

刘春芬,慕金超. 三孢布拉氏霉菌发酵产番茄红素工艺条件的优化[J]. 江苏农业科学,2020,48(20):214-218.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.20.041

# 三孢布拉氏霉菌发酵产番茄红素工艺条件的优化

刘春芬,慕金超

(徐州工业职业技术学院,江苏徐州 221140)

**摘要:**利用三孢布拉氏霉菌发酵生产番茄红素,并对其发酵条件进行探讨,确定其最佳发酵条件。结果表明,番茄红素最大吸收波长为 508 nm;活化的冻干粉菌种在斜面培养基上于 25 ℃ 培养 5 d 后,呈较好生长状态,菌丝粗壮,孢子生长状态饱满,镜检显示,其个体生长状态良好;扩大培养 120 h 时孢子数量达到最高峰;发酵至 36 h 时添加阻断剂效果最好,发酵至 72 h 时添加增氧剂效果最好。通过发酵条件优化的正交试验发现,三孢布拉氏霉菌发酵产番茄红素的最优发酵工艺为发酵温度 25 ℃、pH 值 5.0、发酵时间 5 d、接种量 10.0%。

**关键词:**番茄红素;三孢布拉氏霉菌;发酵;工艺条件

**中图分类号:** TQ920.6;S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)20-0214-04

番茄红素主要存在于植物细胞的有色体中,因具有抗癌、降低心血管疾病发病率、预防动脉粥样硬化、提高免疫力等生理功能,国内外对其研究热度逐年递增,目前国内外生产番茄红素的方法有以下几种:有机溶剂提取法、超临界萃取法、化学合成法等,利用这些方法合成的番茄红素存在化学物残留问题,品质不高。采用生物合成中的微生物合成法,利用三孢布拉氏霉菌发酵产出番茄红素,和其他的方法相比,具有不受季节控制、操作工艺简单、用时短、生产成本较为低廉等优势。另外相对其他几种方法来说,生物合成法可以获得较高的番茄红素得率,是生产番茄红素的一种理想途径。

本试验研究利用生物发酵法生产番茄红素时发酵条件、培养基成分、各类抑制剂等对成品产量及品质的影响,并对工艺进行优化,初步建立通过微生物发酵生物合成番茄红素的基本工艺。

## 1 试验材料

### 1.1 试验时间及地点

试验于 2019 年 6—10 月进行,试验地点为学院微生物实训中心。

### 1.2 材料及试剂

GM3.560 三孢布拉氏霉(中国微生物菌种保藏中心,编号:ATCC 14059);玉米粉、玉米淀粉(在超市或农贸市场购买);番茄红素标准品(CAS:502-65-8,有效成分含量>98%,规格:20 mg/支);可溶性淀粉、硫酸镁、磷酸二氢钾、淀粉均为分析纯;琼脂、维生素 B<sub>1</sub>、酵母膏为生化试剂。

### 1.3 培养基

活化用培养基:磷酸二氢钾 1 g、七水硫酸镁 0.5 g、可溶性淀粉 15 g、酵母膏 4.0 g,溶于 1 000 mL 蒸馏水中,加入琼脂 15 g,充分溶解。121 ℃ 灭菌 20 min,制备斜面。

扩大培养用培养基:除不添加琼脂外,其他成分同活化用培养基。

发酵培养基:玉米粉 40 g、淀粉糖化液 40 g、可溶性淀粉 50 g、磷酸二氢钾 0.5 g、七水硫酸镁 0.25 g、维生素 B<sub>1</sub> 少量,溶于 1 L 蒸馏水中,加热至完全溶解,调节 pH 值为 6.5,分装在 10 个锥形瓶中,标号 1~10,冷却备用。

## 2 试验方法

ATCC 14059→活化→扩大培养→计孢子数→接种至发酵培养基中→发酵→添加阻断剂和增氧剂→发酵条件的优化→发酵醪→过滤→滤液→减压浓缩→成品

### 2.1 番茄红素最大吸收波长的确定

对番茄红素标准品在 480~520 nm 范围内进行最大吸收波长的扫描<sup>[1-3]</sup>,找到番茄红素标准品最

收稿日期:2019-12-20

基金项目:江苏省职业技术教育学会课题(编号:XHXS2015043)。

作者简介:刘春芬(1978—),女,天津人,硕士,副教授,主要从事食品微生物与发酵工程方向的研究。E-mail:liuef@mail.xzcit.cn。

通信作者:慕金超,硕士,副教授,主要从事化学制药方面的研究。

E-mail:mujc@mail.xzcit.cn。

大吸收峰,由此确定番茄红素的最大吸收波长。

## 2.2 番茄红素标准线性范围的确定

取 20 mg 番茄红素标准品置于 50 mL 容量瓶中,用乙酸乙酯定容至刻度,将其作为储备液。用移液管移取 1 mL 储备液置于 50 mL 容量瓶中,同样用乙酸乙酯定容至刻度,作为标准使用液。分别吸取标准使用液 0.00、2.50、5.00、7.50、10.00、12.50 mL 置于 25 mL 容量瓶中,并用乙酸乙酯定容至刻度,然后于最大吸收波长处分别测定其吸光度,绘制标准曲线。

## 2.3 菌种的活化及扩大培养

将 0.1 mL 无菌生理盐水加入到冻干菌粉的安瓿瓶中,振荡成悬浮状,吸取全部菌体悬浮液,移至 4 支斜面培养基上,在 25 ℃ 培养 5~7 d<sup>[4-7]</sup>。将活化后的菌种接种到扩大培养用培养基中,在 25 ℃ 振荡培养,转速为 150 r/min。自培养 48 h 开始每隔 24 h 取菌液计数,当培养基中孢子数达  $10^9 \sim 10^{10}$  个/mL 时,停止培养,此培养液备用。

## 2.4 发酵培养

向发酵培养基中接种 10% 种子液,摇匀,在 25 ℃ 振荡培养,转速为 150 r/min<sup>[8]</sup>。

## 2.5 阻断剂及增氧剂添加时间的确定

选用烟草废弃物作为阻断剂,在发酵培养 24、30、36、42、48 h 时分别向 1~5 号瓶中加入阻断剂 0.07 g,均进行 5 d 发酵培养。过滤发酵液,弃去滤渣,将滤液减压浓缩,分析确定阻断剂添加时间。以不添加阻断剂为空白对照。

分别在发酵培养的 48、60、72、84、96 h 时向 6~10 号瓶中各加入增氧剂 30%  $H_2O_2$  0.5 g,均进行 5 d 发酵培养,分析确定增氧剂最佳添加时间。以不添加增氧剂为空白对照。

## 2.6 发酵条件的优化

探讨温度(20、25、30 ℃)、pH 值(4.5、5.0、5.5)、发酵时间(4、5、6 d)、接种量(7.5%、10.0%、12.5%)等因素<sup>[9-14]</sup>对发酵结果的影响,分析确定采用三孢布拉氏霉菌发酵生产番茄红素的最佳条件。

# 3 结果与分析

## 3.1 番茄红素最大吸收波长的确定

如图 1 所示,番茄红素标准品在 508 nm 处有最大吸收峰,因此番茄红素的最大吸收波长为 508 nm。

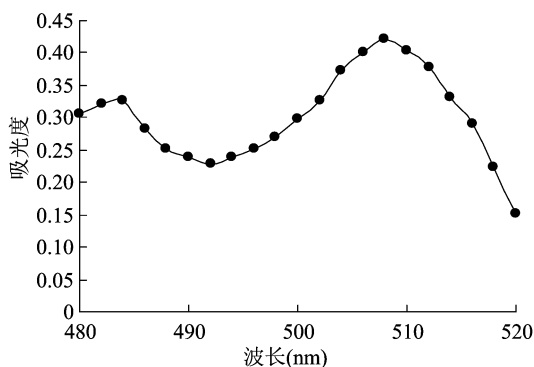


图1 番茄红素最大吸收波长的确定

## 3.2 番茄红素标准工作曲线的绘制

采用分光光度计在波长为 508 nm 处测定标准系列溶液的吸光度,得到如图 2 所示结果。

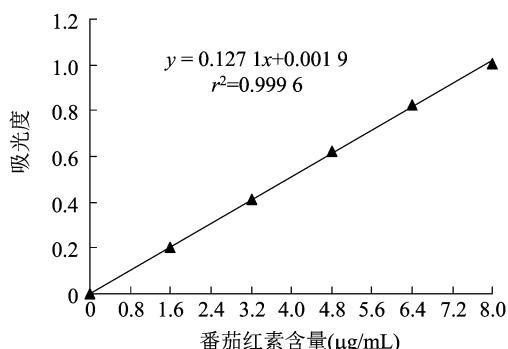


图2 番茄红素的标准工作曲线

## 3.3 菌种的活化培养

在斜面培养基上于 25 ℃ 培养 5 d 后的冻干粉菌种呈较好的生长状态,菌丝粗壮,孢子生长状态饱满。图 3 显示,该菌菌丝非常粗壮且长度较大,菌丝无横隔膜,属于单细胞,具有多个细胞核,未发现假根。

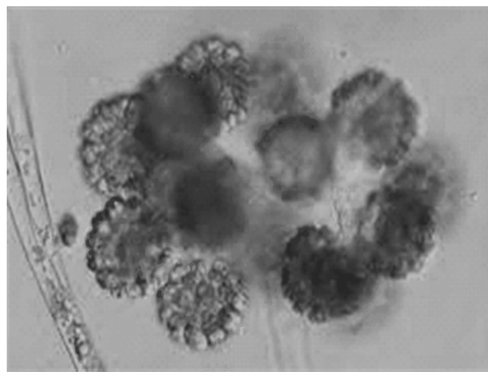


图3 活化后的三孢布拉霉菌个体形态

## 3.4 种子的扩大培养时间

从表 1 可以看出,从培养 48 h 开始,随着培养时间的延长,孢子数呈对数递增趋势,到培养 120 h 时,孢子数量达到最高峰,随后再延长培养时间,孢

子数量没有明显的增加,说明此时扩大培养基中营养成分已经较少,代谢产物积累较多,菌体开始由对数生长期转向稳定生长期,新生细胞数与死亡细胞数保持动态平衡,孢子数量出现减少趋势,可以推论,此后霉菌将进入衰亡期,因此,选择在培养 120 h 时终止培养,得到种子培养液。

表 1 扩大培养时间对三孢布拉氏霉菌产孢子数量的影响

培养时间(h)	孢子数量(个/mL)
48	$2.6 \times 10^4$
72	$4.7 \times 10^6$
96	$5.1 \times 10^{10}$
120	$5.8 \times 10^{10}$
144	$7.1 \times 10^9$

3.5 阻断剂添加时间的确定

在 508 nm 处分别测定减压浓缩后滤液的吸光度<sup>[15]</sup>,由于测得的吸光度过大,不在番茄红素标准工作曲线的线性范围内,因此测定之前分别将 5 瓶发酵液稀释 2 倍,得到图 4 所示结果。空白对照组发酵 5 d 后,经测定吸光度为 0.295。由图 4 可见,比较试验组的吸光度与对照组发现,发酵过程中添加阻断剂能有效阻断胡萝卜素的生成,从而使得产物仍为番茄红素。当发酵进行至 36 h 时添加阻断剂效果最好,因此,选择添加时间为发酵 36 h 时。

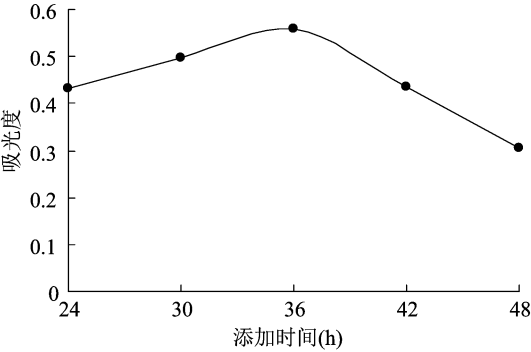


图 4 阻断剂添加时间对番茄红素产量的影响

3.6 增氧剂添加时间的确定

在 508 nm 处分别测定减压浓缩后滤液的吸光度,由于测得吸光度过大,不在番茄红素标准工作曲线的线性范围内,因此测定之前分别将 5 瓶发酵液稀释 2 倍,得到图 5 所示结果。空白对照组发酵 5 d 后,经测定吸光度值为 0.287。由图 5 可见,比较试验组的吸光度与对照组发现,发酵过程中添加增氧剂能有效增加番茄红素的生成量。当发酵进行至 72 h 时添加增氧剂效果最好,因此,选择添加时间为发酵 72 h 时。

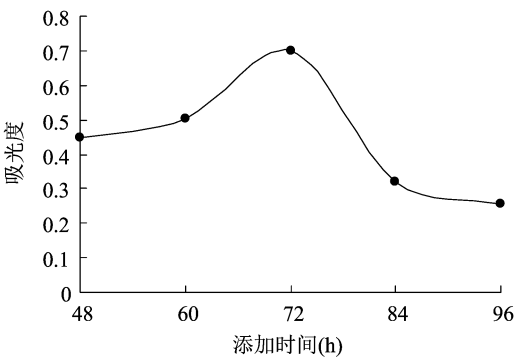


图 5 增氧剂添加时间对番茄红素产量的影响

3.7 发酵条件的优化

3.7.1 发酵温度的确定 由图 6 可知,在一定范围内当发酵温度升高时,番茄红素的浓度也随之增加;当温度上升到 25 ℃ 时,番茄红素的浓度达到最高值;如果温度继续升高,番茄红素的浓度反而下降,这是因为三孢布拉氏霉菌的最适发酵温度为 25 ~ 28 ℃,因此选择 25 ℃ 为其发酵最佳温度。

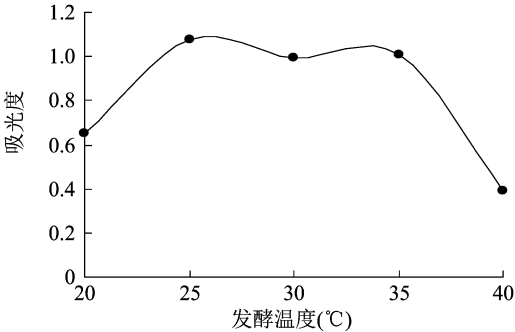


图 6 发酵温度对番茄红素产量的影响

3.7.2 发酵液 pH 值的确定 由图 7 可知,当发酵液 pH 值上升至 5 时,番茄红素的浓度达到最高值;继续升高 pH 值,番茄红素的浓度反而下降,说明三孢布拉氏霉菌的最适发酵 pH 值在 5 左右。

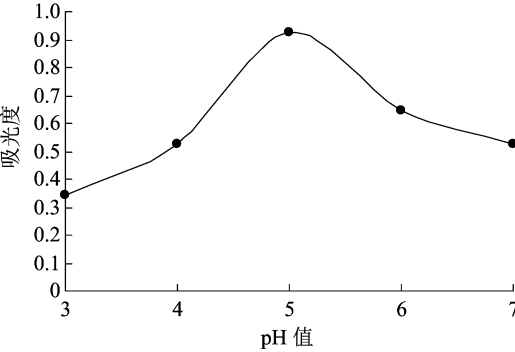


图 7 发酵液 pH 值对番茄红素产量的影响

3.7.3 发酵时间的确定 由图 8 可知,当发酵进行至 5 d 时,番茄红素含量达到最大值,其后,随着时间的延长,产物含量不增反降,可能是由于番茄红

素本身不稳定,发生了部分分解,因此,选择最佳发酵时间为 5 d。

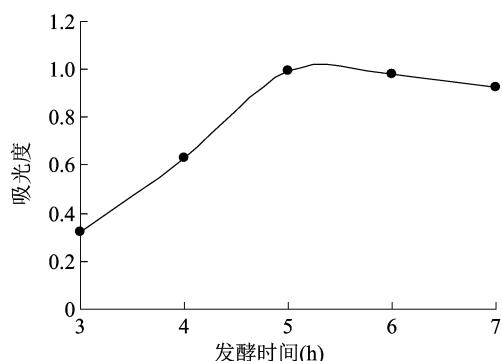


图8 发酵时间对番茄红素产量的影响

3.7.4 接种量的确定 由图 9 可知,在一定范围内番茄红素产量随着接种量增加逐渐递增,当接种量增加到 10% 时,番茄红素产量达到最大,其后随着接种量的持续增加,番茄红素产量没有明显变化,从经济角度考虑,选择接种量为 10%。

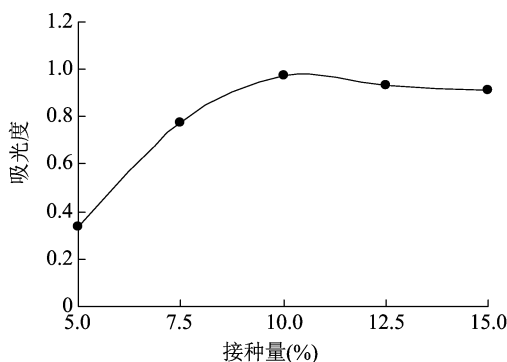


图9 接种量对番茄红素产量的影响

3.7.5 发酵条件优化的正交试验结果 由于测得吸光度不在番茄红素标准工作曲线的线性范围内,因此测定之前分别稀释 2 倍,得到表 2 所示结果。由正交试验结果可知,影响三孢布拉氏霉菌发酵产番茄红素各因素的主次顺序是 C > A > B > D,即发酵时间 > 发酵温度 > pH 值 > 接种量。由  $k$  值得,最佳组合方案为  $A_2B_2C_2D_2$ ,即发酵温度 25 ℃、培养基 pH 值 5.0、发酵时间 5 d、接种量 10.0%。

因为最佳组合方案没有在 9 组正交试验中出现,所以根据正交试验所得到的最佳条件因素做验证试验。经过试验测定得出,在最佳组合方案下吸光度为 1.121,对照标准曲线计算得到的番茄红素浓度为 17.61  $\mu\text{g/mL}$ ,比正交试验 4 号的 15.93  $\mu\text{g/mL}$  大。结果表明,发酵温度 25 ℃、培养基 pH 值 5.0、发酵时间 5 d、接种量 10.0% 是发酵最佳工艺参数。

表 2 正交试验结果与分析

序号	A	B	C	D	吸光度	番茄红素浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	1(20 ℃)	1(4.5)	1(4 d)	1(7.5%)	0.746	11.7
2	1	2(5.0)	2(5 d)	2(10.0%)	0.987	15.50
3	1	3(5.5)	3(6 d)	3(12.5%)	0.766	12.02
4	2(25 ℃)	1	2	3	1.014	15.93
5	2	2	3	1	0.905	14.21
6	2	3	1	2	0.809	12.70
7	3(30 ℃)	1	3	2	0.787	12.35
8	3	2	1	3	0.677	10.62
9	3	3	2	1	0.762	11.96
$k_1$	13.07	13.33	11.67	12.62		
$k_2$	14.28	13.44	14.46	13.52		
$k_3$	11.64	12.23	12.86	12.86		
R	1.43	1.21	1.60	0.90		

注:A 表示温度;B 表示 pH 值;C 表示发酵时间;D 表示接种量。

## 4 结论

本试验确定了番茄红素的最高吸收波长为 508 nm;活化的冻干粉菌种在斜面培养基上于 25 ℃ 培养 5 d 后,呈较好的生长状态,菌丝粗壮,孢子生长状态饱满,镜检显示,其个体生长状态良好;扩大培养 120 h 时孢子数量达到最高峰;当发酵进行至 36 h 时添加阻断剂效果最好,发酵进行至 72 h 时添加增氧剂效果最好;通过发酵条件优化的正交试验发现,三孢布拉氏霉菌发酵产番茄红素的最好发酵条件为发酵温度 25 ℃、培养基 pH 值 5.0、发酵时间 5 d、接种量 10.0%。

## 参考文献:

- [1] 吴 灿,夏延斌,唐 鑫. 响应面法优化莲子黄酒的发酵工艺条件[J]. 现代食品科技,2013,29(7):1675-1679.
- [2] 吴军林,吴清平,张菊梅,等. 番茄红素的微生物合成及发酵生产研究进展[J]. 食品科学,2013,34(19):336-340.
- [3] 王 敏,杨 慧,高俊莲,等. 高产番茄红素链霉菌选育及摇瓶发酵研究[J]. 中国生物工程杂志,2009,29(12):64-68.
- [4] 马永强,韩春然. 三孢布拉霉生产番茄红素发酵条件的研究[J]. 食品研究与开发,2007,28(4):54-57.
- [5] 万红贵,吴启赐,蔡 恒,等. 基于三孢布拉霉菌番茄红素的提取工艺研究进展[J]. 安徽农业科学,2010,38(10):5315-5317,5424.
- [6] 黄 进,高伟欣,乔汉桢,等. 从新鲜番茄中提取番茄红素的条件优化[J]. 饲料研究,2019,42(9):86-90.
- [7] 陈文静,张 欢,董 旭,等. 番茄红素的研究现状及应用前景[J]. 安徽农业科学,2015,43(27):29-32,99.
- [8] 巴宁宁,王 瑞,王英明,等. 提取方法不同对番茄红素油脂抗氧化活性的影响[J]. 粮食与油脂,2019,32(8):83-86.

肖亚冬,杨慧珍,李大婧,等. 不同护色预处理对铁棍山药热风干燥特性及品质变化的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(20):218-223.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.20.042

# 不同护色预处理对铁棍山药热风干燥特性及品质变化的影响

肖亚冬<sup>1</sup>, 杨慧珍<sup>1,2</sup>, 李大婧<sup>1</sup>, 顾千辉<sup>3</sup>, 刘春泉<sup>1</sup>, 徐亚元<sup>1</sup>, 宋江峰<sup>1</sup>, 刘春菊<sup>1</sup>, 张钟元<sup>1</sup>

(1. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014; 2. 南京农业大学食品科学与技术学院, 江苏南京 210095;

3. 三只松鼠股份有限公司, 安徽芜湖 241000)

**摘要:**为了研究护色联合烫漂处理是否能够提高铁棍山药切片干燥速率和干制后品质, 采用 6 种单一或复合护色液对切片铁棍山药进行护色, 然后通过热烫处理, 分析其热风干燥后感官和营养品质变化。结果表明: 未经护色处理的山药片干燥时间最短, 经护色处理后会在一定程度上提高其前期干燥速率, 但总干燥时间变长。经不同护色预处理干燥后山药片收缩率变大、复水比变小; 未经护色预处理干燥后山药片的总色差值变化最大, 且与其他护色处理之间具有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 其中热烫 90 s 和 0.1% 柠檬酸 + 0.1% NaCl + 0.5% 氯化钙 + 热烫 90 s 护色预处理干燥后山药片色差变化较小。不同护色预处理干燥后山药片维生素 C 和多糖含量变化之间无关联性, 未经护色处理干燥后山药片中维生素 C 含量最高, 多糖含量最低; 而经 0.1% 柠檬酸 + 0.1% NaCl + 0.5% 氯化钙 + 热烫 90 s 处理后山药干燥样品中多糖含量最高。因此, 复合护色联合烫漂处理能够一定程度改善铁棍山药切片干燥后色泽, 且多糖含量保留率较高, 但维生素 C 损失较多。

**关键词:** 山药; 护色联合烫漂预处理; 热风干燥; 品质变化; 干燥时间; 色泽

**中图分类号:** TS255.3      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2020)20-0218-06

山药, 学名薯蓣 (*Dioscorea oppositifolia* L.), 是薯蓣科薯蓣属植物, 缠绕草质藤本。而铁棍山药是许多山药品种中的一个, 产于河南省, 以焦作市温县一带最为有名。因其表皮有像铁锈一样的痕迹, 故得名铁棍山药。山药营养丰富, 含有皂苷、黏液质、糖蛋白、自由氨基酸、多酚氧化酶、烟酸、抗坏血酸及微量元素等, 具有很高的食用和营养价值, 可

预防心血管疾病及肥胖, 提高机体免疫力, 增强机体消化吸收功能, 抗肿瘤, 延缓衰老和抗氧化, 降血压等<sup>[1-4]</sup>。然而, 新鲜山药不耐贮存, 容易发霉褐变, 因此, 可将其进行脱水干燥处理来延长它的保质期。

山药中含有的多酚类物质在多酚氧化酶 (PPO) 的催化作用下容易发生褐变, 导致其色泽、风味和质地的变化, 从而影响山药干制品的商业价值。当前, 有关山药脱水干燥的研究较多, 涉及热风干燥<sup>[5-6]</sup>、热泵干燥<sup>[7]</sup>、红外干燥<sup>[8]</sup>、微波干燥<sup>[9]</sup>及其他联合干燥方式<sup>[10-12]</sup>。其中, 热风干燥因经济适用且样品处理量较大, 是产业化应用中最常见的干燥方法。近年来, 针对山药干燥前进行护色处理以

收稿日期: 2020-07-07

基金项目: 国家重点研发计划 (编号: 2017YFD0400901)。

作者简介: 肖亚冬 (1988—), 女, 河南西华人, 硕士, 助理研究员, 主要从事农产品加工研究。E-mail: xiaoyadong2016@163.com。

通信作者: 李大婧, 博士, 研究员, 主要从事果蔬加工及副产物综合利用。E-mail: lidajing@163.com。

[9] 张玉丹, 杨阳, 刘沐霖. 番茄红素生产工艺研究进展[J]. 中国食物与营养, 2016, 22(4): 38-41.

[10] 蔡文杰, 汤华成, 温丹旭. 阻断剂对三孢布拉霉菌产番茄红素的影响[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2017, 29(3): 45-48, 69.

[11] 庞昆云, 吴嘉琦, 王泽建, 等. 三孢布拉霉菌发酵番茄红素提取工艺的优化[J]. 华东理工大学学报 (自然科学版), 2016, 42(3): 343-350.

[12] 姜丰, 王颖, 汤华成, 等. 三孢布拉霉菌发酵生产番茄红素的筛选条件的筛选[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2013, 25

(2): 48-52.

[13] 范超, 洪皓, 李妍, 等. 三孢布拉霉发酵生产类胡萝卜素的产业化关键点探讨[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(5): 284-290.

[14] 闫兴, 向梦雄, 王常高, 等. 代谢调节剂对三孢布拉氏霉菌发酵的影响[J]. 湖北工业大学学报, 2016, 31(1): 85-88.

[15] 向梦雄, 闫兴, 王常高, 等. 发酵促进剂对三孢布拉氏霉菌发酵产  $\beta$ -胡萝卜素的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2015, 37(1): 56-60.