

# 铜离子影响谷氨酰胺发酵的研究

王福源 王妙虎 陈振风 王锦华 王 澜\*

(上海科学技术大学, 生物系)

**摘要** 研究了铜离子对谷氨酰胺发酵的影响, 结果表明, 微量铜离子对生成谷氨酰胺有促进作用, 高浓度铜离子对微生物细胞有毒害作用。

**关键词** 铜离子; 谷氨酰胺

利用微生物发酵法生产谷氨酰胺, 通常认为铁、镁、锌等离子是必需的, 一般认为铜离子对发酵有毒害作用。资料表明, 谷氨酸发酵液中含有 10 mg/L 硫酸铜时, 谷氨酸产率明显下降, 当硫酸铜浓度达到 0.1% 时, 菌体几乎停止生长。

谷氨酰胺是由谷氨酸经谷氨酰胺合成酶催化合成的, 考虑到工业生产时发酵液很难避免与铜器接触, 因此有必要进行铜离子对谷氨酰胺发酵影响的研究, 现把结果报告如下。

## 材 料 和 方 法

1. 菌株: 黄色短杆菌 (*Brevibacterium flavum*) ATCC 14067。

2. 试剂

(1) 玉米浆: 由上海天厨味精厂提供。

(2) L-谷氨酰胺标准品: 日本味之素公司产品。

(3) 其他试剂: 均为国产试剂、化学纯。

3. 菌体量、残糖、谷氨酰胺的测定、发酵条件和培养基组成均见文献 [1]。

硫酸铜 ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 按实验要求加入不同量。磷酸盐为常用量的 1/10。

## 结 果 和 讨 论

### (一) 铜离子对菌体生长的影响

在培养基中加入硫酸铜, 使其浓度 (mg/L) 分别为 0、60、100、200、300、400、500, 测定 12、18、24、36 小时时的 OD 值。实验结果表明: 由于铜离子的添加, 菌体生长受到抑制, 特别是在菌体的生长前期受到的影响最大。当硫酸铜浓度在 300 mg/L 以上时, 菌体增殖受到抑制更为严重, 即使到了细菌生长后期 OD 值也升不上来。与不含铜离子的进行比较, 在 24 小时时, 不添加硫酸铜的, 其 OD 值为 1.3, 已进入平衡期, 而硫酸铜含量为 400 mg/L 和 500 mg/L 的, OD 值分别为 0.84 和 0.34, 即使到了 36 小

\* 本校生物工程系 8381 班毕业生。

时, OD 值还只有 0.98 和 0.557, 可以看出高浓度铜离子对菌体生长的严重抑制。另外, 从发酵液外观来看, 不加硫酸铜的发酵液稠、泡沫多, 而硫酸铜含量为 400 mg/L 和 500 mg/L 的, 则发酵液稀、泡沫少。

## (二) 铜离子对菌体耗糖的影响

测定各组含不同量硫酸铜的培养基在发酵 18, 24, 36, 48, 60, 65 小时时的残糖数。如果将糖耗曲线以发酵 30 小时划分为菌体生长期和产酸期前后两个糖耗阶段, 可以看出: 在前阶段, 各条曲线显示的糖耗速率有很大差别, 随着铜离子浓度增加, 菌体糖耗越来越慢; 在后阶段, 各条曲线显示出几乎相同的糖耗速率。前阶段所形成糖耗速率的差别, 是因为菌体生长的快慢与糖的消耗关系密切。随着铜离子浓度的增加, 菌体生长愈来愈慢, 所以糖耗必然减少, 残糖也就高。至于后阶段各条曲线显示的糖耗速率虽然大致相同, 但最终谷氨酰胺的生成量差别很大, 在测定残糖时, 主要是利用费林试剂中的铜离子与葡萄糖进行反应, 根据生成的络离子颜色发生变化来确定残糖量的。现在在发酵液中加入硫酸铜, 那么势必要与葡萄糖进行络合反应, 这样随着铜离子的增加, 葡萄糖的消耗亦会增加, 从而使测定产生误差。所以, 我们在测定含有硫酸铜的发酵液的残糖时, 采用含有相同浓度硫酸铜的费林试剂进行空白滴定, 用以消除测定的误差。

## (三) 硫酸铜对产物的影响

硫酸铜的添加量为 60 和 100 mg/L 时, 产物谷氨酰胺的生成量比不添加硫酸铜的增多, 特别是添加 100 mg/L 的一组有明显增加。硫酸铜的加入量为 200 mg/L 的一组, 其谷氨酰胺的产量几乎跟不添加硫酸铜的相同。若添加量超过 200 mg/L 时, 谷氨酰胺的生成量显著减少, 当硫酸铜浓度达到 500 mg/L 时, 只有痕迹量的谷氨酰胺生成 (图 1)。

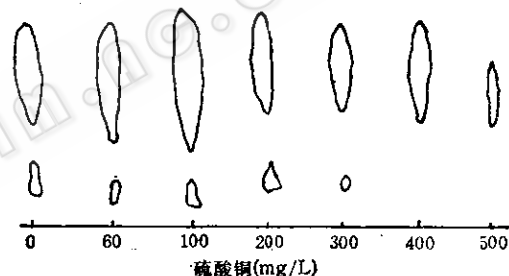


图 1 60 小时的发酵结果

研究结果表明, 当铜离子浓度超过 200 mg/L 时产物谷氨酰胺的生成量明显下降, 比文献报道的影响谷氨酸产率的硫酸铜的浓度高出 20 倍之多, 我们认为可能是使用的菌株不同引起的差别。至于低浓度铜离子能够促进谷氨酰胺生成的机理, 还有待进一步深入研究。

## 参 考 文 献