



固体发酵生产 α -淀粉酶的几点经验

蒋安生

(济南啤酒厂, 山东)

随着酶法制葡萄糖及酶法脱浆等新技术的发展, 全国各地许多中、小工厂及农村人民公社都广泛运用固体浅盘发酵或固体厚层通风法制取 α -淀粉酶。许多单位在生产中经常出现发酵单位不高的现象。本文重点介绍在菌种、种子及固体发酵三方面经常遇到的问题及解决办法, 以供参考。

一、菌种

目前广泛使用的菌种是枯草芽孢杆菌 GD-32 和 BF-7658。生产中常遇到的问题有:

1. 菌种衰退: 因长期连续传代使用造成。GD-32 菌株在斜面培养中, 一般 2—3 代以后再

继续传代使用, 则产酶力大减。BF-7658 菌株, 较为稳定, 一般使用 5—6 代产酶力仍不降低。所以在使用过程中, 一定要不断分离, 淘汰低产菌株, 以稳定生产。分离时注意挑取湿润多皱的菌落, 因该菌落比干燥型菌落产酶力高。

2. 斜面菌种生长很差, 菌膜薄, 少或无皱褶。这种现象与斜面培养基成分有关, 这两个菌种我们采用淀粉培养基培养, 培养基成份(%)为: 可溶性淀粉 2, 胰蛋白胨 1, NaCl 0.5, 琼脂 1.6, pH 7.0。斜面菌种生长较好。

另外, 在使用每批菌种前, 应作产酶力鉴定, 其培养基成份(%)为: 麸皮 70、谷糠 20、甘薯粉 10、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.4、NaOH 0.8, 加水 110—

120。于 36—37℃ 培养 48 小时后,测酶活力在 14,000 单位/克绝对干曲以上者可以使用,否则不能使用。

二、种子培养

一般采用液体摇瓶或固体三角瓶静止培养作为扩大培养的种子。常遇到的问题有:

1. 菌体生长缓慢甚至完全不长,其原因是培养基配方不适宜,或因接种量太小,培养温度太低及摇床振幅小、频率低引起的。

GD-32 与 BF-7658 两菌种的液体摇瓶培养基不同。前者成份(%)为:玉米粉 1,豆饼粉 1,蛋白胨 0.4,酵母膏 0.4 NaCl 0.05, pH7.0;后者成份(%)为:玉米粉 3,豆饼粉 2,酵母膏 0.4,蛋白胨 1, NaCl 0.05, pH 7.0。目前一般摇瓶培养的一级种子(采用 5,000 毫升大三角瓶,内盛 500 毫升培养基)直接作种子用,不经转代。固体三角瓶的培养基同于鉴定菌种产酶力的培养基。

一般以一支斜面菌种可接液体摇瓶或固体三角瓶 4 瓶,培养温度在 36—37℃,摇床振幅 8.5 厘米,频率 110 次/分左右为宜。

2. 已生长的种子,在转入固体发酵时,有时出现升温缓慢,产酶极低的现象。这与种龄掌握不当有关。在频率为 110 次/分,振幅 8.5 厘米的往复式摇床上,GD-32 菌种种龄为 11—12 小时,而 BF-7658 为 9—10 小时左右,由于各地摇床振幅、频率不同而种龄相差很大。一般摇瓶 pH 回升到 7.0—7.2 左右时为最佳种龄,此时若有条件镜检,可以观察到菌形呈短杆、粗壮、密集,而且大多已断裂为单个细胞,此时,转入下一步固体培养,则升温迅速,产酶多。若 pH 值太低(6.4 左右),镜检菌体长而有时呈链状;若 pH 太高(7.5—8.0 以上),则发现菌体开始自溶。在这两种情况下转入固体发酵,一般升温慢,易染杂菌,而且酶活极低。

固体三角瓶种子种龄以 18—20 小时,肉眼可观察到麸皮上刚开始出现白色菌膜时为最佳,此时测酶活在 1,500—2,000 单位/克左右。

三、固体发酵

常遇到的问题有:

1. 酸败:培养物被杂菌污染发出酸臭味,有时生有霉菌,杜绝此种现象必须注意以下几点:

①原料的常压蒸汽灭菌不得少于一小时,而且在停汽后应继续焖 20—30 分钟。

②在投料前培养室和一切用具要彻底消毒灭菌。如地面洒漂白粉溶液,空间用硫磺或福尔马林喷雾灭菌。室内一切用具(如曲盒、草帘等)要在常压蒸汽灭菌一小时后使用。

③培养室顶棚应为圆弧形,以使冷凝水沿壁流下,而不致滴入培养物中导致污染。

④种子液在转入固体发酵时,如发现 pH 低,有异味,应立即淘汰。

2. 发酵不正常:出现不升温,酶活不上升等现象。除上述菌种及种子中的一些原因外,常见的原因还有:

①发酵培养基不适宜。固体发酵培养基可采用固体三角瓶配方。其中麸皮以红色大叶者为优,谷糠是起疏松通气作用,若用稻壳或碎花生壳,用量可稍减。另外,南方地区可采用木薯粉代替甘薯粉,酶活还可提高。

②培养工艺掌握不当。接种温度以 40℃ 左右为宜,入房时正好在 36—37℃ 左右,若太低时,前期升温太慢,易染杂菌;太高时菌体易被烫死,而使酶产量降低。入房后,室温应保持在 36—37℃,若用厚层通风法,应立即通 37℃ 循环风半小时,然后进行间断通风(前期用通 15 分钟停 15 分钟的办法)。随品温增高,可逐步降低风温、减少停风时间及减少循环风,增加新鲜风。培养后期要连续通风,使整个培养过程的品温保持在 37—41℃ 之间。

浅盘发酵可用上下架“倒盒”的办法调节日温,切记在任何情况下,均不可通入不配蒸汽的冷风,以免前功尽弃。在通风培养时,进风管道的蒸汽进口与风温表距离不要太近,以免风温表指示的温度与实际进风温度误差太大。

室内湿度要掌握在 90—95%,因水份散失过大,会影响产酶量(培养基含水量低于 50% 时,酶活就很难上升)。所以培养用的盒子或池

(下转第 2 页)

(上接第 17 页)

子上面要加盖草帘(已灭菌的),防止水份散失。在培养中期,品温大幅度上升时,可在地面泼凉水,达到降温、保湿之目的。

出房时间要摸准,一般浅盘发酵在 22—23 小时,厚层通风培养在 18—19 小时(若前期静止 4 小时开始通风,则培养时间也应相应延长

3—4 小时)。出房时,培养物 pH 在 7.0 左右(5 克培养物加 15 毫升蒸馏水,搅匀后测 pH),此时镜检菌体基本自溶,酶活可达到 10,000 单位/克绝对干曲左右。

另外,出池和出盒后,应立即干燥,切勿堆积存放,以免温度升高而使酶失活。