

红曲米豆的培养及酶学研究

戴德慧¹ 郭爱莲¹ 蒋家新²

(1. 西北大学生命科学学院, 西安 710069)

(2. 浙江科技学院, 杭州 310012)

摘 要: 以红曲霉为菌种, 以米、豆粕为原料, 对其适合的培养条件进行了研究, 得出最佳培养条件: 米豆比例 1.5:1, 物料厚度 5cm; 初始水分含量 50%; 曲料 pH 值为 4; 30℃, 6d。在此基础上对红曲米豆的酶学性质进行了初步研究, 在该工艺条件下培养出的红曲米豆较红曲米的酸性蛋白酶活力提高近 10 倍, 中性蛋白酶活力提高不大, 碱性蛋白酶检测不出。糖化酶活力仍能达 883.7。色价达 180 以上, 基本保持不变。

关键词: 红曲米豆; 培养条件; 酶学; 蛋白酶; 糖化酶

Abstract: *Monascus ruber* was adopted as aspergillus strain. Rice and soybean chips were used as the raw materials, and optimum culture conditions were studied and concluded: Rice to soybean chips ratio 1.5 to 1; thickness of substrate 5cm; initial water content of substrate 50%; pH of substrate 4; the culture temperature around 30℃ and culture time 6 days. On this basis, enzyme characteristics of monascus rice and bean were studied elementarily: The acidic proteinase viability of monascus rice and bean was about ten times as much as that of monascus rice cultured by traditional technology. The neutral proteinase viability was not increased much. The alkaline proteinase could not be found. Saccharase viability still reached 883.7. Monascus pigments reached above 180, with basically no variance.

Key words: *Monascus* rice and bean; culture condition; enzymology; proteinase; carbohydrase

中图分类号: TS201.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2003)04-0102-03

红曲自古至今就是一个具有药用和食用双重价值的典型代表。大量用于酿酒、发酵食品、食用色素、中药等方面^[1]。红曲霉在生长过程中能产生活性较强的糖化酶和蛋白酶, 同时能产生抑菌和杀菌生理活性物质, 及莫纳可林类生活性物质, 该物质具有降低血脂和胆固醇的功能^[12~4]。

但长期以来, 在工业中使用的红曲曲种只是单一的采取籼米培养, 制成的曲种在酿造食品中应用有一定的局限, 特别在蛋白质含量较高的原料中生长困难, 蛋白酶活力较低, 难以取得较好的效果和经济效益。为此我们通过在籼米中添加一定的豆粕, 提高蛋白质含量, 增加氮源, 摸索出较为适合的培养条件, 使红曲霉能够很好生长, 提高了酸性蛋白酶活力。该法制得的红曲米豆在糖化酶活力、色价等方面均能基本保持原有水平, 可以直接用于酿造红曲调味品或与中性蛋白酶活力较高的米曲霉等曲种混合制曲, 能提高原料全氮利用率和酱油出品率, 使酱油色泽红润、清香明显、鲜而后甜, 大大改善酱油的质量^[5]。或用于其它蛋白质含量

较高的原料的生产。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 大米、豆粕(市售)

1.1.2 红曲霉(*M. ruber*) 由本实验室提供。

1.2 主要培养基

1.2.1 斜面培养基 麦芽汁培养基(用于菌种保存)

1.2.2 种子培养基(%)

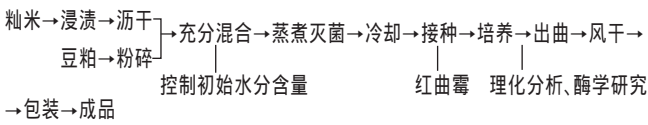
葡萄糖 3g, 豆粉 1.5g, 甘油 7g, 蛋白胨 0.8g, NaNO₃ 0.2g, MgSO₄ 0.1g pH6.5 接种后摇瓶 28℃, 210r/min 培养 2~3d, 至液体微红。

1.2.3 发酵培养基 大米、豆粕(以不同比例) 接种量 15%。

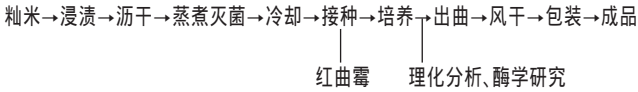
1.3 仪器设备 电热恒温培养箱; 标准型净化工作台; 电热恒温水浴锅; 721 型分光光度计; 鼓风电热恒温干燥箱; 电热手提高压蒸气消毒器等。

1.4 实验方法

1.4.1 红曲米豆制备工艺流程



1.4.2 红曲米制备工艺流程



1.4.3 制备工艺条件

1.4.3.1 米豆配比 米豆比 1:1、1.5:1、2:1(以干基计)配比装入 1000ml 三角瓶。

1.4.3.2 蒸煮 121℃ ,15min 饭蒸熟后要求外硬内软 ,无白心 ,熟透而不烂 ,均匀一致 ,充分摇匀 ,至无团块。

1.4.3.3 培养 pH 及温度 用乳酸调节曲料 pH 为 4、5、6 三种 ,30℃ 培养。

1.4.4 理化性质的测定

1.4.4.1 水分的测定 水分的测定采用 105℃ 恒重法^[6]。

1.4.4.2 酸、中、碱性蛋白酶活力的测定 酸、中、碱性蛋白酶活力的测定采用福林法^[7]。

1.4.4.3 糖化酶活力的测定 糖化酶活力的测定采用斐林试剂法^[8]。

1.4.4.4 色价的测定

称取 0.5g 红曲米豆和红曲米 (以湿基计) 成品放入带有刻度的 100ml 具磨口塞的试管中 ,加入 75% 乙醇至 50ml 摇匀后放入 60℃ 水浴中保温萃取 2h ,取出冷却用滤纸滤入三角瓶中取滤液 1ml 放入 25ml 刻度容量瓶中 ,加入 70% 的乙醇定容至 25ml ;以 75% 乙醇作对照用 721 分光光度计测定波长 505nm ,光程 1cm。

红曲红色素 = 0. D × 稀释倍数

2 结果与讨论

2.1 培养条件对红曲米豆生长情况的影响

表 1 米豆比例与红曲霉生长情况	
米豆比例	生长情况
1:1	培养不稳定上 ,杂菌易污染 ,红曲生长优势困难 ,常伴随着刺鼻气味。
1.5:1	红曲能形成生长优势 ,颜色由白色菌丝转为浅红 ,再转为深红色 ,有浓郁曲香 ,无异味。
2:1	红曲能形成生长优势 ,颜色由白色菌丝转为浅色再变为深红色 ,有曲香无异味。

2.1.1 红曲在不同比例的米豆混合物上生长的比较

由表 1 可知 ,米豆比例为 1.5:1 和 2:1 时 ,红曲生长情况良好。为了满足发酵调味品的质量要求 ,培养期先考虑原料蛋白的含量 ,故选用米豆比例为 1.5:1 的原料配比。

表 2 物料厚度对生长的影响(1000ml 三角瓶培养)	
厚度(cm)	生长情况
3	培养 2d 后 ,曲料干硬 ,只有少量菌丝出现。
4	红曲能生长 ,培养 2d 后 ,有菌丝出现 ,曲料颜色由浅红转为深红 ,有曲香。
5	红贡能形成生长优势。培养 2d 后 ,有大量菌丝出现 ,曲料颜色由浅红转为深红。有浓郁曲香。
6	培养初期 红曲生长良好 ,3 ~ 4d 后 ,曲料出现“ 稀化 ” 常有异味。

2.1.2 物料厚度对生长的影响

从表 2 中得出 :当曲料厚度为 5cm 时 ,红曲霉生长情况较好 ,此时发酵产热速度速度等于略小于体系传热速率 ,发酵体系的温度保持相对恒定。物料层太厚 ,不利于曲料中心温度的散出 ,易出现稀化现象。物料层太薄 ,不利于曲料内水分保持 ,曲料易干硬。

表 3 初始物料水分含量对生长的影响	
初始水分含量(%)	生长情况
30	- -
50	+ +
70	+

注 : - - 表示红曲霉难以生长或生长较差;
+ 表示红曲霉生长一般;
+ + 表示红曲霉生长较好。

2.1.3 初始物料水分含量对生长的影响

物料的初始水分含量是影响红曲霉生长的重要因素之一。由表 3 得知 ,在含水量 50% 左右时 ,红曲霉生长稳定 ,色素分布均匀。而含水量在 30% 左右时 ,物料于硬 ,红曲霉几乎不生长。而在 70% 时 ,培养前期(1 ~ 3d) 生长良好 ,但随后曲料粘结 ,底部有红色粘液产生。

2.1.4 酸度对生长的影响

红曲霉适宜在偏酸性的环境下生长 ,用醋酸或乳酸来调节曲料酸度 ,可使之便适宜于红曲霉生繁殖 ,本文所采用的曲料配比 ,氮源相对充足。杂菌污染相对严重。通过对比曲料 pH4、5、6 时红曲生长情况 ,得出 pH 为 4 时 ,曲料污染程度明显降低 ,且此时色素分布均匀 ,色泽较 pH5、6 好。

2.2 红曲米豆与红曲米的酶活力及色价比较

表 4 红曲米与红曲米豆蛋白酶活力测定结果

样品(培养时间)	酸性蛋白酶	中性蛋白酶	碱性蛋白酶	糖化酶
红曲米(7d)	64.0	12.8	—	910.1
红曲米豆(3d)	107.5	7.7	—	360.3
红曲米豆(6d)	608.2	16.0	—	883.7
红曲米豆(7d)	462.3	10.2	—	892.6

注: — 表示检测不出。

2.2.1 红曲米豆与红曲米的酶活力比较

由表 4 可见,在传统红曲工艺的基础上适当地在曲料中添加一定量的蛋白质含量较高的豆粕,提高曲料的含氮量,可以使红曲米豆的酸性蛋白酶活力较传统红曲工艺提高近 10 倍。中性蛋白酶活力提高不大,碱性蛋白酶活力均检测不出。

糖化酶是红曲产生的主要酶系之一,红曲在其生长过程中能产生大量的糖化酶。该工艺培养出来的红曲米豆仍能保持这一优良性能。

2.2.2 红曲米与红曲米豆成品的色价比较

表 5 红曲米与红曲米豆成品的色价比较

样品(培养时间)	稀释倍数	平均 O.D 值	红色素色价
红曲米(7d)	2500	0.078	195
红曲米豆(6d)	2500	0.075	187

红曲色素是一种天然色素,其安全性很高,可用于食品、医药、化妆品等工业中。由表 5 可知,红曲米豆的色价与红曲米色价基本相同,红曲米豆能保持红曲米这一优良性质。

3 小 结

(1) 红曲米豆培养条件 :米豆比例为 1.5:1 ;物料厚度 5cm ;曲料初始含水量 50% ;料 pH 为 4 ;30℃ ,培养 6d。

(2) 在米豆混合物上培养出来的红曲霉其酸性蛋白酶活力较纯米上培养提高近 10 倍,中性蛋白酶活力提高不大,碱性蛋白酶检测不出。

(3) 红曲米豆糖化酶活力 883.7 ,色价达 187 ,同红曲米比较,基本没有太大变化。

参考文献 :

[1] 傅金泉. 中国红曲及其应用技术 [M]. 北京 :中国轻工业出版社 ,1997.

[2] Endo A, Monacolin K. A new hypocholesterdemic agent produced by a monascus species[J] . J Antibiotics , 1979, 32: 852 – 854.

[3] Endo Monacins J L. A new inhibitors of cholesterol biosynthesis produced by Monascus ruber[J] . J Antibiotics, 1985 , 38: 420 – 422.

[4] 毛宁等. 红曲霉产生 monacolink 的研究 (2) . 福建师大学报[J] ,1997, (13): 80 – 84.

[5] 郭爱莲 ,戴德慧 ,蒋家新. 新型功能性红曲调味品的研究 [J]. 食品科学 ,2002 ,(7): 80 – 84.

[6] 中华人民共和国专业标准 ZBX66025 – 87.

[7] 中华人民共和国专业标准 ZBX66030 – 87.

[8] 中山大学生物系微生物学教研室. 生化技术导论 [M] . 1978, 9: 53 – 70.

酪蛋白的酶促水解及其水解物的美拉德反应

杨叶昆 李雪梅 周 瑾 杨彦明
(云南瑞升科技有限公司 , 昆明 650223)

摘 要 :以酪蛋白为原料,经蛋白酶催化水解,得到蛋白水解液,进而和糖进行美拉德反应制成新型非酶棕色化香料。水解酶为胰蛋白酶和木瓜蛋白酶。本文利用正交试验设计,系统地研究了蛋白酶催化条件下酪蛋白的水解,研究了各实验因素对水解效率的影响。最佳水解条件是 :水解温度 50℃ ,pH 8.0, 水解时间 24h ,酶 – 底物浓度比 0.5% ~ 1.0 %。美拉德反应合成的新型非酶棕色化香料,具有浓郁的烤土豆香味。可应用于食品和烟草的加香。

关键词 酪蛋白 酶水解 美拉德反应

Abstract :The casein was hydrolyzed by using enzymes ,trypsin and papain. The hydrolysates were reacted with glucose to form flavoring materials. The hydrolysis of casein was systematically studied through orthogonal test design. The effects of some factors to hydrolysis efficiency was studied. It was found that the