

文章编号:1673-1689(2006)04-0029-08

法夫酵母中虾青素的稳定性研究

徐学明^{1,2}, 陈晓明³, 金征宇¹

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036; 2. 国家教育部食品科学与安全重点实验室, 江苏 无锡 214036; 3. 淮阴工学院 食品工程系, 江苏 淮阴 223001)

摘要:采用贮藏试验对碱法破壁酵母类胡萝卜素的稳定性进行了研究。结果表明,不同贮藏条件下,酵母色素连续以两个速度常数不同的一级方程进行降解($k_1 > k_2$)。第一个一级反应主要反映受损脂肪粒中类胡萝卜素的变化,第二个反应主要反映未受损脂肪粒中类胡萝卜素的变化。比较不同贮藏条件下的试验结果及各个动力学方程的速度常数,表明采用低温、避光、隔氧及添加抗氧化剂有利于提高酵母色素的存留率,而酵母水分($<12\%$)及矿物盐对之影响不大。

关键词:法夫酵母; 类胡萝卜素; 稳定性

中图分类号:Q 58

文献标识码: A

Stability of Astaxanthin from *Xanthophyllomyces dendrorhous* during Storage

XU Xue-ming^{1,2}, CHEN Xiao-ming³, JIN Zheng-yu¹

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Key Laboratory of Natural Ministry of Education on Food Science and Safety, Wuxi 214036, China; 3. Department of Food Science and Technology, Huaiyin Institute of Technology, Huaiyin 223001, China)

Abstract: Stability studies were conducted on astaxanthin (carotenoids) of the broken yeast with alkali process. The degradation kinetics of pigment could be described by two first order equations with two different rate constants. The initial first order reaction was faster, which corresponded to the rapid degradation of carotenoids in destroyed lipid globules. The second first order reaction was much lower, which was corresponding to slow loss of carotenoids in intact lipid globules. Comparing with the results and rate constants under different storage conditions, it was indicated that moisture ($<12\%$) and metal ions had less negative effect on degradation of pigment, but lower storage temperature, baffling light and oxygen, adding some antioxidants would be very useful to reduce the rate of loss of pigment in broken yeast.

Key words: *Xanthophyllomyces dendrorhous*; Carotenoids; Stability

虾青素, 3,3'-二羟基-4,4'-二酮基- β,β' -胡萝卜素, 是一种非维生素 A 源的类胡萝卜素。

它不仅具有很强的抗氧化性、抗肿瘤及增强免疫的生理功能, 而且拥有艳丽的粉红色及很强的色素沉

收稿日期: 2005-09-10; 修回日期: 2005-12-10.

基金项目: 国家科技成果转化项目 (2003320080467).

作者简介: 徐学明 (1968-), 男, 江苏苏州人, 副教授, 工学博士.

积能力,在食品、医药、化妆品及饲料等工业中具有很大的应用前景^[1]。但虾青素分子结构中含有 13 个共轭双键,是一种极不稳定的类胡萝卜素。可能同其它类胡萝卜素一样,极易受光、温度、水分、酸、碱、氧、金属离子等因素影响^[2]。然而真正研究虾青素稳定性的报道仅限于用虾壳提取虾青素时的因素影响^[3]及酶法破壁酵母虾青素添加于饲料中受挤压温度的影响^[4],而对虾青素单体及法夫酵母中以虾青素为主的类胡萝卜素稳定性的系统研究尚未见报道。

本文以碱法破壁酵母为对象,研究不同环境条件对破壁酵母中虾青素(类胡萝卜素)稳定性的影响,以寻求合理的贮藏条件,减少法夫酵母在使用过程中色素的损失。

1 材料与方法

1.1 破壁酵母

采用碱法破壁方法破壁^[5]。
50%破壁率的酵母:原发酵液浓缩至 60%的体积,调 pH 至 11.8,20℃处理 2 h,中和,离心洗涤,冷冻干燥。

80%破壁率的酵母:原发酵液调 pH 至 11.8,40℃处理 2 h,中和,离心洗涤,冷冻干燥。

1.2 主要试剂

FeSO₄·7H₂O、ZnSO₄·7H₂O、CuSO₄·5H₂O、MnSO₄·H₂O、CaCl₂·2H₂O 均为分析纯。

没食子酸丙酯(PG)、2,6—二叔丁基对甲酚(BHT)、叔丁基对羟基茴香醚(BHA)、叔丁基对苯二酚(TBHQ)均为食品级,1%乙氧基喹(EQ)为饲料级。

1.3 试验方法

1) 温度对色素的影响:等量的破壁率 80%破壁法夫酵母盛放于相同的瓶中,密闭蜡封,后将瓶放于避光的铁罐中,分别贮藏于不同温度的烘箱中。

2) 光对色素的影响:等量的破壁率 80%破壁法夫酵母盛放于相同的瓶中,密闭蜡封,置于实验室中室温贮藏。其中一组瓶用复合铝箔密封避光。

3) 氧气对色素的影响:等量的破壁率 80%破壁法夫酵母盛放于相同的瓶中,试验分 3 组,第 1 组瓶密闭蜡封,第 2 组瓶用纱布封口,第 3 组瓶充氮。置于避光的铁罐中,贮藏于 25℃的烘箱中。

4) 水分对色素的影响:破壁率 80%破壁法夫酵母。根据原料水分,添加定量水调至含水质量分数为 8%,12%,5℃冰箱内平衡 24 h 后,称样装瓶,密闭蜡封,贮藏于 25℃的烘箱中。

5) 矿物盐的影响:试验样品中金属离子质量分数为 100 mg/kg,所用矿物盐均在 160℃下烘至恒重,研磨至全通 80 目。密闭蜡封,贮藏于 25℃的烘箱中。

6) 抗氧化剂的影响:EQ 直接同酵母混合。其余抗氧剂均溶解在无水乙醇中形成 10%溶液,然后定量滴加、混合至样品中,密封,5℃冰箱过夜,25℃下真空脱溶 1 h,最后密闭蜡封,贮藏于 25℃的烘箱中。各种抗氧化剂的添加质量分数均为 100 mg/kg。

1.4 类胡萝卜素的测定

二甲亚砷法^[6]。

1.5 电镜照相

5X-40 扫描电镜。碱处理或未处理酵母用 pH

7.2 磷酸缓冲溶液洗涤,浸泡。

1.6 分析方法

Microsoft excel 2000 学生 t-检验单尾双样本等方差假设检验。

2 结果与讨论

2.1 酵母色素降解动力学方程的求解方法

2.1.1 酵母色素降解动力学方程的建立 在一定温度下贮藏时,酵母中类胡萝卜素的降解可以认为是一种化合物的分解反应,其化学反应式可以表示为:

$$nCar \rightarrow aA + bB + cC + \cdots \quad (1)$$

式(1)中,Car 为类胡萝卜素,A,B,C……为类胡萝卜素分解产物,n,a,b,c……为类胡萝卜素及其降解产物相对应的计量式系数。

由式(1)可知,类胡萝卜素在贮藏过程中浓度(Ccar)同贮藏时间(t)的关系满足如下方程:

$$-dCcar/dt = kCcar^n \quad (2)$$

式(2)中,k 为速度常数,n 为反应级数。由物理化学常识可知:1)对于一个确定的化学反应,温度一定时,k 与 n 均是常数,与反应物浓度无关;2)同一温度下,比较几个反应的速度常数,可以大略知道它们反应能力的大小,k 越大则反应越快,这可由 k 计算阿累尼乌斯活化能 Ea 得以论证;3)反应级数越大,则反应速度随浓度变化越剧烈,对不同条件下的反应,当初始浓度相同时,级数越大,反应速度随浓度下降得越快,因而降至相同的反应物浓度所需的时间越长(求半衰期即可)。

由此,研究酵母类胡萝卜素的变化,可以由不同贮藏条件下类胡萝卜素降解的动力学方程求出相应的 k 与 n,通过比较 k,n 的大小或计算相应的反应活化能与半衰期,从本质上来说明不同条件下

类胡萝卜素稳定性的差异,为最终确定酵母色素稳定化的条件提供理论依据。

2.1.2 微分法求解速度常数与反应级数 对方程

(2)两边取对数,即得:

$$\lg(-dC_{car}/dt)=\lg k+n\lg C_{car} \tag{3}$$

因一定温度下, k,n 为常数,因此 $\lg(-dC_{car}/dt)-\lg C_{car}$ 呈直线关系,直线斜率 n 即为反应级数。所以,要求 n 可根据实验所得类胡萝卜素浓度同贮藏时间的 $C_{car}-t$ 曲线求出相应的 $C_{car}=f(t)$ 动力学方程,再由方程求出不同 t 时对应的 C_{car} 及其相应的斜率 dC_{car}/dt (由方程 $C_{car}=f(t)$ 的一阶导数求得),然后再将各不同 C_{car} 和对应的 $-dC_{car}/dt$ 取对数,绘成直线,则按方程(3)可得直线斜率 n 及截距 $\lg k$,由此求知速度常数 k 与反应级数 n 。

当 $n=1$,即反应为一级反应时,方程(2)为:
 $-dC_{car}/dt=kC_{car}$,

积分可得, $C_{car}=C_0 e^{-kt}$ (注: C_0 为酵母开始贮藏时色素浓度)

即: $\ln C_{car}=-kt+\ln C_0$

所以, $\ln C_{car}$ 对 t 作图可得一直线,而不必用上述微分法求解。此时直线斜率为 $-k$,半衰期 $t_{1/2}=$

$\ln 2/k$,与初始浓度无关。

因为类胡萝卜素吸光度 A 同对应类胡萝卜素浓度呈正比,故 C_{car},C_0 可用吸光度 A,A_0 表示。

2.1.3 温度对酵母色素的影响 表 1 是在贮藏过程中不同温度对 80%破壁酵母色素变化的实验结果。对实验数据进行 $\ln A-t$ 作图(见图 1),发现不同温度下酵母色素变化均可用两个不同的 $\ln A-t$ 线性方程表示(见表 2),由此表明,在同一温度下,试验期内酵母色素降解动力学是由两个速度常数不同的一级反应方程构成的。

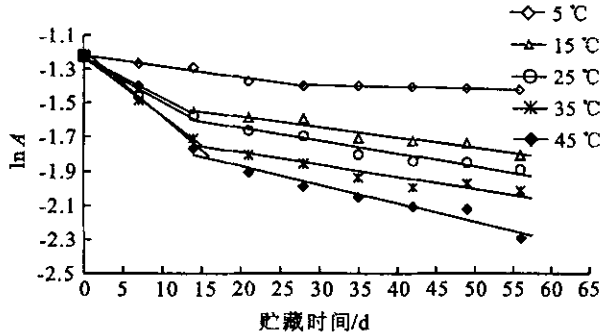


图 1 温度对酵母色素的影响

Fig. 1 Effect of temperature on stability of carotenoids from yeast during storage

表 1 贮藏温度对酵母色素稳定性的影响

Tab. 1 Effect of temperature on stability of carotenoids from yeast during storage

温度/ ℃	贮藏时间/d								
	0	7	14	21	28	35	42	49	56
5	0.295	0.281	0.275	0.253	0.247	0.247	0.245	0.243	0.241
15	0.295	0.243	0.211	0.204	0.203	0.181	0.178	0.176	0.164
25	0.295	0.232	0.207	0.189	0.184	0.165	0.158	0.157	0.151
35	0.295	0.226	0.181	0.164	0.156	0.144	0.136	0.139	0.134
45	0.295	0.247	0.171	0.149	0.137	0.129	0.122	0.120	0.101

表 2 不同温度下酵母色素降解动力学方程

Tab. 2 Kinetic equations of degradation of carotenoids from yeast at different temperature

贮藏 温度/℃	$t_c/$ d	t_c 时色素 存留率/%	贮藏 时间/d	动力学方程		降解速度 常数 k/d	$t_{1/2}$ 计算 值/d	实际 $t_{1/2}/d$	实验期色素 存留率/%
				$\ln A=-kt+\ln A_0$	R^2				
5	28	83.6	$t < t_c$	$Y=-0.006\ 6X-1.218\ 8$	0.966 0	0.006 6	105		81.7
			$t > t_c$	$Y=-0.000\ 9X-1.368\ 9$	0.940 6	0.000 9	770		
15	14	71.9	$t < t_c$	$Y=-0.023\ 9X-1.229\ 6$	0.991 8	0.023 9	29		55.6
			$t > t_c$	$Y=-0.006\ 0X-1.464\ 6$	0.943 2	0.006 0	116		
25	14	68.4	$t < t_c$	$Y=-0.025\ 3X-1.241\ 8$	0.959 4	0.025 3	27		51.2
			$t > t_c$	$Y=-0.007\ 5X-1.499\ 3$	0.938 9	0.007 5	92		
35	15	58.9	$t < t_c$	$Y=-0.034\ 9X-1.227\ 7$	0.997 6	0.034 9	20	35	45.4
			$t > t_c$	$Y=-0.007\ 0X-1.652\ 7$	0.903 5	0.007 0	99		
45	16	54.9	$t < t_c$	$Y=-0.039\ 2X-1.188\ 6$	0.960 3	0.039 2	18	21	34.2
			$t > t_c$	$Y=-0.010\ 8X-1.655\ 5$	0.950 0	0.010 8	64		

注: t_c 为第二个一级反应方程开始的时间。动力学方程中 Y,X 分别代表单位质量酵母色素的吸光度与对应的贮藏时间,以

下同。

比较表 2 的速度常数可以看出,①同一温度下第二个一级反应的速度常数 k_2 均小于第一个速度常数 k_1 ,说明随着贮藏时间的延长,酵母色素降解速度变慢;②无论是第一个一级反应还是第二个一级反应,其对应速度常数随温度升高均呈增大趋势,尤其是 k_1 呈级差变大,说明酵母色素的降解速度随贮藏温度的升高而变快,低温贮藏对提高酵母色素的存留率十分有效。统计分析表明,贮藏 28 d 时,贮藏温度对酵母色素存留率的影响差异十分显著($P<0.05$)。

如果不同温度下酵母色素降解的历程相同,即降解产物一样,则由上述各反应的速度常数 k 算出不同温度之间的表观活化能应该相同。而事实上由阿累尼乌斯方程 $\ln(k_2/k_1)=-E_a/R(1/T_1-1/T_2)$ (这里, R 为气体常数 $8.314\text{ J/mol}\cdot\text{K}$, T 为绝对温度,等于 $273.15+t\text{K}$)分别计算不同温度间两个反应方程的活化能时,发现差异很大,这个结果

表 3 不同温度下酵母色素降解动力学方程(微分法)

Tab. 3 Kinetic equations of degradation of carotenoids from yeast at different temperature by differential calculus							
贮藏 温度/ $^{\circ}\text{C}$	A-t 动力学方程		$\lg(-dC_{\text{car}}/dt)-\lg C_{\text{car}}$ 方程		n	k	
	方程	R^2	方程	R^2			
5	$A=2E-05t^2-0.002\ 3t+0.295\ 8$	0.97	$Y=5.847\ 5X+0.534\ 9$	0.93	5.85	3.43	
15	$A=5E-05t^2-0.004\ 5t+0.281\ 3$	0.94	$Y=2.737\ 2X-0.804\ 2$	0.95	2.74	0.16	
25	$A=6E-05t^2-0.005\ 4t+0.280\ 9$	0.96	$Y=2.069\ 0X-1.103\ 0$	0.96	2.07	0.08	
35	$A=8E-05\ t^2-0.007\ 0t+0.279\ 8$	0.96	$Y=1.636\ 2X-1.220\ 0$	0.96	1.64	0.06	
45	$A=9E-05\ t^2-0.007\ 8t+0.287\ 3$	0.96	$Y=1.484\ 4X-1.275\ 8$	0.96	1.48	0.05	

注:①Y 代表 $\lg(-dC_{\text{car}}/dt)$;X 代表 $\lg C_{\text{car}}$;各温度下 k 的单位为 $(\mu\text{g 类胡萝卜素/g 干酵母})^{1-n}\cdot(\text{d})^{-1}$, n 为对应温度下的反应级数。②反应级数 n 及速度常数 k 适用于贮藏时间小于 40 d。

2.2 光对酵母色素的影响

理论上认为,光对类胡萝卜素有二种作用效应,其一是形成顺反双键,使电磁波谱向蓝端漂移 2~10 nm;其二是加速类胡萝卜素链的氧化,呈色基团降解断裂,光谱向紫外区漂移,并且失去颜色。不同光对类胡萝卜素的降解促进作用不同,就 β -胡萝卜素而言,紫外光照射引起的降解比蓝光快^[2]。由此说明光对色素作用的复杂性。

图 2 是室温下破壁法夫酵母在密闭贮藏过程中自然光照对其色素的影响。由于室温及太阳光的可变性,因此从动力学角度无法研究酵母色素的降解方程,但其实验方法对于富含虾青素法夫酵母作为食品或饲料添加剂应用时具有实际意义。由图可见,无论是避光或自然光照,酵母色素含量在贮藏过程中均随贮藏时间延长而降低。两种条件下下降趋势方数据在试验期的前 30 d 内下降速率较

说明不同温度下酵母色素降解的历程可能不同。这种差别也可能受不同温度下酵母内其他物质的生化反应影响。

表 3 是由实验数据所得 A-t 曲线,通过微分法直接求取的动力学方程,尽管比较求得的 n 或通过 k 计算活化能也能得到上述结论,但 $\lg(-dC_{\text{car}}/dt)-\lg C_{\text{car}}$ 方程的适应范围(相关性 R^2)是贮藏时间小于 40 d。由此说明这种描述的客观性及应用范围比上述两个一级方程的描述要差。

酵母内色素降解的动力学为两个不同速度的一级反应,这种结果可能同酵母内色素不同的存在状态有关。法夫酵母中虾青素等类胡萝卜素存在于脂肪粒中,一定条件下的碱处理,尽管在处理过程中色素损失较少,但不可避免地使细胞内部分脂肪粒在破壁过程中受损,从而破坏了色素存在的天然环境。这部分受损脂肪粒内的色素在贮藏中的稳定性将比未受损脂肪粒内的色素来得差。

大。但光对色素的降解具有促进作用。例如,贮藏至 28 d 时,避光条件下色素损失了 22.4%,而光照下损失率为 28.8%,两者差异十分显著($P<0.05$)。因此实际应用中应避光且尽量缩短贮存期。

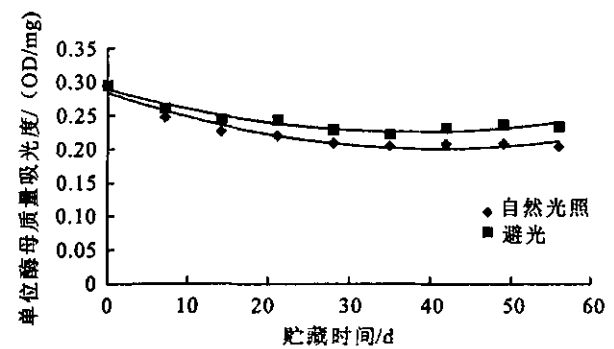


图 2 自然光对法夫酵母色素的影响
Fig. 2 Effect of sun light on stability of carotenoids from yeast

2.3 氧气对酵母色素的影响

氧与类胡萝卜素之间主要通过氧化反应使类胡萝卜素降解,这种反应包括自动氧化、光敏感氧化、化学氧化等不同类型,机理十分复杂^[2]。图 3 是 25 ℃ 恒温条件下不同贮藏方式中氧气对酵母色素影响的 $\ln A-t$ 图。由图所得动力学方程及相应参数见表 4。从酵母色素降解的趋势看,充氮贮藏好于蜡封,不密封贮藏色素损失速度最快。比较蜡封与充氮条件下的速度常数可以看出,充氮贮藏使酵母色素在第一阶段的降解速度比蜡封贮藏降低了一倍,而第二阶段的降解速度只有蜡封时的五分之一,由此可见隔氧能有效降低贮藏过程中色素的损失。敞开贮藏与蜡封相比,两者色素降解速度相差不大,这种结果可能受实验用瓶体积不大,蜡封贮藏时未抽真空及每次取样后瓶内氧气浓度相对增大这些因素影响。统计分析表明,贮藏至 28 d 时,敞开与蜡封间色素存留率差异不显著($P>0.1$),但充氮分别与敞开和蜡封相比,色素存留率的提高较明显($P<0.1$)。

在研究氧气对色素的影响时,Chen 等(1982)研

究表明,石油醚溶解的虾青素在 25 ℃ 的变化曲线为自动氧化起主导的 Sigmoid 曲线,即虾青素降解存在一个速度较慢的诱导期,而后降解速度加快,最后速度又趋缓慢^[7]。本实验敞开状态下的降解同密闭与充氮条件下一样,为不同降解速率的两个一级方程,这种差异可能跟法夫酵母色素存在于脂肪粒中相关。因为油是一种很好的阻氧剂,事实上 Chen 等(1982)研究豆油为溶剂的虾青素稳定性时,色素降解趋势同本实验也相似^[7]。

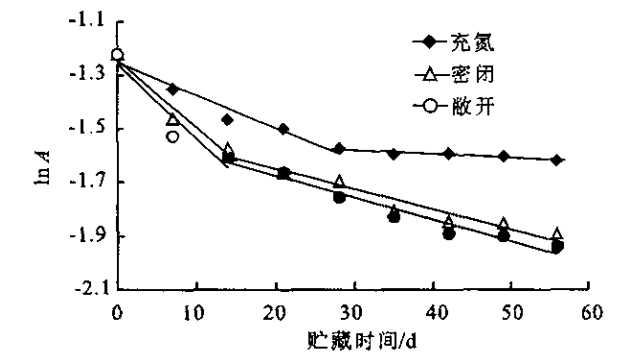


图 3 氧气对酵母色素的影响

Fig. 3 Effect of oxygen on stability of carotenoids from yeast

表 4 不同氧浓度下酵母色素降解动力学方程

Tab. 4 Kinetic equations of degradation of carotenoids from yeast under different oxygen concentration

	$t_c/$ d	t_c 时色素 存留率/%	贮藏 时间/d	动力学方程		降解速度 常数 k/d	$t_{1/2}$ 计算 值/d	实验期色素 存留率/%
				$\ln A = -kt + \ln A_0$	R^2			
蜡封	14	68.4	$t < t_c$	$Y = -0.025\ 3X - 1.241\ 8$	0.959 4	0.025 3	27	51.2
			$t > t_c$	$Y = -0.007\ 5X - 1.499\ 3$	0.938 9	0.007 5	92	
充氮	27	69.8	$t < t_c$	$Y = -0.012\ 3X - 1.250\ 9$	0.956 3	0.012 3	56	67.1
			$t > t_c$	$Y = -0.001\ 4X - 1.538\ 3$	0.926 4	0.001 4	495	
敞开	13	63.2	$t < t_c$	$Y = -0.027\ 8X - 1.258\ 4$	0.899 1	0.027 8	25	48.8
			$t > t_c$	$Y = -0.008\ 1X - 1.514\ 6$	0.956 7	0.008 1	86	

2.4 水分对酵母色素的影响

图 4 是不同含水量酵母在贮藏过程中色素变化的 $\ln A-t$ 图,对应的动力学方程及相关计算值见表 5。由图表可见,酵母降解速率随原料水分增加存在速度增大的趋势,但增加不明显,特别是 5% 和 8% 水分样间差别很小。贮藏至 28 d 时,3 种水分酵母色素的存留率差异不显著($P>0.1$)。这种结果也可能是酵母色素为脂溶性,且存在于脂肪粒中的缘故。

2.5 矿物盐对酵母色素的影响

金属离子,特别是过渡金属离子如 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 等具有催化氧化或在最高化合价状态下起氧化触发的作用,它们的存在将加速油脂的氧化^[8]。因此金属离子的存在可能对酵母色素的稳定性有影

响。图 5、表 6 是不同矿物盐存在下酵母色素在贮藏过程中变化的 $\ln A-t$ 图及相应的降解动力学方程。实验结果及动力学方程可以看出,无论是降解过程的第一个一级反应还是第二个一级反应,添加不同矿物盐对酵母色素稳定性的影响不明显(贮藏时,与对照组相比,差异均不显著($P>0.1$))。这可能归因于:①添加的是固态矿物盐;②酵母含水量较低;③碱处理后酵母仍基本保持未破壁前的形状(见图 6),从而导致金属以游离离子的形式同酵母脂肪粒及色素接触的可能性很小。由此表明当将碱破壁法夫酵母作为食品或饲料添加剂时,只要控制酵母自身及产品整体的水分,则产品(如饲料预混料)中矿物盐对色素的影响不会太大。

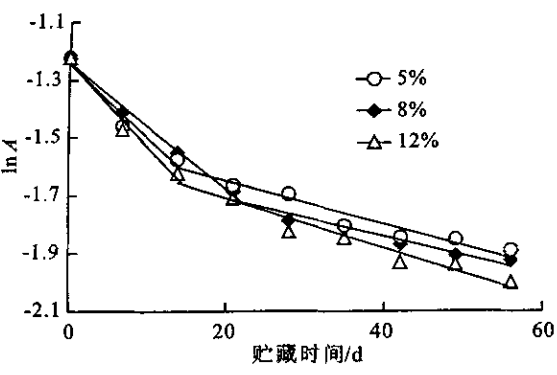


图 4 水分对酵母色素的影响

Fig. 4 Effect of moisture content of yeast on stability of carotenoids from yeast

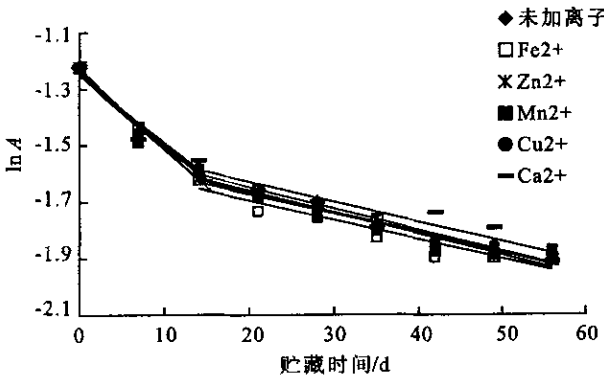


图 5 矿物盐对酵母色素的影响

Fig. 5 Effect of different metal ions on stability of carotenoids from yeast

表 5 不同含水量酵母色素降解动力学方程

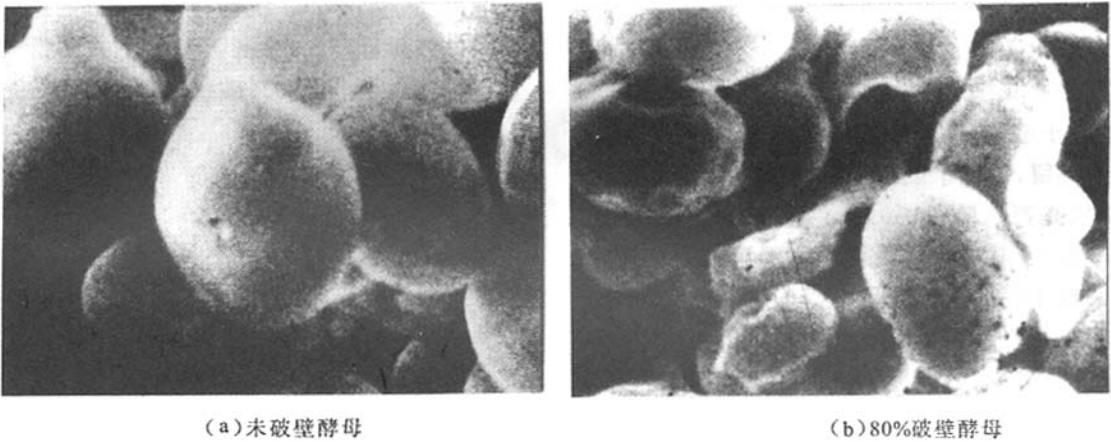
Tab. 5 Kinetic equations of degradation of carotenoids from yeast with different moisture content

水分质量 分数/%	t_c / d	t_c 时色素 存留率/%	贮藏 时间/d	动力学方程		降解速度 常数 k /d	$t_{1/2}$ 计算 值/d	实验期色素 存留率/%
				$\ln A = -kt + \ln A_0$	R^2			
5	14	68.4	$t < t_c$	$Y = -0.0253X - 1.2418$	0.9594	0.0253	27	51.2
			$t > t_c$	$Y = -0.0075X - 1.4993$	0.9389	0.0075	92	
8	22	60.7	$t < t_c$	$Y = -0.0220X - 1.2366$	0.9930	0.0220	35	49.2
			$t > t_c$	$Y = -0.0066X - 1.5775$	0.9459	0.0066	105	
12	14	64.5	$t < t_c$	$Y = -0.0288X - 1.2376$	0.9796	0.0288	24	45.8
			$t > t_c$	$Y = -0.0087X - 1.5365$	0.9505	0.0087	77	

表 6 不同矿物盐对酵母色素降解动力学的影响

Tab. 6 Effect of different metal ions on kinetic equations of degradation of carotenoids from yeast

矿物盐 种类	t_c / d	t_c 时色素 存留率/%	贮藏 时间/d	动力学方程		降解速度 常数 k /d	$t_{1/2}$ 计算 值/d	实验期色素 存留率/%
				$\ln A = -kt + \ln A_0$	R^2			
未加	14	68.4	$t < t_c$	$Y = -0.0253X - 1.2418$	0.9594	0.0253	27	51.2
			$t > t_c$	$Y = -0.0075X - 1.4993$	0.9389	0.0075	92	
FeSO ₄	15	64.5	$t < t_c$	$Y = -0.0267X - 1.2488$	0.9369	0.0267	26	50.8
			$t > t_c$	$Y = -0.0068X - 1.5778$	0.8621	0.0068	102	
ZnSO ₄	14	67.1	$t < t_c$	$Y = -0.0285X - 1.2253$	0.9980	0.0285	24	50.5
			$t > t_c$	$Y = -0.0076X - 1.5092$	0.9591	0.0073	95	
CuSO ₄	14	65.7	$t < t_c$	$Y = -0.0271X - 1.2450$	0.9538	0.0271	26	50.8
			$t > t_c$	$Y = -0.0068X - 1.5371$	0.9467	0.0068	102	
MnSO ₄	14	67.0	$t < t_c$	$Y = -0.0263X - 1.2381$	0.9741	0.0263	26	52.2
			$t > t_c$	$Y = -0.0071X - 1.5237$	0.9196	0.0071	98	
CaCl ₂	14	69.8	$t < t_c$	$Y = -0.0239X - 1.2508$	0.9121	0.0239	29	50.2
			$t > t_c$	$Y = -0.0070X - 1.4896$	0.8792	0.0070	99	



(a)未破壁酵母 (b)80%破壁酵母

图 6 不同条件下酵母扫描电镜图

Fig. 6 Scanning electron micrographs of yeast with different processes

2. 6 添加抗氧化剂对酵母色素的影响

图 7、表 7 是添加不同抗氧化剂后酵母色素在贮藏过程中变化的 $\ln A-t$ 图及相应的动力学方程。实验结果表明,没食子酸丙酯(PG)对色素降解无效,乙氧基喹(EQ)效果不明显(类似于矿物盐,可能同添加物为固态有关),而其他 3 种抗氧剂均能降低色素降解中两个阶段的速度常数,特别是第一阶段, k_2 下降幅度在 40% 以上。这说明添加特定的抗氧化剂有利于提高酵母色素的稳定性,特别是对延缓受损脂肪粒中色素的降解效果更明显。比较不同抗氧剂之间的差异,以叔丁基对羟基茴香醚(BHA)效果最佳(贮藏时,与对照组相比,BHA 对色素存留率的提高差异极显著($P<0.05$))。添加 100 ppm 的 BHA 能使酵母色素降解速度常数由第一个一级方程的 0.025 3/d 下降至 0.016 1/d,由第二个一级方程的 0.007 5/d 下降到 0.001 9/d,贮

藏期内色素存留率提高了 29%。BHA 对类胡萝卜素的这种保护作用在虾壳提取虾青素的试验中也有报道^[3]。

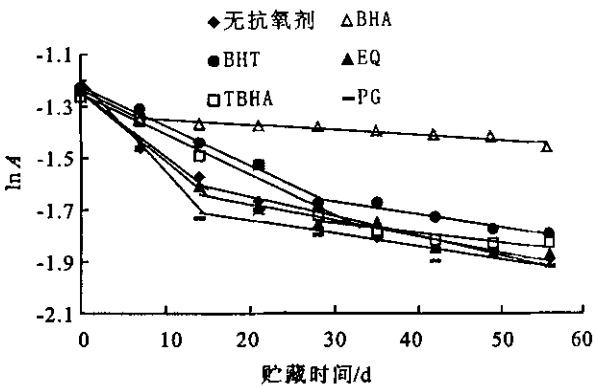


图 7 抗氧化剂对酵母色素的影响

Fig. 7 Effect of Antioxidants on stability of carotenoids from yeast

表 7 不同抗氧化剂对酵母色素降解动力学的影响

Tab. 7 Effect of antioxidants on kinetic equations of degradation of carotenoids from yeast

抗氧化剂种类	t_c/d	t_c 时色素存留率/%	贮藏时间/d	动力学方程		降解速度常数 k/d	$t_{1/2}$ 计算值/d	实验期色素存留率/%
				$\ln A = -kt + \ln A_0$	R^2			
未加	14	68.4	$t < t_c$	$Y = -0.025\ 3X - 1.241\ 8$	0.959 4	0.025 3	27	51.2
			$t > t_c$	$Y = -0.007\ 5X - 1.499\ 3$	0.938 9	0.007 5	92	
BHA	7	90.0	$t < t_c$	$Y = -0.016\ 1X - 1.234\ 4$	1.000 0	0.016 1	43	80.1
			$t > t_c$	$Y = -0.001\ 9X - 1.333\ 0$	0.923 2	0.001 9	365	
BHT	28	65.8	$t < t_c$	$Y = -0.015\ 3X - 1.222\ 2$	0.986 2	0.015 3	45	57.8
			$t > t_c$	$Y = -0.004\ 8X - 1.523\ 5$	0.937 0	0.004 8	144	
EQ	15	66.7	$t < t_c$	$Y = -0.026\ 8X - 1.244\ 6$	0.991 3	0.026 8	26	52.9
			$t > t_c$	$Y = -0.006\ 2X - 1.554\ 6$	0.923 3	0.006 2	112	
TBHA	33	60.8	$t < t_c$	$Y = -0.015\ 7X - 1.250\ 5$	0.964 5	0.015 7	44	56.9
			$t > t_c$	$Y = -0.003\ 6X - 1.641\ 5$	0.807 9	0.003 6	193	
PG	14	64.3	$t < t_c$	$Y = -0.035\ 8X - 1.194\ 0$	0.938 6	0.035 8	19	50.3
			$t > t_c$	$Y = -0.005\ 0X - 1.639\ 7$	0.849 9	0.005 0	139	

2.7 破壁率对酵母色素的影响

图 8、表 8 是不同破壁程度的酵母在贮藏过程中色素变化的 $\ln A-t$ 图及相应的动力学方程。实验表明:①对于破壁酵母而言,降低破壁率有利于酵母色素的存留,但整个贮藏过程中降解动力学趋势一致,特别是第二阶段,50%与 80%破壁率酵母色素的速度常数相差很小,说明同一温度下第二阶段色素的降解主要取决于酵母本身内在的生化变化;②对于酵母色素降解的第一个阶段,50%破壁率的 t_c 比 80%破壁率的 t_c 缩短了一半,而未破壁酵母则不存在第一个阶段,这一点不仅进一步证明了前面酵母色素降解“二段论”的正确性,同时也表明碱法破壁时,破壁率增加将使更多的脂肪粒受损。试验中未破壁酵母色素降解的速度常数比破壁酵母第二个阶段的大,这种情况可能同未破壁酵母的生理活性比破壁酵母强有关,因为试验用酵母为未经灭

活的冷冻干燥样品。统计分析表明,贮藏 28 d 时,与未破壁酵母相比,50%破壁率色素的损失差异不显著($P>0.1$),但 80%破壁时,色素损失显著($P<0.05$)。

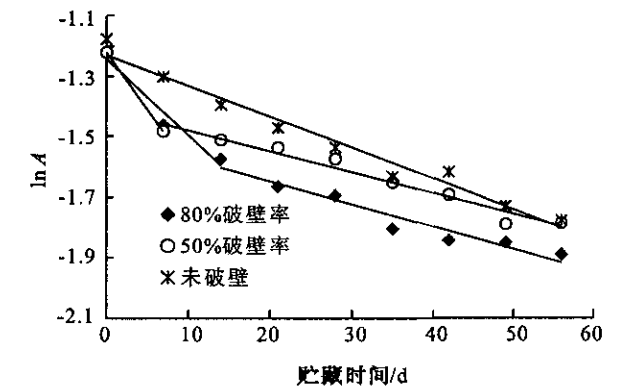


图 8 破壁程度对酵母色素的影响
Fig. 8 Effect of disruption degree for yeast on stability of carotenoids

表 8 不同破壁率酵母色素降解动力学方程

Tab. 8 Kinetic equations of degradation of carotenoids from yeast with different degree of disruption								
水分质量 分数/%	t_c / d	t_c 时色素 存留率/%	贮藏 时间/d	动力学方程		降解速度 常数 k /d	$t_{1/2}$ 计算 值/d	实验期色素 存留率/%
				$\ln A = -kt + \ln A_0$	R^2			
80	14	68.4	$t < t_c$	$Y = -0.025\ 3X - 1.241\ 8$	0.959\ 4	0.025\ 3	27	51.2
			$t > t_c$	$Y = -0.007\ 5X - 1.499\ 3$	0.938\ 9	0.007\ 5	92	
50	7	78.7	$t < t_c$	$Y = -0.037\ 4X - 1.220\ 8$	1.000\ 0	0.037\ 4	19	56.9
			$t > t_c$	$Y = -0.006\ 9$	$X - 1.411\ 1$	0.964\ 5	0.006\ 9	100
0	0	-	$t < t_c$	$Y = -0.010\ 2X - 1.229\ 4$	0.972\ 4	0.010\ 2	68	54.9
			$t > t_c$					

3 结 语

以虾青素为主要色素的法夫酵母,其色素稳定性受贮藏温度、光照强度、氧气、金属离子、酵母含水量及其破壁程度等因素影响。不同贮藏条件下,酵母色素以两个速度常数不同的一级方程的形式

降解($k_1 > k_2$)。第一个一级反应主要反映受损脂肪粒中类胡萝卜素的变化,第二个反应主要反映未受损脂肪粒中类胡萝卜素的变化。采用低温、避光、隔氧及添加抗氧化剂有利于提高酵母色素的存留率,而酵母水分($<12\%$ 时)及矿物盐对之影响不大。

参考文献:

[1] 徐学明,金征宇,刘当慧等,法夫酵母产虾青素的摇瓶工艺[J],无锡轻工大学学报,2000,19(3):230—235.
[2] 王业勤,李勤生.天然类胡萝卜素——研究进展、生产、应用[M].北京:中国医药科技出版社,1997.
[3] Chem H M, Meyers S P. Extraction of astaxanthin pigment from crawfish waste using a soy oil process[J]. J Food Sci, 1982,47:892—896,900.
[4] Storebakken T, Sorensena M, Bjerkeng B, et al. Stability of astaxanthin from red yeast, *Xanthophyllomyces dendrorhous*, during feed processing: effects of enzymatic cell wall disruption and extrusion temperature[J]. Aquaculture, 2004,231:489—500.
[5] 陈晓明,徐学明,金征宇.法夫酵母的碱法破壁[J],淮阴工学院学报,2000,9(4):24—29.
[6] James S J, Weerasinghe D K, Jolly S O. Extraction and Quantitation astaxanthin from Phaffia rhodozymy [J]. Biotechnology Techniques, 1990,4(2):107—112.
[7] Chen H M, Meyer S P. Effect of autoxidants on stability of astaxanthin pigment in crawfish waste and oil extract[J]. J Agric Food Chem, 1982,30:469—473.
[8] Swern 万力雄.油脂化学与工艺学[M],秦洪万主译,北京:轻工业出版社,1989.

(责任编辑:杨 萌)