

乳酸的发酵研究

陈义华

(洛阳市吉利化工厂, 洛阳)

摘要 本文从生产角度报道乳酸微生物发酵过程中应注意的有关问题, 并以生产实践说明发酵培养基糊化时加 α -淀粉酶所控制的温度及灭菌时的温度变化对乳酸发酵所产生的影响。

关键词 乳酸; 发酵; 淀粉酶; 培养基

乳酸是一种重要的有机酸。在生产工艺上有微生物发酵及化学合成两种方法。乳酸不仅大量用于食品工业(如酿酒、糖果、糕点、果脯、罐头、果子汁等)、而且在医药、印刷、印染、制革、烤烟等方面都有广泛的应用前景。据不完全统计、我国每年需求量在 5000 吨以上, 而现在年产量不足 3000 吨。在国际市场上, 如西欧、拉美、南亚等国也需大量从我国进口乳酸和乳酸钙。因此近几年乳酸工业在我国发展较快。

本文报道的是以戴氏乳酸杆菌 (*Lactobacillus delbruckii*) L332 号作为生产菌种, 以玉米粉为原料, 谷糠、麸皮为辅料, α -淀粉酶、酯化酶为转化剂, CaCO_3 为中和料进行发酵生产乳酸钙。为了探讨乳酸发酵中所存在的问题, 现从生产实例中摘录三批有代表性的进行分析报告如下。

材料与方 法

(一) 生产菌种

乳酸菌种 (*L. delbruckii*) 是在本厂实验

室里从饴糖、麦芽汁培养基中分离、筛选得到的。编号为 L332。

(二) 菌种培养基

1. 育种培养基(%) : 3—4Be' 饴糖 100, 蛋白胨 0.5, 牛肉膏 0.1, 酵母粉 0.1, NaCl 0.02, MgSO_4 0.05, KH_2PO_4 0.05, 自然 pH。按比例配好后分装于 500ml 三角瓶, 以棉塞、牛皮纸包扎瓶口, $1\text{kg}/\text{cm}^2$ 蒸汽高压灭菌 30 分钟。

2. 菌种筛选培养基(%) : 3—4Be' 饴糖 100, 酵母膏 0.1, 蛋白胨 0.5, NaCl 0.02, MgSO_4 0.05, KH_2PO_4 0.1, CaCO_3 2.5, 琼脂 2, 自然 pH。配好分装包扎后, 以 $1\text{kg}/\text{cm}^2$ 高压蒸汽灭菌 30 分钟。

(三) 发酵种子培养基

玉米粉 75kg, 谷糠 5kg, 麸皮 5kg, 自来水 600kg, pH5.8。

(四) 发酵培养基

玉米粉 1500kg, 谷糠 100kg, 麸皮 100kg。原料与自来水之比为 9:1 (原料约占总体积的 11%)。自然 pH。

(五) 分析方法

表1 第一批发酵结果

取样时间 (小时)	产酸率 (%)	加 CaCO ₃ 量 (kg)	累计产酸率 (%)	残糖含量 (%)	乳酸钙 含量 (%)
8	0.57	150	0.57	3.0	0
16	0.99	150	1.56	2.1	2.7
24	0.942	150	2.502	1.2	4.56
28	0.52	150	3.022	0.8	6.4
36	0.612	150	3.634	0.3	7.96
44	0.216	100	3.85	0.06	9.9

1. 成品分析: 按中华药典 85 版^[1]。

2. 糊化终点: 常规碘色反应。

3. 发酵酸度: 用 0.1mol/L NaOH 滴定, 每 ml 相当于 0.09% 乳酸。

4. 糖含量分析: 用斐林法^[2], 以百分数表示。

5. 乳酸钙含量: EDTA 法^[3], 以百分数表示。

(六) 工艺流程

配料→糊化→糖化→接种→发酵→灭菌→过滤。

(七) 材料来源

玉米粉、谷糠、麸皮是当地的农副产品。CaCO₃ 为无锡红星石粉厂产品。菌种培养基始糖为洛阳市生产, 其余均为北京和上海产试剂。

结 果

(一) 第一批发酵

1. 糊化和灭菌: 将发酵原料倾在打浆池内, 加 4 倍水搅拌均匀, 然后用泵打至糊化罐。升温加热到 96℃ 时加入适量的调成糊状的 α-淀粉酶(12 个单位/克淀粉), 保持 10 分钟, 碘色反应为紫红色。1.75kg/cm² 高压灭菌 30 分钟。

2. 糖化: 把糊化好的料液压入发酵池内, 边加水边搅拌, 当料温降到 60℃ 时, 停止加水。取样化验总糖, 然后将准备好的糖化酶加到发酵池内, 充分搅拌均匀, 上下池温保持一致, 维持 30 分钟, 补足所需加水量。取样化验还原糖。待发酵池温度降到 50℃ 时接种菌种。

3. 接菌: 当发酵池温度降到 50℃ 时, 将种子罐已培养好的(25 小时左右、加过两次 CaCO₃) 生长旺盛的菌种接入发酵池。

4. 发酵: 乳酸菌种接到发酵池后, 池内温度始终保持 50±1℃。每隔 2 小时搅拌一次, 每 4 小时测酸度一次。当含酸量达到 0.5% 以上时, 加一次 CaCO₃ 中和。每池加 CaCO₃ 的总量约为干物料的 50—70%, 一般分 5—7 次加完。发酵结果见表 1, 发酵过程见图 1-A。

第一批发酵液总糖含量 5.1%, 还原糖含量

3.6%, 转化率为 98%。共发酵 44 小时。灭菌后过滤快。乳酸钙结晶多, 颜色白, 后处理方便。

发酵过程中还原糖不断下降, 乳酸钙逐渐增加(图 1)。

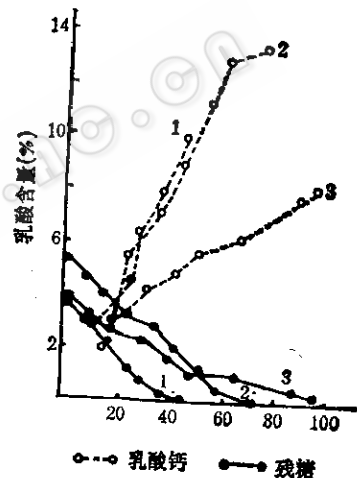


图1 乳酸发酵中乳酸钙的增长曲线

1, 2, 3 分别代表 3 批试验的乳酸钙(○---○)和残糖(●—●)

(二) 第二批发酵

第二批发酵培养基配方及操作过程与第一批基本相同, 但 α-淀粉酶是配料时同时加入的。在 90—98℃ 之间保持 20 分钟, 碘色反应紫红色。1kg/cm² 蒸汽高压灭菌 30 分钟。61℃ 糖化 30 分钟, 当池温降到 51℃ 时, 从第一池接过来已培养 25 小时的发酵液 500kg 做菌种。含菌数 37 亿/ml, 已加过三次 CaCO₃。发酵结果见表 2, 发酵过程见图 1-2。

第二批发酵液总糖含量 8%, 还原糖含量 5.25%, 转化率 99%。共发酵 72 小时。灭菌后

表2 第二批发酵结果

取样时间 (小时)	产酸率 (%)	加 CaCO ₃ 量 (kg)	累计产酸率 (%)	残糖含量 (%)	乳酸钙 含量 (%)
8	0.882	150	0.982	4.7	0
15	0.72	150	1.602	4.1	3.1
23	0.91	150	2.412	3.3	5.4
34	0.702	150	3.114	2.8	7.14
42	0.666	150	3.780	2.0	8.99
51	0.621	150	4.401	1.2	11.7
59	0.531	100	4.932	0.5	12.95
72	0.27		5.202	0.04	13.5

易过滤,乳酸钙结晶多,颜色白,后处理方便。

(三) 第三批发酵

第三批发酵培养基配方及操作过程同一、二批。但在加 α -淀粉酶时温度已升到105℃、碘色反应紫蓝色,1kg/cm²蒸汽高压灭菌30分钟。菌种是从第二批发酵池中接过来的已培养25小时的发酵液500kg。含菌数36.5亿/ml,已加过三次CaCO₃。发酵结果见表3。发酵过程见图1-3。

第三批共发酵94小时,总糖含量6.5%,还

表3 第三批发酵结果

取样时间 (小时)	产酸率 (%)	加 CaCO ₃ 量 (kg)	累计产酸率 (%)	残糖含量 (%)	乳酸钙 含量 (%)
8	0.63	150	0.63	3.2	0
17	0.475	150	1.105	2.6	2.9
30	0.468	150	1.573	2.3	4.1
41	0.423	100	1.996	1.7	4.85
50	0.45	150	2.446	1.1	5.6
65	0.31		2.756	1.0	6.1
87	0.468	120	3.224	0.5	7.7
94	0.23		3.454	0.31	8.1

原糖含量3.8%,转化率91.8%。灭菌后粘度过大,难过滤,乳酸钙结晶少,颜色发黄,后处理困难。乳酸含糖量超标。

讨 论

从上述三批发酵结果比较来看,在配方不变,菌种相同的情况下,仅在加 α -淀粉酶前后所控制的温度不同,而发酵时间相差一倍。收得率也相差很大。第一批发酵周期短。说明糊化、糖化时所控制的温度是适当的,但在灭菌时,由于温度升的较高,使一部分糖碳化了,所以总糖、还原糖偏低,CaCO₃加量少,乳酸钙含量也较低。第二批发酵配料时把 α -淀粉酶同时加入,糊化彻底,灭菌时的温度没有超过1kg/cm²,这样即达到了灭菌的目的,也保证了糖不被碳化,所以发酵是很成功的。第三批发酵糊化时加 α -淀粉酶温度过高,使淀粉酶严重失活,虽然灭菌时没有超过1kg/cm²,但有一部分淀粉没有转化成糖,乳酸杆菌不易吸收利用,所以残糖降不下来,延长了发酵周期,影响产品收得率,也给后处理带来很多困难。实践证明,在乳酸微生物发酵中糊化、糖化过程比较关键。灭菌时温度也不得高于1kg/cm²。当然,影响发酵生产的因素很多,如原辅材料的好坏,菌种优劣,操作工艺等都能改变发酵结果,但糊化、糖化时所控制的温度绝不可忽视。

参 考 文 献

- [1] 钱信忠主编: 中华人民共和国药典(二部), 人民卫生出版社, 第238—239页, 1985年。
- [2] 上海市粮油工业公司技校等编: 发酵调味品生产技术(下册), 轻工业出版社, 第175页, 1984年。