

L-色氨酸营养缺陷型高产菌株的发酵工艺研究

张新武¹, 杨晓明², 廉娜娜², 黄继红^{1*}

(1. 河南省食品工业科学研究所有限公司, 郑州 450053; 2. 孟州市华兴生物化工有限责任公司, 孟州 454750)

摘要: **目的** 以 L-色氨酸营养缺陷型高产菌 HX22-118 为出发菌株, 研究探讨 L-色氨酸补料分批发酵工艺。**方法** 通过对 L-色氨酸补料分批发酵工艺中不同初糖浓度、不同补料方式、碳氮源比例、不同 pH 值调节方式、添加 L-苯丙氨酸、L-酪氨酸对发酵的影响进行了研究。**结果** 通过补料分批发酵工艺能有效地解除了高糖对菌体生长的抑制, 促进菌体生长产酸, 选择初糖淀粉浓度为 90 g/L, 保持葡萄糖总浓度 160 g/L, 在发酵第 24 h 开始连续流加剩余的糖, 并于发酵第 12 h 和 24 h 分 2 次补加各 50 mg/L 的 L-苯丙氨酸、L-酪氨酸, 同时用氨水与 NaOH 控制发酵过程的 pH, 发酵产酸较分批发酵的 33.5 g/L 提高 49.5%, 达到 50.1 g/L, 缩短了发酵周期, 提高了原料利用率。**结论** 形成一套先进的 L-色氨酸工业化发酵生产工艺技术, 产酸高, 生产运行稳定。**关键词:** L-色氨酸; 营养缺陷型; 菌株; 补料分批发酵; 产酸率

Research on fermentation process with L-tryptophan auxotrophic strains of high-yield

ZHANG Xin-Wu^{1*}, YANG Xiao-Ming², LIAN Na-Na², HUANG Ji-Hong¹

(1. Henan Province Food Industry Research Institute Co., Ltd, Zhengzhou 450053, China;
2. Mengzhou Huaxing Biological Chemical Co., Ltd., Mengzhou 454750, China)

ABSTRACT: Objective The batch fermentation of L-tryptophan filling material was researched by using L-tryptophan auxotroph high-yielding bacteria HX22-118 as a starting strain. **Methods** The different initial sugar concentration, different ways of filling material, different proportion of carbon and nitrogen sources, different pH adjustment methods, as well as the adding of L-phenylalanine and L-tyrosine, on fermentation with L-tryptophan as filling material were studied. **Results** By covering material batch fermentation process could effectively remove the sugar on inhibition of bacteria growth, and promote the growth of bacteria to produce acid. The concentration of sugar starch was 90 g/L, the total concentration of glucose was 160 g/L, after a 24 h fermentation there began the continuous flow with the rest of the sugar, and in the 12 h fermentation and 24 h fermentation points each 50 mg/L of L-phenylalanine and L-tyrosine was added 2 times, and at the same time with ammonia and NaOH were added to control the pH. The fermentation promoted the acid fermentation to produce the batch fermentation of 33.5 g/L, which was increased by 49.5% to 50.1 g/L, shortening the fermentation period, and improving the utilization rate of raw materials. **Conclusion** The advanced industrial fermentation of L-tryptophan production technology was formed, which could produce acid quite high, with a stable production operation.

KEY WORDS: L-tryptophan, auxotroph; strains; fill material batch fermentation; acid production rate

基金项目: 河南省重点科技攻关计划项目(102102310027)

Fund: Supported by Henan Province Key Scientific Research Project (102102310027)

*通讯作者: 黄继红, 博士, 教授级高级工程师, 主要研究方向为农产品发酵工程。E-mail: Huangjihong1216@126.com

*Corresponding author: HUANG Ji-Hong, Doctor, Senior Engineer, Henan University of Technology Institute of Biological Engineering, Zhengzhou 450001, China. E-mail: Huangjihong1216@126.com

1 引言

L-色氨酸是人体和动物生命活动中 8 种必需氨基酸之一, 对人和动物的生长发育、新陈代谢起着重要的作用, 被称为第二必需氨基酸, 广泛应用于医药、食品和饲料等方面^[1,2]。在工业上, *L*-色氨酸的生产方法主要有以下几种: 化学合成法、蛋白质水解法和微生物发酵法^[3-5]。早期的 *L*-色氨酸的生产主要采用化学合成法^[6]和蛋白质水解法^[7], 但是由于这些方法存在着原料来源有限、生产周期长、工艺复杂、产品成分复杂等缺点逐渐被淘汰。微生物发酵法有直接发酵法、微生物转化法^[8]和酶法。近年来, 还出现了将直接发酵法与化学合成法相结合、直接发酵法与转化法相结合生产 *L*-色氨酸的新方法。其中酶促转化法具有终产物积累量高、反应周期短、分离提纯容易等优点。但是, 酶促反应法也存在着底物价格高, 产酸转化率低等问题不容易规模生产。微生物发酵法是目前工业化生产 *L*-色氨酸的主要方法^[9,10], 采用发酵方法生产 *L*-色氨酸的国外厂家主要有: 日本协和发酵, 日本三菱化学公司, 德国的 Degussa 公司, 德国 BASF, 美国 ADM 公司, 韩国希杰(CJ)发酵以及法国瑞米克斯公司。日本协和发酵的 Ikeda 等人已经申请专利, 通过基因工程重组菌来生产 *L*-色氨酸, 其菌种产量达到 35.2 g/L 发酵液(2 L 罐小试), 放大后达到 66 g/L, 为目前行业报道的最高发酵水平^[11]; 国内 *L*-色氨酸生产近年来刚刚起步, 发展速度较快, 主要生产企业有: 福建麦丹集团、安徽丰原生物化学股份有限公司、山东鲁抗医药股份有限公司和江苏诚意有限公司等。国内企业的 *L*-色氨酸发酵产酸水平为 25 g/L 左右, 发酵周期平均 68 h 左右, 饲料级产品收率 85%, 医药级产品收率 70%。同其他国家相比, 我国生产 *L*-色氨酸技术水平较低, 产量较少, 其应用主要依赖进口。本研究采用自主选育的 *L*-色氨酸营养缺陷型高产菌 HX22-118 作为出发菌株, 研究探讨 *L*-色氨酸补料分批发酵工艺, 以期提高 *L*-色氨酸工业化发酵生产技术水平。

2 材料与amp;方法

2.1 材料、试剂与仪器设备

菌株: 谷氨酸棒杆菌 HX22 (*Corynebacterium*

glutamicum)由河南省孟州市华兴生物化工有限责任公司保存, 摇瓶发酵产酸能力为 14.9 g/L。

化学试剂: 硫酸二乙醋(DES): 天津化学试剂六厂; 牛肉膏、蛋白胨: 日本制药株式会社; 琼脂粉(AR): WAKO 进口分装; 硫酸铵(AR): 南开化工厂; *L*-色氨酸(AR)、*L*-苯丙氨酸、*L*-酪氨酸(AR): 天津德宇生物技术公司; 5-氟-DL-色氨酸; 4-氟-DL-苯丙氨酸: Sigma 公司; 磺胺胍: 浙江巨化集团公司制药厂; 其他试剂均从当地采购。

主要仪器与设备: PHS-25 型酸度计, 上海伟业仪器厂; 751G 分光光度计, 上海分析仪器厂; OLYMPUS 生物显微镜, 日本 OLYMPUS 会社; LxJ64-01 型离心机, 河北省吴桥电机厂; 谷氨酸-葡萄糖分析仪, 山东科学院生物研究所; 30 L 自动控制发酵罐(B.BrannB 型), 德国贝朗(Braun)公司; SHZ-82XIN 型水浴恒温振荡器, 江苏太仓医疗器械厂; 种子罐 $V=1.5\text{ m}^3$ 、二级种子罐 $V=5\text{ m}^3$, 自制; 发酵罐 $V=35\text{ m}^3$, 自制; 空气净化系统, 无锡市宝德金工程设备厂。

2.2 培养基

2.2.1 活化斜面培养基: 葡萄糖 1.0 g/L, 蛋白胨 10.0 g/L, 牛肉膏 10.0 g/L, 酵母膏 5.0 g/L, NaCl 2.5 g/L, 琼脂条 20.0 g/L, pH 7.0 ~ 7.2

2.2.2 斜面保藏培养基: 蛋白胨 10.0 g/L, 牛肉膏 10.0 g/L, 酵母膏 5.0 g/L, NaCl 2.5 g/L, 琼脂条 20.0 g/L, pH 7.0 ~ 7.2

2.2.3 基本培养基: 葡萄糖 20.0 g/L, 硫酸铵 10.0 g/L, 磷酸二氢钾 1.0 g/L, MgSO_4 0.4 g/L, FeSO_4 0.01 g/L, MnSO_4 0.01 g/L, 生物素 100 μg , VB_1 100 μg , 琼脂粉 20.0 g/L, pH 7.0 ~ 7.2

2.2.4 氨基酸补充培养基: 100 mL 液体基本培养基中添加 *L*-苯丙氨酸、*L*-酪氨酸各 10 mg, pH 7.0 ~ 7.2

2.2.5 种子培养基: 玉米淀粉 40.0 g/L, 硫酸铵 4.0 g/L, 玉米浆 30 mL, 酵母浸膏粉 6.0 g/L, 磷酸二氢钾 1.0 g/L, MgSO_4 0.4 g/L, MnSO_4 0.01 g/L, FeSO_4 0.01 g/L, VB_{1300} μg , VH_{200} μg , pH 7.0 ~ 7.2

2.2.6 发酵培养基: 玉米淀粉 167.0 g/L, 硫酸铵 42.0 g/L, Phe 0.15 g/L, Try 0.15 g/L, 豆饼水解液 19 mL, 玉米浆 22 mL, KH_2PO_4 1.0 g/L, MgSO_4 0.4 g/L, MnSO_4 0.01 g/L, FeSO_4 0.01 g/L, VB_1 100 μg , VH_{50} μg , pH 7.0 ~ 7.2

2.3 发酵培养条件

2.3.1 种子培养方法

将装有 50 mL 种子培养基的 500 mL 三角瓶中分别接入 1 环生长良好的斜面培养物, 于 30 °C、转速为 260 r/min 下培养 20~24 h 至对数生长中后期。

2.3.2 30 L 实验发酵罐发酵培养条件

装液量为 55%, 接入 5% 的种子, 于 30±1 °C, 搅拌转速为 300 r/min、通风量为 0.9 m³/h 的条件下发酵至 72 h(溶氧、温度、pH 值自动显示)。

2.3.2 5 T 发酵罐发酵条件

用接种瓶接入培养成熟的种子培养基, 发酵温度 30±1 °C, 搅拌转速为 200 r/min、通风量为 100~180 m³/h, 培养时间 60 h 左右。控制初糖淀粉浓度为 90 g/L, 采用补料分批发酵工艺。

2.3.2 30 T 发酵罐发酵条件:

接入培养成熟的种子培养基, 控制发酵温度 30±1 °C, 搅拌转速为 160 r/min、通风量 200-500 m³/h, 培养时间 60 h 左右。控制初糖淀粉浓度为 90 g/L, 采用补料分批发酵工艺。

2.4 分析方法

2.4.1 L-色氨酸的测定方法^[12]

将发酵液 3000 r/min 离心 10 min, 上清液稀释适当倍数, 准确取 1 mL 稀释后的发酵液与对二甲氨基苯甲醛储备溶液 9 mL 混合, 移入试管中 60 °C 水浴加热 15 min, 加入 0.5% 亚硝酸钠溶液 0.05 mL, 混匀后再继续水浴加热 5 min, 取出冷却, 静置 10 min, 以不含对二甲氨基苯甲醛显色剂的硫酸溶液做样品空白(以便消除样品自身颜色的干扰), 用 1 cm 比色皿在 593 nm 处测定吸光值。以 L-色氨酸标准溶液配制

标准系列溶液, 同法制备标准曲线, 以标准曲线法定量求出 L-色氨酸的产量。

2.4.2 pH 的测定 采用 pH5.5~9.0 精密 pH 试纸测定和 pH-25 型酸度计。

2.4.3 葡萄糖的测定^[13] 采用 SBA~40A 谷氨酸-葡萄糖分析仪测定。

3 结果与讨论

3.1 L-色氨酸分批发酵研究及过程数据分析

为了进一步了解选育菌株生长和产酸情况, 采用上述培养基和培养条件, 在 30L 自动控制发酵罐进行 L-色氨酸分批发酵试验, 发酵过程中定时取样分析测定发酵液吸光度、还原糖和 L-色氨酸产量, 取三瓶测定结果的平均值, 绘制菌株 HX22-118 的 L-色氨酸发酵过程曲线, 结果如下图 1 所示。

由图 1 可知, 0~6 h 为菌体生长的延滞期, 此时菌体耗糖速率较慢, 主要用于长菌, 基本不产酸; 6 h 以后细胞生长开始进入对数生长期, 约 48 h 达到最高点。耗糖速率明显加快, 并开始产 L-色氨酸; 48~66 h 菌体进入稳定期, 在此阶段, 菌体耗糖速率较快, 色氨酸大量合成, 66~72 h 为菌体衰退期, 这时菌体耗糖速率减慢, 直到发酵结束。

3.2 L-色氨酸补料分批发酵工艺的研究

3.2.1 不同初糖浓度对发酵的影响

由于较高的初始葡萄糖浓度对 L-色氨酸的积累存在一定的抑制作用^[14], 因此可以考虑采用适宜的葡萄糖流加方案来提高色氨酸的生产水平。由于高糖存在的底物抑制作用, 会影响菌体的生长, 进而影响

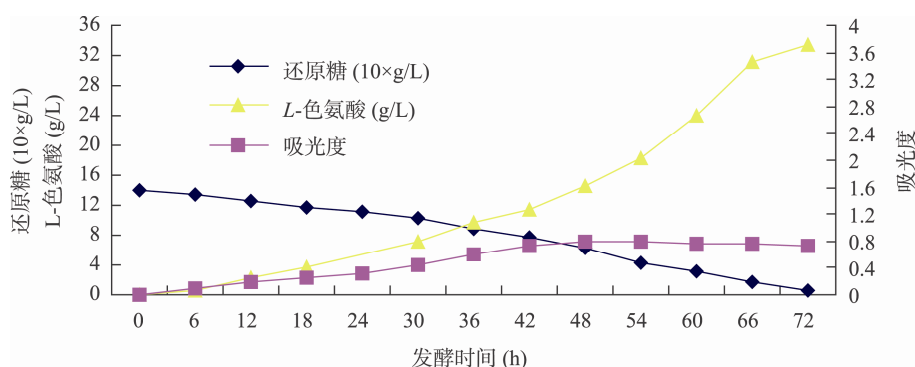


图 1 L-色氨酸分批发酵生长曲线

Fig. 1 L-tryptophan batch fermentation growth curve

注: 图中 OD 值为用蒸馏水稀释 50 倍, 于 620 nm 波长下测吸光度。

发酵产酸。因此,在发酵生产特别是氨基酸生产上,经常采用低糖流加工工艺来减少负面作用。一般,一定浓度的初糖使菌体生长良好,后期补糖主要维持菌体发酵生产代谢产物。基于此,考查了不同初糖对补料分批发酵的影响。维持总糖浓度 160 g/L,在发酵 24 h 后,一次性补加剩余葡萄糖,发酵终止后测定色氨酸产量,结果如图 2 所示。

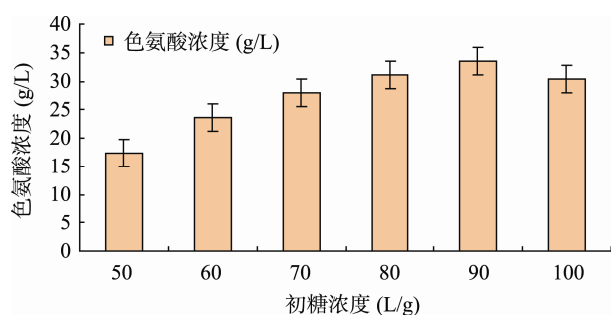


图 2 不同初糖浓度对色氨酸发酵的影响

Fig. 2 The influence of different sugar concentrations of tryptophan at the beginning of fermentation

图 2 从表中可以看到,在低糖时,初糖浓度在 90 g/L *L*-色氨酸产量最高。

3.2.2 不同补糖方式对发酵的影响

保持葡萄糖浓度 160 g/L 和初糖浓度(90 g/L)不变,试验考察了补糖次数、补糖时间不同对 *L*-色氨酸发酵的影响。分 5 种方法进行补料方式试验:

方式 A: 发酵第 12 h 一次性补加剩余的糖;

方式 B: 发酵第 36 h 一次性补加剩余的糖;

方式 C: 间隔 12h 于发酵第 24 h、36 h、48 h 分次平均补加剩余的糖;

方式 D: 间隔 6 小时于发酵第 24 h 开始分 8 次平均补加剩余的糖;

方式 E: 发酵第 24 h 开始连续流加剩余的糖,发酵 60 h 终止发酵,取样测色氨酸含量,实验结果如图 3 所示。

从图 3 可知,补料方式 E 效果最好, D、C 次之,连续流加比分次补料好,分次补料比一次补料的效果好,方式 B 又优于方式 A。间隔 6 h 补料比间隔 12 h 补料好,说明菌体在较低浓度葡萄糖下生长,不存在底物葡萄糖对菌体生长和产酸的抑制作用,有利于色氨酸的积累。

3.2.3 补料分批培养中氮的供给对色氨酸发酵的影响

碳源和氮源之间的相对比例即碳氮比(C/N 比)对

于色氨酸的发酵生产有着重要的意义^[15,16]。在 5 吨罐的流加发酵培养中,初糖的浓度为 90 g/L,发酵 24 h 之后,随着葡萄糖流加,氮源逐渐减少,C/N 比失调,故考虑在流加葡萄糖的同时,向发酵培养基中流加一定的氮源。由于 NH_4^+ 的积累一方面导致丙氨酸的积累,从而抑制谷氨酰胺合成酶(GS),导致色氨酸生成减少,另一方面使 HMP 途径减弱,TCA 循环增强,为了进一步提高色氨酸的产量和产率,在相同的培养条件下,初糖为 90 g/L,24 h 后当葡萄糖浓度降为 2%时,补加葡萄糖,同时分别用氨水、NaOH、氨水与 NaOH 共同三种方式控制发酵过程的 pH,进行流加氮源培养试验,结果见表 1。

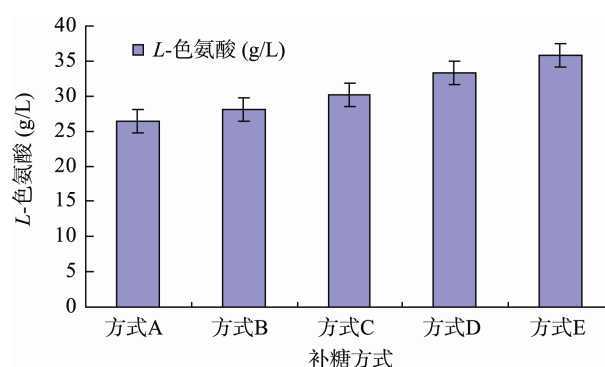


图 3 补糖方式对发酵的影响

Fig. 3 Effect on fermentation of carbohydrate supplement way

表 1 pH 值不同调节方式的氮源补料分批发酵结果
Table 1 Different pH adjustment modes on nitrogen filling source to batch fermentation

调节方式	菌体浓度(g/L)	<i>L</i> -色氨酸产量(g/L)
1 [#]	22.5	30.6
2 [#]	22.89	28.6
3 [#]	24.1	32.2

注: 1: 用 NaOH 调节 pH 值; 2: 用氨水调节 pH 值; 3: 用氨水和 NaOH 共同调节 pH 从表 7 中可以看出用氨水和 NaOH 共同调节 pH 的效果最佳。

3.2.4 分次添加 *L*-苯丙氨酸、*L*-酪氨酸对色氨酸发酵的影响研究

在葡萄糖间隙定量流加,用氨水和 NaOH 共同调节 pH 条件下考查分次添加 *L*-苯丙氨酸、*L*-酪氨酸对色氨酸发酵的效果。*L*-苯丙氨酸、*L*-酪氨酸初始添加量为 200 mg/L,方式 A 于发酵第 12 h 一次性补加 *L*-苯丙氨酸、*L*-酪氨酸各 100mg/L; 方式 B 于发酵第 12 h 和 24 h 分 2 次补加各 50 mg/L,结果如表 2 所示。

表 2 分次补加苯丙氨酸和酪氨酸对发酵结果的对比影响
Table 2 Comparison of effects of the fermentation result by adding phenylalanine and tyrosine

方式	菌体浓度(g/L)	L-色氨酸产量(g/L)
方式 A	21.8	32.6
方式 B	23.1	35.2

从表 2 中可以看出,分次添加果较好,产量达 35.2 g/L,为本研究中最高产量。

3.2.5 补料分批发酵结果

为进一步优化补料分批发酵工艺条件,我们采用 5 吨发酵罐进行补料分批发酵 6 批次,进行各影响因素综合验证试验。保持葡萄糖浓度 160 g/L,选择初糖淀粉浓度为 90 g/L,在发酵第 24 h 开始连续流加剩余的糖,并于发酵第 12 h 和 24 h 分 2 次补加各 50 mg/L 的 L-苯丙氨酸、L-酪氨酸;同时用氨水与 NaOH 控制发酵过程的 pH。发酵过程中定时取样分析测定发酵液吸光度、残糖和 L-色氨酸产量,取六批次测定

结果的平均值,绘制菌株 HX22-118 的 L-色氨酸补料分批发酵过程曲线,结果如下图 4 所示。

验证结果表明:通过补料分批发酵工艺能有效地解除了高糖对菌体生长的抑制,促进菌体生长产酸;随着发酵时间的延长,发酵产酸逐渐提高,在发酵到 60 h 时产酸水平最高,达到 50.1 g/L,继续培养产酸水平增长缓慢,由此可以确定发酵时间为 60 h 左右。与分批发酵相比,六批次实验结果平均值中发酵周期减少 6 h,发酵终了产酸较分批发酵的 33.5 g/L 提高 49.5%。试验进一步证明,诱变筛选出的 HX22-118 突变株遗传性状稳定,配合优化后的补料分批发酵工艺可明显提高 L-色氨酸产酸水平。

3.2.6 工业化生产结果统计

在确定 5 吨罐发酵最优条件的基础上,我们进行了 35 吨发酵罐工业化扩大生产,已累计生产 L-色氨酸 70 余吨,现将今年 4 月 22 日至 5 月 10 日 9 批次发酵试验结果统计如下,见表 3 所示。

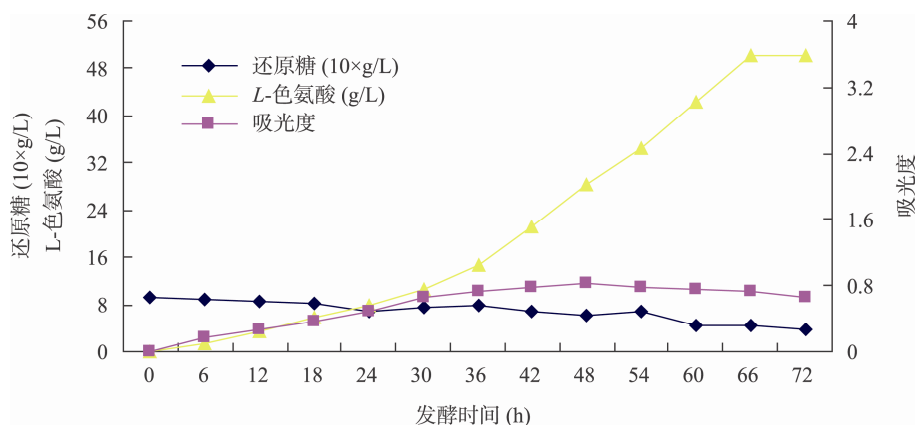


图 4 L-色氨酸分批发酵生长曲线

Fig. 4 Growth curve of L-tryptophan batch fermentation

表 3 L-色氨酸工业化发酵结果统计
Table 3 Statistical results of L-tryptophan industrial fermentation

批次(g/L)	初糖浓度(h)	发酵周期	终了 pH 值(g/L)	残糖(g/L)	产酸量
20110413	86	58	6.5	3.1	49.2
20110414	93	68	6.3	2.6	48.8
20110415	86	55	6.4	3.2	51.0
20110416	90	57	6.0	2.7	48.0
20110417	89	58	5.8	2.8	49.7
20110502	90	58	6.1	2.5	48.5
20110503	95	68	6.3	3.3	52.0
20110504	91	55	5.7	2.5	47.9
20110505	90	59	6.2	2.8	51.0
平均值	90	59.5	6.2	2.86	49.5

从表 3 可以看出, 以选育的 HX22-118 突变株, 按上述工艺条件应用于工业化发酵, 生产运行稳定, 结果良好。

3 结 论

(1) 以 *L*-色氨酸营养缺陷型高产菌 HX22-118 为发酵菌株, 通过优化的补料分批发酵工艺, 可明显提高 *L*-色氨酸产酸水平。

(2) 通过对补料分批发酵工艺中不同初糖浓度、不同补料方式、碳氮源比例、不同 pH 值调节方式、添加 *L*-苯丙氨酸、*L*-酪氨酸等对发酵效果的影响研究。结果表明: 选择初糖淀粉浓度为 90 g/L, 保持葡萄糖总浓度 160 g/L, 在发酵第 24 h 开始连续流加剩余的糖, 并于发酵第 12 h 和 24 h 分 2 次补加各 50 mg/L 的 *L*-苯丙氨酸、*L*-酪氨酸, 同时用氨水与 NaOH 控制发酵过程的 pH 的补料分批发酵工艺, 科学合理, 产酸效果显著。与分批发酵相比, 发酵周期减少 6 h, 发酵终了产酸由 33.5 g/L 提高到 50.1 g/L, 提高了 49.5%, 缩短了发酵周期, 提高了原料利用率; 但与行业报道的最高发酵水平 66 g/L 还有一定距离。

(3) 35 吨发酵罐的补料分批发酵放大试验结果表明, 该工艺条件下产酸高, 工业化生产运行稳定。

参考文献

- [1] 赵春光, 程立坤, 徐庆阳, 等. 微生物法生产 *L*-色氨酸的研究进展 [J]. 发酵科技通讯, 2008, 37(4): 34-36.
Zhao CG, Cheng LK, Xu QY, *et al.* The research progress of microbial production of *L*-tryptophan [J]. J Ferment Technol, 2008, 37(4): 34-36.
- [2] 李剑欣, 张绪梅, 徐填寿. 色氨酸的生理生化作用及其应用[J]. 氨基酸和生物资源, 2005, 27: 58-62.
Li JX, Zhang XM, Xu TS. Physiological and biochemical effects of tryptophan and its application [J]. J Amino Acids Biological Resour, 2005, 27: 58-62.
- [3] 王宏龄, 富春江. 国内外主要发酵类氨基酸产品发展现状 [J]. 精细与专用化学品, 2007, 15(24): 1-5.
Wang HL, Fu CJ. The domestic and foreign current situation of the development of the main amino acid fermentation products [J]. J Fine Specialty Chem, 2007, 15(24): 1-5.
- [4] 张瑞霜, 苗晓微, 王红梅. 色氨酸在家禽营养中的研究进展[J]. 饲料博览, 2011, 5: 26-28.
Zhang RL, MiaoXW, Wang HM. The research development of tryptophan in poultry nutrition [J]. J Feed Expo, 2011, 5: 26-28.
- [5] 桑丽花, 王玉梅, 潘成文, 等. *L*-色氨酸的应用[J]. 河北化工, 2009, 32(10): 14-16.
Sang LH, Wang YM, Pan CHW, *et al.* The application of *L*-tryptophan [J]. J Hebei Chem Ind, 2009, (10): 14-16.
- [6] Bandyopadhyay P, Saha K. Surfactant-induced fluorescent sensor activity enhancement of tryptophan at various pH [J]. Chem Phys Lett, 2008, 457(1): 227-231.
- [7] Ikeda M. Amino acid production processes [M]. Microbial Production of L-Amino Acids. Springer Berlin Heidelberg, 2003: 1-35.
- [8] 庞敏, 王海磊, 姚建铭, 等. 以吲哚和 *DL*-丝氨酸为底物固定化酶法合成 *L*-色氨酸[J]. 食品与发酵工业, 2009, 34(10): 6-9.
Pang M, Wang HL, Yao JM, *et al.* With indole and *DL*-serine as substrate immobilized enzymatic synthesis of *L*-tryptophan [J]. J Food Fermentation Ind, 2009, 34(10): 6-9.
- [9] 钱伯章. 氨基酸饲料添加剂的生产现状与市场分析[J]. 兽药与饲料添加剂, 2005, 10: 1-3.
Qian BZ. Amino acid feed additives production status and market analysis [J]. J Vet Drugs Feed Addit, 2005, 10:1-3.
- [10] 陈俊峰, 苏丽娜, 王璋, 等. 从土壤中分离 *L*-色氨酸生产菌株及其高产诱变选育的研究 [J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(7): 37-41.
Chen JF, Su LN, Wang Z, *et al.* *L*-tryptophan production strain was isolated from soil and its high yield mutagenic breeding research [J]. J Food Ferment Ind, 2007, 33(7): 37-41.
- [11] 郭宝珠. *L*-色氨酸工程菌的改造及发酵条件控制[D]. 长春: 吉林大学, 2014.
Guo BZ. *L*-tryptophan rebuilding and fermentation conditions of engineering bacteria control [D]. Changchun: Jilin University, 2014.
- [12] Snyder H, MacDonald J. A Synthesis of Tryptophan and Tryptophan Analogs [J]. J Am Chem Soc, 2005, 77(5): 1257-1259.
- [13] 俞建瑛, 蒋宇, 王善利. 生物化学实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 128-131.
Yu JY, Jiang Y, Wang SL. Biochemistry experiment technology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 128-131
- [14] 程立坤, 黄静, 秦永锋, 等. 代谢副产物乙酸对 *L*-色氨酸发酵的影响[J]. 微生物学报, 2010, 37(2): 166-173.
Cheng LK, Huang J, Qin YF, *et al.* Metabolic by-product acetic

acid to the influence of *L*-tryptophan fermentation [J]. J Microbiol, 2010 (2): 166-173.

- [15] 左祖桢, 黄钦耿, 吴伟斌, 等. *L*-色氨酸研究进展[J]. 安徽农学通报, 2010, 16(7): 38-40.

Zuo ZZ, Huang QG, Wu WB, *et al.* *L*-tryptophan research progress [J]. J Anhui Agric Sci Bull, 2010, (7): 38-40.

- [16] Shasaltaneh MD, Fooled J, Moosavi-Nejad SZ. *L*-tryptophan production by *Escherichia coli* in the presence of Iranian cane molasses [J]. J Paramedical Sci, 2010, 1(2): 12-21.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



张新武, 高级工程师, 主要研究方向为食品与工业发酵。

E-mail: smxzxw@163.com



黄继红, 教授级高级工程师, 主要研究方向为农产品发酵工程。

E-mail: Huangjihong1216@126.com