

会员登录

用户名:   
密码:   
验证码:  9700

相关文章

- 米糠多糖的开发及应用
- 活菌益生高蛋白饲料的生产及...
- 利用蔗叶粉和糖蜜发酵生产蛋...
- 菠萝皮发酵生产饲料蛋白的工...
- 碱法水解糖蜜酒精废液处理过...
- 野山菜蒲公英在动物生产中的...
- 松针粉的研究及应用进展
- 立足科技创新 发展秸秆畜牧业...
- 茶多酚的抗氧化机理及其在畜...
- 果渣的开发利用研究

合作伙伴



玉米芯水解液生产酵母蛋白的研究

作者:陈曦 赵建国

期号:2005年第21期

我国玉米产量非常大,副产物玉米芯中富含纤维素、半纤维素、木质素[1],其水解液中含大量戊糖(主要是木糖)和六碳糖。迄今大量玉米芯仍作为废弃物燃烧掉,不仅浪费了木质素资源,其烟尘还造成了二次污染[2]。利用玉米芯水解液生产酵母蛋白,既解决了环境问题,又能变废为宝,为木质素资源的利用开辟了新的途径。为此,本实验利用能同化木糖和六碳糖的酵母菌株Y-2.05对玉米芯水解液生产酵母进行工艺研究。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

原料:玉米芯,市场采购;菌种:酵母Y-2.05,本实验室提供。

1.2 培养基

斜面培养基:木糖20g/l、酵母膏10g/l、蛋白胨10g/l、pH值5.5、0.1MPa灭菌20min;种子培养基:木糖50g/l、尿素3g/l、硫酸1.5g/l、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g/l、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g/l、酵母膏1g/l、0.1MPa灭菌20min;发酵培养基:尿素1g/l、硫酸1g/l、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.4g/l、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5g/l、酵母膏1g/l、0.1MPa灭菌20min。

1.3 实验方法

1.3.1 玉米芯水解液的制备

将玉米芯粉按比例加入适量稀硫酸放入灭菌锅中水解,水解后趁热调酸减度,再过滤。

1.3.2 种子培养

将20ml种子培养基装入250ml三角瓶中,于30℃温度下培养20h,摇瓶转速200r/min。

1.3.3 酵母摇瓶培养

将20ml发酵培养基装入250ml三角瓶中,接入10%摇瓶种子,30℃培养,摇瓶转速200r/min。

1.3.4 测定项目及方法

1.3.4.1 水解液木糖浓度测定

苔黑酚法[3]。

1.3.4.2 酵母发酵产率

细胞干重法。

1.3.4.3 菌体OD值

用分光光度计在600nm下测OD值[4]。

1.3.4.4 酵母数

血球计数法[4]。

2 实验结果与amp;讨论

2.1 玉米芯水解条件正交实验结果与分析

本研究采用稀酸水解法,对料液比、硫酸浓度、水解压强、水解时间进行L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交实验,研究其对木糖得率的影响。实验因素水平见表1,结果及极差分析见表2。

表1 玉米芯水解条件正交实验因素水平

水平	因素			
	A 料液比	B 硫酸浓度(%)	C 水解压强(MPa)	D 水解时间(h)
1	1:10	1	0.05	3
2	1:15	2	0.10	2
3	1:20	3	0.15	1

表2 玉米芯水解条件结果及极差分析

实验号	因素				木糖得率(%)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	42.16
2	1	2	2	2	38.65
3	1	3	3	3	39.52
4	2	1	2	3	43.50
5	2	2	3	1	42.18
6	2	3	1	2	37.18
7	3	1	3	2	45.72
8	3	2	1	3	43.61
9	3	3	2	1	52.74
K <sub>1</sub>	1.203	1.314	1.230	1.371	
K <sub>2</sub>	1.229	1.244	1.349	1.216	
K <sub>3</sub>	1.421	1.294	1.274	1.266	
极差 R	0.218	0.070	0.119	0.155	

由表2可见,对木糖得率影响最主要的因素是料液比,其次是水解时间和水解压强,酸浓度对木糖得率影响最小。从K值来看,酸浓度为1%较好,料液比越高越好,但由于料液比过高会造成水解液中的木糖浓度过低,不利于酵母生长,故选1:20;水解压强在0.1MPa时最好,可避免水解压强过高造成的单糖进一步分解;水解时间3h为宜。故得较优水解条件为:料液比1:20、酸浓度1%、水解压强0.1MPa、水解时间3h,即A3B1C2D1。在此优化的水解条件下,经重复实验,木糖平均得率为53.9%,木糖平均浓度27g/l,高于正交实验表中最高的木糖得率。本研究所得水解液不经浓缩直接作为发酵培养基。

## 2.2 发酵培养条件及发酵培养基优化

### 2.2.1 发酵培养基初始pH值的确定

酵母在偏酸性环境中生长,考察了初始pH值为4、5、6对酵母培养的影响。由表3可见初始pH值为5时,发酵产率及酵母数均为最高,故确定培养基的初始pH值为5。

表3 不同初始 pH 值对酵母培养的影响

项目	pH 值		
	4	5	6
发酵产率(干酵母 g/l)	8.50	13.20	10.88
酵母数(亿个/ml)	8.55	11.20	10.30

### 2.2.2 发酵培养基优化

表4 响应面分析因素水平

水平	尿素( $x_1$ )(%)	硫酸铵( $x_2$ )(%)	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ( $x_3$ )(%)
-1	0.08	0.08	0.12
0	0.10	0.10	0.14
1	0.12	0.12	0.16

表5 响应面分析结果

实验号	$x_1$	$x_2$	$x_3$	$y$ (g/l)
1	-1	-1	0	13.2
2	-1	1	0	14.2
3	1	-1	0	14.0
4	1	1	0	13.8
5	0	-1	-1	13.4
6	0	-1	1	16.8
7	0	1	-1	17.0
8	0	1	1	14.0
9	-1	0	-1	15.1
10	1	0	-1	14.2
11	-1	0	1	14.8
12	1	0	1	16.0
13	0	0	0	17.0
14	0	0	0	18.0
15	0	0	0	17.8

玉米芯水解液中含有木糖及还原糖,作为酵母菌株的碳源,需加氮源,以达到合适的碳氮比。磷酸盐对酵母的合成代谢起到至关重要的作用,适量添加硫酸镁和酵母膏有利于酵母的生长。本研究采用响应面分析法重点研究了氮源比及磷酸盐的添加量对酵母培养的影响,设计实验因素水平见表4,分析结果见表5。

采用响应面分析法[5]对上述结果进行回归拟合,得回归方程为:

$$y = -166.512x_1 + 989.375x_2 + 1601.25x_3 - 468.75x_1^2 - 4781.25x_2^2 - 1718.75x_3^2 - 750.000x_1x_2 + 1312.500x_1x_3 - 4000x_2x_3$$

对回归方程进行方差分析,见表6。

表6 方差分析结果

方差来源	离差平方和	自由度	F 值
一次项	0.832 500	3	6.43
二次项	22.564 643	3	174.41
交互项	11.702 500	3	90.45
回归项总计	35.099 643	9	90.43
失拟项	0.152 500	3	2.54
误差	0.020 000	2	
误差项总计	0.172 500	5	

注:1.F>F<sub>0.01</sub>(3,2)=99.17,高度显著;

2.F>F<sub>0.05</sub>(3,2)=19.16,显著。

由表6可知一次项不显著,表明方程不是简单的线性关系;交互项显著,说明各因素交互作用影响明显。

F回归=回归项均方和/误差项均方和=(35.099 643/9)/(0.172 500/5)=113.04>F<sub>0.01</sub>(9,5)=10.16

回归方程高度显著,说明方程拟合得很好,可以反映真实的响应面。由此模型计算出最优的组成为尿素0.101%、硫酸

铵0.099%、KH<sub>2</sub>P040.145%，模型预测最高值可达17.928g/l。

根据回归方程绘出各因素交互响应面及等高线图（见图1）。

为方便称量，取配比为尿素0.10%、硫酸铵0.10%、KH<sub>2</sub>P040.14%的培养基进行3次重复实验，结果为17.5、18、18.2。平均值为17.9，基本接近预测值，说明可用此回归方程作为预测发酵产率的模型。

### 2.2.3 发酵过程曲线

以发酵培养基进行摇瓶培养，每隔2h取样，在600nm下测吸光度表示菌体浊度，得发酵过程曲线（见图2）。

由图2可见，4h内为酵母生长适应期，4~16h为对数生长期，16h后碳源基本耗尽（可达99%），酵母菌体浓度增幅缓慢，到28h酵母基本停止生长，所以可以确定发酵周期为18~20h。

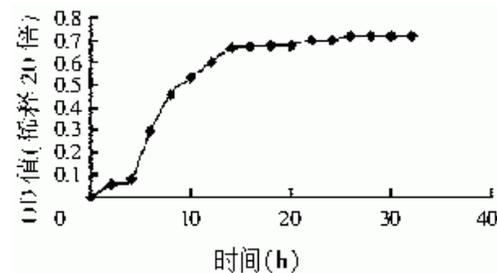
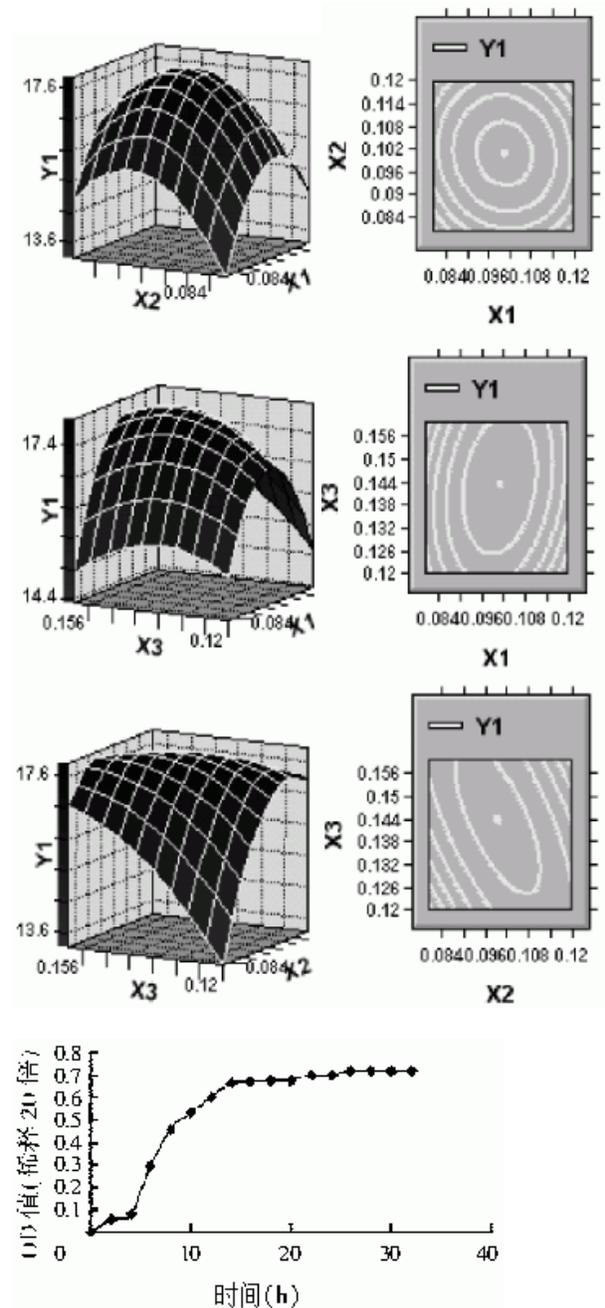


图2 水解液摇瓶培养酵母生长曲线

### 2.2.4 优化条件下的重复实验

以优化后的培养基摇瓶培养20h，重复实验，结果见表7。

表7 优化条件下的重复实验结果

项目	1	2	3	平均
发酵产率(g/l)	19.0	20.4	20.6	20.0

## 3 结论

玉米芯加20倍质量的1%的硫酸，在0.1MPa下水解3h后，木糖得率53.9%，水解液中木糖含量可达27g/l。对培养基氮源及磷酸盐采用响应面分析法，得到发酵产率的回归方程，培养基中添加尿素0.10%、硫酸铵0.1%、KH<sub>2</sub>P040.14%、酵母膏0.1%、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.05%时，30℃培养18~20h，酵母发酵产率可达17.57g/l。

玉米芯为农业废弃物，水解后可得到丰富的木糖和六碳糖，被酵母利用后转化成高附加值的酵母粉，在医药发酵工业、饲料工业及养殖业有广阔的应用前景，并为木质素资源的利用开辟了一条崭新的途径。

- 王晨霞, 方慧英, 诸葛健. 两步酸水解玉米芯条件及其酒精发酵的初步研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(4):36~39
- 2 陈彦, 林晓艳, 尹淑媛, 等. 培养单细胞蛋白的玉米芯水解条件研究[J]. 四川轻化工学院学报, 1999, 12(3):65~69
- 3 蔡武成, 袁厚积. 生物物质常用化学分析法. [M]. 北京: 科学出版社, 1982
- 4 范秀容, 李广武, 沈萍. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1997
- 5 吴有炜. 试验设计与数据处理. [M]. 苏州: 苏州大学出版社, 2002

(编辑: 崔成德, cuicengde@tom.com)

...评论...

发表  
评论

\*40字以内

提交

重置

[关于我们](#) | [网站导航](#) | [友情连接](#) | [联系我们](#) | [会员须知](#) | [广告服务](#) | [服务条款](#)

版权所有: 饲料工业杂志社 Copyright © [Http://www.feedindustry.com.cn](http://www.feedindustry.com.cn) 2004-2005 All Rights 辽 ICP备 05006846号

饲料工业杂志社地址: 沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编: 110036 投稿: E-mail: tg@feedindustry.com.cn 广告: E-mail: ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部: (024) 86391926 (传真) 编辑二部: (024) 86391925 (传真) 网络部、发行部: (024) 86391237 总编室: (024) 86391923 (传真)