

亚麻脱胶菌种的选育及脱胶过程的初步研究

江 洁 刘晓兰 郑喜群 夏敬义

(齐齐哈尔大学工学院 齐齐哈尔 161006)

摘要 从沤麻主生物期的水中分离产果胶酶的菌株经初筛、复筛获得了三株专性厌氧细菌,初步鉴定为费氏芽孢杆菌,对其亚麻脱胶性能进行了初步研究,确定人工加菌沤麻的最适工艺条件为:加菌量 2%,加菌时间:沤麻进入主生物期零时,菌株 A 优于其它菌株。结果表明:采用上述工艺进行沤麻实验,可缩短沤麻时间 30%,并可提高麻纤维质量。

关键词 沤麻,果胶酶,亚麻纤维,费新尼亚梭菌

分类号 Q939-97

亚麻是越来越受到人们喜爱的纺织原料之一。我国的亚麻产量仅次于前苏联,位于世界第二。我国亚麻产地主要集中于黑龙江省^[1]。亚麻中有纺织价值的纤维位于其韧皮部内,由果胶及半纤维素等粘性物质与周围组织连结在一起。为了获得可纺纤维,必须进行脱胶。我国主要采用的脱胶方法是温水浸渍法,俗称“沤麻”。此法系麻茎及所用水源中存在微生物的

自然发酵,生产周期长,生产能力低,对自然环境条件依赖性大,获得的麻纤维质量不稳定^[2]。为了对这种传统工艺进行改进,本文研究了人工加菌沤麻法。在五十年代,我国季明时研究员等在这方面曾作过研究,并取得了一定成绩,但未得到广泛应用。在七十年代,重庆麻纺厂

1997-07-18收稿

做过苧麻细菌脱胶试验, 南宁麻纺厂做过红麻活性发酵试验^[3,4]。国外因普遍采用雨露法脱胶对此法研究甚少。

1 材料与方法

1.1 材料

亚麻: 黑龙江省克山县亚麻原料厂提供。

沤麻用水: 取自嫩江。

果胶: 黑龙江省齐齐哈尔红光糖厂提供。

其它试剂均为分析试剂或生化试剂。

1.2 培养基

分离培养基(%): 果胶 3, 蛋白胨 1, NaCl 0.5, 抗坏血酸 0.05, 琼脂 2, pH7.2。

增殖培养基: 营养肉汤培养基^[5]。

斜面培养基(%): 牛肉膏 3, 蛋白胨 1, NaCl 0.5, 抗坏血酸 0.05, 琼脂 2, pH7.2。

种子培养基(%): 牛肉膏 3, 蛋白胨 1, NaCl 0.5, 抗坏血酸 0.05, pH7.2。

1.3 分离方法

1.3.1 初筛: 取主生物期的沤麻水接于增殖培养基中, 32℃, 厌氧培养 3d。然后, 通过适当稀释涂于分离培养基平皿中, 32℃, 厌氧培养 5~6d, 选取菌落周围产生透明圈较大的菌株接入斜面培养基, 32℃, 厌氧培养 5~6d, 用于复筛。

1.3.2 复筛: 将初筛所得菌株再次用分离培养基进行平皿分离, 选取透明圈较大的菌株进行沤麻实验。

1.4 沤麻实验方法

将亚麻原茎剪成 5cm 长, 用线绳扎成小捆, 装入三角瓶中, 浴比 1:10, 采用“两遍半水”沤麻, 32℃, 沤麻终点判断采用感官法^[1], 每隔 4h 判断一次。

斜面种子接入种子培养基中, 32℃, 厌氧培养 3d, 以 2% 接种量接于沤麻主生物期刚开始的沤麻水中。

1.5 测定方法

1.5.1 果胶酶活力测定: DNS 法。

1.5.2 菌体密度测定: 取沤麻液 10ml, 3800r/min 离心 15min, 以上清液作空白, 620nm 波长下测沤麻液光密度值。

1.5.3 pH 测定: PHS-P1 型酸度计测定。

2 结果与讨论

2.1 菌种的筛选

2.1.1 采样: 在显微镜下观察不同时期的沤麻水中的微生物生长情况。结果表明沤麻开始 6~8h 为麻茎的吸水膨胀期, 可溶解的有机质及矿物质从麻茎内部逐步逸到水中, 没有微生物的生长和繁殖; 8~24h 出现了好气细菌类, 典型的为乳酸菌, 利用沤麻水中的水溶性物质发酵, 产生乳酸、氢气及 CO₂ 等, 同时消耗溶氧, 为厌氧性细菌生长创造条件, 此期为前生物阶段; 随后主生物期是果胶分解菌的大量生长繁殖时期, 显微镜下观察主要是芽孢杆菌, 取此时期沤麻水样进行菌种分离。

2.1.2 初筛结果: 在分离培养基平板上根据菌落生长情况及透明圈大小选出 27 个菌株, 镜检为两种芽孢杆菌。

分离培养基以果胶为唯一碳源, 只有产果胶酶的微生物才能在其上生长。菌落周围透明圈大说明此菌产酶能力大。

2.1.3 复筛结果: 对初筛获得的 27 株菌再次进行稀释平板分离, 获得 6 株生长迅速, 菌落周围形成的透明圈较大的菌株。参照《伯杰细菌鉴定手册》^[6]及文献 [1] 对它们进行了初步鉴定, 确定这 6 株专性厌氧菌属梭状芽孢杆菌属, 其中 A、C、I、E 四株为费新尼亚梭菌(费地浸麻梭状芽孢杆菌) (*Clostridium felsineum*); B、D 两株为蚀果胶梭菌(食果胶梭菌) (*Clostridium pectinovorum*)。

把这六株菌分别经种子培养后进行沤麻实验, 结果见表 1。

A、C、I 三株菌在沤麻水中生长繁殖较快, 在沤麻的同一时刻, 菌体密度较大, 因此沤麻周期也相对较短。选择这三株菌做为下步实验用菌。

2.2 加菌沤麻条件的优化

对复筛获得的三个菌株, 为了确定加菌沤麻较适的工艺条件, 进行了三因素三水平正交实验。因沤麻过程中沤麻水中的菌体密度, 果胶酶活

表1 复筛菌株沤麻实验结果

菌株编号	菌体密度(OD_{620nm})	沤麻周期(h)
A	0.839	88
B	0.696	106
C	0.884	84
D	0.635	110
E	0.702	98
I	0.813	92

注: 菌体密度值为菌种加入后32h测得数据

力和沤麻周期三者为正相关, 正交实验中以菌体密度做为考查指标。

表2 $L(3^3)$ 正交实验结果

试验号	菌株种类	加入时间(h)	加入量(%)	OD_{620nm}
1	A	0	2	1.565
2	A	8	5	1.426
3	A	16	10	1.667
4	C	0	5	1.066
5	C	8	10	1.082
6	C	16	0	1.746
7	I	0	10	1.187
8	I	8	0	0.760
9	I	16	5	0.884
K_1	4.658	3.818	4.071	
K_2	3.894	3.268	3.376	
K_3	2.831	4.297	3.936	
R	1.827	1.029	0.695	

注: 加入时间以主生物期开始为零时, OD_{620nm} 值为发酵40h测得数据

从表2中可见: 接种量以10%为宜, 但2%的接种量与之相比效果相近, 考虑到减少种子培养负担, 故接种量定为2%; 接种时间以主生物期开始零时为宜; 菌株以A菌为宜。主要影响因素是菌种加入时间, 其次是菌体加入量, A, C, I三株菌差别不大, 因为此三株菌都是从沤麻水中筛选得到的费新尼亚梭菌。

2.3 沤麻过程中 pH 变化规律

沤麻用水, 其 pH 在7左右。沤麻过程中由于产酸菌发酵产生的乳酸、丁酸等酸类在沤麻水中的积累, 使其 pH 逐渐降低, 在前生物其 pH 下降较快, 到达主生物阶段, pH 下降逐渐缓

慢, 当 pH4.8 左右时, 由于沤麻水的缓冲作用, pH 几乎稳定不变。加菌沤麻与天然沤麻相比, 由于加入菌液后, 沤麻水中所加菌种占优势, 抑制了其它微生物包括产酸菌产酸, 使 pH 偏高。

2.4 沤麻过程中菌体密度变化规律

从图1可见: 菌种加入后, 大约有8h的生长延滞期, 然后进入迅速生长繁殖的对数生长期, 32h后菌体密度达到最大值, 之后进入平稳期, 保持10h左右, 进入衰亡期。此规律与细菌分批培养生长曲线相符^[5]。

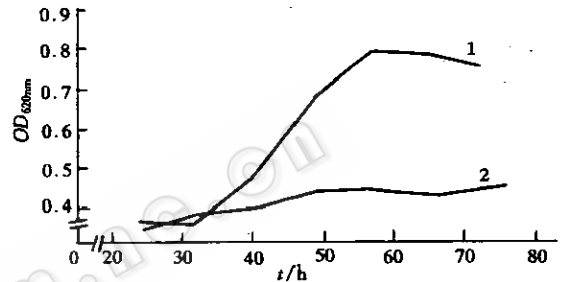


图1 沤麻过程中菌体密度变化规律

1.加菌沤麻 2.天然沤麻

2.5 沤麻过程中果胶酶活力变化规律

从图2可见: 加菌沤麻过程中, 在菌体生长繁殖的平衡期产酶活力达到最大, 并能保持8~10h, 这对分解亚麻原茎中果胶物质十分有利, 使沤麻周期缩短30%左右。

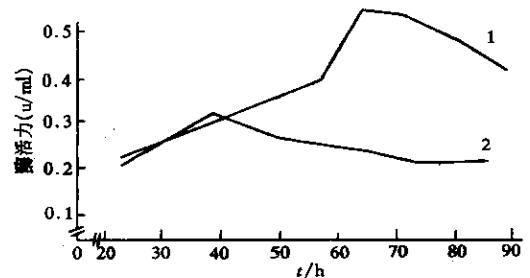


图2 沤麻过程中果胶酶活力变化规律

1.加菌沤麻 2.天然沤麻

通过加菌沤麻法获得的麻纤维颜色较浅。有关衡量麻纤维质量的其它指标: 如麻纤维强度, 麻号等, 有待下一步扩大实验中研究。

参 考 文 献

- [1] 于翠英,夏敬义主编. 亚麻纺纱工艺学. 哈尔滨:黑龙江科技出版社, 1997, 1~69.
- [2] 邵宽. 纺织加工化学. 北京:中国纺织出版社, 1996.
- [3] 重庆麻纺厂,四川省制糖发酵工业研究所. 微生物学通报, 1976, 3(1): 20~22.
- [4] 南宁麻纺厂,广西轻工研究所. 微生物学通报, 1975, 2(2): 15~16.
- [5] 无锡轻工学院.《微生物学》,北京:中国轻工业出版社, 1992. 3, 212~213, 596.
- [6] R.E.布坎南, N.E.吉本斯等. 伯杰细菌鉴定手册(第八版). 北京:科学出版社, 1984. 777.

SCREEN THE MICROBES OF FLAX RETTING

Gang Jie Liu Xiaolan Zheng Xiqun Xia Jingyi

(Qiqihar Light Industry Institute, Qiqihar 161006)

Abstract the process of screening anaerobic bacteria of high production of pectinase in the retting of flax stem was introduced, and the method of adding bacteria to the retting flax stem was studied. The better inoculum size is 2%, The inoculating time is at the anaerobic bacteria in retting flax stem quickly growing. The bacteria A is the best to retting flax, which can reduce the retting time by 32%, and improve the quality of the flax fibre.

Key words retting flax, pectinase, flax fibre, *Clostridium felsineum*.