

# 甲醇单细胞蛋白研究

蒋德群 朱世琴 张静江 汪崇林 樊小平 张秋华 林佐林 杨坪荣

(山西省生物研究所,太原)

张治忠 余建英

(太原化肥厂)

**摘要** 采用平板分离法,从采集的土样中分离利用甲醇的细菌,经反复筛选,选育出一株较优良菌株,经鉴定为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.), 编号为 15357, 并对该菌的形态、培养及主要生理特征进行了较详细的研究。在 6 升半自动发酵罐里进行发酵试验,甲醇单细胞蛋白的平均得率为 42.4%,从而奠定了该菌的应用前景。

**关键词** 甲醇单细胞蛋白;假单胞菌

山西煤炭资源非常丰富,除供作能源外,还可将煤炭制成甲醇,再用甲醇作原料,通过微生物发酵,生产甲醇单细胞蛋白,弥补我省蛋白饲料的不足,发展山西的畜牧业。

利用甲醇作原料生产单细胞蛋白,国外使用的菌种有细菌和酵母,如英国的帝国化学公司 (ICI)<sup>[1]</sup> 和西德的赫希德-伍德 (Hoechst-Unde) 公司,瑞典的北方蛋白公司<sup>[2,4]</sup>, 甲醇蛋白的得率为 50%<sup>[1]</sup>, 法国泰克尼普 (Technip) 公司为 40%<sup>[4]</sup>, 日本三菱瓦斯化学 (MGC) 公司为 37—38%<sup>[2]</sup>, 中国科学院微生物研究所和北京营养源研究所也都进行了甲醇单细胞蛋白

的研究,其得率为 36.7%<sup>[3]</sup>。在此基础上,我们也进行了甲醇单细胞蛋白的研究。筛选出 15357 号菌,并对该菌的特征进行了较详细的研究,同时探讨了该菌生产甲醇单细胞蛋白的工艺条件,对甲醇单细胞蛋白安全毒理学试验和饲养蛋鸡的应用效果试验等方面也进行了探讨,并取得了较好的结果。本文先介绍菌种筛选及主要生理特征的研究。

## 材料与 方法

1. 菌种分离: 固体平板分离法<sup>[4]</sup>。
2. 培养基成分: 甲醇 2 g (灭菌后冷却至

55℃时加入),硫酸铵 0.75 g,磷酸二氢钾 0.4 g,磷酸 0.15 g,硫酸镁 0.06 g,玉米浆 0.02 g,水 100 ml,琼脂 2 g,调 pH 至 7.2。

结果和讨论

从山西、陕西、河北、河南、山东、内蒙等六省区共采集土样 2147 个,共分离出能利用甲醇的细菌 2466 株,经摇瓶反复筛选,共筛出 10 株优良菌株,其中尤以菌株 15357 号菌性能好,最后选用 15357 号为主要生产用菌。

(一) 15357 号菌形态和培养特征

该菌细胞单个生,杆状,大小为 0.5×1.5 μm,革兰氏染色阴性,端生极毛。

洋菜培养基上,在 30℃ 的温度条件下培养二天,其菌落形态为圆形,表面光滑,菌落凸起,边缘整齐,有水溶绿色素,呈灰色,半透明。并能液化明胶,产荧光色素,发酵葡萄糖产酸,具有氧化酶及接触酶,同化无机氮源而生长。

(二) 15357 号菌主要生理特征实验

1. 最适 pH: 在其它条件相同的情况下,改变培养基内的 pH 值,测定该菌的生长情况,所得结果表明,15357 号菌在 pH 6~10 条件下都能生长,最适 pH 值为 8。

表 1 15357 号菌在不同 pH 值下生长情况

pH	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
OD	0	0	0	1.28	1.54	1.80	1.68	1.34	0	0

2. 氮源种类实验: 以 15357 号菌接种在不同种类的氮源培养基上,测定其生长情况,所得结果表明,该菌能利用硫酸铵、硝酸铵、硝酸钠、碳酸氢铵和尿素。

表 2 15357 号菌在不同氮源下生长情况

氮源种类	硫酸铵	硝酸铵	硝酸钠	碳酸氢铵	尿素
O. D.	1.3	1.3	1.4	1.2	1.3

3. 甲醇、硫酸铵配比实验: 在培养基内其它条件不变的情况下,加入 1% 的甲醇,再改变培养基内硫酸铵的百分含量,经培养 24 小时后,测定该菌的生长情况,所得结果表明,在培养基内甲醇为 1 g 时,硫酸铵为 0.4 g,15357 号

菌生长较好。

4. 甲醇、硫酸镁配比实验: 在 100 ml 培养基内加入 1 g 甲醇,在其它条件不变的情况下,改变硫酸镁的含量,接种 15357 号菌,培养 24 小时后,测定该菌的生长情况,结果表明,在实验条件下,1 g 甲醇作碳源时,只需 0.03 g 硫酸镁就能满足 15357 号菌生长时对镁的需要。

5. 甲醇与磷酸二氢钾的配比实验: 在其它条件不变的情况下,在 100 ml 培养基内加入 1 g 甲醇,再改变培养基内磷酸二氢钾的含量,培养 24 小时后,测定 15357 号菌的生长情况,所得结果表明,在实验条件下,0.4 g 磷酸二氢钾就能满足该菌生长的需要。

6. 甲醇与玉米浆的配比实验: 在其它条件不变的情况下,加入 1 g 甲醇,改变培养基内玉米浆的含量,培养 24 小时后,测定 15357 号菌的生长情况,所得结果表明,微量的玉米浆对该菌的生长有些促进作用,但不明显,在不加玉米浆的培养基内亦可生长。

7. 不同通气量对 15357 号菌生长的影响: 在 250 ml 三角瓶内,以装不同量的培养基,使其达到不同的通气量,接种 15357 号菌,在摇床上振荡 (225r/min) 培养 24 小时后测定该菌的生长情况,所得结果表明,250 ml 三角瓶中装 50 ml 培养基较为适宜。

8. 15357 号菌温度条件实验: 在其它条件不变的情况下,改变培养温度,培养 24 小时后,测定 15357 号菌生长情况。结果表明,该菌在 15—41℃ 的温度条件下都能生长,但较适温度为 35℃。

(三) 15357 号菌在 6 升罐中的甲醇单细胞蛋白的得率

在半自动 6 升玻璃发酵罐内做了 15357 号菌甲醇蛋白得率试验,培养基成分同前,控制条

表 3 15357 号菌甲醇单细胞蛋白得率试验

甲醇量 (g)	20	20	20	20	196	50
菌体重 (g)	6.72	7.99	8.24	9.15	89.8	24
得率 (%)	33.6	40	41.2	45.8	45.8	48

不包括空气带走的甲醇损失

件: pH 7.5, 温度 34℃, 通气培养, 流加营养液, 所得结果表明, 该菌在 6 升玻璃发酵罐内发酵, 甲醇单细胞蛋白的平均得率为 42.4%。

15357 号菌生长最适pH条件为 7—8, 温度 32—35℃, 是好气菌。其生长的营养条件: 甲醇, 硫酸铵, 磷酸二氢钾, 硫酸镁, 玉米浆之比为 1:0.4:0.4:0.03:0.02。利用硫酸铵、硝酸铵、硝酸钠、碳酸氢铵、尿素作为氮源生长。

采用 15357 号菌发酵, 其甲醇单细胞蛋白平均得率为 42.4%, 是有发展前途的甲醇单细胞蛋白菌种。

## 参 考 文 献

- [1] Lichfield, J. H.: *Science*, 219: 740, 1983.
- [2] Teizi Urakami, et al.: *J. Ferment. Technol.*, 61(3): 221, 1983.
- [3] Mogren, H.: *Process Biochemistry*, 3: 2, 1979.
- [4] Ericsson M.: *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 31: 33, 1981.
- [5] Faust, U. et al.: *Dechema monograph*, 33: 125, 1979.
- [6] Hamer, G.: *Biomass from Natural Gas* In: Rose AH (ed) *Economic Microbiology Vol. 4, Microbial Biomass*, Academic Press, 1979.
- [7] 林伯荃等: *微生物学通报*, 10(6): 248—251, 1983。
- [8] James, G. C. et al.: *Microbiology, A Laboratory Manual* Addison-wesley Co., Reading pp. 67—74, 1983.