

分类号

TQ925⁻⁵³³/501
90001

密级

硕士学位论文

题目: 生化活性麦麸饲料的
流化床干燥特性研究

英文并列题目: THE STUDIES OF FLUIDIZED BED DRYING
CHARACTERISTICS OF A BIOACTIVE WHEAT-BRAN FEED

研究生: 许学勤 专业: 食品工程

研究方向: 食品工程

导师: 高福成, 指导小组: 王荣民、林金贤

论文提交日期: _____

九〇年六月 日

无锡轻工业学院

地址: 无锡市青山湾

无锡轻工业学院研究生论文纸

目 录

摘要	1
前言	4
材料与方 法	6
实验结果与讨论	13
一、 β -葡聚糖酶活力测定条件	13
二、原料预处理效果	16
三、流化床干燥实验	19
(一) 不同干燥温度的物料干燥曲线、酶活残存率曲线	19
(二) 干燥动力学曲线、酶失活动力学曲线	21
(三) 水份含量与水份活度对应曲线,干燥终点的确定	28
(四) 干燥温度的选择	30
(五) 干燥空气流速对干燥曲线和酶活残存率的影响	31
(六) 干燥物料在干燥终点后继续在干燥器内滞留影响	
酶活残存率的估计	32
(七) 物料局部“相对过热”影响酶活残存率的估计	33
(八) 干燥物料粒度级分的重量、水份含量、酶活含量的分布	34
四、流化床干燥对生化活性麦粉饲料酶活率的保固效果	36
五、干燥物料在贮存期间的酶活稳定性	37
结 论	39
课题的不足与展望	40
参考文献	42
致 谢	45

无锡轻工业学院研究生论文纸

摘

要

含水份 50~56% (湿基) 的纤维素酶 (β -(1.4, 1.3)-葡聚糖内切酶) 活性麦穗霉菌固体发酵物湿坯, 经适当的分散化预处理后, 可以用流化床干燥器进行干燥。以间歇方式, 用不同的温度和不同的空气流速对以上分散化了的物料进行了流化床干燥试验。从物料保存的微生物学角度和最大限度保留酶活率目的出发, 综合干燥速率和酶活损失速率, 确定了物料的干燥终点 (即要求物料干燥的程度) 为 8% (湿基); 选择确定了流化干燥的最适温度约为 70℃。在干燥温度为 70℃、空气流速为 3 米/秒的条件下, 将含水 55% 的物料干燥至确定的终点, 可以保持 90% 左右的酶活率, 其效果与冷冻干燥法和低温 (40℃) 烘箱干燥法的相当。

对与物料酶活保留和流化床干燥控制有关的一些方面进行了试验, 结果表明: (1) 物料水份含量还较高的时候, 如果因分散不佳而出现局部相对过热, 会造成较大的酶活损失; (2) 物料干燥至终点后, 在流化床干燥器中继续滞留会对酶活残存率有较大的影响; (3) 干燥物料粒度级分的重量、水份含量、和酶活含量的分布之间几乎没有差异; (4) 干燥物料的酶活率在长达 70 天的贮存期间没有发生损失。

最后, 系统地对纤维素酶 (β -(1.4, 1.3)-葡聚糖内切酶) 的测定条件进行了试验。

关键词: 纤维素酶; β -(1.4, 1.3)-葡聚糖内切酶; 麦穗霉料;
流化床干燥; 酶活残存率; 水份活度; 干燥速率

无锡轻工业学院研究生论文纸

ABSTRACT

A mold fermented (beta--(1.4,1.3)--endoglucanase active) ~~barley-bran~~ endfeed of 50-56 % moisture can be dried in a fluidized bed dryer after proper disintegration. Drying tests of the above material were carried out in batch in a fluidized bed dryer, with various drying temperatures and air flow rates. A drying end of the material of about 8 % (mb) moisture and an optimum drying temperature of about 70 °C were selected, based on the microbiological requirement for preservation of the dried material and for maximization of enzymic activity retention, by comparing the drying rates and enzymic activity loss rates. Under the conditions of 70 °C temperature and 3 m/s air flow rate, an enzymic activity retention of about 90 % was obtained at the end of fluidized bed drying of the material, the result is comparable with those of freeze drying and low temperature (40 °C) oven drying.

Aspects which are related to the enzymic activity retention of the dried material and the control of fluidized bed drying were investigated. The results showed that: (1) heavy loss of the enzymic activity would result from a "relative over-heating" of the material in the drying bed during the early stage of the drying; (2) the influence of post-drying duration of the material in the dryer on the enzymic activity retention was considerable; (3) there were no significant differences

无锡轻工业学院研究生论文纸

among the distributions of weight, moisture and enzymic activity contents in particle size fractions of the dried material; (4) there was no remarkable loss of the enzymic activity during a storage period of 70 days.

Basic tests of the beta-endoglucanase activity determination were systematically carried out.

KEY WORDS: Cellulosase, Beta-endoglucanase, Endofeed, Fluidized bed drying, Enzymic activity retention rate, Water activity, Drying rate.

无锡轻工业学院研究生论文纸

前言

干燥过程具有重要的国民经济意义。任何一个国家中,用于干燥操作的能耗比例都很大。在一个工业化国家中,干燥所需的能量可达工业总能耗的5~6%^[1,2]。某些过程,干燥耗能的费用达总操作费用的60%^[3]。在总的干燥费用中,耗能费用也占绝对优势。

干燥过程对生物制品、食品之类热敏性物料的生产加工有着特别的意义。合理的干燥手段可以降低生产成本,而且干燥以后既不失去生物学价值,又能获得很好的保存稳定性,还可以改善产品品质^[4,5]。某些物料的价格较低,因此,干燥过程的经济性直接影响了它们的商业化生产的实现。^[6]

本课题要研究的干燥对象是一种具有黑曲霉菌纤维素酶活性的以麦穗为主的霉菌发酵饲料,含水量高(50~56%),以粘性湿块状形态出现。这种制品的主要价值在于它的纤维素酶活性,而麦穗是一种废料,所以这种制品属于非高比价的敏感性物料一类。样品由加拿大植物生化研究所提供。由于后道工序(主要是干燥问题)上的问题,还没有促成商业化规模生产的实现。在40°C的烘箱干燥条件下,将物料干燥至湿度为10%左右的需要24小时,而在80°C的烘箱干燥条件下干燥到同样的湿度,也需要6小时左右,而且物料的酶活损失了50%左右^[7]。显然,这种干燥手段对这种制品是不现实的。因此,对于几乎都知道黑曲霉菌含有某种程度丰富的纤维素酶活性这样一个事实的今天,^[8-12]尽早找出一种经济有效的干燥途径,可以使得他们的研究成果转化成为有竞争力的商业生产。

目前由于能源紧缺,世界各国都正在加紧进行固体物料干燥方面的实验与研究。干燥技术的发展趋势,除开发新技术以外,多种干燥技术的复合也是一个方向。^[13]其中,流化床干燥在复合干燥

无锡轻工业学院研究生论文纸

过程中占有重要的位置。流化床干燥具有许多优点^[14]。其中之一是它具有高热效率和质效率。这对于热敏感性的材料的干燥是颇有吸引力的。这项技术在化工、冶金、矿业中已有许多成熟的应用。粮食、生物、制药、食品工业方面亦已用到流化床干燥技术。^[4, 15-17]

为此,拟是采用流化床干燥法,对生化活性的麦精饲料进行干燥试验,在实验室规模的基础上,研究这种热敏性物料的流化床干燥特性。以最大限度保存制品的酶活率为准则,提供流化干燥的可行性依据。

此外,物料的基本性质,使得本研究的成果可对其他类似的非酶比价生物材料的流化床干燥应用有一定的借鉴作用。

无锡轻工业学院研究生论文纸

材料与方 法

一、实验材料与设备

1. 干燥原料:

麦稈基质霉菌固体发酵产物, 含纤维素酶(β -(1.4, 1.3)葡聚糖酶)活性, 含水量为50~56% (湿基)。原料由加拿大植物生化研究所提供。

2. 试剂:

β -(1.4, 1.3)-葡聚糖, GR级, 美国Sigma公司
其余试剂均为分析纯级。

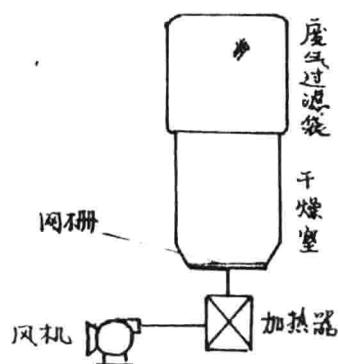
3. 设备与仪器:

1) LAB-LINE/PPL Hi-Speed 流化床干燥器,

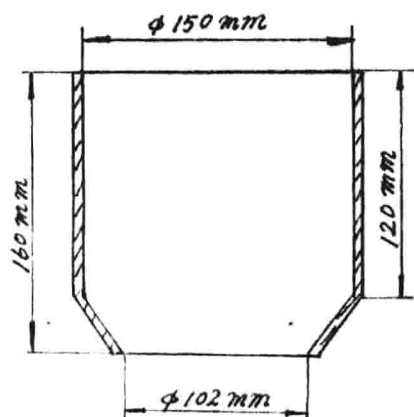
温度范围: 室温 — 120°C

空气流速: 3.00 — 4.80 米/秒

干燥器系统示意、干燥室结构尺寸见图(1)、(2)



图(1) 干燥器系统示意



图(2) 干燥室尺寸

无锡轻工业学院研究生论文纸

- 2) 热风干燥箱: 室温 — 300°C ;
- 3) 冷冻干燥机: 加热板温度: 可调
冷凝室真空度: 25 mmHg (绝对压力)
冷凝器温度: -50°C
- 4) 冻结板: -35°C
- 5) 冷风库: 4°C
- 6) Hobart 食品粉碎机
- 7) 组织捣碎机
- 8) 沸水浴
- 9) 恒温水浴, 精度 $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- 10) SP20 可见光分光光度计, 波长范围: $400\sim 600$ 毫微米
- 11) Fisher 系列筛
- 12) 5863 型水份活度计
- 13) 633 型自动 KF (卡尔费休) 水份测定仪

二. β -(1.4, 1.3)-葡聚糖酶活力测定

1. 葡萄糖标准曲线^[18]

- 1) 配制 0.05% 及 0.25% 的葡萄糖溶液; 按下述方式配制 DNS 试剂 (3,5-二硝基水杨酸试剂): 在室温下将 1 克 3,5-二硝基水杨酸溶解于 20 毫升的 2M NaOH 溶液和 5 毫升水中, 加入 30 克四水酒石酸钾钠, 用蒸馏水定容至 100 毫升, 将该溶液装于密封的瓶中, 备用。
- 2) 按表 (1) 配制葡萄糖含量分别为 50、100、150、200、250、500、750、1000、1250 微克的系列比色管 (1 厘米, 10 毫米) 一组。将比色管置于沸水浴中加热 5 分钟, 取出冷却至室温, 用蒸馏水定容至 8 毫升。取第 3 支比色管和空白管在 SP20 型分光光度计上不同的波长处测吸光度。其中空白管用于调零。作吸光度—波长对应曲线。选取适当的吸收波长 (选

无锡轻工业学院研究生论文纸

定的波长为540毫微米,见结果与讨论部分),供葡萄糖标准曲线和酶活力测定用。

- 3) 在540毫微米处,测定按表(1)所配的一系列比色管的吸光度。作葡萄糖标准曲线。

表(1) 葡萄糖标准液配制

比色管	空白	1	2	3	4	5	6	7	8	9
葡萄糖溶液浓度	0.05%						0.25%			
葡萄糖溶液(毫升)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.2	0.3	0.4	0.5
蒸馏水(毫升)	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0	0.3	0.2	0.1	0
DNS试剂(毫升)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

2. β -葡聚糖酶活力测定条件及方法

- 1) 称取0.5克 β -葡聚糖于烧杯中,加水90毫升,加热搅拌,使葡聚糖完全溶解,冷至室温,定容至100毫升,配成0.5%的 β -葡聚糖溶液。
- 2) 分别配制0.1M的醋酸、醋酸钠、磷酸、磷酸氢二钠溶液各500毫升。
- 3) 酶反应的最适pH确定
根据单因子显性法^[19,20]确定的次序(见结果与讨论部分),用上述酶液及相应的盐溶液组成的缓冲溶液,配制浓度为0.05%的酶制剂(即生化活性麦精饲料)溶液,静置1小时,使用时取上清液。

在比色管中加入0.25毫升0.5% β -葡聚糖溶液和0.25毫升的酶液,在30℃恒温水浴中反应10分钟,然后加入0.5毫升DNS试剂,将比色管置于沸水浴中加热5分钟,取出,

无锡轻工业学院研究生论文纸

冷却至室温，加入 7 ml 的蒸馏水。同时用蒸馏水取代葡聚糖溶液作空白。在 540 毫微米处，用空白调零，比色。吸光度最大的反应液所在的 pH 值，便是酶反应的最适 pH。（本试验结果为 pH 5.0，见结果与讨论部分）。

4) 酶反应浓度范围和反应时间范围的确定

分别将 2 毫升浓度为 0.5%、0.1% 和 0.05% 的（用 0.1M 醋酸缓冲液（pH 5.0）配制）酶液，加入三支试管，同时在这三支试管中各加 2 毫升用相同缓冲液配成的 0.5% β -葡聚糖溶液，摇匀。在 30℃ 恒温水浴中反应，于不同的时刻从试管吸取 0.5 毫升的反应液，移加到装有 0.5 毫升 DNS 试剂的比色管中，在沸水浴中加热 5 分钟，取出，冷却至室温，定容至 8 毫升。用相同的缓冲液取代 β -葡聚糖溶液作空白样。在 540 毫微米处，用空白样调零，读取不同浓度酶液、不同反应时样品的吸光度。作吸光度-反应时间曲线。由曲线确定酶反应浓度范围和反应时间范围（本试验所确定的条件为：酶制剂液浓度 1 mg ~ 0.5 mg（干重）/毫升、酶反应时间：< 10 分钟，见结果与讨论部分）

5) 原料和干燥物料的 β -葡聚糖酶活力测定步骤：

- (1) 作葡萄糖标准曲线（如只测定酶活残存率可以不作）
- (2) 取三支比色管，每支加入 0.25 毫升 0.5% β -葡聚糖缓冲液（pH 5.0）和 0.25 毫升适当浓度（1 毫克 ~ 0.5 毫克/毫升）的用 0.1M 醋酸缓冲液（pH 5.0）配制的酶液，摇匀。于 30℃ 恒温水浴中反应，在 8 分钟内，先后分三次，每次往其中一支比色管中加入 0.5 毫升 DNS 试剂，终止酶反应。然后取出比色管，同时在沸水浴中加热 5 分钟，取出比色管，待冷却至室温后，用蒸馏水定容至 8 毫升。于 540 毫微米波长处，用反应时间最短（ t_0 ）的比色管调零，比色。

无锡轻工业学院研究生论文纸

(3) 按下式计算酶活力含量:

$$\text{酶活力含量 (U/毫克干物)} = \frac{(OD_1 \cdot t_2 + OD_2 \cdot t_1) \cdot 4}{2 t_1 t_2 \cdot M \cdot 180 \cdot \text{酶液浓度 (毫克干物/毫升)}}$$

式中:

OD_1 、 OD_2 分别为反应时间 t_1 (分)、 t_2 (分) 两比色管的吸光度,

M 为葡萄糖标准曲线斜率 [OD /葡萄糖浓度 (微克/毫升)],

2、4 为系数,

180 为葡萄糖分子量,

U 为酶活力 (微克分子葡萄糖/分) 单位

(4) 按下式计算酶活残存率:

$$\text{酶活残存率 (\%)} = \frac{OD_1/t_1 + OD_2/t_2}{OD'_1/t'_1 + OD'_2/t'_2} \times 100 \%$$

式中:

OD_1 、 OD_2 分别为 (干燥后物料) 样品酶液在 t_1 、 t_2 反应时间 (分)

的吸光度; OD'_1 、 OD'_2 、 t'_1 、 t'_2 分别为标准样品 (原料)

酶液的吸光度和所对应的反应时间。

(5) 如用冷冻干燥物料作间接标准样, 用下式计算酶活残存率:

$$\text{酶活残存率 (\%)} = \frac{OD_1/t_1 + OD_2/t_2}{OD''_1/t''_1 + OD''_2/t''_2} \times \text{冷冻干燥样品酶活残存率}$$

式中:

OD_1 、 OD_2 分别为 (干燥物料) 样品酶液在 t_1 、 t_2 反应时间 (分) 的

吸光度; OD''_1 、 OD''_2 、 t''_1 、 t''_2 分别为冷冻干燥样品酶液

的吸光度和所对应的反应时间。

三、水份含量测定

1. 恒重法^[21]: 热风干燥箱加热, 温度 110°C , 时间 12 小时。

2. 卡尔费休法^[21]: 用 633 型自动 KF 滴定仪测定。

无锡轻工业学院研究生论文纸

四、水份活度测定

用 5863 型水份活度计测定, 环境温度 20°C , 平衡时间为 8 小时。

五、生化活性发酵饲料的冷冻干燥

将约 100 克重的湿(鲜)物料, 装在塑料碟中, 用铝箔盖好, 置于 -35°C 的速冻冰箱内冻结 (2 小时)。然后取出放在冷冻干燥机内进行干燥。冷冻干燥条件为: 基板温度 35°C , 真空度(绝对): 25 mmHg , 时间 6 小时。

六、原料预处理

1. 鲜收获的发酵麦糟饲料用 Hobart 食品绞碎机 (图 (3)) 绞碎。螺旋绞杆转速: 60 转/分, 多孔模板: 直径 10 厘米, 孔径 (1) 6 毫米、(2) 9.5 毫米。

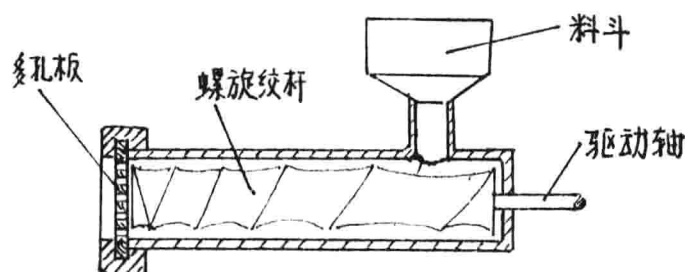


图 (3) 绞碎机示意

2. 用组织捣碎机捣碎
3. 捣碎或绞碎的物料用 Fisher 筛过筛
4. 预处理后的物料放进 4°C 的冷库备用。

七、流化干燥试验

所有的流化干燥试验均在 LAB-LINE/PPL Hispeed 流化床干燥器上以恒定条件间歇形式进行。干燥室载荷: 湿料 200 克。

无锡轻工业学院研究生论文纸

1. 在一定的干燥空气速度下,以不同的温度进行流化干燥。在不同的干燥时刻取样,测定样品的水份含量、酶活残存率。每次取样后,重新装湿料,待干燥到下一个时刻再取样。如此,干燥、取样、测定水份和酶活残存率,得到不同干燥温度的干燥曲线和酶活残存率曲线。

2. 确定干燥终点。由干燥终点,选出干燥最佳温度。

3. 在选出的优化干燥温度下,以不同的干燥空气速度进行流化干燥。同时测取干燥曲线,和一定干燥终点物料的酶活残存率。

八、物料在流化干燥时局部“相对过热”影响酶活残存率的估计试验

在选定的干燥温度和空气速度下,对湿物料进行流化干燥,在不同的时刻取出物料,测定水份含量、酶活残存率,同时将一部分相同的流化干燥过的物料装于带密封盖的薄壁玻璃瓶中,将瓶子放在与流化干燥相同温度的热风干燥箱内加热,1小时,取出玻璃瓶,测定内容物的酶活残存率。

九、干燥物料的粒度分布、酶活分布、水份含量分布测定

将一定条件下流化干燥得到的干燥物料分成两部分,一部分供测定酶活、水份含量用;另一部分称过重量后,用Fisher系列筛分成不同粒度范围的级份。测定各级分物料的重量、水份含量、酶活含量。

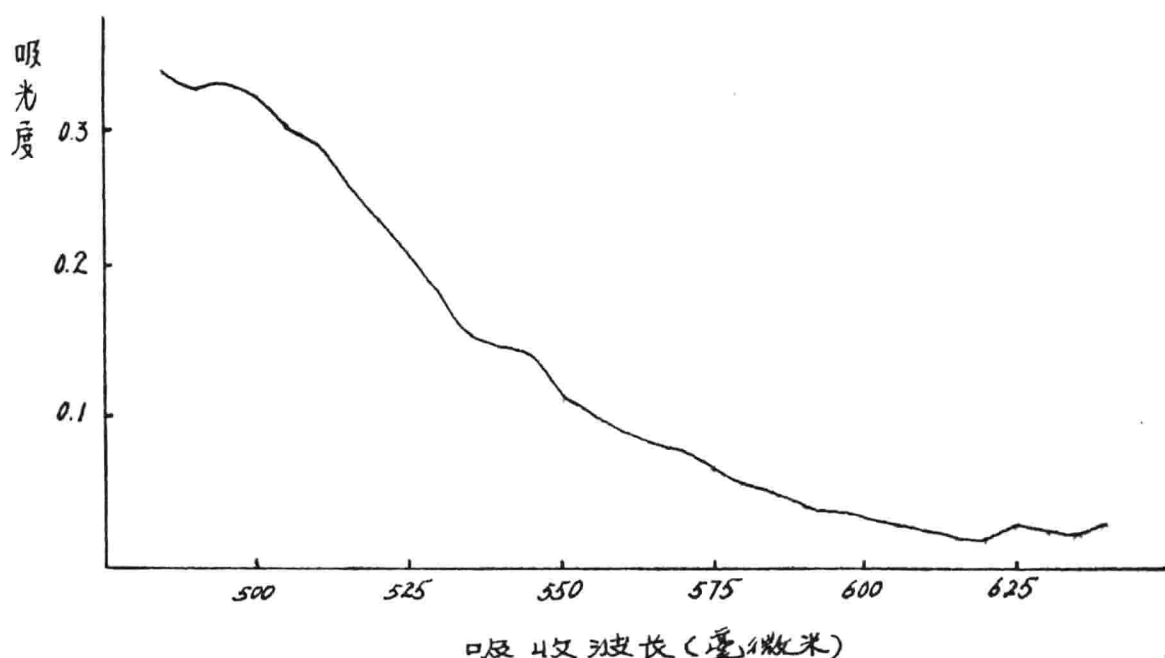
无锡轻工业学院研究生论文纸

实验结果与讨论

一、 β -葡聚糖酶活力测定条件

(一) 比色法吸收波长(λ)的选择

浓度为 150 微克/毫升的葡萄糖样液, 经与 DNS 试剂反应, 在分光光度计上测得的吸光度—波长对应曲线如图(4)所示。对于要作的葡萄糖标准曲线



图(4) 浓度为 150 微克/毫升的葡萄糖—DNS 试剂反应液的吸光度与吸收波长对应曲线

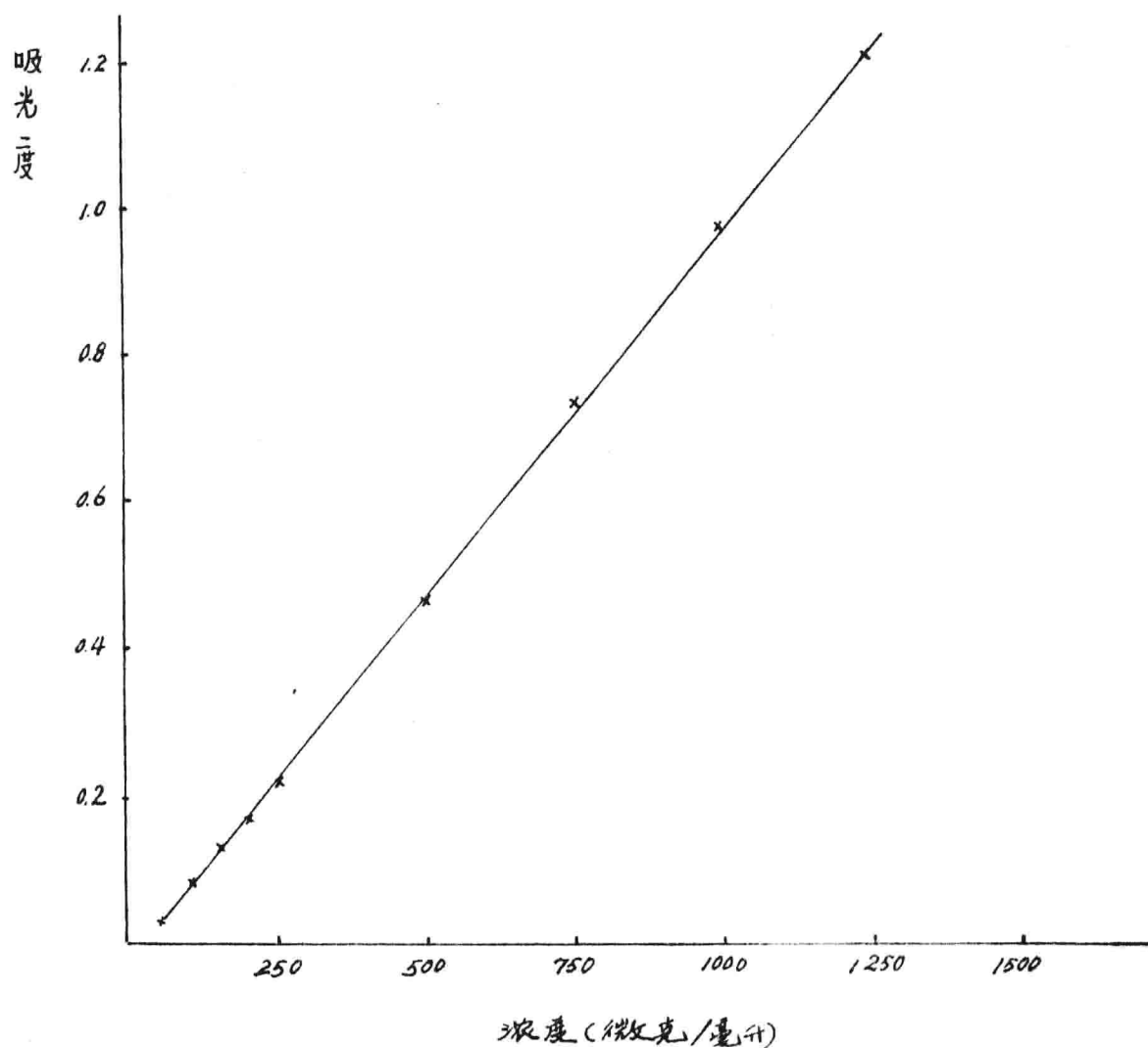
浓度范围 (50 ~ 1250 微克/毫升) 来说, 如果该范围内大部分的浓度区间与吸光度有线性关系, 那么, 540 毫微米是较理想的吸收波长, 该波长所对应的吸光度为 0.146。如在浓度为 1000 微克/毫升时, 在该波长处仍有线性关系, 那么所对应的吸光度应为 0.97。这样, 标准曲线的吸光度大部分位于分光光度计的高精读数区, 即处于稳定区间。另一方面, 在 540 毫微米波长左右邻近的波长所对应的吸光度值变化较平稳, 这样可以保证较小的误差。

所以, 决定采用 540 毫微米作为吸收波长。

无锡轻工业学院研究生论文纸

C二) 葡萄糖溶液标准曲线

在 540 毫微米吸光吸收处, 得到的葡萄糖溶液标准曲线见图(5)。在浓度范围 50 微克/毫升到 1250 微克/毫升内, 浓度与吸光度有很好的线性关系($R=1$)。对该区间的曲线进行回归^[36]得到的标准曲线的斜率 M 为 9.9×10^{-4} OD/微克 (其中: OD 为吸光度单位)



图(5) 葡萄糖溶液标准曲线 (吸收波长: 540 毫微米)

无锡轻工业学院研究生论文纸

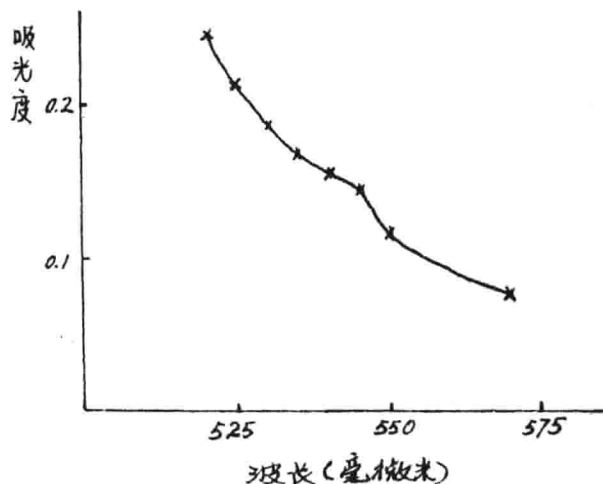
(三) 酶活测定的最适 pH 确定

按单因子显性法估计酶反应最适 pH 的试验安排与结果见表(2)。由表可见, 酶反应的最适 pH 在 5.0 左右。所以决定选 pH 5.0 作为酶活测定时的最适 pH 条件

表(2) 30℃ 时酶反应的最适 pH 估计

pH	3	5	6	5.5	4.5	4.9	5.2	5.1
吸光度(540 nm)	0.056	0.152	0.097	0.139	0.137	0.150	0.148	0.151

用 pH 5.0 的酶反应比色液在分光光度计上作吸光度-吸收波长对应关系实验, 得到的在 540 毫微米处附近的吸光度-波长对应曲线见图(6)。由图可见, 酶反应显色液在 540 毫微米处附近的波长范围内, 也有较平稳的吸光度变化。



图(6) 酶反应比色液的吸光度-波长关系

(四) 酶活测定的酶液浓度范围和酶反应时间范围的确定

酶液浓度为 5 毫克/毫升、1 毫克/毫升和 0.5 毫克/毫升时的酶反应液吸光度-反应时间的对应关系见图(7)。由图可见, 酶浓度为 5 毫克/毫升时, 虽然吸光度值较大, 但反应很快进入对数期, 测定操作不易控制; 而在 0.5 毫克/毫升浓度下, 虽然处于线性关系的反应时间较长, 但由于浓度太低, 在相当一段时间里, 吸光度低, 读数不能很准; 在浓度范围 1.0 毫克/毫升到 0.5 毫克/毫升之间, 无论是吸光度值还是反应时间都较合适。

所以, 酶活测定时的酶液浓度范围控制在每毫升 1 毫克到 0.5 毫克之间。