

# 微生物的正烷烃代谢

## II. 长链酯在酵母菌正烷烃发酵中的消长

刘祖同 李冠英 陶增鑫 庞月川 方心芳

(中国科学院微生物研究所, 北京)

我们在研究酵母菌的正烷烃代谢时, 发现在发酵液中有酯类存在, 并且多为长链醇和长链酸组成的酯<sup>[1]</sup>。本文报道几株产酯酵母菌的实验结果。

### 材料和方法

1. 菌株: 本实验室保存的①解脂假丝酵母 (*Candida lipolytica*) AS2.1207 ②热带假丝酵母 (*Candida tropicalis*) 406 ③季也蒙假丝酵母 (*Candida guilliermondii*) 522 ④皱褶假丝酵母 (*Candida rugosa*) C<sub>90</sub> ⑤中型假丝酵母 (*Candida intermedia*) AS2.625 ⑥皮状丝孢酵母 (*Trycho-*

*sporon cutaneum*) G<sub>40</sub>。

2. 碳源: C<sub>14-18</sub>为主的混合正烷烃 (C<sub>12-19</sub>), 锦西石油化工五厂出品。

3. 发酵培养基 (%): NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 2, KCl 0.02, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.05, 酵母膏 0.05, 玉米浆 0.03, 冷开水定容。自然 pH 4.6—4.8。每 20 毫升分装于 250 毫升三角瓶中, 8 磅 30 分钟灭菌, 接种前加入灭过菌的 2% 的正烷烃和 1% 的尿素。

4. 培养: 每瓶接入麦芽汁斜面菌种一支, 置 28℃ 旋转式摇床培养, 不同时间取样测定产酯量。

5. 测定方法：每隔一定时间取发酵液一瓶，全部倒入 G<sub>5</sub> 砂芯漏斗抽滤。滤液倾入瓷蒸发皿中，置开水浴上蒸干。滤渣用 95% 的沸乙醇浸洗 3—4 次。洗液同样倾入瓷蒸发皿置开水浴上蒸干，蒸干的滤液及洗液分别用 1 毫升无水乙醇洗二次，再用乙醚洗二次提取酯。然后以乙醚定容滤液至 5 毫升，洗液至 10 毫升。按 Hill<sup>[2]</sup> 定酯法用 72 型分光光度计进行测定。洗过的酵母细胞置 105℃ 干燥二小时称重。

## 实验结果

### 一、解脂假丝酵母 AS2.1207

将在麦芽汁斜面上长好的菌接入发酵培养基中培养，分别于 0、12、24、36、48、60 小时取样测定产酯量及菌体生长情况。观察到 2.1207 菌发酵 12 小时已产生少量酯，至 37 小时达到高峰，然后逐渐下降，菌体生长高峰亦在 37 小时，说明该菌生长旺盛时发酵液中产酯量亦高。见图 1。

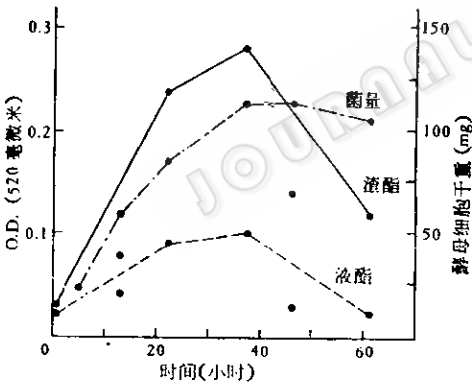


图 1 AS2.1207 菌生长时间与产酯量的关系\*

### 二、热带假丝酵母 406 及皱褶假丝酵母 C<sub>90</sub>

将培养好的热带假丝酵母 406 及皱褶假丝酵母 C<sub>90</sub> 的麦芽汁斜面菌种一支，分别接入上述发酵培养基中培养，于 1、3、5、7、9 天取样测定产酯量，观察到 406 菌在发酵第一天产酯很少，至第三天滤渣中的酯达到高峰，然后逐渐下降，菌体生长高峰也出现在第三天，而滤液中的酯高峰则出现在第七天（见图 2）。皱褶假丝酵母 C<sub>90</sub> 菌的滤渣和滤液中的产酯高峰都在第五天，

并且滤渣中的酯比其他菌高的多，（见图 2）。

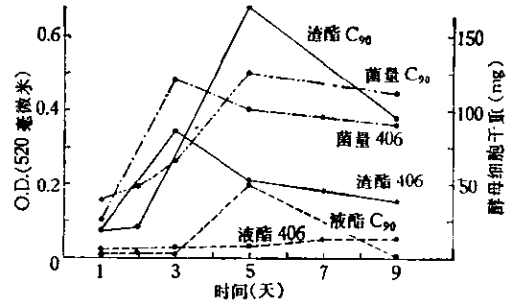


图 2 C<sub>90</sub> 和 406 菌生长时间与产酯量的关系(图示同图 1)

### 三、季也蒙假丝酵母 522 及中型假丝酵母 2.625

按 406 及 C<sub>90</sub> 号菌相同的方法发酵和测定季也蒙假丝酵母 522 及中型假丝酵母 AS2.625 号菌的产酯过程，结果表明 522 号菌生长第二天达到高峰，但滤渣和滤液的产酯高峰则分别出现在第三天和第五天。AS2.625 号菌是六株菌中菌体生长最多的一株，第三天达到高峰，而产酯高峰都在生长高峰之后（见图 3）。

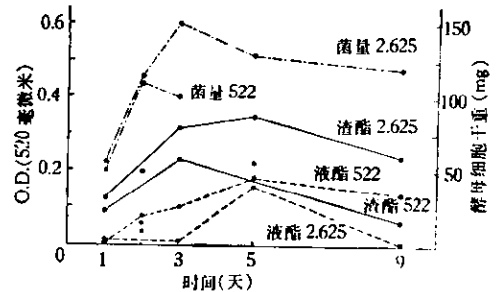


图 3 522 及 2.625 菌的生长时间和产酯量的关系 (图示同图 1)

### 四、皮状丝孢酵母 G<sub>4</sub>

将 G<sub>4</sub> 斜面菌种一支接入上述培养基中培养，于第 1、2、3、5、9 天取样测酯，G<sub>4</sub> 号菌滤渣酯高峰在第三天，滤液酯的高峰在第五天，该菌利用烷烃生长的能力比假丝酵母属的菌差，菌体量和产酯量都较低（见图 4）。

\* 液酯以 20 毫升发酵液的 O. D. 表示；渣酯以 4 毫升发酵液的 O. D. 表示；菌量为 20 毫升发酵液中细胞干重的毫克数。

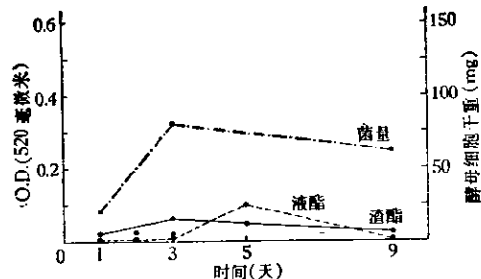


图4  $G_4$ 号菌的生长时间和产酯量的关系(图示同图1)

## 讨 论

比较供试酵母菌株 AS2.1207、406、 $G_4$ 、 $C_{90}$ 、AS2.625、522 号滤渣及滤液的产酯量及菌体量高峰,就产酯量而言,其高低的菌号顺序为  $C_{90} > AS2.625 > 406 > AS2.1207 > 522 > G_4$  号菌,菌体量多少的顺序为  $AS2.625 > C_{90} > AS2.1207 > 406 > 522 > G_4$  号菌。假丝酵母属的几种酵母产酯量都高于皮状丝孢酵母。

酵母菌代谢烷烃,酯的形成或在细胞增殖时期(如 AS2.1207、406、 $C_{90}$  号菌)它们最高点是一致的,或在细胞衰退后而产酯量仍继续增长,经一个短时期后酯量达最高点(如 522、AS2.625、 $G_4$  号菌)。以后产酯量多是快速下降,而不溶于水且与酵母菌体混在一起的渣酯比溶于水的液酯下降速度快。但有的液酯量增多。酯亦是烷烃代谢中的一种中间产物,较长链的渣酯碳链不断减短,成为水溶性的碳链较短的液酯被分解,各菌产的渣酯量与液酯量的比例也不相同。一般说菌体重量大形成的酯也多,但  $C_{90}$  号酵母产酯量最多而菌体量却比 2.625 号菌少,以上这些现象对于进一步选育和积累产长链酯的菌株提供了依据。

## 参 考 文 献

- [1] 中国科学院微生物研究所烃代谢组: 微生物学报 21 (1): 88—94, 1981。
- [2] Hill: *Anal. Chem.*, 18: 317, 1946。