



高职高专“十一五”规划教材

★ 生物技术系列

发酵技术

谢梅英 别智鑫 主编

FAJIAO JISHU



化学工业出版社



高职高专“十一五”规划教材

★ 生物技术系列

发酵技术

谢梅英 别智鑫 主编

FAJIAO JISHU



化学工业出版社

· 北京 ·

本书为高职高专生物技术类“十一五”规划教材。本教材按“技术路线”组织核心内容。以“必需、够用”为度,精选工业微生物菌种的选育与保藏、发酵工艺条件优化、发酵机制、发酵工程动力学、发酵工程单元操作、发酵生产设备、发酵中试比拟放大、发酵工程各论中所必需的基础理论知识。在发酵工程各论中,重点介绍了酒精、氨基酸、抗生素、酶制剂等产品生产以及污水生化处理技术,各部分内容相对独立,教师可根据各学校的专业方向和特色选讲。

为满足高职高专教学需要,培养学生的实践能力,本书特别编写了发酵实验技术内容,并减少了单纯理论验证型实验,增加了实用性基本功型实验。在实验部分还特别编写了小提示,以方便使用。

本书每章均编写有学习目标、本章小结及思考题。各章之间既相互联系又相对独立,在教学过程中可以针对每章进行独立的教学评估。

本书适用于高职高专生物技术、微生物技术、生物制药技术、食品类及农林类专业学生作为教材使用,也可供相关专业的中初级技术人员和教师参考。

图书在版编目(CIP)数据

发酵技术/谢梅英,别智鑫主编. —北京:化学工业出版社,
2007.8

高职高专“十一五”规划教材★生物技术系列

ISBN 978-7-122-00577-9

I. 发… II. ①谢…②别… III. 发酵工程-高等学校:技术
学校-教材 IV. TQ92

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第113292号

责任编辑:李植峰 梁静丽 郎红旗
责任校对:徐贞珍

文字编辑:周 倜
装帧设计:张 辉

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印 刷:北京云浩印刷有限责任公司

装 订:三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张17½ 字数438千字 2007年8月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址:<http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:29.00元

版权所有 违者必究

高职高专生物技术类“十一五”规划教材 建设委员会委员名单

主任委员 陈电容

副主任委员 王德芝

委员 (按姓氏笔画排序)

王云龙	王芳林	王幸斌	王德芝	李崇高	李敏骞	吴高岭
员冬梅	辛秀兰	宋正富	张胜	张海	张文雯	张温典
张德新	陆旋	陈红	陈电容	陈忠辉	陈登文	周庆椿
郑瑛	郑强	赵凤英	赵书芳	胡红杰	姜金华	钱志强
黄根隆	崔士民	程云燕				

高职高专生物技术类“十一五”规划教材 编审委员会委员名单

主任委员 章静波

副主任委员 辛秀兰 刘振祥

委员 (按姓氏笔画排序)

王利明	王幸斌	王晓杰	卞勇	叶水英	包雪英	兰蓉
朱学文	任平国	刘振祥	关力	江建军	孙德友	李燕
李双石	李玉林	李永峰	李晓燕	李晨阳	杨贤强	杨国伟
杨洪元	杨福林	邱玉华	余少军	辛秀兰	宋京城	张文雯
张守润	张星海	张晓辉	张跃林	张温典	张德炎	陈玮
陈可夫	陈红梅	罗合春	金小花	金学平	周双林	周济铭
赵俊杰	胡斌杰	贺立虎	夏红	夏未铭	党占平	徐安书
徐启红	郭晓昭	陶令霞	黄贝贝	章玉平	章静波	董秀芹
程春杰	谢梅英	廖威	廖旭辉			

高职高专生物技术类“十一五”规划教材 建设单位名单 (按汉语拼音排序)

安徽第一轻工业学校	湖北荆门职业技术学院
安徽万博科技职业学院	湖北荆州职业技术学院
安徽芜湖职业技术学院	湖北三峡职业技术学院
安徽医学高等专科学校	湖北生态工程职业技术学院
北京城市学院	湖北十堰职业技术学院
北京电子科技职业学院	湖北咸宁职业技术学院
北京吉利大学	湖北中医学院
北京协和医学院	湖南省药品检验所
北京医药器械学校	湖南永州职业技术学院
重庆工贸职业技术学院	华中农业大学
重庆三峡职业学院	江苏常州工程职业技术学院
甘肃农业职业技术学院	江西景德镇高等专科学校
广东科贸职业学院	江西应用技术职业学院
广西职业技术学院	开封大学
广州城市职业学院	山东滨州职业技术学院
贵州轻工职业技术学院	山东博士伦福瑞达制药有限公司
河北承德民族师范专科学校	山东东营职业学院
河北承德职业技术学院	陕西杨凌职业技术学院
河北旅游职业学院	上海工程技术大学
河南安阳工学院	四川工商职业技术学院
河南工业大学	苏州农业职业技术学院
河南科技学院	武汉软件工程职业学院
河南漯河职业技术学院	武汉马应龙药业有限公司
河南濮阳职业技术学院	武汉生物工程学院
河南三门峡职业技术学院	浙江大学
河南信阳农业高等专科学校	浙江金华职业技术学院
黑龙江农业职业技术学院	浙江经贸职业技术学院
呼和浩特职业学院	浙江医药高等专科学校
湖北大学知行学院	郑州牧业工程高等专科学校
湖北恩施职业技术学院	郑州职业技术学院
湖北黄冈职业技术学院	中国食品工业(集团)公司

《发酵技术》编写人员

主编 谢梅英（北京电子科技职业学院）

别智鑫（杨凌职业技术学院）

参编 （按姓氏笔画排序）

刘俊英（北京电子科技职业学院）

别智鑫（杨凌职业技术学院）

张素霞（漯河职业技术学院）

徐安书（重庆工贸职业技术学院）

黄蓓蓓（三门峡职业技术学院）

谢梅英（北京电子科技职业学院）

廖 威（广西职业技术学院）

出版说明

“十五”期间，我国的高职高专教育经历了跨越式发展，高职高专教育的专业建设、改革和发展思路进一步明晰，教育研究和教学实践都取得了丰硕成果。但我们也清醒地认识到，高职高专教育的人才培养效果与市场需求之间还存在着一定的偏差，课程改革的教材建设的相对滞后是导致这一偏差的两大直接原因。虽然“十五”期间各级教育主管部门、高职高专院校以及各类出版社对高职高专教材建设给予了较大的支持和投入，出版了一些特色教材，但由于整个高职高专教育尚未进入成熟期，教育改革尚处于探索阶段，故而现行的一些教材难免存在一定程度的不足。如某些教材仅仅注重内容上的增减变化，过分强调知识的系统性，没有真正反映出高职高专教育的特征与要求；编写人员缺少对生产实际的调查研究和深入了解，缺乏对职业岗位所需的专业知识和专项能力的科学分析，教材的内容脱离生产经营实际，针对性不强，新技术、新工艺、新案例、新材料不能及时反映到教材中来，与高职高专教育应紧密联系行业实际的要求不相适应；专业课程教材的编写缺少规划性，同一专业的各门课程所使用的教材缺乏内在的沟通衔接等。为适应高职高专教学的需要，在总结“十五”期间高职高专教学改革成果的基础上，组织编写一批突出高职高专教育特色，以培养适应行业需要的高级技能型人才为目标的高质量教材不仅十分必要，而且十分迫切。

“十一五”期间，教育部将深化教学内容和课程体系改革作为工作重点，大力推进教材向合理化、规范化方向发展。2006年，教育部不仅首次成立了高职高专40个专业类别的“教育部高等学校教学指导委员会”，加强了对高职高专教学改革和教材建设的直接指导，还组织了普通高等教育“十一五”国家级规划教材的申报工作。化学工业出版社申报的200余本教材经教育部专家评审，被列选为普通高等教育“十一五”国家级规划教材，为高等教育的发展做出了积极贡献。依照教育部的部署和要求，2006年化学工业出版社与生物技术应用专业教育部教改试点高职院校联合，邀请50余家高职高专院校和生物技术相关企业作为教材建设单位，共同研讨开发生物技术类高职高专“十一五”规划教材，成立了“高职高专生物技术类‘十一五’规划教材建设委员会”和“高职高专生物技术类‘十一五’规划教材编审委员会”，拟在“十一五”期间组织相关院校的一线教师和相关企业的技术人员，在深入调研、整体规划的基础上，编写出版一套生物技术相关专业基础课及专门课的教材——“高职高专‘十一五’规划教材★生物技术系列”。该批教材将涵盖各类高职高专院校的生物技术及应用专业、生物化工工艺专业、生物实验技术专业、微生物技术及应用专业、生物科学专业、生物制药技术专业、生化制药技术专业、发酵技术专业等专业的核心课程，从而形成优化配套的高职高专教材体系。该套教材将于2007~2008年陆续出版。目前，该套教材的首批编写计划已顺利实施。首批编写的教材中，《化学》、《细胞培养技术》和《药品质量管理》已列选为“普通高等教育‘十一五’国家级规划教材”。

该套教材的建设宗旨是从根本上体现以应用性职业岗位需求为中心，以素质教育、创新教育为基础，以学生能力培养为本位的教育理念，满足高职高专教学改革的需要和人才培养的需求。编写中主要遵循以下原则：①理论教材和实训教材中的理论知识遵循“必需”、“够用”、“管用”的原则；②依据企业对人才的知识、能力、素质的要求，贯彻职业需求导向的

原则；③坚持职业能力培养为主线的原则，多加入实际案例、技术路线、操作技能的论述，教材内容采用模块化形式组织，具有一定的可剪裁性和可拼接性，可根据不同的培养目标将内容模块剪裁、拼接成不同类型的知识体系；④考虑多岗位需求和学生继续学习的要求，在职业岗位现实需要的基础上，注重学生的全面发展，以常规技术为基础，关键技术为重点，先进技术为导向，体现与时俱进的原则；⑤围绕各种具体专业，制订统一、全面、规范性的教材建设标准，以协调同一专业相关课程教材间的衔接，形成有机整体，体现整套教材的系统性和规划性。同时，结合目前行业发展和教学模式的变化，吸纳并鼓励编写特色课程教材，以适应新的教学要求；并注重开发实验实训教材、电子教案、多媒体课件、网络教学资源等配套教学资源，方便教师教学和学生学习，满足现代化教学模式和课程改革的需要。

在该套教材的组织建设和使用过程中，欢迎高职高专院校的广大师生提出宝贵意见，也欢迎相关行业的管理人员、技术人员与社会各界关注高职高专教育和人才培养的有识之士提出中肯的建议，以便我们进一步做好该套教材的建设工作；更盼望有更多的高职高专院校教师和相关行业的管理人员、技术人员参加到教材的建设工作和编审工作中来，与我们共同努力，编写和出版更多高质量的教材。

化学工业出版社 教育分社

前 言

伴随着生命科学与生物技术研究迅猛发展,发酵技术及相关应用领域的研究也越来越活跃。发酵技术不仅是工业生物技术的重要部分,更是生物技术产业化的关键,发酵技术在中国未来科技发展战略中将具有不可替代的重要位置。

发酵技术是高职高专生物技术及应用专业、微生物技术专业等的一门重要的专业核心课程。根据高等职业教育的特点,编写时按“技术路线”组织教材核心内容,以够用为度,精选工业微生物菌种的选育与保藏、发酵工艺条件优化、发酵机制、发酵工程动力学、发酵工程单元操作、发酵生产设备、发酵中试比拟放大、发酵工程各论中所必需的基础理论知识。在发酵工程各论中,重点介绍了酒精、氨基酸、抗生素、微生物酶制剂等产品生产工艺以及污水生化处理技术,各部分内容相对独立,教师可根据各学校的专业方向和特色选讲。

为满足高职高专教学需要,培养学生的实践能力,本书特别编写了发酵实验技术内容,并减少了单纯理论验证型实验,增加了实用性基本功型实验。实验内容由浅入深、由简单到复杂、由被动模仿到主动设计以及综合运用,符合认识规律和教学规律。在实验部分还特别编写了实验小提示,以方便使用。

本书每章均编写有学习目标、本章小结及思考题。各章之间既相互联系又相对独立,在教学过程中可以针对每章进行独立的教学评估。

本书由谢梅英(北京电子科技职业学院)和别智鑫(杨凌职业技术学院)主编,全书共分十章。第一章由谢梅英编写,第二章由刘俊英(北京电子科技职业学院)编写,第三章、第四章由徐安书(重庆工贸职业技术学院)编写,第五章由廖威(广西职业技术学院)编写,第六章由别智鑫编写,第七章、第八章由张素霞(漯河职业技术学院)编写,第九章由黄蓓蓓(三门峡职业技术学院)编写,第十章由别智鑫、徐安书、廖威、张素霞、黄蓓蓓编写。

本书适用于高职高专生物技术、微生物技术、生物制药技术、食品类及农林类专业学生作为教材使用,也可供相关专业的中初级技术人员和教师参考。

在本书的编写过程中得到了各编委所在院校及化学工业出版社的大力支持,在此一并表示衷心的感谢。全体编者向本书引用为参考文献的各位专家、同行表示衷心感谢并致以崇高敬意。

由于编者水平和能力的局限,疏漏之处恳切希望读者提出宝贵意见,以便及时做出更正。

编 者

2007年5月

目 录

第一章 绪论	1	第一节 培养基的选择和确定	31
第一节 发酵与发酵技术概述	1	一、培养基的营养成分	31
一、什么是发酵	1	二、培养基的类型和用途	35
二、什么是发酵技术	1	三、培养基的选择方法	38
三、发酵技术领域发展进程	2	第二节 培养基的配制	39
第二节 发酵产物的类型	4	一、培养基的配制原则	39
一、微生物菌体	4	二、主要微生物的培养基组成	40
二、微生物代谢产物	4	三、配制培养基的基本过程	40
三、微生物酶	4	四、固体曲料的配制	43
四、微生物转化产物	4	第三节 微生物菌种生长条件	43
第三节 发酵工业的特点与范围	5	一、温度	43
一、发酵工业的特点	5	二、pH 值	45
二、发酵工业的范围	5	三、氧	45
三、国内外发酵工业现状及发展趋势	6	四、通风和搅拌	45
本章小结	7	五、种龄与接种量	46
思考题	8	第四节 菌种扩大培养	46
第二章 工业微生物菌种的选育、		一、种子制备过程	46
保藏与培养	9	二、生产车间种子培养	48
第一节 工业微生物常用菌种	9	三、种子培养中应注意的问题	50
第二节 工业微生物菌种的选育	11	第五节 发酵终点的判断	50
一、微生物菌种保藏机构简介	11	一、经济因素	51
二、从自然界或现有菌种中分离		二、产品质量因素	51
筛选菌种	12	三、特殊因素	51
三、微生物菌种的自然选育	14	本章小结	51
四、微生物菌种的诱变选育	15	思考题	52
第三节 工业微生物菌种的保藏	20	第四章 发酵机制	53
一、菌种保藏的原理	20	第一节 微生物的能量代谢	53
二、菌种保藏的方法	20	一、生物氧化	53
三、保藏菌种的质量控制	22	二、异养微生物的生物氧化	55
四、菌种的退化与复壮	23	三、自养微生物的生物氧化	63
第四节 微生物菌种的接种、分离		四、能量转移	64
纯化与培养	24	第二节 微生物的合成代谢	65
一、接种	24	一、糖类的生物合成	65
二、分离纯化	27	二、脂肪酸的生物合成	66
三、培养方法	29	三、氨基酸和核苷酸的生物合成	66
本章小结	29	第三节 分解代谢和合成代谢间的关系	68
思考题	30	一、中间代谢产物的重要性	68
第三章 发酵工艺条件优化	31	二、兼用代谢途径	69

三、代谢物回补顺序	69	四、控制溶氧的工艺手段	125
第四节 微生物的代谢调节与发酵生产	69	五、溶氧异常分析	125
一、酶合成的调节	69	本章小结	126
二、酶活性的调节	71	思考题	127
第五节 抗生素发酵的代谢调控	73	第七章 发酵生产设备	128
一、次级代谢产物生物合成的主要途径	73	第一节 发酵罐	128
二、抗生素发酵调控机制	75	一、发酵罐的特点	128
三、抗生素生物合成途径的遗传控制	78	二、发酵罐的类型	128
本章小结	78	第二节 嫌气发酵设备	129
思考题	79	一、酒精发酵设备	129
第五章 发酵工程动力学	80	二、啤酒发酵设备	130
第一节 概述	80	三、新型啤酒发酵设备	132
一、发酵工程动力学过程的主要特征	80	四、连续发酵设备	134
二、发酵工程动力学的描述方法	81	第三节 通风发酵设备	136
第二节 微生物菌体生长的动力学模型	86	一、机械搅拌发酵罐	136
一、分批发酵菌体生长的动力学模型	86	二、气升式发酵罐	141
二、连续发酵菌体生长的动力学模型	90	三、自吸式发酵罐	143
三、补料分批发酵菌体生长的动力学模型	94	四、发酵辅助设备	144
第三节 微生物产物生成动力学模型	95	第四节 固体发酵设备	145
一、微生物产物生成动力学模型分类	96	一、固体发酵设备的分类	146
二、菌体生长与产物形成的反应模型	96	二、通风固相发酵罐	146
三、产物形成与基质消耗的反应模型	99	第五节 动植物细胞培养反应器	147
本章小结	100	一、动物细胞培养反应器	147
思考题	101	二、植物细胞培养反应器	149
第六章 发酵工程单元操作	102	第六节 发酵反应器的自动控制	151
第一节 培养基和设备的灭菌	103	一、发酵过程监控的主要指标	151
一、灭菌的方法	103	二、发酵反应器的监控系统	151
二、培养基热灭菌动力学	104	三、发酵过程常规参数的自动监控	152
三、培养基的灭菌	108	四、程序控制	153
四、设备和管道的灭菌	111	本章小结	154
五、其他物料和实验用具的灭菌条件	111	思考题	155
第二节 空气除菌	111	第八章 发酵中试比拟放大	156
一、发酵用无菌空气的质量标准	112	第一节 发酵中试比拟放大的目的和任务	156
二、空气除菌方法	112	一、发酵中试比拟放大的条件	156
三、介质过滤除菌的机理	114	二、发酵中试比拟放大的目的	157
四、过滤除菌的效率	115	三、发酵中试放大阶段的任务	158
五、过滤介质	116	四、新产品研究的最终目的	159
六、工业空气过滤除菌流程	117	第二节 发酵中试比拟放大的原则和依据	160
七、空气的预处理	118	一、发酵中试比拟放大的原则	160
八、提高空气过滤除菌效率的措施	119	二、发酵中试比拟放大的依据	160
第三节 氧的供需与传递	119	三、物料衡算	160
一、工业发酵过程中氧的需求	120	第三节 发酵中试和发酵罐比拟放大的内容	161
二、培养过程氧的传递理论	121		
三、影响氧传递速率的主要因素	123		

一、发酵中试放大的内容	161	四、谷氨酸发酵实例	195
二、发酵罐比拟放大的内容	162	五、赖氨酸发酵实例	200
第四节 发酵中试比拟放大的方法	163	第三节 抗生素生产工艺	202
一、比拟放大的基本方法	163	一、概述	202
二、比拟放大的具体方法	164	二、抗生素生物合成的代谢调节机制	203
三、比拟放大在发酵工程中的适用性	165	三、抗生素发酵生产工艺	204
四、中试比拟放大步骤	166	四、抗生素生产实例	207
第五节 发酵中试放大的设备	166	第四节 微生物酶制剂生产工艺	210
一、中试放大的装置	167	一、概述	210
二、设备的选择和工艺管路的改造	167	二、微生物酶合成的代谢调控与育种	212
三、投料前的准备	167	三、微生物酶的发酵工艺条件及控制	213
第六节 发酵中试放大的工艺	168	四、酶的提取技术	218
一、原料的特点	168	五、微生物酶生产实例	220
二、操作方法	168	第五节 水污染与污水生化处理技术	224
三、生产工艺规程	168	一、概述	224
四、生产过程的注意事项	169	二、污水生化处理技术	229
五、安全问题	170	本章小结	241
本章小结	170	思考题	242
思考题	171	第十章 发酵实验技术	243
第九章 发酵工程各论	172	实验一 特定产物生产菌种的筛选	243
第一节 酒精生产工艺	172	实验二 菌种保藏	245
一、概述	172	实验三 摇床培养确定菌体培养和 营养条件	247
二、酒精发酵原料与辅料	173	实验四 小型发酵罐的应用和酵母菌 发酵	250
三、酒精生产中的有关微生物	176	实验五 流加发酵动力学研究	253
四、酒精发酵的生化机制	176	实验六 谷氨酸发酵	255
五、酒精发酵工艺	179	实验七 酒精发酵	258
六、酒精蒸馏与精馏	188	实验八 谷氨酸发酵废菌体和废液的 生物处理	261
七、酒精发酵工业研究发展方向	189	参考文献	266
第二节 氨基酸生产工艺	190		
一、概述	190		
二、氨基酸合成的代谢调控	191		
三、氨基酸发酵的工艺控制	192		

第一章 绪 论

学习目标

1. 明确发酵在狭义及广义上的定义。
2. 了解传统发酵技术和现代发酵技术的典型应用实例。
3. 掌握发酵产物的类型。
4. 熟悉发酵工业的特点和范围。
5. 了解发酵技术领域的发展历史、现状及前景。

第一节 发酵与发酵技术概述

伴随着生命科学与生物技术研究的迅猛发展，发酵技术及相关应用领域的研究也越来越活跃。发酵技术不仅是工业生物技术的重要部分，更是生物技术产业化的关键。发酵技术将会在农业、卫生保健、工业以及环境的可持续发展等领域发挥巨大作用。

一、什么是发酵

发酵一词最初来源于拉丁文“fervere”，是用来描述人们在看到果汁或麦芽汁经过酵母菌的作用出现的“沸腾”现象。这种现象实际上是由于酵母菌作用于果汁或麦芽汁中的糖，在厌氧条件下代谢产生了二氧化碳气泡引起的。随后，人们便将这种现象称为“发酵”。但是一直以来生物化学家与工业微生物学家对发酵给出了不同的定义。

从生物化学的角度来说，发酵是指在无氧条件下一个有机化合物能同时作为电子供体和最终电子受体并产生能量的过程。以酵母菌的乙醇发酵过程为例，酵母菌在无氧条件下作用于果汁或麦芽汁中的糖，将糖分子分解并失去分子内电子，而电子的最终受体为糖的分解产物乙醛，乙醛接受电子后被还原为乙醇。此过程为生物化学意义上典型的“发酵”。

工业微生物学家拓宽了原发酵的定义。从工业微生物的角度来说，发酵则指所有通过大规模培养微生物来生产产品的过程。这当中既包括微生物的厌氧发酵，也包括好氧发酵。以谷氨酸棒杆菌的谷氨酸发酵过程为例，生物合成谷氨酸的途径大致是：葡萄糖经糖酵解生成丙酮酸，在有氧条件下通过三羧酸循环生成 α -酮戊二酸， α -酮戊二酸在谷氨酸脱氢酶的催化及有 NH_4^+ 存在的条件下，生成谷氨酸。谷氨酸棒杆菌的发酵过程是需氧的，此过程同样属于工业微生物学定义中的“发酵”。

简而言之，生物化学家认为“发酵”是酵母菌在无氧状态下的呼吸过程，是生物获得能量的一种形式。现代发酵的定义则将利用微生物在有氧或无氧条件下的生命活动来制造产品的过程叫作发酵。

二、什么是发酵技术

发酵技术是指以微生物为主要操作对象的生物工程技术，发酵技术又可称为微生物工程

或发酵工程。人们所熟悉的医疗用青霉素、红霉素等药物以及日常生活中的味精、啤酒、酸奶等食品都是由微生物在大规模的发酵罐内发酵生产出来的，这些被称为“发酵工业”。

随着科学技术的发展，发酵技术也在随之不断变化。例如基因工程菌的应用，就是通过生物工程技术所创造出的新型微生物进行发酵。利用基因工程菌发酵往往可以得到所需要的高附加值产品，发酵法生产胰岛素就是一个很好的实例。胰岛素是一种蛋白质激素，由 51 个氨基酸残基组成。由于胰岛素能够降低人体内血糖含量，因此医学上一直用胰岛素配合治疗糖尿病。传统的胰岛素生产方法是从牛或猪的胰脏中提取，每 454kg 牛胰脏，才能得到 10g 胰岛素。使用这种传统的胰岛素生产加工方法，很难满足需求。现在人们可以通过基因工程的方法，把编码胰岛素的基因导入大肠杆菌细胞中，创造出能够生产胰岛素的基因工程菌。再将带有人胰岛素基因的工程菌放到大型的发酵罐里，提供合适的环境条件和营养物质，进行人工培养，就可以大量繁殖这种基因工程菌，从而生产出大量的人胰岛素。人们把这种大肠杆菌称为生产胰岛素的活工厂，用这种方法每 200L 发酵液就可得到 10g 胰岛素，同时还大大缩短了生产周期。

三、发酵技术领域发展进程

自从巴斯德发现了发酵这一现象后，发酵的应用像所有其他工业一样得到了迅速的发展。1900 年以前，发酵产品仅限于饮用酒精和醋。1900~1940 年，世界上发酵产品扩大到酵母细胞、甘油、柠檬酸、乳酸、乙醇、丙酮丁醇。从 1940 年开始，抗生素的出现为发酵工业翻开了一个新的篇章。这之后出现了一系列优秀的发酵产品，例如赤霉素、氨基酸、核苷酸、酶、转化产物、单细胞蛋白（SCP）、胰岛素、干扰素等。这期间的 20 世纪 60 年代，由于乙醇和其他溶剂的化学合成方式更为经济，从而使发酵工业呈现退势。但化学合成法生产乙醇、丙酮等产品主要是以石油产品为原材料，石油是不可再生资源，所以这类方法由于其目光短浅而受到了质疑。此外由于石油产品作为原材料还会引起相关的环境及政治方面的问题，微生物发酵又开始经历一个复兴时期。

20 世纪 90 年代，利用可再生资源和微生物法生产生物催化剂成为重点发展的领域。例如农业产品加工中产生的大量废弃物（如植物淀粉、纤维素），乳制品加工中产生的乳清均可作为发酵生产中的碳源，且这些均为可再生资源。另外从环境的角度而言，这些固态废弃物或液态废弃物如果不再利用，则还需要用专门的方式进行处理。微生物发酵还有其他的益处，比如这类生产加工中，不使用有毒试剂或其他媒介作为添加剂。在这一时期，生物学家一方面在寻找新的天然微生物以不断丰富现有发酵产品的种类，提高生产水平；另一方面也具备了制造基因工程菌的能力，从而大大提高了产品的经济价值。近几年，由于基因工程菌的应用，使微生物发酵技术发生了彻底的改变。在基因工程菌的应用中除了利用细菌外，目前也大量引入了哺乳动物细胞培养物生产发酵产品。一些天然菌与基因工程菌发酵产品的有关应用实例见表 1-1 和表 1-2。

表 1-1 天然菌发酵产品的应用实例

产 品	应 用	菌 种	产 品	应 用	菌 种
杆菌肽	抗菌类药物	枯草杆菌	青霉素	抗菌类药物	青霉菌
氯霉素	抗菌类药物	委内瑞拉链霉菌	转化酵素	糖果生产	啤酒酵母菌
柠檬酸	食用香味料	黑曲霉	胶质	水果果汁	黑曲霉
乳糖分解酵素	助消化类药物	埃希大肠杆菌	蛋白酶	洗涤剂	枯草杆菌

表 1-2 基因工程菌发酵产品的应用实例

产 品	应 用	菌 种
牛生长激素	奶牛产奶	埃希大肠杆菌
纤维素酶	分解纤维素	埃希大肠杆菌
人生长激素	治疗发育不良	埃希大肠杆菌
人胰岛素	治疗糖尿病	埃希大肠杆菌
单克隆抗体	治疗	哺乳动物细胞培养物
Ice-minus	阻止植物结冰	丁香属假单胞菌
组织纤溶酶原激活剂(tPA)	凝血剂	哺乳动物细胞培养物
肿瘤坏死因子	分散肿瘤细胞	埃希大肠杆菌

在微生物发酵工程的发展历史中,出现了以下重要里程碑式的大事件。

① 20 世纪 40 年代开始的抗生素工业推动了生化工程的建立,正是因为抗生素的大罐无菌深层发酵才是真正现代意义发酵工业的开始,在这之前的乙醇发酵、乳酸发酵、面包酵母发酵等都不是真正的无菌发酵。

② 20 世纪 50 年代初生物转化技术的兴起,即利用微生物将某种基团加入到某些大分子化合物上,由此改变这些大分子的特性,从而转化生产出具有新特性的化合物。

③ 20 世纪 60 年代末通过利用微生物发酵生产氨基酸获得成功并迅速发展。

④ 20 世纪 50~60 年代在发酵生产中发展并运用了固定化酶、固定化细胞等固定化技术,极大地提高了发酵效率。

⑤ 20 世纪 60 年代末发现并应用了蛋白酶和其他酶抑制剂,极大地推动了生物活性物质的寻找与开发。

⑥ 20 世纪 70 年代初基因工程技术的发展与完善,使人类按照自己的意愿设计、培育菌株成为了可能。现在,人们可以利用基因工程菌生产所需的药物和生物活性物质。

发酵工业发展进程时期、各发展时期的主要代表产品以及采用的菌种选育技术见表 1-3。

表 1-3 发酵工业发展进程

发展时期	主要 产品	菌株 选育
1900 年以前	酒精,醋	酒精生产采用纯种酵母培养,用优质醋作为醋生产中的醋母
1900~1940 年	面包酵母、甘油、柠檬酸、乳酸、丙酮丁醇	应用纯培养技术
1940 年以后	青霉素、链霉素和其他抗生素,赤霉素、氨基酸、核苷酸、酶和转化产物	采用诱变和筛选技术
1960 年以后	用烃和其他物质生产单细胞蛋白	生产菌株的遗传工程技术
1979 年以后	用微生物生产非微生物正常生产的物质,如胰岛素、干扰素等	利用基因工程技术将外源基因引入微生物宿主

目前,利用发酵技术生产加工的产品已达近百种。随着人类基因组测序的完成及功能基因的不断发现,利用基因转移细胞进行大规模生产将是主要手段,这些细胞包括微生物细胞、动植物细胞、藻类等。发酵过程优化技术对当前生物技术产业以及今后的潜在发展都具

有重要的经济意义和社会意义。发酵技术行业所开发出的产品为人类未来的健康与安宁带来了巨大的希望。发酵技术研究领域中许多令人激动的发现也必将铭记在人类历史进程中。

第二节 发酵产物的类型

发酵产物的类型繁多,根据其性质可大致分为四类:微生物菌体、微生物代谢产物、微生物酶、微生物转化产物。

一、微生物菌体

即经过培养微生物并收获其细胞作为发酵产品。传统的菌体发酵工业,有用于面包制作的酵母发酵及用于人类或动物食品的微生物菌体蛋白发酵两种类型。例如,直接培养并收获酵母细胞作为动物饲料添加剂,即单细胞蛋白。

新的菌体发酵可用来生产一些药用真菌,如香菇类、与天麻共生的密环菌、担子菌的灵芝等药用菌。这些药用真菌可以通过发酵培养的手段生产出与天然产品具有同等疗效的产物。

二、微生物代谢产物

即将微生物生长代谢过程中的代谢产物作为发酵产品。微生物生长过程中的代谢产物种类很多,分为初级代谢产物和次级代谢产物。

1. 初级代谢产物

初级代谢产物是微生物生长必不可少的,主要有氨基酸、核苷酸、蛋白质、核酸、脂类、碳水化合物等。初级代谢产物在经济上具有相当的重要性,分别形成了各种不同的发酵工业。

2. 次级代谢产物

次级代谢产物实际上是以初级代谢产物的中间体为前体合成的,次级代谢产物是一些分子结构比较复杂的化合物,如抗生素、生物碱、毒素、激素、维生素等。

次级代谢产物在细胞中的产量很低,而且并不是所有的微生物都能进行次级代谢。但次级代谢产物对发酵工业具有很重要的意义,所以受到了人们的关注。次级代谢产物的特殊作用因种类不同而异:有的具有明显的抗菌性,有的是特殊的酶抑制剂,还有的是细胞生长的促进剂,许多次级代谢产物还有药理学性质,因而得到了大力发展,已逐渐成为发酵工业的重要部分。

三、微生物酶

即通过获取微生物的酶作为发酵产品。酶普遍存在于动物、植物和微生物中。最初,人们都是从动植物组织中提取酶,但目前工业应用的酶大多来自微生物发酵,因为微生物具有种类多、产酶的品种多、生产容易和成本低等特点。

微生物酶制剂有广泛的用途,多用于食品和轻工业中,如微生物生产的淀粉酶和糖化酶用于生产葡萄糖,氨基酰化酶用于拆分 DL-氨基酸等。酶也用于医药生产和医疗检测中,如青霉素酰化酶用来生产半合成青霉素所用的中间体 6-氨基青霉烷酸,胆固醇氧化酶用于检查血清中胆固醇的含量,葡萄糖氧化酶用于检查血中葡萄糖的含量等。

与从植物或动物中提取酶相比,利用微生物发酵法获取酶最大的优势是可以利用发酵技术大规模生产,还可以通过改变微生物代谢途径的方法提高酶的产量。

四、微生物转化产物

即通过微生物细胞将一个化合物转变成另一个结构相关、更具经济价值的化合物。微生

物的转化作用比使用特定的化学试剂有更多的优点,反应是在常温下进行的,而且不需要重金属催化剂。例如将乙醇用微生物转化成乙酸的方法用来制醋,这已经是很成熟的生产方法。近年来利用微生物的转化作用还可以生产更具有经济价值的产品,例如生产甾类、抗生素和前列腺素前体物质等。

微生物转化过程的优势是先生产大量菌体,然后催化单一反应。固定化技术的出现,使得微生物转化作用这一优势更加突出。具体做法是将全细胞或其中有催化作用的酶固定在惰性载体上,这种具有催化作用的固定化细胞或酶可以反复多次使用。

第三节 发酵工业的特点与范围

一、发酵工业的特点

发酵工业是利用微生物具有的化学活性进行物质转换,从事各种发酵产品生产的工业。发酵工业的特点可以归纳为以下几方面。

(1) 门类众多 发酵工业从酒、发酵乳、酱油、醋等传统酿造产品,到乙醇、丙酮丁醇等溶剂,抗生素、有机酸、氨基酸、核苷酸、维生素、酶制剂、胰岛素、生理活性物质,以及利用纤维素等天然物质生产乙醇、乙烯新型能源,可算是渗透到国民经济的各个部门。

(2) 技术发展迅速 随着生产技术的迅猛发展,加速了发酵技术的更新与发展。酶、整细胞和细胞器固定化技术的出现,带来了简化工艺,节约设备,提高产品质量,降低生产成本,发酵趋于管道化、连续化、自动化等一系列好处。遗传工程技术的应用,使定向育种逐渐成为可能。计算机自控仪表的应用,提高了发酵技术的应用水平。

(3) 节约资源,有益环境 发酵产品加工过程是利用微生物完成产物的合成积累,培养微生物的条件温和,不需要高温高压,也不使用有毒试剂或其他媒介作为添加剂,现在越来越多的发酵产品选用植物淀粉、纤维素等可再生资源为生产原料,相对于同类产品的其他生产方式而言,既节约了资源,又有益于环境保护。

(4) 生产过程独特 发酵产品的生产一般操作条件比较温和;以淀粉、糖蜜等为主,辅以少量有机氮源、无机氮源为原料;反应过程以生命体的自动调节方式进行;能合成复杂的化合物如酶、光学活性体等;能进行一些特殊反应,如官能团导入;生产产品的生物体本身也是产物,含有多种物质;生产过程中,需要防止杂菌污染;改变菌种性能可获得新的反应性能或提高生产率。

二、发酵工业的范围

发酵工业涉及的范围非常广泛,而且其范围还在不断扩大。目前,发酵工业的范围可以大致分为以下类型:①酿酒工业(啤酒、葡萄酒、白酒等);②食品工业(酱、酱油、食醋、腐乳、面包、酸奶等);③有机溶剂发酵工业(酒精、丙酮丁醇等);④抗生素工业(青霉素、链霉素、土霉素等);⑤有机酸发酵工业(柠檬酸、葡萄糖酸等);⑥酶制剂发酵工业(淀粉酶、蛋白酶等);⑦氨基酸发酵工业(谷氨酸、赖氨酸等);⑧核苷酸类物质发酵工业(肌苷酸、肌苷等);⑨维生素发酵工业(维生素B₂、维生素B₁₂等);⑩生理活性物质发酵工业(激素、赤霉素等);⑪微生物菌体蛋白发酵工业(酵母、单细胞蛋白等);⑫微生物环境净化工业(利用微生物处理废水、污水等);⑬生物能工业(沼气,纤维素等发酵生产乙醇、乙烯等能源物质);⑭微生物冶金工业(利用微生物探矿、冶金、石油脱硫等)。