

文章编号 :1009-038X(2002)01-0001-04

红酵母类胡萝卜素发酵助剂的筛选及应用

王岁楼, 刘凤珠, 高建奇

(郑州轻工业学院 食品与生物工程系 河南 郑州 450002)

摘要:研究了促进剂和前体对红酵母 RY-98 类胡萝卜素发酵的影响,从中选出了番茄汁、花生油和核黄素 3 种对红酵母生长及类胡萝卜素合成具有显著促进作用的发酵助剂,并确定了适宜的用量.应用试验和发酵过程动态分析表明,这 3 种发酵助剂增产效果明显.当同时添加番茄汁 3 mL/L、花生油 1.2 mL/L 和核黄素 3.5 mg/L 时,菌体量、类胡萝卜素质量分数和产量可分别比对照组提高 39.4%、32.8% 和 85.1%,且对发酵过程菌体生长及生理代谢规律无不良影响.

关键词:红酵母;类胡萝卜素;发酵;发酵助剂

中图分类号:TS 261.11

文献标识码:A

Studies on the Promotor of Carotenoids Fermentation by Rhodotorula

WANG Sui-lou, LIU Feng-zhu, GAO Jian-qi

(Food & Biotechnology Department, Zhengzhou Institute of Light Industry, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: The effects of some additives on the growth, carotenoid content and yield of Rhodotorula RY-98 were studied. The results showed that the suitable concentrations of tomato juice, peanut oil and VB₂ could obviously increase the biomass and the biosynthesis of carotenoids from this strain. When the tomato juice of 3 mL/L, peanut oil of 1.2 mL/L and VB₂ of 3.5 mg/L were added to the media, the cell biomass, carotenoid content in the cells and the yield of carotenoids could be increased by 39.4%, 32.8% and 85.1%, respectively. In terms of the results, tomato juice, and peanut oil and VB₂ belong to three kinds of very important promotor to carotenoid fermentation by Rhodotorula.

Key words: rhodotorula; carotenoids; fermentation; fermentation promotor

类胡萝卜素(Carotenoids)具有预防癌症和心血管等多种生理功能,可广泛用于医药、食品和化妆品领域.作为食品添加剂,类胡萝卜素兼具营养增补和着色的双重功效,已被发达国家广泛用于黄油、干酪和蛋黄酱等食品中.生产类胡萝卜素可采用提取法、化学合成法和微生物发酵法,其中最具有发展前景的是微生物发酵法.目前国内外用微生物技术生产天然类胡萝卜素的研究,主要集中在丝

状真菌(三孢布拉霉)和红酵母等菌种上^[1],前者已处于中试和产业化开发阶段,后者尚处于实验室小试阶段.利用红酵母生产类胡萝卜素具有营养要求简单、培养周期短、菌体营养丰富、可综合利用等优点,但其色素发酵水平比三孢布拉霉低许多.因此,提高红酵母类胡萝卜素发酵产率的研究具有重要的意义.作者报道了对红酵母 RY-98 类胡萝卜素发酵助剂进行筛选及应用的研究结果.

收稿日期 2001-09-08; 修订日期 2001-12-05.

基金项目 河南省杰出青年科学基金项目(9902)资助课题;河南省自然科学基金项目(994012500)资助课题.

作者简介 王岁楼(1961-)男,陕西宝鸡人,工学硕士,副教授.

1 材料与方法

1.1 菌种

红酵母 RY-98 菌株,系郑州轻工业学院食品生物技术研究所收集和保存。

1.2 基础培养基

酵母膏 1 g/dL,蛋白胨 1 g/dL,蔗糖 4 g/dL,pH 6.0。

1.3 发酵助剂

VB₁、VB₂ 为医药产品,研磨后配成溶液使用;VC 为分析纯,植酸为生化试剂;番茄汁自制;食用花生油为市售产品。

1.4 培养方法

取培养 24 h 的新鲜红酵母培养液,以 5% 接种量接入装有 50 mL 培养基的 250 mL 的三角瓶中,在 28 °C 振荡培养(150 r/min)72 h,各试验组和对照组均设置 2 个重复,测定结果取平均值。

1.5 细胞生物量测定

将发酵液转入离心杯中,以 3 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,菌体水洗后再次离心,50 °C 烘干称重。

1.6 类胡萝卜素的抽提及测定

菌体先用酸热法破壁,再以丙酮抽提类胡萝卜素粗提液用 721 型分光光度计在 475 nm 处测定吸光度并计算出类胡萝卜素含量^[2]。

1.7 还原糖和 pH 值的测定

还原糖采用斐林氏快速定糖法测定,pH 用便携式酸度计测定。

2 结果与分析

2.1 发酵助剂的选择及其用量的确定

根据类胡萝卜素生物合成途径及有关资料^[3],选择番茄汁、花生油、植酸、VB₁、VB₂、VC 等 6 种添加物进行试验,以筛选效果较好的发酵助剂,其实验结果见图 1~6。

从图 1 可知,适量添加番茄汁对红酵母细胞生物量、类胡萝卜素含量及产量均有明显的提高作用,其中当添加量为 3 mL/L 时,类胡萝卜素发酵产量比对照组增加 37.3%。添加番茄汁能提高红酵母类胡萝卜素产量的机理,是由于它含有类胡萝卜素发酵的前体物质番茄红素。番茄是价廉易得的果蔬,此结果具有重要的实用价值。

从图 2 可知,添加花生油对红酵母类胡萝卜素质量分数无明显作用,但对提高细胞生物量及发酵产率有一定的作用,当添加量为 1.2 mL/L 时,类胡

萝卜素产量比对照组提高 20.8%。花生油提高类胡萝卜素发酵水平的原因,可能是它与菌株的脂类代谢有关,加快了菌体的生长。

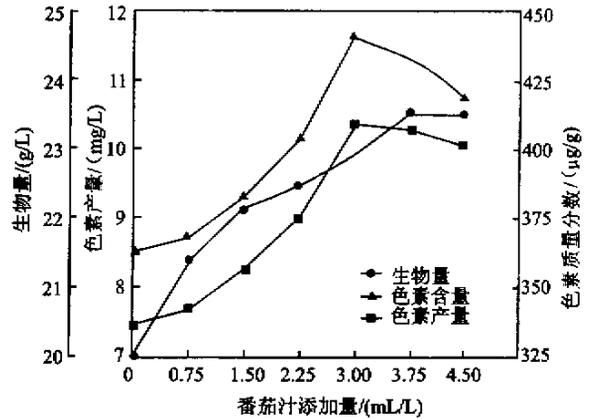


图 1 添加番茄汁对发酵的影响

Fig.1 The effects of tomatoecanut oil on the fermentation

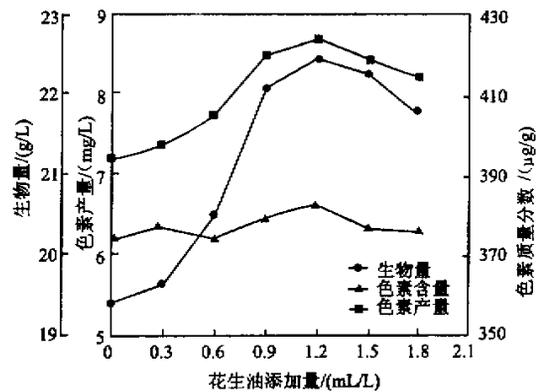


图 2 添加花生油对发酵的影响

Fig.2 The effects of pjuice on the fermentation

从图 3 可知,添加植酸明显抑制了红酵母生长及类胡萝卜素的合成,因而产量降低。这与有关资料所介绍的植酸可提高氨基酸和抗生素发酵产率的结果不同^[4]。作者拟改变添加剂浓度进一步研究。

从图 4 可知,适量添加 VB₁ 对生物量无显著影响,但可提高红酵母类胡萝卜素的质量分数,故对发酵产率也有一定的提高作用。其中当 VB₁ 添加量为 1.8 mg/L 时,类胡萝卜素产量可提高 13.3%。

从图 5 可知,适量添加 VB₂ (核黄素)对生物量、类胡萝卜素质量分数和产量均有一定的提高作用,其中当 VB₂ 添加量为 3.5 mg/L 时,类胡萝卜素产量比对照组提高 31.6%。VB₁ 和 VB₂ 促进发酵过程的机理可能是它们与代谢途径中的一些酶的活性有关。

从图 6 可知,添加 VC 对红酵母生物量、类胡

卜素质量分数和产量均有较大的影响,其总趋势是抑制细胞生长及类胡萝卜素的合成,这与刘月英等⁵⁾所报道的添加 VC 对红酵母类胡萝卜素发酵无明显影响的结果不同.作者将改变浓度和增加试验点作进一步探索.

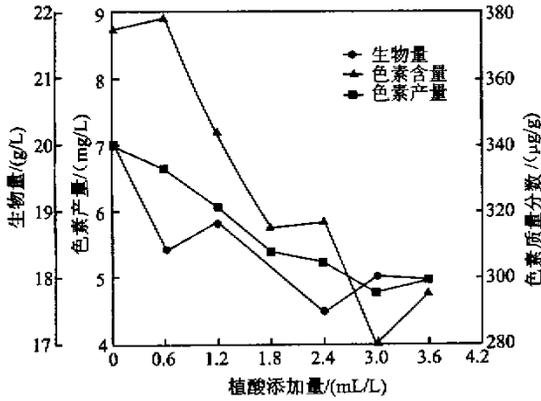


图 3 添加植酸对发酵的影响

Fig.3 The effects of phytic acid on the fermentation

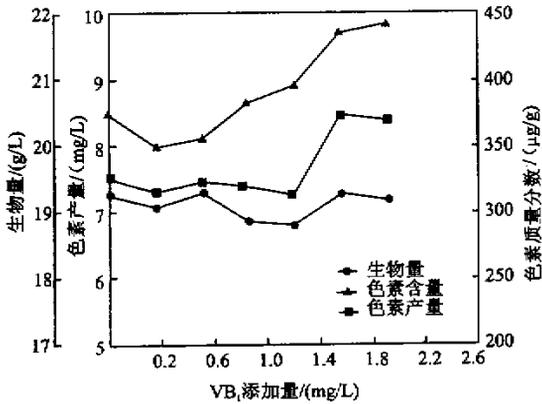


图 4 添加 VB₁ 对发酵的影响

Fig.4 The effects of VB₁ on the fermentation

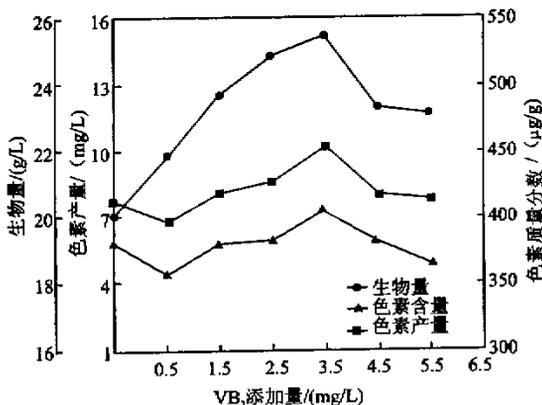


图 5 添加 VB₂ 对发酵的影响

Fig.5 The effects of VB₂ on the fermentation
万方数据

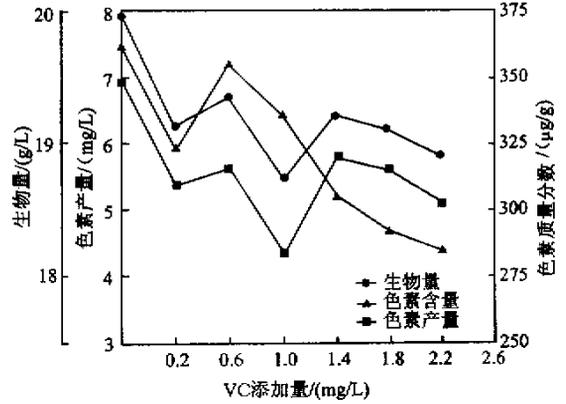


图 6 添加 VC 对发酵的影响

Fig.6 The effects of VC on the fermentation

综上所述,除植酸和 VC 外,番茄汁、花生油、VB₁ 和 VB₂ 4 种添加物均可作为发酵助剂,但根据其效果、成本和发酵配方从简的原则,选择效果较明显的番茄汁、花生油和核黄素作为发酵助剂,适宜的添加量根据实验结果分别确定为 3 mL/L、1.2 mL/L 和 3.5 mg/L.

2.2 发酵助剂的应用及发酵过程动态分析

在 YEPS 基础培养基中,同时添加番茄汁 (3 mL/L)、花生油 (1.2 mL/L) 和核黄素 (3.5 mg/L) 3 种发酵助剂进行试验,其结果列于表 1.

表 1 发酵助剂的应用效果

Tab.1 The results of using fermentation promotor

组别	细胞生物量/(g/L)	类胡萝卜素质量分数/(μg/g)	类胡萝卜素产量/(mg/L)
对照组	19.8	374.2	7.4
试验组	27.6	496.8	13.7

注:试验结果为 2 次试验均值.

从表 1 可知,同时添加番茄汁、花生油和核黄素 3 种助剂,可显著提高红酵母类胡萝卜素的发酵水平,其生物量、类胡萝卜素质量分数和产量可分别比对照组提高 39.4%、32.8% 和 85.1%.

图 7 是对试验组(添加发酵助剂)所作的发酵过程动态分析结果.从此图可以看出,细胞生物量、类胡萝卜素质量分数和产量分别在培养时间为 60、84 和 72 h 时达到最高值 27.6 g/L、496.8 μg/g 和 13.7 mg/L,同时酵母对糖的利用经 48 h 后基本结束.这说明,类胡萝卜素是菌体的次生代谢产物,大量形成于生长期结束和营养耗完之后.发酵液 pH 值在培养初期下降较快,以后下降趋势减慢,但在 48 h 后 pH 值开始回升,这是由菌体生长、自溶作用及产物氧化等因素决定的.综合各项指标,可以认为该菌适宜的发酵周期是 72 h 左右,过长则影响菌

体收率,并由于部分细胞自溶而使发酵液过滤困难,过短则影响菌体类胡萝卜素的合成,从而都影响产量。

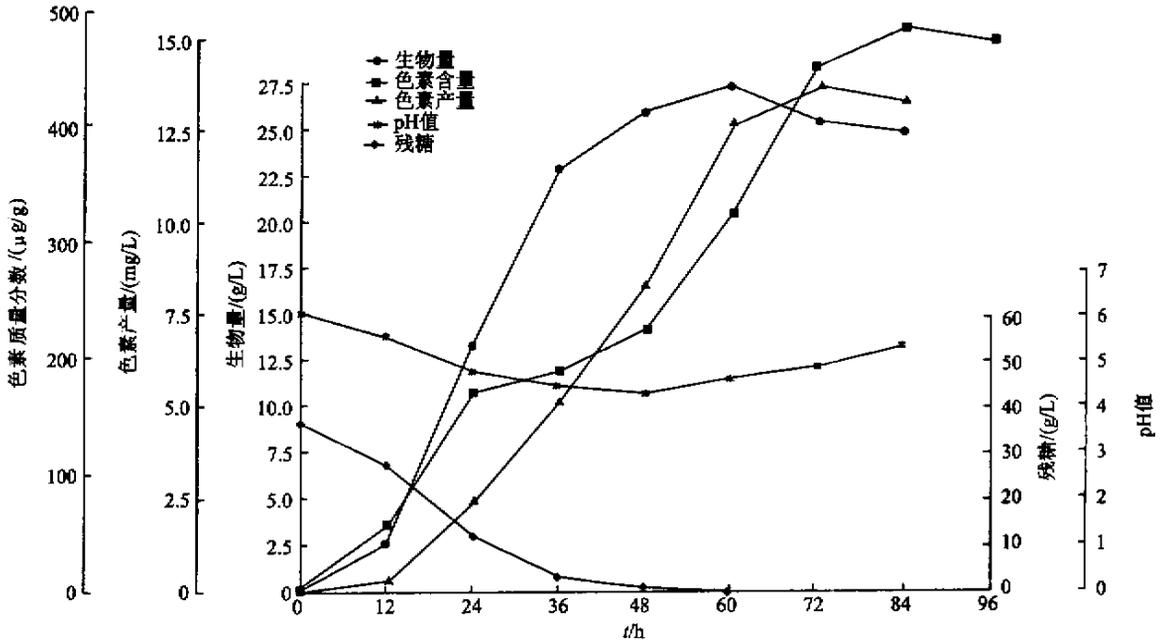


图7 发酵过程曲线

Fig.7 The analysis of fermentation course

3 结论与讨论

1) 在红酵母 RY-98 类胡萝卜素发酵过程中,添加番茄汁和花生油等作为发酵助剂可以大大促进细胞生长及其类胡萝卜素的合成,从而提高发酵产率.其中花生油主要起促进剂作用,番茄汁则同时具有促进剂和前体的作用,它们通过促进菌体生长或提供代谢前体物质而使发酵产物增产。

2) 不同的促进剂对发酵影响不同,其作用原理可能是影响酶活力或促进生长或改变细胞膜渗透性或抗氧化或抗金属离子作用及协同作用等;不同的前体也具有不同的增产效果,况且有些前体在发酵过程中由于不能影响产物生成速率而无效果.因此,对发酵助剂的选用必须反复探索,包括促进剂或前体种类的选择及适宜用量的确定、添加时间和次数等也需通过试验确定,并且选用的助剂必须效果明显、成本较低。

参考文献:

- [1] 王岁楼. 利用红酵母生产 β -胡萝卜素研究进展[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(2): 41-43.
- [2] 杨文. 一种简单的胞壁破碎方法[J]. 微生物学通报, 1995, 22(1): 58-59.
- [3] 王岁楼. β -胡萝卜素的生物合成与发酵促进剂[J]. 生物学杂志, 2000, 17(3): 4-5.
- [4] 钱铭镛. 发酵工程最优化控制[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1998.
- [5] 刘月英. 红酵母 COS-5 产胡萝卜素条件研究[J]. 微生物学通报, 1999, 26(3): 194-197.

(责任编辑 朱明, 秦和平)