

1959年甘蔗綜合利用四川省內江現場會議資料

用廢糖蜜制造檸檬酸、丁醇、
丙酮、干酵母

輕工业出版社編輯

輕工业出版社

1959年·北京

內 容 介 紹

檸檬酸、丁醇、丙酮及干酵母等產品都可以利用制糖廠的廢糖蜜來制取。它們在油漆醫藥及食品等工業上都是很重要的原料。目前已有一部分工廠投入生產。

四川省茂市糖廠以廢糖蜜為原料，用土設備、土辦法生產檸檬酸已獲得成功。該廠在糖蜜二次澄清處理、採取新鮮黑黴芽孢接種、用甘薯粉紙皮固體培養基等方面做出了一些成績。四川茂市糖廠用廢糖蜜制干酵母及佳木斯友誼糖廠用廢糖蜜制丙酮、丁醇也都獲得了一些經驗，並已投入生產。本書是介紹茂市、友誼糖廠用廢糖蜜製造檸檬酸、丁醇、丙酮、干酵母的技術經驗。並有內江專區工業局編的“日產30公斤檸檬酸工廠簡明設計”。可供制糖工廠綜合利用廢糖蜜制檸檬酸、丁醇、丙酮、干酵母的工作人員閱讀。

1959年甘蔗綜合利用四川省內江現場會議資料
用廢糖蜜製造檸檬酸、丁醇、丙酮、干酵母
輕工業出版社編輯

輕工業出版社出版

(北京市廣安門內白廣路)

北京市書刊出版業營業許可證出字第099號

輕工業出版社印刷廠印刷

新華書店發行

37×1092公厘 1/32.1 $\frac{10}{82}$ 印張·28,000字

1959年4月 第1版

1959年4月北京第1次印刷

印 數：1—3,000 定 價：(10)0.21元

統一書號：15948·678

目 录

檸檬酸試制情况 介紹	四川茂市糖厂...(4)
日產30公斤檸檬酸工厂簡明設計	四川省內江专区工业局...(18)
从廢蜜中制取丁醇、丙酮	佳木斯友誼糖厂...(24)
用廢糖蜜試制干酵母經驗 介紹	四川茂市糖厂...(33)

檸檬酸試制情况介紹

四川茂市糖厂

一、前 言

檸檬酸学名 3-羟基 3-羧基戊二酸(1,5)亦名枸橼酸($C_5H_8O_7$ (OH) (COOH)₃)，純粹的檸檬酸为无色无臭的透明結晶体或白色結晶粉末是重要的化学工业原料之一，可作电镀、可塑料、印染、防火及防水塗料等及食品工业清凉飲料、罐頭、医疗葯剂。以往多从果汁中提取，現代工业大規模制造已不采用此法，皆以淀粉、糖蜜为原料，作淺盘或深层发酵。深层发酵在苏联已試驗成功。国内仅天津化学原料制葯厂以淺盘发酵生产檸檬酸，产量小，远远不能满足全国需要。

随着祖国工农业生产的大跃进，內江专区所属糖厂掀起了大鬧技术革命大搞綜合利用的新高潮，专区工业局於1958年8月組織四人前往天津化学原料制葯厂学习制造檸檬酸。經過一月多的学习，对檸檬酸的生产过程有了初步了解，10月份在茂市糖厂开始試制工作。在上級党委的領導下，在厂党委教育下，打破了畏难情緒，破除迷信，解放了思想，用土办法，制出了檸檬酸。其含酸量达到99.8%，并将逐步实现日产两公斤正常的生产。

二、試 制 經 过

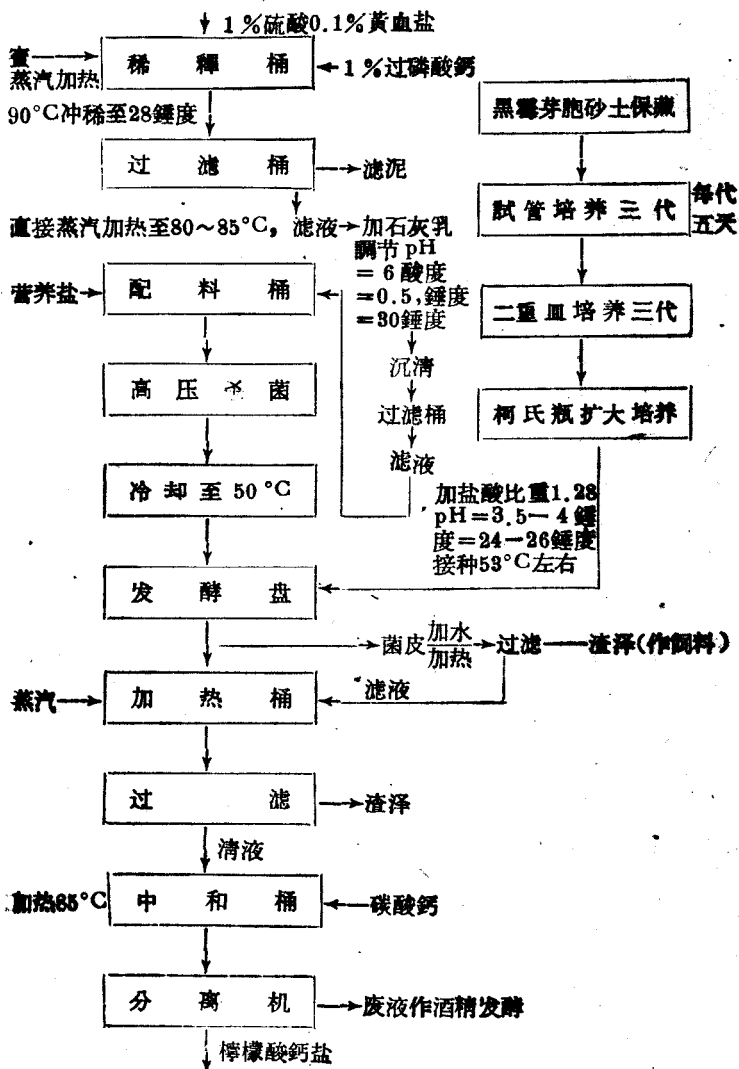
我們接受任务以后，当时信心是不大的，認為天津厂設備那样好技术力量强，生产都不正常，我們一样設備都沒有怎样搞得出来呢？抱着做試驗的态度，在試驗室作小型試驗。开始怕感染杂菌，就在一木制保温箱內，放小瓷盘進行发酵。經過四次发酵黑霉不发酵，考虑可能是通风問題，於是將木箱打开讓其自然通风，結果黑霉生长正常。这次发酵成功，增強了我們的信心，在党委的支持下，我們扩大了試制。

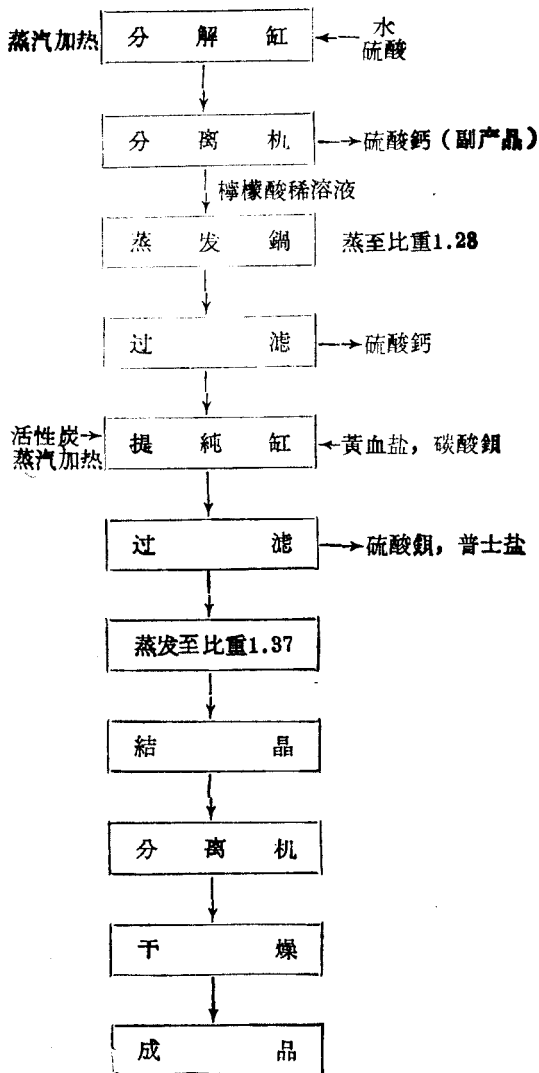
11月份將小木盘（漆好的）放於小屋內進行发酵既无通风設備又无蒸汽保温，於是我們采用火爐保温，用蒸汽冷凝水洒在屋內調湿。在空气沒有杀菌，而煤烟很重的小屋內发酵还很正常，未发现杂菌。一般接种24小时后就開始长白点，48小时菌皮长滿。生酸情况較好，甘薯粉生酸一般为1:8 酸度为10毫升（1毫升发酵液耗0.1N.NaOH毫升数）产酸率为25%左右（发酵液內檸檬酸克/全糖粉），糖蜜为1:10酸度为12毫升。产酸率为31.60%左右，完全証明用土办法可以生产檸檬酸。

发酵成功后，接着就是提純，在提純中我們无真空蒸发，就采用水浴鍋蒸发去鉄和硫酸根。成品質量逐步提高，成品含酸量达到99.8%

在試制成功的基础上，進行小型生产，要求从日产两公斤开始，逐步扩大。12月31日已产出檸檬酸1公斤多。

三、生产工艺流程





四、芽胞培养

黑霉芽胞种子的制备在檸檬酸生产上，極為重要。因为孢子生活力的强弱。会影响发酵时发芽的速度和生酸力的高低，故对黑霉芽胞，主要是培养生酸活力高、数量多的芽胞以供发酵接种，以在发酵时順利的進行生产檸檬酸。

在黑霉芽胞培养方面以三种培养基進行培养：1.原种培养基，用琼脂合成培养基，专门作原种培养，2.固体培养基（甘薯粉，夫皮培养基）3.麦芽汁培养基。以2、3种培养的菌种投入生产。全部用鮮孢子（因为根据天津药厂制檸檬酸在使用於孢子时若溫度控制不恰当，投入菌种发酵时全部不发芽，所以我們全部用鮮孢子）。

在芽胞培养过程中，曾作生酸試驗，以比較用琼脂合成培养基及固体培养基的黑霉芽胞生酸活力的强弱。用琼脂合成培养基培养的芽胞含酸量在8%左右，固体培养基培养的芽胞含酸量在6~7%。从含酸量上看是固体培养基培养的較低，但从外观上看，固体培养基培养的芽胞生长旺盛而顆粒均匀，投入生产时发酵情况亦較好。

（一）培养基的制备

1. 原种培养基的制备（琼脂合成培养基）

（1）成分（以配100毫升为基准）

蔗糖	7克，
洋菜	2克，
硝酸鉍 (NH_4NO_3)	0.25克
硫酸鎂	0.025克
磷酸二氢鉀 (KH_2PO_4)	0.1克
檸檬酸 ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)	3克
1N 盐酸	0.3毫升
蒸餾水	加到100毫升

(2) 操作方法

甲、称取琼脂以溫水洗2次后放入三角瓶中。再称取蔗糖，加水60毫升，溶解后滤去杂质。再称硝酸铵、硫酸镁、磷酸二氢钾，溶于10毫升水中，倾入蔗糖液中混合后倒入三角瓶中。

三角瓶中塞上棉塞以直火煮沸15分鐘，自然冷却至摄氏50~60度备用。

乙、柠檬酸於小三角瓶中，加30毫升水以及1N盐酸0.3毫升。塞上棉塞，用直接用火煮沸15分鐘。

将甲乙二項溶液於接种室无菌箱中混合，分装於二重皿和試管中（大皿装25毫升，小皿装20毫升，試管8~10毫升），作成平面及斜面，待凝固后放入保温箱中备接种培养用。

2. 甘薯粉、麸皮培养基（固体培养基）

(1) 成分（以配150毫升为基准）

甘薯粉	100克	麸皮	14克
硝酸铵	0.68克	硫酸镁	0.068克
磷酸二氢钾	0.27克	檸檬酸	1克（或不加）
1N 盐酸	0.4毫升		

(2) 操作方法

称好甘薯粉，麸皮加入已溶解的营养盐，混合均匀，倒入二重皿或柯氏瓶中。平放於高压灭菌罐灭菌時間40分鐘，15磅/平方吋。冷至27~30度接种。

3. 麦芽汁培养基的制备

(1) 糖化 取甘薯粉500克，加水4,500毫升，調勻。於直火上糊化成粘稠状。慢慢加入湿麦芽150~200克（按麦芽好坏而定，必先冲烂用水和勻），并搅拌均匀。溫度保持在摄氏55~60度，保持2.5~4小时。以碘液檢查不生藍色时为糖化完全。

(2) 糖化后之麦芽汁煮沸过滤，調正濃度在13~14錘度。用常压灭菌两次，使其清晰后加入营养盐，分装於大三角

瓶中（每瓶裝800毫升），再用高压灭菌40分鐘冷却至32~35度
备接种。

（3） 营养盐之配量（以1,000毫升麦芽汁計算

硝酸銨1.25克、硫酸0.125克

磷酸二氢鉀0.5克、檸檬酸10克

1N 盐酸 3 毫升

（二） 接种培养

將制备好的培养基放於无菌接种箱，將黑霉芽胞(ASP NiG-ER87号，大洋种)，砂土培养种挑取适量接於試管培养基上，於保温箱中恒温摄氏28~30度培养5~8天。培养3代后（每移置一次算一代）接种於二重皿合成培养基，再一代后接入固体培养基或麦芽汁培养基，保温摄氏30度，培养4~5天，即可投入生产。

（三） 芽胞質量檢查

为了确定芽胞的生酸力強弱，使其在发酵过程中的生物變量减少到最小的限度，而达到发酵优良和生酸量高有必要進行芽胞質量的檢查。

1. 芽胞質量檢查培养液的制备

將甘薯粉糖化液（或白糖15%）調至14錘度（含糖10~12%），每100毫升加硝酸銨0.2克，硫酸鎂0.023克、磷酸二氢鉀0.1克、工业盐酸0.2毫升，分裝於250毫升三角瓶中，每瓶裝50毫升。塞好棉塞，於高压灭菌罐中灭菌后备用。

2. 操作

將被檢查的菌种接於上項三角瓶中，於摄氏30~32度的保温箱中培养至5~6天，則進行滴酸，直至滴酸不再生长为止。

芽胞培养首先要做到无菌。

計算其总酸量和檸檬酸轉化率

总酸轉化效率 = 滴定酸量 $\times$ 0.007 $\div$ 投入糖量

(四) 芽胞培养灭菌

芽胞培养要做到无菌必須做好灭菌工作

1. 芽胞培养室每日必須灭菌一次。灭菌用硫磺燻。若牆壁有长杂菌現象，則需用10%漂白粉水溶液灭菌一次，再用硫磺灭菌。

2. 烘干后之試管、三角瓶、柯氏瓶塞好棉塞，二重皿用紙包好，放於干热灭菌箱進行灭菌（后溫度控制在摄氏150度）后始可使用。

3. 麦芽汁培养盘用清水洗淨，再用硫磺燻一小时备用。

4. 接种前用煤粉皂1%溶液洗手，換无菌衣、鞋，帶口罩。

5. 接种后在无菌室及无菌箱噴射酒精。

6. 每星期作二次室内无菌檢查。

(五) 芽胞培养注意事項

1. 選擇生酸力强生长旺盛，顆粒均匀、黑大，无杂菌的進行培养。

2. 保持室内清淨无杂菌。

3. 保温桶溫度經常檢查，使合乎規定溫度。

4. 接种針每次必須燒紅，在培养基房冷却后進行接种。

(六) 培养設備

木制保温箱一个。接种箱一个。无菌室系磚牆塗石灰。二重皿100个，柯氏瓶10个。接种針2支。

五、原料处理

(一) 糖蜜处理

取糖蜜用直接蒸汽加热，冲至40~45度加入1%硫酸（比

重1.8)，加热一小时，加黄血盐0.1%（黄血盐溶於水加入），用直接蒸汽加热至摄氏90度，保持一小时加1%过磷酸钙溶液（将过磷酸钙加水煮沸），静置16~24小时。次日过滤，滤液酸碱值为4。用直接蒸汽加热至摄氏60度，加入石灰乳液至滴酸为0.5（1毫升糖液耗氢氧成钠毫升数）。再加入0.5%过磷酸钙，加热至摄氏80~85度，保持半小时。静置8~10小时过滤，滤液加盐酸（比重1.28），调整酸碱值至3.5~4，糖液浓度24~26锤度，加入所规定的营养盐。置於高压杀菌罐以15磅/每平方吋压力杀菌40分钟。待糖液冷至摄氏60度装入盘内。在摄氏32~35度时接入黑霉菌种。

（二）甘薯粉处理

称取甘薯粉3公斤於漏罐内，加水7,000毫升（约12波美），加入50毫升粗硫酸搅拌均匀，放入高压杀菌罐中糖化2小时半。乘热加石灰乳中和，至酸碱值5~6，过滤。调整滤液浓度至20锤度（糖粉10~15%）加入营养盐，分装於漏罐内，在高压杀菌罐杀菌40分钟。至摄氏50度左右倒入已消毒杀菌之发酵盘内冷至摄氏35度左右接入菌种。

（三）营养盐加入量

硝酸铵206克/100升

硫酸镁10克/100升

磷酸氢钾31.28克/100升

柠檬酸50克/100升

六、发 酵

柠檬酸制造是以酯类经黑霉菌（ASP Ni GER）的作用发酵而制造成柠檬酸，同时产生二氧化碳。黑霉菌为好气菌，在发酵时需要大量的氧气，以供其生长。同时黑霉菌发酵的优良与否与氢离子浓度有很大关系。一般酸碱值低可促进柠檬酸的生成，减少杀菌感染，故在供给糖量时应适当调节糖液的酸

碱值以适合菌类发酵需要。温度亦应适当调整，以适合霉菌生长。发酵液层适当，变酸较速。檸檬酸发酵有深层发酵，浅盘发酵，固体发酵，而我厂正进行浅盘发酵的中型生产，和深层发酵的试验工作。

(一) 发酵设备

我们发酵室，系用三间砖墙涂灰浆小屋（每间 17m^2 ）、内安木架4个，每个可放发酵盘16个。盘系木制用衬皮纸涂黑漆，每盘可盛发酵液30升（容积为 $0.9 \times 0.7 \times 0.06\text{M}$ ）。室内保温用直径25毫米的铁管环绕屋子四周，通入蒸汽进行保温。

(二) 发酵操作

1. 发酵室的清洁工作

发酵室必须作到无菌，保证在发酵时发酵液不受杂菌感染。每次投料前和除料后将发酵盘及发酵室清洗干净，门窗木架亦用废水洗净，再用10%漂白粉液洒洗后关闭门窗。将木盘放於木架上用硫磺灭菌8小时。使剩余之二氧化硫气体逸出，然后打开蒸汽阀，和废水阀。在投料前用5%甲醛擦洗发酵盘，用蒸馏水冲洗再用消毒酒精擦净。进入发酵室工作人员必须穿无菌衣鞋，戴口罩，并用消毒酒精擦手和玻棒。接种用二重皿必先用消毒酒精擦四周，始能进行接种。

2. 发酵室的管理工作及接种

将欲投料的糖液分装入各盘（塞紧木塞，检查不漏），大盘装30升，小盘装3升。当温度冷到摄氏 $32 \sim 35$ 度时进行接种。接种用菌种应选择生长旺盛、颗粒均匀黑大之菌种投入。每大盘用2~3个二重皿，小盘用1~2个二重皿。接种时系将白金针在酒精火焰上烧红，冷却后将孢子刮入盘内再以消毒玻棒搅拌使芽胞均匀分布盘内。

发酵温度在接种后1至2天保持摄氏 $30 \sim 32$ 度4天以后保

持摄氏28~30度，因温度太高容易生草酸，在菌膜长满后降低温度可使生酸量提高。湿度保持在85%左右，每2小时洒1次蒸馏水（调节湿度）每班检查4次并记录发酵生长情况。发酵周期较长，以糖蜜为原料一般为12~15天，甘薯粉为10天左右。

3. 发酵时的一般情况

当糖蜜和甘薯粉发酵接种8小时后长白色菌丝。24~32小时菌膜全部长满。第四日即长孢子。蔗汁发酵则生长快，于16小时全部长满菌膜。投料后第五日或孢子生长时即可开始检查生酸情况，至酸量不再增加时即可出盘。测量发酵容积及每盘含酸量，以计算总酸产率。

发酵液酸量的滴定

每次吸取发酵液1毫升，以0.1N氢氧化钠滴定，酚酞为指示剂。

按下式计算

$$\text{毫升NaOH} = \frac{210.08}{30} = 7.003 \text{ 毫克柠檬酸 (柠檬酸的毫克分子量为210.08, 毫克相当于3毫克当量的NaOH, 即30毫升0.1N的NaOH溶液)}.$$

$$\text{一毫升N/10NaOH} = 7.003 \text{ 毫克柠檬酸}$$

七、提 純

(一) 中和

发酵液内除含柠檬酸外尚有許多有机物及无机盐。先经加热煮沸杀死残留于液中之黑霉菌，过滤除去蛋白質孢子菌丝等杂菌。加碳酸鈣中和，过滤得白色柠檬酸鈣沉淀。

$$\text{檸檬酸量} = \text{发酵液体積} \times \text{NaOH 濃度} \times \text{耗NaOH 毫升} \times 0.007$$

碳酸鈣 = 檸檬酸量 $\times$ 0.78

發酵液出盤後量其容量，於木桶內混合均勻，取1毫升溶液於三角瓶內，加20~30毫升蒸餾水，用0.1N氫氧化鈉溶液滴定，以酚酞為指示劑，滴至微紅色記下所用氫氧化鈉毫升數，根據此類計算檸檬酸量及加入碳酸鈣量。將混合後之發酵液用蒸汽煮沸，過濾清液用蒸汽加熱至攝氏85~90度，緩緩加入計算量之碳酸鈣乳狀液（1:1），邊加入邊攪拌。加完後繼續加熱半小時，並攪拌。靜置後過濾。濾液滴酸不得超過1:0.4。沉淀即為檸檬酸鈣。用攝氏85~95度熱水洗滌數次至洗液內不含糖分為止。（微糖分檢驗方法——取溶液5毫升，加鹽酸二滴，加4%鉍酸鉍1毫放入沸水浴中加熱5分鐘若顯藍色則有糖）。

（二） 分解

用硫酸分解檸檬酸鈣，生成硫酸鈣檸檬酸。硫酸用量為檸檬酸重的0.59倍，檸檬酸鈣重為檸檬酸重的1.3倍。

將檸檬酸鈣加三倍水配成乳狀，加熱至攝氏85~90度，緩緩加入計算量的硫酸（1:1），邊加邊攪拌，加完後靜置2~8小時，使硫酸鈣充分沉淀，過濾清液即為檸檬酸稀溶液。

分解是否完全可進行檢查。取溶液少許過濾於二試管中，一管加10%硫酸數滴，一管加10%氯化鈣溶液，應無沉淀生成，加熱煮沸後仍無沉淀。冷後各加酒精數滴，加氯化鈣一管應比加硫酸一管混濁即證明分解完全硫酸亦不過量。

（三） 提純結晶

分解後之檸檬酸用真空減壓蒸發，或水浴上濃縮至比重達1.28。過濾除去硫酸鈣。檢查清液含鐵及硫酸根情況，若有則加有熱至攝氏85度時加20%黃血鹽溶液去鐵，加30%碳酸鋁乳狀液去硫酸根。

其液用活性炭多次脫色，使檸檬酸清徹透明，濃縮至比重

为1.87冷却结晶。分离出结晶，在摄氏32~35度低温下干燥8小时即为成品。

铁和硫酸根是否除尽的检查方法：

1. 取滤液於二試管中，一管加数滴10%黄血盐，一管加10%氯化铁溶液，两管都无兰色則証明无铁也无过量的黄血盐。

2. 取滤液於二試管中，一管加数滴10%二氯化鋇、一管加10%硫酸，都无白色沉淀証明无硫酸根及过量的碳酸鋇。

(四) 注意事項

1. 碳酸鈣加量过多不仅分解时多耗硫酸，而且发酵液內之殘糖等物不易洗滌。加酸中和时有大量二氧化碳产生应不断攪拌。

2. 檸檬酸鈣在热水中溶解度較冷水中小，故需用热水洗滌沉淀。

3. 配制1:1硫酸时应先在缸內放入冷水再緩緩加入濃硫酸。若温度过高，可以冷后再加。

4. 分解时若混合氯离子，則与鈣离子生成氯化鈣，溶於檸檬酸中，以后精制困难。除硫酸根及蒸发时温度过高檸檬酸易分解，温度太低作用不完全。

5. 去三价铁时若温度过高黄血盐易变成高铁盐。若加过量，待濃縮时遇見三价铁即产生普魯士藍。

6. 普魯士藍之生成应在适当酸度下進行，若酸性太强沉淀会溶解，加入試剂太多也会溶解。

7. 蒸发时不可太濃，会在结晶时先失去原有结晶水造成成品不合格。

8. 结晶时若降温过快，易生成小晶，分离困难。若不攪拌又容易結成块状使成品顆粒大小不均。

9. 提純过程中設備不能用鉄的否則去鉄很困難，可采用木桶、陶瓷等，蒸发罐可用搪玻璃的。

10. 干燥时需严格控制温湿度。温度过高易分解，湿度过大易潮解。

八、問題探討

(一) 芽胞培养用培养基系采用固体培养基和琼脂培养基、麦芽汁培养基三种，从試驗中生酸力比較，固体培养基培养芽胞含酸量在6~7%，琼脂培养基培养芽胞含酸量为8%，但二者在投入生产时，固体培养基培养芽胞发酵情况較好，黑霉芽胞生长旺盛顆粒黑而均匀，又可节约琼脂，使用又較方便，这是值得研究使用的。

(二) 发酵用干孢子是可以节约設備，但是干燥时条件不恰当对黑霉芽胞生长力受到影响，发芽力衰退，影响发酵。在我們中型試制中全部用二重皿的鮮孢子时，甘薯粉及糖蜜发酵生长都正常（感染杂菌者例外），在設備方面只需增加二重皿，对发酵又有保証。

(三) 利用糖蜜为原料制檸檬酸，含酸量在比較正常情況下是12~14%，都較高。但若原料处理时条件不恰当，則不发酵而生长酵母，产生酒精；主要是糖液中有害杂质阻碍黑霉菌的生长，故糖蜜制檸檬酸主要应做到糖蜜的彻底沉清，除尽杂质。在我們試驗中糖蜜处理用黄血盐处理沉清石灰交互沉淀法調整酸碱值3.5~4，滴酸在1左右（滴酸以耗0.1N. 氫氧化鈉毫升数計），糖液色澤黃橙透明，发酵情况良好。

(四) 檸檬酸制造时用糖蜜发酵后已产酸的菌皮，除去发酵液仍可利用原菌皮，再加入灭菌后的糖液，經发酵9日左右仍可产檸檬酸，含酸量达到8~9%。但是重复使用的菌皮必須不感染杂菌，重复使用菌皮可縮短发酵時間。