



全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教材指导委员会审定



发酵微生物学

●
微生物专业用

●
颜方贵 主编

(北京)

中国农业大学出版社

~~全国高等农业院校教材~~
全国高等农业院校教材指导委员会审定

发 酵 微 生 物 学

颜方贵 主编

微生物专业用

中国农业大学出版社

全国高等农业院校教材

发酵微生物学

颜方贵 主编

*

中国农业大学出版社出版

(北京市海淀区圆明园西路二号)

北京市社科印刷厂印刷

新华书店经销

*

850×1 168 开本 32 印张 9.5 千字 235

1993 年 1 月第 1 版 1999 年 8 月第 2 次印刷

印数:5001~10050

ISBN 7-81002-385-3/Q · 35

定 价:13.00 元

主 编 颜方贵 (中国农业大学)

参 编 阎淳泰 (华中农业大学)

主 审 袁振远 (华南理工大学)

责任编辑 赵玉琴

封面设计 郑 川

前 言

本书系根据农业部“七五”教材编写规划的精神,按照教学大纲的要求,在原北京农业大学的发酵微生物学讲义和华中农业大学的酿造学基础上,经修改、删减而成,可作为农业院校微生物专业的教材和其它有关专业的教学参考书。也可供微生物发酵工厂科技人员参考。

由于农业院校微生物专业的课程中,尚开设农用抗生素课,因此,本书不包括抗生素、激素、毒素、微生物杀虫剂等有关内容。

本书的通论部分除阐述一般发酵方面的概念外,着重论述共同性的微生物问题,如菌种选育、发酵条件和过程控制以及发酵工业杂菌污染与防止等。由于目前发酵原料主要为农副产品,因此,对原料的处理做了重点的启发性介绍。发酵产物的提取也做了概括性的论述。

本书的各论包括酒精、丙酮丁醇、维生素、有机酸、氨基酸、核苷酸等发酵、单细胞蛋白制造和食品酿造。以上的安排,除考虑嫌气和好气的产品外,还考虑到应选择与农业关系较密切的发酵品种。各章的内容仍以微生物在发酵过程中的作用为主,工艺部分为辅。

本书第二章酒精发酵和第十章食品酿造为华中农业大学阎淳泰编写,其余各章为中国农业大学颜方贵所编。

承蒙中国酿造学会副理事长、华南理工大学食品工程系袁振远教授于百忙中审阅全稿,中国农业大学颜耀祖同志绘制插图,还有很多同志提供宝贵意见,参加抄写、校对等工作,特致衷心的感谢。

本书在编写中,尽管参考了国内外有关书籍和近期文献,但限于水平和时间仓促,错误和不足之处,在所难免,敬请读者批评指正。

编者

1991年9月20日

目 录

第一章 通论	(1)
第一节 发酵与发酵微生物学	(1)
一、发酵微生物学发展的主要阶段	(2)
二、发酵产物类型	(4)
第二节 发酵工业的菌种	(5)
一、高产菌种的选育	(5)
二、发酵工业中有关菌种退化的问题	(14)
第三节 发酵方式	(16)
一、根据对氧需求的不同,通常分为静置发酵和通气发酵	(16)
二、按物料和产物进出方式不同,可分几种类型	(16)
第四节 发酵工业培养基和原料处理	(20)
一、发酵生产采用的培养基	(20)
二、培养基的主要原料	(21)
三、原料处理	(22)
四、培养基的灭菌	(31)
第五节 空气净化系统	(33)
第六节 发酵条件及过程控制	(37)
一、发酵过程中 pH 的变化与控制	(37)
二、发酵温度与控制	(38)
三、发酵过程中溶解氧与控制	(41)
四、发酵过程中泡沫形成与控制	(44)
第七节 发酵工业的染菌与防止	(45)
一、染菌原因和分析	(46)
二、防止污染的措施	(46)
三、噬菌体的防治	(48)

第八节 发酵产物的提取.....	(49)
一、发酵液的预处理与过滤	(50)
二、沉淀提取法	(51)
三、色谱分离法	(55)
四、萃取法提取	(56)
五、膜分离技术	(58)
第二章 酒精发酵.....	(62)
第一节 淀粉质原料生产酒精.....	(62)
一、糖化发酵工序	(63)
二、蒸馏	(76)
第二节 由糖蜜发酵生产酒精.....	(80)
一、一般的糖蜜发酵法	(81)
二、酵母再循环法	(82)
第三节 利用纤维素和半纤维素发酵生产酒精.....	(83)
一、由纤维素原料生产酒精	(83)
二、由半纤维素原料发酵生产酒精	(85)
第四节 发酵法制乙醇的新技术.....	(87)
第三章 丙酮丁醇发酵.....	(89)
第一节 丙酮丁醇的生产方法.....	(89)
第二节 淀粉质原料的丙酮丁醇发酵.....	(90)
一、丙酮丁醇菌的特性	(90)
二、淀粉质原料生产丙酮丁醇的流程	(92)
三、种母的培养和制备	(93)
四、发酵	(94)
第三节 如何提高溶剂产量.....	(96)
第四节 溶剂产生的调节.....	(98)
第四章 维生素发酵	(100)
第一节 维生素 B ₁₂ 发酵.....	(101)
一、维生素 B ₁₂ 的基本结构	(101)
二、维生素 B ₁₂ 的生物合成	(101)
三、维生素 B ₁₂ 的生产菌	(102)

四、维生素 B ₁₂ 的发酵	(103)
五、维生素 B ₁₂ 的提取	(106)
第二节 核黄素(B ₂)的发酵	(106)
第三节 维生素 C 的生产	(109)
第五章 有机酸发酵	(115)
第一节 柠檬酸发酵	(116)
一、产柠檬酸的主要微生物及我国菌种的近况	(116)
二、柠檬酸发酵工艺	(118)
三、柠檬酸发酵的有关条件	(120)
四、柠檬酸的发酵机理	(124)
五、柠檬酸的提取	(130)
第二节 乳酸发酵	(133)
一、乳酸的同型发酵和异型发酵	(133)
二、产乳酸微生物	(134)
三、发酵条件(乳杆菌的培养条件)	(134)
四、发酵方法	(136)
五、提取	(137)
第六章 氨基酸发酵	(138)
第一节 谷氨酸发酵	(139)
一、谷氨酸的生产菌	(140)
二、谷氨酸的生物合成途径及谷氨酸积累条件	(140)
三、谷氨酸生物合成有关因子的调节	(142)
四、怎样克服生物素过量带来的问题	(148)
五、其它环境条件对谷氨酸生产菌的影响	(150)
六、淀粉质原料发酵生产谷氨酸	(152)
七、糖蜜发酵生产谷氨酸	(153)
八、由正构石蜡发酵生产谷氨酸	(154)
九、醋酸发酵生产谷氨酸	(155)
十、谷氨酸的提取	(155)
第二节 赖氨酸发酵	(157)
一、赖氨酸的生产方法	(157)

二、直接发酵法生产 <i>L</i> -赖氨酸	(158)
三、赖氨酸生产菌的选育	(163)
四、赖氨酸发酵生产工艺	(168)
五、赖氨酸的提取	(171)
第七章 核苷酸类物质的微生物生产	(175)
第一节 分解法生产核酸类物质	(176)
一、核糖核酸的生产	(176)
二、RNA 的降解	(178)
第二节 核苷酸类物质的直接发酵	(184)
一、核苷酸的生物合成	(184)
二、核苷酸代谢的调节	(186)
三、生产菌株的选育	(188)
四、发酵生产的有关问题	(192)
第八章 酶制剂	(198)
第一节 酶制剂生产方法简介	(199)
一、培养方法	(199)
二、条件控制	(201)
三、分离提纯	(207)
四、喷雾干燥法	(212)
五、液体酶制剂	(212)
第二节 酶制剂生产实例	(212)
一、 α -淀粉酶的工业生产	(212)
二、蛋白酶的工业生产	(214)
第三节 固定化酶	(216)
一、固定化酶的制备及性质	(216)
二、完整细胞的固定化	(221)
三、固定化方法和载体的选择	(223)
第九章 单细胞蛋白的生产	(225)
第一节 SCP 生产的主要参数	(226)
一、生长速度、比增殖速度(μ)和生产能力(μX)	(226)
二、稀释率	(227)

三、细胞产率与限制性基质	(228)
四、能耗	(230)
五、产品质量	(231)
第二节 以可再生资源生产 SCP	(231)
一、菌种的选择	(231)
二、以糖蜜为原料生产 SCP	(232)
三、以亚硫酸废液生产 SCP	(232)
四、以木质纤维素为原料生产 SCP	(233)
五、以发酵废液为原料生产 SCP	(234)
六、以淀粉质原料生产 SCP	(235)
第三节 石油蛋白	(235)
一、利用链状烃的微生物	(235)
二、基质的选择性	(236)
三、菌体生产的培养条件	(236)
四、制造工艺的要点	(239)
五、长链烷烃的微生物分解代谢	(239)
第四节 甲醇、乙醇蛋白	(240)
一、能利用甲醇做惟一碳源的微生物	(241)
二、甲醇利用性微生物的分离	(241)
三、培养基组成	(242)
四、培养温度	(242)
五、甲醇浓度	(242)
六、氧的影响	(243)
七、工业化生产问题	(245)
八、微生物对甲醇的同化途径	(245)
第五节 由氢细菌发酵生产 SCP	(246)
第十章 食品酿造	(248)
第一节 概述	(248)
一、混菌培养与纯培养	(248)
二、微生物在固体基质上的生长和固态发酵	(249)
三、酿造微生物生态系统	(254)

第二节 酒	(256)
一、酿造酒	(256)
二、白酒	(272)
第三节 酱油	(280)
一、种曲制作	(281)
二、成曲制作	(281)
三、酱醅制作	(283)
四、浸出	(283)
五、灭菌	(284)
第四节 食醋	(284)
一、固态法制醋工艺	(284)
二、液态法酿醋工艺	(286)
第五节 豆腐乳	(289)
一、菌种培养	(290)
二、前发酵	(290)
三、后发酵	(291)
参考文献	(292)

第一章 通 论

微生物工业是利用微生物的生长和代谢活动生产各种有用物质的现代工业，由于它以培养微生物进行发酵为主，所以习惯上也称发酵工业。一个现代化的发酵工业必须具有优良的菌种、合适的工艺和先进的设备，其中菌种是主体，其它因子是为了充分发挥菌种的优良性能而考虑和设计的，因此，研究发酵微生物具有重要的意义。

第一节 发酵与发酵微生物学

发酵 (Fermentation) 来自拉丁语“发泡”(Ferre) 一词，当时是指酒精发酵时产生二氧化碳的现象。巴斯德认为发酵是酵母在“无氧呼吸”，酒精发酵过程是在厌氧条件下向菌体提供能量，并得到原料的分解产物酒精和二氧化碳。这一认识在酒精发酵、乳酸发酵和其它嫌气发酵的情况下完全妥当。

近年来，利用微生物生产各种目的产物，也都统称为发酵，并冠以产物的名称，例如，谷氨酸发酵、核黄素发酵、抗生素发酵等等。在这种场合，发酵是“无氧呼吸”的认识并不通用。然而好气性发酵也可以认为是介于呼吸和嫌气发酵的中间，是各种底物借助分子态氧而受到不完全氧化的反应。发酵与呼吸都是微生物对各种有机物进行分解与合成代谢的过程，当呼吸的场合，经三羧酸循环完全氧化为 CO_2 和 H_2O 。而当好气性发酵场合，尽管三羧酸循环存在，由于有机物氧化不完全，则大量积累代谢中间产物或某些分支途径上的代谢产物。

综上所述，不管过程为好气或嫌气，广义的发酵概念可定义为“借助微生物大量生成并积累特定代谢产物的现象”。那么发酵微生物就应当专指那些能积累特定代谢产物的微生物。发酵微生物学则是研究发酵和微生物关系的学科，一方面改造或构建适于工业发酵的微生物；另一方面是研究创造合适的环境条件，以便积累最大的代谢产物。

一、发酵微生物学发展的主要阶段

远在有文字记载的历史以前，人类对发酵就已有所认识，随着基础科学的发展，发酵微生物学的研究正在不断深入，回顾整个发展进程，大致可以划分以下几个主要阶段。

(一) 天然发酵时期 早在自然科学发源以前，人类就开始从事酒、酱油、醋等的酿造；例如，我国在夏禹时代就有酿酒的记载，《尚书》有云“昔者仪狄作酒，禹饮而甘之。”《周礼》中已有关于酱油的记载“膳夫掌王饔，赐酱千余饔。”其它国家如埃及、巴比伦在 6 000 年前，就有酿造啤酒的记载。这些酿造活动虽然有着悠久的历史，并积累了精湛的技术，但由于受到封建制度和科学进展的限制，长期以来处于手工操作和自然的落后状态，并不知道微生物与发酵的关系，所以将这一时期称为天然发酵时期。

(二) 纯培养技术的建立 大约在 300 年以前，人们发现了细菌，此后又经过 200 年，人们发现了发酵原理，认识到发酵是由微生物的活动引起的。法国 Buchner 兄弟用制药酵母与沙共碾，加防腐剂与糖，发现有发酵现象，开始认识到没有生命亦能发酵。19 世纪初，R. Koch 首先应用固体培养基分离微生物，随后建立了微生物纯分离培养技术，这就开创了人为控制微生物的时代。通过上述原理的应用，发酵管理技术得到改进，酒类、酱油等的变质现象大大减少。后来，又采用灭菌操作，发明了简便的密闭式发酵罐，酒精发酵和丙酮丁醇发酵得以发展，发酵工业逐渐加入了

近代化学工业的行列。因此，可以认为，微生物纯分离培养技术的建立，是发酵微生物学发展的第一个转折点。

(三) 通气搅拌技术（深层培养技术）的建立 本世纪中叶，随着青霉素的发现，抗生素工业逐渐兴起，由于青霉素大量生产的需要，引进了通气搅拌培养，建立深层发酵技术，使许多产品都可以用好气性发酵进行大规模生产。因此，深层发酵技术的建立，可以说是发酵微生物学发展的第二个转折点。

(四) 代谢控制发酵技术的建立 日本于 1957 年用发酵法生产谷氨酸成功，此后，赖氨酸等氨基酸的发酵法生产也相继投产。这些氨基酸发酵工业的建立，是由于引入了代谢控制发酵的新型技术所致。代谢控制发酵技术是以动态生物化学和微生物遗传学为基础，将微生物进行人工诱变，得到适合于生产某种产品的突变株，再在有控制的条件下培养，即能选择性地大量生产人们所需要的物质。此项技术目前已用于氨基酸、核苷酸类物质、有机酸和一部分抗生素的发酵生产。因此，代谢控制发酵技术的建立，可以说是发酵微生物学发展的第三个转折点。

(五) 酶法转化 1952 年 Peterson 和 Murray 应用 *Rhizopus arrhizus*（少根根霉）和 *Russula nigricans*（黑红菇）在甾体分子的 C₁₁ 上加入羟基，大大简化了可的松类激素的合成。甾体的微生物加氧反应，推动了甾体药物的研究和生产，开辟了一个新的生物转化领域。这类方法在生物碱类和毛地黄药物生产中亦获得应用。青霉素酰化酶催化合成苄青霉素、对羟基苄青霉素、氨基苄青霉素及头孢霉素的技术也已成功地用于生产。一些氨基酸和有机酸都可用化学法廉价合成其中间体后，再利用酶法加工而得到。

(六) 固定化酶 1966 年日本千铧一郎成功地进行了酰胺酶的固定化，并在 1969 年应用于连续化 *dl*-氨基酸的拆分。自此，固定化酶和固定化细胞开始兴起。

(七) 细胞融合技术 采用细胞融合技术可以进行微生物种

内、种间和属间的遗传重组，它克服了细胞壁阻碍遗传物质交换的屏障，为微生物育种提供了一个新的途径。

(八) 基因工程菌的应用 自从体外 DNA 重组技术在微生物育种方面得到实用后，就有可能按照预定的意向选育菌种来生产所需要的产物。这类菌种可称为“基因工程菌或简称工程菌”。工程菌不仅可以生产用一般微生物所不能生产的产品，如胰岛素等的动物激素和干扰素等，而且可以改进一般微生物能够生产的发酵产品，如氨基酸、酶制剂、抗生素等的菌种选育。这是目前发酵工业的重要发展阶段。

二、发酵产品类型

目前发酵产物繁多，按其性质区分，一般分为微生物菌体、代谢产物和酶。

(一) 微生物菌体 利用微生物菌体有多种方式。一是作为动物饲料添加剂，如单细胞蛋白；二是用于生物防治的微生物杀虫剂，如苏云金杆菌、白僵菌、多角体病毒等；三是进行特异性的生物转化，如某些微生物具有某种酶，能对底物某一特定位置进行羟基化、脱氢等化学反应，使底物转变为另一物质，这类反应主要用于甾体药物的生产；四是食用和菌用，如各种蘑菇。

(二) 代谢产物 有初级代谢产物和次级代谢产物。这是根据代谢物与产生菌生长的关系区分的两类产物的主要区别有以下 6 点：

1. 功能：初级代谢也称主流代谢，它的产物主要是氨基酸、核苷酸、维生素和有机酸等的小分子化合物，主要作为构成大分子的原材料或转成辅酶。次级代谢产物的结构一般比较复杂，对微生物的生存、生长、繁殖不是必需的，但在自然环境中对产生菌的存活还是有益的。

2. 合成途径：初级代谢途径在各类生物中基本相同，包括主

要的碳、氮代谢途径的主要过程基本清楚。次级代谢来自多种合成途径，往往以初级代谢形成的前体经过聚合、修饰而形成。

3. 合成时期：初生代谢产物在营养期形成，而次生代谢产物是在菌体生长已达临界最高值之后才开始，在分化期（合成期）大量合成。

4. 遗传控制：两者虽都受核内DNA的控制，但质粒对多种次级代谢产物的合成起着重要作用，控制其全部或部分中间产物或部分结构的合成。

5. 合成的专一性：初级代谢产物是普遍存在的，各类微生物都能生成，只是产率不同，但其酶反应有高度的专一性，一般只能与一种底物反应生成一种产物。而次级代谢产物的合成则明显具有种、属的特异性，往往只局限于某些种内，但产物往往以一族化合物形式出现，这表明其分子结构的专一性不强。

6. 合成的条件：初级代谢产物的形成一般只需简单的营养条件，并在各种生长条件下都能形成。次级代谢产物则需复杂的营养条件，往往需要供给营养成分复杂的天然物质，并在一些特定培养条件下才能形成，尤其是过量生产。

（三）酶 微生物能合成种类繁多的酶，有相当多的酶类适于工业生产，如淀粉酶、蛋白酶、葡萄糖异构酶等。

第二节 发酵工业的菌种

一、高产菌种的选育

从自然界直接分离到的菌种，不能立即适应实际生产需要，只有通过选育，才能提高代谢产物的产量、改进产品质量直至简化工艺。

生产菌种的选育方法大致有常规诱变育种（随机选择法）、合