



提高 α -淀粉酶发酵活力的研究

安志法 高喜梅 张爱清

(河南省科学院生物研究所, 郑州 450003)

单登法 王训水

(河南省酶制剂厂, 睢县 476900)

影响 α -淀粉酶发酵活力的因素很多, 诸如染菌、配料比、温度、通风量、罐压力、pH 及发酵搅拌等, 其中染菌影响最为严重。这些因素既相互联系又相互制约, 其中一个因素发生变化, 整个发酵就会发生改变, 引起活力高低波动。为达到稳定高产必须选择最佳工艺, 最大限度的稳定发酵条件。我们根据厂内设备情况, 经生产试验 9 个月内 437 罐无倒罐现象, 酶活力由月平均 245u/ml 提高到 350u/ml 的良好效果。现将技术措施分述如下。

(一) 经常清洗发酵罐和补料罐

我国 α -淀粉酶生产设备多采用碳钢发酵罐和补料罐, 由于此种罐易生锈, 在罐壁形成蜂窝状浅棕褐色泡, 培养基极易粘着于罐壁和蜂窝中, 放罐后易生长各种杂菌并产生各种代谢产物, 这些污物和沉淀到罐底的污泥杂物混入发酵培养基中, 影响发酵正常进行, 并且容易造成染菌。因此必须经常清除罐内污物和铁锈, 保持发酵培养基的纯净, 不干扰菌体的生长和产酶。为此我们采取了如下措施: 首先, 放罐后立即用自来水彻底冲洗掉罐壁、挡板、搅拌器等表面粘着的发酵液, 排放于罐外。然后结合空罐灭菌将罐温控制在 125℃ 半小时, 将罐内菌体全部杀灭; 罐内没有被冲洗掉的粘着紧密的残余发酵液被蒸汽浸透再被冷凝水冲洗下来排出, 达到罐内任何地方都无污物。然后将罐内放满水浸泡以防罐内生锈, 等下次投料前将水放至 1/3 时, 搅拌 10 分钟, 进行最后一次清洗。由于沉淀到罐底的泥沙、破碎料袋等物不易排出罐

外, 每投两罐进行一次人工清除, 每月用平铲将罐壁上的蜂窝清除一次, 此两项工作场在冲洗好罐后立即进行, 防止了培养基的污染, 为 α -淀粉酶生产提供了良好的发酵环境。

(二) 彻底灭菌、消灭死角

发酵行业中染菌是倒罐的直接原因, 严重的造成巨大经济损失。1987、1988 两年由于染菌分别倒掉 70 和 50 多罐, 造成经济损失近 100 万元。自 1990 年 9 月以来, 我们严格执行消罐操作规程, 在移种管道、补料管道、进风管道连接放料管道的阀门上均安有两个风阻, 消罐时将有关的风阻全部打开, 喷出蒸汽, 消灭了死角。在 9 个月的生产中没有出现倒罐现象。但是在前期逐罐定期取样检查中, 补料前均未发现染菌, 补料后约有 1/3 在中后期染菌。经严格检查并多次进行对比试验, 其原因是补料管道风阻多, 由于补料浓度高容易造成风阻堵塞, 料液又与外界相通形成污染源, 随补料的时间不同, 引起早晚不同时期的染菌。

(三) 准确控制发酵培养基和补料的标准体积

本厂消罐采用直接蒸汽加热, 消罐蒸汽压力高低及带水量多少形成消罐后培养基的体积较大差别。消罐后培养基的体积要达到标准体积, 消罐前必须根据蒸汽压力高低相应加水。

培养基的体积产生变化, 培养基的浓度和通风比也伴随产生相应的变化。经多次测定得知培养基浓度为 11% 时其酶活力最高, 浓度超标或低标均引起酶活力降低。培养基浓度每增

加1%比培养基浓度降低1%时,其酶活力降低尤多;由11%降至8%时酶活力降低31.25%,而浓度由11%增至14%时几乎不产生酶活力。菌体繁殖量小,生长慢、不到12小时菌体自溶。

在生产中当出现浓度低标(体积过大)严重时,在移种前将培养基放至标准吨位,在补料中采取提前补或多补。否则营养缺乏又因通风比降低,菌体生长虚弱且早衰,造成溢罐,酶活力不上升,发酵中途停止;当浓度超标严重(体积过小)时,可补加灭菌水达标准吨位后冷却至38℃接种。培养基浓度随超标增大,溶氧率降低,渗透压力增大,菌体细胞质膜透性降低,生长繁殖慢,新陈代谢作用缓慢,酶合成速度迅速降低,直至形成营养丰富而缺氧不能进行正常的生理代谢,菌体自溶。

(四) 适度补料

α -淀粉酶生产补料量若占总投料的43%左右,受补料调控的时间占3/4,85—90%酶活力在补料期或后期产生,发酵过程中随着酶活力上升pH值逐渐上升,但该菌株最佳产酶pH值为6.5—6.7,为了保持菌体在最适pH值下更多的持续稳定的产酶,因此必须采用补料方法控制发酵液pH于最适范围内,同时也补充了营养,延长平衡期,因此如何进行补料成为一个十分关键的问题。

1. 补料浓度与酶活力有着密切关系:由表1可以看出,补料浓度与酶活力成正比例,因此要尽可能提高补料浓度,提高产酶率。其标准是液化程度要低,能灭菌、压送为宜,最高可达35%,低液化补料可防止葡萄糖过量抑制淀粉酶合成,并起到诱导酶的合成。

表1 补料浓度与酶活力的关系

补料浓度 (%)	11	20	25	30	35
酶活力 (u/ml)	200	280	330	370	400

2. 补料应根据菌株的生理特性进行,保持酶活力持续稳定高速度上升和高产。(1) 基料浓度低,菌体繁殖生长快,密集整齐,代谢旺盛,养分消耗多,都以多补为宜。pH值可适当降低到6.4,保证足够的养料供给,防止营养脱节、菌体过早衰老死亡、产酶缺乏后劲。(2) 由于营养失调,过早出现芽孢,或菌体大、着色较浅,中期空孢多时,要适当多补料,控制芽孢、空孢的发展。促使发酵稳定和再次正常产酶。(3) 基料浓度高,菌体少,生长慢,温度上升慢,pH值低,酶活力起步低,不能进行补料,需待酶活上升到正常产酶速度后,发酵液浓度变稀,pH值上升,再进行少补或正常补料。(4) 菌体着色呈深红色,生长繁殖慢,菌体少,产酶少要少补,pH值可适当控制到6.9。(5) 基料浓度高,pH值高,要尽量少补勤补,控制pH值在6.8—6.9之间,以多耗少补逐步降低浓度为宜。可适当降低风量控制pH值使之上升缓慢。

(五) 加强看罐管理

管理在稳定提高 α -淀粉酶生产中具有举足轻重的作用,因此首先要高度重视看罐的作用和意义。操作人员必须掌握好看罐的基本情况,消罐后要检查培养基的体积、浓度、色泽、pH值、臭味等是否正常,要掌握接入的种子及接种后的生长情况。前期主要是加快菌体的生长繁殖,调整控制好温度和通风量。菌体少,罐温上升慢,可将罐温控制到39—40℃,适当降低风量,促使菌体迅速繁殖,为高产酶活力创造最佳条件。中后期要及时掌握好菌体生长状况和酶活力上升速度,恰当的及时补料。

(六) 结果

根据厂内设备具体情况采取上述五项措施经生产试验取得9个月437罐无倒罐的良好结果。平均每月酶活力提高4.76%,由月平均245u/ml提高到350u/ml,在不增加任何投入的情况下,产值提高42.85%,经济效益十分显著,生产扭亏为盈,取得了良好效果。