

不同培养方式生产细菌纤维素的研究

齐香君 黄 丹

(陕西科技大学生命科学与工程学院, 咸阳, 712081)

摘 要 采用 RBD 反应器与传统静态培养方式生产细菌纤维素, 对 2 种培养方式的发酵动力学参数进行了分析和讨论。结果表明, 实验菌株 QAX993 适合在 RBD 反应器中生产细菌纤维素, 产量比静态培养方式提高了 2.79 g/L。

关键词 细菌纤维素, 培养方式, RBD 反应器, 木醋杆菌

细菌纤维素由 D-葡萄糖聚合而成, 具有高纯度、高结晶度、高聚合度、高杨氏模量及生物可降解性等优越性能, 作为一种新型生物材料, 在食品、医药、造纸、生物医学中具有广泛应用前景^[1,2]。目前国内对细菌纤维素的研究主要集中于传统的静态培养方式, 而有关动态培养生产细菌纤维素的报道较少。静态培养发酵周期长, 占地面积大, 劳动强度高, 不适合大规模的工业化生产^[3]。而动态培养生产细菌纤维素则具有供氧充足, 发酵周期短, 操作简便、生产效率高优点。研究发现, 传统的机械搅拌式和气升式反应器并不适合细菌纤维素生产菌株的生理特点, 目前国内使用上述反应器生产细菌纤维素的产量一般在 2.98~5.5 g/L 左右^[4]。本研究根据菌株的繁殖及产物合成特性, 结合传统动态反应器与静态培养方式的优点, 设计出了一种适合于菌株生长特点的高供氧量、低剪切力的生物反应器(RBD), 并与静态培养方式进行了比较研究。

1 材料与方 法

1.1 菌 种

木醋杆菌 QAX993, 由本实验室分离纯化筛选而得。

1.2 培养基

斜面培养基: 蔗糖 5%, 牛肉膏 1.5%, Na_2HPO_4 0.44%, 柠檬酸 0.08%, 琼脂 1.8%, 乙醇 1.0%, pH 6.0。121℃灭菌 20 min。

种子培养基: 同斜面培养基, 但不加琼脂。

发酵培养基: 蔗糖 6%, 酵母膏 1.5%, Na_2HPO_4 0.44%, 柠檬酸 0.08%, 乙醇 1.0%, pH 6.0。121℃灭菌 20 min。

1.3 RBD 反应器

自制(已申报专利), 有效容积 1L, 转速 5~150r/min。

1.4 培养方法

种子培养: 从斜面培养基中挑取 1 片约 0.5 cm² 的菌膜接种到种子培养基中, 250 mL 三角瓶装液 25 mL, 30℃、150r/min 条件下回转式摇瓶培养 24 h。

静态发酵培养: 以 10% 接种量将种子液接入发酵培养液中, $\phi 20$ mm 的大试管装液量 10 mL, 30℃ 恒温培养箱中静止培养 8 d, 每 24 h 取样进行发酵参数的测定。

RBD 反应器发酵培养: 以 10% 的接种量接种到装有发酵培养基的 RBD 反应器中, 30℃ 恒温培养 8 d, 每 24 h 取样进行发酵参数的测定。反应器转速为 20 r/min。

1.5 分析方法

1.5.1 pH 值测定

采用 pH S-3B 型精密 pH 计测定。

1.5.2 残糖的测定

采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定^[5]。

1.5.3 纤维素膜干重

取出菌膜, 用蒸馏水冲洗后, 用 1% 的 NaOH 溶液 80℃ 浸泡 30 min, 以除去菌体蛋白和残余的培养基, 再用蒸馏水反复冲洗, 直至膜为中性。105℃ 干燥至恒重, 称量。纤维素的产量表示为: 每升培养基中含有纤维素的质量(g/L)。

2 结果与分析

2.1 静态培养与 RBD 反应器培养 pH 的比较

细菌纤维素实验菌株在发酵过程中会将蔗糖水解产生的部分葡萄糖氧化为葡萄糖酸和乙酸, 致使发酵液的 pH 值降低。由图 1 可以看出, 2 种培养方式发酵液的 pH 值变化趋势基本一致, 在发酵过程中的

第一作者: 学士, 教授。

收稿日期: 2005-12-09, 改回日期: 2006-07-06

前3 d都以较快速度下降,而在发酵末期基本都稳定在3.4~3.9之间。RBD反应器中发酵液的pH值比静态培养的发酵液pH值稍低,这是由于在RBD反应器中供氧充足,细胞的繁殖代谢速率比静态培养方式快,大量的菌体在利用糖类物质时将更多的葡萄糖氧化为酸性物质所致。

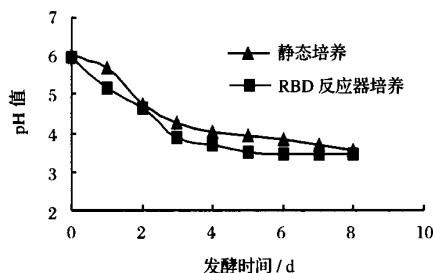


图1 不同培养方式下的pH值变化曲线

2.2 静态培养与RBD反应器培养过程中糖消耗速率的比较

以蔗糖为碳源时,1分子蔗糖首先被水解为1分子的葡萄糖和1分子的果糖,才能被菌体够吸收利用。在测定发酵液中的残糖量时,选用了准确性比较高的DNS法,根据发酵液水解前后所测得的还原糖量计算出其中残余的蔗糖量。对静态培养与RBD反应器培养过程中的糖消耗速率进行了测定,结果如图2所示。

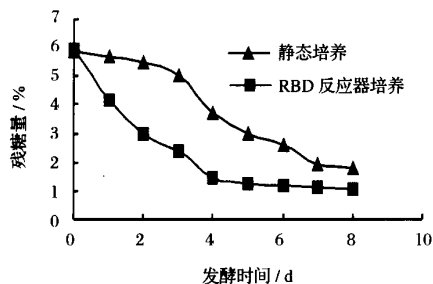


图2 不同培养方式下的糖消耗曲线

由图2可以看出,在RBD反应器中发酵的前4 d糖浓度下降的非常迅速,后4 d的糖浓度则下降缓慢,而静态培养方式下发酵液中的糖浓度在整个发酵过程中都处于比较缓慢的下降趋势。这是由于在供氧充足的RBD反应器中菌体繁殖代谢的速率均比静态培养时快。而在静态培养方式下提供的氧气量无法满足菌体生长代谢的要求,导致细胞繁殖代谢速率较慢,因此2种发酵方式的糖消耗速率有较大的差异。

另外由图2还可看出,在RBD反应器中培养4 d

以后,发酵液的糖消耗速率下降得很慢,其原因可能是发酵液中糖浓度过低,使菌株的繁殖与代谢受到了限制。

由图1和图2可以看出,2种培养方式的pH值下降与糖浓度下降具有相关性,且为正向相关。

2.3 静态培养与RBD反应器培养过程中纤维素产量的比较

细菌纤维素生产菌株在机械搅拌式及气升式反应器中,因设备所产生的剪切力导致非生产性菌株产生并过度生长,使生产菌株的产膜能力受到影响^[6]。根据资料显示,同一实验菌株在静态培养方式下细菌纤维素的产量可达4.16 g/L,而使用气升式发酵罐的产量只有2.98 g/L。实验中对菌株QAX993在RBD反应器中发酵生产细菌纤维素的产量与静态培养方式的产量进行了对比,结果如图3所示。

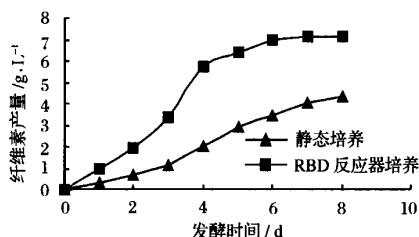


图3 不同培养方式下的纤维素产量变化曲线

由图3可以看出,在使用RBD反应器发酵的第1天,细菌纤维素的产量就已经明显超过了静态培养方式,并且在整个发酵过程中,RBD反应器中纤维素的增长趋势也远大于静态培养方式。由此可以说明,实验菌株在RBD反应器中由于获得了较大的供氧量,繁殖代谢旺盛,且所受其剪切力影响相对较小,因而细菌纤维素的产量明显的高于静态培养方式。另外由于使用RBD反应器,在发酵的前期细菌纤维素的产量就有较大的增幅,而在发酵的后期产量增加的幅度却不大,因此与静态培养方式相比其发酵周期可相对缩短。

由图2和图3可以看出,糖浓度下降与纤维素产量的上升具有相关性,且为负向相关。

3 结论

结合机械搅拌式反应器与静态培养方式的优点设计的RBD反应器,适合细菌纤维素生产菌株繁殖代谢及细菌纤维素合成的要求,在8 d的发酵周期内,其产量比静态培养方式提高2.79 g/L。该反应器在提高生产效率和产量等方面均具有一定的优势,

目前 RBD 反应器的相关参数还在研究中。

参 考 文 献

- 1 范丽霞,王锡彬,杨先会. 细菌纤维素生物理化特性及其应用[J]. 海南医学院学报,2004,10(4):279~281
- 2 胡晓燕,曲波音. 细菌纤维素的研究进展[J]. 纤维素科学与技术,1998,6(4):55~64
- 3 杨礼富. 细菌纤维素研究新进展[J]. 微生物学通报, 2003,30(4):95~98
- 4 马 霞. 发酵生产细菌纤维素及其作为医学材料的应用研究[D]. 天津科技大学博士学位论文,2003
- 5 大连轻工业学院等组编. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,1994.173~177
- 6 Yoshino T. Cellulose Production by *Acetobacter pasteurians* on Silicone Membrane[J]. Journal of Fermentation and Bio-engineering,1996,81(1):32~36

Study on Producing Bacterial Cellulose in Different Culture Mode

Qi Xiangjun Huang Dan

(Shaanxi University of Science & Technology, Xianyang 712081, China)

ABSTRACT Bacterial cellulose was produced in RBD reactors and the traditional static mode, and the fermentation kinetics parameters were analysed. The result indicated that experimental strain QAX993 fermented in RBD reactor is more suitable to produce bacterial cellulose, and the fermentation output was raised by 2.79 g/L in comparison with the traditional static mode.

Key words bacterial cellulose, culture mode, RBD reactors, acetobacter xylinum

食品添加剂和配料行业的技术信息平台

国内外六万个食品饮料企业都能看到的可读刊物

中国食品添加剂

ISSN 1006-2513

CN11-3542/TS

大16开, 双月刊

中国食品添加剂生产应用工业协会主办

经国家科技主管部门和国家新闻出版主管部门批准

欢迎订阅 发布广告

国内外公开发行

中国学术期刊综合评价数据库来源期刊

全年定价 50 元

地址: 北京德胜门西大街 15 号远洋风景 7-1-601

邮编: 100088

户 名: 中国食品添加剂生产应用工业协会

电话: +86-10-82290623 82290624

开户银行: 工行北京分行百万庄支行

传真: +86-10-82290625 82290789

帐 号: 0200001409089018572

电子信箱: cfaa@a-1.net.cn

汇款用途: 订阅刊物

网址: www.cfaa.cn