

深红酵母产生的类胡萝卜素对蛋黄着色的研究

戴亦军, 袁生, 秦怀兰

(南京师范大学 生命科学学院, 江苏 南京 210097)

[摘要] 用含经破碎细胞壁的深红酵母菌体的饲料进行鹌鹑饲养试验, 来研究深红酵母的类胡萝卜素对鹌鹑蛋的着色. 随着鹌鹑不断进食深红酵母, 实验组的蛋黄色价和类胡萝卜素含量不断升高, 8 d后, 蛋黄的色价从6级增加到15级, 对照组的蛋黄的色素保持在6级左右. 用丙酮和石油醚提取蛋黄色素, 进行360~600 nm波长光谱扫描, 实验组的波形与 β 胡萝卜素的波形基本相同. 用反相高效液相色谱分析蛋黄中 β 胡萝卜素的含量, 实验组可达到0.032 mg/yolk, 比对照组提高了21倍. 实验结果表明, 深红酵母是一种很好的天然蛋黄着色剂和营养增补剂.

[关键词] 深红酵母, 类胡萝卜素, 色价, 着色剂, 营养增补剂

[中图分类号] Q814, **[文献标识码]** A, **[文章编号]** 1672-1292(2004)04-0055-03

蛋黄颜色是衡量禽蛋质量的重要指标之一, 消费者都希望蛋黄呈现金黄色. 从养禽业经济角度来看, 蛋黄色泽的鲜艳程度直接影响到禽蛋的商品价值^[1]. 在大规模的饲养厂, 饲料中存在的天然色素源为玉米中的玉米黄质, 其着色效果仅有5~6级, 无法满足国内外用户的需求. 目前主要采用化学合成色素添加于饲料中用以提高蛋黄的色价. 但合成色素具有一定的毒性, 其使用范围逐步受到限制, 如目前, 在家禽中普遍使用的色素“斑螫黄”对人体有害, 大量食用这种色素容易引起视网膜色素沉积, 从而影响视力, 欧盟已计划严格限制斑螫黄的用量^[2].

深红酵母含有丰富的蛋白质、氨基酸、维生素和碳水化合物, 深红酵母同时还能产生红色的类胡萝卜素, 其主要成份为: β -carotene (β , β -carotene), γ -carotene (β , γ -carotene), torulene (3', 4' didehydro- β , ψ -carotene) 和 torularhodin (3', 4' didehydro- β , ψ -carotene-16'-oic acid)^[3]. 本研究采用发酵法获得深红酵母菌体, 其产生的类胡萝卜素作为色素源进行蛋黄着色试验, 来提高蛋黄色泽和营养, 并可避免合成色素产生的毒性.

1 实验材料和方法

1.1 材料

菌株: *Rhodotorula rubra* ns1, 由本室分离鉴定并保藏.

培养基(%): 白砂糖 4, 蛋白胨 1, 酵母膏 0.3,

固体培养基加入2%的琼脂粉.

实验动物: 朝鲜鹌鹑(产蛋5周以上), 由南京农业大学动物科技学院提供.

饲料: 由南京农业大学动物科技学院提供, 成份为(%): 玉米 50.5, 糠麸 7, 豆饼 22, 鱼粉 14, 骨粉 2, 石粉 3.8, 食盐 0.5, 赖氨酸 0.2.

1.2 方法

1.2.1 鹌鹑饲养方法

将鹌鹑置于动物饲养箱中进行饲养, 用40 W白炽灯作为光源, 每天光照14 h, 饲料每天更换, 另设水槽任其自由饮用. 适应环境10 d后, 选取体重相当的12只鹌鹑, 每组各选6只, 一组作为实验组, 一组作为对照组. 每天在上午9点钟收集鹌鹑蛋, 蛋置于4℃冰箱中保藏.

1.2.2 深红酵母的发酵和处理

采用 Vintis 3L 发酵罐进行液体发酵培养深红酵母. 从试管斜面上接种深红酵母于种子培养液中, 200 r/min、26℃振荡培养36 h. 按10%的接种量接种种子液于发酵液中, 发酵液于26℃、500 r/min转速、5.0 L/min通气量的条件下发酵80 h. 发酵结束后, 5 000 r/min离心发酵液15 min, 菌体沉淀用双蒸水洗涤2次后, 置于60℃的烘箱中烘干. 干菌体用3 mol/L盐酸浸泡1 h, 然后用沸水浴处理5 min, 离心, 洗涤后, 与饲料混合, 拌匀. 深红酵母添加比例为7%.

1.2.3 类胡萝卜素的提取和含量测定

去除蛋壳, 收集蛋黄, 将蛋黄搅拌均匀, 加入

收稿日期: 2004-03-18.

作者简介: 戴亦军(1972-), 硕士, 博士研究生, 讲师, 主要从事微生物酶工程的教学与研究. E-mail: dyj@email.njnu.edu.cn

通讯联系人: 袁生(1956-), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事微生物分子生物学和微生物酶工程的教学与研究.

E-mail: shengyuan@email.njnu.edu.cn

20 mL 丙酮沉淀蛋白, 6 000 r/min 离心 10 min, 沉淀物中再加入 10 mL 丙酮, 振荡, 离心, 合并上清液, 加入适量水, 用 20 mL 石油醚萃取胡萝卜素, 收集上层石油醚, 加入适量的无水硫酸钠以吸去水分. 用 722 分光光度计测定 A_{446} 处吸光值. 胡萝卜素含量按下列公式计算:

$$\text{胡萝卜素含量}(\text{ug/yolk}) = A \times V / 0.22.$$

式中, A 为 446 nm 处吸光值; V 为加入石油醚体积.

饲料中的类胡萝卜素, 烘干后的深红酵母中的类胡萝卜素采用同样方法进行提取和测含量.

1.2.4 可见光光谱分析

取上述含有类胡萝卜素的石油醚溶液以及 β 胡萝卜素标准品 (Sigma 公司) 的石油醚溶液, 用 Shimadzu 265 紫外分光光度计进行光谱扫描, 波长为 360~600 nm.

1.2.5 反相高效液相色谱测定 β 胡萝卜素含量

采用 Waters 高效液相色谱仪进行分析. 色谱柱: C18 反相柱 (250 mm \times 4.6 mm, 中科院大连生化研究所); 流动相: 甲醇-氯仿 (80:20, 体积比); 柱温: 室温; 流速: 1 mL/min; 检测波长: 450 nm. 以 β 胡萝卜素标准品作对照.

2 结果与讨论

2.1 深红酵母对蛋黄类胡萝卜素含量和色泽的影响

未添加深红酵母之前, 蛋黄中的类胡萝卜素含量保持在 25 $\mu\text{g/yolk}$ 左右, 其色价保持在 6 级左右. 添加深红酵母后的第 2 天, 蛋黄中的类胡萝卜素含量逐渐增加, 到第 8 天蛋黄中的类胡萝卜素含量达 52 $\mu\text{g/yolk}$ (如图 1 所示), 色价高达 15 级 (如图 2 所示). 由于饲料本身含有类胡萝卜素, 喂食鹌鹑后, 这些类胡萝卜素可在蛋黄中积累, 使蛋黄色价保持在 6 级左右. 添加深红酵母后, 菌体中的类胡萝卜素与饲料中的黄色色素一起被鹌鹑吸收转化, 并不断在蛋黄中积累, 使蛋黄色价升高. 该结果说明, 深

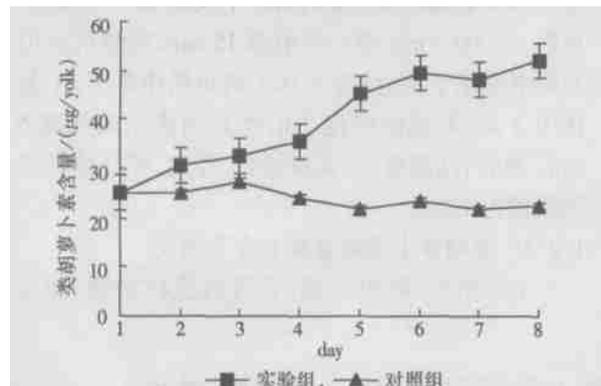
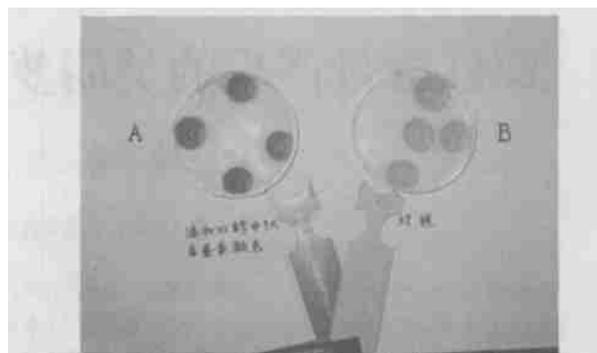


图1 添加深红酵母对蛋黄类胡萝卜素含量的影响

红酵母是一种非常有效的蛋黄着色剂.



A 实验组, B 对照组

图2 添加深红酵母对蛋黄色价的影响

2.2 深红酵母对蛋黄 β 胡萝卜素含量的影响

采用反相 HPLC 分析蛋黄中的 β 胡萝卜素含量, 发现实验组 β 胡萝卜素的含量较对照组有明显的提高 (如图 3 所示), 其含量从 0.0015 mg/yolk 增加到 0.032 mg/yolk, 提高了 21 倍. 有研究表明, 类胡萝卜素能预防肿瘤的发生、提高机体免疫功能、抗氧化、淬灭自由基、预防心血管疾病等功效. 类胡萝卜素中的 β 胡萝卜素类在体内还能转变为维生素 A^[4], 因此, β 类胡萝卜素被广泛地用作营养增补剂. 上述实验结果说明, 添加深红酵母可以提高蛋黄中的 β 类胡萝卜素的含量, 因而提高了蛋黄的营养.

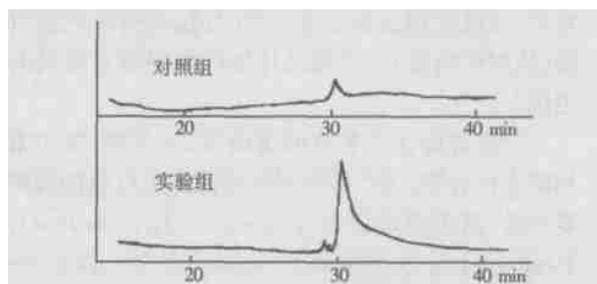


图3 实验组和对照组 β 胡萝卜素 HPLC 图

对实验组、对照组和深红酵母色素进行 360~600 nm 全波长扫描, 以 β 胡萝卜素作参照. 实验结果 (如图 4 所示) 表明, 实验组、对照组和 β 胡萝卜素的波形基本相同, 最大吸收峰出现在 450 nm 处. 而深红酵母类胡萝卜素的最大吸收峰出现在 485 nm 处.

3 讨论

从实验结果来看, 实验组鹌鹑食用了含有 7% 的经破碎细胞壁的深红酵母菌体而未产生任何异常症状, 在生产研究中鹌鹑是普遍采用的一种实验动物, 说明此深红酵母不具有毒性.

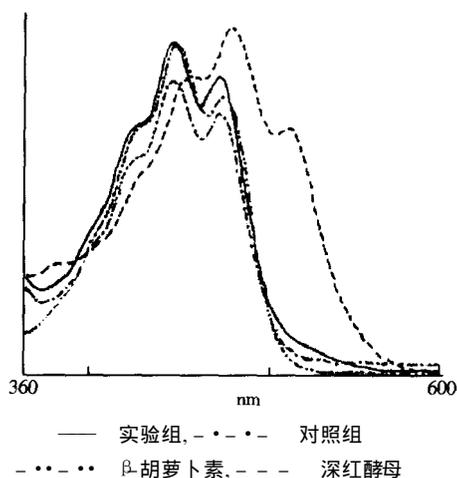


图4 不同来源色素 360~600 nm 波长扫描图

类胡萝卜素主要通过3个方面影响禽产品外观颜色:色调(Color hue),即波长;浓度(Concentration of coloring agent),即饱和度;光反射(reflection of the colour),即发光度。人类眼睛对颜色的感觉,最重要的是色素浓度。提高黄色色素,人类眼睛看到将是橙黄色。当黄色色素和红色色素组成混合物时,人们的眼睛不能分辨它们,而以橙黄色被感知。因此用较高水平的黄色色素产生的颜色也可以通过较低水平的黄色色素与红色色素配合取得,如Hoffmann-La Roche 1994年研究发现,10 mg/Kg阿朴酯与3 mg/Kg的斑螫黄素配合可产生20 mg/Kg阿朴酯同样的色泽^[5]。从我们的实验结果来看,添加深红酵母没有改变蛋黄中类胡萝卜素的波长,只是类胡萝卜素的浓度增加了一倍。深红酵母产生的类胡萝卜素的最大吸收峰在485nm,而呈现为红

色,由于饲料中本身含有黄色色素最大吸收峰在450 nm,而呈现为黄色,通过这样的组合使得蛋黄具有较好色泽。

在着色方面,受条件限制,实验动物用的是朝鲜鹌鹑,下一步可采用三黄鸡来研究,一方面可研究蛋黄的色泽的变化,另一方面可研究深红酵母对鸡的皮肤的着色效果,以便进一步增加深红酵母的用途。从蛋黄色泽来看,深红酵母菌体用量可以降低,以便节约成本,具体适合用量仍需进一步的研究。深红酵母含有丰富的蛋白质,能否作为蛋白饲料改善饲料的品质,需较多数量的鹌鹑进行实验和统计。

本研究说明,深红酵母是一类非常有效的蛋黄增色剂和营养增补剂。添加深红酵母生产出的鹌鹑蛋,既提高了蛋黄的色泽又提高了蛋黄中类胡萝卜素尤其是 β -胡萝卜素的含量,因而是一种天然的优良的增色剂、营养剂。

[参考文献]

- [1] 尹兆正,童莲芳. 蛋黄色素的研究进展[J]. 中国家禽, 1994, 16(4): 32-33.
- [2] 晓理. 欧盟将严格限制家禽饲养色素用量[J]. 中国家禽, 2003, 25(7): 45.
- [3] Hari R P K. A new strain of *Rhodotorula rubra* isolated from the yogurt[J]. J Basic Microbiol, 1993, 33(6): 379-388.
- [4] Burton G W. Antioxidant action of carotenoids[J]. Journal of Nutrition, 1989, 119: 109-111.
- [5] 王恬. 饲料添加剂应用原理及技术[M]. 南京:江苏科技出版社, 1994. 258-261.

Yolk Pigmentation of Carotenoid Produced from *Rhodotorula rubra*

DAI Yijun, YUAN Sheng, QIN Huailan

(School of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract: The experiment has been made with the quails that fed on the food containing the yeast *Rhodotorula rubra* with the broken cell walls, to study the pigmentation effect of carotenoid from *Rhodotorula rubra* on the yolks of quails. The yolk color step and the carotenoid content of the quail subjects gradually increased, with the color step rising from step 6 to step 15 during 8 days, while the normal group of quails kept the color step 6. The spectrum scanning for the pigment of the yolks has been made with the wave lengths from 360 nm to 600 nm, showing that the quail subjects and the normal group of quails are similar in the wave forms. Using the method of reverse HPLC to analyze the β -carotene content, the result has shown that the β -carotene content of the subjects reached 0.032 mg/yolk, increased by 21 times compared with the normal group of quails. The experimental results have proved that the yeast *Rhodotorula rubra* is a good natural yolk color pigment and nutritious additive.

Key words: *Rhodotorula rubra*, carotenoid, color step, color pigment, nutritious additive

[责任编辑: 严海琳]