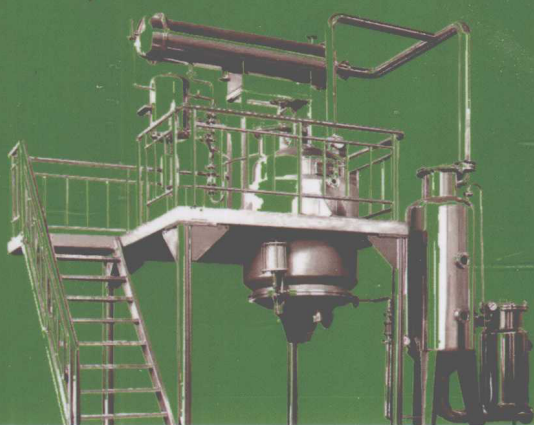


高等院校应用型本科实验课规划教材



邓开野 主编

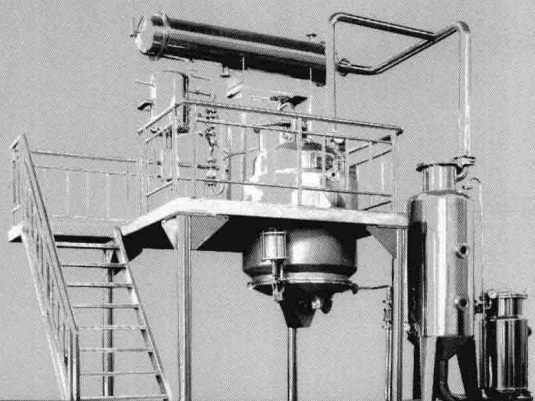
fajiao gongcheng shiyan

发酵工程实验



暨南大学出版社
JINAN UNIVERSITY PRESS

高等院校应用型本科实验课规划教材



邓开野 主编

fajiao gongcheng shiyan
发酵工程实验

 暨南大学出版社
JINAN UNIVERSITY PRESS
中国·广州

图书在版编目 (CIP) 数据

发酵工程实验 / 邓开野主编. —广州: 暨南大学出版社, 2010. 6
(高等院校应用型本科实验课规划教材)
ISBN 978 - 7 - 81135 - 530 - 7

I. ①发… II. ①邓… III. ①发酵工程—实验—高等学校—教材 IV. ①TQ92 - 33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 103180 号

出版发行: 暨南大学出版社

地 址: 中国广州暨南大学

电 话: 总编室 (8620) 85221601

营销部 (8620) 85225284 85228291 85220693 (邮购)

传 真: (8620) 85221583 (办公室) 85223774 (营销部)

邮 编: 510630

网 址: <http://www.jnupress.com> <http://press.jnu.edu.cn>

排 版: 暨南大学出版社照排中心

印 刷: 佛山市浩文彩色印刷有限公司

开 本: 787mm × 1092mm 1/16

印 张: 19.5

字 数: 507 千

版 次: 2010 年 6 月第 1 版

印 次: 2010 年 6 月第 1 次

印 数: 1—2000 册

定 价: 39.00 元

(暨大版图书如有印装质量问题, 请与出版社总编室联系调换)

总 序

高等院校应用型本科实验课规划教材在参加教材编写的全体同仁共同努力下正逐步推出。每年推出五种左右。实验教学是培养学生实践能力、科学精神和创新意识的重要实践教学环节，改革开放以来，实验教学成为新一轮教学改革的重要课题。实验教材是科学基本原理和操作技术的集成，是确保实验教学效果，提高实验教学质量的基础，也是学生验证消化基础理论，获得科学研究方法的重要指导材料。长期以来，我们秉承何香凝“扶助农工”、“注重实验”，培养“有真实学识之实业人才”的办学思想，以培养高素质应用型人才为己任，十分重视实践教学环节，注重提高学生的实践能力和创新能力。近年来，为推动实验教学改革，提高应用人才培养质量，学校将实验教材建设纳入“十一五”教材建设规划，鼓励广大教师总结实验教学经验，改革实验教学内容与方法，编写出版实验教材。这些实验教材的推出，是学校坚持实践教学与理论教学并重、实践教育与创新教育结合的重要成果。

高等院校应用型本科实验课规划教材的编写人员都是具有多年教学工作经验的教师，在教材编写过程中，他们不仅全面总结多年的实践经验，而且注意吸收学科发展和科学研究的最新成果，加大新技术的应用，力求使所编教材具有系统性、新颖性、先进性和适用性，有利于培养学生的实验素养和创新能力。希望通过这些教材的出版，能促进实验教材的建设，与学术同仁共同推进、提高实验教材的编写水平；希望这些教材能受到广大师生的关注和欢迎。编写过程中虽然不遗余力，但难免会有不足和疏漏之处，恳请学术同仁和广大读者批评指正。

最后，衷心感谢参加教材编写的全体同仁，正是由于他们的辛勤劳动，编写工作才得以顺利完成。还要特别感谢暨南大学出版社的领导和有关同志，正是由于他们的大力支持，这些教材才能如期与读者见面。

高等院校应用型本科实验课规划教材编委会

2010年4月16日

前 言

生物技术是一门多学科、综合性的科学技术。生物工业是生物技术领域的重要分支之一，是以在受控条件下利用生命过程本身作为产品生产和加工的手段，由此产生数以千万计的产品，形成新的现代工业。与之相对应的生物工程专业的学生在学习过程中，往往由于缺乏相关的实验技能方面的教科书，使之对于相关知识的学习非常困难。出版《发酵工程实验》一书，正是为了与生物工程专业教学相配合，通过实践教学，培养学生的理论联系实际、实事求是的学风和分析、解决问题的能力，掌握本专业的专业实验技术和操作技能，提高自学能力、独立思考的能力和创新能力。

《发酵工程实验》是一本关于生物工程实验技能方面的教材，在编写过程中注意强调实验研究过程的多种能力和素质的培养与训练、增强创新意识，所以实验内容涉及的面较宽。全书共十三章，内容包括实验室规模生物反应器的使用、消毒灭菌技术，微生物的纯种分离、诱变育种技术，各类发酵制品的制备技术，如酒精发酵、柠檬酸发酵、抗生素发酵、乳制品发酵、调味品发酵、葡萄酒酿造、生物活性物质的分离及固定化酶技术。每章均有理论知识的简介，在每部分理论知识之后有相对应的实验，安排的实验有 80 多个。考虑到各学校的实际情况不同，可从这些实验中选取部分实验使用。也可根据需要，按照工艺过程或单元的形式组合成大的生物工程实验。

本书适于高等院校和师范院校生物科学、生物技术、生物工程及食品科学等专业本科生和硕士生的学习使用，也可供其他有关科技人员查阅参考。

本书由仲恺农业工程学院邓开野主编。各章编写人员如下：刘功良（第一章）、刘锐（第二章）、邓开野（第三、四、五、七、八章）、刘巧瑜（第六章）、彭欣莉（第九章）、吴晓光（第十章）、赵翊（第十一章）、于立梅（第十二章）、李南薇（第十三章）。全书由邓开野统稿。

本书在编写过程中参考了国内同行、专家和学者的科研成果与著作，在此深表谢意。由于编者水平有限，书中难免有不妥或错漏之处，恳请读者批评指正。

邓开野

2010 年 5 月

目 录

总 序	(1)
前 言	(1)
第一章 实验室规模生物反应器的使用	(1)
第一节 概 述	(1)
一、生物反应器及其分类	(1)
二、实验室规模生物反应器	(1)
第二节 实验室规模发酵罐的种类及使用	(2)
第三节 固态发酵设备的种类及使用	(12)
第四节 固定化细胞及固定化酶反应器的种类和使用	(15)
一、搅拌罐式反应器	(15)
二、固定床反应器	(16)
三、流化床反应器	(16)
四、膜式反应器	(16)
第五节 混合、传质和供氧	(19)
一、概述	(19)
二、生物反应器中的搅拌器及搅拌流型	(21)
第二章 消毒、灭菌及除菌技术	(24)
第一节 实验室无菌操作技术	(24)
一、实验室常用的物理因素除菌的种类和方法	(24)
二、化学药物的消毒与灭菌	(32)
第二节 发酵培养基的制备及灭菌方法	(35)
一、培养基配制原则	(35)
二、培养基的种类及应用	(36)
三、培养基的制备过程	(38)
第三章 微生物培养与纯种分离技术	(48)
第一节 微生物的培养技术	(48)
一、固体培养法	(48)
二、液体培养法	(49)
三、厌氧微生物培养方法	(50)
第二节 微生物纯种分离技术	(55)
一、选择培养技术	(55)
二、纯种分离技术	(56)

三、发酵菌种的自然选育综合实验	(62)
四、发酵菌株的初筛综合实验	(64)
第四章 微生物诱变育种	(67)
一、出发菌株的选择	(68)
二、细胞悬浮液的制备	(68)
三、诱变剂的选择及处理方法的选择	(69)
四、中间培养	(71)
五、突变型菌株的分离	(71)
第五章 菌种保藏、接种物的制备及接种技术	(77)
第一节 菌种保藏方法	(77)
一、传代保存法	(77)
二、液体石蜡覆盖保存法	(79)
三、载体保存法	(79)
四、悬液保存法	(81)
五、冷冻保存法	(81)
六、噬菌体的保藏法	(83)
七、基因工程菌的保藏	(85)
八、菌种保藏管理	(85)
第二节 接种技术、种子制备及其扩大培养	(86)
一、接种技术	(86)
二、种子制备及其扩大培养	(89)
第三节 菌种衰退及复壮方法	(90)
一、菌种的衰退及其表现	(90)
二、菌种的复壮	(93)
第四节 国内外主要菌种保藏中心介绍	(94)
一、国内的菌种保藏中心	(94)
二、国外著名菌种保藏中心	(96)
第六章 酒精发酵	(97)
第一节 淀粉质原料的选择及粉碎处理	(97)
一、原料选择的原则	(97)
二、原料粉碎处理原理	(97)
第二节 淀粉质原料的蒸煮工艺	(99)
一、原料蒸煮处理的目的	(99)
二、原料蒸煮处理过程中发生的物理化学变化	(99)
三、淀粉质原料的蒸煮工艺	(106)
第三节 淀粉质原料的糖化工艺	(111)
一、实验目的	(111)
二、原料糖化处理的目的	(111)
三、与糖化有关的酶类及其特性	(112)

四、淀粉质原料的几种糖化方法	(114)
五、影响糖化醪质量的主要因素	(115)
六、糖化醪中需要测定的指标	(116)
第四节 酒精酵母的培养	(124)
一、实验目的	(124)
二、酒精酵母的培养目的	(124)
三、酵母所需的营养物质	(125)
四、酵母斜面培养基的制备	(126)
五、化验室阶段酒母的扩大培养	(126)
六、淀粉质原料培养基的制备	(127)
七、酒母车间扩大培养方法	(128)
八、影响酒母质量的主要因素	(129)
九、酒母培养中异常现象的处理	(130)
十、活性干酵母 (AADY) 的利用	(131)
第五节 淀粉质原料的酒精发酵	(132)
一、实验目的	(132)
二、酒精发酵的理论基础	(132)
三、淀粉质原料的酒精发酵工艺	(137)
四、影响酒精发酵的主要因素	(139)
五、酒精异常发酵及其处理	(139)
第六节 糖蜜原料酒精发酵实验	(140)
一、糖蜜原料的主要特点	(141)
二、糖蜜发酵前处理	(142)
三、原料处理的方法	(145)
第七节 酒精蒸馏实验	(146)
一、实验目的	(146)
二、基本原理	(146)
三、工艺流程	(147)
四、酒精蒸馏操作	(147)
第七章 柠檬酸发酵	(148)
第一节 柠檬酸发酵机理	(148)
第二节 柠檬酸发酵微生物——黑曲霉	(150)
第三节 柠檬酸提取	(155)
一、柠檬酸溶液的净化	(155)
二、浓缩	(156)
三、结晶	(157)
四、干燥与包装	(158)
第四节 柠檬酸发酵分析	(159)
一、柠檬酸测定	(160)
二、柠檬酸结晶中 SO_4^{2-} 的检出	(161)
三、压滤残渣中含酸量的测定	(162)

四、酸解终点确定	(162)
第八章 抗生素发酵	(165)
第一节 抗生素的分类	(165)
第二节 抗生素的生产工艺	(166)
一、青霉素发酵	(167)
二、青霉素效价的测定	(170)
三、青霉素发酵液中苯乙酸残留量的测定	(173)
四、发酵液中还原糖测定	(174)
五、发酵液中氨态氮的测定	(175)
第三节 四环素的发酵和萃取	(176)
第四节 有机溶剂萃取红霉素	(178)
第五节 液体发酵法生产链霉素	(179)
第九章 发酵乳制品及乳酸菌制剂	(181)
第一节 酸乳制品的生产工艺	(181)
一、概述	(181)
二、发酵剂的制备	(183)
第二节 酸奶的加工工艺	(188)
一、酸奶的类型	(188)
二、酸奶的生产	(189)
第三节 乳酸菌饮料	(192)
一、乳酸菌饮料的工艺流程	(192)
二、乳酸菌饮料的加工方法	(193)
三、乳酸菌制剂	(194)
第十章 酿造调味品	(197)
第一节 发酵法酿制食醋	(197)
一、传统食醋发酵工艺	(198)
二、新型制醋发酵工艺	(200)
三、保健果醋发酵工艺	(201)
第二节 发酵法酿制酱油	(203)
一、制曲	(204)
二、低盐固态发酵法	(206)
三、天然晒露发酵法	(207)
四、无盐固态发酵法	(208)
第三节 发酵法酿制酱类产品	(208)
一、概述	(208)
二、几种酱类产品的生产技术	(210)
第十一章 葡萄酒酿造	(220)
第一节 酿造场所	(220)

第二节 二氧化硫的应用	(222)
一、SO ₂ 在葡萄酒酿造中的作用	(222)
二、SO ₂ 的形式	(223)
三、SO ₂ 的用量	(224)
四、SO ₂ 的添加时间	(225)
第三节 葡萄酒酵母	(226)
一、葡萄酒酵母的来源	(226)
二、酵母的不同形态和特性	(227)
三、葡萄酒酵母需要的成分	(227)
四、葡萄酒酵母的扩大培养	(228)
五、葡萄酒活性干酵母的使用	(229)
第四节 物理与化学因素对发酵的影响	(229)
一、物理因素的影响	(229)
二、化学因素的影响	(230)
第五节 葡萄浆和葡萄汁的制取	(231)
一、葡萄破碎与除梗的工艺要求	(231)
二、渣汁分离的工艺要求	(232)
三、葡萄汁的改良方法	(232)
第六节 干白葡萄酒的酿造工艺	(233)
一、概述	(233)
二、干白葡萄酒工艺流程	(234)
三、原料处理	(234)
第七节 红葡萄酒的生产工艺	(235)
一、概述	(235)
二、干红葡萄酒生产工艺	(236)
三、甜红葡萄酒生产工艺	(238)
 第十二章 生物碱类化合物的提取分离	(244)
第一节 生物碱的分类及其结构	(245)
一、有机胺类生物碱	(245)
二、杂环衍生物类	(246)
三、甾衍生物类	(251)
四、萜衍生物类	(252)
五、环肽类生物碱	(252)
第二节 生物碱的理化性质	(253)
一、性状	(253)
二、颜色	(253)
三、旋光性	(254)
四、溶解度	(254)
五、碱性	(256)
六、沉淀反应	(258)
七、显色反应	(259)

第三节	生物碱的提取和分离	(259)
一、	总生物碱的提取	(260)
二、	水溶性生物碱的提取分离	(261)
三、	生物碱的分离	(262)
第五节	生物碱的结构测定	(264)
一、	生物碱的降解反应	(264)
二、	生物碱的光谱特征	(266)
第六节	长春碱与长春新碱	(267)
一、	实验目的和要求	(267)
二、	实验原理	(267)
三、	实验材料	(267)
四、	实验方法	(268)
第七节	三颗针小檗碱	(270)
一、	实验目的和要求	(270)
二、	实验原理	(270)
三、	实验材料	(270)
四、	实验方法	(271)
第八节	马钱子生物碱	(272)
一、	实验目的和要求	(272)
二、	实验原理	(272)
三、	实验材料	(272)
四、	实验方法	(273)
第九节	麻黄碱	(275)
一、	实验目的和要求	(275)
二、	实验原理	(275)
三、	实验材料	(275)
四、	实验方法	(276)
第十三章	酶的固定化	(278)
第一节	固定化酶及其基本概念	(278)
一、	酶的固定化方法	(278)
二、	微生物细胞的固定化方法	(281)
三、	整细胞的固定化	(283)
四、	动植物细胞的固定化	(284)
五、	微生物细胞的固定化	(287)
六、	糖化酶的固定化	(289)
第二节	应用固定化糖化酶生产葡萄糖	(294)
参考文献		(298)

第一章 实验室规模生物反应器的使用

第一节 概 述

一、生物反应器及其分类

利用生物催化剂（酶、微生物细胞或动植物细胞等）进行生物技术产品生产的反应装置称为生化反应器或生物反应器。生物反应的目的可归纳成三种：一是生产细胞；二是收集细胞的代谢产物；三是直接酶催化得到所需产物。按照细胞或组织生长代谢要求、生物反应的目的等要素的不同，生物反应器可分为以下几种：

（一）厌氧生物反应器

该类反应器包括酒精发酵罐、啤酒发酵罐、沼气发酵罐等，其特点是在发酵过程中不需要通入氧气或空气，有时可能会通入二氧化碳或氮气等惰性气体以保持罐内正压，防止染菌。

（二）通气生物反应器

该类反应器分为搅拌式、气升式、自吸式等，前两者需要在反应过程中通入氧气或空气，后者则可自行吸入空气满足反应要求。搅拌式反应器靠搅拌器提供动力使物料循环、混合，气升式反应器以通入的空气上升产生动力，自吸式反应器则是利用特殊搅拌叶轮在搅拌过程中产生真空而将空气吸入反应器内。

（三）光照生物反应器

该类反应器壳体部分或全部采用透明材料，使得光可照射至反应物料，进行光合作用。一般配有照射光源，白天可直接利用太阳光。

（四）膜生物反应器

反应器内安装适当的部件作为生物膜的附着体，或者利用超滤膜将细胞控制在某一区域内。根据反应器的结构形式不同可分为罐式、管式、塔式、池式生物反应器等；根据物料混合方式则可分为非循环式、内循环式和外循环式生物反应器。

二、实验室规模生物反应器

实验室规模生物反应器主要用于新产品开发的理论研究，筛选发酵的新菌种，开发发酵的新原料，解决工艺问题以及工程放大。一般来说，实验用台式发酵罐的工作容积可达 3 L，容器多由玻璃制成，通常不采用原位方式进行灭菌。而实验室用的小型发酵罐通常工作容积为 5 ~ 50 L，通常在原位灭菌，容器由不锈钢或玻璃制成或是二者的组合。

近年来科学家已经研发出几种先进的小型发酵罐，包括机械搅拌罐式反应器、气升式发酵罐、塔式发酵罐、流化床反应器及转盘式发酵罐。此外，也有实验室规模的固态发酵设备。

每种发酵设备的配置可具有某种应用上的优点。本章以下各节重点介绍实验室规模生物反应器，包括小型发酵罐、固定化酶（细胞）反应器及固态发酵设备的基本类型及其操作方法。

第二节 实验室规模发酵罐的种类及使用

用于实验室规模发酵罐的主要工具是摇瓶、带搅拌器的玻璃容器、带搅拌器的不锈钢容器，最典型的是不锈钢小型发酵罐（搅拌罐），其实际上是 100 m³ 发酵罐的缩小形式。

（一）摇瓶

摇瓶在发酵实验中具有多种用途，包括最初的菌种筛选、正交实验和种子的培养。摇瓶在发酵实验中具有多种用途，以微生物细胞为发酵罐的接种物时，至少有一个阶段会涉及摇瓶中微生物的培养。相对于在发酵罐中培养，摇瓶具有许多明显的不利因素，例如其较低的氧传递速率、需较精密地控制环境条件 and 无菌取样困难等。

氧的溶解度较低（在 25 ℃，O₂ 的饱和度为 9 × 10⁻³ g/L），氧传递到液体的速率可由式 1-1 描述：

$$N_a = K_L a (C_g - C) \tag{1-1}$$

- 式中 N_a ——氧吸收速率，mmol · L⁻¹ · h⁻¹；
- K_L ——传质系数，m · h⁻¹；
- a ——单位体积的液体中气液两相的总界面面积，m²/m³；
- C_g ——氧气在液体中的饱和度，mmol · L⁻¹；
- C ——实际溶解度，mmol · L⁻¹。

体积传质系数 $K_L a$ 可针对不同发酵设备进行计算，表 1-1 给出一些常用发酵设备中的 $K_L a$ 值。摇瓶中的主要限制因素是氧传递速率（Oxygen Transmission Rate, OTR），OTR 受 $K_L a$ 控制。

表 1-1 各种系统中的 $K_L a$ 典型值

发酵容器	$K_L a$ /h	发酵容器	$K_L a$ /h
试管	20	摇瓶（带折流板）	1 200
摇瓶	500	小型发酵罐	3 000 ~ 4 000

（二）搅拌式发酵罐

搅拌式发酵罐是顶部或底部带有驱动的搅拌器的圆柱形管，对于较小的小型发酵罐（如台式发酵罐），可用硼硅酸盐玻璃制作圆柱罐，容积可为 1 ~ 30 L，用不锈钢顶盘夹紧。该类型发酵罐易于在高压灭菌锅中灭菌；罐体、培养基和传感器同时灭菌，减少了无菌操作步骤。为确保操作安全，玻璃容器通常在高压灭菌锅中灭菌。有时也可在原位灭菌，玻璃容器可用可移动的不锈钢网或夹套加以保护。

实验室中最常用的发酵罐为不锈钢发酵罐，它是带有顶部或底部驱动的中空钢柱，可进行原位清洗和灭菌。这些搅拌罐容积为 1 ~ 100 L，其强度大，性能可靠，具有很长的使用寿命。发酵过程中经常需要采集大量的试样进行分析，故选择发酵罐时需考虑这些试样的体积。图 1-1 为不锈钢发酵罐的简略示意图。发酵罐可采用多种搅拌转速，如果进行某好氧菌丝体

的发酵，需要用较高的搅拌转速来增强混合及氧的传递效果；而在细菌发酵中，则可采用较低的搅拌转速。

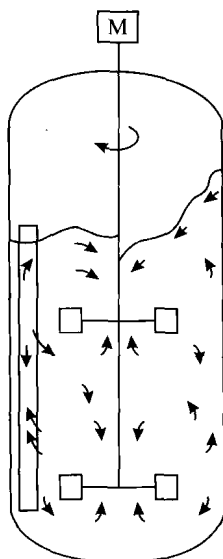


图 1-1 不锈钢发酵罐的简略示意图

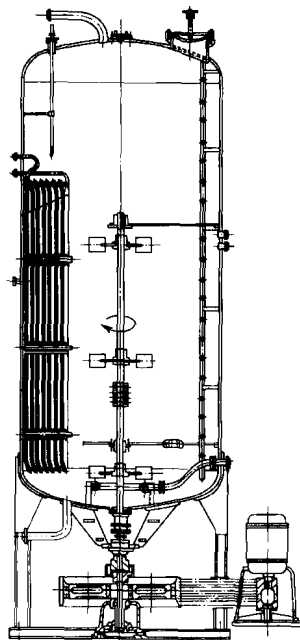


图 1-2 机械搅拌发酵罐的示意图

机械搅拌发酵罐（Stirred Tank Reactor, STR）的应用广泛，几乎任何类型的微生物、植物或动物细胞均可在基本相同的罐内生长。如图 1-2 所示。只要对叶轮的形式、搅拌速度及气流速度等稍做调整，就可以使营养要求相对复杂的细胞培养得以进行。发酵罐主体须由高级内表面抛光的不锈钢制成，以尽量减少细胞在容器内壁上的吸附；对焊接要求很高，不能存在任何小孔；通过夹套来精确控制发酵的温度，夹套还可以用于浸没式加热或冷却。

1. 自动化及性能

小型的实验室台式发酵罐通常比滚轮安装或滑道安装的发酵罐便宜。这主要是由于其装置不如实验室研究用发酵罐先进，后者安装了 pH 计、温度计及搅拌器等，具有先进的参数控制装置。尽管小型发酵罐在无菌操作等方面较为可靠，但如果没有其他控制装置，发酵罐也不能发挥其全部潜力。

2. 搅拌及通气

搅拌桨应该具有双重机械密封，确保培养基和空气不会在轴套处泄漏。搅拌桨一般有 2~3 组叶轮，根据不同的混合需求，每组叶轮装有 4 片或 6 片桨叶。通入的空气需要进行过滤，除去粒径大于 $0.2\ \mu\text{m}$ 的颗粒，为发酵过程提供无菌空气；无菌空气由发酵罐底部的空气喷射器进入并分散，通过搅拌系统彻底地混合进入培养基。排气口可用类似的方法过滤，但要注意由于泡沫形成而导致排气口堵塞的问题。借助于泡沫控制系统、配套的机械消泡装置或添加消泡剂（如聚硅氧烷类化合物或聚丙二醇）可有效防止排气口的堵塞。排气口装上冷凝器可有效地减少排气口过滤器堵塞的现象。所有发酵罐均应在排气口或进气口安装过滤器（ $0.2 \sim 0.45\ \mu\text{m}$ 的孔径）。

3. 辅助设备

pH 计和溶氧传感器的安装口可位于容器的顶部或侧面。进料口和接种口位于发酵罐的顶部。在较大的容器上 (>20 L)，通常可在顶部安装照明灯，以便于观察培养物的生长情况。发酵罐灭菌时需加压，在罐顶部安装压力表和手动排气阀可调节灭菌过程中的压力，在罐顶部安装安全阀可防止超压。取样管应安装在罐的侧部或顶部，取样频率可根据实验要求及培养物的体积而定，一般总取样量不超过发酵液体积的 10% (体积百分数)，否则氧传递速率等会受影响。例如在分批培养过程中，培养液体积为 10 L，24 h 期间每小时均须进行取样时，取样总容积应不超过 1 000 mL，每次取样不能超过 40 mL。

4. 取样装置

不同的发酵罐设计了不同的取样装置。较大的原位蒸汽灭菌的发酵罐通常装有倒 U 形取样装置，便于每次取样前或取样后灭菌 (至少需要蒸汽灭菌 5 min)。台式发酵罐，尤其是那些没有取样口的反应器，通常需要更精细的取样装置。

(三) 气升式发酵罐

气升式发酵罐不具有任何机械搅拌系统，仅利用空气在发酵罐内的循环以搅拌培养物。这一相对柔和的混合系统适用于植物细胞及动物细胞培养。标准的带有叶轮搅拌的小型发酵罐会产生较大的剪切力，会使植物细胞或动物细胞破碎。气升式发酵罐的通气提供了培养基及氧扩散进入培养物所需的混合动力。耗能可大幅度降低，其主要能量来自空气压缩机。采用真菌的抗生素发酵过程需氧量大，气升式发酵罐对这种类型的发酵过程不够有效，因为

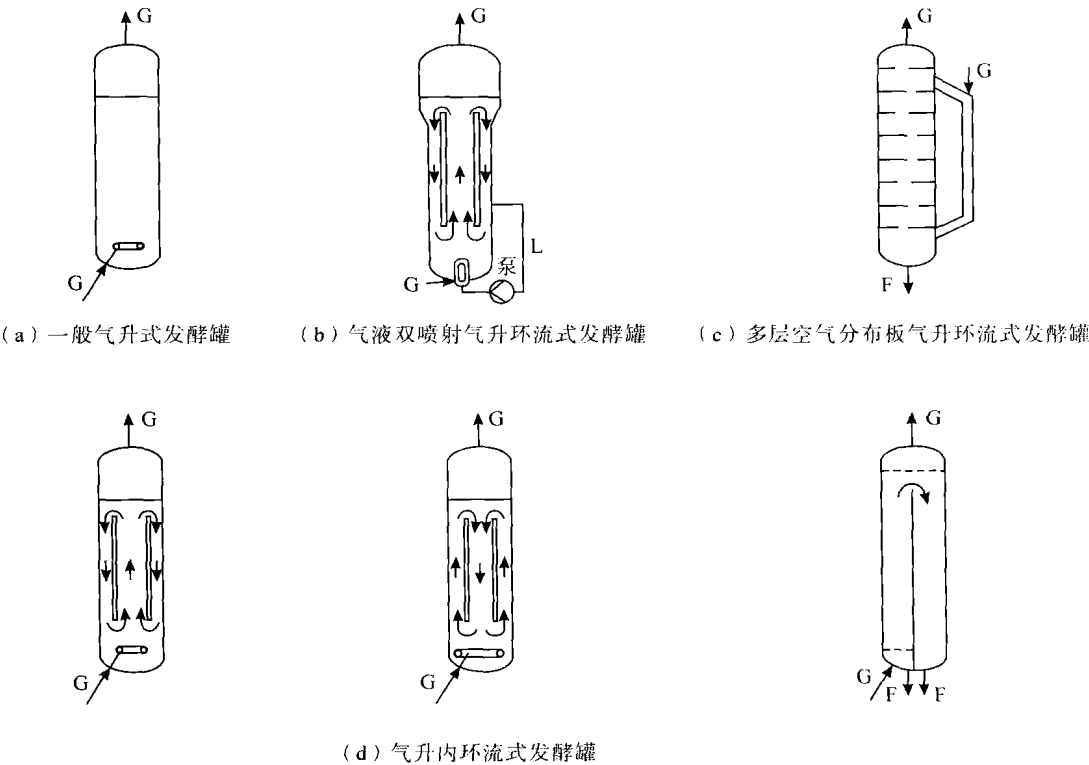


图 1-3 气升式发酵罐示意图

相对于 STR 发酵罐来说，其搅拌性能相对较差。

气升式发酵罐的原理是基于含气量高和含气量低的培养物之间比重的差异，在发酵罐通气过程中，使含气量较低的培养基产生一上流的推力，导致培养基的循环。循环的类型取决于发酵罐内的装置，如图 1-3 所示。实验室规模的气升式发酵罐的基本设计为外部采用玻璃中空管，内部采用不锈钢管。气升式发酵罐的一个变型是管式循环发酵罐，以便增加发酵容积，维持停留时间，也可以几个串联运行。

(四) 塔式发酵罐

塔式发酵罐可用于连续的酵母发酵过程，啤酒的连续发酵也可在塔式发酵罐中进行。其设计相当简单，价格比常规的 STR 发酵罐便宜。30 ~ 50 L 容积的塔式发酵罐可用于实验室研究开发。图 1-4 为用于抗生素发酵的高位筛板式发酵罐示意图。塔式发酵罐这一设计观念可用于连续生产单细胞蛋白，如图 1-5 所示。在气升式及塔式发酵罐中，由于不需要复杂的机械搅拌系统，因而比 STR 发酵罐易于在实验室规模下应用。

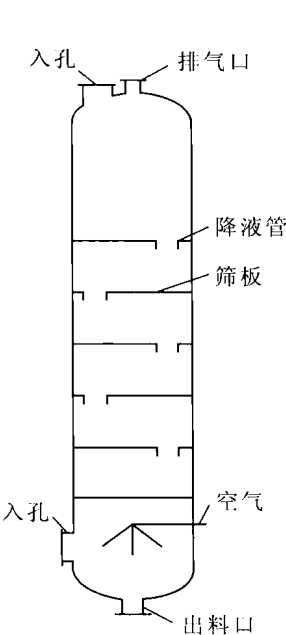


图 1-4 用于抗生素发酵的高位筛板式发酵罐示意图

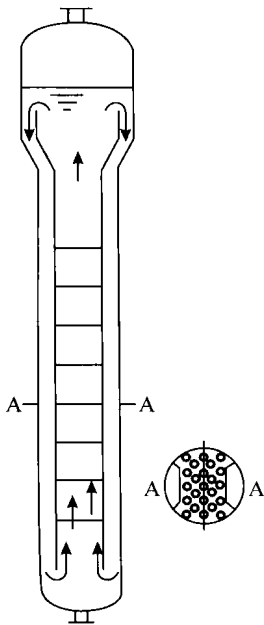


图 1-5 生产单细胞蛋白的高位筛板式发酵罐

(五) 利用固定化细胞的生物反应器

在实验室规模下开发并应用了多种类型的生物反应器，但一方面，一些反应器的设计不够实用或不够经济，难以放大到生产规模；另一方面，如滴滤器等传统的方法已被进一步开发，流化床已整合进生物反应器中。固定化细胞涉及将微生物吸附到较大的颗粒如岩石、玻璃珠或塑料珠上，所固定的细胞数量取决于惰性颗粒表面积、脱落效应、通气及循环效率等因素。

1. 固定床反应器

滴滤器在废水处理中已被应用了近一百年，惰性的石粒、矿渣或砖片等可用于微生物细

胞的吸附。与搅拌罐中发酵属均相反应不同，这类发酵属多相反应。现已开发了几种可用于实验室中的反应器系统，如管式填充床反应器，如图 1-6 所示。该类反应器的主要问题是使固定床充分通气，如果空气有限，厌氧微生物会取代好氧微生物而占优势。

2. 流化床

流化床是一类在中空的容器中混合或循环了含有微生物膜或微生物团块的惰性密实颗粒的反应器，如图 1-7 所示。一些传统的发酵如乙酸发酵就是应用了这一类反应器。

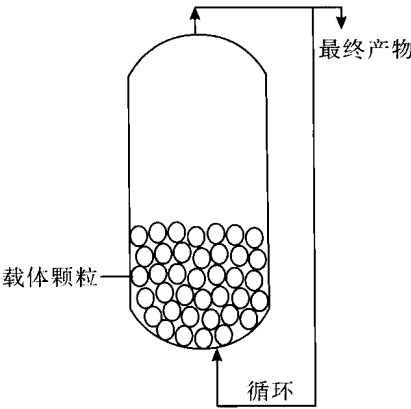


图 1-6 填充床生物反应器示意图

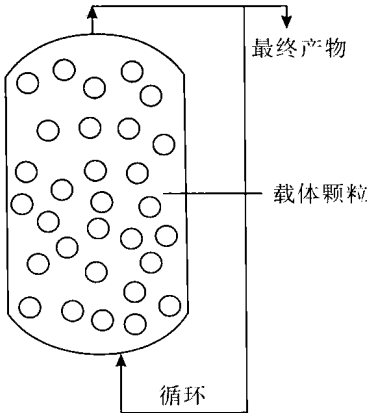


图 1-7 流化床生物反应器示意图

3. 转盘式发酵罐

废水处理中一直在使用生物转盘。微生物吸附在盘上，这些转盘在废水中缓慢旋转，微生物膜暴露于废水及空气中。有研究者设计了小规模转盘式发酵罐，可用于丝状真菌的发酵，如图 1-8 所示。转盘式发酵罐可进一步开发用于工业规模的发酵过程。

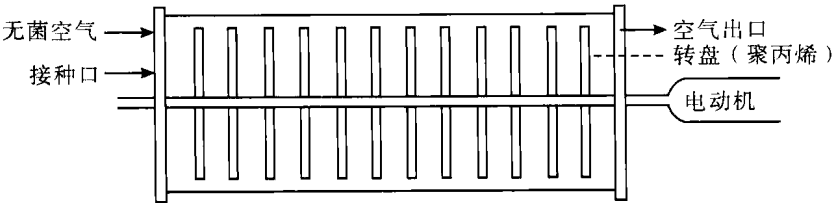


图 1-8 实验室规模转盘式发酵罐示意图

[实验 1-1] 实验室用发酵罐的无菌取样操作

如图 1-9 所示，通常的运行条件下，夹子 A 和 B 是打开的，而夹子 C、D 和 E 是关闭的。取样方法如下：①打开夹子 E 和 C，关闭夹子 B，冲洗取样管以去除前次取样时残留的细胞；②关闭夹子 A 和 E，然后小心地开启夹子 D，允许培养物流入取样瓶中置换出其内的空气，或轻轻地松开取样瓶的盖以放出多余的空气，关闭夹子 D；③小心地打开夹子 A，缓慢降低发酵罐中的压力；④打开夹子 E，让空气吹过取样管；⑤开放夹子 B，关闭夹子 E 和 C；⑥使用无菌技术，从部件中去除取样瓶，换上另一个无菌取样瓶。