第5卷 无锡轻工业学院学报 Vol.5
第3期 JOURNAL OF THE WUXI INSTITUTE OF LIGHT INDUSTRY 1986 No.3

柠檬酸废水生产酵母蛋白新技术

金其荣 赵建国 庄硕彦 王凤琴 丁永红 何业忠

（无锡轻工业学院发酵系） （清江食品工业总厂）

一、前 言

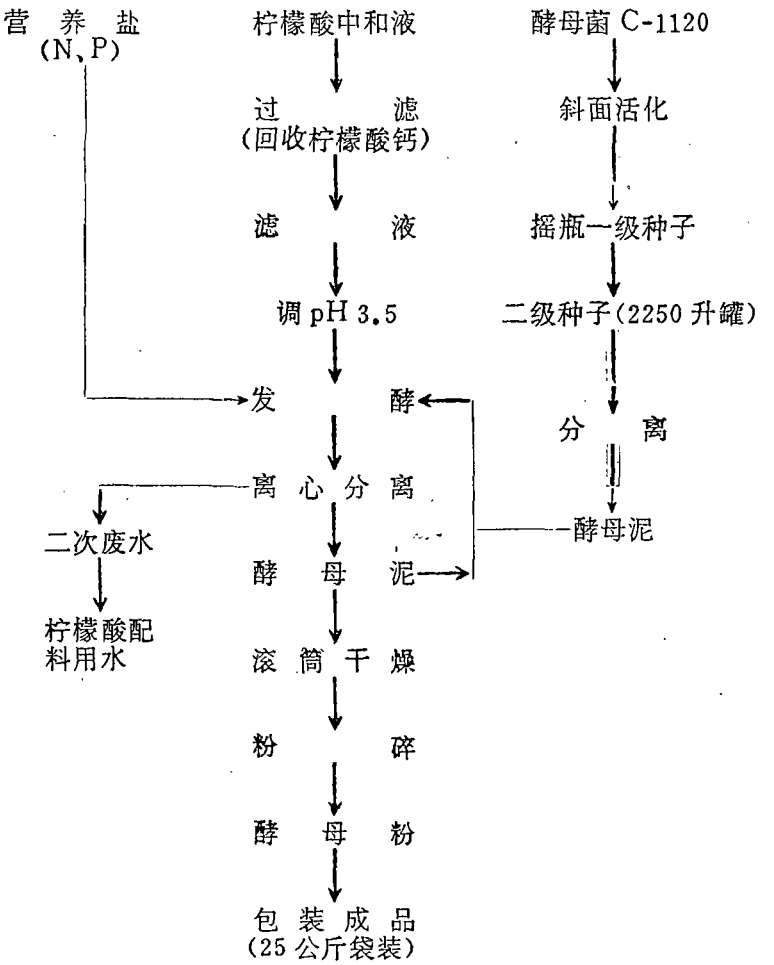
目前我国年产柠檬酸二万多吨，副产柠檬酸中和废液约三十万吨，pH一般5.0—5.5，总糖1%左右，还原糖0.03～0.4%，酸度0.3～2毫摩尔/升，固形物3～4%，CoD_{cr}20000～30000毫摩尔/升。酸性高浓度柠檬酸废液中虽然含有可供酵母生长和发育所需要的残糖、有机酸等营养物质，但此潜在的废水资源国内尚未开发利用，排入江河污染环境。如利用柠檬酸废水生产酵母蛋白，充作禽畜饲料中蛋白质和维生素的添加成分及抗菌素、肌苷、酶制剂等医药、发酵工业的氮源，对发展国内畜牧业、养殖业、饲料工业及医药工业有重大的社会经济意义。

利用柠檬酸废水生产酵母蛋白系江苏省科委(84)178号文下达的科研项目，由无锡轻工业学院及淮阴市清江食品工业总厂共同承担研制。经过一年多时间的努力，完成了酵母培养工艺条件的探索以及废水收集，酵母培养，分离，干燥、磨粉及包装设备的设计与选型、加工安装和全程运转，建立了200m^2饲料酵母车间。在58m^3罐中连续8罐稳产试验，干酵母发酵得率11.7克/升，分离、干燥回收率81.5%，成品干酵母对废液的实际收率为0.96%，粗蛋白含量48%左右，水份1～4%，灰分<10%，无毒性，符合轻工业部QB596—82部颁药用酵母和优级饲料酵母质量标准，清江制药厂采用柠檬酸废水酵母粉进行抗菌素发酵，取得了抗菌素发酵单位增加7.82%的社会经济效果，酵母蛋白成本核算每吨891.8元，工厂每年有明显的经济效益。另外，柠檬酸废水经培养酵母后，pH由初期的3.5上升到6.0～6.5，CoD_{cr}降低30～50%，上述结果达到或超过了江苏省科委下达该项目的技术指标，并于1985年11月20日通过省级技术鉴定。

本文1986年3月26日收到。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

二、工艺流程



三、主要设备

表1 日处理15吨废液的废水酵母全程生产主要设备一览

序号	设备名称	规格型号	数量	备注
1	往复式摇瓶机	频率96转/分 振幅76毫米	1	自制
2	鼓泡式种子罐	V = 2.25 米^3 ϕ = 1000 毫米 H = 3000 毫米	1	自制，旧设备改用
3	筛板式发酵罐	V = 58 米^3 ϕ = 2850 毫米 $H_{柱}$ = 9000 毫米 $H_{锥}$ = 500 毫米	1	自制

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

（续表1）

序　号	设备名称	规格型号	数　量	备　　注
4	酵母分离机	*D*-424,6500 转/分 12 吨培养液/小时	1	广州重型机器厂制造，配套电机 13kW
5	滚筒干燥机	ϕ=1500 毫米 *L* =1800 毫米 27 公斤干酵母/小时	1	淮阴清江轻工机械厂制造
6	锤式粉碎机	320	1	配 7.5 kW 电机，淮阴县农机厂制造
7	罗茨鼓风机	*L* 15/0.5	1	上海鼓风机厂制造，配套电机 22kW
8	罗茨鼓风机	*L* 40/0.5	1	上海鼓风机厂制造，配套电机 55kW
9	输液泵	2*BA*-6 3*BA*-9	2 1	

试验期间，筛板培养罐装液 15 吨，选用 *L* 15/0.5 罗茨鼓风机，实得绝干酵母 150 公斤。

四、材料与方法

1．柠檬酸中和废液

由清江食品工业总厂柠檬酸分厂提供，代表性成分分析数据如表 2 。

表 2　柠檬酸中和废液成分

项　　目	分析值	项　　目	分析值
pH	5.0～5.5	还原糖（毫克/升）	300～4000
总固形物（毫克/升）	40000	CoD_{Cr}（毫克/升）	20000～30000
总　　糖（毫克/升）	10000		

2．味精废液

由清江食品工业总厂味精分厂提供

3．菌　种

由无锡轻工业学院选育的C-1120菌作为供试菌株，同化有机酸能力强，安全无毒性，最适生长温度为30～32℃，在麦芽汁琼脂培养基上表面光滑湿润，呈乳白色，单细胞椭圆形。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表3 味精废液成分

项目	分析值	项目	分析值
pH	0.5～1.5	悬浮物（毫克/升）	8000
总氮（毫克/升）	1750	灰分（毫克/升）	10000～12000
氨氮（毫克/升）	280	有机物（毫克/升）	30000
还原糖（毫克/升）	3000～5000	氯化物（毫克/升）	10000
总固形物（毫克/升）	40000	氨基酸（毫克/升）	10000

4. 培养基

1）斜面固体培养基 10BX麦芽汁，加2％琼脂，自然pH，1公斤/厘米^{2}灭菌20分钟

2）种子培养基 取柠檬酸中和废水滤液，添加适量的尿素及碳酸氢二钾，用HCl调pH 3.5，不灭菌，冷却至32℃

3）大罐培养基 取柠檬酸中和废水滤液，添加0.7‰尿素，0.1‰磷酸氢二钾，用酸性味精废液调pH3.5，不灭菌，冷却至32℃

5. 测定方法

1）pH 用S-25型酸度计测定

2）酸度 用0.1N NaoH滴定法测定

3）CoD_{cr} 用重铬酸钾法测定

4）还原糖 用斐林氏快速法测定

5）粗蛋白 用凯氏氮法测定

6）灰分 用灼烧称重法测定

7）酵母绝干产率 以100毫升废液净增酵母菌体绝干克数表示

8）OD值 用581—G型光电比色计测定

五、试验内容与结果

1. 实验室摇瓶试验

1）加入不同营养源的对比试验 柠檬酸中和废液中含有残糖、有机酸等碳源，但缺乏氮和磷，试验中采用尿素补氮，碳酸氢二钾补磷，尿素添加量为0.7‰，磷酸氢二钾最适添加量(0.1％)如表4所示

表4 磷酸氢二钾添加量对酵母产率的影响

组号 \ 项目	尿素（‰）	磷酸酒二钾（‰）	发酵母产率（克/100毫升）	OD
1	0.7	对照（0）	3.75	0.8
6	0.7	0.1	4.15	1.1
5	0.7	0.2	4.20	1.3
4	0.7	0.5	4.17	1.1
3	0.7	0.7	4.13	1.0
2	0.7	0.9	4.10	1.0

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2）摇瓶试验与结果　以柠檬酸中和废液为唯一碳源，添加0.7‰尿素，0.1‰磷酸氢二钾，1000毫升三角瓶装液量80毫升，接入C-1120二白金耳，于摇床与32℃培养，结果如下。

表5　摇瓶培养结果

批　号	培养时间（小间）	细菌体量（克/100毫升）	备　注
1	13	4.25	接入斜面种
2	13	3.73	接入菌泥
3	12	3.80	接入菌泥
4	11	4.15	接入菌泥
5	9	3.74	接入菌泥
6	9	4.50	接入菌泥
7	8.5	4.60	接入菌泥
平均值	11	4.10	

以上结果可见，柠檬酸废液新鲜，残糖0.5%以上时，培养周期平均11小时，菌体湿重平均4.1克/100毫升，菌泥含水分75%，折干酵母均重1.02克/100毫升，同时循环接入菌泥作种子，培养周期有缩短趋势。

2．2250升鼓泡式罐扩大培养试验

装液量1.0M³，接入0.5%酵母泥于32℃下通风培养。通风量前期（0～4小时）1∶0.5，中期(4～10小时)1∶0.9，后期(10～12小时)1∶0.8，表6是七批试验结果湿酵母产量平均4.08克/100毫升。

表6　2.25m³鼓泡罐酵母培养结果

批　号	培养时间（小时）	发酵母产率（克/100毫升）	pH	
			培养前	培养后
1	13	3.92	3.5	6.2
2	13	4.06	3.8	6.0
3	12	4.20	4.0	6.4
4	12	4.18	3.6	6.5
5	14	4.05	3.5	6.2
6	12	4.11	3.5	6.4
7	12	4.03	3.3	6.1
平均值	12.5	4.08	3.6	6.2

经显微镜检查，酵母细胞健壮，出芽率高，可作为种母使用，培养液pH由初期3.5回升到6.0以上。中试罐采用单管通风搅拌，无筛板，溶氧较低，平均培养时间为12.5小时。

3．58m³罐酵母生产试验结果

58M³罐是由清江食品工业总厂自行设计加工，后又参考了无锡轻工业学院70m³筛板酵

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

母培养罐略作改进而成。试验时装液量15m³，接入C-1120酵母泥后，采用L15/0.5罗茨鼓风机进行通风培养。风量实行三级控制。前期1：0.5，中期1：0.9，后期1：0.7，温度控制31～33℃，起始pH3.～4.0，试验70罐批生产出绝干酵母10吨。

柠檬酸中和废液pH一般5.0～5.5，试验时采用酸性味精废液或盐酸调节起始pH，酵母培养结果如表7、表8所示。

表7 用盐酸调节pH，58m³罐酵母生产试验结果（装液量15吨）

批号	培养时间（小时）	接种量（公斤）	温度（℃）	还原糖变化（%）	酸度变化（毫摩尔/升）	pH变化	湿酵母产率（克/100毫升）	备注
1	9	75	31～33	0.14,(0)	0.76,(0)	4.0,(6.7)	3.47	湿酵母
2	11	75	31～33	0.05,(0)	0.62,(0)	4.0,(6.5)	2.94	含水分
3	10	90	31～33	0.04,(0)	0.70,(0)	3.8,(6.7)	3.65	75%折
4	12	75	31～34	0.16,(0)	1.08,(0.08)	3.8,(6.7)	3.81	绝干酵
5	10.5	75	31～34	0.14,(0)	0.90,(0.12)	3.7,(6.5)	3.74	母0.9
6	8	75	31～33	0.42,(0.14)	0.90,(0.08)	3.8,(6.0)	3.78	克/100
7	17	75	31～35	0.00,(0)	1.00,(0)	4.0,(6.5)	3.30	毫升
8	14	75	31～33	0.06,(0)	2.00(0)	3.2,(6.5)	3.53	
9	14	75	31～33	0.04,(0)	1.84(0.08)	3.4,(6.3)	3.50	
10	11	75	31～34	0.06,(0)	0.72,(0.08)	4.0,(6.0)	3.60	
11	13	75	31～33	0.22,(0.03)	1.12,(0.06)	3.5,(6.5)	3.91	
12	11	75	31～33	0.18,(0)	1.04,(0.06)	3.5,(6.5)	3.71	
13	9	75	31～34	0.16,(0)	0.48,(0.02)	4.0,(6.5)	3.56	
14	12.5	75	31～34	0.16,(0)	0.24,(0)	3.3,(6.0)	3.46	
15	8	75	31～33	0.20,(0)	0.36,(0)	4.0,(6.5)	3.58	
平均值	11.3	77		0.138,(0.01)	0.917,(0.038)	3.7,(6.4)	3.60	

表7、8（ ）内数据系发酵结束时各参数实测值

表8 用酸性味精废液调节pH，58m³罐酵母生第试验结果（装液量15吨）

批次	接种量（公斤）	温度（℃）	培养周期（小时）	酸度变化（毫摩尔/升）	还原糖变化（%）	pH变化	湿酵母产率（克/100毫升）	每批实收干酵母（公斤/批）	备注
60	75	31～33	9	1.78,(0)	0.12,(0)	3.5,(7.0)	4.45	132	8批
61	75	31～34	8	2.00,(0.06)	0.36,(0)	3.5,(5.5)	4.61	143	次实
62	75	30～34	7	2.72,(0.04)	0.62,(0)	3.0,(6.0)	5.69	154	收干
63	75	31～33	6	1.00,(0.02)	0.94,(0)	3.2,(6.1)	4.58	141	酵母
64	75	30～33	6	0.76,(0.16)	0.86,(0)	3.3,(4.8)	4.31	128	粉11
65	75	31～34	6	1.40,(0.04)	1.02,(0.24)	3.2,(6.0)	4.41	131	50公
66	75	30～35	8	1.48,(0.16)	1.36,(0.01)	3.4,(6.3)	5.05	180	斤
67	75	31～33	13	0.56,(0.12)	1.28,(0)	3.0,(6.5)	4.55	141	
平均值	75		7.8	1.50,(0.075)	0.82,(0.03)	3.3,(6.0)	4.70	144	

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

比较表7和表8的结果，采用酸性味精废液代替盐酸调节pH，增加了柠檬废液中的有效成分(还原糖及氨基酸)，遂使酵母得率增加，酵母培养时间缩短，效果显著，如表9所示。

表9　调酸形式不同酵母培养结果比较

调酸形式	湿酵母得率(克/100毫升)	培养时间(小时)	还原糖(%)	酸度(毫摩尔/升)
加盐酸(对照)	8.60	11.3	0.138	0.917
加酸性味精废液	4.70	7.8	0.82	1.50
效果	增1.10克/100毫升	缩短3.5小时	增0.682%	增0.583毫摩尔/升

4．酵母的分离、干燥及粉碎

酵母培养液采用广州重型机器厂产的D-424高速酵母分离机连续二次离心分离，每小时处理12吨酵母培养液。所得酵母乳入单滚筒干燥器(直径1.5米，长1.8米)于2.5～3公斤/厘米^{2}蒸汽操作压力下干燥，每小时得干燥酵母27公斤，然后送至320锤式粉碎磨粉后即包装入库。

干酵母粉回收率统计如下：

58m^{3}罐(装液15吨8批实收干酵母粉1150公斤，共含干酵母47公斤/米^3×0.25×15×8=1410公斤，干酵母回收效为81.5%。

六、酵母成品分析

柠檬酸废水酵母经江苏省农科院、南京医学院和淮阴市卫生防疫站等单位检测，各项指标达到轻工业部部颁(QB596—82)药用酵母及优级饲料酵母质量标准，含有十八种氨基酸，安全无毒性。

(1) 常规分析

表10　柠檬酸废水酵母成品分析结果(1985年11月2日，淮阴市卫生防疫站检测)

指标名称	轻工业部酵母质量标准(QB596-82)		柠檬酸废水酵母
	优级饲料酵母	药用酵母	
水分(%)≤	9.0	9.0	1～4
蛋白质(%)≥	45.0	40.0	48%左右
灰分(%)≤	10.0	10.0	<10.0
细菌数(个/克)	—	10000	1000
霉菌数(个克)	—	100	无
色泽	淡黄至褐色	淡黄至褐色	淡黄
气味	具有酵母的特殊香气，无异臭	具有酵母的特殊香气，无异臭	具有酵母的特殊香气，无异臭
杂质	无异物	无异物	无异物
粒度	颗粒或粉末	颗粒或粉末	粉末

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

(2) 氨基素分析

表11 柠檬酸废水酵母氨基酸分析结果(1985年10月19日，江苏农科院检测)

氨基酸	毫克/100毫克样品	氨基酸	毫克/100毫克样品
天门冬氨酸	4.10	亮氨酸	2.91
苏氨酸	2.25	酪氨酸	1.44
丝氨酸	2.10	苯丙氨酸	1.64
甘氨酸	1.82	组氨酸	0.78
谷氨酸	6.50	赖氨酸	2.73
胱氨酸	0.398	精氨酸	1.96
缬氨酸	2.00	蛋氨酸	0.638
异亮氨酸	2.14	色氨酸	0.134
丙氨酸	2.58	脯氨酸	1.05

采用日立835-50型氨基酸自动分析仪测定

(3) 毒性试验

表12 柠檬酸废水酵母急性毒性实验结果(1985年10月28日，南京医学院检测)

日期	动物	性别	给药途径	L、D50(mg/kg)	主要中毒表现
10.5	大白鼠	♂	经口	>15000	未见明显症状
10.5	大白鼠	♀	经口	>15000	

七、综合效益

1. 社会效益

(1) 柠檬酸废水酵母达到QB-596-82部颁优级饲料酵母质量标准，可广泛用于养鸡、养猪、养鱼养羊、养乳牛、养水貂、养对虾。在配合饲料中的用量一般为2～4%。部分产品已试销淮阴市饲料公司，能促进禽畜生长繁殖，提高动物产品质量，减少饲料消耗量。如猪日增重775克；乳牛产奶量增加8～15%，乳蛋白质含量增加7～15%，水貂毛硬而发亮；饲料粮节省17～20%。

(2) 柠檬酸废水酵母达到QB-596-82部颁药用酵母质量标准，可以广泛用作医药发酵工业原料。清江制药厂及浙江新市味精厂试用于抗菌素发酵及肌苷发酵，效果很好，见表13、表14。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 13　柠檬酸废水酵母与上海药用酵母抗菌酸发酵对比(装液 15000 升)

批　号	罐　号	罐容(升)	周　期(小时)	效　价(单位/毫升)	备　注
27—30(对照)	301,302 303,304	20000	178	26885(平均)	添加0.5%上药酵母粉
31(试验)	301	20000	169	26289	添加0.5%柠檬酸废水酵母粉
32(试验)	303	20000	182	30368	
33(试验)	302	20000	179	26750	添加0.5%柠檬酸废水酵母粉
34(试验)	304	20000	175	27690	
试验平均值		20000	176.1	27774	

由表13可知，柠檬酸废水酵母粉对抗菌素发酵没有不利因素，发酵单位较高，四批平均为27774单位/毫升，比对照（上药酵母粉）增加 889 单位/毫升，四批抗菌素发酵比对照增产101.64公斤，按90%收率计净增91.48公斤抗菌素产品，全年创收近七万元。而从表14结果看出柠檬酸废水酵母可以代替价格较高的上海药用酵母用于肌苷生产。

表 14　柠檬酸废水酵母与上海药用酵母肌苷摇瓶发酵对比

批次 \ 培养基		项目 pH	OD	肌苷(克/升)	培养基配方
(对照)37	A	6.0	0.41	9.580	玉米浆0.3%，上海药用酵母 0.77%，图门酵母 0.77%，其它同发酵培养基
(对照)38		6.0	0.47	11.272	
(对照)39		6.0	0.425	9.308	
(试验)40	B	6.0	0.45	9.670	玉米浆0.3%，柠檬酸废水酵母 0.77%，图门酵母 0.77%，其它同发酵培养基
(试验)41		6.0	0.47	8.492	
(试验)42		6.0	0.46	9.822	

2．经济效益估算

清江食品工业总厂在现有饲料酵母车间基础上增加一只50吨大罐、一台酵母分离机、一台滚筒干燥器、一台磨粉机，利用本厂排放的废液即可形成年产酵母 300 吨的生产能力。本工艺生产的酵母成本为891.80元，按饲料酵母售价1300元/吨、药用酵母售价2500元/吨计算。可获年利润12～48万元。

3．环保效益

酸性柠檬酸废液经酵母处理后，pH上升到6.0～7.0，CoD_r 去除率30～50%，减轻了污染。

八、结　论　及　讨　论

1）采用柠檬酸废水工业化生产饲料酵母，可作为禽畜生长必需的蛋白饲料及抗菌素等制药工业原料，它既改善了污染情况，又生产出国家急需的酵母蛋白。也为国内柠檬酸工业废

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

水资源开发利用闯出了一条新路。

2）本工艺流程简单，操作方便，具有如下特点：

（1）柠檬酸废水酵母菌C-1120耐酸性强，酵母活性稳定，在柠檬酸废水中生长快，得率高，培养时间短。

（2）本工艺采用酵母泥循环接种，简化了酵母培养工序与设备。

（3）本工艺采用柠檬酸废水为主要原料，不需要灭菌，可敞口通风培养，成本低廉。

3）本工艺生产设备简单，容易订购或加工制造，便于在国内推广。

4）本工艺生产的饲料酵母，经江苏省农科院、南京医学院、淮阴市卫生防疫站等单位检测，各项指标均达到药用酵母及优级饲酵母部颁标准(QB596-82)。

5）本工艺生产的酵母成本为891.80元，当年生产能力达300吨时，工厂获年利润12～48万元。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net