

发酵后处理方法研究 (VII)

——肌苷发酵液中菌体的分离

林远声 林波 李晓燕

(中山大学生命科学学院, 广州 510275)

摘要 报导肌苷(简称HR)发酵液中菌体分离的方法及其最佳条件确定的一些研究工作。同时,还将本方法与其他一些方法进行三大指标(凝沉速度、上清透光和提取收率)的比较。从数据显示,本方法效果较好,凝沉速度最快,上清透光和提取收率分别达96%和98%以上。

关键词 肌苷, 菌体, 分离

分类号 Q 599

肌苷(HR)是枯草杆菌等微生物代谢的产物,目前工业生产上一般采用不除菌和净化,而直接上离交和炭柱进行肌苷的提取。由于肌苷发酵液中含有大量的菌体和培养基残留的杂质,因而容易污染离子交换树脂,影响提取的效率和产品质量^[1]。所以在提取前除去肌苷发酵液中的菌体和其他杂质是重要的一步。国内外也有不少专家学者对此进行过研究^[2]。国内有些厂家仿效国外的做法,采用高速蝶片式喷嘴离心机分离菌体,虽对谷氨酸菌体的除去有一定效果,但对菌丝较轻细的肌苷菌体至今未取得满意的结果。且设备价格昂贵^[2],不符合我国国情。本文试在这些方面作些尝试。

1 材料与方法

1.1 材料设备

肌苷发酵液(广东肇庆星湖味精集团提供);除菌试剂(市售);助滤剂(用珍珠岩等原料按一定比例配合);离心机;抽滤装置;分光光度计。

1.2 方法

1.2.1 除菌体技术路线 新鲜肌苷发酵液 pH4> 除菌试剂> 静置分层> 分离菌体> 澄清发酵液。

1.2.2 透光度测定 分光光度计测定。

1.2.3 含苷量测定 纸上层析法和紫外分光光度计测定。

1.2.4 除菌效果鉴定 以滤速、上清透光和提取效率三大指标为鉴定的主要依据。

2 结果与讨论

从表可以看出,以第5号配比的效果为试验的8种配比中最好的一种。因此,第5号配

比被选定为以后实验, 尤其除菌条件确定的一系列实验的基础方法. 在除菌条件确定的研究试验中, 本文选择了几个对除菌效果影响较大的条件进行了试验, 如 pH 值、温度、凝聚剂、助凝剂和助滤剂等几个条件.

表 1 除菌试剂的配比及效果

序号	发酵液		试剂及用量 (mL)					凝沉 顺序	上清液			效率 (%)
	体积 (mL)	含苷量 (%)	1	2	3	4	6		透光度 (%)	体积 (mL)	含苷量 (%)	
1	25	14.28	0.4	/	0.2	0.2	0.05	2	95	25	12.47	87.3
2	25	14.28	/	0.4	0.2	0.2	0.05	7	70	25	12.31	86.2
3	25	14.28	/	0.4	0.2	/	0.05	8	65	25	9.05	63.4
4	25	14.28	0.4	/	0.2	/	0.05	3	95	25	14.05	98.4
5	25	14.28	0.4	/	0.2	0.2	/	1	98	25	15.22	106.5
6	25	14.28	/	/	0.2	0.2	/	6	73	25	14.04	98.3
7	25	14.28	/	/	0.2	/	0.05	5	82	25	14.05	98.4
8	25	14.28	/	/	0.2	0.2	0.05	4	83	25	14.53	101.8

除菌试剂包括凝聚剂、助凝剂和辅助试剂

从表 2 知道, pH 4 的综合效果最好, pH 8 的效果最差. 即当发酵液的 pH 为酸性时, 有利于菌体的凝聚和沉降, 而发酵液的 pH 为碱性 ($> \text{pH } 7$) 时, 不利于菌体的除去. 这可能与菌体等电点和在酸性时, 发酵液粘度下降有关.

表 2 pH 值对凝聚菌体的影响

序号	pH 值	发酵液		上清液			收率 (%)
		体积 (mL)	含苷量 (%)	透光度 (%)	体积 (mL)	含苷量 (%)	
1	2	50	18.51	84	50	14.92	80.6
2	3	50	18.51	85	50	16.10	87.0
3	4	50	18.51	87	50	16.89	91.2
4	5	50	18.51	87	50	16.72	90.3
5	6	50	18.51	84	50	16.34	88.3
6	7	50	18.51	56	50	13.75	74.3
7	8	50	18.51	49	50	12.71	68.7

表 3 显示, 在同样的其他条件下, 在 40°C 以下随温度的升高, 除菌的效果越来越明显. 但到了 40°C 时, 效果趋于稳定. 此时, 尽管温度不断升高, 但菌体凝聚速度、滤液透光和

收率等三大指标上升较慢. 这可能是由于温度升高, 在发酵液中相互作用的分子从中获得了较多的能量, 使分子运动加快, 碰撞机会增多, 因而加快了除菌试剂与菌体的作用, 导致除菌效果明显提高. 同时, 由于温度升高, 菌体蛋白的变性作用加快, 结果也有利于菌体的凝聚和沉降. 再加上随温度的升高, 发酵液的粘度下降等的共同作用, 因而使除菌效果达到最佳水平. 在生产实践中, 既要考虑除菌效果, 又要照顾到成本 and 经济效益. 因此, 在肌苷发酵液除菌中温度应控制在 35~ 40°C, 也就是一放罐即进行除菌工作.

表 3 温度对凝聚菌体的影响

序号	温度(°C)	瓶号	发酵液		上清液			收率(%)
			体积(mL)	含苷量(‰)	透光度(%)	体积(mL)	含苷量(‰)	
1	10	1	50	16.60	54	50	15.42	92.9
		2	50	16.60	31	50	15.90	95.8
2	20	1	50	16.60	54	50	15.54	93.6
		2	50	16.60	40	50	16.12	97.1
3	30	1	50	16.60	79	50	15.36	92.5
		2	50	16.60	53	50	15.58	93.9
4	40	1	50	16.60	85	50	15.51	93.4
		2	50	16.60	55	50	15.81	95.7
5	50	1	50	16.60	85	50	15.61	94.0
		2	50	16.60	56	50	15.59	93.6
6	60	1	50	16.60	85	50	15.74	94.8
		2	50	16.60	62	50	16.03	96.6

发酵液放冰箱 (-5°C) 2 d

表 4 几种除菌方法的比较

组号	方法号	发酵液		凝沉顺序	滤液			收率(%)
		体积(mL)	含苷量(‰)		透光度(%)	体积(mL)	含苷量(‰)	
1	1	60	14.28	2	92	60	15.13	105.9
	2	10	14.28	1	98	60	15.22	106.6
	3	10	14.28	3	49	60	13.91	97.4
2	1	10	14.84	2	90	10	14.68	98.9
	2	10	14.28	1	96	10	15.4	103.8
	3	10	14.28	3	82	10	13.51	91.0
3	1	10	15.21	2	90	10	14.95	98.3
	2	10	15.21	1	98	10	15.64	98.9
	3	10	15.21	3	70	10	14.48	94.8

方法 1, 2 为前面选出的较好配比, 其中 2 为最佳; 方法 3 为 199 年以来本厂选用的甲壳素絮凝法

在凝聚剂和助凝剂的用量方面, 均以 2% ~ 2.5% 的用量效果最好, 滤速、透光和效率等三大指标均可达到要求; 助滤剂选择及其用量方面的实验表明 2% ~ 3% 的珍珠岩粉的效

果为最佳, 硅藻土的效果也不错. 但若考虑到成本核算, 应以能取得同样效果而成本又最低者为选择的最佳条件.

本实验选出的较好配比还在同样条件下与甲壳素絮凝法进行了比较, 从表 4 看出, 以本文方法的综合效果为最好, 可以进一步扩大试验, 为肌苷发酵液除菌体进一步提出理论依据和为应用于生产打下一个良好的基础.

参 考 文 献

- 1 郑连英. 发酵科技通讯. 1993, 22 (2): 5
- 2 潘美凤. 发酵科技通讯. 1991, 20 (3): 22
- 3 林远声. 中山大学报论丛. 1992, 3 146
- 4 刘锡山. 发酵科技通讯. 1992, 21 (4): 51
- 5 吴振强. 发酵科技通讯. 1992, 21 (3): 13
- 6 陶润智. 发酵科技通讯. 1992, 20 (1): 3

Study on the Method of Treament after Fermentation (V II)

— Study on the Condition to Separate Bateria from HxR Fermentation Broth

Lin Yuansheng^{*} *Lin Bo* *Li xiaoyan*

Abstract It is reported that there is some reseam on the way ofbacteria seperated and optimum condition in the inosine fermentationbroth. And then it is compared with other ways on three aspects (condensation speed, transparency and the rate of extraction). Byvarious data, the method is proved the better than others. It ´scondensation speed id the fastest. It ´s transparency and rate ofextraction are 96% and 98% respectively.

Keywords inosine (hypoxanthine riboside), bacteria, separate

^{*} Department of Biochemistry, Zhongshan University, Guangzhou 510275