

李海明, 李瑞美, 潘世明, 等. 木薯淀粉生产酒精的发酵工艺研究 [J]. 福建农业学报, 2013, 28 (6): 593-596.

LI H-M, LI R-M, PAN S-M, et al. Fermentation Techniques of Producing Alcohol with Cassava Starch [J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2013, 28 (6): 593-596.

木薯淀粉生产酒精的发酵工艺研究

李海明, 李瑞美, 潘世明, 张树河

(福建省农业科学院甘蔗研究所, 福建 漳州 363005)

摘要: 以淀粉糖发酵生成的酒精值为指标, 对木薯淀粉生产酒精的发酵条件进行研究, 分析时间、温度、pH、氮源种类、硫酸铵用量和酵母用量等因素对木薯淀粉酒精发酵的影响。结果表明: 反应时间在 72~84 h, 温度在 35~40℃, pH 在 4.5~5.0, 硫酸铵用量 1.0%~1.2%, 酵母用量 10%~15% 时木薯淀粉的酒精发酵效果最好。通过正交试验设计确定了最佳发酵条件: 时间 84 h、温度 40℃、硫酸铵用量 1.2%、酵母用量 15%, 发酵验证酒精值达 11.16% (V/V), 出酒率为 52.19%。

关键词: 木薯; 淀粉; 酒精; 优化

中图分类号: TS 262

文献标识码: A

Fermentation Techniques of Producing Alcohol with Cassava Starch

LI Hai-ming, LI Rui-mei, PAN Shi-ming, ZHANG Shu-he

(Sugarcane Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou, Fujian 363005, China)

Abstract: The fermentation conditions for generating alcohol from cassava starch were studied in this experiment using alcohol concentration as index. The single factors used in fermentation were carried out on reaction time, temperature, pH, nitrogen source, additive dosage of ammonium sulfate and yeast. The results showed that with reacting time 72 to 84 h, temperature 35 to 40℃, pH 4.5 to 5.0, ammonium sulfate 1.0% to 1.2% and yeast 10% to 15%, the alcohol generating of cassava starch revealed the best efficiency. By orthogonal experiment, the optimum fermentation conditions were determined as adding 1.2% ammonium sulfate and 15% yeast, fermenting at 40℃ for 84h; of which the alcohol concentration and the yield of liquor reached to 11.16% (V/V) and 52.19%, respectively.

Key words: cassava; starch; alcohol; optimization

随着中国经济的快速发展, 能源的过度消耗与利用, 造成石油、天然气、煤等不可再生化石能源的严重短缺, 寻找替代能源迫在眉睫, 可再生的生物能源具有广阔的市场前景^[1]。在我国, 玉米、小麦、水稻、马铃薯、红薯等作物中的淀粉是传统的酒精生产原料^[2-6], 不仅生产成本昂贵又会影响国家粮食安全, 为此酒精生产原料“非粮化”是发展趋势。因此, 来源广泛、成本低廉的生物燃料酒精生产原料成为国内外研究与开发的重点。木薯 (*Manihot Esculenta Crantz*) 是我国南方一种非常重要的经济作物, 耐瘠、耐旱, 淀粉 (25%~

35%) 含量高, 能在边际土壤中生长, 不与粮食争地, 符合国家大力发展生物能源的战略要求^[7], 是一种极好的酒精生产原料。

目前, 我国在木薯淀粉发酵生产酒精的研究与开发方面, 莫丽春、赵江、陆雁、易弋等^[8-11]采用木薯粉和干片在低温水解和浓醪发酵等方面进行过较为详尽的研究, 而在高温水解和稀醪发酵等方面研究报道还相对较少。为进一步研究与优化木薯淀粉酒精发酵工艺, 本试验以木薯淀粉为原料, 采用高温水解和稀醪酒精发酵的方法, 对温度、时间、pH、氮源种类、硫酸铵用量和酵母用量等影

收稿日期: 2013-03-28 初稿; 2013-05-26 修改稿

作者简介: 李海明 (1975-), 女, 助理研究员, 主要从事木薯、甘蔗等作物的研究

通讯作者: 张树河 (1975-), 男, 副研究员, 主要从事木薯种质资源的引进筛选及开发利用研究 (E-mail: shuhe35@sina.com)

基金项目: 福建省科技计划项目——省属公益类科研院所基本科研专项 (2011R1015-1)

响发酵工艺的因素进行了研究与分析, 以期为本薯淀粉酒精发酵工艺的研究与开发提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 木薯淀粉 由福建省农科院甘蔗研究所木薯试验基地种植与加工而成。

1.1.2 α 耐高温淀粉酶、糖化酶 由山东省枣庄市杰诺生物酶有限公司生产, 酶活力分别为 $20\,000\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $100\,000\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.1.3 酵母菌 酿酒酵母由厦门大学生物能源研究中心提供。

1.2 试验方法

1.2.1 液化^[12] 将木薯干粉与水按 1:5 比例调成淀粉乳, 再加入 α 耐高温淀粉酶, 在 100°C 水浴中液化 1 h 后自然冷却。

1.2.2 糖化^[13] 调液化液 pH 为 4 后加入糖化酶, 在 65°C 摇床中糖化 105 min 后, 自然冷却成供发酵使用糖化液。

1.2.3 酵母活化 将保存于冰箱中的酵母菌株, 接种在固体培养基中活化培养 36 h, 再转移至液体培养基中扩大培养 24~48 h 后待用。

1.2.4 试验设计 酒精发酵基础条件: 250 mL 三角瓶装 100 mL 糖化液, pH4.5, 添加 0.8% 硫酸铵和 10% 酵母于 35°C 培养箱中静置培养 72 h。

单因素试验: 设不同的反应时间 (60~120 h)、温度 ($25\sim50^\circ\text{C}$)、pH (3.5~6)、氮源 0.8% (蛋白胨、酵母膏、牛肉浸膏、硫酸铵、硝酸铵和尿素)、硫酸铵用量 (0.6%~1.6%)、酵母用量 (5%~30%) 等单因素范围内进行试验, 确定发酵的最佳参数范围。

正交试验: 选择时间 (72、84、96 h)、温度 (30、35、 40°C)、硫酸铵用量 (0.8%、1.0%、1.2%) 和酵母用量 (10%、15%、20%) 作 4 因素 3 水平的 $L_9(3^4)$ 正交试验, 从中确定最佳的发酵条件。

1.2.5 酒精值的测定^[14] 取新鲜的发酵液 100 mL 于蒸馏瓶中, 加入等体积蒸馏水进行蒸馏, 利用酒精计 (标温 20°C) 的常规方法来进行酒精值的测定。

1.2.6 酒精转化率^[15] 酒精转化率 = [酒精体积 (mL) \times 酒精度 (%)] / 淀粉含量 (g) $\times 100\%$ 。

1.2.7 数据整理分析 数据用 Excel 和 DPS 软件进行整理与分析。

2 结果与分析

2.1 时间对木薯淀粉酒精产量的影响

酵母发酵产酒精先要经过一段酵母生长期, 然后再进入发酵期。由图 1 可知, 72 h 酒精值最高; 方差分析结果表明, 时间 72、84 和 96 h 对酒精值之间的差异为不显著与极不显著, 与 60、108、120 h 酒精值之间的差异达到显著与极显著水平。因此, 反应时间以 72~96 h 为宜。

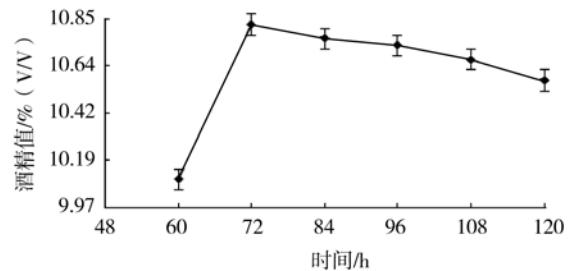


图 1 时间对木薯淀粉酒精产量的影响

Fig. 1 Effect of time on alcohol production with cassava starch

2.2 温度对木薯淀粉酒精产量的影响

温度过高过低都会对酵母的活性产生一定的影响, 从而影响酒精产量。由图 2 可知, 温度 40°C 酒精产量最高; 方差分析结果表明, 温度 40°C 与 35°C 对酒精值之间的差异不显著与极不显著, 但与 25、30、45 和 50°C 酒精值之间的差异达显著与极显著水平。因此, 温度以 $35\sim40^\circ\text{C}$ 为宜。

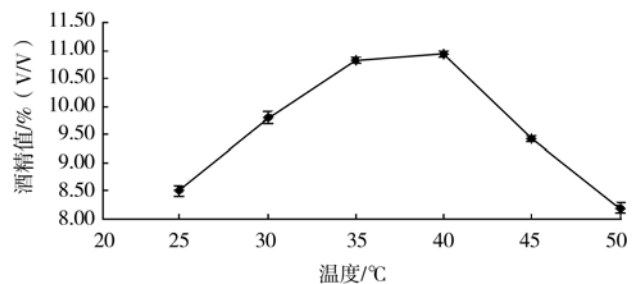


图 2 温度对木薯淀粉酒精产量的影响

Fig. 2 Effect of temperature on alcohol production with cassava starch

2.3 pH 对木薯淀粉酒精产量的影响

pH 对酵母的生命活动及酶活会产生明显的影响, 过高过低都不利于酒精的发酵。由图 3 可知, pH4.5 酒精产量最高; 方差分析结果表明, pH4.5 与 pH5 对酒精值的差异为不显著与极不显著, 但与 pH3.5、4.0、5.5 和 6.0 酒精值差异达显著与极显著水平。因此, pH 以 4.5~5.0 为宜。

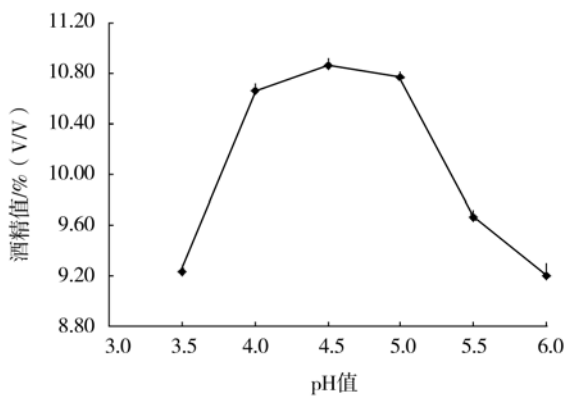


图3 pH对木薯淀粉酒精产量的影响

Fig. 3 Effect of pH on alcohol production with cassava starch

2.4 氮源种类对木薯淀粉酒精产量的影响

为满足酵母菌的正常生长，必须提供足够的氨基态氮，氮源不足会影响发酵。由图4可知，以硫酸铵作为氮源时木薯淀粉的酒精值最高；方差分析结果表明，以硫酸铵作为氮源时酒精值与酵母膏之间的差异为显著与极不显著水平，但与蛋白胨、牛肉浸膏、硝酸铵和尿素的酒精值之间的差异达显著与极显著水平。同时，本试验所用的各种氮源，以硫酸铵的价格最低。因此，综合淀粉酒精值和生产成本，氮源种类以硫酸铵为宜。

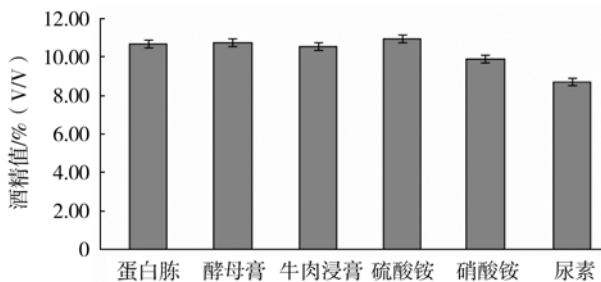


图4 氮源种类对木薯淀粉酒精产量的影响

Fig. 4 Effect of nitrogen sources on alcohol production with cassava starch

2.5 硫酸铵用量对木薯淀粉酒精产量的影响

硫酸铵用量对木薯淀粉发酵产酒精会产生显著的影响，过多过少都不利于发酵的进行。由图5可知，以1.2%硫酸铵作为氮源时木薯淀粉的酒精值最高；方差分析结果表明，1.2%硫酸铵的酒精值与0.8%、1.0%之间的差异为不显著与极不显著，但与0.6%、1.4%和1.6%之间的差异达显著与极显著水平。因此，硫酸铵用量以0.8%~1.2%为宜。

2.6 酵母用量对木薯淀粉酒精产量的影响

酵母的生长需要消耗一部分的糖，酵母用量过

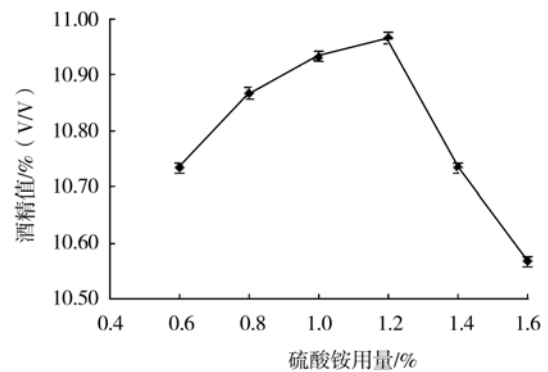


图5 硫酸铵用量对木薯淀粉酒精产量的影响

Fig. 5 Effect of dosage of ammonium sulfate on alcohol production with cassava starch

多过少都会影响酒精的发酵。由图6可知，酵母用量10%时木薯淀粉的酒精值最高；方差分析结果表明，10%的酵母用量时酒精值与15%之间的差异为显著与极不显著水平，但与5%、20%、25%和30%之间的差异达显著与极显著水平。因此，酵母用量以10%~15%为宜。

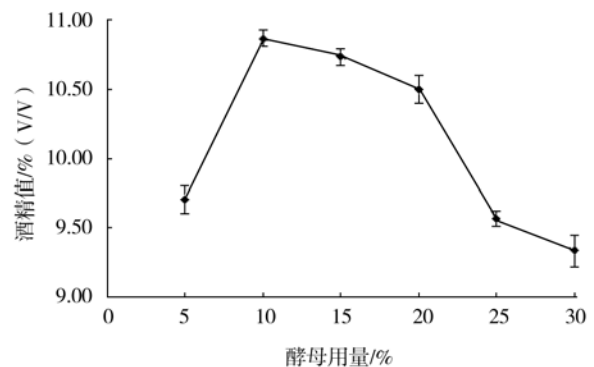


图6 酵母用量对木薯淀粉酒精产量的影响

Fig. 6 Effect of dosage of yeast on alcohol production with cassava starch

2.7 正交试验

根据单因素的试验结果，以时间、温度、硫酸铵用量和酵母用量作4因素3水平的正交试验，以酒精值为指标，确定木薯淀粉酒精的最佳发酵工艺参数。从表1试验结果的极差值(R)及方差分析结果可知，处理5酒精产量最高，与处理3酒精产量差异不显著与或极不显著，但与其他7个处理之间的差异达显著与极显著水平；影响木薯淀粉发酵的因素主次顺序依次为C>A>B>D，其最佳组合为时间84h、温度40℃、硫酸铵用量1.2%、酵母用量15%，与单因素试验吻合，以最佳条件组合做发酵验证，酒精值达到11.16%(V/V)。

表 1 L9(3⁴) 正交实验设计及结果分析
Table 1 Designs and results of L9(3⁴) orthogonal tests

处理号	因素				酒精值(V/V) /%	5%水平	1%水平
	A(时间 h)	B(温度℃)	C(硫酸铵用量%)	D(酵母用量%)			
1	1(72)	1(30)	1(0.8)	1(10)	10.63	f	F
2	1(72)	2(35)	2(1.0)	2(15)	10.93	bcd	BCD
3	1(72)	3(40)	3(1.2)	3(20)	11.03	ab	AB
4	2(84)	1(30)	2(1.0)	3(20)	10.83	de	DE
5	2(84)	2(35)	3(1.2)	1(10)	11.13	a	A
6	2(84)	3(40)	1(0.8)	2(15)	10.97	bc	BC
7	3(96)	1(30)	3(1.2)	2(15)	10.87	cde	CDE
8	3(96)	2(35)	1(0.8)	3(20)	10.67	f	EF
9	3(96)	3(40)	2(1.0)	1(10)	10.80	e	DE
K1	97.8	97.0	96.8	97.7			
K2	98.8	98.2	97.7	98.3			
K3	97.0	98.4	99.1	97.6			
R	1.8	1.4	2.3	0.7			

3 讨 论

3.1 木薯粗生快长, 适应性好, 耐瘠、耐旱, 能在边际土壤中生长, 广泛种植于广西、云南、海南、广东、福建等省区, 是我国南方一种非常重要的经济作物。同时, 木薯淀粉(25%~35%)含量高又不与粮食争地, 符合国家大力发展生物质能源的规划要求, 作为可替代生物质能源, 极具应用与发展前景。

3.2 木薯淀粉发酵生产酒精的最佳工艺条件为时间 84 h、温度 40℃、硫酸铵用量 1.2%和酵母用量 15%, 在此工艺条件下生产酒精, 酒精值高达 11.16% (V/V), 出酒率为 52.19%, 比玉米、小麦、水稻、马铃薯、红薯等淀粉质为原料的出酒率都高, 说明木薯淀粉是一种生产酒精的极好原料。

3.3 莫丽春、赵江、陆雁、易弋等^[8-11]分别以木薯粉和干片为原料, 采用低温水解或浓醪发酵的方法, 出酒率分别为 48.8%、49.2%、37.3% 和 45.4%。而本试验采用木薯淀粉的高温水解和稀醪发酵的方法, 出酒率可达 52.19%, 说明高温水解和稀醪发酵适合于木薯淀粉酒精的发酵生产工艺, 具有一定的参考价值。

参考文献:

[1] 张桥, 周礼红, 康冀川. 生物转化淀粉产燃料乙醇的研究进展

[J]. 长江大学学报: 自然科学版, 2007, 4 (1): 88-91.

[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] 孙建祥. 用小麦淀粉生产酒精的工艺探讨 [J]. 酿酒科技, 2002, (5): 91-92.

[4] 汪芳安, 熊友枝, 王发兴, 等. 籼米酿制发酵酒新工艺研究 [J]. 武汉工业学院学报, 2001, (3): 1-4.

[5] 王金华, 李本德, 丁发博, 等. 马铃薯淀粉发酵制酒工艺研究 [J]. 广西农学报, 2010, 25 (2): 17-19.

[6] 刘忠义, 张勉, 张静, 等. 薯干补料生料发酵制燃料酒精技术研究 [J]. 中国粮油学报, 2010, 25 (6): 41-45.

[7] 国务院办公厅. 国务院办公厅关于促进我国热带作物产业发展的意见 [J]. 中国热带农业, 2010, (6): 4-5.

[8] 莫丽春, 彭文, 朱冰清, 等. 木薯粉生料低温水解制酒精的发酵工艺研究 [J]. 食品与发酵科技, 2012, 48 (1): 33-35.

[9] 赵江, 赵华. 木薯酒精发酵条件优化 [J]. 酿酒, 2003, 30 (2): 76-79.

[10] 陆雁, 秦艳, 李明松, 等. 木薯淀粉高温浓醪发酵酒精工艺的研究 [J]. 酿酒科技, 2009, (9): 23-25.

[11] 易弋, 黎娅, 伍时华, 等. 木薯粉酒精浓醪发酵条件的优化 [J]. 中国酿造, 2008 (23): 61-63.

[12] 张树河, 李海明, 吴松海, 等. 木薯淀粉制燃料酒精的技术研究 [J]. 福建农业学报, 2010, 25 (2): 163-166.

[13] 张树河, 李海明, 潘世明, 等. 木薯淀粉酶解糖化工艺研究 [J]. 福建农业学报, 2011, 26 (5): 818-821.

[14] 蔡定域. 实用酒精分析 [M]. 成都科技大学出版社, 1994.

[15] 段钢, 许宏贤. 大米生料发酵酒精生产的研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27 (1): 95-102.

(责任编辑: 柯文辉)