

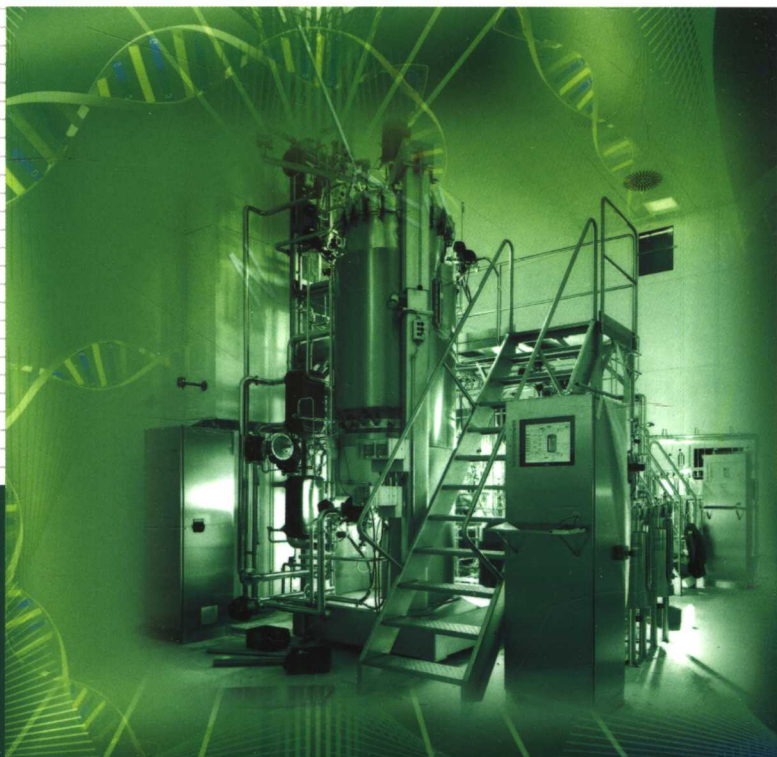


普通高等教育“十一五”国家级规划教材

生物工程 生物技术系列

# 生物工程设备

陈国豪 主编  
俞俊棠 主审



 化学工业出版社

本书由华东理工大学陈国豪教授主编，俞俊棠教授主审。全书共分九章：培养基准备与培养基灭菌的设备、发酵用压缩空气预处理及除菌设备、生物反应器与发酵参数检测元件、液-固分离设备、萃取设备、离子交换和层析设备、蒸发和结晶设备、生物制品干燥设备、生物制药生产 GMP 规范要点和附录等，它覆盖了当前生物技术工业化生产的全部关键单元操作与装备。本书特点是生物过程及设备的计算、设计案例丰富，能帮助学生掌握各种装备的工作原理、强化途径和单体设备计算、设计或选型。

本书为普通高等教育“十一五”国家级规划教材，可作为高校生物工程专业本科学生的教材，也可作为从事发酵工程，微生物制药工程，酶制剂、有机酸、氨基酸生产，现代生物技术等工程技术人员参考书。

## 图书在版编目 (CIP) 数据

生物工程设备/陈国豪主编. —北京: 化学工业出版社, 2006.11

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

ISBN 978-7-5025-8778-9

I. 生… II. 陈… III. 生物工程-设备-高等学校-教材 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 138183 号

---

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 朱 恺

责任校对: 郑 捷

装帧设计: 郑小红

---

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京市兴顺印刷厂

787mm×1092mm 1/16 印张 15¼ 插页 1 字数 414 千字 2007 年 3 月北京第 1 版第 1 次印刷

---

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

---

定 价: 35.00 元

版权所有 违者必究

# 前 言

《生物工程设备》由华东理工大学生物工程学院生物反应过程与装备教研室 6 位教授和副教授执笔，在俞俊棠教授主编的《抗生素生产设备》基础上改编、扩展而成。它凝集了教研室全体同仁 20 多年来在生物过程及装备的教学、科研和为全国微生物制药企业设计、推广的成功案例、成果与体会。《生物工程设备》含九章：培养基准备与培养基灭菌的设备、发酵用压缩空气预处理及除菌设备、生物反应器与发酵参数检测元件、液-固分离设备、萃取设备、离子交换及层析设备、蒸发和结晶设备、生物制品干燥设备、生物制药生产 GMP 规范要点和附录等，它覆盖了当前生物技术工业化生产的全部关键单元操作与装备。

本书的特点是生物过程及设备的计算、设计案例丰富，能帮助学生掌握各种装备的工作原理、强化的途径和单体设备的计算、设计或选型。

本书可作为普通高校“生物工程”专业本科学生的教材，也可作为发酵工程，微生物制药工程，酶制剂、有机酸、氨基酸生产，现代生物技术等工程技术人员的参考书。

《生物工程设备》由陈国豪主编，俞俊棠主审。本书第一章和第二章由陈国豪执笔，第三章（其中第七节由吴炎执笔）、第九章由唐寅执笔，第四章、第五章由陆兵执笔，第六章、第七章由徐殿胜执笔，第八章由陈国豪、张明执笔。陆兵、唐寅对全书的文字和插图进行了计算机处理，陈国豪对全书进行了修改和定稿。

在本书编写过程中，部分数据、图片的取得来自众多同行的帮助和支持，它们是 BioRad 公司、Millipore 公司、Alfa-Laval 公司、Kendro 公司、Domnick Hunter 公司、上海一鸣过滤技术公司等，在此表示深深的谢意！

最后，对屠天强教授、沈自法教授以及在本书编写过程中给予我们众多建议和帮助的教授和同事表示由衷的感谢。

由于水平所限，本书会有不少缺点和不足，希望读者提出宝贵意见，以便再版时改正。

主 编  
2006 年 8 月于上海

# 目 录

<b>第一章 培养基准备与培养基灭菌的设备</b> .....	1
<b>第一节 培养基的准备与要求</b> .....	1
一、微生物培养基的种类和常用原料及规格 .....	1
二、动物细胞、植物细胞和微藻细胞培养基与灭菌方法 .....	3
<b>第二节 培养基的灭菌方法及设备</b> .....	4
<b>第三节 培养基实罐灭菌的计算</b> .....	4
<b>第四节 培养基连续灭菌的设备及计算</b> .....	10
一、连续灭菌的设备 .....	10
二、连消培养基冷却设备 .....	16
<b>第二章 发酵用压缩空气预处理及除菌设备</b> .....	19
<b>第一节 供发酵工厂使用的无菌空气的质量指标</b> .....	19
<b>第二节 压缩空气的预处理原理及工艺流程设计</b> .....	20
一、压缩空气预处理的目的是 .....	20
二、压缩空气的冷却 .....	20
三、压缩空气的除水原理及压缩空气预处理系统的工艺流程设计 .....	20
<b>第三节 压缩空气预处理系统的设备设计</b> .....	22
<b>第四节 空气除菌设备</b> .....	27
一、空气总过滤器的结构与计算 .....	27
二、空气分过滤系统及过滤器设计 .....	28
<b>第三章 生物反应器与发酵参数检测元件</b> .....	33
<b>第一节 微生物反应器</b> .....	33
一、发酵罐的类型 .....	33
二、通用式发酵罐 .....	34
三、其他形式的发酵罐 .....	43
<b>第二节 动物细胞培养反应器</b> .....	47
一、动物细胞悬浮培养生物反应器 .....	48
二、动物细胞贴壁培养反应器 .....	49
三、动物细胞微载体悬浮培养反应器 .....	50
<b>第三节 植物细胞反应器</b> .....	52
一、植物细胞悬浮培养的特性 .....	52
二、大规模植物细胞培养反应器 .....	52
<b>第四节 生物反应器搅拌功率的计算</b> .....	54
一、搅拌功率计算的基本方程式 .....	54
二、搅拌功率计算的修正 .....	56
三、多层搅拌器的功率计算 .....	57
四、通气情况下的搅拌功率计算 .....	57
五、非牛顿型流体搅拌功率的计算 .....	58
六、生物反应器搅拌功率的确定 .....	60
七、电机功率的确定 .....	61
<b>第五节 生物反应器中的氧传递</b> .....	61
一、细胞对氧的需求 .....	61
二、培养过程中的氧传递 .....	62
三、气-液接触中的传质系数 .....	64
四、影响气-液相氧传递速率的因素 .....	65
五、氧传质系数的测定方法 .....	67
<b>第六节 生物反应器的放大设计</b> .....	68
一、几何尺寸的放大 .....	69
二、空气流量的放大 .....	69
三、搅拌功率及搅拌转速的放大 .....	70
四、放大方法的比较 .....	72
<b>第七节 生物反应器的发酵参数检测元件</b> .....	72
一、生物反应器的参数检测 .....	73
二、用于生化过程检测的传感器 .....	73
三、发酵过程控制概论 .....	81
<b>第四章 液-固分离设备</b> .....	86
<b>第一节 液-固分离设备概述</b> .....	86
一、过滤原理 .....	86
二、沉降原理 .....	87
三、液-固分离设备的类别 .....	91
<b>第二节 过滤设备及计算</b> .....	91
一、板框压滤机 .....	91
二、真空转鼓过滤机 .....	95
三、三足式离心机 .....	97
<b>第三节 离心沉降设备及计算</b> .....	99
一、管式离心机 .....	99
二、螺旋卸料离心机 .....	101
三、碟片式离心机 .....	102
四、生物体分离离心机 .....	105
<b>第四节 膜分离设备</b> .....	108
一、膜的结构 .....	108
二、膜分离过程设备 .....	110
<b>第五章 萃取设备</b> .....	113
<b>第一节 溶剂萃取法概述</b> .....	113
<b>第二节 溶剂萃取设备</b> .....	114
一、分段式萃取设备 .....	114

二、多级离心萃取机 .....	117	<b>第九章 生物制药生产 GMP 规范要点</b> .....	208
三、连续逆流离心萃取机 .....	117	第一节 药品生产的 GMP .....	208
第三节 液-液萃取设备的计算 .....	119	一、GMP 的发展历史 .....	208
一、液-液萃取过程的计算 .....	119	二、GMP 的概念 .....	208
二、液-液萃取设备的计算 .....	120	三、GMP 的特点 .....	208
三、离心分离机及离心萃取机中分		四、实施 GMP 的意义 .....	209
界面计算 .....	123	五、GMP 的特征和内容 .....	209
四、离心分离机的生产能力计算 .....	125	六、GMP 的实施认证 .....	209
<b>第六章 层析设备和离子交换设备</b> .....	126	第二节 GMP 对原料药生产的要求 .....	209
第一节 层析设备 .....	126	一、生产特殊要求 .....	209
一、层析原理 .....	126	二、原料药生产质量控制要点 .....	211
二、层析设备的组成 .....	128	三、原料药生产验证工作要点 .....	211
第二节 离子交换设备 .....	136	第三节 GMP 对发酵类原料药生产设备的	
一、离子交换概述 .....	136	设计、制造、安装与管理的要求 .....	212
二、离子交换的操作方式 .....	136	一、对发酵设备的一般要求 .....	212
三、离子交换设备的结构 .....	137	二、设备和管道用材应保证不使药物	
四、离子交换设备的设计 .....	139	受到污染 .....	213
<b>第七章 蒸发和结晶设备</b> .....	144	三、机械设备设计和制造要求 .....	213
第一节 蒸发设备 .....	144	四、防止机械设备在运动过程产生	
第二节 蒸发设备的计算与设计 .....	151	异物的污染 .....	213
第三节 结晶设备 .....	155	五、无菌原料药设备的特殊要求 .....	214
<b>第八章 生物产品干燥设备</b> .....	158	六、方便清洗消毒的设备及管路管件的	
第一节 干燥过程的基本计算方法 .....	159	设计 .....	214
一、湿空气的性质 .....	159	七、装卸、运输应避免造成污染 .....	216
二、干燥过程的物料及热量衡算 .....	160	八、设备管理和验证 .....	216
三、干燥速率及干燥时间的计算 .....	162	第四节 GMP 对发酵类原料药生产系统的	
第二节 气流干燥器及其计算 .....	163	要求 .....	217
一、颗粒在气流中的运动规律 .....	164	一、发酵类原料药生产设备与管道的卫生	
二、颗粒在气流中运动时的传热和传质 .....	169	要求 .....	217
三、直管式气流干燥器的计算 .....	170	二、常用清洗剂、清洗方法及设备 .....	219
四、旋风式气流干燥及其计算 .....	174	三、设备及管路的灭菌 .....	223
第三节 沸腾干燥器及其计算 .....	177	第五节 GMP 对生产环境的要求 .....	225
一、固体流化过程的三个阶段 .....	178	一、生物工业生产对空气净化调节设施的	
二、沸腾干燥器的计算 .....	179	要求 .....	225
第四节 喷雾干燥塔(器)及其计算 .....	186	二、洁净室空气的温湿度控制 .....	230
一、雾化器的结构计算 .....	187	第六节 生物制药生产中与产品质量有关的	
二、喷雾干燥塔(器)的结构及计算 .....	193	其他基础设施问题 .....	231
第五节 沸腾造粒干燥器及其计算 .....	197	一、水的质量 .....	231
一、沸腾造粒干燥器的形式 .....	198	二、生物安全 .....	232
二、沸腾造粒干燥器的设计 .....	198	三、废物处理 .....	232
第六节 真空干燥与冷冻干燥设备 .....	200	四、溶剂回收 .....	233
一、真空干燥 .....	200	<b>附录 全国主要城市气象资料汇编</b> .....	234
二、冷冻干燥 .....	203	<b>参考文献</b> .....	235

# 第一章 培养基准备与培养基灭菌的设备

在生物工程的行业中，培养基是指供特定的微生物、动物细胞、植物细胞、细胞组织、微藻生物等进行生长、繁殖、代谢和合成产物需要的，按一定组成比例配制而成的营养物质。培养基的成分和配比合适与否直接影响微生物、动物细胞、植物细胞的生长发育、产物合成的速率与数量，同时还会影响到产品的分离与纯化工艺及产品的质量。

培养基按其配方成分可以分成天然培养基和合成培养基。天然培养基是指一类具体成分不十分明确的天然产品，大部分是农副产品。如各种谷粉、黄豆饼粉、花生饼粉、玉米浆、各种浸出液、冻膏、血清等，其特点是营养丰富、价格便宜，其缺点是每批次进货的成分含量因为农副产品的产地不同、加工方法不同而有差别。因此这些天然产品在加工制备时要有质量指标，发酵企业在使用时也应有关质量指标。合成培养基是指一类完全明确的化学成分的物质配制组成。在培养基的配方中既有化学成分很不明确的天然产品，又有化学成分明确的物质组成的这类培养基称为复合培养基或半合成培养基。工业微生物发酵，如生产抗生素、酶制剂、氨基酸、有机酸生产和啤酒酿造等都采用复合培养基。由于在复合培养基中天然原料成分复杂，又往往因品种、产地、加工方法不同，其组分含量差别较大，这就对工业化微生物发酵过程代谢产生很大影响，这也是引起发酵水平与产品质量的波动的一个重要原因。因此必须对每一批进货的天然原料的质量进行监控，不符合质量标准的培养基原料不能直接使用。

在工业微生物发酵过程中，只有在为了确定产生菌的营养需要和产品的生物合成途径时，才会采用合成培养基，不然生产的成本会很高。在大规模动物细胞、植物细胞的悬浮培养中，为减轻产物的纯化的难度和减少培养基的组分残留在产物中，另外因为这些产物的价值较高，才会采用合成培养基。

## 第一节 培养基的准备与要求

目前人类应用生物工程技术，大规模悬浮培养微生物、动物细胞、植物细胞和微藻等制备人类所预期的产品取得了日新月异的发展与成功。这是因为人类已经基本掌握了这些生物体大规模培养的规律、工业化生产的途径以及装备与控制等手段。生物体能大规模工业化培养的成功，首先是人类能基本掌握了微生物、动物细胞、植物细胞、细胞组织、微藻生物等在生长、繁殖、代谢和合成产物时所需要的培养基和相关的培养条件。

### 一、微生物培养基的种类和常用原料及规格

#### 1. 微生物培养基

按其用途分为孢子培养基（不产孢子的称斜面培养基）、种子培养基和发酵培养基三种。

(1) 孢子培养基 孢子培养基是供菌种繁殖孢子用，对这种培养基的要求是能够使菌种发芽生长快，产生大量优质孢子，并且不会引起菌种变异。一般来说，孢子培养基中的碳源和氮源（特别是有有机氮源）的浓度要低，多了会只长菌丝，少长或不长孢子。抗生素生产上常用的孢子培养基有麸皮培养基、小米培养基、大米培养基和用葡萄糖、蛋白胨、牛肉膏及氯化钠配制成的琼脂斜面培养基。培养基灭菌方法：通常采用把配制好的培养基装在茄子瓶（扁瓶）里或三角瓶或大口径试管里，放在高压灭菌锅内，121℃，灭菌 20~30min。

(2) 种子培养基 种子培养基是指用于摇瓶种子培养或工业生产用的种子罐种子培养的营养

养组成。常用的原料有葡萄糖、糊精或淀粉、蛋白胨、玉米浆、酵母膏、硫酸镁、硫酸铵、磷酸二氢钾等，以有利孢子发芽和迅速生长，并繁殖生长大量粗壮的菌丝体。培养基灭菌的方法：通常采用把配制好的培养基装在摇瓶里，然后摇瓶放在高压灭菌锅里，121℃，灭菌20min；工业化生产中把配制好的培养基装在种子罐里，采用高压蒸汽直接灭菌，控制温度121℃，灭菌15~20min。

(3) 发酵培养基 发酵培养基含有供菌丝体迅速生长繁殖和合成产物之需要的营养组分。抗生素工业生产的发酵培养基其营养组分要适当地丰富和完全，稠度要适当，适合菌种的生理特性，以有利于菌丝体的快速生长繁殖，形态健壮旺盛，进而合成大量的代谢产物。发酵培养基属复合培养基或称半合成培养基，它大部分是由天然的农副产品原料（如玉米粉、鱼粉、玉米浆、花生粉等），再加入少量的已知化学成分的营养物质（如葡萄糖、麦芽糖、氨基酸、各种无机盐、缓冲剂和前体物质）。发酵培养基灭菌方法：发酵摇瓶培养基灭菌方法与种子摇瓶培养基灭菌方法相同；工业化生产中发酵培养基灭菌方法采用在发酵罐内配制好培养基后，用高温蒸汽直接灭菌，一般控制温度121℃，时间15~20min。

在培养基灭菌时，要特别注意在高温灭菌时糖类物质容易被破坏且易和有机氮源结合，产生氨基糖，对微生物会产生一定的毒性，严重时将抑制微生物生长发育，破坏整个发酵代谢过程。

## 2. 工业化发酵生产常用的原料及其规格

工业化发酵生产的培养基都是复合培养基，其中大部分是农副产品原料。这些天然原料成分复杂，又由于其品种、产地、加工方法不同（如豆饼粉、花生粉，其冷榨或热榨不同的加工方法），造成它们的组分含量差别很大，常引起发酵水平与产品质量的波动。因此大规模工业化发酵生产必须对培养基的原料有均一的规格标准（表1-1）。

表1-1 常用的抗生素工业化生产培养基主要原材料及其规格标准

原材料名称	规格标准
淀粉	外观白色粉末，无臭无味。含量≥80%，干燥失重≤14.0%，蛋白质≤1.0%，酸值≤25.0ml/g(以KOH计)，细度(100目筛)≥95.0%，斑点≤2.0个
黄豆饼粉	外观淡黄色，略带豆香味。蛋白质≥40%，干燥失重(80目筛)≤8%、(60目筛)≤11%，细度(80目筛)≥80%、(60目筛)≥75%~85%，酸值≤25ml/g(以KOH计)
花生饼粉	外观土黄或棕色，略带花生香味。蛋白质>40%，干燥失重(80目筛)≤6%，含油量≤5%，油酸度<2，一级以上大花生，加工温度低于120℃
葡萄糖	外观白色或浅黄色粉末，无嗅，味甜。含无水葡萄糖≥80%，重金属不超过 $30 \times 10^{-6}$ ，干燥失重≤9.5%
乳糖	外观白色或淡黄色粉末，含无水乳糖量≥80%
棉子饼粉	外观淡黄，粉中含壳数<10%，蛋白质>40%，粗细度小于60目筛孔，水分<10%，油分<10%
鱼粉	外观黄棕色，具有鱼粉正常的鱼腥味，无异味。蛋白质≥50%，干燥失重≤12%，细度(60目筛)≥80%，盐分≤5%，砂分≤5%
玉米浆	外观黄色或暗褐色黏稠液体，有香味。干物质≥40%，酸值≤14.0mg/g(以KOH计)，亚硫酸≤1.0%，溶磷1.2%~1.7%
蛋白胨	外观浅黄色粉末，蛋白质≥13.0%，干燥失重≤8.0%
豆油	外观浅黄色，透明液体，相对密度0.918~0.925，酸值≤4.0mg/g(以KOH计)。加热实验：280℃下油色不得变黑，允许有微量析出物
硫酸镁	外观无色无臭，结晶，味苦、咸，有风化性。含量≥95%，灼烧失重48%~52%，酸碱度符合规定
碳酸钙	外观白色，轻质细粉。细度(120目筛)≥99.5%，含量≥99.7%，干燥失重≤1.0%
氯化钠	外观无色透明晶体或白色结晶性粉末。含量≥98%，干燥失重≤0.5%，澄清度符合规定，酸度(pH值)6.0~7.0
硝酸铵	外观白色或微黄色结晶微粒。含量≥98%，干燥失重≤1.7%
磷酸二氢钾	外观白色四角结晶体或结晶性粉末，无嗅，味咸。含量≥98%，干燥失重≤6.0%，酸度(pH值)4.4~4.6
淀粉酶	工业级，外观黄褐色粉末，无结块，无潮解，无异味。酶活力≥2000单位/g，干燥失重≤80%，细度(40目筛)≥80%
硝酸钠	工业级，外观白色粉末状，含量≥98%，干燥失重≤1.7%

## 二、动物细胞、植物细胞和微藻细胞培养基与灭菌方法

### 1. 动物细胞培养基

动物细胞培养对培养基要求比较高，而且由于细胞种系的不同，要求差异很大。总的来说，动物细胞培养基可以分为三类：天然培养基、合成培养基和无血清培养基。天然培养基，虽然其营养成分丰富，细胞生长效果佳，但由于其成分复杂、来源受限，主要用在实验室构建细胞株时使用，并不适合用于大规模培养。在大规模动物细胞培养时一般采用合成培养基（有时加入少量胎牛血清或小牛血清）和无血清培养基。动物细胞培养基的特性是营养丰富，含有各种氨基酸（13种以上）、维生素、碳水化合物、无机盐和其他成分（如生长因子、激素、贴壁因子等），而且许多组分都是热敏性物质。由于动物细胞培养基专一性强，又由于其培养基组分多又复杂，少量配制较麻烦。目前市场上都已有各种动物细胞培养基产品，如 Eagle、DMEM、HAM12、RPMI1640 等。买来后只要用双蒸水配制到一定容量，根据需要加入少量胎牛血清，调整 pH 在 7.2~7.4。由于培养基中许多物质都是热敏性物质，因此不能采用高压蒸汽灭菌法，通常采用微孔滤膜过滤灭菌法来处理动物细胞培养基，保证培养基无菌，营养成分不被破坏，pH 值灭菌前后基本恒定。

### 2. 植物细胞培养基

植物细胞培养基与动物细胞培养基相比，相对较为简单。其培养基的组分由无机盐类、碳源、维生素、植物生长激素、有机氮源、有机酸和一些复合物组成。合成培养基的化学用品尽可能采用高纯度级（如化学纯级），植物生长激素类化学用品采用分析纯级。培养基可以用高纯度的去离子水或蒸馏水配置。调整好 pH 在 5.5~6.0 后采用高压蒸汽灭菌，控制温度 115~120℃，时间 15~20min。对于一些热敏性化合物不要与无机盐类、碳源等混在一起高温灭菌，培养基中的热敏性化合物应该采用微孔滤膜过滤灭菌法来灭菌，如 L-谷氨酰胺、植物生长激素（IAA、2,4-D、NAA、BA 等）、复合物（生长调节剂如椰子汁）等，然后再按无菌操作方法混入其他经高温灭菌好的培养基中。由于培养基配比中，有些组分量很小，种类又很多，临时配制起来很烦琐。因此往往把培养基配制成使用浓度的 10 倍或者 100 倍分成小瓶，然后冷冻保存，使用时再稀释到正常浓度。经稀释的培养基应放在 10℃ 的冰箱中保存。为了防止在高浓度下培养基组分相互作用产生沉淀，CaCl<sub>2</sub>、KI 和 EDTA 钠铁盐要单独配置保存，使用时再经稀释后混合。

植物生长激素大多数难溶于水，它们可以用以下方法配制。

① 配 IAA（吲哚乙酸）、IBA（吲哚丁酸）、GA<sub>3</sub>（赤霉素）溶液时，先将药品溶于少量 95% 酒精中，再加入去离子水或蒸馏水定容至一定浓度。

② NAA（萘乙酸）可溶于热水或少量 95% 酒精中，再加入去离子水或蒸馏水，定容至一定浓度。

③ 2,4-D（2,4-二氯苯氧乙酸）不溶于水，可用 0.1mol/L 的 NaOH 溶解后，再加入去离子水或蒸馏水，定容至一定浓度。

④ KT（激动素）和 BA（6-苄基嘌呤）先溶于少量 1mol/L 的 HCl 中，再加入去离子水或蒸馏水，定容至一定浓度。

⑤ ZT（玉米素）先溶于少量 95% 酒精中，再加热水，定容至一定浓度。

### 3. 微藻类培养基

微藻细胞培养基的成分类似植物细胞培养基，它们是合成培养基，包含无机营养物、有机物、植物生长刺激素和其他复合物。用自然海水或者人工海水配制，调节 pH 在 7.8~8.2。在实验室微藻细胞和原生质体培养时，其培养基采用高温蒸汽灭菌，120℃，15min 左右。在大规模微藻工业化生产中，由于培养基中 NaCl 的浓度在 12%~25% 可抑制其他微生物生长，其培养基不需要绝对无菌。



## 第二节 培养基的灭菌方法及设备

大规模微生物、动物细胞、植物细胞培养过程都是纯种培养过程，不允许有杂菌的污染。因此对培养的場所，实验器皿、培养基、培养设备以及通入发酵罐内的空气都要经过灭菌处理。

常用的灭菌方法如下。

(1) 化学灭菌 采用化学试剂进行灭菌。常用的化学试剂有甲醛、新洁尔灭、漂白粉、环氧乙烷等。甲醛通常作为无菌室定期熏蒸灭菌，熏蒸浓度通常为  $5\text{ml}/\text{m}^3$ 。1‰的新洁尔灭溶液常作为培养室内桌椅地板、实验用具最有效的杀菌剂。3%~5%的漂白粉水溶液可作为车间内外环境的杀菌剂。对于塑料培养器皿可采用环氧乙烷灭菌方法：把要灭菌的塑料培养器皿放在密闭的箱内或塑料袋里，在  $10^\circ\text{C}$  以下，把 1%（体积浓度）环氧乙烷放在密闭容器里，升温到  $37\sim 45^\circ\text{C}$ ，过夜灭菌结束。要注意灭菌结束后的塑料培养器皿不能马上使用，待  $12\sim 24\text{h}$  后，使环氧乙烷残留气味散发掉。

(2) 射线灭菌 通常用紫外线、高能量的电磁波或粒子辐射进行灭菌。紫外灯发射紫外线可杀灭无菌室空间和物体表面的芽孢和营养细胞。紫外线的波长在  $210\text{nm}$ 、 $0\sim 313\text{nm}$ 、 $2\text{nm}$  都有效，最常用的波长为  $253\text{nm}$ 、 $7\text{nm}$ ，若波长衰减到不在以上范围，应马上更换紫外灯管。无菌室灭菌一次约需照射  $30\text{min}$ 。用  $\gamma$  射线辐射对塑料培养器皿或一次性塑料制品灭菌效果更佳。

(3) 干热灭菌 干热灭菌常采用  $160^\circ\text{C}$ ，保温  $1\sim 2\text{h}$  的灭菌方法。对一些要求在灭菌后保持干燥状态的物品应采用电热鼓风烘箱干热灭菌（如玻璃培养器皿、移种吸管、接种针等）。

(4) 湿热灭菌 直接用高压蒸汽对物料或设备容器的灭菌。湿热灭菌是微生物发酵行业中普遍使用的主要灭菌方法。用蒸汽直接把物料升温到  $115\sim 140^\circ\text{C}$ ，保持一定时间，即可以杀死各种微生物。微生物发酵培养基常采用湿热灭菌，条件是  $121^\circ\text{C}$ ， $20\sim 30\text{min}$ 。因为高压饱和蒸汽可与培养基直接混合，其冷凝时可释放出大量冷凝热，并且湿热还对细胞壁具有强大的穿透力。高压蒸汽具有无毒、无有害的残留物和廉价等优点。因此在发酵工业上广泛使用其来灭菌培养基。

(5) 过滤灭菌 指利用微孔  $0.22\mu\text{m}$  滤膜过滤截留微生物的方法。由于在动物细胞培养基和植物细胞培养基中有许多热敏性营养物质，不能采用湿热灭菌方法，只能用过滤灭菌方法来处理。另外目前在发酵工业广泛采用微孔膜过滤技术来制备发酵用无菌空气。

## 第三节 培养基实罐灭菌的计算

将培养基配制在发酵罐里，用饱和蒸汽直接加热，以达到预定灭菌温度并保温维持一段时间，然后再冷却到发酵温度，这种灭菌过程称作培养基实罐灭菌或称培养基分批灭菌（工厂里称实消）。这种灭菌方法不需要其他辅助设备，操作简便，目前被大多数微生物发酵企业采用。但是有一点要特别注意：目前国内发酵罐都趋向大型化，发酵罐上的电机在无特殊要求时，都是按发酵罐通空气状态下的轴功率配置的，这类发酵罐若采用实罐灭菌工艺最佳的办法是采用变频调速电机，这样可以既保证实罐灭菌时物料需搅拌的要求，也能保证正常发酵过程搅拌率的要求。

### 1. 实罐灭菌前的准备

为了保证灭菌的成功，在实罐灭菌前，除培养基配制要注意溶解均一，不要含有结块、结团物或异物外，检查发酵罐的严密性尤为重要，特别要检查与发酵罐直接相连的阀门的严密

性。在大型发酵企业里通常每一批发酵结束后都要更换与发酵罐直接相连的橡胶夹膜阀的橡胶密封垫和不锈钢壳或铜壳塑王芯截止阀上的聚四氟乙烯密封垫，以保证整个发酵周期中的发酵罐的严密性。

## 2. 实罐灭菌操作过程

根据实罐灭菌过程，用表压 0.3~0.4MPa 的饱和蒸汽把培养基先加热升温到灭菌温度 (ab)，保温维持一段时间 (bc)，再冷却降温到发酵温度 (cd)。三个阶段见图 1-1。

培养基实罐灭菌操作过程如下 (图 1-2)：

① 把配制好的培养基泵入发酵罐内，密闭发酵罐后，开动搅拌。

② 稍开阀门 15 和阀门 9，引入蒸汽进夹套预热培养基至 75~90℃，保持夹套压强表的表压 50~100kPa。

③ 培养基预热到 75~90℃后，开阀门 1 和稍开阀门 4，排尽蒸汽管道中的冷凝水后，再开阀门 2，从空气管道引入蒸汽进发酵罐。关阀门 15，并停止搅拌。

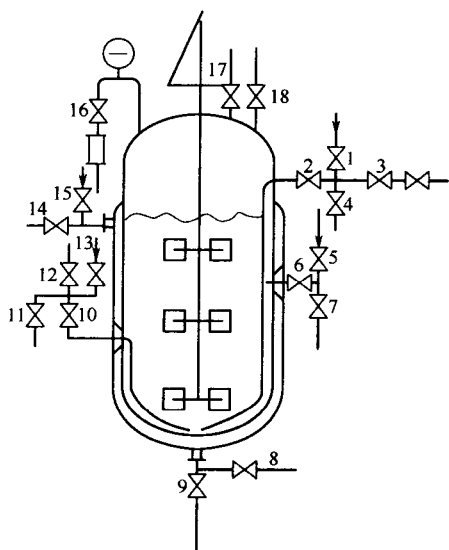


图 1-2 5m<sup>3</sup> 发酵罐配管图及实罐灭菌过程

④ 开阀门 5，稍开阀门 7，排尽蒸汽管道里的冷凝水后，开阀门 6，从取样管道引入蒸汽进发酵罐。

⑤ 开阀门 13，稍开阀门 11，排尽蒸汽管道里冷凝水后，开阀门 10，由出料管引入蒸汽进发酵罐。

⑥ 分别稍开阀门 16、阀门 17、阀门 18，排出活蒸汽，调节进汽阀门和排汽阀门的开度使罐压保持在表压 105kPa，温度恒定在 121℃，维持 20~25min。

⑦ 完成保温时间后，关一路排汽，再关一路进汽 (次序不能颠倒)，最后三路排汽与三路进汽全部关闭。

⑧ 开阀门 3 和阀门 2 引入无菌空气。

⑨ 开阀门 8，关阀门 9，开阀门 14，夹套引入冷却水，开搅拌，冷却降温到发酵工艺要求的温度。特别要注意，无菌空气未被引入发酵罐之前不能开夹套冷却水冷却培养基，不然易发生发酵罐的罐压跌零，罐体被吸瘪，这是不锈钢夹套发酵罐在实罐灭菌操作中常会发生事故。

在培养基实罐灭菌过程中要牢记：凡是与培养基接触的管道都要进蒸汽 (若罐上装有冲视镜管道，此管道也要进蒸汽)，凡是不与培养基接触的管道都要排汽。不带夹套的发酵罐，其除了采用蛇管来预热培养基与带夹套的发酵罐用夹套来预热培养基的不同外，其他培养基实罐灭菌的操作过程与以上步骤相同。

培养基实罐灭菌的质量优劣判别标准有四点：培养基灭菌后达到无菌要求；营养成分破坏少；灭菌后培养基体积与计料体积相符；泡沫要少。

在培养基实罐灭菌时，还应特别注意在高温灭菌时糖类物质容易被破坏且易和有机氮源相结合，并产生氨基糖，而对微生物会产生一定的毒性，严重时将会抑制微生物的生长发育，破坏整个发酵代谢过程。所以在青霉素工业化生产中，应将培养基中的乳糖和葡萄糖与培养基中其他成分分开灭菌，然后再混合起来；或者采用培养基连消工艺，把在高温下易相互反应的培养基组分在连消操作中分批投料灭菌。这样的灭菌工艺的罐批其青霉素发酵的单位会比全部培

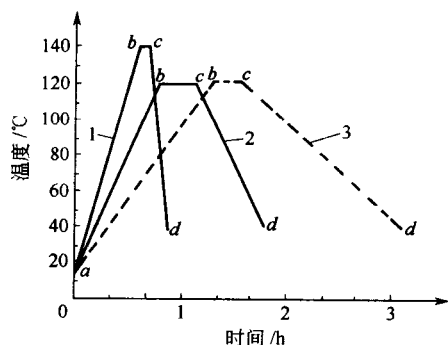


图 1-1 培养基灭菌过程分析

曲线 1—培养基连消；曲线 2—小罐实消；

曲线 3—大罐实消

ab—加热升温；bc—保温维持；cd—冷却降温

培养基放在一起灭菌工艺的罐批的青霉素发酵单位高出 10% 左右。

### 3. 培养基实罐灭菌时间的计算

根据俞俊棠主编的《抗生素生产设备》所介绍的对数残留定律，灭菌所需的时间可以用下式计算：

$$\tau = \frac{2.303}{K} \lg \frac{N_0}{N_s} \quad (1-1)$$

式中， $\tau$  为灭菌时间，s； $K$  为灭菌速度常数， $s^{-1}$ ，与灭菌温度和灭菌对象的菌种类有关； $N_0$  为开始灭菌时原有菌的个数，个； $N_s$  为结束灭菌时残留菌的个数，个。

又由于灭菌速度常数  $K$  与温度和被杀灭菌的种类有下列关系：

$$K = Ae^{-E/RT} \quad (1-2)$$

式中， $A$  为系数， $s^{-1}$ ； $E$  为灭菌时所需活化能，J/mol； $R$  为气体常数，8.314J/(mol·K)； $T$  为热力学温度，K。

在一般计算中都以培养基中最难杀灭的一种耐热杆菌的芽孢作为灭菌对象。

这时， $A = 1.34 \times 10^{36} s^{-1}$ ， $E = 284219.12 J/mol$ 。代入式(1-2)，可得到：

$$\lg K = \frac{-14845}{T} + 36.127 \quad (1-3)$$

在工业化发酵生产中通常不考虑培养基由室温升至 121°C 和由 121°C 冷却到发酵培养温度这两个阶段的灭菌效应，只是把保温维持阶段看作是培养基实罐灭菌的时间。这样就可以简便地利用式(1-1)和式(1-3)来求取灭菌所需要的时间。

**【例 1-1】** 有个发酵罐，内装培养基 40m<sup>3</sup>，现采用实罐灭菌，灭菌温度 121°C，问其灭菌需要多长时间？

**解：**在微生物发酵行业中一般常设灭菌前每毫升培养基中含有耐热菌的芽孢为  $2 \times 10^7$  个，灭菌失败的概率通常定为 0.001（灭菌后残留芽孢数为 0.001 个）。

$$N_0 = 40 \times 10^6 \times 2 \times 10^7 = 8 \times 10^{14} \text{ (个)}$$

$$N_s = 0.001 \text{ (个)}$$

$$\lg K = -14845/T + 36.127 = -14845/(273+121) + 36.127 = -1.55$$

$$K = 0.0281 \text{ (s}^{-1}\text{)}$$

$$\tau = \frac{2.303}{K} \lg \frac{N_0}{N_s} = \frac{2.303}{0.0281} \lg \frac{8 \times 10^{14}}{0.001} = 1442.6 \text{ (s)} = 24.0 \text{ (min)}$$

若考虑培养基加热升温阶段的灭菌效应，这样保温维持阶段时间会有多大变化呢？由于  $K$  是温度的函数，求升温阶段从温度  $T_1$  到灭菌温度  $T_2$  的平均灭菌速度常数  $K_m$ ，可用以下公式求取：

$$K_m = \frac{\int_{T_1}^{T_2} K dT}{T_2 - T_1} \quad (1-4)$$

同时培养基升温至  $T_2$  时菌的总数由  $N_0$  减少至  $N_p$ 。

由公式求取  $N_p$ ：

$$N_p = \frac{N_0}{e^{K_m \tau_p}} \quad (1-5)$$

$$\tau = \frac{2.303}{K} \lg \frac{N_0}{N_p} \quad (1-6)$$

**【例 1-2】** 同 [例题 1-1]，若考虑培养基加热升温过程的灭菌效应，通常由 100°C 作为起始灭菌温度，在本题是培养基从 100°C 上升至 121°C 共需 15min。求培养基保温维持阶段所需时间。

**解：** $T_1 = 273 + 100 = 373 \text{ (K)}$ ， $T_2 = 273 + 121 = 394 \text{ (K)}$

$$K_m = \frac{\int_{T_1}^{T_2} KdT}{T_2 - T_1}$$

上式中  $\int_{T_1}^{T_2} KdT$  可由以下图解积分法求取（也可采用 Simpson 图解积分法求取）。

根据题意分别求得 273~394K 对应的  $K$  值列表，图解积分法求  $\int_{T_1}^{T_2} KdT$ 。

T/K	373	376	379	382	385	388	391	394
K/s <sup>-1</sup>	2.13×10 <sup>-4</sup>	4.42×10 <sup>-4</sup>	9.08×10 <sup>-4</sup>	1.84×10 <sup>-3</sup>	3.70×10 <sup>-3</sup>	7.36×10 <sup>-3</sup>	1.45×10 <sup>-2</sup>	2.81×10 <sup>-2</sup>

$$\int_{373}^{394} KdT = 32 \times 0.004 = 0.128$$

$$K_m = \frac{\int_{T_1}^{T_2} KdT}{T_2 - T_1} = \frac{0.128}{394 - 373} = 0.0061 \text{ (s}^{-1}\text{)}$$

根据公式(1-5)，求得加热升温段结束时芽孢个数  $N_P$ ：

$$N_P = \frac{N_0}{e^{K_m \tau_P}} = \frac{8 \times 10^{14}}{e^{0.0061 \times 15 \times 60}} = \frac{8 \times 10^{14}}{e^{5.49}} = \frac{8 \times 10^{14}}{242.3} = 3.3 \times 10^{12} \text{ (个)}$$

根据公式(1-6)，求取保温阶段灭菌时间：

$$\begin{aligned} \tau &= \frac{2.303}{K} \lg \frac{N_P}{N_S} = \frac{2.303}{0.0281} \lg \frac{3.3 \times 10^{12}}{0.001} \\ &= \frac{2.303 \times 15.519}{0.0281} = 1271.86 \text{ (s)} = 21.2 \text{ (min)} \end{aligned}$$

由此可见，若考虑加热升温阶段的灭菌效应，保温

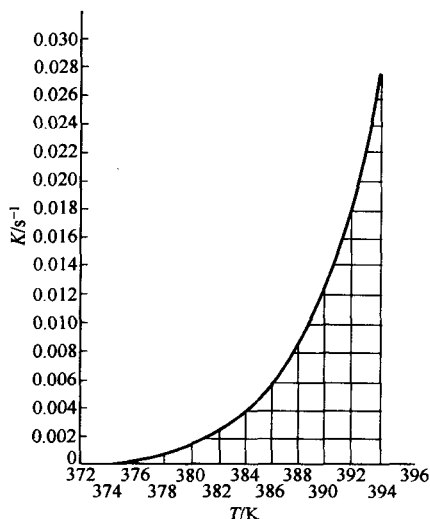
时间比 [例 1-1] 缩短了 12%。目前发酵工业采用培养基实罐灭菌的发酵罐体积越来越大 (60~100m<sup>3</sup>)，这样培养基的加热升温阶段时间很长，为了不使培养基受热时间过长，营养成分破坏过多，应该要考虑加热升温阶段的灭菌效应。反之，发酵罐体积在 40m<sup>3</sup> 以下，可以不考虑加热升温阶段的灭菌效应，这样可以避免复杂的变温灭菌过程的计算。实际上培养基加热过程有灭菌效应，培养基达到灭菌保温时间后，由灭菌温度冷却至发酵培养温度的过程也有灭菌效应，所以在灭菌操作时不要人为地再延长灭菌时间作为安全系数，这样会导致培养基营养成分破坏过大，导致发酵单位下降。

#### 4. 培养基实罐灭菌过程的热量计算

在发酵车间设计时，其中要确定发酵车间公用工程量——蒸汽用量的计算，其方法应该分别计算出发酵车间每个使用蒸汽设备的蒸汽消耗量，然后把在同一个时刻不能错开的用汽设备叠加起来求得这个车间的最大用蒸汽负荷量。在发酵车间，培养基实罐灭菌用汽量最大，实罐灭菌可以分成升温、保温灭菌和冷却三个阶段。

(1) 升温阶段 把培养基从室温加热到灭菌温度。升温一般有两种方式：其一，为了防止灭菌后培养基体积过大，通过夹套或蛇管间接把培养基加热到 75~90℃，然后再将蒸汽直接通入培养基加热至灭菌温度；其二，当发酵罐较大，间接加热时间实在太长，根据经验确定好配料体积，直接用活蒸汽把培养基从室温加热至灭菌温度。

① 间接加热。培养基的间接加热是不稳定传热过程，在不稳定传热时，为了简便计算，传热系数  $K$  一般可取其平均值来进行计算，在开动发酵罐搅拌时，夹套平均传热系数可取



830~1250kJ/(m<sup>2</sup>·h·°C)，不锈钢式蛇管可取 1250~1900kJ/(m<sup>2</sup>·h·°C)。间接加热所需时间可用式(1-7) 求取：

$$\tau = \frac{Gc}{KA} \ln \frac{t_s - t_1}{t_s - t_2} \quad (1-7)$$

式中， $\tau$  为间接加热所需时间，h； $G$  为培养基质量，kg； $c$  为培养基的比热容，kJ/(kg·°C)； $K$  为加热过程中平均传热系数，kJ/(m<sup>2</sup>·h·°C)； $A$  为传热面积，m<sup>2</sup>； $t_s$  为加热蒸汽温度，°C； $t_1$  为开始加热时培养基温度，°C； $t_2$  为加热结束时培养基温度，°C。

间接加热蒸汽消耗量可用公式(1-8) 求得：

$$S = \frac{Gc(t_2 - t_1)}{r} (1 + \eta) \quad (1-8)$$

式中， $S$  为蒸汽消耗量，kg； $r$  为蒸汽的汽化热，kJ/kg； $\eta$  为加热过程中热损失，可取 5%~10%。

② 直接加热蒸汽消耗量。直接加热过程蒸汽消耗量可用公式(1-9) 求得：

$$S = \frac{Gc(t_2 - t_1)}{i - c_s t_2} (1 + \eta) \quad (1-9)$$

式中， $S$  为加热蒸汽用量，kg； $i$  为蒸汽的热焓，kJ/kg； $c_s$  为冷凝水的蒸汽比热容，kJ/(kg·°C)； $G$  为培养基的质量，kg； $c$  为培养基的比热容，kJ/(kg·°C)； $\eta$  为在加热过程中散失的热量，可取 5%~10%。

(2) 保温阶段的蒸汽消耗量 一般 50m<sup>3</sup> 以下的培养基实罐灭菌操作中，把保温维持阶段的时间就看作是培养基的灭菌时间。实罐灭菌操作中，蒸汽就是从与培养基相接触的管道连续进入，从不与培养基相接触的管道连续排出（进气的阀门开得大，排气开得小），由于操作人员的操作习惯不一样，因此蒸汽消耗量很难准确计算，可用公式(1-10) 估算：

$$S = 1.19 F \tau \sqrt{P/v} \quad (1-10)$$

式中， $S$  为蒸汽的消耗量，kg； $F$  为蒸汽排出口的总截面积，cm<sup>2</sup>； $\tau$  为蒸汽排出的时间，即保温阶段时间，min； $P$  为发酵罐内蒸汽的绝对压，Pa； $v$  为蒸汽的比容，m<sup>3</sup>/kg。

或者根据经验估算： $S = (30\% \sim 50\%) \times$  直接加热蒸汽消耗量

小于 5m<sup>3</sup> 发酵罐取 50%，大于 5m<sup>3</sup> 发酵罐可取 30%左右。

(3) 培养基冷却阶段 培养基经灭菌后，立即冷却至发酵培养要求的温度。在冷却操作时，发酵罐应先引入灭菌空气，然后再开夹套或蛇管的冷却水，以免发酵罐“跌零磅”和避免带夹套的不锈钢发酵罐体被吸瘪变形。培养基的冷却过程也系不稳定传热过程，可用式(1-11) 计算冷却时间，用式(1-12) 计算冷却水用量：

$$\tau = \frac{Gc_1}{Wc_2 A - 1} \ln \frac{t_{1s} - t_{2s}}{t_{1f} - t_{2s}} \quad (1-11)$$

$$A = e^{KF \cdot Wc_2} = \frac{t_1 - t_{2s}}{t_1 - t_2} \quad (1-12)$$

式中， $\tau$  为冷却所需时间，h； $W$  为冷却水的用量，kg/h； $c_1$  为培养基的比热容，kJ/(kg·°C)； $c_2$  为冷却水的比热容，kJ/(kg·°C)； $t_{1s}$  为培养基开始冷却时温度，°C； $t_{1f}$  为培养基冷却结束时的温度，°C； $t_{2s}$  为冷却水进口温度，°C； $t_1$  为培养基冷却过程中某时刻的温度，°C； $t_2$  为对应培养基  $t_1$  温度时冷却水出口温度，°C； $G$  为培养基质量，kg； $K$  为平均传热系数，kJ/(m<sup>2</sup>·h·°C)； $F$  为传热面积，m<sup>2</sup>。

(4) 发酵罐空罐灭菌蒸汽消耗量的估算

$$S = V_F \cdot \rho_S \times 5 \text{ 倍左右} \quad (1-13)$$

式中,  $S$  为蒸汽的消耗量,  $\text{kg}$ ;  $V_F$  为发酵罐的全容积,  $\text{m}^3$ ;  $\rho_S$  为灭菌罐压下蒸汽的密度,  $\text{kg}/\text{m}^3$ 。

**【例 1-3】** 有一个  $40\text{m}^3$  发酵罐内装培养基  $28\text{m}^3$ , 不锈钢蛇管传热面积  $30\text{m}^2$ , 采用实罐灭菌。培养基原始温度  $25^\circ\text{C}$ , 用  $196\text{kPa}$  (表压) 蒸汽通过蛇管间接加热培养基至  $90^\circ\text{C}$ 。①求加热时间和蒸汽用量各为多少? ②若直接用蒸汽把培养基由  $25^\circ\text{C}$  加热到  $90^\circ\text{C}$  需用蒸汽量和时间? ③若用  $10^\circ\text{C}$  冷却水冷却灭菌后的培养基, 将其从  $120^\circ\text{C}$  冷却到  $30^\circ\text{C}$ , 求冷却水用量及冷却时间各为多少? (实测当培养基  $t_1$  为  $80^\circ\text{C}$ , 此时冷却水出口温度为  $30^\circ\text{C}$ )

解: 已知  $G=28000\text{kg}$ ,  $F=30\text{m}^2$ 。

① 间接加热过程的时间及蒸汽量,  $t_s=132.9^\circ\text{C}$  (查  $196\text{kPa}$  表压蒸汽温度)

$t_1=25^\circ\text{C}$ ,  $t_2=90^\circ\text{C}$ ,  $K=1674\text{kJ}/(\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot ^\circ\text{C})$ ,  $c=4.18\text{kJ}/(\text{kg} \cdot ^\circ\text{C})$ ,  $F=30\text{m}^2$

由式(1-7):

$$\tau = \frac{Gc}{KA} \ln \frac{t_s - t_1}{t_s - t_2} = \frac{28000 \times 4.18}{1674 \times 30} \ln \frac{132.9 - 25}{132.9 - 90} = 2.14 \text{ (h)}$$

由式(1-8):

$$\begin{aligned} S &= \frac{Gc(t_2 - t_1)}{r} (1 + \eta) \\ &= \frac{28000 \times 4.18 \times 65}{2169} \times (1 + 0.05) \\ &= 3686.3 \text{ (kg)} \end{aligned}$$

查  $297\text{kPa}$  绝对压  $r=2169\text{kJ}/\text{kg}$ ,  $\eta$  取  $5\%$ 。

② 直接加热过程的时间与蒸汽用量

由式(1-9):

$$\begin{aligned} S &= \frac{Gc(t_2 - t_1)}{i - c_s t_2} \times (1 + \eta) \\ &= \frac{28000 \times 4.18 \times (90 - 25)}{2728 - 4.18 \times 25} (1 + 0.05) \\ &= 2899.8 \times 1.05 \\ &= 3044.8 \text{ (kg)} \end{aligned}$$

由  $25^\circ\text{C}$  加热到  $90^\circ\text{C}$  所需时间  $\tau$ 。

由  $196\text{kPa}$  (表压) 蒸汽查得比体积  $V=0.613\text{m}^3/\text{kg}$ 。

$F$  为进蒸汽管道的截面积,  $\text{m}^2$ ;  $\omega$  为蒸汽管道中的流速,  $\text{m}/\text{s}$ , 取  $\omega=25\text{m}/\text{s}$ 。

$$\tau = \frac{SV}{F\omega}$$

$40\text{m}^3$  发酵罐的出料管与进空气管  $\phi 108\text{mm} \times 4\text{mm}$ , 由此二根管道同时引入蒸汽

$$F = \frac{\pi}{4} d^2 \times 2 = 0.785 \times 0.1^2 \times 2 = 0.0157 \text{ (m}^2\text{)}$$

$$\tau = \frac{3044.8 \times 0.613}{0.0157 \times 25} = 4755.3 \text{ (s)} = 1.32 \text{ (h)}$$

由此例题可以看到, 用蒸汽直接加热培养基到  $90^\circ\text{C}$ , 时间比采用夹套或蛇管间接加热培养基到  $90^\circ\text{C}$  可缩短  $38.3\%$ , 蒸汽消耗量可以减少  $17.4\%$ 。这给我们一个启示, 当大型发酵罐培养基实罐灭菌时, 为缩短加热升温过程时间, 可以采用直接蒸汽加热方法, 关键要控制好配料体积的量, 使灭菌后蒸汽的冷凝水加上实际配料体积正好等于培养基的计料体积。

③ 冷却阶段的时间与冷却水用量

已知:  $t_{1s}=120^\circ\text{C}$ ,  $t_{2s}=10^\circ\text{C}$ ,  $t_{1f}=30^\circ\text{C}$ 。

$$K=1674\text{kJ}/(\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot ^\circ\text{C}), c_1=c_2=4.184\text{kJ}/(\text{kg} \cdot ^\circ\text{C})$$

由式(1-12) 计算所需冷却水流量

$$A=e^{KF/Wc_2} = \frac{t_1-t_{2s}}{t_1-t_2} = \frac{80-10}{80-30} = 1.4$$

$$W=KF/(\ln A c_2) = 1674 \times 30 / (\ln 1.4 \times 4.184) = 35672.7(\text{kg}/\text{h}) = 35.67(\text{t}/\text{h})$$

由式(1-11) 计算冷却所需时间:

$$\tau = \frac{Gc_1}{Wc_2 A - 1} \ln \frac{t_{1s} - t_{2s}}{t_{1f} - t_{2s}} = \frac{28000}{35672.7 \times 1.4 - 1} \ln \frac{120 - 10}{30 - 10} = 4.68(\text{h})$$

## 第四节 培养基连续灭菌的设备及计算

培养基连续灭菌工艺是把发酵罐预先灭菌好, 将培养基在发酵罐外采用高效设备连续不断地进行加热, 保温灭菌和冷却, 然后连续进入已灭菌好的发酵罐里。这种培养基灭菌方法称作连续灭菌, 工厂里也称连消。

连续灭菌工艺有很多优点。①采用高温、快速灭菌, 物料受热时间短、营养成分破坏少, 培养基连消后质量好, 发酵单位高。作者曾在上海多家抗生素厂带学生毕业实习时发现, 培养基采用连续灭菌比采用实罐灭菌发酵单位会提高 10% 左右, 尤其是培养中乳糖、葡萄糖含量较高的产品。②由于灭菌时间短, 发酵罐的利用率高。③蒸汽负荷均衡, 锅炉利用高。④适宜采用自动控制。⑤减低劳动强度。

但由于培养基采用了连续灭菌工艺, 培养基的加热、保温灭菌、冷却都是在发酵罐外完成, 因此需要一套连续灭菌设备和较稳定的饱和蒸汽, 其压强要求  $\geq 0.5\text{MPa}$ 。

### 一、连续灭菌的设备

培养基连续灭菌系统设备由配料罐(池)、送料泵、预热罐、连消泵、加热器、维持罐和冷却器 7 个关键设备组成(图 1-3)。

#### 1. 加热器

原材料在配料罐内配制成液体培养基, 经送料泵至预热罐。在预热罐内蛇管把培养基加热

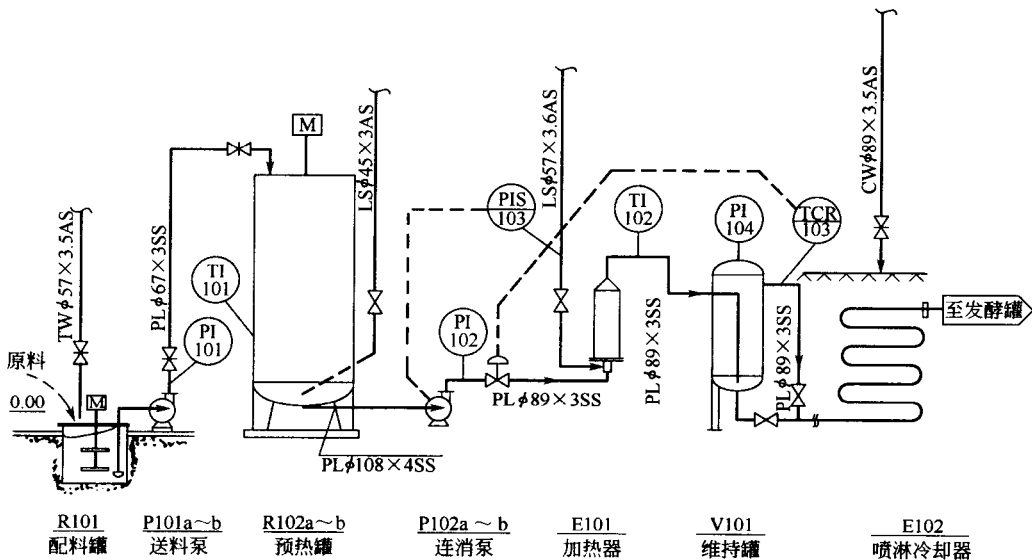


图 1-3 培养基连续灭菌系统设备流程图

至 75~90℃ 后，由连消泵连续打入加热器内，要求在 20~30s 或更短的时间内将培养基加热至 130~140℃。目前微生物发酵企业中一般都采用 0.5~0.8MPa（表压）的蒸汽与预热后的培养基直接混合加热。目前加热器使用得最广泛的加热器有塔式加热器和喷射式加热器。

(1) 塔式加热器

① 塔式加热器的结构。塔式加热器企业里又称连消塔（图 1-4），设备的中央是蒸汽导入管，在其管壁上开有与管壁成 45° 夹角的小孔，孔径一般为 5~8mm。孔数按小孔的总面积等于或略小于蒸汽导入管的截面积。小孔在导入管上的分布是上稀下密，这样有利于蒸汽能均匀地从各小孔中喷出。料液从塔的下部由连消泵打入，打料速度控制在使物料在蒸汽导入管与设备外壳的空隙间流速为 0.1m/s 左右。塔式加热器的有效高度为 2~3m，物料在塔中停留加热时间为 20~30s。塔式加热器的加工关键是蒸汽导入管上小孔的加工和小孔的分布。如小孔加工不适宜，设备操作时噪声和震动较大。

② 塔式加热器的设计。

a. 培养基由 75℃ 加热至 135℃，计算出加热蒸汽的用量 (kg/h)：

$$S = \frac{Gc(t_f - t_s)}{i - t_{fc}} (1 + \eta) = \frac{1.1Gc}{i - t_{fc}} \quad (1-14)$$

式中，S 为加热蒸汽的用量，kg/h；G 为打料量，kg/h； $t_f$  为加热塔出口的料液温度，℃； $t_s$  为进入加热塔的料液温度，℃； $i$  为蒸汽的热焓，kJ/kg； $c$  为培养基的比热容，kJ/(kg·℃)； $\eta$  为热量损失 5%~10%，取 10%。

b. 塔式加热器蒸汽导入管径的计算。

$$sv = \frac{\pi}{4} d_{内}^2 \omega_s \quad (1-15)$$

$$d_{内} = \sqrt{\frac{sv}{0.785 \times 3600 \omega_s}}$$

式中， $d_{内}$  为蒸汽导入管内径，m； $\omega_s$  为蒸汽导入管道内的流速，20~25m/s； $v$  为蒸汽的比体积，m<sup>3</sup>/kg。

计算得到的  $d_{内}$  要圆整到标准钢管规格。

c. 加热塔塔身内径的设计。

$$\frac{\pi}{4} (D_{内}^2 - d_{外}^2) \omega_m = V_m + V_s$$

$$D_{内} = \sqrt{\frac{V_m + V_s}{3600 \times 0.785 \omega_m} + d_{外}^2} \quad (1-16)$$

式中， $d_{外}$  为蒸汽导入管的外径，m； $D_{内}$  为加热塔内径，m； $V_m$  为培养基打料量，m<sup>3</sup>/h； $V_s$  为加热蒸汽消耗量折成冷凝水的体积流量，m<sup>3</sup>/h； $\omega_m$  为混合物料在加热塔环隙中流速，控制在 0.1m/s。

d. 加热塔有效塔高的设计。

$$H = \omega_m \tau = 0.1\tau \quad (1-17)$$

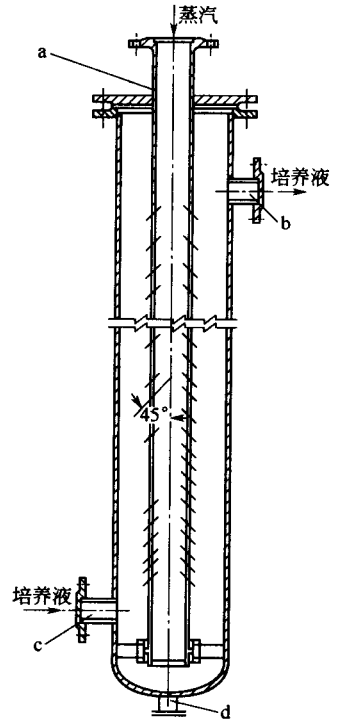


图 1-4 连消塔的结构图  
a—蒸汽导入管；b—培养基出口；  
c—培养基进口；d—排污口



式中,  $\tau$  为培养基在塔中加热停留时间, 20~30s。

e. 蒸汽导入管上的开孔与小孔数的设计。

蒸汽导入管的小孔与管壁的夹角呈  $45^\circ$ , 小孔直径可取 5~8mm。

小孔总面积=蒸汽导入管截面积的 80%~100%

$$n \frac{\pi}{4} d_{\text{孔}}^2 = \frac{\pi}{4} d_{\text{内}}^2$$

$$n = \left( \frac{d_{\text{内}}}{d_{\text{孔}}} \right)^2 \varphi \quad (1-18)$$

式中,  $n$  为小孔的个数, 个;  $d_{\text{内}}$  为蒸汽导入管的内径, m;  $d_{\text{孔}}$  为小孔的直径, 一般取 5mm;  $\varphi$  为开孔率, 80%~100%。

## (2) 喷射式加热器

① 喷射式加热器的结构。喷射式加热器的特点是蒸汽和物料密切混合、加热在瞬间内完成 [图 1-5(a)], 蒸汽由侧面进入, 物料由喷嘴喷出, 在加热器内被均匀混合加热。图 1-5 (b) 是目前微生物发酵企业采用较多的喷射加热器, 也称连消加热器。这种加热器的喷嘴与一般喷嘴不同: 料液由中央进入, 蒸汽则在环隙中进入, 同时在喷嘴出口处有一个扩大端, 扩大端顶端上方设置一块弧形挡板, 目的是增强蒸汽与料液的混合加热效果。培养基在进入加热器时流速约为 1.2m/s, 蒸汽喷出口的环隙面积约为料液出口管的内截面积相同, 扩大端的直径与喷嘴外径之比约为 2, 整个加热器高度在 1.5m 左右。这种加热器结构简单, 性能稳定, 噪声少, 无震动。

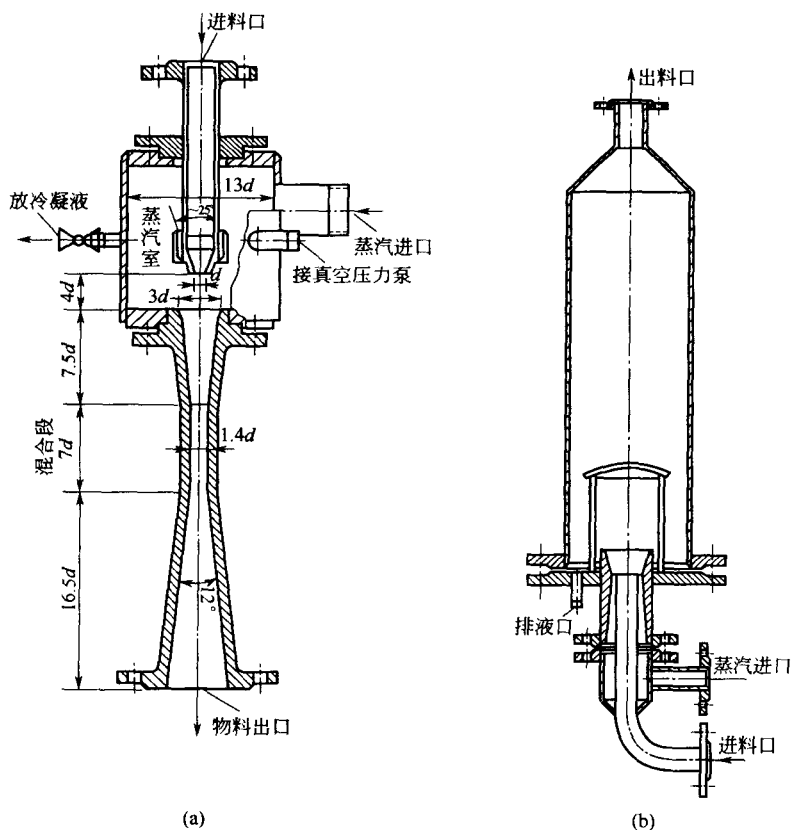


图 1-5 喷射式加热器结构