

## 伞枝犁头霉发酵蔗糖产 $\alpha$ -酮戊二酸条件的优化

闫巧娟<sup>1</sup> 徐忠义<sup>1</sup> 蔡威<sup>1</sup> 杨绍青<sup>2</sup> 张建志<sup>1</sup> 江正强<sup>2\*</sup>

(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** 研究伞枝犁头霉 D1 利用蔗糖生产  $\alpha$ -酮戊二酸的发酵条件优化。结果表明:1)最佳发酵培养基组成为:蔗糖 40 g/L,NaNO<sub>3</sub> 1 g/L,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.36 g/L,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.2 g/L,FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g/L,NaCl 2 g/L,玉米浆 0.5 g/L,CaCO<sub>3</sub> 40 g/L,叶酸 2 g/L。2)最佳培养条件为:250 mL 摇瓶装液 25%,培养温度 37 °C 和转速 200 r/min。在此条件下培养 84 h,伞枝犁头霉产  $\alpha$ -酮戊二酸量最大达 14.0 g/L,产酸速率为 0.17 g/(L·h),对蔗糖的转化率为 34.9%。伞枝犁头霉 D1 能够有效利用蔗糖发酵产  $\alpha$ -酮戊二酸,具有较好的科研价值和工业应用前景。

**关键词** 伞枝犁头霉;  $\alpha$ -酮戊二酸; 蔗糖; 发酵条件

中图分类号 TQ 921

文章编号 1007-4333(2013)04-0162-06

文献标志码 A

## Optimization of fermentation conditions of $\alpha$ -ketoglutarate production from sucrose by *Absidia corymbifera*

YAN Qiao-juan<sup>1</sup>, XU Zhong-yi<sup>1</sup>, CAI Wei<sup>1</sup>, YANG Shao-qing<sup>2</sup>, ZHANG Jian-zhi<sup>1</sup>, JIANG Zheng-qiang<sup>2\*</sup>

(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 present work studied the optimization of  $\alpha$ -ketoglutarate production from sucrose by *Absidia corymbifera* (*Lichtheimia corymbifera*) D1. Based on single factor experiments, the optimum fermentation medium was found to be 40 g/L sucrose, 1 g/L NaNO<sub>3</sub>, 1.36 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.2 g/L MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.01 g/L FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 2 g/L NaCl, 0.5 g/L corn syrup and 40 g/L CaCO<sub>3</sub>; and the optimal incubation conditions were: 25% loading volume of 250 mL flask at 37 °C, 200 r/min for 84 h. Under the optimal fermentation conditions, the production of  $\alpha$ -ketoglutaric acid from sucrose was up to 14.0 g/L, with a conversion of 34.9%. The volumetric production rate was up to 0.17 g/(L·h). Hence, *Absidia corymbifera* D1 was efficient in utilizing sucrose for  $\alpha$ -ketoglutarate production, which shows scientific value and a good prospect for industrial applications.

**Key words** *Absidia corymbifera*;  $\alpha$ -ketoglutaric acid; sucrose; fermentation conditions

$\alpha$ -酮戊二酸 [ $\alpha$ -ketoglutaric acid (KGA) or  $\alpha$ -ketoglutarate (KG)], 又称  $\alpha$ -胶酮酸(2-氧代戊二酸或  $\alpha$ -羧基戊二酸), 是三羧酸循环(TCA)中重要的中间产物<sup>[1]</sup>。 $\alpha$ -酮戊二酸在生物体内参与氨基酸、蛋白质、维生素的合成以及能量代谢, 广泛应用于食品、医药、有机合成、化妆品、饲料等行业<sup>[2-4]</sup>。 $\alpha$ -酮戊二酸的生产主要有化学合成法和微生物发酵法。化学合成法生产  $\alpha$ -酮戊二酸过程复杂, 存在安全等问题, 无法直接用于食品和化妆品中, 而微生物

发酵法安全性好, 具有重要的学术价值和广阔的市场前景。

微生物发酵法生产  $\alpha$ -酮戊二酸的研究已有近 70 年的历史。Lockwood 和 Stodola 最早利用细菌生物合成  $\alpha$ -酮戊二酸进行了初步的研究<sup>[5]</sup>。Asai 等<sup>[1]</sup>发现假单胞菌(*Pseudomonas genus*)、粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)等具有过量合成  $\alpha$ -酮戊二酸的能力。此后, 微生物发酵法生产  $\alpha$ -酮戊二酸的报道逐渐增加, 但大多研究从大肠杆菌、粘质沙雷

收稿日期: 2012-12-04

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助(2012QJ012)

第一作者: 闫巧娟, 教授, 主要从事生物质资源利用研究, E-mail: yanqj@cau.edu.cn

通讯作者: 江正强, 教授, 主要从事食品科学研究, E-mail: zhqjiang@cau.edu.cn

氏菌等<sup>[3]</sup>细菌逐渐集中于解脂亚洛酵母(*Yarrowia lipolytica*)等酵母<sup>[2,6-8]</sup>。国内微生物发酵法合成 $\alpha$ -酮戊二酸的研究报道较少,主要以光滑球拟酵母(*Torulopsis glabrata*)为发酵菌株。陈坚课题组发现光滑球拟酵母丙酮酸羧化反应增加可以提高 $\alpha$ -酮戊二酸产量,并进行了维生素、CaCO<sub>3</sub>等辅助因子以及碳氮源浓度和TCA循环中间产物的添加对 $\alpha$ -酮戊二酸生成的影响<sup>[9-12]</sup>。迄今,国内外研究发酵法生产 $\alpha$ -酮戊二酸的微生物主要为细菌和酵母,尚未见丝状真菌发酵产 $\alpha$ -酮戊二酸的报道。

伞枝犁头霉(*Absidia corymbifera*)是一种毛霉目犁头霉属的丝状真菌,主要分离自曲样中,目前国内伞枝犁头霉的研究报道较少。马凯等<sup>[13]</sup>在汾酒大曲中分离出伞枝犁头霉。秦臻等<sup>[14]</sup>从醋曲中分离出伞枝犁头霉CQB43,可产生淀粉分解酶。中国农业大学酶与发酵工程研究室选育到1株可直接利用糖质原料发酵生产 $\alpha$ -酮戊二酸的伞枝犁头霉D1,本研究拟对该菌利用蔗糖生产 $\alpha$ -酮戊二酸的发酵条件优化进行研究,以期为工业应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种及试剂

菌种:伞枝犁头霉(*Absidia corymbifera*)D1,由中国农业大学酶与发酵工程研究室分离并保存。

$\alpha$ -酮戊二酸标样:购自Sigma公司,其他主要试剂均为国产分析纯。

### 1.2 培养基组成及培养方法

斜面培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基,马铃薯200 g,葡萄糖20 g,琼脂20 g,水1 L,自然pH。

初始发酵培养基:葡萄糖60 g/L, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.36 g/L, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.2 g/L, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.01 g/L, NaCl 2 g/L, 玉米浆0.5 g/L, 一次性添加CaCO<sub>3</sub> 40 g/L(单独灭菌), 自然pH。

培养方法:接种200  $\mu$ L伞枝犁头霉D1孢子液(1 $\times$ 10<sup>8</sup>个孢子/mL)于装有50 mL发酵培养基的250 mL的三角瓶,37 $^{\circ}$ C下200 r/min振荡培养72 h。

### 1.3 伞枝犁头霉发酵产 $\alpha$ -酮戊二酸的条件优化

采用单因素试验优化发酵条件,即以初始培养基为基础,首先考察葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、糯米淀粉、玉米淀粉、马铃薯淀粉等不同碳源(质量浓度60 g/L)及最优碳源添加量(10~80 g/L)对伞枝犁头

霉D1产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响。然后选取胰蛋白胨、酵母膏、硫酸铵、氯化铵或硝酸钠5种常见氮源(质量浓度1 g/L)和最优氮源添加量(0.5~3.0 g/L)对伞枝犁头霉D1产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响。在确定了碳源和氮源的基础上,考察氨基酸、维生素等生长因子及表面活性剂对该菌产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响。最佳培养基组成确定之后,分别考察装液量(10%~30%)和培养温度(30~45 $^{\circ}$ C)对产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响。最后在最佳培养基和最佳培养条件下,每隔12 h取样测定 $\alpha$ -酮戊二酸产量和残糖量,发酵5 d研究其产酸历程。

### 1.4 分析方法

蔗糖的测定:采用高效液相色谱分析,色谱柱为Waters氨基糖柱,流动相为V(乙腈):V(水)=75:25的混合液,流速为1 mL/min,进样量20  $\mu$ L,柱温40 $^{\circ}$ C。

$\alpha$ -酮戊二酸的检测:高效液相色谱分析,色谱柱为DIKMA C<sub>18</sub>反相柱,250 $\times$ 4.6(5  $\mu$ m);流动相为0.01 mol/L的(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>溶液(pH2.6),0.45  $\mu$ m合成纤维素酯膜过滤后,超声脱气1 h;流速0.8 mL/min,检测波长210 nm,进样量20  $\mu$ L,柱温为室温。建立 $\alpha$ -酮戊二酸工作曲线外标方程,依此计算 $\alpha$ -酮戊二酸产量。转化率和产酸速率计算公式如下:

$$\text{转化率}/\% = \{ [\rho(\alpha\text{-酮戊二酸}) \times V(\text{结束发酵液})] / [\rho(\text{初始总糖}) \times V(\text{初始发酵液})] \} \times 100$$

$$\text{产酸速率}/\% = [\rho(\alpha\text{-酮戊二酸}) / \text{发酵时间}] \times 100$$

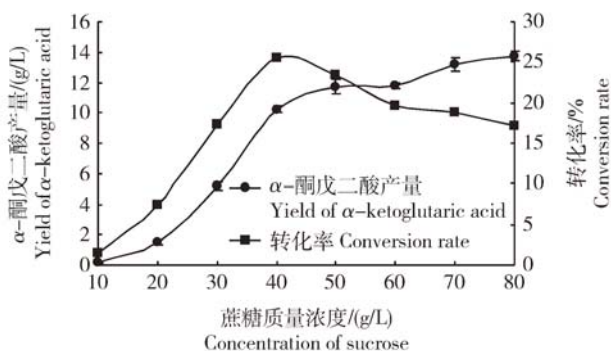
## 2 结果与讨论

### 2.1 碳源对伞枝犁头霉产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响

以葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、糯米淀粉、玉米淀粉或马铃薯淀粉为碳源(质量浓度60 g/L),对发酵产 $\alpha$ -酮戊二酸能力的影响见表1。伞枝犁头霉能利用多种糖类和淀粉发酵合成 $\alpha$ -酮戊二酸,其中利用蔗糖产酸能力最强,产量为9.63 g/L。故选取蔗糖作为最佳碳源。进一步考察蔗糖添加量对产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响,结果见图1。随着蔗糖浓度的升高, $\alpha$ -酮戊二酸的产量逐步增加,但是其转化率先增后减。增加糖浓度会对代谢流起到促进作用,但是过高的糖浓度则会形成底物抑制,转化率下降。伞枝犁头霉D1利用蔗糖(质量浓度40 g/L)时产量为9.97 g/L,转化率最高24.9%。综合考虑产量和转化率,选取质量浓度40 g/L为最佳碳源用量。

表1 不同碳源对伞枝犁头霉 D1 产  $\alpha$ -酮戊二酸的影响Table 1 Effect of various carbon sources on  $\alpha$ -ketoglutaric acid production by *Absidia corymbifera* D1

碳源种类 Carbon sources	产量/(g/L) Yield	转化率/% Conversion rate
葡萄糖 Glucose	3.66±0.05	6.09
蔗糖 Sucrose	9.63±0.23	16.05
麦芽糖 Maltose	2.23±0.07	3.72
棉籽糖 Raffinose	6.39±0.14	10.64
糯米淀粉 Glutinous rice starch	3.66±0.53	6.10
玉米淀粉 Corn starch	1.64±0.66	2.73
可溶性淀粉 Soluble starch	1.78±0.43	2.97

图1 不同蔗糖添加量对伞枝犁头霉 D1 产  $\alpha$ -酮戊二酸的影响Fig. 1 Effect of sucrose concentrations on  $\alpha$ -ketoglutaric acid production by *Absidia corymbifera* D1

## 2.2 氮源对伞枝犁头霉产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响

5种常见氮源(添加量 1 g/L)对伞枝犁头霉 D1 产  $\alpha$ -酮戊二酸的影响结果见表 2。伞枝犁头霉利用不同氮源产  $\alpha$ -酮戊二酸差别较大,其中当硝酸钠为氮源时, $\alpha$ -酮戊二酸产量最高达 10.3 g/L,转化率为 25.8%。选择硝酸钠为最佳氮源并进一步优化了其添加量,当硝酸钠质量浓度为 1 g/L 时,产  $\alpha$ -酮戊二酸量最高。氮源浓度对微生物菌体生长和代谢物产量都有较大影响,当氮源不足时营养条件没有得到满足致使菌体生长缓慢或产物产量过低;当氮源浓度过高,又会造成菌体快速生长,消耗过多的糖,从而使产酸量下降。 $\alpha$ -酮戊二酸位于 TCA 循环氮代谢的关键节点<sup>[9]</sup>,培养基中氮源的种类和浓度对伞枝犁头霉合成  $\alpha$ -酮戊二酸有着重要的影响。

表2 不同氮源对伞枝犁头霉 D1 产  $\alpha$ -酮戊二酸影响Table 2 Effect of various nitrogen sources on  $\alpha$ -ketoglutaric acid production by *Absidia corymbifera* D1

氮源种类 Nitrogen sources	产量/(g/L) Yield	转化率/% Conversion rate
蛋白胨 Peptone	4.47±0.40	11.16
酵母膏 Yeast extract	4.86±0.32	12.15
硫酸铵 Ammonium sulfate	9.97±0.15	24.88
氯化铵 Ammonium chloride	1.63±0.34	4.08
硝酸钠 Sodium nitrate	10.30±0.13	25.75

## 2.3 生长因子及表面活性剂对伞枝犁头霉产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响

不同种类氨基酸、维生素或表面活性剂(添加量

1 g/L)对伞枝犁头霉 D1 产  $\alpha$ -酮戊二酸的影响结果见表 3。叶酸对伞枝犁头霉 D1 发酵蔗糖产  $\alpha$ -酮戊二酸有较大促进作用, $\alpha$ -酮戊二酸产量由对照的

10.3 g/L 提高到 12.2 g/L,产量提高了约 20%。添加半胱氨酸和精氨酸后伞枝犁头霉 D1 几乎不产 $\alpha$ -酮戊二酸,其他氨基酸和维生素对其产酸分别有

不同程度的促进和抑制作用。因此,选取叶酸作为最佳生长因子。氨基酸、维生素以及表面活性剂在微生物的代谢循环中会起到激活或抑制相关代谢酶

表3 维生素、氨基酸及表面活性剂对伞枝犁头霉 D1 产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响  
Table 3 Effect of various amino acid, vitamin and surfactants on  $\alpha$ -ketoglutaric acid production by *Absidia corymbifera* D1

生长因子种类 Growth factor	产量/(g/L) Yield	相对产量/% Relative yield
对照 Control	10.30±0.23	100.0
吐温 20 Tween 20	11.60±0.38	113.2
吐温 40 Tween 40	4.46±0.31	43.4
吐温 60 Tween 60	1.36±0.42	13.2
吐温 80 Tween 80	8.75±0.15	85.2
曲拉通 100 Triton 100	5.38±0.06	52.4
盐酸噻胺 Thiophene amine hydrochloride	4.76±0.32	46.4
L-盐酸吡哆辛 L-Pyridoxine Hydrochloride	3.07±0.09	29.9
L-烟酸 L-Nicotinic acid	5.17±0.37	50.3
核黄素 Riboflavin	10.80±0.52	105.5
叶酸 Folic acid	12.20±0.18	118.3
L-胱氨酸 L-Cystine	4.47±0.22	43.5
L-组氨酸 L-Histidine	2.51±0.32	24.4
L-酪氨酸 L-Tyrosine	2.43±0.04	23.7
L-天冬氨酸 L-Aspartate	4.09±0.21	39.8
甲硫氨酸 Methionine	0.87±0.01	8.5
L-谷氨酸 L-Glutamate	0.88±0.11	8.6
脯氨酸 Proline	3.65±0.24	35.5
赖氨酸 Lysine	1.94±0.14	18.9
DL-白氨酸 DL- Leucine	1.04±0.27	10.1

注:添加半胱氨酸或精氨酸伞枝犁头霉 D1 不产 $\alpha$ -酮戊二酸。

Note: *Absidia corymbifera* D1 did not produce  $\alpha$ -ketoglutaric acid due to addition of cysteine or arginine.

活性的作用。不同生长因子通过对代谢酶的作用来影响微生物的生长以及产酸过程,进而影响到其 $\alpha$ -酮戊二酸的产量。

#### 2.4 装液量和温度对伞枝犁头霉产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响

当装液量<25%(62.5 mL)时,随着装液量增大,发酵液中 $\alpha$ -酮戊二酸浓度明显增大。装液量为

25%时, $\alpha$ -酮戊二酸产量最大;继续增大装液量, $\alpha$ -酮戊二酸产量反而下降(图2)。装液量主要影响发酵过程中的溶氧。装液量过大或过小都会影响菌体的生长,从而影响 $\alpha$ -酮戊二酸的产量。进一步研究不同温度对伞枝犁头霉 D1 产酸的影响。随着温度升高, $\alpha$ -酮戊二酸产量增加,但当温度超过 37℃时,继续升高温度产酸量反而下降。当温度过低或过高

时,菌体生长缓慢,相关代谢酶等活性不高,都会影响到 $\alpha$ -酮戊二酸产量。伞枝犁头霉 D1 在 37 °C 时菌体生长最好, $\alpha$ -酮戊二酸产量最高,因此,选择 37 °C 作为培养温度,产酸量达到 13.4 g/L。

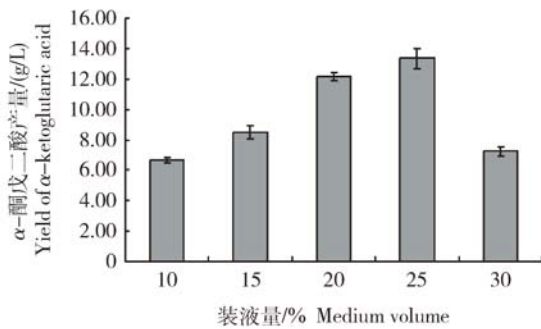


图2 装液量对伞枝犁头霉 D1 产 $\alpha$ -酮戊二酸的影响  
Fig. 2 Effect of medium volume on  $\alpha$ -ketoglutaric acid production by *Absidia corymbifera* D1

### 2.5 伞枝犁头霉发酵产 $\alpha$ -酮戊二酸历程

采用以上试验确定的最佳培养基组成和发酵培养条件,每隔 12 h 取样检测发酵 5 d 的 $\alpha$ -酮戊二酸产量,结果见图 3。伞枝犁头霉 D1 产 $\alpha$ -酮戊二酸自 36 h 开始迅速增加,在发酵 72 h 时已基本完成产酸过程,96 h 时基本利用完蔗糖。之后随着发酵的继续进行, $\alpha$ -酮戊二酸产量反而减小。 $\alpha$ -酮戊二酸是一个中间代谢产物,可能是分解或者转化为其他产物。在 84 h 时 $\alpha$ -酮戊二酸产量达到最大值 14 g/L,平均产酸速率达 0.17 g/(L·h),对蔗糖的转化率达 34.9%。

近年来,国内外研究者继细菌后对酵母发酵生产 $\alpha$ -酮戊二酸进行了大量研究,但尚未见到丝状真菌发酵生产 $\alpha$ -酮戊二酸的报道。如 Chernyavskaya 等<sup>[15]</sup>选育出一株利用乙醇为唯一碳源生产 $\alpha$ -酮戊二酸的解脂亚洛酵母 N1,同时研究了维生素 B<sub>1</sub> 的质量浓度、氮源质量浓度、溶氧以及 pH 等营养与环境条件对 $\alpha$ -酮戊二酸的产量的影响, $\alpha$ -酮戊二酸的产量达 49 g/L。解脂亚洛酵母合成 $\alpha$ -酮戊二酸的研究比较系统和深入,目前 $\alpha$ -酮戊二酸的产量高达 172 g/L<sup>[6-8]</sup>。而光滑球拟酵母发酵 $\alpha$ -酮戊二酸的能力相对较低,梁楠等<sup>[12]</sup>以光滑球拟酵母 WSH-IP303 为出发菌株,通过改变细胞内关键因子的浓度使得碳代谢流的流向和通量发生改变,在葡萄糖

培养基中添加 4 g/L 的乙酸,发酵 48 h 得到 17.8 g/L 的 $\alpha$ -酮戊二酸。光滑球拟酵母 CCTCC M202019 营养条件优化后可转化丙酮酸生成 $\alpha$ -酮戊二酸 10.7 g/L<sup>[9]</sup>,进一步调整碳代谢流 $\alpha$ -酮戊二酸可达 37.7 g/L<sup>[10]</sup>。而伞枝犁头霉可利用产量丰富、价格低廉的蔗糖生产应用前景广泛的 $\alpha$ -酮戊二酸,为将来的菌种改造和发掘丝状真菌发酵产 $\alpha$ -酮戊二酸奠定基础。

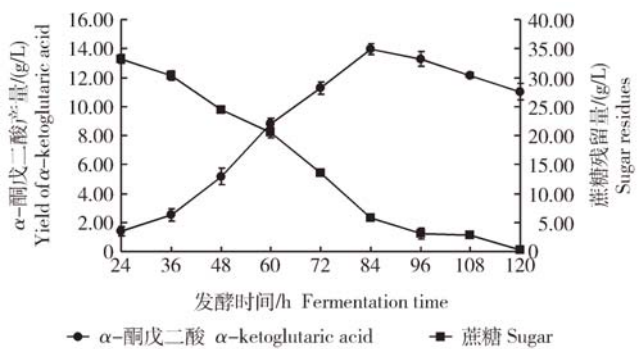


图3 伞枝犁头霉利用蔗糖发酵产 $\alpha$ -酮戊二酸的历程  
Fig. 3 Time course of  $\alpha$ -ketoglutaric acid production from sucrose by *Absidia corymbifera* D1

## 3 结论

目前国内外微生物发酵生产 $\alpha$ -酮戊二酸的研究报道较多,且集中在粘质沙雷氏菌、*Bacillus megatherium* 等细菌<sup>[6]</sup>和光滑球拟酵母、解脂亚洛酵母等酵母发酵生产 $\alpha$ -酮戊二酸<sup>[7]</sup>,所用原料多为葡萄糖、乙醇、甘油等,尚未见到微生物利用蔗糖和丝状真菌发酵生产 $\alpha$ -酮戊二酸的报道。因此,伞枝犁头霉 D1 作为一株丝状真菌利用蔗糖发酵生产 $\alpha$ -酮戊二酸的研究具有较好的科研价值和工业应用价值。我国甘蔗种植面积大,蔗糖资源丰富,价格相对低廉<sup>[16]</sup>。若能以蔗糖为碳源发酵生产 $\alpha$ -酮戊二酸,则将扩大发酵原料来源,降低生产原料成本,有助于发酵法工业化生产 $\alpha$ -酮戊二酸。继细菌和酵母发酵产 $\alpha$ -酮戊二酸之后,研究发现丝状真菌伞枝犁头霉 D1 能利用蔗糖生产 $\alpha$ -酮戊二酸。通过单因素试验得到其产酸最佳培养基组成和培养条件,发酵 $\alpha$ -酮戊二酸最高产量可达 14 g/L,对蔗糖的转化率达 34.9%。

## 参 考 文 献

- [1] Asai T, Aida K, Sugisaki Z, et al. On  $\alpha$ -ketoglutaric acid fermentation [J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 1955, 4(1): 308-345
- [2] Tsugawa R, Nakase T, Kobayashi T. Fermentation of n-paraffins by yeasts. Part I: Fermentative Production of  $\alpha$ -ketoglutaric acid by *Candida lipolytica* [J]. Agric Biol Chem, 1969(33): 158-167
- [3] Otto C, Yovkova V, Barth G. Overproduction and secretion of  $\alpha$ -ketoglutaric acid by microorganisms [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 92(4): 689-695
- [4] 张群. 发酵法生产 $\alpha$ -酮戊二酸技术的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(2): 37
- [5] Lockwood L B, Stodola F H. Preliminary studies on the production of  $\alpha$ -ketoglutaric acid by *Pseudomonas fluorescens* [J]. Journal of Biological Chemistry, 1946, 164: 81-83
- [6] Kamzolova S V, Chiglintseva M N, Lunina J N, et al.  $\alpha$ -Ketoglutaric acid production by *Yarrowia lipolytica* and its regulation [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 96(3): 783-791
- [7] Finogenova T V, Morgunov I G, Kamzolova S V, et al. Organic acid production by the yeast *Yarrowia lipolytica*: A review of prospects [J]. Applied Biochemistry and Microbiology, 2005, 41(5): 418-425
- [8] Yu Zongzhong, Du Guocheng, Zhou Jingwen, et al. Enhanced  $\alpha$ -ketoglutaric acid production in *Yarrowia lipolytica* WSH-Z06 by an improved integrated fed-batch strategy [J]. Bioresource Technology, 2012, 114: 597-602
- [9] 许晓鹏, 刘立明, 陈坚, 等. 营养条件对光滑球拟酵母积累 $\alpha$ -酮戊二酸的影响 [J]. 工业微生物, 2009, 12(39): 6-10
- [10] Zhang Dandan, Liang Nan, Shi Zhongping, et al. Enhancement of  $\alpha$ -ketoglutarate production in *Torulopsis glabrata*: Redistribution of carbon flux from pyruvate to  $\alpha$ -ketoglutarate [J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2009, 14(2): 134-139
- [11] 孙丽平, 刘立明, 堵国成, 等. 基于途径分析促进 $\alpha$ -酮戊二酸过量积累的数学模型技术 [J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(1): 113-117
- [12] 梁楠, 王森, 刘立明, 等. 提高光滑球拟酵母乙酰辅酶 A 水平促进 $\alpha$ -酮戊二酸合成 [J]. 微生物学报, 2008, 48(7): 874-878
- [13] 马凯, 崔哲男, 郑晓卫, 等. 汾酒大曲可培养真菌多样性的初步分析 [J]. 中国酿造, 2011(8): 19-21
- [14] 秦臻, 蔡素梅, 黄钧, 等. 一株产生淀粉分解酶犁头霉的分离鉴定及其酶学性质 [J]. 微生物学通报, 2011, 38(5): 729-735
- [15] Chernyavskaya O G, Shishkanova N V, Il'chenko A P, et al. Synthesis of  $\alpha$ -ketoglutaric acid by *Yarrowia lipolytica* yeast grown on ethanol [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2000, 53(2): 152-158
- [16] 金超, 周晓薇, 李红, 等. 蔗糖及废蜜发酵生产 L-乳酸 [J]. 中国甜菜糖业, 2006(2): 38-40

责任编辑: 刘迎春