

利用光合菌发酵对玉米秸秆进行转化的研究*

曾 宇 谭四军

(四川大学生命科学学院 成都 610064)

摘要: 系统研究了光合菌在氨法处理和非氨处理两种环境下, 在厌氧、好氧、以及自然条件下对玉米秸秆的转化。通过发酵液中还原糖与蛋白质浓度的测定结果的比较、判断、优选出一种最适合条件下光合菌对玉米转化的途径。研究表明, 在以氨化法处理的玉米秸秆为底物与光合菌的发酵实验中, 发酵液中的还原糖和蛋白质的尝试都要比非氨法条件下玉米秸秆为底物与光合菌发酵实验中的发酵液中的还原糖和蛋白质的浓度高。实验结果证明了转化产生的还原糖、蛋白质都是光合菌能利用的营养成分, 由此达到利用光合菌转化玉米秸秆的研究目的。

关键词: 光合菌, 玉米秸秆, 还原糖, 蛋白质

中图分类号: Q939.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2001) 06-0005-04

STUDIES ON THE UTILIZING THE PHOTOSYNTHETIC BACTERIUM FERMENTATION FOR BIOTRANSFORMATION ON CORN STRAW

ZENG Yu TAN Si-Jun

(The life science college of Sichuan university, Chengdu 610064)

Abstract: The physiological character, functions and applications of photosynthetic bacterium had been discussed, during biotransformation of the corn straw treated with ammonia in aerobic, anaerobic and natural conditions. Comparing the concentration of the reductive sugar and the protein in the fermented broth, we suggest a good way of biotransforming the corn straw by photosynthetic bacterium. In the photosynthetic bacterium fermentation in which the corn straw treated substrate, the concentrations of the reductive sugar and the transformative reductive sugar and the protein in the fermented broth were higher than those without ammonia. Analysis of the results shows that the transformative reductive sugar and protein were the nourishment of photosynthetic bacterium, so there may be a way that we harness the corn straw by the photosynthetic bacterium.

Key words: Photosynthetic bacterium, Corn straw, Reductive sugar, Protein

据统计, 我国每年农作物秸秆达 7 亿吨之多, 其中玉米秸秆达 2.2 亿吨。估计有近 90% 的纤维素不能被利用。^[1] 多数被烧掉, 这不仅浪费了资源, 而且还会造成环境的污染。以成都为例, 成都市生产的玉米秸秆以前都被烧掉, 造成整个市区都是烟雾, 造成很大的损失。因此, 合理的利用和开发这一丰富资源, 同时可防止环境污染, 各国政府和科学家一直致力于研究和解决这一问题。利用光合菌对玉米秸秆进行发酵转化, 把植物纤维转化为蛋白质和还原糖, 然后再转化为光合菌本身的成分。不仅解决了天然资源浪费的问题, 而且产生了对人类有重要价值的蛋白质, 因而具有重要意义和利用价值。本实验同时建立了 6 种利用光合菌处理玉米秸秆的方法。

* 四川省应用基础基金支持项目 (No. 98-2041-413010)

收稿日期: 2000-07-10, 修回日期: 2000-10-25

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 光合菌：菌种由本实验室自行分离培养，为 *Rp. acidophila* 和 *Rp. sphaeroides* 混和菌液。

1.1.2 玉米秸秆：取自成都市郊区农田当年的玉米秆，粉碎后用 80 目的筛子筛选，取粉末。

1.1.3 仪器：恒温箱、离心机、721 分光光度计、电热恒温水浴箱。

1.1.4 试剂：3,5-二硝基水杨酸、Folin-酚试剂、葡萄糖标准液、酪蛋白标准溶液。

1.2 方法

1.2.1 氨法处理：将玉米秸秆粉 10g 分别放入 3 个 500mL 的三角瓶里，各加入蒸馏水 160mL 泡 12h，而后再各加入 50mL 的 0.8% (v/w) 的氨水常温处理 2h，再生 110℃ 的条件下处理 30min。待物料冷却之后，用稀硫酸中和物料至 pH7.0 左右。把中和后的三角瓶放入灭菌锅里灭菌。冷却后，各加入 4mL 光合菌培养液。然后，把 3 个三角瓶依次作厌氧、好氧及自然条件处理。把厌氧好氧处理的瓶子放入恒温箱（放一光源）培养，温度控制在 30℃，自然条件的放在室内常温处理。

1.2.2 非氨法处理：称取玉米粉各 10g 分别放在 3 个 500mL 的三角瓶里，再依次加入 210mL 的蒸馏水（使之与氨化法处理时的浓度相同）取少量液，测其还原糖蛋白质的浓度。然后时行灭菌处理，冷却后，分加入 4mL 光合菌培养液，最后与氨化法处理一样，作厌氧、好氧、自然条件处理。

1.2.3 还原糖、蛋白质浓度的测定：经过 7d 光合菌处理过的玉米秸秆粉，每天分别测其还原糖，蛋白质的浓度。每个培养体系里各取少许发酵液，进行离心（3000r/min）20min，而后取上清液进行测定。

还原糖的测定：参见文献 [2]。

蛋白质的测定：参见文献 [3]。

2 结果

玉米秸秆粉各成分含量见表 1。

表 1 玉米秸秆粉各成分的含量

成分	水分	蛋白质	还原糖
含量 (mg/g)	90.5	36.8	3.10

2.1 氨化法还原糖的测定结果

见表 2。

表 2 氨化法还原糖的测定结果

测试日期 (d)	还原糖 (厌氧)		还原糖 (好氧)		还原糖 (自然条件)	
	A_{520nm}	含量 (mg/g)	A_{520nm}	含量 (mg/g)	A_{520nm}	含量 (mg/g)
1	0.376	9.67	0.376	9.67	0.376	9.67
2	0.258	6.64	0.230	5.92	0.236	6.07
3	0.135	3.47	0.084	2.16	0.096	2.47
4	0.092	2.37	0.072	1.85	0.075	1.93
5	0.055	1.41	0.061	1.57	0.054	1.39
6	0.085	2.18	0.074	1.90	0.062	1.60
7	0.114	2.93	0.086	2.21	0.070	1.80

2.2 非氨化还原糖的测定结果

见表 3。

表 3 非氨化还原糖的测定结果

测试日期 (d)	还原糖 (厌氧)		还原糖 (好氧)		还原糖 (自然条件)	
	A_{520nm}	含量 (mg/g)	A_{520nm}	含量 (mg/g)	A_{520nm}	含量 (mg/g)
1	0.136	3.50	0.136	3.50	0.136	3.50
2	0.143	3.68	0.130	3.34	0.096	2047
3	0.150	3.86	0.125	3.21	0.056	1.44
4	0.102	2.62	0.078	2.00	0.070	108
5	0.054	1.39	0.031	0.80	0.084	2.16
6	0.072	1.85	0.040	1.03	0.078	2.01
7	0.091	2.34	0.049	1.26	0.073	1.88

2.3 氨化法蛋白质的测定结果

见表 4。

表 4 氨化法蛋白质的测定结果

测试日期 (d)	蛋白质 (厌氧)		蛋白质 (好氧)		蛋白质 (自然条件)	
	A_{520nm}	含量 (mg/g)	A_{520nm}	含量 (mg/g)	A_{520nm}	含量 (mg/g)
1	0.702	421	0.702	421	0.702	421
2	0.881	528	0.861	516	0.752	451
3	1.060	636	1.020	612	0.803	482
4	0.837	502	0.817	490	0.626	376
5	0.615	369	0.615	369	0.439	263
6	0.632	379	0.568	341	0.490	294
7	0.650	390	0.520	312	0.542	325

2.4 非氨化蛋白质的测量结果

见表 5。

表 5 非氨化蛋白质的测量结果

测试日期 (d)	蛋白质 (厌氧)		蛋白质 (好氧)		蛋白质 (自然条件)	
	A_{520nm}	含量 (mg/g)	A_{520nm}	含量 (mg/g)	A_{520nm}	含量 (mg/g)
1	0.255	153	0.255	153	0.255	153
2	0.512	307	0.468	281	0.338	203
3	0.768	461	0.681	409	0.420	252
4	0.644	386	0.606	364	0.399	239
5	0.521	313	0.530	318	0.378	227
6	0.512	308	0.446	268	0.354	212
7	0.502	301	0.362	217	0.331	199

3 讨论

3.1 还原糖的结果分析

从实验数据可以看出,不管是氨化法还是非氨化法,还原糖的含量第 1d 最大;既没有加入光合菌时的含量最大。加入光合菌后,还原糖的含量逐步降低,当降到一定浓度时,又开始增加,但比第 1d 的含量要少的多。虽然从数据上来看,直接法厌氧条

件下含糖量第 3d 比第 1d 高,但这可能是误差。这此现象与光合菌的生理特征相符合。经发酵后还原糖的浓度增加。由于光合菌以还原糖为营养,因此,光合菌的数量上升,从而使还原糖的浓度下降。当还原糖含量下降么一定浓度后,光合菌数量下降,还原糖的浓度又开始上升。但没有第 1d 时的含量高。因为培养体系里含有一定量的光合菌。

表 6 氨化法与非氨化法条件下含糖量的比较

测试日期 (d)	厌 氧		好 氧		自然条件	
	还原糖 (氨)	还原糖	还原糖 (氨)	还原糖	还原糖 (氨)	还原糖
1	9.67	3.50	9.67	3.50	9.67	3.50
2	6.64	3.68	5.92	3.34	6.07	2.47
3	3.47	3.86	2.17	3.21	2.47	1.44
4	2.37	2.62	1.85	2.00	1.93	1.80
5	1.14	1.39	1.57	0.80	1.39	2.16
6	2.18	1.85	1.90	1.03	1.60	2.01
7	2.93	2.34	2.21	1.26	1.80	1.88

从表 6 可以看出,在氨化条件下,第 1d 的还原糖含量比非氨化法高出 2 倍多,但以后两者含糖量相差不多,说明光合菌对还原糖的转化作用在氨化与非氨化条件并没有表现出哪一个的优越性。只是在有 NH_4^+ 存在条件下发酵更易产生还原糖。这有利于玉米秆的转化。

另从表 4 可以看出,在砂氧、好氧、自然条件下还原糖含量在三者之间并没有显著差别,这与一些文献中自然条件下,还原糖的浓度大增加不一样(因为空所中含有其它细菌,能把玉米秆转化为还原糖,使还原糖的浓度增加)。估计是因为光合菌液(取自于指数期的光合菌)里是以光合菌为主体,加因厌氧、好氧条件下一直是在光照、恒温条件下进行,这一条件最适合光合菌的生长。

3.2 蛋白质的结果分析

从表 4、表 5 可以看出,在氨化法条件下,第 3d 蛋白质的含量比第 1d 高,而第 5d 减少,第 7d 更低,但都比第 1d 高,结果说明在氨化法条件下,玉米秆更易转化为蛋白。由于蛋白质也是光合菌的营养物,在蛋白质的浓度达到一定值之后,光合菌的数量上升,然后,蛋白质的浓度开始下降。在氨化法中,第 5d 比第 3d 的蛋白质的含量下降了 42%,而非氨化法只下降了近 32.39%,比氨化法低约 10%。说明在氨化条件下,光合菌更易转化蛋白质,这是由于在有 NH_4^+ 存在条件下,光合菌的活性增加,光合菌能把 NH_4^+ 转化为蛋白质。因此,氨化法体系中的蛋白质含量比非氨化体系的含量高,见表 7。

表 7 氨化法与非氨化法条件下蛋白质浓度的比较

测试日期 (d)	厌 氧		好 氧		自然条件	
	蛋白糖 (氨)	蛋白质	蛋白质 (氨)	蛋白质	蛋白质 (氨)	蛋白质
1	421	153	421	153	421	153
2	528	307	516	281	451	203
3	636	461	612	409	482	252
4	502	386	490	364	376	239
5	369	313	369	318	263	227
6	379	308	341	268	294	212
7	390	301	312	217	325	199

从表 7 比较可以看出, 厌氧和好氧条件下并没有多大区别。而自然条件下蛋白质的含量要少。这是由于厌氧和好氧都是光合菌的最适生长条件, 能够把部分纤维素转化为蛋白质, 与一些文献报道相符。

3.3 不同发酵方式效果比较

本实验用光合菌与玉米秸秆在液体条件下发酵, 与一些文献报道中用光合菌与其它菌混合固体发酵相比, 效果要好得多。液体发酵, 与固体发酵相比产生的还原糖要少, 而产生的蛋白质比固体发酵要多的多。从下面两者第 3d 的还原糖和蛋白质的浓度比较, 就可以看出 (表 8)。

表 8 液体发酵与固体发酵的比较

	厌氧 (液体发酵)		好氧 (液体发酵)		自然条件 (液体发酵)		固体发酵	
	PSB + NH ₄ ⁺	PSB + H ₂ O	PSB + NH ₄ ⁺	PSB + H ₂ O	PSB + NH ₄ ⁺	PSB + H ₂ O	EM + NH ₄ ⁺	EM + H ₂ O
还原糖 (mg/g)	3.47	3.86	2.16	3.21	2.47	1.44	20.7	10.5
蛋白质 (mg/g)	636	461	612	409	482	252	108	90

注: PSB 为光合菌的缩写, EM 为有效微生物群的缩写, 主要由光合菌、放线菌、酵母菌、乳酸菌、发酵型线状菌等 10 属 80 多种微生物复合培养而成^[4]

从表 8 可以看出, 液体发酵产生的还原糖的含量比固体发酵要少一些, 而蛋白质的含量要多的多。说明液体发酵的效果要比固体发酵的效果好一些。

综上所述, 有氨化法处理玉米秸秆比非氨化法处理效果要好, 能够更快更好地处理掉玉米秸秆, 将其转化为还原糖和蛋白质, 最终转化为光合菌自身的蛋白质和其它成分, 从而达到处理玉米秸秆的目的。利用光合菌处理玉米秸秆, 不仅防止了资源的浪费, 造成生态环境的污染, 而且达到了资源的再度利用。用光合菌发酵后的产物, 可以做各种饲料、肥料等, 在农牧业中有很高的应用价值。

参 考 文 献

- [1] 陈庆生, 刘维红, 胡志和. 生物技术, 1999, 9 (4): 18.
- [2] 北京大学生物系生化教研室编. 生化实验指导. 北京: 人民教育出版社, 1997, 22~2
- [3] 张龙翔等主编. 生化实验方法和技术. 北京: 高等教育出版社, 1981, 165~168.
- [4] 姚伟邦, 马晓莉. 生物技术, 1999, 9 (4): 20~23.