

刘倩倩: 响应面优化鲜甘薯生料浓醪发酵乙醇工艺[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(9): 302–304.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.099

响应面优化鲜甘薯生料浓醪发酵乙醇工艺

刘倩倩

(菏泽学院药物科学与技术系, 山东菏泽 274015)

摘要:以鲜甘薯为原料, 对生料浓醪发酵乙醇的工艺进行研究, 通过单因素试验、响应面优化试验探讨原料去皮程度、发酵时间、发酵温度、酵母添加量、复合酶添加量、pH 值等因素对发酵的影响。结果表明, 鲜甘薯生料浓醪发酵乙醇的最佳工艺条件为去皮程度 5%、pH 值 4.5、发酵温度 30 ℃、液固比 3 mL : 1 g、复合酶添加量 1.7%、酵母添加量 2.0%, 并于 120 r/min 摇床发酵 63 h, 当乙醇度达 12.3% (V/V)、淀粉利用率达 93.0%, 则表明该工艺可行。

关键词:鲜甘薯; 生料; 浓醪; 发酵; 响应面

中图分类号: TQ223.12⁺2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0302-03

我国乙醇生产大多采用发酵法, 且多数乙醇厂以薯类为主要原料, 其中甘薯最为普遍。我国甘薯种植极为普遍, 除西藏及东北部分地区外, 其他各省均广泛种植^[1-2]。在乙醇生产中, 甘薯所含淀粉纯度较高, 有利于糖化和发酵, 且由于脂肪、蛋白质含量较少, 发酵时产酸低。传统的淀粉质原料生产乙醇需要高温高压蒸煮, 能耗极大, 约占乙醇生产总能耗的 25%~30%^[3-9]。以鲜甘薯为原料直接生料浓醪发酵乙醇, 可大量减少生产能耗并降低生产成本。通过单因素试验、响应面优化试验优化生料发酵乙醇的工艺条件, 为实际工业生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

甘薯(购于菏泽农贸市场)、活性干酵母、复合酶(淀粉酶、糖化酶、果胶酶、纤维素酶)。

电热恒温鼓风干燥箱、紫外分光光度计、SHZ-D(Ⅲ)型

循环水真空泵、Sartorius CP225D 型电子天平、恒温摇床、电热恒温水浴锅、真空干燥箱、立式压力蒸汽灭菌器、pHS-2 型精密酸度计、显微镜。

1.2 试验方法

1.2.1 鲜甘薯生料浓醪发酵相关分析检测 (1)原料水分含量的测定: 将甘薯粉碎后放入 50 ℃ 恒温干燥箱烘干至恒质量, 计算含水量。(2)原料淀粉含量的测定: 先用酸水解淀粉, 并用 DNS 法测定还原糖浓度, 再换算成淀粉含量。(3)醪液中酵母浓度: 取醪液稀释 n 倍, 摇匀后在显微镜下对酵母计数。(4)醪液中总糖、残糖含量: 采用 DNS 法测定。(5)醪液 pH 值: 采用 pHS-2 精密酸度计测定。(6)发酵醪液中酵母死亡率: 用美兰溶液染色后在显微镜下观察计数。(7)醪液乙醇含量分析: 按照国标 GB/T10781 规定方法测定。

1.2.2 单因素试验 通过试验考察原料去皮程度、发酵时间、发酵温度、pH 值、酵母添加量、复合酶添加量 6 个因素对发酵的影响。采用不同程度去皮的原料各 200 g, 发酵条件为 pH 值 4.0、液固比 3:1、复合酶添加量 1.2%、酵母添加量 2.0%、发酵温度 32 ℃、120 r/min 摇床发酵 72 h。

1.2.3 响应面优化试验 为考察各因素间的交互作用并得到最佳发酵工艺条件, 在单因素试验结果的基础上采用 Design-Expert 软件, 以 A(复合酶添加量)、B(酵母添加量)、

收稿日期: 2014-12-26

基金项目: 山东省“十二五”高等学校重点实验室项目。

作者简介: 刘倩倩(1986—), 女, 山东菏泽人, 硕士, 助教, 主要从事天然产物提取与利用的研究。E-mail: zhengdaqianqian@163.com。

[6] 国家水产品质量监督检验中心. SC/T 3016—2004 水产品抽样方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.

[7] 崔正翠, 许 钟, 杨宪时, 等. 大菱鲆冷藏过程中的鲜度变化与货架期[J]. 食品科学, 2011, 32(2): 285–289.

[8] Lugasi A, Losada V. Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage[J]. Food Science and Technology, 2007, 40(5): 930–936.

[9] 李 丰. 水产品中氧化三甲胺、三甲胺、二甲胺检测方法及鲑鱼丝中甲醛控制研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2010: 23–31.

[10] Pedro C, Juan C P, Ma J C, et al. Total volatile base Nitrogen and its use to assess freshness in European sea bass stored in ice[J]. Food Control, 2006, 17(4): 245–248.

[11] 方 竞. 鱼肉蛋白质冷冻变性机理、测定方法及防止措施[J]. 福建水产, 2001(3): 67–71.

[12] Tironi V A, Tomás M C, Añón M C. Quality loss during the frozen storage of sea salmon (*Pseudoperca semifasciata*). Effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract[J]. LWT – Food Science and Technology, 2010, 43(2): 263–272.

[13] Tolstorebrov I, Eikevik T M, Indergard E. The influence of long-term storage, temperature and type of packaging materials on the lipid oxidation and flesh color of frozen Atlantic herring fillets (*Clupea harengus*) [J]. International Journal of Refrigeration, 2014, 40(4): 122–130.

[14] Zhou L S, Li – Chan E C. Effects of kudoa spores, endogenous protease activity and frozen storage on cooked texture of minced pacific hake (*Merluccius productus*) [J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 1076–1082.

C(发酵时间)、Y(乙醇度)作为响应指标,由 Box - Behnken 中心组合进行 3 因素 3 水平(表 1)优化试验。

表 1 响应面的因素与水平

水平	因素		
	A:复合酶添加量(%)	B:酵母添加量(%)	C:发酵时间(h)
-1	1.0	2.0	60
0	1.5	2.5	70
1	2.0	3.0	80

1.2.4 淀粉利用率计算 淀粉利用率计算公式为:淀粉利用率 = $m/m_0 \times 100\%$ 。其中, m 为发酵液中乙醇量换算成淀粉的质量(g), m_0 为原料中淀粉的质量(g)。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 去皮程度对发酵的影响 去皮程度越高,发酵醪液乙醇含量越高(图 1)。去皮后淀粉含量高,且原料中果胶含量下降,因此淀粉利用率明显提高,而实际生产中既要考虑去皮工艺的设备、人力、物力成本消耗,又要考虑乙醇度的高低,故应根据工厂实际需求选择预处理程度。本试验将去皮程度选取为 5% 左右较为合适。

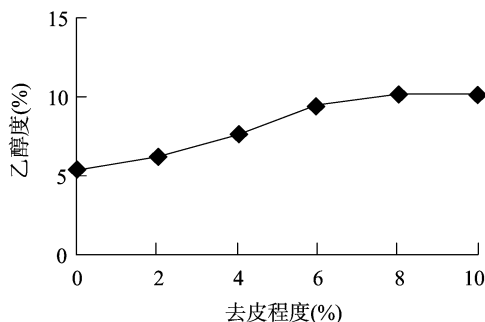


图1 去皮程度对发酵的影响

2.1.2 发酵时间对发酵的影响 乙醇度随着发酵时间的延长逐渐升高,随后基本趋于稳定,并于 70 h 左右达到最大值(图 2)。发酵时间过短则淀粉利用不彻底,残糖量高;若发酵时间过长,酵母可能会利用乙醇产生酸及其他副产物,使乙醇含量降低。本试验将发酵时间选取为 70 h 左右较为合适。

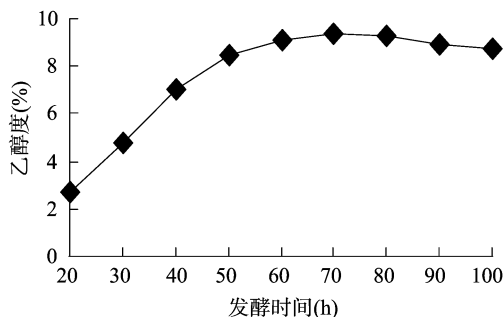


图2 发酵时间对发酵的影响

2.1.3 酵母添加量对发酵的影响 酵母添加量的大小对发酵产乙醇水平的高低影响较大(图 3)。接种量过小则菌数增长缓慢,培养时间长,从而延长发酵周期并降低酵母菌种活力,不利于高产乙醇;若接种量过大,菌数剧增及过多代谢废物使菌种易衰老,导致乙醇度下降。本试验将酵母添加量选

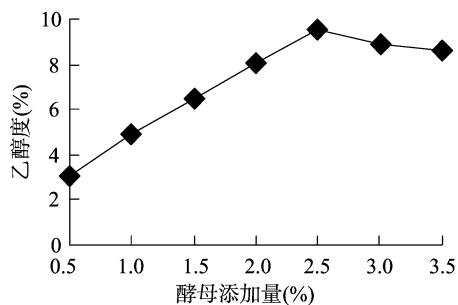


图3 酵母添加量对发酵的影响

取为 2.5% 左右较为合适。

2.1.4 pH 值对发酵的影响 乙醇度随 pH 值的升高而先升高后降低(图 4)。发酵醪液的 pH 值对酵母的生命活动有显著影响,酵母的最适 pH 值为 4.0 ~ 5.0,各种酶也有其最适 pH 值,本试验将 pH 值选取为 4.5 左右较为合适。

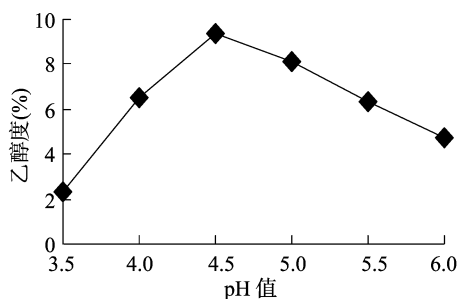


图4 pH 值对发酵的影响

2.1.5 发酵温度对发酵的影响 乙醇度在发酵温度为 30 ~ 40 ℃ 时达到最大值(图 5)。酿酒酵母的最适作用温度为 28 ~ 34 ℃,糖化酶的最适温度为 60 ℃,淀粉酶的最适温度为 30 ℃,考虑到温度对复合酶活力的影响,本试验将发酵温度选取为 35 ℃ 左右较为合适。

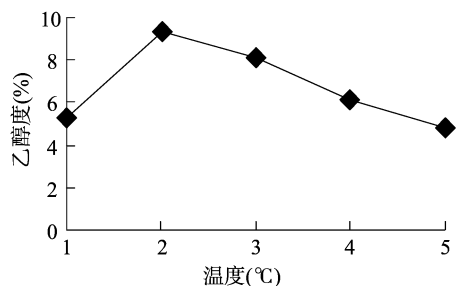


图5 发酵温度对发酵的影响

2.1.6 复合酶添加量对发酵的影响 复合酶添加量的大小对发酵产乙醇水平的高低影响较大(图 6)。葡萄糖的生成速率影响酵母的生长和发酵,复合酶添加量不足则淀粉降解速率慢,进而影响乙醇的发酵速度;复合酶添加量过多则增加经济成本。本试验将复合酶添加量选取为 1.5% 左右较为合适。

2.2 响应面优化试验结果与分析

利用 Design - Expert 统计分析软件对响应面优化试验结果(表 2)进行分析(表 3),得出乙醇度与复合酶添加量(A)、酵母添加量(B)、发酵时间(C)之间的二次多项回归模型方程: $Y = 19.26 - 0.47A - 1.90B - 0.059C - 1.04AB - 2.87AC -$

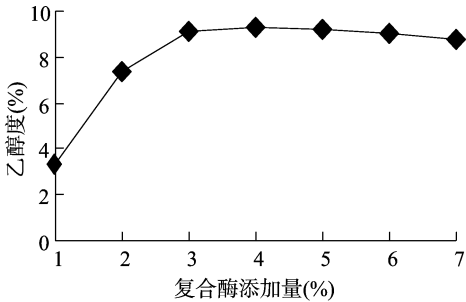


图6 复合酶添加量对发酵的影响

表 2 Box - Behnken 中心组合试验设计与试验结果

试验序号	编码水平			醇度(%)
	A	B	C	
1	0	1	1	5.78
2	0	1	-1	7.43
3	1	1	0	6.35
4	-1	-1	1	11.24
5	1	0	-1	10.71
6	0	0	0	12.32
7	0	0	0	11.75
8	-1	0	1	10.91
9	0	0	0	11.71
10	0	0	0	12.32
11	1	0	1	10.57
12	-1	1	0	9.41
13	0	0	0	12.31
14	0	-1	-1	8.21
15	-1	0	-1	5.34
16	0	-1	1	11.53
17	1	-1	0	11.73

$1.75BC - 1.10A^2 - 1.33B^2 - 3.19C^2$ 。

该回归模型的 P 值 $<0.000\ 1$,表明该模型极显著,各因素的一次项 A 为显著、 B 为极显著,二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 均为极显著,交互项 AB 、 AC 、 BC 均为极显著,且失拟项不显著。线性方程的相关系数 R^2 (0.985 1)与校正后的 R^2 (0.966 0)具有良好的一致性,表明该模型的准确性、适用性较好。由 F 值大小可知,影响 IDF 提取率的因素主次顺序为 $B > A > C$,即酵母添加量 $>$ 复合酶添加量 $>$ 发酵时间。将乙醇度取最大值,软件自动分析得到最优条件:发酵时间 63.25 h、酵母添加量 2.04%、复合酶添加量 1.74%,此条件下乙醇度达到 12.34% (V/V)。为便于试验操作,将各条件选取为发酵时间 63 h、酵母添加量 2.0%、复合酶添加量 1.7%,在此条件下进行 3 次平行验证试验,乙醇度达到 12.30% (V/V),淀粉利用率达到 93%。

表 3 回归模型的方差分析及显著性检验

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	140.540	9	15.620	51.590	$<0.000\ 1$	**
A	1.800	1	1.800	5.960	0.034 6	*
B	28.990	1	28.990	95.780	$<0.000\ 1$	**
C	0.028	1	0.028	3.091	0.371 4	
AB	4.310	1	4.310	14.220	0.007 0	**
AC	33.010	1	33.010	109.030	$<0.000\ 1$	**
BC	12.250	1	12.250	40.470	0.000 4	**
A^2	5.120	1	5.120	16.910	0.004 5	**
B^2	7.390	1	7.390	24.420	0.001 7	**
C^2	42.980	1	42.980	141.990	$<0.000\ 1$	**
误差	2.120	4	0.300			
失拟	1.140	3	0.380	1.550	0.333 1	
总和	142.660	16				

注: $R^2=0.985\ 1$,校正 $R^2=0.966\ 0$; *、** 分别表示差异显著 ($0.01 < P < 0.05$)、差异极显著 ($P < 0.01$)。

3 结论

采用响应面法对鲜甘薯生料浓醪发酵乙醇的工艺进行优化,建立的二次多项式数学模型显著性良好,酵母添加量对乙醇度的影响最大,复合酶添加量次之,发酵时间最小。鲜甘薯生料浓醪发酵乙醇的最佳工艺条件为去皮程度 5%、pH 值 4.5、发酵温度 30 ℃、液固比 3 : 1、复合酶添加量 1.7%、酵母添加量 2.0%、120 r/min 摇床发酵 63 h,此工艺条件下乙醇度达到 12.30% (v/v),淀粉利用率达到 93%。

参考文献:

[1]张柏青. 生薯类原料的酒精发酵[J]. 食品与发酵工业,1983 (6):59-63.
[2]金绍黑. 甘薯燃料乙醇发酵技术[J]. 技术与市场,2007(11): 23-24.
[3]李 艳,张志民. 发酵工业概论[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999:298-303.
[4]吴国峰,李国全,马永强. 工业发酵分析[M]. 北京:化学工业出版社,2006.
[5]余龙江. 发酵工程原理与技术分析[M]. 北京:化学工业出版社,2006:247-249.
[6]章克昌. 酒精与蒸馏酒工艺学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1995.
[7]兰志平,马海柳,朱西儒. 甘薯直接发酵生产酒精工艺条件的研究[J]. 广州大学学报:自然科学版,2008,7(5):52-55.
[8]靳艳玲,甘明哲,方 扬,等. 鲜甘薯发酵生产高浓度乙醇的技术[J]. 应用与环境生物学报,2009,15(3):410-413.
[9]徐大鹏,冯 英,王俊增,等. 木薯发酵乙醇工艺的研究进展[J]. 酿酒科技,2012(1):93-97.