

· 工业药学 ·

L-异亮氨酸发酵的研究

何家骏 (河北省承德市第一制药厂, 承德 067000)

摘要 用黄色棒状杆菌产L-异亮氨酸菌种, 经过一级种子扩大培养, 二级发酵培养, 以葡萄糖为主要原料, 无机盐为辅料, 用2000 L发酵罐, 进行发酵培养, 产酸率达24.32 mg/ml。

1 材料及设备:

斜面培养基、摇瓶种子培养基(略)。

一级种子培养基(%): 葡萄糖6.5, 碳酸钙5.0, 玉米油0.4, 硫酸铵2.5, 硫酸亚铁0.004 g/100 ml 硫酸锰0.004 g/100 ml 磷酸二氢钾0.35, 灭菌后pH值为6.5至6.8。

二级发酵培养基(%):

葡萄糖15, 硫酸铵5.0, 碳酸钙5.0, 硫酸锰0.008 g/100 ml 硫酸亚铁0.004 g/100 ml 硫胺素240 µg/100 ml 生物素30 µg/10 ml 灭菌后pH值6.0至6.5。

摇瓶机2台, 一级种子罐600 L 2台, 补糖罐2000吨2台, 油罐150 L 1台, 发酵罐2000 L 2台, 氨水计量罐200 L 1台。

721分光光度计1台, 旋光计一台, 分析天平1台, 25型酸度计2台。

2 种子罐代谢考察:

在无菌室内, 取少许菌种接入摇瓶中, 放在摇瓶机上, 培养20至24 h, 并瓶, 接入种子罐。步骤如下:

2.1 罐温33—35°C

2.2 通入40—50°C无菌空气, 流量用进气阀门调节, 开始稍为小开, 8 h后全开。又可以用进气与排气阀门调节, (因没装流量计)。

2.3 种子罐培养周期20—24 h。

种子罐内菌体代谢变化:

pH值: 培养24 h后, pH稍有下降, 然后再稍有回升。

糖代谢: 培养过程中, 糖逐渐消耗, 24 h稍有回升。

氨基氮: 培养24 h后, 氨基氮稍有回升。

菌体外观变化: 摇瓶培养液接入种子罐后进行培养, 开始种子液为乳白色, 培养20 h, 转乳黄色, 24 h后逐渐转为浅黄色。即可移入发酵罐。

3 发酵的代谢变化:

利用压差法, 将种子液无菌移入发酵罐, 发酵按下列条件掌握。

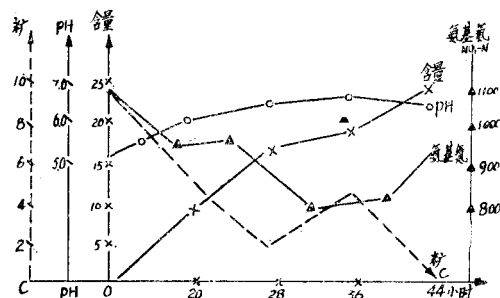
3.1 罐温: 32—33°C。

3.2 通入40—50°C无菌空气, 用进、排气阀门根据菌种生长情况, 随时调节。

3.3 发酵周期44~48 h。

3.4 补糖: 培养12 h后, 开始第一次补糖, 全发酵过程补7—8次糖, 每次补入100 L。

3.5 发酵过程中, pH值, 用氨水调解, 12 h, 开始通入氨水, 每8 h通入15~25 L, 培养30 h后, 氨水用量下降, 36 h后, 停止通入氨水, L-异亮氨酸发酵代谢曲线如下:



小 结

从代谢曲线可知, 全程用氨水调解, 掌握pH

(下转第25页)

（上接第26页）

值与氨基氮变化，开始通入氨水时，发酵液 pH 值即上升，但很快被菌体吸收及利用，pH 值迅速下降。pH 值、氨基氮、残糖都是重要的技术指标，要结合起来进行。用氨水调 pH，在 L-异亮氨酸发酵代谢中，也是大胆的尝试，一般生产厂家用尿素来控制代谢，我厂用氨水调 pH，有许多优点：来

源方便，容易得到，价格便宜，在发酵过程中，容易掌握，从代谢曲线可知：糖消耗波动较大，影响因素也较为复杂，有待以后在实践中改进。

经多批验证，发酵含量比较稳定，一般发酵含量在 20 mg/ml 以上，最高罐批可达 24.32 mg/ml，建议可在大生产中推广应用。

收稿日期：1994-01-30