



- [设为首页](#)
- [加入收藏](#)
- [联系我们](#)
- [投稿须知](#)

2008年3月5日星期三

[网站首页](#)[同兴广告](#)[企业名录](#)[行业资讯](#)[技术文章](#)[网络刊物](#)[在线订购](#)[编读互动](#)

站内搜索:

类别:

全部类别



全部范围



搜索



点击下载读者调查表

会员登录

用户名:

密码:

验证码:

 9668

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...
- 餐饮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℃、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死肠道内的有益菌群,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℃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）

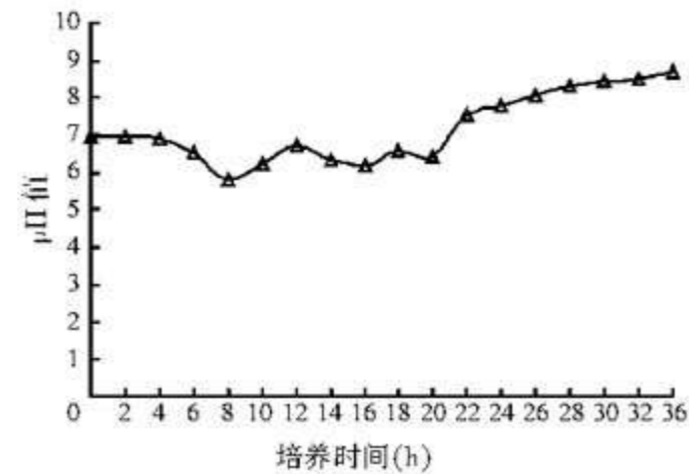


图1 发酵过程中 pH值的变化

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）

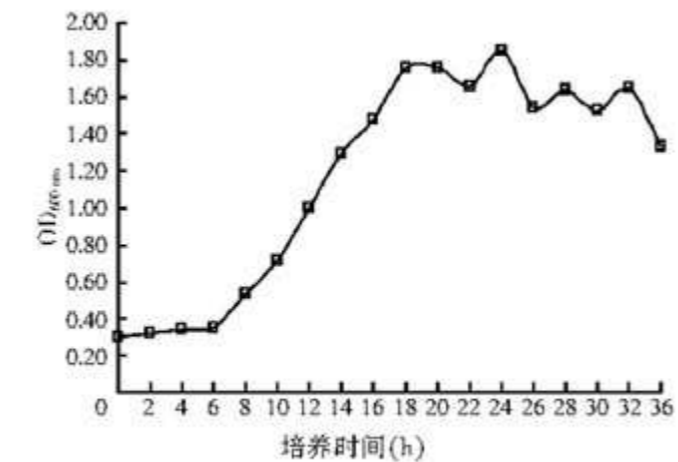


图2 发酵过程中 OD 值的变化

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)

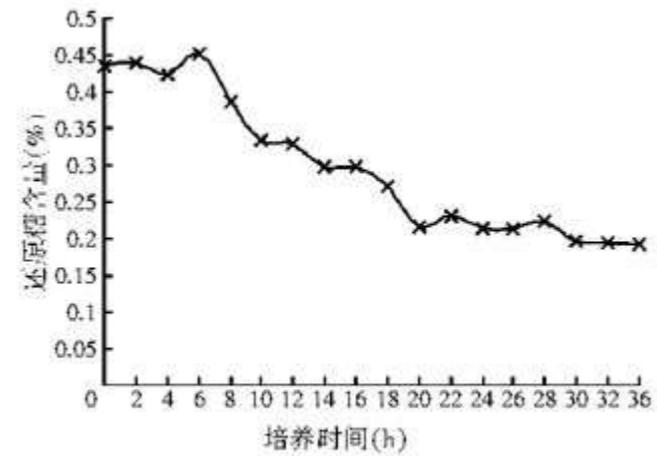


图3 发酵过程中还原糖含量的变化

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)

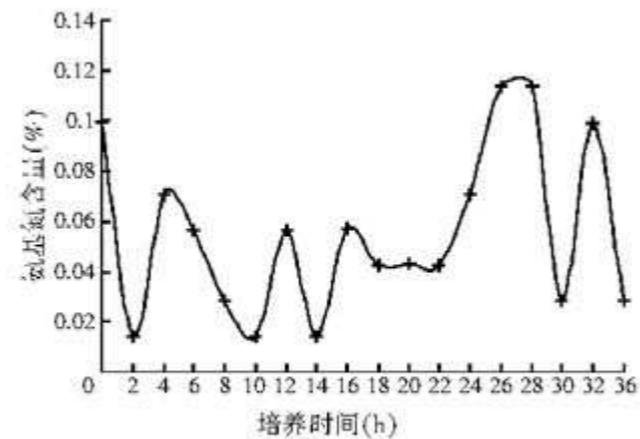


图4 发酵过程中氨基氮含量的变化

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。

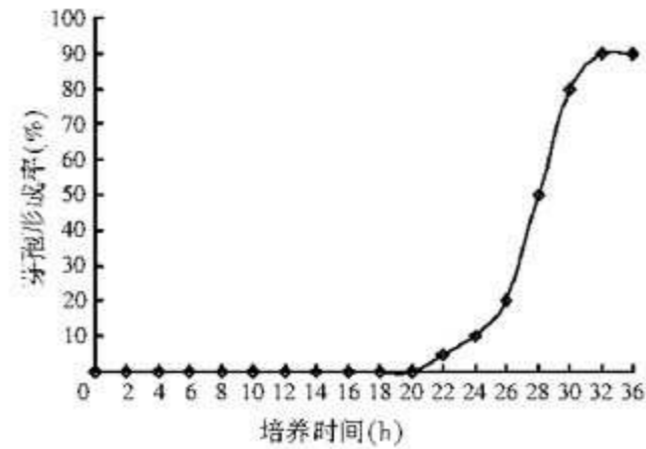


图5 发酵过程中芽孢形成率的变化

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%。

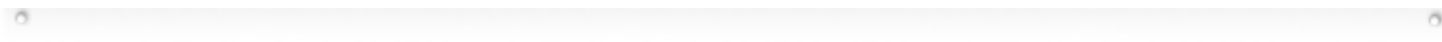
液体深层通风发酵醪液采用超滤工艺浓缩,然后加入淀粉做为载体,干燥后浓缩菌剂有效活菌总数达到 2×10^8 CFU/g以上,成品室温保存18个月,活菌保存率为82%。

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)