

γ -聚谷氨酸的研究进展

何宇^{1,2}, 吕卫光^{2,3,4}, 张娟琴^{2,4}, 张海韵^{2,3}, 张翰林^{2,3}, 李双喜^{2,4}, 郑宪清^{2,3,4}, 白娜玲^{2,3,4*}

(1. 上海海洋大学海洋生态与环境学院, 上海 201306; 2. 上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201403; 3. 农业部上海农业环境与耕地保育科学观测实验站, 上海 201403; 4. 上海市农业环境保护监测站, 上海 201403)

摘要 γ -聚谷氨酸是一种绿色环保型高分子聚合材料, 具有良好的吸附性、保水性和生物相容性, 可以被生物体完全降解, 作为生物絮凝剂、肥料增效剂、保湿剂、药物载体、食品添加剂等应用于农业生产、医药、化妆品、环保和食品等众多领域, 引起了国内外学者的广泛关注。对 γ -聚谷氨酸的结构性质、制备方法、提取和应用方面进行综述, 重点论述了微生物发酵法生产 γ -聚谷氨酸和 γ -聚谷氨酸的应用; 最后, 基于 γ -聚谷氨酸的研究进展和应用, 对 γ -聚谷氨酸制备中现存问题和未来发展方向进行展望。

关键词 γ -聚谷氨酸; 微生物发酵法; 结构性质; 制备方法; 提取; 应用

中图分类号 TQ 317 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)18-0018-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.18.006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Research Progress of γ -polyglutamic Acid

HE Yu^{1,2}, LÜ Wei-guang^{2,3,4}, ZHANG Juan-qin^{2,4} et al (1. Faculty of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. Eco-environmental Protection Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403; 3. Shanghai Experimental Station for Scientific Observation of agri-environment and Cultivated Land Conservation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 201403; 4. Shanghai Agri-environmental Protection Monitoring Station, Shanghai 201403)

Abstract γ -polyglutamic acid is a kind of environmental friendly polymer material, which has good adsorption, water retention and bio-compatibility, and can be completely degraded by organisms. As bio-flocculant, fertilizer synergist, humectant, drug carrier and food additive, γ -polyglutamic acid has been widely used in many fields such as agricultural production, medicine, cosmetics, environmental protection and food. The structural properties, preparation methods, extraction and application of γ -polyglutamic acid were reviewed, and the application of γ -polyglutamic acid produced by microbial fermentation and γ -polyglutamic acid was mainly discussed. Finally, based on the research progress and application of γ -polyglutamic acid, the existing problems and future development direction in the preparation of γ -polyglutamic acid were prospected.

Key words γ -polyglutamic acid; Microbial fermentation method; Structural properties; Preparation methods; Extraction; Application

聚谷氨酸(polyglutamic acid, PGA)由 D-谷氨酸和 L-谷氨酸通过酰胺键聚合而成。由于聚合方式不同, 聚谷氨酸主要有 2 种构型: 通过 α -酰胺键聚合的 α -聚谷氨酸(α -PGA)和通过 γ -酰胺键聚合的 γ -聚谷氨酸(γ -PGA), 分子量在 10~10 000 kDa。其中, α -PGA 多以化学途径合成, 而 γ -PGA 多以生物途径合成。 γ -PGA, 也称多聚谷氨酸, 是一种阴离子型多肽聚合物。 γ -聚谷氨酸最早在 1937 年由 Ivanovic 等^[1]在炭疽芽孢杆菌(*Bacillus anthracis*)的荚膜中发现, 属芽孢杆菌荚膜的主要成分^[1]; 1942 年, Bovarnick 从枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的发酵液中提取到 γ -PGA; 之后, Nagai 等^[2]又在纳豆杆菌(*Bacillus natto*)中发现 γ -PGA 的存在。 γ -PGA 具有高分子量、易分散和无毒无害可食用等优良特性, 是一种新型绿色高分子材料, 被广泛应用于农业生产、食品、医药等众多领域。因此, 笔者对 γ -PGA 的基本特性、生产制备及应用等方面进行综述, 以期对 γ -PGA 的进一步工业化应用提供借鉴。

1 γ -PGA 的结构与性质

γ -PGA 是由 D-谷氨酸和 L-谷氨酸通过 γ -酰胺键聚合

而成的多聚氨基酸, 大多由 500~5 000 个谷氨酸单体组成^[3]。 γ -PGA 相对分子量会随着处理方式和发酵环境的不同而不同, 如随着发酵环境的酸化和温度的升高, 生成的 γ -PGA 分子量会逐渐下降^[4]。另外, 在不同 pH 发酵环境中, γ -PGA 分子表现出不同的构型, 例如在酸性环境下 γ -PGA 呈螺旋状结构, 在中性环境下 γ -PGA 呈树枝状链结构, 在碱性环境下 γ -PGA 呈舒展状结构^[5]。游离型 γ -PGA 的酸度系数(pKa)为 2.23, 熔点为 223.5 °C, 玻璃化温度为 54.82 °C, 热分解温度为 235.9 °C, γ -PGA 钠盐的旋光度为 -70° ^[6]。由于有大量游离亲水性羧基和氢键的存在, 使得 γ -PGA 具有极强的保水性、抗逆性和超强的离子吸附性。通过观察 X 射线衍射谱图, 发现了 γ -PGA 分子中羧基的空间位阻和分子间氢键的双重作用会导致分子链无法保证规整, 阻碍 γ -PGA 结晶, 表现出无定形态。另外, 在生物分解作用影响下, γ -PGA 中的肽键会发生断裂, 使 γ -PGA 直链分子被降解为单体、小分子或是短肽^[7], 因此 γ -PGA 还具有极好的可生物降解性。

2 γ -PGA 的制备方法

随着研究的不断深入, 化学合成法、提取法、酶转化法和微生物发酵法等生产技术被广泛地应用于 γ -PGA 的制备。在制备 γ -PGA 的过程中, 微生物发酵法是 γ -PGA 生产和研究的热点和重点。

2.1 化学合成法 化学合成法包括二聚体缩聚法和传统多肽合成法。二聚体缩聚法制备 γ -PGA 分为 3 个部分, 首先

基金项目 上海市青年科技英才扬帆计划项目(18YF1420900); 上海市科技兴农推广项目(沪农科推字(2018)第 4-14 号)上海市农业科学院卓越团队建设计划(农科创 2017(A-03))。

作者简介 何宇(1996—), 女, 山西祁县人, 硕士研究生, 研究方向: 微生物生态。* 通信作者, 助理研究员, 博士, 从事农业微生物生态研究。

收稿日期 2020-03-18; **修回日期** 2020-04-10

由 D-谷氨酸和 L-谷氨酸反应生成 α -甲基谷氨酸,之后由 α -甲基谷氨酸经凝聚反应生成聚谷氨酸甲基酯,最后经过碱性水解得到 γ -PGA^[8]。 γ -PGA 属于多肽聚合物,因此可使用多肽合成法将氨基酸逐个连接形成多肽。多肽合成法较传统,合成需要进行基因保护、活化、氧化偶联和羧基脱保护等过程,合成工艺繁琐、成本高、得率低,且伴有大量副产物的产出,尤其不适用于制备 20 个氨基酸以上的大分子物质^[9]。

2.2 提取法 纳豆是一种通过枯草芽孢杆菌发酵而成的豆制品,具有一定的黏性,其纳豆黏性胶体的主要组成成分就是 γ -PGA。提取 γ -PGA 时,首先将纳豆煮熟,然后浸泡在去离子水中,待 γ -PGA 完全溶于水中,再将水中的 γ -PGA 用有机溶剂提取出来。因此,早期获取 γ -PGA 大多是在发酵食物纳豆中利用有机溶剂进行提取。提取法虽然简便易操作,但利用该方法所分离出的 γ -PGA 为粗产品^[10],杂质多、成本较高且难以大规模进行生产,应用价值较低。

2.3 酶转化法 酶转化法可以有效地克服多肽合成法和提取法的缺点。酶转化法利用一步酶促反应,将谷氨酸单体连接成 γ -PGA 高分子,高效避免了复杂反应中的反馈和负反馈调节作用,积累得到高浓度的 γ -PGA^[11]。在这个过程中,谷氨酸转肽酶(GTP)作为关键性酶^[12],将谷氨酸基催化后移至受体,然后进行自动转肽。该方法反应温和、产物杂质少、纯度高,有利于后续的 γ -PGA 分离纯化。但使用酶转化法得到的 γ -PGA 聚合度低且分子量小,而 γ -PGA 分子量的大小直接关系到 γ -PGA 的物理性质、化学性质及应用^[13],因此该方法的应用价值同样有待提高。

2.4 微生物发酵法 目前,微生物发酵法是工业生产中普遍采用的最佳 γ -PGA 制备方法,通过菌种筛选、菌体培养和分离纯化制得分子量适宜的 γ -PGA。该方法条件温和、工艺简单,可进行大规模生产。发酵法可分为液体发酵法、固体发酵法和分批发酵法等,发酵过程中主要使用的合成菌为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)和炭疽芽孢杆菌(*Bacillus anthracis*)等芽孢杆菌属。

工业上生产 γ -PGA 多使用液体发酵法,使用液体发酵法易于通过调控发酵过程中的可控因素进而调节产物分子量,最终得到目标分子量产物,有效提高工业产率^[14],可控因素包括 pH、环境温度、培养基离子强度、接种量等。赵晓行^[9]以解淀粉芽孢杆菌 YP-2 为对象,选择不同初始发酵 pH 和发酵温度,结果表明初始 pH 在 7.0~7.5 时具有最高 γ -PGA 产量(25.24 g/L),发酵温度在 37 °C 时达到最高产量(38.39 g/L)。

固体发酵法因使用固体发酵物(如农业、工业产生的废弃物)作为发酵底物而得名,例如牛粪堆肥、味精和食醋生产产生的残留废物都已被研究应用制备 γ -PGA,通过该方法既可获得目标产物,又提高了资源利用率。张彦丽^[15]培养枯草芽孢杆菌 168 产 γ -PGA,通过响应面法优化发酵工艺,50 mL 味精废水接种量为 10.55 mL, γ -PGA 产量达到(53.51±0.92)g/L。韩文静等^[16]利用味精副产品发酵产 γ -

PGA,通过产酸率高低调控最优发酵条件,pH 为 7.0,发酵温度 32 °C, γ -PGA 产量最高达到 57.8 g/L,实现副产物再利用并降低了生产成本。

另外,分批发酵法也被广泛使用于 γ -PGA 制备,通过分批式加入部分培养基营养成分,同时也分批次取出发酵液并进行分离提纯 γ -PGA,有效避免 γ -PGA 蓄积导致的底物负反馈抑制效应,提高产率。目前,对于微生物发酵法产 γ -PGA 的研究集中致力于筛选具有优良性状的菌株,之后将外源基因整合入 γ -PGA 菌株基因组中,以此提高 γ -PGA 产量^[17]。

3 γ -PGA 的生物合成

3.1 γ -PGA 生产菌株 γ -PGA 的生产菌种根据是否需要大量添加谷氨酸单体被分为谷氨酸依赖型(I型)和非谷氨酸依赖型(II型)两大类^[18]。非谷氨酸依赖型菌株的产量相比谷氨酸依赖型菌株要低得多,因此我国主要针对谷氨酸依赖型菌株产 γ -PGA 进行研究。现已鉴定出的 γ -PGA 生产菌株包括芽孢杆菌、梭杆菌、古细菌及真核生物^[19]。其中,在芽孢杆菌的荚膜中, γ -PGA 属主要成分,且菌体本身具有合成 γ -PGA 的效应机制,因此芽孢杆菌较其他生产菌株具有天然优势,是目前制备 γ -PGA 最常用的菌株。可制备 γ -PGA 的芽孢杆菌包括枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、炭疽芽孢杆菌(*B. anthracis*)、地衣芽孢杆菌(*B. an mLoliquefaciens*)、耐热芽孢杆菌(*B. thermotolerant*)和解淀粉芽孢杆菌(*B. an mLoliquefaciens*)^[20]。

3.2 产 γ -PGA 菌株选育 由于天然存在的产 γ -PGA 菌种产量较低,因此需要对高产菌株进行定向筛选,多通过诱变法或基因工程法等方法,以此达到稳定高产的效果。诱变法主要借助物理因子和化学诱变剂完成,物理因子包括紫外线、 γ 射线、激光等,化学诱变剂包括亚硝基胍、硫酸二乙酯、秋水仙素等,经过处理后的某些菌株会由于基因的片段缺失或转移导致基因突变,从而强化或减弱生物的某种特性,达到对特定目标菌株选育的目的。张瑞等^[21]通过紫外线-亚硝基胍复合诱变法选育出一株产 γ -PGA 突变菌株,在多次传代后可保持稳定遗传, γ -PGA 产量由 18.4 g/L 提高至 24.2 g/L。

此外,有学者利用基因工程手段将 γ -PGA 基因片段导入其他菌株中,使目标菌株具有合成 γ -PGA 相关基因簇,基因重组得到产 γ -PGA 的菌株。发生基因重组后的菌种生命力会更强,抗逆性也会相应增强,产 γ -PGA 的周期大大缩短,具有多种优势,但由于基因供体菌和受体菌的合成机能在存在差异,可能导致基因不能正常表达^[22],因此利用该方法发酵生产 γ -PGA 的产量极其不稳定,不能大规模应用于生产中。

3.3 γ -PGA 合成途径 γ -PGA 合成机制一直是研究的热点,分子生物学和代谢工程学等理论都被应用在 γ -PGA 生物合成的研究中。合成菌株不同,对谷氨酸底物的需求也不同, γ -PGA 的代谢机制和合成酶也有所差异。*Bacillus subtilis* IFO 3335 菌株是典型的谷氨酸依赖型菌株,仅需少量外源谷氨酸作为合成活化剂,而培养基中的柠檬酸和硫酸铵经过

菌株自身代谢才是合成 γ -PGA所需单体谷氨酸的主要来源。Goto等^[23]研究发现*Bacillus subtilis* IFO 3335菌株通过 α -酮戊二酸的2种途径合成L型谷氨酸,再通过 γ -PGA合成酶合成 γ -PGA,在这一过程中,谷氨酸单体是菌株经自身代谢而生成的。另外,在*Bacillus subtilis* IFO 3335菌株中检测到高活性谷氨酸消旋酶,是 γ -PGA合成过程中的主要酶^[24]。Cromwick等^[25]通过核磁共振技术研究*Bacillus licheniformis* ATCC 9945A菌株产 γ -PGA途径,利用¹³C标记谷氨酸和柠檬酸,发现在培养基中产生极少量的 γ -PGA,而在培养基中添加外源L-谷氨酸和¹³C标记的柠檬酸后,培养基中产生大量标记 γ -PGA,这表明在*Bacillus licheniformis* ATCC 9945A菌株产 γ -PGA过程中的谷氨酸单体并不是通过碳源分解和三羧酸循环等环节产生的。

γ -PGA的合成酶基因根据 γ -PGA合成后的状态进行命名。当合成的 γ -PGA与细菌细胞壁结合形成荚膜,该 γ -PGA合成酶基因命名为 cap (capsule)基因,当合成的 γ -PGA释放到胞外,该 γ -PGA合成酶基因命名为 pgs (polyglutamate synthase)基因^[26]。在*Bacillus subtilis* IFO 3336中存在3个 γ -PGA合成酶基因($pgsA$ 、 $pgsB$ 和 $pgsC$),其中, $pgsA$ 将 $pgsBCA$ 同源复合体定于细胞膜上, $pgsB$ 为酰胺连接酶,参与催化和聚合反应, $pgsC$ 与乙酰转移酶结构相似,参与 γ -PGA的转运^[27]。

4 γ -PGA的提取

随着研究的深入, γ -PGA的提取方法越来越多,例如膜分离沉淀法、有机溶剂沉淀法、化学沉淀法、分级沉淀法和硅藻土沉淀法等,而前3种提取技术相对成熟。

由于 γ -PGA分子量最高可达200万kDa,因此在制备过程中随着 γ -PGA的积累,培养液黏度变大,影响发酵效果和产量。针对这种情况,Do等^[28]使用膜分离沉淀法,既可从高黏度培养液中有效提取 γ -PGA,又大大节省试剂的使用。首先通过沉淀从培养液中分离出粗 γ -PGA,之后使用超滤浓缩方法利用中空纤维膜获得浓缩液,在这个过程中将培养液pH逐渐调至3并酸化,以此达到降低培养液黏度的目的。酸化处理后的 γ -PGA能量消耗降低17%,乙醇的用量降低75%。

有机溶剂沉淀法通常先将发酵液进行离心处理,在上清液中加入低级醇类,例如甲醇、乙醇,加入体积一般为发酵液的2~4倍,过夜沉淀后离心收集沉淀物,最后进行沉淀物冷冻干燥获得 γ -PGA粗产品,之后进行透析脱盐去除杂质获得纯品^[29]。

化学沉淀法与有机溶剂沉淀法的区别在于将上清液中加入的低级醇类用氯化钠溶液或饱和硫酸铜代替,沉淀物水洗后加入HCl溶液二次沉淀,之后加入蒸馏水溶解 γ -PGA,溶解后上清液中加HS,最后进行沉淀和沉淀物冷冻干燥获得 γ -PGA。

5 γ -PGA的应用

γ -PGA作为一种新型的多功能生物制品,具有无毒无害、可食用、易降解和保水性等特性,在农业生产、医药和食品等多个领域都有较强的应用空间。 γ -PGA的性质与其分

子量密切相关,因此不同分子量 γ -PGA的应用领域不同,根据 γ -PGA不同应用领域所需分子量大小,可将 γ -PGA分为4个类别,即农业类、食品类、化妆品类和医药类,其中前两类所需分子量较低,均小于70万单位,农业类可低至0.5~1.0万单位,后两类所需分子量相对较高,均大于70万单位,例如医药类需要PGA分子量达120~200万单位^[30]。

5.1 γ -PGA在农业领域的应用

5.1.1 保水保湿剂。在我国西北地区,水资源稀缺导致不同程度的干旱灾害出现,也使得植被和作物生长受限,影响我国的农业发展。保水剂对干旱地区植被具有很好的生长效益,是一种具有极强吸水力和保水力的高分子聚合物,可减少土壤中水分的蒸发,同时缓慢释放水分供植物生长利用^[31]。利用电子射线对 γ -PGA进行数秒照射后,可以形成一种具有高吸水性能的树脂,从而吸收大量水分。日本学者在水资源匮乏的阿苏山利用 γ -PGA进行生态绿化试验,他们使用 γ -PGA吸水树脂进行种子包埋试验,将包埋种子撒于寸草不生的沙地,结果表明经过处理的种子在7d后发芽并顺利生长^[32]。

5.1.2 促进种子萌发。种子萌发过程中,脂质过氧化会大大降低种子活力,影响萌发状态,只有消除活性氧引起的过氧化损害,提高过氧化物酶的活性,才能保证种子正常萌发。在不同分子量大小的 γ -PGA中置入绿豆种子,记录种子的发芽势和发芽率,结果表明,高分子量 γ -PGA抑制种子萌发,低分子量 γ -PGA促进种子萌发,但二者的结果均比空白对照组数值高^[33]。王建平等^[34]用不同浓度 γ -PGA溶液进行浸种处理,发现烟草种子的芽长、发芽系数和活力指数等都有明显的提高,其中发芽系数最高提升28%,活力指数较对照提高18.8%,同时种子发芽后过氧化物酶活性增幅达到67.32%,说明 γ -PGA浸种能够提高种子萌发活力。

5.1.3 肥料增效剂。 γ -聚谷氨酸作为肥料增效剂被广泛地应用于农业生产中。目前的研究形式多为无机肥料与 γ -PGA混合使用,而直接施用 γ -PGA菌肥以改善土壤环境,也可取得肥料增效效果。王进^[35]将枯草芽孢杆菌发酵产物直接作为菌肥施用,试验结果表明,添加菌肥与不添加菌肥相比,植株生长明显,产量高30.4%,株高和茎粗也明显优于后者,既促进了植物生长又达到了肥料减量的效果。 γ -PGA显著提高植物对氮、磷和钾的吸收,增强植物对养分的吸收^[36]。Bai等^[37]研究发现PGA施用量对作物增产及肥料利用率提高亦有显著影响。

5.2 γ -PGA在医药领域的应用

5.2.1 药物载体。 γ -PGA主链上含有大量活性较高的游离羧基,可同某些分子结合形成稳定化合物^[33]。 γ -PGA属于典型的聚电解质,与其他聚电解质相比, γ -PGA具有良好的生物降解性,可自行降解为单体,具有无毒副作用。许多天然药物具有难溶性和不稳定性,使生物对药物的利用率大大降低。因此,研究人员利用 γ -PGA及其衍生物的高活性羧基与药物或其中有效成分的结合,解决天然药物难溶于水或不稳定的问题^[38],尤其是对人体细胞有伤害作用的化疗药

物,既提高药效活性,同时也减轻药物毒副作用。

5.2.2 组织工程支架。 γ -PGA 良好的生物相容性被应用于组织工程支架的制备。疏秀林等^[39]采用接枝共聚法将 γ -PGA 与壳聚糖制备成 γ -PGA/CMCS 多孔复合材料,该材料吸水性强,有较高的携药能力,将其与碳酸钙骨水泥进行复合,可有效缩短碳酸钙骨水泥的凝固时间,促进骨骼的生长和愈合,是一种新型植骨生物材料^[40]。

5.3 γ -PGA 在环保领域的应用 在污水处理过程中,常常使用絮凝沉淀法以达到高效的污水处理效果。絮凝剂种类繁多,其品质直接影响着处理效果。 γ -PGA 属线型同聚酰胺高分子,具有优良的黏结性、吸水性和吸附架桥作用,在水污染处理中可作为环境友好型絮凝剂使用,具有广阔的应用前景^[41]。李曼^[42]筛选获得菌株 *Bacillus* sp.DLF-15161 发酵生产絮凝剂 γ -PGA,通过优化试验得到最佳 γ -PGA 用量和最佳絮凝介质高岭土,可对水体中 Cr^{6+} 、 Cu^{2+} 吸附,并达到国家水质排放标准。Bajaj 等^[43]对 γ -PGA 絮凝活性进行研究,优化了 *Bacillus subtilis* R23 发酵生产的 γ -PGA 的絮凝条件、最佳絮凝 pH 和最佳助凝离子,结果显示最终的絮凝活性最大可达 34.7L/OD。

染料行业排放的废水中含有大量有毒有害成分,其中还包括具有强致癌性的原料副产物,若未进行有效的脱色净化处理,会对水资源和人类身体造成严重危害。娄春霞^[20]从污泥中筛选出 γ -PGA 菌株,通过响应面法得到最优培养基,最佳絮凝时间为 3 min,最优条件下絮凝率达 94.7%,对染料废液的净化脱色率达 64.5%,实现了废水絮凝和脱色同步进行。对废水中染料的处理包括物理方法、化学方法和生物脱色方法,利用 γ -PGA 对亚甲基蓝染料进行生物脱色处理,饱和吸附容量为 496 mg/g^[44]。

5.4 γ -PGA 在化妆品领域的应用 γ -PGA 良好的保水性和吸水性同样运用在化妆品制造业中,目前已有化妆品将 γ -PGA 作为原料加以使用,不仅具有美白功效,而且还可保持肌肤水分,加速组织再生。低分子量 γ -PGA 可被皮肤吸收并达到深度保湿效果,高分子量 γ -PGA 可在皮肤表面形成膜结构,有利于保护皮肤水分,具有锁水保湿效果^[45]。何贵东^[46]通过有机-无机杂化技术制备具有良好生物相容性的纳米 Ag/ γ -PGA 水凝胶,在 Balb/c 小鼠动物皮肤上做去除创伤模型,结果发现,该水凝胶具有长效的抑菌效果,炎症反应有明显的好转,在使用水凝胶后 14 d 可完全恢复。陈毓曦等^[47]对不同相对湿度和不同浓度 γ -PGA 保湿性进行测定分析,表征结果显示 γ -PGA 在 1.0 g/L 浓度下具有最佳保湿效果,且保湿效果基本不受环境湿度的影响,验证了 γ -PGA 作为化妆品保湿剂的功效。在纳豆中,纳豆黏性胶体的主要组成成分就是 γ -PGA,日本已将 γ -PGA 列入促进化妆品及保健品吸收的成分表中。

5.5 γ -PGA 在食品领域的应用 在食用领域,高分子量的 γ -PGA 可对食物分子进行包埋,进而掩盖食物的苦涩味。与高分子量的 γ -PGA 相比,低分子量 γ -PGA 更具有低温保护活性^[48]。低分子量的 γ -PGA 可抑制冰晶生长,减少食物

中可冻结水量,避免食物结构被冰晶破坏,从而增加冷冻面食的储藏性。 γ -PGA 中羧基基团在与淀粉发生交联作用后可达到抑制淀粉吸水膨胀的效果,也可使淀粉微观结构更加致密,改善淀粉的流变学性质^[49]。将 γ -PGA 作为食品添加剂添加到酸奶中,随着 γ -PGA 浓度的不断增加, γ -PGA 分子所占体积不断增大,吸附水分子增多,酸奶体系的黏稠度数也随之上升^[50]。

6 结语

γ -PGA 良好的吸附性、保水性和生物可降解性使其应用范围日益广泛,研究也日益深入。目前,国外对于 γ -PGA 在医药和环保领域的应用研究颇多,尤其是可作为药物载体对药物起到缓释的价值,而我国对 γ -PGA 的研究注重于生产菌株的选育和发酵条件的优化,且大多研究都处于实验室阶段,距离实现产业化应用还有一定的距离。在高产菌株的选育过程中,多使用诱变方法,而有研究表明采用基因工程和代谢工程更有助于菌株的筛选,因此在未来的研究中可利用上述 2 种工程对菌株筛选方法进行优化,以达到高效定向筛选的目的。 γ -PGA 的相对分子质量直接影响到其理化性质及应用范围,但对影响机制的研究还处于初级阶段,未来利用分子生物学等理论解释该影响机制可作为 γ -PGA 研究的重点方向之一。同时,还需建立工艺简单、发酵条件温和且成本低廉的生产工艺,扩大 γ -PGA 的应用范围,为 γ -PGA 的进一步发展奠定基础。

参考文献

- [1] IVANOVICS G, ERDÖS L. Ein Beitrag zum wesen der kaspelsubstanz des milzbrandbazillus[J]. Z Immuntatsforsch, 1937, 90: 5-19.
- [2] NAGAI T, KOGUCHI K, ITOH Y. Chemical analysis of poly- γ -glutamic acid produced by plasmid-free *Bacillus subtilis* (*natto*): Evidence that plasmids are not involved in poly- γ -glutamic acid production[J]. Journal of general & applied microbiology, 1997, 43(3): 139-143.
- [3] GOMAA E Z. Cryoprotection of probiotic bacteria with poly- γ -glutamic acid produced by *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*[J]. Journal of genetic engineering and biotechnology, 2016, 14(2): 269-279.
- [4] YAMAGUCHI F, OGAWA Y, KIKUCHI M, et al. Detection of γ -polyglutamic acid (γ -PGA) by SDS-page[J]. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 1996, 60(2): 255-258.
- [5] 田璐. γ -聚谷氨酸的分离纯化及其对鱼糜抗冻性的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
- [6] 朱学亮. γ -聚谷氨酸分子量的调控及其对重金属离子的吸附[D]. 开封: 河南大学, 2018.
- [7] 史文娟, 梁嘉平, 陶汪海, 等. 添加 γ -聚谷氨酸减少土壤水分深层渗漏提高持水能力[J]. 农业工程学报, 2015, 31(23): 94-100.
- [8] KUMAR R, PAL P. Fermentative production of poly (γ -glutamic acid) from renewable carbon source and downstream purification through a continuous membrane-integrated hybrid process[J]. Bioresource technology, 2015, 177: 141-148.
- [9] 赵晓行. 解淀粉芽孢杆菌 YP-2 产 γ -聚谷氨酸的 pH 调控及变温发酵研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2017.
- [10] YAO J, XU H, SHI N N, et al. Analysis of carbon metabolism and improvement of γ -polyglutamic acid production from *Bacillus subtilis* NX-2[J]. Applied biochemistry and biotechnology, 2010, 160(8): 2332-2341.
- [11] LUO Z T, GUO Y, LIU J D, et al. Microbial synthesis of poly- γ -glutamic acid; Current progress, challenges, and future perspectives[J]. Biotechnology for biofuels, 2016, 9(1): 1-12.
- [12] 邵丽, 刘建军, 赵祥颖. 新型生物材料——聚 γ -谷氨酸[J]. 酿酒, 2008, 35(3): 19-21.
- [13] 朱学亮. γ -聚谷氨酸分子量的调控及其对重金属离子的吸附[D]. 开封: 河南大学, 2018.
- [14] OGUNLEYE A, BHAT A, IRORERE V U, et al. Poly- γ -glutamic acid: Production, properties and applications[J]. Microbiology, 2015, 161(1): 1-

- 17.
- [15] 张彦丽.利用味精废水培养枯草芽孢杆菌产 γ -聚谷氨酸及初步表征[J].生态环境学报,2018,27(10):1949-1957.
- [16] 韩文静,梁颖超,张广昊,等.利用味精及副产品发酵产聚谷氨酸条件研究[J].食品与发酵科技,2019,55(3):39-42.
- [17] 王一硕,宋根伟.聚谷氨酸在医药和药用植物种植中的应用[J].山西医药杂志,2015,44(13):1507-1508.
- [18] 耿鹏,吴坤,蔡亚慧,等. γ -聚谷氨酸的合成及应用[J].许昌学院学报,2019,38(5):92-95.
- [19] LUO Z T, GUO Y, LIU J D, et al. Microbial synthesis of poly- γ -glutamic acid: Current progress, challenges, and future perspectives[J]. Biotechnology for biofuels, 2016, 9(1): 1-12.
- [20] 姜春霞.染料废水的微生物净化技术研究[D].大连:大连海事大学, 2016.
- [21] 张瑞,周俊,王舒雅,等.产 γ -聚谷氨酸菌株的诱变选育及其种子液工艺优化[J].生物加工过程,2015,13(1):47-53.
- [22] PENG Y Y, JIANG B, ZHANG T, et al. High-level production of poly (γ -glutamic acid) by a newly isolated glutamate-independent strain, *Bacillus methylotrophicus* [J]. Process biochemistry, 2015, 50(3): 329-335.
- [23] GOTO A, KUNIOKA M. Biosynthesis and hydrolysis of poly (ϵ -glutamic acid) from *Bacillus subtilis* IF03335 [J]. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 1992, 56(7): 1031-1035.
- [24] ASHIUCHI M, TANI K, SODA K, et al. Properties of glutamate racemase from *Bacillus subtilis* IFO 3336 producing poly- γ - glutamate [J]. Journal of biochemistry, 1998, 123(6): 1156-1163.
- [25] CROMWICK A M, GROSS R A. Effects of manganese (II) on *Bacillus licheniformis* ATCC 9945A physiology and γ -poly (glutamic acid) formation [J]. International journal of biological macromolecules, 1995, 17(5): 259-267.
- [26] CANDELA T, MOCK M, FOUET A. CapE, a 47-amino-acid peptide, is necessary for *Bacillus anthracis* polyglutamate capsule synthesis [J]. Journal of bacteriology, 2005, 187(22): 7765-7772.
- [27] ASHIUCHI M, SODA K, MISONO H. A poly- γ -glutamate synthetic system of *Bacillus subtilis* IFO 3336: Gene cloning and biochemical analysis of poly- γ -glutamate produced by *Escherichia coli* clone cell [J]. Biochemical and biophysical research communications, 1996, 263(1): 6-12.
- [28] DO J H, CHANG H N, LEE S Y. Efficient recovery of γ -poly (glutamic acid) from highly viscous culture broth [J]. Biotechnology & bioengineering, 2001, 76(3): 219-223.
- [29] 黄金,陈宁收. γ -聚谷氨酸的性质与生产方法[J].氨基酸和生物资源, 2004, 26(4): 44-48.
- [30] ABDOLALI A, GUO W S, NGO H H, et al. Typical lignocellulosic wastes and by-products for biosorption process in water and wastewater treatment: A critical review [J]. Bioresource technology, 2014, 160(5): 57-66.
- [31] 史文娟,梁嘉平,陶汪海,等.添加 γ -聚谷氨酸减少土壤水分深层渗漏提高持水能力[J].农业工程学报,2015,31(23):94-100.
- [32] CHOI H J, YANG R, KUNIOKA M. Synthesis and characterization of pH-sensitive and biodegradable hydrogels prepared by γ irradiation using microbial poly (γ -glutamic acid) and poly (ϵ -lysine) [J]. Journal of applied polymer science, 2003, 58(4): 807-814.
- [33] 邓观杰.含 γ -聚谷氨酸新产品开发及在化妆品和种子萌发中的应用研究[D].济南:山东大学,2017.
- [34] 王建平,王晓丽,王昌军,等.聚- γ -谷氨酸对烟草种子萌发及苗期生长的影响[J].华中农业大学学报,2007,26(3):340-343.
- [35] 王进.产聚谷氨酸菌种的筛选及其在肥料增效剂方面的应用研究[D].武汉:武汉工程大学,2018.
- [36] ZHANG L, YANG X M, GAO D C, et al. Effects of poly- γ -glutamic acid (γ -PGA) on plant growth and its distribution in a controlled plant-soil system [J]. Scientific reports, 2017, 7(1): 1-13.
- [37] BAI N L, ZHANG H L, LI S X, et al. Effects of application rates of poly- γ -glutamic acid on vegetable growth and soil bacterial community structure [J]. Applied soil ecology, 2020, 147: 1-8.
- [38] SU Y R, YU S H, CHAO A C, et al. Preparation and properties of pH-responsive, self-assembled colloidal nanoparticles from guanidine-containing polypeptide and chitosan for antibiotic delivery [J]. Colloids and surfaces A: Physicochemical and engineering aspects, 2016, 494: 9-20.
- [39] 疏秀林,施庆珊,陈铭杰,等. γ -聚谷氨酸/壳聚糖复合磷酸钙骨水泥制备、表征及性能[J].中国组织工程研究,2017,21(26):4185-4191.
- [40] CHUNG R J, OU K L, TSENG W K, et al. Controlled release of BMP-2 by chitosan/ γ -PGA polyelectrolyte multilayers coating on titanium alloy promotes osteogenic differentiation in rat bone-marrow mesenchymal stem cells [J]. Surface and coatings technology, 2016, 303: 283-288.
- [41] 邵颖,赵彩凤,邵赛,等.微生物絮凝剂 γ -聚谷氨酸的生产及应用研究进展[J].湖南农业科学,2017(8):123-126.
- [42] 李曼.利用微生物发酵生产聚谷氨酸及其在水处理中的应用[D].大连:大连理工大学,2017.
- [43] BAJAJ I B, SINGHAL R S. Flocculation properties of poly (γ -glutamic acid) produced from *Bacillus subtilis* isolate [J]. Food & bioprocess technology, 2011, 4(5): 745-752.
- [44] SAKAMOTO S, KAWASE Y. Adsorption capacities of poly- γ -glutamic acid and its sodium salt for cesium removal from radioactive wastewaters [J]. Journal of environmental radioactivity, 2016, 165: 151-158.
- [45] 徐虹,冯小海,徐得磊,等.聚氨基酸功能高分子的发展状况与应用前景[J].生物产业技术,2017(6):92-99.
- [46] 何贵东. γ -聚谷氨酸水凝胶的制备及其应用研究[D].天津:天津工业大学,2018.
- [47] 陈毓曦,刘燕,杨森,等. γ -聚谷氨酸作为化妆品保湿剂的可行性分析[J].河南科技,2016(21):130-132.
- [48] 宋佳薇,袁志怡,常忠义,等. γ -聚谷氨酸对冷冻面团和面条的抗冻保护作用[J].食品工业科技,2019,40(7):94-100.
- [49] 范逸超,谢新华,沈玥,等. γ -聚谷氨酸对小麦淀粉糊化及流变学特性的影响[J].中国粮油学报,2019,34(5):33-37.
- [50] 李星岩,杨畅,高飞,等.食品添加剂对饮用型高蛋白酸奶质构的改善[J].食品工业,2019,40(5):24-28.