

有机酸发酵工艺学

YOU JI SUAN
FA JIAO GONG YI XUE

金其荣 张继民 徐勤 编著

中国轻工业出版社

有机酸发酵工艺学

金其荣 张继民 徐勤 编著

中国轻工业出版社

内 容 简 介

本书系统地介绍了柠檬酸、乳酸、醋酸、葡糖酸、衣康酸和苹果酸的发酵工艺理论和生产技术,内容包括这些有机酸的发酵简史、主要理化性质、生物合成机理、发酵微生物、发酵工艺、提取工艺、主要设备、杂菌污染的防治、产品质量规格与检验方法,以及副产物的综合利用等。

本书内容丰富,理论联系实际,实用性强,可供从事有机酸发酵生产、科研、教学及有机酸应用部门的工程技术人员、工人及有关院校师生参考。

图书在版编目(CIP)数据

有机酸发酵工艺学/金其荣,张继民编著。-北京:中国轻工业出版社,1989.6(1997重印)

ISBN 7-5019-0563-0

I.有… II.①金… ②张… III.有机酸发酵-工艺学
IV.TQ921

中国版本图书馆CIP数据核字(95)第11102号

中国轻工业出版社出版

(北京市东长安街6号)

北京北方印刷厂

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经售

*

850×1168毫米1/32 印张:19.5 字数:493千字

1989年6月第1版 第1次印刷

1997年5月第1版 第5次印刷

印数:13001—16000 定价:30.00元

前 言

有机酸发酵是生物体内的基本代谢过程，它在我国传统发酵食品中早已得到广泛应用，例如食醋酿造中的醋酸发酵，腌制食品和酸乳中的乳酸发酵等。在现代有机酸（尤其是食用酸）生产中，发酵法占有很重要的地位。1949年以前，除了个别作坊式乳酸厂以外，有机酸发酵工业在我国几乎是空白。最近30多年以来，随着我国国民经济的发展，有机酸发酵工业也经历了一个从无到有的发展过程，尤其是近几年出现了蓬勃发展的趋势。虽然目前我国葡糖酸发酵生产刚刚起步，苹果酸和衣康酸尚处于研究开发阶段，但柠檬酸和乳酸产品已进入国际市场，产品质量受到好评，具有一定的竞争力。

为了适应这种新发展的需要，促进该领域的学术交流和科技进步，我们参照了国内外最新理论研究成果、先进工艺和实用技术，结合自己的研究成果和实践体会，编写成书，以供从事有机酸生产、科研和教学的同行们参考。

由于我们水平有限，错误和遗漏在所难免，敬请读者批评指正。

编 著 者

K	度 (绝对温标)
l	升 (容积)
m	米 (长度)
m-	毫- (10^{-3})
M-	兆- (10^6)
min	分钟 (时间)
*mmH ₂ O	毫米水柱 (压力)
*mmHg	毫米汞柱 (压力)
mol	摩尔 (质量)
N	牛顿 (力)
n-	纳- (10^{-9})
*P	泊 (粘度)
Pa	帕 (压力)
ppm	百万分量
r	转 (转数)
R	伦琴 (辐射剂量)
s	秒 (时间)
S	西门子 (电导)
u	单位 (酶活力, 抗菌素单位)
V	伏 (电压)
vvm	每分钟通气的体积比
W	瓦 (功率)
μ-	微- (10^{-6})
Ω	欧 (电阻)

目 录

第一章 柠檬酸	1
第一节 柠檬酸发酵简史	1
第二节 柠檬酸类物质的性质	4
一、柠檬酸的物理性质	5
二、柠檬酸的化学性质	12
三、柠檬酸钙盐的性质	16
四、柠檬酸其他盐类的性质	18
五、柠檬酸衍生物的性质	21
第三节 柠檬酸发酵机理	23
一、EMP途径的证实	24
二、三羧酸循环的证实	24
三、丙酮酸羧化途径的证实	25
四、柠檬酸积累的生物调节	26
五、乙醛酸循环的证实	31
第四节 柠檬酸发酵微生物	33
一、黑曲霉	33
二、酵母	49
第五节 黑曲霉生长和发酵条件	53
一、黑曲霉细胞化学组成	53
二、黑曲霉酶系	56
三、营养条件	63
四、促进剂和毒害剂	74
五、环境条件	83
第六节 柠檬酸发酵原料及其处理	97
一、淀粉质原料及其处理	98
二、糖类原料及其处理	110
三、糖蜜及其处理	113

四、石油原料	127
第七节 菌种扩大培养	128
一、工艺流程	129
二、斜面培养	130
三、第二级扩大培养	133
四、第三级扩大培养	135
第八节 柠檬酸发酵工艺	138
一、表面发酵工艺	138
二、固体发酵工艺	151
三、深层发酵工艺	164
四、其他发酵方法	193
第九节 柠檬酸发酵污染菌及其防治	197
一、常见污染菌及其危害	198
二、杂菌污染原因及其预防	204
三、杂菌污染的药物防治	208
四、杂菌污染的检查 and 挽救	209
第十节 柠檬酸提取工艺	212
一、工艺流程	212
二、发酵液预处理	216
三、发酵液过滤	220
四、中和	227
五、酸解	239
六、柠檬酸溶液的净化	244
七、浓缩	256
八、结晶	264
九、干燥与包装	281
十、其他柠檬酸提取工艺简介	286
第十一节 柠檬酸工业副产物的利用	292
一、黑曲霉菌体的利用	293
二、中和滤液的利用	297
三、石膏渣的利用	301

第十二节 柠檬酸发酵分析	302
一、原料与半成品分析	302
二、成品质量标准	317
三、中华人民共和国药典检验方法 (1977年)	320
第十三节 柠檬酸类产品的用途	326
一、在食品工业上的应用	326
二、在医药上的应用	327
三、在化学工业上的应用	328
四、其他应用	329
参考文献	330
第二章 乳酸	339
第一节 乳酸发酵简史	339
第二节 乳酸的性质	340
第三节 乳酸发酵机理	344
一、同型乳酸发酵	344
二、异型乳酸发酵	344
第四节 乳酸发酵微生物	346
一、乳酸菌的特性	346
二、乳酸菌的分离	349
三、乳酸菌保藏	351
四、菌种的扩大培养	351
第五节 乳酸发酵原料	352
一、主要原料	352
二、辅助原料	357
第六节 乳酸发酵工艺	358
一、水解糖发酵工艺	358
二、蔗糖发酵工艺	362
三、糖蜜发酵工艺	363
四、亚硫酸盐废液发酵工艺	365
五、芦粟汁发酵工艺	367
六、乳清发酵工艺	368

七、菊粉发酵工艺	369
八、淀粉并行发酵工艺	371
九、根霉发酵工艺	373
第七节 乳酸发酵新技术	374
一、连续发酵	375
二、酶法生产乳酸	375
三、固定化细胞和固定化酶生产乳酸	378
第八节 产品的提取和精制	384
一、工艺流程	384
二、发酵液的处理	389
三、乳酸钙结晶	389
四、乳酸钙流化干燥选粒	394
五、乳酸钙的酸解和石膏的分离	397
六、乳酸的净化	399
七、乳酸溶液的浓缩	402
第九节 乳酸的检验	402
一、乳酸的定性鉴定	402
二、乳酸钙的定性鉴定	403
三、乳酸的定量测定	403
四、乳酸钙的定量测定	403
第十节 乳酸的用途	404
附录2-1 我国乳酸的质量标准	405
附录2-2 我国药典级乳酸钙质量标准	405
附录2-3 国际市场乳酸类产品价格	406
附录2-4 乳酸类产品的产量和消费量	406
参考文献	407
第三章 醋酸	409
第一节 醋酸发酵简史	409
第二节 醋酸的性质	411
第三节 醋酸发酵机理	415

第四节 醋酸发酵微生物	418
一、醋酸菌的分类与特性	418
二、醋酸菌保藏	421
三、醋酸菌扩大培养	421
四、热醋酸梭菌	422
第五节 发酵工艺	423
一、淋醋工艺	424
二、深层发酵工艺	429
三、固定化细胞发酵法	438
四、热醋酸梭菌发酵法	450
第六节 醋酸的提取	455
一、恒沸蒸馏	456
二、低沸点溶剂萃取	456
三、联合法	457
四、高沸点溶剂萃取	458
第七节 醋酸的检验	460
一、定性检验	460
二、定量检验	460
附录 我国醋酸的质量标准	461
参考文献	462
第四章 葡糖酸	464
第一节 葡糖酸发酵简史	464
第二节 葡糖酸的性质	465
第三节 葡糖酸发酵机理	467
第四节 葡糖酸发酵微生物	469
一、黑曲霉	470
二、葡糖酸杆菌属	472
三、弱氧化葡糖酸杆菌	474
第五节 发酵工艺	474
一、黑曲霉葡糖酸钠发酵工艺	475
二、部分中和补料发酵工艺	481

三、黑曲霉葡萄糖酸钙发酵工艺	484
四、细菌发酵工艺	486
第六节 产品的提取和精制	488
一、葡萄糖酸钙结晶	488
二、葡萄糖酸结晶	489
三、一水葡萄糖酸结晶	489
四、葡萄糖酸- δ -内酯结晶	490
五、葡萄糖酸盐喷雾干燥	490
第七节 葡萄糖酸类产品的检验	491
一、定性检验	491
二、定量检验	491
第八节 葡萄糖酸类产品的用途	493
附录4-1 葡萄糖氧化酶活力测定	494
附录4-2 我国葡萄糖酸类产品质量标准	496
附录4-3 美国葡萄糖酸类产品质量标准	497
参考文献	497
第五章 衣康酸	499
第一节 衣康酸发酵简史	499
第二节 衣康酸的性质	500
第三节 衣康酸生物合成机理	503
第四节 衣康酸发酵微生物	506
一、土曲霉	506
二、衣康酸曲霉	507
三、假丝酵母S-10	509
四、菌种的扩大培养	510
第五节 发酵工艺	511
一、表面发酵工艺	511
二、土曲霉深层发酵工艺	515
三、衣康酸曲霉深层发酵工艺	527
四、酵母发酵法	530

五、连续发酵法	530
六、糖蜜发酵法	534
七、木屑水解液发酵法	537
八、固定化细胞发酵法	543
第六节 产品的提取和精制	544
一、提取	544
二、精制	546
第七节 衣康酸的检验	547
一、纸层析定法	547
二、简易定量法	547
三、碘法定量	547
第八节 衣康酸类产品的用途	550
附录 美国精制衣康酸的质量标准	552
参考文献	552
第六章 苹果酸	555
第一节 苹果酸发酵简史	555
第二节 苹果酸的性质	556
第三节 苹果酸发酵机理	558
第四节 苹果酸发酵微生物	561
一、黄曲霉	561
二、米曲霉	562
三、寄生曲霉	562
四、华根霉	563
五、无根根霉	563
六、膜醭毕赤酵母	564
七、短乳杆菌	565
八、产氨短杆菌	565
第五节 发酵工艺	566
一、直接发酵工艺	566
二、两步发酵工艺	574
三、酶法转化工艺	578

四、固定化细胞转化工艺	583
五、其他发酵方法	593
第六节 苹果酸的提取和精制	595
一、苹果酸的提取	595
二、苹果酸的精制	597
三、苹果酸结晶	598
第七节 苹果酸的检验	599
一、定性检验	599
二、定量检验	601
第八节 苹果酸的用途	604
附录 美国苹果酸质量标准 (DL-型)	605
参考文献	605

本书所用单位符号表

带*者为非正式符号，只在给出对照数据时使用。本表不包括复合单位。

A	安 (电流)
atm	大气压 (压力)
bar	巴 (压力)
*cal	卡 (能量)
°Be'	波美度 (与浓度和密度有关)
Bx	锤度 (与浓度和密度有关)
C	库仑 (电荷量)
°C	度 (摄氏温标)
c-	厘- (10^{-2})
g	克 (质量、重量)
h	小时 (时间)
J	焦 (能量)

第一章 柠檬酸

第一节 柠檬酸发酵简史

柠檬酸又名枸橼酸，英文名 citric acid，它来自拉丁名 *citrus*，原义是存在于柠檬等水果中的一种有机酸。柠檬酸学名为 3-羟基-3-羧基戊二酸。

柠檬酸是生物体主要代谢产物之一，在自然界中分布很广，主要存在于柠檬、柑桔、菠萝、梅、李、梨、桃、无花果等果实中，尤其以未成熟者含酸量较多。植物叶子中（如烟叶、棉叶、菜豆叶等）也含有柠檬酸。柠檬酸在植物体内常与苹果酸、草酸及酒石酸等共同存在。在动物中，柠檬酸存在于骨骼、肌肉、血液、乳汁、唾液、汗和尿中，或者以游离状态或金属盐类的形式存在。

早在 1784 年，瑞典化学家 Scheel 就首次从柠檬汁中提取出了柠檬酸，并制成了结晶。后来，德国科学家 Wehmer 在 1891 年发现了微生物产生柠檬酸的能力，他指出，“柠檬酸是青霉属和毛霉属霉菌的糖代谢产物之一”。但直到本世纪初，这种有机酸仍然绝大部分是从柠檬汁中提取的。主要产地以意大利的西西里岛最为著名。其次，美国加利福尼亚、夏威夷群岛以及西印度群岛的产量也较高。

1891 年，Wehmer 从腐败的柑桔上分离出一种丝状菌，它能使含 CaCO_3 的糖液变酸，从酸液中可以分离出柠檬酸和草酸。因此，他将该菌命名为“柠檬酸霉菌”，即桔青霉^[1]。1897 年，他又发现淡黄青霉 (*Pen. luteum*) 与梨形毛霉 (*Mucor piri-*

bormis) 也有柠檬酸产生能力。1913 年, Zahorski 首先利用黑曲霉 (原称为 *Sterigmatocystis nigra*) 生产柠檬酸。1916 年, Thom 和 Currie 对曲霉属的许多菌株进行过普查, 发现很多菌种能产柠檬酸。经过 Currie (1917 年) 的深入研究, 初步奠定了发酵法生产柠檬酸的科学基础^[2]。1919 年, 比利时一家工厂成功地进行了浅盘发酵法的工业生产。1923 年, 美国 Ch. Pfizer 公司也开始用浅盘发酵法大规模生产柠檬酸。利用糖蜜生产柠檬酸以比利时一家糖厂历史最早, 规模最大, 技术也较先进。直到 1950 年, 世界各国一直采用浅盘发酵法生产柠檬酸。

1952 年, 美国 Miles 实验室公司首先采用深层发酵法大规模生产柠檬酸。以后, 深层发酵法逐渐流行起来。近年来, 世界很多柠檬酸生产国家和地区都投入了大量人力进行研究工作。柠檬酸的世界总产量也急剧上升。到 1978 年, 已有 35 个以上的国家生产柠檬酸, 总产量达 40 万吨, 设备生产能力超过 55 万吨。

表 1-1 世界各国柠檬酸产量 (1978 年)

生 产 国	产 量(kt)	生 产 国	产 量(kt)
美 国	154.5	丹 麦	6.0
意 大 利	83.9	哥 伦 比 亚	5.0
比 利 时	50.0	印 度	4.5
西 德	35.0	土 耳 其	3.5
英 国	34.0	西 班 牙	3.5
法 国	16.5	南 斯 拉 夫	3.0
爱 尔 兰	15.0	印 度 尼 西 亚	3.0
奥 地 利	13.0	澳 大 利 亚	3.0
墨 西 哥	13.0	希 腊	2.5
捷 克 斯 洛 伐 克	12.0	南 非	2.4
日 本	10.7	阿 根 廷	2.0
加 拿 大	10.0	罗 马 尼 亚	1.5
波 多 黎 各	10.0	保 加 利 亚	1.2
巴 西	9.0	波 兰	1.2
以 色 列	7.5	智 利	1.0

1980年,美国 Ch. Pfizer 公司在国内生产柠檬酸9.75万吨,在国外建厂生产 3.8 万吨。Miles 实验室公司在国内生产柠檬酸 5.6 万吨,在国外生产 3.1 万吨。1983 年,美国生产柠檬酸达 18万吨。

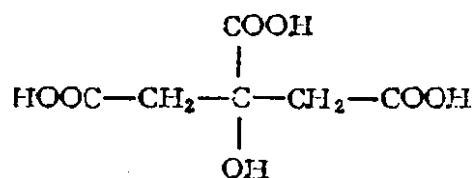
我国柠檬酸工业在解放前是个空白。解放初期虽然也进行过一些研究,但进展缓慢,直到 60 年代后期才逐步建立柠檬酸工厂。1968年,黑龙江和平糖厂建立了一个生产车间,以甜菜糖蜜为原料,采用浅盘发酵法生产柠檬酸。后来,福建厦门、泉州等地糖厂以甘蔗糖蜜为原料,以浅盘法生产柠檬酸。对于糖蜜原料的深层发酵,虽已研究多年,由于转化率低,成本过高,迄今尚未工业化生产。

我国薯类原料来源丰富,利用薯干粉原料深层发酵是我国柠檬酸生产的一大特色。1969年,上海酵母厂在 50m³ 罐上试验生产成功。此后,全国各地陆续建厂投产。全国柠檬酸生产厂迄今已有40多家。台湾省台北也有两家公司(三福化学公司和台南发酵工业公司)生产柠檬酸。现在全国总产量已超过 4 万吨,产品质量符合英国药典标准。我国柠檬酸除少量内销外,大部分(70%)出口到日本和西欧等国家和地区。

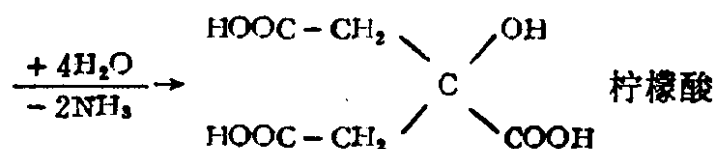
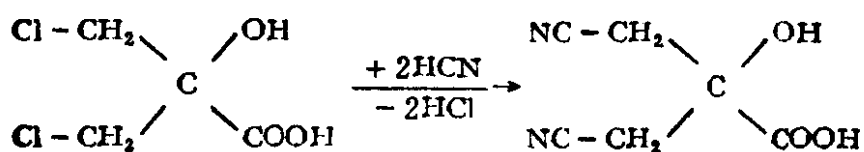
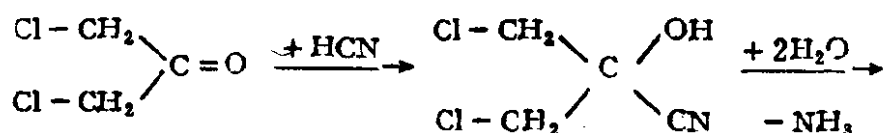
利用正烷烃为原料的柠檬酸发酵在日本和美国发展较快。日本用这种原料的主要有两家工厂,其中一家属于美国 Pfizer 公司,另一家属于日本磐田化学公司,总生产能力约年产 1 万吨。我国自1970年起,天津、上海、沈阳等地对假丝酵母利用正烷烃的柠檬酸发酵研究先后获得成功,并在天津建厂投产。但由于产品中含异柠檬酸太多,柠檬酸只占总酸的一半左右,加上正烷烃原料价格较贵,生产成本偏高,此法未能推广。我国石油资源丰富,这方面工作仍然有深入研究的必要。

第二节 柠檬酸类物质的性质

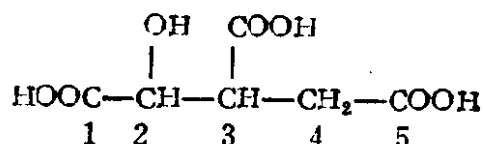
柠檬酸〔77-92-9〕〔*〕是一种三元羧酸，结构式为：



它的学名为3-羟基-3-羧基戊二酸，可以由本章介绍的微生物发酵法生产，也可以由化学合成法生产。化学合成法的原料有丙酮、二氯丙酮或乙烯酮（丙酮热解产物）。以二氯丙酮为原料的合成路线如下：



化学合成柠檬酸的工艺复杂，经济上竞争不过微生物发酵法。所以现在世界上柠檬酸工业生产都采用发酵法。发酵法的柠檬酸生产菌有曲霉、青霉和酵母。酵母发酵能生成大量的副产物异柠檬酸，它是柠檬酸的异构体：



〔*〕 美国化学文摘服务处登录号（CAS Registry No.）。