

SHENGHUA GONGCHENG YU SHEBEI

生化工程与设备

主 编 马晓建

副主编 李洪亮 方书起

化学工业出版社

生化工程与设备

主 编 马晓建

副主编 李洪亮 方书起

化学工业出版社

• 北 京 •

(京)新登字 039 号

内 容 简 介

本书按生物化学工业中单元操作的特性,系统地阐述了生化设备的作用原理和设计方法,内容全面而实用。全书分为六章,内容包括:微生物学基础、培养基的制备、培养基的灭菌、空气过滤设备、生化反应器和分离过程与设备,特别是在生化反应器一章中详细地介绍了近几年编著者的科研成果 SM 型气升式发酵罐的结构与设计。

本书可作为非生化工程专业本科学生的试用教材,也可供科研单位、工厂企业从事生物化学工业技术的各类人员参考。

出版发行: 化学工业出版社(北京市朝阳区惠新里 3 号)

经 销: 新华书店北京发行所

印 刷: 北京市燕山联营印刷厂

装 订: 北京市燕山联营印刷厂

版 次: 1996 年 8 月第 1 版

印 次: 1996 年 8 月第 1 次印刷

开 本: 787×1092 1/16

印 张: 20

字 数: 483 千字

印 数: 1—2000

定 价: 25.00 元

前 言

生物化学工程(简称生化工程)是微生物和生化反应工艺过程发展到一定阶段的产物,而生化工程的建立和发展也将推动原有工艺过程的改进和新工艺过程的开发。生化工程的任务,简言之就是处理与生物学有关的工艺过程中的工程技术问题。目前,生化工程应用的领域日益扩大,除了应用于有机酸、溶剂、多聚物、抗生素、维生素和甾族化合物等的生产以外,在微生物蛋白制造、废水生化处理和酶的生产等方面的应用都有着巨大的潜力。生物化工是生物技术转化为生产力、实现产业化和成为商品的关键,也是目前我国生物技术发展的关键。为了发展我国的生物技术,使之成为一个有显著经济效益的高技术产业,必须重视和大力推动生物化工的科技研究和工程开发。为此,我们组织编著了这本《生化工程与设备》。

本书着重阐述生化工艺过程原理、所用设备及设备结构、选型和设计。内容包括微生物学基础、培养基的制备、培养基的灭菌、空气除菌设备、生化反应器及分离过程与设备。可使读者了解生物化工技术的内容和原理。对从事生化工程设计和指导生化工艺过程的工程技术人员也有很好的参考价值。

本书由郑州工学院组织编著,马晓建担任主编,并负责全书的审定工作。李洪亮、方书起担任副主编。参加编写人员及编写分工如下:马晓建编写绪论和第四章第一、二节;常春编写第一章;刘丽萍编写第二、三章;徐芳编写第四章第三、四节;方书起编写第五章;李洪亮编写第六章第一、二、三、四、七、八、十一节;陈华伟编写第六章第五、六节;刘洛娜编写第六章第九、十节。

生物技术是一门新兴学科,研究内容及成果发展很快,由于时间仓促,难免出现疏漏,再加上作者水平有限,可能会出现不当乃至错误之处,恳请专家和读者批评指正。

编 者

1995 年 10 月

绪 论

一、生物工程及其基本内容

80年代以来,在世界新的技术革命浪潮推涌下,发达国家或国家集团之间的“高技术”竞争日益激化,并竞相发展。“高技术”目前还不是一个科学名词,它没有严格的科学定义,也没有划定确切范围,但一般可以把高技术理解为当代科学、技术和工程的最前沿,具有跨学科性质。一般公认的高技术领域包括信息技术、生物技术、新材料技术、新能源技术、航空与航天技术、海洋开发技术等。因此,生物技术(或生物工程)属于高技术的领域之一。

生物工程(Bioengineering)这个名词,是1975年自从基因重组技术被确认以来才开始出现的,到现在才不过20年左右的历史。至于到底什么是生物工程,由于人们所从事的领域不同,对它就有不同的理解。所以现在对它所下的定义很多,还很难找出一个完全统一的解释。甚至在名称上还出现了到底应该称为生物工程还是生物技术(Biotechnology)的争论。

关于生物工程的定义,有许多种说法,例如“生物工程是改造生物的一项工程技术”;“生物工程是由人类直接操作遗传物质,改造旧生物,创造新生物,使它更好地为人类服务的一门科学,它是生物科学和技术科学相结合的产物”;“生物工程是为了提高人类的物质生活而直接利用生物、改造生物或者模仿生物机能的一种技术”;“生物工程是利用生物学、化学和工程学的方法来利用生物体使之为生产服务的科学”;“生物工程是应用科学工程原理加工生物材料提供商品和服务”;还有“生物工程是在形成生物的细胞中,在精密的控制条件下进行各种复杂反应,利用这种生物化学反应,以制造人类所需要的有用物质,或除去有害物质”等等。不过,总的说来,生物工程应该具有以下两个特点:

(1)生物工程应该研究能够控制生物遗传的操作技术,运用这种技术去改造旧生物或创造新生物。

(2)生物工程是直接应用或模仿生物的机能而为改善人类的物质生活和为生产服务的。

提到“工程”,我们就容易联想到雄伟高大的建筑、具有巍峨大坝的水电站、高塔林立的化工厂等土木工程、电力工程、化学工程,而对于生物工程,特别是对其中的“基因工程”和“细胞工程”来说,所研究的是只有分子大小和细胞大小的对象,把它们称之为“工程”就会令人们,特别是从事工程技术工作的人们感到不大习惯。因而生物工程是否应称为工程,或者只应称作“生物技术”的想法的存在是很自然的。但从另一个角度看,工程是按照人为设计的一定的蓝图去创造和建设宏伟的事业,而生物工程的出现,使得人们能按照一定的设计蓝图去改造旧生物或创造新生物,这种同样是按照人类意志去创造的宏伟事业,称之为“工程”也应该是受之无愧的。因此有人干脆把这两者合起来称之为生物工程技术(Bioengineering technology)。

在我国,这门科学最初引进时称之为“生物工程”,我们在这里也就沿用这一名称。不过应该知道,“生物技术”所讨论的与它是同样的内容。

像对生物工程技术理解不同一样,对生物工程内容的理解也有所不同。当前,比较广泛的理解是,生物工程的内容包括以下几方面:

(1)基因工程(Gene engineering)

基因工程又称遗传工程,是根据生物的遗传特性,采用类似工程设计的方法,人为地用一种生物细胞中的基因替换另一种生物的某些基因,实现基因的转移和重新组合,从而改变生物

的性状和功能,创造出新的生物。基因工程又常称为基因重组技术。

(2)细胞工程(Cell engineering)

细胞工程是一种广义的遗传工程,它是把一种生物细胞、携带着全套遗传基因的细胞核或染色体整个地转移给另一种生物细胞,从而改变受体细胞的特性,改良品种或创造新品种。它能用人工方法把遗传性质不同的两个活细胞,结合成为一个同时具有这两种细胞优良性状的新细胞,细胞工程又常称为细胞融合技术。

(3)酶工程(Enzyme engineering)

酶是一些由细胞制造出来的特殊蛋白质,是生物催化剂。酶工程就是利用酶的特异催化功能,快速、高效生产产品的一门技术。

(4)发酵工程(Fermentation engineering)

发酵工程是指通过现代工程技术手段,利用微生物的特殊功能生产有用物质,或直接将微生物用于工业生产的一种技术体系。它包括了优良菌种的选育、微生物菌体的生产、微生物发酵生产产品、微生物对某些化学物质的改造、对有毒物质的分解以及细菌选矿、细菌冶金等等。发酵工程又称微生物工程。

从以上生物工程的内容中我们可以知道,基因工程和细胞工程分别是在分子水平和细胞水平上进行研究工作的。它们的目的在于改造原有的或创造新的生物。它们的工作是在实验室中进行的。而酶工程和发酵工程才是直接服务于物质生产,可以在工厂规模中实现。

除了以上内容之外,我们还可以找到许多运用生物为人类服务的例子,如农业中作物品种的改良、牧业中家畜品种的改良等也可使用生物技术,这是传统的生物生产技术。还有近年来发展很快的人工肾、人工心脏等能够拯救人类生命的生物技术,可称之为医用生物工程。还有开发利用化学合成的高分子聚合物,即使其具有与生物体类似机能的材料的仿生化学(biomimetic chemistry),也应该是一种生物技术。

二、生化工程及其与生物工程的关系

生物化学工程,简称生化工程,它是应用化学工程的原理和方法将生物工程的实验室成果进行工业开发的学科。它既可视作化学工程的一个分支,也可认为是生物工程的一个组成部分。

生物工程按其性质讲,主要是应用生物学、化学和工程学的原理借生物催化剂的作用将物料转化为产品或从事社会服务的科学技术(参见图1)。图中所指的生物工程是广义的,它一般不直接涉及化学反应,大致包括农业工程、环境卫生工程、医学工程、仿生工程、人体功能工程等,而狭义的生物工程(即图中的生物技术)却涉及化学反应,并采用了生物催化剂。

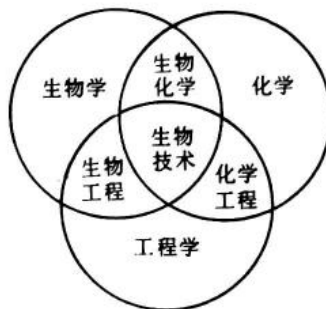


图1 生物工程与基础学科的关系

凡由生物工程所引出的生产过程可统称为生物反应过程(Bioprocess),它大致可用图2所

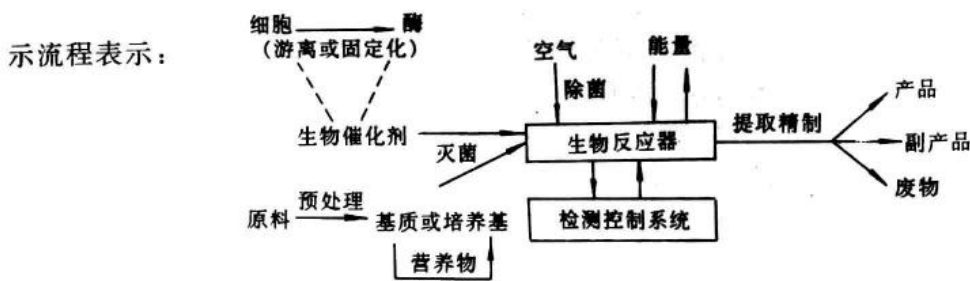


图 2 生物反应过程示意图

在生物反应过程中,若采用活细胞(包括微生物、动植物细胞)为生物催化剂时称发酵或细胞培养过程,若采用游离或固定化酶时称酶反应过程。

生化工程实质上就是研究生物反应过程中带有共性的特殊工程技术问题的学科。

三、生化工程的发展

传统的微生物发酵制品——发酵食品和饮料已具有悠久的历史,但其生产技术具有浓厚的地方性和较强的经验性,生产设备一般也较简单。19 世纪末和 20 世纪初工业微生物产品虽有发展,但其产品如乳酸、乙醇、丙酮-丁醇等大多为厌氧发酵产物,产物的分子结构比基质更为简单,属初级代谢产物,生产技术及设备也并不很复杂。直到本世纪 40 年代,抗生素的卓越疗效被证实,需求量日益增加。由于抗生素生产属好气发酵类型,产物的分子结构复杂,为次级代谢产物,在培养液中的含量很低,生产过程中需要维持纯种培养,无菌要求很高。为了增加抗生素的产量,突出的问题是将原来生产劳动强度大、占地面积多的表面培养法改变为采用大容积发酵罐生产的沉浸培养法,以及采用高效提取精制设备代替原来实验室提取精制手段。于是一批工程技术人员,特别是化学工程师参加了抗生素生产的工业开发工作。在他们的努力下,适用于纯种和沉浸培养带有通气和搅拌装置的发酵罐终于研制出来。初期生产青霉素的发酵罐容积是 5m^3 ,比起表面培养时的 1L 玻璃瓶来产量大为增加,劳动强度大大降低。此外,他们还成功地解决了大量培养基和生产设备的灭菌问题以及采用介质过滤法解决大量无菌空气的制备问题。在提取精制中采用了离心萃取机、冷冻干燥器等新型高效化工设备,对产品的产量、质量和收率均有明显的提高。工程技术人员的参加,不但促进了抗生素生产的工业化,也孕育出一门新的交叉学科——生化工程。1947 年,美国 Merck 药厂因在建立抗生素工业中的贡献被授予 McGraw-Hill“生化工程专题研究”成果奖。其后生化工程的名称就一直沿用至今。

早期的生化工程主要是为发酵和酶反应过程服务的。在 40 年代抗生素工业发展的基础上,50 年代的氨基酸发酵工业、60 年代的酶制剂工业等多种工业发酵产品和酶反应产品的迅速问世,不能不说‘其中包含着生化工程学科’的贡献。70 年代起 DNA 重组技术和原生质体融合技术不断成熟,新一代的生物工程产品,如干扰素、胰岛素、生长激素、乙肝疫苗、单克隆抗体等已开始少数国家有少量生产,但离工业化完善程度的距离还很远。

四、生化工程的基本内容

生化工程既是为生物反应过程服务,就有必要对此过程作进一步的剖析,以便找出其中带有共性的技术问题。

人们常把生物反应过程(图 2)中的生物反应器作为过程的中心,而分别把反应前与反应后的工序称为上游和下游加工。下面将分别围绕上、中、下游来阐明有关生化工程的内容。

在上游加工中最重要的是提供和制备高产优质和足够数量的生物催化剂(由常规选育或经现代生物工程方法获得的菌株、细胞系或从中提取的酶,必要时须进行固定化)。这方面的工作通常由生物学的工作者来担任,但生化工程工作者应尽可能多地了解它们的生理生化特性

和培养特性,为此必须掌握一定的微生物学、细胞学及生理生化知识。此外,还应考虑大规模种子培养或固定化生物催化剂的制备问题以及如何将其在无菌情况下接入生物反应器中等问题。

在上游加工中还包括原材料的物理和化学预处理、培养基的配制和灭菌等问题。这里含有较多的化工单元操作(主要是物料破碎、混合和输送)和热量传递以及灭菌动力学和营养成分的降解动力学等问题。

生物反应器是整个生物反应过程的关键设备,所谓生物反应器是为特定的细胞或酶提供适宜的增殖或进行特定生化反应环境的设备,它的结构、操作方式和操作条件对产品的质量、转化率和能耗有着密切的关系。在生物反应器中存在着气—液—固三相的混合、传质和传热问题,不少发酵液还呈有非牛顿型的流变学特性,因此存在大量化学工程的问题。可以把生物反应器中的每一个细胞都看成是一个微型的反应器(它存在着与外界环境的物质和能量交换以及物质的分解和合成),要使每一个细胞都处于同一最佳环境下才能使整个生物反应器维持最佳状态。由此可见,生物反应器中的混合、传质和传热问题是何等重要。生物反应器的设计和放大并不完全是化学工程问题,还必须弄清目标产物的生化反应特征,如细胞的生理特性、繁殖规律、代谢途径、产品形成条件以至细胞受机械剪切的影响。由此派生出来的生化工程问题有培养过程氧和基质的供需和传递、细胞的生长动力学、发酵动力学、酶反应动力学、培养液的流变学、生物反应器的放大等一系列带有共性的工程技术问题。

不少重要的生物反应过程是好气过程,为此生化工程要解决大量无菌空气的供应问题,包括空气压缩、预处理、无菌过滤等。

由于生物反应过程受环境(温度、pH 值、溶解氧等)的影响明显。此外由于生物催化剂的不稳定性和过程操作的无菌要求等原因,过程一般是分批操作的,各种反应参数随时间变化。为此对生物反应过程的参数监测和控制就显得十分重要。过程的无菌要求增添了在线监测的困难和对传感器能耐受蒸汽灭菌的要求。过程参数随时间变化则增添了过程控制的困难,较理想的控制策略是建筑在过程模型化(指简单反应过程)或专家系统(指复杂反应过程)的基础上利用计算机在线数据监测、数据处理和参数控制。这些也都属于生化工程的研究范畴。

生化反应器按其混合方式,可分为机械搅拌、循环泵式和空气鼓泡式(气升式)三大类。然而在相当长一段时间内,由于发酵工业偏重于优良菌种和工艺的改进(忽视探求工业生产设备改进的生化工程学),对生化反应器本身的研究,尤其是对新型反应器的开发所作的努力不够,因而多年来最常用的还是源于化学工业的机械搅拌罐。这种传统的“标准罐”能耗大、结构复杂、放大难(很少见容积超过 $400\sim 500\text{m}^3$ 的)、易染菌、机械搅拌产生的过强的剪切力会影响培养物细胞的生理特性,在粘度较大的培养液中气液接触不良。为解决上述问题,近 20 年来报道开发了气升式、自吸式、喷射式、筛板塔式等若干新型生化反应器。这些反应器各有特点,但发展的主要趋势之一是从机构搅拌过渡到气流搅拌,而改进的核心仍是提高传氧系数和节约能量。

由于气升式发酵罐比机械搅拌式发酵罐有明显的优点,在生产 SCP、丝状真菌、废水处理中已获得广泛应用。70 年代初,英国 ICI 公司开发了一种用甲醇连续生产 SCP 的气升式发酵罐,以后又成功地将其应用于废水的生物处理,并在有关国家推广(目前 ICI 公司已放大至 2000m^3 ,原苏联用于柠檬酸发酵的气升式发酵罐也达到 200m^3)。国内也已建成了用于酵母、味精工业生产和废水处理的气升式发酵罐。郑州工学院研制开发的带有静态混合元件的气升式发酵罐,已成功地应用于谷氨酸、柠檬酸、抗生素和黄原胶的生产,节能效果显著。

下游加工的任务是将目标产物从反应液中提取出来并加以精制,以达到规定的质量要求。应该说这一系列的提取精制是很不容易的。一般说,在反应液中目标产物的浓度是很低的,最高的乙醇也仅10%左右,其它的诸如氨基酸一般不超过8%,抗生素一般不超过5%,酶制剂一般不超过1%,一些基因工程或杂交瘤产品则更低,如胰岛素一般不超过0.01%,单克隆抗体一般不超过0.0001%。另一困难是反应液杂质常与目标产物有相似的结构。此外一些具有生物活性的产品对温度、酸、碱度以及日光都十分敏感,一些作为药物或食品的产品对纯度、水分、有害物质含量、无菌或洁净程度都有严格的要求。总之,下游加工的程序多,要求高,往往占生物工程产品成本的一半以上。

一些典型的化工单元操作,如液-固分离、液-液萃取、吸附、蒸馏、蒸发、沉淀、结晶、干燥等都常用于下游加工,但所用的设备一般应满足高效、快速、低温、洁净(或无菌)的要求,如低温(或冷冻)高(或超)速离心机、连续离心萃取机、离心薄膜浓缩机、冷冻干燥机等。也有些用于分离精细化工产品的手段和装置也常用于下游加工,如离子交换、凝胶过滤、色层分离(采用常规或带有配基的亲分离介质)、电泳、超滤、反渗透、电渗析、双水相萃取、超临界萃取等。当产物包含在细胞内,可根据情况采用溶剂进行液固萃取或将细胞用研磨、超声、高压匀浆或冻融等方法进行破壁,然后在去除细胞残片后再用类似处理胞外产物的方法进行提取精制。

五、生化工程的研究展望

虽然微生物生化工程取得了很大进展,但由于微生物的复杂性和多样性及试验条件的局限性,在此领域内很多理论与实际问题还有待今后进一步研究和探讨。

从学科影响的角度看,今后微生物生化工程的发展,很大程度上取决于物理微生物学和微生物生理学(特别是反应动力学)的进展程度。这是因为:(1)与流体力学、表面和界面化学以及分子生物学这些对生物工程发展具有重要影响的学科相比,目前在讨论微生物的物理行为即物理微生物学时,尚缺乏足够的资料依据;(2)尽管近年来对微生物反应(生长和发酵)的动力学已有了较深的了解和应用,但用在使用实验室得到的数据来评价工业规模的工艺方法和工艺设计时,仍存在令人烦恼的数据多变性及适用数值范围不够的问题。将来必须发展出一些确定的理论或定律(能够清楚地描述与所使用微生物的适当环境有关的微生物行为),才能促进微生物生化工程的进一步发展。

目前生化工程研究和应用的领域日益扩大。除了许多代谢产物的发酵生产外,在微生物蛋白的制造、废水生化处理、酶的生产以及超滤和酶的固定化等方面的应用都有着巨大的潜力。展望未来,随着DNA重组技术和原生质体融合技术等新一代生物工程产品的出现,预期今后生化工程的研究内容将在下列四方面得到重点发展:

1、新型生物反应器的研究开发,特别是针对基因工程产品和动、植物细胞培养产品的投产研制新型生物反应器。

前者与一般微生物发酵罐无基本区别,但须考虑“生物安全”及基因重组菌不够稳定的问题,为此应有可靠的轴封、排气灭菌、取样灭菌等装置和具有灵活多样的控制手段。也就是说,发酵反应器及工业规模灭菌技术等的改进和提高,仍然是重要的研究课题。

后者属动、植物生化工程问题,目前还处于开始发展阶段。各种各样的动植物培养器类型不少,但较成熟的不多。这里主要应考虑动植物细胞对机械剪切和对环境影响敏感的问题,以及培养周期长和需要防止污染的问题,对大多数动物细胞来说还应考虑细胞的附壁生长的特性。

再者,还应研制适应高粘度、高密度发酵或培养的生物反应器,以及一些大型(100m^3 以

上)和特大型(超过 1000m^3)的高效节能生物反应器。在设备大型化方面,除考虑强化传热和传质问题外,空气过滤方法和过滤效率问题、空气喷射口的设计、高效大型搅拌器的设计、培养基冷却方式及控制的自动化问题,特别是如何防止整个培养系统的杂菌污染,这一系列的工程问题都有解决的必要。对已研制的反应器还应继续研究其混合、传递特性,以便改进和进行放大。

此外,固态发酵对某些产品的生产(如饲料、 α -淀粉酶等)仍不失为一种因地制宜的微生物培养方式,但实际用于发酵的固态反应器由于工程放大等难题,目前国内外很少有定型产品(虽然报道过的固态发酵反应器有多种形式)。所以研究开发固态发酵反应器也应成为生化工程研究的一大课题。

2、新型分离(特别是针对蛋白质、多肽产品等的分离)方法和设备的研究。目前用于此类产品的分离方法虽较多,但有的不够有效,有的只能用于实验室规模,对有关分离方法的原理和设备设计放大问题也还不够成熟,因之生化分离工程尚有不少研究课题和发展余地。

3、各种描述生物反应过程的数学模型的建立,将有利于过程的控制和优化以及计算机的应用。数学模型的基础是动力学的研究,但由于微生物生化反应通常是极其复杂的,而且由于环境的影响,各种酶要受到诱导或抑制,加上微生物本身的变异,极难对反应系统中基本的生化反应进行深入细致的研究。今后必须加强对微生物反应过程的综合性考察,充分研究微生物反应的本质,以便进一步指导各种大型化、连续化、生化反应器的开发设计及工业发酵的科学管理。鉴于某些参数如细胞浓度、产物浓度、甚至基质浓度目前难以测定(特别是在线监测)使动力学研究发生困难,因此也可结合实际经验或实际生产数据通过回归法得出半经验的数学模型,更理想的是根据不同发酵或培养周期分别作出有关数学模型。

4、改进生产过程的控制手段。重点是研制能在线反映生物反应器内重要参数的传感器,及建立和完善有关计算机控制系统的硬件(检测信号的条件化和显示系统、人机对话系统、执行系统等)与软件(自适应动态控制系统、专家系统等)。尽管目前由于缺乏某些关键性的传感器和能确切描述发酵过程的动力学模型,限制了电子计算机的应用,但可以肯定,使用电子计算机来进行数据处理和过程控制,自动调节包括主要营养成分、细胞体和代谢产物在内的物理与化学的环境因子已不是很遥远的事情。

总之,由于科学技术日新月异的迅猛发展,各种监测手段的不断提高,特别是电子计算机的广泛应用,使生化工程的发展具备了越来越好和条件。生化工程所涉及的范围包括定义和内容都会随着科研与生产的发展而有所改变,其学科体系还要不断地充实,这一学科对社会的重要性也还要加深认识。例如,对于化学工业来说,通过革新改造现有的有机合成化学工艺和引进生化工程,可望今后迎来新的发展时期——利用一座座高效节能、低公害的生物发酵工厂生产大量的传统化工产品(可称之为生物工程化工产品)。

目 录

绪论

一、生物工程及其基本内容	(1)
二、生化工程及其与生物工程的关系	(2)
三、生化工程的发展	(3)
四、生化工程的基本内容	(3)
五、生化工程的研究展望	(5)

第一章 微生物学基础

(1)

第一节 概论

(1)

一、微生物学的研究对象	(1)
二、微生物的特点	(1)
三、工业微生物发展简史	(2)
四、微生物在生物界中的地位	(2)
五、微生物的分类与命名原则	(3)
六、原核微生物分类简述	(3)
七、真核微生物分类简述	(6)

第二节 生物细胞结构

(9)

一、细菌	(9)
二、放线菌	(12)
三、酵母	(13)
四、霉菌	(14)

第三节 工业中重要的微生物

(15)

一、发酵工业中常用的细菌	(15)
二、发酵工业中常用的放线菌	(16)
三、发酵工业中常用的酵母	(17)
四、发酵工业中常用的霉菌	(19)

第四节 工业中重要微生物的来源及保存方法

(26)

一、菌种的分离筛选	(26)
二、菌种的保藏	(35)

第五节 生物化工的主要原料

(37)

一、碳源	(37)
二、氮源	(42)

第二章 培养基制备

(45)

第一节 原料的粉碎与设备

(45)

一、筛选	(45)
二、粉碎	(45)

第二节 原料的输送

(48)

一、机械输送	(48)
二、气流输送	(56)
第三节 原料的蒸煮与糖化	(62)
一、原料的蒸煮	(62)
二、酒精蒸煮醪的糖化	(69)
三、淀粉水解糖的制备	(75)
四、麦芽汁的制备	(77)
五、柠檬酸生产原料的液化	(78)
第四节 培养基的配制	(79)
一、培养基的类型	(79)
二、培养基的配制原则	(82)
三、培养基的选择	(82)
四、影响培养基质量的因素	(83)
第三章 培养基的灭菌	(85)
第一节 培养基灭菌的方法与原理	(85)
一、培养基灭菌的方法	(85)
二、培养基灭菌的原理	(86)
三、影响培养基灭菌的因素	(88)
第二节 培养基灭菌的流程	(90)
一、固体培养基的灭菌	(90)
二、液体培养基的灭菌	(90)
三、发酵附属设备及管路的灭菌	(92)
第三节 培养基灭菌设备	(92)
一、连消塔	(92)
二、维持罐	(94)
第四章 空气除菌设备	(95)
第一节 空气除菌	(95)
一、通风发酵对无菌空气的要求	(95)
二、空气除菌方法	(96)
第二节 过滤除菌原理	(98)
一、惯性碰撞滞留作用	(98)
二、阻拦滞留作用	(99)
三、布朗扩散作用	(100)
四、重力沉降作用	(100)
五、静电吸附作用	(100)
第三节 过滤除菌流程	(101)
一、空气过滤除菌的工艺要求	(101)
二、空气过滤除菌流程	(101)

第四节	空气过滤器的结构和计算	(104)
一、	常用过滤介质	(104)
二、	空气过滤器的计算	(106)
三、	空气过滤器的结构	(109)
第五节	附属设备	(113)
一、	粗过滤器	(113)
二、	空气压缩机	(113)
三、	空气贮罐	(113)
四、	空气冷却器	(114)
五、	汽液分离器	(115)
六、	除雾器	(115)
第五章	生化反应器	(117)
第一节	概述	(117)
一、	生化反应器的类型	(117)
二、	生化反应器的特征	(118)
三、	对生化反应器的基本要求	(118)
第二节	嫌气发酵及设备	(118)
一、	酒精发酵罐及其计算	(118)
二、	啤酒发酵设备	(123)
第三节	机械搅拌式发酵罐	(130)
一、	机械搅拌式发酵罐的结构	(131)
二、	发酵罐的换热装置	(137)
三、	发酵罐的管路配置	(140)
四、	搅拌器功率计算	(141)
五、	非牛顿流体特性对搅拌功率计算的影响	(146)
六、	氧的溶解	(149)
七、	发酵罐的放大	(152)
第四节	气升式发酵罐	(155)
一、	气升式发酵罐的工作原理	(155)
二、	气升式发酵罐的结构	(155)
三、	气升式发酵罐的设计计算	(159)
第五节	固体发酵罐	(161)
一、	固体发酵	(161)
二、	固体发酵设备	(161)
第六节	其它反应器及进展	(163)
一、	酶反应器	(163)
二、	膜反应器	(164)
三、	动、植物细胞反应器	(166)
四、	发酵设备进展	(167)

第六章	分离过程与设备	(170)
第一节	概述	(170)
一、	发酵液的一般特性	(170)
二、	分离过程的组成	(170)
三、	菌体分离	(170)
四、	沉淀法	(171)
五、	盐析法	(171)
六、	萃取法	(172)
七、	吸附法	(172)
第二节	过滤和分离设备	(172)
一、	过滤	(173)
二、	过滤设备	(176)
三、	离心分离	(180)
四、	离心机的类型	(182)
第三节	蒸发和结晶	(186)
一、	蒸发器	(186)
二、	蒸发装置的设计	(193)
三、	结晶与结晶设备	(200)
四、	结晶器设计	(204)
第四节	干燥	(207)
一、	干燥过程基础	(207)
二、	干燥设备	(211)
第五节	萃取	(227)
一、	液-液萃取的分配定律	(227)
二、	萃取方式和理论收得率的计算	(228)
三、	影响萃取操作的一些因素及操作特点	(231)
四、	萃取设备	(232)
五、	萃取设备的计算	(237)
第六节	精馏	(244)
一、	双组分精馏塔的计算	(245)
二、	精馏塔的结构	(252)
三、	浮阀塔的设计计算	(256)
第七节	冷冻	(263)
一、	制冷基本原理及制冷系统	(263)
二、	制冷剂与载冷剂	(266)
三、	制冷机械与设备	(269)
第八节	离子交换	(278)
一、	离子交换树脂	(278)
二、	离子交换过程和装置	(280)

三、离子交换设备的计算·····	(286)
第九节 吸附·····	(287)
一、吸附剂·····	(288)
二、吸附设备·····	(289)
第十节 色谱法·····	(291)
一、色谱法的分类·····	(291)
二、色谱法的基本概念·····	(292)
三、色谱法工艺过程与设备·····	(292)
第十一节 分离方法的进展·····	(295)
一、概述·····	(295)
二、膜分离·····	(297)
三、超临界流体萃取·····	(299)
四、离子交换色谱法·····	(300)
五、凝胶过滤·····	(300)
参考文献·····	(301)

第一章 微生物学基础

第一节 概 论

一、微生物学的研究对象

微生物学作为一门基础学科,它研究的对象是微生物。微生物是对个体微小的单细胞和结构极为简单的多细胞以及无细胞结构的低等生物统称。其类群十分庞杂,包括病毒、立克次氏体、细菌、放线菌、酵母菌、霉菌、单细胞藻类、原生动物和枝原体等。在工业中,经常应用的是细菌、放线菌、酵母菌和霉菌四大类微生物,对于危害细菌、放线菌生长的噬菌体也是研究的主要对象。这些微生物虽然形态、大小各异,但它们在生活习性、繁殖方式及研究方法基本相似,故它们归为同界,而微生物学实质上是研究它们生命活动规律的学科。

二、微生物的特点

微生物具有种类多、繁殖快、分布广、易培养、代谢能力强等特点,这些特点使得它能在工农业生产中广泛地被应用。

1. 种类多

据粗略统计,所知的动物有上百万种,而植物与微生物加在一起约 30 万种。由于微生物的发现较植物迟,并且鉴定与划分较为复杂,所以目前已确定的微生物的种类有 10 万种左右。但微生物的生理类型和代谢方式却大大超过动植物,因此微生物的种数是一个目前不能确定的变数。随着研究的深入,手段的改进,相信会有越来越多的微生物被发现。

2. 繁殖快

微生物具有惊人的繁殖速度。例如,大肠杆菌在 37℃ 温度适宜的生长环境下,能在 (20~30)min 繁殖一代,24h 日产生 47×10^{22} 个,若将细菌平铺在地表面,能将地球表面覆盖。但在实际的繁殖中,由于种种条件限制,这种几何级数繁殖速度只能维持短暂的几个小时而已。

微生物的高速繁殖特性,为工业发酵生产等实际应用提供了产量高、周转快等有利条件,例如生产酵母菌的单细胞蛋白,每 8h 就可以收获一次,若种大豆生产蛋白,最短也要 100 天。

3. 分布广

在自然界中充满着众多的微生物,无论天空、土地、海洋到处都有微生物存在。例如,万米深海底有硫细菌生存和大量繁殖。土壤可以说是各种微生物的大本营,任意取一把土或一粒土,其中就含有不同种类和数量不同的微生物。因此,我们可就地取材从土壤中分离我们所需的微生物,当然在采土样时也要考虑微生物的生态特征,如分离酒类发酵的酵母,一般可从水果表皮或果园土壤中分离;分离石油发酵的菌类,可从油田附近的土壤中获得。

4. 易变异

微生物大多数是单细胞个体,通常都是单倍体,又因为它们具备数量多、繁殖快的特点,这就使得它们易出现大量的变异后代。此外,利用物理的或化学的诱变剂处理后,更易使它们的遗传性质发生变异,从而改变微生物的代谢途径。典型的例子是医疗中致病菌对抗生素产生抗性的变异。40 年代初,即使是严重感染的病人,只要每天分数次共注射 10 万单位青霉素即可,而今,成人每天要 160 万单位左右。人们利用微生物的这种特性,不断选育出优良的菌株,例如,柠檬酸发酵中,不能直接利用甘薯生产柠檬酸的菌种经诱变处理后,改变了特性,从而可以直接利用甘薯生产柠檬酸。总之,由于微生物具有容易变异的特性,对提高菌种的生产能力是

非常有利的。

5. 代谢能力强

微生物个体极小,具有很大的比表面积,这样,它们能够与外界迅速交换营养物质与废物。从单位重量来看,微生物要比高等动物的代谢强度大几千倍甚至几万倍。如在合适的环境下,大肠杆菌每小时能消耗为自身重量 2000 倍的糖。微生物的强代谢能力为微生物的迅速生长繁殖,以及为人们生产大量的产品提供了物质基础。但一些微生物却有破坏作用,它们的代谢能力愈强,破坏的物质就愈多。

三、工业微生物发展简史

早在公元前二三千年,甚至六七千年以前人们已经借助微生物的产物生活度日了。不过,当时微生物的性质尚未被人们所认识,人类依靠古老的方法生产出了象啤酒、葡萄酒等发酵产品。

随着科学技术的发展,人类一步步由一无所知走向微生物的世界。17 世纪中后期,荷兰人吕文虎克(Leeuwenhoek)用自制的显微镜观察到了污水、牙垢、腐败的有机物中存在着微小的生物,并做了恰当的描述,为微生物的存在提供了有力的证据。此后,不少科学家开始研究发酵与微生物的关系。

到 19 世纪 60 年代,法国人巴斯德(Pasteur)通过实验证明:酒、醋的酿造过程实际上是微生物的发酵过程,并且认为不同的微生物引起不同的发酵,酒变酸是有害微生物引起的,基于上述理论,他提出了巴斯德消毒法。德国人柯赫(Koch)的纯培养技术也给微生物工业带来了革命,使得此后的发酵能够有目的的、纯粹进行单一发酵。这期间,微生物工业不再仅仅是食品,一些具有工业用途的初级代谢产物如丙酮、酒精、丁醇等也可以生产。

1929 年弗莱明(Fleming)在一次偶然的机会中发现了青霉菌能抑制细菌的生长,并证明了青霉菌的培养液中含有抗菌物质。只是在当时的条件下,这一重要的发现未得到充分重视。到了第二次世界大战爆发后,由于抗生素的神奇作用,人类对其的需求量急剧增加,这促进了各国科学家对抗生素的研究。同时,在这期间发现的抗生素种类越来越多,其用途也越来越广,除了医用外,还扩大到动植物病害防治以及食品保藏等方面。这一时期的大规模抗生素工业的崛起,对微生物工业的发展十分重要,它为现代微生物发酵工业积累了丰富的经验,建立了一整套的研究生产方法。

20 世纪 50 年代初,沃森(Watson)和克里克(Crick)提出了脱氧核糖核酸分子双螺旋结构的模型和核酸半保留复制的学说。此后,遗传学和分子生物学迅速发展,新理论、新技术不断地出现,基因工程和细胞工程的发展使得按照人们的需要去改造和创造新生物类型成为可能。自 1973 年克隆得到第一个基因和 1975 年得到第一个细胞杂交瘤以来,已有许多基因工程菌进入工业化规模并已创造了不少基因工程菌产物,使工业微生物的领域不断拓宽,为发酵工业的飞跃提供了新的技术和方法。

四、微生物在生物界中的地位

微生物是指那些形态微小、结构简单,须借助显微镜才能看清的低等微生物的通称。微生物一词并不是生物分类学的词语。微生物类群十分庞杂,跨越了原核生物和真核生物两大类。自 1753 年林奈氏(Linneaus)首先提出的生物二界学说以来,即把地球上的生物分为动物界与植物界,人们发现微生物很难归属于此二界中,于是人们又提出了建立原生生物界。随着科学技术的发展,先后又创立了四界学说和目前较为广泛接受的五界学说和六界学说。五界学说由魏特克(Whittaker)于 1969 年提出,六界学说为中国王大耜等于 1977 年提出,表 1-1、表 1-2