

发酵罐及其自动化概况

毛维颖

(中国科学院微生物研究所, 北京)

从四十年代中期青霉素实现工业生产起, 传统的工业发酵进入了发展的新时期。三十多年来, 工业发酵无论是产品品种还是过程设备, 均有很大进步。作为发酵研究和工业生产中心设备的发酵罐, 也有了相当大的改进。

发酵罐是液体发酵过程中, 构成微生物生长、繁殖和形成产物所需外部环境的装置。进行深层纯种培养的新型发酵, 如青霉素发酵, 与传统的工业发酵主要区别是严格的无菌要求和良好的通气条件。随着发酵产品的品种, 使用菌种的种类, 采用原料的来源及工艺过程的方式等不断扩大, 相继设计出了多种新型的发酵罐。这方面的成就与生化工程的发展关系尤为密切。

生化工程是化学工程的一个分支。它是在广泛的工业发酵实践基础上发展起来的一门新兴学科。它研究将实验室中的微生物学过程扩大为工业生产过程的各種特殊问题。发酵罐的研制正是它的重要内容之一。

本文拟就目前某些发酵罐的特性及其自动

化的情况作一简述。

一般情况

目前国外各工业国家, 发酵罐的生产已商品化。瑞士、瑞典、英、美、日、法等国有专门公司生产各种型式的、系列化的发酵罐^[1]。其容积范围, 实验室是 1 升至 50 升, 中试工厂是 50 升至 5,000 升, 生产工厂是 5,000 升以上。同时, 这些公司还按照使用单位的要求, 设计、制造或组装新型的发酵罐。

由于国外多属专业化生产, 而且十分重视生化工程的研究, 发酵罐的设计有较坚实的理论依据^[2]。对于适合发酵过程使用的材料、设备和仪器仪表的研制也较广泛^[3]。从发展情况看, 五十年代的发酵罐一般只装备温度、空气流量、罐压和消泡等几种自动控制装置。六十年代时, 基本上实现了模拟式仪表的自动控制。七十年代以来, 更实现了计算机控制。

一个自控发酵罐, 通常分为“发酵单元”和“控制单元”两部分。发酵单元指发酵系统本身

的机械结构部分,主要包括一定几何尺寸的罐身、有良好传热和传质性能的各种装置,包括通气装置、搅拌器、导流筒、挡板、热交换器(玻璃小罐的“热指”、“冷指”,中小型金属罐的夹套,5,000 升以上大罐的蛇管)等;能保持严格无菌条件的轴封、阀门和取样装置,以及彻底滤菌的空气过滤器。控制单元是对发酵过程中各项物理、化学和生化参数进行自动测量与调节的仪器仪表。

目前实验室的发酵罐趋于小型化。例如日本 1.2 升至 10 升的桌上型罐,可以直接放在实验台上运转。由于这种罐的基本条件可以保持一致,故试验结果更为可靠。此类发酵罐罐身由玻璃制成,所用电极和探头的电缆可以拆卸。管道则采用耐热硅橡胶管。放入培养基后,罐身连同电极或探头一道置杀菌罐中灭菌。稍大的发酵罐可数个一组置于水浴中,或安装在固定架上。30 升以上的发酵罐罐身,一般由不锈钢制成,安装固定管道,就地灭菌。还有一种全玻璃制的发酵罐,没有金属污染,更耐腐蚀,透光可满足某些特殊研究的需要^[4]。

目前在工业生产中使用的发酵罐,规模越来越大,如日本用 480 吨罐生产谷氨酸。这种大罐安装在室外,在控制室遥控。使用大罐可以简化管理、提高氧气利用率,节省人力物力。为避免污染造成巨大损失,采取了许多措施,如日本就有用 30 大气压的高压水喷洗罐内的装置。

目前,使用机械搅拌的发酵罐常由底部装入搅拌器,这对小型罐尤其重要。因为可以空出罐顶的位置,安装各种配件。对于大罐,由底部装入搅拌器也可以缩短搅拌轴长度,节省材料,并使搅拌器更稳定。小罐一般用磁力搅拌,免去了机械轴封。功率大的搅拌器,大多采用双机械轴封,用灭菌硅油或冷凝水作润滑剂。也有的采用蒸汽汽封。

空气过滤器介质也在不断改进^[5]。从棉花、活性炭发展到玻璃纤维,以致超细玻璃纤维、超细硅硼玻璃纤维、聚乙烯醇等高效过滤介质。此外还有用环氧树脂粘结的超细玻璃石棉纤维、硝酸纤维素和聚四氟乙烯等介质制成,并对

孔径大小加以控制的“绝对过滤介质”。

目前一般是将需经常测量与调节的一些参数的控制仪表制成积木形式。每个调节项目各自有一套独立仪表,美观灵活,维修方便。有些发酵罐还配制了计算机系统,控制发酵过程。

发酵罐的类型

按一般看法,发酵过程分厌氧和好氧两大类。传统的发酵产品中,酒精、乳酸、丙酮丁醇等属于厌氧发酵。本文不介绍此类发酵时所用的发酵罐。

需氧发酵的情况多种多样,按培养工艺分类,有分批发酵和连续发酵两类,六十年代又出现了以液体石蜡为原料的石油发酵,这些情况导致发酵罐形式极为繁多,旧类型的发酵罐也有了新用途。按搅拌方式分类,基本上可分为机械搅拌罐和气流搅拌罐。每类又能分为循环式和非循环式。循环式又可分为内循环式和外循环式。有一些类型的发酵罐尚在试验阶段,工业生产中已应用的比较少。

下面介绍一些主要类型的发酵罐。

一、通用式发酵罐^[5](图 1)

这是最常用的一种类型。罐体各部分有一定比例,亦称标准式发酵罐。但比例常有较大变动,故称标准式并不恰当。这种罐既有通气管,又有搅拌器。由于搅拌较激烈,故通气管的形式并不重要,一般采用单孔式即可。搅拌器一般是涡轮型,搅拌叶片有平叶、弯叶和剪叶三种;也有采用平浆

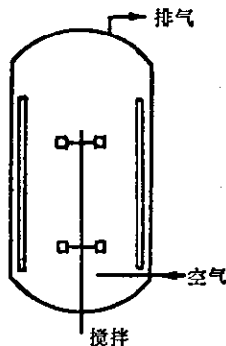


图 1 通用式发酵罐

叶轮的,可造成涡流,有利于培养某些宜避免液体湍流的霉菌。对非牛顿型流体的粘稠发酵液,还可采用栅状搅拌器^[6]。通用式发酵罐既广泛应用于分批培养,又可进行完全混和流动特性的恒化或恒流连续培养,也可用于石油发

酵。

当进行连续培养时,要求发酵液保持一定体积。最流行的方法是溢流法。溢流管可按图 2 所示几种型式安装^[5]。每种方式都有一定的优缺点。从液体表面溢流的方式,如侧臂式、立管式和气卷式很简便。但是,如果有泡沫存在,有可能导致流出液中细胞浓度不成比例。如果基质与水不互溶又比水密度低时,就会招致流出液中基质浓度亦不成比例。气卷式溢流管需要在罐内保持正压,并且要在输出管路中安装

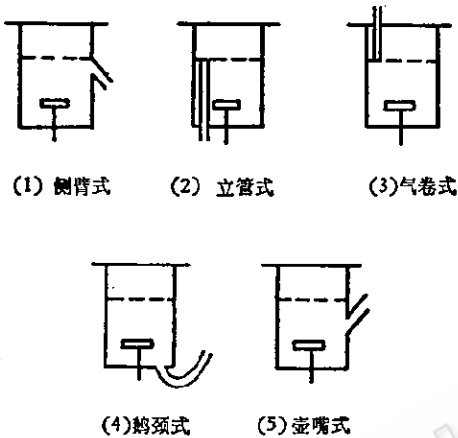


图 2 溢流管的型式

气液分离装置。鹅颈式和壶嘴式溢流管低于液面,克服了上述缺点。但鹅颈式溢流管中有一段混和不良的区域,会造成堵塞和厌氧状态。壶嘴式发酵罐内液体因搅拌而发生扰动,体积易发生较大波动,而且在其中或多或少存在静止区域。

二、Waldhof 发酵罐^[7,8](图 3)

这种发酵罐与通用式罐不同之处在于罐内有一导流筒。搅拌时液体在内部循环。这种罐最初用于生产酵母。近年来用于石油发酵也获得良好效果。在泡沫较多时,或需要高氧传递速率时,使用此型罐较为合适。

三、自吸式发酵罐^[9](图 4)

是一种利用搅拌时的抽吸作用将空气自行吸入罐内的发酵罐。它的搅拌器有搅拌和通气双重功能。此型罐最先用于醋的深层发酵,我

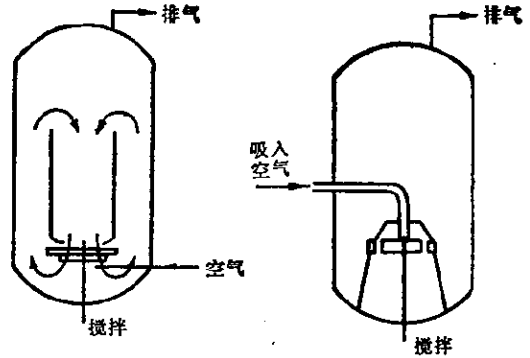


图 3 Waldhof 式发酵罐

图 4 自吸式发酵罐

国已在其它一些产品发酵中应用。

四、Venturi 式发酵罐^[10](图 5)

这是一种机械外循环气流搅拌发酵罐。空气可以直接从外界吸入,无需空压机,必要时仅需低压鼓风机。这种设备正在研究应用于污水处理和石油发酵中,也成功地用在宇宙飞船中以利用藻类降低舱内二氧化碳浓度。日本有一种不装 Venturi 管的气体卷入式罐,借垂直柱中培养液向下流动,将外部空气吸入罐内^[11]。

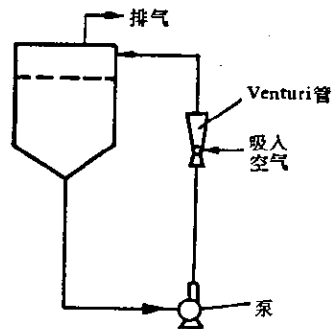


图 5 Venturi 式发酵罐

五、空气提升式发酵罐^[10](图 6)

这是一种气流搅拌外循环罐。升液管下部有空气喷嘴,借高速空气的喷射作用分散气泡。升液管内发酵液与空气混和后,其比重低于发酵罐内发酵液,加上空气的动能,使液体上升,造成循环。简单的提升式罐没有分离器,升液管上部直接通入罐上部发酵液中。此型罐原用于生产酵母,近来正研究使用在石油发酵中。

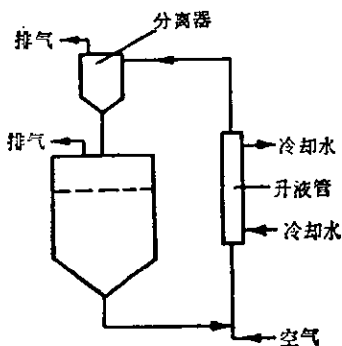


图 6 空气提升式发酵罐

六、Lefrancais-Mariller 式发酵罐^[7](图 7)

这是一种气流搅拌内循环罐。空气由通气管下端的板片和罐底形成的环状缝喷出。空气和发酵液沿导流筒上升，造成液体循环。它原来也是用于生产酵母，有人试验在石油发酵中使用。

七、塔式发酵罐^[12](图 8)

又叫管状发酵罐。一般用于实验室连续培养。在酿造工业中有所应用^[13]。它本身是一个

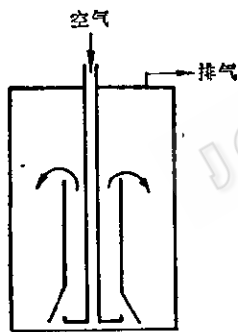


图 7 Lefrancais-Mariller 式发酵罐

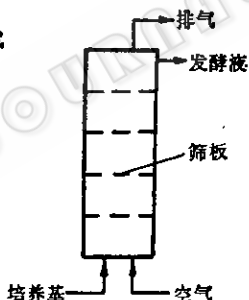


图 8 塔式发酵罐

立式塔体，其中有若干筛板将塔体分成若干段。每段相当于一个发酵罐，整个塔相当于一组串联的多罐连续培养装置，这样就省去了连接各罐的复杂构件。通常利用气流进行搅拌，也有装备搅拌器的。日本有一种塔式罐，已经商品化，它仅在最低一段装有搅拌器。最近又报道了一种塔式罐，除底部通气外，以脉冲流方式输送培养基，从而起到通气搅拌的作用。用这种

发酵罐可以进行“活塞流”流动特性的连续培养^[14]。

八、旋风分离式发酵罐^[15](图 9)

这种类型的发酵罐类似于垂直的旋风分离器。培养基和空气由接近罐底处导入，培养液自罐底流出，然后用泵送至罐顶，沿壁流下。此罐的优点是有较好的气体交换，降低了附壁生长，并且没有泡沫。它可用于分批培养，也可用于连续同步培养。目前仅见在实验室使用的报道。

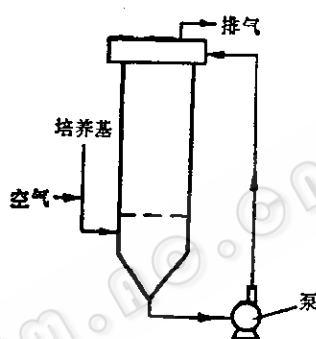


图 9 旋风分离式发酵罐

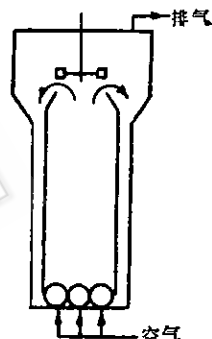


图 10 高氧传递发酵罐

九、高氧传递发酵罐^[16](图 10)

这是日本最近报道的一种体积氧传递系数很高的发酵罐。罐内有三个圆球形空气分布器，其上有无数 80 微米孔径的微孔。这种分布器原用于测定石油产物的发泡特性。此罐上部较宽，导流筒上部较窄，这样便于促进液体循环。目前在实验室内用它进行利用甲醇酵母的连续培养，以后有可能扩大到工业生产。

十、压力循环发酵罐^[17](图 11)

这是英国帝国化学公司 (ICI) 新设计的一种发酵罐。用于连续培养以甲醇为原料的单细胞蛋白。它实际上是一种气流搅拌型发酵罐。气液首先在发酵罐的膨大部分混合，此时液体空隙率可达 50%。主要的氧传递发生在上升管中。在顶部，氧已被菌消耗，而且流体静压下降，所以氧传递速率下降，同时二氧化碳释放增加，废气自水平段顶部排放。上升管与下降管

中,空隙率的差异造成了液体静压差,因而推动培养液进入下降管。下降管带有高效冷却器。最后培养液重新进入罐体膨大部分,完成循环。此种发酵罐的优点是无需搅拌器,有较高的氧传递率,避免了高浓度二氧化碳的毒性,并有较高的热交换效率。

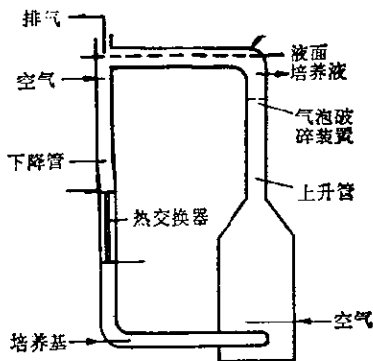


图 11 压力循环发酵罐

十一、转子式发酵罐^[18](图 12)

这种发酵罐由发酵室、微孔膜转子和滤液室三部分组成。菌体在发酵室内生长,室内保持正压,液体通过微孔膜进入滤液室。膜由烧结不锈钢制成。这种罐因能够移去代谢产物而同时具备菌体生长和浓缩的双重功能,因此既

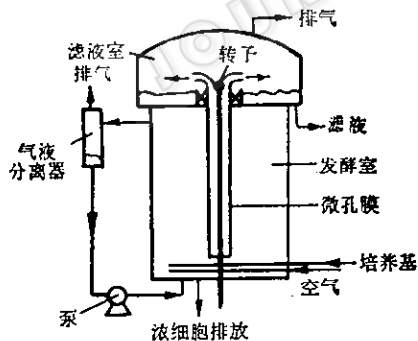


图 12 转子式发酵罐

是发酵罐又是细胞分离器。在分批与连续培养时,细胞浓度可以很高。有人用这种罐进行过以葡萄糖为原料,需少量通气的乙醇发酵试验。此罐目前处于试用阶段。还应注意,这种罐不是透析培养罐。所谓透析培养是指利用特殊的渗透膜可透过分子量较小的溶质分子的性能,

除去代谢产物和补充营养成分的培养方法^[19]。

发酵罐的自动控制^[20—24]

国外目前的发酵罐,自动化程度较高。一般均可自动调节温度、空气流量、罐压和 pH,自动测定溶解氧及自动消沫。实验室用罐和中试罐还可进行搅拌的无级变速。在连续培养发酵罐中,另有自动调节流加培养基的装置。

温度调节一般采用热敏电阻作敏感元件,进行开关式调节。小罐用电力、较大的罐用热水或蒸汽加热。冷却均用冷却水。空气流量与罐压,可采用自力式调节阀或反馈控制系统调节。泡沫大多采用根据电导原理制成的探头进行监测,用机械及化学方法,或两法结合消沫。有一种较新型的碟片式机械消沫器,效果很好,但结构较复杂。化学消沫剂可使用蠕动泵间断地加入,蠕动泵由定时仪控制,以免加得过量。pH 由耐高温灭菌的玻璃甘汞复合电极在发酵罐内直接测定,调节 pH 的酸碱亦由蠕动泵加入。溶氧测定元件常用的是由铅-银原生电池式复膜探头。有的发酵罐装有溶氧控制系统,通过改变空气流量或搅拌速度控制一定的溶解氧浓度。中小型发酵罐的搅拌,较易实现无级变速,只要采用直流电动机,改变电枢输入电压即可。连续培养时,可用无菌计量泵输送培养基,流量常用改变泵中电动机转速来调节,流量不太大时,也可采用蠕动泵。温度、pH、溶氧等参数可用多点记录仪记录。

除上述常规检测与调控外,常常还需对发酵过程中其它一些参数进行测量或调节。例如,以浊度法自动测定菌体浓度,通过光电效应读出结果;在罐内搅拌轴上装置应变元件,测量不包括机械损耗的搅拌转矩和功率消耗;根据称重原理,用荷载元件测量各种液体加入的速率;根据差压原理测量与调节罐内液位及测量发酵液密度;用铂探头测量和调节氧化还原电位;用顺磁氧分析仪测量进出口气体的氧浓度;用红外分析仪测量出口气体二氧化碳浓度;以荧光法原理在罐内直接测量 NADH 浓度;以及取样测量发酵液粘度等。

此外,还应提到一些与发酵罐有关的程序控制系统,例如培养基自动连续消毒装置;发酵罐自动程序灭菌装置;以及自动取样装置等。后者将所取的样品自动地存放在冰箱中备用,或直接输入自动分析仪进行糖、磷、氮、氨基酸含量和抗菌素效价等的测定。

由计算机控制的发酵罐^[25,27]

发酵过程中,计算机的用途基本上有两方面。一是数学模型的建立和过程的分析,也就是对菌体生长和产品形成的动力学行为、过程最优化及发酵罐性能进行理论研究。此时,计算机进行脱机(off-line)操作。二是直接过程控制,计算机进行联机(on-line)操作^[27]。前者可使用数字计算机(digital computer),也可使用模拟计算机(analog computer)或数字模拟混合计算机(hybrid computer)进行^[28]。后者使用数字计算机,也有人称作过程控制机。

在发酵过程的控制中使用计算机有几个优点^[29]。一是在数学模型基础上,计算机可计算一系列中间参数(包括氧传递系数、功率准数、

雷诺准数、菌生长速率、氧摄取速率、二氧化碳释放速率、呼吸商、糖消耗速率、氮消耗速率等),这些中间参数与实际生化过程的关系比原始参数更为密切。计算机在使用这些参数以及人工输入的其它实验室分析数据来控制过程的效果方面,与使用通常直接测得的参数完全一样。二是某些发酵过程参数之间的关系是高度非线性的,计算机的算法可以弥补这些非线性性质,并且大大改善调节作用。三是在发酵过程中,有些控制参数常常影响不止一个状态参数。用计算机进行数据分析时,就可采用多变量控制算法,对所要求的那些状态参数进行控制。

发酵罐使用计算机控制是近十多年的事。当然,自动控制的实现是它的前提。据报道,1966年日本在谷氨酸发酵生产中使用计算机控制,可能是这方面最早的一个成功事例。随着计算机价格的下降,在发酵研究和中试工作中也开始使用计算机。计算机各部件的一般布局(数字整定值控制)见图13。

发酵过程中可供计算机选用的参数已如上

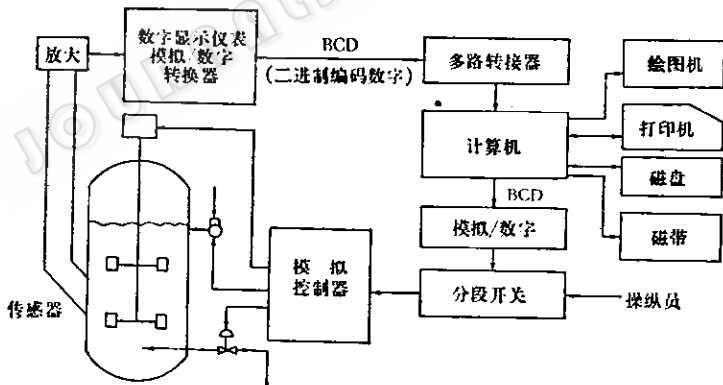


图 13 计算机部件的一般布局

述。这些参数有的来自直接测量,有的来自自动分析仪,也有的是由人工输入计算机的。在每一个具体过程中,究竟输入、计算及控制哪些参数,是根据实际需要、经费情况、过程的具体数学模拟(simulation)等因素决定的。此外,计算机还能很好地完成灭菌、培养基配制、装罐、接种、取样、放罐、后处理等顺序性操作。

发酵生产系统主要采用直接数字控制。中试和研究系统主要采用数字整定值控制。如前所述,后一系统的控制仪表常制成积木式,便于随意扩大测量参数或换用新仪表。

发酵过程中广泛采用的计算机程序语言有两个:即 BASIC(Beginner's All-Purpose Symbolic Instruction Code)和FORTRAN(Formula Translator)。

前者简单易学;后者功能较强,灵活,但较难学,执行过程的费用也较大^[30]。

由于计算机技术飞速发展,出现了机身越来越小的计算机。价格也大幅度下降。计算机控制发酵罐的方式正趋向多级化,由微处理机分析和控制各个发酵罐。小型计算机一面操纵一系列微处理机,另一面又与大机架计算机相连。大机架计算机将所得大批数据进行处理和贮存,并根据要求向小型机提供分析和作图资料,同时还可管理其它事务。

由于缺乏联机的和可耐受蒸汽灭菌的探头测定生物量及基质浓度,最近用计算机控制发酵过程的另一个倾向是通过物料平衡非直接测量一些参数。这些参数既可作为控制参数,又可通过数学模型对产品形成速率作出预测。例如有人监测二氧化碳释放速率,推算生物量浓度、细胞生长速率和糖消耗速率;或通过氧平衡推算生物量浓度;还有通过碳氮平衡推算酵母浓度和生长速率,并利用呼吸商知识,实现最优化。由于酵母有几种代谢途径,每个途径的糖、氧消耗有所不同。人们发现在一定温度与 pH 条件下,过程中产率系数及维持能系数可表达为代谢途径的函数。用非直接测量法在甲醇酵母的连续培养中也取得了成功^[31]。

关于过程最优化,目前由于对各种发酵过程,尤其象抗菌素发酵这类过程,还缺乏了解,因而不能建立起良好的数学模型对过程进行模拟,也就往往无法提出可靠的最优化方案。

随着过程动力学研究的不断深入,直接测量元件的增加,测量可靠性的提高,以及计算机价格的进一步下降,在发酵过程中应用计算机的前景将更为广阔。

微生物发酵,从微生物本身来说,主要包括遗传特性,代谢途径及其调节,胞外环境等三方面的内容。相比之下,目前对胞外环境的研究注意得不够^[32],可以预期,今后将会更加重视这一课题,使发酵罐的设计与有关胞外环境的研究成果结合起来。

参 考 文 献

- [1] Solomons, G. L.: *Process Biochem.*, 6(8):36, 1971.
- [2] Ovaskainen, P., R. Lundell and P. Laiho: *Process Biochem.*, 11(4):37, 1976.
- [3] Solomons, G. L.: *Materials and Methods in Fermentation*, Academic Press, London & New York, 1969.
- [4] Baker, K.: *Biotechnol. Bioeng.*, 20:1345, 1978.
- [5] Stell, R. and T. L. Miller: *Adv. Appl. Microbiol.*, 12:153, 1970.
- [6] Ghose, T. K. and A. Fiechter: *Adv. Biochem. Eng.*, 1:10, 1971.
- [7] 石油发酵研究会:石油发酵, 幸书房, 天津工业微生物研究所资料组译:《石油发酵》, 科学出版社, 北京, 1973, 第 61—144 页。
- [8] Brown, W. E. and W. H. Peterson: *Ind. Eng. Chem.*, 42:1823, 1950.
- [9] Ebner, H., K. Pohl and A. Enenkel: *Biotechnol. Bioeng.*, 9:357, 1967.
- [10] Blakebrough, N. D. G. Shepherd and I. Nimmons: *Biotechnol. Bioeng.*, 9:77, 1967.
- [11] Akiba, T., and T. Fukimbara: *J. Ferment. Technol.*, 46:1013, 1968.
- [12] Kitai, A., H. Tone and A. Ozdhi: *Biotechnol. Bioeng.*, 11:911, 1969.
- [13] Greenshields, R. N. and E. L. Smith: *Process Biochem.*, 9(3):11, 1974.
- [14] Serieys, M., G. Goma and G. Durand: *Biotechnol. Bioeng.*, 20:1394, 1978.
- [15] Dawson, D. S. S.: *Can. J. Microbiol.*, 11:893, 1965.
- [16] Minami, K. M. Yamamura, S. Shimizu, K. Ogawa and N. Sekine: *J. Ferment. Technol.*, 56:64, 1978.
- [17] Gow, J. S., J. D., Littlehailes, S. R. L. Smith and R. B. Walter: *Single-Cell Protein II*, The MIT Press, Cambridge, Massachusetts and London, England, 1975, p. 370.
- [18] Margaritis, A. and C. R. Wilke: *Biotechnol. Bioeng.*, 20:709, 727, 1978.
- [19] Abbott, B. J. and P. Gerhardt: *ibid.*, 12:577, 1970.
- [20] Aiba, S., A. E. Humphrey and N. F. Millis: *Biochemical Engineering*, ed. 2nd, Univ. of Tokyo Press, 1973.
- [21] Solomon, G. L.: *Process Biochem.*, 5(2):13, 1970.
- [22] Kraskin, K. S.: *Process Biochem.*, 6(2):15, 1971.
- [23] Evans, C. G. T., D. Herbert and D. W. Tempest: *Methods in Microbiology*, Vol. 2, Academic Press, London and New York, 1970, p. 276.
- [24] Solomon, G. L.: *Adv. Appl. Microbiol.*, 14:231, 1971.
- [25] Humphrey, A. E.: *Process Biochem.*, 12(2):19, 1977.

(下转 40 页)

(上接第 34 页)

- [26] Trambouze, P. and H. Mueller: *Process Biochem.*, 8(8):7, 1973.
- [27] Nyiri, L. K.: *Adv. Biochem. Eng.*, 2:49, 1972.
- [28] Rogers, P. L.: *ibid*, 4:125, 1976.
- [29] Meskanen, A. K. Lundell and P. Laiho: *Process Biochem.*, 11(5):31, 1976.
- [30] Jefferis, R. P.: *Process Biochem.*, 10(3):15, 1975.
- [31] Swartz, J. R. and C. L. Cooney: *ibid*, 13(2):3, 1978.
- [32] Pirt, S. J.: *Dev. Ind. Microbiol.*, 17:1, 1976.

更 正

本刊第五卷第六期第 4 页表 2 更正如下:

正	误
培养基	培养基
碎米70%	碎米70%
玉米粉20%	玉米粉20%
谷壳10%	谷壳10%