

综 述

L-酒石酸生产

张建国

(发酵系)

L-酒石酸是一种天然有机酸, 它的酸味值约是柠檬酸的1.25倍, 可用于清凉饮料, 它和柠檬酸、氧化亚铁产生鲜绿色作为食用色素用于糕点。L-酒石酸在生产抗结核药乙胺丁醇中作为不可替代的拆分剂用于拆分中间体(±)-2-氨基丁醇。在工业上它可作为印染的防染剂、照相显影剂, 它在电镀、医药和制革领域也有广泛用途。目前世界上酒石酸年产量大约30000~40000吨, 供需基本平衡, 国内年需要量约为700~800吨, 而国内每年只可提供20吨左右, 大部分需要从国外进口。

L-酒石酸在某些植物果实如葡萄、罗望子果等中有较高的含量。它首先由 Scheele 于 1769 年从葡萄酒中发现, 且起先的主要来源也是从葡萄酒的副产物——酒石中提炼获得, 后来采用化学合成法先制得 DL-酒石酸, 再经拆分获得 L-酒石酸。1929 年佳本首先报道了 *Aspergillus glaucus* 在葡萄糖基质上能产生 L-酒石酸^[1]; 1937 年 Hessler 报道了 *Gibberella aubinetti* 也具有产生 L-酒石酸的能力^[2]; 1943 年 Kamlet 以 *Acetobacter suboxydans* 生产 L-酒石酸申请了美国专利^[3]; 1954 年 Kheshgi 报道了在利用 *Acetobacter suboxydans* 生产 5-酮基葡萄糖酸的副产物中有 L-酒石酸^[4]; 1965 年 Drawert 报道了 Wine yeast 也能生成 L-酒石酸^[5]。除了用葡萄糖作为基质外, 1932 年 Bernhauer 报道了 *Aspergillus* sp 能利用乙醇产生 L-酒石酸^[6]; 1951 年 Lockwood 申请了用 *Pseudomonas fluoresceus* 分解 5-酮基葡萄糖酸为 L-酒石酸的美国专利^[7]。

1968 年山田浩一等人采用弱氧化葡萄糖杆菌(*Gluconobacter suboxydans* IAM-1829 (ATCC621) 直接发酵生产 L-酒石酸, 产酸为 14.6 克/升, 转化率为 29.2% (理论值为 35%)^[8]。后来山田浩一等人又将该菌诱变得到一株能累积预酒石酸的变异株 *Gluconobacter suboxydans* IAM-1829-AN-828, 用化学方法将积累的预酒石酸处理得到酒石酸^[9]。酒石酸的生物合成途径如图 1 所示^[10]。

直接发酵法生产酒石酸异性物质多, 提取困难, 收率低, 经济上目前还没有吸引力。合成法生产的 L-酒石酸成本高, 作食品添加剂不安全, 现在已逐渐被淘汰。1974 年佐藤英次等人首先报道了采用 *Achromobacter lartarogenes* 和 *Alcaligenes epxilyticus* 水解顺式环氧琥珀酸生产 L-酒石酸的前体发酵法^{[11][12]}。其过程大致如图 2 所示。

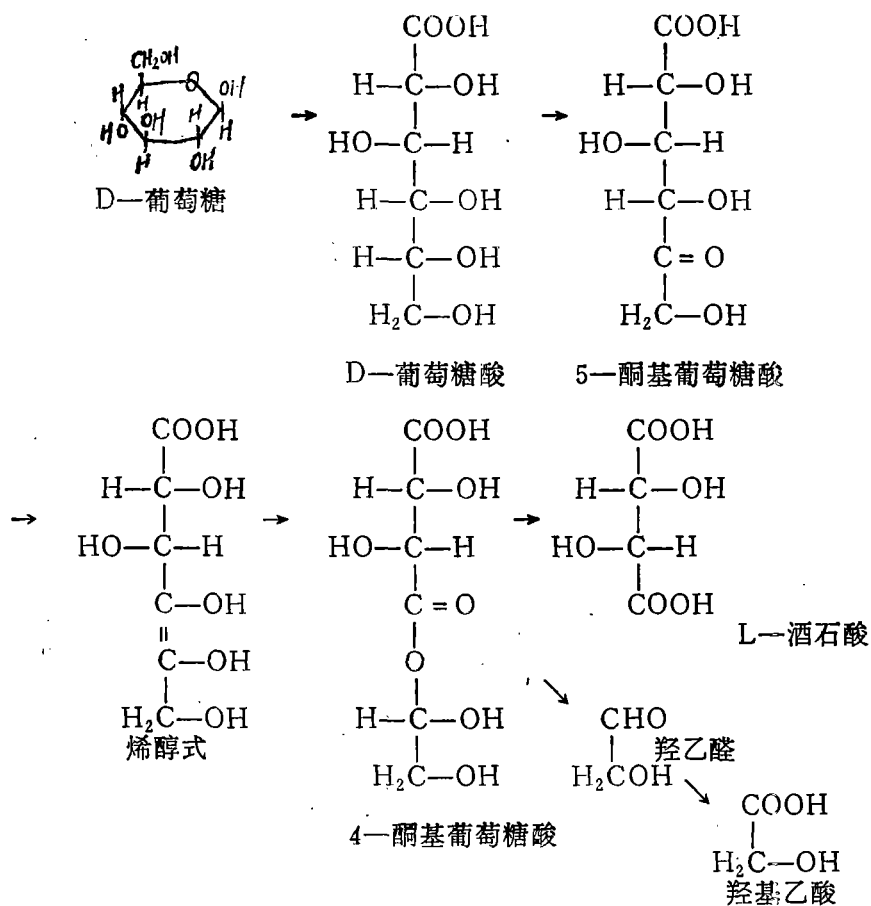


图1 酒石酸的生物合成途径

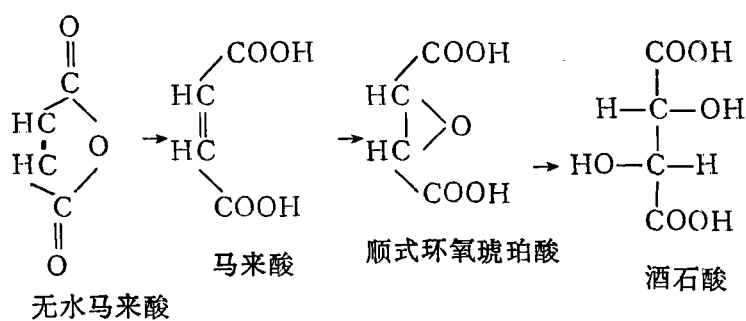


图2 酒石酸生产示意图

以无水马来酸(顺丁烯二酸酐)为原料经水解得到马来酸,再以钨酸钠(Sodium tungstate)作为催化剂将马来酸与过氧化氢反应制得顺式环氧琥珀酸。培养具有L-酒石酸外氧化酶(L-tartate exoxidase)的微生物作酶源将顺式环氧琥珀酸转化为酒石酸。

自佐藤后,镰谷义夫^[13]、由谷清彦^[14]、鹤见好博^[15]等人也相继采用了不同微生物进行酒石酸的酶法生产。具有L-酒石酸外氧化酶的微生物主要是细菌,目前报道的有无色杆菌(Achromobacter)、产碱杆菌(Alcaligenes)、醋酸杆菌(Acetobacter)、不动杆菌(Acinetobacter)、土壤杆菌(Agrobacterium)、诺卡氏菌(Nocardia)、根瘤菌(Rhizobium)、

假单胞菌(*Pseudomonas*)和棒杆菌(*Corynebacterium*)。

酶法生产酒石酸的工艺流程大致如图3所示。

具有L-酒石酸外氧化酶的微生物一般都具有利用顺式环氧琥珀酸的能力。L-酒石酸外氧化酶是一种诱导酶,在培养这类微生物生产酒石酸时通常在培养基中需加少量顺式环氧琥珀酸进行诱导培养。这种酶的分子量在25000~45000之间,在pH5~9范围内稳定,最适pH为7.5~8.5,作用温度范围为25~55℃。

转化所采用的L-酒石酸外氧化酶可选用精制酶、培养液、活菌体、干燥菌体、菌体抽提液、粗酶液或固定化酶。

顺式环氧琥珀酸盐的添加方法可采用预先添加在培养基中,也可首先加葡萄糖等物质进行菌体培养,而后在适当的时候添加。可一次加入,也可分割加入。以顺式环氧琥珀酸二钠作底物,最高浓度可达20%左右^[12]。生产上一般在1摩尔以下^[16]。钙盐作底物最高浓度可达64.4%左右^[17]。收率均在90%以上。研究表明表面活性剂对转化作用具有显著的促进作用^[17,18,18],但对其机制还不十分清楚。另外钙盐的细度对转化速度和转化率也有明显的影响,一般应小于100微米^[20]。

酒石酸盐的分离和酒石酸的提取大都采用钙盐法,采用硫酸钙循环使用工艺可减少废料的排放^[16]。武末仁志等人采用离子交换法使酸石酸生产实现了连续化^[21],其工艺如图4所示。

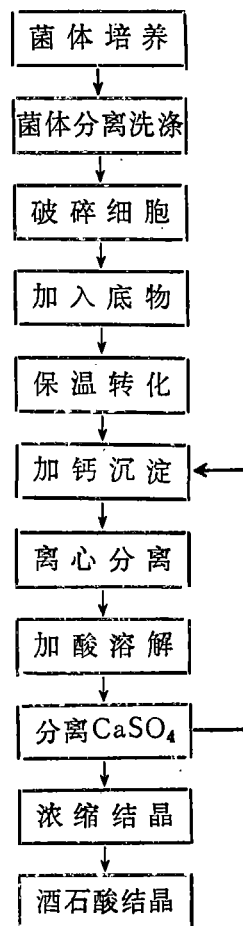
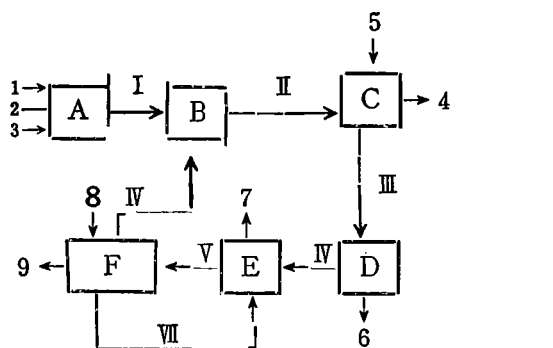


图3 酶法生产酒石酸工艺流程框图



- | | | |
|-------------|--------------|--------|
| A—菌体反应工程; | 1—顺式环氧琥珀二钠盐; | 2—菌体; |
| B—活性炭处理工程; | 3—表面活性剂; | 4—活性炭; |
| C—活性炭过滤工程; | 5—水; | 6—钠离子; |
| D—阳离子交换工程; | 7—水; | 8—洗涤水; |
| E—浓缩晶析工程; | 9—酒石酸结晶 | |
| F—结晶分离洗涤工程; | | |

图4 武末仁志采用的酒石酸生产工艺框图

采用酶法生产酸石酸可以大量廉价的无水马来酸或马来酸为工业原料,工艺上具有操作简单,收率高,易制得高纯度酒石酸,经济效益高、安全性好等优点,所以目前世界上广泛采用该法生产酒石酸。国内现在也已在研究和试验之中。

参 考 文 献

- [1] 住木·农化, 1929, 5, 513
- [2] Hessler L E, Gortner R A. J. Biol. Chem. 1937, 119, 193
- [3] Kamlet J. US Patent, 2, 1943, 314, 831
- [4] Kheshgi S, Roberts H R, Bucek W. Appl. Microbiol. 1954, 2, 183
- [5] Drawert F, Rapp A, Ulrich W. Die Naturwissenschaften. 1965, 52, 305, Vitis, 1965, 5, 199
- [6] Bernhauer K, Bockl N. Biochem. Zeitsch. 1932, 253, 16
- [7] Lockwood L B, Nelson G E N. US Patent. 1951, 2, 559, 650
- [8] Yamada K, Kodama T, Kotera U Agr. Biol. Chem. 1972, 36, 1299
- [9] 山田浩一. 特许公报. 1959, 昭54—29598
- [10] Kotera U, Kodama T, Minoda Y, Yamada K Agr. Biol. Chem. 1972, 36, 1315
- [11] 佐藤英次. 特许公报. 1979, 昭54—14191
- [12] 佐藤英次. 特许公报. 1979, 昭54—14192
- [13] 镰谷义夫. 特许公报. 1982, 昭57—30473
- [14] 由谷清彦. 特许公报. 1979, 昭54—24473
- [15] 鹤见好博. 特许公报. 1979, 昭54—37234
- [16] 佐藤英次. 特许公报. 1982, 昭57—39747
- [17] 镰谷义夫. 特许公报. 1982, 昭57—39749
- [18] 由谷清彦. 特许公报. 1983, 昭58—9678
- [19] 由谷清彦. 特许公报. 1983, 昭58—32593
- [20] 镰谷义夫. 特许公报. 1982, 昭57—39748
- [21] 武末仁志. 特许公报. 1985, 昭60—56475