

云芝的悬浮培养及其浑浊汁的研制

葛克山 肖成军 郭渝培

查丽杭

(中国农业大学食品学院)

(中国科学院化工冶金研究所)

摘 要 考虑到云芝的特性及食用性,提出了从云芝培养到加工成浑浊汁的新方法。云芝的生产采用悬浮培养法,较其栽培法生产周期大大缩短。制成的浑浊汁成品质量稳定,酸爽柔和,营养丰富,具有云芝独特的风味和药理保健作用。

关键词 云芝; 悬浮培养; 浑浊汁

分类号 TS 272.59

Studies on Suspension Culture and Process of Pulpy Juice of *Coriolus Versicolor*

Ge Keshan Xiao Chengjun Guo Yupei

Zha Lihang

(College of Food Science and Engineering, CAU)

(Institute of Chemical Metallurgy, AS)

Abstract According to the properties of *coriolus versicolor*, a new method about the culture and the process of pulpy juices was obtained. Suspension culture was adopted in the production of *coriolus versicolor*, shortening the production period from cultivation. The pulpy juices obtained is stable in quality, palatable in taste and rich in nutrient, keeping the special pharmacological and healthy function and flavour of *coriolus versicolor*.

Key words *coriolus versicolor*; suspension culture; pulpy juice

云芝与自古以来就负有盛名的灵芝亲缘较近,是一种木质腐生菌。其化学成分主要是含一种多聚葡萄糖云芝多糖及一种含蛋白键结构的多聚糖,具有抗癌活性。

目前我国,云芝仅作为一种药用菌,而在发达国家,人们都十分重视运动和健康饮食,许多名贵药材已成为人们的美味佳肴,云芝也早晚会突破药用菌的界限而被引入到食品行业中来。常规生产云芝的方法是木屑瓶法或埋木法,生产周期为 60 d 左右^[1],而笔者采用悬浮培养法,将生产周期缩短为 10 d,这就大大提高了经济效益。

1 材料与设备

材料包括新鲜马铃薯、多维葡萄糖、柠檬酸、黄原胶、明胶、海藻酸钠、羧甲基纤维素钠、琼脂、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和云芝细胞菌体。

实验设备主要有:无菌操作箱、电热手提高压消毒器、电热恒温培养箱、电热恒温摇瓶箱、多功能切碎机、立式胶体磨、高压匀浆机和真空预抽釜等。

收稿日期:1999-01-06

①葛克山,北京清华东路 17 号 中国农业大学(东校区)112 信箱,100083

2 生产工艺流程及操作要点

生产工艺流程如下:

培养基配制→灭菌→接种→恒温培养→悬浮培养→灭菌→破碎→

胶体磨磨碎→调配→均质→脱气→罐装、压盖→杀菌→成品

培养基的制作:将马铃薯洗净去皮,挖去芽眼,切成薄片。称取 200 g,煮沸 15~30 min 至酥而不烂的程度。捣烂加少量水过滤,取滤液加 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和适量葡萄糖,加水至 1 000 mL。若作 PDA 培养基时,可加入琼脂。之后用电热手提高压消毒器在 0.1 MPa 压力下消毒 30 min。

接种(斜面):将培养基装入试管灭菌。摆成斜面,凝固后放入灭菌的超净台中。严格实行无菌操作,接种针沾酒精少许,在酒精灯上灼烧,同时烧烤试管口。切取 2~3 mm 母种菌丝,接入试管内。

培养:首先是斜面培养,即在恒温培养箱中以 28~30 °C 培养 96~180 h;之后是悬浮培养,即把 60 mL 培养基装入 250 mL 三角瓶中,接一级菌株适量,于 28~30 °C 温度下在 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床上培养 3~4 d,得二级菌种,再将二级菌种 20 mL 接入 250 mL 三角瓶中(其中装有 75 mL 培养基),进行 2~3 d 的扩大培养。

灭菌:在 0.1 MPa 压力下对培养物灭菌 15 min,以杀灭云芝活菌。

破碎:用多功能切碎机将云芝菌株破碎成细小颗粒。

均质细磨:使云芝细小颗粒进一步破碎。

调配:加入稳定剂,调配糖酸比和颜色。

匀浆:利用高压匀浆机在 25 MPa 下匀浆。

脱气:在 80 kPa 的真空度下,室温脱气 10 min。

产品:将 250 mL 玻璃瓶洗净、预煮,把云芝浑浊汁装入之后常压沸水灭菌 3~5 min。

3 实验结果

选择对产品稳定性影响较大的 pH 值、稳定剂量、原料与水的体积比和产品灭菌时间作为试验因素。经极差分析,确定出产品的最佳工艺条件。因素与水平表见表 1,正交实验结果及极差分析见表 2。

表 1 试验因素与水平

水平	因 素			
	A	B	C	D
	pH	$w(\text{稳定剂}^{\text{①}})/\%$	原料与水体积比	灭菌时间/min
1	3	0.05	0.067	2
2	4	0.10	0.090	4
3	6	0.17	0.140	6

①稳定剂为黄原胶

由表 2 的极差分析可知:各因素对指标(稳定期)影响的重要性由大到小的排列顺序为 B, A, C, D, 其中稳定剂添加量是影响稳定期的主要因素。最佳工艺条件为 $A_2B_3C_1D_2$ 或

$A_3B_3C_2D_1$ 。考虑到口味,选用前者,即 $pH=4$, $w(\text{黄原胶})=0.17\%$ (质量分数,下同),原料与水的体积比为 0.067 (或水与原料的体积比为 15:1)。

表2 工艺参数的正交实验及极差分析

实验号	因 素				稳定期/d
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	1
2	1	2	2	2	5
3	1	3	3	3	6
4	2	1	2	3	2
5	2	2	3	1	7
6	2	3	1	2	8
7	3	1	3	2	2
8	3	2	1	3	7
9	3	3	2	1	8
M_1	12	5	16	16	
M_2	17	19	15	15	
M_3	17	22	15	15	
S_i	5	17	1	1	

除了浑浊汁的稳定性外,其口味和颜色也是影响产品的重要因素。实验表明,在 $pH=4$ 时,添加 $w=10\%$ 的总糖量(5%多维葡萄糖+5%绵白糖)可使其酸甜适口,颜色适中,为多数人所喜欢。

产品的质量指标如下。

1)感官指标:a. 颜色,淡黄色;b. 组织形态,均一、半透明悬浮液;c. 口感,酸甜适口,具有独特的药香气味。

2)理化指标:a. 可溶性固形物的质量分数:10% (以添加糖量计);总酸:0.2% (以柠檬酸计)。

3)微生物学指标:a. 细菌总数, $\leq 100 \text{ mL}^{-1}$; b. 大肠杆菌总数, $\leq 4 \text{ mL}^{-1}$; c. 致病菌,未检出。

4 分析与讨论

4.1 云芝的培养

采用生产云芝的常规方法如木屑瓶栽培法或埋木法时,培养条件除合适的温度外,相对湿度也很重要,而在云芝的悬浮培养过程中,保证充足的供氧量是云芝丰产的关键;因此,一般来说,摇瓶速度可适当加快。另外,云芝子实体的形成需要光照条件,由于恒温摇瓶培养箱内缺少阳光,所以悬浮培养所得的云芝,实际上是云芝的菌丝体。

4.2 云芝浑浊汁稳定剂的选择

制造云芝浑浊汁最困难的是要使云芝细粒均匀地悬浮于液体中,不出现分层现象,故必须选择合适的稳定剂,而且添加量要适当。

常用的稳定剂如明胶、CMC、海藻酸钠、黄原胶等都各有优缺点,但最终选择黄原胶作稳

定剂是由于它在热水和冷水中粘度都较高,而且含有少量盐分时,黄原胶 pH 值的变化对粘度影响很小。关于黄原胶的使用量,1987 年 JECFA 决议,其 ADI 值“不需规定”,一般饮料中的添加量为 0.025%~0.17%^[2]。

4.3 云芝浑浊汁的加水量

悬浮培养的云芝为一种很柔软的物质,经胶体磨磨碎后颗粒较小;若加水过少,添加稳定剂后成品的流动性差,影响成品的感官品质;若加水过多,饮料汁的营养成分降低,会影响成品的营养价值。

4.4 酸味剂的选用

采用柠檬酸作为酸味剂进行 pH 值的调整,因为它易溶于水,使用方便,酸味纯正、温和,芳香可口,易于与多种香料配合而产生清爽的酸味。另外,柠檬酸也有较好的防腐作用,特别是抑制细菌的繁殖效果较好,还可作抗氧化增强剂。

4.5 杀菌时间的确定

合适的杀菌时间应该是恰好将细菌全部杀死并且使酶钝化,同时又能最大限度地保证食品原有的品质。由于原料云芝已经过 1 次灭菌处理,所以在一般杀菌温度下,杀菌时间可适当缩短。

5 结 论

1)实验结果表明,对云芝进行悬浮培养并加工成浑浊汁,其工艺方案可行,产品品质符合要求。

2)获得云芝浑浊汁的最佳工艺条件如下:黄原胶添加量为 0.17%,云芝与水的体积比为 1:15,产品 pH=4,以柠檬酸作为酸味剂,糖添加量为 10%,其中绵白糖、多维葡萄糖各占 5% (质量比)。

参 考 文 献

- 1 陈士瑜编著. 食用菌生产技术大全. 北京:农业出版社,1988. 390~396
- 2 刘 程,周汝忠主编. 食品添加剂实用大全. 北京:北京工业大学出版社,1994. 138~139