

激素对提高赖氨酸发酵单位的影响

梁 施 友

(安徽师范大学生物系, 芜湖)

摘要 添加 4 种不同浓度的赤霉素和三十烷醇对赖氨酸发酵进行了摇瓶试验。结果表明, 在添加适当浓度的激素时, 对提高赖氨酸发酵单位有一定促进作用。

关键词 赖氨酸; 发酵; 激素

L-赖氨酸是重要的食品添加剂。我国于 70 年代初期, 便利用谷氨酸产生菌, 通过诱变选育出了优良菌株^[1]。为了提高赖氨酸发酵单位, 采用在发酵液中添加激素的方法, 进行了摇瓶发酵试验。初步结果报道如下。

材料和方法

1. 菌种: 赖氨酸生产菌株 1370, 来自芜湖味精厂。该菌株为北京棒状杆菌 AS 1.299 (*Corynebacterium pekinense* AS 1.299) 的突变衍生株。

2. 激素

① 赤霉素: 上海生物化学制药厂生产, 纯度为 97% 的粉剂。

② 三十烷醇: 江西工学院校办工厂生产的 0.1% 水剂。

3. 培养基(%)

① 斜面培养基: 牛肉膏 1, 蛋白胨 0.5, 酵母膏 0.5, NaCl 0.4, 琼脂 2, pH 7.0—7.2。

② 种子培养基: 葡萄糖 1.5, 玉米浆 2, 酵素水解液 1, 尿素 0.1, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.04, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04, K_2HPO_4 0.15, pH 7.0—7.2。

③ 摆瓶发酵培养基: 葡萄糖 14, 玉米浆

2, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3.5, NH_4Ac 0.9, K_2HPO_4 0.15, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02, CaCO_3 3, 酵素水解液 1, 生物素按每毫升加入 5 ppm, pH 7.0—7.2。

4. 赖氨酸含量测定: 采用茚三酮乙二醇甲醚比色法^[2]。

结果与讨论

(一) 赖氨酸标准曲线制作

用电动天平称取分析纯 L-赖氨酸 50 mg 放入 250 ml 容量瓶中, 溶解后加蒸馏水至刻度, 即配成 0.20 mg/ml 的赖氨酸原液。吸取不同量原液, 在容量瓶中配制成 0.075、0.10、0.125、0.150、0.175 和 0.20 mg/ml 的标准赖氨酸梯度溶液。取 7 支试管, 各加入显色 2ml, 分别加不同浓度赖氨酸 1 ml, 空白对照试管加同

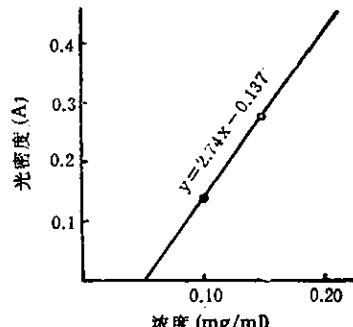


图 1 赖氨酸标准曲线

量显色剂及蒸馏水 1 ml。经沸水浴 20 分钟，显棕色后取出冷却，在波长 475 nm 处比色。所得数据进行回归后得方程 $y = 2.74x - 0.137$ (图 1)。样品所测得光密度值即可在标准曲线上或由方程式计算出相应赖氨酸含量(表 1)。

表 1 L-赖氨酸标准曲线所测浓度与光密度对应值

赖氨酸浓度 (mg/ml)	0.075	0.100	0.125	0.150	0.175	0.200
光密度值	0.086	0.124	0.199	0.274	0.352	0.416
校正值	0.098	0.137	0.205	0.274	0.342	0.411

(二) 发酵液中赖氨酸含量测定

将摇瓶培养 16—18 小时的种子液，分别吸

取 0.2 ml 至 20 ml 灭菌的培养液中 (500 ml 三角瓶装)，同时加入经细菌过滤器 (G6) 过滤的赤霉素溶液。三十烷醇可在配制培养液时加入并灭菌。添加不同浓度的激素溶液体积均为

1 ml。对照摇瓶加入 1 ml 无菌水。每种浓度处理为 3 瓶。于 32℃ 摆床振荡培养 (180 r/min) 80 小时，并分别在 36、48、58 小时时各补料一次 (每瓶均加入过滤灭菌的 0.190 尿素 0.5 ml)。发酵毕，取浓度相同的三瓶合并，并用蒸馏水补足至 60 ml，充分混匀后再分别取适当量离心 (3000 r/min) 10 分钟，上清液供测定。测定结果见表 2。

从表 2 中可看出，两种激素在一定浓度范围内对赖氨酸发酵单位均有所提高。但浓度过低无作用，过高有抑制作用，其中赤霉素添加量为 0.1 ppm 和三十烷醇添加量为 1 ppm 效果最好。

根据上述试验结果，对这两种激素添加浓度又进行了两次重复试验，每种浓度各接 5 瓶，摇瓶发酵液配方、分装量、接种量、培养方法、补料等与前相同，所得结果见表 3。

表 2 两种激素不同浓度摇瓶发酵液赖氨酸含量比色结果

赤 霉 素				三 十 烷 醇			
浓度 (ppm)	测定平均值	赖氨酸含量 (mg/ml)	相对增加 (%)	浓度 (ppm)	测定平均值	赖氨酸含量 (mg/ml)	相对增加 (%)
对照	0.247	35.03	100	对照	0.247	35.03	100
0.01	0.251	35.40	101	0.10	0.271	37.22	106.2
0.10	0.304	40.23	114.8	1.00	0.312	40.96	116.9
1.00	0.285	38.50	109.9	10.0	0.261	36.35	103.7
10.00	0.210	31.66	—	50.0	0.229	33.40	—

表 3 激素适宜浓度对赖氨酸含量比色结果

批数	处理	赤霉素 (0.1 ppm)			三十烷醇 (1 ppm)		
		测定平均值	赖氨酸含量 (mg/ml)	相对增加 (%)	测定平均值	赖氨酸含量 (mg/ml)	相对增加 (%)
I	对照	0.243	34.68	100	0.243	34.68	100
	处理	0.281	38.15	110	0.292	39.15	112.9
II	对照	0.218	32.40	100	0.218	32.40	100
	处理	0.238	34.26	109.8	0.279	37.95	117.1

此两批摇瓶发酵时间均为 72 小时。

以上试验结果表明，在两种激素的一定范围内，对摇瓶发酵赖氨酸含量的提高是有效果的，赤霉素添加量为 0.1 ppm 时，赖氨酸含量相对增加 9.9%。三十烷醇添加量为 1 ppm 时，赖氨酸含量相对增加 14%。

参 考 文 献

- [1] 陈琦等：微生物学报，13 (1): 1—6, 1973。
- [2] 蔡武城：生物物质常用化学分析法，科学出版社，北京，第 310—316 页，1982 年。