



天津科技大学学报

Journal of Tianjin University of Science & Technology

ISSN 1672-6510,CN 12-1355/N

《天津科技大学学报》网络首发论文

题目: 酵母菌发酵生产麦角固醇及其提取工艺优化
作者: 崔建东, 王中杰, 耿紫鑫, 张照明, 贾士儒
DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20240171
收稿日期: 2024-09-01
网络首发日期: 2025-07-28
引用格式: 崔建东, 王中杰, 耿紫鑫, 张照明, 贾士儒. 酵母菌发酵生产麦角固醇及其提取工艺优化[J/OL]. 天津科技大学学报.
<https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20240171>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20240171

酵母菌发酵生产麦角固醇及其提取工艺优化

崔建东¹, 王中杰¹, 耿紫鑫¹, 张照明², 贾士儒¹

(1. 天津科技大学食品营养与安全国家重点实验室, 天津 300457; 2. 山东黄三角生物技术产业研究院有限公司, 东营 257091)

摘要: 为了提高酵母菌发酵生产麦角固醇的产量, 通过单因素实验和正交实验对酵母菌产麦角固醇的条件进行优化。优化后的发酵条件为: 葡萄糖浓度为 130 g/L, 硫酸铵浓度为 10 g/L, 玉米浆浓度为 45 g/L, 麦芽汁 80 g/L, 硫酸镁 5 g/L, 磷酸氢二钾 1 g/L, 磷酸二氢钾 1 g/L, 发酵培养基初始 pH 6.0, 接种量 8%, 培养温度 30℃, 发酵 28 h。在此条件下, 麦角固醇产量比优化前提高了 1.08 倍, 达到 0.56 g/L。基于优化后的发酵条件在 5 L 发酵罐中进行放大实验, 与摇瓶实验相比, 麦角固醇产量提高了 3.12 倍, 达到 2.14 g/L。对麦角固醇的提取条件进行优化, 结果表明: 提前用 2%硝酸沸水浴回流处理菌体后再进行传统皂化反应提取麦角固醇, 相比于直接进行皂化反应更有利于提取麦角固醇。麦角固醇的产量比直接皂化提取增加了 22.45%。优化后的提取条件为: 2%硝酸预处理菌体后离心洗涤至中性, 加入 25%KOH 溶液, 50%乙醇溶液, 碱醇比为 2:1 皂化回流 4.5 h。在此提取条件下, 麦角固醇的产量能够达到 1.07 g/L, 是优化前麦角固醇产量的 2.06 倍。

关键词: 酿酒酵母; 麦角固醇; 发酵条件; 提取条件; 优化;

中图分类号: Q815

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510 (0000) 00-0000-00

Optimization of Fermentation and Extraction Technology for Ergosterol Production by Yeast

CUI Jiandong¹, WANG Zhongjie¹, GENG Zixin¹, ZHANG Zhaoming², JIA Shiru¹

(1. State Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China; 2. Shandong Yellow Triangle Biotechnology Industry Research Institute Co., Ltd., 257091, Dongying, China)

Abstract: In order to improve the production of ergosterol by yeast fermentation, the conditions of ergosterol production by yeast were optimized by single factor experiment and orthogonal experiment. The optimized fermentation conditions were as follows: glucose 130 g/L, $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$ 10 g/L, corn steep liquor 45 g/L, wort 80 g/L, MgSO_4 5 g/L, K_2HPO_4 1 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, initial pH of fermentation medium 6.0, inoculation amount 8%, culture temperature 30 °C and fermentation time 28 h. Under these conditions, the ergosterol yield was 1.08-folds higher than before optimization, reaching 0.56 g/L. Using the optimized fermentation conditions, the scale-up test was carried out in a 5 L fermentor. The ergosterol yield was 3.12 times higher than that of the shake-flask, reached 2.14 g/L. The extraction conditions of ergosterol were optimized, the results showed that it was more beneficial to extract ergosterol by traditional saponification reaction after reflux treatment of bacteria in 2% nitric acid boiling water bath in advance than by direct saponification reaction. The yield of ergosterol increased by 22.45% compared with direct saponification extraction. The optimized extraction conditions were as follows: 2% nitric acid was used to pretreat the bacteria, then centrifugal washing was carried out to neutrality, 25%KOH solution

and 50% ethanol solution were added, and the ratio of alkali to alcohol was 2:1, and saponification reflux was carried out for 4.5 h. Under this extraction condition, the yield of ergosterol can reach 1.07 g/L, which is 2.06 times of that before optimization.

Key words: *Saccharomyces Cerevisiae*; Ergosterol; Fermentation Conditions; Extraction Conditions; Optimization

麦角固醇是微生物细胞膜中必不可少的重要组成部分^[1]。麦角固醇在生物医药领域也有着广泛的应用,是“激素黄体酮”以及“可的松”等药品生产的原料^[2-3],也是人体中必不可少的维生素 D₂ 的前体,其对人体功能的调整有着不可或缺的作用^[4]。维生素 D₂ 的摄入量不足,会导致老年人出现骨质疏松、婴儿出现佝偻病^[5]。目前,国内外生产麦角固醇的方法主要是微生物发酵法,酵母菌是生产麦角固醇的主要菌种^[6]。在酵母菌中,酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)的麦角固醇含量最高,是发酵法生产麦角固醇的优选菌种^[7]。研究表明,培养基成分、培养和提取条件等对酵母菌生产麦角固醇起着至关重要的作用^[8-9]。王纪等^[10]研究表明,麦角甾醇酵母 YE1 (*Saccharomyces cerevisiae*)在麦芽糖为碳源的培养基中生长最好,但合成麦角甾醇的能力较低,蔗糖是酵母菌合成麦角甾醇的最佳碳源。谭天伟等^[11]发现低浓度蔗糖可提高酵母菌的生物量,但麦角甾醇产量基本不变,而高浓度蔗糖反而使麦角甾醇产量下降。张博润等^[12]发现硫酸铵和尿素作为氮源不利于酿酒酵母生产麦角固醇,而且不同的提取条件对麦角固醇产量影响较大。莫湘筠等^[13]发现,酿酒酵母生产麦角甾醇的量随着硫酸铵添加量的增加而减少,但酵母生物量却随着硫酸铵添加量的增加而增加。以上研究表明,虽然麦角固醇的生产菌种大多是酿酒酵母,但是在不同的培养基成分、培养和提取条件下生产的麦角固醇产量却有显著的差异,因此有必要对酿酒酵母生产麦角固醇的发酵和提取工艺进行优化,从而提高酿酒酵母生产麦角固醇的能力。

本研究以酿酒酵母为发酵菌种,利用单因素摇瓶实验研究了培养基中碳、氮源和培养条件(温度、培养基初始 pH、接种量和发酵时间)对麦角固醇产量的影响,在单因素实验基础上利用正交实验对酵母菌生产麦角固醇的条件进行优化,获得酿酒酵母摇瓶发酵生产麦角固醇的最佳条件,在此基础上,利用 5 L 发酵罐进行放大实验。并利用单因素及正交实验优化了麦角固醇的提取条件,建立了硝酸预处理后再进行皂化反应的提取工艺。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种与培养基

酿酒酵母由山东黄三角生物技术产业研究院有限公司提供。

初始培养基:葡萄糖 70 g/L、酵母粉 15 g/L、麦芽汁 60 g/L、磷酸氢二铵 10 g/L、硫酸镁 5 g/L、玉米浆 16 g/L、磷酸氢二钾 1 g/L、磷酸二氢钾 1 g/L。

种子培养基:葡萄糖 30 g/L、酵母粉 6 g/L、磷酸氢二铵 3 g/L、硫酸镁 0.8 g/L、磷酸氢二钾 1 g/L、磷酸二氢钾 1 g/L。

发酵培养基:葡萄糖 110 g/L、麦芽汁 80 g/L、硫酸铵 10 g/L、硫酸镁 5 g/L、玉米浆 45 g/L、磷酸氢二钾 1 g/L、磷酸二氢钾 1 g/L

1.1.2 试剂与仪器

酵母粉,英国 OXOID 公司;麦芽糖、淀粉、玉米浆、磷酸氢二铵、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、麦芽汁,北京索莱宝生物科技有限公司;硫酸铵,天津博欧特化工贸易有限公司;硫酸镁、氯化铵、氢氧化钾,天津津东天正精细化学试剂厂;葡萄糖、无水乙醇、甲苯,天津市福晨化学试剂厂;蔗糖,天津市百世化工有限公司;牛肉膏、蛋白胨,北京奥博星生物技术有限公司;柠檬酸铵,天津博欧特化工贸易有限公司。

ZHJH-C1115B 型生物超净工作台,上海智城分析仪器制造有限公司;LDZX-75L-I 型立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;SHP-150D 型生化培养箱,上海森信实验仪器有限公司;1200 Series 型高效液相色谱仪,美国 Agilent Technologies 公司;5-BG5L 型自控式发酵罐,上海保兴生物设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 摇瓶发酵培养

从保藏菌种的甘油管中取 200 μ L 酵母菌液转接至 YEPD 平板中,30 $^{\circ}$ C 培养 24 h;从平板上挑

取 1 环菌种转接到 200 mL 种子培养基中, 30 °C、220 r/min 培养 10 h; 按 10% 的接种量将种子液转接到装有发酵培养基的三角瓶中, 30 °C、220 r/min 培养 24 h。

1.2.2 发酵罐发酵培养

从保藏菌种的甘油管中取 200 μL 菌液接至 YEPD 平板中, 30 °C 静置培养 24 h; 从平板挑取 1 环菌种转接到 200 mL 种子培养基, 30 °C、220 r/min 培养 10 h; 按 10% 接种量将种子液转接到装有 1.8 L 发酵培养基的 5 L 发酵罐中培养, 温度 30 °C, 转速 400 r/min, 通气量 4 L/min, pH 控制在 6.00 左右, 发酵 48 h。

1.2.3 麦角固醇的皂化提取方法

取发酵液离心后弃上层清液, 菌体沉淀用超纯水洗涤 3 次后, 加入 20 mL 100% 氢氧化钾溶液和 10 mL 无水乙醇, 置于圆底烧瓶在沸水浴中回流, 回流结束后, 冷却至室温, 加 20 mL 甲苯, 剧烈振荡 15 min, 静置 2 h, 分层后取上层萃取液测定麦角固醇含量^[11]。

1.2.4 测定方法

精确称取麦角固醇标准品 5 mg 置于 10 mL 容量瓶中, 加入一定量的甲苯配制成 0.5 mg/mL 储备液; 以此储备液为母液分别配制为不同浓度梯度的稀释液^[12]。然后 HPLC 检测, 检测条件为: Venusil XBP C18 (L) (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇 (色谱级); 柱温 30 °C, 流量 1.0 mL/min, 进样量 10 μL, 检测波长 282 nm。以麦角固醇质量浓度 (μg/mL) 为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线^[14]。标准曲线的回归方程为 $y=16.69398x-6.05833$, $R^2=0.99999$ 。

1.2.5 正交实验设计

以麦角固醇产量为指标, 根据发酵条件单因素优化实验结果, 设计 4 因素 3 水平的 L9 (3⁴) 正交实验, 研究酵母菌生产麦角固醇的最佳优化组合。

1.3 数据处理

用 Excel 2021 进行数据处理与分析, 实验结果以“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 发酵培养基成分优化

2.1.1 碳源的选择

选用浓度为 70 g/L 的葡萄糖、淀粉、蔗糖、麦芽糖作为培养基碳源, 研究不同碳源对麦角固醇产量的影响。以葡萄糖为碳源时, 酿酒酵母合成麦角

固醇的产量高于以蔗糖、淀粉和麦芽糖为碳源的产量, 表明葡萄糖是酿酒酵母生产麦角固醇最适碳源。这是由于当培养基中存在葡萄糖时, 其分解代谢产物会降低细胞内 cAMP 的含量, 进而影响基因的表达, 使得其他糖类的利用基因不被激活, 酵母菌不会启动相应的基因来利用糖类, 这被称为酵母菌的葡萄糖效应^[15]。因此, 后续选择葡萄糖作为碳源发酵生产麦角固醇。

2.1.2 氮源的选择

选用浓度为 40 g/L 的牛肉膏、玉米浆、酵母粉、蛋白胨作为有机氮源; 浓度为 10 g/L 的磷酸氢二铵、硫酸铵、氯化铵、柠檬酸铵作为无机氮源, 考察了酿酒酵母生产麦角固醇的能力, 结果如表 1 所示。使用玉米浆作为有机氮源时酿酒酵母合成麦角固醇的产量显著高于使用牛肉膏、酵母粉和蛋白胨。但是, 所选用的无机氮源对酿酒酵母生产麦角固醇的产量影响不明显, 相比而言, 硫酸铵作为无机氮源时产量相对较高, 而磷酸氢二铵产量最低。因此后续选择玉米浆和硫酸铵作为氮源发酵生产麦角固醇。但是一些学者报道硫酸铵的添加不利于酵母菌产麦角固醇^[12-13], 我们的研究结果与他们不同, 这个现象有待于进一步研究。

表 1 不同氮源对麦角固醇产量的影响

Tab. 1 Effects of different nitrogen sources on ergosterol production

有机氮源	麦角固醇 产量 (g/L)	无机氮源	麦角固醇 产量 (g/L)
空白	0.211±0.004	空白	0.342±0.007
牛肉膏	0.293±0.008	磷酸氢二铵	0.324±0.005
玉米浆	0.341±0.004	硫酸铵	0.360±0.004
酵母粉	0.272±0.005	氯化铵	0.331±0.005
蛋白胨	0.273±0.005	柠檬酸铵	0.342±0.003

2.1.3 葡萄糖浓度对麦角固醇含量的影响

葡萄糖浓度对酿酒酵母生产麦角固醇的影响如图 1 所示, 葡萄糖浓度在 50 g/L~110 g/L 之间时, 随着葡萄糖浓度的增加, 麦角固醇的产量也随之增加, 当葡萄糖的浓度是 110 g/L 时, 麦角固醇产量达到最高。但是, 继续增加葡萄糖的浓度直至超过 110 g/L 时, 麦角固醇的产量反而有所下降。这表明过高的葡萄糖浓度反而会抑制酿酒酵母合成麦角固醇, 从而降低麦角固醇产量。

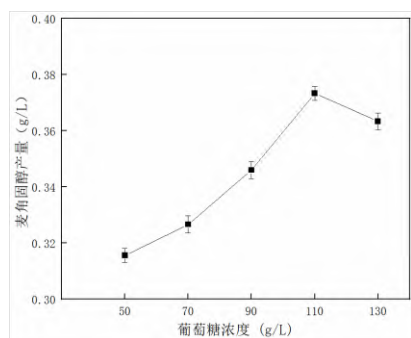
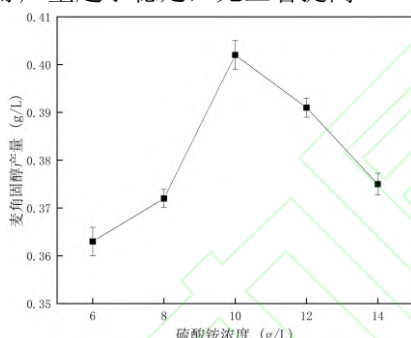


图 1 不同葡萄糖浓度对麦角固醇含量的影响

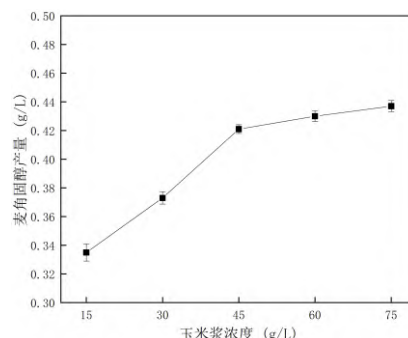
Fig. 1 Effects of different glucose concentrations on ergosterol content.

2.1.4 氮源浓度对麦角固醇含量的影响

不同玉米浆浓度和硫酸铵浓度对酿酒酵母生产麦角固醇的影响如图 2 所示,随着硫酸铵浓度增加,麦角固醇产量也增加,当硫酸铵浓度在 10 g/L 时,麦角固醇产量最高。但当浓度大于 10 g/L 时,麦角固醇产量开始下降;这表明硫酸铵浓度过高抑制酿酒酵母合成麦角固醇。另外,随着玉米浆浓度的增加,麦角固醇的产量也在增加,当浓度达到 45 g/L 时麦角固醇产量较高,继续增加玉米浆浓度,麦角固醇产量趋于稳定,无显著提高。



(a) 硫酸铵



(b) 玉米浆

图 2 氮源浓度对麦角固醇含量的影响

Fig. 2 Effects of nitrogen sources concentrations on ergosterol content.

2.1.5 麦芽汁浓度对麦角固醇含量的影响

麦芽汁浓度对麦角固醇含量的影响如图 3 所示,麦角固醇的产量随着麦芽汁浓度的增加而提高,当麦芽汁浓度为 80 g/L 时,酿酒酵母合成麦角固醇的产量最高,但是当进一步增加麦芽汁的浓度,麦角固醇的产量反而开始有所下降。

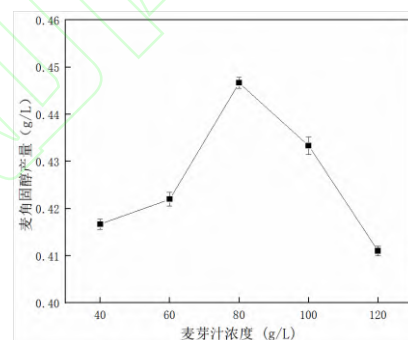
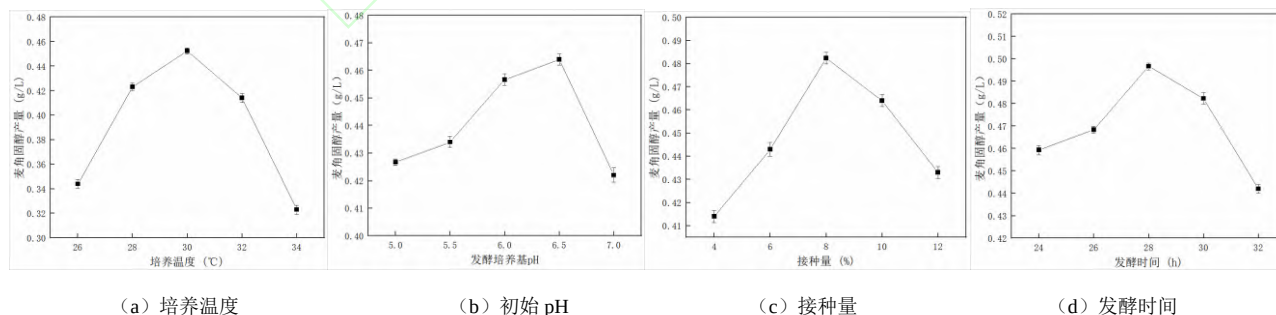


图 3 麦芽汁浓度对麦角固醇含量的影响

Fig. 3 Effects of wort concentrations on ergosterol content.

2.2 发酵培养条件优化

发酵培养条件的优化结果如图 4 所示。



(a) 培养温度

(b) 初始 pH

(c) 接种量

(d) 发酵时间

图 4 发酵培养条件的优化

Fig. 4 Optimization of fermentation culture conditions

由图 4 (a) 可知,麦角固醇产量随培养温度的提高而增加,当培养温度是 30°C,麦角固醇的产量达到最高,温度再高产量反而下降。因此最适合酿

酒酵母生产麦角固醇的温度为 30°C。

由图 4 (b) 可知,随着初始 pH 的增加麦角固醇产量也在增加,当初始 pH 为 6.0-6.5 时产量较高,

初始 pH 升高, 麦角固醇的产量反而下降。

由图 4 (c) 可知, 随着接种量的增加, 麦角固醇的产量有着先增后降的趋势, 原因可能是当接种量低时, 菌体生长缓慢, 而接种量高时, 菌体生长过快, 营养物质消耗快, 不利于麦角固醇的积累。当接种量为 8% 时, 酿酒酵母合成麦角固醇的产量最高, 所以确定 8% 是最适的接种量。

由图 4 (d) 可知, 随发酵时间的延长, 麦角固醇的产量逐渐增加, 在发酵 28 h 时产量最高, 但发酵时间继续增加, 麦角固醇的产量开始下降, 因此最适的发酵时间为 28 h。

2.3 正交实验结果

根据单因素实验结果, 选择了葡萄糖浓度 g/L (A)、硫酸铵浓度 g/L (B)、玉米浆浓度 g/L (C) 及初始 pH (D) 4 个对发酵生产麦角固醇影响较显著的因素设计正交实验, 实验每个组合设 3 个重复, 数据取平均值, 研究发酵的最优组合。正交实验结果见表 2。

表 2 正交实验结果及极差分析

Tab. 2 Orthogonal Experiment Results and Range Analysis

实验号	A	B	C	D	麦角固醇 产量 (g/L)
1	90	8	30	6.0	0.354±0.007
2	90	10	45	6.5	0.420±0.003
3	90	12	60	7.0	0.211±0.002
4	110	8	45	7.0	0.321±0.005
5	110	10	60	6.0	0.273±0.003
6	110	12	30	6.5	0.290±0.004
7	130	8	60	6.5	0.232±0.007
8	130	10	30	7.0	0.341±0.001
9	130	12	45	6.0	0.464±0.006
k ₁	0.327	0.300	0.327	0.360	
k ₂	0.293	0.343	0.400	0.313	
k ₃	0.343	0.320	0.237	0.290	
R	0.050	0.043	0.163	0.070	

由表 2 分析得知, R 值 (极差) 的大小排序为 $R_C > R_D > R_A > R_B$, 即玉米浆浓度对麦角固醇产量的影响最为显著, 其次是初始 pH、葡萄糖浓度, 最不显著的是硫酸铵浓度。从表 2 的 k 值 (均值) 可知, 最优发酵组合为 $A_3B_2C_2D_1$, 即葡萄糖浓度为 130 g/L, 硫酸铵浓度为 10 g/L, 玉米浆浓度为 45 g/L, 初始 pH 为 6。对正交实验分析得出的最优发酵条件进行验证, 得到 $A_3B_2C_2D_1$ 组合的平均产量为 0.56 g/L, 是未优化前麦角固醇产量的 1.08 倍, 因此得出

酵母菌发酵生产麦角固醇的最优发酵条件为葡萄糖浓度为 130 g/L, 硫酸铵浓度为 10 g/L, 玉米浆浓度为 45 g/L, 初始 pH 为 6。

2.4 发酵罐发酵实验

利用优化后的发酵条件下在 5 L 发酵罐中进行分批发酵实验, 发酵 36 h, 麦角固醇产量达到 2.14 g/L (图 5)。与摇瓶实验相比, 麦角固醇产量提高了 3.12 倍。

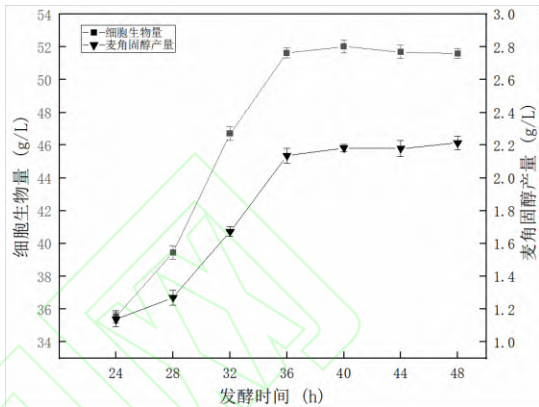


图 5 酵母菌在 5 L 发酵罐中发酵时间曲线

Fig. 5 Fermentation time curve of yeast in 5L fermentor.

2.5 麦角固醇提取条件优化

2.5.1 酸预处理对提取麦角固醇的影响

将菌体用 2% 硝酸溶液在沸水浴中进行 1 h 的回流处理, 研究酸预处理对提取麦角固醇的影响。结果表明, 相比于直接进行皂化反应提取麦角固醇, 用酸-热预处理菌体再皂化的方法获得的麦角固醇的产量增加了 22.45%。

2.5.2 皂化反应条件优化

不同皂化反应条件对麦角固醇含量的影响结果如图 6 所示。

由图 6 (a) 可知, 随着皂化时间的延长, 麦角固醇提取量逐步上升, 但当超过 4.5 h 后, 麦角固醇的提取量不再显著, 可能是麦角固醇不稳定, 时间过长容易导致分解。因此皂化 4.5 h 时麦角固醇提取效果较理想。

由图 6 (b) 可知, 在氢氧化钾溶液浓度达到 25% 时, 麦角固醇提取量达到最大。随着碱浓度继续增加, 麦角固醇的提取量逐渐减少。这说明高浓度的碱溶液并不利于提取, KOH 浓度过高会导致麦角固醇与蛋白质分子结合, 从而无法从样品中完全提取麦角固醇, 致使麦角固醇含量降低。

由图 6 (c) 可知, 当乙醇浓度是 50% 时, 麦角固醇的浓度达到最大, 但当浓度继续上升时, 其含量逐渐减少, 这说明高浓度的乙醇溶液同样不利于麦角固醇的提取, 所以提取麦角固醇的最佳醇浓度

为 50%。

由图 6(d)可知,当碱醇比从 4:1 上升到 2:1 时,麦角固醇含量呈现上升趋势。但当碱醇比进一步增

加后,麦角固醇含量几乎不再上升,反而呈现下降的态势。因此当碱醇比为 2:1 时,更有利于麦角固醇的皂化提取。

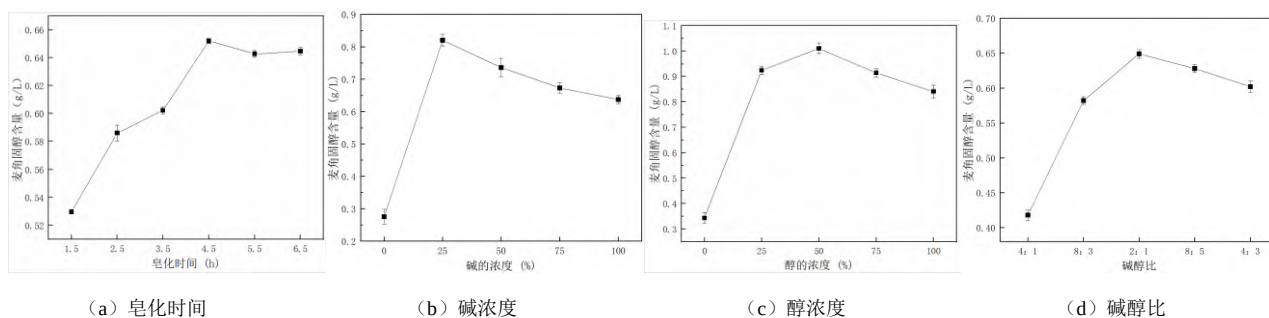


图 6 不同皂化反应条件对麦角固醇含量的影响

Fig. 6 Effect of different saponification reaction conditions on ergosterol content

3 结 语

为了提高酵母菌发酵生产麦角固醇的产量,通过单因素实验和正交实验对酵母菌产麦角固醇的条件进行优化。酿酒酵母发酵条件为:葡萄糖 130 g/L、麦芽汁 80 g/L、硫酸铵 10 g/L、硫酸镁 5 g/L、玉米浆 45 g/L、磷酸氢二钾 1 g/L、磷酸二氢钾 1 g/L,培养温度 30℃,发酵培养基初始 pH 6.0,接种量 8%,发酵 28 h。在此条件下,麦角固醇的产量比优化前增加了 1.08 倍。利用优化发酵条件在 5 L 发酵罐中进行扩大生产实验,与摇瓶实验相比,麦角固醇产量提高了 3.12 倍,达到 2.14 g/L。

为了提高菌株发酵后麦角固醇的得率,优化了提取条件,包括硝酸预处理、皂化反应时间、碱的浓度、醇的浓度、碱醇比。结果表明:提前用 2% 硝酸沸水浴回流处理菌体后再进行传统皂化反应提取麦角固醇,相比于直接进行皂化反应更有利于提取麦角固醇,建立了酸-热预处理菌体再皂化的方法,用此方法提取麦角固醇的产量比直接皂化提取增加了 22.45%。最佳提取条件为 2% 硝酸预处理菌体后离心洗涤至中性,加入 25% KOH 溶液,50% 乙醇溶液,碱醇比为 2:1 皂化回流 4.5 h。在最佳提取条件下,摇瓶实验中麦角固醇的产量是优化前麦角固醇产量的 2.06 倍。本研究为利用酿酒酵母发酵生产麦角固醇的产业化应用提供了参考依据。

参考文献:

[1] KARST F, LACROUTE F. Ergosterol biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*: mutants deficient in the early steps of the pathway [J]. Molecular & general genetics, 1977, 154(3): 169-277.

[2] PINTOR JW, LOZANO R, NES WR. Inhibition of sterol biosynthesis by ergosterol and cholesterol in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Biochimica et biophysica acta-lipids and lipid metabolism, 1985, 836(1): 89-95.

[3] SIEIRO-SAMPEDRO T, BRIZ-CID N, POSE-JUAN E, et al. Tetraconazole alters the methionine and ergosterol biosynthesis pathways in *Saccharomyces* yeasts promoting changes on volatile derived compounds[J]. Food weekly news, 2020, 130: 108930.

[4] KATRIN S, MARISSA H, ANDREA E, et al. Characterization of various isomeric photoproducts of ergosterol and vitamin D2 generated by UV irradiation[J]. European food research and technology, 2022, 249(3): 713-726.

[5] SERVOUSE M, KARST F. Regulation of early enzymes of ergosterol biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Biochemical journal, 1986, 240(2): 541-547.

[6] 谢宗良. 产麦角固醇酵母菌的筛选、诱变与发酵条件优化[D]. 保定: 河北大学, 2007.

[7] RUSLAN B, RIMANTE B, ARUNAS M, et al. FT-IR Method limitations for β -glucan analysis[J]. Molecules, 2022, 27(14): 4616-4616.

[8] 李海军, 王庆波, 张英华, 等. 利用廉价原料生产聚谷氨酸的研究[J]. 食品与药品, 2022, 24(01): 36-39.

[9] 王绍杰, 郭雪娜, 何秀萍, 等. 酵母菌利用糖蜜发酵产麦角甾醇的工艺条件优化[J]. 生物工程学报, 2013, 29(11): 1676-1680.

[10] 王纪, 薛小莉. 离子注入麦角甾醇酵母选育及发酵工艺[J]. 微生物学杂志, 1998, 18(4): 25-28.

[11] 谭天伟, 戚以政, 郭文彦. 用酵母生产麦角固醇的发

- 醇工艺研究[J]. 微生物学通报, 1998, 18(4): 25-28.
- [12] 张博润, 何秀萍, 铁翠娟, 等. 麦角固醇高产菌株的构建及其培养条件优化研究[J]. 生物工程学报, 1999, 15(1): 46-51.
- [13] 莫湘筠, 黄玲, 万宁. 产麦角固醇酵母的选育及其发酵条件的研究[J]. 食品与发酵工业, 1990, (06): 20-23.
- [14] 蔡文, 吴鑫颖, 张倩颖, 等. 高斯芽孢杆菌产中性蛋白酶条件优化及其对烟叶发酵的影响[J]. 食品与发酵科技, 2022, 58(3): 92-98.
- [15] 吴迪, 程艺超, 姜娇, 等. 酵母中葡萄糖阻遏作用机制研究进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(09): 3409-3427.

