



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 208414429 U

(45)授权公告日 2019.01.22

(21)申请号 201820791745.8

C12M 1/14(2006.01)

(22)申请日 2018.05.25

C12M 1/04(2006.01)

(73)专利权人 南京高新工大生物技术研究院有限公司

C12M 1/02(2006.01)

C12M 1/00(2006.01)

地址 210032 江苏省南京市高新技术开发区星火路10号鼎业百泰生物大楼A座1014室

C12R 1/02(2006.01)

C12R 1/645(2006.01)

(ESM)同样的发明创造已同日申请发明专利

(72)发明人 陈勇 刘庆国 应汉杰 邹亚男 赵南 汤德朋

(74)专利代理机构 南京苏高专利商标事务所 (普通合伙) 32204

代理人 肖明芳

(51)Int.Cl.

C12M 1/34(2006.01)

C12M 1/21(2006.01)

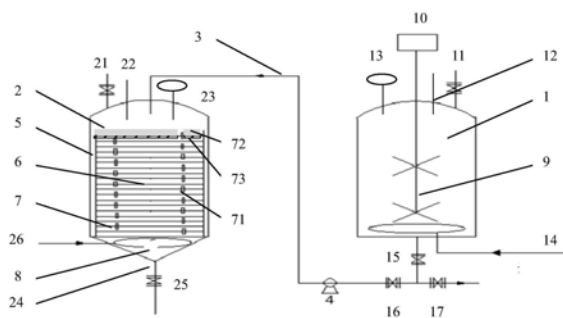
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54)实用新型名称

一种静态发酵装置

(57)摘要

本实用新型提供一种静态发酵装置,装置包括搅拌发酵罐和分层静置反应罐,所述搅拌发酵罐底部通过输料管连接分层静置反应罐顶部,输料管上设有泵;所述分层静置反应罐内设有托盘支架,托盘支架上放置两个以上的托盘,每个托盘底部设有下陷的贯穿孔,贯穿孔内设有高度可调节的引流管,上层托盘内的料液通过引流管导入到下一层的托盘内,其发酵工艺为将种子接入装有灭菌过的发酵培养基的搅拌发酵罐中,搅拌培养一段时间后,再通过气压或泵送入分层静置反应罐中,通过托盘的引流管溢流方式,装满每个托盘,然后通气保压发酵。本实用新型工艺简单,设备利用率高,不仅明显提高发酵效率,降低染菌风险,也可实现自动化生产。



1. 一种静态发酵装置,其特征在于,包括搅拌发酵罐(1)和分层静置反应罐(2),所述搅拌发酵罐(1)底部通过输料管(3)连接分层静置反应罐(2)顶部,输料管(3)上设有泵(4);所述分层静置反应罐(2)内设有托盘支架(5),托盘支架(5)上放置两个以上的托盘(6),每个托盘(6)底部设有下陷的贯穿孔(7),贯穿孔(7)内设有高度可调节的引流管(71),上层托盘内的料液通过引流管(71)导入到下一层的托盘内;所述托盘支架(5)的下部设有气体分布器(8)及与气体分布器(8)连接的供气管(26)。

2. 根据权利要求1所述的一种静态发酵装置,其特征在于,每层托盘(6)上的引流管(71)单独设置,引流管(71)为空心管,上下相邻的两个托盘(6)上的引流管(71)的安装位置相互错开,水平间距为托盘直径的 $1/3\sim 2/3$ 。

3. 根据权利要求1所述的一种静态发酵装置,其特征在于,所述引流管(71)为两根竖管,水平间距为托盘直径的 $1/3\sim 2/3$,分别从上而下贯穿所有的托盘(6),引流管(71)上设有空心段(711)和实心段(712),空心段(711)的上下端侧壁开有流通孔,引流管(71)的顶部实心段通过螺纹连接驱动电机(27)的输出轴套管(271),从而驱动引流管(71)上下运动,所述驱动电机(27)位于分层静置反应罐(2)顶部。

4. 根据权利要求2或3所述的一种静态发酵装置,其特征在于,所述托盘(6)内还装载有多孔吸附载体(72)。

5. 根据权利要求2或3所述的一种静态发酵装置,其特征在于,所述托盘(6)底部设有消泡丝网(73)。

6. 根据权利要求2或3所述的一种静态发酵装置,其特征在于,所述搅拌发酵罐(1)顶部安装有减压阀(11)、温湿度计(12)和压力表(13),底部设有进气管(14)。

7. 根据权利要求6所述的一种静态发酵装置,其特征在于,所述搅拌发酵罐(1)底部输料管(3)上设有第一阀门(15)、第二阀门(16)和第三阀门(17);打开第一阀门(15)和第二阀门(16),关闭第三阀门(17),搅拌发酵罐(1)中的物料经输料管(3)进入分层静置反应罐(2);打开第一阀门(15)和第三阀门(17),关闭第二阀门(16),搅拌发酵罐(1)中的物料直接排出。

一种静态发酵装置

技术领域

[0001] 本实用新型涉及一种静态发酵装置,属于生物发酵工程技术领域。

背景技术

[0002] 传统的好氧菌发酵设备有搅拌罐和气升罐,因其良好的传质环境有利于真菌及细菌快速生长,而备受选用。然而对于部分含有菌丝体霉菌及少数产物特殊的细菌来说,传质作用强引起的剪切力对菌体生长具有一定的抑制影响或者对发酵产物具有较强的破坏作用。

[0003] 木醋杆菌是一种产细菌纤维素的好氧菌,有静态和搅拌发酵两种,静态发酵产量高,但周期长;搅拌发酵因其传质效果好,发酵周期短,但产量很低;鉴于其发酵特点,授权公告号为CN 100590193公开了一种深层与浅层偶联静态发酵高纤椰果的生产方法,该方法是在发酵培养基中接入木醋杆菌,进行深层静态发酵;当发酵液湿菌体浓度达到2.0-3.0g/L时,将发酵液分装到经过灭菌处理的浅层容器中,在浅层容器中继续进行浅层静态发酵,最终可使高纤椰果浅层发酵周期缩短20~40%,但设备利用率低,工作量大;授权公告号为CN 101979635B公开了一种基于转筒式发酵反应器的细菌纤维素生产工艺,该生产工艺的步骤为:(1)设备空消;(2)培养基实消;(3)接种;(4)旋转发酵;(5)细菌纤维素膜的收割;(6)设备清洗。该专利所用方法生产效率低下的局限,实现了细菌纤维素发酵生产和膜片收获连续化和机械化作业,具有高效便捷、自动化程度高等诸多优点,但规模放大存在一些障碍。

[0004] 虫草素是蛹虫草好氧发酵产物,有多种生物学活性,如抗肿瘤、抗增殖、抗转移、抗菌、抗病毒、免疫调节和抗炎等。其发酵方式也主要采用静置发酵,即将发酵液通过分装、装盘的方式静置培养。因没有很好的传质作用,发酵周期也较长;另外,装盘工作量大,发酵效率和发酵效果均较差,无法满足生产的要求。

实用新型内容

[0005] 实用新型目的:本实用新型所要解决的技术问题是针对现有技术的不足,提供一种有利于对传质敏感的好氧菌发酵的装置,实现自动化运转的基于动静两态的好氧发酵工艺。

[0006] 为了解决上述技术问题,本实用新型公开了一种静态发酵装置,该装置包括搅拌发酵罐和分层静置反应罐,所述搅拌发酵罐底部通过输料管连接分层静置反应罐顶部,输料管上设有泵;所述分层静置反应罐内设有托盘支架,托盘支架上放置两个以上的托盘,每个托盘底部设有下陷的贯穿孔,贯穿孔内设有高度可调节的引流管,上层托盘内的料液通过引流管导入到下一层的托盘内;所述托盘支架的下部设有气体分布器及与气体分布器连接的供气管和调节阀,便于使反应罐内的发酵液与气体混合均匀。

[0007] 每层托盘上的引流管可以单独设置,引流管为空心管,上下相邻的两个托盘上的引流管的安装位置相互错开,水平间距为托盘直径的1/3~2/3,当上层托盘中液面高于特

定液位时,将顺着引流管溢流至下一层托盘中,通过溢流方式,装满每个托盘。

[0008] 另一种方式是引流管为两根竖管,水平间距为托盘直径的 $1/3\sim 2/3$,分别从上而下贯穿所有的托盘,引流管上设有空心段和实心段,空心段的上下端侧壁开有流通孔,引流管的顶部实心段通过螺纹连接驱动电机的输出轴套管,从而驱动引流管上下运动,发酵液经引流管上设有的空心段从上一托盘流入下一托盘中,所述驱动电机位于分层静置反应罐顶部,其输出轴穿过反应罐罐顶,输出轴外部套有空心的套管,输出轴套管设有内螺纹,引流管的顶部实心段外表面设有外螺纹,二者通过螺纹实现传动,从而调节引流管上下运动的高度。

[0009] 进一步地,所述托盘内还可以选择性装载有多孔吸附载体,包括但不限于:多孔陶瓷、活性炭、聚氨酯等,其具有吸附菌体和支撑的作用,可实现间隙式或半连续化生产的目的。

[0010] 更进一步地,所述托盘底部设有消泡丝网,采用不锈钢材质,对发酵过程中产生的泡沫进行及时的消除。

[0011] 所述搅拌发酵罐顶部设有贯穿罐体的搅拌浆,搅拌浆顶部连接电机。

[0012] 所述搅拌发酵罐顶部安装有减压阀、温湿度计和压力表,底部设有进气管及其调节阀,具备温度、搅拌、通气等控制系统,并有自动灭菌功能。

[0013] 所述搅拌发酵罐底部输料管上设有第一阀门、第二阀门和第三阀门;当打开第一阀门和第二阀门,关闭第三阀门,搅拌发酵罐中的物料经输料管泵送进入分层静置反应罐;打开第一阀门和第三阀门,关闭第二阀门,搅拌发酵罐中的物料将直接排出。

[0014] 所述分层静置反应罐顶部安装有减压阀、温湿度计和压力表,底部设有出料口及出料阀,同时具备温度、湿度、通气等控制系统,并有自动灭菌功能。

[0015] 上述静态发酵装置的发酵方法为:将种子接入装有灭菌过的发酵培养基的搅拌发酵罐中,搅拌培养一段时间后,通过泵送入分层静置反应罐中,通过引流管溢流装满每个托盘,最后通气保压发酵,发酵完成后调节引流管的高度,使发酵液通过贯穿孔和引流管依次流入下一层托盘内,最后通过出料口流出。

[0016] 上述静态发酵装置应用于发酵对传质敏感的好氧菌,优选木醋杆菌或蛹虫草。

[0017] 有益效果:

[0018] 1、本实用新型搅拌发酵罐可在发酵前期提供一个良好的传质环境,有利菌体快速生长,待菌浓达到一定程度,移到分层静置反应罐中,可避免剪切力带来的负面影响;

[0019] 2、本实用新型分层静置反应罐可同时容纳多个托盘,空间利用率可达70%,明显提高设备利用率,通过调节引流管的高度,溢流方式注满每个托盘进行发酵,发酵完成后再次调节引流管的高度,通过引流管和贯穿孔将发酵液排出,提高工作效率,同时可降低染菌风险;

[0020] 3、本实用新型引流管的安装位置相互错开,可以进一步分散均质物料,同时延长气体在每一层托盘中的停留时间,提高反应效率;

[0021] 4、本实用新型通过在托盘内装载多孔吸附载体,对发酵菌体进行吸附固定,使其具有重复利用的作用;托盘底部的不锈钢消泡丝网,能对发酵过程中产生的泡沫进行及时的消除,避免泡沫溢出;

[0022] 5、本实用新型分层静置反应罐可控制溶氧及温湿度,可更好地控制发酵参数,满

足菌体发酵需求,从而可实现自动化控制发酵。

附图说明

[0023] 下面结合附图和具体实施方式对本实用新型做更进一步的具体说明,本实用新型的上述和/或其他方面的优点将会变得更加清楚。

[0024] 图1是实施例1装置的整体结构示意图;

[0025] 图2是实施例2装置的整体结构示意图;

[0026] 图3是实施例2装置通过引流管溢流装满每个托盘时的状态示意图;

[0027] 图4是实施例2装置通过引流管和贯穿孔将发酵液导出时的状态示意图。

具体实施方式

[0028] 根据下述实施例,可以更好地理解本实用新型。

[0029] 实施例1

[0030] 如图1所示,该装置包括搅拌发酵罐1和分层静置反应罐2,两罐体之间通过输料管3和泵4连接;分层静置反应罐2内设有托盘支架5,托盘支架5从上往下放置有数个托盘6,每个托盘6底部设有下陷的贯穿孔7,贯穿孔7内设有高度可调节的引流管71,每层托盘6上的引流管71单独设置,引流管71为空心短管,上层托盘内的料液通过引流管71导入到下一层的托盘内,为了使贯穿孔7与引流管71之间无缝隙,在贯穿孔7内固设防漏密封环,相邻上下两个托盘6的引流管71的水平间距为托盘直径的 $2/3$,托盘6内选择性装载有多孔吸附载体72,底部设有消泡丝网73(图中仅第一层托盘示出,其余托盘省略);托盘支架5下部设有气体分布器8与供气管26,顶部安装有减压阀21、温湿度计22和压力表23;分层静置反应罐2底部设有出料口24及出料阀25;搅拌发酵罐1顶部设有贯穿罐体的搅拌桨9和其驱动电机10,还安装有减压阀11、温湿度计12和压力表13,底部设有进气管14,以及安装在输料管3上的第一阀门15、第二阀门16和第三阀门17。

[0031] 使用时,将种子接入装有灭菌过的发酵培养基的搅拌发酵罐1中,搅拌培养一段时间后,通过泵4送入分层静置反应罐2中,引流管71设置一定的高度,每一层托盘装满后通过引流管71溢流至下一层托盘,直至将所有托盘装满,最后通气保压发酵;发酵完成后,依次将每一层的引流管71调节至与贯穿孔7平齐,发酵液经贯穿孔7和引流管71流至下一层托盘,最终通过出料口24排出。

[0032] 实施例2

[0033] 如图2所示,该装置在实施例1的基础上,将引流管71设置为长竖管,两根引流管71水平间距为托盘直径的 $2/3$,分别从上而下贯穿所有的托盘6,引流管71上设有空心段711和实心段712,空心段711的上下端侧壁开有流通孔,引流管71的顶部实心段设有外螺纹,左侧引流管71a通过螺纹连接驱动电机27a的输出轴套管271a,右侧引流管71b通过螺纹连接驱动电机27b的输出轴套管271b,输出轴套管271a和271b内设有内螺纹,输出轴转动时通过螺纹驱动引流管71上下运动,驱动电机27a和27b分别安装在分层静置反应罐2顶部,其输出轴穿过反应罐罐顶,通过两电机的转速配合来分别调节左侧引流管71a和右侧引流管71b上下运动高度。

[0034] 如图3所示,使用时,将种子接入装有灭菌过的发酵培养基的搅拌发酵罐1中,搅拌

培养一段时间后,通过泵4送入分层静置反应罐2中,通过驱动电机27调节引流管71的高度,使得左侧引流管71a的上部第一空心段711a穿过第一层托盘6,空心段711a的上端流通孔高出托盘6一定的高度,从而托盘内的发酵液液面必须达到该高度,才能经空心段711a流入下一层托盘中,液面超过右侧引流管71b的上部第二空心段711b上端流通孔后,再经空心段711b溢流至再下一层的托盘内,直至将所有托盘装满,最后通气保压发酵;

[0035] 如图4所示,发酵完成后,进一步通过驱动电机27下调引流管71的高度,使得右侧引流管71b的上部第一空心段711b的上端流通孔高度与第一层托盘的贯穿孔7平齐,左侧引流管71a的上部第一空心段711a与第二层托盘的贯穿孔7平齐,这样每一层托盘内的发酵液经贯穿孔7和引流管71流至下一层托盘,最终通过出料口24排出。

[0036] 实施例3

[0037] 种子保藏及制备:菌种为木醋杆菌700178,斜面用的培养基为YPD,4℃保存,两月转接一次。斜面木醋杆菌刮取一环接入装有400mL种子培养基的1L三角瓶(培养基:葡萄糖50、酵母粉5、蛋白胨5,单位g/L;121℃灭菌20分钟),80r/min、28℃培养1天;

[0038] 发酵:将糖蜜稀释一倍后用浓硫酸调节pH至2.0,70℃维持30分钟后冷却至常温,静置取上清液,稀释5倍,加入酵母膏10、蛋白胨10、硫酸铵4、硫酸镁2、磷酸氢二钠3、柠檬酸1.8、乳酸0.5(单位g/L),调pH至5.0,121℃灭菌20分钟;冷却后将摇瓶种子按8%接种量接入实施例1装置的50升搅拌发酵罐1中,温度28℃、通气量2.0vvm,120r/min培养12h;然后经泵4送入分层静置反应罐2中,通过引流管71溢流方式注满每个托盘6,通气保压0.08Mpa,温度26℃,相对湿度90%左右,培养至10d后结束发酵,发酵完成后从上而下依次调节托盘6上的引流管71与贯穿孔7平齐,发酵液经贯穿孔7和引流管71依次流入下一层托盘内,最后通过出料口24流出;BC产量达7.8g/L以上,厚度达1.6cm。

[0039] 实施例4

[0040] 种子保藏及制备:同实施3。

[0041] 发酵:将糖蜜稀释一倍后用浓硫酸调节pH至1.0,60℃维持45分钟后冷却至常温,静置取上清液,稀释4倍,加入酵母膏8、蛋白胨8、硫酸铵2、硫酸镁1、磷酸氢二钠3、柠檬酸1.5(单位g/L),调pH至5.5,121℃灭菌20分钟;冷却后将摇瓶种子按10%接种量接入实施例2装置的50升搅拌发酵罐1中,温度30℃、通气量1.5.0vvm,120r/min培养18h;然后经泵4送入分层静置反应罐2中,驱动电机27调节引流管71的高度,通过引流管71溢流方式注满每个托盘6,通气保压0.1Mpa,温度30℃,相对湿度95%左右,培养至12d后结束发酵,发酵完成后再次调节引流管71的高度,使得空心段711的上端流通孔高度与贯穿孔7平齐,发酵液经贯穿孔7和引流管71依次流入下一层托盘内,最后通过出料口24流出;BC产量达8.2g/L以上,厚度达2.1cm。

[0042] 实施例5

[0043] 菌种:*Cordyceps militaris* CICC No.14014(中国工业微生物菌种保藏管理中心),斜面培养基和种子培养基按如下方法制备:

[0044] 斜面培养基:通用的土豆汁培养基(PDA);种子培养基:土豆汁培养基中,另加 KH_2PO_4 3g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.5g/L,维生素B1 0.2g/L,121℃灭菌30分钟;发酵培养基配方如下:葡萄糖42g/L、酵母膏6g/L、蛋白胨10g/L、 KH_2PO_4 0.5g/L、 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.5g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g/L,溶剂为水,pH6.0,121℃灭菌20分钟;

[0045] 菌种保藏:所用菌种保藏在斜面培养基斜面上,4℃保存,两月转接一次;种子培养:从保藏培养基上转入种子培养基需活化两次,每次25℃培养5天;液体培养:菌株先在摇瓶中培养,获得成熟种子,然后以5% (v/v) 的接种量接入实施例2装置的50L的搅拌发酵罐1中,装液量为30L,26℃发酵,搅拌转速为150rpm,培养1天后,经泵4送入分层静置反应罐2中,驱动电机27调节引流管71的高度,通过引流管71溢流方式注满每个托盘6,通气保压0.1Mpa,温度26℃,相对湿度75%左右,培养至18d后结束发酵,发酵完成后再次调节引流管71的高度,使得空心段711的上端流通孔高度与贯穿孔7平齐,发酵液经贯穿孔7和引流管71依次流入下一层托盘内,最后通过出料口24流出;虫草素产量达4.2g/L以上。

[0046] 实施例6

[0047] 菌种及种子制备如实施例5;

[0048] 液体培养:菌株先在摇瓶中培养,获得成熟种子,然后以10% (v/v) 的接种量接入实施例2装置的50L的搅拌发酵罐1中,装液量为30L,27℃发酵,搅拌转速为100rpm,培养2天后,经泵4送入分层静置反应罐2中,驱动电机27调节引流管71的高度,通过引流管71溢流方式注满每个托盘6(装有高度2cm的聚氨酯载菌正方体体块),通气保压0.05Mpa,温度27℃,相对湿度80%左右,培养至15d后结束发酵,发酵完成后再次调节引流管71的高度,使得空心段711的上端流通孔高度与贯穿孔7平齐,发酵液经贯穿孔7和引流管71依次流入下一层托盘内,最后通过出料口24流出;虫草素产量达5.5g/L以上。排出发酵液,补充新的培养基,同条件下,发酵12d,虫草素产量4.9g/L作用,再次继续发酵两批,产量分别为5.0g/L和5.3g/L。

[0049] 本实用新型提供了一种静态发酵装置及其发酵方法与应用的思路及方法,具体实现该技术方案的方法和途径很多,以上所述仅是本实用新型的优选实施方式,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实用新型的保护范围。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。

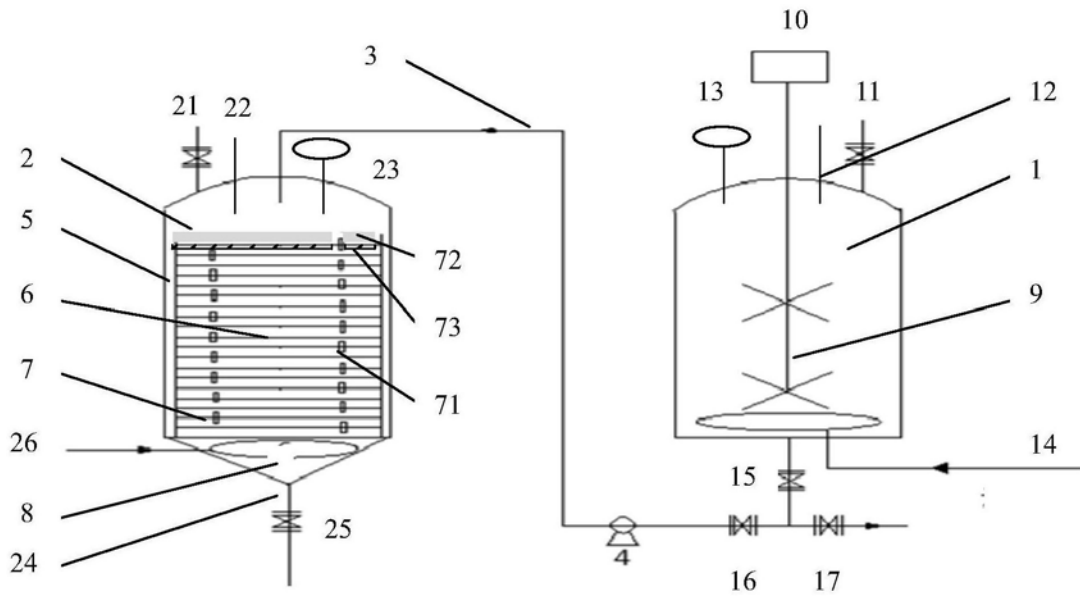


图1

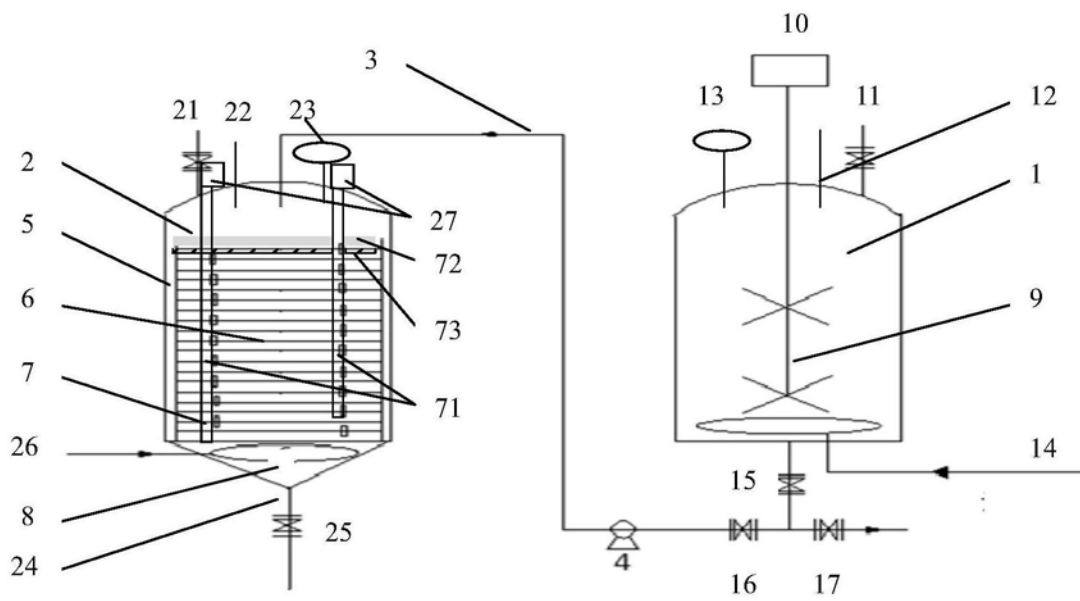


图2

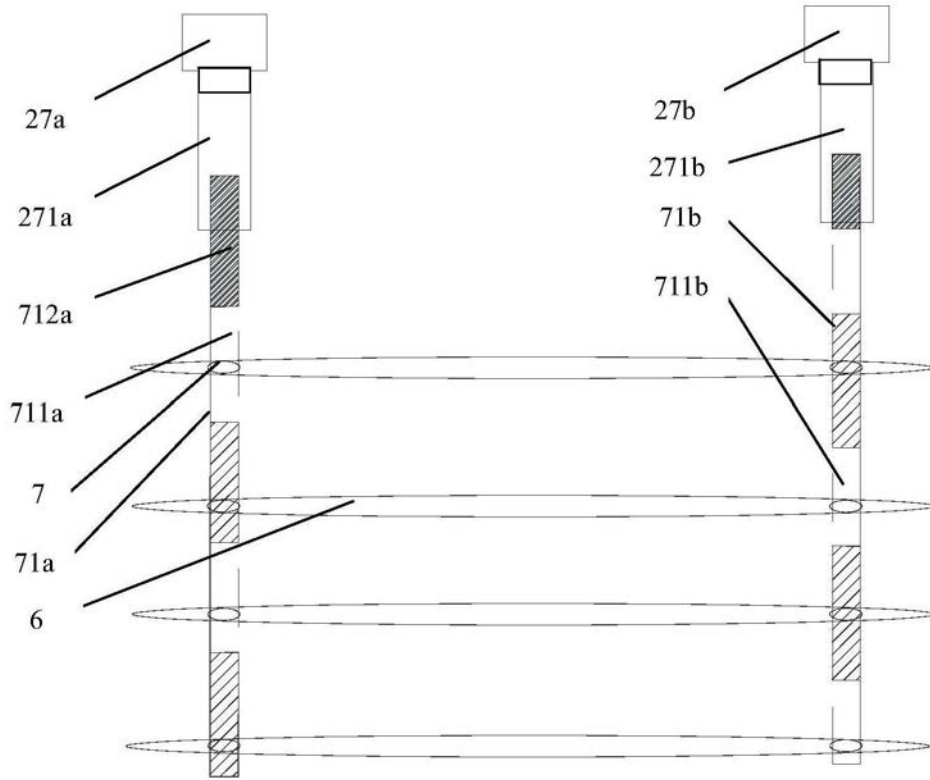


图3

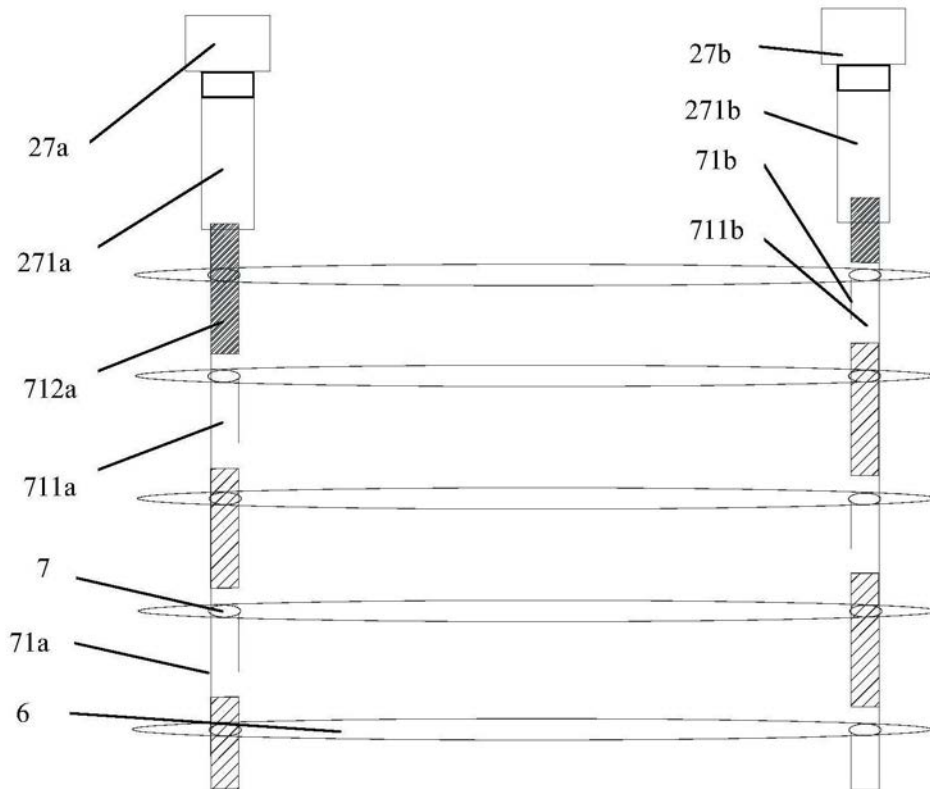


图4