

固态发酵生物反应器

廖春燕 郑裕国

(浙江工业大学生物工程研究所 杭州 310014)

摘要: 固态发酵是指微生物在没有或几乎没有游离水的固体的湿培养基上的发酵过程。与深层液体发酵相比,它具有很多优点,因此近年来受到了研究者的重视。主要介绍了固态发酵的特点和数学模型,综合论述了各类应用于固态发酵的生物反应器的研究现状、设计标准和应用领域。

关键词: 固态发酵, 数学模型, 生物反应器

中图分类号: TS201.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2005) 01-0099-05

Solid State Fermentation Bioreactor

LIAO Chun-Yan ZHENG Yu-Guo

(Institute of Bioengineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014)

Abstract: Solid state fermentation involves the growth of microorganisms on moist solid substrates in the absence of free flowing water. It has gained considerable attention of late years due to its several advantages over submerged fermentation. This paper mainly introduces the characteristics and mathematical models of solid state fermentation and summarizes the development situation of various bioreactors, the design standards and applications.

Key words: Solid state fermentation, Mathematical model, Bioreactor

固态发酵 (Solid State Fermentation, SSF) 是最古老的生物技术之一。微生物生长和代谢所需的氧大部分来自气相,也有部分存在于与固体基质混合在一起的水中。所以固态发酵常涉及气、固、液三相,使情况变得非常复杂。在固态发酵中,对于生物反应器的设计除了氧的传递是一个限制性的因素外,更复杂和更重要的两个参数是温度和固体培养基的水含量。影响生物反应器设计的其它因素还有:(1)菌体的形态学以及其对机械剪切力的抵抗性;(2)是否需要无菌发酵过程。在分析各种各样的生物反应器各自的优点和缺点之前,应该特别指出通常很多类型的反应器只能够在实验室水平运作,规模化生产时会由于生成大量热和系统的复杂性而变得复杂。

1 固态发酵的特点

固态发酵又称固体发酵,是指微生物在没有或几乎没有游离水的固体的湿培养基上生长、繁殖、代谢的发酵过程^[1]。固态的湿培养基一般含水量在 50% 左右,但也有固态发酵的培养基含水量为 30% 或 70% 等。培养基呈液态的微生物发酵过程称为液态发酵。固态发酵与深层液体发酵有很大的区别,前者的底物是固态的,几乎不溶于

水,而后者的底物大部分溶解于水。我国农村的堆肥、青饲料发酵和做酒曲,就是固态发酵。

固态发酵的特征,体现在它与液态发酵相比的相对优、缺点方面(表1)。

表1 固态发酵与液态发酵相比的优缺点

优点	缺点
(1) 培养基含水量少,废水、废渣少,环境污染少,容易处理;	(1) 菌种限于耐低水活性(a_w)的微生物,菌种选择性少;
(2) 消耗低,供能设备简易;	(2) 发酵速度慢,周期较长;
(3) 培养基原料多为天然基质或废渣,广泛易得,价格低廉;	(3) 天然原料成分复杂,有时变化,影响发酵产物的质和量;
(4) 设备和技术较简易;	(4) 工艺参数难检测和控制;
(5) 产物浓度较高,后处理方便。	(5) 产品少,工艺操作消耗劳力多,强度大。

2 固态发酵的数学模型

数学模型是优化生物过程的必要工具^[2]。数学模型不仅能指导生物反应器的设计和操作,而且能够对在发酵体系里发生的各种现象如何结合起来控制整个操作提供见解。人们提出的关于固态发酵领域的数学模型可以分为下列两种:宏观模型和微观模型。宏观模型涉及的是生物反应器的操作,它描述基质床的传质传热过程。微观模型涉及的是在颗粒表面和内部发生的各种现象,并不把生物反应器的操作作为一个整体来描述。显然,由于它们的重点不同,这两种数学模型对于生物反应器都非常重要。固态发酵生物反应器的数学模型的目的是描述不同的操作变量如何影响反应器的性能。生物反应器的模型可认为由两个亚模型组成:动力学亚模型和平衡(传递)亚模型^[2]。平衡(传递)亚模型描述在生物反应器不同相里或相之间的传质传热,而动力学亚模型描述的是微生物的生长速率怎样依赖于关键的环境参数。因此,固态发酵的数学模型描述的是在固态发酵中发生的宏观和微观现象中各种因素的平衡,例如微生物的生长和死亡动力学、热量平衡、质量平衡等。

例如,Smits等人^[3]提出的数学模型描述了浅盘反应器中基质床的氧平衡的关系:

$$\frac{\partial C_{O_2}^b}{\partial t} = D_{O_2}^b \frac{\partial^2 C_{O_2}^b}{\partial z^2} - r_{O_2} \quad (1)$$

其中 t 表示时间, $C_{O_2}^b$ 表示单位体积床层的氧浓度, z 为垂直坐标, $D_{O_2}^b$ 为扩散率, r_{O_2} 为微生物摄入氧的速率。

Stuart 转鼓式生物反应器模型^[4]描述的基质床水的质量平衡关系式为:

$$\frac{dMW}{dt} = -kA_{sa} (C_I - C_B) + r_{H_2O} \quad (2)$$

其中 M 为基质干重, W 为床层水的含量, k 为质量传递系数, A_{sa} 为器壁和顶部空间空气的接触面积, C_I 为基质周围平衡的水蒸气浓度, C_B 为顶部空间的水蒸气浓度, r_{H_2O} 为水新陈代谢的速率。

3 固态发酵的生物反应器

用于固态发酵的反应器可归类为5种形式:填充床反应器,流化床反应器,转鼓

式反应器, 浅盘式反应器和搅拌反应器^[4]。

3.1 浅盘式生物反应器 (Tray Bioreactor) 这种类型生物反应器非常古老, 是最简单的, 特别适合酒曲的加工。以前家庭作坊常用这种类型发酵各种各样混合在一起的农业原材料。它由一个密室和许多可移动的托盘组成。托盘装有的固体培养基最大厚度有 0.15 m, 放在自动调温的房间。这种技术用于规模化生产比较容易, 这是由于只要增加托盘的数目就可以了。尽管这种技术已经广泛用于工业上 (主要是亚洲国家), 但是它需要很大的面积 (培养室) 而且消耗很多人力。其结构示意图如图 1。

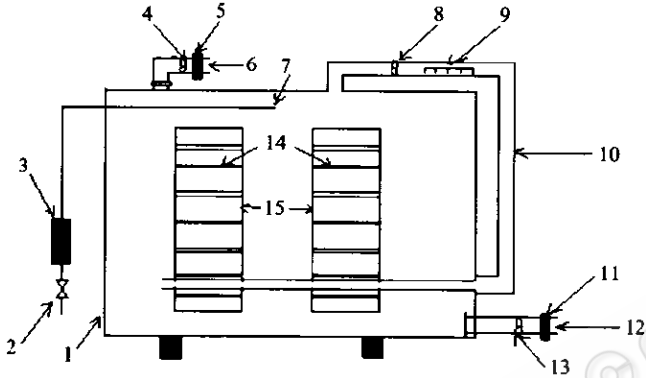


图 1 浅盘生物反应器简图

1 反应室, 2 水压阀, 3 紫外光管, 4, 8, 13 空气吹风机, 5, 11 空气过滤器, 6 空气出口, 7 湿度调节器, 9 加热器, 12 空气入口, 14 盘子, 15 盘子支持架

德国的 Prophyta 公司^[5]申请专利的这类反应器用来在无菌状态生产生物杀虫剂。这个反应器是一个塔状结构, 里面装着穿孔的盘子, 无菌空气可以穿过每一个盘。在每个盘子下面放有热交换器去除培养过程产生的热。

3.2 填充床生物反应器 (Packed-bed Bioreactor) 填充床生物反应器是静置式反应器, 因此在发酵过程中往床层喷淋水是不切实际的。这类反应器在设计上必须要使床层的干燥最小化, 因为床层的干燥会导致床层的湿度变化, 进而影响微生物的生长。因此在空气入口必须通入饱和的空气。即使如此, 仍不能避免水分蒸发掉, 这是因为在空气进口和出口之间空气温度的增加使得空气的持水性增加^[6]。填充床生物反应器比浅盘式更易控制发酵参数^[2]。在大的浅盘反应器会出现中心缺氧和温度过高, 而在填充床反应器可通过通气部分解决这些问题, 但在空气出口仍会出现温度过高^[7]。然而这种类型反应器没有搅拌器, 受新陈代谢产生的热量限制, 而且床层底部到顶部的温度梯度是不可避免的。

3.3 流化床生物反应器 (Fluidized-bed Bioreactor) 通过流体的上升运动使固体颗粒维持在悬浮状态进行反应的装置称为流化床反应器。在流化床中, 操作的难易主要取决于颗粒的大小和粒径分布。一般来说, 粒径分布越窄的细小颗粒越容易保持流化状态。相反, 易聚合成团的颗粒由于撞击、碰撞难以维持流化状态^[8]。

在流化床生物反应器中, 液体从设备底部的一个穿孔的分布器流入, 其流速足以使固体颗粒流态化。流出物从设备的顶部连续地流出。空气 (好氧) 和氮气 (厌氧) 可以直接从反应器的底部或者通风槽引入。流化床生物反应器不存在床层堵塞、高的压力降、混合不充分等问题^[9]。在反应器里, 固体颗粒可以和气相充分接触。

3.4 转鼓式生物反应器 (Rotary Bioreactor) 转鼓反应器是一个包括基质床层、气相流动空间和转鼓壁等组成的多相反应系统。与传统固态发酵生物反应器不同的是：基质床层不是铺成平面，而是由处于滚动状态的固体培养基颗粒构成。菌体生长在固体颗粒表面，转鼓以较低的转速转动，就如同设置了搅拌轴那样加速传质和传热过程。在某些情况下，菌丝体和培养基颗粒（特别是淀粉和粘性原料）会结成块。在这些情况下，除了转鼓的阻力影响外，要分离这些聚合体非常困难。当鼓的转动速率增大时，剪切力的作用会影响菌丝体的生长。

Alberto (2001) 等人^[10]设计的转鼓式反应器由一个缓慢旋转的金属网丝制成的圆柱体组成。当圆柱体旋转时，载体和真菌与圆柱体顶部的空气接触，保证了适量的氧传递。Kalogeris (1999) 等人^[11]发明的反应器主体部分包括：器壁有水夹套的容器、一个穿孔的生产能力为 10 L 的圆柱形鼓、发动机、热交换器、增湿器、冷凝器和一个蠕动泵。在这个装置里，出口的水蒸汽在增湿器里浓缩、收集、重新循环使用。

3.5 搅拌生物反应器 (Mixed Bioreactor) 搅拌生物反应器有间歇搅拌和连续搅拌两种。

荷兰的 Wageningen 大学成功研究了一套连续混合的水平搅拌反应器^[12]，其结构示意图如图 2。这种无菌的反应器可以用于不同的生产目的，并且可以同时控制温度和湿度。在这套反应器里，热传递到器壁的效率提高了，但这个装置在大规模生产时效率较低，这是因为热只能通过器壁移出使得当规模扩大时效率更低。

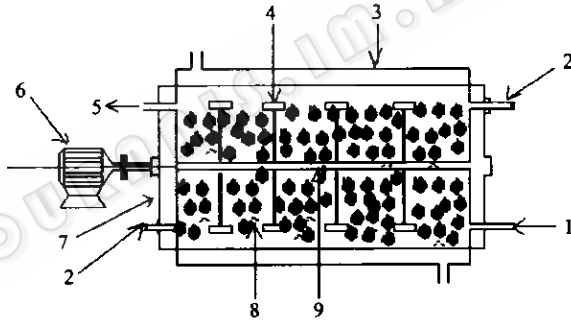


图 2 Wageningen 大学发明的水平浆混合反应器

1 空气进口, 2 温度探针, 3 水夹套, 4 浆, 5 空气出口, 6 搅拌发动机, 7 反应器, 8 固体培养基, 9 搅拌轴

另外 Durand 等人^[13]申请了专利的处理能力为 50 L 的反应器有一个行星混合装置，在不同操作步骤中完全由微型计算机控制：空生物反应器的灭菌、基质的灭菌、发酵过程的控制等。这种反应器已经被用于没食子酸的固态发酵的反馈生产以及分生孢子的生产。

4 固态发酵生物反应器的设计

生物反应器是发酵过程的中心^[14]。理想的固态发酵生物反应器有以下特征：(1) 用于建造的材料必须坚固、耐腐蚀以及必须对发酵过程的微生物无毒。(2) 防止发酵过程污染物的进入同时控制发酵过程的有机体释放到环境。前者特别难以控制，这是因为固体的处理不能象深层液体发酵的液体那样用泵输送，因此产生污染物自由封闭体系。而后者同样是一个非常重要的必备条件，因为大多数的固态发酵过程含有真菌

孢子,它可能是致病的,会对周围的环境产生危害。要达到这种要求,可以通过在空气出口安装过滤器、周详的密封设计以及对进口空气进行过滤。(3)有效的通风调节、混合和热的移除来控制温度、水活度、气体的氧浓度等操作参数。(4)维持基质床层内部的均匀性。它同样对热量梯度的最小化非常关键,是固态发酵过程一个非常重要的因素。(5)总的固态发酵过程包括培养基的制备、培养基的灭菌、产品回收之前生物量的灭菌、接种体的准备、生物反应器的安装和拆卸。因而总的来说,一个生物反应器的设计应该使以上的操作非常方便,令人满意。

5 固态发酵的应用

5.1 固态发酵在资源环境的应用 固态发酵领域的研究及其在资源环境中的应用取得了很大的进展,主要表现在生物燃料、生物农药、生物转化、生物解毒及生物修复等方面的应用^[11]。

5.2 生产有价值的物质 固态发酵可用于发酵食品、酶、色素、抗生素、有机酸和风味化合物的生产。至今工业用酶大多数采用深层液体发酵的方法,成本很高,使酶的应用受到限制,固态发酵生产酶是降低成本的好方法。例如蛋白酶的固态发酵现在应用较广,可用各种类型的反应器生产,因而可替代深层液体发酵^[15]。

6 结论和前景

过去的10年里,在固态发酵生物反应器方面的设计已经取得了很大的进展。某些研究者已经在传质传热的定量方法、数学模型、过程变量的测定以及生长模型的发展等方面取得了很大进展。有人已经采用一些有效的方法来说明氧传递的特征和空气压力产生的作用,此外他们还尝试更好的了解在固态发酵体系中微生物体的活动。然而,固态发酵过程的某些方面仍然需要研究,例如特殊基质的分析程序、气体环境的测量等。随着工业上不断采用先进的固态发酵技术及高效的生产设备,因而可使固态发酵产品的更新换代得到更快发展,更快地提高生产效率,提高企业的综合效益。

参考文献

- [1] Mitchell D A, Krieger N, Stuart D M, *et al.* *Process Biochemistry*, 2000, **35**: 1211 ~ 1225.
- [2] Mitchell D A, von Meien O F, Krieger N. *Biochemical Engineering Journal*, 2003, **13**: 137 ~ 147.
- [3] Smits J P, van Sonsbeek H M, Tramper J, *et al.* *Bioprocess Engineering*, 1999, **20**: 391 ~ 404.
- [4] Stuart D M. Ph D Thesis, The University of Queensland, Brisbane, Australia, 1996.
- [5] Durand A. *Biochemical Engineering Journal*, 2003, **13**: 113 ~ 125.
- [6] Mitchell D A, Pandey A, Sangurasak P, *et al.* *Process Biochemistry*, 1999, **35**: 167 ~ 178.
- [7] Ashley V M, Mitchell D A, Howes T. *Biochemical Engineering Journal*, 1999, **3**: 141 ~ 150.
- [8] Moreira M T, Sanroman A, Feijoo G, *et al.* *Enzyme Microb Technol*, 1996, **19**: 261 ~ 266.
- [9] Kargi F, Karapinar L. *Waste Management*, 1997, **17**: 65 ~ 70.
- [10] Dominguez A, Rívela I, Couto S R, *et al.* *Process Biochemistry*, 2001, **37**: 549 ~ 554.
- [11] Kalogeris E, Iniotaki F, Topakas E, *et al.* *Bioresource Technology*, 2003, **86**: 207 ~ 213.
- [12] Rinzema A, Oostra J, Timmer H R, *et al.* *Third European Symposium on Biochemical Engineering Science*, 2000, **9**: 11 ~ 13.
- [13] Durand A, Renaud R, Maratray J, *et al.* *World Patent No*, 1994, WO 94 18306.
- [14] Raghavarao K S M S, Ranganathan T V, Karanth N G. *Biochemical Engineering Journal*, 2003, **13**: 127 ~ 135.
- [15] Aikat K, Bhattacharyya B C. *Process Biochemistry*, 2001, **36**: 1059 ~ 1068.