

生木薯淀粉直接发酵生产酒精的发酵条件研究

李志平¹, 庞宗文²

(广西综合设计院, 广西 南宁 530011; 广西大学生命科学与技术学院, 广西 南宁 530004)

摘要: 生淀粉分解酶的酶用量、料水比、酵母接种量、发酵时间是生淀粉直接发酵生产酒精的 4 大主要影响因素。通过单因素试验、正交试验, 得出生淀粉直接发酵生产酒精的最佳发酵条件为: 生淀粉分解酶的酶用量为 30 u/g 原料, 料水比为 1:4.5, 酵母接种量为 5%, 发酵时间为 4 d, 发酵生淀粉, 发酵成熟醪酒分为 7.04% (v/v), 发酵率为 78.38%。

关键词: 生淀粉; 发酵条件; 酒精; 生淀粉分解酶

中图分类号: TS262.2; TS261.4 文献标识码: A 文章编号: 1001-9286(2005)12-0057-03

Research on the Fermentation Conditions in Alcohol Production by Raw Cassava Starch

LI Zhi-ping and PANG Zong-wen²

1. Guangxi Institute of Architectural Design & Research, Nanning, Guangxi 530011; 2. College of Life Science and Technology, Guangxi University Nanning, Guangxi 530004, China

Abstract: The use level of decomposing enzyme, the ratio of starch and water, yeast inoculation quantity and fermentation time were the four major factors influencing alcohol production by direct fermentation of raw starch. The best fermentation conditions were summed up through single factor test and orthogonal test as follows: the use level of decomposing enzyme as 30 u/g, the ratio of starch and water as 1:4.5, yeast inoculation quantity as 5%, and 4 d fermentation time. The alcohol content of matured mash was 7.04% (v/v) and the fermenting rate was 78.38%. (Tran. by YUE Yang)

Key words: raw starch; fermentation conditions; alcohol; decomposing enzyme

以淀粉质为原料发酵生产酒精的传统工艺, 必须先通过高温高压蒸煮, 使淀粉糊化, 然后再进行糖化发酵, 蒸煮和蒸馏过程需要消耗大量的能源, 仅蒸煮的能耗就占了全部酒精发酵能耗的 30%~40%, 因此开发新的酒精发酵生产工艺, 进行无蒸煮发酵, 不但可以节省这部分能耗, 而且还可以节约冷却水, 减少投资, 提高生产力, 并减轻后处理的压力, 这样就可以大大降低生产成本, 收到明显的经济效益。国内外已有很多关于生淀粉酒精发酵方面的报道, 但由于生淀粉分解酶用量过大, 严重制约了生淀粉酒精发酵的工业化生产。

本课题组分离到多株产生淀粉分解酶能力较高的根霉^[1], 其中一株根霉能较好地与饲料酵母共同发酵生木薯渣生产单细胞蛋白^[2]。该菌能与酒精酵母共同发酵生木薯淀粉产酒精, 本文报道影响该菌与酒精酵母共同发酵生淀粉产酒精的主要因素, 以期将该菌应用于生

淀粉产酒精的发酵生产打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料

菌种: 根霉 *Rhizopus* sp. 2, 由本课题组分离筛选并保藏^[1]。酒精酵母 xy-3, 由本课题组分离筛选并保藏。

生木薯粉: 淀粉含量为 67.5%, 市售商品。

1.2 培养基

根霉生淀粉分解酶酶曲培养基: 木薯渣 11.9 g, 花生饼粉 2.4 g, 尿素 0.3 g, MgSO₄ 0.2 g, KH₂PO₄ 0.2 g, 自来水 18 mL, pH 4.5。

酵母培养基为: 葡萄糖 5 g, 酵母膏 0.5 g, 蛋白胨 0.5 g, 硫酸镁 0.05 g, 水 100 mL, pH 自然。

生淀粉酒精发酵的培养基为: 生木薯粉若干, 尿素 0.4 g, 磷酸 0.4 mL, 自来水 200 mL, pH 4.0。

收稿日期: 2005-08-16

作者简介: 李志平 (1964-), 男, 广西博白人, 高级工程师, 机械制造专业工学学士, 从事机械制造、轻工食品、制糖、酿酒、建材工艺的应用及研究工作。

1.3 根霉生淀粉分解酶酶曲制备

将根霉 *Rhizopus* sp.2 孢子接种于根霉生淀粉分解酶酶曲培养基中,于 30℃ 恒温培养箱中培养 24 h,此时培养基中已长满菌丝,扣瓶翻曲,继续培养至 72 h,即得到生淀粉分解酶酶曲。

1.4 酵母培养

将酒精酵母 xy-3 接种于酵母培养基中,于 30℃ 恒温摇床中 160 r/min 培养 18 h。

1.5 生木薯淀粉酒精发酵

将一定量的酵母培养液和生淀粉分解酶酶曲加入到生淀粉酒精发酵培养基中,30℃ 培养箱静止发酵,不时震荡,使酶与底物充分接触,发酵结束后,测定发酵液的酒精浓度。

1.6 生淀粉分解酶活力测定

生淀粉分解酶活力测定^[1]。酶活力单位定义:在 pH 3.6,40℃ 条件下,1 h 释放 1 mg 还原糖 (以葡萄糖计) 所需的酶量为一个酶活力单位。

1.7 酒精浓度测定

取 100 mL 发酵液于蒸馏瓶中,加 100 mL 蒸馏水,蒸馏出 100 mL 溶液,用酒精比重计测定溶液中的酒精浓度,用温度计测定酒液的温度,并将观测酒度换算为 20℃ 时的酒度。

1.8 发酵率计算

发酵率计算^[3]。

2 结果与讨论

2.1 酶用量对发酵的影响

按不同的酶量进行生淀粉酒精发酵试验,每瓶加 45 g 木薯粉,水 200 mL,尿素 0.4 g,磷酸 0.4 mL,调 pH 4.0,加入一定量的酶曲,接种 10 mL 酵母液,30℃ 培养箱中静止发酵 3 d 后,测定发酵液的酒精含量,计算发酵率,结果见图 1。

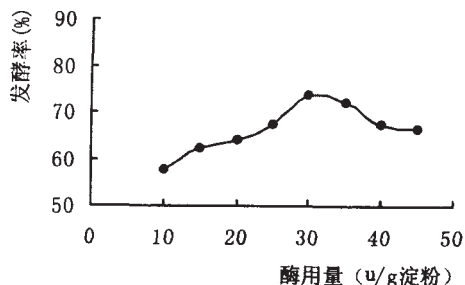


图 1 发酵液发酵率

如图 1 所示,加酶量在 30~35 u/g 原料时较合适,此时的发酵率较高,酶用量在 30 u/g 原料以下时发酵率偏低,超过 35 u/g 原料时发酵率有下降趋势,说明酶用量不是越多越好。这是由于生料发酵时,糖化和发酵同时

进行,若酶用量太少,则会导致淀粉糖化速度慢或糖化不完全,不利于发酵;若酶用量太多,则糖化速度大于发酵速度,过剩的葡萄糖有利于杂菌的生长,从而降低发酵率。另外,反应液中葡萄糖的浓度过高时,酶的活性会显著降低^[4]。

2.2 料水比对发酵的影响

每个发酵瓶中加入木薯粉 45 g,尿素 0.4 g,磷酸 0.4 mL,调 pH 4.0,酶用量 35 u/g 原料,接种 10 mL 酵母液,加入不同量的水,30℃ 培养箱中静止发酵 3 d 后,测定发酵液的酒精含量,计算发酵率,结果见图 2。

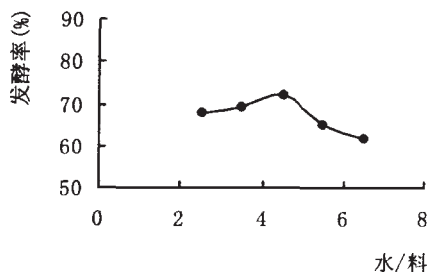


图 2 发酵液发酵率

由图 2 可见,料水比为 1:4.5 时,生淀粉酒精发酵的发酵率最高,太浓或太稀都会影响酒精的产量。这是由于生料发酵时,要求生淀粉分解酶以一定的浓度与物料充分接触,发酵液中的各种生化反应也要求在水中进行,水量过小,则反应缓慢,水量过多会稀释酶的浓度,而且增加了蒸馏的成本。对不同原料其最适加水量是不同的,本试验得出木薯粉的合适加水量为 1:4.5。

2.3 酵母接种量对发酵的影响

每个发酵瓶中加入木薯粉 45 g,尿素 0.4 g,磷酸 0.4 mL,水 200 mL,调 pH 4.0,酶用量 35 u/g 原料,酵母接种量分别为 2%、5%、10%、15% 和 20%,30℃ 培养箱中静止发酵 3 d 后,测定发酵液的酒精含量,计算发酵率,结果见图 3。

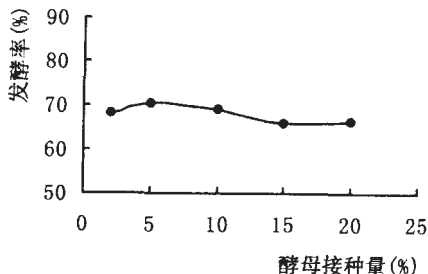


图 3 发酵液发酵率

由图 3 可知,酵母接种量为 5% 时发酵率最大,但不同酵母接种量的发酵率差别不大,说明酵母接种量对发酵的影响不大。随着接种量的加大,发酵率成下降趋势,也说明不是接种量越大发酵率越大。这是因为生料发酵时,糖化和发酵同时进行,若接种量过大,由于糖化

速度跟不上发酵速度,酵母则因为营养的缺乏而过早衰老,从而影响酒精发酵。

2.4 发酵时间对发酵的影响

每个发酵瓶中加入木薯粉 45 g, 尿素 0.4 g, 磷酸 0.4 mL, 水 200 mL, 调 pH 4.0, 酶用量 35 u/g 原料, 酵母接种量 10 mL, 30 ℃ 培养箱中静止发酵, 发酵时间分别为 1 d, 2 d, 3 d, 4 d 和 5 d, 发酵结束后测定发酵液的酒精含量, 计算发酵率, 结果见图 4。

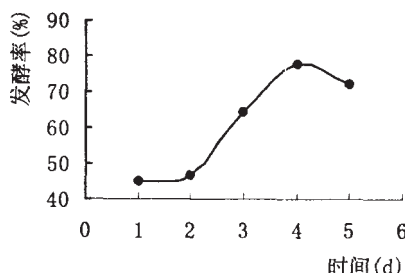


图 4 发酵液发酵率

如图 4 所示, 随着发酵时间的延长, 其发酵率增大, 第 4 天达到最大值, 4 d 后发酵率开始下降。

2.5 生木薯淀粉酒精发酵条件的正交实验优化

在完成酶曲用量、料水比、酵母接种量、发酵时间 4 个单因素的试验后, 各因素取 3 个水平作 $L_9(3^4)$ 正交实验。每瓶加入淀粉 45 g, 尿素 0.4 g, 磷酸 0.4 mL, 按表 1 加入酶曲、水, 调 pH 4.0, 接入酵母液, 30 ℃ 培养箱中静止发酵, 测定发酵液的酒精含量, 计算发酵率。

由表 1 中 4 个因素各个水平的发酵率平均值 K 和极差 R 可判断 4 个因素对生淀粉酒精发酵的影响为: 发酵时间 > 酵母接种量 > 料水比 > 酶用量。极差越大说明此因素的影响越大, K 值最大的水平即为该因素的最佳水平, 极差越小, 说明各水平影响不大。由正交实验结果可得出生淀粉酒精发酵的最佳条件为: 酶曲用量为 30 u/g 淀粉, 料水比 1:4.5, 酵母接种量 5%, 发酵时间 4 d。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交实验设计及试验结果

试验号	酶曲用量 (u/g 淀粉)	水/料	酵母接种量 (%)	发酵时间 (d)	发酵率 (%)
1	20	3.5	2	2	50.04
2	20	4.5	5	3	65.38
3	20	5.5	10	4	72.08
4	30	3.5	5	4	71.35
5	30	4.5	10	2	60.62
6	30	5.5	2	3	68.45
7	40	3.5	10	3	67.89
8	40	4.5	2	4	65.17
9	40	5.5	5	2	66.45
K1	62.50	63.09	61.22	59.04	
K2	66.81	63.72	67.73	67.24	
K3	66.50	68.99	66.86	69.53	
R	4.31	5.90	6.51	10.49	

3 结论

按最佳发酵条件 (酶曲用量 30 u/g 淀粉, 料水比 1:4.5, 酵母接种量 5%, 发酵时间 4 d) 做扩大实验。加入木薯粉 400 g, 尿素 4 g, 磷酸 4 mL, 水 2000 mL, 调 pH 4.0, 酶用量 30 u/g 淀粉, 接入酵母液 100 mL, 30 ℃ 静止发酵 4 d 后, 测定发酵液的酒精含量, 并计算发酵率, 结果发酵率为 78.38%。由此可知, 发酵条件优化后, 发酵率明显高于前单因素实验的发酵率。

参考文献:

- [1] 庞宗文, 梁静娟, 陈桂光. 生淀粉分解酶产生菌的分离筛选[J]. 中国酿造, 1997, (3): 10-11.
- [2] 陈桂光, 庞宗文, 梁静娟. 木薯渣生料发酵生产单细胞蛋白的研究[J]. 粮食与饲料工业, 1997, (6): 23-24.
- [3] 章克昌. 酒精与蒸馏酒工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004.
- [4] 松元信也, 等. 发酵原料の省エネルギー的アルコール发酵[J]. 发酵と工业, 1985, 43(9): 832-839.

酿酒科技杂志社邮购书刊

书刊名	邮购价	书刊名	邮购价
《酿酒科技精选 (1980~1985)》	20 元/册	《酿酒科技》2006 年 (月刊)	120 元/年
《酿酒科技》2000 年合订本	65 元/册	《酿酒活性干酵母的应用与生产技术》	12 元/册
《酿酒科技》2001 年合订本	70 元/册	《世界蒸馏酒的风味》	6 元/册
《酿酒科技》2002 年合订本	75 元/册	《中国酒曲》	35 元/册
《酿酒科技》2003 年合订本	80 元/册	《生料酿酒技术》	42 元/册
《酿酒科技》2004 年合订本	80 元/册	《酿酒科技》世纪光盘 (1980~2000 年)	380 元/套
《酿酒科技》2005 年合订本	120 元/套		

需订阅以上书刊者, 请直接汇款到本刊社邮购。地址: 贵州省贵阳市沙冲中路 58 号 (550002); 电话: (0851) 5796163; 传真: (0851) 5776394; 联系人: 吴萍