

文章编号 :1009 - 038X(2003)01 - 0099 - 03

超声波处理对红曲色素产量的影响

杨胜利¹, 王金宇², 杨海麟¹, 王龙刚¹, 王 武¹

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室 江苏 无锡 214036 ; 2. 内蒙古鄂伦春自治旗讷尔克气农业技术推广学校 内蒙古鄂伦春 022476)

摘 要 : 采用低强度的超声波 , 选取作用时间为变化参数 , 对红曲细胞进行处理 , 其频率为 20 kHz , 功率为 200 W . 结果表明 , 每间隔 8 h 照射 2 min 效果最明显 .

关键词 : 超声波 ; 红曲霉 ; 发酵

中图分类号 : Q 935

文献标识码 : A

The Effects of Ultrasonic Radiation on Production of Pigment from *Monascus sp.*

YANG Sheng-li¹, WANG Jin-yu², YANG Hai-lin¹, WANG Long-gang¹, WANG Wu¹

(1. School of Biotechnology , Southern Yangtse University ; Key Laboratory of Industry Biotechnology , Ministry of Education , Wuxi 214036 , China ; 2. The Inner Mongolia Autonomous Region Elunchun Autonomic County . Nerkeqi Popularize School of Agricultral Technology , 022476 , China)

Abstract : The effects of ultrasonic radiation on the production of monascus pigment were studied . Ultrasonic wave with low intensity at 20 kHz , 200 W/cm² was employed to study the effects of irradiation at different length of time on the growth ofm *Monascus sp.* cells . The result showed that production of monascus pigment from *Monascus sp.* increased obviously when the culture was radiated for two minutes in every eight hours .

Key words : ultrasonic ; *Monascus sp.* ; fermentation

近年来 , 随着人民生活水平的提高 , 对生活要求已从温饱型向保健型转变 . 化学合成色素毒性问题已逐步引起人们的关注 , 其中有些化学合成色素确证其有毒 , 已被禁止使用或限制使用 , 为满足食品及化妆品工业的需求 , 需要大力开拓和提倡天然色素^[1,2] . 但是大多数天然色素稳定性、着色力较差 , 而红曲色素是红曲霉的次级代谢产物 , 红曲色素稳定性好 , 着色力强 , 可以说是目前最具代表性

也是极具生命力的一个产品 , 其生产在我国具有悠久的历史^[3,4] . 传统法生产红曲色素为不经提纯的固态发酵品 , 其生产效率低、劳动强度大、且产品质量难以控制 , 不适合大规模工业化生产 . 红曲色素大规模工业化生产出路在于液态深层发酵 , 但深层液态发酵目前没有成功地进行稳定而大规模的工业化生产的重要原因之一是发酵色价偏低 , 生产成本低 , 商业上难以推广 . 为了提高液态红曲色素的

收稿日期 2002 - 04 - 20 ; 修回日期 2002 - 06 - 17 .

作者简介 : 杨胜利 (1973 -) 男 , 吉林大安人 , 发酵工程博士研究生 .

万方数据

发酵色价,在液态深层发酵过程中进行超声波处理,超声波作用于工业微生物并产生生物学效应已有很多报道^[5~8].作者采用这种传统的生物物理方法,生产出的产品不但安全无毒副作用,而且可以提高其色价.

1 材料与方法

1.1 菌种

红曲霉购于中国科学院微生物研究所.

1.2 培养基及培养条件

麦芽汁琼脂斜面培养基(质量分数/%):葡萄糖 1,酵母膏 0.3,麦芽汁粉 0.2,蛋白胨 0.3,琼脂 2,pH 6.0,灭菌,接种后 30℃黑暗中培养 6 d.

种子培养基(质量分数/%):葡萄糖 70,蛋白胨 30,硝酸钠 2,MgSO₄ 1,消泡剂 1~2 滴,pH 自然.

发酵培养基(质量分数/%):葡萄糖 60,NaNO₃ 2.5,KH₂PO₄ 2.5,MgSO₄ 0.5,pH 5.0.

1.3 超声波处理

用 20 kHz,200 W,工作电压 200 V 条件照射,按照不同超声作用时间(20,10,5,2,1 min,30,10,5 s)平行 3 份,每隔 8 h 作用一次,培养一周后采集样品,待分析测定.

1.4 菌体干重测定

发酵完成后,取 10 mL 充分震荡均匀的发酵液,加入 10 mL 乙醇,于 30℃下浸出 24 h,过滤;滤渣用体积分数 50% 的乙醇溶液洗涤 2 次,在 80℃烘干 24 h,称重,得到 10 mL 发酵液含干菌体重 W₁,然后换算成每升发酵液中干菌重:W₁×100 (g/L).

1.5 液体色素的测定^[9]

1.5.1 胞外黄色素的测定 取一瓶发酵液,用蒸馏水定容至 75 mL,摇匀后取 10 mL 发酵液,用定性滤纸过滤;以未添加种子的培养基滤液作为空白,用 1 cm 的比色皿测定滤液在 410 nm 处的 OD 值 (U/mL).

1.5.2 胞外红色素的测定 处理方法同黄色素的测定,测定的波长为 510 nm.

1.5.3 胞内黄色素的测定 取一瓶发酵液,用蒸馏水定容至 75 mL,摇匀后取 10 mL 发酵液,用定性滤纸过滤;蒸馏水洗涤滤渣 2 次,将滤渣移至 250 mL 三角瓶中,加 10 mL 体积分数 75% 的乙醇溶液,30℃保温萃取 24 h 后过滤;再用体积分数 75% 的乙醇溶液洗涤残渣 2 次,将滤液用体积分数 75% 的乙醇溶液定容至 50 mL 后测波长 410 nm 处的

OD 值,将此值乘以稀释倍数 5 后得胞内黄色素色价 (U/mL).

1.5.4 胞内红色素的测定 方法同胞内黄色素的测定,测定波长为 510 nm 处红色素色价 (U/mL).

2 结果与分析

2.1 超声对菌体数量的影响

由图 1 可以看出,处理后菌体数量随着处理时间不同有所改变,并且超过一定时间,越长数量越少,超过 10 min 时菌体干重明显下降,说明菌体已被照死.短时间照射同样可引起细胞活力降低,但是照射后经静态培养活细胞数又增加,基本维持在正常发酵水平.

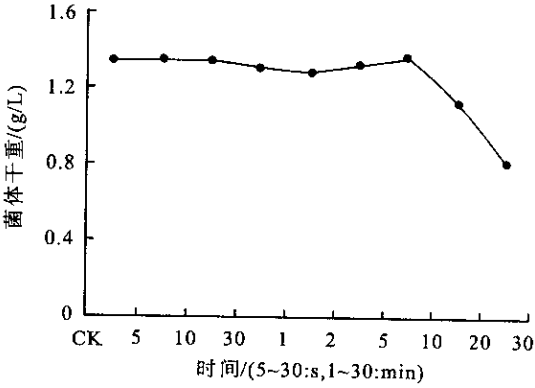


图 1 不同照射时间菌体干重

Fig.1 The effect of different radiation time of sonication on dry mycelia weight

2.2 超声波对菌体产色素的影响

经超声波照射后培养 7 d,将发酵液离心分别测上清液和胞内色素的色价,图 2~5 是菌体产色素的量.从实验结果可以看出,超声波处理时间会影响色价,较长时间会引起细胞死亡率升高,从而导致色素产量下降,而处理时间过短又达不到刺激其产色素的效果,作用时间为 2 min 左右时效果最明显,提高幅度超过 30%.红曲为好气性菌,耗氧量随着生理状态的不同而异,其细胞的生长与色素的形成都需要有足够的氧气,为达到最高的色素产量与最低的动力消耗,供给适宜的溶解氧是极为重要的.正常情况下红曲菌落呈团状,不利于对氧和营养物质吸收,也不利于代谢物质分泌.采用超声波处理可以使菌丝体分散,甚至是游离的单菌体克服了对菌体生产及色素生成的限制,从而有利于菌体的代谢和产物量的提高.同时超声波处理可以使发酵液黏度降低,物质混合均匀,有利于氧气及营养物质的传递,更重要的是便于色素的分离和提取.

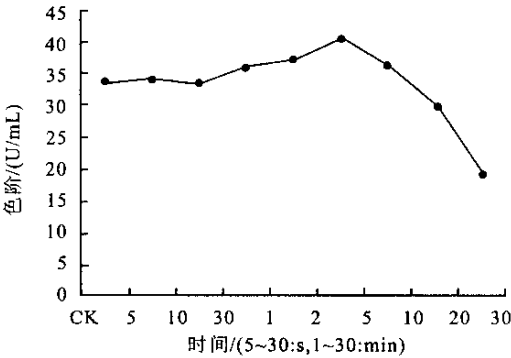


图 2 不同处理时间对胞外红色素色价的影响

Fig.2 The effect of different radiation time on colour values of extracellular red pigment

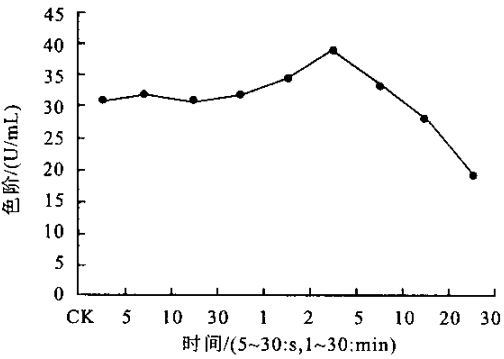


图 3 不同处理时间对胞外黄色素色价的影响

Fig.3 The effect of different radiation time on colour values of extracellular yellow pigment

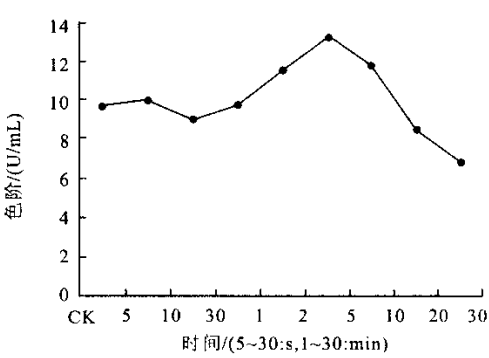


图 4 不同处理时间对胞内红色素色价的影响

Fig.4 The effect of different radiation time on colour values of intracellular red pigment

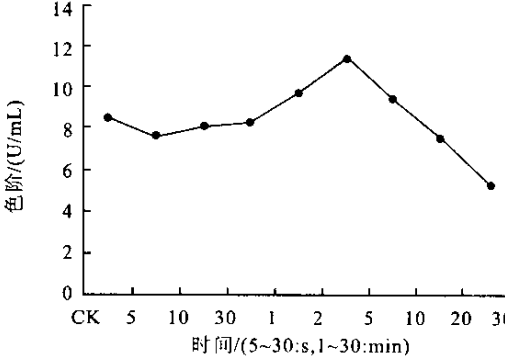


图 5 不同处理时间对胞内黄色素色价的影响

Fig.5 The effect of different radiation time on colour values of intracellular red pigment

3 讨论

超声波具有很强的生物学效应,其机理主要是空化作用.空化泡绝热收缩至崩溃瞬间,泡内可呈现 5 000 ℃以上的高温 and 几千个大气压,并伴有强

大的冲击波或射流等^[10],可以改变细胞的壁膜结构,使细胞内外发生物质交换,促进其色素的产生和分泌.也可能在超声波作用下,膜内的流体静压力足够诱导细胞膜机械破裂,从而加速色素的产生和分泌,或许二者兼而有之.

参考文献:

[1] 甘纯玟,彭时尧,苏金为,等.红曲色素资源的利用现状与开发展望[J].自然资源学报,1998 (3) 273 - 275.

[2] 张景强.红曲色素的研究概况[J].冷饮与速冻食品工业,2001 (4) 39 - 41.

[3] 傅金泉.我国红曲生产与应用的现状及发展前景[J].食品与发酵工业,1995 (5) 76 - 79.

[4] 赵雪松.红曲与红曲菌的历史与最近的动向[J].食品科学,1988 (5) 10 - 12.

[5] Wood B E, Aldrich H C, Ingram-LO. Ultrasound stimulates ethanol production during the simultaneous saccharification and fermentation of mixed waste office paper[J]. *Biotechnol Prog*, 1997, 13 (3) 232 - 237.

[6] Jeong-Yoon-KU, Sung-OH-Park, Bong-Soo-Noh. Inactivation of peroxidase by hurdle technology[J]. *Food-Science-and-Biotechnology*, 2000, 9 (2) 124 - 129.

[7] Cowan-SE, Black-J, Keasling-JD, et al. Ultrasonic flexural-plate-wave sensor for detecting the concentration of settling *E. coli* W3110 cells[J]. *Analytical-Chemistry*, 1999, 71 (16) 3622 - 3625.

[8] Dazhong W, Sakakibara M, Kondoh-N, et al. Ultrasound-enhanced lactose hydrolysis in milk fermentation with *Lactobacillus bulgaricus*[J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 1996, 65 (1) 86 - 92.

[9] 张本权,张亮琦,淡家林.红曲色素色价和色调分析方法探讨[J].食品与发酵工业,1985 (6) 34 - 37.

[10] 袁易全,陈慧恩.近代超声原理与应用[M].南京:南京大学出版社,1996.134.

(责任编辑 杨 勇)