

金耳液发酵饮料的发酵工艺研究*

刘春卉 谢红 苏槟楠 韩建欣 刘艳萍

(山西省生物研究所 太原 030006)

摘 要 采用深层发酵技术制备真菌产物,既要有生活力强适应性广的菌株,也要有合适的培养基组分和培养条件。经对金耳 9800 菌株的培养特征研究发现该菌由 2 种菌丝专一性搭配生长,其中一种无性生殖为酵母状出芽生殖的是金耳菌丝,另一种是它的伴生菌,金耳菌丝依赖伴生菌生存。对该菌株的培养发酵条件研究表明,最佳碳、氮源分别为葡萄糖、大豆。最适培养温度为 20~25℃,初始 pH 为 6.2,发酵罐最佳通气量 0.7 m³/min,最佳搅拌转速为 100 r/min。选定发酵产物次生代谢物比例较大的多糖为质控指标,正交筛选出种子培养基配方和发酵培养基配方。30 L 发酵罐试验,结果稳定。发酵液经后处理制成富含多糖的营养饮料。

关键词 金耳 液态发酵 工艺优化 多糖 饮料

银耳科真菌金耳 *Tremella aurantialba* Bandoni-et Zang 形如脑状,外表面具深浅不一的沟回裂隙,为鲜艳的金黄乃至橙黄色,味美爽滑,营养丰富,是我国重要出口食用菌之一^[1]。金耳含有较丰富的 β -胡萝卜素(V_A 原)、核黄素,膳食中 V_A 和 V_{B_2} 是普遍容易短缺的,开发金耳作为维生素来源具有特别重要的价值^[2]。

本文采用金耳 9800 菌种,接种于大豆和蔗糖制成的培养基里,经发酵培养产生的发酵液色泽橙黄,香味甘美,沁人心脾,赏心悦目,初期口感略带苦杏仁味,后经对基质改良优化,得到了口感佳,色泽持久,耐腐蚀,香味浓郁的金耳发酵液,非常适合制成饮料,不仅营养丰富,可理气明目,止咳化痰,而且品质独特,富含金耳活性多糖,具有良好的保健作用^[3]。

1 材料与方法

1.1 菌种

由山西省生物研究所天然药物室自行分离选育的金耳 9800 菌株(由山西省中条山野生金耳分离驯化)。

1.2 培养基

1.2.1 斜面培养基

PDA 培养基。

1.2.2 种子培养基

以菌体产量为指标采用正交试验得到:葡萄糖 2%、钾盐 0.1%、玉米浆 0.2%,生长因子适量。

1.2.3 发酵培养基

以多糖产率为指标正交筛选获得:大豆 2%、糖浆 3%、玉米 0.5%、无机盐 0.2%。

1.3 培养条件

9800 菌株的最适培养条件为培养温度 20~25℃,初始 pH 为 6.2,最佳通气量 500 mL,摇瓶装量 100 mL。

1.4 发酵工艺流程

斜面种子→摇瓶种子→种子罐→发酵罐→过滤→调配罐→灌装灭菌→饮料

1.5 实验方法

1.5.1 菌丝体湿(干)重

取 100 mL 发酵液收集菌体,洗去培养基,称重(60℃烘干)。

1.5.2 pH 值

酸度计直接读数。

1.5.3 菌球数

每毫升发酵液置于直径 9 cm 培养皿中加水稀释,皿下衬方格纸,方格法计数。

1.5.4 发酵液总(残)糖量

滤清液酸水解后斐林法测定。

1.5.5 发酵液残氮(氨基氮)量

滤清液微量凯氏定氮法测定。

1.5.6 发酵滤清液吸光度

取发酵液过滤,滤清液在 200~600 nm 波长范围内经紫外可见光扫描仪扫描,得知该清液在 560

第一作者:硕士,副研究员。

* 国家“九五”攻关(96-C02-03-06)和山西省青年基金资助项目(981049)

收稿时间:2003-01-09,改回时间:2003-08-12

nm 处有最大吸收,选定此波长作检测波长测定光密度值。

1.5.7 多糖含量

菌丝体热水煮提 3 次,每次 30 min,醇析,丙酮洗涤,离心收集沉淀,苯酚硫酸法测定。

1.5.8 发酵液后处理

发酵完毕,将醪液升温,杀菌灭酶,测定清液吸光度、多糖含量,评价色泽口感。

1.5.9 小试 30 L 罐工艺稳定性试验

观察不同搅拌转速、通气量对菌体生长、发酵周期的影响。

2 结果

2.1 9800 菌株在 PDA 斜面上的培养特征

金耳 9800 菌株在 PDA 斜面上生长迅速,初期在斜面上产生大量分生孢子(芽孢),菌丝生长疏松细弱,呈灰白色,4~5 d 后逐渐加深变为橙黄色,同

时分泌新鲜的黄色素。7~10 d 后菌丝逐渐相互交织成一层韧性的毡状层。显微镜下可见两种菌丝和酵母状孢子,孢子有的还正在萌发或裂殖,一种菌丝直径 1.2~2.1 μm ,透明浅黄色,有隔,另一种较粗,直径 4.2~6.5 μm ,有锁状联合,这 2 种菌丝有明显的专一性搭配生长关系,较细的一种在单独生长时只能断裂成为孢子。

2.2 液体摇瓶发酵周期

采用发酵培养基配方,测定发酵过程菌体的生长及代谢变化,结果见表 1。

从表 1 可看出,发酵初始 pH 值明显下降,菌体成倍增长,至菌丝体量接近最大值时,pH 值趋向稳定,但残糖在发酵初始呈下降趋势,在 52~62 h 左右出现了明显的回升,66 h 后,残糖变化趋向稳定,显微镜检发现菌体发生自溶,胞内物溢出导致菌丝湿重减少,清液吸光值成倍增加。因此,选择发酵周期 52~62 h。

表 1 摇瓶发酵过程代谢变化

培养时间/h	接种前	4	16	24	38	45	49	52	62	66	70	73
菌球数/ mL^{-1}	0	60	150	189	250	336	440	336	413	390	425	504
菌丝湿重 $\times 100/\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	0	15	17.5	26	27.8	30	32	31.6	37.7	37.7	37.2	30.4
菌丝体干重 $\times 100/\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	0	1.2	1.4	2.08	2.22	2.4	2.67	2.5	2.9	2.9	2.7	2.3
pH 值	6.2	5.4	5.0	4.5	4.0	3.75	3.75	3.75	3.75	4.0	4.25	4.25
菌体生长体积百分比/%	0	50	66	75	85.7	87.5	90	95	100	100	100	100
清液 OD_{560}		0.19	0.031	0.053	0.062	0.086	0.095	0.111	0.202	0.227	0.3	0.315
残糖/%	2.05	1.94	1.63	1.43	1.56	1.88	1.98	0.975	1.67	1.81	1.79	1.79

2.3 发酵液后处理

发酵完毕,围绕饮料的口感、色泽和多糖含量设计后处理方法。

表 2 不同温度处理结果

温度/ $^{\circ}\text{C}$	处理时间/min	处理后效果
60	5	有酸涩后味
60	10	有酸涩后味
60	15	略有酸涩后味
80	5	略有酸涩后味
80	10	略有酸涩后味
80	15	无酸涩后味
100	5	无酸涩后味
100	10	无酸涩后味
100	15	无酸涩后味

由表 2 和表 3 可知,后处理采用 100 $^{\circ}\text{C}$,5~10 min 为最佳。可能是菌液温度升高后,可以钝化一些

氧化酶,使其不再降解发酵产物而产生不悦口感气味的物质,从而不再发生酸涩后味。

2.4 30 L 发酵罐搅拌转速的确定

采用发酵培养基,以豆油 2% 作为消泡剂,试验结果见表 4。

表 3 发酵后 100 $^{\circ}\text{C}$ 处理结果

指标	时间/min						
	0	5	10	15	20	25	30
色 泽	橙红	橙红	橙红	橙黄	橙黄	橙黄	土黄
口 感	清香	清香	略酸香	略酸香	酸香	酸香	酸香
清液澄明度	透明	透明	透明	略差	略差	略差	略差
镜检原生质体释放情况	<10%	15%	15%	20%	20%	30%	30%
OD_{560}	0.41	0.58	0.59	0.61	0.63	0.68	0.69
多 糖 $\times 100/\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	500	532	560	585	594	610	650

表 4 不同搅拌转速的影响

转速/ $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$	50	100	150	200
菌体状态	菌球大,色橙红	菌球大,色橙黄	菌球较小,色橙黄	菌球小,色橙黄
显微镜检	菌丝碎片多,孢子少	菌丝碎片多,孢子少	菌丝碎片多,孢子少	菌丝碎片多,孢子多
菌体干重 $\times 100/\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	3.52	3.87	3.26	2.93

由表 4 可知,转速增大,虽然溶氧增加,但不利于菌丝体的生长和代谢产物的分泌,因此,搅拌转速选择 100 r/min 。

2.5 通气量的确定

表 5 不同通气量的影响

通气量/ $\text{m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$	0.5	0.7	0.9	1.1
菌体生长状态	菌球大而少,色桔黄	菌球大而多,色橙黄	菌球较大,色橙红	菌球小,色橙黄
泡沫情况	泡沫适中	泡沫适中	泡沫大	泡沫最大
菌体干重 $\times 100/\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	3.78	3.96	3.85	3.22

2.6 30 L 发酵罐发酵周期的确定

从表 6 可看出,发酵初始 pH 值明显下降,菌体成倍增长,至菌丝体量接近最大值时,pH 值趋向稳定,但总糖在发酵初始呈下降趋势,在 45 h 左右出现了明显的回升,66 h 后,总糖变化趋向稳定,显微镜检发现菌体发生自溶,胞内物溢出导致菌丝干重减少。清液 OD_{560} 随着菌体的生长,也出现规律变化,

表 6 30 L 罐发酵过程代谢变化

培养时间	指标			
	pH	总糖/%	氨基氮/%	清液 OD_{560}
接种前	6.2	2.05	0.45	浊
0	5.8	2.05	0.45	浊
4	5.4	1.94	0.45	0.78
8	5.3	1.85	0.40	0.63
16	5.0	1.63	0.38	0.32
24	4.5	1.43	0.32	0.18
38	4.0	1.56	0.23	0.05
45	4.0	1.88	0.21	0.0375
49	3.5	1.98	0.18	0.035
52	3.5	0.975	0.15	0.046
62	3.7	1.67	0.08	0.047
66	4.0	1.71	0.08	0.0475
70	4.5	1.79	0.06	0.05
73	4.5	1.79	0.098	0.09

由表 5 可知,通气量过大,引起罐内泡沫过大,极易染菌,不利于菌体生长,因此,通气量选择 $0.7 \text{ m}^3/\text{min}$ 。

49 h 为最低,与总糖变化一致,至 73 h 未出现较大变化,因此,选择发酵周期 49 ~ 55 h。

3 讨论

利用金耳进行液体深层发酵,菌丝细胞能在反应器中处于最适温度、酸碱度、氧气和碳氮比的条件下生长,呼吸作用所产生的 CO_2 又能及时排出,故新陈代谢旺盛,菌丝分裂迅速,在较短的时间内可获得大量的培养物和代谢产物,且口感独特,色泽持久,耐腐败,香味佳,经调配酸甜比和稳定性,制成营养饮料,适宜大规模生产,有较好的经济效益和社会效益。选择培养基质时,引入了主要原料——大豆作氮源,既保持了大豆的营养成分,又能经金耳菌体的代谢转化而克服了大豆令人不悦的豆腥气味,经发酵后产物氨基酸含量明显增加,提高了人体对大豆蛋白质的吸收利用率。采用金耳菌液制成的饮料富含金耳多糖,可降低四氧嘧啶所致糖尿病大鼠高血糖模型的血糖,对糖尿病患者和肥胖者较为适合。

参考文献

- 1 刘正南,郑淑芳. 中国食用菌,1995,1: 23 ~ 24
- 2 林晓霞,朱寿民. 浙江农业大学学报,1995,3: 232
- 3 刘春卉,谢红,苏槟楠等. 食用菌,2001,5: 41 ~ 42



新一代方便面品质改良剂 XS-B 研制成功

随着经济的不断快速发展,人们的生活节奏也不断加快,方便食品成为人们的首选。作为方便食品的代表——方便面,已经成为人们的主要消费产品,同时也催化了大批的方便面生产厂家。但因技术方面的原因,很多厂家生产出的方便面不能同时具有“弹、筋、柔、香、酥、脆”的理想效果,煮着吃时味道鲜美,干吃时则口感不足,若干吃时满口溢香,煮着吃时却索然无味。这种技术上的严重缺陷,致使许多企业面对市场却束手无策。

近日,这一技术上的难关被郑州兴盛食品添加剂有限公司攻克。经过近 2a 时间,该公司研制出了新一代方便面品质改良剂 XS-B。在方便面加入该产品(XS-B)后,不仅使方便面俱有干吃的“脆、酥、香”,而且又具有水煮面的“弹、筋、柔”等特征。