

掷孢酵母类胡萝卜素的提取与鉴定

魏娜¹, 徐琼², 张宁³, 李显贵³, 肖亦农¹, 李炳学^{1,*}

(1.沈阳农业大学土地与环境学院, 土壤资源高效利用国家工程实验室, 辽宁 沈阳 110866;

2.上海市质量监督检验技术研究院, 上海 200233; 3.沈阳农业大学生物科学技术学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘要: 将一株从草莓果实上分离得到的能够积累类胡萝卜素的掷孢酵母利用二甲基亚砜法进行色素提取, 经过薄层析法 (thin layer chromatography, TLC)、分光光度计法及高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 检测, 与粘红酵母标准菌株 *R. glutinis* NBRC 1125^T、掷孢酵母标准菌株 *S. pararoseus* CBS 0376^T 及 β -胡萝卜素标准品进行对比, 结果表明: 掷孢酵母野生型 NGR 主要积累 3 种色素, 分别为红酵母红素、圆酵母素和 β -胡萝卜素, 其中圆酵母素和 β -胡萝卜素及其异构体 (推测为 13-顺式- β -胡萝卜素) 含量最多 (分别约为 653.22 $\mu\text{g/g}$ 和 635.10 $\mu\text{g/g}$), 红酵母红素积累量较少, 约为 150.37 $\mu\text{g/g}$ 。野生型 NGR 的紫外诱变突变株 Y9 为高产 β -胡萝卜素突变株, β -胡萝卜素积累量可占总类胡萝卜素比例的 54%, W1 为不产 β -胡萝卜素, 红酵母红素和圆酵母素积累量减少的粉色突变株, W4 为不产色素的白化突变株。在常规酵母培养基培养下, 野生型 NGR 积累总色素含量可达 1 438.69 $\mu\text{g/g}$ 。

关键词: 掷孢酵母; 类胡萝卜素; 鉴定

Extraction and Identification of Carotenoids in *Sporobolomyces pararoseus*

WEI Na¹, XU Qiong², ZHANG Ning³, LI Xian-gui³, XIAO Yi-nong¹, LI Bing-xue^{1,*}

(1. National Engineering Laboratory for Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources, College of Land and Environment, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 2. Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 200233, China; 3. College of Biological Science & Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: Pigments were extracted by breaking down cultured cells of carotenoid-accumulating *Sporobolomyces pararoseus* (named as NGR) isolated from strawberry fruit using dimethyl sulfoxide (DMSO). Three major carotenoids produced by the wild-type strain NGR of *Sporobolomyces pararoseus*, β -carotene, torulene and torularhodin, were identified by thin-layer chromatography (TLC), UV spectrophotometry and high performance liquid chromatography (HPLC) by comparison with pigments from *R. glutinis* NBRC 1125^T and *S. pararoseus* CBS 0376^T and β -carotene standard. Torulene and β -carotene along with its deduced isomer 13-*trans*- β -carotene were found to be the most abundant carotenoids (653.22 and 635.10 $\mu\text{g/g}$, respectively) in *S. pararoseus* NGR, followed by torularhodin (150.37 $\mu\text{g/g}$). Y9 was a UV-induced mutant of the wild-type strain NGR which accumulated more β -carotene (accounting for 54% of the total carotenoids) than the original strain. W1 was a pink β -carotene deficient mutant which reduced the accumulation of torularhodin and torulene. W4 was an albino. When cultivated in yeast culture medium (YPD), the wild-type strain NGR accumulated 1 438.69 $\mu\text{g/g}$ total pigments.

Key words: *Sporobolomyces pararoseus*; carotenoid; identification

中图分类号: Q935

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 19-0133-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201419028

类胡萝卜素 (carotenoid) 是一类超过 700 种的萜烯基团类不饱和化合物的总称。核心结构是由 40 个碳原子所组成的共轭双键烯烃, 随着分子中共轭双键数目的

增加, 其颜色由黄色逐渐变为红色; 分子中功能基团的种类和数目也会影响其颜色^[1]。类胡萝卜素分子是在含有 11 个共轭双键的番茄红素基础结构上通过氧化、氢

收稿日期: 2013-11-01

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31271818; 31000674); 中国博士后科学基金项目 (2012M510836; 2013T60299)

作者简介: 魏娜 (1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为微生物逆境生理。E-mail: weina.nana@163.com

*通信作者: 李炳学 (1973—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为农业糖资源综合利用和微生物逆境生理。

E-mail: libingxue1027@163.com

化、脱氢、环化以及碳架的重排、降解而获得。类胡萝卜素根据其结构分为两大类：一类只含有碳、氢原子，被称为胡萝卜素族（carotenes），例如胡萝卜素、菌脂素等；另一类具有很强的抗氧化功能，共轭双键个数越多，抗氧化能力越强^[2-3]。

类胡萝卜素普遍存在于高等植物^[4]、细菌^[5-6]、藻类^[7-8]、霉菌^[9]和红酵母属（*Rhodotorula*）、红冬孢酵母属（*Rhodospiridium*）、掷孢酵母属（*Sporobolomyces*）和法夫酵母属（*Phaffia*）^[10-12]的酵母中，执行特定的生物学功能；在植物体的光合作用中，类胡萝卜素参与光吸收，防止前体细胞光氧化^[13]；类胡萝卜素对于动物和人类也很重要，它可以作为VA的前体物质，增强免疫力^[14]，作为活性氧清除剂^[15]等存在；因其色彩艳丽，能够作为一种信号帮助花朵吸引昆虫传粉或动物吸引异性^[16]。动物（包括人类）体内的类胡萝卜素是源于膳食，需要从体外摄入获得^[17-18]。

流行病学证据及实验结果均认为日常饮食中的类胡萝卜素能够抑制许多慢性病的发生，如动脉粥样硬化，白内障，多发性硬化和癌症等^[16]。增加富含类胡萝卜素化合物的食物摄入量，可抑制细胞生长失调和癌变中发生的生化过程，从而降低癌症发病的风险^[19]。番茄中富含番茄红素，抗氧化能力强，具有抑制恶性肿瘤和癌症的作用，对于前列腺癌作用明显^[20]；摄入含玉米黄素的食物有助于预防老年性黄斑病变、白内障等疾病^[21]。另外， β -胡萝卜素及其他类胡萝卜素降解可产生具有特殊香味的化合物，对于制备各种香精、香料具有重要价值，可在食品、烟草、医学和化妆品等行业广泛应用^[22]。

目前，对于*Rhodotorula*属产类胡萝卜素有比较多的研究。Buzzini等^[12]比较了*Rhodotorula*、*Rhodospiridium*、*Sporobolomyces*和*Sporidiobolus* 4个属的13个菌株的类胡萝卜素产量，发现*Sporidiobolus*属在类胡萝卜素累积量上与其他属相比优势较明显，尤其 β -胡萝卜素和红酵母红素产量较高。

在分类学上，*Sporidiobolus*属与*Rhodotorula*属比较接近，李晓芹等^[23]对*Sporidiobolus pararoseus*菌株发酵液中的类胡萝卜素进行了分离鉴定，却少有文献研究*Sporobolomyces pararoseus*中类胡萝卜素的组分和含量。本课题组前期从草莓上分离得到的一株能够积累类胡萝卜素的*Sporobolomyces pararoseus*（命名为NGR），本实验通过采用薄层层析（thin layer chromatography, TLC）法、分光光度法及高效液相色谱（high performance liquid chromatography, HPLC）相结合的方法，对*S.pararoseus* NGR及其突变株中积累类胡萝卜素的种类与含量进行分析。

1 材料与方法

1.1 菌株、培养基与试剂

野生型掷孢酵母NGR（NCBI的GenBank上的注册号为HM749332，已经过鉴定^[24]），分离于草莓果实；NGR紫外诱变突变株Y9、W4、W1；掷孢酵母标准菌株*S. pararoseus* NBRC 0376^T；粘红酵母标准菌株*R. glutinis* CBS 1125^T。

YPD培养基（pH 6.0）：葡萄糖2%、蛋白胨2%、酵母粉1%。

葡萄糖 国药集团化学试剂有限公司；蛋白胨 北京奥博星生物技术有限责任公司；酵母粉 英国DXOID公司；二甲基亚砜 国药集团化学试剂有限公司；丙酮和正己烷（分析纯） 北京化工厂； β -胡萝卜素标准品（色谱级） 美国Sigma公司；乙腈（色谱级） 美国Thermo Fisher公司；乙酸乙酯（色谱级） 美国J.T. Baker公司；甲醇（色谱级） 北京迪马科技公司；薄层层析预制硅胶板HSGF-254 烟台市化学工业研究所。

1.2 仪器与设备

LC-20AT高效液相色谱 日本岛津公司；SPD-M20A二极管阵列检测器、Diamondsil C₁₈（2）柱（250 mm×4.6 mm，5 μ m）、U-3010紫外可见分光光度计 北京晶品赛思科技有限公司；电热恒温水浴锅 天津泰斯特仪器有限公司；离心机 美国Sigma公司；旋涡振荡仪 海门市其林贝尔仪器制造有限公司；恒温振荡器、台式冷冻恒温振荡器 太仓市实验设备厂；BAO-80A精密鼓风干燥箱 施都凯仪器设备上海有限公司；电热恒温培养箱 上海一恒科学仪器有限公司；90-1 双向磁力搅拌器 上海振荣科学仪器有限公司；JA2003电子天平 上海恒平科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 掷孢酵母的培养与收集

活化供试菌株（平板划线），挑取单菌落至50 mL YPD液体培养基中，28 $^{\circ}$ C过夜培养至对数期，按1%接种量接种到50 mL YPD液体培养基中，28 $^{\circ}$ C、200 r/min转速培养72 h，5 000 r/min转速离心10 min，无菌水洗涤2次，于50 $^{\circ}$ C条件下烘干。

1.3.2 类胡萝卜素的提取

类胡萝卜素的提取参考Kim等^[25]的方法，稍有改进。将二甲基亚砜在50~60 $^{\circ}$ C预热5 min，取1 mL放入0.1 g菌粉中，65 $^{\circ}$ C水浴30 min破壁，期间用旋涡振荡仪振荡数次。加3倍二甲基亚砜量的丙酮提取20 min，期间用旋涡振荡仪振荡数次，在12 000 r/min下，离心1 min，获得色素上清，重复上述提取过程，直到菌体变白为止，提取过程尽量避光。

1.3.3 β -胡萝卜素标准曲线的绘制

将5 mg β -胡萝卜素标准品溶于20 mL正己烷和丙酮中, 超声波水浴加速溶解, 并定容于25 mL的容量瓶中, 得到母液质量浓度为200 mg/L。用丙酮作为溶剂逐级稀释, 得到质量浓度分别为0.39、0.78、1.56、3.125、6.25、12.5、100 mg/L的标准溶液。使用高效液相色谱系统分别对标准溶液进行检测, 以 β -胡萝卜素的质量浓度为纵坐标, 以其对应的十万分之一峰面积为横坐标, 得到标准曲线回归方程为 $y=0.8777x$, $R^2=0.9999$ 。

1.3.4 类胡萝卜素的鉴定

浓硫酸显色法: 取5 mL色素提取液加等体积石油醚, 充分振荡静止分层, 取上层石油醚层, 加入等体积质量分数为10%的KOH甲醇溶液, 充分振荡, 可加入质量分数为5%的NaCl溶液促进分离。取上层黄红色石油醚层, 倾入装有2 mL的浓 H_2SO_4 的试管中, 在两相交接处呈现蓝绿色, 即说明有类胡萝卜素的存在^[26]。

TLC法分析比较不同菌株色素组分的差异: 用质量分数为5%的柠檬酸对硅胶板进行喷雾酸化处理, 70 °C干燥1 h, 选用环己烷-乙酸乙酯(95:5, V/V)为展层剂, 点样后在层析缸中展层15 min, 薄层分离后观察斑点位置, 计算各斑点的Rf值, 以 β -胡萝卜素、*S. pararoseus* NBRC 0376^T及*R. glutinis* CBS 1125^T为标准进行比较。

大多数类胡萝卜素在可见光区域400~500 nm波长处有吸收, 利用紫外分光光度计将色素提取液进行吸收光谱测定: 开始波长600 nm, 结束波长400 nm, 扫描速度120 nm/min, 采样间隔0.20 nm, 狭缝宽度2 nm, 光程10.0 nm。总类胡萝卜素含量测定参考周鲜娇等^[27]的方法, 计算公式如下:

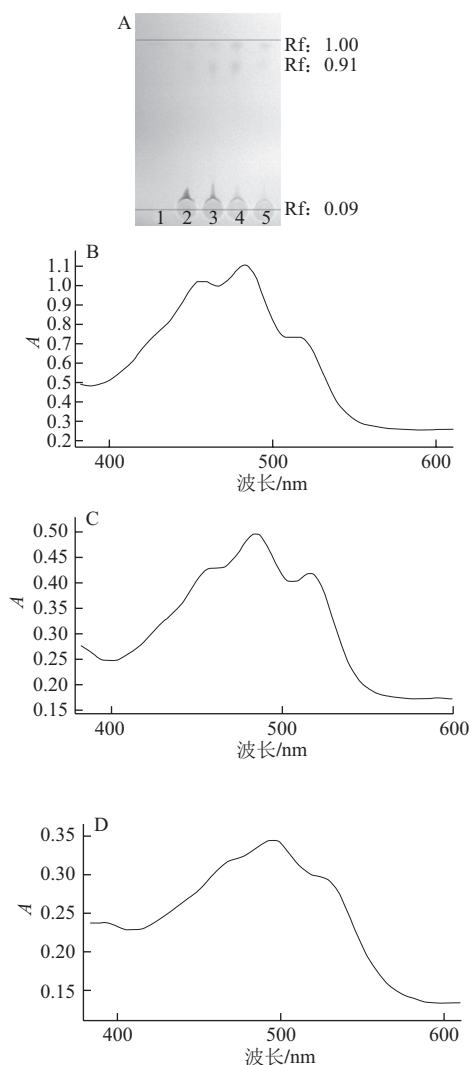
$$\text{总类胡萝卜素含量}/(\mu\text{g/g}) = \frac{A \times D \times V}{0.16 \times m}$$

式中: A 为总类胡萝卜素最大吸收波长下的吸光度; D 为测定试样时的稀释倍数; V 为提取所用溶剂体积/mL; m 为酵母菌体质量/g; 0.16为类胡萝卜素消光系数/(L/mg)。

采用高效液相色谱技术, 根据不同组分及标准品保留时间与光谱吸收值相结合的方法对NGR及其突变株所积累色素进行了定性与定量分析: 色素进样前需用0.45 μm 的微孔滤膜去除杂质; 流动相: A: 90%乙腈; B: 100%乙酸乙酯; 梯度洗脱: 0~5 min, B从0升至50%; 5.01 min, B升至53%; 5.01~10 min, B保持在53%; 10~15.01 min, B升至54%; 15.01~20 min, B升至55%; 20.01 min, B升至56%; 20.01~30 min, B从56%升至57%; 30~35 min, B降为0; 流速1 mL/min; 进样量20 μL ; 检测波长为450 nm。标准品测定方法同上。圆酵母素和红酵母素含量按照 β -胡萝卜素标准曲线折合计算^[12]。

2 结果与分析

2.1 薄层层析法测定类胡萝卜素组分及含量



A. 不同菌株类胡萝卜素薄层层析色素组分分析 (1. β -胡萝卜素; 2. *R. glutinis* NBRC 1125^T; 3. *S. pararoseus* NBRC 0376^T; 4. NGR; 5. Y9); B、C、D分别为菌株NGR中色素组分1、组分2、组分3分光光度法扫描光谱。

图1 类胡萝卜素组分及吸收光谱

Fig.1 Absorption spectra and TLC of carotenoids

由图1A可知, TLC板上得到3个组分, Rf值分别为1.0、0.91和0.09。泳道1为 β -胡萝卜素标准品的标准溶液展层结果, 泳道2为*R. glutinis* CBS 1125^T色素提取液展层结果, 该菌株色素组分已被研究较清楚^[28], 所对应的3个色素分别为 β -胡萝卜素、圆酵母素和红酵母素; 菌株NGR(泳道4)与*R. glutinis* CBS 1125^T具有相同的色素组分; *S. pararoseus* NBRC 0376^T(泳道3)的色素组分与*R. glutinis* CBS 1125^T也基本相同; 黄色突变株Y9层析结果有黄色斑点, 而其他色素含量很少(泳道5), 说明菌株Y9经过紫外辐射后色素合成途径受到影响, 细胞积累 β -胡萝卜素增加。

Davoli等^[29]用相同的展层剂提取*Sporobolomyces rouxii*也获得3个色素斑点,从上往下依次为 β -胡萝卜素(430、450、475 nm)、圆酵母素(459、482、515 nm)和红酵母红素(470、492、521 nm)。将菌株NGR类胡萝卜素提取液中的3种主要组分从TLC板上刮下,通过U-3010分光光度计在400~600 nm波长处进行扫描,由各组分的吸收光谱(图1B~1D)可知,组分1在472 nm和455 nm波长处有吸收,为 β -胡萝卜素;组分2在516、484、451 nm波长处有吸收,为圆酵母素;组分3在494 nm波长处有光吸收,为红酵母红素。因此,可以初步确定,菌株NGR的3个色素斑点分别为 β -胡萝卜素、圆酵母素和红酵母红素。以YPD为发酵培养基,培养72 h后测得菌株NGR类胡萝卜素的粗产量为1 238.04 $\mu\text{g/g}$ 。

2.2 高效液相色谱法测定类胡萝卜素组分与含量

由图2A可知,掷孢酵母NGR在27 min内主要出现了3个吸收峰(色谱峰1、2、3),主要色素与*S. paraseus* NBRC 0376^T和*R. glutinis* CBS 1125^T各组分出峰时的保留时间相近(图2B、2C),但组分含量差异较大。 β -胡萝卜素标准品在26.1 min时出峰(图2D),与上述3种菌株第3组分出峰时间一致。根据 β -胡萝卜素标准曲线,对HPLC数据进行分析可知,NGR中 β -胡萝卜素含量约为635.10 $\mu\text{g/g}$,圆酵母素含量约为653.22 $\mu\text{g/g}$,红酵母红素积累量较少,约为150.37 $\mu\text{g/g}$,总类胡萝卜素含量约为1 438.69 $\mu\text{g/g}$; *S. paraseus* NBRC 0376^T中 β -胡萝卜素占色素总含量的41.8%左右,约为584.51 $\mu\text{g/g}$,圆酵母素和红酵母红素含量分别为221.98、196.58 $\mu\text{g/g}$,不论是从总量还是各组分含量上均低于NGR; *R. glutinis* CBS 1125^T以积累红酵母红素为主,约占总色素含量的53.1%,含量为850.29 $\mu\text{g/g}$, β -胡萝卜素含量为226.05 $\mu\text{g/g}$,圆酵母素含量相对较少,约为174.59 $\mu\text{g/g}$,仅占10.9%。

根据HPLC及光谱吸收结果(图2E),推测在 β -胡萝卜素后面、保留时间约为26.6 min的峰是 β -胡萝卜素的异构体。根据光谱图分析得到该峰在339 nm波长处有一个顺式吸收峰,在447、470 nm波长处有吸收。有报道称,13-顺式- β -类胡萝卜素在333 nm波长处有顺式吸收峰,在447、471 nm波长处有吸收^[30],推测该异构体可能为13-顺式- β -类胡萝卜素。

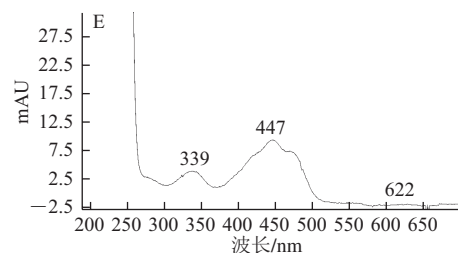
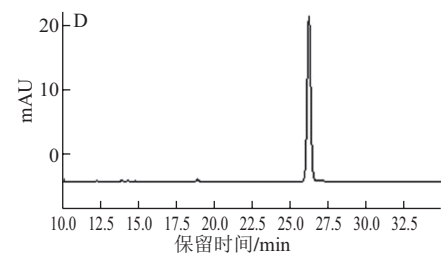
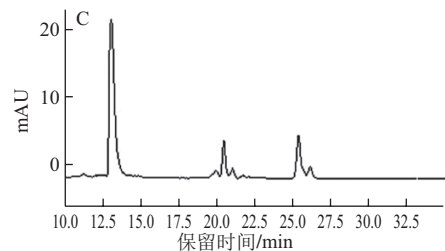
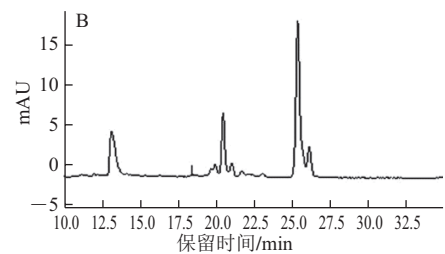
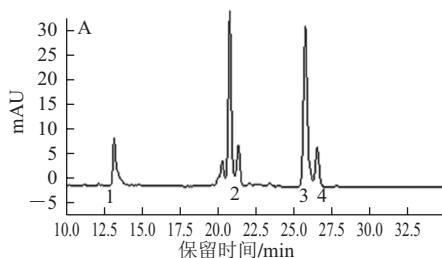


图2 *S. paraseus* NGR (A)、*S. paraseus* NBRC 0376^T (B)、*R. glutinis* CBS 1125^T (C) 和 β -胡萝卜素标准品 (D) 高效液相色谱图和 β -胡萝卜素异构体光谱吸收图 (E)

Fig.2 Chromatograms of *S. paraseus* NGR (A), *S. paraseus* NBRC 0376^T (B), *R. glutinis* CBS 1125^T (C), and β -carotene standard (D) and UV absorption spectrum of β -carotene isomer (E)

另外,对*S. paraseus* NGR紫外诱变突变株积累类胡萝卜素组分及含量进行了分析,Y9为 β -胡萝卜素积累量增加的黄色突变株, β -胡萝卜素含量可达538.03 $\mu\text{g/g}$,约占总色素比例的54%左右;W1为不积累 β -胡萝卜素,圆酵母素和红酵母素积累量减少的粉色突变株,菌体呈现浅粉色;W4为不积累色素的白化突变株,在450 nm波长下,未检测出吸收峰。

3 结论与讨论

本实验将从草莓上分离得到的掷孢酵母NGR菌株所积累的类胡萝卜素进行定性及定量分析,通过二甲亚砜法提取色素,经薄层层析法、分光光度法及高效液

相色谱法鉴定确定该菌株色素粗提液中主要含有 β -胡萝卜素、圆酵母素和红酵母红素。采用分光光度计法测定NGR总类胡萝卜素含量为1 238.04 $\mu\text{g/g}$, 采用HPLC法测定为1 438.69 $\mu\text{g/g}$, Buzzini等^[12]研究了*Rhodotorula*、*Rhodospiridium*、*Sporobolomyces*和*Sporidiobolus* 4个属的13个菌株色素积累情况, 将培养5 d的菌体收集, 测得的总色素含量在16.40~184.00 $\mu\text{g/g}$ 范围内, NGR与之相比, 总色素积累量优势明显。

有研究表明, β -胡萝卜素和红酵母红素可以清除羟自由基、有效淬灭单线态氧^[31], 且红酵母红素清除羟自由基和淬灭单线态氧的效率要高于 β -胡萝卜素^[32-33], 而圆酵母素清除氢自由基的能力强于 β -胡萝卜素^[34]。NGR中圆酵母素含量约为653.22 $\mu\text{g/g}$, 显著高于*S. pararoseus* NBRC 0376^T (约为221.97 $\mu\text{g/g}$), 因此, NGR可以作为潜在的圆酵母素来源菌株应用于生产实践中。

紫外诱变突变株Y9为 β -胡萝卜素积累量增加的黄色突变株, β -胡萝卜素含量可达538.03 $\mu\text{g/g}$, 约占总色素比例的54%左右, 可通过继续诱变等方式发酵获得更多的 β -胡萝卜素。黄色及白化突变株的获得, 为深入研究掷孢酵母类胡萝卜素合成途径提供了重要的研究材料。

参考文献:

- [1] 姜建国, 王飞, 陈倩. 类胡萝卜素功效与生物技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [2] YE V M, BHATIA S K. Pathway engineering strategies for production of beneficial carotenoids in microbial hosts[J]. *Biotechnology Letters*, 2012, 34(8): 1405-1414.
- [3] WOODALL A A, LEE S W, WEESIE R J, et al. Oxidation of carotenoids by free radicals: relationship between structure and reactivity[J]. *Biochimica Biophysica Acta*, 1997, 1336(1): 33-42.
- [4] 霍培, 李静, 王罡, 等. 植物类胡萝卜素生物合成及功能[J]. *中国生物工程杂志*, 2011, 31(11): 107-113.
- [5] PRAKASH B, PAUL S B. β -carotene production by *Flavobacterium multivorum* in the presence of inorganic salts and urea[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2004, 31(12): 565-571.
- [6] 赵军, 连建科, 赵春贵, 等. 产氢红杆菌类胡萝卜素突变株的诱变和筛选[J]. *微生物学通报*, 2008, 35(1): 78-81.
- [7] 陈勇, 李德发, 陆文清, 等. 测定雨生红球藻中虾青素及其它色素含量的高效液相色谱法[J]. *分析测试学报*, 2003, 22(4): 28-31.
- [8] 欧阳琴. 雨生红球藻的培养及其虾青素提取[D]. 福州: 福州大学, 2004: 3-4.
- [9] NANOU K, ROUKAS T, KOTZEKIDOU P. Role of hydrolytic enzymes and oxidative stress in autolysis and morphology of *Blakeslea trispora* during β -carotene production in submerged fermentation[J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2007, 74(2): 447-453.
- [10] BHOSALE P, GADRE R V. Optimization of carotenoid production from hyper-producing *Rhodotorula glutinis* mutant 32 by a factorial approach[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2001, 33(1): 12-16.
- [11] BHOSALE P, GADRER V. beta-carotene production in sugarcane molasses by a *Rhodotorula glutinis* mutant[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2001, 26(6): 327-332.
- [12] BUZZINI P, INNOCENTI M, TURCHETTI B, et al. Carotenoid profiles of yeasts belonging to the genera *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Sporobolomyces*, and *Sporidiobolus*[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2007, 53(8): 1024-1031.
- [13] DEMMING-ADAMS B, WILLIAM W, ADAMS L. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis[J]. *Trends in Plant Science*, 1996, 1(1): 21-26.
- [14] BAST A, HAENEN G R, van den BERG H. Antioxidant effects of carotenoids[J]. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 1998, 68(6): 399-403.
- [15] HUGHES D A. Beta-carotene and immune function: is it a case of defining the right intake?[J]. *Nutrition*, 1999, 15(5): 405-407.
- [16] FRENGOVA G I, BESHKOVA D M. Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*: yeasts of biotechnological importance[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2009, 36(2): 163-180.
- [17] 杨博媛, 惠伯棣. 天然食物链中的类胡萝卜素[J]. *中国食品添加剂*, 2013(1): 189-197.
- [18] BENDICH A, OLSON J A. Biological actions of carotenoids[J]. *FASEB Journal*, 1989, 3(8): 1927-1932.
- [19] 翟艳丽, 惠伯棣, 蔡靳, 等. 类胡萝卜素与癌症风险相关性的研究[J]. *食品科学*, 2013, 34(13): 307-313.
- [20] 罗金凤, 任美燕, 陈敬鑫, 等. 番茄红素的生理功能及保持其稳定性方法的研究进展[J]. *食品科学*, 2011, 32(19): 279-283.
- [21] 蔡靳, 惠伯棣, 蒋继志. 玉米黄素及在食品中的应用研究进展[J]. *中国食品添加剂*, 2012(3): 200-207.
- [22] 麻俊侠, 樊明涛, 王树林, 等. β -胡萝卜素降解葡萄球菌化学成分培养基营养的研究[J]. *食品科学*, 2013, 34(5): 137-141.
- [23] 李晓芹, 钱和, 张伟国, 等. *Sporidiobolus pararoseus* 发酵产物中类胡萝卜素的分离与鉴定[J]. *食品与发酵工业*, 2011, 37(9): 25-30.
- [24] 魏娜, 徐琼, 张宁, 等. 掷孢酵母及其应用研究进展[J]. *微生物学通报*, 2014, 41(6): 1121-1218.
- [25] KIM J K, KIM J I, LEE N K, et al. Extraction of β -carotene produced from yeast *Rhodospiridium* sp. and its heat stability[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2010, 19(1): 263-266.
- [26] 翟红梅. 利用粘红酵母生产类胡萝卜素的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2004: 17-18.
- [27] 周鲜娇, 马家丽, 吴雪梅. 海洋红酵母色素不同提取方法的比较[J]. *食品工业科技*, 2009, 30(3): 284-287.
- [28] HAYMAN E P, YOKOYAMA H, CHICHESTER C O, et al. Carotenoid biosynthesis in *Rhodotorula glutinis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1974, 120(3): 1339-1343.
- [29] DAVOLI P, WEBER R W S. Carotenoid pigments from the red mirror yeast, *Sporobolomyces roseus*[J]. *Mycologist*, 2002, 16(3): 102-108.
- [30] 仇丹, 陈志荣, 李浩然. β -胡萝卜素异构体的定性分析[J]. *食品科学*, 2008, 29(4): 50-53.
- [31] SIGMUND S, LUTNÆS B F, STORMO S K, et al. Torularhodin as a potent scavenger against peroxy radicals isolated from a soil yeast, *Rhodotorula glutinis*[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2006, 33(4): 269-273.
- [32] SAKAKI H, NOCHIDE H, KOMEMUSHI S, et al. Effect of active oxygen species on the productivity of torularhodin by *Rhodotorula glutinis* No. 21[J]. *Journal of Bioscience Bioengineering*, 2002, 93(3): 338-340.
- [33] SAKAKI H, NAKANISHI T, TADA A, et al. Activation of torularhodin production by *Rhodotorula glutinis* using weak white light irradiation[J]. *Journal of Bioscience Bioengineering*, 2001, 92(3): 294-297.
- [34] GALANO A, FRANCISCO-MARQUEZ M. Reactions of OOH radical with beta-carotene, lycopene, and torulene: hydrogen atom transfer and adduct formation mechanisms[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2009, 113(32): 11338-11345.