



## 芭蕉芋固态发酵生产果胶酶的工艺条件初探

作者:张海燕 朱作华 李成良等

期号:2006年第20期

**摘要** 以芭蕉芋粉为主原料,采用单因子和正交试验对黑曲霉固态发酵培养基以及工艺条件进行了初步优化。结果表明,最适培养基组成为:芭蕉芋粉6g、麸皮4g、尿素0.4g、水12ml,自然pH值,最适的培养温度为35℃。最优条件下,果胶酶酶活可达9759.7U,较初始产酶培养基产酶提高了2倍多。

**关键词** 芭蕉芋粉;黑曲霉;果胶酶;固态发酵

中图分类号 S816.6

果胶酶在食品工业上,特别是水果加工和麻料脱胶工艺中有重要作用[1]。目前由微生物发酵生产的果胶酶已作为绿色饲料添加剂应用到动物养殖业中。在饲料中添加果胶酶,可降解饲料中含有的植物细胞壁中的果胶,提高饲料的消化利用率,具有补充禽畜内源酶不足及促进生长的作用[2]。

芭蕉芋(*Canna edulis* Ker)又有蕉藕、姜芋等名,为蕉科美人蕉属的植物,原产于南美洲等地。由于它的优良的种植特性,无论是在山坡还是丘陵地区都能很好地生长,20世纪初引进我国,广泛地种植于川、黔、桂等地区。芭蕉芋根茎含淀粉非常丰富,大约含40%~60%,在亚洲已成为高价值淀粉新的原料来源,发展潜力十分巨大。该资源的充分开发利用,可成为山区脱贫致富和增加收入的一个好途径,其对调整农业产业结构及繁荣农村市场经济,具有可持续发展的现实意义。

但是目前,对于芭蕉芋的应用只局限于把芭蕉芋作为淀粉产品的原料来源,用来生产高品质的面条。关于芭蕉芋应用方面的报道比较少,主要是对芭蕉芋淀粉分子结构及物化性质方面的研究[3]。为了提高芭蕉芋的潜能,目前许多科研工作者开始着手研究芭蕉芋的其它用途,如利用芭蕉芋淀粉发酵生产酒精,并取得了突破性进展[4]。本文尝试以芭蕉芋块茎粉为主原料,对固态发酵生产果胶酶的工艺条件进行优化,以其为芭蕉芋的综合利用开辟新途径,同时增加我国果胶酶的产量。

### 1 材料和方法

#### 1.1 菌种

黑曲霉(*Aspergillus niger*),由中科院研究所提供,为筛选出的产果胶酶菌株。

#### 1.2 主要原料及试剂

芭蕉芋块茎(干片):购于贵州省黔西南兴义市,本实验采用芭蕉芋块茎粉碎,筛分为30目。

芭蕉芋粉主要成分(%以干物质计):淀粉52、粗纤维12、粗蛋白5.8、果胶3.4。

麸皮:当地购买。

半乳糖醛酸(d-galacturonic acid, 48280):Fluka公司产品。

盐酸、氢氧化钠等:分析纯。

#### 1.3 培养基及培养方法

斜面活化培养基: PDA培养基。

初始产酶培养基: 芭蕉芋粉6g、麸皮4g、水10ml,自然pH值,装于250ml三角瓶中,121℃灭菌20min。

孢子悬浮液的制备: 在无菌条件下,往培养好的菌种试管斜面上加入0.85%的无菌生理盐水,把孢子从斜面上轻轻刮下,并调整孢子数为 $2 \times 10^6$ 个/ml。

初始产酶条件: 在无菌条件下,往发酵培养基中接入10%的孢子悬浮液,搅拌均匀,30℃恒温培养72h。

#### 1.4 粗酶液的制备

发酵结束后,将发酵培养基于40℃下烘干,而后称取干酶粉2g,精确到0.1mg,加入去离子水约80ml,于(40±1)℃水浴加热45min,其间每15min搅拌1次,用蒸馏水定容至100ml,反复摇匀,静置,取上清液待测。

#### 1.5 酶活测定

利用DNS比色法[5]测定酶活力定义为在40℃、pH值为4.8条件下,果胶酶每分钟酶促反应生成1μg半乳糖醛酸定义为1个果胶酶活力单位,以U/g(干曲)表示。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 产酶培养基的优化

##### 2.1.1 不同的碳源、氮源对产酶的影响(见图1、图2)

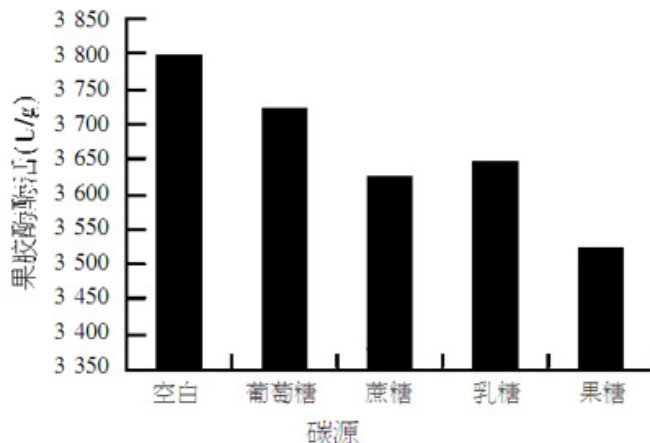


图1 不同的碳源对酶活的影响(添加浓度为2%)

### 会员登录

用户名:

密码:

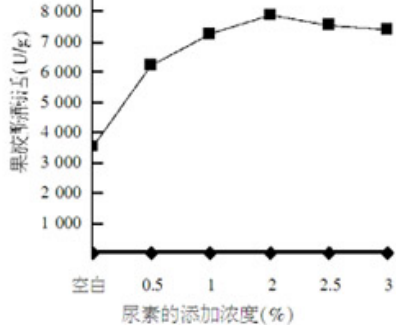
验证码:  9700

### 相关文章

- 饲料级脱氟磷酸钙制备的研究...
- 乳化凝聚法制备维生素B1微胶...
- 微波水解制备复合氨基酸的研...
- 规模化复合预混料制作的质量...
- 猪饲料中杂饼(粕)的合理利用...
- 饲料企业库存控制方法的综合...
- 新型水产诱食剂氯化羧甲基二...
- 新型饲料添加剂二甲酸钾的合...
- 挤压膨化玉米的糊化度与乳猪...
- 超早期断奶仔猪液态饲料的加...
- 浅谈饲料生产质量管理

### 合作伙伴





注：实验中所有的添加浓度如没有特别说明均为初始产酶培养基固形物(20 g)的百分数。

图2 不同浓度的尿素对酶活的影响

在初始产酶培养基中加入不同的有机碳源,由图1可知,添加了不同的可溶性糖后,都不同程度地抑制了酶活力,说明初始培养基自身的碳源能够满足菌体生长的需要,过多的碳源反而抑制了酶的产生。为了使菌体生长得更好,往初始培养基中添加不同的氮源,以考察其对产酶的影响,添加物含氮量以0.424%计,总体上来讲,在有机氮源与无机氮源同时存在的条件下,黑曲霉优先利用无机氮源。选用硫酸铵、碳酸氢铵、尿素、豆粕作为氮源与空白进行对照试验,其结果见表1,尿素与硫酸铵为氮源时的产酶较高,而添加碳酸氢铵后,从外观观察菌体生长非常缓慢,抑制了果胶酶的生产。

表1 不同的氮源对产酶的影响

添加物	添加浓度(%)	酶活力(U/g)
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2.0	6 377
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	2.4	2 055
CO(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	0.9	6 852
豆粕	1	4 912
对照	0	4 256

本试验选用尿素作为最优氮源,从图2可知,添加2%的尿素时产酶活性最高,当添加的尿素浓度再提高时,产酶活性反而下降。主要是菌株的生长和产酶需要一个适宜的碳氮比,试验中发现,有机氮源浓度过高易使培养基结团成块,影响培养基的利用率,块状培养基中部的溶氧量不足,反而造成产酶量下降。

#### 2.1.2 诱导物对产酶的影响

由于果胶酶是诱导性酶类,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,所以我们选用富含果胶的诱导物,利用农产品的副产物苹果皮、桔柑皮、甜菜渣等作试验,以其降低成本,添加量为2%。从图3可看出,利用桔皮粉时产酶最高。

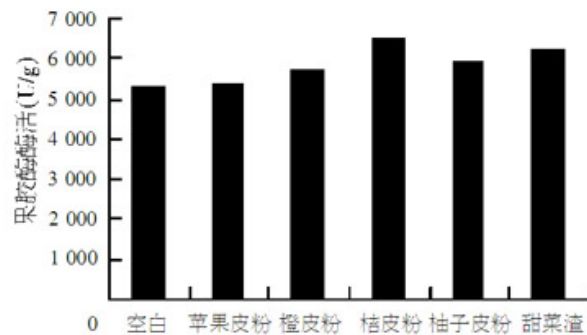


图3 不同的诱导物对酶活的影响

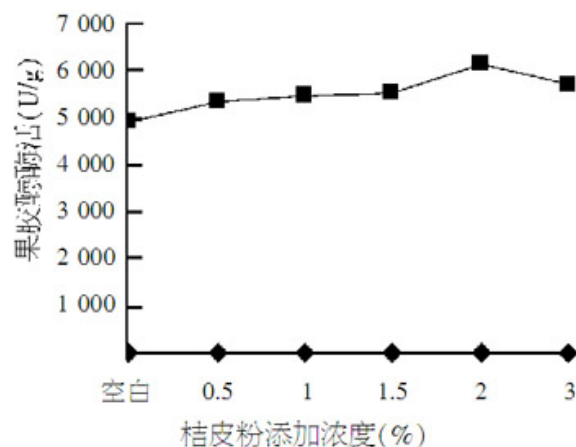


图4 桔皮粉添加量对酶活的影响

由图4可以看出,桔皮粉的浓度从0.5%~2%之间对产酶的影响是随着添加浓度的增加,果胶酶活力也随之上升,但添加浓度继续上升则诱导效果削弱,甚至有下降趋势。

#### 2.1.3 填充物对产酶的影响

由于芭蕉芋粉淀粉含量较高,如果只用芭蕉芋粉作为发酵培养基,经灭菌后淀粉糊化,培养基结成块状,培养基中溶氧量不足,从而会阻碍酶的产生。由于麸皮具有较大的表面积,蓬松、易通气,现用麸皮作为填充物。由图5可以看出,利用麸皮作为培养基的一部分能有效地促进酶的产生,且麸皮的浓度为40%时效果最佳。

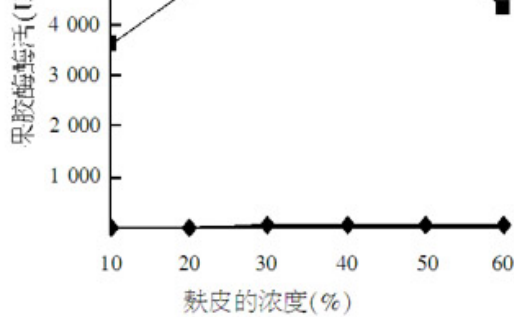


图5 麸皮添加量对酶活的影响

2.1.4 培养基含水量对产酶的影响

在10 g培养基中(以培养基干物计), 分别加入6、8、10、12、14、16 ml的水, 考察其对酶活产生的影响, 结果见表2。在试验过程中发现, 含水量过低的培养基, 发酵中后期培养基表面干燥, 致使培养基利用率不高, 产酶水平不高。而含水量过大, 培养基易结块成团, 造成培养基中的溶氧量不足, 也抑制酶的产生。原因可能是由于含水量过大, 空气中的水蒸汽分压过大, 氧气分压过低, 使氧气浓度过低, 从而造成发酵不彻底。试验中以水: 固(质量比)=1.2: 1为最佳。

表2 培养基含水量对产酶的影响

水: 固(质量比)	0.6 : 1	0.8 : 1	1 : 1	1.2 : 1	1.4 : 1	1.6 : 1
酶活力(U/g)	5 696	5 743	5 840	6 701	5 762	5 113

2.1.5 培养基组成正交试验

根据单因素的试验结果, 选择尿素、桔皮粉、麸皮、水分, 在250 ml的三角瓶中进行4因素、3水平的正交试验[6], 以果胶酶的酶活作为试验分析指标。试验因素和水平见表3, 试验结果和极差分析见表4。从表4的极差分析可知, 最适的培养基为: 尿素2%、桔皮粉2%、麸皮50%、水: 固(质量比)=1.2: 1, 即A3B2C3D1。由极差分析可知, 尿素为最显著因子, 麸皮不是很显著。

表3 培养基正交试验各因素和水平

水平	因素			
	A: 尿素(%)	B: 桔皮粉(%)	C: 麸皮(%)	D: 水: 固
1	0.5	1.5	30	1.2 : 1
2	1	2	40	1.4 : 1
3	2	2.5	50	1.6 : 1

表4 培养基正交试验结果的极差分析

项目	试验因素				果胶酶酶活 (U/g)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	6 095.5
2	1	2	2	2	6 333.2
3	1	3	3	3	6 050
4	2	1	2	3	6 948
5	2	2	3	1	8 461.5
6	2	3	1	2	7 740.5
7	3	1	3	2	8 194
8	3	2	1	3	8 292
9	3	3	2	1	8 544.5
K <sub>1</sub>	18 478.7	21 237.5	22 129	23 101.5	
K <sub>2</sub>	23 150	23 086.7	21 825.7	22 267.7	
K <sub>3</sub>	25 030.5	22 335	22 705.5	21 290	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub> D <sub>1</sub>
k <sub>1</sub>	6 159.6	7 079.2	7 376.3	7 700.5	R <sub>A</sub> >R <sub>B</sub> >R <sub>C</sub> >R <sub>D</sub>
k <sub>2</sub>	7 716.7	7 695.6	7 275.2	7 422.6	
k <sub>3</sub>	8 343.5	7 445	7 568.5	7 097	
R	2 183.9	616.4	293.3	603.5	

2.2 发酵条件的优化

2.2.1 培养温度对产酶的影响

采用最适培养基, 以25、30、35、40 °C恒温培养72 h, 以果胶酶酶活为考察指标, 结果见表5。

表5 发酵温度对产酶的影响

发酵温度(°C)	酶活力(U/g)	菌丝形成
25	8 904	++
30	9 256.7	+++
35	9 677.5	++
40	8 236	+

2.2.2 培养基起始pH值对产酶的影响

用10% HCl或NaOH溶液调节培养基的初始pH值, 30 °C培养72 h, 观察培养基初始pH值对产酶的影响, 结果见表6。

4.0	7 507
5.0	8 236
6.0	9 122
7.0	8 331
8.0	6 454
自然	9 252

### 2.3 最佳产酶条件试验

在上述最适培养基组成和最佳发酵条件下共进行3批试验，得到每克干曲酶活力分别为9 768.7、9 862.5、9 647.8 U，平均9 759.7 U，较初始产酶培养基酶活提高了2倍多。

### 3 结论

3.1 以芭蕉芋粉为主原料，采用中科院提供的产果胶酶的黑曲霉菌种固态发酵生产果胶酶，经初步优化，最适产酶培养基为：芭蕉芋粉6 g、麸皮4 g、尿素0.4 g、水12 ml，自然pH值，最适的培养温度为35 ℃。

3.2 本文对以芭蕉芋为主的发酵培养基的优化只是作了初步的研究，对于培养条件只是对培养温度和起始pH值作了初步试验，但从目前的优化结果来看，以芭蕉芋为主来生产果胶酶很有研究价值，有待今后进一步研究。

#### 参考文献

- 1 D.R. Kashyap , P.K. Vohra , S. Chopra, et al. Applications of pectinases in the commercial sector: a review[J]. Bioresource Technology, 2001,77: 215~227
- 2 魏尊, 阚庆华, 李秋风, 等. 酶制剂在反刍动物中的应用[J]. 饲料工业, 2005, 26(12): 14~16
- 3 S. Santacruz ,K.Koch ,E.Svensson, et al. Three underutilized sources of starch from the Andean region in Ecuador Part I .Physico-chemical characterization[J]. Carbohydrate polymers, 2002, 49: 63~70
- 4 吴天祥, 丁重阳, 杨海龙, 等. 芭蕉芋原料酒精固态发酵工艺条件的初探[J]. 酿酒, 2003(3): 71~73
- 5 贾斌, 郭丽萍, 王铁良. 饲料及饲用酶制剂中果胶酶活力的测定[J]. 中国饲料, 2004(16): 31~32
- 6 王松桂, 陈敏, 陈立萍. 线性统计模型——线性回归与方差分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999. 155~161  
(编辑: 高 雁, snowyan78@tom.com)

...评论...

发表  
评论

\*40字以内

提交

重置

[关于我们](#) | [网站导航](#) | [友情连接](#) | [联系我们](#) | [会员须知](#) | [广告服务](#) | [服务条款](#)

版权所有: 饲料工业杂志社 Copyright © [Http://www.feedindustry.com.cn](http://www.feedindustry.com.cn) 2004-2005 All Rights 辽 ICP备 05006846号

饲料工业杂志社地址: 沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编: 110036 投稿: E-mail: tg@feedindustry.com.cn 广告: E-mail: ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部: (024) 86391926 (传真) 编辑二部: (024) 86391925 (传真) 网络部、发行部: (024) 86391237 总编室: (024) 86391923 (传真)