

## 谷氨酸发酵溶氧研究(I)

邹崇达 庄信博 蔡贤恩

(化工与生化工程系)

**摘要** 采用带溶氧电极的摇瓶对谷氨酸发酵过程进行研究,结果表明,只有对发酵过程(特别是生产期)的溶氧严加控制,才有可能得到谷氨酸高产.在装液量为30ml,摇床转速为160-180r/min,发酵中期溶氧水平8-10%时,谷氨酸产率6.56%,糖酸转化率55%.当采用pH和溶氧为标准补尿时,所得pH曲线及溶氧曲线不完全一致,但产酸率很接近,说明溶氧曲线至少可以作为补尿及判断发酵终点的依据之一.

**关键词** 谷氨酸,发酵,溶解氧,电极

## 0 前言

溶氧对谷氨酸发酵的影响早就有人研究过<sup>[1,2]</sup>,广濂认为,谷氨酸生物合成需要消耗大量的氧,这是因为伴随着谷氨酸生物合成有大量NADPH产生,故提高发酵过程溶氧水平对谷氨酸生产有利.广濂把氨基酸生物合成按需氧状况分成三类,谷氨酸属于需氧最多的一类,当 $r_{ab}/k_m=1$ 时产酸率才会最高.可是如果生长期供氧过多,则最后几乎不产酸<sup>[3,4]</sup>.工业生产即以此为依据安排供氧.发酵前期供氧量较低,发酵中期(生产期)逐渐增大通风量.实际证明,这并非最佳供氧方案.传感器及计算机技术的发展为发酵全过程进行监测及自动控制提供了方便.通过测定发酵过程最佳供氧曲线,采用计算机对溶氧进行自动监控,将会大大改善通气的主动性,目的性,经济性,提高产酸率.到目前为止,很少见到这方面的报道.下面报告我们的实验结果.

## 1 材料与方法

菌种:T6-13,由泉州味精厂提供.

培养基:斜面培养基,蛋白胨1,牛肉膏1,NaCl0.5,琼脂2%,pH7.0.种子培养基,葡萄糖2.5,玉米浆2.5,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>0.1,MgSO<sub>4</sub>0.04,尿素0.5%,pH7.0.发酵培养基,葡萄糖12,麸皮水

本文1992-05-18收到.

解液0.55,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0.17,  $\text{MgSO}_4$  0.06,  $\text{KCl}$  0.06%,  $\text{Fe}^{+}$ 、 $\text{Mn}^{+}$  各  $54\mu\text{M}$ ,  $\text{pH}$  7.0.

麸皮水解液:市售麸皮5g,浓盐酸1ml,自来水100ml,煮沸1h,去渣取滤液.

设备:带溶氧电极的摇瓶,上海华东化工学院产品;多点式电位差记录仪,上海大华仪表厂生产.恒温摇床,上海跃进医疗器械厂生产.

参数检测:葡萄糖,用热费淋法;谷氨酸,用测压法,以瓦勃氏呼吸仪测定;溶解氧,用氧电极法.流程为

种子斜面  $\xrightarrow{\text{活化}}$  发酵斜面  $\xrightarrow[32^\circ\text{C}, 24\text{h}]{\text{接种}}$  种子瓶  $\xrightarrow[32^\circ\text{C}, 10\text{h}]{\text{移种}}$  发酵摇瓶  $\xrightarrow[32-38^\circ\text{C}, 40\text{h}]{\text{中间补尿及中间分析}}$  放瓶

本试验采用带溶氧电极的摇瓶(750ml)进行发酵,改变装液量改变摇床转速,进而调节发酵过程的溶氧水平,以研究发酵过程溶氧变化的规律及溶氧变化对谷氨酸生物合成的影响.接种量6%,初尿0.8%,过程适时补尿.

## 2 结果与讨论

随着发酵的进行,培养基内尿素的消耗,  $\text{pH}$  亦降低.补加尿素,  $\text{pH}$  随之上升.当尿素消耗之后,  $\text{pH}$  又下降,再补充尿素,  $\text{pH}$  又会上升.但将近发酵结束时,  $\text{pH}$  会持续上升.整个发酵过程就是通过不断地补尿,使培养基内  $[\text{NH}_4^+]$  及  $\text{pH}$  维持在一定水平,保证发酵正常进行.整个发酵过程的溶氧曲线可分成三个阶段,即下降阶段,稳定阶段,上升阶段.若以  $\text{pH}$  为标准补尿,即将  $\text{pH}$  控制在一定范围内,当  $\text{pH}$  低于某一临界值时就补加尿素,可得到如图1所示的一条  $\text{pH}$  曲线及溶解氧曲线.

在同一装量(50ml)条件下,摇床转速分别为140-160r/min, 160-180r/min, 180-200r/min,得到三组不同的溶解氧曲线.在低转速时,溶氧下降很快(以发酵开始时溶解氧为

100%), 6h, 溶氧为6%;中期维持时间很长(10h-34h), 溶氧水平亦很低(3-4%);末期溶氧上升很慢,最后产酸5.3%,糖酸转化率44%.在高转速时,前期溶氧下降很慢, 10h, 溶氧还有10%;一直到34h, 溶氧维持在8%左右;末期上升很快,最后产酸6.06%,糖酸转化率51%.转速为160-180r/min 时,溶氧曲线始终居于前述二者之间,最后产酸5.73%糖酸转化率48%,见图2.

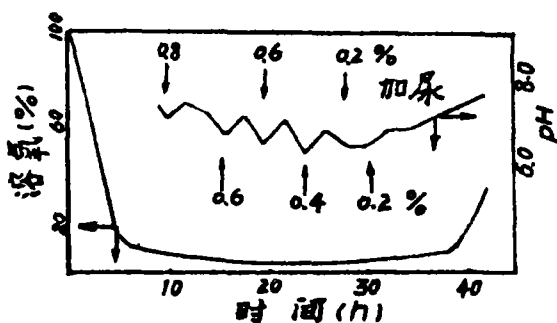


图1 以  $\text{pH}$  为标准补尿时的溶氧曲线

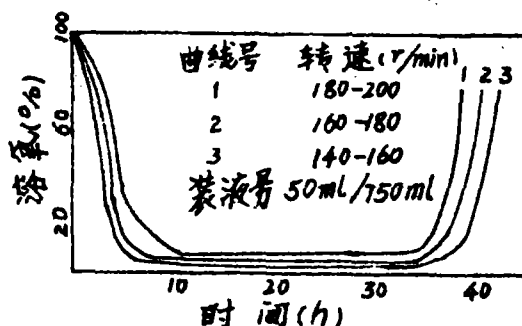


图2 不同转速对溶氧水平的影响

在同一转速条件下(160-180r/min)三个不同装量,亦得到三条不同曲线.装液量30ml,前期溶氧下降较慢,7h,溶氧18%,12h,溶氧11%;12-23h,溶氧一直维持在9-10%;中期维持时间较短,后期上升很快,最后产酸6.56%,糖酸转化率55%.装液量为70ml,前期溶氧下降很快,4h,即下降至4%;一直维持到39h;末期上升很慢,最后产酸4.76%,糖酸转化率为40%.装液量为50ml,溶氧曲线居于装液量为30ml及70ml之溶氧曲线的中间,最后产酸5.65%,糖酸转化率47%,见图3.表1为不同装液量对产酸的影响,其中25ml,40ml,60ml没有记录溶氧曲线.

表1 不同摇瓶装量对产酸的影响\*

装量 (ml)	25	30	40	50	60	70
产酸率 (%)	4.9	6.56	6.38	5.65	4.92	4.76

由图2、图3可知,装量越少,转速越高,溶氧水平越高,反之亦然.在一定范围内,溶氧水平越高,产酸率、转化率相应较高.但装液太少,溶氧过高,产酸率反而会降低,这与文献报道相符.

作者们还试验了以溶氧为依据进行补尿,即当溶氧有上升趋势时才进行补尿,得到如图4所示的溶氧曲线及pH曲线,与以pH为标准补尿相比,补尿时间推迟了,补尿时的pH也降低了,但最后产酸变化却改变不多.

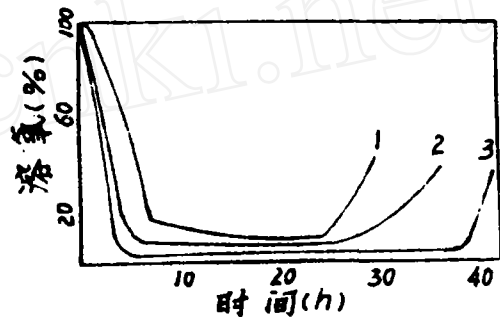


图3 不同装量对溶氧水平的影响

### 3 结论

改变发酵液装量,或者改变转速进而改变溶氧水平,结果表明,生产期溶氧控制在8-10%左右,产酸最好.这对工业生产具有一定指导意义.当前的谷氨酸生产设备上均没有安装溶氧监测设施,如果装上这一花费不多的设施,就象给生产过程安上了一只很有用的眼睛,随时监视着生产过程,这将会使生产过程更趋稳定.

采用两种不同标准补尿,即分别以pH和溶氧为标准补尿,得到两种不同的pH及溶氧曲线,但其产率区别却不大.这说明如果采用适当模型,以溶氧为标准补尿可以取代以pH为标准补尿,或者至少增加一个参考标准,使加尿更及时,更准确,利于自动化.因为目前国产耐高温消毒的PH传感器还不能运用于工业生产,而耐高温消毒的溶氧电极确已能经受工业生产

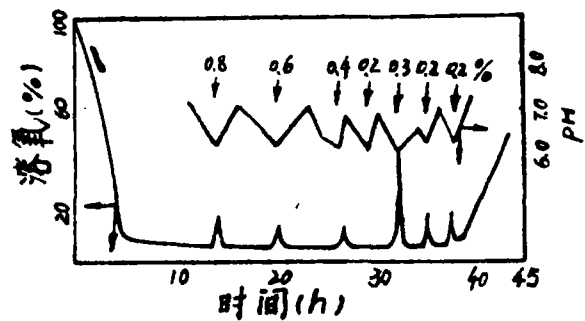


图4 溶氧及pH随时间变化曲线(以溶氧为标准补尿)

\* 摇床转速160-180RPM

的考验,所以,本研究结果对于溶氧电极运用于发酵工业特别是谷氨酸工业提供一些依据。

发酵终点时,溶氧上升,补尿亦不能使溶氧下降至中期水平,这说明,溶氧变化也可以作为判断终点的辅助标准之一。

### 参 考 文 献

- [1] Hirose, Y., Sonda, H. and Kinoshita, K. et al., *Agr. Biol Chem.*, 30, (1966), 585.
- [2] Hirose, Y., Sonda, H., and Kinoshita, K. et al., *ibid*, 32, (1968), 855.
- [3] Hirose, Y., Sonda, H., and Kinoshita, K. et al., *ibid*, 31, (1967), 1210.
- [4] 高俊德,供氧条件对氨基酸发酵的影响,工业微生物,16, (1986), 32.

## Study on the Dissolved Oxygen in Fermentation of Glutamic Acid

Zou Chongda      Zhuang Xinbo      Cai Xianen

(Department of Chemical & Biochemical Engineering)

**Abstract** The fermentation of glutamic acid (GA) was investigated by adopting shaking flask with dissolved oxygen (DO) electrode. The results reveal that a high yield of GA can be obtained only if the dissolved oxygen in fermentation especially during the production phase is strictly controlled. With a medium of 30 ml and a shaker with rotating speed of 160-180 r/min and a DO level of 8-10% during the metaphase of fermentation, a GA yield of 6.56% and a sugar acid conversion rate of 55% can be achieved. When pH and DO are taken as the criteria of urea addition, the curves of pH and DO are not fully conform with but GA yield and sugar acid conversion rate are close to one another. It shows that DO curve may serve at least as the basis for urea addition and for assessing the end point of fermentation.

**Key words** glutamic acid, fermentation, dissolved oxygen, electrodes