



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101497902 B

(45) 授权公告日 2011.11.09

(21) 申请号 200810010348.3

(22) 申请日 2008.02.03

(73) 专利权人 中国科学院大连化学物理研究所
地址 116023 辽宁省大连市中山路 457 号

(72) 发明人 赵宗保 吴思国

(74) 专利代理机构 沈阳科苑专利商标代理有限公司 21002

代理人 马驰 周秀梅

(51) Int. Cl.

C12P 7/64 (2006.01)

C12R 1/645 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 1304986 A, 2001.07.25,

李建等. 微生物油脂研究进展及展望. 《现代化工》. 2007, 第 27 卷

BALRAJ SINGH and ASIS DATTA. Regulation of n-acetylglucosamine uptake in yeast. 《Biochimica et biophysica acta》. 1979, 第 557 卷 (第 1 期),

赵宗保. 加快微生物油脂研究为生物柴油产业提供廉价原料. 《中国生物工程杂志》. 2005, 第 25 卷 (第 2 期),

邢荣娥. 甲壳多糖及单糖的制备工艺研究. 《海洋科学集刊》. 2003, (第 45 期),

DWIERRA EVVYERNIE et al.. Identification and characterization of *Clostridium paraputrificum* M-21, a chitinolytic, mesophilic and hydrogen-producing bacterium. 《Journal of bioscience and bioengineering》. 2000, 第 89 卷 (第 6 期),

审查员 张丽玮

权利要求书 1 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

一种微生物油脂的制备方法

(57) 摘要

本发明涉及一种微生物油脂的制备方法, 首先将 N-乙酰葡萄糖胺和 / 或葡萄糖胺制成总浓度为 20 ~ 200g/L 的水溶液, 添加 0 ~ 3g/L 其它营养成分, 灭菌后接入产油微生物种子液, 接种量 v/v 为 2% ~ 20%, 于 20 ~ 37°C 通气培养 36 ~ 240 小时, 停止发酵, 离心收集菌体, 破碎菌体, 经有机溶剂提取获得微生物油脂。每 100g N-乙酰葡萄糖胺和 / 或葡萄糖胺可获得含油率为 15 ~ 66% 的产油酵母干菌体 12.0g ~ 45.0g。本方法使用的原料具有来源丰富、价格低廉的特点, 并且发酵获取油脂工艺简便、方法易行, 是一种利用可再生资源、几乎不额外占用耕地、可连续生产的微生物油脂制备新途径。

1. 一种微生物油脂的制备方法,其特征在于:其以N-乙酰葡萄糖胺和/或葡萄糖胺为原料进行微生物发酵培养,获得微生物油脂;

所用产油微生物为圆红冬孢酵母 *Rhodospiridium toruloides*、弯曲隐球酵母 *Cryptococcus curvatus*、解脂亚罗酵母 *Yarrowia lipolytica*、乳糖红酵母 *Rhodotorulalactosa*、小红酵母 *Rhodotorula minuta*、橘林油脂酵母 *Lipomyces kononenkoae*、皮状丝孢酵母 *Trichosporon cutaneum*、发酵性丝孢酵母 *Trichosporon fermentans*、健强地霉 *Geotrichum robustum*和/或深黄被孢霉 *Mortierella isabellina*;

是将N-乙酰葡萄糖胺和/或葡萄糖胺制成总浓度为20~200g/L的水溶液,灭菌处理,接入产油微生物种子液,通空气培养后分离菌体,提取获得微生物油脂;

具体过程如下,

(1) 所述N-乙酰葡萄糖胺和/或葡萄糖胺水溶液pH 5.5~7.5,其中还可含有0~3.0g/L常规微生物生长所需营养成分;

(2) 所述产油微生物的培养条件为:接种量v/v为2~20%,温度20°C~37°C,培养时间为36小时~240小时;

(3) 所述产油微生物培养终止后经固液分离收集菌体,菌体破碎,按常规方法提取,得到微生物油脂。

2. 按照权利要求1所述微生物油脂的制备方法,其特征在于:所述常规微生物生长所需营养成分为酵母粉、蛋白胨、麦芽汁、磷酸钾、硫酸镁、硫酸锌、硫酸锰、氯化钙和/或硫酸亚铁。

3. 按照权利要求1所述微生物油脂的制备方法,其特征还在于:所述N-乙酰葡萄糖胺和/或葡萄糖胺水溶液是蟹壳、虾壳和/或鱼鳞的酸水解液或者酶水解液。

一种微生物油脂的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物转化法制备油脂,具体地说是一种利用微生物转化 N-乙酰葡糖胺和 / 或葡糖胺制备油脂的方法。

背景技术

[0002] 长链脂肪酸甘油酯(油脂)是重要的食品品和化工原料。作为化工原料,油脂可用于生产可生物降解的润滑油、溶剂油、油漆和油墨溶剂、表面活性剂、粘接剂等产品。近年来,油脂还广泛应用于生产可再生能源产品生物柴油。因此,油脂资源的需求量显著增加。通常油脂来源于油料植物的种子和果实以及动物脂肪组织,其中油料植物是提取油脂的主要原料。种植油料植物和油料作物需要占用耕地,生产受到季节和自然条件的制约,不利于油脂原料稳定和连续供应。

[0003] 许多微生物,如酵母、霉菌和藻类等在一定条件下,可以碳水化合物、碳氢化合物等为碳源,在体内合成并贮存大量脂肪酸甘油酯,这种油脂称为微生物油脂。微生物发酵底物范围较广,包括可直接利用的葡萄糖、果糖、蔗糖、糖蜜、乳清以及淀粉和纤维素水解产物等(Ratledge C, Wynn J. The Biochemistry and Molecular Biology of Lipid Accumulation in Oleaginous Microorganisms. Adv Appl Microbiol, 2002, 51:1-51)。据报道,部分微生物能在菌体内积累含量超过细胞干重 60% 以上的油脂。部分微生物油脂和一般植物油具有相似的脂肪酸组成,仍以 C₁₆ 和 C₁₈ 系脂肪酸为主。微生物油脂发酵不但可提供新的油脂生产方法,而且可合理利用废弃生物质,降低油脂生产成本,保护环境。因此,微生物油脂是潜在的动植物油脂替代资源,具有广阔的应用空间。

[0004] 壳多糖(Chitin)又名甲壳质,几丁质,广泛存在于虾、蟹等甲壳类动物外骨骼中,是自然界中含量仅次于纤维素的一种多糖,也是地球上数量最大的含氮有机化合物(Austin P R, Brine C J, Castl J E, et al. Chitin: flew facets of research. Science, 1981, 212:749-753)。壳多糖是一类由结构单元 N-乙酰葡糖胺(2-乙酰胺基-2-脱氧-β-D-葡萄糖)以 β-1,4-糖苷键连接而形成的高聚物。壳多糖经过酸水解或酶水解可以得到 N-乙酰葡糖胺和葡糖胺,这两种单糖资源丰富,对工业微生物发酵生产具有重要价值。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种成本低、工艺简便、方法易行的利用生物转化法制备微生物油脂的方法。

[0006] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案为:

[0007] 一种微生物油脂的制备方法,其以 N-乙酰葡糖胺和 / 或葡糖胺为主要原料进行微生物发酵培养,获得微生物油脂。

[0008] 是将 N-乙酰葡糖胺和 / 或葡糖胺作为培养基碳源,其中可添加少量其它微生物生长必需营养成分,灭菌后接入产油微生物种子液,于 20℃ ~ 37℃ 通气培养,发酵终止后分

离收集菌体,提取获得微生物油脂。利用本发明菌体含油率 15%~66% (w/w)。

[0009] 具体为:(1)将N-乙酰葡萄糖胺和/或葡萄糖胺制成总浓度为20g/L~200g/L的水溶液,添加0~3g/L常规微生物生长所需营养成分,如酵母粉、蛋白胨、麦芽汁、磷酸钾、硫酸镁、硫酸锌、硫酸亚铁、硫酸锰、氯化钙等,调节pH5.5~7.5,所得培养基灭菌后备用;

[0010] (2)产油微生物在液体种子培养基(葡萄糖20g/L,酵母粉10g/L,蛋白胨10g/L,余量为水,pH5.5~6.0)中,于30℃,180~200转/分钟振荡培养20小时~36小时,得每毫升含 $10^5 \sim 10^8$ 个活细胞的种子液;

[0011] (3)向步骤(1)所述培养基中接入步骤(2)制备的产油微生物种子液,接种量2%~20%(v/v),在20℃~37℃下通气培养36小时~240小时,发酵液中总还原糖浓度可降至1%以下;

[0012] (4)终止发酵,固液分离收集菌体,经有机溶剂提取得到微生物油脂。

[0013] 本发明可参照文献(李植峰,张玲,沈晓京,等.四种真菌油脂提取方法的比较研究.微生物学通报,2001,28(6):72~75)使用酸热法提取微生物油脂。按每克菌体加入2~4mol/L盐酸5~10mL,于78℃水浴处理1小时,冷却后加入甲醇和氯仿萃取,收集氯仿层,水洗,以无水硫酸钠干燥,过滤,滤液经浓缩除去低沸点有机溶剂,并在105℃干燥得到微生物油脂。以油脂质量除以提取时使用的干菌体质量得到菌体油脂含量(w/w)。按文献方法(张峻,邢来君,王红梅.γ-亚麻酸高产菌株的选育及发酵产物的分离提取.微生物学通报,1993,20(3):140~143)进行气相色谱分析,构成本发明所得到微生物油脂的脂肪酸包括碳链长度含有12~22个碳原子的脂肪酸。原料对菌体得率在15%~45%(w/w),菌体含油率为15%~66%(w/w)。

[0014] 所述N-乙酰葡萄糖胺和/或葡萄糖胺水溶液可以是含壳多糖原料的水解液;所述含壳多糖原料的水溶液为蟹壳、虾壳和/或鱼鳞的酸水解液或者酶水解液。

[0015] 本发明使用的产油微生物包括圆红冬孢酵母 *Rhodosporidium toruloides*、弯曲隐球酵母 *Cryptococcus curvatus*、解脂亚罗酵母 *Yarrowia lipolytica*、乳糖红酵母 *Rhodotorula lactosa*、小红酵母 *Rhodotorula minuta*、橘林油脂酵母 *Lipomyces kononenkoae*、皮状丝孢酵母 *Trichosporon cutaneum*、发酵性丝孢酵母 *Trichosporon fermentans*、健强地霉 *Geotrichum robustum* 和深黄被孢霉 *Mortierella isabellina*。

[0016] 本发明的有益效果是:(1)与传统通过油料植物获取油脂的方法相比,本发明技术简单有效,周期短,可连续操作,节约耕地,不受场地、季节、气候变化的影响;(2)与生物转化其它淀粉质和纤维质糖源制备油脂的方法相比,本发明使用的原料来源于壳多糖,资源丰富,成本低;(3)本发明可用于大量获取油脂,有利于资源综合利用和环境保护,可获得显著的综合效益。

具体实施方式

[0017] 下面是本发明的具体实施例,其中使用到的产油微生物圆红冬孢酵母 *Rhodosporidium toruloides* AS 2.1389、解脂亚罗酵母 *Yarrowia lipolytica* AS 2.1398、小红酵母 *Rhodotorula minuta* AS 2.277、乳糖红酵母 *Rhodotorula lactosa* AS 2.1514、皮状丝孢酵母 *Trichosporon cutaneum* AS 2.571 和深黄被孢霉 *Mortierella*

isabellinaAS 3.3410 购自中国普通微生物菌种保藏管理中心;橘林油脂酵母 *Lipomyceskononenkoae* CICC 1714、发酵性丝孢酵母 *Trichosporon fermentans* CICC 1368 和健强地霉 *Geotrichum robustum* CICC 1256 购自中国工业微生物菌种保藏管理中心;弯曲隐球酵母 *Cryptococcus curvatus* ATCC 20509 购自美国普通微生物菌种保藏管理中心。通过实施例可进一步了解不同微生物转化 N-乙酰葡糖胺和 / 或葡糖胺生产油脂的能力,但不以任何形式限制产油微生物的具体种属。

[0018] 实施例 1:培养基组成 (g/L):N-乙酰葡糖胺 70, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH5.5。121℃ 灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入圆红冬孢酵母 AS 2.1389 种子液,于 30℃ 通气培养 96 小时,停止发酵,将发酵液于 6000 转 / 分钟离心 10 分钟,收集菌体,得到干菌体 9.3g/L。

[0019] 按每克干菌体加入 3mol/L 盐酸 8mL,于 78℃ 水浴处理 1 小时,冷却,加入甲醇和氯仿萃取,收集氯仿层,水洗,以无水硫酸钠干燥,过滤,滤液经浓缩除去低沸点有机溶剂,并在 105℃ 干燥得到微生物油脂产品 2.6g/L,菌体油脂含量 28% (w/w)。

[0020] 实施例 2:培养基组成 (g/L):N-乙酰葡糖胺 20, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH6.0。121℃ 灭菌 15min 后,以 5% (v/v) 接种量接入圆红冬孢酵母 AS 2.1389 种子液,于 30℃ 通气培养 36 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 5.5g/L,菌体油脂含量 23%。

[0021] 实施例 3:培养基组成 (g/L):N-乙酰葡糖胺 100, KH_2PO_4 1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH7.0。121℃ 灭菌 15min 后,以 15% (v/v) 接种量接入圆红冬孢酵母 AS 2.1389 种子液,于 30℃ 通气培养 120 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 25g/L,菌体油脂含量 30%。

[0022] 实施例 4:培养基组成 (g/L):N-乙酰葡糖胺 200, KH_2PO_4 1.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4, 酵母粉 0.5, 调节 pH6.5。121℃ 灭菌 15min 后,以 20% (v/v) 接种量接入圆红冬孢酵母 AS 2.1389 种子液,于 30℃ 通气培养 168 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 45g/L,菌体油脂含量 32%。

[0023] 实施例 5:培养基组成 (g/L):N-乙酰葡糖胺 70, KH_2PO_4 1.2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4, 酵母粉 0.5, 调节 pH6.5。121℃ 灭菌 15min 后,以 20% (v/v) 接种量接入圆红冬孢酵母 AS 2.1389 种子液,于 37℃ 通气培养 96 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 9.1g/L,菌体油脂含量 21%。

[0024] 实施例 6:培养基组成 (g/L):葡糖胺 70, KH_2PO_4 1.2, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4, 酵母粉 0.5, 调节 pH7.0。121℃ 灭菌 15min 后,以 20% (v/v) 接种量接入圆红冬孢酵母 AS 2.1389 种子液,于 37℃ 通气培养 108 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 10.3g/L,菌体油脂含量 18%。

[0025] 实施例 7:培养基组成 (g/L):N-乙酰葡糖胺 70, KH_2PO_4 1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH5.5。121℃ 灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入解脂亚罗酵母 AS 2.1398 种子液,于 30℃ 通气培养 108 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 10.2g/L,菌体油脂含量 35%。

[0026] 实施例 8:培养基组成 (g/L):N-乙酰葡糖胺 70, KH_2PO_4 1.5, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH6.5。121℃ 灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入弯曲隐球酵母 ATCC

20509 种子液,于 30℃通气培养 120 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 13.5g/L,菌体油脂含量 52%。

[0027] 实施例 9 :培养基组成 (g/L) :N- 乙酰葡萄糖胺 70, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 1.0, CaCl_2 0.04, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.005, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.001, MnSO_4 0.0007, 调节 pH6.5。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入弯曲隐球酵母 ATCC20509 种子液,于 30℃通气培养 168 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 24.5g/L,菌体油脂含量 65%。

[0028] 实施例 10 :培养基组成 (g/L) :葡萄糖胺 100, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.5, 调节 pH7.5。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入弯曲隐球酵母 ATCC 20509 种子液,于 30℃通气培养 120 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 17.5g/L,菌体油脂含量 25%。

[0029] 实施例 11 :培养基组成 (g/L) :N- 乙酰葡萄糖胺 70, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 调节 pH6.5。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入小红酵母 AS 2.277 种子液,于 30℃通气培养 72 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 8.0g/L,菌体油脂含量 20%。

[0030] 实施例 12 :培养基组成 (g/L) :N- 乙酰葡萄糖胺 70, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH6.5。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入乳糖红酵母 AS 2.1514 种子液,于 30℃通气培养 96 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 15.0g/L,菌体油脂含量 32%。

[0031] 实施例 13 :培养基组成 (g/L) :N- 乙酰葡萄糖胺 70, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH7.5。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入皮状丝孢酵母 AS 2.571 种子液,于 30℃通气培养 120 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 14.8g/L,菌体油脂含量 40%。

[0032] 实施例 14 :培养基组成 (g/L) :葡萄糖胺 70, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH7.5。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入皮状丝孢酵母 AS 2.571 种子液,于 30℃通气培养 120 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 13.5g/L,菌体油脂含量 33%。

[0033] 实施例 15 :培养基组成 (g/L) :N- 乙酰葡萄糖胺 70, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH6.5。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入橘林油脂酵母 CICC 1714 种子液,于 30℃通气培养 168 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 12.3g/L,菌体油脂含量 28%。

[0034] 实施例 16 :培养基组成 (g/L) :N- 乙酰葡萄糖胺 70, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH7.5。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入发酵性丝孢酵母 CICC 1368 种子液,于 30℃通气培养 144 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 17.6g/L,菌体油脂含量 45%。

[0035] 实施例 17 :培养基组成 (g/L) :N- 乙酰葡萄糖胺 70, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH6.5。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入健强地霉 CICC 1256 种子液,于 30℃通气培养 132 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 15.8g/L,菌体油脂含量 33%。

[0036] 实施例 18 :培养基组成 (g/L) :N- 乙酰葡萄糖胺 70, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 酵母粉 0.1, 调节 pH6.0。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入深黄被孢霉 AS 3.3410

种子液,于 20℃通气培养 240 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 18.0g/L,菌体油脂含量 37%。

[0037] 实施例 19 :培养基组成 (g/L) :N-乙酰葡萄糖胺 20,葡萄糖胺 50, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2,酵母粉 1.0,蛋白胨 0.1,调节 pH7.0。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入弯曲隐球酵母 ATCC 20509 种子液,于 30℃通气培养 120 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 14.5g/L,菌体油脂含量 37%。

[0038] 实施例 20 :培养基组成 (g/L) :N-乙酰葡萄糖胺 45,葡萄糖胺 25, KH_2PO_4 0.7, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2,酵母粉 1.0,蛋白胨 0.1,调节 pH7.0。121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入弯曲隐球酵母 ATCC 20509 种子液,于 30℃通气培养 120 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 20.5g/L,菌体油脂含量 43%。

[0039] 实施例 21 :以壳多糖 (购自 Sigma, 货号 :C9213) 为原料,参照文献方法 (Pichyangkura R, Kudan S, Kuttiyawong K, Sukwattanasinitt M, Aiba S, Quantitative production of 2-acetamido-2-deoxy-d-glucose from crystalline chitin by bacterial chitinase, Carbohydrate Research, 2002, 337, 557-559) 进行酶水解处理,调整 N-乙酰葡萄糖胺浓度为 20g/L,添加酵母粉 1.0g/L, pH6.5, 于 121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入弯曲隐球酵母 ATCC 20509 种子液,于 30℃通气培养 36 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 6.5g/L,菌体油脂含量 50%。

[0040] 实施例 22 :以蟹壳为原料,参照文献方法 (Muzzarelli, R. A. A. Chitin in nature and technology, Pleum Press, New York, 1986) 进行酸水解处理,得到水解液,调整总还原糖浓度为 50g/L,其中 N-乙酰葡萄糖胺 35g/L,葡萄糖胺 10g/L,添加酵母粉 0.6g/L, KH_2PO_4 0.3g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1g/L, pH6.5, 于 121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入弯曲隐球酵母 ATCC 20509 种子液,于 30℃通气培养 48 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 8.2g/L,菌体油脂含量 45%。

[0041] 实施例 23 :以虾壳为原料,参照文献方法 (李南,李继珩. D-氨基葡萄糖盐酸盐的制备研究. 中国药科大学学报, 1997, 28(1), 56-58) 进行酸水解处理,得到水解液,调整总还原糖浓度为 55g/L,其中 N-乙酰葡萄糖胺 5g/L,葡萄糖胺 48g/L,添加酵母粉 1.0g/L, KH_2PO_4 0.7g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g/L, pH6.2, 121℃灭菌 15min 后,以 10% (v/v) 接种量接入圆红冬孢酵母 AS 2.1389 种子液,于 30℃通气培养 60 小时,按实施例 1 的方法后处理,得到干菌体 9.3g/L,菌体油脂含量 38%。

[0042] 每 100g N-乙酰葡萄糖胺和 / 或葡萄糖胺可获得含油率为 15 ~ 66% 的产油酵母干菌体 12.0g ~ 45.0g。与传统通过油料植物获取油脂的方法相比,本发明技术简单有效,周期短,可连续操作,节约耕地;与生物转化其它淀粉质和纤维质糖源制备油脂的方法相比,本发明使用的原料来源于含壳多糖的生物原料,如蟹壳、虾壳或鱼鳞等,具有资源丰富、价格低廉的特点,并且发酵获取油脂工艺简便、方法易行,成本低,是一种利用可再生资源、几乎不额外占用耕地、可连续生产的微生物油脂制备新途径,同时也为水产养殖业废弃物高值化利用开辟了新的方向。