

降低冰核生产菌 *X. ampelina* TS206 黄原胶产率的研究

李鸿雁, 陈庆森, 阎亚丽, 罗 剑
(天津市重点实验室 天津商学院生物工程系, 天津 300134)

摘 要: 培养基中不同的碳源影响冰核细菌的冰核活性、生物量和产胶率, 麦芽糖、山梨醇、蔗糖等均可做为促进冰核细菌生长碳源, 麦芽糖作为碳源加入发酵培养基中生物活性和生物量均较高, 同时产胶率低于葡萄糖和蔗糖十倍左右。麦芽汁代替麦芽糖可以降低产胶率, 但效果不如麦芽糖。在培养基中加入 0.1ml/100ml 乳酸可以有效地抑制黄原胶的产生, 而对冰核活性和生物量影响不大。

关键词: 冰核活性细菌; 麦芽糖; 乳酸; 降低; 黄原胶

Studies on Depressing Xanthan Gum Producing Ratio of *Xanthomonas ampelina* TS206

LI Hong-yan, CHEN Qing-sen, YAN Ya-Li, LUO Jian

(The Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, Department of Biotechnology, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China)

Abstract: Different carbon source in medium affected the cell growth, the ice nucleation activity and the gum ratio. Maltose, sorbitol and sucrose promoted the cell growth. Maltose as the carbon source, the gum ratio was less than such about ten times in other carbons source as glucose and sucrose. Wort as the substitute of maltose can depress the gum ratio, but the effect not as good as maltose. Addition of 0.1% lactate in the medium can inhibit the gum production effectively, and not too affected the ice nucleation activity and the biomass.

Key words: ice nucleation-active bacteria; maltose; lactic acid; depress; xanthan gum

中图分类号: TS201.7

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2004)11-0076-03

冰核活性细菌(Ice Nucleation Active Bacteria, 简称 INA 细菌)是诱发和加重植物霜冻的重要因子, 被应用在人工降雪、食品冷藏保鲜、促冻杀虫等领域^[1,2]。黄单胞菌 *Xanthomonas ampelina* TS206 是一种冰核活性细菌, 具有冰核活性高, 生物量大的优势, 但该菌种在进入稳定期后会分泌黄原胶, 黄原胶粘附在细胞的表面使得细胞沉淀下来, 进而影响到目的产物的积累。特别是利用 6L 发酵罐发酵时, 由于其副产物黄原胶过多, 导致发酵液粘度很大, 对进一步的提取造成很大困难。因此, 降低黄原胶的比例和促进细胞的生长变得同样重要。本文在摇瓶水平上从碳源的种类对产胶率的影响, 添加乳酸抑制黄原胶的形成等方面进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

Xanthomonas ampelina TS206 实验室从天津地区蔬菜表面分离。

1.1.2 培养基

1.1.2.1 斜面培养基 牛肉浸膏 3g、蛋白胨 5g、甘油 25g、琼脂 15g、水 1000ml、pH=7.0。

1.1.2.2 种子培养基 牛肉浸膏 3g、蛋白胨 5g、酵母粉 20g、甘油 25g、蔗糖 20g、K₂HPO₄ 1.5g、水 1000ml、pH=7.0。

1.1.2.3 发酵培养基 牛肉浸膏 3g、蛋白胨 5g、酵母粉 20g、蔗糖 20g、K₂HPO₄ 1.5g、水 1000ml、pH=7.0。

1.1.3 仪器与设备

收稿日期: 2004-07-11

作者简介: 李鸿雁(1971-), 女, 讲师, 硕士, 主要从事生物工程与生物技术的教学与科研工作。

HWY211 型恒温培养摇床, J2-21 型低温冷冻离心机, HC21006 型低温恒温器, 721 分光光度计, 国华 250 型生化培养箱, HGG-766-2 型远红外线干燥箱等。

1.2 方法

1.2.1 冰核细菌的培养方法

将活化后的斜面菌种接入到 50ml 的种子培养基中, 在 18℃, 180r/min 条件下培养 24h, 然后将该种子液按 2% 的接种量接到发酵培养基中, 培养 48h 后测定冰核活性、生物量和产胶率。

1.2.2 冰核细菌冰核活性的测定

采用 Lindow 改进的小液滴法^[3], 在 -3℃, 1min 内测定 30 滴菌液的冻滴率作为冰核细菌冰核活性的指标。

1.2.3 冰核细菌生物量的测定

将发酵液经 5000r/min, 4℃, 30min 离心, 获得的菌体用磷酸盐缓冲液悬浮洗涤 2 次, 悬浮液经同样条件离心, 将沉淀转移至称量瓶中, 放在烘箱 60℃ 烘干至恒重, 菌体的干重即为生物量。

1.2.4 黄原胶产胶率的测定^[4]

发酵液经 5000r/min, 4℃, 30min 离心, 上清液中加入 2 倍体积工业酒精, 充分搅拌 3min 后, 用布氏漏斗真空抽滤, 得到的沉淀和定量滤纸一起转移至已称重的小平皿中, 置于烘箱中在 60℃ 下, 烘干至恒重, 用电子天平称重, 然后用下面的公式计算出产胶率。

$$\text{产胶率} = \frac{\text{黄原胶产量}}{\text{发酵液总量}} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 不同碳源对冰核活性、生物量和产胶率的影响

冰核细菌的冰核活性、生物量和黄原胶产率受培养基中碳源种类的影响^[5]。TS206 在含有不同碳源的发酵培养基中培养 48h 后, 发酵液离心, 沉淀烘干至恒重, 得出菌体生物量。上清液中加入工业酒精, 进行抽滤, 得到的沉淀烘干至恒重, 计算出产胶率, 结果见表 1。

表 1 不同碳源对冰核活性、生物量和产胶率的影响

培养基碳源	冻滴率(%)	生物量(g/100ml)	产胶率(%)
葡萄糖	90.00	0.503	0.302
蔗糖	93.33	0.573	0.262
乳糖	76.67	0.526	0.127
山梨醇	90.00	0.508	0.026
麦芽糖	96.67	0.550	0.029
甘油	96.67	0.464	0.128

由表 1 可看出, TS206 菌株在含有不同碳源的发酵培养基中 18℃ 培养 48h 后, 冰核活性只有乳糖较差, 其

他碳源差别不大, 麦芽糖和甘油相对更好一些。生物量差别不太大, 蔗糖和麦芽糖相对要高一些。从产胶率来看, 麦芽糖和山梨醇比其他碳源明显低, 产胶率是葡萄糖和蔗糖的十分之一左右。总体来看, 麦芽糖做为碳源最为理想, 山梨醇次之。蔗糖作为碳源, 生物量最大, 冰核活性也比较高, 同时黄原胶产率也很高, 可以作为添加抑制剂的碳源使用。

2.2 麦芽汁取代麦芽糖对冰核活性、生物量和产胶率的影响

虽然麦芽糖是比较理想的碳源, 但由于纯的麦芽糖价格比较贵, 本着经济实用的角度, 我们选择了比较经济的麦芽汁来替代麦芽糖进行实验, 其中麦芽糖含量为 11.6g/100ml。用不同量的麦芽汁配成不同麦芽糖浓度的培养基进行发酵。实验结果见表 2。

表 2 不同浓度麦芽汁对冰核活性、生物量和产胶率的影响

麦芽糖含量(%)	冻滴率(%)	生物量(g/100ml)	产胶率(g/L)
对照 1	90.00	0.552	0.282
对照 2	96.67	0.538	0.023
10	85.00	0.469	0.228
20	95.00	0.527	0.152
30	93.33	0.514	0.167
40	90.00	0.509	0.261

注: 对照 1, 2 实验中, 碳源分别为蔗糖和麦芽糖, 含量为 20g/L。

由表 2 可以看出, TS206 利用麦芽汁在 18℃ 条件下培养 48h 后, 麦芽糖含量为 20g/L 时, 冰核活性和生物量均达到最高值, 接近于纯的麦芽糖, 且产胶率最低, 明显低于蔗糖, 但不如纯麦芽糖, 这可能是由于麦芽汁中的其他营养成分在一定的程度上促进了黄原胶的合成。高于或低于这个浓度冰核活性和生物量均降低, 产胶率会升高。因此, 麦芽汁可以代替麦芽糖, 其浓度为麦芽糖的最终浓度为 20g/L。

2.3 添加不同浓度乳酸对冰核活性、生物量和产胶率的影响

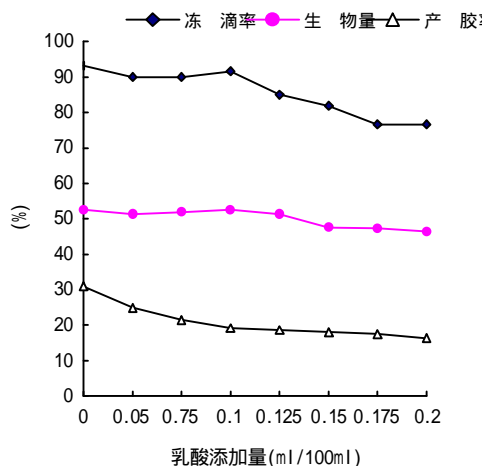
根据文献^[6,7]报道, 乳酸可以抑制黄原胶的形成, 但没有报道具体的研究。由于蔗糖比较便宜且生物量最高, 因此选择蔗糖作为发酵的碳源, 然后添加不同浓度的乳酸, 于 18℃ 培养 48h, 将发酵液离心, 得出菌体生物量和产胶率。结果见表 3。

由表 3 可以看出, TS206 菌株在添加乳酸的发酵培养基中培养 48h 后, 冰核活性, 黄原胶产率和菌体的生物量都有一定程度的降低。在乳酸浓度低于 0.1% 时, 对冰核活性影响不大, 高于 0.1% 时, 冰核活性受到抑制, 随着乳酸浓度的增加, 抑制程度越明显; 乳酸浓

表3 不同浓度乳酸对冰核活性、生物量和产胶率的影响

乳酸量 (ml/100ml)	冻滴率 (%)	生物量 (g/100ml)	产胶率 (%)
0.000	93.33	0.525	0.310
0.050	90.00	0.517	0.250
0.075	90.00	0.520	0.215
0.100	91.67	0.525	0.192
0.125	85.00	0.514	0.186
0.150	81.67	0.476	0.181
0.175	76.67	0.474	0.175
0.200	76.67	0.465	0.164

度低于0.125%时,对于菌体的生长影响不太明显,高于这个浓度时,生长受到一定程度的抑制;乳酸浓度高于0.075%时,黄原胶的产率开始降低,随着乳酸浓度的增加,降低程度越明显。其变化趋势如图1所示。为了尽可能少的产生黄原胶的同时,获得较高的菌体收获量,保持较高的生物活性,选择乳酸添加浓度为0.1%。



注: 图中产胶率=实际值×100

图1 不同浓度乳酸对冰核活性、生物量和产胶率的影响

3 结论

3.1 冰核活性细菌 TS206 菌株在不同碳源的培养基上进行培养,冰核活性,生物量和黄原胶的产率差别很大,其中麦芽糖产胶率最低,生物量和冰核活性均较高,是最为理想的碳源。蔗糖作为碳源,生物量最大,冰核活性也比较高,但黄原胶产率也很高,可以作为添加抑制剂的的基础培养基使用。

3.2 麦芽汁代替麦芽糖作为碳源,能够降低黄原胶的产率,但效果不如纯的麦芽糖。

3.3 在发酵培养基中添加乳酸后,冰核活性,黄原胶产率和菌体的生物量都有一定程度的降低。为了尽可能少的产生黄原胶的同时,获得较高的菌体收获量,保持较高的生物活性,选择乳酸添加浓度为0.1%。

参考文献:

- [1] 孙福在. 我国生物冰核研究进展[J]. 中国农业科学, 1996, 29(5): 62-67.
- [2] 阎亚丽, 陈庆森, 崔细鹏, 等. 冰核活性细菌发酵培养基的优化筛选[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(4): 19-22.
- [3] 陈庆森, 高秀芝, 等. 食品与发酵工业, 2001, 27(1): 8-12.
- [4] 张国英, 罗国华, 秦彩云, 等. 黄原胶的发酵生产和提纯[J]. 现代化工, 2002, (12): 32-34.
- [5] Kawahara H, Obata H. Production of xanthan gum and ice-nucleating material from whey by *Xanthomonas campestris* pv. *Translucens*[J]. Microbiol Biotechnol, 1998, 49: 353-358.
- [6] Michiko Watanabe, Jun Watanabe, Takahiro Makino, et al. Isolation and cultivation of a novel ice nucleation-active strain of *Xanthomonas campestris*[J]. Biosci Biotech Biochem, 1993, 57(6): 994-995.
- [7] Michiko Watanabe, Jun Watanabe, Yasuyuki Michigami. Enhancing effect of 4-hydroxy-3-nitrophenylacetic acid on transcription of the ice nucleation-active gene of *Xanthomonas campestris*[J]. Biosci Biotech Biochem, 1994, 58(12): 2269-2270.



俄罗斯生化所研究出预防乙肝和艾滋病的西红柿

俄罗斯伊尔库茨克的植物生物化学研究所利用基因技术培育出特殊的西红柿,经动物试验发现对预防乙肝和艾滋病具有很好的效果。

据“矢量”科学中心专家谢尔库诺夫介绍,该中心已经在老鼠身上对这种可以食用的“疫苗”西红柿进行了为期两年多的试验。研究人员给老鼠每天吃三次这种西红柿,结果发现老鼠的免疫系统对乙肝病毒产生有效的免疫应答,对艾滋病毒也能产生免疫应答,只是后一种应答比对乙肝病毒的应答稍微弱些。

谢尔库诺夫说,虽然动物试验表明“疫苗”西红柿具有很好的预防效果,但要进入临床应用,还需要进行严格的人体试验。而一旦这种西红柿进入实际应用,人们就可以通过日常饮食达到预防疾病的目的。

俄专家介绍,目前他们正考虑利用基因技术培育胡萝卜和生菜,使它们具有预防甲肝和蜱传脑炎(又称森林脑炎,是俄罗斯春夏时节发生的脑炎)的功能。