

测定 2,3-丁二醇,证明含有抗癌物质薏苡仁酯 $C_{38}H_{70}O_4$,比目前已有的薏米饮料更具有疗效价值。

参 考 文 献

- 1 南京药学院. 中草药学下册. 江苏人民出版社. 1980,1220~1222.
- 2 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编上册. 人民卫生出版社. 1975,922.
- 3 梁志. 食用医疗饮食指南. 1983,852~855.
- 4 中国医学科学院编. 食物成分表. 人民卫生出版社, 1963.
- 5 凌关庭等. 食品添加剂手册上册. 化学工业出版社. 1989,355
- 6 吕志俭等. 应用模糊数学评价食品的感官质量. 食品科学 1986. (3):1.

黑曲霉产果胶酶特性的研究

陈哲超 谢必峰 林宇野 福建师范大学微生物工程所

摘 要 果胶酶产生菌 As6.104 系我所筛选而得优良菌株,本论文对该菌株产酶的特性,提取条件进行了研究。

关键词 果胶酶 浸提

水果加工中应用果胶酶能分解果肉组织中的果胶质,使压榨汁粘度降低,容易过滤,提高收率;压榨汁经果胶酶处理,可以收到很好的澄清效果,有助于果汁和果酒的澄清,产品也比较稳定,不再发生混浊。在国外果胶酶已商品化生产,并广泛应用于果汁、果酒工业。近年来,有固定化酶出售,60年代末和70年代初,我国食品罐头行业,曾应用微生物果胶酶脱桔子囊衣和果酒澄清的试验,取得一些进展。近几年来,随着我国果汁行业的迅猛发展,国内果胶酶的需要量越来越大,为了促进我国果胶酶生产的发展,1985年我们进行了此项工作的研究和试制,1993年底生产出活力单位达30万u/g的精制果胶酶,并投放市场,经厂家使用,产品质量与进口酶相同,受到了国内果汁生产厂的欢迎,替代了进口果胶酶。

1 材料与方法

- 1.1 菌种:果胶酶产生菌 As6.104 系我所筛选而得。
- 1.2 诱导物:苹果皮粉、桔子皮粉、甜菜丝粉、山楂渣粉和商品果胶。
- 1.3 酶活力测定:脱胶作用时间法。
- 1.4 果胶含量测定:果胶酸钙重量法。
- 1.5 澄清度测定:721分光光度计。

2 实验结果

2.1 As 6.104 菌株发酵试验

2.1.1 诱导试验

一般认为底物中诱导物(果胶或半乳糖醛酸残基)是果胶酶菌株产果胶酶的条件,或者说促进果胶酶产生的因素;我们选用富含果胶的诱导物作试验,结果见表1。

表1 不同诱导物对 As6.104 酶活的影响

诱导物	苹果皮粉	桔子皮粉	甜菜丝粉	山楂渣粉	果胶	CK
果胶含量(%)	0.45	1.18	0.40	1.01	7.5	
酶活力 u/ml	1153	1364	1500	1500	1500	1500

表2 不同培养时间酶活力和菌生长情况

培养时间 h	酶活力 u/ml	菌生长情况
32	361	菌已长满,结成曲饼,开始长出少量白色分生孢子头
36	920	大量白色分生孢子头,少量孢子头开始变黑
40	1154	大多数的孢子头变黑
44	1282	孢子头全部变黑
46	1667	孢子头全部变黑
48	1807	孢子头全部变黑
50	1807	孢子头全部变黑
52	1507	大量黑色孢子头
54	1402	大量黑色孢子头
56	1486	大量黑色孢子头

从表 1 结果看出:除苹果皮粉与桔皮粉比对照组酶活稍低外,其余组均与对照组酶活力相同,看来诱导物对 As6.104 麦麸固体培养产果胶酶没有促进作用,这与 SREEKANTIAN. K. R 试验结果相同。即将 *ASP aureus* 菌进

行麸皮固体培养,培养基中添加果胶与对照组相比没有看到有诱导作用或刺激作用,相反延长培养时间,酶活还不如纯料麦麸培养的。

2.1.2 三角瓶培养过程中,菌生长情况与酶活关系,结果见表 2。

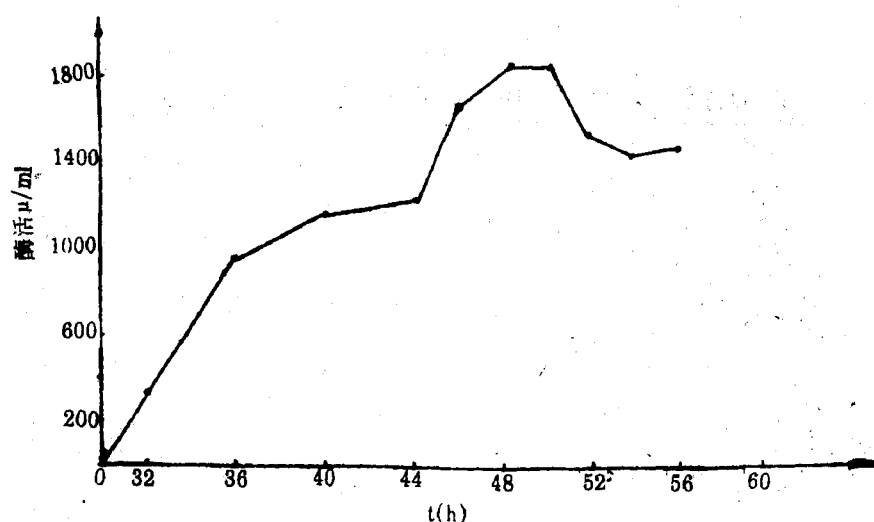


图 1 酶活曲线

图 1 可以看出在三角瓶中,麸皮固体培养产酶高峰在 48~50 h,超过 50 h 产果胶酶活力下降。从菌的生长情况来看,果胶酶大量产生的时间是在菌的大量分生孢子产生和老化的时期,因此可以认为该菌株主要是在菌的繁殖期大量产生果胶酶。

2.1.3 不同氮源和最适添加量试验

在麸皮培养基中分别添加 1% 的豆饼粉,花生饼粉和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 接种后 30℃ 培养 48 h,测定酶活力,结果见表 3。

表 3 不同氮源对产果胶酶影响

氮源	1% 豆饼粉	1% 花生饼粉	1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
酶活力 u/ml	1346	1170	1467

表 4 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 添加量对酶活的影响

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	2%	1%	0.5%
酶活力 u/ml	1289	1600	1600

试验结果表明,As6.104 麦麸固体培养添加无机氮源,较有机氮源提高酶活明显。

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 不同添加量对酶活的影响结果见表 4。

表 4 结果表明 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 最适添加量是 0.5%~1%。

上述实验室小型条件试验结果表明:As6.104 菌株在麦麸固体培养基上,不添加诱导物,只需添加 1% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 作氮源,在 pH 与 30℃ 条件下培养 48~50 h 可获得高酶活。在此基础上,进行曲盘扩大培养,摸索料层厚度、接种量、培养时间与产酶关系。

2.1.4 曲盘料层厚度对产酶的影响,结果见表 5。

表 5 料层厚度对产酶影响

曲盘装料量(干粉 g)	1000	750	500
料层厚度(mm)	40	30	20
酶活力 u/ml	2000	2750	2750

表 5 的结果说明曲盘装量过多,即料面太厚对 As6.104 产酶有影响。一般料厚 30 mm 左右为宜。装料多、料面厚不利于通气,因此影响产酶,在实验室的小试中也出现类似现象,例如

在大三角瓶中培养比在小三角瓶中培养的酶活力高。

2.1.5 曲盘接种量对产酶的影响结果见表 6。

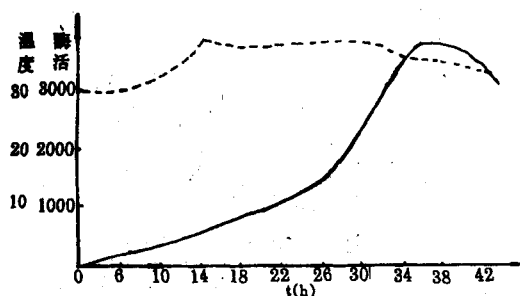
表 6 接种量对酶活的影响

接种量%	0.2	0.5	1
接入种曲(1500g 料)	3	7.5	15
酶活力 u/ml	1980	1938	2039

表 6 的结果说明接种量在 0.2%~1% 之间,对酶活力影响不大。从培养过程来看,接种量大,升温快,接种量小,升温慢,如接种量为 1% 时,品温可达 39℃,而接种量为 0.2%,需要 12 h,接种量大可适当缩短培养时间,因此,我们选择了接种量为 0.2%。在冬季,室温偏低的情况,可适当考虑加大接种量,如 0.5%。

2.1.6 曲盘培养时间与酶活的关系

以 0.2% 接种量接种,进行曲盘培养,观察品温变化和菌的生长情况,并分别在 24、30、34、36、42 h 测定其酶活,结果见图 2。此图表



—酶活, ---品温

图 2 培养时间与酶活关系

明,As6.104 菌在麦麸培养基上曲盘培养,经 36 h 达到产酶高峰。参考表 2,从三角瓶中菌的生长情况看,当大量分生孢子形成并逐渐成熟变黑时,是果胶酶大量产生的时期,说明曲盘培养与小试的结果一致,该菌株固体培养主要是在增殖期产果胶酶。

2.2 果胶酶的提取条件的试验

2.2.1 浸提条件

浸提溶剂的选择:

称一定量麸曲分别用 5 倍 1%NaCl 溶液、自来水和磷酸缓冲液,置 30℃ 水浴浸提 1 h,取

滤液测定酶活力,结果见表 7。

表 7 不同溶剂的浸提结果

溶剂	1%NaCl 溶液	自来水	磷酸缓冲液
酶活力(u/ml)	1071	811	1034

不同浸提温度对酶活力的影响:

取一定量麸曲,加入 5 倍 1%NaCl 溶液,分别置 30℃、40℃、50℃ 恒温水浴浸提 1 h,结果见表 8。

表 8 不同浸提温度对酶活的影响

浸提温度	30℃	40℃	50℃
酶活力(u/ml)	1500	1500	600

浸提时间的选择:

取一定量的麸曲,加入 5 倍 1%NaCl 溶液,置 30℃ 水浴分别浸提 0.5、1、1.5、2、3h 后,取滤液测定酶活力,结果见表 9。

表 9 不同浸提时间对酶活的影响

浸提时间(h)	0.5	1	1.5	2	3
酶活力(u/ml)	1765	1875	1580	1500	1364

不同浸提液量对酶活力的影响:

取一定量麸曲,分别加入 5 倍、10 倍、15 倍 1%NaCl 溶液,30℃ 浸提 1 h,取滤液测定酶活力,结果见表 10。

试验表明:麸曲果胶酶的浸提,浸提溶剂以 1%NaCl 溶液和磷酸缓冲液浸提效果好,但考虑到 NaCl 比较经济,加上对果胶酶有激活

表 10 不同浸提液量对酶活的影响

麸曲浸提液	1:5	1:10	1:15
酶活力体积(u/ml)	475	985	1460
酶活力(u/ml)	2727	1667	1250
总活力(u/ml)	1295454	1641995	1825000

作用,为此以 1%NaCl 溶液为浸提液;浸提液温度以 30℃ 为好,较 40℃ 经济,浸提时间以 1 h 为宜,浸提倍数虽 15 倍和 10 倍比 5 倍总活力分别高 26% 和 40%,但考虑到浓缩所耗动力能源以 5 倍浸提比较经济,滤渣残存果胶酶可采用二次浸提加以解决。

2.2.2 浓缩对酶活力的影响

根据测定,当水浴温度 45℃ 真空度 96 kPa

表 11 浓缩对酶活力的影响

项目	体积(ml)	酶活力(u/ml)	总活力(u)	收率(%)
稀酶液	4000	1071	4285714	100
浓缩液	547	7500	4050000	94.5

时浓缩温度 35℃;采用此条件浓缩,结果见表 11。

表 11 试验说明:在 45℃、96kPa 柱条件下进行浓缩回收率在 90%以上,按此条件进行 5 批回收率试验,结果见表 12。

表 12 果胶酶液浓缩过程中回收率情况

	原料 (kg)	浸提液 体积 (ml)	浸提液滤液			清液			浓缩液			收 率 (%)
			体积 (ml)	酶活力 (u/ml)	总活力 (u/ml)	体积 (ml)	酶活力 (u/ml)	总活力 (u/ml)	体积 (ml)	酶活力 (u/ml)	总活力 (u/ml)	
8.51 批	3	1500	11200	3000	3360	11125	2727	3034	1054	30000	3162	94
8.17 批	1.5	7500	6000	3333	2000	5335	3333	1778	675	26087	1771	86
8.29 批	3	16000	13700	3157	4325	13650	3000	4095	1440	27273	3927	91
8.30 批	4.5	24000	2097	3529	7382	2082	3333	6904	2103	33300	7009	95
9.50 批	6	32000	29500	3000	8852	8850	3000	8592	3256	27300	8889	100.4

果胶酶是一种胞外酶,固体发酵法制取麸曲溶剂浸提,经过滤去杂、浓缩、喷雾干燥,即为粉剂产品。

3 结论

果胶酶生产菌 As6.104 生产的果胶酶可替代进口产品。研究表明,诱导物对果胶酶产率无促进作用。而无机氮源较有机氮源酶活力高。扩大试验采用曲盘固体培养,接种量以 0.2%~0.5%为宜。料厚以 30 mm 较好。产酶过程主要在种植期,即培养 36 h 左右,分生孢子大量形成并逐渐变黑时达到产酶高峰。系统研究了果胶酶提取条件。结果以 5 倍量 1%NaCl 溶液

30℃浸提 1 h 效果为宜。采用常温水浴 45℃,真空度 96kPa 条件浓缩可获得 90%以上收率。

参考文献

- 1 Endo. A. Agr. Biol. Chem. 1965,29(2) 130~135.
- 2 Federico Federici. Antonie van Leeuwenhoek. 1985,51:146~150.
- 3 胡学智. 应用微生物. 1982.1.
- 4 扬天波. 微生物学通报. 1985,4 160~165.
- 5 Mukherjee, S. K. et al. J. of Fermentation Technol. 1971,49(9);760~770.

烹饪研究专栏

【编者按】此次刊登的烹饪科学研究报告是黑龙江商学院旅游烹饪系在原商业部申请的一个重大科研项目“烹调中主要环节最佳工艺的初步研究”的一部分,目前已完成并通过鉴定。中国烹饪技法众多,风格多样,在国内外享有很高的盛誉,但目前还是建立在经验基础上的手工操作,真正要使它成为一门完美的科学,需要付出很大的努力,这正是中国烹饪与先进国家烹饪的差距之所在。黑龙江商学院旅游烹饪系在我国首次从烹饪学的主干学科之一烹调工艺学入手,探讨了营养成分与感官质量的多因素最优化问题,为中国烹饪的科学化,做了有益的工作。我们相信,这对于推动烹饪学科的建设将起到积极的作用。现将其系列论文陆续分期刊登,供同行们参考。