

糖化菌 13-2 号的选育与对比实验

河南省南阳酒精厂

我厂培菌制曲试验组以阶级斗争为纲,坚持党的基本路线,实行“科研、生产、使用”、“工人、干部与技术人员”的两个三结合,通过诱变育种,以东酒 1 号菌为出发菌株,选育出糖化酶能力强的变异菌株 13-2 号,提高了曲的质量。用于本厂与兄弟厂的酒精、白酒、食醋等方面,都有不同程度的增产。

一、13-2 号糖化菌的选育

我们根据微生物的遗传变异规律,采用物理、化学因素进行诱变,选出了产糖化酶能力强的 13-2 号糖化菌,其选育过程如下:

(一) 平板分离

挑取“东酒 1 号”(黑曲霉)菌孢子一接种针,接入一支 3 毫升的无菌水试管中,摇匀,取此孢子悬浮液一接种针移入另一支 3 毫升无菌水试管中,取此第二支孢子悬浮液 1—2 毫升,均匀逐滴滴入培养皿内的固体培养基的平面上(用已灭菌的注射针管吸取滴入),放 30℃ 恒温箱中保温两天后,注意观察菌落生长状况,选择色泽一致、生长较快的菌落,在皿盖上划上标记,30℃ 继续保温 4 天后,移入数十支斜面培养基,同样保温培养,选出 18 株较好的菌种,编为 1—18 号,同时同条件下用麸皮培养基进行培养、比较各菌株产生糖化酶的能力,发现第 13 号糖化菌比其它菌株产酶能力强,酶活性高,糖化力达 3200—3500 单位/克,而一般菌种只有 3000 单位左右。

(二) 辐射诱变

第 13 号糖化菌,以剂量为 8 万伦琴,做了钴 60 γ 射线的辐射试验。菌体放在 3 毫升的无菌水试管内进行辐射,辐射后的存活率达 2%。

辐射后,将菌接入培养皿,生出的菌落以接种环挑取孢子接入察氏液体培养基试管(每支装液 3 毫升,放 30℃ 恒温箱内保温 10 小时,用离心机(3500 转/分钟)离心 9 分钟,弃去上清液,加入 10 毫升磷酸缓冲液(1/15M, pH = 7.0)和 0.2 毫升的 1% 硫酸二乙脂,振荡处理 30 分钟,加入 25% 硫代硫酸钠 0.5 毫升中止反应,稀释涂抹于培养皿内的固体培养基表面上,30℃ 保温 3 天后,挑菌、制曲、作糖化酶活力的测定,选出优

良的变异菌株,取名为 13-2 号菌。

二、13-2 号糖化菌同东酒 1 号的比较

1. 镜检形态 13-2 号曲菌比东酒 1 号菌整齐。

2. 相同的培养条件将麸皮加入等量自来水,蒸一小时,两株菌分别接种后,于 30℃ 保温培养 65 小时,对所制得的糖化曲进行酶活力测定,并以此为糖化剂,比较二者用于酒精发酵的效果。

结果见表 1 和表 2。

表 1 13-2 号菌同东酒 1 号菌糖化酶活力的比较

菌 名	第 一 次		第 二 次		第 三 次	
	水份 (%)	酶 活 力 (单位/克)	水份 (%)	酶 活 力 (单位/克)	水份 (%)	酶 活 力 (单位/克)
13-2 号	—	3492	38	2808	61	3084
东酒 1 号	—	2952	50	1824	61	2856

从表 1 可看出,三次测定结果,糖化酶活力 13-2 号菌全部高于东酒 1 号。

表 2 13-2 号菌和东酒 1 号菌作糖化剂时酒精发酵的效果比较

项 目	13-2 号 菌			东 酒 1 号 菌		
	第一次	第二次	第三次	第一次	第二次	第三次
蒸煮醪(克)	500	500	500	500	500	500
绝干曲(克)	2	4	4	2	4	4
酵母醪(克)	50	50	50	50	50	50
发 酵 时 间 (小时)	72	72	72	72	72	72
CO ₂ 失 重 (克)	43.7	42.7	48.45	43.0	42.35	47.4
发酵后残糖 (%)	0.26	0.32	1.25	0.28	0.35	1.30
发酵后酒份 (%)	10.113	10.145	11.35	9.954	9.84	11.19

表 2 结果可看出,三次发酵后的酒份的平均值是:13-2 号菌为 10.536%,东酒 1 号菌为 10.328%。使用 13-2 号菌比用东酒 1 号菌作糖化剂时酒份提高 0.208%。