

产棕榈油酸酵母菌的分离和鉴定*

罗玉萍 杨荣英 李思光 徐旭士 余名崙

(南昌大学生物科学工程系 南昌 330047)

摘要 1992 年分离到一株高产棕榈油酸的酵母菌。该菌株产油脂量为菌体干重的 32.06%，棕榈油酸占油脂总量的 52.14%，经初步鉴定认为是一株酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*。

关键词 酵母菌, 棕榈油酸, 鉴定

油脂是维持生命的重要营养物质, 也是工业生产的重要原料。利用微生物生产油脂是一条开发新油源的好途径。它不仅可以补充现有动、植物油脂数量的不足, 代替食用油脂和工业用油, 同时还可以获得经济价值高, 天然动植物中存在量少, 甚至不存在的有较大生理功能和特殊利用价值的油脂与类脂质, 例如十五烷酸、棕榈油酸、 γ -亚麻酸等。Gewaily、Shimp、Tyrrell、Hamidi 和 Woodbine 分别进行了利用微生物生产油脂的研究^[1], 铃木修则报道了利用被孢霉属丝状菌生产含 γ -亚麻酸油脂的研究^[2]。棕榈油酸是十六碳不饱和脂肪酸, 具有治疗中风的特殊生理功能^[3], 在普通动植物油脂中存在量极少^[4], 在微生物中能产大量棕榈油酸的菌株国内外至今尚未见报道^[5~7]。

作者自 1989 年开始进行了由微生物生产油脂的研究, 分离到一株高产棕榈油酸油脂的酵母菌, 并对其进行了初步鉴定。

1 材料和方法

1.1 菌株

将采自江西共青葡萄园的土壤样品制成悬液, 接种到麦芽汁培养基增殖 6d, 每天挑除丝状菌。然后取增殖液接种到麦芽汁琼脂平板于 28℃ 培养, 分离到编号为 12.926 的菌株。

1.2 培养基

本试验所用的普通 YEPD 培养基、福氏产孢培养基以及半合成发酵培养基均按文献 [8] 配制。发酵培养基分别以 2% 半乳糖、蜜二糖、可溶性淀粉、蔗糖、麦芽糖、葡萄糖、4% 棉子糖为碳源。同化硝酸盐培养基以无氮基本培养基添加硝酸钾组成。麦芽汁培养基为将麦芽汁调糖度 10 波林, pH 3.8, 固体培养基加 2% 琼脂。产脂培养基(%): 酵母浸出汁 0.8, 蛋白胨 0.3, 葡萄糖 10。

1.3 脂肪酸的提取和前处理

将供试菌株接入 YEPD 培养基, 28℃ 振荡培养 2d, 4000r/min 离心 10min, 收集菌

* 江西省自然科学基金资助的项目。

本文于 1994 年 5 月 10 日收到。

体转入产脂培养基 28℃ 振荡培养。从第三天开始取少量菌体用脂肪粒染色法^[7]找出产脂的最佳培养期。收集最佳培养期菌体烘至恒重,将干燥后的菌体研成粉末,用乙醚作溶剂,索氏提取法萃取,除尽溶剂后得到油脂。用氢氧化钾-甲醇室温酯化法制备脂肪酸甲酯。

1.4 脂肪酸组成分析

采用气相色谱仪分析脂肪酸组分,气相色谱仪为日本岛津 GC-7AG 型,氢火焰鉴定器 (FID)。色谱柱为 4m × 3mm 玻璃柱。固定相采用 10% 丁二酸二乙二醇聚酯固定液。担体为 80—100 目酸洗 Chromosorb. W. 柱温 210℃,液化室温度 280℃。载气及尾气:高纯氮 50ml/min;高纯氢 0.5kg/cm²;空气 0.5kg/cm²。各脂肪酸甲酯的含量的确定系用微机自动打印出面积百分比,作为每种脂肪酸的相对百分含量,并根据脂肪酸甲酯气相色谱标准品(由中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所提供)的保留时间鉴定。

1.5 菌株的鉴定

采用酵母菌鉴定的常规方法^[10]。

2 结果和讨论

2.1 油脂含量测定及脂肪酸组成分析

收集和分离的酵母菌中有 10 株产油量较高。其中 12.926 菌株合成的油脂量为菌体

表 1 12.926 菌株的脂肪酸组成
Table 1 Fatty acids compositions of strain 12.926

| 保留时间 (min) Retain time | 脂肪酸组成(%) Fatty acids compositions | |
|---------------------------|--------------------------------------|-------|
| 2.98 | C _{10:0} | 0.27 |
| 3.26 | C _{11:0} | 1.34 |
| 4.20 | C _{12:0} | 0.67 |
| 6.21 | C _{14:0} | — |
| 7.48 | C _{15:0} | — |
| 9.51 | C _{16:0} | 7.60 |
| 11.16 | C _{16:1} | 50.14 |
| 12.56 | C _{17:0} | 1.94 |
| 14.20 | C _{17:1} | 1.00 |
| 14.88 | C _{18:0} | 3.08 |
| 17.30 | C _{18:1} | 29.84 |
| 21.13 | C _{18:2} | 1.94 |
| 25.95 | C _{18:3} | 0.78 |
| 31.71 | C _{20:0} | 0.74 |
| 38.35 | C _{20:1} | 0.20 |
| 39.47 | C _{22:0} | — |
| 43.98 | C _{22:1} | — |
| | 其他 other | 0.46 |

注: “—”未测出峰值。
Notes: “—” undetected peaks.

干重的 32.06%。用气相色谱法分析其油脂的脂肪酸组成,以标准脂肪酸甲酯作标定物,按出峰保留时间(RT)定出各种组分。表 1 为 12.926 菌株的脂肪酸组分百分含量。从表 1 中可以看出,该菌株合成的油脂中不饱和脂肪酸比例很高,约占 84.64%。脂肪酸组成中,以棕榈油酸($C_{16:1}$)含量为最高,约占脂肪酸总量的 50.14%,余下依次是 $C_{18:1}$ (占 29.84%), $C_{16:0}$ (占 7.6%), $C_{18:0}$ (3.08%), $C_{17:0}$ (1.94%), $C_{11:0}$ 和 $C_{17:1}$ 约占 1%,而 $C_{18:3}$ 、 $C_{20:3}$ 、 $C_{12:0}$ 、 $C_{10:0}$ 和 $C_{20:5}$ 含量甚微。这株酵母菌油脂的脂肪酸组成与普通植物油的脂肪酸组成相近^[4],只是植物油的脂肪酸以 $C_{18:1}$ 为主, $C_{16:1}$ 组分甚微。在微生物中像 12.926 菌株能有如此高的 $C_{16:1}$ 含量这还是首次报道。在已测试过菌体脂肪酸组成的微生物中^[3,7], $C_{16:1}$ 组分的含量变化较大,低的几乎没有这一组分,高的可达脂肪酸总量的 15%。

2.2 12.926 菌株的鉴定

2.2.1 形态特征: 营养细胞呈卵圆形、圆形(图 1),细胞宽约 $2.5\sim 5.0\mu\text{m}$,长约 $5\sim 12\mu\text{m}$ 。产子囊孢子,子囊孢子数目为 2~4 个,孢子圆球形(图 2),直径约 $2\mu\text{m}$ 。成熟时子囊不易破裂,多边出芽,无真菌丝。

2.2.2 培养特征: 菌落直径 4~5mm,菌落颜色乳白色,表面湿润,中间隆起。在麦芽汁液体培养基中不形成膜。

2.2.3 生理生化特性: 不同化硝酸盐,不同化及发酵半乳糖、蜜二糖,不发酵可溶性淀粉。发酵棉子糖、蔗糖、麦芽糖和葡萄糖。根据以上结果,参照 Lodder 1970 年的酵母分类研究的标准,初步鉴定该菌株为酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)。

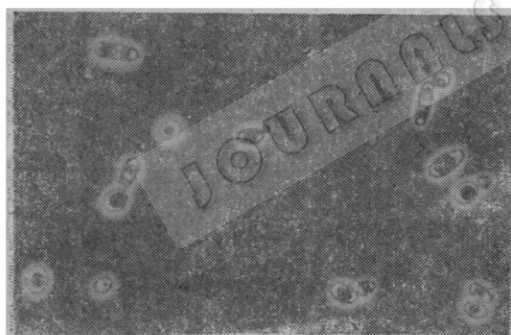


图 1 12.926 菌株的营养细胞(800×)
Fig. 1 Vegetative cell of strain 12.926



图 2 12.926 菌株的子囊与子囊孢子(800×)
Fig. 2 Asci and Ascospores of strain 12.926

用酿酒酵母作为棕榈油酸的生产菌具有应用前景,它无毒,易培养,繁殖快,有可能作为有医用价值的棕榈油酸的新油源。

参 考 文 献

- [1] Hassanion F R, Ragab M, Makhzangy A E. *Feste Seifen Austrichemittel*, 1986, 88(1): 33~38.
- [2] 铃木修. 发酵と工業, 1985, 43(11): 1024~1031.
- [3] 张秀鲁. 浙江粮油科技, 1990, 1: 1~5.
- [4] 朱全芳, 田洁华, 夏春华. 中国油脂, 1987, 2: 31~37.
- [5] 周方, 陈立茵, 陈剑鸥, 等. 微生物学报, 1990, 30(6): 408~416.
- [6] 张寅, 庄玉辉, 刘志恒, 等. 微生物学报, 1991, 31(3): 187~197.
- [7] 张聚元. 中国油脂, 1988, 3: 14~18.

- [8] 蔡金科, 张博润, 刘惠平. 遗传学报, 1978, 5: 9~17.
[9] 欧阳谅. 微生物学实验法. 南昌: 江西人民出版社, 1980. 127~128.
[10] Lodder J. The Yeast, A Taxonomic Study. Amsterdam: North Holland Press Co, 1970. 34~102; 115~120.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF YEAST PRODUCING PALMITOLEIC ACID

Luo Yuping Yang Rongying Li Siguang Xu Xushi Yu Minglun
(Department of Biological Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047)

Abstract A strain of yeast producing large amount of palmitoleic acid was isolated in 1992. The weight of oil and fat produced by this strain is 32.06% of dried cell. Palmitoleic acid is 52.14% of total oil and fat. According to the results of identification, the strain is considered of belong to species *Saccharomyces cerevisiae*.

Key words Yeast, Palmitoleic acid, Characterization