



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101864470 A

(43) 申请公布日 2010.10.20

(21) 申请号 201010197762.7

(22) 申请日 2010.06.11

(71) 申请人 山东轻工业学院

地址 250353 山东省济南市西部新城大学科技园山东轻工业学院

(72) 发明人 于海峰 董永胜 逢圣慧 崔波
宁维颖

(74) 专利代理机构 济南泉城专利商标事务所
37218

代理人 张贵宾

(51) Int. Cl.

C12P 19/04 (2006.01)

C12R 1/89 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 2 页

(54) 发明名称

提高发菜细胞深层发酵生产胞外多糖产量的方法

(57) 摘要

本发明属于微藻细胞的深层发酵领域,特别公开了一种提高发菜细胞深层发酵生产胞外多糖产量的方法。本发明提供的通过分阶段控制光照强度和培养基发酵工艺提高发菜细胞多糖产量的方法,工艺简单,生产效率高,适于放大工业化生产,生产获得的发菜细胞多糖,经分离纯化后可以用作天然抗病毒药物或食品原辅料。

1. 一种提高发菜细胞深层发酵生产胞外多糖产量的方法,以发菜细胞为原料,其特征在于:主要包括如下步骤:

(1) 第一阶段培养 4 天,采用添加葡萄糖的有氮源 BG-11 培养基,光照强度控制在 $40 \sim 60 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;

(2) 第二阶段培养 3 天,采用添加葡萄糖和乙酸钠的复合无氮源 BG-11 培养基,光照强度控制在 $60 \sim 160 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。

2. 根据权利要求 1 所述的提高发菜细胞深层发酵生产胞外多糖产量的方法,其特征在于:步骤 (1) 中,所述葡萄糖的浓度为 $4\text{g}/\text{L}$ 。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的提高发菜细胞深层发酵生产胞外多糖产量的方法,其特征在于:步骤 (2) 中,所述乙酸钠浓度为 $2\text{g}/\text{L}$,葡萄糖浓度为 $3 \sim 4\text{g}/\text{L}$,培养基 $\text{pH} \geq 9$ 。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的提高发菜细胞身材发酵生产胞外多糖产量的方法,其特征在于:步骤 (2) 中,所述光照强度控制在 $100 \sim 160 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。

提高发菜细胞深层发酵生产胞外多糖产量的方法

(一) 技术领域

[0001] 本发明属于微藻细胞的深层发酵领域,特别涉及一种提高发菜细胞深层发酵生产胞外多糖产量的方法。

(二) 背景技术

[0002] 发菜是生长在我国西北部和北部干旱地区的一种陆生性经济蓝藻,具有很高的营养价值。由于其生长环境恶劣,发菜细胞在生长过程中向细胞外分泌大量的胶状物质,包裹于发菜细胞及藻丝体外,形成胶质鞘,保护发菜细胞不受干旱、高温、紫外辐射的危害。胶质物的主要成分为多糖,这些多糖物质对发菜抵抗生长地不良环境,保障发菜细胞的正常生长具有重要的生物意义。

[0003] 研究发现,从野生发菜细胞中提取的酸性多糖 *-nosoflan* 对流感病毒、人巨细胞病毒、单孢疹病毒等多种具有封套的病毒有很强的抗病毒活性,是一种潜在的抗病毒药物;而液体深层发酵生产的发菜多糖在理化性质、表观形貌以及抗病毒特性方面与天然发菜多糖具有高度相似性,可以替代天然发菜多糖用于工业化生产的原料,是一种新型的产多糖资源。

[0004] 发菜细胞液体深层发酵法生产发菜多糖,生产周期短,成本低,不需要消耗野生发菜资源,符合国家保护发菜资源生态的政策。目前,对于发菜细胞深层发酵法生产发菜多糖的研究主要集中在发酵条件的优化,如培养基的优化,培养条件的优化;而利用控制培养条件来提高发菜多糖产量未见相关文献报道。

(三) 发明内容

[0005] 本发明为了弥补现有技术的不足,提供了一种实现容易、效果明显的提高发菜细胞深层发酵生产胞外多糖产量的方法。

[0006] 本发明是通过如下技术方案实现的:

[0007] 一种提高发菜细胞深层发酵生产胞外多糖产量的方法,以发菜细胞为原料,主要包括如下步骤:

[0008] (1) 第一阶段培养 4 天,采用添加葡萄糖的有氮源 BG-11 培养基,光照强度控制在 $40 \sim 60 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$;

[0009] (2) 第二阶段培养 3 天,采用添加葡萄糖和乙酸钠的复合无氮源 BG-11 培养基,光照强度控制在 $60 \sim 160 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。

[0010] 步骤 (1) 中,所述葡萄糖的浓度为 $4\text{g}/\text{L}$;步骤 (2) 中,所述乙酸钠浓度为 $2\text{g}/\text{L}$,葡萄糖浓度为 $3 \sim 4\text{g}/\text{L}$,培养基 $\text{pH} \geq 9$,光照强度控制在 $100 \sim 160 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。

[0011] 发菜细胞是光合自养生物,也可以进行混合营养和异养生长,光照强度是其生长过程中的重要影响因子,对于发菜多糖,尤其是分泌到培养基中的胞外多糖,是发菜细胞生长过程中的初级代谢产物,在后期增加非常快,因此通过分阶段控制光照强度和培养基成分,前期提高发菜细胞的生长,后期采用复合碳源的无氮培养基进行发菜多糖的高速累积。

[0012] 采用本发明的工艺技术,发菜细胞多糖产量得到显著提高,其产量提高到 3 ~ 4g/L。

[0013] 本发明工艺简单,生产效率高,能够显著提高发菜细胞多糖的产量,适于放大工业化生产,生产获得的发菜细胞多糖,经分离纯化后可以用作天然抗病毒药物或食品原辅料。

(四) 具体实施方式

[0014] 实施例 1 :对照实施例

[0015] 本发明所采用的发菜细胞种为天津市工业微生物重点实验室自己分离保藏(中国专利 ZL031191101.0,发明人:贾士儒 苏建宇 乔长晟,授权日:2006年3月8日)。

[0016] 此发明从野生发菜藻体中分离获得可长期保藏的发菜细胞种,进行发菜细胞悬浮培养,采用高密度培养工艺,添加有机碳源的混合营养模式(中国专利 2006100113589.4,发明人:贾士儒 于海峰 苏建宇 林永贤,已公开),采用添加葡萄糖的 BG-11 培养基,培养 7 天,温度 24℃,转速 140rpm,光照强度 $40 \sim 90 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$,发菜多糖产量 2.25g/L。

[0017] 实施例 2 :

[0018] 光照反应器采用分阶段控制光照强度和培养基方法,温度、转速等条件同对照实施例 1。

[0019] 在发酵第一阶段的 4 天采用 4g/L 的葡萄糖的有氮 BG-11 培养基,光照强度控制在 $40 \sim 60 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$,在培养的第 5 天,补料 2g/L 醋酸钠和 3 ~ 3.5g/L 葡萄糖的无氮 BG-11 培养基,调节 pH9.0 以上,液面平均光照强度控制在 $100 \sim 160 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。

[0020] 用此分阶段控制策略生产发菜多糖,采用乙醇沉淀法得到多糖产量为 3.5g/L。

[0021] 实施例 3 :

[0022] 光照反应器采用分阶段控制光照强度和培养基方法,温度、转速等条件同对照实施例 1。

[0023] 在深层发酵第一阶段的 4 天采用添加 4g/L 的葡萄糖的有氧 BG-11 培养基,光照强度控制在 $40 \sim 60 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$,在培养第 5 天收获细胞,全部转入添加 2g/L 醋酸钠和 4g/L 葡萄糖的无氮 BG-11 培养基中,调节培养基 pH9.0 以上,光照强度(液面平均值)控制在 $100 \sim 160 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$ 。

[0024] 用此分阶段控制策略生产发菜多糖,两阶段发酵液采用乙醇沉淀法得到多糖产量为 4g/L。