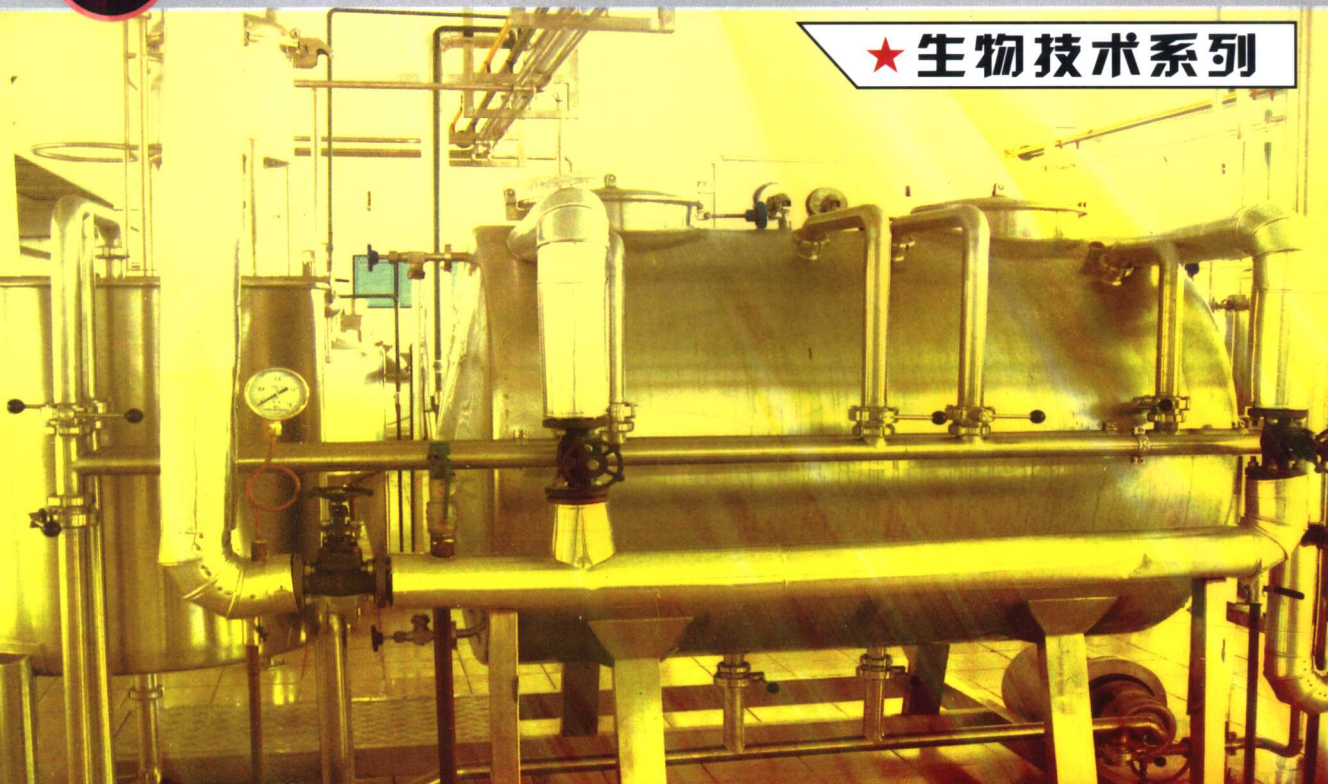




高职高专“十一五”规划教材

★ 生物技术系列



# 生化工艺

王方林 胡斌杰 主编

SHENGHUA

GONGYI



化学工业出版社



高职高专“十一五”规划教材

★生物技术系列



# 生化工艺

王方林 胡斌杰 主编

SHENGHUA  
GONGYI



化学工业出版社

·北京·

本书主要介绍了生化生产过程的工艺原理、特点和共性以及设备操作技术等内容。本书在简要介绍工业微生物相关内容的基础上,详述了培养基、消毒和灭菌、染菌与防治等发酵过程控制的实际操作内容,以及相关的动植物细胞培养技术、生化产品分离与纯化技术和生化生产工艺实例简介等知识,书后单设一章介绍实际生产与环境保护。各章安排有学习目标及思考练习。

本书适合高职高专生化工程专业、食品类专业、生物技术类专业、农产品加工专业等学生使用。

#### 图书在版编目(CIP)数据

生化工艺/王方林,胡斌杰主编.—北京:化学工业出版社,2007.8

高职高专“十一五”规划教材★生物技术系列

ISBN 978-7-122-00571-7

I. 生… II. ①王…②胡… III. 生物化学-技术-高等学校:技术学院-教材 IV. Q503

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第118527号

---

责任编辑:梁静丽 李植峰 郎红旗  
责任校对:周梦华

装帧设计:张辉

---

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印刷:大厂聚鑫印刷有限责任公司

装订:三河市延风装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张13¼ 字数343千字 2007年8月北京第1版第1次印刷

---

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

---

定 价:24.00元

版权所有 违者必究

## 高职高专生物技术类“十一五”规划教材 建设委员会委员名单

主任委员 陈电容

副主任委员 王德芝

委员 (按姓氏笔画排序)

王云龙	王方林	王幸斌	王德芝	李崇高	李敏骞	吴高岭	员冬梅
辛秀兰	宋正富	张 胜	张 海	张文雯	张温典	张德新	陆 旋
陈 红	陈电容	陈忠辉	陈登文	周庆椿	郑 瑛	郑 强	赵凤英
赵书芳	胡红杰	姜金华	钱志强	黄根隆	崔士民	程云燕	

## 高职高专生物技术类“十一五”规划教材 编审委员会委员名单

主任委员 章静波

副主任委员 辛秀兰 刘振祥

委员 (按姓氏笔画排序)

王利明	王幸斌	王晓杰	卞 勇	叶水英	包雪英	兰 蓉	朱学文
任平国	刘振祥	关 力	江建军	孙德友	李 燕	李双石	李玉林
李永峰	李晓燕	李晨阳	杨贤强	杨国伟	杨洪元	杨福林	邱玉华
余少军	辛秀兰	宋京城	张文雯	张守润	张星海	张晓辉	张跃林
张温典	张德炎	陈 玮	陈可夫	陈红梅	罗合春	金小花	金学平
周双林	周济铭	赵俊杰	胡斌杰	贺立虎	夏 红	夏未铭	党占平
徐安书	徐启红	郭晓昭	陶令霞	黄贝贝	章玉平	章静波	董秀芹
程春杰	谢梅英	廖 威	廖旭辉				

# 高职高专生物技术类“十一五”规划教材 建设单位名单

(按汉语拼音排序)

- |              |                |
|--------------|----------------|
| 安徽第一轻工业学校    | 湖北荆门职业技术学院     |
| 安徽万博科技职业学院   | 湖北荆州职业技术学院     |
| 安徽芜湖职业技术学院   | 湖北三峡职业技术学院     |
| 安徽医学高等专科学校   | 湖北生态工程职业技术学院   |
| 北京城市学院       | 湖北十堰职业技术学院     |
| 北京电子科技职业学院   | 湖北咸宁职业技术学院     |
| 北京吉利大学       | 湖北中医学院         |
| 北京协和医学院      | 湖南省药品检验所       |
| 北京医药器械学校     | 湖南永州职业技术学院     |
| 重庆工贸职业技术学院   | 华中农业大学         |
| 重庆三峡职业学院     | 江苏常州工程职业技术学院   |
| 甘肃农业职业技术学院   | 江西景德镇高等专科学校    |
| 广东科贸职业学院     | 江西应用技术职业学院     |
| 广西职业技术学院     | 开封大学           |
| 广州城市职业学院     | 山东滨州职业技术学院     |
| 贵州轻工职业技术学院   | 山东博士伦福瑞达制药有限公司 |
| 河北承德民族师范专科学校 | 山东东营职业学院       |
| 河北承德职业技术学院   | 陕西杨凌职业技术学院     |
| 河北旅游职业学院     | 上海工程技术大学       |
| 河南安阳工学院      | 四川工商职业技术学院     |
| 河南工业大学       | 苏州农业职业技术学院     |
| 河南科技学院       | 武汉软件工程职业学院     |
| 河南漯河职业技术学院   | 武汉马应龙药业有限公司    |
| 河南濮阳职业技术学院   | 武汉生物工程学院       |
| 河南三门峡职业技术学院  | 浙江大学           |
| 河南信阳农业高等专科学校 | 浙江金华职业技术学院     |
| 黑龙江农业职业技术学院  | 浙江经贸职业技术学院     |
| 呼和浩特职业学院     | 浙江医药高等专科学校     |
| 湖北大学知行学院     | 郑州牧业工程高等专科学校   |
| 湖北恩施职业技术学院   | 郑州职业技术学院       |
| 湖北黄冈职业技术学院   | 中国食品工业(集团)公司   |

## 《生化工艺》编写人员名单

主 编：王方林 胡斌杰

编写人员：

王方林（开封大学）

胡斌杰（开封大学）

孙淑香（河南工业大学化学工业职业学院）

补朝阳（新乡师范高等专科学校）

苏 岩（开封大学）

韩艳霞（开封大学）

郝喜才（开封大学五年制专科部）

## 出版说明

“十五”期间，我国的高职高专教育经历了跨越式发展，高职高专教育的专业建设、改革和发展思路进一步明晰，教育研究和教学实践都取得了丰硕成果。但我们也清醒地认识到，高职高专教育的人才培养效果与市场需求之间还存在着一定的偏差，课程改革和教材建设的相对滞后是导致这一偏差的两大直接原因。虽然“十五”期间各级教育主管部门、高职高专院校以及各类出版社对高职高专教材建设给予了较大的支持和投入，出版了一些特色教材，但由于整个高职高专教育尚未进入成熟期，教育改革尚处于探索阶段，故而现行的一些教材难免存在一定程度的不足。如某些教材仅仅注重内容上的增减变化，过分强调知识的系统性，没有真正反映出高职高专教育的特征与要求；编写人员缺少对生产实际的调查研究和深入了解，缺乏对职业岗位所需的专业知识和专项能力的科学分析，教材的内容脱离生产经营实际，针对性不强，新技术、新工艺、新案例、新材料不能及时反映到教材中来，与高职高专教育应紧密联系行业实际的要求不相适应；专业课程教材的编写缺少规划性，同一专业的各门课程所使用的教材缺乏内在的沟通衔接等。为适应高职高专教学的需要，在总结“十五”期间高职高专教学改革成果的基础上，组织编写一批突出高职高专教育特色，以培养适应行业需要的高级技能型人才为目标的高质量教材不仅十分必要，而且十分迫切。

“十一五”期间，教育部将深化教学内容和课程体系改革作为工作重点，大力推进教材向合理化、规范化方向发展。2006年，教育部不仅首次成立了高职高专40个专业类别的“教育部高等学校教学指导委员会”，加强了对高职高专教学改革和教材建设的直接指导，还组织了普通高等教育“十一五”国家级规划教材的申报工作。化学工业出版社申报的200余本教材经教育部专家评审，被列选为普通高等教育“十一五”国家级规划教材，为高等教育的发展做出了积极贡献。依照教育部的部署和要求，2006年化学工业出版社与生物技术应用专业教育部教改试点高职院校联合，邀请50余家高职高专院校和生物技术相关企业作为教材建设单位，共同研讨开发生物技术类高职高专“十一五”规划教材，成立了“高职高专生物技术类‘十一五’规划教材建设委员会”和“高职高专生物技术类‘十一五’规划教材编审委员会”，拟在“十一五”期间组织相关院校的一线教师和相关企业的技术人员，在深入调研、整体规划的基础上，编写出版一套生物技术相关专业基础课及专门课的教材——“高职高专‘十一五’规划教材★生物技术系列”。该批教材将涵盖各类高职高专院校的生物技术及应用专业、生物化工工艺专业、生物实验技术专业、微生物技术及应用专业、生物科学专业、生物制药技术专业、生化制药技术专业、发酵技术专业等专业的核心课程，从而形成优化配套的高职高专教材体系。目前，该套教材的首批编写计划已顺利实施。首批编写的教材中，《化学》、《细胞培养技术》和《药品质量管理》已列选为“普通高等教育‘十一五’国家级规划教材”。

该套教材的建设宗旨是从根本上体现以应用性职业岗位需求为中心，以素质教育、创新教育为基础，以学生能力培养为本位的教育理念，满足高职高专教学改革的需要和人才培养的需求。编写中主要遵循以下原则：①理论教材和实训教材中的理论内容遵循“必需”、“够

用”、“管用”的原则；②依据企业对人才的知识、能力、素质的要求，贯彻职业需求导向的原则；③坚持职业能力培养为主线的原则，多加入实际案例、技术路线、操作技能的论述，教材内容采用模块化形式组织，具有一定的可剪裁性和可拼接性，可根据不同的培养目标将内容模块剪裁、拼接成不同类型的知识体系；④考虑多岗位需求和学生继续学习的要求，在职业岗位现实需要的基础上，注重学生的全面发展，以常规技术为基础，关键技术为重点，先进技术为导向，体现与时俱进的原则；⑤围绕各种具体专业，制订统一、全面、规范性的教材建设标准，以协调同一专业相关课程教材间的衔接，形成有机整体，体现整套教材的系统性和规划性。同时，结合目前行业发展和教学模式的变化，吸纳并鼓励编写特色课程教材，以适应新的教学要求；并注重开发实验实训教材、电子教案、多媒体课件、网络教学资源等配套教学资源，方便教师教学和学生学习，满足现代化教学模式和课程改革的需要。

在该套教材的组织建设和使用过程中，欢迎高职高专院校的广大师生提出宝贵意见，也欢迎相关行业的管理人员、技术人员与社会各界关注高职高专教育和人才培养的有识之士提出中肯的建议，以便我们进一步做好该套教材的建设工作；更盼望有更多的高职高专院校教师和相关行业的管理人员、技术人员参加到教材的建设工作和编审工作中来，与我们共同努力，编写和出版更多高质量的教材。

化学工业出版社 教育分社



# 前 言

生化生产是在结合传统工艺和现代生物技术的基础上充满活力的新兴产业，它是现代生物工程的重要组成部分，是基因工程、细胞工程、酶工程的具体生产应用。目前，生化工业涉及医药、食品、轻化工、饲料、环境治理、石油开采、贵重金属冶炼等多种工业部门，在国民经济中的地位日趋重要。

为了更好地服务于生化工业，培养产业所需人才，我们结合多年教学经验，在2006年河南省精品课程的基础上，组织编写了《生化工艺》一书。本书以探讨生化产品生产过程的共性为目的，从工艺的角度阐明细胞的生长和代谢产物与细胞的培养条件之间的相互关系，为生化生产过程的优化提供理论基础；在编排上结合生化生产过程的工艺原理和特点，以生物产品的生产为主线安排各章节的内容。全书共十章，主要内容包括：工业微生物基础、培养基的选择与灭菌、空气除菌、发酵生产染菌及其防治、发酵过程的控制、动植物细胞培养技术、生化产品的分离与纯化、生化工艺实例简介和发酵工业与环境保护等相关内容。本书在编写过程中力求体现我国高等职业教育特点，在突出生化工艺过程的同时，以应用为目的，将基本知识和各种新技术、新成果有机结合在一起，并注重技能培养，注意吸收生产实际当中的基本技能和基本操作方法，内容上力求反映生物生产过程的新理论和新进展。

本书由王方林、胡斌杰担任主编。全书编写分工如下：王方林编写第十章；胡斌杰编写第三、第八章；孙淑香编写第四、第六章；补朝阳编写第九章；苏岩编写第一、第四章；韩艳霞编写第二章；郝喜才编写第五、第七章。

由于生化工艺涉及很多学科并且在不断地发展之中，再加上作者水平有限，书中难免会有不妥之处，恳请读者提出宝贵意见，以便进一步修改提高。

编者

2007年7月

# 目 录

<b>第一章 绪论</b> ..... 1	三、灭菌的影响 ..... 41
一、生化生产工艺发展简史..... 1	四、pH 的影响 ..... 41
二、微生物工业产品类型..... 2	五、其他影响因素 ..... 41
三、生化生产过程的特点..... 4	<b>第四节 生化生产常用原料</b> ..... 42
四、生化生产过程的共性..... 4	一、糖蜜原料 ..... 42
五、生化生产工艺学的定义、内容和任务 ..... 5	二、石油代粮发酵的原料 ..... 43
<b>第二章 工业微生物基础</b> ..... 6	三、其他原料发酵 ..... 44
<b>第一节 工业生产常用的微生物及要求</b> ..... 6	<b>第五节 淀粉水解糖的制备</b> ..... 44
一、工业生产常用的微生物..... 6	一、淀粉酸水解法 ..... 44
二、工业生产对菌种的要求 ..... 9	二、淀粉酶水解法 ..... 46
<b>第二节 工业微生物菌种的选育与改良</b> ..... 9	三、淀粉酸酶结合法 ..... 47
一、自然选育..... 9	四、淀粉水解糖制备方法比较 ..... 47
二、诱变育种 ..... 11	五、淀粉水解糖液的质量要求 ..... 48
三、生产菌种的改良 ..... 14	<b>第六节 培养基灭菌方法及原理</b> ..... 49
<b>第三节 工业微生物菌种的保藏、衰退与复壮</b> ..... 15	一、灭菌方法概述 ..... 49
一、菌种保藏的原理及方法 ..... 15	二、湿热灭菌原理 ..... 50
二、菌种的衰退 ..... 17	<b>第七节 培养基的湿热灭菌方式及灭菌时间的计算</b> ..... 56
三、菌种的复壮 ..... 20	一、间歇灭菌(分批灭菌) ..... 56
<b>第四节 种子的扩大培养</b> ..... 21	二、连续灭菌 ..... 57
一、种子扩大培养的任务 ..... 21	三、间歇灭菌与连续灭菌的比较 ..... 59
二、种子制备过程 ..... 21	四、培养基灭菌时间的计算 ..... 59
三、种子培养 ..... 22	五、影响灭菌的因素 ..... 60
四、种子质量的控制 ..... 24	思考与练习 ..... 62
思考与练习 ..... 28	<b>第四章 空气除菌</b> ..... 63
<b>第三章 培养基的选择与灭菌</b> ..... 29	<b>第一节 空气中的微生物及除菌方法</b> ..... 63
<b>第一节 培养基的组成</b> ..... 29	一、空气中的微生物 ..... 63
一、培养基组成影响细胞分化和产物形成 ..... 29	二、发酵生产对空气的质量要求 ..... 64
二、配制工业发酵培养基的一般要求 ..... 30	三、空气除菌方法 ..... 64
三、培养基的成分 ..... 30	<b>第二节 空气除菌的过滤介质</b> ..... 65
<b>第二节 培养基的种类与选择</b> ..... 37	一、常用过滤介质 ..... 65
一、培养基的种类 ..... 37	二、新型过滤介质 ..... 67
二、培养基的设计 ..... 38	<b>第三节 介质过滤除菌的原理及效率</b> ..... 67
三、培养基的筛选 ..... 39	一、过滤除菌的原理 ..... 67
<b>第三节 影响培养基质量的因素</b> ..... 39	二、介质过滤效率 ..... 69
一、原材料质量的影响 ..... 39	三、影响介质过滤效率的因素 ..... 69
二、水质的影响 ..... 40	<b>第四节 空气过滤除菌工艺流程及设备</b> ..... 71
	一、常用空气过滤除菌工艺流程 ..... 71

二、新型空气过滤除菌工艺流程 .....	73	二、影响发酵温度变化的因素 .....	102
三、工业常用空气过滤除菌设备 .....	73	三、温度的控制 .....	103
四、提高过滤除菌效率的措施 .....	76	第六节 pH 影响及其控制 .....	104
思考与练习 .....	77	一、pH 对发酵过程的影响 .....	104
<b>第五章 发酵生产染菌及其防治</b> .....	78	二、发酵过程中 pH 的变化情况 .....	105
第一节 染菌对发酵的影响 .....	78	三、发酵 pH 的确定和控制 .....	105
一、杂菌的种类和性质对发酵的影响 .....	78	第七节 溶解氧的影响及其控制 .....	107
二、不同阶段染菌对发酵的影响 .....	78	一、发酵过程中对氧的需求 .....	107
三、不同染菌原因对发酵的影响 .....	79	二、溶解氧对发酵的影响 .....	110
四、染菌程度对发酵的影响 .....	79	三、发酵过程溶解氧的变化 .....	111
第二节 发酵异常现象及染菌原因分析 .....	79	四、溶解氧浓度的控制 .....	112
一、发酵过程中的异常现象 .....	79	第八节 泡沫的影响及其控制 .....	113
二、染菌原因分析 .....	80	一、泡沫的产生及其对发酵过程的	
第三节 杂菌污染的判断及处理 .....	81	影响 .....	113
一、染菌的检查和判断 .....	81	二、泡沫的消除和控制 .....	114
二、杂菌污染的处理 .....	82	第九节 发酵终点的判断 .....	116
第四节 杂菌污染的途径和防治 .....	83	思考与练习 .....	117
一、实验室菌种扩大培养染菌及其防治 .....	83	<b>第七章 动植物细胞培养技术</b> .....	118
二、空气带菌及其防治 .....	83	第一节 动物细胞培养概述 .....	118
三、设备渗漏或“死角”造成的染菌及		第二节 动物细胞的培养方法 .....	123
其防治 .....	83	一、贴壁培养 .....	123
四、生产原料染菌及其防治 .....	85	二、悬浮培养 .....	123
五、操作不当造成的染菌及其防治 .....	86	三、固定化培养 .....	124
六、噬菌体污染及其防治 .....	87	第三节 动物细胞培养方式 .....	125
思考与练习 .....	88	一、分批式培养 .....	125
<b>第六章 发酵过程的控制</b> .....	89	二、流加式培养 .....	126
第一节 微生物发酵类型 .....	89	三、半连续式培养 .....	127
一、分批发酵、补料分批发酵与连续		四、连续式培养 .....	127
发酵 .....	89	第四节 动物细胞大规模培养工艺及其	
二、需氧发酵与厌氧发酵 .....	94	应用 .....	129
三、生长偶联型发酵、部分生长偶联型		一、动物细胞大规模培养工艺 .....	129
发酵和非生长偶联型发酵 .....	95	二、动物细胞培养技术的应用 .....	129
第二节 发酵过程的工艺参数控制 .....	96	三、抗乙型肝炎表面抗原的单克隆抗体	
一、物理参数 .....	96	生产工艺 .....	130
二、化学参数 .....	97	第五节 植物细胞培养技术 .....	133
三、生物参数 .....	97	一、简述 .....	133
第三节 发酵过程中的代谢变化 .....	98	二、植物细胞的大规模培养技术 .....	134
一、初级代谢产物发酵的代谢变化 .....	98	三、植物细胞大规模培养技术在生产中	
二、次级代谢产物发酵的代谢变化 .....	98	的应用 .....	138
第四节 菌体浓度的影响及其控制 .....	100	思考与练习 .....	139
一、影响菌体生长的因素 .....	100	<b>第八章 生化产品的分离与纯化</b> .....	140
二、菌体浓度对初级代谢和次级代谢		第一节 概述 .....	140
的影响 .....	100	一、生化产品的分类 .....	140
第五节 温度的影响及其控制 .....	101	二、生化产品分离纯化的一般步骤 .....	141
一、温度对发酵的影响 .....	101	三、分离生化产品应注意的问题 .....	142

第二节 培养液的预处理	142	一、有机酸的来源与用途	170
一、培养液的一般特性	142	二、衣康酸的发酵生产工艺	170
二、培养液预处理的主要内容	143	三、柠檬酸的深层发酵工艺	170
第三节 培养液的固-液分离	144	第三节 氨基酸、酶制剂与单细胞蛋白发	
一、固-液分离过程和分类	144	酵生产工艺	172
二、固-液分离常用技术及其特点	144	一、氨基酸发酵生产工艺	173
第四节 细胞破碎	145	二、酶制剂的发酵生产工艺	177
一、细胞破碎技术的分类	146	三、单细胞蛋白发酵生产工艺	184
二、细胞破碎常用方法介绍	146	第四节 抗生素生产工艺	188
第五节 生化产品的分离纯化	146	一、抗生素概述	188
一、简述	146	二、抗生素的发展	188
二、主要的生物分离纯化技术简介	147	三、抗生素的分类	188
第六节 生化产品分离工艺介绍	149	四、抗生素的应用	190
一、影响分离纯化方法选择和工艺设计		五、抗生素生产的工艺过程	190
的因素	149	六、青霉素的生产工艺	192
二、对分离纯化技术和工艺的要求	150	第五节 维生素 B <sub>2</sub> (核黄素) 发酵生产	
三、生化产品分离工艺设计的主要		工艺	193
方法	151	思考与练习	194
四、生化产品分离工艺的基本流程	151	<b>第十章 发酵工业与环境保护</b>	195
第七节 动物细胞培养产物的分离纯化	152	第一节 发酵工业污染治理意义	195
一、动物细胞培养产物蛋白的分离		一、水质指标	195
纯化	153	二、治污意义	196
二、病毒的分离纯化	153	第二节 发酵工业污水处理方法	197
第八节 基因工程生化产品的分离纯化	154	一、化学处理法	197
一、破碎细胞	154	二、物理处理法	197
二、固-液分离	155	三、生物处理法	198
三、产物的分离纯化	156	四、国外污水处理的几种方法	199
四、去除非蛋白质类杂质	158	第三节 生物处理装置	200
第九节 成品干燥	159	一、好氧生物处理装置	200
一、概述	159	二、厌氧生物处理装置	202
二、生化产品的干燥方法	159	第四节 发酵工业废水、糟、渣的处理	
思考与练习	161	与利用	204
<b>第九章 生化生产工艺实例简介</b>	162	一、发酵工业废水的处理与利用	204
第一节 酒类发酵生产工艺	162	二、发酵工业废糟的处理与利用	205
一、啤酒生产工艺	162	三、发酵工业废渣的处理与利用	207
二、葡萄酒生产工艺	167	思考与练习	208
三、白酒生产工艺	168	<b>参考文献</b>	209
第二节 有机酸发酵生产工艺	170		

# 第一章 绪 论

## 学习目标

了解生化生产工艺发展简史。初步掌握微生物工业产品类型。熟悉生化生产过程的特点和共性。掌握生化生产工艺学的定义、内容和任务。

### 一、生化生产工艺发展简史

#### 1. 传统生物技术的追溯

酿酒制醋是人类最早通过实践所掌握的生物技术之一。苏美尔人和巴比伦人公元前6000年会制作啤酒，考古发掘证实中国在龙山文化（距今4000~4200年）已有酒器出现。公元前221年，我国劳动人民已经懂得制酱、酿醋、制作豆腐。除食物外，人类祖先必须面对的另一项严酷挑战就是与疾病作斗争。公元10世纪，中国就有预防天花的活疫苗。属于古老的生物技术产品的实例还有酱油（sauce）、泡菜（pickled vegetables）、奶酒（milkliqour）、干酪（cheese）制作以及面团发酵（dough fermentation）、粪便（excrement andurine）和秸秆（straw）的沤制等。

#### 2. 初期出现的生物技术产品

1680年，荷兰人列文虎克（Leenvenhoek）制成显微镜，首先观察到了微生物（microbe）。19世纪60年代，法国科学家巴斯德（L. Pasteur）首先证实酒精发酵是由酵母菌引起的，其他不同的发酵产物是由不同的微生物作用而形成的，由此建立了纯种培养技术。

1897年，德国人Buchner进一步发现磨碎的酵母仍能使糖发酵而形成酒精，并将此具有发酵能力的物质称为酶，这样发酵现象的真相才真正被人们了解。19世纪末到20世纪20~30年代，发酵工业陆续出现，这时期的发酵产品有丙酮丁醇（acetone-butanol）、乳酸（lactic acid）、酒精（alcohol）、面包酵母（bread yeast）、柠檬酸（citric acid）、淀粉酶（amylase）、蛋白酶（proteinase）等。这些产品大多是厌氧发酵（anaerobic fermentation）过程的产物，产物的化学结构比起原料来更为简单，属于初级代谢产物（primary metabolite）。

#### 3. 近代生物技术产品

近代生物技术产品出现于20世纪40年代，是以抗生素的生产为标志。最初采用表面培养法（surface culture）生产，以麸皮（wheat bran）为培养基（medium），发酵效价单位（fermentation titer unit）约为40U/ml、纯度20%，收率30%。1943年，美英科学家研究出5m<sup>3</sup>的机械通风发酵罐，进行深层通风发酵（submerged fermentation），发酵效价单位提高到200U/ml，纯度60%，收率75%。不久，其他抗生素（antibiotic）如链霉素（streptomycin）、新霉素（neomycin）相继问世。抗生素生产的经验有力地促进了其他发酵产品的发展，最突出的就是20世纪50年代氨基酸（amino acid）发酵工业和60年代酶制剂（enzyme preparation）工业、有机酸（organic acid）工业的发展。这个时期产品种类多，既有初级产物又有次级产物（secondary metabolite）如抗生素、多糖（polysaccharide）等，还有生物转化、酶反应产物等。大多为好氧发酵（aerobic fermentation），规模大，技术要求高。

#### 4. 现代生物技术产品

现代生物技术产品的特点是运用了现代生物技术——DNA 重组技术 (recombinant DNA technology) 和原生质体融合技术 (protoplast fusion) 等的成果进行生产。

1953 年, 美国人 J. Watson 和英国人 F. Crick 在《Nature》杂志上发表“核酸的分子结构”一文, 阐明了 DNA 的双螺旋 (double-helices) 结构。1973 年, 美国的 S. Cohen 领导小组开创了体外重组 DNA 并成功转化大肠杆菌的先河。由于 DNA 双螺旋结构的发现和实验室中基因转移的实现, 使人们有可能按人类意志设计出新的生命体。基因工程就是按人类的意志将外源 (目标) 基因 (特定的 DNA 片段) 在体外与载体 DNA (质粒、噬菌体等) 嵌合后导入宿主细胞, 使之形成能复制和表达外源基因的克隆 (clone), 这样, 人们就可以通过这些重组体的培养而“借腹怀胎”地获得所需要的目标产品。1975 年, 英国人 Kohler 及 Milstein 发明了杂交瘤技术, 他们用淋巴细胞 (来自脾脏, 能产生抗体) 与骨髓瘤细胞 (能在体外无限繁殖) 用原生质体融合 (protoplast fusion) 技术进行细胞融合而获得在体外培养能产生单一抗体的杂交细胞, 特称杂交瘤细胞, 其产品是单克隆抗体 (monoclonal antibody), 可用作临床诊断试剂或生化治疗剂。

1969 年, 日本首先将固定化酶 (immobilized enzyme) 用于 D, L-氨基酸的光学拆分。目前, 最多的是用固定化异构酶 (immobilized isomerase) 生产果葡糖浆 (fructose syrup) 和固定化酰化酶 (immobilized acylase) 生产 6-氨基青霉烷酸 (6-amino penicillanic acid)。固定化酶在临床诊断和治疗上有一定的用途, 也可用于生物传感器 (biosensor) 以测定酶的底物浓度。

1977 年, 波依耳首先用基因操作 (gene manipulation) 手段获得了生长激素抑制因子 (growth hormone inhibitor) 的克隆。1978 年, 吉尔伯特 (Gilbert) 接着获得了鼠胰岛素 (mouse insulin) 的克隆。1982 年, 第一个基因工程产品——利用重组体微生物生产的人胰岛素 (human insulin) 终于问世了。

现代生物技术给生物反应过程赋予新的生命力, 但从培养液中将目标产物提取出来并加以纯化, 并非易事。因为目标产物浓度低, 有时还包含在细胞中。另外在重组菌的培养中, 为了获得重组菌体, 往往采用高密度培养。但实际中, 通过研究高密度培养的工艺条件, 获得高浓度的菌体, 却得不到高浓度的目标产物。因为重组菌存在不稳定性, 导入的嵌有外源基因的质粒容易从宿主细胞内脱落而使外源基因不表达。因此, 除了在 DNA 重组过程中设法提高质粒在宿主细胞内的稳定性以增加表达量外, 还需要研究提高稳定性的培养工艺条件。

植物细胞大规模培养早于动物细胞, 利用植物细胞培养可以生产某些珍贵的植物次生代谢产物, 如生物碱、甾体化合物等, 这也是属于现代生物技术范围内的产品。

现代生物技术产品虽然种类不多, 但价值很大, 社会效益巨大, 是方兴未艾的高新技术产业。今后, 现代生物技术产品将不但用来生产一些贵重或有特殊功效的药物, 在农业和化工原料的应用开发中显示巨大的潜力, 另外用现代生物技术对传统的发酵工业进行改造也有很大潜力。

## 二、微生物工业产品类型

### 1. 微生物菌体的发酵

微生物菌体的发酵是以获得具有多种用途的微生物菌体细胞为目的的产品的发酵工业。传统的菌体发酵工业包括面包制作、菌体蛋白 (人类或动物) 食品。现代的菌体发酵包括药用真菌, 如香菇类、冬虫夏草、与天麻共生的密环菌以及从多孔菌科的茯苓菌获得名贵中药茯苓和从担子菌获得灵芝等药用菌。生物防治剂如苏云金杆菌、蜡样芽孢杆菌, 其细胞中的伴

孢晶体 (parasporal crystal) 可杀死鳞翅目、双翅目的害虫; 丝状真菌的白僵菌、绿僵菌可防治松毛虫, 制成新型的微生物杀虫剂; 活性乳酸菌制剂, 用于改善人体肠道微生态环境, 这也是一种菌体的直接利用。

这类产品发酵的特点是细胞的生长与产物的积累成平行关系, 生长速率最大的时期也是产物合成速率最高的阶段; 生长稳定期细胞物质浓度最大, 同时也是产量最高的收获时期。

## 2. 微生物酶发酵

酶 (enzyme) 普遍存在于动物、植物和微生物细胞中。酶的最初来源是从动植物组织中提取, 但目前工业应用的酶大多来自微生物发酵。从 19 世纪日本学者利用米曲霉制造淀粉酶以来, 利用发酵法生产制备并提取微生物生产的各种酶, 已是当今发酵工业的重要组成部分。微生物种类多、产酶品种多、生产容易、成本低。

微生物酶制剂有广泛的应用。在食品和轻工行业中, 如用于生产葡萄糖的淀粉酶 (amylase) 和糖化酶 (glucoamylase); 用于 D,L-氨基酸光学拆分的氨基酰化酶 (amino acylase) 也用于医药生产和医疗检测中, 如胆固醇氧化酶 (cholesterol oxidase) 用于检测血清中胆固醇 (cholesterol) 的含量, 葡萄糖氧化酶 (glucose oxidase) 用于检测血液中葡萄糖的含量等。另外还有纤维素酶 (cellulase)、蛋白酶 (proteinase)、果胶酶 (pectinase)、脂酶 (lipase)、过氧化氢酶 (catalase)、药用酶 (pharmaceutical enzyme) 等。

这里所说的酶大部分是利用微生物生产的菌体胞内酶 (endoenzyme) 和菌体胞外酶 (exoenzyme) 并用现代生物技术的方法提取得到的酶纯品, 称酶制剂 (enzyme preparation), 以供各行业使用。

## 3. 微生物代谢产物发酵生产

以微生物代谢产物作为产品是发酵工业中种类最多, 也是最重要的部分。这类产品可分为两类。①初级代谢物 (primary metabolite), 如氨基酸、核苷酸、蛋白质、核酸等, 它们是菌体生长所必需的, 是在对数生长期所产生的物质, 受许多调节机制的控制。许多初级代谢产物在经济上有相当的重要性。②次级代谢产物 (secondary metabolite), 如抗生素、生物碱、细菌素、植物生长因子 (plant growth factor) 等, 这些产物与菌体的生长繁殖无明显关系, 是菌体在生长的稳定期合成的具有特定功能的产物, 也受许多调节机制的控制, 如诱导调节、分解代谢产物阻遏等。

由于抗生素不仅具有广泛的抗菌作用, 而且还有抗病毒、抗癌、镇咳等其他生理活性, 因而得到了大力发展, 已成为发酵工业的重要组成部分。

## 4. 微生物的生物转化

微生物的生物转化作用是利用微生物细胞的一种或多种酶, 作用于一些化合物的特定部位 (基团), 使它转变成结构相类似但具有更大经济价值的化合物的生化反应。

生物转化的最终产物并不是微生物细胞利用营养物质经细胞代谢产生, 而是微生物细胞的酶或酶系作用于底物某一部位, 进行特定部位化学反应而形成。细胞的作用仅仅相当于生物催化剂, 反应最显著的特点是特异性强, 包括反应特异性、结构位置特异性和立体特异性。生物工业中最重要的生物转化是菌体转化。

## 5. 微生物特殊机能的利用

- ① 利用微生物消除环境污染。
- ② 利用微生物发酵保持生态平衡。
- ③ 利用微生物进行金属的浸沥回收。
- ④ 利用基因工程菌株开拓发酵工程新领域。

### 三、生化生产过程的特点

生化生产过程是利用生物体的生命活动来获得产品的，与化学生产过程相比，它们有着生命活动所具有的特点。

① 生产过程通常都是在常温下进行，一般操作条件比较温和，各种设备不必考虑防爆问题，可能使一种设备具有多种用途。

② 生产所用的原料常以淀粉、糖蜜等碳水化合物为主，并加入少量的有机和无机氮源，原料只要不含对生物有害的物质，一般不需对原料进行预处理。

③ 生产过程中的反应是以生命体的自动调节方式进行的，因此数十个反应过程能够像单一的反应一样，在单一的生物反应器中进行。

④ 能够很容易地生产复杂的高分子化合物，其中酶、光学活性体等的生产是生化生产过程中一个最有特色的领域。

⑤ 利用生命体特有的反应机制，能够高选择性地对复杂化合物在特定部位上的氧化、还原、官能团导入等反应。

⑥ 生产产品的生物体本身有时也是产物，其富含维生素、蛋白质、酶等；除特殊情况外，生物体的培养液一般不会对人和动物造成危害。

⑦ 生化生产过程中最需要注意的是防止杂菌污染，尤其是噬菌体的侵入危害很大，有时甚至是致命的，因此，生产过程的灭菌十分重要，它决定着生产的成败。

⑧ 通过改良生物体的生产性能，可在不增加设备投资的条件下，利用原有的生产设备使生产能力飞跃上升。

实际生产中，人们一直极其重视微生物、动植物细胞的改良和新产品的开发，而忽视了探求改进生产工艺和改良工业生产设备的工艺研究。但是，一些生物生产过程的成功事例表明，工艺的改进将会在很大程度上改善产品的质量，提高生产效益，起到上游过程无法实现的作用。特别是随着生物技术的发展，对生化生产过程提出了更高的要求，使工艺的研究和优化越加变得重要。

### 四、生化生产过程的共性

尽管生化生产过程中所用的生命体或其生命过程有其自身的特点，但是这些生命体的生命过程具有生命活动的共性，因此生化生产过程也具有相应的共性。

第一，微生物或动植物细胞要维持其生命，必须获得必要的和足够的营养和能量，这与人类为了维持生命需要食物一样，因此，这就涉及细胞培养的培养基问题。由于不同的微生物或动植物细胞有着不同的生理、生化特性和生长特点，对培养基的营养成分就有不同的要求，培养基中的碳源形式、碳氮的比例、微量元素以及生长素、抑制剂的存在与否都可能对细胞的生长和产物的代谢产生很大的影响。如何选择作为培养基主要成分的碳源、氮源、微量元素以及生长素等，并确定培养基中各组分的含量及比例，是各类生化生产过程所需要解决的共同问题。

第二，生化生产过程中的细胞培养一般都是纯种培养过程，而微生物杂菌是无孔不入、无处不在的，杂菌污染不仅消耗了培养基中的营养成分，使原料的利用率下降，有时还会分泌出对微生物或动植物细胞有毒或者能破坏产物的物质，对生产过程产生极大的影响，甚至会使生产过程失败。工业上，是否能防止杂菌污染导致生产倒罐是决定生产成败的关键，也是决定生产过程经济效益好坏的重要因素，因此，必须严格防止杂菌的污染。生产过程中的原料、设备和空气的灭菌或除菌是生化生产过程中最重要的环节之一。

第三，如何合理地设计一级、二级乃至三级种子培养系统，并讨论如何掌握各级种子培



养系统的培养时间以及它们之间的比例，从而使种子培养系统与生产过程合理配套也是生化生产过程所需要考虑的问题之一。

第四，对于好氧的培养过程，需要不断地向细胞培养系统供给足够的氧气，以保证细胞正常生长和所需产物的形成、代谢，鉴于细胞培养液的传递特性比较复杂，如何合理地设计通气搅拌设备，使之既能保证足够的氧气供给，又尽可能节省能量，且不使细胞或代谢产物失活是好氧培养过程的重要组成部分。即使对于厌氧的培养过程，也常常有  $\text{CO}_2$  气体、营养物质以及热量等的传递，尽管其对搅拌的要求不像好氧培养过程那样严格，但同样也是十分必要的。

第五，微生物或动植物细胞的生长有不同的阶段，各个阶段对营养及环境有着不同的要求。如何合理地控制不同阶段的环境条件及营养物质的浓度是保证原料低消耗、产物高得率的重要因素。不合理的培养过程控制有可能导致无法得到所需要的产物。

第六，生化生产过程中的代谢产物几乎都是以混合物的形式存在，如何选择合适的分离方法，使之高效率、低成本地从细胞或培养液中提取、分离、纯化和精制所需的产物是决定生产成败的关键因素。

所有这些都是各类细胞培养过程中存在的共同性质，只是在不同的具体生产过程对各个环节有着不同的要求而已。

### 五、生化生产工艺学的定义、内容和任务

尽管生物技术产品种类繁多，过程千差万别、各具特点，但它们都是利用生物体的代谢作用并借助于对代谢过程的控制来获得所需产品的，对这些生物技术产品生产过程的共性的探讨，就形成了生化生产工艺学（本书简称，生化工艺学）。生化工艺学是以探讨生化产品生产过程的共性为目的，从工艺的角度阐明细胞的生长和代谢产物与细胞的培养条件之间的相互关系，为生化生产过程的优化提供理论基础，它是微生物学、生物化学、物理化学、化工原理、生化反应工程、生化分离工程和生化过程控制等课程的后续课程，包括了微生物菌种的特性和选育、培养基的特性和配制、培养基和空气的灭菌或除菌、氧的传递、杂菌的防治、培养工艺的控制、动植物细胞的大规模培养、产物的分离纯化工艺及单元操作等内容。

生化工艺学的任务是使学生在已学过微生物学、生物化学、物理化学、化工原理、生化反应工程、生化分离工程和生化过程控制等课程的基础上，进一步深化和提高所学的基本知识，深入理解生化过程的工艺原理，懂得如何应用上述这些基本理论去分析和解决生产过程中的具体问题，改造原有的不合理的生产过程，使生产过程更好地符合客观规律，提高生产过程的经济效益和社会效益。在学习上要求学生结合生产实际弄清生化过程的工艺原理，掌握生化工艺的共性，熟悉特定生产工艺的特性，加强工程技术和单元操作的训练，具备进行不合理生产工艺的改造、设计和开发新产品的生产工艺的初步能力。