

何佳 赵启美 侯玉泽 主编

微生物工程概论

WEISHENGWUGONGCHENGGAILUN

(第2版)

兵器工业出版社

河南科技大学教材出版基金资助

微生物工程概论

(第2版)

何 佳 赵启美 侯玉泽 主编

兵器工业出版社

内 容 简 介

本书系统全面地论述了微生物工程的基本原理、发酵生产设备、发酵过程控制技术、发酵后处理技术。全书介绍了多种发酵产品如酒类、有机酸、酶制剂、氨基酸、抗生素、SCP、微生物农药和肥料、食用菌和药用菌以及发酵食品等的生产原理与技术,既有现代发酵产品,又有传统发酵产品。全书简明扼要、深入浅出,内容丰富、涵盖面广,既注重理论性与科学性,又注重实用性。

本书可作为高等院校生物技术、食品工程等学科的教科书,又可供从事微生物发酵工业生产与研究及相关专业的科技人员参考。

(附 录)

主 编 王 芳 美 白 婧 卦 同

图书在版编目(CIP)数据

微生物工程概论/何佳,赵启美,侯玉泽主编.—2版.
北京:兵器工业出版社,2008.3

ISBN 978-7-80248-020-9

I. 微… II. ①何…②赵…③侯… III. 微生物—生物工程—高等学校—教材 IV. TQ93

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 016984 号

出版发行:兵器工业出版社

发行电话:010-68962596, 68962591

邮 编:100089

社 址:北京市海淀区车道沟10号

经 销:各地新华书店

印 刷:北京市登峰印刷厂

版 次:2008年4月第2版第1次印刷

责任编辑:常小虹

封面设计:李 晖

责任校对:郭 芳

责任印制:赵春云

开 本:787×1092 1/16

印 张:26.75

字 数:715千字

定 价:40.00元

《微生物工程概论》(第2版)

编委会

主 编: 何 佳 赵启美 侯玉泽

副主编: 李西波 古绍彬 李市场 秦翠丽 汪伦记 赵君峰
张 敏 李爱江 林 霖 辛 莉 刘开永 孙晓菲

前 言

人类利用微生物从事发酵生产已有悠久的历史，随着 DNA 重组技术及原生质体融合技术的开展，现代生物技术的理论和方法已发生了质的飞跃。在新技术革命浪潮中，现代生物技术是各国优先发展的领域。现代生物技术主要由微生物工程、酶工程、细胞工程和基因工程四大先进技术构成，其中微生物工程是生物技术所有领域实现工业化生产的基础和手段，涵盖了微生物学、生物化学、遗传学、生物工程学、机械工程学等多个学科，产品涉及医药、食品、轻化工、饲料、环境治理、石油和贵重金属开采以及肥料、农药等多个工业部门，是一个综合交叉应用学科。为了让更多的人了解现代生物技术，了解微生物工程，跟上时代步伐，也为新兴学科——生物技术专业的需要，我们编写了这本《微生物工程概论》。

全书共分十五章，系统地介绍了微生物工程发展的历史、工业微生物基础，发酵常用设备、菌种、发酵工艺控制、发酵后处理以及一些产品的生产情况。编写人员分工如下：第一章（何佳、侯玉泽），第二章（赵启美、李市场、赵君峰），第三章（古绍彬、李西波、刘开永、孙晓菲），第四章（侯玉泽、秦翠丽、赵启美），第五章（李市场、赵君峰、秦翠丽），第六章（李市场、李西波、汪伦记），第七章（汪伦记、何佳、秦翠丽），第八章（李西波、赵君峰、古绍彬），第九章（刘开永、李爱江、林霖），第十章（赵启美、林霖、张敏），第十一章（李爱江、辛莉、李市场），第十二章（汪伦记、何佳），第十三章（何佳、辛莉），第十四章（刘开永、古绍彬），第十五章（侯玉泽、张敏、辛莉）。本书在编写时参考了大量的文献，在兼顾理论性与实用性的同时，编者力求反映微生物工程的最新进展。由于笔者水平有限，且现代生物技术的发展日新月异，书中疏漏之处，恳请读者批评指正。

作者

2008 年 2 月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 微生物工程的基本概念	1
一、微生物工程的定义	1
二、微生物工程的特点	1
三、微生物工程的研究内容	2
四、微生物工程的产品类型	3
第二节 微生物工程的发展历程	5
一、传统的微生物发酵技术——天然发酵	5
二、近代发酵技术的建立——纯培养技术	5
三、青霉素与好气培养技术——深层培养技术	6
四、人工诱变育种与代谢控制技术	6
五、基因工程与克隆技术	7
六、代谢工程	9
第三节 微生物工程的应用概况	10
一、抗生素发酵	10
二、有机溶剂和有机酸发酵	11
三、氨基酸发酵	12
四、微生物酶制剂发酵	12
五、食品发酵	14
六、生物活性物质的发酵	14
七、单细胞蛋白(SCP)	15
八、基因工程药物	16
九、其他	17
第四节 微生物工程的发展趋势与展望	18
一、利用基因工程等先进技术,人工选育和改良菌种	18
二、采用发酵技术进行高等动植物细胞培养具有诱人的前景	19
三、发酵过程优化与控制	19
四、生物分离新技术	20
五、将生物技术更广泛地用于环境工程	20
第二章 发酵微生物基础	21
第一节 发酵工业常见微生物	21
一、细菌	21

二、放线菌	24
三、酵母菌	26
四、丝状真菌	28
五、噬菌体	30
第二节 微生物的生长发育条件	32
一、微生物的营养类型	32
二、微生物的培养条件	33
第三节 微生物的代谢与调节	36
一、微生物的初级代谢	36
二、微生物的代谢调节	42
三、代谢调控	48
四、微生物的次级代谢与调节	50
五、代谢工程	51
第三章 发酵工业常用设备	58
第一节 生物反应器	58
一、嫌气发酵设备	58
二、通风发酵设备	61
第二节 发酵工业辅助设备	68
一、空气除菌设备	69
二、培养基灭菌设备	72
第三节 过滤与离心分离设备	75
一、过滤设备	75
二、离心分离设备	79
第四节 膜分离技术与设备	81
一、反渗透膜设备	81
二、纳滤膜分离技术与设备	86
第五节 离子交换设备	88
一、间歇式离子交换设备	88
二、半连续移动床式离子交换设备	91
三、连续式离子交换设备	92
四、离子交换膜与电渗析	94
第六节 蒸发设备	96
一、循环型蒸发器	97
二、单程型蒸发器	99
三、直接接触传热的蒸发器	101
四、蒸发器的选型	101
第七节 结晶设备	103
一、冷却结晶器	103
二、蒸发结晶器	104

121	三、真空式结晶器	105
5	第八节 干燥设备	106
521	一、气流干燥流程与设备	106
122	二、气流喷雾干燥设备	108
921	三、离心喷雾干燥设备	110
153	四、单层卧式多室的沸腾干燥设备	114
171	五、沸腾造粒干燥设备	115
	第四章 菌种	118
	第一节 菌种的来源	118
181	一、对工业生产用微生物的基本要求	118
281	二、制定筛选方案时的注意事项	118
781	三、选择性压力在微生物筛选中的使用	119
781	四、纯种分离技术	122
8	第二节 菌种选育	122
181	一、自然选育	123
981	二、诱变育种	124
181	三、原生质体融合育种	130
	四、基因工程	132
	第三节 菌种保藏	133
191	一、斜面冰箱保藏法	134
191	二、沙土管保藏法	134
191	三、液体石蜡保藏法	134
591	四、真空冷冻干燥法	135
591	五、液氮保藏法	135
801	六、国内外主要菌种保藏机构	135
8	第四节 培养基	136
991	一、培养基的成分	137
991	二、培养基的配制原则和类型	140
002	三、培养基配制的原则及注意事项	143
5	第五节 菌种的扩大培养	144
503	一、实验室种子制备	144
503	二、车间种子制备	146
703	三、种子质量的控制	147
703	四、几类微生物发酵时种子扩大培养的方法	147
	第五章 发酵工艺控制	149
8	第一节 发酵过程的检测	149
153	一、检测的意义	149
253	二、发酵过程检测的内容、方法和主要作用	149

201	三、发酵过程参数监测的现状与展望	151
8	第二节 发酵过程的控制	152
100	一、发酵过程的代谢变化规律	152
801	二、发酵过程的代谢调控	155
011	三、发酵工艺条件的调控	159
411	四、发酵工艺的最优化控制	173
2	第三节 灭菌	174
811	一、灭菌的方法	174
111	二、培养基的灭菌	178
811	三、空气的除菌	181
811	四、防止杂菌污染的要点	183
8	第四节 发酵生产过程中的无菌检查与染菌的处理	185
011	一、无菌检查	185
121	二、杂菌污染途径及预防	187
121	三、染菌的处理	188
8	第五节 发酵生产过程中噬菌体的污染与防治	189
121	一、发酵生产过程中噬菌体的污染	189
130	二、发酵生产过程中污染噬菌体的处理	189
561	第六章 发酵后处理	191
1	第一节 概论	191
121	一、下游工程在发酵工程及生物工程中的地位	191
121	二、传统发酵产品和基因工程产品回收方法的比较	191
121	三、发酵工程中下游加工过程的特点	192
121	四、下游加工过程的一般流程和单元操作	192
121	五、发酵工程下游加工过程的发展趋向	198
8	第二节 发酵液的预处理	198
121	一、高价无机离子的去除方法	199
140	二、杂蛋白的除去方法	199
141	三、菌体、细胞和细胞碎片的去除	200
1	第三节 发酵产物的分离	202
141	一、胞外产物的分离	203
041	二、胞内产物的分离	203
1	第四节 发酵产物的初步纯化(提取)	205
141	一、沉淀法	205
041	二、溶剂萃取法	211
041	三、离子交换法	213
041	四、吸附法	218
0	第五节 发酵产物的进一步纯化(精制)	221
041	一、膜分离法	222

二、色谱法	224
三、离心法	227
四、结晶法	230
第六节 发酵工业的“三废”处理	234
一、发酵工业“三废”的性质	234
二、污水处理概述	235
三、好气生化处理技术	237
四、厌气生化处理技术	239
第七章 酒类	240
第一节 啤酒	240
一、概述	240
二、原料	240
三、麦芽制备	241
四、麦芽汁制备	242
五、啤酒发酵	244
六、成品啤酒	246
第二节 葡萄酒	247
一、概述	247
二、酿酒用葡萄品种	247
三、葡萄酒酵母	248
四、发酵前的准备工作	248
五、红葡萄酒生产工艺	249
六、白葡萄酒生产工艺	250
七、苹果酸—乳酸发酵	252
八、葡萄酒贮藏期间的管理	252
第三节 白酒	253
一、概述	253
二、大曲酒生产工艺	254
三、小曲酒生产	256
四、麸曲白酒生产	256
五、液态法白酒生产	257
六、低度白酒生产工艺	257
七、大曲白酒的老熟、勾兑和调味	258
第四节 黄酒	259
一、概述	259
二、黄酒酿造原料	260
三、糖化发酵剂及酒母	260
四、黄酒的发酵生产	264
五、成品酒	268

第八章 酶制剂	270
第一节 总论	270
一、酶制剂的概述	270
二、酶制剂发酵用微生物	271
三、酶合成的调节机制	272
四、酶制剂的发酵方法	273
五、微生物酶生产的培养基	275
六、发酵条件对产酶的影响	276
七、酶制剂的工业提取法	277
八、酶的精制	278
九、固定化酶	278
第二节 主要酶制剂工业生产技术	280
一、蛋白酶	280
二、糖酶	283
三、脂肪酶	289
第三节 新酶的研究与开发	289
一、自然酶的开发	290
二、核酸类酶的研究与开发	290
三、抗体酶的研究与开发	290
四、端粒酶的研究与开发	291
第四节 我国酶制剂工业存在的主要问题和对策	291
一、我国酶制剂工业存在的主要问题	291
二、我国酶制剂工业的发展对策	292
第九章 抗生素	294
第一节 总论	294
一、抗生素概述	294
二、抗生素的分类	294
三、抗生素的作用机制	295
四、微生物的耐药性	296
五、抗生素生产的工艺过程	297
第二节 主要抗生素工业生产技术	301
一、青霉素的生产	301
二、链霉素生产	304
三、四环类抗生素生产	306
四、半合成抗生素	307
第三节 抗生素的发展方向	308
一、新抗生素的筛选	308
二、商品抗生素的改造	308

三、抗生素的广义化	308
四、酶抑制剂的突起	309
五、传统工艺的改进	309
第四节 抗生素应用	309
一、抗生素在医疗上的应用	309
二、抗生素在农业上的应用	310
三、抗生素在畜牧业上的应用	310
四、抗生素在食品保藏方面的应用	311
五、抗生素在其他方面的应用	311
第十章 氨基酸	312
第一节 味精	312
一、味精的安全性和质量标准	312
二、味精的生产工艺流程	313
三、谷氨酸的生物合成	313
四、国内常用的谷氨酸生产菌株	313
五、谷氨酸发酵原料	314
六、培养基的配制	317
七、种子扩大培养和谷氨酸发酵	318
八、谷氨酸的提取方法	320
九、谷氨酸制味精	323
第二节 赖氨酸	325
一、赖氨酸的发酵控制	325
二、赖氨酸的提取与精制	326
第三节 其他氨基酸	326
第四节 氨基酸发酵机制和代谢控制	327
一、控制细胞渗透性,降低终产物在胞内的浓度	327
二、解除各种反馈抑制和阻遏,有利于目标氨基酸产量的提高	328
三、通过增加前体物的合成,有利于目的氨基酸的大量积累	329
四、通过对氮代谢的调节,切断目标氨基酸的被分解利用	329
五、通过基因工程技术,构建理想的工程菌株	329
六、控制发酵过程的环境条件,最终实现高产目标	330
第五节 氨基酸的用途及发展趋势	330
一、氨基酸的用途	330
二、氨基酸的工业现状和动态	331
三、氨基酸工业发展趋势	332
第十一章 有机酸	334
第一节 柠檬酸	334
一、柠檬酸发酵用微生物	334

80E	二、柠檬酸发酵机理	335
90E	三、柠檬酸发酵原料及其处理	337
90E	四、柠檬酸发酵	339
90E	五、柠檬酸的提取	344
00	第二节 乳酸	347
01E	一、产生菌	348
01E	二、乳酸发酵	348
11E	三、乳酸的提取	348
11	第三节 苹果酸	349
11E	一、产生菌	350
31E	二、苹果酸发酵工艺	350
31E	三、苹果酸的提取与精制	351
51	第四节 有机酸的应用	351
81E	一、在食品工业中的应用	351
81E	二、在医药中的应用	351
81E	三、在化学工业上的应用	351
41E	四、在畜禽养殖中的应用	352
71E	第十二章 单细胞蛋白质	353
01	第一节 概述	353
81	第二节 SCP 微生物的种类	354
25E	第三节 生产 SCP 的原料	355
25	第四节 SCP 生产工艺	355
05E	一、利用纤维素废料生产 SCP	356
05E	二、利用石油产品生产 SCP	356
75E	三、SCP 中蛋白质的提取和核酸分离	358
75	第五节 单细胞蛋白饲料	359
85E	一、酒糟生物蛋白饲料	360
05E	二、玉米秸秆生物蛋白饲料	360
05E	三、甜高粱生物蛋白饲料	360
05E	四、藻体饲料	361
00E	五、单细胞蛋白饲料的安全性问题及解决途径	361
00E	第十三章 微生物农药和微生物肥料	363
1E	第一节 微生物农药	363
35E	一、苏云金杆菌制剂	364
4EE	二、白僵菌菌剂	366
4EE	三、病毒杀虫剂	367
4EE	四、重组微生物杀虫剂	367
4EE	五、微生物杀虫剂的现状和研究任务	368

第二节 微生物肥料	368
一、概述	368
二、根瘤菌肥料	369
三、固氮菌肥料	370
四、解磷菌类肥料	371
五、解钾菌肥料	372
六、复合微生物肥料	373
七、微生物肥料的质量标准	373
八、微生物肥料研究优势和存在问题与展望	374
第十四章 食用、药用菌的发酵生产	376
第一节 概述	376
一、食用价值	376
二、药用价值	377
第二节 固体发酵	378
一、固体发酵生产的特点	378
二、发酵培养基的选择	379
三、固体发酵生产的控制	379
四、几种药用菌的固体发酵生产工艺	380
第三节 液体发酵	382
一、液体发酵的用途	382
二、几种食用、药用菌的液体发酵生产工艺	383
第十五章 发酵食品	386
第一节 酱油	386
一、原料	386
二、酱油生产的微生物	388
三、酱油生产的基本原理	389
四、原料处理	390
五、种曲制备	391
六、制曲	393
七、发酵	394
八、提取与后处理	395
第二节 食醋	396
一、制醋原料	397
二、食醋酿造的微生物	397
三、食醋生产基本原理	398
四、糖化发酵剂制备	398
五、固态法食醋生产工艺	400
六、半固态法食醋生产工艺	401

378	第三节 腐乳	402
379	一、腐乳的分类	402
380	二、腐乳生产原料	403
381	三、腐乳生产的微生物	404
382	四、腐乳生产工艺类型及特点	404
383	五、豆腐坯生产工艺	405
384	六、腐乳发酵工艺	406
385	参考文献	409

第一章 绪 论

21 世纪生物技术成为带动人类社会经济发展的关键技术之一，其中微生物的生物技术由于其发展迅速，给人类带来巨大经济利益和重要影响。以往是用发酵技术一词来描述微生物技术，随着微生物技术快速发展，微生物技术已走出了曾给其带来里程碑转折发展的发酵罐时期，广泛用于发酵罐以外形式的环境保护、细菌冶金、细菌勘探和能源开发等领域，特别是基因工程菌的大量产生和使用。

第一节 微生物工程的基本概念

一、微生物工程的定义

微生物工程是生物技术的基础和重要组成部分，是生物技术产业化的重要环节。它将生物学、生物化学、化学工程的基本原理有机地结合起来，是一门利用微生物的生命活动来生产人们所需的有用物质的工程技术。

微生物工程的主体是利用微生物生长代谢活动产生的各种生理活性物质来生产商业产品。这项工程需要微生物学、生物化学、化学工程学等多门学科共同营建。面对 21 世纪市场经济发展的大潮，需要有更多交叉学科知识的人才来参与到微生物工程的研究、开发、生产等环节。因而微生物工程已成为微生物学、生物化学和化学工程学等多学科密切相关的交叉性学科。

由于它是在酵母发酵生产饮料酒的基础上发展起来的，所以又称为发酵工程。随着微生物资源的利用逐渐扩大，除酿酒外，目前利用微生物生产的各种生物产品已达数千种。

二、微生物工程的特点

微生物工程的一般特点如下：

① 微生物在自然界中分布很广，种类繁多。人们可有目的地从自然界中筛选有用的微生物菌种，并可通过物理和化学诱变、细胞融合和基因重组等育种技术获得高产菌株。从分子生物学的观点看，微生物的基因组相对较小，调控系统相对简单，进行基因操作比动、植物要容易得多。例如，最初从微生物生产青霉素时，其产率不到 0.01%，经过人们的不断改造，今天已达 5% 以上，产率提高了 500 多倍。

② 微生物反应过程以生命体的自动调节方式进行，数十个生化反应过程能通过单一微生物的代谢活动来完成，因而所需产品可在单一发酵设备中一次合成。

③ 微生物能利用简单的物质合成复杂的高分子化合物。酶制剂、活性蛋白、活性肽和多糖等生物产品的生产是微生物工业最有发展前景的领域。

④ 由于生命体特有的反应机制，微生物能高度选择性地复杂化合物的特定部位进行

氧化、还原、官能团导入等转化反应，从而获得某些具有重大经济价值的物质。

⑤ 生产所用的原料通常以淀粉、糖蜜等碳水化合物为主，其中还含有包括一定的有机或无机氯源和少量无机盐。只要不含有毒物质，料一般没有精制的必要，微生物本身能有选择地摄取其中所需的有用物质。因此，微生物工程所用原料来源广泛，其中包括各种农副产品及食品、制糖、造纸等工业的废水和废料。

与化学工程相比，微生物工程的特点为：

① 作为生物化学反应，通常在常温常压下进行，设备一般不必考虑防爆问题。

② 微生物发酵过程需防止杂菌污染，生产过程所需的设备、培养基和空气都需进行严格的无菌处理，一旦杂菌入侵就有可能导致发酵生产的失败。

③ 微生物发酵液成分较复杂，大多为非牛顿流体，其产品分离与纯化过程比化学反应过程产品复杂得多。

④ 制造发酵产物的微生物菌体也是发酵产物，微生物细胞富含蛋白质、核酸、维生素等有用物质。微生物发酵液一般不含对生物体有害的物质。

与生物工程的其他技术相比，微生物工程的特点为：

① 微生物的来源广、价格低，而且可以再生，但发酵液中含有一定副产物，给产品提取与纯化带来困难。

② 与动、植物细胞培养比较，微生物培养具有生长速度快、营养要求简单、对环境条件要求较低等特点。正因为如此，利用转基因微生物生产动、植物细胞产品已成为当前生物工程领域的研究热点。

三、微生物工程的研究内容

无论什么类型的发酵，无论生产什么产品，其基本流程是相似的。图 1-1 所示为典型微生物发酵过程示意图。

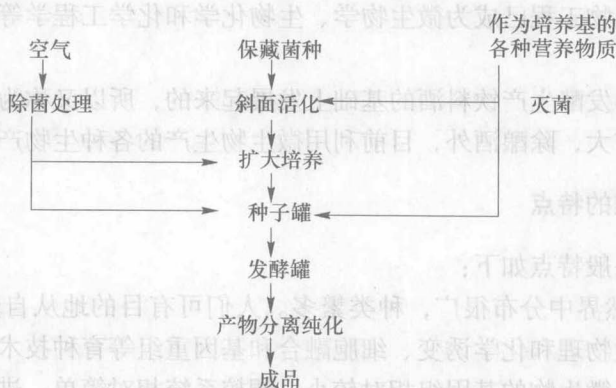


图 1-1 好氧发酵工艺

主要有六个基本组成部分。

① 培养基制备：包括原料的选样，必要的物理、化学方法加工（除杂、粉碎、蒸煮、水解、固液分离等），培养基的配制和灭菌等。

② 无菌空气的制备：氧在发酵培养基中的溶解度是很低的，其饱和溶氧浓度一般不超过 $6 \sim 8 \text{g/m}^3$ ，而整个好氧发酵过程中的需氧量达 $10 \sim 100 \text{g/m}^3$ ，是饱和溶氧浓度的几千倍至上万倍。因此，好氧发酵过程中必须源源不断地通入无菌空气。