



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104211611 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 17

(21) 申请号 201410374359. 5

C12R 1/01 (2006. 01)

(22) 申请日 2014. 07. 31

C12R 1/645 (2006. 01)

(71) 申请人 新疆阜丰生物科技有限公司

地址 830026 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐经济技术开发区(头屯河区)甘泉堡工业区

(72) 发明人 潘悦洪 刘守卫 肖勇 董爽

(51) Int. Cl.

C07C 229/24 (2006. 01)

C07C 227/18 (2006. 01)

C07C 227/40 (2006. 01)

C02F 3/34 (2006. 01)

C12N 1/20 (2006. 01)

C12N 1/14 (2006. 01)

C12R 1/11 (2006. 01)

C12R 1/685 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种谷氨酸钠发酵新工艺

(57) 摘要

本发明涉及一种谷氨酸钠发酵工艺,其包括如下步骤:在谷氨酸发酵液中同时加入液氨和氢氧化钠进行反应,液氨和氢氧化钠的摩尔比为2:1,得到pH为6.9-7.1的含有谷氨酸钠粗产物的发酵液;经微膜过滤,所述微膜孔径为0.04-0.06 μm,2000r/min离心3-5分钟,收集除菌液,以及沉淀菌体蛋白;除菌液泵入脱色罐进行脱色处理,脱色罐中添加除菌液质量1.5%的粉状活性炭,控制脱色罐内的温度为45-50℃,脱色30分后浓缩、所述浓缩参数为:温度60-70℃,真空度为-0.1kpa,一次结晶获得谷氨酸钠粗晶体;然后精制并处理废水,本发明工艺经济环保,其具有广阔的应用前景。

1. 一种谷氨酸钠发酵工艺,其特征在于,所述工艺包括如下步骤:

(1) 在谷氨酸发酵液中同时加入液氨和氢氧化钠进行反应,液氨和氢氧化钠的摩尔比为 2 : 1,得到 pH 为 6.9-7.1 的含有谷氨酸钠粗产物的发酵液;

(2) 步骤(1)处理后的发酵液经微膜过滤,所述微膜孔径为 0.04-0.06  $\mu\text{m}$ ,2000r/min 离心 3-5 分钟,收集除菌液和菌体蛋白沉淀;

(3) 步骤(2)制备的除菌液泵入脱色罐进行脱色处理,脱色罐中添加除菌液质量 1.5% 的粉状活性炭,控制脱色罐内的温度为 45-50 $^{\circ}\text{C}$ ,脱色 30 分后浓缩,所述浓缩参数为:温度 60-70 $^{\circ}\text{C}$ ,真空度为 -0.1kpa,一次结晶获得谷氨酸钠粗晶体;

(4) 将粗晶体二次结晶精制谷氨酸钠;

(5) 取谷氨酸钠生产废水,自然沉降固液分离,获得沉降物与上清液,将上清液排入污水处理系统,添加复合微生物菌剂深度处理后达标排放;

所述复合微生物菌剂的活性成分包括下列重量份的原料:

红球菌 7 份,巨大芽孢杆菌 10 份,脱氮副球菌 6 份,黄孢原毛平革菌 8 份;黑曲霉 3 份,亚硝化菌 1 份,嗜酸氧化亚铁硫杆菌 3 份。

2. 根据权利要求 1 所述的工艺,其特征在于,

所述红球菌具体为红球菌 (*Rhodococcus rhodochrous*)ATCC 15906;

所述巨大芽孢杆菌具体为巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megatherium*)CGMCC No :2267;

所述脱氮副球菌具体为脱氮副球菌 (*Paracoccus denitrificans*)ATCC 13543;

所述黄孢原毛平革菌为黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*)ATCC 24725;

所述黑曲霉具体为黑曲霉 (*Aspergillus nige*)CCTCC No :M206034;

所述亚硝化菌具体为亚硝化菌 (*Nitrosomonas europaea*)ATCC 19718;

所述嗜酸氧化亚铁硫杆菌为嗜酸氧化亚铁硫杆菌 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*)ATCC 53993;

3. 如权利要求 1 或 2 所述的工艺,其特征在于,所述复合微生物菌剂的制备方法包括如下步骤:将所述红球菌,巨大芽孢杆菌,脱氮副球菌,黄孢原毛平革菌,黑曲霉,亚硝化菌以及嗜酸氧化亚铁硫杆菌分别培养至菌液的浓度为  $2 \times 10^8$  个 / 克,所得菌液按照重量份混合得到液体菌剂;取液体菌剂与硅藻土按照 3 : 1 的重量比混合均匀即得。

## 一种谷氨酸钠发酵新工艺

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物发酵行业谷氨酸钠提取工艺领域,具体提供一种谷氨酸钠发酵新工艺。

### 背景技术

[0002] 谷氨酸钠化学名 d-氨基戊二酸一钠,是一种由钠离子与谷氨酸根离子形成的盐,其中谷氨酸是一种氨基酸,而钠是一种金属元素。生活中常用的调味料味精的主要成分就是谷氨酸钠。味精是日常生活中常用的调味剂,能够增加食物的鲜味,有利于提高人体对食物的消化率。此外,谷氨酸钠又有着十分重要的功能,被广泛应用于食品、医药、工业及农业等领域。

[0003] 目前谷氨酸钠的生产过程中存在以下问题:

[0004] 一方面:在发酵过程中,随着谷氨酸的含量逐渐增加,发酵液的 pH 值逐渐降低,这样会抑制谷氨酸的产生,为了保证谷氨酸不断产生,需不断加入液氨来稳定发酵液的 pH 值,保证 pH 值在 6.9-7.1 之间,发酵法在微生物发酵阶段,主要是获得谷氨酸,在氨过量存在的情况下以谷氨酸铵的形式存在,所以从发酵罐出来的是谷氨酸铵,而不是我们所希望的谷氨酸,这样就为后序的味精的生成和制备带来很大的不良影响。

[0005] 另一方面:味精的提取通常采用等电-离交法,通过加入浓硫酸调节等电点使谷氨酸结晶出来,而生产过程中产生的硫酸铵废液,给废液处理带来了极大地困难,对环境、水源造成了直接的危害。

[0006] 第三方面:味精工业也是我国发酵工业中的最大污染源,据统计,每吨味精产品产生高浓度废水 15 吨左右。味精行业高浓度有机废水污染严重,是行业突出的共性问题。发酵废母液或离交尾液是味精生产行业的主要污染源,由于发酵废母液中含有残糖、菌体蛋白、氨基酸、铵盐及硫酸盐等,是典型的高 CODCr、高 BOD5、高菌体含量、高 NH<sub>3</sub>-N、高 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、低 pH 的“五高一低”废水。

[0007] 本发明是将液氨和氢氧化钠溶液同时加入发酵液中,根据发酵液的产酸进程确定液氨和氢氧化钠的加入量,利用氢氧化钠代替液氨中和发酵液,并直接生产谷氨酸钠,在整个生产过程中,不使用硫酸,解决了环保问题。与传统工艺相比,本发明提供了一种利用氢氧化钠代替液氨中和发酵液并直接生产谷氨酸钠的方法,以降低发酵原料成本,解决后续提取的离交工序需要大量使用酸的问题,解决谷氨酸钠生产过程的污染问题。本发明用氢氧化钠代替发酵过程中用来稳定发酵液 pH 的部分氨,节省氨用量;在发酵过程中直接生成谷氨酸钠,提取过程中不使用硫酸,整个工艺流程收益大大提高。同时,生产过程杜绝了废液中硫酸铵的产生,极大地降低废液处理难度,彻底解决环保问题。

[0008] 本发明公开了一种谷氨酸钠发酵新工艺,这对增加谷氨酸钠生产收益,降低污水处理负担,增加企业的经济效益,具有重要意义。

### 发明内容

[0009] 本发明的目的是针对传统工艺的不足,提供了一种适用的谷氨酸钠发酵新工艺,其大幅降低了成产成本,生产过程操作简便,产品质量稳定可靠。符合资源综合利用、节能减排的要求,同时减少了废液排放,减轻了污水处理负担,带来了巨大的经济效益和环保效益。为了实现本发明目的,采用如下技术方案:

[0010] 一种谷氨酸钠发酵工艺,其包括如下步骤:

[0011] (1) 在谷氨酸发酵液中同时加入液氨和氢氧化钠进行反应,液氨和氢氧化钠的摩尔比为 2 : 1,得到 pH 为 6.9-7.1 的含有谷氨酸钠粗产物的发酵液;

[0012] (2) 步骤 (1) 处理后的发酵液经微膜过滤,所述微膜孔径为 0.04-0.06  $\mu\text{m}$ , 2000r/min 离心 3-5 分钟,收集除菌液,以及沉淀菌体蛋白;

[0013] (3) 步骤 (2) 制备的除菌液泵入脱色罐进行脱色处理,脱色罐中添加除菌液质量 1.5% 的粉状活性炭,控制脱色罐内的温度为 45-50 $^{\circ}\text{C}$ ,脱色 30 分后浓缩、所述浓缩参数为:温度 60-70 $^{\circ}\text{C}$ ,真空度为 -0.1kpa,一次结晶获得谷氨酸钠粗晶体;

[0014] (4) 将粗晶体分离纯化,脱色、离交除铁,二次结晶,分离,干燥,筛分精制谷氨酸钠;

[0015] (5) 取上述过程产生的谷氨酸钠生产废水,自然沉降固液分离,获得沉降物与上清液,将上清液排入进入污水处理系统,添加复合微生物菌剂深度处理后达标排放。

[0016] 液氨+氢氧化钠的添加量为按照与谷氨酸发酵液中谷氨酸摩尔比为 1 : 1,所述谷氨酸测定方法采用华勃氏脱竣酶法。

[0017] 所述复合微生物菌剂的活性成分包括下列重量份的原料:

[0018] 红球菌 7 份,巨大芽孢杆菌 10 份,脱氮副球菌 6 份,黄孢原毛平革菌 8 份;黑曲霉 3 份,亚硝化菌 1 份,嗜酸氧化亚铁硫杆菌 3 份

[0019] 所述红球菌具体为红球菌 (*Rhodococcus rhodochrous*) ATCC 15906;(参见文献 Cloning and Characterization of Benzoate Catabolic Genes in the Gram-Positive Polychlorinated Biphenyl Degradation Strain RHA1, *J. Bacteriol.* November 2001);

[0020] 所述巨大芽孢杆菌具体可为巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megatherium*) CGMCC No: 2267 (CN101215532);

[0021] 所述脱氮副球菌具体为脱氮副球菌 (*Paracoccus denitrificans*) ATCC 13543(参见文献 Genes coding for respiratory complexes map on all three chromosomes of the *Paracoccus denitrificans* genome, *Archives of Microbiology*, 1998);

[0022] 所述黄孢原毛平革菌为黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*) ATCC 24725

[0023] (参见文献 APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Feb 1994, p709-714)

[0024] 所述黑曲霉具体为黑曲霉 (*Aspergillus niger*) CCTCC No: M206034;(CN1924000)

[0025] 所述亚硝化菌具体为亚硝化菌 (*Nitrosomonas europaea*) ATCC19718(参见文献 Complete Genome Sequence of the Ammonia-Oxidizing Bacterium and Obligate Chemolithoautotroph *Nitrosomonas europaea*, 2003);

[0026] 所述嗜酸氧化亚铁硫杆菌为嗜酸氧化亚铁硫杆菌 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) ATCC 53993(可见文献 A genomic island provides *Acidithiobacillus*

ferrooxidans ATCC 53993 additional copper resistance :a possible competitive advantage. Appl Microbiol Biotechnol. 2011) ;

[0027] 将以上红球菌,巨大芽孢杆菌,脱氮副球菌,黄孢原毛平革菌;黑曲霉,亚硝化菌,嗜酸氧化亚铁硫杆菌、按照常规培养浓度均控制在  $2 \times 10^8$  个 / 克,所培养的菌液按照质量比例混合得到液体菌剂;

[0028] 取上述液体菌剂与载体搅拌混合,优选以硅藻土(40-80目)为载体,按照菌剂:载体为 3 : 1 的重量比混合。干燥:将混合好物料进行干燥,干燥温度为 20-50℃,干燥后含水量为 20-30%;检验、包装:按质量标准检验,成品按重量进行包装,即得固体菌剂。

[0029] 按每立方米釜底料每次投加微生物制剂 30 克,每天投加 1 次,连续投加一周,最后静置 3 天,将液体排出。

[0030] 本发明取得的有益效果:

[0031] 1 本发明提供了一种谷氨酸钠发酵新工艺,其要点在于在发酵液中同时加入液氨和氢氧化钠溶液,根据发酵液的产酸进程确定液氨和氢氧化钠的加入量,在发酵过程中用氢氧化钠溶液代替部分氨,不再参与调节发酵液的 pH 值。而氢氧化钠用于保证适合于菌种生长的环境,以此稳定发酵液的 pH 值,保证发酵液的 pH 值为 6.9-7.1。氢氧化钠将所产生的谷氨酸转化成谷氨酸钠,得到最终的目的产物。

[0032] 2 复合菌剂专门针对本发明味精制备过程的废水,将各种能形成优势菌群的菌种,配制成高效微生物制剂,按一定量投加到废水处理系统中,加速微生物对污染物的降解,以提高系统的生物处理效率,保证系统稳定运行。其含有多种对难降解污染物有优良降解能力的微生物,各菌种之间合理配伍,共生协调,互不拮抗,活性高,生物量大,繁殖快,投加在废水处理系统中,对大分子、难降解物质有良好的降解效果,对传统的氨化过程排放废水有独特的处理效果。适于本申请制备味精方法产生废水排放处理,可提高处理水量和处理水质,降低运行费用,促进达标排放。

[0033] 3 针对脱色和浓缩处理步骤,设计单因子和多因子重复实验筛选最佳操作参数,研究活性炭添加量、反应温度、时间等参数对脱色率和氨基酸损失率的影响,最终得出针对本发明中和方法,控制脱色罐内的温度为 45-50℃,脱色 30 分钟后浓缩、所述浓缩参数为:温度 60-70℃,真空度为 -0.1kpa,操作参数最佳,其脱色率最高。

#### 具体实施方式:

[0034] 实施例 1:

[0035] 以葡萄糖为原料进行发酵,其中的葡萄糖为 1 吨,接着向发酵液(谷氨酸含量为 11.9%)中加入液氨和氢氧化钠溶液,液氨和氢氧化钠的摩尔比为 2 : 1,得到 pH 为 6.9 的含有谷氨酸钠粗产物的发酵液,二者同时加入,发酵液的 pH 值为 6.9,得到含有谷氨酸钠粗产物的发酵液,再将含有谷氨酸钠粗产物的发酵液通过板框或微膜过滤,除去菌体蛋白,微膜孔径为 0.04um,2000r/min 离心 3 分钟,收集除菌液。除菌液泵入脱色罐进行脱色处理,脱色罐中添加除菌液质量 1.5% 的粉状活性炭,控制脱色罐内的温度为 45-50℃,脱色 30 分钟后浓缩、所述浓缩参数为:温度 60-70℃,真空度为 -0.1kpa,一次结晶获得谷氨酸钠粗晶体;将粗晶体分离纯化,脱色、离交除铁,二次结晶,分离,干燥,筛分精制谷氨酸钠;接着将收集的除菌液进行脱色,除盐、浓缩、一次结晶,收集谷氨酸钠粗晶体,将收集到的谷氨酸钠

粗晶体进行分离,收集得到的谷氨酸钠晶体,再将谷氨酸钠晶体进行重溶,经过炭柱脱色,离子交换除铁,最后进行二次结晶、分离、干燥、筛分和包装,最终得到 0.69 吨质量合格的味精产品,全程没有使用硫酸,节省 690 公斤的浓硫酸,大大降低了原料成本。

[0036] 味精生产过程产生的废水采用如下处理方式:生产废水,自然沉降固液分离,获得沉降物与上清液,将上清液排入进入污水处理系统,添加复合微生物菌剂深度处理后达标排放。

[0037] 所述复合微生物菌剂的活性成分包括下列重量份的原料:

[0038] 红球菌 7 份,巨大芽孢杆菌 10 份,脱氮副球菌 6 份,黄孢原毛平革菌 8 份;黑曲霉 3 份,亚硝化菌 1 份,嗜酸氧化亚铁硫杆菌 3 份

[0039] 所述红球菌具体为红球菌 (*Rhodococcus rhodochrous*) ATCC 15906;(参见文献 Cloning and Characterization of Benzoate Catabolic Genes in the Gram-Positive Polychlorinated Biphenyl Degradation Strain RHA1, *J. Bacteriol.* November 2001);

[0040] 所述巨大芽孢杆菌具体可为巨大芽孢杆菌 (*Bacillus megatherium*) CGMCC No.: 2267 (CN101215532);

[0041] 所述脱氮副球菌具体为脱氮副球菌 (*Paracoccus denitrificans*) ATCC13543(参见文献 Genes coding for respiratory complexes map on all three chromosomes of the *Paracoccus denitrificans* genome, *Archives of Microbiology*, 1998);

[0042] 所述黄孢原毛平革菌为黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*) ATCC 24725(参见文献 APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY, Feb 1994, p709-714)

[0043] 所述黑曲霉具体为黑曲霉 (*Aspergillus niger*) CCTCC No.: M206034;(CN1924000)

[0044] 所述亚硝化菌具体为亚硝化菌 (*Nitrosomonas europaea*) ATCC19718(参见文献 Complete Genome Sequence of the Ammonia-Oxidizing Bacterium and Obligate Chemolithoautotroph *Nitrosomonas europaea*, 2003);

[0045] 所述嗜酸氧化亚铁硫杆菌为嗜酸氧化亚铁硫杆菌 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) ATCC 53993(参见文献 A genomic island provides *Acidithiobacillus ferrooxidans* ATCC 53993 additional copper resistance: a possible competitive advantage. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2011);

[0046] 将以上红球菌,巨大芽孢杆菌,脱氮副球菌,黄孢原毛平革菌;黑曲霉,亚硝化菌,嗜酸氧化亚铁硫杆菌、按照常规培养浓度均控制在  $2 \times 10^8$  个/克,所培养的菌液按照质量比例混合得到液体菌剂;

[0047] 取上述液体菌剂与载体搅拌混合,优选以硅藻土(40-80目)为载体,按照菌剂:载体为 3:1 的重量比混合。干燥:将混合好物料进行干燥,干燥温度为 20-50℃,干燥后含水量为 20-30%;检验、包装:按质量标准检验,成品按重量进行包装,即得固体菌剂。

[0048] 按每立方米釜底料每次投加微生物制剂 30 克,每天投加 1 次,连续投加一周,最后静置 3 天,将液体排出。

[0049] 实施例 2:

[0050] 以葡萄糖为原料进行发酵,其中的葡萄糖为 1 吨,接着向发酵液中加入液氨和氢氧化钠溶液,液氨和氢氧化钠的摩尔比为 2:1,得到 pH 为 7.1 的含有谷氨酸钠粗产物的发

酵液,二者同时加入,且根据发酵液的产酸进度调节液氨和氢氧化钠溶液的加入量,稳定发酵液的 pH 值为 6.9,得到含有谷氨酸钠粗产物的发酵液,再将含有谷氨酸钠粗产物的发酵液通过板框或微膜过滤,除去菌体蛋白,微膜孔径为 0.06 μm,2000r/min 离心 5 分钟,收集除菌液。除菌液泵入脱色罐进行脱色处理,脱色罐中添加除菌液质量 1.5% 的粉状活性炭,控制脱色罐内的温度为 45-50℃,脱色 30 分钟后浓缩、所述浓缩参数为:温度 60-70℃,真空度为 -0.1kpa,一次结晶获得谷氨酸钠粗晶体;将粗晶体分离纯化,脱色、离交除铁,二次结晶,分离,干燥,筛分精制谷氨酸钠;接着将收集的除菌液进行脱色,除盐、浓缩、一次结晶,收集谷氨酸钠粗晶体,将收集到的谷氨酸钠粗晶体进行分离,收集得到的谷氨酸钠结晶晶体,再将谷氨酸钠结晶晶体进行重溶,经过炭柱脱色,离交柱除铁,最后进行二次结晶、分离、干燥、筛分和包装,最终得到 0.70 吨质量合格的味精产品。

[0051] 味精生产过程产生的废水采用如下处理方式:生产废水,自然沉降固液分离,获得沉降物与上清液,将上清液排入进入污水处理系统,添加复合微生物菌剂深度处理后达标排放。

[0052] 所述复合微生物菌剂的活性成分包括下列重量份的原料:

[0053] 红球菌 7 份,巨大芽孢杆菌 10 份,脱氮副球菌 6 份,黄孢原毛平革菌 8 份;黑曲霉 3 份,亚硝化菌 1 份,嗜酸氧化亚铁硫杆菌 3 份

[0054] 将以上红球菌,巨大芽孢杆菌,脱氮副球菌,黄孢原毛平革菌;黑曲霉,亚硝化菌,嗜酸氧化亚铁硫杆菌、按照常规培养浓度均控制在  $2 \times 10^8$  个/克,所培养的菌液按照质量比例混合得到液体菌剂;

[0055] 取上述液体菌剂与载体搅拌混合,优选以硅藻土(40-80目)为载体,按照菌剂:载体为 3:1 的重量比混合。干燥:将混合好物料进行干燥,干燥温度为 20-50℃,干燥后含水量为 20-30%;检验、包装:按质量标准检验,成品按重量进行包装,即得固体菌剂。

[0056] 按每立方米釜底料每次投加微生物制剂 30 克,每天投加 1 次,连续投加一周,最后静置 3 天,将液体排出。

[0057] 实施例 3

[0058] 取新疆阜丰味精生产发酵车间废水,按照实施例 1 工艺釜底料进入污水处理系统,利用 50L 水桶作为试验设备并带搅拌,分别取 30L,加入两个桶中,调 pH 为 7.0,水温 20℃,取样测定 COD、氨氮、总氮数据;对照组不添加复合菌剂,实验组添加实施例 1 中复合菌剂,按每立方米废水每次投加微生物制剂 30 克,每天投加 1 次,连续投加一周后,取样测定 COD、氨氮、总氮数据,实验组经过处理后 COD 为 21mg/L, NH<sub>3</sub>-N 为 3mg/L。经处理后的废水完全达到排放标准。

[0059]

	COD 平均去除率	氨氮平均去除率
对照组	6.7%	8.3%
实验组	98.5%	99.3%

[0060] 以上列举的仅是本发明的最佳具体实施例。显然,本发明不限于以上实施例,还可以有许多变形。本领域的普通技术人员能从本发明公开的内容直接导出或联想到的所有变形,均应认为是本发明的保护范围。