

甘薯原料气升式生物反应器 发酵生产单细胞蛋白

郑裕国 汪钊 陈小龙 王普 钱静杰

(浙江工业大学)

摘要 以甘薯为原料,采用少孢根霉AS 3 4392与树状假丝酵母混合发酵工艺,在无筛板、带一块和带二块筛板的气升式生物反应器中发酵48 h后的干基粗蛋白的含量分别为46.4%、47.1%、47.7%。试验结果表明,气升式生物反应器的发酵结果优于机械搅拌式生物反应器,而带筛板的气升式生物反应器又优于不带筛板的气升式生物反应器。在氧传递性能考察中,发现气升式生物反应器内加装筛板可以有效地强化氧传递。

关键词 甘薯 单细胞蛋白 SCP 气升式生物反应器 混合培养

甘薯是我国重要的粮食、饲料和工业原料作物,我国每年甘薯种植面积约为620万 hm^2 左右^[1],资源十分丰富。但是,由于甘薯的蛋白质含量很低,直接用作粮食、饲料其生物效价不高。然而,通过微生物发酵可大大提高其蛋白质含量,所得到的单细胞蛋白可与大豆蛋白和鱼粉蛋白等相媲美。因此,以甘薯原料开发生产单细胞蛋白(SCP)是解决蛋白资源短缺问题的一条有效途径^[2,3]。但利用气升式生物反应器进行甘薯原料单细胞蛋白的混合发酵生产未见报道。

单细胞蛋白(SCP)是作为人类食物或动物饲料的单细胞微生物菌体的总称。在单细胞蛋白(SCP)发酵生产中,生物反应器是最基本的设备。微生物的好气培养,不仅要求生物反应器能供给足够的溶解氧,而且要求生物反应器有良好的混合效果,以利于营养物质、代谢产物及发酵热的传递,同时还要求生物反应器结构简单,操作方便,易于防止杂菌的污染,容易放大,有较高的生产能力,动力消耗低。气升式生物反应器正好能满足这些要求,与机械搅拌发酵罐相比具有不可比拟的优点。本文通过研究气升式生物反应器的体积氧传递系数,用加置筛板的方法来强化氧传递,并将其应用于甘薯原料单细胞蛋白(SCP)的生产,取得了良好的效果。

1 材料与方法

1.1 试验装置

气升式生物反应器为外循环结构,容积为10L,上升管与下降管的直径之比为6:6,罐体高径比为2.9,罐内可加筛板(本文采用的筛板由标准5目不锈钢筛网制成),形成带筛板的外循环气升式生物反应器。装置用不锈钢制造,通风量、温度可调节控制,溶氧可自动检测。

与外循环气升式生物反应器作对比试验的机械搅拌生物反应器,容积为10L,高径比为2,三档平直叶搅拌器搅拌,转速、通风量和温度可调节控制,溶氧可自动检测。

上述两种生物反应器均可补料和补加消泡剂,并配有蒸汽发生系统、空气除菌系统等。

1.2 原料

收稿日期:1997-09-30 1998-10-25 修订

郑裕国,副教授,杭州市朝晖六区 浙江工业大学轻工系,310014

甘薯粉由厂家提供,粗淀粉含量 71.0%,粗蛋白含量 4.23%,含水率 8.38%,粉碎度 76.5% (过 40 目筛)。

1.3 菌种

少孢根霉 A S3 4392 (*Rhizopus oligosporus* A S3 4392) 和树状假丝酵母 1.257 (*Candida arboREAL* 257)。

1.4 培养基及培养条件

1) 种子扩培 树状假丝酵母:斜面:麦芽汁(糖浓度 10%), 2% 琼脂, 121 灭菌 30 min, 在 28 下培养 24 h; 摇瓶:麦芽汁(糖浓度 5%), 121 灭菌 30 min, 在 28 下振荡培养 24 h。

少孢根霉:斜面:马铃薯浸汁, 2% 葡萄糖, 2% 琼脂, 121 灭菌 30 min, 在 28 下培养 72 h; 摇瓶: 4% 薯干粉, 0.05% 磷酸二氢钾, 0.015% 硫酸镁, 0.2% 硫酸铵, 0.2% 尿素, pH 自然, 121 灭菌 30 min, 在 28 下振荡培养 48 h。

2) 发酵罐发酵 发酵培养基组成: 6% 薯干粉, 0.1% 磷酸二氢钾, 0.024% 硫酸镁, 0.2% 硫酸铵, 0.6% 尿素; 培养条件: 罐压 0.05 MPa, 罐温 28, 接种量 8%, 通风量(气升式: 前期 $1 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{min}$, 中后期 $1 \text{ (1.4} \sim 1.5) \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{min}$; 机械搅拌式: $1 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{min}$), 装料量(气升式 9.0 L, 机械搅拌式 7.5 L), 搅拌转速 140 r/min。接种后, 每隔 4 h 取样, 测定总糖、还原糖、粗蛋白含量和干物质重量等。

1.5 分析与测量方法

体积氧传递系数 用动态法^[4]测定; 还原糖、总糖用 DNS 法^[5]测定, 其中测定总糖时, 样品先经 3 mol/L 盐酸水解 40 min, 然后用 DNS 法测定; 粗蛋白含量测定: 先用水洗涤去除样品中可溶性氮源, 然后用凯氏定氮法测定; 发酵液中干物质重量测定: 取 10 mL 发酵液于 3000 r/min 离心机中离心 10 min, 弃去上清液, 经蒸馏水洗涤后, 置 105 烘箱内烘至恒重并称重。

2 结果与讨论

2.1 反应器体积氧传递系数的考察

在微生物通风培养中, 空气中的氧首先溶解于培养液中, 然后才能被微生物所利用, 生物反应设备的重要任务之一是要供给足够的溶解氧, 以满足微生物的需要。微生物的培养一般受到气液相的氧传递的限制, 对于一个生物反应过程来说, 必须设法提高气液相的氧传递速率, 从而提高生化反应速率。而影响氧传递速率的主要因素是体积氧传递系数。因此可以用体积氧传递系数来反映和预测反应器微生物培养的生产强度, 并且对于评价和优化反应器的性能以及放大设计均具有指导意义。为了考察气升式生物反应器进行甘薯原料单细胞蛋白发酵生产性能的优劣, 得到较佳的发酵工艺参数和反应器的结构, 本文在气升式生物反应器内加装了筛板, 设法提高反应器的氧传递速率, 并进行通风量和装料量对体积氧传递系数的影响研究, 结果如图 1 和图 2 所示。

图 1 表明, 通风量是影响体积氧传递系数的重要因素。通风量增大有利于传氧, 可以提高体积氧传递系数。从试验范围的试验数据曲线分析, 通风量与体积氧传递系数的关系基本上是线性的。由图 2 可见, 装料量在 8.5 L 以下时, 体积氧传递系数变化较快, 下降较快; 当装料量在 8.5 L 以上时, 体积氧传递系数变化不大。这主要是由于在低装料量下, 反应器内流体流动循环不好, 当高装料量下气液两相流动特性得到改善, 就得到了良好的氧。当然, 在高装料量即高静液高度的条件下, 一定程度上妨碍传氧, 但使体积氧传递系数减小的趋势不大。气升式生

物反应器需要 8.5 L 以上的装料量才能得到较好的氧传递, 最佳的装料量为 8.5~ 9.0 L。

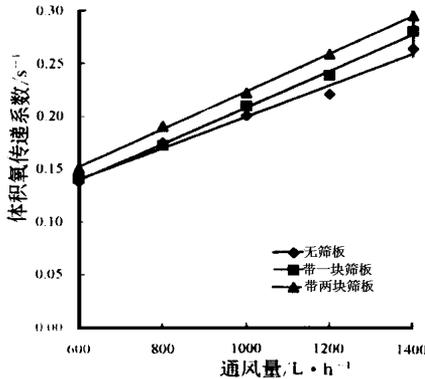


图 1 气升式生物反应器体积氧传递系数与通风量的关系

Fig 1 Relation of the volume oxygen transfer coefficient and the gas flow rate in the air-lift bioreactors

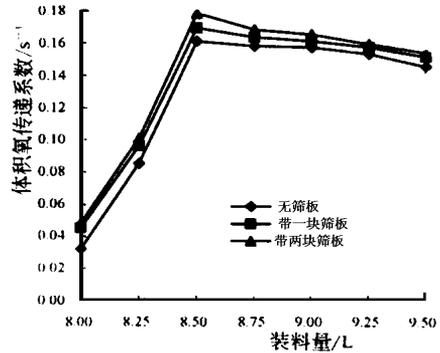


图 2 气升式生物反应器体积氧传递系数与装料量的关系

Fig 2 Relation of the volume oxygen transfer coefficient and the broth volume in the air-lift bioreactors

在气升式生物反应器内加装筛板可以有效地提高体积氧传递系数有利于传质。

2.2 甘薯原料混合发酵生产 SCP 试验

在微生物培养过程中, 溶氧浓度必须高于微生物的临界氧浓度, 如酵母培养时, 在温度为 34.8 和 20 时, 其临界氧浓度分别是 0.0046 mmol/L 和 0.0037 mmol/L^[6]。根据以上气升式生物反应器体积氧传递系数的研究结果, 并考虑实际发酵过程, 用双菌种混合发酵生产甘薯原料单细胞蛋白 (SCP) 时, 在气升式生物反应器中可以取通风量: 前期 1.1 m³/m³/min, 中后期 1.4~ 1.5 m³/m³/min, 装料量为 8.5~ 9.0 L。而与气升式生物反应器相比较的 10 L 机械搅拌罐中, 可取发酵工艺条件: 搅拌转速 140 r/min, 装料量 7.5 L, 通风量 1.1 m³/m³/min。每罐发酵进行三次, 取其平均值, 发酵结果如图 3、图 4 所示。

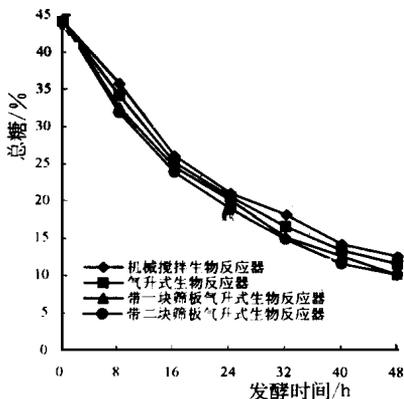


图 3 总糖变化过程

Fig 3 Changes of the total sugar in the fermentation broth

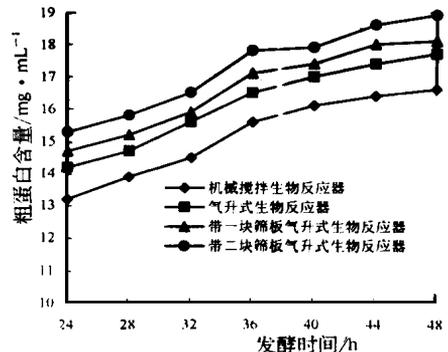


图 4 发酵液中粗蛋白含量变化过程

Fig 4 Changes of the crude protein contents in the fermentation broth

图 3 表示了培养过程的总糖变化。从图中可看出, 气升式生物反应器的降糖速率高于机械搅拌反应器; 随着气升式生物反应器内加装筛板的增加, 降糖速率加快。这是由于带筛板气升式生物反应器的体积氧传递系数较高, 也就是传质速率较高, 菌体繁殖生长旺盛, 从而使得糖

消耗加速。试验中发现,还原糖的变化趋势大致与总糖变化相同。

从图 4 可以看出,气升式生物反应器的粗蛋白含量在整个发酵过程中明显高于机械搅拌生物反应器,而带二块筛板的气升式生物反应器的粗蛋白含量高于带一块筛板和不带筛板的气升式生物反应器。干基粗蛋白含量的变化同粗蛋白含量。由此可以说明,气升式生物反应器内加装筛板作为内件,可以有效地分散气泡,加快微生物的繁殖和生长,可得到较高的蛋白含量。试验结果表明,采用 10 L 机械搅拌发酵罐发酵 48 h 后,发酵液中干物质重为 37.2 mg/mL,干基粗蛋白含量为 44.6%,蛋白产量为 16.6 mg/mL,总糖利用率为 70.9%;10 L 气升式生物反应器的发酵结果为:发酵 48 h 后,发酵液中干物质重为 38.2 mg/mL,干基粗蛋白含量为 46.4%,蛋白产量为 17.7 mg/mL,总糖利用率为 75.0%;带一块筛板气升式生物反应器的发酵结果为:发酵 48 h 后,发酵液中干物质重为 38.4 mg/mL,干基粗蛋白含量为 47.1%,蛋白产量为 18.1 mg/mL,总糖利用率为 75.8%;带两块筛板气升式生物反应器的发酵结果为:发酵 48 h 后,发酵液中干物质重为 39.6 mg/mL,干基粗蛋白含量为 47.7%,蛋白产量为 18.9 mg/mL,总糖利用率为 76.0%。

3 结 语

气升式生物反应器用于甘薯原料单细胞蛋白(SCP)的发酵生产的发酵性能优于机械搅拌发酵罐,经过比拟放大,气升式生物反应器可望进入生产。

参 考 文 献

- 1 刘庆昌,鲁迪慧,马彪等.甘薯细胞悬浮培养及有效植株再生.农业生物技术学报,1996,4(3):238~242
- 2 王普,虞炳钧,吴锦斌等.甘薯原料液态发酵生产单细胞蛋白.饲料工业,1995,6(9):34~37
- 3 吴南君,叶柏龄.甘薯原料一步法生产单细胞蛋白的研究.工业微生物,1989,19(4):18~22
- 4 熊宗贵.发酵工艺原理.北京:中国医药科技出版社,1995:124~125
- 5 贾淑颖,穆国平,任树林.果蔬中还原糖、蔗糖和淀粉的快速测定—3,5-二硝基水杨酸分光光度法.食品与发酵工业,1983,9(2):30~34
- 6 俞俊棠,唐孝宣.生物工艺学(上).上海:华东化工学院出版社,1991:131

Single Cell Protein Production From Dried Sweet Potato Using Air-Lift Bioreactors

Zheng Yuguo Wang Zhao Chen Xiaolong Wang Pu Qian Jingjie
(Zhejiang University of Technology, Hangzhou)

Abstract The experiments of single cell protein production were carried out from dried sweet potato production through the mixed culture by *Rhizopus oligosporus* AS3 4392 and *Candida arborea* I. 257 using air-lift bioreactors without or with sieve plates. After 48h fermentation, the crude protein contents were 46.4% in the air-lift bioreactor without sieve plates, 47.1% with one sieve plate and 47.7% with two sieve plates, respectively. The results of experiments showed that the culture properties of the air-lift bioreactors were superior to those of the mechanically agitated bioreactor. In the experiments of oxygen transfer characteristics, it was found that adding sieve plates in the air-lift bioreactors could strengthen the oxygen transfer.

Key words sweet potato, single cell protein, air-lift bioreactor, mixed culture