

谷氨酸发酵中噬菌体的防治

辽源味精厂 吉林大学化学系生物化学专业

噬菌体的侵染,对谷氨酸发酵是一严重的威胁。为了减少噬菌体给生产造成的危害,近年来国内一些生产和科研单位对噬菌体的防治做了一些研究,取得了初步成果。我们在兄弟单位工作的基础上,通过辽源味精厂的生产实践,又做了进一步探讨,现将试验结果报告如下。

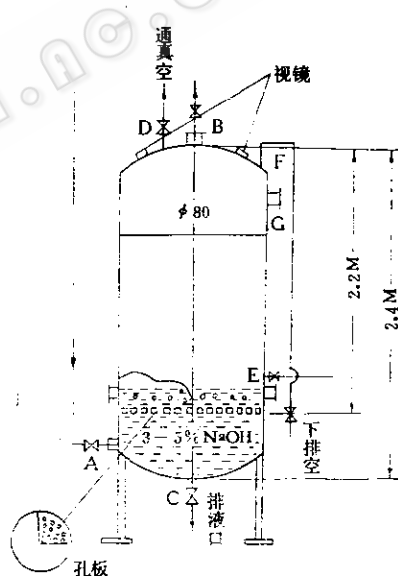
空气过滤系统清除噬菌体设备

根据几年来感染噬菌体的情况,认为空气系统滤除噬菌体效果差是造成发酵污染倒罐的重要原因。生产中通常使用的空气过滤设备,虽能有效滤除杂菌,但不能滤除噬菌体。为改变这种状况,我们对空气过滤系统进行了改革,安装了除噬菌体装置——碱液空气净化塔。

一、碱液空气净化塔的构造

碱液空气净化塔是利用废贮气罐改装而成。高2.4米,直径0.8米,距底部0.2米处安装一个厚1厘米的筛板,平均每平方厘米钻有一个 $\phi 0.5$ 厘米的小孔(见图)。罐内装入 $1/3$ 体积的3—5% NaOH 溶液。3—5%碱液是生物工程中常用的器皿灭菌消毒液,其本身有良好的杀灭噬菌体的作用。我们选用3%碱液试验了它对噬菌体的失活作用。以培养液单纯接入种子为对

照,比较了加入噬菌体和加入碱处理噬菌体对谷氨酸生产菌的影响。由细菌生长光密度看出:加入碱处理后的噬菌体时,谷氨酸产生菌的生长不受影响。而添加未经碱处理的噬菌体时,菌体完全不能生长。由此表明3%的NaOH溶液可使噬菌体完全丧失活性。



碱液空气净化塔示意图

在使用 NaOH 作净化剂时,应在使用一定时间后,更换新碱液,否则影响净化效果。更换的办法是:先开放 C 口,将废碱液排除,由 D 抽真空,由 C 倒吸新碱液,更换完了,由 E 通蒸汽灭菌,由 F 排气。在更换碱液时,关上进口 A 及 B,使空气由空压机直通过滤器。这样就能在不停止供气的情况下完成更换碱液的操作。

二、净化液的选择

由于谷氨酸发酵时空气耗量很大,且因空气中含有 0.3% 以上的二氧化碳,所以在空气通过净化塔的碱液时,生成碳酸盐,这就改变了碱液的浓度,因此需要经常更新。为了寻找一种持久性的净化液,又对可以用来使噬菌体失活的药剂——硫酸锰、硫酸锌、硫酸铜以及碱基水杨酸钠等进行了选择试验。

取无菌试管一只,加入 0.1 毫升 4.4×10^{11} 噬菌体原液,再用移液管加入事先配好的净化剂溶液,充分混合,处理 30 秒钟。然后取其 0.1 毫升放入盛有 20 毫升种子培养液并接有谷氨酸生产菌的种子瓶中,于 32°C 振荡培养 10—12 小时。由种子生长情况(O.D.),考察净化剂的效果。结果表明硫酸铜对噬菌体失活力强,对空气净化效果最好。

表 1 不同浓度硫酸铜对噬菌体的失活作用

处理噬菌体时添加硫酸铜浓度(%)	0.5	1.0	2.0	10
谷氨酸生产菌生长(O. D.)	0.14	0.85	0.87	0.92

由表 1 看出,1—10% 浓度的硫酸铜都能使噬菌体失活,谷氨酸菌种可以正常生长繁殖。0.5% 硫酸铜处理噬菌体,不能使其完全失活,结果,在转入谷氨酸生产菌的种子培养液后,因有噬菌现象发生,致使菌体不能正常繁殖, O. D. 值显著偏低。

噬菌体的药物防治

利用药物加入发酵液防治噬菌体,已有不少生产单位创造了一些经验。我们先后实验了草酸、柠檬酸的铵盐、钠盐对噬菌体的防治作用。结果表明,在培养基中加入 0.4—0.5% 柠檬酸铵和草酸铵时,尽管有 10^{11} 以上的噬菌体被引入发酵液,仍然保证了谷氨酸菌的正常生长和产酸。柠檬酸钠和草酸钠也获得同样效果。值得注意的是在防治噬菌体中,草酸这类物质的最低有效浓度常有较大波动。这是因为水中钙离子浓度变化引起的,钙离子高时,需草酸浓度亦高,否则,需要草酸的浓度就低。

去年 7 月初,由于连续停电,发酵液染噬菌体严重。我们及时采取了草酸防治措施,收到了良好效果。1975 年 7 月 12 日第 249 罐批发酵液加草酸 0.4%,同日,第 246 罐批发酵液不加草酸,该两罐批同时加入 179 罐批种子液,经检查,发现 179 罐批种子液染了噬菌体,但加入草酸者得到正常产酸结果(4.50 克/100 毫升),而未加草酸者最后倒罐。结果见表 2。

表 2 草酸对防治噬菌体的应用效果

项目 批 次	0 时 pH	放罐 pH	初糖 (%)	放罐 残糖 (%)	发酵 时间 (小时)	产谷 氨酸 克/分升	备注
246 批	6.4	8.0 以上	11.4	8.1	18	0.395	倒罐
249 批	6.4	7.4	12.0	0	38	4.50	

除草酸和柠檬酸之外,我们还试验了 Fe^{+++} 、 Zn^{++} 阳离子及表面活性剂吐温与抗菌素的防治作用,结果都不理想。又根据噬菌体有着较强的侵染专一性这一特点,研究了混合菌株发酵对抵抗噬菌体的作用。结果表明,用两株不同的谷氨酸发酵菌进行混合发酵时,对单一噬菌体的侵染有一定抵抗能力。