



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104017721 B

(45) 授权公告日 2016. 01. 06

(21) 申请号 201410274542. 8

CN 101948737 A, 2011. 01. 19, 全文 .

(22) 申请日 2014. 06. 18

CN 101003779 A, 2007. 07. 25, 全文 .

US 6299774 B1, 2001. 10. 09, 全文 .

(73) 专利权人 南通大学

地址 226019 江苏省南通市啬园路 9 号

审查员 穆飞航

(72) 发明人 汤佳鹏 葛彦 朱俐 姜正林

高永静

(74) 专利代理机构 江苏圣典律师事务所 32237

代理人 胡建华

(51) Int. Cl.

C12M 1/12(2006. 01)

C12M 1/04(2006. 01)

C12M 1/02(2006. 01)

C12M 1/00(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 102102081 A, 2011. 06. 22, 全文 .

CN 101671625 A, 2010. 03. 17, 全文 .

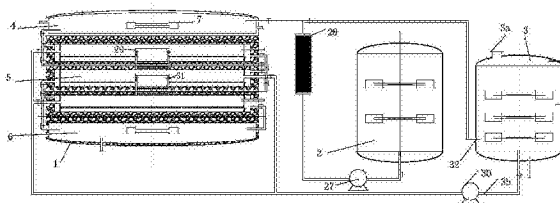
权利要求书1页 说明书4页 附图3页

(54) 发明名称

一种多级串联液体表面发酵生物反应系统

(57) 摘要

本发明公开了一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,包括相互连接的主发酵罐、培养基罐和种子罐,所述培养基罐连接一根导出管,导出管上设有一个连消装置;所述主发酵罐从上至下依次设有一个培养基保温储罐、两个以上发酵子罐,以及一个发酵液储罐;所述连消装置导出两根管,一根导入位于培养基保温储罐一侧上部的培养基进口,另一根导入位于种子罐一侧下部的种子罐入口;所述种子罐下端导出一根用于输送种子液的种子管,种子管分别接入每个发酵子罐。本发明抗染菌能力强,设备空间利用率大,操作简单,基本为阀门操作,集成化程度较高,工作效率高。



1. 一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,其特征在於,包括相互连接的主发酵罐(1)、培养基罐(2)和种子罐(3),所述培养基罐(2)连接一根导出管,导出管上设有一个连消装置(28);所述主发酵罐(1)从上至下依次设有一个培养基保温储罐(4)、两个以上发酵子罐(5),以及一个发酵液储罐(6);所述连消装置导出两根管,一根连通位于培养基保温储罐(4)一侧上部的培养基进口(8),另一根连通位于种子罐一侧下部的种子罐入口(32);所述种子罐下端导出一根用于输送种子液的种子管(3b),种子管分别接入每个发酵子罐(5);每个发酵子罐(5)内设有将真菌子座固定的金属网栅(24),且独立的设有培养基进口(12)和发酵液溢流管(15)以及种子液进口(13);培养基保温储罐(4)通过输送培养基液的培养基管道(9)连通每个发酵子罐(5)的培养基进口(12、33),培养基与种子液在金属网栅下方混合形成发酵液;由下至上倒数第二层以上的每个发酵子罐(5)内在中心位置设置有通气腔(29),通气腔的侧壁设有通气孔(31),金属网栅高度低于通气孔高度,通气腔底部设有滤网(25);最下层的发酵子罐(5)连通无菌空气进口,无菌空气通过通气腔(29)向上层发酵子罐通气;每个发酵子罐(5)与连接到发酵液储罐(6)的发酵液溢流管(15)连通。

2. 根据权利要求1所述的一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,其特征在於,所述培养基保温储罐(4)外设有保温夹套(21),保温夹套上设有夹套保温水进口(11),和夹套保温水出口(10)。

3. 根据权利要求1所述的一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,其特征在於,所述的发酵液储罐(6)底部设有发酵液出料口(18)。

4. 根据权利要求1所述的一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,其特征在於,所述培养基保温储罐(4)和发酵液储罐(6)内均设有搅拌桨。

5. 根据权利要求1所述的一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,其特征在於,所述的每层发酵子罐外围设有石棉保温层。

6. 根据权利要求1所述的一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,其特征在於,所述培养基罐(2)和种子罐(3)内设有搅拌桨。

7. 根据权利要求1所述的一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,其特征在於,所述最上层的发酵子罐上连通通气出口(14)。

8. 根据权利要求1所述的一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,其特征在於,所述通气腔内填充无菌过滤棉(26)。

9. 根据权利要求1所述的一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,其特征在於,所述上层的发酵子罐和相邻的下层的发酵子罐之间设有跨流管(17),跨流管连通本层发酵子罐的培养基管道进口、本层发酵子罐的发酵液溢流管以及下层的培养基管道进口,且每层的培养基进口(12)、发酵液溢流管(15)以及跨流管(17)的交汇点都设有一个控制阀。

10. 根据权利要求1所述的一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,其特征在於,所述种子罐顶端设有用于接种的接种口(3a)。

## 一种多级串联液体表面发酵生物反应系统

### 技术领域

[0001] 本发明公开了一种发酵装置,特别是一种多级串联液体表面发酵生物反应系统。

### 背景技术

[0002] 目前,工业用发酵罐设备分为两类,液体发酵罐和固体发酵罐。液体发酵罐主要有间歇搅拌发酵罐、气升式发酵罐等。现有的发酵罐抗染菌能力一般,操作较为繁琐,且效率较低。例如酵蛹虫草产虫草素和灵芝产灵芝酸等,最新的文献显示液体表面发酵更适合产物的积累。但是目前还没有大规模生产相适应的生物反应器。

### 发明内容

[0003] 发明目的:本发明所要解决的技术问题是针对现有技术的不足,提供一种多级串联液体表面发酵生物反应系统。

[0004] 为了解决上述问题,本发明公开了一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,包括相互连接的主发酵罐、培养基罐和种子罐,所述培养基罐连接一根导出管,导出管上设有一个连消装置;所述主发酵罐从上至下依次设有一个培养基保温储罐、两个以上发酵子罐,以及一个发酵液储罐;所述连消装置导出两根管,一根连通位于培养基保温储罐一侧上部的培养基进口,另一根连通位于种子罐一侧下部的种子罐入口;所述种子罐下端导出一根用于输送种子液的种子管,种子管分别接入每个发酵子罐;每个发酵子罐内设有将真菌子座固定的金属网栅,且独立的设有培养基进口和发酵液溢流管以及种子液进口;培养基保温储罐通过输送培养基液的培养基管道连通每个发酵子罐的培养基进口,培养基与种子液在金属网栅下方混合形成发酵液;由下至上倒数第二层以上的每个发酵子罐内在中心位置设置有通气腔,通气腔的侧壁设有通气孔,金属网栅高度低于通气孔高度,通气腔底部设有滤网;最下层的发酵子罐连通无菌空气进口,无菌空气通过通气腔向上层发酵子罐通气;每个发酵子罐与连接到发酵液储罐的发酵液溢流管连通。

[0005] 本发明中,培养基保温储罐外设有保温夹套,保温夹套上设有夹套保温水进口,和夹套保温水出口。

[0006] 本发明中,发酵液储罐底部设有发酵液出料口。

[0007] 本发明中,培养基保温储罐和发酵液储罐内均设有搅拌桨。

[0008] 本发明中,最上层的发酵子罐上连通通气出口。

[0009] 本发明中,通气腔内填充无菌过滤棉。

[0010] 本发明中,上层的发酵子罐和相邻的下层的发酵子罐之间设有跨流管,跨流管连通本层发酵子罐的培养基管道进口、本层发酵子罐的发酵液溢流管以及下层的培养基管道进口,且每层的培养基进口、发酵液溢流管以及跨流管的交汇点都设有一个控制阀。

[0011] 本发明中,所述种子罐顶端设有用于接种的接种口。

[0012] 有益效果:在多级串联发酵罐内设置了金属网栅将真菌子座固定于液层表面,这样液层在缓慢流动过程中不至于破坏真菌子座。同时采用滤网截留菌丝体,利用溢流管达

到控制发酵液高度的目的。将多级串联可连续进行液体表面发酵。本发明抗染菌能力强，设备空间利用率大，操作简单，基本为阀门操作，集成化程度较高，工作效率高。

[0013] 1、设备空间利用率大大增加。一般来讲，液体表面发酵的真菌子座高度不会大于3cm，如果用单一罐体，装液量较大，但是真正的发酵空间，即空气层体积占发酵罐的体积过小。由于液体表面发酵类似与静置发酵，传质速率较慢，因此使用传统发酵罐将大大增加发酵时间。本发明，单层高度仅需10cm，液层高度仅为3.6cm，空间利用率大大提高，发酵时间也可大大减少。

[0014] 2、在多级串联发酵罐内设置了金属网栅将真菌子座固定于液层表面，这样液层在缓慢流动过程中不至于破坏真菌子座。同时采用滤网截留菌丝体，利用溢流管达到控制发酵液高度的目的。将多级串联可连续进行液体表面发酵。

[0015] 3、抗染菌能力强。本发明在发酵主体上下层之间设置了多条管路和多道阀门，确保了培养基按指定的方向流动。特别采用罐体外周的跨流管，这样可以在一层发生染菌时，及时将其上下层流动的发酵培养基进行短接，然后单独对该层实施消毒灭菌。灭菌后可直接接入。不会导致一层染菌则全部倒罐的问题。

[0016] 4、本发明操作简单，基本为阀门操作，集成化程度较高，工作效率高。

## 附图说明

[0017] 图1是本发明多级串联液体表面发酵生物反应系统的组成示意图

[0018] 图2是本发明多级串联液体表面发酵生物反应系统主发酵罐的剖面结构主视图

[0019] 图3是本发明多级串联液体表面发酵生物反应系统主发酵罐主体部分的俯视结构示意图

## 具体实施方式

[0020] 如图1~图3所示，本发明公开了一种多级串联液体表面发酵生物反应系统，包括相互连接的主发酵罐1、培养基罐2和种子罐3，所述培养基罐2连接一根导出管，导出管上设有一个连消装置28；所述主发酵罐1从上至下依次设有一个培养基保温储罐4、两个以上发酵子罐5，以及一个发酵液储罐6；所述连消装置导出两根管，一根连通位于培养基保温储罐4一侧上部的培养基进口8，另一根连通位于种子罐一侧下部的种子罐入口32；所述种子罐下端导出一根用于输送种子液的种子管3b，种子管分别接入每个发酵子罐5；每个发酵子罐5内设有将真菌子座固定的金属网栅24，且独立的设有培养基进口12和发酵液溢流管15以及种子液进口13；培养基保温储罐4通过输送培养基液的培养基管道9连通每个发酵子罐5的培养基进口12、33，培养基与种子液在金属网栅下方混合形成发酵液；由下至上倒数第二层以上的每个发酵子罐5内在中心位置设置有通气腔29，通气腔的侧壁设有通气孔31，金属网栅高度低于通气孔高度，通气腔底部设有滤网25；最下层的发酵子罐5连通无菌空气进口，无菌空气通过通气腔29向上层发酵子罐通气；每个发酵子罐5与连接到发酵液储罐6的发酵液溢流管15连通。

[0021] 所述培养基保温储罐4外设有保温夹套21，保温夹套上设有夹套保温水进口11，和夹套保温水出口10。所述的发酵液储罐6底部设有发酵液出料口18。所述培养基保温储罐4和发酵液储罐6内均设有搅拌桨。所述的每层发酵子罐外围设有石棉保温层。所述

培养基罐 2 和种子罐 3 内设有搅拌桨。所述最上层的发酵子罐上连通通气出口 14。所述通气腔内填充无菌过滤棉 26。所述上层的发酵子罐和相邻的下层的发酵子罐之间设有跨流管 17, 跨流管连通本层发酵子罐的培养基管道进口、本层发酵子罐的发酵液溢流管以及下层的培养基管道进口, 且每层的培养基进口 12、发酵液溢流管 15 以及跨流管 17 的交汇点都设有一个控制阀。所述种子罐顶端设有用于接种的接种口 3a。

[0022] 实施例 1

[0023] 以蛹虫草产虫草素为例:

[0024] 如图 1, 本实施例公开了一种多级串联液体表面发酵生物反应系统, 包括主发酵罐 1, 培养基罐 2 和种子罐 3。培养基罐 2 通过泵 27 连接一根导出管, 导出管上设有一个连消装置 28; 连消装置 28 导出两根管, 一根导入主发酵罐培养基进口 8, 另一根导入种子罐入口 32; 主发酵罐从上至下包括培养基保温储罐 4、多级串联或者并联的发酵子罐 5 和发酵液储罐 6。种子罐的上端设有接种口 3a, 下端导出一根管 3b, 该管 3b 通过泵 30 连通主发酵罐 1 的多级串并联发酵子罐。

[0025] 图 2 中, 主发酵罐 1 包括通气腔 29, 搅拌桨 7; 培养基进口 8, 培养基出口 9, 夹套保温水进口 11, 夹套保温水出口 10, 培养基进口 12, 种子液进口 13, 通气出口 14, 第一层发酵液溢流口 15, 第二层发酵液溢流口 16, 跨流管 17, 发酵液出料口 18, 无菌空气进口 19。上层为培养基保温储罐, 配有搅拌装置和保温水夹套, 能够对培养基进行保温。中层为多级串联发酵罐, 外层及层间由石棉保温层隔开, 每层均有主发酵腔, 中轴上配有无菌空气通道, 内部填充无菌过滤棉, 自下而上通入无菌空气, 相对湿度为 60%, 每个主发酵腔都覆盖有环形的金属网栅, 用于真菌子座的附着生长, 两侧有滤网、接液区和溢流区组成, 左右布有接种管, 培养基或发酵液进口以及溢流管。在每层保温石棉层内均有一横穿罐体的跨流管。溢流管的管口与金属网栅高度一致, 接种管和培养基进口均高于金属网栅 2cm 以上。发酵腔与外层由滤网隔开。该多级串联发酵罐层数可随意设置。下层为发酵液储罐, 配有搅拌装置和石棉保温层。

[0026] 图 3 中, 主发酵罐 1 的石棉保温层 20, 保温夹套 21, 接液区或溢流区 22, 滤网 23, 金属网栅 24, 通气腔底部设有通气腔滤网 25, 主发酵腔层间过滤层 26, 跨流管 17。其中最外层为石棉保温层, 靠近石棉保温层的是保温夹套, 装置内部靠近保温夹套的两侧设有接液区或溢流区, 通过滤网区分界限, 金属网栅分隔开装置中心的通气腔滤网和滤网, 通气腔滤网里设有主发酵腔层间过滤层。

[0027] 采用本发明的多级串联液体表面发酵生物反应系统, 操作步骤如下:

[0028] 1、将主发酵罐 1、种子罐 3 及所有连消装置 28 后管道进行空消, 即在没有加入培养基的条件下, 用 121℃ 蒸汽灭菌 30 分钟以上。

[0029] 2、使用培养基罐 2 配制种子培养基溶液, 搅拌并加热至 80℃, 培养基完全溶解, 通过连消装置 28 进行种子培养基灭菌, 连消装置设置为温度 150℃, 培养基在连消装置中的滞留时间控制在 8 分钟。

[0030] 3、将灭菌后的种子培养基从种子罐入口 32 泵入种子罐 3, 利用种子瓶在种子罐接种口 3a 接种, 接种量为 10%, 进行通气搅拌发酵制备种子液, 温度控制为  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ , 搅拌速率控制在 45rpm, 通气比为  $0.5\text{V}/\text{V} \cdot \text{min}$ 。

[0031] 4、同上使用培养基罐 2 配制发酵培养基溶液, 搅拌并加热, 至培养基完全溶解, 通

过连消装置 28 进行发酵培养基灭菌,开启阀门 8a 从培养基进口 8 泵入主发酵罐内的培养基保温储罐 4 中,保温夹套 21 内从保温夹套进水口 11 通入  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  水并从保温夹套出水口 10 流出,对发酵培养基进行冷却后保温。

[0032] 5、从管道 19 通入无菌空气,温度  $27^\circ\text{C}$ ,相对湿度控制为 70–80%。

[0033] 6、开启阀门 9a 和阀门 12a,关闭阀门 17a、阀门 17b、阀门 15a,使管道 9 和管道 12 连通,让恒温的发酵培养基流入多级串联发酵子罐 5 中,先将第一个发酵子罐 5 充入发酵培养基,然后开启阀门 15a、15b、33a 使得培养基进口 33 和溢流管 15 连通,当液面高度恰好到达金属网栅 24,多余的发酵培养基会通过溢流管 15 进入下一层发酵子罐 5,然后从下一层发酵子罐 5 的发酵液溢流口 16 流出,发酵液溢流口 16 的控制阀 16a 开启,依次类推逐一使每一层发酵子罐 5 中发酵培养基高度达到金属网栅 24,关闭阀门 12a。

[0034] 7、当种子液中的菌体干重达到  $20\text{g/L}$  时,开启连接种子罐管道所有阀门 13a 等将种子液通过接种管 3b,以 10%接种量泵入发酵子罐 5 内,保温进行静置发酵 5 天。

[0035] 8、当真菌子座覆盖整个金属网栅 24 时,开启阀门 12a、15a、15b、33a 等所有发酵子罐 5 的进口和溢流口阀门以  $1\text{L/d}$  的流速将培养基储罐 4 中的发酵培养基缓缓注入多级串联发酵罐内。这样子座下层的发酵液会从进口向溢流管缓缓流动,由溢流管流至下层发酵子罐 5 内,达到连续液体表面发酵。

[0036] 9、当发酵液储罐 6 积累到一定量的发酵液时可通过排料口 18 排出,收集发酵液。

[0037] 10、当保温静置发酵时,如果第一层出现疑似染菌。可先关闭阀门 12a 和阀门 15a,再开启阀门 17a 和阀门 17b 将管道 9 与该层下一层发酵子罐 5 的培养基进口 33 通过跨流管 17 进行短接。然后单独对第一层实施 5%氢氧化钠溶液灌注洗涤,后用无菌水再冲洗至中性,废液直接通过管道排出罐体,每个发酵子罐 5 都单独设有废液排出管道(图中未示出)。即可重新加入发酵培养基和种子液进行静置发酵。由此利用跨流管实现发酵子罐 5 之间的相互独立,不至于因为一层发酵子罐 5 的染菌,导致整体的停工和染菌。

[0038] 本发明提供了一种多级串联液体表面发酵生物反应系统,具体实现该技术方案的方法和途径很多,以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本实用新型原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。本实施例中未明确的各组成部分均可用现有技术加以实现。

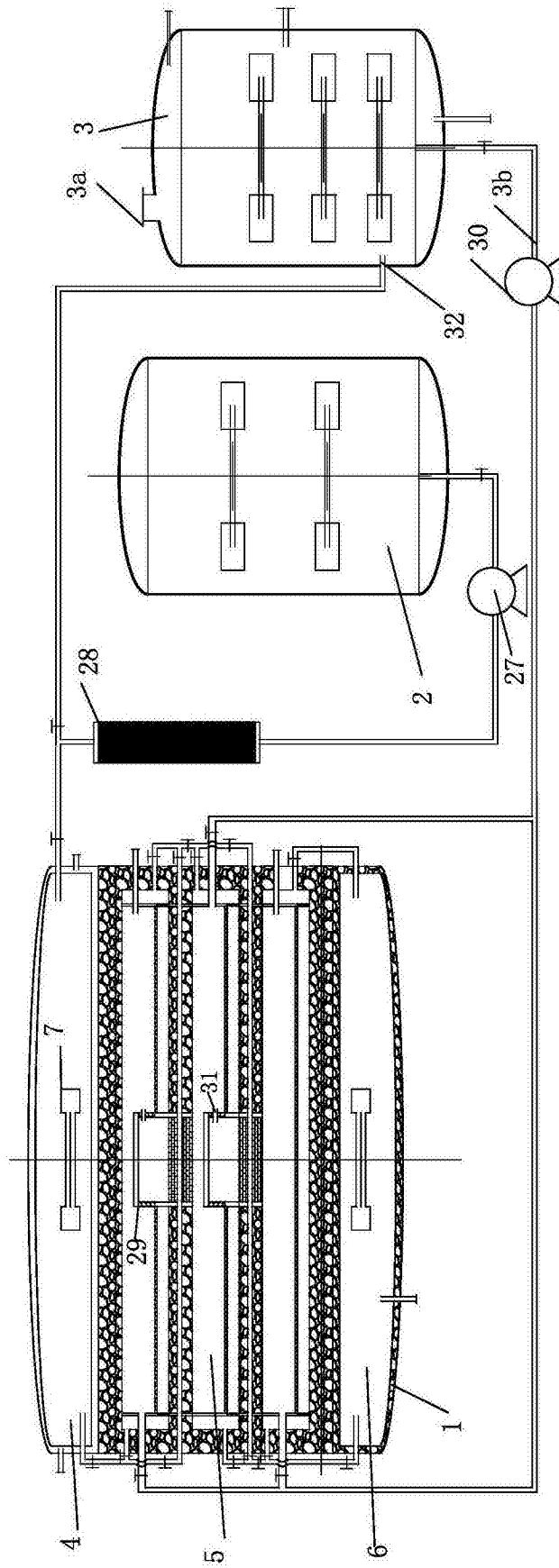


图 1

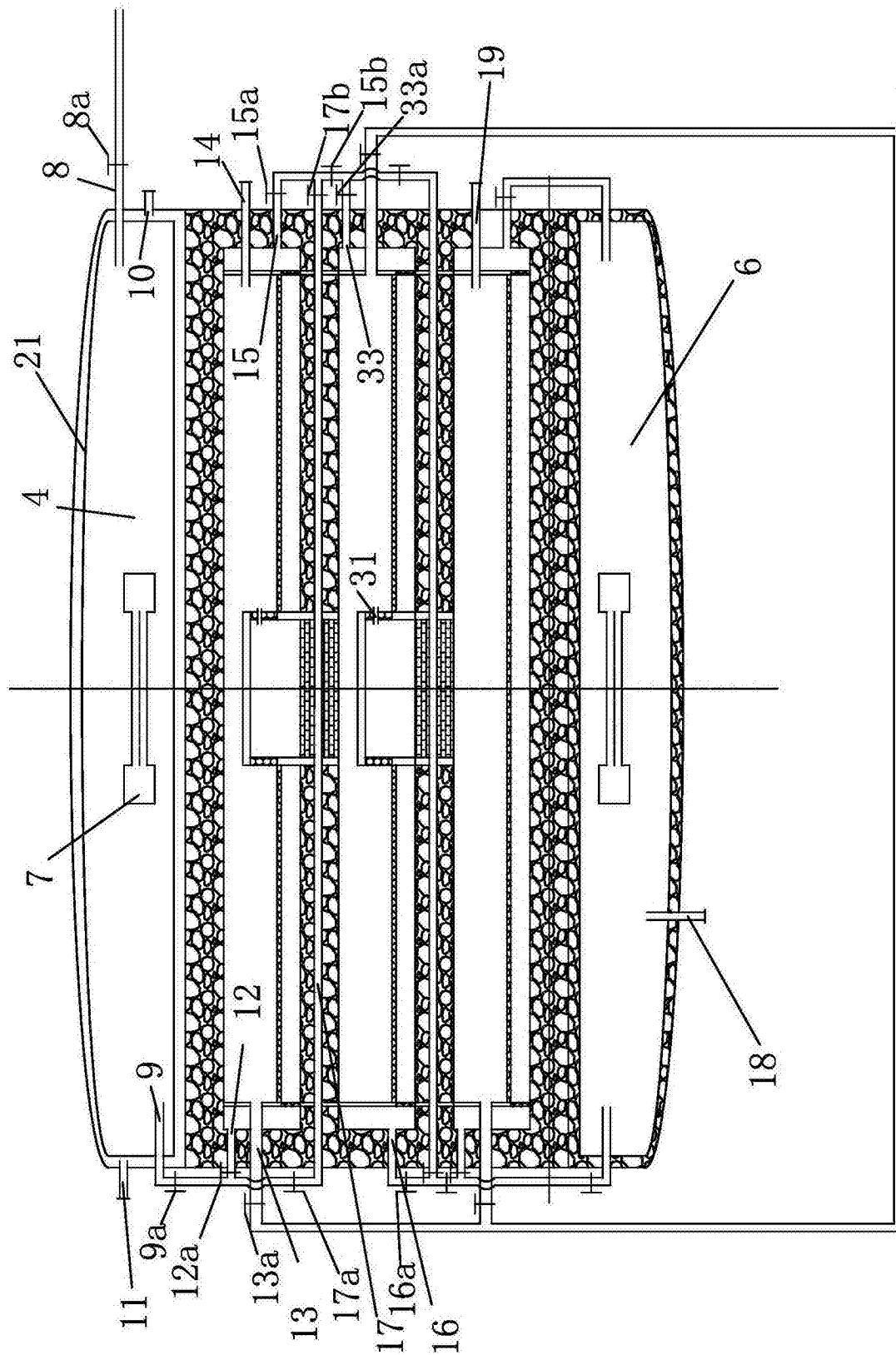


图 2



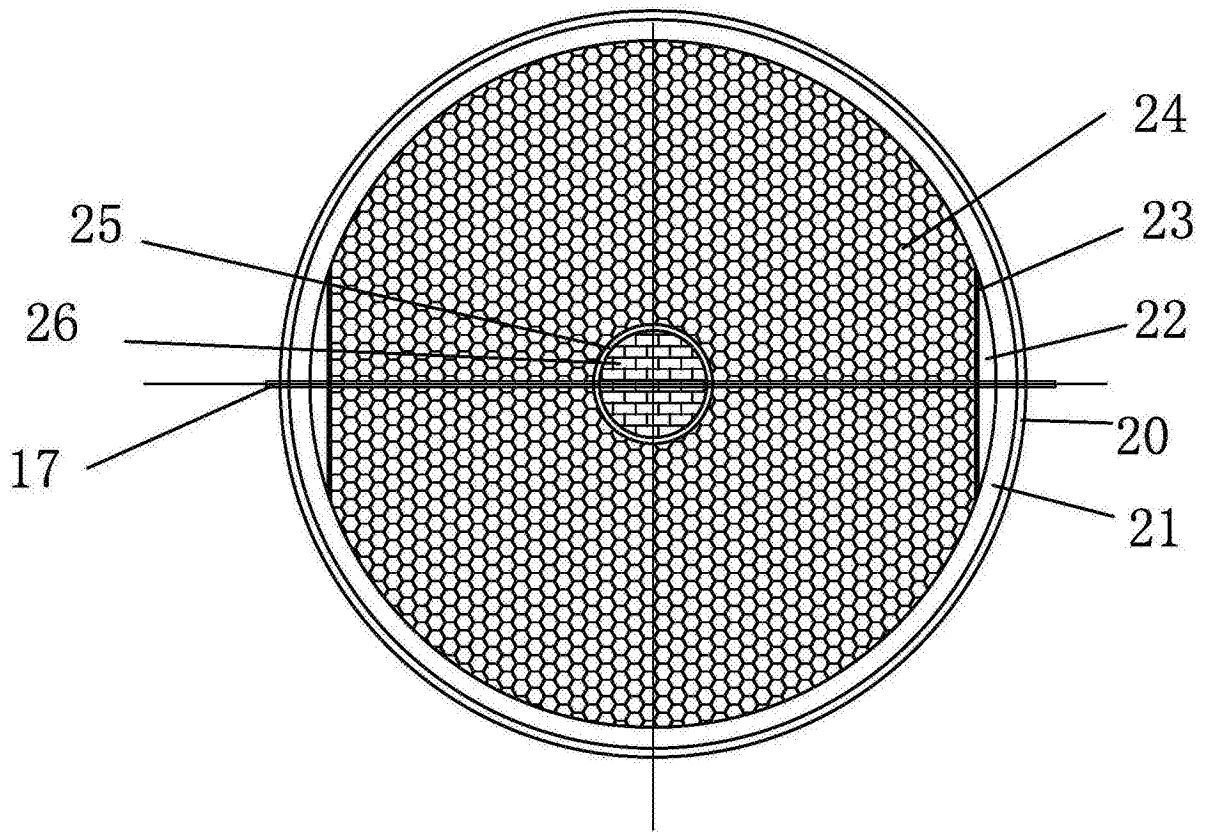


图 3