

恶臭假单胞杆菌发酵条件的优化

薛 璐¹ 马 莺²¹(哈尔滨工业大学生命科学与工程系, 哈尔滨, 150001)²(东北农业大学食品学院, 哈尔滨, 150030)

摘 要 在已筛选出产海藻糖合酶菌株——恶臭假单胞杆菌的基础上, 研究了该菌株的发酵条件。实验结果表明, 最佳发酵工艺条件为: 发酵温度 30℃, 发酵 pH 7.2, 最佳通风量 100 mL 培养液/500 mL 三角瓶, 发酵终点为发酵后 52 h。

关键词 恶臭假单胞杆菌, 海藻糖合酶, 发酵条件

海藻糖是由 2 分子葡萄糖通过 α -1, 1 键缩合形成的双糖。它具有非还原性、吸湿性、保湿性等功能, 还是一种非特异性保护剂。

以往制取海藻糖常采用微生物抽提的方法, 但得率低, 成本高, 限制了海藻糖的应用。利用麦芽糖转化海藻糖, 仅需一步反应, 工艺简单, 易于调控, 而且成本大大降低, 适于工业生产^[1~3]。1999 年, 东北农业大学食品学院的课题组分离到一株能产生海藻糖合酶的菌株——恶臭假单胞杆菌 H76, 笔者研究了该菌株的发酵条件。

1 材料与方法

1.1 材 料

菌种: 恶臭假单胞杆菌 *putida* H76。

培养基(诱导培养基): 麦芽糖 3%, 葡萄糖 3%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2%, 蛋白胨 2%, 酵母粉 0.7%。

主要试剂: 麦芽糖, 葡萄糖, 果糖, 蛋白胨, 酵母粉, 脲, MgSO_4 , NaCl , MnCl_2 等。

主要设备: 高效液相色谱仪(美国 WATERS 公司), 示差检测器、摇瓶培养箱、医用离心机等。

1.2 海藻糖含量的测定

使用高效液相色谱法测定样品中海藻糖的含量。色谱条件为: 流动相: $V(\text{乙腈}): V(\text{水}) = 70:30$, 层析柱: 糖分析专用柱(美国 WATERS 公司), 流速: 1 mL/min, 进样量: 15 μL 。

1.3 酶活力测定方法

将发酵液离心, 取湿菌体 1 g, 加入甲苯及 pH 7.0 Na_3PO_4 缓冲液, 使甲苯终浓度达 2%, 于 35℃ 振荡 10 h, 离心取上清液作为粗酶液, 测定酶活力。

将粗酶液与 10% 麦芽糖溶液于 40℃ 水浴 20 h。

离心取上清液, 加糖化酶水解剩余麦芽糖, 然后测定样品中海藻糖的含量。酶活力单位定义为: 上述反应条件下, 每小时转化生成 1mg 海藻糖所需的透性化细胞酶的量, 为 1 酶活力单位。

2 结果与讨论

2.1 最佳发酵温度的确定

采用诱导培养基, 对发酵温度测定结果如图 1 所示。由图 1 可看出, 该菌的最适生长温度为 30℃, 因此将最佳发酵温度确定为 30℃。

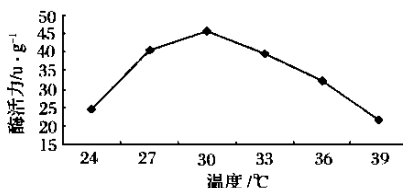


图 1 发酵温度对产酶活力的影响

2.2 最佳发酵 pH 值的确定

在最佳发酵温度下, 对最佳发酵 pH 的测定结果如图 2 所示。由图 2 可看出, 在 pH 值为 7.2 时, 该菌的产酶活力最高, 因此将最佳发酵 pH 值确定为 7.2。

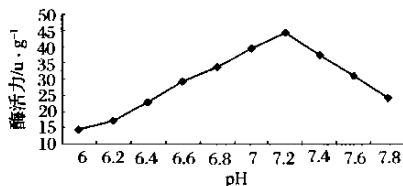


图 2 发酵 pH 对产酶活力的影响

2.3 最佳装液量的确定

在 500 mL 三角烧瓶中装入 50~200 mL 的培养

液,以测定供氧量对该菌生长的影响。测定结果如图3所示。

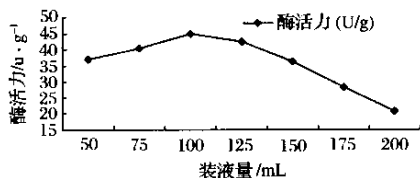


图3 通风量对酶活力的影响

由图3可以看出,装液量在75~125 mL时,酶活力相差不大。当装液量为100 mL/500 mL三角瓶时,产酶活力最高,因此选择100 mL发酵液/500 mL三角瓶为最佳装液量。

2.4 发酵终点的确定

采用诱导培养基,pH值为7.2,装液量为100 mL发酵液/500 mL三角瓶,在30℃,150 r/min摇瓶培养,测定酶活力变化曲线,并以此确定发酵终点。结果如图4所示。

由图4看出,培养初期,酶活力较低,培养至28 h后,酶活力随培养时间的延长而显著增高。到52 h酶活力达到最大值,此后酶活力逐渐降低。至76 h时又出现一次较小的产酶活力高峰,但此时酶活力

远小于52 h的酶活力。因此,将发酵终点确定为发酵52 h。

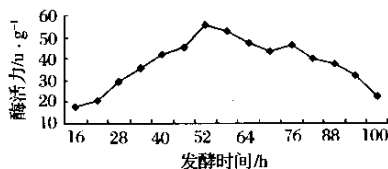


图4 发酵产酶过程

3 结论

产海藻糖合酶菌株——恶臭假单胞杆菌的最佳发酵工艺条件为:发酵温度30℃,发酵pH7.2,最佳通风量为100 mL培养液/500 mL三角瓶,发酵终点为发酵后52 h。

参考文献

- 1 陈 炜,何秉旺.微生物学报,1998,25(3):164~166
- 2 Nishimoto T. Biosci Biotech Biochem, 1995,59(11):189~2190
- 3 Yoshikawa Y. Biosci Biotech Biochem, 1994,58(7):1226~1230



高倍甜度甜味剂的市场动向

日本与欧美国家不同,没有太强烈抑制卡路里(热量值)和无砂糖化的市场需求,因此不可能为达到上述目的而降低对食品风味要求,所以数年前市场对高倍甜味剂消费增长不大。自1993年开始市场出现了无砂糖食品发展的新动向,这才使得高倍率甜味剂的利用稍见起色。最近的3~4年间“调味水”(日本称作“尼阿水”)兴起,使无热量并经过调整甜味味道清爽利口食品的市场需求得到增大,高倍甜度甜味剂在市场上也终于获得了一定的位置。几种高倍甜度甜味剂与糖醇类联用,除了可取得无热量或低热量效果以外,还能够实现改良食品品质和降低生产成本费用的目标,因此尤其以饮料为主的一些食品对它的需求逐渐增加。

此外,在各种新甜味剂相继取得食品添加剂的审定资格以后,高倍甜度甜味剂市场也逐渐出现了新动向,从1999年三氯蔗糖获准利用以后,2000年4月“安赛蜜”又获审议批准使用。由于扩大了甜味材料的选择范围,许多食品公司的新产品显得活跃起来。到目前为止,日本已经批准可用的主要高倍甜度甜味剂如附表所示。

附表 日本批准使用的高倍甜度甜味剂

品 种	甜度	热稳定性	平均价格/日元·kg ⁻¹	单位甜味的平均价格/日元
阿斯巴甜	200	对热和酸需要注意	10 000	50
安赛蜜	200	热稳定性	12 000~18 000	60~90
三氯蔗糖	200	热稳定性	60 000	100
甜叶菊提取物	200	热稳定性	6 000	30
甜叶菊糖转移品	200	热稳定性	8 000~24 000	40~120
高含特色迪忒制品	200	热稳定性	20 000	100