

# 厌氧、还原剂和氧气对运动发酵单胞菌生长的影响

马 钰

(河南大学生物工程系,开封 475001)

Bettie A. Duncan

(匹斯堡州立大学生物系,美国 匹斯堡)

**摘要** 研究了厌氧、加还原剂和好氧条件下运动发酵单胞菌 ATCC 29192 和 ATCC 35000 的生长速率及生长量。在复合培养基不加还原剂的厌氧条件下,生长速率最高,29192 和 35000 分别为  $0.309\text{h}^{-1}$  和  $0.472\text{h}^{-1}$ 。29192 对还原剂和氧气比 35000 更为敏感。结果表明,还原剂还原力愈强,抑制生长的效应愈强;还原剂随浓度升高,毒性亦增强。

**关键词** 运动发酵单胞菌,还原剂,生长速率

运动发酵单胞菌发酵糖类产生乙醇,以其更高的代谢速率、产物转化率和更低的菌体生成量等优于传统的酵母菌生产酒精<sup>[1]</sup>,因而引起了人们广泛深入的研究,是近年来正在开发的工业生产菌<sup>[2-4]</sup>。

氧化还原电位是影响微生物生长繁殖的重要环境因素之一。有证据表明细胞膜上的某些运输蛋白和细胞内许多反应的酶含有对氧化还原电位敏感的二硫基<sup>[5]</sup>。Vore 报道说低浓度的半胱氨酸、抗坏血酸和硫化钠等还原剂能提高运动发酵单胞菌 ATCC 10988 的生长速率<sup>[6]</sup>。本文报道通气、厌氧和添加还原剂对于 ATCC 29192 和 ATCC 35000 生长速率和生长量的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 菌种来源

运动发酵单胞菌 (*Zymomonas mobilis*) ATCC 29192 和 ATCC 35000,由美国匹斯堡州立大学生物系微生物实验室提供,使用仪器、试剂和培养基等均由该实验室提供。

### 1.2 试剂、培养基及培养条件

试剂:氮气,二硫苏糖醇,半胱氨酸,抗坏血酸,硫化钠,葡萄糖,蛋白胨和酵母粉等。

培养基及培养条件:液体复合培养基

(GPY,%):葡萄糖 2,蛋白胨 1,酵母粉 1,蒸馏水配制,pH 自然, $0.55 \times 10^5\text{Pa}$  灭菌 15min。

将冰箱保藏的液体菌种以 10% 接种于 GPY 培养基中于  $30^\circ\text{C}$  温箱培养 16--20h 后作液体菌种,以 10% 接种量加入含有 800ml GPY 培养基的 1L 发酵瓶中, $30^\circ\text{C}$  培养,每隔一小时取样测定  $\text{OD}_{620\text{nm}}$ 、pH 和  $E_h$ 。 $E_h$  按下列公式计算:

$$E_h = E_h + 59 (\text{样品 pH}7.0)^{[7]}$$

干燥氮气通过  $350^\circ\text{C}$  纤细铜丝网脱氧,通气量为每分钟 500ml。好氧培养以无菌空气代替氮气。发酵瓶内利用上升气流带动发酵液上下循环流动。

## 2 结果

实验结果概括于表 1 中。

实验结果表明:

(1) 在不加任何还原剂的严格厌氧条件下,菌株 29192 和 35000 生长速率最高,分别为  $0.309\text{h}^{-1}$  和  $0.472\text{h}^{-1}$ 。

(2) ATCC 29192 对这几种所用的还原剂和氧气远较 ATCC 35000 敏感的多,也就是说,35000 表现出更强的耐受性。

本文系美国匹斯堡州立大学硕士论文部分内容  
1994-08-08 收稿

表1 厌氧、还原剂和氧气对 ATCC 29192和35000生长的影响

处 理	起始 Eh <sub>2</sub> (mv)		延迟期 (h)		对数期 (h)		生长量 (OD)		生长速率 (h <sup>-1</sup> )	
	29192	35000	29192	35000	29192	35000	29192	35000	29192	35000
脱氧氮气 (N <sub>2</sub> )	-153	-195	0-1	0-1	1-10	1-7	1.41	1.51	0.309	0.472
0.05% 二硫苏糖醇+N <sub>2</sub>	-410	-435	0-2	0-1	2-13	1-8	1.08	1.50	0.201	0.371
0.025% 半胱氨酸+N <sub>2</sub>	-297	-311	0-1	0-1	1-10	1-7	1.36	1.50	0.288	0.468
0.075% 半胱氨酸+N <sub>2</sub>	-300	-319	0-2	0-1	2-11	1-7	1.32	1.52	0.283	0.465
0.02% 抗坏血酸+N <sub>2</sub>	-201	-225	0-1	0-1	1-10	1-7	1.37	1.53	0.301	0.465
0.2% 抗坏血酸+N <sub>2</sub>	-273	-277	0-2	0-1	2-11	1-7	1.30	1.52	0.266	0.456
0.025% 硫化钠+N <sub>2</sub>	-363	-362	0-4	0-1	4-13	1-8	1.32	1.60	0.299	0.436
0.075% 硫化钠+N <sub>2</sub>	-378	-379	0-4	0-2	4-13	2-9	1.30	1.38	0.259	0.405
无菌空气	-11	-42	0-2	0-1	2-15	1-8	1.40	1.80	0.231	0.436

(3) 在好氧条件下, 29192 生长速率约下降 25%, 延迟期增加 1h, 对数期延长 4h, 而生长量基本不变。但氧气对 35000 的生长速率仅有微弱影响, 仅对数期延长 1h, 而且生长量高于厌氧发酵。

(4) 所用的还原剂对生长的抑制效应和其氧化还原电位之间表现出大体上的相关性。还原力愈强, 氧化还原电位愈低, 对生长的毒性亦强。按氧化还原电位由高到低依次为: 抗坏血酸→半胱氨酸→硫化钠→二硫苏糖醇。因此, 二硫苏糖醇和硫化钠毒性最强, 半胱氨酸次之, 抗坏血酸毒性最弱。值得注意的是, 二硫苏糖醇主要影响对数期, 使生长速率下降, 而硫化钠则作用于延迟期, 表现为抑制生长的启动, 比如 29192 的延迟期为 4h。

(5) 同一种还原剂随浓度升高, 抑菌作用增强, 即对生长的毒性愈强。

(6) 在这四种还原剂中, 抗坏血酸还原力太弱, 二硫苏糖醇和硫化钠毒性过强, 唯有半胱氨酸是最理想的还原剂。0.025% 的半胱氨酸既能明显降低和稳定发酵液的氧化还原电位, 又不表现出较强的抑菌效应, 在需要降低和稳定氧化还原电位的试验时, 是较理想的选择。

### 3 讨论

运动发酵单胞菌属只有一个种, 即运动步

酵单胞菌, 该种仅有两个亚种, 29192 和 35000 分属这两个亚种。因此, 这两个菌株对还原剂和氧气的明显不同的耐受性可能是亚种水平上的区别, 因为这两个亚种有着明显不同的基因组<sup>[2]</sup>。试验所用的还原剂对生长的抑制效应究竟是还原剂本身的毒性产生的, 还是由于被降低的氧化还原电位引起的, 需待进一步阐明<sup>[7]</sup>。另外, 通气培养对生长的抑制作用是因氧气的直接作用(毒性自由基和过氧化物), 还是由于升高的氧化还原电位所致, 也值得进一步探讨<sup>[6-8]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] 周德庆. 微生物学教程, 北京: 高等教育出版社, 1993, 132.
- [2] Swings J, DeLey J. *Bacteriol Rev*, 1977, 41:1-46.
- [3] Montencourt B S. *Biology of industrial microorganisms*, Benjamin-Cummings Publishing Co., 1985. 261-289.
- [4] Swings J, DeLey J. *Bergy's Manual of Systematic Bacteriology*, volume 1, 1984, 576-580.
- [5] Vore Roy D, Dwinght Taiburt. *Archives in Microbiology*, Chapter 2, 1992.
- [6] Bringer S, Finn R K, Sahm H. *Arch. Microbiol.* 1984, 139: 376-381.
- [7] Waldea W C, Hentges D J. *Appl Microbiol.* 1975, 30: 781-785.
- [8] Belaich J P, Senez J C. *J Bacteriol.* 1965, 39: 1195-1200.
- [9] Robillard G T, Konings W N. *Biochemistry*, 1981, 20: 5025-5032.

(下转第 266 页)

# EFFECTS OF STRICT ANAEROBIC CONDITIONS, REDUCING AGENTS, AND AERATION ON GROWTH OF *ZYMOMONAS MOBILIS*

Ma Yu

(Department of Biotechnology, Henan University, Kaifeng. 475001)

Bettie A. Duncan

(Department of Biology, Pittsburg State University, Pittsburg, Kansas, USA)

**Abstract** This research investigated the effects of anaerobic conditions, reducing agents and aeration on *Zymomonas mobilis* ATCC 29192 and ATCC 35000. In stirred batch cultures with a 2% glucose, 1% peptone, and 1% yeast extract medium sparged with nitrogen, 29192 and 35000 had greatest growth rates of 0.309/h and 0.472/h, respectively. 29192 was more sensitive towards the reducing agents and oxygen than 35000. The stronger the reducing power, the more inhibitory the agent was. These agents tested caused varying degrees of toxicity. Higher levels of agents were always more toxic.

**Key words** *Zymomonas mobilis*, Redox Potential, Reducing Agents, Growth Rates.