

# 红酵母属 RY 菌株形成类胡萝卜素的<sup>1</sup>研究

张晓君 白 玲 张培栋 马晓军

(兰州大学生物系 兰州 730000)

**摘要** 分离的红酵母属(*Rhodotorula*) RY 菌株形成的色素组成简单,石油醚可萃取到较纯的一种主要组分——红色的多烯类胡萝卜素。该菌的培养条件为:葡萄糖 2%,硫酸铵 1%,酵母膏 0.3%,添加  $2 \times 10^{-6}$  mol/L 核黄素,初始 pH6.0, 28℃, 160r/min 振荡培养 72h。添加核黄素可以明显促进该菌类胡萝卜素的形成。

**关键词** 红酵母, 类胡萝卜素, 培养条件, 色谱分离

**分类号** Q 939.5

类胡萝卜素是一类有很广泛的应用价值的天然色素<sup>[1]</sup>。细菌<sup>[2,3]</sup>、霉菌<sup>[4,5]</sup>和酵母菌<sup>[6~11]</sup>形成类胡萝卜素都有报道,以酵母菌生产类胡萝卜素,发酵周期短并且菌体含有丰富的蛋白质、氨基酸和维生素等,色素提取后,可作为饵料、饲料加以综合利用,许多国家都在竞相开发研究。酵母菌形成类胡萝卜素的种类、产量随菌种及培养条件有很大差异,因此挖掘菌种资源对于类胡萝卜素的开发研究很有意义。本文报道了新分离的酵母菌 RY 菌株的类胡萝卜素形成及培养条件的研究结果。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株的分离鉴定

菌株分离自山林土壤。按照酵母菌常规鉴定方法<sup>[12]</sup>分类鉴定到属。

### 1.2 培养条件

**1.2.1 培养基:** 葡萄糖 2%、硫酸铵 0.5%、酵母膏 0.3%,添加  $2 \times 10^{-6}$  mol/L 核黄素, pH5.5。

**1.2.2 培养方法:** 菌种在斜面上活化后,接入

10ml 液体培养基中增殖培养 20h,然后转入装有 100ml 培养基的 300ml 三角瓶中,置恒温摇床上 28℃, 150r/min 振荡培养 72h。

### 1.3 生物量测定

培养液以 4000r/min 离心 5min,收集并洗涤菌体,称其湿重(FW)以表示生物量的相对值。

### 1.4 色素的提取

按杨文<sup>[13]</sup>的方法,稍加修改,丙酮提取液中加入适量无水硫酸钠,振荡后静置,然后倾出上清液即为类胡萝卜素提取液。

### 1.5 色素的测定

**1.5.1 类胡萝卜素的含量测定与计算**按文献[14]中的方法进行。

**1.5.2 提取液中类胡萝卜素组分的分离:**以石油醚:正丁醇:氯仿 = 40:1:1 为展开剂,在硅胶 G 板上进行层析分离,岛津 CS-910 双波长色谱扫描仪扫描记录结果。

1997-01-27收稿

1.5.3 提取液以石油醚萃取纯化后,测定红外吸收光谱和紫外吸收光谱。

## 2 结果与讨论

### 2.1 RY 菌株特征

在 YEPD 培养基表面形成圆形、边缘整齐、中央突起、表面光滑的橙红色菌落,菌体椭圆至球形,大小约  $2 \sim 3.5 \times 3.5 \sim 4 \mu\text{m}$ ,在麦芽汁液体培养基中有沉淀和环形成。一边或多边芽殖,不能形成子囊孢子,无掷孢子,不发酵糖。根据以上特性,初步确定该菌株为红酵母属 (*Rhodotorula*)。

### 2.2 培养条件对菌体类胡萝卜素产量的影响

2.2.1 碳源物质的影响:以不同碳源物质代替培养基中的葡萄糖,酵母细胞的生长和色素形成情况见表 1。可以看出碳源对该菌株的生长和色素的形成有很大影响,丁二酸钠、葡萄糖和蔗糖对生长和色素的形成较为有利,其中丁二酸钠为碳源时,形成的色素量达  $9.06 \text{ mg/L}$ ,最有利于色素的形成。

表1 不同碳源物质对RY菌株生长和色素形成的影响

碳源	生物量(g)	色素含量(mg/L)
葡萄糖	1.36	6.25
蔗糖	1.24	5.92
草酸钠	1.07	3.91
乙酸钠	0.39	1.15
丁二酸钠	1.18	9.06
乳糖	0.69	4.46

2.2.2 硫酸铵浓度的影响:当培养基中硫酸铵浓度分别为 0.2%、0.5%、1% 和 2% 时,菌体生物量分别为 0.21g、0.67g、0.85g 和 0.89g,而色素含量分别为 2.83、5.22、8.18、7.70mg/L。可以看出  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  的浓度对于 RY 菌株菌体的生长和色素含量有较大影响,提高氮源浓度有利于菌体的形成,但是碳氮比达到一定值后,色素含量不再增加,反而有所下降。

2.2.3 pH 的影响:改变培养基的 pH 值,RY 菌株的生长和色素的形成均受到影响,菌体生长的最适 pH 值为 6.2,而色素形成的最适 pH 值为 6.0,并且 pH 6.0 时,培养液中色素的总量最高。

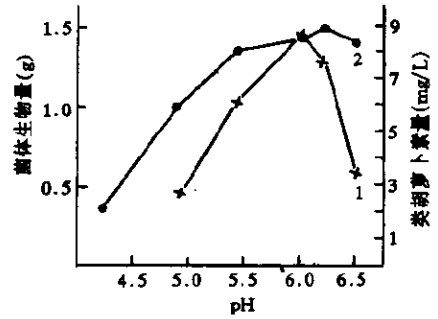


图1 pH值对RY菌株生物量和色素形成的影响

1. 色素含量; 2. 生物量

(见图 1)。

2.2.4 培养基中氧含量的影响:以不同的振荡速度在恒温摇床上摇瓶培养使培养基中氧气的产生差异。培养结果(表 2)表明,加大摇瓶速度即增加氧气供应,菌体生物量和色素含量也随之增加,但当摇瓶速度增加到  $160 \text{ r/min}$  时,生物量和色素的形成都基本恒定,不再增加。

表2 氧含量对菌体生物量和色素含量的影响

摇瓶速度(r/min)	50	80	120	160	200
菌体生物量(g)	0.64	0.92	1.34	1.40	1.39
色素含量(mg/L)	2.48	5.33	7.49	8.32	8.35

2.2.5 添加核黄素的影响:在培养基中添加适量的核黄素对 RY 菌株类胡萝卜素的形成极为有利。向含 2% 葡萄糖, 0.5%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.3% 酵母膏培养基中分别添加  $1 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 、 $2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 、 $4 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 、 $6 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  核黄素后培养 RY 菌株,结果发现添加  $4 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  以下浓度的核黄素可促进色素的形成,但当添加量大于  $2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  时,菌体生物量的形成降低。选择添加  $2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  核黄素最为适宜,它对生物量的形成无明显影响,但色素的形成却从对照组的  $5.59 \text{ mg/L}$  增加到  $8.54 \text{ mg/L}$ 。

从以上结果可以确定 RY 菌株形成类胡萝卜素的适宜条件是:葡萄糖 2%,硫酸铵 1%,酵母膏 0.3%。添加  $2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$  核黄素,初始 pH 6.0,在  $28^\circ\text{C}$ ,  $160 \text{ r/min}$  振荡培养 72h。

### 2.3 类胡萝卜素的定性测定

2.3.1 类胡萝卜素提取液的层析:经过反复筛

选,以石油醚:正丁醇:氯仿(40:1:1)为展开剂,对RY菌株色素提取液进行了较好的分离,分离出三个较大的组分, $R_f$ 值分别为0.03,0.18,0.28,与总色素比例分别为18%,54%,28%。而提取液经石油醚萃取后,萃取液层析后仅有一个色素斑点, $R_f$ 值为0.18,说明RY菌株的色素组成简单,各组分易于分离。

**2.3.2 石油醚萃取液的红外和紫外光谱:**类胡萝卜素经石油醚萃取后,红色色素基本都进入醚层,丙酮层显浅黄色,石油醚萃取液的红外和紫外光谱分析表明该红色色素属多烯类胡萝卜素。

### 参 考 文 献

- [1] 姜文候,单志萍,孟好等. 食品与发酵工业,1994,3: 65~71.
- [2] 刘春朝,欧阳藩,钱新民. 生物技术,1995,5(3): 22~25.
- [3] 张素琴,朱湘民,马国华等. 食品与发酵工业,1989,5: 1~5.
- [4] 张建法,黄为一,吴江等. 微生物学通报,1996,23(1): 12~14,55.
- [5] Ciegler A. Appl. Microbiol., 1965, 7: 1~34.
- [6] 张博润,寇运同,刘玉方. 微生物学通报,1995,22(4): 212~214.
- [7] 杨文,刘炯,吴晨曦等. 食品与发酵工业,1993,4: 24~28.
- [8] 王武,方光瑾,唐蕾等. 生物工程学报,1994,10(4): 369~373.
- [9] A. G. Andrews, H. J. Phaff, M. P. Starr. Phytochem., 1976, 15: 1003~1007.
- [10] H. J. Nelis, A. P. Leenheer. J. Appl. Bacteriol., 1991, 70: 181~191.
- [11] 戴亦军,秦怀兰,袁生. 生物技术,1996,6(3): 41~44.
- [12] 张纪忠主编. 微生物分类学,上海:复旦大学出版社,1990,12.
- [13] 杨文,吉春明. 微生物学通报,1995,22(1): 58~59.
- [14] J. Hasegawa, M. Ogura, S. Tsuda, et al. agric. Biol. Chem., 1990, 54: 1819~1827.

## STUDY ON THE SYNTHESIS OF CAROTENOIDS IN RY STRAIN OF RHODOTORULA

Zhang Xiaojun Bai Ling Zhang Peidong Ma Xiaojun

(Department of Biology, Lanzhou University, Lanzhou 730000)

**Abstract** Culture conditions and pigments of RY strain of *Rhodotorula* were studied. Composition of pigments is simple, its major component, a type of red carotenoid, can be purified by petroleum ether. The optimum culture condition was determined as follow: glucose 2%,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1%, yeast extract 0.3%, with additional riboflavin  $2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ , initial pH6.0, cultured on rotary shaker at  $28^\circ\text{C}$ , 160r/min for 72h. It showed a distinct increase in pigment of RY strain if add riboflavin in medium.

**Key words** *Rhodotorula*, Carotenoids, Culture conditions, Chromatography separation.