

# 含葡萄糖培养基高温灭菌后糖组分的变化及对丙氨酸发酵的影响

秦 晴

(安徽丰原发酵技术工程研究有限公司, 安徽 蚌埠 233010)

**摘要:** 研究了葡萄糖浓度、pH对葡萄糖溶液高温灭菌后糖组分的影响, 并考察了糖组分变化对丙氨酸发酵的影响。结果表明, 葡萄糖在高温灭菌过程中有异构成果糖和聚合成聚合糖的趋势; pH是影响葡萄糖异构成果糖的主要原因, pH低于5.5可有效防止葡萄糖的异构化; 糖浓度是影响葡萄糖聚合的主要原因; 糖分的变化影响丙氨酸菌体对糖的利用速度, 从而影响发酵速率。

**关键词:** 葡萄糖; 灭菌; 糖组分; 丙氨酸; 发酵

**中图分类号:** Q93-33 **文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2017)06-0013-03

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2017.06.005](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2017.06.005)

在微生物培养过程中, 葡萄糖是较为常用的碳源之一。但是, 葡萄糖与氨类物质在高温灭菌时会发生美拉德反应, 使培养基产生有害色素, 不利于微生物的培养<sup>[1]</sup>, 因此一般培养基中的葡萄糖都要求单独灭菌, 温度控制在115℃, 灭菌时间控制在20 min以内, 但即使如此, 葡萄糖溶液灭菌后依然会变色。仪宏等<sup>[2]</sup>曾对含糖培养基高温灭菌变色及其防范措施进行了研究, 以消除变色对微生物培养的影响。但含糖培养基高温灭菌后除产生色素外, 其糖组分发生的变化, 以及这种变化对发酵产生的影响未见报道, 笔者对此

进行了探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 葡萄糖的配制及糖组分的检测

分别配制不同浓度的葡萄糖, 用磷酸或氢氧化钠调节pH, 121℃灭菌20 min。采用高效液相色谱法测定糖组分含量: Agilent 1200液相色谱(配示差检测器), 流速0.5 mL/min, 柱型号Aminex HPX-87H, 柱温60℃, 检测器温度35℃, 进样量20 μL。

### 1.2 丙氨酸菌种、培养基及培养方法

1.2.1 菌种 大肠杆菌基因重组菌, 由安徽丰原

收稿日期: 2017-04-11

作者简介: 秦 晴(1984—), 女, 安徽蚌埠人, 硕士, 工程师, 主要从事微生物发酵工作。E-mail: 65791766@qq.com。

## 4.2 栽培要点

陇东南地区于2月中旬育苗, 采用营养钵或穴盘育苗时用种量1 125 g/hm<sup>2</sup>左右。播种前对种子进行温汤浸种和催芽, 苗龄70 d左右。定植前施足底肥, 施优质农家肥60~75 m<sup>3</sup>/hm<sup>2</sup>后深翻30 cm并整平。结合起垄条施普通过磷酸钙750 kg/hm<sup>2</sup>、硫酸钾225 kg/hm<sup>2</sup>、尿素225 kg/hm<sup>2</sup>, 按垄距1 m起垄覆膜。5月上旬(晚霜过后)定植, 按穴距33 cm每垄定植2行, 每穴2株, 座水栽苗。定植后及时中耕培土, 果实开始膨大后依据土壤墒情浇水, 尽量小水勤浇, 使土壤保持湿润状态。及时防治疫病、病毒病、炭疽病和蚜虫、白粉虱、蓟马等。果实充分红熟后采收制干。

## 参考文献:

[1] 卢子明, 逯建平, 赵贞祥, 等. 旱地辣椒栽培模式研

究[J]. 干旱地区农业研究, 2011, 29(5): 38-44.

[2] 李红霞, 李珂璟, 张国和, 等. 甘肃省甘谷县辣椒产业化发展规划研究[J]. 中国农业资源研究与规划, 2014(6): 145-149.

[3] 卢子明, 张二喜, 孙 晶, 等. 辣椒新品种天椒9号选育报告[J]. 甘肃农业科技, 2014(12): 8-9.

[4] 蒋进宝. 甘谷县辣椒新品种引进试验报告[J]. 农业科技与信息, 2015(7): 56-58.

[5] 赵贞祥, 张二喜, 杨永岗, 等. 旱地辣椒新品种筛选和适应性试验[J]. 中国园艺文摘, 2012(9): 1-4.

[6] 赵贞祥, 杨永岗, 张二喜, 等. 旱地辣椒栽培中密度、氮、磷及钾肥因子的优化 [J]. 土壤, 2013(4): 628-632.

[7] 卢子明, 张二喜, 赵贞祥, 等. 甘谷县线椒全膜双垄沟播栽培技术[J]. 甘肃农业科技, 2012(1): 51-53.

(本文责编: 郑立龙)

发酵技术工程研究有限公司提供。

1.2.2 培养基 种子培养基：玉米浆干粉 10 g/L，复合氮素 5 g/L。发酵培养基：葡萄糖 130.0 g/L， $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0 g/L， $\text{K}_2\text{HPO}_4$  2.0 g/L， $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  5.0 g/L， $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.5 g/L， $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.2 g/L， $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.2 g/L， $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.2 g/L， $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  0.2 g/L， $\text{ZnCl}_2$  0.2 g/L。

1.2.3 培养方法 将培养好的种子按 8% 的接种量接种于发酵培养基中。发酵采用 50 L 发酵罐，装液量 70%，转速 350 r/min，罐压 0.01 MPa，厌氧发酵，全程流加氨水控制 pH 6.9，当氨水不再消耗时结束发酵。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度葡萄糖灭菌后糖组分的变化

配制不同浓度的葡萄糖，调节 pH 为 7.0，121 °C 灭菌 20 min，取样采用高效液相色谱测定糖组分，其中聚合糖为二糖、三糖、四糖的总和。由表 1 可以看出，葡萄糖浓度的变化对果糖含量的变化未见显著影响，但对聚合糖含量的影响较大，随着葡萄糖浓度的提高，聚合糖含量也在不断上升。

表 1 不同浓度葡萄糖灭菌后的糖组分 %，w/v

葡萄糖配制浓度	葡萄糖	果糖	聚合糖
10	7.6	2.0	0.20
20	17.0	2.1	0.83
30	26.4	2.2	1.50
40	35.5	2.1	2.00
50	45.5	2.0	2.40
60	55.5	2.0	2.80

### 2.2 糖组分变化对丙氨酸发酵的影响

丙氨酸发酵培养基灭菌前，一次性加入葡萄糖并与氨类培养基分开灭菌。葡萄糖的配制浓度约 13%。发酵过程中流加氨水控制 pH，当氨水不再消耗时放罐。

以消前自然 pH 6.5 的培养基为对照组，以消前调 pH 5.5 的培养基为试验组，比较发酵结果。从表 2 可以看出，试验组与对照组相比的最大优势在于明显缩短了发酵周期（缩短了 15 h）。

有研究发现，pH 是葡萄糖高温变色的主要原因，pH 低于 5.5 可以有效防止色素的产生<sup>[2]</sup>，色

素对发酵不利。为了排除色素对发酵的影响，笔者对比了对照组和试验组培养基中的残糖。在发酵 30 h 时，对照组和试验组培养基中葡萄糖几乎已经全部利用完，但在对照组中尚残留 1.8% (w/v) 的果糖，在发酵终点时果糖几乎检测不到。可见，丙氨酸发酵中菌体优先利用葡萄糖，然后利用果糖，且果糖代谢的速度非常慢。由此可知，由于高温灭菌使葡萄糖部分转化成果糖，影响了丙氨酸菌体对糖的利用速率，从而延长了发酵周期。

### 2.3 pH 对糖组分变化的影响

在本研究中，丙氨酸发酵时的糖浓度一般为 13%，因此，以糖浓度为 13% 作为基础，考察不同 pH 对高温灭菌后糖组分的影响。用磷酸调节不同的 pH，于 121 °C 灭菌 20 min，取样采用高效液相色谱测定糖组分。表 3 结果显示，pH 对葡萄糖的异构化产生了较大的影响，当 pH 在 5.5 或以下时，果糖含量极少。pH 的降低可以减少葡萄糖的聚合，但影响并不显著。

配制不同浓度的葡萄糖，pH 调至 5.5，121 °C 灭菌 20 min，取样采用高效液相色谱测定糖组分。从表 4 可以看出，糖浓度显著影响葡萄糖的聚合，但对果糖的产生影响并不明显。

表 3 pH 对高温灭菌后的糖组分的影响 %，w/z

pH	葡萄糖	果糖	聚合糖
5.0	12.99		
5.5	12.90	0.10	0.10
6.0	11.90	1.00	0.19
6.5	11.00	1.80	0.25
7.0	10.50	2.40	0.26
7.5	9.80	3.00	0.26

表 4 pH 5.5 时不同葡萄糖浓度灭菌后组分的变化 %，w/v

葡萄糖配制浓度	葡萄糖	果糖	聚合糖
10	9.7	0.10	0.10
20	19.0	0.12	0.76
30	28.5	0.14	1.40
40	38.0	0.14	1.80
50	47.6	0.15	2.20
60	57.3	0.15	2.50

表 2 糖组分变化对丙氨酸发酵的影响

发酵培养基	发酵周期 /h	丙氨酸含量 /(%，w/v)	转化率 /%	发酵 30 h 残葡萄糖 /(%，w/v)	发酵 30 h 果糖 /(%，w/v)	发酵终点残还原糖 /(%，w/v)
对照组 (pH 6.5)	45	10.1	85.5	0.2	1.8	0.2
试验组 (pH 5.5)	30	10.2	86.0		< 0.1	< 0.1

# 外源添加物对白芍根中 Cd 积累量的影响

王 博

(浙江中医药大学公共科研平台, 浙江 杭州 310053)

**摘要:** 通过人工模拟 Cd 污染土壤, 探究在不同 Cd 浓度和处理时间下白芍根部 Cd 积累的特性, 以及通过添加水杨酸、脱落酸、锌和硅等外源添加物, 对白芍根部 Cd 含量的影响。结果表明, 随着土壤中 Cd 浓度的上升, 根部 Cd 积累量显著上升。水杨酸和脱落酸处理不会降低根部 Cd 含量, 高浓度的锌和硅降低了植株根部 Cd 含量。

**关键词:** 白芍; 镉; 水杨酸; 脱落酸; 外源添加物

**中图分类号:** S567.9

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2017)06-0015-05

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.06.006

## Effects of Exogenous Additives on the Accumulation of Cd in the Roots of *Paeonia lactiflora*

WANG Bo

(Public Scientific Research Platform, Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou Zhejiang 310053, China)

**Abstract:** The Cd accumulation in roots of *Paeonia lactiflora* Pall are studied by simulation of Cd polluted soil in different concentrations and treatment time. It is researched that the exogenous substances, including salicylic acid, abscisic acid, zinc and silicon, influenced on Cd accumulation in roots of *Paeonia lactiflora* Pall. The result shows that the Cd content at roots have a significant improvement with the increasing of Cd content in soil. Among 4 Exogenous additives, the SA and the ABA can not cause the reduce of Cd in roots, the high concentration of the zinc and silicon can reduce the Cd concentration in roots.

**Key words:** *P. lactiflora* Pall; Cadmium; Salicylic acid; Abscisic acid; Exogenous additives

白芍为毛茛科植物, 其入药部位根具有敛阴养血, 收汗缓中、柔肝止痛、平抑肝阳之功效。近年来随着诸如白芍总苷胶囊等一系列中成药的开发和问世, 应用范围愈加广泛。但中药安全性也不容忽视, 尤其重金属污染是目前研究的重点, 《中国药典》专门对白芍中重金属 Cd 限量标准做了

严格规定<sup>[1]</sup>。Cd 是环境中广泛存在且具有潜在毒害作用的重金属污染物之一, 易于被植物吸收积累<sup>[2-3]</sup>。若以 Cd 污染的白芍入药, 会在人体内积累并对人体健康造成严重威胁, 例如导致钙代谢失调、肾功能损伤等。有研究表明, 一些外源物质能够有效改善重金属胁迫下植物的生长发育状

收稿日期: 2017-02-27

基金项目: 浙江中医药大学校级科研项目(2015ZY33)。

作者简介: 王 博 (1989—), 男, 甘肃酒泉人, 硕士, 助理实验师, 主要从事生物化学与分子生物学。E-mail: 824419396@qq.com。

### 3 结论

含葡萄糖培养基在高温灭菌后, 葡萄糖部分异构化成果糖, 部分聚合成聚合糖。pH 主要影响葡萄糖的异构化, 糖浓度主要影响葡萄糖的聚合。糖分的变化会影响丙氨酸菌体对糖的利用速度, 从而影响发酵速率; 而 pH 在 5.5 或以下时可有效防止葡萄糖的异构化。综上, 含葡萄糖培养基灭菌时, 最好将 pH 调至 5.5 或以下, 以减少不利于

菌体利用的糖的产生。

### 参考文献:

- [1] 阚振荣, 王彦芳. 蔗糖抗菌作用的研究[J]. 食品与发酵工业, 1998, 23(5): 43-46.
- [2] 仪 宏, 王丽丽, 冯慧勇, 等. 含葡萄糖培养基高温灭菌变色及其防范措施的研究[J]. 酿酒, 2003, 30(2): 42-43.

(本文责编: 郑丹丹)