

# 菲丁对黑曲霉发酵产生柠檬酸的促进效应

李文通 徐定邦

(上海新型发酵厂, 上海)

葡萄糖全合成培养基中添加少量米糠后, 柠檬酸产量显著提高。经分析确定, 米糠中所含的非丁是促进产酸的有效成分之一。本文报道主要的实验结果。

## 材料和方法

### (一) 菌种

黑曲霉 (*Aspergillus niger*) C<sub>4</sub> 菌株。

### (二) 培养基

基础培养基组成 (g/l): 葡萄糖 200, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 2, MgSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 1, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.25, 用蒸馏水配制, 自然 pH。添加试剂后若呈酸性用 1N NaOH 调节至 6 左右, 0.5kg/cm<sup>2</sup> 灭菌 30 分钟。

### (三) 接种和培养

500ml 摇瓶装液量为 80ml, 接种孢子悬浮液后, 置摇床 (280rpm, 偏心距 12.5cm) 33℃ 培养 6 天。

### (四) 分析方法

菲丁测定采用 CuSO<sub>4</sub> 沉淀, 然后用碘量法测定过剩 Cu<sup>++</sup> 的方法<sup>[2]</sup>。柠檬酸测定采用酸碱滴定或 Perlman<sup>[1]</sup> 改进的五溴丙酮法, 葡萄糖、碳水化合物、无机磷、氨基酸及菌体干重测定等均按常规方法。

## 试验结果

### (一) 米糠及醚、酸抽提后各组份的作用

C<sub>4</sub> 菌株在基础培养基中产酸 7% 左右, 添加 1% 米糠后产酸增加到 15% 左右。为找出

米糠中什么成分具有促进作用, 将米糠与五倍体积的石油醚混合, 室温摇动抽提 2 小时, 分层后得到糠粕 (重量约占米糠 4/5) 和醚层, 使醚挥发得到糠油 (重量约占米糠的 1/5)。再将糠粕与 5 倍体积的 0.2N HCl 混合, 室温摇动抽提 2 小时, 离心 (2000 rpm × 10 分钟) 得到上清液。用 NaOH 中和上清液, 离心得到一种白色沉淀, 用水洗数次并干燥。观察糠油、糠粕、上清液、沉淀物对发酵的影响 (表 1)。结果表明从糠粕中用酸抽提方法得到的这种白色沉淀对产酸有显著的促进作用。

### (二) 白色沉淀的物理化学性质

经分析上述白色沉淀有下述性质:

1. 茛三酮反应呈阴性;
2. 蒽酮显色反应呈阴性;
3. 不溶于水、碱和醇等有机溶剂中;
4. 易溶于酸;
5. 酸水解后释放出无机磷。

这些性质和菲丁的特性完全相符。比较此白色沉淀和市售商品菲丁对柠檬酸发酵的影响, 结果二者的促进效应几乎完全相同, 说明该白色沉淀确实是菲丁。

### (三) 菲丁的作用机制

菲丁是环己六醇六磷酸 (植酸) 的钙镁盐。为了分析菲丁的促进作用是否由它的组成成份所引起的, 观察添加各种浓度环己六醇、磷酸盐、钙和镁对发酵的影响, 结果均未显示任何促进作用, 而添加植酸钠、植酸钙、植酸钠钙、植酸

表 1 米糠及醚、酸抽提后各组份的作用

米 糠		糠 油		糠 粕		上 清 液		白 色 沉 淀	
浓度(%)	产酸(%)	浓度(%)	产酸(%)	浓度(%)	产酸(%)	浓度(%)	产酸(%)	浓度(%)	产酸(%)
0.125	11.7	0.025	8.1	0.10	13.4	0.25	7.2	0.05	10.1
0.25	12.5	0.050	8.7	0.20	14.2	0.50	7.4	0.10	11.7
0.50	14.7	0.10	8.5	0.40	14.6	1.0	8.2	0.10	14.8
1.0	15.9	0.20	8.5	0.80	15.7	2.0	13.7	0.40	15.6
2.0	15.6	0.40	9.6	1.6	15.7	4.0	14.7	0.80	16.4

表 2 菲丁对柠檬酸发酵过程的影响

发酵时间 (天)	对 照				0.1% 菲 丁			
	产 酸 (%)	残 糖 (%)	菌体干重 (%)	菌球直径 ( $\mu\text{m}$ )	产 酸 (%)	残 糖 (%)	菌体干重 (%)	菌球直径 ( $\mu\text{m}$ )
1	0.1	19.1	0.86	500—1000	0.3	19.0	0.98	150—220
2	0.5	18.6	1.03		2.5	15.6	1.67	
3	1.1	18.0	1.06		5.7	12.0	1.72	
4	3.0	16.0	1.06		9.1	8.4	1.77	
5	5.1	13.2	1.09		12.6	5.2	1.82	
6	6.9	11.8	1.15		14.8	3.0	1.92	

钠镁后产酸提高幅度与添加菲丁相似,说明对柠檬酸发酵起促进作用的是植酸根。发酵初期菲丁以固体粉末形式存在于培养基,被酸溶解后能络合金属离子,对培养基 pH 有缓冲作用。为了分析菲丁是否由于上述作用而促进产酸,试验了棉性粉末羧甲基纤维素、 $\text{Al}_2\text{O}_3$ 、金属络合剂 EDTA 及中和缓冲剂碳酸钙、柠檬酸钙的作用,结果仅碳酸钙和柠檬酸钙有些促进作用,但不及菲丁显著。说明菲丁并非通过上述途径而起促进作用。观察菲丁对发酵过程的影响,结果如表 2。菲丁不仅使菌体总量增加,而且使菌球变小,菌丝与培养基接触面积大大增加,从而使糖利用速度和产酸速度显著加快。

若以蔗糖为碳源,添加菲丁同样有促进作用,产酸从对照的 5.1% 提高到 10.0%。若以玉米淀粉、薯粉为碳源产酸较高,约 15%。再添加菲丁不能使产酸进一步提高,因为玉米淀粉和

薯粉中已分别含有 0.5% 和 1.0% 菲丁。

## 讨 论

国外曾发现农产品加工物含有促进黑曲霉柠檬酸发酵的因子,但未能确定其化学结构<sup>[1]</sup>。我们发现米糠能促进产酸,并证明菲丁是其中的一种有效成份。

据文献报道,菲丁能促进酶、抗生素和氨基酸的合成<sup>[4-6]</sup>,但就我们所知菲丁促进柠檬酸发酵,国内外尚无报道。

## 参 考 文 献

- [1] Perlman, D.: *Ind. Eng. Chem.*, **16**: 515, 1944.
- [2] 王玉琛: 药物化学, 人民卫生出版社, 北京, 1955 年, 第 215 页。
- [3] Ilczuk, Z.: *Nahrung*, **23**: 627, 1979.
- [4] Dunn, C. G.: *Appl. Microbiol.*, **7**: 212, 1955.
- [5] El-Saied, H. M.: *Process Biochem.*, **12**(8): 31, 1977.
- [6] Fujishira, T.: *J. Fer. Technol.*, **55**: 115, 1977.