

一种实验室用固态发酵真菌孢子分离装置的研制

刘春来,刘兴龙,王克勤,王 爽,夏吉星,丛 林,李新民

(黑龙江省农业科学院 植物保护研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为获得高纯度孢子粉,针对生防真菌孢子粒径微小,易悬浮于空气中,利用气旋原理,研制出实验室用固态发酵真菌孢子分离装置。该装置由物料粉碎机、沉降分离器、气流循环系统和风机等构成。100 g 自然阴干的蜡蚧轮枝菌固体发酵培养物,经孢子分离器处理 15 min,分离收获到 70% 以上的蜡蚧轮枝菌分生孢子,且获得的孢子粉重量占分离前培养物重量的 5%。

关键词:生防真菌;分生孢子;分离装置;分离效果

中图分类号:S476.1

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)03-0036-02

近年来,真菌杀虫剂的研究和应用得到迅速发展。以生防真菌有效侵染体(气生分生孢子)为真菌杀虫剂活性成分的生产,国内外采用液固双相发酵工艺法^[1-2]。真菌固态发酵产生的孢子,主要大量聚集附着在培养基颗粒表面,由于孢子粒径微小(直径 $<10\ \mu\text{m}$),常规通过培养物的粉碎过筛分离时易悬浮于空气中,难以沉降和收集,且具有劳动强度大、效率低、杂质多和分离不彻底等缺点。为获得高纯度孢子粉,进而开展成熟剂型真菌杀虫剂的研发,利用市场易购买的相关材料和配件,采用气旋原理,研制出实验室用小型真菌孢子分离器,并获得了较好的真菌孢子分离效果。

1 仪器设备

主要仪器为真菌孢子分离器,由物料粉碎机、沉降分离器、气流循环系统和风机等构成。

2 工作原理及孢子分离器结构

利用气旋原理,在密闭的环境中,用粉碎机将发酵好的固态发酵培养物循环粉碎,使真菌孢子与固态发酵培养基颗粒有效分开。同时,在系统内定向吹风,在循环气流的作用下,粉碎物中较轻的孢子部分被气流携带沿封闭的管道运动,在运动过程中会经过一、二、三级沉降杯。此时,因气流扰动和气流流速的下降使孢子沉降于杯中,而较重的培养基部分则留在粉碎机中,从而达到真菌孢子分离与收集(见图 1)。

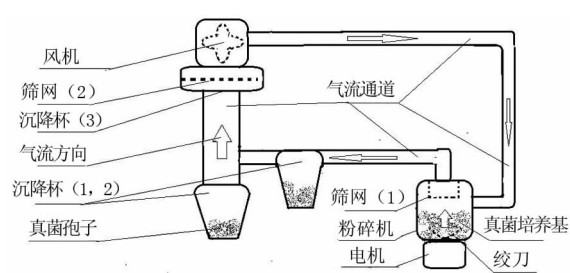


图 1 真菌孢子分离器工作原理示意图

Fig. 1 The working principle schematic diagram of fungal spore separator

2.1 培养基的粉碎

对厨房多功能粉碎机进行改造,保留其粉碎功能,增加气流进出口和滤网(120 目),目的是粉碎培养基,并使粉碎后较轻部分由气流出口进入空气循环系统。

2.2 空气循环系统

系统由动力和循环两个部分组成。动力部分是一台家用置顶式引风机,循环系统由有机玻璃管和塑料蛇形软管组成,并连通粉碎机、引风机和沉降杯等各部分。风机出口经蛇形软管与粉碎机气流进口相通,风机进口与沉降杯出口相通,一、二、三级沉降杯之间由有机玻璃管连通,一级沉降杯进口与粉碎机出口连通,最终形成密闭的空气循环系统。

2.3 孢子的收集

孢子的收集通过串联的一、二、三级沉降杯来完成。当被打碎的培养物中较轻的部分随气流进入一级沉降杯上方时,因杯体的直径变大容积增加致使气流速度降低,悬浮物中相对较重的部分发生沉降,较轻部分继续随气流进入二级沉降杯。二级沉降杯容积更大且气流发生旋转,更利于悬浮物的沉降,较多的悬浮物沉降于此,更轻的悬浮物进入三级沉降杯,三级沉降杯容积更大且设有

收稿日期:2012-12-16

基金项目:国家国际科技合作专项资助项目(2012DFR30810)

第一作者简介:刘春来(1975-),男,山东省平度市人,硕士,副研究员,从事微生物农药研究。E-mail: liuchunlai@163.com。

通讯作者:李新民(1964-),男,甘肃省成县人,硕士,研究员,从事微生物农药研究。E-mail: xinmin63@yahoo.com.cn。

高密度滤网(450 目),将最后的孢子阻挡并收集,空气则在系统中继续循环。

3 真菌孢子分离效果

称取充分阴干,以玉米碴为固态发酵基质的蜡蚧轮枝菌发酵培养物 100 g。分离前,进行培养物分生孢子数量的测定,确定待分离物的孢子含

量和孢子总量。经分离装置运行 15 min 后,根据收集瓶所处的分离系统的位置,将分离物分成 4 个等级,分别进行分离物的称重和孢子数量的测定。对同一蜡蚧轮枝菌发酵培养物样品进行两批次分离试验,分离结果见表 1。

表 1 不同级别样本孢子量及分离回收率分析

Table 1 The analysis on No. of conidiospore and recovery rate in different grade of sample					
样品级别 Sample grade		样本重量/g Sample weight	孢子含量/个·g ⁻¹ No. of conidiospore	孢子总量/个·g ⁻¹ Total No. of conidiospore	回收率/% Recovery rate
原样 Original sample		100	8.29×10 ⁸	8.29×10 ¹⁰	—
0 级 Grade 0	I	94.16	2.80×10 ⁸	2.62×10 ¹⁰	31.60
	II	94.03	2.10×10 ⁸	1.97×10 ¹⁰	23.76
	平均 Average	94.1	2.45×10 ⁸	2.29×10 ¹⁰	27.68
1 级 Grade 1	I	1.36	1.10×10 ¹⁰	1.19×10 ¹⁰	14.35
	II	1.41	1.08×10 ¹⁰	1.53×10 ¹⁰	18.46
	平均 Average	1.39	1.09×10 ¹⁰	1.36×10 ¹⁰	16.41
2 级 Grade 2	I	2.48	1.12×10 ¹⁰	2.77×10 ¹⁰	33.41
	II	2.75	1.11×10 ¹⁰	3.06×10 ¹⁰	36.91
	平均 Average	2.62	1.12×10 ¹⁰	2.92×10 ¹⁰	35.22
3 级 Grade 3	I	1.22	1.26×10 ¹⁰	1.53×10 ¹⁰	18.46
	II	1.05	1.48×10 ¹⁰	1.56×10 ¹⁰	18.82
	平均 Average	1.14	1.37×10 ¹⁰	1.55×10 ¹⁰	18.64

0 级分离物因处在分离装置培养发酵物循环粉碎部位,残留量占比最大,为去除孢子后的培养基基质剩余物,是试验中的废弃部分。1、2、3 级样本,分别是在气流循环过程中,沉降在 3 个不同位置收集杯中的分离物。该 3 个级别的分离物是以真菌孢子为主并含有微小基质颗粒的混合物。100 g 样本经处理后,除产生了 94.1 g 的培养基质残留物和 5.15 g 的分离回收物外,其余 0.75 g 的样本,在分离过程中主要附着机器管壁和滤网中。

从表 1 中可以看出,分离前,原样本孢子总数为 8.29×10¹⁰ 个。分离后,废弃部分的 0 级样本孢子总数 2.29×10¹⁰ 个,占比 27.68%。回收样本的孢子总数量为 5.83×10¹⁰ 个,孢子回收率为 70.27%。在 5.15 g 回收样本中,孢子含量为 1.19×10¹⁰ 个·g⁻¹,分别是原样品孢子含量 8.29×10⁸ 个·g⁻¹ 和培养基质残留物孢子含量 2.45×10⁸ 个·g⁻¹ 的 14.35 倍和 47.57 倍。

4 结论与讨论

利用孢子分离器,可规模、专业化加工真菌孢子母粉,而高纯度真菌孢子粉是进行各种剂型真

菌杀虫剂研发与应用的前提。目前,国内尚无成型标配的孢子分离设备,英国产 MH5b 型旋风孢子收获机,价格昂贵且易耗配件国内难以购买^[3]。该研究研制的实验室用真菌孢子分离装置,安全低耗、易操作、可回收固态发酵培养 70% 以上的生防真菌孢子,获得的分生孢子粉,基本可满足实验室进行成熟剂型真菌杀虫剂的研发。

该试验是对自然阴干的固体发酵培养物真菌孢子进行分离的结果。已有的资料表明,固态发酵培养物的含水量对培养基的粉碎、循环分离起主导作用。对不同含水量发酵培养物的真菌孢子分离效果,尚需进一步验证和完善该分离装置。

参考文献:

[1] 冯明光,李增智.白僵菌及其应用[C]//陈涛.有害生物的微生物防治原理和技术.武汉:湖北科技出版社,1995:217-244.

[2] Deshpande M V. Mycopesticide production by fermentation;Potential and challenges[J]. Critical Reviews in Microbiology, 1999,25(3):229-243.

[3] Enabling Technology for Product Development. The Mycoharvest 5b[EB/OL]. (2012-07-04)[2012-07-13]. <http://www.mycoharvester.info/>.