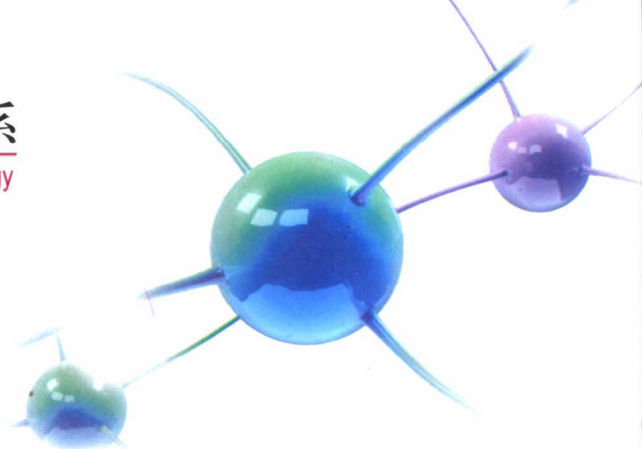


“十一五”国家重点图书出版规划



应用生物技术大系

Comprehensive Series of Applied Biotechnology



# 工业微生物实验 与研究技术

主 编 诸葛健

副主编 沈 微 方慧英 诸葛斌 饶志明



科学出版社

[www.sciencep.com](http://www.sciencep.com)



中国轻工业出版社  
CHINA LIGHT INDUSTRY PRESS  
100045 北京 朝花宫胡同 25 号



# 工业微生物实验 与研究技术

主编 王明

副主编 张明 李强 赵伟 孙丽 周敏 吴昊 郑宇 冯磊 陈浩 褚鑫 梁宇 宋浩 唐宇 罗浩 姜宇 洪浩 姜宇 洪浩



应用生物技术大系

# 工业微生物实验与研究技术

主编 诸葛健

副主编 沈 微 方慧英 诸葛斌 饶志明

科学出版社

北 京

## 内 容 简 介

工业微生物及其发酵技术对农副产品等可再生资源深加工是非常实用的。本书围绕这一实用领域分 14 章展开论述。书后有附录。全书含表 104 个、图 220 幅、实验 218 项,可谓图文并茂,涉及学科的实验项目较为齐全。本书既有传统经典的内容,也有现代前沿的知识。对生物工程领域的初学者、中高级科技人员都有其参考与实用价值。

### 图书在版编目(CIP)数据

工业微生物实验与研究技术/诸葛健主编.—北京:科学出版社,2007  
(应用生物技术大系)

ISBN 978-7-03-019613-2

I.工… II.诸… III.①工业微生物学—实验 ②工业微生物学—研究方法 IV.Q939.97

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 124697 号

责任编辑:张晓春 / 责任校对:张 琪

责任印制:赵德静 / 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>

丽源印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2007 年 9 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2007 年 9 月第一次印刷 印张:32

印数:1—3 000 字数:732 000

定价:88.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈明辉〉)

## 前 言

近十余年,生物技术的进展日新月异,特别是近年来我国对农副产品等可再生资源深加工的重视更使得生物技术在这一领域的应用得到了进一步的推广和发展。

工业微生物及其发酵技术对农副产品深加工是应用最广、最有效的。目前热门的生物化工和工业生物技术,其基础也是工业微生物,而其实现产品的手段主要是发酵。

江南大学(原无锡轻工业大学)的发酵工程专业,作为最早的国家级和江苏省“重中之重”的重点学科,历来非常重视工程学科特色的微生物学系列课程教学。“加强实践环节,建设应用‘微生物学’课程”和“工程学科微生物学系列课程教学的改革和实践”分别获江苏省教学成果一、二等奖,近年《微生物学》又获江苏省本科精品教材、“工业微生物育种技术”获江苏省研究生培养创新工程优秀研究生课程等荣誉。

本书共有14章,书后有附录,全书含表104个、图220幅、实验218项,可以称得上图文并茂,涉及工业微生物实验与研究技术的实验项目比较齐全。从理论和技术角度,本书既有传统经典的内容,也有现代前沿的体现,对初学者、中高级科技人员都有参考与实用价值。

《工业微生物实验与研究技术》的逐渐成形是与作者所在的重点学科发展密切相关的。书中的不少内容都是编者及其近半百位博士和硕士研究生的研究成果,将这些成果与经验贯穿和渗透于编写过程中的确是本书的重要特色之一。同时我们也引用了不少生物技术类的中、外参考书,其中有老前辈方心芳老师等所著的实验用书,在此深表感谢。

在本书的编写后期,科学出版社张晓春编辑告知包括本书在内的一套丛书《应用生物技术大系》已被列入国家新闻出版总署的“十一五”国家重点图书出版规划中,我们感到振奋,也深感责任的重大。

参与本书编写的除诸葛健主编,沈微、方慧英、诸葛斌、饶志明副主编外,还有许多研究生,这里一并予以衷心感谢,就不一一列名了。

当然在编写时编者是力求内容表达正确、格式尽量一致,但限于编写人的学识和书写水平的限制,难免存有缺陷,甚至是错误,请广大读者多提宝贵意见。

诸葛健

2006年8月于江苏无锡

江南大学

# 目 录

## 前言

<b>第一章 显微技术</b> .....	1
<b>第一节 显微镜</b> .....	1
一、明视野光学显微镜.....	1
[实验 1-1] 明视野显微镜.....	3
二、其他光学显微镜.....	5
[实验 1-2] 暗视野显微镜.....	5
[实验 1-3] 相差显微镜.....	7
[实验 1-4] 荧光显微镜.....	10
三、电子显微镜.....	11
[实验 1-5] 细菌、酵母菌超薄切片的透射电镜观察.....	13
[实验 1-6] 噬菌体的透射电镜观察.....	14
[实验 1-7] 酵母细胞的扫描电镜观察.....	15
<b>第二节 显微摄影</b> .....	16
<b>第二章 工业微生物形态与观察</b> .....	20
<b>第一节 细菌</b> .....	20
[实验 2-1] 细菌细胞的单染色及形态观察.....	21
<b>第二节 放线菌</b> .....	25
[实验 2-2] 放线菌的形态观察.....	27
<b>第三节 噬菌体</b> .....	27
[实验 2-3] 噬菌体的分离与纯化.....	31
[实验 2-4] 高效价噬菌体原液的制备.....	32
[实验 2-5] 溶源菌的鉴定.....	33
<b>第四节 酵母菌</b> .....	34
[实验 2-6] 酵母菌细胞形态观察.....	36
[实验 2-7] 酵母菌巨大菌落观察.....	36
<b>第五节 小型丝状真菌(霉菌)</b> .....	37
一、藻状菌(主要指根霉、毛霉、犁头霉).....	37
[实验 2-8] 根霉、毛霉的形态观察.....	39
二、曲霉.....	40
三、青霉.....	40
[实验 2-9] 青霉、曲霉的形态观察.....	41
四、其他霉菌.....	43
<b>第六节 食用真菌</b> .....	45
[实验 2-10] 平菇的瓶栽.....	46

第七节 藻类 .....	46
[实验 2-11] 螺旋藻的培养 .....	47
<b>第三章 工业微生物细胞一般结构与特殊结构的观察 .....</b>	<b>48</b>
第一节 染色 .....	48
一、染色的基本原理 .....	48
二、染料 .....	48
三、染色 .....	50
[实验 3-1] 活体染色 .....	50
[实验 3-2] 单染色 .....	50
[实验 3-3] 负染色 .....	50
[实验 3-4] 抗酸性染色 .....	51
[实验 3-5] 革兰氏染色 .....	52
[实验 3-6] 荧光染色与观察 .....	55
第二节 细胞各部结构成分的分离与观察 .....	57
[实验 3-7] 革兰氏阳性菌细胞壁的准备 .....	58
[实验 3-8] 细胞壁的形态观察 .....	59
[实验 3-9] 细菌荚膜的观察 .....	60
[实验 3-10] 细菌鞭毛的观察 .....	61
[实验 3-11] 微生物细胞核的观察 .....	62
[实验 3-12] 异染颗粒的观察 .....	63
[实验 3-13] 胞内脂肪颗粒和肝糖颗粒的观察 .....	64
[实验 3-14] 酵母液泡的提取 .....	65
[实验 3-15] 酵母线粒体的制备 .....	66
第三节 芽孢、子囊孢子、假菌丝和菌丝的观察 .....	67
一、芽孢 .....	67
[实验 3-16] 芽孢形成及发芽的观察(附件孢晶体的观察) .....	69
二、酵母子囊孢子 .....	70
[实验 3-17] 子囊孢子的形成及观察 .....	71
三、酵母假菌丝与霉菌真菌丝 .....	72
[实验 3-18] 假菌丝的观察 .....	72
[实验 3-19] 霉菌菌丝生长的观察 .....	73
<b>第四章 工业微生物纯培养技术 .....</b>	<b>74</b>
第一节 消毒与灭菌 .....	74
一、热杀菌 .....	74
二、化学品消毒 .....	76
三、紫外线和放射线 .....	77
四、空气灭菌 .....	77
五、过滤除菌 .....	78

[实验 4-1] 微孔滤膜滤器的使用	80
六、防霉	83
[实验 4-2] 防霉剂的选用	83
第二节 培养基及其配制	85
一、培养基	85
二、培养基成分	86
[实验 4-3] 麦芽汁培养基的配制	88
第三节 分离、接种和培养	88
一、分离	88
[实验 4-4] 试管倾倒培养皿分离法	89
[实验 4-5] 稀释平皿分离	91
[实验 4-6] 平皿划线分离	93
二、接种	95
[实验 4-7] 接种技术	95
三、摇瓶与发酵	97
[实验 4-8] 摇瓶发酵生产柠檬酸	100
[实验 4-9] 小型连续发酵实验	103
[实验 4-10] 酿酒酵母的同步培养	104
[实验 4-11] 厌氧罐分离培养厌氧微生物	107
第五章 培养条件对工业微生物生长与发酵的影响	109
第一节 温度	109
[实验 5-1] 酵母营养细胞致死时间的测定	111
第二节 水活度与渗透压	112
[实验 5-2] 培养基中糖和盐浓度对微生物生长的影响	113
第三节 氧和氧化还原电位	114
[实验 5-3] 微生物生长对氧的要求	116
[实验 5-4] 培养液氧化还原值(rH)的测定	117
[实验 5-5] 溶解氧的测定(碘量法)	117
[实验 5-6] BOD 的测定	119
[实验 5-7] 发酵液 COD 测定	121
第四节 酸碱度	122
[实验 5-8] pH 对微生物的影响	124
第五节 重金属和一些化合物对微生物的抑制作用	124
[实验 5-9] 滤纸片法测定重金属对微生物的影响	125
[实验 5-10] 消毒剂杀菌力的测定	126
第六节 表面张力	128
[实验 5-11] 表面张力对微生物的影响	128



第七节 极端环境因素对微生物的影响.....	129
<b>第六章 工业微生物的生理与发酵试验.....</b>	<b>130</b>
第一节 微生物对碳源的利用.....	130
[实验 6-1] 细菌对糖、醇及糖苷的利用.....	131
[实验 6-2] 酵母对糖类的发酵.....	132
第二节 微生物对氮源的利用.....	132
[实验 6-3] 细菌对硝酸盐的还原作用.....	132
[实验 6-4] 酵母对氮源的利用.....	133
第三节 细菌鉴定中的某些特殊生理实验.....	134
[实验 6-5] 淀粉水解.....	134
[实验 6-6] V-P 试验(乙酰甲基甲醇试验).....	135
[实验 6-7] 硫化氢的生成.....	136
[实验 6-8] 吲哚试验.....	136
[实验 6-9] 过氧化氢酶的产生.....	137
[实验 6-10] 明胶液化试验.....	138
[实验 6-11] 石蕊牛乳试验.....	139
[实验 6-12] 甲基红试验(M-R).....	140
[实验 6-13] 乙醇的氧化.....	140
[实验 6-14] 乙酸的氧化.....	141
[实验 6-15] 脲酶的测定.....	141
第四节 常用细菌的分离和检测.....	142
[实验 6-16] 枯草芽孢杆菌( <i>Bacillus subtilis</i> ).....	142
[实验 6-17] 醋酸细菌.....	143
[实验 6-18] 乳酸菌.....	145
[实验 6-19] 德氏乳杆菌.....	147
[实验 6-20] 丙酸细菌.....	149
[实验 6-21] 丁酸梭菌( <i>Clostridium butyricum</i> ).....	150
第五节 酵母应用特性的测定.....	152
[实验 6-22] 酵母发酵力的测定.....	152
[实验 6-23] 压榨酵母发酵力的测定.....	153
[实验 6-24] 面包酵母发面力的测定.....	154
[实验 6-25] 酵母忍耐酒精浓度的测定.....	155
[实验 6-26] 酵母抵抗防腐剂能力的测定.....	156
[实验 6-27] 啤酒酵母凝絮力的测定.....	157
一、Gilliland 法.....	157
二、Helm 法.....	158
三、本斯值法.....	159
四、光密度改良法(江南大学发酵工程系研究改良).....	160

[实验 6-28] 啤酒酵母产生双乙酰的测定	160
第六节 发酵制品的实验	161
[实验 6-29] 细菌液化型淀粉酶的发酵及活力测定	161
[实验 6-30] 曲霉的葡萄糖淀粉酶生成和活力测定	162
[实验 6-31] 米曲霉的蛋白酶生成及活力测定	163
[实验 6-32] 纤维素酶的发酵及其活力测定	163
[实验 6-33] 乳酸发酵及测定	166
[实验 6-34] 乳酸菌饮料	167
[实验 6-35] 葡萄酒饮料	168
[实验 6-36] 发酵法酿制食醋	169
第七章 发酵过程及发酵食品中微生物的检测	171
第一节 微生物生长、大小和数量的检测方法	171
一、细胞质量测定	171
二、细胞菌数测定法	171
[实验 7-1] 酵母细胞数的测定	171
[实验 7-2] 酵母细胞大小的测量	173
[实验 7-3] 细菌增殖曲线的测定	174
[实验 7-4] 丝状真菌生长速率的测定	176
第二节 发酵和食品工业中常见的微生物种类及其概测	177
一、发酵和食品工业中常见微生物的种类	177
二、发酵和食品工业中常见微生物类别的概测	178
第三节 发酵和食品工业用水和发酵过程微生物数量的检测	183
一、发酵和食品工业用水微生物数量的测定	183
[实验 7-5] 水中细菌数的测定	183
[实验 7-6] 水中大肠菌群数量的测定	184
[实验 7-7] 水中大肠杆菌数量的测定	186
[实验 7-8] 大肠杆菌的简易检出法	188
二、酒醅中微生物总数测定	189
[实验 7-9] 酒醅中微生物数量的测定	189
[实验 7-10] 固态发酵水浆厌氧微生物的分离	189
[实验 7-11] 啤酒生产中细菌、霉菌及野生酵母的检测	190
第四节 培养皿或试管中菌落总数的确定	191
第八章 自然界工业微生物资源的筛选	192
第一节 工业微生物获得的一般途径	192
一、目的工业微生物应具备的特性	192
二、工业微生物的来源	192
三、分离和筛选微生物	192

第二节 工业菌种筛选程序 .....	193
一、采样 .....	193
二、选择性培养与富集培养 .....	193
三、培养分离 .....	194
四、筛选 .....	195
五、毒性试验 .....	195
第三节 培养分离 .....	195
一、自然界中细菌的分离 .....	195
[实验 8-1] 土中细菌的直接分离 .....	196
[实验 8-2] 土中细菌的富集培养与分离 .....	197
[实验 8-3] 水中细菌的直接分离 .....	198
[实验 8-4] 水中细菌的滤膜压印分离法 .....	199
二、放线菌的分离 .....	199
[实验 8-5] 土样中放线菌的非选择性分离 .....	201
三、真菌分离 .....	202
[实验 8-6] 土样中真菌的压贴分离 .....	203
[实验 8-7] 担子菌组织分离法 .....	204
[实验 8-8] 担子菌孢子分离 .....	204
四、目标菌株的分离、筛选实例 .....	205
[实验 8-9] 利用碱法纸浆废液的微生物的分离 .....	205
[实验 8-10] 葡萄酒酵母的筛选 .....	205
[实验 8-11] 耐高渗透产甘油酵母的筛选 .....	206
[实验 8-12] 生产选种 .....	207
<b>第九章 工业菌种的育种技术 .....</b>	<b>208</b>
第一节 富集培养技术在育种中的应用 .....	209
一、去调节突变株的分离 .....	209
二、营养缺陷型的富集 .....	210
三、富集法在研究次级代谢的重组 DNA 技术中的应用 .....	212
第二节 诱变育种 .....	213
一、诱变剂和诱变处理 .....	213
二、诱变育种步骤 .....	216
[实验 9-1] 紫外线的诱变育种 .....	218
[实验 9-2] 亚硝基胍诱变曲霉菌(黑曲霉、米曲霉) .....	219
[实验 9-3] 链霉菌菌丝体的诱变育种 .....	219
第三节 定点突变 .....	221
[实验 9-4] 产甘油假丝酵母核糖体蛋白 L41 基因定点突变 .....	223
第四节 营养缺陷型的选育 .....	225
一、诱变方法 .....	226

二、淘汰野生型	226
三、检出缺陷型	226
四、营养缺陷型生长谱的确定	228
[实验 9-5] 大肠杆菌营养缺陷型的筛选	231
[实验 9-6] 酵母营养缺陷型的筛选	233
[实验 9-7] 青霉菌营养缺陷型菌株的筛选	234
第五节 呼吸缺陷型及代谢调节突变株的筛选	235
一、呼吸缺陷型菌株的筛选	235
[实验 9-8] 酵母呼吸缺陷型的筛选	235
二、代谢调节突变株的筛选	236
[实验 9-9] 氨基酸抗反馈调节突变株的选育	237
第六节 抗噬菌体菌株的选育	238
[实验 9-10] 抗噬菌体产 $\alpha$ -淀粉酶菌株的选育	238
第七节 基因重组育种	239
一、细菌接合杂交	240
[实验 9-11] 细菌的接合	240
二、酵母杂交育种技术	241
[实验 9-12] 酵母单倍体的分离与鉴定	243
[实验 9-13] 罕见交配法转移酵母杀伤质粒	245
第八节 原生质体育种	247
一、原生质体融合育种的特点	248
二、原生质体融合育种步骤	251
三、原生质体融合育种的要点	251
四、原生质体转化	261
五、原生质体再生率和融合率计算	264
[实验 9-14] 芽孢杆菌的原生质体融合	264
[实验 9-15] 链霉菌属原生质体融合	267
[实验 9-16] 小单胞菌的原生质体融合	269
[实验 9-17] 酵母的原生质体融合	271
[实验 9-18] 丝状真菌的原生质体融合	273
[实验 9-19] 原生质体融合法转移酵母线粒体及杀伤质粒	276
[实验 9-20] 枯草芽孢杆菌属间原生质体转化	278
[实验 9-21] 质粒 DNA 转化链霉菌原生质体	279
[实验 9-22] 丝状真菌原生质体转化	280
[实验 9-23] 紫外线诱变原生质体选育苏氨酸高产菌	283
六、原生质体技术中的一些特殊技术	283
七、原生质体电融合技术	285

[实验 9-24] 电诱导酵母原生质体融合·····	285
第九节 突变与重组的结合应用·····	287
第十章 工业菌种改良的基因工程技术·····	289
第一节 分子生物学技术·····	289
一、GC 含量测定·····	289
[实验 10-1] 热变性温度法测定 GC 含量·····	290
二、聚丙烯酰胺凝胶电泳技术·····	291
[实验 10-2] SDS-PAGE·····	291
[实验 10-3] 聚丙烯酰胺凝胶的等电聚焦电泳·····	295
三、DNA 和 RNA 的定量测定·····	297
[实验 10-4] 紫外分光光度法 DNA 的定量测定·····	297
[实验 10-5] 溴化乙锭-塑料薄膜法 DNA 的定量测定·····	297
四、核酸分子杂交技术·····	298
[实验 10-6] 缺口平移法制备 DNA 探针·····	300
[实验 10-7] 随机引物标记法·····	302
[实验 10-8] RNA 探针的制备·····	304
[实验 10-9] Dig-核酸探针的制备·····	305
[实验 10-10] 光敏生物素标记核酸探针的制备·····	306
[实验 10-11] 凝胶中 DNA 转移至硝酸纤维膜(Southern blot)·····	307
[实验 10-12] 菌落原位杂交·····	308
[实验 10-13] 放射性核素标记核酸探针的杂交·····	310
[实验 10-14] 地高辛标记核酸探针的杂交及显色·····	311
[实验 10-15] 生物素标记核酸探针的杂交及显色·····	312
第二节 基因工程的基本过程和原理·····	313
一、载体·····	313
二、DNA 重组用酶·····	315
[实验 10-16] PCR 技术·····	320
第三节 大肠杆菌基因工程·····	321
一、大肠杆菌感受态细胞的制备和转化·····	321
[实验 10-17] 用氯化钙制备和转化感受态大肠杆菌(1)·····	322
[实验 10-18] 用氯化钙制备和转化感受态大肠杆菌(2)·····	323
[实验 10-19] 用 PEG 制备和转化大肠杆菌感受态细胞·····	323
[实验 10-20] 大肠杆菌的电击转化·····	324
二、大肠杆菌中质粒的提取与纯化·····	325
[实验 10-21] 质粒的大量提取与纯化·····	326
[实验 10-22] 质粒的小量提取·····	327
[实验 10-23] 用硅胶膜分离法小量提取质粒·····	328
三、微生物染色体 DNA 的提取与 PCR 扩增·····	329

[实验 10-24] 枯草杆菌染色体 DNA 的提取	329
[实验 10-25] 真菌染色体 DNA 的简易提取方法	329
[实验 10-26] 枯草杆菌淀粉酶基因的 PCR 扩增	330
[实验 10-27] 从电泳凝胶中分离枯草杆菌淀粉酶基因	331
四、外源基因在大肠杆菌中的高表达	332
[实验 10-28] 载体和基因的酶切	336
[实验 10-29] 基因与载体的连接	336
第四节 非大肠杆菌微生物基因工程	340
一、芽孢杆菌基因工程	340
[实验 10-30] 枯草杆菌感受态细胞的制备和转化	341
[实验 10-31] 地衣芽孢杆菌感受态细胞的诱导形成及其高效电转化	342
[实验 10-32] 枯草杆菌转化子质粒的提取和检测	342
[实验 10-33] 高碱性蛋白酶基因多拷贝重组菌的构建	344
二、棒杆菌基因工程	345
[实验 10-34] 适用于异源 DNA 整合转化的谷氨酸棒杆菌电转化法	346
[实验 10-35] 谷氨酸棒杆菌温度和溶菌酶敏感菌株的构建	346
三、根瘤农杆菌基因工程	348
[实验 10-36] 二元载体质粒导入根瘤农杆菌的电击转化法	348
[实验 10-37] 根瘤农杆菌介导产甘油假丝酵母的遗传转化	350
第五节 酵母基因工程	351
一、酵母的载体	351
二、酵母的表达载体	352
[实验 10-38] 酵母染色体 DNA 的提取	353
[实验 10-39] 酿酒酵母的醋酸锂完整细胞转化法	353
[实验 10-40] 单链载体 DNA 的制备	354
[实验 10-41] 酵母菌质粒 DNA 的提取	355
[实验 10-42] 巴斯德毕赤酵母的电转化方法	356
三、实例 黑曲霉植酸酶基因在酿酒酵母中的高表达	356
第十一章 工业微生物菌种保藏技术	358
第一节 菌种的退化与防治措施	358
一、菌种退化的现象	358
二、菌种退化的原因	359
三、防止退化的措施	360
第二节 菌种保藏方法总览及一些菌种可以采用的保藏方法	361
第三节 低温保藏	362
一、斜面保藏法	363
二、超低温冷冻保藏技术(-80 ~ -60℃)	363

[实验 11-1] -80℃超低温保藏 .....	363
三、液氮冷冻保藏技术 .....	364
[实验 11-2] 液氮冷冻保藏 .....	364
第四节 冻干保藏 .....	366
[实验 11-3] 菌种冷冻干燥保藏 .....	366
第五节 其他保藏方法 .....	368
一、矿物油中浸没保藏 .....	368
[实验 11-4] 液体石蜡保藏菌种 .....	369
二、干燥-载体保藏 .....	369
[实验 11-5] 快速沙土管保藏法 .....	369
[实验 11-6] 其他干燥-载体保藏法 .....	370
第六节 基因工程菌的保藏 .....	371
第七节 微生物活力和稳定性测定 .....	371
第八节 常用菌种保藏培养基 .....	372
一、细菌保藏用培养基 .....	372
二、放线菌用保藏培养基 .....	373
三、酵母菌株用保藏培养基 .....	373
四、丝状真菌用保藏培养基 .....	373
第九节 著名菌种保藏及专利菌种保藏机构 .....	374
一、中国微生物菌种保藏管理委员会组织系统 .....	374
二、国际确认的专利菌种保藏机构(IDA) .....	375
<b>第十二章 微生物细胞固定化技术 .....</b>	<b>376</b>
第一节 载体结合法 .....	376
一、表面吸附法 .....	377
二、共价结合法 .....	377
第二节 交联法 .....	378
第三节 包埋法 .....	378
一、藻酸钙凝胶包埋法 .....	378
[实验 12-1] 酿酒酵母的藻酸钙固定化 .....	380
[实验 12-2] 固定化枯草杆菌连续生产耐热 $\alpha$ -淀粉酶 .....	381
二、 $\kappa$ -角叉胶包埋法 .....	383
[实验 12-3] $\kappa$ -角叉胶一步包埋法 .....	383
[实验 12-4] $\kappa$ -角叉胶二步包埋法 .....	385
[实验 12-5] 固定化酵母连续生产酒精 .....	385
[实验 12-6] 固定化细胞的回收与活细胞计数 .....	386
三、聚丙烯酰胺凝胶包埋法 .....	386
[实验 12-7] 大肠杆菌的聚丙烯酰胺凝胶固定化 .....	387
四、光交联树脂前聚体包埋法 .....	388

[实验 12-8] 光交联树脂固定化原生质体	388
五、其他载体包埋方法	388
第四节 几种固定化细胞方法联用	390
一、包埋-交联法	390
二、吸附-交联法	391
三、包埋-吸附法	391
第五节 其他固定化方法	391
第六节 固定化微生物细胞方法的选择	392
一、固定化微生物细胞方法的选择	392
二、固定化细胞技术的评价指标	393
<b>第十三章 酶固定化技术</b>	<b>394</b>
第一节 概述	394
第二节 吸附法	394
一、几丁质载体上酶的吸附固定	395
[实验 13-1] 吸附法几丁质固定化酶的制备	395
二、疏水吸附法	396
[实验 13-2] 疏水吸附法固定化酶的制备	397
三、亲和吸附法	398
[实验 13-3] 亲和吸附法固定 L-维生素 C 氧化酶	398
[实验 13-4] 亲和吸附交联法固定蔗糖酶	398
[实验 13-5] 葡萄糖氧化酶的免疫固定化	399
四、过渡金属介导法	399
[实验 13-6] 过渡金属介导葡萄糖淀粉酶固定于控孔玻璃	399
[实验 13-7] 过渡金属介导葡萄糖淀粉酶固定化改良法	400
第三节 包埋法	400
一、凝胶聚合包埋法	401
二、辐射聚合包埋法	401
[实验 13-8] 辐射共聚合包埋法固定葡糖淀粉酶	402
三、酶蛋白共聚合包埋法	402
[实验 13-9] 酰化共聚合包埋法固定 $\alpha$ -糜蛋白酶	402
四、交联多聚物凝胶包埋法	403
[实验 13-10] 明胶交联包埋法	403
[实验 13-11] 明胶交联法制备固定化双酶膜	404
[实验 13-12] 聚乙烯醇交联包埋法	404
[实验 13-13] 脱乙酰几丁质交联包埋法	405
五、移植共聚合包埋法	405
[实验 13-14] 移植共聚合包埋法	406



六、物理定位法	406
第四节 共价交联法	407
一、溴化氰交联法	407
[实验 13-15] 溴化氰交联滴定法	407
[实验 13-16] 三乙烯胺-溴化氰活化法	408
[实验 13-17] 溴化氰活化法制备可溶性载体固定化酶	409
二、碳化二亚胺法	410
[实验 13-18] 碳化二亚胺二步法固定基氧化酶	410
三、戊二醛交联法	411
[实验 13-19] 戊二醛交联固定化葡萄糖氧化酶	411
四、交联聚乙烯亚胺法	412
[实验 13-20] 裱涂载体的制备及用于酶固定化	412
五、活性载体法	413
<b>第十四章 工业微生物实验室常见的一些单元操作技术</b>	<b>414</b>
第一节 搅拌和振荡	414
一、搅拌器	414
二、导管和密封	415
三、电动机	416
四、振荡	416
第二节 气体的计量和导入	416
第三节 加热和冷却	417
一、加热	417
二、冷凝器	417
三、冷却剂	419
第四节 减压操作	420
一、真空的产生	420
二、真空的测量	421
三、真空操作	422
第五节 干燥	423
一、气体的干燥	423
二、液体的干燥	423
三、固体的干燥	424
四、干燥剂	424
第六节 过滤和离心	425
第七节 简单蒸馏	427
第八节 纸层析	428
一、流动相的制备	429
二、点样	429