

发酵法降解油菜籽废水中植酸的工艺研究

黄耀武, 周建平

(湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410128)

摘要: 水酶法提取菜籽油工艺产生了大量废水, 其中含有丰富的水溶性蛋白、碳水化合物和抗营养因子。为了解水中的抗营养物质植酸, 利用筛选出的酵母菌对其进行发酵, 并通过正交试验优化培养条件, 得出 K 酵母在 32 ℃, pH 7 条件下培养 36 h, 可将废水中植酸降解 87%, 从而为废水的循环利用或达标排放打下了基础。

关键词: 废水; 酵母菌; 发酵; 降解; 植酸

文章篇号: 1673-9078(2012)1-66-68

Degradation of Phytic Acid in Rapeseed Processing Water by Yeast Fermentation

HUANG Yao-wu, ZHOU Jian-ping

(College of Food Science and Technology, gHunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: There is plenty of process water after rapeseed oil extraction by aqueous enzymatic method. The process water contains water-soluble proteins, carbohydrates and anti nutritional factors. In order to depredate the anti-nutrition-phytic acid, the yeast fermentation was conducted and the optimal culture condition was determined by orthogonal experiment. The result showed that phytic acid degradation rate could reach to 87% under optimal conditions which is cultural temperate at 32 ℃, pH 7, and cultural time 36 h. The research provided references for rapeseed processing water recycling or discharging

Key words: processing water; yeast; fermentation; degradation; phytic acid

我国油菜种植面积位居世界第一, 占世界总面积的 1/4, 约占世界总产量的 1/3, 主要集中在长江流域^[1]。油菜籽含有极其丰富的营养成分, 其中油分一般为 37%~42%, 榨油后的饼粕含蛋白 28%~30%。油菜籽中含有一些抗营养物质如植酸、单宁等^[2]。油菜籽的加工和综合利用, 主要包括油脂的提取, 加工, 蛋白质的利用以及加工中一些副产物的开发和利用。

植酸, 化学名环己六醇六磷酸酯, 分子式 $C_6H_{18}O_{24}P_6(IP_6)$, 在自然界中几乎不以游离的形式存在, 一般是以复杂的 Ca-Mg-K 盐形式(即菲丁)广泛存在于植物种子中^[3]。植酸的抗营养特性和 6 个具有强解离质子的邻位磷酸基团的强络合特性, 影响了单胃畜禽(猪、鸡) 等对饲料中蛋白质、钙、磷、锌、锰以及碳水化合物、脂肪的利用与吸收^[4]。而大量摄食小麦、大豆等植酸含量较高的谷物产品, 被认为是发展中国家人群中普遍存在的铁、锌缺乏的主要原因^[5]。

水酶法是在一定机械破碎的程度上, 借助酶和水

的作用, 即利用纤维素酶、果胶酶和蛋白酶等作用于油料的细胞壁和脂小体蛋白膜, 使油脂能够最大程度地释放和聚集并同时回收低变性蛋白质的油脂制取工艺。水酶法提取菜籽油的工艺流程如下:

菜籽→脱皮→研磨→取样→加 4 倍量水^[6]→加热灭内源酶
→冷却→调节 pH, 加入外源酶→振荡提取→离心→湿渣→水
油层→离心分离→油及废水
↓
渣粕←离心←振荡提取←第二次提取
↓
油及废水

油菜籽经上述工艺后产生大量废水, 经测定其 pH 3.9~4.0, 植酸含量 0.1%~0.2%。本试验的目的是通过微生物发酵处理, 找到一种成本低廉, 能有效除去废水中的植酸与细微的悬浮杂质、使其再生后循环利用或达标排放的方法, 为废水的进一步处理和利用提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

热带假丝酵母 (*Candida tropicalis*), 啤酒酵母

收稿日期: 2011-09-07

基金项目: 湖南省科技厅重大专项(2009FJ1006-3)

作者简介: 黄耀武(1986-), 硕士研究生, 从事粮油资源化学与工程方向研究

通讯作者: 周建平(1955-), 教授, 硕士生导师, 从事粮油加工方向研究

(Beer yeast), K 酵母 (*K. yeast*), 杨梅酵母 (*Bayberry yeast*), 本校食品科技学院微生物研究所保存。

1.1.2 原料与培养基

废水: 本校食品科技学院油脂加工实验室提供。

斜面培养基: PDA 固体培养基。

种子培养基: PDA 液体培养基。

废水初筛培养基: 废水, 自然 pH, 121 °C 灭菌 20 min。

1.1.3 主要仪器与设备

超净工作台(SW-CJ-1FD), 苏州净化设备有限公司; 电热鼓风干燥箱(101A-3ET), 上海实验仪器厂有限公司; 恒温培养振荡器(SKY-2102C), 上海苏坤实业有限公司; 立式压力蒸汽灭菌器(LDZX-75KBS), 上海申安医疗器械厂; 电子天平(TP-3000E), 湘仪天平仪器设备有限公司, 光学显微镜 (CX31RTSF), OLYMPUS CORPORATION; 电子分析天平(AUY220), SHIMADZU CORPORATION; 可见分光光度计(722S), 上海棱光科技有限公司; 电热恒温水浴锅(DK-98-II), 天津市泰斯特仪器有限公司。玻璃器皿若干。

1.1.4 主要试剂

琼脂粉; 葡萄糖; 硝酸银; 硝酸; 氢氧化钠; 磺基水杨酸; 氯化钠; 盐酸。以上试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 植酸的测定方法

植酸含量测定: 采用 GB/T5009.153-2003 中分光

光度法。

1.2.2 酵母培养

先将酵母接种到斜面培养基上进行活化, 再接种到 50 mL 种子培养基进行扩大培养, 120 r/min, 30 °C 培养 12 h, 镜检菌体个数为 $3.8 \times 10^8 \sim 4.0 \times 10^8$ 个/mL。

1.2.3 初筛试验

将上述四种菌种接种到灭菌废水中, 每个菌种做三个平行, 30 °C 恒温培养, 每 12 h 测定植酸含量。以各菌降解植酸的效率和效果筛选出合适菌种。

1.2.4 单因素试验

将经过初筛后获得的优选酵母菌接种到废水中, 以植酸的降解效果为指标, 分别进行最佳培养时间、培养温度、pH 值的单因素试验, 各因素每水平做两个平行。

1.2.5 正交试验

根据单因素试验结果, 挑选发酵温度、发酵时间与 pH 三因素, 每因素选三个水平做 $L_9(3^3)$ 正交试验。

2 结果与分析

2.1 初筛试验结果

从表 1 可以看出, 相对其他三种酵母菌来说, K 酵母降解植酸的效率较高, 且效果好, 分析可能原因是, K 酵母较能适应废水这一生长环境, 有可能利用植酸等物质作为碳源, 促进生长繁殖, 生命活动旺盛, 故能较好的降解植酸。

表 1 酵母菌发酵过程中植酸含量的测定 %

Table 1 The influence of different yeast fermentation on phytic acid content in processing water

菌种名称	时间/h						
	0	12	24	36	48	60	72
杨梅酵母	1.69±0.02	1.32±0.03	1.05±0.02	0.71±0.04	0.65±0.02	0.63±0.01	0.64±0.04
假丝酵母	1.69±0.02	1.44±0.02	1.17±0.01	0.86±0.02	0.73±0.03	0.73±0.03	0.72±0.01
K酵母	1.69±0.02	1.04±0.01	0.77±0.02	0.25±0.02	0.23±0.03	0.25±0.03	0.24±0.02
啤酒酵母	1.69±0.02	1.38±0.04	1.09±0.03	0.68±0.05	0.54±0.02	0.54±0.03	0.53±0.02

2.2 单因素试验结果

2.2.1 不同培养温度对发酵结果的影响

表 2 不同培养温度对植酸降解的影响

Table 2 The influence of different temperature on phytic acid content in processing water

时间/h	发酵液植酸含量/%				
	24°C	28°C	32°C	36°C	40°C
0	1.69±0.02	1.69±0.02	1.69±0.02	1.69±0.02	1.69±0.02
24	0.90±0.03	0.82±0.03	0.74±0.05	0.85±0.04	0.99±0.03
36	0.32±0.03	0.27±0.04	0.21±0.03	0.30±0.05	0.38±0.01
48	0.31±0.02	0.27±0.01	0.22±0.02	0.28±0.02	0.36±0.01

从表 2 数据可以看出, 当培养温度为 32 °C 时, 植酸的降解效果最好, 分析原因可能是: 当温度较低时, 未能达到 K 酵母的最适生长条件, 所以其生命活动, 生长状态并未达到最强, 酶的活性未达到最高; 而当温度较高时, 酵母的生命活动受到抑制, 酶活性受到抑制, 从而生长受限, 所以较低和较高的温度均使植酸的降解率变低。

2.2.2 培养时间对发酵结果的影响

从图 1 可以看出, 12 h 后植酸含量开始明显降低, 36 h 达到最低值, 之后含量不再发生改变, 其原因可能是: 微生物的生长过程中要经过迟缓期、对数生长

期、稳定期和衰亡期，当发酵后期到达衰亡期时，其发酵能力会大幅下降，在最适条件下，酵母菌到达生长对数期的时间约为 10 h 左右，而在废水中生长条件有一定的限制，酵母菌到达对数生长期的时间相对滞后，到达 36 h 应已进入衰亡期，对植酸的降解能力到达最低点，继续发酵无明显价值，所以本试验条件下选择培养 36 h 较合适。

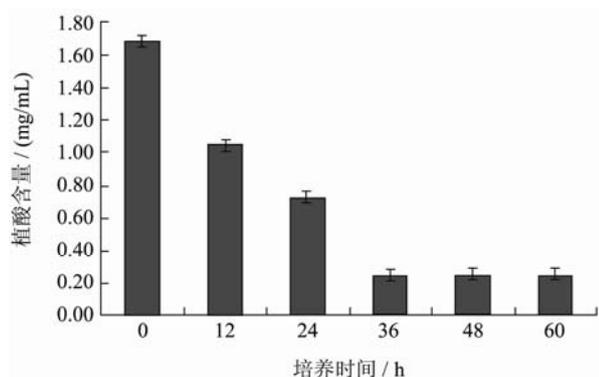


图1 培养时间对植酸含量的影响

Fig.1 The influence of different fermentation time on phytic acid content in processing water

2.2.3 pH 条件对发酵结果的影响

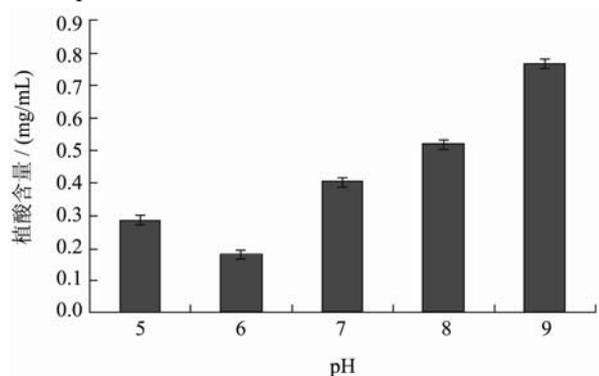


图2 pH 条件对植酸含量的影响

Fig.2 The influence of different pH on phytic acid content in processing water

从图 2 可以看出，pH 为 6 时发酵效果最好，原因可能是，微生物只在对环境生态因子能耐受的范围内生长繁殖，正常情况下，酵母菌适宜在偏酸性的 pH 环境生长，随着 pH 环境偏离其最适范围，虽然微生物仍能生长，其繁殖已受到胁迫，所以当 pH 越高，碱性越强，酵母菌的生长和繁殖受到抑制，对植酸的降解能力必然大大降低，本试验条件下选择 pH 为 6 较合适。

2.2.4 正交试验

由单因素试验结果设计正交试验因素水平表见表 3，由表 4 的正交试验结果和表 5 的方差分析结果

可知，不同因素水平对植酸降解效果的影响不同，从植酸降解率分析，各因素显著性为培养时间>培养温度>pH 条件，试验参数的最优组合为 A₂B₂C₃，即培养温度 32 ℃，培养时间 36 h，pH 为 7。诸因素中，培养时间对植酸降解率影响极显著，培养温度次之。

表 3 L₉(3³) 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels for L₉(3³)orthogonal test

水平	因素		
	A(温度/℃)	B(时间/h)	C(pH)
1	28	24	5
2	32	36	6
3	36	48	7

表 4 L₉(3³) 正交试验结果

Table 4 Result of orthogonal experiment L₉(3³)

序号	因素				植酸含量 / (mg/mL)
	A	B	C	空列	
1	1	1	1	1	1.13±0.03
2	1	2	2	2	0.29±0.02
3	1	3	3	3	0.32±0.03
4	2	1	2	2	0.94±0.02
5	2	2	3	2	0.22±0.01
6	2	3	1	2	0.38±0.02
7	3	1	3	3	1.02±0.03
8	3	2	1	3	0.4±0.04
9	3	3	2	3	0.24±0.03
K ₁	1.74	3.09	1.93	1.59	
K ₂	1.54	0.92	1.47	1.69	
K ₃	1.68	0.94	1.56	1.67	
K ₁ '	0.58	1.03	0.64	0.53	
K ₂ '	0.51	0.31	0.49	0.56	
K ₃ '	0.56	0.31	0.52	0.56	
R	0.07	0.72	0.15	0.03	

表 5 正交试验方差分析

Table 5 Result of variance analysis

方差来源	平方和	自由度	F 值	F _α	显著性
培养温度	0.007	2	3.50		
培养时间	1.032	2	516.00	F(2,2) _{0.05} =19.00	**
pH	0.040	2	20.00	F(2,2) _{0.01} =99.00	*
空列	0.002	2	1.00		-
St.	0	8	-		-

由极差分析可知，温度条件影响不显著，经正交试验得出最高植酸降解率为 87%。首先，酵母菌需经过一定的时间到达生长的对数期，当菌体生长达到一定数量才能较好地降解植酸，而 pH 条件也在较大程度上决定了酵母的生长繁殖，其对温度的耐受范围相对宽

泛。

3 结论

3.1 初筛试验中, K 酵母对植酸的降解效果最好, 降解率达到 85%, 明显高于其它三种酵母, 植酸可能为其生长提供碳源, 因此选用 K 酵母作为最适菌种。

3.2 废水的生长环境不是最适宜的, 在一定程度上限制了 K 酵母的生长, 使其在到达对数生长期的时间滞后, 所以培养的周期相对偏长。

3.3 经正交试验得出, 各因素显著性为培养时间 > 培养温度 > pH 条件, 试验参数的最优组合为培养时间 36 h, 培养温度 32 °C, pH 为 7, 最高植酸降解率为 87%。培养时间对植酸降解率有最显著影响, 温度影响不显著, 可控制在 28 °C 到 36 °C 之间。

3.4 植酸的存在使废水酸性偏高, 其抗营养性限制了废水在饲料中的应用, K 酵母能有效降解废水中的植酸, 发酵后的菌体蛋白的利用有待进一步研究, 植酸

的降解为废水的后续利用和达标排放提供了参考依据。

参考文献

- [1] 刘志强, 贺建华, 曾云龙, 等. 酶及处理参数对水酶法提取菜籽油和蛋白质的影响[J]. 中国农业科学, 2004, 37(4): 592-596
- [2] 曾祥基. 水酶法制油工艺的研究[J]. 成都大学学报(自然科学版), 1996, 15(1): 1-17
- [3] 韩秀山. 植酸的发展概况[J]. 四川化工与腐蚀控制, 2001, 5: 29-32
- [4] 何欣, 计成, 丁丽敏, 等. 植酸及其测定方法[J]. 中国饲料, 1998, 3: 30-32
- [5] 傅启高, 李慧全, 雒秋江. 国产阴离子树脂法测定大豆粉中植酸含量的研究[J]. 新疆农业大学学报, 1997, 20(2): 5-8
- [6] 于慧君, 周建平, 黄耀武. 酶对油菜籽油水酶法提取率的影响研究[J]. 现代食品科技, 2011, 27(3): 328-331