

## 用连续发酵工艺由味精废液制取单细胞蛋白

金新梅 金世芳

(浙江省微生物研究所, 杭州)

朱鸿枫 王云龙 华肇林

(浙江味精厂\*, 义乌)

用谷氨酸发酵液经一步冷冻等电法提取后的废液生产饲料酵母, 经 15m<sup>3</sup> 气升式反应器连续发酵试验, 其菌体干物质浓度平均为 24.88g/L, 稀释率 0.187h<sup>-1</sup>, 生产干酵母能力为 4.65kg/m<sup>3</sup>·h, 发酵单位电耗 2.872kW·h/m<sup>3</sup>, 生产成本在 1700 元/吨(饲料酵母)左右。饲料酵母粗蛋白含量在 60%以上, 18 种氨基酸齐全, 氨基酸总量达 50%, 达到部颁一级饲料酵母的标准。味精废液经酵母菌处理后, COD 去除率 74.7%。经试验统计, 每升废液中获得 1g 菌体干物质需消耗 COD 1625mg/L。

**关键词** 味精废液; 单细胞蛋白; 连续发酵

随着味精工业的发展, 排放出的废水量日益增多, 对环境污染日趋严重。由于废水中含有丰富的有机物质, 可以作为微生物营养生产单细胞蛋白(SCP), 为发展畜牧业、家禽业、渔业等提供优质饲料蛋白, 并减轻废水对环境的污染<sup>[1,2]</sup>。

为了充分地利用谷氨酸发酵\*\*经一步冷冻等电法提取后的废液(简称味精废液)中的有机物, 进一步提高发酵液的营养物质转化利用, 提高菌体收率, 降低废液中 COD 量, 在前人工作基础上, 进行了用热带假丝酵母(*Candida tropicalis*), 以味精废液采用连续发酵工艺制取 SCP 的试验。

### 材料与方 法

#### (一) 材料

1. 供试菌种: 热带假丝酵母(*Candida tropicalis*) YTA-11 菌株, 系由本所提供。

2. 味精废液: 经一步冷冻等电法提取谷氨酸后的废液, 其成分含量(g/100ml):

残糖 0.6—0.8, 全氮 0.8—1.0, 谷氨酸 1.0—1.4, 速效磷 0.008—0.015, COD 50000—60000mg/L, BOD25000—30000mg/L, pH 3.2。

3. 培养基: 一级种子培养基(简称 YEPD)(%): 酵母膏 0.5, 蛋白胨 0.5, 葡萄糖 2.0, pH3.2—3.5。二级种子培养基: 纯味精废液, 不调 pH。种子罐培养基与二级种子培养基相同。

#### (二) 方法

1. 流程仪表与设备: 气升式反应器<sup>[3-5]</sup> 15m<sup>3</sup>, 外表 φ1.4—2.0 × h8.5m<sup>2</sup>, 装液量 40%; 罗茨鼓风机, 风量 40m<sup>3</sup>/min, 电机功率 55kW, 气体流量计 LZB-100 型自动记数; 废液流加量用液体流量计 LZB-40 型记数; FCY-II 型溶氧电极仪(沪产)测定

本文于 1990 年 1 月 4 日收到。

\* 龚有辉、傅汝桂、陈建华等同志参加试验工作; 徐莲芳、张秋娟同志承担分析。

承蒙中国科学院上海有机化学研究所王大群研究员审阅本文, 特此致谢。

\*\* 本文系指以粮食为原料的味精生产。

溶氧; D<sub>424</sub> 蝶片式酵母离心机浓缩分离, AQZ<sub>315</sub>SY 型双滚筒干燥机烘干。

2. 发酵液的测定: 每小时取样一次, 测菌体浓度、pH、残糖。每半小时记录风量、废液流入、出量及 pH 值。

菌体干物质测定: 取 50ml 发酵液, LD<sub>4-2</sub> 离心机离心 3000r/min 10 分钟, 沉淀物于 105℃ 烘干称恒重\*。以每升培养液所得菌体干重(g)表示干菌体浓度。

pH 测定: 用上海试纸厂产的精密 pH 试纸测定。

残糖测定: 用费林氏快速测定法<sup>[6]</sup>。

溶磷测定: 用钼锑抗比色法<sup>[6]</sup>。

COD 测定: 每 4 小时测定一次 COD, 用重铬酸钾氧化法<sup>[7]</sup>。

3. SCP 组份测定: 用凯氏定氮法 (Kjeldahl) 测定粗蛋白质, 用日本岛津 C-3A 氨基酸自动分析仪测氨基酸, 同时测定成品的脂肪、粗纤维、灰份、磷等成分 (委托浙江省农业科学院中心化验室分析)。

## 结 果

### (一) 连续发酵形式的选定

在气升式反应器里装量 40%, 气流量 750m<sup>3</sup>/h 和培养条件相同的情况下, 进行单罐、间歇和连续流加废液的发酵试验。单罐以 10% (V/V) 种量; 间歇法为大种量, 一般为 50% (V/V) 左右; 连续流加法是发酵液的湿菌浓度达 10g/100ml 左右, pH5.0—6.0 时, 开始进行废液流入和发酵液流出的培养过程, 稀释率在 0.133—0.218h<sup>-1</sup> 之间, 一般维持在 0.187h<sup>-1</sup> 左右。三种发酵形式的典型代表数据分别于表 1、2。视发酵液的菌体浓度、比生产速率、生产能力、能耗及总生物量等<sup>[9-11]</sup>情况, 对三种发酵形式进行评价。

1. 比生长速率的比较: 单罐、间歇和连续流加的三种不同发酵形式, 获得近似的菌体浓度, 但比生长速率相差甚大。如图 1 所示, 以连续流加法最佳, 菌体干物质平均为 24.88g/L, 比生长速率前期维持在

表 1 用味精废液制取 SCP 的单罐和间歇发酵结果

Table 1 Result of producing SCP with monosodium glutamate waste liquid in batchwise and fractionation fermentation

培养时间 (h) Culture time	pH		干菌体浓度 (g/L) Dry cell concentration		比生长速率 (h <sup>-1</sup> ) Specific growth rate		生产能力 (kg/m <sup>3</sup> · h) Productivity	
	单罐 B	间歇 F	单罐 B	间歇 F	单罐 B	间歇 F	单罐 B	间歇 F
0	3.0	3.5	8.0	14.0				
2	3.0	4.0	8.7	17.6	0.0420	0.1144	0.35	1.80
4	3.0	5.0	10.5	23.8	0.0680	0.1327	0.90	3.10
6	3.5	6.0	14.0	25.5	0.0933	0.0999	1.75	0.85
8	3.5		17.5		0.0978		1.75	
10	4.0		20.4		0.0936		1.45	
12	6.0		22.4		0.0858		1.00	
平均 Average					0.0801	0.1157	1.20	1.92

注: B. Batchwise; F. Fractionation.

\* 文中提及的均未扣除空白的干物重。

表 2 味精废液制取 SCP 的连续发酵结果  
Table 2 Result of producing SCP with monosodium glutamate waste liquid  
in fed-batch fermentation

培养时间 (h) Culture time	流入量 (L/h) Fed-batch yield	稀释率 ( $h^{-1}$ ) Rate of dilution	干菌体浓度 (g/L) Dry cell concentration	生产能力 ( $kg/m^3 \cdot h$ ) Productivity	有效容积电耗 ( $kW \cdot h/m^3$ ) Unit electricity consumption
36	880	0.147	26.6	3.90	2.559
37	950	0.158	28.0	4.43	2.483
38	1000	0.167	26.0	4.33	2.540
39	1050	0.175	25.5	4.46	2.559
40	1060	0.177	26.6	4.70	2.559
41	1050	0.175	25.4	4.45	2.444
42	1050	0.175	23.5	4.11	2.559
43	1000	0.167	25.9	4.32	2.483
44	1000	0.167	24.4	4.07	2.521
45	800	0.133	23.4	3.11	2.521
46	900	0.150	25.2	3.78	2.444
47	1000	0.167	24.4	4.07	2.444
48	1000	0.167	23.0	3.83	2.826
49*	1000	0.167	26.9	4.48	2.674
52	900	0.164	23.4	3.83	3.125
53	1000	0.182	26.6	4.84	3.125
54	1100	0.200	24.6	4.92	3.125
55	1100	0.200	25.4	5.08	3.125
56	1150	0.209	21.4	4.47	3.125
57	1200	0.218	22.8	4.97	3.125
58	1200	0.218	25.5	5.56	3.125
59	1200	0.218	29.5	6.43	3.125
60	1200	0.218	22.0	4.80	3.125
61	1100	0.200	24.8	4.96	3.125
62	1200	0.218	23.0	5.01	3.203
63	1200	0.218	23.2	5.06	3.250
64	1200	0.218	28.2	6.15	3.250
65	1200	0.218	26.0	5.67	3.250
66	1200	0.218	23.5	5.13	3.250
67	1200	0.218	22.4	4.88	3.125
68	1030	0.187	24.1	4.51	2.833
平均 Average	1068.4	0.187	24.88	4.65	2.872

\* 维修风管, 停机 2 小时。

Repair the machine, stop running for two hours.

$0.175h^{-1}$  左右, 54h 以后一般均高达  $0.218h^{-1}$ 。其次是间歇法, 菌体干物质浓度为  $25.5g/L$ , 平均比生长速率为  $0.1157h^{-1}$ ; 最次是单罐法, 菌体干物质浓度为  $22.4g/L$ , 平均比生长速率为  $0.0801h^{-1}$ 。由于单

罐发酵有明显的适应期, 初期菌生长繁殖缓慢, 待 5—6h 后到达对数生长期时比生长速率高达  $0.0978h^{-1}$ , 但持续时间短, 以致效率很低; 间歇法因大种量培养, 适应期也大大缩短, 唯因分批间断的间隙期间停

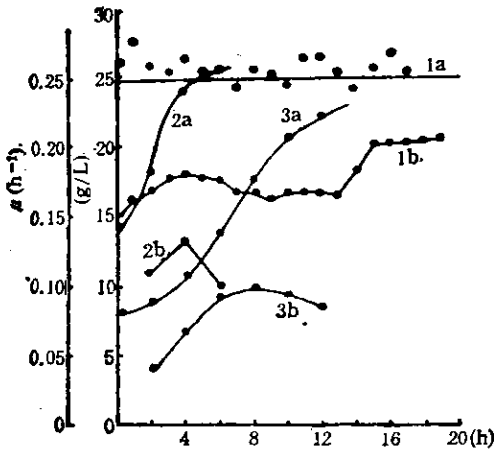


图1 不同发酵形式的菌体干物质浓度与比生长速率的关系

Fig. 1 Relationship between specific growth rate and concentration of yeast by various fermentation types

- a. 干菌体浓度 Concentration of dry yeast  
 b. 比生长速率 Specific growth rate  
 1. 连续发酵 Continuous fermentation  
 2. 间歇发酵 Fractionation fermentation  
 3. 单罐发酵 Batchwise fermentation

止菌增殖, 以致影响实际平均比生长速率只略高于单罐法, 后期刚开始出现生长加速现象时, 发酵已告结束。若间歇频率增加, 可望效率提高, 逐渐接近于连续发酵; 连续发酵法因菌体增殖始终处于对数生长期, 比生长速率接近于最高值, 菌体生长效率最高, 是三种发酵形式中最有效的一种。

2. 生产能力: 三种不同的发酵形式, 显示出不同的生产能力。如表 1、2 所示, 单罐发酵因适应期长, 以致生产能力低, 平均为  $1.20\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{h}$  菌体干物质; 间歇法几乎不存在适应期, 故生产能力有所提高, 平均达到  $1.92\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{h}$  菌体干物质; 连续发酵因菌一直处于对数生长期, 稀释率稳定, 处理废水量大, 生产能力最佳, 达到  $4.65\text{kg}/\text{m}^3 \cdot \text{h}$  菌体干物质, 比单罐、间歇法分别提高 2.88 倍和 1.42 倍。

3. 能耗比较: 单罐法与间歇法的反应

器装量均为 40%, 发酵通风量为  $12.5\text{m}^3/\text{min}$ , 按罗茨风机电机功率  $55\text{kW}$ , 总风量  $40\text{m}^3$  计算, 单位有效容积电耗为  $2.87\text{kW} \cdot \text{h}/\text{m}^3$ ; 连续发酵按表 2 所列数据, 装液量和通风量略有变动, 但其平均电耗为  $2.872\text{kW} \cdot \text{h}/\text{m}^3$ 。因此, 按上三种发酵形式的生产能力计算, 连续法、单罐法和间歇法分别生产的单位干细胞电耗依次为  $0.618$ 、 $2.392$  和  $1.495\text{kW} \cdot \text{h}/\text{kg}$ , 连续发酵法每生产一吨干细胞的发酵电耗为  $618\text{kW} \cdot \text{h}$ 。

## (二) 连续发酵中碳、氮营养的转化与利用

味精废液中含有残糖、氮、磷与谷氨酸等营养物, 经 YTA-11 菌株连续发酵后, 其营养物的转化利用情况如图 2。在连续发酵中, 其糖、氮、磷和谷氨酸的利用率分别为 85%、20%、80% 和 95% 左右, 比

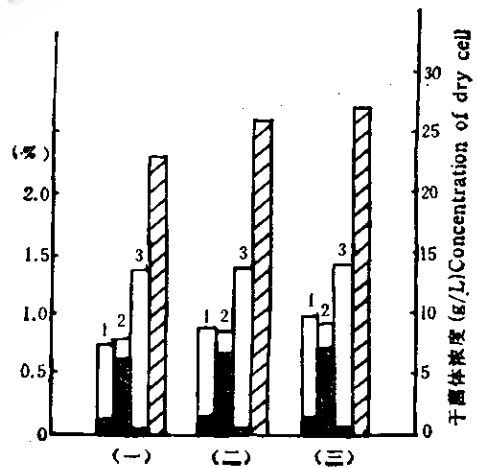


图2 YTA-11 菌株在废液培养中营养物质转化与菌体浓度的关系

Fig. 2 Correlation of nutritional transformation and cell of YTA-11

- 干菌体浓度 Concentration of dry cell  
 □ 被利用部分 Consumption  
 ■ 残留部分 Residual  
 1. 还原糖含量 Content of reducing sugar  
 2. 氮含量 Content of nitrogen  
 3. 谷氨酸含量 Content of glutamic acid

表 3 连续发酵 YTA-11 菌株对废液中 COD 去除效果

Table 3 Effect of YTA-11 continuous fermentation on COD removal rate

序号 No.	干菌体浓度 (g/L) Concentration of dry yeast	COD (mg/L)				每克干菌体需消 耗 COD 量(mg/ L)Consumption of COD to per gram of dry yeast gained
		初 始 Initial	终 点 End	消 耗 量 Consumption	去 除 率 (%) Removal rate	
1	20.70	47937.5	13346.0	34591.5	72.2	1671.1
2	22.00	49800.0	13600.0	36200.0	72.7	1645.4
3	23.90	51025.0	13324.0	37701.0	76.2	1577.5
4	24.00	53935.0	14521.0	39414.0	73.1	1642.3
5	24.60	53935.0	12032.0	41903.0	77.7	1703.4
6	25.50	53935.0	14469.0	39466.0	73.2	1547.7
7	26.00	56000.0	13600.0	42400.0	75.7	1630.8
8	27.24	59183.7	15263.0	43920.7	74.2	1612.4
9	26.50	56000.0	14400.0	41600.0	74.3	1569.8
10	28.50	60532.0	13436.0	47196.5	77.8	1656.0
平均 Average	24.89	54953.7	13821.2	41132.5	74.7	1625.0

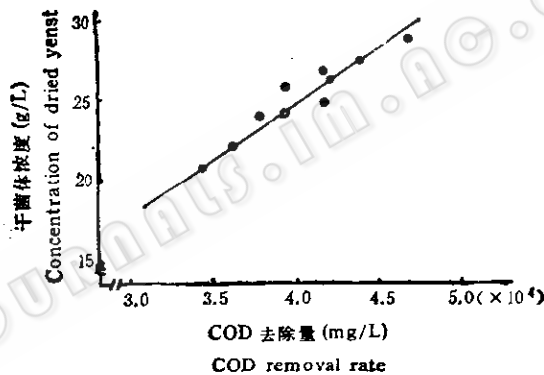


图 3 YTA-11 菌株连续发酵干菌体浓度与去除 COD 量的关系

Fig. 3 Correlation of COD removal rate and dry cell concentration of YTA-11 in continuous fermentation

单罐、间歇法的利用率提高 20% 以上。在一定条件下，废液中含有丰富的营养物可供 YTA-11 菌株生长繁殖需要。同时，废液中残糖含量越高，相应地获得生物量越多。

### (三) 生物量与废液中 COD 的关系

在连续发酵中，味精废液连续流入反应器和恒流出发酵液，当稀释率  $D$  接近于比生长速率  $\mu$  值时，消耗营养物最多，取得生物量也最多，去除 COD 量大，并且获得干菌体物质与去除 COD 量有相应的关系（如

表 3）。将连续发酵中分析测试的数据进行生物统计、分析，将获菌体浓度为纵坐标与相应的去除 COD 量为横坐标作曲线，其结果（图 3）表明，在味精废液中消耗的有机物与获得的生物量是呈正相关性。一般每消耗废液中化学耗氧量 1550—1700 mg/L 的有机质可获得 1g 干菌体，平均为 1625mg/L(K)。因此，去除 COD 量( $Y_c$ )与干菌体浓度( $X_c$ )可用  $Y_c = KX_c$  来表示。

在高浓度的味精废液连续发酵中，二次废液 COD 约 13000mg/L，若停止流加

废液继续培养, COD 含量可降到近 10000 mg/L, 随时间延长 COD 降低缓慢, 菌体量不一定增加, 甚至是负相关, 这与菌体生长繁殖耗竭可利用的营养物及内源呼吸等有关。所以, 在一定调控条件下, 连续发酵控制好稀释率是获得最佳菌体浓度, 达到去除 COD 高效率的关键。

## 讨 论

1. 在生产实践中, 从废液中制取 SCP, 尤其是高浓度有机废水处理, 以采用连续发酵形式最佳, 有利于降低电耗和生产成本, 提高劳动生产率, 同时也提高了设备利用率。

2. 在一定通风量的情况下, 连续发酵的终点在于控制好稀释率, 使菌株生长始终处于最佳的对数生长期, 达到最高生物量和相应的去除 COD 值。

3. 气升式反应器, 在本试验中, 气液比 1.8—2.2:1 较好。在风压许可下, 可增高液位, 降低风量, 使气液比相应地减少。

4. 本项试验, 既要考虑到废液中有有机物的处理, 又要设法收集更多生物量, 提高经济效益。因此, 为了充分地利用废液中

有机物质转化为生物量, 以达到尽善处理废水的目的, 还需要在菌种的筛选、培育、废液营养成分的调整平衡、发酵罐利用氧能力的提高等方面进一步研究。

## 参 考 文 献

- [1] 任玉岭: 应用微生物, 2: 1—10, 1983。
- [2] 王定昌等: 发酵学报, 1: 28—39, 1984。
- [3] 方凤山等: 生物工程学报, 1: 59—68, 1985。
- [4] Knecht, R. et al.: Process Biochemistry, 12 (4): 11—14, 1977。
- [5] 铃木弥彦: 发酵と工业, 39(11): 1037—1043, 1981。
- [6] 天津轻工学院等编著: 工业发酵分析, 轻工业出版社, 北京, 第 16—17 页, 1984。
- [7] 中国环境科学出版社编: 中国环境保护法规汇编, 中国环境科学出版社, 北京, 第 472—475 页, 1985。
- [8] 中国土壤学会农业化学专业委员会编: 土壤农业化学常规分析方法, 科学出版社, 北京, 第 277 页, 1983。
- [9] 华南工学院等编著: 发酵工程与设备, 轻工业出版社, 北京, 第 133—188 页, 1987。
- [10] [日] 合兼修一、永井史郎著(胡章助等译): 生物化学工程——反应动力学, 化学工业出版社, 北京, 1984。
- [11] Gow, J. S. et al.: SCP Production from Methanol Bacteria, In Single Cell Protein II (Conference), ed. by Tannebaum, S.R. & Wang, D. I. C., MIT Press, Cambridge, pp. 370—384, 1975。

## CONTINUOUS FERMENTATION FOR SCP PRODUCTION FROM MONOSODIUM GLUTAMATE WASTE LIQUID

Jin Xinmei Jin Shifang

(Zhejiang Institute of Microbiology, Hangzhou)

Zhu Hongbiao Wang Yunlong Hua Zhaolin

(Zhejiang Monosodium Glutamate Factory, Yiwu)

The waste liquid from the process of producing monosodium glutamate by one-step isoelectric point precipitation method in chilled condition (commonly called monosodium glutamate waste liquid) contains some kinds of organic substances, which can be used as nutrients to produce feeding yeast. After a series of studies in a 15m<sup>3</sup> intracirculated air-lift fermentor.

The main technical and economical parameters obtained are as following: Average yield of dried yeast 24.88g/L; Rate of dilution 0.187hr; Productivity 4.65kg/m<sup>3</sup>·hr of dried yeast; Unit electricity consumption 2.872kW·h/m<sup>3</sup>; Cost of production 1700R M. B/ton.

The feeding yeast contains more than 60% of crude protein, the total amount of amino acids reaches 50% or more. All items of the production conform to the standards published by the Ministry of Light Industry.

The pH value of the waste liquid raises from 3.2 to 6.0—6.5, after cultivation of yeast. The eliminating rate of COD in the liquid is about 74.7%, i.e. about 1625mg/L COD can be eliminated, per gram of dried yeast gained.

### Key words

Monosodium glutamate waste liquid;  
SCP; Continuous fermentation