

培养基中主要成分对酵母生长及富硒性能的影响

柴丽红¹, 李春荣¹, 彭菊芳²

(1 长安大学 环境科学与工程学院, 陕西 西安 710064;

2 陕西师范大学 生命科学学院, 陕西 西安 710062)

[摘要] 以活性干酵母为菌种, 采用摇瓶培养, 通过单因素试验和正交试验设计, 研究了发酵培养基中酵母粉、蛋白胨和蔗糖3种主要成分对酵母生物量及富硒性能的影响。结果表明, 对酵母生物量影响最主要的营养成分是蔗糖, 其次是酵母粉和蛋白胨; 对酵母硒含量和硒总含量影响最主要的成分均为蛋白胨, 其次为酵母粉和蔗糖。以酵母中硒总含量为指标, 初步确定的富硒酵母优化培养基配方为: 酵母粉 15 g/L, 蛋白胨 10 g/L, 蔗糖 20 g/L, 且在该营养条件下制得富硒酵母的硒含量和硒总含量分别可达 1 050 00 $\mu\text{g/g}$ 和 5 510 07 $\mu\text{g/L}$, 与优化前(培养基配方为酵母粉 10 g/L, 蛋白胨 10 g/L, 蔗糖 40 g/L)相比分别提高了 28.8% 和 9.01%。

[关键词] 活性干酵母; 硒; 蛋白胨; 蔗糖; 营养成分

[中图分类号] Q 939.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)02-0173-05

Influence of fermentation medium on the biomass and selenium content of active dry yeast

CHA ILi-hong¹, LI Chun-rong¹, PENG Ju-fang²

(1 Environmental Science and Engineering College of Chang'an University, Xi'an, Shaanxi 710064, China;

2 College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi 710062, China)

Abstract: By using single factor tests and the orthogonal design, biomass and Se content of yeast influenced by three factors: yeast extract powder, peptone and sucrose of fermentation medium, were studied. The results showed that sucrose was the most principal factor in the three factors that affected the yeast biomass, and peptone was the more primary factor that affected the Se content and the total Se content of yeast than yeast extract powder and sucrose. The optimum fermentation medium was determined as: yeast extract powder 15 g/L, peptone 10 g/L, and sucrose 20 g/L by index of the total Se content. Under the initial optimized fermentation medium, Se content and the total Se content of selenium-enriched yeast reached 1 050 00 $\mu\text{g/g}$ and 5 510 07 $\mu\text{g/L}$, and improved by 28.8%, and 9.01% respectively, compared with that of the previous ingredient (yeast extract powder 10 g/L, peptone 10 g/L, and sucrose 40 g/L) of culture medium.

Key words: active dry yeast; selenium; peptone; sucrose; nutrition ingredient

硒(Selenium, Se)是人体必需的微量元素之一, 具有诸多的生物学功能, 缺硒会导致多种疾病的发生^[1-2]。人体内的硒大多来源于食物, 但食物中硒含量通常很低, 难以满足机体的需要^[3]。以无机硒作为硒源补充硒营养不足, 除存在一定的毒性外, 其生物利用率也较低。而利用生物转化法, 将无机硒转化成

有机硒, 则可以提高硒的利用率, 这是开发新型硒源一条安全有效的途径。

酵母对多种微量元素均具有较强的富集作用, 同时其还具有易生长、发酵周期短及营养成分丰富等优点, 是将无机硒转化为有机硒的理想载体^[4-6]。关于富硒酵母的研制, 国内外均有报道^[7-10], 所用菌

· [收稿日期] 2006-01-17

[作者简介] 柴丽红(1975-), 女, 山西襄汾人, 讲师, 硕士, 主要从事应用微生物研究。

种大多局限于啤酒酵母,且多数是有关发酵条件优化的研究,而对培养基中主要营养成分对酵母生长及其富硒性能的影响研究甚少。本试验以安琪活性干酵母为菌种,不仅对其发酵条件进行了初步优化,而且还分析了所用发酵培养基中主要营养成分对酵母生长和富硒性能的影响,初步确定了培养基中主要营养成分的最佳用量,以期为最大限度地提高富硒酵母中的硒含量提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 安琪活性干酵母,由湖北安琪酵母股份有限公司生产。

1.1.2 培养基 (1)活化培养基:蔗糖 1 g,蒸馏水 80 mL、于 0.1 MPa、121 °C 下灭菌 20 min。(2)发酵培养基(YEPS 培养基):酵母粉(YE) 10 g/L,蛋白胨(P) 10 g/L,蔗糖(S) 40 g/L,pH 自然,于 0.1 MPa、121 °C 下灭菌 20 min。

1.1.3 主要试剂 亚硒酸钠(Na_2SeO_3),优级纯,天津市大茂化学仪器供应站;3,3'-二氨基联苯胺(DAB)分析纯,生工生物工程(上海)有限公司;已二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na),分析纯,西安化学试剂厂;酵母粉,分析纯,北京奥博星生物技术责任有限公司;蛋白胨,化学纯,北京奥博星生物技术责任有限公司;蔗糖,分析纯,天津市登峰化学试剂厂。

1.1.4 主要仪器 721 可见分光光度计,上海第三分析仪器厂;HHSYZHN i4 电恒温水浴锅,北京长源实验设备厂;HY-2 调速多用振荡器,上海第三分析仪器厂。

1.2 培养条件

(1)干酵母活化。称取 2 g 活性干酵母,加入到预先灭菌过的活化培养基中,摇匀后于 30 °C 恒温培养箱静置活化 2 h。

(2)摇瓶发酵。按试验要求配制不同的发酵培养基,装液量 200 mL/L,Se 质量浓度为 20 mg/L(以 Na_2SeO_3 为硒源),接种量 100 mL/L,于 30 °C、200 r/min 摇床培养 30 h。

1.3 营养条件优化

1.3.1 不同质量浓度酵母粉对酵母生物量和硒含量的影响 配制分别含不同质量浓度酵母粉(5, 10, 15, 20, 25 g/L)的发酵培养基,装液量 200 mL/L,Se 质量浓度为 20 mg/L(以 Na_2SeO_3 为硒源),接种量 100 mL/L,于 30 °C、200 r/min 摇床培养 30 h。分析不同质量浓度酵母粉对酵母生物量和硒含量的影

响,以选择最佳的酵母粉质量浓度。

1.3.2 不同质量浓度蛋白胨对酵母生物量和硒含量的影响 在确定最佳酵母粉质量浓度的基础上,分别配制含不同质量浓度蛋白胨(5, 10, 15, 20, 25 g/L)的发酵培养基,摇瓶培养,培养条件同 1.3.1。分析不同质量浓度蛋白胨对酵母生物量和硒含量的影响,以选择最佳的蛋白胨质量浓度。

1.3.3 不同质量浓度蔗糖对酵母生物量和硒含量的影响 确定最佳酵母粉和蛋白胨的质量浓度后,分别配制含不同质量浓度蔗糖(20, 30, 40, 50, 60 g/L)的发酵培养基,摇瓶培养,培养条件同 1.3.1。分析不同质量浓度蔗糖对酵母生物量和硒含量的影响,以选择最佳的蔗糖质量浓度。

1.4 正交试验设计

为确定发酵培养基中各成分对酵母富硒性能影响的差异及其对试验结果的综合影响,选取酵母粉、蛋白胨和蔗糖 3 个因素的 3 个水平,利用 $L_9(3^3)$ 正交试验表,进行正交试验,因素及水平选择见表 1。发酵液的培养条件同 1.3.1。

表 1 发酵培养基配方优化 $L_9(3^3)$ 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment on the prescription of fermentation medium g/L

水平 Level	因素 Factors		
	酵母粉 Yeast extract powder A	蛋白胨 Peptone B	蔗糖 Sucrose C
1	10	10	20
2	15	15	30
3	20	20	40

1.5 酵母生物量的测定

将摇瓶发酵培养的发酵液于 5 000 r/min 离心 10 min,收集菌体,蒸馏水洗涤 2 次,收集新鲜酵母,60~70 °C 烘干至恒重即可得酵母生物量。

1.6 酵母硒含量的测定

采用可见分光光度法测定酵母中的硒含量^[11]。硒总含量的计算公式为:

$$\text{硒总含量}/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) = \text{硒含量}/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}) \times \text{生物量}/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$$

1.7 数据处理

数据均采用 SPSS 软件进行分析和统计。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度酵母粉对酵母生物量和硒含量的影响

从表 2 可以看出,随着酵母粉质量浓度的增加,酵母生物量总体也呈增加的趋势,当酵母粉质量浓

度为 10~ 20 g/L 时, 酵母的生物量基本保持平稳; 当酵母粉质量浓度为 25 g/L 时, 酵母的生物量出现较大幅度的增长。说明酵母粉作为有机氮源, 在一定的浓度范围内, 可以促进酵母生物量的生长。当酵母粉质量浓度为 5~ 15 g/L 时, 随酵母质量浓度增加, 硒含量和硒总含量逐渐增加; 当酵母粉质量浓度为 15 g/L 时, 酵母中的硒含量和硒总含量均达到最高; 当

酵母粉质量浓度为 15~ 25 g/L 时, 随着酵母粉质量浓度的增加, 硒含量和硒总含量呈下降趋势。以上研究结果表明, 酵母粉质量浓度对酵母的生物量和硒含量的影响趋势不同。以硒总含量为指标分析, 当酵母粉浓度为 15 g/L 时, 硒总含量达到最高。因此, 确定培养基中酵母粉的最佳质量浓度为 15 g/L。

表2 不同质量浓度酵母粉对酵母生物量和硒含量的影响

Table 2 Effects of yeast extract powder concentrations on the biomass and selenium content of yeast

酵母粉质量浓度/(g · L ⁻¹) Yeast extract powder concentration	硒含量/(μg · g ⁻¹) Se content	生物量/(g · L ⁻¹) Biomass	硒总含量/(μg · L ⁻¹) Total Se content
5	780.00	5.71	4 453.80
10	790.55	6.40	5 059.52
15	864.20	6.83	5 902.49
20	714.20	6.51	4 649.44
25	454.75	7.58	3 447.01

2.2 不同质量浓度蛋白胨对酵母生物量和硒含量的影响

不同质量浓度蛋白胨对酵母生物量和硒含量的影响见表3。从表3可以看出, 5~ 25 g/L 蛋白胨对酵母生物量的影响较小, 酵母生物量基本上均维持在9 g/L 左右; 但是不同质量浓度蛋白胨对于酵母硒含量及硒总含量的影响却较明显, 其中当蛋白胨质量浓度为 5~ 10 g/L 时, 随着蛋白胨质量浓度增加, 酵母的硒含量和硒总含量增加; 当蛋白胨质量浓度为

10 g/L 时, 酵母中的硒含量和硒总含量均达到最大值, 分别为727.50 μg/g 和6 452.93 μg/L; 当蛋白胨质量浓度为 10~ 25 g/L 时, 随着蛋白胨质量浓度增加, 酵母硒含量和硒总含量均呈下降趋势。说明蛋白胨作为培养基中的一种营养因素, 其浓度的变化对酵母生物量的影响不明显, 但对酵母硒含量和硒总含量的影响较大。因此, 确定培养基中蛋白胨的最佳质量浓度为 10 g/L。

表3 不同质量浓度蛋白胨对酵母生物量和硒含量的影响

Table 3 Effects of peptone concentrations on the biomass and selenium content of yeast

蛋白胨质量浓度/(g · L ⁻¹) Peptone concentration	硒含量/(μg · g ⁻¹) Se content	生物量/(g · L ⁻¹) Biomass	硒总含量/(μg · L ⁻¹) Total Se content
5	527.50	9.31	4 911.03
10	727.50	8.87	6 452.93
15	664.00	8.81	5 849.84
20	632.50	9.27	5 863.28
25	590.50	9.03	5 332.22

2.3 不同质量浓度蔗糖对酵母生物量和硒含量的影响

不同质量浓度蔗糖对酵母生物量和硒含量的影响见表4。由表4可知, 当蔗糖质量浓度为 20~ 60 g/L 时, 酵母的生物量随着蔗糖质量浓度的增加而增加。当蔗糖质量浓度为 20~ 50 g/L 时, 酵母硒含量

随蔗糖质量浓度的增加而减少; 当蔗糖质量浓度大于 50 g/L 时, 随着蔗糖质量浓度的增加, 酵母硒含量增大。综合对酵母生物量和硒含量的影响, 选取硒总含量最高时的蔗糖质量浓度(40 g/L)为其最佳质量浓度。

表4 不同质量浓度蔗糖对酵母生物量和硒含量的影响

Table 4 Effects of sucrose concentrations on the biomass and selenium content of yeast

蔗糖质量浓度/(g · L ⁻¹) Sucrose concentration	硒含量/(μg · g ⁻¹) Se content	生物量/(g · L ⁻¹) Biomass	硒总含量/(μg · L ⁻¹) Total Se content
20	790.55	6.61	5 225.54
30	780.00	8.00	6 240.00
40	716.85	8.80	6 308.28
50	564.20	9.57	5 399.39
60	601.05	10.23	6 148.74

2.4 发酵培养基配方优化正交试验结果

从表5可以看出,在所选水平范围内,酵母粉、蛋白胨和蔗糖3因素对各项指标的影响不同,其中对酵母生物量影响的因素依次为蔗糖>酵母粉>蛋白胨。

从表6可知,蔗糖和酵母粉对酵母生物量的影响均达极显著水平,蛋白胨对酵母生物量的影响达显著水平,表明这3种营养成分对酵母生长均有显著影响,影响力大小与表5的结果一致。

表5 发酵培养基配方优化 $L_9(3^3)$ 正交试验结果Table 5 Design and results of orthogonal experiment $L_9(3^3)$ on the prescription of fermentation medium

试验编号 No.	因素/(g·L ⁻¹) Factors			生物量/ (g·L ⁻¹) Biomass	硒含量/ (μg·g ⁻¹) Se content	硒总含量/ (μg·L ⁻¹) Total Se content
	酵母粉 Yeast extract powder A	蛋白胨 Peptone B	蔗糖 Sucrose C			
I	1(10)	1(10)	1(20)	5.140	942.10	4.842.42
II	1(10)	2(15)	2(30)	6.190	569.47	3.525.04
III	1(10)	3(20)	3(40)	6.996	222.10	1.553.11
IV	2(15)	1(10)	3(40)	7.400	922.10	6.822.58
V	2(15)	2(15)	1(20)	5.256	822.10	4.320.43
VI	2(15)	3(20)	2(30)	6.216	445.25	2.769.23
VII	3(20)	1(10)	2(30)	6.758	407.35	2.753.89
VIII	3(20)	2(15)	3(40)	7.550	281.05	2.121.55
IX	3(20)	3(20)	1(20)	5.360	350.55	1.878.60
$K_{1/3}$	6.110	6.430	5.252			
$K_{2/3}$	6.290	6.332	6.388	$R_C > R_A > R_B$		
$K_{3/3}$	6.556	7.320	7.320	$A_3B_3C_3$		
R	0.446	0.240	2.068			
$K_{1/3}$	578.0	757.0	705.0			
$K_{2/3}$	730.0	557.5	474.0		$R_B > R_A > R_C$	
$K_{3/3}$	327.8	339.5	475.0		$A_2B_1C_1$	
R	402.2	417.5	231.0			
$K_{1/3}$	3.306.70	4.806.19	3.680.33			
$K_{2/3}$	4.637.50	3.322.40	3.016.11			$R_B > R_A > R_C$
$K_{3/3}$	2.251.40	2.067.00	3.499.15			$A_2B_1C_1$
R	2.386.10	2.739.19	664.22			

表6 正交试验酵母生物量方差分析结果

Table 6 Variance analysis of the biomass on the orthogonal experiment

方差来源 Source	离差平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 检验值 F	显著性概率 Sig.
A	0.304	2	0.152	167.117	0.006
B	8.867×10^{-2}	2	4.434×10^{-2}	48.805	0.020
C	6.408	2	3.204	3.526.791	0.000
误差 Error	1.817×10^{-3}	2	9.084×10^{-4}		
总变异 Total	366.107	9			

从表5还可以看出,对酵母硒含量和硒总含量影响主次因素均为蛋白胨>酵母粉>蔗糖,这与方差分析结果(表7)一致,但三者的显著性概率均大于0.05,表明其对酵母硒总含量的影响均不显著。由此可知,酵母粉、蛋白胨和蔗糖3种营养成分对酵母生物量和

富硒性能的影响不同,本试验最终选定硒总含量的最优条件组合 $A_2B_1C_1$,即酵母粉15 g/L,蛋白胨10 g/L,蔗糖20 g/L,作为初步确定的最佳培养基配方,并在此条件下进行了试验,以验证酵母产品的硒含量、硒总含量和酵母生物量,结果见表8。

表7 正交试验硒总含量方差分析结果

Table 7 Variance analysis of the total selenium content on the orthogonal experiment

方差来源 Source	离差平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 检验值 F	显著性概率 Sig.
A	8 577 796 541	2	4 288 898 271	3 786	0 209
B	11 281 911 918	2	5 640 955 959	4 980	0 167
C	707 689 155	2	353 844 577	0 312	0 762
误差 Error	2 265 462 831	2	1 132 731 415		
总变异 Total	126 783 459 659	9			

表8 发酵培养基配方优化前后酵母生物量和硒含量的比较

Table 8 Biomass & Se content of selenium-enriched yeast prepared according to the optimized fermentation medium and that of initial ingredient of culture medium

培养基配方 Ingredient of culture medium	生物量/(g·L ⁻¹) Biomass	硒含量/(μg·g ⁻¹) Se content	硒总含量/(μg·L ⁻¹) Total Se content
未优化 Previous ingredient	6 48	815 00	5 277 91
优化 Optimized ingredient	5 25	1 050 0	5 510 07

由表8可知,在优化的最佳培养基配方(酵母粉15 g/L,蛋白胨10 g/L,蔗糖20 g/L)条件下,平均酵母生物量、硒含量和硒总含量分别为5.25 g/L, 1.050 00 μg/g和5.510 07 μg/L。与未优化的培养基配方(酵母粉10 g/L,蛋白胨10 g/L,蔗糖40 g/L)相比,虽然培养基优化后的酵母生物量降低,但是硒含量和硒总含量分别提高了28.8%和9.01%。由此可知,培养基优化后酵母具有较高的硒含量。

3 结论

1) 以市售活性干酵母为菌种进行富硒酵母的生产,工艺简单,方便快捷,易于推广。

2) 发酵培养基中3种营养成分对酵母生物量及其富硒能力均有一定影响。对酵母的生物量影响最主要的成分是蔗糖,而对其富硒性能影响最主要的成分是蛋白胨。

3) 通过正交试验,初步确定出最佳培养基配方为:酵母粉15 g/L,蛋白胨10 g/L,蔗糖20 g/L,并在此营养条件下进行富硒酵母的生产,酵母中硒含量和硒总含量分别可达1.050 00 μg/g和5.510 07 μg/L,分别较优化前提高了28.8%和9.01%。

[参考文献]

- [1] 金虹. 微量元素硒与人畜健康[J]. 青海大学学报:自然科学版, 2004, 22(2): 80-83
- [2] 赵涛. 微量元素硒与人体健康[J]. 微量元素与健康研究, 2004, 21(6): 64-65
- [3] 黄峙. 食品硒源的生物学研究进展[J]. 食品科学, 2001, 22(5): 90-95
- [4] 张彦, 朱娅敏, 夏长虹. 食用酵母的营养价值[J]. 食品科技, 2004(10): 94-96
- [5] 李淑敏. 酵母作为微量元素载体的研究及应用前景[J]. 微生物学通报, 1999, 26(3): 220-223
- [6] 肖竞, 周德平. 酵母对微量元素硒的生物富集及应用[J]. 中国饲料, 2004, 19: 10-11
- [7] Suhajda A, Hegoczki J, Janzso B, et al. Preparation of selenium yeasts I. Preparation of selenium-enriched *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2000, 14(1): 43-47
- [8] 范秀英, 郭雪娜, 傅秀辉, 等. 高生物量富硒酵母的选育及培养条件初步优化[J]. 生物工程学报, 2003, 19(6): 720-724
- [9] 王凤琴. 富硒酵母的研制[J]. 酿酒科技, 2004(3): 34-35
- [10] 李爱芬, 刘振乾, 徐宁, 等. 微量元素硒载体酵母发酵的研究[J]. 暨南大学学报:自然科学版, 2004, 25(5): 626-630
- [11] 贺立东. 分光光度法测定富硒酵母中有机硒的含量[J]. 食品工业科技, 2000, 21(5): 67-68