

黄原胶补料分批发酵工艺的试验研究

常 春, 马晓建, 方书起, 李洪亮, 王 娟, 邓盛林
(郑州大学化工学院生化工程中心, 河南 郑州 450002)

摘 要: 研究了黄原胶补料分批发酵的工艺。试验发现, 碳源水解 20min 可以促进黄原胶的发酵, 其最佳的 DE 值为 32.5%。进一步利用正交试验考查了培养基起始碳源的浓度、补料培养基的组成、补料的开始时间及补料的方式对产胶的影响, 结果表明采用起始碳源浓度为 4%, 24h 开始进行指数补料, 补料培养基含 0.1% 的蛋白胨的发酵方式效果最佳。动力学结果显示, 该工艺条件优于间歇发酵的结果。

关键词: 黄原胶; 补料; 发酵; 动力学

Experimental Study on Production of Xanthan Gum by Fed-Batch Fermentation

CHANG Chun, MA Xiao-jian, FANG Shu-qi, LI Hong-liang, WANG Juan, DENG Sheng-lin
(College of Chemical Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Production of xanthan gum by fed-batch fermentation was studied. Carbohydrate source hydrolyzed for 20 minutes can promote the production of xanthan gum, and the best DE value was 32.5%. The effect of initial sugar content, the component of feeding medium, the adding time and the way of feeding on production of xanthan gum was studied further by orthogonal experiments. The best initial sugar content and adding time and feeding way are 4%, 24h and exponential way respectively, and the feeding medium include 0.1% peptone is more adaptable. The final kinetics analysis reveals fed-batch fermentation is prior to batch fermentation.

Key words: xanthan gum; fed-batch; fermentation; kinetics

中图分类号: TQ920.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0261-04

黄原胶(xanthan gum), 又称汉生胶, 是野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)以碳水化合物为主要原料, 经发酵生产的一种用途广泛的微生物胞外多糖。黄原胶分子由 D-葡萄糖 D-甘露糖, D-葡萄糖醛酸、乙酸和丙酮酸构成, 经发酵提取后得到的成品为白色或浅米黄色粉末。它无味、无臭、无毒、食用安全, 是目前国际上集增稠、悬浮、乳化、稳定于一体, 性能最优越的生物胶。因其具有独特的性质而被广泛地应用于食品、医药、造纸、纺织、陶瓷、日化用品、石油开采等 20 多个行业, 被誉为“工业味精”^[1]。

目前, 黄原胶的工业生产均采用间歇分批发酵的工艺, 即一次性投料, 一次性出料。在整个发酵过程中, 随着黄原胶的积累, 发酵液的粘度会迅速增加, 对发酵结果造成许多不利的影响, 如: 溶解氧限制、发酵产品质量低、产胶率低等。为此, 人们从新设备、新工艺方面开展了大量地研究, 来克服这些负面的影响^[2~4]。本文尝试采用分批补料的发酵工艺来改善间歇发酵工艺

的不足, 以期望来提高发酵的最终结果。

1 材料与方法

1.1 材料

出发菌株: 野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)QH79, 由郑州大学生化工程中心选育。

培养基:

种子培养基: 蔗糖 1%, 蛋白胨 0.5%, 牛肉膏 0.3%, NaCl 0.5%, pH 7.0;

发酵培养基: 适量淀粉水解液(见试验结果), 蛋白胨 0.3%, 豆饼粉 0.2%, 碳酸钙 0.3%, 柠檬酸 0.1%, pH 7.0;

补料培养基: a. 20% 淀粉水解液, pH 7.0; b. 20% 淀粉水解液, 蛋白胨 0.05%, pH 7.0; c. 20% 淀粉水解液, 蛋白胨 0.1%, pH 7.0。

1.2 分析方法^[5]

总糖的测定 斐林法 菌体浓度测定 凯氏定氮法; 粘度测定 NDJ-1 型粘度计, 4 号转子, 30

收稿日期: 2005-01-12

作者简介: 常春(1973-), 男, 工程师, 博士研究生, 研究方向为生化工艺及设备强化。

转, 室温下测定; 产胶率测定 酒精沉淀法。

1.3 培养方法

斜面菌种活化后, 接种于种子培养基中, 28℃培养16h后, 以5%的接种量接种于发酵培养基中, 28℃培养3d。在发酵培养过程中进行补料试验, 具体结果见结果与讨论。

2 结果与讨论

2.1 发酵培养基DE值的影响

通过前期的试验研究, 考察了碳源、氮源、无机盐和pH等因素的影响, 确定了间歇发酵的最适培养基^[5]。在试验过程中, 发现在淀粉、蔗糖、葡萄糖三种碳源中, 含蔗糖的培养基发酵结果最好, 含淀粉的培养基次之, 而含葡萄糖的培养基中产胶极低。分析原因, 很可能是过高的还原糖浓度会抑制黄单孢菌的生长, 所以, 在葡萄糖为碳源的培养基中出现产胶低的现象。

此外, 黄单孢菌具有较强的胞外淀粉酶活性, 使之能够边水解底物边加以利用, 不会使发酵液中的还原糖浓度过高。而蔗糖较淀粉更易水解, 从而使菌体能够较快地生长, 最终提高发酵结果。考虑到蔗糖价格比淀粉高, 如利用淀粉水解液做为碳源, 则既有利于菌体的生长, 又能不产生抑制。故试验首先对发酵培养基的DE值进行了考察。

利用淀粉酶水解淀粉, 考察了不同水解时间下, 不同DE值对产胶的影响, 分别以发酵液终粘度和产胶率做为考察指标, 试验结果见表1。从表中可以看出, 淀粉水解20min后, DE值为32.5%, 所得的水解液做为碳源经发酵后, 发酵结果最佳, 发酵液终粘度为10100cp, 产胶率2.81%。

表1 不同DE值对发酵的影响
Table 1 Effect of DE on fermentation

时间(h)	0	10	20	30	40	50	60
DE值	0	26.5	32.5	36.4	41.4	41.3	41.2
粘度(10 ³ cp)	7.83	8.14	10.1	8.20	7.40	7.40	7.43
产胶率(%)	2.38	2.56	2.81	2.67	2.14	2.20	2.20

同时看到, 水解时间的进一步增加反而造成了发酵结果的下降。这也进一步表明: 经适当水解的淀粉液因含有适量的还原糖, 使得培养基能更好地使菌体生长来提高发酵结果, 但过高的还原糖浓度会对菌体产生不利的影响。

2.2 黄原胶分批补料的正交试验

分批补料的发酵过程中, 影响发酵结果的因素很多, 主要包括: 培养基起始碳源的浓度、补料培养基的组成、补料的开始时间及补料的方式等等。在前面试验的基础上, 安排正交试验考察了各因素的影响情况

及寻找较优的工艺条件。试验安排如表2。

表2 L₉(3⁴)正交设计因素和水平
Table 2 Factors and levels of orthogonal design L₉(3⁴)

水平	A 起始碳源浓度(%)	B 补料培养基	C 补料开始时间(h)	D 补料方式
1	2	a	24	一次全加
2	3	b	36	恒速流加
3	4	c	48	指数流加

表中碳源均采用淀粉水解液, 补料开始时间分别考察了发酵培养24、36、48h后开始补料的不同时刻。补料方式分三种情况, 一次全加指在补料开始时, 一次加入剩余的培养基; 恒速补料是从开始补料时刻, 每隔16h均匀加入等体积的补料培养基; 指数补料是每隔16h采用指数流加的方式加入补料培养基。补料过程控制总糖为6%, 发酵时间96h。分别以发酵液终粘度和产胶率为考察指标进行了L₉(3⁴)正交试验, 结果分别见表3和表4。

由这两个正交试验可以看出, 培养基的起始浓度、补料起始时间、补料培养基成分和补料方式等不同因素对黄原胶的合成有不同程度的影响。

首先, 在表3中可以看到, 各因素对发酵液终粘度的影响顺序分别为: 起始碳源浓度>补料开始时间>补料方式>补料培养基。

表3 发酵液粘度的正交试验结果
Table 3 Experimental results of broth viscosity

序号	A	B	C	D	粘度(cp)
1	2	a	24	一次全加	9050
2	2	b	36	恒速流加	8900
3	2	c	48	指数流加	8360
4	3	a	36	指数流加	10025
5	3	b	48	一次全加	9450
6	3	c	24	恒速流加	9800
7	4	a	48	恒速流加	8907
8	4	b	24	指数流加	10333
9	4	c	36	一次全加	9967
M _{1j}	26310	27982	29183	28467	
M _{2j}	29275	28683	28892	27607	
M _{3j}	29207	28127	26717	28718	
m _{1j}	8770	9327.3	9727	9489	
m _{2j}	9758.3	9561	9630.7	9202.3	
m _{3j}	9735.7	9375.7	8905.7	9572.7	
R _j	988.3	233.7	821.3	370.4	

在表4中, 各因素对产胶率的影响顺序分别为: 补料方式>起始碳源浓度>补料培养基>补料起始时间。

从试验结果看到, 各因素对发酵液终粘度和产胶率的影响是不完全一致的, 这也从另一方面说明了, 黄原胶发酵的复杂性, 发酵液终粘度高并不能说明产胶率就高, 而产胶率高的发酵液粘度也不一定很高。究其原因, 这和黄原胶本身分子量的大小及质量有关。所

表4 产胶率的正交试验结果

Table 4 Experimental results of yield of xanthan gum

序号	A	B	C	D	产胶率(%)
1	2	a	24	一次全加	1.79
2	2	b	36	恒速流加	1.9
3	2	c	48	指数流加	2.5
4	3	a	36	指数流加	2.13
5	3	b	48	一次全加	1.53
6	3	c	24	恒速流加	2.13
7	4	a	48	恒速流加	2.08
8	4	b	24	指数流加	2.55
9	4	c	36	一次全加	2.11
M _{1j}	6.19	6	6.47	5.43	
M _{2j}	5.79	5.98	6.14	6.11	
M _{3j}	6.74	6.74	6.11	7.18	
m _{1j}	2.06	2	2.16	1.81	
m _{2j}	1.93	1.99	2.05	2.04	
M _{3j}	2.25	2.25	2.04	2.4	
R _j	0.32	0.257	0.123	0.59	

以,应当对黄原胶的发酵结果综合考虑。通过上述正交试验结果,得出对黄原胶生产合成最有利的两种排列,并对两种排列进行验证试验,结果如表5。

表5 验证试验结果

Table 5 Validation of the experimental results

序号	A	B	C	D	粘度(cp)	产胶率(%)
1	3	b	24	指数流加	11000	2.6
2	4	c	24	指数流加	12150	3.01

从验证试验,可以看出试验2的结果较为理想,最终可以确定该工艺条件为正交试验的最终结果。起始碳源浓度为4%的淀粉水解液,因其含有适量的还原糖可以更快地促进菌体生长,另外,高的C/N(碳氮比)利于产胶,能使黄原胶尽快积累^[3]。

补料起始时间从发酵培养24h后开始为最佳,这主要是因为黄原胶的合成成为典型的Gaden II型。在24h前内主要为菌体生长期,菌体在该阶段已经达到了最大值,而24h后主要为产物合成期,所以在24h后补料不仅满足了菌体维持生长的需要,而且为快速合成黄原胶提供了合成的原料。过晚补料,很可能造成部分菌体养料的缺乏而衰老,所以发酵24h后补料效果最好。

从补料培养基的成分看,适量氮源的加入不仅有利于发酵液的粘度,而且有利于最终的产胶率。这表明,氮源的补加,对后期的黄原胶的合成有促进作用。

补料方式的影响很明显,不管从发酵液粘度还是产胶率看,指数补加方式是最为有效的方式,采用一次性大量补料方法虽然操作简便,但这种方式会使将发酵液瞬时大量稀释。扰乱菌体的生理代谢,同时难于控制过程处在最适合的状态。采取恒速流加的方法,虽然也比较简单,但同样不能保证菌体处于合适的状态。由于菌体生长和合成随时间的非线性变化,采用指数补

料具有一定的优越性。

2.3 分批补料发酵与间歇发酵的动力学比较

在不同的发酵工艺条件下,通过分析动力学指标,可以更加清晰地看出两种工艺的差别。

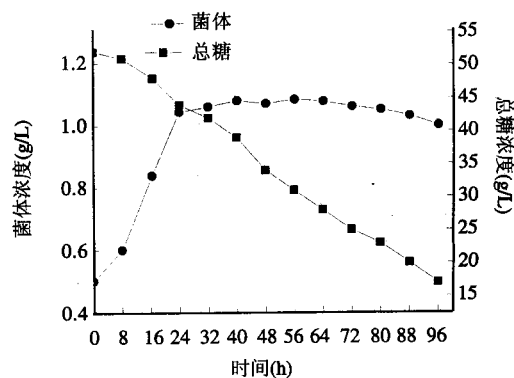


图1 间歇发酵菌体浓度和总糖浓度变化趋势

Fig.1 Trend of biomass concentration and total sugar concentration in batch fermentation

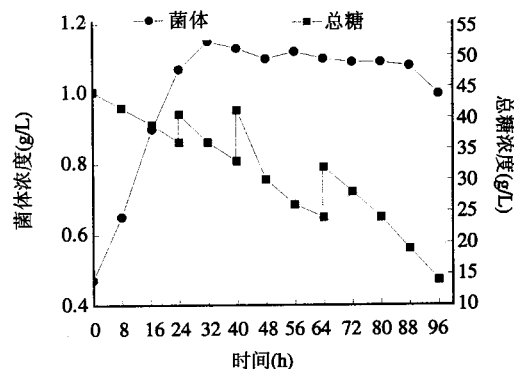


图2 分批补料发酵菌体浓度和总糖浓度变化趋势

Fig.2 Trend of biomass concentration and total sugar concentration in fed-batch fermentation

图1和图2分别表示了不同工艺条件下菌体浓度和总糖浓度随发酵时间的变化规律。二者的变化趋势基本相同。但分批补料的最大菌体浓度为1.15g/L,要高于间歇发酵的菌体浓度1.08g/L。此外,由于分批补料前期的总糖浓度较间歇发酵的低,因此,前期的C/N要低,而较低的C/N比更加有利于菌体的生长,因此24h前的菌体生长速度要快于间歇发酵。发酵24h后,间歇发酵的菌体对总糖的得率系数 $Y_{X/S}$ 为0.068,而分批补料的菌体对总糖的得率系数 $Y_{X/S}$ 为0.074。所以,可以看出,采取补料的方式对菌体的生长速度和生长量都有一定的促进作用。

图3给出了补料发酵和间歇发酵两种工艺条件下,发酵液粘度与产胶率随时间的变化趋势。通过比较可以看到,在发酵前期,两种工艺条件下的发酵液粘度增长基本一致,但后期,补料的发酵液粘度持续增长,

仙人掌 - 菠萝香型饮料的工艺研究

肖 玫, 王胜友, 钱志锋, 浦 毅
(南京农业大学工学院, 江苏 南京 210031)

摘 要: 以仙人掌、菠萝为主要原料, 加以柠檬酸、蜂蜜等辅料, 经科学加工制成有保健功能的水果香型饮料。本文对仙人掌 - 菠萝混合汁饮料的生产工艺、配方和技术关键进行了研究。通过正交试验及方差分析, 确定出该饮品的最佳组合方式为 $E_4 D_4 B_2 A_2 C_4$, 即澄清的仙人掌 - 菠萝混合汁用量 35%, 蔗糖 8%, 蜂蜜 2.8%, 柠檬酸钾 0.2%, 柠檬酸 0.4%, 水为 53.6% (上述百分比均为质量分数)。试验还确定出产品最适稳定剂配方为 0.20% 羧甲基纤维素钠 + 0.01% 黄原胶 + 0.15% 果胶为最佳。

关键词: 仙人掌; 菠萝; 仙人掌 - 菠萝混合汁; 工艺; 配方; 技术关键

Study on Processing Technology of Natural Drinks Made from *Opuntia dillenii* and Pineapple

XIAO Mei, WANG Sheng-you, QIAN Zhi-feng, PU Yi
(College of Engineering, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210031, China)

Abstract: Variance analysis of the data of an orthogonal experiment to study different processing technologies and formulations for the production of natural drinks made from *Opuntia dillenii* and Pineapple showed that the optimum formulation was 35% of the clear juice of *Opuntia dillenii* and pineapple, 0.2% of citric acid potassium, 8% of sucrose, 2.8% of honey, 0.4% of citric acid and 53.6% of water. In a small-scale production experiment, it was concluded that the optimum stabilizer

收稿日期: 2005-02-28

作者简介: 肖玫 (1958-) 女, 副教授, 主要从事农产品加工工艺的教学科研和食品营养以及食用野菜的开发与利用。

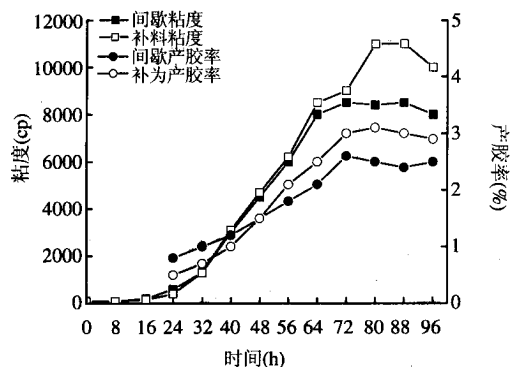


图3 不同工艺的产胶率和发酵液粘度变化趋势

Fig.3 Trend of gum yield and viscosity in different technology

最高达到 11000cp, 而间歇发酵的最高粘度要明显低于前者。

同样, 补料后最终的产胶率可以达到 3.1%, 而间歇发酵的最高产胶率为 2.6%。这主要是由于间歇发酵的

后期, 原料已经基本消耗, 没有足够的原料用于黄原胶的合成, 而补料工艺中, 原料能够更加合理地被菌体利用, 从而能够合成更多的黄原胶。

综上所述, 采用补料的工艺有益于黄原胶的生产, 对于提高菌体的得率系数及最终的发酵结果都有一定的促进作用。

参考文献:

- [1] 陈焕章. 黄原胶的生产与应用[J]. 化学工业与工程, 1996, 13(2): 61.
- [2] 林剑, 郑舒文, 等. 搅拌与溶氧对黄原胶发酵的影响[J]. 中国食品添加剂, 2003, (2): 63-67.
- [3] 常春, 马晓建, 等. 气升式发酵罐发酵黄原胶新工艺的研究[J]. 食品科学, 2004, 25(2): 111-114.
- [4] 张禹, 张国佩, 张茶, 等. 提高黄原胶丙酮酸发酵的实践[J]. 食品工业科技, 2002, 23(9): 30-31.
- [5] 常春, 徐桂转, 李洪亮, 等. 黄原胶QH79菌种的发酵工艺的研究[J]. 郑州工业大学学报, 2000, 21(1): 92-95.