

固定化酵母菌与游离酵母菌产酒精作用的比较研究

熊 亚

(攀枝花学院 生物与化学工程学院, 四川 攀枝花 617000)

【摘 要】本文进行了固定化酵母与游离酵母产酒精发酵的比较实验。通过对其酒精度、酸度、糖度进行对照比较,分析固定化酵母与游离酵母在产酒精等方面的差异。结果表明:活性干酵母细胞固定化后与游离酵母细胞相比,在酒度、酸度、糖度方面,固定化酵母细胞具有很大的优势。

【关键词】固定化酵母;酒精发酵;酒精度;糖度;酸度

【中图分类号】TS2611 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1673-1891(2008)02-0045-04

1 前言

固定化细胞保持了细胞的生命活动能力,它不但比游离细胞的发酵更具有优越性,而且比固定化酶有更多的优点,因为固定化细胞省去了制备酶或含酶细胞处理过程所需要的完整酶系,并能不断产生新酶及其所需的辅助因子,而且固定化方法较简单,成本也较低^[1]。

传统的酒精发酵工艺,采用游离细胞发酵,酵母随发酵醪液流走,造成发酵罐中酵母细胞浓度不够大,使酒精发酵速率慢,发酵时间长,设备利用率不高,发酵生产中酵母细胞数少、产酒率不高、杂菌污染严重以及菌种单一等缺点。固定化细胞技术具有较好的催化活性和多种优点而被应用在制药行业、食品工业、环境保护及传统发酵工业中,尤其是固定化细胞酒精发酵技术在工业生产应用中研究得最活跃、最深入和最为成熟^[2]。

固定化细胞发酵,其机理是将活的微生物细胞高度密集于载体之上,并不断生长繁殖,形成高浓度的生物催化剂,从而大大加快了反应速度,使生产能力大幅度提高^[3]。

2 材料与方法

2.1 实验材料

安琪高活性干酵母(安琪酵母股份有限公司)

2.1.1 培养基

(1)增殖培养基

葡萄糖 5.0g/L、蛋白胨 0.5g/L、酵母膏 0.5g/L、七水硫酸镁 0.1g/L 和磷酸二氢钾 0.1g/L,调节 pH 为 5.0。

(2)发酵培养基

葡萄糖 12% ~ 15%、蛋白胨 0.5g/L、酵母膏 0.5g/L、七水硫酸镁 0.1g/L、磷酸二氢钾 0.1g/L 和硫酸铵 0.5g/L,调节 pH 为 5.0^[3]。

2.1.2 试剂和药品

海藻酸钠、氯化钙和裴林试剂

2.1.3 仪器和设备

电热恒温培养箱 101 型(北京中兴伟业仪器公司)、电子恒温水浴锅 DZKW-4(北京中兴伟业仪器公司)、台式恒温振荡器 THZ-C(江苏省金坛市大地自动化仪器厂)、PH 计 PHS-2C(上海虹益仪器有限公司)和酒精计

2.2 实验方法

2.2.1 活性干酵母的活化

用电子天平各称取 1.00g 干酵母,分别放在两个 250mL 三角瓶中用 50mL 浓度为 2% 的蔗糖溶液在 30℃ 恒温活化 30min,分别编号 1#、2#备用^[4]。

2.2.2 酵母菌增殖培养

将活化后的酵母菌 1#、2#全部分别加入装有 50mL 编号为 1#、2#增殖培养基的三角瓶中,放入台式恒温振荡器中在 28℃、120r/min 条件下增殖培养 24h。

2.2.3 海藻酸钠-酵母菌悬液制备

用 100mL 蒸馏水加热溶解一定量海藻酸钠,将增殖酵母菌液 1# 与海藻酸钠溶液充分混合均匀,形成海藻酸钠-酵母菌悬液^[4]。

2.2.4 酵母细胞的固定化

称取 3g 无水氯化钙,溶于 150mL 蒸馏水中,配制成所需浓度(2%)的氯化钙溶液,将其置于设定温度(20℃)的电子恒温水浴锅中,将海藻酸钠-酵母菌悬液滴入氯化钙溶液中造粒,并恒温维持 2h,使酵母充分固定化。倾去上清液,用蒸馏水冲洗固定化酵母 3 次,然后重新置于 2% 的氯化钙溶液中平衡 24h 后,备用^[4]。

2.2.5 固定化酵母的发酵试验

将固定化好的酵母置于 1000mL, pH=5.0 的发酵培养基中,放置于温度调节为 30℃ 的电子恒温培养箱中进行发酵,定时记录发酵液糖度、酒精度、酸

度和糖锤度的变化。

2.2.6 游离酵母的发酵试验

用配好的 2# 瓶酵母菌直接将其添加于 1000mL, pH=5.0 的发酵培养基中, 放置于温度调节为 30℃ 的电子恒温培养箱中进行发酵, 定时记录发酵液糖度、酒度、酸度和糖锤度的变化。

2.3 检测方法

2.3.1 酒度的检测

实验采用酒精计法对酒度进行测量。根据测得的酒精计示值和温度, 查附录, 换算成 20℃ 时酒精度, 所得结果保留至一位小数^[5,6]。

2.3.2 酸度的检测

实验采用酸碱滴定指示剂法^[7]。

所得数据根据式 2.1 和式 2.2 进行计算:

$$c(\text{NaOH}) = \frac{m}{(V_1 - V_0) \times 0.2042} \quad \text{式(2.1)}$$

式中: $c(\text{NaOH})$ ——氢氧化钠标准溶液的物质
的量浓度, mol/L;

m ——邻苯二甲酸氢钾的质量, g;

V_0 ——空白实验氢氧化钠溶液的用量, mL;

V_1 ——氢氧化钠溶液的用量, mL;

$$X = \frac{c \times (V_1 - V_0) \times S_i}{V_2} \times 1000 \quad \text{式(2.2)}$$

式中: X ——样品中滴定酸的含量, g/L;

V_2 ——吸取样品的体积, mL;

S_i ——取值为 0.075^[6]。

2.3.3 发酵液糖度的检测

实验将采用直接滴定法^[8]。

$$F = \frac{m}{1000} \times V \quad \text{式(2.3)}$$

式中: F ——斐林溶液 A、B 各 5mL 相当于葡萄糖的克数, g;

m ——称取葡萄糖的质量, g;

V ——消耗葡萄糖标准溶液的总体积, mL。

$$X = \frac{F}{(V_1/V_2) \times V_3} \times 1000 \quad \text{式(2.4)}$$

$$X = \frac{F - G \times V}{(V_1/V_2) \times V_3} \times 1000 \quad \text{式(2.5)}$$

式中: X ——总糖或还原糖的含量, g/L;

V_1 ——吸取的样品体积, mL;

V_2 ——样品稀释后或水解定容的体积, mL;

V_3 ——消耗试样的体积, mL;

G ——葡萄糖标准溶液的准确浓度, g/mL;

3 结果与分析

3.1 固定化酵母和游离酵母参数比较

3.1.1 固定化酵母和游离酵母酒度的比较

以蒸馏法去除样品中的不挥发物质, 用酒精计测得酒精体积分数, 根据附录加以温度校正, 可得 20℃ 时乙醇的体积分数, 即酒精度。

表 1 温度校正后酒精度值

时间(d)	校正后酒度	
	游离酵母	固定化酵母
0	0	0
2	1.6	2.7
4	2.4	4.1
6	3.1	5.2
8	3.7	5.4
10	4.6	6.1
12	4.8	6.1

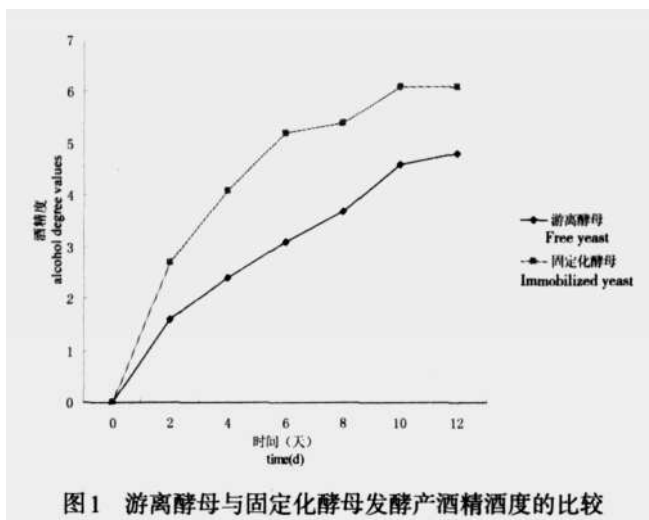


图 1 游离酵母与固定化酵母发酵产酒精酒度的比较

由图 1 可以看出在 12 天的发酵时间里, 固定化酵母菌的酒度图线要高于游离酵母的酒度图线, 固定化酵母发酵产酒精的酒精度从 0 度到 6.1 度, 游离酵母发酵产酒精的酒精度从 0 度到 4.8 度。这就说明了固定化酵母发酵产酒精的速度比游离酵母发酵产酒精的速度快, 而且在酒精度的变化值上有很大的不同, 明显可以看出固定化酵母发酵产酒精更好。

3.1.2 固定化酵母和游离酵母酸度的比较

由公式 2.1、2.2 计算出酸度(X)的值见表 2:

在调节起始酸度相同的情况下, 由图 2 可以看出固定化酵母发酵和游离酵母发酵中产酸的比较, 固定化酵母发酵产酸从 4.86g/L 到最后的 6.97g/L。而游离酵母发酵产酸从 4.86g/L 到最后的 8.57g/L。从图 2 看固定化酵母发酵其酸度变化小, 而游离酵母发酵液的酸度变化大, 由于产酸有可能是由一些杂菌引起的, 所以酸度变化越小越好。可以看出固

定化酵母抗杂菌的能力比游离酵母抗杂菌的能力高。说明固定化酵母发酵产酒精比游离酵母发酵产酒精要优越一些。

表2 样品中滴定酸的含量 X(g/L)

时间(d)	样品中滴定酸的含量 X(g/L)	
	游离酵母	固定化酵母
0	4.86	4.86
2	5.01	5.11
4	5.53	5.28
6	6.41	5.57
8	6.94	5.83
10	7.65	6.25
12	8.57	6.97

固定化酵母发酵液的酒度由最初的0度变化为6.1度,而游离酵母发酵液的酒度也由最初的0度变化为4.8度,可见固定化酵母发酵产酒精比游离酵母发酵产酒精的酒精度高将近30%。在酸度方面的比较,固定化酵母发酵与游离酵母发酵酸度相比,固定化酵母发酵液的酸度由最初4.86 g/L变化为6.57 g/L,而游离酵母发酵液的酸度由最初的4.86变化为8.57 g/L,可见固定化酵母发酵液的酸度变化比游离酵母的酸度变化小,对产酸杂菌的抵抗能力更好,发酵液的酸度比较稳定,更易于酵母菌的发酵。在糖度方面的比较,固定化酵母发酵与游离酵母发酵的糖度也可以作为一个参考,固定化酵母发酵液的糖度由最初的135.6 g/L最后变化为51.1 g/L,而游离酵母发酵液的糖度由最初的135.6g/L变化为72.2 g/L,可见游离酵母的发酵液残糖量比固定化酵母发酵液残糖量高将近41%,所以固定化酵母发酵更彻底。

表3.3 糖度值 X(g/L)

时间(d)	游离酵母	固定化酵母
0	135.6	135.6
2	131.2	129.6
4	118.3	108.7
6	105.5	94.6
8	98.1	81.4
10	85.2	65.2
12	72.2	51.1

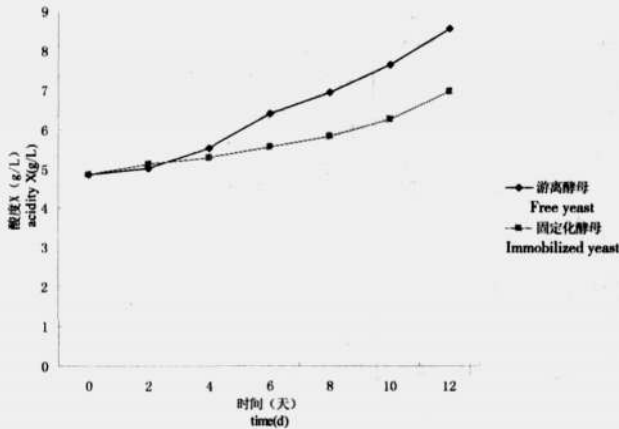


图2 游离酵母与固定化酵母发酵产酒精酸度的比较

3.1.3 固定化酵母和游离酵母糖度的比较

根据式2.4计算出糖度的数据见表3:

从图3可以看出,在初糖度相同的发酵培养基里随着发酵的进行,糖度也随着变化,固定化酵母发酵液最后的糖度为51.1g/L,而游离酵母发酵液的糖度为72.2g/L。

通过糖度的比较,可以明显的看出,固定化酵母发酵的发酵液比游离酵母发酵的发酵液终糖度更低,从而可以得出固定化酵母发酵得更彻底,发酵液的酒精度就更高。所以,也可以证明固定化酵母发酵产酒精比游离酵母发酵产酒精更优越。

4 结论

固定化酵母和游离酵母发酵产酒精作用的研究表明,固定化酵母在发酵过程中初发酵时间比游离酵母初发酵时间短,发酵的速度比游离酵母发酵的速度快。在产酒精方面,在12天的发酵时间里,

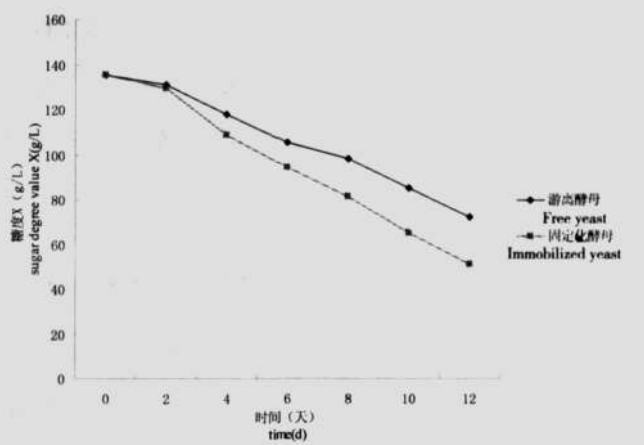


图3 游离酵母与固定化酵母发酵产酒精糖度的比较

综上所述,在发酵酒产酒精的研究中,固定化酵母发酵产酒精比游离酵母产酒精更优越。固定化酵母发酵的技术应该得到推广,固定化酵母发酵的研发将是发酵酒发展的一个新的里程。

注释及参考文献:

[1]侯红萍,王家东.固定化酵母菌在白酒生产中的应用研究[J].中国食品学报,2005,2(5):60-63.
 [2]Bar, R., Gainer, J. L. and Kirwan, D. J., Immobilization of Acetobactor aceti on cellulose ion exchangers: adsorption isotherms. Biotechnology and Bioengineering 1986, 28: 1166-1171.
 [3]梁峙,赵孝华.海藻酸钠固定化酵母菌的应用研究[J].食品工业科学和技术,2002,1(23):34-35.
 [4]张茵,杜双奎.酿酒酵母细胞固定化研究[J].中国酿造,2006(2):12-15.
 [5]中国食品工业标准汇编.饮料酒卷[M].北京:中国标准出版社,1996:134-140.
 [6]张正奇.分析化学[M].北京:科学出版社,2006:378-401.
 [7]朱宝铺.葡萄酒工业手册[M].北京:中国轻工业出版社,1995:465-471.
 [8]Carl Lachat, 马兆瑞.苹果酒酿造技术[M].北京:中国轻工业出版社,2004:220-227.

The Study on the Comparison of the Effect of the Alcohol Fermentation by Immobilized Yeast and Free Yeast

XIONG Ya

(Chemistry and Biology Engineering College, Panzihua College, Panzihua, Sichuan 617000)

Abstract:This paper discussed the experiment by comparing the immobilized yeast with the free yeast by determining their alcohol degree, acidity and sugar degree, According to the alcohol fermentation, analyzed the differences between immobilized yeast and free yeast. The results showed that the immobilized yeast was more superior to free yeast.

Key words:Immobilized yeast; Alcohol fermentation; Alcohol degree; Sugar degree; Acidity

(上接 44 页)

The Improvement on the Determination Method of the Arsenic Contents in the Arsenic Wastes

JIANG Zhong-guo, ZHU Xiao-yu, WU Yan-jun

(Department of Life Science and Chemistry, Xichang College, Xichang, Sichuan 615022)

Abstract:While producing copper, there can come out some wastes containing arsenic. The wastes can be completely dissolved in 1 : 1 HCl under the existence of KBr and N₂H₄ · H₂SO₄. According to this, the paper simplifies “the GB/T 3884.9-2000”. The simplified method can determine the arsenic in the wastes.

Key words:Arsenic; Arsenic wastes; Potassium bromate method