

微生物生产多不饱和脂肪酸的研究进展

李淑梅¹, 白献晓², 闫明田³, 陈建伟⁴

(1. 周口师范学院 生命科学系, 河南 周口 466000; 2. 河南省农业科学院 畜牧兽医研究所, 河南 郑州 450002;
3. 信阳市明港镇农村经济发展中心, 河南 信阳 464194; 4. 荥阳市豫龙镇人民政府, 河南 荥阳 461559)

中图分类号: S831.5 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2008)07-0017-03

随着人们生活水平的提高, 膳食结构对人类健康的重要性越来越受到重视。脂类在人类膳食中占有重要地位, 而脂肪酸是脂肪的重要组成部分。多不饱和脂肪酸(PUFA)营养保健功能及富含多不饱和脂肪酸产品的生产、开发和利用, 则是近年来国内外研究的热点问题。PUFA 之所以受到广泛关注, 其原因是 $n-6$ 系列的亚油酸和 $n-3$ 系列的 α -亚麻酸是人体不可缺少的必需脂肪酸, 并且由亚油酸和 α -亚麻酸在体内代谢转化或由特定食物资源中摄入的几种 PUFA, 对人体具有重要的生理功能, 能够调节人体的脂质代谢、治疗和预防心脑血管疾病、抗癌、对抗肥胖, 促进生长发育^[1]。

PUFA 的商业来源十分有限, 目前还不能用化学合成的方法制造 PUFA, 只能从某些特殊的动、植物体中进行分离提取。因此, PUFA 新资源的开发非常重要。近年来, 国内外已有研究表明, 一些微生物具有合成 PUFA 的能力^[2-4]。因此, 微生物有望成为 PUFA 广泛的来源。

1 产 PUFA 微生物的种类

产 PUFA 的微生物多种多样, 主要包括细菌、酵母、霉菌和藻类。

1.1 细菌

主要包括嗜酸乳杆菌 CRL640、混浊红球菌 PD630、弧菌 CCUG35308 等。混浊红球菌 PD630 在葡萄糖或橄榄油中生长时, 甘油酯中的脂肪酸含量占细胞干重的 76%~87%。弧菌 CCUG35308 脂肪酸主要为偶碳链脂肪酸($16:0$, $16:1$, $18:1$ 和 $20:5$), 可用于 EPA [$20:5(n-3)$] 的生产研究中。

1.2 酵母

酵母主要包括弯假丝酵母、浅白色隐球酵母、胶

黏红酵母、斯达氏油脂酵母、产油油脂酵母等。一般油酸是酵母中最丰富的脂肪酸, 其次是亚油酸。红酵母和假丝酵母可用于开发生产可可脂及其代用品。

1.3 霉菌

霉菌主要有深黄被孢霉、高山被孢霉、卷枝毛霉、米曲霉、土曲霉、雅致枝霉、三孢布拉氏霉等。特别是被孢霉属, 主要用于生产 γ -亚麻酸(GLA)和花生四烯酸(AA); 破壁壶菌油 DHA [$22:5(n-3)$] 含量较高; 腐霉菌油 AA, EPA 含量较高。

1.4 微藻

微藻包括盐生杜氏藻、粉核小球藻、等鞭金藻、三角褐指藻、新月菱形藻等。微藻主要用于生产 EPA, DHA。

对于多不饱和脂肪酸的微生物生产, 由于细菌产量低, 目前主要集中在真菌和藻类的研究上。

2 微生物 PUFA 的合成途径

在高等微生物如真菌和藻类中, PUFA 的生物合成是以饱和脂肪酸硬脂酸为底物, 经碳链的延长和脱饱和 2 个反应而来。其分别由相应的膜结合延长酶和脱饱和酶催化。其中碳链延长由延长酶催化, 把供体(乙酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A)上的 2 个碳原子引入碳链, 增加其长度。脱饱和酶由微粒体膜结合的细胞色素 b_5 、NADH-细胞色素 b_5 还原酶和脂肪酸脱氢酶组成, 催化脂肪酸链的特定位置而形成双键。一般认为, 脂肪酸链的延长和脱饱和作用是交替进行的。在合成途径中, 第 1 个双键总是导入饱和脂肪酸的 Δ^9 位置。因此, 棕榈油酸($16:1$ 顺 9)和油酸($18:1$ 顺 9)是微生物中最常见的单烯。油酸通常由 Δ^{12} 脱饱和酶脱饱和产生亚油酸。这 3 种脂肪酸是 $n-9$, $n-6$ 和 $n-3$ 脂肪酸系列的基本母体。 $n-3$ 族从合适的脂肪酸母体被 Δ^6

收稿日期: 2008-02-23

作者简介: 李淑梅(1964-), 女, 河南项城人, 副教授, 主要从事动物学课程与教学论研究。

脱饱和酶脱饱和,再发生相继的链延长和脱饱和,产生相应的 C_{20} 和 C_{22} PUFA。 $n-9$ 族 PUFA 从油酸开始合成,由 Δ^6 脱饱和酶、延长酶、 Δ^5 脱饱和酶作用产生 MA。 $n-6$ 型脂肪酸通常由亚油酸通过脱饱和(Δ^6 , Δ^5 , Δ^4)和延长而形成,从亚油酸到 GLA, AA, adrenic acid (22 : 4 顺 7, 10, 13, 16) DPA (22 : 5 $n-6$)。

与其他生物一样,细菌也需要多种酶参与脂肪酸的合成,通常称为脂肪酸合成酶。大多数细菌脂肪酸合成采用 II 型脂肪酸合成酶系,其中心为酰基载体蛋白(ACP)。在脂肪酸合成过程中,反应中间体与 ACP 结合,合成涉及多个脂肪酸的脱氢和碳链延长,某些细菌还有类似动物合成脂肪酸的 I 型脂肪酸合成酶系。但是,海洋细菌 PUFA 的合成机制不同于其他生物,合成过程中不涉及重要的脂肪酸脱氢和延长机制,其合成由一种聚酮合酶(PKS)催化。目前认为,在低温海洋生态系统中,细菌 PUFA 的合成部分是 PKS 酶作用的产物^[9]。

3 微生物生产 PUFA 的研究现状

近 10 多年来,具有保健或医疗功能的特种油脂日益受到人们的青睐。有关微生物油脂的研究,主要集中在利用微生物生产经济价值高的特殊营养油脂,尤其是对人类具有营养保健功能的多不饱和脂肪酸的生产上。

3.1 γ -亚麻酸

γ -亚麻酸是人体必需脂肪酸之一,具有明显的降血脂和降低血清胆固醇的作用,目前被广泛应用于医药、保健食品、高级化妆品中。据董欣荣报道,1948 年, Bernhard 和 Albercht 首先从布拉克须霉的菌丝体脂肪中鉴定出真菌 GLA,含量高达 16%。1985 年, Suzuki 等利用深黄被孢霉、葡萄酒色被孢霉、拉曼被孢霉和矮被孢霉以浓度为 60 ~ 400 g/L 的葡萄糖为碳源发酵培养,菌体油脂含量达 35% ~ 70%, GLA 占 3% ~ 11%^[6]。英国科学家使用瓜哇镰刀菌,以小麦淀粉生产的葡萄糖作为培养基进行发酵, GLA 含量高达 16%^[7]。

陈波等^[8]以深黄被孢霉为出发菌株,经紫外线诱变处理,采用抗性筛选法,直接在梯度平板上挑取抗脂肪酸脱氢酶抑制物抑芽丹的菌株进行初筛,然后经摇瓶发酵法测定相关性能指标进行复筛,获得 1 株生产性能比出发菌株显著提高的突变株 M80;其菌体收率达 25.10 g/L、油脂产率达 12.35 g/L, GLA 产率达 771.88 mg/L。吕颀音等^[9]通过紫外

线诱变和甘草酸筛选,获得高产菌株被孢霉 A02,其摇瓶培养生物量达 12 g/L, GLA 产量为 0.96 g/L。

张玲等^[10]以雅致枝霉 As3.3456 为出发菌株,经 2 次 5-氟尿嘧啶、紫外线、氯化锂复合诱变处理,得突变株 TE7-15。经培养,生物量为 19.04 g/L,粗脂含量为 3.94 g/L,产脂率为 20.67%, GLA 产率达 1 079.95 mg/L,能满足工业化生产的要求。

目前 γ -亚麻酸的发酵生产已实现了工业化生产,以被孢霉系列居多。对被孢霉来说,葡萄糖、蔗糖为最适碳源,天冬酰胺、尿素为最适氮源。后期适当降低温度和良好的通气条件有利于 GLA 的积累。

3.2 花生四烯酸

花生四烯酸一般存在于陆地动植物油脂和一些植物油中,但含量极低,是合成前列腺素的前体。其代谢产物 PG, TX, LT 具有调节脉管阻塞、血栓、伤口愈合、炎症及过敏等生理功能。

王啸等^[11]通过对深黄被孢霉 AS3.2793 和 MU10310 进行紫外线和氯化锂复合诱变,以及硫酸二乙酯和氯化锂复合诱变,涂布在诱变培养基上,对分离出的突变株进行摇瓶发酵初筛,从中得到 1 株产花生四烯酸的菌株。该菌株在摇瓶产脂培养基中发酵 8d;生物量达 16.57 g/L,油脂含量达 49.10%,油脂得率达 8.14 g/L,油脂中花生四烯酸的含量为 0.9%。

3.3 EPA 和 DHA

天然 EPA 和 DHA 主要富集在深海鱼油中,具有预防和治疗动脉粥样硬化、血栓及高血压;预防乳腺癌、前列腺癌和结肠癌;治疗气喘、关节炎、周期性偏头痛等;促进婴儿神经系统和视觉系统的发育等重要的生理功能。

传统上 EPA 和 DHA 的主要来源是鱼油,但由于其产量不稳定、得率低、易氧化、鱼腥味重等原因,使得生产和使用受到限制。近年许多研究表明,一些微生物具有合成 EPA 和 DHA 的能力,特别是某些真菌和藻类中含量丰富,有望成为新的 EPA 和 DHA 的资源。

杜冰等^[12]通过对破囊壶菌 ATCC34304 等 4 株菌发酵液分析发现, ATCC34304 易培养,且 DHA 含量高。对 ATCC34304 的发酵培养基组分和发酵条件深入研究后得出,在以淀粉为碳源的培养基中, 28℃, 170 r/min 摇床光照培养 6d, DHA 含量达 320.1 mg/L。刘吉华^[13]等以玉米和葡萄糖作为碳

源, 尿素、酵母、牛肉浸膏作为氮源发酵培养轮枝霉 (*Diasporangium*), 6 d 后菌丝中的 EPA 含量达到 253.7 mg/L。

张秋会等^[14]对 8 种海洋微藻进行培养, 提取脂肪所用的微藻为 1 号三角褐指藻、2 号中肋骨条藻、3 号新月菱形藻、4 号等鞭金藻、5 号绿色巴夫藻、6 号小球藻、7 号微拟球藻、8 号紫球藻。经皂化、酯化处理后用气相色谱测定 EPA、DHA 含量。结果表明, EPA 高产藻株为新月菱形藻, 产量为 16 mg/L, 占粗脂肪重的 26%, 占细胞干重的 3.3%; 等鞭金藻为 DHA 高产株, DHA 产量为 3.2 mg/L, 占粗脂肪重的 9.1%, 占细胞干重的 5.2%。

4 小结

利用微生物生产多不饱和脂肪酸, 具有微生物生长繁殖快、生产周期短、易于培养、能够大规模工业化生产的优势。这些优点为微生物多不饱和脂肪酸的生产提供了广阔的前景。同时, 若多不饱和脂肪酸具有多种生理功能, 其产品就有极高的经济价值, 有关产多不饱和脂肪酸的研究必将越来越受到人们的关注。

参考文献:

[1] 刘世杰, 宋代军. 多不饱和脂肪酸的营养研究进展[J]. 饲料博览, 2004(2): 11—13.
[2] Eroshin V K, Satroutdinov A O, Dedyukhina E G, *et al.* Arachidonic acid production by *mortierella alpina* with growth-coupled lipid synthesis process [J]. Biochemistry, 2000, 35: 1171—1175.

[3] Sijsma L, De Swaaf M E. Biotechnological production and applications of the ω -3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2004, 64: 146—153.
[4] 张秋会, 马莺. 工业化生产 EPA 和 DHA 藻株的选育[J]. 中国油脂, 2004, 29(6): 30—32.
[5] Prasert Wongwathanarat, Louise V Michaelson, Andrew T Carter, *et al.* Two fatty acid Δ^9 -desaturase genes *ole1* and *ole2* from *Mortierella alpina* complement the yeast *ole1* mutation[J]. Microbiology, 1999, 145: 2939—2946.
[6] 董欣荣, 曹健. 微生物功能性油脂的研究[J]. 郑州粮食学院学报, 1999, 20(4): 10—16.
[7] 钟辉, 张峻. 微生物发酵法生产 γ -亚麻酸的研究进展[J]. 微生物学通报, 1994, 21(4): 237—239.
[8] 陈波, 张玲, 贺新生, 等. 用抗性筛选法选育 γ -亚麻酸 (GLA) 高产菌株[J]. 微生物学通报, 2003, 30(1): 53—56.
[9] 吕飒音, 潘蹯. 被孢霉高产 γ -亚麻酸菌株的选育[J]. 中国生化药物杂志, 2000, 21(2): 79—80.
[10] 张玲, 李植峰, 赖炳森, 等. 雅致枝霉高产 γ -亚麻酸突变株的选育[J]. 生物技术, 2000, 10(6): 22—24.
[11] 王啸, 邱树毅, 叶丹, 等. 花生四烯酸产生菌的选育[J]. 贵州工业大学学报, 2005, 34(1): 56—59.
[12] 杜冰, 刘长海, 姚汝华. 微生物发酵法生产 DHA 的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(3): 128—130.
[13] 刘吉华, 袁生, 戴传超. 轮枝霉生产 EPA 的初步研究[J]. 食品与发酵工业, 2000, 26(4): 9—12.
[14] 张秋会, 马莺. 工业化生产 EPA 和 DHA 藻株的选育[J]. 中国油脂, 2004, 29(6): 30—32.

《麦类文摘》更名《种业导刊》致读者

经国家新闻出版总署(新出报刊〔2007〕1439号)批准, 创刊于 1981 年的《麦类文摘》自 2008 年起更名为《种业导刊》, 标准刊号: CN41—1392/S ISSN 1003—4749。

该刊由河南省农业科学院农业经济与信息研究中心与河南省种子协会主办, 整合河南农业大省的种业及其相关资源优势, 面向全国, 宣传农业、宣传种业、宣传企业、宣传品种。主要栏目有政策法规、专家论坛、市场预测、作物栽培、植物保护、品种选育、良种良法等。《种业导刊》全年 12 期, 每月 10 日出版, 大 16 开。每册定价: 5.0 元, 全年 60.0 元。邮发代号: 36—119。欢迎赐稿, 欢迎订阅。

地 址: 郑州市农业路 1 号 河南省农科院《种业导刊》编辑部
邮 编: 450002
电 话: 0371—65727121 65719198
E-mail: zydaokan@126.com