

齐 齐 哈 尔 大 学

毕 业 设 计

题 目 年产 8 万吨赖氨酸发酵工艺设计

学 院 食品与生物工程学院

专业班级 生工 162

学 号 2016153051

学生姓名 王黛宁

指导教师

成 绩

齐齐哈尔大学毕业设计

2020年 06 月 10 日

郑重声明

本人呈交的学位论文，是在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果，所有数据、图片资料真实可靠。尽我所知，除文中已经注明引用内容外，本学位论文的研究成果不包含他人享有著作权的内容。对本论文所涉及的研究工作做出贡献的其他个人和集体，均已在文中以明确的方式标明。本学位论文的知识产权属于培养单位。

本人签名：_____ 日期：_____

摘 要

赖氨酸，2，6-二氨基己酸，它是组成蛋白质必不可少的物质，也是多种氨基酸中仅有的一个含有侧链伯氨基。L-赖氨酸是一种碱性氨基酸，它也是可以合成蛋白质的 20 种常见氨基酸之一。它作为一种必需氨基酸和生酮氨基酸对哺乳动物起着至关重要的作用。赖氨酸，同时也被称呼为第一限制性氨基酸，是人体的必需氨基酸。它是人体必须的营养之一且自身无法合成，因此我们需要通过食物摄取赖氨酸或者也可以从各种补品中补充。赖氨酸是非常好的一种营养物质还能起到抗病毒、缓解焦虑的作用。赖氨酸还能促进其他一些营养物质的吸收。现在工业生产赖氨酸主要靠发酵法，比较大众的发酵法有直接发酵法和二步发酵法。直接发酵法是最常用的方法。

此次我的毕业设计是策划一个年产 8 万吨赖氨酸发酵工厂。首要任务是学习赖氨酸生产过程中的原料预处理、发酵、提取步骤的操作流程和。对已经选取的各项数据通过相关公式进行计算，最后通过求取出来的各种数据来进行发酵罐的数量体积等相关的设计和选择，设计并绘制出生产工艺流程图、车间的平面图、工厂车间布置图，还要整理出整个生产过程中废料的处理和利用等问题。最终完成本次设计的任务。

关键词：赖氨酸；工艺流程；工厂设计；发酵

Abstract

Lysine ,2,6-diaminocaproic acid, is an essential component of proteins and is the only amino acid containing side-chain amino groups. L- lysine is an alkaline amino acid, it is also one of 20 common amino acids that can synthesize proteins. it plays a vital role in mammals as an essential and ketogenic amino acid. Lysine, also known as the first limiting amino acid, is an essential amino acid in the human body. It is one of the nutrients the human body needs and can not synthesize itself, so we need to ingest lysine through food or supplement it from various supplements. Lysine is a very good nutrient and can also play an antiviral and anxiety relief role. lysine can also promote the absorption of some other nutrients. Now the industrial production of lysine mainly depends on the fermentation method, compared with the popular fermentation methods have direct fermentation method and two-step fermentation method. Direct fermentation is the most commonly used method. This time my graduation project is to plan an annual production of 80,000 tons of lysine fermentation plant. The first task is to learn the operation flow of raw material pretreatment, fermentation, extraction

steps in lysine production process and. The selected data are calculated by the relevant formula, and finally, the quantity and volume of fermenter are designed and selected, and the production process flow chart, workshop plan, factory workshop layout plan are designed and drawn, and the waste disposal and utilization in the whole production process are sorted out. final completion of this design task.

Key words: lysine; process flow;factory design fermentation

目 录

摘 要	I
Abstract.....	II
第一章 绪论	1
1.1 概述	1
1.2 赖氨酸的物理化学性质	1
1.3 赖氨酸的国内外市场现状.....	2
1.4 赖氨酸的作用	2
1.4.1 赖氨酸对人体的重要性.....	3
1.4.2 赖氨酸乙酰化的危害	3
1.5 赖氨酸的生产方法	3
1.5.1 二步发酵法	2
1.5.2 直接发酵法	3
1.6 赖氨酸的提取与精制.....	3
第二章 赖氨酸的生产工艺	4
2.1 工艺流程	4
2.2 原料的选择及淀粉水解糖的制备	4
2.2.1 赖氨酸的生产方法.....	4
2.2.2 原料的选择	4
2.2.3 赖氨酸的生物合成途径	4
2.3 种子培养及培养基配制	7
2.3.1 种子培养.....	7
2.3.2 培养基配制	7

2.4 发酵阶段工艺条件控制	8
2.4.1 发酵过程的温度	8
2.4.2 发酵过程的 PH	8
2.4.3 发酵过程的压力	8
2.4.4 补料控制	8
第三章 工艺计算	9
3.1 物料衡算	9
3.1.1 基本生产指标	9
3.1.2 一周期的物料衡算	9
3.1.3 发酵液量	10
3.1.4 种子液量	10
3.1.5 种子培养液需求的糖量	10
3.1.6 耗用淀粉的原料量	10
3.1.7 培养基所需要硫酸铵用量	10
3.1.8 二级种子硫酸铵所需要的量	10
3.1.9 玉米浆耗用量	10
3.1.10 需要磷酸二氢钾的用量	11
3.1.11 硫酸镁耗用量	11
3.1.12 碳酸钙用量	11
3.1.13 所需要的 L-苏氨酸钠量	11
3.2 物料衡算总量（一年）	11
表 3-2 物料衡算结果	11
3.3 能量衡算	12
3.3.1 所需要的蒸汽量	12
3.3.2 需要的冷却水的用量	13

第四章 设备选型	14
4.1 设备选型的原则	14
4.2 发酵罐的选择	14
4.3 种子罐的选择	15
4.4 配料罐计算	15
4.5 搅拌器的选择	16
4.6 主要设备表	16
第五章 厂址选择及车间布置	17
5.1 厂址选择的原则	17
5.2 车间布置	17
5.2.1 生产工艺的要求	17
5.2.2. 生产操作的要求	17
5.2.3 厂房建筑的要求	18
5.2.4 安全和卫生的要求	18
第六章 废料的处理	19
6.1 废水处理	19
6.2 废渣处理	19
结 论	21
致 谢	22
附 录	23
参考文献	23

第一章 绪论

1.1 概述

L-赖氨酸（L-Lysine），它的化学名称是L-2,6-二氨基己酸，分子式是 $C_6H_{14}N_2O_2$ ，215摄氏度是它的熔点。白色结晶体，无臭。

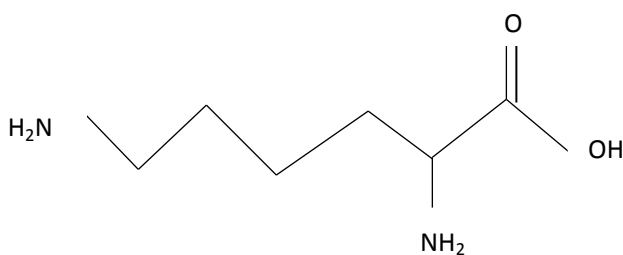


图 1.1 L-赖氨酸化学结构式

赖氨酸是氨基酸中非常重要的一种，也是合成蛋白质必需的八大氨基酸中的一种，它能提高人体的免疫力，还能促进身体生长，对中枢神经的组织功能也有一定的提升作用。赖氨酸在饲料、食品、医药等行业和领域都有着非常重要的地位，每年各个国家对赖氨酸的需求量都呈现大幅度增长趋势。未来赖氨酸在市场上也会有很好的发展，赖氨酸行业的发展不可估量。想生产出更优质的赖氨酸，就要选择优良的菌种和最高产率的生产条件。

1.2 赖氨酸的物理化学性质

赖氨酸（Lysine）于1889年由Drechsel在研究酪素的水解产物中首次被发现，1891年Fisher从与精氨酸的混合物中分离出来，1902年Fisher和Weig用化学合成法成功的制备出赖氨酸。^[1]赖氨酸——2,6-二氨基己酸，化学式 $C_6H_{14}N_2O_2$ ，一般状态下它是淡黄色的颗粒，相对分子量146.19，215℃是它的熔点，溶解度5360mg/l，比旋光度值为+21° 0℃，难溶于乙醇，容易溶解在水中，其水溶液的酸碱度为中性偏酸。

大多数条件下，赖氨酸并不便于储存，因为很容易变质所以总是会影响到它的使用，因而，很多时候赖氨酸的存在形式是以赖氨酸化合物（赖氨酸盐）方式存贮的。二氧化碳在空气中漂浮就很容易与赖氨酸发生反应，结合会形成赖氨酸盐，L-赖氨酸盐酸盐

相对来说就比较稳定，不容易因为潮湿而分解，有益于储存。工业上经常将L-赖氨酸转化为L-赖氨酸盐酸盐的形式来存储。

1.3 赖氨酸的国内外市场现状

随着科学技术的发展和经济条件的改善，全球赖氨酸产能不断扩张，从全球赖氨酸产能分布情况来看，中国是全球赖氨酸产能最大的国家，2018年赖氨酸产能占比达70%，成为全球第一大赖氨酸生产和出口国。2018年日本味之素公司以及日本协和加起来的赖氨酸产能占比全球11%，南非生化以及俄罗斯各占比1%。据统计，2018年中国赖氨酸产能达到267万吨，同比2017年增长了5.1%。国外主要赖氨酸生产企业包括味之素、协和发酵、阿丹米、希杰等，其中日本味之素是目前全球最大的氨基酸制品公司。国内赖氨酸主要生产企业包括伊利、梅花、大成等。结合现实情况统计下半年我国赖氨酸出口总量显著增长，随着我国畜禽料的需求逐步好转，赖氨酸行情也稍稍有些改善。^[2]近年来，人们的安全意识在逐渐增强，消费观念也随之改变，人类对生活的理解也不仅仅在于生存而是更高质量的活着，赖氨酸作为第一限制性氨基酸在人体内必不可少，所以必定会更多地应用于食品工业中，根据专家们的预测和推算，赖氨酸将会成为食品工业发展中重要的一环，对赖氨酸的消耗量也将呈现出快速增长的趋势。

1.4 赖氨酸的作用

1.4.1 赖氨酸对人体的重要性

人生物体和哺乳动物不能合成的8种必需氨基酸，L-赖氨酸就是这其中最重要的一种。^[3]赖氨酸作为体内必需的不可缺少的氨基酸之一，能够有以下作用。1、促进人体的生长发育，能够对细胞的增殖细胞的发育和人体的基本物质的发育，例如心肌细胞、骨骼肌细胞都有明显的促进其作用。2、增强人体的免疫力，赖氨酸是一种能快速并明显提高人体必须免疫力的必备氨基酸，如果体内缺乏赖氨酸就会造成人体免疫力的降低，这样就很容易被病毒侵袭造成流感、病毒性感冒等生病的情况

。3、稳定并且提高中枢神经功能，对于失眠、多梦、休息、睡眠较差、记忆力衰退都有很好的改善作用。赖氨酸还会对消化系统有很好的作用和疗效，对于食物正常的消化和吸收，营养物质的消化和吸收都起到很好的作用。4、赖氨酸还能够有效的预防骨质疏松，帮助钙离子沉积在骨骼上。赖氨酸还能对机体抵抗应急的能力有一定的提升作用。^[4]

如果在日常的饮食补给中没有摄入充足的氨基酸，体内不能合成日常所需要蛋白质的数量，内脏器官因此沉积了特别多的甘油三醇，会使人体发育变得迟缓、并且出现脂肪肝、免疫力下降等一系列对身体健康不利的问题。所以，赖氨酸在体内起着保障人体健康安全的作用。未成年的儿童根据其体重需要每磅摄取 10 毫克的赖氨酸，相比来说成年人的摄入量就多了很多，通常需要控制在 3000-9000 毫克每天。在许许多多的豆类食物中，例如黄豆和红豆中都会检测出有较高含量的赖氨酸，如若在食物中掺入豆类及添加品，就可以补充在谷类食物中含量最少的赖氨酸。

1.4.2 赖氨酸乙酰化的危害

赖氨酸乙酰化是在真核细胞几乎所有细胞过程中都涉及的翻译后修饰，其中主要包括中心代谢、染色质重塑、转录激活、蛋白质稳定化和亚细胞定位等。^[5]现今的报道中，已经有很多病症与赖氨酸乙酰化有关联，如癌症、心脑血管疾病、糖尿病、病毒感染等。虽然赖氨酸乙酰化会引起很多疾病，但这在生物过程中是必不可少的。但目前已经在研究不同种类的抑制剂，这将对这些疾病的治疗起到一定帮助作用。

1.5 赖氨酸的生产方法

1.5.1 二步发酵法

通过微生物产生的酶来讲赖氨酸的前体二氨基庚二酸转变成赖氨酸也就是二步发酵法。日本在 20 世纪的末期，已经可以通过固定化二氨基庚二酸脱羧酶或含该酶的菌体的方式来达成内消旋 2, 6-二氨基庚二酸脱羧的目标，以此使氨基酸可以量产。提高了赖氨酸的产量以及降低了成本，使经济效益变得更高。但这种方法存在着工艺复杂的缺点，现代工业化生产赖氨酸更多使用直接发酵法。

1.5.2 直接发酵法

生产赖氨酸最重要、有效的方法就是发酵法,这也是现代社会生产中最常使用的方法,此方法通过调控微生物代谢途径来生产 L-赖氨酸,可惜产量仍然很低,如何提高发酵法生产赖氨酸的产量也就成为了赖氨酸行业的主要研究方向。^[6]

现在已经有研究表明，在发酵培养基中添加 0.94% 的氯化胆碱，并且将发酵的温度控制在 27℃、时间 60h、摇瓶转速 200r/min 可以将赖氨酸的产量提高 12% 左右。越来越多的发酵法优化，已经可以逐步解决赖氨酸产量不高的问题。

1.6 赖氨酸的提取与精制

在 20 世纪 90 年代我国学者已经用甘蔗糖蜜为碳源发酵生产赖氨酸提取精制。全球最早开始进行提取赖氨酸的国家是日本，该学者采用过滤的方法进行固液分离，也就是树脂离子交换法。^[7]但这个方法存在某些缺点如成本高、提取率低等。21 世纪初美国学者又发现了微滤膜过滤的方法，但这种方法会产生很多工业废水。^[8]还有方法如萃取法也可以用来提取赖氨酸。我的设计是选择用树脂离子交换法来达到分离和提取赖氨酸的目的。

传统的赖氨酸生产工艺，大多数是先将发酵液酸化，再进入树脂柱中进行离子交换提取，用氨水进行解析后的赖氨酸（解析液）进行薄膜蒸发浓缩，经结晶分离后精制品。流程图如下：

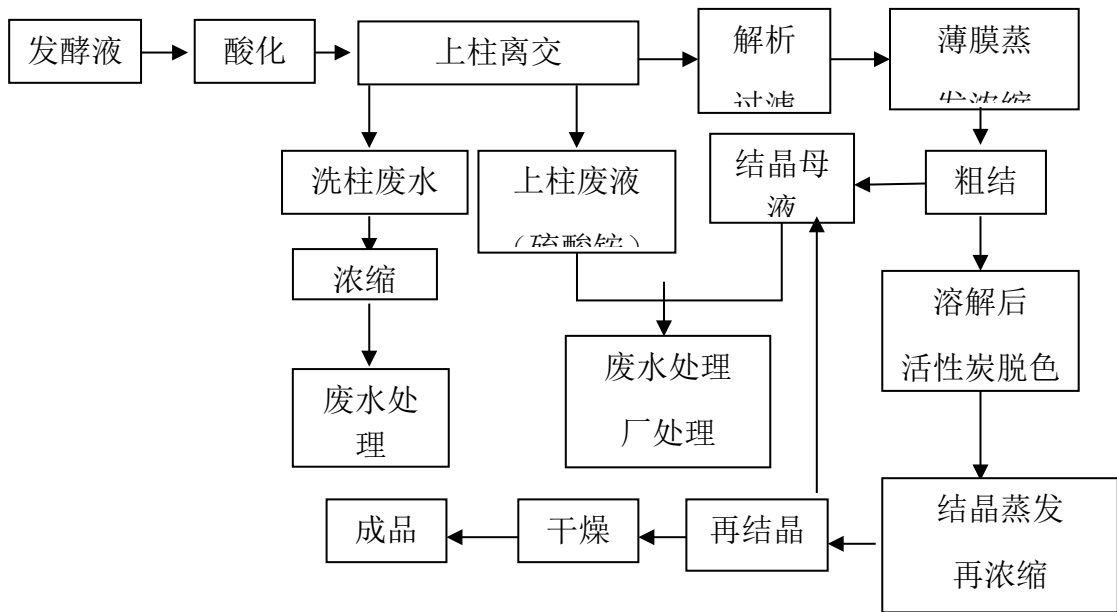


图1 传统工艺工艺流程图

第二章 赖氨酸的生产工艺

2.1 工艺流程

发酵法生产赖氨酸常用的碳源就是糖蜜和葡萄糖淀粉水解产物等。如果将葡萄糖选择为碳源有着杂质少的优点，这样对发酵和提取也有一定的助益，最大的缺点就是生产成本有一些超出预期的高。^[9]这个工艺的流程就是：淀粉中的酶经水解转化为了淀粉糖，发酵液的 PH 则是通过流加氨水或尿素的方法来调节控制。灭菌处理在发酵罐内进行操作，然后通过接种种子培养物促使其发酵。微生物浓缩液在发酵后经过冷却结晶、离心分离、干燥提纯后就可以得到赖氨酸了。

2.2 原料的选择及淀粉水解糖的制备

2.2.1 赖氨酸的生产方法

现阶段我国在工业生产中最常用的方法就是发酵法。就是利用一些微生物的营养缺陷型菌株，控制它的代谢发酵过程。主要是链霉菌科和麦角真菌这两种菌类来生产赖氨酸。^[10]发酵法受制于 PH 和营养等因素，一般会利用 X 射线和 Co γ 射线照射部分筛选出的菌株使其发生变异。^[11]

2.2.2 原料的选择

很多富含蛋白质的食物里面都会有赖氨酸如坚果和肉类等。现在的工业化生产中发酵主要靠棒状杆菌的变异株。主要的糖原是玉米、

蜜糖、各种淀粉水解糖、，利用这些原来的发酵过程生产出赖氨酸，通过分离、浓缩、蒸发、结晶、干燥等一系列生产工艺获得饲料级别的赖氨酸、再通过精制提纯的步骤就可以获得可食用可医用级别的赖氨酸。此次设计将会用玉米淀粉为原料。

2.2.3 赖氨酸的生物合成途径

合成赖氨酸的途径在植物中和微生物中是毫无相同之处的。一个是二氨基庚二酸途径另一个是 α -氨基己二酸途径。^[12]在 21 世纪的 20 年代目前中国和国际工业生产上大多数时候采用双酶法、酶酸法、酸法、来将淀粉水解转化成葡萄糖，但是效果最理想的方法就是酶解法。酶法与传统的酸法水解淀粉相比有着先天的优势：因其工艺较为简单所以并不需要复杂的设备就可以达到水解的目的。这也就意味着可以节约资金成本；材料简单容易获得并且能够重复利用并回收，此法催化效率很高但是反应所需要的活化能却很低；酶的性质中有一条就是有很强的专一性，水解的过程中很少会出现副产物和副反应，水解出来的糖多，质量也高于别的方法。

2.3 种子培养及培养基配制

2.3.1 种子培养

30 多年来赖氨酸的市场需求在不断增加，这也就加速了赖氨酸生产的研究，赖氨酸的产量也随之快速增长。由于产量的增加所需要得发酵液数量也在逐步上升，这也就导致发酵所需要的种子数在增加。想要满足实际的生产需要，就不得不有更多的活力旺盛的种子。我们需要通过种子扩大培养的方法，既能得到高纯度活力旺的培养物，也可以获得数量够多能达到发酵需要的要求的培养物。当下工业生产中利用二级种子扩大培养的流程，这种方法不会使种子遭受污染和微生物的侵袭，也能达到培养所需数量的种子来满足生产的目的。

其基本流程如下：

斜面培养 → 一级种子培养 → 二级种子培养 → 发酵罐

赖氨酸斜面菌种培养基:葡萄糖 0.005g/ml,蛋白胨 0.01g/ml,肉膏 0.01g/ml,氯化钠

0.005g/ml,琼脂 0.025 g/ml

种子培养基：葡萄糖 0.024g/ml、硫胺 0.056g/ml、KH₂PO₄

0.0012g/ml、玉米浆 0.032g/ml、碳酸钙 0.016g/ml 硫酸镁 0.0008g/ml、

发酵罐培养基：葡萄糖 0.175 g/ml、玉米浆 0.019 g/ml、硫酸铵 0.058g/ml、硫酸镁 0.0008 g/ml、KH₂PO₄ 0.0013g/ml、碳酸钙 0.048 g/ml、L-苏氨酸 0.042 g/ml、接种量 6 %

2.3.2 培养基配制

表 2-1 种子培养基配方表 (g/ml)

葡萄糖	0.024	硫胺	0.006	玉米浆	0.032
KH ₂ PO ₄	0.001 2	硫酸镁	0.0008	碳酸钙	0.016

发酵培养基(g/ml)配方表

葡萄糖	0.175	硫酸铵	0.058	玉米浆	0.019
KH ₂ PO ₄	0.0013	硫酸镁	0.0008	L-苏氨酸	0.042
碳酸钙	0.048				
接种量 6%					

2.4 发酵过程工艺条件控制

2.4.1 发酵过程的温度

在菌种幼龄期时，受温度影响效果较大，温度升高的话，菌体的生长代谢速度会随之加快，并且内部酶会因温度升高失去活力，导致菌体衰老提前，提前产酸期，赖氨酸的产量也会降低，发酵后期仍然需要菌种保持一定的活力，所以为了保持住所需要的活力，就对斜面、一级到二级种子的培养温度有一个严格的把控，使温度保持在 33~34℃ 不可超过 35℃ 并固定在这一恒定温度。待后期可适当升温从而提高酶的活力。^[13]

2.4.2 发酵过程的 PH

在微生物生长过程中 PH 值非常重要并且要严格把控，酶的活力与 PH 有关，并受 PH 的变化而变化，且有一定几率促使菌体生长代谢途径发生一些改变，会影响细胞的功能和结构，所以在赖氨酸发酵过程中需要严格控制 PH 在 6.5-7.0 之间，并且 PH 变化的幅度不可以过大。

2.4.3 发酵过程的压力

压力对一个反应的过程有着非常重要的影响，压力在发酵过程的变化往往会引起反应液中氧分压的改变，这样的改变就会使溶解氧的浓度飘忽不定。通入的消毒了的空气是影响压力改变的主要原因，适量的排出一些气体可以使发酵罐稳定在一个合适的压力中。如果通风系统的压力过低，选择保持原来的通风量，只需要适当的调节发酵罐压力。^[14]

2.4.4 补料控制

在发酵周期中，菌种生长需要消耗大量的营养物质，但是基质浓度的高低会影响到产物的合成。所以我们在发酵过程中需要把基质浓度控制在一定的浓度，来保证可以拥有最大的转化率。^[15]由于菌种是好氧性微生物，所以要控制氧气的浓度始终保持在适当值以保证可以让菌体良好的生长，这样才可以完成大量生产赖氨酸的目标。菌体生长的阶段所需氧气多呼吸作用强，比产酸阶段的需氧量要大。增加通风将溶氧分压控制在 $0.4 \times 10^4 \sim 0.8 \times 10^4 \text{Pa}$ 更好。发酵过程进行一段时间后，菌体就会慢慢的进入生长稳定期，对氧的需求量自然下降， p_L 控制在 $0.4 \times 10^4 \sim 0.5 \times 10^4 \text{Pa}$ ，到发酵期结束。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。

如要下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/138115021011006100>

- [1] 张洪渊, 万海清. 生物化学[M]北京:化学工业出版社, 2008:44.
- [2] 罗越文. 2019 年饲料级蛋氨酸和赖氨酸市场回顾 [J]. 中国畜牧业, 2020(04):47-48.
- [3] 杨为华. L-赖氨酸发酵工艺优化研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2013, 34(09):30-31+34.
- [4] 田金宝, 贾晓波等, L-赖氨酸的应用、生产及市场展望, 氨基酸和生物资源, 2004, 26(1): 44-46.
- [5] 赵恒, 林章. 赖氨酸乙酰化与相关疾病研究[J]. 福建轻纺, 2020(03):33-36.
- [6] 杨帆, 王琳琳, 时德通, 刘芊辰, 周嘉倩, 马晶军. 响应面法优化赖氨酸发酵生产条件的研究[J]. 食品工业, 2019, 40(02):200-203.
- [7] Ikeda Masato. Lysine Fermentation: History and Genome Breeding. [J]. Advances in biochemical engineering/biotechnology, 2017, 159.
- [8] 马玉. ϵ -聚赖氨酸提取新工艺研究[D]. 江南大学, 2018.
- [9] 马一君. 发酵法生产 L-赖氨酸[J]. 河南化工, 1999(04):36-37.
- [10] 张波. 发酵法生产聚赖氨酸菌种选育研究[D]. 西南交通大学, 2014.
- [11] Schilling Birgit, Basisty Nathan, Christensen David G, Sorensen Dylan, Orr James S, Wolfe Alan J, Rao Christopher V. Global Lysine Acetylation in Escherichia coli Results from Growth Conditions That Favor Acetate Fermentation. [J]. Journal of bacteriology, 2019, 201(9).
- [12] 张军华. 微生物发酵法生产 L-赖氨酸的研究进展[J]. 生物加工过程, 2012, 10(02):73-78.

[13] Jinqiu Rui, Shengping You, Yunxin Zheng, Chengyu Wang, Yingtong Gao, Wei Zhang, Wei Qi, Rongxin Su, Zhimin He. High-efficiency and low-cost production of cadaverine from a permeabilized-cell bioconversion by a Lysine-induced engineered Escherichia coli[J]. Bioresource Technology, 2020, 302.

[14] Science - Food Science; Recent Studies from University of Pretoria Add New Data to Food Science (Influence of ammonia and lysine supplementation on yeast growth and fermentation with respect to gluten-free type brewing using unmalted sorghum grain) [J]. Food Weekly News, 2020.

[15] 周勇, 满云, 张伟国. L-赖氨酸高产菌发酵的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(06):924-927.