第一章　绪论

1、微生物工程：是利用微生物的特定性状和功能，通过现代化工程技术生产有用物质或直接应用于工业化生产的技术体系；是将传统发酵与现代 DNA重组、细胞融合、分子修饰和改造等新技术结合并发展起来的现代发酵技术。

2、生物反应过程（亦称为生化反应过程）

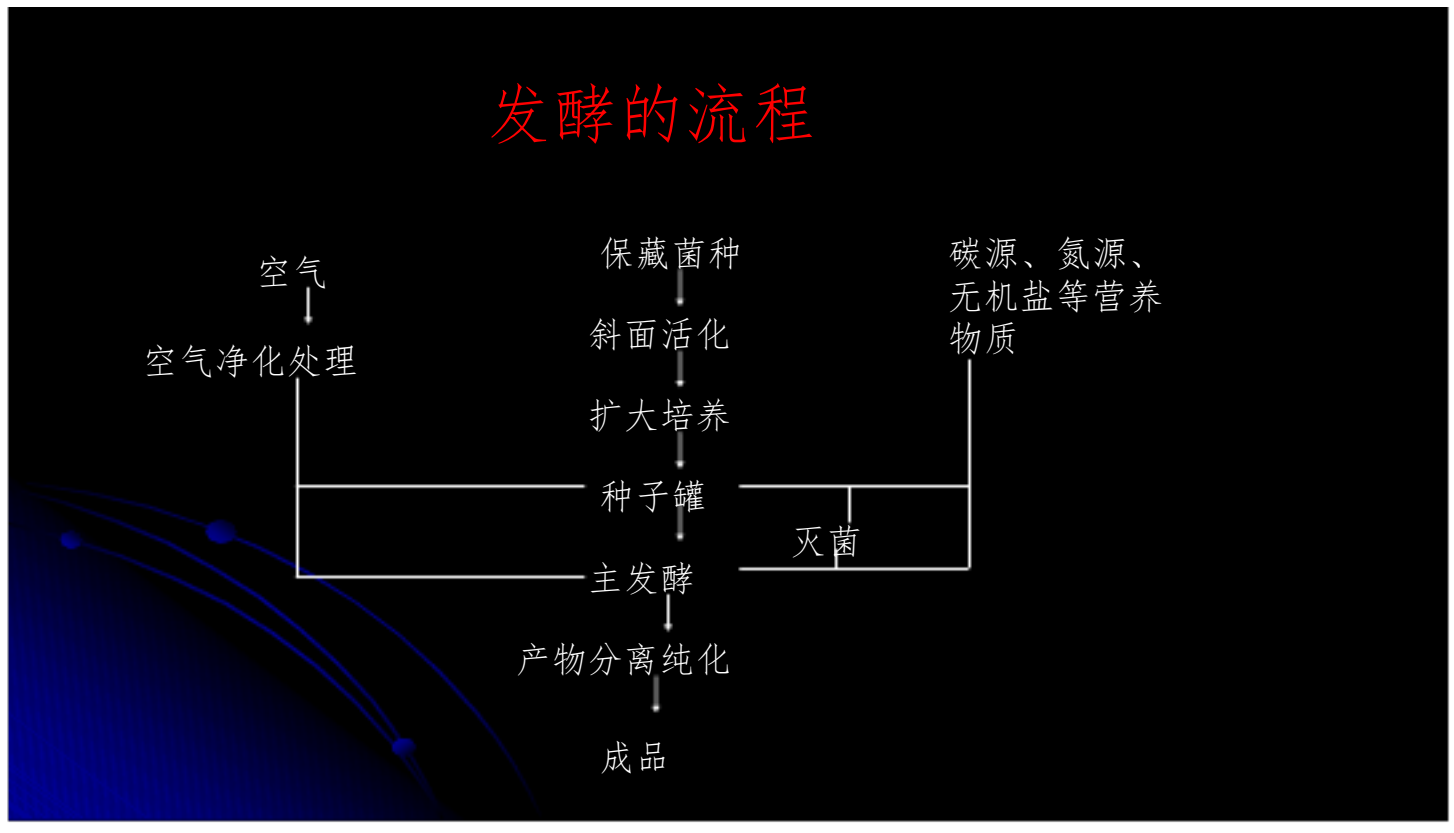
微生物工程由于涉及到生物催化剂，因而与化学反应有关。由于生物技术的最终目标是建立工业生产过程为社会服务，因而该生产过程可称为生物反应过程

3、生物反应器：进行工业发酵的容器称为发酵罐，也可叫做生物反应器。

4、微生物工程下游加工

某些发酵产物具有潜在的经济和社会效益，这些产物经发酵后的处理，通称下游加工或后处理

5、试述发酵的基本流程。



6、举例说明微生物工程主要应用于哪些方面?

1）在食品工业的应用（占微生物工程的首位）

食品加工：单细胞蛋白（酵母、真菌等）

含醇饮料：葡萄酒、黄酒、白酒、啤酒、白兰地、威士忌

发酵乳制品：奶酪、酸奶

调味品：味精、肌苷酸、酱油、醋等

2）在医药卫生中的应用

抗生素：12 000 余种，青霉素、金霉素、四环素、链霉素、庆大霉素、卡那霉素、新霉素、螺旋霉素、头孢霉素等

氨基酸：可发酵生产的有谷、赖、丙、组、异亮、亮、苯丙、脯、苏、色、酪、缬、瓜、鸟氨酸（国内 40 亿元，占发酵业产值 12%）

维生素：VB2、VB12、Vc、VA、VD等

生物制品：亚单位疫苗、重组疫苗、DNA疫苗等

酶抑制剂：棒酸（可抑制β-内酰胺酶对青霉素的破坏）；α-淀粉酶的抑制剂可治疗糖尿病；胆固醇抑制剂可治疗高血压高血脂

3）在轻工业中的应用

糖酶：α-淀粉酶、β-淀粉酶、异淀粉酶、木聚糖酶、葡萄糖异构酶、半乳糖酶、纤维素酶等

蛋白酶：碱性蛋白酶（洗涤剂、皮革鞣化、啤酒去浊）

酸性蛋白酶（饮料、制蛋白水解物）

中性蛋白酶（皮革脱毛、蚕丝脱胶、蛋白胨制备）

果胶酶：果汁果酒澄清、苎麻脱胶

脂肪酶：分解脂肪为脂肪酸和甘油

凝乳酶：制干酪、氨基酰化酶、甘露聚糖酶等

4）在化工能源中的应用

醇及溶剂：乙醇、甘油、异丙醇、丙酮、丁醇、丁二醇等

有机酸：醋酸、丙酸、乳酸、琥珀酸、苹果酸、衣康酸、水杨酸等

多糖：黄原胶、海藻糖等

清洁能源：氢气、微生物燃料电池等

5）在农业中的应用

生物农药：杀虫剂（Bt、白僵菌、病毒、微孢子虫）

防治植物病害（假单孢菌、木霉、弱病毒、庆丰霉素）

生物除草剂：利用杂草的病原微生物

生物增产剂：根瘤菌、蓝细菌、钾细菌、磷细菌等

6）在环境保护中的作用：污水处理（厌气法、好气法）

7）在高技术领域中的应用：基因工程的各种工具酶等

7、微生物工程基本上可分为哪两部分?

微生物工程基本上可分为发酵和提取两部分

发酵部分也称发酵工程，是微生物反应过程；提取部分也称后处理，或下游加工技术

8、发酵与发酵工程的概念?

1）发酵：指的是任何大规模工业生产过程，不管微生物代谢有或没有外源最终电子受体的情况下发生的氧化作用。

2）发酵工程：是指采用现代工程技术手段，利用微生物的某些特定功能，为人类生产有用的产品，或直接把微生物应用于工业生产过程的一种新技术。或发酵工程是指在最适发酵条件下，发酵罐中大量培养细胞和生产代谢产物的技

术。

9、核心内容是什么？（发酵）

微生物工程主要内容：生产菌种的选育；发酵条件的优化与控制；反应器的设计及产物的分离；提取与精制等

第二章　微生物工程菌种

1、富集培养：指从微生物混合群开始,对特定种的数量比例不断增高而引向纯培养的一种培养方法。

2、微生物工程的工业生产水平由哪些因素决定？

1）生产菌种的性能，生产菌种的性能是最重要的因素；

2）发酵及提纯的工艺条件；

3）以及生产设备。

3、在发酵工业中的主要微生物类群有哪些？

一、细菌：1）大肠杆；2）枯草芽孢杆菌；3）乳酸杆菌；4）丙酮丁醇梭菌

5）肠膜状明串珠菌；6）醋酸菌；7）棒状杆菌；8）短杆菌；9）黄单胞菌

10）假单胞菌

二、放线菌：1）链霉菌属；2）小单胞菌属；3）游动放线菌属；4）诺卡氏菌属

5）孢囊链霉菌属

三、酵母菌：1）啤酒酵母；2）葡萄汁酵母；3）汉逊酵母；4）球拟酵母；5）假丝酵母

6）红酵母；7）棉病针孢酵母；8）毕赤氏酵母

四、霉菌：1）根霉：米根霉、华根霉

2）毛霉：鲁氏毛霉；总状毛霉

3）曲霉：米曲霉；黑曲霉

4）青霉：产黄青霉，娄地青霉，展开青霉。桔青霉

5）白地霉

五、产黄头孢霉：头孢霉素、先锋霉素

4、工业微生物分离筛选的主要步骤?

样品采集；增殖培养；纯种分离；生产性能测定

5、工业微生物菌种选育的方法有哪些？

自然选育；诱变育种；杂交育种　(有性、准性)；原生质体融合育种；基因工程育种

6、请写出纤维素产生菌的筛选过程？

用含 0.2%纤维素为唯一碳源的培养基平板，对含微生物样品进行分离，待菌落长成后，加入 0.2%刚果红溶液染色 4h，具有分解纤维素能力的菌落周围便会出现绛红色水解圈。

7、发酵工业对于工业用微生物菌种有哪些要求？

1）可以在易于控制的培养条件下迅速生长和发酵，且所需酶活力高，较短的发酵过程中

高产有价值的发酵产品。

2）菌种的发酵培养基应价廉，来源充足，被转化为产品的效率高。

3）菌种不是病原菌，不产生有害的生物活性物质和毒素，以保证安全。

4）菌种发酵后，所产不需要的代谢产物少，而且产品相对容易地与不需要的物质分离，下游技术能用于规模化生产。

5）菌种的遗传特性稳定，菌种纯粹，不易变异退化

6）抗噬菌体能力强，不易感染噬菌体。

8、如何进行蛋白酶、淀粉酶与抗生素产生菌的分离筛选？

一、透明圈法（蛋白酶、淀粉酶）

1）在平板培养基中加入溶解性较差的底物，使培养基混浊；

2）能分解底物的微生物便会在菌落周围产生透明圈，圈的大小初步反应菌株利用底物的能力。

二、抑菌圈法（抗生素产生菌）——常用的初筛方法

工具菌采用抗生素的敏感菌，若被检菌能分泌某些抑制菌生长的物质，如抗生素等，便会在该菌落周围形成工具菌不能生长的抑菌圈。

（还有----扩散法、生物自显影法等）

9、从环境中分离目的微生物时，为何一定要进行集富集？

使目的微生物在最适的环境下迅速地生长繁殖，数量增加，由原来自然条件下的劣势种变成人工环境下的优势种，以利分离到所需的菌株。

第三章　优良菌种选育

1、诱变育种：

是通过诱变剂处理后，使微生物的基因发生突变，再通过筛选而获得高产(正突变)、优良的突变菌株。这是迄今为止国内外提高菌种产量、性能的主要手段。

2、诱变剂：能够提高生物体突变频率的物质，称为诱变剂。

3、负突变：对生产不利的突变，表现为菌株的生活力衰退和生产质量的下降

正突变：对生产有利，与上面情况相反突变后菌株的生产能力提高

4、何谓菌种退化？造成菌种退化的原因是什么？

菌种退化：菌种的抗生素产生菌抑菌圈减小、分解菌水解圈减小和生产菌株产量降低的现象。

菌种退化的原因：基因表达活性降低；多基因决定生产形状的基因突变；染色体外遗传基因丢失。

5、自然选育：微生物不经过人工诱变处理，而从自然生长繁殖与菌种保存的过程中选出突变菌株的过程，称为自然选育。

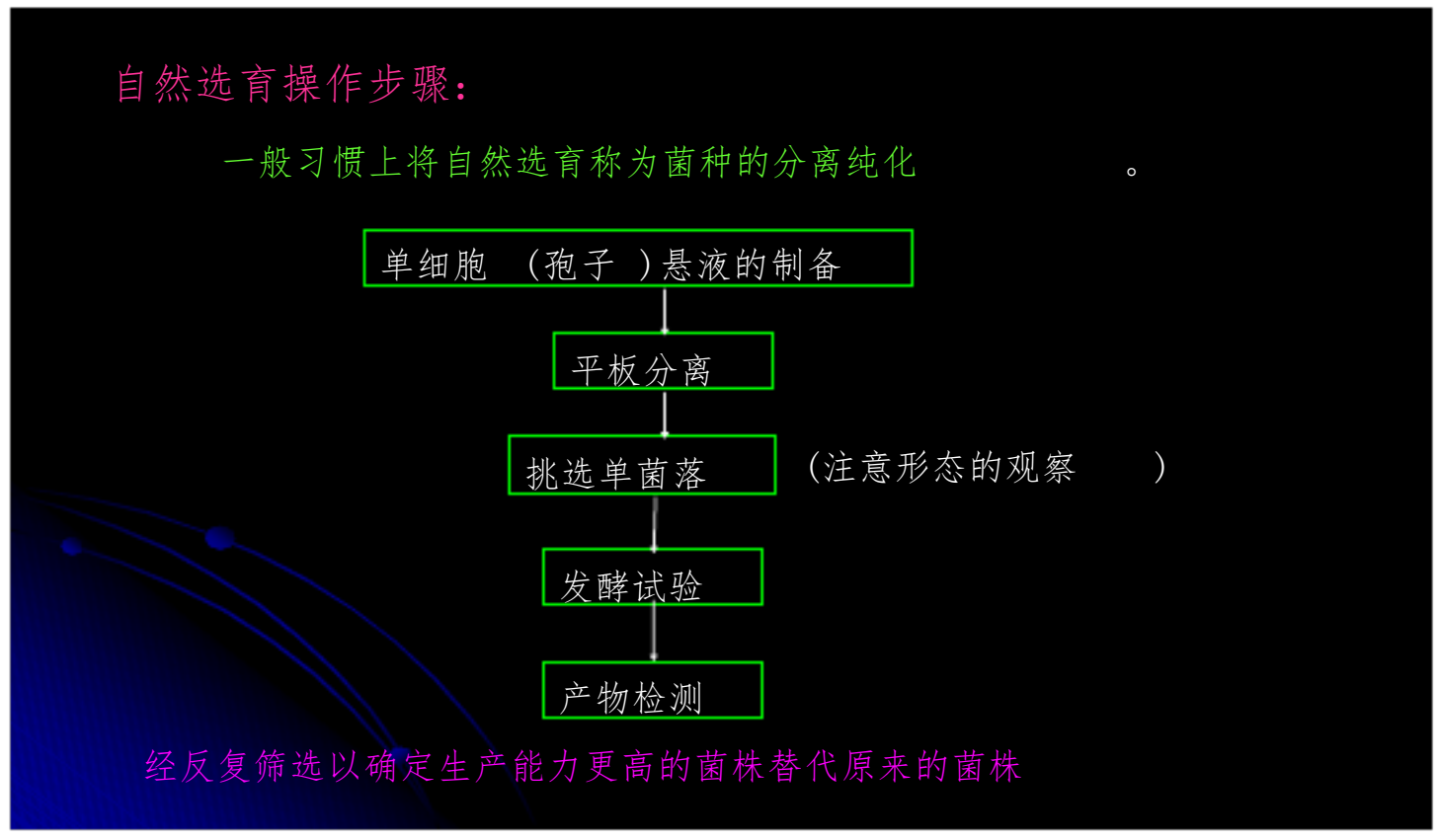
6、自然选育在工艺生产中的意义？

1）淘汰回复突变菌株，发现正突变菌株；

2）稳定、提高菌种的生产能力；

3）提高菌种的生产能力。

自然选育虽然突变率很低，但却是工厂保证稳产高产的重要措施。



7、常用的物理诱变剂：射线如紫外线、X—射线、γ—射线，快中子。超声波。

化学诱变剂：碱基类似物、5—氟尿嘧啶、烷化剂等，使用最多、最有效的是烷化剂。

硫酸二乙酯(DES)、亚硝基胍 (NTG)、亚硝酸(NA)、氮芥(NM)、羟胺、ICR类等

8、诱变剂的剂量如何确定

1）对一般微生物而言，诱变率往往随诱变剂剂量的增高而增高，但达到一定程度后，再提高剂量，反而会使诱变率下降

2）现常用使处理细胞死亡率 70-80%的处理剂量，甚至更低的剂量，特别是对于经过一再诱变的高产菌株。

3）剂量也不宜过低。因为在使用高剂量诱变时，除个别核被诱发变异外，还可以使其它的核破坏致死，最终能形成较纯的变异菌落；另外，高剂量可能引起遗传物质的巨大损伤，产生回复突变少，促使变异后菌株的稳定。

凡既能增加变异幅度，又能促使变异向正变范围移动的剂量就是合适剂量。

9、初选与复选的目的重点各是什么?

初筛：1）要求迅速地从大量菌株中挑选出较好的一些菌，主要应着眼于尽量扩大挑选范围。

2）在初筛过程中，一般采用观察初筛菌落在平板上的生理效应所呈现的变色圈、透明圈、生长圈或抑菌圈的大小来进行初步测定。

3）部分微生物菌株经过诱变处理后，变异菌株的菌落形态与生理特性、生产性能变化有一定的相关性，可在初筛时加以利用

复选：1）在初筛缩小了的范围中选出产量最高的 1-2 个菌株，主要着眼于在接近生产条件的情况下精确地测定出菌株的生产性状。

2）复筛一般是将初筛所得到的菌株接种到三角瓶中做摇瓶培养，然后对其培养液进行定量分析测试。

10 怎样才能从野生型菌株获得营养缺陷型突变株?

诱变——淘汰野生型——检出缺陷型——确定生长谱

11、菌种保藏目的是什么?

是把微生物菌种资源在一定条件下保存，使其不死亡、不丢失、不污染杂菌、不发生或少发生变异，保持菌株原有培养特性和生理活性。

四章　培养基

1、前体：指某些化合物加入到发酵培养基中，能直接被微生物在生物合成过程中结合到产物分子中去，而其自身的结构并没有多大变化，但是产物的产量却因加入前体而又较大的提高。

2、促进剂：是指那些非细胞生长所必需的营养物，又非前体，但加入后却能提高产量的添加剂。

3、抑制剂：抑制某些代谢途径的进行，同时刺激另一代谢途径，以致可以改变微生物的代谢途径。

4、发酵工业上的培养基分为几种类型?各有何特点？

1）按纯度：

合成培养基：原料其化学成分明确、稳定适合于研究菌种基本代谢和过程的物质变化规律。培养基营养单一，价格较高，不适合用于大规模工业生产。

天然培养基：采用天然原料原料来源丰富(多为农副产品)、价格低廉、适于工业化生产；原料质量等方面不加控制会影响生产稳定性

2）按状态

固体培养基：适合于菌种和孢子的培养和保存，也广泛应用于有子实体的真菌类，如香菇、白木耳等的生产

半固体培养基：即在配好的液体培养基中加入少量的琼脂，一般用量为 0.5%～0.8%，主要用于微生物的鉴定。

液体培养基：80%～90%是水，其中配有可溶性的或不溶性的营养成分，是发酵工业大规模使用的培养基。

3）按用途(从发酵生产应用考虑)

培养基按其用途可分为孢子(斜面)培养基、种子培养基和发酵培养基三种

5、发酵工业上的培养基成分从何而来?

一、能源物质

1）光：光能自养微生物以光为能源。螺旋藻生产单细胞蛋白与β-胡萝卜素等。

2）无机物：化能自养微生物通过无机还原态物质的生物氧化获得能量。氧化亚铁硫杆菌以亚铁盐为能源物质。

3）有机物：碳水化合物、碳氢化合物是化能异养微生物的能源物质，也是发酵工业工程菌利用的主要能源物质。

二、碳源

1）糖类：（1）单糖、双糖、淀粉及其水解糖液

（2）含有淀粉及其水解产物的废弃物：味精废水、粉丝生产废水等

2）化工石油产品：醋酸、甲醇、乙醇、甲烷、油脂、有机酸及正烷烃等

三、氮源

1、无机氮源：(NH4)2SO4 NH4NQ3 NH4CI等氨盐， NH4NO3 KNO3等硝酸盐和氨水等无机氮，也称速效氮。

2、有机氮源

（1）农产品加工废料：花生饼粉、黄豆饼粉、棉子饼粉、玉米浆、玉米蛋白粉等；

（2）其它有机含产品：蛋白胨、酵母粉、鱼粉、蚕蛹粉、尿素、废菌丝体和酒糟、豆粕、酵母粉、酵母浸出物、鱼粉、菌体蛋白等。

四、无机盐的微量元素

C源物质、N源物质多含有一同的无机盐，若不足应以盐的形式补充；

五、生长因子、前体、促进剂和抑制剂

1）生长因子

氨基酸、嘌呤、嘧啶、维生素等均称生长因子。

有机氮源是这些生长因子的重要来源，多数有机氮源含有较多的B簇维生素、微量元素，以及一些微生物生长不可缺少的生长因子。

2）前体

3）产物促进剂：是指那些非细胞生长所必须的营养物，又非前体，

4）抑制剂

在培养基内或发酵的过程中加入对某些代谢途径具有抑制作用、同时又对目的产物形成相关的代谢有促进作用物质，从而提高目的产物的产量。

六、水分

6、怎样以淀粉制备酵母菌发酵所用的碳源?

1）酸法：淀粉内部的葡萄糖苷键在一定的温度和酸性的条件下可以水解，使淀粉分子链断裂，高温加速葡萄糖苷健的水解速度。

水解条件：高温，120℃以上，H+, 0.2MPa 的压力

a、双分子葡萄糖脱水形成复合二糖：异麦芽糖 —— 不利于产物的结晶提出

龙胆二糖 —— 对于菌体的生长有抑制作用

b、一分子葡萄糖脱水，形成 5-羟甲基糠醛，对于菌体的生长有抑制作用。

c、一分子葡萄糖和—NH2反应，形成氨糖，是淀粉水解糖液有色物质的主要来源。(美拉得反应)

调整 pH值：淀粉酸解一般为酸性，后再加入 NaOH溶液，将 pH调至适宜的值。调整 pH值时应先使糖液的温度降低，否则将产生有色素物质，对发酵产生不利影响。

2）酸酶法：先将淀粉酸水解成糊精和低聚糖，再用糖化酶将其水解为葡萄糖。

3）双酶法：用专一性很强的淀粉酶及糖化酶将淀粉水解为葡萄糖的工艺。

分两步：1）液化：用α-淀粉酶将淀粉转化为糊精和低聚糖

2）糖化：用糖化酶（又称葡萄糖淀粉酶）将糊精 和低聚糖转化为葡萄糖。

7、淀粉怎样用酶法制备葡萄糖?

流程：淀粉调浆——液化——糖化——过滤——糖液

1）浆液浓度 20-30Be，pH值 6.0-7.0，添加 CaCl2 (0.01mol/L)

2）液化：耐高温α-淀粉酶，酶的使用量为 5—8 单位/g 淀粉；温度，105℃；时间，20—30 分钟；降温，采用喷射冷却方法

3）糖化：使用淀粉α-1,4 ；1,6 —葡萄糖苷酶;

用量：根据液化淀粉的浓度，30%的浓度，80-100 单位/g 淀粉；温度，65℃；终点判断，时间，2-3 小时

8、前体物质控制的原则是什么?

前体使用时普遍采用流加的方法

前体一般都有毒性，浓度过大对菌体的生长不利。如苯乙酸，一般基础料中仅仅添加 0.07%。

第五章　培养基灭菌

1、微生物的热阻：微生物的热阻就是指微生物对热的抵抗能力。

2、空罐灭菌(空消)：发酵罐未装入培养基的情况下进行的灭菌，也即是对发酵罐进行的灭菌

3、实罐灭菌(实消)：先将输料管路内的污水放掉、冲洗干净，然后将配的培养基用泵打入发酵罐内，开启搅拌器、再通入蒸汽进行灭菌。

4、连续灭菌(连消)：培养基连续流入灭菌容器内(连消塔)，经流入维持罐、一定时间保温后，经冷却注入发酵罐内。

5、培养基杂菌污染对发酵的不利影响?

1）使生物反应的基质或产物，因杂菌的消耗而损失，造成生产能力的下降。

2）杂菌也会产生代谢产物，这就使产物的提取更加困难，造成得率降低，产品质量下降。

3）有些杂菌会分解产物，使生产失败。

4）杂菌大量繁殖后，会改变反应液的 pH值，使反应异常。

5）如果发生噬菌体污染，生产菌细胞将被裂解，使生产失败。

6、高温短时灭菌的优、缺点？

优：1）高温短时灭菌可以降低培养基营养成分的破坏。通常所说的高温短时灭菌可以提高生产效益。

2）节省能量。

缺：设备投资的增加，技术管理水平的提高。

7、分批灭菌操作要点

1）定期检查设备、管道有无渗漏，主要是冷却管道，夹套。

2）培养基升温时，打开所有的排气阀门，排冷空气。当培养基的温度升到灭菌温度时，进入保温操作阶段，此时要求与反应器相连的所有管道出于两个状态：进汽或出汽，目的是对管道进行灭菌。

3）培养基升温时开动搅拌系统，以使培养基内部传热均匀，当温度升温到 100℃（90 ℃ ）时，停止搅拌。一方面是为了保护轴承，另一方面，当培养基的温度升温到 100℃时，培养基的沸腾，可以起到搅拌作用。

4）注意辅助设备的灭菌：空气过滤器、计量罐、流加管道与流加液贮罐，空气流量计等。

5）保温期间，要求罐压：0.09—0.10MPa，温度：118—121℃，时间：30 分钟。

6）灭菌结束后，需要立即引入无菌空气，保证罐内压力后方可冷却，目的是防止培养基的冷却使罐内形成负压，易染菌。

7）配制培养基时，应充分考虑培养基在灭菌时的稀释(体积的增加)，通常体积可增加 20%左右，灭菌时间越长，体积增加的越多。

8、工业生产的灭菌度（Ns）值是多少？

Ns=10-3 个/ 罐，即灭菌 1000 只罐，只残留 1 个杂菌或灭菌 1000 次，只残留一个杂菌。

第六章　空气除菌

1、无菌空气：通过除菌处理使空气中含菌量和菌尸总量降低在一个极低的百分数，从而能控制发酵污染至极小机会。此种空气称为“无菌空气”。

2、介质过滤：使空气通过能透过空气的多孔介质（如棉花、活性炭、烧结玻璃、超细纤维丝等）将空气所携带的尘、菌截阻

3、过滤器的过滤介质主要有哪些种类

1）棉花　　2）活性炭　　3）玻璃纤维　4）超细玻璃纤维丝

4、过滤除菌的机理

使用的过滤介质其孔隙小于细菌或孢子，空气通过时，微生物被阻留在介质一侧。有的过滤介质的孔经间隙大于微生物，为了达到所需的除菌效果，介质必须有一定的厚度，

1）惯性冲击滞留作用

当微生物等颗粒随空气以一定速度流动，在接近纤维时，气流碰到纤维而受阻，空气就 改变运动方向绕过纤维继续前进。但微生物等颗粒由于具有一定质量，在以一定速度运动时具有一定惯性，碰到纤维时，由于惯性作用而离开气流碰到纤维表面上，由于摩擦、粘附作用，被滞留在纤维表面上。

2）拦截滞留作用

当气流速度在临界速度以下，颗粒不再由于惯性碰撞而滞留。但是，颗粒质量很小，在气流绕过纤维时，颗粒仍然随气流运动，在气流速度低时，在纤维周边形成一层边界滞留区，在滞流区内气流速度更慢，进入滞留区的颗粒缓慢接近纤维，并与之接触，由于摩擦、粘附作用而被滞留。

3）布朗运动

直径小于 1 m的微粒在很慢的气流中能产生一种不规则的直线运动，即布朗运动。

使较小的颗粒凝聚为较大颗粒，随即可能产生重力沉降或被过滤介质截留；

气流速度大时，凝聚现象为惯性碰撞所取代

4）重力沉降作用

再小的微粒也有重力；当微粒所受的重力大于气流对它的拖带力时，微粒就会沉降。

对于小颗粒而言，只有在气流速度很慢时才起作用。

一般它是与拦截作用相配合的，即在纤维的边界滞留区内，微粒的沉降作用提高了拦截滞留的捕获效率。

5）静电吸引作用

许多微生物和孢子都带有电荷

具有一定速度的气流通过介质滤层时，由于摩擦作用而产生诱导电荷

当菌体所带电荷与介质电荷相反时，即发生静电吸附作用

5、分离、加热的空气除菌流程图

粗过虑器过滤----压缩机压缩空气-----贮气罐贮罐-----冷却器冷却——旋风分离器分离-----丝网分离器分离----加热器加热——总过滤器

七章　发酵过程

1、接种龄：种子罐中培养的菌体从开始接种至移入下一级种子罐或发酵罐时的培养时间。

2、接种量：接种量是指移入的种子悬浮液体积和接种后培养液体的体积的比例。

3、分批发酵法(间歇发酵法)：先将空罐灭菌后，培养基装入发酵罐，接种之后进行培养。在培养过程中，培养基成分不断减少，微生物逐渐增殖，微生物周围的环境随时间而变化，是一种非稳态操作法。

4、溶氧：不同微生物或同一微生物的不同生长阶段对通风量的要求

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：https://d.book118.com/137056124145010011