

# 富铬酵母的理化性质和氨基酸分析\*

丁文军 钱琴芳 侯小琳 丰伟悦 柴之芳

(中国科学院高能物理研究所核技术开放实验室 北京 100080)

**摘要** 用 200~300nm 的波长范围对富铬酵母及普通酵母的溶液进行紫外扫描,发现在  $\lambda_{260\text{nm}}$  处有一特征紫外吸收峰,富铬酵母细胞的铬含量与其吸收峰的光密度呈线性关系;在不同的温度和 pH 值条件下,通过紫外吸收峰的测定,富铬酵母溶液在酸性条件下稳定,在碱性条件下不稳定。溶液的  $\lambda_{260\text{nm}}$  紫外吸收峰随着温度的上升而升高。从氨基酸含量分析结果看,富铬酵母的谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、丙氨酸和赖氨酸含量高于普通酵母,但其他氨基酸含量比普通酵母低。

**关键词** 富铬酵母,理化性质,氨基酸

**分类号** Q93-936 **文献标识码** A **文章编号** ISSN-0253-2654(1999)-01-30-33

## STUDY ON PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERS AND ANALYSIS OF AMINO ACIDS OF CHROMIUM-RICH BREWER'S YEAST

Ding Wenjun, Qian Qinfang, Hou Xiaolin, Feng Weiyue, Chai Zhifang

(Laboratory of Nuclear Analysis Technique, Institute of High Energy Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

**Abstract** The solution of chromium-rich brewer's yeast and normal brewer's yeast were measured by using ultraviolet spectrometry with in 200~300nm wavelength range. It is found that a characteristic ultraviolet absorption peak appears at 260nm, whose optical density is positively proportional to contents of chromium in the chromium-rich brewer's yeast. In a series of experiments with different pH values and temperatures, the chromium-

\* 国家自然科学基金“八五”重大项目(No.19392100)

1998-03-08收稿,1998-07-08修回

rich brewer's yeast is more stable at acidic condition, whereas unstable at alkaline condition. In addition, the height of ultraviolet absorption peak of the chromium-rich yeast and normal brewer's yeast at 260nm increases with temperature increasing. In this study, the contents of amino acids in the chromium-rich brewer's yeast were also determined. The results indicated that the contents of glutamic acid, glycine, alanine, lysine and histine in the chromium-rich brewer's yeast were higher than those in the normal brewer's yeast, but the contents of other amino acids were lower.

**Key words** Chromium-rich brewer's yeast, Physical and chemical character, Content of amino acid

富铬酵母是将酵母细胞在含铬的培养基中培养,是以载体形式将无机铬转化成有机铬,从而提高铬在机体内的吸收率和利用率,对降低糖尿病患者的血糖、血脂、胆固醇可以发挥更大的生理功能和作用<sup>[1~4]</sup>。国内外已有人对普通啤酒酵母和人工合成的铬生物活性物质作过理化性质分析<sup>[1,5]</sup>,但是对富铬酵母的理化性质和氨基酸的含量分析未见报道。本文报道了富铬酵母的理化性质及氨基酸含量分析结果。

1 材料和方法

1.1 材料、仪器和试剂

1.1.1 材料:普通啤酒酵母和富铬啤酒酵母本实验室培养制备。将酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* 2.441) 菌种悬液分别接种于含有一定浓度的铬 (III) 化合物和未含铬的培养基中,在 28℃ 的恒温摇床中振荡培养 24h,然后离心收集,反复淋洗两种酵母,60℃ 烘箱干燥备用。

1.1.2 仪器:紫外分光光度计 (Beckman DU640),小型三用水浴箱 (国产),日立 835-50 型氨基酸自动分析仪。

1.1.3 试剂:盐酸、氨水、柠檬酸三钠、苯酚、氢氧化钠、硝酸钠、氢氧化钾、硼酸、硝酸 (分析纯);甲醇、邻苯二甲醛、巯基乙醇 (优级纯);H 型混合氨基酸标准液。

1.2 测定方法

1.2.1 酵母紫外吸收光谱的扫描:各称取 0.2g 干燥的富铬酵母粉和普通酵母粉,溶于 10mL 蒸馏水中,置于 40℃ 水浴 30min,滤纸过滤,取其滤液在紫外分光光度计上,用 200~320nm 范围进行扫描,若浓度过高可以适当稀释。

1.2.2 氨基酸含量的分析:使用氨基酸自动分

析仪 (柱后衍生系统)。色谱条件如下:氨基酸分析专用阳离子交换柱 (0.4cm×30cm),柱温 62℃,M420 荧光检测器,流速 0.4mL/min,柱后反应泵流速:0.8mL/min。

2 结果

2.1 富铬酵母和普通酵母溶液的紫外扫描

两种酵母溶液的紫外扫描结果比较,见表 1。

表1 两种酵母在λ<sub>260nm</sub>和λ<sub>280nm</sub>的紫外吸光度

酵母溶液	普通酵母		富铬酵母	
	260nm	280nm	260nm	280nm
体积				
0.05mL	0.50±0.02	0.27±0.01	0.47±0.03	0.25±0.06
0.1mL	0.88±0.07	0.48±0.04	0.87±0.11	0.46±0.03

从实验结果可见,富铬酵母和普通酵母滤液在相同的取样量 (0.05mL、0.1mL) 下,其在 λ<sub>260nm</sub> 的紫外吸收峰图形差异不明显,而且两者在 λ<sub>260nm</sub> 和 λ<sub>280nm</sub> 的紫外吸光度均随其滤液量的增加而增加。

2.2 富铬酵母含铬量与紫外吸收光密度值的关系

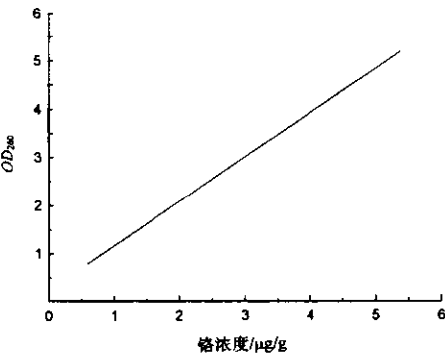


图1 富铬酵母的铬浓度与其紫外吸收光密度值的关系

根据富铬酵母的铬浓度将其滤液在 $\lambda_{260\text{nm}}$ 处进行紫外扫描。结果见图1。

从图1中可见,富铬酵母在 $\lambda_{260\text{nm}}$ 吸收峰的光密度值随着富铬酵母的铬浓度增加而增高,并呈线性关系。

### 2.3 富铬酵母和普通酵母在不同温度中的稳定性

富铬酵母和普通酵母的滤液分别在 $40^{\circ}\text{C}$ ~ $100^{\circ}\text{C}$ 水浴加热30min后,进行紫外光谱扫描。结果可见,在 $\lambda_{260\text{nm}}$ 处仍有吸收峰,但随着温度的上升,其吸光度值也随之上升。与普通酵母相比,富铬酵母在 $80^{\circ}\text{C}$ 、 $100^{\circ}\text{C}$ 的 $\lambda_{260\text{nm}}$ 处的吸光度值略高。

### 2.4 富铬酵母和普通酵母在不同pH条件下的稳定性

同一重量的富铬酵母和普通酵母用pH1~14的酸碱液溶解后,其滤液的紫外扫描结果,如图2所示。

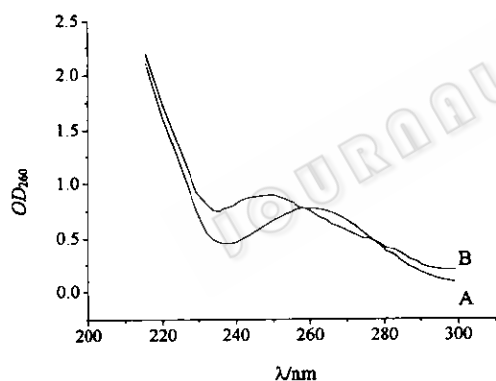


图2 富铬酵母和普通酵母在不同pH条件下的紫外吸收峰

A. pH 1~7, B. pH 8~14

富铬酵母和普通酵母有相同的 $\lambda_{260\text{nm}}$ 紫外吸收峰性质。它们在酸性环境下均稳定,但是在碱性条件下不稳定,其紫外吸收峰随着pH值的增加逐渐变得平坦,并向 $\lambda_{250\text{nm}}$ 处移动。

### 2.5 两种酵母对强氧化剂的稳定性

富铬酵母和普通酵母用1:4的硝酸-高氯酸消化后,两者均发生分解,其在 $\lambda_{260\text{nm}}$ 处的紫外吸收峰消失。

### 2.6 富铬酵母和普通酵母氨基酸含量分析

对富铬酵母和普通酵母的干粉,进行了15种氨基酸分析,其结果如表2所示。富铬酵母的谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、赖氨酸和组氨酸高于普通酵母( $P<0.05$ )外,而其他氨基酸含量均低于普通酵母中的氨基酸含量,但它们之间无明显的差异( $P>0.05$ )。

表2 富铬酵母和普通酵母的氨基酸含量测定

氨基酸	普通酵母(%)	富铬酵母(%)
天门冬氨酸	4.21	4.03
苏氨酸	2.53	2.35
丝氨酸	2.17	2.15
谷氨酸	4.72	4.81
甘氨酸	1.89	2.00*
丙氨酸	2.67	3.24*
缬氨酸	3.62	3.40
蛋氨酸	0.66	0.40
异亮氨酸	2.87	2.70
亮氨酸	3.61	3.46
酪氨酸	1.35	1.26
苯丙氨酸	1.99	1.82
组氨酸	1.72	1.73*
赖氨酸	2.01	2.16
精氨酸	2.41	2.30

\* 富铬酵母与普通酵母之间比较,有显著差异( $P<0.05$ )

## 3 讨论

### 3.1 富铬酵母的理化性质和生物学特性

将富铬酵母和普通酵母溶液在200~300nm的范围进行扫描,发现其在 $\lambda_{260\text{nm}}$ 处有一紫外吸收峰,这与醋酸铬的紫外扫描迥然不同,表明有复合物存在,并且在 $\lambda_{260\text{nm}}$ 处的吸收峰随着铬的含量增加而增高。江慧修<sup>[6]</sup>在研究酵母细胞自溶产物,发现其在260nm有一强吸收峰。Mertz等<sup>[1]</sup>发现啤酒酵母的提取液也具有相同的紫外吸收峰特性。

在不同的温度和pH条件下,随着温度的升高,两种酵母在 $\lambda_{260\text{nm}}$ 处的紫外吸收峰仍然存在,表明溶液中的物质对热稳定,但是在pH8~14时,紫外吸收峰发生了变化,当pH为10~14时, $\lambda_{260\text{nm}}$ 处的紫外吸收峰逐渐趋于平坦,吸收

峰向 $\lambda_{250\text{nm}}$ 移动。国外学者<sup>[7]</sup>在对葡萄糖耐量因子-啤酒酵母提取物的特性研究时发现,该提取物与大多数含水铬复合物一样,在偏酸性的 pH 溶液中稳定,在近于中性的环境中,它开始沉淀,并且随着时间的延长,变成不溶解的绿-灰色物质,认为该过程是由于配位分子的水解,形成 OH-Cr-OH 桥,从而导致大分子的形成。在我们的实验中,两种酵母溶液放置一段时间后,富铬酵母出现绿-黄色物质沉淀,普通酵母则出现淡灰色沉淀。

### 3.2 富铬酵母和普通酵母氨基酸含量分析的意义

对啤酒酵母而言,它含有人体所必需的各种氨基酸,其在体内的消化利用率很高,具有重要的药理作用。同时,一些氨基酸在小肠的 pH 条件下抑制铬的沉淀,从而促进铬的吸收,如:

组氨酸络合铬。因此,为了研究富铬酵母降低糖尿病血糖和血脂的作用机制,探讨其生物活性物质中铬-氨基酸的关系,有必要对富铬酵母和普通酵母中的氨基酸进行分析。

### 参 考 文 献

- [1] Mertz W, Toepfer E W, Roginski E E, Polansky M M. Fed Proc, 1974, 2275~2280.
- [2] Mirsky N, Weiss A, Dori Z. J Inorg Biochem, 1980, 13:11~21.
- [3] 周保学.《国外医学》医学地理分册, 1988, 1:11~14.
- [4] Mertz W. Biol Trace Elem Res, 1992, 32:3~7.
- [5] 戴光智, 严保珍. 华西医科大学学报, 1986, 17(1): 33~39.
- [6] 江慧修. 微生物学报, 1989, 29(1):33~38.
- [7] Schwartz K, Mertz W. Arch Biochem Biophys, 1959, 85:292~295.