

21世纪高等院校教材
生·物·工·程·系·列

微生物工程

MICROBIAL ENGINEERING

曹军卫 马辉文 张甲耀 编著

(第二版)



科学出版社
www.sciencep.com

TQ92
531

21 世纪高等院校教材——生物工程系列

微 生 物 工 程

(第二版)

曹军卫 马辉文 张甲耀 编著

科 学 出 版 社
北 京

内 容 简 介

本书是为了配合生物技术、生物工程等专业的学科建设而编写的本科生教材,作者多年从事微生物工程教学和科学研究,有丰富的教学经验和科研能力。本书将理科的有关知识与必要的工程技术知识有机结合,使学生既能掌握比较专业的理论知识,又能掌握基本的计算和设计工艺流程的原理和方法。

第二版在保持第一版特色的同时,广泛吸纳了同行建议,丰富生产应用开发实例,就卫生保健产品、食品和饮料发酵、食品添加剂和补充剂、微生物生物量的生产、微生物酶类、燃料和工业化学品、环境生物技术等专题展开论述。

全书共分四大部分 28 章:第一部分微生物工程原理(9 章),第二部分微生物工程下游加工工程(8 章),第三部分微生物工程生产设备(4 章),第四部分微生物工程生产工艺和产品举例(7 章)。

本书适合于普通高等院校生物技术、生物工程、食品科学、轻化工等相关专业使用,也可供相关工程技术人员和高校师生参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

微生物工程/曹军卫,马辉文,张甲耀编著. —2 版. —北京:科学出版社, 2007

21 世纪高等院校教材. 生物工程系列

ISBN 978-7-03-018706-2

I. 微… II. ①曹… ②马… ③张… 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(2007)第 033220 号

责任编辑:单冉东 韩学哲/责任校对:朱光光

责任印制:张克忠/封面设计:耕者设计工作室

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>

铭浩彩色印装有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2002 年 8 月第 一 版 开本: B5 (720×1000)

2007 年 3 月第 二 版 印张: 33

2007 年 3 月第十二次印刷 字数: 624 000

印数: 38 501—45 500

定价: 38.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

第二版前言

本书是在病毒及病原微生物国家重点实验建设项目、微生物学教育部重点实验室建设项目、国家教育部理科基地建设项目、湖北省高等学校教学研究项目“生物技术专业教学计划和课程结构研究”和武汉大学教材建设项目的支持下，为了配合新兴的理工结合的生物技术专业的学科建设而编写的本科生教材。

第一版自 2002 年出版以来，已经 11 次印刷并发行 3 万余册，每年有近百所高等院校选用本书作为教材。广大读者对本教材给予了充分的肯定，认为本教材知识全面、内容丰富、语言流畅，适合本专业的本科教学，同时也提出了一些很有价值的建议，作者在此对广大读者一并表示真挚的感谢。

第二版共分为四大部分，包括 28 章。第一部分微生物工程原理包括 9 章，第二部分微生物工程下游加工工程包括 8 章，第三部分微生物工程生产设备包括 4 章，第四部分微生物工程生产工艺和产品举例包括 7 章。在这次修订中，根据本教材出版四年以来的教学实践和广大读者（包括教师和学生）的反映，对全书进行了比较大的修改。如在教学内容方面，增加了教学内容的涵盖面，特别是在第四部分微生物工程生产工艺和产品举例中包括的 7 章。这 7 章并不是简单的在原来 4 章的基础上增加 3 章，而是进行了全面的重新写作，用归类的方式较全面地介绍了 7 个方面的知识，共介绍典型产品数十种。内容涉及生产菌种、生产工艺、生产成本控制等各方面内容，目的是使生物技术专业类的学生对微生物工程的最新成就、原理和生产方法等有较全面地了解，扩大学生的眼界，使其能够更加适应市场经济的需要。在内容的组织方式方面也作了一些改进，如在介绍微生物代谢调节的一些基本原理的基础上，再循序渐进地引入选育菌种的原理和方法等内容，使学生能深刻理解菌种选育的意义和原理。

此外，在本书第二版的基础上，正在准备相关的立体化教学系统，如教学辅导书、习题、电子教案、多媒体课件等。

与本书的第一版一样，在第二版的编著过程中，参考了大量国内外相关的书籍和文献资料，在此再一次向这些前辈和同行们一并表示衷心地感谢！也欢迎广大读者和专家在使用过程中，提出宝贵意见。

曹军卫 马辉文 张甲耀

第一版前言

生物技术是一门涉及领域宽、涵盖范围广、基础性强的新兴技术，是现代生物学发展并与相关学科交叉融合的产物。生物技术包括基因工程、蛋白质工程、细胞工程、微生物工程（即发酵工程）等领域。生物技术产业是世界发达国家在 21 世纪优先发展的支柱产业，它对不断提高人类的生活质量，与严重威胁人类健康的疾病进行斗争，以及改善自工业革命以来遭受严重破坏的、人类赖以生存的生态环境具有至关重要的作用。在生物技术领域里，由于微生物生物技术的高速发展和对其他生物技术发展的重要影响，使其一直处于领先地位，并且还将在相当长的时期内处于领先地位。

当今世界各国的竞争，实际上是科学技术的竞争。高等教育是为了适应国民经济和科学技术高速发展的需求，同时也是为了高等教育自身的发展需求，从 1997 年经教育部正式批准建立生物技术专业至今，全国高校已有生物技术专业 70 多个，生物工程专业 20 多个，在校学生近万人。尽管全国各高校的生物技术专业已经开始招生，但办好这一新兴的、具有中国特色的专业，还需要有更多的教育工作者下功夫来研究，并在实践中探讨。生物技术专业与生物科学专业既有共性又有差别，差别体现在培养目标、课程设置、实验技能等方面。生物技术专业是理工结合的新兴学科专业，办好该专业应加强教学研究。

本书就是为了配合新兴的理工结合的生物技术专业的学科建设而编写的本科生教材。其目的是希望通过本教材的编写，对办学模式、培养目标、课程设置、教学内容等作进一步的探讨、研究和实践，为生物技术专业的发展和培养大批量高素质生物技术人才探索更多的教学经验。本书共分为四大部分，包括 25 章。第一部分微生物工程原理包括 9 章，第二部分微生物工程下游加工工程包括 8 章，第三部分微生物工程生产设备包括 4 章，第四部分微生物工程生产举例包括 4 章。其特点和独到之处是将理科的有关知识与必要的工程技术知识有机地结合起来，使学生既学到比较专业的微生物学理论知识，又掌握工程技术方面的基本计算和设计工艺流程的原理和方法。

在本书编著过程中，参考了许多国内外相关的书籍和文献资料，在此向这些前辈和同行们一并表示衷心的感谢！本书的部分插图由陈宝联同志绘制，特表示感谢。也欢迎这些前辈和同行们，以及广大读者提出宝贵意见。

曹军卫 马辉文

目 录

第二版前言

第一版前言

第一部分 微生物工程原理

§ 1 微生物工程概论	1
1.1 微生物工程的发展简史	1
1.1.1 传统的微生物发酵技术——天然发酵	1
1.1.2 第一代微生物发酵技术——纯培养技术的建立	2
1.1.3 第二代（近代）微生物发酵技术——深层培养技术	2
1.1.4 第三代微生物发酵技术——微生物工程	4
1.2 微生物工程的应用	5
1.2.1 微生物工程在食品工业中的应用	6
1.2.2 微生物工程在医药卫生中的应用	6
1.2.3 微生物工程在轻工业中的应用	10
1.2.4 微生物工程在化工能源产品中的应用	11
1.2.5 微生物工程在农业中的应用	11
1.2.6 微生物工程在环境保护中的应用	12
1.2.7 微生物工程在细菌冶金中的应用	13
1.2.8 微生物工程在高技术研究中的应用	13
§ 2 生产菌种的来源	14
2.1 生物物质产生菌的筛选	14
2.1.1 微生物是生物活性物质的丰富资源	14
2.1.2 含微生物材料的标本采集	14
2.1.3 标本的预处理	15
2.2 菌种的分离	16
2.2.1 施加选择性压力分离法	16
2.2.2 随机分离方法	18
§ 3 微生物的代谢调节和代谢工程	22
3.1 微生物的代谢类型和自我调节	22
3.1.1 代谢类型	22
3.1.2 微生物自我调节的部位	23
3.2 酶活性调节	23

3.2.1 酶的激活作用与抑制作用	24
3.2.2 酶活性调节的机制	25
3.3 酶合成的调节	26
3.3.1 酶合成的诱导作用	26
3.3.2 酶合成的阻遏	27
3.3.3 酶合成调节的机制	28
3.4 分支生物合成途径的调节	31
3.4.1 同工酶调节	32
3.4.2 协同反馈调节	32
3.4.3 累加反馈调节	32
3.4.4 增效反馈调节	33
3.4.5 顺序反馈调节	33
3.4.6 联合激活或抑制调节	34
3.4.7 酶的共价修饰	34
3.5 能荷调节	35
3.6 代谢调控	36
3.6.1 发酵条件的控制	37
3.6.2 改变细胞透性	38
3.6.3 菌种遗传特性的改变	39
3.7 次级代谢与次级代谢调节	40
3.7.1 初级代谢和次级代谢	40
3.7.2 次级代谢的调节类型	41
3.8 代谢工程	44
3.8.1 改变代谢途径	45
3.8.2 扩展代谢途径	48
3.8.3 转移或构建新的代谢途径	49
§ 4 优良菌种选育	51
4.1 自然选育	52
4.2 诱变选育	53
4.2.1 诱变育种的原理	53
4.2.2 诱变育种的基本方法	53
4.2.3 突变菌株的筛选	54
4.3 杂交育种	58
4.3.1 细菌的杂交育种	58
4.3.2 放线菌的杂交育种	58
4.3.3 霉菌的杂交育种	60
4.3.4 酵母的杂交育种	62
4.4 原生质体融合技术	63

4.4.1 原生质体融合优越性	63
4.4.2 原生质体融合方法	63
4.4.3 原生质体融合技术在微生物育种中的应用	65
4.5 基因工程技术	66
4.5.1 基因表达系统	66
4.5.2 利用大肠杆菌的表达系统	68
4.5.3 利用酵母菌的基因表达系统	71
4.5.4 基因工程菌的稳定性	75
§ 5 菌种保藏的原理和方法	77
5.1 斜面保藏法和穿刺保藏法	77
5.1.1 斜面保藏法	77
5.1.2 穿刺保藏法	78
5.2 沙土管干燥保藏法	78
5.3 真空冷冻干燥保藏法	79
5.4 液氮保藏法	80
5.5 悬液保藏法	80
5.6 低温保藏法	80
§ 6 培养基	81
6.1 培养基的成分	81
6.1.1 能源物质	81
6.1.2 碳源物质	82
6.1.3 氮源物质	83
6.1.4 无机盐和微量元素	84
6.1.5 前体	85
6.1.6 促进剂和抑制剂	86
6.1.7 水分	87
6.2 营养物质的调节	87
6.2.1 不同碳源的利用速度	87
6.2.2 氮源利用及与碳源利用的关系	88
6.2.3 碳氮比例的调节	88
6.2.4 前体的控制	89
6.2.5 补料	89
6.3 培养基的类型	90
6.3.1 孢子培养基	90
6.3.2 种子培养基	91
6.3.3 发酵培养基	91
§ 7 发酵工艺控制	92
7.1 温度对发酵的影响及其调节控制	92

7.1.1	温度对发酵的影响	92
7.1.2	影响发酵温度的因素: 发酵热	95
7.1.3	发酵热的测定	96
7.1.4	最适温度的选择与发酵温度的控制	97
7.2	pH 对发酵的影响及控制	98
7.2.1	pH 对发酵的影响	98
7.2.2	影响发酵 pH 的因素	99
7.2.3	最适 pH 的选择和调节	100
7.3	氧对发酵的影响	101
7.3.1	氧的传递和传质方程式	102
7.3.2	影响微生物对氧需求的因素	105
7.3.3	培养基的流变特性	109
7.3.4	影响供氧的因素	113
7.3.5	液相体积氧传递系数 K_{La} 的测定	121
7.4	二氧化碳对发酵的影响及控制	123
7.4.1	二氧化碳的来源及对发酵的影响	123
7.4.2	二氧化碳浓度的控制	124
7.5	泡沫对发酵的影响与控制	125
7.5.1	泡沫产生的原因	125
7.5.2	泡沫对发酵的危害	126
7.5.3	泡沫的消长规律	126
7.5.4	泡沫的消除和防止	128
§ 8	发酵过程的参数检测和自动控制	131
8.1	发酵过程的参数检测	131
8.1.1	物理参数检测	132
8.1.2	化学参数检测	143
8.1.3	间接参数检测	157
8.2	发酵过程的自动控制	162
8.2.1	基本的自动控制系统	163
8.2.2	发酵自控系统的硬件组成	165
§ 9	微生物反应动力学	167
9.1	发酵类型	167
9.1.1	第 I 型	167
9.1.2	第 II 型	168
9.1.3	第 III 型	168
9.2	分批培养动力学	169
9.2.1	分批培养中细胞的生长动力学	169
9.2.2	分批培养中基质的消耗动力学	172

9.2.3 产物的生成动力学	174
9.3 连续培养动力学	175
9.3.1 连续培养的优点	175
9.3.2 单级连续培养	176
9.3.3 多级串联连续培养动力学	179
9.3.4 细胞循环使用的单级连续培养动力学	180
9.3.5 连续培养的实施	182

第二部分 微生物工程下游加工工程

§ 10 微生物工程下游加工工程概论	185
10.1 微生物工程下游加工工程的特点和重要性	185
10.2 微生物工程下游加工工程的基本原理	186
10.3 微生物工程下游加工工程的一般程序	191
§ 11 发酵液的预处理和过滤	192
11.1 发酵液的预处理	192
11.1.1 高价无机离子的去除方法	192
11.1.2 可溶性杂蛋白质的去除方法	193
11.1.3 色素及其他物质的去除	194
11.2 发酵液的过滤	195
11.2.1 发酵液的过滤特性和滤饼的比阻值	195
11.2.2 影响发酵液过滤的因素	196
11.2.3 提高过滤性能的方法	197
11.3 微生物细胞的破碎和分离	198
11.3.1 微生物细胞壁的组成和结构	198
11.3.2 微生物细胞破碎的方法	200
11.3.3 细胞破碎率的测定	204
§ 12 沉淀法	206
12.1 盐析法	206
12.1.1 盐析原理——Cohn 方程式	206
12.1.2 影响盐析的主要因素	208
12.2 等电点沉淀法	212
12.3 有机溶剂沉淀法	213
12.3.1 有机溶剂沉淀的原理	213
12.3.2 有机溶剂的选择和使用浓度计算	214
12.3.3 影响有机溶剂沉淀的因素	214
12.4 非离子型多聚物沉淀法	216
12.5 聚电解质沉淀法	217
§ 13 溶剂萃取法	218

13.1 溶剂萃取的原理	218
13.1.1 分配定律	218
13.1.2 弱电解质萃取的分配平衡	220
13.2 有机溶剂的选择	221
13.3 影响水相溶质溶解度的因素	222
13.3.1 离子强度	222
13.3.2 pH	223
13.3.3 温度	223
13.3.4 带溶剂的使用	223
13.4 乳化与去乳化	224
13.4.1 乳浊液的形成原因和稳定条件	224
13.4.2 去乳化的方法	226
13.5 萃取方法和理论得率计算	227
13.5.1 单级萃取	228
13.5.2 多级错流萃取	229
13.5.3 多级逆流萃取	230
13.5.4 萃取计算诺模图	231
§ 14 双水相萃取法	233
14.1 水相体系	233
14.1.1 双水相的形成	233
14.1.2 相图	234
14.2 分配理论	235
14.2.1 表面自由能的影响	235
14.2.2 表面电荷的影响	236
14.3 影响物质分配的因素	237
14.3.1 聚合物及其相对分子质量的影响	237
14.3.2 系线长度对分配平衡的影响	238
14.3.3 离子环境对分配的影响	238
14.3.4 pH 的影响	239
14.3.5 温度的影响	239
14.4 双水相萃取技术的应用	240
14.4.1 酶的分离纯化	240
14.4.2 核酸的分离纯化	241
14.4.3 人生长激素的提取	241
14.4.4 β -干扰素的提取	242
14.4.5 病毒的分离纯化	242
14.4.6 双水相分析法 (partition affinity assay, PALA)	242
14.5 双水相萃取技术的发展	243

14.5.1 提高分离效率的双水相萃取技术	243
14.5.2 廉价双水相系统的使用	245
§ 15 吸附法	246
15.1 吸附过程的基础理论	246
15.2 吸附类型	247
15.2.1 物理吸附	247
15.2.2 化学吸附	247
15.3 影响吸附的因素	248
15.3.1 吸附剂的性质	248
15.3.2 吸附物的性质	248
15.3.3 溶液 pH 的影响	248
15.3.4 温度的影响	248
15.3.5 溶液中其他溶质的影响	249
15.4 大网格聚合物吸附剂	249
§ 16 离子交换法	250
16.1 离子交换树脂的分类	250
16.1.1 强酸性阳离子交换树脂	250
16.1.2 弱酸性阳离子交换树脂	251
16.1.3 强碱性阴离子交换树脂	251
16.1.4 弱碱性阴离子交换树脂	251
16.2 离子交换树脂的命名法	252
16.3 离子交换树脂的物理化学性能测定	253
16.3.1 交联度	253
16.3.2 膨胀度	253
16.3.3 交换容量	254
16.4 离子交换过程的机制	254
16.4.1 离子交换静力学	254
16.4.2 离子交换动力学	255
16.5 树脂的选择和操作条件控制	255
16.5.1 树脂的选择	255
16.5.2 操作条件的控制	256
§ 17 结晶法	257
17.1 晶体的一般性质	257
17.2 生物物质形成晶体的条件	258
17.2.1 样品纯度	258
17.2.2 溶液的饱和度	258
17.2.3 溶剂的影响	259
17.3 结晶的方法	259

第三部分 微生物工程生产设备

§ 18 培养基灭菌及灭菌设备	261
18.1 灭菌的方法	261
18.2 培养基的灭菌	262
18.2.1 热灭菌的原理	262
18.2.2 培养基灭菌温度的选择	265
18.3 培养基的分批灭菌	267
18.3.1 升温阶段	267
18.3.2 冷却阶段	268
18.3.3 保温阶段	270
18.4 培养基的连续灭菌	270
18.4.1 连续灭菌的流程	270
18.4.2 连续灭菌的设备和计算	272
§ 19 发酵设备	279
19.1 机械搅拌发酵罐	279
19.1.1 发酵罐的基本条件	279
19.1.2 标准式发酵罐的几何尺寸	280
19.1.3 发酵罐的结构	280
19.2 其他类型的发酵罐	287
19.2.1 空气带升环流式发酵罐	287
19.2.2 机械搅拌自吸式发酵罐	291
19.2.3 高位塔式发酵罐	294
19.3 搅拌轴功率的计算	295
19.4 发酵罐的放大	298
19.4.1 几何尺寸放大法	299
19.4.2 空气流量放大法	299
§ 20 空气除菌设备	303
20.1 介质除菌的原理	303
20.1.1 惯性冲击滞留作用	303
20.1.2 拦截滞留作用	305
20.1.3 布朗扩散作用	305
20.1.4 重力沉降作用	305
20.1.5 静电吸引作用	306
20.2 介质过滤效率和过滤器计算	306
20.2.1 对数穿透定理	306
20.2.2 过滤器的计算	307
20.3 空气除菌设备	309

20.3.1 压缩空气的预处理	309
20.3.2 空气过滤除菌流程	312
§ 21 产品纯化设备	319
21.1 两相分离设备	319
21.1.1 过滤设备	320
21.1.2 离心分离设备	324
21.2 蒸发浓缩设备	329
21.2.1 真空浓缩器	330
21.2.2 薄膜蒸发器	331
21.3 干燥设备	334
21.3.1 气流干燥设备	335
21.3.2 沸腾干燥	337
21.3.3 喷雾干燥	338
第一~第三部分主要参考文献	341

第四部分 微生物工程生产工艺和产品举例

§ 22 卫生保健产品	343
22.1 抗生素	343
22.1.1 抗生素的分类	344
22.1.2 抗生素的生产工艺	344
22.1.3 β -内酰胺类	346
22.2 麦角生物碱	352
22.3 类固醇的生物转化	353
22.3.1 微生物转化的反应类型	354
22.3.2 微生物转化工艺	355
22.3.3 犁头霉菌的 11β -羟化反应工艺	357
22.4 菌苗和疫苗	358
22.5 重组治疗用肽和蛋白质	360
22.5.1 DNase	361
22.5.2 促红细胞生成素	361
22.5.3 人生长激素 (somatotrophin)	361
22.5.4 胰岛素	363
22.5.5 干扰素	363
22.5.6 白介素	364
22.5.7 组织血纤维蛋白溶酶原激活剂	364
22.5.8 胶原质	364
22.5.9 作为治疗药剂的噬菌体	365
主要参考文献	365

§ 23 食品和饮料发酵	367
23.1 酒精饮料	367
23.1.1 啤酒酿造	368
23.1.2 葡萄酒生产	386
23.1.3 苹果酒生产	391
23.1.4 蒸馏饮料	394
23.2 醋的生产	395
23.2.1 醋的发酵	395
23.2.2 醋的加工方法	396
23.2.3 精加工工艺	398
23.2.4 工艺改进	398
23.3 奶制品发酵	399
23.3.1 黄奶油加工	399
23.3.2 酸乳酪生产	399
23.3.3 干酪生产	400
23.4 益生菌	402
23.5 其他传统发酵食品	403
主要参考文献	403
§ 24 食品添加剂和补充剂	406
24.1 风味剂	407
24.2 脂类	408
24.3 天然食品防腐剂	409
24.3.1 天然食品防腐剂简介	409
24.3.2 乳酸链球菌肽(尼生素)	410
24.4 核苷酸和相关化合物	412
24.5 维生素	412
24.5.1 维生素 C	412
24.5.2 胡萝卜素	413
24.5.3 钴胺素(维生素 B ₁₂)	414
24.5.4 核黄素(维生素 B ₂)	414
主要参考文献	415
§ 25 微生物生物量的生产	417
25.1 面包酵母加工	417
25.2 单细胞蛋白生产	418
25.2.1 碳素原料	420
25.2.2 单细胞蛋白生产工艺	421
25.3 蘑菇	427
25.3.1 双孢蘑菇	427
25.3.2 特殊的蘑菇	428

主要参考文献	429
§ 26 微生物酶类	430
26.1 商业微生物酶的生产	434
26.2 去垢剂酶	437
26.3 淀粉处理酶类和有关的糖酶	437
26.4 干酪生产用酶	439
26.5 用于植物汁液生产的酶	439
26.6 纺织品加工用酶	440
26.7 皮革加工用酶	441
26.8 在木质纸浆中使用的酶	441
26.9 用于有机合成催化剂的酶	442
主要参考文献	443
§ 27 燃料和工业化学品	444
27.1 烷烃	444
27.2 丁醇	445
27.3 工业生产乙醇	447
27.3.1 玉米淀粉生物转化	449
27.3.2 木质纤维素材料的生物转化	450
27.4 氢气	452
27.5 电力	453
27.6 氨基酸	454
27.6.1 菌种	454
27.6.2 培养基	455
27.6.3 发酵条件控制	455
27.6.4 氨基酸分离纯化	456
27.6.5 L-谷氨酸	456
27.6.6 L-赖氨酸	459
27.6.7 异亮氨酸、亮氨酸生产工艺	462
27.6.8 其他氨基酸的生产方法	463
27.7 有机酸	464
27.7.1 柠檬酸	464
27.7.2 葡萄糖酸	468
27.7.3 衣康酸	468
27.7.4 乳酸	469
27.8 聚羟基链烷酸酯(或盐)	469
27.9 多元醇	470
27.10 微生物的胞外多糖	471
27.10.1 黄原胶	472

27.10.2 黄原胶生产	475
27.11 生物乳化剂	476
主要参考文献	477
§ 28 环境生物技术	479
28.1 废物和污水的处理	479
28.1.1 废物和废水的来源	480
28.1.2 水质污染的衡量指标	481
28.1.3 处理方法	482
28.2 肥料堆制	498
28.3 青贮饲料	499
28.4 异型生物物质的生物降解	499
28.5 生物补救	500
28.6 生物采矿(矿石浸提)	501
28.7 煤的微生物脱硫	504
28.8 生物杀虫剂	504
主要参考文献	507