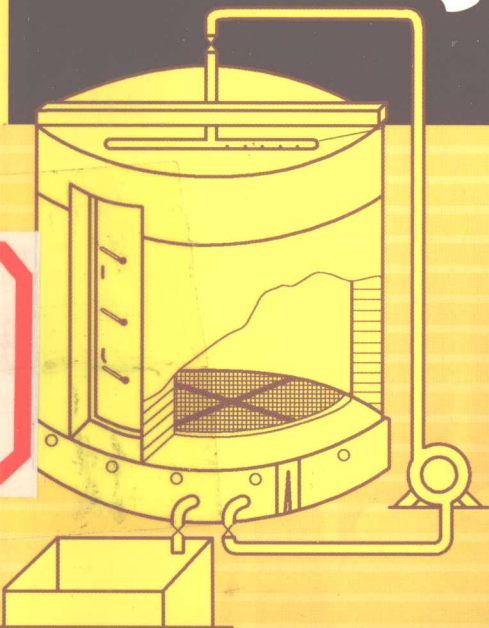


SHENGWU FAJIAO JISHU YU SHEBEI CAOZUO

# 生物发酵技术与设备操作

黄儒强 李玲 编著



化学工业出版社

SHENGWU FAJIAO JISHU YU SHEBEI CAOZUO

# 生物发酵技术与设备操作

黄儒强 李玲 编著



化学工业出版社

·北京

本书共分九章,系统讲述了与发酵生产密切相关的安全知识、数据处理、培养基和菌种,以及生物发酵工艺和设备及参数测定等内容。该书在基础理论讲解的基础上,重点介绍了典型生物发酵产品的工艺及相关设备,具有可操作性,以指导读者在接近生产实际的条件下进行生物工程实验和生产;结合发酵生产“绿色环保”的实际需求,本书讲述了UASB反应器处理生物废水的相关内容。另外,书后附录列举了50余种常见培养基以及十余种缓冲液的配方。内容丰富实用,重点突出。

本书可供生物工程、食品工程、环境工程等专业的师生参考,可兼作理论课和实验操作课教材;也适用于食品和有机酸等生物制品相关行业的生产和技术人员参考。

### 图书在版编目(CIP)数据

生物发酵技术与设备操作/黄儒强,李玲编著. —北京:  
化学工业出版社,2006.8  
ISBN 7-5025-9262-8

I. 生… II. ①黄…②李… III. ①发酵-生物技术-工艺  
②发酵-生物技术-化工设备 IV. TQ920

中国版本图书馆CIP数据核字(2006)第103370号

---

### 生物发酵技术与设备操作

黄儒强 李玲 编著

责任编辑:梁静丽 孟嘉

责任校对:郑捷

封面设计:胡艳玮

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新里3号 邮政编码100029)

购书咨询:(010)64982530

(010)64918013

购书传真:(010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

新华书店北京发行所经销

北京市彩桥印刷有限责任公司印装

开本787mm×1092mm 1/16 印张13½ 字数330千字

2006年9月第1版 2006年9月北京第1次印刷

ISBN 7-5025-9262-8

定价:30.00元

---

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责退换

# 前言

生物发酵产品如抗生素、有机酸、酱油、食醋、酒类等，对人们的日常生活产生了巨大的影响：酿酒在我国已有五千多年的历史，伴随着中华文明的发展，酒文化更是贯穿于人们生活的各个方面；同时，酱油和醋是人们居家必不可少的调味佳品；对于抗生素而言，自发酵技术诞生后，它为人类战胜疾病、共享健康带来了福音；有机酸发酵技术对提高食品等生物制品的质量发挥了十分重要的作用……特别是随着生物科技的发展，生物发酵制品的生产技术水平得到了很大的提高，使发酵产品的质量也有了充分的保障。因此，无论从与国民生活的相关性，还是从生物工程学科发展的角度来看，生物发酵技术具有十分重要的地位。与之相关的是，对生物工程技术人员的培养也应建立在实践基础上，既不但要求其具有扎实的理论知识，还要求其具备丰富的实践经验，这样才能够适应实践生产的各个环节，为社会做出应有的贡献。但因发酵学科及实践发展的局限，早期培养的生物工程专业技术人员的实践技能与社会需求有一定的差距，一个主要的原因是缺乏生产经验。再者，在技术人员培训或者师生学习的过程中，生物工程实践操作大多数局限在实验室完成，不熟悉工厂生产流程及设备操作，不能够很好地跟生产实际相结合，导致技术人员动手能力差，难以应对生产中出现的各种问题，无法满足生产研发企业的需求。编者是长期从事此领域学产研人员，深感有责任和义务为培养合格的生物工程技术人员出一份力。为此，我们结合工作实践编写了《生物发酵技术与设备操作》这本书。其目的是本着在培训或教学环节中加强实际生产的技术指导，使图书内容更符合生产的需要，同时，也为从事生物发酵技术及食品生物技术的管理、科研和生产技术人员提供参考。

《生物发酵技术与设备操作》一书共分九章，深入浅出地介绍了与发酵生产密切相关的实验室和生产的安全知识、数据处理、培养基和菌种，以及生物发酵工艺和设备及参数测定等内容。该书的主要特色是加强对生物发酵制成品、生产原料和工艺流程及控制等环节进行分析及讨论，部分内容是编者在生产实践中的研究成果，具有可操作性，以指导读者在接近生产实际的条件下进行生物工程实验和生产，较好地克服了理论与实践脱节的弊端。

# 前 言

另外，结合发酵工厂“绿色环保”的实际需求，本书讲述了UASB反应器处理生物废水的相关内容。重点突出，有利于读者了解、掌握生物发酵技术应用的知识。

本书主要由黄儒强和李玲撰写，其中第7章7.1~7.6由华南理工大学的朱明军博士编写，第6章6.8由华南师范大学的尤蓉老师编写。华南师范大学生命科学学院的陈振军、曾文辉和甘灿荣等在书稿插图的绘制和文字输入等方面也做了大量的工作。本书承蒙华南理工大学生物科学与工程学院博士生导师梁世中教授审阅，在此对梁世中教授表示衷心的感谢。同时也对本书编写过程中所参阅文献的作者表示诚挚的谢意。

由于编者水平有限，本书难免会有错漏和不妥之处，敬请广大同行读者批评指正。

编 者

2006年8月

# 目 录

|                       |           |
|-----------------------|-----------|
| <b>第 1 章 实验室安全与环保</b> | <b>1</b>  |
| 1.1 实验室安全知识           | 1         |
| 1.1.1 实验室常用危险品及预防措施   | 1         |
| 1.1.2 水、电、蒸汽的正确使用     | 2         |
| 1.1.3 高压容器的正确使用       | 3         |
| 1.1.4 实验室的防火与防爆       | 3         |
| 1.2 实验室环保知识           | 4         |
| 1.2.1 理化实验室的废液        | 5         |
| 1.2.2 废液处理注意事项        | 5         |
| 1.2.3 实验室废弃物处理的一般原则   | 5         |
| 1.2.4 实验室废弃物的处理方法     | 6         |
| 1.2.5 有机溶剂的回收与提纯      | 7         |
| 1.2.6 建立绿色实验室         | 7         |
| 1.3 生物安全性             | 8         |
| 1.3.1 基因工程安全          | 8         |
| 1.3.2 微生物安全           | 8         |
| 1.3.3 其他              | 9         |
| 1.3.4 注意事项            | 10        |
| <b>第 2 章 数据处理与分析</b>  | <b>11</b> |
| 2.1 预备知识              | 11        |
| 2.1.1 实验数据的误差分析       | 11        |
| 2.1.2 误差的表示方法         | 12        |
| 2.2 实验数据的处理           | 14        |

|                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| 2.2.1 有效数字及其应用 .....        | 14        |
| 2.2.2 可疑测定值的舍弃 .....        | 16        |
| 2.2.3 显著性检验法 .....          | 17        |
| 2.3 实验报告的撰写 .....           | 19        |
| 2.3.1 实验记录 .....            | 19        |
| 2.3.2 实验报告 .....            | 20        |
| <b>第3章 培养基 .....</b>        | <b>22</b> |
| 3.1 培养基的种类 .....            | 22        |
| 3.1.1 基础培养基 .....           | 22        |
| 3.1.2 鉴别培养基 .....           | 22        |
| 3.1.3 选择培养基 .....           | 22        |
| 3.1.4 特殊培养基 .....           | 23        |
| 3.1.5 活体培养基 .....           | 23        |
| 3.2 培养基的成分和制备 .....         | 23        |
| 3.2.1 培养基的成分 .....          | 23        |
| 3.2.2 培养基制备的基本要点 .....      | 27        |
| <b>第4章 菌种的制备和保藏 .....</b>   | <b>30</b> |
| 4.1 菌种的制备 .....             | 30        |
| 4.1.1 微生物的培养方法 .....        | 30        |
| 4.1.2 种子的制备过程 .....         | 31        |
| 4.1.3 种子培养方法 .....          | 32        |
| 4.2 菌种保藏 .....              | 33        |
| 4.2.1 菌种保藏的目的 .....         | 33        |
| 4.2.2 菌种保藏的方法 .....         | 34        |
| 4.3 种子质量的控制 .....           | 42        |
| 4.3.1 孢子质量的影响因素与控制 .....    | 43        |
| 4.3.2 种子质量的影响因素与控制 .....    | 45        |
| 4.3.3 种子异常的分析 .....         | 47        |
| 4.4 优良菌种的选育 .....           | 47        |
| 4.4.1 自然选育 .....            | 48        |
| 4.4.2 诱变育种 .....            | 49        |
| <b>第5章 发酵罐操作与灭菌技术 .....</b> | <b>50</b> |
| 5.1 小型发酵罐操作和酵母菌培养 .....     | 50        |
| 5.1.1 设备与材料 .....           | 50        |
| 5.1.2 发酵罐操作步骤 .....         | 50        |
| 5.1.3 酵母菌培养 .....           | 51        |
| 5.1.4 取样与分析方法 .....         | 51        |
| 5.2 发酵罐的空消技术 .....          | 51        |
| 5.2.1 发酵罐的清洗 .....          | 51        |

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| 5.2.2 发酵罐空消操作 .....      | 52        |
| 5.3 发酵罐的实消技术 .....       | 52        |
| 5.3.1 进料 .....           | 52        |
| 5.3.2 液化 .....           | 52        |
| 5.3.3 实消 .....           | 52        |
| <b>第6章 生物发酵工艺 .....</b>  | <b>53</b> |
| 6.1 抗生素发酵 .....          | 53        |
| 6.1.1 抗生素生产概述 .....      | 53        |
| 6.1.2 庆大霉素发酵 .....       | 54        |
| 6.2 有机酸发酵 .....          | 56        |
| 6.2.1 原料及其处理 .....       | 57        |
| 6.2.2 菌种扩大培养 .....       | 58        |
| 6.2.3 柠檬酸发酵工艺 .....      | 60        |
| 6.3 酱油发酵 .....           | 65        |
| 6.3.1 原料 .....           | 65        |
| 6.3.2 种曲的制备 .....        | 67        |
| 6.3.3 制曲 .....           | 70        |
| 6.3.4 发酵控制 .....         | 75        |
| 6.3.5 浸泡及滤油操作 .....      | 80        |
| 6.3.6 加热及配制 .....        | 81        |
| 6.4 食醋发酵 .....           | 84        |
| 6.4.1 原料及其处理 .....       | 85        |
| 6.4.2 糖化发酵剂 .....        | 88        |
| 6.4.3 食醋的发酵法 .....       | 89        |
| 6.5 葡萄酒发酵 .....          | 102       |
| 6.5.1 概述 .....           | 102       |
| 6.5.2 葡萄酒酵母 .....        | 104       |
| 6.5.3 葡萄酒的发酵机理 .....     | 106       |
| 6.5.4 葡萄汁的改良 .....       | 108       |
| 6.5.5 红葡萄酒的酿造 .....      | 111       |
| 6.5.6 葡萄酒的稳定性与储存管理 ..... | 117       |
| 6.6 白酒发酵 .....           | 122       |
| 6.6.1 固态发酵法 .....        | 122       |
| 6.6.2 半固态发酵法 .....       | 134       |
| 6.6.3 液态发酵法 .....        | 139       |
| 6.7 啤酒发酵 .....           | 144       |
| 6.7.1 原料及辅料 .....        | 144       |
| 6.7.2 麦芽的制造 .....        | 147       |
| 6.7.3 麦汁的制备 .....        | 149       |

|                                 |            |
|---------------------------------|------------|
| 6.7.4 啤酒发酵工艺 .....              | 150        |
| 6.8 酶制剂发酵 .....                 | 154        |
| 6.8.1 固定化技术 .....               | 154        |
| 6.8.2 固定化微生物细胞发酵产酶 .....        | 155        |
| 6.8.3 发酵工艺条件及其控制 .....          | 156        |
| 6.8.4 酶的提取 .....                | 158        |
| 6.8.5 微生物发酵生产酶制剂 .....          | 158        |
| <b>第7章 发酵参数的测定 .....</b>        | <b>164</b> |
| 7.1 发酵罐溶氧速率测定实验 .....           | 164        |
| 7.1.1 实验任务 .....                | 164        |
| 7.1.2 实验装置 .....                | 164        |
| 7.1.3 实验原理及方法 .....             | 164        |
| 7.1.4 数据整理及分析 .....             | 166        |
| 7.2 纤维过滤常数测定实验 .....            | 166        |
| 7.2.1 实验任务 .....                | 166        |
| 7.2.2 实验装置 .....                | 166        |
| 7.2.3 实验原理及方法 .....             | 167        |
| 7.2.4 数据整理及分析 .....             | 168        |
| 7.3 摇瓶溶氧系数的测定 .....             | 169        |
| 7.3.1 实验任务 .....                | 169        |
| 7.3.2 仪器及试剂 .....               | 169        |
| 7.3.3 实验原理及方法 .....             | 170        |
| 7.3.4 实验记录及计算 .....             | 170        |
| 7.4 传热设备 $K$ 值的确定 .....         | 170        |
| 7.4.1 实验任务 .....                | 171        |
| 7.4.2 实验原理和方法 .....             | 171        |
| 7.4.3 实验方式 .....                | 171        |
| 7.5 蒸发实验 .....                  | 172        |
| 7.5.1 实验任务 .....                | 172        |
| 7.5.2 实验装置 .....                | 172        |
| 7.5.3 实验原理及方法 .....             | 173        |
| 7.5.4 实验操作步骤 .....              | 173        |
| 7.5.5 实验报告 .....                | 174        |
| 7.6 制冷系数测定实验 .....              | 174        |
| 7.6.1 实验任务 .....                | 174        |
| 7.6.2 实验装置 .....                | 175        |
| 7.6.3 实验原理及方法 .....             | 175        |
| 7.6.4 数据整理及分析 .....             | 177        |
| <b>第8章 UASB 反应器的启动与运行 .....</b> | <b>178</b> |

|                   |                               |            |
|-------------------|-------------------------------|------------|
| 8.1               | UASB反应器的基本构造 .....            | 178        |
| 8.1.1             | 污泥床 .....                     | 178        |
| 8.1.2             | 污泥悬浮层 .....                   | 179        |
| 8.1.3             | 沉淀区 .....                     | 179        |
| 8.1.4             | 三相分离器 .....                   | 179        |
| 8.2               | UASB反应器的工作原理 .....            | 180        |
| 8.2.1             | 厌氧反应过程 .....                  | 180        |
| 8.2.2             | UASB反应器的运行 .....              | 181        |
| 8.3               | UASB反应器的工艺设计 .....            | 181        |
| 8.3.1             | 工艺设计的一般原则 .....               | 181        |
| 8.3.2             | 三相分离器的设计 .....                | 182        |
| 8.3.3             | 进水系统的设计 .....                 | 183        |
| 8.3.4             | 水封高度的设计 .....                 | 184        |
| 8.4               | UASB反应器的运行及控制要点 .....         | 185        |
| 8.4.1             | 颗粒污泥的培养、类型及主要性能 .....         | 185        |
| 8.4.2             | UASB反应器运行控制要点 .....           | 187        |
| 8.4.3             | 反应器的容积、封盖及维护问题 .....          | 189        |
| <b>附录 .....</b>   |                               | <b>190</b> |
| 附录 1              | 饱和水蒸气表（以温度为准） .....           | 190        |
| 附录 2              | 饱和水蒸气表（以用 kPa 为单位的压强为准） ..... | 191        |
| 附录 3              | 关于有毒化学药品的知识 .....             | 192        |
| 附录 4              | 常用酸碱溶液密度和组成表 .....            | 194        |
| 附录 5              | 化学试剂的规格 .....                 | 194        |
| 附录 6              | 常用元素的原子量表 .....               | 195        |
| 附录 7              | 常用缓冲溶液的配制 .....               | 195        |
| 附录 8              | 常用培养基的配方 .....                | 200        |
| <b>参考文献 .....</b> |                               | <b>206</b> |

# 第1章 实验室安全与环保

实验室潜在各种危害因素。这些危害因素可能引发各种事故，造成环境污染和人体伤害，甚至危及到人的生命安全。因此不但要学习实验室安全技术和环境保护方面的有关知识，而且应该在实验中加入应用，防患于未然。

## 1.1 实验室安全知识

### 1.1.1 实验室常用危险品及预防措施

生物工程专业实验室可能会遇到的易燃、易爆及有毒物如下。

- (1) 可燃液体 如氢气、丙酮、汽油、苯、乙醇等。
- (2) 可燃性固体 如木材、油漆、石蜡、合成纤维等，化学药品有五硫化磷、三硫化磷等。
- (3) 爆炸性物质 如过氧化物、氮的卤化物、硝基或亚硝基化合物、乙炔类化合物等。
- (4) 自燃物质 如磁带、胶片、油布、油纸等。
- (5) 遇水燃烧物质 如活泼金属钾、钠、锂及其氢化物等。
- (6) 混合危险性物质 如强氧化剂（重铬酸盐、氧、发烟硫酸等），还原剂（苯胺、醇类、有机酸、油脂、醛类等）。
- (7) 有毒物品 如窒息性毒物（氮、氢、一氧化碳等）、刺激性毒物（酸类蒸气、氯气等）、麻醉性或神经毒物（芳香类化合物、醇类化合物、苯胺等）。
- (8) 其他 其他无机毒物及有机毒物（如菌种诱变剂、亚硝基胍等）和不能归入上述类型的有毒物质。

表 1-1 给出了几种常用的有毒物质在空气中的最高允许浓度。为防止毒物侵入人体，关键要注意皮肤、消化道、呼吸道三条可能直接与毒物接触的途径。使用毒物时要准备好或戴

表 1-1 几种常用的有毒物质在空气中的最高允许浓度 单位:  $\text{mg}/\text{m}^3$

| 物质名称   | 最高允许浓度 | 物质名称 | 最高允许浓度 |
|--------|--------|------|--------|
| 一氧化碳   | 30     | 酚    | 5      |
| 氯      | 2      | 乙醇   | 1500   |
| 氨      | 30     | 甲醇   | 50     |
| 氯化氢及盐酸 | 150    | 苯乙烯  | 40     |
| 硫酸及硫酸酐 | 10     | 甲醛   | 5      |
| 苯      | 500    | 四氯化碳 | 5      |
| 二甲苯    | 100    | 溶剂汽油 | 350    |
| 丙酮     | 400    | 汞    | 0.1    |
| 乙醚     | 500    | 二硫化碳 | 10     |

上防毒面具、橡皮手套，有时要穿防毒衣装。实验室严禁吃东西，离开实验室应洗手，特别应注意对可能被污染的面部或身体进行认真清洗。采用通风、排毒、隔离等安全防范措施。尽可能用无毒或低毒物质替代高毒物质。实验装置尽可能密闭，防止冲、溢、跑、冒事故发生。凡是某种物质侵入人体而引起局部或整个机体发生障碍，即发生中毒事件时，应在现场作一些必要处理，同时应尽快送医院或请医生诊治。

1.1.2 水、电、蒸汽的正确使用

生物工程实验室中如何保证正确使用水、电、蒸汽，不仅关系到实验的正常运行，而且关系到人身安全。

生物工程实验室中不论是培养基制备与杀菌，还是生物制品发酵与提取过程，一刻也离不开水。实验中除了应注意节约用水外，也应注意正确的使用，应根据不同的用途选择自来水、蒸馏水、纯净水或重蒸水。实验室供水压力会因使用设备不同有不同要求。小型发酵罐的供水压力在  $1 \times 10^5 \text{ Pa}$ ，而中试规模的发酵罐的供水压力在  $5 \times 10^5 \text{ Pa}$ 。另外，生物实验中会产生大量废水，冷却水可以直接排放，有毒废水应按照有关规定进行处理。

电的不正确使用会造成较大的伤害，甚至危及生命。电流量和电压大小对人体的影响见表 1-2 和表 1-3。电气设备要接地线，一般要用三相插座，安装漏电保护装置，严禁用潮湿的手接触电器按钮。一般不带电操作，在特殊情况下带电操作时，必须穿上绝缘胶鞋及戴橡皮手套等防护用具；一般规定其动作电流不超过 30mA，切断电源时间应低于 0.1s。实验室内严禁随意拖拉电线。使用马弗炉等设备时，应由专人负责。

表 1-2 电流量对人体的影响（50~60Hz 交流电）

| 电流量/mA | 对人体的影响  | 电流量/mA | 对人体的影响          |
|--------|---------|--------|-----------------|
| 1      | 略有感觉    | 20     | 肌肉收缩,无法自行脱离触电电源 |
| 5      | 相当痛苦    | 50     | 呼吸困难,相当危险       |
| 10     | 难以忍受的痛苦 | 100    | 大多使人致命          |

表 1-3 电压对人体的影响

| 电压/V    | 接触时对人的影响      | 备 注         |
|---------|---------------|-------------|
| 10      | 全身在水,跨步电压界限   | —           |
| 20      | 湿手时的安全界限      | —           |
| 30      | 干手时的安全界限      | —           |
| 45      | 有危险但并不危及生命的界限 | —           |
| 100~200 | 危险性极大,危及到人的生命 | —           |
| 3000    | 被带电体吸引        | 最小安全距离 15cm |
| >10 000 | 有被弹开而脱险的可能    | 最小安全距离 20cm |

当发生触电事故时，应迅速切断电源，如不能及时切断电源，应立即用绝缘的东西使触电者脱离电源。在将触电者移至适当地方后，及时解开衣服，使全身舒展，并立即找医生进行处理。如触电者已处于休克状态等危急情况下，应立即实施人工呼吸及心脏按摩，直至救护医生到现场。

生物实验室中使用蒸汽的地方主要有原位自控发酵罐的杀菌、培养基的高压蒸汽灭菌和大型发酵罐的温度控制等。如果实验室位于发酵工厂附近，可以向工厂购买配套装置。实验室内的蒸汽管路系统应具有防护套，外封套最好以镀锌套覆盖以使其美观、易于清洗并防止密封材料变湿。

空气在生物实验室中具有多种用途，除用于向发酵罐通风外，还用于气体分析仪器的校准等。

1.1.3 高压容器的正确使用

高压容器一般可分成固定式和移动式两大类。常用的固定式容器有高压反应釜、超临界萃取装置等；移动式压力容器主要是压缩气瓶及液化气瓶等。压力容器的等级分类见表 1-4。

表 1-4 压力容器等级分类

| 类 别  | 工作压力( <i>p</i> )/MPa | 类 别   | 工作压力( <i>p</i> )/MPa |
|------|----------------------|-------|----------------------|
| 低压容器 | $0.1 \leq p < 1.6$   | 高压容器  | $10 \leq p < 100$    |
| 中压容器 | $1.6 \leq p < 10$    | 超高压容器 | $p \geq 100$         |

气瓶一般由无缝碳素或合金钢制成，适用于装介质压力在 15MPa 以下的气体或常温下与饱和蒸汽压相平衡的液化气体。由于介质流动性大，因此容易引发事故。

各类钢瓶按所充气体不同涂有不同的标记，有关特征见表 1-5。氧气瓶、可燃性气体应避免日晒，不准靠近热源，离配电源至少 5m。室内严禁明火，氧气瓶阀门及减压阀严禁黏附油脂。钢瓶应直立放置并加固。搬运钢瓶时应套好防护帽，不得摔倒和撞击，防止撞断阀门引发事故。氢、氧减压阀由于结构不同，螺纹相反，不准改用。开启钢瓶时，操作者应侧对气体出口处，在减压阀与钢瓶接口处不漏的情况下，应首先打开钢瓶阀，然后调节减压阀。关气时应先关闭钢瓶阀，放尽减压阀中余气，再松开减压阀螺杆。钢瓶内气体（液体）不得用尽，低压液化气瓶中余压在 0.3~0.5MPa 内，高压气瓶中余压在 0.5MPa 左右，防止其他气体倒灌。领用高压气瓶（尤其对可燃、有毒的气体）时应先通过感官和异味来检查是否泄漏。使用时如发生泄漏，应关紧钢瓶阀，注明漏点，并由专业人员处理。

表 1-5 常用钢瓶的特征

| 气体名称  | 瓶身颜色 | 标字颜色 | 装瓶压力/MPa | 状 态 | 性 质      |
|-------|------|------|----------|-----|----------|
| 氧气瓶   | 天蓝色  | 黑    | 15       | 气   | 助燃       |
| 氢气瓶   | 深绿色  | 红    | 15       | 气   | 可燃       |
| 氮气瓶   | 黑色   | 黄    | 15       | 气   | 不燃       |
| 氩气瓶   | 棕色   | 白    | 15       | 气   | 不燃       |
| 氨气瓶   | 黄色   | 黑    | 3        | 液   | 不燃(高温可燃) |
| 氯气瓶   | 黄绿色  | 白    | 3        | 液   | 不燃(有毒)   |
| 二氧化碳瓶 | 银白色  | 黑    | 12.5     | 液   | 不燃       |
| 二氧化硫瓶 | 灰色   | 白    | 0.6      | 液   | 不燃(有毒)   |
| 乙炔钢瓶  | 白色   | 红    | 3        | 液   | 可燃       |

1.1.4 实验室的防火与防爆

生物实验室中可能遇到的部分可燃性气体和蒸气的爆炸极限见表 1-6。防燃、防爆措施应针对易燃和易爆物的用量和蒸气浓度进行有效控制。

对易燃易爆物品的使用，要做到用多少领多少，不用的要存放在安全地方。使用过程中加强通风，目的在于有效控制易燃易爆物质在空气中的浓度。同时加强设备的密闭性，防止泄漏。另外，应管理好明火及高温表面，在有易燃易爆物质的场所，严禁明火（如：电热板、开式电炉、电烘箱、马弗炉、煤气灯及白炽灯照明）；严禁在实验室内吸烟；避免摩擦和冲击；严禁各类电气火花，包括高压电火花放电、弧光放电、电接点微弱火花等。

表 1-6 部分可燃性气体和蒸气的爆炸极限

| 物质名称 | 化学式                                                         | 沸点/℃    | 闪点/℃ | 自燃点/℃ | 爆炸极限 |      |
|------|-------------------------------------------------------------|---------|------|-------|------|------|
|      |                                                             |         |      |       | 上限/% | 下限/% |
| 氢气   | H <sub>2</sub>                                              | -252.3  | —    | 510   | 75   | 4.0  |
| 一氧化碳 | CO                                                          | -192.2  | —    | 651   | 74   | 12.5 |
| 氨    | NH <sub>3</sub>                                             | -33     | —    | —     | 27   | 16   |
| 乙烯   | CH <sub>2</sub> =CH <sub>2</sub>                            | -103.9  | —    | 540   | 32   | 3.1  |
| 苯乙烯  | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CH=CH <sub>2</sub>            | 145     | 32   | 490   | 6.1  | 1.1  |
| 乙炔   | C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>                               | -84(升华) | —    | 335   | 32   | 2.3  |
| 苯    | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>                               | 81.1    | -15  | 580   | 7.1  | 1.4  |
| 乙苯   | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> | 36.2    | 15   | 420   | 3.9  | 0.9  |
| 乙醇   | C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH                            | 78.8    | 11   | 423   | 20   | 3.01 |
| 异丙醇  | CH <sub>3</sub> CHOHCH <sub>3</sub>                         | 82.5    | 12   | 400   | 12   | 2    |
| 甲醇   | CH <sub>3</sub> OH                                          | 64.7    | 9.5  | 455   | —    | —    |
| 丙酮   | CH <sub>3</sub> COCH <sub>3</sub>                           | 56.5    | -17  | 500   | 13   | —    |
| 乙醚   | (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> ) <sub>2</sub> O             | 34.6    | -45  | 180   | 48   | 1    |
| 甲醛   | CH <sub>3</sub> CHO                                         | —       | —    | 185   | 56   | 4.1  |

实验室管理人员应了解基本的消防措施，掌握灭火器材的使用方法。当出现火灾时，必须根据火灾的大小、燃烧物的类别及其环境情况选用合适的灭火器材，灭火器材适用情况见表 1-7。通常实验室发生火灾时按下述顺序选用灭火器材：二氧化碳灭火器、干粉灭火器、泡沫灭火器。实验室管理人员在电器发生火灾时应立即切断电源，并进行灭火。在特殊情况下不能切断电源时，不能用水来灭火，以防二次事故发生，应该立即报火警，并说明情况。

表 1-7 实验室常用的灭火器材

| 灭 火 剂 |                 |    | 一般火灾 | 可燃液体火灾 | 带电设备引起火灾 |
|-------|-----------------|----|------|--------|----------|
| 液体    | 水               | 直射 | ✓    | ×      | ×        |
|       |                 | 喷雾 | ✓    | ✓      | ✓        |
|       | 泡沫              |    | ✓    | ✓      | ×        |
| 气体    | CO <sub>2</sub> |    | ✓    | ✓      | ✓        |
| 固体    | 干粉(磷酸盐类等)       |    | ✓    | ✓      | ✓        |

注：✓表示适用，×表示禁用。

由于设备的漏、冲、冒等原因使可燃或/和可爆物质逸散在室内时，不可随意切断电源(包括仪器设备上的电源开关)。有时因通风设备没打开，一旦发生上述事故，就想推上电源开关加强通风等，这是非常危险的。某些电器设备是非防爆型的，启动开关瞬间发生的微弱火花将引发一场原可避免的重大事故。应该打开门窗进行自然通风，切断相邻室内的火源，及时疏散人员，有条件时可用惰性气体冲淡室内气体同时立即报告消防队进行处理。

## 1.2 实验室环保知识

生物工程实验室的废液、废气、废渣必须经过处理才能排放，以防污染环境。为建立环保意识，应从使用的源头抓起。实验室一切药品及中间新产品必须贴上标签，防止误用或处理不当引发事故。处理有毒并带有刺激性的物质时，必须在通风橱内进行，防止这些物质散

逸在室内。实验室废液的处理应根据性质的不同分别集中到废液桶内,并贴上明显的标签。在集中废液时注意,有些废液是不可以混合的,如过氧化物和有机物、盐酸等挥发性酸,以及不挥发性酸、铵盐及挥发性胺与碱等。接触过有毒物质的器皿、滤纸、容器等要分类收集后集中处理。将废弃的培养基集中后,先经过高压灭菌再另行处理。一般的酸碱处理,必须在进行中和后用水大量稀释,才能排放到地下水槽。

实验室废弃物(特别是废液)中许多是有毒有害物质,有些还是剧毒物质和强致癌物质,如果不进行处理随意排放,将会污染空气和水源,造成环境污染,危害人体健康。目前我国仅有少数实验室有“三废”处理设施。随着人们环境意识的增强,实验室也必须加强对废弃物的处理。同时,废液处理设施是实验室的重要设施之一。

### 1.2.1 理化实验室的废液

实验室的废液是指实验用水和洗涤剂洗涤玻璃仪器产生的废液以及含有废酸、碱和其他化学物质的废液。

#### 1.2.2 废液处理注意事项

① 及时处理。一些含有有害物质的废液,只有检验人员才知道里面含有什么成分。应该立即亲自动手予以处理,否则,将是危险的。

② 首先采用物理分离法。将黏附有害物质的滤纸、称量纸、废活性炭、药棉及塑料容器等从废液中清出,并将沉渣分出单独处理,以减少废液的处理量。

③ 必须充分了解废液的主要性质。进行处理时一定要防止突发事件的发生,并对可能产生的有毒气体、发热、喷溅及爆炸等危险有所准备。

④ 尽量选用无害或易于处理的药品,防止二次污染。如用漂白粉处理含氰废水,用生石灰处理某些酸液等。还应尽量采用“以废制废”的方法,如利用废酸液处理废碱液。

#### 1.2.3 实验室废弃物处理的一般原则

根据实验室废弃物的特点,应做到分类收集、存放、集中处理。处理方法应简单,并易于操作,处理效率高,不需要很多投资。

少量的有毒气体可通过通风设备排出室外,通风管道应有一定的高度,使排出的气体能被空气稀释。产生的毒气量大时必须经过吸收处理,然后才能排出,如氮、硫、磷等酸性氧化物气体,可用导管引入碱液中,使其被吸收后排出。对某些数量较少,浓度较高的有毒有机物,可于燃烧炉中供给充分的氧气使其完全燃烧,生成二氧化碳和水。对高浓度废酸、废碱液要经过中和,使其达到近中性时排放。对含有少量被测物和其他试剂的高浓度有机溶剂废液应回收再用。

用于回收的废液应分别用洁净的容器盛装,同类废液浓度高的应集中储存,以便于回收某些组分,浓度低的经适当处理达标即可排放。根据废弃物的性质选择合适的容器和存放点。废液应用密闭容器储存。禁止混合储存,以免发生剧烈化学反应而造成事故。容器应防渗漏防止挥发性气体逸出而污染环境。

剧毒、易燃、易爆等高危废弃物的储存,应按相应规定办理。废液应避光,远离热源,以避免加速化学反应。储存容器必须贴上标签,标明种类、储存时间,且存放时间不宜太长。

## 1.2.4 实验室废弃物的处理方法

### 1.2.4.1 含汞废液的处理

若不小心将汞散失在实验室里,如打碎压力计、温度计或极谱分析操作失误,将汞撒落在实验室地面、工作台上等,必须及时清除。用滴管、毛笔或用在硝酸汞的酸性溶液中浸过的薄铜片、粗铜丝收集于烧杯中,用水覆盖。散落于地面难以收集的微小汞珠,应尽快撒上硫磺粉,使其反应,合成毒性较小的硫化汞后清除干净;或喷上用盐酸酸化过的1%高锰酸钾溶液(每升高锰酸钾溶液中加入5mL浓盐酸),过1~2h后再清除;或喷上20%三氯化铁的水溶液,干后再清除干净。特别应当指出的是,三氯化铁水溶液是对汞具有乳化性能并同时可将汞转化为不溶性化合物的一种非常好的去汞剂。但金属器件(铅除外)不能用三氯化铁水溶液除汞,因金属本身会受三氯化铁水溶液的作用而损坏。

实验中产生的含汞废气可用导管通入高锰酸钾吸收液内,经吸收后排出室外。

含汞废液可先调pH值至8~10,加入过量硫化钠,使其生成硫化汞沉淀,再加入硫酸亚铁作为共沉淀剂,生成的硫化亚铁沉淀将悬浮在水中难以沉降的硫化汞微粒吸附而共沉淀,然后静置,分离或经离心过滤,清液可排放,残渣可以用焙烧法来回收汞或制成汞盐。

### 1.2.4.2 含铅、镉废液的处理

镉在pH值高的溶液中能沉淀下来。对含铅废液的处理通常也采用混凝沉淀法和中和沉淀法。因此可向废液中加入碱或石灰乳,将废液的pH值调到8~10,使废液中的 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$ 生成氢氧化铅和氢氧化镉沉淀,加入硫酸亚铁作为共沉淀剂,清液可排放,沉淀与其他无机物混合,进行烧结处理。

### 1.2.4.3 含铬废液的处理

铬酸洗液经多次使用后, $\text{Cr}^{6+}$ 逐渐被还原为 $\text{Cr}^{3+}$ 。同时洗液被稀释,酸度降低,氧化能力逐渐降低至不能使用。此废液可在110~130℃的温度下不断搅拌,加热浓缩,除去水分,冷却至室温,边搅拌边缓慢加入高锰酸钾粉末,直至溶液呈深褐色或微紫色(1L约加入10g左右高锰酸钾),加热至有二氧化锰沉淀出现,稍冷,用玻璃砂芯漏斗过滤,除去二氧化锰沉淀后即可使用。

含铬废液中加入还原剂,如硫酸亚铁、亚硫酸氢钠、二氧化硫、水合肼或者废铁屑,在酸性条件下将 $\text{Cr}^{6+}$ 还原成 $\text{Cr}^{3+}$ ,过后加碱(如氢氧化钠、氢氧化钙、碳酸钠、石灰等)调节pH值,使 $\text{Cr}^{3+}$ 形成低毒的氢氧化铬沉淀,分离沉淀,清液可排放,沉淀经脱水干燥后或综合利用,或用焙烧法处理,使其与煤渣或煤粉一起焙烧,处理后的铬渣可填埋。如果将废水中的铬离子形成铁氧体(使铬镶嵌在铁氧体中),则不会产生二次污染。

### 1.2.4.4 含砷废液的处理

在含砷废液中加入氯化钙,调节并控制pH值为8,生成砷酸钙和亚砷酸钙沉淀。也可将含砷废液pH值调至10以上,加入硫化钠与砷反应生成难溶、低毒的硫化物沉淀。能产生少量含砷气体的实验,应在通风橱中进行,使有毒气体能够及时排出室外,避免污染实验室的环境。

### 1.2.4.5 含氰废液的处理

低浓度的氰化物废液可加入氢氧化钠调节pH10以上,再加入高锰酸钾(约3%),使氰化物氧化分解。如果氰化物浓度较高,可加碱使废水处于碱性条件下(pH值10以上),再加入次氯酸钠或漂白粉,经充分搅拌,氰化物被氧化分解为二氧化碳和氮气,放置24h排

放。应特别注意含氰化物废液切不可与酸混合,否则会发生化学反应,生成氰化氢气体逸出,造成中毒事故。

### 1.2.5 有机溶剂的回收与提纯

实验用过的有机溶剂有些可以回收。回收有机溶剂通常先在分液漏斗中洗涤,将洗后的有机溶剂进行蒸馏或分馏处理加以精制、纯化。所得有机溶剂纯度较高,可供实验重复使用。整个回收过程应在通风橱中进行。

#### 1.2.5.1 三氯甲烷废液

将三氯甲烷废液顺序用水、浓硫酸(三氯甲烷量的十分之一)、纯水、0.5%盐酸羟胺(分析纯)溶液洗涤。用重蒸馏水洗2次,将洗好的三氯甲烷用无水氯化钙脱水,放置几天,过滤、蒸馏。蒸馏速度为1~2滴/s,收集沸程为60~62℃的馏出液,保存于棕色磨口试剂瓶中。

如果三氯甲烷中杂质较多,可再用水洗涤。之后预蒸馏1次,除去大部分杂质,然后按上述方法处理。对蒸馏法仍不能除去的有机杂质,可用活性炭吸附纯化。

#### 1.2.5.2 乙醚废液

将乙醚废液用水洗涤1次,中和并用石蕊试纸检查,用0.5%的高锰酸钾洗至紫色不退,然后用0.5%~1%硫酸亚铁溶液洗涤,除去过氧化物,再用纯水洗涤2次,将洗好的乙醚用无水氯化钙干燥,放置过夜,过滤,在45℃水浴中加热蒸馏,收集沸程为33.5~34.5℃的馏出液,保存于棕色带磨口塞试剂瓶中。蒸馏瓶中残液量不得少于60mL。如果纯度不够,可重新蒸馏1次。

#### 1.2.5.3 乙酸乙酯废液

将乙酸乙酯废液用水洗涤几次,然后用硫代硫酸钠稀溶液洗几次使之退色,再用纯水洗涤几次,除去水层,用无水碳酸钾脱水,放置几天,过滤、蒸馏,收集76~77℃的馏出液备用。

#### 1.2.5.4 苯废液

(1) 含丁基罗丹明B、结晶紫、孔雀绿或其他碱性染料的苯废液 将苯废液先用硫酸洗1次,再用纯水洗涤2次,除去水层,用生石灰或无水氯化钙干燥,过滤,在水浴中蒸馏,收集80~81℃的中段馏出液,保存于棕色带磨口试剂瓶中备用。

(2) 1-苯基-3-甲基-4-苯甲酰基吡唑酮(PMBP)-苯废液 在废PMBP-苯液中加入盐酸(有机层:水层=3:1)洗涤2~3次,再用纯水洗涤3~4次,弃去水层即可复用。其他的废液回收方法,这里不再赘述。

### 1.2.6 建立绿色实验室

绿色实验室环境舒适,产生的污染物很少,应对实验人员健康无危害或危害较小。要建立绿色实验室首先把化学实验室的环境治理好,保持实验室内通风橱、排风扇的良好工作状态,保证排水系统畅通,使实验室宽敞、明亮、清洁。在改善环境的同时,要加强各方面的管理建设,日常检查尤为重要,良好的卫生环境是绿色实验室的保证。严禁将废液直接倒入水池,要求分类倒入废液槽中存放,集中进行安全处理,避免污染环境。对于实验室中可以回收的试剂进行回收使用。严格遵守有毒有害物质的使用原则。例如刺激性气体或酸必须在通风橱中操作;使用剧毒品时,手上不得有伤口。