



维生素、氨基酸及重金属离子 对北京棒状杆菌 AS 1.299 产 L-谷氨酸的影响

陈 琦 张震元 李玲阁 黎膏沃

(中国科学院微生物研究所, 北京)

十多年来,由于广大工人、科技人员和革命干部在毛主席革命路线的指引下,贯彻执行**独立自主、自力更生**的方针,我国谷氨酸发酵的研究和生产取得了很大成绩,基本上革除了味精生产的落后工艺,节约了大批原料用粮。特别是通过无产阶级文化大革命,更促进了发酵法生产味精这一新工艺的蓬勃发展和普遍推广。当前,批林批孔运动正在全国深入开展,味精生产战线上抓革命、促生产的形势大好,为了提高现有味精生产水平,各厂纷纷提出要求进一步研究谷氨酸生产菌种的产酸规律,以提高其产酸率。

北京棒状杆菌 (*Corynebacterium pekinense*) AS 1.299是我国分离筛选并首先应用在生产中的菌种^[1]。有关生产单位在使用过程中对该菌株曾作过大量的研究和推广工作。为适应广大工人和技术人员为进一步了解该菌谷氨酸发酵基本性能的需要,兹报告维生素、氨基酸和重金属对北京棒状杆菌 AS 1.299 产谷氨酸的影响,供有关方面参考。

一、实验方法

(一)菌种

由本组分离筛选出的产 L-谷氨酸菌株 AS 1.299,经鉴定认为是一新种,定名为北京棒状杆菌 AS 1.299 (*Corynebacterium pekinense* n. sp. AS 1.299)^[1]。试验时采用在 30℃ 于普通肉汁洋菜斜面上培养 24 小时的新鲜培养物。

(二)生长因子要求的试验方法

采用“减一”维生素的混合液,以生长图形法^[2]及液体培养法分别测定菌株 AS 1.299 对维生素的需要。

生长图形法采用的平板培养基成分(%)为:葡萄糖 1, (NH₄)₂HPO₄ 0.1, KH₂PO₄ 0.05, MgSO₄ · 7H₂O 0.04, FeSO₄ · 7H₂O 0.002, MnSO₄ · H₂O 0.002, 洋菜 1.5。pH 7.0—7.2, 8 磅 30 分钟灭菌。

液体培养法采用基础培养基成分(%)为:葡萄糖 5, (NH₄)₂HPO₄ 0.5, KH₂PO₄ 0.05, MgSO₄ · 7H₂O 0.04, FeSO₄ · 7H₂O 0.002, MnSO₄ · H₂O 0.002, pH 7.0—7.2, 分装 200 毫升三角瓶,每瓶装 25 毫升,8 磅 30 分钟灭菌。

前一法是将直径 0.5 公分的圆形滤纸分别浸以“减一”维生素混合液,再分别贴在混有被测定菌的平板培养基上,于 30℃ 培养 24—48 小时,记录生长情况。后法是将“减一”维生素混合液分别加入各培养瓶内,然后接入被试菌液 0.5 毫升,于 30℃ 摇床培养 48 小时,以比浊法测定生长情况。接种用菌悬液的制备是将在肉汁洋菜斜面培养基上生长 18—22 小时的菌体先接入无维生素的基础培养液内作成菌液,放入 30℃ 温箱内保温 3 小时,再供接种培养瓶用。

(三)谷氨酸发酵试验方法

1. 基础发酵培养基成分(%) 葡萄糖 10, 尿素 2, K₂HPO₄ 0.1, MgSO₄ · 7H₂O 0.05, FeSO₄ · 7H₂O 0.002, MnSO₄ · H₂O 0.002, pH 7.2, 分装 200 毫升三角瓶,每瓶 25 毫升,8 磅 15 分钟灭菌。尿素用过滤法除菌,接种时加入发酵瓶内。

2. 种子培养及接种量 种子培养基成分(%): 葡萄糖 3, 尿素 0.5, K₂HPO₄ 0.1, MgSO₄ · 7H₂O 0.04, FeSO₄ · 7H₂O 0.002, MnSO₄ · H₂O 0.002, 玉米浆 0.2, pH 7.0—7.2, 分装 200 毫升三角瓶,每瓶 30 毫升,8 磅 15 分钟灭菌。接种一环于含糖肉汁洋菜斜面上,培养 18—24 小时后供接种发酵瓶用。接种量为发酵液体积的 2%。接种后,30℃ 摇床培养 48 小时(迴转式摇床,频率 160 次/分,偏心 2.5 公分)。

(四)发酵液中 L-谷氨酸的测定

发酵结束后,发酵液以 3000—3500 转/分离心,除去菌体。上清液采用纸上电泳法,缓冲液为 0.2M 醋酸-醋酸钠, pH 4.8, 电压 220—300 伏,时间 2—3 小时,发酵液样品点在滤纸的中线上,分离其中的谷氨

酸,显色剂为0.05% 茚三酮丙酮液,显色温度70℃,时间10分钟。显色后与标准样品对比以确定发酵液中谷氨酸色斑。将分离出的谷氨酸斑点色谱剪下投入比色管中,洗脱后再次显色,进行比色定量测定。用同法绘制标准 L-谷氨酸样品的标准曲线,由此曲线算出被测发酵液中谷氨酸含量。

(五)细菌生长量的测定

培养后的发酵液与蒸馏水1:5稀释之,以波长620毫微米,光程1公分,用72型分光光度计测定光密度,以光密度读数表示细菌生长情况。

二、实验结果

(一)北京棒状杆菌 AS 1.299 的营养要求

1.采用生长图形法测定了乙族维生素(V)、无维生素酪素水解物(A.A.)、核酸碱基(B)和基础培养基(M.M.)对菌株AS 1.299生长的影响。从表1可以看出该菌必需供给某种维生素作为生长因子,没有维生素即不能生长。

表1 北京棒状杆菌 AS 1.299 的营养要求测定结果

培养基编号	营 养 物 组 合	生长情况
1	M.M.	-
2	M.M. + V.	+
3	M.M. + A.A.	-
4	M.M. + B.	-
5	M.M. + V. + A.A.	+
6	M.M. + V. + B.	+
7	M.M. + A.A. + B.	-
8	M.M. + V. + A.A. + B.	+

注: 1. -: 示不生长, +: 示生长正常。
2. M.M.: 基础培养基,成分见实验方法部分。
3. V.: 10种乙族维生素混合液(微克/1毫升): 盐酸硫胺素100,核黄素100,菸酸100,泛酸钙100,吡哆素100,生物素60,叶酸100,对氨基苯甲酸100,维生素B₁₂100,环己六醇700。
4. B.: 核酸碱基混合液(毫克/10毫升):腺嘌呤1,鸟嘌呤1,黄嘌呤1,胞嘧啶1,胸腺嘧啶1,尿嘧啶1,次黄质1。
5. 30℃,培养24—72小时。

2.按照上述结果,为进一步查清菌株AS 1.299对乙族维生素的要求,采用生长图形法和液体培养法,分别测定了10种乙族维生素。前法用合成培养基及合成培养基加0.5%无维生素酪素水解物两种处理同时进行试验。在合成培养基从生长图形法所测定的结果(表2)来看,发现在维生素混合液中不加生物素,该菌完全不能生长;在含有生物素而缺少硫胺素的情况下,生长较弱。这表明该菌株生长需要生物素作为必需生

长因子,而硫胺素在供给生物素的条件下,促进其生长。试验过的其它维生素无此作用。同上法,如在合成培养基中加入0.5%无维生素酪素水解物的处理中,也得到与上面一致的结果(表2)。但在这种培养基上发现有生物素存在时,不加硫胺素,该菌也能生长。在

表2 生长图形法测定菌株 AS 1.299 对维生素的需要

试样编号	维生素混合液 (减-法)	在合成培养基 上生长情况	在合成培养基 +0.5% 酪素水解物 上生长情况
1	V-硫胺素	±	+
2	V-核黄素	+	++
3	V-菸酸	+	++
4	V-泛酸钙	+	++
5	V-吡哆素	+	++
6	V-生物素	-	-
7	V-叶酸	+	++
8	V-对氨基苯甲酸	+	++
9	V-环己六醇	+	++
10	V-B ₁₂	+	++
11	V	+	++

注: 1. 合成培养基成分见方法部分。
2. -: 示不生长, ±: 示生长弱, +: 示生长正常, ++: 示生长良好。
3. 30℃,培养24—48小时。

表3 液体培养法测定菌株 AS 1.299 对维生素的需要

试验 瓶号	维生素混合液 (减-法)	菌体生长量 (光密度)	生长结果 判 断
1	0	0.005	-
2	V-硫胺素	0.232	+
3	V-核黄素	0.320	+
4	V-菸酸	0.320	+
5	V-泛酸钙	0.340	+
6	V-吡哆素	0.340	+
7	V-生物素	0.016	-
8	V-叶酸	0.300	+
9	V-对氨基苯甲酸	0.340	+
10	V-环己六醇	0.300	+
11	V-B ₁₂	0.335	+
12	V	0.430	+
13	0.5%无维生素酪素水解物	0.025	-
14	12+13	0.595	+
15	生物素	0.152	+
16	硫胺素	0.013	-
17	生物素+硫胺素	0.225	+

注: 1. 培养基及培养条件见方法部分。
2. V: 示10种维生素混合液(微克/升): 硫胺素100,核黄素100,菸酸200,吡哆素100,生物素10,泛酸钙100,叶酸30,对氨基苯甲酸100,环己六醇500,维生素B₁₂10。
3. V-后的维生素即抽去的成分。
4. -: 示不生长, +: 示生长。

此种培养基上的所有生长情况，均比在合成培养基上生长好。由此推测，这可能是酪素水解物中的某些氨基酸也能促进生长。

用液体培养法所得结果见表3。结果表明，菌株AS 1.299对维生素的要求与用生长图形法测定的结果是一致的。

由实验得出硫胺素在生物素存在的条件下对菌株AS 1.299有明显促进生长的作用，因而对硫胺素用量作了进一步的探讨。从图1所示结果看，当基础培养基中生物素含量为10微克/升时，加入硫胺素50—100微克/升，菌体生长量已达最高，如硫胺素含量再增高，则菌体生长量亦无明显增加。

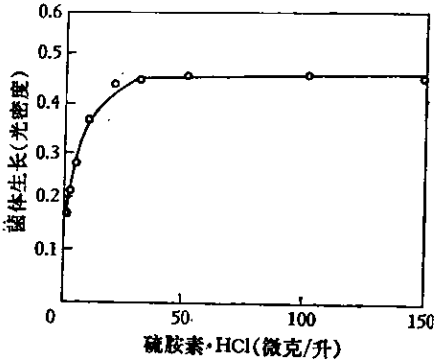


图1 培养基中硫胺素浓度对菌株 AS 1.299 生长的影响

(二)乙族维生素对北京棒状杆菌 AS 1.299 产 L-谷氨酸的影响

1.培养基中生物素含量与谷氨酸积累的关系 由图2表明，当培养基中生物素含量在2微克/升时，谷氨酸产量达到最高。如其含量高过这一浓度，则谷氨酸积累量显著降低，而菌体生长量升高。由此得出，大量积累谷氨酸的最适生物素浓度，应在菌体最高生长的生量以下。

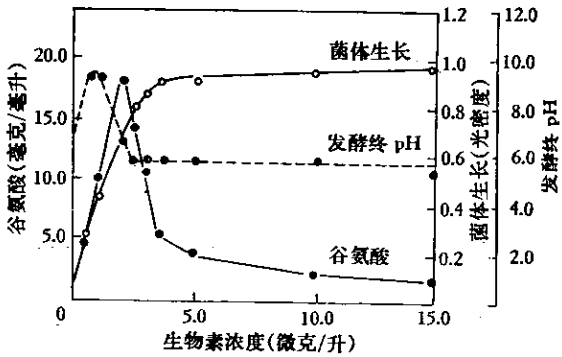


图2 发酵培养基中生物素浓度对菌株 AS 1.299 产谷氨酸的影响

2. 9种乙族维生素对菌株AS 1.299产L-谷氨酸的影响 当基础发酵培养基中生物素含量在2.0微克/升的条件下，分别加入其它9种乙族维生素，经发酵培养后，由表4结果看出，仅硫胺素与生物素配合才能积累大量谷氨酸，而其它8种维生素并无此作用。

3.发酵培养基中硫胺素浓度与L-谷氨酸的积累 按以上结果，硫胺素对菌株AS 1.299的生长和谷氨酸的积累都具有显著的影响。由图3所示，在含生物

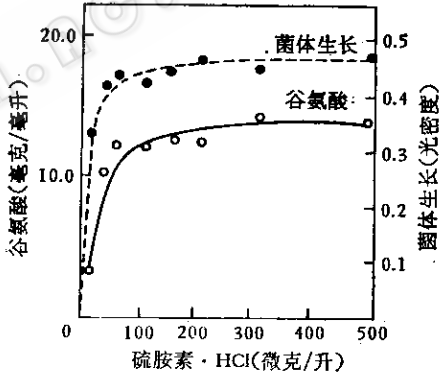


图3 含生物素2微克/升的培养基中硫胺素浓度与谷氨酸的积累

表4 9种乙族维生素对菌株 AS 1.299 产谷氨酸的影响

维 生 素	维 生 素 量 (微克/升)	生 物 素 (微克/升)	接 种 前 pH	发 酵 终 pH	菌 体 生 长 (光密度)	谷 氨 酸 产 量 (毫克/毫升)
—	—	2	6.4	9.7	0.050	—
硫 胺 素	100	2	6.4	7.5	0.650	17.3
核 黄 素	100	2	6.4	9.7	0.065	0
菸 酸	200	2	6.4	9.7	0.070	0.6
泛 酸 钙	100	2	6.4	9.7	0.070	0.3
吡 哆 素	150	2	6.4	9.7	0.065	0.2
叶 酸	50	2	6.4	9.7	0.058	0.1
对氨基苯甲酸	100	2	6.4	9.7	0.055	0
环 己 六 醇	500	2	6.4	9.7	0.065	0.1
B ₁₂	20	2	6.4	9.7	0.065	0

注：基础发酵培养基成分：见方法部分。培养条件：30℃ 摇床(160次/分)培养48小时。

素2微克/升的培养基中,硫胺素含量在50微克/升以下时,对谷氨酸的积累有明显促进作用,而在50—500微克/升时无显著影响。

(三)各种氨基酸对北京棒状杆菌 AS 1.299 生长和产 L-谷氨酸的影响

上述实验中初步发现无维生素酪素水解物也能促进菌株 AS 1.299 的生长,推测这可能是某种氨基酸的

作用。对此,分别试验了 21 种氨基酸对该菌生长和产谷氨酸的影响。发现其中的组氨酸、胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、甘氨酸、羟脯氨酸、色氨酸、半胱氨酸、天门冬氨酸及酪氨酸,当在合成培养基中不含硫胺素时,在适宜浓度下分别对生长或产谷氨酸有显著促进作用,而上述 10 种氨基酸当其用量不同时,对谷氨酸的积累影响也很不一致。结果见表 5。

表 5 10 种氨基酸不同用量对菌株 AS 1.299 生长和产谷氨酸的影响

氨基酸种类	氨基酸用量 (%)	菌体生长 (光密度)	谷氨酸产量 (毫克/毫升)	氨基酸种类	氨基酸用量 (%)	菌体生长 (光密度)	谷氨酸产量 (毫克/毫升)
L-胱氨酸	0.025	0.620	10.5	L-组氨酸	0.025	0.480	3.5
	0.050	0.780	0		0.050	0.720	13.4
	0.100	0.780	0		0.100	0.880	9.7
L-半胱氨酸	0.025	0.780	0	甘氨酸	0.025	0.800	5.2
	0.050	0.798	3.2		0.050	0.780	7.6
	0.100	0.560	0		0.100	0.760	0
L-天门冬氨酸	0.025	0.800	11.7	L-色氨酸	0.025	0.800	7.9
	0.050	0.880	15.5		0.050	0.800	7.6
	0.100	0.920	6.9		0.100	0.820	5.8
DL-丝氨酸	0.025	0.840	12.3	L-羟脯氨酸	0.025	0.780	9.1
	0.050	0.840	0		0.050	0.760	10.5
	0.100	0.840	0		0.100	0.720	6.9
L-酪氨酸	0.025	0.230	0	L-苏氨酸	0.025	0.820	11.1
	0.050	0.240	0		0.050	0.780	0
	0.100	0.380	0		0.100	0.780	0
对 照	不加	0.210	0				

注:基础培养基成分(%):葡萄糖 10, 尿素 2, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.1, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.002, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.002, 生物素 2 微克/升, pH 7.0, 30℃ 摇床培养 48 小时。

(四)蛋白水解物和玉米浆对北京棒状杆菌 AS 1.299 产 L-谷氨酸的影响

依据上述试验结果,在谷氨酸发酵中为找到生物素、硫胺素和氨基酸的廉价原料,实验中分别采用 0.5% 豆饼粉水解液、味精废液和无维生素酪素水解物加到基础发酵培养基中,并以玉米浆和加生物素及硫胺素作对照。实验分三种处理:一是发酵培养基中除加蛋白质水解物外还含生物素 2 微克/升,硫胺素 100 微克/升;二是仅加生物素 2 微克/升;三是上两种维生素均不加入。发酵后谷氨酸产生结果见表 6。

由表中列出结果证明,(1)从处理 I 和 II 中可明显看出,在加有豆饼粉水解物和味精废液的瓶中硫胺素对谷氨酸的积累起着极重要的作用;同时,与仅含生物素和硫胺素的对照相比,蛋白质类水解物中某些氨基酸成分对谷氨酸的形成也有促进作用;(2)前二种处理含有酪素水解物的瓶中谷氨酸产量几乎一致,推测酪

素水解物中氨基酸有促进作用,但产酸均偏低,这可能是酪素水解物中仍缺少能显著促进谷氨酸大量积累的某种成分;(3)前二种处理中,含有玉米浆的瓶中谷氨酸产量均甚低,这是由于生物素过多,只促使菌体生长而不利于谷氨酸的积累;(4)第三种处理中含有三种蛋白水解物的瓶中,谷氨酸产量极低,生长极弱,有的几乎不长。无疑这是由于缺少生物素或硫胺素所致,而只有在加玉米浆的情况下,生长和产谷氨酸才正常。综上所述,不难得出结论:硫胺素不仅在有生物素时能促进生长,而且也是大量积累谷氨酸的极重要因素。在培养基中含有适量的生物素和硫胺素时,豆饼粉水解物和味精废液能显著提高谷氨酸产量。

由此,又在培养基中以玉米浆代替生物素和硫胺素,加入豆饼粉水解物,试验这两者的最适用量,结果见表 7。由该表看出,玉米浆用量 0.4—0.5%,豆饼粉水解物用量 0.45—0.6% 均可得到较高的谷氨酸产量。此外,如以 0.4—0.6% 味精废液(黑废液)代替豆

表 6 不同来源的蛋白水解物对 AS 1.299 产谷氨酸的影响

实验处理	实验编号	豆饼粉水解物(%)	味精废液(%)	酪素水解物(%)	玉米浆(%)	生物素(微克/升)	硫胺素(微克/升)	发酵终 pH	菌体生长(光密度)	谷氨酸产量(毫克/毫升)
I	1	0.5				2	100	5.4	0.740	27.0
	2		0.5			2	100	5.4	0.690	33.0
	3			0.5		2	100	8.8	0.510	14.3
	4				0.5	2	100	6.2	0.940	7.0
	5					2	100	8.2	0.620	19.0
II	1	0.5				2		9.3	0.370	3.0
	2		0.5			2		9.0	0.420	5.6
	3			0.5		2		5.4	0.750	13.6
	4				0.5	2		5.8	0.930	5.3
	5					2		9.3	0.062	1.5
III	1	0.5						9.0	0.030	2.3
	2		0.5					9.0	0.125	3.3
	3			0.5				9.0	0.035	2.3
	4				0.5			6.2	0.770	33.3
	5									

注: 1. 基础发酵培养基成分见方法部分。

2. 豆饼粉水解物及酪素水解物用量按干物重计,而味精废液和玉米浆按湿重计。

3. 培养条件: 30℃ 摇床(160次/分)培养 48 小时。

表 7 玉米浆与豆饼粉水解物配合使用对菌株 AS 1.299 产谷氨酸的影响

玉米浆用量(%)	豆饼粉水解物用量(%)	发 酵 初 pH	发 酵 终 pH	菌 体 生 长 (光密度)	谷氨酸产量(毫克/毫升)
0.30	0.50	7.0	8.2	0.590	30.00
0.40	0.50	7.0	5.8	0.730	38.13
0.45	0.50	7.0	5.8	0.850	39.70
0.50	0.50	7.0	5.8	0.800	38.13
0.55	0.50	7.0	6.0	0.790	26.83
0.50	0.30	7.2	5.8	0.830	23.66
0.50	0.40	7.2	5.8	0.790	30.66
0.50	0.45	7.1	5.8	0.790	39.00
0.50	0.50	7.0	5.8	0.840	41.66
0.50	0.60	7.0	5.8	0.840	43.00

饼粉水解物也可得到同样的结果。由此看来,玉米浆与豆饼粉水解物或味精废液配合使用,以代替生物素、硫胺素和氨基酸的纯品,在菌株 AS 1.299 谷氨酸发酵中,均可得到谷氨酸产量高而稳定的效果。

和 2.6 微克/100 毫升时,即能抑制生长并有害于谷氨酸的积累;Zn 离子浓度在 2.2—5.5 微克/100 毫升时,对生长虽无影响,但抑制谷氨酸的产生。

三、讨 论

(五)重金属离子对北京棒状杆菌 AS 1.299 生长和产 L-谷氨酸的影响

由于各种重金属离子对谷氨酸发酵有明显的不同影响,且在中型扩大试验和发酵生产中又常常使用金属培养器具,故需要了解重金属对于菌株 AS 1.299 发酵有何影响。对此,试验了 9 种不同的金属离子,结果见表 8。发现 Fe^{++} 、 Fe^{+++} 、 Mn^{++} 及 Mo^{+6} 对发酵有利,而 Cd^{++} 、 Ni^{++} 、 Co^{++} 及 Cu^{++} 分别含有 1.4、2.2、2.4

进行维生素、氨基酸及重金属离子对菌株 AS 1.299 产 L-谷氨酸影响的研究,目的在于了解该菌的营养要求与产酸规律,为控制生产和提高谷氨酸产量提供参考。

目前大家认为,绝大多数利用糖质原料的谷氨酸发酵细菌,都要求生物素作为必需生长因子。为使谷氨酸的大量积累,生物素含量必须控制在菌体最高生

表 8 重金属离子对菌株 AS 1.299 生长和产谷氨酸的影响

金属离子	金属盐类	金属盐类浓度 (克/升)	发 酵 终 pH	菌 体 生 长 (光密度)	谷氨酸产量 (毫克/毫升)	比 率
0			5.8	0.755	6.5	1
Fe ⁺⁺	FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.10	8.2	0.700	17.5	2.7
		0.25	7.7	0.840	15.7	2.4
Fe ⁺⁺⁺	Fe ₂ (SO ₄) ₃ · 6H ₂ O	0.10	8.5	0.640	14.3	2.2
		0.25	8.2	0.800	12.0	1.8
Mo ⁺⁶	(NH ₄) ₆ · Mo ₇ O ₂₄ · 4H ₂ O	0.10	5.6	0.720	18.4	2.8
		0.25	5.6	0.680	20.0	3.0
Mn ⁺⁺	MnSO ₄	0.10	8.5	0.640	19.6	3.0
		0.25	8.2	0.720	23.3	3.6
Ni ⁺⁺	NiSO ₄ · 7H ₂ O	0.010	8.8	0.450	3.83	0.59
		0.025	8.8	0.400	1.92	0.29
Zn ⁺⁺	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.010	6.2	0.780	1.94	0.30
		0.025	5.8	0.820	0.07	
Co ⁺⁺	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.010	7.5	0.360	2.60	0.40
		0.025	8.0	0	0	
Cd ⁺⁺	3CdSO ₄ · 8H ₂ O	0.010	8.8	0	0	
		0.025	8.8	0	0	
Cu ⁺⁺	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.010	8.8	0.320	1.90	0.30
		0.025	9.0	0.160	0	

注：基础培养基成分(%)：葡萄糖 10，尿素 2.0，K₂HPO₄ 0.1，MgSO₄ · 7H₂O 0.05，生物素 2 微克/升，B₁ 100 微克/升，pH 7.0，30℃ 摇床培养 48 小时。

长的“亚适量”(即达到最高生长的生物素最适量水平以下)。我们对菌株 AS 1.299 的研究表明，该菌除要求生物素作为必需生长因子外，硫胺素在有生物素的条件下对生长有明显促进作用。并发现要使它在培养基中积累大量谷氨酸，除要求适量生物素外，还须供给一定量的硫胺素。因此，生物素和硫胺素不仅是必需生长因子，而且也是该菌大量积累谷氨酸的决定因素。同时实验结果还表明，当生物素存在而缺少硫胺素时，试验过的 21 种氨基酸中有 10 种分别对该菌生长和产谷氨酸有促进作用。这与已报道的其它要求两种维生素和氨基酸的产谷氨酸菌株有所不同。

就菌株 AS 1.299 而言，对营养要求不能只是把生物素看成控制谷氨酸大量产生的决定因素，而硫胺素和氨基酸类在积累谷氨酸过程中所起的作用是值得重视的。因此，于培养基中加入适量的玉米浆供给生物素及硫胺素的来源，加入适量的豆饼粉水解物或味精废液供给多种氨基酸，达到了提高和稳定谷氨酸产量的目的。然而，为广开生物素、硫胺素和氨基酸的廉价原料来源，其它含有机氮的原料如麸皮、米糠、酒糟、丙酮丁醇废醪、豆腐废水和废糖蜜等等仍应加以试验研究采用。

重金属离子对谷氨酸发酵的影响，各研究者所得结果均不一致。但铁和锰离子在适宜浓度下对发酵有

好的影响，这是相同之点。而其它重金属对谷氨酸发酵影响的优劣，依其含量多少和菌株不同而有差别。因此，我们实验的结果尚难作出统一的定论，仅可供发酵生产中的参考。

这里必须指出，在谷氨酸发酵中若要得到好的发酵结果，还需遵照毛主席关于“看问题要从各方面去看，不能只从单方面看”的教导，除上面试验的维生素作为控制因素外，还需控制适宜的磷酸盐量、pH、通气量和发酵中补加 NH₄⁺ 等，以及适宜的种子和发酵培养基成分、培养条件，否则也难以得到满意的发酵结果。例如，我们在进一步研究和推广应用中，AS 1.299 菌株在 10% 糖培养基中谷氨酸产量可达 5.0% 以上，糖转化率高于 50%。因此，只要善于掌握该菌各种最适发酵条件，提高产酸水平还是有潜力的。

四、摘 要

在实验室条件下，我们研究了维生素、氨基酸及重金属对北京棒状杆菌 (*Corynebacterium pekinense*) AS 1.299 产 L-谷氨酸的影响。研究结果表明该菌为产谷氨酸较高的优良菌种。在摇瓶中谷氨酸产量一般可稳定在 4.0% 以上。

1. 该菌要求生物素作为必要的生长因子，而硫胺

素能显著地促进其生长。为了积累大量的谷氨酸,同时要求上述两种维生素。前者最适浓度为2微克/升,后者100—200微克/升已足够。并证明了组氨酸、胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、甘氨酸、羟脯氨酸、色氨酸、半胱氨酸、天门冬氨酸及酪氨酸,在适宜的浓度下也分别对生长或产谷氨酸具有促进作用。

2.发现玉米浆对谷氨酸发酵有显著的影响,用量在0.4—0.5%时可得到较高的谷氨酸产量。如以上述浓度的玉米浆与适量的豆饼粉水解物或味精废液配合使用,更能提高和稳定产谷氨酸的能力。

3.试验了9种不同金属离子,发现 Fe^{++} 、 Fe^{+++} 、

Mn^{++} 、 Mo^{+6} 对谷氨酸发酵有利,而 Cd^{++} 、 Ni^{++} 、 Co^{++} 和 Cu^{++} 含量分别在1.4、2.2、2.4及2.6微克/100毫升时,即抑制生长,有害于谷氨酸的积累, Zn^{++} 含量在2.2微克/100毫升时,对生长虽无影响,但对发酵产酸却很不利。

参 考 资 料

- [1] 陈琦、张震元、李玲阁:微生物学报,13(1):1—6. 1973。
- [2] 方心芳著:应用微生物学实验法,209—211页,财经出版社。1962。