

提高谷氨酸发酵产酸率的研究

张 兆 伟

(沈阳味精厂, 沈阳)

利用青霉素控制 L-谷氨酸发酵的研究, 在六十年代松尾等^[1-4]报道其产酸率可达4克/100毫升。到了七十年代, 这方面的研究结果已作为专利并应用在大型生产中。我们通过利用青霉素控制 L-谷氨酸的发酵, 使产酸率最高达9.13克/100毫升, 平均产酸率达8克/100毫升, 现报道如下。

材 料 与 方 法

1. 供试菌株: S-941 (*Corynebacterium* sp.) 为我组从土壤中分离的谷氨酸产生菌, 经鉴定属于棒状杆菌属。

2. 谷氨酸的测定方法: 采用谷氨酸脱羧酶的定量方法。

实 验 结 果

一、微生物形态的观察

S-941 菌的形态观察结果见图 1。

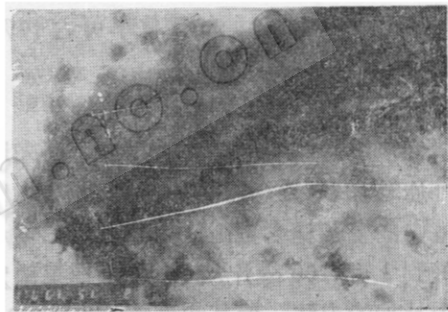


图 1 S-941 菌的电镜照片, 15,000×

结果表明该菌呈二端钝圆, 大小为 $1-4 \times 0.5-1$ 毫微米, 革兰氏染色阳性。普通肉汤固体培养为淡黄色菌落, 该菌株对北京棒状杆菌 AS 1.299 的噬菌体敏感。

二、高生物素含量培养基

在应用青霉素控制谷氨酸的发酵中, 培养基中的生物素含量必需超过菌体最大增殖量的

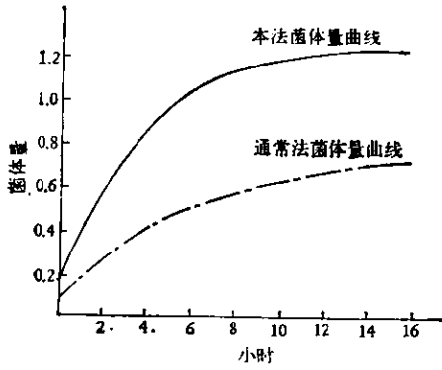


图2 两种方法所得菌体量的比较

要求,试验结果见图2。

结果表明,生物素含量应大于20微克/升培养基为佳。其谷氨酸产量见表1。

表1 高生物素培养基的谷氨酸产量*

批次	生物素量 (微克/升)	谷氨酸量 (克/100毫升)	转化率 (%)	周期 (小时)
7911	23.9	8.49	44.72	36
7914	23.1	7.68	39.22	36
7915	22.8	7.57	42.30	36

* 发酵罐体积0.5立方米,搅拌速度300转/分,通气量1:0.9—1:0.6(体积/体积),培养基成份(克/100毫升):水解糖16—19,玉米浆1.1,生物素(20微克/升), $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.002, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.002。

结果表明:采用生物素含量大于20微克/升的培养基,谷氨酸对糖的转化率可达40%左右。

三、低渗透压培养基

我们采用降低培养基渗透压的方法来增大胞内外压差,以求提高谷氨酸的渗出速度,发酵培养基中的葡萄糖含量由对照的10—12克/100毫升降到2克/100毫升,其余葡萄糖采取发酵过程中补加的办法,使其浓度维持在1—2克/

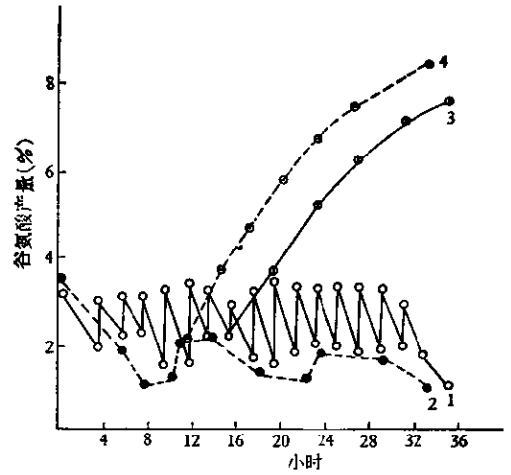


图3 不同糖浓度培养基发酵结果

图中1代表1—4克/100毫升葡萄糖范围;2代表1—2克/100毫升葡萄糖范围;3代表1—4克/100毫升糖浓度时的谷氨酸浓度;4代表1—2克/100毫升糖浓度时的谷氨酸浓度。

100毫升的水平。结果见图3。

四、发酵过程中青霉素的添加量及添加时间

在谷氨酸发酵中,当青霉素添加量大于3.3单位/毫升时,产酸速度大大提高,但青霉素添加量达5.3单位/毫升时,产酸速度就不继续上升,结果见表2。

结果表明,添加青霉素量以4—5.3单位/毫升为宜。

五、发酵过程中青霉素添加时间与产酸率关系

添加青霉素时间与产酸率的关系见表3。

结果表明,菌体净长OD值在0.70左右时,添加青霉素可获得较高产酸率。

六、稳定条件的试验

根据上述试验结果,配合以温度闭环调节,pH闭环调节,补加糖定时计量调节,在0.5立方米发酵罐进行连续五批稳定条件试验,结果

表2 添加青霉素量与产谷氨酸的关系

批次	青霉素添加量 (单位/毫升)	产谷氨酸 (克/100毫升)	转化率 (%)	周期 (小时)
122	5.3	8.50	43.51	36
795	5.3	8.45	42.00	36
79B ₁	4.0	7.95	41.62	34
7915	4.0	7.57	42.30	36

表3 添加青霉素的时间与产谷氨酸的关系

添加青霉素			OD 最大值	谷氨酸最大值	周期(小时)
发酵时间(小时)	OD 值增长	OD 值净长			
5.00	0.90	0.76	1.38	1.58	24
3.45	0.70	0.49	0.94	5.34	42
4.40	0.87	0.728	1.18	8.49	36

表4 谷氨酸发酵的稳定试验*

批次	产酸率 (克/100毫升)	转化率 (%)	周期 (小时)
7916	8.61	45.14	34
7917	8.33	44.65	36
7919	9.13	48.83	42
7920	8.01	45.00	34
7921	7.56	47.25	32
平均值	8.33	46.16	35.6

* 培养基组成(克/100毫升): 水解糖 2, 蔗糖蜜 1.5(或生物素 20 微克/升), 玉米浆 1.1, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.2, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.002, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.002, pH6.6, 110°C 8 分钟灭菌后备用。补加糖: 水解糖 50%, 灭菌后备用。接种量 10%(体积/体积)。通气量 1:0.9—1:0.6。发酵过程控制: 用氨水调节 pH 值, 连续补加糖, 菌体净长 OD 值达 0.7 时, 加入 4 单位/毫升青霉素。

见表 4。

结果表明发酵平均产酸率 8.33 克/100 毫升, 平均转化率 46.16%, 平均发酵周期 35.6 小时, 因此有工业化价值。

讨 论

试验说明, 用新方法制备谷氨酸, 其设备利

用率较老工艺高一倍。以蔗糖蜜代替试剂生物素, 在稳定条件试验中, 产酸率达 8.01 克/100 毫升, 转化率 45%, 可以考虑工业化。

以甜菜糖蜜代替水解糖做为碳源试验, 结果表明谷氨酸产率可达 5.88 克/100 毫升, 但甜菜蜜中生物素含量偏低, 所以应另补足生物素。试验也说明, 有许多机理问题尚需进一步探讨, 而这些问题的解决, 将会大大促进谷氨酸工业的发展。

参 考 文 献

- [1] Carl, Frieden: The unusual inhibition of glutamate dehydrogenase by guanosine di- and triphosphate, *Biochem. Biophys. Acta*, 59(2): 484—486, 1962.
- [2] Wylie, E. B. and M. J. Johnson: Effect of penicillin on the cell wall of *Escherichia Coli*, *Biochem. Biophys. Acta*, 59(2): 450—457, 1962.
- [3] 松尾隆治、大山义朗: グルタミン酸の発酵生産とその应用到する研究, 発酵工学杂志, 44(12):915—924, 1966.
- [4] 大石邦夫、植村定治郎: アミノ酸発酵の代謝調節, 蛋白質、核酸、酵素, 10(7):117—127, 1965.
- [5] 沢川満: 蔗糖蜜によるグルタミン酸発酵, *Amino Acid and Nucleic Acid*, 17:61—65, 1968.