

光合细菌产氢研究(三)

—用固定化光合细菌产氢

毛醒一 三宅淳 川村杉生

(无锡轻工业学院发酵系) (日本, 通产省工技院微工所)

前 言

不同的固定方法, 其相对的产氢效率和速度也不同, 角叉菜聚糖胶具有多糖类的结构, 是固定微生物的优良载体^[1], 固定化光合细菌对氧和渗透压安定, 故能连续产氢^[2], *Rhodospirillum rubrum*固定在琼脂凝胶中, 装入反应器, 从苹果酸连续产氢^[3], 但是产氢速度较低。

为了提高 *Rhodopseudomonas* NA 08609 的产氢能力, 对固定化方法及产氢条件进行了试验。结果表明, 载体特性不同, 产氢速度不同。因此选择适宜的固定化载体是十分重要的。

一、材料和方法

1. 供试菌种

NA08609, NB08703

2. 固定化材料

琼脂角叉菜聚糖胶, 海藻酸钙

3. 培养基, 培养条件和产氢方法

前培养基“aBy”

产氢培养基“gB”

试验容器 70ml(24cm²)扁平培养瓶

前培养 30℃, 1Klux 光照下二天

产氢试验方法 前培养终了弃去“aBy”培养基, 换为“gB”产氢培养基, 用排水法收集氢。

4. 固定化生长细胞和固定化细胞的比较

参考酒精连续发酵中酵母的固定化方法^[5], 将光合细菌用下述两种固定化方法制备成琼脂凝胶。

1) 固定化生长细胞 于70ml 扁平培养瓶(24cm²)中加入约2mg 干菌体和45℃琼脂液, (琼脂事先溶解在“aBy”培养基中)混合后琼脂浓度1.5~2.0%, 体积为10ml, 放平凝固后

充满“aBy”培养基进行前培养。

2) 固定化细胞 菌体密度约 10mg干菌体/ml凝胶,用生长阶段的离心洗涤菌体和“aBy”琼脂液混合,放平、凝固待用。

5. 菌体密度试验

取试验菌液 0.25, 0.5, 1, 2, 4ml(相当于菌体 0.25, 0.5, 1, 2, 4mg)与琼脂液混合成不同菌体密度。混合后琼脂浓度 2%, 体积 10ml, 前培养。

6. 琼脂浓度试验

取一定量的菌体(约 2mg)与不同浓度琼脂液混合, 混合后琼脂浓度为 1.5%, 2%, 3%, 5%, 体积为 10ml, 进行前培养。

7. 培养基脱气和不脱气比较

用琼脂固定化生长细胞以比较脱气和不脱气的“gB”培养基产氢能力。(脱气方法是将“gB”培养基置于真空干燥器中抽真空 15 分钟。)

8. 耐热性试验

先将悬浮液和琼脂固定化生长细胞在 30℃水浴中产氢 24 小时, 然后将其分成三份, 分别在 30℃、40℃、45℃水浴中, 每隔 3 小时测定一次产氢量, 比较耐热性。

9. 几种载体比较

琼脂凝胶制备 同前述(4.1)。

角叉菜聚糖胶凝胶制备 同琼脂胶制备, 混合后角叉菜聚糖胶浓度为 4%。

海藻酸钙凝胶制备 2% 海藻酸钙溶解于“aBy”培养基中和离心菌体混合, 每 ml 中约加 10mg 干菌体, 滴加在 1.5% CaCl_2 中制成球形凝胶备用。

上述三种载体进行产氢试验比较。

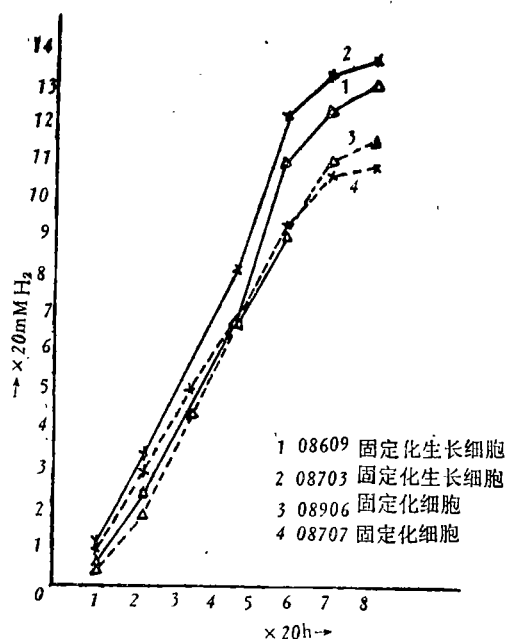


图1 固定化生长细胞和固定化细胞的产氢能力

二、结果和讨论

1. 琼脂固定化生长细胞和固定化细胞比较

固定化生长细胞的产氢能力高于等量菌体密度的固定化细胞, 固定化细胞由于制备过程中受氧、热等损伤和在凝胶中不易均匀分布, 因而影响其产氢能力。两者比较见图 1 (试验采用两种菌种)。

2. 琼脂凝胶内菌体密度对产氢速度和产氢效率的影响

菌体和琼脂液混合以 0.2mg干菌体/ml凝胶的菌体密度为最好。该菌体密度经前培养后为 3.0 mg蛋白质/g凝胶, 产氢终了时菌体密度为 6.6 mg蛋白质/g凝胶, 产氢速度为 1872ml/l/day (227 $\mu\text{l}/\text{cm}^2/\text{h}$), 产氢效率为 68%。各种菌体密度比较见表 1。

表1 各种菌体密度产氢比较

起始菌体密度 (mg干菌体/ ml凝胶)	前培养后菌体密度 (mg蛋白质/g凝胶)	产氢总量 (ml/ml)	最大产氢速度 ($\mu\text{l}/\text{cm}^2/\text{h}$)	产氢效率 (%)	产氢終了菌体密度 (mg蛋白质/g凝胶)
0.4	3.24	8.14	173	65.4	6.67
0.2	3.00	8.48	227	68.0	6.57
0.1	—	7.79	189	62.7	6.65
0.05	—	6.70	152	53.9	5.25
0.025	—	6.17	125	49.6	5.12

3. 脱气和不脱气比较

光合细菌在嫌气条件下产氢, 因此对“gB”培养基进行脱气以除去培养基中的溶氧。但是由于固定化结果, 发现脱气和不脱气的差异很小, 且在后期, 不脱气的反而比脱气的产氢能力略高。这是因为固定化细胞对氧是安定的缘故, 因此不需对培养基进行脱气。两者比较见图2。

4. 琼脂浓度

以琼脂作为载体制备的固定化细胞, 当琼脂浓度较高时则产氢速度降低及总产氢量减少。

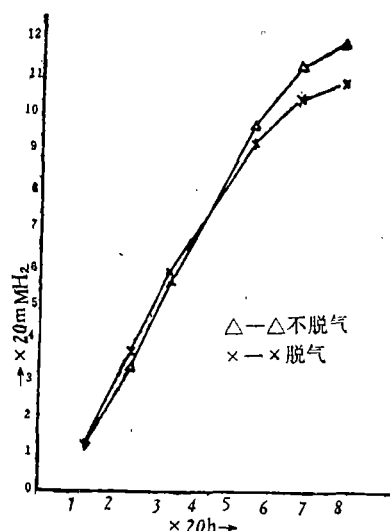


图2 产氢培养基脱气和不脱气对产氢的影响

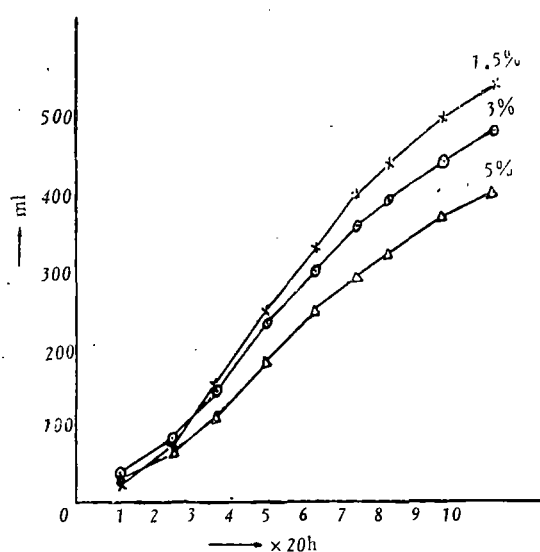


图3 琼脂浓度对产氢的影响

5. 耐热性试验

有些固定化方法能增加细菌的热安定性, 有些则相反。本试验在 30°C 时, 悬浮液在 24~48 小时时产氢速度最高, 而此时琼脂固定化细胞的产氢速度则较低。但随着时间的延长, 固定化细胞的产氢速度直线加快, 到 50 小时时超过悬浮液的产氢速度, 总产氢量也比悬浮液

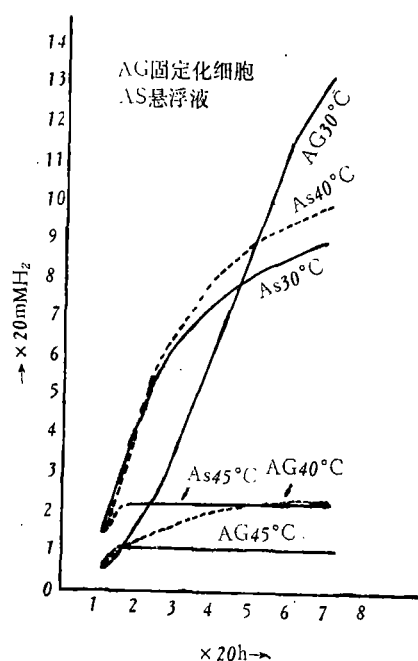


图4 悬浮液和固定化细胞的耐热性比较

为多。

在40℃时悬浮液的产氢速度比30℃时为高,说明该菌有一定耐热性。然而40℃时固定化细胞的产氢速度却始终很低,这可能由于温度变化使热量积聚在凝胶内,以致凝胶内部温度高于培养液温度,或者由于固定化而降低了热安定性^[4],这有待进一步研究。

在45℃时悬浮液和固定化细胞都不产氢。

上述结果见表4。

6. 载体种类、形状的影响

对不同种类载体的产氢效率进行比较,以角叉菜聚糖凝胶为最高,为71.8%。以载体形状而言,过去一般认为载体制成板状受光面积大利于产氢,但本试验中将胆藻酸钙制成球状凝胶其产氢速度最快,达2185ml/l/day这可能与增加载体和培养基的接触面有关。具体结果见表2。

表2 载体种类和形状对产氢的比较

载体种类及形状	最大产氢速度		产氢效率 (%)
	(ml/l/day)	(μ l/cm ² /h)	
2%琼脂板状(厚4mm)	1609	209	57.4
4%角叉胶板状(厚4mm)	2008	261	71.8
2%海藻酸钙 球形凝胶(直径4mm)	2185	285	60.6
	2533*	330*	—

* 用苹果酸产氢

(续完)

参 考 文 献

- [1] 土佐哲也,“发酵工业协会第15回最新发酵技术讲座”昭和56年7月
- [2] 轻部征夫,铃木周一,“特集 フォトエのクロクミストソー”1982年12月号
- [3] Weetall, H.H., Sharma, B.P., Detar C.C.: “Biotechnol. Bioeng.” XXIII' 605 (1981)
- [4] 千田一郎編集,“固定化酵素,讲谈社サイエンティフィク
- [5] Wada, M., Kato, J. and Chibata, I., Eur. J. Appl.: “Microbiol. Biotechnol.,” 10, 275(1980)

85018

光合细菌产氢研究(三)《无锡轻工业学院学报》1985年,第四卷,

第3期

关键词 光合细菌,固定化,产氢

摘要 Rhodospirillum rubrum NA 08609 固定在琼脂中,当固定化琼脂浓度为1.5~2.0%,初始菌体密度为3.0mg 蛋白质/g 凝胶时产氢是适宜的。产氢培养基“gB”不需抽真空,在30℃时固定化细菌的产氢速度比悬浮液快,效率比悬浮液高,但是在40℃时则相反。

Rhodospirillum rubrum NA 08609 固定在琼脂,角叉菜聚糖胶、海藻酸钠中,角叉菜聚糖胶固定化生长细胞比琼脂固定化生长细胞及海藻酸钠固定化细胞凝胶的产氢效率高,(71.8%)但是海藻酸钠固定化细胞凝胶在产氢速度方面较高。(285ul/cm²/h)

作者:毛醒一,三宅淳(日),川村杉生(日)

85020

经纱的等效长度及其变化特点《无锡轻工业学院学报》1985年,第四卷,第3期。

关键词 经纱,等效长度,织机上机条件

摘要 本文对织机上机经纱的等效长度进行了分析,以1511织机为例,在回转后梁和固定后梁的不同情况下,对织机上机经纱几何长度和等效长度进行了计算和对比,论述了等效长度变化的特点及其对织造工艺的影响。

作者:吴震世

85017

细菌的原生质体融合《无锡轻工业学院学报》1985年,第四卷,第3期

关键词 细菌,原生质体,融合

摘要 本文评论了有关细菌原生质体融合研究的进展,并报道了作者的部分研究工作。本文较充分讨论了原生质体融合的基本技术步骤,包括出发株的选择,原生质体的制备,融合,再生,筛选和特性验证。介绍并推荐以育种为目的的该技术的较适使用条件。

作者:诸葛健

85019

CS—2型温度信息处理机的研制《无锡轻工业学院学报》,1985年,

第四卷,第3期

关键词 温度信息处理机, F 值自动计算, 食品罐头中心温度测量
摘要 CS—2 型温度信息处理机, 主要工作由专门设计的微机系统与相应的软件以及精密模拟电路担任, 并配以与丹麦新型硅胶补偿线的测温热电偶相容的传感器。主要功能包括罐头食品杀菌工艺中心温度自动测量、杀菌强度 F 值的自动计算以及定时显示与打印结果。本机曾在 1984 年全国微机应用成果展览会展出。

作者:唐永炎,毛寿璋,屠纪生

85019

THE RESEARCH of TYPE CS-2 TEMPERATURE INFORMATION PROCESSOR 《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》, Vol. 4, No. 3, 1985

KEYWORDS Temperature Information processor, F-Value automatic calculation, measurement for centre temperature of food can.

ABSTRACT This paper introduced Type CS-2 Temperature Informations processor developed by authors. The processor operates upon a specially designed microcomputer system and corresponding softwares and precise analog circuitry. This processor is equipped with a new type thermocouple transducer made of silicon rubber compensated conductor used for temperature measurement. The transducer also has the advantage to be interchangeable with the Danish one. The main functions include multi-point center temperature auto-measurement and F-value auto-calculation, also information displaying and printing at scheduled time for sterilization technology in canning factories. In 1984, the instrument was exhibited in the national exhibition of micro-computer applications at Xian.

Authors: Tang Yongyan, Mao Shouzhong, Tu Gisheng

85017

FUSION of BACTERIAL PROTOPLASTS 《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》, Vol. 4, No. 3, 1985

KEYWORDS Bacteria, Protoplast, Fusion.

ABSTRACT The paper is a review of the advance of fusion of bacterial protoplasts. A part of author's work is also presented. A detailed discussion has been given on the fundamental procedures in protoplast fusion, including selection of initial strains, preparation of protoplasts, fusion, regeneration, selection and characteristic examination. Recommendations on the optimum condition for efficient application of the techniques for breeding purposes have also been introduced.

Author: Zhuge jian

85020

EQUIVALENT LENGTH of WARP YARN and ITS CHANGE 《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》, Vol. 4, No. 3, 1985

KEYWORDS Warp yarn, Equivalent length, Loom setting.

ABSTRACT Equivalent length of warp yarn in weaving loom was analysed. The geometric length and equivalent length of warp yarn which is setting in loom whether revolving or fixed back-rest in the weaving machine mode 1511 were calculated and contrasted, the article also discussed the different characteristics of the equivalent length and its influence on weaving technology.

Author: Wu Zhenshi

85018

HYDROGEN PRODUCTION by IMMOBILIZED CELLS of PHOTOSYNTHETIC BACTERIA 《Journal of the Wuxi Institute of Light Industry》, Vol. 4, No. 3, 1985

KEYWORDS Photosynthetic bacterium, immobilized cell, Hydrogen production
ABSTRACT When Rhodospseudomonas NA 08609 was immobilized in an agar, the immobilized Cell produced hydrogen when the suitable initial cell density of 1.5—2.0%(w/v) of agar and Ca 3.0mg(dry)/g gel was adopted.

Culture medium "gB" for hydrogen production evacuation is unnecessary. The immobilized cells evolve hydrogen with a higher rate and yield than in suspended state at 30°C, but it was much lower than in suspended state at 40°C.

When Rhodospseudomonas NA 08609 was immobilized in agar, Kappa-carra-geenan, Calcium alginate, the hydrogen productivity for immobilized growing cell in "Kappa-Carra-geenan" gel was higher (the yield 71.8%) than that of immobilized growing cell in agar and immobilized cell in calcium alginate. But the immobilized cell in calcium alginate gel beads has a high rate of 285 $\mu\text{l}/\text{cm}^2/\text{h}$.

Author: Mao Xingyi, Jun MIYAKE, Sugio KAWAMURA