



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 119242513 A

(43) 申请公布日 2025. 01. 03

(21) 申请号 202411530378.2

(22) 申请日 2024.10.30

(71) 申请人 北京英惠尔生物技术有限公司

地址 101109 北京市通州区漷县镇漷县村
南规划五街5号(72) 发明人 郭瑞瑞 李守勇 梁廷银 陈鹏
王宏 陈丙爱

(74) 专利代理机构 北京风雅颂专利代理有限公司 11403

专利代理师 郑颖颖

(51) Int. Cl.

C12N 1/20 (2006.01)

C12N 1/38 (2006.01)

C12P 21/02 (2006.01)

C12R 1/125 (2006.01)

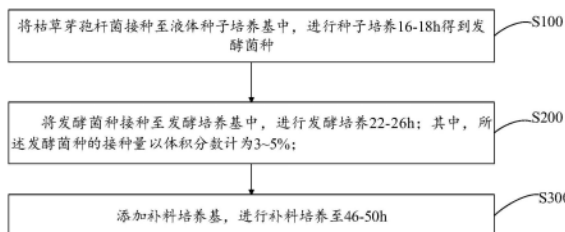
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

提高表面活性素含量的发酵培养基、其应用
及发酵方法

(57) 摘要

本申请提供一种提高表面活性素含量的发酵培养基、其应用及发酵方法。发酵培养基用于枯草芽孢杆菌的发酵；发酵培养基包括以下重量百分比的物质：碳源4-7%；氮源0.65-2.25%；磷酸盐0.13-0.6%；硫酸镁0.015-0.05%；氯化钙0.0007-0.02%；硫酸锰0.0005-0.001%；硫酸铁0.0006-0.06%；氨基酸0.5-1%；大豆纤维0.5-3%，余量为水；其中，发酵培养基的pH为6.5-7；发酵培养基中枯草芽孢杆菌菌液的接种量以体积分数计为3-5%；其中，碳源选自糖蜜、葡萄糖、红糖、麦芽糊精与淀粉中的至少一种；氮源包括玉米浆干粉、酵母膏和酵母粉中的至少一种与尿素的组合。



1. 一种提高表面活性素含量的发酵培养基,其特征在于,所述发酵培养基用于枯草芽孢杆菌的发酵;所述发酵培养基包括以下重量百分比的物质:碳源4-7%;氮源0.65-2.25%;磷酸盐0.13-0.6%;硫酸镁0.015-0.05%;氯化钙0.0007-0.02%;硫酸锰0.0005-0.001%;硫酸铁0.0006-0.06%;氨基酸0.5-1%;大豆纤维0.5-3%,余量为水;其中,所述发酵培养基的pH为6.5-7;所述发酵培养基中枯草芽孢杆菌菌液的接种量以体积分数计为3-5%;

其中,所述碳源选自糖蜜、葡萄糖、红糖、麦芽糊精与淀粉中的至少一种;所述氮源包括玉米浆干粉、酵母膏和酵母粉中的至少一种与尿素的组合。

2. 根据权利要求1所述的提高表面活性素含量的发酵培养基,其特征在于,所述大豆纤维的添加量1-3%。

3. 根据权利要求2所述的提高表面活性素含量的发酵培养基,其特征在于,所述氮源选自酵母膏与尿素的组合;所述酵母膏的质量百分比为0.45-0.55%;所述尿素的质量百分比为0.45-0.55%。

4. 根据权利要求1所述的提高表面活性素含量的发酵培养基,其特征在于,所述碳源选自红糖,所述红糖的质量百分比为4-7%。

5. 根据权利要求1所述的提高表面活性素含量的发酵培养基,其特征在于,所述磷酸盐选自磷酸二氢钾与磷酸氢二钠的组合;所述氨基酸选自亮氨酸。

6. 如权利要求1-5任一项所述的提高表面活性素含量的发酵培养基在提高枯草芽孢杆菌的发酵产物中表面活性素含量的应用。

7. 一种提高表面活性素含量的发酵方法,其特征在于,包括:

将枯草芽孢杆菌接种至液体种子培养基中,进行种子培养16-18h得到发酵菌种;

将发酵菌种接种至发酵培养基中,进行发酵培养22-26h;其中,所述发酵菌种的接种量以体积分数计为3-5%;所述发酵培养基为权利要求1-6任一项所述的发酵培养基;

添加补料培养基,进行补料培养至46-50h。

8. 根据权利要求7所述的提高表面活性素含量的发酵方法,其特征在于,所述补料培养基包括红糖,尿素和亮氨酸;所述补料培养基的添加量为,发酵培养基的添加体积与发酵培养基的体积的比值为9-11%。

9. 根据权利要求8所述的提高表面活性素含量的发酵方法,其特征在于,所述补料培养基包括以下重量百分比的物质:红糖20-35%,尿素1-2.5%和亮氨酸4-5%。

10. 根据权利要求7所述的提高表面活性素含量的发酵方法,其特征在于,所述种子培养,所述发酵培养和所述补料培养中培养温度为30-40℃。

提高表面活性素含量的发酵培养基、其应用及发酵方法

技术领域

[0001] 本申请涉及发酵工程技术领域,尤其涉及一种提高表面活性素含量的发酵培养基、其应用及发酵方法。

背景技术

[0002] 生物表面活性剂是由细菌、酵母、真菌等微生物从各种底物(糖、油、烷烃等)中产生的同时具有疏水性和亲水性的代谢产物,能够降低表面和界面张力,并产生胶束,增强碳氢化合物在水中或水在碳氢化合物中的溶解度。生物表面活性剂由于其低毒性、表面活性和环境友好性,近年来受到了广泛的关注。

[0003] 表面活性素(Surfactin)是由各种枯草芽孢杆菌菌株产生的最有效的脂肽生物表面活性剂之一。其主要结构是由12-16个碳链长度脂肪酸和7个氨基酸通过内酯键连接起来的一种环状脂肽。表面活性素除了具有高表面活性、低毒性、高生物降解性和生物相容性的特点外,还具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤性能和抑制纤维蛋白凝块的形成。这些优良的性能使其在石油工业、环境控制、化妆品、农业、医药等领域具有广阔的应用前景。

[0004] 相关技术中,表面活性素的产量较低。

发明内容

[0005] 有鉴于此,本申请的目的在于提出一种提高表面活性素含量的发酵培养基、其应用及发酵方法。

[0006] 基于上述目的,本申请提供了一种提高表面活性素含量的发酵培养基,所述发酵培养基用于枯草芽孢杆菌的发酵;所述发酵培养基包括以下重量百分比的物质:碳源4-7%;氮源0.65-2.25%;磷酸盐0.13-0.6%;硫酸镁0.015-0.05%;氯化钙0.0007-0.02%;硫酸锰0.0005-0.001%;硫酸铁0.0006-0.06%;氨基酸0.5-1%;大豆纤维0.5-3%,余量为水;其中,所述发酵培养基的pH为6.5-7;所述发酵培养基中枯草芽孢杆菌菌液的接种量以体积分数计为3-5%;

[0007] 其中,所述碳源选自糖蜜、葡萄糖、红糖、麦芽糊精与淀粉中的至少一种;所述氮源包括玉米浆干粉、酵母膏和酵母粉中的至少一种与尿素的组合。

[0008] 在其中一些实施例中,所述大豆纤维的添加量1-3%。

[0009] 在其中一些实施例中,所述氮源选自酵母膏与尿素的组合;所述酵母膏的质量百分比为0.45-0.55%;所述尿素的质量百分比为0.45-0.55%。

[0010] 在其中一些实施例中,所述碳源选自红糖,所述红糖的质量百分比为4-7%。

[0011] 在其中一些实施例中,所述磷酸盐选自磷酸二氢钾与磷酸氢二钠的组合;所述氨基酸选自亮氨酸。

[0012] 本申请实施例还提供如前一项所述的提高表面活性素含量的发酵培养基在提高枯草芽孢杆菌的发酵产物中表面活性素含量的应用。

[0013] 本申请实施例还提供一种提高表面活性素含量的发酵方法,包括:

- [0014] 将枯草芽孢杆菌接种至液体种子培养基中,进行种子培养16-18h得到发酵菌种;
- [0015] 将发酵菌种接种至发酵培养基中,进行发酵培养22-26h;其中,所述发酵菌种的接种量以体积分数计为3-5%;所述发酵培养基为权利要求1-6任一项所述的发酵培养基;
- [0016] 添加补料培养基,进行补料培养至46-50h。
- [0017] 在其中一些实施例中,所述补料培养基包括红糖,尿素和亮氨酸;所述补料培养基的添加量为,发酵培养基的添加体积与发酵培养基的体积的比值为10-30%。
- [0018] 在其中一些实施例中,所述补料培养基包括以下重量百分比的物质:红糖20-35%,尿素1-2.5%和亮氨酸4-5%。
- [0019] 在其中一些实施例中,所述种子培养,所述发酵培养和所述补料培养中培养温度为30-40℃。
- [0020] 从上面所述可以看出,本申请提供的提高表面活性素含量的发酵培养基,所述发酵培养基用于枯草芽孢杆菌的发酵;通过设置所述发酵培养基包括以下重量百分比的物质:碳源4-7%;氮源0.65-2.25%;磷酸盐0.13-0.6%;硫酸镁0.015-0.05%;氯化钙0.0007-0.02%;硫酸锰0.0005-0.001%;硫酸铁0.0006-0.06%;氨基酸0.5-1%;大豆纤维0.5-4%,余量为水;其中,所述发酵培养基的pH为6.5-7;所述发酵培养基中枯草芽孢杆菌菌液的接种量以体积分数计为3-5%;其中,所述碳源选自糖蜜、葡萄糖、红糖、麦芽糊精与淀粉中的至少一种;所述氮源包括玉米浆干粉、酵母膏和酵母粉中的至少一种与尿素的组合,能够在抑制泡沫的同时使枯草芽孢杆菌发酵产生表面活性素的产量得到显著的提高,从而有利于实现工业化大规模生产,具有巨大的工业应用前景。

附图说明

- [0021] 为了更清楚地说明本申请或相关技术中的技术方案,下面将对实施例或相关技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本申请的实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。
- [0022] 图1为本申请实施例的提高表面活性素含量的发酵方法的流程示意图。
- [0023] 图2为实施例1,实施例2与实施例4两两之间的差异显著性结果。
- [0024] 图3为实施例2和实施例3中的泡沫抑制效果图。

具体实施方式

- [0025] 为使本申请的目的、技术方案和优点更加清楚明白,以下结合具体实施例,并参照附图,对本申请进一步详细说明。
- [0026] 需要说明的是,除非另外定义,本申请实施例使用的技术术语或者科学术语应当为本申请所属领域内具有一般技能的人士所理解的通常意义。本申请实施例中使用的“第一”、“第二”以及类似的词语并不表示任何顺序、数量或者重要性,而只是用来区分不同的组成部分。“包括”或者“包含”等类似的词语意指出现该词前面的元件或者物件涵盖出现在该词后面列举的元件或者物件及其等同,而不排除其他元件或者物件。“连接”或者“相连”等类似的词语并非限定于物理的或者机械的连接,而是可以包括电性的连接,不管是直接的还是间接的。

[0027] 虽然表面活性素具有广泛应用于工业的重要特性,但其在实际的生产中的高生产成本和低产率却限制了它的应用。因此,提高表面活性素的产率和降低生产成本仍然是表面活性素商业化应用的根本解决途径。相关技术中,通过枯草芽孢杆菌发酵产生表面活性素,由于需要通气和搅拌,容易产生泡沫,因此存在容易产生泡沫和表面活性素产量低的问题。培养基配方优化是提高表面活性素产量的有效手段之一。

[0028] 基于此,本申请实施例提供了一种提高表面活性素含量的发酵培养基及发酵方法,通过添加大豆纤维,能够在抑制泡沫的同时使枯草芽孢杆菌发酵产生表面活性素的产量得到显著的提高,从而有利于实现工业化大规模生产,具有巨大的工业应用前景。能够在一定程度上解决目前表面活性素的产量较低及成本高的问题。

[0029] 本申请实施例提供了一种提高表面活性素含量的发酵培养基,所述发酵培养基用于枯草芽孢杆菌的发酵;所述发酵培养基包括以下重量百分比的物质:碳源4-7%;氮源0.65-2.25%;磷酸盐0.13-0.6%;硫酸镁0.015-0.05%;氯化钙0.0007-0.02%;硫酸锰0.0005-0.001%;硫酸铁0.0006-0.06%;氨基酸0.5-1%;大豆纤维0.5-4%,余量为水;其中,所述发酵培养基的pH为6.5-7;所述发酵培养基中枯草芽孢杆菌菌液的接种量以体积分数计为3-5%;

[0030] 其中,所述碳源选自糖蜜、葡萄糖、红糖、麦芽糊精与淀粉中的至少一种;所述氮源包括玉米浆干粉、酵母膏和酵母粉中的至少一种与尿素的组合。

[0031] 在其中一些实施例中,所述碳源可以选自红糖,所述红糖的质量百分比可以为4-7%。该质量百分比的红糖相较于糖蜜、葡萄糖、麦芽糊精与淀粉,能够更好地提高枯草芽孢杆菌发酵所得表面活性素的含量。

[0032] 在其中一些实施例中,所述氮源选自酵母膏与尿素的组合;所述酵母膏的质量百分比为0.45-0.55%;所述尿素的质量百分比为0.45-0.55%。选用酵母膏,相较于玉米浆干粉和酵母粉,能够更好地提高枯草芽孢杆菌发酵所得表面活性素的含量。

[0033] 在其中一些实施例中,所述磷酸盐可以选自磷酸二氢钾与磷酸氢二钠的组合。磷酸二氢钾的质量百分比可以为0.03%,磷酸氢二钠的质量百分比可以为0.1%。

[0034] 在其中一些实施例中,所述氨基酸可以选自亮氨酸。亮氨酸作为表面活性素的成分,能够提供表面活性素生长的必须成分,从而更好地提高枯草芽孢杆菌发酵所得表面活性素的含量。

[0035] 在其中一些实施例中,所述大豆纤维的添加量可以为1-3%,能够更好地提高枯草芽孢杆菌发酵所得表面活性素的含量。大豆纤维的添加,能够提高发酵培养基的粘稠度,使得发酵培养基较为黏稠,从而能够在一定程度上可抑制发酵过程中产生的泡沫,同时还能促进枯草芽孢杆菌菌体生长及产物表面活性素的产生。

[0036] 基于同一发明构思,本申请实施例还提供了一种如前所述的提高表面活性素含量的发酵培养基在提高枯草芽孢杆菌的发酵产物中表面活性素含量的应用。所述枯草芽孢杆菌可以为保藏编号为CGMCC No.24947的枯草芽孢杆菌。

[0037] 基于同一发明构思,本申请实施例还提供了一种提高表面活性素含量的发酵方法,如图1所示,可以包括:

[0038] 步骤S100,将枯草芽孢杆菌接种至液体种子培养基中,进行种子培养16-18h得到发酵菌种;

[0039] 步骤S200,将发酵菌种接种至发酵培养基中,进行发酵培养22-26h;其中,所述发酵菌种的接种量以体积分数计为3~5%;所述发酵培养基为如前任一实施例所述的发酵培养基;

[0040] 步骤S300,添加补料培养基,进行补料培养至46-50h。

[0041] 在其中一些实施例中,所述补料培养基包括红糖,尿素和亮氨酸;所述补料培养基的添加量为,补料培养基的添加体积与发酵培养基的体积的比值为9-11%。

[0042] 在其中一些实施例中,所述补料培养基包括以下重量百分比的物质:红糖20-35%,尿素1-2.5%和亮氨酸4-5%。通常,由于发酵培养基本身已经比较粘稠,在后续的补料培养基中无需添加大豆纤维即可保持该种粘稠的状态,并且还能够具有一定的抑制泡沫和促进枯草芽孢杆菌菌体生长及产物表面活性素的产生的能力。

[0043] 在其中一些实施例中,所述种子培养,所述发酵培养和所述补料培养中溶解氧的含量可以为控制为 $DO > 20\%$,培养温度可以为30-40℃。摇床培养条件下,摇床转速可以为180-220r/min。发酵罐培养条件下,转速可以为300-500rpm。

[0044] 下面结合具体实施方式来进一步说明本发明的技术方案。

[0045] 下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。

[0046] 下述实施例中所用的试验材料,如无特殊说明,均为自常规生化试剂商店购买得到的。下述实施例中均以枯草芽孢杆菌为出发菌株,枯草芽孢杆菌可以为保藏编号为CGMCC No.24947的枯草芽孢杆菌。下述实施例中均通过高效液相法(HPLC)测定脂肽含量。

[0047] 具体地,HPLC定量测定可以包括:

[0048] (1) 色谱条件:色谱柱岛津C18 ODS-3 (4.6mm×250mm,5μm)、流速1.0mL/min、检测波长205nm、柱温常温。流动相:含0.1%TFA的色谱乙腈-0.1%TFA;仪器:岛津L-033型色谱仪;梯度设定:0~7min,A(10%~90%),B(90%~10%);7~24min,A(90%),B(10%);24~29min,A(90%~10%),B(10%~90%);29~36min,A(10%),B(90%)。

[0049] (2) 测定方法:枯草芽孢杆菌在发酵培养基中发酵结束后,收集发酵液,加入乙醇提取,醇提后经滤膜过滤,通过上述检测方法测定含量。

[0050] 实施例1:氮源对表面活性素产量的影响

[0051] 试验方法:将枯草芽孢杆菌单菌落接种到LB液体培养基中37℃、200rpm培养16-18h,按4v/v%接种量接种于下述不同氮源的发酵培养基中,37℃、200rpm发酵24h,添加体积为初始培养基体积10%的补料培养基,37℃、200rpm继续培养至48h发酵结束。

[0052] 基础组分(也即发酵培养基组分):麦芽糊精6.5%,尿素0.5%,磷酸二氢钾0.03%,磷酸氢二钠0.1%,硫酸镁0.015%,氯化钙0.0007%,硫酸锰0.0006%,硫酸铁0.0006%,亮氨酸0.5%,pH为7。向上述组成的发酵培养基中添加0.5%的玉米浆干粉或酵母膏或酵母粉等氮源。

[0053] 补料培养基配方:麦芽糊精32.5%,尿素2.5%,亮氨酸5%,pH自然。将发酵培养48h小时后得到的发酵液通过HPLC测定表面活性素的含量。

[0054] 实验结果:如下表1所示。

[0055] 表1:不同种类氮源对表面活性素产量的影响

	氮源种类	Surfactin (g/L)
[0056]	玉米浆干粉	9.9 ± 0.48
[0057]	酵母膏	12.32 ± 0.542
	酵母粉	11.86 ± 0.202

[0058] 结果分析:由表1可知,在发酵培养基中添加不同种类的氮源,对枯草芽孢杆菌的发酵产物中的表面活性素含量的影响不同。其中,添加酵母膏为氮源,所得枯草芽孢杆菌的发酵产物中的表面活性素含量最高。

[0059] 实施例2:碳源对表面活性素产量的影响

[0060] 实验方法:将枯草芽孢杆菌单菌落接种到LB液体培养基中37℃、200rpm培养16-18h,按4v/v%接种量接种于下述不同氮源的发酵培养基中,37℃、200rpm发酵24h,添加体积为初始培养基体积10%的补料培养基,37℃、200rpm继续培养至48h发酵结束。

[0061] 基础组分(也即发酵培养基组分):酵母膏0.5%,尿素0.5%,磷酸二氢钾0.03%,磷酸氢二钠0.1%,硫酸镁0.015%,氯化钙0.0007%,硫酸锰0.0006%,硫酸铁0.0006%,亮氨酸0.5%,pH7。向上述组成中添加7%的麦芽糊精、葡萄糖、红糖、糖蜜、淀粉等碳源之一。

[0062] 补料培养基配方:尿素2.5%,亮氨酸5%,pH自然。向上述组成中添加35%的糖蜜或葡萄糖或红糖或麦芽糊精或淀粉等碳源。

[0063] 将发酵培养48h小时后得到的发酵液通过HPLC测定表面活性素的含量。

[0064] 实验结果:见下表2和图3。其中,图3的对照组为碳源为红糖时的泡沫状态图。

[0065] 表2:不同种类碳源对表面活性素产量的影响

	碳源种类	Surfactin (g/L)
[0066]	糖蜜	2.14 ± 0.035
	葡萄糖	11.97 ± 0.092
	红糖	15.02 ± 0.933
	麦芽糊精	13.76 ± 0.903
	淀粉	8.53 ± 0.947

[0067] 结果分析:由表2可知,在发酵培养基中添加不同种类的碳源,对枯草芽孢杆菌的发酵产物中的表面活性素含量的影响不同。其中,添加红糖为碳源,所得枯草芽孢杆菌的发酵产物中的表面活性素含量最高。

[0068] 实施例3:豆类物质对表面活性素产量的影响

[0069] 试验方法:将枯草芽孢杆菌单菌落接种到LB液体培养基中37℃、200rpm培养16-18h,按4v/v%接种量接种于下述不同氮源的发酵培养基中,37℃、200rpm发酵24h,添加体积为初始培养基体积10%的补料培养基,37℃、200rpm继续培养至48h发酵结束。

[0070] 基础组分(也即发酵培养基的组分):红糖7%,酵母膏0.5%,尿素0.5%,磷酸二氢钾0.03%,磷酸氢二钠0.1%,硫酸镁0.015%,氯化钙0.0007%,硫酸锰0.0006%,硫酸铁

0.0006%,亮氨酸0.5%,pH7。向上述组成中添加3%的豆粕、大豆粉、大豆纤维等豆类物质之一。

[0071] 补料培养基配方:红糖35%,尿素2.5%,亮氨酸5%,pH自然。

[0072] 将发酵培养48h小时后得到的发酵液通过HPLC测定表面活性素的含量。

[0073] 实验结果:见下表3和图3。

[0074] 表3:不同种类的大豆类物质对表面活性素产量的影响

	大豆类物质	Surfactin (g/L)
[0075]	豆粕	6.86±0.056
	大豆粉	11.73±1.032
	大豆纤维	19.04±0.883

[0076] 结果分析:由表3可知,在发酵培养基中添加不同种类的大豆物质,均能够在一定程度上起到抑制泡沫的作用,但对枯草芽孢杆菌的发酵产物中的表面活性素含量的影响不同。其中,添加大豆粉和大豆纤维后,相较于实施例2中碳源为红糖的对照,仅能抑制少量的泡沫。而添加豆粕之后,相较于实施例2中碳源为红糖的对照,能够抑制大量的泡沫。豆粕为大豆在油脂提取过程中剩下的残渣,主要含有蛋白质、纤维、矿物质等成分。大豆粉为以大豆为原料直接加工成的粉末,主要含有蛋白质、脂肪、碳水化合物、矿物质和膳食纤维等物质。大豆纤维主要是指不能消化酶所消化的大分子糖类的总称,包括纤维素、果胶质、木聚糖、甘露糖等物质。因此,添加大豆纤维为大豆类物质,具有较好的抑制泡沫的效果,且所得枯草芽孢杆菌的发酵产物中的表面活性素含量最高。

[0077] 实施例4:大豆纤维浓度对表面活性素产量的影响

[0078] 试验方法:将枯草芽孢杆菌单菌落接种到LB液体培养基中37℃、200rpm培养16-18h,按4v/v%接种量接种于下述不同氮源的发酵培养基中,37℃、200rpm发酵24h,添加体积为初始培养基体积10%的补料培养基,37℃、200rpm继续培养至48h发酵结束。

[0079] 基础组分(也即发酵培养基组分):红糖7%,酵母膏0.5%,尿素0.5%,磷酸二氢钾0.03%,磷酸氢二钠0.1%,硫酸镁0.015%,氯化钙0.0007%,硫酸锰0.0006%,硫酸铁0.0006%,亮氨酸0.5%,pH7。向上述组成中添加0.5%、1%、3%浓度的大豆纤维之一。

[0080] 补料培养基配方:红糖35%,尿素2.5%,亮氨酸5%,pH自然。

[0081] 将发酵培养48h小时后得到的发酵液通过HPLC测定表面活性素的含量。

[0082] 实验结果:见下表4和图2。

[0083] 表4:不同浓度大豆纤维对表面活性素的影响

	大豆纤维	Surfactin (g/L)
[0084]	1%	17.85±0.063
	3%	19.5±0.231

[0085] 结果分析:由表4可知,在发酵培养基中添加不同浓度的大豆纤维,对枯草芽孢杆菌的发酵产物中的表面活性素含量的影响不同。其中,添加浓度为3%的大豆纤维,所得枯

草芽孢杆菌的发酵产物中的表面活性素含量最高。

[0086] 将实施例4与实施例1和实施例2进行对比可知,添加浓度为3%的大豆纤维后,相较于未添加大豆纤维的实施例1中酵母膏类型的氮源,所得枯草芽孢杆菌的发酵产物中的表面活性素含量提高了近50%。相较于未添加大豆纤维的实施例2中红糖类型的碳源,所得枯草芽孢杆菌的发酵产物中的表面活性素含量提高了近30%。

[0087] 图2为实施例1、实施例2、实施例4中最佳条件下的产量对比图,由图2可知,实施例1与实施例2,实施例4与实施例1,以及实施例4与实施例2之间, $P \leq 0.001$,说明具有极其显著的统计学差异,表明添加大豆纤维能够在抑制泡沫的同时提高表面活性素的含量。

[0088] 实施例5:30L发酵罐中表面活性素的产量

[0089] 试验方法:将枯草芽孢杆菌单菌落接种到LB液体培养基中37℃、200rpm培养16-18h,按4v/v%接种量接种于下述发酵培养基中进行发酵培养,发酵16h时流加补料培养基,继续培养至48h发酵结束,发酵条件:温度37℃,通气量:20m²/h,转速:300-500rpm,保持DO>20%,使用NaOH调节并维持pH6.0以上。

[0090] 基础组分(也即发酵培养基的组分):红糖7%,酵母膏0.5%,尿素0.5%,磷酸二氢钾0.03%,磷酸氢二钠0.1%,硫酸镁0.015%,氯化钙0.0007%,硫酸锰0.0006%,硫酸铁0.0006%,亮氨酸0.5%,pH为7。大豆纤维3%。

[0091] 补料培养基配方:红糖35%,尿素2.5%,亮氨酸5%,pH自然。补料培养基的添加体积占发酵培养基的体积的10%。

[0092] 将发酵培养48h后得到的发酵液通过HPLC测定。

[0093] 实验结果:测定所得的表面活性素的含量为22.04g/L。

[0094] 所属领域的普通技术人员应当理解:以上任何实施例的讨论仅为示例性的,并非旨在暗示本公开的范围(包括权利要求)被限于这些例子;在本公开的思路下,以上实施例或者不同实施例中的技术特征之间也可以进行组合,步骤可以以任意顺序实现,并存在如上所述的本公开实施例的不同方面的许多其它变化,为了简明它们没有在细节中提供。

[0095] 尽管已经结合了本公开的具体实施例对本公开进行了描述,但是根据前面的描述,这些实施例的很多替换、修改和变型对本领域普通技术人员来说将是显而易见的。

[0096] 本公开实施例旨在涵盖落入所附权利要求的宽泛范围之内的所有这样的替换、修改和变型。因此,凡在本公开实施例的精神和原则之内,所做的任何省略、修改、等同替换、改进等,均应包含在本公开的保护范围之内。

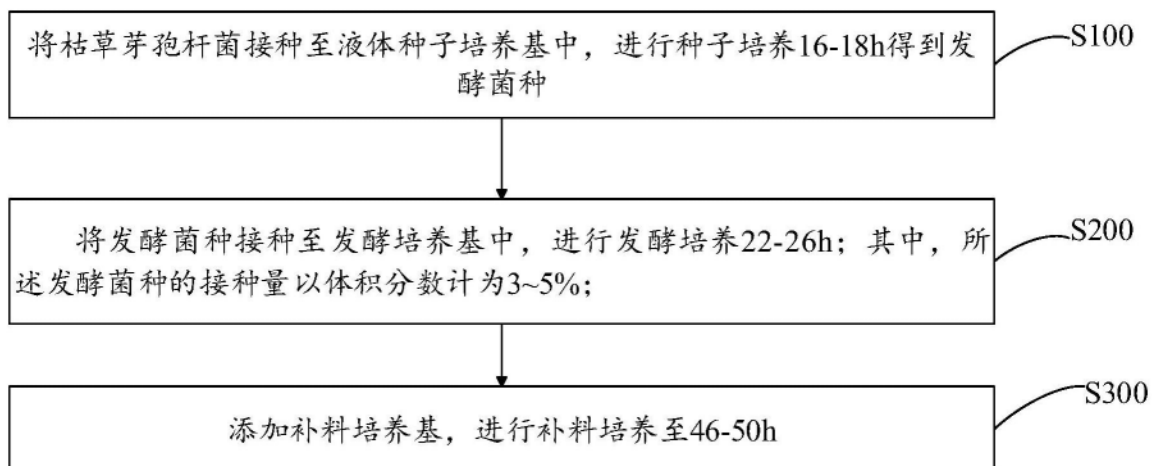


图1

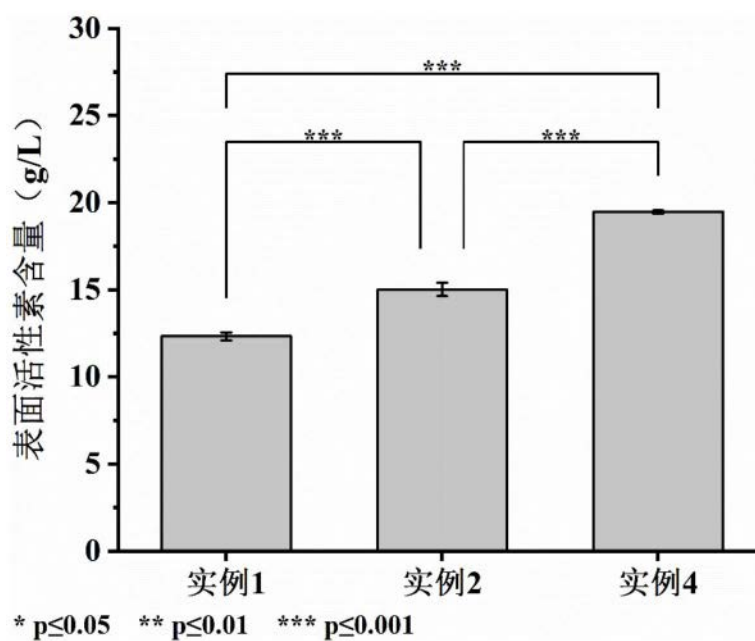


图2

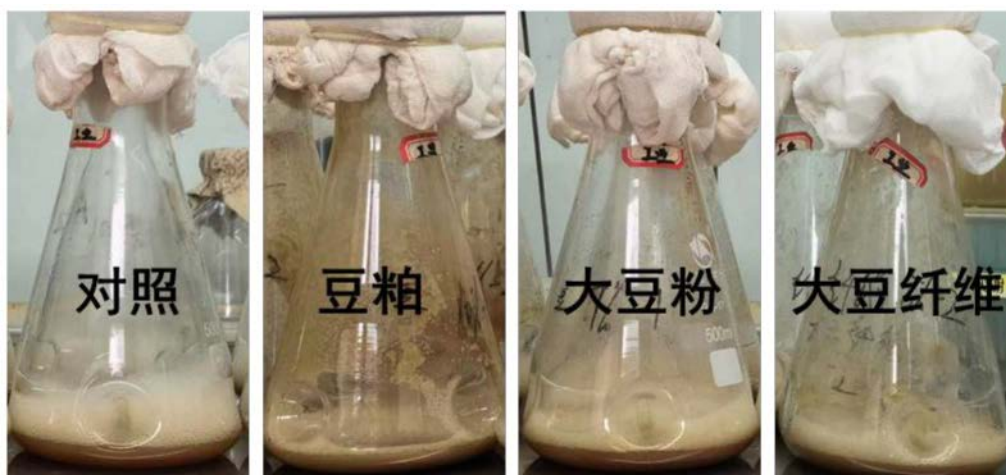


图3