

富硒酵母的研制

王凤琴

(江苏淮阴工学院生物工程系, 江苏 淮阴 223001)

摘要: 采用微生物合成转化法,将无机硒转化为有机硒,利用啤酒酵母菌种,培养基麦芽汁浓度为10°Bx,试管静置8 h接种,摇床振荡培养16 h,发酵培养30 h,硒粉在发酵过程中分批加入。该法操作方便,2000 ml发酵液可产干酵母粉178.3850 g,硒含量604.5 μg/g。(陶然)

关键词: 啤酒酵母; 富硒啤酒; 培养方法; 有机硒

中图分类号: TS262.1; TS262.5; Q93-33 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-9286(2004)03-0034-02

Development of Yeast Containing Abundant Se

WANG Feng-qin

(Bioengineering Department of Huaiyin Technical Institute, Huaiyin, Jiangsu 223001, China)

Abstract: Inorganic Se was converted into organic Se by microbial composition conversion method as follows: beer yeast strains used, wort concentration of culture medium as 10°Bx, inoculation after 8 h stable placement of tubes, 16 h chattering culture by mechanical shaker, then 30 h fermentation, and Se powder added in batches during the fermentation. The whole process was simple to operate. And 2000 ml fermentation liquid could produce 178.3850 g dry yeast powder with its Se content as 604.5 μg/g. (Tran. by YUE Yang)

Key words: beer yeast; beer containing abundant Se; culture method; organic Se

随着现代营养学的发展和人民生活水平的提高,微量元素在膳食中的作用日益受到重视。硒是人体必需的微量元素,在天然食品中的含量很低。

人体内硒的总积聚量为15 mg,按60 kg体重计算平均含量为0.25 mg/kg,在摄入与排泄中保持动态平衡。

通过人工方法可将无机硒转化为有机硒,提高硒的生理活性和吸收率,降低毒性。采用微生物合成转化法具有周期短、操作方便的优点。

利用啤酒酵母,在培养基中添加Na₂SeO₃,培养富硒酵母。文中着重对啤酒酵母富集硒含量进行了研究^[1]。

1 材料与方法

1.1 试验材料

啤酒酵母、酿酒酵母,本校生物工程实验室保藏菌种;大麦芽、生化试剂市售。

1.2 试验方法

1.2.1 富硒酵母培养

1.2.1.1 培养基选择

分别采用麦芽汁培养基与合成培养基。麦芽汁浓度为10 Bx,根据酵母营养要求,合成培养基组成为:蛋白胨0.35%,酵母膏0.5%,KH₂PO₄ 0.2%,MgSO₄·7H₂O 0.1%,蔗糖8.0%,pH5.5~6.0。

方法1:种子培养基,发酵培养基,都采用麦芽汁培养基。

方法2:种子培养基,发酵培养基,都采用合成培养基。

1.2.1.2 培养方式的选择

将添加了Na₂SeO₃灭菌后的试管培养基、种子培养基与发酵培养基按下列方式培养:

方法1:试管静置8 h→接种→摇荡培养16 h→发酵30 h

收稿日期:2003-08-04; 修回日期:2003-10-15

作者简介:王凤琴(1945-),女,江苏无锡人,高级工程师,发表论文数篇。

方法2:试管静置4 h→接种→摇荡培养30 h→发酵30 h

测定酵母产量及硒富集量,确定最佳方案。

1.2.1.3 培养液中硒浓度的选择

培养液中添加Na₂SeO₃,使最终浓度分别为20 mg/kg,50 mg/kg,100 mg/kg,150 mg/kg,200 mg/kg,并做空白对照试验,振荡培养30 h,干燥,称取酵母粉重量及检测酵母对硒粉的富集能力,选取最佳发酵浓度。

1.2.1.4 培养过程加硒方式的选择

方法1:在配制发酵培养基时一次性加入配制所需浓度的Na₂SeO₃。

方法2:在发酵培养6 h和16 h后分两次加入Na₂SeO₃,加入总浓度与方法1相同。

振荡发酵培养30 h,测定酵母产量与硒富集量。

1.2.1.5 有机化程度的确定

将静置浸出法和搅拌浸出法进行比较。

1.3 检测方法

硒含量测定 3,3-二氨基联苯胺法。

硒含量标准曲线的绘制:取1 μg/ml的硒标准溶液0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 ml,分别移入分液漏斗,加水至35 ml,加入1 ml 5% EDTA-2Na溶液,摇匀,调pH至2~3,加4 ml 0.5% 3,3-二氨基联苯胺溶液摇匀,置暗处30 min,调pH至中性,加10 ml甲苯振荡,静置分层,弃水层,甲苯层过滤收集滤液,在420 nm长处测定吸光度,绘制标准曲线。

测总硒含量时的样品处理:称取捣碎均匀的样品1.00~2.00 g置于150 ml圆底烧瓶中,加20 ml混合消化液,接冷凝装置,小心加热至溶液无色透明。冷却后加入2 ml 5% EDTA-2Na溶液,此溶液

为样品测定溶液,同时作空白试验。

样品分析:准确吸取适量的消化液量,按标准曲线操作步骤,根据样品测得的吸光度,从标准曲线中查得相应的硒含量。

无机硒含量:样品不经消化预处理直接进行测定。

有机硒含量:总硒含量减去无机硒含量。

有机化程度:有机硒含量/总硒含量。

2 结果与讨论

2.1 硒标准曲线 (见图1)

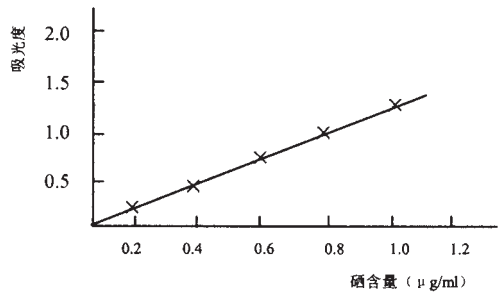


图1 硒标准曲线

2.2 菌种对硒富集能力的影响

将啤酒酵母、酿酒酵母进行富集发酵,结果两种菌种富集能力相差不多,但酵母泥产量差别较大,啤酒酵母的得率较高,因此,选择啤酒酵母菌种。

2.3 培养基对酵母富集能力的影响

以麦芽汁培养基和合成培养基的培养结果见表1。

表 1 培养基对酵母富集能力的影响			
方法	硒浓度(mg/kg)	酵母产量(g/100 ml)	硒富集量(μg/g)
方法 1	空白	9.3360	0
	50	8.9762	253.7
	100	8.6115	501.2
方法 2	空白	9.1438	0
	50	8.7619	203.3
	100	8.2216	371.6

表1说明,培养基对硒富集能力影响很大,麦芽汁培养基比合成培养基效果好,酵母菌吸收利用麦芽汁营养成分好,酵母产量与硒富集量都高,特别是硒富集较高。故选择麦芽汁培养基作为种子和发酵培养基。

2.4 培养方式对硒富集的影响

培养结果见表2。

表 2 培养方式对硒富集的影响			
方法	硒浓度(mg/kg)	酵母产量(g/100 ml)	硒富集量(μg/g)
方法 1	空白	9.1427	0
	50	8.8235	138.6
	100	8.4591	327.0
方法 2	空白	9.0330	0
	50	8.6510	103.8
	100	8.2657	211.5

由表2可看出,酵母产量和硒富集量均以方法1为好。

2.5 培养液中硒浓度的影响

培养结果见表3。

由表3看出,以酵母产量与硒富集量综合考虑,用150 mg/kg作为培养液浓度是比较合适的。

表 3 培养液中硒浓度对酵母富集能力的影响		
硒浓度(mg/kg)	酵母产量(g/100 ml)	硒富集量(μg/g)
空白	9.1080	0
20	8.8092	232.3
50	8.8045	329.6
100	8.5936	482.1
150	8.5871	537.6
200	8.3368	540.4

2.6 培养过程中加硒方法对酵母富集能力的影响
结果见表4。

表 4 加硒方法对酵母富集能力的影响			
方法	硒浓度(mg/kg)	酵母产量(g/100 ml)	硒富集量(μg/g)
方法 1	空白	9.2460	0
	50	8.9385	451.5
	100	8.7581	526.8
方法 2	空白	9.3310	0
	50	9.0530	539.4
	100	8.9773	621.3

由表4看出,在培养基配制时一次性加入Na₂SeO₃和发酵6 h,16 h后二次加入Na₂SeO₃溶液富硒效果有很大差别,一次性加入虽然操作方便,但效果较差,不但对酵母生产有一定抑制作用,而且对酵母富硒含量影响较大。实验证明,在菌种对数生长期前期添加,所得酵母的含硒量最高,并随着对数期细胞增殖,富硒能力增强,以后随稳定期接近而逐渐减弱,故采用分期添加方法为好。

2.7 酵母细胞内含硒量的测定

为了便于分析,把收集的酵母菌体进行真空干燥得到富硒酵母干粉,然后称取1 g干粉,加入一定体积的蒸馏水,分别采用静置浸出法与搅拌浸出法进行浸出,后离心过滤,测定滤液中的总硒含量、有机硒含量,计算有机化程度。采用静置浸出法,浸取10 h基本完成,采用搅拌浸出法4.5 h就基本完成。实验数据表明,富硒酵母中的硒含量达90 %以上,说明啤酒酵母具有将培养基中的无机硒转化为有机硒的能力,它不是简单地吸收培养液中的Na₂SeO₃,而是进行了生物转化过程。

3 结论

综上所述,培养富硒酵母的最佳条件是:采用啤酒酵母菌种,培养基麦芽汁浓度为10 Bx,培养时间:试管静置8 h接种,摇床振荡培养16 h,发酵培养30 h;硒粉在发酵过程中分批加入,2000 ml发酵液可产干酵母粉178.3850 g,硒含量604.5 μg/g。

参考文献:

[1] 贾建波. 富硒酸奶[J]. 食品工业, 2003, (1): 33-35.

2003年全国白酒销售收入
20亿元以上省份

省份	销售收入(亿元)	较上年增长(%)
四川	207.72	15.02
山东	70.73	18.56
安徽	38.02	3.11
贵州	33.13	19.68
江苏	29.02	17.75
湖北	21.18	13.20
全国	545.32	11.79