第14卷 无锡轻工大学学报 Vol. 14
第2期 JOURNAL OF WUXI UNIVERSITY OF LIGHT INDUSTRY 1995 No. 2

流化床生物膜反应器用于酵母菌体培养

陈德兆 王鸿祺

(生物工程系)

摘要 研究了流化床生物膜反应器用于酵母菌体培养的结果,发现在气升式反应器中加入载体,形成流化床生物膜反应器,可以进一步提高反应器的传氧速率、间歇培养的菌体浓度和连续培养的生产强度。

主题词 流化床反应器;生物膜;细胞培养/载体;菌体培养

中图分类号 TQ920.1

0 前 言

微生物的菌体培养一般是气液相的氧传递受限制,因此设计一种新型的生物反应器,必须设法提高气液相的氧的传递速率。微生物的培养过程是一个气液固三相传质过程,但在进行传质研究时,由于固相(即微生物菌体)的浓度本身比较低,通常忽视了固相的影响。随着菌体浓度的增加,发现对气液传质的作用越来越大。所以,用一般的方法,难于达到菌体的高浓度培养。与此相反,在培养液中额外加入固相颗粒,却可以强化气液传质,同时固体颗粒作为菌膜的支持物,起着固定化的作用,因此这里称固体颗粒为载体。

流化床有多种形式,一般研究较多的是流态化这种形式,即,流化速度在临界流化速度和带出速度之间,固相颗粒在流化床中呈悬浮状态。这种流化形式操作范围窄,控制要求高,特别对于气液固三相流化床更难于设计。在气升式反应器中,一般选用输送床或高速流动床这种形式,固体颗粒在反应器中呈流动状态。

1 设备与方法

1.1 试验材料

1.1.1 菌种 菌种为热带假丝酵母(Candidatropicalis-2434),由无锡轻工大学生物工程系微生物教研室提供,后经训化培养而成。该菌种生长速度较快,对养分的利用面较宽,得率较高,粗蛋白含量高,可用于SCP生产。

收稿日期:1994-10-18

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.1.2 培养基 碳源为糖蜜,由海安糖厂提供,总糖含量为50%～60%,氮源、磷源分别为硫酸铵和磷酸二氢钾。碳、氮、磷浓度根据预计达到的产量决定,比例根据酵母元素分析决定,即:

$$C_6H_{12}O_6 : (NH_4)_2SO_4 : KH_2PO_4 : MgSO_4 \cdot 7H_2O = 10 : 1 : 0.15 : 0.02$$

1.1.3 载体 选用10～100目的砂子、沸石、活性碳和玻璃珠。

1.2 试验设备

1.2.1 发酵罐 两种不同形式的500ml气升式玻璃发酵罐,发酵罐的主要结构见图1.

1.2.2 恒流泵 HL-1型恒流泵,上海沪西仪器厂生产。

1.2.3 空压机 WM-1型无油空气压缩机,天津医疗器械厂生产。

1.3 试验方法

1.3.1 培养基的制备 糖蜜用水稀释至培养要求的浓度,调pH至中性后静止过滤。以糖蜜为碳源,硫酸铵为氮源,磷酸二氢钾为磷源,其比例根据菌体的元素分析和前人经验而定。

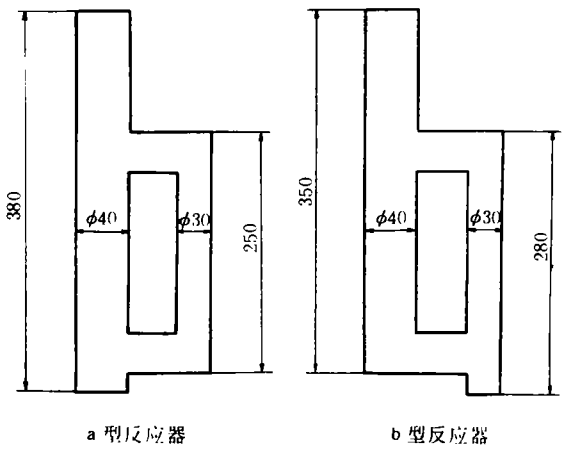


图1 500ml气升式外循环玻璃发酵罐

1.3.2 残糖的测定 用费林试剂法直接测定样品的还原糖。测定总糖时,先将样品稀释至糖浓度为1%左右,加盐酸后于沸水水浴中水解5min,调pH后,再用测还原糖同样的方法测定。

1.3.3 酵母量的测定 取10ml发酵液,用台式离心机3000r/min离心10mim后,倾去上清液供测定用,湿酵母150℃干燥至恒重。

1.3.4 载体附菌量的测定 测定105℃干燥恒重后的附菌载体的重量和600℃煅烧后的附菌载体的重量,并用无菌的载体进行比较测定。

1.3.5 Kla的测定 用传统亚硫酸钠氧化测定法。

2 结果与讨论

2.1 载体对水试结果的影响

2.1.1 充气率 对于一个反应器而言,充气率是一个非常重要的指标,它不仅可以描述反应器的设备利用率,更重要地反映了反应器中气液界面的接触情况。通常高生产强度的获得时,反应器的充气率都比较大。图2描述了空气-水两相系统中,载体对充气率的影响。在空气-水两相体系中,发现载体对充气率的影响不大。

2.1.2 传氧系数 对于气液相氧传递限制的菌体培养,可以推得生产强度与Kla成正比,因此可以用Kla来反映和预测反应器微生物培养的生产强度。图3为载体对反应器Kla的影响。由图3可以看出,在空气-水的体系中反应器的结构对Kla的影响更大,载体的加入使得Kla略有增加。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

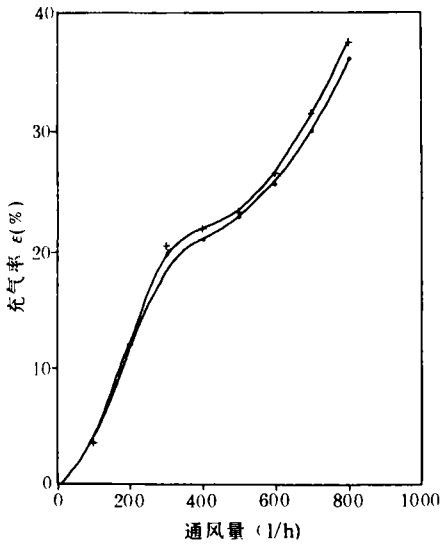


图2 砂子对空气-水相充气率的影响
—·— 不加砂子 —+— 加砂子

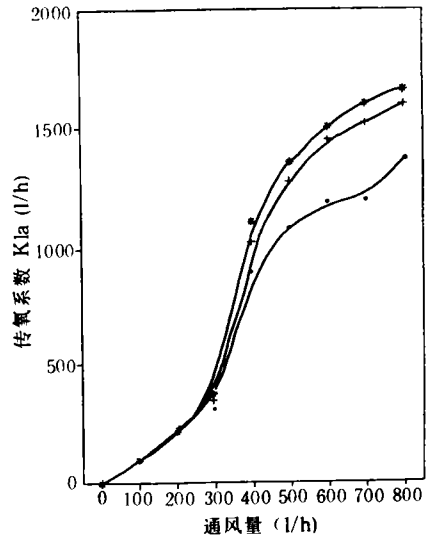


图3 砂子对空气-水相 Kla 的影响
—·— a 型反应器 —+— b 型反应器
—*— b 型反应器+砂子

2.2 载体对实际培养结果的影响

2.2.1 *载体的选择* 三相流化床的传质特征很大程度地取决于载体的颗粒特征，文献报道的载体有多种。菌体的附着也与载体的颗粒特征有关。由于摇瓶试验容易做平行试验，所以用摇瓶培养的方法来初步选择载体，结果见表1. 试验测定了20～30目的砂子、活性碳、

表1 各种载体对菌体生长的影响

载体类型	加入量(g/ml)	X/X_0	载体类型	加入量(g/ml)	X/X_0
砂子	0.3	1.00	活性碳	Ⅲ	1.11
砂子	0.2	1.19	活性碳	Ⅱ	1.19
砂子	0.1	1.01	活性碳	Ⅰ	1.14
砂子	Ⅲ	0.93	玻璃珠	Ⅲ	0.95
沸石	Ⅱ	0.96	玻璃珠	Ⅱ	1.00
沸石	Ⅰ	1.05	玻璃珠	Ⅰ	0.98

注 Ⅰ，Ⅱ和Ⅲ表示加入加入载体的体积相当于加入量为0.1，0.2和0.3g/ml的砂子

沸石，玻璃珠4种载体，以相同载体表面积为加入基准，发现活性碳效果最好。活性碳性能较好的原因可能是活性碳的比表面积比较大，吸附能力强，但容易破碎。考虑来源、成本和操作等原因，初步选择了砂子作为载体。并进一步做了砂子的大小和加入量对摇瓶的影响，结果见图4和图5，发现20～30目砂子在加入量为0.2g/ml的条件下，摇瓶结果比较好。

2.2.2 *载体对培养结果的影响* 加砂子和不加砂子的摇瓶和500ml实验室气升式玻璃生物反应器的连续实验结果见图6和图7. 在同样的培养时间或稀释率下，进行加20～30目砂子的对照试验，加入量为0.2 g/ml，发现加砂子培养比不加砂子培养菌浓要大些。对于摇瓶培养，发现随着菌浓的增加，砂子增加菌浓的幅度也有所增加。对于500ml实验室气升式玻璃生物反应器，同样有此现象。高稀释率时，由于菌浓较低，砂子增加菌浓的幅度相对较

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

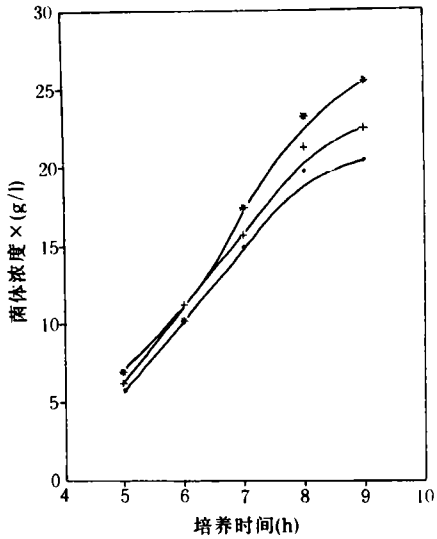


图 4 砂子加入量对菌体生长的影响

—•— 0.2 g/ml —+— 0.3g/ml

—*— 0.1 g/ml

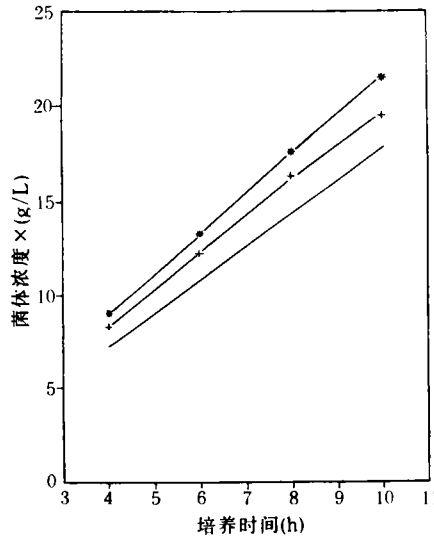


图 5 砂子大小对菌体生长的影响

—•— 20～30 目 —+— 10～20 目

—*— 30～60 目

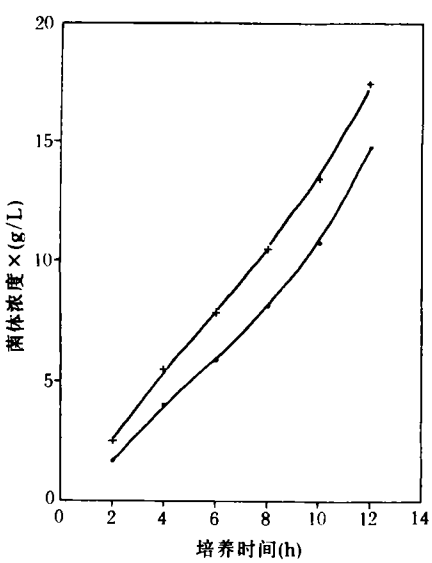


图 6 砂子对摇瓶培养结果的影响

—•— 不加砂子 —+— 加砂子

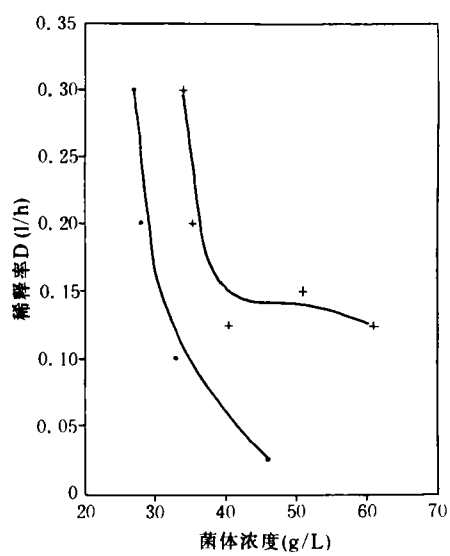


图 7 砂子对连续培养结果的影响

—•— 不加砂子 —+— 加砂子

小;低稀释率时,砂子使得菌浓大大增加。因此载体的作用,可以增加气液固三相之间的传质,从而提高酵母的生长速度。对于连续培养过程,又由于载体的固定化菌体的作用,使得液相菌浓进一步提高和稳定。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 结 论

1) 载体的加入对空气-水两相体系的充气率和 Kla 的影响不大，原因是水的粘度较小、表面张力很大。

2) 实际培菌试验时，载体的加入可以提高气液固三相之间的传质，从而提高菌体的生长速度，提高菌体浓度，特别是当菌浓较高，气液固传质受抑制时。

3) 连续培养时，由于载体的固定化菌体的作用，使得液相中菌体浓度进一步提高和稳定，从而大大提高菌体的生产强度。

参 考 文 献

1 陈甘棠，梁玉衡. 化学反应技术基础. 科学出版社，1981

2 陈德兆. 高浓度酵母菌体的研究. [研究生论文]. 无锡：无锡轻工业学院发酵工程系，1985

3 Cooper P F，et al. Biological Fluidised Bed Treatment of Water and Wastewater，1981

4 Davidson J F，Harrison D. Fluidization，Davidson J F，Harrison D. ed. Fluidization. New York：Academic Pr，1971

Fluidized Bed Bio-film Fermenter for Yeast Culture

Chen Dezhao Wang Hongqi

(Dept. of Bioengineering)

Abstract The fluidized bed bio-film fermenter was used for yeast culture，and found that adding carrier would increase the oxygen transfer efficiency of the fermenter，the yeast concentration by batch culture and the yeast productivity by continuous culture.

Subject-words Fluidized bed reactors；Bio-film；Cell cultures /Carrier；Yeast culture

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net