

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl.³



[12]发明专利申请公开说明书

C12M 1/08
C12N 1/00
C12N 1/14
C12N 1/20

[11] CN 85 1 00522 A

CN 85 1 00522 A

[43]公开日 1986年7月9日

[21]申请号 85 1 00522

[22]申请日 85. 4. 1

[71]申请人 中国科学院上海有机化学研究所

地址 上海市零陵路345号

[72]发明人 李祥鹏 胡立佩 孙冰 王大琛

[74]专利代理机构 中国科学院上海有机化学研究所专利办公室

代理人 邬震中 石家荣

[54]发明名称 微生物通风培养的方法和装置

[57]摘要

一种通风培养微生物的方法和装置。采用低风压在空气提升式发酵罐间歇或连续培养微生物。风压范围是0.3-1.0公斤/厘米²可以采用罗茨鼓风机代替空气压缩机作为通风源。发酵罐高度范围是6-20米。菌体生产能力为6.3克/升·小时,菌体生产能耗0.59千瓦·小时/公斤。和一般的空气提升式发酵罐相比,具有罐体容易放大的优点。本方法和设备用于微生物液体深层通风培养,如细菌、放线菌、真菌等,尤其适用于单细胞蛋白的生产,例如酵母生

242/8601200/·11

北京市期刊登记证第1405号

权 利 要 求 书

1. 一种采用空气提升式发酵罐，利用水溶性培养基的通风培养微生物的方法，其特征是采用低风压空气供氧的空气提升式发酵罐。
2. 如权利要求1所述的培养微生物的方法，其特征是水溶性培养基由氨水、磷酸、无机盐，如 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 MgSO_4 、 FeSO_4 、 ZnSO_4 、水溶性碳源所组成。
3. 如权利要求2所述的培养微生物的方法，其特征是水溶性碳源可以是甲醇、乙醇、醋酸、葡萄糖、蔗糖、乳糖、淀粉水解糖、糖蜜，也可以是淀粉废水、乙醇废水、味精废水或葡萄糖废水等。
4. 如权利要求1所述的培养微生物的方法所用的低风压空气供氧的空气提升式发酵罐，其特征是低风压空气提升式发酵罐是由风压范围为0.3—1.0公斤/厘米²的低风压风源、空气提升式发酵罐所组成。
5. 如权利要求1所述的培养微生物的方法，其中所说的低风压空气供氧的空气提升式发酵罐，其特征是空气提升式发酵罐的高度为6—20米。
6. 如权利要求4或5所述的培养微生物方法，所用的低风压空气供氧的空气提升式发酵罐其特征是低风压风源为罗兹鼓风机。
7. 如权利要求4或5所述的培养微生物方法所用的发酵罐，其特征是空气提升式发酵罐内装有带有多道缝隙的空气提升内管。

8. 如权利要求 1 或 2 所述的培养微生物方法，其特征是采用间歇培养法培养微生物。

9. 如权利要求 1 或 2 所述的培养方法，其特征是采用连续培养法培养微生物。

10. 如权利要求 1 或 2 所述的培养方法，其特征是用于一般微生物通风培养，如细菌、放线菌、真菌等微生物液体深层通风培养。

11. 如权利要求 10 所述的培养方法，其特征是微生物液体深层通风培养用于单细胞蛋白生产。

12. 如权利要求 11 所述的培养方法生产单细胞蛋白，其特征是尤其适合于酵母生产，如食用酵母、面包酵母、药用酵母和饲料酵母的生产。

13. 如权利要求 4 或 5 所述的低风压空气提升式发酵罐，其特征是采用间歇培养法培养微生物。

14. 如权利要求 4 或 5 所述的低风压空气提升式发酵罐，其特征是采用连续培养法培养微生物。

15. 如权利要求 4 或 5 所述的低风压空气提升式发酵罐，其特征是用于一般微生物通风培养，如细菌、放线菌、真菌等微生物液体深层通风培养。

16. 如权利要求 15 所述的培养方法，其特征是微生物液体深层通风培养用于单细胞蛋白生产。

17. 如权利要求 16 所述的培养方法，其特征是单细胞蛋白生产尤其适用于酵母生产，食用酵母、面包酵母、药用酵母和饲料酵母的生产。

微生物通风培养的方法和装置

本发明是关于一种通风培养微生物的方法和装置。具有氧传递速率高，能耗低的特点，尤其适用于单细胞蛋白的生产。

好气微生物的通风培养要求氧气传递速率高和能耗低的发酵装置。通常采用的机械搅拌罐，能耗高，结构复杂，罐型放大困难。为此原因，人们转而使用气流搅拌方式的空气提升式发酵罐来通风培养微生物。但是一般空气提升式发酵罐的缺点是必需采用大型高罐的形式。由于罐高，则必需采用空气压缩机作为通风源，其压力范围在3—7公斤/厘米²之间。如英帝国化学工业公司的空气提升式发酵罐合适的高度在40—60米之间（联邦德国专利2423766）。有50米高度的例子（英国专利2,108,151）。利用甲醇为原料生产单细胞蛋白的发酵罐体积为3,000米³（International Symposium on Single Cell Proteins, P. 165, Editor J. C. Senez, 1981, Paris）。日本墨水化学公司利用正烷烃生产单细胞蛋白的发酵罐体积为1,260米³高度32米（International Symposium on Single Cell Proteins, P. 288, Editor J. C. Senez, 1981, Paris）。一般空气提升式发酵罐的能耗为0.51~2.0千瓦小时/公斤氧（Chemie Ingenieur Technik 49(1977) Nr. 8, S. 595）。

本发明的目的是在于提供一种微生物通风培养的方法和装置，其特点是采用低风压风源的空气提升式发酵罐，采用的风源压力为

0.3—1.0 公斤/厘米²，优先推荐的低风压风源为罗兹鼓风机。

本发明采用的低风压空气提升式发酵罐高度范围为6—20米且带有冷热水恒温夹套。罐内装有带有多道水平缝隙的空气提升内管。

本发明提供的微生物通风培养的方法和装置用于一般微生物通风培养，如细菌、放线菌、真菌等微生物液体深层通风培养，尤其适用于单细胞蛋白的生产，例如酵母生产，食用酵母、面包酵母、药用酵母和饲料酵母生产。采用的培养基为水溶性培养基，由氨水、磷酸、无机盐，如 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 MgSO_4 、 FeSO_4 、 ZnSO_4 ，以及水溶性碳源所组成，水溶性碳源可以是甲醇、乙醇、醋酸、葡萄糖、蔗糖、乳糖、淀粉水解糖、糖蜜、淀粉废水、乙醇废水、味精废水、葡萄糖废水等。

本发明提供的微生物通风培养的方法和装置可以用于微生物间歇培养，由于低风压空气提升式发酵罐内装有带有多道水平缝隙的空气提升内管，因此增加了培养液循环混和作用，并解决了用糖蜜或糖浓度在10—20%的任何工业废水为碳源培养微生物细胞起始时，由于培养基投料量少而引起的循环困难问题。

本发明提供的微生物通风培养的方法和装置可以用于微生物连续培养。由于通风和由此而产生的培养液强烈循环混和作用，导致培养液内物料、酵母、空气、培养基分布均匀，连续流出的培养液的酵母浓度等于发酵罐内培养液的酵母浓度，发酵罐内的不同部位的酵母浓度也保持一致，这样连续过程易于稳定。

本发明提供的微生物通风培养的方法和装置，第一个特点是不仅适用于大型发酵罐，而且也适用于中小型发酵罐，其适用范围在

10—1,000 米³之间。第二个特点是氧传递速率高，单细胞蛋白生产能力高达6.3克/升·小时。第三个特点是能耗低，由于采用低压风源，如输出风压为0.5公斤/厘米²的罗兹鼓风机的单位风量的能耗 \ll 输出风压为3公斤/厘米²的空气压缩机的¹，因此达到节能目的。本发明采用低压风源代替高压风源，解决了一般空气提升式发酵罐降低能耗必须高罐大型化的缺点。本发明提供的微生物通风培养的方法和装置，其能耗为0.59千瓦小时/公斤酵母，相当于0.59千瓦小时/公斤氧。

本发明提供的微生物通风培养的方法和装置，采用低风压空气提升式发酵罐培养微生物。低风压空气提升式发酵罐由风压范围为0.3—1.0公斤/厘米²的低风压风源和空气提升式发酵罐所组成。空气提升式发酵罐内带有冷热水恒温夹套的培养罐本体，带有多道水平蜂隙的空气提升内管和空气分布器所组成。图1是本发明提供的低风压空气提升式发酵罐，其中1是培养罐本体，2是空气提升内管，3是内管蜂隙，4是培养基，5是冷热水恒温夹套，6是培养基流加，7是氨水流加，8是发酵液连续流出，9是空气分布器，10是废气排放，11是低压风源。图2为图1的A—A横剖面，1是发酵罐外壁，2是空气提升内管，3是冷热水恒温夹套。

在图1所示的发酵罐内，放入一定量的含无机盐、碳源，或含有微生物生长所需的营养物质的培养基后，调节培养基至一定pH值通过冷热水夹套5维持所需温度。接入预先培养好的微生物种子，如细菌、放线菌、真菌。从低压风源由于通过空气分布器9通入的低压空气从空气提升内管由下上开，由于内管如体静压力小于内管2和发酵罐外壁之间的环形区域的静压力，因此环形区域内的发酵液带有空

气气泡向下移动，流入内管底部，产生发酵液的连续循环。在空气提升内管2上开有多道水平环状缝隙3，培养液既可从内管2的顶部外溢循环，又可从缝隙3处外溢循环，从而增强了培养液的循环作用。因此，微生物细胞和空气、培养基良好接触混和，迅速生长繁殖。氨水从7处流加以维持培养液的 pH 值和补充氮源。本发明既可用于微生物间歇培养，又可用于微生物连续培养。如在以糖蜜或糖浓度在10—20%的任何工业废水为碳源间歇培养微生物时，由于糖液必须以流加形式逐渐补入，所以起始培养时，培养基体积仅为终止培养时的 $\frac{1}{2}$ 左右，也就是说起始培养时的培养基高度仅为空气提升内管2的一半，因此若用无缝隙的空气提升内管，则在微生物起始培养时，培养基就难以产生循环或者循环能力差。若采用带有多道水平环状缝隙的空气提升内管，培养液可以从缝隙3中喷出，经空气提升内管和发酵罐外壁之间的环形区域参加循环，因此在内管上添置了多道水平环状缝隙解决了起始培养时，培养液循环困难的问题。在微生物连续培养时，培养基从6处用泵连续流加，从8处用泵或阀门控制连续流出，由于罐内物料均匀，易于连续操作。

低风压空气提升式发酵罐的罐型放大采用水平横向放大，即在罐型高度固定后，放大整体的直径、横截面积，参数简单。例如已从容积33升、罐高2.5米的实验室装置一次放大到罐高10米的18米³的中试性工业生产装置，再从中试性的18米³扩大到200—1000米³的工业性生产装置时，基本上采用水平横向放大，参数简单。而一般空气提升式发酵罐从中试20米³规模放大到200—1000米³的生产规模时，现需采用横向放

大，又需采用纵向放大（增加发酵罐的高度）。随着发酵罐高度增加，培养液的循环，微生物细胞接触空气、培养基以及氧气传递速率的状况也随着变化，参数复杂，放大有一定难度。因此本发明提供的低风压空气提升式发酵罐还具有容易放大的特点。

本发明提供的微生物通风培养的方法和装置适用于一般微生物通风培养，如细菌、放线菌、真菌等微生物液体深层通风培养，特别适用于单细胞蛋白的生产，例如酵母生产（食用酵母、面包酵母、药用酵母和饲料酵母的生产），也可用于废水生化曝气处理。

本发明提供的微生物通风培养的方法和装置适用于水溶性培养基质，如甲醇、乙醇、醋酸、葡萄糖、蔗糖、乳糖、淀粉水解糖、糖蜜、淀粉废水、乙醇废水、味精废水、葡萄糖废水等。

下面的实例用于说明本发明最合适的具体实施。

实例一

通风压力对低风压空气提升式发酵罐的氧传递速率 OTR 的影响。

按图 1 所示，放入亚硫酸钠溶液 1.5 升，以铜盐为催化剂，在不同的通风压力和不同的通风比条件下，测定发酵罐的氧传递速率 OTR。

通风比 = 每分钟通入空气体积 / 亚硫酸钠溶液体积。

| 风 压 | 通风比 | | |
|----------------------|-----|----|-----|
| | 3 | 4 | 5 |
| 公斤 / 厘米 ² | | | |
| < 0.3 | 62 | 36 | 111 |
| 0.5 | 58 | | |
| 1.0 | | | 108 |

表1. 通风压力对OIR的影响

$$OIR = \text{毫克分子氧} / \text{升} \cdot \text{小时}.$$

从表1看出通风压力从10公斤/厘米²降到0.3公斤/厘米², 在相同的通风比5时, 发酵罐的OIR反而略有升高。本发明提供的空气提升式发酵罐只需要低压风源。因此可以利用一切低压风源, 包括罗兹鼓风机代替空气压缩机, 以降低能耗。

实例二

低风压空气提升式发酵罐和鼓泡式发酵罐酵母培养对比试验。

低风压空气提升式发酵罐如图1所示。鼓泡式发酵罐为把图1所示的空气提升式发酵罐去除空气提升内管2。其他条件均相同。

菌种: 热带假丝酵母 *Candida tropicalis* 变种K-79。

| | |
|--|-------|
| 培养基: (NH ₄) ₂ SO ₄ | 15 克 |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 7.5克 |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | 0.75克 |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 0.75克 |
| H ₃ PO ₄ (80%) | 30 毫升 |

上述无机盐加水至11.4升, 用2N氨水调节培养基溶液至PH 4.5, 并在整个发酵过程中维持在4.5。温度33C。通风压力0.3公斤/厘米², 通风比6, 接入预先培养好的酵母菌种子后, 糖浆溶液采用流加形式补入, 加入总糖量为1370克, 发酵终止时发酵液总体积为15升。离心, 分离酵母菌体, 水洗一次, 110C烘至恒重, 称重得酵母菌重量。

$$\text{酵母菌浓度} = \text{酵母菌重量(克)} / \text{发酵液总体积(升)}$$

$$\text{酵母菌转化率} = \frac{(\text{酵母菌重量(克)} - \text{酵母菌种子(克)})}{\text{投糖量(克)}} \times 100\%$$

结果见表2。

| 发酵罐形式 | 发酵时间 (小时) | 酵母重量 (克) | 酵母浓度 (克/升) | 转化率 % |
|----------|--------------|-------------|---------------|----------|
| 鼓泡式 | 10 | 574 | 38.3 | 36.6 |
| 低风压空气提升式 | 10 | 654 | 43.6 | 42.4 |

表2，低风压空气提升式发酵罐和鼓泡式发酵罐酵母培养对比试验。

实例3

利用低风压空气提升式发酵罐的酵母菌间歇培养。

除投糖量减至609克外，其他条件均同实例2。培养时间为5小时。得酵母菌447克，酵母菌浓度29.8克/升，扣除酵母菌种子后得酵母菌产值375克，酵母菌对糖转化61.6%。

实例4

利用低风压空气提升式发酵罐的酵母菌连续培养。

除表3所列的条件，其他条件同实例3，稀释率0.33~0.40小时⁻¹，结果见表3。稀释率为0.33小时⁻¹时，酵母菌连续培养42小时，酵母菌平均浓度19.0克/升，平均转化率44.9%，酵母菌平均生产能力6.3克/升·小时。

| | | | | | | | | |
|------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 培养时间(小时) | 6 | 12 | 18 | 24 | 30 | 36 | 42 | 48 |
| 稀释率(小时 ⁻¹) | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.33 | 0.40 |
| 投糖浓度(克/升) | 4.23 | 4.23 | 4.23 | 4.23 | 4.23 | 4.23 | 4.23 | 37.9 |
| 酵母菌浓度(克/升) | 20.9 | 19.0 | 17.1 | 18.8 | 20.8 | 18.9 | 17.4 | 14.3 |
| 酵母菌转化率% | 49.4 | 44.9 | 40.4 | 44.4 | 49.2 | 44.7 | 41.1 | 37.8 |
| 酵母菌生产能力 (克/升小时) | 7.0 | 6.3 | 5.7 | 6.3 | 6.9 | 6.3 | 5.8 | 5.7 |

实例5

面包酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 高浓度培养

菌种: 面包酵母 *Saccharomyces cerevisiae*.

培养基含磷酸(80%)量为1毫升/升。总投糖量2124克。

其他条件均同实例3。培养11小时结束,得酵母菌8647克,酵母菌浓度576克/升。减去酵母菌种子71克,酵母菌实际增殖7937克,酵母菌对糖转化率37.4%。

实例6

面包酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 工业化连续培养

低风压空气提升式发酵罐如图2所示,培养基投入量8米³,稀释率 $D = 0.25$ 小时⁻¹,每小时流入的糖蜜溶液中含糖138公斤,其他条件如菌种,培养基, P^H , 温度均同实例5。用罗兹鼓风机作为风源,风压0.5公斤/厘米²,风量20米³/分,罗兹鼓风机运转时实测功率为27.1千瓦,连续培养16小时,发酵液酵母菌浓度平均为231克/升,酵母菌生产能力5.8克/升·小时。酵母菌对糖转化率33.5%。酵母菌能耗0.59千瓦小时/公斤。

图 1

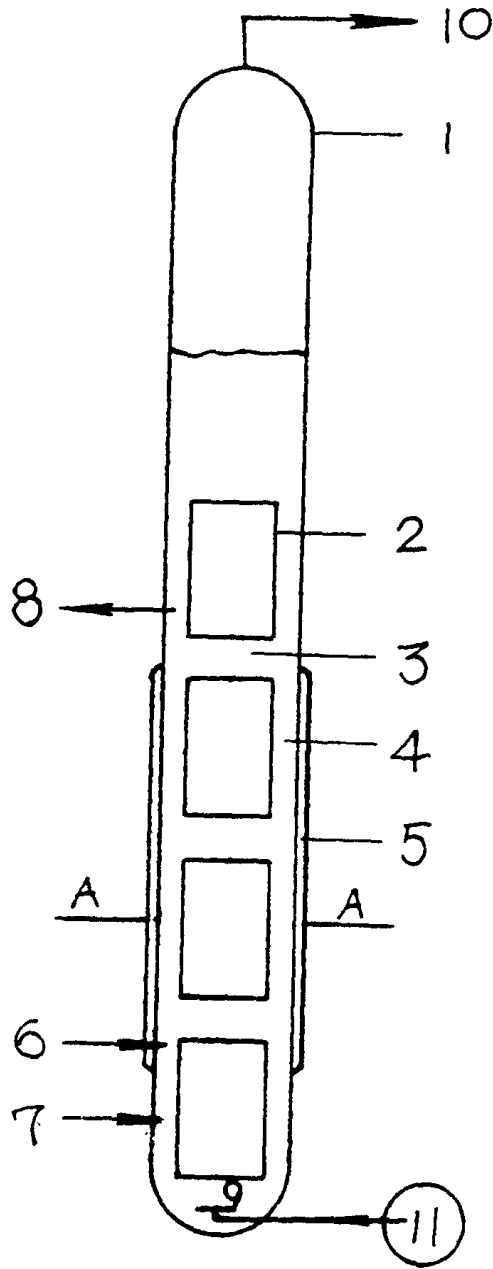


图 2

A ——— A

