

91739

微生物学革命

资料汇编

第四集

中国科学院微生物研究所汇编

科学出版社

.G083
46 W
4
1

微生物学革命 資料汇编

第四集

中国科学院微生物研究所汇编

(内部資料·注意保存)

科学出版社

1970

内 容 简 介

《微生物学革命》资料汇编第四集收集了十一篇工业微生物方面的文章,有:糖化酶及酶水解淀粉制葡萄糖的研究,双酶水解淀粉质粗原料谷氨酸发酵中型试验,细菌淀粉酶常压液化代替高压蒸煮酒精发酵,蛋白酶在猪皮制革上的应用,固体培养赭土曲霉 3·942 生产蛋白酶的,研究,深层培养赭土曲霉 3·942 生产蛋白酶(III) 3·942 蛋白酶的一些特性,纤维素酶、半纤维素酶和果胶酶的菌种筛选,麸皮提取液代替玉米浆发酵 L-谷氨酸的试验,等电点——离子交换盐洗法提炼谷氨酸,发酵法生产丙氨酸,浆粕黑液培养白地霉的初步试验等。

本书可供酶制剂、制药、酒精、味精、皮革等工业的工人、科技工作者、革命干部和微生物专业的革命师生参考。

《微生物学革命》资料汇编 第四集

(只限国内发行)

中国科学院微生物研究所汇编

*

科学出版社出版

北京西直门外三里河路 2 号

北京市书刊出版业营业许可出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1970 年 3 月第 一 版 开本:787×1092 1/32

1970 年 9 月第二次印刷 印张:3

印数:9,001—33,700 字数:65,000

统一书号:13031·2387

本社书号:3607·13—9

定价:0.30 元

毛主席语录

备战、备荒、为人民。

提高警惕，保卫祖国。

抓革命，促生产，促工作，促战备。

我们必须打破常规，尽量采用先进技术，在一个不太长的历史时期内，把我国建设成为一个社会主义的现代化的强国。

目 录

糖化酶及酶水解淀粉制葡萄糖的研究.....	
.....天津市食品发酵研究所革命委员会	
天津市葡萄糖厂革命委员会	(1)
双酶水解淀粉质粗原料谷氨酸发酵中型试验.....	
.....天津市食品发酵研究所革命委员会	
沈阳味精厂革命委员会	
上海味精厂革命委员会	
天津味精厂革命委员会	(12)
细菌淀粉酶常压液化代替高压蒸煮酒精发酵.....	
.....北京市酿酒总厂酒精厂	
中国科学院微生物研究所	
原北京市发酵研究所	(21)
蛋白酶在猪皮制革上的应用.....	
.....上海市五一制革厂革命委员会	
江苏省化工研究所革命委员会	(26)
固体培养栖土曲霉 3·942 生产蛋白酶的研究.....	
.....上海市工业微生物研究所	(32)
深层培养栖土曲霉 3·942 生产蛋白酶	
(III) 3·942 蛋白酶的一些特性.....	
.....上海市工业微生物研究所	(41)
纤维素酶、半纤维素酶和果胶酶的菌种筛选.....	
.....北京纤维素酶菌种筛选小分队	(45)

麸皮提取液代替玉米浆发酵 L-谷氨酸的试验·····	
·····福建泉州味精厂革命委员会生产组	(52)
等电点——离子交换盐洗法提炼谷氨酸·····	
·····福建厦门侨星化工厂革命委员会	(59)
发酵法生产丙氨酸·····北 京 化 工 厂	
中国科学院微生物研究所	(66)
浆粕黑液培养白地霉的初步试验··上海国棉三十二厂	(72)
会议动态·····	(76)
国外科技动态文摘·····	(82)
来信摘登·····	(87)

毛主席语录

馬克思主义的哲学认为十分重要的問題，不在于懂得了客观世界的規律性，因而能够解释世界，而在于拿了这种对于客观規律性的認識去能动地改造世界。

糖化酶及酶水解淀粉制葡萄糖的研究

天津市食品发酵研究所革命委员会

天津市葡萄糖厂革命委员会

糖化酶是淀粉水解酶中的一种酶，也叫 β -淀粉酶。它与 α -淀粉酶联合作用，可把淀粉完全水解为葡萄糖。所以，糖化酶不仅可以代替强酸水解淀粉，生产各种需要的葡萄糖产品，还可应用于以淀粉为原料的各种发酵工业，从而提高糖的得率，降低产品成本。

酶水解淀粉，具有作用底物浓度高和转化率高的特点，所以，为直接采用淀粉质粗原料（如薯干粉、玉米粉）生产葡萄糖，提供了可能。

为了酶法生产葡萄糖的新工艺尽快地应用在生产上，参加研究工作的全体同志，高举毛泽东思想伟大红旗，狠批了刘

少奇技术掛帅、爬行主义、洋奴哲学的反革命修正主义科研路线,遵照毛主席“**要打破洋框框,走中国自己工业发展的道路**”的教导,自力更生,奋发图强,以**只爭朝夕**的精神,群策群力,终于选出了酶活力高的菌株,找到了适宜的发酵条件,确定了酶水解淀粉制葡萄糖的新工艺。这是战无不胜的毛泽东思想的胜利!是无产阶级文化大革命的又一新成果!

一、用黑曲霉 UV-06 进行糖化酶 发酵的小型試驗

(一) 菌种的篩选

曾先后对国内酒精厂所用糖化曲菌种,及有关单位在糖化酶和柠檬酸研究工作中常用的和报导过的菌种(包括黑曲霉和根霉),进行了糖化酶活性的筛选试验。结果证明,黑曲霉 UV-06 菌株糖化酶活力高,葡萄糖苷转移酶少,培养基要求简单,适用于生产。

(二) 发酵培养基配方的选择

以玉米粉 2%,麸皮 1%,米糠 1%,玉米浆 0.5%,硝酸钠 0.2%,硝酸钾 0.2% 为种子培养基,自来水配制,调 pH 4.6。1.5 公斤蒸汽压力,灭菌 30 分钟。接种斜面培养好的 UV-06 孢子,在频率 100 转/分,振幅 7 厘米的搖床上 31℃ 培养 24 小时。以 10% 接种量,分别接种到表 1 所列培养基中。在 500 毫升三角瓶中装液量 100 毫升,仍于上述条件下培养 72 小时,测定酶活力。

表 1 指出,UV-06 菌种,在天然培养基中,酶活力较高,尤以玉米粉 5%,玉米浆 2%,麸皮 1%,米糠 1%,硝酸钾 0.3%,硝酸钠 0.3% (即发 32 号培养基)最好,酶活力可达

表 1 培养基成分对糖化酶生成的影响

项目 编号	培养基成分 (%)								发酵结果		
	玉米粉	玉米浆	硫酸铵	磷酸二氢钾	硫酸镁	麸皮	米糠	硝酸钠	硝酸钾	终pH	酶活力
1	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	88 88
2	5	—	—	0.05	—	—	—	—	—	—	91 90
3	5	—	—	0.05	0.05	—	—	—	—	—	83 79
4	5	—	—	0.1	—	—	—	—	—	—	89 79
5	5	—	—	0.1	—	—	—	—	—	—	94 82
6	5	1	—	—	0.05	—	—	—	—	—	127 133
7	5	1	—	0.05	—	—	—	—	—	—	153 143
8	5	1	—	0.05	0.05	—	—	—	—	—	165 126
9	5	1	—	0.1	—	—	—	—	—	—	160 146
10	5	1	—	0.1	0.05	—	—	—	—	—	147 146
11	5	1	0.5	—	—	—	—	—	—	—	146 161
12	5	1	0.5	0.05	—	—	—	—	—	—	144 143
13	5	1	0.5	0.05	0.05	—	—	—	—	—	134 134
14	5	1	0.5	0.1	—	—	—	—	—	—	131 146
15	5	1	0.5	0.1	0.05	—	—	—	—	—	137 149
16	5	2.0	—	—	—	—	—	—	—	2.5	155 144
17	5	2.0	—	0.05	—	—	—	—	—	2.5	148 149
18	5	2.0	—	0.05	0.05	—	—	—	—	2.5	161 137
19	5	2.0	—	0.1	—	—	—	—	—	2.5	138 151
20	5	2.0	—	0.1	0.05	—	—	—	—	2.5	132 155
21	5	1.5	—	—	—	—	—	—	—	2.5	124 124
22	5	1.5	—	0.05	—	—	—	—	—	2.5	115 129
23	5	1.5	—	0.05	0.05	—	—	—	—	2.5	112 121
24	5	1.5	—	0.1	—	—	—	—	—	2.5	143 104
25	5	1.5	—	0.1	0.05	—	—	—	—	2.5	127 112
26	5	1.5	0.5	—	—	—	—	—	—	2.5	155 124
27	5	1.5	0.5	0.05	—	—	—	—	—	2.5	127 121
28	5	1.5	0.5	0.05	0.05	—	—	—	—	2.5	143 134
29	5	1.5	0.5	0.1	—	—	—	—	—	2.5	109 115
30	5	1.5	0.5	0.1	0.05	—	—	—	—	2.5	123 127
31	5	2.0	—	—	—	1	1	—	—	2.5	167 249
32	5	2.0	—	—	—	1	1	0.3	0.3	2.5	245 247
33	5	2.0	—	—	—	1	—	—	—	2.5	200 155
34	4	2.0	—	—	—	1	—	—	—	2.5	127 155
35	3	2.0	—	—	—	1	1	0.3	0.3	3.0	123 138

245 单位以上。

(三) 玉米浆与糖化酶生成的关系

基础培养基(即发 32 号): 玉米粉 5%, 麸皮 1%, 米糠 1.5%, 硝酸钠 0.3%, 再分别加入玉米浆 0, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2%, 调 pH 4.6, 1.5 公斤蒸汽压力灭菌 30 分钟, 冷却后, 接入培养好的种子(种子培养条件同(一)), 置往复摇床(100 转/分, 振幅 7 厘米)培养 72 小时, 测酶活力。

表 2 玉米浆用量对糖化酶生成的影响

试 验 编 号	1	2	3	4	5
玉 米 浆 (%)	0	0.5	1.0	1.5	2.0
酶活力(平均值)	158	172	198	220	255

由表 2 得知, 玉米浆用量对糖化酶的生成有着重要的影响, 在 0—2% 的添加范围内, 酶活力随玉米浆用量增加而升高。

(四) 玉米粉用量与糖化酶生成的关系

以发 32 号培养基为基础, 在同样条件下, 试验玉米粉用量对糖化酶生成的影响。

表 3 玉米粉用量对糖化酶生成的影响

编 号	玉 米 粉 (%)	终 pH	酶 活 力
1. 2.	2	—	164
3. 4.	3	—	207
5. 6.	4	—	232
7. 8.	5	—	254
9. 10.	6	—	281

试验结果表明, 玉米粉在培养基中的用量对于糖化酶的生成有着显著的促进作用, 在 2—6% 的添加范围内, 随玉米粉用量的增加, 酶活力显著升高。

(五) 初 pH 与糖化酶生成的关系

表 4 结果表明, 发酵培养基的初 pH 值在 3.0—6.0 这一区间变化时, 对糖化酶的形成影响不甚明显。就所试五种 pH 条件来看, 以初 pH 4.5, 糖化酶生成活力最高。

表 4 初 pH 值对糖化酶活力的影响*

编 号	1. 2.	3. 4.	5. 6.	7. 8.	9. 10.
初 pH	3.0	4.0	4.5	5.0	6.0
终 pH	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
酶 活 力	223.7 211.6	241.2 250.9	259.9 250.9	230.3 226.7	232.7 230.3

* 基本条件同(四)所述。

(六) 通气量对糖化酶生成活力的影响

在 500 毫升三角瓶中分别装入 40 毫升、70 毫升、100 毫升、130 毫升和 160 毫升发 32 号培养基, 在所述发酵条件下, 比较其糖化酶活力。

表 5 表明, 装液量的变化, 并不显著影响糖化酶的生成, 说明黑曲霉 UV-06 对通气量的改变并不敏感。

(七) 种子培养基组成对糖化酶生成的影响

在 500 毫升三角瓶中装入 100 毫升发酵培养基(发 32 号), 灭菌后, 分别接入由下列几种种子培养基培养 24 小时的种子 10%, 置往复摇床, 31℃, 培养 72 小时, 测酶活力。

表 5 通气量对糖化酶生成的影响

编 号	装 液 量 (毫升)	终 pH	酶 活 力	备 注
1	40	2.8	169	往复摇床 (100 转/分, 7 厘米振幅)
2	40	2.8	185	
3	70	2.8	216	
4	70	2.8	227	
5	100	2.8	241	
6	100	2.8	247	
7	130	2.8	245	
8	130	2.8	240	
9	160	2.8	235	
10	160	2.8	224	
11	100	3.0	224	迴转摇床 (220 转/分, 2.5 厘米偏心)
12	100	3.0	251	

表 6 不同种子培养基对酶活力的影响

成分(%) \ 编号	1	2	3	4	5	6	7
玉 米 粉	2	2	2	2	2	2	2
麸 皮	1	—	1	—	—	0.5	1
米 糠	1	1.5	—	—	—	0.5	—
玉 米 浆	0.5	—	0.5	1	1	0.5	1
硝 酸 钠	0.2	0.2	—	—	—	—	—
硝 酸 钾	0.2	—	—	—	—	—	—
磷 酸 二 氢 钾	—	—	—	—	—	0.1	—
磷 酸 氢 二 钠	—	—	—	—	—	0.1	0.5
终 pH	2.8 2.8	2.8 2.8	2.8 2.8	3.0 3.0	3.0 3.0	3.0 2.8	3.0 3.0
酶 活 力	212 212	226 227	212 212	223 221	212 226	214 230	217 217

所试七种种子培养基,对糖化酶的生成无明显影响。种子培养基,可以简化至玉米粉 2%,玉米浆 1%,仍可保证糖化酶良好生成。

(八) 关于降低接种量的試驗

接种量分别为 1%, 2.5%, 5%, 7.5%, 10%, 在前述试验条件下进行发酵。结果是降低接种量,对糖化酶的生成没有影响。

表 7 接种量不同时,糖化酶生成的情况

试验编号	1. 2.	3. 4.	5. 6.	7. 8.	9. 10.
接种量(%)	1	2.5	5	7.5	10
终 pH	2.5, 2.5	2.8, 2.8	2.8, 2.8	2.8, 2.8	2.8, 2.8
酶活力	252, 248	268, 250	258, 264	255, 246	249, 246

(九) 縮短种龄的試驗

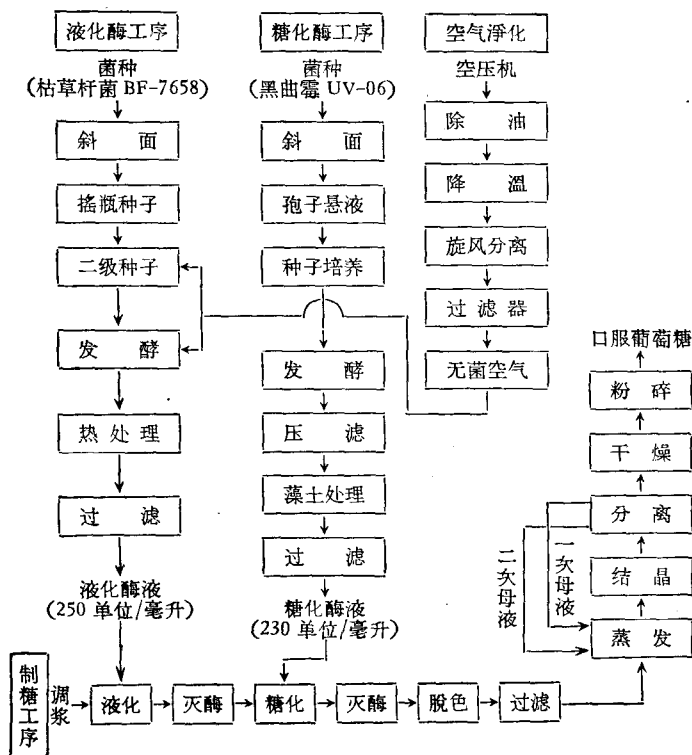
遵照毛主席“要进一步节约闹革命”的教导,进行了缩短种子培养时间的实验,结果表明,种龄可长可短,缩短至 12 小时,其酶活力不减。

表 8 种龄不同,糖化酶生成情况

编号	种龄(小时)	酶活力	备注
1. 2.	12	262 240	* 4号瓶染菌
3. 4.	16	255 187*	
5. 6.	20	246 243	
7. 8.	24	258 243	

二、酶水解淀粉制葡萄糖的工艺过程

(一) 整体工艺流程简示



(二) 液化酶的制备

本试验所用液化酶，按无锡酿酒厂制备淀粉酶的条件自制。

(三) 糖化酶的制备

1. 斜面种子

薯干淀粉 8%，先配成 30% 的乳液，用盐酸调 pH 2，1.5 公斤蒸汽压力，处理 30 分钟，过滤，除去残渣。

麸皮 2%（作同上处理）。

硫酸镁 0.025%；磷酸氢二钾 0.016%；氯化铜 0.001%；硫酸锰 0.001%；硫酸铁 0.001%；硫酸铵 0.08%；洋菜 2%，调 pH 5，1.5 公斤蒸汽压力下灭菌 30 分钟，制成斜面，接入孢子，31℃ 培养 3—5 天，存入冰箱随时取用。

2. 一级种子

玉米粉 2%，玉米浆 1%，自来水配制，调 pH 4.6，50 升罐装 35 升培养基。1.5 公斤蒸汽压力，灭菌 30 分钟（先夹层预热至 100℃，再通入直接蒸汽），用两支斜面，以 300 毫升无菌水制成孢子悬液接种。搅拌 300 转/分，通气量 1:0.2 体积/体积/分，31℃，培养 24 小时。

3. 发酵

发酵培养基

玉米粉 5%，玉米浆 2%，麸皮 1%，米糠 1.5%，硝酸钠 0.1%，自来水配制，不调 pH。500 升罐装此培养基 350 升，1.5 公斤蒸汽压力，灭菌 30 分钟。

发酵条件

发酵罐：直径：高=1:2；无挡板；四叶箭尾式搅拌。装液量：75%，种龄 24 小时，接种量：5%，搅拌：260 转/分，通气量为 1:0.2—0.3 体积/体积/分。培养温度为 31℃。发酵时间 50—60 小时，酶活力即可达 230 单位以上。

4. 酶液处理

为除去糖化酶液中存在的转移葡萄糖苷酶，需使用酸性

白土进行吸附,否则将严重干扰酶水解淀粉时,淀粉成糖的转化率。处理方法是:将发酵液滤除菌丝,用盐酸调至 pH 2,加入酸性白土 2%,搅拌,过滤后即可使用。这种酶液,在对淀粉进行糖化时,终了不见有异麦芽糖生成,终产物只有葡萄糖。

(四) 制糖

1. 调浆 在调粉罐中放入相当淀粉总量 1.2—1.3 倍的水,投入淀粉,搅匀,浸 2—3 小时,调 pH 6.0—6.3,加入细菌淀粉酶液 5—8 单位/每克淀粉,充分搅匀,即为粉乳。

2. 液化 糖化罐中先加入底水,相当调粉用水的 1/4,夹层预热至 90℃,在 200 转/分搅拌条件下,86—89℃ 的温度,慢慢流加粉乳,逐步加快,打料完毕,继续保温 40 分钟,至液化液加碘液呈棕红色反应时为止,再升温至 105—110℃,灭酶 5—10 分钟。

3. 糖化 液化完成后,降温至 65℃,加入糖化酶液,相当每克淀粉加糖化酶液 0.4 毫升(100 单位/每克淀粉),调 pH 4.5,底物浓度 30—33%,维持 58—61℃,糖化 28—36 小时,糖化葡萄糖(DE)值达 96% 以上。

4. 脱色 糖化终了,启开搅拌,夹层升温至 100℃,煮沸 10 分钟,加入活性炭 2%,在 90℃ 保温 30 分钟,之后,乘热过滤。

5. 浓缩 过滤澄清糖液,通过单效薄膜蒸发设备的预热器,升温至 50℃,进入蒸发罐,在 55—60℃,650—700 毫米水银柱真空条件下,蒸发至糖液浓度为 66—67%,即终止蒸发。

6. 结晶 浓缩后的糖液,降温至 40℃,加入晶种 3%,进行保温,使糖液在 48 小时内逐渐降温至 30℃,在第 48—72

小时,使之降至室温。保温过程中应不断进行搅拌。

7. 分离 结晶完成后,以甩干机离去母液,母液几乎甩净时,以少量冷水冲洗三次,总水量不得超过 8%。

8. 烘干 分离后,由甩干机取下,放入烘床,37℃ 左右,烘烤三天,使含水量降至 10% 以下。

9. 粉碎 烘干后,以粉碎机粉碎,过筛,即为口服葡萄糖。经检验合乎药典规定。

三、結 論

(一) 黑曲霉 UV-06 是一优良糖化酶产生菌种,发酵液含转移葡萄糖苷酶较少,经酸性白土处理后,此酶液可使淀粉成糖转化率达 96% 以上。

(二) 玉米浆及玉米粉在糖化酶发酵培养基中,起着很重要的作用,降低二者的用量,糖化酶活力水平即明显下降。

(三) 酶水解淀粉制葡萄糖的特点是: 一方面使浓度较高的淀粉乳(34—40%)液化,糖化,另一方面使淀粉成糖的转化率,达 97% 以上。为利用粗质淀粉原料(薯干粉、玉米粉等)制糖奠定了基础。

(四) 上述酶水解制糖工艺,所得干葡萄糖收率为绝干淀粉的 85%,连同母液残存葡萄糖量,估计总得率近 100%。比酸法生产葡萄糖提高收率 10%,降低成本 15% 以上。