

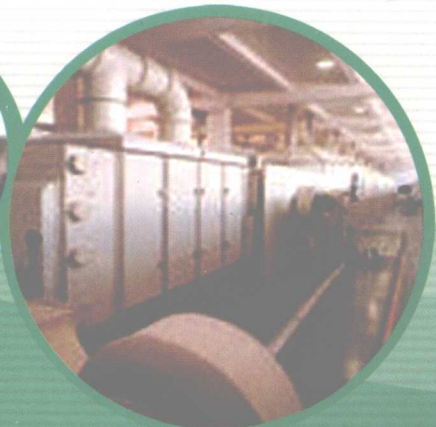



21世纪农业部高职高专规划教材

发酵工程

生物类 食品类 制药类专业用

周桃英 主编



 中国农业出版社

21 世纪农业部高职高专规划教材

发 酵 工 程

周桃英 主编

生物类 食品类 制药类专业用

中 国 农 业 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

发酵工程 / 周桃英主编. — 北京: 中国农业出版社,
2008. 2

21 世纪农业部高职高专规划教材

ISBN 978-7-109-12024-2

I. 发… II. 周… III. 发酵工程-高等学校: 技术学校-
教材 IV. TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 012123 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100026)

责任编辑 郑剑玲 李国忠

北京通州皇家印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2008 年 3 月第 1 版 2008 年 3 月北京第 1 次印刷

开本: 720mm×960mm 1/16 印张: 20.5

字数: 361 千字

定价: 28.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

内 容 简 介

本教材主要介绍发酵工程发展的历史以及发酵微生物菌种的来源、微生物发酵培养基、灭菌技术、种子的扩大培养、发酵设备、工业发酵染菌的防治措施、发酵液的提取和精制、发酵产物积累的机制、柠檬酸发酵生产、抗生素发酵生产、现代食品发酵工业、发酵新技术及相关的实验实训内容。

本教材力图以点位的确定为中心，以技能为主线，以发酵技术新概念、新技术、新设备为重点进行叙述；明确课程的特点，试求建立由浅入深、循序渐进的教材体系，同时又力求符合生产程序；突出适用性、实用性与针对性。既可以作为高职高专院校生物类、食品类、制药类等专业的教材，也可作为从事微生物发酵技术相关人员的参考书。

主 编 周桃英（黄冈职业技术学院）

副主编 刘红煜（黑龙江生物科技职业学院）

参 编（按姓氏笔画排序）

王洪波（潍坊职业学院）

张鲁嘉（华东理工大学）

武秀琴（河南工程学院）

潘嫣丽（广西农业职业技术学院）

审 稿 杨云波（中国农业大学）

张声华（华中农业大学）

前 言

发酵工业是既古老又年轻的工业，它的发展经历了漫长的岁月。以小作坊制酒、制醋等发展到现代化的工业生产，随着科学技术的发展，发酵工业不断得到发展和充实。现代发酵工业是以粮食和农副产品为主要原料的加工工业，主要包括味精、柠檬酸、淀粉糖、酵母、酶制剂等行业。发酵工业是我国新兴生物技术产业之一，尤其是近 10 年来，获得迅猛发展，我国每年消耗玉米、薯、粮 1 000 多万 t，生产发酵产品味精产量 65 万 t，柠檬酸 20 万 t，均居世界第一位；酶制剂 21 万 t，酵母 10 万 t，淀粉 380 万 t 及淀粉糖 60 万 t，年出口创汇 2 亿美元。

目前，由于受企业规模、治理技术、资金投入等因素限制，发酵工业中只有约 20% 规模较大企业进行了污染治理，多数企业没有采取彻底有效污染治理措施。发酵工业环境污染问题相当严重，据估算发酵工业年排放废水 6.7 亿 t，占全国总排放量的 3%。其中高浓度有机废水达 6 500 万 t，化学需氧量 (COD) 达 300 余万 t。年排废渣 300 余万 t。今后发酵工业环境治理任务相当艰巨，需通过提高粮食原料综合利用水平，加大行业结构调整力度，进一步集约化经营，同时淘汰浪费资源、治理无望的中小企业，使行业走上可持续发展道路。以低投入高产出运用高新发酵技术生产的产品发展前景是非常光明的。

本教材主要用于生物类、食品类、制药类等专业的教学。应用范围较广，教材中基础部分做到了尽量统一，专业部分可求同存异，

不同的院校可以根据不同的专业各自取舍。为适应上述两方面的要求，在尽量压缩篇幅的情况下，内容也有所增多，尽可能满足不同类型院校和更多的专业以及人员层次的需要。

本教材的编写充分考虑到高职高专教育的特点，理论以必需、够用为度，以应用为宗旨，突出适应性、实用性、针对性，强调实践与应用、理论与实践相结合；深入浅出、通俗易懂，便于自学，力图做到讲、学、做统一协调；引入与本课程密切相关的新技术、新知识、新仪器、新设备，拓宽学生的思维与知识面；针对本课程实践教学的特点，按不同实验要求和生产应用的实际，编写本教材相应的实验技能训练指导、集中实践技能训练指导，加强学生动手能力与创新能力的培养；在每章的最后编写了复习思考题，便于学生自学和练习。

本教材实验的项目，可配合理论授课分散进行；实训的项目，应在教学计划中安排集中时间连续进行。

本教材编写分工为：周桃英编写绪论、第九章、实验和实训；刘红煜编写第三章、第七章和第十章；王洪波编写第四章、第六章、第八章和部分实验及实训；潘嫣丽编写第十一章和部分实训；武秀琴编写第一章、第二章和部分实验；张鲁嘉编写第五章和第十二章。

本教材由中国农业大学食品科学院博士研究生导师杨云波教授和华中农业大学食品科学系博士研究生导师张声华教授审定，在此谨致谢忱。

由于编者水平所限，难免有不足之处，祈请读者赐教指正。

编 者

2007年6月

郑 重 声 明

中国农业出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其为人将承担相应的民事责任和行政责任，构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话：(010) 65005894, 64194974, 64194971

传 真：(010) 65005926

E - mail: wlxyaya@sohu.com

通信地址：北京市朝阳区农展馆北路 2 号中国农业出版社教材出版中心

邮 编：100026

购书请拨打 电话：(010) 64194972, 64195117, 64195127

数码防伪说明：

本图书采用出版物数码防伪系统，用户购书后刮开封底防伪密码涂层，将 16 位防伪密码发送短信至 106695881280，免费查询所购图书真伪，同时您将有机会参加鼓励使用正版图书的抽奖活动，赢取各类奖项，详情请查询中国扫黄打非网 (<http://www.shdf.gov.cn>)。

短信反盗版举报：编辑短信“JB，图书名称，出版社，购买地点”发送至 10669588128

短信防伪客服电话：(010) 58582300/58582301

目 录

前言

绪论	1
一、发酵工程发展的历史	1
二、发酵工程产业化发展	3
三、发酵工业展望及应用前景	5
第一章 发酵工业菌种的来源	6
第一节 发酵工业常用的微生物及其特性	6
一、发酵工业常用菌种的特性	6
二、发酵工业上常用的微生物	7
第二节 自然界中目的微生物的分离	11
一、采样	11
二、增殖培养	12
三、培养分离	13
四、筛选	13
五、毒性试验	14
第三节 菌种的选育和构建	14
一、常用的菌种选育方法	14
二、构建工程菌	21
三、菌种的筛选	23
四、菌种的退化与复壮	28
复习思考题	30
第二章 发酵培养基	31
第一节 培养基选择和配制的原则	31
一、培养基的类型和用途	31
二、培养基的配制原则	34

第二节 工业发酵培养基.....	37
一、工业上常用的碳源	38
二、工业上常用的氮源	39
三、无机盐	40
四、生长因子	41
五、前体物质和促进剂	42
第三节 发酵培养基的优化	46
一、理论转化率的计算	46
二、实验设计	47
三、培养基设计时应注意的其他问题	51
复习思考题.....	52
第三章 灭菌技术	53
第一节 灭菌	53
一、常用灭菌方法的基本原理	54
二、培养基的灭菌	56
三、空罐灭菌与发酵附属设备及管路的灭菌	62
第二节 空气除菌	63
一、空气的过滤除菌	63
二、发酵用空气的质量标准	66
三、空气除菌流程	67
第三节 无菌检查及发酵废气和废物的安全处理	69
一、无菌检查	70
二、发酵废气和废物的安全处理	70
复习思考题.....	71
第四章 种子的扩大培养	72
第一节 种子扩大培养的目的与要求	72
一、概述	72
二、发酵生产中对种子的要求	73
第二节 种子培养的条件.....	73
一、影响种子质量的因素及控制	73
二、种子异常分析	76
第三节 种子制备过程的技术概要	76

一、实验室种子制备	76
二、生产车间种子制备	77
第四节 种子的制备过程实例	78
一、谷氨酸发酵菌种扩大培养	78
二、啤酒酵母的扩大培养	79
复习思考题	80
第五章 发酵设备	81
第一节 通气式发酵设备	81
第二节 厌氧型发酵设备	90
第三节 固体发酵设备	92
复习思考题	94
第六章 工业发酵污染的防治	95
第一节 工业发酵染菌的危害	95
一、概述	95
二、不同染菌时间对发酵的影响	95
三、不同染菌途径对发酵的影响	96
四、染菌对产物提取和产品质量的影响	96
第二节 染菌的检查、原因分析和防治措施	97
一、染菌的检查	97
二、染菌的分析	99
三、发酵染菌防止	102
复习思考题	106
第七章 发酵产物的提取和精制	107
第一节 发酵液的预处理及菌体分离	108
一、离心过滤与菌体分离	109
二、发酵液的固-液分离	112
三、细胞的破碎与分离	114
第二节 发酵产物的提取	117
一、沉淀提取法	117
二、树脂法和吸附法	120
三、萃取法	124

四、蒸馏分离提取法	127
五、凝胶层析法	128
六、膜分离技术	129
第三节 发酵产物的精制	131
一、浓缩	131
二、结晶	132
三、成品干燥	133
复习思考题	134
第八章 糖嫌气性发酵产物积累机制	135
第一节 糖嫌气性发酵产物积累机制	135
一、糖酵解途径 (EMP 途径)	135
二、磷酸戊糖途径 (HMP 途径)	137
三、2-酮-3-脱氧-6-磷酸葡萄糖酸裂解途径 (ED 途径)	139
第二节 酒精发酵	140
一、乙醇的生成机制	140
二、巴斯德效应	141
三、酒精发酵中副产品的生产	141
复习思考题	143
第九章 柠檬酸发酵机制	144
第一节 柠檬酸生物合成途径	144
第二节 柠檬酸生物合成的代谢调节	146
一、切断支路代谢	146
二、解除反馈抑制或反馈阻遏	146
三、增加前体物质的合成	146
第三节 柠檬酸发酵生产	147
一、选育高产菌株	147
二、柠檬发酵工艺	147
三、柠檬酸提取工艺	149
复习思考题	152
第十章 抗生素的发酵生产	153
第一节 抗生素的概述	153

一、抗生素的定义	153
二、抗生素的发展简史	153
三、抗生素的分类	154
四、抗生素的用途	156
第二节 抗生素的生物合成	158
一、微生物代谢产物的类型	158
二、生物合成抗生素与初级代谢的关系	159
三、次级代谢产物生物合成的基本途径	161
第三节 抗生素生物合成的代谢调节机制	164
一、诱导调节	164
二、反馈调节	165
三、细胞膜透性的调节	165
四、对抗生素生物合成有重要影响的其他调节因素	165
五、微生物生长期和生产期的关系	166
第四节 抗生素生产工艺	167
一、抗生素的生产方法	167
二、微生物发酵法生产抗生素的工艺过程	167
第五节 抗生素生产实例	171
一、青霉素的理化性质	172
二、青霉素的发酵工艺及过程	173
复习思考题	178
第十一章 现代食品发酵工业	179
第一节 啤酒发酵生产	179
一、啤酒的种类	179
二、啤酒酿造的原料	180
三、啤酒酿造的基本工艺过程	182
第二节 白酒的发酵生产	194
一、白酒的分类	194
二、白酒生产中的原辅料及水的选择	196
三、白酒的生产技术	198
四、白酒的发展方向	212
第三节 酱油的发酵生产	213
一、酱油的种类	213

二、酱油的制造方法	214
三、酱油生产的原料	214
四、酱油生产所用的微生物	216
五、酱油生产的工艺流程	218
第四节 醋的发酵生产	227
一、食醋的种类	228
二、酿醋的原料	228
三、食醋酿造用微生物	228
四、常用酿醋的方法	229
复习思考题	235
第十二章 现代发酵新技术和新产品	236
第一节 动植物细胞的培养	236
一、动物细胞的特点	237
二、动物细胞的培养	237
三、植物细胞的培养	239
第二节 酶制剂的生产	242
一、酶制剂的生产方法	243
二、几种重要酶制剂产品的介绍	244
第三节 生物技术药物	248
一、蛋白质药物的生产方法	248
二、重组蛋白质药物产品介绍	249
第四节 生物高分子材料	252
一、生物高分子材料的介绍	253
二、代表性的生物高分子材料	254
复习思考题	256
实验实训	257
实验实训须知	257
实验一 接种、分离纯化和培养技术	258
实验二 微生物的诱变育种	264
实验三 培养基优化	267
实验四 工业染菌的检查	269
实验五 离子交换法提取抗生素	271

实验六 抗生素的结晶	272
实训一 抗药性突变株的分离	273
实训二 芽孢杆菌的筛选	275
实训三 黑曲霉的摇瓶实验	277
实训四 分批培养大肠杆菌	278
实训五 糖化曲的制作	282
实训六 糖化酶活力的测定	284
实训七 豆腐乳发酵	285
实训八 甜酒酿的制作	287
实训九 腌制品——泡菜制作	288
实训十 发酵法酿制食醋	290
实训十一 低盐固态发酵法酿造酱油	292
实训十二 葡萄酒制作	294
实训十三 小曲白酒的制作	295
实训十四 淡色啤酒酿制	297
实训十五 酿造酱油和食醋的感官品评	299
实训十六 葡萄酒的品评	302
实训十七 酒的品评	305
主要参考文献	311

绪 论

发酵现象几乎是伴随着地球生命的诞生而存在的。最初人们对发酵的认识来源于果汁或谷物类，它们在酿造过程中产生了气泡，被称之为发酵。对于许多人来说，发酵仅仅意味着生产酒精，至今人们常常以起泡现象作为直观发酵的指标。

(1) 从生物学观点来看，发酵是指有机化合物进行无氧代谢释放能量的过程。

(2) 巴斯德观点：把发酵扩展到利用培养微生物来获得产物的有氧化或厌氧氧化的任何过程，现在又扩展到培养生物细胞来制得产物的所有过程。

(3) 现代微生物学家观点：把借助微生物在有氧或无氧条件下的生命活动来制备微生物菌体本身，或其直接代谢产物或次级别代谢产物的过程统称为发酵。

一、发酵工程发展的历史

发酵工程起源很早，但它的蓬勃发展只有近几百年的历史，其发展大致经历为以下几个时期。

(一) 天然发酵时期

人们对发酵技术的认识起始于 19 世纪末，主要来自厌氧发酵，如利用酵母菌、乳酸菌生产酒精、乳酸和各种发酵食品。在这个时期人们对“发酵”的本质仍是一知半解，当时人们主要依靠经验进行家庭作坊式生产，生产中经常会被杂菌污染，因此这个时期称为天然发酵时期。主要的产品是食品，如各种饮料酒、酱、醋、腐乳、酸乳等。

(二) 纯种培养发酵时期

1680 年，荷兰博物学家安东·列文虎克 (Anthonie van Leeuwenhoek) 制造了显微镜，证明了大量活的微生物的存在。1857 年巴斯德证明了酒精是由活的酵母发酵引起的，随之发明了著名的低温杀菌法，挽救了法国葡萄酒酿

造业，使其免受酸败之灾。巴斯德因此被称为“发酵之父”。1872年，布雷菲尔德（Brefeld）创建了霉菌纯粹培养方法，被称为近代细菌学之父。1897年毕希纳发现磨碎的酵母仍使糖发酵形成酒精，证明了任何生物都可以产生发酵物质。

“需求是发明之母”，第一次世界大战的爆发，德国需要大量用于制造炸药硝化甘油，从而使甘油发酵工业化了。英国制造无烟炸药的硝化纤维需要大量的优质丙酮，促使 Weizman 发明了丙酮-丁醇发酵这种纯种培养技术，并实现了工业化。这是发酵工程第一个转折点，发酵由食品工业向非食品工业发展。

（三）通气搅拌发酵时期

1929年英国弗莱明（A. Fleming）发现青霉素，并确认青霉素对伤口感染有很好的治疗效果，1941年，美英两国合作对青霉素做了进一步的研究和开发。开始进行表面培养：1 L 扁瓶或锥形瓶，内装 200 ml 麦麸培养基产出青霉素 40 U/ml；1943年采用了沉浸培养，5 m³ 发酵液里能产生青霉素 200 U/ml；采用通气搅拌深层液体培养，现在 100~200 m³ 发酵液可以产生青霉素 5万~7万 U/ml。青霉素发酵生产需要氧气，通气搅拌液体深层发酵技术的建立使需氧菌的发酵生产走上了大规模工业化。青霉素发酵生产的成功，给人类医疗保健事业作出了巨大贡献。同时给发酵工程带来了第二个转折点，青霉素研发成功，推进了链霉素、金霉素、新霉素、红霉素等抗生素发酵工业迅猛发展。

（四）代谢控制发酵时期

1950—1960年，随着基础生物科学即生物化学、酶化学、微生物遗传学等学科的飞速发展，再加上新型分析方法和分离方法的发展，1956年由日本木下祝郎发明谷氨酸发酵技术，从 DNA 分子水平上，微生物变异株通过代谢调节，控制微生物的代谢途径，进行最合理的代谢，积累大量有用的发酵产物。这种发酵技术在赖氨酸等一系列氨基酸以及核苷酸物质发酵生产中得到了广泛的应用，而且在抗生素等次级代谢产物的发酵中也得到了广泛的应用。它标志着发酵工程的第三个转折点的到来：切断支路代谢，酶的活力调控，酶的合成调控（反馈控制和反馈阻遏），解除菌体自身的反馈调节，突变株的应用，前体、终产物、副产物等。

（五）基因工程时期

1980年之后，随着细胞融合技术、基因操作技术等生物技术的发展，发