间和催化剂用量分别为 5 h 和 2 wt%,考察反应温度对甘油聚合反应的影响,实验结果如图 3 所示。

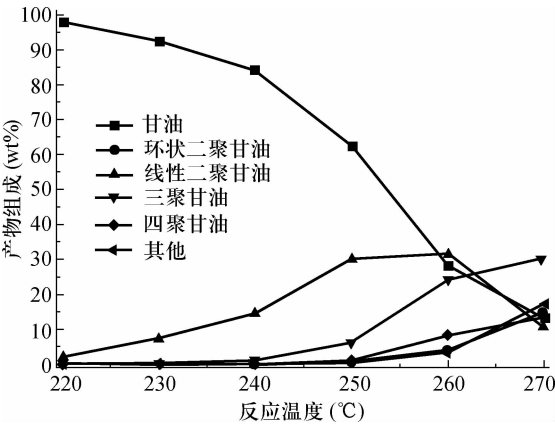


图 3 反应温度对产物组成的影响 ($\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$)

从图 3 可以看出,220 ℃ 甘油的转化率非常低,仅为 1.9%。随着温度的升高,聚合反应的速率明显增大。当温度升至 270 ℃ 时,环状二聚甘油和高聚态产物的含量明显提高,线性二聚甘油的含量明显下降。另一方面,据文献^[8]报道,催化剂的碱性和溶解度都会影响其催化效率,温度的升高会加快 $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 的溶解,有利于其碱性的释放。然而,高温会加快甘油的蒸发和分解,所以反应温度又不宜太高。由此可知,当目标产物为二聚甘油和三聚甘油,且要求环状二聚甘油含量较低时,260 ℃ 是比较适宜的温度。

(3) 催化剂用量对反应的影响

固定反应温度为 260℃、反应时间 5h, $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 用量对聚合反应的影响见图 4。

由图 4 可以看出,增大催化剂用量有助于加速聚合反应进程,然而这种趋势在催化剂用量超过 2 wt% 后明显放缓。这可能与 $\delta - \text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 在整个反应体系

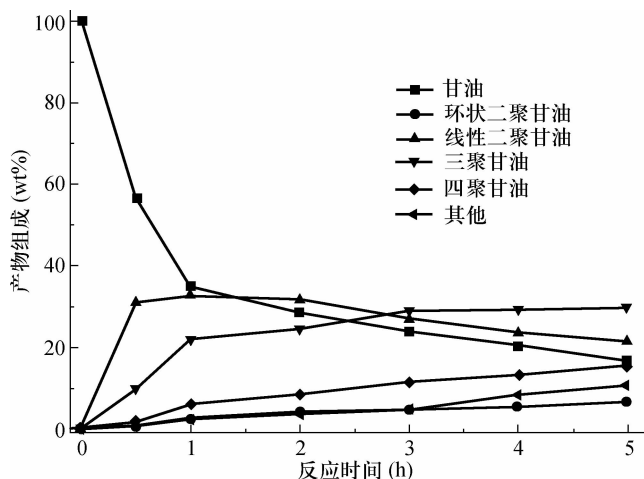


图 4 δ - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 用量对产物组成的影响

中的溶解度上限有关。因此从合成二聚甘油和三聚甘油产物为主并节省催化剂的角度出发, δ - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 的用量控制在 2 wt% 较为合适。

(三) 反应前后催化剂变化

由层状硅酸钠样品的 XRD 图谱图 5 可知,反应 5 h 后,层状硅酸钠催化剂失去了其原有的晶体特征,成为无定形样品。推测原因可能由于层状硅酸钠与聚合反应所产生的少量水作用,发生了结构的转变,并最终转化为无定形样品。这种结构的失去有利于其溶解于反应体系释放其碱性,这一缓慢过程提高了其对低聚甘油的选择性。

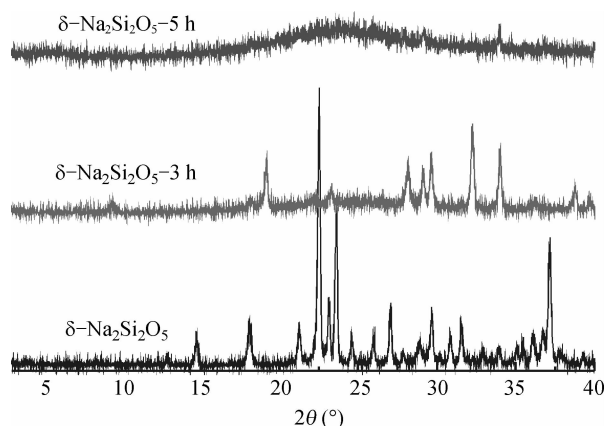


图 5 典型样品的 XRD 谱图 (x h 表示使用时间)

此外,实验还利用扫描电镜(SEM)对层状硅酸钠样品参加催化反应前后的表面特征进行了表征,如图6所示,证实了从XRD谱图判断得到的结果。

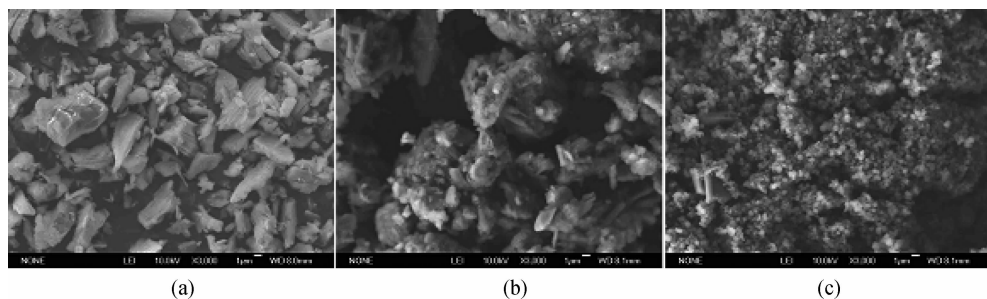


图6 δ - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 反应前(a),反应后3 h(b)和反应后5 h(c)电镜图片
(所有电镜图片的刻度一致,最小刻度标尺为:1 μm)

四、结论

- 1) 不同类型层状硅酸钠的相对催化活性为: δ - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 \approx \beta$ - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 \approx \alpha$ - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5 > \text{Kanemite} > \text{Na-magadiite}$ 。
- 2) δ - $\text{Na}_2\text{Si}_2\text{O}_5$ 对二聚甘油和三聚甘油有良好的选择性,合成的优化工艺条件为:反应温度 260°C , 2 wt% 催化剂用量,反应 5 h,二聚甘油和三聚甘油选择性可达 83.8%。
- 3) 层状硅酸钠反应前后结构的转变和碱性的缓慢释放增强了其对二聚甘油、三聚甘油的选择性。

参考文献

1. 谭艳来,欧仕益,汪勇. 生物柴油副产物甘油精制工艺研究[J]. 中国油脂, 2007, 32(5):44-46.
2. Economic feasibility of producing biodiesel in Tennessee[EB/OL]. <http://beag.ag.utk.edu/pp/biodiesel.pdf>.
3. 杨坤于,蒋文伟,褚钰宇. 聚甘油脂肪酸酯的表面性能研究[J]. 日用化学品科学, 2010, 33(5):25-28.
4. 张娟,蒋惠亮,杨明,等. 非离子表面活性剂十二烷基聚甘油醚的合成与性能研究[J]. 应用化工, 2009, 38(3):409-411.
5. 谷红宽,董晋湘. 生物质粗甘油的提纯及其应用研究进展[J]. 日用化学

品科学, 2010, 33(11):24-28.

6. Harris E G, Hees U, Bunte R, et al. Process for the production of oligoglycerol mixtures of increased diglycerol content [P]. US: 5349094, 1994.

7. Yuni K K, Reinhard E, Matthias S, et al. Glycerol Upgrading over Zeolites by Batch - Reactor Liquid - Phase Oligomerization: Heterogeneous versus Homogeneous Reaction [J]. ChemSusChem, 2008, 1(10): 835-844.

8. Barrault J, Clacens J M, Pouilloux Y. Selective oligomerization of glycerol over mesoporous Catalysts [J]. Topics in Catalysis. 2004, 27(1-4):137-142.



董晋湘 现任太原理工大学精细化工研究所所长。国家杰出青年基金获得者。

主要从事无机多孔材料研究。发现了一种新的沸石合成方法-蒸气相合成法。通过对类离子液体的低共熔混合物中有机物类型、体系酸碱性调整等方式,合成出一维、二维和三维结构的磷酸盐材料。关注多孔材料的工业应用,开展了新型无磷助洗剂层状硅酸钠的合成与应用研究。合成出 Al- δ 层状硅酸钠,解决了层状硅酸钠晶体结构塌陷的难题。

Al- δ 层状硅酸钠在山东胜通集团实现万吨级生产,产品在白猫等知名洗衣粉品牌中应用,取得良好的经济与社会效益。

研究成果获得国家技术发明二等奖 1 次。在国内外学术期刊正式发表论文 130 余篇,所发表的论文被 SCI 他引 500 余次。

淀粉衍生物粉体连续流态 管道化清洁制备技术

姚献平等

国家造纸化学品工程技术研究中心 杭州市化工研究院
杭州纸友科技有限公司

摘要:淀粉衍生物粉体连续流态管道化清洁制备新工艺,与传统的湿法和干法工艺比较,具有投资省、反应效率高、速度快、成本低、节能环保等突出优点,尤其是不产生工业废水,产品质量稳定。该新工艺已形成年产 20 多万 t 产业化规模,并开发了 40 多个高性能淀粉基造纸化学品,以及相配套的淀粉衍生物连续蒸煮器等专业应用装置,成功地在现代大型高速纸机上推广应用。

关键词:淀粉衍生物;粉体连续流态管道化工艺;造纸化学品;造纸

一、概述

传统的淀粉衍生物生产工艺有湿法、干法等。所谓的湿法工艺主要是指淀粉和化学改性剂在水或有机溶剂中进行反应,反应中止后要经过过滤、分离、烘干等程序,大多为间歇式。反应过程通常要添加盐类抗凝胶剂,并将反应温度控制在胶化温度以下以防止淀粉糊化,因而反应时间较长(通常 4 ~ 20 h 不等)。湿法工艺的优点是反应均匀、缓和,工艺设备要求不高,几乎适用于各种淀粉衍生物的制造;缺点是废水量大,能耗高(后处理要干燥),得率低,成本高等。所谓的干法工艺是通过化学试剂与淀粉固液混合,反应在固相高温下进行,大多为间歇式。优点是反应效率高,没有废水废液产生;缺点是对设备要求高,能耗高,产品稳定性差,粉尘控制难等。我国目前淀粉衍生物生产企业,以间歇式湿法工艺技术为主,规模大多在年产数千吨,上万吨企业不多。规模小、设施落后、能耗高、环保问题突出,已引起国家环保部门的密切关注。发达国家湿法和干法工艺在装备和自动控制等技术上已有很大提升,但装备成本较高;国产装备价格相对较低,但技术性能指标与发达国家比较尚有一定差距。

淀粉衍生物粉体连续流态管道化清洁制备技术彻底解决了淀粉衍生物废水

污染严重、能耗高、质量不稳定等传统工艺存在的技术难题。2008 年该技术列入国家重大产业开发技术专项,目前已建成多条万吨级产业化装置,在浙江、河南、吉林、山东等地形成年产 20 多万 t 的生产能力,并在此基础上开发一批适用于大型高速纸机,具有高稳定性能的淀粉基造纸化学品及其应用装备,既实现淀粉衍生物行业大型化、连续化、自动化清洁生产的目标,又满足现代大型高速纸机对高性能、高稳定性淀粉基造纸化学品的迫切需求,创造了明显的经济社会效益。

二、淀粉衍生物粉体连续流态管道化清洁制备技术新工艺

该工艺显著区别于目前国内外传统的“湿法”与“干法”工艺。主要特点是淀粉粉体在管道流态化条件下进行,区别于“湿法”工艺:生产过程不产生工业废水,无需洗涤、过滤、分离等工序,反应时间短,能耗低等;区别于“干法”工艺:设备投资省,操作简便,多数产品可在常温下快速反应,能耗低,质量稳定等。该工艺属自主研发,国内外未见报道,主要有下述技术创新。

1. 大量淀粉粉体和微量试剂的均匀混合技术

大量淀粉粉体和微量试剂的混合技术要突破均匀混合、连续快速、适合复杂组分多步反应三大技术难题。

针对难题之一,我们自主设计研制了大量淀粉粉体和微量液体试剂连续高速混合装置。淀粉衍生反应是分子与分子之间发生的,要想使反应能够顺利进行,必须使淀粉粉体和反应试剂的混合达到分子水平上的均匀分散。湿法工艺中将天然淀粉和反应试剂都溶解到一种溶剂中,在这个混合体系中,反应试剂充分分散到溶液中,而液相在整个体系中所占到的比例在 60% 以上,经过长时间的搅拌混合后,反应试剂很容易达到均匀分散。而在干法生产工艺中,反应试剂的用量一般为淀粉用量的 1% ~ 10%,将如此少量的化学试剂均匀分散到大量的淀粉粉体中,且要符合反应的条件有很大难度,这就给高效均匀混合技术与设备提出了新的高要求。

目前,传统的淀粉衍生物干法工艺用于固液混合的设备主要有:双螺旋混合器、锥形螺旋混合器、W 型混合器、V 型高效混合器等,但是这些混合器都存在混合效率差的缺点;混合操作通常是反应试剂以液体形式存在,加入时将其雾化,喷入混合器内,试剂加入后瞬间分散到大量粉体中,试剂微滴被大量淀粉包裹成颗粒,尽管经长时间搅拌混合,很难均匀分散与反应。传统工艺与设备通常混合率只能达到 80% 左右,这样 20% 的反应试剂将不能与淀粉发生反应,不但造成不必要的浪费,而且给后续工序和环保带来一系列问题。更重要的是这些混合器不能连续化稳定生产,所产产品也无法满足现代大型高速纸机对产品稳定性

的质量要求。

为此,我们自主设计研发了高速湍流均匀快速连续混合技术和装备,彻底解决了目前国内外改性淀粉干法工艺上无法解决的大量粉体和微量试剂均匀混合的技术难题。所研发的高速湍流飞刀式混合器是一个带有多组飞刀的筒圆柱形组件。淀粉经计量进入装置中,利用高速飞刀将不断流入的淀粉颗粒分散开来,形成一种连续动态圆柱状的高湍流流动层。在此流动层中,淀粉颗粒与经计量泵计量、在喷头作用下形成雾状的液体反应试剂,在飞刀的高速机械搅拌作用下保持密切接触,淀粉与试剂的混合物紧贴着混合器的内壁以螺旋运动流向出口。研究发现反应物料很容易在混合器内被高速旋转的飞刀甩成高分散状态的流动层并保持着高速湍流,反应试剂与淀粉颗粒能以分子碰撞的形式完成良好的混合。

针对难题之二,我们通过对高速湍流混合器技术优化,实现了高效连续快速混合。研究发现,影响高速湍流飞刀混合器混合效率、速度和产量的主要因素是:飞刀的安装角度、混合器的长度(即飞刀安装的个数)、旋转速度、混合器的直径等。经优化试验,我们掌握了针对不同产品品种、不同工艺条件要求的高速湍流混合器,包括筒体长、直径、飞刀安装角度、旋转速度等优化参数条件。通常高效混合可在数分钟内完成,为新工艺流程的顺利打通打下了良好的基础。

针对难题之三,为了适应不同高性能淀粉基造纸化学品的工艺要求,我们设计了混合器多级组装结构,通过多级组装技术,我们彻底解决了多组分多步反应复杂产品高速均匀混合的工艺技术难题。

2. 淀粉基粉体反应物料管道流态化工艺流程系列技术

粉体管道流态化的技术关键是要使反应物料像液体一样在管道中流动起来。通常淀粉衍生反应时必须添加1种以上的液体反应试剂,淀粉粉体的流动与其水分含量有关,此时淀粉已成湿团状,根本无法流态化。为此我们开发了一种能显著改善淀粉粉体流动的助流技术,攻克了这一技术难题。该技术能使淀粉基物料在管道中完全流态化。同时还开发了粉体管道流态化负压输送和自动控制系统、压缩空气气动密封,及高效粉尘防治等系列创新技术。

3. 快速催化反应技术

快速催化反应技术是淀粉衍生物管道流态化新工艺制备技术的核心技术。与传统催化技术的显著差别是:快速催化技术一是要适应粉体流态化的要求;二是要有高催化活性,以减少管道工程;三是努力减低反应温度等基本反应条件,尽可能降低能耗和设备投资。

淀粉的改性反应主要发生在葡萄糖单元的2、3、6的活性羟基上。淀粉要进

行化学反应首先要使淀粉羟基转变成负氧离子,形成的负氧离子活性中心越多,反应速度越快,反应效率越高,因此应选择能快速高效形成上述活性中心的催化剂。一般碱性催化剂有利于形成这种活性中心,但碱性催化剂用量多、浓度高,温度高时,容易使淀粉颗粒胶化,反应试剂不能均匀,并容易渗透到淀粉颗粒表面及颗粒内部,使反应难以进行,还可引起聚合、分解、重排等副反应,从而显著降低反应效率。因此,选择好催化剂品种、用量、反应温度、反应时间等条件是一项极其重要的研究工作。

根据催化反应机理及粉体连续流态管道化工艺要求,在充分试验的基础上我们最终特别设计开发了一种复合催化剂。该复合催化剂的主要优点:一是反应速度最快,适用于管道化反应;二是反应条件温和,既节约了投资,简化了工艺流程,又节约了能耗。

4. 系统优化集成创新,建成大型化、连续化、自动化、绿色化高性能淀粉衍生物粉体连续流态管道化新工艺产业化工程

在上述关键技术创新的基础上,我们对全流程进行集成优化创新。其工艺流程如图1:首先原淀粉从原料仓库输送到车间高位,经均化反应系统使粉体与反应试剂、催化剂、助流剂等均匀混合,然后进入连续流态管道化反应系统进行

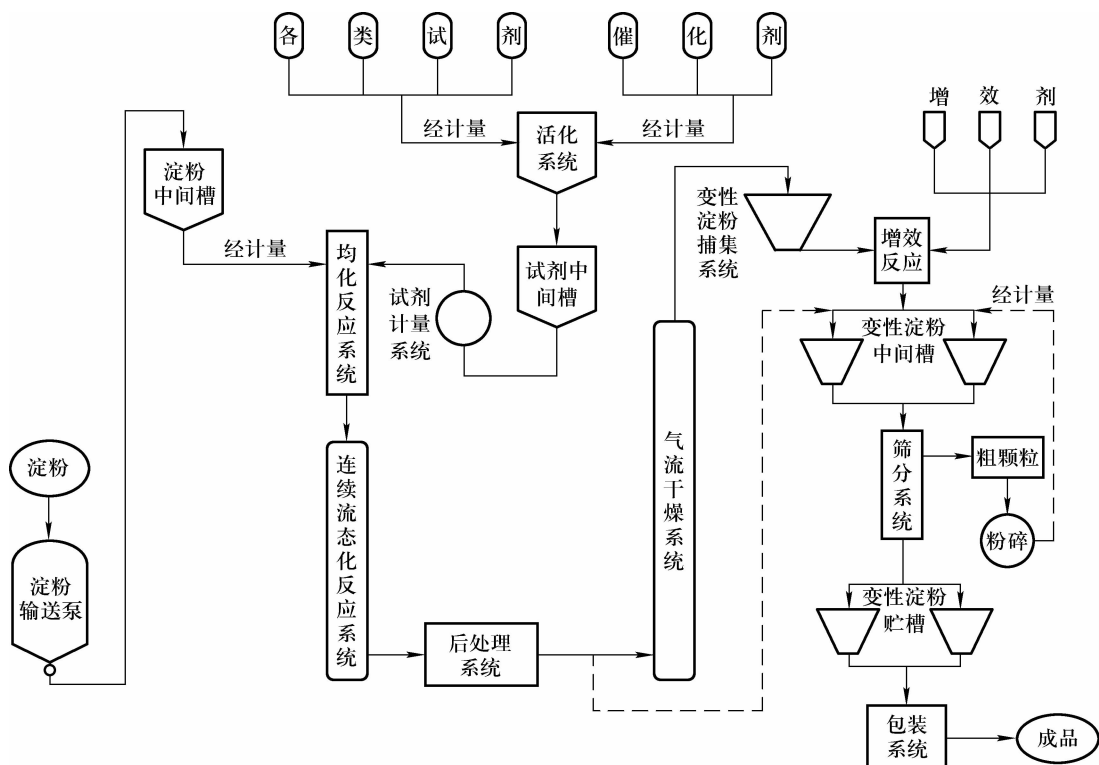


图1 淀粉衍生物连续流态管道化工艺流程图

反应,经后处理进入气流干燥系统控制产品水分,根据产品要求还可以进行增效反应,然后进入筛分和包装产品。该产业化工程涉及产品配方、粉体输送、高效催化、固液混合、流态化以及专用设备、自动控制、粉尘回收等多项关键工程技术。

经实际生产证明,该工艺与传统湿法与干法工艺比较具有下述特点:投资小,反应时间短,反应效率高,无工业废水排放,能耗低,产品质量稳定,已在国内外大型高速纸机上长期使用。

三、应用新工艺开发了一大批高性能淀粉基造纸化学品

目前已通过粉体连续化新工艺开发了多个淀粉基高性能造纸化学品,其中包括氧化、阳离子化、两性和多元变性等系列创新产品,已申请发明专利6项。如:①**中性施胶专用淀粉衍生物系列**,是具有网络结构的淀粉基阳离子造纸化学品,是中性抄纸必不可少的专用助剂,与聚丙烯酰胺(PAM)组成二元助留体系,既能显著提高施胶效果,减少施胶剂的用量,又能明显提高纸张强度,同时还有较好的助留、助滤和增强效果;②**新型淀粉基表面施胶剂系列**,是应用最为普遍,用量最大的淀粉基造纸化学品,主要用于纸张的表面施胶,以提高纸页的表面强度、印刷适性和整饰性等。尤其是高留着淀粉基表面施胶剂,不仅性能优异,还具有明显的环保效益,已被列入国家当前优先发展的高技术产业化领域指南;③**再生纸专用增强剂系列**,具有多元分子结构,经阳离子化、阴离子化和增效复合等工艺制成,采用连续流态管道化工艺生产。这些产品目前都已在国内外大型高速纸机上应用,有的已在海外大型现代纸机上应用。实践证明,新工艺完全适用于淀粉基高性能淀粉衍生物的开发与应用。

四、大型现代高速纸机高性能淀粉基造纸化学品 连续化应用技术与专用装置开发

淀粉衍生物是造纸工业用量最大的造纸化学品,居造纸化学品总量的60%以上,吨纸用量高达2%左右。大型高速纸机日用量可达50 t以上。淀粉基造纸化学品在应用时要经过蒸煮糊化,糊化浓度一般在5%~25%,温度达到95℃以上。日用量达50 t以上的产品若采用传统的间歇式蒸煮糊化,无论是工程和人员投入、质量控制都是一大难题。现代大型造纸企业要求我们提供相关产品的同时,还要提供相应的应用技术服务与装备。为此,我们相继开发了日蒸煮5~60 t的连续蒸煮装备,填补了国内空白,目前已为国内外数十家大型造纸企业所采用。与间歇式蒸煮比较,蒸煮时间只需数分钟,能耗及人工成本均成倍下降,且蒸煮质量稳定,便于连续化操作,深受纸厂欢迎。

五、结束语

在国家发改委等有关部门的大力支持和帮助下,项目成功地解决了目前我国淀粉衍生物传统工艺投资大、能耗高、效率低、环境污染严重等瓶颈制约问题,实现了淀粉衍生物的连续化清洁化生产,企业每万元产值能耗低于传统工艺近十倍,且不产生工业废水,成果转化企业被评为浙江省绿色低碳标兵企业,并在此基础上开发了一批高性能淀粉基造纸化学品和配套的连续化应用技术与装备,具有自主知识产权,整体技术已达到国际先进水平,对我国高性能淀粉衍生物技术进步起到了示范作用。项目的实践证明,通过技术创新,提升传统工艺技术水平,实现绿色低碳清洁生产是完全可能的;另一方面,我们也深深体会到,科研开发在产品创新、工艺创新的同时,还要高度重视包括应用技术与装备在内的工程化技术创新,只有这样科技成果才能实现产业化,我们的技术和产品才有可能参与复杂的国际国内市场竞争,也才有可能进入世界的先进行列。

参考文献

1. 中国淀粉工业协会. 2011 年度全国淀粉、变性淀粉、结晶葡萄糖、淀粉糖生产资料汇编.
2. 国家发改委、科技部、工信部、商务部、知识产权局 2011 年第 10 号公告. 当前国家优先发展的高技术产业化重点领域指南.
3. 姚献平,郑丽萍. 造纸化学品应用技术及其专用装备的研发[J]. 造纸化学品, 2012, 24(1): 1-9.



姚献平 享受国务院特殊津贴,浙江省特级专家,杭州市化工研究院院长,中国造纸化学品工业协会理事长,国家造纸化学品工程技术研究中心主任,中国石化联合会和中国化工学会理事,长期从事造纸化学品、淀粉衍生物领域的研发工作,获国家科技进步奖二等奖 1 项,国家级重点新产品奖 7 项,省部级科技进步和技术发明奖一等奖 3 项,其他奖 6 项,发明专利 12 项,中国发明专利优秀奖 1 项;成果已全

部产业化,创建了 10 多个产业化基地,经济社会效益显著;发表论文 100 多篇,出版专著、合著 6 本;为部省市一层次拔尖人才,浙江省有突出贡献的优秀科技工作者和创业新星,“侯德榜化工科学技术奖——创新奖”获得者,2011 年获国家“十一五”科技计划突出贡献奖和科学中国人年度人物,为十一届全国人大代表。

造纸工业废水中毒性污染物的去除 及其环境风险评估

万金泉等

华南理工大学环境科学与工程学院,
华南理工大学制浆造纸工程国家重点实验室

摘要:造纸废水是世界范围内水环境污染监控和治理的重点之一。本研究利用气相色谱质谱联用仪(GC-MS)测定造纸废水中典型的持久性毒性物质多环芳烃(PAHs),分析其在废水处理过程中的去除和残留情况;同时采用鱼类急性毒性实验分析造纸排放废水的生物毒性大小,根据毒性实验所获得的半致死效应的体积百分比浓度,结合毒性单位法对处理过程中造纸废水的生物毒性变化进行环境风险综合评价。实验结果表明:造纸废水中含有6种多环芳烃类毒性污染物,经过三级处理后仍残余两种,分别为萘和1-氯萘。该造纸废水及经过三级处理后的废水对斑马鱼的96 h-LC₅₀分别为9.3%,9.1%,32.1%和61.9%,其毒性级别分别为高毒、高毒、中毒和低毒。

关键词:造纸废水;毒性污染物;多环芳烃;环境风险

一、前言

造纸工业是与国民经济密切相关并有着广泛发展前景的产业,但也是世界范围内水环境污染监控和治理的重点行业之一。造纸废水排放量大、污染负荷高、成分复杂、处理难度大,是典型的高毒性工业废水。目前在造纸废水的环境危害关注、治理及排放标准上,也仅局限在消除化学耗氧量、生物耗氧量、悬浮物和色度等常规废水理化分析指标。但大量研究证明,造纸废水对接纳水体各个营养能级的生物不仅具有明显的急性和亚急性毒性^[1,2],而且具有遗传毒性和潜在的致癌性^[3,4],能够对其生态系统产生严重的危害,甚至可能通过食物链进行积累和传递,危及人体健康^[5]。因此,对造纸工业废水的生物毒性研究具有重要的意义。

目前国内外,对造纸废水内含有的毒性物质及其对水环境风险评价的研究

已经从鉴别造纸过程中产生的微量有机毒性物质,转为如何消除造纸废水中的毒性物质和其对水环境生态系统短期和长期影响。国内外学者的研究主要包括各类造纸废水对不同水生生物的急性毒性^[6,7],对鱼类生理、繁殖及遗传的影响和强化各类独立的处理单元对单一毒性物质的处理^[8-10]。本研究将追踪检测造纸废水中多环芳烃类持久性有机污染物在各级污水处理单元中的连续降解情况,并进一步通过标准实验、动物斑马鱼的急性毒性实验,分析废水的毒性变化。为造纸废水有毒污染物降解及毒性变化提供准确信息。

二、材料与方法

(一) 实验材料

实验所用废水取自以桉木为原料进行纸浆制造的某山东造纸厂,该废水类型为造纸制浆中段废水,包含以 DED_1D_2 为漂白工艺的漂白废水。实验废水分别取自该厂污水厂设置的总进水口、初级沉淀处理出水口、二级处理(经活性污泥法处理后)出水口和总排放口(经气浮处理后)四个采样点。

鱼类急性毒性实验用斑马鱼,购于广州市花地溪鱼虫市场。受试斑马鱼鱼龄为 2~3 月,体重为 0.78 ± 0.13 g。购买后在实验室恒温光照培养箱中用标准稀释水驯养 10 d,光照 12 h/d,温度控制在 $23 \pm 1^\circ\text{C}$,溶解氧不低于 4.8 mg/L,每天饲喂 1 次,记录喂养期间鱼的活泼状态、有无死亡现象。死亡率小于 5% 的驯养组,可用于实验备用。

(二) 实验仪器

Agilent7890A/5975C 型(USA) GC-MS 气质联用仪、旋转蒸发仪、恒温干燥培养箱 PHX-250、溶解氧仪、电导率仪。

(三) 实验试剂

二氯甲烷(色谱纯),无水硫酸钠(分析纯,使用前在 250°C 马弗炉中烘 4 h),氯化钙(分析纯),硫酸镁(分析纯),碳酸氢钠(分析纯),氯化钾(分析纯)。

(四) 实验方法

PAHs 的检测:将在 4°C 条件下保存的水样取出,取两份各 300 mL,分别用体积比为 1:1 的硫酸溶液和 10% 的 NaOH 溶液将水样调节至 pH 值小于 2 和 pH 值大于 12,静置数分钟,采用 G3 玻璃漏斗过滤,去除颗粒态不溶性物质,以减少杂质的干扰,收集滤液,以备进一步处理。各取滤液 250 mL 置于分液漏斗中,分

别加入 50 mL 二氯甲烷 NaCl 进行萃取,振荡后,静置分层,收集有机相。重复上述操作两次,合并 3 次有机相。向合并后的有机相中加入无水 Na₂SO₄ 脱水。将脱水后有机相,在一定温度条件下旋转蒸发浓缩至 1 mL,装入色谱瓶,再用 N₂ 吹扫浓缩至 0.5 mL,以备 GC – MS 分析用。

斑马鱼的急性毒性实验依据环境监测技术规范^[7],参照国家 GB/T13267 – 91《水质、物质对淡水鱼类(斑马鱼)急性毒性测定方法》,采用半静态式实验(每 24 小时换水 1/2)的方法,实验每组 10 尾经过实验室驯养后的斑马鱼,实验时间定为 96 h。

(五) 检测条件

色谱柱型为 DB – 5。色谱条件:载气为高纯氦气(99.999%),恒压模式 12.45 Psi;进样口温度为 250℃,进样量 1 μL,分流比为 10:1 ~ 1:1;升温程序:初温 40℃,以 10℃/min 升温至 180℃,然后以 5℃/min 升温至 280℃,保持 5 min。质谱条件:电子轰击电压为 1.2 kV,EI 源电子轰击能量为 70 eV,质量扫描范围 30 ~ 550 amu,检索谱库为 Nist08 谱库,溶剂延迟 4 min。

(六) 数据分析

急性毒性数据分析采用 Bliss 法(加权直线回归法)计算斑马鱼的半致死浓度 LC₅₀。采用美国常用的毒性分级标准来确定造纸废水的生物毒性大小,如表 1 所示。

表 1 工业废水的生物毒性分级

LC ₅₀ 或 EC ₅₀ (%)	毒性级别
NAT	无毒或微毒
50% ~ 100%	低毒
10% ~ 50%	中毒
1% ~ 10%	高毒
< 1%	剧毒

三、结果与分析

(一) 造纸废水中 PAHs 的检测结果

将污水厂进水口采集的水样经过滤、萃取、浓缩等前处理后,采用气相色谱/

质谱法进行检测。如图 1 所示,在进水口水样中共检测到 6 种 PAHs,分别为 1 - 氯萘、1 - 氨基四氢化萘、1 - 甲基萘和 1 - 氨基苈、萘、1,4 - 二氯萘,其中 1 - 氯萘、1 - 氨基四氢化萘相对含量最高,1 - 甲基萘、1 - 氨基苈、萘和 1,4 - 二氯萘相对含量最低。进水口水样是未经处理的造纸废水,其类型为造纸中段废水,主要包含以 DED_1D_2 为漂序的二氧化氯漂白废水。由实验结果可知,进水口水样中含有多种多环芳烃类的难降解的持久性有机物,甚至还含有两种氯代多环芳烃,1 - 氯萘和 1,4 - 二氯萘。这些难降解的有毒物质可能是造纸废水毒性的主要来源。

(二) 造纸废水处理过程对 PAHs 的去除效果

在研究经过处理后造纸废水中 PAHs 种类和含量的变化情况的同时,本实验也对造纸废水进行了部分常规理化指标的分析,分别测定了 COD、SS、色度,以保证分析过程中废水处理工艺运行正常。经过分析,在采样分析期间污水厂造纸废水进水平均 COD、SS、色度分别为 1109.43 mg/L、467 mg/L 和 152 倍,总排放口平均出水 COD、SS、色度分别为 92 mg/L、24 mg/L 和 34 倍,COD、SS 和色度均达到了制浆造纸工业水污染物排放标准。结果表明,采样期间造纸废水处理工艺运行正常,污染物去除效果良好。

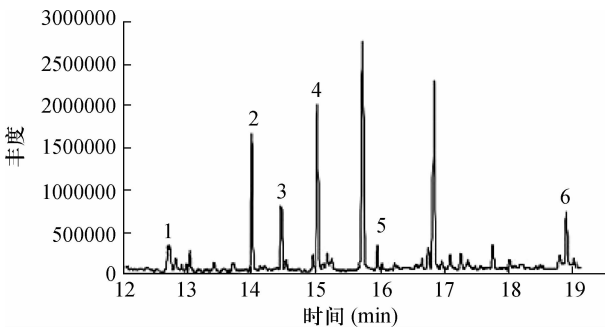


图 1 造纸废水中 PAHs 的色谱图

1. naphthalene, 2. 1 - chlorine naphthalene, 3. 1 - methyl naphthalene, 4. 1 - amino four hydrogenated naphthalene, 5. 1, 4 - dichloronaphthalene, 6. 1 - aminopyrene

在废水处理工艺运行良好的情况下,造纸废水中多环芳烃类污染物种类的变化情况如图 2 和图 3 所示。结果表明,经过污水处理设置处理后,废水中多环芳烃类污染物的种类有显著变化,总排放口出水中仅检测出 2 种 PAHs 污染物,萘和 1 - 氯萘。但各级处理工艺的处理效果存在明显差异,经过一级沉淀处理和二级活性污泥法处理,造纸废水中仅有 1 种 PAHs 被去除,去除效果差,体现了其难生物降解的特性。经三级气浮处理后,造纸废水中 PAHs 才得到显著的

去除。

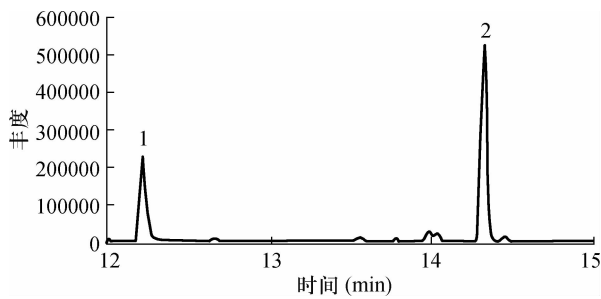


图2 处理后造纸废水中 PAHs 的色谱图
1. naphthalene, 2. 1 - chlorine naphthalene

(三) 造纸废水对鱼类的急性毒性影响

经过预实验确定范围后,对进水口水样斑马鱼急性毒性实验设置 5 个梯度浓度组(3%、6%、10%、15%、25%)和 1 个空白对照组,进行 96 h 的对比实验,如表 2 所示。实验结果显示,在 25% 及以上的高浓度组中,斑马鱼反应明显,先呈现出快速游动、撞击杯壁等应激行为。然后开始失去活力,游动缓慢,出现身体失去平衡等现象,并最终出现死亡。在 25% 以下的浓度组中,无明显的应激行为,但随着暴露时间的增加,受试的斑马鱼也出现了失去活力、身体失去平衡和死亡的现象。在浓度 25% 和 15% 的进水口造纸废水的暴露下,分别于 24 h 和 72 h 内受试斑马鱼全部死亡。即使在浓度为 3% 的水样暴露下,仍然出现个体的死亡。

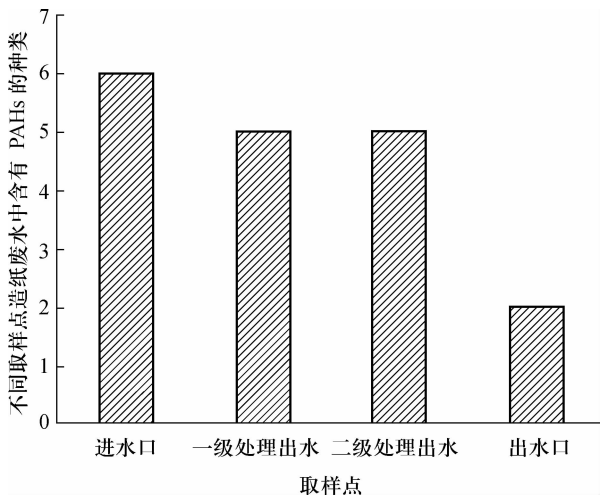


图3 不同取样点造纸废水中 PAHs 种类的变化情况

(四) 造纸废水处理过程对鱼类的急性毒性影响

对一级出水、二级出水和排放口水样进行斑马鱼急性毒性实验,分别设置5%至30%的5个浓度组、5%至50%的6个浓度、40%至100%的6个浓度组以及3个空白对照组,进行96 h的对比实验,如表2所示。实验结果显示,经过一级沉淀、二级生物处理和三级的气浮处理后,造纸废水对受试鱼类的影响情况差异显著。初级沉淀处理后,造纸废水仍然对受试斑马鱼有明显的影响,超过10%的浓度组后,受试斑马鱼均出现死亡现象。25%和30%的浓度组中,受试斑马鱼分别在96 h和24 h时全部死亡。经过活性污泥法处理后的二级出水对受试斑马鱼的影响有所改善,但仍然对受试斑马鱼有一定的急性毒性;10%、20%、30%和50%的浓度组中,受试的斑马鱼在不同时间内均出现一定数量的死亡;50%和30%的浓度组中,受试斑马鱼分别在24 h和96 h时,全部死亡。经过三级的气浮处理后的污水厂出水,对受试斑马鱼的影响显著改善,40%以下的浓度组基本不再出现死亡;但在50%~100%的浓度组中,受试斑马鱼仍在不同时间内出现死亡现象。

表2 造纸废水对斑马鱼的影响

废水类型	废水浓度(%)	死亡率(%)			
		24	48	72	96
进水	空白组	0	0	0	0
	3	0	10	10	30
	6	10	30	30	40
	10	30	40	60	70
	15	70	70	100	100
	25	100	100	100	100
一级出水	空白组	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
	10	10	10	30	60
	15	40	40	60	80
	25	80	90	90	100
	30	100	100	100	100

续表

废水类型	废水浓度(%)	死亡率(%)			
		24	48	72	96
二级出水	空白组	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
	8	0	10	20	20
	10	10	10	30	40
	20	30	40	40	60
	30	40	60	90	100
	50	100	100	100	100
总出水	空白组	0	0	0	0
	40	0	0	10	10
	50	10	10	30	40
	60	30	40	40	60
	70	40	60	70	70
	80	70	90	90	100
	100	100	100	100	100

表 3 造纸废水对斑马鱼的半致死浓度

废水类型	半致死浓度(%)		毒性级别
进水	24h - LC ₅₀	13.3	高毒
	48h - LC ₅₀	11.0	
	72h - LC ₅₀	10.2	
	96h - LC ₅₀	9.1	
一级出水	24h - LC ₅₀	21.7	高毒
	48h - LC ₅₀	17.2	
	72h - LC ₅₀	15.3	
	96h - LC ₅₀	9.3	

续表

废水类型	半致死浓度(%)		毒性级别
二级出水	24h - LC ₅₀	55.6	中毒
	48h - LC ₅₀	41.3	
	72h - LC ₅₀	36.4	
	96h - LC ₅₀	32.1	
总出水	24h - LC ₅₀	77.2	低毒
	48h - LC ₅₀	72.6	
	72h - LC ₅₀	65.3	
	96h - LC ₅₀	61.9	

(五) 造纸废水对鱼类的半致死浓度

不同时间内造纸废水对受试斑马鱼的半致死浓度见表 3,其中进水水样、一级处理出水、二级处理出水和出水水样的 24h - LC₅₀ 分别为 13.3%、21.7%、55.6% 和 77.2%,随着造纸废水经过各级处理设施后,其半致死浓度相差越来越大。这可能是经过处理后,造纸废水 COD、SS 和色度等指标下降,废水中污染物减少,从而使其生物毒性降低,半致死浓度逐渐增大。但进水水样、一级处理出水、二级处理出水和出水水样的 96h - LC₅₀ 分别为 9.1%、9.3%、32.1% 和 61.9%,其中进水水样和一级处理出水的半致死浓度变化较小,废水毒性等级均为高毒;二级处理出水与进水水样及一级处理出水的半致死浓度差异也小于 24h - LC₅₀,废水毒性等级降为中毒;仅经过三级处理后的出水半致死浓度才大幅增加,废水毒性等级降为低毒。同时,造纸废水的 96h - LC₅₀ 的变化趋势,与造纸废水中 PAHs 的去除有相似的趋势,表明了可能难降解的有毒污染才是造纸废水排放后其毒性的主要来源。

四、结论

造纸废水中含有萘、1 - 氯萘、1 - 甲基萘、1 - 氨基四氢化萘、1,4 - 二氯萘、1 - 氨基芘等 6 种 PAHs 污染物。对该厂造纸废水经过处理后造纸废水中的 PAHs 能得到了有效去除,由原有的 6 种减少为 2 种,仅检测到萘和 1 - 氯萘;表明该污水处理工艺对 1 - 甲基萘、1 - 氨基四氢化萘、1,4 - 二氯萘、1 - 氨基芘的去除具有显著作用;但对 PAHs 的去除主要集中在三级气浮处理阶段,一级沉淀

处理和二级活性污泥法处理对 PAHs 类难降解有机污染物去除效果较差。同时表明,尽管 COD、SS、色度等指标达到排放标准,造纸废水出水中仍含有持久性有机污染物的残留。

进水水样、一级处理出水、二级处理出水和出水水样的 96h - LC₅₀ 和毒性等级分别为 9.1% ,9.3% ,32.1% ,61.9% 和高毒、高毒、中毒、低毒;同时,造纸废水的 96h - LC₅₀ 的变化趋势,与造纸废水中 PAHs 的去除有相似的趋势,表明了造纸废水中难降解的有毒污染物可能是造纸废水排放后其毒性的主要来源。

参考文献

1. Ali, M. , Sreekrishnan, T. R. Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. *Advances in Environmental Research*, 2001,5:175 - 196.
2. 马梅. 新的生物毒性测试方法及其在水生态毒性应用的研究[J]. 中国科学院,2006,4(5): 38 - 49.
3. 张勇,万金泉. 造纸废水毒性测试方法[J]. 中国造纸学报,2001,16(1): 131 - 134.
4. Belmonte, M. , Xavier, C. , Decap, J. , Martinez, M. , Sierra - Alvarez, R. , Vidal, G. Improved aerobic biodegradation of abietic acid in ECF bleached kraft mill effluent due to biomass adaptation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2006, 135: 256 - 263.
5. 陈南南. 造纸废水的毒性研究[J]. 环境科学导刊,2008,27(6):13 - 15.
6. 沈文浩,周龙,陈小泉等. 造纸污水中有机污染物的分布分析[J]. 应用化学,2011,28(4):32 - 37.
7. 曾鸣,林志芬,尹大强等. 混合污染物毒性研究进展[J]. 环境科学与技术,2009,32(2):80 - 85.
8. Latorre, A. , Malmqvist, A. , Lacorte, S. Thomas Welanders, Damià Barceló. Evaluation of the treatment efficiencies of paper mill whitewaters in terms of organic composition and toxicity. *Environmental Pollution*,2007,147: 648 - 655.
9. 王桂燕,周启星,胡筱敏等. 四氯乙烯和隔对草鱼的单一与联合毒性效应[J]. 应用生态学报,2007,18(5):1120 - 1124.
10. 赵玉琴,李丽娜,李建华. 常见拟除虫菊酯和有机磷农药对鱼类的急性及其联合毒性研究[J]. 环境污染与防治,2008,30(11):53 - 57.



万金泉 教育部“工业聚居区污染控制与修复”重点实验室副主任、享受国务院特殊津贴专家,广东省“千百十人才工程”国家级培养对象。《Chemical Engineering Journal》、《Chemical and Biochemical Engineering Quarterly》、《Bioresource Technology》、《Water Research》、《环境科学》、《中国造纸学报》等国内外十几种刊物的特约审稿人。长期从事造纸工业废水污染控制及清洁生产新技术的研究。近五年主持国家和省部级科研项目十多项,在国内外专业刊物发

表学术论文150余篇,被三大索引收录80篇(其中SCI收录29篇),编写出版专著4部。已获国家专利授权18项,国际专利2项,计算机软件版权4项。获得省部级以上科技奖励9项,其中2011年获得广东省专利金奖,2010年获得中国专利优秀奖,2009年获得国家科学技术进步奖二等奖。

防油剂中阳离子淀粉 对抗油脂食品包装纸张性能影响

龙 柱等

江南大学纺织服装学院造纸技术研究室

摘要:采用自制含阳离子淀粉类防油剂对纸张进行表面施胶制备食品抗油脂包装纸张,以代替传统的制备方法(烯烴类涂布法和含氟类防油剂施胶法)。采用 Oil Kit Test – TAPPI pm – 96 国际通用测试法研究了阳离子淀粉对纸张抗油脂性能的影响,并研究了自制防油剂中阳离子淀粉对抗油脂食品包装纸强度和光学性能等的影响。结果表明,在取得良好抗油脂效果的条件下,含阳离子淀粉类防油剂纸张的抗张强度、耐折度和撕裂度都得到了提高,透气度下降。

关键词:防油剂;抗油脂性;阳离子淀粉;食品包装纸

一、前言

随着经济的发展和生活水平的提高,人们越来越重视日用品的安全性、功能性和环境友好性。赋予纸张防油性能的传统方法是在纸张表面涂一层聚丙烯酸酯、聚乙烯等连续致密的高分子薄膜^[1]。这种纸张的涂层很难在自然界中降解,容易造成环境污染且会有迁移现象。近年来采用的含氟聚合物纸张防油剂虽然解决了降解和再回收的难题,然而在生产过程中对环境的影响不容小觑,国外已于 2000 年停止这类产品的生产^[2-4]。防油剂在酸性条件下其所含正电荷和脂肪或脂质的负电荷结合,故能阻止脂肪或脂质的转移,用于制备抗油脂纸方面具有可行性^[5,6]。

本文以阳离子淀粉等为主要原料之一,自制具有抗油脂作用的防油剂,并采用造纸常见施胶方法制备可抗拒油脂的食品类包装用纸^[7,8],研究抗油脂包装纸制备中的阳离子淀粉的主要影响,分析检测其机械强度、光学性能和防护性能。

二、实验

(一) 实验原料

进口漂白针叶木化学浆,浸泡 4 h 后打浆至 80°SR 备用;自制含阳离子淀粉

防油剂,25℃下粘度为 12 mPa · s(3wt%);蓖麻油(上海日昊化工有限公司);乙酸;甲苯;正庚烷;正己烷,均为分析纯试剂。

(二) 实验仪器

GBJ - A 型纤维标准解离器(长春小型试验机厂);ZQJ1 - B - II型纸样抄取器(陕西科技大学机械厂);ZQYC - II型油压机(陕西科技大学机械厂);WS - SD 色度白度计(温州仪器仪表有限公司)。Su1510 扫描电镜(日本日立公司,HITACH)。

(三) 实验方法

(1) 抗油脂食品包装纸制备方法

浆料准备→抄片→压榨→烘干→施胶→烘干→成纸→检测分析
基纸定量为 70 g/m²。

(2) 纸页物理性能检测及电镜分析

按照国家标准测定处理前后纸张的物理性能,用 SEM 电镜分析前后纸张的表面形态。

(3) Oil Kit Test^[9]方法

采用目前防油纸及防油纸板工业通用的一种称为“油滴实验(Oil Kit Test - TAPPI T 559 pm - 96)”的国际测试方法。这种方法是利用 12 种不同表面张力的液体(见表 1),测定纸品的抗油脂性能,是一种高效、快速、非机械的测试方法。

表 1 Oil Kit 实验液体的组成及其表面张力

	蓖麻油质量(g)	甲苯体积(mL)	庚烷体积(mL)	表面张力(N · m ⁻¹)
1	969.0	0	0	0.0345
2	872.1	50	50	0.0327
3	775.2	100	100	0.0293
4	678.3	150	150	0.0254
5	581.4	200	200	0.0250
6	484.5	250	250	0.0241
7	387.6	300	300	0.0232
8	290.7	350	350	0.0228
9	193.8	400	400	0.0225
10	96.9	450	450	0.0225
11	0	500	500	0.0224
12	0	450	550	0.0220

其测定步骤是:将每一种油从 2.54 cm(1 英寸)的高度滴落到待测纸品上,15 s 后检查不污染纸品(用棉球擦拭,试样无明显变暗)且编号最高的那一号,即代表被测纸品的抗油脂值。选出 5 个试样,其间不相差 0.5 级,取平均值作为该纸品的抗油脂值。

在典型的包装应用中,纸品遇到的油脂的表面张力都在 0.027 ~ 0.033 N/m 之间。为安全起见,用于食品包装的抗油纸品的抗油脂值应为 5 ~ 8 级。

三、结果与讨论

(一) 防油剂对纸张抗油脂作用的影响

从表 2 可以看出,随着涂布量的增加,以及粘度的增加,纸张的抗油脂能力增大。当涂布量为 1.2 g/m² 时,纸张的抗油脂值已达到 5,在食品包装抗油纸品的安全抗油脂值的范围内。对于抗油脂纸来说,抗油脂效果越大越好,但出于成本的考虑,在满足产品抗油脂效果的同时,应尽量降低防油剂用量。

表 2 防油剂涂布量对纸张抗油脂性能的影响

抗油脂值 涂布量(g/m ²)	750 r/min 粘度 mPa · s						
		7.5	8.0	9.0	9.0	9.5	10.0
0.6		1	3	4	5	7	9
0.8		2	4	5	5	8	10
1.0		2	5	6	6	9	10
1.2		2	5	7	8	10	12
1.4		3	6	8	9	10	12
1.6		3	7	9	10	11	12

(二) 阳离子淀粉用量对纸张抗油脂作用的影响

图 1 显示,随着阳离子淀粉用量的不断增加,纸张的抗油脂效果略显提高。当阳离子淀粉用量为 1.0% 时,抗油脂值可达到 5。这是因为在干燥过程中阳离子淀粉在纸张的表面可以形成一层薄膜。虽然阳离子淀粉不能作为抗油脂剂,但随着其用量的不断增加,形成的薄膜对油脂仍然可以表现出一定的抵抗能力。

且阳离子淀粉能改善纸张特性,是提高纸张抗油脂能力的重要组成部分。

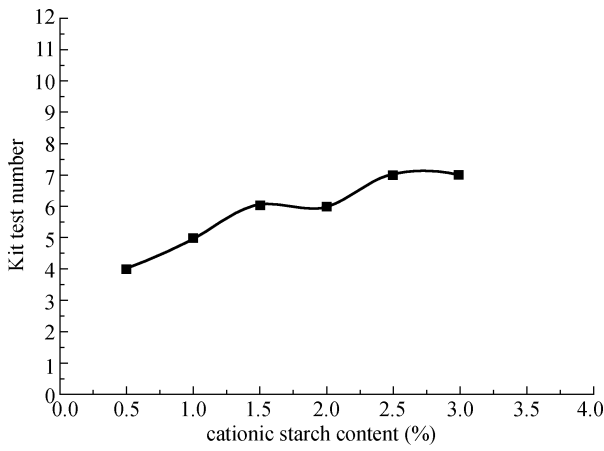


图 1 阳离子淀粉用量对抗油脂作用的影响
涂布量为 2.5 g/m²;壳聚糖用量为 0.4%

(三) 施胶对纸张性能的影响

用含阳离子淀粉防油剂对纸张进行表面施胶,施胶前后纸张的各种性能如表 3 所示。结果表明,经过阳离子淀粉处理的纸张不仅抗油脂效果有所突破,而且耐折度、抗张强度和撕裂度等物理性能有所提高。这是由于纸张纤维带有负电荷,防油剂在酸性条件下带有正电荷,能充分吸附在纤维表面。阳离子淀粉由于具有阳离子性而易于在表面施胶时与带负电荷的纸张进行静电结合,形成离子键,使阳离子淀粉紧紧地吸附于纤维表面,吸附形成的附加氢键强化了纤维之间的结合强度,把细小纤维和长纤维连接在一起,形成了一个有结合力的网状结构,从而有效地提高纸张的耐折度、抗张强度和撕裂度等物理性能。ISO 白度虽然有所提高,但变化不大,这可能是由于形成的薄膜比较薄以及透明度较高的特性造成的。

表 3 施胶前后纸样各性能的变化

物理性能	基纸	防油剂施胶后成纸
耐折度(次)	108	432
抗张指数(N·m/g)	78.5	90.1
撕裂指数(mN·m ² /g)	14.5	21.6
白度 ISO	61.17	78.48

注:基纸和施胶后成纸的定量都为 70 g/m²;阳离子淀粉用量为 1.0%,涂布量为 2.5 g/m²。

(四) 阳离子淀粉对纸张各性能的影响

通过表 3 得出,经含阳离子淀粉制得的防油剂施胶作用,纸张的抗张强度、撕裂度、耐折度和白度等性能都有所提高。然而随着阳离子淀粉含量的增加,各性能的提高趋势有所不同。

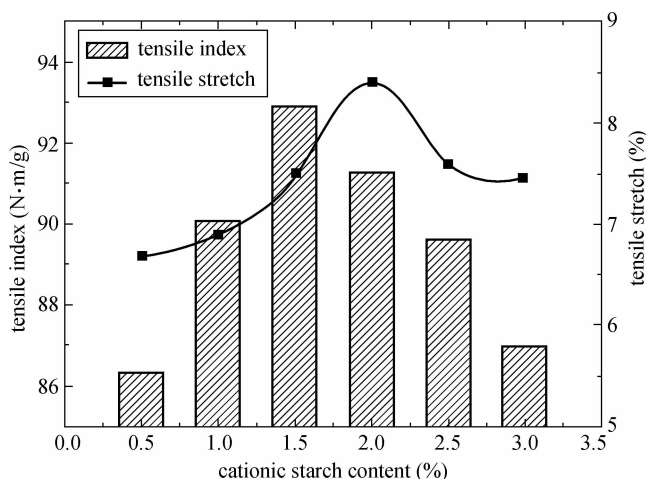


图 2 阳离子淀粉用量对抗张指数和伸长率的影响

由图 2 可以看出,纸张的抗张指数和伸长率随着阳离子淀粉含量的增加先增加后降低,这是由于,阳离子淀粉所带的正电荷通过与纤维表面所带的负电荷发生静电吸附而发挥其作用。然而一定的纤维表面所带的负电荷有限,当阳离子淀粉所带的正电荷量大于纤维所带的负电荷量时,多余的正电荷就不能发挥其作用。另一方面,由于形成多余的正电荷使得淀粉原来所带的羟基数量减少,与纤维发生氢键作用的基团数量减少,因此导致其对纸张的增强作用降低。

从图 3 可以看出,纸张的撕裂度虽有所提高,但阳离子淀粉的用量对其影响并不大。纸张的耐折度随阳离子淀粉用量的增加而增加,这是由于经施胶后,纸张表面会形成一层均匀密致的薄膜,薄膜厚度随阳离子淀粉的增加而增加,从而使得纸张的耐折度增加。施胶后的纸张的白度随淀粉用量的增加变化不大(图 4),因为由阳离子淀粉等配置的防油剂本身为透明溶液,对表面施胶后的纸张没有太大的影响,其大小主要取决于原纸的白度。而纸张透气度随淀粉用量的增加急剧下降。这可能是因为阳离子淀粉用量为 0.5% 时,防油剂未能在纸张表面形成一层连续的薄膜,从而使得纸张表面的空隙未被填充。淀粉用量为 1.0% 以上时,纸张表面已经能够形成均匀连续的薄膜,且薄膜的厚度随淀粉用

量的增加而增加,所以施胶后的纸张的透气度持续下降。

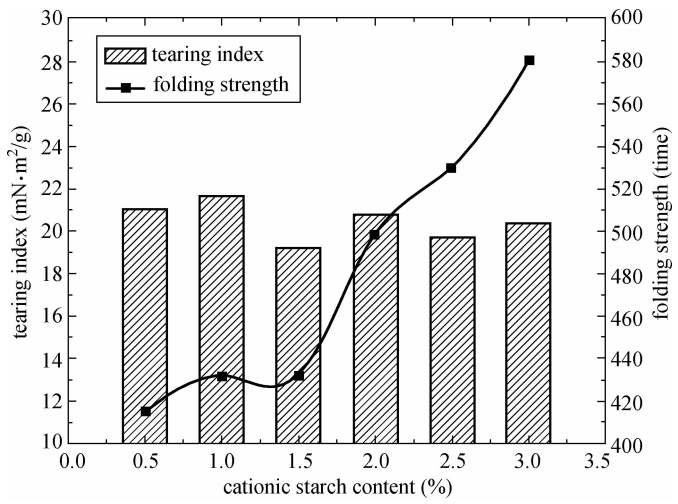


图 3 阳离子淀粉用量对撕裂指数和耐折度的影响

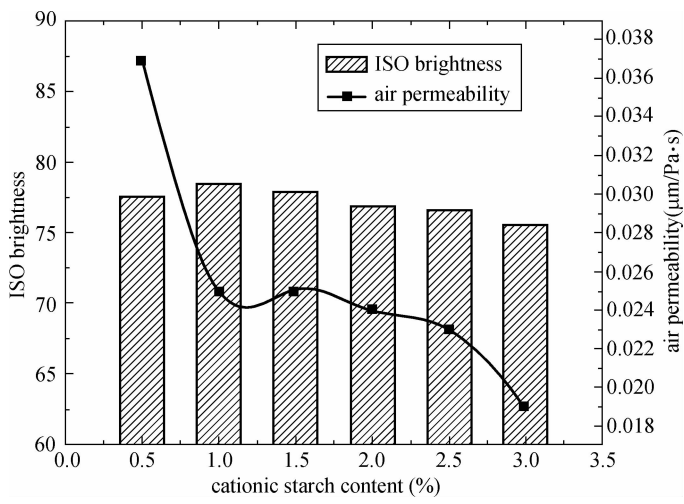


图 4 阳离子淀粉用量对白度和透气度的影响

(五) 施胶前后的纸张 SEM 电镜分析

从图 5 可以看出,经过含阳离子淀粉防油剂施胶后的纸张纤维排列更加紧密,填充了纤维之间的空隙,并在纸张表面形成一层连续的薄膜,从而降低壳聚糖向纸张内部的渗透,能达到更好的抗油脂效果。阳离子淀粉能使纸张纤维紧密结合在一起,缩小纤维空隙,改善了纸张的物理性能。

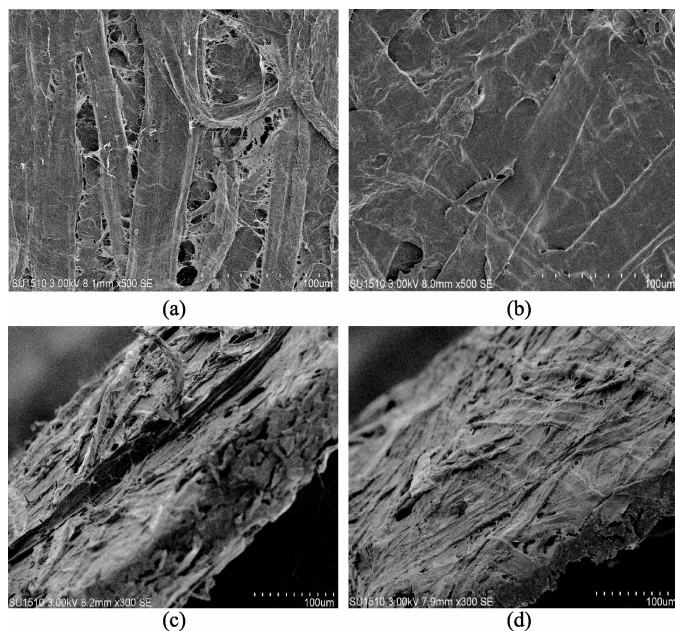


图5 防油剂施胶前后纸张表面的扫描电镜图

(a) 基纸表面;(b) 施胶后纸张表面;(c) 基纸截面;(d) 施胶后纸张截面

四、结论

以阳离子淀粉制备防油剂对基纸进行施胶处理,所得纸张具有抗油脂作用,可用于食品抗油脂包装领域。在干燥过程中,阳离子淀粉在纸张的表面可以形成一层薄膜,从而降低防油剂中具有防油效果的成分向纸张内部的渗透,能达到更好的抗油脂效果。虽然阳离子淀粉不能作为抗油脂剂,但随着其用量的不断增加,形成的薄膜对油脂仍然可以表现出一定的抵抗能力。阳离子淀粉不仅能提高纸张的抗油脂性能,对纸张的抗张强度、撕裂度、耐折度等性能都有所提高,成纸白度变化很小,透气性能明显下降。

参考文献

1. 王健, 杨瑞丰, 刘彦军. 含氟丙烯酸酯防油剂的制备及在纸张表面施胶中的应用[J]. 中国造纸学报, 2008, 23(4): 100 - 103.
2. F Ham - Pichavant, G Sèb, P Pardon, et al. Fat resistance properties of chitosan - based paper packaging for food applications [J]. Carbohydrate Polymers, 2005 (61): 259 - 265.

3. 黄秀玲,王永国,李明等. 有限厚纸塑复合包装材料中化学物迁移预测模型及实验验证[J]. 包装工程, 2011, 32(11): 8-11.
4. 秦蓓. 塑料食品包装材料安全性研究现状[J]. 包装工程, 2011, 32(19): 33-37.
5. 郭春海,薄海波,贾海涛等. 食品接触材料 PVC 中增塑剂在 4 种食品模拟物中的迁移规律研究[J]. 包装工程, 2011, 32(7): 9-16
6. Shu X Z, Zhu K J. Controlled drug release properties of ionically cross-linked chitosan beads: The influence of anion structure. [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2002 (23): 217-225.
7. 王成海. 壳聚糖用于纸和纸板涂布的研究[J]. 造纸化学品, 2007, 19(2): 51-55.
8. Jumaa M, Müller B W. Physicochemical properties of chitosan-lipid emulsions and their stability during the autoclaving process[J]. International Journal of Pharmaceutics, 1999 (183): 175-184.
9. 李德军,刘军钰. 氟类抗油抗脂剂的作用机理及其应用[J]. 造纸化学品, 2003, 22(5): 51-57.



龙柱 湖南人,侗族,博士。华南理工大学进修制浆造纸 1 年。Tampere Polytechnic University (Finland) 和 University of New Brunswick (Canada) 访问学者。天津大学和华泰集团博士后。现为江南大学造纸技术研究室主任,教授,博士生导师,省“青蓝工程”骨干教师,省造纸学会常务理事,教育部科技评审和优秀博士论文评审专家。从事制浆造纸和生物资源利用等领域研究。承担纵横向科研项目 50 余项,其中国家和省部级 23 项。获得国家发明专利授

权 8 项,通过国家和省部级科技成果鉴定 13 项。获得各类科技奖励 11 项,其中国家级 1 项,省部级 5 项,市局级 5 项。天津市优秀博士学位论文获得者,中国造纸学会第五届青年科技奖(第一名)。发表论文 190 多篇,其中 SCI、EI、ISTP 收录 60 多篇。主编和参编著作 2 部及教材 1 部。

稻壳制备高度有序介孔二氧化硅材料的研究

陈正行等

江南大学粮食发酵工艺与技术国家工程实验室

摘要:本文研究了从稻壳中制备水玻璃和高度有序介孔二氧化硅的生产工艺。考察了水玻璃模数、二氧化硅与十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)的物料比、反应体系 pH 值对产品性质的影响。结果表明:随着模数的增加,产品的比表面积和孔体积均有所上升,而孔径基本不变;增大 CTAB 的用量有利于得到比表面积较大、孔体积较大、孔径分布集中的产品;中酸性环境对介孔二氧化硅的形成比较有利,中碱性次之,中性环境不利于得到有序介孔二氧化硅,探索了稻壳资源高附加值全利用的新途径。

关键词:稻壳;介孔二氧化硅;工艺

一、引言

稻壳是稻米加工的主要副产物,其重量约占稻谷总重量的 20%。以我国目前年产稻谷 2 亿吨计算,每年的稻壳产量约在 4000 万吨左右。稻壳的主要成分为无定形二氧化硅、纤维素和木质素,其中二氧化硅的含量在 20% 左右。国内外对稻壳的利用的研究报道有很多,如以稻壳为原料提取或制备水玻璃^[1]、活性炭^[2]、白炭黑^[3]等。由于稻壳本身属于生物材料,杂质含量较少,经燃烧去除绝大部分有机物后剩余的稻壳灰中主要成分为二氧化硅,是提取水玻璃制备白炭黑的优良原料。另外关于稻壳水泥^[4]、稻壳硅胶^[5]等的报道也比较常见。目前我国对稻壳的利用存在以下三方面问题,一是利用率低,仅有约 20% 的稻壳被循环利用,其余皆被丢弃或焚烧;二是利用水平不高,目前对稻壳的最普遍利用方式为稻壳发电和制备一些附加值较低的工业产品如工业水玻璃、活性炭、饲料添加剂等;三是循环利用途径不合理,容易造成二次污染。这些问题的存在造成了资源的浪费,环境的污染,不符合我国轻工业“节能、减排、降耗”的技术发展方向。如能合理解决稻壳资源循环利用中的关键问题,既可以节能减排,又能提高经济效益,有助于我国轻工业实现可持续发展。

近年来关于用稻壳制备一种新型材料——有序介孔二氧化硅的报道越来越受到研究者们的重视。有序介孔材料是指一类孔径在 2 ~ 50 nm 之间,并且孔道

排列整齐有序的多孔材料。相比于传统的沸石和活性炭等材料,有序介孔材料具有孔径大、孔道排布有序、结构形貌可调节等优势。另外,它还具有理化性质稳定、孔道结构发达、易于改性修饰等特点,因此有序介孔材料在吸附、催化、包埋、传感、微反应器等方面有着广泛的应用。

1992年,美孚公司的科学家首先合成出了MCM系列介孔材料^[6,7]。其中最具代表性的是MCM-41材料,该材料的孔径在2~3 nm之间,具有2D六边形对称的孔道结构。1998年,中国科学家制备出了新一代大孔径有序介孔材料SBA-15,该材料的孔径一般在7~10 nm左右,加入扩孔剂可得到30 nm的超大孔径^[8]。相比于经典的MCM-41,SBA-15及该系列的其他材料具有孔径更大、孔道结构更发达、稳定性更好等优势,从而进一步拓宽了介孔材料的研究范围和应用领域。此外还有MSU、KIT、FDU等系列的介孔二氧化硅材料,它们都具有各自的特点和性质。

上面提到的多种介孔材料虽然结构性质各不相同,合成的条件参数也不尽相同,但基本的合成原理是类似的,即先利用硅源与表面活性剂(模板)之间的相互作用初步形成介孔结构,再通过多种手段去除起结构导向作用的表面活性剂,保留无机二氧化硅骨架从而得到介孔材料。常用的表面活性剂有阳离子季铵盐类、非离子嵌段聚合物类等,而硅源则有正硅酸酯、硅酸钠、硅胶和水玻璃等。例如MCM-41材料可以利用十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)和硅酸钠合成;SBA系列材料一般采用正硅酸酯为硅源和嵌段聚合物为模板的合成方法。

前文中已经提到,稻壳或稻壳灰中含有大量的二氧化硅,是提取水玻璃的优质原料之一,提取出的水玻璃可进一步用于制备介孔二氧化硅。稻壳制备介孔二氧化硅最早见于2003年,Grisdanurak等人^[9]用氢溴酸回流萃取法从稻壳中提取出二氧化硅,再经水洗和高温煅烧处理后用氢氧化钠溶解二氧化硅得到硅酸钠。随后以CTAB为模板,稻壳基硅酸钠为硅源合成出孔径接近3 nm,比表面积750~1100 cm²/g,具有部分六边形对称的介孔材料,与MCM-41非常相似。该材料对氯化挥发性有机物如三氯乙烯、四氯乙烯和四氯化碳表现出了良好的吸附能力,吸附效果优于商业丝光沸石和活性炭。Tungkarnurak等人^[10]以非离子表面活性剂为模板,从稻壳中提取的硅酸钠为硅源,制备出了可用于正相高效液相色谱柱填料的介孔二氧化硅。Jullaphan等人^[11]用稻壳基硅酸钠为硅源,Pluronic P123和CTAB为混合模板,制备出了混合相双孔径分布介孔二氧化硅。该报道的创新之处在于,将CTAB加入到SBA-15的合成体系中生成次级胶束,引导出双孔径分布中的较小孔道结构,材料整体呈现出SBA-15和SBA-3的混合相结构。Wantala等人^[12]采用水热合成技术,以稻壳基硅酸钠为硅源合成出负载铁元素的Fe-MCM-41材料,该材料具有更高的比表面积和结晶性,对砷

酸盐具有良好的吸附能力。

从这些报道中可以看出,从稻壳中提取出硅酸钠并制备有序介孔二氧化硅已经有了一些初步的研究,但是与经典的合成途径相比还显得不够全面和深入。例如对合成条件的研究涉及得比较少,与经典合成方法之间的对比不够,对合成的关键控制因素还不够明确。在本文中,我们主要对合成条件进行了初步的探索,试图找出各个因素对产品性质的影响,从而为今后的研究工作奠定基础 and 提供理论指导。

二、实验部分

(一) 实验材料与仪器

稻壳,无锡苏惠米业有限公司;NaOH、盐酸、十六烷基三甲基溴化铵(化学纯),国药集团化学试剂有限公司;DFY-400 型摇摆式高速中药粉碎机,温岭市大德中药机械有限公司;DELTA 320 型 pH 计,METTLER TOLEDO 公司;HDM-1000B 型电子调温电热套,金坛市荣华仪器制造有限公司;IKA C-MAG HS 7 型磁力搅拌器,德国 IKA 实验设备有限公司;真空碳管烧结炉,上海晨华电炉有限公司;JW-BK12 静态氮吸附仪,北京精微高博科学仪器有限公司;Bruker D8 Advance X 射线衍射仪,布鲁克公司;JEOL 2010 型透射电镜,日本电子股份(有限)公司。

(二) 实验方法

(1) 介孔二氧化硅的制备

将稻壳清洗、干燥后粉碎过 60 目筛,取粉碎后的稻壳于马弗炉中 600°C 下煅烧 4 h 得到稻壳灰。将稻壳灰用 0.15 mol/L HCl 溶液搅拌浸泡 1 h,反复离心水洗至洗脱液为中性为止,放入烘箱干燥备用。取一定量清洗干燥后的稻壳灰,与一定浓度的 NaOH 溶液按一定比例混合,移入 500 mL 圆底烧瓶内,置于电热套中加热,保持沸腾状态一定时间。随后对混合物抽滤,并用沸水洗涤滤渣,收集到的滤液和洗脱液即为水玻璃溶液。

取一定量的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)于 500 mL 烧杯中,加入 35 mL 2 mol/L 的盐酸溶液和 150 mL 去离子水,静置。待 CTAB 完全溶解后,在搅拌的状态下加入一定量的水玻璃,迅速用 2 mol/L HCl 溶液或饱和 NaOH 溶液调节反应混合物的 pH。持续搅拌 30 min 后,于室温下静置陈化 48 h。抽滤陈化后的样品,去离子水洗至洗脱液呈中性为止。收集滤饼,放入烘箱内 60°C 下干燥,轻轻研磨干燥后的固体至呈粉末状。将该固体粉末放入真空碳管烧结炉

炉体内加热去除模板,加热速率为 10℃/min,最高温度 600℃,并在最高温度下保温 3 h。

(2) 介孔二氧化硅的表征

用 JW - BK6 静态氮吸附仪测试样品的比表面积和孔径分布,XRD 测试采用的仪器为 Bruker D8 Advance X 射线衍射仪,TEM 测试采用的仪器为 JE-OL2010 型透射电镜。

三、结果与讨论

(一) 水玻璃模数对介孔二氧化硅性质的影响

根据前文所述的方法,我们首先提取出了 5 种不同模数的水玻璃,它们的模数分别为 1.61、1.85、2.13、2.35 和 2.60。取 150 mL 某一模数的水玻璃,根据其二氧化硅的浓度计算出其二氧化硅含量,统一按照 SiO₂:CTAB 质量比等于 10:3 计算出 CTAB 的用量,体系 pH 统一调节为 3.0。样品制备好后用静态氮吸附仪测量其比表面积和孔径分布,结果见表 1。

表 1 模数对孔道和表面性质的影响

模数	BET 比表面积 (m ² /g)	BJH 吸附累计 总孔体积(cm ³ /g)	BJH 脱附累计 总孔体积(cm ³ /g)	BJH 吸附最可几 孔径(nm)
1.61	622	0.901	0.828	3.06
1.85	676	0.936	0.875	2.87
2.13	731	0.955	0.795	3.13
2.35	796	1.142	0.989	2.95
2.60	855	1.253	1.005	3.07

从表 1 中的数据可见,当水玻璃模数上升,产品的 BET 比表面积和 BJH 吸附脱附孔径总体上都呈现出上升趋势,而最可几孔径则变动不大。当水玻璃模数较低时,则水玻璃的密度和黏度较小,沉淀速度也较快,许多硅物料直接互相聚集沉淀,使得产品的颗粒结构不完整,导致比表面积和孔体积较低;水玻璃模数较高时,其粘度和密度也相应升高,沉淀速度下降,所以能充分地在胶束周围沉淀生产完整的有机/无机复合物颗粒,使比表面积和孔体积增大。

用模数为 2.60 的水玻璃制备的介孔二氧化硅的氮吸脱附曲线和孔径分布图见图 1 和图 2。

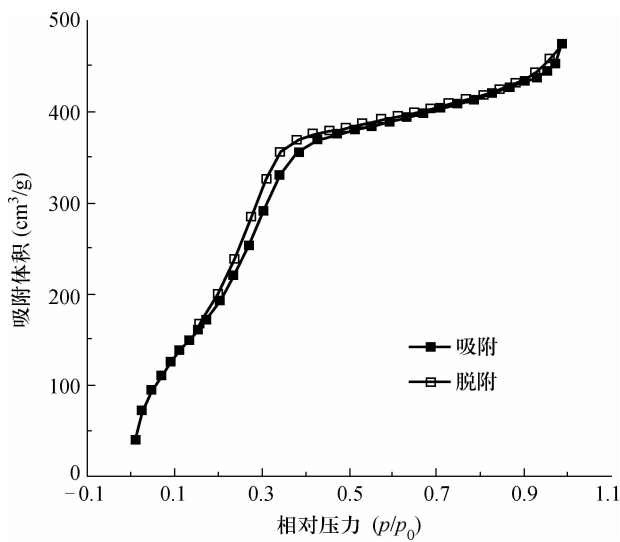


图 1 模数为 2.60 的水玻璃制备的介孔二氧化硅的氮气吸脱附等温线图

从图 2 中可以看出,该样品的孔径集中分布于直径 ≈ 3 nm 处,大直径的孔道几乎没有,这与计算结果一致(表 1)。集中的孔径分布和较小的孔道直径也与氮气吸脱附等温曲线的分析结果相一致。

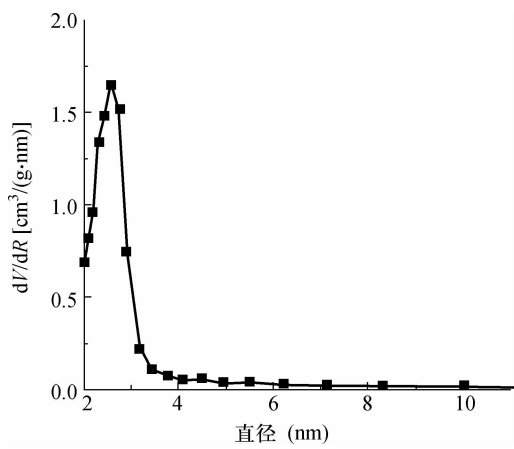


图 2 模数为 2.60 的水玻璃制备的介孔二氧化硅的孔径分布曲线

从图 1 中可以看出,该样品是典型的 IV 型吸附等温线,是介孔材料的典型吸附曲线。从相对压力 $p/p_0 = 0.2$ 处开始出现近似于 H1 型滞后环,并一直延伸到 $p/p_0 = 0.6$ 处。并且这种近似于 H1 滞后环说明孔道可能是内外一致的直筒形状。陡峭的滞后环走势说明了该材料的孔径分布很集中,而滞后环出现在较低的相对压力处说明该材料的孔径偏低。从相对压力高于 0.4 开始,吸脱附曲

线的走势开始变得平缓, p/p_0 接近 1.0 时曲线有轻微的上翘,这也说明了该材料几乎不含直径较大的孔道。

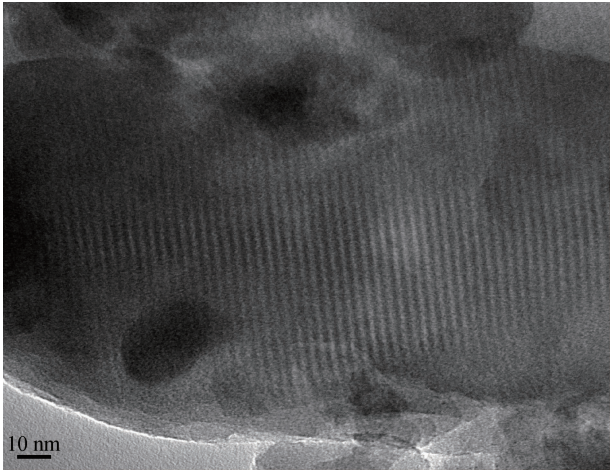


图 3 模数为 2.60 的水玻璃制备的介孔二氧化硅的透射电镜照片

图 3 所示为该样品的透射电镜照片。从照片中可以明显看出该材料具有丰富的孔道结构。这些孔道排列整齐有序,内外直径一致呈直筒状,孔径在 2 ~ 3 nm 之间。这些直观的特征结果与氮吸脱附等温线的分析结果相符合。

XRD 是另一种常见的表征介孔材料的手段。若介孔材料拥有排列有序的孔道结构,那么在小角度区域($1 < 2\theta < 10^\circ$)内会有特征衍射峰。根据这些衍射峰的位置和强度可以计算出孔的形状、孔径、对称型、空间组等重要参数。该样品的 XRD 衍射图谱见图 4。

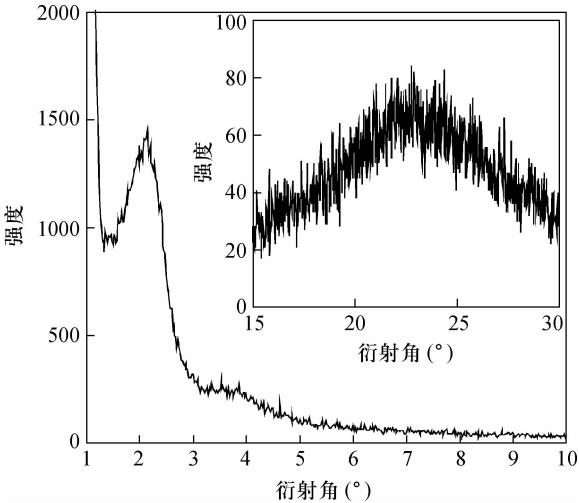


图 4 模数为 2.60 的水玻璃制备的介孔二氧化硅的 XRD 图谱

在小角度区域,该样品有一个很明显的衍射峰 $2\theta = 2.13^\circ$,这意味着该样品具有有序排列的孔道结构。根据衍射峰的位置来看,该样品的孔径较小。在衍射角 $15^\circ \sim 30^\circ$ 之间,有一个弥散性的宽峰,这说明样品的无机硅骨架是非结晶态的无定形结构。

(二) CTAB 用量对介孔二氧化硅性质的影响

取 150 mL 模数为 2.60 的水玻璃,根据其二氧化硅的浓度计算出其二氧化硅含量,按照 $\text{SiO}_2\text{:CTAB}$ 质量比分别为 10:1、10:2 和 10:3 计算出 CTAB 的用量,体系 pH 统一调节为 3。

表 2 为用不同比例的二氧化硅与 CTAB 合成的样品的一些测试数据。

表 2 二氧化硅与 CTAB 质量比对介孔和表面性质的影响

质量比	BET 比表面积 (m^2/g)	BJH 吸附累计 总孔体积(cm^3/g)	BJH 脱附累计 总孔体积(cm^3/g)	BJH 吸附最可几 孔径(nm)
10:1	311	0.479	0.408	2.35
10:2	434	0.663	0.583	2.76
10:3	855	1.253	1.005	3.07

随着 CTAB 用量的增大,材料的比表面积、总孔体积和孔径都有不同程度的提升,这说明 CTAB 的用量对产品的性质有巨大的影响。当 CTAB 浓度较低时,可能无法形成足够多的和排列较为整齐的胶束,使得体系中的硅不能充分地在胶束周围沉淀,只能密集地堆积在少量的胶束周围生成颗粒较大形貌不规则的产品,所以得到的材料性能不佳;当 CTAB 浓度足够大时,溶液中有足够的胶束供硅发生缩聚反应,生成的颗粒细小而形貌均匀的产品,比表面积和总孔体积都远高于低浓度 CTAB 的产品。

质量比为 10:1 和 10:2 样品的氮吸脱附等温曲线和孔分布曲线非常相似,都是前半段比较平坦而后半段急剧上升,末端有较为明显的上翘。在相对压力 0.5 处开始出现滞后环并一直延伸到接近 1.0 的位置,这与用比例为 10:3 的物料配比得出的样品的氮吸脱附等温曲线有明显差异。滞后环向高压处移动说明体系内含有一些孔径较大的孔道。两个样品的吸附等温曲线都呈第 IV 类形状,但滞后环更接近于 H2 型,这也能说明体系内除了孔径较小的介孔之外还有一些直径较大的介孔。

造成这种现象的原因还是 CTAB 的用量。当 CTAB 用量较小时,只能形成

少量的大介孔颗粒,这些大的颗粒在沉淀、抽滤、干燥过程中会堆积在一起发生团聚而形成更大的无规则形貌的颗粒,在颗粒与颗粒堆积的缝隙中产生了一些无规律的孔径较大的孔道。增大 CTAB 的用量可以增加溶液内胶束的数量,完善胶束的排列,有利于形成小而均匀的颗粒。

(三) 反应 pH 值对二氧化硅性质的影响

pH 值影响硅物料的沉淀速度,因此可能会影响到最终产品的形貌与机构。本实验选用了酸性、中性和碱性三个 pH 值,其产品的部分数据见表 3。

表 3 pH 值对孔道和表面性质的影响

pH	BET 比表面积 (m ² /g)	BJH 吸附累计 总孔体积(cm ³ /g)	BJH 脱附累计 总孔体积(cm ³ /g)	BJH 吸附最可几 孔径(nm)
3	855	1.253	1.005	3.07
7	157	0.363	0.354	11.11
11	745	0.835	0.798	2.88

当 pH 为中性时,材料的比表面积和孔体积非常低,而孔径却异常大。造成这种现象的原因是 pH 为 7 时,硅物料的沉淀速度非常快,大量的硅没有在表面活性剂胶束周围发生缩聚,而是自己聚集在一起形成硅球。介孔硅球在整体中已经不占主导地位,取而代之的是无孔硅颗粒。这些硅颗粒形状大小不一,而且表面和内部没有孔道结构,因此比表面积和总孔体积很低。而出现异常大的孔径是因为无孔硅球之间的堆积。当 pH 为 11 时,材料的比表面积和总孔体积低于 pH 为 3 时,而孔径则相差无几。这可能是因为碱性条件下硅的沉淀速度要略高于酸性条件下,部分硅物料没有来得及与胶束发生缩聚反应便自身聚集沉淀,颗粒的结构与形貌不完整,导致比表面积和总孔体积下降。

pH 7 和 11 时制备的介孔二氧化硅的静态氮吸脱附等温曲线见图 5。

在 pH 7 和 11 条件下制备的样品的静态氮吸附等温曲线有明显的差异。pH 7 时的吸附等温曲线前半段十分平缓,在相对压力 0.7 ~ 1.0 处有明显的上升,滞后环也位于此处,说明该材料并无孔径较小且集中分布的介孔,只有分布较散乱尺寸较大的孔。pH 11 时的吸附等温曲线前半段有明显上升,中间较为平摊,后半段有明显的上翘。在相对压力 0.2 ~ 0.4 处有一个不明显的滞后环,说明材料中存在着孔径较小的介孔,且分布相对集中。尾端的上翘说明材料组也存在一些堆积而成的大孔,但不占主导地位。

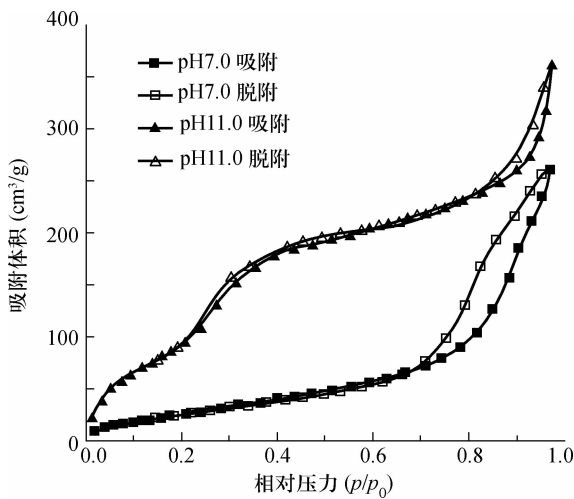


图 5 pH 7 和 pH 11 下制备的介孔材料的氮吸脱附等温曲线

pH 为 7 时孔径分布杂乱无章,从 2 ~ 30 nm 之间均有不同程度的分布,这也证实了上文的分析与推测。相比之下,pH 为 11 时的孔径分布则集中的多,在 2 ~ 3 nm 之间有一个明显的单峰,4 ~ 6 nm 之间有微小的起伏,这也与氮吸脱附等温曲线的分析结果相符合。

四、结论

水玻璃模数对材料的比表面积和孔体积有一定的影响,表现为随着模数的增加,二者的数值均有所上升,而模数对孔径的影响不大。当 CTAB 用量较低时,材料的比表面积、孔体积和孔径低于高用量时的数值。这是因为当 CTAB 用量低时,不能在溶液中形成丰富的胶束和完整的胶束排布,从而导致硅不能充分地沉淀;当 CTAB 用量足够大时,可以提供充足的胶束供硅与之沉淀,因而能得到完整的硅球颗粒。体系的酸碱度同样也起着重要作用。当体系呈中酸性时,硅的沉淀速率较低,有充足的时间形成规则的有机-无机复合物;当体系呈中碱性时,硅的沉淀速率略高于中酸性条件,部分硅未能与胶束充分作用便沉淀出来,因此产品的比表面积和孔体积要低于酸性条件下的产品;当体系呈中性时,硅的沉淀速度大大加快,大量的硅未能与胶束作用而是直接聚集成团,这使得材料的孔道结构匮乏,比表面积和孔体积也大大降低。因此中酸性的环境对介孔二氧化硅的形成比较有利。

参考文献

1. 刘娟,侯书恩,靳洪允,肖红艳. 稻壳灰制水玻璃的正交试验研究[J]. 粮食与饲料工业,2008(12):6-7;10.
2. 陈景华,侯贵华. KOH 作用下稻壳制备高比表面积活性炭的研究[J]. 材料导报,2009,23(10):90-92.
3. 刘厚凡,甘露,李日生,杨桂珍. 稻壳制备白炭黑新方法研究[J]. 无机盐工业,2007,39(2):40-42.
4. 张朝晖,娄宗科. 稻壳、稻壳灰水泥混凝土的研究现状[J]. 陕西农业科学,2010,56(6):124-126.
5. 邵洪东. 关于稻壳炭用作橡胶补强材料的研究[J]. 世界橡胶工业,2002,29(1):12-16;41.
6. Kresge C. T. , Leonowicz M. E. , Roth W. J. , Vartuli J. C. , Beck J. S. . Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid - crystal template mechanism[J]. Nature,1992,359:710-712.
7. Beck J. S. , Vartuli J. C. , Roth W. J. , Leonowicz M. E. , Kresge C. T. , Schmitt K. D. , Chu C. T. W. , Olson D. H. , Sheppard E. W. . A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates[J]. Journal of the American Chemical Society,1992,114:10834-10843.
8. Zhao D. , Feng J. , Huo Q. , Melosh N. , Fredrickson G. H. , Chmelka B. F. , Stucky G. D. . Triblock Copolymer Syntheses of Mesoporous Silica with Periodic 50 to 300 Angstrom Pores[J]. Science,1998,279:548-552.
9. Grisdanurak N. , Chiarakorn S. , Wittayakun J. . Utilization of mesoporous molecular sieves synthesized from natural source rice husk silica to chlorinated volatile organic compounds (CVOCs) [J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2003,20(5):950-955.
10. Tungkananurak K. , Kerdsiri S. , Jadsadapattarakul D. , Burns D. T. . Semi - micro preparation and characterization of mesoporous silica microspheres from rice husk sodium silicate using a non - ionic surfactant as a template: application in normal phase HPLC columns[J]. Microchim Acta,2007,159:217-222.
11. Jullaphan O. , Wittoon T. , Chareonpanich M. . Synthesis of mixed - phase uniformly infiltrated SBA - 3 - like in SBA - 15 bimodal mesoporous silica from rice husk ash[J]. Materials Letters,2009,63(15):1303-1306.
12. Wantala K. , Sthiannopkao S. , Srinameb B. O. , Grisdanurak N. , Kim K.

W. . Synthesis and characterization of Fe - MCM - 41 from rice husk silica by hydro-thermal technique for arsenate adsorption [J]. Environmental Geochemistry and Health, 2010, 32(4) : 261 - 266.



陈正行 长期从事食品科学与工程科研工作,主持和完成“九五”、“十五”国家科技攻关计划、“十一五”国家科技支撑计划、国家 863 计划、国家自然科学基金、国家留学基金委、教育部、江苏省“六大人才高峰”课题等项目。授权国家发明专利 30 余项,发表论文 150 余篇(SCI 论文 30 余篇)。先后获得省部级以上奖励 15 项,其中 2005 年获国家科技进步二等奖(排名第二),国务院特殊津贴获得者。

绿色造纸化学品增强助剂的研究进展

赵传山等

山东轻工业学院制浆造纸科学与技术省部共建教育部重点实验室

摘要:论文论述了造纸用增强助剂国内外的研究现状,重点介绍了环保型绿色造纸增强助剂的研究进展,通过对造纸干强剂和造纸湿强剂的分析,进而揭示造纸用增强剂的发展趋势。另外,结合本课题组的研究项目,阐述了国内造纸用增强剂的研究和推广情况。

关键词:环保型;造纸化学品;增强剂;研究进展

一、引言

目前,随着国内外造纸原料、市场和环境的不断变换,造纸行业的竞争日益激烈,国际上对纸张的质量有了更加严格的要求,传统的造纸行业正逐渐向着低投入、高质量、安全环保的趋势方面快速发展,价格低廉且无毒化、无污染作用的造纸化学助剂的研究与发展成为了一种必然的趋势。利用增强剂来改善纸张强度已成为造纸行业发展的重要途径^[1]。增强助剂的添加不仅可以节约原材料,减少资金消耗,同时还可以提高纸张的干湿抗张强度、耐破度、耐折度等方面的性质。

一般来说,根据使用的效果不同,常用于制浆造纸生产的增强剂有两大类,即干增强剂和湿增强剂。

二、增干强剂

常用的增干强剂通常为水溶性的阳离子聚电解质,对纤维素纤维起到一种黏合作用,即通过增加纤维表面的黏合强度而提高纤维间的结合力。

(一) 聚丙烯酰胺类

聚丙烯酰胺(PAM)是一种多功能性的水溶性高分子聚合物,从20世纪50年代开始作为纸张增干强剂应用于造纸行业,由于其易水解、使用方便、对环境

友好等优点,目前在各国的造纸工业中所占的比例越来越重^[2]。

PAM 分子本身是中性的,几乎不能被纸浆纤维吸附,实际使用过程中需要在分子中导入电性基团。一般根据不同的电性,PAM 产品可以分为非离子型、阴离子型(APAM)、阳离子型(CPAM)和两性的等。

由于纸浆呈负电性,因此需在使用 APAM 时加入阳离子促进剂,一般采用硫酸铝。APAM 在 Al^{3+} 的作用下与纤维上的负离子以配位键的形式吸附于纤维上产生增强效果,APAM 需在酸性条件下使用,才能启动较好的增强效果。近年来,我国的抄纸环境逐渐地从酸性向中碱性过渡,因此,APAM 的应用比例逐步降低^[3]。

CPAM 与 APAM 不同,它在整个 pH 值范围内是完全电离的,可以直接吸附在纸浆纤维上通过阳离子与纤维上的阴离子形成离子键,酰胺基与纤维上的羟基形成氢键,获得增强效果。CPAM 比 APAM 有更加广阔的 pH 值适用范围,目前丙烯酰胺类的干强剂研究正在向 CPAM 共聚物过渡,这种过渡由于其在新闻纸上的广泛应用而加快了其发展速度^[4]。

两型聚丙烯酰胺的结构中既含有阳离子基团,又含有阴离子基团,能够调节浆料系统中的电荷平衡^[5],一般两性聚丙烯酰胺主要通过化学改性法和共聚法获得。

PAM 与其他单体的共聚、复配是近年来发展的另一个重要的趋势。日本专利将丙烯酸、丁二烯、甲基异丁烯酸以一定比例混合经反应后制得共聚物可到达提高纸张的强度^[6]。对于与其他增强剂的共用、两性的研究是近来国外发展的重要趋势,如将 CPAM 和阴离子瓜尔胶共用;将 PAM、PAE 和水共混;将丙烯酸、丙烯酰胺、阳离子单体和少量交联剂在引发剂作用下共聚等。

本课题组针对随着造纸白水封闭循环程度的提高,阴离子垃圾增多造成的普通增强剂很难发挥作用的特点,合成了新型丙烯酰胺两性共聚物和壳聚糖改性两性聚丙烯酰胺类增强剂。两性聚丙烯酰胺具有的优点有:适用的 pH 值范围广,可以用在中碱性抄纸系统中;弥补了阴/阳离子增强剂各自的不足,调节系统阴/阳电荷的平衡;阴离子基团可以排斥系统中其他的阴离子杂质的干扰,从而可以防止阳离子基团过早地和系统中阴离子杂质起反应;在封闭循环系统中,由两性助剂建立起来的系统电荷平衡,能保证纸机系统维持良好的运转性能。具有很好的应用前景和市场前景。

(二) 淀粉类

造纸工业中所应用的淀粉大都为改性淀粉,用量几乎占造纸化学品总量的 80% ~ 90%,目前对改性淀粉的研究正朝着两性和多元变性的方向发展。用于

增强作用的淀粉大致可以分为阴离子淀粉、阳离子淀粉和两性淀粉。

阴离子淀粉类主要为磷酸酯淀粉,由淀粉与正磷酸盐反应制得。其合成成本低,工艺简单,故价格便宜。但它必须在 Al^{3+} 的作用下才能产生效果,所以只适合酸性抄纸系统,国外的磷酸酯淀粉已形成系列化产品,新的开发不多。

阳离子淀粉带有正电荷,能与带负电荷的纤维及填料发生不可逆转的吸附,使纸张的强度增加,具有用量少,使用效果好,可以在较宽的 pH 值范围内使用的优点。阳离子淀粉虽然使用效果好,但与磷酸酯淀粉相比,技术难度大,成本较高。

两性淀粉同时具有阴阳离子取代基,是近几年发展起来的新型改性淀粉^[7],综合运用了阴、阳离子淀粉的改性技术,抗杂粒子干扰作用强,可以在较宽的 pH 范围内使用,近年来得到了广泛的应用。

(三) 壳聚糖及其改性物

壳聚糖是甲壳素脱乙酰基形成的衍生物,其结构与纤维素类似。具有无毒、不产生二次污染、生物降解性能好等特点,因此,它在造纸行业中具有广泛的前景。但是,由于壳聚糖存在分子量小、架桥能力差、特别是成本高的缺点,对其改性以获得更好的增强效果是十分必要的。

目前,国内对壳聚糖进行改性作用作造纸增强剂的研究较少,而国外在此方面已取得了一定的成果,如将 PAE、聚乙烯亚胺、丙烯酸类单体与壳聚糖接枝共聚。鉴于壳聚糖的独特优势,研究人员正在着手开发性能优良、价格便宜的改性壳聚糖。

(四) 聚合乳液类

国外对聚合乳液类增强剂的研究主要集中在新工艺、新产品的开发应用上,如将 PAM 胶乳用来表面涂布和内部添加均获得较好的增强效果;用分散聚合法合成了新型聚丙烯酸增强剂,用于纸板生产,纸板环压强度得到了较好改善;将 PAE、丙烯酸单体、苯乙烯和丁二烯进行乳液聚合得到的产物具有良好的湿强效果^[8]。而我国对胶乳类增强剂的研究主要集中在非离子型和阳离子型上,关于两性乳液增强剂的研究尚未见报道。今后研究重点将在高效、价廉乳液类增强剂的开发与应用。

(五) 水溶性植物胶

用作增干强剂类的植物胶主要有田菁胶和瓜尔胶。田菁胶又称半乳甘露聚糖胶,主要添加于纸浆内,可提高卷烟纸的强度与匀度,降低浆耗,提高强度指

标。瓜尔豆胶能参与纤维表面额外的氢键结合,天然物质是非离子化的,一般将其改性为阳离子基团,从而增加胶和纤维的吸引力,提高纸张抗张强度、降低撕裂度、增加纸浆的保水值和打浆度,并提高纸张的匀度。一般情况下,0.1% ~ 0.35% 的该类物质就可以达到有效的干强效果。

半纤维素衍生物增强剂 CMG-1 是在植物半纤维素基础上开发的一种新型增强产品,它不同于淀粉系列的各种造纸助剂,具有用量少、无需糊化等优点,也有别于聚丙烯酰胺类产品,它的固含量高、形状稳定、原料来源丰富。

三、湿增强剂

湿强剂发展至今,现有品种虽然繁多,却主要为两大类产品,即以三聚氰胺甲醛树脂(MF)和脲醛树脂(UF)为代表的酸性熟化树脂和以聚酰胺多胺环氧氯丙烷树脂(PAE)为代表的碱性熟化树脂。总体来说,碱性熟化树脂比酸性熟化树脂更具优越性,将成为造纸工业用剂的发展趋势。

各类湿强剂应用效果各异,优缺点也不尽相同。UF、MF 树脂在使用或处理过程中会释放大量的游离甲醛,污染环境,在国外其应用受到了一定的限制。而 PAE 适用范围广泛,具有较高的湿强效果,用量少,并且还兼具助留助滤的效果^[9]。然而 PAE 在使用过程中的白水系统和成品纸中检测出了吸附有机卤化(AOX),因此产生了很多不利影响,同时也限制了 PAE 在一些领域中的应用。近年来,国内对湿强剂的研究主要集中在对传统湿强树脂的改进上,国外则开发出一系列环境友好型新型湿强剂。

(一) 湿强树脂的改性

国内外对用乙二醛代替甲醛对 UF 改性、对 MF 进行改性以提高其稳定性的研究方面均取得了一定的成果。由于 MF 树脂和 UF 树脂都只能在酸性条件下使用,且释放对人体有害的甲醛,因此,它们的研究与应用受到了一定程度的限制。而其他湿强剂如聚乙烯亚胺(PEI)的研究并不成熟,难以得到大量的推广。相比之下,PAE 树脂增湿强效果好、无甲醛、用量少、成纸返黄少、无毒、使用方便、损纸回收容易,特别适合中碱性抄纸,且兼有助留、助滤作用的优势得以体现。因此,目前国内外对 PAE 树脂的改性研究日渐深入并取得了一定的成果。

对 PAE 树脂的改性主要是从以下 3 个方面^[10]:改善湿强效果、提高纸张柔软度以及合成高固低氯 PAE。PAE 与丙烯酰胺接枝共聚,制得 PAE 改性 PAM,与纤维发生协同作用,不仅能提高 40% 的干强度,还能更好地发挥湿拉伸强度效果。PAE 在提高纸页强度的同时,也使纸页显得挺硬,将改性后的 PAE 与苯乙烯乳液聚合制得一种纸张增强剂改性 PAE-St,能有效地提高餐巾纸、卫生纸

等生活用纸的柔软度。传统的 PAE 中含有大量的有机氯,本实验室结合胺类化合物等及改性剂进行后处理,通过控制一定的反应时间和温度,有效地将有机氯含量控制在 1% 以下,同时制得固含量为 35% 的 PAE。

(二) 环境友好型湿强剂

由于传统的湿强树脂对环境有着不可避免的不良影响,目前造纸研究人员正在开发环境友好的湿强剂,寻找毒副作用小的替代品。

研究发现,纸页经过某些羧酸后处理后,其湿强度/干强度可超过 60%。在用丁二酸、1,2,3,4-丁烷四羧酸(BTCA)、丁烷三羧基等三种聚羧酸处理纸张时,用 BTCA 处理后的湿强效果最好^[11]。而采用马来酸(MA)、柠檬酸与 BTCA 进行对比,也可得出相同的结论。由于使用 BTCA 做湿强剂成本较高,研究者采用聚马来酸(PMA)及马来酸、丙烯酸和乙烯醇的三元共聚物(TPMA)与 BCTA 进行对比实验,发现 PMA 的湿强效果与 BCTA 相当,TPMA 的效果略差^[12]。

研究人员在开发环境友好型湿强剂的过程中,发现双官能醛也可作为无毒湿强剂。戊二醛在较低温度下能改善纸张的湿强度,研究人员将戊二醛与聚乙烯醇一起作用,效果优于单独使用戊二醇,不仅增加了湿强度,而且改善了纸张的干强度和耐折度。

日本 Tanaka^[13]小组致力于反应性增强剂的研究,在聚合物湿强剂分子中引入可以和纸浆纤维反应的活性基团,如异氰酸酯、环氧基团等。该小组选用甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA)作为单体,经过和其他的单体进行共聚来制备。以十二烷基硫酸钠作乳化剂,过硫酸钠和亚硫酸氢钠组成的氧化还原体系作引发剂。采用乳液聚合法制备了反应性湿强剂聚苯乙烯/甲基丙烯酸缩水甘油酯(PGS),这是一种具有相当发展潜力的湿强剂。

近几年,一种新的氧化体系 2,2,6,6-四甲基哌啶氧化物自由基(TEMPO)-NaClO-NaBr 对多糖类高分子的选择性氧化已成为研究热点。日本的 Saito 等人将其应用于造纸湿部,开发了一种增进纸张湿强度的新方法^[14]。他们将 TEMPO-NaClO-NaBr 氧化体系用于硫酸盐浆(KP)中,使纤维表面发生化学变化。这种氧化体系能有效地在浆料纤维的可及区域引入醛基和羧基。湿强度的改善是由半缩醛联结形成的纤维间共价键造成的。这种半缩醛键由 TEMPO-NaClO-NaBr 氧化体系氧化 C₆ 伯羟基形成的醛基和另外的羟基反应生成的。此外,当硫酸铝与 TEMPO 氧化后得浆共用抄片时,干强度有轻微下降,湿强度进一步改善。

四、结束语

随着造纸技术的不断进步,纸的用途越来越广,各类造纸助剂的需求量也将

不断增加,传统价格昂贵、使用量大、有毒副作用的增强剂已经难以满足社会对环保日益严格的要求^[15]。因此,低成本、高效能、环境友好型的绿色增强剂必将成为未来造纸化学品的研究方向。

参考文献

1. 张安平,刘书钗,张光华. 造纸增强剂[J]. 纸和造纸,2004,(4):39-42.
2. 赵振环,刘温霞. 纸张增强的新技术[J]. 造纸化学品,2009,21(5):20-24.
3. 高红霞,黄显南. 造纸用增干强剂及其新发展[J]. 纸和造纸,2006,25(6):38-40.
4. 金昭华,罗耀. 阳离子聚丙烯酰胺纸张干强剂的研究进展[J]. 湖南化工,1999,4(29).
5. 沈一丁,韩卿,任庆海. 两性聚丙烯酰胺纸张增强剂的合成和应用[J]. 高分子材料科学与工程,1995,5.
6. 杜伟民. 中性造纸条件下干强剂的特性[J]. 造纸化学品,2011,23(4):46-49.
7. 文彪. 高分子双元纸张增强剂的应用[J]. 湖南造纸,2004,(2):21-22.
8. 刘温霞,邱化玉. 造纸湿部化学[M]. 北京:化学工业出版社,2006.
9. 郭乃妮. 造纸湿强剂的合成及应用研究进展[J]. 广东化工,2012,39(6):97-98.
10. 何裔鑫,薛国新,陈金龙等. 造纸湿强剂 PAE 的改性研究进展[J]. 造纸化学品,2011,23(5):2-4.
11. 许瑞雪,吴玉英,赵玉柱. 环境友好型湿强剂的研究进展[J]. 精细与专用化学品,2009,17(15):14-16.
12. 徐青林,胡惠仁,谢来苏等. 环保型湿强剂—聚合性多官能羧酸[J]. 国际造纸,2001,20(1):55-58.
13. Zhang Xiumei, Tanaka Hiroo. Copolymerization of Glycidyl Methacrylate with Styrene and Applications of the Copolymer as Paper Strength Additive[J]. Journal of Applied Polymer Science,2001,80:334-339.
14. Saito Tsuguyuki. A novel Method to Improve Wet Strength of Paper[J]. Tappi Journal,2005,4(3):3-8.
15. 王建,王志杰. 我国造纸化学品的应用现状与发展建议[J]. 西南造纸,

2005,34(6):9-12.



赵传山 1994 年于山东轻工业学院晋升为副教授,2000 年晋升为教授,2000 年担任硕士导师,2004 年兼任华南理工大学博士副导师,2005 年 1 月,被评聘为省级重点学科造纸学科学术带头人,2010 年 10 月,聘为省级重点实验室主任。目前至今受聘于山东轻工业学院轻化与环境工程学院任院长,制浆造纸科学与技术教育部重点实验室副主任,中国造纸学会会员,中国造纸学会会员非木材制浆造纸专业委员会秘书长,中国轻工业表面活性剂研究会常务

理事,山东造纸学会常务理事,2011 年被评为山东省教学名师。主要研究领域为植物纤维特种纸基材料,近年来在国内外重要学术刊物上发表论文共 100 余篇,其中三大索引收录 50 余篇;获省部级奖励 3 项;目前承担项目共 12 项;其中:国家级 1 项,省部级 3 项。

马铃薯淀粉生产过程中薯渣的有效利用技术

顾正彪等

江南大学食品科学与技术国家重点实验室,江南大学食品学院

摘要:马铃薯淀粉是我国马铃薯加工最为重要的方向,其生产过程中产生了大量含水量高、容易腐败变质,但含有部分可利用成分、具有一定开发利用价值的副产物马铃薯渣。本文综述了当前马铃薯渣综合利用的主要方向和相关技术,分析了存在的问题,并重点介绍了将马铃薯渣作为整体进行高效、快速综合利用的加工转化技术。

关键词:马铃薯渣;整体利用;加工转化

一、引言

我国马铃薯资源丰富,其种植面积和产量均占到世界总量的 20% 以上,是世界马铃薯生产第一大国^[1]。据农业部统计,2010 年我国马铃薯种植面积达 507.75 万公顷,总产量达 7479.91 万 t,连续 16 年位居世界首位^[2]。

马铃薯加工业是随着我国农副产品加工业和食品工业发展而兴起的新兴行业,加工量和产值逐年递增。马铃薯淀粉加工则是我国马铃薯加工产业的重要组成部分,2010 年产量达 45 万 t,消耗马铃薯约 300 万 t,产值约 36 亿元。

马铃薯渣是马铃薯淀粉生产过程中的主要副产物,每吨淀粉一般产生 6.5 ~ 7.5 t 左右的废渣。随着马铃薯淀粉产业的迅速发展,副产物马铃薯渣的产量逐渐增大,薯渣的不易利用已成为制约马铃薯淀粉加工行业发展的瓶颈问题。

马铃薯渣的主要成分为水、细胞碎片和残余淀粉颗粒,并含有淀粉、纤维素、果胶、蛋白质等可利用成分,具有一定的开发利用价值^[3]。发展马铃薯废渣有效利用技术,实现马铃薯淀粉加工废弃物的快速、批量转化和产业化推广,符合《国家中长期科学和技术发展规划纲要(2006 - 2020)》中提出的“发展废弃物等资源化利用技术”的要求,有利于解决马铃薯淀粉加工废渣处理的难题,降低马铃薯淀粉生产成本,促进马铃薯加工业的健康发展。

二、马铃薯渣的主要成分与性能

马铃薯鲜薯中的干物质含量平均约为 25%,在进行淀粉生产的过程中,可

以提取其中占鲜薯总质量 17% 左右的淀粉,剩余 6% 左右的渣滓(以干物质计)和 2% 左右的可溶性物质被排放^[4]。马铃薯渣主要含有水、细胞碎片、薯皮细胞或细胞结合物以及残余的淀粉颗粒物质,其主要成分包括淀粉,纤维素,半纤维素、果胶、蛋白质、游离氨基酸、脂肪和盐类等,其在干渣中的含量如表 1 所示。

表 1 马铃薯渣干渣中各组分所占比例

成分	含量(<i>w/w</i>)
水分	5% ~ 15%
淀粉	30% ~ 50%
纤维素	15% ~ 35%
半纤维素	5% ~ 20%
果胶	10% ~ 25%
蛋白质	4% ~ 8%
脂肪	0.4% ~ 1%
灰分	1% ~ 5%

新鲜马铃薯渣的水分含量最高可达 90% 以上,且呈现水渣紧密结合的浆状物料性质,却表现出典型胶体的理化特征。马铃薯渣中的水分存在于残余的薯皮细胞中,且与纤维和果胶都存在一定的结合作用,导致水分去除非常困难,干燥成本极高。同时,薯渣中含有多种微生物,易腐坏变质,不易储存和运输,加大了开发和再利用的难度。

三、传统马铃薯渣加工利用技术的发展现状

马铃薯渣含有淀粉、纤维素、果胶及少量蛋白质等可利用组分,具有一定的开发利用价值和潜力。目前,对马铃薯渣的加工利用主要包括作为底物发酵转化利用和提取有益组分两个方向。

(一) 发酵转化利用

(1) 发酵生产饲料

马铃薯渣含有淀粉、蛋白质、纤维素等组分,具有作为饲料应用的潜力,但其适口性差,粗纤维含量高,而蛋白质含量较低,无法直接作为饲料。利用马铃薯

丰富的营养成分,作为微生物发酵的底物,通过微生物发酵提高蛋白质含量并改善其营养配比,可以将马铃薯渣转化为动物饲料,实现加工利用。

采用半固态、固态发酵马铃薯渣生产单细胞蛋白饲料,是马铃薯渣转化饲料较为常见的方法,它具有能耗低,方法简单,适合工业化生产的特点。刘雪莲等^[5]以黑曲霉、白地霉和热带假丝酵母为发酵菌种,采用固态发酵马铃薯渣制备菌体蛋白饲料,产物中粗蛋白含量达 43.94%;赵萍等^[6]采用半固态法发酵薯渣,并通过多次正交优化设计实验,提高粗蛋白含量最高可达 57.49%。

通过微生物发酵马铃薯渣虽然都能提高蛋白质含量,但是由于其自身蛋白质含量较低,粗纤维含量较高,且微生物发酵可利用的碳源较少,需要加入大量的其他营养源,显著增加了成本。同时由于发酵周期长等诸多问题,利用马铃薯渣生产蛋白饲料尚未得到大规模的应用。

(2) 发酵转化其他产品

将马铃薯渣通过微生物发酵,转化成新的高附加值发酵产品,是马铃薯渣再利用的另一个主要途径。国内外学者利用不同种类的微生物菌种发酵马铃薯渣,制备出燃料酒精、乳酸、草酸、柠檬酸、聚丁烯、果糖、维生素等发酵产品。国内有学者报道了通过筛选合适菌种和改进培养基配方利用马铃薯渣发酵生产柠檬酸^[7],可产生较高的附加值;日本利用马铃薯渣代替部分粮食原料制备酱油和醋,可节约生产成本,是适合家庭作坊式生产的实用方法。在马铃薯渣发酵生产燃料酒精方面,国外已逐步开始产业化生产,目前已建成每年可将马铃薯渣转化为 4 万吨燃料酒精的生产线。此外,马铃薯渣还可作为发酵生产纤维素酶的主要原料,Klingspohn 等^[8]将果胶和淀粉从纤维素及半纤维素中分离出来,并接种里氏木霉生产纤维素酶。

(二) 提取有效组分

(1) 提取利用纤维素组分

马铃薯渣中具有较高的纤维素含量,薯渣膳食纤维持水力、膨胀力较高,有良好的生理活性,是一种廉价的膳食纤维来源。

薯渣膳食纤维的提取工艺方法主要包括酒精沉淀法、酸碱法、挤压法、酶法等。吕金顺等^[9]采用淀粉酶处理薯渣,并通过酸解、碱解、干燥、粉碎等步骤制备了性能优良的薯渣膳食纤维。Anne 等^[10]利用纤维素酶处理薯渣并优化了膳食纤维提取的最佳工艺,确定了该纤维素的分子大小和分子组成。江南大学王卓等^[11]采用酸处理、中温 α -淀粉酶处理和耐高温 α -淀粉酶处理三种工艺条件分别制得了马铃薯膳食纤维产品,通过比较实验表明马铃薯膳食纤维的阳离子交换能力优于市售燕麦纤维,且酸处理所制得的膳食纤维综合性能最好。目前,

从马铃薯渣中提取或制备膳食纤维的技术路线比较复杂,产品得率较低,成本较高,且生产过程中易对环境造成二次污染。

在薯渣纤维素提取利用方面,国外已把马铃薯渣作为一种重要的、廉价的膳食纤维资源,并不仅仅停留于纤维素提取领域,而是探索了将马铃薯渣处理直接添加到食品中作为脂肪替代物和纤维素添加剂,用于生产休闲糕点、饼干,适用于糖尿病、肥胖症、心脑血管疾病、肠癌及其他营养失调的病人。

(2) 提取利用果胶组分

马铃薯渣中具有一定的果胶含量,约占干基的 10% ~ 25%,是一种潜在的果胶来源。一般均采用条件较为温和的提取方法从薯渣中提取果胶,尽量保证其结构完整性。郑燕玉等^[12]在微波条件下,用稀硫酸溶液萃取、硫酸铝沉淀提取果胶。Turquois 等^[13]在不同条件下提取果胶,并对其凝胶性能进行了比较和分析。江南大学万建华^[14]以马铃薯渣为原料,分别采用水法、酸法和酸法 + 微波提取,饱和硫酸铝沉析的方法制备果胶,优化后的产品得率分别为 14.8%、17.7% 和 17.9%;对所提取的果胶进行分离纯化后分析了其主要组成,并添加到酸奶中取得了较好的应用效果。目前,不同工艺提取的马铃薯渣果胶的凝胶强度都相对偏低,且较为复杂的提取工艺和较低的得率也限制了马铃薯渣果胶提取利用技术的发展和應用。

四、传统马铃薯渣加工利用技术存在的问题

(一) 加工利用技术实施周期长,马铃薯渣易腐败变质

马铃薯渣含水量极高(90%以上),不能作为固体培养基直接利用,必须将含水量调到 65% ~ 70% 左右,但由于果胶的存在提高了粘度,淀粉、纤维素的存在增加了持水力,无法采用传统的过滤、离心等方法脱水,也无法通过气流干燥、真空干燥等常见干燥设备快速烘干,显著增加了烘干的成本。同时,由于薯渣营养丰富,极利于微生物生长,易腐败变质,若采用生料发酵染菌的概率很大,发酵条件难以控制。提取利用马铃薯渣中纤维素、果胶等有益组分的方法,制备工艺较为复杂,且无法实现快速、连续化的消纳薯渣,极易导致马铃薯渣变质并影响后继处理流程的进行。马铃薯淀粉加工具有明显的季节性,薯渣的产生也相对集中,日产量巨大,若采用发酵、提取等处理量有限、转化周期较长、非连续性的处理方法,势必会导致马铃薯渣的大量堆积而变质。

(二) 加工利用技术转化率偏低,未实现对薯渣整体的高效利用

马铃薯渣组分十分复杂,含有包括淀粉、纤维素、半纤维素、果胶、游离氨基

酸、寡肽、多肽等多种化学成分。但是,上述组分含量相对于湿基来说含量均较低($<5\%$),且所占比例受生产批次、地域影响变化较大,对于马铃薯渣中单一组分高效提取利用的难度较高,导致马铃薯渣中提取或制备有益物质的技术路线复杂,且产品得率低,实现规模化加工困难,缺乏实用及推广价值,且提取利用完所剩的副产物也面临着处理的难题。此外,由于马铃薯渣的淀粉、蛋白质组分含量较低、粗纤维含量较高、营养物质缺乏,在薯渣发酵转化利用的过程中单纯依靠薯渣残留淀粉根本无法提供发酵过程中菌体生长所需的营养物质,还需要加入大量的碳源、氮源等组分满足微生物生长对培养基的要求,导致其产品造价较高、得率较低,难以实现工业化生产。

(三) 加工利用技术综合效益不高,市场化推广难度大

无论是利用马铃薯渣生产发酵产品,还是从中提取有益物质,面临的主要问题就是马铃薯渣的营养价值较低,所开发的饲料、乙醇、氨基酸、果胶、膳食纤维等产品在性能上不具备优势,成本上却远高于常规的生产方法,转化产品的效益差、市场化推广难度较大。同时,现有的薯渣加工方式工艺流程较为复杂,发酵和提取利用的处理方式均无法实现快速、连续的大批量处理薯渣,也没有实现对马铃薯渣全部组分的有效利用,无法满足马铃薯淀粉加工企业对于成本低廉、处理高效的薯渣综合利用技术的实际需求。

五、新型马铃薯渣整体高效利用技术发展现状

(一) 利用薯渣制备具有较好增重效果和功能特性的饲料

马铃薯渣中含有淀粉、纤维素、果胶、氨基酸等多种有益营养成分,具有应用为动物饲料的潜力,但若直接作为饲料则营养价值低、口感差,若烘干制成干饲料则成本过高。

本课题组^[15]采用耐高温型 α -淀粉酶对马铃薯渣进行一定程度的酶解,经调整和优化与玉米粉、蛋白胨、鱼粉等其他饲料组分的混合比例,可根据实际需要制成液体饲料或颗粒饲料,并通过动物实验获得了良好的增重效果。对薯渣进行整体利用制备动物饲料的工艺流程如图1所示。

该研究通过对马铃薯渣进行适度酶解,产生部分小分子糖使适口性有所改善,并使马铃薯渣中的可溶性膳食纤维等组分暴露出来。马铃薯渣经酶解后持水率、持油率、膨胀率、阳离子交换能力、纤维素转化率、小分子糖含量、淀粉水解率、乳化性和乳化稳定性等均有所提高。将酶解后的马铃薯渣添加到大鼠饲料中取代部分麸皮,以马铃薯渣原浆和未添加薯渣的饲料作对照,考察马铃薯渣对

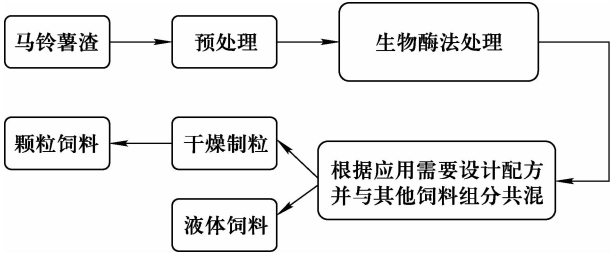


图 1 利用薯渣制备动物饲料的工艺流程图

大鼠生长性能和肠道菌群的影响的研究表明:添加酶解马铃薯渣饲料喂养的大鼠(酶解组)增重效果明显高于未添加薯渣的饲料(对照组)和添加马铃薯渣原浆喂养的大鼠(原浆组)(表 2);酶解组回肠、盲肠、结肠内容物及相应粘膜上乳酸杆菌数量显著高于对照组和原浆组(表 3);酶解组饲料的润肠效果较好,大鼠粪便含水量较高。

表 2 酶解改性马铃薯渣饲料动物实验结果对照表

组别	头数	头均始重(g)	头均末重(g)	总增重(g)	平均日增重(g)
对照组	8	48.09 ± 2.87	217.21 ± 10.04	169.12 ± 10.09	6.04 ± 0.36
原浆组	8	48.07 ± 4.03	216.24 ± 8.63	168.16 ± 6.38	6.01 ± 0.23
酶解组	8	48.47 ± 4.12	226.26 ± 12.69	177.79 ± 10.33	6.35 ± 0.37

表 3 酶解改性马铃薯渣饲料对大鼠回肠、盲肠、结肠内乳酸杆菌的影响

		回肠	盲肠	结肠
乳酸菌	对照组	9.35 ± 0.22 ^a	9.95 ± 0.10 ^B	9.77 ± 0.08 ^B
	原浆组	8.94 ± 0.20 ^b	9.11 ± 0.08 ^B	9.28 ± 0.09 ^B
	酶解组	9.71 ± 0.21 ^c	10.14 ± 0.27 ^A	10.08 ± 0.20 ^A
大肠杆菌	对照组	5.49 ± 0.65 ^a	5.96 ± 0.11 ^b	6.14 ± 0.29 ^b
	原浆组	5.96 ± 0.36 ^b	6.26 ± 0.12 ^b	6.33 ± 0.15 ^b
	酶解组	4.90 ± 0.26 ^c	5.90 ± 0.26 ^a	5.58 ± 0.46 ^a

注:相同数列标注不同的小写字母表示差异显著($P < 0.05$),标注不同的大写字母表示差异极显著($P < 0.01$),无字母或标有相同字母表示差异不显著。

该处理方式采用较为常见、易于实现的生物酶法方式处理马铃薯渣,并通过将薯渣与其他饲料组分共混,显著提高了固形物含量,大大降低了烘干难度并提

高了干燥效率,具有较高的处理速度和极高的综合利用效率,所制备的动物饲料成本与普通饲料成本基本一致,具有大规模推广和应用的潜力。

(二) 利用薯渣制备高膳食纤维含量的食品增稠剂

马铃薯渣组分中含有的淀粉、果胶等组分均为理想的增稠剂,但是由于马铃薯细胞碎片、纤维素等组分的包裹作用,粘度较低,且纤维素等组分以较大的颗粒形态存在,影响了体系的均匀性及流动性,也导致了粗糙的口感。

本课题研究组^[16]通过胶体磨对马铃薯渣进行超微粉碎处理,使马铃薯渣细胞壁结构得到了降解,薯渣纤维亲水性增强,薯渣颗粒比表面积较大,纤维之间的空间网络结构趋于松散,体系的黏稠度、均匀性有显著改善,且具有较好的应用性能和功能特性(表4),并通过辊筒干燥得到了一种富含膳食纤维、具有一定粘度、均匀性较好的增稠剂产品,制备高膳食纤维薯渣食品增稠剂的工艺路线如图2所示。

表4 改性前后马铃薯渣膳食纤维主要性能对比

性能	膨胀力	持水力	粘度	胆酸钠 吸附能力	持油力	阳离子 交换能力	胰脂酶活 力抑制力	α -淀粉酶 活力抑制力
对照	3.8 mL/g	4.6 g/g	2 mPa·s	9.53 mg/g	4.53 g/g	414 mmol/kg	48.1%	15.8%
改性后	7.7 mL/g	8.3 g/g	283.5 mPa·s	13.44 mg/g	7.26 g/g	512 mmol/kg	67.2%	28.6%

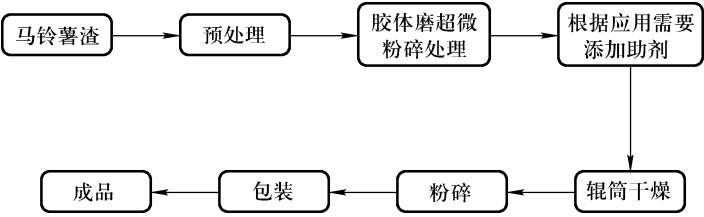


图2 高膳食纤维薯渣食品增稠剂制备的工艺流程图

改性后的马铃薯渣添加到曲奇制备过程中的应用实验表明:改性薯渣可延长曲奇的贮存期,能抑制曲奇风味的散失、延缓曲奇硬度的上升和抑制曲奇中油脂的氧化作用;在改性薯渣添加量为10%时,饼干的品质与对照相差较小,且随着贮存时间的延长,添加改性薯渣的曲奇总体呈现出较对照更好的感官品质。

该薯渣处理应用方式通过采用易于在工业化大生产中实现的胶体磨超微粉碎和辊筒干燥的物理改性处理方式生产高膳食纤维的增稠剂,实现了对马铃薯

渣的整体高效利用,且可以实现连续化的生产。

(三) 利用薯渣制备瓦楞纸板用粘合剂

马铃薯渣干物质中淀粉组分的含量在 40% 左右,且果胶等组分也具有一定的粘接性能,但由于纤维素等不溶性大颗粒组分的存在,体系均匀性及流动性较差,且初粘力较低。

本课题研究组^[17]通过优化胶体磨超微粉碎处理以及高压蒸汽处理的工艺条件及组合方式,充分破坏马铃薯渣中的大颗粒组分,显著降低粒径大小,提高了体系均匀程度和流动性。在此基础上,借鉴瓦楞纸板用淀粉胶粘剂的制备工艺,并根据马铃薯渣的特有性质作出调整和优化,制备了一种可应用于瓦楞纸板粘接的胶粘剂,制备工艺流程如图 3 所示。

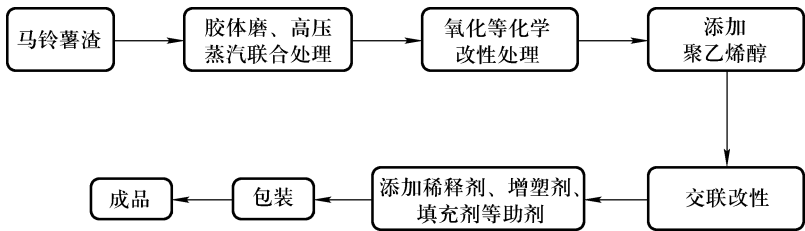


图 3 马铃薯渣改性制备瓦楞纸板粘合剂的工艺流程图

所制得胶粘剂产品与传统的淀粉粘合剂和泡花碱的性能进行对比,结果表明(表 5),马铃薯渣粘合剂应用于瓦楞纸板生产的效果与目前广泛使用的淀粉粘合剂基本一致,且明显优于泡花碱的粘接效果。

表 5 薯渣粘合剂与淀粉粘合剂及泡花碱的性能对比

指标	薯渣粘合剂	淀粉粘合剂	泡花碱
外观	浅黄色半透明	乳白色	浅灰色
固含量(%)	11.2	13.2	44.7
初粘力(%)	92	92.5	60.6
粘度(涂-4杯)(s)	60-70	45-55	-
耐水性实验(s)	32分14秒	15分17秒	-
粘合强度(N/楞·m)	376	416	202

该马铃薯渣瓦楞纸板用胶粘剂的制备方法转化率高(接近 100%),工艺流

程对设备的要求低,且无二次污染物产生,处理成本约 400 元/t。通过对马铃薯渣的改性处理,将难于处理的污染物马铃薯渣转化为瓦楞纸板工业上用量较大的粘合剂,既解决了困扰马铃薯淀粉加工企业的薯渣污染难题,又增加了企业效益,具有一定的指导和推广价值。

上述三种处理方法均通过采用在工业大生产中易于实现的物理、化学及生物酶解等方法处理马铃薯渣,对薯渣中所含的淀粉、纤维素、果胶等主要组分进行整体有效利用,生产出饲料、增稠剂、胶粘剂等产品,可实现对马铃薯渣的快速、大批量处理,是马铃薯渣处理最具发展潜力的方向之一。

六、结论

我国马铃薯产量长期位居世界首位,马铃薯淀粉作为最重要的马铃薯深加工产品有着广阔的市场前景,“十二五”末期马铃薯淀粉年产量将达 100 万 t,同时将产生超过 600 万 t 的马铃薯渣废弃物,急需快速、规模化的高效综合利用技术消化处理。

传统的发酵转化、提取有益物质等薯渣综合利用的研究大部分只是停留在研发或小试阶段,成功实现工业化生产的技术很少,我国淀粉加工企业马铃薯渣的处理方式仍主要停留在堆积晾晒后作为低价饲料出售的初级阶段。寻找既能解决马铃薯淀粉生产企业废料处理问题,提高企业的环保水平,又能增加企业的经济效益,并与我国马铃薯淀粉加工发展现状相匹配的马铃薯渣高效整体利用技术,是我国马铃薯淀粉加工业健康发展的必然需求。

将马铃薯废渣作为整体通过物理、化学以及生物等改性手段,对其富含的多种有益组分加以充分利用,并遵循“就近处理、简单易行、规模消纳、整体利用”的原则,根据马铃薯淀粉加工企业所在地实际情况发展功能性饲料、高膳食纤维增稠剂、瓦楞纸板粘合剂等产品,实现马铃薯淀粉加工废弃物的快速、规模化消纳,可以有效解决我国马铃薯淀粉加工行业薯渣处理的难题。

参考文献

1. 柳俊.我国马铃薯产业技术研究现状及展望[J].中国农业科技导报,2011,13(5):13-18.
2. 中华人民共和国工业和信息化部.马铃薯加工业“十二五”发展规划[Z].2012.
3. 盖春慧,林炜创,钟振声.粒度对马铃薯渣膳食纤维功能特性的影响[J].

现代食品科技,2009,25(8):896-899.

4. 陈志成. 薯类精深加工利用技术[M]. 北京: 化学工业出版社. 2003: 4.
5. 刘雪莲,杨希娟,孙小凤,等. 固态发酵马铃薯渣生产菌体蛋白饲料的研究[J]. 中国酿造,2009,203(2):115-117.
6. 赵萍,张珍. 马铃薯渣生料发酵饲料生产[J]. 食品与发酵工业,2000,27(3):82-84.
7. 杨庆文,孙文敬,谢红,等. 利用马铃薯渣和黑淀粉发酵柠檬酸的菌种选育[J]. 山西农业科学,2004,32(4):57-59.
8. Klingspohn U., Papsupuleti P. V., Schiigerl X.. Production of enzymes from potato pulp using batch operation of a bioreactor [J]. Journal of chemical technology and biotechnology,1993,58(1):19-25.
9. 吕金顺,杨声,王小芳,等. 马铃薯渣制膳食纤维的工艺研究[J]. 中国马铃薯,2001,15(6):332-334.
10. Anne M., Birgitte D., Helle L.. Enzymatic solubilization of a pectinaeous dietary fiber fraction from potato pulp: Optimization of the fiber extraction process. Biochemical Engineering Journal[J]. 2009, 43: 106-112.
11. 王卓,顾正彪,洪雁. 不同工艺条件制备的马铃薯膳食纤维的物化性能比较[J]. 食品科学,2007,28(8):236-240.
12. 郑燕玉,吴金福. 微波法从马铃薯渣中提取果胶工艺的研究[J]. 泉州师范学院学报(自然科学),2004,22(4):57-61.
13. Turquois T., Rinaudo M., Taravel F. R., et al. Extraction of highly gelling pectic Substances from sugar beet pulp and potato pulp influence of extrinsic parameters on their gelling properties [J]. Food Hydrocolloids, 1999, (13): 255-262.
14. 万建华. 马铃薯渣果胶的提取及其性质的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
15. 曲娜. 酶解马铃薯渣理化性能研究及作为饲料组分的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
16. 陈菊红. 湿法超微粉碎对马铃薯渣的改性及其功能特性和应用研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2008.
17. 程力,顾正彪,王鹏,等. 废弃马铃薯渣改性制备瓦楞纸板粘合剂研究 [J]. 环境工程学报, 2010, 9(4): 2125-2130.



顾正彪 现任江南大学科学技术研究院院长,食品学院教授、博士生导师,并兼任中国淀粉工业协会副会长、变性淀粉专业委员会主任、江苏省食品科学技术学会理事、无锡市食品与生物工程学会常务理事和《中国粮油学报》编委。长期从事粮油食品加工工艺的研究、工程项目的开发工作,特别是在天然高分子淀粉及其深加工领域取得了显著的成绩。国家“十二五”科技支撑计划项目“玉米淀粉加工关键技术研究示范”的负责人,作为课题或技术负责人,

先后承担国家 863 项目 1 项、自然科学基金项目 2 项、“十五”国家重大专项 1 项、“十一五”国家重大专项 1 项、科技部农业科技成果转化基金项目 2 项。所研究开发的技术成果获授权发明专利十余项,并先后服务于 30 多个企业,为社会创造了可观的经济和社会效益。

新型酶膜生物反应器耦合 纳滤清洁生产功能性糖研究

江 波等

江南大学食品科学技术国家重点实验室

摘要:酶膜生物反应器是一种新型且具有广阔发展前景的生物制品制备方法。酶膜生物反应器与纳滤耦合不仅可以进行生物催化、同时进行产物的分离、浓缩及催化剂的回收,还可以综合利用产生的废水,达到清洁生产、节能减排的目的。本文旨在介绍新型酶膜生物反应器耦合纳滤的原理以及特点,并对清洁生产功能性糖工艺进行了探索。

关键词:酶膜反应器;纳滤;清洁生产

一、引言

随着社会和经济的发展,越来越多健康问题越来越受到人们的关注。糖尿病、心血管等富贵病患者逐年增加。因此急需开发一些功能性甜味剂以代替蔗糖等不利于健康的甜味料。目前,常用的功能性甜味料有低聚果糖、低聚异麦芽糖以及赤藓糖醇等。这些糖类通常利用生物酶法进行生产和制备。

在传统工艺操作中,酶制备的成本高、劳动强度大、费时等,反应结束后高温使酶失活,耗费大量的热能,高温使酶蛋白与糖结合会使反应液变色;因而需要进行脱色操作,增加劳动强度和能量消耗;采用高温真空浓缩,需要消耗大量的能量。为了解决上述问题,一些学者提出利用膜在混合物分离分级、浓缩和纯化方面具有的显著优势提出了酶膜反应器概念。酶膜反应器(Enzymatic Membrane Reactor,简称EMR)把酶促反应与膜的选择性物质传递有效地结合在一起,创造出有利于过程的热力学和动力学,实现了反应与分离的同步进行^[1,2]。

随着技术的进一步发展,膜材料的不断涌现,以及过程设计的不断优化,酶膜反应器发挥出越来越高的生产效率,使得它在食品、生物、环境等各个领域中有越来越广泛的应用。

不仅如此,在酶膜反应器上耦合纳滤系统,不仅能够实现酶膜反应器的全部

功能,还可以对产物进行浓缩,综合利用产生的废水,达到清洁生产、节能减排的目的。本文旨在介绍新型酶膜反应器特点,以及耦合纳滤系统的原理,并举例说明酶膜反应器耦合纳滤系统生产功能性糖工艺操作。

二、酶膜反应器

酶膜反应器是膜和生化反应器耦合的系统,依据酶的催化性、转移性和膜的功能,在反应过程中实现产物分离、酶浓缩和回收,能改变和控制反应进程、降低副产物生成和提高产率等目的。酶膜反应器以膜为固定化酶的载体,酶促反应的同时,利用膜的选择性透过,在转膜压差(化学势、压差、电势差等)的作用下,实现产品的分离和酶的回收再利用。理论上要求酶的截留率为100%,产物要不断分离且截留率为0,以便获得高的产物产率。

按照运行模式分类,酶膜反应器可以分为超滤酶膜反应器、两相酶膜反应器等。当底物分子量大于产物,且二者能溶于同一溶剂时,可采用超滤膜反应器。通过选择适当的膜孔径,使底物在膜表面反应,但不透过膜,而小分子产物则能透过膜,达到纯化的目的^[3]。因此,生产功能性糖一般使用超滤酶膜反应器。

(一) 超滤式酶膜反应器的类型

超滤式酶膜反应器有三种操作方式(图1)^[4]:(a)循环式;(b)末端式;(c)渗析式。循环式是酶反应器与超滤膜组件结合,反应器中的酶与底物反应液泵送入超滤膜组件,酶和未完全反应的底物被截留而由循环泵输回反应器继续利用。末端式操作简单,常用于检验反应机理等。渗析式,底物被泵入反应器中酶液一侧,产物透过超滤膜进入另一侧,两侧溶液以大致相同的流速循环,该方式传质效率低,应用受限。

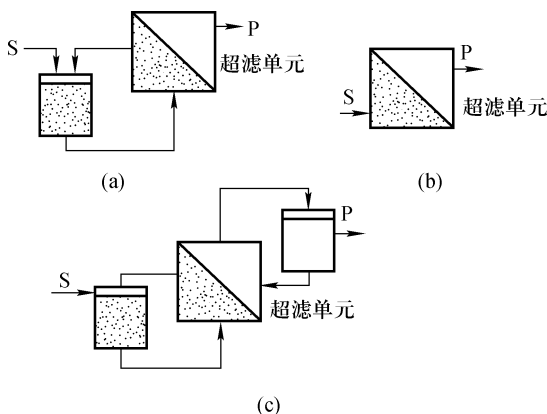


图1 超滤式酶膜反应器的操作方式

(二) 酶膜反应器的特点

与传统酶反应器相比,具有如下特点:(1)具有较高的选择性和反应速率;(2)可使酶高效发挥作用;(3)能及时转移产物,降低或消除产物抑制作用和副反应;(4)酶可以重复利用,降低成本,提高生产效率;(5)对多相反应系统,能提供充分的接触反应界面,反应结束后即时分离,不会产生酶反应器的乳化问题;(6)连续化和自动化控制,反应、分离和浓缩一体化,降低费用;(7)有利于研究反应动力学、底物抑制、酶失活和产物抑制。

(三) 酶膜反应器在食品工业中的应用

酶膜反应器已经广泛地应用于食品领域,应用酶膜反应器能持续制取低聚糖酐并控制其水解,结果获得低聚糖酐的浓度为 84.4% ~ 98.7%^[5]。Chiang^[6]等利用酶膜反应器从大豆蛋白水解物中制取转血管紧缩素酶抑制剂,实验表明产物的产率随反应体积的增加而呈直线增长。Engela 等^[7]利用酶膜反应器连续地制取低聚半乳糖,乳糖转化率为 82%,低聚半乳糖的得率为 24%,产量明显地提高了。Cui 等^[8]利用酶膜反应器水解面筋,透过液成分(小于 1000 Da)是同性质的和稳定的,实验结果表明产物具有较强的抗氧化活力。Rodriguez - Nogales 等^[9]将酶膜反应器用于水解果胶,用来澄清酒和饮料;结果显示粘度降低了 88%,能持续地操作 15 天,达到很好的催化效率。Belafi - Bako 等^[10]将酶膜反应器用于黑曲霉产多聚半乳糖醛酸酶水解果胶,结果表明酶和产物分离而避免产物抑制作用,与酶反应器相比较,产物的产率提高了 40%。

三、纳滤耦合系统

(一) 纳滤耦合系统装置及原理

由于酶膜反应器制备的产物浓度可能比较低,因此可以考虑利用纳滤浓缩产物,所产生的废水还可以循环使用,达到清洁生产的目的。所设计的酶膜反应器耦合纳滤系统如图 2 所示。

经溶解后的底物和酶进入酶反应器(1),按工艺要求的酶反应时间后,反应液用加压泵(4)泵入超滤膜分离装置(2)进行酶与产物分离,透过超滤膜的反应液进入产物容器(6)中,没有透过超滤膜的酶液回流至酶反应器(1)再进行酶反应的过程;产物经加压泵(5)泵入纳滤膜浓缩装置(3)进行浓缩及溶剂水循环利用,不能透过纳滤膜的部分转入高浓度产物液容器(7),透过纳滤膜的溶剂水回流至酶反应器(1),从而实现酶和溶剂水的循环利用以及清洁生产。

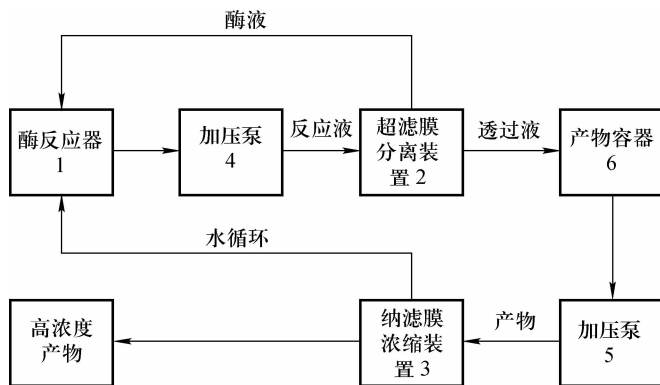


图2 酶膜反应器耦合纳滤膜的示意图

(二) 纳滤耦合系统在食品中的应用

超滤-纳滤耦合系统在食品中的应用已越来越广泛。Luo 等^[11]采用两阶段超滤膜和纳滤膜结合工艺处理乳品废水,第一阶段超滤浓缩蛋白质和脂类,用来制备生物燃料;第二阶段纳滤浓缩乳糖用于制取生物能源,并得到可循环利用的或直接排放的水。超滤膜和纳滤膜结合还能应用于乳清蛋白和乳糖的分离和浓缩、果汁中回收多酚类物质以及低聚糖的精制^[12-14]。但是,酶膜反应器耦合纳滤生产功能性糖还不多见。本文就本实验室利用酶膜反应器耦合纳滤系统,以菊糖为底物生产功能性甜味剂双果糖酐 III 为例,进行简单的探讨。

将生物反应装置、超滤装置以及纳滤装置结合应用制取高浓度 DFA III,操作工艺见图 2。通过酶膜反应器实验、纳滤膜的选择实验,酶膜反应器耦合纳滤膜的操作工艺条件为:反应体系体积为 5 L,菊糖浓度 100 g/L,IFTase 与菊糖比率(E/S)为 22.8 U/g,pH 5.5,温度为 60℃,搅拌速率为 300 r/min,反应时间 2 h;截留分子量为 5 kDa 的超滤膜,转膜压(TMP)为 10 Psi,搅拌速率为 400 r/min,温度为 25℃;截留分子量为 150 Da 的纳滤膜,转膜压(TMP)为 15 Psi,搅拌速率为 400 r/min,温度为 25℃。在上述实验条件下,酶膜反应器耦合纳滤膜制备高浓度 DFA III 工艺能进行循环操作。实验结果表明,菊糖浓度为 100 g/L 时,DFA III 浓度为 79 g/L;超滤后,IFTase 酶活力保留率为 81%,透过液中 DFA III 浓度为 76 g/L;纳滤后,DFA III 浓度为 400 g/L。酶膜反应器耦合纳滤膜操作工艺能持续进行 20 h 以上,说明该工艺操作具有较好的稳定性;这对于大规模工业化生产具有良好的指导作用。

此方法跟传统的高浓度 DFA III 溶液制取工艺相比,可以克服传统工艺酶进入产品不能重复利用,消耗大量的能源,高温引起颜色变化和营养价值的降低等

不足之处,并且能使 IFTase 和水循环利用,实现清洁生产,达到节能减排的目的。

四、展望

随着技术的发展,酶膜反应器将进一步受到重视。但是它自身也存在着一些缺陷,例如,在操作过程中,由于催化剂的失活及传质效率下降而导致反应器的效率降低;酶的泄露、受剪切失活、界面失活等。浓差极化和膜的污染是可能导致膜的渗透通量下降的两个最主要的因素。因此,在操作过程中,控制浓差极化现象的发生及膜的污染是维持稳定的渗透通量及产物量的重要条件。

但是利用酶膜反应器所具备的独一无二的优势,膜形态、膜组件的多变性,以及已经商品化的价格低廉的膜材料,所建立的各种构型的酶膜反应器更加适合于复杂酶催化转化,其中包括酶及辅酶的再生反应。同时,对于非传统型的反应媒介,如有机溶剂-水两系统及反胶束等,酶膜反应器显示出非同一般的几何构型。此外,膜反应器具备的分离功能为其在酶工程中提供了新的应用的可能性^[15]。

考虑到工艺集成将成为发展新型生物反应器构型,新的基本思想,对发展将生化反应器藕联分离工程的生化技术的应用,酶膜反应器耦合纳滤系统是一个非常理想的新系统。总的来说,在生化反应器的发展过程中,这种新型的反应器的发展可能在未来集成新的操作单元而又可以构成新的可行的反应器。目前,这种新型反应器的潜能尚未得到完全的发挥及发掘,有关反应器的过程特性的认识尚有待于进一步的加强和深化。

参考文献

1. L. Giorno, Drioli E. Biocatalytic membrane reactors: applications perspectives[J]. Trends Biotechnol. 2000,18(8):339-349.
2. 姜忠义. 酶膜反应器的现状与展望[J]. 膜科学与技术. 2003,23(1):53-55.
3. 吴迪. 新型 PPESK 酶膜反应器的研究与应用[M]. 大连理工大学,2007:大连.
4. 许牡丹,檀志芬. 酶膜反应器及其在食品工业中的应用[J]. 食品科技, 2003, 10: 56-59.
5. Mountzouris K C, Gilmour S G, Rastall R A. Continuous production of oligo-dextrins via controlled hydrolysis of dextran in an enzyme membrane reactor[J].

Journal of Food Science, 2002, 67 (5): 1767 – 1771.

6. Chiang WD, Tsou MJ, Tsai ZY, et al. Angiotensin I – converting enzyme inhibitor derived from soy protein hydrolysate and produced by using membrane reactor [J]. Food Chemistry, 2006, 98 (4): 725 – 732.

7. Engela L, Ebrahimi M, Czermak P. Membrane chromatography reactor system for the continuous synthesis of galactosy – oligosaccharides [J]. Desalination, 2008, 224 (1 – 3): 46 – 51.

8. Cui J, Kong X, Hua Y, et al. Continuous hydrolysis of modified wheat gluten in an enzymatic membrane reactor [J]. Journal of the science of food and agriculture, 2011, 91 (15): 2799 – 2805.

9. Rodriguez – Nogales JM, Ortega Nativida, Perez – Mateos M, et al. Pectin hydrolysis in a free enzyme membrane reactor: an approach to the wine and juice clarification [J]. Food Chemistry, 2008, 107: 112 – 119.

10. Belafi – Bako K, Eszterle M, Kiss K, et al. Hydrolysis of pectin by *Aspergillus niger* polygalacturonase in a membrane bioreactor [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78: 438 – 442.

11. Luo J, Ding L, Qi B, et al. A two – stage ultrafiltration and nanofiltration process for recycling dairy wastewater [J]. Bioresource Technology, 2011, 102: 7437 – 7442.

12. Atrai R, Vatai G, Bekassy – Molnar E, et al. Investigation of ultra – and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose [J]. Journal of Food Engineering, 2005, 67: 325 – 332.

13. Conidi C, Cassano A, Drioli E. A membrane – based study for the recovery of polyphenols from bergamot juice [J]. Journal of Membrane Science, 2011, 375: 182 – 190.

14. Vegas R, Moure A, Domínguez H, et al. Evaluation of ultra – and nanofiltration for refining soluble products from rice husk xylan [J]. Bioresource Technology, 2008, 99: 5341 – 5351.

15. 李雪辉, 王乐夫. 新型反应器——酶膜反应器 [J]. 天然气化工, 2001, 26: 48 – 52.



江波 1982年毕业于南京大学,1993年毕业于无锡轻工学院获博士学位。现任食品科学与技术国家重点实验室常务副主任,现兼任中国食品科技学会和营养学会理事,美国 IFT 高级会员,SCI 杂志 *Journal of the Science of Food and Agriculture* 的执行主编,国际食品科学技术联盟学术委员会委员,国际功能食品学会学术委员会委员,《食品科学》、《食品工业科技》、《现代食品科技》等杂志编委。长期从事食品生物技术技术的教学与研究工作。获国家科技进步奖

二等奖(2007 年)、中国商业联合会一等奖(2011 年)、中国粮油学会二等奖(2010 年和 2011 年)、中国轻工业联合会二等奖(2006 年)等科技奖励;近 5 年,发表主要学术 200 余篇,其中 SCI 收录 70 余篇;申请国家发明专利 50 余项,授权 18 项。

系统代谢工程改造工业酒精酵母及展望

石贵阳等

江南大学粮食发酵工艺与技术国家工程实验室

摘要:本文综合评述了代谢工程技术在拓宽工业酒精酵母的底物利用范围、提高逆境耐受性、降低副产物生成等几个方面进行改造的策略;进一步分析了该领域目前存在的主要问题,阐述了酿酒酵母遗传多样性、全基因组尺度精细代谢网络重构等相关研究进展;并针对燃料酒精生产原料的多元化和非粮化、生产过程清洁化、原料利用率最大化和精细化的趋势,就工业酒精酵母系统代谢工程改造的发展方向进行展望。

关键词:酿酒酵母;系统代谢工程;微卫星序列

一、引言

化石能源的日益短缺,石油价格的不断上涨,生态环境的严重破坏,都促使绿色可再生的燃料酒精成为世界各国的关注焦点和研究热点。燃料酒精的生产主要是通过工业酒精酵母的厌氧发酵实现的,工业酒精酵母是酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的众多变种之一,而酿酒酵母是第一个获得全基因组序列的真核生物,相关的转录组学、蛋白组学、代谢组学等系统知识相对较完善,这为工业酒精酵母的代谢工程改造奠定了坚实的基础。利用代谢工程的手段不仅可以改变胞内的代谢流向,还可以改善酒精酵母的生理性能。

工业酒精酵母是一类重要的工业微生物,与人类的关系源远流长。早在八千年前,人们就应用于制作面包和酿酒等,至今仍然被广泛应用于食品焙烤、啤酒、酒精、白酒、黄酒、葡萄酒和清酒的酿造等方面,每年为国家创造产值达1300多亿元,具有重要的工业应用价值。优良的酒精酵母菌株需具备耐高糖、耐酒精、耐酸、适应的温度范围宽、生长与发酵速度快、糖醇转化率高等多重优良性能,是实现高效率发酵,提高生产效益的保障。基于分子生物学技术发展起来的代谢工程技术,在理解微生物代谢过程生理特性的基础上,通过优化或改变生物细胞中的代谢网络和表达调控系统网络,能够改善细胞生物性能,逐渐成为构建新型工业酒精酵母的主要平台技术。

二、系统代谢工程改造工业酒精酵母

随着科学技术的发展,工业菌株的分子生物学改造成为可能。早在 1996 年,酿酒酵母模式菌株的基因组测序就已经完成,这使得工业酒精酵母的代谢工程改造更有目的性,许多具有优良性能的重组菌株被不断构建和应用(图 1)。

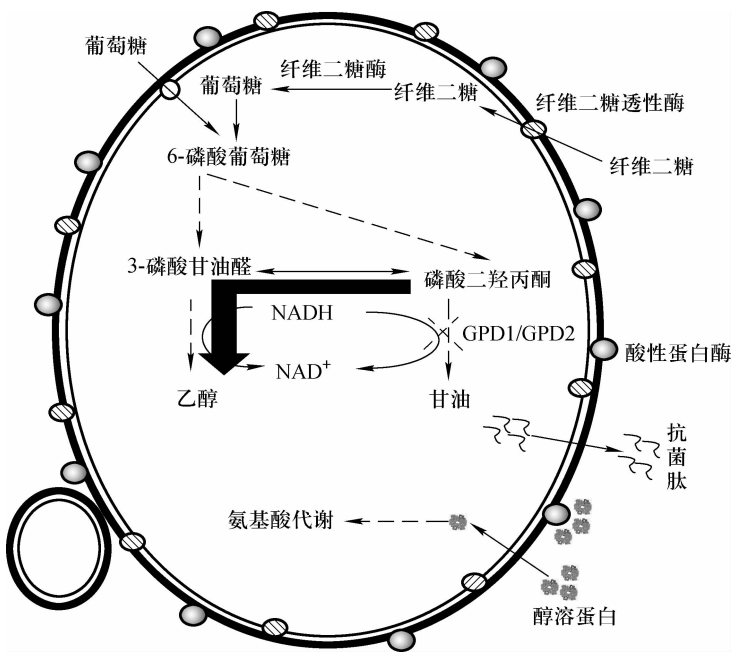


图 1 新型工业酒精酵母的构建

另一方面,虽然酿酒酵母模式菌株的基因组测序早已经完成,并在 2003 年和 2004 年完成了两个版本的代谢网络模型 iFF708 和 iND750,但是 *in silico* 预测的准确率依然不到 85%。一些模式菌株中不具备的基因或代谢信息的缺乏,无法有效指导酿酒酵母耐温、耐酸、耐酒精机制方面的研究和改造。课题组多年来在酒精酵母分子生物学改造方面的研究中也体会到,缺乏酿酒酵母种内遗传多样性的信息,无法对酿酒酵母的代谢网络精细结构进行预测和重构,也就无法真正意义上进行工业菌株改造的理性设计。

(一) 拓宽工业酒精酵母的底物利用范围

未来燃料酒精的发展必定建立在非粮原料特别是纤维质原料的基础上。对于木薯、甘薯等非粮淀粉质原料,其皮渣类物质在酒精发酵过程中会因糖化酶等酶制剂中带入的纤维质水解酶部分降解形成纤维二糖。对于纤维质原料,纤维素酶水解的中间产物纤维二糖是纤维素酶的反馈抑制剂;同时,纤维质原料中的

半纤维素的降解物木糖一般可占到水解液中总糖含量的 30%。传统的工业酒精酵母无法利用纤维二糖和木糖,因此,如何有效利用它们成为实现非粮生物原料酒精高强度、高密度发酵和提高原料利用率的关键。

Shen 等^[1]在酿酒酵母中表达了来源于扣囊覆膜孢酵母 (*Saccharomycopsis fibuligera*) 的 β -葡萄糖苷酶基因 *BGL1*,该重组菌在 48 h 内能够利用 6.2 g/L 纤维二糖并产生 3.3 g/L 的酒精。Guo 等^[2]在对酿酒酵母全基因组序列比对中,发现酿酒酵母不含有转运和分解纤维二糖的基因,因此分别在工业酒精酵母的细胞内、胞外和细胞表面表达了 β -葡萄糖苷酶编码基因 *BGL1*,并同时引入枯草芽孢杆菌纤维二糖透过性酶 (*bglPp*),研究了工业酒精酵母的纤维二糖的转运机制并确定其在酵母中的最佳表达方式,该重组菌在 96 h 内几乎用尽了 10 g/L 的纤维二糖,同时产生约 4.4 g/L 的酒精,酒精产率达到理论值的 92.5%。

酒精酵母含有木酮糖代谢途径,只是缺乏将木糖转化为木酮糖的酶而不能利用木糖。许多研究表明^[3-5]在酒精酵母中同时表达真菌的木糖还原酶基因 (*XYL1*) 和木糖醇脱氢酶基因 (*XYL2*) 可以使酒精酵母获得利用木糖的能力,但是酒精得率并不高,猜测与木糖还原酶和木糖脱氢酶的辅因子有关。另外,Wallfridsson 等^[6]发现木糖代谢途径中的转醛酶基因 (*TAL1*) 能显著促进木糖的利用,而转酮酶基因 (*TKL1*) 对木糖的利用影响不大。Jin 等^[7]在酒精酵母中表达了来源于毕赤酵母 (*Pichia stipitis*) 的木酮糖激酶基因 (*XYL3*),木酮糖消耗增长了 3 倍。酿酒酵母中不存在木糖利用的酶系,推测木糖的跨膜运输可能是木糖利用的一个障碍。虽然 Busturia 等^[8]发现木糖可以通过葡萄糖的非专一性运输系统进入细胞,但该系统对木糖的亲和力远低于葡萄糖。目前,有关木糖跨膜运输的研究相对较少,可借鉴纤维二糖的研究思路,未来可能会有突破。

(二) 提高工业酒精酵母的逆境耐受性

在酒精酵母的工业生产过程中,酒精酵母难免受到高渗、高酒精浓度、pH 变化、高(低)温、染菌污染等的胁迫^[9],菌株对胁迫条件的耐受能力直接影响到工艺过程、发酵程度、产物成分等,影响经济效益,比如高糖浓度会形成高渗胁迫,抑制酒精酵母的生长,导致发酵时间延长^[10]。

在发酵过程中,酒精酵母对酒精的耐受能力直接影响到发酵强度、产量等关键指标,提高酵母对酒精的耐受能力是节能减排的有效措施。Stanley 等^[11]利用进化工程 (Evolution Engineering) 手段,经过 486 次传代后从菌群中筛选到能够耐受 20% (V/V) 的初始酒精浓度生长的酒精酵母;系统生物学研究发现这种变化主要是与胞内线粒体数目的增加、糖酵解途径的增强、NADH 氧化能力的提升等代谢产能途径的增强有关^[12]。Mansure 等^[13]研究发现高浓度的酒精会引起

细胞内电解质类物质的渗漏,对细胞造成严重的损害;但海藻糖与细胞膜中的脂类物质协同作用,可以阻止这种情况的发生,增加细胞的酒精耐性。Guo 等^[14]尝试在酒精酵母中表达海藻糖合成酶(TPS)及海藻糖磷酸化酶(TPP),发现重组菌胞内含有较高浓度的海藻糖,用 18% 的酒精处理 2 h 之后,其对高浓度酒精的耐性明显优于出发工业菌株,可以有效提高酒精酵母的高酒精耐受性和高糖耐受性。

杂菌污染是发酵工业发展的重要挑战之一,虽然抗生素的添加可有效抑制杂菌的繁殖,但容易在产品中残留,并且长期使用会导致杂菌抗性的提升。绿色安全的生物杀菌剂(细菌素、壳聚糖、短肽等)成为抑制杂菌的新选择,其中 Nisin 作为一种绿色安全的细菌素类食品添加剂,对酿造酒行业中的一些腐败菌的生长有抑制作用,但是对于酵母本身没有毒害作用。Peng 等^[15]在人工感染植物乳杆菌和短乳杆菌的酒精发酵培养基中添加 5.0 g/L 和 2.0 g/L 的 nisin,发酵结束时乙醇损失分别降低 11% 和 7.8%,之后从乳酸链球菌中扩增获得了相应编码基因,并已经在大肠杆菌中成功表达,下一步计划构建能够自分泌 nisin 的工业酒精酵母菌株,实现无抗抑菌发酵。

(三) 提高工业酒精酵母的酒精产率和底物利用率

在酒精的生产过程中,甘油是主要副产物,约有 4% ~ 10% 碳源会流向甘油^[16],如果这部分碳源可以成功地转向酒精,全球酒精年产量可增加 13 亿升^[17]。另外,目前生产酒精的主要原料中均含有一定浓度的蛋白质,酿酒酵母无外分泌蛋白酶,糖化醪中可溶性蛋白又无法进入酵母细胞,并且部分淀粉会被蛋白质包裹无法被分解为葡萄糖,造成了碳源和氮源的双重浪费。

甘油途径改造之初,主要通过敲除甘油合成途径的关键酶来减少甘油的产生,以期提高酒精的产量。Björkqvist 等^[16]分别构建了基因缺失、*GPD2* 基因缺失以及这两个基因同时缺失的酿酒酵母突变株,并在 2% 葡萄糖的培养基中进行了有氧发酵实验,*GPD1* 基因缺失突变株的甘油产量减少了 69%,*GPD2* 基因突变株的甘油产量则下降了 54%,这两种单基因突变株的生长速率略低于原始菌株;而双基因突变株虽不产甘油,但其生长速率远低于原始菌株,发酵延迟;这三种突变株的酒精产率没有明显的提高。Valadi 等^[18]亦发现 *GPD1* 和 *GPD2* 缺失突变株的生长速率受到严重的影响,大大延长了发酵周期。Guo 等^[19]也构建了相关的基因缺失的重组菌 ANG1(*gpd1*Δ::Kan^R)和 ANG2(*gpd2*Δ::HyBR),这两株突变株的葡萄糖转甘油率与原始菌相比分别降低了 28.0% ± 1.2% 和 23.3% ± 2.1%,葡萄糖转酒精率分别提高了 6.5% ± 0.2% 与 5.2% ± 0.1%。但重组菌的生长速率均低于原始菌,耗糖与发酵速率也有一定的降低。

酿酒酵母并非没有目的的合成甘油,甘油在酵母的生命活动当中扮演着不可替代的角色,主要体现在维持细胞内部的氧化还原平衡和调节细胞的渗透压两个方面。有研究者从辅酶 NADH 角度,提出了新的解决思路,这包括在双基因缺失突变体中引入新的 NAD⁺ 再生系统,以提高酒精的产率^[17,20],但并未达到预期效果。Guadalupe 等^[21]在 *GPD1* 和 *GPD2* 双基因缺失突变株中表达来源于大肠杆菌的 *mhpF*,当在培养基中添加 2 g/L 的乙酸时,重组菌在厌氧条件下恢复了生长,并且酒精产量比原始突变株提高了 13%。Zhang 等^[22]在酒精酵母中分别表达了源于蜡状芽孢杆菌的编码非磷酸化的、NADP⁺ 依赖型的 3-磷酸甘油醛脱氢酶的基因 *gapN*,来源于大肠杆菌的编码 NAD⁺ 依赖型乙醛脱氢酶的基因 *mhpF*,来源于大肠杆菌的编码 NAD⁺ 依赖型的富马酸还原酶的基因 *frdA* 和来源于酒精酵母的编码 NADH 激酶的基因 *POS5*,比较重组菌与原始菌的发酵性能,其中表达了 *mhpF* 基因的重组菌 MHS1 在 0 小时添加 2 g/L 的乙酸时,酒精产量为 74.1 g/L,较原始菌提高了 4.3%,甘油产量降低了 40%。Bro 等^[23]通过体外代谢模拟对酿酒酵母的代谢途径进行分析,设计出最佳的甘油途径改造策略并进行实验验证。将编码链球菌的非磷酸化的依赖于 NADP⁺ 的 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPN)基因 *gapN* 转入到酿酒酵母细胞中,重组菌的甘油产量下降了 40%,酒精产率提高 3%,且最大比生长速率并未受到较大影响。Guo 等^[14]通过系统代谢工程技术在工业酒精酵母胞内构建了海藻糖途径以替代甘油代谢途径,通过代谢组学分析和体外代谢模拟分析,提出了敲除甘油途径并过量表达海藻糖合成酶(TPS1)及海藻糖磷酸化酶(TPS2)的代谢改造策略,使细胞在发酵过前期积累部分海藻糖,以维持细胞对酒精的耐受性,在发酵后期胞内海藻糖作为碳源合成酒精。在此基础上,构建了重组工业酒精酵母 AG1A1 (*gpd1* Δ :: *P_{PGK1}* - *gapN*, *P_{PGK1}* - *TPS1* - *TPS2*),在葡萄糖浓度为 25% 的底物发酵中,重组菌 AG1A1 的甘油得率下降了 76.0% $\pm$ 0.2%,酒精产量从 113.3 g/L 提高到 123.4 g/L,糖醇转化率提高 8.9% $\pm$ 0.1%。更为重要的是,重组菌 AG1A1 的最大比生长速率和葡萄糖消耗速率与出发株工业酒精酵母相比,基本不变,且该重组菌表现出了更好的耐高糖、耐酒精能力。

酸性蛋白酶可以对原料中蛋白质进行有效的降解,提高醪液中氨基酸的含量,减少碳源用于合成细胞骨架的量,同时减少蛋白对淀粉原料的包裹,提高原料利用率。研究发现发酵过程中外加蛋白酶可以有效缩短发酵周期,酒精产率提高 1.6% ~ 5.7%。Guo 等^[24,25]经酵母全基因组序列比对,选择了过量表达不呈现酶活(胞内未检测到)的酸性蛋白酶基因 *PEP4* 及粗糙脉孢霉(*Neurospora crassa*)的酸性蛋白酶基因 *Asp*,结合酿酒酵母表面工程技术在工业酒精酵母细胞表面表达了该基因,构建重组菌 APB2 (*P_{PGK1}* - *PEP4* - *AG1*)和 SA3 (*P_{PGK1}* - *Asp*

-AGI)。在以玉米淀粉为基质的酒精发酵实验中,重组菌生长速率和酒精发酵速率均高于原始酒精酵母,酒精产量达到 126.0 g/L,而出发株工业酒精酵母仅为 118.2 g/L。

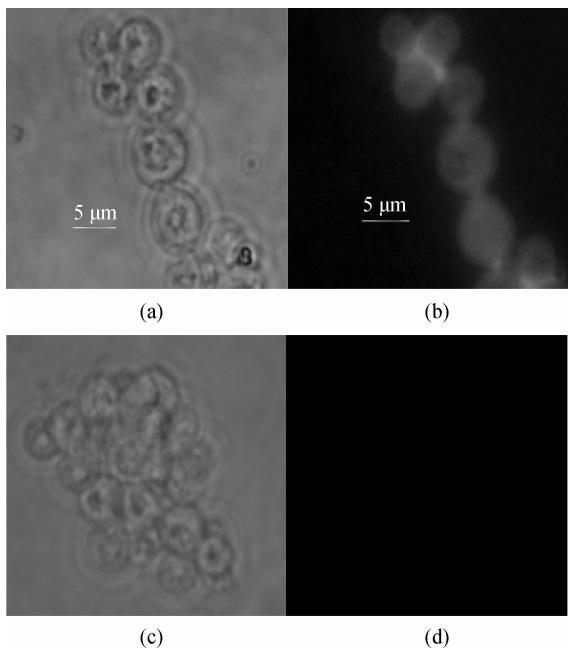


图 2 重组菌 SA3 及原始酿酒酵母蛋白酶荧光染色

(a),(b): 呈现表达蛋白酶转化子 SA3;(c),(d): 工业酒精酵母

(四) 优质工业酒精酵母菌株的构建

化石燃料短缺、粮食危机等客观因素对酒精的生产提出了更高的要求,随着连续糖化发酵工艺、纤维素酒精生产工艺等技术的发展对工业酒精酵母的特性提出了更高的要求,生产中往往要求具备多种特性的“超级”工业酒精酵母菌株。能够直接利用原料(淀粉、纤维素)产酒精的酵母能够简化工艺过程,降低成本和减少污染,受到社会的广泛关注。

Guo 等^[14,24,25]经过多年的研究,构建了一株能够分泌蛋白酶,利用纤维二糖,低甘油产量的工业酒精酵母 AGPB3。此株酵母在发酵前期,在胞内积累海藻糖替代甘油抵御高渗和高酒精浓度胁迫;发酵后期能够利用海藻糖产酒精,能够分泌酸性蛋白酶利用培养基中的蛋白质,同时能够吸收利用纤维二糖产酒精。此酵母适用于清液发酵和浓醪发酵,对完全糖化发酵和连续糖化发酵也完全适用。在以全木薯粉为基质的连续糖化发酵实验中,表明重组菌不仅能够利用纤维二糖和可溶性蛋白,且表现出较快的生长速率、耗糖速率和发酵强度,甘油得

率降低了 76.8%,酒精产量从原始菌的 118.5 g/L 提高到 129.3 g/L,达到理论产率的 97%。

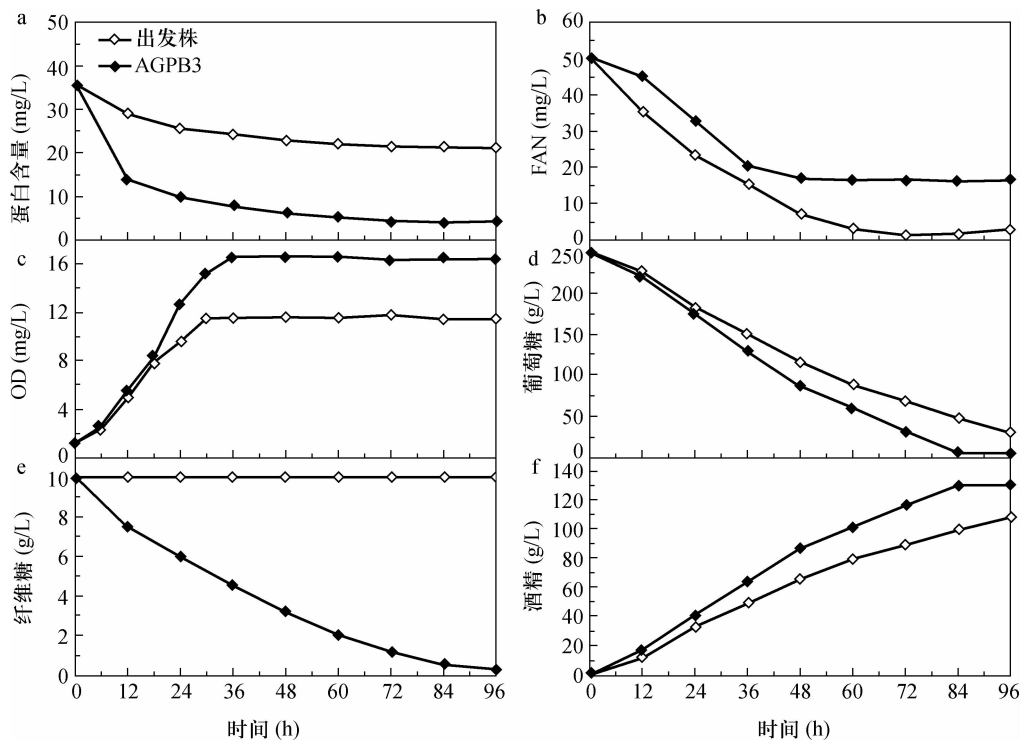


图3 重组菌 AGPB3 与出发株工业酒精酵母
在木薯淀粉培养基中酒精发酵条件下各参数变化

现行的淀粉质酒精生产工艺通常需经过蒸煮(74 ~ 100℃)液化,再经过糖化(60℃),将淀粉变成葡萄糖、麦芽二糖或麦芽三糖后,酿酒酵母才能够利用。如果酿酒酵母能够直接分泌液化酶和糖化酶利用淀粉原料,将省去淀粉蒸煮糖化工艺,节省投资,降低能耗。在上世纪末,基本上都是通过在酿酒酵母中表达曲霉的葡萄糖淀粉酶基因和地衣芽孢杆菌的 α -淀粉酶基因,酒精产量能达到 10% (V/V) 左右^[26,27];进入 21 世纪后,有研究者选用酵母来源的基因,如橘林油脂酵母 (*Lipomyces kononenkoae*) 的 α -淀粉酶基因和扣囊复膜酵母 (*Saccharomycopsis fibuligera*) 的葡萄糖淀粉酶基因,在 120 h 内发酵 55 g/L 淀粉,产生 21 g/L 酒精^[28]。Shigechi 等^[29]利用细胞表面工程构建表达 α -淀粉酶基因和糖化酶基因的酵母,利用生淀粉发酵产生乙醇,该酵母能在 72 h 内产生 61.8 g/L 的乙醇。这些工程菌株结果普遍具有发酵时间长、酒精产量低的特点,究其原因 α -淀粉酶的最适温度一般较高(74 ~ 100℃),并且只对糊化淀粉有较好的效果。随着生淀粉酶基因的发现和应用,下一步应力图在酿酒酵母表面表达以生淀粉为底物

的生淀粉酶基因。

纤维素酶是一种多组分的复合酶,需要纤维素内切酶、外切酶以及 β -葡萄糖苷酶的协同作用才能将纤维素大分子转化为葡萄糖。Den Haana 等^[30]在酵母中同时表达了来源于绿色木霉(*Trichoderma viride*)的内切葡聚糖酶基因(EGI)和来源于扣囊复膜孢酵母的 BGLI 基因。该菌株在 10 g/L 纤维素为唯一碳源的培养基中生长速率达到 0.03 h^{-1} ,并产生 1 g/L 的酒精。Fujita 等^[31]于酿酒酵母表面成功表达了来自绿色木霉的葡聚糖内切酶 II 和来自棘孢曲霉(*Aspergillus aculeatus*)的 β -葡萄糖苷酶,能够在 50 h 内发酵 45 g/L 的 β -葡萄糖,产生 16.5 g/L 的乙醇。目前,纤维素的利用仍然比较困难,需长期研究。

三、代谢工程改造工业酒精酵母展望

(一) 酿酒酵母全基因组尺度代谢网络的构建

由于酿酒酵母在长期进化过程中发生自然重组、自然选择、遗传漂变,其不同的基因或基因中的不同区域有不同的生态学历史,出现具有不同功能和用途的酿酒酵母,因此模式菌株不能够完全反应某一具体的工业酒精酵母的某些具体性状,常规的遗传分析和生理生化手段也都难以区分酿酒酵母菌株。由于大多数研究者只专注于酿酒酵母的某一特定变种,对于酿酒酵母代谢网络精细结构的研究,目前还主要集中在对特定变种的关键代谢基因敲除、中间代谢产物检测等手段。

分子遗传标记(genetic markers)在微生物种质资源的遗传多样性研究和育种工作中有着十分重要的地位。微卫星 DNA(microsatellite DNA)在众多的分子遗传标记(同工酶、限制性片段长度多态性、随机扩增 DNA 多态性等)中,可用于研究传代过程中基因的细微变化和精细的生态学进化过程,能够快速评估酿酒酵母的应用潜力,简化筛选步骤^[32],便于快速选择合适的出发菌株用于代谢改造。它具有消耗样品少、易储存、易扩增、特异性强等特点,并且样品可以通过简单快速的 DNA 样品提取纯化的方法制备^[33]。近年来,微卫星 DNA 分子标记作为新兴的标记技术,以其多态点丰富、与生物表型相关度高等优点在生物遗传多样性、等位基因鉴定等研究方面已经取得了较好的结果,如水稻基因组中的 Waxy 基因座位上的微卫星 DNA 与直链淀粉含量和糯性之间的关系等。研究发现部分微卫星 DNA 序列与酿酒酵母的酒精耐受性相关,如微卫星序列 ScAAT5(15)和 ScAAT5(14)只出现在低酒精耐性的酵母中^[32]。本课题组已经将微卫星 DNA 成功应用于工业酒精酵母的分型中,实验中利用 11 个基因座位的微卫星 DNA 标记,对传统酿造行业中具有典型特征、不同来源的 50 株酿酒酵母进行

基因分型,建立基因型数据库,分析其遗传多样性和菌株间的系谱关系,结果表明工业酿酒酵母菌株在长期的各种不同发酵环境下已发生微遗传变化,具有较高的遗传多样性,在发酵性状和表型上符合相关产品的特殊需求。

因此,通过建立专一性分子标记,研究各种来源、不同生理特性酿酒酵母的遗传多样性,构建分子遗传图谱,建立目的性状基因标记,并进行遗传质量检测、系谱分析、亲缘关系鉴定、群体间遗传距离分析等,可有效促进酿酒酵母全基因组尺度代谢网络的构建。研究结果将有利于进一步深入了解酿酒酵母的遗传背景和生理性状及功能,开发特定地区酿酒酵母菌株资源,指导使用各种分子生物学手段对酿酒酵母进行基因改良以满足人们对其各类产物的需求。

(二) 系统代谢工程改造工业酒精酵母

作为第一个获得全基因组序列的真核生物,酿酒酵母的系统生物学研究也发展迅速,现在关于酿酒酵母的全细胞水平和分子水平的数据库信息都比较完整,酿酒酵母中各个重要代谢产物的代谢模型和胞内关键反应的相互作用图谱也绘制完成,这些都为酿酒酵母为酿酒酵母系统代谢工程的开展提供了理论基础^[34]。

纤维质酒精的生产过程中,酿酒酵母通常受到乙酸、甲酸等弱酸的胁迫^[35],影响发酵速率和原料的利用,Mira等^[36]通过转录组学对酿酒酵母的抗酸机理进行了研究,发现不同弱酸(乙酸、丙酸、山梨酸、霉酚酸)的响应基因有较大差异,但都与麦角甾醇的合成、胞内运输和液泡酸化相关,推测在工业酒精酵母中表达相应基因可能会提高细胞的抗酸能力。Kolkman等^[37]研究了不同营养缺乏环境中蛋白质组的变化,其研究结果对酿酒酵母的代谢改造有一定的指导意义。目前系统代谢工程技术的实际应用主要集中在细菌,尤其是大肠杆菌中^[38,39],关于工业酒精酵母的报道大部分都是利用系统生物学手段阐述酿酒酵母某种特性产生的机理或对某种胁迫的响应机理。随着高通量实验工具和分析软件的开发,相信系统生物学技术应用于工业酒精酵母的代谢改造必定会加速工业生物学技术的发展。尤其是转录组学、代谢组学、蛋白组学和胞外代谢模拟已逐渐应用于酿酒酵母中沉默基因的寻找、胞内生化状态的监测和代谢靶点的选择等方面。我国对酒精发酵已有半个多世纪的研究,积累了丰富的经验,在此基础上结合系统代谢工程的全基因组尺度精细代谢网络重构,必定会为新型工业酒精酵母的改造注入新的活力。

参考文献

1. Shen Y, Zhang Y, Ma T, *et al.* Simultaneous saccharification and fermentation of acid – pretreated corncobs with a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* expressing β – glucosidase[J]. *Bioresource Technol*, 2008, 99(11): 5099 – 5103.
2. Guo ZP, Zhang L, Ding ZY, *et al.* Development of an industrial ethanol – producing yeast strain for efficient utilization of cellobiose[J]. *Enzyme Microb Tech*, 2011, 49: 105 – 112.
3. Ligthelm M E, Prior B A, Preez J C. The oxygen requirements of yeasts for the fermentation of d – xylose and d – glucose to ethanol[J]. *Appl Microbiol Biot*, 1988, 28(1): 63 – 68.
4. Kötter P, Ciriacy M. Xylose fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Appl Microbiol Biot*, 1993, 38(6): 776 – 783.
5. Aristidou A, Penttilä M. Metabolic engineering applications to renewable resource utilization[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2000, 11(2): 187 – 198.
6. Walfridsson M, Hallborn J, Penttilä M, *et al.* Xylose – metabolizing *Saccharomyces cerevisiae* strains overexpressing the *TKL1* and *TAL1* genes encoding the pentose phosphate pathway enzymes transketolase and transaldolase[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(12): 4184 – 4190.
7. Jin Y S, Jones S, Shi N Q, *et al.* Molecular cloning of *XYL3* (D – xylulokinase) from *Pichia stipitis* and characterization of its physiological function[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(3): 1232 – 1239.
8. Busturia A, Lagunas R. Catabolite Inactivation of the Glucose Transport System in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *J Gen Microbiol*, 1985, 132(2): 379 – 385.
9. Paul V. Attfield. Stress tolerance: The key to effective strains of industrial baker's yeast[J]. *Nature Biotechnology*, 1997, 15(13): 1351 – 1357.
10. Cooper D J, Stewart G, Gand Bryce J H. Yeast proteolytic activity during high and low gravity wort fermentation and its effect on head retention[J]. *J Brewing*, 2000, 106(4): 197 – 2011.
11. Stanley D, Fraser S, Chambers P J, *et al.* Generation and characterization of stable ethanol – tolerant mutants of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2010, 37(2): 139 – 149.
12. Stanley D, Chambers P J, Stanley G A, *et al.* Transcriptional changes associated with ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Appl Microbiol Biotech*

nol, 2010, 88 (1) : 231 – 239.

13. Mansure JJ, Panek AD, Crowe LM, *et al.* Trehalose inhibits ethanol effects on intact yeast cells and liposomes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 191(2) : 309 – 316.

14. Guo Z P, Zhang L, Ding Z Y, *et al.* Minimization of glycerol synthesis in industrial ethanol yeast without influencing its fermentation performance[J]. *Metab Eng*, 2011, 13(1) : 49 – 59.

15. Peng J, Zhang L, Gu ZH, *et al.* The role of nisin in fuel ethanol production with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2012, 55(2) : 128 – 134.

16. Björkqvist S, Ansell R, Adler L, *et al.* Physiological response to anaerobicity of glycerol – 3 – phosphate dehydrogenase mutants of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63(1) : 128 – 132.

17. Nissen T L, Kiell and – Brandt M C, Nielsen J, *et al.* Optimization of ethanol production in *Saccharomyces cerevisiae* by metabolic engineering of the ammonium assimilation. *Metab Eng*, 2000, 2(1) : 69 – 77.

18. Valadi H, Larsson C, Gustafsson L, *et al.* Improved ethanol production by glycerol – 3 – phosphate dehydrogenase mutants of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1998, 50(4) : 434 – 439.

19. Guo Z P, Zhang L, Ding Z Y, *et al.* Interruption of glycerol pathway in industrial alcoholic yeasts to improve the ethanol production[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 82(2) : 287 – 292.

20. Anderlund M, Nissen T L, Nielsen J, *et al.* Expression of the *Escherichia coli pntA* and *pntB* genes, encoding nicotinamide nucleotide transhydrogenase, in *Saccharomyces cerevisiae* and its effect on product formation during anaerobic glucose fermentation[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(6) : 2333 – 2340.

21. Guadalupe Medina V, Almering M J, van Maris A J, *et al.* Elimination of glycerol production in anaerobic cultures of a *Saccharomyces cerevisiae* strain engineered to use acetic acid as an electron acceptor[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76(1) : 190 – 195.

22. Zhang L, Tang Y, Guo Z P, *et al.* Improving the ethanol yield by reducing glycerol formation using cofactor regulation in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Biotechnol Lett*, 2011, 33(7) : 1375 – 1380.

23. Bro C, Regenberg B, Forster J, *et al.* In silico aided metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for improved bioethanol production[J]. *Metabolic Engi-*

neering, 2006, 8(2): 102 – 111.

24. Guo ZP, Zhang L, Ding ZY, *et al.* Improving the performance of industrial ethanol – producing yeast by expressing the aspartyl protease on the cell surface[J]. *Yeast*, 2010, 27(12): 1017 – 1027.

25. Guo ZP, Qiu CY, Zhang L, *et al.* Expression of aspartic protease from *Neurospora crassa* in industrial ethanol – producing yeast and its application in ethanol production[J]. *Enzyme Microb Tech*, 2011, 48: 148 – 154.

26. Kim JH, Kim HR, Lim MH, *et al.* Construction of a direct starch – fermenting industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae* producing glucoamylase, alpha – amylase and debranching enzyme[J]. *Biotechnol Lett*, 2010, 32(5): 713 – 719.

27. Öner ET, Oliver SG, Kírdar B. Production of Ethanol from Starch by Respiration – Deficient Recombinant *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(10): 6443 – 6445.

28. Knox AM, Preez JC, Kilian SG. Starch fermentation characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* strains transformed with amylase genes from *Lipomyces kononenkoae* and *Saccharomycopsis fibuligera*[J]. *Enzyme Microb Tech*, 2004, 34: 453 – 460.

29. Shigech H, Koh J, Fujita Y, *et al.* Direct Production of Ethanol from Raw Corn Starch via Fermentation by Use of a Novel Surface – Engineered Yeast Strain Co-displaying Glucoamylase and α – Amylase[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(8): 5037 – 504.

30. Den Haana R, Rosea S H, Lyndb L R, *et al.* Hydrolysis and fermentation of amorphous cellulose by recombinant *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Metabolic Engineering*, 2007, 9(1): 87 – 94.

31. Fujita Y, Takahashi S, Ueda M, *et al.* Direct and Efficient Production of Ethanol from Cellulosic Material with a Yeast Strain Displaying Cellulolytic Enzymes[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68(10): 5136 – 5141.

32. Franco – Duarte R, Umek L, Zupan B, *et al.* Computational approaches for the genetic and phenotypic characterization of a *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast collection[J]. *Yeast*, 2009, 26(12): 675 – 692.

33. Taberlet P, Waits L P, Luikart G. Noninvasive genetic sampling: look before you leap[J]. *Trends Ecol Evol*, 1999, 14(8): 323 – 327.

34. Mustacchi R, Hohmann S, Nielsen J. Yeast systems biology to unravel the network of life[J]. *Yeast*, 2006, 23(3): 227 – 38.

35. Eva Palmqvist¹, Bärbel Hahn – Hägerdal. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. I: inhibition and detoxification [J]. *Bioresource Technol*, 2000, 74 (1):17 – 24.
36. Mira NP, Teixeira MC, Sá – Correia I. Adaptive Response and Tolerance to Weak Acids in *Saccharomyces cerevisiae*: A Genome – Wide View [J]. *OMICS*, 2010, 14(5):525 – 540.
37. Kolkman A, Daran – Lapujade P, Fullaondo A, *et al.* Proteome analysis of yeast response to various nutrient limitations[J]. *Mol Syst Biol*, 2006, 2: 0026.
38. Lee KH, Park JH, Kim TY, *et al.* Systems metabolic engineering of *Escherichia coli* for L – threonine production[J]. *Mol Syst Biol*, 2007, 3:1 – 8.
39. Park JH, Lee KH, Kim TY, *et al.* Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of l – valine based on transcriptome analysis and in silico gene knockout simulation[J]. *PNAS*, 2007, 104:7797 – 7802.



石贵阳 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室副主任,生物分离工程方向学术带头人,江苏省高校“青蓝工程”科研创新团队学术带头人,江苏省食品与药品管理局食品安全专家组食品加工领域召集人,江苏省酒精协会副理事长。多年来一直致力于发酵过程工程和生物分离工程相关领域的应用基础研究及应用技术开发,在发酵工程领域特别对代谢控制发酵、发酵产品分离纯化技术与装备方面有专业特长。近年来承担国家 863 计划重点课题、国家

自然科学基金等国家级课题共 7 项,企业委托课题与工程项目十余项;获申请国家发明专利 28 项,其中获授权 13 项;“十一五”轻工业科技创新先进个人,江苏省高校院所科技人员创新创业先进个人。

生物质资源高值化利用的可行途径

黄日波等

广西科学院 国家非粮生物质能源工程技术研究中心(NERC-NFB)

一、前言

我们这个星球上的所有能源均来自太阳这个恒星进化过程中的一个特殊阶段:激烈而漫长的核聚变,换句话说,太阳系每个星球的能源均来自核能。核聚变产生大量的光和热,其中光能够穿越几近真空的茫茫太空,最终照射到各个行星上。自然条件下,地球捕捉太阳光能的形式主要有:气流变化(风能)和植物的光合作用。而人工条件下捕捉太阳能的方法(模拟植物细胞捕捉太阳能)就是利用光伏电池。

据推算,地球上的绿色植物每年通过光合作用固定的生物质是 1700 ~ 1800 亿 t,这个数量是地球上全人类每年总能源消耗的近 10 倍。这意味着生物质蕴藏着巨大的能源潜力。我国幅员辽阔,尤其是北方和西域,可用荒地的面积非常巨大,但由于这些地区受无霜期短、干旱缺水等自然条件的限制,单位面积产出的生物量还不是最高。我国南方诸省却不同,尽管其幅员没有其他地区辽阔,但由于单位面积的太阳能强度是其他地区的 1.4 倍以上,而且无霜期很长,每年可种多造,因此单位面积的生物质产出就比其他地区高得多。

本文拟对当前条件下可以认为是能高效利用生物质资源的可行途径进行简要介绍,同时,指出了这些利用过程中亟待解决的一些基本问题。

二、生物质资源总量估算

生物质资源主要分为五大类^[1],见表 1。第一类是农作物秸秆(玉米秸、稻草、麦秆、高粱秸、豆秆、棉花秆、谷壳等),这类生物质资源虽然较多(7 ~ 9 亿 t),但还考虑到农作物秸秆在回田、饲料以及作为工业原料等方面的应用,余下可用于生物质能和生物基化学品的有 3.1 亿 t,折合 1.5 亿 t 标煤。第二类是林业废弃物,约占 4000 万 t/年。第三类畜禽粪便,这类生物质资源丰富,

达到干重 5 亿 t,可产沼气 2200 亿 m³;第四类是生活污水和工业有机废水,其中含固体废渣 2500 万 t;第五类是城市固体废物,可利用的量约为 1 亿 t。这五类合起来,构成了中国目前主要生物质资源的分布,总量达到 8 亿~10 亿 t 标准煤。

表 1 我国生物质资源总量测算^[1]

类别	总量(亿 t)	可用(亿 t)	折合标煤(亿 t)
农作物秸秆	7~9	3.1	1.5
林业废弃物	0.4	0.4	
畜禽粪便	5	5	2200 亿 m ³ 沼气
生活和工业废水	8.5(水)	0.25(渣)	
城市固体废物	2	1	

南方诸省的主要生物质资源有稻草、谷壳、玉米秸、甘蔗渣、速成桉等。如前所述,南方的耕地面积远比不上西部和北方,但南方独特的温、光、水三者的优势结合可使有限的土地面积发挥出最大的(光合作用)潜能。以我们所在的广西为例,全区可用的生物质资源计有农作物秸秆、畜禽粪便、生活有机垃圾、林产废弃物和食品工业有机废弃物等五大类,共计近 3800 万 t 标煤当量,以此集中开发生物甲烷等能源,近、中期产值可望达 1000 亿元以上^[2]。因为广西年耗能源总量在 8000 万 t 标煤左右,这样生物质资源就可以替代近一半的总能耗,前景相当诱人。

生物质的重要成分是碳水化合物,其中含氧量过高是生物质的最大特点之一(表 2)。从表中看出,光合作用的产物——碳水化合物中氧占的比重高达 40%,因此天然状态下的碳水化合物的能量密度很低,净热效率(LHV)只有 16%左右。为此,在设计高效利用生物质资源时,必须要优先考虑以下两个问题:一是生物质资源要转化为能量密度更高(叫做碳氢富集或脱氧过程)、方便携带和运输的物质形式;二是在生物质从天然状态转变为能量密度较高的物质形式过程中,尽量减少转化步骤、减少损失。这就是我们在下一节中讨论生物质资源利用的可行途径时,必须要重点考虑的问题之一。

表 2 Biomass Compositions (干基)

Elements	占比(%)
C	49.0
H	6.5
N	2.0
O	40.0
Ash	2.5
净热效率(LHV)	16.75

总之,我国每个省都具备生物质资源开发利用的自然条件,关键是如何能够在节能减排、环保高效的前提下利用这些资源。

三、资源利用的前提:节能、减排、高效、便利可行

生物质资源多少世纪以来都一直存在着,但为什么到现在才提出开发利用的问题呢?这里边除了原有的石化能源日趋枯竭之外,还有技术是否成熟、开发技术是否环境友好、能否高效低成本地利用该资源等问题。

由于目前石化能源的使用仍然占主导地位,据估计世界上所有的天然气储量还可供人类使用 50 ~ 60 年,石油是 17 ~ 25 年,煤炭为百年以上。要在当前高调提出生物质资源的能源利用问题,就必须要有足够的说服力。也就是说,生物质能源是要凭据什么优势可以进入现在这个以石化能源为主的消费者日常生活?在本小节里,我们拟提出生物质资源开发利用的四个前提。

第一个前提是节能。节能的衡量标准是产出的能量或物质(折算成能量)与输入的能量之比必须大于 1,或者最佳情景是必须要远远大于 1。众所周知,在能量产出与投入之比上,目前的所有能源形式都比不过石油和天然气,因为它们是在自然条件下形成、并以非常集中的自然状态存在,所以开发的单位耗能最小。但它们也有缺点,由于石油和天然气是把远古上千万年所固定而积累的碳短期内释放出来,所以对全球气候会有很大影响,而生物质能源用的是当年或近几年固定的碳,因此是属于碳中性的。

第二个前提是减排。减排就是在资源利用时废弃物的产生必须降到最低限度。如下一节所述,设计好的生物甲烷(沼气)转化过程可以做到微排放、甚至零排放,因为发酵的气、液、固三种产物都被完全利用了。对比之下,石化化学品常常是不可生物分解,对环境有影响。

第三个前提是高效。高效最重要的衡量标准之一就是以最低的成本产出最

多的产品或能量。在这方面,生物甲烷又完全有可能胜出,因为它只需要很简单的投入就可以在较长的时间周期内不断地产出,而且维护费用低廉;

第四个前提是便捷可行。便捷可行就是可以利用当前的城市或农村的现有条件,将生物质资源转变为能源或者其他化学品。想象一下,如果我国的每一个农户都成为一个小型能源基地,将会是什么样一种情景?过去近百年来,世界上的财富一直过度地集中于中东等生产石油的国家,如果生物质能源的开发能够付诸实践,能源方面的财富该不该会向整个全球逐步呈现均等化分布?

四、当前资源利用的可行途径

当前,人类开发利用生物质资源的技术有六大类^[3],它们分别是:直接燃烧、厌氧消化(沼气)、糖发酵(产生物乙醇)、油料提取及生物柴油、热解(产生物油)、气化(产合成气)。我们认为,在我国目前的情况下,综合考虑上述四个前提,比较可行的生物质能源开发利用途径有以下三个。

1. 生物甲烷(沼气)的生产

生物甲烷的生产系通过沼气发酵过程来实现,这个实质上是微生物的物质代谢和能量转换过程。在分解代谢过程中沼气微生物获得能量和物质,以满足自身生长繁殖,同时大部分物质转化为甲烷和二氧化碳。科学测定分析表明:有机物约有 90% 被转化为沼气,10% 被沼气微生物用于自身的消耗。发酵原料生成沼气实际上是通过一系列复杂的生物化学反应来实现的。

如果从能源产生的角度来理解,可以这样认为:沼气发酵过程的本质,是利用微生物群落的代谢功能,通过分子和原子的重排,将含氧量高达 40% 左右的生物质(通用分子式为: $\text{CH}_{1.4}\text{O}_{0.6}$)去氧,实现碳、氢两元素的富集化的过程,产物是能量密度比出发原料(生物质)高得多的碳氢化合物——甲烷。由于有机物有近 90% 可以转化为沼气,因此这是少有的很高效的转化过程。沼气发酵的能量转换效率其理论值可达 65% 以上。这也是为什么最近国际上极力推崇此技术的重要原因之一。

2. 生物质发电

生物质发电是指利用生物质原料来代替煤炭,燃烧后推动火电厂的汽轮机进行发电。生物质发电之所以较为可行,主要是它能够利用现有火电厂的基础设施,使总投资大幅度降低。生物质发电在我国主要是指生物质(例如稻秸)直接燃烧发电。在国外,生物质发电的原料来源分为三块:一是生物质像烧柴火一样直接燃烧;二是生物质“热解”所得的生物油,可以运输到别处,也可以就地燃烧推动汽轮机发电;三是生物质“气化”所得的合成气(氢气和一氧化碳),可以燃烧推动汽轮机发电。

3. 纤维素乙醇的低成本生产

正如以前我们所指出的^[4],今后几十年在人类找到高效的替代化学品之前,乙醇依然是生物液体燃料的首选之一,任何想在当前的形势下抛弃乙醇作为液体燃料的想法都是幼稚的,或者至少是不现实的。

燃料乙醇分为第一和第二代。第一代主要以淀粉质(谷物、薯类等人类粮食)为原料。由于粮食安全原因,各国现在都转到第二代燃料乙醇,即以纤维素为原料的燃料乙醇。纤维素乙醇当前最大问题是成本过高,国内每吨成本在9000~12 000元之间。造成成本过高的原因有三个(将原料的价格波动、原料运输成本等除外):一是纤维素原料的前处理成本高;二是纤维素酶的成本高,可达2000~3500元;三是纤维素水解液的糖度低,发酵醪液的酒度底,导致蒸馏成本增加。

我们国家非粮生物质能源工程技术研究中心采用自己专有的技术,将高压匀浆过程用于甘蔗渣的前处理,使结晶纤维素暴露(可以让纤维素酶的组分接触到的)的表面积提高了3~4倍,从而使纤维素酶用量减少至原来的三分之一到四分之一,结果是总成本为5000元/t左右。目前,在实验室成功的基础上,我们正在进行1万吨的规模试验,预计明年初可以进行试验。

五、生物质资源高效转化利用要解决的基本问题

众所周知,任何能源的形成和使用均需要从一种形式转化为另一种形式,而部分能量恰恰就损失于各个转化步骤中。生物质能源更是如此。生物质能源的根本来源是生物体对光能的捕获。因此,生物质能源的基本问题之一就是转化效率^[4,5]。

生物质可以转化为能源,也可以转化为化学品。而转化的基本方法无非就是两种:化学法和生物法。不管是化学法还是生物法,核心都在于催化剂。催化剂是节能降耗、提高效率的关键:催化剂可以降低反应物的活化能,不同的催化剂可以使反应物沿着不同的能量路径转变为产物,从而最大程度地节约能量投入(图1)。

在本文列出的生物质能源开发利用的三个可行途径中,有两个与生物催化剂密切相关:甲烷细菌群中有关酶的活力越高,沼气发酵的转化速度就越快;在纤维素乙醇的生产中,纤维素酶的活力是关键:活力越高,所用的酶量就越少。纤维素气化过程产生合成气(即氢气和一氧化碳的混合物)欲转化为液体燃料,也必须依赖高效专一的化学催化剂。

另一个基本问题是如何改造植物的木质纤维素的结构和组分组成。核心问题是如何提高纤维素含量,同时减少木质素含量。这样对纤维素乙醇的生产极

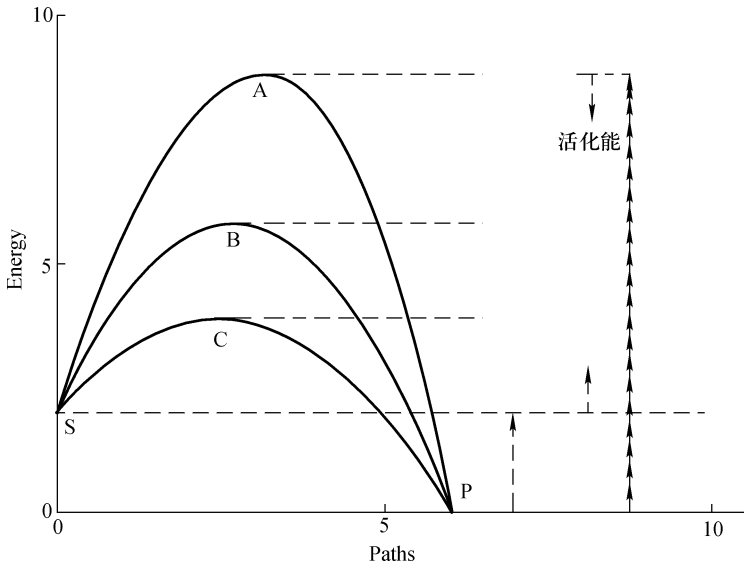


图1 酶促反应活化能关键作用的示意图

注:在本文中,我们要读者关注的是催化剂与反应路径的关系:A、B、C代表不同的反应路径,A为无催化剂时的反应路径,可以看出系统需要输入很多能量;B为采用非优化催化剂时的路径,系统仍需要大量能量输入,反应方可进行;C为采用最佳催化剂时的路径,可见系统只需输入很少能量,反应就可以顺利进行。结论:不同的催化剂会使化学反应沿着不同的路径进行,优良的催化剂可使反应沿着耗能最低的路径进行。不管是沿着哪条路径,底物S和产物P的能量水平都相同。根据文献[6]制作。

为有利。相对含量改变之后,不管是对前处理还是酒精产率都会产生正面影响。还有一个不容忽视的基本问题:结晶纤维素的形成机理。这个问题如果解决并最终能够让人们随意地改变结晶纤维素的状态,那对生物质资源的开发利用就会产生极大的影响。

参考文献

1. 李景明,薛梅.中国生物质能利用现状与发展前景[J].农业科技管理,2010,29:1-4.
2. 北京兴星伟业生态环境工程技术公司《广西千亿元生物质能源产业链项目建议书》,2012年9月.
3. Crucible Carbon Consulting, “Biomass Technologies Review: Processing for Energy and Materials”, April, 2008.
4. 黄日波,陈东,王青艳,等.木薯原料生产燃料乙醇[J].生物工程学报,2010,26:888-891.

5. Savage DF, Way J, Silver PA. Defossilizing fuel: how synthestic biology can transform biofuel production[J]. *ACS Chem Biol*, 2008, 3(1): 13 - 16.

6. “Basic Research Needs: Catalysis for Energy”, Report from the U. S. Department of Energy, Office of Basic Energy Sciences Workshop August 6 - 8, 2007, Bethesda, Maryland, USA.



黄日波 广西靖西人,1982 年获广西农学院学士、1986 年硕士,1990 年获英国里丁大学生物工程专业(1988 年 7 月 - 1990 年 5 月获英国牛津大学奖学金并与其合作研究) 博士。主要从事分子酶工程、蛋白质结构功能、基因工程菌构建、微生物发酵及后提取、生物质能源等研究并获多项重要成果。“高活力 α -乙酰乳酸脱羧酶”获国家科学技术进步奖二等奖,起草国家标准;“微生物发酵法生产透明质酸”为国家西药二类新药;“酶法转化木薯淀粉生产海藻

糖”为国内首次成功,使我国成为世界上掌握该技术的第二个国家,起草海藻糖国家标准。今年带领团队开发成功高活力(优于国外工艺和产品)国产普鲁兰酶。SCI 论文近 50 篇。

曾获国家有突出贡献的中青年专家、全国杰出专业技术人才称号,全国模范教师,全国留学人员先进个人。目前承担有国家“973”子课题两项,国家“863”项目两项,国家科技支撑项目一项,并被聘为国家“973”《生物催化剂》项目专家。目前担任国家非粮生物质能源工程技术中心主任、特色生物质能源国家-地方联合工程中心主任、非粮生物质酶解国家重点实验室主任。

生鲜食品节能保质高效干燥技术的研究进展

张慇等

江南大学食品学院

摘要:传统的脱水技术由于高能耗、高成本、低品质等关键问题已经制约生鲜食品干燥行业的发展。因此,围绕高效保质干燥主题,采用微波、高频等高效加热技术与传统干燥方式结合而发展的食品干燥方式已受到国内外学者、企业界、工业界的广泛关注。本文综述了国内外新型节能保质脱水技术的实验研究、理论模型研究及应用现状。随着各种节能保质高效干燥新技术理论、关键技术、工艺等不断完善,该项技术将向着更深更广的研究方向发展。

关键词: 生鲜食品;节能保质;微波;干燥技术

一、引言

生鲜食品(包括果蔬、生鲜水产品、生鲜肉)是人类摄取蛋白质、脂肪、维生素、矿物质、有机酸、膳食纤维等营养成分或生理活性成分的主要来源,其消费在现代平衡膳食的理念中占有非常重要的地位^[1]。脱水生鲜食品具有营养丰富、保质期长、食用方便等优势,广泛应用于调味品、速食等食品行业,并已成为我国出口创汇的主要产品之一。然而,传统的干燥方式存在高能耗、高成本、低品质等问题,成为制约脱水生鲜食品行业进一步可持续发展的瓶颈。

节能保质高效干燥是将微波、高频等高效加热方式引入传统干燥领域,通过与传统干燥方式有效结合而发展的新型高品质高效脱水食品干燥方式,实现脱水食品节能保质目的,如微波与传统热风、喷动床、真空干燥、冻干等干燥方式有效结合,可以缩短干燥周期,提高产品品质。传统干燥这些缺陷主要是由于干燥过程中,产品所需的热量传递效率低造成的。微波、高频加热是利用介电加热原理,具有加热迅速、均匀、节能高效、加热质量高、营养破坏少等特点,有研究证实,将微波作为干燥的热源,可以显著地提高干燥效率、降低能耗^[2]。因此,围绕高效保质干燥主题,采用微波、高频等高效加热技术与传统干燥方式结合而发展的新型节能保质脱水食品干燥方式已受到国内外学者、企业界、工业界的广泛关注。

本文从微波与传统真空干燥、冷冻干燥、常压喷动及负压喷动干燥等联合干燥实验研究、理论模型研究两个方面,综述了节能保质高效干燥技术国内外研究的现状。

二、节能保质高效干燥实验研究进展

(一) 真空微波高效干燥(MVD)

微波作为一种电磁波,在对物料加热时具有高效性、内源性加热、选择性加热等特点^[3]。由于水分子吸收微波能力极强,使得单独利用微波干燥反而容易因为速度过快而烧焦。微波真空高效干燥(MVD)除了拥有微波干燥的高效性特点以外,由于水在真空条件下的沸点低,使得物料被烧焦的可能性大大降低,并且可以明显地缩短干燥时间,提高产品质量,从而达到节能保质的目的。此外,MVD干燥还能显著提高物料的膨化率,有利于制造一些休闲食品^[4]。

微波真空干燥可显著地缩短时间,提升产品品质。有研究表明^[5,6],不同干燥方式干燥相同量的毛豆粒的试验中,MVD所需的干燥时间仅为冷冻干燥(FD)的1/20,热风干燥的1/10。虽然产品品质无法与FD相比,但是远优于热风干燥产品品质。Drouzas与Schubert^[7]以香蕉片为原料进行MVD干燥实验,也得到了类似的结果。他们还特别指出,MVD干燥的香蕉片不仅快速,而且产品的风味和复水率也完全令人满意。Hu等^[8]研究了MVD、冻干、热风干燥以及热风—真空微波分段干燥蔬菜,并对比了维生素C、叶绿素、皱缩率、复水率、颜色、质构、及微观结构的变化。结果表明,除了冻干以外,MVD的产品质量优于其他几种干燥方式,且干燥时间也得到极大的改善,最终减少了能耗。Lin等^[9]对比了MVD、冻干、及热风干燥胡萝卜片的干燥效果。与热风干燥相比,MVD产品有较好的复水率、较高的胡萝卜素及维生素C含量以及酥松的质地。虽然冻干产品的复水率、外观以及营养保持率高于MVD产品,但是颜色、质地、风味等指标均与MVD产品相差不大。

(二) 微波—冻干高效干燥(MFD)

冷冻干燥被认为是产品质量最高的干燥方式^[10]。整个干燥过程在真空下进行,使得物料的色、香、味及营养成分得以保留而极少损失。并且在干燥过程中物料保持冻结状态使得其形状不会有任何改变,同时冻干产品具有很高的复水率。遗憾的是,冻干同样是被认为加工成本最高的干燥方式。干燥相同量的物料,冻干产品的成本是普通热风干燥产品10倍左右^[11]。且干燥时间很长,不利于节能减排。冻干技术主要应用于医药行业,而在食品加工方面应用很少。

MFD 相对于普通冻干,最显著的特点就是极大地缩短了干燥时间,从而减少大量的生产成本以及能耗,达到节能减排的目的。目前这一技术还处于实验室研究状态。Jiang 等^[3,12-14]研究了香蕉的 MFD 干燥工艺以及干燥过程中品质的变化,实验结果表明,微波功率是影响干燥时间的最主要因素,但是微波功率过高会导致产品品质下降。与传统的冻干产品相比,MFD 产品的品质并没有很大差异,并且复水率还优于冻干产品。但是过程控制及检测较传统冻干繁琐,容易发生冻结态物料融化及物料烧焦的现象。实验结果还显示,在升华阶段末期物料最容易发生膨化而使得物料形状无法保持,要在这一阶段特别注意。

Duan 等^[15-17]进行了海参的 MFD 研究。实验结果表明,MFD 较之于普通冻干可以节省一半的时间。同时要注意,整个干燥过程的真空度应维持在一个很低的水平,否则容易发生电晕放电而造成危险。另外,研究发现,MFD 具有一定的杀菌作用,通过加入纳米银材料可以扩大 MFD 的杀菌效果从而增加保存时间。类似的效果也在 MFD 干燥卷心菜产品中得到。

Duan 与 Wang^[18,19]研究了提高 MFD 干燥速率的一些技术处理,例如,干燥前在产品中加入高介电损耗因子的介电内核,可以显著增加物料吸收微波的能力,明显提高 MFD 的干燥效率。Duan 还利用超声波辅助渗透盐溶液来处理样品,结果显示,处理过的样品干燥时间可以缩短 2 小时。Wang 同样研究了利用不同溶液处理样品来提升干燥速率。氯化钠、蔗糖、谷氨酸钠溶液被用作实验用的溶液。实验结果也显示,处理与未处理的样品,MFD 干燥时间可以相差 40%。

Wang 等^[20]研究了不同漂烫方式(微波、热水)对莴苣颗粒介电特性、电导率的影响,及对莴苣颗粒微波冻干速率的影响,实验结果显示,微波漂烫可以改善莴苣的介电特性及缩短干燥周期 1.5 小时。

Woo 与 Mujumdar^[21]探讨了在冻结时,利用交流电与直流电来处理样品,结果显示,直流电有助于冰晶的大量生成,而交流电和磁场作用下冰晶的生成受到抑制,大的冰晶有利于提高干燥速率,因此,利用交流电和磁场在冻结阶段处理样品同样可以缩短干燥时间。

(三) 微波—常压喷动高效干燥

喷动床干燥一般用于干燥一些颗粒状食物,例如大麦、咖啡豆等。物料在干燥腔内不断运动,使得干燥的均匀性得到了保证。利用微波辅助加热,不仅使得喷动床的均匀性这一优势得到延续,还能大幅提高干燥速率。

Yan 等^[22,23]进行了常压喷动干燥(SD)与 MFD、MVD 以及微波—喷动干燥(MWSD)胡萝卜粒的干燥均匀性、干燥速率、颜色、复水率、 β -胡萝卜素以及维生素 C 的含量研究。结果表明,MWSD 具有比 MVD 产品更佳的颜色指数,而且

干燥时间较之 MFD 大大缩短。虽然产品的 β -胡萝卜素以及维生素 C 的含量不如 MFD 产品,但是和 MVD 产品基本相当。此外值得注意的是,MWSD 干燥后的产品有极其客观的膨化效果。膨化带来了很好的口感及复水率,使得其非常适合制造一些休闲食品。

(四) 微波—负压喷动高效干燥

微波作为热源应用于真空干燥过程替代传统的加热方式(热传导、热辐射)可以明显地缩短干燥周期、降低加工成本。但是,微波加热的选择特性造成在微波真空干燥过程出现产品干燥不均匀现象,即产生所谓的冷点与热点。这一缺陷主要与干燥腔内不均匀的电场分布、产品的介电特性差异及产品干燥过程中所处状态等多种因素有关。微波干燥的不均匀性严重地影响真空干燥产品的品质及这一技术产业化进程。目前在微波真空干燥均匀度改善方面的研究相对较少。一些研究者^[24,25]进行微波真空干燥均匀性研究,将产品放在微波真空干燥腔内转盘内,实现产品在干燥过程中运动,以期获得均匀的微波能量吸收。实验结果表明,微波干燥均匀性采用转运方式与静止方式相比有所改善,但是冷、热点仍然存在。在此基础上,Zhang 等^[26]研制了微波负压喷动干燥实验设备并申请了国家专利,产品干燥过程在圆管式干燥仓真空内进行,以区别于传统的盘式干燥,并定期往干燥仓内充入干燥的低温空气,实现产品在真空干燥状态下三维运动。同时,以莴苣为原料进行负压微波喷动干燥实验,结果证明,莴苣颗粒干燥均匀度(温度、水分含量、色差、收缩率相对标准差均小于 10%),明显优于转盘式微波真空干燥产品。

三、节能保质高效干燥技术的模型及机理研究进展

目前关于节能保质高效干燥技术的模型研究报道较少,模型对预测技术特性起到很大的作用,节能保质高效干燥技术的模型研究目前尚未完善,有很大的研究价值。

(一) 真空微波高效干燥(MVD)模型研究

Cui^[27]研究了 MVD 干燥胡萝卜脆片的数学模型:

$$\begin{aligned} X_s &= X_w = X_0 - \frac{Q_{abst}}{M_0 r_p} \\ X_w &\geq 2 \\ X_s &= \varphi X_w = \varphi \left(X_0 - \frac{Q_{abst}}{M_0 r_p} \right) \end{aligned} \tag{3-1}$$

$$\varphi = 1.3662X_w^{-0.5741}$$

$$0 \leq X_w \leq 2 \quad (3-2)$$

其中 X_s 指样品含水量 (kg/kg d. b.); X_w 指样品的计算含水量 (kg/kg d. b.); X_0 指样品的初始含水量 (kg/kg d. b.); Q_{abs} 指单位时间内所消耗的能量 (kW); M_0 干样重 (kg); r_p 指在压力 P 下蒸发单位量的水所需的热量 (kJ/kg)。

数学模型表明了含水量低于 2 (干基含水量) 时都是恒速干燥。当 $X_s < 2$ 时, 系数 φ 受到 X_w 的影响。通过模型可以看出, 真空度与微波功率可以影响到整个干燥速率。类似的, Rensing 等^[28] 研究了面团 MVD 干燥模型。

(二) 微波一冻干高效干燥 (MFD) 模型研究

MFD 的传质传热模型依据干燥的进行应当分为三部分来考虑: 已干燥区域、未干燥局域以及干燥边缘。Wang 与 Shi^[29] 研究了一种基于不稳态结构的 MFD 干燥模型。模型模拟了一维空间内多孔原料 MFD 的干燥进程。模型如下所示:

(1) 已干燥区域

传质模型

$$\varepsilon \frac{\partial p_v}{\partial \tau} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D_e \frac{\partial p_v}{\partial x} \right) \quad (3-3)$$

传热模型

$$\rho c \frac{\partial T}{\partial \tau} = \lambda \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + q \quad (3-4)$$

(2) 未干燥区域

传热模型

$$\left(\rho c + \varepsilon (1 - S) \frac{dp_v}{dT} \Delta H \right) \frac{\partial T}{\partial \tau} = \frac{\partial}{\partial x} \left((\lambda + \Delta H K_s) \frac{\partial T}{\partial x} \right) + q \quad (3-5)$$

传质模型

$$-u_{sat} \frac{\partial S}{\partial \tau} = -\frac{\partial}{\partial x} \left(K_s \frac{\partial T}{\partial x} \right) + f_T \frac{\partial}{\partial x} (\lambda + \Delta H K_s) \frac{\partial T}{\partial x} + f_{Tq} \quad (3-6)$$

$$f_T = \frac{\varepsilon (1 - S)}{(\rho c + \varepsilon (1 - S) \frac{dp_v}{dT} \Delta H)} \frac{dp_v}{dT} \quad (3-7)$$

(3) 干燥边缘部分

传热模型

$$\left(-De \frac{\partial p_v}{\partial x} \right) \Big|_{x=X^+} - \left(-K_s \frac{\partial T}{\partial x} \right) \Big|_{x=X^-} = J_f \quad (3-8)$$

传质模型

$$\left(-\lambda e \frac{\partial T}{\partial x}\right) \Big|_{x=X^-} - \left(-\lambda \frac{\partial T}{\partial x}\right) \Big|_{x=X^+} = J_f \Delta H \tag{3-9}$$

$$J_f = \left(-u_{sat} S \frac{dX}{d\tau}\right) \Big|_{x=X} \tag{3-10}$$

其中： ε 指孔隙率； pv 蒸汽压 (kg/m^3)； c 是比热容 [$\text{J}/(\text{kg/K})$]； T 指温度 (K)； τ 指干燥时间 (s)； x 指空间位置 (m)； q 微波吸收强度 [$\text{J}/(\text{sm}^3)$]； p 指物料密度 (kg/m^3)； ΔH 蒸发所需热量 (J/kg)； u_{sat} 指物料饱和湿度 (kg/m^3)； K_s 传质系数 [$\text{kg}/(\text{ms/K})$]； f_t 指转化系数，用于指示热量能造成蒸发的能力 (kg/J)。

一些报道显示此模型可以拟合 MFD 干燥过程^[30,31]。此外,Tao 等^[32] 计算出柱状多孔性原料的 MFD 干燥模型。Chen 与 Wang^[33] 研究了加入介电质的脱脂乳的 MFD 干燥与吸湿模型。

(三) 微波 - 冻干高效干燥(MFD)机理研究

微波与冻干组合干燥机理分析对微波冻干工艺研究与实验方案制定十分重要。主要原因是在微波冻干过程中易出现低压气体放电现象。低压气体放电不仅造成产品质量下降,更重要的是不能保证微波冻干过程正常进行,同时也阻碍了微波冻干的商业化^[2]。Sunderland^[34] 在他的综述中介绍微波冻干过程中低压气体放电现象通过调整微波功率及降低干燥仓内压力方法可以解决,30 年的实验证明这一研究思路不是切实可行的。Wang 等^[20] 以莴苣颗粒为原料采用圆管干燥仓进行微波冻干实验及机理研究,并根据低压气体放电的条件,将微波冻干过程划分为三个干燥阶段即预升华干燥阶段、微波升华阶段及微波与传统加热方式联合解吸干燥阶段。并与传统的盘式微波冻干进行比较。研究结果显示,莴苣颗粒在不同管径(40、55 及 70 mm)、80 kPa 压力及最大微波功率条件下,微波冻干时间及干燥速率一致,并避免了低压气体放电问题。

四、结果与展望

通过大量实验证明,微波及射频技术与传统的生鲜食品干燥结合是一种高效、节能的新型干燥技术。微波干燥与传统单一干燥方式相比,还可以提高产品质量,减少干燥过程中特定物质的损失,达到节能减排的目的。目前,大多数节能保质高效干燥技术都还只是在实验室阶段而尚未推广至实际应用。要实现节能保质高效干燥技术产业化,相应的研究还需要做到以下几点:

1) 模型与工艺优化研究

虽然目前关于一些节能保质高效干燥技术已经有研究相对成熟的传质传热

模型,但大多数相关技术依旧缺乏理论研究。由于生鲜食品原料含水量在干燥过程中处于动态变化,以及不同的原料(即便是同一原料)都具有不同的介电参数,对微波干燥工艺研究还需要进一步深入。

2) 微波干燥设备及控制系统研究

目前,实验室设备与工业化设备存在较大的技术差异,从实验室向产业化转变技术实现是下一步研究的方向。实验室一般是以手工操作为主,产业化注重设备自动化程度、可靠的质量保障及高效节能运行。

3) 其他微波频率及射频干燥技术应用研究

目前,大多数微波干燥使用 2450 MHz 的微波源,而工业上常用的 915 MHz 和射频微波使用则较少。915 MHz 微波源及射频结合传统干燥方式可以增加产品干燥的均匀性、提高产能,也有利于干燥设备从实验室向产业化转变。

参考文献

1. 张懋. 生鲜食品联合干燥节能保质技术的研究进展[J]. 干燥技术与设备, 2009, 7(5): 214 - 227.
2. Zhang, M., Tang, J., Mujumdar, A. S., et al. Trends in microwave - related drying of fruits and vegetables [J]. Trends in Food Science & Technology, 2006, 17 (10): 524 - 534.
3. Jiang, H., Zhang, M., & Mujumdar, A. S. Microwave Freeze - Drying Characteristics of Banana Crisps [J]. Drying Technology, 2010, 12: 1377 - 1384.
4. Zhang, J., Zhang, M., Shan, L., et al. Microwave - vacuum heating parameters for processing savory crisp bighead carp (Hypophthalmichthys nobilis) slices [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 79: 885 - 891.
5. Zhang, M., Li, C. L., Ding, X. L. Effects of heating conditions on the thermal denaturation of white mushroom suitable for dehydration [J]. Drying Technology, 2005, 23 (5): 1119 - 1125.
6. Hu, Q. G.; Zhang, M.; Mujumdar, A. S., et al. Effects of different drying methods on the quality changes of granular edamame [J]. Drying Technology, 2006, 24 (3): 1025 - 1032.
7. Drouzas, A. E., Schubert, H. Microwave application in vacuum drying of fruits [J]. Journal of Food Engineering, 1996, 28: 203 - 209.
8. Hu, Q. G.; Zhang, M.; Mujumdar, A. S., et al. Drying of edamames by

hot air and vacuum microwave combination [J]. *Journal of Food Engineering*, 2006, 77 (4), 977 – 982.

9. Lin, T. M. , Durance, T. D. , Scaman, C. H. Characterization of vacuum microwave, air and freeze – dried carrot slices [J]. *Food Research International*, 1998, 31:111 – 117.

10. 许韩山,张慇,孙东风,等. 真空冷冻干燥在食品中的应用[J]. *干燥技术与设备*, 2008, 6(2): 35 – 37.

11. Potter, N. N. , Hotchkiss, J. H. *Food Science* [M]. Peking: China Light Industry Press, 2001.

12. Jiang, H. , Zhang, M. , Mujumdar, A. S. , et al. Comparison of the effect of microwave freeze drying and microwave vacuum drying upon the process and quality characteristics of potato banana re – structured chips [J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2010, doi:10. 1111/j. 1365 – 2621. 2010. 02523. x.

13. Jiang, H. , Zhang, M. , Mujumdar, A. S. Physico – chemical changes during different stages of MFD/FD banana chips [J]. *Journal of Food Engineering*, 2010, 101:140 – 145.

14. Zhang, M. , Jiang, H. , Lim, R. X. Recent developments in microwave – assisted drying of vegetables, fruits, and aquatic products—drying kinetics and quality considerations [J]. *Drying Technology*, 2010, 28: 1307 – 1316.

15. Duan X, Zhang M, Mujumdar A S, et al. Microwave freeze drying of sea cucumber (*Stichopus japonicus*) [J]. *Journal of Food Engineering*, 2010, 96: 491 – 497.

16. Duan, X, Zhang M, Mujumdar A S. Studies on the microwave freeze drying technique and sterilization characteristics of cabbage [J]. *Drying Technology*, 2007, 25(10): 1725 – 1731.

17. Duan X, Zhang M, Li XL, et al. Microwave freeze drying of sea cucumber coated with nanoscale silver [J]. *Drying Technology*, 2008, 26(4): 413 – 419.

18. Duan X, Zhang M, Li XL, et al. Ultrasonically enhanced osmotic pretreatment of sea cucumber prior to microwave freeze drying [J]. *Drying Technology*, 2008, 26(4): 420 – 426.

19. Wang R, Zhang M, Mujumdar A S. Effect of food ingredient on microwave freeze drying of instant vegetable soup [J]. *LWT – Food Science and Technology*, 2010, 43:1144 – 1150.

20. Wang Y C, Zhang M, Mujumdar A S, et al. Effect of blanching on micro-

wave freeze drying of stem lettuce cubes in a circular conduit drying chamber[J]. Journal of Food Engineering, 2012, 113:177 – 185.

21. Woo, M. W. , Mujumdar, A. S. Effects of electric and magnetic field on freezing and possible relevance in freeze drying [J]. Drying Technology, 2010, 28 (4) : 433 – 443.

22. Yan, W. Q. , Zhang, M. , Huang, L. L. , et al. Study on optimization of puffing characteristics of potato cubes by spouted bed drying enhanced with microwave [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90 (8) :1300 – 1307.

23. Yan, W. Q. , Zhang, M. , Huang, L. L. , et al. Studies on different combined microwave – drying of carrot pieces [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2010, 45: 2141 – 2148.

24. Cui, Z. W. , Xu, S. Y. , Sun, D. – W. Effect of microwave – vacuum drying on the carotenoids retention of carrot slices and chlorophyll retention of Chinese chive leaves [J]. Drying Technology, 2004, 22(3) : 561 – 574.

25. Clary, C. D. , Mejia – Meza, E. , Wang, S. , et al. Improving Grape Quality Using Microwave Vacuum Drying Associated with Temperature Control[J]. Journal of Food Science, 2007, 72: E23 – 28.

26. 张懋,王玉川. 一种负压微波均匀化喷动干燥装置及应用. 中国专利, 专利号:ZL 2010 1 0572843.0.

27. Cui, Z. W. , Xu, S. Y. , Sun, D. W. Microwave – vacuum drying kinetics of carrot slices [J]. Journal of Food Engineering, 2004, 65 (2) :157 – 164.

28. Ressing, H. , Ressing, M. , Durance, T. Modeling the mechanisms of dough puffing during vacuum microwave drying using the finite element method [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 82: 498 – 508.

29. Wang, Z. H. , Shi, M. H. Microwave freeze drying characteristics of beef [J]. Drying Technology, 1999, 17 (3) : 433 – 447.

30. Wang, Z. H. , Shi, M. H. Effects of heating methods on vacuum freeze drying [J]. Drying Technology, 1997, 15 (2) :1475 – 1498.

31. Wang, Z. H. , Shi, M. H. The effects of sublimation – condensation region on heat and mass transfer during microwave freeze drying [J]. Journal of Heat Transfer, 1998, 120: 654 – 661.

32. Tao, Z. , Wu, H. W. , Chen, G. H. , et al. Numerical simulation of conjugate heat and mass transfer process within cylindrical porous media with cylindrical dielectric cores in microwave freeze – drying[J]. International Journal of Heat and

Mass Transfer, 2005, 48: 561 – 572.

33. Wang, W. , Chen, G. H. Heat and mass transfer model of dielectric material – assisted microwave freeze – drying of skim milk with hygroscopic effect [J]. Chemical Engineering Science, 2005, 60: 6542 – 6550.

34. Sunderland, J. E. Microwave freeze drying [J]. Journal of Food Process Engineering, 1980, 4:195 – 212.



张懋 1962 年 10 月生,现任江南大学食品学院教授、博士生导师,兼任食品资源开发与综合利用研究中心主任。2004 年入选首批“新世纪百千万人才工程”国家级人选,2006 年享受国务院政府特殊津贴,2007 年起担任 2 个 SCI 学术刊物 (*Journal of Food Engineering*, 2011 IF2.414; *Drying Technology*, 2011 IF2.084) 的编委。近年来积极推动生鲜食品加工和保鲜新技术的产业化,与多家国内企业建立了稳定的产学研机制,为企业带来了显著的经济效益。已

在国家级出版社出版专著 12 本,以责任作者在国际食品类 SCI 刊物上发表了 137 篇论文,与企业联合申报了 118 个国家发明专利(78 个已获授权)。主持的十多个项目获江苏省、中国轻工业联合会、教育部、中国食品工业协会、中国商业联合会等部门的科技奖励。

附录

主要参会人员名单

姓名	单位	职务/职称
陈克复	华南理工大学	院士
白玉良	中国工程院	秘书长
孙宝国	北京工商大学	院士
石碧	四川大学	院士
瞿金平	华南理工大学	院士
周翔	东华大学	院士
孙晋良	上海大学	院士
阮宝君	中国工程院	学部二局副局长
刘静	中国工程院	学术与出版办公室处长
张健	中国工程院	环境与轻纺学部
刘源	中国工程院	综合处
黄永	中国工程院	环境与轻纺学部
田晓俊	轻工科技发展促进会	轻工发展促进会秘书长
徐宝财	北京工商大学	教授
周雅文	北京工商大学	副教授
韩富	北京工商大学	副教授
陈洪章	中国科学院过程工程研究所	研究员
陈坚	江南大学	校长/教授
董晋湘	太原理工大学	教授
金凤燮	大连工业大学	教授
金征宇	江南大学	副校长/教授
李里特	中国农业大学	教授
马建中	陕西科技大学	副校长/教授
邱学青	华南理工大学	副校长/教授
孙润仓	华南理工大学	教授
万金泉	华南理工大学	教育部重点实验室副主任/教授

续表

姓名	单位	职务/职称
王昌禄	天津科技大学	教授
吴清平	广东微生物研究所	所长/教授
姚献平	杭州市化工研究院	教授
张辉	南京林业大学	教授
赵杰文	江苏大学	教授
赵谋明	华南理工大学	教授
叶红波	北京工商大学	编辑
李宁	北京工商大学	编辑
程云辉	长沙理工大学	院长/教授
朱蓓薇	大连工业大学	教授
安庆大	大连工业大学	副校长/教授
周景辉	大连工业大学	教授
李高阳	湖南省农产品加工研究所	所长
单杨	湖南省农科院	副院长/教授
赵黎明	华东理工大学	教授
刘德桃	华南理工大学	助理研究员
钱勇	华南理工大学	博士
王斌	华南理工大学	博士
余梦娇	华南理工大学	硕士
韩迎迎	华南理工大学	硕士
鲁礼成	华南理工大学	硕士
夏锬峰	华南理工大学	硕士
关泽宇	华南理工大学	博士
欧阳新平	华南理工大学	教授
邹浩	华南理工大学轻工食品学院	书记
尤鹏	青岛科技大学	副教授
郑利强	山东大学	教授

续表

姓名	单位	职务/职称
陈嘉川	山东轻工业学院	校长/教授
刘玉	山东轻工业学院	教授
王强	山东轻工业学院	讲师
韩文佳	山东轻工业学院	讲师
赵传山	山东轻工业学院	教授
乔军	山东太阳纸业有限公司	副总工
张越	山西大学化学化工学院	副院长
徐群娜	陕西科技大学	研究生
侯雪艳	陕西科技大学	研究生
杨冬	陕西科技大学	研究生
范浩军	四川大学	教授
杨坡	四川大学	博士后
侯庆喜	天津科技大学	教授
刘苇	天津科技大学	博士
高欢泉	西安开米有限公司	研发主任/工程师
查青青	西安开米有限公司	
叶凯	新疆农业科学院生物质能源研究所	所长
王军	郑州轻工业学院	教授
王岚	中国科学院过程工程研究所	助研
马艳莉	中国农业大学	研究生
陈浩	中国农业大学	研究生
刘海杰	中国农业大学	教授
邱爽	中国农业大学	研究生
刘瑞	中国农业大学	研究生
殷丽君	中国农业大学	教授
尹国强	仲恺农业工程学院化学化工学院	院长
吴葵	广东微生物研究所	博士

续表

姓名	单位	职务/职称
陈谋通	广东微生物研究所	博士
叶青华	广东微生物研究所	博士
韦献虎	广东微生物研究所	硕士
薛亮	广东微生物研究所	博士
张菊梅	广东微生物研究所	研究员
李良秋	广东微生物研究所	高工
马连营	广东微生物研究所	高工
朱文远	南京林业大学	教师
邹小波	江苏大学	教授
石吉勇	江苏大学	博士
薛国新	浙江理工大学	教授
丁凤美	东华大学	教师
冯光炷	仲恺农业工程学院化学化工学院	教授
张慇	江南大学	教授
王兴国	江南大学	教授
陈正行	江南大学	教授
石贵阳	江南大学	教授
詹晓北	江南大学	教授
顾正彪	江南大学	教授
江波	江南大学	教授
陆健	江南大学	教授
阮文权	江南大学	教授

后 记

科学技术是第一生产力。纵观历史,人类文明的每一次进步都是由重大科学发现和技术革命所引领和支撑的。进入 21 世纪,科学技术日益成为经济社会发展的主要驱动力。我们国家的发展必须以科学发展为主题,以加快转变经济发展方式为主线。而实现科学发展、加快转变经济发展方式,最根本的是要依靠科技的力量,最关键的是要大幅提高自主创新能力。党的十八大报告特别强调,科技创新是提高社会生产力和综合国力的重要支撑,必须摆在国家发展全局的核心位置,提出了实施“创新驱动发展战略”。

面对未来发展之重任,中国工程院将进一步加强国家工程科技思想库的建设,充分发挥院士和优秀专家的集体智慧,以前瞻性、战略性、宏观性思维开展学术交流与研讨,为国家战略决策提供科学思想和系统方案,以科学咨询支持科学决策,以科学决策引领科学发展。

工程院历来重视对前沿热点问题的研究及其与工程实践应用的结合。自 2000 年元月,中国工程院创办了中国工程科技论坛,旨在搭建学术性交流平台,组织院士专家就工程科技领域的热点、难点、重点问题聚而论道。十年来,中国工程科技论坛以灵活多样的组织形式、和谐宽松的学术氛围,打造了一个百花齐放、百家争鸣的学术交流平台,在活跃学术思想、引领学科发展、服务科学决策等方面发挥着积极作用。

至 2011 年,中国工程科技论坛经过百余场的淬炼,已成为中国工程院乃至中国工程科技界的品牌学术活动。中国工程院学术与出版委员会今后将论坛有关报告汇编成书陆续出版,愿以此为实现美丽中国的永续发展贡献出自己的力量。

中国工程院

郑重声明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其行为人将承担相应的民事责任和行政责任；构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人进行严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话 （010）58581897 58582371 58581879

反盗版举报传真 （010）82086060

反盗版举报邮箱 dd@hep.com.cn

通信地址 北京市西城区德外大街4号 高等教育出版社法务部

邮政编码 100120