

植物油和脂肪酸对灰树花深层发酵的作用*

雷德柱 高大维 于淑娟

(华南理工大学食品与生物工程学院 广州 510640)

摘要:研究了植物油、脂肪酸和不同氮源对深层培养的灰树花生物量及胞外多糖产量的影响。添加较低浓度的橄榄油有利于胞外多糖的生产,而较低浓度的豆油促进生物量的提高。本实验及文献报道的结果显示不同的脂肪酸对生物量和胞外多糖的作用效果大小顺序为棕榈酸(十六碳饱和酸) > 油酸(一烯酸) > 亚油酸(二烯酸) > 亚麻酸(三烯酸) > 硬脂酸(十八碳饱和酸)。豆饼粉和大豆粉作为氮源时对生物量和胞外多糖的作用是蛋白质和脂肪酸共同作用的结果。

关键词:灰树花, 深层发酵, 植物油, 脂肪酸

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2002) 01-0019-04

EFFECT OF VEGETABLE OIL AND FATTY ACID ON THE SUBMERGED FERMENTATION OF *GRIFOLA FRONDOSA*

LEI De-Zhu GAO Da-Wei YU Shu-Juan

(College of Food and Bioengineering, South China Univ. of Tech., Guangzhou 510640)

Abstract: Effect of Vegetable oil and Fatty acids on the submerged fermentation of *Grifola frondosa* was studied in the presented work. Stimulating effect of olive oil on exopolysaccharide production and soybean oil on biomass were

* 广东省九五科技攻关项目 (No. 1995-66-77)

收稿日期: 2000-11-30, 修回日期: 2001-4-30

observed respectively at low concentration. Different fatty acids stimulate the yield of biomass and exopolysaccharide in a order of palmitic > oleic > linoleic > linolenic > stearic acid. Protein and fatty acids contained in soybean cake and soybean powder probably work coordinately on the yield of biomass and exopolysaccharide.

Key words: *Grifola frondosa*, Submerged fermentation, Vegetable oil, Fatty acid.

微生物发酵生产中常常会产生许多泡沫,有时甚至会严重影响生产,因此消泡剂的使用就成为必然。但是消泡剂在消除泡沫的同时,对微生物的生长和目标产物的积累会有不同程度的影响。植物油用于微生物发酵中,可收到一举两得的效果:既消除泡沫,又对微生物生长和产物积累有促进作用。某些化学消泡剂,包括聚丙烯醇 2025 (polypropylene glycol 2025),可控制伴随支顶孢属真菌 *Acremonium persicinum* 产 β -葡聚糖而出现的泡沫,但是胞外多糖产量显著降低。将几种植物油及其脂肪酸组分试用代替常用化学消泡剂,结果它们出乎意料地提高了葡聚糖的产量^[1]。在另外一些文献报道中,游离脂肪酸可以作为某些真菌的唯一碳源和能量物质,既维持一定的生长量,又可促进 γ -亚麻酸等不饱和脂肪酸的积累^[2]。此外,黄豆粉、豆饼粉经常是微生物发酵的良好氮源。与其他氮源相比,除了其蛋白质方面的作用外,会不会与其所含的植物油或脂肪酸有关呢?考虑到植物油中也含有一定量的游离脂肪酸,而且是多种脂肪酸的混合物,本研究中将其应用于灰树花深层发酵生产中,并对植物油和游离脂肪酸对发酵的作用进行比较,以找出二者之间的相关性。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌种:灰树花 (*Grifola frondosa*, GIM5.64) 购自广东微生物研究所菌种室, PDA 斜面培养并传代,经过活化后接种到液体培养基中。

1.1.2 试剂:三十烷醇,硬脂酸,棕榈酸,油酸,亚麻酸,橄榄油,豆油,豆饼粉

1.1.3 培养基:种子培养基——为液体 PDA^[3],分装于 500mL 三角瓶中,装液量每瓶 100mL,自然 pH;含植物油和脂肪酸发酵培养基——配制葡萄糖 40g/L,蛋白胨 2g/L, KH_2PO_4 2g/L, MgSO_4 1g/L,三十烷醇 3mg/L, $\text{V}_{\text{B}1}$ 10mg/L, pH4.5 的母液,添加 10g/L 不同植物油或脂肪酸,编号如下:1#母液+硬脂酸;2#母液+棕榈酸;3#母液+油酸;4#母液+亚麻酸;5#母液+橄榄油;6#母液+豆油;7#母液(对照);不同氮源的培养基——分别以玉米浆、黄豆粉、豆饼粉、蛋白胨、酵母膏和麸皮替换母液中的蛋白胨作为氮源。

1.2 方 法

1.2.1 培养条件:将经过活化的菌种以解剖刀切成约 0.5m² 大小的菌块,每瓶接种 5 块,置于旋转式摇床上振荡培养,温度 25℃,转速 140r/min。待形成大量小菌丝球后,以 8% 的接种量接入发酵培养基,置于旋转式摇床上振荡培养,温度 23℃,转速 140r/min。

1.2.2 生物量测定方法:将发酵结束后的发酵液用低速大容量离心机 3500r/min 离心 20min,分离菌丝球和上清液,菌丝球经 200 目筛自来水冲洗、无水乙醇洗去植物油或脂肪酸后 60℃~80℃ 烘干至恒重,干燥器中冷却,电子天平上称重。

1.2.3 胞外多糖测定方法:发酵液上清液经浓缩、透析、离心后,加入等体积工业乙

醇, 置4℃冰箱中过夜, 所得沉淀用无水乙醇、丙酮洗涤, 冷冻干燥72h以上, 电子天平称重。

2 结果与讨论

2.1 豆油和橄榄油对生物量及胞外多糖产量的影响

Radwan 等发现几种土壤真菌能利用辛酸、十四烷酸、棕榈酸(十六烷酸)、硬脂酸(十八烷酸)和花生四烯酸以及它们的钠盐作为唯一的碳源和能量来源^[2]。植物油的添加对被孢霉 *Mertierella* sp. 菌体生长和 γ -亚麻酸的积累有利, 其中豆油和橄榄油的添加量以2%为宜。本文在灰树花发酵培养基中添加不同浓度的豆油和橄榄油, 培养6d后测量其生物量和胞外多糖产量, 结果如图1、图2所示。

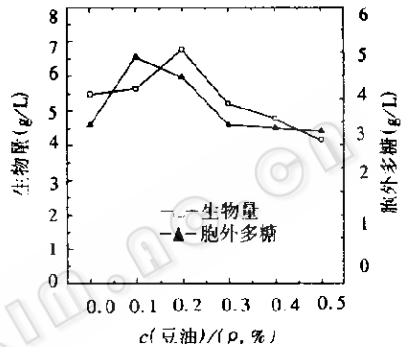
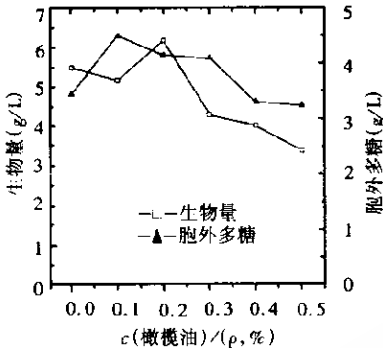


图1 橄榄油对生物量和胞外多糖产量的影响 图2 豆油对生物量和胞外多糖产量的影响

橄榄油和豆油都对生物量和胞外多糖有影响, 浓度为0.1%时胞外多糖产量最高, 而0.2%时生物量最大。在较低浓度下(0.2%以下)橄榄油对胞外多糖的产量提高略优于豆油, 而对生物量的增加略逊于豆油。在较高浓度下(超过0.3%)不利于生物量的增加和胞外多糖的生产。王菊芳在隐甲藻的培养基中添加植物油后, 发现在较低浓度下生物量和DHA产量都有所提高, 而且对生物量和产物的调节作用是不同步的, 刺激产物量增加所需的浓度更低。S.J.Stasinopoulos 等人在研究植物油对 *Acremonium persicinum* 培养的影响时发现低浓度的植物油(0.1%以下)对胞外多糖的产量可成倍提高, 而生物量却没有平行地提高, 甚至培养基中的还原糖的水平也不下降^[1]。这与我们的实验结果部分地吻合, 也许是由于他们所用的植物油成分与我们的不太一样, 也可能是所用真菌对这些植物油的利用能力不同。对于这些实验结果的解释还不能令人满意。

2.2 脂肪酸对生物量和胞外多糖产量的影响

为了研究影响生物量和胞外多糖产量的主要因素是否是脂肪酸, 我们在培养基中添加了几种单一的游离脂肪酸。它们对灰树花发酵的作用结果表明, 不同的脂肪酸的作用效果相差较大。其中棕榈酸(2#)和油酸(3#)具有明显的正效应, 生物量分别提高50%和78%; 而硬脂酸(1#)和亚麻酸(4#)具有一定的负效应, 生物量分别为对照的83%和36%, 胞外多糖产量分别为对照的40%和17%。

S. J. Stasinopoulos 的实验结果证明油酸和棕榈酸在较低浓度下可增加 *Acremonium persicinum* 生物量和胞外多糖产量, 硬脂酸有抑制作用。硬脂酸(C_{18})和棕榈酸(C_{16})

属于饱和脂肪酸, 亚麻酸(C_{18} 三烯酸)和油酸(C_{18} 一烯酸)属于不饱和脂肪酸, 亚油酸(C_{18} 二烯酸)仅在最低浓度下有促进作用^[1]。

在对生物量和胞外多糖有刺激作用的豆油和棕榈油中, 棕榈酸、油酸和亚油酸的相对含量较高^[4,5]。如果将棕榈酸、油酸、亚油酸和亚麻酸的作用效果进行简单排序, 发现棕榈酸(饱和脂肪酸) > 油酸(一烯酸) > 亚油酸(二烯酸) > 亚麻酸(三烯酸), 可以得出这样的结论, 即其不饱和度越低, 对发酵的效果越好。这很自然地使人联想到它们的作用机理与生物膜结构有关, 但对于这一结论推而广之还为时尚早。

2.3 豆粕粉和大豆粉作为氮源对生物量和胞外多糖的影响

豆粕粉和大豆粉是微生物发酵中经常使用的氮源, 由于这两种氮源中都含有脂肪酸, 本文研究了它们与其他氮源对生物量和胞外多糖的作用效果, 结果表明豆粕粉为氮源时生物量比对照高出近3倍, 胞外多糖产量提高近2倍; 而黄豆粉为氮源时生物量于对照相近, 胞外多糖产量高出近3倍。

S. J. Stasinopoulos 等人在研究植物油和脂肪酸对 *Acremonium persicinum* 的生物量和胞外多糖的影响时发现过高的氮源含量不利于生物量的增加, 在较低的浓度范围内脂肪酸的浓度与胞外多糖产量呈正相关^[1]。本文中豆饼粉与黄豆粉对生物量和胞外多糖的影响是脂肪酸和蛋白质两个因素共同作用的结果。豆粕粉中的脂肪酸和蛋白质含量均低于黄豆粉^[5], 而所用培养基中黄豆粉的脂肪酸含量在 S. J. Stasinopoulos 所说的浓度范围之内, 蛋白质含量却超过生物量增长的最适浓度。由此可知用黄豆粉作为氮源时, 其最适添加量应该低于豆饼粉。

参 考 文 献

- [1] Stasinopoulos S J, Seviour R J. *Biotech. And Bioengi*, 1990, 36: 778~782.
- [2] Radwan S S, Soliman A H. *Journal of Microbiology*, 1988, 134: 387~393.
- [3] 黄年来. 中国食用菌百科. 北京: 中国农业出版社, 1993, 181.
- [4] 汤 逢. 油脂化学. 南昌: 江西科学技术出版社, 1985, 186~188.
- [5] 王尔惠. 大豆蛋白质生产新技术. 北京: 中国轻工业出版社, 1999, 15~16.