

稀土元素对红酵母的生长及类胡萝卜素合成的影响

王怡平 肖亚中 丁毅

(安徽大学生物系 合肥 230039)

汪朝晖

(安徽省水产新技术研究所 合肥 230001)

摘要 探索了稀土元素镧 La^{3+} 、铈 Ce^{3+} 和钕 Nd^{3+} 对红酵母 *Phaffia rhodozyma* 的生长, 类胡萝卜素合成及菌体氨基酸组成的影响。三种稀土元素在所测试的浓度范围内对红酵母细胞生物量仅有轻度的抑制作用, 但对类胡萝卜素的合成有促进作用。当培养基中分别加入 20mg/L 的 LaCl_3 、5mg/L 的 CeCl_3 和 50mg/L 的 NdCl_3 时, 刺激类胡萝卜素合成作用最强, 产量分别增加了 32.1%、36.8% 和 42.8%。红酵母菌体氨基酸组成分析表明, 培养基中加入上述浓度的稀土元素后, 菌体细胞的氨基酸总量基本不变, 但氨基酸组成发生变化。

关键词 稀土元素, *Phaffia rhodozyma*, 类胡萝卜素, 氨基酸组成, 生物量

分类号 TQ926.3 **文献识别码** A **文章编号** 0253-2654(1999)-02-0117-19

EFFECTS OF La^{3+} , Ce^{3+} , Nd^{3+} ON THE GROWTH AND CAROTENOID CONTENT OF *PHAFFIA RHODOZYMA*

Wang Yiping, Xiao Yazhong, Ding Yi

(Department of Biology Anhui University, Hefei 230039)

Wang Zhaohui

(Institute of New technology of Aquaculture, Anhui 230001)

Abstract The effects of La^{3+} , Ce^{3+} and Nd^{3+} on the growth, carotenoids content and amino acid composition of *Phaffia rhodozyma* were studied. The experimental data showed that lower concentrations of LaCl_3 , CeCl_3 , NdCl_3 barely slightly inhibited cell growth, but stimulated the carotenoids synthesis of *Phaffia rhodozyma*.

The carotenoids content of *P. rhodozyma* was increased by 32.1% due to 20mg/L LaCl_3 in the media, and 36.8% due to 5mg/L CeCl_3 , 42.8% due to 50mg/L NdCl_3 .

Some changes in the composition of amino acid caused by the rare earth elements were determined.

Key words Rare-earth elements, *Phaffia rhodozyma*, Carotenoids, Amino acid composition, Biomass

Phaffia rhodozyma 是 Phaff 和 Miller 等于 70 年代从日本和阿拉斯加山区落叶树的渗出物中分离得到的, 能合成以虾青素为主要类胡萝卜素的酵母菌株^[1]。由于该酵母菌具有易培养, 虾青素合成率高, 细胞蛋白用于饲料工业安全优质等优点, 有较大的应用价值。

Cala 等人的研究结果表明^[2], 加入 0.1% 的甲羟戊酸可以使 *P. rhodozyma* 的虾青素和总类胡萝卜素产量提高 3 倍以上。Meyer 等^[3]的研究指出, 使用一定浓度的乙酸可以增加 *P.*

rhodozyma 的虾青素合成量。而 Lewis 和 Okagbue 等^[4,5]则分别报告了 β -紫罗酮(β -ionone)及皂苷(Saponin)对*P. rhodozyma*的虾青素合成有抑制作用。本文报道稀土元素对该菌株的生长、类胡萝卜素合成和菌体氨基酸组成的影响。

1 材料与方法

1.1 菌种

红酵母(*Phaffia rhodozyma*)由加拿大纽芬兰纪念大学生化系 Martin 教授赠送,保存于 YM-agar 斜面。

1.2 试剂

LaCl_3 、 CeCl_3 、 NdCl_3 购于上海生化试剂商店,其它试剂均为国产或进口分析纯。

1.3 培养基

YM-琼脂:酵母抽提物 3g, 蛋白胨 5g, 麦芽抽提物 3g, 葡萄糖 10g, 琼脂 20g, 蒸馏水定容至 1000mL, pH5.5, 1×10^5 pa 灭菌 20min。

基础培养基:酵母抽提物 3g, 胰胨 5g, 葡萄糖 10g, 6be⁰ 麦芽汁 250mL, 补充水份至 1000mL。

发酵培养基:根据需要,在上述基础培养基中添加一定浓度的稀土元素即成。

1.4 接种和培养

摇瓶试验用 125mL 三角瓶装入 20mL 培养基。取培养 3d 的新鲜菌液,以 1% 接种量接种,在 24℃, 200r/min 旋转摇床上振荡培养 120h。各试验组和对照组均设置 3 个重复。

1.5 细胞生物量的测定

摇瓶培养 5d 后,离心收集菌体,65℃ 烘干,然后用常规重量法测定,以每升培养物中细胞的干重(g/L)作为生物量指标。

1.6 类胡萝卜素的抽提与测定

按文献[6]方法稍作改进。将生长 120h 的摇瓶发酵液离心后除去上清液,用蒸馏水洗涤 2~3 次,65℃ 烘干,经酸-热处理破碎细胞壁,丙酮抽提类胡萝卜素。用 7230 型分光光度计测定类胡萝卜素含量。

1.7 氨基酸组成分析

摇瓶培养 120h 后,离心收集菌体,用蒸馏水洗涤 2~3 次,65℃ 烘干。测定前将样品用 6mol/L HCl 水解后配制成适当样品液,用 835-50 型氨基酸自动分析仪测定氨基酸组成及含量。

2 结果

2.1 La^{3+} 、 Ce^{3+} 和 Nd^{3+} 对 *P. rhodozyma* 细胞生物量的影响

三种稀土元素浓度变化对菌体生物量的影响情况基本相似。从表 1 可以看出, LaCl_3 和 NdCl_3 在培养基中的浓度为 50mg/L, CeCl_3 浓度为 10mg/L 时,菌体生物量最低,分别比对照组低 11.3%, 8.2% 和 9.4%。显示轻度的抑制作用。

表 1 三种稀土元素浓度变化对菌体生物量的影响

LaCl_3 (mg/L)	生物量 (g/L)	CeCl_3 (mg/L)	生物量 (g/L)	NdCl_3 (mg/L)	生物量 (g/L)
0	15.9	0	15.9	0	15.9
5	14.4	5	14.8	5	14.8
10	14.8	10	14.6	10	15.4
20	14.6	20	15.4	20	15.3
30	14.8	50	15.0	50	14.6
50	14.1	100	15.0	75	15.1

2.2 La^{3+} 、 Ce^{3+} 和 Nd^{3+} 对 *P. rhodozyma* 类胡萝卜素含量的影响

三种稀土元素对 *P. rhodozyma* 的类胡萝卜素合成均有一定的刺激作用,但获得最佳促进效果所需稀土元素的浓度不同。当培养基中的 LaCl_3 浓度达 20mg/L 时,类胡萝卜素的含量比对照组提高了 32.1%,当 LaCl_3 浓度低于 20mg/L 时,刺激作用急剧下降,在 5mg/L 时,类胡萝卜素的含量低于对照,有明显抑制作用(图 1)。

培养基中 CeCl_3 浓度在 5mg/L 时,红酵母细胞类胡萝卜素的含量有一个峰值,其含量比对照组提高了 36.8%,而当浓度高于 5.0mg/L 时,刺激作用明显减弱,随 CeCl_3 浓度的升高,表现轻微的抑制作用(图 1)。

培养基中 NdCl_3 浓度在 5~50mg/L 范围内变化时,随着浓度提高,类胡萝卜素合成明显增加,50mg/L 时达最大值,比对照组提高了

42.8%。但当浓度高于 50mg/L 时,刺激作用明显减弱,高于 75mg/L 时,类胡萝卜素含量变化又趋于平缓,但仍略高于对照(图 1)。

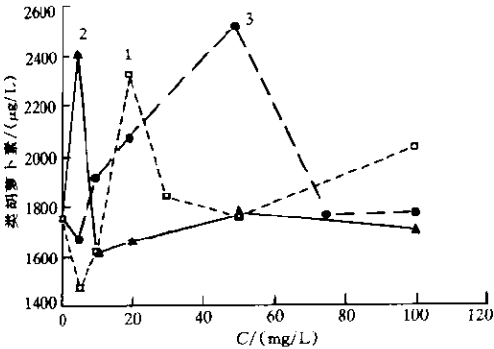


图1 稀土元素对*P.rhodozyma*类胡萝卜素的影响

1. LaCl_3 , 2. CeCl_3 , 3. NdCl_3

2.3 La^{3+} 、 Ce^{3+} 和 Nd^{3+} 对菌体氨基酸组成的影响

分别收集培养基中 LaCl_3 浓度为 20mg/L、

表2 稀土元素对菌体氨基酸组成及含量的影响

氨基酸 (mg/g)	CK	La^{3+}	Ce^{3+}	Nd^{3+}
Asp	2.128	2.313	2.321	2.361
Thr	0.947	1.139	0.978	1.136
Ser	1.135	1.255	1.170	1.221
Glu	3.272	3.235	3.244	3.330
Ala	0.878	1.214	1.102	1.268
Val	1.166	1.147	1.085	1.268
Met	0.355	0.332	0.395	0.386
Ile	3.157	2.693	2.476	2.628
Leu	1.876	1.789	1.752	1.749
Tyr	0.614	0.564	0.494	0.589
Phe	0.831	0.998	1.062	1.082
Lys	0.736	0.716	0.622	0.718
His	0.368	0.396	0.389	0.392
Arg	0.277	0.249	0.276	0.255
Pro	0.982	0.998	0.989	1.022
Cys	1.747	1.596	1.617	1.698
Total	20.469	20.634	19.972	20.994

注: (1) CK 为基础培养基中不添加稀土元素的对照
(2) LaCl_3 浓度为 20mg/L, CeCl_3 浓度为 5mg/L, NdCl_3 浓度为 50mg/L。
(3) Gly 和 Trp 含量未测。

CeCl_3 为 5mg/L, NdCl_3 为 50mg/L 时摇瓶培养 5d 的 *P. rhodozyma* 细胞, 进行氨基酸组成及含量分析, 结果列于表 2。

三种稀土元素对 *P. rhodozyma* 菌体的氨基酸总量影响不明显, 但氨基酸组成稍有改变。其中, 加入三种稀土元素后, Ala、Phe、Asp、Thr、Ser、His 等氨基酸含量有一定程度的提高, 而 Ile、Tyr 等含量有所减少。

3 讨论

稀土元素对动植物的影响研究较多, 对微生物的影响研究较少^[7], 而对红酵母影响的研究未见报道。*P. rhodozyma* 是已知的能合成虾青素的重要菌株。其用于水产和家禽养殖业中, 使鱼肉、蛋黄带有天然的金黄色泽, 产品更具有营养价值^[8,9]。据文献报道, La^{3+} 、 Ce^{3+} 、 Nd^{3+} 对钝顶螺旋藻的光合作用、氢酶催化放氢活性和藻体生长都有明显的促进作用。但不同的稀土元素其最佳作用浓度不同^[10]。

参 考 文 献

[1] Andrews G, Phaff H J, Starr M P. Phytochem, 1976, 15:1003~1007.
[2] Cala P, Miguel T D. Biotechnol lett, 1995, 17: 575~578.
[3] Meyer P S, du Preez J C. Biotechnol lett, 1993, 15:919~924.
[4] Lewis M J, Ragot N, Berlant M C, Miranda M. Appl environ Microbiol, 1990, 56:2944~2945.
[5] Okagbre R N, Lewis M J. Appl Microbiol Biotechnol, 1984, 20:278~280.
[6] 杨文, 吉春明. 微生物学通报, 1995, 22(1): 58~59.
[7] 陈声明, 徐均焕, 胡勤海等. 微生物学报, 1995, 35(1): 386~389.
[8] Johnson E A, Villa T G, Lewis M J. Aquaculture, 1980, 20:123~134.
[9] Johnson E A, Lewis M J, Grau C R. Poultry Sci, 1980, 59:1777~1782.
[10] 张爱琴, 王兰仙, 吴相钰. 中国稀土学报, 1988, 6(4): 55~58.