

# 发酵摇瓶测氧电极FCY-Ⅲ型的研制及其应用

李友荣 储炬

(华东化工学院生化工程系, 上海)

筛选高产变株的最常用的行之有效的办法是上发酵摇瓶, 而普通的发酵摇瓶往往只能测得其初始和最终的参数, 要想知道发酵过程中的参数变化情况是比较困难的, 且取样测定会明显改变发酵液体积。况且取样来测定溶氧是不可靠的。为此, 我们专门设计与带有侧管的750ml摇瓶配套的原电池型银-铅电极用于测定摇瓶培养液中的溶解氧浓度。该电极曾用于青霉素、螺旋霉素等的发酵。证明电极性能稳定, 反应灵敏, 经得起灭菌, 能正确反映摇瓶培养液溶氧变化的实际情况。

## (一) 电极的研制

结构由电极芯、电极外壳、紧固螺帽和引线护套四部分组成。电极芯是由银铅电极组成, 银-铅电极被固定在塑料支柱上, 引出线用螺丝拧在焊接片上。电极外壳用微晶玻璃材料车制, 外形恰好与摇瓶侧管24°磨口配套, 长短正好塞进侧管内与内壁平, 以不伸进摇瓶或缩进侧管内1mm为标准。电极外壳细口一端车有螺纹可供紧固塑料膜用, 配上薄的硅胶垫圈、不锈钢压膜帽, 紧固螺帽可将塑料膜固定在电极外壳上, 使外壳内部一端密封, 起电解质溶液贮槽作用。塑料膜使用聚全氟乙丙烯薄膜(厚0.05mm圆片)。外壳塞进侧管后应起封闭侧管管口作用。紧固螺帽起固定极芯于外壳的作用, 用塑料车制。引出线护套用塑料车制可拧进引出线接头处螺纹, 起护线接头作用。此外, 为本电极配套的是我组特别设计的750ml带24°磨口侧管摇瓶, 侧管位于摇瓶下侧, 离瓶底约15mm处, 斜度为15°(以水平为基准)。摇瓶电极的示意图见图1。

## (二) 技术特性

主要技术指标可达到: 精确度 $\pm 3\%$ ; 响应时间(90%)为2min以内; 残余电流为稳定饱和

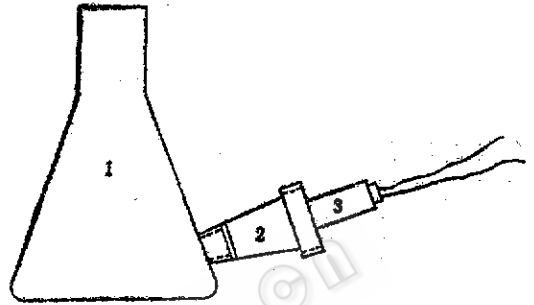


图1 发酵摇瓶测氧电极-FCY-Ⅲ型示意图

1. 摇瓶 2. 摇瓶侧管 3. 电极

电流的1%以下; 耐热性能, 能耐126℃蒸气灭菌; 测量寿命(换一次电解质溶液即能维持的时间)15天; 耐震性能, 指针因搅拌震动, 波动不大于 $\pm 3\%$ ; 线性, 电流输出与氧分压成线性, 误差小于 $\pm 3\%$ ; 测量范围, 0—20ppm或0.01—0.05atm氧分压或0—50%氧饱和度。

## (三) 灭菌方法

灭菌前, 将装好透气膜的电极外壳(磨口处薄薄涂上一层凡士林)塞进摇瓶侧管口, 轻轻旋转外壳, 使与侧管紧配, 以不漏水为准。安装好的摇瓶, 可当一般摇瓶使用。装上培养基, 在高压釜内灭菌。灭菌时侧管用纱布、牛皮纸包扎, 防止脏物入内。灭菌后, 待摇瓶冷却后, 于外壳中加入电解质溶液2—3ml, 涮洗一次, 然后加入3—4ml, 再把电极芯装上, 并防止多余电解质溶液溢入侧管缝隙, 再用紧固螺帽将极芯固定后, 银板应与膜贴紧, 且溶液不会漏出。

## (四) 定位

一般接种前, 需将电极定位, 定位是以消毒以后的培养基被空气中的氧所饱和作为基准, 要在摇床转动和一定的温度下进行。电流输出

本文于1989年6月27日收到。

通过2k $\Omega$ 电位器接到 XWC-300 自动平衡记录仪(0—10mV)上,待电流输出达到稳定后,将指针调到8mV处,以此作为100%饱和度。定位后电位器不可再调节或使电极长时间开路。

### 电极的实际应用

#### (一)溶氧对螺旋霉素发酵的影响

1. 摇瓶的几何形状对螺旋霉素发酵的影响:实验过程中,控制摇床转速为220rpm,比较有、无挡板三角瓶(750ml)的发酵单位与 DO 变化(见图 2),发现设置挡板的摇瓶 DO 水平过高,一般在75%饱和度的水平以上,其发酵单位反而比对照低54%,而其糖耗比对照大。这说明,螺旋霉素发酵对 DO 有一定的要求,浓度过高或过低对螺旋霉素合成不利。

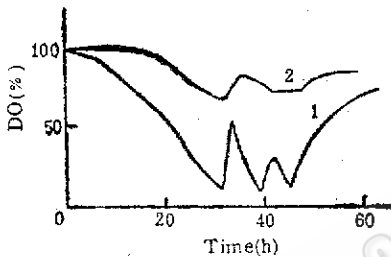


图 2 摇瓶的几何形状对发酵过程 DO 变化的影响  
1. 对照 2. 带挡板

2. 不同菌种对溶氧的需求:于750ml三角摇瓶中采用不同装量的培养基来试验不同的供氧条件对两个菌种-Wsp(白孢子)和Vsp(紫孢子)的螺旋霉素发酵的影响。试验结果(表1)表明,Wsp菌株,装量为50ml,Vsp菌株,装量为75ml较合适。本试验中,产量高的菌株对氧的需求也较高。糖、氮的利用也较快。发现,装量为150ml的Wsp菌株发酵摇瓶,其DO值一直较低,长时间处在10%左右,发酵单位比装量为50ml的低一半以上。装量为100ml的摇瓶,其DO水平比装量为50ml的摇瓶低,DO处在低谷阶段的时间较长,其发酵单位只有装量为50ml的摇瓶的2/3。

#### (二)溶氧对青霉素发酵的影响

1. 不同接种量对青霉素发酵过程中溶氧变化的影响:本试验的培养基装量均为100ml,分别接种大米孢子3粒和9粒到摇瓶中。前者发酵45h开始溶氧逐步下降,到100h左右溶氧几乎

表 1 不同摇瓶装量对 SPM 发酵的影响

实验 批号	装量 (ml)	效 价		总糖含量		氨基氮含量	
		Wsp	Vsp	Wsp	Vsp	Wsp	Vsp
1	30	1360	872	0.39	1.40	0.54	0.50
2	50	1380	891	0.33	1.41	0.43	0.48
3	75	1079	952	0.72	1.32	0.67	0.41
4	100	929	696	1.62	1.96	0.84	0.98
5	150	646	396	2.45	3.21	1.06	2.09

下降到0;后者发酵20h后溶氧很快下降,到50h左右下跌到0。接种量大的摇瓶,菌生长较快,溶氧降到0的时间较早(图3)。

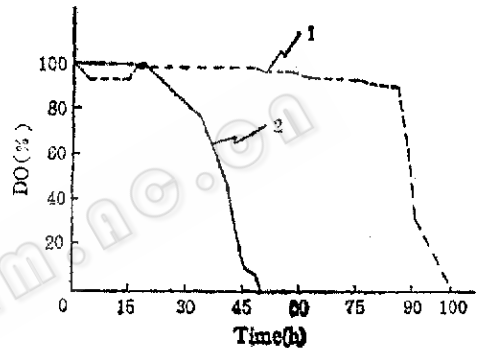


图 3 不同孢子接种量对青霉素发酵 DO 的影响  
1. 大米孢子 3 粒 2. 大米孢子 9 粒

#### (三)溶氧对节杆菌发酵的影响

我们通过测定放瓶后菌液的脱氢酶活力,来比较控氧(控氧采用空气中加氮气的方法,将空气中的含氧浓度作为100%)与对照菌生长的差别,从而了解溶氧变化对菌代谢、生长的影响,求出在此培养条件下的菌对氧的临界值。图4是典型的摇瓶溶氧曲线。由此可知,对照与控氧均在培养2h后,溶氧开始下降,13h以后,对照与控氧的溶氧均由前面缓慢下降变至迅速下降。临界值测定数据如表2所示。从表2可以看出,当控氧浓度为15%时,控氧与对照的酶活力相差不大,即当溶氧浓度降低到空气中氧含量的15%时,对节杆菌生长亦无很大影响,而当控氧浓度为10%时,控氧与对照的酶活力相差明显,故可以推知节杆菌的临界氧浓度在15%左右。

国外在70年代对摇瓶中测定溶氧有过报道,但以后未见有商品出售。试验证明,我们所研

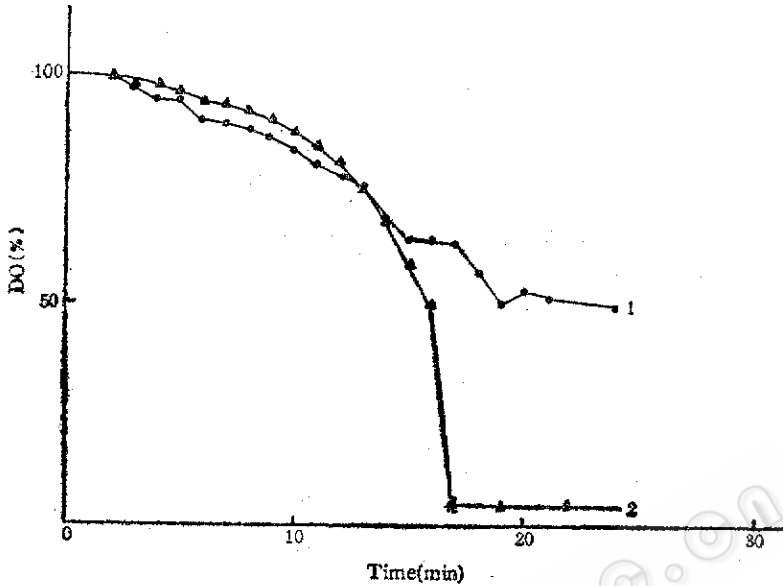


图4 典型节杆菌摇瓶溶氧曲线  
1. 对照 2. 控氧5%

制的摇瓶电极确实可以反映摇瓶中溶氧变化的实际情况，具有较好的重现性。电极不因摇床的长期振动影响输出的稳定性。螺旋霉素发酵的溶氧水平按现有试验条件，平均在40—50%左右，青霉素发酵溶氧水平，基本上在10—15%范围。而节杆菌的临界氧在15%左右。使用这种电极对于找出摇瓶中氧是否为限制因素以及摇瓶工艺条件的放大和发酵罐进行供氧条件的比较，提供了重要的可能性。

表2 控氧对脱氢酶活力的影响

控氧浓度 (%)	脱氢酶活力		相对变化 (%)
	控氧	对照	
62.5	45	47	4.25
40	35	38	7.89
20	44.5	47.2	5.72
15	73	67	8.96
10	90	67	34.3
5	180	50	260

### 参 考 文 献

[1] Hodson, P. H.: *Appl., Microbiol.*, 19(3):551, 1970.

## The Study of DO Electrode for Shake Flask Culture and Applications

Li Yourong Chu Ju

(*Department of Biochemical Engineering, East China University of  
Chemical Technology, Shanghai*)

Shake flasks have been frequently employed for the screening of high productivity strains. However, DO, which is one of the most important parameters, is quite difficult to be monitored in shake flask culture. A new model of DO probe specially designed for shake flask culture is of galvanic type. The interior electrode body, which is composed of silver (as cathode) and lead (as anode), is inserted in a glass ceramic housing. The latter is served as an electrolyte reservoir. The glass ceramic housing can be inserted in a standard ground glass side tube of 750 ml shake flask. The electrode has been applied to spiramycin, penicillin fermentation and arthrobacter culture. The information monitored by the DO probe proved to be very useful in evaluating the culture process.

### Key words

Dissolved oxygen electrode, spiramycin fermentation, penicillin fermentation