

	文件名称：德国艾本德 BF 415 发酵罐操作规程		版本号：GGPT-SOP-208	
	编制	丁明	发布实施日期	2016-4-1

## 一、目的

为规范德国艾本德 BF 415 发酵罐的基本操作、维护保养、异常处理程序，防止人为操作失误，确保德国艾本德 BF 415 发酵罐的正常和有效使用，实现对凝胶电泳成像实验工作的有效控制，特制定本规程。

## 二、适用范围

本公共实验平台德国艾本德 BF 415 发酵罐（设备编号：）的使用。

所在实验室：根际微生物实验室[308]

## 三、职责

本程序的实施者为德国艾本德 BF 415 发酵罐操作者，公共实验平台技术管理员负责对本程序的实施情况进行监督。日常运行及维护、定期维护、定期点检及保养由公共实验平台技术管理员负责。

## 四、开机前准备

- 4.1 使用本仪器前，操作人员须接受过相关培训并仔细阅读说明书。
- 4.2 检查实验室电源、温度和湿度等环境条件，实验室温度保持在 15~30℃ 之间，湿度小于 80%。

## 五、操作程序

### 灭菌操作规程

注意事项：

- 5.1 严禁空罐灭菌。
- 5.2 灭菌前请务必关闭尾气冷凝器手动阀（exhaust condenser water valve），将进气管路两气分配阀（The two-position spare valve）向上拉出至灭菌位置；灭菌结束后，打开尾气冷凝器手动阀（exhaust condenser water valve），将进气管路两气分配阀(The two-position spare valve)向下拉出至正常位置。
- 5.3 灭菌前，请确认进出气过滤芯安装好，红色的为进气过滤芯，黑色的为出气过滤芯。如长期不用，把滤芯拿出，保持干燥。
- 5.4 灭菌后，请设定较大通气量（大于 10 SLPM）通气 10 分钟以上，确保过滤

芯干燥。

5.5 建议每 8-10 个批次更换进出气过滤芯。

## 六、灭菌步骤：

6.1 确保水源供应正常。

6.2 确保罐体水路、气路及控制回路电缆与控制器连接正常，打开控制器。

6.3 确保夹套中注满水。

6.4 确保总出水（customer water out）和总出气（customer exhaust）排水正常。

6.5 确保尾气冷凝器手动阀（exhaust condenser water valve）在灭菌时关闭。

6.6 确保罐体安全保护阀（rupture disk）及罐体夹套泄压阀（vessek jacket release valve）连接至排放管道或至空气中。

6.7 确保进出气空气过滤芯安装正常。

6.8 确保溶氧（DO），液位（Level），pH 电极，温度探头安装好。

6.9 打开搅拌，建议 150-250rpm。

6.10 确保各接口拧紧。

6.11 加入培养基。

6.12 将进气管路两气分配阀(The two-position spare valve)向上拉出至灭菌位置。

6.13 将气体流量设定在一定值，建议 5 SLPM。

6.14 设定好灭菌参数，灭菌开始。

6.15 完成灭菌后，打开尾气冷凝器手动阀（exhaust condenser water valve），将进气管路两气分配阀(The two-position spare valve)向下拉出至正常位置，并打开温度控制。

6.16 开始发酵。

## BF 415 中文基本操作规程

### 一、基本流程：

- 1.1 配制培养基。
- 1.2 准备种子液、及可能需要的灭菌好的补料液。
- 1.3 依次打开空气压缩机、冷水机（或自来水）、发酵罐。
- 1.4 灭菌前，用两点校准法校准好 pH 电极。
- 1.5 灭菌（参考灭菌操作）。
- 1.6 灭菌后接种前，用两点校准法校准好 DO 电极。
- 1.7 加入种子液，并连接好可能的补料液管道，开始发酵。
- 1.8 打开底阀，待样品流出后关闭底阀，取样测定。
- 1.9 结束发酵。
- 1.10 罐体清洗（见下文）。
- 1.11 依次关闭发酵罐、空气压缩机、冷水机（或自来水）。

### 二、注意事项：

#### 2.1 pH 电极：

一般使用寿命为灭菌 50 个批次，建议灭菌 40 个批次后更换。

使用完后，请保存至 **3M KCL 溶液** 中，并且不能倒置。

**pH 电极校正：****零点校正：**将 pH 电极置于 pH 为中性（一般为 6.86）的标准缓冲液中，待稳定后 20 分钟后，校正零点。**斜率校正：**将 pH 电极置于 pH 为酸性（一般为 4.01）或碱性（一般为 9.18）（具体看发酵过程中发酵液的酸碱性而定）的标准缓冲液中，待稳定后 20 分钟后，校正百分点。如果有需要，可进行重复校正确认。

#### 2.2 DO 电极：

每次使用前请**确保电解液充满 DO 膜腔体内**，建议每次使用前加满。

DO 电极每次使用前，请极化约 6 个小时。

DO 电极使用完后，请盖好绿帽，放置于空气中即可。

DO 电极膜一般在灭菌 50 次后建议更换。

DO 电极校正：

**零点校正：**断开电极线，校正零点。

**斜率校正：**灭菌后，接种前，把各数值设定至发酵过程中可能的最大值，待稳定半小时后，校正百分点。

### 2.3 接种：

在火焰保护下，拧开取样口（**请注意带好湿润的帆布手套**）。

在火焰保护下，把准备好的种子液倒入罐体内（**请确保气体流量不要过大，也不在过小**）。

在火焰保护下，拧上取样口，取走火焰环。

### 2.4 补料：

将灭好菌的注射针头的纱布打开，用酒精擦拭 septum 和注射针头。

将注射针头插入 septum 中即可。

### 2.5 罐体清洗：

一般情况下，可加入 1M NaOH 溶液，40-50 度下，高搅拌下清洗半小时到一小时，再从清水清洗。

如需开罐清洗，请用软布（**注意不能使用任务硬物**）轻轻擦拭。

**注意：**开罐清洗时，**不要用手指或其它确物触碰到罐体安全膜（reputure disk）**。

开罐后，再次装罐时，请确保螺丝拧紧，罐顶 O 型圈无损坏（最好每次涂抹上硅酯油）。

### 2.6 偶联操作：

如设定偶联参数，刚过程中此参数将不再恒定在某值，而完全同内置程序控制调整，只有取消偶联，你才能再次控制此参数。

请谨慎使用此操作。

### 2.7 其它：

关机前，确保所有环路都处于关闭状态。电机的调速过程请 **100rpm/次**向上或向下调整。做好使用记录和清理工作。

## 三、技术支持

Eppendorf China Limited 艾本德中国有限公司 上海：021-3856 0500

技术咨询热线：400 885 7200 维修服务热线：400 885 6070

平台联系人：丁明 15968128054