

GONGYE JUNZHONG  
ZHIBEI JISHU

# 工业菌种制备技术

徐安书 编著 刘 炜 主审



化学工业出版社

重庆市示范性高职院校优质核心课程系列教材

# 工业菌种制备技术

徐安书 编著

刘 炜 主审



化学工业出版社

· 北京 ·

《工业菌种制备技术》教材的编写围绕工业微生物菌种制备岗位中所需实际工作任务设计课程教学目标；依据完成工作任务的知识、能力、素质要求以及国家发酵工岗位技能等级标准选取课程内容，制订课程标准；同时关注学生今后的可持续发展。本书重点介绍了工业上常用的细菌、放线菌、霉菌和酵母菌四大类微生物，包括微生物形态构造、培养基制备、消毒灭菌、菌种选育、菌种分离筛选和纯培养、菌种的保藏、菌种的扩大培养等，并根据生产实际和能力培养需要，设计了23个实训项目。通过学习，学生不仅能够树立工程思想观念，而且还能具有工业微生物菌种制备技术的操作能力，为进一步学习后续的发酵技术专业课程打下基础。

本教材适合高职高专生物制药技术、中药制药技术、生化制药技术、食品生物技术、生物化工技术等专业的教学使用，也可以作为相关技术人员的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

工业菌种制备技术/徐安书编著. —北京：化学工业出版社，2015.12

ISBN 978-7-122-19087-1

I. ①工… II. ①徐… III. ①工业微生物学-菌种-制备-教材 IV. ①Q939.97

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第000039号

---

责任编辑：迟蕾 李植峰

文字编辑：赵爱萍

责任校对：边涛

装帧设计：张辉

---

出版发行：化学工业出版社（北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011）

印装：三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张16¼ 字数412千字 2016年3月北京第1版第1次印刷

---

购书咨询：010-64518888(传真：010-64519686) 售后服务：010-64518899

网 址：<http://www.cip.com.cn>

凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。

---

定 价：39.00元

版权所有 违者必究

# 重庆市示范性高职院校优质核心课程系列教材

## 建设委员会成员名单

主任委员 宋正富

副主任委员 彭光辉 陈电容

委员 (按姓名汉语拼音排序)

陈电容 勾纯静 郭健 胡敏 胡相云 贾庭华

李玲玲 罗合春 罗红 彭光辉 宋正富 谭明权

田春美 万刘静 王恩东 吴晓林 武兴菲 熊竹

徐安书 杨明霞 杨忠良 查杰 张兵 张其昌

张先淑 张玉礼

## 序

随着高等职业教育“工学结合，校企合作”人才培养模式的不断发展，示范院校示范专业的课程建设进入到全新的阶段，特别是在《教育部关于推进高等职业教育改革创新 引领职业教育科学发展的若干意见》（教职成〔2011〕12号）的正式出台，标志着我国高等职业教育以课程为核心的改革与建设成为高等职业院校当务之急。重庆工贸职业技术学院经过十年的改革探索和三年的示范性建设，在课程改革和教材建设上取得了一些成就，纳入示范建设的3门食品工艺与检测专业优质核心课程的物化成果之一——教材，现均已结稿付梓，即将与同行和同学们见面交流。

本系列教材力求以职业能力培养为主线，以工作过程为导向，以典型工作任务和生产项目为载体，立足行业岗位要求，参照相关的职业资格标准和行业企业技术标准，遵循高职学生成长规律、高职教育规律和行业生产规律进行开发建设。教材建设过程中广泛吸纳了行业、企业专家的智慧，按照任务驱动、项目导向教学模式的要求，在内容选取上注重了学生可持续发展能力和创新能力培养，教材具有典型的工学结合特征。

本套以工学结合为主要特征的系列化教材的正式出版，是学院不断深化教学改革，持续开展工作过程系统化课程开发的结果，更是重庆市示范性高职院校建设的一项重要成果。本套教材是我们多年来按食品生产流程开展教学活动的一次理性升华，也是借鉴国外职教经验的一次探索尝试，凝聚了各位编审人员的大量心血与智慧，希望该系列教材的出版能为推动全国高职高专食品工艺与检测专业建设起到引领和示范作用。当然，系列教材涉及的工作领域较多，编者对现代教育理念的理解不一，难免存在各种各样的问题，希望得到专家的斧正和同行的指点，以便我们改进。

本系列教材的正式出版得到了全国生物技术职业教育教学委员会副主任陈电容教授等职教专家的悉心指导，以及娃哈哈集团重庆饮料有限公司刘炜、重庆涪陵榨菜集团张玉礼等专家和技术人员的大力支持，在此一并表示感谢！

宋正富

2014年10月

# 前言

FOREWORD

本教材内容选取是经过企业生产岗位调研、专兼职教师编写讲义、企业专家审稿、教育专家审稿、直至现在正式出版，历经2年建设而成，具有工学特色突出、岗位针对性强等特点，是高职生物制药技术、食品生物技术、生物化工工艺等专业优质核心课程教材。

本教材以“课程与岗位融合、课堂与车间融合、学生与菌种工融合、就业与创业需求融合”为指导思想，通过对食品和制药企业发酵产品生产过程中菌种制备岗位工作任务和职业能力调查与分析，确立岗位素质和能力，围绕企业菌种工岗位中所需实际工作任务设计课程教学目标和内容，制订教材标准，同时关注学生今后的可持续发展。本教材内容包括绪论、基础知识篇和综合实训篇，基础知识篇包括微生物形态构造、微生物培养技术、消毒与灭菌技术、菌种选育、菌种分离和纯培养、菌种保藏管理及菌种扩大培养共七个章节的内容；综合实训篇共23个综合实训项目。每一章都有知识目标和能力目标、知识链接、课堂互动、案例分析、思考题等，各教学项目的实施都以与企业工作岗位相适应的工作任务为载体，在学生完成工作任务的过程中达到规定的知识目标和能力目标。

《工业菌种制备技术》可作为高职高专生物化工工艺专业和制药技术类专业、食品生物技术专业及相关专业学生的教学用书，也可供从事相关领域的工作人员参考阅读。

由于编者水平有限，书中存在疏漏之处在所难免，恳请各位专家、读者提出宝贵意见。

徐安书

2015年2月

# 目录

CONTENTS

绪论	1
【知识目标】	1
一、工业微生物概述	1
二、工业微生物的应用	1
三、发酵工业对微生物菌种的要求	2
四、工业微生物常用菌种介绍	2

## 第一篇 基础知识篇

第一章 工业微生物形态构造	6
【知识目标】	6
【能力目标】	6
第一节 细菌	6
一、细菌的形态构造	6
二、细菌的细胞构造	8
三、细菌的繁殖和菌落的形成	14
第二节 放线菌	15
一、放线菌与人类生产及生活的关系	15
二、形态结构	15
三、菌落特征	16
四、繁殖方式	16
五、几种常见的放线菌	16
第三节 酵母菌	17
一、酵母菌的形态(菌体、菌落)和细胞结构	17
二、繁殖方式	18
三、生产上常用的酵母菌	18
第四节 霉菌	18
一、霉菌的形态结构	19
二、繁殖方式	21
【知识链接】	25
【课堂互动】	26
【案例分析】	26
【思考题】	26

第二章 微生物培养技术 .....	27
【知识目标】 .....	27
【能力目标】 .....	27
第一节 工业微生物的营养要求 .....	27
一、微生物细胞的化学组成 .....	27
二、微生物的营养物质及其生理功能 .....	27
三、微生物的营养类型 .....	31
第二节 营养物质进入细胞的形式 .....	33
一、扩散 .....	34
二、促进扩散 .....	34
三、主动运输 .....	35
四、膜泡运输 .....	37
第三节 培养基 .....	38
一、培养基的概念 .....	38
二、配制培养基的原则 .....	38
三、培养基的类型以及应用 .....	40
第四节 工业发酵培养基制备 .....	44
一、工业发酵培养基的营养成分 .....	44
二、工业发酵培养基的类型和用途 .....	49
三、工业发酵培养基的选择和确定方法 .....	52
四、原料预处理的方法 .....	54
第五节 淀粉水解糖的制备 .....	56
一、淀粉水解的理论基础 .....	56
二、淀粉的液化(糊化) .....	58
三、淀粉的糖化 .....	60
第六节 糖蜜原料的处理 .....	63
一、糖蜜的来源与特点 .....	63
二、糖蜜前处理的方法 .....	64
第七节 前体物质、抑制剂和促进剂 .....	64
一、生物合成的前体物质 .....	64
二、抑制剂 .....	64
三、促进剂 .....	65
第八节 微生物菌种生长条件 .....	65
一、温度 .....	65
二、pH值 .....	67
三、氧 .....	67
四、通风和搅拌 .....	68
五、种龄与接种量 .....	68
【知识链接】 .....	68
【课堂互动】 .....	69
【案例分析】 .....	69
【思考题】 .....	69



第三章 消毒与灭菌技术 .....	70
【知识目标】 .....	70
【能力目标】 .....	70
第一节 基本概念 .....	70
一、灭菌 .....	70
二、消毒 .....	70
三、防腐 .....	71
四、化疗 .....	71
第二节 杀菌方法 .....	71
一、控制微生物的物理方法 .....	71
二、控制微生物的化学方法 .....	75
【知识链接】 .....	79
【课堂互动】 .....	80
【案例分析】 .....	81
【思考题】 .....	81
第四章 工业菌种育种技术 .....	82
【知识目标】 .....	82
【能力目标】 .....	82
第一节 工业常用微生物 .....	82
一、细菌 .....	83
二、放线菌 .....	85
三、霉菌 .....	86
四、酵母菌 .....	89
第二节 育种的遗传学基础 .....	91
一、典型实验 .....	91
二、遗传物质的存在方式 .....	93
第三节 自然选育技术 .....	94
一、采样 .....	94
二、增殖培养 .....	95
三、纯种分离及纯培养 .....	95
四、生产性能测定 .....	96
第四节 诱变选育技术 .....	96
一、诱变选育的一般步骤 .....	96
二、营养缺陷型突变菌株的筛选 .....	99
第五节 杂交育种技术 .....	102
一、杂交育种准备工作 .....	102
二、杂交育种的步骤与分析 .....	104
三、杂交育种的注意事项 .....	108
第六节 原生质体融合育种技术 .....	108
【知识链接】 .....	112
【课堂互动】 .....	112
【案例分析】 .....	113

【思考题】 .....	116
第五章 工业菌种的分离和纯培养技术 .....	117
【知识目标】 .....	117
【能力目标】 .....	117
第一节 工业微生物菌种的分离 .....	117
一、无菌技术 .....	117
二、用固体培养基分离纯培养物 .....	118
三、用液体培养基分离纯培养物 .....	120
四、单孢子或单细胞分离法 .....	120
五、利用选择性培养基分离法 .....	120
六、二元培养物 .....	122
第二节 工业菌种纯培养方法 .....	122
一、实验室培养法 .....	122
二、生产实践中微生物的培养方法 .....	126
【知识链接】 .....	128
【课堂互动】 .....	131
【案例分析】 .....	131
【思考题】 .....	132
第六章 工业菌种保藏技术 .....	133
【知识目标】 .....	133
【能力目标】 .....	133
第一节 菌种的衰退和复壮 .....	133
一、菌种的衰退 .....	133
二、防止菌种衰退和退化菌种的复壮 .....	135
第二节 菌种保藏 .....	136
一、菌种保藏的意义 .....	136
二、菌种保藏的原理 .....	136
三、菌种保藏的一般方法 .....	137
四、菌种保藏的注意事项 .....	139
【知识链接】 .....	139
【课堂互动】 .....	141
【案例分析】 .....	142
【思考题】 .....	143
第七章 工业菌种扩大培养技术 .....	144
【知识目标】 .....	144
【能力目标】 .....	144
第一节 种子的制备过程 .....	144
一、实验室种子的制备 .....	145
二、生产车间种子制备 .....	146
第二节 种子质量的控制 .....	147
一、影响孢子质量的因素及控制 .....	147
二、影响种子质量的因素及控制 .....	148

三、种子质量的控制措施 .....	149
四、种子质量标准 .....	149
五、种子异常分析 .....	150
第三节 工业菌种扩大培养实例 .....	150
一、谷氨酸发酵的菌种扩大培养 .....	150
二、啤酒酵母的扩大培养 .....	151
第四节 生产发酵罐的无菌接种 .....	152
第五节 工业菌种的常用培养方式 .....	153
一、工业生产中微生物常用培养方式 .....	153
二、工业生产中微生物的其他培养方式 .....	156
【知识链接】 .....	156
【课堂互动】 .....	157
【案例分析】 .....	158
【思考题】 .....	158

## 第二篇 综合实训篇

实训一 细菌接种技术 .....	160
实训二 土壤中葡聚糖酶菌株的分离和筛选 .....	166
实训三 乳酸菌的分离纯化及酸乳制作 .....	169
实训四 利用紫外线诱变筛选淀粉酶高产菌株 .....	173
实训五 噬菌体的分离与纯化技术 .....	175
实训六 细菌菌种保藏技术 .....	177
实训七 放线菌个体形态的观察 .....	182
实训八 放线菌的选择分离与计数 .....	184
实训九 土壤中放线菌的分离与纯化技术 .....	186
实训十 放线菌菌种保藏技术 .....	188
实训十一 链霉菌的鉴定技术 .....	193
实训十二 纤维素酶生产菌的分离与鉴定 .....	195
实训十三 碱性纤维素酶产生菌的分离技术 .....	198
实训十四 醋醪中醋酸菌的分离及食醋酿造 .....	200
实训十五 毛霉的分离纯化及腐乳制作 .....	202
实训十六 霉菌保藏技术 .....	205
实训十七 孢子悬浮液制备及孢子数测定 .....	210
实训十八 酵母菌子囊孢子的培养与观察 .....	212
实训十九 酵母菌细胞大小的测定 .....	213
实训二十 酵母细胞数量的测定 .....	216
实训二十一 啤酒酵母的扩大培养 .....	219
实训二十二 利用亚硝酸诱变选育酵母营养缺陷型突变体 .....	221
实训二十三 酵母菌保藏技术 .....	223
附录 .....	227
参考文献 .....	245

# 绪论

## 【知识目标】

了解工业微生物菌种的类型及特点，了解工业微生物的应用。

### 一、工业微生物概述

微生物是指人类用肉眼无法观察，必须借助光学显微镜或电子显微镜才能观察到的微小生物的总称。它包括形体微小的单细胞低等生物，个体结构简单的多细胞低等生物、没有细胞结构的低等生物等，微生物必须用微米甚至纳米作为计量大小的单位。

微生物虽然个体微小，但在自然界生态平衡和物质循环中起着重要的作用，在解决人类的粮食、能源、健康、资源和环境保护等问题中正显露出越来越重要且不可替代的独特作用。如利用微生物可降解自然界中的废弃物，为人们提供美味的发酵食品、治疗疾病的药品，为化学工业提供原料。微生物种类繁多，迄今为止已经发现的微生物仅占总数的 10% 左右，大部分微生物还有待于发掘利用。

微生物种类虽然繁多，但概括起来在工业上应用最广泛、最常用的微生物有细菌、放线菌、霉菌和酵母菌四大种类。

### 二、工业微生物的应用

微生物在工业中正起着越来越重要的作用。工业微生物学是微生物学的一个重要分支，是微生物学在工业生产中的应用。它从工业生产需要出发来研究微生物的生命及其代谢途径，以及人为控制微生物代谢的规律性，获得人们需要的发酵产品。

微生物工业是从自然发酵酿酒、制醋等传统厌氧发酵技术发展起来的，我国传统的发酵工业，如酿酒、制醋、制酱等有着悠久的历史。20 世纪 60 年代以来，以抗生素的研制和生产为标志，我国开始逐渐形成了新型的微生物发酵工业，如有机酸、氨基酸、酶制剂、维生素、激素和单细胞蛋白等的发酵生产。微生物现已广泛应用于食品、医药、皮革、纺织、石油、化工、冶金以及三废处理等方面。

利用微生物生产各种发酵产物具有以下优点。

① 微生物工业的原料大多是淀粉、纤维素等可再生的生物资源和二氧化碳（能进行光合作用的光自养菌和藻类利用二氧化碳为原料）等，这些原料来源广、产量大而且价格低廉。

② 微生物发酵和转化通常都在常温常压和中性 pH 值范围内进行，反应条件温和，能

量利用率高,生物转化反应的专一性好,产品的转化率高。

③ 微生物的多样性和代谢途径的多样性,使得微生物发酵工业为人类提供了许多产品。

④ 由于微生物易变异,可以采用各种方法改变微生物的遗传物质,调节和控制代谢途径,不断提高目标产品的生产水平,获得新的发酵产品。

⑤ 微生物发酵过程产生的污染物比较少,容易处理。

### 三、发酵工业对微生物菌种的要求

微生物广泛分布于土壤、水和空气等自然界中,资源非常丰富。目前认为,人类研究的微生物不足总数的10%。从自然界中分离出来的菌株有的可直接利用,有的则需要进行人工诱变,得到的突变体才能被利用。特别是随着育种新技术的更新,不断满足新产品和原料转换对新菌种的需求。作为大规模生产的微生物工业用菌种,应尽可能满足下列要求。

① 菌种能在廉价原料制成的培养基上迅速生长和大量合成目的产物。

② 菌种能在要求不高、易控制的培养条件(糖浓度、温度、pH值、溶解氧、渗透压等)下迅速生长和发酵,以缩短发酵周期。在天气炎热地区应选择耐高温菌种。

③ 根据代谢调控要求选择高产菌株,如营养缺陷型菌株或调节突变型菌株。

④ 菌种抗噬菌体能力强,以防止感染噬菌体而造成“倒罐”现象的发生。

⑤ 菌种遗传性状稳定,不易变异退化,可保证发酵生产和产品质量的稳定性。

⑥ 生长迅速,发酵周期短。

⑦ 在发酵过程中产生的泡沫要少,这对提高装料系数、提高单产量、降低成本有重要意义。

⑧ 对需要添加的前体物质有耐受能力,并且不能将这些前体作为一般碳源使用。

⑨ 不是病原菌,而且在系统发育上与病原菌无关,不产生任何有害的生物活性物质。

具备以上条件的微生物才能保证发酵产品的质量和产量。

### 四、工业微生物常用菌种介绍

微生物在工业上的用途很广,包括化工、医药、食品、水产、国防、纺织、石油勘探及石油化工等方面。微生物代谢产物据统计已超过一千三百多种,而大规模工业生产总计不超过一百多种;微生物的酶有近千种,而已在工业上利用的不过四五十种。微生物资源不仅十分丰富,而且可挖掘潜力很大。不是所有的微生物都能用于发酵工业,目前工业上能利用的微生物菌种只有区区数百种。工业上常用的微生物见表0-1。

表 0-1 工业上常用的微生物

微生物类别	微生物名称	产物	用途
细菌	短杆菌	味精、谷氨酸	食用、医药
	枯草杆菌	淀粉酶	酒精发酵、啤酒酿造、葡萄糖制造、糊精制造、糖浆制造、纺织品退浆、铜版纸加工、洗衣业、香料加工(除去淀粉)
	枯草杆菌	蛋白酶	皮革脱毛柔化、胶卷回收银、丝绸脱胶、酱油速酿、水解蛋白、饲料、明胶制造、洗衣业
	梭状杆菌	丙酮丁醇	工业有机溶剂
	巨大芽孢杆菌	葡萄糖异构酶	由葡萄糖制造果糖
	大肠杆菌	酰胺酶	制造新型青霉素
	短杆菌	肌苷酸	医药、食用
	节杆菌	强的松	医药
	蜡状芽孢杆菌	青霉素酶	青霉素的检定、抵抗青霉素敏感症

续表

微生物类别	微生物名称	产物	用途
酵母菌	酒精酵母	酒精	工业、医药
	酵母	甘油	医药、军工
	假丝酵母	石油及蛋白	制造低凝固点石油及酵母菌体蛋白等
	假丝酵母	环烷酸	工业
	啤酒酵母	细胞色素丙	医药
	啤酒酵母	辅酶甲	医药
	啤酒酵母	酵母片	医药
	啤酒酵母	凝血质	医药
	类酵母	脂肪酶	医药、纺织脱蜡、洗衣业
	阿氏假囊酵母	核黄素	医药
	脆壁酵母	乳糖酶	食品工业
	霉菌	黑曲霉	柠檬酸
黑曲霉		柚苷酶	柑橘罐头脱除苦味
黑曲霉		酸性蛋白酶	啤酒防浊剂、消化剂、饲料
黑曲霉		单宁酶	分解单宁、制造没食子酸、酶的精制
黑曲霉		糖化酶	酒精发酵工业
栖土曲霉		蛋白酶	皮革脱毛柔化、胶卷回收银、丝绸脱胶、酱油速酿、水解蛋白、饲料、明胶制造、洗衣业
根霉		根霉糖化酶	葡萄糖制造、酒精厂糖化用
根霉		甾体激素	医药
土曲霉		甲叉丁二酸	工业
赤霉菌		赤霉素	农业、植物生长刺激素
梨头霉		甾体激素	医药
青霉菌		青霉素	医药
青霉菌		葡萄糖氧化酶	蛋白除去葡萄糖、脱氧、食品罐头贮存、医药
灰黄霉菌		灰黄霉素	医药
木霉菌		纤维素酶	淀粉和食品加工、饲料
黄曲霉菌	淀粉酶	医药、工业	
红曲霉	红曲霉糖化酶	葡萄糖制造、酒精厂糖化用	

续表

微生物类别	微生物名称	产物	用途
放线菌	各类放线菌	链霉素	医药
		氯霉素	医药
		土霉素	医药
		金霉素	医药
		红霉素	医药
		新生霉素	医药
		卡那霉素	医药
	小单孢菌	庆大霉素	医药
	灰色放线菌	蛋白酶	皮革脱毛柔化、胶卷回收银、丝绸脱胶、酱油速酿、水解蛋白、饲料、明胶制造、洗衣业
	球孢放线菌	甾体激素	医药

# 第一篇 基础知识篇



# 第一章

# 工业微生物形态构造

## 【知识目标】

了解细菌、放线菌、酵母菌、霉菌等主要工业微生物的大小和形态，掌握其结构、功能、繁殖和群体特征及观察方法。掌握普通光学显微镜的结构和使用原理。

## 【能力目标】

能够选择适当的方法进行微生物形态、结构的观察。正确使用光学显微镜观察微生物的结构和形态。能够全面、正确地描述微生物的形态结构，观察并报告北京棒杆菌、灰色链霉菌、市售酵母、产黄青霉的形态结构。

## 第一节 细菌

细菌是一类细胞细短（直径约  $0.5\mu\text{m}$ ，长度  $0.5\sim 5\mu\text{m}$ ）、结构简单，胞壁坚韧，多以二分裂方式繁殖和水生性较强的原核生物。1000 倍以上显微镜才能看到其形状。

### 一、细菌的形态构造

#### 1. 基本外形

球状——球菌；杆状——杆菌；螺旋状——螺旋菌。

(1) 球菌 球形或近球形，根据空间排列方式不同又分为单球菌、双球菌、链球菌、四联球菌、八叠球菌、葡萄球菌。不同的排列方式是由于细胞分裂方向及分裂后情况不同造成的。这些细胞分裂产生的新细胞所保持的一定空间排列方式有以下几种情形（图 1-1）。

单球菌——尿素微球菌 [图 1-1(1)]。

双球菌——肺炎双球菌 [图 1-1(2)]。

链球菌——溶血性链球菌 [图 1-1(3)]。

四联球菌——四联微球菌 [图 1-1(4)]。

八叠球菌——尿素八叠球菌 [图 1-1(5)]。

葡萄球菌——金黄色葡萄球菌 [图 1-1(6)]。

(2) 杆菌 杆状或圆柱形，径长比不同，短粗或细长。是细菌中种类最多的。图 1-1 中