

牛晓娟, 乙引, 叶飞, 等. 深黄被孢霉发酵对大豆油脂含量及成分的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(2): 269–270.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.02.086

深黄被孢霉发酵对大豆油脂含量及成分的影响

牛晓娟¹, 乙引¹, 叶飞¹, 邱树毅²

(1. 贵州师范大学生命科学学院, 贵州贵阳 550001; 2. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025)

摘要:以粉碎的大豆为发酵底物, 用深黄被孢霉进行液态发酵, 通过检测发酵过程中菌丝的形态、提油量的变化和油脂成分, 以探寻有助于提高大豆出油总量的方法。研究表明, 深黄被孢霉在以大豆为发酵底物的条件下, 能观察到菌丝中有油脂的积累, 并且大豆在经深黄被孢霉发酵 144 h 后油脂提取量最大, 在提取时间 3 h 的情况下, 油脂提取率达到了 89.39%, 与相同培养、提油条件下没有经过微生物发酵的油脂比较, 提取量提高了 31.79%, 经过深黄被孢霉发酵后的大豆油脂多不饱和脂肪酸含量比未经过发酵的大豆油增加了 9%。

关键词:大豆; 深黄被孢霉; 液态发酵; 油脂提取率; 脂肪酸成分

中图分类号: TS225.1⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)02-0269-02

油料作物的常规提油方法主要是机械压榨和有机溶剂浸出法, 不能有效地分解细胞壁和破坏油脂蛋白质体, 导致提油后饼粕中残留较多的油脂, 油脂提油率不高。研究表明, 在提取的过程中加入能够破坏细胞壁和油脂体的酶^[1-2], 将有助于在较短的时间里提高油料种子的提油率。Shah 等采用三相分离的方法应用于麻疯树籽油脂的提取, 在三相分离提取前用一种叫做 Protizyme 的混合酶进行预处理, 在超声波振动下仅仅 2 h, 出油率就达到 98%^[3]。Sharma 等将含酸性、中性、碱性蛋白酶的混合酶加入到花生种籽中, 在设定条件下保温 18 h, 花生油提取率达到了 92%^[4]。本研究利用产油微生物可能产生的酶类代替现成的工业酶制剂的部分作用(破坏细胞壁或者分解蛋白质、糖类), 不仅可以使油料作物本身出油率提高, 产油微生物还可以利用油料作物本身的碳水化合物产生微生物油脂, 两者油脂累加可提高出油率, 把生物发酵法更好地应用于油脂提取, 可以大大节省油脂提取的成本。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆购自贵阳市煤矿村市场。

1.2 菌种

深黄被孢霉(*Mortierella isabellina*, AS 3.3410), 购自中国科学院微生物研究所, 使用前先进行活化。

1.3 培养基

1.3.1 菌种保藏培养基 PDA 培养基: 马铃薯浸取液 1.0 L, 葡萄糖 20.0 g, KH_2PO_4 3.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g, 维

生素 B₁ 微量, 琼脂 15.0 g, pH 值 6.0, 1×10^5 Pa 灭菌 30 min。

1.3.2 种子培养基 深黄被孢霉种子培养液: 马铃薯浸取液 1.0 L, 葡萄糖 20.0 g, KH_2PO_4 3.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g, pH 值 6.0。

1.3.3 发酵培养基 大豆发酵培养基: 粉碎过的大豆 10 g, 自来水 100 mL, pH 值自然。

1.4 试验方法

挑取保存于斜面的少量菌丝, 于 PDA 斜面培养基上 28 ℃ 培养 3 d, 直至长出大量孢子。用无菌水冲洗斜面上的孢子, 并用移液枪吸取 500 μL 接入 100 mL 的液体种子培养基中, 于 28 ℃、180 r/min 振荡培养 24 h。然后将种子液按 1% 的比例接种到装有发酵培养基的 250 mL 三角瓶中, 三角瓶装液量均为 100 mL, 于 28 ℃、180 r/min 振荡培养 144 h。每隔 24 h 取样进行油脂提取。

1.4.1 粗脂肪的测定 以乙醚作溶剂, 采用索氏提取的方法对烘干过的样品进行油脂提取, 一般认为索氏提取 8 h 可以把样品中的油脂提取完全^[5], 即为油料作物的总脂肪含量。本试验把培养条件相同但未接种深黄被孢霉、油脂提取时间为 3 h 作为对照。

计算公式:

$$\text{粗脂肪含量} = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100\%。$$

式中: m_1 为抽提瓶质量(g), m_2 为索氏抽提后抽提瓶和油脂总质量(g), m 为样品的质量(g)。

1.4.2 脂肪酸成分分析 日本岛津 GC-2014 型气相色谱仪配以 FID 检测器和聚乙二醇(PEG)毛细管色谱柱(30 m \times 0.53 mm \times 0.53 μm)。气体流量: 以高纯氮作为载气, FID 检测器的氢气和空气流量比为 50 : 50 kPa, 流速为 1.5 mL/min; 柱温: 180 ℃ 保温 2 min 后, 以 5 ℃/min 升温至 230 ℃, 在 230 ℃ 保持 15 min; 温度条件: 进样口温度 250 ℃, 检测器温度 280 ℃; 进样量为 1 μL ; 分流比为 20 : 1; 对照脂肪酸甲酯标准品的保留时间, 对经接种深黄被孢霉、接种黑曲霉和未接种微生物处理提取的大豆油分别进行脂肪酸成分的测定。

收稿日期: 2014-11-05

基金项目: 贵州省科学技术基金(编号: 黔科合 J 字[2011]32 号)。

作者简介: 牛晓娟(1983—), 女, 黑龙江大庆人, 硕士, 讲师, 主要从事应用微生物的研究。Tel: (0851) 6702541; E-mail: 252984899@qq.com。

通信作者: 邱树毅, 博士, 教授, 主要从事应用微生物、化学工程、食品工程的研究。E-mail: syqiu@gzu.edu.cn。

2 结果与分析

2.1 菌丝形态

接种深黄被孢霉的大豆发酵液在培养 120 h 后,培养液中肉眼可见乳白色的菌丝球,直径如小米粒大小。取样在光学显微镜放大 100 倍条件下观察(图 1),可以看到有黄色油滴状微生物存在,在光学显微镜放大 1 000 倍的情况下(图 2)观察,可以看到深黄被孢霉的菌丝形态。表明深黄被孢霉能够以大豆为发酵底物进行生长和代谢,并积累油脂。



图1 显微镜放大100倍下菌丝体形态



图2 显微镜放大 1 000 倍下菌丝体形态

2.2 油脂提取量

经索氏提取 8 h 后的大豆(没有经过发酵处理)提油量为 23.00% (m/m) (即试验用大豆的总油脂含量为 23.00%);经索氏提取 3 h 后的大豆(没有经过发酵处理)提油量为 15.6% (m/m) (即对照组提油量为 15.60%)。从图 3 可以看出,接种深黄被孢霉的大豆在发酵后 144 h,油脂提取时间 3 h 时达到最大提油量,为 20.56%,油脂提取率达 89.39%,比对照组提高了 31.79%。表明深黄被孢霉对提高大豆提油率发挥了一定的促进作用。

2.3 不同处理大豆油脂的主体成分检测

接种深黄被孢霉的大豆脂肪酸中亚油酸、亚麻酸、花生烯酸 3 种多不饱和脂肪酸的含量占总脂肪酸含量的 72.06%, 未经过发酵提取的大豆油中 3 种多不饱和脂肪酸含量占总脂肪酸含量的 66.10%, 为了进一步证明深黄被孢霉在以大豆为发酵底物产生了微生物油脂,我们对能提高大豆油脂提取率的另 1 株微生物黑曲霉在相同培养条件以及提油条件下做了脂肪酸成分分析(表1),分析结果表明脂肪酸成分与未发

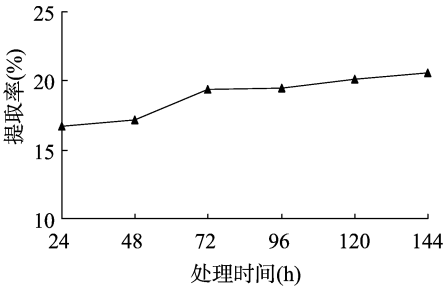


图3 经深黄被孢霉发酵处理不同时间的大豆油脂提取量

表 1 未发酵与经深黄被孢霉、黑曲霉发酵后提取的大豆油脂的脂肪酸组成分析

脂肪酸种类	脂肪酸名称	大豆脂肪酸含量(%)		
		对照	接种深黄被孢霉	接种黑曲霉
饱和脂肪酸	豆蔻酸 C14 : 0	0.07	0.08	0.12
	棕榈酸 C16 : 0	11.68	8.36	11.36
	硬脂酸 C18 : 0	4.56	3.09	4.45
	花生酸 C20 : 0	0.007	0.04	0.01
不饱和脂肪酸	棕榈油酸 C16 : 1	0.05	0.14	0.07
	油酸 C18 : 1	17.49	16.18	17.45
	亚油酸 C18 : 2	53.79	58.22	54.03
	亚麻酸 C18 : 3	11.95	13.44	12.19
	花生烯酸 C20 : 1	0.36	0.41	0.28

注:对照为没有接种微生物,培养和提油条件一致。

酵的相比变化不大。

3 结论

产油微生物可以利用大豆本身的碳水化合物产出多元不饱和脂肪酸丰富的微生物油脂,再加上大豆本身提取的油脂,两者油脂累加从而提高了大豆的出油率。多不饱和脂肪酸具有特殊的生物学功能,采用深黄被孢霉发酵会使大豆油脂中多不饱和脂肪酸含量的增加。

参考文献:

[1] Rosenthal A, Pyle D L, Niranjana K, et al. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction [J]. Enzyme Microb Technol, 1996, 19: 402 - 420.

[2] Singh R K, Sarker B C, Kumbhar B K, et al. Response Surface analysis of enzyme - assisted oil extraction factors for sesame, groundnut, and sunflower seeds [J]. J Food Sci Technol, 1999, 36: 511 - 514.

[3] Shah S, Sharma A, Gupta M N. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction [J]. Bioresource Technology, 2005 (96): 121 - 123.

[4] Sharma A, Khare S K, Gupta M N. Enzyme - assisted aqueous extraction of peanut oil [J]. JAOCS, 2002, 79(3): 215 - 218.

[5] GB/T 5512—2008 粮油检验 粮食中粗脂肪含量测定[S].