

第八章 发酵工程制药

8.4 培养基和灭菌

一、课程目标

1) 知识学习目标

- ①掌握常用生理酸/碱性物质的作用机理，学会通过调整培养基中生理酸/碱性物质的比例，来调控培养过程的 pH 至合适范围。
- ②掌握各种培养基成份的作用，以及调整培养基种类和配比的依据。
- ③工业发酵常用的实消、连消控制条件，两种方式各有什么优缺点。

2) 思政育人

通过工业生产中，理论知识必须和成本效应相匹配，达成最佳的生产效益的讲解，引导在实际工作中辩证思维来看待整体事物中的复杂变量，过于理想化或不按照自然规律办事，都会带必须以来负面效应。

二、思政案例

课程思政教学实例二：辩证思维

细菌的生长需要全面的营养物质，其在工业生产中，一些培养基的实际配方与理论配方往往差别很大；教师便可以向同学们提：为什么在实际生产中，培养基配方会跟理论配方不一致呢？之后，教师可以根据同学们的回答情况，介绍在工业生产中，理论知识必须和成本效应相匹配，达成最佳的生产效益。因此，在实际工作中辩证思维来看待整体事物中的复杂变量，过于理想化或不按照自然规律办事，都会带必须以来负面效应。由此，教师既将课堂知识与生产实际相结合，又强化了辩证思维在实际生产生活中的重要性。

三、课程组织

导入：要想侍候好微生物，得让微生物住好吃好，有了符合条件的发酵罐之后，就得让微生物吃好，那你首先得当个微生物的营养调配师。培养基就是：微生物生长繁殖和生物合成代谢产物所需要的按一定比例配制的多种营养物质的混合物。一个合适的培养基：除了碳源、氮源、无机盐等不同种类和配比，还需要考虑 pH、阴阳离子、表面活性剂的搭配，液体培养要充分考虑到各种阴阳离子对细胞通透性的影响。

知识点讲解：

1. 碳源

碳源：用于构成微生物细胞和代谢产物中碳元素的营养物质。

作用是：构成微生物细胞、提供能量、合成代谢产物。按作用一般分为：速效 C 源：利用快，有利于菌体生长，过多对产物合成会产生阻遏作用。如：葡萄糖、甘油，有利于初级代谢。迟效 C 源：就是缓慢利用的碳源，有利于延长产物的合成。常用迟效 C 源有：淀粉、蔗糖、乳糖、麦芽糖，油脂类等，有利于次级代谢产物的合成。

2. 氮源

氮源：就是用于构成微生物细胞和代谢产物中氮元素的营养物质。

作用是：构成微生物细胞、合成代谢产物。

按利用快慢，氮源同样也分为速效 N 源和迟效 N 源：

速效 N 源：就是易被菌体利用，明显促进菌体生长。常用氨水、铵盐和玉米浆就是速效 N 源，也是有利于初级代谢，长菌体的。

迟效 N 源是：有利于延长次级代谢产物的分泌期。常用迟效 N 源有：黄豆饼粉、花生饼粉、棉子饼粉，利用缓慢，有利于次级代谢产物的合成。

工业上常采用无机氮源和有机氮源、速效氮源和迟效 N 源搭配的混合氮源，既有利于菌体生长，又适合产物合成。

思政融入：细菌的生长需要全面的营养物质，其在工业生产中，一些培养基的实际配方与理论配方往往差别很大；教师便可以向同学们提：为什么在实际生产中，培养基配方会跟理论配方不一致呢？之后，教师可以根据同学们的回答情况，介绍在工业生产中，理论知识必须和成本效应相匹配，达成最佳的生产效益。因此，在实际工作中辩证思维来看待整体事物中的复杂变量，过于理想化或不按照自然规律办事，都会带来负面效应。由此，教师既将课堂知识与生产实际相结合，又强化了辩证思维在实际生产生活中的重要性。

3. 生理酸碱性物质（这个很重要，代谢过程中，严重影响 pH）

生理酸性物质：就是代谢后能产生酸性物质的营养成分。如： $(\text{NH})_2\text{SO}_4$ 、 NH_4Cl ，属于强酸弱碱盐，代谢后产酸。

生理碱性物质是：代谢后能产生碱性物质的营养成分。经常碰到的有：硝酸盐、乙酸盐（常用的有 NaNO_3 、 CH_3COONa ），代谢后 pH 会上升。根据代谢过程 pH 的变化情况，灵活调整培养基中的生理酸碱性物质的比例，控制代谢过程的 pH 在合适的范围内。

4. 工业发酵培养基一般要求：

1) 营养全面丰富，既要满足生长需要，又有利于产物合成；

2) 各成份不能发生化学反应；最常见的就是： Mg^{2+} 、 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} ，高温灭菌时这三种离子会发生反应，生成有毒的焦磷酸镁，因此，必须分开灭菌，再合并。

3) 要求适当渗透压，注意各离子的浓度；

4) 需要考虑不同设备的搅拌和通气情况，需要调整配比和稠稀；工厂还要求质优价廉，考虑成本问题。

知识点 2 的讲解：灭菌

下面学习第二部分、微生物的种子制备、发酵培养，都是纯种培养，严防杂菌污染。因此，配制好了培养基，先得灭菌，包括设备系统。

工业上两种灭菌方式：分批灭菌(称为实消)、连续灭菌(称为连消)。

1、实消：培养基在发酵罐内直接用蒸汽加热灭菌。

普遍采用实消条件：120℃， 0.1MPa， 保压 30min

特点：操作简便、时间长、营养成分有破坏、设备利用率低。

PPT 59-602、连消：培养基经过一套灭菌设备连续加热灭菌，冷却后接入已灭菌的发酵罐内工艺过程。也就是发酵罐先空消，培养基单独灭菌后再打入发酵罐。控制条件是：132℃，持 5-7min。高温快速，营养成分破坏少。连消主要设备是连消塔、维持罐、喷淋冷却器。连消适合大规模的发酵罐，容积 100 吨以上的发酵罐常用连消。一般的小型发酵企业，单台发酵罐容积大多在三十、五十个立方，采用实消的较多，简单易行，方便操作。

总结：

1. 掌握常用生理酸/碱性物质的作用机理，学会通过调整培养基中生理酸/碱性物质的比例，来调控培养过程的 pH 至合适范围。
2. 掌握各种培养基成份的作用，以及调整培养基种类和配比的依据。
3. 工业发酵常用的实消、连消控制条件，两种方式各有什么优缺点。