

Acetobacter xylinum CGMCC5173 发酵 生产细菌纤维素的条件优化

许燕娜, 张剑恩, 黎嘉惠, 蔡兴蓉, 黄烧勤, 吴晖, 刘冬梅
(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 为提高 *Acetobacter xylinum* CGMCC5173 生产细菌纤维素 (BC) 的产量, 对该菌生产 BC 的条件进行优化。研究表明, 采用 CJMF 培养基, 培养到第二代时 BC 产量最高, 达到 43.91 g/L; 采用 HMF 培养基, 当接种量为 10%, 蔗糖、乙酸钠、乙醇和 L-乳酸的含量分别为 10%、1.0%、1.5% 和 0.25% 时, 细菌纤维素产量最高, 分别达到 14.79 g/L、7.47 g/L、4.24 g/L、40.07 g/L 和 21.92 g/L; 而 D-乳酸越多, BC 产量越低; 采用 80% HMF 与 20% CJMF 混合复配的发酵液, BC 的产量最高为 29.30 g/L。结果表明, 控制 *A. xylinum* 5173 的培养代数和用 HMF 与 CJMF 复配的发酵液可稳定和有效地提高 BC 产量。

关键词: 木醋杆菌; 细菌纤维素; 发酵优化

文章编号: 1673-9078(2012)11-1535-1540

Optimization of the Production of Bacterial Cellulose Fermented by *Acetobacter Xylinum* CGMCC5173

XU Yan-na, ZHANG Jian-en, LI Jia-hui, CAI Xing-rong, HUANG Rao-qin, WU Hui, LIU Dong-mei
(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

Abstract: In order to improve the yield of Bacterial Cellulose fermented by *Acetobacter xylinum* CGMCC5173, the optimum conditions for fermentation were investigated. The result showed that, in CJMF medium, BC production reached the highest as 43.91 g/L when *A. xylinum* 5173 was cultivated to the second generation. In HMF medium, when the quantity of inoculums content, sucrose, sodium acetate, ethanol and L-lactic acid are 10%, 10%, 1.0%, 1.5% and 0.25% respectively, BC production were enhanced up to their peak, as 14.79 g/L, 7.47 g/L, 4.24g/L, 40.07 g/L and 21.92 g/L. However, the higher the D-lactic content was, the less the BC content was found. When the medium was mixed 20% CJMF with 80 % HMF, the BC yield was highest as 29.30 g/L. The results indicated that controlling cultivation generation and using mixed medium of HMF and CJMF can improve the BC yield steadily and effectively.

Keywords: *Acetobacter xylinum*; Bacterial Cellulose; optimize fermentation

Acetobacter xylinum (木醋杆菌, 简称为 *A. xylinum*) 是一种能生产细菌纤维素 (Bacterial Cellulose, 简称为 BC) 的革兰氏阴性专性需氧菌, 其较早作为研究 BC 生物合成模式的一种典型微生物, 是最常用的生产菌株之一, 一个 *A. xylinum* 细胞每秒钟可以利用 β -1,4-糖苷键聚合 200000 个的葡萄糖分子, 高效地形成一个带状微纤维束^[1], 纤维束不断延伸, 形成交错密集的网络空间架构。这种结构 (即 BC) 具有良好的透水性、透气性、亲水性、高持水性和具有高强度, 已用于食品, 造纸, 化妆品, 机械等行业^[2]。但由于生产菌种 *A. xylinum* 对

收稿日期: 2012-05-14

基金项目: 广东省科技攻关项目 (200813021100004), 广州市番禺区科技计划项目 (2009-Z-41-1)

作者简介: 许燕娜 (1989-), 女, 本科生, 食品科学与工程 (糖工程)

通讯作者: 刘冬梅, 博士, 高级工程师

椰汁的依赖性强, 产量较低, 菌株易突变成产量低或不产生 BC 的变异菌株, 增加了生产成本, 给企业带来许多不确定的因素。目前, 溶氧量、温度、pH 值和激活离子等因素对发酵生产 BC 的影响仍在不断深入研究^[3-4]。为提高菌株的稳定性和发酵生产 BC 的培养基的高效性, 本研究将进行 *A. xylinum* 5173 发酵条件和培养基的优化工作。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

木醋杆菌 *Acetobacter xylinum* CGMCC5173 (简称为 *A. xylinum* 5173, 以下同), 本实验室保存。

1.1.2 主要试剂

氢氧化钠, 盐酸, 硫酸镁, 硫酸铵, 乙酸钠, 无

水乙醇, 无水乙酸, 磷酸二氢钾, 蔗糖, 柠檬酸(分析纯, 广州市化学试剂厂); 酵母提取粉, 琼脂, 蛋白胨(生化试剂, 广东环凯微生物科技有限公司); D-乳酸, L-乳酸(光学纯度 $\geq 98\%$, 色谱纯, 武藏野化学(中国)有限公司); 椰子水(pH 3.5, 海南椰树集团有限公司提供)。

1.1.3 主要仪器

PYX2190S2A 恒温培养箱(科力电器公司), GZX-9140MBE 数显鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司)

公司), HHS-11-2电热恒温水浴锅(上海博讯实业有限公司), 01J2003-04型立式高压蒸汽杀菌锅(上海博讯实业有限公司), SW-CJ-1F 无菌台(上海博讯实业有限公司)。

1.2 培养基配制

A. *xylinum* 5173活化和发酵生产 BC 的培养基配方如表1所示, 单位为质量体积百分比, 各培养基成份混匀后, 调节 pH 值为4.5, 0.1 Mpa压力灭菌15 min 后备用。

表1 培养基的配方

Table 1 The formula of medium

培养基	CJMR	SCJMR	CJMF	HMR	HMF
具体成份	(NH ₄) ₂ SO ₄ 0.2 % MgSO ₄ ·H ₂ O 0.1 % KH ₂ PO ₄ 0.1 % 蔗糖4 % 椰子水100 %	(NH ₄) ₂ SO ₄ 0.2 % MgSO ₄ ·H ₂ O 0.1 % 椰子水100 % 琼脂2.5 %	(NH ₄) ₂ SO ₄ 0.4 % MgSO ₄ ·H ₂ O 0.2 % KH ₂ PO ₄ 0.3 % 蔗糖4 % 椰子水100 %	(NH ₄) ₂ SO ₄ 0.2 % MgSO ₄ ·H ₂ O 0.2 % KH ₂ PO ₄ 0.1 % 蔗糖4 % 蛋白胨0.3 % 蒸馏水100 %	(NH ₄) ₂ SO ₄ 0.2 %, MgSO ₄ ·H ₂ O 0.2 % KH ₂ PO ₄ 0.1 %, 柠檬酸0.1 % 蔗糖8 %, 蛋白胨0.2 %, 酵母提取粉0.05 %, 蒸馏水100 %

注: CJMR 为活化用椰子水培养基, 固体 CJMR 则加入了2.5%的琼脂; SCJMR 为活化用椰子水斜面固体培养基; CJMF 为发酵用椰子水培养基; HMR 为活化用水合培养基; HMF 为发酵用水合培养基。

1.3 实验方法

1.3.1 菌株保存

从保存的 A. *xylinum* 5173菌种斜面上, 取一环菌苔接种到100 mL 的 CJMR 中, 置于30 °C 中静止培养24 h; 将培养后的 CJMR 菌液稀释100倍后取1 mL 涂布在固体 CJMR 中, 培养4~6 d, 挑取较大的单菌落接种到 SCJMR 中, 置于30 °C 中静止培养4~6 d, 待其长好之后置于4 °C 保存待用。

1.3.2 菌株活化与活性检验

菌种活化即是从新鲜保存的 A. *xylinum* 5173菌种斜面上, 取一环菌苔接种到装有100 mL 的 HMR 的200 mL 锥形瓶中, 置于30 °C 中静止培养48 h; 活性检验则是观察其活化后是否长出一层 BC 薄膜, 若是则表明菌种的活性较高, 否则继续重复活化操作, 直至菌株活性达到要求才可进行发酵生产。

1.3.3 BC 的生产发酵

以体积百分比6%将已充分活化的菌液接种到对应的装有30 mL HMF 的50 mL 锥形瓶中, 置于30 °C 恒温生化培养箱中静止培养8 d。若采用 CJMF 生产发酵, 则静态培养6 d^[5]。每组实验做三个平行, 按照1.3.4的方法进行 BC 干重测定。

1.3.4 BC 的提取和干重测定

生产发酵培养基培养达到天数时, 倒去剩余的发酵液, 用纱布过滤粗纤维, 用清水冲洗 BC 至少3次, 去除剩余的杂质并使 pH 为中性。BC 洗去杂质

后, 用0.1 mol/L 氢氧化钠溶液完全浸泡, 在沸水浴中反应20 min, 再用清水冲洗至少3次去除剩余杂质和使 pH 为中性。将处理过的 BC 平铺于干洁的已知重量的培养皿中, 在80 °C 下烘干至恒重, 在干燥器中冷却后经分析天平称重, BC 的产量(干重)表示为: BC 的干重与培养基体积之比, 单位为 g/L, 测定结果为干重的平均值 \pm 标准偏差。

1.4 A. *xylinum* 5173 发酵生产 BC 培养条件的优化

1.4.1 培养代数对 A. *xylinum* 5173 发酵产 BC 的影响

取活化后的 CJMF 菌液以体积百分比6%接种到 CJMF 中, 三个平行, 这是第一代生产在30 °C 静止培养48 h 后, 按体积百分比6%接种到新的 CJMF 中进行培养, 此为第二代生产。同时将原来第一代的 CJMF 培养基继续培养4 d 后, 收获测 BC 干重。同样按照上述步骤接种、发酵可得到第三、四代生产。

1.4.2 接种量对 A. *xylinum* 5173 发酵产 BC 的影响

将活化后的 HMR 菌液按体积百分比2%、4%、6%、8%、10%、12%和20%分别接种至30 mL HMF 中, 各三个平行。摇匀后放入30 °C 培养箱内静止培养, 连续发酵8 d 后, 测定其 BC 干重。

1.5 A. *xylinum* 5173 发酵生产 BC 培养基配方的优化

在 HMF 培养基中, 其它组分保持不变, 单一改变表 2 所列的不同浓度的蔗糖、乙酸钠、乙醇、D-乳酸、L-乳酸和 HMF 与 CJMF 复配的比例, 配制培养基, 采用 1.3.3 的方法进行 BC 的发酵生产, 各三个平

行, 以进行 BC 发酵生产及配方优化。

表2 A. xylinum 5173发酵生产 BC 培养基优化

Table 2 The medium Optimization for BC fermentation by A. xylinum 5173

各组分	蔗糖 /(10 ⁻² g/mL)	乙酸钠 /(10 ⁻² g/mL)	乙醇 /(%, V/V)	D-乳酸 /(%, V/V)	L-乳酸 /(%, V/V)	HMF:CJMF /(V/V)
比例	2、4、6、8、 10、18	0.4、0.6、0.8、 1.0、1.2、1.4	0、0.5、1.0、1.5、 2.0、2.5、3.0	0.5、1.0、1.5、 2.0、2.5、3.0	0.05、0.10、0.15、0.20、 0.25、0.30	0:1、1:4、2:3、3:2、 4:1、1:0

2 结果与讨论

2.1 菌株 A. xylinum 5173发酵条件的优化

2.1.1 培养代数对 A. xylinum 5173发酵产 BC 的影响

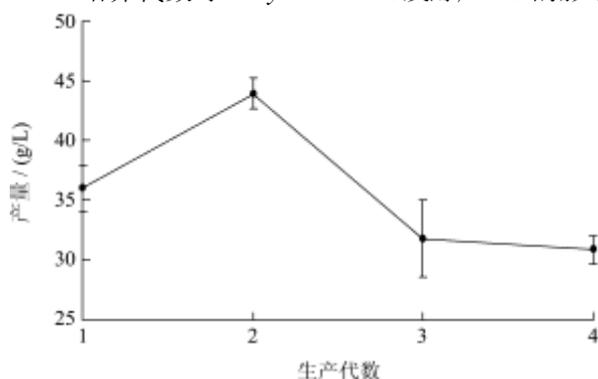


图1 培养代数 A. xylinum 5173发酵 BC 产量的影响

Fig.1 Effect of cultivation generation on the yield of BC fermented by A. xylinum 5173

将活化后的 A. xylinum 5173 菌株连续进行四代发酵生产 BC, 结果如图1所示, 生产发酵的第一代和第二代的产量分别达到35.85±1.90 g/L 和43.91±1.27 g/L, 而当培养到第三代、四代产量明显降低为31.80±3.20 g/L 和30.88±1.16 g/L。这是由于菌种开始老化, 使得第三、四代活性降低, 在第二代达到最高活性。菌株从保存状态中活化复壮, 进入发酵生产阶段, 理想情况应该首先是从缓慢期进入对数期, 进行菌体自身增殖。A. xylinum 产生次生代谢产物 BC 的活力在菌体生长48 h 时达到最高^[6], 故本研究采用48小时的活化菌种。在工业生产中使用适当的活化过程和接种代数以求产出最高。此研究中采用的是刚接入斜面保存正处于活化状态的菌株, 可排除菌株活性不够或菌株不稳定的问题。

2.1.2 接种量对 A. xylinum 5173发酵产 BC 的影响

不同接种量对 A. xylinum 5173 发酵产 BC 的影响如图2所示, 可以看出随着接种量的增加, BC 的产量逐渐提高, 接种量8%时 BC 产量为10.50±1.79 g/L, 10%时产量达到最高为14.79±4.50 g/L, 但接种量为12%、20%时, BC 的产量仅为6.20±1.47 g/L、6.26±0.87 g/L。接种量的多少直接影响菌液的密度, 从而影响 BC 产量。当接种量较少时, 菌株密度较低, 无法最大限度地利用营养

物质; 而增加接种量, 菌株密度过高, 会造成细菌竞争性抢夺营养物质, 从而影响整体的代谢和生产。因此很有必要找出既能使菌株最大限度地利用营养物质又不造成恶性竞争降低产量的最佳接种量。除了李静等人^[11]的研究采用的是10%的接种量外, 其余大多数的在5%~8%之间。通过实验各方面的比较, 造成差距的原因是: (1) 当接种量为10%时, 标准偏差为4.50 g/L。

(2) 由于该菌是需氧菌, 界面氧气的含量会影响 BC 的产量。水平发酵罐能充分结合静置培养和通风搅拌培养的优势, 使得在培养过程中能有充足的富氧空气, 提高氧转换率, 从而提高 BC 的产量和质量^[8]。而本研究采用30 mL 锥形瓶, 瓶口还盖有八层纱布和一层牛皮纸, 氧气量在较低水平使得最佳接种量有所偏高, 因此8%~10%的接种量是比较适合的接种量。(3) 本试验中采用多次重复活化, 活化到经过48 h 的培养能稳定产膜后才开始发酵 BC, 所有的操作中菌种稳定性是一致的。因此, 8%~10%的接种量是比较适合的接种量。

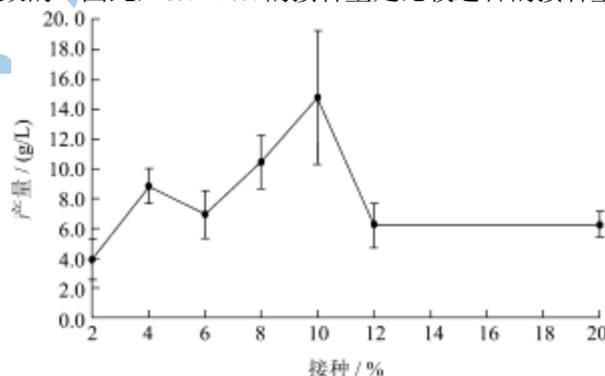


图2 接种量对 A. xylinum 5173发酵 BC 产量的影响

Fig.2 Effect of inoculums concentration on the yield of BC fermented by A. xylinum 5173

2.2 菌株 A. xylinum 5173发酵培养基的优化

2.2.1 蔗糖对 A. xylinum 5173发酵产 BC 的影响

不同的蔗糖量对 A. xylinum 5173 发酵产 BC 的影响如图3所示, 可以看出随着蔗糖量的增加, BC 的产量逐渐提高。蔗糖量8%时, 产量达到6.15±0.05 g/L; 蔗糖量10%时, BC 产量最高, 可以达到7.47±1.21 g/L; 而当蔗糖量18%时, BC 产量仅为5.62±0.41 g/L。在微生物生长过程中, 碳源能为微生物提供自身必要的组成成分和能源物质。微生物利用碳源物质具有选择性, 对不

同糖类物质的利用也有所差别。因此选择适合的碳源物质和使用量对提高BC产量有重要的作用。根据Sherif等人^[9]的研究,使用六碳糖作为碳源,BC的产量比其他碳源高,这与马霞等人^[10]的研究比较一致,采用40 g/L葡萄糖与果糖(1:1)为碳源BC产量较高(数据未展出)。尽管如此,在我们的研究中还是采用蔗糖,原因有2个:(1)是为指导工业生产,蔗糖相对葡萄糖、果糖较为便宜且较易取得;(2)用蔗糖为碳源,BC产量比其他对照组高(数据未展出)。在不同的蔗糖浓度下,菌体吸收营养物质和排放代谢物可能会受到影响。研究表明单纯用葡萄糖作唯一碳源会产生大量的葡萄糖酸,使pH下降,不利于菌株生长从而降低产量^[9]。从工业上节约成本来看,取8%的蔗糖量既能得到较高的产量又能降低成本,10%的蔗糖量产量比8%高但增量不明显,建议使用8%的蔗糖量。

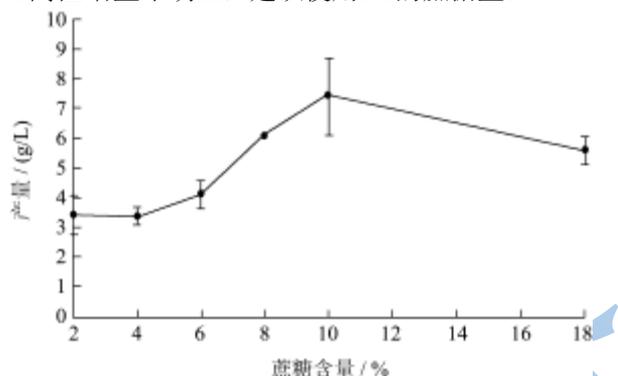


图3 蔗糖含量对 *A. xylinum* 5173 发酵 BC 产量的影响
Fig.3 Effect of sucrose concentration on the yield of BC fermented by *A. xylinum* 5173

2.2.2 乙酸钠对 *A.xylinum* 5173发酵产 BC 的影响

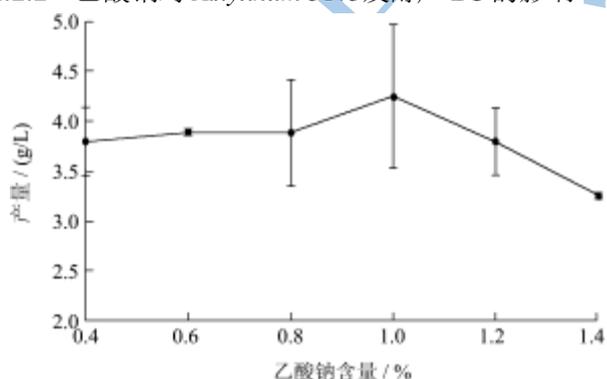


图4 乙酸钠含量对 *A. xylinum* 5173发酵BC产量的影响
Fig.4 Effect of sodium acetate concentration on the yield of BC fermented by *A. xylinum* 5173

不同的乙酸钠量对 *A. xylinum* 5173发酵产BC的影响如图4所示,从图中可以看出随着乙酸钠量的增加,BC的产量逐渐提高,增加到1.0%以上则开始逐渐减少。在乙酸钠量为1.0%时,BC产量最高达到4.24±0.72 g/L,而乙酸钠量在1.2%和1.4%时,BC产量仅有3.79±0.34

g/L和3.25±0.03 g/L,乙酸钠添加量过低或者过高都会影响其菌体正常代谢,从而影响产量。在发酵椰汁配制的培养基中,野生菌株表现出突出的生产能力。为了能逐步代替椰汁这种原料,利用HMF进行发酵生产,乙酸根和乙醇是被广泛研究和认同的两种物质,可促进BC的发酵。关于乙酸钠的效果与王志国等人的研究具有相似性^[11],与孙东平等人^[12]的得出的产量最高时的乙酸浓度1.5%有差距,原因是:(1)实验使用的基础培养基不同,培养条件和培养时间等各方面都有较大的不同,所以得出的最佳配方也有所差异。(2)乙醇经过发酵生成乙酸,由于培养基中加入乙醇量的不同也会导致乙酸量有所差别^[12]。

2.2.3 乙醇对 *A. xylinum* 5173发酵产 BC 的影响

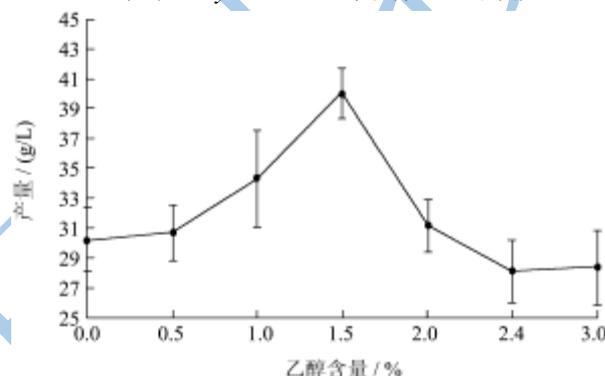


图5 乙醇含量对 *A. xylinum* 5173 发酵 BC 产量的影响
Fig.5 Effect of ethanol concentration on the yield of BC fermented by *A. xylinum* 5173

不同的乙醇量对 *A. xylinum* 5173发酵产BC的影响如图5所示,从图中可以看出随着乙醇量的增加,BC的产量逐渐提高,达到1.5%以上则逐渐减少。乙醇量在1.0%,BC产量为34.33±3.2 g/L,乙醇量在1.5%时,BC产量达到最高40.07±1.67 g/L。乙醇作为糖酵解和TCA循环过程的中间产物或者底物,为微生物发酵生产提供能量。同时 *A. xylinum* 5173能利用乙醇转化为乙酸,再将乙酸转化为二氧化碳和水^[13]。在王志国等人研究中^[11]指出加入2.0%的乙醇得到的BC产量最高,造成差别的原因与2.2.2中阐述的相类似。再者,本实验所使用的菌种不同, *A. xylinum* 5173经过长时间的多次活化,菌株的活化程度达到一定的高度,在这样的情况下BC产量是王志国等人^[15]所得产量的7倍。

2.2.4 D-乳酸和L-乳酸对 *A. xylinum* 5173发酵产 BC 的影响

不同D-乳酸和L-乳酸含量对BC产量的影响如表3所示,从表3可看出随着D-乳酸量的增加,BC的产量随之减少,且减少的幅度较大,推测含有与椰汁中相等量的D-乳酸的水合培养基对BC的产量没有促进作用。相反的,随着L-乳酸加入量的增加,BC的产

量随之增加,且 L-乳酸体积百分数为0.25%时产量最高,达到 21.92 ± 4.73 g/L,从而可知 L-乳酸对 BC 的产量有增加作用,其 L-乳酸量略高于发酵椰汁中的含量。在 CJMF 中,木醋杆菌发酵生产 BC 的产量远超过 HMF 的产量。采用文献^[4]的检测方法,检测出椰汁中含有 D-乳酸为 18.995 g/L, L-乳酸为 1.760 g/L,本实验建立在此基础上对发酵液进行优化,发现 L-乳酸对 BC 产量有促进作用。而在 Takaaki 等人的研究^[5]中,乳酸量 12.5 g/L 时 BC 产量最高,可能的原因:

(1) 本研究中使用的是光学纯度 $\geq 98\%$ 的 L-乳酸异构体,与其他实验使用的乳酸不同造成产量的差别;(2) 本研究中证实 D-乳酸对 BC 产量有抑制作用, L-乳酸对 BC 产量有增加作用,使用 L-乳酸异构体光学纯度的多少对产量产生影响。

表 3 D-乳酸和 L-乳酸对 BC 产量的影响

Table 2 Effect of D-lactic acid and L-lactic acid on the BC yield

D-乳酸		L-乳酸	
浓度(g/100mL)	产量(g/L)	浓度(g/100mL)	产量(g/L)
0.5	28.28 ± 1.89	0.05	11.25 ± 3.89
1.0	13.42 ± 0.45	0.10	15.17 ± 3.92
1.5	13.74 ± 3.65	0.15	20.88 ± 4.24
2.0	14.33 ± 2.20	0.20	20.54 ± 6.61
2.5	10.58 ± 0.87	0.25	21.92 ± 4.73
3.0	10.15 ± 1.79	0.30	20.28 ± 4.76

2.2.5 HMF 与 CJMF 复配的发醇液对 *A. xylinum* 5173 发酵产 BC 的影响

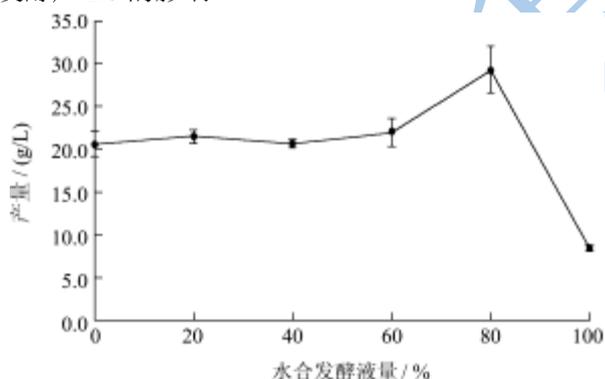


图 6 HMF 和 CJMF 的复配培养基对 *A. xylinum* 5173 发酵 BC 产量的影响

Fig.6 Effect of the mixed medium between HMF and CJMF on the yield of BC fermented by *A. xylinum* 5173.

为改善 HMF 和 CJMF 为单一培养基发酵产 BC 的缺陷,将 HMF 与 CJMF 复配的发醇液进行 BC 的发酵生产,发酵液总体积固定 30 mL, HMF 分别为 0%、20%、40%、60%、80% 和 100%,相对应 CJMF 加入量为 100%、80%、60%、40%、20% 和 0%, HMF 与 CJMF 复配的发醇液对 *A. xylinum* 5173 发酵产 BC

的影响如图 6 所示,可以看出,当 HMF 量为 80%, CJMF 量为 20% 时,BC 产量最高,达到 29.30 ± 2.77 g/L,而单一 HMF 或 CJMF 的产量分别为 20.61 ± 1.43 g/L 和 8.38 ± 0.37 g/L。关于 HMF 和 CJMF 中是何种因素起决定性的作用,需要进一步的深入研究,通过试验要尽量减少依赖于椰汁作为原料,这对工业化大规模生产 BC 和降低 BC 的生产成本有重要意义。

3 结论

3.1 为提高 *Acetobacter xylinum* CGMCC5173 生产细菌纤维素 (BC) 的产量,对该菌生产细菌纤维素的条件进行优化。研究表明,培养到第二代时 BC 产量达最高为 43.91 g/L,在 HMF 中,当接种量、蔗糖、乙酸钠、乙醇、L-乳酸分别为 10%、10%、1.0%、1.5%、0.25% 时细菌纤维素产量最高,分别达到 14.79 g/L、 7.47 g/L、 4.24 g/L、 40.07 g/L、 21.92 g/L, D-乳酸添加量越多,BC 产量越低,以 80% HMF 与 20% CJMF 组成的复配的发醇液,BC 的产量最高为 29.30 g/L。结果表明,控制 *A. xylinum* 5173 的培养代数和 HMF 与 CJMF 复配培养基可有效提高 BC 的产量。

3.2 研究中发现将菌株 *Acetobacter xylinum* CGMCC5173 在 HMF 中不断的驯化和适应,BC 的产量趋于稳定,菌株对 CJMF 的依赖性逐渐减弱,表明优化 BC 的工业化生产的培养基成为可能。本研究对培养基各成分的优化所使用的梯度是以椰汁中各成分的含量为基准进行设计,使得优化更有针对性和准确性。此外,在同一组的实验中,菌株的稳定性是一致的,在不同组别实验中,BC 产量有些波动。因此,在生产过程中为了防止菌株退化和保持旺盛的 BC 的生产活力,要重复活化菌株以达到最佳活力。因此,深入研究菌株的稳定性、能大量发酵生产 BC 的培养基显得非常重要,以使 BC 能被大量的生产和应用于食品以外的更广泛的领域,造福于人类。

参考文献

- [1] Tang WH, Jia SR, Jia YY, et al. The Influence of Fermentation Conditions and Post-treatment Methods on Porosity of Bacterial Cellulose Membrane [J]. Microbiological Biotechnology, 2010, 26: 125-131
- [2] Vandamme E J, De Baets S, Vanbaelen A, et al. Improved Production Cellulose and its Application Potential [J]. Polymer Degradation and Stability, 1998, 59(1): 93-99
- [3] Tohru K, Takaaki N, Hisato Y, et al. Effects of oxygen and carbon dioxide pressures on bacterial cellulose production by *Acetobacter* in aerated and agitated culture [J]. Journal of

- Fermentation and Bioengineering, 1997, 84(2): 124-127
- [4] Jonas R, Farah LF. Production and Application of Microbial Cellulose [J]. Polymer Degradation and Stability, 1998, 59(1): 101-106
- [5] 周伶俐,孙东平,吴清杭,等.*Acetobacter xylinum* NUST4合成细菌纤维素发酵条件的优化[J].微生物学通报,2005,32(6): 96-99
- [6] 马承铸,顾真荣.细菌纤维素生物理化特性和商业用途综述[J].上海农业学报,2001,17(4):93-98
- [7] 李静,朱平.木醋杆菌发酵生产细菌纤维素的研究[J].合成纤维,2008,37(6):28-31
- [8] Zuo KW, Cheng HP, Wu SC, et al. A hybrid model combining hydrodynamic and biological effects for production of bacterial cellulose with a pilot scale airlift reactor [J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, 29(1~2): 81-90
- [9] Sherif MASK, Kazuhiko S. Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production. [J]. African Journal of Biotechnology, 2005, 4 (6): 478-482
- [10] 马霞,王瑞明,关凤梅,等.糖源对细菌纤维素产量的影响[J].纤维素科学与技术,2002,10(3):31-34
- [11] 王志国,王锡彬,向东,等.乙醇在合成培养基中对木醋杆菌 HN001合成纤维素的影响[J].食品科技,2007,32(12):48-49
- [12] 孙东平,周伶俐,杨加志,等.*Acetobacter xylinum* NUST4.2摇瓶培养高产细菌纤维素及应用研究[J].化学与生物工程, 2008,25(7):44-47
- [13] Takaaki N, Tohru K, Hisato Y, et al. Effect of Ethanol on Bacterial Cellulose Production in Continuous Culture [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1998, 85(6): 598-603
- [14] 刘冬梅,吴晖,余以刚,等.高效液相色谱法对泡菜中L-乳酸和D-乳酸的手性分离和测定[J].现代食品科技,2007,23(8):74-76
- [15] Takaaki N, Kouda T, Yano H, et al. Effect of Lactate on Bacterial Cellulose Production from Fructose in Continuous Culture [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1998, 85(1): 89-95