

酿酒酵母发酵生产谷胱甘肽的研究

陈珊

(天津现代职业技术学院, 天津 300222)

摘要: 以诱变获得的酿酒酵母突变株 YF ($ZnCl_2^r$, Eth^r) 为试验菌株, 通过摇瓶发酵、发酵罐补料分批发酵, 对突变株发酵生产谷胱甘肽进行研究。确定发酵罐分批发酵的最佳培养条件为: 温度 30 °C, pH 6.0, 接种量为 20%, 搅拌转速为 150 r/min, 通气量为 250 L/h。在补料分批操作方式下, 分别考察了摇瓶培养、发酵罐培养 YF ($ZnCl_2^r$, Eth^r) 对 GSH 生物合成的影响。确定摇瓶培养条件: 初糖 10 g/L, 发酵 4 h、10 h、16 h、22 h、28 h 时分别补糖 25 g/L、15 g/L、5 g/L、5 g/L、5 g/L 使总糖达到 65 g/L, 测得细胞干重 12.75 g/L, GSH 浓度和胞内 GSH 含量达到 76.49 mg/L 和 0.59%。发酵罐初糖浓度 20 g/L, 发酵 12 h 开始补糖 24 h 使最终总糖达 160 g/L, 测得细胞干重为 30.95 g/L, GSH 浓度和胞内 GSH 含量达到 68.49 mg/L 和 0.3%。

关键词: 谷胱甘肽; 发酵; 补料分批; 酿酒酵母

文章编号: 1673-9078(2011)1-71-76

Fermentation of Glutathione by *Saccharomyces cerevisiae*

CHEN Shan

(Tianjin Modern Vocational Technology College, Tianjin 300222, China)

Abstract: Fermentation of glutathione was studied through the ways of batch fermentation and fed-batch fermentation by YF ($ZnCl_2^r$, Eth^r), a test strain, which is mutant of *Saccharomyces cerevisiae*. The results show that the optimal fermentation condition: culture temperature 30 °C, pH 6.0, inoculation 20%, rotate speed 150 r/min, ventilation 250 L/h. The effects of shake-flask culture and fermentor culture on GSH synthesis were studied in fed-batch fermentation. Conditions for the shake-flask culture methods are: initial sugar 10 g/L, fermentation at 4 h, 10 h, 16 h, 22 h, 28 h, respectively, glucose 25 g/L, 15 g/L, 5 g/L, 5 g/L, 5 g/L added in fermentation solution, the final total glucose reached 65 g/L, the maximum cell dry weight reached 12.75 g/L, and the maximum GSH concentration and intracellular GSH content reached 76.49 mg/L and 0.59% respectively. The conditions for fermentor culture methods are: initial sugar 20 g/L, 12 h fermentation of sugar began to fill up to 24 h, the final total glucose reached 160 g/L, the maximum cell dry weight reached 30.95 g/L, the maximum GSH concentration and intracellular GSH content were 68.49 mg/L and 0.3% respectively.

Key words: glutathione; fermentation; fed-batch; *Saccharomyces cerevisiae*

谷胱甘肽(glutathione, GSH), 即 γ -L-谷氨酰-L-半胱氨酰甘氨酸, 是由L-谷氨酸、L-半胱氨酸和甘氨酸经肽键缩合而成的生物活性三肽化合物。GSH在生物体内具有多种重要的生理功能, 并且能与某些药物、有毒物质等结合, 并清除出体内, 具有整合解毒作用; 另外, GSH在溶血性疾病、肝炎、以及角膜炎、白内障和视网膜疾病等病症中, 作为辅助治疗的药物^[1]。目前酵母发酵生产GSH是最具发展潜力方法之一, 提高GSH产量, 除了有GSH高含量的菌种外, 还要设法提高培养体系中细胞密度, 其中采用流加发酵的培养方式是最主要的解决方法^[2]。卫功元等^[3]研究了产阮假丝酵母在不同葡萄糖浓度下的GSH分批发酵过程, 考察了重复补料、恒速流加和指数流加等不同培养方式对

GSH发酵生产的影响。本研究主要考察在摇瓶和发酵罐培养方式下分批补加葡萄糖对发酵生产GSH的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

抗氯化锌抗乙硫氨酸突变株酿酒酵母YF ($ZnCl_2^r$, Eth^r), 生物工程研究室保藏。

1.1.2 培养基

保藏培养基(g/L): 葡萄糖20、蛋白胨20、酵母膏10、琼脂2%、pH值自然, 0.1 MPa, 灭菌15 min。

种子培养基(g/L): 葡萄糖20、蛋白胨20、酵母膏20、pH值自然, 0.1 MPa, 灭菌15 min。

摇瓶发酵培养基(g/L): $(NH_4)_2SO_4$ 6、葡萄糖35、

收稿日期: 2010-09-03

作者简介: 陈珊(1983-), 天津人, 女, 助教, 研究方向: 生物反应工程

$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 3、 KH_2PO_4 0.5、酵母粉11、 $MnSO_4$ 0.1、 KCl 0.1、 $FeSO_4$ 0.1、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1。

发酵罐初始培养基(g/L): $(NH_4)_2SO_4$ 6、葡萄糖 20、 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 3、 KH_2PO_4 0.5、酵母粉11、 $MnSO_4$ 0.1、 KCl 0.1、 $FeSO_4$ 0.1、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1。

1.1.3 仪器与设备

BIOF-6005A 5L全自动发酵罐, 上海高机生物工程有限公司; Easyferm225PH电极、Oxyferm225溶氧电极, 瑞士Hamilton公司; SBA-40C生物传感分析仪, 山东农科院; GT10-1高速台式离心机, 北京时代北利离心机有限公司; FA2104S电子天平, 上海天平仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 种子培养

突变株酿酒酵母YF菌种用接种环划线接种在保藏培养基的固体平板上, 30 °C培养18 h, 即得所需种子。

1.2.2 摇瓶发酵培养

250 mL三角瓶内装30 mL液体培养基, 接种量10%, 150 r/min, 30 °C培养30 h, 初始pH 7.0。

1.3 分析测定方法

1.3.1 细胞干重测定方法

取一定发酵液, 离心后收集菌体用去离子水洗两次后, 于105 °C烘干至恒重, 计算细胞的干质量浓度。

1.3.2 GSH的测定方法: 四氧嘧啶法^[4]。

1.3.3 葡萄糖含量的测定方法: 用酶膜法, 利用生物传感分析仪测定。

2 结果与分析

2.1 摇瓶分批发酵生产 GSH 的研究

在摇瓶培养条件下, 每隔三小时取样测定细胞干重、葡萄糖浓度、GSH 浓度, 并计算 GSH 含量。结果如图 1。

从图 1 可以看出: 发酵 12 h 时, GSH 浓度和 GSH 含量分别为 29.67 mg/L 和 0.42%。发酵 30 h 时 GSH 浓度和含量达到最大, 分别为 71.01 mg/L 和 0.85%。30 h 后 GSH 浓度逐渐下降, GSH 含量也随着下降。故最适发酵时间为 30 h。原因可能是由于细胞停止快速生长后, 为阻止自身被氧化降解而继续过量合成 GSH, 以维持胞内合适的氧化还原状态, 在细胞的对数生长期, 培养的营养物质主要用于构建细胞体, 而细胞生长的高速度又部分影响了胞内 GSH 的合成能力, 因此胞内含量在这阶段变化不大, 但之后随着 GSH 的过量合成, 胞内 GSH 含量不断提高; 也可能是葡萄糖快速代谢产生乙醇能被菌体接着利用。当在 30 h 后细胞开始衰退导致 GSH 浓度的降低因而 GSH 含量也在降低。GSH

的合成是酿酒酵母细胞的固有特性, 在细胞整个生长过程中, GSH 的合成基本上随着细胞的生长而合成, 随着细胞干重的降低而减少, GSH 合成与细胞生长同步, 属于同步合成型。对于同步合成型的 GSH 发酵生产, 要提高胞内 GSH 的含量, 必须要通过提高细胞密度达到, 因此考虑补料分批培养方式。

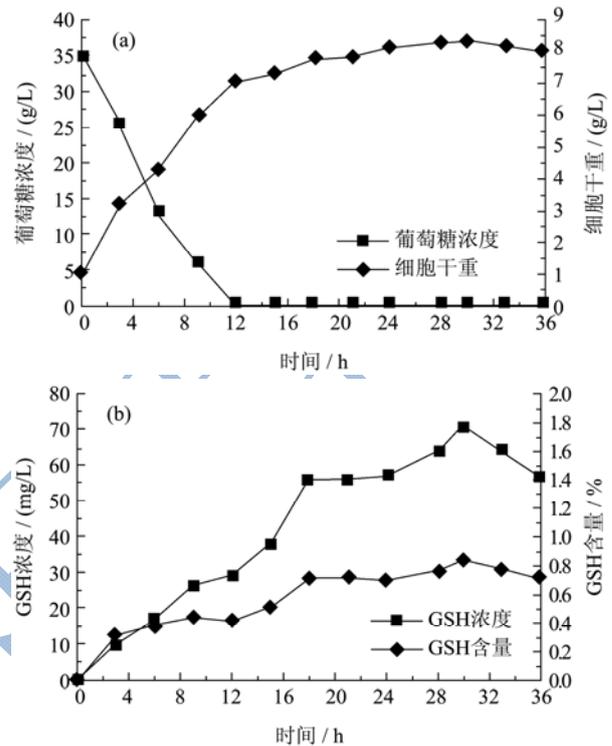


图 1 摇瓶分批培养方式下的 GSH 发酵过程

Fig.1 GSH fermentation process of different shake flask culture

注: (a) 葡萄糖浓度及细胞干重随时间的变化曲线; (b) GSH 浓度及 GSH 含量随时间的变化曲线。

2.2 摇瓶补料分批发酵生产 GSH 的研究

2.2.1 初糖浓度对细胞生长及产 GSH 生物合成的影响

初糖浓度对 GSH 发酵影响很大, 实验采用不同初糖浓度发酵 6 h 后, 分别补加一定量的葡萄糖, 使总糖浓度达到一定值。在发酵 30 h 时测得 GSH 浓度和细胞干重, 从而计算出 GSH 含量。

表 1 不同初糖浓度对 GSH 摇瓶发酵的影响

Table 1 Effect of initial concentration of sugar on the GSH shake flask fermentation

初糖浓度 (g/L)	总糖 (g/L)	细胞干重 (g/L)	GSH 浓度 (mg/L)	GSH 含 量/%
5	34	8.78	45.32	0.52
10	35	9.38	49.82	0.53
15	36	9.57	48.07	0.50
20	36	9.36	47.09	0.50

表 1 可以看出初糖浓度不同而总糖相差不多时, 发酵 30 h 结束获得的 GSH 浓度和含量变化不大, 初糖浓度为 10 g/L 时, GSH 浓度最高达到了 49.82 mg/L, 并且 GSH 含量也最高为 0.53%, 细胞干重达到 9.38 g/L。从 GSH 的浓度考虑, 选择 10 g/L 的初糖浓度比较适宜。

2.2.2 摇瓶补糖方式对酿酒酵母生长及产 GSH 的影响

2.2.2.1 葡萄糖浓度对细胞生长和 GSH 合成的影响

发酵液中的葡萄糖浓度不同, 发酵 30 h 测得 GSH 浓度, 细胞干重, 求得 GSH 含量结果见表 2。

表 2 培养基中不同葡萄糖浓度对 GSH 摇瓶发酵的影响

Table 2 Effect of glucose concentration of culture medium on the GSH shake flask fermentation

培养基葡萄糖浓度/(g/L)	GSH 浓度/(mg/L)	细胞干重/(g/L)	GSH 含量/%
25	49.88	11.23	0.444
30	55.32	11.34	0.488
35	68.79	11.78	0.584
40	60.52	11.65	0.519
45	57.68	11.57	0.499
50	57.45	11.49	0.500
55	56.27	11.42	0.493
60	50.35	11.33	0.444

从表 2 中可以看出, 随着培养基中葡萄糖浓度的逐渐升高, 细胞对其利用速度加快, GSH 浓度、细胞干重和含量先升后降。葡萄糖浓度为 35 g/L 时, GSH 浓度、细胞干重及 GSH 含量分别为 68.79 mg/L、11.78 g/L、0.584% 最大。可能的原因是: 葡萄糖浓度过低时, 不能满足菌体生长需要, 细胞生长量不足, 很难达到高的 GSH 浓度。当葡萄糖浓度超过 35 g/L 时, 即对酵母细胞生长和 GSH 合成产生抑制作用, GSH 难以实现高产, 表现为 GSH 的浓度下降, 因此可确定 35 g/L 是最佳初始培养基中的葡萄糖浓度。

2.2.2.2 不同补糖策略对细胞生长和 GSH 合成的影响

采用初糖浓度为 10 g/L, 在发酵 4 h 补加 3 次葡萄糖, 使总糖达到 35 g/L, 设计不同的添加时间和添加次数来考察对 GSH 合成的影响。结果见下表 3 所示:

从表 3 可以看出合适的补糖对进一步提高 GSH 合成有一定的积极作用, 细胞干重都比对照有所增加。在发酵 4 h 添加 15 g/L 以下的葡萄糖, 最终 GSH 浓度都不高, 因此可确定在 4 h 应补加至少 15 g/L 葡萄糖, 并且在细胞生长阶段必须连续的提供葡萄糖, 供糖的中断或少量对细胞生长和 GSH 合成都有一定负面影

响。当发酵 4 h 添加 15 g/L、20 g/L 和 25 g/L 葡萄糖时, 最终 GSH 浓度相差不多, 其中以发酵 4 h、8 h、12 h 分别添加 15 g/L、5 g/L、5 g/L 的葡萄糖 GSH 浓度达到最高为 63.19 mg/L, 但 GSH 含量却不是最高的, 以发酵 4 h、8 h 分别添加 20 g/L、5 g/L 葡萄糖的 GSH 含量达到了最高 0.558%。说明发酵 4 h 开始补糖是最合适的补糖时机, 但补糖量要合适。若以 GSH 浓度最高为指标, 确定以发酵 4 h、8 h、12 h 分别添加 15 g/L、5 g/L、5 g/L 的补料方法为最佳。考虑若采用其他的补糖方式总糖为 35 g/L 是否完全满足菌体的生长和 GSH 的合成。因此将总糖浓度提高考察不同补料方式不同总糖对 GSH 合成的影响。

表 3 不同补糖方法对 GSH 摇瓶发酵的影响

Table 3 Effect of glucose supplement on the GSH shake flask fermentation

初糖浓度/(g/L)	补加葡萄糖浓度(g/L)			细胞干重/(g/L)	GSH 浓度/(mg/L)	GSH 含量/%
	4 h	8 h	12 h			
35	0	0	0	9.86	54.53	0.553
10	0	5	20	12.98	48.77	0.378
10	0	20	5	11.76	50.66	0.431
10	0	25	0	10.69	50.66	0.474
10	5	5	15	11.21	54.92	0.490
10	5	10	10	14.01	55.15	0.394
10	5	15	5	10.26	57.05	0.556
10	5	20	0	11.55	50.19	0.435
10	8.5	8.5	8.5	10.86	56.01	0.516
10	10	5	10	13.53	56.34	0.416
10	10	10	5	12.52	52.79	0.422
10	10	15	0	12.77	52.77	0.413
10	15	5	5	12.39	63.19	0.510
10	15	10	0	11.98	62.48	0.544
10	20	5	0	11.32	63.17	0.558
10	25	0	0	11.86	62.71	0.529

2.2.2.3 不同补料方式不同总糖浓度对细胞生长和 GSH 合成的影响

初糖浓度 10 g/L, 在发酵的不同时间添加一定量的葡萄糖, 使总糖的浓度达到一定值。具体补糖策略得到 GSH 浓度和细胞干重, GSH 含量的结果见表 4。从表 4 中可以看出总糖提高可以促进细胞生长和 GSH 合成, 随着总糖浓度增加 GSH 浓度和 GSH 含量都有所提高, 但并不是总糖浓度越高合成 GSH 越有利。总糖浓度为 65 g/L 时, 分别在 4 h、10 h、16 h、22 h、28 h 分别补加 25 g/L、15 g/L、5 g/L、5 g/L、5 g/L 葡萄糖时, GSH 浓度、细胞干重和 GSH 含量为 76.49 mg/L、

12.75 g/L、0.59%最大。摇瓶补糖对 GSH 合成有一定效果，但摇瓶发酵影响因素很多，很难做到精确控制。随着细胞对葡萄糖的快速吸收利用，发酵液的 pH 很快下降到较低的水平，从而抑制了细胞的进一步生长和代谢。另外在摇瓶发酵环境下生产 GSH 效率低，虽然通过条件变化可以得到部分改善，但发酵液中的溶解氧还是难以满足细胞快速生长对氧的需求。这些问题都有可望在发酵罐培养过程中得到解决。

表 4 不同总糖对 GSH 摇瓶发酵的影响

Table 3 Effect of total sugar concentration on the GSH shake flask fermentation

总糖浓度/(g/L)	补加葡萄糖浓度/(g/L)					GSH 浓度/(mg/L)	细胞干重/(g/L)	GSH 含量/%
	4 h	10 h	16 h	22 h	28 h			
45	25	5	5	5	5	63.23	11.29	0.56
55	25	7.5	7.5	7.5	7.5	68.57	12.04	0.57
65	25	15	5	5	5	76.49	12.75	0.59
80	25	15	10	10	10	68.45	11.79	0.58
85	25	15	15	10	10	67.85	11.87	0.57
95	25	15	15	15	15	54.90	10.46	0.54
104	25	15	18	18	18	45.03	10.01	0.45
110	25	15	20	20	20	37.16	9.78	0.38
115	25	20	20	20	20	35.54	9.34	0.38

2.3 发酵罐分批发酵生产 GSH 初步发酵条件的研究

2.3.1 接种量对 GSH 分批发酵的影响

将培养 18 h 后的种子液分别按 10%、20%、25% 的接种量接入葡萄糖为 35 g/L 发酵培养基中，装液量 3 L，空气流量 100 L/h，pH 7.0，在 30 °C，100 r/min 转速下培养，发酵 30 h 测得 GSH 浓度和细胞干重，试验结果如图 2 所示。

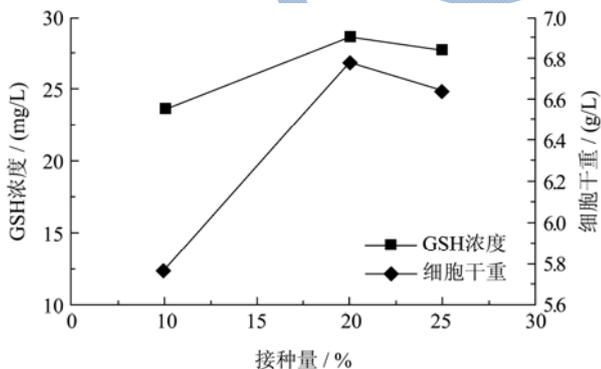


图 2 接种量对 GSH 浓度和细胞干重的影响

Fig.2 Effect of inoculums dosage on the GSH concentration and dry cell weight

从图 2 中可以看出，在接种量为 20% 时 GSH 浓度和细胞干重达到最大，确定在 5 L 全自动微生物发酵罐培养方式下的接种量为 20%。

2.3.2 搅拌转速对 GSH 分批发酵的影响

试验选取搅拌转速分别为 100 r/min，150 r/min，200 r/min 时，接种量 20%，空气流量 100 L/h，pH 7.0，葡萄糖浓度为 35 g/L，装液量 3 L，30 °C 下培养，发酵 30 h 测得 GSH 浓度和细胞干重，试验结果如图 3 所示。

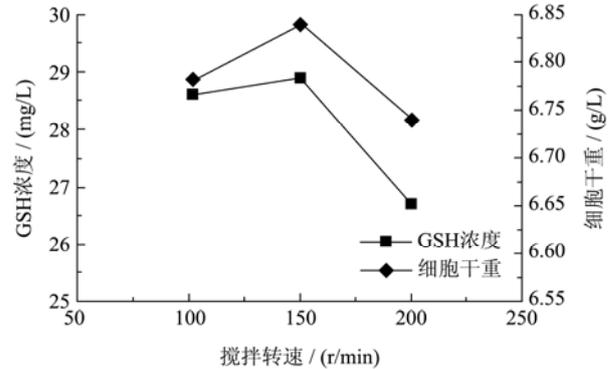


图 3 搅拌转速对 GSH 浓度和细胞干重的影响

Fig.3 Effect of stir speed on the GSH concentration and dry cell weight

图 3 中看出随着搅拌转速的增加，细胞干重和 GSH 浓度也不断增加，在搅拌转速为 150 r/min 时 GSH 浓度和细胞干重达到最大，但当转速继续增加时，细胞干重和 GSH 浓度反而下降，可能是因为溶解氧过量，呼吸过强，生长旺盛，碳源氮源等营养物质不能满足菌体的生长，从而影响细胞干重和 GSH 的积累。因此确定发酵罐培养方式下最佳搅拌转速为 150 r/min。

2.3.3 通气量对 GSH 分批发酵的影响

通气量也是影响控制溶氧量的一个重要措施。试验选取通气量分别为 100 L/h，250 L/h，350 L/h 时，接种量 20%，搅拌转速 150 r/min，发酵液 pH 7.0，葡萄糖浓度为 35 g/L，装液量 3 L，30 °C 下发酵 30 h 测得 GSH 浓度和细胞干重，结果如图 4 所示。

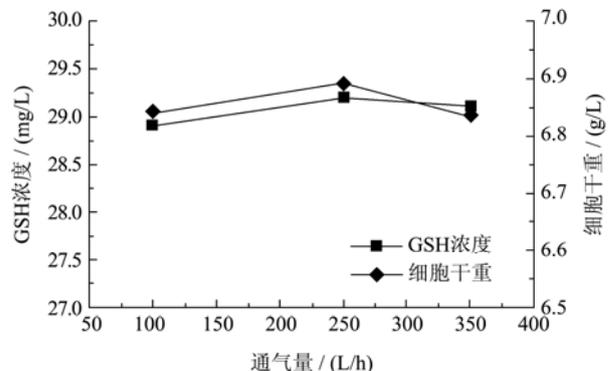


图 4 通气量对 GSH 浓度和细胞干重的影响

Fig.4 Effect of ventilation volume on the GSH concentration and dry cell weight

从图 4 中可以看出, 通气量为 250 L/h 时 GSH 浓度和细胞干重达到最大, 因此可以看出需氧发酵并不是溶氧愈大愈好。溶氧高虽然有利于菌体生长但对胞内 GSH 的积累来讲, 并非有好处。要使细胞大量积累, 在高通风的条件下, 必须加大培养液中营养物质的供给量。但根据摇瓶发酵结果及有关文献报道, 过量的葡萄糖会产生分解代谢物的抑制作用, 因此, 采用低糖发酵中途补糖工艺方能解决诸多问题。在 5 L 全自动微生物发酵罐分批发酵方式下, 最佳通气量为 250 L/h。

2.3.4 pH 对 GSH 分批发酵的影响

pH 影响微生物的生长和代谢产物的生成。设置发酵培养基初始 pH 分别为 5.5、6.0、6.5、7.0, 并在发酵过程中控制发酵液 pH 不变, 培养基葡萄糖浓度为 35 g/L, 装液量为 3 L, 搅拌转速为 150 r/min, 通气量为 250 L/h, 温度恒定为 30 °C, 发酵 30 h 测得 GSH 浓度和细胞干重, 试验结果如图 5 所示。

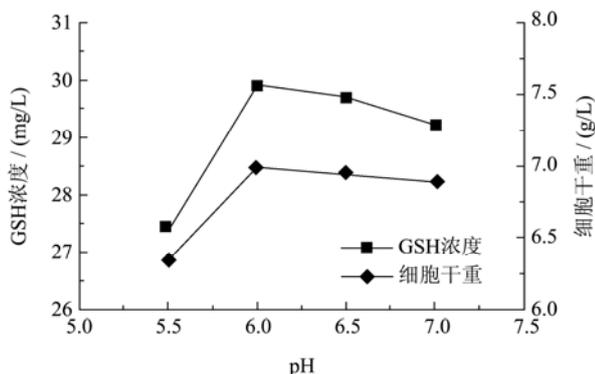


图 5 pH 对 GSH 浓度和细胞干重的影响

Fig.5 Effect of pH value on the GSH concentration and dry cell weight

从图 5 中可以看出, pH 值太低影响菌体活性, 使其不能正常生长。也可能影响培养基的解离状态, 使得菌体不能吸收利用; pH 较高时, 不利于酵母菌的正常生长, 同时也不利于 GSH 积累。这些都表现为细胞干重和 GSH 浓度不是很高。pH 为 6.0 时的细胞干重和 GSH 的浓度最高, 因此确定在发酵罐培养方式下的最适 pH 为 6.0。

2.4 发酵罐补料分批发酵生产 GSH 的研究

为了增加细胞密度, 从而使胞内 GSH 的产量, 因此采用不了分批发酵生产 GSH。同时为了防止乙醇的产生对酵母细胞的毒害作用, 常采用补料技术、通风技术、降低乙醇的产生, 提高糖的利用率, 提高 GSH 的浓度。因此, 在摇瓶补料的基础上, 在 5 L 全自动微生物发酵罐中尝试采用分批补料培养方式考察 YF (ZnCl₂⁺, Eth⁺) 突变株发酵生产 GSH 的条件。

2.4.1 不同初糖浓度对 GSH 发酵的影响

采用初糖浓度为 10 g/L、20 g/L、35 g/L、45 g/L 在最佳分批培养条件下, 发酵生产 GSH 的结果如图 6。

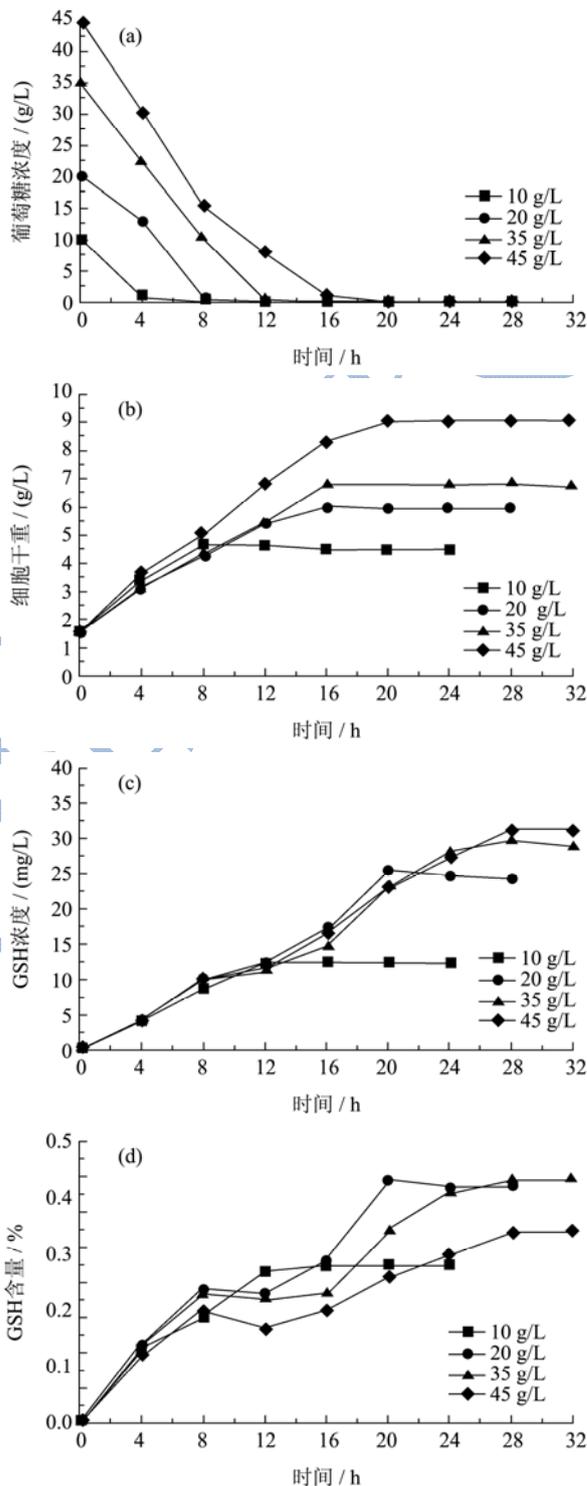


图 6 不同初糖浓度下的分批发酵过程曲线

Fig.6 The batch fermentation curve of different initial sugar concentration

注: (a) 葡萄糖随时间变化曲线; (b) 细胞干重随时间变化曲线; (c) GSH 浓度随时间变化曲线; (d) GSH 含量随时间变化曲线。

将上述初糖浓度下的 GSH 发酵过程参数进行比较, 比较的结果见表 5。

表 5 不同初糖浓度下的 GSH 发酵过程参数比较

Table 5 The parameter comparison of GSH fermentation of different initial sugar concentration

参数	结果			
初始葡萄糖浓度/(g/L)	10	20	35	45
培养时间/h	24	24	28	32
最大细胞干重/(g/L)	4.65	5.78	6.82	9.01
最大 GSH 浓度/(mg/L)	12.57	25.34	29.08	31.23
最大胞内 GSH 含量/%	0.28	0.44	0.42	0.34
葡萄糖消耗速率/(g·L ⁻¹ ·h ⁻¹)	1.25	2.5	2.69	2.25
葡萄糖消耗比速率/h ⁻¹	0.125	0.121	0.082	0.06
平均比生长速率/h ⁻¹	0.083	0.047	0.048	0.042
平均 GSH 合成比速率/(mg·L ⁻¹ ·h ⁻¹)	1.048	1.267	1.213	1.092
细胞对葡萄糖产率系数/(g/g)	0.465	0.289	0.195	0.200
GSH 对葡萄糖产率系数/(mg/g)	1.257	1.267	0.831	0.694
细胞生产强度/(g·L ⁻¹ ·h ⁻¹)	0.194	0.241	0.244	0.282
GSH 生产强度/(mg·L ⁻¹ ·h ⁻¹)	0.524	1.056	1.039	0.976

从表 5 中可以看出最大胞内 GSH 含量, 平均 GSH 合成比速率, GSH 对葡萄糖产率系数, GSH 生产强度都是初糖浓度为 20 g/L 最高; 葡萄糖消耗比速率、平均比生长速率和细胞对葡萄糖产率系数在初糖浓度为 10 g/L 最高; 而细胞生产强度初糖浓度为 45 g/L 时最

高。综合分析, 考虑目标产物 GSH 合成情况, 确定初糖浓度为 20 g/L 是比较合适的。同时也可以发现对于细胞的生长和 GSH 的合成, 分批培养很难实现高浓度、高得率和高生产强度的统一, 因此有必要采取补料分批的培养方式实现 GSH 的高产。

2.4.2 补加碳源对 GSH 发酵的影响

设置初糖浓度为 20 g/L, 在分批发酵进行到 12 h 时, 添加葡萄糖使总糖分别达到 70 g/L、100 g/L、160 g/L、210 g/L。细胞生长和 GSH 合成情况见表 6。从表 6 中可以看出合适的补料分批培养方式结果均好于分批发酵培养方式的结果。其中总糖为 160 g/L 补料分批方式下的最大 GSH 浓度和 GSH 生产强度的值最大, 但最大细胞干重, 细胞对葡萄糖产率和细胞生产强度都不是最高。综合考虑以 GSH 浓度为指标, 总糖为 160 g/L 补料分批培养下 GSH 合成情况最好。今后的研究内容考虑补加氮源或补加前体氨基酸考察是否会进一步促进 GSH 的合成。

3 结论

本研究主要考察了摇瓶和发酵罐培养方式下分批补料生产 GSH 的情况。补料分批发酵生产 GSH 可以明显促进酿酒酵母生长和促进 GSH 合成。采用恰当补料方式可以有效提高细胞密度, GSH 浓度, 以及 GSH 的含量, 是一种实现 GSH 高产的有效方式, 对 GSH 的工业化生产有着指导意义。

表 6 不同培养方式下细胞生长和 GSH 合成过程参数的比较

Table 6 The parameter comparison of GSH synthesis and auxesis of different culture method

参数	总糖浓度/(g/L)				
	70	100	160	210	20 (未补充葡萄糖)
最大细胞干重/(g/L)	19.18	24.42	30.09	30.45	5.78
最大 GSH 浓度/(mg/L)	64.79	65.37	72.49	44.98	25.34
最大 GSH 含量/%	0.35	0.29	0.3	0.26	0.44
培养时间/h	54	54	54	54	24
细胞对葡萄糖产率/(g/g)	0.29	0.24	0.19	0.15	0.29
GSH 对葡萄糖产率/(mg/g)	0.97	0.65	0.47	0.21	0.27
细胞生产强度/(g·L ⁻¹ ·h ⁻¹)	0.36	0.45	0.56	0.56	0.24
GSH 生产强度/(mg·L ⁻¹ ·h ⁻¹)	1.20	1.21	1.34	0.83	1.06

参考文献

[1] 贾贞,王丹,游松.谷胱甘肽药理和临床研究新进展[J].沈阳药科大学学报,2009,26(3):238-242
 [2] 张照明,张海涛,袁利明.国内谷胱甘肽研究进展[J].广州化

工,2009,37(3):55-57

[3] 卫功元,李演,堵国成,等.产朊假丝酵母流加发酵法生产谷胱甘肽[J].过程工程学报,2005,5(6):327-331
 [4] 赵少欣,贺小贤.还原型谷胱甘肽简便测定法[J].食品科技,2007,191(9):219-220