三、简答题

1、简述微生物发酵生产的工业特征；

（1） 严格的无菌生长环境 （2）发酵过程中应用计算机控制技术进行在线数据采集和控制； （3）种子培养和生产培养的不同的工艺技术； （4）需建立大规模动态发酵过程中各参数变化的动力学模型； （5）存在发酵过程工艺放大问题。

2、简述发酵工业的特点（与化学工业比较）；

∴安全简单 ∴原料广泛 ∴反应专一 ∴代谢多样 ∴易受污染 ∴菌种选育

4、简述发酵工业的工程技术发展史中的五个重大转折点；

微生物分离和纯培养技术、通气搅拌的好气性发酵工程技术的建立、 人工诱变育种和代谢控制发酵工程技术的建立、发酵动力学、发酵的连续化、 自动化工程技术的建立、微生物反应生物合成和化学反应合成相结合的工程技 术的建立。

10、菌种保藏方法主要有哪些？简述各种保藏方法的适用范围。

冻干保藏：适于98%以上各类别的微生物，但不适于不产孢 子的丝状真菌的菌丝体

低温保藏：斜面孢子，液态孢子，斜面种子→4℃保藏 ；一般只宜1-2个月（水分浓度较高）；注意：不宜用于生产菌种保藏，也不适于 名贵菌种保藏。 ；适用于临时周转

低温定期移植法：少数冷冻保存易死亡的菌种用此法

11、以酵母菌为例，简述兼性厌氧细胞的液态扩培流程。

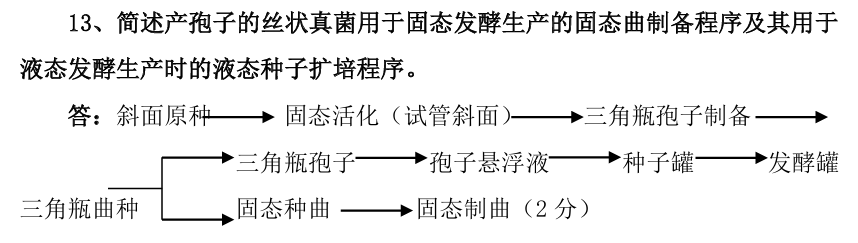
斜面原种 → 10mL试管活化（0.5分）→ 250mL三角瓶扩培→ 3L 三角瓶（1分） →20L卡氏罐扩培（1分） → 200L密闭罐种子 → 1.5-2.0 立方种子（2分） → 发酵罐（0.5分）

12、简述产孢子的丝状真菌固态扩培的工艺流程。

斜面原种→ 固态活化（试管斜面）→ 茄子瓶扩培（孢子房，温度、湿度控制） →三角瓶曲种培 养→ 种曲房种曲培养 →曲的培养 →固态接种发酵

14、简述孢子悬浮液的制备流程（产孢子丝状真菌液体扩培）。

斜面原种 →固态活化（试管斜面）→ 茄子 瓶扩培（孢子房，温度、湿度控制）→ 孢子 悬浮液制备→ 一级种子罐（好氧）→ 二级种子罐（好氧）→ 发酵罐（好氧）



15、简述生产车间种子制备应考虑的因素。

菌种特性（遗传稳定性）：级数少些，稳定性高

孢子发芽及菌体繁殖速度： ❖生长快的细菌，级数少些，二级；慢的如链霉菌，则可四级 ❖一般级数越少，可减少因多次接种染菌的机会，但会延长发酵罐；生产产物的时间、发酵罐中孢子萌发、菌体生长占用时间

孢子瓶中孢子或菌体数量

最低接种量

生产规模

接种龄、接种量

16、简述发酵生产中大接种量和小接种量的优缺点。

小接种量，缺点：发酵周期长，能耗多，染菌机会多

大接种量，优点：易适应，立即进入对数生长期，分泌的胞外酶多，有利于对原料的充分利用，有群体优势，减少杂菌污染，缩短发酵周期，提高发酵生产率。

17、简述车间种子罐级数的确定方法（逆推法）。

指制备种子需逐级扩大培养的次数。

生产规模 → 装料系数 → 发酵罐的容积 → 最低接种量 → 最后一级种子罐（nx）的种子体积 → …… → 一级 种子罐（n1）的种子量→ 一级种子罐（n1）的接种量 （不能超过孢子制备或摇瓶生产能力）

18、简述影响种子质量的主要因素。

培养基 、种龄与接种量、温度 、pH 、通气和搅拌、泡沫、染菌的控制、种子罐级数的确定

19、简述生产车间种子质量异常的主要表征及其主要原因。

1）生长过慢或过快。 原因：a.培养温度是否是最适温度， b.通氧量不够，过快主要是速效N过多

2）结团。影响呼吸和营养物质吸收 原因： a.接种量不够（措施：加适量表面活性剂） b.通气搅拌速度不够。

3）粘壁。营养不够，水分不够，丝状真菌发酵易出现此现象 原因： a.异常代谢杂质增多，产量下降 b.搅拌通气不够 c.泡沫过多（措施：消泡，改善溶解氧）。

4）代谢异常。判断方法是镜检菌体形态

20、简述液态发酵生产中菌种生物量的测定方法主要有哪些？不同测定方法的特点是什么？(gpt)

1.干重法2.光密度法（OD法）3.细胞计数法4.生物化学法

1.干重法 特点：通过离心、洗涤和干燥细胞获得干重来测定生物量。这种方法对待测样本的纯度要求较高，操作相对简单，结果可靠。

优点：可以提供较准确的生物量数据。缺点：需要较长的处理时间，并且在处理过程中可能导致细胞损失。

2.光密度法（OD法） 特点：利用分光光度计测定培养液的光密度（OD值），通常在600nm波长下进行。OD值与生物量呈正相关。

优点：快速、简便，适合连续监测生长情况。缺点：OD值受细胞形态、培养基颜色等因素影响，可能不够准确，特别是在细胞密度较高时。

3.细胞计数法 特点：采用计数室（如血球计数板）或流式细胞仪等设备直接计数单个细胞的数量。

优点：可以直接测量活细胞的数量和存活率，可以提供详细的生长信息。缺点：时间消耗较大，且对细胞的活性和形态的判断有一定要求。

4.生物化学法 特点：通过测定生物量相关指标（如蛋白质含量、DNA浓度等）来间接评估生物量。

优点：可以提供更详细的代谢信息或细胞状态。缺点：方法相对复杂，需要特定的试剂和设备。

22、简述液态发酵生产中泡沫带来的主要危害。泡沫的消除

影响装液量

导致逃液，若密封较好，泡沫从排气管排出，致染菌； 若密封不好，沿轴上升，致污染；

影响通气搅拌的正常进行，从而妨碍菌的呼吸，造成 代谢异常，导致产物减少和菌体过早自溶；

影响后提取

– 物理法：改变温度法——改变泡沫、黏度或弹性→泡沫 破裂，工业上少用

– 机械法： • 罐内消泡法——利用消泡浆（碟片式、耙式） • 罐外消泡法——利用旋风分离器分离气体、液体、无气体入缸

– 化学消泡法：消泡

23、简述发酵终点判断的意义，以及判断放罐的主要指标。

合理判断对提高发酵单位时间内产量和质量有很大影 响，不同类型发酵达到终点目标不同，因而对发酵终点 判断也不同

-产物的产量增加率开始下降（产物量/体积.小时 称增长率）

– 菌体形态出现衰老（胞内出现颗粒），部分菌体出现自溶；

– 过滤速度明显下降（用移液管吸取发酵液看其流出时间）

– 残糖低，还原糖氨<0.5%

- 基氮上升，pH上升

– 培养液的外观和黏度等：菌丝碎片增加，黏度增加

24、简述固态发酵工程的主要特点。

1）发酵基质中没有游离水流动，水是培养基中较低的组分

2）微生物从湿的固态吸收营养，营养物浓度存在梯度，菌体生 长、营养物消耗和产物代谢累积不均匀

3）高底物浓度可产生高产物浓度

4）过程中糖化和发酵同时进行，操作简单低能耗

5）提取工艺简单可控，有机废液少，但提取物含有底物成分

6）机械化程度较低，在线传感器少，过程实时量化监控困难

26、简述发酵生产种子培养基的特点。

• 必须有较完全和丰富的营养物质，特别需要充 足的氮源和生长因子。

• 种子培养基中各种营养物质的浓度不必太高。 供孢子发芽生长用的种子培养基，可添加一些 易被吸收利用的碳源和氮源（速效，利于营养 体增殖）。

• 种子培养基成分还应考虑与发酵培养基的主要 成分相近。

27、简述发酵培养基的选择原则。

• 必须提供合成微生物细胞和发酵产物的基本 成分。

• 有利于减少培养基原料的单耗，即提高单位 营养物质所合成产物数量或最大产率。

• 有利于提高培养基和产物的浓度，以提高单 位容积发酵罐的生产能力。

• 有利于提高产物的合成速度，缩短发酵周期。

• 尽量减少副产物的形成，便于产物的分离 纯化。

• 原料价格低廉，质量稳定，取材容易。

• 所用原料尽可能减少对发酵过程中通气搅 拌的影响，利于提高氧的利用率，降低能 耗。

• 有利于产品的分离纯化，并尽可能减少产 生“三废”的物质

28、简述发酵终点时发酵液的特性（gpt）。

1. 代谢产物积累：发酵液中通常会积累大量的代谢产物，如有机酸、酒精、气体（如二氧化碳）或其他生物活性物质，具体产物取决于发酵微生物和培养条件。
2. pH变化：由于有机酸等代谢产物的产生，发酵液的pH值通常会降低。此外，发酵过程中可能会有缓冲系统的存在，影响pH变动的速度和程度。
3. 菌体浓度：在发酵终点，细胞生物量通常达到较高浓度，但随着细胞死亡和沉降，发酵液中活菌的数量可能会有所变化。
4. 营养物质消耗：发酵液中的主要营养成分，如糖分、氨基酸和维生素等，通常会显著减少，这与微生物生长和代谢活动密切相关。
5. 黏度变化：随着菌体浓度的增加和代谢产物的积累，发酵液的黏度可能会增加，影响后续的分离和提纯过程。
6. 气体含量：发酵过程中产生的气体（如二氧化碳或氢气）可能会在发酵结束时在液体中积聚，影响液体的物理性质和后续处理。

29、简述发酵工业下游加工的原则和要求。

原则： 1）短时间内处理 2）分离时尽量低温 3）选择生物物质稳定的pH 4）要程序化进行清洗，消毒，包括厂房，设备，管路

要求： 1）达到所需的纯度 2）成本要低，得率高 3）工艺过程要简便，对分离物质特性清楚 4）废弃物要易处理，能够做到综合利用（零排放；清洁生产） 5）实验室产品能够放大生产

30、简述发酵液中产物提取精制的基本流程（gpt）。

1.收集发酵液2.细胞去除3.浓缩4.提取5.分离和纯化6.干燥7.质量检验

1.收集发酵液 将发酵过程中生成的液体产品从发酵罐中收集，通常先经过过滤去除悬浮的细胞或固体杂质。

2.细胞去除 离心分离：通过离心机将细胞沉淀，分离出清液和细胞沉淀。过滤：利用滤网或微滤膜进一步去除未沉淀下来的细胞和大颗粒杂质。

3.浓缩 蒸发浓缩：通过加热蒸发水分，浓缩发酵液中的目标产物。膜浓缩：使用超滤或纳滤技术，通过膜分离浓缩目标产品，去除小分子杂质。

4.提取 溶剂提取：利用适当的有机溶剂（如醇、醚等）选择性提取目标产物。离子交换法：通过离子交换树脂去除杂质，并选择性保留目标产品。

5.分离和纯化 色谱分离：采用层析（如高效液相色谱HPLC、空心柱色谱等）进一步分离和纯化目标产品。结晶：对于某些可结晶的产物，通过调整条件使其结晶，从而分离出纯品。

6.干燥 将提取和纯化后的产物通过喷雾干燥、冻干等方法去除水分，得到稳定的干燥产品。

7.质量检验 对最终产品进行质量分析，确保其纯度、效力和其他特性符合标准。

31、简述发酵工程目标产物的特点

1. 生物源性2. 多样性3. 高特异性5. 潜在的生物活性6. 环境友好7. 易变性

1. 生物源性

目标产物大多来自微生物、植物或动物的代谢过程，例如酶、抗生素、有机酸和酒精等，具有生物合成的特征。

2. 多样性

根据不同的微生物和培养条件，发酵工程可以生产出广泛的产品，包括氨基酸、维生素、酶、活性肽等，化学结构和功能多样。

3. 高特异性

发酵过程中产生的目标产物通常具有高特异性，能对特定的生物反应或代谢途径产生显著影响，适用于特定的工业和医药应用。

4. 相对复杂的结构

许多发酵产品为功能性化合物，可能具有复杂的分子结构或多个功能团，这使得其合成和提取过程较为复杂。

5. 潜在的生物活性

发酵产物通常具有生物活性，能够影响生物体的生理过程，例如抗菌、抗炎、抗氧化等作用，具有应用于医药、食品和农业等领域的潜力。

6. 环境友好

相比于化学合成，发酵过程多为底物可再生利用，能环保地生产目标产品，符合可持续发展目标。

7. 易变性

由于受到多种因素（如温度、pH、营养成分等）的影响，发酵过程中目标产物的产量和质量可能存在较大波动。