

## 圆盘式固态发酵器生产单细胞蛋白的研究

马桂荣 张玉臻 孔 健

(山东大学微生物研究所, 济南 250100)

采用圆盘式固态发酵器生产单细胞蛋白(SCP)。发酵器有机械化上料、搅拌、补料、出料装置和自动调节温度、湿度、通风系统, 单机日产量1吨。用SC<sub>83</sub>和ST<sub>851</sub>酵母以淀粉质原料, 固态培养24h, 产品粗蛋白含量由15.7%增加至40.50%以上(以干物质计), 蛋氨酸含量接近鱼粉。该工艺培养条件稳定, 产品质量可靠。表明圆盘式固态发酵器是一种性能良好的发酵器。

**关键词** 固态发酵器; 单细胞蛋白; 淀粉质

固态发酵法概括有下列优点<sup>[1-4]</sup>:

(1) 发酵过程无须严格无菌条件; (2) 用木质纤维和粗淀粉质作为原料不必特殊前处理; (3) 固态发酵后的全部产物均能用于饲料, 后处理简单, 得率高; (4) 设备投资少; (5) 发酵全过程无废水或很少废水排放, 无环境污染。因此, 固态发酵是发酵行业中一种不可缺少的工艺类型。但推广固态发酵法尚有下列难点: (1) 固态底物的传质、传热较困难, 发酵过程中温度、湿度和氧气需求量等各种参数的监测及控制较难; (2) 所用菌种受到一定限制; (3) 缺乏适合较大生产规模的设备。

近几年来研制适合固态发酵工艺的生物反应器正在悄悄起步, 但主要用于实验室, 扩大到工厂化生产还有若干急待探索的问题。本文报道采用圆盘式固态发酵器, 以淀粉质原料工厂化生产SCP的研究结果。

### 材料与方 法

#### (一) 菌株

扣囊拟内孢霉(*Endomycopsis fibuligosa*, SC<sub>83</sub>)和丝孢酵母(*Trichosporon*

*culaneum*, ST<sub>851</sub>), 从土壤中分离, 经紫外线诱变获得。

#### (二) 培养基

1. 斜面培养基: 5% 麸皮浸出汁琼脂。
2. 液体菌种培养基(g/L): 可溶性淀粉 20, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 4.0, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.0, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 2, CaCO<sub>3</sub> 0.3, 酵母汁 2.0。
3. 固态发酵培养基: 粗淀粉物质。

#### (三) 圆盘式固态发酵器

直径为5.2m, 高为5m。有自动调温、控湿和鼓风系统及机械化上料、搅拌、补料和出料装置, 由动力驱动圆盘转动, 见图1。

1. 通气和搅拌: 通气系统如图2所示。空气用水浴预热经空气过滤器净化后进入发酵器。搅拌器系由联接弯管式叶片组成, 其轴与发酵器圆盘半径平行。叶片和圆盘平面垂直, 原地转动16 r/min。由于圆盘转动(6r/min)搅拌整个盘面上的物料, 使培养料的各种物质分布均匀。

2. 补料装置: 固态发酵生产SCP的

本文于1992年3月21日收到。

本课题为国家七·五攻关项目。

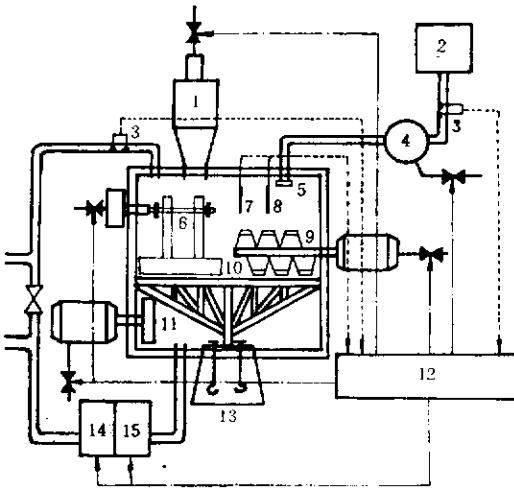


图 1 发酵器及实验流程示意图

Fig.1 Schematic diagram of fermenter and experimental flow sheet

1. Feeder; 2. Pre-culturing tank; 3. Flowmeter; 4. Pump; 5. Sprayer; 6. Spread-scraper; 7. Temperature probe; 8. Moisture probe; 9. Agitator; 10. Fermenter; 11. Drive shaft; 12. Control device; 13. Pedestal; 14. Air filter; 15. Heater

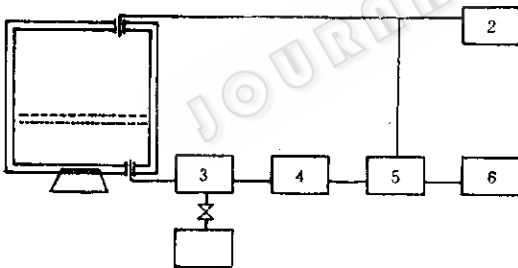


图 2 空气调节系统示意图

Fig.2 Schematic of the air conditioning system

1. Fermentor; 2. Air outlet; 3. Heater; 4. Air filter; 5. Recycle; 6. Air inlet

不同阶段,对无机氮源的需求不同。根据其合成的实际需求,通过补料装置及时予以补充。此外还有补充水分、微量元素和接种诸功能,见图 1。

#### (四) 培养方法

1. 斜面菌种:在麸皮斜面上 $28^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h,冰箱 $4^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

2. 液体菌种:将活化好的斜面菌种接种于液体培养基中, $28\pm 1^{\circ}\text{C}$ 摇动 180r/min 培养 12—14 h,转接入发酵罐, $28^{\circ}\text{C}$ 通气培养 10 h。

3. 固态培养:由补料装置将液体菌种接入发酵器。在培养过程中,由鼓风系统控制温度,提供足够的氧气,其通气量为 $1000\text{--}1200\text{m}^3/\text{h}$ ;由补料装置调节湿度、补充氮源和微量元素。控制温度 $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 90% 以上,培养料含水量 55—60%,堆料厚度为 20cm,发酵周期 24 h。操作和控制的全过程如图 1 所示。

#### (五) 分析测定方法

1. 干物质测定:采用称重法<sup>[5]</sup>。

2. 蛋白质含量测定:采用凯氏定氮法乘以 6.25<sup>[6]</sup>。纯蛋白增加依下式计算<sup>[7]</sup>;

$$RPI = \frac{M_t \times P_t - M_i \times P_i}{M_i} \times 100$$

$M_t$  =  $t$  时的干物质重,  $M_i$  = 初始时的干物质重,  $P_t$  =  $t$  时的干物质蛋白含量,  $P_i$  = 初始时干物质蛋白含量。

3. 氨基酸分析:用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪分析。

4. 可利用碳水化合物分析:采用 Clegg 蒽酮比色法<sup>[8]</sup>。

5. 温度、相对湿度观测:由控制器连接传感器,在发酵过程中随时观测记录。

## 结 果 与 讨 论

#### (一) 温度和湿度的变化

通过鼓风、搅拌、补料等装置,鼓风供氧、散热、控温、控湿、补料、补水、添加氮源、无机盐及微量元素,经搅拌使物料、温度分布均匀,发酵条件稳定,解决了以淀粉质原料生产 SCP 所遇到的底物

表 1 培养过程中温度、水分和相对湿度的变化

Table 1 Changes of temperature and water content in the medium and the relative humidity during the process

Time (h)	Temperature (°C)	Water content (%)	Relative humidity (%)
0	30	55	90
2	30	55	90
4	29	56.5	85
6	30.5	56	80
8	31.5	60	100
10	32	60	100
12	32	60	100
14	31.5	60	100
16	31.5	60	100
18	31.5	60	100
20	31	60	100
22	29	60	100
24	28.5	60	100
( $\bar{x} \pm SD$ )	30.6 $\pm$ 1.2	58.7 $\pm$ 2.1	95.8 $\pm$ 7.0

传质、传热困难, 发酵参数难监测, 难控制等问题。在培养的全过程中, 对培养基的温度、含水量及相对湿度进行测定, 结果如表 1。由表 1 可见, 在培养的 24 h 过程中, 都能较稳定地调控温度、湿度和含水量, 优化和稳定了培养条件。

## (二) 培养时间与蛋白质增加的关系

淀粉质原料经过 24 h 固态培养, 蛋白质含量从 15.7% 增加到 40.50%, 产品得

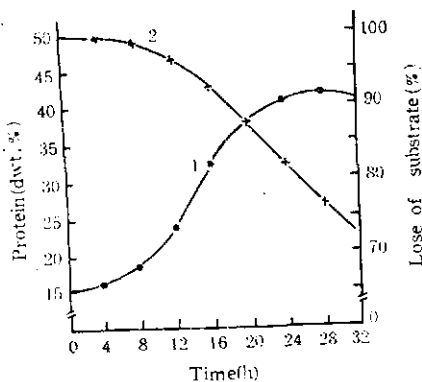


图 3 蛋白质增加与底物失重的关系

Fig. 3 Relation between increase in protein and loss of substrate weight

1. Protein, 2. Substrate

表 2 原料与产品主要化学成分

Table 2 Main chemical composition of raw material and product(%, dwt)

Components	Raw material	Product
Dry mater	89.50	88.70
Crude protein	15.70	40.50
Real protein	10.80	34.30
Crude fat	4.50	3.50
Ashes	4.50	5.60
Available carbohydrate	48.20	18.30
Total energy(K, cal/kg)	4025.00	3750.00
Ca	0.32	0.45
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	1.03	1.53

率 75% 左右, 纯蛋白增加 15g/100g (起始干物质)。但 24 h 后蛋白质增加没有明显变化, 而失重加快 (见图 3)。因此, 培养 24 h 是最佳收获时间。表明该工艺生产周期短, 产品得率高。

## (三) 原料与产品成分的分析比较

淀粉质原料经该工艺培养 24 h 后, 碳水化合物含量减少 2.6 倍, 粗蛋白含量增加 2.6 倍, 真蛋白含量增加 3.2 倍。表明 SC<sub>85</sub> 和 ST<sub>85</sub> 酵母用固态发酵法转化淀

表 3 培养 24h 后氨基酸含量的变化

Table 3 The composition of amino acid of product after 24h of cultivation(%, dwt)

Amino acid	Raw material	Product
Asp	0.75	2.48
Thr	0.46	1.22
Ser	0.57	1.89
Glu	1.70	6.95
Gly	0.32	1.21
Ala	0.64	2.86
Cys	0.18	0.43
Val	0.58	1.71
Met	0.30	1.42
Ile	0.41	1.65
Leu	1.08	3.95
Tyr	0.47	1.20
Phe	0.50	1.84
Lys	0.29	1.17
NH <sub>3</sub>	—	—
His	0.39	0.87
Arg	0.94	1.41
Pro	0.40	1.47
Trp	—	0.24
Total	9.98	33.36

粉质合成SCP能力较强,见表2。

#### (四) 原料与产品氨基酸分析比较

经24 h培养,产品含有18种氨基酸,总氨基酸含量由9.98%增加到33.36%,其中必须氨基酸增加2.4倍,尤其蛋氨酸

含量接近鱼粉,表明该工艺生产的SCP营养价值较好,见表3。

圆盘式固态发酵器机械化程度高,设备容量大,发酵条件稳定,生产技术容易掌握。

### 参 考 文 献

- [1] Hesseitine, C.W., *Biotechnol Bioeng*, 14:517, 1972.
- [2] Lonsane, B. K. et al., *Enzyme Microbiol Technol.*, 7:258, 1985.
- [3] Moo-Young, M. et al., In "The Filamentous Fungi". Fungal Technology., Smith, J.E. and Berry, D. R. Eds. (Arnold, London, vol:4, 1983).
- [4] Aidoo, K. E. et al., *Adv. Appl. Microbiol.*, 28:201, 1982.
- [5] Zadrazil, F. et al., *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 16:45, 1982.
- [6] 北京大学生物化学教研室编:生物化学实验指导,人民教育出版社,北京, p.87—92, 1980.
- [7] Durand, A. et al., *Biotechnol. Bioeng*, 31:476—486, 1988.
- [8] 罗明泉编译:食品营养成分分析,中国食品出版社,北京, pp.50—51, 1987.

## Study on Rotary-tray Fermenter for Solid State Culture Applying the Single Cell Protein Production

Ma Guirong Zhang Yuzhen Kong Jian

(Institute of Microbiology, Shandong University, Jinan 250100)

A rotary-tray fermentor for solid state fermentation(SSF) has been studied to produce the single cell protein(SCP). The equipment has mechanical input, agitation, output device and feeder. The temperature and relative humidity were regulated by an automatic control system. It having a maximum working capacity of one ton can be scaled up to the production plant level. This equipment for SSF has been used for SCP production on raw starchy material with  $SC_{8.5}$  and  $ST_{8.5}$ . During the processes the protein content increases from 15.7 to 40.7% for 24h. The product quality was stable.

**Key words:** Solid state fermenter; single cell protein; starch raw material