

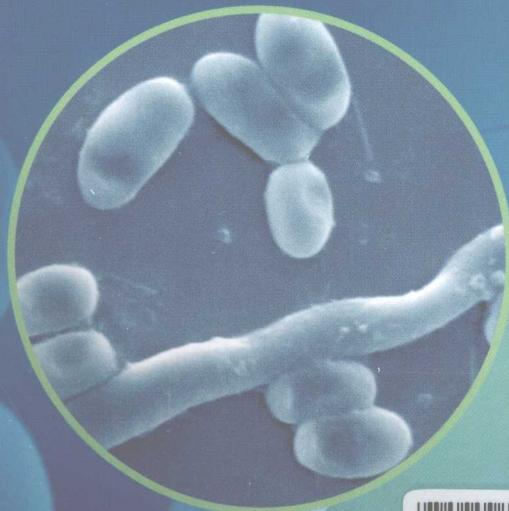
案例版

生物工程系列规划教材



发酵工程

许赣荣 胡鹏刚 主编



NLIC2970874118



科学出版社

“案例版”生物工程系列规划教材

发 酵 工 程

许赣荣 胡鹏刚 主编



NLIC2970874118

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书突出典型案例与理论教学相结合的特色,理念创新,实用性强。全书以发酵工程学科的“中游”工程技术为主线,内容涵盖发酵生产原料及预处理、微生物育种及细胞培养、微生物发酵动力学、发酵过程的管理及监控、好氧发酵技术、厌氧发酵技术、发酵过程的优化、发酵和分离的耦合技术及发酵工程节能减排。在重点介绍液态发酵技术的同时,也相应增加了固态发酵技术的内容。

本书适合高等院校生物工程专业(或发酵工程专业、生物化工专业)的本科生使用,也适合从事发酵工程的技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

发酵工程/许赣荣,胡鹏刚主编. —北京:科学出版社,2013

“案例版”生物工程系列规划教材

ISBN 978-7-03-036737-2

I. ①发… II. ①许…②胡… III. ①发酵工程·高等学校·教材
IV. ①TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 033925 号

责任编辑:席慧 韩书云 / 责任校对:郑金红

责任印制:阎磊 / 封面设计:迷底书装

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮 政 编 码: 100717

<http://www.sciencep.com>

化 学 工 业 出 版 社 印 刷 厂 印 刷

科 学 出 版 社 发 行 各 地 新 华 书 店 经 销

*

2013 年 3 月第 一 版 开 本: 787×1092 1/16

2013 年 3 月第一次印刷 印 张: 20

字 数: 509 000

定 价: 39.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《发酵工程》编委会名单

主编 许赣荣 胡鹏刚

编委 (以姓氏汉语拼音为序)

胡鹏刚 (贵州大学)

李 艳 (河北科技大学)

刘 龙 (江南大学)

王中康 (重庆大学)

许赣荣 (江南大学)

张薄博 (江南大学)

张建国 (西南科技大学)

周世水 (华南理工大学)

前　　言

自改革开放以来，中国的发酵工业逐渐成为世界同行业中生产规模最大、发酵产品最齐全、部分产品生产水平最高的行业。同时，全国各高等院校中开设的生物工程专业、发酵工程专业也如雨后春笋般涌现。这两个基本事实导致对“发酵工程”（或“发酵工程原理与技术”）这一专业课程教材的需求量猛增。

“发酵工程”这一课程在生物工程专业（或发酵工程专业）课程体系中，应是一座联系生物化学、微生物学、化学工程等专业理论课程与工程实践、产品工艺学课程的桥梁。在高等教育大众化的社会背景下，在各高校专业课程数增加但课时数缩减的情况下，教材内容必须精简并且不断推陈出新。科学出版社提出了“案例版”生物工程系列规划教材的编写设想，这正符合新形势下对教材的要求。应当说，发酵行业在国民经济中分布很广，发酵产品种类繁多，有关的案例比比皆是，但如何将理论知识和案例有机结合，使理论知识成为案例的指导，并使案例成为学生深入理解理论知识的工具，这需要深思熟虑、精心编写。

本书由江南大学许赣荣及贵州大学胡鹏刚主编。全书共分为十章，编写的具体分工为：江南大学许赣荣编写第一章，并参与了第二至四章、第六章部分内容的编写；贵州大学胡鹏刚编写第五章、第十章，并参与了第四章、第七章部分内容的编写；重庆大学王中康主要负责第三章的编写，并参与了第二章部分内容的编写；江南大学刘龙和张薄博分别编写了第八章和第九章；华南理工大学周世水参与了第四章、第七章部分内容的编写；河北科技大学李艳参与了第二章部分内容的编写；西南科技大学张建国参与了第六章部分内容的编写。各章节以发酵工程原理和技术为主线，穿插了典型案例，并加以剖析。本书的编写得到科学出版社、江南大学、重庆大学有关领导及专家的支持，在此特表感谢。

为了在本书中体现“案例”这一特色，各章节编者尽心尽力，但发酵工程在最近几十年来发展极快，由于我们的理论水平和实践经验欠缺，尤其是到发酵工厂第一线搜集的资料有限，书中难免有不足之处。在案例这一特色方面，我们虽然做了一些尝试，但深知做得还很不够，不足之处敬请读者批评指正。

编　　者

2012年12月8日

目 录

前言

第一章 绪论	1
第一节 工业发酵的类别	1
一、发酵工程及生物工程定义	1
二、发酵方法分类	3
三、通风类液态发酵和固态发酵的比较	5
第二节 发酵产品及其发酵方法	7
第三节 发酵工厂与生产基本流程	9
一、发酵工厂的组成	9
二、发酵工厂的生产流程	11
三、发酵过程的主要单元操作	12
第四节 生物反应器概览	17
一、液态发酵生物反应器	18
二、固态发酵生物反应器	19
第五节 发酵工程的历史沿革与进展	22
一、国内外发酵工业简史及现状	22
二、发酵工业的展望	23
本章小结	24
思考题	24
主要参考文献	24
第二章 生产原料及预处理	25
第一节 微生物的营养需求及原料	25
一、微生物的营养需求	25
二、微生物的营养要素及其功能	25
三、发酵培养基的主要原料	28
四、原料的预处理方法	30
五、淀粉质原料液化、糖化原理及技术	31
第二节 培养基配制原理	33
一、微生物营养类型	33
二、微生物培养基类型	33
三、选用和设计培养基的原则和方法	36
第三节 发酵培养基灭菌原理及技术	37

一、培养基灭菌的要求	37
二、无蒸煮技术	45
三、原料蒸煮技术	46
四、液态培养基的高温高压灭菌（间歇灭菌和连续灭菌）	51
五、热敏性原料的灭菌方法	54
第四节 空气净化及无菌空气制备技术	54
一、空气净化的意义及应用	54
二、空气过滤除菌原理	56
三、通风类发酵工厂无菌空气制备系统	58
四、洁净厂房的空气净化系统	63
本章小结	65
思考题	65
主要参考文献	66
第三章 微生物育种及细胞培养	67
第一节 微生物的分离、培养及检测	67
一、微生物的接种、分离与纯化	67
二、生物量检测方法	68
三、微生物菌种保藏法	71
第二节 微生物育种技术	73
一、诱变育种	73
二、杂交育种与原生质体融合育种	76
三、基因工程育种	76
第三节 微生物扩大培养技术	77
一、影响微生物生长的因素	77
二、种子扩大培养的基本过程和方法	78
三、液态种子的扩大培养技术	79
四、固态种子的扩大培养技术	80
五、真菌孢子的扩大培养技术	83
第四节 微生物生态学与混菌发酵	85
一、微生物生态学	85
二、混菌发酵	91
第五节 动物、植物细胞培养	93
一、动物细胞培养	93
二、植物细胞培养	102
三、微生物细胞和动物、植物细胞培养的区别	106
本章小结	108
思考题	108

主要参考文献.....	108
第四章 微生物发酵动力学.....	109
第一节 物料平衡.....	109
一、得率系数和比速率	109
二、物料平衡的计算	111
三、物料平衡计算案例	118
第二节 热量平衡.....	121
一、发酵过程的热量计算	121
二、热量平衡计算案例	124
第三节 微生物发酵反应动力学.....	127
一、概述	127
二、分批发酵法	128
三、连续发酵法	134
四、补料分批发酵	139
本章小结.....	144
思考题.....	144
主要参考文献.....	144
第五章 发酵过程的管理及监控.....	145
第一节 发酵过程的监测及控制.....	145
一、发酵工厂常规检测及控制项目	145
二、液态发酵检测与控制	147
三、固态发酵检测与控制	152
四、生物传感器的在线检测	154
第二节 发酵过程杂菌污染防止和控制技术.....	160
一、发酵染菌及其原因分析	160
二、染菌的检查和判断	161
第三节 消泡及消泡方法的选择.....	162
一、泡沫的形成及其对发酵的影响	162
二、泡沫的控制方法	162
第四节 发酵的自动控制.....	164
一、发酵自动控制原理	165
二、发酵自动控制系统的硬件结构	167
第五节 发酵过程的监测及控制典型案例.....	170
一、氨基酸发酵防止噬菌体污染技术	170
二、纯生啤酒生产过程的防止污染控制技术	173
三、啤酒生产自动控制系统	175
本章小结.....	181

思考题	181
主要参考文献	182
第六章 好氧发酵技术	183
第一节 微生物的需氧及溶氧	183
一、溶解氧基本概念	183
二、微生物耗氧	184
第二节 发酵过程的氧传递	185
一、氧的传递途径与传质阻力	185
二、气液相间氧传递的双膜理论	186
第三节 影响供氧的因素及改善供氧条件的措施	188
一、影响推动力 ($c^* - c_L$) 的因素	188
二、影响液膜传递系数 K_L 的因素	189
三、影响气液比表面积 α 的因素	189
四、影响体积溶氧传递系数 $K_{L\alpha}$ 的因素	189
五、改善供氧条件的措施	192
第四节 溶解氧的测定	194
一、溶解氧的表示方法及测定方法	194
二、菌体耗氧速率 r 及体积溶氧传递系数 $K_{L\alpha}$ 的测定	197
第五节 固态发酵通风与搅拌技术	198
一、固态发酵的通风	198
二、固态发酵的搅拌 (翻料)	202
三、固态发酵通风与搅拌的类型	204
第六节 好氧发酵技术的典型案例	210
一、高密度液态发酵的溶氧控制及流加技术	210
二、氧气消耗量与微生物菌体生长的定量关系	212
本章小结	212
思考题	213
主要参考文献	213
第七章 厌氧发酵技术	214
第一节 厌氧发酵技术概述	214
一、厌氧发酵技术基本理论	214
二、厌氧发酵的主要应用领域	216
三、厌氧发酵反应器	217
第二节 液态厌氧发酵	219
一、液态厌氧发酵的主要应用领域	219
二、燃料乙醇发酵	219
第三节 固态厌氧发酵	222

一、固态(法)厌氧发酵的主要应用领域	222
第四节 半固态厌氧发酵.....	226
一、沼气发酵综述	226
二、沼气发酵的影响因素	229
三、提高出气率的措施与应用	231
本章小结.....	232
思考题.....	232
主要参考文献.....	232
第八章 发酵过程的优化.....	233
第一节 发酵过程优化概述.....	233
一、发酵过程的特征	233
二、发酵过程优化的研究内容	234
三、用于发酵过程控制和优化的各类数学模型	236
四、基于过程动力学模型的发酵过程优化	238
第二节 神经网络.....	242
一、神经网络发展史	242
二、神经细胞和神经网络结构模型	243
三、神经网络的互连模式	245
四、神经网络的特性及实现	246
五、人工神经网络的误差逆向传播学习算法简介	247
六、人工神经网络在发酵过程中的应用	248
第三节 细胞代谢流分布.....	252
一、代谢通量分析的基本理论	253
二、代谢通量分析的案例分析	255
三、代谢通量的测定方法	262
四、基于代谢流量分析的 L-谷氨酸发酵过程优化	263
本章小结.....	266
思考题.....	266
主要参考文献.....	267
第九章 发酵和分离的耦合技术.....	268
第一节 发酵和分离的耦合技术概述.....	268
一、生物反应-分离耦合过程的定义及其特征	268
二、生物反应-分离耦合过程的种类及分离技术的选择依据	268
三、生物反应-分离耦合过程的研究现状	269
四、生物反应-分离耦合过程的发展趋势	270
第二节 透析培养.....	270
一、透析培养的研究历史	270

二、透析培养的原理和技术	271
三、透析培养的应用案例	273
第三节 膜分离和培养耦合.....	275
一、引言	275
二、基本概念和原理	276
三、膜分离和发酵耦合的应用案例.....	278
第四节 发酵与蒸馏耦合.....	283
一、基本概念和原理	283
二、发酵与蒸馏耦合的应用案例	286
第五节 萃取发酵.....	289
一、基本概念和原理	289
二、超临界流体萃取发酵的应用案例	292
第六节 吸附培养.....	295
一、原理	295
二、吸附培养的案例及分析	299
本章小结.....	302
思考题.....	302
主要参考文献.....	302
第十章 发酵工程节能减排.....	304
第一节 发酵工程节能减排的技术措施.....	304
一、概述	304
二、节能措施	305
三、减排措施	306
第二节 啤酒厂生产用水及热量回收案例.....	307
一、啤酒厂生产用水及回收	307
二、热能的节约与回收	308
本章小结.....	310
思考题.....	310
主要参考文献.....	310

第一章 絮 论

第一节 工业发酵的类别

一、发酵工程及生物工程定义

1. 发酵工程的定义与特点

(1) 发酵工程的定义 在中国古代，“酵”的本义是酿酒用的酒曲或酒母；发酵，是指酒醅在酒曲或酒母中微生物的无氧呼吸作用下，降解糖产生二氧化碳，气泡上涌的现象。

生物化学领域的发酵是指生物的一种产能代谢类型，这一代谢过程包括以有机化合物为电子给体和电子受体的一系列氧化还原反应，同时发生各种物质的转化。发酵可理解为“微生物细胞为获取生长和生存所需能量而进行的氧化还原反应”。

千百年来，发酵的应用领域不断扩大，发酵产品种类日益增多，发酵的含义不断延伸，日趋丰富。微生物发酵是指微生物在一定的条件下，经特定的代谢途径，将物质转化为代谢产物及菌体的过程。广义上，发酵这一概念及技术也应用到植物细胞和动物细胞的培养及代谢产物的生产过程。

发酵工程 (fermentation engineering)，又称微生物工程，是通过大规模工业化生产的方法，人为控制各项条件，利用微生物的生长和代谢活动来获取人们所需的物质，或者为人类提供服务的技术过程。因此，发酵工程是生物学和化学工程相互交叉的学科。

发酵工程，本应包括利用微生物发酵生产产品的全过程，包括“上游”、“中游”、“下游”3个阶段。“上游”工程是指微生物菌种的筛选、鉴定、保藏和育种；“中游”工程涵盖从生产原料到发酵结束这一阶段，包括生产原料的预处理（含无菌空气的制备和水的预处理），菌种的扩大培养和大规模培养，发酵方法及发酵过程控制等；“下游”工程是指发酵产品的分离纯化，得到最终成品，还包括发酵副产品的综合利用。为避免与本系列丛书其他教材内容重复，本书的内容定在发酵“中游”工程这一范围内。

(2) 发酵法的特点 以谷物类等为原料，经微生物发酵法生产各种高附加值的产品，从本质上说，属于化学反应，具有以下特点。

与一般的化工生产相比，微生物发酵法在比较温和的条件下进行。微生物发酵温度较低，压力不高，pH在中性左右。故无需耐高温和高压设备，设备投资较小。

发酵反应是在微生物自行调控下由酶催化的生物代谢反应，许多发酵产物正是代谢途径中的中间产物；有些结构复杂的产物通过化学合成法无法轻易得到，但可通过微生物发酵生物合成得到；发酵法的缺点是有些产物的生物合成路径长，副产物多，反应时间长。

发酵法可利用廉价的可再生资源生产高附加值的产品，但缺点是目前发酵法占用宝贵的粮食资源，与民争食。因此，利用可再生的非粮食原料作为发酵原料值得大力开发。

发酵产物浓度一般不高，生产过程中出现大量的副产物（废水、废渣和废气），故需要复杂的提炼设备并消耗大量的能源。副产物有可能成为环境污染源，回收发酵副产物，需要加大投资并消耗能源。

2. 发酵工程与生物工程的相互关系

生物工程是现代学科分类中的一级学科，在该学科下，分为基因工程、蛋白质工程、酶工程、细胞工程、发酵工程。但在历史上，发酵工程这一名称更为悠久，其内涵非常丰富，是发酵工程孕育了生物工程。发酵工程经历了从传统发酵工程（以发酵食品为主）到近代、现代发酵工程（发酵食品、化工产品、医药产品和农用产品），再到生物工程的过渡。

发酵工程是生物工程（bioengineering，或者称为生物技术，biotechnology）的重要组成部分。生物工程的组成如图 1-1 所示，它们之间的相互关系如图 1-2 所示。

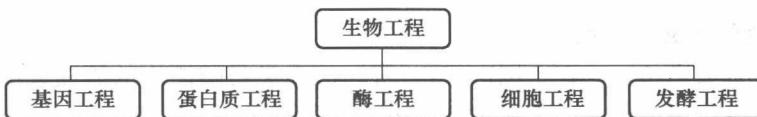


图 1-1 生物工程的组成

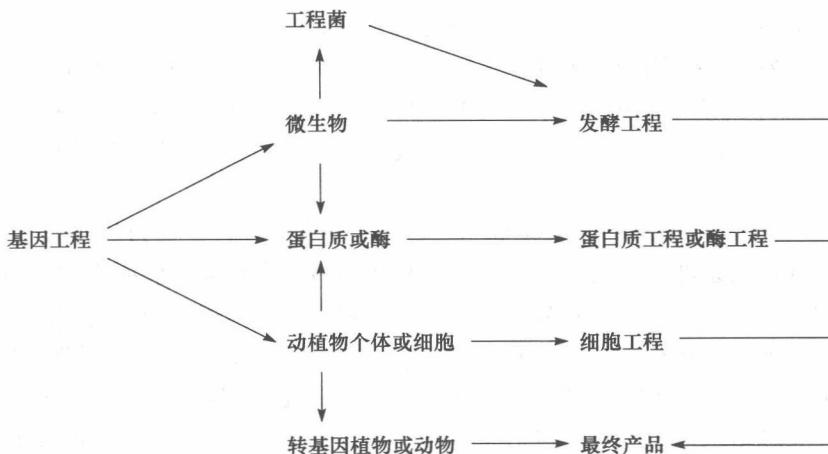


图 1-2 生物工程的组成及相互关系

发酵工程是连接生物体和生物工程产品的桥梁，是生物工程技术产业化的重要环节。

“生物化工”这一概念，在内涵上与“发酵工程”有一定的重叠，但也有一定的区别。本质上来说，发酵过程中所涉及的生物化学反应都属于化学反应。化学反应需要催化剂以加快反应速率，通过酶或通过化学催化剂均可达到加快反应速度的目的。有些采用化学催化剂才能得到的化合物，现在也可通过生物催化合成；有些化工产品的传统工艺，也可以通过生物反应而改变。近、现代发酵工程大量采用了化学工程原理、设备和单元操作技术，从而实现了发酵产品的工业化生产。从这些角度看，发酵工程和生物化工是相同的。生物化工也可认为是化学工业的一个分支。在廉价石油时代，人们曾试图用石油和天然气等石化原料生产

各种发酵产品（当时研究最多的是用石油为原料生产菌体蛋白质等）。在不可再生的化石资源日益枯竭的当代，人们希望发酵工程生产更多的产品或提供更多的服务来满足社会需要。故当代生物化工的一个研究重点是利用可再生资源来大规模生产原先以石油为原料并通过化学工艺才能得到的各种大宗化工原料。

生物技术，按其应用领域可分为医药生物技术、农业生物技术、工业生物技术、能源生物技术。这些领域大部分产品的生产，都直接或间接地要通过发酵工程来实现。因此发酵工程是生物科学技术与应用之间的桥梁，是生物技术产业化的重要工程技术。

二、发酵方法分类

发酵方法可根据所采用的微生物好氧与否、发酵物料的状态、发酵操作方式和通风搅拌方式等进行分类，详见表 1-1。

表 1-1 发酵方法的分类

根据发酵物料状态	液态发酵 (liquid fermentation)		固态发酵 (solid-state fermentation)	
根据微生物好氧与厌氧	好氧发酵 (aerobic fermentation)		厌氧发酵 (anaerobic fermentation)	
根据通风 (aeration)	液态通风	固态通风	无通风 (液态或固态厌氧发酵)	
根据物料的混合方式 (agitation or stir)	① 浅盘发酵; ② 机械搅拌; ③ 自吸式; ④ 气升式	① 非强制通风, 无搅拌: 浅盘; ② 非强制通风, 搅拌: 转鼓式和 转轴式; ③ 强制通风, 搅拌: 厚层通风 池、圆盘制曲机; ④ 强制通风无搅拌: 填料床; ⑤ 气相双动脉压力	地窑式密闭, 无搅 拌	堆积密闭, 无搅 拌
根据发酵操作方式	分批发酵 (batch fermentation)	补料分批发酵 (fed-batch fer- mentation)	连续发酵 (contin- uous fermentation)	培养与分离的耦 合

1. 好氧发酵

好氧发酵是指好氧微生物在与空气（氧气）接触的条件下生长、繁殖，氧化有机物或无机物的产能代谢过程。专性好氧微生物把氧作为最终电子受体，通过有氧呼吸获取能量。为向微生物提供充足的氧气，在发酵过程中需提供大量新鲜空气并搅拌。

2. 厌氧发酵

厌氧发酵（又称嫌气发酵，anaerobic fermentation）是指在隔绝空气的条件下，兼性微生物和专性厌氧微生物生长并进行生物化学作用，对物质进行生化降解的过程。例如，梭状芽孢杆菌引起的丙酮、丁醇发酵，沼气发酵等。对于专性厌氧微生物，氧对其有毒性作用。

3. 兼性厌氧发酵

兼性厌氧发酵 (facultative fermentation) 是利用兼性厌氧微生物进行的发酵。兼性厌氧微生物是指既可在有氧环境，又可在无氧环境中生活的微生物。有的兼性厌氧微生物能耐受环境中的氧，但它们的生长并不需要氧。酵母菌、乳酸菌等属于兼性厌氧微生物。例如，酵母菌在有氧条件下可利用氧快速生长、繁殖，而当环境中缺氧时，可利用葡萄糖厌氧发酵成乙醇。

4. 液态发酵

液态发酵 (liquid fermentation) 是最常见的发酵方式，又分为深层发酵 (submerged fermentation)、表面发酵 (facial fermentation) 和附着培养 (adhesion fermentation)。深层

发酵是在大型发酵罐中进行通风和搅拌，微生物悬浮于液体培养基中，故微生物、培养基营养成分、代谢产物的分布较均匀，过程控制容易，并易实现纯种培养；表面发酵是微生物菌体在培养基表面聚集，并形成菌膜，往往是液态静止培养时（无搅拌、无通风情况下）容易产生这种现象；附着培养是微生物附着在反应器的固体表面生长并进行代谢活动。后两种情况都是好氧微生物所进行的发酵。

5. 固态发酵

固态发酵（solid-state fermentation）过程可定义为微生物在几乎没有游离可流动水的培养基质上的生长过程及生物反应过程。

6. 分批发酵

在分批发酵（batch fermentation）过程中，培养基一次加入反应器，灭菌、接种，细胞经历滞后期、对数生长期、稳定生长期（一般不进入衰亡期）后，一次出料（放罐）。这是最简便、基本的发酵方法，其特点是：整个过程是一个时变过程，细胞浓度、基质浓度、产物浓度都随时间变化，微生物所处环境不断地变化，是不稳定的过程。

7. 补料分批发酵

补料分批发酵（fed-batch fermentation）是指在发酵初期，发酵罐内并不完全加满培养基，当菌体生长到对数生长期后即开始补料。补料的方式各种各样。根据反应器中发酵液体积的变化，分为变体积和恒体积。变体积是流加培养后，发酵液的体积逐步增加，但达到最大体积后，便不再流加；要保持恒体积发酵，则必须在流加培养的同时，排放出等体积的发酵液。

补料方式分为连续流加、不连续流加和多周期流加。每次流加方式又可分为快速流加、恒速流加、指数速率流加、变速流加。在补料分批中又有循环分批补料、循环间歇补料和循环连续补料等操作。在补料分批发酵中，根据反应器数目分类，有单级和多级之分。根据补加的培养基成分来区分，分为单一成分补料和多组分补料。

8. 连续发酵

连续发酵（continuous fermentation）过程分为两个阶段：分批培养阶段，与分批培养操作相同；连续发酵阶段，待细胞达到最适生长条件或最佳产物形成条件时，不断加入新鲜培养基，并排出等量的培养液，这是一种不间断补料的操作方式。当稀释率（通入培养基的流量与反应器操作体积之比）与细胞的比生长速率（单位质量的细胞在单位时间内细胞质量的增长量）相同时，过程即达稳定状态。此时，反应器内和出口培养液中的细胞和残余基质浓度均不再随时间变化。

9. 其他类型的发酵

在实践中还有其他类型的发酵或培养，现简要介绍几种类型。

培养与分离的耦合是在发酵装置中偶联一套分离装置，在发酵过程中不断去除对发酵有害的代谢产物，解除有害代谢产物对发酵的抑制作用；或者将细胞截留并返回到反应器内，使反应器内的细胞浓度不断提高。

混合发酵（mixed fermentation）适用在需要多种微生物的协同作用或微生物本身共栖现象时的发酵。例如，固态发酵白酒的酿造，往往是多种微生物共存、协同作用，使原料中的淀粉和蛋白质降解并生成乙醇等代谢产物；在污水处理过程中，也是多种微生物共同作用，使大分子有机物质逐步分解成乙烷和二氧化碳等物质。在混合发酵中，应注意使培养基和培养条件同时满足多种生物体的需要。

双边发酵 (synchronous mashing and fermentation) 是在白酒传统工艺中, 含淀粉质原料在糖化发酵剂 (酒曲中的霉菌及酶和酵母) 作用下形成乙醇 (酒精) 的过程, 其糖化和发酵作用同时在一起, 而由不同的微生物菌株交叉进行。

在通常的分批培养中, 细胞的分裂往往不能做到同步而使细胞处于不同生长阶段。若上述情况对最后产物的质量或形成有影响时, 最好采用同步培养 (synchronous cultivation)。芽孢杆菌可通过加温杀死其营养菌体而保留其芽孢, 然后使其同步萌芽。对一般细胞而言, 可采用阶段性降温培养使其不分裂但缓慢进行生长, 当恢复正常温度时, 大多细胞即可同时进行分裂。

灌注培养 (perfusion cultivation) 是指在分批培养过程的中后期不断注入新鲜培养基, 并以同样的流量排出废培养基, 但将细胞截留在反应器中。它与连续培养不同之处在于后者排出的培养液中包含着细胞而前者仅是废培养基。细胞的截留可借出口处的过滤或重力沉降装置来实现。由于这种培养法可以不断灌注新鲜培养基, 并可排出可能存在的有害代谢产物, 可以大大延长培养周期。这种培养法特别适用于细胞倍增时间长的动、植物细胞。

三、通风类液态发酵和固态发酵的比较

从发酵培养基含水量来看, 液态发酵和固态发酵有明显的差别。机械搅拌通风液态发酵是目前最常见的发酵方式。发酵培养基中水分含量一般在 90% 左右, 而固态发酵培养基中水分含量一般在 50% 以下。但进行更本质的分析可发现, 液态发酵状态可视为物料和微生物 (固相) 与气泡 (气相) 处于一个液相为连续相的环境中, 即发酵体系中气、固、液三相并存, 但以液相为主; 微生物的生长、生物反应、物质和热量的传递主要发生在液相体系中。固态发酵过程可定义为微生物在几乎没有游离可流动水的培养基上的生长过程及生物反应过程。从表面上看, 培养基物料的状态是固态, 但从微观上看, 物料层 (fermenting bed) 同时存在固、液、气 3 种物质状态。其一是固态基质; 其二是与固态基质紧密结合的液态水 (结合水和少量的游离水); 其三是物料颗粒间隙中的气相。在固态发酵的大多数情况下 (如强制通风的填料床式固态发酵、流化床固态发酵), 气流可贯穿物料层, 发酵物料颗粒 (不连续的固相) 可视为是分布于气相为连续相的环境中。固态发酵和液态发酵的物料状态如图 1-3 所示。从图 1-4 的电子显微照片中, 更可体现出固态发酵物料中不连续的固相 (菌丝体) 分布在连续的气相中。

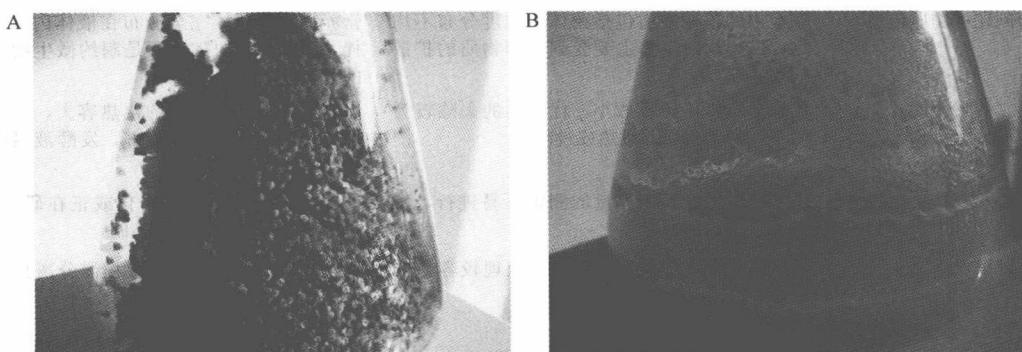


图 1-3 固态发酵 (A) 和液态发酵 (B) 的物料状态

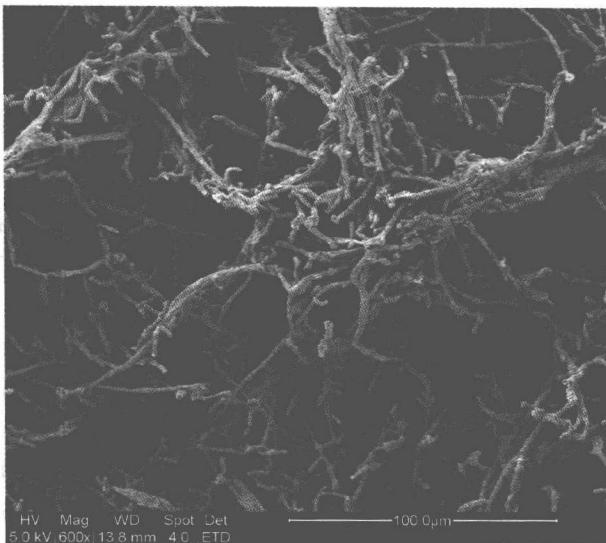


图 1-4 固态发酵菌丝体形成的空间结构显微照片

在液态发酵过程中，菌体及营养物、产物（包括热量）易于扩散，使发酵可在均质或拟均质条件下进行，便于发酵温度的控制，易于扩大生产规模；液体输送方便，易于机械化操作。这都是液态发酵的优点，同时也正是固态发酵的不足之处。固态发酵和液态发酵的比较详见表 1-2。

表 1-2 固态发酵和液态发酵的比较 (Durand, 1988)

项 目	固态发酵	液态发酵
培养基水分含量	低，50%左右	高，90%左右
水活度	较低的水活度，杂菌因此而不易生长	水活度高，许多微生物都可生长
培养基	原料种类少，但成分不完全明确，无机盐种类要求不多； 培养基体积浓度高，高基质浓度导致产品浓度高，故体积生产率高	多种纯度高、化学物质明确的组分配合而成； 培养基体积浓度较低，故体积生产效率较低，高基质浓度导致流体流变学的问题，需要流加培养
通风问题	由于物料层空隙大，通风时压力降较小，通风动力消耗不大	需要高压空气，从气相到液相的传氧系数较小
混合问题（物质传递）	颗粒内的各种物质包括菌体的浓度分布不均匀，微生物的生长主要受到营养物质的扩散问题	营养物质及菌体完全分布在液体内，可搅拌，营养物质的扩散不是制约微生物生长的主要因素
产热（热量传递）	固态基质热传递系数小，代谢热的去除较为困难，常导致局部过热或过冷	水的相对含量高，水的比热容大，热传递系数大，液体流动性能好，发酵液温度控制较容易
控制	由于在线测定及菌体量的测定不易进行，发酵过程控制很困难	许多在线检测已经实用化或正在研发中，易检测菌体量，易自动控制
下游过程	由于体积产物浓度较高，下游处理较容易进行，萃取时易污染基质成分	产物浓度相对低，下游过程需分离掉大量水分，产品的纯化相对较易
污染	没有大量的水污染	产生大量的废水
动力学研究	微生物生长动力学和传递动力学研究不够	微生物生长动力学和传递动力学研究充分，可用于指导发酵反应器的设计和放大