

以右旋糖酐发酵废液为原料发酵生产丁二酸

查鑫华¹, 郑璞^{1*}, 陈鹏程¹, 魏哲²

1(江南大学 生物工程学院, 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡, 214112)

2(山东金洋药业有限公司, 山东 淄博, 255100)

摘要 以右旋糖酐发酵废液为原料利用琥珀酸放线杆菌发酵生产丁二酸, 在比较不同糖浓度废液对发酵产酸影响的基础上, 通过 Plackett-Burman 试验筛选出对摇瓶发酵产丁二酸的主要影响因素 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 并用单因素试验确定其最适质量浓度为 2.8 g/L。在 3 L 发酵罐上进行分批发酵和补料分批发酵, 以 60 g/L 初糖质量浓度的右旋糖酐发酵废液为碳源, 分批发酵 46.8 h 产丁二酸 40.5 g/L; 采用 30 g/L 葡萄糖为起始发酵培养基的碳源, 后续补加浓缩右旋糖酐发酵废液的方式进行补料分批发酵, 丁二酸质量浓度达到 55.0 g/L, 生产强度 1 g/(L·h), 糖酸转化率为 0.83 g/g。结果表明: 以右旋糖酐发酵废液为原料发酵生产丁二酸, 为解决废液处理排放提供了新途径, 具有良好的应用前景。

关键词 右旋糖酐发酵废液; 培养基优化; 补料分批发酵; 丁二酸

右旋糖酐发酵废液(WFBD)是生物法生产右旋糖酐过程中提取产物之后剩下的发酵液, 一般被作为工业废水进行环保处理, 但给企业增加额外的环保处理费用。右旋糖酐是一种高分子葡萄糖聚合物, 是最早使用和得到公认的一种优良血浆代用品, 在医药、食品和石油等方面都有着广泛的应用^[1]。右旋糖酐也是世界上第一个工业化生产的微生物多糖, 高浓度蔗糖通过肠膜明串珠菌发酵, 生成高分子葡萄糖聚合物, 再经过精制处理得到不同分子量的右旋糖酐产品^[2]。右旋糖酐发酵废液中存在较高浓度的果糖和少量葡萄糖, 人们尝试了从发酵废液中提取果糖^[3]、发酵生产饲用复合酶制剂^[4]、发酵生产衣康酸^[5]等方面的研究。

丁二酸是一种重要的 C_4 平台化合物, 目前已广泛应用于食品、医药、农业等领域^[6], 在将来还可作为生产可降解塑料聚丁二酸丁二醇酯(PBS)、聚酯多元醇、增塑剂、聚氨酯和原材料型化学产品 1,4-丁二醇的基础材料, 应用前景十分广阔^[7-8]。琥珀酸放线杆菌具有利用多种碳源(葡萄糖、果糖、木糖、蔗糖等)发酵生产丁二酸的特性^[9]。本文首次报道了利用右旋糖酐发酵废液发酵生产丁二酸, 涉及发酵培养

基的优化、补料分批发酵工艺, 以期为解决右旋糖酐发酵废液的处理提供新途径, 实现其废物利用的价值, 同时也能进一步降低生物基丁二酸的生产成本。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种

琥珀酸放线杆菌(*Actinobacillus succinogenes*) CCTCC M2012036, 由本实验室自主筛选诱变得到, 保藏于中国典型培养物保藏中心(CCTCC)^[10]。

1.1.2 原料

右旋糖酐发酵废液由山东金洋药业有限公司提供, 原废液浓缩 4 倍后葡萄糖 14.9 ± 0.3 g/L, 果糖 92.7 ± 0.5 g/L。

1.1.3 培养基

种子培养基参见文献[11]。

发酵培养基(除碳源外)参见文献[11]。

1.2 方法

1.2.1 发酵方法

摇瓶发酵: 以右旋糖酐发酵废液为母液, 补加发酵培养基中其他成分, 配制总还原糖(葡萄糖 + 果糖)质量浓度 60 g/L 的发酵培养基, 分装体积 25 mL, 121℃ 灭菌 20 min, 接种量 4% (体积分数), 38℃ 下 CO_2 环境中厌氧培养 48 h, 分析发酵液中糖及有机酸含量。

不同比例葡萄糖与果糖的 WFBD 组和模拟组的对照试验: WFBD 组以右旋糖酐发酵废液为母液, 添

第一作者: 硕士研究生(郑璞教授为通讯作者, E-mail: zhengpu@jiangnan.edu.cn)。

基金项目: 江苏省产学研项目(2015 BY2015019-37); 国家 863 支持项目(2006 AA027235)

收稿日期: 2015-09-30, 改回日期: 2015-10-12

加外源葡萄糖配制发酵培养基,果糖(g/L)/葡萄糖(g/L)分别设置 50:10、45:15、40:20、35:25 和 30:30 五个比例梯度;模拟组中完全不使用右旋糖酐发酵废液,以纯果糖和葡萄糖作为碳源配制发酵培养基,果糖与葡萄糖的比例设置同于 WFBD 组。

发酵罐分批发酵:装液量 1.6 L,接种量 10% (体积分数),温度 38 ℃,转速 200 r/min,发酵过程中以 MgCO₃控制 pH 6.0~6.5,定时取样,分析发酵液中糖及有机酸含量。

发酵罐补料分批发酵(两种不同补料方式):
①以右旋糖酐发酵废液为碳源配制发酵培养基,初始还原糖质量浓度约 50 g/L,随着发酵进行缓慢流加 500 g/L 高质量浓度外源葡萄糖,控制发酵液中葡萄

糖质量浓度在 10~15 g/L(A)。②以 30 g/L 葡萄糖为碳源配制发酵培养基,待发酵液中葡萄糖消耗至 10 g/L 左右间歇流加还原糖浓度约 300 g/L 的浓缩右旋糖酐发酵废液,控制总糖质量浓度在 30 g/L 以下(B)。

1.2.2 Plackett-Burman(PB) 试验设计

使用 MINITAB 软件设计 9 因素 PB 试验^[12-14],原发酵培养基组分浓度作为低水平,高水平选取低水平浓度的 1.25 倍,培养基配制及发酵方法如 1.2.1 摇瓶发酵所示,以最终丁二酸产量作为效应值,设计试验次数 20 次,增加两次中心点试验以利于误差分析,则总试验次数为 22 次,试验设计如表 1 所示。

表 1 Plackett-Burman 试验设计
Table 1 Design of Plackett-Burman experiment

编号	玉米浆	NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	生物素	NaCl	叶酸	无水 CaCl ₂	MgCl ₂ · 6 H ₂ O	Na ₂ S	丁二酸/(g · L ⁻¹)
1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	25.0
2	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	29.4
3	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	34.7
4	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	1	33.2
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35.5
6	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	38.2
7	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	35.3
8	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	1	31.3
9	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	38.6
10	-1	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	33.4
11	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	1	36.2
12	1	1	1	1	-1	-1	1	1	-1	37.3
13	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	26.8
14	-1	1	1	1	1	-1	-1	1	1	36.6
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	37.6
16	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	1	31.4
17	1	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	27.1
18	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	-1	33.8
19	1	1	-1	1	1	-1	-1	-1	-1	33.4
20	-1	-1	-1	-1	1	-1	1	-1	1	22.7
21	1	-1	1	-1	1	1	1	1	-1	33.1
22	1	-1	-1	1	1	-1	1	1	-1	28.0

注:每组数据平行 3 次,取平均值。

1.2.3 分析方法

菌体浓度测量采用比浊法^[15],糖及有机酸的测量采用高效液相色谱法^[16]。

2 结果与讨论

2.1 不同发酵废液糖浓度对摇瓶发酵产丁二酸的影响

以右旋糖酐发酵废液来配制不同初始糖浓度的

发酵培养基,考察发酵废液的糖浓度对丁二酸发酵的影响,结果如表 2 所示。随着初始糖浓度的增加,菌体 OD 值、丁二酸产量和糖酸转化率均呈现出先升后降的趋势,当初始糖浓度为 60 g/L 时,丁二酸产量为 35.3 g/L,糖酸转化率达到最高值 0.65 g/g,而当初始糖浓度高于 60 g/L 时,糖酸转化率则开始下降,残糖增加,同时菌体 OD 值也处于下降趋势,这说明高浓度的初糖会抑制琥珀酸放线杆菌的生长及产酸,这

与陶生涛^[17]用甘蔗渣水解液发酵产丁二酸的结果一致。

表2 不同初始糖浓度对发酵结果的影响

Table 2 Effects of various initial sugar concentration on fermentation

初始糖质 量浓度/ (g · L ⁻¹)	OD 值	葡萄糖/ (g · L ⁻¹)	果糖/ (g · L ⁻¹)	丁二酸/ (g · L ⁻¹)	乙酸/ (g · L ⁻¹)	糖酸 转化率/ (g · g ⁻¹)
30	5.83	0	0	18.0	2.75	0.60
40	6.19	0	0.55	25.2	1.98	0.64
50	6.02	0.96	1.15	31.3	2.62	0.65
60	5.81	1.13	4.53	35.3	2.30	0.65
70	5.44	1.14	10.2	35.6	1.92	0.60
80	5.01	2.03	22.0	33.9	1.98	0.58
90	4.32	1.98	26.4	34.7	2.69	0.56

注:每组数据平行3次,取平均值。

2.2 以 Plackett-Burman 试验优化发酵培养基组分浓度

在确定碳源糖质量浓度为 60 g/L 时,采用 PB 试验筛选发酵培养基中主要影响因子,试验设计及效应值丁二酸产量见方法 1.2.2,结果处理见表 3。

表3 Plackett-Burman 试验结果分析

Table 3 Results and analysis of Plackett-Burman experiment

培养基组分	效应	系数	T 值	P 值
玉米浆	0.590	0.295	0.24	0.813
NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	2.610	1.305	1.07	0.306
K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	1.370	0.685	0.56	0.585
生物素	0.410	0.205	0.17	0.869
NaCl	1.550	0.775	0.64	0.537
叶酸	0.650	0.325	0.27	0.794
无水 CaCl ₂	-0.490	-0.245	-0.20	0.844
MgCl ₂ · 6 H ₂ O	-0.050	-0.025	-0.02	0.984
Na ₂ S	0.450	0.225	0.19	0.857

根据以上数据,按各因素的 *P* 值大小排序,*P* 值越小其对应因素对效应值影响越大,则原培养基组分中对丁二酸产量影响值由大到小分别排列为:NaH₂PO₄ · 2H₂O > NaCl > K₂HPO₄ · 3H₂O > 叶酸 > 玉米浆 > 无水 CaCl₂ > Na₂S > 生物素 > MgCl₂ · 6 H₂O,因 NaH₂PO₄ · 2H₂O 的 *P* 值(0.306) 远小于其他培养基组分的 *P* 值(>0.5),所以 NaH₂PO₄ · 2H₂O 是发酵培养基组分中对丁二酸产量影响的最主要因素,这可能是因为右旋糖酐发酵废液中残留的磷酸盐破坏了原始培养基中磷酸盐缓冲体系的平衡,影响了细胞周围的微环境,最终影响到菌体产酸。

对 NaH₂PO₄ · 2H₂O 的浓度作单因素试验,选取 2.0 ~ 3.0 g/L 共 6 个梯度来优化 NaH₂PO₄ · 2H₂O 的

浓度,通过比较其菌体浓度、残糖量及丁二酸产量来筛选最优浓度,结果如图 1 所示。

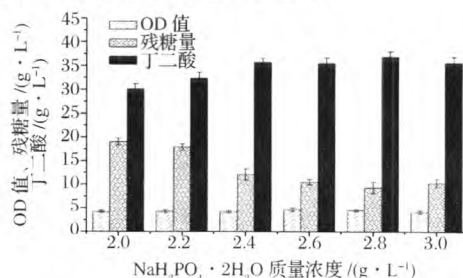


图1 不同 NaH₂PO₄ · 2H₂O 质量浓度对发酵产丁二酸的影响

Fig. 1 Effects of various concentration of NaH₂PO₄ · 2H₂O on succinic acid fermentation

当 NaH₂PO₄ · 2H₂O 浓度在 2.0 ~ 3.0 g/L 之间时,菌体浓度的变化不大,即 NaH₂PO₄ · 2H₂O 浓度对菌体生长影响比较小;在丁二酸产量方面,当 NaH₂PO₄ · 2H₂O 浓度由 2.0 升高到 2.4 g/L 时,丁二酸产量随之升高明显,当 NaH₂PO₄ · 2H₂O 浓度高于 2.8 g/L 时丁二酸产量则开始下降,相应的残糖量也随着这个规律而呈现先降后升的趋势。所以最优的 NaH₂PO₄ · 2H₂O 浓度为 2.8 g/L,该浓度下最利于菌体产酸及充分利用右旋糖酐发酵废液中糖分。

2.3 琥珀酸放线杆菌利用葡萄糖与果糖的区别

右旋糖酐发酵废液中只含有果糖和葡萄糖两种糖分,弄清这两种单糖对菌体生长及产酸的区别对提高产量有指导意义。如方法 1.2.1 中设计不同比例葡萄糖与果糖的 WFBF 组和模拟组的对照试验,以探究菌体利用葡萄糖与果糖的区别,同时确证右旋糖酐发酵废液中是否有抑制菌体生长及产酸的成分存在,结果如图 2 所示。

在总糖浓度不变的情况下,随着葡萄糖的含量不断升高,菌体浓度和丁二酸产量也在增加,不管是 WFBF 组还是模拟组都呈现出相同的规律,这说明葡萄糖比果糖更利于被菌体吸收利用,更能促进菌体的生长和产酸过程。另外,分别从菌体的生长和产酸来看,模拟组的发酵结果均优于 WFBF 组,表明右旋糖酐发酵废液中确实存在抑制菌体生长和产酸的成分。

2.4 右旋糖酐发酵废液为碳源分批发酵产丁二酸

在 3 L 发酵罐中考察以右旋糖酐发酵废液为唯一碳源发酵产丁二酸的情况,从图 3 可以看出,发酵液中葡萄糖很快被消耗完,当发酵进行至 16 h 时,菌体 OD 值达到最大 6.18,40 h 之后果糖消耗速率和丁二酸产生速率开始急剧下降,至 46.8 h 发酵结束时

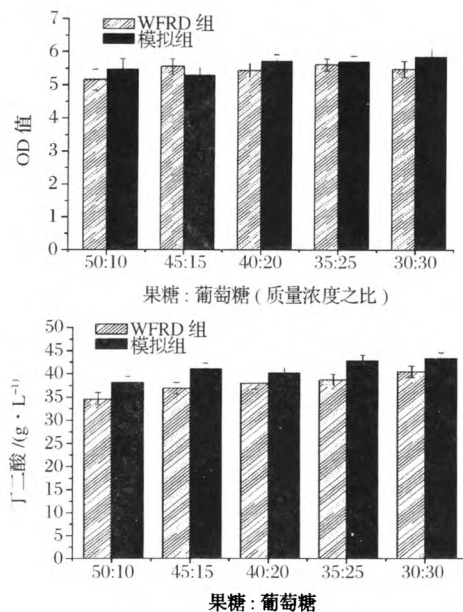


图2 不同比例葡萄糖与果糖对菌体生长及产酸的影响

Fig. 2 Effects of different proportion of glucose and fructose on cell growth and succinic acid production

发酵液中各组分浓度基本不变,最终产丁二酸 40.5 g/L,果糖残余量较高,整个发酵过程总耗糖速率为 1.01 g/L,丁二酸生产强度为 0.87 g/L/h,糖酸转化率为 0.83 g/g。刘璇^[11]等以葡萄糖为碳源进行分批发酵时,以 50 g/L 葡萄糖为底物发酵 32 h 产丁二酸 40.7 g/L,生产强度 1.27 g/(L·h),糖酸转化率 0.81 g/g,相比较下,以右旋糖酐发酵废液为碳源进行发酵的缺陷在于发酵速率慢,生产强度比以葡萄糖为碳源时低 46%,且残糖高,糖利用不彻底。

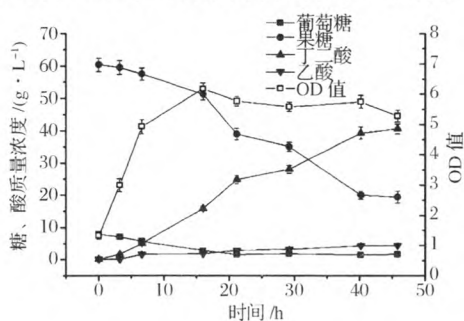


图3 右旋糖酐发酵废液分批发酵产丁二酸

Fig. 3 Batch fermentation on waste fermentation broth of dextran for succinic acid production

2.5 右旋糖酐发酵废液与外源葡萄糖混合补料分批发酵产丁二酸

补料分批发酵可以有效提高丁二酸的产量,2.3 的结果显示葡萄糖比果糖更利于菌体的生长及产酸,

选择初始发酵用右旋糖酐发酵废液培养基,后续流加葡萄糖(A)和初始发酵用葡萄糖培养基,后续流加浓缩右旋糖酐发酵废液(B)两种补料方式,进行补料分批发酵,见方法 1.2.1,其发酵过程如图 4 所示。

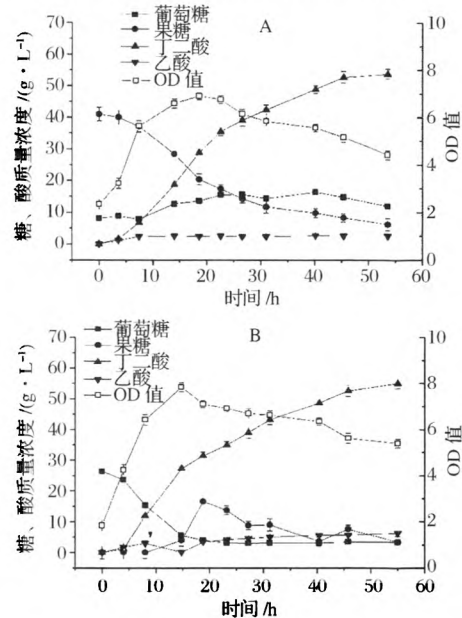


图4 右旋糖酐发酵废液与外源葡萄糖混合补料分批发酵产丁二酸

Fig. 4 Fed-batch fermentation on waste fermentation broth of dextran and exogenous glucose for succinic acid production

注:图 A 为补料方式①发酵曲线,0 h 即开始缓慢流加外源葡萄糖,图 B 为补料方式②发酵曲线,图中箭头处 8 h 开始间歇流加浓缩 WFRD。

图 4A 菌体生长略逊于图 4B,这可能是由于 B 中初始发酵液以葡萄糖为唯一碳源,培养基中没有右旋糖酐发酵废液存在,菌体生长未受不明成分影响。两种补料方式发酵液最终的丁二酸质量浓度虽然接近,分别是 53.8 g/L 和 55.0 g/L,但由于补料方式的不同造成不同的体积稀释效应,实际上 B 补料方式中生产的丁二酸量更多,具体的参数比较见表 4。

从表 4 数据可以得知,补料方式 B 残糖浓度低,添加外源葡萄糖量少,单次发酵使用的右旋糖酐发酵废液多,产生的丁二酸量多,且糖酸转化率也更高,说明补料方式 B 明显优于 A,相对于分批发酵,丁二酸产物浓度提高了 35.8%。

2.6 不同原料发酵产丁二酸的比较

利用废弃原料是发酵法生产丁二酸的研究热点之一,主要有秸秆、酒糟、甘蔗渣、糖蜜等,如表 5 所示,与其他废弃原料相比,右旋糖酐发酵废液发酵的

丁二酸产量相对较高,且发酵操作简单,无需水解过程,因此是一种具有良好应用前景的原料。

表 4 两种补料分批发酵的参数比较

Table 4 Comparison parameters of the twofed-batch fermentation

补料 方式	初始 体积/L	终体积 /L	丁二酸质量 浓度/(g·L ⁻¹)	丁二酸 质量/g	残还原糖质量 浓度/(g·L ⁻¹)	生产强度/ [g·(L·h ⁻¹)]	糖酸转化 率/(g·g ⁻¹)	外源葡萄糖 添加量/g	WFBD 使用量/L
A	1.50	1.80	53.8	96.8	18.0	1.00	0.75	75.0	0.80
B	1.50	2.10	55.0	115	6.78	1.00	0.83	45.0	1.00

表 5 不同原料发酵产丁二酸

Table 5 Succinic acid production from different raw materials

原料	预处理方法	产丁二酸水平	文献来源
秸秆	稀碱水解,后以纤维素酶和纤维二糖酶同步糖化发酵	分批发酵 48 h 产丁二酸 47.4 g/L	参考文献 [18]
酒糟	纤维素酶与糖化酶分步水解	分批发酵产丁二酸 32 g/L	参考文献 [19]
甘蔗渣	1% NaOH 碱水解,纤维素酶、木聚糖酶、葡聚糖酶和果胶酶共同水解	分批发酵 29 h 产丁二酸 39.9 g/L	参考文献 [17]
糖蜜	浓硫酸酸化	分批发酵 36 h 产丁二酸 40.8 g/L,补料分批发酵 48 h 产丁二酸 53.1 g/L	参考文献 [20]
WFBD	不需水解	分批发酵 46.8 h 产丁二酸 40.5 g/L,补料分批发酵 54.8 h 产丁二酸 55.0 g/L	本文

3 结论

本文率先报道了以右旋糖酐发酵废液为碳源,利用琥珀酸放线杆菌发酵丁二酸。研究表明:右旋糖酐发酵废液作为碳源对发酵有一定影响,优化发酵培养基中的 NaH₂PO₄·2H₂O 浓度,摇瓶产丁二酸提高 22.3%;以 60 g/L 初糖质量浓度的右旋糖酐发酵废液为碳源进行分批发酵,发酵 46.8 h 产丁二酸 40.5 g/L,采用发酵起始以低葡萄糖浓度培养基,后续补加浓缩右旋糖酐发酵废液的方式进行补料分批发酵,最终产丁二酸 55.0 g/L,相对于分批发酵提高 35.8%,生产强度 1 g/L/h,糖酸转化率为 0.83 g/g;与其它废弃原料比较,右旋糖酐发酵废液具有不需水解、操作步骤简单的优势,且丁二酸产量相对较高,应用前景良好。

参 考 文 献

[1] 李艳,陈学武,牟德华.右旋糖酐的生产及应用[J].食品工程,1998(3):36-37.
 [2] 吴兆鹏,曾练强,蚁细菌等.蔗糖发酵右旋糖酐工艺条件的优化[J].广西蔗糖,2012(2):39-43.
 [3] 陈映华,张亚雯.右旋糖酐废液中提取果糖试验[J].淀粉与淀粉糖,1993:15-18.
 [4] 李耀亭.利用右旋糖酐废液发酵生产饲用复合酶制剂.中国发明专利,CN 200810172073.3,2008.10.29.
 [5] 宋学宁,吕厚臣,王长海,等.一种将右旋糖酐生产废液

用于衣康酸发酵生产的方法.中国发明专利,CN 201210003818.X,2012.01.09.
 [6] McKINLAY J B, VIEILLE C, ZEIKUS J G. Prospects for a bio-based succinate industry [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 76(4): 727-740.
 [7] CUKALOVIC A, STEVENS C V. Feasibility of production methods for succinic acid derivatives; a marriage of renewable resources and chemical technology [J]. Biofuels, Bio-products and Biorefining, 2008, 2(6): 505-529.
 [8] ERICKSON B, NELSON WINTERS P. Perspective on opportunities in industrial biotechnology in renewable chemicals [J]. Biotechnology Journal, 2012, 7(2): 176-185.
 [9] McKINLAY J B, LAIVENIEKS M, SCHINDLER B D, et al. A genomic perspective on the potential of *Actinobacillus succinogenes* for industrial succinate production [J]. BMC Genomics, 2010, 11: 680.
 [10] ZHENG P, ZHANG K, YAN Q, et al. Enhanced succinic acid production by *Actinobacillus succinogenes* after genome shuffling [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2013, 40(8): 831-840.
 [11] 刘璇,郑璞.基因组改造技术选育耐酸性琥珀酸放线杆菌[J].微生物学通报,2009,346(11):1 676-1 684.
 [12] SHEN Nai-kun, WANG Qing-yan, QIN Yan, et al. Optimization of succinic acid production from cane molasses by *Actinobacillus succinogenes* GXAS137 using response surface methodology (RSM) [J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(6): 1 911-1 919.
 [13] ZHU Li-wen, WANG Cheng-cheng, LIU Rui-sang, et al.

- Actinobacillus succinogenes* ATCC 55618 fermentation medium optimization for the production of succinic acid by response surface methodology[J]. *Journal of Biomedicine & Biotechnology*, 2012, doi:10.1155/2012/626137.
- [14] C F Jeff Wu, M H 著, 张润楚等译. 试验设计与分析及参数优化[M]. 北京: 中国统计出版社, 2003: 269 - 286.
- [15] LIU Yu-peng, ZHENG Pu, SUN Zhi-hao, et al. Economical succinic acid production from cane molasses by *Actinobacillus succinogenes*[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(6): 1 736 - 1 742.
- [16] 刘宇鹏, 郑璞, 孙志浩, 等. 采用离子排斥色谱法分析发酵液中的琥珀酸等代谢产物[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(12): 119 - 123.
- [17] 陶生涛, 郑璞, 肖石山. 多酶组合水解甘蔗渣及利用甘蔗渣水解液发酵丁二酸[J]. 食品与发酵工业, 2014(9): 12 - 16.
- [18] ZHENG Pu, FANG Lin, XU Yan, et al. Succinic acid production from corn stover by simultaneous saccharification and fermentation using *Actinobacillus succinogenes*[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(20): 7 889 - 7 894.
- [19] 周小兵, 郑璞. 以白酒酒糟为原料发酵产丁二酸[J]. 食品与发酵工业, 2013, 39(2): 7 - 10.
- [20] 董晋军, 郑璞, 孙志浩, 等. 利用甘蔗糖蜜半连续发酵生产琥珀酸[J]. 化工学报, 2008(6): 1 490 - 1 495.

Fermentative succinic acid production from waste fermentation broth of dextran

ZHA Xin-hua¹, ZHENG Pu^{1*}, CHEN Peng-cheng¹, WEI Zhe²

1(The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

2(Shandong Jinyang Pharmaceutical Company Limited, Zibo 255100, China)

ABSTRACT In this paper, succinic acid production by *Actinobacillus succinogenes* from waste fermentation broth of dextran was studied. After comparing the effect of initial sugar concentrations on succinic acid production, Plackett-Burman experiment was used to determine that $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ was the most important factor in succinic acid production. Results from single factor experiment suggested that the optimal concentration of $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ was 2.8 g/L for the following fermentation tests. Condensed waste fermentation broth of dextran with reducing sugar concentration of 60 g/L was used as the carbon source for batch fermentation in a 3 L fermentor, and 40.5 g/L succinic acid concentration was achieved after 46.8 h. In the fed-batch fermentation, an initial carbon source of 30 g/L glucose solution was added, followed by condensed waste fermentation broth of dextran, leading to an eventual succinic acid concentration of 55.0 g/L with a productivity of 1 g/(L · h) and conversion rate of 0.83 g/g. This work not only provided a new and efficient way to produce succinic acid using cheap raw materials, but also offered a significant promising method for solving the problems of waste liquid emission.

Key words waste fermentation broth of dextran; optimize culture medium; fed-batch fermentation; succinic acid