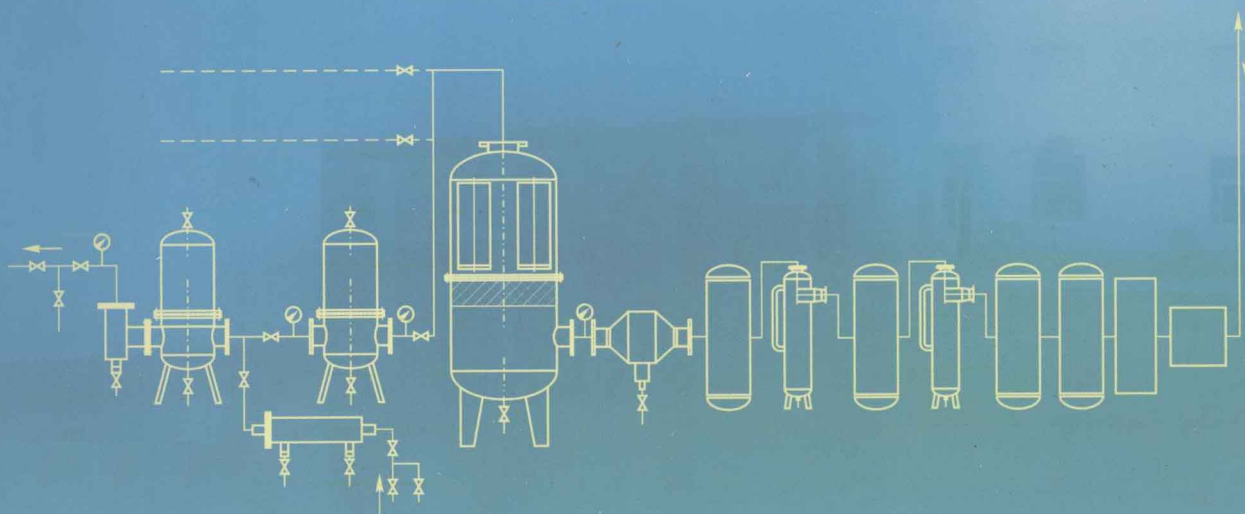


发酵工程实验指导

(第2版)

The Experimental Guide
for Fermentation Engineering

主编 吴根福



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

发酵工程实验指导

F a j i a o G o n g c h e n g S h i y a n Z h i d a o

(第2版)

主编 吴根福

编写人员 吴根福 高海春 杨志坚 鲁栋梁



高等教育出版社·北京
HIGHER EDUCATION PRESS BEIJING

内容简介

本书为高等院校发酵工程实验教学用书，全书分为基础发酵实验和综合发酵实验两大类。基础发酵实验以抗生素发酵为主线，涵盖菌种的选育、复壮与保藏，培养基及培养条件的优化，发酵效价的测定和污染的检测等内容，还编入了甜酒酿发酵、酸乳发酵、泡菜发酵和工程菌发酵等实验内容，适合常规教学体制下的实验安排。综合发酵实验包括液态通气搅拌发酵（以谷氨酸发酵为代表）、液态静置发酵（以啤酒发酵为代表）和固态发酵（以红曲发酵为代表）3个系列共50余个实验，涉及培养基的配制和灭菌、菌种扩大培养、发酵分析、过程控制和产物提取等内容，适于集中式教学的实验安排。

第2版配套的数字课程包括所有实验的电子课件，还提供部分实验的视频，以供教学参考。

本书可作为高等院校生物科学、生物技术、生物工程及食品科学等专业本科生和硕士生的实验教材，也可作为相关科技工作人员的参考书。

图书在版编目（CIP）数据

发酵工程实验指导/吴根福主编. -- 2版. -- 北京：高等教育出版社，2013.2

ISBN 978-7-04-036829-1

I. ①发… II. ①吴… III. ①发酵工程-实验-高等学校-教学参考资料 IV. ①TQ92-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 025244 号

策划编辑 王 莉 责任编辑 李 融 封面设计 张 楠 责任印制 刘思涵

出版发行	高等教育出版社	网 址	http://www.hep.edu.cn
社 址	北京市西城区德外大街4号		http://www.hep.com.cn
邮政编码	100120	网上订购	http://www.landaco.com
印 刷	北京人卫印刷厂		http://www.landaco.com.cn
开 本	787mm×1092mm 1/16	版 次	2006年5月第1版
印 张	13.5		2013年2月第2版
字 数	330千字	印 次	2013年2月第1次印刷
购书热线	010-58581118	定 价	23.80元
咨询电话	400-810-0598		

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 36829-00

数字课程（基础版）

发酵工程实验指导

（第2版）

登录以获取更多学习资源！

登录方法：

1. 访问 <http://res.hep.com.cn/36829>
2. 输入数字课程账号（见封底明码）、密码
3. 点击“LOGIN”、“进入 4A”
4. 进入学习中心，选择课程

账号自登录之日起一年内有效，过期作废。

使用本账号如有任何问题，

请发邮件至：lifescience@pub.hep.cn

发酵工程实验指导（第2版）

主编 吴毅福

内容介绍 | 纸质教材 | 相关资源 | 版权信息 | 联系方式

4A

学习中心

欢迎登录

账号

密码

LOGIN

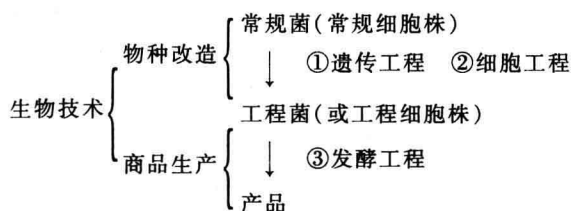
■ 内容介绍

本数字课程与《发酵工程实验指导》（第2版）配套使用，是纸质教材的拓展和补充。教材中的每个实验均附有对应的电子课件，视频内容包含部分实验的操作步骤演示、仪器使用方法等，以方便教师教学和学生自主学习。

高等教育出版社版权所有 2013

<http://res.hep.com.cn/36829>

发酵工程是利用生物,特别是微生物的特定性状和功能,通过现代化工程技术来生产有用物质或将生物直接用于工业化生产的技术体系,是建立在发酵工业基础上,与化学工程相结合而发展起来的一门学科,是连接生命科学研究与应用的桥梁。在当今生物技术领域起领头羊作用的基因工程和细胞工程,只是利用分子生物学的最新成就,操纵基因,定向地改造物种。若要将它们转化成产品,还必须依靠发酵工程,对这些“工程菌”或“工程细胞株”进行大规模培养,以生产出大量有用的产物或发挥其独特的生理功能。因此发酵工程与诸如生物制药、食品、化工、环境工程、饲料加工、微生物冶金、生物质能等国民经济领域具有非常密切的联系,掌握发酵工程的基本理论,熟悉发酵工艺流程及常用的实验技术,无论对今后有志于科学研究的学生,还是对希望在生产中大显身手的学生,都具有十分重要的意义。



在传统的教学体系中,理论学习往往占主导地位,实验教学只是为验证理论课的某些内容而设立。因此无论是教学课时数、学分数,还是老师和学生的重视程度,都无法与理论教学相比,而现代社会对学生动手能力和综合素质的要求越来越高。我们参照国外某些大学的做法,将发酵工程设定成一门以实验操作为主、理论讲解为辅的技能训练课程,通过学习,要求学生掌握发酵工程的基本理论,了解发酵工业的特点及发酵工程学的发展概况,更重要的是通过几种常见发酵产品的实验室中型发酵实验,熟悉发酵工业的整体流程,掌握有氧发酵和无氧发酵、液态发酵和固态发酵等常规发酵方法及发酵产品的后处理技术。由于发酵工程实验的集成度较高,牵涉到分析化学、有机化学、生物化学、微生物学、发酵工艺学、化学工程等多个学科的内容,进行这样的实验不仅可巩固原来已学过的知识,还可以极大地提高学生的综合实验能力。发酵工程实验还是一门开放

性的课程,在同一单位时间内,不同的组进行不同的实验,各项操作要求学生参照实验指导和教学视频自行摸索,独立完成;发酵工程实验更是一门协作性很强的课程,为了同一个目标,各个小组分工合作,轮流值班,进行发酵指标的测定和发酵参数的调节。所以通过这样的训练,不但可使学生的创造性、自主性、责任心得到锻炼,而且使吃苦耐劳精神、团队协作精神得到培养,发现问题、分析问题、解决问题的能力得以提高。

鉴于微生物的发酵周期较长,实验需连续进行,在常规的教学体制中很难对发酵大实验进行合理的安排。为了让同学们尽可能全面、直观地理解发酵工程的内涵,我们从1999年开始利用短学期(春夏学期结束后或秋冬学期开学前,共10 d)开设了发酵工程技能训练课程。我们选取了液态搅拌发酵(以谷氨酸发酵为代表)、液态静置发酵(以啤酒发酵为代表)和固态浅盘发酵(以红曲发酵为代表)三大系列实验,提供一切可能的条件让同学们亲自生产味精、酿制啤酒、发酵红曲。之所以选择这三大系列实验,是因为这三类发酵的代谢基础已经在生物化学和微生物学中介绍过,发酵周期与课时比较吻合,且发酵过程分析内容充实,有利于学生动手能力的锻炼。另外,这三类发酵,特别是谷氨酸发酵,涵盖了菌种扩大培养、培养基的配制及灭菌、接种、无菌空气的制备、发酵控制、产物分离、纯化结晶等操作单元,系统性强,不但在发酵工业中占有重要地位,而且与日常生活关系密切,有利于激发学生的兴趣。

经过多年的实践,学生反映很好。为了总结和检验教学成果,我们在教育部高等教育司的大力支持下,于2004年9月组织了全国高等院校生物技术实验教学交流会。交流中许多老师提出,最好在教材编写时增加基础发酵实验的内容,以便常规教学体制下的课程教学选用。在吸收老师们建议的基础上,我们于2006年编写了《发酵工程实验指导》。教材出版近7年,经过50多所大专院校的使用,得到了相关教师和学生的肯定,但也提出了一些问题,如基础部分缺乏工程菌发酵方面的内容,综合实验中谷氨酸发酵系列实验的连贯性不够,红曲发酵系列实验中缺乏最热门的胆固醇抑制剂筛选实验等。根据学科发展趋势和教材使用过程中积累的经验,并在总结同行专家反馈建议的基础上,我们编写了《发酵工程实验指导》第2版。

第2版保留了原教材的特色,分成基础发酵实验和综合发酵实验两大类。综合实验部分以谷氨酸发酵、啤酒发酵和红曲发酵作为基本内容。啤酒发酵为分批发酵,以酵母菌作为发酵的主体,发酵温度相对较低,微生物的代谢作用比较缓慢,主发酵周期在6 d左右,学生只需每天测定发酵的进展情况,根据进程适当调整发酵参数,而不需要在发酵过程中流加原料。红曲发酵是一种需氧固态发酵,以红曲霉菌作为发酵的主体,发酵温度30℃左右,在浅盘中进行,因此需要在接种后每天观察生长情况,适当补充水分。以上两大实验可以全部安排在白天进行。而谷氨酸发酵是补料分批发酵,以谷氨酸棒状杆菌作为发酵的主体,发酵温度32~34℃,发酵周期36 h左右。由于在发酵过程中产生大量有机酸,pH会不断降低,因此要根据产酸情况适当流加氨水或尿素(既充当氮源,又能调节

pH),并根据发酵的各项参数调整通风量、开闭冷却水等,实验必须连续进行(需要值夜班)。

除了酵母菌、霉菌和细菌外,放线菌也是一类重要的工业微生物。但由于放线菌生长相对较慢,发酵周期较长,又是需氧发酵,在实验室进行中试规模的实验不太现实,因此只在基础实验部分作为重点加以介绍。另外,酶制剂也是一类重要的发酵制品,而且淀粉酶、蛋白酶产生菌株的筛选相对容易,不需要特别的设备,适于普通轻工专业师生选用,因此也在基础发酵实验中作了详细的阐述。

与第1版相比,第2版有以下创新:①基础发酵部分增加了基因工程菌的构建及发酵方面的内容。②综合发酵部分进行了实验的重新修订和编排,删除了一些重复的、不太常用的发酵分析内容,增加了红曲功能成分的分析实验。③为便于教师备课及学生预习和复习,将所有实验内容精心制作成电子课件,连同在教学过程中制作的一些操作视频(书中用  表示),以配套数字课程的形式呈现。

本课程建议96学时。有条件的学校可安排在10 d内完成,三大系列发酵实验穿插进行,在实验的间隙适当安排一些基础发酵实验或是发酵工程基本理论方面的专题讲座。采用常规教学体制的学校也可选取其中的部分实验进行教学,除了谷氨酸发酵外,其他实验都适合于每周一次的实验安排,详细建议请参见相关章节的介绍。

为了提高教学效率,建议将实验安排分时段详细地告诉学生(见“发酵工程实验时间安排表”),让他们按这个时间表进行各项操作。因为发酵工程实验是一个连续的、开放性的大实验,三大发酵同时进行,因此下列几点必须引起学生的注意:

(1) 充分发挥主观能动性 实验2~3人一个小组,8~10人一个大组,根据课程安排表轮流进行。应充分发挥主动性,自觉进行各项操作。

(2) 不要移动实验器材 由于多个实验同时进行,需要比较多的实验器材,不能为了自己的方便,把其他组的器材拖来就用。共用的小型仪器应放于固定的地方,不要随便搬动。

(3) 注意保持清洁卫生 实验在一段时间内为轮班作业,值日学生一定要及时清理垃圾,以免引起发酵污染。

本教材的基础发酵实验和红曲发酵实验由浙江大学的吴根福和高海春共同编写,谷氨酸发酵实验由浙江大学的杨志坚和高海春编写,啤酒发酵实验由吴根福和千岛湖啤酒集团的鲁栋梁编写,全书由吴根福统稿。在教材编写过程中得到了高等教育出版社和浙江大学的大力支持,在此一并致谢。

由于编者水平有限,错误在所难免,恳请同行专家批评指正。

编 者

2012年12月

发酵工程实验时间安排表

时 间	实验内容	对应实验	值日组
第一天	08:30—09:00 总体介绍	绪论	1
	09:00—17:00 啤酒发酵介绍,协定法糖化试验,酵母培养基配制,灭菌	啤酒发酵概述、实验 3-1	
	17:00—17:30 红曲发酵之浸米	实验 4-5	
第二天	08:30—09:15 啤酒酵母菌种扩大(一级菌种扩大):斜面 →50 mL 三角瓶,25 ℃ 培养,每隔 2 h 摇动一次	实验 3-5	2
	09:15—12:00 谷氨酸、红曲发酵介绍	谷氨酸发酵概述、红曲发酵概述	
	13:30—17:00 谷氨酸发酵之一、二级菌种培养基配制,灭菌 红曲发酵之豆芽汁培养基的配制,灭菌 红曲发酵之固体培养基配制(蒸饭、冷却)	实验 2-1、实验 4-4、实验 4-5	
	17:00—17:30 啤酒发酵之二级菌种扩大:500 mL 三角瓶,15 ~ 20 ℃ 培养(若接种量小,可延至第三天上午 8:30 接种)	实验 3-5	
	17:00—17:30 将红曲液体种子接至固体培养基中 谷氨酸一级种子接种	实验 2-1、实验 4-5	
	08:30—17:00 啤酒发酵之麦芽粉碎、麦芽汁制备、煮沸、冷却	实验 3-7、实验 3-8	
	09:30—17:30 谷氨酸发酵之发酵管道熟悉,发酵罐的空消	实验 2-2	
第三天	从第三天至第七天,每天观察红曲的发酵情况,作好记录;根据发酵料的干湿情况,每天适量喷洒醋酸溶液或无菌水	实验 4-5	3
	17:00—17:30 将啤酒酵母菌种接入发酵罐(若温度高,可推迟至第四天上午) 谷氨酸发酵二级种子的接种	实验 2-1、实验 3-9	

时 间	实验内容	对应实验	值日组
第四天 08:30—14:30	谷氨酸发酵之发酵培养基的配制、实消、并种、上罐	实验 2-3	4、5
08:45—17:30	麦芽汁及啤酒发酵液的分析(各组轮流进行)	实验 3-(相关实验)	
14:30—24:00	谷氨酸发酵之过程控制(各组轮流值班)	实验 2-4	
	红曲发酵的观察,补水	实验 4-5	
第五天 00:00—22:30	谷氨酸发酵之过程控制(各组轮流值班)	实验 2-4、实验 2-5、实验 2-6	6、7
08:30—17:30	啤酒发酵液的分析(每组每天各分析一个项目)	实验 3-(相关实验)	
	红曲发酵的观察,补水	实验 4-5	
第六天 08:30—17:30	谷氨酸等电回收	实验 2-10	8、9
	啤酒发酵分析	实验 3-(相关实验)	
	红曲发酵分析	实验 4-(相关实验)	
第七天 08:30—17:30	谷氨酸的脱色、除杂、中和	实验 2-11	10
	啤酒发酵分析	实验 3-(相关实验)	
	红曲发酵分析	实验 4-(相关实验)	
第八天 08:30—12:30	谷氨酸钠的精制	实验 2-11	全体学生
08:30—16:00	啤酒发酵分析	实验 3-(相关实验)	
	红曲发酵分析	实验 4-(相关实验)	
15:30—16:00	红曲液体培养基(第二天配制)接种,培养(供下一班学生用)	实验 4-4	
15:30—16:00	啤酒的后发酵	实验 3-19	
16:00—17:00	大扫除		
第九天	实验总结,写实验报告,复习迎考		
第十天 08:30—12:30	去工厂参观		
14:00—15:30	考试,上交实验报告		
15:30—17:00	啤酒的品尝,实验总结	实验 3-22	

成绩考评:平时、考试、实验报告各占 1/3。

实验结束后各组整理好自己的物品,值日生请做好值日,保持实验室整洁。

目 录

发酵工程实验时间安排表	I
绪论	1
一、发酵工程的定义	1
二、发酵工程的研究内容	2
三、发酵工程与化学工程的关系	2
四、当今发酵工程研究中的一些主要难题	3
五、发酵工程的发展概况	3
六、发酵工业的特点及其范围	5
七、我国的发酵工业	6
第一部分 基础发酵实验	7
实验 1-1 发酵菌种的自然选育	8
实验 1-2 稀有放线菌的选择性分离	10
实验 1-3 发酵菌株的初筛	15
实验 1-4 工业发酵菌种的复筛	18
实验 1-5 生长抑制物质活性的测定	20
实验 1-6 液化型淀粉酶活力的测定	23
实验 1-7 蛋白酶活力的测定	25
实验 1-8 发酵菌种的诱变选育	29
实验 1-9 发酵菌株的原生质体融合育种	32
实验 1-10 发酵工程菌的构建	35
实验 1-11 发酵菌种的复壮和保藏	38
实验 1-12 生产菌株发酵条件的优化	40
实验 1-13 生长曲线和产物形成曲线的测定	42
实验 1-14 发酵过程中糖的利用	44

实验 1-15	抗生素的分离纯化	46
实验 1-16	淀粉酶的初步纯化	47
实验 1-17	发酵污染的检测	49
实验 1-18	噬菌体的检测	52
实验 1-19	甜酒酿发酵	54
实验 1-20	酸乳的发酵	56
实验 1-21	泡菜的发酵及其观察	59
实验 1-22	工程菌株的发酵及控制	62

第二部分 液态通气搅拌发酵——谷氨酸发酵系列实验 67

I. 系列实验目的 67

II. 谷氨酸发酵概述 67

一、谷氨酸发酵机制	67
二、谷氨酸发酵工艺简介	70
三、淀粉水解糖的制备	70
四、无菌空气的制备	70
五、菌种的扩大培养	72
六、发酵规律	72
七、谷氨酸发酵的工艺控制	73
八、谷氨酸的提取	76
九、味精的制备	77

III. 实验室谷氨酸发酵 79

实验 2-1	谷氨酸发酵菌种的制备	80
实验 2-2	发酵罐的构造及空消	82
实验 2-3	培养基的配制及实罐灭菌	85
实验 2-4	谷氨酸的中糖发酵及控制	87
实验 2-5	发酵过程中还原糖的测定	89
实验 2-6	发酵过程中谷氨酸含量的测定	90
实验 2-7	噬菌体的检测	92
实验 2-8	谷氨酸高糖流加发酵及控制	94
实验 2-9	谷氨酸发酵液的除菌体	95
实验 2-10	谷氨酸的等电回收	96
实验 2-11	谷氨酸钠的精制	99
实验 2-12	谷氨酸的离子交换回收	100

实验 2-13 谷氨酸钠质量控制及分析	102
第三部分 液态静置发酵——啤酒发酵系列实验	104
I. 系列实验目的	104
II. 啤酒发酵概述	104
一、啤酒发酵生理学	105
二、啤酒发酵的原料	106
三、麦汁制造	107
四、啤酒酵母的扩大培养	110
五、啤酒发酵工艺	111
六、啤酒过滤和包装	113
七、清洗	113
III. 实验室啤酒发酵	114
实验 3-1 协定法糖化试验 ●	115
实验 3-2 啤酒酵母的纯种分离	118
实验 3-3 啤酒酵母的计数	119
实验 3-4 啤酒酵母的质量检查	121
实验 3-5 啤酒酵母的扩大培养 ●	123
实验 3-6 小型啤酒酿造设备介绍及发酵罐的消毒	125
实验 3-7 麦汁的制备	126
实验 3-8 糖度的测定	129
实验 3-9 啤酒主发酵 ●	132
实验 3-10 总还原糖含量的测定(斐林试剂法) ●	134
实验 3-11 α -氨基氮含量的测定 ●	137
实验 3-12 酸度和 pH 的测定 ●	138
实验 3-13 浸出物浓度的测定 ●	140
实验 3-14 酒精度的测定及原麦汁浓度的计算 ●	143
实验 3-15 双乙酰含量的测定	147
实验 3-16 色度的测定	149
实验 3-17 苦味质含量的测定	151
实验 3-18 二氧化碳含量的测定	153
实验 3-19 后发酵	154
实验 3-20 啤酒的卫生学指标检测(一)——发酵液中细菌总数的检测	155

实验 3-21 啤酒的卫生学指标检测(二)——大肠菌群的检测	156
实验 3-22 啤酒质量品评	158
实验 3-23 固定化啤酒发酵	163
第四部分 固态发酵——红曲发酵系列实验	166
I. 系列实验目的	166
II. 红曲霉固态发酵概述	166
一、红曲霉的形态与分类	166
二、培养条件对菌体生长及红色素形成的影响	167
三、红曲霉产生的代谢产物	168
四、红曲的制作	169
五、红曲霉及其代谢产物在食品和医药上的应用	169
III. 实验室红曲固态发酵	170
实验 4-1 红曲霉的分离纯化	173
实验 4-2 红曲霉细胞形态的观察	174
实验 4-3 红曲霉菌种扩大培养	176
实验 4-4 红曲液体菌种的制备	177
实验 4-5 红曲霉浅盘固体培养 ●	178
实验 4-6 红曲霉厚层固体通风培养	181
实验 4-7 红曲代谢产物的浓缩	182
实验 4-8 红曲色素的分离纯化	184
实验 4-9 红曲米色价的测定 ●	186
实验 4-10 红曲组分抗氧化能力的定性测定	187
实验 4-11 红曲粗提物的自由基清除活性测定 ●	188
实验 4-12 胆固醇合成抑制物高产红曲霉菌株的筛选	189
实验 4-13 红曲提取物的过氧化物酶活力测定	191
实验 4-14 红曲提取物的超氧化物歧化酶活力测定	193
实验 4-15 红曲发酵液中 Monacolin K 含量的测定	196
实验 4-16 红曲霉素的提取及其抑菌能力的测定	197
实验 4-17 红曲淀粉酶活力的测定 ●	198
主要参考文献	200

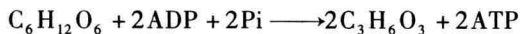
绪 论

一、发酵工程的定义

发酵工程(fermentation engineering)又称微生物工程(microbiological engineering)。要搞清楚什么是发酵工程,首先必须搞清什么是发酵(fermentation)。遗憾的是,目前对发酵这一概念的引用较为混乱。发酵最初是指酵母菌作用于果汁或麦芽汁而产生气泡(foam)的现象,后来生物化学研究者们从生物化学的角度对发酵下定义,微生物学研究工作者从微生物学的角度来考虑这一概念,还有一些工业部门的人员,他们把发酵的概念进行了很大的扩展,甚至将一般的细胞机能都称为发酵。目前,发酵这一概念具有以下三个层次的含义。

1. 生物化学角度

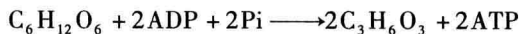
发酵是机体在无氧条件下获得能量的一种方式。如人体在剧烈运动时需要大量的能量,有氧呼吸不能满足需要,因此肌肉在缺氧的条件下将葡萄糖“发酵”为乳酸,同时产生ATP:



在糖发酵分解的过程中,被氧化的基质是有机物质,氧化还原反应中的最终电子受体也是有机物质,并且这种作为最终电子受体的有机物质通常是被氧化基质不完全氧化的中间产物,也就是说,基质在发酵过程中氧化不彻底,发酵的结果仍积累某些有机酸。

2. 微生物学角度

发酵是厌氧微生物或兼性厌氧微生物在无氧条件(或缺氧条件)下将代谢基质不彻底氧化,并大量积累某一(或几)种代谢产物的过程。如细菌的同型乳酸发酵:



从这一定义可见,它与从生物化学角度下的定义基本相同,但强调了两点:

- (1) 发酵的主体是厌氧微生物或兼性厌氧微生物;
- (2) 代谢产物的积累,而生物化学强调的是能量的产生。

3. 工业生产角度

发酵是指利用微生物生产某一有用产物的过程,更有人认为发酵是非寄生菌所展示的旺盛的代谢活动,即其有用性得到发展而旺盛化了的代谢活动。厌氧条件下利用酵母将糖类转化成酒精可称为发酵;有氧条件下将糖类转化为味精或抗生素也称为发酵。单细胞蛋

白(single cell protein,SCP)的制备是为了获得整个菌体而不是某种代谢产物,可以算作发酵;废水处理只是消耗废水中的营养物质,使水质达到一定的排放标准,并非为了得到某一有用的代谢产物,这种旺盛化的代谢活动也可称作发酵。所以从工业角度看,发酵主体除了厌氧微生物和兼性厌氧微生物外,还把好氧微生物包括在内。

发酵工程就是利用微生物的特定性状和功能,通过现代化工程技术来生产有用物质或将微生物直接用于工业化生产的一种技术体系,是建立在微生物发酵工业基础上,与化学工程相结合而发展起来的一门学科。简言之,发酵工程就是研究发酵过程中微生物生命活动的规律及其相关工程技术的一门学科。

二、发酵工程的研究内容

发酵工程的研究内容包括发酵和提纯两部分。

1. 发酵

发酵(在狭义上也被称为发酵工程)包括菌种的特性与选育,培养基的配制、选择及灭菌理论,发酵醪的特性,发酵机制,发酵过程动力学,空气除菌,微生物对氧的吸收与利用,微生物的培养方式及其自动化控制等。

发酵的基本过程包括菌种的扩大培养、培养基的配制及灭菌和发酵过程控制等操作单元(图0-1)。

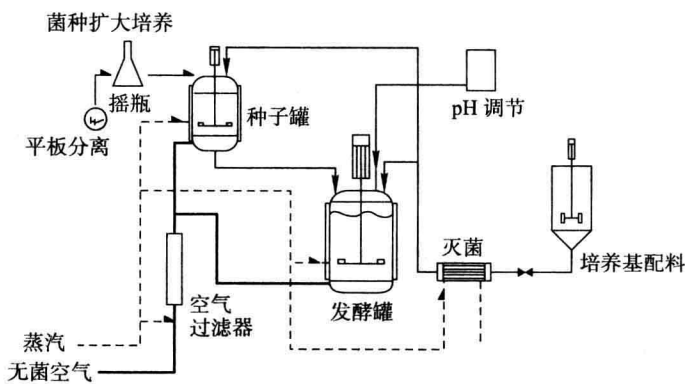


图0-1 发酵基本过程示意图

2. 提纯

提纯(也称后处理)包括细胞破碎、分离、醪液输送、过滤除杂、离子交换电渗析、反渗透、超滤、层析、沉淀分离、溶媒萃取、蒸发、结晶、蒸馏、干燥包装等操作单元及其自动化控制。

三、发酵工程与化学工程的关系

发酵工程借鉴了许多化学工程的成就,但与化学工程也有一些明显的区别,主要表现在如下。

1. 一步生产

微生物的发酵是由一系列极其复杂的生化反应组成的,反应所需的各种酶均包含在微生物细胞内。因此,它“吃的是草”,产出的是“牛奶”。而用化学合成方法,要得到“牛奶”,

则需要许多步骤才能完成。

2. 反应条件温和

微生物的酶反应是在常温常压下进行的。而化学合成则需在剧烈的反应条件,如高温、高压、强酸、强碱以及催化剂的参与下才能进行。

3. 原料纯度要求低

微生物发酵常以农副产品(如薯干、麸皮等)作原料,来源丰富,价格低廉。而化学合成法的原料纯度要求高,较昂贵。

4. 设备通用

微生物发酵多为纯种发酵,好氧发酵一般用搅拌式发酵罐加空气过滤系统,厌氧发酵多用密封式发酵罐。而化学工程所需的设备各种各样,有的耐压,有的耐酸。

5. 对环境的污染相对较小

发酵工业排出的废水中含有较多的富营养物质,生化需氧量(biochemical oxygen demand, BOD)和化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)较高,但一般不含有毒物质。而化学合成法除强酸、强碱等剧烈条件外,常用重金属作催化剂,因此排出的废水毒性较大。

6. 反应液的流体力学性质不同

发酵醪既含固相(如淀粉、微生物菌体)颗粒,又含液相(如培养基)和气相(如氧气、二氧化碳)物质,是一类非牛顿流体,不服从牛顿力学规律,其质量传递、动量传递等特性与化学工程中的牛顿流体有很大的不同。

四、当今发酵工程研究中的一些主要难题

1. 发酵和提纯过程的比拟放大

“实验室研究→中试→生产性试验”这一过程仍是目前新产品开发的必经之路。但通过前两个步骤获得的最佳工艺参数和操作条件,按简单的几何比例放大时往往不能取得理想的效果,究其原因主要是缺乏必要的模型放大理论。对发酵和提纯过程中比拟放大规律的研究是当今发酵工程研究中的难题之一。

2. 自动测控仪器的开发

自动化控制不但可节省劳动成本,提高劳动生产率,而且有助于对发酵机制的了解。目前温度、流量、溶解氧、压力和消泡等的自动化控制已经得到解决,而对产物浓度以及基质浓度的变化等的自动测控尚未得到令人满意的结果。

3. 发酵理论的完善

多年来,由大量生产实践和科学实验总结出的一系列发酵机制、发酵动力学和发酵理论促进了许多生产实际问题的解决,但是在某些方面,如霉菌、放线菌等丝状菌的发酵,还没有完善的理论指导;连续发酵中菌种突变、污染等问题也未完全得到解决。

五、发酵工程的发展概况

发酵工程的发展大致经历了自然发酵期、奠基期和发展期三个阶段,现分别介绍如下。

1. 自然发酵期——只知其然而不知其所以然

我国劳动人民在距今 8 000 ~ 4 500 年前就已发明了制曲酿酒工艺。从龙山文化时期的

陶制酒器,可看出当时酿酒工艺已很发达,谷物酒已成为普遍的饮料了。埃及人也在4 000多年前学会了酿酒技术。制酱和醋的技术在春秋战国时期已被我国劳动人民掌握。

人类利用微生物发酵生产食品的历史虽然悠久,但不知道发酵是由微生物引起的,这一时期是在不自觉地利用自然环境中的微生物进行混合发酵,因此称为自然发酵期。

2. 奠基期——纯培养发酵技术的建立

1676年列文虎克观察到微生物的存在,1857年巴斯德发现发酵是由微生物引起的,而后科赫等又建立了纯培养技术,使得腐败现象大大减少,为发酵工业的发展奠定了基础。从此发酵可在人工控制下进行,使发酵效率大大提高。

3. 发展期——一系列新技术的建立

(1) 通气搅拌发酵工程技术的建立促进了好气性发酵的发展:1929年英国细菌学家弗莱明(Fleming)发现青霉素后,人们对好气性发酵进行了深入的研究,先后发明了摇瓶培养和纤维过滤高效制备无菌空气等方法,并于20世纪40年代建立了通气搅拌发酵工程技术,并用这种技术进行了有机酸、酶制剂、维生素及激素等产品的开发和生产,使得发酵产物由分解代谢产物扩展到合成代谢产物,由初生代谢产物转向次生代谢产物。

(2) 诱变育种与代谢控制发酵工程技术的建立,使产量大幅度提高:随着微生物生理学和遗传学研究的不断进展,促进了代谢控制发酵技术的进步,从而可人为地控制发酵,使代谢朝有利于产品合成的方向进行。自1956年日本最先用发酵法生产谷氨酸获得成功以来,目前用发酵代谢控制技术可生产出绝大部分的氨基酸。

所谓代谢控制发酵工程技术,就是以微生物生理学和微生物遗传学为基础,通过对微生物的诱变,筛选出某种产物大量积累的突变株,再在人工控制的条件下培养,选择性地生产出人们所需产品的一种技术手段。除氨基酸工业外,目前此项技术已应用于核苷酸类物质、有机酸和部分抗生素的发酵生产。

(3) 发酵的连续化、自动化工程技术的建立,使生产效率大大提高:随着数学、动力学、化学工程原理、电子计算机和自动控制等技术在发酵生产中的应用,发酵工业向大型化、连续化、自动化方向发展。新工艺、新设备层出不穷,如日本开发出塔式连续发酵设备,法国开发成功了L-M型单级连续发酵罐。最近设计出的实验型万能发酵罐,不但自动化程度高,而且发酵过程的一些基本参数如温度、pH、罐压、溶解氧(DO)、氧化还原电位、空气流量及CO₂含量等可自动记录并自动控制,大大提高了生产效率。

(4) 生物合成和化学合成相结合,制造出更多有用产品:与化学合成法相比,微生物发酵有许多优点,但也存在一些缺点,如代谢产物的浓度较低,产物分离较困难,生产周期长等。

随着矿物的开发和石油化工的发展,一些低相对分子质量的化合物,如乙醇、丙醇、丁醇等用化学合成法更廉价更方便。因此,某些复杂化合物的生产可采用生物合成与化学合成相结合的办法。常有两种类型:

① 先用化学合成法合成一些廉价的前体,再用发酵法生产产品。如以石油等产品为原料用化学合成法制备乙酸,再以乙酸为原料,通过乙醛酸循环发酵生产柠檬酸、谷氨酸等。

② 先用发酵法生产出半成品,再用化学合成法合成产品。如维生素C的生产可先用发酵法生产山梨糖,再用化学合成法合成维生素C。目前许多新型的抗生素即半合成抗生素