

利用豆粕发酵生产聚谷氨酸的研究

张宁, 旷弛

(暨南大学理工学院食品科学与工程系, 广东 广州 510632)

摘要: 微生物聚谷氨酸 (PGA) 是一种新型高分子材料, 在医药、食品等行业有广泛应用。本文以大豆加工副产物豆粕为培养基发酵生产聚谷氨酸, 分别研究了摇瓶发酵培养基的水分含量、碳源、培养温度、时间和接种量等因素对发酵的影响。结果表明, 豆粕按 1:4 的比例加水, 加入蔗糖 2%, 接种量为 0.16 mL/g, 40 °C 培养 24 h 产量可达 4.81%。

关键词: 聚谷氨酸; 豆粕; 发酵

中图分类号: TQ922; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)02-0113-02

Production of Polyglutamic Acid by Fermentation of Soybean Meal

ZHANG Ning, KUANG Chi

(Department of Food Science and Technology, Jinan University, Gugangzhou 510632, China)

Abstract: Microbial Polyglutamic acid (PGA), a new polymer, can be widely applied in medicine and food industries. In this paper, production of PGA by fermentation of soybean meal was studied. The optimal ratio of soybean meal to water, sugar content, culture temperature, time and inoculum in the medium were 1:4, sugar dosage 2%, 40 °C, 24 h and inoculum size 0.16 mL/g, respectively, under which the yield of PGA reached 4.81%.

Key words: polyglutamic acid; soybean meal; fermentation

聚 γ -谷氨酸 (Polyglutamic acid, PGA) 是由 L-谷氨酸 (L-Glu)、D-谷氨酸 (D-Glu) 通过肽键结合形成的一种多肽分子, 是理想的可生物降解的高分子材料^[1]。PGA 及其衍生物可作为药物的载体和生物粘合剂。PGA 可用为食品添加剂、絮凝剂等应用在医药、环保、食品和日化等领域^[2]。早期对 γ -PGA 的研究主要集中在美国和日本, 我国近几年才注意到了 γ -PGA 的重要性, γ -PGA 作为一种有着广泛用途的新型生物可降解高分子材料, 对它的研发将带来可观的经济效益和社会效益^[3]。本文是采用本实验室筛选的菌株, 以农副产品豆粕为原料, 研究了发酵生产 PGA 的工艺条件。

1 材料与方法

1.1 菌种

本实验室筛选, 经鉴定为巨大芽孢杆菌。

1.2 培养基

1.2.1 菌种保存斜面培养基: 普通肉汤琼脂培养基 35 g 溶于 1 L 水, 自然 pH, 120 °C 高压灭菌 20 min。

1.2.2 液体种子培养基: 牛肉膏 0.3%, 蛋白胨 0.5%,

自然 pH, 120 °C 高压灭菌 20 min。

1.2.3 豆粕发酵培养基: 25 g 干豆粕加水浸泡过夜, 120 °C 高压蒸煮 30 min。

1.3 发酵培养

从斜面培养基接种菌种到液体种子培养基, 37 °C 振荡培养, 将种子液接种到蒸煮灭菌的豆粕培养基中培养。

1.4 聚谷氨酸提取和测定

向发酵产物中加 2~3 倍的水, 混匀。混合物在 12,000 r/min 冷冻离心 30 min 除豆粕残渣和菌体, 取上清液 60 °C 减压浓缩, 浓缩液冷冻干燥, 得到产物加入 6 mol/L HCl 于 110 °C 水解, 冷却, 定容, 过滤, 蒸发去过量盐酸, 采用氨基酸自动分析仪 (日立 835-50 型高速氨基酸分析仪, 广东省昆虫研究所) 测定聚谷氨酸水解前后谷氨酸单体的含量。

2 结果与讨论

2.1 培养基水分对发酵的影响

按照 1:2、1:3、1:4 和 1:5 (豆粕:水, m/v) 的比例在豆粕中添加水分, 分别测定发酵后 PGA 的产量, 结果如图 1 所示。实验结果表明, 加 2 倍的水, 豆粕浸润不完全; 加 5 倍以上的水培养基中有游离水分; 加 4 倍水的培养基得到的 PGA 产量高于其它实验组,

收稿日期: 2007-10-17

基金项目: 暨南大学博士启动项目

作者简介: 张宁, 博士, 食品生物技术研究方向

产量为 4.08%。

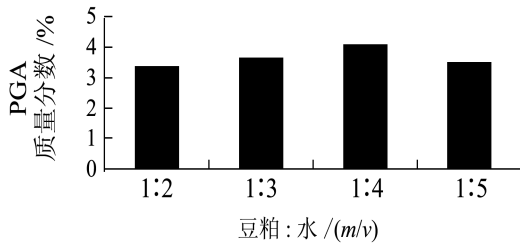


图 1 培养基水分对发酵的影响

Fig.1 Effects of moisture of culture on fermentation

2.2 碳源对发酵的影响

PGA 生产常用的碳源有蔗糖、葡萄糖和麦芽糖。分别加入 2% 的蔗糖、麦芽糖和葡萄糖作为碳源发酵。结果如图 2 所示, 结果表明葡萄糖作为碳源的产量最高, 而蔗糖最低。但考虑的成本, 故仍选用蔗糖为碳源。图 3 是分别测定添加不同浓度的蔗糖对 PGA 生产的影响, 从图中可看出, PGA 的产量随碳源浓度的增加而升高。而糖浓度过高也会产生较多的多糖给产品进一步分离造成困难, 因此蔗糖质量分数定为 20%。

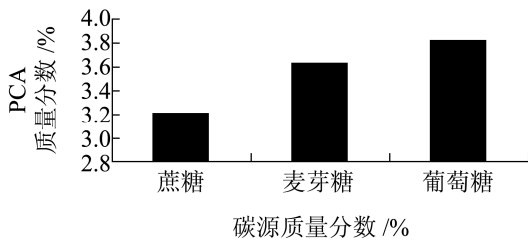


图 2 碳源种类对发酵的影响

Fig.2 Effects of carbon source on fermentation

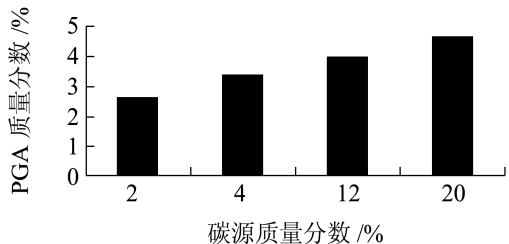


图 3 碳源质量分数对发酵的影响

Fig.3 Effects of concentration of carbon source on fermentation

2.3 接种量的影响

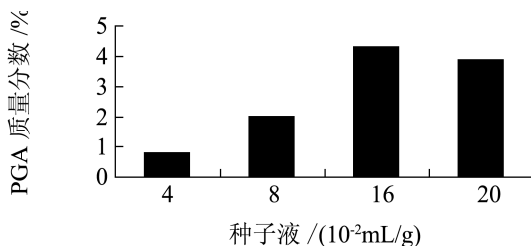


图 4 接种量对发酵的影响

Fig.4 Effects of inoculum size on fermentation

取发酵 20 h 的种子液接种到豆粕培养基上发酵

24 h 测定 PGA 的产量。结果表明接种量为 0.16 mL/g 时得到最高产量。

2.4 发酵时间与产 PGA 的关系

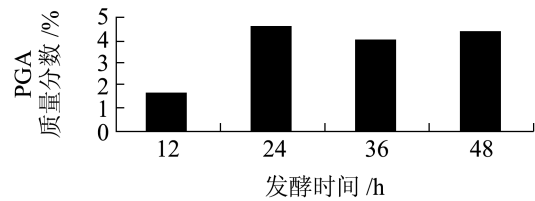


图 5 发酵时间对发酵的影响

Fig.5 Effects of zymotic time on fermentation

分别取样测定经 12 h, 24 h, 36 h 和 48 h 发酵后 PGA 的产量, 结果如图 5 所示。从图中可看出发酵 24 h 后 PGA 的产量达到最大 4.6%, 24 h 后趋于稳定, 并略有下降。说明 24 h 为最佳发酵时间。研究表明许多 PGA 生产菌在发酵后期会分泌 PGA 分解酶, 可能是造成 PGA 产量略有下降的原因^[4]。

2.5 发酵温度的影响

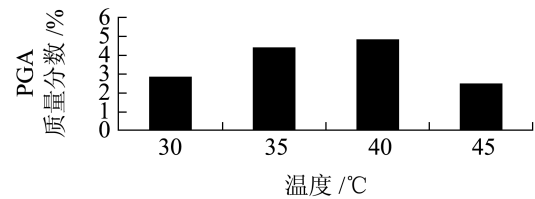


图 6 发酵温度的影响

Fig.6 Effects of zymotic temperature on fermentation

固定其它条件, 在 30 °C、35 °C、40 °C、45 °C 等不同温度下培养 24 h 测定 PGA 的产量。从图 6 中可看出 40 °C 培养下, PGA 产量最大达到 4.81%, 为最佳培养温度。

3 结论

将豆粕按 1:4 (m/V) 的比例加水, 加入蔗糖 2%, 接入 0.16 mL/g 豆粕种子液, 40 °C 培养 24 h, 聚谷氨酸的产量可达约 4.81%。

参考文献

- [1] Shih, I L, Van Y T. Bioresource Technology, 2001, 79 :207-2251
- [2] Ho-Nam C, Sang-Yup L, Jin Hwan D, et al. US:2001/001634 1A1,2001
- [3] 彭银仙,徐虹,陈国广,等.新型药物载体聚谷氨酸的合成及其应用.中国新药杂志,2002.(3):515-519
- [4] Makoto Ashiuchi, Hisaaki Nakamura, Takashi Yamamoto, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic,2003, 23:249-255