

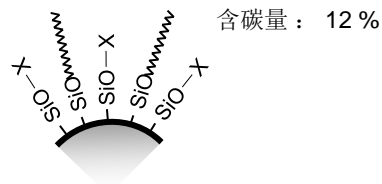
糖质在厌氧状态下，通过乳酸菌加以分解，作为分解产物产生乳酸的反应被称之为乳酸发酵。乳酸饮料及酸奶、腌菜等在生产中利用了乳酸发酵，所以含有乳酸成分。此次，尝试使用通用性较高的UV检测系统，对乳酸发酵过程中乳酸的生成进行了监测。另外，在对乳酸的生成进行监测的同时，还对TCA循环中有无柠檬酸、苹果酸、琥珀酸的蓄积进行了确认。结果显示，初始培养基中所含的有机酸成分在乳酸发酵过程中并未增加。

在有机酸分析中，通常使用有机酸分析专用柱（离子排除模式），而此次我们将介绍乳酸出峰时间更早、价格更低的反相色谱柱的测定例。本次使用的是适用于有机酸等极性较高的化合物测定的LaChrom C18-AQ色谱柱（低碳ODS）。

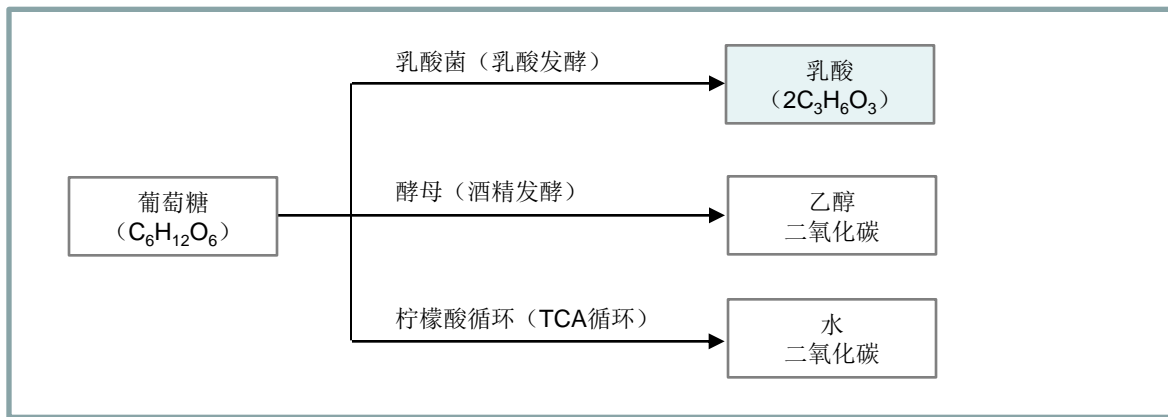
◆LaChrom C18-AQ色谱柱的概要◆

低碳ODS柱：

该ODS柱通过抑制硅胶表面的疏水性，使得即使使用100%的水系溶液也能够实现稳定的分析。在糖、核酸以及有机酸等**高极性化合物的分离**中具有很好的效果。另外，由于是反相柱，也可以使用有机溶剂进行清洗。



◆乳酸发酵的概要◆

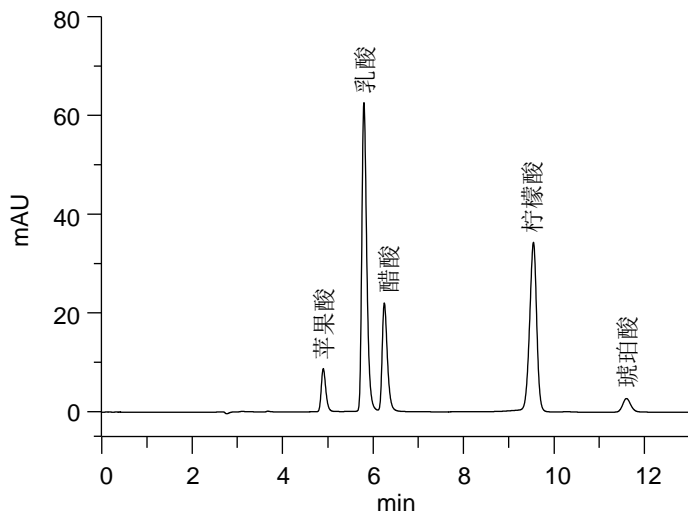


■有机酸标准样品测定例（反相模式）

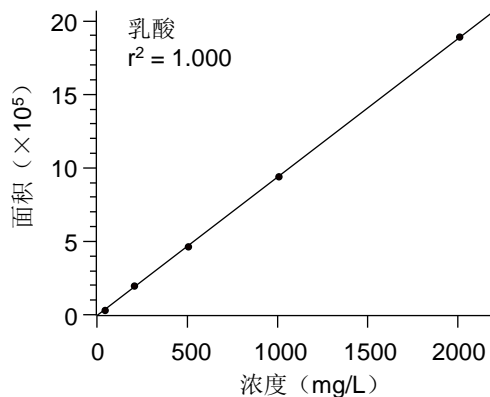
成分名称	苹果酸	乳酸	醋酸	柠檬酸	琥珀酸
浓度 (mg/L)	50	500	250	250	50

<测定条件>

色谱柱 : LaChrom C18-AQ(5μm) 4.6 mm I.D.x250 mm
流动相 : 1 mmol/L H₂SO₄, 8 mmol/L Na₂SO₄
流速 : 1.0 mL/min
柱温 : 25℃
检测波长 : UV 210 nm
进样量 : 20 μL



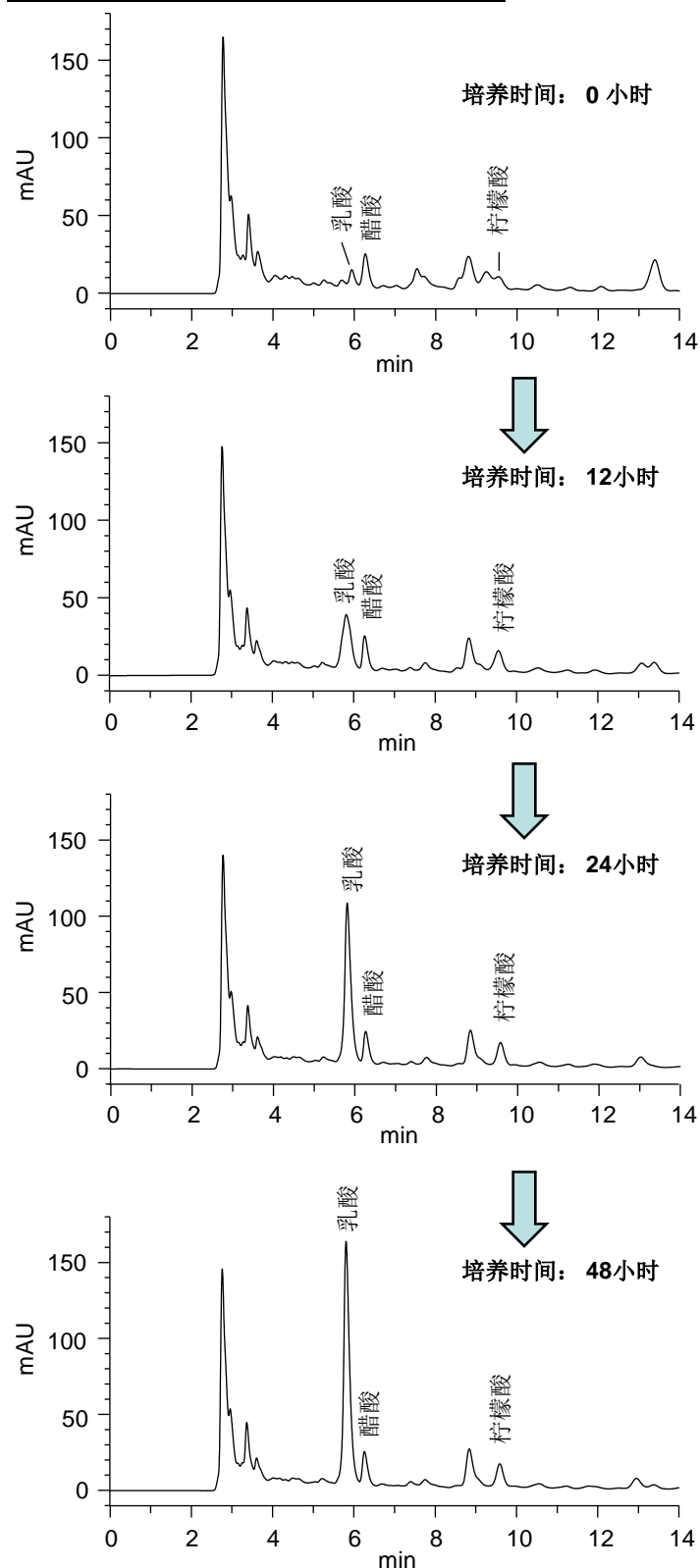
【有机酸标准样品的测定例】



【线性】

乳酸在40 ~ 2000 mg/L的范围内，决定系数1.000，得到了良好的线性。

■培养样品测定例（培养时间及乳酸监测）



【培养时间与有机酸的经时变化】

<培养样品的制备>

50 g/L 葡萄糖 / 10mL MRS培养基

灭菌（高压蒸气灭菌）

←接种乳酸菌（无氧状态）

培养（30℃）

乳酸发酵

葡萄糖 ($C_6H_{12}O_6$) → 乳酸 ($2C_3H_6O_3$)

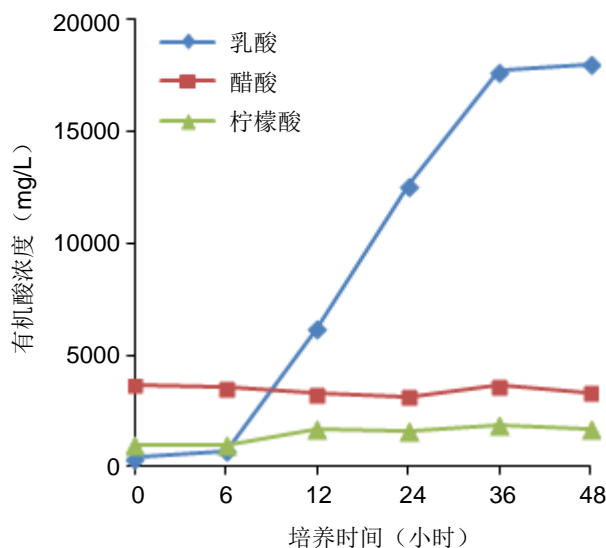
离心 12000 rpm、10 min、4℃

上清液

← 以超纯水稀释10倍

过滤 Pore Size 0.45 μm

分析样品（20 μL）



【培养时间与有机酸的浓度变化】

以50 g/L 的葡萄糖为碳源，在无氧条件下，对乳酸菌 *Lactobacillus casei* 进行了培养。

监测结果显示，在培养初期乳酸逐渐生成，至培养的第36个小时，约产生了18 g/L 的乳酸，并且随后发酵不再继续。并且，未见在这一乳酸发酵的过程中生成其他有机酸。

* 本分析样品由富山大学 工学部 生命工学科 生物反应工学研究室 星野一宏 副教授提供。

主要仪器配置：Chromaster 5110 泵、5210 自动进样器（带温控装置）、5310柱温箱、5410 UV检测器

注意：本资料所示数据仅为测定例用数据而非可保证仪器性能的数据。