

谷氨酸产生菌 7338 的选育

上海嘉定县马陆公社综合厂
上海味精厂

为了落实伟大领袖毛主席关于“深挖洞、广积粮、不称霸”的光辉指示，进一步提高谷氨酸发酵产酸率，以降低粮食单耗，增加产量，我们于 1973 年 2—6 月份，对原谷氨酸产生菌进行了人工诱变，选出 1 株产酸能力较强的 7338 号菌，后又开展了中型试验和扩大试验。初步肯定这一诱变菌株谷氨酸产率比原始菌株 AS 1.299 提高 10—15%，转化率提高 5—10%。

7338 菌株的选育

一、原始菌株

北京棒状杆菌 AS1.299。

二、诱变谱系

AS 1.299
↓ NTG 200 微克/毫升
pH7.0 32℃ 1 小时
7304-111
↓ NTG 200 微克/毫升
pH7.0 室温处理
7338

三、选育过程及结果

将培养好的 AS 1.299 菌液 (10^8 — 10^9 个/毫升) 离心洗涤，然后加入 200 微克/毫升 N-甲基-N-硝基-N-亚硝基胍 (简称 NTG, 以 pH7.0, 0.1M 磷酸缓冲液配制)，于 32℃ 处理 1 小时。处理后的菌体接入肉汤三角瓶内，经增殖培养，然后进行分离。在 3840 株菌中选出 133 株，进行摇瓶发酵试验，其中 13 株产酸水平达到 5% 以上 (见表 1)。

再由以上 13 株中，仍以亚硝基胍进行诱变，选出产酸较高的 7304-111 株，用 200 微克/毫升 NTG (pH 7.0) 室温处理 5 分钟。处理后，于含不同浓度的磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4) 培养基中培养，单菌落分离后，以淀粉水解糖为碳源作谷氨酸发酵试验，结果在磷酸氢二钠浓度为 1000 微克/毫升组中选获 7338 菌株。由表 2 结果看出，7338 号菌株，不论以葡萄糖或水解糖作碳源，其产酸率均比 AS 1.299 高。磷酸氢二钠处理后，使之在水解糖中的谷氨酸产率得以稳定，适宜于淀粉糖为原料进行谷氨酸生产。

表 1 AS1.299 变异株的谷氨酸产率

编号	产酸率	平均产酸	转化率	编号	产酸率	平均产酸	转化率
7304	5.06	5.34	44.88	7304	5.48	5.33	44.88
12*	5.42			100*	5.38		
	5.54				5.24		
7304	5.58	5.60	47.06	7304	5.33	5.46	45.88
39*	5.46			103*	5.23		
	5.65				5.71		
7304	5.57	5.76	48.40	7304	6.00	5.91	49.66
52*	6.09			111*	5.85		
	5.62				5.88		
7304	5.19	5.17	43.53	7304	6.00	6.05	50.84
53*	5.18			114*	6.21		
	5.15				5.93		
7304	5.75	5.80	48.74	7304	5.63	5.74	48.74
68*	5.75			121*	5.80		
	6.08				5.78		
7304	5.78	5.66	47.56	7304	5.49	5.53	45.72
81*	5.57			124*	5.65		
	5.65				5.45		
7304	5.85	5.74	48.74	1.299	4.94	5.06	42.52
94*	5.75			对照	5.31		
	5.64				5.48		
					4.54		

注：种子培养基：葡萄糖 2.7%，尿素 0.6%，玉米浆 1.5%， K_2HPO_4 0.3%，pH 7.1—7.2，装液量 50 毫升/500 毫升三角瓶，种龄 16 小时。

发酵培养基：葡萄糖 11.9%，玉米浆 0.55%， MgSO_4 0.04%， K_2HPO_4 0.1% (分消)，尿素 1.8% (分消) pH 7.1—7.2，装液量 20 毫升/500 毫升三角瓶，发酵 44 小时。

灭菌条件：115℃ 15 分钟。

培养条件：32℃ 往复式摇床转速 106 次/分，振幅 8.8 厘米。

表 2 7338 菌株谷氨酸产率

菌种	葡萄糖 10.9%			水解糖 11%		
	产酸率	平均产酸	转化率	产酸率	平均产酸	转化率
7338	5.45	5.48	50.3	5.37	5.34	48.5
	5.33			5.13		
	5.67			5.54		
AS1.299	4.56	4.55	41.70	4.58	4.50	40.8
	4.57			4.43		
	4.52			4.50		

7338 菌的生产性试验

在摇瓶实验取得一定结果后,又进行了5000升罐,20000升罐及50000升罐发酵试验,证明7338变异株是一比较理想的生产菌株。转化率均可达到43—45%。

一、发酵条件

一级种子培养基:葡萄糖2.7%,玉米浆3.0%,尿素0.6%, K_2HPO_4 0.3%,pH7.2。

二级种子培养基(50升罐):水解糖2.5%,玉米浆2.5%, K_2HPO_4 0.1%,尿素0.45%, $MgSO_4$ 0.04%,pH7.0—7.2(用NaOH调)。

50000升罐发酵培养基:水解糖10.5%;玉米浆0.45—0.55%, $MgSO_4$ 0.06%, Na_2HPO_4 0.17%, KCl 0.03%,初尿素1.8—1.9%(分消),pH7.2。

50000升罐维持1公斤/厘米²罐压,温度32—34℃,pH降至7.3时,流加尿素0.6—0.8%,第二次降至pH7.3时流加尿素0.4—0.2%,发酵34—38小时左右。

二、生产效果

将1975年元月份采用AS1.299菌株的生产效果

和2月份采用B-9菌株的生产效果以及3—6月份采用7338菌株的生产效果相比较,7338连续四个月的转化率都高于AS1.299和B-9菌株。即使是在初糖降低1%的情况下,其谷氨酸产率仍不低于AS1.299和B-9菌株。

几点体会

通过几个月的生产实践,我们认为7338菌株由于经过亚硝基胍的处理,同其原始菌株AS1.299相比,提高了谷氨酸产率和对糖的转化率,达到了增产节约的目的。事实证明,谷氨酸产生菌是能通过变异的方法来提产率的,与其他菌株相比较,7338菌在发酵过程中前期耗糖缓慢,发酵中、后期才大量积累谷氨酸,直至糖接近耗尽时,产酸还可有较大增长,因此说“后劲比较足”,发酵周期相应要延长4小时左右。

采用该菌也改善了后道提取工艺。原AS1.299菌由于上离子交换柱时容易塞柱,影响了效率,采用7338菌后,基本上解决了上述弱点,收率也较理想。

7338菌株至今已应用数年,几年来此菌株按一般方法斜面冰箱保存和单菌分离,摇瓶产酸数据可经重复,仍显示比对照有显著差异。说明变异菌株增产性能是稳定的。