



微生物与发酵工程

胡永松 王忠彦 编著

四川大学出版社

# 微生物与发酵工程

胡永松 王忠彦 编著

四川大学出版社出版

一九八七年·成都

## 内 容 简 介

本书在论述微生物生物学的基础上，系统而全面地介绍了微生物在发酵工程中的应用。

全书共分十五章，基本内容包括：微生物的形态结构，微生物营养，生长及代谢，菌种选育及保藏；发酵工业中的灭菌，中间控制及设备；产物的提取、精制及设备；自动化仪表与计算机应用。反映了近几年的新进展及新技术。

本书可作为大、中专院校微生物、发酵和食品等专业学生的教科书和参考书，也可作为从事这些方面研究工作的科技人员、技术工人的参考书。

### 微生物与发酵工程

胡永松 王忠彦 编著

※ ※ ※

四川大学出版社出版（成都市四川大学内）

四川省新华书店发行 射洪县印刷厂印刷

※ ※ ※

开本：787×1092毫米1/32 印张：13.3 字数：283千

1987年9月第一版 1987年9月第一次印刷

印数：0001—3000册

ISBN 7—5614—0009—8/Q·3

统一书号：13404·17 定价：2.18元

# 目 录

|                                |         |
|--------------------------------|---------|
| <b>第一章 绪论</b> .....            | ( 1 )   |
| <b>第二章 微生物的形态结构与类群</b> .....   | ( 6 )   |
| 第一节 原核微生物——细菌和放线菌.....         | ( 6 )   |
| 第二节 真核微生物——酵母与霉菌.....          | ( 22 )  |
| 第三节 无细胞结构及微生物<br>——噬菌体.....    | ( 35 )  |
| <b>第三章 微生物的营养</b> .....        | ( 41 )  |
| <b>第四章 微生物发酵代谢及其调节控制</b> ..... | ( 51 )  |
| 第一节 微生物的酶及其作用.....             | ( 51 )  |
| 第二节 微生物的呼吸作用与产能代谢.....         | ( 57 )  |
| 第三节 微生物对营养物的分<br>解及其代谢产物.....  | ( 63 )  |
| <b>第五章 微生物的生长</b> .....        | ( 70 )  |
| 第一节 微生物纯培养物的生长.....            | ( 70 )  |
| 第二节 环境对微生物生长的影响.....           | ( 78 )  |
| <b>第六章 微生物菌种的选育和保藏</b> .....   | ( 88 )  |
| 第一节 微生物遗传变异的物质基础.....          | ( 88 )  |
| 第二节 微生物的菌种选育.....              | ( 95 )  |
| 第三节 微生物菌种的保藏 .....             | ( 114 ) |
| <b>第七章 发酵工业中培养基灭菌与设备</b> ..... | ( 122 ) |
| 第一节 培养基与发酵设备的灭菌 .....          | ( 122 ) |
| 第二节 分批灭菌过程中的设备与计算 .....        | ( 129 ) |

|             |                          |                |
|-------------|--------------------------|----------------|
| 第三节         | 连续灭菌的设备与计算 .....         | ( 144 )        |
| <b>第八章</b>  | <b>空气除菌及设备 .....</b>     | <b>( 158 )</b> |
| 第一节         | 空气除菌方法 .....             | ( 158 )        |
| 第二节         | 空气过滤器的设计 .....           | ( 162 )        |
| 第三节         | 压缩空气的供应 .....            | ( 174 )        |
| 第四节         | 压缩空气的予处理 .....           | ( 181 )        |
| <b>第九章</b>  | <b>通气和搅拌对发酵的影响 .....</b> | <b>( 200 )</b> |
| 第一节         | 氧的传递途径和传质方程式 .....       | ( 200 )        |
| 第二节         | 菌种对氧的需求及其<br>影响因素 .....  | ( 208 )        |
| 第三节         | 影响供氧方面的因素 .....          | ( 214 )        |
| 第四节         | 氧的吸收系数的测定 .....          | ( 223 )        |
| <b>第十章</b>  | <b>发酵的中间控制 .....</b>     | <b>( 229 )</b> |
| 第一节         | 温度的控制 .....              | ( 229 )        |
| 第二节         | 泡沫的控制 .....              | ( 239 )        |
| 第三节         | 发酵过程的中间分析项目 .....        | ( 248 )        |
| 第四节         | 补料的控制 .....              | ( 251 )        |
| 第五节         | pH 值的控制 .....            | ( 258 )        |
| 第六节         | 发酵终点的判断 .....            | ( 260 )        |
| <b>第十一章</b> | <b>厌气发酵与设备 .....</b>     | <b>( 262 )</b> |
| 第一节         | 厌气发酵工艺 .....             | ( 262 )        |
| 第二节         | 厌气发酵设备 .....             | ( 270 )        |
| <b>第十二章</b> | <b>通风发酵设备 .....</b>      | <b>( 278 )</b> |
| 第一节         | 发酵罐罐体强度 .....            | ( 278 )        |
| 第二节         | 发酵罐的结构 .....             | ( 287 )        |
| 第三节         | 搅拌功率的计算 .....            | ( 305 )        |

|             |                             |                |
|-------------|-----------------------------|----------------|
| 第四节         | 发酵罐的放大 .....                | ( 314 )        |
| 第五节         | 种子培养设备及培养<br>室和无菌室的要求 ..... | ( 321 )        |
| <b>第十三章</b> | <b>提取与精制 .....</b>          | <b>( 327 )</b> |
| 第一节         | 发酵液的予处理 .....               | ( 328 )        |
| 第二节         | 各种提取方法 .....                | ( 331 )        |
| 第三节         | 选择提取方法的依据 .....             | ( 334 )        |
| 第四节         | 各种精制方法 .....                | ( 337 )        |
| <b>第十四章</b> | <b>提取的设备 .....</b>          | <b>( 341 )</b> |
| 第一节         | 过滤 .....                    | ( 341 )        |
| 第二节         | 离子交换设备 .....                | ( 350 )        |
| 第三节         | 蒸发 .....                    | ( 355 )        |
| 第四节         | 干燥 .....                    | ( 363 )        |
| 第五节         | 蒸馏设备 .....                  | ( 368 )        |
| <b>第十五章</b> | <b>发酵工业仪表及自动控制 .....</b>    | <b>( 381 )</b> |
| 第一节         | 发酵工业中的特殊仪表及仪器 .....         | ( 381 )        |
| 第二节         | 工业发酵的自动控制 .....             | ( 403 )        |
| 第三节         | 计算机在发酵过程中的应用 .....          | ( 409 )        |

# 第一章 绪 论

微生物是指生物界一类个体微小、结构简单甚至没有细胞结构的生物。它们主要包括由原核细胞 (procaryotic cell) 组成的细菌、放线菌、蓝细菌、支原体、衣原体、立克次氏体和真核细胞 (eucaryotic cell) 所构成的酵母菌、霉菌、菇类、藻类、原生动物以及无细胞结构的病毒和类病毒等。在发酵工业中常用的是细菌、放线菌、酵母菌和霉菌以及危害上述各菌正常发酵的噬菌体。微生物虽然有如此繁多的种类,但他们均属简单的低等生物,其形态、生理和遗传等生物学特性较为接近,加之对微生物的认识、研究方法与应用等方面又颇为相似,故将它们列为一类生物,以别于生物界的动物与植物。

微生物同动物、植物相比具有一系列的特点,正因为这些原因,使微生物在工业、农业生产中,医药卫生上和环境保护等方面得到广泛的应用。微生物的主要特点有:

## 1. 种类繁多、分布广泛:

目前已发现微生物的种类有10万种以上。已为人们所保藏的各种菌株全世界就有40余万株。其中细菌,放线菌24万株;酵母菌38926株;丝状真菌11万余株;病毒6029株;藻类5754株;原生动物1309株,自1979年以来,我国成立了五大微生物菌种保藏管理中心,其菌株保藏量为1万株以上。种类如此繁多表明,微生物资源极为丰富,有待人们进一步去开发与利用。

微生物不但种类多而且分布也很广泛。在土壤、水体、空

气以及动物、植物体内外均有各种不同类型的微生物存在。据统计一亩肥沃的土壤，在其150厘米深的土壤内就含有300公斤的裂殖菌和真菌。可见在开发微生物资源时，去分离所需的微生物菌种，取材是极为方便的。

## 2. 繁殖快、易变异：

微生物更为突出的特点，是以惊人的速度进行繁殖。在适宜条件下，大肠杆菌经20—30分钟就可繁殖一代，一天内就可繁殖72代，个体数可达 $47 \times 10^{22}$ 个。就一般来讲，微生物倍增的速度比农作物快500倍，比家畜快12，500倍。微生物繁殖速度越快，传代也就越多，所以在其世代间也就易于发生性状的变异，此外，也同微生物结构简单容易受环境因素的影响有关。人们在发酵工业中，一方面利用微生物繁殖快的特点，在短期内得到大量的菌体及其代谢产物；另一方面又利用其易于变异的特性，按人工诱变的方法去选育优良的菌种，使发酵工业取得更大效益。

## 3. 代谢强，易培养：

由于微生物的菌体表面积与其体积的比值大（如人体的比值为1，大肠杆菌则为30万），故营养物质能迅速转移到菌体内以维持很高的代谢速率。如每一个乳酸杆菌细胞竟能产生为细胞重的 $10^3$ — $10^4$ 倍的乳酸；一公斤酵母菌体一天内就可发酵几千公斤的糖生成乙醇。可见在发酵生产中，在很短的时间内就把大量的基质转化为发酵产品。同时，微生物代谢又是在温和条件下进行并为一系列酶所催化；代谢反应还有一定的顺序性和灵敏的自动调节。因此，人们要培养微生物来转化各种基质是较为容易的，比化工合成更为方便，而且效益高。其突出优点是培养各类微生物不需高温高压设备，一般在较为简易



的设备条件下，就能进行发酵生产；原料粗放；可用农副产物甚至三废中的废渣与废液作微生物的转化基质（Substrate），在发酵生产中不需任何特殊的催化剂，而且发酵产品一般无公害与无毒性。

人类利用微生物发酵的历史可以追溯到数千年以前。我们的祖先，巴比伦人和埃及人很早以前就以微生物发酵过程来制造饮料与食品。但真正用科学方法证实发酵是微生物的作用，则是经过很多很多人辛勤劳动的结果。特别是列文虎克自制的显微镜，巴斯德的发酵微生物和柯赫所创造的纯种分离培养技术，都为发酵工业的发展打下了坚实的基础。从古代自然发酵酿造食品逐步发展到应用微生物发酵法制造抗生素、柠檬酸、醋酸、乳酸、丙酮、丁醇和维生素等医药和化工原料。到二十世纪四十年代，青霉素深层发酵法实现工业化生产。这是发酵工业的一个新的里程碑，其主要特点是实现了纯种培养与充分的通气。之后，发酵新产品不断涌现，除抗生素外，还有氨基酸、酶制剂、甾体激素、核苷酸、维生素、单细胞蛋白、多糖、生物碱、霉素、植物生长激素和杀虫剂。发酵的概念就逐步发展为：借助微生物的大量生成和积累特定代谢产物的过程。

在发酵产量制造过程中，从大量培养微生物到收获发酵产品，化学工程中的热量、质量和动量传递原理以及所有的单元操作都有所应用。因此，一门综合了微生物学、生物化学和化学工程学的学科——发酵工程学就逐步形成了。在今天许多新兴技术的应用，使传统的发酵进一步发展而成现代的发酵工程，已经是生物工程的一个重要组成部份。

每一种发酵至少同一种微生物相联系。发酵中常用的微生物主要有细菌、放线菌、酵母菌和霉菌。随着微生物在生物工

程上的广泛应用，随着生物工程技术的发展，动物和植物细胞也象微生物菌体一样日益得到广泛应用。微生物的生物学性状和发酵条件决定了它们相应产物的生成。目前已知具有生产价值的发酵产物类型有：微生物菌体的本身；由菌体或酶系实现生物转化所得到的产物；由菌体合成的大分子化合物；菌体生长所必须的基本代谢产物；菌体生长不必需的次生代谢产物等。

从自然界所得到的微生物菌种其产量是不高的。因此，人们在认识和了解微生物特性的基础上，应用微生物遗传变异、代谢途径及其调节控制理论，通过控制微生物的生长发育条件，特别是以物理或化学因素去诱发微生物突变，产生优良的性状，进一步筛选出高产的菌株。分子生物化学的发展，基因工程技术的应用，将为发酵工业提供更为先进的育种技术——基因重组和原生质体融合。通过这些新兴的育种技术，不仅可以定向地提高微生物菌种的发酵产量而且还可以得到新的工程菌株，生产过去细菌根本不能产生的各种蛋白质和肽类。如胰岛素，干扰素和人体激素等；应用新的杂交瘤技术还能得到单克隆的抗体，将为诊断和治疗疾病提供更为有效的手段。

发酵过程不仅需要微生物具有优良的高产性状，而且还必须提供微生物菌种所需的各种最适环境条件。控制好最适合的生长条件，就为菌种优良性状的基因表达提供了先决条件。在发酵工业生产中，微生物生长繁殖的场所是发酵用的各类反应器。反应器里的液体培养基则是微生物菌体生活的营养来源。该培养液由微生物所需的碳源、氮源、维生素、无抗盐类，以及水份配制而成。反应器最大的类别是不同容积的发酵罐，其结构非常严密，便于培养液的灭菌和防止杂菌的侵入，以保证

发酵生产菌的正常进行。对微生物菌体在罐内环境的有效控制，实质上就是在发酵过程中对其物理和化学参数进行罐内的直接测定与控制。所以较为先进的发酵罐，常规配置有温度、搅拌速度、空气流量、罐压、酸碱度、溶解氧和消泡等项目的测量与控制。目前对直接测量发酵过程中的底物、菌体浓度、细胞内组分、气液界面和发酵液粘度等还缺乏快速而简易的手段，有一些新的方法也正在研究开发中。

计算机在发酵工程中的应用，也由于生物对象的复杂性，还没有足够的直接测量传感器和完善的数学模型，有待于进一步研究。所以发酵全过程的最优化动态控制基本上还处于检验与半检验阶段。

最新的发酵技术现已趋向于利用固定化细胞（酶），进行大规模的连续发酵。如日本、中国等应用固定化酵母菌体，以糖为底物生产乙醇。英国应用甲醇菌以甲醇为基质生产单细胞蛋白。

微生物菌体在反应器内发酵终止之后，其发酵液中产品的回收也是一个极为复杂的过程，所需设备费与生产费往往大于发酵阶段。因此，从发酵液中分离，提取发酵产品的方法也是发酵工程中值得重视研究的问题。

目前对发酵工程中微生物学以及一些共同性的工程问题，日益引起科技界的重视，所以我们深信随着微生物及其发酵工程中多方面课题的研究与解决，将会对人类作出更大的贡献。

## 第二章 微生物的形态结构与类群

由于电子显微镜的发展与运用，使人们对自然界中的微生物结构有了新的认识、发现并总结了组成微生物个体的原核细胞与真核细胞的主要区别（见表2—1）细菌、放线菌、蓝细菌等细胞，因其核无核膜与核仁而称原核细胞；把酵母菌、霉菌等一类具有完整细胞核结构即具有核膜、核仁与染色体的细胞称真核细胞；微生物类群中还有一类无细胞结构的大分子生物，那就是在发酵工业中常见的噬菌体或医学上常见的病毒类微生物。

在发酵工程中常见的微生物主要有细菌、放线菌、酵母菌和霉菌以及噬菌体等类群。

### 第一节 原核微生物——细菌和放线菌

#### 一、细菌的形态结构与类群

细菌是一类由原核细胞所组成的单细胞生物，在自然界里分布的最广，数量最大。由于人类对微生物生命活动规律认识日益深入与发展，细菌类微生物在发酵工程中的运用范围正在不断扩大。

##### 一）细菌的个体形态与大小

表2—1 原核细胞与真核细胞的主要区别：

|       | 原 核 细 胞                  | 真 核 细 胞                          |
|-------|--------------------------|----------------------------------|
| 细胞大小  | 通常小(1.0—10微米)            | 较小(10—100微米)、                    |
| 种 类   | 少，约2350种，占全部细胞种类的0.2%。   | 多，150万种，占总数的99.8%                |
| 遗传系统  | DNA与蛋白质不结合，核质无膜包被，含一个连锁群 | DNA与蛋白质结合形成染色体，有核膜、核仁，并有两个以上连锁群。 |
| 细胞内膜  | 简单的或临时性的                 | 分化为许多类型，线粒体、叶绿体，内质网等。            |
| 形成组织  | 无                        | 在多细胞生长中有                         |
| 细胞分裂  | 二分裂，出芽或其它方法，无有丝分裂        | 有许多种类，伴有有丝分裂                     |
| 性 系 统 | 有的基因能由供体到受体单向进行          | 细胞核完全融合，并伴有减数分裂                  |
| 运动胞器  | 如有，则是简单的鞭毛               | 如有则是复杂的鞭毛或纤毛                     |
| 营 养   | 简单吸收，某些种类营光合作用           | 吸收、消化、光合作用                       |

## 1. 细菌个体形态:

由于微生物种类和生活环境的不同,细菌的变化形态很大。其基本形态有球状、杆状与螺旋状。(见图2——1)除此之外还有一些难以明显区分的过渡类型。尽管细菌形态如此多样,但它们之间的共同点还是存在的。(表2——2)

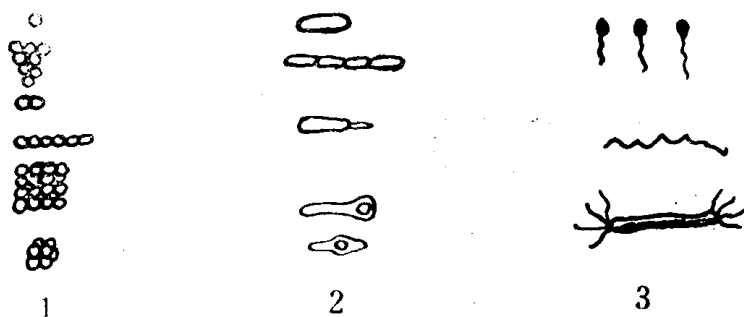


图2—1 细菌的基本形态

1. 球状

2. 杆状

3. 螺旋状

在上述不同形态类型的细菌中,大部份的杆菌是发酵工业的生产菌株,如棒状短杆菌是谷氨酸发酵的生产菌;枯草杆菌是淀粉酶与蛋白酶的生产菌类;梭状芽孢杆菌是丙酮丁醇发酵的生产菌。而球菌与螺旋菌则常见于疾病的传染,多属病原微生物。

由于细菌形态同其种类、环境因素有着密切的关系。因此在发酵生产中往往是培养基及其培养条件的变化,使菌体由正常形态变为异常形态。如因物理与化学因素的刺激,而影响细胞的发育产生的畸形变化;还有的因培养时间太长而缺乏营养所出现衰残形态。

## 2. 细菌个体的大小:

表 2—2 细菌三大形态类群的比较

| 类 群 | 形 态                    | 单 细 胞 大 小             | 例 菌                                      |
|-----|------------------------|-----------------------|------------------------------------------|
| 球 菌 | 单球菌、双球菌、四联球菌、八叠球菌、葡萄球菌 | 直径0.5—2.0<br>(微米)     | 金黄色小球菌<br>( <i>M. crococcus aureus</i> ) |
| 杆 菌 | 短杆菌、杆菌、棒状杆菌、双杆菌链杆菌     | 0.4—1×1.0—5.0<br>(微米) | 大肠杆菌<br>( <i>Escherichia coli</i> )      |
| 螺旋菌 | 弧菌、螺旋菌、螺旋体             | 0.3—1×1.0—2.0<br>(微米) | 霍乱弧菌<br>( <i>V. vibrio cholerae</i> )    |

微生物的大小一般以测微尺在显微镜下进行测量的。球菌测其直径，杆菌与螺旋菌测其长度与宽度。细菌的大小可因其种类、菌龄以及培养条件等的不同有较大的差异。

测量细菌大小的单位是微米( $\mu\text{m}$ )、毫微米( $\text{nm}$ )与埃( $\text{\AA}$ )。它们之间的关系：

$$1\text{mm} = 1,000\mu\text{m}, 1\mu\text{m} = 1,000\text{nm}, \\ 1\text{nm} = 10\text{\AA}.$$

各类细菌的大小范围可见表 2——2。一般幼龄菌比老龄菌大一些。如枯草杆菌经 4 小时的培养比经 24 小时的菌体长 5~7 倍，其宽几乎不变。此外，还可因生长环境中渗透压的增长而引起菌体的缩小。

## 二) 细菌细胞的结构:

细菌细胞一般由细胞壁, 细胞质膜, 细胞质、核及内含物等构成。有些细菌还有荚膜、鞭毛或芽孢等特殊结构。(图2—2)

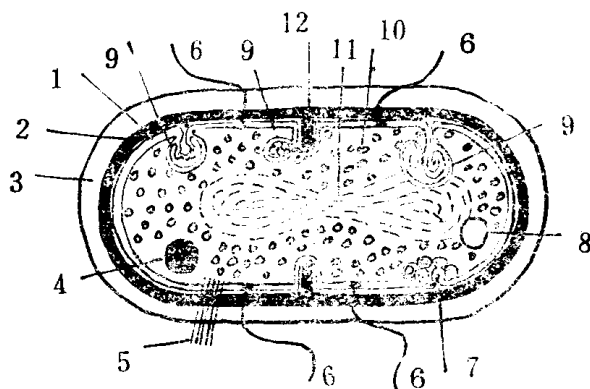


图2—2 细菌结构模式图  
 1. 细胞膜 2. 细胞壁  
 3. 荚膜 4. 异染颗粒 5. 纤毛 6. 鞭毛  
 7. 色素体 8. 脂质体 9. 中体 10. 核糖体  
 11. 核 12. 横隔壁

### 1. 细胞壁:

位于细胞的外层, 是一无色透明, 坚韧而富有弹性的薄膜, 其厚度为10—80nm。主要功能是保持菌体的一定形态, 保护细胞内部结构和防止发生破裂等。现在一般认为由于细菌细胞壁化学组分的不同, 而使用相同的染色体方法得出不同的染色结果。所以把细菌分为革兰氏阳性(紫色)与革兰氏阴性(红色)两大类。两者比较可见表2—3和图2—3。

可以用相当的方法除去细菌的细胞壁。如是革兰氏阳性细菌其细胞壁可以人工完全除去, 得到的就是原生质体; 革兰氏阴性的细菌经同样方法处理, 但仍有少量细胞壁残留未能除



表 2—3 革兰氏阳性菌与革兰氏阴性的转化比较

| 特 征        | 革兰氏阳性细菌  | 革兰氏阴性细菌    |
|------------|----------|------------|
| 细胞壁脂质含量    | 低 (1—4%) | 高 (11—22%) |
| 细胞壁中肽聚糖含量  | 高        | 低          |
| 对青霉素的敏感性   | 高        | 低          |
| 碱性染料的抑制    | 高        | 低          |
| 营养的要求      | 大多数较复杂   | 较简单        |
| 对物理因素破坏的抗性 | 强        | 弱          |

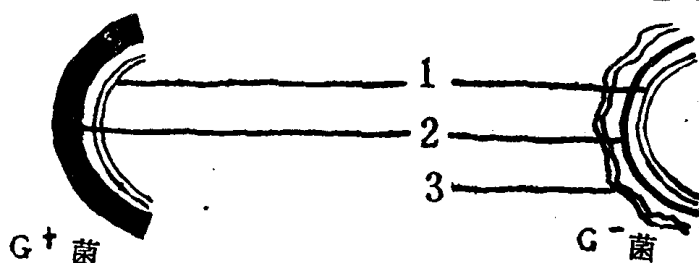


图 2—3 革兰氏阳性细菌 (G<sup>+</sup>) 与革兰氏阴性细菌 (G<sup>-</sup>) 细胞壁

1. 细胞膜 2. 肽聚糖 3. 外壁层

掉, 所得到的就称球形体。细菌除去细胞壁之后, 一般失去坚韧性, 呈球形并特别脆弱, 对环境因素尤为敏感。如在适宜培养条件下, 原生质体或球形体都具细胞壁的再生能力。目前在细菌菌种选育中, 正在不断研究与运用原生质体融合技术, 为发酵工业选育新的高产菌株。