一九八二年
（创刊号）
无锡轻工业学院学报
JOURNAL OF THE WUXI INSTITUTE OF LIGHT INDUSTRY

从土壤分离选育L-苹果酸产生菌的研究

金其荣　张继民　魏　炜　唐宝英　吕志倩

摘　　要

本文叙述了苹果酸的快速简易定性法和纸层析定性法。概述了用曲霉属的一些菌种的L-苹果酸直接发酵的实验过程和方法。由土壤里分离出温氏曲霉、黑曲霉黄曲霉和米曲霉。实验中使用了C_0^{60}射线、5氟尿嘧啶和高温分别地或复合地处理一些菌种。我们从黄曲霉野生型菌株中获得到一些变异株，L-苹果酸产生菌株黄曲霉T18（具有抗Zn^{++}和耐高温）在适宜条件下摇瓶中积累L-苹果酸3.31克/分升，总淀粉重量转化率为30%。

一、前　　言

L-苹果酸是食品、医药业工上重要的食用酸之一，它广泛地存在于未成熟的苹果、酸栗、樱桃、山渣等水果中。在水中溶解度大，酸味柔和风味别致，解渴爽口，质地稳定，深受人们喜爱。1967美国食品与药物管理局正式宣布苹果酸为安全食用酸。[1]因此，它无论在造果子冻、果酱、饮料、糖果、合成香料和牙膏中作为酸味剂；或是在人造黄油、蛋黄酱中作为乳化剂；还是在制药工业中作为糖浆和片剂药的调味剂以及在烟草工业上作为改善烟叶香味的辅助料等方面，都有十分令人满意的效果。此外，在葡萄酒酿造中可用它除去酒石酸盐，还可促进酒的陈化。

随着人们生活水平的不断提高，在国外食品工业中，L-苹果酸有取代柠檬酸的发展趋势。因而近几年中许多国家和地区的科研部门竞相研究。

苹果酸制造方法主要有三种：（一）从水果汁中提取L-苹果酸。可是果汁中L-苹果酸含量甚低（0.4～0.7%），而且杂酸很多，分离操作繁琐，同时，水果价格较高，很不经济，不宜工业化生产。（二）化学合成法：以苯为原料经较复杂的过程合成为DL-苹果酸，目前国外已经工业化，可是，产品用作食品添加剂需要高度精制，有些国家对化学合成的DL-苹果酸的安全性持怀疑态度。（三）以粮食为原料，通过微生物发酵生产L-苹果酸，一般采用1。二步法：即先由根霉菌发酵糖类为延胡索酸，再经酵母或细菌转化为L-苹果酸。2。一步法又称直接法：即由粮食原料经L-苹果酸产生菌发酵，直接生产L-苹果酸。一步法工艺简单，成本较低，但是主要关键在于要有高产菌种。国外文献报导：黄曲霉、寄生曲霉和米

本文收到日期：1982年8月31日。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

曲霉能发酵糖类产生L-苹果酸，可是工业化生产尚未见报道[2]。

目前，国内L-苹果酸生产尚是一个空白。很少单位进行研究，迄今尚未见到有关这方面的研究报导。然而近年来需要的单位和部门越来越多，日本、西德厂商向我外贸部门提出购买粮食为原料的L-苹果酸以供食用。因此，L-苹果酸工业的开发，具有商业价值和经济效益。出于生产上需要和学术上探索L-苹果酸生物合成机理，我们选择了此课题进行研究。从1982年2月开始从山东、安徽、辽宁等省，江苏省的徐州，南京、镇江、扬州、常州、苏州和浙江省的杭州、宁波等地采集土样，通过大量的分离工作，从中分离出各种曲霉野生菌株265株，经过筛选、诱变获得几株L-苹果酸产生菌。本文对这几株霉菌的获得、筛选、诱变及其形态特征等作一个简单介绍。

二、材料与方法

（一）土 样

山东、安徽无为，辽宁、沈阳、徐州、南京、镇江、扬州、常州、苏州、杭州、宁波等地菜园土、果园土若干。

（二）培养基

1．察氏琼脂培养基

2．5B′e麦芽汁琼脂培养基

3．$C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ 10%，$(NH_4)_2SO_4$ 0.2%，KH_2PO_4 0.01%，K_2HPO_4 0.05%，$MgSO_4$ 0.01%，$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.01%，$MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.01%，$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05%，NaCl 5ppm $CaCO_3$ 6%（预先干热灭菌）

4．培养基3＋1%酵母膏

5．培养基3＋2% $CaCO_3$（预先干热灭菌）＋3%琼脂

6．$C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ 8%，$(NH_4)_2SO_4$ 0.2%，K_2HPO_4 0.015%，KH_2PO_4 0.015%，$MgSO_4$ 0.01%，NaCl 5ppm．$FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 5ppm

7．基本培养基：$C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ 8%，$MgSO_4$ 0.01%，$(NH_4)_2SO_4$ 0.2%，NaCl 5ppm．K_2HPO_4 0.015%，KH_2PO_4 0.015%，$MnSO_4 \cdot H_2O$ 2ppm．补充$FeSo_4 \cdot 7H_2O$ 5ppm．10ppm

8．培养基3＋0.1%豆饼水解液

9．培养基3＋0.05%豆饼水解液

10．$C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ 10%，K_2HPO_4 0.015%，KH_2PO_4 0.015%，$(NH_4)_2SO_4$ 0.2%，NaCl 7.5 ppm．$FeSO_4 7H_2O$ 0.05%，$MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.01%，$MgSO_4$ 0.01%，$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.01%，豆饼水解液0.1%，$CaCO_3$ 6%（预先干热灭菌）

11．培养基10＋$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2%

以上培养基0.8公斤/厘米²灭菌20分钟。豆饼水解液pH为4含总氮约为6%即可。

（三）实验室常用设备

往复式摇床120次/分，振幅6厘米；旋转式摇床208转/分，偏心距5厘米。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

（四）主要试剂

2.7—萘二酸（瑞士产），5—氟尿嘧啶25毫克/毫升（上海第三制药厂产品），DL—苹果酸（上海试制剂二厂进口分装），葡萄糖酸、酒石酸、延胡索酸、α-酮戊二酸、顺丁烯二酸、乳酸、琥珀酸、柠檬酸和衣康酸等均系国产。

（五）分析方法

1．L-苹果酸快速定性法：本法系作者等研制出来的，其原理等将另文报告。由于发酵培养液中含有6% $CaCO_3$，发酵产生有机酸时，具有下列反应：

$$CaCO_3 + H_2M \longrightarrow CaM + CO_2\uparrow + H_2O$$

式中 H_2M 为有机酸，CaM 为有机酸钙。因此，在发酵终了的发酵液中应加入与 $CaCO_3$ 等当量的 H_2SO_4 使 pH = 1，以游离出有机酸：

$$CaM + H_2SO_4 \longrightarrow CaCO_4 + H_2M$$

$$CaCO_3 + H_2SO_4 \longrightarrow CaSO_4 + CO_2\uparrow + H_2O$$

过滤除去硫酸钙沉淀及菌丝体。并用85℃热水洗涤滤渣3次，弃去滤渣，滤液与洗水合并。

取上述溶液5毫升，加15%三氯化钛（$TiCl_3$）3滴（约0.2毫升），在数分钟内出现白色沉淀，则证明有L-苹果酸存在。最低检出浓度为0.05%（W/V）。

柠檬酸存在时，在常温下无反应；煮沸时，则有同样反应，生成白色沉淀。

2．纸层析定性方法：鉴于常用有机酸纸层析法图谱中苹果酸斑点与柠檬酸斑点往往分离不清，我们对正丁醇、甲酸、水；正丁醇、乙酸、水溶剂系统不同配比进行了多次试验，确定了其最佳配比。

新华滤纸5号，15×20厘米。各取发酵液酸化后滤液与5%标准苹果酸点样，点样量2微升。间距为2厘米。

展开剂：正丁醇：85%甲酸：水＝5：5：1，依常法层析。

显色剂：0.2%溴甲酸绿：0.05%甲基红：0.5N NaOH＝1：1：0.15。用喉头喷雾器将显色剂均匀喷至上述层析滤纸上，蓝色底面上显出红色斑点。

发酵滤液在层析图谱上出现与标准苹果酸的Rf值相同的斑点，即确定该发酵液中含有苹果酸，接种的发酵液菌种确定系产L-苹果酸菌株。

3．L-苹果酸定量测定：采用2.7—萘二酚法[3]，

（六）从土壤中分离霉菌

依常法进行分离。使用培养基1号。待平板上长出黄绿色以至黑褐色曲霉菌落后，挑少许接种在培养基2号上，经30℃培养4日后，置于冰箱中备用。

（七）初筛方法

所分离出的曲霉菌株用培养基3号（500毫升三角瓶装液100毫升），置往复摇床上，32℃培养6日，采用快速定性法与纸层析定性法，2.7—萘二酸定量法，来测定发酵液中L-苹果

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

酸的含量，借此进行初筛。

（八）C_0^{60}-5-氟尿嘧啶复合诱变

使用培养基2号供分离用，培养基9号供摇瓶培养。

将出发菌株在培养基2号斜面上，32℃活化培养48小时，用0.85% NaCl无菌水洗至250毫升三角瓶（内有无菌玻璃珠若干）振荡30分钟打散分生孢子，血球计数板计数后再用0.85% NaCl无菌水调整分生孢子浓度为3×10^5个/毫升备用。

以无菌移液管吸取3毫升上述分生孢子悬浮液于10×100毫米灭过菌的试管中进行C_0^{60}照射，照射剂量为10万伦琴。照射前后进行平板培养计数。

取C_0^{60}照射过的分生孢子悬浮液2毫升加入0.08毫升浓度为25毫克/毫升的5—氟尿嘧啶，使最终浓度为1毫克/毫升，摇匀，于往复式摇床上，32℃振荡12小时。稀释涂平板，32℃培养36小时后，再移接至培养2号斜面上，32℃培养3日接摇瓶，采用培养基9号，500毫升三角瓶装液80毫升32℃于旋转式摇床培养6日进行L-苹果酸定性、定量。

（九）高温处理

将C_0^{60}—5—氟尿嘧啶复合诱变后分孢子悬浮液1毫升置于无菌的10×100毫米试管内，于不同温度的恒温水浴中处理不同时间后。与上述方法一样，通过培养基2号平板和摇瓶培养，最后测定L-苹果酸量。

（十）耐锌试验

采用培养10号进行摇瓶试验测定L-苹果酸量。

三、结　果

（一）L-苹果酸产生菌和获得

从各种土样中共分离出265株曲霉菌株，其中有若干是黑曲霉，经粗筛发现黑曲霉能产生柠檬酸而不产生L-苹果酸，再经复筛结果，绝大部分菌株产L-苹果酸量甚少，只有如下几株能产L-苹果酸，但产酸率也不高。

表（一）　几株产L-苹果酸野生菌株**

菌　　号	76*	365	505	37	73	304
产柠檬酸否	产	不产	少量	不产	不产	不产
L-苹果酸%（W/V）	2.42	0.98	1.31	0.81	1.40	0.97

* 76号菌最高产酸在往复式摇床上取得的，使用培养基3号，其余用旋转式摇床。32°C培养6日后测定

** 所有试验均重复2次

（二）选出菌株和形态描述及初步鉴定[4]

1．76号菌株：菌落初期淡黄色，渐转深成淡褐色。在麦芽汁琼脂培养基上生长迅速，广泛扩展，单个菌落5～6日可布满9厘米直径的培养皿。菌落背面无色，有放射状褶纹。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

分生孢子头球形，初期无色，老熟转淡褐色，直径120μ。小梗双层，遍生，初生小梗 φ5×20μ，次生小梗 ϕ4×8μ，无色。分生孢子梗无色，光滑，宽14μ，长3～5毫米。分生孢子球形，直径4—5μ，淡褐色，光滑，但在高倍显微镜下观察有一麻点，根据上述特征鉴定属于温氏曲霉(ASPergillus Wentii)。

2．365号菌株：菌落初期白色，后转黄绿，有放射状沟纹，在麦芽汁琼脂培养基上广泛扩展，背面淡黄色。分生孢子头半球形，略放射，直径30～40μ。小梗单层，大的孢子头上有些双层，半球面上生，初生小梗 ϕ3×7μ，次生小梗 2.5×6μ，无色，分生孢子梗无色，极粗糙，直径14μ，顶端逐渐加粗达20μ呈棒状接圆拱形顶。囊分生孢子黄色，近球形4×5μ，光滑留有斑点，初步鉴定本菌株为黄曲霉(ASPergillus flavus)

3．505号菌株：菌落初期白色后转黄绿，在麦芽汁琼脂培养基上扩展，生长快，气生菌丝生长旺盛，无色。分生孢子头半球形，放射，大小差别很大，直径50～130μ不等顶囊烧瓶形。小梗单层，半球面上生。分生孢子梗粗糙，粗细不匀，直径13μ，长达数毫米，无色。分生孢子球形，糙粗，直径4μ，色如菌落。初步鉴定本菌株为米曲霉(ASPergillus oryzae)。

4．73号菌株：菌落初期白色，转黄绿，在麦芽汁琼脂平板上广泛扩展，生长快。菌丝树枝状分枝，生长旺盛，无色。分生孢子头亚球形，放射，大小差别很大，直径30～120μ不等。顶囊烧瓶形。小梗单层，ϕ5×8μ，无色，遍生。分生孢子梗粗糙，粗细不匀，少数出现分叉，直径12μ，长达几毫米，无色，有足细胞。分生孢子球形，粗糙，直径4μ，色如菌落。初步鉴定为米曲霉(ASPergillus oryzae)。

5．304号菌株：菌落初期白色，后转黄绿，有放射状沟纹。分生孢子头球形，直径40～80μ，小梗单层，ϕ4×7μ，无色，遍生。分生孢子梗粗糙，粗细不匀，直径14μ，无色，长100～500μ，顶端膨大成扇形顶囊。分生孢子球形，粗糙，直半3～4μ，黄色。初步鉴定本菌株是黄曲霉(ASP.flavus)。

6．37号菌株：同73号菌株。

(三) C_0^{60}-5-氟尿嘧啶复合诱变采用出发菌株为37号、73号、365号、304号和505号五株

经处理其致死率如表(二)所示。

表(二) 单因素和复合因素诱变5个菌株的致死率(%)

诱变因素 \ 致死率% 菌号	37	73	505	365	304
C_0^{60}(10万伦琴)	99.95	99.08	99.95	99.37	99.80
C_0^{60}-5-氟尿嘧啶	99.96	99.81	99.97	99.40	99.91

经 C_0^{60} 诱变后挑出不同形态的菌落140株，经 C_0^{60}-5-氟尿嘧啶复合诱变后的不同形态菌落160株共300株，通过大量摇瓶试验以及纸上层析，未发现高产变异株，只有少数与原株的L-苹果酸产酸率差不多，绝大多数为负突变，产酸率低于原株。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

（四）C_0^{60}-5-氟尿嘧啶复合诱变后再经温度处理结果

温度处理后绝大多数分生孢子死亡，残存极少数如表(三)所示。

表(三) 温度处理后的存活菌株数目

温度与时间 / 存活菌株数 / 出发菌株号	60℃ 25分钟	70℃ 20分钟	80℃ 15分钟	90℃ 10分钟	100℃ 1分钟
505	11	0	0	0	0
304	2	0	0	0	8
73	6	0	1	0	0
37	0	0	0	0	0
365	0	0	0	0	0

我们把存活下来的菌株作如下编号：

304～100℃ 1′ 共 8株为 T_1～T_8；

73～80℃ 15′ 共 1株为T_{10}；73～60℃ 25′ 共6 株，$T_{11}-T_{16}$；

304～60℃ 25 共 2 株为 $T_{17}-T_{18}$

505～60℃ 25′共 11 株为 $T_{19}-T_{30}$。

采用培养基 10 号，于 32℃ 旋转式摇床上筛选上述温度处理过的菌株结果如表 (四) 所示。

表(四) 365、505、73、37、304 号原株与 T_1-T_{30} 菌株产 L-苹果酸的结果

菌株号	365	505	73	37	304	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6	T_7	T_8	T_{10}	T_{11}	T_{12}	T_{13}
L-苹果酸% (W/V)	0.51	0.49	1.11	0.47	0.49	0.74	0.58	—	0.89	0.92	0.98	—	0.73	—	2.15	2.18	1.17
菌株号	T_{14}	T_{15}	T_{16}	T_{17}	T_{18}	T_{19}	T_{20}	T_{21}	T_{22}	T_{23}	T_{24}	T_{25}	T_{26}	T_{27}	T_{28}	T_{30}	
L-苹果酸% (W/V)	1.29	1.50	1.15	—	0.55	—	0.31	0.49	0.68	0.71	0.32	0.16	—	0.76	0.67	0.52	

注：符号“—”表示未测定

从表(四)可看出：304 号菌株正突变率 100%（诱变后 7 株，正突变 7 株），73 号菌株正突变率 100%（诱变后 6 株，正突变 6 株），505 号菌株正突变率 55.6%（诱变后 9 株，正突变 5 株）。

（五）高温、耐锌发酵试验结果

如上述经过较高温度处理后，可望获得菌株能适应较高发酵温度，我们将发酵温度由

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

32℃升高至38℃，并结合耐锌试验采用培养基11号，经旋转式摇床38℃摇瓶6日获得如下结果(表五)。

表(五) 高温、耐锌试验结果

菌株号	304	T_1	T_2	T_4	T_{10}	T_{11}	T_{14}	T_{18}	T_{19}
生长情况	−	−	−	−	−	−	−	+	−
L-苹果酸%(W/V)	0	0	0	0	0	0	0	0.69	0

注："−"为不生长，"+"为生长正常。

从表(五)可知，T_{18}与原株304与原菌株显然不同，具耐高温，耐锌离子性能。

(六) 各种碳、氮源培养37、73、76、304及其诱变株T_4、365、505的L-苹果酸率%(W/V)

如表(六)所示。

表(六) 不同碳、氮源培养37、73、76、304及其诱变株T_4、365、504的L-苹果酸产率%(W/V)

补充培养基 \ L-苹果酸产率%(W/V)	菌株号 37	73	76	304	T_4	365	505
葡萄糖·H_2O 10% 豆饼粉 2% 麸皮 2%	0.81	0.87	—	0.82	—	0.71	1.31
淀粉 10% 豆饼水解液 2%	0.20	1.40	0.92	0.73	—	0.98	0.89
葡萄糖·H_2O 9% 豆饼水解液 2%	—	—	1.00	—	—	0.89	—
淀粉 5% 尿素 0.05% 玉米粉 5%	—	—	0.63	0.97	1.55	0.69	—

注表中符号"−"表示未测定

基础培养基：K_2HPO_4 0.015%，KH_2PO_4 0.015%，$MgSO_4$、$MnSO_4·H_2O$、$CaCl·2H_2O$均为0.01%，$FeSO_4·7H_2O$ 500ppm NaCl 10 ppm 32℃旋转式摇床培养6日。

从表(六)可见，304号菌株及其诱变株T_4适应于淀粉原料，304号菌株L-苹果酸产率最高为0.97%(W/V)，而诱变株T_4则达1.55(W/V)对淀粉转化率达30%左右，76、304365和505号菌株都可发酵淀粉，但是37号菌株却不适应于淀粉原料。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

（七）38℃、32℃ T_{81}菌株在各种培养基中摇瓶发酵L-苹果酸产酸率%(W/V)

如表(七)所示。

表(七) 38℃、32℃ T_{18} 菌株在各种培养基中摇瓶发酵结果

发酵培养基(基础培养基加以下成分)	发酵温度(℃)	L-苹果酸%(W/V)
1. 淀粉 10%，玉米粉 2%，豆饼水解液 0.7%	38	3.31
2. 淀粉 7%，玉米粉 3%，豆饼水解液 0.4%	38	2.67
3. 葡萄糖·H_2O 10%，玉米粉 2%，豆饼水解液 0.4%，麸皮1%，$ZnSO_4$ 0.002%(不加 $FeSO_4$)	38	2.61
4. 葡萄糖·H_2O 10%，豆饼水解液0.4%，$2nSO_4$ 0.01%	38	0.55
5. 葡萄糖·H_2O 10%，豆饼粉 0.7%，麸皮 0.4%	38	1.26
6. 葡萄糖·H_2O 10%，豆饼粉 0.4%，麸皮 0.3%	38	0.99
7. 淀粉 10%，豆饼水解液 2%	32	2.30
8. 葡萄糖·H_2O 10%，豆饼粉 2%，麸皮 2%	32	1.44
9. 葡萄糖·H_2O 10%，豆饼水解液 0.8%	32	0.55
10. 葡萄糖·H_2O 10%，玉米粉 1%，豆饼水解液 0.8%	32	1.24
11. 同3	32	2.55
12. 葡萄糖·H_2O 10%，豆饼水解液 0.4%，$ZnSO_4$ 0.002%	32	0.55
13. 葡萄糖·H_2O 10%，豆饼水解液 0.8%，$ZnSO_4$ 0.002%	32	1.01
14. 淀粉 10%，豆饼水解液 0.8%，玉米粉 2%，麸皮 0.5%，$ZnSO_4$ 0.002%	32	2.66
15. 淀粉 10%，豆饼粉 0.8%，玉米粉 2%，麸皮 0.5%	32	2.33
16. 葡萄糖·H_2O 10%，豆饼水解液 0.5%($MgSO_4$ 0.004%，$FeSO_4·7H_2O$ 300 ppm)	32	1.05
17. 同 16 使用 C_0^{60} 照射后获得 $C_0$80 号菌株	38	0
18. 葡萄糖·H_2O 10%，豆饼水解液 0.1%	32	1.58

注：基础培养基：K_2HPO_4、KH_2PO_4 各 0.015%，$MgSO_4$、$MnSO_4·H_2O$、$CaCl_2·2H_2O$ 均为 0.01%，$FeSO_4·7H_2O$ 500 ppm，NaCl 10 ppm(括号注明者除外)。

四、结　论

1. 产单～L苹果酸的曲霉都属于黄一米曲霉群，温氏曲霉能产 L-苹果酸，但同时积累较多的柠檬酸。黑曲霉不积累L-苹果酸产柠檬酸。

2. C_0^{60}-5- 氟尿嘧啶复合诱变后再经高温处理正突变率高，可作为一种育种手段。

3. 通过高温、耐锌试验选出 T_{18} 菌株经多次摇瓶试验，于 38℃ 发酵，L-苹果酸产酸率较高，以淀粉为主原料，产L-苹果酸 3.31克/100毫升，转化率(对淀粉)达30%，此菌株有待于今后继续研究提高其产酸率和转化率以至应用于工业生产。

4. T_{11} T_{12} 出发菌株为 73 号、在同样条件下，T_{11} 产酸 2.15% (W/V)，T_{12} 为 2.18%

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(W/V)，T_{18}为0.55% (W/V)，73号菌株发酵时无杂酸，此野生株产L-苹果酸为1.40% (W/V)]是很有希望的菌株，有待于进一步研究。

致谢：承蒙本院辐化实验室大力支持，赵玉连、顾国贤老师给予各种帮助并提出宝贵意见，致以衷心的感谢。

参 考 文 献

[1] Kirk-othmer Encyclopedia of Chemical Technology 837—847(1967)。

[2] A. A. Lawrence, Food Acid manufacture Recent Developments 227(1974)。

[3] Alan E. Goodban and J. Benjamin; Anal.chem. Vol.29.No.2,283 (1957)。

[4] Thom and charch, The Aspergilli 183～199(1926)。

Studies on the isolation and Breeding of strains for L—malic Acid Production from Soil

Jin Gi-rong, Zhon Ji-min, Wei Wei,
Tang Bao-ying, Lu Zhi-qian

Abstract

This paper describes a quick and easy qualitative test and the paper chromatographic qualitative test of malicci cid. The experimental processes and methods of the direct fermentation of L-malic Acid by Aspergillus Species will be Summarized. The ASP. Weetii, ASP. Niger, ASP. flavus. and ASP. oryzae have been isolated from Soil. The C_{0}^{60}-ray, 5-FU and high Temperatuve have been used respectivly or combinedly To treat Some of the Species in the experiment. We have obtained some mutants from the wild type strains of ASP. flavus 304, a L-malic Acid producing Strain ASP. flavus T18(having a resistance To Zn^{++} and high temperature). Under suitable conditions Strain T18 accumulate L-malic Acid 3.31g/dl in shaking flask and the conversion efficiency by weight of the to tal Starch is 30%.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net