

利用甜菜糖蜜发酵生产 L-谷氨酸的中间试验

吉林省范家屯糖厂
吉林省轻工业设计研究所

随着味精工业的日益发展,发酵生产 L-谷氨酸的工业用粮不断增加。为开辟 L-谷氨酸发酵的原料来源,扩大甜菜糖蜜综合利用的范围,我们遵照毛主席关于“备战、备荒、为人民”的教导,在党的一元化领导下,组成了以工人为主体的试验小组,进行了用甜菜糖蜜代替淀粉水解糖发酵生产 L-谷氨酸的试验工作,通过摇瓶及 500 升罐发酵条件的研究,取得了较好结果,经 500 升罐 14 罐次的稳产试验,产酸率最高达 5.49%,平均产酸率为 5.01%,转化率最高达 57%,平均转化率 47.45%,提取率达 81.8%,经初步估算,每生产一吨 L-谷氨酸需糖蜜 5.4 吨,生产一吨味精需糖蜜 4.75 吨。现将 500 升罐中间试验结果报道如下。

材 料 和 方 法

一、甜菜糖蜜

试验采用范家屯糖厂甜菜糖蜜作为碳源。不经净化处理,直接冲稀使用。所用甜菜糖蜜含总糖 51.5%,还原糖 1.5%,棉籽糖 2.0%,总氮 2.1%。因其含有较多生物素,所以发酵培养基不再添加生物素代用品玉米浆。

二、发酵罐

所用种子罐、发酵罐均同一般味精厂现行发酵罐,

径高比均为 1:2, 不锈钢制作, 搅拌 300 转/分。

三、菌种

钝齿棒状杆菌 AS 1.542, 该菌系生物素缺陷型, 是以淀粉水解糖为原料发酵谷氨酸的优良菌株。

四、种子培养基及培养条件

斜面菌种培养基系牛肉汁 100 毫升, 加蛋白胨 1.0 克, 氯化钠 0.5 克, 琼脂 2.0 克, pH6.8—7.0。蒸汽 1 公斤/厘米² 灭菌 30 分钟。斜面菌种于 30℃, 培养 21 小时。

一级种子: 培养基系葡萄糖 2.5 克, 硫酸镁 0.04 克, 尿素 0.5 克, 磷酸氢二钾 0.1 克, 玉米浆 0.88 克, Fe⁺⁺、Mn⁺⁺ 各 2ppm, 自来水配制定容 100 毫升, pH 6.8—7.0。1000 毫升三角瓶装液 200 毫升。蒸汽 1 公斤/厘米², 灭菌 20 分钟。接种后置往复摇床 (105 次/分, 冲程 9 厘米) 于 30—31℃ 振荡培养 10.5—12 小时。

二级种子: 培养基配比 (%): 葡萄糖 1.5, 玉米浆 1.0, 磷酸氢二钾 0.1, 硫酸镁 0.4, 尿素 0.4, 糖蜜 (依糖度计) 1.0, 硫酸锰 2ppm, 自来水配制, pH6.8—7.2。50 升种子罐装培养基 35 升, 接种量 2%, 搅拌 380 转/分, 罐压 1 公斤/厘米², 通气量 1:0.3 (体积/分钟), 于 30—32℃ 培养 6.5—7.5 小时。

五、发酵培养基及发酵条件

培养基配比(%)：糖蜜(以糖度计) 11，磷酸氢二钾 0.1，硫酸镁 0.03，豆饼水解液 1.5，初尿素 1.2 (单独灭菌)，自来水配制，用氢氧化钠调 pH 6.8—7.2。500 升罐实际称料为：糖蜜(含糖 51.1%) 74.8 公斤，磷酸氢二钾 0.35 公斤，硫酸镁 0.105 公斤，豆饼水解液 5.25 升，初尿素 4.2 公斤，自来水定容 280 升，灭菌后容量实为 350 升。蒸汽 1 公斤/厘米² 灭菌 12 分钟。

发酵条件：接种量 4%；发酵温度 32℃ 左右；罐压 1 公斤/厘米²；通气量：0—8 小时为 1:0.2 (体积/体积/分钟)，8—12 小时为 1:0.32，12 小时至终了为 1:0.48；搅拌 300 转/分；吐温 60 添加时间是发酵产酸的成败关键，经试验认为，待菌体生长至发酵液光密度净增 0.1 左右时，将吐温 60 加入比较适宜，吐温 60 用量为 0.08%；尿素流加：第一次加 0.8%，第二次加 0.6%，均在 pH 下降至 7.0 时加入，第三次加 0.4%，此次在 pH 下降到 7.2 时加入。发酵过程中，加入白油消泡，白油用量为 0.3%。

试验结果

经过试验，确定上述工艺条件后，进行了连续 14

表 1 连续 14 批 500 升罐 L-谷氨酸发酵试验结果

批号	初糖 (%)	产酸率 (克/100 毫升)	转化率 (%)	周期 (小时)	发酵终光密度	残糖 (%)
9	11.1	5.10	46.0	38	0.52	2.2
11	10.8	5.15	47.5	39	0.54	2.6
12	10.8	5.49	50.0	37	0.91	1.8
13	10.6	5.10	48.0	37	0.58	3.0
14	11.0	4.98	45.3	34	0.36	3.4
15	10.8	4.69	43.0	27	0.47	—
16	11.0	4.84	44.0	30	0.5	—
17	10.8	4.87	45.0	34	0.73	3.1
18	10.8	5.20	48.0	40	0.51	2.8
23	10.0	4.94	49.4	40	0.51	2.6
24	10.2	4.80	47.0	36	1.0	0.7
25	10.5	4.83	46.0	33	0.43	3.6
26	9.5	5.40	57.0	40	0.68	1.9
28	10.0	4.83	48.3	34	0.375	—

罐次的发酵试验，结果产酸率均在 4.69 克/100 毫升以上，转化率最低为 43%，最高为 57%，平均转化率为 47.4%，发酵时间 36 小时，残糖 2.6%。

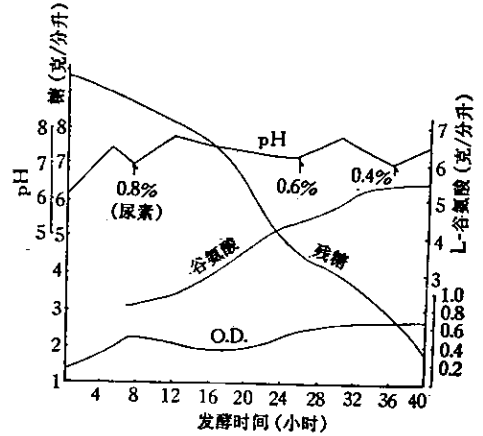


图 1 第 26 罐次发酵试验中各种指标的消长过程

讨论与分析

1. 使用糖蜜进行 L-谷氨酸发酵时，必须添加吐温 60 抑制菌体的生长，才可保证谷氨酸的积聚，试验证明，依菌体生长情况添加吐温 60 比较合理，在光密度纯增 0.1 左右时，添加 0.08% 的吐温 60，可使谷氨酸产率稳定在 4.69 克/100 毫升以上。

2. 有人认为是糖蜜为原料发酵 L-谷氨酸时，仍需添加玉米浆，但我们通过试验证明，加玉米浆和不加玉米浆对产酸影响不大，加玉米浆 0.5% 时，反而需增大吐温 60 的添加量。

3. 关于发酵周期，我们在试验中发现，有些批次发酵 20 小时即可产酸 5 克/100 毫升以上，因此认为：以糖蜜为原料发酵 L-谷氨酸时，有可能将发酵周期进一步缩短至 36 小时以内。

4. 所用甜菜糖蜜未经净化处理，因此将其所含的果胶、色素、无机盐等带入发酵液，给采用等电点沉淀法进行提取造成困难。我们参照盐酸盐法提取谷氨酸工艺，将谷氨酸发酵液浓缩至 17 克/100 毫升后，按 1:10.8 加入盐酸，在 1 公斤/厘米² 水解 4 小时，经脱色、过滤，再调 pH 至等电点 (pH 3.2)，降温结晶。这样可使 L-谷氨酸提取率达 81%。