

酵母产 γ -氨基丁酸发酵条件的研究

胡超[△] 左斌 谢达平

(湖南农业大学生物科学技术学院 湖南 长沙 410128)

摘要目的:研究酵母产 γ -氨基丁酸的发酵条件,提高其产 γ -氨基丁酸的能力。**方法:**以高产 γ -氨基丁酸的酵母突变株为材料,通过单因素实验研究培养温度、摇床转速、接种量、种龄和培养时间等条件对菌株发酵生产 γ -氨基丁酸的影响。**结果:**最适发酵条件为 培养温度 30 °C,摇床转速 220 rpm,接种量 4%,种龄为 2d 的种子菌,培养时间 4d。在此发酵条件下,变异菌发酵液中 γ -氨基丁酸含量高达 2.588 g·L⁻¹,较优化前提高了 53%。**结论:**发酵条件的优化,提高了菌株产 γ -氨基丁酸的能力。

关键词: γ -氨基丁酸 酵母 发酵条件

中图分类号: Q93-3 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2011)05-861-03

Fermentation Conditions of Gamma-aminobutyric Acid Produced by *Saccharomyces Cerevisiae* Strain

HU Chao[△], ZUO Bin, XIE Da-ping

(College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, 410128, Changsha, China)

ABSTRACT Objective: In order to increase the yield of GABA (γ -aminobutyric acid) produced by *Saccharomyces cerevisiae* strain, its fermentation conditions were carried out. **Methods:** The effects of culture temperature, rotation speed, inoculation amount, seed age and culture time on the GABA production in fermentation broth of strain were investigated by single factor test. **Results:** The optimum condition were as follows: culture temperature 30 °C, rotation speed 220 rpm, inoculum size 4%, seed age 2d, and culture time 4d. In this condition, the yielding capacity of GABA was 2.588 g·L⁻¹, which was 53% more than that under the original conditions. **Conclusion:** The production of GABA was increased under the optimal fermentation conditions.

Key words: Gamma-aminobutyric acid; *Saccharomyces cerevisiae*; Fermentation condition

Chinese Library Classification: Q93-3 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2011)05-861-03

γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是以游离态或结合态存在于植物、动物、细菌、真菌、藻类、蕨类、蕨类等生物体中的一种非蛋白质氨基酸,对人和动植物的生长发育、新陈代谢起着非常重要的作用^[1-3]。GABA的生产主要以谷氨酸或其衍生物(谷氨酸钠,或富含谷氨酸的物质等)为原料,利用酵母菌、乳酸菌和曲霉菌等食品安全级微生物发酵制得^[4-6]。发酵过程中,温度、pH等条件对发酵过程影响较大,直接影响GABA的产量^[7]。因此,本论文对一株经亚硝基胍诱变获得的高产GABA酵母菌的发酵条件进行研究,旨在进一步提高其产GABA能力。

1 材料和方法

1.1 菌株

高产 γ -氨基丁酸诱变酵母菌株,由湖南农业大学发酵工程实验室分离保存。

1.2 培养基

种子培养基和发酵培养基 3%葡萄糖,3%蛋白胨,0.3%(NH₄)₂SO₄和0.1%KH₂PO₄。

1.3 发酵条件

采用250 ml三角瓶,装入菌液50 ml,用于发酵实验。分别改变发酵的温度(27 °C、30 °C、33 °C、36 °C)、转速(160 rpm、180 rpm、200 rpm、220 rpm、240 rpm)、种龄(1d、2d、3d、4d)、接种量(1%、2%、3%、4%)及培养时间(1d、2d、3d、4d、5d、6d),采取单因素实验确定最适发酵条件,且每项优化的结果都用于以后的实验。

1.4 GABA含量的测定

发酵液5000 rpm离心后,取3 ml上清液,于640 nm下测定吸光值。以发酵培养基为空白对照。

2 结果与分析

2.1 培养温度对发酵的影响

将菌种在不同温度下发酵培养3d,考察温度对菌株产 γ -氨基丁酸能力的影响。实验结果见图1。图1显示培养温度对菌株发酵 γ -氨基丁酸有一定的影响。培养温度为30 °C时,菌株发酵产 γ -氨基丁酸的量最高,温度偏低或偏高对菌体的生长及 γ -氨基丁酸的生产不利。

2.2 摇床转速对发酵的影响

摇床转速对菌体产 γ -氨基丁酸能力的影响结果见图2。图2结果表明,在不同的摇床转速条件下,发酵液中GABA的产量不同。转速为220 rpm时,发酵液中 γ -氨基丁酸含量最高。转速偏低或偏高对 γ -氨基丁酸的生产都有影响。

2.3 种龄对发酵的影响

作者简介 胡超(1973-),男,硕士,实验师,主要研究方向:微生物发酵

[△]通讯作者 胡超,电话:0731-4617017, E-mail: huchao1281@163.com

(收稿日期:2010-11-19 接受日期:2010-12-13)

分别取不同种龄的种子液，接种于发酵培养基中进行发酵培养，测定发酵液中 γ -氨基丁酸含量。结果如图 3 所示。从图 3 可见 种龄在 2d 时 发酵液中 γ -氨基丁酸含量最高。但超过 2d γ -氨基丁酸含量降低。因此较佳的种龄时间为 2d。

2.4 接种量对发酵的影响

种子菌液分别以 1 %-5 % 的接种量接种于发酵摇瓶中培养，研究接种量对菌株发酵产 γ -氨基丁酸的影响。实验结果表明接种量的变化影响菌体发酵生产 γ -氨基丁酸的能力。接种量为 4 % 时 发酵液中 γ -氨基丁酸含量最高。因此确定最佳接

种量为 4 %。

2.5 培养时间对发酵的影响

采用上述优化的发酵条件进行发酵培养。培养时间分别为 1d、2d、3d、4d、5d 和 6d，考察培养时间对 γ -氨基丁酸生产的影响，结果见图 5。实验结果表明 随着发酵时间的改变 发酵液中 γ -氨基丁酸含量改变。发酵时间延长 γ -氨基丁酸含量提高。但发酵时间超过 4d 发酵液中 γ -氨基丁酸含量趋于平稳 变化不大。因此确定较佳的的培养时间为 4d。

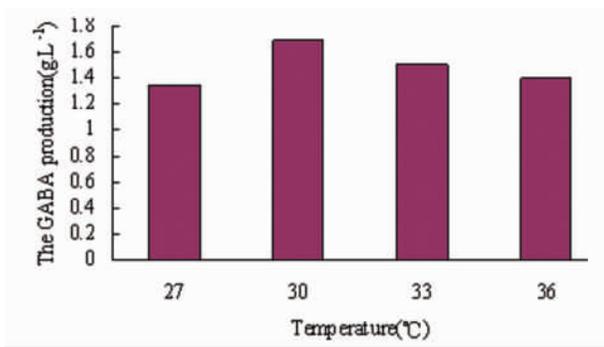


图 1 培养温度对菌体产 γ -氨基丁酸的影响

Fig.1 Effect of culture temperature on the GABA production in fermentation broth of strain

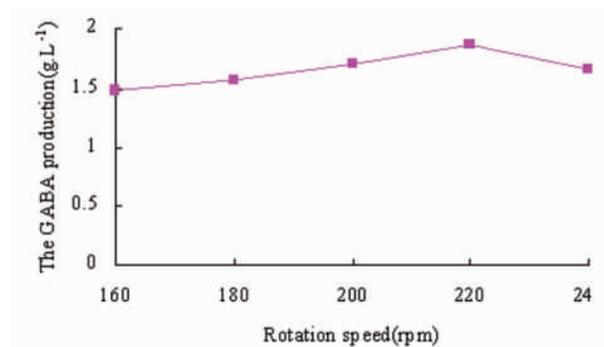


图 2 摇床转速对菌体产 γ -氨基丁酸的影响

Fig.2 Effect of rotation speed on the GABA production in fermentation broth of strain

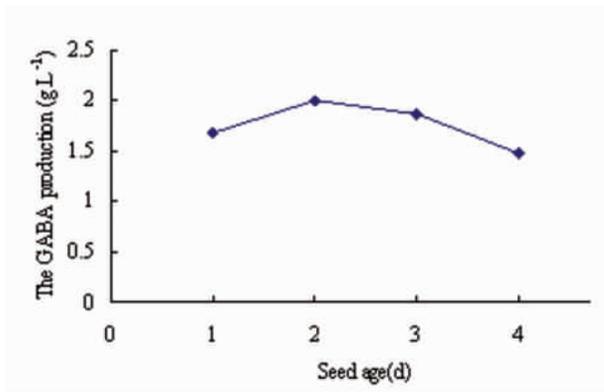


图 3 种龄对菌体产 γ -氨基丁酸的影响

Fig.3 Effect of seed age on the GABA production in fermentation broth of strain

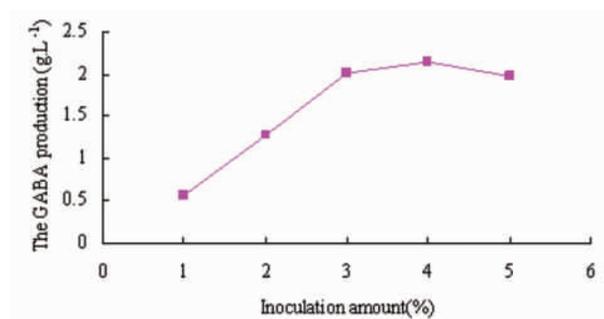


图 4 接种量对菌体产 γ -氨基丁酸的影响

Fig.4 Effect of inoculation amount on the GABA production in fermentation broth of strain

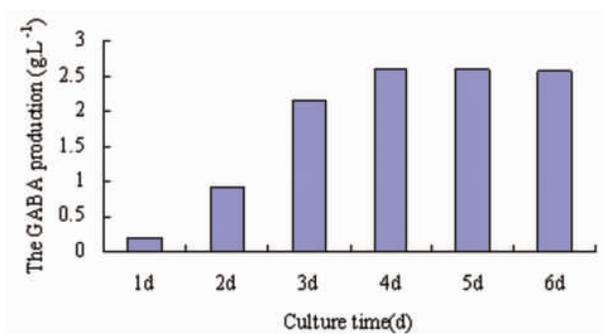


图 5 培养时间对发酵的影响

Fig.5 Effect of culture time on the GABA production in fermentation broth of strain

2.6 最适发酵条件下菌株产 γ -氨基丁酸能力的鉴定

采用上述最适条件对菌株进行发酵培养，测定发酵液中 γ -氨基丁酸含量高达 2.588 g·L⁻¹，比优化前提高了 53 %，可以为诱变菌株发酵生产 γ -氨基丁酸工业化生产提供试验依据。

3 讨论

微生物发酵是一种复杂的生化过程，其发酵好坏涉及诸多因素。微生物细胞具有代谢自动调节系统，使氨基酸不能过量积累。如果要在培养基中大量积累氨基酸，就必须解除或突破微生物的代谢调节机制，也可以考虑筛选渗透性改变的突变菌株。同时微生物发酵生产又受发酵的温度、时间和 pH 值等代谢条件影响^[8]。例如温度对发酵过程的影响是多方面的，它会影响各种酶反应的速率，改变菌体代谢产物的合成方向，影响微生物的代谢调控机制。除这些直接影响外，温度还对发酵液的理化性质产生

影响,如发酵液的粘度、基质和氧在发酵液中的溶解度和传递速率、某些基质的分解和吸收速率等,进而影响发酵的动力学特性和产物的生物合成^[9-10]。最适发酵温度是既适合菌体的生长,又适合代谢产物合成的温度,它随菌种、培养基成分、培养条件和菌体生长阶段不同而改变。理论上,整个发酵过程中不应只选一个培养温度,而应根据发酵的不同阶段,选择不同的培养温度。在生长阶段,应选择最适生长温度;在产物分泌阶段,应选择最适生产温度。但实际生产中,由于发酵液的体积很大,升降温度都比较困难,所以在整个发酵过程中,往往采用一个比较合适的培养温度,使得到的产物产量最高,或者在可能的条件下进行适当的调整。

本论文以选育的遗传稳定高产 γ -氨基丁酸酵母菌株为材料,对其产 GABA 的发酵条件进行了研究。确定了适宜的摇瓶发酵条件为:培养温度 30℃,摇床转速 220 rpm,接种量 4%,种龄为 2d 的种子菌,培养时间 4d。在此发酵条件下,变异菌发酵液中 γ -氨基丁酸含量高达 2.588 g·L⁻¹。

参考文献(References)

- [1] 林谦. γ -氨基丁酸的生理功能概述[J]. 玉林师范学院学报(自然科学), 2010,31(2): 63-66
Lin Qian. Outline of physiologic function of γ -amino butyric acid[J]. Journal of Yulin Normal University (Natural Science), 2010,31(2): 63-66
- [2] 何晓华, 刘世育. γ -氨基丁酸对人末梢血 $\gamma\delta$ T 细胞作用的实验研究[J]. 重庆医学, 2010,39(7): 804-806
He Xiao-hua, Liu Shi-yu. Effects of γ -amino butyric acid on human peripheral blood $\gamma\delta$ T cells in vitro [J]. Chongqing Medicine, 2010,39(7):804-806
- [3] 王芳, 郑德勇, 杨江帆. γ -氨基丁酸茶的研究进展[J]. 武夷学院学报, 2009,28(5): 39-43
Wang Fang, Zheng De-yong, Yang Jiang-fan. The research progress of GABA-tea[J]. Journal of WUYI University, 2009,28(5):39-43
- [4] 丁兴, 周立平, 嘉晓勤, 等. 一株产 GABA 的植物乳酸菌的筛选及鉴定[J]. 中国食品添加剂, 2009,6: 105-109
Ding Xing, Zhou Li-Ping, Jia Xiao-qin, et al. Screening and identification of lactic acid bacteria for producing γ -amino butyric acid [J]. China Food Additives, 2009,6:105-109
- [5] 冯宇, 张颖, 潘超强, 等. 产 γ -氨基丁酸菌株的分离和选育[J]. 食品与发酵工业, 2009,35(11): 56-59
Feng Yu, Zhang Ying, Pan Chao Qiang, et al. Screening and breeding of γ -Amino butyric acid-producing microorganisms [J]. Food and Fermentation Industries, 2009,35(11):56-59
- [6] 李云, 杨胜远, 陈郁娜, 等. 戊糖片球菌 HS2 细胞制备 γ -氨基丁酸的研究[J]. 湖北农业科学, 2010,49(6): 1450-1453
Li Yun, Yang Sheng-yuan, Chen Yu-na, et al. Production of γ -amino butyric acid by pediococcus pentosaceus HS2 [J]. Hubei Agricultural Science, 2010,49(6):1450-1453
- [7] 朱晓立, 邓毛程, 裘晖. 乳酸乳球菌发酵生产 γ -氨基丁酸的条件优化[J]. 中国酿造, 2009,12: 40-42
Zhu Xiao-li, Deng Mao-cheng, Qiu Hui. The optimal control of the γ -amino butyric acid fermentation by L lactis subsp lactis [J]. China Brewing, 2009,12:40-42
- [8] 李爱江, 张敏, 辛莉. 发酵生产过程中发酵条件对微生物生长的影响[J]. 农技服务, 2007,24(4): 124-126
Li Ai-jiang, Zhang Min, Xin Li. Effect of fermentation conditions on microbial growth ferment process [J]. Agriculture Technical Service, 2007,24(4):124-126
- [9] 黄亚辉, 陈建华, 曾贞, 等. 提高茶叶中 γ -氨基丁酸含量的方法研究[J]. 中国农学通报, 2010,26(11): 236-240
Huang Ya-hui, Chen Jian-hua, Zeng Zhen, et al. Study on methods of increasing γ -amino butyric acid of tea leaves [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010,26(11):236-240
- [10] 修志龙, 邵惠鹤. 微生物发酵过程的温度控制[J]. 控制工程, 2005,(12): 89-92
Xiu Zhi-long, Shao Hui-he. Control of temperature in biological ferment process [J]. Control Engineering of China, 2005,(12):89-92