

利用甘薯粗淀粉作柠檬酸发酵研究

陈国兴 李寿康 徐帼英 范德隆
高美书 焦玉英 周元怡 金培松

(北京轻工业学院)

一、前言

柠檬酸是食品工业及制药工业的重要原料,又可用于增塑剂的制造和石油回收时的分离剂等,全国每年需要量很大。由发酵法制造柠檬酸,欧美多数国家均已生产。1951—1954年轻工业部前上海科学研究所曾利用多种粗糖及糖蜜为原料,系统地进行柠檬酸发酵研究,获得小型生产成功。华北地区甘薯原料产量丰富,如用甘薯淀粉作柠檬酸发酵,能得到稳定的发酵生产率,就有工业化的可能。下列为甘薯淀粉原料试制柠檬酸的试验结果。

二、材料及试验方法

(一) 原料处理及蒸煮糖化

1. 甘薯粉先经漂洗及过滤等过程,除去杂质,制得粗淀粉。

2. 蒸煮糖化试验:取粗淀粉一定量,加稀酸后加压蒸煮糖化。其酸液用量的液比按1:3.5, 1:4.0, 1:5.0;酸量各用1.5, 2.0, 2.5及3.0%的计算量(按原料重量计)。加入水及硫酸,于加压1.5公斤/厘米²下蒸煮1.5小时,取出,中和过滤,除去硫酸钙沉淀,然后配制成发酵液。

(二) 糖化液中和试验

糖化液用10%石灰乳为中和剂,在80—85℃进行中和,过滤。为了除去糖化液中有碍发酵的物质,中和方法分三种,分别试验:(1)中和至pH4.8—5.2,过滤。取滤液用盐酸调节pH值至2.5,加营养盐发酵。(2)中和至pH7.5—8.0,再以20%硫酸调节至pH7.0,过滤,取滤液用盐酸调节pH值为2.5,加营养盐发酵。(3)先中和至pH4.8—5.2,过滤,取滤液继续中和至pH7.5—8.0,过滤,再取滤液用盐酸调节pH值为2.5,添加营养盐,作发酵试验。

(三) 菌种及培养法

1. 菌种:本院发酵教研室保存的黑麴霉(*Aspergillus niger* 2087)(此菌为1938年金培松在四川自柑橘上分离出)。

2. 黑麴霉孢子培养基采用金培松等1954年所用的黑麴霉孢子培养基的配方,用蔗糖140克;硝酸铵2.5克;磷酸二氢钾1克;硫酸镁0.25克;琼脂20克;柠檬酸30克;1NHCl

3.0 毫升。先将蔗糖与营养盐及琼脂溶解于 900 毫升蒸馏水中,另取柠檬酸溶于 100 毫升水中。二者分别加压 15 磅,灭菌 30 分钟,取出后,冷却至 50°C,混合,加入 1N HCl 3.0 毫升,调节酸度,分装试管,斜放,待冷却凝固成斜面培养基备用。

(四) 发酵方法

1. 发酵培养基:参考 Doelger 及 Prescott 二氏的培养基^[1]为基础,酌量加減,作柠檬酸发酵試驗。

2. 发酵液配制及发酵:糖化液配入营养成分,测定原始含糖量,调节 pH 值,分装于 250 毫升锥形瓶中,每瓶 70 毫升,灭菌后,冷至室温,接种黑麴霉孢子,保温 26—28°C,发酵 9—11 天,自第 5 日起,每日取样滴定酸度,待酸度不再升高即停止发酵,最后测定残糖。

(五) 分析方法

1. 糖分:用快速测定还原糖法。

2. 酸量:酸碱滴定法,取 1 毫升发酵液以 0.1N 氢氧化钠溶液滴定,换算为柠檬酸量,并计算生酸率。

3. pH 值:采用广泛 pH 试纸及醌氢醌电极测定。

4. 淀粉:先用麴浸出汁糖化,再用盐酸转化,中和后进行快速法测定还原糖,再换算为淀粉。

5. 水分:用红外线快速测定法。

三、試驗結果

(一) 糖化試驗

在我們发酵实验室現有設備条件下,将原料按前法分別加压蒸煮糖化,其結果見表 1。

表 1 酸量、液比与糖化率的关系

液比	酸量 (克/原料)	直糖浓度 (%)	全糖浓度 (%)	糖化率 (%)	糖化程度 (%)
1:3.5	1.5	12.00	21.25	56.80	57.00
	2.0	15.50	20.75	68.60	75.00
	2.5	17.00	20.25	80.50	84.00
	3.0	18.50	20.75	87.60	89.00
1:4.0	1.5	10.75	19.00	58.10	57.00
	2.0	13.25	19.25	71.60	64.00
	2.5	15.25	18.25	82.40	84.00
	3.0	18.25	—	98.60	—
1:5.0	1.5	6.50	14.75	43.90	44.00
	2.0	10.50	14.25	70.90	74.00
	2.5	11.50	14.25	77.70	81.00
	3.0	13.25	14.50	88.00	91.00

注: (1)直糖系指糖化液直接测定还原物,作还原糖計。

(2)全糖系指糖化液經轉化后,再测定还原物量,作还原糖計。

(3)糖化率=直糖含量/理論产糖量。

(4)糖化程度=直糖含量/全糖含量。

表 1 指出,直糖浓度随着酸量的增加而增加,同一酸量下,液比增加时,直糖浓度降低。其中以液比 1:4.0,酸量 3% 时,糖化率最高,达 98.6%。

取上述糖化液(較适宜的浓度,直糖浓度 13—18% 之間)五份,在同一条件下作发酵試驗,試其糖化程度对于生酸的影响。

表 2 糖化程度对于生酸的影响

发酵温度:室温(20—26℃),发酵时间 10 天。

糖化程度 (%)	发酵液容量 (毫升)	pH	糖化液浓度 (%)	残糖 (%)	檸檬酸产率 (%)	
					对供給糖計	对消耗糖計
64	50	3.0	13.25	0.70	41.25	42.50
75			17.50	0.675	35.80	37.80
84			17.00	0.675	39.80	40.50
84			15.25	0.40	25.35	26.20
89			18.50	0.575	33.25	34.50

表 2 指出,发酵最适糖化程度为 65—75%,这种情况糖化条件为液比 1:3.5 和 1:4,酸量为 2%。

(二) 中和試驗

糖化液經上述三种不同的中和方法处理,其杂质含量亦有差别,对柠檬酸发酵有不同程度的影响。結果見表 3。

表 3 糖化液的不同中和方法对生酸的影响

发酵温度:室温(21—30℃),发酵时间:11 天。

中和方法代号	发酵液容量 (毫升)	pH	糖化液浓度 (%)	残糖 (%)	檸檬酸产率 (%)	
					按供給糖計	按消耗糖計
1	70	2.5	15	5.13	21.90	35.40
2				4.36	24.50	33.45
3				2.26	31.50	37.15

由表 3 結果看出,以第三种中和方法对生酸最为有利(就是先中和至 pH4.8—5.2,过滤,繼續中和至 pH7.5—8.0,过滤,再調节 pH 值为 2.5,进行配营养盐发酵)。

(三) 不同的 pH 值比較試驗

为了确定黑麴霉 2087 的柠檬酸发酵时最适宜的 pH 值,用盐酸分別調节发酵液的 pH 为 2.0, 2.5, 3.0 及 3.5。发酵結果見表 4。

表 4 pH 值对生酸的影响

发酵温度:26—29℃,发酵时间 10 天。

pH	发酵液容量 (毫升)	糖液浓度 (%)	残糖 (%)	檸檬酸产率 (%)	
				按供給糖計	按消耗糖計
2.0	70	14	2.72	12.10	15.00
2.5			3.24	13.00	17.00
3.0			4.74	22.40	33.00
3.5			4.42	21.80	28.00

試驗結果指明,对黑麴霉 2087 这一菌种來說, pH 值在 3.0—3.5 最适于柠檬酸发酵。

(四) 营养盐用量的試驗

发酵液中营养盐用量对于黑麴霉生长和发酵具有很大的生理意义,不論是硝酸铵、磷酸二氢钾、硫酸镁,用量过大或过小,对于黑麴霉的生酸量都有影响。在甘薯淀粉糖化液为基础的培养液中,为了找出营养盐的最适增加量,曾进行了发酵比較試驗,其結果見表 5。

表 5 营养盐用量試驗的結果
溫度:室溫(20—28°C);发酵天数 9—11 天。

硝酸铵用量 (克/升)	磷酸盐用量 (克/升)	硫酸镁用量 (克/升)	糖液浓度 (%)	pH	残糖(%)	檸檬酸产率(%)	
						对供給糖計	对消耗糖計
1.5					3.3	19.68	25.70
2.0	0.8	0.14	14	2.5	2.6	20.60	25.20
2.5					2.05	22.60	26.50
	0.5				1.85	25.60	30.50
2.0	0.8	0.14	12.75	3.0	2.05	21.50	25.60
	1.0				2.60	20.20	24.20
		0.12			0.90	18.00	20.20
		0.14			0.83	19.60	21.00
2.5	0.8	0.16	14	2.5~3.0	0.75	27.00	28.50
		0.20			0.60	29.50	30.50
		0.25			0.20	25.40	25.80

由表 5 得知,就甘薯淀粉糖化液为基础的培养基說,硝酸铵的用量以 2.5 克/升为宜,但可在允許范围内变动,对生酸率影响不大。磷酸二氢钾的用量以 0.5 克/升为宜,过多将会引起生酸率下降,并延长发酵時間。硫酸镁用量以 0.2 克/升較好,过多亦影响生酸。

四、結 論

(一) 甘薯粗淀粉糖化程度以 65—75% 較为适宜,柠檬酸产率可达到供給糖量的 35.8—41.25%。

(二) 糖化液采用第三种中和方法,即先中和至 pH4.8—5.2, 过滤除去沉淀物,繼續中和至 pH7.5—8.0, 过滤,再用盐酸調节 pH 值至 3.0—3.5, 配加营养盐,用作柠檬酸发酵最为有利。柠檬酸产率可达供給糖量的 31.5%。

(三) 試驗得出营养盐用量:对甘薯粗制淀粉的糖化液來說,以添加硝酸铵为 2.5 克/升;磷酸二氢钾为 0.5 克/升;硫酸镁为 0.2 克/升較为适宜。

(四) 关于柠檬酸的提取与精制,前已有較成熟的試驗报告,本报不另試驗。

参 考 文 献

- [1] 金培松: 檸檬酸发酵,工业发酵(第二册)。内部資料,北京輕工业学院讲义 1962 年 2 月。
- [2] 周元怡: 有机酸的分析,发酵工业分析法。北京輕工业学院讲义,1961 年。
- [3] 周元怡等: 檸檬酸发酵試驗报告。輕工业部前上海科学研究所报告,1953 年。
- [4] 陈响声等: 檸檬酸发酵試驗报告,化学世界,12:1—5,1957 年。

- [5] 南京工学院食工系: 柠檬酸发酵研究, 1958年8月。
- [6] Prescott S. C. & Dunn C. G.: The Citric Acid Fermentation, Industrial Microbiology, 533~577, McGraw-Hill, New York, 1959.
- [7] Shu, P. and Johnson M. J.: Citric Acid Production by Submerged Fermentation with *Aspergillus niger*, *Ind. Eng. Chem.* **40**: 1202—1205, 1948.

STUDIES ON THE CITRIC ACID FERMENTATION UTILIZING CRUDE SWEET POTATO STARCH AS THE RAW MATERIALS

CHENG GUO-CHIN, LI ZU-KAN, SHU GUO-IN, FAN TAI-LON, KAO MAI-SU,
JIAO YU-IN, CHOU YUAN-YI AND P. S. KING
(Peking Institute of Light Industry)

1. As shown in the data of those experiments, the hydrolyzate of crude sweet potato starch might be directly used for citric acid fermentation. The hydrolyzate, being 65—75% of the content hydrolyzed, was most favorable for acid production. A yield of 35.8 to 41.8% citric acid based on sugar supplied was obtained.

2. For investigating good yield of citric acid production, the hydrolyzate was neutralized as follows: first it was neutralized to pH 4.8—5.2 with $\text{Ca}(\text{OH})_2$, the precipitate thus formed was filtered off, the filtrate was then neutralized to pH 7.5—8.0, and the precipitate formed was filtered off again.

3. As the data presented, the best amount of nutrients was as follows: ammonium nitrate 2.5 g/l, potassium dihydrogen phosphate 0.5 g/l and magnesium sulfate 0.2 g/l. The medium was prepared and its acidity was regulated to pH 3.0—3.5. The spore suspension of *Aspergillus niger* 2087 was inoculated. A high yield could be obtained, when the mash was fermented at 30°C for 9 to 10 days.

4. The recovery of citric acid from the mash has been studied and reported previously. It is not done in this experiment.