

产己酸细菌的研究 IV. 产己酸细菌与产甲烷菌的混合培养

梁家源 苏京军 程光胜

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 将克氏梭菌和嗜树木甲烷短杆菌混合培养, 同时用溴代磺酸乙烷抑制甲烷的产生作为对照, 发现己酸产量基本相同, 加入产甲烷菌并未使克氏梭菌的己酸产量有所增加。

关键词 克氏梭菌, 己酸, 产甲烷菌, 混合培养

关于产甲烷菌与产己酸细菌共同培养可增加己酸积聚量的报道, 近年来在国内出版物中有所见。吴衍庸等^[1, 2]曾进行过较多实验研究。本文报道利用由本实验室分离的克氏梭菌 (*Clostridium kluyveri*) 与只利用氢和二氧化碳生长和产甲烷的嗜树木甲烷短杆菌 (*Methanobrevibacter arbophilicum*) 共同培养时己酸积聚的实验结果。

1 材料和方法

1.1 菌株

产己酸细菌克氏梭菌 (*Clostridium kluyveri*) M1 由河南某酒厂窖泥中分离^[3], 产甲烷菌嗜树木甲烷短杆菌 (*Methanobrevibacter arbophilicum*) DSM1125, 由荷兰瓦赫根宁农业大学微生物学系惠赠。

1.2 培养基

本实验室改良的产己酸细菌培养基^[3]; 产甲烷菌培养基成份和制备见文献^[4]。用于克氏梭菌氧化乙醇试验所用的培养基, 除对照外, 不含乙酸。

1.3 克氏梭菌与嗜树木甲烷短杆菌的单独培养

将克氏梭菌与嗜树木甲烷短杆菌分别接种在产己酸液体培养基和产甲烷培养基中, 培养基盛于带丁烯橡胶塞并加螺旋胶盖的厌氧培养管中, 培养 7d。同时取数份分别接种过上述菌种后的液体培养基加入浓度为 1mol/L 的溴

代磺酸乙烷 (BES) 溶液, 使其在培养液中的浓度分别为 10mmol/L 或 50mmol/L 以抑制甲烷的产生, 也培养 7d。

1.4 克氏梭菌与嗜树木甲烷短杆菌混合培养

在盛有 5ml 产己酸液体培养基的带丁烯橡胶塞并加螺旋胶盖的厌氧培养管中, 接种克氏梭菌和嗜树木甲烷短杆菌培养液各 0.5ml; 另取数份经上述接种后的液体培养基加入浓度为 1mol/L 的溴代磺酸乙烷溶液使其在培养液中的浓度分别为 10mmol/L 或 50mmol/L 以抑制甲烷的产生。每个处理同时作两个重复, 置 35℃ 温箱中静止培养 7d 后测定培养液中己酸和甲烷含量。同时以单独接种一种菌的为对照。

1.5 挥发性脂肪酸和甲烷分析

见文献^[5]。

1.6 试剂

化合物均为化学纯, 北京化工厂出品, BES 为 Sigma 公司产品。

2 结果和讨论

测定单独培养 7d 的克氏梭菌培养液的己酸含量, 同时测定在厌氧培养管中培养的嗜树木甲烷短杆菌气相中的甲烷含量。结果表明 (表 1、表 2), BES 不抑制克氏梭菌产生己酸, 但抑制嗜树木甲烷短杆菌产生甲烷。对混合培

养后培养液中挥发酸产量和产甲烷情况的测定结果表明(表 3), 克氏梭菌单独或与嗜树木甲烷短杆菌混合培养 7d 后, 其培养液中总挥发酸和己酸的积累量基本相同。克氏梭菌与嗜树木甲烷短杆菌混合培养没有增加培养液中总挥发酸和己酸的积累量。未经 BES 抑制时, 嗜树木甲烷短杆菌在与克氏梭菌混合培养过程中可产甲烷, 说明克氏梭菌为产甲烷菌提供了合成甲烷所需要的氢。但混合培养后培养液中己酸和总挥发酸的积累量与克氏梭菌单独培养时没有明显差异。表 3 结果还表明, BES 并不抑制克氏梭菌积累己酸和总挥发酸。

表 1 溴代磷酸乙烷对克氏梭菌产生己酸的作用

BES(mmol / L)	己酸含量(g / L)
0(对照)	9.70
10	8.80
50	9.71

表 2 BES 对嗜树木甲烷短杆菌产甲烷的作用

BES(mmol / L)	甲烷含量(%)
0(对照)	48.0
10	0
50	0

表 3 克氏梭菌(M1)与嗜树木甲烷短杆菌(DSM1125)混合培养液中挥发性脂肪酸含量和产甲烷情况

	M1	M1+	M1+	M1+DSM
		BES	DSM1125	1125+ BES
甲烷含量(%)	0	0	19.9	0
己酸(g / L)	8.88	10.02	8.73	8.20
乙酸(g / L)	0.27	0.26	0.34	0.28
丁酸(g / L)	0.60	0.48	0.37	0.43
总挥发酸(g / L)	9.81	10.9	9.44	8.92

克氏梭菌产生己酸, 除需要足够的乙醇外, 还必需有足够的乙酸。为此, 我们试验了克氏梭菌在含有和不含有乙酸或乙醇的条件下产生己酸的情况。结果见表 4、5。

表 4 克氏梭菌(M1)与嗜树木甲烷短杆菌(DSM1125)单独或混合培养发酵乙醇产生挥发性脂肪酸和产甲烷情况

	M1(完全 培养基 中)	无外加乙酸		
		M1	M1+ DSM1125	M1+ DSM1125+ BES
甲烷含量(%)	0	0	5.0	0
己酸(g / L)	7.85	0.94	1.05	0.72
乙酸(g / L)	0	0	0	0
丁酸(g / L)	0.73	0.14	0.07	0.05
总挥发酸(g / L)	8.58	1.09	1.11	0.77

表 5 克氏梭菌 M1 菌株在有或无乙醇培养基中积累挥发性脂肪酸的情况

	完全培养基(对照)	无乙醇培养基
乙酸(g / L)	0.17	3.19*
丁酸(g / L)	0.85	0
己酸(g / L)	12.81	0.70**
总挥发酸(g / L)	13.83	3.89

* 培养基中加入之乙酸; ** 来自接种物中

表 4、5 的结果表明, 乙酸和乙醇两者均为克氏梭菌积累己酸所必需。在无外加乙酸的培养基中克氏梭菌与嗜树木甲烷短杆菌混合培养时, 加入 BES 与否, 己酸的积累也没有明显差异。

参 考 文 献

[1] 吴衍庸, 刘光烨. 酿酒, 1988, 2: 29~32.
[2] 吴衍庸. 生命的化学, 1988, 8(5): 31~32.
[3] 梁家骥, 苏京军, 程光胜等. 酿酒科技, 1994, 4: 67~68.
[4] 钱洋溢. 微生物学报, 1984, 24(2): 99~104.
[5] 梁家骥, 马克森, 苏京军等. 生物工程学报, 1991, 7(4): 365~371.
[6] Gottschalk G. Bacterial Metabolism, 2nd ed. Springer-Verlag, 1986, 234~235.
[7] Iannotti E J., Kapkewitz M J., Wolin M J., et al. J Bacteriol, 1973, 114: 1231~1240.
[8] Wolin M J. Am J Clin Nutr, 1974, 27: 1320~1328.
[9] Bryant M P., Wolin E A., Wolin M J., et al. Arch Microbiol, 1967, 59: 20~31.
[10] Hungate R E. Arch Microbiol, 1967, 59: 158~164.
[11] Schink B. Syntrophism among Prokaryotes. In Balows A et al. The Prokaryotes, 2nd ed. Springer-Verlag, 1992, 276~299.