

文章编号: 1004-7271(2000)04-0324-05

两种发酵工艺对黄原胶发酵的影响

胡德亮, 陈有容, 李柏林, 齐凤兰

(上海水产大学食品学院, 上海 200090)

摘要:对添加表面活性剂 Triton X-100 与补水两种不同工艺条件对黄原胶发酵的影响进行了研究。结果表明:(1)产胶初期添加 40×10^{-6} Triton X-100 的试验组对黄原胶产胶率的促进作用最为明显,其产胶率可达 $3.951\text{g}/100\text{mL}$,较对照组提高约 11%,碳源转化率为 71.836%。(2)保持碳源含量 6.5%,当发酵进行至 36h 时补加 20% 的水分,黄原胶的产胶率可达 $4.962\text{g}/100\text{mL}$,较对照组提高约 15%,碳源转化率为 76.338%。

关键词:黄原胶;发酵;表面活性剂;补水

中图分类号:TS 201.3 **文献标识码:**A

Effect of two fermentation processes on xanthan gum

HU de-liang, CHEN You-rong, LI Bai-lin, QI Feng-lan

(College of Food Science, SFU, Shanghai 200090, China)

Abstract: Effect of Triton X-100 or water added on xanthan gum fermentation was with *Xanthomonas campestris* HL-9901 studied. It showed that: (1) 40ppm Triton X-100 added at the beginning of gum-producing to the fermentation media had significant effect on the productivity, and its gum productivity reached $3.951\text{g}/100\text{mL}$, exceeded the control by 11%. The carbon transformation ratio was 71.836%. However, it improved the viscosity of colloid by the addition of Triton X-100 at the initiate of fermentation is superior to the control. (2) If the carbon concentration was kept at 6.5%, the gum productivity reached $4.962\text{g}/100\text{mL}$, increased by 15% when 20% water added after 36h fermentation, and the carbon-transformation ratio was 76.338%.

Key words: xanthan gum; fermentation; detergent; adding water

黄原胶具有许多优良的性能。随着其应用范围的扩大,市场价格也在逐渐攀升,致使许多生产厂家纷纷上马或扩大生产。但就目前国内黄原胶的生产情况来看,产胶率较低。本文主要通过两种不同的发酵工艺,探索提高黄原胶产胶率的途径,以期为黄原胶的工业化生产提供一点借鉴。

1 材料与方 法

1.1 菌种

黄单胞杆菌(*Xanthomonas campestris*)HL-9901,系本试验室保藏菌种。

1.2 菌种培养条件

1.2.1 斜面培养基

组成(w%v):蔗糖 2.0;蛋白胨 1.0;酵母膏 0.5;牛肉浸膏 0.1;琼脂 2.0。

收稿日期: 2000-06-19

作者简介:胡德亮(1971-),男,山东青岛人,硕士,现就业于上海梅林正广和集团技术中心,本校 2000 届硕士研究生毕业。

培养条件:pH 7.0, 28~29℃, 恒温培养 72h。

1.2.2 种子培养基

组成(w%v):蔗糖 3.00;蛋白胨 1.00;酵母膏 1.00;NaNO₃ 1.00;MgSO₄ 0.05。

培养条件:250mL 三角瓶,装液量 50mL,pH 7.0。用 Φ1mm 接种环接入 5 环斜面菌种。8 层纱布封口,121℃ 灭菌 20min。28~29℃,230r/min 摇床培养 28h,镜检菌体形态正常且无杂菌后备用。

1.2.3 发酵培养基

组成(w%v):葡萄糖 4.000;蛋白胨 0.500;K₂HPO₄ 0.250;MgSO₄ 0.010;CaCO₃ 0.300;FeSO₄ 0.001。

培养条件:250mL 三角瓶,装液量 50mL,pH 7.0。八层纱布封口,121℃ 灭菌 20min。然后按 10% 的接种量接种种子培养液,28~29℃,230r/min 摇床培养 72h。

1.3 测定方法

1.3.1 粘度

用 1% 的 KCl 溶液配制浓度为 1% 的黄原胶溶液。用上海天平仪器厂生产的 NDJ-1 型旋转粘度计,25℃、3# 转子、60r/min 测定黄原胶溶液的粘度^[1]。以 GB 13886-92 作为标准($\geq 600\text{cp}$)^[2]。

1.3.2 剪切性能值

用上海天平仪器厂生产的 NDJ-1 型旋转粘度计,25℃、3# 转子测定 1% 黄原胶溶液在 6r/min 和 60r/min 的粘度比值。以 GB 13886-92 作为标准(≥ 6.0)^[2]。

1.3.3 产胶率

定量量取发酵液,工业酒精多次沉降,沉降物在 50℃ 下烘至恒重,即为干胶重量。称量干胶重量,干胶重量与发酵液体积的比值即为黄原胶的产胶率。

2 试验结果

2.1 Triton X-100 对黄原胶产胶率及胶体性质的影响

2.1.1 Triton X-100 对黄原胶产胶率的影响

由图 1 可以发现,发酵初始加入表面活性剂的试验组其发酵液粘度均比 30h 产胶初期加入的试验组大。

由图 2 可知,从整体上看,发酵初始添加 Triton X-100 的试验组其产胶率优于产胶初期添加的试验组,但最大产胶率出现在产胶初期的试验组中。此时最适添加量为 40×10^{-6} ,产胶率为 3.951g/100mL,高于对照组约 11%。碳源转化率为 71.836%,高于对照组约 7%。

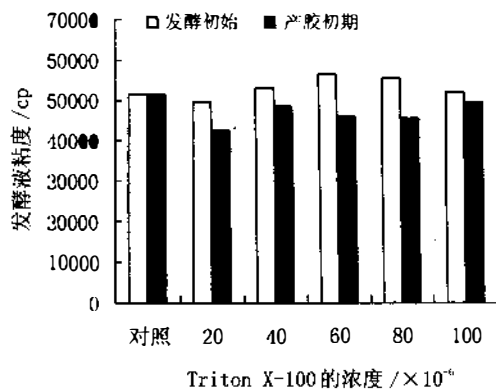


图 1 不同时间加入的 Triton X-100 对发酵液粘度的影响
Fig.1 Effect of Triton X-100 added at different time on broth viscosity

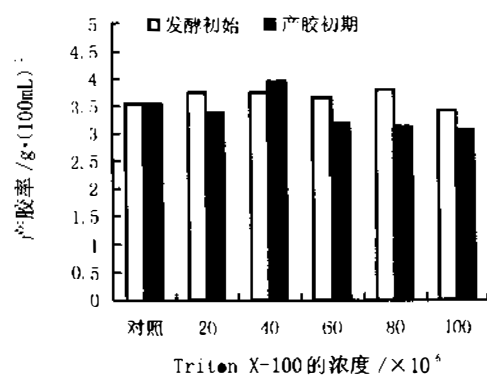


图 2 不同时间加入的 Triton X-100 对产胶率的影响
Fig.2 Effect of Triton X-100 added at different time on productivity

2.1.2 Triton X-100 对胶体性质的影响

由图3可见,产胶初期添加 40×10^{-6} Triton X-100 的试验组其剪切性能值 < 6 , 只有 100×10^{-6} 试验组的 > 6 。但由前面产胶率图可知,此时产胶率较低。

从图4可以发现,相对来说,发酵初始加入 Triton X-100 的试验组,胶体粘度的变化情况优于产胶初期加入的试验组。而且在发酵初始加 Triton X-100 的试验组中,胶体粘度的变化呈现缓慢的上升趋势。但产胶初期添加的试验组中,从 40×10^{-6} 的试验组以后,其胶体粘度均低于发酵初始添加的试验组,而且低于 600cp 。但发酵初始添加的试验组,它们的胶体粘度均高于 600cp 。

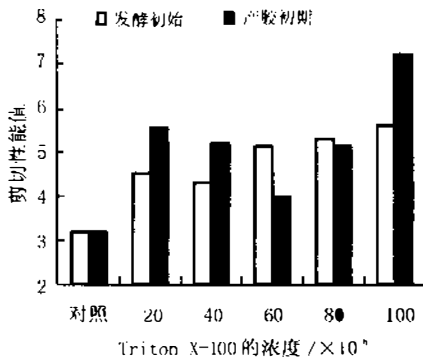


图3 不同时间加入的 Triton X-100 对胶体剪切性能值的影响

Fig.3 Effect of Triton X-100 added at different time on shearing characteristic

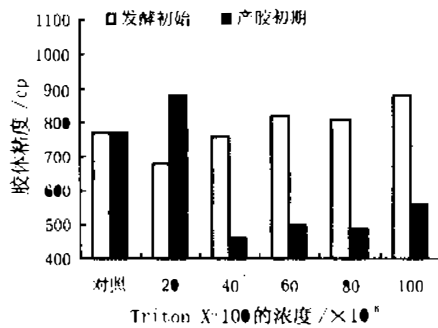


图4 不同时间加入的 Triton X-100 对胶体粘度的影响

Fig.4 Effect of Triton X-100 added at different time on viscosity

2.2 补水工艺对黄原胶产胶率及胶体性质的影响

2.2.1 不同试验组的补水方式

补水方式保持统一,碳源含量分为 5.5% 和 6.5% 两种,具体分类如下:

(1)碳源保持 5.5%,补水方式分为 4 种:● 36h 时补加 20% 的水;② 36h 时补加 40% 的水;③36h 和 48h 各补加 20% 的水;● 36h 和 48h 各补加 30% 的水。

(2)碳源保持 6.5%,补水方式分为四种:● 36h 时补加 20% 的水;② 36h 时补加 40% 的水;③36h 和 48h 各补加 20% 的水;● 36h 和 48h 各补加 30% 的水。

2.2.2 补水工艺对黄原胶产胶率的影响

从图5可以发现,5.5% 的碳源含量和 6.5% 的碳源含量的各试验组的发酵液粘度呈现相同的缓慢下降趋势,此外,虽然两组试验组中的②号与③号都添加了相同的水分,仅添加时间不同,却导致发酵液粘度呈现不同的变化状态。

从图6和图7可见,在两组试验中,都以试验组●的补水工艺所得的产胶率最高,以碳源含量为 5.5% 的试验组其最高产胶率为 $4.058\text{g}/100\text{mL}$,较对照组提高约 4%,碳源转化率为 73.782%,比对照组提高约 3%。但发现碳源为 5.5% 的试验组当补水后,残糖含量降低较快,至发酵结束时残糖含量已接

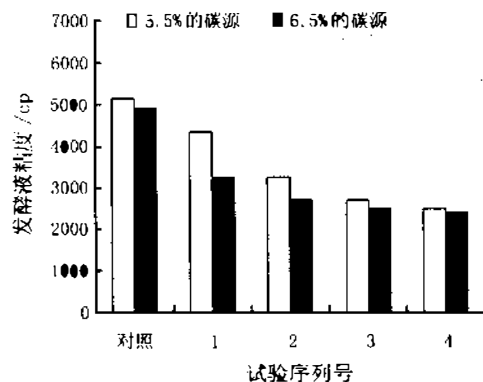


图5 不同的补水工艺对发酵液粘度的影响

Fig.5 Effect of different process of adding water on the broth viscosity

近0,故选择含量为6.5%的碳源继续试验。在碳源含量为6.5%的试验组中,最高产胶率可达4.962g/100mL,比对照组提高约15%,碳源转化率为76.338%,比对照组提高约10%。

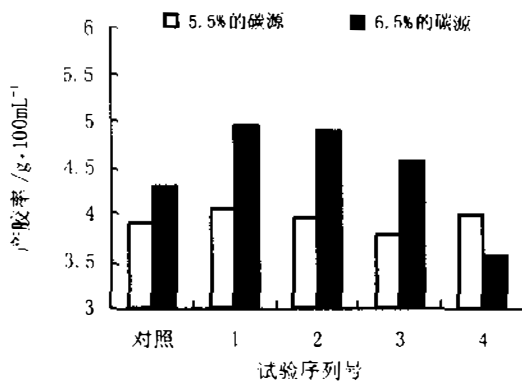


图6 不同的补水工艺对产胶率的影响
Fig.6 Effect of different process of adding water on the productivity

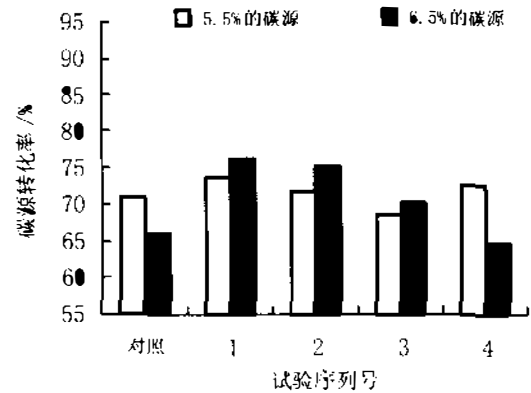


图7 不同的补水工艺对碳源转化率的影响
Fig.7 Effect of different process of adding water on the transformation ratio of carbohydrate

2.2.3 补水工艺对胶体性质的影响

从图8可以看出,无论对于5.5%的碳源含量或者6.5%的碳源含量,胶体剪切性能值都以试验组中的●号补水方式为最高。从图9中的胶体粘度可发现,虽然各组试验的胶体粘度均>600cp,但碳源含量5.5%的试验组优于碳源含量为6.5%的试验组。推测其原因是由于不同时间加入的水分导致了发酵液组织状态的变化,从而使整个系统的动力学关系发生了变化影响了胶体性质。

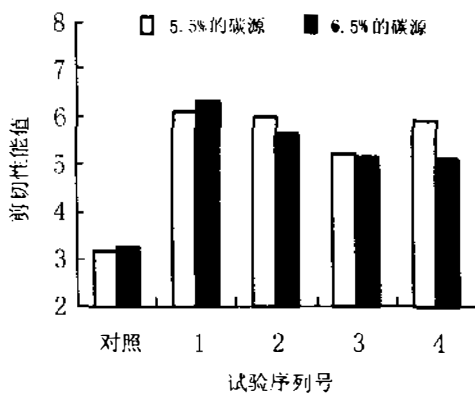


图8 不同的补水工艺对胶体剪切性能值的影响
Fig8 Effect of different process of adding water on shearing

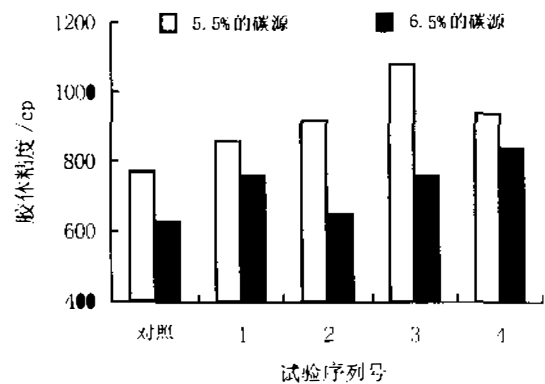


图9 不同的补水工艺对胶体粘度的影响
Fig.9 Effect of different process of adding water on the viscosity

3 讨论

3.1 表面活性剂的适宜添加量

发酵工业常用的表面活性剂有Tween 40、Tween 80、Triton X-100等。但通过初步筛选试验发现,Triton X-100的加入,对黄原胶的生物合成最有利。

关于其促进作用机制,现在较为一致的认识,认为是由于其加入而相对影响了微生物细胞膜上的脂

蛋白,降低了细胞膜的表面张力,进而影响了细胞膜的正常合成,从而使菌体细胞膜的通透性增大,即其结构变得松散,大分子物质的透过率增大,使得胞内产生的多种酶类可以进入发酵液,加速了底物的转化,从而提高了黄原胶的产胶率。Hettewr 和 Wang^[4]以及 Naglak 和 Wang^[5]的试验均证实了 Triton X-100 的上述作用。虽然它们的用量较小,一般在几个 10^{-6} 到几十个 10^{-6} 之间,但它们的作用巨大。据报道,24h 后加入表面活性剂的试验组其产胶率可以明显增加,而且在添加表面活性剂的发酵液中,黄单胞菌的菌体变小,发酵液粘度增大^[3]。但上述的试验中却显示,发酵初始加入表面活性剂,其发酵液粘度大于对照组,而产胶初期加入则其发酵液粘度低于对照组,与报道有出入。另外试验中发现,虽然产胶初期加入 Triton X-100 时其最高产胶率大于发酵初始的试验组,但其胶体质量却有待进一步改善。

综合考虑添加 Triton X-100 对黄原胶的产胶率及胶体性质的影响,其最适添加量为 40×10^{-6} ,最适添加时间为产胶初期,即发酵至 30h 左右,产胶率可达 $3.951\text{g}/100\text{mL}$,较对照组高约 11%。碳源转化率为 71.836%。

3.2 最佳补水工艺及补水量

由于黄原胶是一种高粘性流体,随着发酵过程的进行,其粘度逐渐增大,同时其合成过程又是一个需氧过程,所以必须不断通入空气。而由于其高粘性,导致空气与发酵液的接触机会减少,从而会一定程度的抑制菌体酶类对黄原胶的生物合成,导致其产胶率的下降。虽然通过提高搅拌转速可以一定程度的解决由于黄原胶的假塑性所带来的通氧受限问题,但由于其粘度到发酵后期越来越大,所以就对搅拌设备带来了越来越高的要求。而通过补水工艺,则可以很好的解决这个问题。通过在某些特定时间内补水,可以相对降低发酵液的粘度,而发酵液粘度的降低,一方面可以降低部分底物的反馈抑制作用,从而促进底物的转化;另一方面则可以促进氧气在发酵液中的转移,增大与菌体细胞膜的接触面积,也同样会加强对底物的利用。两者的共同作用,便可以大大提高产胶率。从而也就相对地缓解了由于其高粘度对氧气的限制,增加了空气与发酵液的接触面积,提高了底物的转化率,从而提高了产胶率。

补水工艺的最佳发酵碳源含量为 6.5%,此时最高产胶率为 $4.962\text{g}/100\text{mL}$,较对照组提高约 15%。碳源转化率为 76.338%,较对照组提高约 10%。

参考文献:

- [1] 刁虎欣,赵大健,袁锡琳,等. 国产食品添加剂黄原胶的质量检测和质量标准[J]. 食品与发酵工业, 1990,5:55-57
- [2] 陈大昌,童海宝. 生物聚合物-黄原胶[J]. 化学世界,1993,11:521-525.
- [3] Galindo E, Salcedo G. Detergents improve xanthan yield and polymer quality in cultures of *Xanthomonas campestris*[J]. Enzyme Microb Technol, 1996, 19(2): 145-149.
- [4] Hettewer D J, Wang H Y. Protein release from *Escherichia coli* cells permeabilized with guanidine-HCl and Triton X-100[J]. Biotech Bioeng, 1989,33:886-895.
- [5] Naglak T J, Wang H Y. Rapid protein release from *Escherichia coli* by chemical permeabilization under fermentation conditions[J]. Biotech Bioeng, 1992,39(7):733-740.