

液态发酵产栀子蓝色素工艺条件研究

李世杰 方尚玲 付向阳 湖北工学院生物工程系 430064

摘 要 本实验室分离筛选到一株丝状真菌,可以利用栀子黄生产过程中吸附柱上洗脱液为原料,以液态发酵的方式转化为栀子蓝色素。通过正交试验优选到栀子蓝高产配方和培养条件为:蛋白胨 4%,大豆浸出物 1%,洗脱液 7%,培养温度 31℃,pH8.0,接种量 5% (V/V),摇瓶装量 120ml/500ml,摇床转速 200r/min,培养周期 96h。每升发酵液可获得色价高于 50($E_{1cm}^{1\%595}$)的栀子蓝色素 12g 以上。

关键词 栀子蓝 液态发酵 正交试验

Abstract A Filamental Fungus has been separated and screened in our laboratory. It could be used in liquid fermentation to transport elution material from Gardenia yellow to Gardenia blue. Orthogonal experiment showed that the optimum Gardenia blue culture medium and culture condition were: peptone 4%, soybean extract 1%, elution material 7%, pH8.0; culture temperature 31℃, inoculum 5% (V/V), culture broth quantity 200ml/500ml flask, shake rotation 200 r/min and fermentation period 96 hr. The culture can produce 12g Gardenia blue pigment ($E_{1cm}^{1\%595} \geq 50$) per liter fermented broth.

Key words Gardenia blue Liquid fermentation Orthogonal experiment

在栀子的种籽内含有类胡萝卜素系的黄色素藏花素(crocin),还含有栀子甙元(genipin)等。藏花素经加工已形成商品栀黄色素,中国、日本、韩国产销量较大。而栀子甙元在微生物酶的作用下可生成蓝色色素栀子蓝。由于与黄色色素共存,故其色调较暗、且带有绿色^[1]。在日本对栀子蓝的需求量 1995 年就达到 45 吨,市场价格为 13000 - 17000 日元/kg^[2]。近年国内外市场对栀子蓝的需求有明显增长趋势。我国仅个别生产栀子黄的厂家生产栀子蓝色素,年产量 1 吨左右,由于采用固体制曲方法培养微生物转化生产栀子蓝,工艺传统,周期长,占地面积大,难于大规模生产。

在栀子黄的生产过程中,黄色素要经过特殊的树脂吸附,未吸附上的栀子甙等杂质被洗脱下来^[3],如果作为废弃物排放造成资源浪费和环境污染。本实验室分离到一株丝状真菌可以将这种洗脱液转化成栀子蓝,采用液态发酵的方法,每升发酵液可获得 12g 色价高于 50($E_{1cm}^{1\%595}$)的蓝色素,且由于洗脱液中已经没有了栀子黄,所得栀子蓝色泽好,不发绿。本文仅就液态发酵培养基配方和培养条件的优选进行讨论。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种:丝状真菌 HGS-2 由湖北工学院生物工程系分离筛选得到。

1.1.2 培养基

种子培养基:葡萄糖 3%,蛋白胨 1.5%,大豆浸提物 1%

发酵培养基:洗脱液(江汉油田八达集团色素厂提供,含栀子甙约 50%)、蛋白胨、大豆浸提物

1.1.3 主要仪器与设备

岛津 UV-240 型紫外可见分光光度计

7230 可见分光光度计

恒温摇床

GL20-G 冷冻高速离心机

1.2 分析方法

栀子蓝色素含量高低的测定,用 1cm 比色皿以蒸馏水为空白,在分光光度计上取波长 595nm,取 1ml 发酵液稀释 100 倍,测其 OD 值,色素含量与 OD 值成正比。

色价测定参考文献 3

1.3 正交试验设计方法

参照山东科学技术出版社姜同川编写的《正交试验设计》^[4]

2 结果与讨论

2.1 栀子蓝色素的光谱学特性测定

将发酵液稀释后,用日本岛津可见——紫外分光光度计在 200 - 800nm 范围内,以蒸馏水作空白对照,光程为 1cm,进行光谱扫描,得到扫描图如图 1,得到蓝色素在可见光区最大吸收值为 595nm。

2.2 液体培养基最佳组分的选择

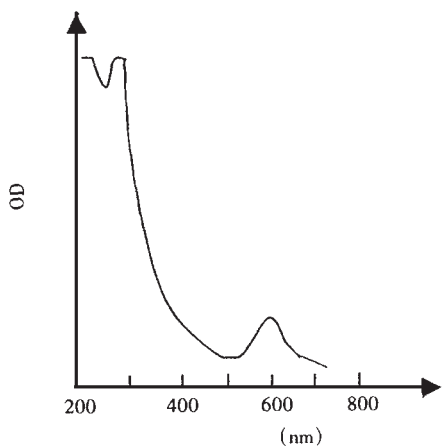


图1 栀子蓝色素的吸收光谱图

为了尽可能地摸索 HGS-2 产蓝色素的最佳液体培养基配方,对选定的液体培养基各组分,起始 pH 作了正交试验,以液体培养基中洗脱液,蛋白胨,大豆浸出物及起始 pH 四因素,按照 $L_9(3^4)$ 正交表安排四因素,三水平正交试验,所设立的因素水平变化见表 1。(30℃, 200r/min, 96h 培养)

表1 正交试验因素水平变化表

水平	A 洗脱液(%)	B 蛋白胨(%)	C 大豆浸提物(%)	D 起始 pH
1	6.0	1.5	0.50	5.0
2	7.0	2.0	0.75	6.0
3	8.0	2.5	1.00	7.0

表2 正交试验 $L_9(3^4)$

处理	A 洗脱液 1(%)	B 蛋白胨(%)	C 大豆浸提物(%)	D 起始 pH	OD _{595nm}
1	1	3	2	1	
2	1	1	1	2	0.256
3	1	2	3	3	0.254
4	2	2	1	1	0.587
5	2	3	3	2	0.364
6	2	1	2	3	0.686
7	3	1	3	1	0.524
8	3	2	2	2	0.214
9	3	3	1	3	0.593
\bar{K}_1	0.365	0.330	0.415	0.278	0.628
\bar{K}_2	0.524	0.525	0.451	0.524	
\bar{K}_3	0.471	0.523	0.495	0.576	
R	0.159	0.193	0.08	0.298	

表 2 中极差值 R 的大小反映了各因素的水平变化对产色素指标的影响幅度,排出顺序为 D> B> A> C,即在所试浓度范围内,起始 pH 水平变化对产色素影响最大,洗脱液和大豆浸提物影响较小。

将各种因素对色素产量的影响作图,如图 2。

从图 2 可见,蛋白胨,大豆浸出物,起始 pH 三因素还未找到最佳点,而洗脱液以 7% 为最佳。为了进一

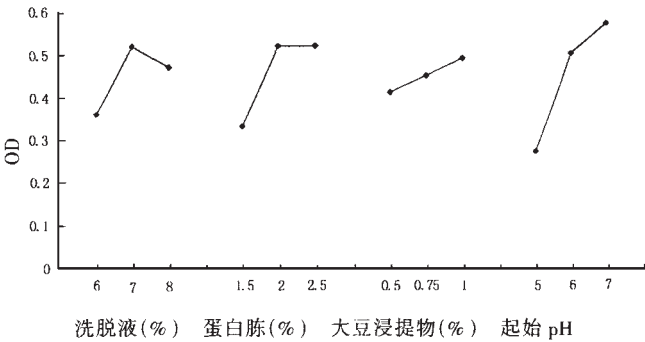


图2 各因素变化对产蓝色素影响

步确定 HGS-2 产蓝色素最佳配方,还要进一步设立因素水平,重立正交试验,见表 3。

根据第二次因素水平变化选择二次正交试验表,其中洗脱液为 7%。按正交表 $L_9(3^4)$ 进行液体培养后,测 OD_{595nm} 值,结果见表 4(30℃, 200r/min, 96hr 培养)。

表3 第二次正交试验水平变化表

水平	A 蛋白胨(%)	B 大豆浸提物(%)	C 起始 pH
1	3.0	0.8	7.0
2	4.0	1.0	8.0
3	5.0	1.2	9.0

表4 第二次正交试验表

处理	A 蛋白胨(%)	B 大豆浸提物(%)	C 起始 pH	OD _{595nm}
1	1	1	1	0.593
2	1	2	2	0.574
3	1	3	3	0.455
4	2	1	2	0.652
5	2	2	3	0.800
6	2	3	1	0.540
7	3	1	3	0.360
8	3	2	1	0.562
9	3	3	2	0.572
\bar{K}_1	0.540	0.535	0.565	
\bar{K}_2	0.664	0.645	0.599	
\bar{K}_3	0.498	0.522	0.538	
R	0.166	0.123	0.061	
最佳配方	A2	B2	C2	

根据表 4,将各因素对色素产量的影响作图,如图 3。

由两次正交试验结果可见,洗脱液为 7%,蛋白胨为 4%,大豆浸提物为 1.0%,起始 pH 为 8.0 是液体摇瓶发酵最佳配方。

进一步对该配方作验证试验,取洗脱液 7%,蛋白胨 4%,大豆浸提物 1.0%,起始 pH8.0 装入三角瓶中灭菌,在 30℃, 200r/min 下培养 96h,测 OD 值为 0.805。

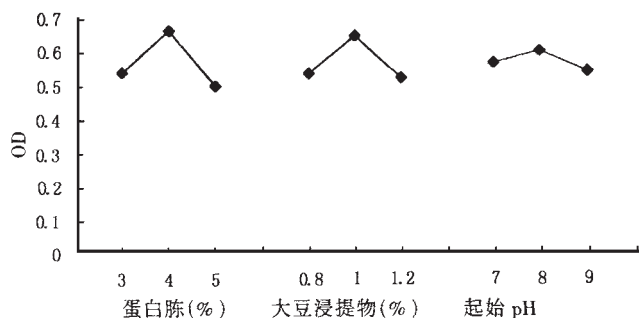


图3 因素水平变化对产色素的影响

说明此培养基配方在试验范围内为最佳。

2.3 培养条件优化

2.3.1 摇瓶装量对色素生成量的影响

在 500ml 三角瓶中装入不同量液体培养液, 进行摇瓶发酵, 在 30℃, 200r/min 下培养 96h, 比较摇瓶对色素生成影响, 结果见图 4, 摇瓶装量为 120ml, 即 24% 为宜。摇瓶装置反映了培养过程供氧状况, 摇瓶装量太小, 供氧充足, 菌丝生长快, 细胞浓度大, 而色素生成量相对较低; 反之摇瓶装量大, 供氧不足, 菌丝生长慢, 培养液稀薄, 色素生成量也较低。只有装瓶适量, 氧的供需平衡才能得到较大的色素生成量。

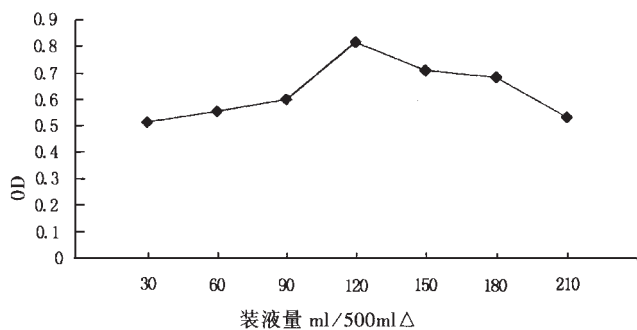


图4 摇瓶装量对色素生成的影响

2.3.2 培养温度对色素生产影响

分别考察 25 ~ 35℃ 区间, 200r/min 培养 96h, 发酵液产色素情况, 结果见图 5, 表明 31℃ 时, 色素产量最高。

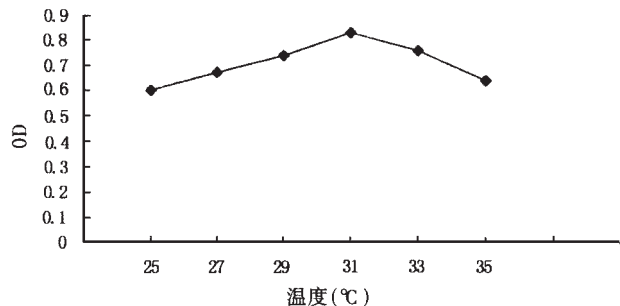


图5 温度对色素生成的影响

2.3.3 培养时间对色素生成的影响

在 500ml 三角瓶中装入 120ml 发酵液, 31℃,

200r/min 培养, 分别测定培养 48h, 60h, 72h, 84h, 96h, 108h 后 OD 值, 结果见图 6, 可知在培养 96h 后色素产量最高。继续培养菌丝细胞形态发生变化, 色素不再增加。

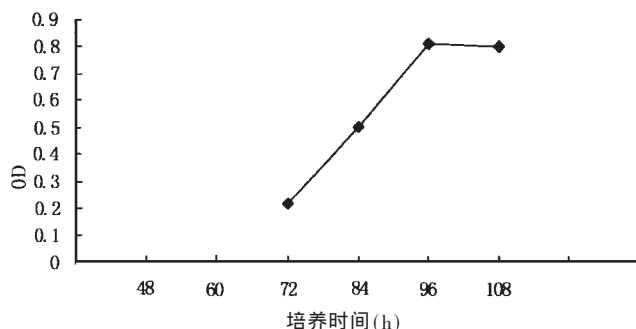


图6 培养时间对色素生成的影响

2.3.4 接种量对色素生成影响

在 500ml 三角瓶中装入 120ml 发酵液, 分别接种 1% ~ 9% 的 9 种不同种量的菌种, 于 31℃, 200r/min 下培养 96h 后, 测 OD 值, 结果见图 7, 可知以 5% (V/V) 接种量色素产量最高。

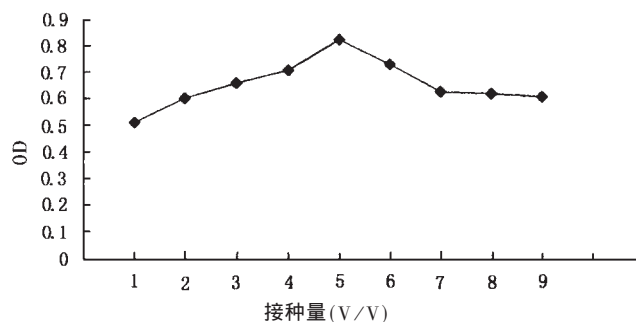


图7 接种量对色素生成影响

从以上的研究中我们得出这样结论: 丝状真菌 HGS-2 可以将栀子洗脱液高效转化为栀子蓝, 用液态发酵培养基配方简单, pH 在偏碱性条件下易于产生色素, 对氧的需求量不大, 工艺易于控制, 最佳液体摇瓶配方为: 洗脱液 7%, 蛋白胨 1%, 大豆浸提物 1.0%, 起始 pH 8.0; 最佳培养条件为: 摇瓶装量 120ml/500ml, 接种量 5% (V/V), 于 31℃, 在 200r/min 下培养 96h, 得到的色素产量最高, 经初步处理, 大孔树脂吸附、洗脱精制, 获得色价为 50 的栀子蓝 12g 以上。

参考文献

- 施琴. 国外栀子蓝色素的开发现状. 食品科学, 1992(1): 35 ~ 36.
- 凌关庭主编. 天然食品添加剂手册. 北京: 化学工业出版社, 2000.

- 3 马自超主编. 天然食用色素化学及生产工艺学. 北京: 中国林业出版社, 1994.
- 4 姜同川. 正交试验设计. 山东: 山东科学技术出版社, 1985.

可消化耐嚼糖果的制作工艺比较

胡爱军 华南理工大学食品与生物工程学院 广州 510641

摘 要 分别采用两种工艺研制新型耐嚼糖果, 通过理化检测、感官分析及成本比较, 确定了最佳方法。采用该法研制的新型糖果, 咀嚼时间长, 口感类似胶姆糖, 有较好的粘弹性和硬度, 可被人体完全消化代谢。

关键词 消化 耐嚼 糖果

Abstract Two technologies were used to manufacture one new type of chewy candy, and the better method was chosen after comparing and analyzing them. The candy made this way showed the characteristics of long chewing time, good elasticity and hardness. In addition, it gave the feeling of chewing gum, yet could also be digested completely.

Key words Digestible Chewy Sugar

咀嚼是人体的基本动作, 增多咀嚼次数, 能促进唾液的分泌, 有助于人体的消化功能。同时使口腔得到净化, 从而具有消除口臭的作用。经常食用, 不但能加快口腔内血液流动, 预防口腔感染, 还能刺激知觉神经, 起到提神醒脑作用。近年来, 有人研究分析, 认为咀嚼时能牵动肌肉不断运动, 从而能使面部肌肉增加弹性。故, 又具有美容效果^[1, 2]。

在各类糖果中, 最耐咀嚼的莫过于胶姆糖, 也因此胶姆糖成为人们十分喜爱的一类糖食制品, 欧美国国家尤甚。因而产量也相当大。仅以意大利 PRFETTI 公司为例, 每天生产一百吨胶姆糖, 年产量达二万吨^[1]。由于胶姆糖中至少含有 20% 不能降解和消化的胶基, 是不能吃下肚的。而且具有很强的粘着力。吐出口外, 极易污染环境; 沾到一些衣物上很难脱落。特别是在公共场合, 更不能随意吐出胶质。因此, 一些国家或城市甚至明文禁止在公共场所吃胶姆糖。随着跨地区和全球环境的日益恶化, 特别是冷战结束后, “环境与发展”已逐渐与“和平与发展”成为两个同等重要的世界性主题。社会的发展、环境意识的增强, 新型可消化耐嚼糖果的出现具有十分重要的意义。

工艺的选择对制造耐嚼糖果非常重要。新型耐嚼糖果要求既具有较长时间咀嚼的特点, 又具有类似胶姆糖的口感, 有较好的粘弹性和硬度。咀嚼时感觉轻松愉快。同时也具有其它糖果能完全吃下肚进而消化之特性。胶姆糖生产一般采用搅拌混合挤压工艺, 其它糖果常用熬煮的方法制造。到目前为止, 糖果生产

基本上不外乎这两种方法^[3, 4]。笔者分别采用这两种方法制造糖果, 通过理化检测、感官分析及成本比较, 确定研制新型耐嚼糖果的最佳工艺方法。

1 试验材料和方法

1.1 主要试验原料

蔗糖: 食品级, 市购; 淀粉糖浆: 无锡市糖果厂, 82% 固形物含量, DE42;

可消化胶基: 自制。香料: 食品级, 上海日用香精厂出品; 色素: 符合国家食品卫生标准; 硫酸铜, 次甲基蓝, 氢氧化钠, 酒石酸钾钠, 亚铁氢化钾, 葡萄糖均为分析纯。

1.2 主要设备

搅拌混合机: 美国制造; 辊筒压片机: 浙江临海市商业机械厂; 标准检验筛: 280 目, 辽宁省辽阳市金属制品厂; 球磨机: SQ-B 型, 上海中药机械厂; 熬煮锅: 无锡电饭锅厂; 温度控制指示仪: 上海医用仪表厂; 数显电热鼓风干燥箱: 101-3A 型, 上海沪南科学仪器联营厂; 电热恒温真空干燥箱: 上海医疗器械七厂; 电子恒温水浴锅: 深圳市沙头角国华仪器厂。

1.3 主要测定方法:

水份测定: 真空干燥法^[5]; 还原糖: 斐林滴定法^[6]; 色、香、味、态: 感官评定法^[7]。咀嚼时间: 以 60 次/min 的频率咀嚼 5g 样品所需时间 (s), 小组评定取均值^[2]。

1.4 试验方法