

氨基酸类营养对微生物生长及活性的影响

刘 政, 杨绍斌, 宋小美, 年希俊, 张 昊
(辽宁工程技术大学 理学院, 辽宁 阜新 123000)

摘要:对大多数微生物来说,游离氨基酸及短肽都可通过细胞膜直接吸收,这种吸收行为必然对微生物的生长及活性造成影响。通过对目前该领域的研究情况进行总结概括,并对其在生物冶金领域的应用前景进行了展望。

关键词:氨基酸;微生物;生长;活性

中图分类号:Q935 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2010)05-0013-03

四大类生物分子中蛋白质是生物功能的主要载体,而氨基酸是蛋白质的构件分子^[1]。当氨基酸类营养可透过细胞膜直接被微生物吸收时,对蛋白质的合成速度必然产生相应的影响,进而影响到这些蛋白质所承载的生理活性表现及相关代谢途径的调节。这一现象已被人们所广泛关注并进行了一系列研究,该文将对这些研究加以概述,并就其中的一些规律进行初步探讨。

1 氨基酸对微生物生长的影响

1.1 氨基酸对微生物生长的促进作用

由于所用培养基氨基酸成分和所表达蛋白的氨基酸组成有一定差别,在合成目标蛋白的过程中,菌体会将一部分含量充分的氨基酸合成自身需要而含量不足的氨基酸,添加这些氨基酸就可能增加蛋白的表达。张文超等研究了添加 6 种氨基酸对目标蛋白的影响,结果发现,除胱氨酸对目标蛋白的表达影响不明显外,其它 5 种氨基酸对菌体生长和目标蛋白表达都有一定促进作用,且氨基酸添加量在一定范围内与菌体生长情况成正相关。从而得出结论,认为可以根据目标蛋白的氨基酸比例和培养基中氨基酸比例,确定所需加入氨基酸的种类和数量,达到提高氨基酸利用效率,增加目标蛋白表达量的效果^[2]。

Delraax 曾报道白黄侧耳在菌丝生长阶段需要混合氨基酸,子实体形成阶段仅需要天冬酰

胺^[3]。氨基酸对黑木耳菌丝生长发育的影响并不清楚。因此,在菌丝生长发育阶段添加不同的氨基酸可以了解不同氨基酸对黑木耳菌丝阶段的生理作用及生长发育所需的适宜浓度。赵萍^[4]的研究结果表明,在所试浓度下,酪氨酸抑制黑木耳菌丝的生长,其余氨基酸在低浓度下有利黑木耳菌丝的生长,随着浓度的增加,菌丝生长反而受到一定地抑制。

氨基酸作为龋病菌斑中的氮源性底物,对菌斑的 pH 有调节作用。而且较高浓度的游离氨基酸可作为菌斑微生物代谢氮和碳源的中间转运库,对菌斑代谢起积极的作用^[5]。

不同大豆品种根系分泌物中氨基酸组分对病原菌生长起着一定的作用,其表现的作用受根际氨基酸种类和氨基酸浓度影响较大,对于不同病原菌的作用存在差异^[6]。

17 种氨基酸分别与牛乳复合培养保加利亚乳杆菌,丝氨酸、赖氨酸、亮氨酸与牛乳复合时对保加利亚乳杆菌促生长作用明显,精氨酸、丙氨酸、甘氨酸、谷氨酸和羟脯氨酸与牛乳复合培养保加利亚乳杆菌凝乳时活菌数接近对照组;天门冬氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、酪氨酸、色氨酸和胱氨酸与牛乳复合培养保加利亚乳杆菌凝乳时活菌数低于对照^[7]。

以上研究中发现,氨基酸对微生物生长的影响因种类和浓度不同而不同,一些种类对微生物有促进生长的作用,另一些对微生物几乎没有影响,甚至有些种类对微生物有抑制作用。氨基酸的添加量与其活性表现也相关。低于某一阈值点,添加量与活性表现正相关;高于某阈值点,添加量越大,对微生物的抑制作用越明显。

收稿日期:2010-02-23

基金项目:辽宁省教育厅高等学校科研计划资助项目(2008298);大学生创新计划资助项目(XC20080111)

第一作者简介:刘政(1977-),男,吉林省敦化市人,硕士,讲师,从事活性肽制备和微生物冶金研究。E-mail:liuzheng-workbag@163.com。

1.2 氨基酸对微生物生长的形态学影响

氨基酸的吸收量变化,不仅能对微生物的繁殖速度产生影响,而且对已存在的形体,其可促进特定组织结构的增量表达,甚至可诱导特定组织的表达,这必然带来微生物形态学上的变化。如天门冬酰胺在散射光条件下,可促进黑木耳菌丝形成耳基^[4]。精氨酸可以诱导白色念珠菌菌丝形成,厌氧条件下精氨酸不能诱导白色念珠菌菌丝形成^[8]。不同种类氨基酸对少孢节丛孢菌产生捕食器的影响不同,新生菌丝对氨基酸刺激比较敏感,易产生捕食器;与线虫诱导产生的捕食器相比,氨基酸诱导产生的捕食器对虫体的捕食能力无明显变化;可见少孢节丛孢菌在没有线虫诱导的情况下,加入一定浓度某些种类的氨基酸同样可以产生捕食器,并能捕食线虫幼虫。这为深入开展对捕食线虫性真菌生化方面的研究提供了有价值的资料^[9]。

液生孢子的产孢机制和产孢数量受控于培养基的成分和培养环境的理化条件。研究表明,以不同的氨基酸为氮源的培养基对金龟子绿僵菌菌丝生长及液生分生孢子形成影响极大。以不同的维生素为生长辅助因子显著地影响金龟子绿僵菌菌丝生长及液生分生孢子的形成,添加适宜的生长辅助因子有利于促进液生分生孢子的产生。同时试验还显示,液生分生孢子的产量与培养基氮源的性质有关,复杂的氮源比简单的氮源更有利于液生分生孢子的形成^[10]。

2 氨基酸对微生物活性的影响

微生物中的很多活性物质,或者工业菌的目标产物,其化学本质往往是蛋白质,作为蛋白质的前体物质,氨基酸消耗量极为巨大。根据反应物的浓度决定了反应速度的原理,可以推断,氨基酸的供应情况决定菌类特定物质的表达及活性表现。

发酵工业有机废水经过处理后,往往含有大量氨基酸,发酵工程中加入此类物质可促进菌体生长繁殖,增强菌体抵抗不利因素的能力,提高产酸率^[11]。

农药的安全性引起了社会的普遍关注,氨基酸类农药容易被日光分解或被自然界微生物降解,在土壤、植物体内和果实中不留残毒,其分解产物还可作为农作物的营养物,提高农作物的质

量和产量,因此,氨基酸类抑菌剂的研究正引起人们的重视,有研究表明,某些氨基酸稀土配合物对植物病原菌有抑制作用,且随浓度的增加明显增强^[12-13]。

吴仁人等从油泥混合物中分离筛选得到 1 株烷烃降解菌,初步断定该菌株属于洋葱伯克霍尔氏菌 (*Burkholderia cepacia*),酵母浸膏能促进其对正十六烷的降解,其主要因素为氨基酸对降解的促进作用。谷氨酸、脯氨酸、赖氨酸、缬氨酸及亮氨酸的混合物对降解菌 GS3C 的代谢促进作用最好,其中赖氨酸与脯氨酸为关键的 2 种氨基酸^[14]。

对于一些重要但表达量较少的活性物质,人们希望添加氨基酸来促进这些特定活性物质的表达,该项研究可解决稀缺物种人工培育时带来的活性成分较低问题。试验证明,在制曲时添加各种氨基酸,特别是添加苯丙氨酸(Phe)对辅酶 Q 的产生影响较大,与对照相比,能够提高其产量 1.4 倍。如果与苹果酸钠并用,则可以提高 1.6 倍^[15]。黄酮类化合物是桦褐孔菌菌丝体中多酚类化合物的重要组成部分,也是该菌治疗众多疾病的有效成分之一。然而人工培养桦褐孔菌黄酮等酚类化合物积累甚少,导致药理活性的明显下降。郑维发等研究 3 种氨基酸和 4 种霉菌水提物对深层发酵桦褐孔菌黄酮的积累及其抗氧化能力的影响。研究发现,L-酪氨酸,黄曲霉和毛霉水提物能有效地增加该菌黄酮的积累^[16]。

吕伟等研究红色糖多孢菌发酵生产红霉素过程中几种氨基酸对产量及组分的影响。通过摇瓶试验证实了试验起始向合成培养基中分别添加数种氨基酸,对红霉素的产量与组分都有着重要的影响^[17]。

赵德修的研究表明,天冬酰胺、谷氨酸、缬氨酸对真菌生长速率无明显影响,但对环孢菌 A 形成有显著影响。研究结果表明,无论在发酵开始或者在发酵 18 h 后加这些氨基酸都对环孢菌素 A 的形成有促进作用^[18]。胡景等研究表明,发酵开始添加外源异亮氨酸对 Averme ctin(AVM)十六元大环内酯类抗生素的组成及产量有强烈影响^[19]。

综上所述,一个较为共性的规律是添加目标产物或作用物的前体成分对活性增强往往具有

更为强烈的促进效果。这可能是由于微生物可以省略大量的能量和繁琐的合成途径,直接获得前体物质的结果。

3 展望

现阶段国内的微生物研究尤其是生物冶金研究较少从微生物生长所需营养条件角度进行。俄罗斯科学家将饲料工业废弃的胶原蛋白降解而成的制剂应用于细菌浸矿过程中,对冶金微生物的浸矿效果有良好的促进作用^[20];BIOX 工艺的营养液中含有 5% 的酵母水解物^[21];对于大多数为无机自养性质的浸矿菌来说,氨基酸更容易透过生物膜的短肽直接被吸收,可大大减少能量消耗,省略漫长的全合成途径,直接获得前体物质,从而大大提高浸矿菌的生长和功能性物质的表达。而已经有研究表明,生物量与浸出速率和浸出率有明显的正相关性^[22]。因此,浸矿微生物营养学的研究有可能促进生物冶金效率低问题的有效解决。

参考文献:

- [1] 王镜岩,朱圣庚,徐长法. 生物化学[M]. 北京:高等教育出版社,2002.
- [2] 张文超,陈长华,李素霞,等. Mg^{2+} 和氨基酸对重组大肠杆菌 BL21(DE3) 生长及羧肽酶原 B 表达的影响[J]. 中国生物制品学杂志,2006(1):81-84.
- [3] Delmes J, Mamoun M. Study of Some Growth and Fruiting Factor of Pleuroms Cornucopiae[J]. Comptes Rendus des Sciences de l'Académie d'Agriculture de France, 1980, 66(3): 294-301.
- [4] 赵萍. 氨基酸对黑木耳菌丝生长发育的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 1997, 32(2): 159-162.
- [5] 白雪,徐莉. 菌斑中氨基酸对龋病发展状况的研究[J]. 现代医药卫生, 2006, 10: 1446-1447.
- [6] 张俊英,王敬国,许永利. 大豆根系分泌物中氨基酸对根腐病菌生长的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(2):

- 308-315.
- [7] 安莉,吕嘉彬,李旭华. 氨基酸与牛乳复合对保加利亚乳杆菌生长的影响[J]. 陕西科技大学学报, 2009(1): 65-68.
- [8] 刘泽虎,李岷,刘维达. 氨基酸对白念珠菌形态学影响的研究[J]. 中国真菌学杂志, 2009, 4(2): 65-68.
- [9] 邓长胜,王瑞,杨晓野,等. 氨基酸对少孢节丛孢菌(*Arthrobotrys oligospora*) 捕食器产生的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2009, 40(4): 561-565.
- [10] 宋漳,江英成. 氨基酸维生素对绿僵菌液生孢子形成影响[J]. 福建林学院学报, 2000(3): 251-254.
- [11] 陈晓军. 液体蛋白在谷氨酸发酵生产的应用[J]. 发酵科技通讯, 2006, 35(3): 26.
- [12] 申凤善,李熙英. 氨基酸稀土配合物对植物病原菌及辣椒幼苗生长的影响[J]. 延边大学农学学报, 2008(3): 181-184.
- [13] 单耀军,张进霞,袁洪水,等. 氨基酸铜对 6 种植物病原真菌生长的抑制作用[J]. 河北大学学报, 2006(1): 30-34.
- [14] 吴仁人,党志,易筱筠,等. 氨基酸对烷烃降解菌 GS3C 降解性能的影响[J]. 环境科学研究, 2009(6): 702-705.
- [15] 土佐典照,松田英幸. 添加氨基酸对曲菌生成辅酶 Q 的影响[J]. 中国酿造, 2007(3): 81.
- [16] 郑维发,顾琪,陈才法,等. 氨基酸和霉菌水提取物对深层发酵棒状杆菌菌丝体黄酮积累及其抗氧化活性的影响[J]. 菌物学报, 2007, 26(3): 414-425.
- [17] 吕伟,庄英萍,储炬,等. 氨基酸对利用红色糖多孢菌发酵生产红霉素的产量及组分影响研究[J]. 中国抗生素杂志, 2006(10): 595-561.
- [18] 赵德修. 有关氨基酸对环孢菌素 A 形成的影响[J]. 中国抗生素杂志, 1997(1): 16-18.
- [19] 胡景,储炬,湛颖,等. 前体氨基酸对 avermectin 生物合成的影响[J]. 中国抗生素杂志, 2004(7): 388-392.
- [20] 李廷梁. 俄罗斯难浸金矿的生物冶金技术[J]. 贵金属, 1998, 19(1): 54-56.
- [21] 姚国成,阮仁满,温建康. 难处理金矿的生物预氧化技术及工业应用[J]. 矿产综合利用, 2003(1): 33-38.
- [22] D·内斯托,向平. 用氧化亚铁硫杆菌生物浸出难处理金矿物的机理[J]. 国外金属矿选矿, 2001(11): 11-14.

Effect on Microbial Growth and Activity of Amino Acid Nutrition

LIU Zheng, YANG Shao-bin, SONG Xiao-mei, NIAN Xi-jun, ZHANG Hao

(College of Science of Liaoning Technical University, Fuxin, Liaoning 123000)

Abstract: For most microorganisms, the free amino acids and short peptides can be directly absorbed through the cell membrane, which effect inevitably on the growth and activity of microbe. The current research in this area and its application in the field of bio-metallurgy prospect were summarized.

Key words: amino acid; microbe; growth; activity