

# 活性干酵母细胞构造的研究

邓伟民

(暨南大学生物系, 广州)

刘惠敏

(暨南大学电镜室, 广州)

活性干酵母的生产工艺是一项专利, 报道的资料很少, 尤其是细胞构造方面的资料更少。直到1980和1982年, Arnold<sup>[1]</sup>和 Berry<sup>[2]</sup>才分别报道了啤酒酵母的超微结构。为了探讨活性干酵母的生产工艺, 我们试图先弄清活性干酵母的细胞形状和细胞构造, 并分别与好氧、厌氧条件下培养的酵母细胞进行比较, 为进一步研究活性干酵母的培养方法提供参考。

## 材料与 方法

### (一) 菌株

1. 活性干酵母(商标: Safmex S. A. de C. V., 法国)。

2. 面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)系从上述活性干酵母中分离得到。

### (二) 培养基

1. 斜面培养基: 麦芽汁(5波美)100ml; 琼脂 2g; pH6.0。

2. 发酵培养基(%):  $(NH_4)_2SO_4$  0.08,  $K_2HPO_4$  0.08,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.08, NaCl 0.04,  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  0.0005, 酵母膏 0.12, pH5.0, 121°C 30分钟灭菌; 葡萄糖 4.0 (另灭菌, 115°C 20分钟, 使用时加入上述基础培养基中)。

### (三) 培养条件

将麦芽汁斜面上, 28°C 培养24小时的菌种制成  $10^8$ /ml 细胞悬液, 接4ml至发酵培养基中(500ml三角瓶装80ml培养基)。

1. 振荡培养: 将已接种的三角瓶置旋转式摇床(120r/min, 偏心距 2.5cm)上, 28°C 培养48小时, 收获细胞, 用无菌生理盐水洗涤一次, 用作分析。

2. 厌氧培养: 将已接种的三角瓶置真空干燥器内, 抽真空, 再用焦性没食子酸除去残余氧。置28°C 培养箱中, 培养48小时后收获细胞, 用无菌生理盐水洗涤一次, 用作分析。

### (四) 方法

1. 分别将活性干酵母、振荡培养和厌氧培养

的酵母用普通染色法染色, 并在光学显微镜下观察其细胞形状和出芽情况。

2. 分别将活性干酵母、振荡培养和厌氧培养的酵母用戊二醛、锇酸双重固定、Epon 812包埋、切片、经醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色后, 在 JEM-100CXII 电子显微镜下观察其细胞内部构造。

3. 分别用高碘酸-Schiff 染色法<sup>[3]</sup>染色活性干酵母、振荡培养和厌氧培养的酵母, 并在显微镜下分别观察其细胞内糖原颗粒。

4. 氯化新四氮唑(TTC)还原反应<sup>[4]</sup>: 1% TTC 分别滴入二滴于装有 4.5ml 1% 葡萄糖溶液(已灭菌)的试管内, 然后再分别加入活性干酵母, 振荡培养和厌氧培养的酵母细胞悬液( $10^8$ /ml) 0.5ml, 摇匀, 置28°C 水浴中保温, 观察对TTC的还原能力, 记下产生颜色反应的时间。

## 结果与 讨论

### (一) 细胞生长状态

用光学显微镜观察可见, 振荡培养的细胞, 生长旺盛, 出芽的细胞较多(图1); 活性干酵母细胞, 基本上由成熟的、大小均一的两类细胞组成(大细胞着色深, 小细胞着色浅), 几乎没有出芽的细胞(图2), 与厌氧生长的细胞(图3)相似。

### (二) 细胞构造

用电镜观察超薄切片可见, 好氧生长的细胞(图版1-1、2)有明显的周质空间, 周质空间在原生质膜中形成内陷, 伸进细胞质中, 呈木楔状。这种特殊结构对营养物质的吸收与同化十分有利, 它表明细胞正处于代谢极其活跃的状态。同时, 好氧生长细胞还具有较多发达的线粒体。而厌氧生长的细胞(图版1-3、4)和活性干酵母细胞(图版1-5、6)均看不到细胞的周质空间及其内陷, 表明细胞处于成熟、代谢不活跃状态。它们都具有较多的球形、椭圆形的贮藏颗粒。从细胞构造上看, 活性干酵母细胞与厌氧培养的酵母细胞有较

本文于1985年8月26日收到。

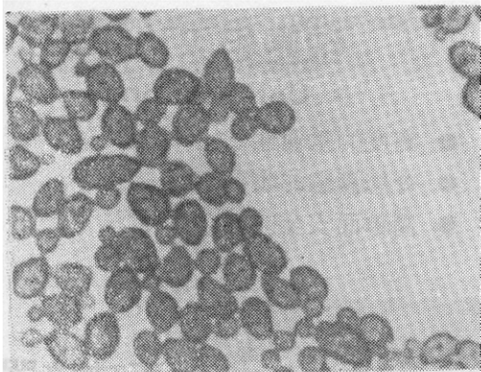


图1 振荡培养的酵母细胞(×1,400)

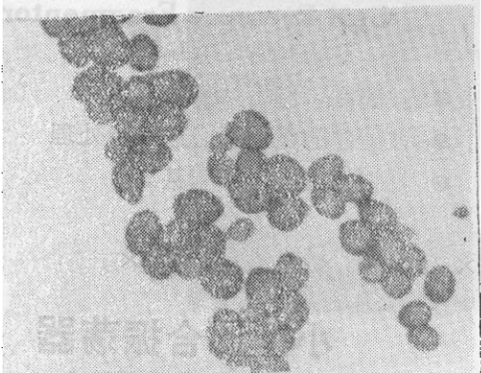


图2 厌氧培养的酵母细胞(×1,400)

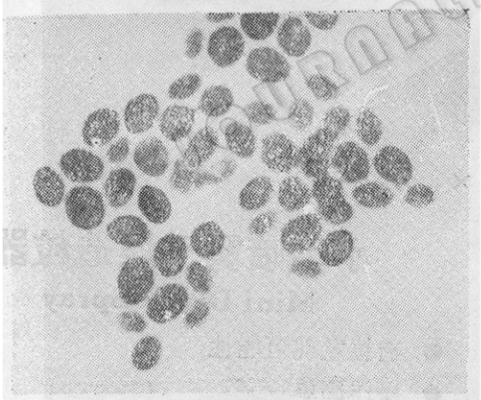


图3 活性干酵母细胞(×1,400)

多的相似点。不同的仅是在活性干酵母的细胞中能看到多一些嵴发达的线粒体,这又与好氧生长的酵母细胞相似。

### (三) 细胞内的糖原颗粒

用高碘酸-Schiff 染色法鉴别红色的糖原颗粒发现,好氧生长的细胞中出现较多的这种颗粒(3—8个/细胞),而在厌氧培养的酵母细胞和活性干酵母细胞中出现的这种颗粒少(1—3个/细胞)或者无。

### (四) 氯代新四氮唑(TTC)的还原反应

好氧生长的细胞还原TTC的能力比厌氧生长的细胞强,而活性干酵母则介于两者之间。

表1 TTC还原能力比较

反应时间(h)	细胞类型		
	好氧	厌氧	活性干酵母
1	—	—	—
2	浅红	—	—
3	红	—	浅红
4	深红	浅红	红
5		红	深红
6		深红	

从上述的结果可以看出,活性干酵母的细胞状态似乎介于好氧生长的细胞和厌氧生长的细胞之间,而又更倾向于厌氧生长的细胞状态。在活性干酵母的生产中,为了获得高的酵母产率,根据巴斯德效应,必须进行通气培养,但是收获的细胞又往往活性较低。而厌氧培养,则酵母的生物量太低,但其细胞内的酶系与以后面团中的厌氧环境相适应,且厌氧培养抑制了线粒体的发育(细胞内线粒体少,嵴不发达,对TTC的还原能力弱),这样降低了活性干酵母制作过程中细胞的内源呼吸,减少细胞物质的消耗,有利于保持细胞的活性和贮藏的稳定性。作者认为如取两者的优点,前期采用通气培养,后期采用微通气或厌氧培养,就可能获得大量高活性的、具有上述细胞形态和构造的活性干酵母细胞。有关活性干酵母细胞内海藻糖贮藏颗粒的分布,还有待于进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] Arnold, W. N.: Yeast Cell Envelopes: Biochemistry, Biophysics, and Ultrastructure, Vol. II, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, pp. 140—158, 1980.
- [2] Berry, D. R.: The Biology of Yeast, Studies in Biology no. 140, Edward Arnold (Publishers) Limited, London, pp. 54—55, 1982.
- [3] Gerhardt, P. et al.: Manual of Methods for General Bacteriology, American Society for Microbiology, Washington, pp. 30—31, 1981.
- [4] Barnes, E. M.: *J. Gen. Microbiol.* 14: 57—68. 1956.