

# 氯化镁对运动发酵单胞菌乙醇产率及耗糖的影响

彭玉麟 李 宏 薛小梅 史延茂 王 斌 崔慧霄

(河北省科学院生物研究所, 石家庄)

**摘要** 研究了不同氯化镁浓度的合成培养基和复合培养基中, 运动发酵单胞菌的乙醇产量及培养基中的残糖量。结果表明, 在复合培养基和合成培养基中, 乙醇产量最高、残糖量最低的最佳氯化镁浓度分别为  $0.005\text{mol/L}$  和  $0.01\text{mol/L}$ 。

**关键词** 运动发酵单胞菌; 乙醇; 氯化镁

用微生物发酵法生产乙醇, 由于可以利用工农业生产的废弃物而引起人们的重视, 以细菌生产乙醇更是一个新的研究领域<sup>[1-4]</sup>。在许多产乙醇细菌中, 运动发酵单胞菌是较有工业生产潜力的菌种之一。与酵母菌相比, 它生产周期短, 乙醇产率高<sup>[5,6]</sup>, 因此, 引起人们的广泛注意, 并进行了许多研究<sup>[1,3,8]</sup>。

镁离子是许多酶的辅因子, 能增加运动发酵单胞菌的发酵效率, 提高它对糖的耐受力<sup>[9]</sup>。本文研究了不同的氯化镁浓度对在不同葡萄糖浓度中生长的运动发酵单胞菌产乙醇及耗糖的影响。

## 材 料 和 方 法

### (一) 菌株

运动发酵单胞菌 (*Zymomonas mobilis*) LMG 429, 即 ATCC 29501, 比利时根特大学微生物遗传实验室 De. Ley 教授提供。

### (二) 试剂

酵母膏为美国 Sigma 公司产品; 右旋泛酸钙为日本产品; 氯化镁及其余试剂均为国产分析纯。

### (三) 培养基

1. 配制  $1\text{mol/L}$  氯化镁: 取  $101.66\text{g MgCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 加蒸馏水至  $500\text{ml}$ 。

2. 预培养基:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2g, 酵母粉 10g, 泛酸钙  $0.002\text{g}$ , 葡萄糖  $100\text{g}$ , 加蒸馏水至  $1000\text{ml}$ , 用  $\text{NaOH}$  调至  $\text{pH}7.0$ , 灭菌后备用。

3. 复合培养基:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2g, 酵母粉 10g, 泛酸钙  $0.002\text{g}$ , 葡萄糖  $70-300\text{g}$ ,  $\text{MgCl}_2$  按每  $1000\text{ml}$  培养基加  $1\text{mol/L MgCl}_2$  溶液  $0-50\text{ml}$ , 加蒸馏水至  $1000\text{ml}$ , 用  $\text{NaOH}$  调至  $\text{pH}7.0$ , 灭菌后用络合滴定法测定培养基中镁离子的浓度。

4. 合成培养基:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1g, 葡萄糖  $40-70\text{g}$ , 泛酸钙  $0.001\text{g}$ ,  $\text{MgCl}_2$  按每  $1000\text{ml}$  培养基加  $0-50\text{ml } 1\text{mol/L MgCl}_2$  溶液,  $\text{NaCl}$   $0.5\text{g}$ , 加蒸馏水至  $1000\text{ml}$ , 用  $\text{NaOH}$  调至  $\text{pH}7.0$ , 灭菌后用络合滴定法测定培养基中镁离子浓度。

### (四) 培养条件

预培养基中, 葡萄糖浓度为  $100\text{g/L}$ , 接种后, 在  $30^\circ\text{C}$  培养 16 小时, 作液体种菌。发酵实验时,  $10\text{ml}$  螺口试管中装  $7\text{ml}$  培养基, 每管接

感谢河北省科委对这一课题的资助, 课题号 89207901。

种0.25ml液体种菌,30℃静止培养,72小时后取样分析结果。

### (五) 分析方法

1. 葡萄糖用硫酸苯酚法测定<sup>[10]</sup>。
2. 乙醇用气相色谱法测定<sup>[11]</sup> (北京分析仪器厂J-SP2305全型气相色谱仪)。
3. 镁离子浓度用络合滴定法测定<sup>[12]</sup>。

### (六) 实验数据进行方差分析<sup>[13]</sup>

## 结果与讨论

1. 在复合培养基中,不同浓度的氯化镁对乙醇产率的影响:葡萄糖浓度为7%、20%、30%时,加氯化镁与不加氯化镁的培养基相比,乙醇产量与残糖量都有差别,尤其是在30%的糖浓度下,差别更为显著。不加氯化镁时,乙醇产量为3.12g/L,加入0.005mol/L的氯化镁

后,乙醇产量达到11.80g/L,几乎是原来的四倍,残糖量由230.28g/L降到59.55g/L,说明氯化镁可增强运动发酵单胞菌的耐糖力,不但能促进细胞对糖的吸收,而且还可以促进细胞代谢,把更多的糖转化成乙醇。这主要是因为镁离子能增进运动发酵单胞菌细胞膜的稳定性<sup>[9]</sup>,这一点在高糖浓度的培养基中显得更为重要。因为糖浓度高,培养基渗透压大,因此,膜的稳定是十分重要的。

从表1中还可看出,除葡萄糖浓度为7%,氯化镁浓度为0.05mol/L时,残糖量最低(2.17g/L)外,其余情况下,氯化镁浓度均为0.005mol/L时,乙醇产率和残糖量均出现最佳数值。对实验数据进行方差分析表明(表2、3),加入适宜浓度的氯化镁时,对乙醇产量和残糖量的影响都很显著。

表1 氯化镁对运动发酵单胞菌乙醇产量及残糖量的影响

糖浓度(g/L)	产物	乙醇(%)			残糖(g/L)		
		70	200	300	70	200	300
	MgCl <sub>2</sub> (mol)						
	0	3.49	11	3.12	6.94	13.36	230.3
	0.005	3.93	11.75	11.80	5.62	5.46	59.55
	0.01	3.72	—	10.64	4.24	—	71.88
	0.05	2.99	—	3.82	2.17	—	212.67

表2 不同氯化镁浓度对运动发酵单胞菌乙醇产量影响的方差分析

方差来源	7%			20%			30%		
	组间	组内	总和	组间	组内	总和	组间	组内	总和
平方和	2.48	1.20	3.68	1.41	2.01	3.42	151.71	6.1195	157.83
自由度	4	20	24	1	6	9	1	8	9
均方	0.62	0.06		1.41	0.25		151.71	0.765	
F	10.36			5.61			198.3		
显著性	**			*			**		

\* 差异显著; \*\* 差异特别显著

表3 不同氯化镁浓度对运动发酵单胞菌残糖量影响方差分析表

方差来源	7%			20%			30%		
	组间	组内	总和	组间	组内	总和	组间	组内	总和
平方和	81.9	36.7	118.6	156	12.4	168.4	107480	3059	110539
自由度	4	20	24	1	8	9	5	16	19
均方	20.5	1.84		156	1.55		35827	191	
F	11.16			101			188		
显著性	**			**			**		

2. 在合成培养基中, 氯化镁浓度对运动发酵单胞菌乙醇产率的影响: 使用 Sigma 公司生产的酵母膏, 经测定, 其中镁离子含量为 0.00197mol/L。为进一步考虑氯化镁对运动发酵单胞菌的影响, 我们用合成培养基进行了实验。

表4 氯化镁浓度对运动发酵单胞菌乙醇产量及残糖量的影响

MgCl <sub>2</sub> (mol)	产物		残糖(g/L)	
	糖浓度(g/L)			
	乙醇(%)		40	87
	40	87	40	87
0	0.4	0.6	31	68.0
0.005	2.0	2.71	1.3	18.5
0.01	2.4	3.29	0.04	12.5
0.05	2.27	2.67	0.04	28

由表4可以看出, 在葡萄糖浓度为4%和8.7%的合成培养基中, 加与不加氯化镁, 其乙醇产量和残糖量区别更明显。当糖浓度为4%时, 不加氯化镁的培养基其乙醇产量仅为0.4%, 加入0.005mol/L的氯化镁时, 乙醇产量增加到2.0%, 为前者的五倍, 残糖量也由原来的3.1%降到1.3%。而当糖浓度为8.7%时, 加入0.005mol/L浓度的氯化镁时, 乙醇产量比不加者增加近五倍, 残糖量由原来的6.8%降到1.8%。这主要是由于合成培养基中, 除去所添加的氯化镁外, 没有其他来源的镁离子。使用合成培养基时, 最佳氯化镁浓度为0.01mol/L, 乙醇产量最高, 残糖量最少。

实验数据进行了方差分析, 结果见表5、表

表5 不同氯化镁浓度对运动发酵单胞菌乙醇产量影响方差分析表

方差来源	40			87		
	组间	组内	总和	组间	组内	总和
平方和	5.18	0.016	5.2	8.4	0.03	8.43
自由度	1	4	5	1	4	5
均方	5.18	0.004		8.43	0.009	
F	1263			982		
显著性	**			**		

表6 不同氯化镁浓度对运动发酵单胞菌残糖量影响的方差分析表

方差来源	40(g/L)			87(g/L)		
	组间	组内	总和	组间	组内	总和
平方和	1402	0.0003	1402	3894	0.0002	3894
自由度	1	4	5	1	4	5
均方	1402	0.00007		3894	0.00005	
F	2×10 <sup>7</sup>			6×10 <sup>7</sup>		
显著性	**			**		

6。

从实验结果可以看出, 培养基中氯化镁浓度对运动发酵单胞菌有较大影响, 在复合培养基和合成培养基中, 氯化镁浓度分别为0.005mol/L和0.01mol/L时, 能取得较高的乙醇产量和较低的残糖量。

参 考 文 献

1. Jacques C Baratti and JD Bulock: *Biotech. Adv.*, 4: 95-115, 1986.  
2. 草野昭久: *発酵と工業*, 39(7): 25-36, 1981.

3. Murray WD and AW Khan: *Can. J. Microbiol.*, **29**:342. 1983.
4. Sleat R et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **48**: 88—93, 1984.
5. Rogers PL et al.: *Adv. Biochem. Eng.*, 23, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 37—84, 1982
6. 岩本浩明: *発酵と工業*, **39(9)**: 33—38, 1981.
7. 外村健三、築瀬英司: *発酵と工業*, **42**: 180—188, 1984.
8. Swings J and J Deley: *Bacteriol. Rev.*, **41**: 1—46, 1977.
9. Karunakaran T and P Gunasekaran: *current Science*, **55(17)**: 857—859, 1986.
10. Dubois M et al.: *Anal. Chem.*, **28**:350, 1956.
11. 彭玉麟, 史延茂: 河北省科学院学报, **1**: 99—104, 1989.
12. 上海化工学院等: 分析化学, 上册, 131—168 高等教育出版社, 1978.
13. 中国科学院: 常用数理统计方法, 56—62, 科学出版社, 1979.