

酶解玉米淀粉发酵酒精工艺条件的研究

吴素萍

(宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要: 研究复合酶发酵玉米淀粉生产酒精的工艺, 通过单因素试验和正交试验确定了酶解玉米淀粉发酵酒精的最佳工艺条件, 即玉米淀粉粉碎度 60 目、料水比 1:3、酶加量 1.5 % (玉米淀粉原料)、发酵温度 35 ℃, 发酵时间 51 h、pH 4.8, 在此条件下发酵酒精度为 11.5 %vol。

关键词: 发酵酒精工艺; 玉米淀粉; 复合酶

中图分类号: TS262.2; TS261.4 文献标识码: A 文章编号: 1001- 9286(2007) 11- 0045- 03

Study on Technical Conditions of Alcohol Production with Corn Starch Fermentation by Composite Enzymes

WU Su-ping

(Agricultural College of Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

Abstract: Alcohol production techniques by corn fermentation by composite enzyme were studied. The optimum technical conditions were determined as follows by single factor test and orthogonal experiments: comminution degree of corn starch: 60, ratio of material and water: 1:3, enzyme addition: 1 % of corn starch, fermentation temperature at 35 ℃, 51 h fermentation time, pH value as 4.2. Under the above conditions, the produced alcohol degree was 11.5 %vol.

Key words: alcohol production techniques; corn starch; composite enzyme

随着现代工业的发展, 世界人口激增, 能源危机日趋加剧。据专家估计, 世界上已知的石油储量大约 30 年内被消耗完^[1]。自 20 世纪发生石油危机以来, 石油价格不断上涨, 各国政府和企业开始投资新能源的开发和研究, 酒精燃料作为可再生能源得到各国的重视^[2]。在我国 80 % 的酒精是利用淀粉质原料生产, 10 % 的酒精用废糖蜜生产, 3.5 % 的酒精是合成, 2 % 的酒精用其他原料生产^[3]。随着生物酶技术的发展, 糖化酶、淀粉酶和高效酵母菌的使用, 使淀粉出酒率和原料利用率大大的提高, 酶技术被广泛应用在发酵行业。淀粉颗粒除了含有大量淀粉外, 还含有一定量的粗纤维、粗蛋白, 糖化酶对淀粉颗粒的分解速度除了与淀粉颗粒的形态、晶格和直链淀粉含量有关外, 还与结合在淀粉颗粒上的粗纤维、粗蛋白的量有关, 粗纤维、粗蛋白结合得越多, 分解速度也就越慢。然而复合酶除了含有糖化酶外, 还含有蛋白酶、果胶酶、纤维素酶等, 可破坏粗纤维、粗蛋白等对淀粉颗粒的保护作用, 从而提高水解淀粉的能力^[4]。

酒精发酵是典型的产物抑制型发酵反应, 发酵产物浓度一般只有 6 % ~ 8 %, 致使乙醇发酵产率低, 分离费

用高^[5]。本试验采用的复合酶简化了工艺, 节约了生产时间, 降低了生产成本, 提高了生产效率, 同时对这种生物复合酶发酵玉米淀粉生产酒精的工艺条件进行试验研究, 并取得了较好的效果。目前世界上有能力的国家均加大了对玉米酒精燃料的开发和利用, 中国玉米产量增长较快, 用玉米来生产乙醇, 在我国大有可为, 玉米酒精燃料的市场前景十分广阔^[6]。

1 材料与方法

1.1 材料

酶制剂: FA-BAPP 生物复合酶 (主要含有淀粉酶、纤维素酶、酒精酵母), 由宁夏西部光彩生物保健品有限公司提供; 玉米粉 (淀粉含量为 67.7 %), 自购。

1.2 仪器和试剂

1.2.1 仪器

带盖广口瓶、恒温箱、温度计、蒸馏瓶、托盘天平、万用炉、量筒、烧杯、酒精计、玻璃棒、胶头滴管、精密 pH 试纸、纱布。

1.2.2 试验试剂

收稿日期: 2007- 06- 11

作者简介: 吴素萍(1963-), 女, 副教授, 主要从事粮油食品加工、质量检测管理等方面的教学和研究。

酸碱试剂: 柠檬酸 10 % (分析纯)、碳酸氢钠 10 % (分析纯)、蒸馏水。

1.3 测定方法

酒精度的测定: 取 100 mL 成熟发酵液于蒸馏瓶中, 加 100 mL 蒸馏水, 混匀后蒸馏, 取馏出液 100 mL, 用酒精比重计测定馏出液中的酒精浓度^[7]。这是评定单因素、正交试验酒精度的指标。

1.4 反应机理

以淀粉质为原料生产酒精的原理是首先利用糖化酶将淀粉和糊精转化为单糖, 然后利用单糖进行厌氧发酵, 通过 EMP 途径将葡萄糖降解为乙醇。糖化最适温度为 60℃, 最适 pH 4.0~4.6, 酵母菌的最适温度在 30~33℃, 最适生长 pH 为 4.5~5.5, 为了抑制杂菌生长, 保证酵母正常发酵, 常将醪液 pH 控制在 4.0~4.5。本试验采用复合酶(淀粉酶、纤维素酶、酒精酵母), 使酶解、发酵合二为一, 在发酵过程中完成了酶解过程, 因此整个工艺过程采用一步发酵法, 简化了工艺, 节约了生产时间, 降低了生产成本, 提高了生产效率^[8~10]。

2 工艺流程及操作要点

2.1 工艺流程

玉米淀粉 → 过筛 → 称量 → 酶解发酵 → 取醪液 → 蒸馏 → 酒精(粗酒精)

2.2 操作要点

2.2.1 玉米选料、过筛和称量

选新鲜玉米淀粉, 要求无杂质, 无异味, 无霉味。用 60 目筛进行筛粉, 然后用天平称量 200 g。

2.2.2 酶解发酵

按料水比 1:3 的比例添加 600 g 蒸馏水, 以 1.5 % 的加酶量加酶 3 g, 搅拌均匀, 发酵过程中控制发酵温度 35℃, pH 4.8 和发酵时间 51 h。

2.2.3 取醪液蒸馏

用干燥无菌的滤布(200 目)过滤发酵的醪液进行蒸馏。蒸馏是整个工艺过程中重要的一步, 蒸馏条件的控制直接关系酒精得率的多少。本试验蒸馏的温度控制在 80℃。

3 结果与分析^[11~13]

3.1 单因素水平对酒精度的影响

3.1.1 玉米粉碎度对酒精度的影响

玉米淀粉发酵过程中, 确定料水比为 1:3, 加酶量 1.5 %, 发酵温度 30℃, pH 4.6, 发酵 27 h 的条件下, 采用过 20 目、40 目、60 目、80 目筛的玉米淀粉进行试验, 结果见图 1。

由图 1 可知, 粉碎度为 60 目时酒精得率(酒精度)

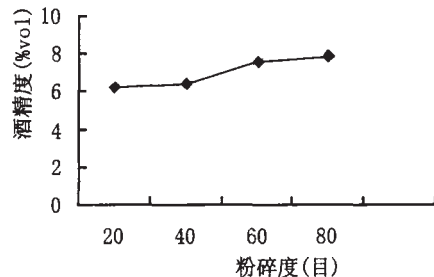


图1 粉碎度对酒精度的影响

最高。玉米原料的粉碎粒度过大或过小都会阻碍酵母菌的正常发酵, 适宜的粉碎度均会提高原料的利用率, 故选择 60 目粉碎度为宜。

3.1.2 料水比对酒精度的影响

玉米淀粉发酵过程中, 确定粉碎度 60 目, 加酶量 1.5 %, 发酵温度 30℃, pH 4.6, 发酵 27 h 的条件下, 采用 1:1、1:2、1:3、1:4 和 1:5 的料水比进行试验, 结果见图 2。

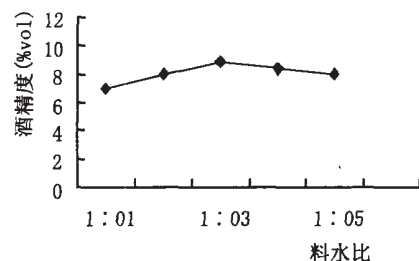


图2 料水比对酒精度的影响

由图 2 可知, 料水比为 1:3 时酒精度最高。料水比过大或过小都影响原料的利用, 直接影响到酶的代谢, 因此合理的料水比对提高酒精度非常重要, 故选择 1:3 的料水比为宜。

3.1.3 加酶量对酒精度的影响

玉米淀粉发酵过程中, 确定粉碎度为 60 目, 料水比 1:3, 发酵温度 30℃, pH 4.6, 发酵 27 h 的条件下, 采用 0.5 %、1 %、1.5 %、2 % 和 2.5 % 的加酶量进行试验, 结果见图 3。

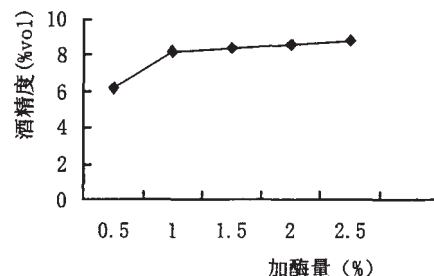


图3 加酶量对酒精度的影响

由图 3 可知, 当加酶量为 1 %、1.5 %、2 % 和 2.5 % 时, 酒精度差异不大, 为了节省能源, 故选用 1 % 的加酶量。

3.1.4 发酵温度对酒精度的影响

玉米淀粉发酵过程中,确定粉碎度为 60 目,料水比为 1:3,加酶量为 1%,pH4.6,发酵 27 h 的条件下,采用 25、30、35、40 和 45 的发酵温度进行试验,结果见图 4。

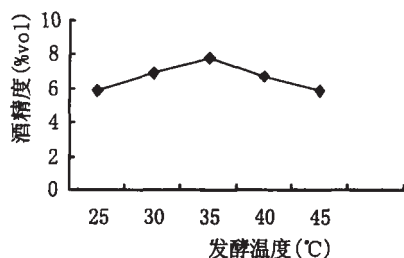


图4 发酵温度对酒精度的影响

由图 4 可知,发酵温度为 35 时酒精度最高。温度对酒精度的影响十分显著,糖化最适温度在 60,发酵过程中酒精发酵的温度在 30~33,由于本试验是两步同时进行,首先要确保酒精酵母的生存温度,故选择最适发酵温度 35。

3.1.5 pH 对酒精度的影响

玉米淀粉发酵过程中,确定粉碎度 60 目,料水比为 1:3,加酶量 1%,发酵温度 35,发酵 27 h 的条件下,采用 pH3.0、pH3.6、pH4.2、pH4.8 和 pH5.4 进行试验,结果见图 5。

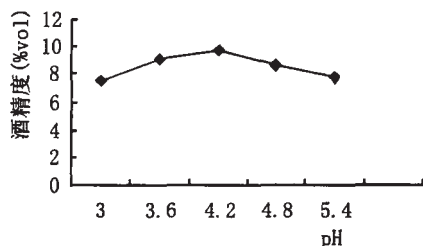


图5 pH 对发酵酒精度的影响

由图 5 可知, pH 4.2 时酒精度最高。pH 对酵母的生长有显著影响,营养物质进入细胞的速度与 pH 值有关,同时 pH 对酶活性也有影响,酵母的最适 pH 为 4.2~5。当 pH 降到 4.2 以下时,酵母仍能继续繁殖,但酒精度略有降低,故选 pH 4.2 适宜。

3.1.6 发酵时间对酒精度的影响

玉米淀粉发酵过程中,在粉碎度 60 目,料水比 1:3,发酵温度 35, pH4.2 的条件下,采用 27 h、39 h、51 h、63 h 和 75 h 的发酵时间进行试验,结果见图 6。

由图 6 可知,发酵时间为 51 h 时,酒精度最高。发酵时间对酒精浓度的影响最为显著,随着发酵时间的延长,醪液中酒精浓度也会增加,发酵 51 h 的醪液中酒精浓度与发酵 63 h 的醪液中酒精浓度相当,且有下降的趋势。发酵初期,酵母以发酵醪中的糖分为碳源,酵母不

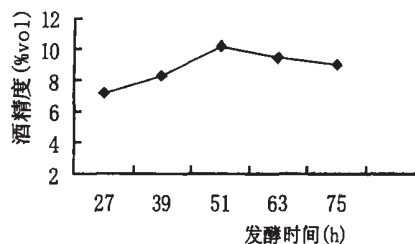


图6 发酵时间对酒精度的影响

断代谢糖分发酵成酒精。发酵一段时间后,发酵醪中的糖分减少,酵母开始利用发酵产物——酒精为碳源来维持自身的生长和繁殖,使酒精度降低。故选择发酵时间为 51 h。

3.2 正交试验结果分析

3.2.1 因素水平设计(见表 1)

表 1 正交试验因素水平表

水平	A 发酵温度 (°C)	B 发酵时间 (h)	C 加酶量 (%)	D pH
1	20	39	0.5	3.6
2	28	51	1.0	4.2
3	35	63	1.5	4.8

3.2.2 正交试验设计(见表 2)

表 2 正交试验结果

试验号	A	B	C	D	粉碎度 (目)	料水 比	酒精度 (%vol)
1	1	1	1	1	60	1:3	9.00
2	1	2	2	2	60	1:3	8.50
3	1	3	3	3	60	1:3	10.1
4	2	1	2	3	60	1:3	8.90
5	2	2	3	1	60	1:3	9.50
6	2	3	1	2	60	1:3	8.60
7	3	1	3	2	60	1:3	9.30
8	3	2	1	3	60	1:3	11.5
9	3	3	2	1	60	1:3	10.6
K ₁	27.60	27.20	28.10	29.10			
K ₂	25.00	29.50	28.00	26.40			
K ₃	31.40	29.30	28.90	30.50			
k ₁	9.20	9.07	9.37	9.70			
k ₂	8.33	9.83	9.33	8.80			
k ₃	10.50	9.80	9.63	10.20			
R	2.17	0.76	0.30	1.40			

由表 2 分析可知,发酵时间、发酵温度、加酶量、pH 4 因素对酒精度影响的主要顺序为 A>D>B>C,即发酵时间>pH>发酵温度>加酶量,通过方差分析得到 A₃B₂C₃D₃ 为最佳工艺条件,即:发酵温度 35,发酵时间 51 h,加酶量 1.5%,pH4.8,此工艺条件下发酵产酒精度达到 11.5%vol。

3.3 感官指标

(下转第 50 页)

表 5 甜高粱秸秆添加籽粒淀粉原料的乙醇发酵

项 目	实验批次			平均
	1	2	3	
水解总糖(g/100 g)	20.5	20.5	20.5	20.5
总残糖(g/100 g)	0.49	0.51	0.42	0.47
酒精含量(g/100 g)	9.34	9.46	9.26	9.35
酒精得率(%)	89.3	90.5	88.6	89.5

u/g) 0.2 %、蛋白酶(5 万 u/g) 0.2 %、纤维素酶(5 万 u/g) 0.1 %。以淀粉质量为基准。

从表 5 结果可以知道, 以生物酶替代高温蒸煮、糖化的生料固态法乙醇发酵, 效果良好, 平均酒精得率达 89.5 %; 1 份甜高粱籽粒淀粉经水解发酵所产生的乙醇量, 大体相当于 6 份甜高粱秸秆(总糖在 11 g/100 g 左右) 发酵所产生的乙醇。由此推断, 1 t 籽粒相当于 5 t 以上甜高粱秸秆。

3 结论

以含糖量为 11 g/100 g 甜高粱秸秆为原料, 固态发酵生产乙醇的工艺条件为: 秸秆采用揉搓切碎机切至 1~2 cm, 籽粒粉碎至 60 目。蒸料灭菌 0.1 MPa、30 min,

冷却后按 10 %的接种量接入培养好的酵母种子, 28 静置培养 48 h。在此条件下, 发酵后发酵醪酒精含量为 5 g/100 g 以上, 平均酒精得率 87.9 %。

当添加 20 %籽粒淀粉时, 发酵后, 发酵醪中酒精含量达 9 g/100 g 以上, 平均酒精得率 89.5 %。所以, 1 份甜高粱籽粒淀粉经水解发酵所产生的乙醇量, 大体相当于 6 份甜高粱秸秆发酵所产生的乙醇。

参考文献:

- [1] 孙清.甜高粱茎秆残渣生产蛋白饲料的研究[J].中国农业科学, 2001, 34(1): 61.
- [2] 梁新华.甜高粱研究现状与产业化开发[J].宁夏大学生物工程研究所, 2002, (6): 3.
- [3] 张恩铭.营养盐对甜高粱茎秆汁液酒精发酵的影响[J].农机化研究. 2005, 11(6): 175- 180.
- [4] 章克昌.酒精与蒸馏酒工艺学[M].北京: 中国轻工业出版社, 2005.
- [5] 王福荣.酿酒分析[M].北京: 中国轻工业出版社,2005.
- [6] 宁喜斌.甜高粱茎汁成分的测定[J].沈阳农业大学学报, 1995, (3): 45- 48.

(上接第 47 页)

产品酒精: 无色透明, 密度为 0.7893 g/cm³(20), 比重为 1.517, 熔点 186~189 , 沸点 78 , 酒精度 11.5 %vol。酒精具有特殊香味, 易挥发, 能够溶解多种无机物和有机物, 能跟水以任意比例互溶, 具有一定的香味和玉米风味。

4 结论

4.1 通过单因素试验和正交试验确定了玉米淀粉发酵生产酒精的最佳工艺条件为: 粉碎度 60 目, 料水比 1 3, 加酶量 1.5 %, 发酵温度 35 , 发酵时间 51 h, pH4.8。

4.2 复合酶是一种优良的酶, 其非常适合于玉米淀粉的发酵, 发酵周期只有 50~60 h, 而且不需要用高温来糖化玉米淀粉发酵酒精。通过单因素试验和正交试验得出, 发酵温度和发酵时间对酒精度的影响最为重要, 因此二者的条件一定要严格地控制。

4.3 从整个发酵过程来看, 发酵比较平缓, 从发酵结果看, 发酵液的颜色、气味、状态很正常。总之, 复合酶发酵工艺大大节省了传统发酵法生产酒精过程中的能源消耗, 如果使该工艺进一步趋于成熟, 在酒精工业化生产中得以应用, 将具有极其重要的现实意义。

参考文献:

- [1] 王超, 等.酶解纤维素类物质生产燃料酒精的研究进展[J].纤

- 维素科学与技术,2003,(4): 52- 59.
- [2] 马文超, 石贵阳, 章克昌.玉米原料无蒸煮发酵酒精工艺的研究[J].酿酒科技,2005,(2): 50- 53.
- [3] 司笑丁.纤维素酶在酒精生产中的应用[J].酿酒科技,2004, (6): 61- 63.
- [4] 薛正莲.玉米原料无蒸煮酒精发酵工艺的研究[J].工业微生物,1999,(4): 31- 33.
- [5] 王宇光, 等.混合载体固定酵母酒精萃取发酵的研究[J].烟台大学学报,2001,(4): 249- 254.
- [6] 马书霞, 等.发展新型能源- 木薯燃料酒精[J].可再生能源, 2005,(3): 73- 75.
- [7] 赵华, 陶静.玉米原料酒精浓醪液发酵技术的研究[J].酿酒科技,1998,(5): 38- 40.
- [8] 章克昌, 吴佩棕.酒精工业手册[M].北京: 中国轻工出版社, 1983.
- [9] 李盛贤, 贾树彪, 顾应文.利用纤维素原料生产燃料酒精的研究进展[J].酿酒,2005,(2): 13- 16.
- [10] 姚汝华, 赵继伦.酒精发酵工艺学[M]. 广州: 华南理工大学出版社,1999.
- [11] 王晓霞, 章克昌, 张礼星, 等.酒精高浓发酵过程中果胶酶的应用[J].食品与发酵工业,2001,(3): 44- 47.
- [12] 张继泉, 王瑞明, 关风梅, 等.预处理玉米秸秆发酵生产燃料酒精的研究[J].广州食品工业科技, 2002,(3): 1- 3.
- [13] 孙清, 王晓丹, 葛雯, 等.双糖化工艺条件对玉米淀粉发酵生产酒精的影响[J].农村能源, 2000, (6): 13- 16.