

高职高专 **制药技术类** 专业系列规划教材



发酵技术

主 编 徐 锐



重庆大学出版社
<http://www.cqup.com.cn>

高职高专制药技术类专业系列规划教材

发酵技术

主 编 徐 锐

副主编 范文斌 徐 意

参 编 黄蓓蓓 史 瑞 董 翠

重庆大学出版社

内容提要

本书为高职高专制药技术类专业系列规划教材。全书遵循工学结合模式的编写体例,根据微生物发酵行业相关工作岗位的职业标准,将编写内容分为9个典型项目,主要包括发酵工业菌种及种子制备、发酵工业无菌操作、发酵过程控制、发酵罐操作、发酵产物提取与纯化、厌氧发酵产品的生产、有氧发酵产品的生产、基因重组产品的生产,同时在每个项目的子任务下设置了相应的技能训练。本书在保留微生物发酵领域基本理论知识的同时,强化了以相关职业标准为基础的技能操作训练,旨在提高技术技能型人才的操作技能水平。

本书适用于高职高专制药技术、生物制药技术、生物技术及应用、微生物技术、食品微生物技术等专业作为教材使用,也可供相关行业工程技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

发酵技术/徐锐主编. —重庆:重庆大学出版社,
2016.1

高职高专制药技术类专业系列规划教材
ISBN 978-7-5624-9590-1

I. ①发… II. ①徐… III. ①发酵工程—高等职业教
育—教材 IV. ①TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 317561 号

发酵技术

主 编 徐 锐

副主编 范文斌 徐 意

策划编辑:袁文华

责任编辑:陈 力 邓桂华 版式设计:袁文华
责任校对:秦巴达 责任印制:张 策

*

重庆大学出版社出版发行

出版人:易树平

社址:重庆市沙坪坝区大学城西路 21 号

邮编:401331

电话:(023) 88617190 88617185(中小学)

传真:(023) 88617186 88617166

网址:<http://www.cqup.com.cn>

邮箱:fxk@cqup.com.cn (营销中心)

全国新华书店经销

万州日报印刷厂印刷

*

开本:787×1092 1/16 印张:17.5 字数:415 千

2016 年 1 月第 1 版 2016 年 1 月第 1 次印刷

印数:1—2 000

ISBN 978-7-5624-9590-1 定价:36.00 元

本书如有印刷、装订等质量问题,本社负责调换
版权所有,请勿擅自翻印和用本书
制作各类出版物及配套用书,违者必究

高职高专制药技术类专业系列规划教材

编委会

(排名不分先后,以姓氏拼音为序)

陈胜发	房泽海	符秀娟	郭成栓	郝乾坤
黑育荣	洪伟鸣	胡莉娟	李存法	李荣誉
李小平	林创业	龙凤来	聂小忠	潘志恒
任晓燕	宋丽华	孙 波	孙 昊	王惠霞
王小平	王玉姝	王云云	徐 洁	徐 锐
杨军衡	杨俊杰	杨万波	姚东云	叶兆伟
于秋玲	袁秀平	翟惠佐	张 静	张 叶
赵珍东	朱 艳			

高职高专制药技术类专业系列规划教材

参加编写单位

(排名不分先后,以单位拼音为序)

安徽中医药大学

安徽中医药高等专科学校

毕节职业技术学院

重庆广播电视大学

广东岭南职业技术学院

广东食品药品职业学院

海南医学院

海南职业技术学院

河北化工医药职业技术学院

河南牧业经济学院

河南医学高等专科学校

河南医药技师学院

黑龙江民族职业学院

黑龙江生物科技职业学院

呼和浩特职业学院

湖北生物科技职业学院

湖南环境生物职业技术学院

淮南联合大学

江苏农牧科技职业学院

江西生物科技职业技术学院

江西中医药高等专科学校

乐山职业技术学院

辽宁经济职业技术学院

三门峡职业技术学院

陕西能源职业技术学院

深圳职业技术学院

苏州农业职业技术学院

天津渤海职业技术学院

天津生物工程职业技术学院

天津现代职业技术学院

潍坊职业学院

武汉生物工程学院

信阳农林学院

杨凌职业技术学院

淄博职业学院



前言

现代发酵产业作为生物产业中最早实现规模化和标准化的领域,在国民经济发展中扮演着重要角色。从几千年前的酒、酱、醋酿造到今天的胰岛素、干扰素、白介素、重组单抗;从昔日的地窖式发酵池到如今的大型不锈钢发酵罐;从传统的粗放式培养到结合基因克隆、细胞工程、信息技术的精细化培养,发酵工程产业历经了无数次的技术革新和演变,已经成为生物产业的支柱产业之一。发酵工程技术作为生物技术理论与生物产业的桥梁,在药品、食品、化工品、农业生产资料等产品生产领域广泛应用。

发酵技术课程作为生物制药技术专业和生物技术专业的核心课程,在学生职业能力培养的过程中扮演着重要角色。根据高等职业教育的要求与特点,结合相关专业人才培养规格,根据微生物发酵行业相关工作岗位的职业标准,以提高技术技能型人才的操作技能水平为核心,编者采用了工学结合模式的编写体例进行了各教学项目的编写。每个教学项目下的教学任务均设置了技能训练模块,技能训练内容紧贴工作岗位内容,在教学内容对接企业生产的同时又具有可操作性。

本书按照微生物发酵行业相关工作岗位的工作内容,对传统发酵工程教学内容进行了重组,将编写内容分为9个典型教学项目,每个项目由项目描述、学习目标、能力目标、活动情境、任务要求、基本知识、技能训练、项目小结、思考练习组成。典型教学项目主要包括发酵工业菌种及种子制备、发酵工业无菌操作、发酵过程控制、发酵罐操作、发酵产物提取与纯化、厌氧发酵产品的生产、有氧发酵产品的生产、基因重组产品的生产。在进行本课程教学时,可根据本地区或院校自身的人才培养定位对教学内容进行调整或升级。

参与编写本书的编者均为在一线从事发酵技术课程教学的教师,在理论教学及实践教学方面均有丰富经验,本书正是他们在多年教学工作中不断总结教学内容和教学经验的结晶。

全书由湖北生物科技职业学院徐锐主编,其中项目1、项目8由范文斌(呼和浩特职业学院)编写,项目2、项目9由徐意(天津生物工程职业技术学院)编写,项目3由史瑞(黑龙江生物科技职业学院)编写,项目4由黄蓓蓓(三门峡职业技术学院)编写,项目5由徐锐(湖北生物科技职业学院)编写,项目6由董翠(信阳农林学院,任务6.1和任务6.2)和史瑞(黑龙江生物科技职业学院,任务6.3和任务6.4)共同编写,项目7由董翠(信阳农林学院)编写。

本书适用于高职高专制药技术、生物制药技术、生物技术及应用、微生物技术、食品微生物技术等专业学生作为教材使用和教师参考,也可供相关行业工程技术人员参考。

本书在编写过程中得到重庆大学出版社的大力支持,谨在此表示衷心感谢。同时全体编者向为本书提供参考资料的各位专业同行致以衷心感谢和崇高敬意。

由于编者时间和水平有限,发酵行业出现的新工艺、新技术、新趋势未能及时呈现在书中,不足之处在所难免,恳请各位读者提出宝贵意见。

编 者
2015 年 12 月

目 录 CONTENTS

项目 1 发酵技术概论	1
任务 1.1 发酵技术与发展	1
任务 1.2 发酵工业与产品	5
任务 1.3 发酵工业的现状与未来	10
【项目小结】	12
【思考练习】	13
项目 2 发酵工业菌种及种子制备	14
任务 2.1 发酵工业菌种选育与保藏	14
任务 2.2 发酵工业用培养基制备	25
任务 2.3 种子扩大培养及质量控制	43
【项目小结】	51
【思考练习】	52
项目 3 发酵工业无菌操作	54
任务 3.1 发酵工业设备管道灭菌	54
任务 3.2 发酵工业的连续灭菌	61
任务 3.3 发酵工业的分批灭菌	67
任务 3.4 发酵工业的空气灭菌	71
【项目小结】	79
【思考练习】	79
项目 4 发酵过程控制	81
任务 4.1 发酵过程温度控制	82
任务 4.2 发酵过程 pH 控制	87
任务 4.3 发酵过程 DO 控制	93
任务 4.4 发酵过程泡沫控制	103
任务 4.5 发酵补料控制	107
任务 4.6 发酵基质浓度及菌浓度控制	112
【项目小结】	121
【思考练习】	121

项目 5 发酵罐操作	123
任务 5.1 30 ~ 300 L 二级机械搅拌通风发酵罐结构认识与操作	123
任务 5.2 啤酒发酵设备认识与操作	130
【项目小结】	136
【思考练习】	136
项目 6 发酵产物提取与纯化	137
任务 6.1 发酵液预处理及固液分离	137
任务 6.2 细胞破碎与浓缩	147
任务 6.3 发酵产物分离与纯化	154
任务 6.4 产物结晶与干燥	162
【项目小结】	169
【思考练习】	170
项目 7 厌氧发酵产品的生产	171
任务 7.1 乳酸菌类制品发酵生产	171
任务 7.2 啤酒发酵生产	184
任务 7.3 葡萄酒发酵生产	198
【项目小结】	207
【思考练习】	207
项目 8 有氧发酵产品的生产	209
任务 8.1 谷氨酸的发酵生产	210
任务 8.2 青霉素的发酵生产	221
任务 8.3 淀粉酶的发酵生产	231
任务 8.4 柠檬酸的发酵生产	242
【项目小结】	252
【思考练习】	253
项目 9 基因重组产品的生产	255
任务 9.1 重组大肠杆菌发酵生产 α -干扰素	256
任务 9.2 重组毕赤酵母发酵生产乙肝表面抗原	261
【项目小结】	268
【思考练习】	268
参考文献	269

项目 1 发酵技术概论



【项目描述】

发酵工业与人们的生活息息相关,发酵技术的应用已涉及农业生产、轻化工原料生产、医药卫生、食品、环境保护、资源和能源的开发等多个领域。本项目从发酵的概念入手,详细介绍了发酵工业的发展历史、特点、产品范围、应用、现状和未来等知识,让学生全面了解发酵行业,从而激发学习的兴趣。



【学习目标】

深刻理解发酵的概念;掌握发酵的特点和产品范围;了解发酵工业的发展过程及典型的事例。



【能力目标】

能解释日常生产生活中的发酵现象;知道我国发酵行业发展的现状及发展前景。

任务 1.1 发酵技术与发展

1.1.1 发酵和发酵工程的概念

提到发酵,在生活中往往会让人联想到发面制作馒头、面包,酿造醋、酱油、酒类,或者联想到食品霉烂。很早以前人们就在生产实践活动中广泛地运用发酵相关的技术,但是人们真正认识发酵的本质却是近 200 年的事情。

发酵(fermentation)一词最初来源于拉丁语“发泡、沸涌(*fervere*)”,是派生词,是用来描述酵母菌作用于果汁或发芽谷物(麦芽汁)进行酒精发酵时产生气泡的现象。这种现象实际上是由于酵母菌作用果汁或麦芽汁中的糖,在厌氧条件下代谢产生二氧化碳气泡引起的。人们把这种现象称为“发酵”。传统的发酵概念只是对酿酒这类厌氧发酵现象的描述。

生化和生理学意义的发酵是指微生物在无氧条件下,分解各种有机物质产生能量的一种

方式,或者更严格地说,发酵是以有机物作为电子受体的氧化还原产能反应。如葡萄糖在无氧条件下被微生物利用产生酒精并放出 CO_2 。

工业上的发酵泛指大规模的培养微生物生产有用产品的过程,既包括微生物的厌氧发酵,如酒精、乳酸等,也包括微生物好氧发酵,如抗生素、氨基酸、酶制剂等。产品有细胞代谢产物,也包括菌体细胞、酶等。

发酵工程是指利用微生物的生长繁殖和代谢活动,通过现代工程技术手段,进行工业化生产人们所需产品的理论和工程技术体系,是生物工程与生物技术学科的重要组成部分。发酵工程也称为微生物工程,该技术体系主要包括菌种选育和保藏、菌种的扩大生产、微生物代谢产物的发酵生产和纯化制备,同时也包括微生物生理功能的工业化利用等。发酵工程是一门多学科、综合性的科学技术,既是现代生物技术的重要分支学科,又是食品工程的重要组成部分。

1.1.2 发酵工程与其他工程技术的关系

现代生物工程主要包括基因工程、细胞工程、酶工程、蛋白质工程和发酵工程 5 个部分。基因工程和细胞工程的研究结果,大多需要通过发酵工程和酶工程来实现产业化;基因工程、细胞工程和发酵工程中所需要的酶,往往是通过酶工程来获得;酶工程中酶的生产,一般要通过微生物发酵的方法来进行。由此可知,生物工程各个分支之间存在着交叉渗透的现象(表 1.1)。

表 1.1 生物工程五大主要技术体系关系

生物工程	主要操作对象	工程目的	与其他工程的关系
基因工程	基因及动物细胞、植物细胞、微生物	改造物种	通过细胞工程、发酵工程使目的基因得以表达
细胞工程	动物细胞、植物细胞、微生物细胞	改造物种	可以为发酵工程提供菌种,使基因工程得以实现
发酵工程	微生物	获得菌体及各种代谢产物	为酶工程提供酶的来源
酶工程	微生物	获得酶制剂或固定化酶	为其他生物工程提供酶制剂
蛋白质工程	蛋白质空间结构	合成具有特定功能的新蛋白质	是基因工程的延续

1.1.3 发酵工程技术的发展史

发酵工程技术的历史可以根据发酵技术的重大进步大致分为自然发酵阶段、纯培养发酵阶段、深层通气发酵阶段、代谢调控发酵阶段、开拓发酵原料阶段、基因工程阶段 6 个阶段(表 1.2)。

1) 自然发酵阶段

几千年前,人们在长期的日常生产生活中发现一些粮食经过一段时间的储存后,经过自然界一些因素的作用,会产生一些像酸、辣等奇怪的现象,这些奇怪的味道逐渐被人们所接受并喜欢,同时慢慢地积累经验,利用自然界的这种现象来生产人们喜欢的味道,从事酿酒、酱、醋、奶酪等生产,改善人们的生活。但是,人们对这种现象的本质一无所知,直到19世纪的时候仍然是一知半解。当时人们酿酒、酱、醋、奶酪等产品完全凭经验,当周围的环境变化了,自然会导致产品口味的变化,甚至会浪费粮食,现在很容易解释这些现象,但对于我们的先人这是不可能的事情。

19世纪以前的很长时间,发酵一直处于天然发酵阶段,凭经验传授技术,靠自然,人为不可控制,产品质量不稳定。

2) 微生物纯培养技术阶段

自然发酵阶段,人们不清楚发酵的本质,更不知道有微生物的存在关键作用。1680年,荷兰商人、博物学家列文虎克发明了显微镜,人类借助显微镜首次发现了微生物世界,此后的200年间微生物学的研究基本上停留在形态描述和分门别类的阶段。直到1857年,法国微生物学家巴斯德在帮助酿造者解决葡萄酒酿造过程中总是变酸的问题时,证明了酒精是由活的酵母发酵引起的,指出发酵现象是微小生命体进行的化学反应,阐述了发酵的本质,葡萄酒的酸败是由于酵母以外的另一种更小的微生物(醋酸菌)发酵作用引起的。随后发明了巴氏消毒法,使法国葡萄酒酿造业免受酸败之苦。巴斯德也因此被人们誉为“发酵之父”。

1872年,微生物发展史上又一奠基人——德国人柯赫首先发明了固体培养基,建立了细菌纯培养技术,1905年因肺结核菌研究获得诺贝尔奖;1872年,布雷菲尔德创建了霉菌的纯粹培养法;1878年,汉逊建立了啤酒酵母的纯粹培养法,微生物的分离和纯粹培养技术,使发酵技术从天然发酵转变为纯粹培养发酵。并且,人们设计了便于灭除其他杂菌的密闭式发酵罐以及其他灭菌设备。微生物的纯种培养技术,是发酵工业的转折点。

3) 液体深层通气搅拌发酵技术阶段

1929年,英国人弗莱明(Fleming)发现了青霉素(弗莱明在污染了霉菌的细菌培养平板上观察到了霉菌菌落的周围有一个细菌抑制圈,由于这种霉菌是青霉菌,因此弗莱明把这种抑制细菌生长的霉菌分泌物称为青霉素)。1940年美国 and 英国合作对青霉素进行生产研究,精制出了青霉素,并确认青霉素对伤口感染症比当时的磺胺药剂更具有疗效。恰逢第二次世界大战爆发,对作为医疗战伤感染药物的青霉素需求大量增加,这些都大力推进了青霉素的工业化生产和研究。

最初青霉素是液体浅盘发酵,发酵单位(效价)只有40 U/mL,1943年发展到液体深层发酵,效价增加到200 U/mL,如今发展到5万~7万 U/mL。随后,链霉素、金霉素、新霉素、红霉素等抗生素相继问世,抗生素工业迅速崛起。抗生素工业的发展建立了一套完整的好氧发酵技术,大型搅拌发酵罐培养方法推动了整个发酵工业的深入发展,为现代发酵工程奠定了基础。

4) 微生物酶转化及代谢调控技术阶段

1950—1960年,随着生物化学、酶化学、微生物遗传学等基础生物科学的迅速发展,人类开始用代谢控制技术进行微生物的育种和发酵条件的优化控制,大大加速了发酵工业的进程。1956年由日本的木下祝郎弄清楚了生物素对细胞膜通透性的影响,在培养基中限量提供生物

素体影响了膜磷脂的合成,从而使细胞膜的通透性增加,谷氨酸得以排出细胞外并大量积累。1957 年,日本将这一技术应用到谷氨酸发酵生产中,从而首先实现了 L-谷氨酸的工业生产。谷氨酸工业化发酵生产的成功促进了代谢调控理论的研究,采用营养缺陷型及类似物抗性突变株实现了 L-赖氨酸、L-苏氨酸等的工业化生产。

5) 发酵原料的拓宽阶段

1960—1970 年这段时期,由于粮食紧张以及饲料的需求日益增多,为了解决人畜争粮这一突出问题,许多生物公司开始研究生产微生物细胞作为饲料蛋白的来源,甚至研究以石油副产品为发酵原料,发酵原料多样化开发研究的开展,促进了单细胞蛋白(SCP)发酵工业的兴起,使发酵原料由过去单一性碳水化合物向非碳水化合物过渡。从过去仅仅依靠农产品的状况,过渡到从工厂、矿业资源中寻找原料,开辟了非粮食(如甲醇、甲烷、氢气等)发酵技术,拓宽了原料来源。

6) 基因工程育种技术阶段

20 世纪 70 年代以后,基因重组的成功实现,人们可以按预订方案把外源目的基因克隆到容易大规模培养的微生物(如大肠杆菌、酵母菌)细胞中,通过微生物的大规模发酵生产,可得到原先只有动物或植物才能生产的物质,如胰岛素、干扰素、白细胞介素和多种细胞生长因子等。例如发酵法生产胰岛素,传统的胰岛素生产方法是从牛或猪的胰脏中提取,每 454 kg 牛胰脏,才能得到 10 g 胰岛素。这种传统的胰岛素生产方法很难满足要求。现在通过基因工程育种,人们可以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中,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 200 L 发酵液就可得到 10 g 胰岛素,同时还大大缩短了生产周期。这给发酵工程带来了划时代的变革,使生物技术进入了一个新的阶段——现代生物技术阶段。

表 1.2 发酵工程技术的历史阶段及其特点

发展时期	技术特点及发酵产品
自然发酵 1900 年以前	利用自然发酵制曲酿酒,制醋,栽培食用菌,酿制酱油、酱品、泡菜、干酪、面包以及沤肥等 特点:凭经验生产,主要是食品,混菌发酵
纯培养发酵 1900—1940	利用微生物纯培养技术发酵生产面包酵母、甘油、酒精、乳酸、丙酮、丁醇等厌氧发酵产品和柠檬酸、淀粉酶、蛋白酶等好氧发酵产品 特点:生产过程简单,对发酵设备要求不高,生产规模不大,发酵产品的结构比原料简单,属于初级代谢产物
深层通气发酵 1940 年以后	利用液体深层通气培养技术大规模发酵生产抗生素以及各种有机酸、酶制剂、维生素、激素等产品 特点:微生物发酵的代谢从分解代谢转变为合成代谢;真正无杂菌发酵的机械搅拌液体深层发酵罐诞生;微生物学、生物化学、生化工程三大学科形成了完整的体系

续表

发展时期	技术特点及发酵产品
代谢调控发酵 1957 年以后	利用诱变育种和代谢调控技术发酵生产氨基酸、核苷酸等多种产品 特点:发酵罐达 50 ~ 200 m ³ ;发酵产品从初级代谢产物到次级代谢产物;发展了气升式发酵罐(可降低能耗、提高供氧);多种膜分离介质问世
开拓发酵原料 1960 年以后	利用石油化工原料(碳氢化合物)发酵生产单细胞蛋白;发展了循环式、喷射式等多种发酵罐;利用生物合成与化学合成相结合的工程技术生产维生素、新型抗生素;发酵生产向大型化、多样化、连续化、自动化方向发展 特点:用工业原料代替粮食进行发酵
基因工程育种 1979 年以后	利用 DNA 重组技术构建的生物细胞发酵生产人们所希望的各种产品,如胰岛素、干扰素等基因工程产品 特点:按照人们的意愿改造物种、发酵生产人们所希望的各种产品;生物反应器也不再是传统意义上的钢铁设备,昆虫躯体、动物细胞乳腺、植物细胞的根茎果实都可以看作是一种生物反应器;基因工程技术使发酵工业发生了革命性变化

任务 1.2 发酵工业与产品

1.2.1 发酵工业的特点

发酵工业是利用微生物所具有的生物加工与生物转化能力,将廉价发酵原料转变为各种高附加值产品的产业。它与化工产业相比,有以下特点:

①以微生物为主体 微生物菌种是进行发酵的根本因素,可以通过筛选、诱变或基因工程手段获得高产优良的菌株。发酵对杂菌污染的防治至关重要,除了必须对设备进行严格灭菌和空气过滤外,反应必须在无菌条件下进行,维持无菌条件是发酵成败的关键。

②反应条件的温和性 发酵过程一般都是在常温常压下进行的生物化学反应,反应条件比较温和。

③原料的廉价性 发酵所用的原料通常以淀粉质、玉米浆、糖蜜或其他农副产品为主,只要加入少量的有机和无机氮源就可进行反应生产较高价值的产品。此外,可以利用废水和废物等作为发酵的原料进行生物资源的改造和更新。实现环保和发酵生产的双层效益。

④产物的多样性 由于生物体本身所具有的反应机制,能专一性和高度选择性地对某些较为复杂的化合物进行特定部位的生物转化修饰,也可产生比较复杂的高分子化合物。

⑤生产的非限制性 发酵生产不受地理、气候、季节等自然条件的限制,可以根据订单安排通用发酵设备来生产多种多样的发酵产品。

基于以上特点,发酵工业日益受到人们的重视。与传统的发酵工艺相比,现代发酵工业除了上述特点之外更有其优越性。如除了使用从自然界筛选的微生物外,还可以采用人工构建的“基因工程菌”或微生物发酵所生产的酶制剂进行生物产品的工业化生产,而且发酵设备也为自动化、连续化设备所代替,使发酵水平在原有基础上得到大幅度提高,发酵类型不断创新。

1.2.2 发酵工业产品的类型

发酵工业的应用范围很广,分类方法也多种多样,依据最终发酵产品的类型可以分为4大类。

1) 微生物菌体

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,属于食品发酵产品范围的有酵母菌、单细胞蛋白、螺旋藻、食用菌、活性乳酸菌和双歧杆菌等益生菌。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、与天麻共生的蜜环菌、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。涉及其他发酵产品范围的还有人畜用活菌疫苗、生物杀虫剂(杀鳞翅目、双翅目昆虫的苏云金芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌菌剂;防治松毛虫的白僵菌、绿僵菌菌剂)。其特点是:细胞的生长与产物积累成平行关系,生长速率最大时期也是产物合成速率最高阶段,生长稳定期产量最高。

2) 微生物代谢产物

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,是发酵工业中数量最多,产量最大,也是最重要的部分,包括初级代谢产物和次级代谢产物。

初级代谢产物是指微生物在对数生长期通过代谢活动所产生的、自身生长和繁殖所必需的物质,如氨基酸、核苷酸、多糖、脂类、维生素等。自然界的野生菌产生的初级代谢产物仅用于自身的生长繁殖,工业上必须通过菌种改良才能大规模生产。

次级代谢产物是指微生物生长到一定阶段才产生的化学结构十分复杂、对该微生物无明显生理功能,或并非是微生物生长和繁殖所必需的物质,如抗生素、毒素、激素、色素等。不同种类的微生物所产生的次级代谢产物不相同,它们可能积累在细胞内,也可能排到外环境中。其中,抗生素是一类具有特异性抑菌和杀菌作用的有机化合物,种类很多,常用的有链霉素、青霉素、红霉素和四环素等。为了提高代谢产物的产量,需要对发酵微生物进行遗传特性的改造和代谢调控的研究。

3) 微生物酶制剂

微生物酶制剂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。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。

目前工业上微生物发酵可以生产的酶有上百种,经分离、提取、精制得到酶制剂,广泛用于医药、食品加工、活性饲料、纤维脱浆等许多行业,如用于医药生产和医疗检测的药用酶,如青霉素酰化酶、胆固醇氧化酶、葡萄糖氧化酶、氨基酰化酶。现在已有很多酶制剂加工成固定化酶,使发酵工业和酶制剂的应用范围发生了重大变化。其特点是:需要诱导作用,或遭受阻遏、抑制等调控作用的影响,在菌种选育、培养基配制以及发酵条件等方面需给予注意。

4) 微生物转化产物

利用生物细胞中的一种或多种酶作用于某一底物的特定部位(基因),使其转化为结构类似并具有更大经济价值的化合物的生化反应。生物转化的最终产物不是生物细胞利用营养物质经过代谢而产生,而是生物细胞中的酶或酶系作用于某一底物的特定部位(基因)进行化学反应而形成。最简单的生物转化例子是微生物细胞将乙醇氧化形成乙酸,但是发酵工业中最重要的生物转化是甾体的转化,如将甾体化合物的 11 位进行氧化转化为可的松,结构类似的同族抗生素、类固醇、前列腺素的生产。生物转化包括脱氢、氧化、脱水、缩合、脱羧、羟化、氨化、脱氨、异构化等。

若将发酵工业的范围按照产品进行细分,大致可分为 14 类(表 1.3)。

表 1.3 发酵工业涉及的范围及主要发酵产品

发酵工业范围	主要发酵产品
食品发酵工业	酱油、食醋、活性酵母、活性乳酸菌、面包、酸奶奶酪、饮料酒等
有机酸发酵工业	醋酸、乳酸、柠檬酸、葡萄糖酸、苹果酸、琥珀酸、丙酮酸等
氨基酸发酵工业	谷氨酸、赖氨酸、色氨酸、苏氨酸、精氨酸、酪氨酸等
低聚糖与多糖发酵工业	低聚果糖、香菇多糖、云芝多糖、葡聚糖、黄原胶等
核苷酸发酵工业	肌苷酸(IMP)、鸟苷酸(GMP)(强力助鲜剂)、黄苷酸(XMP)
药物发酵工业	抗生素:青霉素、头孢菌素、链霉素、制霉菌素、丝裂霉素等 基因工程制药工业:促红细胞生成素(EPO)、集落刺激因子(CSF)、表皮生长因子(EGF)、人生长激素、干扰素、白介素、各种疫苗、单克隆抗体等 药理活性物质发酵工业:免疫抑制剂、免疫激活剂、糖苷酶抑制剂、脂酶抑制剂、类固醇激素等
维生素发酵工业	维生素 C、维生素 B ₂ 、维生素 B ₁₂ 等
酶制剂发酵工业	淀粉酶、蛋白酶、脂酶、青霉素酰化酶、葡萄糖氧化酶、海因酶等
发酵饲料工业	干酵母、单细胞蛋白、益生菌、青贮饲料、抗生素和维生素饲料添加剂等
生物肥料与农药工业	细菌肥料、赤霉素、除草菌素、苏云金杆菌、白僵菌、绿僵菌、杀稻瘟菌素、有效霉素、春日霉素等
有机溶剂发酵工业	酒精、甘油、乙醇、丙酮、丁醇溶剂等
微生物环境净化工业	利用微生物处理废水、污水等
生物能工业	沼气、纤维素等发酵生产乙醇、乙烯甲烷等能源物质
微生物冶金工业	利用微生物探矿、冶金、石油脱硫等

1.2.3 发酵工业在国民经济中的应用

1) 医药工业

采用生物工程技术,通过微生物发酵方法生产传统或新型药物与化学合成药物相比具有工艺简单、投入较少、污染较小的明显优势。

①抗生素目前主要是由微生物发酵生产,包括抗菌剂、抗癌药物等许多不同生理活性类型。

②维生素是重要的医药产品,同时也是食品和饲料的重要添加剂。目前采用发酵工程生产的维生素有维生素 C、维生素 B₂、维生素 B₁₂ 等。

③多烯不饱和脂肪酸如二十碳五烯酸(EPA)、二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳四烯酸(AA)等都是很有价值的医药保健产品,有“智能食品”之称。国外对其开发十分活跃,不仅源于海鱼,而且可通过某些微生物进行生产。研究人员发现海洋中有一种繁殖能力很强的网黏菌,其干菌体生物量含脂质 70%,其中 DHA 30%~40%,可通过发酵途径进行生产,每升培养液可收获 DHA 4.5 g,该菌 DHA 含量与海产金鲢鱼或鲑鱼眼窝脂肪中 DHA 含量相近。

④利用生物转化可以合成手性药物,随着手性药物需求量的增大,人们在这一领域的研究也越来越多。

2) 食品工业

发酵工程对食品工业的贡献较大,从传统酿造到菌体蛋白,都是农副产品升值的主要手段。据报道,由发酵工程贡献的产品可占食品工业总销售额的 15% 以上。例如,氨基酸可用作食品、饲料添加剂和药物。目前利用微生物发酵法可以生产近 20 种氨基酸。该法较蛋白质水解和化学合成法生产成本低,工艺简单,且全部具有光学活性。在欧美,乳制品及谷物的发酵是重要的食品发酵过程,与酸乳、酸性稀奶油和稀奶油干酪有关的特殊香味是由柠檬素发酵产生的。目前乳制品的发酵在我国正在兴起,酸牛奶几乎普及各个城市和乡镇。近年来,由国外引进了干酵母技术,由于活性干酵母的保存期可达半年以上,使得国内大多数城镇都能生产新鲜面包。

由于化学合成色素不断被限制使用,微生物发酵生产的生物色素如 β -胡萝卜素、虾青素等受到重视。同时随着多糖、多肽应用的开拓,由微生物发酵生产的免疫制剂、抗菌剂以及增稠剂等都得到了优先发展。

3) 能源工业

能源紧张是当今世界各国都面临的一大难题,石油危机之后,人们更加清楚地认识到地球上的石油、煤炭、天然气等化石燃料终将枯竭,而有些微生物则能开发再生性能源和新能源。

①通过微生物或酶的作用,可以利用含淀粉、糖质、纤维素和木质素等的植物资源如粮食、甜菜、甘蔗、木薯、玉米芯、秸秆、木材等生产“绿色石油”——燃料乙醇。包括我国在内的美国、巴西和欧洲的一些国家已开始大量使用“酒精汽油(酒精和汽油的混合物)”作为汽车的燃料。也可以用各种植物油料为原料生产另一类“绿色石油”——生物柴油。目前德国等发达国家正在推广使用生物柴油新能源。

②各种有机废料如秸秆以及鸡粪、猪粪等通过微生物发酵作用生成沼气是废物利用的重要手段之一,许多国家利用沼气作为能源取得了显著的成绩。