

米根霉高效利用玉米淀粉生产乳酸的 发酵条件优化

徐忠义¹, 闫巧娟¹, 江正强^{2,*}, 蔡 威¹, 王新磊²

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 研究米根霉 HB12 利用玉米淀粉生产乳酸的发酵条件优化。从土壤中新筛选得到一株以高浓度玉米淀粉为原料发酵生产乳酸的米根霉 HB12。通过单因素及正交试验, 得到最佳发酵培养基组成(g/L)为: 玉米淀粉 140、NH₄Cl 2、KH₂PO₄ 0.3、MgSO₄·7H₂O 0.3、ZnSO₄·7H₂O 0.05、CaCO₃ 80; 最佳培养条件为: 摇瓶装液量 50mL/250mL, 接种量为 2.5×10^6 个孢子, 35℃、200r/min 培养 108h。该条件下, 菌株最大产酸量为 104.9g/L, 产酸速率为 0.97g/(L·h), 对玉米淀粉的转化率达 74.9%, 产酸量提高了 49.4%。此菌株能够直接高效利用价格低廉来源广泛的玉米淀粉发酵生产乳酸, 具有很好的工业应用前景。

关键词: 米根霉; 乳酸; 发酵条件; 玉米淀粉

Optimization of Fermentation Conditions for Efficient Production of Lactic Acid from Corn Starch by *Rhizopus oryzae*

XU Zhong-yi¹, YAN Qiao-juan¹, JIANG Zheng-qiang^{2,*}, CAI Wei¹, WANG Xin-lei²

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: The fermentation conditions of lactic acid produced from corn starch by *Rhizopus oryzae* were investigated. *Rhizopus oryzae* HB12 was newly isolated from soil samples. Based on single factor and orthogonal tests, the optimal fermentation medium was composed of 140 g/L corn starch, 2 g/L NH₄Cl, 0.3 g/L KH₂PO₄, 0.3 g/L MgSO₄·7H₂O, 0.05 g/L ZnSO₄·7H₂O and 80 g/L CaCO₃. The optimal fermentation conditions were 2.5×10^6 spores in 50 mL of medium cultured at 35 °C, 200 r/min shaking for 108 h in 250 mL flask. Under the optimal fermentation conditions, the yield of lactic acid produced from corn starch was up to 104.9 g/L with a conversion of 74.9%. The volumetric production rate was up to 0.97 g/(L·h), which revealed 49.4% enhancement compared with the original conditions. Therefore, *Rhizopus oryzae* HB12 can effectively utilize inexpensive corn starch for the production of lactic acid, which will have good prospect for industrial application.

Key words: *Rhizopus oryzae*; lactic acid; fermentation condition; corn starch

中图分类号: TQ920.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)05-0150-05

乳酸(lactic acid)学名为 2-羟基丙酸, 是一种重要的多用途有机酸, 是世界上应用广泛的三大有机酸之一。乳酸、乳酸盐及其衍生物广泛用于食品、制药、制革、纺织、环保和农业中^[1]。近年来, L-乳酸作为生产聚乳酸的原料而倍受重视。聚乳酸作为无毒、可降解的生物相容性高分子材料可用来制造生物可降解塑料、绿色包装材料和药用修复材料等, 缓解了能源及

环境危机, 因此具有广阔的应用前景^[2]。

乳酸的生产方法有化学合成法、酶法以及微生物发酵法。微生物发酵法生成乳酸因其原料来源广泛、生产成本低、产品光学纯度高、安全性好等优点而成为生产乳酸的重要方法^[3], 因此近年来利用微生物发酵生产乳酸已经成为乳酸研究热点之一。生产菌株的选育是发酵生产乳酸研究中最重要的工作之一, 提高菌株发

收稿日期: 2011-04-08

基金项目: 国家“973”计划项目(2007CB714304)

作者简介: 徐忠义(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为利用纤维质材料发酵有机酸。E-mail: xuzhongyi0707@sina.com

* 通信作者: 江正强(1971—), 男, 教授, 博士, 研究方向为酶与发酵工程。E-mail: zhqjiang@cau.edu.cn

酵水平是降低乳酸生产成本的关键措施之一^[4]。目前生产乳酸的菌株主要有霉菌中的根霉属和细菌中的乳酸菌属^[5-6]。根霉属中常用的菌种有米根霉(*Rhizopus oryzae*)、行走根霉(*R. stolonifer*)、小麦曲根霉(*R. ritici*)和美丽根霉(*R. elegans*)等^[7]。由于米根霉发酵生产乳酸具有光学纯度高、营养需求简单、好氧发酵及产物容易提纯等优点,而成为国内外工业生产乳酸普遍采用的菌种。为节省乳酸发酵成本,近年来关于乳酸的研究主要集中在发酵原料的选择^[8-10]。玉米来源丰富、价格低廉,因此在乳酸工业生产中广泛使用玉米加工产物,如玉米生粉、玉米淀粉等。国内外专家学者在利用玉米生粉、玉米淀粉发酵生产乳酸方面进行了大量的研究。如白冬梅等^[11]研究了淀粉酶、纤维素酶等对米根霉发酵玉米生粉生产乳酸的影响,确定了各种酶的最佳用量,在玉米生粉质量浓度为140g/L时乳酸产量达71.65g/L。Tay等^[12]利用米根霉在旋转纤维床生物反应器中发酵玉米淀粉生成L-乳酸,乳酸的收率接近100%,最高质量浓度达127g/L,生成速率最高达1.65g/(L·h)。

本实验从河北承德地区的土壤中筛选到的一株米根霉HB12,该菌能直接利用高浓度玉米淀粉高效转化为乳酸。重点研究该菌发酵生产乳酸的营养需求及发酵条件,为其应用于工业生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂、菌种与培养基

乳酸标准品 美国Sigma公司;玉米淀粉 福建塞翁福食品股份有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

米根霉(*Rhizopus oryzae*)HB12,由本实验室筛选并保存。

初始发酵培养基(g/L):葡萄糖 100, (NH₄)₂SO₄ 2, KH₂PO₄ 0.3, MgSO₄·7H₂O 0.3, ZnSO₄·7H₂O 0.05, CaCO₃ 70(单独灭菌), 自然pH值。

1.2 方法

在初始发酵培养基中,接种100μL(孢子数为10⁸个/mL)的HB12孢子悬浮液,于装有50mL发酵培养基的250mL三角瓶中,37℃、200r/min发酵培养96h,收集发酵液于12000r/min离心10min,取上清液稀释适当倍数检测其乳酸产量,以筛选出最佳培养基成分及培养条件。

1.2.1 最佳培养基成分的确定

分别选取100g/L的葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、糯米淀粉、玉米淀粉、马铃薯淀粉、红薯淀粉代替基础培养基中的碳源,其余组分不变,接种和培养方法不变,考察不同碳源对HB12发酵产酸的影响。

确定最佳碳源后,分别选取2g/L的酵母膏、蛋白胨、豆粕粉、硫酸铵、尿素和氯化铵代替基础培养基

中的氮源,其余组分不变,接种和培养方法同上,比较不同氮源对HB12发酵产酸的影响。

在确定最佳碳源和氮源后,分别添加50、60、70、80、90g/L的CaCO₃,其他成分相同,比较不同中和剂碳酸钙添加量对HB12发酵产酸的影响。

为探讨KH₂PO₄、ZnSO₄·7H₂O、MgSO₄·7H₂O、FeSO₄·7H₂O对HB12产酸的影响,在预实验基础上,设计四因素三水平的正交试验,以确定最佳无机盐离子质量浓度。

1.2.2 最佳培养条件的确定

温度的影响:分别在30、33、35、37℃和40℃条件下发酵培养,考察不同温度对乳酸产量的影响。接种量的影响:将10⁸个/mL的孢子液分别接种15、25、50、100μL和200μL,考察不同接种量对乳酸产量的影响。装液量的影响:采用250mL三角瓶,装液量分别为30、40、50、60mL和70mL,其他条件相同,考察不同装液量对乳酸产量的影响。

1.2.3 产酸历程

在最佳培养基组成和最佳培养条件下,进行摇瓶发酵,分别于24、36、48、60、72、84、96、108h和120h时取样,所得发酵液于12000r/min离心10min,取上清液稀释适当倍数检测其乳酸产量,确定达到最大产酸量的时间。

1.2.4 检测方法

葡萄糖测定^[13]:采用高效液相色谱分析,色谱柱为Waters的氨基糖柱,流动相为乙腈-水(体积比75:25)的混合液,流速为1mL/min,进样量为20μL,柱温为40℃。

L-乳酸定量检测^[14]:高效液相色谱分析,色谱柱为迪马公司的C₁₈反相柱(4.6mm×250mm, 5μm);流动相为0.01mol/L的磷酸氢二铵溶液,用磷酸调pH值至2.6,经0.45μm孔径合成纤维素酯膜过滤后,超声脱气1h;流速0.8mL/min,检测波长210nm,进样量20μL,柱温为室温。建立乳酸工作曲线外标方程,依此计算乳酸产量。

$$\text{转化率}/\% = \frac{\text{乳酸产量}/(\text{g/L}) \times \text{发酵液体积}/\text{L}}{\text{初始总糖质量浓度}/(\text{g/L}) \times \text{发酵液体积}/\text{L}} \times 100$$

$$\text{产酸速率}/(\text{g}/(\text{L} \cdot \text{h})) = \frac{\text{乳酸产量}/(\text{g/L})}{\text{发酵时间}/\text{h}}$$

2 结果与分析

2.1 培养基成分的优化试验结果

2.1.1 碳源对米根霉HB12生产乳酸的影响

表1 不同碳源对米根霉 HB12 乳酸产量的影响

Table 1 Effect of carbon source on the yield of lactic acid produced by *Rhizopus oryzae* HB12

碳源种类	葡萄糖	蔗糖	麦芽糖	糯米淀粉
乳酸产量/(g/L)	70.2 ± 0.9	80.7 ± 1.2	59.0 ± 1.4	56.6 ± 2.2
转化率/%	70.2	80.7	59.0	56.6
碳源种类	玉米淀粉	马铃薯淀粉	红薯淀粉	
乳酸产量/(g/L)	70.6 ± 1.3	59.9 ± 1.9	62.1 ± 0.8	
转化率/%	70.6	59.9	62.1	

如表1所示,米根霉 HB12 利用单糖、二糖以及淀粉类碳源发酵生产乳酸能力都较为良好,其中利用蔗糖能力最强,其次为玉米淀粉。考虑到工业化生产乳酸的发酵成本,选用玉米淀粉作为发酵碳源。利用低成本的玉米淀粉生产高附加值的乳酸对合理开发利用玉米、循环利用资源、发展农村经济有着积极而又重要的意义^[15]。

表2 不同质量浓度的玉米淀粉对米根霉 HB12 乳酸产量的影响

Table 2 Effect of corn starch concentration on the yield of lactic acid produced by *Rhizopus oryzae* HB12

玉米淀粉质量浓度/(g/L)	乳酸产量/(g/L)	转化率/%
60	40.2 ± 0.3	67.0
80	45.5 ± 1.0	56.9
100	70.1 ± 1.2	70.1
120	77.3 ± 1.1	64.4
140	85.8 ± 1.3	61.3
160	93.4 ± 1.5	58.4

试验进一步优化了玉米淀粉的添加量,结果如表2所示。HB12 可以较好地利用不同质量浓度的玉米淀粉,尤其是能有效利用高质量浓度的玉米淀粉来生产乳酸。其中140g/L 玉米淀粉能产 85.8g/L 的乳酸,转化率为 61.3%,160g/L 玉米淀粉能产 93.4g/L 的乳酸,转化率为 58.4%。综合考虑成本、产量以及转化率等因素,选取 140g/L 玉米淀粉为发酵碳源。通常米根霉能产生淀粉酶和糖化酶,因此可以利用淀粉或淀粉质原料直接发酵生产乳酸^[4]。试验在发酵液中检测到淀粉酶酶活和葡萄糖,可以推测米根霉 HB12 通过分泌淀粉酶等将高质量浓度的玉米淀粉有效地分解为小分子糖,进而转化为乳酸。

2.1.2 氮源对米根霉 HB12 生产乳酸的影响

表3 不同氮源对米根霉 HB12 乳酸产量的影响

Table 3 Effect of nitrogen source on the yield of lactic acid produced by *Rhizopus oryzae* HB12

氮源种类	乳酸产量/(g/L)	转化率/%
氯化铵	91.0 ± 2.7	65.0
硫酸铵	85.8 ± 0.7	61.3
尿素	89.2 ± 1.2	63.7
豆粕粉	31.5 ± 1.0	22.5
酵母膏	50.6 ± 1.9	36.2
蛋白胨	66.1 ± 1.5	47.2

确定最佳碳源后,进一步研究不同氮源对米根霉 HB12 产酸影响。氮源对米根霉 HB12 发酵产乳酸的影响试验如表3所示。不同氮源对 HB12 产酸影响较大。无机氮源比有机氮源更利于该菌发酵生产乳酸,当氮源为无机氮源时产酸量和转化率均高于有机氮源。其中当氮源为氯化铵时产量最高,达 91.0g/L,转化率达 65.0%。无机氮源比有机氮源价格低,故使用氯化铵作为氮源有助于降低生产成本。

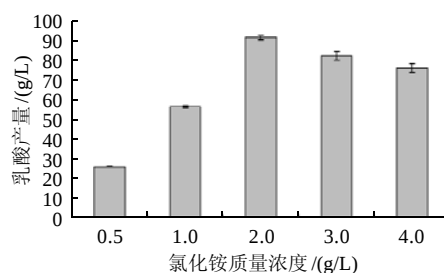


图1 不同质量浓度的氯化铵对米根霉 HB12 乳酸产量的影响

Fig.1 Effect of NH_4Cl concentration on the yield of lactic acid produced by *Rhizopus oryzae* HB12

试验进一步优化了氯化铵的添加量结果如图1所示,氯化铵添加量对 HB12 产酸影响很大,当氯化铵质量浓度较低时乳酸产量也不高,随着氯化铵质量浓度的增大,乳酸产量不断提高,当超过 2g/L 时乳酸产量下降。故选择 2g/L 的氯化铵作为发酵氮源。氮源的质量浓度对微生物的菌体生长和产物产量有较大的影响,当氮源不足时会使得菌体生长缓慢或产物产量过低,而当氮源质量浓度过高,又会造成菌体快速生长,消耗过多的糖,使得产物质量浓度较低^[16]。

2.1.3 碳酸钙添加量对米根霉 HB12 生产乳酸的影响

表4 碳酸钙添加量对米根霉 HB12 乳酸产量的影响

Table 4 Effect of CaCO_3 concentration on the yield of lactic acid produced by *Rhizopus oryzae* HB12

碳酸钙质量浓度/(g/L)	乳酸产量/(g/L)	转化率/%
50	82.4 ± 0.7	58.9
60	85.3 ± 1.9	61.0
70	91.1 ± 0.7	65.0
80	96.6 ± 1.0	69.0
90	92.1 ± 0.7	65.8

从表4可以看出,当碳酸钙添加量小于 80g/L 时,不能够充分中和发酵产生的乳酸,产物抑制明显,但当添加量超过 80g/L 时,又使得发酵后期液体变黏稠,影响了发酵过程。因此,选取碳酸钙添加量为 80g/L。随着发酵的进行,产酸量不断增加, pH 值也随之下

降,从而抑制发酵的继续进行。因此乳酸发酵过程一般通过添加中和剂来调节 pH 值进行发酵。碳酸钙作为乳酸发酵过程的中和剂,可将乳酸沉淀下来,减轻乳酸的反馈抑制作用,其添加量对细胞生长及产酸均有一定的影响^[17]。若加入量过少,乳酸中和不完全,产物抑制不能解除,导致产酸量不高;若加入量过多,使发酵后期发酵液变黏稠甚至凝固,也会影响发酵过程,从而使得乳酸产量下降。因此,在发酵过程中确定合适的碳酸钙添加量是非常必要的。

2.1.4 无机盐离子对米根霉 HB12 生产乳酸的影响

为确定最佳的 KH_2PO_4 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的无机盐离子质量浓度,设计四因素三水平正交试验,因素和水平设计方案和结果见表 5。

表 5 无机盐离子正交试验结果分析

Table 5 Results and analysis of orthogonal tests for inorganic ions

试验号	A KH_2PO_4 / (g/L)	B $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ / (g/L)	C $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ / (g/L)	D $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ / (g/L)	乳酸产量 / (g/L)	转化率 / %
1	1(0.2)	1(0.04)	1(0.2)	1(0.00)	88.7 ± 2.0	63.3
2	1	2(0.05)	2(0.3)	2(0.04)	95.1 ± 1.8	68.0
3	1	3(0.06)	3(0.4)	3(0.08)	83.6 ± 3.5	60.0
4	2(0.3)	1	2	3	96.0 ± 1.1	68.6
5	2	2	3	1	92.4 ± 1.1	66.0
6	2	3	1	2	94.0 ± 1.5	67.0
7	3(0.4)	1	3	2	75.1 ± 0.5	53.7
8	3	2	1	3	81.0 ± 1.1	57.9
9	3	3	2	1	90.6 ± 1.7	64.7
k_1	89.1	86.6	87.9	90.6		
k_2	94.1	89.5	93.9	88.0		
k_3	82.3	89.4	83.7	86.9		
R	11.8	2.9	10.2	3.7		
主次顺序 A > C > D > B						
优组合 $A_2B_2C_2D_1$						

根据表 5 的极差分析,可得出影响因素的主次顺序是 $A > C > D > B$ 。 KH_2PO_4 的质量浓度对产酸的影响较大,其次是 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的影响最小,最优组合为 $A_2B_2C_2D_1$,经验证,此条件下得乳酸产量为 96.5g/L,均高于其他试验组,故使用 $A_2B_2C_2D_1$ 作为最佳无机盐离子,即 KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的添加量分别为 0.3、0.3、0、0.05g/L 较为合适。经优化后得到发酵培养基最佳组成成分为:玉米淀粉 140g/L、 NH_4Cl 2g/L、 KH_2PO_4 0.3g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3g/L、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g/L、 CaCO_3 80g/L。

2.2 产乳酸发酵条件的优化试验结果

2.2.1 温度对米根霉 HB12 生产乳酸的影响

表 6 不同温度对米根霉 HB12 乳酸产量的影响

Table 6 Effect of temperature on the yield of lactic acid produced by *Rhizopus oryzae* HB12

温度 / °C	乳酸产量 / (g/L)	转化率 / %
30	77.8 ± 1.4	55.5
33	90.5 ± 1.1	64.7
35	96.5 ± 0.5	68.9
37	92.2 ± 0.7	65.9
40	83.7 ± 0.9	59.8

从表 6 可以看出,在 35℃ 以下时,随着温度升高,产酸量也明显提高,随着温度继续上升,产酸量下降,40℃ 时乳酸产量下降至 83.7g/L。35℃ 时达到最大值,乳酸产量为 96.5g/L,转化率为 68.9%。

微生物的生长和产物的合成都是在各种酶的催化下进行的,温度是保证微生物生长和产酶的重要条件之一。当温度过低或过高时,菌体生长缓慢,淀粉酶等活性不高,都会影响到乳酸产量。米根霉 HB12 在 35℃ 时菌体生长最好,乳酸产量最好,因此本试验选择 35℃ 作为培养温度。

2.2.2 接种量对米根霉 HB12 生产乳酸的影响

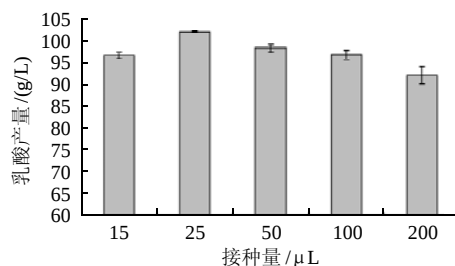


图 2 不同接种量对米根霉 HB12 乳酸产量的影响

Fig.2 Effect of inoculum concentration on the yield of lactic acid produced by *Rhizopus oryzae* HB12

如图 2 所示,随着接种量的增加,HB12 发酵产酸量先增加后减少,在接种量为 25μL(即孢子数为 2.5×10^6 个)时乳酸产量最高,其产量为 102.1g/L,转化率为 72.9%。当孢子数过少时,菌体生长过慢,不利于米根霉生产乳酸,增大接种量可缩短菌体生长达到高峰的时间,从而使乳酸生成提前,但随着接种量的继续增大,菌体生长过快,营养物质消耗过快,菌体早衰,使发酵后劲不足,从而影响产酸量及转化率。

2.2.3 装液量对米根霉 HB12 生产乳酸的影响

确定最佳接种量后,进一步考察不同装液量对 HB12 产酸的影响,结果如表 7 所示。在 250mL 三角瓶中,随着装液量的增加,HB12 发酵产酸量先增加后减少。装

液量越小, 相同培养条件下溶氧越大; 反之亦然。当装液量 30mL 逐渐到 50mL 时, 乳酸产量明显增大, 在装液量为 50mL 时, 产酸量和转化率均最高, 对原料利用最充分。继续增大装液量, 发酵产生乳酸的量又有减少的趋势。装液量主要影响其溶氧, 由此推断出该菌利用淀粉发酵产乳酸要求一定的溶氧即可, 溶氧过大或过小均不利于乳酸的产生。因此, 选择 50mL 装液量。

表 7 装液量对米根霉 HB12 乳酸产量的影响
Table 7 Effect of medium volume on the yield of lactic acid produced by *Rhizopus oryzae* HB12

装液量/mL	乳酸产量/(g/L)	转化率/%
30	74.5 ± 2.2	53.2
40	91.6 ± 1.3	65.5
50	102.1 ± 1.5	72.9
60	95.3 ± 0.6	68.1
70	83.9 ± 0.2	59.9

2.3 产酸过程

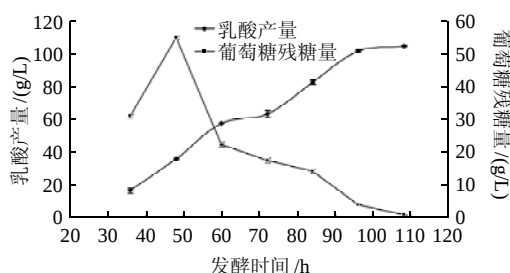


图 3 米根霉 HB12 发酵玉米淀粉产乳酸历程

Fig.3 Time producing course of lactic acid from corn starch by *Rhizopus oryzae* HB12

在最佳培养基和最优发酵培养条件下, 考察其生产乳酸过程, 结果见图 3。米根霉前期迅速生长, 有效分解玉米淀粉, 葡萄糖质量浓度快速上升, 随着发酵的进行, 米根霉不断利用葡萄糖生成乳酸, 葡萄糖质量浓度逐渐减少直至全部被利用。乳酸产量方面, 36h 之前基本不产酸或产酸速度很慢, 发酵 36h 后乳酸产量迅速增加, 在发酵 96h 时已基本完成产酸过程, 随着残糖的耗尽, 乳酸几乎不再增长, 在 108h 时乳酸产量达到最大值 104.9g/L, 之后产酸量不再增加, 平均产酸速率为 0.97g/(L·h), 对玉米淀粉的转化率达 74.9%。

许多研究者针对米根霉发酵高质量浓度玉米淀粉生产乳酸做了大量的研究。如史连生等^[18]利用米根霉在 3L 发酵罐中, 将质量浓度为 130g/L 玉米淀粉转化为 94.1g/L 乳酸, 对糖的转化率为 79.6%, 在工业生产规模的 64L 发酵罐中, 乳酸产量仅为 101.6g/L。而本实验米根霉

HB12 在不使用淀粉酶、糖化酶等酶制剂的作用下可直接将 140g/L 玉米淀粉高效转化为乳酸, 通过摇瓶发酵 108h 产乳酸 104.9g/L, 转化率达 74.9%。生产成本低, 操作简单, 转化率高, 具有很好的工业应用前景。

3 结 论

新筛选得到一株米根霉 HB12 可利用高质量浓度玉米淀粉生产乳酸。通过单因素试验和正交试验得到其最佳培养基组成(g/L)为: 玉米淀粉 140, NH₄Cl 2, KH₂PO₄ 0.3, MgSO₄·7H₂O 0.3, ZnSO₄·7H₂O 0.05, CaCO₃ 80; 最佳培养条件为: 250mL 摇瓶装 50mL, 接种量为 2.5 × 10⁶ 个孢子, 35℃、200r/min 培养 108h, 发酵乳酸产量最高可达 104.9g/L, 产酸速率为 0.97g/(L·h), 对玉米淀粉的转化率达 74.9%, 具有很好的工业应用前景和科研价值。

参考文献:

- [1] 杜连祥. 乳酸菌及其发酵制品生产技术[M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1999: 183.
- [2] 王蓉, 王远, 陈国平, 等. 米根霉发酵生产 L(+)-乳酸研究进展[J]. 重庆大学学报: 自然科学版, 2004, 27(12): 95-97.
- [3] 乔长晟, 汤凤敏, 朱晓红. L-乳酸的生产及研究现状[J]. 宁夏农学院学报, 2001, 22(3): 75-79.
- [4] 杨登峰, 关妮, 潘丽霞, 等. 微生物发酵 L-乳酸的研究进展[J]. 中国酿造, 2009(5): 1-3.
- [5] SOCCOL C R, STONOGA V I, RAIMBAULT M. Production of L-lactic acid by *Rhizopus* species[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1994, 10(4): 433-435.
- [6] DATTA R, SHIH P T, PATRICK B, et al. Technological and economical potential of polylactic acid and lactic acid derivatives[J]. FEMS Microbiol Rev, 1995, 16(2/3): 221-231.
- [7] 张兴跃, 于海鹏. 乳酸的现代应用研究及其生产概述[J]. 化工科技市场, 2009, 32(6): 28-31.
- [8] BULUT S, ELIBOL M, OZER D. Effect of different carbon sources on L(+)-lactic acid production by *Rhizopus oryzae*[J]. Biochemical Engineering Journal, 2004, 21(1): 33-37.
- [9] YIN P, NISHINA N, KOSAKAI Y, et al. Enhanced production of L(+)-lactic acid from corn starch in a culture of *Rhizopus oryzae* using an air-lift bioreactor[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1997, 84(3): 249-253.
- [10] 刘娟, 刘昊智, 陈海晏, 等. 大米原料根霉发酵制 L-乳酸的发酵条件研究[J]. 南昌大学学报: 工科版, 2001, 23(3): 99-104.
- [11] 白冬梅, 赵学明, 胡宗定. 玉米生粉发酵生产 L-乳酸的研究[J]. 化学工程, 2002, 30(3): 50-54.
- [12] TAY A, YANG S T. Production of L(+)-lactic acid from glucose and starch by immobilized cells of *Rhizopus oryzae* in a rotating fibrous bed bioreactor[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2002, 80(1): 1-12.
- [13] 王丽丽, 刘汉成, 王葵阳, 等. HPLC 法测定半纤维素水解液中糖的研究[J]. 分析测试学报, 1994, 13(3): 51-54.
- [14] 王新磊, 闫巧娟, 江正强, 等. 地衣芽孢杆菌发酵淀粉产乳酸条件的优化[J]. 中国酿造, 2010(7): 23-27.
- [15] 刘亚伟. 玉米淀粉生产及转化技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 1-14.
- [16] 于雷, 雷霆, 裴晓林, 等. L-乳酸发酵培养基中氮源的优化[J]. 食品科技, 2007(6): 49-53.
- [17] ELMAHDI I, BAGANZ F, DIXON K, et al. pH control in microwell fermentations of *S. erythraea* CA340: influence on biomass growth kinetics and erythromycin biosynthesis[J]. Biochemical Engineering Journal, 2003, 16(3): 299-310.
- [18] 史连生, 姜文侠, 成琰如, 等. 玉米淀粉深层发酵生产 L-乳酸的研究[R]. 西安: 中国发酵工业协会, 2005.