

普通高等教育药学类规划教材

# 发酵工艺原理

主编 熊宗贵

中国医药科技出版社

普通高等教育药学类规划教材

# 发 酵 工 艺 原 理

主 编 熊宗贵(沈阳药科大学)  
主 审 刘 璞(国家医药管理局药科学技术情报研究所)  
编 者 熊宗贵  
白秀峰(沈阳药科大学)  
徐亲民(华北制药厂)  
胡立勇(中国药科大学)

中国医药科技出版社

登记证号: (京)075号

### 内 容 提 要

本书分为总论和分论两部分。总论部分着重阐述了发酵过程中的基本原理和参数控制,较详细地叙述了发酵产物的生物合成、发酵动力学和参数控制的原理,也适当介绍了现代发酵中的工程菌发酵、计算机控制等有关问题。分论部分叙述了与药物有关的抗生素、维生素、甾类激素等各类发酵产品的产生菌和发酵的有关问题。

本书可作为微生物制药专业和有关专业的教材或参考书,也可供抗生素工厂或其它微生物发酵工厂科技人员参考。

普通高等教育药学类规划教材

发酵工艺原理

熊宗贵 主编

中国医药科技出版社 出版发行

(北京西直门外北礼士路甲38号)

(邮政编码 100810)

北京市卫顺印刷厂 印刷

开本787×1092mm<sup>1/16</sup> 印张27<sup>3/4</sup>插页3

字数 651 千字 印数 1—4000

1995年7月第1版 1995年7月第1次印刷

ISBN 7-5067-1373-X/R·1213

---

定价:25.00 元

## 前 言

发酵技术是一门具有悠久历史、又含有现代科学和工程的科学技术，也是生物技术的重要组成部分，现已广泛用于工农业生产和人民卫生保健事业。它不仅可利用天然微生物，也可利用基因重组技术和细胞融合技术得到的新菌种或动植物细胞制得产物，它还是生产酶的一种必要手段。所以，现代发酵技术是生物技术实行工业化的基础，它包括整个生物工艺过程。

本书是根据国家教委确定的微生物制药专业的课程设置的規定，在国家医药管理局的领导下，在多年使用华东化工学院和沈阳药学院合编的《抗生素生产工艺学》的基础上，吸收长期的教学经验，参考国内外有关资料和发酵工业今后的发展方向编写的。它可作为医药院校微生物制药专业和有关专业的教材或参考书，也可供抗生素工厂或其它微生物发酵工厂科技人员参考。

本书分为总论和分论两大部分。在总论中，主要阐述了发酵过程中的基本原理和参数控制，对初级和次级代谢产物的生物合成机理、发酵动力学以及发酵过程的参数和控制原理等进行了比较详细的叙述；适当介绍了工程菌、动植物细胞培养、发酵的实验室研究和计算机控制发酵等方面的基本知识；简单介绍了发酵的三废处理和经济学有关方面的知识。至于发酵产品的分离精制理论和技术将在《分离纯化工艺原理》教科书中另行叙述。在分论中，涉及到与药物有关的各类发酵产品，包括抗生素（ $\beta$ -内酰胺类和非 $\beta$ -内酰胺类）、维生素、氨基酸、药用酶、核酸、生理活性物质以及甾类化合物转化等的发酵生产有关问题，并作了较详细的阐述。

本书由熊宗贵主编，参加编写的有熊宗贵（第1、8、11、12、20、23、24章）、白秀峰（第2、4、5、7、10、16、17、19章）、徐亲民（华北制药厂，第9、10、14、15章）、胡立勇（中国药科大学，第3、6、18、21、22章）和徐国强（华北制药厂，第13章）。全书由刘璞教授审查，有关章节请了北京医药生物技术研究所李焕娄教授（第3章）、上海华东理工大学俞俊棠教授（第9章）、上海第三制药厂虞棵高级工程师（第8章）和华北制药厂程连芳高级工程师（第7、11章）等给予审查并提出了许多宝贵意见。还有许多同志参加制图、抄写、校对等工作，在此均致衷心的感谢。

在编写过程中，虽然参考了国内外有关书籍和近期文献，并结合各自的教学经验，但限于水平和时间仓促，错误和不足之处，在所难免，希望读者批评指正。

# 目 录

## 第一篇 总 论

<b>第一章 绪论</b> .....	1
一、什么叫发酵.....	1
二、发酵工业的发展简史.....	2
三、发酵工业的范围.....	4
四、发酵工艺的培养方法和过程.....	7
五、发酵工业的现状和今后发展趋向.....	10
<b>第二章 工业微生物的生长与产物的生物合成</b> .....	12
<b>第一节 微生物的生长与分化</b> .....	13
一、微生物的生长繁殖.....	13
二、微生物的生长曲线.....	13
三、微生物细胞的分化.....	14
<b>第二节 代谢产物的生源说与生物合成</b> .....	16
一、微生物合成的初级代谢产物.....	17
二、微生物合成次级代谢产物的基本特征.....	17
三、次级代谢产物的构建单位的生源说和生物合成.....	18
四、次级代谢产物生物合成的基本过程.....	23
<b>第三节 微生物生物合成的主要调控机制</b> .....	25
一、次级代谢与初级代谢的关系.....	25
二、初级代谢产物生物合成中的主要调控机制.....	26
三、次级代谢产物生物合成中的主要调控机制.....	30
<b>第三章 工业微生物的菌种选育</b> .....	38
<b>第一节 自然选育</b> .....	38
一、菌种衰退原因的分析.....	39
二、自然选育方法.....	40
<b>第二节 诱变育种</b> .....	40
一、突发诱变过程.....	40
二、诱变育种方案的设计.....	43
三、突变的诱发.....	45
四、突变株的筛选.....	47
五、突变基因的表现.....	53
<b>第三节 杂交育种</b> .....	54
一、常规的杂交育种.....	54
二、原生质体融合.....	55

第四节 分子育种.....	58
一、链霉菌的基因克隆.....	58
二、用基因工程育种技术生产氨基酸.....	61
第四章 培养基.....	63
第一节 概述.....	63
一、培养基组成.....	63
二、培养基条件与微生物生理和形态学的相关性.....	65
三、配制工业发酵培养基的一般要求.....	66
第二节 培养基的成分.....	66
一、碳源.....	66
二、氮源.....	68
三、无机盐和微量元素.....	69
四、水.....	70
五、前体.....	70
六、消沫剂.....	70
七、其他成分.....	70
第三节 培养基的种类与选择.....	70
一、培养基的种类.....	70
二、培养基的设计.....	71
三、培养基的筛选.....	73
第四节 影响培养基质量的因素.....	73
一、原材料质量的影响.....	73
二、水质的影响.....	75
三、灭菌的影响.....	75
四、其他影响因素.....	76
第五章 灭菌.....	82
第一节 灭菌的基本原理.....	82
一、几种常用灭菌方法的基本原理.....	82
二、湿热灭菌的原理.....	83
第二节 培养基和发酵设备的灭菌.....	84
一、培养基灭菌温度的选择.....	84
二、培养基的灭菌方法.....	86
三、发酵设备的灭菌.....	90
第三节 空气除菌.....	90
一、空气除菌的方法.....	90
二、介质过滤除菌的机理.....	92
三、空气过滤介质.....	94
四、空气过滤除菌的工艺流程.....	95
第四节 无菌检查与染菌的处理.....	96

一、无菌检查	96
二、染菌(包括污染噬菌体)的处理	97
第五节 制服染菌的要点	97
一、染菌原因的分析	98
二、制服染菌的要点	98
<b>第六章 生产菌种的培养与保藏</b>	100
第一节 种子制备的过程	100
一、孢子制备	100
二、种子制备	101
第二节 种子质量的控制	101
一、影响孢子质量的因素及其控制	102
二、影响种子质量的因素及其控制	104
第三节 菌种保藏与复壮	107
一、菌种保藏	107
二、菌种的复壮	109
<b>第七章 通气与搅拌</b>	110
第一节 工业发酵过程中氧的需求	110
一、微生物对氧的需求	110
二、氧在液体中的溶解特性	112
三、影响微生物需氧量的因素	113
第二节 氧在溶液中的传递	114
一、氧传递的阻力	114
二、氧的传递方程式	115
第三节 发酵液的流变学	116
一、液流类型	116
二、发酵液的流变学	117
第四节 影响供氧的因素	118
一、影响氧传递推动力的因素	118
二、影响液相体积氧传递系数 $K_{La}$ 的因素	119
第五节 液相体积氧传递系数 $K_{La}$ 的测定	123
一、发酵液中溶解氧浓度的测定	123
二、摄氧率( $\gamma$ )的测定	123
三、液相体积氧传递系数 $K_{La}$ 的测定	123
<b>第八章 发酵工艺的控制</b>	126
第一节 发酵过程的主要控制参数	126
一、物理参数	126
二、化学参数	127
三、生物参数	128
第二节 发酵过程中的代谢变化	129

一、初级代谢的代谢变化	130
二、次级代谢的代谢变化	130
第三节 菌体浓度的影响及其控制	132
第四节 基质的影响及其控制	134
一、碳源的种类和浓度的影响和控制	134
二、氮源的种类和浓度的影响和控制	135
三、磷酸盐浓度的影响和控制	136
第五节 温度的影响及其控制	136
一、温度对发酵的影响	136
二、影响发酵温度变化的因素	137
三、温度的控制	138
第六节 pH的影响及其控制	139
一、pH对发酵的影响	139
二、pH的变化	140
三、发酵pH的确定和控制	140
第七节 溶氧的影响及其控制	142
一、溶氧的影响	142
二、发酵过程的溶氧变化	143
三、溶氧浓度的控制	145
第八节 二氧化碳的影响及其控制	146
一、二氧化碳(CO <sub>2</sub> )的来源和影响	146
二、CO <sub>2</sub> 浓度的控制	147
第九节 补料的作用和控制	147
一、补料分批培养的优点和应用	147
二、FBC的作用	148
三、FBC的补料方式和控制	149
第十节 泡沫的影响及其控制	150
第十一节 发酵终点的判断	152
<b>第九章 发酵动力学</b>	154
第一节 概论	154
一、发酵动力学研究的内容	154
二、研究发酵动力学的方法	154
三、发酵动力学与过程优化控制	155
第二节 质量与能量平衡	155
一、得率和维持因数	156
二、有机化合物中的化学能	158
三、发酵过程的化学计量式	159
四、质量平衡	162
五、能量平衡	164



六、质量平衡与能量平衡的统 .....	166
<b>第三节 微生物生长与产物合成动力学</b> .....	167
一、微生物生长动力学 .....	167
二、产物合成动力学 .....	169
<b>第四节 发酵过程动力学模拟与优化</b> .....	171
一、分批发酵 .....	171
二、连续发酵 .....	176
三、动力学参数的确定 .....	181
四、补料分批发酵过程的优化 .....	184
<b>第十章 发酵过程检测与自控</b> .....	189
<b>第一节 发酵过程检测</b> .....	189
一、概述 .....	189
二、发酵传感器 .....	191
三、发酵过程其他重要检测技术 .....	197
四、发酵过程检测的可靠性 .....	202
<b>第二节 发酵过程变量的间接估计</b> .....	203
一、与基质消耗有关变量的估计 .....	203
二、与呼吸有关变量的估计 .....	203
三、与传质有关变量的估计 .....	204
四、与细胞生长有关变量的估计 .....	205
<b>第三节 发酵过程自控</b> .....	206
一、基本自控系统 .....	207
二、发酵自控系统的硬件结构 .....	210
<b>第十一章 发酵过程的实验室研究、中试和放大</b> .....	213
<b>第一节 实验室研究</b> .....	213
一、实验设备 .....	213
二、摇瓶试验 .....	214
三、实验室研究和统计学方法 .....	216
<b>第二节 微生物摇瓶与罐培养的差异和发酵规模改变的影响</b> .....	219
一、微生物摇瓶和罐培养的差异 .....	220
二、发酵罐规模改变的影响 .....	221
<b>第三节 发酵规模的缩小和放大</b> .....	222
一、放大的过程 .....	223
二、放大的理论基础 .....	223
三、放大(或缩小)的方法 .....	224
<b>第十二章 现代生物技术在发酵工业中的应用</b> .....	236
<b>第一节 概述</b> .....	236
<b>第二节 工程菌的发酵</b> .....	237
一、工程菌的来源和应用 .....	237

二、工程菌的培养	238
三、安全问题	240
第三节 动植物细胞的组织培养	240
一、动物细胞培养	240
二、植物组织细胞培养	244
第四节 固定化细胞发酵	247
一、概述	247
二、固定化细胞的特性	247
三、固定化生物反应器	248
四、固定化细胞在医药工业中的应用	249
<b>第十三章 发酵工业与环境保护</b>	252
第一节 概述	252
第二节 发酵工业废液的生物处理	253
一、生物处理的分类	254
二、好氧生物处理的原理	255
三、厌氧消化处理的原理	256
四、发酵工业废液的生物处理方法	260
第三节 发酵工业废渣的处置	266
<b>第十四章 发酵过程经济学</b>	268
第一节 发酵成本的构成及影响因素	268
一、发酵成本的构成	268
二、影响发酵成本的因素	269
第二节 发酵成本的控制及过程的经济学评价	274
一、降低原材料成本	274
二、节能	276
三、提高设备利用率	279
四、发酵过程的经济学评价	280

## 第二篇 各 论

<b>第十五章 <math>\beta</math>-内酰胺类抗生素</b>	283
第一节 概述	283
一、发展概况	283
二、作用机制	285
三、临床应用的主要 $\beta$ -内酰胺抗生素及其生物活性	285
第二节 青霉素	286
一、天然存在的青霉素	286
二、菌株改良与保存	286
三、青霉素的发酵生产	289
四、生物合成与理论生产得率	293

第三节 头孢菌素 C .....	298
一、生物合成与代谢调控 .....	298
二、菌种选育与保存 .....	299
三、发酵过程优化 .....	300
四、7-ACA的酶法制备与直接发酵生产 .....	302
第四节 其他重要的 $\beta$ -内酰胺抗生素 .....	304
一、头霉素 C .....	304
二、噻纳霉素 .....	305
三、克拉维酸 .....	307
<b>第十六章 非<math>\beta</math>-内酰胺类抗生素 I</b> .....	<b>309</b>
第一节 四环类抗生素 .....	309
一、概述 .....	309
二、生产菌种 .....	309
三、四环类抗生素的生物合成 .....	310
四、发酵 .....	312
第二节 大环内酯类抗生素 .....	313
一、概述 .....	313
二、红霉素 .....	315
三、十六元大环内酯类抗生素 .....	318
第三节 利福霉素 .....	323
一、概述 .....	323
二、生产菌种 .....	324
三、利福霉素的生物合成 .....	324
四、发酵 .....	326
第四节 蒽环类抗生素 .....	327
一、概述 .....	327
二、生产菌种 .....	328
三、蒽环类抗生素的生物合成 .....	328
四、发酵 .....	329
<b>第十七章 非<math>\beta</math>-内酰胺类抗生素 II</b> .....	<b>331</b>
第一节 氨基环醇类抗生素 .....	331
一、概述 .....	331
二、链霉素 .....	332
三、新霉素族 .....	337
四、庆大霉素族 .....	340
五、其他氨基环醇类抗生素 .....	344
第二节 林可霉素 .....	345
一、概述 .....	345
二、生产菌种 .....	346

三、林可霉素生物合成	346
四、发酵	346
第三节 肽类抗生素	348
一、概述	348
二、生产菌种	349
三、肽类抗生素的生物合成	349
四、发酵	350
<b>第十八章 氨基酸</b>	352
第一节 氨基酸的生产	352
一、氨基酸的生产方法	352
二、氨基酸产生菌的选育	355
三、氨基酸发酵的代谢控制	358
第二节 赖氨酸发酵	360
一、赖氨酸的生物合成途径	360
二、赖氨酸发酵的研究	362
第三节 苏氨酸发酵	362
第四节 异亮氨酸、亮氨酸发酵	364
一、异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸的生物合成途径	364
二、异亮氨酸发酵	365
三、亮氨酸发酵	365
<b>第十九章 维生素</b>	367
第一节 维生素C	367
一、概述	367
二、生产方法	367
三、从葡萄糖生物转化成2-酮基-L-古龙酸的研究	370
第二节 维生素B <sub>2</sub>	371
一、概述	371
二、产生菌	371
三、生产	372
四、生物合成	372
第三节 维生素B <sub>12</sub>	374
一、概述	374
二、产生菌	375
三、生产概况	375
四、生物合成	375
第四节 其他维生素	377
一、麦角甾醇(维生素D原)	377
二、β-胡萝卜素	377
<b>第二十章 甾类化合物的微生物转化</b>	379

第一节 总论	379
第二节 微生物转化的特点和类型	381
一、微生物转化的特点	381
二、微生物转化的反应类型	381
第三节 甾类激素的微生物发酵	384
一、甾类激素生产的原料和基本过程	384
二、微生物转化的发酵工艺	385
<b>第二十一章 核酸类物质</b>	<b>389</b>
第一节 概论	389
一、核酸类物质的生产方法	389
二、核苷酸的生物合成及其调节	390
第二节 肌苷发酵	394
一、生产菌种	394
二、肌苷发酵机制与肌苷产生菌的选育	395
三、肌苷发酵条件	396
第三节 三磷酸腺苷发酵	397
一、AMP的生产	397
二、微生物磷酸化方法	397
<b>第二十二章 药用酶与辅酶</b>	<b>400</b>
第一节 概论	400
一、优良产酶菌种的标准	401
二、产酶菌种的筛选	401
三、酶的发酵生产	401
四、组成性突变株的选育	402
第二节 蛋白酶	403
一、产酶菌种	403
二、产酶菌种的筛选	403
三、环境因子对产酶的影响	404
四、培养基对产酶的影响	404
第三节 青霉素酰化酶	404
一、产酶菌种	405
二、产酶菌种的筛选	405
三、青霉素酰化酶的生产	405
第四节 辅酶A	406
一、辅酶A的生物合成途径	406
二、辅酶A的生产	406
<b>第二十三章 农牧用抗生素</b>	<b>409</b>
第一节 农用抗生素	409
一、杀菌抗生素	409

二、杀虫抗生素.....	412
三、除草抗生素.....	413
四、生长促进抗生素.....	414
第二节 畜牧用抗生素.....	414
一、兽用抗生素.....	414
二、刺激动物生长的抗生素.....	418
<b>第二十四章 微生物产生的其他药物.....</b>	<b>418</b>
第一节 免疫调节剂.....	418
一、环孢菌素.....	419
二、抑氨肽酶 B 剂.....	419
三、磷酸化酶抑制剂.....	421
第二节 药用多糖.....	421
一、右旋糖酐.....	422
二、多抗甲素.....	423
三、真菌多糖.....	423
第三节 其他药理活性的药物.....	425
一、抑胃酶剂.....	426
二、亮肽素.....	426
三、姜萹酸.....	426

# 第一篇 总 论

## 第一章 绪 论

### 一、什么叫发酵

发酵 (fermentation) 最初是来自拉丁语“发泡”(fervere)这个词,是指酵母作用于果汁或发芽谷物时产生二氧化碳( $\text{CO}_2$ )的现象。巴斯德研讨了酒精发酵的生理意义,认为发酵是酵母在无氧状态下的呼吸过程,是“生物获得能量的一种形式”。也就是说,发酵是在厌氧条件下,原料糖经酵母等生物细胞的作用进行分解代谢、向菌体提供能量,从而得到原料分解产物酒精和 $\text{CO}_2$ 的过程。然而,发酵对不同的对象具有不同的意义:对生物化学家来说,它是指有机化合物进行分解代谢释放能量的过程,但对工业微生物学家来说,它的意义就广泛得多。

从生物化学观点来看,糖进行分解代谢是产生还原型 NADH (烟酰胺腺嘌呤二核苷酸)的氧化过程。还原型 NADH 一定要被氧化再生成氧化型 NAD,这样代谢过程才能继续进行。在供氧条件下,NADH 被氧化是通过细胞色素系统进行电子转移来实现的,通入的氧是作为末端电子的受体。然而在厌氧条件下,还原型 NADH 被氧化是与有机物被还原相偶联,结果产生分解代谢途径中的中间产物或某些分支代谢途径的产物。酵母对果汁有机物的发酵,NADH 的再生就是通过丙酮酸被还原成乙醇来完成的。各种不同的微生物类群可以将丙酮酸还原成各种不同的产物,除乙醇外,还有乳酸、乙酸、丙酸、丁酸、丁醇等,同时产生 ATP。所以,从严格的生化意义来说,对这种典型的酒精厌氧发酵,可作如下的定义:“发酵是供给能源的氧化-还原反应”。其中的代谢中间体既是电子的供体,又是电子的受体。然而利用醋酸菌的醋酸发酵以及霉菌的柠檬酸及其它有机酸发酵,就需要氧来进行氧化反应。显然巴斯德的“发酵是无氧呼吸”的说法并不是通用的。然而需氧发酵是要经过厌氧发酵和需氧呼吸这两个代谢过程,因而它介于这两者之间,所以,当需氧发酵定义为“有机化合物借助于分子态氧而受到不完全氧化的反应”时,巴斯德的基本认识依

然是正确的，即呼吸和发酵均可统一理解为“生物为获得能量所进行的氧化-还原反应”。

工业微生物学家则把发酵扩展到利用培养微生物来制得产物的需氧或厌氧的任何过程，现在又扩展到培养生物细胞（含动、植物细胞和微生物）来制得产物的所有过程。酿造和有机溶媒的厌氧发酵，就具有双层意义，既能产生能量以供给菌体，又能获得产物，酵母发酵生产的酒精，就是微生物厌氧发酵的代谢产物。而需氧发酵也能生产出各种不同类型的代谢产物，如医药、食品、轻工等的发酵产品，并已成为广泛应用的发酵工艺，形成了各种类型的微生物发酵工业，也已成为现代生物技术的重要组成部分。在应用微生物工业中，把所有通过微生物或其它生物细胞（动、植物细胞）的培养，统称为发酵，包括天然发酵过程和人工控制的发酵过程两种方法。现今常在发酵名词前冠以产物的名称，称作某某发酵，如青霉素发酵、维生素发酵或葡聚糖发酵等都意味利用培养相关的微生物来大量生产相应产物的过程。这样的词汇现已被广泛使用。

## 二、发酵工业的发展简史

发酵技术已经有了悠久的历史，产品也很多，就以传统的食品和饮料来说，在西方有啤酒、葡萄酒、面包、干酪；在东方有酱、酱油、清酒；在中东和近东有乳酸等发酵产品。这些产品都是数千年来，凭借人类的智慧和经验，在没有亲眼见到微生物的情况下，巧妙地利用微生物所获得的产品。3000年前，中国已有用长霉的豆腐治疗皮肤病的记载，这很可能就是豆腐上长的霉菌中有能产生青霉素之类抗生素的微生物。

然而，尽管微生物的发酵产物与人类的关系十分密切，但人类在漫长的岁月中对发酵的本质一无所知，产物的生产也处在原始方式。直到1675年，荷兰人吕文虎克发明了显微镜，这才首次观察到大量活着的微生物（当时称为微动物）。被现代誉为微生物学鼻祖、发酵学之父的巴斯德首次证明酒精发酵是酵母菌所引起的，认识到发酵现象是由微生物所进行的化学反应，不同的发酵与不同的微生物之间是有关系的，也就是说，各个微生物在发酵过程中具有不同的生化反应。从此，对发酵的生理学意义才有了认识。随后，柯赫(Koch)建立了单种微生物的分离和纯培养技术，利用这个技术研究炭疽病时，发现动物的传染病是由特定的细菌所引起的。从此得知，微生物也和高等植物一样，可以根据它们的种属关系明确地加以区分。所以，在纯种培养技术建立之前，对微生物的利用还是自然发酵或天然发酵的时代，使用的微生物往往是混合菌种，而以后则是靠人类的智慧控制微生物的生态系统，才把单一的微生物菌种用于各种发酵工业，在产品防腐和稳定质量等方面也起到了重要的作用。

另一方面，布赫纳(Buchner)又阐明了微生物产生的化学反应的本质。他用磨碎的酵母细胞制成酵母汁，加入大量蔗糖后，也发现有 $\text{CO}_2$ 和乙醇的形成。这时人们才知道，任何生物都有引起产生发酵的物质（酶）。这就证明了酒精的发酵过程是由酶催化的一系列化学反应。后来对微生物的酶又进行了详细的研究。到了20世纪初，人们认识到，生物化学领域中研究过的肌肉糖酵解作用，与微生物引起的乳酸发酵和乙醇发酵，在本质上是相似的。这样就沟通了生物化学与微生物这两门学科。后来又进一步了解到，动物所要求的维生素与微生物所需要的生长因子，其化学组成也是相同的，这就进一步把生物化学和微生物学紧密联系起来。

1900~1940年间，发酵的主要产物是酵母菌体、甘油、柠檬酸、乳酸和丙酮丁醇等，



这个阶段的最重要的进展是在生产酵母菌体和有机溶媒过程中所取得的。面包酵母的发酵是个需氧过程，在丰富的麦芽汁培养基中，酵母细胞生长迅速，培养基中的溶氧很快被耗尽，导致菌体生长停滞而产生乙醇。利用限制麦芽汁的起始浓度，使菌体生长因碳源减少而受到限制，然后在发酵过程中逐步补加少量麦芽汁来控制菌体生长，这就基本解决了由菌体生长过快而影响溶氧的难题。这样建立起来的在发酵过程中逐步补加培养基成分的技术就是现今所称的补料分批培养法。该法现在已广泛用于发酵工业，以防溶氧受限和其它“有毒”物质的影响。通入空气的设施也改用喷射管。其次，丙酮丁醇的厌氧发酵，前期易受需氧菌的污染，后期又易受产酸的厌氧菌的污染，所以需要有良好的设备和严格的技术，才能消除杂菌的污染。为了防止杂菌的污染，在第一次世界大战期间，建造了用低碳钢制造的圆柱形发酵罐，并采用加压蒸汽灭菌和无菌接种技术，又建立了纯种培养新技术，这就为丙酮丁醇发酵解决了杂菌污染的问题。这些都是当时为改进发酵工艺所取得的进展，为40年代的需氧纯种发酵的成功奠定了基础。

第二次世界大战期间，由于战争的需要，迫切需要大规模生产青霉素，但青霉素生产又是需氧发酵，很易受到杂菌污染，所以就借鉴了丙酮丁醇的纯种厌氧发酵技术，成功地建立起深层通气培养法和一整套培养技术，包括向发酵罐中通入大量无菌空气、通过搅拌使空气均匀分布、培养基的灭菌和无菌接种等，使微生物在培养过程中的温度、pH、通气量、营养物的供给都受到严格的控制。这些技术都为以后的微生物工业提供了新的概念和模式，成为当代微生物工业兴旺发达的开端。当时青霉素的生产菌种的产量很低，为了提高菌种生产能力，又发展了改良菌种的技术。青霉素的中间试验和提取工艺的新技术也取得了比较迅速的进展。上述的深层培养法和操作技术，除用于其它抗生素发酵外，以后的微生物酶制剂生产、柠檬酸、维生素、氨基酸和甾类转化等发酵，都采用这种方法。

60年代初期，许多国家在开发微生物菌体作为饲料蛋白的研究中，使发酵工业取得了许多进展。以前所用的发酵罐为80~150m<sup>3</sup>规模大小的机械搅拌罐，由于微生物菌体蛋白的售价低，需要扩大生产规模来降低成本。烃又是有潜能的廉价碳源，作为培养基的成分，又需要提供足够的溶氧才能被利用。为了满足发展饲料工业所需的这些要求，开发出了氧传递速率高的加压喷射发酵罐和加压循环发酵罐的装置，以更换传氧效率较低的机械搅拌罐。为进一步提高经济效益，还开发出了连续培养的技术，成功地采用了3000m<sup>3</sup>的连续代压循环（即气升式）发酵罐，操作时间达100天以上。并采用了下列技术：利用高标准发酵罐的结构、补料系统采用连续灭菌和计算机控制以及循环操作等，以控制这样大发酵罐的污染问题。

70年代发展起来的基因工程技术，推动了发酵工业向着崭新的方向发展。基因工程技术可以在生物体外重组生物细胞的基因，并克隆到微生物细胞中，构成所谓工程菌。利用工程菌的发酵，可以产生原来微生物所不能产生的产物（如胰岛素、干扰素等）。细胞融合技术也可以创造许多具有特殊功能和多功能的新菌株，再通过发酵，也可产生新的有用物质。哺乳动物的活性蛋白基因在微生物细胞中也已经得到克隆和表达。这些都是现代发酵工程的重要进展，因而使微生物的发酵产品在不断增加。发酵工艺现已扩展到动物和植物细胞的培养领域中，使过去只能从动植物中提取的一些产品，现在也能成为发酵产品。因此，现在的发酵工业已经不是单纯的天然微生物的传统发酵，而是包括天然微生物、人工组建的“工程菌”、动植物细胞等生物细胞的培养，形成了新型发酵。同时，发酵工艺及其程序