文章编号：1009－038X(2003)03－0105－03

Mg^{2+} 对三孢布拉霉合成 β-胡萝卜素的影响

徐志强， 余晓斌
（江南大学 生物工程学院，江苏 无锡 214036）

摘 要：补加 Mg^{2+} 对三孢布拉霉合成 β-胡萝卜素及其生长的影响研究表明，在一定范围内，质量浓度低的 Mg^{2+} 促进菌体生长，质量浓度高的 Mg^{2+} 抑制菌体生长，但 β-胡萝卜素比产量增加. 发酵 48 h 补加 0.3 g/dL Mg^{2+}，β-胡萝卜素产量增加 40%. 同时，补加 Mg^{2+} 和 β-紫罗酮比仅添加 β-紫罗酮、β-胡萝卜素产量提高约 11%.

关键词：三孢布拉霉；β-胡萝卜素；镁离子
中图分类号：O 614.22　　**文献标识码**：A

The Effect of Mg^{2+} on Synthesis of β-Carotene in *Blakeslea trispora*

XU Zhi-qiang， YU Xiao-bin
(School of Biotechnology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The effects of Mg^{2+} on synthesis of β-carotene and growth of *Blakeslea trispora* was studied. In certain concertration, mycelium growth was enhanced at low Mg^{2+} concentration. At high Mg^{2+} concentration, Mg^{2+} inhibited growth but improved β-carotene production. Feeding 0.3 g/dL of Mg^{2+} at 48 h of the fermentation, the yield of β-carotene increased 40%. The yield of β-carotene by feeding 0.3 g/dL of Mg^{2+} and β-ionone simultaneously at 48 h increased 11%, compared with the case of feeding β-ionone only.

Key words: *Blakeslea trispora*; β-carotene; Mg^{2+}

大量医学研究表明，β-胡萝卜素不仅是 VA 原，它还具有增强免疫、淬灭单线态氧、清除过氧化物自由基、增强细胞联络通讯等生物学功能[1]. 近年来研究已得出明确结论，合成全反式 β-胡萝卜素有致染色体畸变作用，其在人体内的吸收率仅为天然品的 10%左右[2]. 天然胡萝卜素中含有顺式构型，顺式、反式 β-胡萝卜素混合物比单纯的全反式 β-胡萝卜素在肝脏中优先积累，更有利于疾病的治疗[3].

研究表明，在已确定碳源、氮源及其用量等的基本培养基中添加某些发酵促进剂，对用发酵法增加天然 β-胡萝卜素产量具有事半功倍的效果. β-胡萝卜素发酵促进剂有植物油、表面活性剂[4,5]、结构类似物（β-紫罗酮及其替代品如芒烯、柠檬油、）[4,6]、异烟酰肼[7]、双氧水[8]等. 本实验表明，菌体发酵 48 h 后同时补加 β-紫罗酮(β-ionone)、高质量浓度的 Mg^{2+} 对三孢布拉霉(*Blakeslea trispora*)发酵胡萝卜素有着明显的促进作用.

1 材料与方法

1.1 菌种

B. trispora(+)，*B. trispora*(－)：作者所在实

收稿日期：2003－02－27； 修回日期：2003－03－13.
作者简介：徐志强(1974－)，男，安徽潜山人，发酵工程硕士研究生.

万方数据

验室筛选保藏.

1.2 培养基

斜面活化培养基:PDA 培养基.

液体种子培养基:黄豆粉 5 g/dL,玉米粉 2.5 g/dL,VB1 0.0001 g/dL.

发酵培养基:可溶淀粉 4 g/dL,豆粕 2 g/dL,棉籽油 3 g/dL,2,6-二叔丁基对甲酚 0.1 g/dL,KH_2PO_4 0.15 g/dL,pH 值 6.5.

1.3 培养条件

保藏菌种移接到斜面活化培养基,28 ℃培养 72 h,接 1 环于种子培养基,28 ℃培养 44 h,然后以 10 mL/dL 接种量接摇瓶发酵培养基,28 ℃ 200 r/min发酵培养 120 h.补料时间为 48 h.

1.4 β-胡萝卜素提取

发酵液置于 100 ℃沸水浴中 5 min,抽滤后 50 ℃真空干燥,加入石油醚(沸程 60～90 ℃)研磨提取.

1.5 β-胡萝卜素测定

按文献[9]测定方法测定.

2 结果与讨论

2.1 Mg^{2+}质量浓度对 β-胡萝卜素发酵的影响

实验研究了 7 个 Mg^{2+}质量浓度对三孢布拉霉发酵 β-胡萝卜素的影响,结果见表 1.质量浓度低的 Mg^{2+}对菌体生长以及 β-胡萝卜素产量都有一定的促进作用,但是当 Mg^{2+}质量浓度大于 0.2 g/dL,菌体量明显减少,而 β-胡萝卜素产量在 Mg^{2+}质量浓度大于 0.4 g/dL 才显著下降.Mg^{2+}小于 0.3 g/dL 时,β-胡萝卜素比产量随 Mg^{2+}质量浓度升高而增加,增长幅度达 31.5%.这说明 Mg^{2+}能提高菌体 β-胡萝卜素产量.

表 1 Mg^{2+}质量浓度对 *B. trispora* 发酵的影响

Tab.1 Effect of concentration of Mg^{2+} on *B. trispora*

Mg^{2+}质量浓度/(g/dL)	菌体质量浓度/(g/L)	β-胡萝卜素产量/(mg/L)	比产量/(mg/g)
0	35.2	77	2.19
0.05	44.0	97	2.20
0.10	43.0	108	2.51
0.20	41.5	115	2.77
0.30	40.0	115	2.88
0.40	37.2	102	2.74
0.50	33.3	70	2.10

万方数据

2.2 单独补加 Mg^{2+}的作用

起始培养基中添加 0.05 g/dL $MgSO_4$,研究了补加 5 个质量浓度 Mg^{2+}对 β-胡萝卜素发酵的影响,结果见表 2.补加 0.3 g/dL Mg^{2+},使胡萝卜素产量增加 40%,比产量增加 47%.

表 2 补加 Mg^{2+}对 *B. trispora* 合成胡萝卜素的影响

Tab.2 Effect of feeding Mg^{2+} on synthesis of carotene in *B. trispora*

Mg^{2+}质量浓度/(g/dL)	菌体质量浓度/(g/L)	β-胡萝卜素产量/(mg/L)	比产量/(mg/g)
0	44	99	2.25
0.1	44	115	2.61
0.2	43.1	125	2.90
0.3	42.5	141	3.32
0.4	41.00	130	3.17
0.5	39.70	97	2.44

2.3 同时补加 Mg^{2+}和 β-紫罗酮的影响

起始培养基中添加 0.05 g/dL Mg^{2+},发酵 48 h 补加 0.1 mL/dLβ-紫罗酮以及不同质量浓度的 Mg^{2+},结果见表 3.β-紫罗酮解抑制 β-胡萝卜素生物合成途径中甲羟戊酸激酶[10],该酶是胡萝卜素生物合成途径中主要的限速酶.与单独补加 β-紫罗酮相比,同时补加 Mg^{2+}和 β-紫罗酮时,β-胡萝卜素产量增加 11%.其增长幅度不及单独补加 Mg^{2+},这可能由于随着产物的增加,产物反馈抑制抵消了 Mg^{2+}部分作用,也可能由于 Mg^{2+}部分作用于甲羟戊酸激酶,β-紫罗酮使 Mg^{2+}对该酶的去抑制作用被掩盖.

表 3 补加 Mg^{2+}和紫罗酮对 *B. trispora* 合成胡萝卜素的影响

Tab.3 Effect of feeding Mg^{2+} and ionone on synthesis of carotene in *B. trispora*

Mg^{2+}质量浓度/(g/dL)	菌体质量浓度/(g/L)	β-胡萝卜素产量/(mg/L)	比产量/(mg/g)
0	42.0	308	7.33
0.1	42.0	310	7.38
0.2	41.3	323	7.82
0.3	39.8	342	8.59
0.4	38.7	331	8.55
0.5	37.0	305	8.24

2.4 补料发酵 β-胡萝卜素合成曲线

研究了单独补加 0.3 g/dL Mg^{2+}和 β-紫罗酮以及同时补加这两种试剂的条件下 β-胡萝卜素的生物合成.从图 1 中可以看出,单独补加以及与紫

罗酮同时补加 Mg^{2+}，其促进作用主要都在 72～96 h，而 β-紫罗酮在 48 h 补加后呈现促进作用. 作用时间的差异可能是由于 Mg^{2+} 主要作用于 β-胡萝卜素生物合成途径后期的酶，而 β-紫罗酮的作用位点在胡萝卜素生物合成早期.

3　结　论

采用补加方式添加 0.3 g/dL Mg^{2+} 促进 *B. trispora* 合成 β-胡萝卜素，与仅补加 β-紫罗酮相比，同时补加 Mg^{2+} 和 β-紫罗酮能使 β-胡萝卜素产量提高 11%. 发酵曲线表明，Mg^{2+} 可能主要作用于胡萝卜素生物合成途径后期.

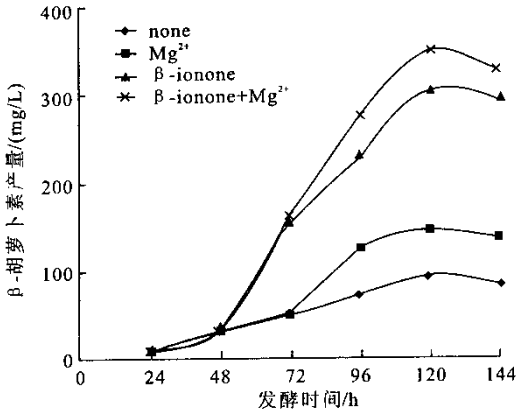


图 1　β-胡萝卜素产生与发酵补料的关系曲线

Fig. 1　The correlation curve between β-carotene production and feeding fermentation

参考文献：

[1] 宋建婷，周光宏. β-胡萝卜素的营养研究进展[J]. 四川畜牧兽医，2002，29(增刊)：89－93.

[2] 施跃峰. 天然 β-胡萝卜素研究开发动态[J]. 食品研究与开发，2000，21(2)：13－16.

[3] 刘子列，秦怀兰，袁生，等. RP-HPLC 分离测定 β-胡萝卜素顺、反异构体[J]. 南京师大学报(自然科学版)，1999，22(3)：77－80.

[4] Anderson R F，Arold M，Nelson G E，*et al*. Microbiological production of beta-carotene in shaken flasks[J]. **Agri food chemistry**，1958，6(7)：543－545.

[5] Kim S W，Seo W T，Park Y H. Enhanced synthesis of trisporic acid and β-carotene production in *Blakeslea trispora* of a nonionic surfacatant，Span20[J]. **J Ferm Bioeng**，1997，84(4)：330－332.

[6] Jeong J C，Lee I Y，Kim S W，*et al*. Stimulation of β-carotene synthesis by hydrogen peroxide in *Blakeslea trispora*[J]. **Biotech Letter**，1999，21(8)：683－686.

[7] Ninet L，Renaut J，Tissier R. Activation of biosynthesis of carotenoid by *Blakeslea trispora*[J]. **Biotech Bioeng**，1969，11(6)：1195－1210.

[8] Ciegler A，Nelson G，Hall H. Enhancement of β-carotene synthesis by citrus products[J]. **Appl Microbiol**，1963，11(1)：128－131.

[9] QB 1414—91，食品添加剂：天然 β-胡萝卜素[S].

[10] Dandekar S，Modi V，Jani U. Chemical regulators of carotenogenesis by *Blakeslea trispora*[J]. **Phytochemistry**，1980，19(4)：795－798.

(责任编辑　杨　勇)

万方数据