

补料工艺对两株法夫酵母菌株产虾青素的影响

蒋兴龙¹ 洪清林¹ 蔡慧农^{1,2,3} 倪辉^{1,2,3} 肖安风^{1,2,3} 杨远帆^{1,2,3*}

(1. 集美大学 生物工程学院 福建 厦门 361021)

(2. 福建省高校食品微生物与酶工程研究中心 福建 厦门 361021)

(3. 厦门市食品与生物工程技术研究中心 福建 厦门 361021)

摘要: 【目的】考察不同补料工艺对法夫酵母菌株生长和虾青素合成的影响。【方法】对法夫酵母 JMU-VDL668 和 JMU-MVP14 菌株在 7 L 罐中进行分批及分批补料培养; 同时, 测定发酵过程中生物量、虾青素和葡萄糖含量的变化。【结果】采用恒 DO 补料, 法夫酵母 JMU-VDL668 菌株获得的生物量最大(64.6 g/L), 是分批培养的 2.2 倍; 采用恒 pH 补料发酵, 虾青素的产量最高(20.6 mg/L), 是分批培养的 1.5 倍。与 JMU-VDL668 菌株不同, 虾青素高产菌株 JMU-MVP14 菌株采用恒 pH 补料, 获得生物量最大(48.5 g/L), 但虾青素产量大大降低(仅 17.5 mg/L); 采用脉冲补料, 虾青素产量最高, 达到 414.1 mg/L, 与分批发酵相比提高了 200.2%; 采用恒 DO 补料, 生物量(38.5 g/L)和虾青素产量(403.2 mg/L)增加显著, 与分批发酵相比分别提高了 133.1%和 192.3%。【结论】不同补料工艺对法夫酵母菌株生产虾青素影响很大。其中, 采用恒 pH 补料工艺, 法夫酵母 JMU-VDL668 菌株可以获得最高的虾青素产量, 而采用脉冲补料工艺, 最适于法夫酵母 JMU-MVP14 菌株发酵生产虾青素。

关键词: 法夫酵母, 虾青素, 发酵, 补料工艺

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 20702019); 福建省产学研重大专项项目(No. 2010N5009); 福建省自然科学基金项目(No. 2011J01224); 福建省青年人才创新项目(No. 2007F3072); 集美大学中青年创新团队专项基金项目(No. 2010A006)

*通讯作者: Tel: 86-592-6181487; ✉: yuanfan@jmu.edu.cn

收稿日期: 2012-12-03; 接受日期: 2013-02-18

Influence of different fed-batch fermentation modes on astaxanthin production with two *Phaffia rhodozyma* strains

JIANG Xing-Long¹ HONG Qing-Lin¹ CAI Hui-Nong^{1,2,3} NI Hui^{1,2,3}
XIAO An-Feng^{1,2,3} YANG Yuan-Fan^{1,2,3*}

(1. College of Bioengineering, Jimei University, Xiamen, Fujian 361021, China)

(2. Research Center of Food Microbiology and Enzyme Engineering Technology (Jimei University),
Fujian Province, Xiamen, Fujian 361021, China)

(3. Food Bio-engineering Research Center of Xiamen, Xiamen, Fujian 361021, China)

Abstract: [Objective] Several fed-batch fermentation modes were studied to investigate the effect on cell growth and astaxanthin synthesis of *Phaffia rhodozyma*. **[Methods]** Biomass, astaxanthin concentration and residual sugar concentration were detected when two *Phaffia rhodozyma* strains (JMU-VDL668 and JMU-MVP14) were fermented in 7 L bioreactor by batch and fed-batch culture. **[Results]** The highest biomass (64.6 g/L) of *Phaffia rhodozyma* JMU-VDL668, which was more than 2.2 times of batch culture, was obtained from DO-stat feeding culture; and pH-stat feeding culture brought the highest astaxanthin concentration (20.6 mg/L), which was 1.5 times of batch culture. Differently with the results of *Phaffia rhodozyma* JMU-VDL668, the highest astaxanthin concentration (414.1 mg/L) of *Phaffia rhodozyma* JMU-MVP14 was obtained by Pulse-fed culture, which increased by 200.2% compared with batch fermentation. Actually, biomass (38.5 g/L) and astaxanthin concentration (403.2 mg/L) were also improved significantly when DO-stat feeding culture was used, increased by 133.1% and 192.3% compared with batch fermentation respectively. **[Conclusion]** The production of astaxanthin had a significant effect due to different fed-batch fermentation modes. What's more, the highest astaxanthin concentration of *Phaffia rhodozyma* JMU-VDL668 was obtained by pH-stat feeding culture while Pulse-fed culture was optimal for *Phaffia rhodozyma* JMU-MVP14 to product astaxanthin.

Keywords: *Phaffia rhodozyma*, Astaxanthin, Fermentation, Fed-batch process

虾青素(Astaxanthin)是一种脂溶性的酮式类胡萝卜素, 因具备很强生理功能, 如抗氧化性以及抗肿瘤、增强免疫力等, 而在食品、饲料、化妆品、医药等方面具有广泛的应用^[1]。

法夫酵母(*Phaffia rhodozyma*)是可生产天然虾青素的主要微生物之一。在法夫酵母发酵过程中, 通过补料的方式控制底物浓度, 可以实现菌

体高密度培养, 提高虾青素产量。国内外对法夫酵母产虾青素的分批补料发酵方式进行了较多的研究: Ho 等^[2]通过研究不同的补料方式对法夫酵母发酵的影响, 发现采用 DO-stat 法可得到最大生物量(17.4 g/L), 而胞内虾青素含量最低(307 µg/g); 采用指数流加方式得到的生物量最低(14.7 g/L), 但胞内虾青素含量最高(412 µg/g)。

de la Fuente 等^[3]在 10 L 发酵罐中进行法夫酵母的分批补料培养同时照射白光,其胞内虾青素含量达到 4.7 mg/g,虾青素产量达到 420 mg/L。梁新乐等^[4]研究发现,采用指数补料流加,生物量最大可达 32.56 g/L,虾青素含量达到了 14.52 mg/L。汪洪涛等^[5]对法夫酵母的不同补料发酵方式进行了研究,结果表明:采用恒 pH 葡萄糖-氨水流加培养,类胡萝卜素总量和生物量均具有最大值,分别为 54.3 mg/L 和 49.5 g/L。鲁明波等^[6]在法夫酵母的发酵动力学模型的基础上,提出一种两阶段补料策略,虾青素产量达到 29.05 mg/L;肖安风等^[7]在 5 L 发酵罐中进行法夫酵母反复分批补料培养,第二批次的生物量及虾青素含量都达到了第一批次的水平,通过该法缩短了发酵周期,使生产效率得到提高。

从以上研究可以发现,不同的补料发酵方式对法夫酵母的细胞生长和虾青素合成影响很大;同时,由于不同菌株之间的发酵特性差异较大,所需的最优补料方式也有所不同。本实验室在前期研究中,以法夫酵母 JMU-VDL668 为出发菌株筛选得到了一株高产虾青素的法夫酵母菌株(JMU-MVP14),其虾青素的细胞产率可达到 6 mg/g 以上,在 7 L 罐中采用分批补料发酵 225 h,产量可达到 400 mg/L^[8],显示该菌株具有很强的虾青素生产能力。因此,为了进一步提高法夫酵母 JMU-MVP14 菌株的虾青素生产能力和产业化利用价值,本研究考察了几种常用补料工艺(脉冲补料发酵、恒 pH 补料发酵、恒 DO 补料发酵)对法夫酵母 JMU-VDL668 和 JMU-MVP14 菌株产虾青素的影响。

1 材料与方法

1.1 菌种

法夫酵母 JMU-VDL668 菌株:以法夫酵母 Pst-1 菌株(德国柏林工业大学 Stahl 教授赠送)为

出发菌株,经紫外诱变,用薄层色谱法筛选得到,该菌株虾青素占总类胡萝卜素的 95%。

法夫酵母 JMU-MVP14 菌株:法夫酵母 JMU-VDL668 菌株经甲基磺酸乙酯诱变,用 0.5%的双氧水结合紫外照射产生自由基淘汰低产菌株选育得到。

1.2 培养基

斜面菌种培养基:4° Bx 麦汁培养基, pH 6.0, 琼脂 2%。

种子制备培养基(g/L):葡萄糖 20, KH_2PO_4 2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5; 金属离子、维生素和微量元素成分(mg/L): $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 10, H_3BO_3 2.67, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.8, KI 0.27, MnCl_2 2.67, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.07, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 12, CoCl_2 0.8, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 8, 泛酸钙 2.67, 生物素 0.13, 肌醇 66.67, 烟酸 2.67, 对氨基苯甲酸(PABA) 0.53, 盐酸吡哆醇 2.67, 盐酸硫铵 2.67, pH 6.0。其中维生素成分采用过滤除菌。

法夫酵母 JMU-VDL668 菌株发酵培养基(g/L):葡萄糖(分批发酵 80; 补料发酵 30), 酵母膏 3, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5, KH_2PO_4 2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 初始 pH 值 6.0。

法夫酵母 JMU-MVP14 菌株发酵培养基(g/L):葡萄糖(分批发酵 60; 补料发酵 30), 酵母膏 15, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5, KH_2PO_4 3, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 6, 初始 pH 值 6.0。

1.3 培养方法

1.3.1 摇瓶种子的制备:将斜面活化的菌种接种于装有 30 mL 种子培养基的 250 mL 摇瓶中,于 22 °C、190 r/min 的摇床中培养 3 d,得到 1 代摇瓶种子。取 1 mL 1 代摇瓶种子转接到新鲜的种子培养基中,于相同条件下培养 2 d,得到 2 代摇瓶种子。

1.3.2 7 L 发酵罐实验:分批发酵:以 5%的接种量将摇瓶种子接入装有 5 L 发酵培养基的 7 L 发

酵罐中, 发酵过程中 pH 值控制为 4.0 (利用 8% 氨水和 2 mol/L 的硫酸控制), 通气量 3 L/min, 发酵温度 21 °C, 通过调节搅拌转速控制溶氧值>30%。

脉冲补料发酵: 当葡萄糖耗尽, 溶氧迅速回升时, 开始第一次补加葡萄糖浓缩液, 此后每隔 12 h 补加 10 g/L 的葡萄糖, 其他控制条件与分批发酵试验相同。

恒 pH 补料发酵: 当发酵液中的葡萄糖耗尽, pH 值上升至 4.2 时, 补加 10 g/L 的葡萄糖。

恒 DO 补料发酵: 当葡萄糖耗尽时, 溶氧迅速回升, 此时向培养基中补加 10 g/L 的葡萄糖, 溶氧随之下降, 通过补料控制发酵过程溶氧维持在 30%–50%之间。

1.4 分析方法

1.4.1 生物量的测定: 取 5 mL 发酵液于离心管, 3 500 r/min 离心 5 min, 并用去离子水洗涤菌体 2 次, 105 °C 烘干至恒重。

1.4.2 虾青素含量的检测: 采用分光光度法测定

发酵液中虾青素含量^[9]。

1.4.3 发酵液残糖的检测: 采用 3,5-二硝基水杨酸法测定还原糖^[10]。

1.4.4 二次参数的计算: 虾青素细胞产率 (Specific productivity of astaxanthin)=虾青素含量/生物量(mg 虾青素/g 干细胞)

细胞得率(Biomass yield)=生物量/消耗的糖浓度(g 干细胞/g 葡萄糖)

虾青素得率(Astaxanthin yield)=虾青素含量/消耗的糖浓度(mg 虾青素/g 葡萄糖)

2 结果与分析

2.1 分批发酵

法夫酵母 JMU-MVP14 菌株是以 JMU-VDL668 菌株为出发菌株, 选育得到的一株低耗糖、高产虾青素的菌株, 对溶氧的要求相对较低^[8]。为了对两株菌株的生长代谢情况进行比较, 分别在 7 L 发酵罐中对两株菌株进行分批培养, 其发酵过程曲线如图 1 所示。

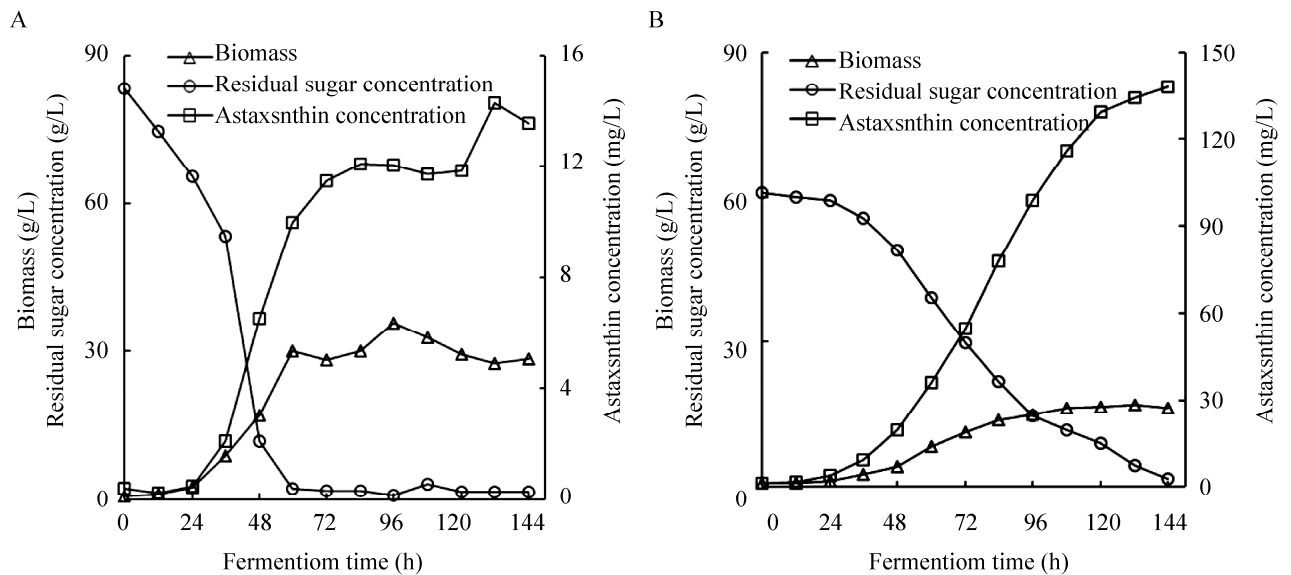


图 1 法夫酵母 JMU-VDL668 (A) 和 JMU-MVP14 菌株 (B) 的分批发酵曲线
Fig. 1 Time-course of batch for *Phaffia rhodozyma* JMU-VDL668 (A) and *Phaffia rhodozyma* JMU-MVP14 (B)

从图 1A 中可以看出,法夫酵母 JMU-VDL668 的色素合成与菌体的生长是密切相关的。发酵前 24 h 处于延滞期,菌体生物量和虾青素含量变化缓慢。随后进入指数生长期,生物量和虾青素含量迅速增加,发酵至 60 h,葡萄糖已经基本耗尽,菌体生物量趋于稳定。虾青素的合成与菌体生长情况较为一致,主要在对数生长期进行快速的积累,发酵至 72 h,虾青素积累速度有所放缓。至发酵终点生物量达到 28.5 g/L,虾青素含量为 13.5 mg/L。

分析法夫酵母 JMU-MVP14 菌株的分批发酵曲线变化状况(图 1B),该菌株整个发酵过程中生长缓慢,菌体生物量一直以较低的速率增加。虾青素在进入对数生长期后大量合成,至 108 h,随着细胞生长达到稳定期,虾青素合成速率降低。发酵至 144 h,菌体生物量达到 16.5 g/L,虾青素含量为 137.9 mg/L,而发酵液中仍含有少量葡萄糖。

2.2 脉冲补料发酵

脉冲补料发酵是分批补料培养中较为简单有效的一种底物补加方式,在该补料策略下法夫酵母 JMU-VDL668 和 JMU-MVP14 菌株细胞生长、底物消耗和虾青素积累随时间的变化如图 2 所示。

法夫酵母 JMU-VDL668 菌株脉冲补料发酵过程中,葡萄糖在 36 h 时已基本耗尽(图 2A),此时开始进行脉冲补料,之后每隔 12 h 补料一次,使发酵液中糖浓度达到 10 g/L。从图 2A 可以看出,菌体生物量和虾青素含量从 24 h 开始迅速增加,发酵至 168 h 时,生物量为 52.8 g/L,虾青素含量达到 15.4 mg/L,比分批发酵分别提高了 85.1%和 13.8%。此补料策略下,菌体生物量增加明显,主要原因可能是由于培养基中的葡萄糖一直维持在比较低的浓度,使得培养基中碳氮比较低而有利于菌体的生长^[11],菌体的大量积累使得虾青素产量得到了提高。

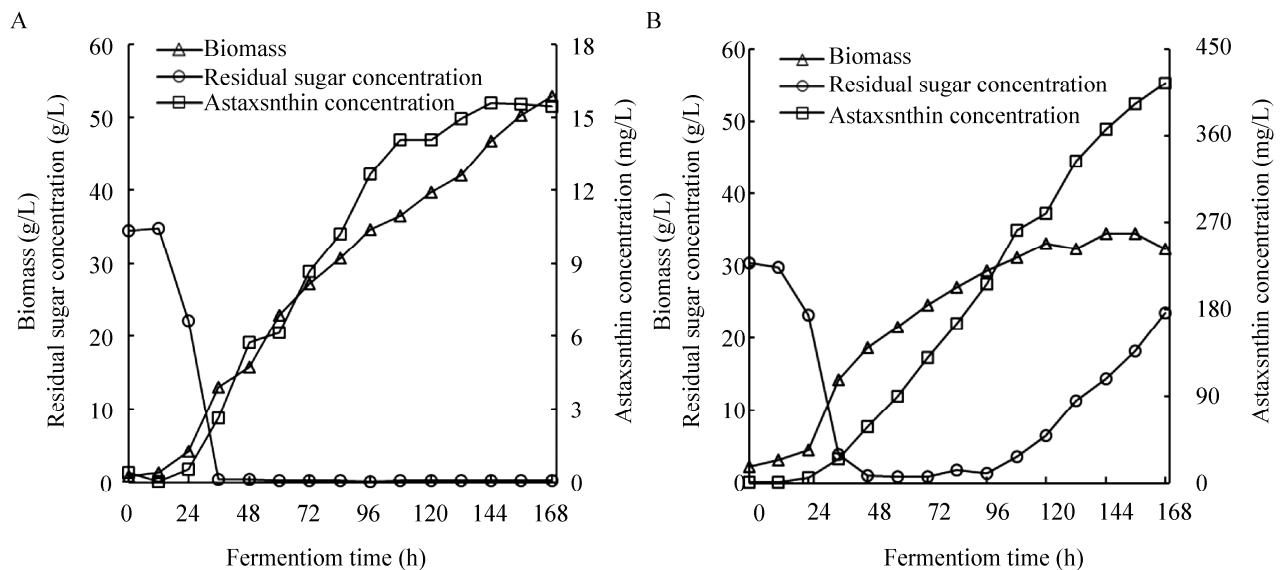


图 2 法夫酵母 JMU-VDL668 (A) 和法夫酵母 JMU-MVP14 菌株 (B) 的脉冲补料发酵结果

Fig. 2 Time-course of astaxanthin fermentation in pulse fed-batch for *Phaffia rhodozyma* JMU-VDL668 (A) and *Phaffia rhodozyma* JMU-MVP14 (B)

与法夫酵母 JMU-VDL668 脉冲补料的发酵情况相比, JMU-MVP14 菌株在整个发酵过程中, 生长速率较慢(图 2B)。虾青素的合成在整个发酵过程中保持着较为稳定的速率。发酵至 38 h 时, 葡萄糖已全部耗尽, 开始补加糖液。从结果中发现, 发酵 96 h 后, 菌体生物量趋于平稳, 菌体对葡萄糖的消耗速率有所减缓, 葡萄糖开始产生积累。至发酵终点, 生物量为 32.5 g/L, 虾青素含量为 414.1 g/L, 生物量和虾青素含量分别比分批发酵提高了 96.4%和 200.2%(图 2B)。

2.3 恒 pH 补料

恒 pH 补料发酵策略是一种响应 pH 值变化的补料方式, 利用氨水替代氢氧化钠、葡萄糖替代硫酸, 使整个发酵过程处于稳定的 pH 值条件, 法夫酵母 JMU-VDL668 和 JMU-MVP14 菌株恒 pH 补料发酵动力学曲线如图 3 所示。

在法夫酵母 JMU-VDL668 菌株发酵过程中(图 3A), 发酵液 pH 在发酵至 48 h 时上升至设定值 4.2, 此时葡萄糖已基本耗尽, 此后, 通过补加

葡萄糖使葡萄糖浓度维持在较低的范围。生物量和虾青素含量在整个发酵过程中不断地增加, 至发酵终点生物量达到 46.7 g/L, 虾青素含量为 20.6 mg/L, 与分批发酵相比分别提高了 63.8%和 52.1%。

采用恒 pH 补料策略, 法夫酵母 JMU-MVP14 菌株的整个发酵过程仅在 27、57 和 140 h 补加了 3 次葡萄糖。至发酵终点, 生物量达到 48.5 g/L, 而虾青素含量仅为 17.5 mg/L (图 3B)。由于法夫酵母 JMU-MVP14 是一种生长慢、低耗糖、高产虾青素的菌株, 在发酵过程中产生的有机酸等代谢副产物很少。而恒 pH 补料策略是基于发酵液中 pH 的变化来响应补料的: 当发酵液中葡萄糖耗尽, 菌体生长开始利用发酵过程中产生的有机酸等代谢产物, 从而引起发酵液 pH 的升高, 到达设定值时开始补加葡萄糖。因此, 该补料策略下, 碳源供应不足, 所补加的葡萄糖基本上用于细胞生长, 而没有足够的物质和能量用于虾青素合成。

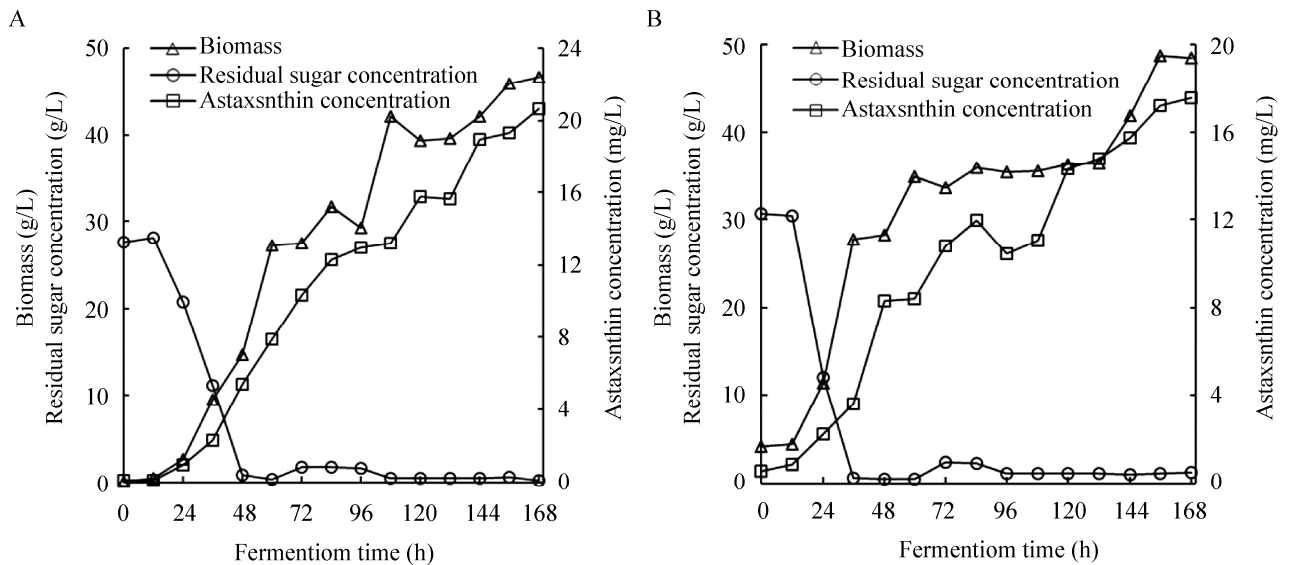


图 3 法夫酵母 JMU-VDL668 (A) 和法夫酵母 JMU-MVP14 菌株 (B) 的恒 pH 补料发酵结果
Fig. 3 Time-course of astaxanthin fermentation in pH-stat fed-batch for *Phaffia rhodozyma* JMU-VDL668 (A) and *Phaffia rhodozyma* JMU-MVP14 (B)

2.4 恒 DO 补料发酵

氧的供应对法夫酵母细胞生长和虾青素合成具有重要作用: 当溶氧降低到一定水平时, 氧的供应就无法满足法夫酵母的生长需求; 同时, 若发酵过程氧供应不足, 会导致虾青素产量降低^[2]。法夫酵母 JMU-VDL668 和 JMU-MVP14 菌株恒 DO 补料发酵曲线如图 4 所示。

对法夫酵母 JMU-VDL668 菌株而言, 在进行恒 DO 补料工艺发酵时, 发酵至 60 h, 葡萄糖已经耗尽, 溶氧值迅速升高, 此时开始进行补料(图 4A)。至 84 h 生物量基本稳定, 而虾青素含量继续增加, 至发酵终点生物量达到 64.6 g/L, 虾青素含量为 17.4 mg/L, 与分批发酵相比分别提高了 126.4%和 28.2%。

法夫酵母 JMU-MVP14 菌株在该补料策略下发酵时, 生物量在前 60 h 迅速增加, 之后基本达到稳定; 虾青素在整个发酵过程一直维持着较为稳定的合成速率, 至发酵终点生物量为 38.5 g/L, 虾青素含量为 403.2 mg/L (图 4B), 分别是分批发

酵的 2.3 倍和 2.9 倍。

2.5 不同补料方式培养结果的比较

从法夫酵母发酵过程曲线可知, 与分批培养所得实验结果相比, 采用分批补料发酵培养法夫酵母其生物量和虾青素含量都有不同程度的提高。JMU-VDL668 菌株分批及脉冲、恒 pH、恒 DO 补料策略下菌体生长和虾青素合成情况如表 1 所示。

对法夫酵母 JMU-VDL668 菌株而言, 恒 DO 补料最有利于法夫酵母菌体的生长, 其生物量为 64.6 g/L, 是分批培养的 2.2 倍, 采用恒 pH 补料发酵, 虾青素产量最大, 为 20.6 mg/L, 是分批培养的 1.5 倍。脉冲补料发酵也获得了较大的生物量 (52.8 g/L), 但是虾青素产量并没有明显提高。对比恒 pH 补料与恒 DO 补料的虾青素发酵产量, 发现恒 pH 补料策略下, 虾青素的细胞产率和虾青素得率(0.44 mg/g, 0.14 mg/g)都明显高于恒 DO 补料(0.27 mg/g, 0.07 mg/g)。根据相关文献报道, 法夫酵母在发酵过程中会出现克雷布特里效应, 即

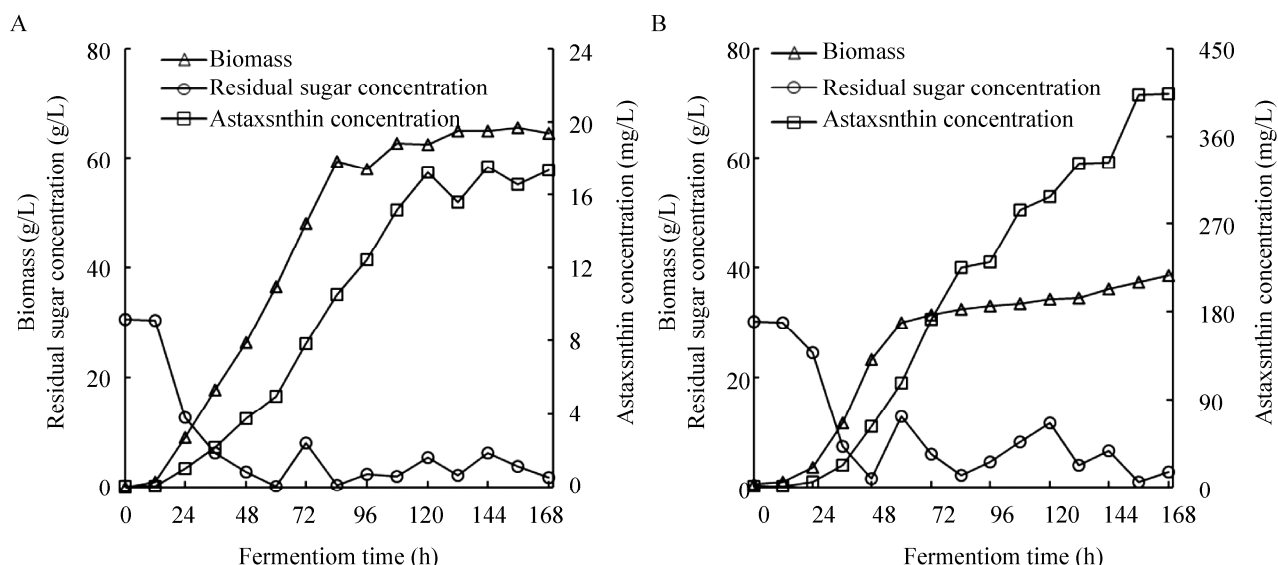


图 4 法夫酵母 JMU-VDL668 (A) 和法夫酵母 JMU-MVP14 菌株 (B) 的恒 DO 补料发酵结果

Fig. 4 Time-course of astaxanthin fermentation in DO-stat fed-batch for *Phaffia rhodozyma* JMU-VDL668 (A) and *Phaffia rhodozyma* JMU-MVP14 (B)

表 1 不同补料工艺对法夫酵母 JMU-VDL668 菌株产虾青素的影响						
Table 1 The effects of different sugar-feeding strategies on astaxanthin by <i>Phaffia rhodozyma</i> JMU-VDL668						
菌株 Strain No.	补料方式 Fed-batch	生物量 Biomass (g/L)	虾青素含量 Astaxanthin concentration (mg/L)	虾青素细胞产率 Specific Productive of astaxanthin (mg/g)	细胞得率 Biomass yield (g/g)	虾青素得率 Astaxanthin yield (mg/g)
<i>Phaffia rhodozyma</i> JMU-VDL668	分批培养(Batch)	28.53	13.56	0.48	0.34	0.16
	脉冲补料(Pulse-fed)	52.80	15.43	0.29	0.36	0.10
	恒 pH 补料(pH-stat)	46.73	20.63	0.44	0.32	0.14
	恒 DO 补料(DO-stat)	64.60	17.38	0.27	0.27	0.07

表 2 不同补料工艺对法夫酵母 JMU-MVP14 菌株产虾青素的影响						
Table 2 The effects of different sugar-feeding strategies on astaxanthin by <i>Phaffia rhodozyma</i> JMU-MVP14						
菌株 Strain No.	补料方式 Fed-batch	生物量 Biomass (g/L)	虾青素含量 Astaxanthin concentration (mg/L)	虾青素细胞产率 Specific productive of astaxanthin (mg/g)	细胞得率 Biomass yield (g/g)	虾青素得率 Astaxanthin yield (mg/g)
<i>Phaffia rhodozyma</i> JMU-MVP14	分批培养(Batch)	16.53	137.96	8.45	0.26	2.61
	脉冲补料(Pulse-fed)	32.47	414.12	12.76	0.24	3.54
	恒 pH 补料(pH-stat)	48.47	17.54	0.36	0.56	0.21
	恒 DO 补料(DO-stat)	38.53	403.24	10.46	0.30	3.16

培养过程中部分葡萄糖代谢产生乙醇、乙酸等副产物^[12], 这些糖代谢产物对法夫酵母产虾青素具有促进作用^[13-14]。恒 pH 补料工艺是根据 pH 值的上升而响应补料, 此时已对乙醇、乙酸等代谢副产物开始进行利用, 有利于虾青素的积累; 而恒 DO 补料发酵当葡萄糖耗完时立刻进行糖液的补加, 对糖代谢副产物的利用较少, 虾青素产量相对较低。

比较法夫酵母 JMU-MVP14 菌株在不同补料工艺下的细胞生长和虾青素合成状况(表 2), 可以发现, 采用脉冲补料菌体的生长及虾青素的积累都有比较明显的增加, 该补料策略下, 虾青素的细胞产率(12.76 mg/g)和虾青素得率(3.54 mg/g)较分批发酵有显著的提高。此外, 恒 DO 补料发酵策略下虾青素的产量也有明显的增加(403.2 mg/L); 采用恒 pH 补料策略, 生物量提高显著, 但虾青素产量却很低(17.54 mg/L)。从表 2 中可知, 恒 pH 补料策略下, 菌体的细胞得率最

大(0.56 mg/g), 这说明葡萄糖主要用于菌体生长代谢, 没有足够的碳源和能量用于虾青素的合成。

3 结论

在 7 L 发酵罐上, 考察不同补料方式(脉冲补料、恒 pH 补料、恒 DO 补料)对法夫酵母 JMU-VDL668 和 JMU-MVP14 菌株菌体生长和虾青素合成的影响, 实验结果表明: 两株菌生长代谢特征相差较大, 不同补料方式对法夫酵母 JMU-VDL668 和 JMU-MVP14 菌株菌体的生长和虾青素的积累影响有明显的差异。对法夫酵母 JMU-VDL668 菌株来说, 恒 DO 补料最有利于法夫酵母 JMU-VDL668 菌株菌体的生长, 其生物量为 64.6 g/L; 采用恒 pH 补料发酵, 虾青素产量最大, 为 20.6 mg/L。对法夫酵母 JMU-MVP14 菌株来说, 脉冲补料发酵策略最有利于法夫酵母 JMU-MVP14 菌株虾青素的积累, 达到 414.1 mg/L; 此外, 恒 DO 补料策略下, 虾青素的

产量(403.2 mg/L)也有比较明显的提高。

参 考 文 献

- [1] Schmidt I, Schewe H, Gassel S, et al. Biotechnological production of astaxanthin with *Phaffia rhodozyma*/*Xanthophyllomyces dendrorhous*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 89(3): 555–571.
- [2] Ho KP, Tam CY, Zhou B. Growth and carotenoid production of *Phaffia Rhodozyma* in fed-batch cultures with different feeding methods[J]. Biotechnology Letters, 1999, 21(2): 175–178.
- [3] de la Fuente JL, Rodríguez-Sáiz M, Schleissner C, et al. High-titer production of astaxanthin by the semi-industrial fermentation of *Xanthophyllomyces dendrorhous*[J]. Journal of Biotechnology, 2010, 148(2/3): 144–146.
- [4] 梁新乐, 岑沛霖, 张虹, 等. 法夫酵母高密度培养及虾青素的高产研究[J]. 菌物系统, 2001, 20(4): 508–514.
- [5] 汪洪涛, 徐学明, 金征宇, 等. 不同补料发酵方式对发夫酵母产虾青素的影响[J]. 生物技术, 2003, 13(5): 28–30.
- [6] 鲁明波, 纪磊, 刘永胜, 等. 基于动力学模型的法夫酵母发酵生产虾青素的补料策略优化[J]. 生物工程学报, 2008, 24(11): 1937–1942.
- [7] 肖安风, 倪辉, 李利君, 等. 法夫酵母产虾青素的反复分批及反复分批补料发酵[J]. 生物工程学报, 2011, 27(4): 598–605.
- [8] 倪辉, 洪清林, 肖安风, 等. 一株法夫酵母虾青素高产菌株的生产性能[J]. 生物工程学报, 2011, 27(7): 1065–1075.
- [9] 倪辉. 法夫酵母虾青素发酵条件的优化及提取与分析研究[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2005.
- [10] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技术[M]. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 1997: 1–3.
- [11] Vustin MM, Belykh EN, Kishilova SA. Relationship between astaxanthin production and the intensity of anabolic processes in the yeast *Phaffia rhodozyma*[J]. Microbiology, 2004, 73(6): 751–757.
- [12] Reynders MB, Rawlings D, Harrison S. Demonstration of the Crabtree effect in *Phaffia rhodozyma* during continuous and fed-batch cultivation[J]. Biotechnology Letters, 1997, 19(6): 549–552.
- [13] 肖安风, 倪辉, 李利君, 等. 几种糖代谢产物对法夫酵母产虾青素影响的对比研究[J]. 食品科学, 2009, 30(19): 268–272.
- [14] Yamane Y, Higashida K, Nakashimada Y, et al. Astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* enhanced in fed-batch culture with glucose and ethanol feeding[J]. Biotechnology Letters, 1997, 19(11): 1109–1111.

编辑部公告

《微生物学通报》英文刊名

《微生物学通报》之前使用的英文刊名“Microbiology”因在国际上有重名,造成了本刊在被国内外作者引用以及国外数据库收录时英文刊名的混乱,这大大影响了本刊在国际上的传播,也不利于对我刊引用数据的统计。经本届编委会讨论,以及主办单位批准,本刊英文刊名自 2010 年起变更为“Microbiology China”,缩写为“Microbiol. China”,请各位作者、读者和数据库引用时注意使用。