

# 从米根霉细胞壁寻找天然壳聚糖的研究(Ⅳ)\*

陈世年

(华侨大学化工与生化工程系, 泉州 362011)

**摘要** 用 X-ray 能谱及原子吸收光谱研究,发现 Ca(Ⅱ)仅占米根霉细胞壁干重的 0.036%。

**关键词** 壳聚糖,米根霉,细胞壁,Ca(Ⅱ)

**分类号** TQ 929.2

文[1]~[3]报道运用 FT-IR、粉末 X-ray 衍射及 TG 法研究,发现米根霉细胞壁的结构多由两个物相组成,即几丁质和壳聚糖。其中几丁质的晶态结构为  $\alpha$ -多晶型。米根霉是发酵工业中重要的生产菌种,由于细胞壁含有天然的壳聚糖,因此其发酵下游处理过程中产生的废菌体有望作为取代虾、蟹外骨骼作为生产壳聚糖原料的新资源。虾、蟹外骨骼富含  $\text{CaCO}_3$ <sup>[4]</sup>,在用其作为原料生产壳聚糖的传统工艺中,用酸除钙是必不可少的技术环节。从生态与生理及遗传学的角度分析,米根霉在生长繁殖过程中对 Ca(Ⅱ)的需求量极少,因此其细胞壁含 Ca(Ⅱ)量可能很低。从其细胞壁中提取壳聚糖可能免于除钙这一过程。为了证实这一推测具有科学性,并为简化提取壳聚糖的工艺路线提供理论依据。本研究采用 X-ray 能谱结合原子吸收光谱法、紫外吸收光谱法对米根霉细胞壁 Ca(Ⅱ)等无机元素作了定性与定量研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

米根霉(*R. oryzae*) AS 3.3462. 系中国科学院微生物研究所保藏菌种。

### 1.2 培养基与培养方法

与文[1,2]同。

### 1.3 米根霉细胞生物量的获得、细胞壁的制备

与文[1,2]同。

### 1.4 细胞壁中无机元素的定性测定

取烘干至恒重的米根霉细胞壁用 Hitachi 公司 HUS-5GB 镀膜仪喷炭镀膜后,用美国 PGT IMIX-ⅠC X-ray 能谱仪进行测试。能谱仪工作条件:加速电压 20 kV,电流 20 mA,工作距离 25 mm,扫描采谱时间 100 s,记录量程 2 000 CPS。

### 1.5 细胞壁中无机元素的定量测定

\* 本文 1996-06-27 收到;福建省自然科学基金资助项目

取烘干至恒重的米根霉细胞壁,据同一样品定性分析结果用 Hitachi 公司 180-80 原子吸收光谱仪按常规方法测定;无机磷采用 Beckman 公司 Du-7HS 紫外吸收光谱仪按常规方法测定。

2 结果与讨论

虾、蟹外骨骼中的几丁质是和溶于水的  $\text{CaCO}_3$ 、蛋白质结合的形式存在的. 因此由虾、蟹外骨骼为原料生产壳聚糖首先是使几丁质与  $\text{CaCO}_3$  和蛋白质分离的过程. 文献[4]报道了  $\text{CaCO}_3$  在虾、蟹外骨骼含量(质量分数)高达 75%. 以该元素原子量计算并换算,  $\text{Ca}(\text{I})$  占虾、蟹外骨骼重量的 30%. 因此由这类原料来生产壳聚糖,用酸除钙是整个生产流程中必不可少的环节(图 1),也是造成设备受腐蚀、生产成本高、产品品质不稳定、当地环境受污染的原因. 在本研究中, X-ray 能谱分析的结果(图 2)显示,米根霉细胞壁含有 Al, Ca, Cu, Fe, Mg, P 等

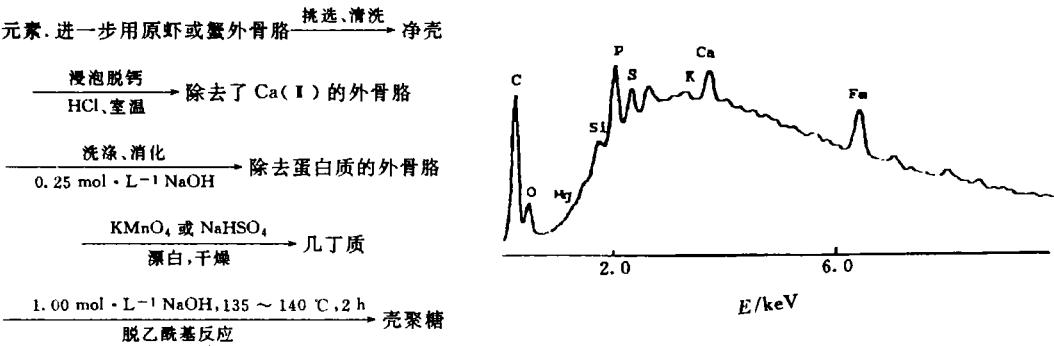


图 1 用虾、蟹外骨骼制取壳聚糖的工艺流程示意 图 2 米根霉细胞壁无机元素 X-ray 能谱定性分析  
子吸收光谱定量测定发现这些元素含量(C)极低,其中  $\text{Ca}(\text{I})$  仅有  $9.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{g}^{-1}$  (表 1),仅占米根霉细胞壁干重的 0.036%. 两者  $\text{Ca}(\text{I})$  的含量相差 833 倍. 据此,本研究认为用米

表 1 米根霉细胞壁无机元素的含量

元 素	P	Al	Cu	Ca	Fe	K	Si	Mg
$C/\times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{g}^{-1}$	71.00	1.48	0.97	9.00	3.89	6.41	5.00	4.08

根霉细胞壁为原料,在制取壳聚糖可以完全免除脱  $\text{Ca}(\text{I})$  的技术环节,有关用米根霉细胞壁提取壳聚糖的研究待报道. 因此根据文[1]~[3]对米根霉培养及对米根霉细胞壁的研究,认为用米根霉等微生物来作为生产壳聚糖的原料有着用虾、蟹外骨骼所不可比拟的优点(表 2),是

表 2 用米根霉细胞壁与用虾、蟹外骨骼作为生产壳聚料优缺点的比较

原料来源	虾、蟹外骨骼	细胞壁含有天然壳聚糖的米根霉细胞壁
原料获得途径	捕捞或人工养殖	发酵法培养
地理位置、气候因素对原料来源的影响	捕捞须在海上作业,人工养殖局限于沿海地区,两者均受气候因素的显著影响	工厂化生产不受地理位置限制,受气候因素的影响也很小
原料生产周期	人工养殖法(如对虾)至少要 90 d;从海洋捕捞须按生长季节	发酵法培养仅需 3~4 d

续表 2

原料首次获得方式	手工剥制、挑选、采集	用米根霉发酸生产 <i>L</i> -乳酸、丁烯二酸后的废菌体
原料主要化学组成	几丁质、蛋白质、 $\text{CaCO}_3$	几丁质、壳聚糖及少量蛋白质、脂类物质
原料的预处理	须用 $\text{HCl}$ 除 $\text{Ca}(\text{I})$ 及用 $\text{NaOH}$ 消化去除蛋白质以获得几丁质	不需除 $\text{Ca}(\text{I})$ , 但需破碎细胞壁去除细胞内含物及细胞中的旦白质、脂类物质
壳聚糖形成方式	几丁质在高温浓碱及较长时间下进行脱乙酰基反应后形成壳聚糖	在米根霉生长过程中, 由胞内几丁质脱乙酰基酶对细胞壁中的几丁质催化脱去乙酰基后形成天然壳聚糖. 然后可供直接从细胞壁中提取
技术路线对生态环境的影响与评价	对设备腐蚀性强、工艺路线耗能、碱、酸量大并伴随有大量废酸、碱液排入环境, 污染严重	在获取 <i>L</i> -乳酸等发酵产品后, 用废菌体作为原料, 减少废菌体对环境的排放量. 废酸、碱液排放量明显减少

可以替代虾、蟹外骨骼作为生产壳聚糖原料的新资源.

### 参 考 文 献

- 1 陈世年. 从米根霉细胞壁寻找天然壳聚糖的研究(I). 华侨大学学报(自然科学版), 1995, 16(4): 323~327
- 2 陈世年. 从米根霉细胞壁寻找天然壳聚糖的研究(II). 华侨大学学报(自然科学版), 1996, 17(1): 74~79
- 3 陈世年. 从米根霉细胞壁寻找天然壳聚糖的研究(III). 华侨大学学报(自然科学版), 1996, 17(4): 315~321
- 4 张力田. 碳水化合物化学. 北京: 轻工业出版社, 1988. 375~376

## Searching after Natural Chitosan from Cell

### Wall of *Rhizopus Oryzae* (IV)

Chen Shinian

(Dept. of Chem. & Biochem. Eng., Huaqiao Univ., 362011, Quanzhou)

**Abstract** As studied by X-ray energy spectrum and atomic absorption spectrum, the cell wall of *Rhizopus Oryzae* contains only 0.036% of calcium in dry weight.

**Keywords** chitosan, *Rhizopus Oryzae*, cell wall, calcium