

# 甘蓝黑腐病黄单胞菌胞膜离子通道透性 对黄原胶生物合成的影响

欧杰, 李柏林, 金森, 黄晓清

(上海水产大学食品学院, 上海 200090)

**摘要:** 本文研究了  $K^+$ 、 $Na^+$  离子浓度改变对甘蓝黑腐病黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris*) 胞膜离子通道透性的影响。通过发酵过程采样点电子显微镜照片的软件分析和后期数据的统计处理分析, 结合电镜照片, 源用胞膜基本理论, 阐述了甘蓝黑腐病黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris*) 胞膜离子通道的透性对黄原胶生物合成的影响。结果表明, 胞膜通道的透性对黄原胶合成前体物质的运输有极其重要的影响。

**关键词:** 黄原胶; 细胞膜; 甘蓝黑腐病黄单胞菌

**Abstract:** The effects of different concentrations of ion  $k^+$  and  $Na^+$  on the *Xanthomonas campestris*' cell membrane channel have been studied. The electron microscope photos and the experimental data of different specimens during fermentation process were analyzed by professional software. Based on the principles of cell membrane, the influence of *Xanthomonas campestris*' cell membrane channel on the biosynthesis of Xanthan gum was expounded. As a result, the channel of *Xanthomonas campestris*' cell membrane have an important impress on the transport of former substantial for the biosynthesis of Xanthan gum.

**Key words:** xanthan gum; cell membrane; *Xanthomonas campestris*

中图分类号: TS201.1; TS201.6; Q939.11

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2003)01-0043-06

黄原胶是由野生黄单胞菌以碳水化合物为主要底物, 经发酵产生的一种酸性胞外杂多糖。

黄原胶分子的基本构成为 D-葡萄糖、D-甘露糖、D-葡萄糖醛酸、乙酸以及丙酮酸。其中前三者的比率接近 3:3:2。从其分子结构可以看出, 主链与纤维素基本相同, 其显著差别仅在于三糖侧链在无水葡萄糖单位之间交替出现。每两个经由  $\beta$ -1,4-D-糖苷键连接而成的葡萄糖分子上, 含有一条由一个 D-葡萄糖醛酸连接两个 D-甘露糖组成的侧链, 上面连接有乙酰基和丙酮酸盐。

由于黄原胶具有的独特结构, 从而使其具备增粘协效性、低浓高粘性、假塑性、抗高温(100℃)、耐酸性、良好的分散作用、乳化稳定性等优良性能, 所以被广泛应用于石油开采、化工、纺织、医药、食品、化妆品等 20 多种行业。国内外诸多专家学者对黄原胶的研究主要集中在菌种选育、培养基、发酵条件、基因工程、酶工程等诸多方面。但对黄原胶生物合成过程中, 细胞膜透性对产物合成的研究报道甚少。

*Xanthomonas campestris* 细胞膜是磷脂外侧紧贴细

菌细胞壁, 而内侧包围细胞质的一层柔软而富有弹性的半透性薄膜。它是划分细胞内外环境的界限膜, 使细菌细胞有稳定的内环境。在细菌细胞与环境进行物质交换、能量交换、信息传递过程中起决定性作用。

微量元素类, 尤其一些金属离子, 如  $Na^+$ 、 $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$  等离子对黄原胶的某些特性如分子量、稳定性及分层现象、生长速度等有重要影响。尤其值得重视的是, 它们是某些酶类的激活剂, 如  $Mg^{2+}$  是多种激酶和合成酶的激活剂, 而  $Na^+$ 、 $K^+$  等则是细胞膜上  $Na^+$ 、 $K^+$  泵的组成成分, 这些泵类可以协助某些细胞中的大分子物质的转运。添加的离子种类和浓度适当, 必然会影响黄原胶的生物合成。

本试验通过在 *Xanthomonas campestris* - 9902 的发酵培养基中加入  $Na^+$  离子和改变  $K^+$  离子, 来研究黄原胶的发酵产率、pH 值、分析显微镜照片和电子显微镜照片, 拟通过胞膜理论来阐述黄原胶发酵过程中的相关现象。

## 1 材料与amp;方法

收稿日期: 2002-08-17

作者简介: 欧杰(1964-), 男, 讲师, 从事食品微生物和生化工程研究。

## 1.1 材料

## 1.1.1 菌种

*Xanthomonas campestris* - 9902 由本研究室保藏菌种选育。

## 1.1.2 培养基

平皿和斜面培养基(%)：酵母浸出物 0.1、蔗糖 1.0、牛肉浸膏 0.3、蛋白胨 0.5、琼脂粉 2.0, pH7.0, 温度  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , 培养 72h。

种子培养基(%)：蔗糖 1.0、蛋白胨 0.5、酵母膏 0.1、牛肉浸膏 0.3, pH7.0, 温度  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ , 220min, 摇瓶培养 24h。

发酵培养基(%)：

对照试验组：蔗糖 3.5、牛肉浸膏 0.05、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.05、大豆 0.3、鱼粉 0.3, pH7.0, 接种量 10% (V/V), 温度  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ , 220min, 摇瓶培养 66h, 每隔 6h 取样, 保存至冰箱。

$\text{K}^+$  离子试验组：蔗糖 3.5、牛肉浸膏 0.05、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.2、大豆 0.3、鱼粉 0.3, pH7.0, 接种量 10% (V/V), 温度  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ , 220min, 摇瓶培养 66h, 每隔 6h 取样, 保存至冰箱。

$\text{Na}^+$  离子试验组：蔗糖 3.5、牛肉浸膏 0.05、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.05、大豆 0.3、鱼粉 0.3、 $\text{NaCl}$  0.02, pH7.0, 接种量 10% (V/V), 温度  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ , 220min, 摇瓶培养 66h, 每隔 6h 取样, 保存至冰箱。

## 1.1.3 主要生化试剂与原料

葡萄糖 曹杨第二中学化工厂；蛋白胨 上海化学试剂公司；酵母浸出物 上海化学试剂公司；牛肉浸膏 上海化学试剂公司；条形琼脂 青岛冻粉厂；可溶性淀粉 浙江湖州食品化工联合公司；乙醇 上海振兴化工一厂；3, 5-二硝基水杨酸 上海化学试剂公司, 其它试剂均为上海试剂一厂生产。

## 1.1.4 主要试验仪器设备

YXQ·LD31-400 型立式消毒锅 上海江南容器厂；OLYMPUS BH 型生物显微镜 日本 OLYMPUS 公司；精密 pH 试纸 5.5~9.0, 上海海峰化工厂；SW-CJ-1F 型净化工作台 苏净集团苏州安泰空气技术有限公司；pHS-25 型 pH 计 上海雷磁仪器厂；HYG-III 型往复式恒温调速摇瓶柜 上海医药工业研究所；NDJ-1 型旋转粘度计 上海天平仪器厂；JEM-100CX II 型电子透射显微镜 日本 JEOL 公司。

## 1.2 方法

## 1.2.1 发酵液 pH 值的测定

用精密 pH 试纸直接测定发酵液的 pH 值。

## 1.2.2 细胞显微镜照片的拍摄

在 OLYMPUS BH 型生物显微镜下配合 Smartscape (生物显微图象分析系统) 拍摄而成。

## 1.2.3 细胞电镜照片的拍摄

本试验使用的是透射电子显微镜。透射电子显微镜是使用不带有信息的电子射线, 在通过样品时和样品发生作用。而当电子射线在样品另一方重新出现时, 已带有有关样品的信息, 然后进行放大处理。本试验样品在用电镜观察之前用磷钨酸 (PTA) 进行负染。

## 2 结果与讨论

黄原胶分批发酵过程介绍。

## 2.1 显微镜照片分析

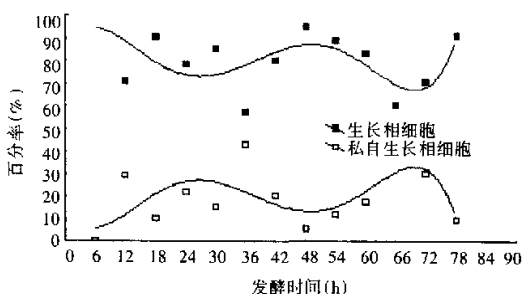


图1 对照试验组的生长相细胞和私自生长相细胞百分比图

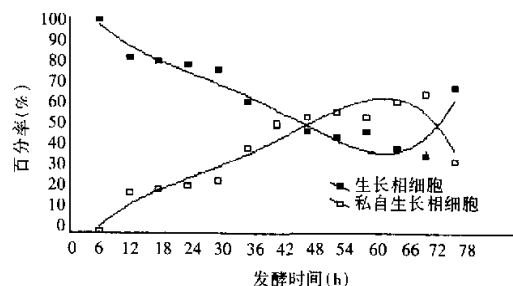


图2  $\text{K}^+$  离子试验组的生长相细胞和私自生长相细胞百分比图

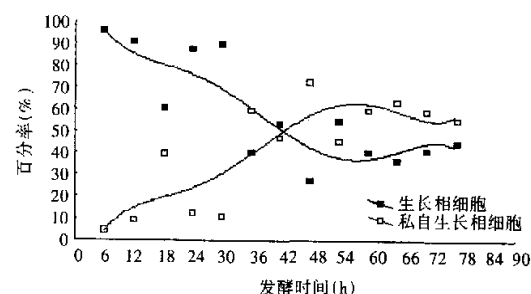


图3  $\text{Na}^+$  离子试验组的生长相细胞和私自生长相细胞百分比图

显微镜图片由 Smartscape(生物显微图象分析系统)拍摄,使用 Image Pro tluf@ (专业图像分析软件)分析。所得数据用 STATISTIC 软件二次回归。结果如图 1、2、3 所示。

对照试验组:在 24h 的照片中开始出现明显的私自生长相细胞,42、48h 时的私自生长相细胞明显减少。从 54、60、66、72h 时明显增多,至 78h 时明显减少。

K<sup>+</sup> 试验组:在 36h 处开始出现私自生长相细胞,42h 有所减少。48、54、60、66、72h 处都明显增多,而且持续时间很长。78h 时有所减少,生长相细胞数明显减少。

Na<sup>+</sup> 试验组:在 36h 处明显出现私自生长相细胞,42h 相对减少。48h 时有明显增加,54h 有不明显的减少。66、72、78h 时私自生长相细胞非常多,而且十分明显。

从图表分析中可以看出对照试验组和 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子试验组的私自生长相细胞有明显差异。对照试验组在 30h 时出现了一个明显的高峰,之后有减少,到 72h 有明显增多。而 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子试验组的私自生长相细胞情况则有所不同,两者都呈缓慢上升趋势。K<sup>+</sup> 离子试验组在 66h 时出现高峰,Na<sup>+</sup> 离子试验组在 60h 时出现高峰。这说明在对照中加入 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子后对 *Xanthomonas campestris* - 9902 生长过程中对营养需求有较为显著的影响。对照组中加入 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子后可以起到缓解细胞生长过程中营养不足的作用。虽然三组试验中私自生长相细胞的出现都有高峰,但是从图形分析可以明显看出对照组的生长相细胞和私自生长相细胞曲线比较平稳,而 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子试验组的生长相细胞和私自生长相细胞则起伏比较大,并且都有交叉。这说明了在对照试验组中加入 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子后,可以使生长相细胞对营养的吸收和对环境的适应都有很大的影响。从对照试验组的私自生长相细胞曲线可以看出,生长相细胞在 30h 时有一个高峰,然后下降,最后在 72h 时又升高,之后又降低。这种现象主要是在 30h 时生长相细胞产生分裂,新生细胞对营养物质的需求比较大,而且对环境不能适应而形成,至 70h 时随着黄原胶的大量产生和营养物质的消耗殆尽,私自生长相细胞又明显增多。加入 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子后可以明显改变这种现象。K<sup>+</sup> 离子试验组中私自生长相细胞的高峰出现在 66h 左右,Na<sup>+</sup> 离子试验组的私自生长相细胞高峰出现在 60h 左右。说明 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子的加入对细胞内营养物质的输送有明显作用,可以缓解细胞分裂

后新生细胞营养不良的状况。到达 60 至 70h 时由于胞外黄原胶形成产物反馈抑制,同时由于营养物质的不足,使得 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子试验组的私自生长相细胞也开始出现高峰。

所谓私自生长相细胞是指将近分化期的微生物。如图 4 所示。

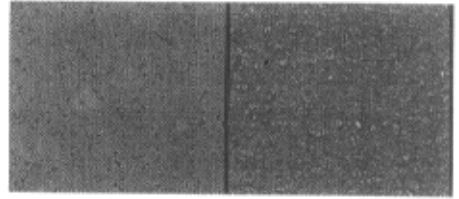


图 4 K<sup>+</sup> 离子试验组 12h 与 72h 的生长相细胞和私自生长相细胞对照图

从几个时间段可以更清楚的看到二组试验的区别。在 24h 时对照试验组已经开始出现了明显的私自生长相细胞现象,而此时 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子试验组还未出现此现象。原因如上述分析。但 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子试验组之间有明显区别。从图中可以看出 24h 时,Na<sup>+</sup> 离子组比 K<sup>+</sup> 离子组有一个小幅的下降过程。这说明,当发酵培养基中只存在 K<sup>+</sup> 离子和同时存在 K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup> 离子是有所不同的。这种不同在发酵后期也有所体现。图中可以看到 66h 后,K<sup>+</sup> 离子组的私自生长相细胞百分率有一明显的下降,而 Na<sup>+</sup> 组则一直保持在一个较高的平均水平至发酵终止。这说明 K<sup>+</sup> 离子组还有营养物质供新生的生长相细胞继续生长,而 Na<sup>+</sup> 离子组最后的培养基中的营养物质基本已消耗殆尽。看来 Na<sup>+</sup> 离子组中比 K<sup>+</sup> 离子组能更快消耗营养物质。K<sup>+</sup> 离子组图在 48h 出现交叉点,Na<sup>+</sup> 离子组图在 42h 出现交叉,对照组则在 42 至 48h 时是生长相细胞百分率最多,私自生长相细胞百分率最少的时段。交叉点是反应了生长相细胞和私自生长相细胞的百分量接近相等。由此看出在发酵培养基中加入 Na<sup>+</sup> 离子和改变 K<sup>+</sup> 浓度对 *Xanthomonas campestris* - 9902 的生长和生物合成黄原胶有显著影响。

黄原胶多糖具有重复的五糖单元,每两个重复五糖单位中,其一个单位侧链的两个甘露糖分别被接上乙基和丙酮酸基。研究报道黄原胶是在胞外合成的。本试验使用蔗糖作为主要能量和前体物质。蔗糖通过糖基转移酶转化成果糖和葡萄糖。我们认为,黄原胶生物合成基于一个两进四出的生物运输过程。即果糖,葡萄糖的进入和葡萄糖酸,甘露糖,乙酸,丙酮酸的转出。五种物质先在胞外形成五糖残基,然后合成黄原胶。在这

整个过程中,物质的进入和转出都是以细胞膜作为唯一屏障。所以,细胞膜的通透性对黄原胶的合成起到了极其关键的作用。

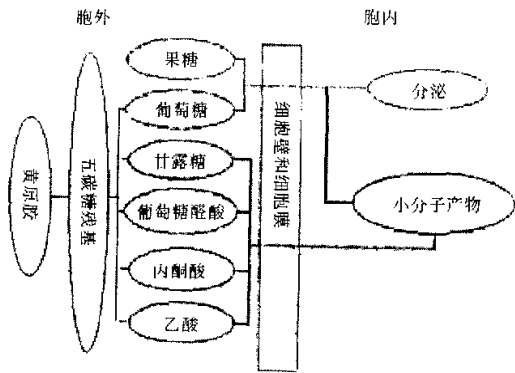


图5 *Xanthomonas campestris* - 9902 胞膜运输任务图

本文引用细胞膜的理论来讨论膜通透性对黄原胶生物合成的影响。细胞膜主要由磷脂、蛋白质、多糖组成。物质通过细胞膜主要有两种途径:磷脂双分子层和镶嵌在膜上的主要有蛋白质组成的膜通道。物质通过细胞膜的主要方式有以下几种:简单扩散,易化扩散,主动转运,出胞与入胞式物质转运。其中最主要的是主动转运方式。主动转运指细胞通过本身的某种耗能过程,将某种物质的分子或离子由膜的低浓度一侧移向高浓度一侧的过程。按照热力学定律,溶液中的分子由低浓度区域向高浓度区域移动,就像举起重物或推物体沿斜坡上移,或使电荷逆电场方向移动一样,必须由外部供给能量。黄原胶生物合成前期需要足够的氧气,以提供TCA循环产生大量的能量前体物质ATP,用于合成前体物质的膜的运输过程所需的能耗。在膜的主动转运中,这能量只能由膜或膜所属的细胞来供给。单纯扩散和易化扩散都属于被动转运,其特点是在这样的物质转运过程中,物质分子只能作顺浓度差,即由膜的高浓度一侧向低浓度一侧的净移动,而它所通过的膜并未对该过程提供能量。被动转运时物质移动所需的能量来自高浓度所含的势能,因而不需要另外供能。主动转运与此不同,由于膜以某种方式提供了能量,物质分子或离子可以逆浓度或逆电-化学势差而移动。体内某种物质分子或离子由膜的低浓度一侧向高浓度一侧移动,结果是高浓度一侧浓度进一步升高,而另一侧该物质愈来愈少,甚至可以全部被转运到另一侧。由于此过程在热力学上为耗能过程,不可能在无供能的情况下自动进行,因此如果在生物体内出现这

种情况,说明有主动的跨膜转运在进行,必定伴随了能源物质ATP的消耗,黄原胶生物合成过程是一个动态平衡的连续过程,对氧气的需求贯穿发酵全过程。

在对细胞膜的主动转运研究中,发现膜对于钠和钾离子的主动转运过程。所有活细胞的细胞内液和细胞外液中 $\text{Na}^+$ 和 $\text{K}^+$ 的浓度有很大的不同。各种细胞膜上普遍存在着一种钠-钾泵(sodium-potassium pump)结构,简称钠泵。其作用是在消耗代谢能的情况下逆浓度差将胞内 $\text{Na}^+$ 移出膜外,同时将胞外 $\text{K}^+$ 移入膜内,因而保持了胞内高 $\text{K}^+$ 和胞外高 $\text{Na}^+$ 的不均衡离子分布。

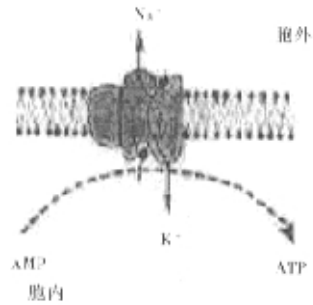


图6 钠-钾泵示意图

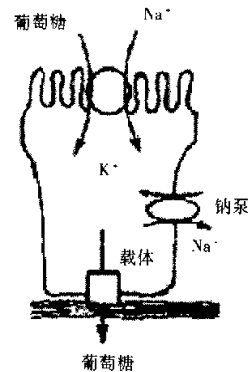


图7 钠与葡萄糖协同运输示意图

钠-钾泵是镶嵌在膜的脂质双分子层中的一种特殊蛋白质,它除了有对 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 的转运功能外,还具有ATP酶的活性,可以分解ATP使之释放能量,并能利用此能量进行 $\text{Na}^+$ 和 $\text{K}^+$ 的主动转运;因此,钠-钾泵就是 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 依赖式ATP酶的蛋白质。钠-钾泵蛋白质已用近代分子生物学方法克隆出来,它们是由 $\alpha$ -和 $\beta$ -亚单位组成的二聚体蛋白质,肽链多次穿越脂质双分子层,是一种结合蛋白质。 $\alpha$ -亚单位的分子量约为100kd,转运 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 和促使ATP分解的功能主要

由这一亚单位来完成;  $\beta$ -亚单位的分子量约为 50kd, 作用还不很清楚。钠-钾泵蛋白质转运  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  的具体机制尚不十分清楚, 但它的启动和活动强度与膜内出现较多的  $\text{Na}^+$  和膜外出现较多的  $\text{K}^+$  有关。钠-钾泵活动时, 它泵出  $\text{Na}^+$  和泵入  $\text{K}^+$  这两个过程是同时进行或“耦联”。由钠-钾泵造成的离子势能贮备, 可用于细胞的其他耗能过程。所以, 钠、钾离子对 *Xanthomonas campestris* - 9902 合成黄原胶有重要的意义。因为, *Xanthomonas campestris* - 9902 合成黄原胶过程中葡萄糖是非常重要的能量和前体物质。足够的 ATP 可以促进葡萄糖的运输和转化。

钠-钾泵使钠离子由胞内转出胞外, 钠离子的另一种转运方式——钠离子与葡萄糖协同运输机制则可以使钠离子由胞外转入胞内。葡萄糖和氨基酸在大部分细胞中, 都会逆着浓度梯度被运输到细胞内。要注意的是, 携带蛋白在外侧有两个结合位置: 一个与钠离子结合, 另一个则与葡萄糖结合。此携带蛋白的特性是在钠离子结合后, 一定要等到葡萄糖分子也与携带蛋白附着才会发生结构变化, 而使得钠离子往细胞内移动。一旦两者都与携带蛋白接触时, 结构变化便会自动发生, 而钠离子和葡萄糖则同时被运输到细胞内部, *Xanthomonas campestris* - 9902 细胞的胞膜运输就是钠离子与葡萄糖的协同运输 (sodium-glucose co-transport) 机制。钠离子与葡萄糖协同运输不但促进了葡萄糖的进入细胞, 为甘露糖、葡萄糖醛糖、乙酸、丙酮酸提供了足够的转化产物-葡萄糖, 而且也为钠-钾泵的形成提供了足够的钠离子, 为 ATP 的储存提供了基础, 而足够的 ATP 又可以促进葡萄糖的运输和转化, 所以, 适量的钠离子有助于 *Xanthomonas campestris* - 9902 合成黄原胶。

钠-钾泵和钠与葡萄糖协同运输机制是联系在一起的, 钠与葡萄糖协同运输机制制约着钠-钾泵的顺利运行。当钠与葡萄糖协同运输受到影响, 胞内没有足够的钠离子时, 钠-钾泵便不能运转。钠-钾泵实际是一种蛋白质, 它是  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  离子通过细胞膜的特殊途径。只有当  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  离子通过它进出细胞膜时, 才能达到储能的过程。以上分析说明了  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  离子的浓度增加会在离子通过膜是储存大量的 ATP。葡萄糖的进入细胞和分解转化都需要大量的 ATP。而且钠离子和葡萄糖的协同运输也促进了葡萄糖的转入胞内。 $\text{K}^+$  离子虽不参与细胞的组成, 但是微生物发酵培养基的必要成分,  $\text{K}^+$  离子能影响细胞的渗透压和细胞膜的透性, 并且还是许多酶的激活剂, 它同样能促进糖代谢的

进行, 离子浓度的变化会导致细胞对营养吸收的改变。本文研究表明,  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$  浓度的增加会促进细胞的主动运送, 给细胞生长提供更充分的营养, 而且也有助于葡萄糖运送, 在细胞内更多更快地转化为甘露糖、葡萄糖醛糖、丙酮酸和乙酸, 为后期的黄原胶合成提供了丰富的中间代谢和前体物质。

## 2.2 电镜照片分析

使用 JEM-100X II 型电子显微镜在 29000 倍的放大倍数下拍摄而成。

随着发酵时间的进行, 从电镜照片中可以观察到生长相细胞周围分泌黄原胶的量有一定的增加,  $\text{K}^+$  离子试验组较明显。

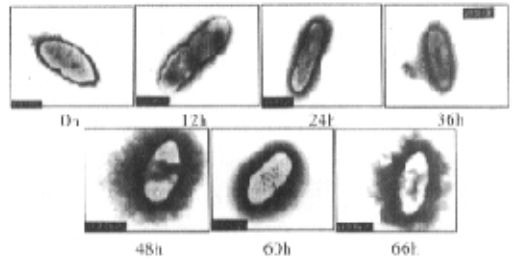


图 8 电镜照片(12、24、36、48、60、66h)

上述七张照片反应了不同时期内 *Xanthomonas campestris* - 9902 的发酵特性。0h 时的生长相细胞周围分泌的黄原胶较少; 12h 的照片是生长相细胞的分裂状态, 周围也有少量的黄原胶; 24、36h 的生长相细胞周围黄原胶明显增多; 至 48h 时, 生长相细胞分泌黄原胶达到了一个高峰; 在 60h 时生长相细胞的分泌黄原胶到达了一个稳定的水平; 至 66h 时生长相细胞开始自溶, 胞内的酶也有助于黄原胶的生物合成, 所以, 此时的黄原胶量又形成了一个高峰。在 0 至 12h 时细胞处于适应期, 至 48h 时已经基本适应环境, 黄原胶的产量的也明显提高, 经过 60h 时的稳定期后, 在 66h 时又有一个高峰。电镜研究结果表明: 黄原胶的生物合成是一个递增的反馈型代谢合成过程。

## 3 结论

3.1 在 *Xanthomonas campestris* - 9902 的发酵培养基中加入  $\text{Na}^+$  离子和改变  $\text{K}^+$  离子, 对 *Xanthomonas campestris* 胞膜离子通透性是有显著影响的,  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  离子可以有助于黄原胶生物合成的能量和前体物质—葡萄糖转入胞内, 也有助于黄原胶的生物合成的前体物质的转出胞外。对提高黄原胶生物合成产率产生显

著影响。

3.2 电镜照片的分析研究表明:黄原胶的生物合成是一个递增的反馈型代谢合成过程。

#### 参考文献:

- [1] 赵大健, 刁锐. 黄原胶及其在食品工业上的应用[J]. 食品与发酵工业, 1986, 69(3): 48-54.
- [2] Thomas R A. American Chemical Society Symposium, 1977, 45:231-241.
- [3] Mochi A C, Scamparini A R P. Xanthan gum production from Brazilian strains. Food Hydrocolloids [Proc Int Conf Ind Exhib], Meeting Date, 1992, 147-150.
- [4] Luis I, Roberto O C, Marcelo A D. Sequential assembly and polymerization of the polyprenol-linked pentasaccharide repeating unit of the Xanthan polysaccharide in *Xanthomonas campestris*[J]. J Bacterial, 1993, 175(9): 2490-2500.
- [5] US Patent 5987803. Merck 3 COIPC Kelco Div.
- [6] Lewis M J. Physical Properties of Foods and Food Processing Systems. New York: Ellis Horwood Ltd, 1987, 117.
- [7] 刁虎欣, 郑双诚. 黄原胶和半乳糖寡糖分子间的增粘协同性及其应用[J]. 食品与发酵工业, 1992, (1): 69-72.
- [8] 梁凤来. 黄原胶的性能及其在食品中的应用[J]. 食品科学, 1990, (9): 34-39.
- [9] Sandford P A. Adv Carbohydr. Chem Biochem, 1979, 36:265-313.
- [10] E I Sandvik, J M Maerker. "Extra-cellular Microbial Polysaccharides" P A. Sandford and A Laskin eds, 1977, 242-264.
- [11] Sandford P A, Baird J. The polysaccharides. Academic Press. Inc N Y, 1983, (2): 411-490.
- [12] 吉武科. 我国食品级黄原胶生产现状与发展前景[J]. 食品与发酵工业, 1990, (4): 76-78.
- [13] 北京大学生物系生物化学教研室. 生物化学试验指导[M]. 高等教育出版社, 1980. 20-22.
- [14] 刘秀芳, 王修. 野油菜黄单胞菌 L4 生产黄单胞菌多糖的适宜条件[J]. 微生物学报, 1993, 33(1): 40-47.
- [15] 姚仕义, 王金生. 野油菜黄单胞菌重组克隆 pXU9278 对黄原胶生物合成的影响[J]. 南京农业大学学报, 1998, 21(1): 36-40.
- [16] 储炬, 李友荣. 现代发酵调控学[M]. 化学工业出版社, 2002.

## 粘红酵母 GLR<sub>513</sub> 生产油脂最佳小型工艺发酵条件的探讨

施安辉<sup>1</sup>, 周波<sup>2</sup>

(1. 山东大学生命科学学院微生物学系, 济南 250100)

(2. 山东农业大学生命科学学院, 泰安 271018)

**摘要:** 以 GRL<sub>513</sub> 粘红酵母 (*Rhodorule glutinis*) 的突变株为出发菌株进行小试生产, 确定其发酵生产油脂的最佳小型工艺条件为: 葡萄糖为碳源, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 为氮源, 碳氮比为 70:1, 发酵初始 pH 5.5, 发酵过程回调 pH 值, 接种量为 20%, 温度为 30℃, 通过后期补加碳源方式培养 72h, 最终油脂产量可达菌体干重的 67.2%, 对该变异菌株产生的油脂进行气相色谱和质谱分析, 确定油脂中棕榈油酸含量为 33.31%, 油酸 3.80%,  $\gamma$ -亚油酸 0.20%, EPA 2.60%, DHA 3.60%, 总计 56.61%。

**关键词:** 粘红酵母; 发酵条件; 油脂组成与含量

**Abstract:** We obtained a *Rhodorule glutinis* mutant GLR<sub>513</sub> by protoplasts mutagenization (UV and EMS) to be put into small scale lipid production. The best minitype fermentation conditions as to use glucose as carbon source, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> as nitrogen source, C/N as 70:1, starting pH as 5.5, inoculative amount as 20% and temperature as 30℃. The yield of lipid production could reach 67.2% of dry thallus weight by replenishing carbon source in anaphase for 72h. We confirmed the component of lipid by gas-liquid chromatography and mass spectrum:

收稿日期: 2002-07-08

作者简介: 施安辉(1940-), 男, 教授, 从事微生物学研究。