

谷氨酸发酵中噬菌体的污染与防治

张克旭

(天津轻工业学院,天津)

在谷氨酸发酵生产中,倘若污染噬菌体,轻则减产,重则倒罐,造成严重损失。所以防治噬菌体的污染是很重要的,现分述如下。

一、噬菌体是什么?

噬菌体是病毒的一种,是一种极微小的生物,体积是细菌的 1/1000 左右,它可以通过细菌过滤器,只有在电子显微镜下才能看到。其特性如下:

1. 从形态学角度分噬菌体为六群: 1、2、3 群有头部、尾部之分,为蝌蚪形; 4、5 两群没有尾部,是微球形; 6 群为纤维形噬菌体,是一条略呈弯曲的纤丝。目前我国谷氨酸发酵中所发

现的噬菌体,均属蝌蚪形。

2. 具有非常专一的寄生性,只能在特异性寄主细胞中增殖。由于噬菌体缺乏独立代谢的酶体系,不能脱离寄主而自行生长繁殖,因而噬菌体的繁殖必须依存于寄主菌的繁殖,噬菌体只能在活的、正在繁殖阶段的细胞中进行繁殖。在死的、衰老的、处于休眠状态的细胞中以及在代谢产物或培养基上都不能繁殖。噬菌体的生活过程可分为:吸附→侵入(注入 DNA)→繁殖→成熟→裂解五步,被释放的成熟的子代噬菌体随即又侵染细菌,开始新的生活循环。已知谷氨酸生产菌的噬菌体,潜伏期多在 60 分钟左右,裂解量处于 50 至 150 之间。

3. 噬菌体没有细胞结构, 为非细胞类型, 主要是由核酸和蛋白质构成。

4. 谷氨酸生产菌的噬菌体, 一般在 25—35℃, pH 5—9 时较为稳定, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等阳离子能促进噬菌体的吸附与注入, 易受热变性 (60—70℃, 10—5 分钟), 对氧化物敏感, 可被酸碱致死。此外凡能引起蛋白质变性的化学药品 (如 0.5% 甲醛、1% 新洁而灭、0.5 苯酚或漂白粉等) 都可使噬菌体失活。值得注意的是: 噬菌体在干燥状态比湿润状态稳定, 能长时间以活性状态浮游于空气中, 这是味精生产受噬菌体污染的一个重要原因。

二、谷氨酸发酵中污染噬菌体的主要表现

根据 B_9 菌及 T_{6-13} 与 AS 1.299 菌污染噬菌体时所表现的症状, 简述如下:

1. 发酵液光密度 (O. D.) 开始上升, 而后下降, 但有时也不上升。

2. pH 值逐渐上升, 升到 8.0 以上, 不再下降。

3. 耗糖缓慢或停止。

4. 排气中的 CO_2 含量一反常态, 迅速下降。

5. 泡沫大、粘度大, 甚至呈胶状, 可拔丝。

6. 发酵周期逐罐延长, 谷氨酸产量降低 (开始也有突然偏高的情况), 或缓慢增长, 或不产酸。

7. 镜检时可发现菌体减少, 缺乏八字排列, 发圆、变胖, 革兰氏染色后呈现红色碎片。再严重时, 视野里出现拉丝或网状, 或呈鱼翅状, 几乎看不到完整菌体。

8. 平板检查有噬菌斑, 摇瓶发酵液清而稀。

9. 提取时, 发酵液发红、发灰、残糖高、有刺激味、泡沫大、粘度大、难中和, 中和时易出现 β -型结晶, 俗称打浆子、谷氨酸泥状或糊状, 过滤困难, 收率低。谷氨酸结晶质量差、色素深、发粘等。

10. 精制中和时, 色深、泡沫大, 碱加不进, 过滤困难。成品色深、光泽差、收率低。

三、主要防治措施

(一) 严格控制活菌体的排放

1. 摇瓶液、取样液、废弃菌液或发酵液均应经灭菌后经管道向阴沟或远处排放。

2. 排气及发酵溢液要通入装有杀菌药液的容器中或密闭的水封池中, 经灭菌后再通过管道或密闭阴沟向远处排放。

3. 已知污染噬菌体的发酵液或种子液, 应于灭菌后 (80℃ 2—5 分钟) 再送往提取工段或向地沟排放。放罐后, 空罐及管道消毒要加甲醛熏蒸。

4. 提取后废弃的含有菌体的母液不能乱洒, 也应经密闭的阴沟向远离空压机房和发酵车间的方向排放。

(二) 环境卫生

采取以环境净化为中心的综合性防治方法, 消灭或减少环境中的噬菌体与杂菌是防止噬菌体的基本措施。

1. 建立环境卫生制度, 定期清扫, 定期消毒、定期检查。

2. 定期用灭菌药剂在厂区喷雾, 消灭空气中的杂菌和噬菌体。

3. 车间四周不要乱堆东西, 要清洁, 整齐, 经常清扫、冲刷, 撒漂白粉等。

4. 车间地面与厂内道路尽量修成水泥或柏油路面, 以利冲洗和消毒。

(三) 严防噬菌体进入种子罐或发酵罐内

1. 种子制备工作中, 要确保种子不带噬菌体。种子室要与发酵车间分开, 远离。要把噬菌体的检查作为种子检查的日常工作。

2. 各级种子的制备均应严格无菌操作。

3. 空气净化部分要注意以下几个方面:

(1) 要合理的进行车间布置, 发酵、提取、空压车间要隔开, 成三角鼎立, 尽量远离。(2) 空压机的吸风口应设在 30—40 米高处, 并尽量增大吸风口与发酵罐排气口之间的距离。(3) 为确保空气干燥无菌, 应在总过滤器前加装一个预热器。(4) 总空气过滤器每月消毒一次, 分过滤器用一次消一次。使用维尼龙过滤器的工

厂,每隔 1—2 个月用 60—80℃ 热风消毒一次。
(5) 使用碱液罐的工厂,要常更换碱液,并格外注意排水、排油操作。

(四) 抑制罐内噬菌体的增殖

1. 轮换使用菌种,定期轮换生产菌种,使用不同噬菌体谱系的菌种如: B₉、AS1.299、Mg2、S-75 交替使用。

2. 使用抗噬菌体菌株。

3. 进行药物防治: (1) 用金属螯合剂,如加 0.3—0.5% 草酸盐、柠檬酸盐或植酸盐都可抑制噬菌体的吸附并阻止噬菌体 DNA 的注入。

(2) 加入 1—2 μg/ml 的金霉素、四环素或氯霉

素都能抑制噬菌体。(3) 加入 0.1—0.2% 的吐温 60、吐温 20 或聚氧乙烯烷基醚等表面活性剂也能抑制噬菌体的吸附。

(4) 选育抗链霉素突变株

抗链霉素突变株往往可获得抗噬菌体和抗溶菌酶的特性,因此,选育抗链霉素突变株对防止噬菌体危害也有重要意义。

参 考 文 献

- [1] アミノ酸・核酸集談会編: アミノ酸発酵(上), 總論, 共立出版株式会社, 1972, p. 88—115。
- [2] 中国科学院微生物研究所噬菌体组: 噬菌体及其防治 科学出版社, 1973, 北京。

JOURNALS.IM.AC.CN