

文章编号: 1674-7054(2016)02-0164-03

魔芋葡甘聚糖气凝胶对海洋污染降解菌的吸附固定化

穆若郡¹, 庞杰¹, 王敏¹, 李孟繁¹, 刘承初², 吴先辉³

(1. 福建农林大学 食品科学学院, 福州 350002; 2. 美国马里兰大学 海洋学院, 安妮公主镇 MD21853;

3. 宁德职业技术学院, 福建 福安 355000)

摘要: 为了固定海洋污染降解菌, 提高其对海洋污染的降解效率, 通过研究魔芋葡甘聚糖(KGM)气凝胶对微生物的吸附稳定性能, 采用冷冻干燥技术, 制备出魔芋葡甘聚糖气凝胶, 并对嗜酸乳杆菌进行吸附固定化处理。采用扫描电镜(SEM)对嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)固定化气凝胶结构进行了分析与表征, 并对其储存稳定性进行研究。结果表明, 嗜酸乳杆菌固定化气凝胶含有大量相互连接的孔隙结构, 分布均匀, 孔洞壁厚实而光滑, 且有明显通道形成, 吸附固定化嗜酸乳杆菌的储藏期长于冻干菌粉, 其稳定性明显增强。

关键词: 魔芋葡甘聚糖; 气凝胶; 海洋污染; 石油烃; 环境友好型生物材料; 嗜酸乳杆菌; 吸附固定化

中图分类号: X 55

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2016.02.004

随着科技的发展, 人类活动越来越多地向海洋延伸, 海洋资源也越来越被重视。因此, 海洋环境在对海洋资源的开发利用过程中就显得日益重要, 但在实际的开发过程中却存在诸多的污染问题, 其中, 海上泄露的石油对海洋环境的危害最大^[1]。石油污染发生后, 海水中大部分的油类主要是浮油可以通过采取一些物理应急措施, 但残存在海水中的少量油类很难通过物理方法进行处理。化学方法相对较好, 但存在二次污染问题^[2-3]。生物处理技术, 即利用微生物对水中的污染物进行分解和转化, 由于生态友好、价格低廉等诸多优势受到人们的重视。但是, 在海洋石油污染微生物修复过程中, 却存在着有效菌株流失严重导致修复效率大幅度下降等问题^[4]。气凝胶是一种超轻的多孔性凝胶材料, 通常是通过将含水量较高的凝胶前体物质通过超临界干燥或冷冻干燥后得到的特殊结构^[5], 这一过程由于水分的快速升华, 不会导致网络结构的破坏。魔芋葡甘聚糖(KGM)是由甘露糖和葡萄糖以 β -1,4糖苷键连接的线性高分子化合物, 在其分子的某些糖基侧链上, 连接有一定数量的乙酰基团, 葡萄糖和甘露糖的分子比为1:(1.5~1.7), 相对分子质量可高达106, 粘度高, 溶于水, 在水中膨胀度大, 具有特定的生物活性^[6]以及亲水性、增稠性、稳定性等多种特性^[7-8]。近些年, 以天然高分子为原料的气凝胶发展迅速, 是一种良好的吸附固定化材料, 这种材料可以在固定微生物的同时漂浮于海面, 大大提高了对海洋石油污染的降解效率, 而且是一种环境友好型的可降解材料^[9]。笔者采用冷冻干燥技术, 制备出魔芋葡甘聚糖气凝胶, 并对嗜酸乳杆菌进行吸附固定化处理, 同时采用扫描电镜(SEM)对嗜酸乳杆菌(*Lactobacillus acidophilus*)固定化气凝胶结构进行了分析与表征, 并对其储存稳定性进行研究, 旨在为利用魔芋葡甘聚糖气凝胶吸附固定海洋污染降解菌提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 魔芋葡甘聚糖(云南昭通三艾有机魔芋发展有限责任公司, 食品级); 嗜酸乳杆菌酸奶发酵剂

收稿日期: 2015-12-30

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2014J01384); 福建省教育厅科技计划项目(JA13440)

作者简介: 穆若郡(1986-), 男, 福建农林大学食品科学学院2015级博士研究生. E-mail: muruojun@gmail.com

通信作者: 庞杰(1965-), 男, 研究员. 研究方向: 天然大分子物质结构与活性. E-mail: pang3721941@163.com;

刘承初(1965-), 女, 教授. 研究方向: 海洋生物资源与安全监测. E-mail: chengchuliu@yahoo.com

(常州益菌加生物科技公司)。

1.2 仪器与设备 HH-2 数显恒温水浴锅(江阴市保利科研器械有限公司), JB200-S 数字显示转速电动搅拌机(上海标本模型厂), ULPHW 实验室超纯水机(西安优普仪器设备有限公司), LGJ-425 冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司), ZL-80 恒温恒湿试验箱(东莞市正蓝精密仪器有限公司), Nova NanoSEM230 场发射扫描电子显微镜(美国 FEI 公司)。

1.3 气凝胶的制备 将 1 g 的魔芋葡甘聚糖加入到 99 g 超纯水中, 于 30 °C 恒温水浴锅中, 以 $350 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的搅拌速度搅拌 60 min, 搅拌后的粘稠状液体倒入培养皿中, 每个培养皿约 50 mL, -18 °C 真空冷冻干燥。

1.4 嗜酸乳杆菌的吸附固定化研究 将嗜酸乳杆菌培养液倒入装有气凝胶的培养皿中吸附固定化培养后等待测试。

1.5 电子显微镜结构表征 将制备的嗜酸乳杆菌固定化气凝胶经冷冻干燥后, 置于液氮中脆断, 然后固定在带双面胶的样品铜台上, 断面朝上, 进行喷金粉处理后, 在扫描电子显微镜(SEM)下观察凝胶的微观结构。测定条件: 100 倍放大倍率; 最大加速电压为 15 kV。

1.6 电子显微镜结构表征 将气凝胶装入真空封装袋中, 抽真空, 存放在 25 °C 条件下 28 d, 每 7 d 测定 1 次气凝胶的活菌数, 以此来评价固定化气凝胶的储藏稳定性。冻干菌粉作为对照组, 操作步骤同上。

2 结果与分析

2.1 嗜酸乳杆菌固定化气凝胶的微观结构观察 由图 1 可知, 在扫描电子显微镜下放大 100 倍, 观察到冷冻干燥后形成的固定化气凝胶表面皱缩, 形态不为圆球形, 而是类似于干制“话梅”状, 这与芯材多孔凝胶“微球”的物理状态存在着很大的关系, 并为降解菌提供 1 道与外界隔绝的保护屏障, 可以降低外界不良因素对降解菌的伤害。

2.2 嗜酸乳杆菌固定化气凝胶的稳定性对比测试 由图 2 很容易看出, 在 25 °C 条件下, 经历 4 周的贮藏期后, 未经包埋的冻干菌粉的活菌数下降了 $5.9 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$, 而经过气凝胶固定化的嗜酸乳杆菌菌粉仅下降了 $0.9 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ 。由此可见, 固定化相当于给嗜酸乳杆菌增加了 1 层“保护衣”, 延长了嗜酸乳杆菌的贮藏“寿命”。

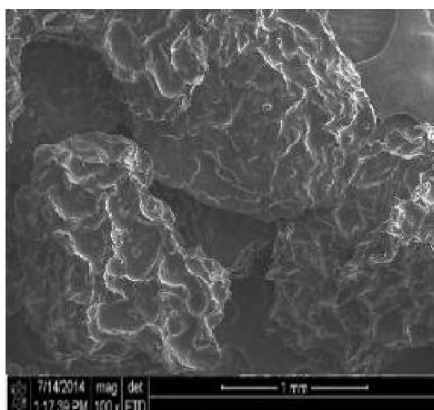


图 1 固定化嗜酸乳杆菌 KGM 气凝胶扫描电子显微镜观察结果

Fig. 1 Scanning electron micrographs of immobilized *Lactobacillus acidophilus* aerogel

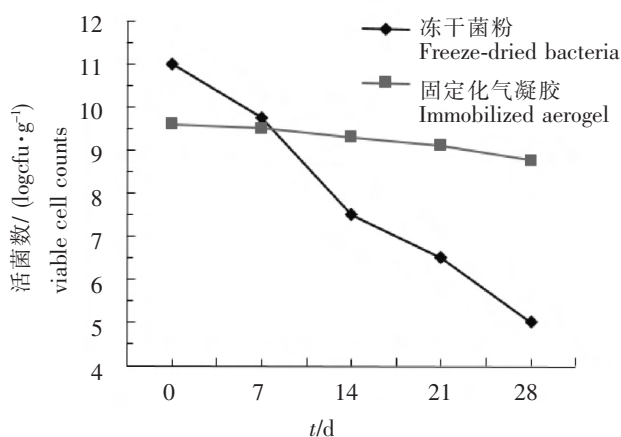


图 2 不同处理嗜酸乳杆菌在 25 °C 贮藏条件下的稳定性试验

Fig. 2 Storage stability of *L. acidophilus* with different treatments at 25 °C

3 讨论

气凝胶的发现距今已有 80 年的历史, 其无限的潜力和应用价值不断地被人类挖掘出来, 其特有的多孔结构导致了气凝胶的极高的比表面积和孔隙率和极低的密度, 以及多样的空间三维网络结构。这样的结构赋予了气凝胶特有的隔热性能、光学特性^[1]、量子尺寸效应、表面界面效应^[1]、介电特性和掺杂吸附性能^[2]。本研究在采用冷冻干燥技术制得魔芋葡甘聚糖气凝胶, 并对嗜酸乳杆菌进行固定化培养。微观结构

扫描图显示内部有大量相互连接的孔隙结构,分布均匀,孔洞壁厚实而光滑,且有明显通道形成,能够为益生菌提供 1 道与外界隔绝的保护屏障,降低了外界不良因素对益生菌的伤害,提高了贮藏时间。本研究以嗜酸乳杆菌作为海洋污染降解的代表菌种进行研究,期望利用此技术、理念能够实现对其他微生物的吸附固定化。

参考文献:

- [1] 率鹏,郭帅,曹竞祎,等. 海洋石油环境污染的处理及其防治 [J]. 中国造船, 2013(A02): 571 – 575.
- [2] Lan D, Liang B, Bao C, et al. Marine oil spill risk mapping for accidental pollution and its application in a coastal city [J]. Marine Pollution Bulletin, 2015, 96(1/2): 220 – 225.
- [3] Olga V R, Darina V I, Alexandr A I, et al. Cleanup of water surface from oil spills using natural sorbent materials [J]. Procedia Chemistry, 2014(10): 145 – 150.
- [4] 程壮,白翔,王晓东,等. 石油类污染水源水的应急处理 [J]. 油气田地面工程, 2014(7): 25 – 26.
- [5] Chen H, Mu R Jun, Pang J, et al. Influence of topology structure on the stability of Konjac glucomannan nano gel microfibril [J]. Chinese Journal of Structural Chemistry, 2015, 34(12): 1939 – 1941.
- [6] Fan L L, Peng S H, Wen C R, et al. Analysis of influential factors of Konjac glucomannan(KGM) molecular structure on its Activity [J]. Chinese Journal of Structural Chemistry, 2012, 31(4): 605 – 613.
- [7] Pang J, Ma Z, Shen B S, et al. Hydrogen bond networks' QSAR and topological analysis of Konjac glucomannan chains [J]. Chinese Journal of Structural Chemistry, 2014, 33(3): 480 – 489.
- [8] Jian W J, Yao M N, Wan Y, et al. Study on the hydration shell of single-helical of Konjac Glucomannan [J]. Chinese Journal of Structural Chemistry, 2011, 30(1): 127 – 133.
- [9] Pääkkö M, Vapaavuori J, Silvennoinen R, et al. Long and entangled native cellulose I nanofibers allow flexible aerogels and hierarchically porous templates for functionalities [J]. Soft Matter, 2008, 4(12): 2492 – 2499.
- [10] Zhao Y, Thorkelsson K, Mastroianni A J, et al. Small-molecule-directed nanoparticle assembly towards stimuli-responsive nanocomposites [J]. Nature Materials, 2009, 8: 979 – 985.
- [11] Lin Y, Böker A, He J B, et al. Self-directed self-assembly of nanoparticle/copolymer mixtures [J]. Nature, 2005, 43: 55 – 59.
- [12] Han H H, Zhao Z B, Wan W B, et al. Ultralight and highly compressible graphene aerogels [J]. Advanced Materials, 2013, 25: 2219 – 2223.

Immobilization of Marine Pollutants Degrading Bacteria by Konjac Glucomannan Aerogel

MU Ruojun¹, PANG Jie¹, WANG Ming¹, LI Mengfan¹, LIU Chengchu², WU Xianhui³

(1. College of Food Science, Fujian University of Agriculture and Forestry, Fuzhou 350002. China; 2. University of Maryland, Eastern Shore, Princess Anne, MD, MD21853, USA; 3. Ningde Vocational and Technical College, Fu'an, Fujian 355000, China)

Abstract: Freeze-drying technology was used to prepare Konjac glucomannan aerogel which was used to treat a marine pollutant degrading bacterium *Lactobacillus acidophilus* to observe the immobilization of pollutants by *L. acidophilus* in a view to improving the bacterial degrading of marine pollutants. Scanning electron microscopy (SEM) was used to analyze the structure and the storage stability of immobilized *L. acidophilus* aerogel. Results reveals that the aerogel contained a large number of interconnected pore structures, uniformly distributed, with thick and smooth pore wall and clearly formed channels. The immobilized *L. acidophilus* aerogel had longer storage duration than the freeze-dried *L. acidophilus* powder, and its storage stability was enhanced.

Keywords: Konjac glucomannan; aerogel; marine pollution; petroleum hydrocarbon; environmental friendly biomaterial; *Lactobacillus acidophilus*; absorption; immobilization