

21 世纪生物科学与工程系列教材

# 微生物工程工艺原理

(第二版)

姚汝华 主编

华南理工大学出版社

·广州·

## 内 容 简 介

本书被轻工总会全国高校发酵工程专业教材委员会评定为全国高校发酵工程专业通用教材。该书将各种工艺学的共性理论按单元操作归纳并组成一个崭新体系,系统地介绍了微生物工程的工艺原理和生产技术。全书共五篇(十六章),主要内容包括微生物工业菌种与培养基、发酵机制、发酵工艺过程的控制、发酵产物的提取与精制、生物工程相关的技术与经济学等。

本书适合于高等院校生物、发酵、食品等专业的师生以及科研、设计部门和生产企业的工程技术人员学习参考使用。

### 图书在版编目(CIP)数据

微生物工程工艺原理/姚汝华主编.—2版.—广州:华南理工大学出版社, 2005.9

(21世纪生物科学与工程系列教材)

ISBN 7-5623-0839-X

I. 微… II. 姚… III. 微生物-生物工程 IV. TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 060630 号

总发行:华南理工大学出版社(广州五山华南理工大学 17 号楼,邮编 510640)

发行部电话:020-87113487 87111048(传真)

E-mail: scut202@scut.edu.cn http://www.scutpress.com.cn

责任编辑:胡元 张颖

印刷者:广东省农垦总局印刷厂

开本:787×1092 1/16 印张:26 字数:649千

版次:2005年9月第2版第11次印刷

印数:23 000—28 000册

定 价:36.00元

版权所有 盗版必究

## 前 言

《微生物工程工艺原理》原是一本供华南理工大学生物化工专业试用,并供从事微生物工业生产的科研人员参考的材料,自1980年使用以来,已有15年,反映较好。编者根据当前这门学科的发展对原材料进行了改编,并被轻工总会全国高校发酵工程专业教材委员会评定为全国高校发酵工程专业通用教材。

本书根据发酵工程专业课程体系改革的精神,将各种工艺学的共性理论按单元操作归纳组成新体系,系统地介绍微生物工程的工艺原理和生产技术。全书共有六篇(二十章),主要内容包括绪论、微生物工业菌种与培养基、发酵机制、发酵工艺过程的控制、工业发酵染菌的防治和灭菌、发酵产物的提取与精制以及与微生物工程相关的技术与经济学等内容。

本书由姚汝华教授主编,云逢霖副教授参与编写。其中第二、第四篇为云逢霖副教授编写,其余各篇、章及绪论由姚汝华教授编写。在改编过程中,编者结合15年来微生物工业的理论和应用的新进展,对原试用教材进行了修改,补充了新内容,力求反映新的进展。

本教材曾经陈连就教授审阅并提供了许多宝贵意见,在此特表示衷心感谢和深切缅怀。

另外,苏正定、梁杰和路福平等同志在协助本书的出版方面做了不少工作,在此也一并致以谢意。

由于编者水平所限,一定存在不足之处,恳切希望读者提出宝贵意见,以便今后进一步修正提高。

编 者

## 再版前言

十几年前在写《微生物工程工艺原理》(第一版)教材时,没想到它在1996年正式出版后能够得到微生物工程相关专业的师生和工程技术人员的普遍接受和认可,随后被轻工总会全国高校发酵工程专业教材委员会评定为全国高校发酵工程专业通用教材。以后历经多次印刷,发行两万余册。

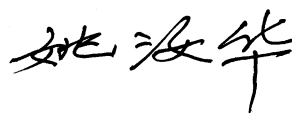
《微生物工程工艺原理》(第二版)由姚汝华教授主编,周世水博士改编。姚汝华教授根据教材应“与时俱进”的精神和科学发展的观点,结合近几年微生物工程工艺的理论发展和微生物工业的应用新进展及其可持续发展,对原版教材进行了重新编写。在改编过程中有针对性地调整了篇章结构及相关章节的内容,删除旧内容,补充大量新内容,将理论与实践相结合,力求能够反映本学科的最新进展,以增强本书的理论性、新颖性和实用性。

本书结合当前学科发展,是华南理工大学微生物工程专业20多年来教学经验的总结,并根据发酵工程专业课程体系改革的精神,将微生物工程工艺学涉及的各种共性理论按单元操作进行分类并归纳成一崭新体系,系统地介绍了微生物工程的工艺原理和生产技术。全书由1996年原版(第一版)的六篇(共二十章)内容改编成为2005年新版(第二版)的五篇(共十六章)内容,主要内容包括微生物工业菌种与培养基、微生物发酵机制、发酵工艺过程的控制、发酵产物的提取与精制和微生物工程相关的技术与经济学等内容。新的篇章安排更突出内容的相关性、条理性和连贯性。

《微生物工程工艺原理》(第二版)的改编主旨是:突出主要内容,以发酵机制、发酵工艺过程的控制、发酵产物的提取与精制三篇为重点篇章和教学核心内容,超过全书篇幅的四分之三。同时,为增强本书内容的系统性,还阐述了菌种的保藏与选育、培养基的制备与灭菌等基本内容。为涵盖相关发展技术及其内容,修订和简化了固定化技术和废水生物法处理等内容;为了提高工程技术人员的经济观念和生产成本观念,重新编写了发酵经济学一章。

云逢霖教授参与了第一版的编写,赵继伦副教授、刘耘副教授在改编过程中提出了宝贵意见,在此表示衷心感谢!

由于编者水平所限,难免存在疏漏和不足之处,恳请读者提出宝贵意见,以便今后进一步修改和提高。



2004年于广州华南理工大学



二、异型乳酸发酵 .....	(56)	第一节 核苷酸的生物合成途径 .....	(98)
第四章 柠檬酸发酵机制 .....	(58)	一、嘌呤核苷酸的全合成途径 ...	(98)
一、柠檬酸生物合成途径 .....	(58)	二、嘌呤核苷酸生物合成系的突变株 .....	(101)
二、柠檬酸生物合成的代谢调节 .....	(59)	三、嘧啶核苷酸的全合成途径 .....	(102)
三、乙醛酸循环和醋酸发酵柠檬酸 ...	(64)	四、核苷酸生物合成的补救途径 .....	(103)
第五章 氨基酸发酵机制 .....	(65)	第二节 嘌呤核苷酸生物合成的	
第一节 氨基酸发酵的代谢调控 .....	(65)	代谢调节机制及育种途径 .....	(104)
第二节 谷氨酸发酵机制 .....	(68)	一、嘌呤核苷酸生物合成的调节机制 .....	(104)
一、谷氨酸生物合成途径及调节		二、细胞膜通透性调节 .....	(106)
机制 .....	(68)	三、嘌呤核苷及核苷酸产生菌的	
二、细胞膜通透性控制 .....	(72)	育种途径 .....	(107)
三、菌种选育模型 .....	(74)	第三节 嘧啶核苷酸生物合成的	
第三节 赖氨酸发酵机制 .....	(77)	调节机制 .....	(111)
一、赖氨酸生物合成途径 .....	(77)	第七章 抗生素的发酵机制 .....	(113)
二、细菌中赖氨酸生物合成的调节		第一节 抗生素的生物合成 .....	(113)
机制 .....	(78)	一、微生物的次级代谢与初级代	
三、酵母和霉菌的赖氨酸生物合成		谢的关系 .....	(113)
途径和调节机制 .....	(80)	二、抗生素的生物合成类型 .....	(115)
四、赖氨酸生产菌的育种途径 ...	(82)	三、几种抗生素的生物合成 .....	(116)
第四节 色氨酸发酵机制 .....	(89)	第二节 抗生素生物合成的调节	
一、色氨酸生物合成途径 .....	(89)	机制 .....	(122)
二、色氨酸生物合成的调节机制 .....	(89)	一、细胞生长期到抗生素产生期	
三、色氨酸生产菌的育种途径 ...	(92)	的过渡 .....	(122)
第五节 亮氨酸发酵机制 .....	(93)	二、酶的诱导作用 .....	(123)
一、亮氨酸生物合成途径 .....	(93)	三、分解代谢产物的调节控制 .....	(123)
二、亮氨酸生物合成的调节机制 .....	(94)	四、磷酸盐的调节 .....	(125)
三、亮氨酸高产菌株的育种途径 .....	(94)	五、 $\text{NH}_4^+$ 的抑制作用 .....	(126)
第六节 精氨酸发酵机制 .....	(95)	六、初级代谢调节对次级代谢的	
一、精氨酸生物合成途径 .....	(95)	作用 .....	(126)
二、精氨酸生物合成的调节机制 .....	(95)	七、次级代谢的反馈抑制 .....	(128)
三、精氨酸生产菌的育种途径 ...	(96)	八、次级代谢的能荷调节 .....	(128)
第六章 核酸类物质的发酵机制 .....	(98)		

<b>第三篇 发酵工艺过程的控制</b>	
<b>第八章 发酵动力学</b> .....	(129)
<b>第一节 微生物生长代谢过程中</b>	
<b>的质量平衡</b> .....	(129)
<b>一、微生物生长代谢过程中的碳平衡</b>	
.....	(129)
<b>二、微生物生长代谢过程中的 ATP 循</b>	
<b>环与氧平衡</b> .....	(133)
<b>三、微生物生长代谢过程中的氮平衡</b>	
.....	(137)
<b>第二节 微生物发酵的动力学</b> ..	(138)
<b>一、分批培养</b> .....	(138)
<b>二、补料分批培养</b> .....	(142)
<b>三、连续培养</b> .....	(144)
<b>第三节 微生物生长代谢过程数</b>	
<b>学模型的建立</b> .....	(149)
<b>一、连续培养时微生物生长的数</b>	
<b>学模型</b> .....	(149)
<b>二、分批培养时微生物生长的数</b>	
<b>学模型</b> .....	(151)
<b>三、谷氨酸发酵的数学模型</b> .....	(153)
<b>四、数学模型与优化控制</b> .....	(156)
<b>第九章 发酵供氧</b> .....	(157)
<b>第一节 微生物需氧和溶解氧的</b>	
<b>控制</b> .....	(157)
<b>一、供氧与微生物呼吸及代谢</b>	
<b>产物的关系</b> .....	(157)
<b>二、微生物的临界氧浓度</b> .....	(158)
<b>三、发酵过程溶解氧的变化</b> .....	(159)
<b>四、溶解氧控制的意义</b> .....	(160)
<b>第二节 传质理论</b> .....	(161)
<b>一、氧的传递途径与传质阻力</b> .....	
.....	(161)
<b>二、气体溶解过程的双膜理论</b> .....	
.....	(163)
<b>三、氧传质方程式</b> .....	(164)
<b>第三节 影响氧传递速率的主要因素</b> ..	
.....	(165)
<b>一、搅拌</b> .....	(165)
<b>二、空气线速度</b> .....	(167)
<b>三、空气分布管</b> .....	(167)
<b>四、氧的分压</b> .....	(168)
<b>五、发酵罐内液柱高度</b> .....	(168)
<b>六、发酵罐体积</b> .....	(168)
<b>七、发酵液的物理性质</b> .....	(169)
<b>第四节 溶氧系数的测定</b> .....	(169)
<b>一、亚硫酸盐氧化法</b> .....	(169)
<b>二、取样极谱法</b> .....	(170)
<b>三、排气法</b> .....	(170)
<b>四、复膜电极测定 <math>K_L\alpha</math> 和氧分析</b>	
<b>仪测定 <math>K_C\alpha</math></b> .....	(171)
<b>五、溶氧系数的换算</b> .....	(172)
<b>第五节 溶解氧的测量和控制</b> ..	(173)
<b>一、溶解氧连续检测的意义</b> .....	(173)
<b>二、溶解氧连续测定在发酵控制</b>	
<b>上的应用</b> .....	(173)
<b>第六节 空气除菌</b> .....	(175)
<b>一、空气中的微生物</b> .....	(175)
<b>二、空气除菌的方法</b> .....	(175)
<b>三、介质过滤除菌</b> .....	(177)
<b>四、空气过滤器</b> .....	(181)
<b>五、空气预处理流程</b> .....	(183)
<b>第十章 发酵过程的控制</b> .....	(186)
<b>第一节 温度控制</b> .....	(187)
<b>一、发酵热</b> .....	(187)
<b>二、发酵热的测定及计算</b> .....	(188)
<b>三、温度对微生物生长的影响</b> .....	
.....	(189)
<b>四、温度对发酵的影响</b> .....	(190)
<b>五、最适温度的控制</b> .....	(191)
<b>第二节 pH 值的控制</b> .....	(191)
<b>一、pH 值对菌体生长和代谢产</b>	
<b>物合成的影响</b> .....	(191)
<b>二、影响 pH 值变化的因素</b> .....	(192)
<b>三、发酵过程 pH 值的调节及控制</b> .....	
.....	(193)
<b>第三节 泡沫的控制</b> .....	(195)

一、泡沫的性质 .....	(195)	一、种子培养和发酵的异常现象 .....	(213)
二、发酵过程泡沫的变化 .....	(195)	二、染菌的检查与判断 .....	(214)
三、化学消泡 .....	(196)	三、发酵染菌率和染菌原因分析 .....	(216)
四、机械消泡 .....	(196)	四、染菌途径及预防 .....	(218)
第四节 补料的控制 .....	(201)	五、染菌的拯救与处理 .....	(222)
一、FBC 的作用 .....	(201)		
二、补料的内容 .....	(202)		
三、补料的原则 .....	(202)		
四、补糖的控制 .....	(202)		
五、补充氮源及无机盐 .....	(203)		
第五节 菌体浓度与基质对发酵的影响 .....	(204)		
一、菌体浓度对发酵的影响 .....	(204)		
二、基质对发酵的影响及其控制 .....	(204)		
第六节 二氧化碳和呼吸商 .....	(206)		
一、CO <sub>2</sub> 对菌体生长和产物合成的影响 .....	(207)		
二、排气中 CO <sub>2</sub> 浓度与发酵的关系 .....	(207)		
三、呼吸商与发酵的关系 .....	(208)		
四、CO <sub>2</sub> 浓度的控制 .....	(208)		
第七节 微生物发酵终点的判断 .....	(209)		
一、经济因素 .....	(209)		
二、产品质量因素 .....	(209)		
三、特殊因素 .....	(209)		
第十一章 工业发酵染菌的防治 .....	(211)		
第一节 工业发酵染菌的危害 .....	(211)		
一、染菌对各种发酵的影响 .....	(211)		
二、不同染菌对发酵的影响 .....	(211)		
三、不同染菌时期对发酵的影响 .....	(212)		
四、染菌程度对发酵的影响 .....	(212)		
五、染菌对产物提取和产品质量的影响 .....	(213)		
第二节 染菌的检查、分析与防治 .....	(213)		
		第四篇 发酵产物的提取与精制	
		第十二章 发酵产物的提取与精制概论 .....	(223)
		第一节 发酵产物的提取与精制概述 .....	(223)
		一、发酵产物的分类 .....	(223)
		二、发酵产物提取与精制的过程 .....	(224)
		三、发酵产物提取与精制的程序 .....	(224)
		第二节 发酵醪的预处理 .....	(225)
		一、发酵醪的一般特征 .....	(225)
		二、发酵醪预处理的要求 .....	(226)
		三、菌体的分离 .....	(227)
		四、不过滤提取 .....	(234)
		五、细胞破碎 .....	(234)
		第十三章 发酵产物的提取与精制方法 .....	(241)
		第一节 萃取 .....	(241)
		一、溶媒萃取法的基本原理 .....	(241)
		二、常用溶媒萃取的工艺 .....	(242)
		三、影响溶媒萃取的主要因素 .....	(245)
		四、溶媒的回收 .....	(248)
		五、新颖的萃取技术 .....	(249)
		第二节 吸附 .....	(254)
		一、吸附的目的及原理 .....	(254)
		二、吸附平衡 .....	(255)
		三、吸附剂的种类 .....	(256)
		四、吸附脱色 .....	(257)
		五、吸附操作工艺 .....	(258)

第三节 离子交换法 .....	(263)	三、吸收浓缩法 .....	(326)
一、离子交换原理 .....	(263)	四、超滤浓缩法 .....	(327)
二、离子交换平衡 .....	(266)	第七节 沉淀法 .....	(328)
三、离子交换剂的结构 .....	(267)	一、沉淀法概述 .....	(328)
四、离子交换剂的分类 .....	(270)	二、等电点法 .....	(329)
五、离子交换树脂的理化性能 .....	(273)	三、盐析法 .....	(331)
六、离子交换树脂的选择性 .....	(275)	四、有机溶剂沉淀法 .....	(333)
七、影响离子交换速度的主要因素 .....	(276)	五、热沉淀 .....	(335)
八、离子交换操作方式 .....	(277)	六、其他沉淀法 .....	(335)
九、离子交换法提取谷氨酸 .....	(278)	第八节 结晶 .....	(336)
第四节 膜分离法 .....	(281)	一、结晶生成的原理 .....	(336)
一、膜分离法的分类及原理 .....	(281)	二、影响结晶生成的因素 .....	(337)
二、膜的种类及特性 .....	(285)	三、重结晶 .....	(339)
三、膜分离设备 .....	(288)	四、结晶器 .....	(341)
四、操作特性 .....	(290)	五、工业发酵中常用的结晶方法 .....	(343)
五、影响膜分离速度的因素 .....	(293)	第九节 干燥 .....	(344)
六、膜分离法在发酵工业中的应用 .....	(294)	一、干燥原理 .....	(344)
七、电渗析分离法 .....	(300)	二、常用的干燥方法及干燥过程 .....	(345)
八、膜的污染与清洗 .....	(302)	三、影响干燥速度的因素 .....	(345)
九、膜生物反应器 .....	(304)	四、工业发酵中常用的干燥过程 .....	(346)
第五节 层析法 .....	(305)	第十节 蒸馏 .....	(356)
一、各种层析法的基本原理及特点 .....	(306)	一、蒸馏原理 .....	(356)
二、凝胶层析法的基本原理 .....	(310)	二、蒸馏方法的分类 .....	(357)
三、凝胶层析法常用凝胶 .....	(312)	三、蒸馏流程选择的依据 .....	(357)
四、凝胶柱的制备及操作技术 .....	(315)	四、工业发酵中的各种蒸馏 .....	(358)
五、影响凝胶层析的因素 .....	(317)	第五篇 微生物工程相关的技术与经济学	
六、防止微生物污染凝胶的方法 .....	(319)	第十四章 固定化技术 .....	(361)
七、凝胶的再生和干燥 .....	(319)	第一节 固定化酶 .....	(361)
八、凝胶层析法在工业发酵中的应用 .....	(320)	一、制备固定化酶的依据 .....	(361)
第六节 浓缩 .....	(321)	二、固定化酶的性质 .....	(361)
一、蒸发浓缩法 .....	(321)	三、固定化酶在发酵工业中的应用 .....	(362)
二、冰冻浓缩法 .....	(326)	第二节 固定化细胞 .....	(363)
		一、制备固定化细胞的依据 .....	(363)
		二、固定化细胞的性质 .....	(364)



# 绪 论

## 一、微生物工程的特征

微生物工程是应用微生物为工业大规模生产服务的一门工程技术,它直接建立在微生物工业基础上,随着微生物工业的发展而迅速发展,并与化学工业的新发展相结合。而微生物工程与化学工程最明显的区别在于,发酵过程是极其复杂的生物化学反应,且与微生物活细胞息息相关,代谢控制发酵技术使微生物工程更具特色。

由于发酵醪包括固相、液相、气相,还含有活细胞或菌丝体,所以,它的流体力学性质不服从牛顿力学规律,属于非牛顿流体。其流体运动规律的研究属于流变学的范畴,这也是化学工程原理研究的新问题,故对发酵醪特性的研究显得更为迫切。例如,发酵醪的粘度参数在发酵、提纯、生产、科研设计等方面的影响广泛,涉及质量传递、热量传递、动量传递等问题,对于发酵醪中氧的溶解、传递,营养成分的扩散,代谢产物的回收、精制,培养基的灭菌以及发酵醪的冷却、输送,连续生产流程的建立等无不发生直接或间接的关系。因此,微生物工程研究的内容包括从投入原料到获得最终产品的整个过程,并分析和解决相应的工艺设备问题,将实验室和中试成果转化到工业生产中。

微生物工程可分为发酵和提纯两部分。发酵部分(称为发酵工程)包括菌种的选育、培养基的优化与灭菌、发酵醪的特性、发酵机理、发酵动力学、空气过滤除菌与气体传递、发酵过程控制与自动化等主要内容。提纯部分(称为后处理)包括细胞分离与破碎、发酵醪的前处理、产品提取与精制(如萃取、层析、离子交换、结晶等单元操作)。

微生物工程与化学工程有相同之处,但微生物工程培养和处理的是活的有机体,因而具有其特殊性。例如,空气除菌、培养基灭菌等都是微生物工程所特有的。微生物工业生产以发酵为主,发酵的好坏是整个生产的关键,而后处理也同样重要,往往有这样的情况,发酵产率很高,但由于后处理不当而大大降低了产物总得率。所以,后处理要采取一些特殊的工艺措施和选用合适的设备来适应菌体与发酵产物的特点。例如,最终发酵醪中的菌体、残糖、蛋白质等物质使发酵醪过滤分离困难,这时就要采取调节 pH 值、适当加热使杂质凝聚、加助滤剂等特殊工艺措施。再如,对热敏性物质(如酶类),当加热到一定温度后,短时间内就会发生钝化或失活,所以在进行蒸发、干燥等加热操作时要避免过热或添加保护剂。总之,微生物工程是既有应用化学工程有关理论又有单元操作并具有独特特点的一门学科。

发酵和产品提纯过程的比拟放大,是微生物工程亟待解决的问题。不少实验室对研究结果进行扩大试验时,不能取得类似数据,甚至相差很大,其原因是忽视了模型放大的理论。从实验室小型试验到中型试验、再到大规模生产的过程仍是目前新产品投入生产的必经之路。由于放大方法不是简单地按几何比例放大,而是在一定理论上进行的,所以加强比拟放大的模型理论研究,不仅在扩大实验中能够取得预期的效果,而且还能简化扩大实验过程。

采用发酵工艺过程控制技术不但可以节省劳动力、提高原料利用率与产物得率、改善管

理,而且随着自动控制技术的发展,能够用自动仪表跟踪并记录发酵全过程,这对于了解发酵机制有极大的帮助。其中,温度、pH 值、溶解氧、压力、流量、消泡等基本参数的测量与控制已先后获得解决,目前正在研究细胞对氧的摄取、二氧化碳的溶解以及基质浓度变化等测控仪器。这些测控仪器的应用使发酵工艺过程控制更加精确、可靠。

微生物工程是在生产实践和科学实验的基础上,不断积累经验,然后总结归纳而上升为理论的,再用这些理论进一步指导生产,从而不断地推动发酵工业的发展。近年来的大量生产实践和科学实验总结所得出的发酵机制、发酵动力学、连续发酵等理论,解决了微生物工业生产中的许多实际问题。但目前的一些经验还不足以总结归纳成理论,因而生产中出现的某些实际问题尚无完善的理论指导去很好地解决。例如,丝状菌(霉菌、放线菌)的发酵由于没有相应理论指导,在实践中还没有令人满意的设计和放大方法。又如,连续发酵的理论虽然研究得很多,但实际生产中存在的许多问题目前仍未解决,如菌种的突变、试验工艺条件的局限等问题,除酵母、酒精、丙酮、丁醇、葡萄糖酸的发酵生产和活性污泥的处理采用连续发酵外,大规模生产应用还比较少。

总之,微生物工程领域还有很多理论问题和实际生产问题尚未解决,有待今后的深入研究和探索。

## 二、微生物工程发展史

为了更好地了解微生物工程的现状与未来,有必要从微生物工程的发展史,以及与微生物学、生物化学、化学工程、发酵工程和微生物工业的关系来认识其发展的各个阶段。

### 1. 自然发酵时期

早在数千年前,我国劳动人民就懂得酿酒、制酱油、酿醋等。酿酒工业是历史上最古老的微生物工业,但当时人们并不知道它与微生物的关系,也不清楚发酵的原因,只是靠口传身授,在实践中应用微生物。例如,嫌气性发酵用于酒类酿造,好气性发酵用于酿醋、制曲,这是古典发酵的特点,这一时期称为自然发酵时期。

### 2. 纯培养技术时期

1667 年,荷兰人列文霍克(Antony Van Leowen hoek)发明了显微镜,揭开了微生物世界的秘密。随着微生物的发现,1850—1880 年法国巴斯德(Louis Pasteur)通过实验发现了发酵原理,认识到发酵是由微生物的活动引起的。随着微生物纯培养技术的逐步完善,开创了人为控制微生物的新时代。采用杀菌操作,发明了简便的密闭式发酵罐等技术设备,使发酵失败现象(如腐败)大大减少,即人工控制环境条件使发酵效率迅速提高。嫌气性发酵由此逐步发展起来,产品包括酒精、丙酮、丁醇等。在世界范围内利用微生物分解代谢进行规模化工业生产经历了 100 多年的历史。因此,微生物纯培养技术的创立是微生物工程发酵技术发展的第一个转折时期。

### 3. 通气搅拌的好气性发酵工程技术时期

1929 年,英国细菌学家傅莱明(Fleming)发现了青霉素。随着青霉素大规模生产的成功,实验室采用摇瓶通风培养以及空气纤维过滤的高效除菌,在 20 世纪 40 年代创立了好气性发酵通气搅拌工程技术。抗生素工业的兴起不仅使微生物技术应用到医药工业,而且大大促进了好气性发酵工程和微生物工业的发展。微生物工程已经从分解代谢转为生物合成代谢,可以利用微生物合成积累大量有用的代谢产物,如各种有机酸、酶制剂、维生素、激素

等,这已超越微生物正常代谢的范围。因此,通气搅拌的好气性发酵工程技术的创立是生物工程发酵技术发展的第二个转折时期。

#### 4. 人工诱变育种与代谢控制发酵工程技术时期

随着微生物遗传学、生物化学和分子生物学的发展,促进了 20 世纪 60 年代氨基酸、核苷酸微生物工业的建立,这是遗传水平上控制微生物代谢的结果。日本于 1956 年用发酵法生产谷氨酸获得成功,至今可用发酵法生产 22 种氨基酸,其中 18 种是直接发酵,4 种是酶法转化。氨基酸发酵工业采用了人工诱变育种与代谢控制发酵的新技术,即首先将微生物进行人工诱变,得到适合生产某种产物的突变株,然后通过人工控制培养,选择性地大量生产人们所需要的物质。此项工程技术已用于核苷酸类物质、有机酸和一部分抗生素的发酵生产。因此,代谢控制发酵工程技术的创立是生物工程发酵技术发展的第三个转折时期。

#### 5. 发酵动力学和连续化、自动化发酵工程技术时期

随着微生物工业向大型发酵罐的连续化、自动化方向发展,以数学、动力学、化工原理等为基础,通过计算机实现发酵过程自动化控制的研究,使发酵过程的工艺控制更为合理,相应的新工艺、新设备也层出不穷。例如,日本的塔式连续发酵设备适用于各种连续通风发酵。法国 L-M 型单级连续发酵槽用于酵母菌连续培养,其结构简单而效率却相当高。世界上最新设计的实验型万能发酵罐适于任何发酵生产,可同时记录 24 个物理、化学和生物化学数据。目前,发酵过程的基本参数,包括温度、pH 值、罐压、溶解氧、氧化还原电位、通气流量、CO<sub>2</sub> 含量等均可自动记录和控制。可见,发酵的连续化、自动化工程技术的创立是生物工程发酵技术发展的第四个转折时期。

#### 6. 微生物酶反应合成与化学合成相结合工程技术时期

随着微生物合成工程技术与化学合成工程技术的不断应用,矿产物的开发和石油化工的发展为化学合成法提供了丰富的原料,用于生产一些低分子的有机化合物,如乙醇、丙酮及丁醇等,美国工业应用化学合成法可以生产 100 多种发酵产品,如大部分的酒精、丙酮、丁醇等,部分的葡萄糖酸、谷氨酸、乳酸等。对于那些用化学合成法不能生产的一些复杂化合物,采用微生物发酵合成法可以在常温、常压下一步完成,特别是可以直接生产一些具有立体特异性的化合物,且生产设备投资较少。但发酵法也存在目的代谢产物浓度较低、分离较困难、生产周期较长等不利因素。

而微生物酶反应生物合成与化学合成工程技术的结合,可生产许多过去不能生产的有用物质。例如,抗生素的化学结构改造是获得新的高效抗生素的重要来源,而维生素 C 是最早成功的例子,即先利用微生物将山梨糖醇发酵转变为山梨糖,再通过化学合成法生产维生素 C。或者先用化学合成法生产廉价的前体,再用发酵法生产出贵重产品。目前,采用此项新技术可大规模生产多种物质,如激素、核苷酸、新抗生素(如半合成头孢霉素、卡那霉素、氯霉素等)、某些氨基酸(如 L-酪氨酸、L-色氨酸、L-赖氨酸等)等,随着研究的深入将能生产更多有用的物质。因此,微生物酶反应合成与化学合成相结合工程技术的创立是生物工程发酵技术发展的第五个转折时期。

### 三、微生物工业的范围

微生物工业已经深入到国民经济的各个部门,其产品大致可分为 15 类:

(1) 酿酒工业,如啤酒、白酒、葡萄酒、黄酒等;

- (2)食品工业,如酱、酱油、食醋、酸奶、面包等;
- (3)有机溶剂发酵工业,如酒精、丙酮、甘油、丁醇等;
- (4)抗生素发酵工业,如青霉素、链霉素、红霉素、土霉素等;
- (5)有机酸发酵工业,如柠檬酸、葡萄糖酸、苹果酸等;
- (6)酶制剂发酵工业,如淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶等;
- (7)氨基酸发酵工业,如谷氨酸、赖氨酸、亮氨酸等;
- (8)维生素发酵工业,如维生素 B<sub>2</sub>、维生素 B<sub>12</sub> 等;
- (9)核苷酸类物质发酵工业,如肌苷酸、肌苷等;
- (10)生理活性物质发酵工业,如激素、赤霉素等;
- (11)名贵医药产品发酵工业,如干扰素、白介素等;
- (12)微生物菌体蛋白发酵工业,如酵母、单细胞蛋白等;
- (13)微生物环境净化工业,如微生物处理废水、污水等;
- (14)微生物冶金工业,如利用微生物探矿、冶金、石油脱硫等;
- (15)生物能源工业,如纤维素、沼气等天然原料发酵生产酒精、乙烯等。

#### 四、国内外微生物工业概况及其发展趋势

微生物工业有着悠久的历史,在人民生活与国民经济中发挥着越来越重要的作用。在各国,以美国微生物工业的规模最大、产值最高,目前大规模生产的发酵产品已有 100 多种。日本的微生物工业在近几十年也取得较大发展,特别是在微生物发酵技术的某些领域(如氨基酸、核酸发酵)居领先地位。

解放后,我国微生物发酵工业发展迅速,对传统发酵产品的生产技术进行了科学的总结、革新工艺、研究新型发酵设备,不断提高产品质量。在全国范围内先后兴建了许多新型发酵企业 and 专业研究机构,各高等院校也先后开设了发酵工程专业,培养出大批专业工程技术人才,从事酒精、抗生素、有机酸、氨基酸、酶制剂、激素、维生素、核苷酸发酵等方面的研究与生产。我国微生物工业已经迅速发展成为一门新兴工业,但由于起步晚、基础薄弱、条件较差,与世界先进国家相比还存在一定差距。

从微生物工业发展趋势可以看出,近代微生物工业有以下几个特点:

(1)近代微生物工业已由糖分解生产简单化合物阶段转入复杂化合物的生物合成阶段,从自然发酵转为人工控制的突变型发酵、代谢控制发酵、遗传因子的人工支配发酵。这意味着新的发酵开发工艺将从过去的尝试技术阶段转移到有理论根据的科学阶段,强调发酵中研究代谢控制机理应用和微生物工程技术的重要性。

(2)近代微生物工业的发展,使越来越多的化学合成产品全部或部分转为微生物发酵生产,特别是微生物酶反应合成和化学合成相结合工程技术的创立,使发酵产物通过化学修饰及化学结构改造生产更多精细的有用物质。

(3)近代微生物工业向大型发酵罐和连续化、自动化方向发展。发酵工厂已发展成为规模庞大的现代化企业,常用 20~120t 甚至用 500t 的发酵罐进行自动化生产。

(4)近代微生物工业由于人工诱变育种和代谢控制的广泛应用,使微生物得到进一步开发利用,开发的新产品、新用途层出不穷。

(5)随着近代微生物工业发展规模的日益扩大,面临自然资源匮乏问题,迫切需要开辟

原料新来源,利用纤维素、石油甚至空气等资源代粮发酵生产各种产品取得了成功。

(6)近几十年来基因工程取得飞速发展,出现了许多“工程菌”,发酵生产出一些临床上紧俏药品,如人胰岛素、干扰素、白介素、促红细胞生长素、肿瘤坏死因子等几十种产品,并由此建立起技术密集型的新兴生物技术产业。

最近,国外利用纤维废料作为微生物工业的主要原料逐渐引起人们的重视。随着对纤维素水解研究的深入,人们发现取之不尽的纤维素资源代粮发酵生产各种产品和能源物质具有现实意义,且用纤维废料发酵生产酒精、乙烯等能源物质已取得成功。发酵原料的改变正推动着微生物工业的迅速发展,并对解决环境污染问题具有重要意义。

微生物工业除利用纤维素、石油等资源外,长远的设想是用碳酸气、空气中的氧以及添加适量氮源、无机盐来制造微生物菌体蛋白。目前,美国、日本正从事此项研究,并在实验室取得初步成果。还有研究指出,有些细菌可以固定大气中的氮、碳酸气、空气等来生成蛋白质。这些研究对于开辟人类未来粮食新来源有重大意义。

上述发展趋势说明,微生物工业有着广阔的发展前景,是富有生命力的既古老而又年轻的工业。

## 五、“微生物工程工艺原理”的课程任务与内容

“微生物工程工艺原理”是微生物工程专业必修的一门专业课程,它是从微生物工程的范畴出发来阐明嫌气性发酵和好气性发酵的有关发酵过程、发酵机制、产物提纯等工艺原理的课程。学习“微生物工程工艺原理”的课程任务是使学生在微生物学、生物化学、物理化学、化工原理和生化技术等课程基础上,进一步深入理解有关嫌气发酵和好气发酵的工艺原理,懂得应用这些基本理论去分析和解决微生物工业生产中的具体问题。同时,使学生初步具备选育优良菌种,调节代谢途径,合理控制发酵条件,增加前体或抑制物,使生产过程连续化、自动化,探求新工艺、新设备以及从事微生物工程研究与设计的能力。

微生物工业生产中发酵的好坏是整个生产的关键。所以,“微生物工程工艺原理”课程内容也侧重于发酵机理和代谢控制等相关理论的论述。本书的研究对象包括从原料投入到获得最终产品的整个过程,即包括菌种的特性与保藏、培养基的特性与选择、发酵工艺的控制、产品分离与提纯工艺的控制等内容,同时在工艺原理部分增加了工程技术和单元操作的内容。分批发酵与连续发酵动力学、氧传递理论、空气净化理论、灭菌理论、发酵产物分离纯化原理以及各单元操作等内容在本书中均占相当篇幅。在学习方法上,要求学生结合生产实际掌握发酵工艺原理,包括工艺原理中的共同规律及各自的特异性,同时还要加强工程技术和单元操作方面的学习和训练。只有这样才能达到举一反三的目的,才能理论联系实际去分析和解决有关微生物工程中的具体问题,才能进一步提高科学研究与工程设计方面的能力。

# 第一篇 微生物工业菌种与培养基

## 第一章 菌种与种子扩大培养

菌种是微生物工业实现从原料到目的产物过程的关键,它直接决定着生产效率、产品成本 and 产品质量,可以认为菌种是微生物工业的生命。因此,对菌种的选育、改良、保藏和防止退化等是企业能否连续、稳定生产的前提,而对种子的方便、高效、无污染的扩大培养则是生产过程的必需环节,是规模化生产的基本保障。所以,微生物工程工艺首先强调在微生物学基础上掌握工业菌种的保藏、菌种退化的检测与防止以及菌种扩大培养等基本内容。

### 第一节 微生物工业用菌种

#### 一、微生物工业对菌种的要求

微生物广泛分布于土壤、水和空气等自然界中,资源非常丰富。目前认为,人类研究的微生物不足总数的10%。从自然界中分离出来的菌株有的可直接利用,有的则需要进行人工诱变,得到的突变体才能被利用。特别是随着育种新技术的更新,不断满足新产品和原料转换对新菌种的需求。作为大规模生产的微生物工业用菌种,应尽可能满足下列要求:

- (1)菌种能在廉价原料制成的培养基上迅速生长和大量合成目的产物。
- (2)菌种能在要求不高、易控制的培养条件(糖浓度、温度、pH值、溶解氧、渗透压等)下迅速生长和发酵,以缩短发酵周期。在天气炎热地区应选择耐高温菌种。
- (3)根据代谢调控要求选择高产菌株,如营养缺陷型菌株或调节突变型菌株。
- (4)菌种抗噬菌体能力强,以防止感染噬菌体而造成“倒罐”现象的发生。
- (5)菌种纯粹,不易退化,可保证发酵生产和产品质量的稳定性。
- (6)菌种不是病原菌,不产生任何有害的物质和毒素,以保证产品的安全。

#### 二、工业上常用的微生物

微生物在食品、药品、水产、化工、纺织、石油、国防等工业上用途很广。目前,微生物代谢产物的开发应用越来越多,已大规模工业化生产的有上百种,仅酶制剂工业就有四五十种。可见,微生物工业开发应用的潜力巨大。现介绍工业上常用的微生物,如表1-1所示。

表 1-1 工业上常用的微生物

微生物类别	微生物名称	产物	用途
细菌	短杆菌	味精 谷氨酸	食用、医药
	枯草杆菌	淀粉酶	酒精浓醪发酵、啤酒酿造、葡萄糖制造、糊精制造、糖浆制造、纺织品退浆、铜版纸加工、洗衣业、香料加工(除去淀粉)
	枯草杆菌	蛋白酶	皮革脱毛柔化、胶卷回收银、丝绸脱胶、酱油速酿、水解蛋白、饲料、明胶制造、洗衣业
	梭状杆菌	丙酮 丁醇	工业有机溶剂
	巨大芽孢杆菌	葡萄糖 异构酶	由葡萄糖制造果糖
	大肠杆菌	酰胺酶	制造新型青霉素
	短杆菌	肌苷酸	医药、食用
	节杆菌	强的松	医药
	蜡状芽孢杆菌	青霉素酶	青霉素的检定、抵抗青霉素敏感症
酵母菌	酒精酵母	酒精	工业、医药
	酵母	甘油	医药、军工
	假丝酵母	石油及蛋白	制造低凝固点石油及酵母菌体蛋白等
	假丝酵母	环烷酸	工业
	啤酒酵母	细胞色素	医药
	啤酒酵母	辅酶甲	医药
	啤酒酵母	酵母片	医药
	啤酒酵母	凝血质	医药
	类酵母	脂肪酶	医药、纺织脱蜡、洗衣业
	阿氏假囊酵母	核黄素	医药
脆壁酵母	乳糖酶	食品工业	
霉菌	黑曲霉	柠檬酸	工业、食用、医药
	黑曲霉	柚甙酶	柑橘罐头脱除苦味
	黑曲霉	酸性蛋白酶	啤酒防浊剂、消化剂、饲料
	黑曲霉	单宁酶	分解单宁、制造没食子酸、酶的精制
	黑曲霉	糖化酶	酒精发酵工业
	栖土曲霉	蛋白酶	用途与枯草杆菌蛋白酶同
	根霉	根霉 糖化酶	葡萄糖制造、酒精厂糖化用
根霉	甾体激素	医药	