

会员登录

用户名:

密码:

验证码: 3828

登陆 注册

相关文章

- 纤维素酶对甘蔗梢青贮品质的...
- 不同瘤胃调控剂对日粮粗纤维...
- 餐厨废弃物生产微生物蛋白饲...
- 固态发酵啤酒糟生产饲用木聚...
- MB22木聚糖酶发酵条件的研究...
- 转基因技术及其应用

合作伙伴



枯草芽孢杆菌 DPG-01 液体深层通风发酵的研究



作者:王健华

期号:2007年第12期

摘要 以豆饼粉、玉米淀粉为主要发酵原料,根据摇瓶正交试验结果对枯草芽孢杆菌 DPG-01 在 50 L 全自动发酵罐条件下液体深层通风发酵的规律进行了深入研究,结果表明:在培养基组成为高温豆饼粉 2.2%、尿素 0.1%、玉米浆 0.15%、玉米淀粉 0.85%、磷酸氢二钾 0.3%、磷酸二氢钾 0.15%、硫酸镁 0.1%、硫酸锰 0.02%、消泡剂 0.3%、pH 值 7.5 (消前) 及培养条件为装填系数 60%、温度 37 °C、风比 1: 0.5、罐压 0.05 MPa、搅拌转速 210 r/min、发酵周期 36 h 条件下,发酵水平达到 1.2×10^{10} CFU/ml,芽孢形成率达到 95%。

关键词 枯草芽孢杆菌; 发酵; 微生态
中图分类号 S852.6

抗生素作为饲料添加剂存在的问题主要表现在两个方面:一是抗生素残留污染肉、蛋、奶;二是抗菌素抑制和杀灭肠道内的有益菌群,造成肠道正常菌群生态失调,导致疫病的发生,出现二重感染,有害于人畜健康。微生态制剂用于畜禽养殖业可以有效解决以上问题,目前该产业正在迅猛发展。

应用于微生态添加剂的微生物主要包括芽孢菌类、乳酸菌类和酵母菌类,芽孢杆菌以枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌为主。目前国内枯草芽孢杆菌制剂多采用固体发酵方式进行生产。固体发酵具有设备投资低、工艺流程简单等特点,但固体发酵存在过程控制困难、容易出现污染(尤其是遭受噬菌体污染)等,严重影响生产水平和产品质量。

本文在摇瓶正交试验的基础上,对枯草芽孢杆菌 DPG-01 在 50 L 全自动发酵罐条件下液体深层通风发酵的规律进行了研究,发酵水平达到 1.2×10^{10} CFU/ml,从而为有效降低生产成本奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

枯草芽孢杆菌 DPG-01 (*Bacillus subtilis*) 由河北大学生命科学院提供。

1.1.2 培养基

分离培养基: 马铃薯淀粉 2%、蛋白胨 1%、氯化钠 0.5%、琼脂 2%, pH 值 7.0, 表压 1 kg/cm² 下灭菌 30 min。

斜面培养基: 牛肉膏 1%、蛋白胨 1%、氯化钠 0.5%, pH 值 7.0。

液体种子培养基: 葡萄糖 5%、牛肉膏 1%、蛋白胨 1%、氯化钠 0.5%, pH 值 7.0。

液体深层通风发酵培养基: 高温豆饼粉 2.2%、尿素 0.1%、玉米浆 0.15%、玉米淀粉 0.85%、磷酸氢二钾 0.3%、磷酸二氢钾 0.15%、硫酸镁 0.1%、硫酸锰 0.02%、消泡剂 0.3%, pH 值 7.5 (消前)。

1.1.3 仪器设备

生化培养箱: HPS-250 生化培养箱, 由哈尔滨东联电子技术开发有限公司生产。

摇床: HZQ-Q 振荡器, 由哈尔滨东联电子技术开发有限公司生产。

液体深层通风发酵罐: GUJS-50AUTOBIO2000 型 50 L 全自动机械搅拌发酵罐, 由镇江东方生物工程设备技术有限公司生产。

生物显微镜: Leica BME 生物显微镜, 由上海徕卡显微系统有限公司生产。

分光光度计: Spectrum WFJ72 可见分光光度计, 由上海光谱仪器有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 菌种的制备

① 将枯草芽孢杆菌 DPG-01 保藏菌种转接于新鲜试管斜面, 37 °C 培养 24 h。

② 分离培养基采用平板稀释涂布分离法对菌种进行分离、纯化, 筛选出的单菌落转接于新鲜试管斜面, 37 °C 培养 24 h 备用。

③ 500 ml 三角瓶装入 100 ml 液体种子培养基, 121 °C 灭菌 30 min, 接入以上培养好的菌种一接种环, 温度 37 °C, 在转速为 210 r/min 摇床上震荡培养 16 h。

1.2.2 发酵

① 50 L 全自动发酵罐中装入发酵培养基, 消前体积 25 L (消后 30 L), 121 °C 灭菌 30 min。

② 按 1% 接种量接入液体菌种 300 ml。

③ 发酵条件控制, 温度 (37 ± 0.5) °C, 风比 1: 0.5, 搅拌转速 210 r/min, 罐压 0.05 MPa。

④ 每 2 h 无菌取样进行以下项目检测: 生物量、pH 值、镜检、还原糖含量、氨基氮含量。

1.2.3 生物量测定

采用浊度法以 OD 值间接测定生物量: 取 1 ml 样品并用蒸馏水稀释 10 倍, 分光光度计 600 nm 以蒸馏水做参比测定吸光度。

1.2.4 还原糖含量测定

采用 DNS (3,5-二硝基水杨酸) 法测定还原糖含量。

1.2.5 氨基氮含量测定

采用甲醛滴定法测定氨基氮含量。

1.2.6 活菌总数测定

采用平板涂布法测定活菌总数。

2 结果与分析

2.1 液体深层发酵过程中 pH 值的变化 (见图 1)



图1 发酵过程中pH值的变化

由图1可见，pH值呈现先降后升的规律，pH值在8 h达到最低点（5.78），此后pH值逐渐回升，36 h到达最高点(8.71)。
2.2 液体深层发酵过程中OD值的变化（见图2）

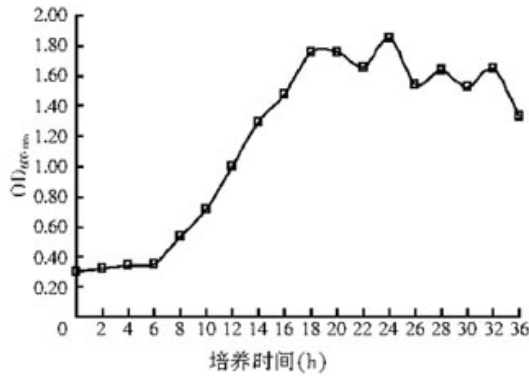


图2 发酵过程中OD值的变化

由图2可见，0~6 h为延迟期，6~18 h为对数期，18~32 h为稳定期，32 h以后为衰亡期。
2.3 液体深层发酵过程中还原糖含量的变化(见图3)

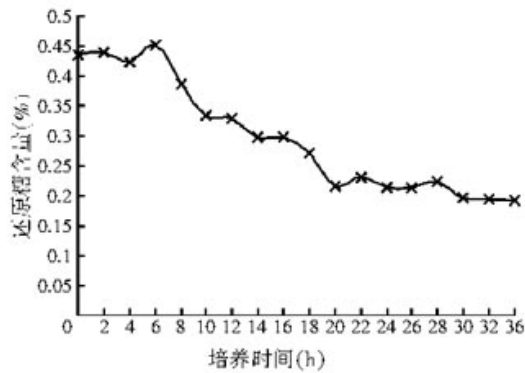


图3 发酵过程中还原糖含量的变化

由图3可见，0~6 h菌体处于延迟期，还原糖含量变化不大；6~18 h菌体生长进入对数期，还原糖大量消耗；18 h以后还原糖数值趋于稳定。

2.4 液体深层发酵过程中氨基氮含量的变化(见图4)

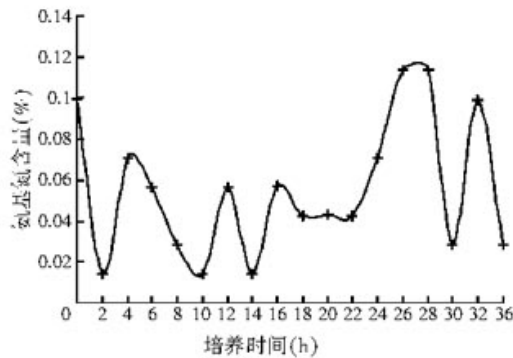


图4 发酵过程中氨基氮含量的变化

由图4可见，氨基氮含量在整个发酵过程中呈现波浪状变化规律，分析其原因可能是由于菌体生长过程中受代谢调控作用影响，胞外酶分泌不断变化，同时氨基氮又被菌体生长繁殖所利用，在两种因素的共同作用下而引起氨基氮含量呈波浪状变化规律。

2.5 液体深层发酵过程中芽孢形成率的变化(见图5)

由图5可见，发酵20 h时菌体开始形成芽孢，此时正是菌体生长进入稳定期；30 h时芽孢形成率达到80%左右；32 h时达到最高值95%左右，此时停罐对于枯草芽孢杆菌微生态产品生产是最为有利的。

图5 发酵过程中芽孢形成率的变化

3 讨论

发酵液可以达到的有效活菌总数对于微生态产品生产意义重大,不但直接影响生产成本,而且对产品质量及实际使用效果起着至关重要的作用。本文以豆饼粉、玉米淀粉为主要发酵原料,根据摇瓶正交试验结果得到的最优化培养基配比,对枯草芽孢杆菌DPG-01在50 L全自动发酵罐上进行的液体深层通风发酵试验表明:发酵水平达到 1.2×10^{10} CFU/ml时,芽孢形成率达到95%。

液体深层通风发酵液采用超滤工艺浓缩,然后加入淀粉做为载体,干燥后浓缩菌剂有效活菌总数达到 2×10^8 CFU/g以上,成品室温保存18个月,活菌保存率为82%。

可见,采用液体深层通风发酵生产微生态产品,发酵水平较高且生产稳定,发酵液经后提取成品质量很好,是值得推广的发酵方法。

参考文献

- 1 诸葛健,王正祥.工业微生物实验技术[M].轻工业出版社,1994
- 2 何明清主编.动物微生态学[M].中国农业出版社,1994.8
- 3 周德庆著.微生物学教程[M].高等教育出版社,1996.4
- 4 何明清,甘孟侯,王永坤等主编.动物微生态进展[M].中国农业出版社,2000.3
- 5 陈坚,李寅著.发酵过程优化原理与实践[M].华学工业出版社,2002

(编辑:高雁, snowyan78@tom.com)

...评论...

发表
评论

*40字以内

提交

重置

[关于我们](#) | [网站导航](#) | [友情连接](#) | [联系我们](#) | [会员须知](#) | [广告服务](#) | [服务条款](#)

版权所有:饲料工业杂志社 Copyright © [Http://www.feedindustry.com.cn](http://www.feedindustry.com.cn) 2004-2005 All Rights 辽 ICP备05006846号

饲料工业杂志社地址:沈阳市皇姑区金沙江街16号6门 邮编:110036 投稿:E-mail:tg@feedindustry.com.cn 广告:E-mail:ggb@feedindustry.com.cn

编辑一部:(024)86391926(传真) 编辑二部:(024)86391925(传真) 网络部、发行部:(024)86391237 总编室:(024)86391923(传真)