



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114075507 A

(43) 申请公布日 2022. 02. 22

(21) 申请号 202111370247.9

C12N 1/20 (2006.01)

(22) 申请日 2021.11.18

C12R 1/145 (2006.01)

(71) 申请人 山东泰山生力源集团股份有限公司  
地址 271000 山东省泰安市高新区北天  
大街

(72) 发明人 王金忠 李军训 张鑫 徐启民  
刘松松

(74) 专利代理机构 北京众达德权知识产权代理  
有限公司 11570

代理人 潘行

(51) Int. Cl.

C12M 1/24 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

C12M 1/26 (2006.01)

C12M 1/12 (2006.01)

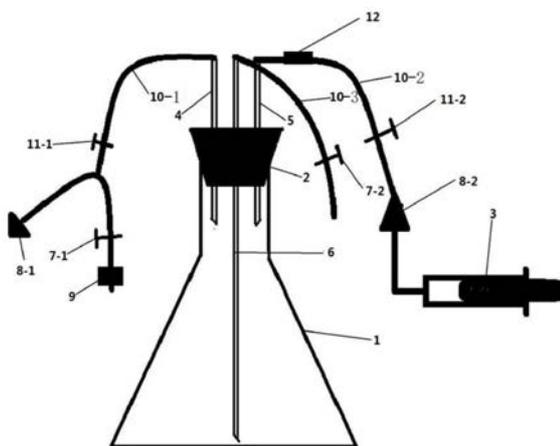
权利要求书2页 说明书5页 附图1页

(54) 发明名称

一种实验室厌氧发酵设备及厌氧发酵方法

(57) 摘要

本发明公开了一种实验室厌氧发酵设备及厌氧发酵方法,一种实验室厌氧发酵设备包括瓶体,所述瓶体的开口设置有橡胶塞,橡胶塞能够密封所述瓶体从而保证瓶体内部的密封无氧环境,且橡胶塞上设置有用于取样检测的取样管,用于调节pH值添加碱液的加碱管和用于调节瓶内气压保证瓶体不会被破坏的出气管,能够完成厌氧发酵过程,并且本方法操作简单,且整体密封效果较好,能够得到正确的实验数据,且改变现有情况下实验造成成本高、浪费多的问题,并且不同于现有的简单发酵装置存在无法随意取样的问题,灵活性极高,十分适用于实验室降低实验成本使用。



1. 一种实验室厌氧发酵设备,其特征在于,包括瓶体,所述瓶体的开口设置有橡胶塞,所述橡胶塞贯穿设置有:

出气管,所述出气管在瓶体内部的一端高于液面最高位置设置,所述出气管在瓶体外部一端设置有出气管硅胶软管,所述出气管硅胶软管上设置有出气管管夹,用于调节瓶体内部气压;

加碱管,所述加碱管在瓶体内部的一端高于液面最高位置设置,所述加碱管在瓶体外部一端设置有加碱管硅胶软管,所述加碱管硅胶软管上设置有加碱管管夹,所述硅胶软管远离加碱管的一端设置有注射器;

取样管,所述取样管在瓶体内部的一端低于液面设置,所述取样管在瓶体外部一端设置有取样管硅胶软管,所述取样管硅胶软管上设置有取样管管夹。

2. 根据权利要求1所述的一种实验室厌氧发酵设备,其特征在于,所述出气管硅胶软管远离出气管的一端连接Y型三通管的一个管口,且Y型三通管另外两个管口分别设置有压力的单向弹簧安全泄压阀和空气滤膜,所述Y型三通管在空气滤膜管口一端设置三通管管夹。

3. 根据权利要求1所述的一种实验室厌氧发酵设备,其特征在于,所述加碱管硅胶软管与注射器间设置单向阀,且单向阀中流体流向为自注射器向加碱管硅胶软管一端流动。

4. 根据权利要求1所述的一种实验室厌氧发酵设备,其特征在于,所述出气管管夹和加碱管管夹选用罗伯特夹。

5. 根据权利要求2所述的一种实验室厌氧发酵设备,其特征在于,所述三通管管夹和取样管管夹选用弹簧止水夹。

6. 根据权利要求3所述的一种实验室厌氧发酵设备,其特征在于,注射器通过连接软管连接单向阀,所述单向阀直接连接加碱管硅胶软管。

7. 一种实验室厌氧发酵方法,其特征在于,使用权利要求1-6所述的一种实验室厌氧发酵设备,且包括以下步骤:

(1) 将配置好的厌氧菌发酵液加入瓶体内,加液量为瓶体容积的75%,并且同时加入适量玻璃珠;

(2) 将插好出气管、加碱管、取样管的橡胶塞塞住瓶体开口,将出气管硅胶软管上的出气管管夹打开,并使用橡皮筋三根呈米字型均匀勒紧橡胶塞;

(3) 用脱脂棉和牛皮纸先后将弹簧安全泄压阀、取样管硅胶软管、加碱管硅胶软管和注射器分别单独包扎,并进行121℃高压灭菌;

(4) 灭菌后,打开高压蒸汽灭菌锅,将加碱管硅胶软管、出气管硅胶软管上的罗伯特夹关闭,取出装置放入超净工作台,紫外照射,待发酵液冷却至室温,重新使用新橡皮筋固定橡胶塞;

(5) 在超净工作台中将厌氧菌种子液加入发酵液中,将灭过菌的加碱管硅胶软管接到加碱管上,并连接相应的连接软管和单向阀;

(6) 配制一定量的碱性溶液,吸入注射器后连接连接软管,轻推注射器使液体依次经过连接软管、单向阀和加碱管硅胶软管后,使碱性溶液在管中液面流至橡胶塞处,使用加碱管管夹夹紧加碱管硅胶软管;

(7) 将瓶体、出气管硅胶软管、弹簧安全泄压阀、吸入碱性溶液后的注射器固定正在摇床中,调整摇床温度37℃和转数60rpm,即可开始发酵;

(8) 接种3h后,调整转速至150rpm,将发酵液摇匀后,开始通过取样管取样测pH值,并加入适量碱性溶液,使发酵液pH值维持6.5-7.0之间,之后间隔20-30min重复调整pH,发酵实验后期间隔时间会延长,最终停止加碱调整。

8. 根据权利要求7所述的一种实验室厌氧发酵方法,其特征在于,所述瓶体的容积为2L,所述步骤(1)的厌氧菌发酵液加液量为1.5L,所述步骤(5)的厌氧菌种子液加液量为0.1L。

9. 根据权利要求7所述的一种实验室厌氧发酵方法,其特征在于,所述厌氧菌为丁酸梭菌。

10. 根据权利要求7所述的一种实验室厌氧发酵方法,其特征在于,所述碱性溶液为20%氢氧化钠溶液,且吸入注射器的液量为0.2L。

## 一种实验室厌氧发酵设备及厌氧发酵方法

### 技术领域

[0001] 本发明具体涉及一种实验室厌氧发酵设备及厌氧发酵方法。

### 背景技术

[0002] 实验室厌氧发酵主要依靠5L-20L发酵罐进行厌氧发酵试验,发酵罐设备贵,操作复杂,试验成本高,不适合在筛选培养基试验时多配方同时试验。

[0003] 现有专利公开的的厌氧发酵装置,如专利号为CN209210795U的一种厌氧发酵装置、专利号为CN207072939U的一种石墨厌氧发酵装置和专利号为CN202786227U的一种厌氧发酵装置等,都存在或多或少的缺陷。存在着厌氧发酵装置在发酵过程中无法取样计数、检测pH值、调节发酵液pH;又或实验器材复杂、安装昂贵、不灵活;又或不适宜在实验室大批量规模同时使用等问题。

[0004] 总之功能较为齐全的价格昂贵,不适于做实验室使用,而功能简单的实验效果又比较差,所以缺少专用于实验室的厌氧发酵设备。

### 发明内容

[0005] 为解决上述缺少合适的专用于实验室做厌氧发酵实验设备的问题,本发明提供了一种实验室厌氧发酵设备,装置所需器材简单,性价比高,能解决试验过程中不同时间点取样,检测pH值,调节pH,维持发酵的无氧环境等问题;并且既能进行产气菌的厌氧发酵试验,也可以进行不产气厌氧发酵,与此同时还公开了一种实验室厌氧发酵方法,专用于此设备进行厌氧发酵实验。

[0006] 本发明的技术方案如下:

[0007] 一种实验室厌氧发酵设备,包括瓶体,所述瓶体的开口设置有橡胶塞,所述橡胶塞贯穿设置有:

[0008] 出气管,所述出气管在瓶体内部的一端高于液面最高位置设置,所述出气管在瓶体外部一端设置有出气管硅胶软管,所述出气管硅胶软管上设置有出气管管夹,用于调节瓶体内部气压;

[0009] 加碱管,所述加碱管在瓶体内部的一端高于液面最高位置设置,所述加碱管在瓶体外部一端设置有加碱管硅胶软管,所述加碱管硅胶软管上设置有加碱管管夹,所述硅胶软管远离加碱管的一端设置有注射器;

[0010] 取样管,所述取样管在瓶体内部的一端低于液面设置,所述取样管在瓶体外部一端设置有取样管硅胶软管,所述取样管硅胶软管上设置有取样管管夹。

[0011] 作为优选,所述出气管硅胶软管远离出气管的一端连接Y型三通管的一个管口,且Y型三通管另外两个管口分别设置有压力的单向弹簧安全泄压阀和空气滤膜,所述Y型三通管在空气滤膜管口一端设置三通管管夹。

[0012] 作为优选,所述加碱管硅胶软管与注射器间设置单向阀,且单向阀中流体流向为自注射器向加碱管硅胶软管一端流动。

- [0013] 作为优选,所述出气管管夹和加碱管管夹选用罗伯特夹。
- [0014] 作为优选,所述三通管管夹和取样管管夹选用弹簧止水夹。
- [0015] 作为优选,注射器通过连接软管连接单向阀,所述单向阀直接连接加碱管硅胶软管。
- [0016] 一种实验室厌氧发酵方法,使用上述的一种实验室厌氧发酵设备,且包括以下步骤:
- [0017] (1) 将配置好的厌氧菌发酵液加入瓶体内,加液量为瓶体容积的75%,并且同时加入适量玻璃珠;
- [0018] (2) 将插好出气管、加碱管、取样管的橡胶塞塞住瓶体开口,将出气管硅胶软管上的出气管管夹打开,并使用橡皮筋三根呈米字型均匀勒紧橡胶塞;
- [0019] (3) 用脱脂棉和牛皮纸先后将弹簧安全泄压阀、取样管硅胶软管、加碱管硅胶软管和注射器分别单独包扎,并进行121℃高压灭菌;
- [0020] (4) 灭菌后,打开高压蒸汽灭菌锅,将加碱管硅胶软管、出气管硅胶软管上的罗伯特夹关闭,取出装置放入超净工作台,紫外照射,待发酵液冷却至室温,重新使用新橡皮筋固定橡胶塞;
- [0021] (5) 在超净工作台中将厌氧菌种子液加入发酵液中,将灭过菌的加碱管硅胶软管接到加碱管上,并连接相应的连接软管和单向阀;
- [0022] (6) 配制一定量的碱性溶液,吸入注射器后连接连接软管,轻推注射器使液体依次经过连接软管、单向阀和加碱管硅胶软管后,使碱性溶液在管中液面流至橡胶塞处,使用加碱管管夹夹紧加碱管硅胶软管;
- [0023] (7) 将瓶体、出气管硅胶软管、弹簧安全泄压阀、吸入碱性溶液后的注射器固定正在摇床中,调整摇床温度37℃和转数60rpm,即可开始发酵;
- [0024] (8) 接种3h后,调整转速至150rpm,将发酵液摇匀后,开始通过取样管取样测pH值,并加入适量碱性溶液,使发酵液pH值维持6.5-7.0之间,之后间隔20-30min重复调整pH,发酵实验后期间隔时间会延长,最终停止加碱调整。
- [0025] 作为优选,所述瓶体的容积为2L,所述步骤(1)的厌氧菌发酵液加液量为1.5L,所述步骤(5)的厌氧菌种子液加液量为0.1L。
- [0026] 作为优选,所述厌氧菌为丁酸梭菌。
- [0027] 作为优选,所述碱性溶液为20%氢氧化钠溶液,且吸入注射器的液量为0.2L。
- [0028] 本发明相对于现有技术所取得的有益效果在于:本装置所需器材简单,已购买,且单个实验花费成本较低,并且本装置中Y型三通管或者更多管口的管子,能够将多个装置的出气管、加碱管分别连接,进而将多个装置并联,统一放置在摇床中进行培养,可以实现一个人操作多个装置,并且检测pH值和调节pH值的过程也较为简单,使得操作过程也随便变简单,能够改变现有情况下实验造成成本高、浪费多的问题,并且不同于现有的简单发酵装置存在无法随意取样的问题,灵活性极高,十分适用于实验室降低实验成本使用。

## 附图说明

[0029] 通过阅读下文优选实施方式的详细描述,本申请的方案和优点对于本领域普通技术人员将变得清楚明了。附图仅用于示出优选实施方式的目的,而并不认为是对本发明的

限制。

[0030] 在附图中：

[0031] 图1为本发明结构示意图；

[0032] 图中各附图标记所代表的组件为：

[0033] 1、瓶体,2、橡胶塞,3、注射器,4、出气管,5、加碱管,6、取样管,7-1、三通管管夹,7-2、取样管管夹,8-1、单向弹簧安全泄压阀,8-2、单向阀,9、空气滤膜,10-1、出气管硅胶软管,10-2、加碱管硅胶软管,10-3、取样管硅胶软管,11-1、出气管管夹,11-2、加碱管管夹。

## 具体实施方式

[0034] 下面将结合附图更详细地描述本公开的示例性实施方式。需要说明,提供这些实施方式是为了能够更透彻地理解本公开,并且能够将本公开的范围完整的传达给本领域的技术人员,可以以各种形式实现本公开,而不应被这里阐述的实施方式所限制。

[0035] 实施例1

[0036] 如图所示,一种实验室厌氧发酵设备,包括瓶体1,所述瓶体1的开口设置有橡胶塞2,橡胶塞2能够密封所述瓶体1从而保证瓶体1内部的密封无氧环境,方便进行实验,所述橡胶塞2贯穿设置有：

[0037] 出气管4,所述出气管4在瓶体1内部的一端高于液面最高位置设置,能够保证在调节气压时,不会被瓶体1内部的液体影响,所述出气管4在瓶体1外部一端设置有出气管硅胶软管10-1,便于使用管夹进行夹紧,所述出气管硅胶软管10-1上设置有出气管管夹11-1,此出气管管夹11-1采用罗伯特夹,用于调节瓶体1内部气压。

[0038] 所述出气管硅胶软管10-1远离出气管4的一端连接Y型三通管的一个管口,且Y型三通管另外两个管口分别设置有压力的单向弹簧安全泄压阀8-1和空气滤膜9,所述Y型三通管在空气滤膜9管口一端设置三通管管夹7-1。所述单向弹簧安全泄压阀8-1能够完成对瓶体1内腔环境的泄压,且所述单向弹簧安全泄压阀8-1的启动压力设置为0.05Mpa,保证瓶体1不会因内部气压过大而产生碎裂等情况,并且不会在瓶体1内部气压较低时,出现外部气体进入瓶体1内影响实验的情况。

[0039] 进一步的,所述空气滤膜9选用0.22um规格,能够通过开启三通管管夹7-1(弹簧止水夹)的方式进行泄压操作,也是为了保护装置正常运行,并且能够防止气体流入瓶体1内部。

[0040] 加碱管5,所述加碱管5在瓶体1内部的一端高于液面最高位置设置,所述加碱管5在瓶体1外部一端设置有加碱管硅胶软管10-2,所述加碱管硅胶软管10-2上设置有加碱管管夹11-2,所述硅胶软管10远离加碱管5的一端设置有注射器3;所述加碱管硅胶软管10-2与注射器3间设置单向阀8-2,且单向阀8-2中流体流向为自注射器3向加碱管硅胶软管10-2一端流动,在进行加碱性溶液改变瓶体内pH值环境时,需要添加碱性溶液,而且要保证密封的环境,由于添加碱性溶液的过程不是一次性的,而是多次进行的,因此选择合适的结构是很重要的,本装置采用的注射器3成本低,但是加液量可控,并且通过单向阀8-1的设置,本装置能够保证密封状态,不会出现加碱管5连接的相关结构与外界产生气体交换从而影响实验无菌环境的问题。

[0041] 取样管6,所述取样管6在瓶体1内部的一端低于液面设置,保证在取样时,能够随

时取到,所以需要实施保证取样管6浸入液体中,所述取样管6在瓶体1外部一端设置有取样管硅胶软管10-3,所述取样管硅胶软管10-3上设置有取样管管夹7-2,能够在不使用时,进行密封保证无菌环境,当使用时,只需要取样时打开取样管管夹7-2即可,方便快捷,十分适用于多次取样的操作环境,并且不需要掀开橡胶塞2。

[0042] 一种实验室厌氧发酵方法,使用上述的一种实验室厌氧发酵设备,且包括以下步骤:

[0043] (1) 将配置好的1.5L的丁酸梭菌发酵液加入2L容积的瓶体1内,并且同时加入适量玻璃珠,防止发酵液在发酵过程中出现结块;

[0044] (2) 将插好出气管4、加碱管5、取样管6的橡胶塞2塞住瓶体1开口,密封瓶体1,将出气管硅胶软管10-1上的出气管管夹11-1打开,并使用使用宽5mm,对折10cm的橡皮筋橡皮筋三根呈米字型均匀勒紧橡胶塞2,保证橡胶塞2不会脱落的同事,也能通过出气管硅胶软管10-1释放瓶内气压,保证装置的正常状态,不会被破坏;

[0045] (3) 用脱脂棉和牛皮纸先后将弹簧安全泄压阀8-1、取样管硅胶软管10-3、加碱管硅胶软管10-2和注射器3分别单独包扎,并进行121℃高压灭菌,将其分开灭菌能够保证灭菌效果,并且相互之间不会产生影响;

[0046] (4) 灭菌后,打开高压蒸汽灭菌锅,将加碱管硅胶软管10-2、出气管硅胶软管10-1上的罗伯特夹关闭,取出装置放入超净工作台,紫外照射进行灭菌,待发酵液冷却至室温,重新使用新橡皮筋固定橡胶塞2,此过程在于保证丁酸梭菌种子液在进行发酵之前,确保发酵环境时无菌的,从而保证过程中不会出现其他细菌影响发酵的问题;

[0047] (5) 在超净工作台中将0.1L丁酸梭菌种子液加入发酵液中(加入过程可以采用注射器从橡胶塞2中刺入进行加液,这样可以保证密封无菌的环境不会受影响,如果采用将橡胶塞2打开的方式进行加液,可能就会对无菌环境和恒定的压力环境造成影响,从而影响实验结果),将灭过菌的加碱管硅胶软管10-2接到加碱管5上,并连接相应的连接软管和单向阀8-2;

[0048] (6) 配制0.2L碱性溶液(20%氢氧化钠溶液),吸入注射器3后连接连接软管,轻推注射器3使液体依次经过连接软管、单向阀8-2和加碱管硅胶软管10-2后,使碱性溶液在管中液面流至橡胶塞2处,使用加碱管管夹11-2夹紧加碱管硅胶软管10-2,当需要进行碱性溶液加入调节pH值时,可以通过注射器3的推注方式加入,并且此过程能保证处于密封,并且单向阀8-1的使用可以保证不会出现回流情况,即不会出现因瓶体1气压过高而造成注射器3被推出的意外情况;

[0049] (7) 将瓶体1、出气管硅胶软管10-1、弹簧安全泄压阀8-1、吸入碱性溶液后的注射器3固定正在摇床中,调整摇床温度37℃和转数60rpm,即可开始发酵,发酵过程与常规的实验无异,确保合适的问题和合适的转数即可;

[0050] (8) 接种3h后,调整转速至150rpm,将发酵液摇匀后,开始通过取样管6取样测pH值,并加入适量碱性溶液,使发酵液pH值维持6.5-7.0之间,之后间隔20-30min重复调整pH,发酵实验后期间隔时间会延长,最终停止加碱调整,整个过程则可以根据工作人员的实际要求进行,只要保证每次取样检测后加入合适的碱性溶液即可,直到达到需求,完成实验,相比较现有的操作,本装置中的取样过程和加碱过程互不影响,可以一边取样一边加碱,相比较与传统的实验仪器会更加方便,并且加碱过程中也不需要考虑密封性,因为注射器3本

身的密封性就可以达到需要,只需按照取样值加入碱性溶液即可。

[0051] 进一步的,发酵菌为产气菌时,发酵初始瓶内气压低,不能自排样,需要使用5-10ml注射器在取样口吸出样品,而发酵一段时间后,瓶内气压升高,即可通过气压将发酵液排出取样;发酵菌为不产气菌时,可以使用5-10ml注射器在取样口吸出样品。取出的样品使用5.5-9.0的pH试纸检测pH值,适量加碱,重复取样检测PH值,维持在所需范围。调整pH值一般间隔20min左右,pH值调整精确范围可在 $\pm 0.2-0.5$ 左右,当加入碱液过量,可使用5ml灭菌注射器吸入6mol/L盐酸溶液,过0.22 $\mu\text{m}$ 水系滤膜调酸(此过程可以保证有补救能力,确保不会因一次过量加碱造成实验失败的情况),使发酵液维持在所需范围。取样前先将取样管内的发酵液放出一般不超过5ml。以丁酸梭菌为例,接种后3小时,开始取样检测pH值,之后间隔20min取样检测,调整pH值。

[0052] 本厌氧发酵装置瓶体1可以为2L三角瓶(可以根据选择合适瓶体1),所需培养基远低于5-10L发酵罐,装置所需器材简单,易购买,单个实验装置花费不超100元。试验成本低,有利于中、小、微型企业降低研发成本,利于企业自主创新。

[0053] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到的变化或增减替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此,本发明的保护范围应以所述权利要求的保护范围为准。

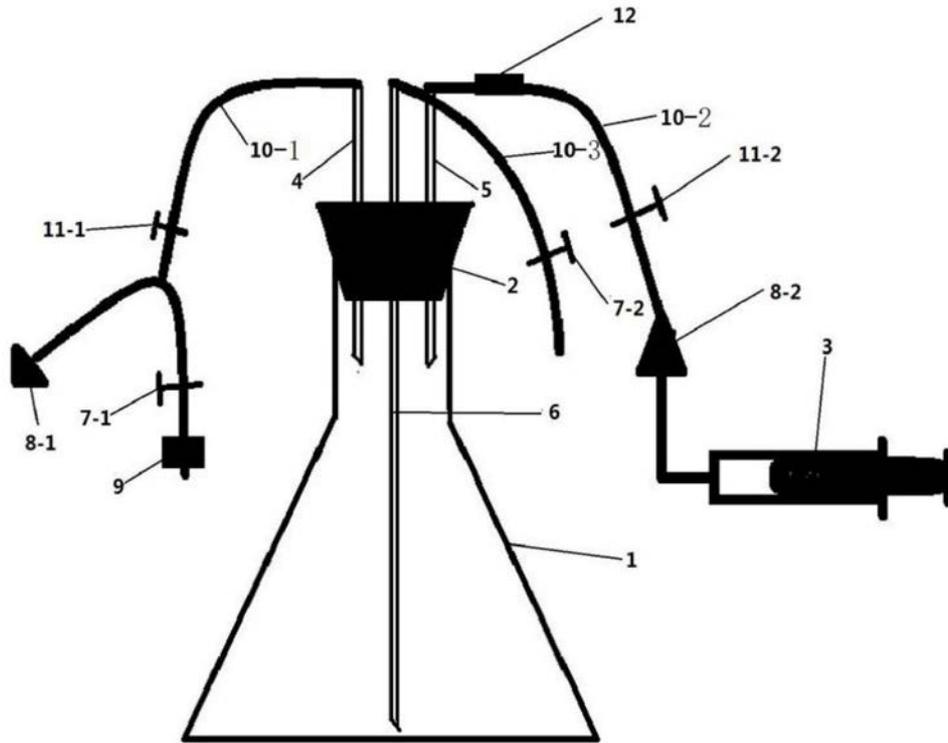


图1