

微生物培养基优化及其在微生物发酵中的应用

吴越 杨星^{通讯作者}

厦门大学附属第一医院

【摘要】微生物初级代谢产物和次级代谢产物的生物合成与培养基组成和培养条件密切相关,而在一个高度非线性、非结构化的复杂系统中要获得最高发酵产物,对培养基进行优化具有很重要的作用^[1]。本文主要对微生物培养基优化方法及其在微生物发酵中的应用综述。

【关键词】微生物;发酵培养基;单因素法;正交设计试验法;响应面分析法;均匀设计法

【中图分类号】TS201.3

【文献标识码】A

【文章编号】1672-0415 (2021) 06-205-02

1 微生物培养基优化

微生物培养基优化,是指通过实验手段配比和筛选使特定的微生物在最适合其生长及发酵的培养基发酵,并且能够在先前基础上提高发酵产物的产量,从而达到生产最大发酵产物的目的。发酵培养基的优化在微生物产业化生产中扮演着举足轻重的角色。一个发酵产品工业化成功中非常重要的一步是能否设计出一个好的发酵培养基。

2 微生物培养基优化方法

微生物培养基常用优化方法:单因素试验法、正交设计试验法、响应面分析法和均匀设计法

2.1 单因素试验法

单因素试验法是通过不存在交互作用时,一次只改变一个因素并且保证其他因素维持在恒定水平的条件下,来研究不同试验水平对结果的影响,然后对逐个因素进行考察的优化方法,是试验研究中最常用的优化策略之一。潘明丰,郭美锦等多杀菌素发酵的种子培养基的碳氮源成分优化来提高多杀菌素产量,主要通过单因素实验和正交试验,在此基础上结合响应面分析试验优化发酵培养基,找出了影响多杀菌素发酵的最显著因子及其最适含量,利用优化后的培养基发酵多杀菌素产量提高了86.68%,取得了较好效果^[2]。王晓辉^[3]等人利用单因素试验对BS070623蛋白酶高产突变株进行了发酵培养基优化试验,取得了良好效果。然而,针对大多数培养基来说,其组成成分很复杂,如果只通过单因素试验通常无法达到预期的效果,尤其是在试验因素很多的情况下,往往需要通过较多的试验次数和试验周期才能完成各因素的逐个优化筛选,因此,单因素试验经常被用在正交试验之前或与均匀设计、响应面分析等结合使用。

2.2 正交设计试验法

正交设计试验法是通过一套表格,设计多因素、多指标等存在交互作用而具有随机误差的试验,并利用普通的统计分析方法来分析试验结果的方法。尽管传统的单因素试验法的结果可能与正交设计试验的结果相同,但由于正交试验设计考察因素及水平合理、分布均匀,而具有重复试验次数少、误差容易估计、精密度较高的优点^[4]。王东阳^[5]等将大肠杆菌TRJH0709作为供试菌株,采用单因素法结合正交试验法来研究L-色氨酸合成的最佳发酵培养基,结果发现L-色氨酸最适发酵培养基组成为硫酸铵15.0g/L、葡萄糖50.0g/L、酵母粉1.5g/L和柠檬酸2.0g/L,并且葡萄糖是该试验的最大影响因素。在该最优条件下,L-色氨酸摇瓶产量可达19.0g/L。该试验为L-色氨酸的中试及工业化生产提供了理论依据。

2.3 响应面分析法

响应面分析法(response surface methodology)系可以分析试验指标(因变量)与多个试验因素(自变量)间的

回归关系,是具有试验周期T短,求得高精度的回归方程,可以同时研究几种因素间交互作用等优点的培养基优化方法^[6-7],依据响应面法建立的双螺杆挤压机的统计模型可用于挤压过程的控制和挤压结果的预测。栾庆祥等应用单因素试验结合响应面分析法(response surface methodology),对杜仲提取工艺进行优化,具有提取率高、能耗少、时间短等优点,为杜仲体内药代动力学研究奠定了基础^[8]。

2.4 均匀设计法

均匀设计法是将数论与多元统计结合起来的一种试验方法,它具有试验次数少,代表性强等优点。均匀设计法是把试验点在试验范围内充分均匀散布的一种试验设计方法^[9, 20],它的特点是尽量使试验点充分均匀分散,让每个试验点具有更好的代表性的同时舍弃整齐可比的要求,来以减少试验次数,采用多元统计方法来弥补这一缺陷,使试验结论同样可靠^[10],均匀设计通常使用二次型回归模型。罗定军^[11]等采用此方法对洛伐他汀发酵培养基优化,成功地使发酵效价比原来高出了23%,并且让生产成本远低于进口原材料配方,具有很显著的生产价值。

3 微生物培养基优化的影响因素

微生物初级代谢产物和次级代谢的生物合成其发酵机理十分复杂,受很多因素的影响,如培养基组成、培养的温度、酸碱度、发酵时间、菌种理化特性及发酵工艺等。适宜的培养基配方和合适的发酵条件成为产物生成量高低和原料利用率高低决定因素。

4 微生物培养基优化在微生物发酵中的应用

4.1 正交设计法在微生物发酵中的应用

杨丽英等以优化乳酸菌固体发酵配方试验为例,选用L18(3⁷)正交表,运用直观分析和方差分析给出试验的优选方向和估测最佳组合^[12]。魏翠华^[13]以台湾金线莲试管苗萌芽为外植体,研究基本培养基、6-BA、NAA、蔗糖4个因素对不定芽增殖培养与生根培养的影响,应用L9(3⁴)正交试验设计优选出台湾金线莲快繁培养基。

4.2 响应面分析法在微生物发酵中的应用

闫兴等^[14]通过响应面法对三孢布拉氏霉菌液体发酵培养基进行了优化,经分析得到β-胡萝卜素产量最大时培养基中显著性因素含量为:葡萄糖8.70% KH₂PO₄ 51%, β-胡萝卜素产量可达到84.76mg/L,比优化前提高了29.93%。邓媛等^[15]为了提高多黏芽孢杆菌YLW-8产α-环糊精葡萄糖基转移酶的能力,采用响应面分析法对培养基条件进行优化,降低染菌的几率,大大减少生产成本,可应用于α-环糊精生产工业。

4.3 均匀设计法在微生物发酵中的应用

胡蕙露等^[16]通过均匀设计法进行银杏体外培养试验,建立试验方案、数据处理、回归分析以及优化等,得到了最佳

配方并进行验证。王佳等^[17]以西选二号为试材,采取均匀试验设计方法调整植物生长调节剂的浓度和种类,通过建立回归模型筛选出适宜于西选二号植株愈伤组织形成、不定芽诱导和植株生根的最佳配方。张佳等^[18]采用均匀设计法,以诱导率为主要考察目标,通过多因素、多水平对北五味子愈伤组织生长的主要激素成分进行考察,该均匀设计法优化愈伤组织诱导培养基具有省时、方便的优点,具有显著的参考价值。

5 展望

为了微生物正常的生长与繁殖,产生各种代谢产物,微生物需要不断的吸取营养物质^[19]。合适的培养基能为菌株提供丰富的营养成分,发酵条件的优化将为高产菌株提供最合适的环境,更有利于高产菌株的生长。培养基优化方法除本文中提到的几种常用培养基优化方法外,还有研究者不断开拓新方法或采用不同方法交叉对培养基进行优化,如聚类分析方法等。随着数理统计方法和优化技术的发展和运用,相信将来一定还会出现更适用、更方便、可行性更好的微生物培养基优化方法。

参考文献

- [1] 肖怀秋,李玉珍.微生物培养基优化方法研究进展[J].酿酒科技,2010,01:90-94.
- [2] 潘明丰,郭美锦,储炬,郭伟群,庄英萍,张晓琳.多杀菌素种子培养基及发酵培养基的优化[J].中国抗生素杂志,2012, v.3710:745-751.
- [3] 王晓辉,蔡少华,迟乃玉等.海洋低温BS070623菌株选育及其发酵培养基优化[J].渤海大学学报,2009,30(2):97-100.
- [4] Saudagar P S, Singhal R S.Optimization of nutritional requirements and feeding strategies for clavulanic acid production by *Streptomyces clavuligerus*[J].Bioresour technol,2011,98(10):2010-2017.
- [5] 王东阳,蔡传康,闫汝东,等.正交试验优化L-色氨酸发酵培养基的研究[J].安徽农业科学,2011, v.39;No.32904:1910-1911+1914.
- [6] 王艳艳,王团结,丁琳琳.响应面分析法优化当归多糖提取工艺[J].食品科学,2012,10:146-149.

[7] 孙长霞,苏印泉,张柏林.响应面分析法优化松萝多糖提取工艺的研究[J].食品工业科技,2014,05:196-201.

[8] 栾庆祥,赵杨,周欣,龚小见,杨世林.单因素试验结合响应面分析法优化杜仲最佳提取工艺[J].药物分析杂志,2013, v.3305:859-865.

[9] Liu D,Wang P,Li F.Application of uniform design in lisoleucine Fermentation[J].China J Biotechnol,2011,7(3):207-212.

[10] Wang F Q,Gao C J,Yang C Y.Optimization of anethanol production medium in very high gravity fermentation[J].Biotechnol Lett,2012,29(2):233-236

[11] 罗定军,周兴挺,王惠青.洛伐他汀产生菌原质体诱变育种及发酵配方优选的研究[J].中国抗生素杂志,2000,05:339-340.

[12] 杨丽英,庞晖,马国顺.正交设计在微生物发酵试验中的应用[J].佳木斯大学学报(自然科学版),2008, No.9706:859-861.

[13] 魏翠华,秦建彬,谢宇等.应用正交设计法优选台湾金线莲快繁培养基[J].中国农学通报,2013,29(4):114-117.

[14] 闫兴,向梦雄,王常高等.响应面法优化以改良玉米浆为原料产 β -胡萝卜素的液体发酵培养基[J].中国食品添加剂,2015,(6):134-139.

[15] 邓媛,李峻,杨国武等.响应面法优化多黏芽孢杆菌产 α -环糊精葡萄糖基转移酶发酵培养基[J].中国食品添加剂,2015,(1):64-70.

[16] 胡蕙露,蔡新玲.均匀设计优化银杏培养基配比[J].林业科学,2006,42(10):39-42

[17] 王佳,王飞,周立名等.采用均匀设计法优化西选二号培养基配比[J].西北农业学报,2009,18(5):284-289.

[18] 张佳,金东淳,金海林等.均匀设计法优化北五味子愈伤组织诱导培养基研究[J].安徽农业科学,2011,39(12):6977-6978,6987.

[19] 宋仕豪.微生物的营养与代谢.高中生学习:高二文科[J].2013,(11):60-61.

[20] 张国秋,王文璇.均匀试验设计方法应用综述[J].数理统计与管理,2013, v.32;No.18301:

(上接第204页)

处于血管中。(4)其他护理措施,包括强化患方的预防意识、做好患儿巡视等。根据文献^[8]的研究经验,在落实预见性护理措施后,患儿的静脉输液渗透发生率显著下降,家属对护理的满意度更高,提示预见性护理措施具有满意效果。

2.4 静脉输液外渗的处理措施

在确定药物外渗发生后,需停止输注并保留针头连接注射器,尽量回抽皮下药物,再拔除针头;同时向护士长回报药液外渗事故,对于存在外渗历史的患儿,可邀请护士长、药剂师等共同讨论危险因素并做预防性管理^[9]。在外渗发生后用硫酸镁冷敷,冷敷可以促进血管收缩,避免药液的扩散,降低危害。同时在冷敷期间也要做好管理,避免冷敷对患儿造成伤害。在外渗的48h内需抬高受累部位并做固定,这是促进药液吸收的有效方法。

3 结束语

静脉输液外渗的发生会加重患儿痛苦,根据本文的研究可知,造成药液外渗的危险因素较多,所以护理人员应做好预防管理,制定干预对策,寻找降低外渗发生率的有效处置手段,最终为保证患儿安全奠定基础。

参考文献

- [1] 盖彦彦.静脉输液外渗预防及护理体会[J].中国城乡企业卫生,2021,36(04):196-198.
- [2] 徐洪莲.药物外渗伤口的护理[J].上海护理,2021,21(03):72-75.
- [3] 王敬.前瞻性护理联合皮肤管理对新生儿静脉输液外渗率的影响[J].当代护士(下旬刊),2021,28(03):78-80.
- [4] 侯超.综合护理干预对新生儿液体外渗发生率的影响[J].中国医药指南,2021,19(05):131-132.
- [5] 谷娜敏,张玉颖.老年患者静脉输液护理中危险因素与护理对策研究[J].当代临床医刊,2020,33(06):558-559.
- [6] 阳咏芳.门诊患儿静脉输液外渗的原因分析及护理对策[J].中外医学研究,2018,16(29):92-93.
- [7] 王运平,郭燕慧.小儿静脉输液药物外渗的原因分析及护理干预探究[J].医学理论与实践,2020,33(16):2744-2746.
- [8] 王芳,唐丹丹,李惠.预防性护理对药物外渗致静脉炎的临床意义[J].中国医药指南,2020,18(24):188-189.
- [9] 朱晓霞.量化评估策略下护理干预对静脉输液患儿液体外渗的预防效果[J].交通医学,2018,32(03):279-281.