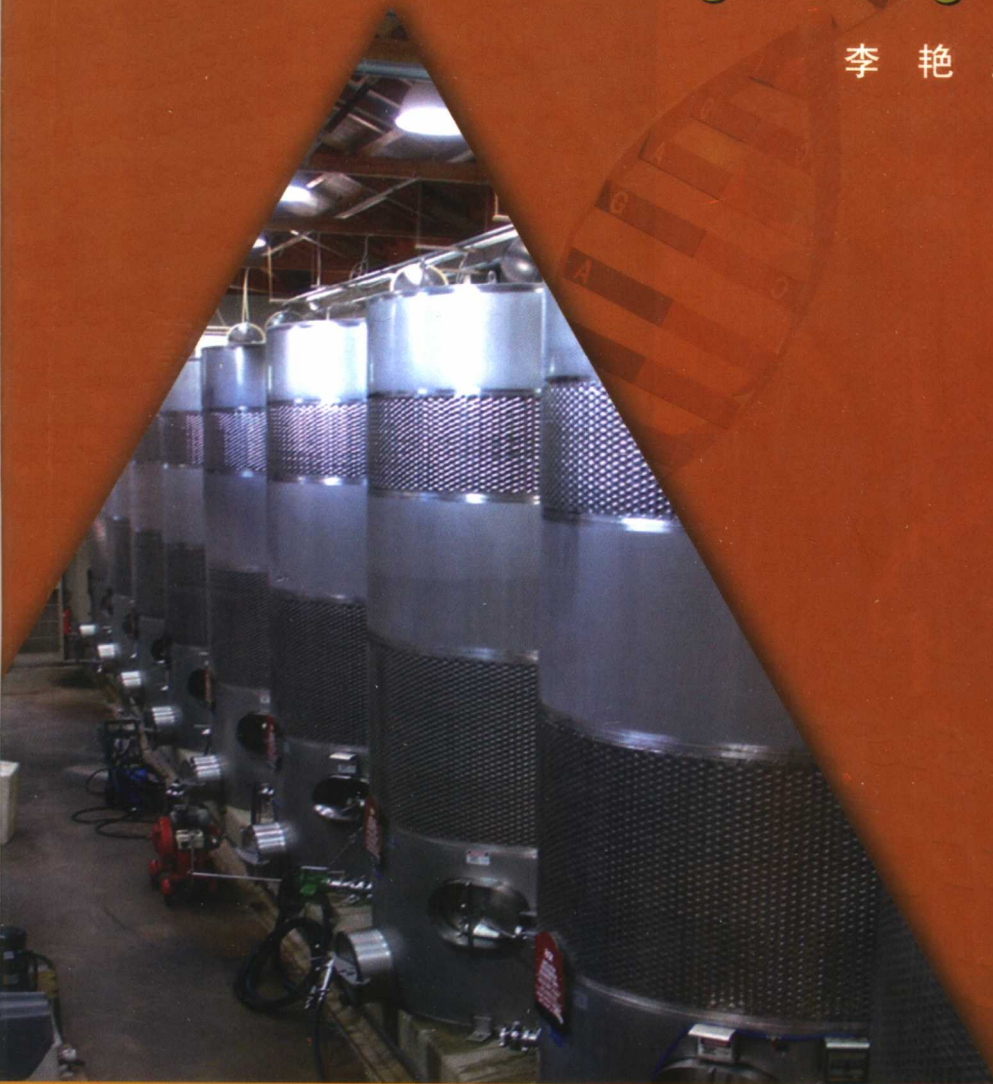


生物技术和生物工程专业规划教材


发酵工程原理与技术

Principles and Technology of
Fermentation Engineering

李 艳 主编



高等教育出版社
Higher Education Press



生物技术和生物工程专业规划教材

发酵工程原理与技术

Principles and Technology of
Fermentation Engineering

李 艳 主编

李江华 任洪强 阮 南 刘树中 编著
刘 晔 刘俊果 杨福廷 李树立

内容提要

本书按照发酵工业生产过程进行编排,将各类发酵产品生产的共性原理和技术归纳成新的体系,全书共分五篇 18 章。第 1 章分别介绍发酵工程和生物工程的基础知识以及两者之间的关系。这些知识包括它们的概念、特点、研究领域和历史渊源及服务领域。第一篇:工业微生物和发酵工业原料。介绍发酵工业微生物菌种的选育和扩大培养,发酵工业原料选择、淀粉水解糖制备、发酵培养基的配制和灭菌,无菌空气的制备三部分。第二篇:发酵工程机理与过程控制。围绕发酵罐内进行的反应过程展开论述,重点介绍了氧的供需与传递、微生物发酵机理、发酵动力学、生物反应器、发酵过程工艺控制和染菌的防治。第三篇:发酵工程产物的获取。介绍了发酵工程下游技术的发展动态、细胞破碎的原理和技术,以及发酵产物获得所涉及的各种分离、纯化和精制的技术原理和方法。第四篇:与发酵工程相关的生物技术。主要论述了动植物细胞大规模培养和固定化酶与固定化细胞的技术原理。第五篇:发酵工厂废物处理和清洁生产技术。本部分针对发酵企业排出的废弃物和废水的治理及资源化和清洁生产工艺展开论述。

本书系统性强,体系完整、实用。可作为生物工程、生物技术专业的专业课教材,也可作为生物制药、食品科学与工程、生物科学等专业的教学参考书,也可供相关专业技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

发酵工程原理与技术/李艳主编. —北京:高等教育出版社,2007.1

ISBN 978-7-04-020255-7

I. 发... II. 李... III. 发酵工程-高等学校-教材 IV. TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 146171 号

策划编辑 王莉 责任编辑 田军 封面设计 张楠 责任绘图 朱静
版式设计 张岚 责任校对 刘莉 责任印制 朱学忠

出版发行	高等教育出版社	购书热线	010-58581118
社 址	北京市西城区德外大街 4 号	免费咨询	800-810-0598
邮政编码	100011	网 址	http://www.hep.edu.cn
总 机	010-58581000		http://www.hep.com.cn
经 销	蓝色畅想图书发行有限公司	网上订购	http://www.landrace.com
印 刷	山东省高唐印刷有限责任公司		http://www.landrace.com.cn
		畅想教育	http://www.widedu.com
开 本	787×1092 1/16	版 次	2007 年 1 月第 1 版
印 张	32.5	印 次	2007 年 1 月第 1 次印刷
字 数	800 000	定 价	39.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 20255-00

前 言

发酵工程是现代生物工程的重要组成部分,是基因工程、酶工程、细胞工程技术等生物技术实现产业化的桥梁和关键技术。它由早期的酿造工艺衍化至今,已进入高科技领域,基因工程和细胞工程把生命科学推向一个新的发展阶段,创建了许多具有新功能、新品系的微生物新菌种以及动植物细胞的新细胞株。而要用这些新菌种和新细胞株生产出丰富人类生活的美味佳肴,增进人类健康的良方新药,美化人们生活的奇花异草和提高人们生活档次的各种精细化工产品,等等,惟有发酵工程技术可以担当此重任。发酵工程既是一个广阔的技术领域,又是一个多学科的杂交体系,它记载着古代文明的足迹,又反映出近代生物技术发展的轨迹。现代发酵工程是传统发酵技术与现代 DNA 重组、细胞融合等新技术相结合,而发展起来的现代生物技术,并通过现代化学工程技术生产有用物质或直接用于工业化生产的大工业体系。

本书是教育部全国高等学校生物工程与生物技术专业教学指导委员会规划的生物技术和生物工程系列教材之一,针对学科调整后教育部全国高等学校生物工程与生物技术专业教学指导委员会关于生物工程专业是工科办学专业,侧重工科,以培养应用型、产业化人才为主的学科定位和培养目标而编写,重点介绍现代发酵工程领域各种产品生产的共性原理及实用技术。全书的编排格式按照发酵工业生产过程,将各类发酵产品生产的共性原理和技术归纳成新的体系,共分 5 篇 18 章。书中全面系统地介绍了发酵工程的概念、历史渊源、发酵工程和生物工程的关系;发酵生产的原料及处理、工业微生物菌种选育及扩大培养、无菌空气的制备、培养基灭菌;氧的供需与传递、微生物发酵机理、发酵动力学、生物反应器、发酵过程控制和防治杂菌污染;发酵液的预处理、细胞破碎、各种分离纯化和精制产物的方法;动植物细胞的大规模培养技术、酶与细胞的固定化技术、发酵生产所产生的废水和废物的处理和资源化,以及清洁生产工艺。本书注重先进性的同时更强调实用性。可作为生物工程专业本科学生的教科书,也可供从事发酵工业生产和科技人员参考。

本书的编著者均为多年教授本门课程的一线教师,他们总结了多年教学和科研的经验,结合自己的教学体会,参考经典和最新出版的教科书和科技资料编写而成。内容涉及面宽,深度适宜。编写具体分工是第 2 章第 1 节,第 5 章第 3、4、5 节,第 6 章,第 13 章第 1、2 节由江南大学李江华执笔。第 17 章由南京大学任洪强执笔。第 16 章由山东轻工业学院刘晔执笔。第 8 章由河北经贸大学李树立执笔。第 2 章第 3 节,第 3 章第 1、2 节,第 10 章,第 15 章由河北科技大学阮南执笔。第 13 章第 5 节,第 14 章由河北科技大学刘树中执笔。第 13 章第 3 节由河北科技大学杨福庭执笔。河北科技大学李艳执笔其余章节并负责对全书进行了统稿和定稿。河北科技大学刘俊果博士翻译了全书各章后的总结提要。本书由江南大学博士生导师、教育部全国高等学校生物工程与生物技术专业教学指导委员会委员徐岩教授审定。

在本书编写过程中,得到了教育部全国高等学校生物工程与生物技术专业教学指导分委员会、南京大学、江南大学、天津科技大学、山东轻工业学院、河北经贸大学、河北科技大学和高等教

育出版社等单位领导的关怀和支持,在此一并谨示谢忱。并特别感谢我的老师,天津科技大学博士生导师杜连祥教授对本书编写大纲提出的合理化修改意见。

由于编著者学识和水平所限,书中难免有不妥甚至错漏之处,恳请读者批评指正。

河北科技大学生物科学与工程学院 李 艳

2006年7月20日于石家庄

目 录

第一章 总论.....	1	五、发酵工程技术的发展趋势和服务领域.....	8
第一节 发酵工程基础知识.....	1	第二节 生物工程基础知识.....	8
一、发酵工程的概念.....	1	一、生物工程(技术)的定义和特点.....	9
二、发酵过程的特点和分类.....	2	二、生物工程研究的领域.....	10
三、发酵工业生产流程.....	2	三、生物工程与发酵工程的关系.....	12
四、发酵工业的历史渊源.....	5		

第一篇 工业微生物和发酵工业原料

第二章 发酵工业微生物菌种制备		成分.....	50
原理和技术.....	17	一、发酵培养基中各种成分的定量.....	50
第一节 发酵工业微生物菌种的选育.....	17	二、工业上常用作碳源的淀粉质原料.....	51
一、工业微生物的特点.....	17	三、工业上常用作氮源的蛋白质类原料.....	52
二、发酵工业常用微生物菌种及要求.....	17	四、发酵培养基中的无机盐和生长因子.....	54
三、发酵工业微生物菌种的分离和选育.....	19	五、发酵生产的前体物质和促进剂、抑制剂等.....	54
四、发酵工业微生物菌种的退化、复壮与保藏.....	30	第二节 淀粉水解糖的制备.....	56
第二节 工业微生物种子的扩大培养.....	33	一、淀粉水解糖的制备方法.....	56
一、菌种扩大培养的任务.....	34	二、淀粉酸水解制糖.....	58
二、种子制备的过程.....	34	三、淀粉的双酶法制糖.....	66
三、发酵工业种子培养.....	36	四、水解糖液的质量要求.....	72
四、影响种子培养的因素和种子质量的控制.....	38	第三节 发酵培养基灭菌.....	73
第三节 种子培养基及其制备.....	42	一、消毒与灭菌的原理和方法.....	73
一、菌体组成和细胞外代谢产物.....	42	二、培养基和设备的灭菌.....	77
二、种子培养的培养基选择和配制原则.....	44	三、发酵培养基灭菌工艺.....	82
第三章 发酵工业原料及其处理.....	50	四、培养基和设备、管路灭菌的条件.....	86
第一节 发酵工业原料的种类和		第四章 无菌空气的制备.....	90
		第一节 空气中的微生物和除菌方法.....	90
		一、空气中的微生物种类及分布.....	90

二、空气除菌的方法和要求	91	五、提高过滤除菌效率的措施	98
第二节 空气的过滤除菌原理和过滤		第三节 空气过滤除菌的工艺	
介质	93	技术	98
一、空气过滤除菌的原理	93	一、对空气过滤除菌工艺流程的	
二、空气过滤除菌的介质	95	要求	98
三、介质过滤效率	96	二、空气的预处理	98
四、影响过滤除菌效率的因素	96	三、空气过滤除菌工艺流程	99

第二篇 发酵工程机理与过程控制

第五章 氧的供需与传递	107	一、溶解氧连续检测的意义	120
第一节 微生物细胞对氧的需求		二、发酵液中溶解氧的测定方法	120
和溶解氧的控制	107	三、控制发酵液中溶解氧的工艺	
一、供氧与微生物呼吸及代谢产物的		手段	121
关系	107	第六章 微生物发酵机理	125
二、微生物的临界氧浓度	107	第一节 微生物基础物质代谢	125
三、控制发酵液中溶解氧的意义	108	一、微生物对培养基中碳源的代谢	125
第二节 培养过程中氧的传质		二、微生物对培养基中氮源的	
理论	109	代谢	126
一、氧的传递途径与传质阻力	109	三、微生物的能量代谢	126
二、气体溶解过程的双膜理论	110	第二节 厌氧发酵产物的合成	
第三节 溶氧传递系数的测定		机制	128
方法	112	一、酒精、甘油发酵机制	129
一、亚硫酸盐氧化法	112	二、乳酸发酵机制	132
二、取样极谱法	112	三、丙酮丁醇发酵机制	133
三、物料衡算法	113	四、由乙醇、乙酸生成己酸机制	134
四、动态法	113	五、甲烷(沼气)发酵机制	135
五、排气法	114	第三节 好氧发酵产物合成机制	136
六、复膜电极测定 $K_L a$ 和氧分析仪		一、有机酸发酵机制	136
测定 $K_L a$	115	二、氨基酸发酵机制	141
第四节 影响氧传递速率的主要		三、核苷酸发酵机制	150
因素	115	四、抗生素发酵机制	154
一、溶液的性质对氧溶解度的影响	115	第七章 发酵动力学	163
二、气-液比表面对氧溶解度的		第一节 发酵过程动力学描述和	
影响	117	分类	163
三、影响氧传递系数的因素	117	一、菌体生长速率	163
第五节 发酵液中溶解氧的测定和		二、基质消耗速率	164
控制	120	三、代谢产物的生成速率	164
		四、混合生长学	165

五、发酵方法和动力学分类	165	三、发酵过程中 pH 的调节与控制	226
第二节 微生物反应过程中的质量 和能量平衡	171	第三节 泡沫对发酵的影响及 控制	227
一、微生物生长代谢过程中的 质量衡算	171	一、泡沫的性质	227
二、微生物反应过程的得率系数	173	二、发酵过程中泡沫的形成及 变化	227
三、微生物反应中的能量衡算	177	三、泡沫对发酵的影响和消除	228
第三节 微生物发酵的动力学	180	第四节 CO ₂ 浓度和呼吸商	233
一、分批培养	180	一、CO ₂ 对菌体生长和产物形成的 影响	233
二、补料批发酵动力学	187	二、呼吸商和发酵的关系	233
三、连续发酵动力学	189	三、CO ₂ 浓度的测定与控制	234
第八章 发酵设备与反应器	196	第五节 流加补料的控制	235
第一节 反应器分类及设计的原则 和目标	196	一、补料的内容和原则	236
一、反应器的分类	196	二、补糖的控制	237
二、反应器的设计目标和原则	197	三、补充氮源及无机盐	238
第二节 微生物细胞反应器—— 发酵罐	198	第十章 发酵染菌及其防治	241
一、密闭厌氧式发酵罐	198	第一节 染菌对发酵的影响	241
二、好氧发酵罐	200	一、染菌对不同发酵过程的影响	241
三、固体培养设备	210	二、不同时间发生染菌对发酵的 影响	242
四、动植物细胞培养反应器	212	三、染菌程度对发酵的影响	242
第三节 发酵罐的放大	215	第二节 发酵染菌的分析	243
一、经验放大法	215	一、发酵染菌后的异常现象	243
二、其他放大法	218	二、染菌的检查和判断	244
第九章 发酵过程工艺控制	221	三、染菌原因分析	245
第一节 温度对发酵的影响及 控制	221	第三节 杂菌污染的途径和防止 染菌	247
一、温度对微生物细胞生长的影响	221	一、种子带菌及防治	247
二、温度对发酵代谢产物的影响	222	二、空气带菌及防治	248
三、发酵热及其计算和测定	222	三、培养基和设备灭菌不彻底导致的 染菌及防治	248
四、最适温度的控制	224	四、操作失误和设备渗漏导致的染菌 及防治	249
第二节 pH 对发酵过程的影响和 控制	224	五、噬菌体的污染及防治	250
一、pH 对发酵过程的影响	224	六、染菌的挽救与处理	251
二、发酵过程中 pH 的变化及影响 因素	225		

第三篇 发酵工程产物的获取

第十一章 发酵工程下游技术发展

及发酵液的预处理 257

第一节 发酵工程下游技术发展 257

一、发酵工程下游技术领域 257

二、发酵工程下游技术过程和发展 动态 259

三、发酵工程下游技术原理 263

第二节 发酵液的预处理 268

一、发酵液过滤特性的改变 269

二、发酵液的相对纯化 271

三、固液分离工程及设备 272

第十二章 微生物细胞破碎原理与 技术 280

第一节 细胞壁的组成和结构 280

一、细菌细胞壁 281

二、酵母细胞壁 286

三、霉菌细胞壁 287

四、细胞壁结构与细胞破壁 288

第二节 细胞破碎的方法和破碎率 的测定 288

一、细胞壁的破碎 288

二、细胞破碎的方法 289

三、破碎率的测定 299

四、破碎技术的研究方向 299

第十三章 发酵产物分离原理与 技术 302

第一节 沉淀分离法 302

一、等电点沉淀法 302

二、盐析法 303

三、有机溶剂沉淀法 306

第二节 吸附和树脂分离法 307

一、吸附原理和吸附剂的种类 308

二、活性炭和离子交换树脂吸附 脱色 309

三、树脂法原理和树脂分类 310

四、吸附树脂分离维生素 312

第三节 离子交换法和离子交换膜 电渗析分离法 312

一、离子交换法原理和离子交换树脂 的结构与分类 312

二、离子交换法提取谷氨酸 315

三、离子交换膜电渗析法的基本原理 和流程 318

四、离子交换膜电渗析法制备 无盐水 319

第四节 萃取与浸取分离法 320

一、溶剂萃取法 321

二、浸取 325

三、超临界流体萃取技术 329

四、双水相萃取技术 336

五、反胶团萃取技术 341

第五节 膜分离技术 343

一、膜和膜分离基本理论 344

二、膜的应用 349

三、液膜分离技术 352

第十四章 发酵产物的纯化原理与 技术 362

第一节 蒸发 362

一、蒸发的基本流程和操作方法 362

二、蒸发器和蒸发系统 366

第二节 结晶技术 374

一、结晶的基本概念 375

二、结晶动力学 377

三、影响结晶过程的因素 380

四、结晶操作和结晶设备 381

第三节 干燥 384

一、干燥器和干燥工艺 384

二、干燥的应用和节能 391

第四篇 与发酵工程相关的生物技术

第十五章 动植物细胞大规模培养	
技术原理	397
第一节 动物细胞大规模培养	
技术	397
一、动物细胞的形态	398
二、动物细胞培养基组成和制备	399
三、动物细胞培养方法、操作	
方式和环境要求	400
四、动物细胞大规模培养工艺	
技术	403
第二节 植物细胞大规模培养	
技术	404
一、植物细胞培养基的组成	405
二、植物细胞培养流程	409
三、植物细胞培养方法	409
四、植物细胞的大规模培养技术	411
五、影响植物细胞培养的因素	412
第十六章 固定化酶和固定化细胞	
技术原理	417
第一节 固定化酶和辅酶、辅基的	
固定化	417
一、固定化酶的性质和制备方法	418
二、影响固定化酶性能的因素	422
三、辅基和辅酶的固定化	423
四、辅酶的再生	424
第二节 细胞固定化技术	424
一、固定化细胞的分类和生理状态	425
二、固定化细胞的制备和性质	426
第三节 评价固定化酶和固定化	
细胞催化剂的指标	428
一、固定化酶和固定化细胞的活力	428
二、固定化酶(细胞)的半衰期	429
三、偶联率及相对活力的测定	429
第四节 固定化技术的应用	429
一、利用固定化酶(细胞)生产各种	
产物	429
二、药物控释载体	431
三、酶结构与功能研究	432
四、其他方面的应用	433
五、共固定化技术	434

第五篇 发酵工厂废物处理和清洁生产技术

第十七章 发酵工业废物、废水	
处理和资源化技术	439
第一节 发酵工业废物资源化工程	
的现状和特点	439
一、发酵废物排放标准	439
二、发酵废物生产单细胞蛋白	441
三、发酵纤维质废物生产酒精	444
四、其他生物能源开发	451
五、发酵废物资源化与生态农业	456
第二节 发酵工业废水好氧生物	
处理	459
一、活性污泥法	459
二、生物膜法	462
三、发酵工业废水处理实例	464
第三节 发酵工业废水厌氧生物	
处理	468
一、厌氧生物处理的基本原理和	
特征	468
二、普通消化法	469
三、厌氧接触法	469
四、升流式厌氧污泥层反应器	471
五、厌氧膨胀颗粒污泥床反应器	473
六、内循环式反应器	474
七、厌氧附着膜膨胀床反应器和厌氧	

流化床反应器	476	一、清洁生产技术的特点	485
八、厌氧生物滤池	477	二、清洁生产技术的关键	486
九、两相厌氧消化工艺	478	第三节 发酵企业实施清洁生产	
第十八章 清洁生产技术	483	技术实例	489
第一节 清洁生产技术的概念和理论		一、企业概况	489
基础	483	二、清洁生产进展	490
一、清洁生产概念的提出	483	三、实施清洁生产效果	491
二、清洁生产的定义	484	四、实施清洁生产效果及经济分析	492
三、清洁生产的内容	484	五、实施清洁生产成功经验	493
四、清洁生产的内涵和意义	485	第四节 我国推行清洁生产技术的	
第二节 清洁生产技术的特点和		情况	494
关键	485		
参考文献	497		
索引	500		

第一章 总 论

第一节 发酵工程基础知识

发酵工程是现代生物工程的重要组成部分,它由早期的酿造工艺衍化至今,已进入高科技领域,是生物工程技术走向产业化的主要关键技术。基因工程和细胞工程把生命科学推向一个新的发展阶段,它创建了许多具有新功能、新品系的微生物新菌种以及动植物细胞的新细胞株。而要用这些新菌种和新细胞株生产出丰富人类生活的美味佳肴,增进人类健康的良方新药,美化人们生活的奇花异草和提高人们生活档次的各种精细化工产品,等等,惟有发酵工程技术可以担当此重任。发酵工程既是一个广阔的技术领域,又是一个多学科的杂交体系,它记载着古代文明的足迹,又反映出近代生物技术发展的轨迹。

▶▶ 一、发酵工程的概念

汉语“发酵”即英语“fermentation”,其原始含义来自于拉丁语“ferver”即“发泡”,气体翻涌。意指厌氧发酵产生二氧化碳气体的现象。巴斯德在考察酒精发酵的生理意义后指出:所谓发酵是指酵母在无氧状态下的呼吸,是生物获得能量的一种方式。但后来发现,醋酸、柠檬酸等有机酸发酵都需要供给氧气,原来的定义便不适用。从生物化学角度看,厌氧发酵时,供氢体和受氢体均为有机物,而需氧的好气(好氧)发酵介于嫌气(厌氧)发酵和呼吸之间,是有机物通过分子氧受到不完全氧化。此时发酵被统一理解为“微生物细胞为获取生长和生存所需能量而进行的氧化还原反应。”此后,发酵形式多样化,新的发酵产品不断涌现,除有机酸外,出现了氨基酸、抗生素、核苷酸、酶制剂、维生素、多糖、色素、生物农药、植物生长促进剂、免疫促进剂、单细胞蛋白、生物碱等发酵。因此,发酵的定义扩展为:“利用生物细胞(含动物、植物和微生物细胞),在合适的条件下,经特定的代谢途径转变成所需产物或菌体的过程”。20世纪70年代以后,基因工程技术和细胞融合技术的相继建立,使发酵工程迈入了新的历史阶段。此前的发酵工程所操作的对象生物是微生物,而现代发酵工程加工的对象生物,除天然微生物菌种和变异微生物菌株外,还

有用基因工程技术形成的基因工程菌、细胞融合菌以及动植物细胞株。发酵工程的无菌概念已由原来的将杂菌排除在发酵系统外的单向概念转变为同时要求发酵系统内的生物体不能逸出系统外的双向概念。发酵的培养技术已不是简单的通气搅拌培养技术,而是要根据生物的类型、目的产物的特征不同而采用更复杂的培养技术,并引入了生化工程放大概念。发酵培养装置已不仅是标准发酵罐,而是形式多样、结构各异的新型生物反应器。现代发酵工程技术的下游工程,即分离提取精制工程,也随着产物的特性和用途不同而采用各种不同的提取设备、分离介质和精制工艺,整个过程几乎是在可控或自控的体系中进行。同时,现代高新技术,如计算机技术、新材料技术等也已应用于发酵工程领域。因此,现代发酵工程是以天然生物体和人工修饰的生物体为加工对象,集现代化高新技术为一体,生产产品或服务于人类社会的一种工程技术。

发酵工程,顾名思义,是发酵原理与工程学的结合,是研究由生物细胞(包括微生物、动植物细胞)参与的工艺过程的原理和科学,是研究利用生物材料生产有用物质,服务于人类的一门综合性科学技术。生物材料包括来自于自然界的微生物、基因重组微生物、各种来源的动植物细胞。因此,发酵工程是生物工程的主要基础和支柱。

▶▶ 二、发酵过程的特点和分类

要通过发酵过程得到发酵产品需具备:① 有某种适宜的微生物;② 保证或控制微生物进行代谢的各种条件(培养基组成、温度、溶解氧浓度、酸碱度等);③ 有进行微生物发酵的设备;④ 有将菌体或代谢产物提取出来,精制成产品的方法和设备。发酵生产过程是利用生物体的生命活动来获取产品的,与化工生产过程相比,其特点为:

1. 发酵生产过程通常都是在常温常压下进行,一般操作条件比较温和,各种设备不必考虑防爆问题,对设备要求相对较低,还可使一种设备具有多种用途。

2. 发酵生产所用的原料主要以农副产品及其加工产品,如玉米、淀粉、豆饼、玉米浆、酵母膏、牛肉膏等为主,基本属于可再生的生物资源范畴。

3. 发酵过程中的反应以生命体的自动调节方式进行,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。能够很容易地生产化学合成过程难以合成的结构复杂的有用物质,其中酶、光学活性体、蛋白质多肽药物等的生产是发酵生产过程中最有特色的领域。可以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。

4. 发酵工业与其他工业相比,相对投资较少,见效较快,具有经济和效能的统一性。

发酵的种类多种多样。按获取能量的方式可分为好氧发酵和厌氧发酵。按发酵原料可分为糖质原料发酵和烃类原料(石油和天然气)发酵。按产物类型可分为初级代谢产物发酵,次级代谢产物发酵;或分为食品发酵、有机酸发酵、氨基酸发酵、维生素发酵、抗生素发酵、酵母培养……按发酵状态分有固态发酵、液态发酵、液体表面发酵、液体深层发酵。按发酵工艺类型分有批式发酵(分批发酵)、半连续发酵、连续发酵等。

▶▶ 三、发酵工业生产流程

发酵工业中,从原料到产品的生产过程非常复杂,包含了一系列相对独立的工序。一般来说,发酵工业的生产过程主要包括以下环节:① 原料预处理;② 培养基配制;③ 发酵设备和培养基灭

菌;④ 无菌空气的制备;⑤ 微生物菌种制备和扩大培养;⑥ 发酵;⑦ 发酵产品的分离和纯化。这些环节又分别涉及一系列相关的设备和操作程序,它们共同组成了工业发酵过程,见图 1-1。

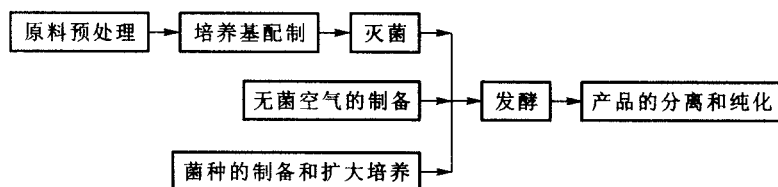


图 1-1 工业发酵过程简图

1. 原料预处理

发酵工业常选用玉米、薯干、谷物等相对廉价的农产品作为微生物的“粗粮”,为了提高这些原料的利用率,并方便对这些原料进一步加工,通常需要将原料粉碎。常用的粉碎设备有锤式粉碎机和辊式粉碎机。

有很多微生物不能直接利用淀粉或利用率不高,发酵前还需将淀粉质原料水解为葡萄糖。水解方法可采用酸法或酶法。

除碳源外,微生物的生长还需要氮源、磷、硫及金属元素。这些原料有些也需经过适当的预处理。

2. 发酵培养基的配制和灭菌

工业上应用的发酵培养基大多数是液体培养基,间歇发酵过程。液体培养基的配制需根据不同微生物的营养要求,将适量的各种原料溶解在水中,或混合成悬浮液。培养基配制常在发酵罐中进行,配制完成后就地灭菌,冷却后接种预先培养的种子即可进行微生物培养。

培养基配制时要用酸或碱调整合适的 pH。培养基灭菌的方法采用高压水蒸气直接对培养基进行加热灭菌,一般是 121 ℃ 保温 20 ~ 30 min,以杀死其中的微生物,然后冷却,这样的灭菌方式称为实罐灭菌。也可采用连续灭菌。

3. 无菌空气制备

好氧微生物的生长和产物生产过程都需要氧气。一般采用无菌空气作为氧气来源。空气通入发酵罐之前必须经过除菌以保证发酵过程不受污染。空气除菌过程较复杂,需要高空采风,经空气压缩机加压后采用加热灭菌或过滤除菌。

4. 微生物种子的制备

每次发酵前,都需要准备一定数量的优质纯种微生物,即制备种子。种子必须是生命力旺盛、无杂菌的纯种培养物。种子数量要适当,接种体积要达到发酵罐体积的 1% ~ 10%。许多发酵罐规模庞大,单个发酵罐体积达到几十到几百立方米,为保证合适的接种量,种子培养需要一个逐级扩大的过程,见图 1-2。

5. 发酵过程的操作方式

发酵工业根据操作方式不同可分三种模式,即间歇发酵、连续发酵和流加发酵。常见的是间歇发酵,也称分批发酵。将发酵罐和培养基灭菌后,向发酵液中接入种子,开始发酵过程。在发酵过程中除气体进出外,一般不与外界发生物质交换。发酵过程中需对 pH、温度等进行控制。发酵结束后,整批发罐。间歇发酵中,微生物细胞的生长曲线如图 1-3 所示。

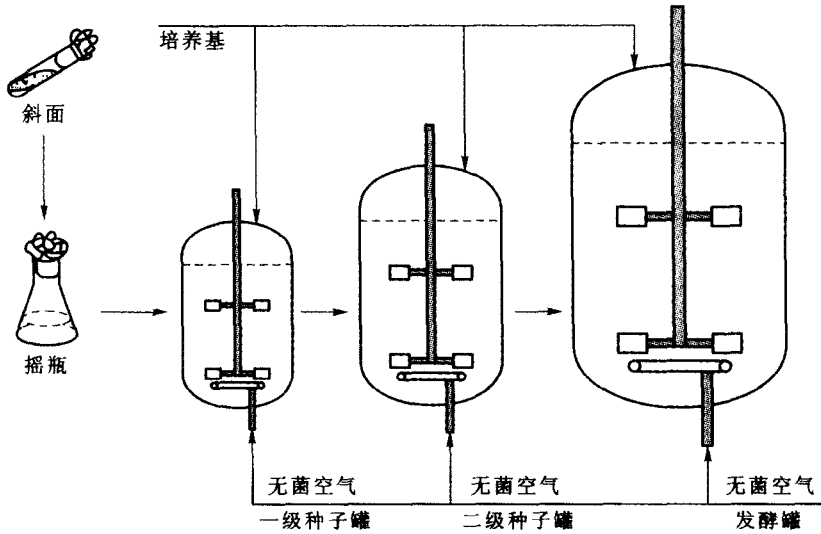


图 1-2 三级发酵种子培养过程

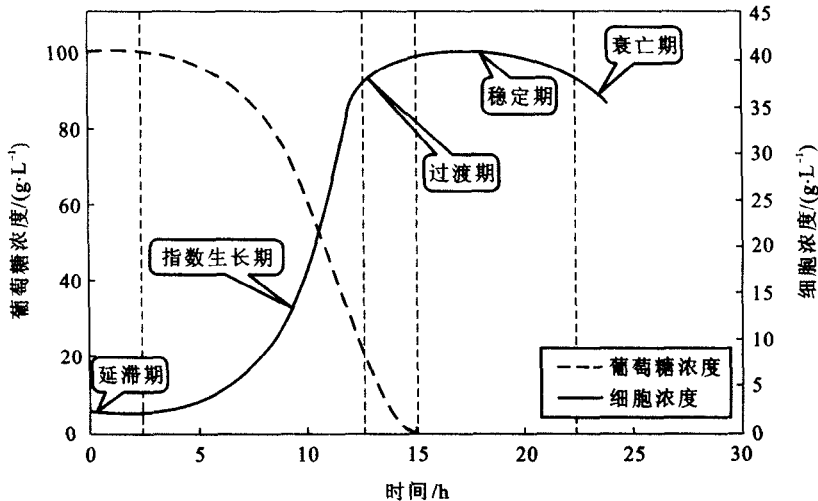


图 1-3 间歇发酵中微生物细胞的生长曲线

连续发酵是在发酵过程中向生物反应器连续地提供新鲜培养基(进料)并排出发酵液(出料)。通常在稳定操作时,进料和出料流量基本相等,反应器内发酵液体积和组成(菌体、糖、代谢产物等)保持恒定。连续发酵时溶解氧和 pH 受到严格控制。

流加发酵是介于间歇发酵和连续发酵之间的操作方式,同时具备两者的部分优点,是目前工业上较常采用的一种操作方式。

6. 发酵产品及分离提纯工艺

发酵工业的产品十分丰富,包括完整的细胞、酶制剂和各种代谢产物(包括有机酸、氨基酸、溶剂、抗生素、药用蛋白质、维生素等)。

一般地说,从自然界得到的微生物菌种或动植物细胞株,其目的产物的产量都比较低,这是生物本身的生存规律所决定的。这种生物体不能直接用于工业化大生产,必须进行改造,这就是

育种。育种技术概括起来有常规育种(包括通过物理和化学的手段来改变生物体所固有的代谢性能),细胞融合育种和基因重组育种三种育种技术。有了优良的菌株或动植物细胞株是实现产业化的第一步,还必须有整套科学的培养和管理技术。培养技术共同的问题是工程放大、过程控制和优化以及生物反应器的设计和选择。在实现了“种瓜得瓜”后,要实现“丰产又丰收”还必须有一套高效率的产物分离精制技术,它与物料的理化状态密切相关,也与分离介质的性能有千丝万缕的联系。就技术范围而言,下游加工技术包括:固液分离技术(离心和过滤等),细胞破碎技术(机械或非机械破碎),浓缩分离技术(吸附法、离子交换法、沉淀法、萃取法、超滤膜法、反渗透法、真空浓缩法等),精制技术(凝胶层析、离子交换层析、聚焦层析、憎水层析、亲和层析等),结晶技术。以上种种下游加工技术需根据产物性质、产品质量要求、产品的剂型要求而选用。

▶▶ 四、发酵工业的历史渊源

1. 天然发酵阶段

从史前到19世纪,人们不了解发酵的本质,仅利用自然发酵现象制作各种饮料酒和发酵食品。

远在4000多年以前,我国古代人民在自己的实践中发现了发酵现象,并利用它来生产酒饮料和酿造食品,形成了发酵工程技术最早产业——酿造业。据我国龙山文化遗址的考证表明,当时民间已经掌握了酿酒技术,夏禹时代,酒的酿造已普遍流行于各地。《战国策》上有“仪狄作酒,禹饮而甘之,曰‘后世必有以酒亡国者’,遂疏仪狄而绝旨酒”。在欧洲,有葡萄酒是神酿造的传说。在古希腊、古埃及都有酿造麦酒和葡萄酒的历史记载。

此时期主要产品有各种饮料酒、酒精、酱、酱油、食醋、干酪、酸乳和酵母等。生产特点是手工作坊或家庭式生产,非纯种培养,凭经验传授技术,产品质量不稳定,产品为嫌气发酵产品。

1680年,荷兰博物学家安东·列文虎克(Anthry van Leewenhock, 1632—1723)发明了显微镜(放大倍数170倍),人类历史上第一次看到大量活的微生物,见图1-4。

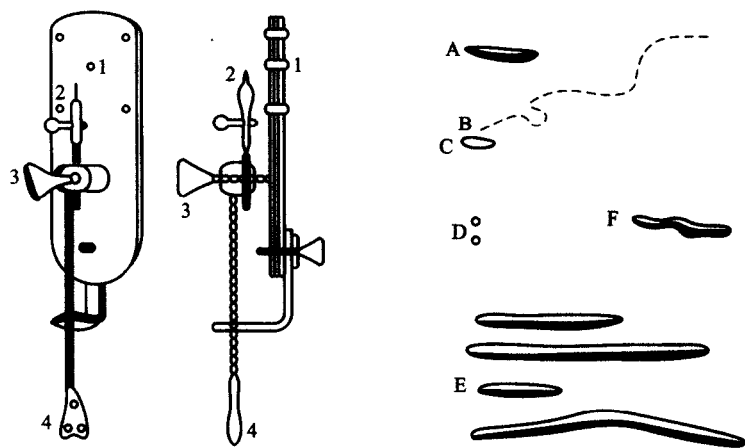


图1-4 列文虎克的显微镜及其观察到的微生物世界

左图:列文虎克的显微镜;

1 - 透镜夹于两金属片之间;

2 - 固定标本的金属针;

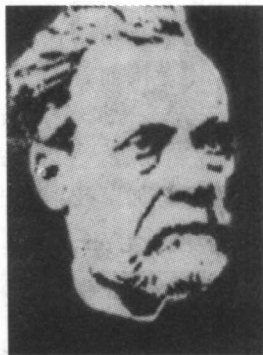
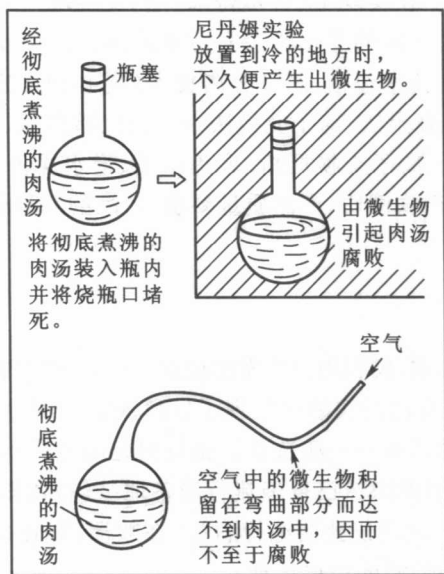
3,4 - 调螺旋装置

右图:列文虎克的细菌图

A、B、C、E、F - 杆菌;

D - 球状菌;

19 世纪中叶(1859 年),法国科学家路易·巴斯德(Louis Pasteur,1822—1895)用著名的 Pasteur 实验证明发酵原理,找到了葡萄酒和啤酒酸败的本质,发明了著名的低温杀菌法(Pasteurization)。见图 1-5。



巴斯德(1822—1895)
法国化学家和细菌学家。通过研究发酵发现了乳酸菌,并证明“自然发生说”是错误的。

图 1-5 巴斯德及巴斯德试验

2. 纯培养技术的建立

19 世纪末到 20 世纪 30 年代,出现的发酵产品有嫌气的乳酸、酒精、面包酵母、丙酮-丁醇等;好气的柠檬酸、淀粉酶、蛋白酶等。该时期特点是表面培养,生产过程简单,对生产设备要求不高,生产规模不大。1872 年,英国的布雷菲尔德(Brefeld)创建了霉菌纯培养技术,被称为近代细菌学之父。1881 年,曾获得 1905 年诺贝尔奖的德国利斯特·柯赫等(Robert Koch,1843—1910)完成了细菌纯培养技术,被称为微生物纯培养技术的先驱。他利用明胶冷凝热熔的特性,制成了固体培养基,第一次分离得到了微生物纯种。1878 年,丹麦的汉逊(Hansen)建立了啤酒酵母的纯培养方法。1897 年,法国布赫纳(Buchner,1860—1917)发现细胞萃取液仍有发酵现象,证明了任何生物都有引起产生发酵的物质——酶的存在,导致了生物化学的出现。20 世纪初,人们用纯培养技术发现了梭菌能生产丙酮-丁醇。丙酮是制作炸药的原料,丁醇是重要的化工原料。第一次世界大战中,英国 Weizman 发明了丙酮-丁醇发酵,并实现工业化,服务于战争。第一次和第二次世界大战中,日本藤弁三郎发明了用砂糖发酵制取正丁醇,再通过化学反应生成异辛烷。

3. 通气搅拌发酵技术的建立

也称为发酵工程的第一次飞跃。1929 年,英国科学家弗莱明(A Fleming)在污染了霉菌的细菌培养基平板上观察到霉菌菌落的周围有一个细菌生长抑制圈。该抑制霉菌生长的菌是青霉菌,所以称此分泌物为青霉素。1940 年,英国弗洛里(Haward Florey)和钱恩(E B Chain)两位博士精制分离出青霉素,并确认对伤口的感染症比当时的磺胺药剂更具疗效。1941 年,英美两国合作对青霉素进行进一步开发研究。1942 年青霉素工业化生产。青霉素发酵生产的成功,为人