

薯渣固体发酵柠檬酸的研究

上海市工业微生物研究所

上海市嘉定县城东公社农药厂

上海市土产进出口公司

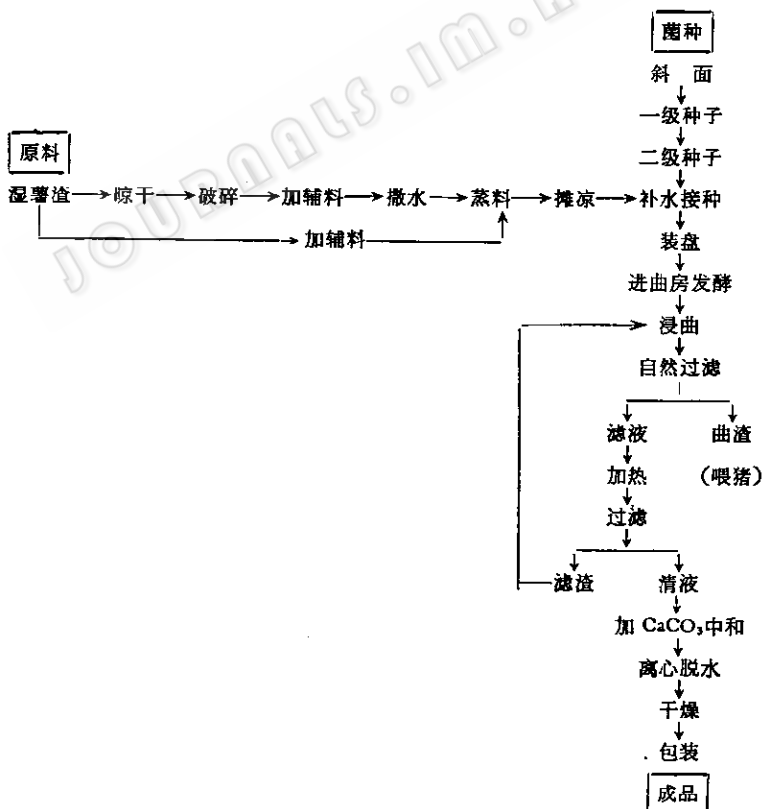
柠檬酸的生产,国内目前主要采用深层发酵法。由于这种方法需用不锈钢衬里发酵罐,而且生产中耗用大量粮食原料,使柠檬酸的生产发展受到一定限制,柠檬酸的产量还远不能满足人民生活和社会建设的需要。

我们由1973年开始,利用农村生产甘薯淀粉的下脚——薯渣作原料,进行了固体发酵柠檬酸的研究。通过小型实验和中间试验,选出了适于固体曲发酵柠檬酸的生产菌宇佐美曲霉G₁B₁,确定了固体盘曲法生产柠檬酸的工艺条件,柠檬酸产率(对干曲计)为31.78%,

转化率(对总糖计)为53.5%。为了便于土法上马,本试验系将固体曲中所形成的柠檬酸制成半成品柠檬酸钙,这种半成品可以直接出口,也可以集中起来进一步加工制成柠檬酸。

薯渣固体发酵柠檬酸所需原料丰富,生产工艺简单,设备要求不高,易于土法上马,为发展柠檬酸工业提供了新的生产途径。

生产流程



原料的处理及辅料用量的选择

一、原料的处理

供发酵的原料可以用干薯渣,也可以用湿薯渣。干燥的薯渣经分析,其淀粉含量为 54.6%,粗蛋白 1.9%,粗纤维 25.6%。使用干薯渣时,应首先用粉碎机将其粉碎,取粒径为 2—4 毫米的粗料和粒径为 2 毫米以下的细料相混合,即可供发酵制曲使用。

就地利用薯渣原料固体发酵柠檬酸时,不必将薯渣进行干燥,压榨后的薯渣可以直接使用,这样既保证了薯渣质量,又省去了破碎、筛分等工序。

二、辅料及其用量的选择

(一) 氮源及其用量的选择

薯渣含氮量较低,必须补充一部分含氮量较高的辅料以弥补氮源。通过试验,确定米糠、麸皮、尿素、硫酸铵均可作为氮源辅料,其适宜用量分别为 10%, 16%, 0.4%, 0.7% (见表 1)。氮源辅料添加适量的情况下,生酸转化率可达 70% 以上,添加量过大或不足时,都会导致生酸水平低落。因此,严格掌握氮源辅料的添加量是薯渣固体发酵柠檬酸的重要环节。

表 1 几种氮源适宜添加量的选择试验结果

米 糠		麸 皮		尿 素		硫 酸 铵	
添加量 (%)	生酸转化率 (%)	添加量 (%)	生酸转化率 (%)	添加量 (%)	生酸转化率 (%)	添加量 (%)	生酸转化率 (%)
6	63	12	63.2	0.1	48	0.5	59
7	68.4	13	66	0.2	60	0.6	64.2
8	69	14	66	0.3	68	0.7	70
9	69	15	70	0.4	73	0.8	66
10	74.2	16	72	0.5	72	0.9	62.2
11	70	17	65.4	0.6	71	1.0	60
12	68.8	18	59.8				
		19	59				

(二) 碳酸钙最适添加量的选择

通过试验,证明碳酸钙对薯渣固体发酵柠檬酸有着显著的影响,不仅可以使生酸转化率明显提高,而且

表 2 碳酸钙适宜添加量的选择试验结果

碳酸钙添加量 (%)	米糠添加量 (%)	生酸转化率 (%)	碳酸钙添加量 (%)	尿素添加量 (%)	生酸转化率 (%)
—	11	66.8	—	0.5	66
2	10	72.2	2	0.4	71
3	10	74.2	3	0.4	73
4.5	9	70	4.5	0.3	70
6.4	9	69	6.4	0.3	69

可以使适宜的氮源水平有所下降。碳酸钙添加量为 3% 时,生酸转化率比不添加碳酸钙时约提高 10—15%。表 2 试验结果表明,碳酸钙添加量超过或低于 2—3% 时,生酸转化率均有下降趋势。从经济效益考虑选用 2% 碳酸钙添加量是有利的,不仅保证了产酸的需要,而且可以减少因碳酸钙添加过多, pH 下降缓慢引起的芽孢杆菌污染。

制 曲 工 艺

一、种曲的制备

(一) 菌 种

字佐美曲霉 (*Aspergillus usamii*) G₃ B₄

(二) 斜面培养

取 4 波美度的麦芽汁,加 2.5% 琼脂制成斜面培养基。接种后在 30—32℃ 培养 5—6 天即可使用。

(三) 一级种子

培养基配比为:麸皮 100 斤,碳酸钙 10 斤,硫酸铵 5 两,水 100—110 斤。

制种操作:先将麸皮、碳酸钙干料拌和均匀,硫酸铵溶解在水中,然后将硫酸铵水溶液徐徐加入干料,拌均匀后放入三角瓶或蘑菇瓶中,用绒布、牛皮纸封口后放入高压灭菌锅、1.5 公斤/厘米² 蒸汽灭菌 60 分钟。待瓶料冷却后,灭菌操作接入于斜面上培养好的曲霉孢子摇匀放入种曲室(30—32℃)培养。培养 12—15 小时进行第一次翻瓶(将瓶内培养基结成的饼块摇碎,铺平后继续培养),再隔 5—8 小时,菌丝已可见,并且再次结块,此时应第二次翻瓶,待瓶内培养基第三次结成松散的曲块时,应扣瓶(即将瓶子放倒,使松散的曲块更多的接触空气)培养 3—4 天。待种曲的棕黑色孢子相当密集时即可供使用。

(四) 二级种子

是一级种子的扩大培养。制备方法与一级种子相同。

二、固体盘曲的制备与发酵

(一) 配 料

取用表 3 中任意一号培养基均可。使用第 1、2 号培养基时,氮源辅料应在生料中配入,使用第 3、4 号培养基时,氮源辅料应在蒸料后加入,尿素或硫酸铵应首先溶解在待补加的热水中,同水一起加入。用干薯渣制曲时,还需在粉碎后的薯渣中加入适量水分,100 斤 2—4 毫米粒径的粗料撒水 85 斤,100 斤 2 毫米以下的细料加水 70 斤。

表 3 几种培养基的组成

培养基编号	湿薯渣(斤)	碳酸钙(斤)	氮源辅料(斤)
1	100	2	米 糠 11
2	100	2	麸 皮 19
3	100	2	尿 素 0.4
4	100	2	硫酸铵 0.7

(二) 蒸 料

蒸料是为了彻底杀灭物料中的杂菌，以保证产酸菌种接入后能顺利的生长、产酸，同时，蒸料利于淀粉的糊化和蛋白质的水解，利于产酸菌的吸收和利用。

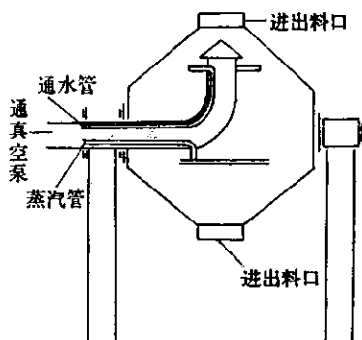


图 1 旋转蒸锅示意图

蒸料用旋转蒸锅(见图 1)。薯渣和辅料入锅后，旋转锅身，使干料翻拌均匀，通入蒸汽干蒸 1 小时去粘，再从轴中的进水管徐徐向锅内干料加入预先定量的水，加完后使料浸润 20 分钟，通入蒸汽加压至 1.5 公斤/厘米² 蒸料 10 分钟，排气降压，抽真空加快物料冷却，打开出料口出料。整个蒸料操作都是在锅身旋转中进行，所以蒸料快而均匀，灭菌彻底，蒸出的熟料物理性状好——料质熟而疏松，同时操作简便。

也可用蒸锅蒸料，但必须注意进料时的压汽操作——蒸锅料面上哪里冒汽，就哪里撒料，哪里因料压得过紧久不冒汽，就得进行翻动，以免造成汽路闭塞形成死角。下完料后并不要求料面平整，而要整个料面均匀冒汽——圆汽，然后加盖，蒸料 1 小时。

(三) 摊 凉

料蒸好后，出锅摊凉，冷却料温，同时破碎蒸料时粘结的料团。

(四) 补水接种

薯渣固体发酵柠檬酸，曲中要有 71—77% 的含水量才能得到较高的生酸水平，而为了防止蒸料粘结，生料含水量通常不超过 60%，所缺水份在蒸料后补足。要补的水预先煮沸 10 分钟灭菌，待冷却后使用，种曲

和抗污染剂可一并加入补水中。接种量:0.2—0.3%。

(五) 装盘及发酵

补水接种完毕的薯渣曲料装进搪瓷盘，曲料厚 4—7 厘米，在气温低季节曲层可略厚些，气温高的季节可略薄些。

装盘之后，将曲盘放进曲室的架子上进行培养。通常应控制曲室湿度在 85—90%，曲室温度应依品温的变化进行调节，发酵过程的前 18 小时应控制在 27—31℃，这时品温与室温相同。18—48 小时，品温上升至 40℃ 以上，此期间应使之维持在 38—43℃。48 小时以后，品温下降至略高于室温，一般控制 35℃ 左右。由于曲架的上层与下层品温相差较大，所以在发酵 40 小时时，应进行一次拉盘，即将上下层曲盘对调。整个发酵过程中无需扣盘或翻动。

固体曲发酵柠檬酸的影响因素

一、曲料的起始 pH 对产柠檬酸的影响

试验表明，曲料的起始 pH 以自然 pH(pH6.5) 为好，pH 低于 6.5 时，菌的长势不好，生酸转化率下降。

二、曲的含水量对产柠檬酸的影响

试验比较了曲的不同含水量对产柠檬酸的影响。

表 4 曲料起始 pH 对产柠檬酸的影响

曲料起始 pH	产酸菌长势	生酸转化率(%)
6.5 (自然 pH)	++++	67
4.5	++++	57
3.0	+++	42
2.5	++	28
2.0	—	—

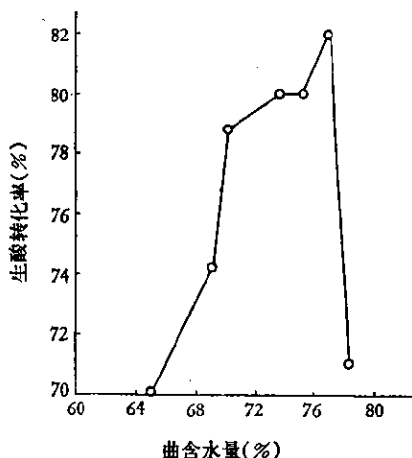


图 2 曲的含水量对产酸的影响

结果如图 2 所示,曲的含水量以70—77%比较适宜,低于或高于70%时,产酸急剧下降。

三、曲层厚度对产酸的影响

曲层厚度小,则设备利用率低,劳动效率也小;曲层厚度过大,通气效果不良,影响产酸菌的生长和使产酸率下降。为此,试验了曲层厚度的适宜范围。结果表明曲层厚度在 4—7 厘米产酸效果良好。从设备利用率和劳动效率考虑,选用 7 厘米曲层厚度是合理的。

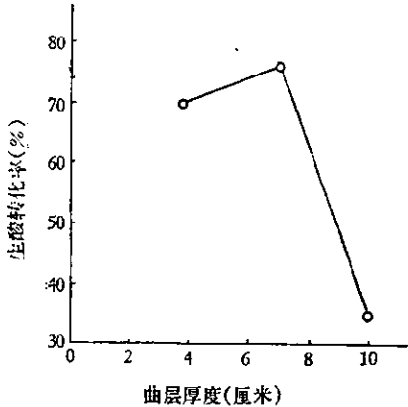


图 3 曲层厚度对产酸的影响

四、发酵过程的变化

发酵 20 小时,曲层表面呈浅黄色,可见绒毛状气生菌丝,36 小时可见灰白色孢子,分生孢子梗长达 2 毫米左右,48 小时孢子转为棕色,以后逐渐加深,结块越来越实;96 小时,曲层表面孢子密集,呈棕褐色,曲块明显收缩。发酵过程中淀粉逐渐被消耗,pH 逐渐下降,生酸转化率相应上升(见图 4)。

杂菌的污染与防止

用曲盘法进行薯渣固体发酵柠檬酸是一种敞开发

酵,发酵周期长,曲中含水量又高,所以比较容易污染杂菌。主要的杂菌污染有两种:芽孢杆菌与青霉。芽孢杆菌的芽孢体,对热的抵抗力强,在蒸料时常未能彻底杀灭,它的生长延迟期比黑曲短,长势快,因此常在发酵初期,获得生长优势,由于生物竞争以及这种芽孢杆菌的代谢产物对产酸菌的毒害性,抑制了产酸菌的生长。而青霉菌常常在后期发生。这是因为随着柠檬酸的生成,曲的 pH 值下降,由于青霉菌的嗜酸性和能够同化柠檬酸作为碳源,所以发酵后期的曲很利于青霉的生长。

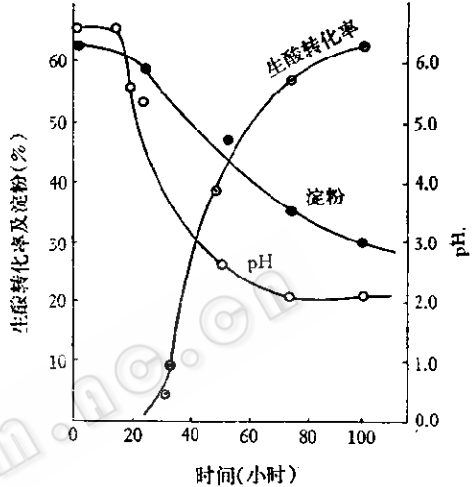


图 4 发酵过程中淀粉、pH、生酸转化率的消长

要防止杂菌污染,应注意蒸料的灭菌彻底与制曲操作的严格无菌。在生产时,各车间应按如下三区布局:甲区:菌种室(制种曲)。乙区:蒸料、摊凉、补水接种、曲室、化验室。丙区:提取(浸曲、过滤、中和)、烘房、仓库、原料破碎、筛分、拌生料。各区之间应因地制宜地间隔一段距离,以防止造成循环污染。

在易染杂菌的季节或生产上发生严重杂菌污染时,可加防污染剂,进行预防。

表 5 抗 污 染 剂 对 杂 菌 的 抑 制

抗 污 染 剂	类 别	抑菌种类	每公斤干薯渣加入抗污染剂量	抑菌效果	使 用 方 法
合 霉 素	抗菌素	芽孢杆菌	1.8 万单位以上	基本抑制	加入少量无菌水溶解后,加入已煮沸灭菌后冷却的补水中、补水接种时入料
强力霉素	”	”	7.5 万单位以上	”	”
链 霉 素	”	”	7.5 万单位以上	”	”
金 霉 素	”	”	7.5 万单位以上	”	”
呋喃唑酮 (痢特灵)	消毒防腐剂	”	15—150 毫克	”	可热溶于聚乙二醇,加入补水中入料
硝基呋喃酮 (呋喃西林)	”	”	15—150 毫克	”	”
苯 甲 酸 钠	防腐剂	芽孢杆菌青霉	7.5—15 克	基本抑制 部分抑制	加入补水中,溶解后入料

柠檬酸的提取

一、浸 曲

出曲后，曲块放入浸曲池，用水浸取曲中柠檬酸。第一次浸曲液用热水，以后数次浸取用温水。每次浸曲一小时。然后，开启浸曲池底放液阀放液，利用浸曲池曲渣作自然过滤层。经多次浸取至浸曲液酸度在0.5%以下，可不再浸曲，出曲渣作猪饲料。

二、去蛋白质等杂质

将浸曲液进行煮沸，使酶等可溶性蛋白质变性析出，再同其它杂质一并被滤除或沉淀，上清液转入中和槽。

三、加钙中和

清液加热至60℃，一边搅拌，一边徐徐加入碳酸钙（加碳酸钙量应与中和液中柠檬酸含量的72%相等）。加碳酸钙后，保温90℃，搅拌反应半小时。

四、过滤洗涤

所得柠檬酸钙在离心机中离心脱水，后用热水洗涤，至洗液（20毫升）加入1%高锰酸钾（2滴）3分钟不退色为止。

五、干 燥

将脱水后的湿柠檬酸钙放进烘房，烘至含水量下降到14%以内，冷却后即可包装（如制成柠檬酸，则不需干燥，可直接进行酸解、净化、浓缩、结晶，即得柠檬酸成品）。