



五洲科峰 COFINE 功能性发酵蛋白稳定的供应商
Stable and reliable supplier of functional fermentative Protein
国家高新技术企业、浙江省农业科技企业、国家星火计划项目承担单位
浙江科峰生物技术有限公司
电话: 0573-87969086 87969085 87968687
传真: 0573-87968631 Http://www.kfhap.com

固态发酵技术的特点与应用

■ 浙江科峰生物技术有限公司 / 葛龙 赵艳 章亭洲

摘要 文章通过固态发酵与液态发酵的对比,分析了固态发酵技术的特点和优势;简要介绍了固态发酵目前的应用现状,对固态发酵的发展前景进行了分析和展望。

关键词 固态发酵;工艺参数;应用现状

发酵工艺过程按照培养基的物理性状不同,可以分为液态发酵(liquid state fermentation, LSF)和固态发酵(solid state fermentation, SSF)。从某种意义上来说,一切使用不溶性固体基质来培养微生物的工艺过程,称之为固态基质发酵(solid substrate fermentation)。按照这样的理解,固态发酵既包括将固体悬浮在液体中的深层发酵,也包括在没有(或几乎没有)游离水的湿固体材料上培养微生物的工艺过程^[1]。

液态发酵因发酵均匀、发酵条件(温度、pH值、无菌条件)易于控制,成为长期以来人们所使用的最常用的发酵手段。与液态发酵相比,固态发酵产物浓度高、压力低、能耗小、培养基来源广泛、设备相对简单^[2]。随着科学技术的不断进步,发酵条件也渐渐变得能够控制,且在固态发酵中,

微生物是在接近于自然条件的状况下生长的,有可能产生一些通常在液体培养中不产生的酶和其他代谢产物,所以固态发酵以其独特的优势,越来越引起人们的关注和重视。

1 固态发酵的特点

1.1 固体基质

固体基质在固态发酵中,既是微生物生长代谢的碳源,又是微生物生长的微环境,对微生物固态发酵过程中传质、传热及微生物的代谢过程均产生影响。在固态发酵中,微生物的生长主要有两种形式,一是附着于固体培养基颗粒的表面生长,二是菌丝体穿透固态颗粒基质,进入颗粒深层生长。从另一个角度来理解,固体基质可分为两种,一种是作为碳源能源的供应者,一种是作为惰性底物对微生物起支持作用。无论如何,固体基

质的特性对发酵质量的影响是很大的。

固体基质的特性可分为两种,一是物理特性,包括颗粒大小、形状、空隙率、纤维含量、黏度、扩散率等,二是化学特性,包括聚合度、疏水性、结晶度及电学性质等^[1],其中对发酵影响较大的是颗粒形状大小和扩散率。颗粒越小,提供微生物的表面积越大,发酵反应速率也越快。但是,由于发酵产热,太小的颗粒很容易造成底物的板结,颗粒间的空隙率也减小,导致阻力增大,对传热、传质产生不利影响。实际操作中,人们常常在小颗粒底物中添加形状较大的底物成分,以增加透气量。扩散率与颗粒大小、形状、多孔性、均匀性及硬度都有关系。

1.2 固态发酵的菌种

与液态发酵相比,固态发酵具有无游离水、局部温差较大、无菌环境

差、碳源的不可溶性等特点,因此并非所有菌种都适合固态发酵。适合固态发酵的理想微生物应具备以下几个特征:①能够利用多糖的混合物;②有完整的酶系,可以迅速从对某一种多糖的代谢转为对另一种多糖的代谢;③能够深入到料层中,也能穿入基质细胞内;④在发酵过程中以菌丝形式生长,不易孢子化;⑤生长迅速,染菌概率小;⑥可以在含水量低的基质中生长;⑦能够耐受高浓度的营养液^[1]。相对而言,丝状微生物(真菌和放线菌)更适合固态发酵。

2 固态发酵的条件控制

2.1 发酵水活度

与液态发酵相比,固态发酵中的含水量非常有限。水在固态发酵中不仅为微生物生长提供营养充足的水环境,也直接影响到微生物对氧的利用。不同微生物在发酵中对水活度 α_w 的要求不同,一般而言,细菌要求 α_w 在0.90~0.99之间;多数酵母菌要求 α_w 在0.80~0.90;真菌及少数酵母要求 α_w 在0.60~0.70之间。水活度要求越低,被杂菌污染的概率也会降低,这也是真菌在固态发酵中的优势之一。含水量过高,空隙率降低,不利于通风降温,有利于细菌的生长;含水量过低,空隙率增加,由于通风和散热带来的水分流失会影响到微生物的生长,并直接影响到最终产物的产量。在发酵过程中,由于不断通气及生物热使温度上升,将导致 α_w 下降,这时应根据实际情况进行补水,确保菌体的正常生长^[3]。

2.2 发酵温度

温度对发酵的影响很大,液态发酵优势之一就是能较好的控制发酵温

度。在固态发酵中,随着发酵的进行,发酵产生生物热,由于固体的导热性差,使得这些热量很难散发出来。在这种情况下,发酵基质中常形成温度梯度,局部温度偏高。特别是在对数生长期,菌体生长旺盛,产热快,造成固体基质板结,单位距离上存在很大的温度梯度,有时高达3℃/cm,对微生物的生长和产酶带来很大的影响^[4]。

2.3 发酵 pH 值

如何控制好发酵的pH值,是固态发酵的一个难点。首先,用pH计的探头很难测量固体基质的pH值。目前常用的测量方法有两种,一是让pH探头深入固体基质中,用手轻轻挤压基质,使之渗出少量水分,让pH探头测定水分中的pH值;另一种则是取部分基质,加入少量的水分,充分混匀,用pH剂直接测量,这种方法测定的pH值结果往往比实际值高出0.1~0.2。其次,固态基质不比液态溶液,调节pH值较难,现在一般采用均匀喷洒一定量的碱/酸溶液在基质上,达到调节的目的,也可以加入一定量的强碱弱酸盐或强酸弱碱盐固体粉末进行调节,如加入碳酸钙可以使固态基质的pH值升高。尽管如此,由于发酵过程会引起pH值的变化,现实中pH值的控制仍是一个难点。

2.4 发酵通气量

液态发酵与固态发酵最根本的区别是,液态发酵的连续相为液相,而固态发酵是以气相为连续相,因此,通气量影响着发酵过程的传质、传热和水活度的变化。为确保氧气的转移、二氧化碳的排出及温度和湿度的稳定,实际发酵中常用定时翻醅、间歇或连续通风、发酵设备的翻转等方法,使发酵过程始终处于流动的、可操控的状态,使发酵的质量达到最高水平。

3 固态发酵的应用

随着固态发酵技术的改进和完善,固态发酵渐渐成为与液态发酵并驾齐驱的发酵手段。在很多方面,固态发酵以其特有的优势应用于液态发酵不能实现的发酵过程,为人类资源的合理利用、环境的有效保护、产品的多样化等方面作出了重要的贡献。

3.1 在食品工业中的应用

食用菌的栽培是固态发酵应用较广的领域,随着灭菌、栽培、培养及控温技术的完善,产品的质量会越来越好。传统酱油生产中的制曲和成曲的制备是在敞开的环境中进行的,很容易感染杂菌,影响到酱油的品质和产量^[5-7]。采用现代固体发酵技术能很容易的克服染菌问题,提高生产质量。在生产 α -淀粉酶的方法中,最常见的是细菌深层液态发酵和霉菌固态发酵^[8]。有研究表明,用枯草芽孢杆菌BF7658变异菌种进行固态发酵,其产酶活性要比液态发酵高出4~5倍,且生产成本较低,性价比非常高^[9,10]。除淀粉酶外,还有其他一些酶类^[11-16],运用固态发酵也取得了很好的效果。在有机酸的制取中,固态发酵的应用也十分普遍,Soccol^[17]利用R.oryzae比较了固态发酵与液态发酵生产乳酸,发现固态发酵生产水平及生产率均高于液态发酵;柠檬酸的生产中,一般是用黑曲霉或假丝酵母的液态发酵^[18],由于固态发酵底物的多样性及发酵工艺的可控制性,显示出比液态发酵更大的优势。

3.2 在饲料工业中的应用

随着粮食价格上涨,同时减少动物生产对环境的影响,谷物的有效利用显得极其重要。特别是目前植物蛋白源的日趋紧张,动物蛋白源价格昂



贵。固态发酵为解决这些问题提供了有效的途径。固态发酵产物在动物饲料中应用的优势有三点：一是饲料通过发酵，微生物能有效地释放谷物纤维中的能量以及绑定在植物磷中的磷；二是微生物可产生不同于动物消化道中的内源酶；三是某些特殊的原材料适合发酵后应用于饲料生产^[19]。

以豆粕为底物的酵母菌固态发酵是目前研究较多的对象，酵母菌以其较高的菌体蛋白含量提高了饲料中粗蛋白的含量，且降低了饲料中的抗营养因子^[20,21]。黄永锋^[22]用米曲霉发酵豆粕生产大豆肽，惠明^[23]用米曲霉和枯草芽孢杆菌复合发酵豆粕，也取得了较好的效果。除了豆粕、麦麸等常用的蛋白发酵原料外，其他底物在固态发酵中也得到了广泛的应用。如马铃薯渣、玉米秸秆、苹果渣、中药渣、青霉菌渣、井冈霉素废渣及食物垃圾等等，均可回收利用，作为饲料生产的底物^[24-33]。

3.3 在资源环境中的应用

随着工业化程度的加深，人们对资源的迫切需求和对环境污染的有效控制成为制约人类社会进步和发展的难题。微生物在资源环境保护中扮演着十分重要的角色。目前，微生物在资源环境保护中的应用已从自然生态系统发展到活性污染方法废水，并进一步扩大到农业残渣转化、固体废弃物处理、化学农药的取代及生物修复等多领域，因此固态发酵技术的运用也越来越受到人们的重视。

3.3.1 生物燃料 生物燃料方面，乙醇是产量最大的发酵工业产品，因其不增加大气中二氧化碳的含量、清洁高能、可再生等优点，受到研究者的青睐。

很多学者从不同角度利用苹果渣

固态发酵生产乙醇，发现酵母菌生产乙醇要优于苹果渣的自然发酵，其中酿酒酵母是最理想的菌种。Henk^[34]研究用高粱固体发酵生产乙醇，得出，纤维素酶的增加有利于乙醇产量的提高。Roukas^[35]利用稻壳为底物，发现该发酵过程对无菌要求很低，有无灭菌均不影响乙醇的产量。有学者指出^[36]，在以高粱、土豆、麦粉、玉米粉、可溶性淀粉等淀粉为主要成分的原料作为底物的固态发酵中，若采用酿酒酵母做菌种，玉米粉和高粱效果最好。

3.3.2 生物农药 生物农药与化学农药相比，具有无毒、无残留、低抗性等优点。Deshpande^[37]综述利用固态发酵生产真菌杀虫剂的方法，比液态发酵产品杀虫效果更好，且生产成本大大降低。苏云金芽孢杆菌(简称B.t)是目前人们研究最多的生物杀虫剂，该菌株适合在廉价的培养基上大规模生产，对脊椎动物无害、无致癌和无致畸等副作用。我国在苏云金芽孢杆菌发酵生产领域处于世界领先地位。李佐虎研究员发明的“压力脉动固态发酵器”成功实现工业化生产，其毒力达到10000IU/mg。

3.3.3 生物转化及解毒 很多农产品对人体营养价值很小，有些工农业残渣甚至含有对人体有副作用或可造成营养不良的化合物。其中比较典型的的就是木薯，木薯是非洲、亚洲及南美洲地区常见的食物，但它的蛋白质、维生素和矿物质含量较低，且缺乏含硫氨基酸。Sossol^[38]和Sterzsc^[39]分别对木薯及残渣做了大量研究，筛选了几种适合生长在木薯上的菌株，如Rhizopus sp.和R.formosa等。大麻中含有一种可造成神经中毒的氨基酸，Kuo等^[40]尝试先用黑曲霉进行固态发酵48h，再用污水生物(R.oligosporus)

发酵48h,以消除种子中这种有毒物质。结果发现，除了改善种子其它成分质量外，有害氨基酸也降低了90%。

3.3.4 生物修复 生物修复是利用微生物及其代谢过程(其产物消除或在体内富集有毒物质)来修复被人类长期生活和生产所污染和破坏的局部环境，使之重现生机的过程。很早以前，Berry等^[41]就指出利用固态发酵技术可处理杀虫剂残留物。他们比较几种除去莠除净方法，发现固态发酵可大大降低杀虫剂生物利用率。Kastanek等^[42]研究受污染的土壤和地下水中的聚氯联苯及氯乙烯生物降解，并且分析自然界自然降解过程，设计了15m³固态发酵反应器大大的提高了微生物的脱卤作用。

4 总结与展望

目前，固态发酵的应用领域十分广泛，在食品加工、饲料生产、生物降解工农业残渣、生物农药、生物解毒、生物转化及生物修复等方面都取得了很好的效果。由于固态发酵自身的优势(底物广泛，能耗低，产量高，污染小等)所在，其应用的前景将会越来越广。固态发酵在资源的合理利用、增加产品附加值、控制环境污染、生产残渣变废为宝等方面起着极为重要的作用。

但在发酵条件的调控方面，固态发酵比液态发酵尚有不足，主要表现在传质、传热方面研究较少，这与现在工业化水平的高低也存在一定关系。随着人们对固态发酵的日益重视，工业化研究的投入加大，科学水平的不断提高，固态发酵技术必定会取得更大的进展，为人类生活、生产做出更大的贡献。

(参考文献略)

