

# 直接利用淀粉进行檸檬酸发酵的研究

梁化成 董謨菊  
(北京市食品研究所,北京)

## 前 言

目前世界各国檸檬酸的生产,絕大多数采用发酵法。主要菌种为黑曲霉(*Asp. niger*)。原料为蔗糖、甜菜或甘蔗糖蜜以及淀粉水解液等<sup>[1-6]</sup>。

淀粉原料在北京地区比較容易获得,制备淀粉水解液则需要相当昂貴的耐酸器材设备,而且工序繁雜。如能直接利用淀粉糊化液进行檸檬酸发酵,則可降低成本,簡化生产工序。

A. J. Moyer<sup>[7]</sup>于1953年曾发表关于用玉米和小麦淀粉以及玉米粉的蒸煮糊化液以黑曲霉菌株进行檸檬酸发酵的研究报导。但他的方法需要在淀粉蒸煮时加入少量磷酸或硫酸,以及在发酵过程中添加甲醇。我所从1963年春开始着手“直接利用淀粉进行檸檬酸发酵的研究”,选育分离了数个菌种,进行发酵条件試驗,現将实验室的結果报导于后。小瓶試驗先以可溶性淀粉为碳源的各种发酵条件的研究,以后又进行了玉米淀粉糊化液为碳源的研究。

## 研究方法与結果

### (一) 菌种的选育

一共选用了二株菌种,一株是C-4282号菌,一株是UV-06号菌。C-4282号菌株系由北京地区腐敗水果上分离而得。UV-06号菌株系从C-4282經紫外綫照射后分离得的。

*Asp. niger* C-4282, *Asp. niger* UV-06及水解液发酵用菌株 *Asp. niger* 3912等形态及生理特征上均有所不同,見表1。

### (二) 試驗用培养基的制备与培养条件

生长与发酵用同一种培养基,其成分为:

可溶性淀粉(含淀粉85.2%)或		麸皮	0.5克;
玉米淀粉(含淀粉84.2%)	10克;	蒸馏水	100毫升。
磷酸二氫钾	0.016克;	pH为自然pH	
硝酸鉍	0.125克;	培养温度	28°—31°C
硫酸镁	0.025克;	培养时间	8—10天

表 1 水解液发酵用菌、淀粉发酵用菌及其变异株的形态比较

菌 号	形 态	生 理	来 源
<i>Asp. niger</i> 3912	孢子 褐色 孢子数量 ++ 菌被色白 褶大 菌核 — 在淀粉上产酸圈 +	淀粉水解液、葡萄糖、蔗糖上均可生长,并产酸 可溶性淀粉和玉米淀粉上生长,但产酸极低	从中国科学院微生物研究所的 <i>Asp. niger</i> 3939 选育而得
<i>Asp. niger</i> C-4282	孢子 黑色 孢子数量 +++ 菌被微黄 褶大 菌核 +++ 在淀粉上产酸圈 +++	蔗糖、葡萄糖、糊精、麦芽糖上均生长,产酸低 可溶性淀粉,玉米淀粉均能生长,加甲醇或乙醇产酸率为 50—60%,不加甲、乙醇产酸率为 20—29%	由霉败水果上选出
<i>Asp. niger</i> UV-06	孢子 黑色、有齿 孢子数量 + 菌被色黄 多褶 菌核 — 在淀粉上产酸圈 +++++	可溶性淀粉、玉米淀粉、白薯粉上均生长并产酸 不需加甲醇或乙醇,产酸率达 50—60%,菊芋上生长,产酸极低	由 <i>Asp. niger</i> C-4282 菌株经紫外线照射得到之变异菌株

于 500 毫升锥形瓶中加压灭菌。含可溶性淀粉的培养基以 1 公斤灭菌半小时,含玉米淀粉的培养基需用较高的压力和较长的灭菌时间,具体压力和时间于结果中列出。

(三) 分析方法<sup>[8]</sup>

总酸以 0.1 NNaOH 直接滴定。

柠檬酸按五溴化丙酮重量法测定。草酸按中华人民共和国药典(1953)高锰酸钾氧化法测定。

(四) *Asp. niger* C-4282 号菌株条件试验

在我们进行的多种发酵条件试验中,各个菌株表现了各不相同的产酸特性。其中 C-4282 号菌株产酸率一般在 25% 左右,而添加一定量的甲醇或乙醇后,产酸率一般在 50—60%,最高可达 70%,具体条件与数据,见表 2—5。

表 2 添加甲醇的产酸试验

甲 醇 添 加 量	0.5%	1.5%	2.0%	对 照
转 化 率 (%)	27.5 24.70	22.25 25.65	45.85 39.64	23.77 22.1

表 3 不同时间添加甲醇的产酸试验

添 加 时 间	接 种 时 加 入	菌 膜 生 成 后 加 入	对 照
添 加 量	2%	2%	—
转 化 率 (%)	48.6 50.6	42.8 41.6	22.1 22.1

表 4 添加乙醇后的产酸试验

添 加 量	2 %	2 %	3 %	3 %	对 照
添 加 时 间	接种时加入	长膜后加入	接种时加入	长膜后加入	—
转 化 率 (%)	42.8	45.9	56.8	52.7	25.9
	46.5	44.0	50.2	50.2	24.2

表 5 添加磷酸二氢钾的产酸试验

醇 类 添 加 量	磷 酸 二 氢 钾 含 量	转 化 率 (%)
2 % 甲 醇	0.015%	67.5
		64.1
	0.01%	70.2
		71
3 % 乙 醇	0.015%	65
		66.7
	0.01%	60.3
		65.8
对 照	0.015%	68.9
		62.6
	0.005%	63.53
		60.7
	0.015%	27.6
		28.0
	0.01%	27.6
		26.5
	0.005%	32.00
		30.82

由上列 4 表可见，在发酵初期选不同时间添加不同量的甲醇或乙醇能提高 C-4282 菌株的产酸率。一般文献上报道甲醇能促进柠檬酸的生成，与我们的试验结果相符，产酸率达 50—60%，与水解液发酵法产酸率相近。

可溶性淀粉经 121℃ 蒸煮半小时后，冷却至 20°—30℃ 时呈液体状，但玉米淀粉经高压灭菌后，热时呈流动状，冷却后呈半固体状。在不同压力与不同时间下糊化其产酸率不同，结果见表 6。

玉米淀粉在 2 公斤 4—5 小时糊化以后，转化率与可溶性淀粉相近，以下试验均采用此条件。

以玉米淀粉为碳源的培养基，添加麸皮后其产酸率反而稍低，结果见表 7。

由表 7 可见，不加麸皮者产酸反而较高，故以后试验中省却麸皮。

#### (五) 变异菌株 *Asp. niger* UV-06 的产酸能力

变异菌株 *Asp. niger* UV-06 在形态及生理上均与原菌株相异，在不添加甲、乙醇的

表 6 玉米淀粉糊化条件对产酸的影响

糊 化 条 件		加入乙醇量(%)	转 化 率 (%)
压 力 (公斤)	时 间 (小时)		
2	3.5	2	28.5
		3	32.7
2	3.5	—	20.2
2	4	2	28.9
		3	34.8
2	4.5	2	34.8
		3	45

表 7 麸皮添加与否的对比试验

糊 化 条 件	2 公 斤 / 5 小 时		2 公 斤 / 4 小 时	
乙 醇 量	3 %			
麸 皮 量	—	0.5 克	—	0.5 克
转 化 率(%)	71.4	51.6	60.9	50.2
	62.6	66.2	66.2	51.8

情况下产酸率亦可达 50—60%，有关不同碳源不同营养盐及糊化条件等对此菌株产酸的影响，留待下报。培养基及培养条件同 *Asp. niger* C-4282 菌株。现将初步产酸试验列于表 8。

表 8 UV-06 菌株的产酸结果\*

糊 化 条 件	2 公 斤 / 5 小 时	
磷 酸 二 氢 钾	0.008%	0.004%
转 化 率 (%)	60.0	51.0
	54.0	56.9
	55.8	64.0

\* 以玉米淀粉为碳源。

## 结 论

1. 由结果看出，C-4282 菌株在可溶性淀粉与玉米淀粉培养基上，均能进行柠檬酸发酵。添加甲醇或乙醇能使产酸率达到 50—60%，不添加产酸率只 22—30%。三角瓶的试验结果表明，C-4282 菌株是一株能直接利用淀粉发酵柠檬酸的新菌株。

2. 黑曲霉 UV-06 变异菌株在普通玉米淀粉培养基上，不需添加甲醇或乙醇，其产酸率可达 50—60%。是个较为理想的新菌株。

3. 普通玉米淀粉必须经过 2 公斤/平方厘米，4 小时以上糊化，柠檬酸发酵才能达到与可溶性淀粉上相同的产酸率。

## 参 考 文 献

- [1] Prescott, S. C. and Dunn, C. G.: *Industrial Microbiology*, 3rd edition, 533—577, McGraw-Hill Book Company, Inc. New York, 1959.
- [2] Underkofler, L. A. and Hickey, R. G.: *Industrial Fermentations*, 1. 420—443, 1954.
- [3] 朝井勇宣编集：微生物工业，1956 年出版，37—387 页，朝仓书店，日本东京，(C) 1956。
- [4] 友田宜孝等：霉的利用工业，微生物讲座 5，第一版，9—68 页，共立出版株式会社，日本东京，昭和 31 年 7 月。
- [5] 无锡轻工业学院 合编：工业发酵，下册，1962 年 11 月第一版，217—231 页，中国财政经济出版社出版，北京，1962。
- [6] 陈驹声：高等酿造学，上册，1954 年再版，266—290 页，商务印书馆，上海，1954。
- [7] Moyer, A. J.: *Appl. Microbiol.* vol. 1, 1—7, 1953.
- [8] 周元怡：发酵工业分析讲义，第四章，北京轻工业学院印刷，1961 年。

## STUDY ON THE CITRIC ACID FERMENTATION DIRECTLY UTILIZING GELATINIZED STARCH BY SPECIALLY SELECTED STRAINS OF *ASPERGILLUS NIGER*

LIANG HUA-CHENG AND TUNG MO-CHU

(Peking Food Institute, Peking)

1. A selected strain of *Asp. niger* "C-4282" and one UV-irradiated mutant "UV-06" were described, and by these strains of *Asp. niger*, the gelatinized corn starch might be directly used for citric acid fermentation with good yields.

2. By using the *Asp. niger* "C-4282" strain, with the addition of 2% methanol or 3% ethanol to the fermentation medium, total acid yields of 50—60% based on the corn starch supplied were obtained.

3. By using the *Asp. niger* "UV-06" mutant, without the addition of methanol or ethanol to the fermentation medium total acid yields of 51.23—60.08% based on corn starch supplied were obtained.

4. In the total acid content of the fermentation mash, the percentages of citric acid and oxalic acid were found to be 90—95% and 2—4% respectively.