

633 菌剂发酵条件的研究*

夏湛恩 黄文彩 桑金隆 施跃峰

(浙江省农业科学院微生物研究所 杭州 310021)

关键词 633 菌剂, 玫瑰黄链霉菌, 发酵条件

分类号 Q939.92

633 菌株是从我国杭州土壤中分离到的新微生物资源^[1]。用该菌的诱变株生产的 633 菌剂能防治禽畜肠炎腹泻, 对我国畜牧业的发展有重要意义^[2]。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株: 菌株 633 系从杭州土壤中分离, 经鉴定为玫瑰黄链霉菌杭州变种 (*Streptomyces roseoflavus* var. *hangzhouensis*)。该菌株经过离子注入及 Co^{60} 诱变, 得到 633-72-32 菌株, 作为 633 菌剂的生产菌株。

1.1.2 培养基: 斜面培养基 (%): K_2HPO_4 0.04, MgSO_4 0.04, 蛋白胨 0.1, 淀粉 2.5%, 马铃薯 10 (煮汤过滤取汁)。发酵培养基采用 7 号配方。

1.1.3 发酵设备: 摇瓶发酵采用 WMK-10 自动调温调速摇床, 罐上发酵采用本院自制的 100L、400L 和 3~5t 不锈钢发酵罐。

1.2 方法

1.2.1 发酵培养基配方试验: 采用不同的 C、N 比的发酵培养基配方^[3~4]进行对比试验, 通过杯碟法, 检测产生抗菌活性物质的含量。

1.2.2 发酵条件试验: 包括 pH、温度、菌龄等。根据高培基等人的方法^[3]设计。

1.2.3 糖、氮测定: 用斐林氏法测定糖, 用甲醛法测定氮。

1.2.4 罐发酵试验: 采用常规的微生物发酵工艺。菌种采用复壮后的 633-72-32 菌株, 发酵培养基为 7 号配方。发酵温度 27~29℃, pH 6.7~7.0, 转速 120 r/min, 罐压 0.5 kg/cm², 接种量 1%~5%。

2 结果

2.1 菌株的碳氮源利用

能利用葡萄糖、乳糖、半乳糖、麦芽糖、L-阿拉伯糖以及 D-果糖等为碳源^[1]。水解淀粉能力很强, 能直接利用玉米粉作碳源, 但不能利用蔗糖、D-果糖作为碳源, 这是该菌株和一般链霉菌不同的地方。另外, 该菌株在发酵过程中对氮源的要求不高, 对氮源的利用能力较弱, 一般只需要农副原料中少量氮源即可。

* 农业部及国家科委“七·五”、“八·五”攻关课题。

本文作者还有姚杭丽、吴文娟。

收稿日期: 1996-10-20

2.2 发酵培养基配方

发酵培养基配方以不同 C、N 比试验, 结果表明, 以 7 号配方为最优 (表 1), 从而删除了原配方中多种价格昂贵的原料, 使培养基成本降低一半以上, 而发酵液的抗菌活性物质含量提高了 2 倍以上, 且发酵产物质量提高, 后处理方便, 有利于产物的提取及加工。

表1 不同培养基配方发酵结果

编号	葡萄糖	饴糖	淀粉	玉米粉	花生粉	干酵母	蛋白胨	鱼粉	硫酸氮	番茄酱	硫酸镁	硫酸亚铁	碳酸钙	菌丝生长	对2号指示菌平均抑菌圈 (mm)
1	2		2		2	0.5	0.2			0.5	0.05	0.01	0.1	一般	18.8
2	2.5			2	2		0.2		0.2		0.05	0.01	0.1	一般	16.5
3	3			2	2		0.1		0.25		0.05		0.05	较少	14.7
4	2			2.5	2				0.4		0.01	0.01	0.05	较少	14.3
5	1.5		2		2			0.25	0.1					一般	17.9
6		2	1.5		2		0.3				0.05		0.05	生长好	21.6
7				5	2		0.25				0.05	0.05	0.07	生长好	30.5

注: 表内成份为 (%)。

2.3 发酵 pH 试验

pH 对比试验结果表明, 菌株发酵时以 pH6.7~7.5 为最佳。当 pH 在 4 以下或 8.5 以上时, 发酵困难, 产生的抗菌活性物质量少或无。

2.4 发酵温度试验

当通过发酵温度对比试验温度低于 25℃ 时, 发酵周期延长, 效价下降, 甚至不能够进行正常发酵和产生抗菌活性物质。当温度超过 31℃ 时也同样要影响菌株的正常发酵, 最佳发酵温度为 27.5~29℃。

2.5 发酵过程中糖、氮变化

该菌株发酵时对总糖的利用情况良好, 而对还原糖的利用速度较慢 (表 2), 所以发酵时可以不加价格较贵的还原糖。经过 72~96h 的发酵, 通过糖氮分析表明, 总糖在发酵产物中的含量明显下降, 氨态氮增加, 这时为抗菌活性物质产生的高峰时期。接着菌丝老化, 抗菌活性物质的含量下降, 不宜进一步发酵。

表2 发酵过程中糖氮的变化

时间 (h)	第一组			第二组			第三组		
	总糖 (%)	还原糖 (%)	氨氮 (r/ml)	总糖 (%)	还原糖 (%)	氨氮 (r/ml)	总糖 (%)	还原糖 (%)	氨氮 (r/ml)
24	4.8	0.09	43.05	4.6	0.17	229.6	4.5	0.09	230
48	3.4	0.04	237.9	3.5	0.12	265.4	3.2	0.05	265
72	2.8	0.21	331.85	2.8	0.25	315.7	2.8	0.20	352.5
96	1.2	0.15	388.35	1.4	0.24	343.2	1.2	0.20	375.2

2.6 100L 罐发酵试验

100L 罐发酵进行到 24h, 发酵液对 2 号指示菌抑菌圈为 14.5mm, 对 1 号指示菌抑菌圈为 16.5mm, 发酵到 48h 对 2 号指示菌抑菌圈为 27.5mm, 对 1 号指示菌的抑菌圈为 22.7mm, 发酵到 72h 对 2 号指示菌的抑菌圈为 34.7mm, 对 1 号指示菌的抑菌圈为 29mm, 此时抗菌物质含量达到了高峰。发酵至 72h, 发酵液还原糖含量接近于 0, 总糖的含量下降到 1% 左右, 氨基氮含量上升 (表 3), 这时所产生的抗菌活性物质的

含量最高,放罐后处理方便,适于工业化提取。

2.7 400L 罐发酵试验

经过 24h 发酵后,发酵液对 2 号指示菌抑菌圈直径为 14.4 mm,对 1 号指示菌抑菌圈为 20.6 mm,发酵到 48 h 时,对 2 号指示菌和 1 号指示菌抑菌圈均为 26.2 mm,发酵到 72 h 时,对 2 号指示菌抑菌圈为 31.2 mm,对 1 号指示菌的抑菌圈为 30.8 mm,发酵 86 h 以后抗菌物质含量开始下降,经过测试对 2 号指示菌的抑菌圈为 21.6 mm,对 1 号指示菌的抑菌圈为 26.5 mm。

表4 400L罐发酵过程中糖氮的变化

发酵时间 (h)	总糖 (%)	还原糖 (%)	氨基氮 (μg/ml)	后处理
24	3.7	0.05	231.2	
48	2.6	0.19	345.5	
72	1.15	0.21	357.5	方便
86	0.95	0.09	256.7	较难

通过发酵条件的研究,证实菌株 633-72-32能在特定的温度和 pH 条件下,利用价格低廉而且容易得到的农副产品进行深层发酵。它的发酵产物中含有抗菌驱虫的活性物质,若将它添加到饲料中可以有效地防治鸡白痢、仔猪白痢、禽霍乱以及兔霍乱等疾病,是我国发现的一种新微生物资源。通过发酵条件的研究已可进行工厂化生产。

参 考 文 献

[1] 黄文彩,夏湛恩. 中国抗生素杂志, 1991, 16(3): 209~212.
[2] 吴国栋,罗仲振,夏湛恩. 上海畜牧兽医通讯杂志, 1991, (3): 9~10.
[3] 高培基,颜望明. 微生物生长与发酵. 济南: 山东大学出版社, 1990. 180~181.
[4] 日本公开特许公报, 昭 52-151197. 877~898.
[5] Haney M E. United States Patent Office Patented Mar 17. 1990. 3 501 568.

STUDIES ON THE FERMENTATION TECHNOLOGY OF
MICROBIOLOGICAL PREPARATION No.633

Xia Zhanen Huang Wencai Sang Jinlong Shi Yaofeng

(Institute of Microbiology, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021)

Abstract This paper reports the fermentation techmology of bacterial feed No.633. A new fermentational technic, which was composed of fermentation medium, optimum pH, temperature, airate flow, pot pressure and fermentation ùme, was established.
Key words Bacterial feed No.633. *Streptomyces roseoflavns*, Fermentation technology

表3 100L罐发酵过程中糖氮的变化

时间 (h)	总糖 (%)	还原糖 (%)	氨基氮 (r/ml)
消后	4.8	0.09	43.05
24	3.4	0.04	237.9
48	2.8	0.21	331.85
72	1.2	0.15	388.35

400 L罐发酵到 72 h, 发酵液的还原糖接近 0,总糖的含量已经接近 1%, 氨基氮的含量开始回升(表 4), 抗菌活性物质含量达到高峰,如果发酵时间过长,菌丝体开始出现自溶现象,后处理困难。在 3t 罐上发酵的情况与此类同。

3 结论和讨论