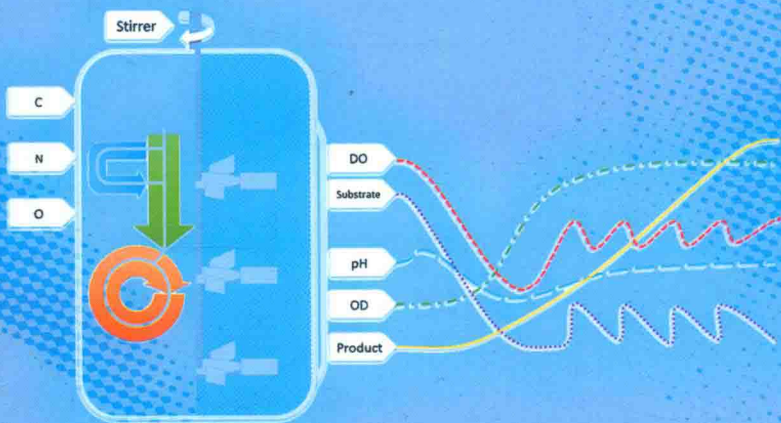




iCourse 教材
生物技术与生物工程系列



发酵工程实验 (第2版)

The Experiments for Fermentation Engineering

(2nd Edition)

主编 陈长华 高淑红

非
外
借

高等教育出版社



iCourse · 教材
生物技术与生物工程系列

发酵工程实验 (第2版)

.....
The Experiments for
Fermentation Engineering
(2nd Edition)

主 编 陈长华 高淑红

副主编 李友元 宫 衡

编 者 (按姓氏拼音排序)

陈长华 高淑红 宫 衡

李友元 夏 杰 王永红



高等教育出版社·北京

内容提要

本书内容包括3部分:绪论、发酵工程基本技能实验和综合实验。绪论部分主要介绍发酵实验室的基本要求和设备,统计学方法的实验设计和数据处理。基本技能实验包括6章:①菌种改造,介绍了4类常用的菌种选育方法:物理诱变、化学诱变、原生质体融合和基因工程方法。②培养基配制与灭菌,介绍了微生物对营养的要求及常用的营养成分,培养基配制方法和注意事项。③摇瓶发酵,介绍了摇瓶发酵的基本操作,包括接种、移种、种子制备、发酵的单元操作技术。④发酵生化参数的测定,介绍了发酵过程常规的参数检测方法,如菌浓、基质、产物浓度的检测方法,同时还介绍了核酸、酶活、蛋白质等反应代谢的参数。⑤色谱分析,介绍了用气相色谱仪、液相色谱仪等检测代谢中间物的原理与方法。⑥过程工程参数测定,主要是介绍反应器中 K_La 、搅拌转速、氧传递速率的检测方法。综合实验是在基本技能实验基础上的提高,既有发酵全过程的训练,如微生物培养、参数检测、过程动力学分析的组合,也有内容的拓展,如酶反应、动物细胞培养、代谢物检测等。

本书可作为生物工程、发酵工程专业本科生的实验教材,也可作为研究生实验的参考教材。

图书在版编目(CIP)数据

发酵工程实验 / 陈长华, 高淑红主编. --2版.--
北京:高等教育出版社, 2017.8

iCourse·教材·生物技术与生物工程系列

ISBN 978-7-04-048048-1

I. ①发… II. ①陈… ②高… 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(2017)第162817号

Fajiao Gongcheng Shiyān

项目策划 吴雪梅 王莉 单冉东

策划编辑 王莉 责任编辑 高新景 封面设计 李小璐 责任印制 尤静

出版发行 高等教育出版社
社址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
印刷 涿州市京南印刷厂
开本 889mm×1194mm 1/16
印张 16
字数 470千字(含数字课程)
购书热线 010-58581118
咨询电话 400-810-0598

网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.hepmall.com.cn>
<http://www.hepmall.com>
<http://www.hepmall.cn>
版 次 2009年7月第1版
2017年8月第2版
印 次 2017年8月第1次印刷
定 价 32.00元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换
版权所有 侵权必究
物料号 48048-00

iCourse · 数字课程 (基础版)

发酵工程实验

(第2版)

主编 陈长华 高淑红

登录方法:

1. 电脑访问 <http://abook.hep.com.cn/48048>, 或手机扫描下方二维码、下载并安装 Abook 应用。
2. 注册并登录, 进入“我的课程”。
3. 输入封底数字课程账号 (20 位密码, 刮开涂层可见), 或通过 Abook 应用扫描封底数字课程账号二维码, 完成课程绑定。
4. 点击“进入学习”, 开始本数字课程的学习。

课程绑定后一年为数字课程使用有效期。如有使用问题, 请发邮件至:

lifescience@pub.hep.cn



iCourse · 教材
生物技术与生物工程系列

发酵工程实验

主编 陈长华 高淑红

用户名 密码 验证码 4392 进入课程

注册

内容介绍

纸质教材

版权信息

联系方式

发酵工程实验数字课程与纸质教材一体化设计, 紧密配合。立足全面展现课程知识体系并反映学科快速发展的趋势和成果, 数字课程涵盖了知识拓展、操作视频、教学课件等资源, 充分运用多种形式的媒体资源, 丰富知识的呈现形式, 更加贴合课程教学的实际需要。在提升课程教学效果的同时, 为学生学习提供了更多思考和探索的空间。

高等教育出版社

<http://abook.hep.com.cn/48048>

扫描二维码, 下载 Abook 应用



出版说明

“十二五”期间是高等教育继续深化改革、走以提高质量为核心的内涵式发展道路的关键时期。课程建设是教育教学改革的重要内容，课程建设水平对教学质量和人才培养质量具有重要影响。2011年10月12日教育部发布了《教育部关于国家精品开放课程建设的实施意见》（教高〔2011〕8号），开启了信息技术和网络技术条件下校、省、国家三级精品开放课程建设的序幕。作为国家精品开放课程展示、运行和管理平台的“爱课程（iCourse）”网站也逐渐为高校师生和社会公众认知和使用。截至目前，已有2600多门资源共享课和800多门视频公开课在“爱课程（iCourse）”网站上线。

高等教育出版社承担着“‘十二五’本科教学工程”中国国家精品开放课程建设的组织实施和平台建设运营的重要任务，在与广大高校的调研和协作中，我们了解到当前高校的教与学发生了深刻变化，也真切感受到课程和教材建设所面临的挑战和机遇。如何建设支撑学生自主学习和校际共建共享的课程和新形态教材成为现实课题。在教育部高等学校生物技术、生物工程类专业教学指导委员会的指导下，结合我社2009年以来在数字课程建设上的探索和实践，我们提出了“高等学校生物技术与生物工程专业精品资源共享课及系列教材”建设项目，项目建设得到了众多高校的积极响应和广泛参与。2013年5月以来，分别在上海、天津、沈阳、杭州、武汉、无锡、银川等地陆续召开了项目启动会议、主编会议和编写会议。2015年，项目成果“iCourse·教材：生物技术与生物工程系列”陆续出版。

本系列教材涵盖生物技术、生物工程专业15门基础课程和专业课程，在出版形式、编写理念、内容选取等方面体现以下特点：

1. 采用“纸质教材+数字课程”的出版形式。纸质教材与丰富的数字教学资源一体化设计，纸质教材内容精炼适当，并以新颖的版式设计和内容编排，方便学生学习和使用；数字课程对纸质教材内容起到巩固、补充和拓展作用，形成以纸质教材为核心，数字教学资源配合的综合知识体系。

2. 创新教学理念，引导自主学习。通过适当的教学设计，鼓励学生拓展知识面和针对某些重要问题进行深入探讨，增强其独立获取知识的意识和能力，为学生自主学习和教师创新教学方法提供支撑。

3. 强调基础与技术、工程应用之间的紧密联系，注重学生应用能力培养。在讲述理论的同时，通过数字课程对学科前沿进展和工程应用案例进行延伸，在概念引入和知识点讲授上也尽量从实际问题出发，这不仅有利于提高学生的学习兴趣，也有助于加强他们的创新意识和创新能力。

4. 教材建设与资源共享课建设紧密结合。本系列教材是对各校精品资源共享课和教学改革成果的集成和升华，参与院校共建共享课程资源，更可支持各级精品资源共享课的持续建设。

本系列教材以服务于生物技术、生物工程专业课程教学为核心,汇集了各高校学科专家与一线教师的智慧、经验和积累,实现了内容与形式、教学理念与教学设计、教学基本要求与个性化教学需求,以及资源共享课与教材建设的一体化设计,以期对我国生物技术与生物工程专业教学改革和人才培养产生积极影响。

建设切实满足高等教育教学需求、反映教改成果和学科发展、纸质出版与资源共享课紧密结合的新形态教材和优质教学资源,实现“校际联合共建,课程协同共享”是我们的宗旨和目标。将课程建设及教材出版紧密结合,采用“纸质教材+数字课程”的出版形式,是一种行之有效的方法和创新,得到了高校师生的高度认可。尽管我们在出版本系列教材的工作中力求尽善尽美,但难免存在不足和遗憾,恳请广大专家、教师和学生提出宝贵意见与建议。

高等教育出版社

2015年6月

第2版前言

本书是国家精品资源共享课“发酵工程”的配套实验教材。第1版自2009年出版以来,得到兄弟院校的充分认可。实验教材以有氧微生物培养和发酵过程代谢参数检测为特色,与轻工、食品等专业的发酵工程实验教材起到了互补的作用。

本书修订保持了第1版的特色,内容包括绪论、发酵工程基本技能实验和综合实验三个部分。绪论主要介绍发酵工程实验的特点、实验基本步骤和常用设备;基本技能实验包括产品发酵工艺实验和参数测定实验,选择的实验对象都是一些典型的产品,内容涉及菌种改造、培养基配制与灭菌、摇瓶发酵、发酵生化参数的测定、色谱分析和过程工程参数测定;综合实验涉及传统微生物、重组微生物和动物细胞的培养,是在基本技能实验基础上的提高,既有发酵全过程的训练,如微生物培养、参数检测、过程动力学分析的组合,也有内容的拓展,如酶反应、动物细胞培养等。

所有实验都是由教师多年的科研积累转化而来,具有实用性和指导性。目的是培养学生的动手能力、实验设计能力、科学思维能力和创新能力。从第1版出版至今的8年时间里,发酵工程技术有了很大进步,教师的科研广度和深度也有提高,因此教材也要与时俱进。我们在第1版的基础上,根据近年发酵工程实验课程教学内容的调整和改革,对实验内容进行适当删减与调整,精简部分生化参数测定实验,增加细胞代谢物检测分析实验(花强、赵晨)。

在具体实验撰写方面,我们将实验原理部分作为链接,读者可以去配套数字课程网站自学,纸质教材内容精炼为实验方法和操作步骤,使操作者对方法和操作步骤一目了然。同时,我们拍摄和制作了相关实验视频,便于带教老师的指导和学生的预习。实验视频既有培养基的配制、接种操作、摇瓶发酵、抗生素效价测定等基本技能操作(高淑红、李友元、彭钰柯),也包括5 L发酵罐操作(庄英萍、刘玉伟),15 L发酵罐灭菌等综合性操作视频。感谢华东理工大学发酵工程实验教学中心、国家生化工程技术研究中心、生物反应器工程国家重点实验室对视频拍摄工作的支持。

不同学校可以根据各自的实验条件和要求选做书中部分实验,研究生和科技人员在课题研究中也应用书中方法来检测许多代谢参数。衷心希望使用教材的师生对我们提出宝贵意见、建议和要求,使我们的教材更好地为教学服务。

主编
2017年4月

第1版前言

发酵工程既是传统的技术，又是长盛不衰的技术，随着生物技术的发展，人们对环境治理的重视和生物能源的开发，发酵工程的应用越来越广泛。随着电子技术、信息技术、化学分析技术的进展，发酵过程的研究也由传统的胞外环境优化发展到细胞水平、基因水平、工程水平的多参数多尺度研究。华东理工大学自1955年以来就开设了发酵工程实验（当时是抗生素专业实验），历经几十年的实践，实验内容不断更新，特别是1990年以后，我校承担了大量的国家科研项目和企业委托的科研项目，积累了研究技术，所以我们一直打算写一本关于实验的书，一方面总结我们已有的实验方法，为相关科研提供参考，另一方面也为需要寻找实验内容的学校提供方便。近年来设立生物工程、生物技术专业的学校越来越多，从20世纪90年代的30多所学校到现在的200多所学校，发酵工程实验成为必修的实验，我们希望这本书能为大家开设实验提供素材，各校可以根据自己的专业特色选做其中合适的实验。

本教材包括3个部分：绪论、发酵工程基本实验和综合实验。绪论部分主要介绍发酵实验室的基本要求和设备（宫衡），统计学方法的实验设计和数据处理（李友元）；基本实验包括菌种改造（高淑红），培养基配制与灭菌（宫衡），摇瓶发酵实验（陈长华），发酵生化参数测定（陈长华），色谱分析在发酵工程中的应用（李友元）及过程工程参数测定（夏杰）。基本实验选择的产品是一些典型的产品如抗生素、有机酸、氨基酸、重组蛋白表达产品等，检测的参数有培养基中基质、产物、酶，以及溶氧、 K_La 等动力学参数。综合实验部分选择了13个实验，涉及传统微生物、重组微生物和动物细胞的培养。通过选做基本实验培养学生的基本实验技能，通过综合实验对学生进行实验设计和实验全过程的训练。

本书每一章都是首先讲述原理，然后配有实验，书中共有基本实验70多个，综合实验13个。这些实验都是我校几十年来为本科生开设的实验，以及研究生做论文时建立的实验方法，有些是自己实践的结果，少数是参考了兄弟院校的研究论文。实验操作描述详尽，便于学者实践。不同的学校可以根据自身的要求选做实验，研究生在进行课题研究时也可以应用书中方法来检测很多代谢参数。我校很多老师参与了综合实验的编写，如王永红、蔡海波、徐国谦等，在此对他们表示感谢。

我们希望这本书能对读者的科研或教学有所帮助，如有建议或问题欢迎指正。

主编

2009年2月

目 录

绪 论	1	三、发酵工程实验设计(方案)的基本步骤	5
一、发酵工程实验的特点	1	四、发酵工程实验常用的设备	21
二、发酵工程实验室的特点与要求	3		

第一部分 基本技能实验

第一章 菌种改造	29	实验十五 DNA 的限制性内切酶消化	62
实验一 菌种的分离纯化	30	实验十六 琼脂糖电泳检测 DNA	63
实验二 紫外线诱变	32	实验十七 PCR 技术扩增枯草杆菌 <i>deoD</i> 基因	65
实验三 微波诱变	34	实验十八 重组 T 质粒的构建	67
实验四 亚硝基胍诱变	36	实验十九 感受态的制备和转化	68
实验五 噬菌体的分离和测定	38	实验二十 重组质粒的鉴定——菌落 PCR	71
实验六 抗噬菌体菌种选育	40		
实验七 氨基酸抗反馈调节突变株的选育	43	第二章 培养基配制与灭菌	73
实验八 大肠杆菌营养缺陷型的筛选	45	实验二十一 培养基的配制	73
实验九 原生质体制备及再生	48	实验二十二 高压灭菌锅的使用	75
实验十 原生质体融合	50		
实验十一 基因组改组技术筛选蛋白酶高产菌株	52	第三章 摇瓶发酵	78
实验十二 基因组 DNA 的提取	54	实验二十三 接种工具的认识与灭菌	78
实验十三 煮沸法快速提取质粒 DNA	57	实验二十四 接种和移种	80
实验十四 碱裂解法抽提质粒 DNA 与鉴定	59	实验二十五 枯草芽孢杆菌生产腺苷	82
		实验二十六 重组大肠杆菌羧肽酶的表达	85

实验二十七 洛伐他汀发酵·····	87	(SDS-PAGE) 检测蛋白质	
实验二十八 林可霉素发酵·····	89	表达和测定蛋白质相对	
实验二十九 四环素类抗生素定向发酵··	91	分子质量·····	126
实验三十 β -半乳糖苷酶生成的调节··	94	实验五十 发酵液中糖含量的测定·····	129
实验三十一 芽孢杆菌发酵产碱性蛋 白酶·····	96	实验五十一 DNS 法测定还原糖浓度··	131
第四章 发酵生化参数的测定·····	98	实验五十二 酶试剂盒法测定葡萄糖 含量·····	133
实验三十二 比浊法测定发酵液中大肠 杆菌浓度·····	99	实验五十三 SBA-40 型谷氨酸(乳酸)-葡 萄糖双功能分析仪测定葡萄糖 含量·····	134
实验三十三 测定菌体干重·····	100	实验五十四 发酵液氮含量的测定·····	136
实验三十四 紫外分光光度法定量测定 细胞总核酸·····	101	实验五十五 靛酚蓝法测定铵离子·····	138
实验三十五 红霉素效价的化学法 测定(一)·····	102	实验五十六 钼酸铵法测定无机磷·····	139
实验三十六 红霉素效价的化学法 测定(二)·····	103	实验五十七 还原法测定无机磷·····	140
实验三十七 红霉素生物效价的测定··	104	实验五十八 钼钒法测定无机磷·····	142
实验三十八 二剂量法测定林可霉素生物 效价·····	107	实验五十九 无细胞抽提液的制备·····	143
实验三十九 利福霉素化学效价的 测定·····	109	实验六十 葡糖激酶活力测定·····	144
实验四十 柠檬酸含量测定(一)·····	111	实验六十一 磷酸果糖激酶活力测定··	146
实验四十一 柠檬酸含量测定(二)··	112	实验六十二 异柠檬酸脱氢酶活力 测定·····	147
实验四十二 衣康酸含量测定·····	114	实验六十三 6-磷酸葡糖脱氢酶活力 测定·····	149
实验四十三 丙酮酸含量测定·····	115	实验六十四 丙酮酸激酶活力测定·····	150
实验四十四 SBA-40C 型生物传感分析仪测 定谷氨酸和谷氨酰胺·····	117	实验六十五 柠檬酸合成酶活力测定··	152
实验四十五 华勃氏呼吸仪测定谷氨酸的 含量·····	119	实验六十六 碱性磷酸酶活力测定·····	153
实验四十六 双缩脲法测定蛋白质 含量·····	122	实验六十七 脂肪酶活力测定·····	155
实验四十七 Folin-酚法测定蛋白质 浓度·····	123	实验六十八 碱性蛋白酶活力测定·····	156
实验四十八 考马斯亮蓝法测定蛋白质 浓度·····	125	实验六十九 酰基激酶活力测定·····	158
实验四十九 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳		实验七十 酰基 CoA 合成酶活力 测定·····	160
		第五章 色谱分析在发酵工程中的应用··	162
		实验七十一 反相 HPLC 双检测器法同时 测定发酵液中的有机酸与葡 萄糖·····	163
		实验七十二 AQC 柱前衍生高效液相色谱法 测定发酵液中 21 种氨	

氨基酸·····	165
实验七十三 反相高效液相色谱法测定发酵液中的生物素含量·····	167
实验七十四 利用乙腈作为内标气相色谱法快速测定发酵液中的乳酸·····	169

第六章 过程工程参数测定·····	171
实验七十五 亚硫酸钠氧化法测定氧传递系数 K_La ·····	171
实验七十六 用溶氧电极法的动态法测定氧传递系数 K_La ·····	173
实验七十七 混合时间测定·····	175

第二部分 综合实验

第七章 微生物培养····· 181

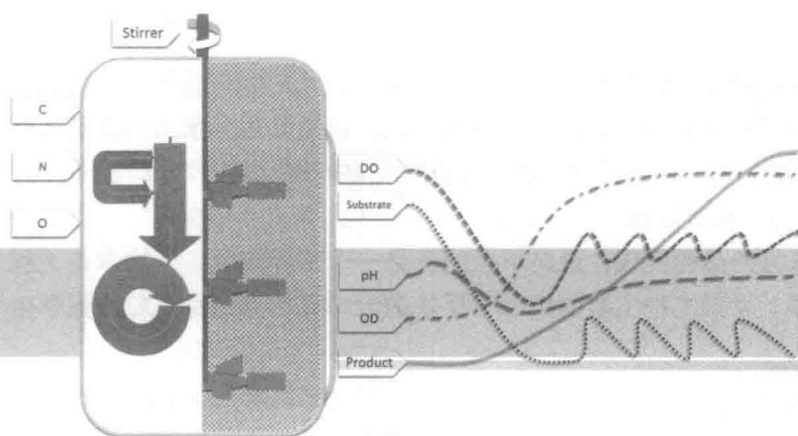
实验一 ϵ -聚赖氨酸生产菌株的选育与发酵工艺的研究·····	181
实验二 D-核糖发酵·····	184
实验三 重组大肠杆菌发酵人铜锌超氧化物歧化酶的高密度、高表达·····	188
实验四 黑曲霉产纤维素酶液体发酵·····	190
实验五 拟干酪乳杆菌发酵生产乳酸·····	194
实验六 嘌呤核苷磷酸化酶在大肠杆菌中表达和酶学性质测定·····	198
实验七 酶催化蔗糖转化反应·····	202
实验八 酵母培养中的基质代谢、呼吸和生长的参数检测与参数相关分析·····	207

实验九 酵母厌氧乙醇发酵·····	211
实验十 重组毕赤酵母高密度发酵表达植酸酶及其分离纯化·····	215
实验十一 大肠杆菌高密度发酵生产脱氨酶·····	223
实验十二 酵母细胞内代谢物的检测分析·····	229

第八章 动物细胞培养····· 234

实验十三 造血细胞分离、集落培养及表型分析·····	234
实验十四 动物细胞的培养和计数·····	237
实验十五 细胞的冷冻和复苏·····	239

参考文献·····	241
-----------	-----



一、发酵工程实验的特点

(一) 发酵工程实验的目的和要求

发酵工程是工程型课程，它不仅要培养学生实验室的基本技能，而且要培养学生生物反应器操作技能、发酵过程参数检测和分析技能及综合应用基本知识解决实际问题的能力。所以实验开设可分为两个阶段：

第一阶段，以单元操作为模块，产品流程为主线的实验教学阶段

为了便于学时安排，实验内容可分为若干模块：①菌种的诱变与高产菌株的获得。②培养基的制备与种子的培养。③发酵过程与参数检测。④产物测定。这4个部分的实验用一个具体产品衔接起来，学生操作的层次是在摇瓶发酵水平，实验安排是随课程同步开设，教学目标是通过对这4个内容的实验，使学生对从菌种到产品发酵整个流程有一个感性认识，加深对理论课程知识的理解。

第二阶段，综合实验的教学阶段

学生完成模块实验后进入综合性实验阶段，每个综合性实验一般在一周内完成，实现一个完整的生物产品全流程实验。实验内容涵盖动物细胞培养、基因工程菌发酵、参数相关分析，以及酶工程实验等。

实验课程安排是模块实验与理论课程同步开设，综合实验在课程结束后安排整时间段（通常是一个月）集中开设。在内容编排上模块实验相对固定，综合实验同时安排数个，供学生根据兴趣选取，综合实验内容可以每年有更新。

发酵工程是一门实验科学，通过实验课程的实践与认识加深对理论知识的理解，它是发酵工程教学的一个重要的必不可少的环节，一般来讲发酵工程实验教学目标可分为这样三个层次：

(1) 了解与认识发酵过程的流程

一般发酵的完整流程应该包括以下几个方面：①菌种的获得。②培养基的选择与配制。③纯培养控制（培养基及其相关设备与管道的灭菌与系统的无菌控制）。④种子的扩大培养。⑤发酵过程及其工艺控制（包括参数检测）。⑥产品的分离与提取以及副产物的分离与三废治理。其中前5个部分可以概括为发酵产品的实现，一般意义上发酵工程实验的教学范围主要针对这5个部分的内容。

所以发酵工程实验的第一个教学目标就是了解与认识发酵工程的流程,对发酵产品的生产过程形成一个完整的实践认识,在实验过程中了解各环节在发酵过程中的作用,以及基本要求。实验设置时可以通过单元模块的串联,也可以在一个大型的综合实验中让学生进行完整的体验。

(2) 认识与理解发酵工程的生物学与工程学基础

发酵首先是一种生物现象,但是作为产品的实现,最终解决的又是一个工程问题,生物学与工程学基础是发酵工程学科发展的重要支撑。发酵工程实验的第二个层次的教学目标是通过实验加强学生的生物学基础,培养学生的工程学概念。

发酵工程的生物学、工程学发展很快。生物学方面:从生物学、生物化学的研究深入到各种组学乃至信号转导、系统生物学的注入;工程学方面:从灭菌设计、经典化学工程三传一反的引入到计算流体力学、复杂系统多尺度控制理论的出现以及现代装备制造技术等。所有这些都彰显出发酵工程是一门既传统又现代,并充满蓬勃生机的学科。因而发酵工程实验在设置知识点时要兼顾发酵工程的生物学与工程学基础。在设置生物学基础实验时要强调在发酵过程中的应用;在设置工程基础实验时要强调工程学的基本原理,以及基本原理解决问题的方法与思路。实验安排时可通过单元模块实验体现知识点,如果再能通过综合实验加以重复与灵活应用,将对培养学生的基本能力起到事半功倍的作用。

(3) 了解发酵产品生产的特性,培养解决问题的能力

发酵产品生产包含的范围很广,从传统的微生物制品到基因工程菌表达产物,目前一些产品的实现也有通过动、植物细胞表达的。所以发酵工程实验的另一个目标,就是让学习者了解发酵产品的多样性,在此基础上感性认识发酵产品的个性特点。此外发酵过程是一个复杂的多系统过程,特别是涉及生物过程,影响因素复杂,不可控因素多,根据过程的特点,灵活地解决问题,是发酵工程技术人员要具备的素养,也是发酵工程实验一个非常重要的教学目标。

在实验安排上,可通过一系列的综合实验来完成,综合实验安排时,应做到兼顾各种发酵类型。

(二) 实验室的一般要求

1. 实验室照明

发酵工程实验室需要良好的照明,如有可能在建筑设计时就要选择正确的朝向,比如建筑物应有朝南的窗户,东西墙应避免开窗户或减小到最低限度,为了避免光线直射到仪器上,可以在窗户上安装窗帘。实验室的灯光设计也应以保证足够的照明为原则。

2. 实验室位置

在选择发酵工程实验室的位置时应考虑环境的干净和卫生程度。一般来讲对于多层的建筑物,应将发酵工程实验室设置在较上的楼层,这不但可以使实验室所处的环境相对卫生,也会使实验室的采光更为良好。但是对于要安装大型发酵设备的实验室,考虑到设备的搬运可选择建筑物的底层。

3. 实验室大小

(1) 实验室长度

实验室设计时一般推荐采用3 m为一个长度单元(模数),这是指两个实验台之间的中心距离(基于实验台的宽度为1.5 m,实验台间距为1.5 m)。一般3 m的模数可以排出一个完全令人满意和整齐的平面布置。例如在单一模数的实验室3 m指的是隔墙中心到中心的距离,它是基于墙壁厚为0.12 m,一边为宽0.69 m的实验台,一边为0.78 m的桌子,实验台的间距为1.41 m。

模数取决于实验台的宽度和实验台的间距。一般来讲对带有试剂架的实验台宽度,靠墙的实验台一般为0.78 m,中间实验台一般为1.5 m。在有些场合下靠墙的实验台宽度可以为0.6~0.7 m。实验台之间合理的间距应保证一个人方便通过时不影响正在工作的另一个人,经验表明1.38~1.5 m是较为理想的,1.2 m以下就显得拥挤了。在学生大实验室里由于每个人的实验台位置较小,经常是两个人背对背的工作,这时实验台的间距可考虑大于1.5 m。

(2) 实验室跨度

随着建筑结构的发展,实验室的跨度已从 4.8 m 增加到 7.2 m 或 7.5 m,甚至于 8.1~9 m。实验室跨度的增加,可以提高建筑物的使用面积,而且也使得实验室面积能更好地利用,特别对于大规模学生实验,实验室的跨度应大于 7.2 m。

二、发酵工程实验室的特点与要求

(一) 发酵工程实验的特点

1. 基本微生物学实验的特点

虽然发酵工程包含的范围很广,除了通常的微生物发酵外,也应包含动(植物)培养的产品,但是一般来讲发酵工程实验的设置是基于微生物发酵基础上的。所以发酵工程实验室首先就是一个基本微生物实验室,应该能满足微生物学的基本实验,如微生物的纯培养、菌种的分离、纯化、鉴定等,如有可能也应考虑微生物的保藏。

2. 工程实验的特点

发酵工程实验有摇瓶和反应器两个不同层次。如果发酵工程实验室仅仅定位于摇瓶层次的发酵工程实验,那么发酵工程实验室和一般的微生物学实验室就没有太大的区别,仅仅是在摇床设备上要进行一些补充。对于摇床可以建立固定的摇床间,也可以购买移动式的箱式摇床。

如果发酵工程实验室定位于反应器水平的发酵工程实验,发酵工程实验室就要比一般的微生物实验室复杂得多。目前 2 L 到 300 L 的反应器都可用于发酵工程实验室中,其中 5~50 L 的反应器最常采用。在选用反应器规模时,对于大规模学生实验,台套数是一个重要的考虑因素,一般来讲一次实验 5~6 人一套反应器是比较理想的。如果考虑到资金以及实验室面积,选用大型的反应器会是困难的。在反应器的形式上也有多种选择,一般最常选用的是带通气搅拌的通用反应器,以及针对特定发酵产品开发的专门反应器。

3. 满足发酵过程分析的要求

发酵过程分析如果仅仅是一些简单生化指标,如菌体观察、菌浓、过程糖、氮指标等,一般在发酵工程实验室再配一些简单的仪器如分光光度计就可以胜任。但是如果要进行代谢过程的分析,气相、液相以及蛋白分析的相关仪器和设备就是必需的,这在发酵工程实验室的建立时,就要考虑专门的仪器分析室。

(二) 发酵工程实验的要求

前面已经提过,如果发酵工程实验室仅仅定位于摇瓶水平的发酵过程实验,一般的微生物学实验室基本可以胜任。但是如果定位于反应器水平的发酵过程实验,发酵工程实验室就要复杂得多。

1. 干区和湿区

发酵工程实验室在设计时可以分为干区和湿区两个部分:干区指的是进行一般的微生物学实验(包括培养基配制等)以及分析实验所处的区域等;湿区主要指安装发酵罐以及蒸汽发生器所处的区域,如果实验室灭菌锅较多也应该集中安排在湿区。干区的地平同一般微生物实验室要进行防水处理,湿区的地平考虑到经常用水进行冲洗,需要严格的防水处理,所有的地平应防滑和易于清洗。在实验室整体布置时,仪器分析区域应当设置在最远离湿区的区域。

2. 公用设施

发酵工程实验室的公用设施不同于一般微生物学实验室,当有发酵罐运行时,除了通常的水、电、煤气外,还需要压缩空气、蒸汽甚至冷冻水等公用系统。对有一定台数和规模发酵罐的实验室,在公用工程设计时就要有统一的考虑,要为每个安装发酵罐的位置预留空气、上水(冷冻水)、蒸汽管路以及回水口。

① 压缩空气。发酵罐的运行需要不断通入无菌空气，对于有一定规模的发酵罐的实验室，必须设置一个专门的空气供应系统。空气供应系统最基本应包含：空气压缩机、空气储罐、油水分离器、减压阀，如有可能再加一个总过滤器（图 0-1）。空压机运行时会有很大的噪声，空气系统应当尽可能单独设置在远离人员操作的区域，制备好的压缩空气由空气管路输送至安装发酵罐的实验室。发酵过程中空压机要保持可靠的运行，所以选型时要对压缩机的容量留足余量，而且最好同时准备两台，以便一台有故障时，另一台可以立刻使用。

② 蒸汽。发酵罐的灭菌、移种以及在取样过程中都需要蒸汽进行灭菌。如果建筑物附近有蒸汽源，那么只要将蒸汽接进发酵工程实验室就可以了，对于一般发酵工程实验室 0.4 MPa 以上的蒸汽就足够了，由于发酵工程实验室反应器规模一般不大，所需蒸汽量很少，所以连接实验室裸露的蒸汽管路一定要加上隔热套，以减少热量的损失、保持蒸汽干燥和保护操作人员。

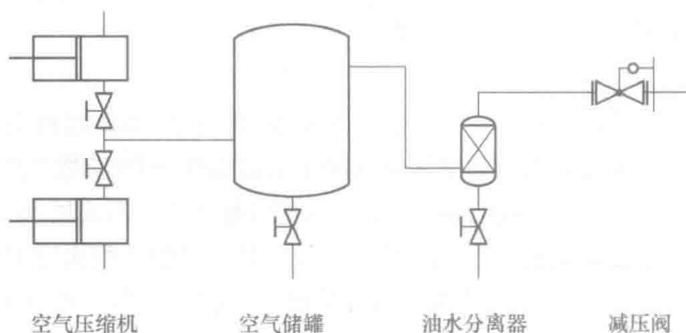


图 0-1 空气系统示意图

但是一般的发酵工程实验室，很少能有外部蒸汽源。这时可以选用一台连续蒸汽发生器来提供蒸汽，对于一般 5~6 台 50 L 以下发酵罐的发酵工程实验室，考虑到发酵罐灭菌时可以错开，一台每小时出 20 kg 蒸汽的发生器就足够了。事实上即使有外接蒸汽源的场合，对于发酵工程实验室也推荐使用蒸汽发生器，这样蒸汽质量便于控制，实验操作会更稳定。

③ 冷冻水。目前夏季的温度越来越高，且高温持续的时间也越来越长，这段时期依靠一般的自来水降温可能不能控制发酵温度。为了在高温时期发酵工程实验室能够正常运行，冷冻水的供应就显得比较重要。

对于实验室规模的小型反应器，发酵罐的表面传热会占据发酵过程热交换总量的相当份额，小型的反应器，可以利用发酵工程实验室的比较大功率的空调系统，使发酵过程的温度低于室外环境温度。但对于一定要在炎热夏季运行的发酵工程实验室，由于环境温度远高于发酵温度，再加上产生的发酵热，即使有空调系统也不足以维持所要求的发酵温度，则应配备冷冻水供应系统。对于 5~6 台 50 L 以下发酵罐的发酵工程实验室，一台 2.25 kW（3 匹）以上的冷水机一般就能胜任。冷水机运行过程中，压缩机会有噪声，且频繁启动也有电磁干扰，所以应当远离发酵罐，安排在相对独立的空间比较适宜。

（三）发酵工程实验室的安排

发酵工程实验室的大小和房间的数目是由实验的需求、工作的性质以及承担的教学目标所决定的。实验室应当考虑以下几个特点：

① 发酵实验进行的微生物接种等操作过程都必须要在无菌的环境中进行，因此在发酵实验室中必须有一个无菌的空间或单独的无菌室。

② 发酵实验需要对微生物进行培养。少量的培养工作有时可以在培养箱中进行,大批量的培养则必须有专门的培养室。

③ 摇瓶水平的发酵研究需要进行摇瓶培养,因此要有专门的摇床间。

④ 发酵罐要集中安排和整体布局,实验室空间不但要满足常规的实验操作,还要便于发酵罐的清理、拆卸和维修,最好能为每个发酵罐分配一个柜子,专门放置其备件和附属用品。

⑤ 发酵实验需要经常进行灭菌操作,由于灭菌设备需要大量煤气(或电),灭菌操作时又会产生大量的蒸汽,因此有时在规模较大的发酵工程实验室,专门设置一个灭菌室,将灭菌设备集中起来使用是非常合理的做法。

⑥ 发酵工程实验过程中使用大量的玻璃器皿,工作结束后则需要足够的空间和设备来进行洗涤和干燥。

⑦ 在发酵工程实验室中,培养基的制备是必不可少的操作,对不同的发酵实验其培养基的制备过程有共同之处,在规模较大的实验室中,专门设立一个培养基制备的工作室可以避免与其他实验工作相互干扰。

⑧ 发酵的样品等必须保存在较低的温度下,因此发酵实验室必须有足够的冰箱容量(或冷房),来保存这些样品。有时对于特殊的要求必须有冷冻的环境来保存样品。

⑨ 仪器分析应该有专门的分析室,室内要保持洁净和通风条件,如有易燃气体要放置在仪器室外的专门房间,以保证仪器的使用寿命和操作人员的安

在发酵工程实验室设计时必须使各个房间及仪器等的布局合理,从而保证在整个实验过程中用于物品传输等所花费的时间最少。实验室设计还需考虑为实验室工作人员提供办公室等,特别对于大规模学生实验室也应根据教学班的安排设置大实验室。

三、发酵工程实验设计(方案)的基本步骤

在研究微生物生长和代谢中由于微生物受环境条件的直接和巨大影响以及代谢活动的多样性和调节控制的复杂性,经常需要通过大量的实验来探索一个生化过程的规律,确定最佳工艺配方或最佳发酵条件,使菌株的生产潜力得到最大限度的发挥。

如何安排实验,使实验次数尽量少,而又能达到好的实验效果呢?这是科学研究者经常碰到的问题。解决这个问题有一专门的方法,称为“实验设计”。所谓实验设计,是指运用数理统计的理论和方法来经济地合理地安排实验方案和分析实验结果。采用好的实验设计方法,可以减少实验次数,缩短实验周期,降低实验成本,事半功倍地迅速得到最佳的结果。

(一) 实验设计(方案)的内容及要求(明道绪,2002)

进行任何一项科学实验,在实验前必须制定一个科学的、全面的实验计划,以便使该项研究工作能够顺利开展,从而保证实验任务的完成。虽然科研项目的级别、种类等有所不同,但基本要求是一致的。实验计划的内容一般应包括以下几个方面:

1. 课题名称与实验目的

课题的选择是整个研究工作的第一步。课题选择正确,此项研究工作就有了很好的开端。一般来说,实验课题通常来自两个方面:一是国家或企业指定的实验课题,这些实验课题不仅确定了科研选题的方向,而且也为研究人员选题提供了依据,并以此为基础提出最终的目标和题目。二是研究人员自己选定的实验课题。研究人员自选课题时,首先应该明确为什么要进行这项科学研究,也就是说,应明确研究的目的是什么,解决什么问题,以及在科研和生产中的作用、效果如何等。

2. 研究依据、内容及预期达到的经济技术指标

课题确定后,通过查阅国内外有关文献资料,阐明项目的研究意义和应用前景,国内外在该领域

的研究概况、水平和发展趋势，理论依据、特色与创新之处。详细说明项目的具体研究内容和重点解决的问题，以及取得成果后的应用推广计划，预期达到的经济技术指标及预期的技术水平等。

3. 实验方案和实验设计方法

实验方案是全部实验工作的核心部分，主要包括研究的因素、水平的确定等，具体内容详述于后。方案确定后，结合实验条件选择合适的实验设计方法。

4. 实验记录的项目与要求

为了收集分析结果所需要的各个方面资料，应事先以表格的形式列出需观测的指标与要求。

5. 实验结果分析与效益估算

实验结束后，对各阶段所取得的资料要进行整理与分析，所以应明确采用统计分析的方法，如 t -检验，方差分析，回归与相关分析等。每一种实验设计都有相应的统计分析方法，统计方法应用不恰当，就不能获得正确的结论。如果实验效果显著，同时应计算经济效益。

6. 已具备的条件和研究进度安排

已具备的条件主要包括过去的研究工作基础或预试情况，现有的主要仪器设备，研究技术人员及协作条件，从其他渠道已得到的经费情况等。研究进度安排可根据实验的不同内容按日期、分阶段进行安排，定期写出总结报告。

(二) 实验设计(方案)的拟定步骤

一个周密、完善的实验方案，不仅可以节省人力、物力，多快好省地完成实验任务，而且可以获得正确的实验结论。如果方案拟订不合理，如因素、水平选择不当，部分实验方案所包含的水平组合针对性或代表性差，实验将得不出应有的结果，甚至导致实验的失败。因此，实验方案的拟订在整个实验中占着极其重要的位置。

1. 因素和水平的选择

实验者必须选择在实验中要考察的因素，这些因素变化的范围，以及在做实验时这些因素的水平。还必须考虑如何将这些因素控制在所希望的数值上以及如何测量这些数据。

(1) 根据实验的目的、任务和条件挑选实验因素

拟订方案时，在正确掌握生产中存在的问题后，对实验目的、任务进行仔细分析，抓住关键，突出重点。首先要挑选对实验指标影响较大的关键因素。若只考察一个因素，则可采用单因素实验。若是考察两个以上因素，则应采用多因素实验。如进行培养基添加某种微量元素的发酵实验，在拟定实验方案时，设置一个添加一定剂量微量元素的处理和不添加微量元素的对照，得到一个包含两个处理的单因素实验方案；或设置几个添加不同剂量微量元素的处理和一个不添加微量元素的对照，得到一个包含多个处理的单因素实验方案。进行微量元素不同添加剂量与不同添加时间的实验，则安排一个两因素实验方案。应该注意，一个实验中研究的因素不宜过多，否则处理数太多，实验过于庞大，实验干扰因素难以控制。凡是能用简单方案的实验，就不用复杂方案。

(2) 根据各实验因素的性质分清水平间差异

各因素水平可根据不同课题、因素的特点来确定，以使处理的效应容易表现出来。

① 水平的数目要适当。水平数目过多，不仅难以反映出各水平间的差异，而且加大了处理数；水平数太少又容易漏掉一些好的信息，致使结果分析不全面。

② 水平间的差异要合理。有些因素在数量等级上只需少量的差异就反映出不同处理的效应。如培养基中微量元素的添加等。而有些则需较大的差异才能反映出不同处理效应来，如添加时间等。

③ 实验方案中各因素水平的排列要灵活掌握。一般可采用等差法(即等间距法)、等比法和随机法3种。结合培养基中添加微量元素为例说明。

等差法是指各相邻两个水平数量之差相等，如微量元素各水平的排列为：5 mg/L、10 mg/L、