

用蛋白酶生产蛋白胨和蛋白胨

上海市工业微生物研究所 上海鱼品加工厂

生化试剂级的蛋白胨和蛋白胨是制备细菌培养基的原料,它们的规格要求比较严格。除要求一定的理化指标外,还需满足八种细菌(福氏 F_{22} 菌、宋内氏菌、志贺氏菌、绿脓杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、伤寒杆菌、副伤寒杆菌)的营养试验要求。过去蛋白胨是采用猪胰脏水解鱼粉进行生产的。但由于猪胰脏来源紧张,贮运和加工又不便,因此生产受到一定的限制。为了改进蛋白胨的生产工艺,1970年我们使用栖土曲霉 3.942 蛋白酶代替猪胰脏水解鱼粉,制造蛋白胨和蛋白胨。通过数百批试验,对酶的用量、作用 pH、反应温度、反应时间以及料水比等进行了系统的摸索,最后确定了生产工艺。在生产蛋白胨时,每克鱼粉加入 4,000—8,000 单位蛋白酶,在 pH8、45℃ 水解 12—13 小时,蛋白胨的收率达 65% 以上,总氮量的回收率达 89% 以上,成品质量符合规格。蛋白胨的生产原工艺需用胃粘膜作水解剂,水解 20 小时制成,现改用 3.942 蛋白酶,每克原料添加 3,000 单位蛋白酶,水解 6 小时,蛋白胨收率达 50%,质量合格,现将生产方法介绍如下:

一、蛋白胨的生产方法

鱼粉加 4—5 倍的水,用氨水调 pH7.5—8.5,加热 45℃,每克鱼粉添加 3.942 蛋白酶 4,000 单位(固体曲)或 8,000 单位(液体深层培养的酶),加 0.1% 的甲苯防腐,搅拌水解 13 小时,加盐酸调 pH5—6 后煮沸 15 分钟,冷却静置过夜,虹吸上清液,残渣加热水再煮沸,充分洗出残余蛋白胨,洗出液和上清液合并,置 120℃ 高压加热 30 分钟,趁热减压浓缩后放冰浴中冷却,再加水化开,配成 12°波美胨液,离心去沉淀后,用纸浆作助滤剂过滤至清,用氨水调滤液 pH9.2,

煮沸 15 分钟,冷却后再用纸浆作助滤剂过滤到透明,然后减压浓缩,真空干燥,粉碎后即成为成品。小型试验的胨收率为 65—70%,车间扩大试产,因工艺损耗较大,收率为 58% 左右,与胰脏水解的收率(60%)相近。

在生产蛋白胨时应注意的几点:蛋白胨的收率除受到原料蛋白质含量及蛋白酶水解能力的影响外,还受到水解条件,如酶的用量、作用 pH、水解时间、反应温度、料水比例等的影响,这些条件彼此间是有联系的,而不是孤立的,只有配合恰当,才能提高收率,试验结果说明:

1. 酶的用量:由于蛋白酶的生产方式不同,蛋白酶的水解能力亦不同。固体培养生产的 3.942 蛋白酶比液体深层培养生产的酶水解鱼粉的能力强,所以使用固体曲 3.942 蛋白酶时,每克鱼粉只加入 4,400 单位,蛋白胨收率可达 65% 以上,而使用液体培养生产的酶时,每克鱼粉需加入 8,000 单位,才能得到同样的收率。

2. 作用 pH:用 3.942 蛋白酶水解鱼粉生产蛋白胨时,作用最适 pH 为 8.0。

3. 水解温度:以 45℃ 最好,如在短时间内水解,以 50℃ 为好,但产物中胨氮较多。

4. 料水比:原料加水多,胨的收率高,但由于胨液浓度低,蒸发处理时费工,故以 1:4.5 为宜。

5. 反应时间:水解时间以 12—13 小时为宜,水解时间短则产物中以蛋白胨为主,水解时间过长则产物中 α -氨基氮含量增加。

二、蛋白胨的生产方法

蛋白胨与蛋白胨的区别,在于前者含有 1—2% 可被硫酸锌沉淀的胨氮,其制法与蛋白胨基本相同,只是水解时间短。制法如下:

新鲜鱼粉加4.5倍的水,每克鱼粉添加3.942蛋白酶 3,000 单位,在 45℃, pH7.8—8.0,水解 5—7 小时,用冰醋酸调节 pH₂5.5,煮沸,过滤,残渣再加水煮沸,洗出液同前面的滤液合并,真

空浓缩,冷却后再溶于水,过滤至清,滤液用氨水调 pH9.2,煮沸数分钟,冷却过滤,真空浓缩,真空干燥,磨粉得成品。按此工艺生产,蛋白胨收率达 50% 左右,成品质量符合要求。