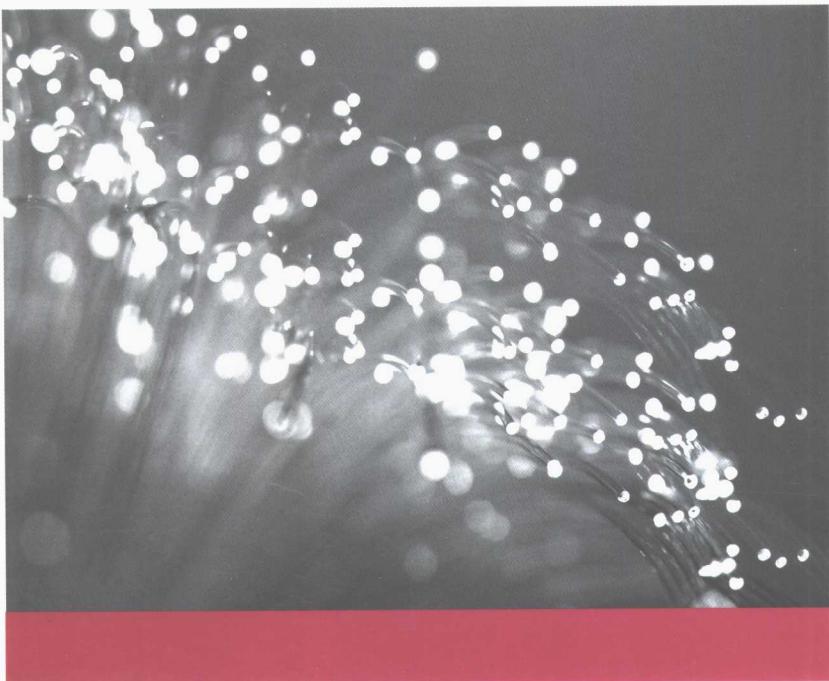


陈洪章 徐 建 编著

现代固态发酵 原理及应用



Chemical Industry Press

现代固态发酵原理及应用

陈洪章 徐 建 编著



· 北京 ·

(京)新登字039号

图书在版编目(CIP)数据

现代固态发酵原理及应用/陈洪章,徐建编著. —北京:化学工业出版社, 2004.7
ISBN 7-5025-5654-0

I. 现… II. ①陈… ②徐… III. 固态发酵-高等学校-教材
IV. TQ920.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 070269 号

现代固态发酵原理及应用

陈洪章 徐 建 编著

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 焦欣渝

责任校对: 洪雅妹

封面设计: 潘 峰

*

化学工业出版社 出版发行
教材出版中心

(北京市朝阳区惠新里3号 邮政编码100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京兴顺印刷厂印装

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 13 1/4 字数 268 千字

2004年8月第1版 2004年8月北京第1次印刷

ISBN 7-5025-5654-0/G · 1473

定 价: 30.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前　　言

固态发酵起源于我国，具有几千年的历史。由于固态发酵具有节水、节能的独特优势，属于清洁生产技术，逐步得到世界各国的重视。因此，本书从全新角度和从发展的观点来讨论固态发酵，以期使人们重新认识固态发酵。书名冠于“现代”两字主要是体现以下几点内涵：(1) 本书所讨论的固态发酵已从传统的、落后的固态发酵发展成为可纯种大规模培养；(2) 基因重组工程菌已成功地在固态发酵得到开发利用；(3) 所谓“传统”固态发酵生产的传统风味食品是液体发酵无法取代的；(4) 充分体现我国在固态发酵研究和应用领域的领先性。

本书共分两大部分：第1部分介绍现代固态发酵技术原理，研究进展等；第2部分简要叙述固态发酵具体应用的工艺路线等。希望从事生物技术与工程科研院所师生、相关生产企业的生产技术人员从中得到启发，共同努力将固态发酵技术发扬光大。

由于固态发酵技术属于清洁生产技术，近年来，国外开始重视该方面的研究，已有几本这方面的专著或出版物问世。虽然固态发酵起源于我国，而国内至今未见有一部固态发酵方面的出版物。鉴于此，作者根据几十年固态发酵的工作基础，形成了这本书的构思。

作者能够撰写此书，得益于在中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室多年的研究实践，特别是我的恩师李佐虎先生给予的学术指导和无私帮助。另外，有关固态发酵的研究成果也得到我的博士生、硕士生们的支持。在本书编著过程中，参考了大量国内外前辈和同行们撰写的相关书籍和期刊论文资料。在此，对他们一并表示衷心的感谢。

限于作者的学识有限，书中存在疏漏之处在所难免，诚请读者批评指正，并欢迎来函指导。

陈洪章

2004年4月于北京市中关村北二条1号（邮编：100080）

中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室

E-mail：hzchen@home.ipe.ac.cn

内 容 提 要

固态发酵是指没有或几乎没有自由水存在下，在有一定湿度的水不溶性固态基质中，用一种或多种微生物的一个生物反应过程。从生物反应过程的本质考虑，固态发酵是以气相为连续相的生物反应过程。

固态发酵具有节水、节能的独特优势，属于清洁生产技术，现已逐步得到世界各国的重视。本书从全新角度并从发展的观点来讨论固态发酵，以期使人们对固态发酵有重新的认识。

本书共分两大部分：第1部分介绍现代固态发酵技术原理、研究进展等；第2部分简要叙述固态发酵具体应用的工艺路线等。

本书适宜生物工程，发酵工程领域的研究、技术人员及相关工厂设备设计人员、操作人员、管理人员阅读；也可作相关专业研究生的教学参考用书。

目 录

第1部分 现代固态发酵技术原理

1 现代固态发酵原理及其应用概述	3
1.1 固态发酵的内涵	3
1.2 固态发酵的特点	4
1.3 固态发酵与液态发酵比较分析	5
1.4 固态发酵的分类	6
1.4.1 传统固态发酵与现代固态发酵	6
1.4.2 固态发酵的形式	6
1.5 固态发酵反应器的进展	8
1.5.1 静态固态发酵反应器与动态固态发酵反应器	9
1.5.2 实验室固态发酵反应器、中试固态发酵反应器与工业级固态发酵 反应器	10
1.6 固态发酵技术简史	16
1.7 固态发酵的应用	17
1.7.1 固态发酵的产品	17
1.7.2 固态发酵技术在资源环境中的应用研究	20
1.8 固态发酵发展趋势和应用前景	24
2 固态发酵微生物生长代谢	25
2.1 固态发酵微生物特征	25
2.2 界面的作用	27
2.2.1 营养物在界面上的富集	28
2.2.2 界面分布的微生物	28
2.2.3 微生物界面效应的实践意义	28
2.3 丝状微生物生长机制	29
2.3.1 初生顶部生长	29
2.3.2 生长过程	30
2.3.3 固态发酵过程中真菌的生长机制	31
2.3.4 固态基质中的丝状微生物生长动力学	33
2.4 固态基质中的细菌和酵母菌的生长与代谢	33
2.5 固态发酵过程中生物量的测定	34
2.5.1 直接从固态培养基中分离测定	34

2.5.2 通过检测代谢活动推断生物量	35
2.5.3 测定出生物体中某些特殊物质的含量推知生物量	35
2.5.4 利用与菌体生长有关的某些现象估测生物量	36
3 固态发酵基质原料特征	37
3.1 适用于固态发酵的基质特征	37
3.1.1 来源于农副产品的固态发酵基质	38
3.1.2 固体基质的大分子结构	38
3.1.3 颗粒大小	38
3.1.4 颗粒形状	38
3.1.5 颗粒的多孔性	38
3.1.6 颗粒均匀性及硬度	39
3.1.7 固态发酵基质的异质性	39
3.2 固态发酵基质的制备	39
3.3 木质纤维素作为固态发酵的基质	41
3.3.1 植物细胞壁的结构和超结构	41
3.3.2 木质纤维素原料的主要化学成分	41
3.3.3 木质纤维素的微生物降解	43
3.3.4 利用木质纤维素作为固体发酵的基质	43
3.4 含淀粉的原料作为发酵基质	45
3.4.1 淀粉的化学结构	45
3.4.2 淀粉颗粒	46
3.4.3 淀粉的微生物降解	46
3.4.4 淀粉基质的预处理	46
3.4.5 利用淀粉作为固态发酵的基质	47
4 影响固态发酵过程的主要参数与控制策略	48
4.1 温度与水活度	48
4.2 温度与热量传递	49
4.3 通气与传质过程	51
4.3.1 气体与固体培养基颗粒间的传质	52
4.3.2 颗粒内氧的扩散	52
4.3.3 氧气从气相主体到微生物的传递过程	52
4.4 pH值	54
4.5 固态发酵过程控制策略	54
4.5.1 建立微机在线监控系统的意义	55
4.5.2 发酵过程在线监控研究现状	55
4.5.3 气相双动态固态发酵过程控制	56
4.5.4 气相双动态固态发酵过程微机在线监控系统的建立	56
4.6 保持固态发酵过程高水活度的技术	62
5 混合固态发酵技术	65

5.1 混合固态发酵工艺特点	66
5.2 混合固态发酵工艺过程存在的问题	67
5.3 混合固态发酵工艺过程	67
5.4 混合固态发酵的因素	69
5.4.1 发酵微生物的选择与培养	69
5.4.2 发酵过程条件控制	69
6 静态密闭式固态发酵技术	70
6.1 静态密闭式固态发酵工艺过程与工艺特点	70
6.1.1 温度控制	70
6.1.2 水分控制	72
6.2 静态固态发酵反应器	72
6.2.1 托盘式生物反应器	73
6.2.2 填充床式生物反应器	74
6.2.3 反应器的放大	76
7 动态密闭式固态发酵技术	77
7.1 动态密闭式固态发酵工艺过程及特点	77
7.1.1 搅拌	77
7.1.2 底物对搅拌器的影响	78
7.2 动态密闭式固态发酵反应器	78
7.2.1 转鼓式生物反应器	78
7.2.2 搅拌式生物反应器	80
7.2.3 气固流化床反应器	80
7.2.4 立式多层固态发酵罐	81
7.2.5 动态固态发酵反应器的放大方法	81
8 气相双动态固态纯种发酵技术	83
8.1 气相双动态固态纯种发酵的工艺过程	84
8.2 气相双动态固态纯种发酵技术作用机制	87
8.3 影响气相双动态固态纯种发酵的主要因素	88
8.3.1 培养基料层厚度对纤维素酶固态发酵过程中的影响	88
8.3.2 气体脉冲压力变化范围对纤维素酶固态发酵的影响	89
8.3.3 气体脉冲周期对纤维素酶固态发酵的影响	92
8.3.4 气体内循环速率对纤维素酶固态发酵的影响	93
8.3.5 纤维素酶气相双动态固态发酵过程中的水活度变化	93
8.3.6 气相双动态纤维素酶固态发酵与传统固态发酵酶活的比较	94
8.3.7 压力脉冲口径的变化对纤维素酶固态发酵的影响	94
8.4 气相双动态固态纯种发酵的技术经济效益与社会效益分析	98
8.4.1 建设投资小	98
8.4.2 生产成本低	99
8.4.3 现代固态发酵燃动力消耗低	100

8.4.4 现代固态发酵是清洁生产工艺	101
8.4.5 为环保产业提供高新技术手段	101
8.5 装料方式	101
9 吸附载体固态发酵技术	103
9.1 吸附载体固态发酵的载体特征	103
9.2 吸附载体固态发酵过程分析	104
9.2.1 吸附载体固态发酵提高了固态发酵环境的均匀性	104
9.2.2 惰性载体吸附固态发酵促进了氧的传递	105
9.2.3 相对静态的发酵环境	106
9.3 吸附载体固态发酵的操作方式	106
9.4 载体吸附连续固态发酵技术	107
9.4.1 连续载体吸附固态发酵装置与方法	109
9.4.2 载体处理	110
9.5 吸附载体固态发酵技术经济分析	110
9.6 吸附载体固态发酵的前景	111
10 固态发酵无菌操作技术与接种技术	112
10.1 固态发酵无菌操作技术	112
10.2 固态发酵接种技术	115
10.2.1 固态发酵的气流孢子接种技术	115
10.2.2 固态发酵的文氏管液体接种技术	115

第2部分 固态发酵的应用

11 传统食品中的固态发酵	119
11.1 酿酒曲的生产工艺	119
11.1.1 大曲的生产工艺	119
11.1.2 麲曲的生产工艺	123
11.1.3 小曲的生产工艺	123
11.2 酱油曲的生产工艺	124
11.2.1 种曲制备	124
11.2.2 曲精	126
11.2.3 制曲	126
11.3 豆腐乳的生产工艺	127
11.3.1 豆腐乳生产类型及特征	127
11.3.2 豆腐乳生产发展	129
11.4 豆豉的生产工艺	129
11.4.1 霉菌型豆豉生产	130
11.4.2 细菌型豆豉生产	133
12 固态发酵酶制剂	134
12.1 固态发酵淀粉酶的工艺	134

12.1.1 米曲霉 602 固态发酵工艺	134
12.1.2 枯草杆菌 JD32 固态发酵工艺	135
12.2 固态发酵纤维素酶的工艺	136
12.3 固态发酵蛋白酶的工艺	138
12.3.1 材料与方法	138
12.3.2 发酵工艺及酶活力的影响因素	138
12.3.3 发酵条件的优化	139
13 生态农业中的固态发酵	141
13.1 固态发酵生物农药	141
13.1.1 生物农药的代表品种及杀虫谱	141
13.1.2 农用抗生素生产的发展新方向——固态发酵	144
13.2 固态发酵生物肥料	144
13.2.1 根瘤菌肥料	145
13.2.2 磷细菌肥料	145
13.2.3 “5046” 抗生菌肥料	146
13.3 固态发酵生物饲料	146
13.3.1 饲料微生物	147
13.3.2 微生物饲料生产	149
13.3.3 微生物饲料发展前景	155
14 固态发酵医药	157
14.1 药用真菌固体发酵的性质	157
14.2 影响药用真菌固体发酵因素	157
14.2.1 菌种	157
14.2.2 基质	158
14.2.3 环境	158
14.2.4 后处理	158
14.3 质量控制标准	158
14.4 现代药用真菌与固体发酵工程的发展	159
14.5 药用真菌新型固体发酵工程	159
14.5.1 理论根据	159
14.5.2 发酵组合的设计	160
14.5.3 菌质的药理筛选	160
14.5.4 产品的应用	160
14.5.5 存在的主要问题	160
14.6 固态发酵抗生素	161
14.6.1 洛伐他汀的固态发酵	161
14.6.2 利用棒状链霉菌和顶头孢霉固态发酵生产头孢菌素	163
15 固体废物的固态发酵处理技术及可再生能源	165
15.1 固体废物生物转换及其重要意义	165

15.1.1 生物转换理论基础	166
15.1.2 固体废物生物转换技术的应用	166
15.2 固体废物堆肥化	167
15.2.1 堆肥的原料	167
15.2.2 堆肥化基本原理	167
15.2.3 好氧堆肥化工工艺过程	169
15.3 有机废物厌氧发酵	171
15.3.1 固态发酵沼气	171
15.3.2 固态发酵酒精	174
15.3.3 固态发酵产氢	176
16 土壤固态修复技术	178
16.1 污染土壤微生物恢复技术的主要工艺类型	178
16.1.1 原位微生物处理工艺	178
16.1.2 异位微生物处理	180
16.2 土壤固态修复反应器	181
16.2.1 生物过滤反应器	181
16.2.2 固定化膜与固定化细胞反应器	182
16.2.3 厌氧反应器	182
16.3 生物修复的应用前景	183
17 固态发酵在生物冶金中的应用	184
17.1 生物浸出中细菌催化作用及主要反应	184
17.1.1 间接作用	184
17.1.2 细菌的直接作用	185
17.2 工艺过程	186
17.2.1 罐提取	186
17.2.2 堆浸	186
17.3 生物浸出的原则流程	186
17.4 回收铀	187
18 固态发酵在食用菌栽培中的应用	189
18.1 侧耳栽培	189
18.1.1 栽培条件与方式	189
18.1.2 栽培技术	190
18.2 双孢菇栽培	192
18.2.1 培养料的发酵	192
18.2.2 培养料的后发酵	193
18.2.3 栽培工艺	193
18.3 银耳栽培	196
18.3.1 培养料配方	196
18.3.2 配料与装袋	197

18.3.3 灭菌与接种	197
18.3.4 生产管理	197
18.3.5 采收	198
18.4 灵芝栽培	198
18.4.1 栽培技术	199
18.4.2 出芝室消毒和栽培袋堆放	201
参考文献	204

第 1 部分

现代固态发酵技术原理

1 现代固态发酵原理及其应用概述

固态发酵起源于中国，具有几千年的历史。近年来，由于固态发酵具有节水、节能的独特优势，属于清洁生产技术，逐步得到世界各国的重视。因此，本书从全新角度和从发展的观点来讨论固态发酵，以期使人们重新认识固态发酵。本着继承、发展和创新的观点，不仅对固态发酵基础理论上进行分析，而且从固态发酵的典型应用过程上来说说明。

书名冠于“现代”两字主要是体现以下几点：①本书所讨论的固态发酵已从传统的、落后的固态发酵发展成为可纯种大规模培养；②现代固态发酵不仅用于传统食品发酵，更主要是用于酶制剂、有机酸、抗生素、酒精、生物农药和基因重组工程菌药物等的生产；③所谓“传统”固态发酵生产的传统风味食品是液体发酵无法取代的；④充分体现中国在固态发酵研究和应用的领先性。

1.1 固态发酵的内涵

一般发酵工艺过程按照培养基物理性状不同，将发酵方式分为两大类：固态发酵（solid state fermentation, SSF）和液态发酵（liquid state fermentation）。液态发酵主要有表面发酵（surface liquid fermentation）和深层发酵（submerged liquid fermentation）。

而一切使用不溶性固体基质来培养微生物的工艺过程，称之为固体基质发酵（solid substrate fermentation）。按照这样的理解，既包括将固体悬浮在液体中的深层发酵，也包括在没有（或几乎没有）游离水的湿固体材料上培养微生物的工艺过程。而对于固态发酵来讲，是指没有或几乎没有自由水存在下，在有一定湿度的水不溶性固态基质中，用一种或多种微生物的一个生物反应过程。

由于人们对于固态发酵传统的认识是从固体基质开始，它既是微生物生长代谢的碳源能源，又是微生物生长的微环境，上述对于固态发酵的定义难以反映出固态发酵的科学内涵。从生物反应过程的本质考虑，固态发酵是以气相为连续相的生物反应过程；与此相反，液态发酵是以液相为连续相的生物反应过程。从这个定义中可以充分认识固态发酵的特点，以及液态发酵本质的区别（见图 1.1）。

从图 1.1 可以看出，固态发酵是气体作为生物反应过程中的 O_2 、 CO_2 、热量、营养和产物的传递介质，表现为 O_2 、 CO_2 扩散比较容易，热量传递困难，存在明显的营养梯度，并且无大量有机废水产生。

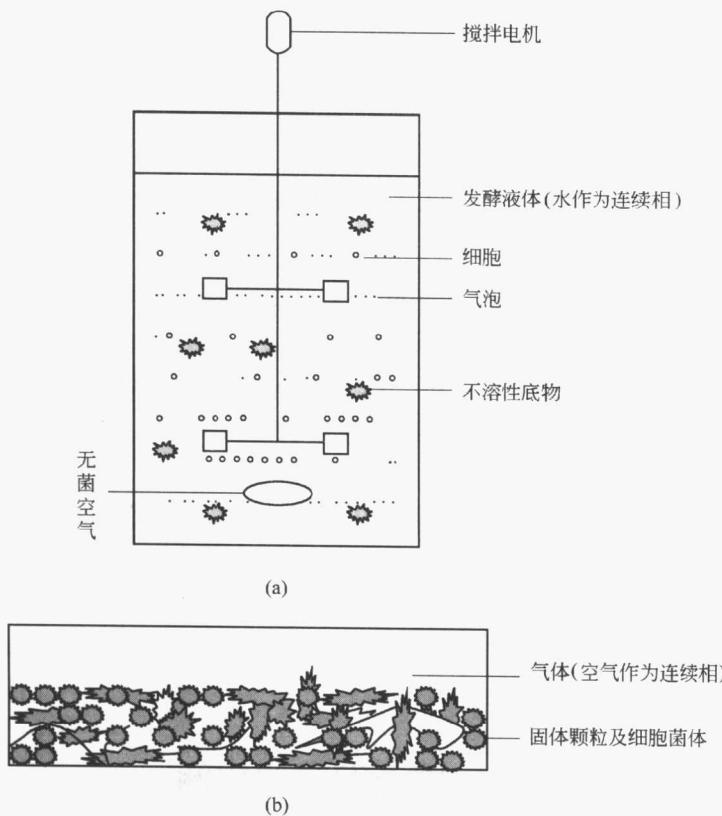


图 1.1 固态发酵与液态发酵的比较

(a) 固态发酵系统; (b) 液态发酵系统

1.2 固态发酵的特点

在固态发酵中，微生物附着于固体培养基颗粒的表面生长或菌丝体穿透固体颗粒基质，进入颗粒深层生长。一种可被生物降解或不被分解的多孔固体基质，有较大的用于微生物生长的气固表面积 ($10^3 \sim 10^6 \text{ m}^2/\text{cm}^3$)。为了具有较高的生物化学过程，基质吸附一倍或几倍的水分，保持相对高的水活度。

在固态发酵中，微生物是在接近于自然条件的状况下生长的，有可能产生一些通常在液体培养中不产生的酶和其他代谢产物，已引起人们的重视。可使微生物保持自然界中的生长存在状态，模拟自然的生长环境，这也是许多丝状真菌适宜采用固态发酵的主要原因之一。

在相对低的压力下，空气混合在发酵料中，气固表面积是微生物快速生长的良好环境。在固态发酵中，微生物生长和代谢所需的氧大部分来自于气相，因此，固态发酵的气体传递速率比液体发酵高得多。在固态发酵中，有效的供氧和挥发性产物的排除是不复杂的，但颗粒内部的传递取决于颗粒的孔隙率和颗粒内的湿润程度，减少颗粒直径和减低湿润度可强化氧传递。由于固态发酵是非均相反应，测定和控制都比较困难，用于工程设计

参数较少，大多发酵过程都依赖经验。

1.3 固态发酵与液态发酵比较分析

固态发酵与液态发酵本质区别是以气相还是以液相为连续相的差异，具体表现是固体发酵基质中游离水的多少。固态发酵中微生物生长在缺乏或几乎缺乏不可见液体水的颗粒之间，在固态发酵系统中，微生物可以从湿的基质颗粒中获得所需的水分。固体发酵基质的含水量可以有效控制在 12%~80% 之间，大多含水量在 60% 左右。与固态发酵相反，典型的深层液体发酵的发酵液中含有 5% 左右的溶质，至少有 95% 的水。当前发酵工业所使用的主要是深层液态发酵，尽管这种技术已经经过了较长期的使用和研究，但是，它仍然存在着许多难以克服的缺点，需要采用新的技术加以解决。固态发酵与液态发酵的详细比较见表 1.1。

表 1.1 固态发酵与液态发酵的比较

固 态 发 酵	液 态 发 酵
培养基中没有游离水的流动，水是培养基中较低的组分	培养基中始终有游离水的流动，水是培养基中主要组分
微生物从湿的固态基质吸收营养物，营养物浓度存在梯度	微生物从溶解水中吸收营养物，营养物浓度始终不存在梯度
培养体系涉及到气、液、固三相，气相是连续相，而液相不是连续相	培养体系大多仅涉及气、液两相，而固相所占比例低，是悬浮在液相中；液相为连续相
接种比较大，大于 10%	接种比较小，小于 10%
微生物所需氧主要来自于气相，只需少量无菌空气，能耗低	微生物所需氧来自于溶解氧，需要消耗较大能耗用于微生物溶解氧需求
气体循环和通气不仅可提供氧气和排除挥发性产物，而且也排除代谢热量	气体循环和通气仅仅提供氧气和排除挥发性产物，代谢热量需要冷却水排除
微生物吸附于固态底物的表面生长或渗透到固态底物内生长	微生物均匀分布在培养体系中
发酵结束时，培养基是湿物料状态，产物浓度高	发酵结束时，培养基是液体状态，产物浓度低
使用浓缩的培养基和较小的固态发酵生物反应器，因此生产率高，而得率和生长速率低	使用稀释的培养基和较大体积的生物反应器，因此生产率较低
高底物浓度可以产生高的产物浓度	高底物浓度产生非牛顿流体问题，需要补料系统
由于系统压力低，所需通气的压力低	由于需要克服液位差和气体从气相到液相的阻力，系统需要较高气源压力
颗粒内的混合难以实现，且微生物生长受营养扩散的限制	可实现有效混合，营养扩散通常不受限制
有效去除代谢热困难，易出现过热问题	高水含量使发酵温度控制容易，发酵设备庞大
发酵不均匀，菌体的生长、对营养物的吸收和代谢产物的分泌在各处都是不均匀	发酵均匀
由于缺乏有效在线测量手段，过程控制比较困难	许多在线传感器的成熟，可以实现发酵过程控制
由于产物高，提取工艺简单可控，因此没有大量有机废液产生，但提取物含有底物成分	需要去除大量高浓度有机废水，分离设备的体积常很庞大，费用高，而产物纯化比较容易
一般可以使用固体原料，在发酵过程中，精化与发酵过程同时进行，简化操作工序，节约能耗	一般发酵原料需要经过较复杂的加工，消耗能量大