

# 富钒酵母中钒含量的初步研究\*

张琛<sup>1</sup>, 李春如<sup>2</sup>, 樊美珍<sup>2</sup>

1(安徽农业大学生命科学学院, 安徽 合肥, 230036)

2(安徽农业大学微生物防治省重点实验室, 安徽 合肥, 230036)

**摘要** 利用啤酒酵母对钒的富集作用制备钒酵母, 并对钒酵母中钒的含量进行分析。结果表明, 钒酵母中有机钒含量可达到 474.9  $\mu\text{g/g}$ , 紫外扫描光谱分析, 钒酵母在 311 nm 处有一特征吸收峰, 红外光谱分析, 钒酵母有多处特征吸收峰的变化。用氨基酸自动分析仪对钒酵母中的 15 种氨基酸含量进行分析表明, 钒对啤酒酵母氨基酸的合成有一定的影响。

**关键词** 酵母, 钒, 红外光谱, 氨基酸分析

钒是一种人体必需微量元素, 具有许多重要的生物学功能, 其中最引人注目的是它的降血糖作用<sup>[1-2]</sup>。但是无机钒化合物具有一定的毒副作用, 并且不易被人体吸收。有机钒化合物可有效降低钒的毒性, 并且易于吸收, 其类胰岛素效应增强, 降血糖作用一般高于无机钒化合物<sup>[3-4]</sup>。McNeil<sup>[5]</sup>率先对有机钒化合物——联麦过氧钒盐(BMOV)进行了研究, 结果表明, BMOV 对糖尿病大鼠的降血糖能力是硫酸氧钒(VS)的 2-3 倍。

目前人们常利用生物转化的方法对微量元素进行富集并转化为有机化合物, 酵母细胞具有较强的富集微量元素的能力<sup>[6-7]</sup>, 可在细胞内将无机态的微量元素转化为有机态。课题组利用制备的富钒酵母, 对钒酵母中的有机钒以及富钒前、后的酵母中各种氨基酸的含量进行了分析, 通过紫外和红外光谱法, 对比研究钒酵母与普通酵母特征峰的变化, 为研究酵母细胞富集转化无机钒的机理提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

菌株: 啤酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex Hansen), 安徽农业大学微生物防治省重点实验室提供, 菌株编号为 RCEF1023。

液体培养基: 1% 葡萄糖, 0.5% 蛋白胨, 0.3% 酵母粉, 25% 11°B<sub>x</sub> 麦芽汁, 经 121℃、20 min 高压蒸汽灭菌。

试剂: 偏钒酸铵, 浓硝酸, 高氯酸均为国产优级纯

试剂。

等离子体电感耦合发射光谱仪(ICP-AES), 美国 Leeman 公司; 紫外/可见分光光度计(6010 惠普), 上海分析仪器公司; 基酸自动分析仪(835-50) 日本日立; 红外光谱仪(Nexus-870), 美国 Nicolet 公司; LRH-250-G 高速离心机, 图门离心机厂; LGJ1.5 冷冻干燥机, 北京四环科学仪器厂。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 钒酵母的制备<sup>[8]</sup>

将酵母菌株接入含有一定钒离子浓度的液体培养基中, 置于恒温摇床振荡培养, 28℃ 下培养 48 h, 5 000 r/min 离心 10 min 收集菌体, 并用蒸馏水洗涤菌体 3 次, 菌体冷冻干燥后备用。

#### 1.2.2 钒酵母中钒含量的测定

取 0.5 g 酵母干粉样品于消化瓶中, 加入 10 mL  $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$  (1:3) 混合液, 置于电炉上消化, 当溶液变为无色时停止。将消化液转移到 25 mL 的容量瓶中, 用 5.0%  $\text{HNO}_3$  溶液定容, 采用 ICP-AES 法进行测定。

#### 1.2.3 钒酵母中有机钒的测定<sup>[9]</sup>

将 0.2 g 钒酵母干粉加入盛有 9.00 mL 蒸馏水的离心管中, 分别浸取 5、10、15、20 h, 然后以 3 500 r/min 离心 20 min, 吸取上清液, 将下层沉淀移出离心管, 冷冻干燥后用 10 mL  $\text{HClO}_4\text{-HNO}_3$  混酸消化, 定容至 10.0 mL, 测定其中的钒含量, 得出有机钒的含量, 换算公式为:

$$\text{有机钒含量}/(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{\text{测得钒的浓度} \times \text{定容体积}}{\text{酵母干粉质量}}$$

#### 1.2.4 钒酵母和普通酵母紫外光谱扫描<sup>[10]</sup>

取一定量钒酵母粉和普通酵母, 加适量的蒸馏水

\* 第一作者: 博士研究生, 讲师(樊美珍教授为通讯作者)。

\* 国家自然科学基金项目(30570004)资助

收稿日期: 2008-12-10, 改回日期: 2009-03-19

制成悬浮液,起始 pH7.0,在 55℃ 下开始自溶。将 2 种酵母自溶物离心,取上清液作适当稀释,进行 200-600 nm 波长紫外光谱扫描。

1.2.5 钒酵母和普通酵母红外对比分析<sup>[11]</sup>

取一定量的钒酵母和普通酵母,分别与 150 mg KBr 混匀压片,测定各自的红外吸收光谱。

1.2.6 钒酵母和普通酵母的氨基酸分析

利用氨基酸自动分析仪分析钒酵母和普通酵母中的 1 氨基酸含量。

2 结果与分析

2.1 有机钒的含量分析

酵母细胞在富集钒的过程中,一部分钒离子只是简单地被吸附在细胞表面,与酵母细胞内的有机成分如蛋白质等大分子之间没有形成牢固的化学键,仍然可游离出来,因此,将钒酵母经过适当的处理,即可去除酵母细胞表面吸附的钒离子,这样测定的钒含量,是有机钒的含量,可准确地反映钒酵母有机化程度的高低。由图 1 可知,在浸取 5 h 时,钒含量是 556.5  $\mu\text{g/g}$ ,随着浸取时间的延长,钒含量逐渐下降,15 h 后酵母中钒含量基本稳定,为 474.9  $\mu\text{g/g}$ ,说明浸取 15 h 后,酵母中无机钒离子被可完全除去,钒酵母中钒基本上是以有机态的形式存在。

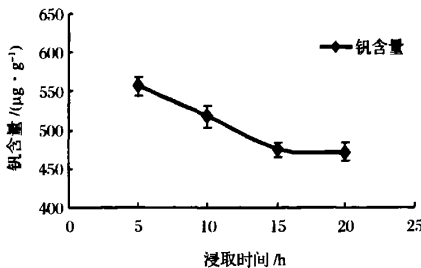


图 1 不同浸取时间酵母中钒的含量

2.2 钒酵母和普通酵母紫外光谱扫描

酵母细胞经破壁后,将其离心后的上清液作适当稀释,测定其紫外吸收值,结果见图 2 和图 3,对钒酵母和普通酵母的紫外扫描光谱分析比较,可看出钒酵母在 311 nm 处有一吸收峰,而普通酵母没有。这可能是钒与酵母中的有效成分结合后所造成的,推测是甘露聚糖,甘露聚糖是组成酵母细胞壁的多种多聚糖中的一种,位于细胞壁外层,是一种以含甘露糖为主,少量蛋白质为辅的糖蛋白。甘露聚糖脱水后的产物在 319 nm 处产生最大吸收,当结合钒后,导致其咪唑醛的共轭双键的紫外吸收低波长位移。

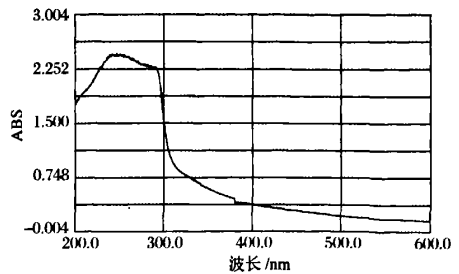


图 2 普通酵母的紫外扫描光谱

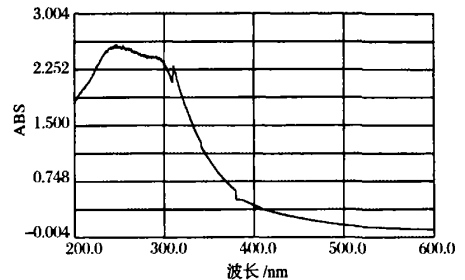


图 3 钒酵母的紫外扫描光谱

2.3 钒酵母和普通酵母红外对比分析

对比钒酵母和普通酵母的红外光谱(图 4,图 5),钒酵母细胞的红外光谱图有多处发生变化,第 1,酵母吸附钒后,羟基的伸缩振动向低波数移动  $12\text{cm}^{-1}$ (峰位由  $3296\text{cm}^{-1}$  到  $3282\text{cm}^{-1}$ )说明钒与羟基的氧原子发生了络合,使 O-H 键的键长增加,振动峰红移。第 2,  $1078\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰是由酵母中的 RNA、DNA 或细胞壁中存在的碳水化合物伸缩振动引起的,红移至  $1057\text{cm}^{-1}$ 。

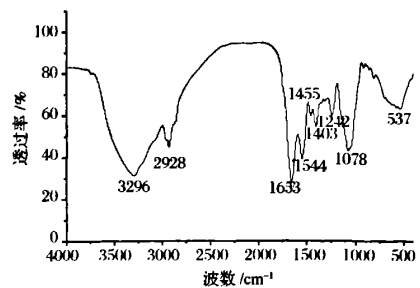


图 4 普通酵母的红外光谱图

此外,钒酵母中吸附钒后,可能使一些缔合的羰基游离出来,如钒酵母在  $1794\text{cm}^{-1}$  有一小的吸收峰,而普通酵母没有。另外也使部分羟基处于游离态,如在  $3600\text{cm}^{-1}$  处出现肩峰,这可能是由于钒与酵母蛋白结合后,与羰基和羟基形成的空间结构,阻断了其它羟基的缔合。而酰胺 I 和酰胺 II 的 2 个强吸收峰( $1653\text{cm}^{-1}$ ,  $1544\text{cm}^{-1}$ )及碳水化合物的某

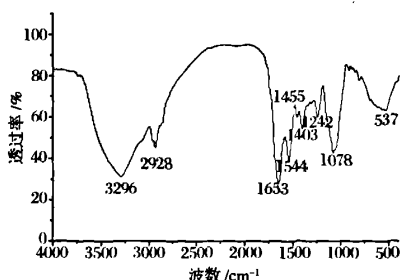


图5 富钒酵母的红外光谱图

些吸收峰,在吸附钒前后其相对强度几乎未受影响,表明吸附钒后酵母细胞的主要成分和结构仍完整。

## 2.4 富钒酵母和普通酵母的氨基酸分析

利用氨基酸自动分析仪对普通酵母和钒酵母中的15种氨基酸含量分析,根据谱图的峰强及保留时间,进行计算得到各种氨基酸的百分含量,从表1可以看出,钒酵母中只有蛋氨酸和苯丙氨酸的含量比普通酵母的高,其他氨基酸的含量均低于啤酒酵母。

表1 富钒酵母和普通酵母氨基酸含量的比较

氨基酸种类	钒酵母/%	普通酵母/%
Asp	4.739	5.056
Thr	2.114	2.321
Ser	2.125	2.16
Glu	9.748	10.605
Gly	1.796	2.023
Ala	2.568	2.675
Met	0.568	0.493
Ile	1.507	2.193
Leu	3.198	4.02
Tyr	1.131	1.394
Phe	1.872	1.843
Lys	2.853	3.768
His	0.8293	1.011
Arg	2.324	2.459
Pro	1.532	1.754

## 3 讨论

通过对钒酵母中有机钒含量的测定和钒赋存状

态的分析中,可以看出,无机元素钒可有效地与酵母结合,通过酵母的生物同化作用,可转化为一种类似天然产物的有机钒产品,并且钒酵母本身富含蛋白质、糖类和B族维生素,同时能提供有益营营养素。此外富钒酵母的生产工艺简单,生产成本低廉,能够进行大规模工业化生产,将会是一种很有发展潜力的钒源。但是在钒酵母的研究中也存在一些问题,如:在富钒酵母机理研究中不够深入,具体应用和药理方面仍需作进一步的研究。

## 参 考 文 献

- [1] 王夔. 生命科学中的微量元素(第二版)[M]. 北京: 中国计量出版社, 1996: 145.
- [2] 梅光泉, 应惠芳. 钒及其化合物的化学性质和生物学行为[J]. 微量元素与健康研究, 2004(4): 57-59.
- [3] Duckworth W C, Solomon S S, Liepnieks J, et al. Insulin-like effects of vanadium in isolated rat adipocytes [J]. Endocrinology, 1998, 122: 2 285-2 289.
- [4] Jackson T, Salhanick A I, Sparks J D, et al. Insulin-mimetic effects of vanadium in primary cultures of rat hepatocytes[J]. Diabetes, 1998, 37: 1 234-1 240.
- [5] Heyliger C E, Tahiliani A G, McNeil J H. Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats[J]. Science, 1985, 227: 1 474-1 477.
- [6] 李淑敏. 酵母作为微量元素载体的研究及应用前景[J]. 微生物学通报, 1999, 26(3): 220-222.
- [7] Secolago H, Per ezglesias J, Femadzesolis J, et al. The effect of the chromium-rich yeast for human [J]. Anal Chem, 1997, 357: 464-466.
- [8] 张琛, 李春如, 樊美珍, 等. 富钒酵母菌株的筛选及摇瓶培养条件的初步研究[J]. 安徽农业大学学报, 2006, 33(2): 234-237.
- [9] 金婵, 郝素娥, 孙丽欣, 等. 高铬酵母的制备及其有机铬含量的研究[J]. 营养学报, 2002, 24(3): 282-285.
- [10] 赵华, 靳胜英, 张春艳, 等. 酿酒酵母水解物紫外吸收性能的研究[J]. 天津轻工业学院学报, 2000(3): 17-40.
- [11] 韩润平, 李建军, 改玲. 酵母菌吸附铅前后红外光谱比较[J]. 光谱实验室, 2000, 17(4): 385-387.

# Preliminary Study on the Content of the Vanadium in Vanadium-enriched Yeast

Zhang Chen<sup>1</sup>, Li Chunru<sup>2</sup>, Fan Meizhen<sup>2</sup>

1(School of Life Sciences, Anhui Agriculture University, Hefei 230036, China)

2(Anhui provincial key laboratory for microbial control, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

**ABSTRACT** The aim of this study is to prepare the vanadium-rich yeast according to its ability enriching inorganic vanadium and determine the content of the vanadium. The results showed: the content of the organic vanadium was 474.9 μg/g. The absorption peak of vanadium-rich yeast was 311 nm by using ultraviolet and several changes examined by infrared spectrometry. After analyzing of 15 kinds of amino acid, it was found that the vanadium have some influence on amino acid's synthesis of yeast.

**Key words** yeast, vanadium, infrared spectrometry, amino acid-analysis