

工业生产中菌种的常用保藏方法

米翠平¹, 黄周阳²

(1. 山东方明药业集团股份有限公司, 山东 东明 274500;

2. 山东洪智生物技术有限公司, 山东 东明 274500)

摘要:介绍了工业生产中常用微生物菌种的保藏方法, 即斜面低温保藏法、甘油保藏法、甘油乳糖保藏法、沙土管保藏法并比较了它们的优缺点。

关键词:微生物; 保藏; 菌种

中图分类号: Q93-336

文献标识码: B

文章编号: 1008-021X(2017)02-0076-01

菌种是我国最宝贵的自然资源之一, 是从事微生物学研究的重要材料, 随着生物技术的飞速发展, 菌种越来越多的应用于工业生产中, 菌种资源的利用对工业生产起着越来越重要的作用, 为了使在自然界分离和人工培育的高性能、高产菌种在工业生产中发挥他们的长期作用, 这就要求我们对菌种的保藏方法加以研究, 以确保优良的菌种、菌株妥善保藏, 更重要的是确保菌种的遗传性状不发生或尽可能少的发生变异, 所以说菌种的保藏是一项很重要的工作, 以下我就浅谈一下在我们工业生产中常用的几种菌种保藏方法。

1 微生物菌种保藏的原理

微生物菌种保藏的方法有很多种, 其保藏原理主要是根据微生物的生理、生化特点, 人为的创造低温、缺氧、干燥、避光的条件, 尽可能的降低或者抑制微生物的代谢活动, 减慢或停止其生长繁殖, 在较长时间内保持其生活能力, 不发生或尽可能少的发生遗传性状的变异, 以达到保持纯种的目的。

2 微生物菌种保藏的方法

2.1 斜面、平板低温保藏法

把待保藏的菌种接在适合其生长的培养基上, 在合适的条件下培养, 待培养基上的单菌落或孢子生长充分后, 于 2~8℃ 的条件下进行保存, 并每隔 1~2 个月传代接种一次, 但是需要注意的是菌种的保藏时间及温度因微生物的种类不同而不同, 如霉菌、放线菌等保藏 2~4 个月需传代 1 次, 细菌最好每月传代 1 次。

此法是国内外常用的保存方法之一, 适用菌系范围比较广, 简单易行, 便于操作和观察, 成本比较低, 很是适合工业生产的菌种保存; 但是不适宜长期保存, 长时间保存的话培养基很易失水, 而使孢子失去活性, 而且斜面、平板低温保藏必须经常传代, 转代接种过程中易发生变异、污染杂菌、发生差错。因此, 斜面、平板低温保藏法适合短期保存常用菌种, 应该与长期的菌种保藏方法相结合, 以防菌系丢失。

2.2 甘油保藏法

先将甘油装于三角瓶中, 塞上棉塞并用牛皮纸包裹, 放入灭菌锅中, 在 121℃、0.11MPa 下灭菌 20min, 然后放入无菌间内备用, 使用前先将甘油做无菌检查。在超净工作台内, 将灭菌后的甘油直接倒入长好孢子的斜面或者平板内, 用量以高出斜面顶端 0.5cm 为宜, 使菌种与空气隔绝, 然后在棉塞外包上牛皮纸, 将试管直立置于 -80℃ 的冰箱中保藏。

此保藏方法较斜面、平板低温保藏法保藏时间长, 而且制作简单, 不需经常移种, 但保藏时必须直立放置, 所占空间较大, 也不便于携带。且接种时因为甘油太浓稠不宜刮下孢子。

2.3 甘油乳糖保藏法

配置甘油乳糖溶液, 其实含甘油 10%, 含乳糖 20%; 装于三角瓶中, 塞上棉塞并用牛皮纸包裹, 放入灭菌锅中, 在 121℃、0.11MPa 下灭菌 20min, 然后放入无菌间内备用, 使用前先将甘油乳糖溶液做无菌检查。在超净工作台内, 用无菌移液管吸取适量的甘油乳糖溶液加入到长好孢子的斜面内, 用无菌接种铲刮下孢子分装于 5mL 规格的甘油管内, 每支管油管装量 3mL, 盖严盖子, 做好标记直立放于甘油管盒内, 然后放置于 -80℃ 的冰箱中保藏。

此种保藏方法可以保存 2 年左右, 保存时间较长, 实用的菌系范围也比较广泛, 成本比较低, 而且在操作过程中简单易行, 在以后的工作中不光是可以用于传代, 而且可以直接用于摇瓶的接种, 比较方便, 是工业生产中常用的保存方法之一。

2.4 沙土管保藏法

取河沙过 40~60 目筛去粗粒后, 用磁铁反复在去粗粒的河沙吸取铁屑, 然后用 10% 盐酸浸泡 2~4h 以除去有机质, 倒去酸水后用纯化水反复冲洗至中性, 烘干备用。另取非耕作层的不含腐殖质的瘦黄土, 用纯化水浸泡使其呈中性, 然后烘干、碾碎过 100 目筛。将处理好的沙与土以 1:1 的比例混匀, 分装于小试管内, 每管装 1.5g 左右, 塞上棉塞, 用牛皮纸包好后于高压锅内 121℃、0.11MPa 下灭菌 30min, 灭菌后进行无菌检验, 合格后使用。将培养成熟的优良菌种(一般指孢子层生长丰满的菌种)用无菌接种铲刮下孢子放入到沙土管中, 塞好棉塞放入盛有干燥剂的真空干燥器内, 用真空泵抽干水分。抽真空时间一般为 2~4 小时为宜, 以免孢子萌发。抽干的沙土管用无菌勺子捣松并每个种抽取 1 支回接于斜面培养基上, 进行培养, 观察生长情况和有无杂菌生长。若经检查没有问题, 则将制备好的沙土管用牛皮纸包裹好棉塞放于干燥器中保存。

此法多用于能产孢子的微生物, 且保藏时间较长, 但用于营养细胞效果不佳。

3 总结

除了上述微生物菌种保藏方法外, 还有其他的保藏方法,

(下转第 78 页)

收稿日期: 2016-12-05

作者简介: 米翠平(1983—), 女, 山东菏泽人, 助理工程师, 主要从事生物制药研究。

1.2 通过对萃取精馏系统进行工艺流程改变

1.2.1 热泵精馏技术

热泵精馏是把精馏塔塔顶蒸汽加压升温使其用作塔釜再沸器的热源,回收塔顶冷凝热源,一般用于塔顶、塔釜温差较小的精馏塔^[4]。

1.2.2 增设中间再沸器

因萃取精馏中萃取剂的沸点较高,流量大,所耗热源多,因此萃取剂从塔釜外送时,萃取剂温位很高,可作为萃取精馏塔塔釜热源、溶剂回收塔中下部提供热源,也可根据温位为其它设备提供热量等,降低装置总的用能。

1.2.3 多效精馏技术

多效精馏是指为了提高精馏过程热量供应和移除的效率,把操作压力不同的几个塔,以压力高低的顺序组合起来,相邻两个塔的高压塔塔顶蒸汽做为低压塔再沸器的热源,在这样的精馏系统中,除压力最低的塔之外,其余各塔塔顶蒸汽的冷凝潜热均被系统自身回收利用,从而使精馏过程的能耗降低。

1.2.4 采用复杂塔结构

如侧线采出塔,适用于中间产品纯度要求不高或者塔顶、塔底含有污染物的情况,这种侧线采出塔可降低同种物料多次汽化和多次冷凝,实现能耗降低。

1.3 通过使用高效设备降低能耗^[5-6]

通过采用技术更新的新型换热设备或者塔板来提高传热或者传质效果来节省能耗。

(1)采用高效新型的塔盘内构件;如:多溢流斜孔塔板和立体传质塔板等高效塔板,可以提高萃取精馏塔的生产能力,还可降低回流比,提高产品质量等优点。

(2)采用新型高效换热器,提高换热效率,节省蒸汽或者冷却水等能耗。

2 萃取精馏能耗优化措施^[7]

根据对萃取精馏能耗原因的分析,在装置生产运行上,主要从以下几个方面进行优化,来降低萃取精馏能耗。

(1)根据实际加工原料性质来调节萃取精馏塔的操作压力,回流比、进料热状态等,节省能耗。

(上接第 76 页)

如真空冷冻干燥法、生理盐水、蒸馏水、自然基质等菌种保藏方法,在工业生产中的保藏应首选安全性能高、成本低廉、操作简单的方法,无论怎么说,每种方法都有各自的适用范围和优缺点,主要是根据微生物的特性不同而保藏方法不同,对于较为重要的微生物菌种应该采用多种保藏方法,以免因某种保藏方法的失败而导致菌种的丧失。

参考文献

[1] 孙 炜. 微生物实验室菌种的保管与保存[J]. 医学理论与实践, 2002, 15(10): 1231 - 1232.

(2)因萃取剂用量大,沸点高,尽可能充分利用溶剂回收热量,节省公用工程的用量(公用工程主要指蒸汽和循环水)。

(3)尽量避免物流被液化之后再汽化的过程,节省物料反复汽化和反复冷凝所需热负荷。

(4)萃取精馏进料位置尽可能是汽相进料,降低提馏段液相负荷,提高塔板效率,降低塔釜所需提供的热源。

(5)对于多组分精馏,非关键组分的采出可增加塔侧线采出,降低物料返混程度,提高关键组分产品质量,并可节省能耗。

(6)通过调整操作条件,合理匹配热量,采用新型精馏技术,来节省能耗。

(7)采用技术更新的高效的换热设备及高效塔板等,实现节省能耗。

(8)日常管理方面,对蒸汽疏水阀疏水效果以及循环水回水温度控制等小细节进行监控和考核,也可节省能耗。

参考文献

- [1] 姚玉英. 化工原理(下册)[M]. 天津:天津科学技术出版社, 2005.
- [2] 邓 修, 吴俊生. 化工分离工程[M]. 北京:科学出版社, 1999.
- [3] 薛美盛, 祁 飞, 吴刚, 等. 丁烯-1 精馏装置在线节能优化的研究[J]. 化工自动化及仪表, 2006, 33(3): 17 - 21.
- [4] 郑 聪, 宋 爽, 穆钰君, 等. 热泵精馏的应用形式研究进展[J]. 精馏, 2012, 12(2): 26 - 29.
- [5] 李玉安, 王 涛. 丁二烯装置萃取精馏塔技术改造[J]. 石油炼制与化工 2003, 34(2):
- [6] 胡兴兰、周荣琪. 萃取精馏技术及其在分离过程中的应用[J]. 化学世界 2009 (7) 406 - 409.
- [7] 于洪芹, 王浩, 项曙光, 等. 异戊二烯萃取精馏过程的能量分析与节能[J]. 计算机与应用化学, 24(2): 251 - 254.

(本文文献格式:陈永进,王盼盼,李 敬,等. 萃取精馏能耗分析及优化[J]. 山东化工, 2017, 46(02): 77 - 78.)

- [2] 吕线红, 郭利美. 工业微生物菌种的保藏方法[J]. 山东轻工工业学院学报, 2007, 21(1): 52 - 55.
- [3] 许丽娟, 刘 红, 魏小武. 微生物菌种的保藏方法[J]. 现代农业科技, 2008, (16): 99 - 101.
- [4] 董 味. 微生物菌种的保藏方法[J]. 河北化工 2009(07): 33 - 34.

(本文文献格式:米翠平,黄周阳. 工业生产中菌种的常用保藏方法[J]. 山东化工, 2017, 46(02): 76, 78.)

CWM-80 型超级涡流磨

国家高新技术企业浙江丰利粉碎设备有限公司和有关科研院所联合研制开发成功的新一代微粉设备,在被评为国家重点新产品的基础上,又被列为国家火炬项目。此机的诞生,攻克了常温下有机物料超细粉碎的难题,标志着我国粉碎工业取得了突破性进展。该机的研制成功,填补了国内空白。主要技术指标达到国际同类产品先进水平,可替代进口同类产品。长期以来,我国绝大多数企业沿用球磨机、雷蒙机、冲击磨等六十年代的机型,能耗高,生产率低。国外先进粉碎设备,投资大。因此开发新型高效微粉生产设备,已势在必行。

咨询热线:0575-83105888、83100888、83185888、83183618 网址:www.zjfengli.com 邮箱:fengli@zjfengli.cn