



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102533570 B

(45) 授权公告日 2013. 06. 12

(21) 申请号 201210050821. 7

CN 102181490 A, 2011. 09. 14,

(22) 申请日 2012. 02. 29

陈雪梅 等. 溶解氧对黑曲霉发酵生产柠檬酸的影响.《食品与发酵科技》. 2009, 第 45 卷 (第 5 期),

(83) 生物保藏信息

CGMCC No5342 2011. 10. 14

潘声龙. 玉米清液发酵生产柠檬酸的工艺研究.《安徽农业科学》. 2010, 第 38 卷 (第 29 期),

(73) 专利权人 中粮生物化学(安徽)股份有限公司

审查员 白鸽

地址 233010 安徽省蚌埠市大庆路 73 号

(72) 发明人 陈修 卢宗梅 钟华 吴晓艳
徐丽红

(74) 专利代理机构 北京润平知识产权代理有限公司 11283

代理人 王浩然 王凤桐

(51) Int. Cl.

C12N 1/14 (2006. 01)

C12P 7/48 (2006. 01)

C12R 1/685 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 102181490 A, 2011. 09. 14,

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

一种黑曲霉及其应用及发酵制备柠檬酸的方法

(57) 摘要

本发明提供了一种黑曲霉 (*Aspergillus niger*), 其特征在于, 所述黑曲霉的保藏编号为 CGMCC5342。另一方面, 本发明提供了一种上述黑曲霉在发酵制备柠檬酸中的应用。第三方面, 本发明提供了一种发酵制备柠檬酸的方法, 其特征在于, 所述方法包括在生成柠檬酸的条件下, 将上述黑曲霉接种至发酵培养基中进行发酵, 得到发酵液。本发明提供的黑曲霉作为发酵菌种发酵制备柠檬酸, 可缩短发酵周期、提高终点柠檬酸含量、单罐供酸量。

1. 一种黑曲霉(*Aspergillus niger*), 其特征在于, 所述黑曲霉的保藏编号为 CGMCC5342。
2. 一种如权利要求 1 所述的黑曲霉在发酵制备柠檬酸中的应用。
3. 一种发酵制备柠檬酸的方法, 其特征在于, 所述方法包括在生成柠檬酸的条件下, 将如权利要求 1 所述的黑曲霉接种至发酵培养基中进行发酵, 得到发酵液。
4. 根据权利要求 3 所述的方法, 其中, 以每升发酵培养基为基准, 黑曲霉的接种量为 1.8×10^7 – 3.8×10^7 个孢子。
5. 根据权利要求 4 所述的方法, 其中, 以每升发酵培养基为基准, 黑曲霉的接种量为 2.2×10^7 – 3.6×10^7 个孢子。
6. 根据权利要求 3–5 中任意一项所述的方法, 其中, 所述发酵的条件包括: 温度为 30–40℃, 起始 pH 值为 4–5, 通气量为 0.1–1 体积: (体积·分钟), 发酵的时间为 52–62 小时。
7. 根据权利要求 3–5 中任意一项所述的方法, 其中, 所述发酵培养基含有由淀粉质原料酶解得到的酶解产物。

一种黑曲霉及其应用及发酵制备柠檬酸的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种黑曲霉 (*Aspergillus niger*) (该菌株于 2011 年 10 月 14 日被保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心 (地址:北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号,中国科学院微生物研究所,邮政编码:100101) (保藏单位的缩写为 CGMCC),保藏编号为 CGMCC5342) 及其应用,以及采用该黑曲霉作为发酵菌种发酵制备柠檬酸的方法。

背景技术

[0002] 柠檬酸是有机酸中的第一大酸,由于物理、化学等方面的优异性能,广泛应用于医药、化学、电子、纺织、石油、皮革、建筑、摄影、塑料、铸造和陶瓷等工业领域。

[0003] 柠檬酸的生产方法主要有两种:一种是从天然含柠檬酸的果汁中提取;另一种是用发酵法进行生产,目前工业上主要以黑曲霉发酵法生产柠檬酸为主。具体的做法是将黑曲霉接种到发酵培养基中,发酵培养基中含有淀粉质原料酶解产物和氮源,经过发酵和固液分离得到柠檬酸的溶液。为了提高柠檬酸的生产能力,进行菌株改良,开发具有高产率的菌株是重点的研究方向。

发明内容

[0004] 本发明的目的是为了提高黑曲霉发酵法生产柠檬酸的生产能力,提供一种新的黑曲霉菌株及采用该黑曲霉作为发酵菌种发酵制备柠檬酸的方法。

[0005] 为了实现上述目的,一方面,本发明提供了一种黑曲霉,其特征在于,所述黑曲霉的保藏编号为 CGMCC5342。

[0006] 另一方面,本发明提供了一种如上所述的黑曲霉在发酵制备柠檬酸中的应用。

[0007] 第三方面,本发明提供了一种发酵制备柠檬酸的方法,其特征在于,所述方法包括在生成柠檬酸的条件下,将如上所述的黑曲霉接种至发酵培养基中进行发酵,得到发酵液。

[0008] 本发明提供的黑曲霉,保藏编号为 CGMCC5342,采用该黑曲霉作为发酵菌种发酵制备柠檬酸,可缩短发酵周期、提高终点柠檬酸含量、单罐供酸量。具体的,实施例 1 采用本发明提供的黑曲霉发酵制备柠檬酸,发酵周期为 52h,终点柠檬酸含量为 14.5g/100mL,单罐供酸量为 34.1kg,转化率为 95.0%;而在其他条件相同的情况下,对比例 1 采用黑曲霉 Co827 发酵制备柠檬酸,发酵周期为 75h,终点柠檬酸含量为 13.9g/100mL,单罐供酸量为 33.36kg,转化率为 94.8%。

[0009] 本发明的其他特征和优点将在随后的具体实施方式部分予以详细说明。

[0010] 生物保藏

[0011] 本发明的菌株被命名为黑曲霉 (*Aspergillus niger*),并于 2011 年 10 月 14 日被保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心 (地址:北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号,中国科学院微生物研究所,邮政编码:100101) (保藏单位的缩写为 CGMCC),保藏编号为 CGMCC5342。

具体实施方式

[0012] 以下对本发明的具体实施方式进行详细说明。应当理解的是,此处所描述的具体实施方式仅用于说明和解释本发明,并不用于限制本发明。

[0013] 一方面,本发明提供了一种黑曲霉,黑曲霉的保藏编号为 CGMCC5342。

[0014] 将该黑曲霉菌株分别接种在麦芽汁平板和察氏琼脂培养基上进行培养,并定期在显微镜下观察,发现:

[0015] 在麦芽汁琼脂培养基(麦芽汁为 2° Bé,琼脂为 2g/100mL)上 35℃、60%湿度下培养 4d,菌落直径可达 40-50mm,7d 可达 45-60mm,菌落平坦,边缘整齐,呈白色绒状,中间孢子黑色密集,反面无色或微黄,无分泌物,稍有霉味,分生孢子梗短,分生孢子头大圆形黑色,老熟时开花状。

[0016] 在察氏琼脂培养基上生长缓慢,分生孢子梗较长,分生孢子着生稀疏。

[0017] 本发明中的黑曲霉菌株是通过将黑曲霉 Co827 作为出发菌株,在玉米原料配制的酸性平板培养基上经自然选育得到的。

[0018] 酸性平板培养基:玉米液化液 10g/100mL、柠檬酸 20g/100mL、琼脂 3g/100mL。

[0019] 用黑曲霉 Co827 发酵生产柠檬酸,在初始糖一定的情况下,取产酸高的发酵罐批的发酵醪液,在无菌室内用无菌吸管吸取 1mL 发酵醪液后用划线分离法使菌体附着于上述酸性平板培养基上。在 36℃、65%湿度的培养箱内培养至培养基上长出白色的、表面有分生孢子梗的黑曲霉菌落,然后挑取单菌落至麦芽汁琼脂培养基(麦芽汁为 2° Bé,琼脂为 2g/100mL)斜面上在 36℃、60%湿度的培养箱内培养 5 天左右,待单菌落孢子丰满后及时收至 4℃冰箱中保藏。

[0020] 将分离获得的多个菌株进行摇瓶筛选,摇瓶培养基配方为:玉米液化液 15 重量%,玉米液化清液 85 重量%。摇床培养条件为转速 350rpm,培养温度 36±1℃,时间 70-85h。

[0021] 通过摇瓶筛选出产酸高的菌株再次在上述酸性平板培养基上进行分离,通过摇瓶进行筛选,直至获得一株产酸高、发酵周期 62 小时以下且性能稳定的菌株,即本发明的黑曲霉,保藏编号为 CGMCC5342。

[0022] 发酵周期是指从接种开始至发酵液中还原糖含量达到 0.3g/100mL 以下的这段培养时间。

[0023] 根据 GB/T 5513-2008 检测还原糖含量。

[0024] 另一方面,本发明提供了如上所述的黑曲霉在发酵制备柠檬酸中的应用。

[0025] 第三方面,本发明提供了一种发酵制备柠檬酸的方法,所述方法包括在生成柠檬酸的条件下,将如上所述的黑曲霉接种至发酵培养基中进行发酵,得到发酵液。

[0026] 由于本发明提供的制备柠檬酸的方法相对于现有技术的改进主要在于使用本发明的黑曲霉作为发酵菌种,本发明的黑曲霉的发酵周期为 52-62 小时,因此本发明方法的发酵时间优选为 52-62 小时,对于其他条件和操作没有特别的要求,例如,发酵条件可以为本领域常规的发酵条件,例如,发酵的条件可以包括:温度为 30-40℃,优选为 35-37℃;起始 pH 值为 4-5;通气量为 0.1-1 体积:(体积·分钟),优选为 0.3-0.8 体积:(体积·分钟)。

[0027] 发酵过程就其本质来说是由微生物参与的生物化学反应过程,因此微生物细胞的

数量、状态、代谢情况对产物的生物合成有着重要的影响。菌体浓度的大小对发酵产物的产率有着重要的影响。理论上菌体浓度越大,产物的产量也越大,但是菌体浓度过高会产生其他影响,如营养物质消耗过快,发酵液中的营养成分发生明显的改变,如有毒物质的积累等,这些可能改变菌体的代谢途径。因此,本发明中,以每升发酵培养基为基准,黑曲霉的接种量优选为 1.8×10^7 – 3.8×10^7 个孢子,进一步优选为 2.2×10^7 – 3.6×10^7 个孢子。

[0028] 孢子的数量可以通过本领域公知的方法测定,例如,通过血球计数板计数。

[0029] 本发明中,发酵培养基为本领域技术人员公知的概念,指微生物发酵所需的供微生物生长和维持用的人工配制的养料,一般都含有碳水化合物、含氮物质、无机盐(包括微量元素)以及维生素和水等。发酵液也为本领域技术人员公知的概念,指接入微生物菌株的液体培养基(该液体培养基也即本发明中所称发酵培养基),经过一段时间的培养后所得产物。

[0030] 根据本发明,对发酵培养基的成分没有特别的要求,只要可以用于柠檬酸发酵的发酵培养基即可。优选地,发酵培养基含有由淀粉质原料酶解得到的酶解产物,且优选由淀粉质原料酶解得到的酶解产物的量占发酵培养基总量的 80–100 重量%。一般地,淀粉质原料酶解得到的产物称为液化液,液化液经固液分离得到酶解残渣和液化清液,通常可以将液化清液用于制备发酵培养基,也可以将液化清液与液化液混合后用于制备发酵培养基。因此,本发明中,所述由淀粉质原料酶解得到的酶解产物包括上述经固液分离得到的液化清液,也包括未经固液分离的液化液,还包括上述二者的混合物。发酵培养基优选由液化液和液化清液与水混合或不与水混合得到,且进一步优选以发酵培养基的总重量为 100 重量份为基准,液化清液的用量为 80–85 重量份,液化液的用量为 15–20 重量份。

[0031] 根据本发明,液化清液可以通过多种方法制备得到,例如,可以通过如下方法制备得到:将淀粉质原料粉碎,将粉碎后的产物进行酶解,酶解得到的产物再经固液分离,得到液化清液和酶解残渣,固液分离的条件使酶解残渣的固含量为 45–55 重量%,优选为 49–51 重量%。

[0032] 根据本发明,淀粉质原料可以为本领域公知的各种可以用于酶解、发酵制备柠檬酸的含有淀粉的原料,例如,可以选自玉米、薯类(如木薯)和小麦中的一种或几种,优选情况下,所述淀粉质原料为玉米。

[0033] 所述酶解步骤可以通过本领域常用的方法完成,比如向粉碎产物中添加产酶微生物和/或酶,在产酶微生物的生长温度和/或酶有活力的温度下保温完成。所述产酶微生物为能够分泌淀粉酶的产酶微生物。所述酶包括淀粉酶。

[0034] 由于微生物生长会产生副产物,因此优选直接加入酶。所述酶的用量越多越好,出于成本考虑,优选以每克粉碎后的粉碎产物的干重计,淀粉酶的用量为 15–50 个酶活力单位。

[0035] 本发明中,酶活力单位的定义为:在 pH 值为 6.0、温度为 70℃ 的条件下,1 分钟将 1 毫克淀粉转化为还原糖所需的酶量为一个酶活力单位。

[0036] 酶解的温度可以在很大范围内改变,优选为 70–105℃,更优选为 90–95℃。酶解的时间理论上越长越好,考虑到设备利用率,优选酶解的时间为 90–150 分钟,更优选为 100–120 分钟。酶解的 pH 值可以在很大范围内改变,优选为 5.0–7.0,更优选为 5.4–6.2,进一步优选为 5.8–6.0。

[0037] 淀粉酶是指能够分解淀粉糖苷键的一类酶的总称,淀粉酶一般包括 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、糖化酶和异淀粉酶。

[0038] 根据本发明,优选使用 α -淀粉酶和 / 或异淀粉酶。

[0039] 根据本发明,固液分离的方法与装置为本领域技术人员所公知,例如,压滤机或离心机。

[0040] 黑曲霉可以采用常规的方法接种,例如,在被接种至发酵培养基中之前,将黑曲霉经过种子培养,之后将得到的种子液加入到发酵培养基中。黑曲霉种子培养的程度可以通过取样显微镜镜检、酸度测定和 pH 测定来确定,当 $\text{pH} < 2.0$ 、酸度 $> 1\text{g}/100\text{mL}$ 、菌球大小均匀、菌丝粗壮伸出时停止培养。

[0041] 优选情况下,种子培养的方法包括:将黑曲霉接种在黑曲霉培养液中进行培养,黑曲霉培养液中含有 10-17 重量%的玉米粉,以每升培养液为基准,黑曲霉的接种量为 2.75×10^8 - 3×10^8 个孢子。

[0042] 将经过种子培养得到的种子液加入到发酵培养基中进行发酵,通常用接入发酵培养基的种子液的体积占接入种子液后发酵培养基的体积的百分比来表示黑曲霉的接种量,当接入发酵培养基的种子液的体积占接入种子液后发酵培养基的体积的 8-12%时,能够满足以每升发酵培养基为基准,黑曲霉的接种量在 2.2×10^7 - 3.6×10^7 个孢子范围内。因此,接入发酵培养基的黑曲霉的优选的接种量可以表示为:接种量为 8-12%。

[0043] 根据本发明,黑曲霉种子罐的培养液的制备方法没有特别的限制,只要得到的培养液能够适用于黑曲霉菌种的生长即可。

[0044] 根据本发明,黑曲霉的种子罐的培养条件可以在很大范围内改变,例如培养的条件可以包括:培养的温度为 30-38℃,优选为 35-37℃;起始 pH 值为 5-6;通气量为 0.1-1 体积:(体积·分钟),优选为 0.3-0.8 体积:(体积·分钟)。

[0045] 术语“通气量”一般以通气比来表示,通常以每分钟内通过单位体积培养液的空气体积比来表示 ($V/V \cdot \text{min}$),例如通气比为 1 : 0.1-1,简称通气量为 0.1-1 体积:(体积·分钟)。

[0046] 发酵的设备为本领域技术人员所公知,例如,可以使用发酵罐。

[0047] 按照本发明的方法制备得到的发酵产物柠檬酸可以用常规的方法,根据不同工业产品的要求分离并精制,比如中和、酸解、脱色、浓缩、结晶、包装。

[0048] 以上详细描述了本发明的优选实施方式,但是,本发明并不限于上述实施方式中的具体细节,在本发明的技术构思范围内,可以对本发明的技术方案进行多种简单变型,这些简单变型均属于本发明的保护范围。

[0049] 另外需要说明的是,在上述具体实施方式中所描述的各个具体技术特征,在不矛盾的情况下,可以通过任何合适的方式进行组合,为了避免不必要的重复,本发明对各种可能的组合方式不再另行说明。

[0050] 此外,本发明的各种不同的实施方式之间也可以进行任意组合,只要其不违背本发明的思想,其同样应当视为本发明所公开的内容。

[0051] 实施例

[0052] 以下的实施例将对本发明作进一步的说明,但并不因此限制本发明。

[0053] 在以下实施例中:

[0054] 根据 GB 1987-2007 标准检测所得柠檬酸溶液的浓度（即终点柠檬酸含量）。

[0055] 单罐供酸量 = 柠檬酸溶液的浓度 × 柠檬酸溶液的体积。

[0056] 转化率（%）= 单罐供酸量 / 总糖的重量 × 100%，其中总糖的重量包括种子罐用糖重量和发酵罐用糖重量。

[0057] 以下实施例使用的黑曲霉菌株 A 均为本发明的上述黑曲霉菌株（该菌株于 2011 年 10 月 14 日被保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心（地址：北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号，中国科学院微生物研究所，邮政编码：100101）（保藏单位的缩写为 CGMCC），保藏编号为 CGMCC5342）。

[0058] 实施例 1

[0059] 本实施例用于说明本发明提供的发酵制备柠檬酸的方法。

[0060] （1）将收获的 56 千克玉米进行粉碎，得到平均粒子直径为 400 微米的粉碎后产物。

[0061] （2）将粉碎后产物按 24 重量%的浓度调浆，相对于每克粉碎后产物，加入 20 个酶活力单位的淀粉酶（诺维信公司， α -淀粉酶，本发明实施例中均为此淀粉酶），进入喷射器，在 93℃、pH 为 5.9 的条件下酶解 100 分钟得到产物。

[0062] （3）将一部分酶解得到的产物通过用液压式板框压滤机进行压滤，分离出液化清液和酶解残渣，其中，酶解残渣的固含量为 51 重量%。

[0063] （4）配制发酵培养基，将 180.5 千克的上述液化清液、35.5 千克的酶解得到的产物灭菌后加入到 300L 的发酵罐中，得到发酵培养基。

[0064] （5）将步骤（2）中的剩余部分的酶解得到的产物，加水稀释至总糖为 10 重量%，得到培养液，将培养液投入种子罐，加热到 121℃消毒，维持 30 分钟后快速降温至 36℃，接入黑曲霉菌株 A，每升培养液中黑曲霉的接种量为 2.75×10^8 个孢子。在 35℃、起始 pH 值为 5.0、3 体积：（体积·分钟）的通气条件下进行菌种培养；通过取样显微镜镜检、酸度测定和 pH 测定对黑曲霉的生长进行观察，当 pH < 2.0、酸度 > 1g/100mL、菌球大小均匀、菌丝粗壮伸出时，停止培养。

[0065] （6）将步骤（5）培养的黑曲霉菌种加入到步骤（4）的发酵罐中开始发酵，接种量为 8%，发酵条件包括温度为 35℃，起始 pH 值为 5，通气量为 0.3 体积：（体积·分钟），发酵至发酵液中还原糖含量达到 0.3g/100mL 以下停止发酵，发酵时间为 52 小时，然后进行固液分离得到柠檬酸溶液。测定柠檬酸溶液的浓度，计算单罐供酸量和转化率见表 1。

[0066] 实施例 2

[0067] 本实施例用于说明本发明提供的发酵制备柠檬酸的方法。

[0068] （1）将收获的 56 千克进行粉碎，得到平均粒子直径为 380 微米的粉碎后产物。

[0069] （2）将粉碎后的产物按 27 重量%的浓度调浆，相对于每克粉碎后的产物，加入 50 个酶活力单位的淀粉酶，进入喷射器，在 95℃、pH 为 5.8 的条件下酶解 110 分钟得到产物。

[0070] （3）将一部分酶解得到的产物通过用液压式板框压滤机进行压滤，分离出液化清液和酶解残渣，其中，酶解残渣的固含量为 50 重量%。

[0071] （4）配制发酵培养基，将 177.1 千克的上述液化清液、38.9 千克的酶解得到的产物灭菌后加入到 300L 的发酵罐中，得到发酵培养基。

[0072] （5）将步骤（2）中的剩余部分的酶解得到的产物，加水稀释至总糖为 10 重量%，得到培养液，将培养液投入种子罐，加热到 121℃消毒，维持 30 分钟后快速降温至 36℃，接

入黑曲霉菌株 A, 每升培养液中黑曲霉的接种量为 2.8×10^8 个孢子。在 36°C 、起始 pH 值为 5.5、0.6 体积:(体积·分钟) 的通气条件下进行菌种培养;通过取样显微镜镜检、酸度测定和 pH 测定对黑曲霉的生长进行观察,当 $\text{pH} < 2.0$ 、酸度 $> 1\text{g}/100\text{mL}$ 、菌球大小均匀、菌丝粗壮伸出时,停止培养。

[0073] (6) 将步骤 (5) 培养的黑曲霉菌种加入到步骤 (4) 的发酵罐中开始发酵,接种量为 10%,发酵条件包括温度为 36°C ,起始 pH 值为 4.5,通气量为 0.8 体积:(体积·分钟),发酵至发酵液中还原糖含量达到 $0.3\text{g}/100\text{mL}$ 以下停止发酵,发酵时间为 62 小时,然后进行固液分离得到柠檬酸溶液。测定柠檬酸溶液的浓度,计算单罐供酸量和转化率见表 1。

[0074] 实施例 3

[0075] 本实施例用于说明本发明提供的发酵制备柠檬酸的方法。

[0076] (1) 将收获的 56 千克玉米进行粉碎,得到平均粒子直径为 370 微米的粉碎后产物。

[0077] (2) 将粉碎后的产物按 26 重量%的浓度调浆,相对于每克粉碎后的产物,加入 15 个酶活力单位的淀粉酶,进入喷射器,在 90°C 、pH 为 6.0 的条件下酶解 120 分钟,得到酶解产物。

[0078] (3) 将一部分酶解产物通过用液压式板框压滤机进行压滤,分离出酶解液化清液和酶解残渣,其中,酶解残渣的固含量为 49 重量%。

[0079] (4) 配制发酵培养基,将 169 千克的上述酶解液化清液和 42.2 千克的酶解得到的产物灭菌后加入到 300L 的发酵罐中,得到发酵培养基。

[0080] (5) 将步骤 (2) 中的剩余部分的酶解得到的产物,加水稀释至总糖为 10 重量%,得到培养液,将培养液投入种子罐,加热到 121°C 消毒,维持 30 分钟后快速降温至 36°C ,接入黑曲霉菌株 A,每升培养液中黑曲霉的接种量为 3×10^8 个孢子。在 37°C 、起始 pH 值为 6、0.8 体积:(体积·分钟) 的通气条件下进行菌种培养;通过取样显微镜镜检、酸度测定和 pH 测定对黑曲霉的生长进行观察,当 $\text{pH} < 2.0$ 、酸度 $> 1\text{g}/100\text{mL}$ 、菌球大小均匀、菌丝粗壮伸出时,停止培养。

[0081] (6) 将步骤 (5) 培养的黑曲霉菌种加入到步骤 (4) 的发酵罐中开始发酵,接种量为 12%,发酵条件包括温度为 37°C ,起始 pH 值为 4,通气量为 0.6 体积:(体积·分钟),发酵至发酵液中还原糖含量达到 $0.3\text{g}/100\text{mL}$ 以下停止发酵,发酵时间为 56 小时,然后进行固液分离得到柠檬酸溶液。测定柠檬酸溶液的浓度,计算单罐供酸量和转化率见表 1。

[0082] 对比例 1

[0083] 按照实施例 1 的方法发酵制备柠檬酸,不同的是,接入的黑曲霉菌株为现有技术常用的黑曲霉 Co827,发酵至发酵液中还原糖含量达到 $0.3\text{g}/100\text{mL}$ 以下停止发酵,发酵时间为 75 小时,然后进行固液分离得到柠檬酸溶液。测定所得柠檬酸溶液的浓度,计算单罐供酸量和转化率见表 1。

[0084] 表 1

[0085]

	终点柠檬酸含量 (g/100mL)	单罐供酸量(kg)	周期(h)	转化率(%)
实施例 1	14.5	34.1	52	95.0
实施例 2	16.05	38.52	62	94.4
实施例 3	15.3	36.72	56	94.2
对比例 1	13.9	33.36	75	94.8

[0086] 从表 1 中可以看出,采用本发明提供的黑曲霉(该菌株于 2011 年 10 月 14 日被保藏在中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(地址:北京市朝阳区北辰西路 1 号院 3 号,中国科学院微生物研究所,邮政编码:100101)(保藏单位的缩写为 CGMCC),保藏编号为 CGMCC5342)作为发酵菌种发酵制备柠檬酸,可缩短发酵周期,提高终点柠檬酸含量、单罐供酸量。