

适用于黄酒米浆水处理的酵母菌的筛选

孙士勇¹, 曹钰^{*1,2}, 陆健^{1,3}, 蔡国林³, 马素梅¹

(1. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 3. 江南大学 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: 在黄酒酿造中浸米工序产生大量的米浆水,其 pH 低但营养丰富,COD 含量很高,直接进行废水处理造成较高的环保成本负担。为回收利用米浆水资源,从环境中分离了 108 株产色素酵母菌,以 pH 3.5 培养时的生物量和色素产量为指标,筛选到 5 株较优酵母菌,进一步考察在米浆水中培养的细胞数,色素产量和 COD 降解率,最终筛选得到菌株 R-70。根据菌株形态和生理学特征以及 26S rDNA 序列分析,鉴定为近玫色锁掷酵母(*Sporidiobolus pararoseus*)。R-70 菌株在米浆水中的发酵实验结果显示:随着培养时间的增加,pH 值和氨态氮质量浓度不断升高。培养 36 h 酵母数达到最大 $7.8 \times 10^7/\text{mL}$,色素量在 44 h 达到 5.26 mg/L,44 h COD 去除率达到最大 91.12%,是一株性能良好的酸浆水利用菌株。

关键词: 米浆水;近玫色锁掷酵母;筛选;黄酒

中图分类号: Q 81 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2018)03-0316-07

Screening of Yeast Suitable for Seriflux Treatment in Chinese Rice Wine

SUN Shiyong¹, CAO Yu^{*1,2}, LU Jian^{1,3}, CAI Guolin³, MA Sumei¹

(1. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Seriflux is the by-product of the Chinese rice wine production, which has rich in nutrient with low pH. Direct wastewater treatment process of seriflux caused great economic burden because of the high COD and failed to utilize nutrient. For recycling the seriflux, 108 yeast strains were isolated from the environment. According to the biomass and pigment production of the red yeast cultured in pH 3.5 medium, 5 red yeasts with better characteristics were selected. Further study on cell population, pigment content and COD degradation rate of the yeast inoculated in seriflux, strain R-70 was screened as the suitable yeast. According to the morphological and physiological characteristics, combined with 26S rDNA sequence analysis result, R-70 was identified as *Sporidiobolus pararoseus*. Fermentation experiments of R-70 in seriflux showed that pH and the amount of ammonia nitrogen increased with during the culture process. The number of yeasts cells

收稿日期: 2015-10-08

基金项目: 江苏省高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)。

* 通信作者: 曹钰(1971—),女,江苏泰兴人,工学硕士,副教授,硕士研究生导师,主要从事传统酿造的机理及相关微生物、酶和资源化研究。E-mail:tsaoy5@jiangnan.edu.cn

引用本文: 孙士勇,曹钰,陆健,等. 适用于黄酒米浆水处理的酵母菌的筛选[J]. 食品与生物技术学报,2018,37(03):316-322.

reached the maximum $7.8 \times 10^7/\text{mL}$ at 36 h, and the pigment content reached a higher value 5.26 mg/L at 44 h. Meanwhile the COD decreased to the minimum at 44 h, the removal rate of COD was up to 91.12%. *Sporidiobolus pararoseus* R-70 is suitable for seriflux recycling with good performance.

Keyword: seriflux, *Sporidiobolus pararoseus*, screening, Chinese rice wine

米浆水是黄酒酿造过程中浸米工序的副产物,传统黄酒酿造,浸米时间比较长,比如传统的摊饭法酿酒时,浸米时间就长达 16~20 d。现在机械化黄酒生产工艺中一般采用较高的温度保温浸米,浸米的时间减少,但是仍需要 4~5 d^[1]。程斐等使用生物酸化浸米的方法,人工接种乳酸菌进行浸米,快速提高米浆水的酸度,将浸米时间缩短为 2 d^[2-3]。米浆水中含有十分丰富的淀粉、蛋白质、糖类、有机酸等,其中氨基酸的种类多达 18 种,还有微量元素、B 族维生素和矿物质等^[4]。米浆水产量非常巨大,生产 1 t 黄酒大约要产生 0.65 t 米浆水。2014 年我国黄酒产量达到 330 万 t 左右,按照测算总共产生约 214.5 万 t 米浆水。采用厌氧-好氧方式处理米浆水,每吨大约花费 2 元以上,加上设备购置和维护费用,米浆水的处理带来了很大的负担,同时也是对营养物质的浪费。

目前对米浆水的资源化利用还比较局限,俞关松等^[5]把新鲜的米浆水作为复制糟香型白酒的投料用水,但受到酿造季节的约束,有一定的局限性。周高峰等^[6]添加 75% 的米浆水来代替自来水制作黄酒熟麦曲。姜佳丽等^[7]考察了用米浆水来替代制曲配料用水制备酱油生产用米曲霉、黑曲霉和红曲霉的制曲效果。但作为制曲用水,整体消耗量较小。

类胡萝卜素是一类广泛存在于动植物和微生物体内的脂溶性色素,已被用于药物、保健食品、饲料和化妆品的生产中^[8-12]。类胡萝卜素对动物和人体具有十分重要的作用,不仅可以作为维生素 A 的前体^[13],同时还具有很强的抗氧化性,能清除体内的自由基^[14],动物和人体内的类胡萝卜素只能从外界获取^[15-16]。可以产生类胡萝卜素的酵母主要有红酵母属(*Rhodotorula*),锁掷酵母属(*Sporidiobolus*),法夫酵母属(*Phaffia*),掷孢酵母属(*Sporobolomyces*)和红冬孢酵母属(*Rhodospiridium*)^[17-21]。采用酵母生产类胡萝卜素具有营养要求简单、发酵周期短和发酵条件易于控制等优点^[22]。

作者在环境中分离筛选了一株近玫色锁掷酵

母,一方面可以利用米浆水中的营养物质,降低米浆水的 COD,大大减轻废水处理压力,另一方面也可以生产单细胞蛋白(SCP)和类胡萝卜素,提高了经济效益。

1 材料与方法

1.1 培养基

YPD 培养基:蛋白胨 20 g/dL,酵母膏 10 g/dL,葡萄糖 20 g/dL,pH 自然;

富集培养基:蛋白胨 20 g/dL,酵母膏 10 g/dL,葡萄糖 20 g/dL,链霉素 0.005 g/dL,pH 自然;

酸性 YPD 培养基:蛋白胨 20 g/dL,酵母膏 10 g/dL,葡萄糖 20 g/dL,调 pH 至 3.5;

淀粉培养基:(NH_4)₂SO₄ 0.5 g/dL,KH₂PO₄ 0.1 g/dL,NaCl 0.01 g/dL,MgSO₄·7H₂O 0.05 g/dL,CaCl₂ 0.01 g/dL,酵母膏 0.02 g/dL,淀粉 2 g/dL,pH 6.5;

乳酸培养基:(NH_4)₂SO₄ 0.5 g/dL,KH₂PO₄ 0.1 g/dL,NaCl 0.01 g/dL,MgSO₄·7H₂O 0.05 g/dL,CaCl₂ 0.01 g/dL,酵母膏 0.02 g/dL,用乳酸调 pH 至 3.5~3.7;

MRS 培养基:葡萄糖 2 g/dL,蛋白胨 1 g/dL,乙酸钠 0.5 g/dL,牛肉膏 1 g/dL,柠檬酸氢二铵 0.2 g/dL,酵母膏 0.5 g/dL,MgSO₄·7H₂O 0.058 g/dL,吐温 80 0.1 g/dL,MnSO₄·4H₂O 0.025 g/dL,K₂HPO₄ 0.2 g/dL,pH 6.2~6.4。

1.2 生物酸化浸米浆水(BAS)的制备及成分分析

称取一定质量糯米,按 1:1.25 的米水比加水,接种植物乳杆菌进行生物酸化浸米,30 ℃浸渍 2 d 后,过滤得到生物酸化浸米浆水(BAS,Bio-acidified Seriflux)。测定米浆水的 pH、总酸、总糖、淀粉、蛋白质、氨基酸态氮、氨态氮和 COD。

1.3 菌株的分离

1.3.1 一级筛选 在学校及附近生活区采集水样、土样、花草、食品样本,于富集培养基中富集过夜,涂布于 YPD 固体培养基,30 ℃培养 2 d,挑取红色菌落,镜检观察是否为酵母菌。

1.3.2 二级筛选 将第一步筛选到的产色素酵母

菌株接种到酸性 YPD 培养基中, 30 ℃、200 r/min 振荡培养 72 h, 测定培养后的 pH、生物量、色素产量, 同时将菌液离心后用无菌水洗涤两次, 用等体积无菌水重悬, 30 ℃放置 2 h 进行饥饿处理, 滴加在乳酸平板和淀粉平板上, 30 ℃培养 72 h, 观察菌株对乳酸和淀粉的利用情况, 综合考虑, 筛选出性能较优的菌株。

1.3.3 三级筛选 将上一步筛选的酵母菌株接种到 YPD 培养基过夜作为种子液, 将菌液离心后用无菌水洗涤两次, 用等体积无菌水重悬, 以 5% 的接种体积分数接种于 BAS(装液量 20%) 中, 30 ℃、200 r/min 培养 48 h, 测定 pH、细胞数、色素产量、COD 去除率, 选择综合性能最优的菌株。

1.4 菌株 R-70 的形态特征

显微形态: 挑取酵母菌培养液稀释一定倍数, 吸取一滴在洁净的载玻片上, 盖上盖玻片, 用高倍镜观察细胞的形状、大小和生殖方式。

菌落形态: 将新鲜培养的酵母菌在 YPD 平板上划线, 30 ℃培养 3 d, 观察菌落的颜色、质地、表面和边缘形状等特征。

1.5 菌株 R-70 的生理学特征

对酵母菌进行糖发酵、碳源同化、氮源同化、脲酶试验和生长温度试验, 方法参照《酵母菌的特征与鉴定手册》^[23]。

1.6 菌株 R-70 的分子生物学鉴定

使用酵母基因组 DNA 快速抽提试剂盒提取酵母的总 DNA, 使用通用引物 NL-1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') 和 NL-4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') 对菌株 26S rDNA 近 5' 端的 D1/D2 区域进行 PCR 扩增, 目标产物的长度大约为 600 bp, PCR 反应条件为: 94 ℃变性 1 min, 53 ℃退火 1 min, 72 ℃延伸 1 min, 36 个循环。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳分析, 回收后纯化, 由上海生物工程有限公司进行序列测定, 根据测序结果, 在 NCBI 上用 BLASTN 对扩增序列进行同源性比较, 用 MEGA5.0 软件中的 Neighbor-Joining 分析方法进行分子系统分析, 构建系统发育树, 并进行 1 000 次的 Bootstraps 检验。

1.7 菌株 R-70 在 BAS 中的生长情况

将筛选的红酵母接种到经过 60 ℃处理 30 min 的 BAS 中, 30 ℃、200 r/min 振荡培养 72 h, 每隔 4 小时取样, 血球计数板法测定细胞数, R-70 菌株的

色素为胞内色素, 使用酸热法破壁后用丙酮提取色素并测定^[24], 离心后烘箱法^[25]测定上清液的 COD。

1.8 BAS 中接种菌株 R-70 培养后的成分变化

将筛选的红酵母接种到经过 60 ℃处理 30 min 的 BAS 中, 30 ℃、200 r/min 振荡培养 72 h, 每隔 4 小时取样, 测定培养液的 pH, 靛酚蓝-分光光度法^[26]测定氨态氮质量浓度, 测定培养液的还原糖和氨基酸态氮, 测定方法参考国标 GB/T 13662-2008。

2 结果与讨论

2.1 生物酸化浸米浆水(BAS)的成分分析

自然浸渍的米浆水受到米种类、产地来源、水温等多种因素影响, 其组成和 COD 存在差异和波动显著现象。为保障研究工作的开展, 作者采用生物酸化浸米浆水进行实验。称取一定质量糯米, 按 1:1.25 的米水比加水, 接种植物乳杆菌进行生物酸化浸米, 30 ℃放置 2 d 后, 过滤得到 BAS, 测定成分, 结果见表 1。

表 1 BAS 的成分分析

Table 1 Component analysis of Bio-acidified Seriflux

米浆水成分	批次 1	批次 2
pH	3.66	3.68
总酸质量浓度/(g/L)	7.62	7.36
总糖质量浓度/(g/L)	2.61	2.40
还原糖质量浓度/(g/L)	2.04	2.12
淀粉质量浓度/(g/L)	4.02	3.72
氨基酸态氮质量浓度/(g/L)	0.36	0.34
蛋白质质量浓度/(g/L)	0.97	0.85
氨态氮质量浓度/(mg/L)	15.20	15.90
COD/(mg/L)	53 870	51 806

由表 1 可以看出, 米浆水营养丰富, 经过生物酸化浸米的米浆水, 成分比较稳定, 有利于后期发酵过程的稳定性。生物酸化浸米得到的米浆水, pH 较低, 含有一定的淀粉和有机酸, 其中有机酸主要为乳酸, 约占 88.98%, 在后期的筛菌过程中, 除生长情况和 COD 降解率外, 也考察菌株对淀粉和乳酸的利用情况。

2.2 菌株的筛选

在环境中分离筛选到 108 株红色酵母菌株, 测定菌株的生物量、色素产量和色素质量分数, 并且考察了各菌株对淀粉和乳酸的利用能力, 部分筛选结果见表 2。

表 2 二级筛选的部分结果

Table 2 Part of results of secondary screening

编号	生物量/ (g/L)	色素产量/ (mg/L)	色素质量分 数/(ug/g)	乳酸 利用	淀粉 利用
R-21	14.75	3.22	218.31	-	-
R-30	17.25	3.73	216.23	+	-
R-35	16.63	2.98	179.19	-	-
R-46	18.24	6.81	373.36	-	-
R-50	13.88	7.33	528.1	-	-
R-54	16.2	2.07	127.28	-	-
R-66	12.78	1.82	142.41	-	-
R-70	13.76	7.11	516.72	-	-
R-85	13.58	7.02	516.93	-	-
R-91	14.96	3.93	262.7	-	-

表 3 菌株在 BAS 中的培养筛选结果

Table 3 Results of strain inoculated in BAS

米浆水接种培养的发酵液	BAS	R-30	R-46	R-50	R-70	R-85
细胞数/CFU	-	5.38×10^7	6.85×10^7	6.56×10^7	7.32×10^7	7.51×10^7
色素产量/(mg/L)	-	2.78	4.88	4.96	5.57	5.2
COD/(mg/L)	53 870	7620	6550	5781	5180	5360
COD 去除率/%	-	85.85	87.84	89.27	90.38	90.05
pH 值	3.66	8.72	8.68	8.75	8.41	8.87
还原糖质量浓度/(g/L)	2.04	0.15	0.16	0.15	0.14	0.14
氨态氮质量浓度/(mg/L)	15.2	212.5	226.4	225.8	214.6	256.7

2.3 菌株的形态特征

R-70 菌株菌落呈橘红色, 表面湿润, 边缘平滑, 易挑起。菌体呈椭圆形, 大小约为 $(3.0 \sim 4.5) \mu\text{m} \times (6.0 \sim 9.5) \mu\text{m}$, 以出芽方式进行繁殖, 见图 1。

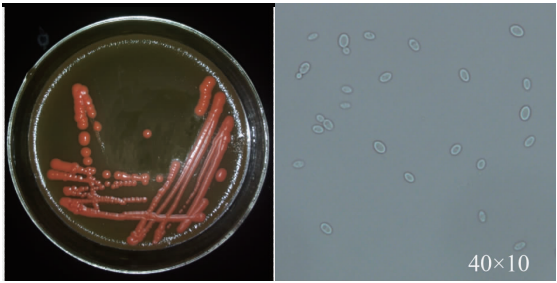


图 1 R-70 菌株的形态特征

Fig. 1 Morphological character of R-70

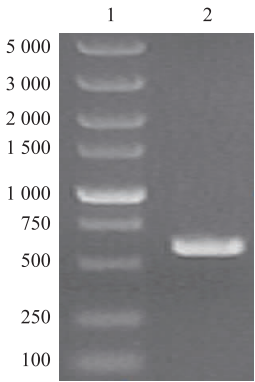
2.4 序列分析和系统发育树的构建

以通用引物进行 PCR 扩增, 经 1 g/dL 琼脂糖凝胶电泳, 得到片段长度大约为 600 bp 的扩增产物, 见图 2。

R-30 可以以乳酸为惟一碳源, R-46、R-50、R-70 和 R-85 菌株的产色素能力较强, 选择这 5 株相对较优的酵母菌株进入下一步筛选。

分别接种到 YPD 液体培养基中, 振荡培养 24 h, 用无菌水洗涤 2 次, 制备种子液。以 5% 的接种体积分数接种于 BAS 中, 30 ℃、200 r/min 振荡培养 48 h, 分别测定培养前后的米浆水各个指标, 结果见表 3。

R-70 菌株对米浆水 COD 的降解率最高, 达到 90.38%, 色素产量也是最高, 达到 5.57 mg/L, 处理后的发酵液 pH 相较于其他四株酵母都要低, 为 8.41。此外, R-30 菌株可以以乳酸为惟一碳源生长, 但是其他特性相对较差。综合考虑, 选择 R-70 菌株作为利用米浆水的最优菌株。



Lane 1: DNA marker; Lane 2: PCR 产物

图 2 菌株 R-70 的 26S rDNA 的 PCR 产物电泳图

Fig. 2 Electrophoresis of PCR products of 26S rRNA of R-70

回收并纯化 PCR 产物, 进行测序。将测得的 DNA 序列在 NCBI 上用 BLASTN 进行同源性比较, 用 MEGA5.0 软件中的 Neighbor-Joining 分析方法进行分子系统分析, 构建系统发育树构建系统发育

树,结果见图3。

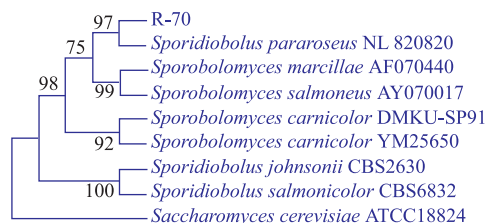


图3 R-70的系统发育进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of strain R-70

结果表明,菌株R-70与 *Sporidiobolus pararoseus* NL8208205的同源性达到97%,亲缘关系最近,由此可初步确定R-70菌株为 *Sporidiobolus pararoseus* (近玫色锁掷酵母)。

2.5 菌株的的生理学特征

2.5.1 糖发酵实验 参考《酵母菌的特征与鉴定手册》,对R-70进行了糖的发酵实验,结果见表4。R-70菌株对这几种糖都不发酵产气。

表4 R-70的糖发酵实验

Table 4 Sugar fermentation tests of R-70

糖类	结果
葡萄糖	-
半乳糖	-
蔗糖	-
麦芽糖	-
乳糖	-
海藻糖	-

注: (-)表示阴性; (+)表示阳性

2.5.2 碳氮源同化实验及其他生理特征 对R-70菌株进行碳源、氮源同化实验,脲酶试验和生长温度试验,结果见表5。

表5 R-70的生理生化特征

Table 5 Physiological characteristic of R-70

种类	结果	种类	结果
蔗糖	+	尸胺	-
半乳糖	-	硝酸钾	-
乳糖	-	淀粉形成	-
麦芽糖	+	脲酶试验	+
L-鼠李糖	-	25℃生长	+
肌醇	-	30℃生长	+
D-甘露醇	-	37℃生长	-

注: (-)表示阴性; (+)表示阳性

通过比对《酵母菌的特征与鉴定手册》,菌株R-70的生理特征鉴定结果为近玫色锁掷酵母,与

经26S rDNA分子鉴定的结果一致。

2.6 R-70菌株在BAS中的生长情况

将近玫色锁掷酵母R-70接种到YPD培养基中,30℃、200 r/min培养过夜,作为种子液,用无菌水洗涤两次,以6%的接种体积分数接种到经过60℃处理30 min的BAS中,30℃、200 r/min振荡培养72 h,每隔4小时取样,测定细胞数、色素产量、pH,结果见图4。

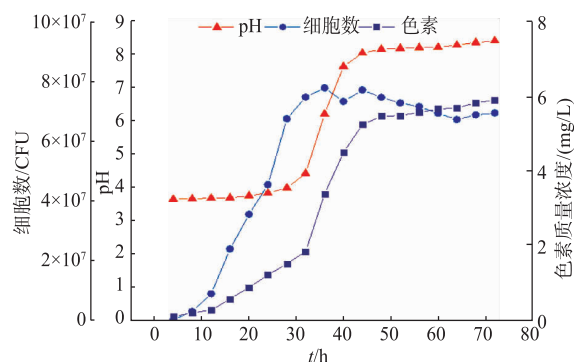


图4 R-70在米浆水中的生长情况

Fig. 4 Growth curves of R-70 inoculated in BAS

由图4可以看出,酵母数在36 h达到最大,为 7.8×10^7 /mL,之后呈缓慢下降趋势,R-70所产色素主要是类胡萝卜素,属于次级代谢产物,36 h开始有一个较快的增加速度,在44 h达到一个较高值5.26 mg/L,之后缓慢增加,72 h的色素产量为5.92 mg/L。米浆水的初始pH为3.68,随着培养时间的增加,米浆水的pH呈上升趋势,在28 h左右pH升高速度加快,在44 h左右之后趋于平缓,升高速度变慢,72 h的pH达到8.44,可能与R-70产脲酶有关,R-70在生长过程中产氨,使pH升高。

2.7 米浆水成分的变化

将R-70菌株接种YPD培养基中,30℃、200 r/min培养过夜,作为种子液,用无菌水洗涤两次,以6%的接种体积分数接种到经过60℃处理30 min的BAS中,30℃、200 r/min振荡培养72 h,每隔4小时取样,8 000 r/min离心5 min,测定上清液中的COD、还原糖和氨态氮,结果见图5。

BAS的初始COD为51 806 mg/L,接种R-70培养后上清液的COD变化见图5。到44 h达到最低,COD为4 600 mg/L,COD去除率达到91.12%,之后呈升高趋势。还原糖呈现下降趋势,40 h下降到一个较低值,之后基本保持不变。上清液中氨态

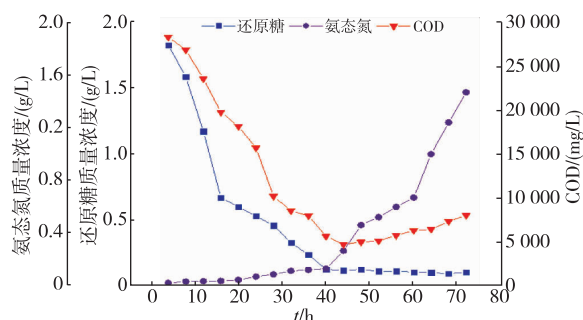


图5 BAS发酵后上清液成分的变化情况

Fig. 5 Change of composition in BAS supernatant

氮质量浓度的变化与 R-70 菌株产脲酶有关,在前期质量浓度较低,随着培养时间的延长而缓慢增

加,40 h 左右之后增加速度加快,72 h 的氨态氮质量浓度为 1.45 g/L,R-70 在发酵过程中产氨的量可以将米浆水中的乳酸中和并且氨过量,使发酵液呈碱性。

3 结语

黄酒生产中的浸米浆水产量大,营养物质丰富。从环境中筛选到一株红色酵母 R-70,经过 26S rDNA 分子鉴定,确定该酵母为近玫色锁掷酵母,在米浆水中培养,可以有效地降解米浆水的 COD,减轻废水处理的压力,而且可以产生高附加值的单细胞蛋白和类胡萝卜素,具有良好的应用价值。

参考文献:

- [1] 谢广发. 黄酒酿造技术[M]. 北京:中国轻工业出版社,2010.
- [2] CHENG Fei,ZHOU Gaofeng,XIE Guangfa,et al. Screening of lactic acid bacteria suitable for biological acidification of rice soaking in Chinese rice wine[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2013(10):1079-1084. (in Chinese)
- [3] XIE Guangfa,CAO Yu,CHENG Fei,et al. Effect of biological acidification soaking technology on Chinese rice wine brewing[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2014(2):217-223. (in Chinese)
- [4] LI Haixia,HE Guoqing,LOU Fengming,et al. Studies on the organics composition and microbes enrichment of rice seriflux during Yellow rice wine production[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**,2011,11(8):168-174. (in Chinese)
- [5] YU Guansong,MAO Qingzhon. The baptist rice seriflux of Chinese rice wine for the water back to the copy bad xiang bad liquor feed water research[J]. **Liquor Making**,2012,39(5):71-72. (in Chinese)
- [6] ZHOU Gaofeng,CHENG Fei,ZHANG Bo. The application of rice milk in the production of cooked wheat starter[J]. **Liquor-Making Science & Technology**,2015(3):38-42. (in Chinese)
- [7] JIANG Jiali,LI Pinger,QIU Xianzhong,et al. Study on *Aspergillus* cultivation in soy sauce with rice milk[J]. **China Condiment**,2013,38(7):54-58. (in Chinese)
- [8] FRENGOVA G I,BESHKOVA D M. Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*:yeasts of biotechnological importance[J]. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**,2009,36(2):163-180.
- [9] KIM J H,KIM S W,NGUYEN D,et al. Production of β -carotene by recombinant *Escherichia coli* with engineered whole mevalonate pathway in batch and fed-batch cultures[J]. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**,2009,14(5):559-564.
- [10] JIMENEZ E A,JIMENEZ J I,SANCHEZ M C. Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl[J]. **Journal of the Science of Food & Agriculture**,2000,80(11):1686-1690.
- [11] KIOKIAS S,GORDON M H. Antioxidant properties of carotenoids in vitro and in vivo[J]. **Food Reviews International**,2004,20(2):99-121.
- [12] LEE J H,OZCELIK B,MIN D B. Electron donation mechanisms of β -carotene as a free radical scavenger[J]. **Journal of Food Science**,2003,68(3):861-865.
- [13] CARLO D,RIEDL K,SURESHBABU N,et al. The human enzyme that converts dietary provitamin A carotenoids to vitamin A is a dioxygenase[J]. **Journal of Biological Chemistry**,2014,289(19):13661-13666.
- [14] SLADJANA S,GORDANA C,JASNA C B,et al. Tomato waste:carotenoids content antioxidant and cell growth activities[J]. **Food Chemistry**,2015,172:225-32.
- [15] OLSON J A. Biological actions of carotenoids[J]. **Faseb Journal**,1989,3(8):1927-1932.
- [16] YANG Boyuan,HUI Boli. Carotenoids in the natural food chain[J]. **China Food Additives**,2013,1:189-197. (in Chinese)

- [17] BUZZINI P. Batch and fed-batch carotenoid production by *Rhodotorula glutinis*-*Debaryomyces castellii* co-cultures in corn syrup [J]. **Journal of Applied Microbiology**, 2001, 90(5): 843-847.
- [18] BHOSALE P, GADRE R V. β -Carotene production in sugarcane molasses by a *Rhodotorula glutinis* mutant [J]. **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**, 2001(26): 327-332.
- [19] BHOSALE P, GADRE R V. Manipulation of temperature and illumination conditions for enhanced beta-carotene production by mutant 32 of *Rhodotorula glutinis* [J]. **Lett Appl Microbiol**, 2002(34): 349-353.
- [20] DAVOLI P, MIERAU V, WEBER R S. Carotenoids and fatty acids in red yeasts *Sporobolomyces roseus* and *Rhodotorula glutinis* [J]. **Appl Biochem and Microbiol**, 2004, 40(4): 392-397.
- [21] GOODWIN T W. Carotenoids in fungi and non-photosynthetic bacteria [J]. **Progress in Industrial Microbiology**, 1972, 11: 29-88.
- [22] HAN Mei, GE Xiangyang, QIAN He, et al. Study on carotenoids fermentation conditions by *Sporidiobolus* sp. [J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2011, 12: 239-242.
- [23] 巴尼特. 酵母菌的特征与鉴定手册[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1991.
- [24] WANG Suilou, WEI Jun, CHEN Chuntao, et al. Study on the fermentation of carotenoids in Red Yeast [J]. **Journal of Zhengzhou Institute of Light Industry**, 2000(2): 3-7. (in Chinese)
- [25] BI Huizhen. The fast method to determine the chemical oxygen demand (COD) for water quality [J]. **Environmental Protection and Technology**, 2012, 18(1): 31-33. (in Chinese)
- [26] LIANG Jianguang, ZHU Ling, XU Zhengjun. Study on the determination of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ content in microbial fermentation liquor by indophenol blue spectrophotometric method [J]. **Food and Fermentation Industries**, 2006, 32(9): 134-137. (in Chinese)

科技信息

美国确认允许食品添加剂碳酸钙作为着色剂在糖果等食品中使用

2018年1月31日,美国联邦公报消息食品药品监督管理局发布2018-01912号文件,确认2017年11月7日发布的关于修订《食品色素添加剂法规》中“碳酸钙”规定,允许食品添加剂碳酸钙作为着色剂在糖果等食品中使用,在“21 CFR第73部分-色素添加剂的列表、免除认证§73.70 碳酸钙”中规定了规格、使用和限量、标签要求、免除认证等内容。

[信息来源] 厦门 WTO 工作站. 澳新拟批准一种新资源食品并发布一类植物提取物新规范

[EB/OL]. (2018-2-2). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=56472>

加拿大批准两种果胶酶

据加拿大卫生部消息,近日加拿大卫生部发布通告,更新《许可食品酶列表》,批准两种果胶酶用于果汁、葡萄酒等商品。

本次新批准的两种果胶酶分别源自里氏木霉 RF6197、RF6201,用于生产纯果汁、葡萄酒、果泥、蔬菜泥、果酱。

据了解,在此之前,加拿大卫生部已批准其他类型的果胶酶用于纯果汁、葡萄酒的生产。

近日,加拿大卫生部完成了对本次两种果胶酶的安全性评估。加拿大卫生部经过风险评估后认为,这两种果胶酶用于纯果汁、葡萄酒等食品无安全风险。因此,更新《许可食品酶列表》,批准其使用。新规定自2018年2月1日起生效。

[信息来源] 食品伙伴网. 加拿大批准两种果胶酶 [EB/OL]. (2018-2-8). <http://news.foodmate.net/2018/02/457509.html>