

单细胞蛋白生产最佳接种混合比的研究*

徐抗震 宋纪蓉 黄洁 尹涛

(西北大学食品科学与工程系 陕西物理无机化学重点实验室 西安 710069)

摘要:以苹果渣混合菌发酵生产单细胞蛋白为例,利用3个和4个菌种分别探讨了多菌种发酵最佳接种混合比的选取问题,获得一种求取最佳接种混合比的有效方法,完善了发酵生产单细胞蛋白这类问题的研究。

关键词:单细胞蛋白,发酵,混合比,苹果渣

中图分类号: Q939.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 04-0036-04

STUDIES ON THE OPTIMAL MIXED PROPORTION OF INOCULATION IN PRODUCING SINGLE CELL PROTEIN

XU Kang-Zhen SONG Ji-Rong HUANG Jie YIN Tao

(Department of Food Science and Engineering Shanxi Key Laboratory of Physical-Inorganic Chemistry, Northwest University, Xian 710069)

Abstract: Using apple pomace to produce single cell protein (SPC) with three and four strains respectively, the optimal mixed proportion of inoculation, one of the main factors of multiple strains' fermentation to produce SPC, was studied. The experiment and analysis indicated that a practicable method to get the optimal mixed proportion of inoculation was obtained, which will perfect correlative researches of this field.

Key words: Single cell protein, Fermentation, Mixed proportion, Apple pomace

蛋白质资源短缺是全世界面临的重大课题,各国都在重视加强开发新型蛋白资源的研究。单细胞蛋白,又称微生物蛋白或菌体蛋白,是指酵母菌、真菌、霉菌、非病性细菌等单细胞微生物体内所含蛋白质,含量高达45%~74%,且各种氨基酸搭配合理、种类齐全,维生素丰富等。单细胞蛋白作为生产人类蛋白的重要组成部分,日益成为诸多科研工作者研究的重心。单细胞蛋白的生产以食品工业废料、农副产品下脚料及农作物纤维等为主要原料,不仅来源广泛、生产成本低廉,而且对要求日益严格的环保问题,也体现着不可估量的价值。

在相关研究中,多采用双菌种和3个菌种^[1-7],也有极少数采用4个菌种及更多菌种混合发酵的^[9,10],当然混合菌发酵优于单菌发酵是被众多实验事实所证明了的。对于双菌种利用一元坐标系,可以很容易地解决最佳接种混合比的问题,而对于3菌种和4菌种而言,在接种量相等的前提下,多一限制性条件,最常用的正交实验法对此也无能为力,且相关文献中也未有此方面研究报道,而普遍采用的是简单的一比一关系^[1-5]。同时由于发酵原料的不同,组成差别很大,对菌种量的要求也不尽相同,如以苹果渣为原料,由于其还原糖含量较高,因此木霉的接种比例就应少一些;而以秸秆为原料,木霉则起到关键作用。加之菌种之间存在着很强的共生、竞争、拮抗等作用,这也要求菌种之间有不同的比例关系。因此很有必要进行这方面的探讨,完善发酵生

*陕西省科技攻关重点资助项目 (No. 2000K12-G9)

陕西自然科学基金项目 (No. 2001H07)

收稿日期: 2002-08-05, 修回日期: 2002-10-27

产单细胞蛋白相关类问题研究。

1 材料与方法

1.1 菌种与原料

产朊假丝酵母,中国科学院微生物研究所购买;果酒酵母,本实验室长期保存;康宁木霉、绿色木霉,陕西省微生物研究所购买;苹果渣,陕西泾阳果汁厂废弃物,60℃烘干,粉碎至40目待用;麸皮(市售)。

1.2 培养基

斜面培养基:马铃薯葡萄糖琼脂培养基,豆芽汁葡萄糖琼脂培养基。

种子培养基:马铃薯蔗糖培养基。

固态发酵培养基:干苹果渣80g,麸皮16g,尿素2g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1g, KH_2PO_4 1g。

1.3 测定方法

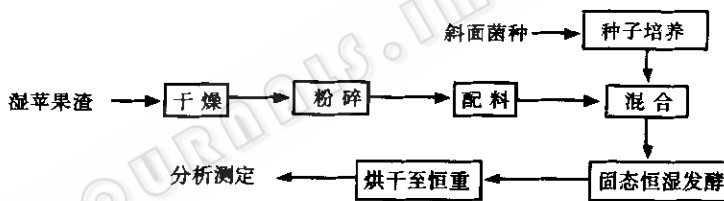
粗蛋白:采用半微量凯氏定氮法(GB/T 14771-93)。

1.4 培养方法

在30℃~34℃,接种量10%(v/g),水料比2:1,pH自然,料层厚度2.5cm,不灭菌条件下,恒湿生化培养箱培养84h后,65℃烘干至恒重测定分析。

1.5 固态发酵工艺路线

见以下流程方框图:



2 结果与讨论

2.1 双菌种最佳接种混合比的确定

在单菌种实验的基础上,确定发酵过程中菌种影响主次关系即:产朊假丝酵母>果酒酵母;绿色木霉>康宁木霉。将产朊假丝酵母和绿色木霉分为一组(A组),另两种为一组(B组),利用二元坐标系固态发酵确定双菌种的最佳接种混合比。实验结果如图1、图2所示。可知A组和B组双菌种在接种混合比值为1.5和4附近时粗蛋白含量最高,即1.5和4为此两组双菌种的较佳接种混合比值。

2.2 3个菌种最佳接种混合比的确定

将产朊假丝酵母和绿色木霉两菌种按1.5的比值作为一个整体,再将这个整体与果酒酵母相比,其比值作为横坐标,粗蛋白含量为纵坐标在二元坐标系下作3个菌种的最佳接种混合比实验。其结果如图3所示,可知在比值为3时有最高的粗蛋白含量,即较佳接种混合比为:产朊假丝酵母:绿色木霉:果酒酵母=4.5:3:1。

2.3 4个菌种最佳接种混合比的确定

将产朊假丝酵母和绿色木霉两菌种按1.5的比值作为一个整体,果酒酵母和康宁木霉按4的比值作为一个整体,再将两整体相比,其比值作为横坐标,粗蛋白含量作为

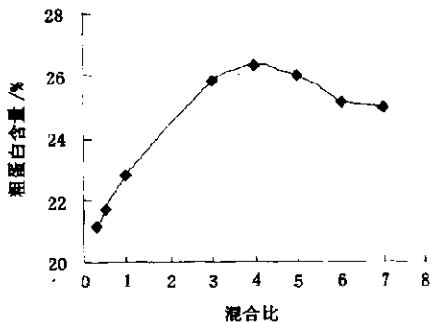
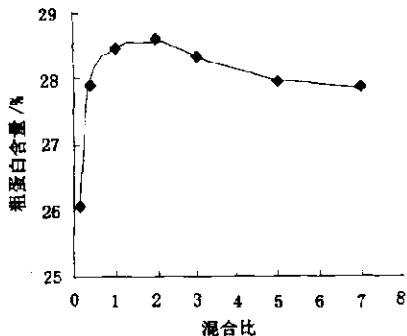


图1 A组双菌种混合接种对粗蛋白含量的影响 图2 B组双菌种混合接种对粗蛋白含量的影响

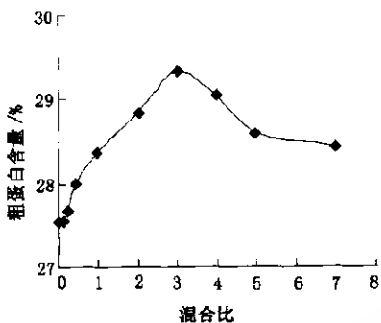


图3 3个菌种混合接种对粗蛋白含量的影响

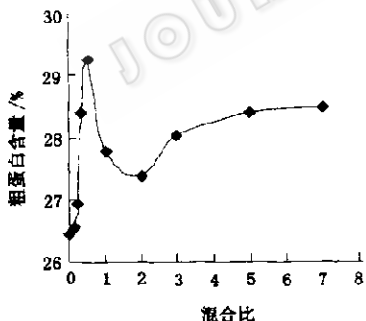


图4 4个菌种混合接种对粗蛋白含量的影响

纵坐标在二元坐标系下作4个菌种的最佳接种混合比实验。结果如图4所示,可知在比值为0.5时有最高的粗蛋白含量,即较佳接种混合比:产朊假丝酵母:绿色木霉:果酒酵母:康宁木霉=1.5:1:8:2。

3 结论

(1) 以苹果渣发酵生产单细胞蛋白为例,通过实验和分析获得了多菌种最佳接种混合比。其方法归纳如下:①进行单菌种试验,确定对目标产物影响的主次关系。②按转化目的产物性质将菌种分类,根据重要性分别组合,利用二元坐标系确定双菌种的最佳接种混合比。③将双菌种按确定的最佳比例作为一个整体,再将这些整体的比值作为横坐标,目标产物的量为纵坐标再在二元坐标系下作变化曲线,从而确定3个菌种和4个菌种的最佳接种混合比。

本方法虽仅是从宏观角度把握混合菌种对提高粗蛋白含量的影响,未考虑菌种之间的微观相互作用,但此方法把诸多菌种联系起来,并兼顾菌种影响的主次关系,以及从工作的烦杂、量大及产业化的迫切性而言,仍不失为一种行之有效的简单方法。同时需指出,由于微生物菌种之间的复杂相互作用及其在发酵过程中的许多不稳定性

因素需要多次重复实验,以得到更可靠的接种比例。

(2) 由实验结果也可以发现,采用多菌种混合发酵未必有特别明显优势:其一使菌种之间的相互作用变得复杂,不利于从微观角度进行研究;其二增加操作工序,增大生产成本,不利于产业化;其三菌种数增多,削弱了菌种优势,容易感染杂菌。因此在研究和产业化过程中应综合考虑,以便取得更优结果。

(3) 以双菌种在二元坐标系下的变化规律为基础, 进行数学模拟并利用偏微分极值关系等从理论角度探索更深层次的菌种间的相互作用。利用生物微量热法从生化反应能量变化的角度寻求菌种间的相互作用关系, 与所得变化规律对照、互补, 进一步完善此类研究。

参 考 文 献

- [1] 周晓云、王飞雁. 中国环境科学, 1998, 18 (3): 223~226.
- [2] 张博润, 刘玉芳, 何秀萍, 等. 微生物学报, 1997, 37 (4): 291~285.
- [3] 吴绵斌, 夏黎明, 虞炳钧, 等. 食品与发酵工业, 2000, 26 (1): 24~27.
- [4] Sandhu D K, Joshi V K. J Sci Ind Res, 1997, 56 (2): 86~90.
- [5] 侯文华, 李政一, 杨力, 等. 环境科学, 1999, 20 (3): 65~67.
- [6] 徐坚平, 刘均松, 孔维, 等. 微生物学通报, 1995, 22 (4): 222~225.
- [7] Zheng Z X, Shetty K. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1998, 46 (2): 783~787.
- [8] Rahmat H, Hodge R A, Manderson G J. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 1995, 11 (2): 168~170.
- [9] 赵启美, 何佳, 李西波, 等. 粮食与饲料工业, 2001, 6: 21~23.
- [10] 殷月兰, 王永坤, 王淑军, 等. 微生物学通报, 2000, 27 (2): 119~123.