



21世纪高职高专精品规划教材
生物技术类专业适用

卓越系列

微生物与发酵基础教程

Textbook for Microbiology and Fermentation Biotechnology

宋超先 主编

21 世纪高职高专精品规划教材·生物技术类专业适用

微生物与发酵基础教程

Textbook for Microbiology and Fermentation Biotechnology

主 编 宋超先
副主编 李 霞
编 者 李雪峰 张 颖
孙宝丰 杨海军
谢玉锋

内 容 提 要

本书是将《工业微生物学》和《发酵工艺原理》有机整合而编著的一本新型教材。该课程打破了原来两门课程在教学过程中的割裂,删减了重复的内容,加强了理论和实验实训的衔接。本书结合高职高专教学特点,精简过深的理论推理,紧扣学科发展前沿,强调应用性和技能性。全书共13章,前12章为理论部分,包括:绪论、微生物的形态及分类、微生物的营养生长及培养基制备、工业微生物菌种与种子的扩大培养、灭菌与空气净化、生物反应动力学、发酵工艺过程控制、发酵生产染菌及其防治、动植物细胞大规模培养、工程菌的培养、固定化酶与固定化细胞技术、发酵工程下游加工过程概论。第13章是实验实训部分,包括:显微镜的使用和微生物测微技术、微生物细胞数的计数、培养基的制备与灭菌、微生物的纯种分离培养、细菌的简单染色和革兰氏染色、最佳培养基的确定、紫外线诱变选育 α -淀粉酶高产菌株、固定化技术、酒精发酵、亚硫酸盐氧化法测定 $K_L a$ 、谷氨酸发酵的代谢曲线测定。

本书可作为高职高专生物制药技术专业、生物技术及应用专业、微生物技术及应用专业、生物实验技术专业的教材,也可作为相关工程技术人员的参考资料。

图书在版编目(CIP)数据

微生物与发酵基础教程/宋超先主编. —天津:天津大学出版社, 2007.5

21 世纪高职高专精品规划教材

ISBN 978-7-5618-2440-5

I. 微... II. 宋... III. ①工业微生物学 - 高等学校:技术学校 - 教材②发酵 - 工艺学 - 高等学校:技术学校 - 教材
IV. Q939.97 TQ920.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 049025 号

出版发行 天津大学出版社

出 版 人 杨欢

地 址 天津市卫津路 92 号天津大学内(邮编:300072)

电 话 发行部:022-27403647 邮购部:022-27402742

网 址 www.tjup.com

短信网址 发送“天大”至 916088

印 刷 昌黎太阳红彩色印刷有限责任公司

经 销 全国各地新华书店

开 本 169 mm × 239 mm

印 张 21.5

字 数 518 千

版 次 2007 年 5 月第 1 版

印 次 2007 年 5 月第 1 次

印 数 1 - 3 000

定 价 30.00 元

凡购本书,如有缺页、倒页、脱页等质量问题,烦请向我社发行部门联系调换

版权所有 侵权必究

前 言

为适应高职高专教学改革的发展趋势,天津职业大学生物与环境工程学院的教师们以培养应用型技术人才为出发点,对高职高专教育教学规律进行潜心研究,并结合多年的教学经验,把《工业微生物学》和《发酵工艺原理》两门课程有机地整合成一门创新性课程——《微生物与发酵基础教程》。本教材就是为配合该课程的授课需要而精心编著的。

《工业微生物学》和《发酵工艺原理》是高职高专生物制药技术、生物技术及应用等专业学生必修的、前后衔接的两门主干课程,课时所占的比重都非常大。按课程性质分,前者属于专业基础课,后者属于专业课,两个课程在教授过程中常有割裂与重复。《微生物与发酵基础教程》课程的设置则打破了两者的割裂,删减了重复的内容,加强了理论和实验实训的衔接,相应地压缩了理论课时,加大了实验实训课时的比重。

基于此课程的需要,本教材精简了过深的理论及推理,设计了必要的实验实训内容;力争做到理论和实践相结合,理论以“必需”和“够用”为度,力求少而精;加强了技能性、实践性和实用性,注重基本知识的阐述和应用,重点突出生产工艺和技术的应用。同时,本教材还注重紧扣学科发展前沿,给学生留有一定广度和深度的提高内容,教师在授课时对此部分内容可以精简。

本书由天津职业大学的宋超先主编,李霞为副主编。参加编写的还有天津职业大学的李雪峰、张颖、孙宝丰,信阳农业高等专科学校的杨海军,哈尔滨学院的谢玉锋。

本教材在编写过程中参考了国内外的相关书籍和互联网上的相关资料,在此向这些书籍和资料的原作者表示衷心的感谢。由于能力和时间有限,书中难免有不足之处,诚请广大读者批评指正。

编 者

2007年4月

目 录

第1章 绪论	(1)	2.2.3 细菌的繁殖方式和培养特征	(35)
1.1 微生物及其特点	(1)	2.2.4 细菌的分类	(37)
1.1.1 微生物及其分类	(1)	2.3 放线菌	(40)
1.1.2 微生物的特点	(3)	2.3.1 放线菌的形态和构造	(40)
1.2 工业微生物、生物技术及发酵工程	(4)	2.3.2 放线菌的繁殖	(43)
1.2.1 工业微生物	(4)	2.3.3 放线菌的分类	(45)
1.2.2 生物技术	(4)	2.4 酵母菌	(47)
1.2.3 发酵工程	(5)	2.4.1 酵母菌的形态和大小	(47)
1.3 生物反应过程的特点	(6)	2.4.2 酵母菌的细胞构造	(49)
1.4 微生物工业产品类型	(7)	2.4.3 酵母菌的繁殖方式与生活史	(53)
1.4.1 微生物菌体的发酵	(7)	2.4.4 酵母菌的分类	(56)
1.4.2 微生物酶发酵	(8)	2.5 霉菌	(59)
1.4.3 微生物代谢产物发酵生产	(8)	2.5.1 藻状菌纲	(60)
1.4.4 微生物的生物转化	(9)	2.5.2 子囊菌纲和半知菌类	(66)
1.5 发酵工程的发展简史	(10)	2.5.3 霉菌的分类	(75)
1.5.1 传统的微生物发酵技术——天然发酵	(10)	2.6 噬菌体	(77)
1.5.2 第1代微生物发酵技术——纯培养技术的建立	(10)	2.6.1 噬菌体的形态和构造	(78)
1.5.3 第2代(近代)微生物发酵技术——深层培养技术	(10)	2.6.2 噬菌体的生长和繁殖	(79)
1.5.4 第3代微生物发酵技术——发酵工程	(12)	2.6.3 噬菌体的生活史	(82)
第2章 微生物的形态与分类	(14)	2.6.4 噬菌体的分离检查	(83)
2.1 微生物的分类和命名	(15)	2.6.5 理化因素对噬菌体的影响	(85)
2.1.1 微生物在生物界中的地位	(15)	2.6.6 噬菌体的污染现象及应用	(86)
2.1.2 微生物的分类和鉴定方法	(16)	2.6.7 噬菌体分类原则及其依据	(87)
2.2 细菌	(20)	2.6.8 真菌病毒	(88)
2.2.1 细菌的细胞形态和大小	(20)	第3章 微生物的营养生长及培养基制备	(91)
2.2.2 细菌细胞的一般构造及特殊结构	(23)	3.1 微生物的营养及培养基的选择	(91)
		3.1.1 微生物的营养类型	(91)
		3.1.2 微生物的营养物质	(92)
		3.1.3 微生物培养基的选择	(102)

微生物与发酵基础教程

3.2 淀粉水解糖的制备	(109)	5.2 空气的净化	(169)
3.2.1 淀粉水解糖的制备方法	(110)	5.2.1 空气净化方法	(170)
3.2.2 淀粉酸水解原理	(111)	5.2.2 空气过滤除菌的介质	(172)
3.3 糖蜜原料	(112)	第6章 生物反应动力学	(175)
3.3.1 糖蜜原料的分类	(113)	6.1 生物反应过程动力学描述	(175)
3.3.2 糖蜜原料的性质和组成	(113)	6.1.1 菌体生长速率	(175)
3.3.3 糖蜜的预处理	(113)	6.1.2 基质消耗速率	(176)
3.4 微生物的生长	(114)	6.1.3 代谢产物的生成速率	(176)
3.4.1 微生物个体细胞的生长	(114)	6.2 生物反应模式与发酵方法	(177)
3.4.2 微生物群体的生长	(115)	6.2.1 发酵动力学分类	(177)
3.4.3 微生物生长的测定	(117)	6.2.2 发酵方法	(179)
3.4.4 多种碳源及复合培养基 存在下的微生物的生长	(119)	6.2.3 分批发酵动力学	(185)
第4章 工业微生物菌种与种子 的扩大培养	(121)	6.3 微生物生长代谢过程中的 碳源平衡	(190)
4.1 工业微生物菌种的衰退、 复壮与保藏	(121)	6.3.1 碳源平衡	(190)
4.1.1 微生物工业对菌种的要求	(121)	6.3.2 细胞物质生产过程中碳 源的化学平衡	(190)
4.1.2 菌种的退化及防治	(121)	6.3.3 碳源平衡的意义	(191)
4.1.3 菌种的复壮	(124)	第7章 发酵工艺过程控制	(192)
4.1.4 菌种的保藏	(125)	7.1 发酵过程中的代谢变化与 控制参数	(193)
4.2 工业微生物菌种的选育	(129)	7.1.1 初级代谢的代谢变化	(193)
4.2.1 诱变育种	(130)	7.1.2 次级代谢的代谢变化	(195)
4.2.2 诱变剂的种类及选择	(132)	7.1.3 发酵过程的主要控制参数	(196)
4.2.3 理性化筛选技术	(133)	7.2 温度对发酵的影响及其 控制	(198)
4.3 生产菌种的改良	(142)	7.2.1 温度对发酵的影响	(198)
4.3.1 常规的杂交育种	(143)	7.2.2 影响发酵温度变化的因素	(199)
4.3.2 细胞融合	(144)	7.2.3 温度的控制	(200)
4.3.3 基因工程	(149)	7.3 pH 值对发酵的影响及其 控制	(201)
4.4 种子的扩大培养	(151)	7.3.1 pH 值对发酵的影响	(201)
4.4.1 种子扩大培养的任务	(152)	7.3.2 发酵过程 pH 值的变化	(202)
4.4.2 种子制备的过程	(152)	7.3.3 发酵 pH 值的确定和控制	(203)
第5章 灭菌与空气的净化	(155)	7.4 溶解氧对发酵的影响及 其控制	(204)
5.1 灭菌	(155)	7.4.1 溶解氧对发酵的影响	(204)
5.1.1 灭菌的方法	(155)	7.4.2 供氧与微生物呼吸代谢	
5.1.2 灭菌的原理	(162)		
5.1.3 培养基的灭菌	(164)		

的关系	(206)	8.2.3 发酵染菌原因分析	(231)
7.4.3 发酵过程溶氧的变化	(207)	8.3 杂菌污染的途径和防治	(233)
7.4.4 溶氧浓度控制	(208)	8.3.1 种子带菌及其防治	(233)
7.5 菌体浓度与基质对发酵的 影响及其控制	(209)	8.3.2 空气带菌及其防治	(234)
7.5.1 菌体浓度对发酵的影响 及控制	(209)	8.3.3 操作失误导致染菌及其 防治	(234)
7.5.2 基质对发酵的影响及其控制	(211)	8.3.4 设备渗漏或“死角”造成 的染菌及其防治	(235)
7.6 CO ₂ 和呼吸商	(214)	8.3.5 噬菌体污染及其防治	(238)
7.6.1 CO ₂ 对菌体生长和产物形 成的影响	(214)	8.3.6 杂菌污染的挽救与处理	(240)
7.6.2 CO ₂ 的释放率	(215)	第9章 动植物细胞大规模培养	(242)
7.6.3 呼吸商与发酵的关系	(215)	9.1 动物细胞的培养	(242)
7.6.4 CO ₂ 浓度的控制	(216)	9.1.1 动物细胞的形态	(243)
7.7 补料的控制	(217)	9.1.2 细胞系	(244)
7.8 泡沫对发酵的影响及其 控制	(217)	9.1.3 培养基的组成	(245)
7.8.1 泡沫的形成及其对发酵 的影响	(217)	9.1.4 培养基制备应考虑的因素	(247)
7.8.2 泡沫的消除	(218)	9.1.5 细胞培养的环境要求	(248)
7.9 发酵终点的判断	(220)	9.1.6 动物细胞培养的方法	(249)
7.10 发酵过程检测与传感器	(221)	9.1.7 动物细胞大规模培养的 工艺	(252)
7.10.1 发酵过程对传感器的 特殊要求	(222)	9.1.8 动物细胞的保藏和种子 复壮	(252)
7.10.2 发酵过程的主要在线 传感器	(224)	9.2 植物细胞的培养	(253)
第8章 发酵生产的染菌及其防治	(227)	9.2.1 植物细胞培养流程	(254)
8.1 染菌对发酵的影响	(227)	9.2.2 植物细胞培养基的组成	(254)
8.1.1 染菌对不同发酵过程 的影响	(227)	9.2.3 植物细胞培养的方法	(256)
8.1.2 染菌发生的不同时间对发酵 的影响	(228)	9.2.4 植物细胞的大规模培养 技术	(257)
8.1.3 染菌程度对发酵的影响	(228)	9.2.5 影响植物细胞培养的 因素	(260)
8.2 发酵异常现象及原因分析	(228)	第10章 工程菌的发酵	(263)
8.2.1 种子培养和发酵的异常 现象	(228)	10.1 重组DNA实验准则	(263)
8.2.2 染菌的检查和判断	(231)	10.2 工程菌的发酵特点及 控制	(264)
		10.2.1 工程菌的要求和种类	(265)
		10.2.2 营养源浓度的控制	(265)
		10.2.3 质粒的不稳定性及其 控制	(265)
		10.2.4 转录效率和拷贝数的	

微生物与发酵基础教程

控制	(271)	的一般程序	(293)
第 11 章 固定化酶与固定化		12.3 清洁生产简介	(294)
细胞技术	(274)	第 13 章 微生物与发酵基础	
11.1 固定化酶	(274)	实验实训	(296)
11.1.1 固定化酶的制备方法	(275)	实验 1 显微镜的使用和微生物测微技术	(296)
11.1.2 多酶复合体和固定化技术	(278)	实验 2 微生物细胞数的计数	(302)
11.1.3 固定化酶的性质	(278)	实验 3 培养基的制备与灭菌	(304)
11.1.4 影响固定化酶性能的因素	(280)	实验 4 微生物的纯种分离培养	(309)
11.2 辅酶和辅基的固定化	(281)	实验 5 细菌的简单染色和革兰氏染色	(314)
11.2.1 辅酶的固定化	(281)	实验 6 最佳培养基的确定	(317)
11.2.2 辅酶的再生	(282)	实验 7 紫外线诱变选育 α -淀粉酶高产菌株	(318)
11.2.3 辅基的固定化	(282)	实验 8 固定化技术	(320)
11.3 细胞的固定化	(282)	实验 9 发酵制备酒精	(321)
11.3.1 固定化细胞分类、形态特征和生理状态	(283)	实验 10 亚硫酸盐氧化法测定 $K_L a$	(322)
11.3.2 固定化细胞的制备	(284)	实训 11 谷氨酸发酵的代谢曲线测定	(324)
11.3.3 固定化细胞的性质	(284)		
11.3.4 培养条件的影响	(286)	附 1 部分培养基和染色液的配方	(326)
第 12 章 发酵工程下游加工过程		附 2 5 升发酵罐操作规程	(326)
概论	(288)	附 3 糖锤度 - 温度校正表	(328)
12.1 发酵工程下游加工过程的特点和基本原理	(288)	附 4 酒精度 - 温度校正表	(330)
12.1.1 发酵工程下游加工过程的特点	(288)	参考文献	(334)
12.1.2 发酵工程下游加工过程的基本原理	(289)		
12.2 发酵工程下游加工过程			

第1章 绪 论

1.1 微生物及其特点

微生物是无所不在的物种,布满在自然界,不过因其极为微小,看不见,摸不着,因此必须用显微镜放大几百倍、上千倍,乃至用电子显微镜放大数万倍、上百万倍才能看清。表示微生物大小的单位是 μm ($1\text{ m} = 10^6\mu\text{m}$) 或 nm ($1\text{ m} = 10^9\text{nm}$)。球菌的直径是 $0.5\mu\text{m}$,因此 80 个球菌“肩并肩”地排列成横队,也只是一根头发丝的宽度。杆菌的长度约 $2\mu\text{m}$,故 1 500 个杆菌头尾衔接起来仅有一粒芝麻长。

人体内微生物与生俱来,且伴随终生。其体形虽然微小,但数量庞大。在人排出的粪便中,微生物约占干粪质量的 40%。人从出生后就生活在有菌环境中,人的皮肤以及与外界相通的腔道,如口腔、鼻咽腔、肠道、泌尿生殖道中均有大量且种类繁多的微生物寄居。寄居在人体的正常微生物一般情况下对人体是有益的,当然,在特定条件下也可致病。

1.1.1 微生物及其分类

微生物一词不是生物分类学上的专用名词,而是所有用肉眼看不见或看不清的微小生物的总称。细胞是组成生命有机体的基本结构单位 and 功能单位。高等生物的个体是由许许多多的细胞所组成的,如人体约由 1 800 万亿个细胞组成。而微生物的个体结构则非常简单。大多数微生物是单细胞生物,即一个细胞就是一个可以独立生活的微生物个体。少数微生物是多细胞,还有一些微生物甚至连一个细胞都不是,只是由蛋白质和(或)核酸组成的不能独立生活的大分子生物。显然,它们是一群地球上最低等的生物。

综上所述,微生物可以定义为:是指所有形体微小,单细胞或结构简单的多细胞,或没有细胞结构的一群最低等的生物。

整个微生物家族包括三大类:非细胞类微生物、原核细胞类微生物、真核细胞类微生物。

1. 非细胞类微生物

(1) 真病毒 真病毒(euvirus)是以活细胞内专性寄生(感染态)或以无生命的生物大分子(非感染态)两种形式存在,由核酸和蛋白质组成的超显微的非细胞生物。包括人类病毒如流感病毒、肝炎病毒、艾滋病毒(HIV)等,动物病毒如腺病毒、鸡瘟病毒、口蹄疫病毒等,植物病毒如烟草花叶病毒、番茄丛矮病毒等,原核生物病毒如噬菌体等。

(2) 亚病毒 亚病毒(subvirus)是只含核酸和蛋白质两种组分的其中一种的生物大

微生物与发酵基础教程

分子病原体。包括类病毒(只含 RNA, 专性活细胞内寄生)、拟病毒(仅由裸露核酸组成, 包裹于真病毒粒中)、朊粒(不含核酸的传染性蛋白质微粒)等。

2. 原核细胞类微生物

(1) 细菌 细菌(bacteria)是结构简单的单细胞原核生物, 一般要在普通光学显微镜下放大 1 000 倍以上并染色才能清楚看见其个体。如人体肠道内的大肠杆菌、粪链球菌, 用于酿醋的醋酸杆菌, 使牛奶变酸的乳酸杆菌, 生产味精的谷氨酸短杆菌, 生产淀粉酶的枯草芽孢杆菌等。

(2) 放线菌 放线菌(actinomycetes)是呈丝状生长、营养菌丝为单细胞、以孢子繁殖的一类原核生物。如生产链霉素的灰色链霉菌, 生产红霉素的红色链霉菌, 生产庆大霉素的棘孢小单胞菌等。一般采用油镜观察。

(3) 蓝细菌 蓝细菌(cyanobacteria)旧称蓝藻或蓝绿藻, 是呈单细胞、非丝状群体或丝状体的大型原核生物, 能进行产氧光合作用。如发菜念珠蓝细菌、盘状螺旋蓝细菌(螺旋藻)等。

(4) 支原体 支原体(mycoplasma)是不具细胞壁的最小型原核生物, 能在营养丰富的培养基上独立生活, 许多种类是致病菌。如肺炎支原体、生殖道支原体等。

(5) 立克次氏体 立克次氏体(rickettsia)是具有细胞壁的较大原核生物, 不能独立生活, 专性寄生于真核细胞内, 是某些人类传染病的病原体。如斑疹伤寒立克次氏体、恙虫热立克次氏体等。

(6) 衣原体 衣原体(chlamydia)的细胞壁缺肽聚糖, 缺乏产能酶系的原核生物, 是在真核细胞内以专性能量寄生的一类病原体。如沙眼衣原体、肺炎衣原体、鹦鹉热衣原体等。

3. 真核细胞类微生物

(1) 酵母菌 酵母菌(yeast)是单细胞真菌, 能发酵糖类, 是一类最低等的真核生物。如用于面包制作的面包酵母、酒精和酒类生产用的酿酒酵母、石油制品脱蜡用的假丝酵母等。一般用高倍镜(400 ~ 600 倍)观察其个体细胞形态。

(2) 霉菌 霉菌(mould, mold)是引起物品霉变的丝状真菌, 单细胞或多细胞真核生物。如酿制小曲酒的根霉菌, 制造豆腐乳的毛霉菌, 生产葡萄糖的曲霉菌, 生产青霉素的青霉菌等。可用低倍或高倍镜观察其个体形态。

(3) 蕈菌 蕈菌(mushroom)又名伞菌或担子菌, 能产生大型肉质子实体的真菌。如蘑菇、香菇、草菇、平菇、木耳、银耳、竹荪等食用菌, 以及灵芝、云芝、猴头等药用菌等。

(4) 藻类 藻类(algae)是单细胞或单细胞的聚合体, 是能进行光合作用并产生氧气的一类真核生物。如微星鼓藻、团藻、栅藻等。

(5) 原生动物 原生动物(protozoan)个体微小, 无真正细胞壁, 具运动性, 是进行吞噬营养的单细胞真核生物。如阿米巴、纤毛虫、鞭毛虫等。

以上三大类微生物中, 原核生物中的细菌、放线菌, 非细胞生物中的噬菌体, 以及真核生物中的酵母菌、霉菌, 是在发酵工业上有重要用途或关系密切的微生物, 是本书讨论的重点。

1.1.2 微生物的特点

1. 体积小、面积大

常识告诉我们,把一定体积的物体分割得越小,它们的总表面积就越大。物体的表面积和体积之比称为比表面积。如果把人的比表面积值定为1,则大肠杆菌的比表面积值竟高达30万!体积小、面积大是微生物与大型生物相区别的关键所在,也是其应用于发酵工业的关键所在。

2. 吸收多、转化快

由于微生物的比表面积大得惊人,所以其与外界环境的接触面特别大,这非常有利于微生物通过体表快速吸收营养和排泄废物。如大肠杆菌在合适条件下,每小时可以消耗相当于自身质量2 000倍的糖,而人体则需要40年之久。微生物的食物也非常广泛,凡是动植物能利用的营养,微生物都能利用,大量的动植物不能利用的物质,甚至是剧毒的物质,微生物照样可以视为美味佳肴。我们可以充分利用微生物这个特性,发挥“微生物工厂”的作用,使大量基质在短时间内转化为有用的化工、医药产品或食品,使有害物质化为无害,将不能利用的物质变为可利用。

3. 生长旺、繁殖快

微生物生长和繁殖的速度非常快,例如大肠杆菌在合适的生长条件下,12.5~20 min便可繁殖一代,每小时可分裂3次,由1个变成8个,每昼夜可繁殖72代,由1个细菌变成 4.7×10^{21} 个(质量约4 722 t),经48 h后,则可产生 2.2×10^{43} 个后代,如此多的细菌的质量约等于4 000个地球之质量。当然由于种种条件的限制,这是不可能实现的。细菌数量的翻番只能维持几个小时,不可能无限制地繁殖。因而在培养液中繁殖细菌,它们的数量一般仅能达到每毫升1~10亿个,最多达到100亿。尽管如此,它的繁殖速度仍比高等动植物高出千万倍。微生物的这一特性在发酵工业上具有重要意义,可以提高生产效率,缩短发酵周期。若干微生物的代时(分裂1次所需的时间)和每日增值率如表1-1所示。

表 1-1 若干微生物的代时和每日增值率

微生物名称		代时/min	每日分裂次数	温度/℃	每日增值率
细菌	乳酸菌	38	38	25	2.7×10^{11}
	大肠杆菌	18	80	37	1.2×10^{24}
	根瘤菌	110	13	25	8.2×10^3
	枯草杆菌	31	46	30	7.0×10^{13}
	光合细菌	144	10	30	1.0×10^3
酿酒酵母		120	12	30	4.1×10^3
藻类	小球藻	420	3.4	25	10.6
	念珠藻	1 380	1.04	25	2.1
	硅藻	1 020	1.4	20	2.64
草履虫		624	2.3	26	4.92

微生物与发酵基础教程

4. 适应强、易变异

微生物对环境具有惊人的适应力,这是高等生物所无法比拟的。例如,多数细菌能耐 $0 \sim -196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的低温,在海洋深处的某些硫细菌可在 $250 \sim 300\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的高温条件下正常生长,一些嗜盐细菌甚至能在饱和盐水中正常生活,产芽孢细菌和真菌孢子在干燥条件下能保藏几十年、几百年甚至上千年。耐酸碱、耐缺氧、耐毒物、抗辐射、抗渗透压等特性在微生物中也极为常见。

微生物个体微小,与外界环境的接触面积大,容易受到环境条件的影响而发生变异。尽管变异发生的机会只有百万分之一到百亿分之一,但由于微生物繁殖快,也可在短时间内产生大量变异的后代。正是由于这个特性,人们才能够按照自己的要求不断改良在生产上应用的微生物,例如利用变异和育种使青霉素生产菌的发酵水平由最初每毫升 20 单位上升到目前近 10 万单位,如此大幅度的产量提高在动植物育种工作中简直是不可思议的。

5. 分布广、种类多

虽然人类不借助显微镜就无法看到微生物,可是它在地球上几乎无处不有,无孔不入。85 km 的高空,11 km 深、水压高达 1 140 大气压的海底,2 000 m 深的地层,近 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的温泉等极端环境下,均有微生物存在。至于人们正常生产生活的地方,则更是微生物生长生活的适宜条件。

微生物种类繁多。迄今为止,人类所知道的微生物约有 10 万种,有人估计目前已知的种类只占地球上实际存在的微生物种数的 20%。微生物很可能是地球上物种最多的一类生物。微生物资源是极其丰富的,但在人类生产和生活中仅开发利用了已发现微生物种数的 1%。

1.2 工业微生物、生物技术及发酵工程

1.2.1 工业微生物

工业微生物包括所有工业上常见常用的微生物。工业微生物学研究的主要对象包含了细菌(含放线菌)、真菌和噬菌体。技术人员除了善于利用有益的纯种微生物外,还必须会处理工业生产中所涉及的污染与杂菌。有时某些微生物在一种产物生产中是生产菌,不是杂菌;而在另一种产物生产中是杂菌,却不是生产菌。例如产醋酸细菌在生产醋时是生产菌,但它的醋酸化作用却会使啤酒或葡萄酒酸败。

1.2.2 生物技术

生物技术,又称生物工艺学(biotechnology),有时也称生物工程(bioengineering),是指应用自然科学及工程学的原理,依靠生物催化剂(biocatalyst)的作用,将物料进行加工以提供产品或为社会服务的技术。生物技术的依据和出发点是生物有机体本身的各种机能,是各类生物在生长、发育与繁殖过程中进行物质合成、降解和转化的能力。一切类

型生物的各式各样的生物化学反应又受细胞产生的各种各样的酶所催化,而各类酶的特异结构与功能又受特定的遗传基因所决定。

一般认为,生物技术通常包括基因工程(gene engineering)、细胞工程(cell engineering)、发酵工程(enzyme engineering)、蛋白质工程(protein engineering)等5个方面内容,此外基因诊断与基因治疗技术、克隆动物技术、生物芯片技术、生物材料技术、生物能源技术、利用生物降解环境中有毒有害化合物的技术等都是生物技术范畴的重要内容。现代生物技术实际上是建立在多学科基础之上、涉及面广泛的综合技术,与生物技术直接相关联的学科至少包括分子生物学、微生物学、生物化学、遗传学、细胞生物学、化学工程学、医药学等。

1.2.3 发酵工程

作为现代科学概念的微生物发酵工业,是在20世纪40年代随着抗生素工业的兴起而得到迅速发展的,如抗生素、氨基酸、有机酸、酶制剂等工业的迅速崛起。在现代微生物学、生物化学和遗传学等基础理论的推动下,微生物发酵逐步成为一个大有发展前途的新兴工业部门,在国民经济的众多领域中发挥了巨大作用。随着科学技术的发展,“发酵”作为一门工程学科的定义不断得到发展和充实。目前,人们把利用微生物在有氧或无氧条件下的生命活动来制备微生物菌体或其代谢产物的过程统称为发酵。而生物化学上关于发酵的定义仅是“微生物在无氧时的代谢进程”。由此可见,发酵工程中的“发酵”已远超出了生化范畴内关于发酵的定义。

发酵工程(fermentation engineering),又称微生物工程(microbial engineering),是利用微生物的特定性状和功能,通过现代化工程技术生产有用物质或直接应用于工业化生产的技术体系;是将传统发酵与现代的DNA重组、细胞融合、分子修饰和改造等新技术结合并发展起来的现代发酵技术。也可以说是渗透有工程学的微生物学,是发酵技术工程化的发展。

发酵工程与化学工程非常接近,化学工程中许多单元操作在微生物工业中得到应用。国外许多学术机构把发酵工程作为化学工程的一个分支,称为“生化工程”。但由于微生物工业是培养和处理活的有机体,所以除了与化学工程有共性外还有它的特殊性。例如,空气除菌系统、培养基灭菌系统等都是微生物工业中所特有的。再如,化学工程中,气液两相混合、吸收的设备,仅有通风和搅拌的作用,而通风机械搅拌发酵罐除了上述作用外,还包括复杂的氧化、还原、转化、水解、生物合成以及细胞的生长和分裂等作用,甚至还有其严格的无菌要求,所以不能简单地与气体吸收设备完全等同起来。提取部分的单元操作虽然与化工中的单元操作无明显区别,但为适应菌体与微生物产物的特点,还要采取一些特殊措施并选用合适的设备。简而言之,发酵工程就是化学工程中各有关单元操作结合了微生物特点的一门学科。

现代发酵技术一般包括微生物细胞或动植物细胞(含基因重组细胞)的悬浮培养,或利用固定化酶、固定化细胞所做的反应器加工底物(即有生物催化剂参加),以及培养加工后产物大规模的分离提取等工艺。其主要作用是在生物反应过程中提供各种所需

微生物与发酵基础教程

的最适环境条件,如酸碱度、温度、底物浓度、通气量以及保证无菌状态等研究内容。发酵工艺原理(Principals of Fermentation Biotechnology)是一门研究现代发酵技术共性原理的科学,是一门实用性非常强、从实践中来到实践中去的理论。

1.3 生物反应过程的特点

生物反应过程的实质就是利用生物催化剂从事生物技术产品生产的过程。一般生物反应过程如图 1-1 所示。

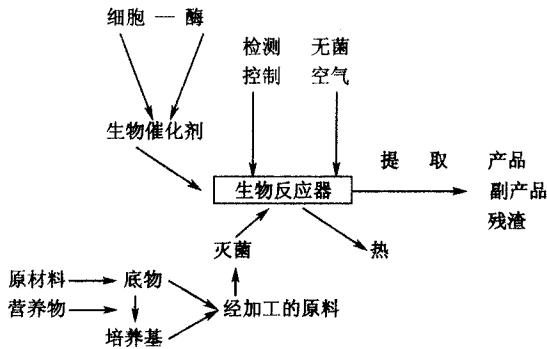


图 1-1 生物反应过程示意

可见,通常的生物反应过程由以下 4 个部分组成。

1. 原料的预处理及培养基的制备

发酵原料是很丰富的,如薯类、谷类等。但许多工业微生物都不能直接利用这些原料,通常需要将它们进行粉碎、蒸煮、水解成葡萄糖以供微生物利用。还可以利用废糖蜜、工农业的下脚料等,根据不同微生物和发酵产品的类型调配一定成分的培养基。在发酵前将培养基装入发酵罐中,通入 0.098 MPa 的蒸汽高温灭菌,冷却后,在无菌条件下接入菌种。在发酵过程中要绝对保证无杂菌,即没有目标微生物以外的微生物存在,这是发酵成功与否的关键。

2. 生物催化剂的制备

发酵过程中,首先应在传统诱变育种或用现代生物技术手段进行菌种改造的基础上,选择高产、稳产、培养要求不甚苛刻的菌种。发酵前必须经过多次扩大培养达到足够数量和一定质量后作为种子接种至发酵罐中,满足大罐发酵的要求。如果是酶反应过程,则需选择一定量的、活力强的酶制剂。

以上两部分属于上游加工过程。

3. 生物反应器及反应条件的选择

由于使用的生物类型不同,其代谢规律不一样,因而有厌氧发酵和好氧发酵两种方式。厌氧发酵亦称静置发酵,如生产酒精(alcohol)、啤酒(beer)、丙酮(acetone)、丁醇(butanol)及乳酸(lactic acid)等,发酵过程不需供氧,设备和工艺都比好氧发酵简单。好氧

发酵过程中需要消耗大量的氧气,因此需要通入无菌空气,以供代谢需要,如氨基酸、抗生素、赤霉素等的生产都属此类。不管是好氧发酵还是厌氧发酵,均应根据菌种的特点、代谢规律和产品的特点,选择合适的发酵条件。此部分同时还包括生物反应过程的参数检测和控制,都属于中游加工过程。

4. 产品的分离与纯化

分离与纯化是从发酵液中提取符合质量指标的制品。应根据产品的类型、特点选择合适的下游加工过程的组合。采用吸附法、溶媒萃取法、离子交换法、沉淀法或蒸馏法、双水相萃取法、色谱法等,提取、分离和纯化产品,得到符合要求的目标产品。

不管是微生物培养,还是动植物细胞培养、污水的生化处理以及从天然物质中应用生物技术提取有效成分均为生物反应过程。如果过程使用的生物催化剂是酶,通常叫酶反应过程;如果是生物细胞,则叫作发酵过程。

生物反应过程有以下特点。

①生产过程通常在常温下进行,操作条件温和,不需考虑防爆问题。一种设备具有多种用途。原料以碳水化合物为主,不含有毒物质。

②生产反应过程是以生命体的自动调节方式进行的,多个反应像一个反应一样,可在单一设备中进行。

③容易生产复杂的高分子化合物,如酶、光学活性体等的生产。

④能够高度选择性地进行复杂化合物在特定部位的反应,如氧化、还原、官能团的导入等。

⑤生产产品的生物体本身也是产物,富含维生素、蛋白质、酶等。除特殊情况外,培养液一般不会对人和动物造成危害。

⑥生产过程中需要注意防止杂菌污染,尤其是噬菌体的侵入,以免造成很大的危害。

⑦通过改良生物体生产性能,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,可以通过改进工艺和改善设备的研究,在很大程度上改善产品的质量,提高生产效益。随着生物技术的发展,对生产过程提出了更高的要求,使工艺的研究和优化变得更加重要。

1.4 微生物工业产品类型

1.4.1 微生物菌体的发酵

这是以获得具有多种用途的微生物菌体细胞为目的产品的发酵工业。传统的菌体发酵工业包括面包制作、菌体蛋白(单细胞蛋白, single cell protein, SCP)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,以及名贵中药茯苓和灵芝等;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可杀死鳞翅

微生物与发酵基础教程

目、双翅目的害虫);丝状真菌,如白僵菌、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。

1.4.2 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。由于微生物种类多,故产酶品种多,生产容易,成本低。

微生物酶制剂有广泛的应用。如在食品和轻工行业中,有用于生产葡萄糖的淀粉酶(amylase)和糖化酶(saccharifying enzyme),用于 DL-氨基酸的光学拆分的氨基酰化酶(amino acylase)。在医药生产和医疗检测中,有用于检测血清中胆固醇含量的胆固醇氧化酶(cholesterol oxidase),用于检测血液中葡萄糖含量的葡萄糖氧化酶(glucose oxidase)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。

1.4.3 微生物代谢产物发酵生产

以微生物代谢产物作为产品的生产是发酵工业中种类最多,也是最重要的部分。这类产品可分为以下两类。

①初级代谢产物(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。

初级代谢产物和次级代谢产物之间的关系如图 1-2 所示,可以看出次级代谢产物来源于初级代谢所产生的中间代谢产物。虽然图 1-2 中的初级生物合成途径对绝大部分微生物来说都很普遍,但是只有少数的微生物可以产生图 1-2 中的次级代谢产物。并不是所有的微生物都需经历次级代谢过程,例如在放线菌、霉菌、产芽孢细菌中次级代谢很普遍,但是在肠细菌中就没有发现这种现象。

