

碳源对固定化细胞生产柠檬酸的影响

王建龙* 侯文华 周定

(哈尔滨工业大学, 哈尔滨 150001)

柠檬酸是利用微生物代谢生产的一种极为重要的有机酸, 广泛应用于食品、饮料、化工、冶金、印染等各个领域。在国外, 近 10 年来, 利用固定化细胞生产柠檬酸已获得较广泛的研究^[1-6], 国内也有学者指出, 柠檬酸发酵的趋向是利用固定化细胞进行连续化生产^[7]。而国内这方面的研究报道很少^[8,9]。我们利用海藻酸钙凝胶包埋固定化黑曲霉细胞生产柠檬酸, 探讨了碳源种类及其浓度对固定化细胞生产柠檬酸的影响。现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 菌种

黑曲霉 *Aspergillus niger* W1-2, 本实验室经诱变选育获得^[10]。

1.2 培养基

1.2.1 种子保藏用斜面培养基: 5% 麦芽汁 + 2% 琼脂。

1.2.2 发酵培养基 (g/L): 蔗糖 140, NH₄Cl 4.0, KH₂PO₄ 1.0, MgSO₄ · 7H₂O 0.25, FeSO₄ 0.1 × 10⁻³, CuSO₄ 0.05 × 10⁻³, ZnSO₄ 0.1 × 10⁻³, MnSO₄ 0.1 × 10⁻³。

1.3 分析方法

1.3.1 总酸度测定: NaOH 滴定法^[11]。

1.3.2 柠檬酸测定: 醋酐-吡啶比色法^[12]。

1.3.3 还原糖测定: 3, 5-二硝基水杨酸比色法^[13]。

1.4 实验方法

参见文献 [8]。

2 结果与讨论

2.1 碳源种类对柠檬酸生产的影响

工业上黑曲霉发酵生产柠檬酸的常用原料是糖蜜 (主要含蔗糖) 和淀粉水解液 (主要含葡萄糖)^[14]。因此, 考察了蔗糖和葡萄糖为碳源对柠檬酸生产的影响。选用乳糖作碳源的目的是为了探讨利用乳制品工业的副产物——乳清作为柠檬酸发酵原料的可行性。

2.1.1 碳源对固定化细胞产酸的影响: 研究了以蔗糖、葡萄糖和乳糖为固定化细胞生产柠檬酸底物的可行性, 结果如表 1 所示。结果表明, 蔗糖是最好的碳源, 其次是葡萄糖, 而乳糖作为碳源, 所产生的

表 1 碳源对固定化细胞生产柠檬酸的适合性

碳源 (g/L)	柠檬酸 (g/L)	柠檬酸产率 (g/g)	残糖 (g/L)
蔗糖 140	41.3	0.384	32.5
葡萄糖 140	32.5	0.350	47.2
乳糖 140	7.9	0.167	92.8

柠檬酸很少。以上述三种碳源为底物, 利用固定化细胞生产柠檬酸的时间进程曲线如图 1 所示。

2.1.2 碳源对固定化细胞和游离细胞产酸的比较: 分别以蔗糖、葡萄糖和乳糖为碳源, 比较了它们对固定化细胞和游离细胞生产柠檬酸的影响, 结果如图 2 所示。

现通信地址: 清华大学环境工程系, 邮编 100084。

本文于 1993 年 7 月 20 日收到。

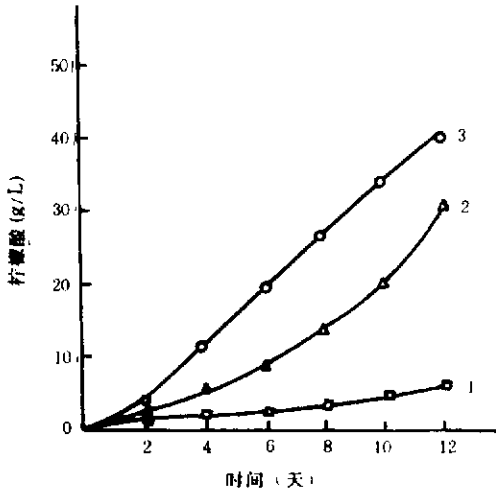


图1 不同碳源生产柠檬酸的时间进程

1. 乳糖, 2. 葡萄糖, 3. 蔗糖

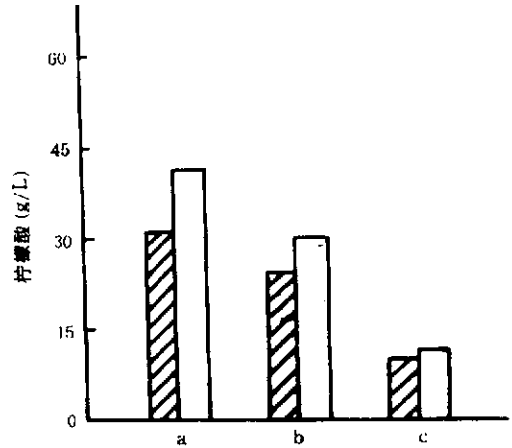


图2 碳源对固定化细胞和游离细胞产酸的比较

a. 乳糖, b. 葡萄糖, c. 蔗糖

▨ 固定化细胞产酸 □ 游离细胞产酸

结果表明, 碳源对黑曲霉生产柠檬酸有显著影响, 无论是固定化细胞, 还是游离细胞, 蔗糖均是最适宜的碳源。

2.2 碳源浓度对柠檬酸生产的影响

2.2.1 最佳碳源浓度的确定: 以蔗糖为碳源, 浓度分别为 60、80、100、120、140、160g/L, 考察了蔗糖浓度对固定化细胞生产柠檬酸的影响, 结果表明, 当蔗糖浓度为 120g/L 时, 柠檬酸产量最高。

2.2.2 蔗糖浓度对柠檬酸产率的影响: 研究了蔗糖浓度在 60—160g/L 范围内变化时, 对固定化细胞生产柠檬酸产率的影响, 并与游离细胞进行了比较, 结果如表 2 所示。结果表明, 利用游离细胞生产柠檬酸时, 当蔗糖浓度为 140g/L 时, 柠檬酸产率最高, 达 92.4%。当蔗糖浓度在 60—160g/L 范围内, 柠檬酸产率均在 80% 以上。固定化细胞生产柠檬酸时, 最适蔗糖浓度较游离细胞低, 为 120g/L。此外, 蔗糖初始浓度对固定化细胞生产柠檬酸的影响比对游离细胞的影响更为明显。

表2 蔗糖浓度对柠檬酸产率的影响

蔗糖浓度 (g/L)	60	80	100	120	140	160
柠檬酸产率 1 (%)	80.2	81.6	86.3	89.2	92.4	82.8
(%)	51.4	56.3	65.0	71.2	62.0	54.6

1. 游离细胞, 2. 固定化细胞

参 考 文 献

- (1) Eikmeier H *et al.* Appl Microbiol Biotechnol, 1984, 20: 365.
- (2) Horitsu H *et al.* Appl Microbiol Biotechnol, 1985, 22: 8.
- (3) Vajja J *et al.* J Mol Catal, 1986, 38 (3): 237.
- (4) Tsay S S *et al.* Biotechnol Bioeng, 1987, 24: 297.
- (5) Honecker S *et al.* Appl Microbiol Biotechnol, 1989, 31: 17.
- (6) Omar S H *et al.* Appl Microbiol Biotechnol, 1992, 36: 518.
- (7) 熊瑞身等. 生物工程概论, 北京, 化学工业出版社, 1991.
- (8) 王建龙等. 哈尔滨工业大学学报, 1993, 25 (2): 54.
- (9) 王建龙等. 微生物学通报, 1993, 20 (4): 215.
- (10) 周定, 王建龙. 食品与发酵工业, 1992, (5): 45.
- (11) 中山大学生物系编. 生物技术导论, 北京: 人民教育出版社, 1981.
- (12) Marrier J R *et al.* J Dairy Sci, 1958, 41: 1683.

[13] 贾淑颖等. 水解工业 1982, (2): 1.

[14] 金其荣等. 有机酸发酵工艺学, 北京: 轻工业出版社, 1989.

Effect of the Carbon Sources on Citric Acid Production by Immobilized *Aspergillus niger*

Wang Jianlong Hou Wenhua Zhou Ding

(Haerbin Industry University, Harbin 150001)

Abstract The cells of *Aspergillus niger* W1-2 were immobilized in calcium alginate gel for the production of citric acid. The effect of carbon sources (sucrose, glucose lactose) and their concentrations on citric acid production were investigated. The experimental results showed that the sucrose was more suitable carbon source than glucose and lactose. Immobilized *A. niger* cells needed a lower initial source concentration (120g/L) than free cells (140g/L) in order to obtain maximal yield of citric acid. Moreover, the carbon sucrose concentration had more remarkable effect on citric acid production with immobilized cells than with free cells.

Key words Citric acid, citric acid production, *Aspergillus niger*, immobilized cell