

利用玉米浸泡液生产活性干酵母的研究

袁裕泉, 高怡然, 钟振声

(华南理工大学化学与化工学院, 广东广州 510640)

摘要: 采用玉米浸泡液作为原料, 利用其中的碳源、氮源、无机盐等营养物质发酵生产活性干酵母。探索并优化其发酵条件, 结果表明: 最佳发酵条件为, 玉米浸泡液浓度为 14.00%, 培养基 pH 为 5.5, 初始加入的葡萄糖为 200.00 mg/mL, 接种量为 1.20%, 发酵时间为 46h, 得到的干酵母产量达到最高 17.80 mg/mL, 而且细胞存活率为 96.40%。

关键词: 玉米浸泡液; 活性干酵母; 发酵; 生产工艺

文章编号: 1673-9078(2012)11-1523-1525

Production of Active Dry Yeast by Using Corn Steep Liquid

YUAN Yu-quan, GAO Yi-ran, ZHONG Zhen-sheng,

(School of Chemistry and Chemical technology, South China University of technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Corn steep liquor was used as fermentation raw material for production of active dry yeast by fermentation. Exploring and optimizing the fermentation conditions. The results showed that the best fermentation conditions were corn steep liquor in culture medium 14.00%, pH 5.5, initial glucose 200mg/ml, inoculum size 1.2% ferment time 46 hours, under which the dry yeast could reach the highest yield of 17.00mg/ml, and cell survival rate was 96.40%.

Key words: corn steep liquor; active dry yeast; fermentation; production process

玉米浸泡液^[1]是用湿法生产淀粉产生的副产物, 含有丰富的蛋白质、生长素和一些前体物质, 利用其作为发酵原料, 可为酵母提供氮源、碳源和无机盐等营养物质^[2,3]。目前我国大多数工厂不能充分利用其中的组分, 将其作为废水排掉, 这不仅仅浪费资源, 而且还对环境造成很大的污染。

近年来, 人们在玉米浸泡液的处理回收利用做了大量的研究, 尤其是分离提取糖、蛋白等, 以及将其作为原料发酵生产各种产物, 如肌醇、乳酸、单细胞蛋白等^[4-13]。本文通过发酵法, 以玉米浸泡液作为基础原料, 探索外界条件对酵母产量及活性的影响, 如: 发酵原液初始 pH、接种量、玉米浸泡液浓度、发酵时间和初始葡萄糖含量等, 通过单因素实验确定生产活性干酵母的最佳条件, 为工业生产提供参考条件。

1 原料试剂与仪器

1.1 试剂

玉米浸泡液: 佛山市顺德区德欣淀粉有限公司; 无水葡萄糖、氢氧化钠, 盐酸均为分析纯;

美兰染色液: 次甲基蓝 0.01 g, 二水合柠檬酸三

收稿日期: 2012-07-04

基金项目: 广东省国际科技合作计划项目(B15B207108b)

通讯作者: 钟振声(1955-), 男, 教授, 硕士生导师, 主要从事有机精细化学品的合成、提取和分析表征方面的教学、研究及技术开发工作

钠 2.00 g, 用蒸馏水定容至 100 mL。

1.2 仪器

生物光学显微镜: 南京江南永新光学有限公司; 血球计数板: 上海求精生物技术有限公司; 电子分析天平: 北京赛多利斯天平有限公司; 手提式高压灭菌锅: 江阴滨江医疗设备有限公司; 恒温振荡器: 常州澳华仪器有限公司; 冷冻真空干燥机: 宁波新芝生物科技股份有限公司; 超声波清洗器: 浙江省象山县石浦海天电子仪器厂; 净化工作台: 苏州净化设备有限公司;

1.3 实验菌种

白酒王酿酒高活性干酵母、耐高温酿酒高活性干酵母、银装耐高糖酿酒高活性干酵母、银装耐高糖酿酒高活性干酵母、低糖型酿酒高活性干酵母、酿酒曲、金装耐高糖酿酒高活性干酵母, 均来自湖北安琪酵母股份有限公司; 法国即发酵母: 法国; 丹宝利酿酒高活性干酵母: 广东丹宝利酵母有限公司。

2 实验方法

2.1 培养条件单因素实验

改变培养基的条件(接种量、初始 pH、葡萄糖含量、玉米浸泡液浓度、发酵时间), 测定发酵所得到的干酵母质量及其存活率。

2.2 干酵母活化与培养

称取干酵母菌种,按质量比 1:20 加入到含葡萄糖的量为 3.00% 的无菌溶液中,敞口置于恒温振荡器内,先于 28 °C, 121 r/min 复水 20 min, 然后 30 °C 活化 1.5 h。

待菌种活化之后,分别移植活化菌种于培养液中,置于恒温振荡器中 121 r/min, 32 °C 发酵培养。发酵完成后,溶液 4000 r/min 离心 20 min, 取活性酵母置于真空冷冻干燥机中 9.7 Pa 干燥 15 h, 称重并测定其活性。

2.3 细胞存活率的测定方法

采用美兰染色法,将活化的干酵母溶液与美兰染色液混合,体积比为 1:2, 染色 5~6 min 之后,利用血球计数板计数法,测定酵母存活率。

3 实验结果与分析

3.1 实验菌种的选择

量取一定量的无菌水,加入玉米浸泡液和葡萄糖使其含量分别为 5.00%、3.00%,用 1.00 mol/L 的盐酸调节溶液 pH 至 4.3,分装灭菌之后分别接种 1.00% (体积比) 不同类型的活化菌种,置于恒温振荡器中 121 r/min、32 °C 培养 32 h。最后将培养基 4000 r/min 离心 20 min, 冷冻真空干燥 15 h, 称其质量并测定存活率, 结果汇集于表 1。

表 1 不同实验菌种的选择

Table 1 The screening of experimental strains

酵母菌类型	干酵母质量 / (mg/mL)	酵母细胞存活率 %
耐高温酿酒高活性干酵母	7.70	82.50
低糖型酿酒高活性干酵母	6.90	78.90
白酒王酿酒高活性干酵母	8.30	83.30
酿酒曲	9.20	88.60
银装耐高糖酿酒高活性干酵母	9.30	89.20
丹宝利酿酒高活性干酵母	7.70	81.50
金装耐高糖酿酒高活性干酵母	8.20	83.20
法国即发酵母	7.90	76.20

由表 1 可得:选择银装耐高糖酿酒高活性干酵母作为实验菌种,其产量最高为 9.30 mg/mL, 而且细胞的存活率达到 89.20%。说明该培养基最适合银装耐高糖酿酒高活性干酵母的扩大培养, 因此后续的实验以银装耐高糖酿酒高活性干酵母为菌种。

3.2 接种量的影响

取适量的无菌水,加入玉米浸泡液和葡萄糖使其最终浓度分别为 5.00%、3.00%;调节溶液的 pH 至 4.3。培养基在 121 °C 灭菌 20 min 后,分别接种不同体积的活化银装耐高糖酿酒高活性干酵母。置于恒温振荡器

中 121 r/min、32 °C 培养 32 h。发酵完后 4000 r/min 离心 20 min, 冷冻真空干燥 15 h, 称其质量并测定存活率, 实验结果见图 1。

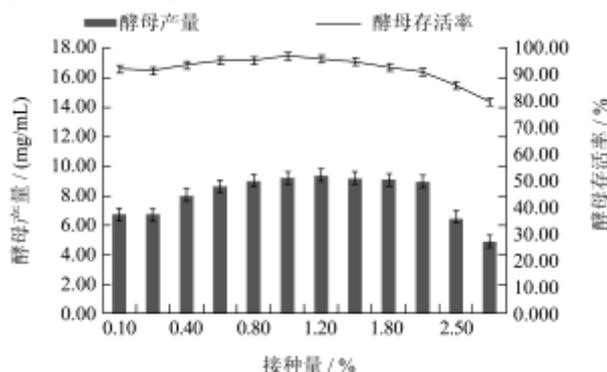


图 1 不同接种量对酵母的影响

Fig.1 Effect of inoculation amount on yeast

由图 1 可以看出:当接种量在 1.00%~1.80% 之间时,干酵母的产量都在 9.10 mg/mL 以上,存活率高于 92.00%。随着接种量的增加,干酵母的最终产量和酵母存活率都会降低,可能是由于初始酵母含量过多,导致培养基中营养物质消耗速度过快,使得酵母没有足够的养分繁殖。综上数据,后续实验选择菌种的接种量为 1.20% 最合适。

3.3 玉米浸泡液浓度的影响

取适量的无菌水,加入葡萄糖使其最终浓度为 3.00% (质量体积浓度),控制玉米浸泡液的浓度;调节溶液的 pH 至 4.3,溶液在 121 °C 灭菌 20 min 后,接种 1.20% (体积比) 的活化银装耐高糖酿酒高活性干酵母。置于恒温振荡器中 121 r/min、32 °C 培养 32 h。发酵完后 4000 r/min 离心 20 min, 冷冻真空干燥 15 h, 称其质量并测定存活率, 实验结果见图 2。

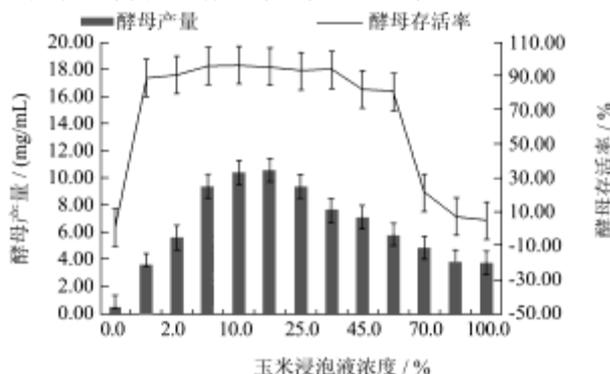


图 2 玉米浸泡液浓度对酵母的影响

Fig.2 Effect of concentration of comsteep liquor effect on yeast

注:以玉米浸泡液含量为 0% 时的培养基为对照。

由图 2 可知:当玉米浸泡液浓度为 14.00% 时,酵母产量最高达到 10.62 mg/mL, 活酵母的细胞数量占总细胞数的 96.12%。因此选择玉米浸泡液浓度为 14.00%。因为当玉米浸泡液浓度低于 1.00% 时,培养

液中的营养物质不足, 酵母细胞繁殖较慢。而玉米浸泡液浓度高于 35.00% 时, 会导致酵母细胞脱水而不能生存, 使其存活率降低并且产量也会下降。

3.4 溶液初始 pH 的影响

取适量的无菌水, 加入葡萄糖和玉米浸泡液使其最终浓度分别为 3.00%、14.00%; 调节溶液的 pH, 培养基在 121 °C 灭菌 20 min 后, 接种 1.20% (体积比) 的活化银装耐高糖酿酒高活性干酵母。置于恒温振荡器中 121 r/min、32 °C 培养 32 h。发酵完后 4000 r/min 离心 20 min, 冷冻真空干燥 15 h, 称其质量并测定存活率, 实验结果见图 3。

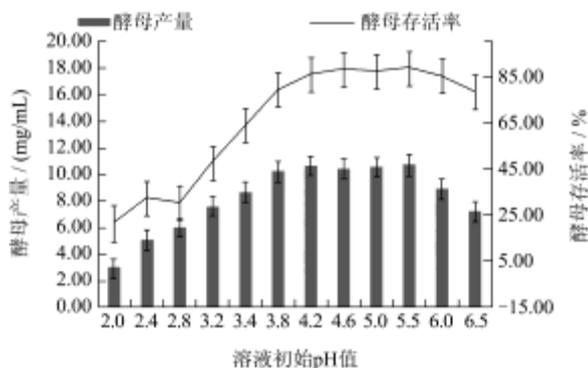


图3 发酵溶液初始 pH 对酵母的影响

Fig.3 Effect of initial pH of fermentation solution effect on yeast

从图 3 可得: 当发酵溶液的初始 pH 为 4.2~5.6 之间时, 干酵母的产量高, 酵母存活率也比其他 pH 溶液要高, 并且能够抑制其他细菌的生长。当溶液初始 pH 低于 4.2 时, 过酸性的溶液会抑制酵母的生长繁殖。而当初始 pH 偏高时, 容易滋生细菌影响干酵母的质量和纯度、存活率。综上考虑, 当溶液初始 pH 为 5.5, 酵母的产量达到 10.80 mg/mL, 酵母存活率为 89.03%。所以后续实验选择溶液初始 pH 为 5.5。

3.5 发酵时间的影响

取适量的无菌水, 加入葡萄糖和玉米浸泡液使其最终浓度分别为 3.00%、14.00%; 调节溶液的 pH 至 5.5, 培养基在 121 °C 灭菌 20 min 后, 接种 1.20% (体积比) 的活化银装耐高糖酿酒高活性干酵母。置于恒温振荡器中 121 r/min、32 °C 下培养, 培养不同的时间。发酵液 4000 r/min 离心 20 min, 冷冻真空干燥 15 h, 称其质量并测定存活率, 实验结果见图 4。

从图 4 可以看出: 当发酵时间到达 46 h, 干酵母的产量为 11.35 mg/mL, 活酵母占的比例为 90.09%。随着发酵时间的延长, 培养基的营养物质基本被消耗, 酵母的产量不会有明显增加, 甚至会分解, 而且活性会下降。因此发酵时间选择为 46 h 最合理。

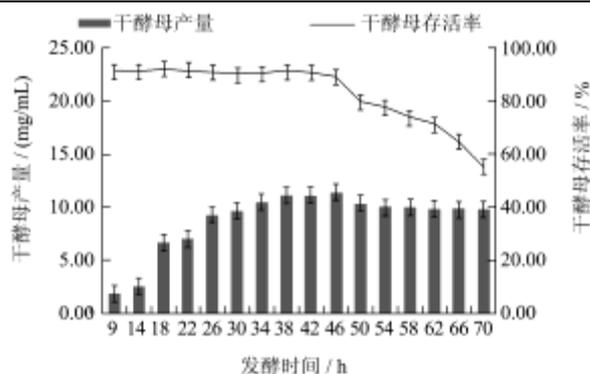


图4 发酵时间对干酵母的影响

Fig.4 Effect of fermentation time effect on the yeast

3.6 初始溶液含糖量的影响

取适量的无菌水, 加入玉米浸泡液使其最终浓度为 14.00%; 再分别加入不同质量的葡萄糖。调节溶液的 pH 至 5.5, 培养基在 121 °C 灭菌 20 min 后, 接种 1.20% (体积比) 的活化银装耐高糖酿酒高活性干酵母。置于恒温振荡器中 121 r/min、32 °C 培养 46 h。发酵完后 4000 r/min 离心 20 min, 冷冻真空干燥 15 h, 称其质量并测定存活率, 实验结果见图 5。

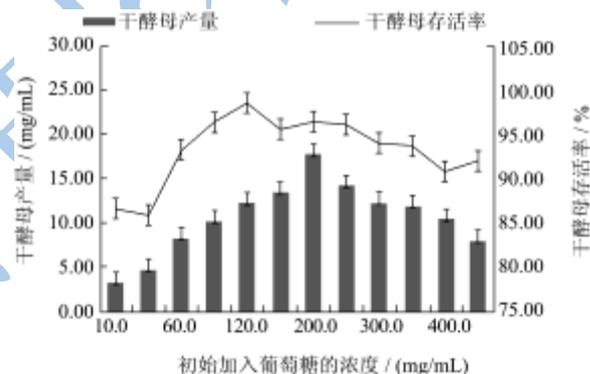


图5 初始加入葡萄糖含量对酵母的影响曲线

Fig.5 Effect of initial concentration of glucose effect on yeast

从图 5 可以看出: 当初始培养基中无水葡萄糖含量为 20.00% 时, 干酵母的产量最高达到 17.80 mg/mL, 存活率为 96.40%。初始葡萄糖含量低于 200.00 mg/mL 时, 加入的葡萄糖越多干酵母的产量越高, 细胞的存活率波动不大。当初始葡萄糖含量高于 200.00 mg/mL 时, 由于溶液中葡萄糖浓度过高, 会抑制酵母的繁殖, 因此产量和活性都会降低。

4 结论

通过单因素实验, 结合以上实验数据得出, 选择银装耐高糖酿酒高活性干酵母作为发酵菌种, 以玉米浸泡液为主要发酵原料, 当其在培养液中的浓度为 14.00%, pH 为 5.5, 初始葡萄糖含量为 200.00 mg/mL 时, 接种 1.20% 的活化后的酵母, 置于 121 r/min 的恒温振荡器中发酵 46 个小时, 最后得到的活性干酵母为

17.80 mg/mL, 而且细胞存活率达到 96.40%。

参考文献

- [1] 李凤英.玉米淀粉厂副产品及废液的综合利用[J].食品科技,1995,1:36
- [2] 李友林,姚惠源.玉米浸泡液中活性多糖的提取、分离纯化[J].粮食与食品工业,1997,4:16-19
- [3] 冯文红,孟庆军,张利群,等.玉米浸泡液成分的快速检测[J].山东科学,2011,24(4):45-49
- [4] 张前程.利用玉米淀粉生产中的废液制备肌醇[J].内蒙古石油化工,1995,26(1):25-26
- [5] 李森.用玉米浸泡液培养单细胞蛋白的研究[J].食品与发酵工业,1989,6:1-8
- [6] 黄继红,田效俊.玉米淀粉废液治理探讨[J].发酵科技通讯,1998,27(3):11-13
- [7] 李明阳,赖富饶,吴晖,等.均匀设计法对 L-乳酸发酵培养基的优化[J].现代食品科技,2009,27(9):1127-1129
- [8] 李黔蜀,叶华,贺立虎.玉米浆作为氮源对透明质酸发酵的影响[J].杨凌职业技术学院学报,2011,10(2):5-7
- [9] 李文友,赵学明.玉米浆为有机氮源的 L-乳酸发酵的研究[J].化工时刊,2006,20(9):61-63
- [10] 卢娜,周顺桂,张锦涛,等.利用玉米浸泡液产电的微生物燃料电池研究[J].环境科学,2009,30(2):563-567
- [11] 丁涓,魏敏,张莉.玉米浆发酵生产 L-乳酸的工艺优化[J].食品科学,2011,1:127-130
- [12] 曹持平,陈少萍,谢勤,等.发酵制取黄原胶的研究[J].现代食品科技,1991,2:30-34
- [13] 林奇龄,温其标,欧仕益,等.玉米皮阿拉伯糖阿魏酸酯体外抗氧化活性的研究[J].现代食品科技,2012,28(1):33-38