

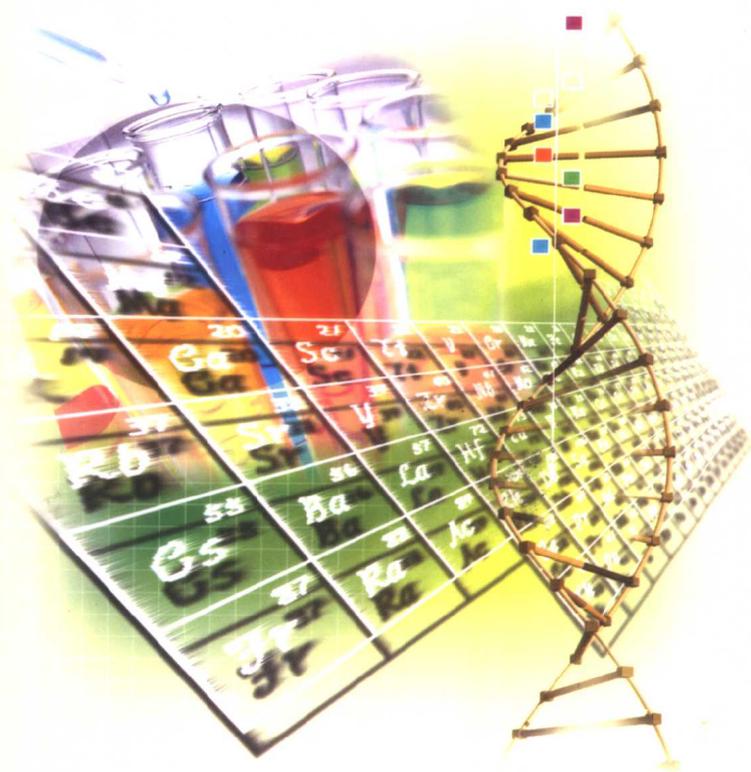
GAODENG ZHIYE JIAOYU JIAOCAI

• 高等职业教育教材 •

食品生物技术

SHIPIN SHENGWU JISHU

• 刘冬 主编 李世敏 副主编 •



 中国轻工业出版社

ZHONGGUO QINGGONGYE CHUBANSHE

图书在版编目(CIP)数据

食品生物技术/刘冬主编.—北京:中国轻工业出版社,
2003.9

高等职业教育教材

ISBN 7-5019-3991-8

I.食… II.刘… III.生物技术-应用-食品工业-高等学校:
技术学校-教材 IV.TS201.2

中国版本图书馆CIP数据核字(2003)第044787号

责任编辑:李亦兵 责任终审:滕炎福 封面设计:李云飞
版式设计:郭文慧 责任校对:燕杰 责任监印:吴京一

出版发行:中国轻工业出版社(北京东长安街6号,邮编:100740)

印刷:北京市卫顺印刷厂

经销:各地新华书店

版次:2003年9月第1版 2003年9月第1次印刷

开本:850×1168 1/32 印张:10.375

字数:280千字

书号:ISBN 7-5019-3991-8/TS·2370

定价:22.00元

读者服务部电话(咨询):010-88390691 88390105 传真:88390106

(邮购):010-65241695 85111729 传真:85111730

发行电话:010-65128898

网址:<http://www.chlip.com.cn>

Email:club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社读者服务部(邮购)联系调换

30320J1X101ZBW

前 言

随着生物技术 在食品工业中应用的日益广泛和深入,以基因工程为先导,以发酵工程、酶工程为核心,包括细胞工程的食品生物技术已逐渐成为提升我国食品工业技术含量参与市场竞争的重要核心技术,因此,培养既掌握食品工程技术,又将生物技术熟练应用于食品加工中的复合型高级专业人才,是食品工业发展对专业人才的基本要求。鉴于目前还没有一本适合于这一要求的教材,根据多年来从事高职食品生物工程专业教学的经验,我们编写了《食品生物技术》,以此作为高职教育食品生物工程专业学生教材和食品企业技术人员的参考书。

食品生物技术包括发酵工程、酶工程、细胞工程、基因工程及食品工业废水生物处理等技术。作为食品专业的高等职业教育教材,我们根据教育部《关于加强高职高专教育人才培养工作的意见》和《关于加强高职高专教育教材建设的若干意见》的精神,在编写前,对我国食品行业从事食品研发、生产工作的岗位进行了充分调研,根据学生毕业后在食品企业可能从事的主要工作岗位的技术要求,确定了教材编写的具体内容和重点,力图使教材体现以职业岗位为导向、以知识和技术应用能力培养为重点的高职教材特色。鉴于生物技术 在食品工业的应用的现状和未来 5~10 年的应用发展趋势,考虑到该教材定位于后续工艺课的技术基础课,故在教材编写过程中强调基本原理和基本操作技术。对于发酵工程部分,强调学生对发酵工艺技术中共性、典型性的基本理论和操作的掌握,具体说来,就是对工业菌种分离保藏技术、工业培养基的配制和灭菌技术、实验室和生产车间的种子扩大培养技术、机械搅拌通风发酵罐的使用和维护技术、发酵过程中重要工艺参数的检测和控制技术和无菌控制技术作重点的阐述;对于酶工程技术,重点阐述酶作用最适工艺条件的选

择、控制及提高酶稳定性的方法；对于基因工程和细胞工程则对DNA重组技术、细胞融合技术的基本原理作简单概述，重点阐述基因工程菌发酵和动、植物细胞大规模培养工艺的控制和所用设备；对于食品工业废水生物处理则主要阐述衡量废水的标准和常见处理方法的工艺原理。作为高职教材，本教材对各种技术的理论根源、理论之间的对比和公式的推导不作细致分析，仅作结论性阐述，而对各种技术的技术思路、操作要点、设备的使用等则作重点的分析，并支持以大量模拟或接近于生产实际的实训实例作为学生技能实训的指导。

本书由刘冬主编，并编写总论、第三章、第五章、第六章和第十一章实训五至实训八第七节及实训十一至十二；李世敏为副主编，并编写第九章；唐旭蔚编写第一章、第二章、第四章和第十一章实训一至实训四；钟瑞敏编写第七章；艾文涛编写第八章及第十一章实训九至实训十一；苑函编写第十章。

本书由从事生物工程教学和研究多年的著名专家博士生导师梁世中教授担任主审。

本书在编写过程中得到广东、北京等有关院校领导和同行的大力支持和帮助。谨此致谢。

由于作者水平有限，加之时间匆忙，收集资料有限，错误和不足之处在所难免。敬请批评指正。

编者
2002年9月

目 录

总论	1
一、生物技术的定义和特点	1
二、生物技术的发展简史	2
三、生物技术的主要内容	3
四、生物技术在食品工业中的应用——食品生物技术	5
思考题	9
第一章 食品发酵工业常用微生物及生产菌种选育	10
第一节 食品发酵工业常用微生物	12
一、食品发酵工业对微生物菌种的一般要求	12
二、常用的食品发酵工业微生物菌种及应用	12
第二节 生产菌种的选育	14
一、自然选育	14
二、诱变育种	21
三、杂交育种	24
四、分子育种	25
第三节 生产中常用菌种的保藏	25
一、菌种保藏原理	26
二、菌种保藏方法	26
三、菌种保藏的注意事项	28
四、菌种保藏机构介绍	29
思考题	31
第二章 工业发酵培养基及制备	32
第一节 工业发酵培养基的成分及来源	32
一、碳源	32
二、氮源	34

三、无机盐及微量元素	36
四、前体、抑制剂和促进剂	38
五、水	39
六、消沫剂	39
第二节 工业发酵培养基的类型及选择	39
一、培养基的类型	39
二、培养基成分和配比的选择	42
第三节 影响培养基质量的因素	43
一、原材料质量的影响	44
二、水质的影响	45
三、灭菌的影响	46
四、其它影响因素	47
第四节 原料转换及意义	47
思考题	48
第三章 发酵罐	49
第一节 嫌气发酵罐	50
一、酒精发酵罐	50
二、啤酒发酵罐	52
第二节 需氧发酵罐	54
一、机械搅拌发酵罐	54
二、气升式发酵罐	61
三、自吸式发酵罐	62
第三节 发酵罐选型注意事项	65
思考题	66
第四章 工业发酵灭菌	67
第一节 灭菌的方法及基本原理	67
一、热灭菌法	67
二、射线灭菌法	71
三、化学药品灭菌法	72
第二节 培养基和发酵设备的灭菌	73

一、培养基灭菌条件的选择	73
二、培养基的灭菌工艺	75
三、发酵设备灭菌	79
第三节 空气除菌	79
一、空气中的微生物分布	80
二、空气除菌的方法	80
三、介质过滤除菌	82
四、空气过滤除菌的工艺流程	84
思考题	87
第五章 种子扩大培养	88
第一节 种子制备工艺	88
一、实验室种子制备	89
二、生产车间种子制备	90
第二节 影响种子质量的因素及控制措施	91
一、种子质量标准	91
二、影响种子质量的因素及其控制	92
思考题	98
第六章 发酵过程工艺的控制	99
第一节 发酵过程中的代谢变化	99
一、微生物代谢产物类型	99
二、发酵操作方式及发酵过程的代谢变化	100
第二节 工业发酵过程的主要控制参数	104
一、物理参数	105
二、化学参数	107
三、生物参数	108
第三节 菌体浓度对发酵的影响及控制	109
一、菌体浓度对发酵的影响	109
二、菌体浓度的控制	110
第四节 基质浓度对发酵的影响及其控制	110
一、基质浓度对发酵的影响	110

二、基质浓度的控制	111
第五节 溶氧浓度对发酵的影响和控制	112
一、溶解氧浓度对发酵的影响	112
二、发酵液溶解氧浓度控制	114
三、发酵过程中溶解氧的检测	116
第六节 pH 对发酵的影响及控制	118
一、pH 对发酵的影响	118
二、发酵过程中 pH 的变化	119
三、发酵过程 pH 的确定和控制	120
四、pH 的测定	123
第七节 温度对发酵的影响与控制	123
一、温度对发酵的影响	123
二、影响发酵温度变化的因素	124
三、温度的控制	125
第八节 CO ₂ 对发酵的影响及控制	127
一、CO ₂ 对发酵的影响	127
二、CO ₂ 浓度的控制	128
第九节 泡沫对发酵的影响及其控制	129
一、泡沫对发酵的影响	129
二、发酵过程中泡沫的变化	129
三、泡沫的控制	130
第十节 工业发酵染菌的防治	132
一、工业发酵染菌的危害	132
二、染菌的检查	134
三、染菌(包括染噬菌体)的处理	136
四、染菌原因的分析 and 预防措施	137
第十一节 发酵终点的判断	140
第十二节 发酵工艺的放大	141
一、不同规模发酵间的差异	141
二、发酵工艺的放大	143

思考题	145
第七章 酶工程	146
第一节 酶的生产	147
一、酶的生产现状及趋势	147
二、酶的发酵生产	149
三、酶活力的测定	156
第二节 酶作用最适条件的控制	160
一、酶促反应中 pH 的控制	161
二、酶促反应的温度控制	163
三、酶浓度和底物浓度的控制	163
四、激活剂的使用	164
五、抑制作用的控制	165
第三节 酶分子的修饰	168
一、大分子结合修饰	169
二、金属置换修饰	172
三、氨基酸置换修饰	173
四、其他酶分子修饰方法	175
第四节 生物催化剂固定化技术	176
一、固定化技术概述	176
二、酶和菌体固定化技术	178
三、细胞固定化简介	184
四、原生质固定化简介	185
第五节 酶反应器及反应操作控制	186
一、酶反应器的类型与特点	186
二、酶反应器的选型	189
三、酶反应器的操作控制	191
第六节 酶在食品工业中的应用	194
一、应用于食品工业的常用酶基本特性	196
二、酶工程在食品工业的应用实例简介	200
三、酶应用于食品工业时的注意事项	206

思考题	208
第八章 基因工程	209
第一节 基因工程概述	209
一、基因工程的含义及意义	209
二、基因工程的基本过程	210
三、蛋白质工程原理及意义	220
第二节 工程菌的发酵	222
一、工程菌发酵工艺	222
二、工程菌的稳定性和安全问题	224
第三节 基因工程在食品工业中的应用	227
一、应用概述	227
二、基因工程食品的安全性	229
思考题	230
第九章 细胞工程	231
第一节 细胞融合技术	231
一、细胞融合技术的涵义	231
二、细胞融合技术的一般步骤	232
三、细胞融合技术在食品工业中的应用	235
第二节 动植物细胞大规模培养技术	237
一、动物细胞培养技术	238
二、植物细胞大规模培养技术	251
思考题	259
第十章 食品工业废水生物处理技术	260
第一节 食品工业废水处理概述	260
一、食品工业废水来源	260
二、食品工业废水的特性	261
三、衡量废水污染的指标	262
四、废水生物处理法类型概述	263
第二节 好氧生物处理技术	265
一、好氧生物处理技术概述	265

二、活性污泥法	267
三、生物膜法	273
四、氧化塘法	277
第三节 厌氧生物处理法	278
一、厌氧生物处理技术概述	279
二、厌氧生物处理法的类型简介	280
思考题	282
第十一章 实训	283
实训一 啤酒酵母生产菌种的复壮	283
实训二 应用紫外线诱变选育抗药性的淀粉酶生产菌株	285
实训三 应用化学因素诱变选育腺嘌呤营养缺陷型菌株	288
实训四 酵母菌原生质体融合育种	292
实训五 活性干面包酵母的发酵生产工艺及控制	296
实训六 灵芝多糖液体深层发酵工艺	299
实训七 糖化酶固定化技术	301
实训八 固定化黑曲霉分生孢子生产柠檬酸	303
实训九 大肠杆菌 Col E I 质粒的分离	305
实训十 重组人干扰素 $\alpha - 2b$ 工程菌的构建	307
实训十一 重组人干扰素 $\alpha - 2b$ 工程菌发酵工艺控制	310
实训十二 西洋参细胞大规模培养工艺	312
实训十三 利用植物细胞大规模培养生产天然植物 色素紫草宁	314
参考文献	317

总 论

一、生物技术的定义和特点

生物技术(biotechnology)又称生物工艺学,对其有各种定义,目前最广泛被接受的是国际合作与发展组织于1982年提出的,生物技术是“应用自然科学和工程学的原理,依靠生物作用剂(biological agents)的作用将生物物料进行加工以提供产品和为社会服务”的技术。这里的生物作用剂又称生物催化剂,可以是酶、整体细胞或多细胞生物体,如游离或固定化的酶、细胞或动、植物;提供的产品包括粮食、医药、食品、化工原料、能源、金属等;为社会提供的服务包括疾病的预防、诊断与治疗、环境污染的检测和治理等。

由生物技术的定义可以看出,生物技术具有以下两个特点:

(1) 生物技术是一门多学科、综合性的科学技术。与生物技术相关的学科很多,有生物学(包括生物化学、分子生物学、微生物学、细胞学、遗传学、免疫学、生理学等)、化学、工程学(包括机械工程、电子工程、计算机科学等)、数学等等,特别是现代分子生物学的最新理论成就更是生物技术发展的基础。

(2) 生物技术是通过改良甚至设计生物催化剂和建立一个最优发挥生物催化剂作用的工艺过程(或生产过程),来生产产品和为社会服务。有生物催化剂参加的工艺过程称为生物反应过程(bioprocess)。一般生物反应过程主要包括:①生物催化剂所作用的原料(淀粉、糖蜜、纤维素等有机物和部分无机物)的预处理;②生物催化剂的改良和制备;③生物反应器及反应条件的选择;④产物的分离纯化,即生物工程下游技术(down stream processing),在食品生物技术中又称为食品分离技术(篇幅限制,未编进本书)。

(3) 生物催化剂的特点决定了生物反应过程的特点。包括反应

过程在常温常压下进行、能耗低、转化率高,原料普遍价廉,反应过程易受环境影响,催化剂易失活,反应机理复杂、较难控制、副产物多等特点。

二、生物技术的发展简史

生物技术是一门既有古老历史又有崭新内容并在当代发展迅速的科学技术和生产工艺。其发展可分为以下三个发展阶段。

(一) 第一代生物技术

这一阶段发酵技术在人类社会出现直到微生物纯培养技术在发酵工业的广泛应用。生物技术起源于传统的食品发酵,并首先在食品工业中得到广泛运用。苏美尔人和巴比伦人在公元前 6000 年就已开始啤酒发酵。埃及人则在公元前 4000 年就开始制作面包。在石器时代后期,我国人民就会利用谷物造酒。在公元前 221 年,周代后期,我国人民就能制作豆腐、酱和醋,并一直沿用至今。公元 10 世纪,我国就有了预防天花的活疫苗,到了明代,就已经广泛地种植痘苗以预防天花。16 世纪,我国的医生已知道被疯狗咬伤可传播狂犬病。1675 年,荷兰人 Leeuwenhoek 发明了显微镜,并首先观察到了微生物。19 世纪 60 年代,法国科学家 L. Pasteur 首先证实发酵是由微生物引起的,随后 Koch 建立了微生物的纯种培养技术,从而为发酵技术的发展提供了理论基础,使发酵技术进入了科学的发展轨道。

这一时期生物技术的主要技术特征是发酵过程为非纯种微生物自然发酵,生产过程简单,对设备要求不高,规模一般不大。主要产品有酱油、醋、酒、泡菜、干酪、酸乳、面包酵母等。

(二) 第二代(近代)生物技术

到了 20 世纪 20 年代,工业生产中开始采用大规模的纯种培养技术发酵化工原料如丙酮、丁醇。20 世纪 50 年代,在青霉素大规模发酵生产的带动下,发酵工业和酶制剂工业进入了迅速发展的阶段。

这一时期的主要技术特征是利用了微生物的纯培养技术、深层通气搅拌培养技术、代谢控制发酵技术等技术;出现了次级代谢产物产品,如各种抗生素的生产;生产规模大(单细胞蛋白工厂的气升式

发酵罐的容积已超过 2000m³)。产品既包括初级代谢产物(氨基酸、酶制剂、有机酸等),也包括次级代谢产物(抗生素、一些多糖)等。

相对于下面所述的现代生物技术,第一代、第二代生物技术又称为传统生物技术。

(三) 第三代(现代)生物技术

现代生物技术是以 20 世纪 70 年代 DNA 重组技术的建立为标志的。1944 年 Avery 等阐明了 DNA 是遗传信息的携带者。1953 年 Watson 和 Crick 提出了 DNA 的双螺旋结构模型,阐明了 DNA 的半保留复制模型,从而开辟了分子生物学研究的新纪元。1961 年 M. Nirenberg 等破译了遗传密码,揭开了 DNA 编码的遗传信息是如何传递给蛋白质这一秘密。基于上述基础理论的发展,1973 年 Boyer 和 Cohen 建立了 DNA 体外重组技术,标志着生物技术的核心技术 - 基因工程技术的开始。之后,随着细胞融合技术及单克隆抗体技术的相继成功,并实现了动植物细胞的大规模培养技术,同时固定化生物催化剂也得到广泛应用,新型反应器不断涌现,形成了具有划时代意义和战略价值的现代生物技术。

现代生物技术的主要技术特征是运用了 DNA 重组技术、细胞融合技术、单克隆抗体技术、细胞固定化技术、动植物细胞大规模培养技术和现代生物化工技术的成果进行产品生产,使生物技术从原来的鲜为人知的传统产业,一跃成为代表 21 世纪的技术发展方向、具有远大发展前景的新兴学科和朝阳产业。

三、生物技术的主要内容

根据生物技术的操作对象和操作技术条件的不同,生物技术主要包括以下五项技术(工程)。

(一) 基因工程(gene engineering)

基因工程主要原理是以分子遗传学为基础,应用人工方法把生物的遗传物质(通常是 DNA)分离出来,在体外进行切割、拼接和重组,然后将重组了的 DNA 导入某种宿主细胞或个体,从而改变它们的遗传品性;有时还使新的遗传信息在新的宿主细胞或个体中大量

表达,以获得基因产物(多肽或蛋白质)。这种创造新生物并给予新生物以特殊功能的过程称为基因工程,也称 DNA 重组技术或分子克隆。但严格的讲,基因工程的含义更为广泛,还可以包括除 DNA 重组技术以外的一些其它可使生物基因组结构得到改造的技术。

(二) 细胞工程(cell engineering)

细胞工程是指应用细胞生物学的方法,在体外条件下以细胞为基本单位进行培养、繁殖,或人为地使细胞某些生物学特性按人们的意愿发生改变,从而达到改良生物品种和创造新品种,加速繁育动、植物个体,或获得某种有用的物质的过程,包括动、植物细胞的体外培养技术、细胞融合技术(也称细胞杂交技术)及细胞反应器等。

(三) 酶工程(enzyme engineering)

酶工程是为了提高酶、细胞器或细胞所具有的特异催化能力和效率,对酶进行修饰改造,并借助生物反应器和工艺过程来生产人类所需产品的一项技术。它包括酶的生产技术和固定化技术、细胞固定化技术、酶分子修饰改造技术及酶反应器的设计等技术。

(四) 发酵工程(fermentation engineering)

利用微生物生长速度快、生长条件简单以及代谢过程特殊等特点,在合适条件下,通过现代化工程技术手段,由微生物的某种特定功能生产出人类所需产品的技术过程称为发酵工程,有时也称微生物工程。

(五) 蛋白质工程(protein engineering)

蛋白质工程是指在基因工程的基础上,结合蛋白质结晶学、计算机辅助设计和蛋白质化学等多学科的基础知识,通过对基因的人工定向改造而对蛋白质分子进行定位突变(site directed mutagenesis),从而达到对蛋白质进行修饰、改造、拼接以产生能满足人类需要的新型蛋白质。

上述 5 项技术并不是各自独立的,它们彼此之间是互相联系、互相渗透的。其中基因工程技术是核心技术,它能带动其它技术的发展。比如,通过基因工程对细菌或细胞改造后获得的“工程菌”或细胞,都必须分别通过发酵工程或细胞工程来生产有用的物质;又如,

通过基因工程技术对酶进行改造以增加酶的产量、酶的稳定性以及提高酶的催化效率等。

在我国正在实行的高技术(包括生物技术、信息技术、新材料技术、新能源技术、海洋技术和空间技术)的研究发展计划中,生物技术被列为六大技术之一。当然,这里的生物技术主要指现代生物技术,正如上所述,和传统生物技术之间有很大的差异。

四、生物技术在食品工业中的应用——食品生物技术

人类社会任何一项技术的产生和发展的动力都来自于人类提高自身生活质量的需要。生物技术起源于食品发酵,并首先在食品生产中得到应用。随着生物技术的发展,生物技术在农业、医药、轻工业、环保、海洋和能源等领域的应用也得到广泛的应用,并因此形成了农业生物技术、医药生物技术、环境生物技术、海洋生物技术等新型专门化生物技术和产业。

食品生物技术(food biotechnology)是生物技术的重要分支学科,其定义目前未有确切的提法,但主要含义是指生物技术在食品工业中的应用。据估计,目前国际市场上以生物技术为基础的食品工业产值约为2500亿美元。在我国食品工业领域的生物技术产业平均以20%的速度递增。生物技术在食品领域中作用主要体现在四个方面,一是利用基因工程、细胞工程技术改造、开发新的食品资源和新品种;二是利用发酵工程、酶工程技术将农副原材料加工制成商品,如酒类、调味品、酸奶等发酵制品;三是利用生物技术对产品进行二次开发形成新的产品,如高果糖浆、食用添加剂等;四是利用酶工艺、发酵技术、生物反应器等对传统食品加工工艺进行改造,降低能耗、提高产率、改善食品品质。另外,在食品生产相关领域如食品包装、食品检测、食品工业废水处理等方面,生物技术也得到越来越广泛应用。

(一) 改造、开发食品新资源和新品种

利用基因工程和细胞工程可改良动物的遗传性状,培育优良动物品种。应用基因工程技术生产某些畜用激素已投入批量生产,如

增加产奶的重组激素 rBTS;在不增加饲料消耗的情况下,生长激素可提高奶牛产奶量 15%~20% 和奶羊的平均产奶量 8%~12%,并使猪每日增重 15%左右,瘦肉比例也增大。通过转基因手段可使动物获得优良性状,目前生长速率快,抗病力强,肉质好的转基因兔、猪等已陆续问世。人们也试图利用生物技术改变乳成分,如生产酪蛋白含量高的奶、生产含改良蛋白的牛奶,以及除去乳糖和 β -乳球蛋白。

基因工程和细胞工程技术在改良植物遗传形状、培育优良植物新品种方面发挥巨大作用。目前,具有抗虫能力的西红柿、烟草、马铃薯、可抗病毒感染的稻米和番茄、甘薯都已问世,有的已形成商品。利用基因工程可大大提高农作物品质,提高其食品价值,目前甜味蛋白已在马铃薯中获得成功表达;Reter. Rshewry 通过转基因小麦控制一种谷蛋白亚基的数量和合成,大大改善了面粉的黏弹性;自身带咸味和奶味的适于加工膨化的玉米新品种已被成功培育,不饱和脂肪酸含量较高的油料作物及蛋白含量高的小麦已被应用于面包生产。

在开辟新的食物资源方面,20 世纪 70 年代以来,世界上广泛开展了 SCP 的研究,单细胞蛋白(SCP)的生产已取得很大成就,SCP 可作为食品和饲料添加剂。目前,利用多种非食用资源和废弃资源作原料,以工业化方式生产 SCP 已成为解决蛋白质资源紧缺的一条重要途径。SCP 生产菌以酵母和藻类为主,也有用细菌、放线菌和丝状真菌等,20 世纪 70 年代以来,SCP 生产以甲醇、正烷烃为原料,但近年来由于石油成本较高,SCP 生产转向可再生植物资源及工农业生产废弃物,除了淀粉厂、豆制品厂、酒精厂、酿造厂等排出的废水外,糖蜜、甘蔗渣、泥炭都是很好的 SCP 的生产原料,动物粪便也可用来生产 SCP。基因工程菌的产生使 SCP 产量大为提高,利用生物技术筛选转化率高的酵母和霉菌,综合开发 SCP,研制生产核酸和辅酶 Q 等将是今后这方面的研究重点。

(二) 改善食品品质,开发新的食品

应用生物技术可大大改善食品品质、开发出新的功能性食品,尤其是应用发酵技术,生产门类品种丰富多样的食品添加剂和运用生