



河北科技大学  
HEBEI UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

# 发酵过程的实验室研究与放大

---

河北科技大学生物科学与工程学院

徐亲民

[q\\_xu@hebust.edu.cn](mailto:q_xu@hebust.edu.cn)

2014年5月

# 目录

---

- ◆ 研究内容与要求
- ◆ 实验计划的制定及实施
- ◆ 摇瓶实验的运用
- ◆ 小发酵罐实验
- ◆ 实验的记录与总结
- ◆ 中试
- ◆ 发酵过程的放大与缩小
- ◆ 关于发酵尾气的测量



# 发酵实验室研究的内容

- 开展摇瓶和小发酵罐发酵实验，提高发酵水平，降低发酵成本；
- 为生产车间提出工艺改进方案，包括配方以及温度、pH、溶氧、补料等的控制工艺；
- 对发酵原材料进行筛选，开展廉价原材料代用实验，为原材料采购提供依据；
- 协助菌保中心进行新菌种发酵实验，提供有关新菌种发酵水平、发酵条件和生理特性的数据，制定新菌种的发酵工艺规程；
- 协助菌种室根据实验数据制订和修订种子质量标准；
- 进行生产跟踪实验，协助生产车间查找发酵水平波动的原因，并提出解决办法。



# 对发酵实验室工作的一般要求

- 对发酵实验要跟踪观察，有规律地采取各项实验数据，在每批发酵实验结束后绘制代谢曲线；
- 发酵实验使用的原材料规格要与生产一致，除特殊情况外，一般不采用试剂级；
- 发酵实验采用的通气、搅拌和溶氧条件要考虑生产放大的可能性；
- 维护好发酵实验设备，消灭滴、漏、跑、冒及其他故障，时刻保持设备完好状态；
- 实验设备、仪器、用品、操作台、地面等在使用后必须擦拭或清洗干净；
- 各种原材料、设备备件和实验用品要放置有序，用标签标注品名、规格和数量，对农副产品及其他有机原材料还要标注生产或进货日期。



# 对发酵实验室工作人员的一般要求(一)

---

- 身体健康，能胜任高强度的与发酵实验相关的脑力与体力劳动；
- 认真学习发酵工程理论和实际操作技能，对专业知识有比较全面的了解与掌握；
- 能够查阅国内外与所实验品种及一般发酵工程相关的专业文献，并对外文文献有一定的阅读能力；
- 熟练掌握配料、灭菌、工艺控制、工艺计算、无菌实验、显微标本制备与染色、pH与溶氧电极的校验与保养、常规化学与仪器分析、一般设备维修等操作技能；



# 对发酵实验室工作人员的一般要求(二)

---

- 能熟练运用计算机进行文字、数据、公式、化学结构式和各种图像处理，能写出合格的发酵实验报告；
- 有良好的卫生习惯，能时时、处处保持发酵实验室和发酵实验设备的干净与整洁；
- 树立严格的安全意识，熟悉压力容器、危险化学品、消防器材和电气设备的安全使用；
- 强化保密意识，不对外泄漏发酵实验配方、实验方法、工艺和数据。



# 实验计划的制定

---

- 实验计划包括实验项目计划和日常工作安排计划两个方面。
- 项目计划以季和年为单位制定，季度计划包括实验内容、进度、所需试剂和原材料、外协项目、责任人等；年度计划还需有仪器设备添置计划。
- 日常工作计划应本着紧张、有序的原则制定，既保证每个工作日都有一定工作量，又要尽量减少加班的时间和次数。
- 日常工作计划可以用图表的形式表达，使大家一目了然。



# 日常工作安排图表举例

日期	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
星期	一	二	三	四	五	六	日	一	二	三	四	五	六	日	
斜面								↓							
母瓶	→		↓				↓	→		↓					
种子			↓	→		↓				↓	→		↓		
发酵			↓	↓				→				↓	↓	→	
分析	常规	常规	常规	常规	常规	常规	常规	常规	常规	常规	常规	常规	常规	常规	
			效价	效价						效价	效价				
备注															

备注栏中应注明每天上、下午需要做的具体事情，如斜面、母瓶、发酵瓶、实验罐等培养基配制、灭菌、接种、取样、放料、检测等等，并落实到责任人。



# 摇瓶实验

---

- 摇瓶实验是发酵研究必不可少的步骤。
- 摇瓶实验可以以较少的人力、物力在短时间内获得大量实验数据。
- 摇瓶实验使用的摇床一般为旋转式的(往复式的仅用于试管振荡培养), 偏心距25~50 mm, 转速200~240 rpm。
- 摇床有封闭式和开放式两种(前者自行控温, 后者置于恒温室内), 一般来说开放式效果较好。
- 封闭式摇床内部空间和安装开放式摇床的恒温室内要保持清洁, 但不要也无需用紫外灯灭菌, 以免紫外灯产生的臭氧影响微生物生长。



# 摇瓶实验的目的

- 摇瓶实验的首要目的是为了平衡优化基础培养基，获得最快的前期菌体生长速率和最高的起步单位，并为确定补料方案提供依据。
- 摇瓶实验的第二个目的是进行跟踪实验，查找实验罐发酵和生产罐发酵产量低于摇瓶的原因及解决办法。
- 摇瓶实验的第三个目的是进行原材料质量验证、筛选和节约代用实验。
- 在摇瓶实验中也可以进行一些简单的补料试验。
- 摇瓶实验不能以获得高于生产水平的发酵效价为目的，这一目的很难达到，即使达到也很难在生产中实施。



# 实验原材料的选择(一)

- 在了解实验菌种生理生化特性和目标产物化学结构的基础上，选择能被该菌种较快利用和与目标产物部分结构相似或代谢产物与目标产物生源结构相似的原材料；
- 原材料应尽量无毒，不易燃、易爆，不易受潮，质量稳定，容易贮藏，价格低廉，有长期稳定的供应来源，运输方便；
- 原材料在溶解和灭菌后粘度要尽量低，通气、搅拌产生的泡沫尽量少；
- 用于补料的原材料溶解度要大，配制后浓度高，且不产生沉淀；



# 实验原材料的选择(二)

- 所有原材料都应当了解其产地、品种、规格、主要成分含量、有害杂质含量、水分含量、加工方法、粒度、包装和贮存条件、贮存时间等等，并记录在案；
- 不使用陈年、霉烂、生虫、腐臭、潮解、变质和颜色很深的原材料；
- 最终选用什么原材料要通过摇瓶发酵和小实验罐发酵数据确定；
- 对同类原材料做比较试验时要在相同的C、N、P水平上进行；
- 为了缩短工作周期，加快工作进度，原材料选择的初步试验可以采用较短的发酵周期，最终复试时再延长发酵周期，其他试验工作也可照此办理。



# 培养基配方的摇瓶实验

- 培养基配方实验以短周期为宜，其目的首先是适合细胞生长，其次是适合代谢产物合成。
- 适合细胞生长以生长速率为指标，要求在24~28h内达到最大菌体浓度。
- 适合代谢产物合成以起步效价为指标，要求28~32h的起步效价最高。
- 要同时实现以上两个指标，必须在达到最大菌体浓度后培养基中残余C、N、P等能够维持细胞慢速生长，从而适合于产物(主要是次级代谢产物)的合成。
- 实现了以上两个指标，就完成了配方试验的任务，剩下的工作交由发酵试验去做(通过补料持续高产)。



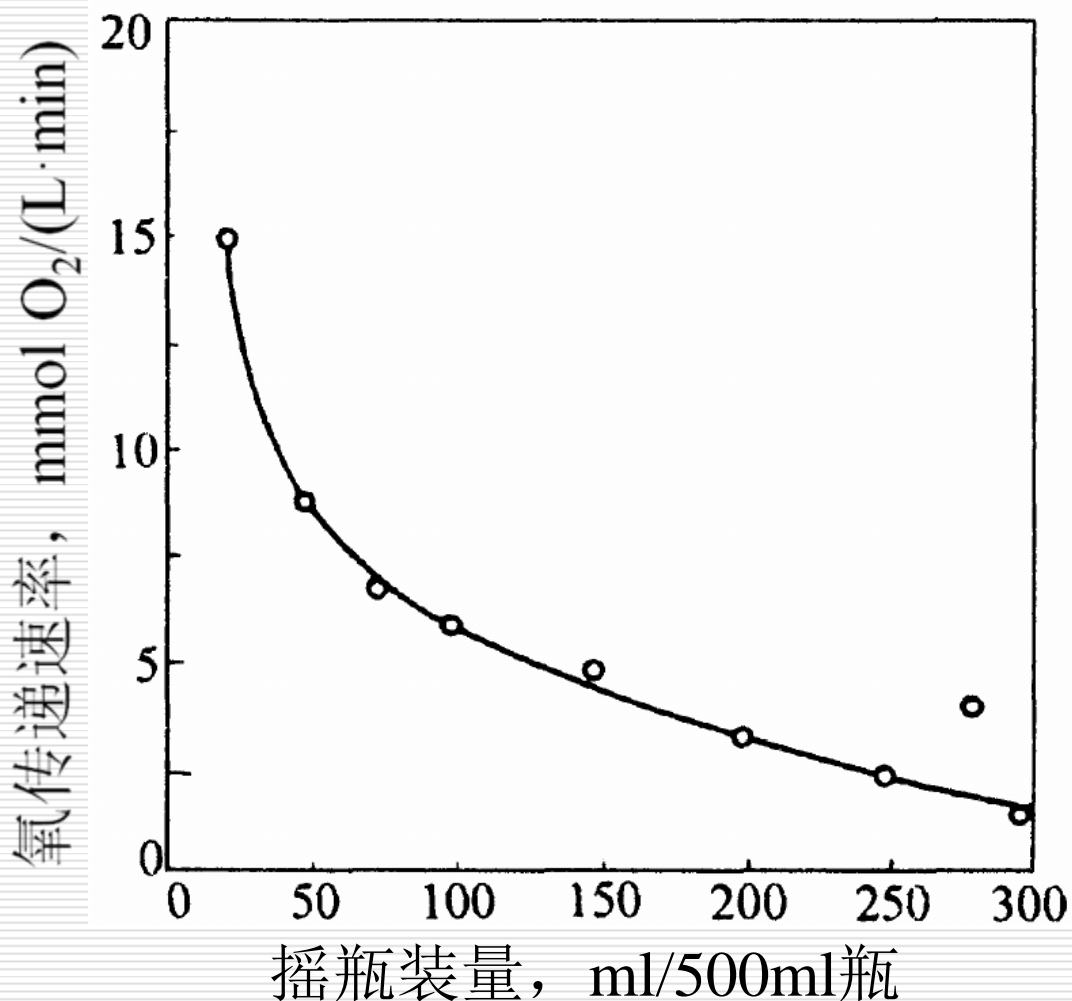
# 摇瓶实验中的培养基装量

摇瓶容积	培养基装量
150 ml	20~25 ml
250 ml	35~40 ml
500 ml	70~80 ml
750 ml	100~120 ml
1 L	140~170 ml

采用较大装量获得的摇瓶实验结果，较容易在发酵罐上放大。



# 摇瓶装量对氧传递速率的影响



# 摇瓶瓶口使用的覆盖材料

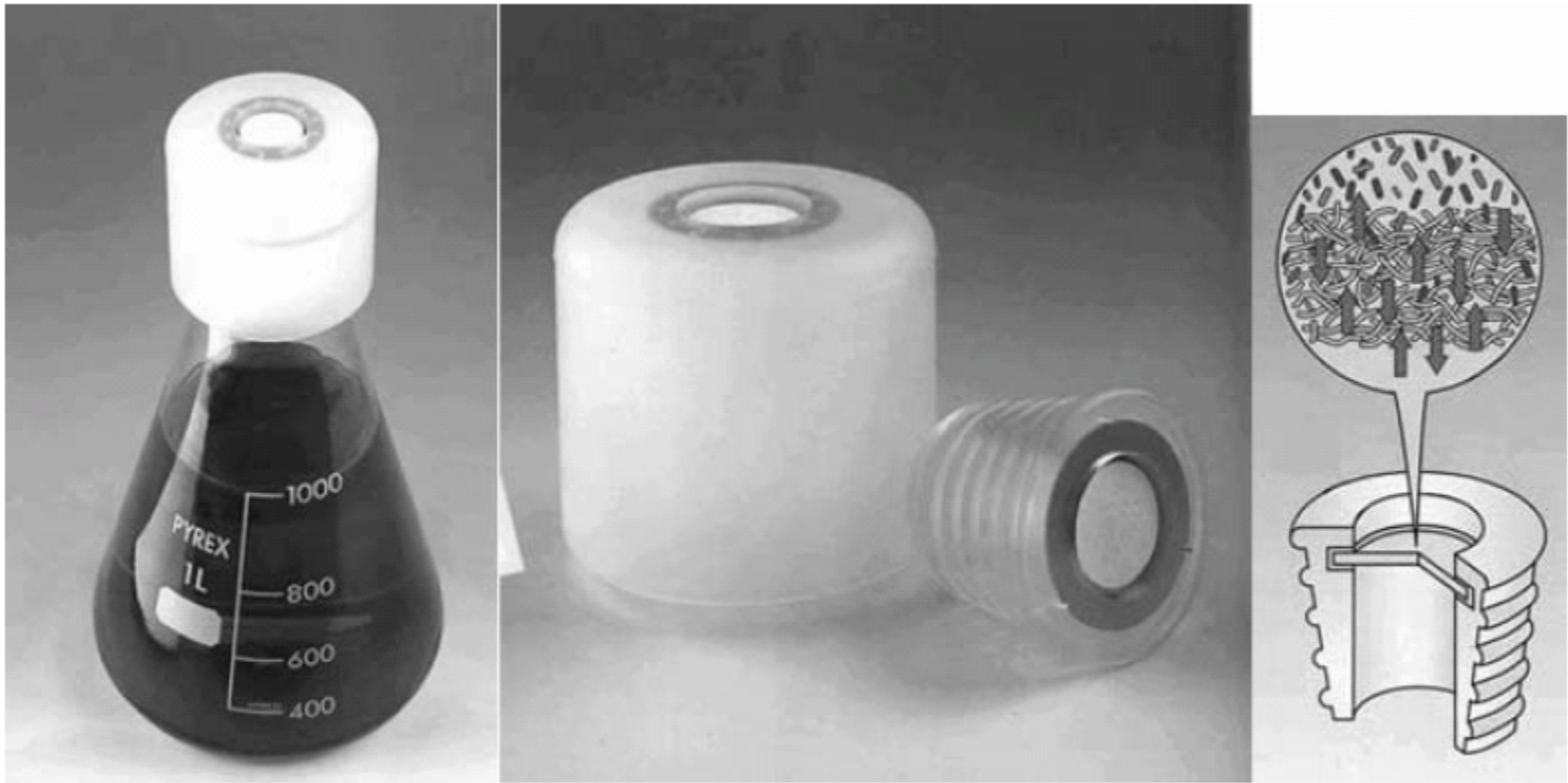
---

- ❑ 原棉棉塞(打湿后发硬,影响通气,故不推荐,更不能用于脱脂棉塞)
- ❑ 八层纱布(最常用,但要勤洗涤、勤更换)
- ❑ 耐热泡沫塑料塞
- ❑ 耐热泡沫橡胶塞
- ❑ 多孔陶瓷芯橡胶塞

不管采用何种覆盖材料,都应当避免被培养基玷污!



# 多孔陶瓷芯橡胶塞



**BugStopper**隔菌塞

## 摇瓶形状、大小和摇床偏心距对氧传递速率的影响

形状和大小	培养基装量	氧传递速率( $\text{mmol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )	
		25 mm	50 mm
方形 $4 \times 4 \text{mm}$	0.125ml	6.7	$25.4 \pm 5.9$
$8 \times 8 \text{mm}$	0.5ml	$15.2 \pm 2.4$	$33.6 \pm 4.4$
$15 \times 15 \text{mm}$	2.5ml	39.3	$50.5 \pm 3.5$
$50 \times 50 \text{mm}$	19.5ml	47.7	58.1
圆形 $\Phi 6.6 \text{mm}$	0.26ml	5.0	16.4

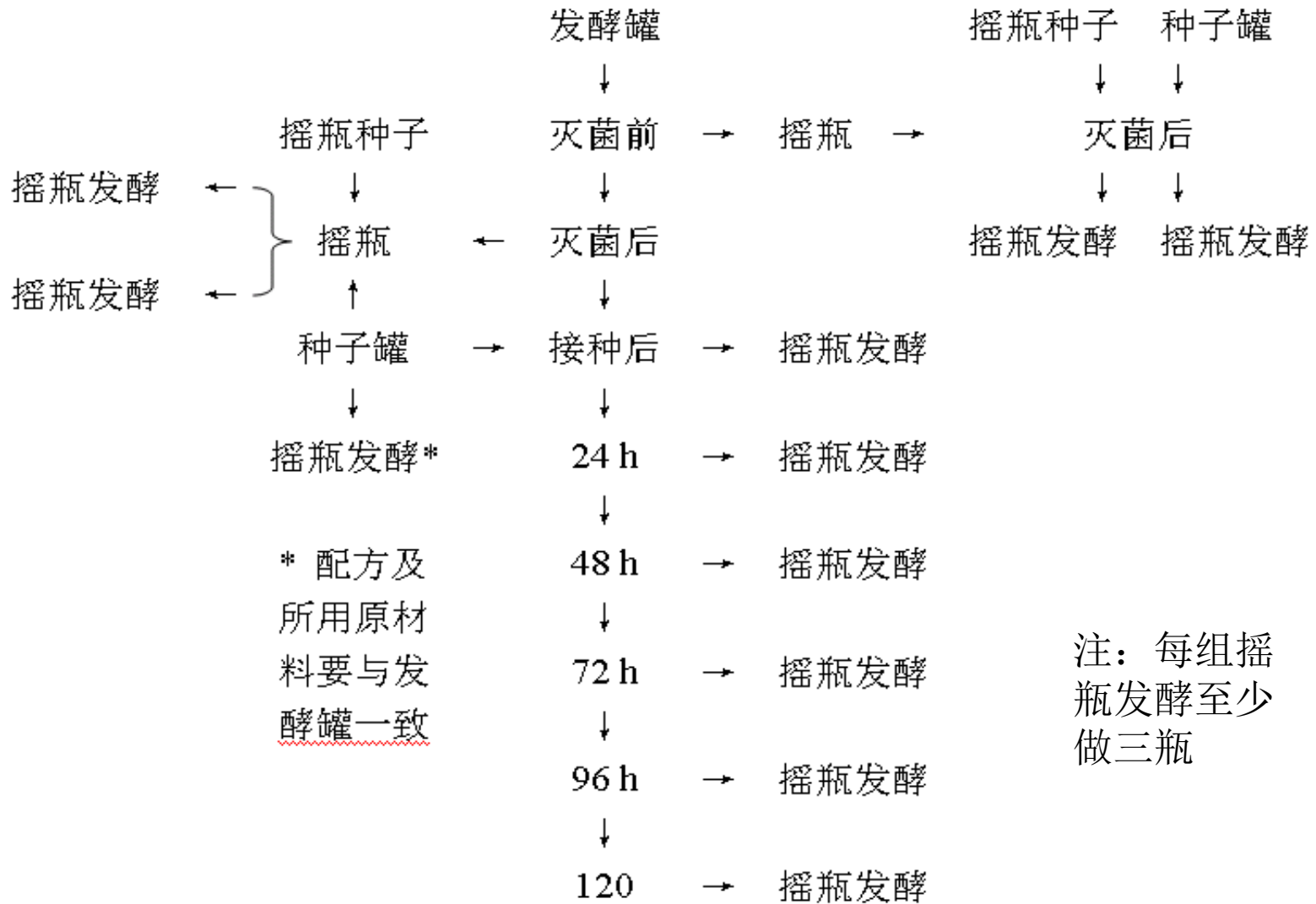


# 发酵罐摇瓶跟踪实验

- 发酵罐摇瓶跟踪实验用于查找发酵罐与摇瓶实验数据产生差距的原因，既可用于小型发酵罐，也可用于生产发酵罐。
- 跟踪实验的具体目的是查找摇瓶种子与种子罐种子之间、摇瓶灭菌与发酵罐灭菌之间、摇瓶与发酵罐培养条件之间的差异。
- 跟踪实验按下页图所示程序安排。
- 程序中自种子罐和发酵罐取样要在无菌条件下进行，所用取样瓶要事先灭菌并干燥，取样后在无菌室按所需体积分装摇瓶，每项跟踪实验至少分装三瓶。



# 发酵罐摇瓶跟踪实验程序

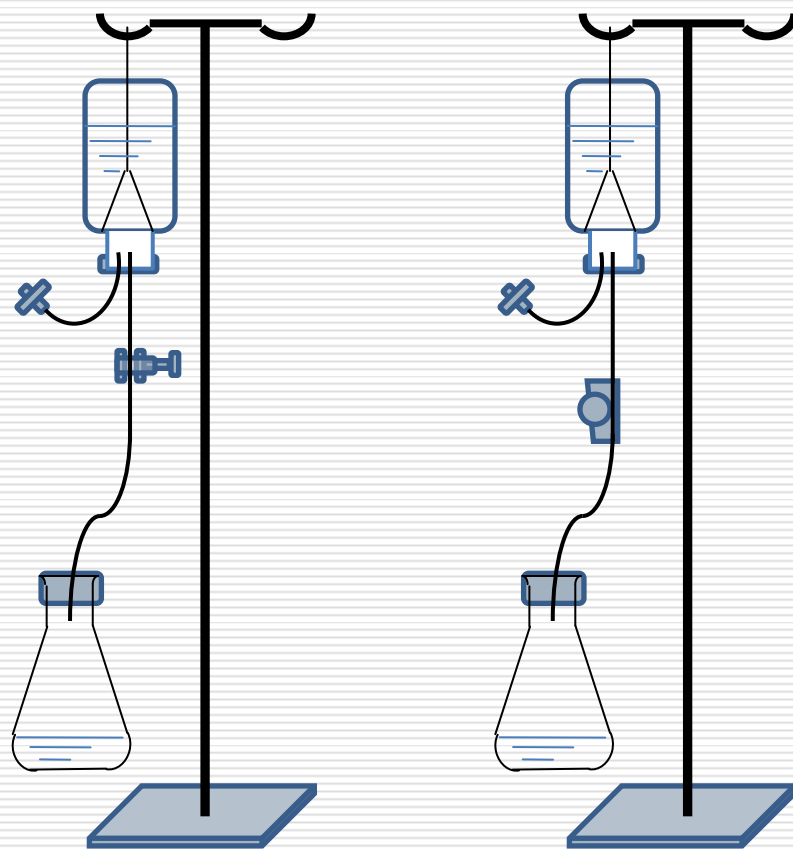


注：每组摇瓶发酵至少做三瓶



# 用医用点滴管进行摇瓶自动补料

摇瓶置摇床上，用螺旋夹或点滴调节钮调节补料流速(每分钟滴数)。这一方法也可用于小发酵罐自动补料，但补料瓶应置于发酵罐上方2米以上，而发酵罐内压力不得高于0.02MPa。



# 小发酵罐实验(一)

## 目的

- 将摇瓶实验的配方、工艺条件转移到小型发酵罐，进行更加深入细致的实验研究。
- 探索发酵罐中pH、DO、菌浓、残糖、氨氮、效价等随发酵时间的变化。
- 比较摇瓶代谢与发酵罐代谢的差异，找出适合于发酵罐的配方和工艺条件。
- 进行补料试验，探索根据pH、DO、尾气CO<sub>2</sub>含量、菌体浓度、相应物质的残留量等进行补料的最佳工艺及工艺控制点。
- 在摇瓶发酵的基础上进一步提高发酵效价。
- 进行动力、原材料、劳动力等的发酵成本核算。



# 小发酵罐实验(二)

## 重点

- 补料工艺研究
- 补碳源的种类、时机及控制指标
- 补氮源的种类、时机及控制指标
- 选择可能的前体物质进行补料试验
- 通过补料稳定C、N、P、pH和DO在摇瓶实验所得最佳水平上
- 通过补料使菌体生长曲线维持最佳状态
- 通过补料满足发酵过程菌体持续生长和产物持续合成所需的原料（进行物料衡算）
- 通过补料延长发酵周期，提高产品效价和产量



# 发酵试验过程pH的控制

- 稳定发酵过程的pH对提高发酵产量至关重要，方法主要是控制C、N源的代谢平衡。
- 当发酵前期pH急剧上升时，要降低基础培养基中速效N源的用量；pH急剧下降时，要降低基础培养基中速效C源的用量。
- 发酵中后期pH有持续上升趋势时，要及时补入速效C源；有持续下降趋势时，要及时补入速效N源。补料量以少量多次、不造成pH较大波动为宜。
- 在一般情况下，葡萄糖是最好的速效C源，氨水和铵盐是最好的速效N源，发酵过程用流加葡萄糖、氨水和铵盐综合控制pH可以达到很好的效果，但要注意氨氮水平的变化。
- 也可以补入有机酸、碱调节pH，在万不得已的情况下才补入无机酸、碱调节pH。



# 发酵试验过程DO的控制

- 对于高度好氧的微生物发酵过程，DO的控制也是至关重要的。
- DO的控制归根结底是菌浓的控制，氧在发酵液中的溶解度与菌浓成反比，而氧的消耗速率与菌浓成正比。
- 发酵前期DO的快速下降是正常的，但在下降到某一谷底后应当回升到一个合适和稳定的水平。
- DO偏高可以增加补料量，反之则减少补料量。
- 如果菌浓过高引起DO过低，可以提高搅拌转速和通气量，并适当补水。提高罐压无长效。
- 要注意排除染菌原因造成的DO过低。



# 发酵试验过程补糖的控制

- 由于代谢产物的生物合成过程大多存在碳的分解代谢产物阻遏(抑制), 有的甚至特别敏感, 因此发酵过程的残糖控制至关重要。
- 根据残糖测定结果控制补糖, 由于时间的滞后及测定的准确性差而很难达到预期效果。
- pH及DO(特别是DO)对残糖都十分敏感, 可以作为补糖的控制依据。
- 利用实时计算的氧消耗速率或二氧化碳生成速率控制补糖是更加精确和理性的控制方法, 但需要配备尾气氧和二氧化碳分析仪。
- 动植物油兼作优良碳源和消沫剂在发酵过程中广泛应用, 其加入对DO和糖代谢的影响不可忽略。



# 发酵试验过程氨氮的控制

- $\text{NH}_4^+$  尽管是良好的氮源，但也对很多发酵产品的生物合成有抑制或阻遏作用，必须在发酵过程中予以控制。
- 发酵液中  $\text{NH}_4^+$  浓度的控制可通过流加氨水或铵盐来实施，在这一流加过程中要同时注意 pH 的稳定。
- 不能以发酵工厂目前普遍测定的甲醛氮作为  $\text{NH}_4^+$  浓度的控制指标，因为甲醛法测定的氮既包含  $\text{NH}_4^+$  氮，也包括各种氨基氮和胺氮，后两者往往占优势，因此甲醛氮充足并不代表  $\text{NH}_4^+$  氮也足够。合理的控制指标应该是测定的  $\text{NH}_4^+$  氮。
- 发酵中后期甲醛氮高还意味着有大量细胞自溶，这不是  $\text{NH}_4^+$  氮充足而是  $\text{NH}_4^+$  氮严重不足的表现。



# 发酵试验过程其它营养物质的控制

- P、S和某些无机元素也是不可或缺和过量的，要根据对发酵滤液中残量的测定或物料衡算来确定是否需要补加。
- 对于补料分批发酵过程和反复补料分批发酵过程，由于补料、蒸发、中间放料、代谢等所造成的发酵液体积复杂的不断变化，采用常规方法很难进行发酵过程的物料衡算，必须借助于发酵过程的数学模型。
- 引入数学模型可以预测发酵过程对各种营养物质的需要，从而能更加理性化地进行综合控制，但这种控制还需辅以某些必要的检测。



# 发酵试验的日常检测与控制

- 摇瓶实验检测同菌种选育中的菌种特性试验；
- 对实验罐发酵，除效价外，要求从接种后的24 h开始，每12 h取样检测一次，效价则从48~72 h开始，每12~24 h检测一次；
- 摇瓶发酵检测发现糖、氮偏低或pH异常，可以用灭菌的注射针头吸入无菌补料液或酸、碱，扎透纱布补入摇瓶中进行调节，补料时摇瓶机要停机；
- 实验罐发酵的pH可以补入氨水、硫酸铵、葡萄糖、玉米浆进行调节，但在进行这种补料时还要考虑罐内残糖和氨氮的含量，使其不要过高；
- 实验发酵罐的DO过高时可以补入糖或油进行调节，过低时可以提高搅拌转速或通气量或补水，一般不采用提高罐压的方法。



# 发酵试验的常规检测项目

- 常规检测包括pH、菌浓、菌体形态、无菌状态、残糖、氨氮、甲醛氮、前体、效价等。
- 对于摇瓶发酵实验，要求每天至少卸下一个摇瓶进行上述检测，为此要根据检测次数安排配制和接种的摇瓶数量。
- 测定效价的摇瓶样要同时测定发酵液或滤液体积或称重，以计算发酵总亿效价，排除水分蒸发的影响。
- 对实验罐种子，要求从接种后的24 h开始，每8~12 h取样检测一次，一般不测效价。
- 在实验罐种子生长达到对数生长期后，要每2~4 h无菌取样一次，接种入发酵瓶，以考察最合适的种龄。
- 对实验罐发酵，除效价外，要求从接种后的24 h开始，每12 h取样检测一次，效价则从48~72 h开始，每12~24 h检测一次(取样起始和间隔时间由发酵周期确定)。



# 摇瓶发酵与发酵罐发酵的差异

	摇瓶	小发酵罐	大发酵罐
通气方式	表面通气	沉没鼓泡通气	沉没鼓泡通气
液/固悬浮	好	好	较差
液/液分散	差	好	较差
剪切作用	弱	较强	强
氧传递速率	较差	较差	好
培养基装量对溶氧的影响	显著	不显著	不显著
速效C、N源代谢速率	较慢	较快	较快



# 摇瓶与发酵罐氧传递系数的比较

发酵容器	氧传递系数 $k_L a(\text{h}^{-1})$
试管	20
扁瓶	50
摇瓶	500
挡板摇瓶	1200
10 L机械搅拌发酵罐	3000~4000

注：以上均为以水为介质测得的结果，如果换成发酵液，所得数值可能下降一个数量级。



# 实验记录

- 实验记录是为了对实验过程进行管理，以确保对实验进度的监控和对实验效果的总结、评价。
- 系统、完整的记录有利于对实验全过程进行追溯，是对每位实验员工的工作数量和质量进行考核的重要依据，也是日后知识产权保护的法律证据。
- 记录内容必须真实、可靠，记录必须即时，不得追记，字迹必须工整、清晰。
- 不得任意撕毁或涂改记录，必须更改时，可用一条或二条横线划在更改处，使原数据仍可辨认，在旁边重写正确的数据并签注姓名及日期。
- 记录如需重新誊写，则原有记录不得销毁，而应作为重新誊写记录的附件保存。
- 实验记录应有专门印制、每页都有编号的记录本。



# 记录数据的修约规则

- 实验数据的修约应采用“4舍、6入、5留双”规则。具体实施方法如下：
  - 当保留位数后面第一个数字小于或等于4时舍去，大于或等于6则进1；当保留位数后面第一个数字等于5，5后（右边）非0应进1，5后为0看奇偶：5前偶数应舍去，5前奇数则进1。例如（保留1位小数）：

**2.2500**→**2.2**      **2.1507**→**2.2**      **2.0500**→**2.0**  
**2.1500**→**2.2**      **3.7431**→**3.7**      **2.3653**→**2.4**





# 菌种斜面培养记录

菌种名称	批号	生长日期	支数	细胞总数/支	制备人	销毁时间	支数	销毁人
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		
		月 日 时- 月 日 时				月 日 时		



# 摇瓶发酵实验记录

瓶号	实验内容	种瓶 h			发酵瓶 h				发酵瓶 h				平均总亿	
		pH	菌浓	体积	pH	菌浓	效价	体积	pH	菌浓	效价	体积	h	h



# 实验罐发酵记录——种子罐批报

试验名称	批号				责任人					
接种时间	年	月	日	时	分	接种量: L	pH:	菌浓:	接种人	
培养时间(h)	0		24			32	40	48		放罐
温度(°C)										
pH										
DO(%)										
搅拌转速(rpm)										
通气量(L/min)										
体积(L)										
总糖(g/L)										
还原糖(g/L)										
氨氮(mg/L)										
甲醛氮(mg/L)										
溶磷(mg/L)										
菌浓(%)										
菌体形态										
过滤速度										
无菌状态										
记录人										



# 实验罐发酵记录——发酵罐批报

试验名称			批号	接种时间		年 月 日 时 分				接种人	
培养时间	0	24	36	48	60	72	84	96	...	...	放罐
温度(C)											
pH											
DO(%)											
搅拌转速(rpm)											
通气量(L/min)											
体积(L)											
总糖(g/L)											
还原糖(g/L)											
残油(g/L)											
氨氮(mg/L)											
甲醛氮(mg/L)											
溶磷(mg/L)											
前体(g/L)											
菌浓(%)											
菌体形态											
过滤速度											
无菌状态											
效价(u/ml)											
补料	糖(g)										
	氨水(ml)										
	硫酸铵(g)										
	前体(g)										
	油(ml)										
	水(ml)										
记录人											



# 仪表及计算机记录

---

- 对于自控发酵罐和自动记录仪表，要经常检查仪表及计算机记录数据是否正常，如不正常要及时查找原因，恢复正常；
- 在任何情况下，计算机记录数据不得修改，以保持纪录的真实性；
- 非发酵实验人员，不得操作发酵控制计算机，该计算机也不能用作上网等其他用途；
- 在每批发酵结束后，要对计算机记录数据在专用文件夹内进行存储，未经批准，不得删除和修改存储纪录。



# 实验总结

---

- 每月书写简单的实验小结一份，限A4纸1~2页；
- 每季度写出实验报告一份，限A4纸3~5页；
- 每年书写详细实验总结一份，篇幅为A4纸6~8页；
- 实验报告、总结要有数据，有分析，有结论，有今后改进计划，数据要用图表表示，并尽可能进行统计分析；
- 实验报告和总结都应注明参加实验的人员和执笔人，以备日后查考。



# 发酵过程的中试

---

## □ 发酵过程中试的目的

- ◆ 承上启下，对实验室研究结果进行小规模验证，为生产放大提供工艺依据。
- ◆ 探索实验室选育的新菌种适合于生产环境的发酵培养基配方和工艺条件。
- ◆ 对生产上发现的问题进行小规模研究，以期找出问题的症结和解决办法。
- ◆ 对引进的新菌种、新产品、新技术、新装备进行工艺验证。
- ◆ 对长期停产的品种进行复产前的小规模试生产。



# 发酵产业化过程及中试所处的地位

过程阶段	技术完善水平	规模(L)	技术成熟水平
产业化	9	$\geq 100000$	大规模工业化生产
产业转化	8	$\sim 10000$	半生产规模技术验证
活力展示	7		工艺与工厂设计
技术开发	6	$\sim 1000$	中试验证
	5	$\sim 100$	强化技术经济性能
	4		小试的展开与整合
可行性展示	3	$\sim 1$	开展小试的技术基础
	2	$\sim 0.01$	具有可行性的技术应用
基础研究	1	$\sim 0.001$	有希望的研究结果

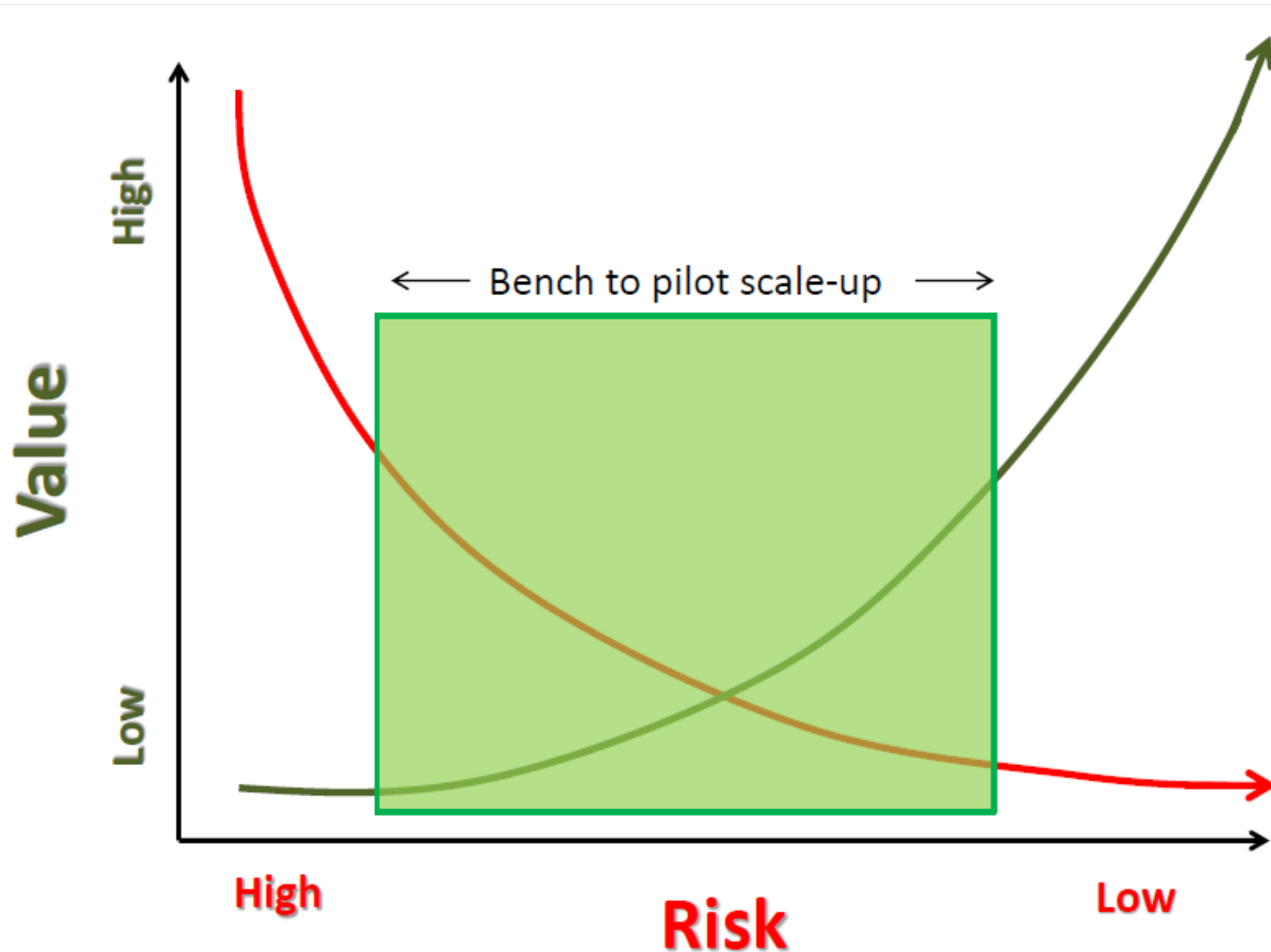


# 中试所需的主要装备

- 100~1000 L与生产罐结构及几何形状相似的发酵罐及其配套种子罐、补料罐
- 温度、pH、DO检测与控制装备
- 自动补料与计量装备
- 尾气分析设备(气体质谱仪或尾气O<sub>2</sub>和CO<sub>2</sub>分析仪,前者的分析精度比后者高两个数量级,除O<sub>2</sub>和CO<sub>2</sub>外,还能检测包括水蒸气、氨、挥发性脂肪酸在内的尾气中所有其它气体成分)
- 高效液相色谱仪及其他必要的分析仪器
- 其他与发酵实验研究有关的新装备



# 实验室研究与中试的风险和价值



# 发酵过程的放大与缩小

---

- 根据实验室和中试所得实验结果设计和操作生产规模发酵罐的过程称为放大。
- 反过来，根据已有生产规模发酵罐设计和操作实验室或中试规模发酵罐的过程称为缩小。
- 放大的主要任务是根据小发酵罐的工艺条件确定大发酵罐的工艺条件，特别是通气、搅拌条件。
- 根据放大和缩小的几何相似原理设计的发酵罐有利于实验室和中试的实验结果在生产规模发酵罐上重现。



# 发酵过程放大研究的主要内容

---

- 发酵罐的几何形状放大
- 发酵罐传热面积的放大
- 通气量的放大
- 搅拌转速和搅拌功率的放大

其中的重点是搅拌转速和搅拌功率的放大



# 发酵罐几何形状的放大

---

- 发酵罐几何形状放大是发酵过程放大的基础
- 不同规模发酵罐几何形状相似是发酵过程放大的前提
- 所谓几何相似就是发酵罐的结构和各部件的几何尺寸比例相同



# 典型的机械搅拌发酵罐各部件几何尺寸比例

- $H=2.5D_t\sim 3.0D_t$
- $D_i=0.3D_t\sim 0.4D_t$
- $C=1.2\sim 1.8D_i$
- $C_1=D_i$
- $B=0.1D_t$

$H$ : 发酵罐内部空间高度

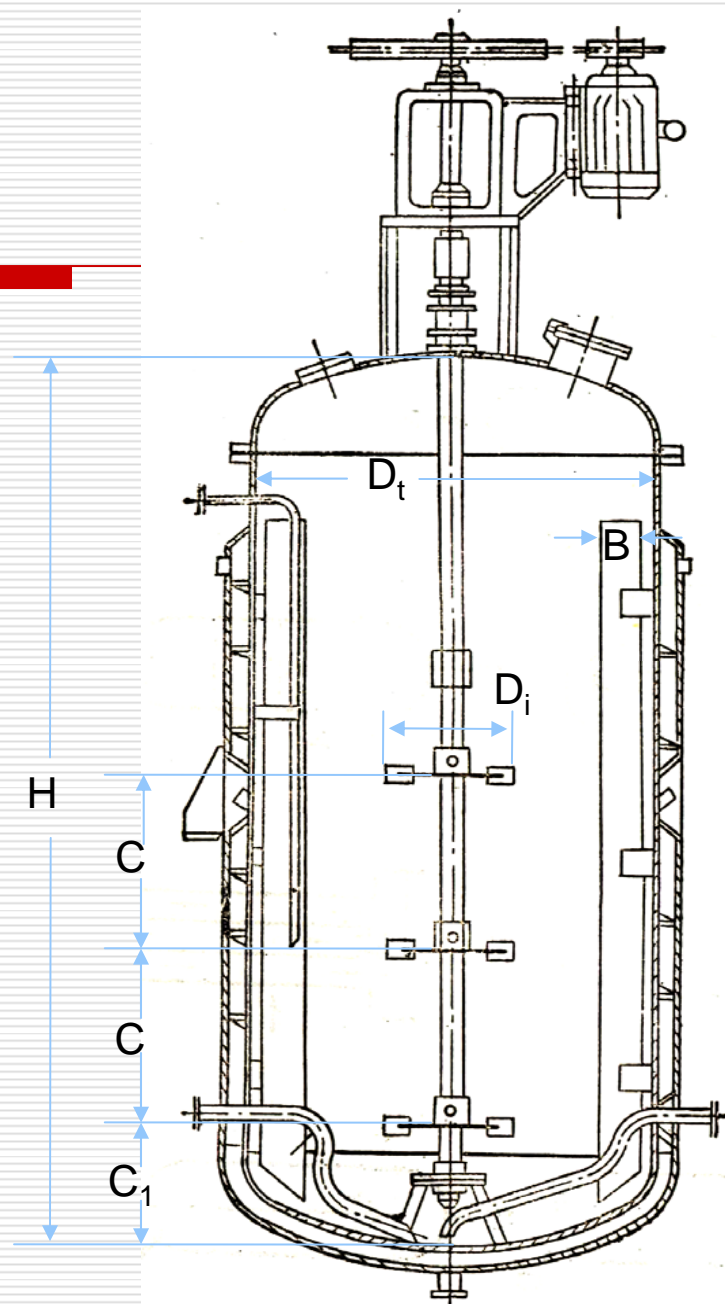
$D_t$ : 发酵罐内径

$D_i$ : 搅拌叶轮直径

$C$ : 搅拌叶轮间距

$C_1$ : 下层搅拌至罐底距离

$B$ : 挡板宽度





# 典型的300 m<sup>3</sup> 机械搅拌发酵罐

几何尺寸:

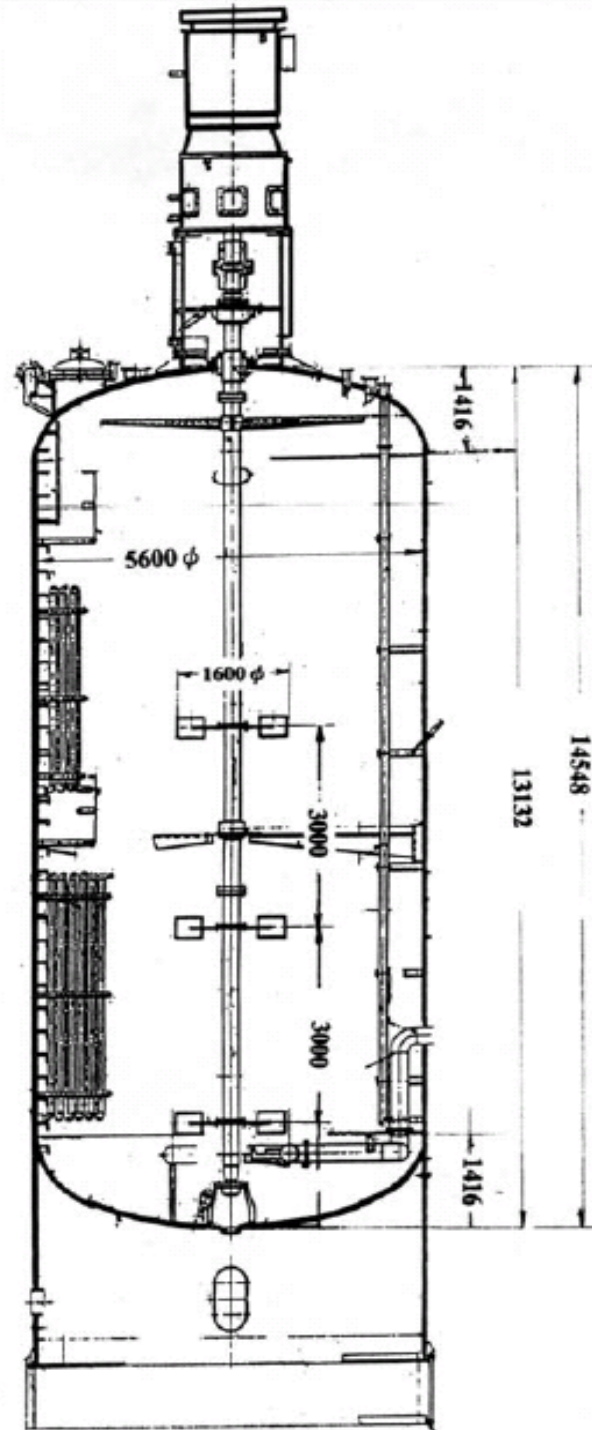
□  $H=14548$

□  $D_t=5600$

□  $D_i=1800$

□  $C=3000$

□  $C_1=1500$



# 发酵罐传热面积的放大

- 原则：单位容积的传热面积相等。
- 方法：小罐筒体表面积与罐容积之比值比较大，可只采用夹套或外盘管传热；大罐筒体表面积与罐容积之比值比较小，除外盘管之外，还必须加装内盘管；罐越大，所需内盘管的表面积越大。
- 内盘管的设计：有垂直型盘管和水平型盘管两种。前者可起部分挡板作用，且容易取出罐外进行维修，但传热效果较差；后者由于冷水流动方向与搅拌方向相反，传热效果较好，但不能取出罐外维修。



# 通气量的放大

---

- 原则：单位发酵液体积所能达到的通气量和空气在罐内上升的线速度相等，这样也可以保持水分蒸发率相等。
- 方法：为保持同样的空气线速度，进罐空气管道的截面积应与罐内径成正比，亦即遵循几何相似的原则。



# 搅拌转速放大的依据

- 单位发酵液体积吸收的搅拌功率相等 ( $\frac{P_1}{V_{L1}} = \frac{P_2}{V_{L2}}$ )
- 氧的气/液传质系数相等 [ $(k_L a)_1 = (k_L a)_2$ ]
- 搅拌叶轮尖端线速度相等 ( $n_1 D_{i1} = n_2 D_{i2}$ )
- 搅拌雷诺准数相等 ( $n_1 D_{i1}^2 = n_2 D_{i2}^2$ )
- 单位液体体积搅拌泵流量相等 ( $\frac{Q_1}{V_{L1}} = \frac{Q_2}{V_{L2}}$ )

按以上不同依据所得到的放大结果极不相同!



# 单位发酵液体积等功率放大

□ 不通气下的搅拌功率

➤ 小罐  $P_1 = N_{p1} \rho_1 N_1^3 D_{i1}^5$

➤ 大罐  $P_2 = N_{p2} \rho_2 N_2^3 D_{i2}^5$

□ 如果是同样的发酵过程(即发酵液性质相同), 则

$$N_{p1} = N_{p2}, \quad \rho_1 = \rho_2$$

□ 如果是几何相似, 则  $V_L \propto D_i^3$

□ 于是, 由  $P_1/V_{L1} = P_2/V_{L2}$  计算得

$$\frac{N_1}{N_2} = \left( \frac{D_{i2}}{D_{i1}} \right)^{2/3} = \left( \frac{V_{L2}}{V_{L1}} \right)^{2/9}$$



# 在几何相似前提下等功率放大系列容积 发酵罐搅拌转速参考数据

$V_t(\text{m}^3)$	$D_t(\text{m})$	$D_i(\text{m})$	$N(\text{r}/\text{min})$
0.01	0.18	0.06	930
0.1	0.38	0.13	560
1	0.83	0.28	330
10	1.8	0.6	200
100	3.8	1.3	120
1000	8.3	2.8	72



# 氧的气/液等传质系数放大(一)

- 计算氧的气/液传质系数的经验式:

$$k_L a = \alpha \left( \frac{P}{V_L} \right)^a u_s^b$$

- 式中的指数 $a$ 和 $b$ 随发酵罐的大小而异, 右表给出的是经验值。

发酵罐容积(L)	$a$	$b$
5	0.95	0.67
500	0.65	0.62
50000	0.45	0.5



# 氧的气/液等传质系数放大(二)

- 设放大前后的通气线速度 $v_s$ 相等，则当发酵罐由5 L放大到50000 L时，应有：

$$\left(\frac{P_2}{V_{L2}}\right)^{0.45} v^{0.5} = \left(\frac{P_1}{V_{L1}}\right)^{0.95} v^{0.67}$$

- 整理后得：

$$\frac{N_1^{2.85}}{N_2^{1.35}} = \frac{v^{-0.17} D_{i2}^{0.9}}{D_{i1}^{1.9}}$$



# 各种放大依据所得结果的比较

放大依据	10m <sup>3</sup> 发酵罐/10L发酵罐						
	$P$	$P/V$	$N$	$ND$	$Re$	$N/D$	$Q/V$
单位体积吸收功率相等	10 <sup>3</sup>	1	0.215	2.15	21.5	0.021	0.215
搅拌转速相等	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>	1	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>-1</sup>	1
搅拌叶尖端线速度相等	10 <sup>2</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup>	1	10	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-1</sup>
搅拌雷诺准数相等	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-1</sup>	1	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-2</sup>
剪切力与泵流量比相等	10 <sup>8</sup>	10 <sup>5</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	1	10
单位体积泵流量相等	10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup>	1	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>-1</sup>	1

$P$ =搅拌功率， $V$ =发酵液体积， $N$ =搅拌转速， $D$ =搅拌叶轮直径， $Re$ =搅拌雷诺准数， $Q$ =搅拌泵流量， $ND$ 代表剪切作用



# 等功率放大后不同规模发酵罐参数的比例因子

$V_t$	$D_t$	$A_c$	$D_i$	$N$	$n_{tip}$	$Q$	$Q/V$	$H$
	$V_t^{1/3}$	$V_t^{2/3}$	$V_t^{1/3}$	$V_t^{-2/9}$	$V_t^{1/9}$	$V_t^{7/9}$	$V_t^{-2/9}$	$V_t^{2/9}$
2	1.26	1.59	1.26	0.86	1.08	1.72	0.86	1.17
20	2.71	7.38	2.71	0.52	1.39	10.31	0.52	1.95
200	5.85	34.26	5.85	0.31	1.80	61.81	0.31	3.26

$V_t$ : 发酵罐容积

$D_t$ : 发酵罐内径

$A_c$ : 发酵罐表面积

$D_i$ : 搅拌叶轮直径

$N$ : 搅拌转速

$\nu_{tip}$ : 搅拌叶尖端线速度

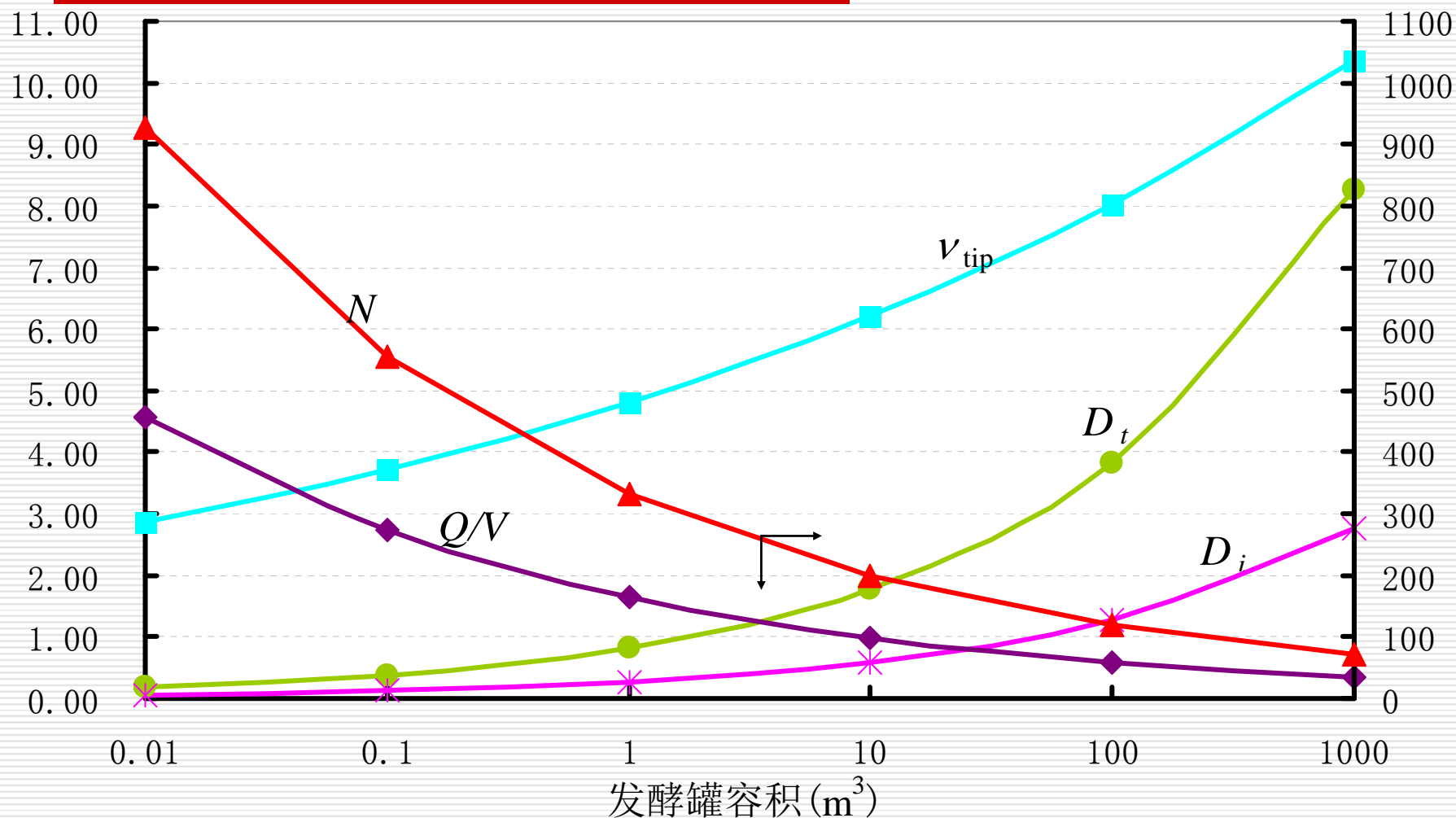
$Q$ : 搅拌泵流量

$Q/V$ : 比泵流量

$H$ : 发酵罐高度



# 等功率放大对各项参数的影响



# 等功率放大对混合时间的影响

- 按单位发酵液体积吸收功率相等原则进行放大后，大罐的混合效果下降，混合时间延长。其表达式如下：

$$t_m \propto D_t^{2/3} \propto V_t^{2/9}$$



# 等功率放大过程的氧传递系数和混合时间

Scale	Oxygen Transfer (mmoles/L.h)	Mixing Time (s)
Bench	~400	~1
Pilot	~200	~30
Commercial	~100	~100



# 非几何相似情况下的功率放大

- 如果大罐与小罐非几何相似，则按以上单位发酵液体积消耗的功率相等原则计算得到的搅拌功率，应乘以以下校正系数：

$$f_c = \sqrt{\frac{\frac{D_{2t}}{D_{2i}} \frac{H_{2L}}{H_{1L}}}{\frac{D_{1t}}{D_{1i}} \frac{H_{1L}}{H_{1L}}}}$$

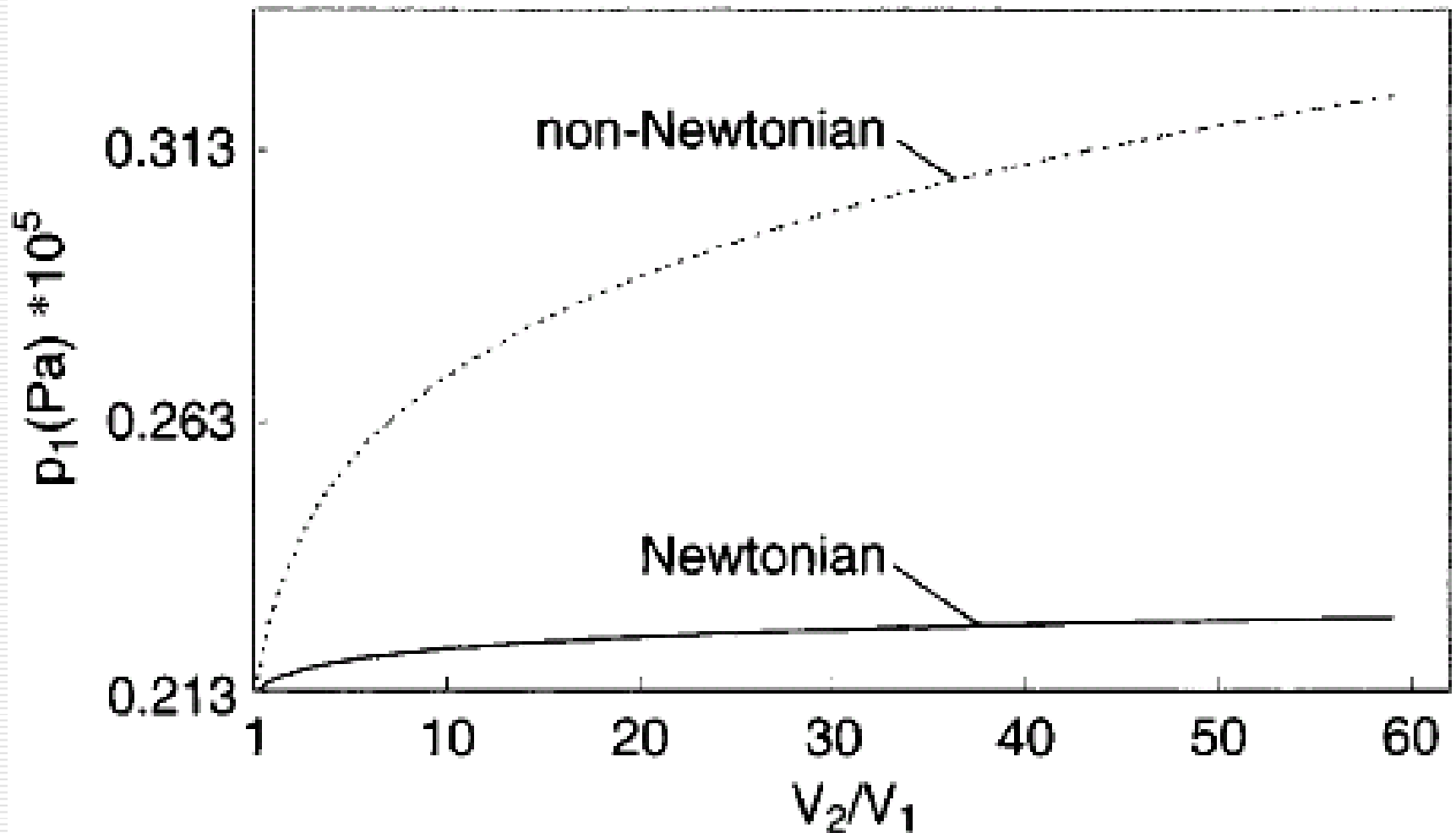
式中： $H_L$ 为发酵液层深度

- 由此得：

$$P_2 = f_c \frac{V_2 P_1}{V_1}$$



# 不同放大比和不同类型培养液维持相同氧消耗速率所需要的氧分压



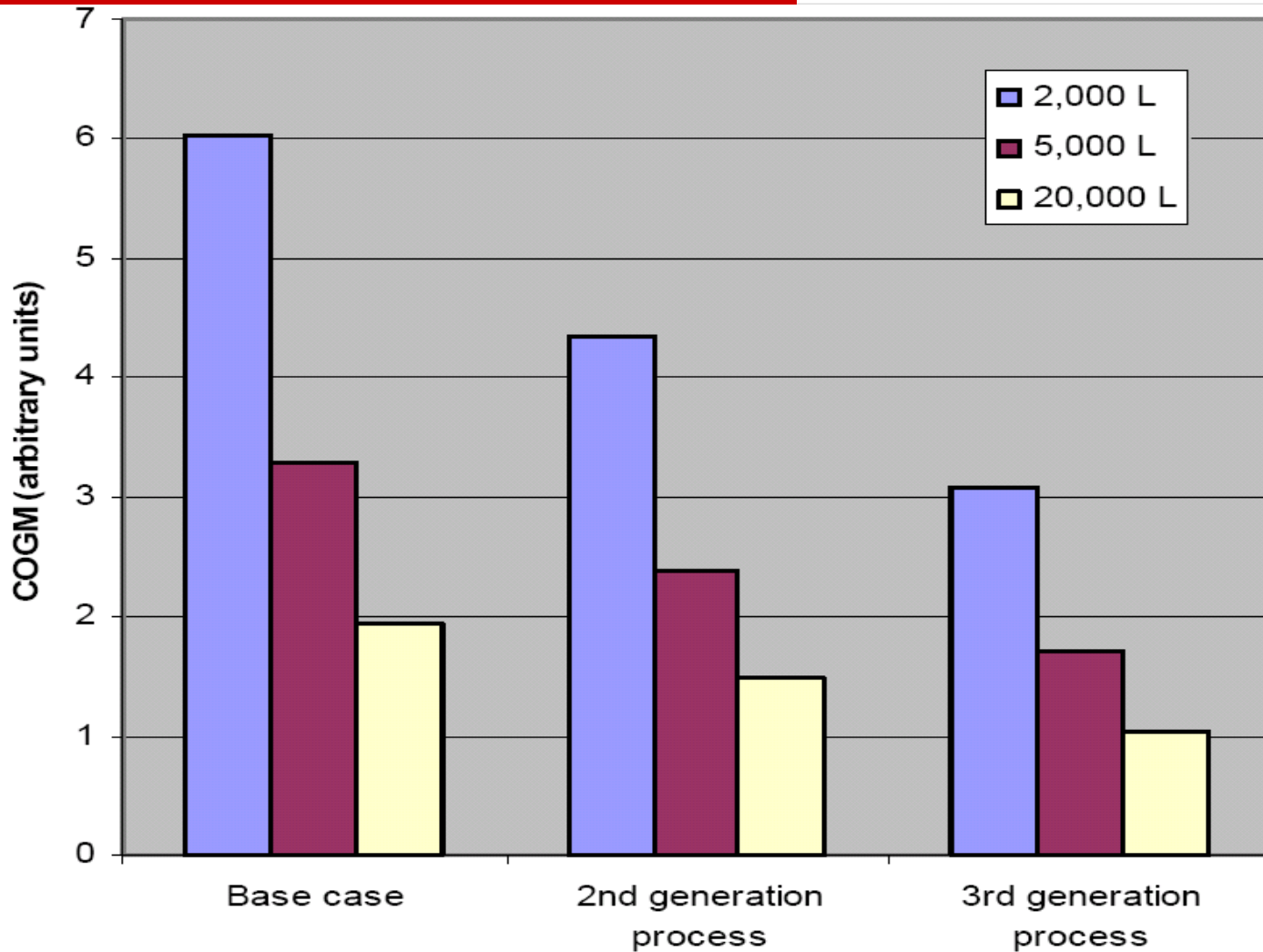
# 一些过程放大的经济性

$$Cost_2 = Cost_1 \left( \frac{Capacity_2}{Capacity_1} \right)^R$$

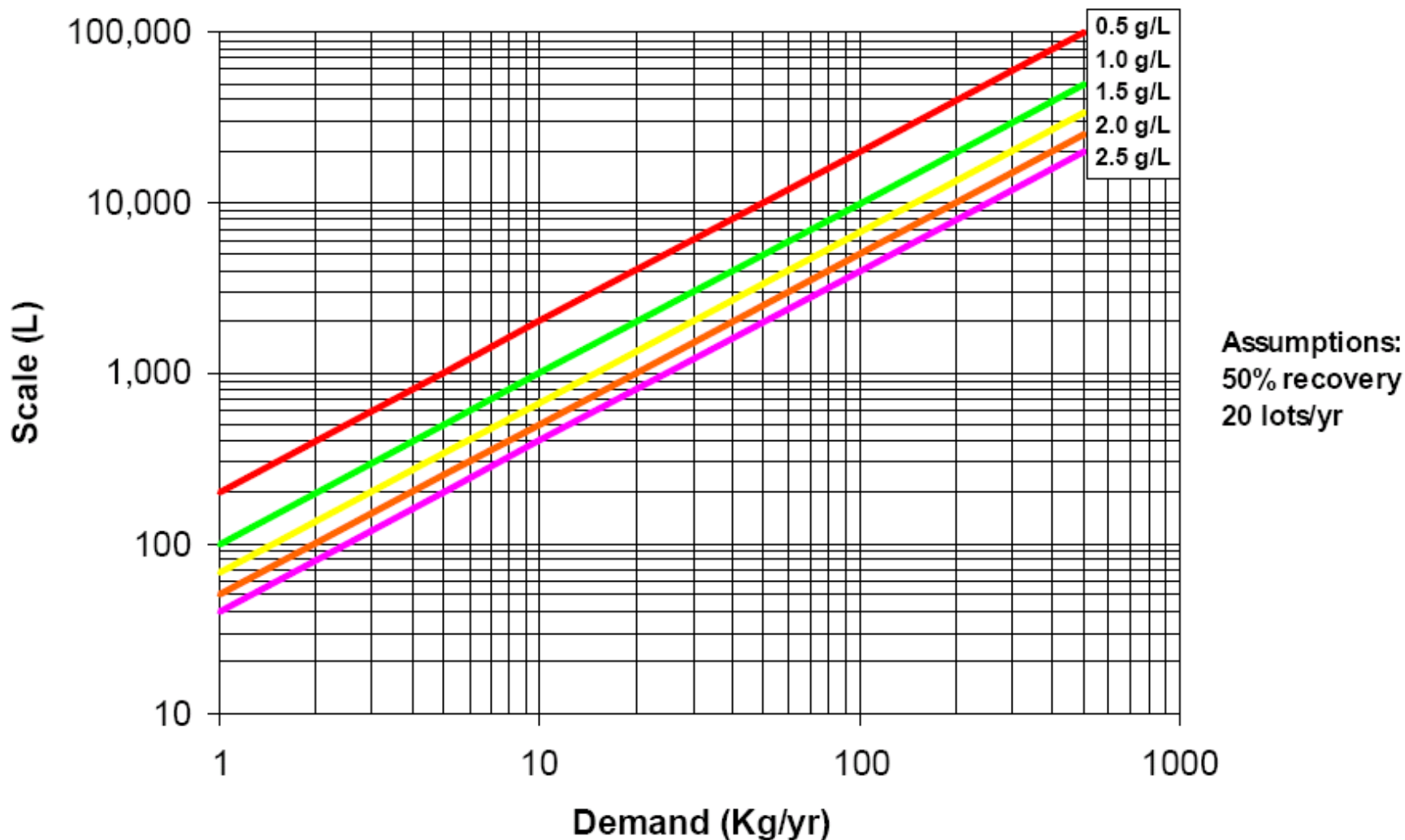
Equipment	Size Range	R
Fermenter	0.2 - 0.9 m <sup>3</sup>	0.18
	0.9 - 14 m <sup>3</sup>	0.34
	14 - 200 m <sup>3</sup>	0.70
Autoclave	3.8 - 18.5 m <sup>3</sup>	0.37
Freeze Dryer	15 - 450 L	0.41
Homogenizer	0.04 - 7 m <sup>3</sup> /h	0.5
Ultrafiltration	20 - 800 m <sup>2</sup>	0.86
Ion-exchange	5 - 200 ft <sup>3</sup>	0.73 - 0.94
Electrodialyzer	8 - 640 m <sup>2</sup>	0.37



# 发酵罐规模对生产成本的影响



# 产品需求量及发酵单位与发酵罐规模的选择



# 关于发酵过程的尾气分析（一）

## □ 用于尾气分析的仪器

- ◆ 常规仪器主要有红外二氧化碳分析仪和磁导式氧分析仪，用于检测尾气中的氧和二氧化碳分压。这两样仪器的共同缺点是水分干扰检测结果，因而尾气进入仪器前要事先除湿。另外检测精度不高，响应时间长。
- ◆ 尖端仪器有气体质谱仪，用于检测发酵尾气中的任何成分，其响应速度快，检测精度高，受外界干扰小。尽管游离水分仍然干扰检测结果，但水蒸汽不干扰，故游离水分须汽化后检测，还能如实定量尾气中的水分含量。
- ◆ 千万不要听信某些专家推荐的除气体质谱仪以外的任何质谱仪，当然愿意花冤枉钱的除外。



# 关于发酵过程的尾气分析（二）

## □ 除湿对尾气检测结果的影响

- ◆ 发酵尾气必然被水饱和甚至过饱和，当发酵温度为 $30^{\circ}\text{C}$ 时，尾气中的水分含量可达4.4%以上，远远超过二氧化碳及其他一些成分的含量，因此，如果将水分排出，则尾气中其他成分含量的检测结果将产生很大偏差。
- ◆ 二氧化碳在水中的溶解度很大，其他一些成分如氨及低级挥发性脂肪酸也在水中有很大的溶解度，因此，如果将水分排出，则这些溶解性成分也同样被排出，使检测结果产生更大的偏差。

