

生物工程知识小丛书

生机勃勃的发酵工程



92

天津科学技术出版社

生物工程知识小丛书

生机勃勃的发酵工程

郑铁曾 编

天津科学技术出版社

责任编辑：周喜民
罗愉先

生物工程知识小丛书
生机勃勃的发酵工程

郑铁曾 编

天津科学技术出版社出版

天津市赤峰道130号

天津市蓟县印刷厂印刷

新华书店天津发行所发行

开本 787×1092毫米 1/32 印张 2.75 字数 56,000

一九八六年七月第一版

一九八六年十月第一次印刷

印数：1—3,000

书号：14212·179 定价：0.46元

出版说明

生物工程是近年发展起来的一门新兴学科。它是借助生物体及其机能，以先进的科学和工程技术人工进行生物转化，从而运用于物质生产的技术体系。生物工程将是二十一世纪最有发展前途的学科。它将对工、农业生产、医药乃至人类社会的文明、进步起着不可估量的作用。因此它引起了国内外学术界的极大关注，成为世界经济、科技发展的追求目标。

生物工程的研究与开发工作，已由医药卫生、食品、饲料扩展到化工、纤维、替代能源及农业等各个领域，我国在这方面的研究工作已取得不少进展。为使广大群众对这方面的知识有所了解，我们出版了这套生物工程知识小丛书。

这套小丛书包括《潜力巨大的基因工程》、《前途广阔的细胞工程》、《充满希望的酶工程》、《生机勃勃的发酵工程》。本丛书力图以通俗易懂的语言，形象恰当的比喻，深入浅出地把生物工程的基本知识介绍给读者。

1985年6月

目 录

- 一、古老技术的新生..... (1)
- 二、神奇的微小生物..... (6)
- 三、丰富的发酵产品..... (11)
- 四、精细的微型工厂..... (17)
- 五、复杂的发酵技术..... (29)
- 六、先进的分离和提取工艺..... (41)
- 七、奇妙的微生物诱变育种..... (55)
- 八、自动控制的发酵过程..... (64)
- 九、发酵工程的美好前景..... (71)

一、古老技术的新生

几乎所有的原始氏族在食品多余的情况下，因为含糖的果实或含淀粉的谷类贮藏时会发酵，而学会了酿酒。这种含有酒精的液体给人间带来了欢乐和悲伤。古巴比伦在公元前3世纪就有了经验丰富的酿酒工人，用大麦芽制造啤酒。甚至在法典中为酒店主人及旅馆商人列出精确的酿造规章及法律。埃及人从巴比伦人那里学会酿酒，发展到可以酿造含酒精量高达12~15%的酒。

具有悠久历史的我国同样在很早就掌握了酿酒技术。一般认为我国酿酒起源于五千年前的龙山文化时期。到了商代（公元前1711年~前1066年）农业有所发展，谷物酿酒已经盛行。郑州二里冈有一处古迹可能就是商代酿造工场的遗址。《书经·说命篇》追述殷商故事，记载有：“若作酒醴，尔惟曲蘖”。据考证“醴”是用蘖制成的甜酒，而蘖则是长出芽的谷类。这与古巴比伦人的大麦芽相同，都是用来作为淀粉的糖化剂。曲是发霉的谷物，实际上是发酵时的“种子”。到了周朝、春秋、战国，这八百多年中酿酒技术更加发展。《礼记·月令篇》中写道：“乃命大酋，秫稻必齐，曲蘖必时，湛饔必洁，水泉必香，陶器必良，火齐必得，兼用六物，大酋兼之，无有差忒”。说明当时既设有掌管酿酒的官员，又把酿酒工艺应注意的各项条件都叙述得很清楚。

我国古代利用微生物发酵制取的食品，除酒之外，尚有

酱、豉、醋。《周礼·天官篇》：“膳夫掌王饔食酱百有二十瓮”。《论语·乡党》：“不得其酱不食”。推论远在周朝我国人民就掌握了制酱技术。豉的制作方法基本同于酱，仅原料用豆而不用麦类，据考证开始于秦朝以前。古籍记载殷武帝与傅说的一段对话：“若作和羹，尔惟盐梅”。这说的是若烹调要酸味，用盐浸的梅子。直到春秋战国时代（公元前6~5世纪）开始载有“醋”字。《论语》：“或乞醢焉，乞诸其邻而与之”。其中醢即醋。估计制造醋的技术仅为少数人掌握，并不普遍，吃时要到邻家去讨。除此而外诸如腐乳、甜酒酿乃至北方人喜食的馒头也都起源甚早而“流芳百世”。这些美味食品的制造过程中一个重要的共同点，就是原料必须经过一阶段的“发酵”才能够制得。虽然古人并不知道如霉菌、细菌的存在，但却能巧妙地利用它们进行天然发酵，并通过控制温度、湿度、酸碱度等条件制成食品。这种以固体为原料的酿造技术在日本及其它国家也同样有着悠久的历史，且至今兴盛而不衰。

纵观酿造技术的演变，可知当时已具有现代发酵工业的雏型，基本包括种子培养、接种、主体发酵（各种条件的控制）及后处理工艺等阶段。可见现代发酵工业的兴起，应该从微生物的发现开始，因为微生物毕竟是“发酵”的基础。

17世纪荷兰人列文虎克以自制的显微镜观察各种物体，他非常惊讶地看到许多很小很小的生物，连他自己也未感觉到这个发现的意义。尽管实际上当时他看到的多数生物只是原生动植物，但同时也看到了酵母。所谓“酵母”是欧洲人那时使果汁或谷类加速转化成酒而用的“引子”或“起子”。过了二百年后，由于显微镜的进步，酵母就成了热门的研究

课题。当时法国的酿酒业遇到了麻烦，陈的葡萄酒变酸而不能喝了，为此损失了几百万法郎。这个课题交给了年轻的科学家巴斯德，他借助显微镜发现所有的葡萄酒都含有能引起发酵的酵母，可是变酸的酒中还含有另外一种。既然酒已酿成，就用不着酵母了，何不把所有酵母都去掉呢？巴斯德向一个葡萄酒厂建议，把葡萄酒略为加热，将其中所有的酵母都杀死，陈酿葡萄酒就不会变酸。事实果然证实了他的建议是正确的。酒不仅未变酸，而且保持了香味。这种微加热灭菌方法在制酒业和奶品业沿用至今，即著名的“巴氏灭菌法”。后来巴斯德又成功地解决了蚕病难题，从而把疾病与微生物联系在一起。在人们与疾病作斗争的过程中，逐渐建立了有关分离、培养、杀灭微生物的一整套实验方法，为工业应用微生物奠定了坚实的基础。

然而今天人们对“发酵”二字的理解与一百年前并不相同。我们从国外工业发酵的历史可以得知：16世纪人们就知道由含淀粉的物质（如谷物）发酵制取乙醇；1881年利用微生物方法进行乳酸的工业生产；19世纪中叶丙酮丁醇发酵成功。这些物质的制造虽然不同于酿造，但是它们是在厌气条件下进行的。巴斯德曾对发酵下了著名的定义：“发酵就是无空气的生活”。在《啤酒的研究》中，将发酵的概念表达得更为清楚，“我们已经描述的那些实验中，酵母菌的发酵被看作是营养、同化和生活等过程，在没有游离氧的状态中进行时的结果。完成这件工作所需要的热必然是从发酵物的分解中取得的……因此，酵母菌的发酵看来主要是与这种微小的细胞植物所具有的性质相联系着的，这性质就是以某种方式用化合在糖中的氧完成它的呼吸功能。”这些定义应

该说接近于现代生理学中发酵的含义，而现代发酵的内涵已经扩大许多，似乎可以理解为利用微生物来制造某些物质的特定过程。第二次世界大战以来，抗菌素工业的兴起使人们对发酵这一古老技术不得不刮目相看了。

许多中学生都熟悉发现青霉素的故事，那是在1929年英国一位细菌学家弗莱明在实验室工作时，发现培养细菌的容器内混杂了青霉，在青霉的四周没有细菌生长，他觉得事情似乎有一定道理，便重复了这项实验，确实证明青霉的培养液可以抑制细菌生长，却对动物无害。由于当时人们对药物的研究热情集中在磺胺药物上，把弗莱明的发现放到了一边，直到1940年又有人认真研究青霉素，这才真正肯定了这一发现的伟大意义。以后链霉素、四环素、土霉素等许多抗菌素陆续被发现，并成为人类征服疾病的有力武器。

微生物怎样产生抗菌素？如何实现工业化生产呢？青霉素生产的历史可以作为抗菌素生产工业的典型事例。青霉素和其它抗菌素一样在产生的过程中需要大量的氧气。最初的生产方法是使用一个小容器，装入1~2厘米厚的原料（液体培养基），青霉菌在液体表面生长繁殖，分泌青霉素在液体内。由于液层薄，青霉菌很容易得到氧气，不必搅拌和通入空气，但是这种方法需要很多小容器和很大的培养室，后来人们想办法将小容器串连起来，使培养液在菌层下面流动进行更新。还有人将青霉菌接种在许多小木片上，培养液在木片间流动，或者将菌接种在绳子上，并使绳子在培养液中巡回转动。这些办法的目的都是要解决通气问题，但终因操作不便、产量不高和容易染杂菌而失败。在本世纪40年代初，兴起了青霉素的液体深层培养法。该方法是将青霉接种

在液体内，不断搅拌，同时通入无菌空气，使青霉在培养液内均匀生长并分泌青霉素。工业生产采用了类似化学工业的设备——反应罐，加以改进而成发酵罐。培养原料配比设计甚为复杂，曾经试验的如甘油、麦粉、玉米淀粉、乳糖、葡萄糖、麦麸、乳清水解酪素、玉米浆、硝酸铵和硝酸钠等。此外还对磷、硫、铁、钾、镁、锌、铜等金属对产生青霉素的影响作了试验。通入空气的无菌化要求，创立了至今发酵工业使用的空气净化系统。由于青霉素发酵供气量大，对空气的无菌状态要求极高，而发酵过程又是纯种培养过程，因此培养基的灭菌，管道的设计，无菌状态的维持，都需要有绝对的保证。随着发酵成功，进而又提出青霉的提炼问题，也就是如何从发酵后的液体内，取得单纯的青霉素，从而使人们研究了青霉素的萃取、分离、浓缩和结晶等所谓发酵产品的提取工艺。二次世界大战刺激了青霉素工业的发展。1945~1950年期间蔚然兴起的抗菌素工业，以其崭新的产品，巨大的规模，严格的生产条件受到人们的极大重视。抗菌素工业的成功，使微生物的液体深层培养法迅速波及到其它发酵产品。50年代中期以发酵法制造味精在日本取得成功，同时又带动了各种氨基酸的发酵，从而全面改变了陈旧的工业发酵面貌，使发酵工业涉足于微生物学、化学、化工工艺学和工程学及生化工程学领域。

科学家们对产品的发酵过程和机理的研究，揭示了各种物质的转化及微生物在这些转变中所起作用的奥秘，甚至可以在分子水平上指出发酵产品是如何产生的，以致又如何控制微生物提高效率，更多地生产某种物质，使古老的发酵技术获得了新的生命。

二、神奇的微小生物

人们熟悉海洋中巨大的鲸鱼，同样也熟悉蝼蚁小虫，对于细菌似乎就完全陌生了，甚至把它与可怕的传染病联系起来，有些“谈菌变色”。可是细菌也并不是看不见、摸不着，玄乎其玄的东西！只不过个子太小，肉眼看不到罢了，它们同样摄食生长、繁衍后代。科学家把象细菌这样一类微小的生物统称为微生物。它的家族包括病毒、细菌、放线菌和真菌四个成员。

细菌是一种单细胞生物，形状各异，球形、杆形、弧形、梭形、螺旋形。长约 $1\sim 2\mu\text{m}$ （微米），宽约 $0.5\mu\text{m}$ 。一位叫Cohn的科学家曾经这样描述细菌的大小：“如果我们能将一个人在同样的透镜系统下加以观察的话，他将象勃朗峰（阿尔卑斯山脉的最高峰）一样大，但是即使在这样巨大的放大之下，最小的细菌看起来也并不比一般书中的句点和逗点大，至于它们的内部结构就很少或完全不能分辨。并且要不是它们不可胜数地生活在一起的话，它们之中大多数的存在也将得不到注意”。麻雀虽小，五脏俱全，一个小小的细菌，其细胞内部结构也并不简单。最外面一层是细胞壁，厚而坚韧，对细胞起着保护作用。细胞壁的内面是一层有弹性的半透膜，即细胞膜，它可以控制细胞内外的物质交换。细胞膜内充满着粘稠的胶状物质，称为细胞质。其中心是细胞核，由于核外没有核膜，因此不象高等生物那样有一定的

形状，仅仅是一团核质而已。一些种类细菌在细胞质内还有各种颗粒，有的还有液泡。许多细菌生有长长的鞭毛，或生于身体四周，或生于两端，可借助它进行运动。当一种细菌生长在培养基上（就好象植物生长在土壤上）时，千千万万个细胞堆集在一起形成菌落，此时肉眼就能看到了。细菌的菌落形状亦各不相同，或圆或不规则，多数情况具有某种鲜明的颜色。生产醋的醋酸杆菌，使人罹患肺炎病的肺炎球菌，生产淀粉酶的枯草杆菌都属于细菌这一大类。

与细菌亲缘关系比较密切的是放线菌，它的外表是宽为 $0.5\mu\text{m}$ 的细丝，纵横交织如一团丝线，既有分枝又可盘旋，但它仍然是单细胞生物，即菌丝内并无横隔隔开。它生长在物体上时，由基质菌丝象根一样深入物体内部，向上伸向空间的为气生菌丝，其顶端产生各种孢子丝。不同的放线菌的孢子丝形态不同，可以此作为鉴别它们的依据。孢子丝的作用是产生象种子一样的孢子，进行传播繁殖。放线菌的菌落不同于细菌，比较坚实、干燥，表面有一层粉状孢子。生产土霉素用的龟裂放线菌，生产链霉素的链霉菌同属于放线菌。

你留意过吃剩下的面包上长出青青的霉点吗？或许你也看到过玉米芯上长的粉红色的霉点吧！原来这也是一类微生物，称为真菌。它们的数量极大，范围很广，与人类关系更密切。真菌是一个拥有5万种的庞大类群。从生物学角度研究它们，证明真菌比细菌“高级”得多。它们在细胞质内有一个真正的细胞核，核外有核膜包围。它们的大小也比细菌、放线菌大得多。物体上长的霉菌，菌丝宽度约为 $5\mu\text{m}$ ，用手掰开长霉的馒头就会看到这种细丝。霉菌在生活中常产

生一种颜色不同的粉末，在显微镜下可清楚地看到是一个个相互类似的小球，这是霉菌用以传播繁殖的孢子，它们聚集在一起就形成日常所见的霉点。青霉素就是长在豆腐上、柑桔皮上的青霉产生的。我国东北地区农村中常自己作豆酱，其上长着许多黄色的霉，称为曲霉。

真菌中还有一类不同于霉菌那样长成丝状，而是一个个椭圆形球体，它在酿酒过程和制作面包中发挥着巨大的作用，这就是酵母菌。食品店中出售的发面用酵母粉就是酵母的菌体。它的菌落呈乳白色、蜡质，很漂亮，喜欢生活在含糖多的环境里。酵母菌的繁殖方式很别致，从母体细胞长出一个芽，芽长大后就脱离母体，成为一个新的酵母菌。葡萄酒的酿造实际上是葡萄皮上的野生酵母菌，随着压榨进入葡萄汁中，它以葡萄汁中的糖分和其它营养物质生长繁殖，产生酒精，从而葡萄汁变成了香醇的美酒。

对微生物如果以大小进行比较，细菌并不算是最小的，还有比它小很多的称为病毒的微生物。病毒比最小的细菌还要小，差不多只有最小的细菌的 $1/100$ ，一般光学显微镜看不见它们，必须经过特殊的制片技术，用电子显微镜才能看到它的“庐山真面”。它们没有一定的细胞结构，只含有核酸和蛋白质。病毒一般没有独立生活的能力，而是钻到别的生物细胞中营寄生生活。人们都知道疯狗咬人不可轻视，它够使人患一种可怕的狂犬病，其死亡率几乎是百分之百。其凶手就是病毒。使人罹患肝炎的也是一种病毒。再如另一种与发酵工业密切相关的病毒——噬菌体，它能跑到细菌体内并繁殖后代，不消20分钟就使细菌细胞破裂，成百上千个新的噬菌体又跑了出来，而细菌则倒了霉。噬菌体是发酵工业

的大敌，有了它，就不用想正常生产了。遇上它，尽管生长挺好的细菌，顷刻间将全军覆没，致使千百斤乃至成吨原料付诸东流。不仅细菌会被噬菌体侵染，而且放线菌和一些酵母、霉菌也会深受其害。目前认为一些微生物普遍存在着噬菌体白染的可能。

微生物的数量众多，以各种各样的生活方式生存于大千世界。其独特之处往往使人费解。学过生物学的人都知道氧气是维持生命必不可少的条件，而有的微生物却可以在无氧条件下生存，甚至讨厌氧气。在饱和盐水中存在微生物；在600个大气压的深水中也能找到微生物的踪迹。在冰岛的温泉中发现一种芽孢杆菌，在快要沸腾的98℃热水中仍然能够生长。而一些酵母菌能在零下130℃生存一天而不死。

正是微生物千奇百怪的生活方式，为人类利用它们提供了许多方便条件，我们可以从不同地区，不同生态环境中找到它们。通常在1克土壤中就有数亿个微生物存在，即使在荒无人烟的沙漠中，在1克砂土里也能找到10万多个微生物。据估计每公顷土壤里大约有22.6公斤霉菌，11.3公斤细菌和1.1公斤酵母。大自然界中有如此众多的微生物，一方面是它们能千方百计地适应各种条件；一方面它们具有惊人的繁殖能力。有人以体重增加一倍需要的时间，来比较各种生物的生长速度，发现猪生长需要30~40天，野草要10多天，而生长得最慢的微生物最多只要几个小时就够了。通常10多分钟细菌就能从小长大，梭状芽孢杆菌20分钟可以繁殖出新一代，甚至在1~2小时内就能“五世同堂”了。因此我们可以不受季节和气候的影响，创造一个微生物生长繁殖的适宜条件，就能大量繁殖微生物，从而获得大量的微生物。

物代谢产物。

微生物除了数量众多、分布广泛、繁殖迅速之外，更奇妙的是它还有容易发生变异的特性。一种微生物在遇到某些刺激时，如紫外线、X射线或化学药品处理时，许多菌受不了而死去，少数一些就发生遗传性变异而生存下来。通过人为地筛选往往可以从生存下来的微生物中找到提高了本领的菌株，用这样的菌株去发酵生产则可以大大提高产量。例如青霉素开始生产时只不过几十个单位，经过很多次变异处理后，却能生产几万单位，这在高等动植物中似乎是不敢想象的事情。目前许多科学家都把微生物当作遗传学研究的便利工具。

三、丰富的发酵产品

微生物以其庞大的种类和多种生活方式存在于自然界，它也以其丰富的代谢产品贡献给人类，使人类在衣食住行中离不开它们。我们在日常生活中，最熟悉的莫过于酿酒、作酱、制醋和其它一些美味的发酵食品。但是如果把微生物发酵产物局限于此，那就不太公道了，让我们看看大家不太熟悉的东西吧！

氨基酸发酵：氨基酸是组成蛋白质的基本单位。人和动物必须从食物中吸收各种营养物质，得到氨基酸来维持体内蛋白质消耗、修复组织、延续生命。对于人类来说，组成蛋白质的20多种氨基酸中多数可以自己制造，但其中亮氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、苏氨酸、色氨酸和缬氨酸，这8种则必须直接摄入，称为必需氨基酸。例如赖氨酸在植物性食物中很少含有，儿童缺乏它则发育缓慢。日本研究者用赖氨酸制成强化面包，结果发现赖氨酸对学龄期儿童身高、体重的增加很有帮助。苏氨酸和色氨酸也是稻、麦等各种谷类所缺乏的。在医药中全氨基酸混合液输液对于手术后恢复、骨折和肝病等有很好的疗效。目前天津市正在兴建一个药厂，生产这种药液。既然氨基酸有如此重要的作用，怎么能获得呢？将蛋白质用酸水解后，经过提取可以得到氨基酸，也可以化学合成氨基酸。而目前以微生物发酵法制造氨基酸是较为成功的，开辟了大量生产的途径，同时这种制

造方法也促进了氨基酸用途的开发。目前已生产有高丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、脯氨酸等十几种氨基酸。

特别需要提及的是谷氨酸，它的钠盐就是生活中烹调精美菜肴所不可缺少的味精。菜和汤中放上一些味精，顿时鲜味大增。但若问味精怎么制造，回答说用细菌制造，恐怕要大吃一惊了。本世纪40年代时，味精是用面筋经酸水解生产，大约每50公斤面筋可以生产13公斤味精，其成本高，原料费。目前味精确是用细菌发酵后提纯精制而成。通过大量的技术工作使谷氨酸产率不断提高，最高可达原料的50%。生产效率提高了，成本却很低廉，这样就可以大量应用于工业。如由谷氨酸合成聚谷氨酸树脂作成的人造皮革，可与天然皮革媲美。

酶制剂：酶是一种生物催化剂，生物体借助酶可以完成各种生物化学反应，从食物获得能量，吸收各种营养物质组成生物体自身，并维持新陈代谢活动。用酶催化各种生物化学反应，可在常温、常压等比较温和的条件下进行。但是酶对所作用的物质（底物）具有严格的专一性。作用于蛋白质的酶对淀粉不发生作用，这样就保证了酶在生物体内按照生物体本身的要求，分解一些物质，转化一些物质以及合成一些物质，使生物体内的新陈代谢活动沿着特定的路线进行。

微生物发酵产生几种不同类型的淀粉酶。我们看一看不同类型的淀粉酶如何对淀粉发生作用，就能了解酶制剂的用途了。淀粉存在于大米、小麦、玉米及一些野生植物中，它是一种多糖，由300—400个葡萄糖分子组成。假如把淀粉比作一条链，葡萄糖分子就如链条上的链环。在这条长链的某