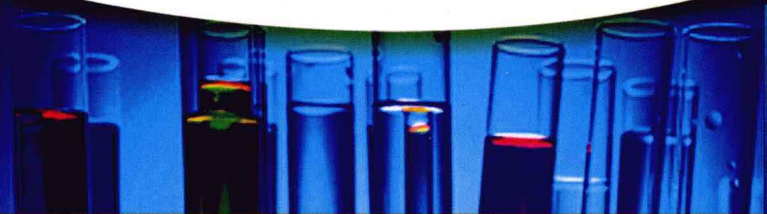


“十一五”国家重点图书  
高等学校生物类专业规划教材


*F* AJIAO GONGCHENG YUANLI YU SHIJIAN

.....

# 发酵工程原理与实践



◎ 葛绍荣 乔代蓉 胡承 编著

 华东理工大学出版社  
EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY PRESS

“十一五”国家重点图书  
高等学校生物类专业规划教材

# 发酵工程原理与实践

葛绍荣 乔代蓉 胡 承 编著

## 图书在版编目(CIP)数据

发酵工程原理与实践/葛绍荣,乔代蓉,胡承编著.  
—上海:华东理工大学出版社,2011.8  
高等学校生物类专业规划教材  
ISBN 978-7-5628-2809-9

I. ①发… II. ①葛… 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(2010)第 084836 号

“十一五”国家重点图书  
高等学校生物类专业规划教材

## 发酵工程原理与实践

.....

编 著 / 葛绍荣 乔代蓉 胡 承

责任编辑 / 焦婧茹

责任校对 / 李 晔

封面设计 / 陆丽君 裘幼华

出版发行 / 华东理工大学出版社有限公司

社 址:上海市梅陇路 130 号,200237

电 话:(021)64250306(营销部) (021)64252344(编辑室)

传 真:(021)64252707

网 址:press.ecust.edu.cn

印 刷 / 常熟华顺印刷有限公司

开 本 / 787 mm×1092 mm 1/16

印 张 / 14.75

字 数 / 346 千字

版 次 / 2011 年 8 月第 1 版

印 次 / 2011 年 8 月第 1 次

书 号 / ISBN 978-7-5628-2809-9/TQ·153

定 价 / 35.00 元

(本书如有印装质量问题,请到出版社营销部调换。)

# 前 言

微生物工程又称发酵工程,是指利用微生物的特殊性能通过现代工程技术生产人类的有用物质,或直接应用于工农业生产的一项技术体系。它主要包括菌种的选育和保藏,菌体的生产和应用,发酵工艺的设计和制订,代谢产物的生产与提取、制备,微生物机能的利用以及生物反应器的研制等技术。自20世纪70年代起,它已与基因重组、细胞融合、蛋白质与酶工程等新技术相结合,发展成为现代微生物工程,并形成了食品饮料酿造工业,抗生素类药品工业,酶制剂、维生素、激素及有机酸和环保等新产业。随着生物技术的发展,发酵工程的应用领域也在不断拓展,发酵原料的革新使得发酵工程的内容越来越丰富。2000年以来,发酵工程开始大量应用木质纤维素等原料,它将大规模地生产出化工用品和当今世界紧缺的生物能源。由此可见,发酵工程将变得对人类更为重要。发酵工程技术在今后的重点发展方向为:基因工程及细胞杂交技术在微生物育种上的应用,将使发酵生产所用菌种达到前所未有的水平;生物反应器的研发技术和生物分离技术的相应进步也将揭示发酵过程放大方面涉及的某些神秘特征,加上微生物数据库、发酵动力学、发酵传递力学的发展,将使人们能够更清楚地了解微生物的应用环境和有关的生物学行为,从而能够最大限度地、理性化地进行发酵工程产业的设计与生产。

综上所述,发酵工程在生物技术产业化领域里是不可多得的支撑,它需要大批量的生物技术工程人员去研发和实践。人才难得,人才需要培养。培养成千上万的生物技术科技爱好者,组建起浩浩荡荡的发酵工程运作大军,促进我国民族生物工业的复兴,促进国民经济的进一步发展,共建我们的和谐社会,这是出版本教材的宗旨和目的。

本教材着重介绍发酵工程的原理和技术,发酵的历史,发展状况和应用前景;生产菌种的选育、构建与保藏,包括基因、遗传、细胞、酶工程在发酵工程育种上的应用;微生物的营养类型及培养基的设计与制备,发酵设备的类型、设计和操作原理,厌氧发酵和好氧发酵的过程及管理事项,酒精和啤酒的发酵生产,现代化技术在传统发酵工艺上的应用;发酵产品的提取工艺和提取设备以及发酵的生产举例。教材分为四篇共





20章,分别介绍发酵工程的上游、中游、下游工程的基本原理和技术以及生产举例和科研实践;其独到之处在于将微生物的有关基础知识与发酵工程技术知识以及科研实践较为全面地结合起来,使学生能比较系统地了解微生物学基础知识和发酵工程的工艺流程原理及方法。因此本教材可供大专院校从事生命科学的学生和从事有关发酵酿造方面的工程技术人员选用或参考。

教材在编写过程中着重参考和引用了胡云松、俞俊棠、曹军卫、张嗣良、周德庆(详见参考文献)等老师和同仁们专著中的一些论述、数据及图表等;本教研室曹毅教授给予较多的建议和帮助,研究生牛莉娜、赵晓清、夏丽娟、李真金、肖登科和姬超宏等同学参加了有关科研实践并协助整理了书中的一些图表、章节,在此一并致谢。由于时间仓促,书中的错漏和不足之处欢迎读者与同仁们批评指正。

编 者



# 目 录 Contents

## 第一篇 生产菌种的选育、保藏及发酵准备(上游工程)

<b>第 1 章 概论</b> .....	3
1.1 发展史 .....	3
1.1.1 纯培养技术(初期发酵技术) .....	4
1.1.2 深层发酵(近代发酵技术) .....	4
1.1.3 发酵工程(第三代发酵技术) .....	5
1.2 发酵工程理论 .....	5
1.2.1 发酵工程定义 .....	5
1.2.2 发酵工艺、发酵工程和发酵原理 .....	5
1.2.3 发酵工程在生物技术中的地位 .....	5
1.2.4 发酵工程的进展 .....	5
1.2.5 人在发酵工程领域的主观能动作用 .....	6
1.3 发酵工程的实践与应用 .....	6
1.3.1 在工业方面的应用 .....	6
1.3.2 在农业方面的应用 .....	8
1.3.3 在环境保护中的应用 .....	9
1.3.4 在冶金中的应用 .....	9
1.3.5 在高技术研究中的应用 .....	9
思考题 .....	10
<b>第 2 章 野生型菌种的分离筛选</b> .....	11
2.1 我国微生物发酵现状 .....	11
2.1.1 抗生素的生产 .....	11
2.1.2 氨基酸发酵 .....	11
2.1.3 维生素与甾体激素 .....	11
2.1.4 微生物多糖 .....	12
2.1.5 单蛋白 .....	12
2.1.6 生物能源 .....	12
2.1.7 化工原料 .....	12
2.2 野生型生产菌株的筛选 .....	12





2.2.1	微生物是丰富的生命物质资源	12
2.2.2	生产菌种的选育	12
2.2.3	菌种标本的采集	13
2.2.4	标本的预处理方法	13
2.3	菌种分离	13
2.3.1	选择培养分离法	13
2.3.2	随机分离法	14
	思考题	15
<b>第3章</b>	<b>优良菌株的选育</b>	<b>16</b>
3.1	自然选育	16
3.2	诱变育种	17
3.2.1	诱变处理方法	17
3.2.2	变异株的分离和筛选	18
3.2.3	突变类型	18
3.3	杂交育种	19
3.3.1	准性生殖	19
3.3.2	营养缺陷型	19
3.3.3	原生质体融合	19
3.3.4	原生质体融合操作步骤	22
3.4	基因工程技术	23
3.4.1	基因工程的基本原理与方法	24
3.4.2	生产基因工程菌的主要程序	24
3.4.3	原核表达系统	24
3.4.4	真核表达系统	24
3.4.5	表达载体	25
3.4.6	重组 DNA 的操作步骤	25
	思考题	26
<b>第4章</b>	<b>菌种退化的复壮和保藏</b>	<b>27</b>
4.1	菌种的退化	27
4.1.1	退化现象	27
4.1.2	退化的原因	27
4.1.3	防止退化的措施	27
4.2	退化菌种的复壮	28
4.3	菌种的保藏	28
4.3.1	冷冻保藏	28
4.3.2	其他保藏方法	31
4.3.3	基因工程菌的保藏	32
4.3.4	微生物活力和稳定性测定	32

4.4	菌种的合理使用	32
4.5	菌种保藏机构	33
4.5.1	国外菌种保藏机构	33
4.5.2	国内菌种保藏机构	33
	思考题	34
<b>第5章</b>	<b>微生物代谢及其调节控制</b>	<b>35</b>
5.1	微生物的酶及功能	35
5.1.1	酶的组成与特性	35
5.1.2	酶的类群	36
5.1.3	酶的特性	37
5.1.4	酶的活力单位	37
5.1.5	影响酶活力的因素	37
5.2	微生物的呼吸作用与产能代谢	38
5.3	常见微生物的酶及应用	40
5.4	代谢及调控原理	40
5.4.1	发酵过程分类	40
5.4.2	发酵过程的操作	41
5.4.3	发酵的典型流程	41
5.4.4	发酵的典型机理	41
5.4.5	发酵过程的控制	43
5.5	微生物的代谢调控与发酵生产	43
5.5.1	酶活性的调节	44
5.5.2	酶的合成调节	44
5.5.3	代谢调控在发酵工业中的应用	46
5.5.4	次生代谢产物	46
	思考题	47
<b>第6章</b>	<b>微生物的营养及培养基</b>	<b>48</b>
6.1	微生物的营养	48
6.2	微生物的营养类型	50
6.2.1	光能自养型	50
6.2.2	光能异养型	51
6.2.3	化能自养型	51
6.2.4	化能异养型	51
6.3	培养基的类型	51
6.3.1	根据营养物的来源分类	51
6.3.2	根据状态分类	52
6.3.3	根据用途分类	52
6.4	基础培养基	52







6.4.1	细菌培养基	53
6.4.2	放线菌培养基	53
6.4.3	真菌培养基	53
6.4.4	食用菌菌种培养基	54
6.4.5	特殊培养基	54
	思考题	55
<b>第7章</b>	<b>发酵条件的控制</b>	<b>56</b>
7.1	温度对发酵的影响	56
7.1.1	温度对发酵产物的影响	56
7.1.2	影响发酵温度的因素	56
7.1.3	发酵热的测定	57
7.1.4	发酵中最适温度的选择	57
7.2	pH对发酵的影响及调控	58
7.2.1	pH对发酵的影响	58
7.2.2	发酵过程中pH变化的原因	58
7.2.3	最适pH的选择与调节	58
7.3	氧的传递和传质方程式	59
7.3.1	氧对需氧发酵的意义	59
7.3.2	氧在传递过程中的阻力	59
7.3.3	氧的传质方程式	60
7.4	菌体对氧的需求及其影响因素	61
7.4.1	菌体对氧需求及利用	61
7.4.2	影响需氧方面的因素	62
7.4.3	影响供氧方面的因素	62
7.4.4	培养基的物理性质	64
7.5	氧的吸收系数的测定	65
7.5.1	亚硫酸盐法	65
7.5.2	取样测定法	65
7.5.3	排气测定法	66
7.5.4	复膜电极测试法	66
	思考题	66
<b>第8章</b>	<b>发酵原理和参数检测及自动控制</b>	<b>67</b>
8.1	发酵工程概念	67
8.1.1	发酵工程的三个发展阶段	67
8.1.2	发酵工程进入生物工程行列	67
8.1.3	发酵工程的组成	68
8.1.4	发酵工程的基本任务	68
8.1.5	发酵工程的应用前景	68

8.2	发酵过程中的参数检测 .....	68
8.2.1	物理参数检测 .....	70
8.2.2	化学参数检测 .....	72
8.3	发酵的自动控制 .....	73
8.3.1	自动控制系统类型 .....	73
8.3.2	自动控制的硬件组成 .....	75
	思考题 .....	76
<b>第9章</b>	<b>培养基的灭菌与灭菌设备 .....</b>	<b>77</b>
9.1	灭菌方法 .....	77
9.1.1	化学药剂灭菌 .....	77
9.1.2	加热灭菌 .....	78
9.1.3	射线灭菌 .....	79
9.1.4	过滤除菌 .....	79
9.2	培养基的灭菌 .....	79
9.2.1	热灭菌法原理 .....	79
9.2.2	培养基灭菌温度的选择 .....	80
9.3	批量灭菌 .....	81
9.3.1	升温阶段的计算 .....	82
9.3.2	冷却阶段所需时间及冷却水用量计算 .....	83
9.4	连续灭菌 .....	84
9.4.1	连续灭菌流程 .....	85
9.4.2	加热设备 .....	85
9.4.3	冷却设备 .....	86
9.5	连续灭菌的计算 .....	87
9.5.1	灭菌时间的计算 .....	87
9.5.2	加热蒸汽用量计算 .....	88
	思考题 .....	88

## 第二篇 生物反应器的设计及其运作过程(中游工程)

<b>第10章</b>	<b>发酵设备 .....</b>	<b>91</b>
10.1	通用式发酵罐 .....	91
10.1.1	发酵罐的基本条件 .....	91
10.1.2	标准发酵罐的几何尺寸 .....	92
10.1.3	发酵罐的结构 .....	92
10.2	其他类型的发酵罐 .....	95
10.2.1	带升环流式发酵罐 .....	95
10.2.2	自吸式发酵罐 .....	96





10.2.3	高位塔式发酵罐 .....	97
10.2.4	文氏发酵罐 .....	98
10.2.5	伍氏发酵罐 .....	99
10.3	发酵原料处理设备 .....	100
10.3.1	锤式粉碎机 .....	100
10.3.2	辊式粉碎机 .....	101
10.3.3	原料输送设备 .....	101
10.4	生物反应器的发展 .....	102
10.4.1	按微生物生长代谢需要分类 .....	103
10.4.2	按照生物反应器特点分类 .....	103
10.4.3	按容积分类 .....	103
10.4.4	按微生物生长环境分类 .....	103
10.4.5	按操作方式分类 .....	103
	思考题 .....	104
<b>第 11 章</b>	<b>空气除菌设备 .....</b>	<b>105</b>
11.1	空气除菌方法 .....	105
11.2	空气除菌流程 .....	106
11.2.1	压缩空气的预处理 .....	106
11.2.2	压缩空气的冷却 .....	107
11.2.3	压缩空气的除油除水法 .....	107
11.2.4	几种典型的空气净化流程 .....	108
11.3	空气除菌设备 .....	110
11.3.1	粗过滤器 .....	110
11.3.2	空气储罐 .....	111
11.3.3	空气冷却器 .....	111
11.3.4	气液分离器 .....	111
11.3.5	其他空气过滤器 .....	112
	思考题 .....	113
<b>第 12 章</b>	<b>厌氧发酵及其设备 .....</b>	<b>114</b>
12.1	厌氧发酵工艺 .....	114
12.1.1	固态发酵 .....	114
12.1.2	液态发酵 .....	115
12.1.3	连续发酵 .....	115
12.1.4	固定化技术用于发酵 .....	117
12.2	厌氧发酵设备 .....	118
12.2.1	酒精发酵罐 .....	118
12.2.2	啤酒发酵设备 .....	118
12.2.3	固定化细胞反应器 .....	120



12.3	现代啤酒发酵	120
12.3.1	啤酒工艺	120
12.3.2	啤酒种类	120
12.3.3	生啤酒和普通熟啤酒的区别	121
12.3.4	纯生与生啤的区别	121
12.3.5	鉴别啤酒	121
12.3.6	啤酒的度数	121
12.3.7	啤酒的饮用	121
12.4	生物能源	121
	思考题	122
<b>第13章</b>	<b>发酵工艺条件的确定</b>	<b>123</b>
13.1	培养基的营养成分	123
13.2	培养基的用途	123
13.2.1	培养基的分类	123
13.2.2	天然培养基	124
13.2.3	合成培养基	124
13.2.4	半合成培养基	124
13.2.5	发酵生产中的培养基类型	124
13.2.6	发酵培养基的选择	125
13.2.7	发酵培养基的设计和注意事项	125
13.2.8	pH 的具体控制方法	126
13.3	培养基组成物质的营养与作用	127
13.3.1	碳素化合物对微生物生长发育的影响	127
13.3.2	氮素化合物	127
13.3.3	水	127
13.3.4	微量元素(无机盐类)	128
13.3.5	生长因子	128
13.4	培养基确定方法	128
13.4.1	根据菌株对营养的要求	128
13.4.2	根据代谢物的合成途径和化学性质	128
13.4.3	根据菌株对碳源和氮源的利用情况	129
13.4.4	根据菌株对其他成分的利用情况	129
13.4.5	根据补料及前体情况	129
13.4.6	根据生产的需要来选择	129
13.4.7	根据经济效益选择	129
13.4.8	正交试验在培养基确定中的应用	129
13.5	培养条件的确定	130
13.6	种龄与接种量	131





13.6.1	菌种扩大培养	132
13.6.2	主要培养方法及特点	132
13.6.3	几种深层培养法	133
13.6.4	载体培养	134
13.6.5	影响种子培养的因素	134
13.6.6	染菌的控制	135
13.7	厌氧培养	135
13.7.1	深层穿刺分离培养	135
13.7.2	深层穿刺与化学吸氧相结合	136
13.7.3	液体培养基法	136
13.7.4	厌氧罐培养法	136
13.7.5	厌氧箱培养法	136
	思考题	136

### 第三篇 产品的分离提取及制备方法(下游工程)

<b>第 14 章</b>	<b>提取与精制</b>	139
14.1	发酵液的预处理	139
14.1.1	无机盐去除	139
14.1.2	蛋白质去除	139
14.1.3	杂质去除	139
14.2	选择提取方法的依据	139
14.2.1	根据产物的物化性质	139
14.2.2	根据产物的稳定性质	140
14.3	各类提取方法	140
14.3.1	吸附法	140
14.3.2	溶剂萃取法	140
14.3.3	离子交换法	140
14.3.4	沉淀法	140
14.3.5	蒸馏法	140
14.4	各类精制方法	140
14.4.1	除盐	141
14.4.2	盐析	141
14.4.3	脱色和去除热原质	141
14.4.4	重结晶	141
14.4.5	抗氧化剂	141
14.4.6	脱水剂	141
14.4.7	透析和电透析	141

14.4.8	凝胶过滤法	141
14.5	薄膜浓缩	141
14.5.1	结晶洗涤	141
14.5.2	干燥	142
14.6	某些物料和原液的提取与精制	142
14.6.1	水提醇沉法	142
14.6.2	醇提水沉法	142
14.6.3	蒸馏法	142
14.6.4	萃取法	142
14.6.5	酸碱沉淀法	143
14.6.6	透析法	143
14.6.7	超滤法	143
14.7	发酵的香料产物提炼的步骤和方法	143
14.7.1	发酵液的预处理	143
14.7.2	发酵液预处理的要求	144
14.7.3	发酵液预处理具体操作	144
14.7.4	菌体的分离	144
14.7.5	固体悬浮物以及蛋白质胶状物等去除	144
	思考题	145
<b>第 15 章</b>	<b>产品提取纯化设备</b>	<b>146</b>
15.1	过滤设备	146
15.1.1	板框过滤	146
15.1.2	离心过滤和离心沉降分离设备	147
15.1.3	真空过滤机	148
15.1.4	加压过滤机	148
15.2	离子交换设备	149
15.2.1	离子交换树脂	149
15.2.2	离子交换装置	150
15.3	蒸发设备	151
15.3.1	薄膜蒸发器	151
15.3.2	管式薄膜蒸发器	151
15.3.3	刮板式薄膜蒸发器	152
15.4	干燥设备	152
15.4.1	空气干燥法	152
15.4.2	加热面传热干燥	152
15.4.3	红外干燥	152
15.4.4	高频干燥	152
15.4.5	喷雾干燥	152



15.4.6	冷冻干燥	153
15.5	蒸馏设备	153
15.5.1	蒸馏方法	154
15.5.2	单塔式酒精连续蒸馏	154
15.5.3	双塔式蒸馏器	155
15.5.4	三塔式酒精蒸馏器	155
	思考题	156

#### 第四篇 生产举例与科研实践(理论与实践)

<b>第16章</b>	<b>发酵工程生产举例</b>	159
16.1	谷氨酸发酵	159
16.2	单细胞蛋白	161
16.2.1	单细胞蛋白的生产工艺流程	162
16.2.2	单细胞蛋白的营养	162
16.2.3	单细胞蛋白的优点	162
16.2.4	生产单细胞蛋白的微生物	162
16.2.5	单细胞蛋白的应用	162
16.2.6	单细胞蛋白的安全性	163
16.3	生物农药苏菌制剂的生产	163
16.3.1	苏菌制剂的用途	163
16.3.2	生产工艺	163
16.3.3	培养基(参考)	164
16.4	抗生素发酵	164
16.4.1	抗生素发酵工艺流程(以青霉素为例)	164
16.4.2	工艺控制	165
16.4.3	工艺控制要点	166
<b>第17章</b>	<b>乳酸高产菌选育及其发酵条件的响应面法优化</b>	168
17.1	材料与方法	168
17.1.1	样品	168
17.1.2	主要培养基	168
17.1.3	基本发酵工艺	168
17.1.4	检测方法	168
17.1.5	分离与筛选的步骤	169
17.2	诱变育种步骤	169
17.3	结果与分析	169
17.3.1	L-乳酸高产菌的分离与筛选	169
17.3.2	菌种遗传稳定性的研究	170

17.4	发酵条件的响应面法优化	172
17.4.1	二水平设计	172
17.4.2	响应面分析	173
17.4.3	最佳条件的验证	174
17.4.4	小结	174
<b>第 18 章</b>	<b>固体和液体培养基对苏云金芽孢杆菌质量的影响</b>	<b>176</b>
18.1	材料和方法	176
18.1.1	实验材料	176
18.1.2	实验方法	176
18.2	结果与分析	177
18.2.1	电镜下观察芽孢生长	177
18.2.2	室内药效结果分析	177
18.3	讨论	180
<b>第 19 章</b>	<b>井冈霉素高产菌株的制备和发酵条件的优化</b>	<b>181</b>
19.1	链霉素抗性筛选井冈霉素高产菌株的研究	182
19.1.1	材料与方法	182
19.1.2	实验方法	183
19.1.3	结果与分析	185
19.1.4	讨论	189
19.2	井冈霉素生产菌株发酵条件的优化	189
19.2.1	材料与方法	190
19.2.2	实验方法	191
19.2.3	结果与分析	192
19.2.4	讨论	195
19.3	微生物遗传育种技术的研究概况	195
19.3.1	微生物遗传育种的历史地位和意义	196
19.3.2	自然选育	196
19.3.3	诱变育种	196
19.3.4	杂交育种	200
19.3.5	代谢控制育种	203
19.3.6	基因工程育种	203
19.3.7	育种技术的应用前景及展望	205
<b>第 20 章</b>	<b>利用 ISSR 分析野生蘑菇与双孢蘑菇的亲缘关系</b>	<b>206</b>
20.1	材料与方法	206
20.1.1	供试菌株	206
20.1.2	基因组 DNA 的提取	207
20.1.3	引物和试剂	207
20.1.4	ISSR-PCR 扩增	208





20.1.5	相似分析 .....	208
20.2	结果与分析 .....	208
20.2.1	蘑菇 ISSR 标记电泳结果 .....	208
20.2.2	菌株亲缘关系分析 .....	210
20.2.3	ISSR 指纹图谱的聚类分析 .....	210
<b>发酵工程思考题 100</b> .....		212
<b>参考文献</b> .....		215