

第八章 发酵工程制药

8.5 发酵工艺控制

一、课程目标

1) 知识学习目标

- ①简述引起 pH 变化的因素及其调控。
- ②了解 O_2 和 CO_2 在液体中的溶解特性，了解微生物对氧的需求特点。
- ③掌握发酵过程中溶氧浓度的调控方法。
- ④掌握工业发酵过程，常采用连续流加补料的好处。

2) 思政育人

二、思政案例

课程思政教学实例一：追求真理、实事求是的科学精神

三、课程组织

导入：同学们，大家好！咱们现在学习发酵工艺控制。前面学习了培养基、灭菌，也学习了菌种选育，对于大肠杆菌、酵母菌，发酵培养周期大多在三五天，对于链霉菌、霉菌，发酵周期普遍在 7-10 天，甚至更长，因此，发酵过程的工艺控制很关键，直接影响产物的产量和纯度。咱们重点学习一下 pH、DO、CO₂、过程补料的影响和调控。

知识点 1 讲解：pH 的影响及其控制

pH 影响菌体生长代谢的酶活性；菌体细胞膜透性会发生改变，影响营养物的吸收和代谢产物的分泌；pH 还会影响产物的稳定性，很多产物在碱性下不稳定、易降解。pH 的变化取决于菌种特性、培养基成分、培养条件。前面讲过，生理酸碱性物质影响 pH，高碳源使 pH 下降，高氮源的结果是 pH 上升。过程通气量偏大，pH 会上升，补糖量偏大，有机酸积累多，pH 会下降。发酵 pH 的控制：首先要 a、选择合适的培养基配比。要求 C/N 合适；添加 pH 缓冲剂：CaCO₃；调整生理酸、碱性物质的比例，使 pH 在要求范围内波动。

第 2 个方面，b、通过发酵过程补料来调控 pH：控制补糖速率；补加氨水、硫酸铵；同时结合通气量。很多品种适合 pH 闭环自控，尤其是大肠杆菌工程菌，通过自动检测、电脑自动控制系统，实现葡萄糖、氨水、pH 的闭环自控，发酵过程的 pH 曲线趋向一条直线，效

果很好。

知识点 2 的讲解：D0 的影响及其控制

发酵液中 D0 水平，直接影响代谢方向，会改变生物合成的路径。每个菌种都有自身对应的临界溶氧浓度，也就是不能低于某个 D0 值。例如：阿卡波糖要求 $D0 \geq 40\%$ ，利普司他汀要求 D0 在 10-15%。

一个菌种要求的 D0 范围确定后，发酵过程当 D0 低于要求时，一般通过交替升搅拌转速、通气量来实现。当 D0 高于要求时，就交替降低搅拌转速、降低通气量，控制 D0 在要求范围。

知识点 3 的讲解：CO₂ 的影响及其控制

发酵过程消耗大量的糖，代谢后也就产生大量 CO₂。大家看这个方程式，400kg 葡萄糖，彻底氧化后会产生 586kgCO₂，这是气体，体积相当的大。不及时排走，溶解 CO₂ 浓度过高，就会造成 CO₂ 中毒，菌丝会变得很短，膨大几十倍。以前镜检，第一次观察到这种菌丝形态时，找不到原因，其实就是 CO₂ 中毒了。

CO₂ 还有一个特性需要注意，平时大家调控 D0，为了增加 D0，普遍喜欢升高罐压。但升高压力，CO₂ 更易溶解，CO₂ 溶解度是 O₂ 的 30 倍。溶解的 CO₂ 浓度没有仪表检测，往往被忽略，溶解的 DCO₂ 也没有规律，那么如何防止 CO₂ 中毒呢？CO₂ 如何控制呢？需要注意以下 4 个方面：(1) 选择合适罐压，不能高于 0.06MPa；(2) 控制培养基和中间补料的糖量；(3) 控制通气量，及时带走 CO₂；如果糖耗量大，就加大通气量，适当降低罐压。(4) 重点控制：种子和发酵的对数生长期，产 CO₂ 最多。

知识点 4 的讲解：过程补料的影响及其控制

补料的优点是：可以解除底物抑制、产物反馈抑制，可提高菌体细胞质量，延缓衰老，延长发酵时间；可明显提高发酵水平。

补料方式和控制：

(1) 补料方式有：通过电脑自控，连续流加或滴加，没有条件的也要少量多次补加。

(2) 行业内已普遍采用微机补料自控系统：包括传感器、控制器、驱动器三个单元。pH 与氨水、液位与消泡剂，可以闭环控制。

过程补加葡萄糖、硫酸铵、氨水、前体物质，采用开环控制：也就是，根据取样检测的参数值，人工设定微机进行控制，实现连续流加，控制培养液的糖、氮，一直维持在一个相对稳定的浓度范围，有利于生物合成。

总结：本节学习了 pH、D0、CO₂、过程补料的影响和调控，以下是本节的小结和习题：

1. 简述引起 pH 变化的因素及其调控。

2. 了解 O_2 和 CO_2 在液体中的溶解特性，了解微生物对氧的需求特点。
3. 掌握发酵过程中溶氧浓度的调控方法。
4. 工业发酵过程，常采用连续流加补料，有什么好处？