

文章编号 :1007 - 6492(2000)03 - 0080 - 03

玉米粉、淀粉混合原料生产柠檬酸的初步研究

周军卫,马晓建,刘利平,李洪亮,方书起

(郑州工业大学化工学院 河南 郑州 450002)

摘 要 : 利用玉米粉或者淀粉为原料生产柠檬酸 , 存在着液化时间长、酶用量大、滤渣难以处理等问题。针对这种情况 , 对玉米粉、淀粉混合原料生产柠檬酸进行研究 , 研究结果发现 : 以玉米粉、淀粉为原料分别配成 16% 的料浆各自液化后 , 以 1:1 体积比混合 , 发酵产酸可达 14.6% , 转化率达 96% , 与单纯的玉米粉生产柠檬酸相比 , 酶用量减少 38% , 液化时间缩短 50% , 同时不存在玉米粉液化后的过滤以及滤渣的防腐等问题。

关键词 : 柠檬酸 ; 玉米粉 ; 淀粉 ; 黑曲霉

中图分类号 : TQ 921+.1 文献标识码 : A

我国传统的柠檬酸生产主要以薯干为原料进行发酵 , 由于近年来薯干粉大幅度涨价 , 使得一些柠檬酸生产企业难以承受^[2] , 而玉米粉、淀粉资源丰富 , 价格低廉 , 国内有些厂家已开始采用玉米粉或者淀粉为原料进行工业生产 , 但目前都遇到了一些困难 , 例如单纯的玉米粉生产柠檬酸 , 增加了液化后的过滤这一环节 , 耗能暂且不说 , 单单大量滤渣的处理就颇令人头疼。目前的情况是 : 如果干燥处理 , 则耗能巨大 ; 直接廉价处理 , 则企业难以保本 , 而且滤渣很容易因处理不及时而腐败变质 , 而单纯的淀粉生产柠檬酸 , 大多需要补充各种填充物^[3] , 有的还增加了液化后的糖化这一环节 , 延长了生产周期 , 无疑也增加了生产成本。为此我们提出了用玉米粉、淀粉混合原料生产柠檬酸的课题 , 目的是为了解决在单纯的玉米粉或淀粉生产柠檬酸中所遇到的难以克服的问题 , 同时尽可能地提高产品质量 , 并且降低生产成本。

柠檬酸发酵用的淀粉在工业加工时 , 只需将原料中的纤维等杂质除去即可 , 大幅度地降低了用于柠檬酸生产的淀粉的加工成本^[4]。采用了玉米粉和淀粉分别液化 , 玉米粉用量较小 , 和单纯用玉米粉液化的工艺相比 , 大大缩短了液化时间 , 加上玉米液化后不需要过滤 , 减少了许多能耗和工作量 , 同时不存在玉米粉液化后滤渣的防腐问题 ; 尤其是由于玉米粉用量的减少 , 使发酵液色素含量减少 , 提高产品质量 , 降低后提取的成本 , 本文

报道了用玉米粉、淀粉混合原料生产柠檬酸的初步研究结果。

1 材料与方法

1.1 菌种

黑曲霉 UH - 01 , 由本实验室保存。

1.2 培养基

①斜面培养基 : 20% 的麦芽粉液化后过滤 , 滤液中加入 2% 琼脂 , 湿热 0.1 MPa , 灭菌 30 min。②摇瓶培养基 : 16% 玉米粉、16% 淀粉 , 分别用固体耐高温 α - 淀粉酶液化后 , 以一定的比例混合 , 湿热 0.1 MPa , 灭菌 30 分钟。

1.3 培养条件

斜面置于恒温培养箱内 , 35 ℃ 培养 3 ~ 4 天 , 300 ml 摇瓶装料 60 ml , 以 6 层纱布包扎 , 放于旋转式摇床 280 r/min , 35 ℃ 培养 96 h。

1.4 分析方法

① pH 测定 : 采用精密 pH 试纸。② 总酸测定 : 发酵液经双层脱脂纱布过滤后 , 用 0.1429 mol/L 的 NaOH 滴定 , 每消耗 1 ml 为 1% 酸度。③ 总糖测定 : 经 3 mol/L 硫酸水解后用斐林法测定^[5]。④ 还原糖测定 : 直接用斐林法测定。⑤ 蛋白质测定 : 用凯氏定氮法^[6]。

1.5 液化条件

玉米粉、淀粉各配成 16% 的料浆 , 分别在恒温水浴中加酶升温液化 , 所采用酶为固体 α - 淀

收稿日期 : 2000 - 04 - 08 ; 修订日期 : 2000 - 06 - 10

作者简介 : 周军卫 (1972 -) , 男 , 河南省巩义市人 , 郑州工业大学助理工程师 , 主要从事生物化学方面的工作。

万方数据

粉酶.酶的添加量分别为 20 u/g(活力单位/克)玉米粉,5 u/g 淀粉.加酶的同时加入 CaCl_2 , CaCl_2 添加量均为每升料液添加 1 g.酶和 CaCl_2 用 50 ℃ 温水溶解后,于 60 ℃ 左右加入,升温至 85 ℃ 开始计时,以碘液检测不显蓝为终点.

2 结果与讨论

2.1 加酶量对液化时间及产生还原糖量的影响

16% 玉米粉、16% 淀粉调浆后,水浴加热至 60 ℃ 左右,加入固体耐高温 α -淀粉酶和 CaCl_2 升温至 85 ℃ 开始计时,液化结果列于表 1、表 2.

表 1 玉米粉液化中加酶量对液化时间及还原糖量的影响

| 加酶量/(u/g) | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 |
|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 时间/min | 56 | 47 | 39 | 32 | 27 |
| 还原糖/% | 4.2 | 3.8 | 3.2 | 3.1 | 2.9 |

表 2 淀粉液化中加酶量对液化时间及还原糖量的影响

| 加酶量/(u/g) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|
| 时间/min | 54 | 28 | 10 | 2 | 0 |
| 还原糖/% | 4.7 | 4.4 | 3.0 | 2.7 | 2.6 |

可见,加酶量与液化时间及产生还原糖的量之间有着密切的关系.另外,发现原料粒度也是影

响液化时间的重要因素.粒度大,则液化时间长;反之则短.实验发现,采用玉米粉液化的理想酶量为 20 u/g,淀粉的为 5 u/g,所需液化时间在 40 min 以内,使酶能够充分发挥其催化活力.两种液化液以 1:9(体积比)混合,所得料液的总糖处于 15.2% 左右,还原糖处于 2.6% 左右,较适合发酵的进行.从产酸角度来看,发酵所得总酸最高,因此可选用这一酶添加量.采取分别液化是因为淀粉较易液化,液化所需的时间相对较短.如果采取玉米粉和淀粉混合液化,则使淀粉持续液化,产生过高的还原糖,不利于发酵的进行.

2.2 不同蛋白质含量对发酵产酸的影响

玉米粉中含有较多的蛋白质,淀粉中则以碳源为主.因此玉米粉和淀粉分别液化后,以不同比例混合,可以起到调整培养基的蛋白质含量及碳源和氮源的比例(W_C/W_N)的作用.在三角瓶规格、料液装量、接种量、纱布层数及摇床转速均一致的情况下,采用相同的培养条件可以考查出不同的含氮量对发酵产酸的影响.表 3 和图 1 是 16% 玉米粉和 16% 淀粉分别液化后,以不同比例混合,于 35 ℃ 发酵 4 d 所得的结果.

表 3 不同蛋白质含量对发酵产酸的影响

| 玉米液体积/淀粉液体积 | 0.3/9.7 | 0.5/9.5 | 0.7/9.3 | 1.0/9.0 | 1.2/8.8 | 1.5/8.5 | 1.7/8.3 |
|-------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 蛋白质含量/% | 0.11 | 0.28 | 0.45 | 0.63 | 0.92 | 1.14 | 1.38 |
| 酸度/% | 6.7 | 10.3 | 12.9 | 14.6 | 11.5 | 8.3 | 4.2 |

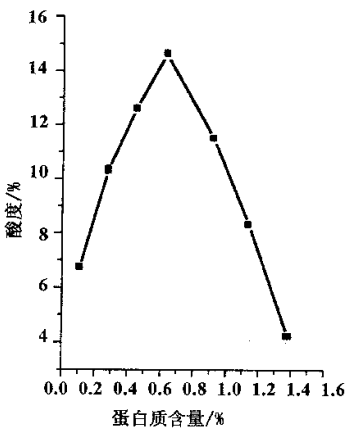


图 1 蛋白质含量对产酸的影响

从表 3 和图 1 可以看出:①蛋白质含量对发酵产酸具有显著的影响.当玉米粉液化液和淀粉液化液以 1:9 混合时,蛋白质含量处于 0.60%~1.0%.此时发酵产酸较理想.镜检发现菌丝生长良好,发酵过程中所形成的菌球小且均匀.表面上看料液较稀,但这种较稀的料液恰恰满足了柠檬酸发酵较高的溶氧要求.② W_C/W_N 应当适当. W_C/W_N 过大则碳源相对不足,导致菌丝发育不

良,积累柠檬酸较少; W_C/W_N 过小则氮源相对过多,导致菌丝生长过旺,过量的菌丝造成供氧相对不足,而且过量的菌丝形成较大的菌球,造成菌球表面积较小,引起菌体呼吸困难,使发酵后期糖的消耗和产酸几乎处于停滞状态,因而严重地影响了柠檬酸的积累.

2.3 混合原料的产酸曲线

16% 玉米粉和 16% 淀粉分别液化后混合,0.1 MPa 灭菌 30 min,接种发酵,发酵过程中总糖、还原糖、总酸和 pH 的变化情况见表 4 和图 2.

表 4 发酵过程中总糖、还原糖、总酸和 pH 的变化情况

| 时间/d | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|-------|------|------|-----|-----|------|------|------|------|
| 总糖/% | 15.2 | 13.2 | 9.8 | 6.1 | 0.7 | 0.8 | 0.4 | 0.1 |
| 还原糖/% | 2.6 | 4.3 | 6.2 | 5.0 | 0.7 | 0.5 | 0.2 | 0.06 |
| 总酸/% | 0.0 | 2.4 | 5.9 | 9.8 | 14.6 | 13.2 | 10.7 | 8.1 |
| pH 值 | 6.0 | 3.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |

可以看出:①总糖在发酵初期有一大幅度下降的过程,此时总酸积累尚少,说明在发酵的初期糖的消耗主要用于菌体的生长,从镜检中也能看出,在发酵的中后期,菌体的生长已不很显著,糖的消耗主要用于柠檬酸的积累;②还原糖在发酵

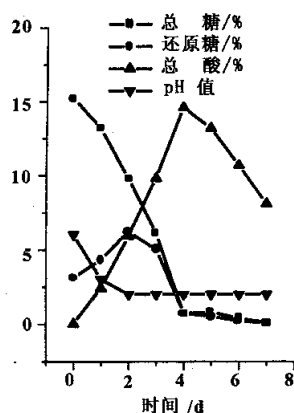


图 2 混合原料的产酸曲线

初期有一剧增的过程,达到一峰值后随着总糖的下降而逐渐减少,说明在发酵的初期随着菌体数量的增长,黑曲霉发挥了较强的糖化作用,发酵中后期,还原糖大部分被黑曲霉吸收利用,到发酵结束时,发酵液中的微量残糖几乎全是还原糖。③总酸在发酵初期增长不太明显,发酵的中后期达到高峰,如果人为地延长发酵时间,可以看出总酸不但不再增长,反而降低,说明黑曲霉在糖源严重不足时,可能会分解一部分柠檬酸以存活下去。④在发酵初期的孢子萌发阶段,pH下降不显著,但在菌体大量积累时期,pH很快下降到2,之后一直很稳定,直到发酵结束,这和柠檬酸为弱酸有关系,柠檬酸中的氢不完全解离,使得在柠檬酸的积累中不致于引起pH值的持续下降,而是维持在2左右,这正是黑曲霉正常生长所需要的。

3 结论

16%的玉米粉和16%的淀粉分别调浆后,加固体耐高温 α -淀粉酶液化,再以1:9(体积比)混合料液中总糖为15.2%左右,还原糖为2.6%左右,用300 ml的三角瓶装料60 ml,置于旋转式摇床,35℃发酵4 d,总酸可达14.6%,转化率为96%,残糖仅0.7%。与单纯的玉米粉生产柠檬酸相比,酶用量减少38%,液化时间缩短50%,同时不存在玉米粉液化后的过滤以及滤渣的防腐等问题,该方法所得发酵液色素含量少,为后提取减少了诸多麻烦,可望大大提高柠檬酸的质量,并且降低了后提取的成本,因此有必要将实验深入下去,进行放大实验,为最终能够工业化生产奠定基础。

参考文献:

- [1] 石忆湘,刘祖同.黑曲霉发酵玉米生产柠檬酸[J].清华大学学报(自然科学版),1998,38(6):52-55.
- [2] 徐伟,徐宗烈.用玉米面生产柠檬酸的新工艺[J].生物技术,1994,17(2):21-23.
- [3] 朱亨政,蒋苇萌,朱宝娣,等.淀粉料直接发酵生产柠檬酸[J].工业微生物,1990,20(4):20-24.
- [4] 蔡永峰.淀粉精原料直接深层发酵生产柠檬酸工艺的评价[J].食品与发酵工业,1990(5):64-71,75.
- [5] 金其荣,张继民,徐勤,等.有机酸发酵工艺学[M].北京:轻工业出版社,1989.
- [6] 王叔淳,崔圣尧,张秀豪,等.食品卫生检验技术手册[M].北京:化学工业出版社,1994.

The Primary Study of Fermentation of Citric Acid Using Corn Powder and Starch as Raw Material

ZHOU Jun-wei, MA Xiao-jian, LIU Li-ping, LI Hong-liang, FANG Shu-qi

(College of Chemical Engineering, Zhengzhou University of Technology, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: There are many difficulties in producing citric acid from corn powder or corn starch, such as the time is too long and the amount of α -amylase is too large during liquefying the corn powder, the filtrate is inclined to decay. To solve these difficulties, we produced this subject. Our conclusions are as follows: Corn powder and starch was liquefied by α -amylase respectively and then been mixed by 1:9 (V/V'). The fermentation of citric acid by *A. niger* using this mixture as raw material was carried out. The maximum yield of citric acid was 14.6% (W/V) and the conversion rate of glucose to citric acid was 96%. Compared with that of using corn powder only, this technology has two superiorities. For one thing, both the amount of α -amylase and the time spent in liquefying have been saved remarkably. For another, there is no trouble such as filtering preventing from decaying.

Key words: 柠檬酸; corn powder; starch; *aspergillus niger*