

大种量在小诺霉素生产中的应用

★ 万春华 (江西制药有限责任公司 南昌 330052)

关键词:小诺霉素

抗生素发酵过程是一个高度非线性,时延性的复杂生物化学过程。

小诺霉素是某种小单孢菌在通氧的液态培养基中发酵生产的,一般采用多次补料的生产工艺,生产周期约 120 小时。影响生产的因素有菌种质量,发酵温度,pH 值,溶氧量,氨基氮含量,糖的含量,发酵液粘度,发酵单位等多种参数,染菌与否也是一个关键因素。补料的目的一方面可以补充消耗的养分,另一方面可以调节生产菌的生理进程。第一次补料选择在对数生长期,促进菌丝体生长,提高菌丝体总量,以达到大罐中的生产需要;第二次补料选择在稳定期,这一时期是主要的分泌期,此时的养分多用于小诺霉素的合成,可以一次加,也可以分几次加,视具体情况而定,主要看养分消耗;第三次补料选择在衰退期,可以补料也可以补水,主要目的降低粘度,提高溶氧,还可以降低胞外小诺霉素含量,促进分泌。生理周期的判断须结合镜检菌丝形态、发酵液

色泽、粘度、冷却水流量等因素,时间也是重要的参考因素。

从小诺霉素工艺流程来看,要提高产量,选育高产菌株是最有效的,但因条件限制难以实现。另外可行的方法就是优化工艺,缩短大罐的发酵时间,提高设备利用率,在维持原生产水平的前提下,产能提高是十分显著的。具体的工艺是把一个生长健壮的二级种子平均分割到两个大罐配方培养基的二级种子罐中,培养一段时间,中间补一次料,达到种子要求后再合并进一个大罐,或是从一发酵前期的大罐分割 1/3 做种子进罐,种量都有 40% ~ 50%,进种后的大罐菌丝量大延迟期缩短,第一次补料时间可以大大提前,以后的控制同原工艺,这样发酵周期可以控制在 100 小时之内,放罐单位相差也不大。如果要进一步缩短时间,可以不补第三次料,提前放罐。这样做有很多不利,发酵不充分,放罐单位会降低;残糖太高,浪费原料。

钴 60- γ 射线辐照灭菌培养基对金针菇产量的影响

★ 徐坚 (福建漳州卫生职业学院药学系 漳州 363000)

关键词:钴 60;辐照灭菌;培养基;金针菇;产量

金针菇属伞菌目口蘑科金针菇属,是一种菌藻地衣类,植物学名为 *Flammulina velutiper* (Fr.) Sing.。金针菇在自然界广为分布,中国、日本、俄罗斯、欧洲、北美洲、澳大利亚等地均有分布。在中国北起黑龙江,南至云南,东起江苏,西至新疆均适合金针菇的生长,是我国最早进行人工栽培的食用菌之一。据测定,金针菇氨基酸的含量非常丰富,高于一般菇类,尤其是赖氨酸的含量特别高,赖氨酸具有促进儿童智力发育的功能。金针菇干品中含蛋白质 8.87%,碳水化合物 60.2%,粗纤维达 7.4%,经常食用可防治溃疡病。最近研究又表明,金针菇内所含的一种物质具有很好的抗癌作用。金针菇既是一种美味食品,又是较好的保健食品,金针菇的国内外

市场日益广阔。利用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线对食用菌培养基辐射灭菌、降解试验和对平菇、猴头菇产率的影响,在国内外已有报道,但利用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线对食用菌培养基辐射灭菌对金针菇的产率影响尚未见报道。为了使 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线对食用菌培养基辐射灭菌面推广应用,笔者作了以下工作。

1 配方与方法

1.1 配方 绵子壳 78%、麦皮 20%、 CaCO_3 1%、白糖 1%、培养料含水量 62%。

1.2 方法 培养料搅拌均匀,使之充分湿润,将其分别装进 $16 \times 38 \times 0.04$ (cm) 的双层聚丙烯塑料袋中,每袋干料重 200 g,中间打洞,套上塑料套环,塞上棉花,再包扎牛皮纸,用 15 万居里钴源辐射,辐射

室温(12 ± 2)℃, 辐射剂量为 2.8 Mrad(兆拉德)。对照组用常压 100℃蒸汽灭菌 8 小时, 保温 8 小时。共 3 批, 每批两法各 10 袋。灭菌后第 2 天, 于超净工作台接金针菇菌种(杂交 19 号), 用种量约占培养基的 3%, 于 18~20℃培养室培养菌丝, 观察菌包污染情况, 菌丝长满料时间, 作出菇试验, 出菇温度 8~12℃, 相对湿度 85%~90%, 光照适量, 采菇 1 批。以上试验均为平行操作。

2 试验结果

2.1 污染杂菌情况 杂菌污染率: 蒸汽灭菌法为 3%, 辐射灭菌法为 1.5%。

2.2 菌丝长满料时间 菌丝长满料: 蒸汽灭菌法平均 25 天, 钴 60- γ 射线辐射灭菌法平均 23 天。

2.3 产率 比较钴 60- γ 射线辐射灭菌法比蒸汽灭菌法增产 13.3%, 生物效率 65.1%, 详见表 1。

表 1 培养基蒸汽灭菌法与
钴 60- γ 射线辐射灭菌法对金针菇产率影响比较

培养基灭菌方式	批 I/g	批 II/g	批 III/g	平均 /g·袋 ⁻¹	增产率 (%)	生物效率 (%)
蒸汽灭菌法	1147	1153	1144	114.8	0	57.4
钴 60- γ 射线 辐射灭菌法	1296	1304	1303	130.1	13.3	65.1

2.4 重复性试验和统计学意义结果 三批试验结果 P 值均 <0.001 , 提示有统计学意义。详见表 2~4。

表 2 批 I 试验结果和统计 /g·袋⁻¹

批 I 袋号	蒸汽法	辐射法	差值 d	d2
1	115	131	-16	256
2	116	130	-14	196
3	114	128	-14	196
4	119	127	-8	64
5	110	125	-15	225
6	117	135	-18	324
7	113	131	-18	324
8	116	129	-13	169
9	111	134	-23	529
10	116	126	-10	100
合计	1147	1296	-149	2383

计算得 $t=12.688, n-1=9, d$ 均值 14.9 查表 $P<0.001$ 。

表 3 批 II 试验结果和统计 /g·袋⁻¹

批 II 袋号	蒸汽法	辐射法	差值 d	d2
1	111	130	-19	361
2	119	127	-8	64
3	114	134	-20	400
4	114	130	-16	256
5	112	133	-21	441
6	120	126	-6	36
7	118	133	-15	225
8	115	130	-15	225
9	118	132	-14	196
10	112	129	-17	289
合计	1153	1304	-151	2493

计算得 $t=9.8177, n-1=9, d$ 均值 15.1, 查表 $P<0.001$ 。

表 4 批 III 试验结果和统计 /g·袋⁻¹

批 III 袋号	蒸汽法	辐射法	差值 d	d2
1	111	135	-24	576
2	116	131	-15	225
3	118	131	-13	169
4	112	130	-18	324
5	113	128	-15	225
6	116	127	-11	121
7	111	130	-19	361
8	119	127	-8	64
9	114	134	-20	400
10	114	130	-16	256
合计	1144	1303	-159	2721

计算得 $t=10.8606, n-1=9, d$ 均值 15.9 查表 $P<0.001$ 。

3 结果与讨论

3.1 钴 60- γ 射线辐射灭菌法比蒸汽常压灭菌法污染率低的原因 (1) 钴 60- γ 射线辐射灭菌法属于灭菌, 辐射后棉花塞不湿, 细菌不易繁殖。(2) 钴 60- γ 射线辐射灭菌法属冷灭菌, 辐射后料温仅升 1~2℃, 不存在蒸汽常压灭菌法热灭菌后, 菌包冷却过程倒吸气造成的污染问题。(3) 钴 60- γ 射线辐射灭菌法属冷灭菌, 塑料袋柔软性保持很好, 不易破袋, 故污染率低。(4) 钴 60- γ 射线能量大, 灭菌效果比蒸汽常压灭菌好, 灭菌彻底。

3.2 钴 60- γ 射线辐射灭菌法菌丝生长比蒸汽灭菌法快的原因 (1) 钴 60- γ 射线辐射灭菌彻底。(2) 钴 60- γ 射线辐射对培养料营养成分破坏少, 培养料营养丰富。

3.3 产率高的原因 (1) 使培养料的大分子降解, 特别是纤维素属多糖类, 降解为小分子, 便于菌丝利用。(2) 钴 60- γ 射线辐射对培养料营养成分破坏少, 培养料营养丰富。(3) 钴 60- γ 射线辐射灭菌彻底。

3.4 目前难于推广的主要原因 (1) 成本核算: 钴 60- γ 射线辐射灭菌法成本约高于蒸汽常压灭菌 1~2 倍。(2) 钴 60- γ 射线辐射投资大, 一般单位、个人难于独自开发。(3) 待灭菌菌包是低值物、委托加工的运费也是一笔不小的成本。