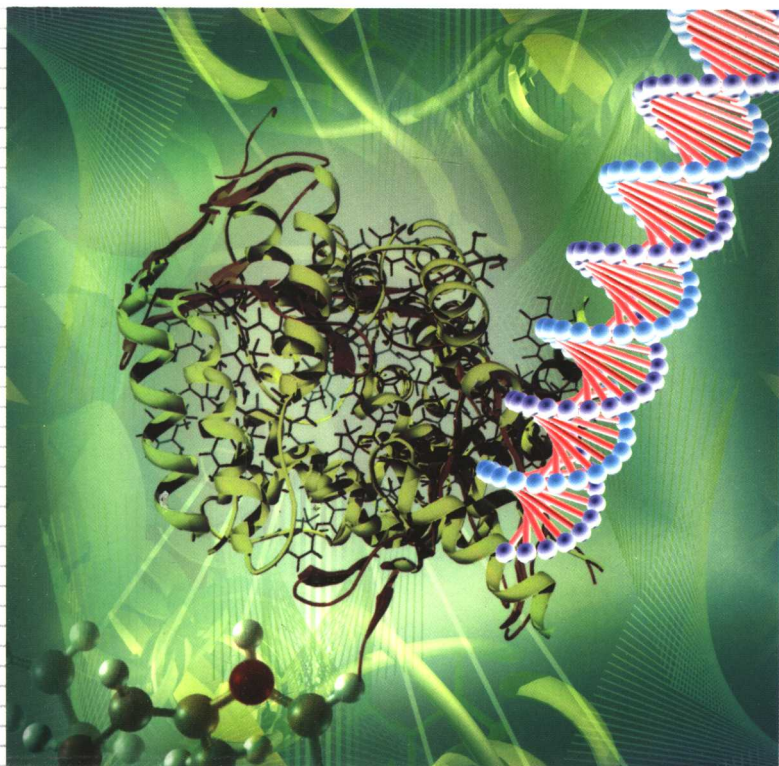


普通高等教育“十一五”国家级规划教材

生物工程 生物技术系列

发酵工程原理 与技术应用

余龙江 主编



化学工业出版社
高等教育教材出版中心

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

发酵工程原理与技术应用

余龙江 主编



化学工业出版社
高等教育教材出版中心

·北京·

本书共分 16 章,以发酵工程的工业应用为主线,以系统介绍发酵工业所必需的发酵工程理论和实践知识为特色,内容包括工业微生物菌种选育、工业发酵培养基设计、发酵工业无菌技术、种子扩大培养、发酵动力学、氧的供需、发酵生理及其过程控制、发酵罐的放大与设计、基因工程菌发酵、发酵产品的提取与精制、发酵工业的清洁生产、发酵工厂设计、发酵经济学、发酵产品生产原理与技术应用,以及发酵工程在现代生物化工中的应用等方面。本书各章既独立成章,又相互联系,内容安排强调系统基础上的相互衔接,紧扣现代发酵工程最具发展潜力的领域和方向。通过本教材的学习,可使学生全面掌握发酵产品的生产原理与技术应用,熟悉现代发酵工业的发展领域和重点方向,为学生今后从事与发酵工业相关的新产品、新工艺的研究和开发打下良好的理论与技术基础。

《发酵工程原理与技术应用》是一本为大学本科生编写的教材,适用于生物技术和生物工程专业以及生物化工、生物制药工程等相关专业的高年级本科生,也可作为相关专业的研究生、教师及科研人员的参考书。

图书在版编目 (CIP) 数据

发酵工程原理与技术应用/余龙江主编. —北京:

化学工业出版社, 2006. 6

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

ISBN 7-5025-8037-9

I. 发… II. 余… III. 发酵工程-高等学校-教材 IV. TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 058680 号

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

发酵工程原理与技术应用

余龙江 主编

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 袁海燕

责任校对: 王素芹

封面设计: 郑小红

*

化学工业出版社 出版发行
高等教育教材出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京市振南印刷有限责任公司印刷

三河市宇新装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 18 字数 462 千字

2006 年 9 月第 1 版 2006 年 9 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8037-9

定 价: 29.80 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责退换

本书编写人员

主 编 余龙江

参加编写人员 (以姓氏笔画为序)

朱 敏	李 为	吴元喜	何 峰
余龙江	张长银	鲁明波	

序

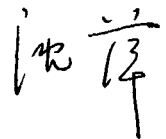
现代社会发展呈现多极化、多元化的特点：一方面世界上不同国家和地区发展极不平衡，一些发展中国家和欠发达国家分别处于农业或工业社会阶段，而发达国家进入了知识经济时代，甚至提前进入生物经济时代；另一方面，随着信息化的高速发展，全球一体化的趋势日益突出，竞争日趋激烈。而且，随着人口数量的不断增长以及人类消费水平的逐步增加，导致资源、能源、粮食等的供应日趋紧张，同时工业经济发展导致环境污染和由此引起的人类健康危机不断加剧，肿瘤等重大疾病患者数量上升较快，一些新的疾病和传染病也不断出现。这些新情况和新问题迫切需要通过新的科技进步来解决。由于生物技术为解决以上诸多的危机具有明显优势，在某些方面甚至是不可替代的关键技术。而我国的各种困难和危机更加突出。因此，在我国发展高生物技术及其产业十分重要，具有重要的社会经济意义。

生物技术被确立为我国高科技优先发展领域，相应地，出现了解决以上各种困难和危机的专门生物技术方向，如医药生物技术、资源生物技术、能源生物技术以及环境生物技术等。近年来，尤其是以石油等不可再生资源为原料的能源和石油化工行业面临石油日益短缺的影响，以及传统工业导致环境污染日益加剧。因此，对利用淀粉、纤维素等可再生资源生产新能源和替代传统石油化工产品，实现环境友好的要求日益增强，大大催生和促进了工业生物技术的发展。

发酵工程是生物技术的重要组成部分，是生物技术产业化的核心环节，它在工业生物技术的产生和发展中具有不可替代的作用。随着微生物学、基因组学、蛋白质组学、代谢组学向纵深发展，以及信息技术、过程控制技术和生物化工技术与装备的不断进步，发酵工程必将焕发出更强大的生机，在现代工业生物技术的发展中显示越来越大的威力，成为解决资源、粮食、能源、环境与健康等众多领域面临的重大问题的关键技术之一。

本书以工程的观点，按照生物技术产业化的目标要求，紧紧围绕发酵产品的产业化生产技术流程来安排各章节的内容，重点突出生产技术流程中的上、中、下游的现代科学技术进步及流程中各个环节的相互衔接，从上游的发酵工业菌种选育、发酵过程的实现到下游产品的分离纯化与精制，系统地介绍发酵工程原理和技术应用。该书在总结、吸收前人的宝贵经验的基础上，对微生物发酵产品的产业化实施的原理和技术的各个环节都作了创新性研究和深入浅出的阐述。

本书是余龙江教授及其所领导的微生物学学科和生物化工学科的一些老师，在多年来的本科生教学、研究生教学以及科研的基础上，虚心学习和请教本领域和相关学科领域的许多专家学者后的共同结晶，整合了当代学科前沿与科研生产经验，是一本非常不错的、很有特色的教材，对从事微生物技术、发酵工程及其相关领域的教学和科研生产等方面的广大师生和科技工作者会大有裨益。我衷心向读者推荐，这是一本值得认真学习的书。



2006年6月

前 言

21 世纪生物技术产业已成为具有巨大发展潜力的高新技术产业。同时，与生物技术产业化紧密相关的生物工程学科也成为一门新兴的前沿学科。发酵工程作为生物工程的核心内容之一，在生物技术产业化方面显示出越来越重要的作用，是生物工程与生物技术专业及相关专业人才培养的重要课程。

现代发酵工程在传统发酵工业的基础上，融入了分子生物学、系统生物学以及基因工程、细胞工程、代谢工程等新理论和新技术，结合现代生物过程控制及生物分离工程技术的巨大进步，使现代发酵工业的水平大大提高，而且应用领域也不断扩大，逐渐由医药、食品轻工等领域拓展到化工、冶金、能源以及环境等新领域，显示出强大的生命力。尤其是以石油等不可再生资源为原料的能源行业和石油化工行业面临的资源危机日益加重，必将促进相应的产业结构调整，以淀粉、纤维素等可再生资源为原料的“C—O 经济”将逐步取代以石油等不可再生资源为原料的“C—H 经济”，实现经济社会的可持续发展。现代发酵工程在以淀粉、纤维素等可再生资源为原料的“C—O 经济”发展过程中处于中坚地位，是经济转型和产业结构调整的工业核心技术。因此，发酵工程在现代工业发展中前景广阔，学习和发展现代发酵工程理论和技术具有重要意义。

华中科技大学生命科学与技术学院早在 1987 年就在生物医学工程专业下开设了生物技术方向，进行了生物技术专业本科人才培养的探索与教学实践。在系统开设生物学课程的基础上，开设了基因工程、细胞工程、发酵工程、酶工程、生化工程等生物技术专业课程及实验，并对发酵工程课程进行了重点建设。本书在结合编者自身的长期科研实践与该领域国内外进展的基础上，逐年积累资料，不断更新内容，逐步形成了较为完善的课程体系。

全书共分为 16 章，以发酵工程的工业应用为主线，以系统介绍发酵工业所必需的发酵工程理论和实践知识为特色，内容包括工业微生物菌种选育、工业发酵培养基设计、发酵工业无菌技术、种子扩大培养、发酵动力学、氧的供需、发酵生理及其过程控制、发酵罐的放大与设计、基因工程菌发酵、发酵产品的提取与精制、发酵工业的清洁生产、发酵工厂设计、发酵经济学、发酵产品生产原理与技术应用，以及发酵工程在现代生物化工中的应用等方面。本书各章既独立成章，又相互联系，内容安排强调系统基础上的相互衔接，紧扣现代发酵工程最具发展潜力的领域和方向，具有很强的时代感。通过本教材的学习，可使学生全面掌握发酵产品的生产原理与技术应用，熟悉现代发酵工业的发展领域和重点方向，为学生今后从事与发酵工业相关的新产品、新工艺的研究和开发打下良好的理论与技术基础。

全书由余龙江教授整体构思，由华中科技大学生命科学与技术学院长期从事发酵工程的研究以及教学的老师编写。其中，第 1 章、第 5 章、第 6 章、第 8 章、第 9 章、第 12 章、第 14 章、第 15 章、第 16 章由余龙江教授编写，第 2 章由鲁明波副教授编写，第 3 章由何峰博士编写，第 4 章、第 7 章由李为副教授编写，第 11 章由吴元喜高级工程师编写，第 13 章由张长银高级工程师编写，第 10 章由朱敏副教授编写。全书由余龙江教授统稿。此外，感谢汪文俊博士、向福博士为本书的文字、图表处理所做的大量工作。

本书适用于生物工程和生物技术专业以及生物化工、生物制药工程等相关专业的高年级

本科生，也可作为相关专业的研究生、教师和科研人员的参考书。

在本书的编写过程中参考了许多同仁发表的著作和科技论文，在此深表谢意。由于生物技术的发展日新月异，有许多新技术、新方法、新观点、新案例、新成果来不及消化吸收编入本教材，加上编者水平及时间有限，错误和不足之处，诚恳希望读者给予批评指正，以便在再版时更正。

编者

2006年5月于喻园

目 录

1 绪论	1	2.4 发酵工业菌种改良	23
1.1 发酵工程的定义及其与其他相关学科的关系	1	2.4.1 菌种代谢生理与分子生物学.....	23
1.1.1 什么是发酵工程.....	1	2.4.2 常规育种.....	25
1.1.2 发酵工程与其他相关学科的关系.....	1	2.4.3 细胞工程育种.....	27
1.2 发酵工程的发展史.....	2	2.4.4 基于代谢调节的育种技术.....	31
1.2.1 发酵本质的认识过程.....	2	2.4.5 基因工程育种.....	33
1.2.2 发酵工程技术的发展史.....	3	2.4.6 蛋白质工程育种.....	35
1.3 发酵工业的特点及其研究范畴.....	5	2.4.7 代谢工程育种.....	36
1.3.1 发酵工业的特点.....	5	2.4.8 组合生物合成育种.....	37
1.3.2 发酵工业的范围.....	6	2.4.9 反向生物工程育种.....	38
1.4 工业发酵的类型与工艺流程.....	7	2.5 发酵工业菌种保藏.....	39
1.4.1 工业发酵的类型.....	7	2.5.1 菌种变异及退化机理.....	39
1.4.2 发酵生产工艺流程.....	8	2.5.2 菌种保藏技术.....	39
1.5 发酵工程在国民经济中的应用.....	9	3 发酵工业培养基设计	41
1.5.1 医药工业.....	9	3.1 发酵工业培养基的基本要求.....	41
1.5.2 食品工业.....	9	3.2 发酵工业培养基的成分及来源.....	42
1.5.3 能源工业.....	9	3.2.1 碳源.....	42
1.5.4 化学工业.....	10	3.2.2 氮源.....	43
1.5.5 冶金工业.....	10	3.2.3 无机盐及微量元素.....	45
1.5.6 农业.....	10	3.2.4 水.....	46
1.5.7 环境保护.....	11	3.2.5 生长调节物质.....	47
1.6 发酵工程的应用前景.....	11	3.3 微生物的培养基类型.....	48
2 发酵工业菌种	13	3.3.1 斜面培养基.....	48
2.1 发酵工业菌种概述.....	13	3.3.2 种子培养基.....	48
2.1.1 细菌.....	13	3.3.3 发酵培养基.....	49
2.1.2 放线菌.....	13	3.4 发酵培养基的设计原理与优化方法.....	49
2.1.3 酵母菌.....	14	3.4.1 发酵培养基的设计原理.....	49
2.1.4 霉菌.....	14	3.4.2 发酵培养基的优化方法.....	51
2.1.5 未培养微生物.....	14	4 发酵工业的无菌技术	57
2.2 发酵工业菌种的分离筛选.....	15	4.1 发酵工业的无菌处理.....	57
2.2.1 样品的采集.....	15	4.2 发酵工业污染的防治策略.....	57
2.2.2 样品的预处理.....	16	4.2.1 污染的危害.....	57
2.2.3 富集培养.....	17	4.2.2 杂菌污染的防治.....	59
2.2.4 菌种分离.....	18	4.3 发酵工业的无菌技术.....	64
2.2.5 菌种初筛和复筛.....	19	4.4 发酵培养基及设备管道灭菌.....	65
2.3 发酵工业菌种鉴定.....	19	4.4.1 湿热灭菌原理.....	65
2.3.1 经典的分类鉴定方法.....	20	4.4.2 分批灭菌.....	69
2.3.2 现代分类鉴定方法.....	20	4.4.3 连续灭菌.....	70
2.3.3 将菌种直接送到权威鉴定机构鉴定.....	22	4.4.4 发酵培养基及设备管道灭菌技术.....	71
		4.5 空气除菌.....	72

4.5.1	空气除菌方法	72	其他理论	104	
4.5.2	空气过滤除菌	72	7.2.3	氧传递方程	105
4.5.3	空气预处理	73	7.3	发酵过程耗氧与供氧的动态关系	105
4.5.4	空气预处理流程设计	75	7.4	影响氧传递的因素	107
4.5.5	空气过滤介质	76	7.4.1	影响推动力的因素	107
4.5.6	提高过滤除菌效率的措施	76	7.4.2	影响 $K_{L,a}$ 的因素	108
5	发酵工业的种子制备	78	7.5	发酵过程中的氧传递效率	111
5.1	种子制备原理与技术	78	7.6	溶解氧、摄氧率和 $K_{L,a}$ 的测定	112
5.1.1	优良种子应具备的条件	78	7.6.1	溶解氧 C_L 的测定原理与方法	112
5.1.2	种子质量的判断方法	78	7.6.2	摄氧率 γ 的测定原理与方法	114
5.1.3	种子制备	79	7.6.3	$K_{L,a}$ 的测定原理与方法	115
5.1.4	种龄与接种量	80	8	发酵过程控制	118
5.2	影响种子质量的因素	81	8.1	发酵过程控制概述	118
5.3	种子质量的控制措施	82	8.1.1	发酵过程的参数检测	119
5.3.1	菌种稳定性检查	82	8.1.2	发酵过程的代谢调控	121
5.3.2	适宜的生长环境	82	8.2	温度对发酵的影响及其控制	121
5.3.3	种子无杂菌检查	82	8.2.1	影响发酵温度的因素	121
5.4	种子制备的放大原理与技术	82	8.2.2	温度对微生物生长的影响	122
5.4.1	细菌发酵时的种子扩大培养	82	8.2.3	温度对基质消耗的影响	123
5.4.2	酵母发酵时的种子扩大培养	83	8.2.4	温度对产物合成的影响	123
5.4.3	丝状真菌发酵的种子扩大培养	84	8.2.5	最适温度的选择	124
5.4.4	放线菌发酵时的种子扩大培养	85	8.3	pH 对发酵的影响及其控制	124
6	发酵动力学	86	8.3.1	发酵过程中 pH 变化的规律	124
6.1	分批发酵动力学	86	8.3.2	最适 pH 的选择	125
6.1.1	微生物生长动力学	86	8.3.3	pH 的调控策略	126
6.1.2	底物消耗动力学	88	8.4	溶解氧对发酵的影响及其控制	126
6.1.3	代谢产物的合成与微生物生长的动力学关系	91	8.4.1	溶解氧变化的规律	127
6.1.4	分批发酵的优缺点	93	8.4.2	溶解氧在发酵过程控制中的重要作用	127
6.2	连续发酵动力学	93	8.4.3	影响溶解氧的主要因素与控制方法	128
6.2.1	单级连续发酵	93	8.4.4	溶解氧控制对发酵的影响	130
6.2.2	多级连续发酵	95	8.5	CO_2 和呼吸商对发酵的影响及其控制	130
6.2.3	连续培养在工业生产中的应用	96	8.5.1	CO_2 对发酵的影响	130
6.2.4	连续培养中存在的问题	97	8.5.2	呼吸商与发酵的关系	131
6.3	分批补料发酵及其动力学	98	8.6	基质浓度对发酵的影响及其控制	132
6.3.1	分批补料发酵动力学	98	8.7	通气搅拌对发酵的影响及其控制	133
6.3.2	分批补料发酵的应用	99	8.8	泡沫对发酵的影响及其控制	134
7	发酵工业中氧的供需	101	8.8.1	泡沫的产生及其影响	134
7.1	微生物对氧的需求	101	8.8.2	发酵过程中泡沫的消长规律	134
7.1.1	氧在微生物发酵中的作用	101	8.8.3	泡沫的控制	135
7.1.2	微生物的耗氧特征	101	8.9	高密度发酵及过程控制	136
7.1.3	影响微生物耗氧的因素	101	8.9.1	高密度发酵	136
7.1.4	控制溶解氧的意义	102	8.9.2	高密度发酵的策略	136
7.2	发酵过程中氧的传递	103	8.9.3	高密度发酵技术	137
7.2.1	氧的传递途径与传质阻力	103			
7.2.2	气体溶解过程中的双膜理论及				

8.9.4 高密度发酵存在的问题	137	的生产	168
8.10 发酵终点的检测与控制	138	10.6.3 核酸疫苗	169
8.10.1 发酵终点的判断	138	11 发酵产物的提取与精制	171
8.10.2 菌体自溶的监测	138	11.1 概述	171
8.10.3 影响自溶的因素	139	11.1.1 提取与精制过程的一般工艺 流程	171
8.11 自动控制技术在发酵过程控制中的 应用	140	11.1.2 发酵产物提取精制方法的优化 与工艺设计	172
8.11.1 发酵过程的计算机控制原理	140	11.2 发酵液的预处理	172
8.11.2 发酵过程的计算机功能分析	140	11.2.1 改变发酵培养物的过滤特性	173
9 发酵罐放大与设计	144	11.2.2 发酵液相对纯化	175
9.1 发酵罐的类型与结构	144	11.2.3 高价无机离子的去除方法	175
9.1.1 发酵罐的类型	144	11.3 固液分离技术	175
9.1.2 发酵罐的结构	145	11.3.1 过滤分离技术	175
9.2 通用式发酵罐的设计与放大	146	11.3.2 离心分离技术	177
9.2.1 发酵罐设计的基本原则	146	11.4 细胞破碎技术	179
9.2.2 发酵罐设计的基本要求	147	11.4.1 物理法	180
9.2.3 发酵罐放大设计	147	11.4.2 化学法	182
9.3 发酵罐电机的选配	152	11.4.3 生物酶溶法	183
9.3.1 搅拌功率的计算	152	11.4.4 细胞破碎技术的发展方向	183
9.3.2 发酵罐的电机选配	155	11.5 浓缩技术	184
10 基因工程菌发酵	156	11.6 膜分离技术	185
10.1 基因工程菌发酵动力学	156	11.6.1 膜分离技术的原理	185
10.1.1 基因工程菌的发酵动力学模型 分类	156	11.6.2 反渗透	187
10.1.2 基因工程菌培养过程的动力学 模型	157	11.6.3 超滤和微滤	187
10.2 基因工程菌发酵的设备	158	11.6.4 透析	188
10.3 基因工程菌的高密度发酵及控制	158	11.7 沉淀分离技术	188
10.3.1 高密度发酵培养基的选择	159	11.7.1 蛋白质分子在水溶液中的稳 定性	188
10.3.2 培养方式的选择	159	11.7.2 蛋白质沉淀分离方法	189
10.3.3 发酵过程中溶解氧的控制	160	11.8 吸附分离技术	191
10.3.4 温度的影响及控制	160	11.8.1 吸附分离原理	191
10.3.5 pH的影响及控制	160	11.8.2 吸附介质的分类及其性质	192
10.4 基因工程菌发酵的后处理技术	161	11.9 萃取分离技术	193
10.4.1 细胞破碎	161	11.9.1 溶剂萃取	193
10.4.2 基因工程蛋白质的浓缩与分离 纯化	161	11.9.2 双水相萃取	196
10.4.3 基因工程菌中核酸的分离 纯化	162	11.9.3 超临界流体萃取	198
10.5 基因工程菌的不稳定性及对策	164	11.10 色谱分离技术	199
10.5.1 基因工程菌不稳定性的表现	164	11.10.1 柱色谱中的常用术语	199
10.5.2 基因工程菌不稳定的原因及 对策	164	11.10.2 吸附色谱	200
10.6 应用案例与分析	166	11.10.3 离子交换色谱技术	202
10.6.1 基因工程生产干扰素	166	11.10.4 凝胶色谱技术	207
10.6.2 重组人生长激素 (rhGH)		11.10.5 亲和色谱技术	211
		11.10.6 逆流色谱技术	212
		11.11 结晶技术	212
		11.11.1 结晶的基本原理	212

11.11.2	影响结晶生成的因素	213	13.7.2	概算和经济评价中的一些费用 计算	236
11.11.3	工业发酵中常用的结晶方法及 设备	215	13.7.3	产品成本计算	237
11.12	干燥技术	215	13.7.4	借款利息和还款能力预测	238
11.12.1	对流加热干燥法	215	13.7.5	项目投资的经济评价	238
11.12.2	接触加热干燥方法	216	14 发酵经济学		239
11.12.3	冷冻升华干燥法	216	14.1	概述	239
12 发酵工业清洁生产技术		218	14.2	影响发酵产品成本的主要因素	239
12.1	清洁生产的概念及主要内容	218	14.2.1	菌株选育对发酵成本的影响	239
12.1.1	清洁生产的定义	218	14.2.2	发酵培养基成本分析	240
12.1.2	清洁生产技术的主要研究 内容	219	14.2.3	无菌空气与通气搅拌成本 分析	241
12.2	清洁生产与末端治理的比较	220	14.2.4	动力费的成本分析	241
12.3	发酵行业开展清洁生产的重要意义 和必要性	221	14.2.5	发酵工艺中不同培养方式的 成本对比分析	242
12.4	实现清洁生产的有效途径	222	14.2.6	发酵产品分离纯化的成本 分析	244
12.4.1	强化内部管理	222	14.2.7	发酵规模的成本分析	244
12.4.2	工艺技术改革与创新实现清洁 生产	223	14.2.8	市场经济信息分析及管理 技术	245
12.4.3	废弃资源的综合利用	225	14.3	发酵过程的经济学评价	245
13 发酵工厂设计概述		226	14.3.1	产物浓度	245
13.1	发酵工厂基本建设程序和设计工作 的基本内容	226	14.3.2	生产效率	245
13.1.1	发酵工厂基本建设程序	226	14.3.3	基质转化率	246
13.1.2	发酵工厂工程设计的基本 内容	226	14.3.4	单位产品的能耗	246
13.2	发酵工厂厂址选择和总图布置	227	15 发酵产品生产原理与技术应用		247
13.2.1	厂址选择	227	15.1	醇酮类产品的发酵生产	247
13.2.2	总平面布置	228	15.1.1	酒精发酵菌种	247
13.3	发酵工艺流程设计	229	15.1.2	酒精发酵的原料和工艺流程	247
13.3.1	工艺流程的设计原则	229	15.2	氨基酸类产品的发酵生产	249
13.3.2	工艺流程的设计步骤	229	15.2.1	淀粉水解糖的制备	249
13.4	物料衡算与设备选型	229	15.2.2	菌种扩大培养	249
13.4.1	物料衡算	229	15.2.3	谷氨酸分批发酵	250
13.4.2	主要技术经济指标	230	15.2.4	谷氨酸提取	250
13.4.3	设备选型	231	15.3	核苷酸类产品的发酵生产	251
13.5	发酵车间设备布置与管道设计	233	15.4	有机酸类产品的发酵生产	252
13.5.1	车间设备布置	233	15.5	油脂类产品的发酵生产	254
13.5.2	车间工艺管道设计	234	15.6	抗生素发酵生产	254
13.6	发酵工业“三废”处理及其工厂化 设计	235	15.6.1	抗生素的生产工艺	255
13.6.1	废气	235	15.6.2	青霉素发酵生产过程及其关键 技术	255
13.6.2	废水	235	15.6.3	青霉素的提取和精制	256
13.6.3	废渣	236	15.7	酶制剂的发酵生产	256
13.7	发酵工厂投资概算与经济评价	236	15.7.1	酶制剂的应用	256
13.7.1	建设项目的总投资概算	236	15.7.2	酶制剂的生产	257
			15.7.3	α -淀粉酶的生产	257

15.8	多糖类产品的发酵生产	260	16.1.4	医用酶制剂的发酵生产	268
15.9	维生素类产品的发酵生产	261	16.1.5	新型保健食品的发酵生产	268
15.10	甾体激素的微生物转化	263	16.2	发酵工程在化学工业中的应用	268
15.10.1	由醋酸化合物 S 生产氢化可 的松	264	16.2.1	发酵工程在化工原料工业中的 应用	268
15.10.2	利用简单节杆菌将氢化可的松 转化成强的松龙	264	16.2.2	发酵工程在农药生产中的 应用	269
15.10.3	以醋酸可的松为原料生产醋 酸强的松	265	16.2.3	发酵工程在新型能源工业中的 应用	269
16	发酵工程在现代生物化工中的 应用	266	16.3	发酵工程在绿色化学工业中的 应用	269
16.1	发酵工程在生物医药领域的应用	266	16.4	发酵工程在生物炼制技术需求 推动下快速发展	270
16.1.1	抗生素的发酵生产	267	参考文献	272	
16.1.2	维生素类药物的发酵生产	267			
16.1.3	多烯脂肪酸的发酵生产	267			

1 绪 论

1.1 发酵工程的定义及其与其他相关学科的关系

1.1.1 什么是发酵工程

很早以前，人们就知道，酒暴露于空气中会慢慢变酸，熟大米加曲保温两天后会生成酒，并把这种现象称为发酵。虽然人们在酿酒制醋时早已揭开了发酵工程应用的序幕，在生产实践活动中广泛地自觉或不自觉地运用这项技术，但是人们真正了解发酵的本质却是近200多年的事。英语中发酵（fermentation）一词是从拉丁语“沸腾（ferver）”派生而来的，它描述酵母作用于果汁或麦芽浸出液时的现象。沸腾现象是由于浸出液中糖在缺氧条件下降解而产生 CO_2 所引起的。但生物化学家与工业微生物学家对发酵有不同的理解。生物化学家更关注能量代谢，从能量代谢的角度分析，认为发酵是酵母的无氧呼吸过程，即有机化合物的分解代谢，并产生能量；而工业微生物学家对发酵的定义则要广泛得多，指利用微生物代谢形成产物的过程，包括无氧过程和有氧过程，同时涉及分解代谢和合成代谢过程，而且有氧发酵在现代发酵工业中占有相当重要的地位。因此，发酵可以定义为，通过微生物的生长繁殖和代谢活动，产生和积累人们所需产品的生物反应过程。

发酵工程是指利用微生物的生长繁殖和代谢活动来大量生产人们所需产品过程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。发酵工程也称作微生物工程，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分离纯化制备，同时也包括微生物生理功能的工业化利用等。

发酵工程是从20世纪40年代随着抗生素发酵工业的建立而兴起的。70年代以来，由于细胞融合、细胞固定化以及基因工程等技术的建立，发酵工程进入了一个崭新的阶段，广泛应用于医药、食品、农业、化工、能源、冶金、新材料和环境保护等领域。现代发酵工程的主体是指利用工业微生物菌种，特别是采用经DNA重组技术构建的微生物基因工程菌来生产商业产品。因此，现代发酵工程的实施需要两方面专家的通力合作，即从事微生物及分子生物学的专家负责菌种分离、鉴定、改造或创造出高效表达的微生物基因工程菌，应用于工业化生产；而生化工程技术专家则要保证新型工业微生物菌种能在最适的发酵条件下大量生长并合成代谢产物，以获得工业规模的最大生产效率。

1.1.2 发酵工程与其他相关学科的关系

发酵工程是现代生物技术的重要组成部分。21世纪是生命科学和生物技术的世纪，而现代生物技术作为生命科学的核心备受重视，因为它可以在解决人类社会可持续发展过程中所面临的几大问题，在粮食、资源、能源、环境、健康等方面发挥关键性甚至是不可替代的作用。通常将现代生物技术划分为基因工程、细胞工程、发酵工程、酶工程、生化工程等五个方面，它们之间彼此密切联系，不可分割。例如，基因工程和细胞工程主要是从源头上改良生物遗传特性以获得具有优良生物加工和生物转化能力的生物新品种（或品系、株系），通常称为上游生物技术；发酵工程可使生物的优良遗传性状通过微生物大量繁殖得到高效表达，生产所需的产物，包括酶制剂等；酶工程是指酶的结构改造、高效表达以及利用酶的催化作用进行物质转化，生产人们所需产品的技术，主要包括：酶的发酵生产、酶的分离纯化、酶的结构改造及分子修饰、酶和细胞固定化、酶的应用等方面；生化工程则作为实验室

所取得的生物技术成果进行产业化的技术支撑，主要内容涉及生物反应及分离纯化过程的放大技术及装备。发酵工程和生化工程通常合称为中下游生物技术，是现代生物技术实验成果产业化的关键技术，发酵工程更具有连接生物技术上下游的纽带作用，成为生物技术的关键技术，其学科地位显而易见。

1.2 发酵工程的发展史

为了更好地认识发酵工程的现状、把握其未来发展趋势，有必要了解发酵理论的演进及其发展历程。

1.2.1 发酵本质的认识过程

我国劳动人民早在数千年以前就懂得酿酒、制造酱油和食醋等。据考古发掘证实，我国在龙山文化（距今4000~4200年）已有酒器出现，而且古代还流传下来许多有关酿酒的记载。国外酿酒的历史也很悠久，相传公元前4000~3000年，埃及人已熟悉酒、醋的酿造方法，约在公元前2000年，希伯来人已会酿制葡萄酒。人类酿酒制醋的历史虽然悠久，但是当时人们并不知道发酵与微生物的关系，对发酵的本质还不清楚。直到1680年，荷兰人列文虎克（Leeuwenhoek）制成了显微镜，人们才能由肉眼通过显微镜看到微生物。自此以后，自然发生说与关于发酵的生命理论争论不休。直至1897年，德国人毕希纳（Buchner）提出酶的催化理论后，对发酵的本质才最终有了真正的认识。

1.2.1.1 自然发生说

古时认为，生命是自然发生的。公元前384~322年，古希腊伟大的哲学家亚里士多德（Aristotle）认为蠕虫、昆虫、鱼、蛙都是由湿污泥生成的，这就是“自然发生说”。到了中世纪，自然发生说仍为一般学者所公认。

1688年，意大利物理学家弗朗西斯科·雷迪（Francesco Redi）首先反对自然发生说，并以简单的实验证明生蛆的原因。他用一张网布盖在装肉块的罐口，发现由于苍蝇在网布上撒卵，肉块因此生蛆。但当时他的主张尚不能为人们所接受。相反，1745年英国牧师尼达姆（Needham）也以实验支持了自然发生说，他将肉汁放于无塞瓶中煮沸，放置一段时间后，发现肉汤还是会腐败。他认为煮沸可以杀灭肉汁中的“卵”，“卵”既杀灭，但肉汁依然会腐败，表明生命是自然发生的。

约在1747年，史派兰珊尼（Spallanzani）反驳Needham的实验结果，他说：“Needham瓶内的肉汁所以会腐败，是因为进入瓶中的空气未经火（即灭菌）之故。”

1836年，弗兰兹·舒尔茨（Franz Schulze）又用实验反驳了自然发生说，并证实了Spallanzani的说法。他将空气通过硫酸除去微生物后，在通入已经煮沸并冷却的汤汁中后经过很长时间，瓶中内容物没有发生腐败现象。如果空气不通过硫酸而直接通入瓶中，则发生腐败现象。因此，他认为，空气中含有许多微生物，如果有营养的汤汁与空气接触，微生物就会在汤汁中繁殖。

约1839年，施旺（Schwann）以实验进一步证明了Spallanzani说法的正确性。他的实验装置是将进入瓶中的空气预先用火加热，其结果是空气中的微生物已经杀灭，因此瓶中汤汁不致腐败。实验完毕将瓶口开放，则微生物进入，不久汤汁就出现了腐败。这个实验不但证明物质腐败是由微生物所引起，而且为现代消毒工作奠定了基础。

1853年，施罗德（Schroder）及杜施（Dusch）使用棉花为介质的空气滤器，也得到同一结果，这和现在使用的棉花过滤法原理一样。

上述实验虽然有力地反驳了自然发生说，但反对者仍坚持说，空气中含有某些物质，可使无生命的汤汁生成生物，并促进物质的变化。空气加热之后，这些物质被破坏，就不适于

生命的自然发生。不管空气是经过加热或用硫酸或棉花过滤，都会使空气中所含的某些物质失去或被破坏，从而致使汤汁腐败并生成生物的能力丧失。

法国人巴斯德 (Pasteur) 经过反复实践，创造了巴氏瓶。巴氏瓶是将一般烧瓶的头引伸成毛细管“S”形状，且与大气相通，即不影响空气进入瓶内，但由于弯管和重力的双重作用，空气中的微生物不易进入瓶内。此瓶内盛肉汁或其他物质，煮沸并冷却后经过多时仍不致腐败；然而，反对者仍说汤汁既经加热，就不适于生物的发生。Pasteur 将瓶头除去，则两日后汤汁即变腐败了。这是对自然发生说有力的批驳，彻底证明了汤汁的腐败是微生物作用的结果，且汤汁中的微生物不是自然发生的，而是来源于空气中已有的微生物。

1857 年，Pasteur 以实验证明，要把培养基中所含的微生物杀灭，必须加热并要有一定的加热温度与加热时间。此外，培养基经过加热后仍然适用于微生物的繁殖。这不但为发酵的生命本质提供了有力的证据，而且为杀灭培养基中的微生物提供了理论和技术支持。同年，他又找到了能进行乳酸发酵的细菌，并对醋酸发酵和丁酸发酵进行了研究。发现在无氧条件下，细菌发酵可以生成丁酸。他进一步把微生物发酵分为好氧和厌氧两种，并确认各种发酵如酒精发酵、乳酸发酵、丁酸发酵等都是由各自不同的微生物作用所引起的。自此，建立了发酵的生命理论，证明发酵是由于微生物作用的结果。

1.2.1.2 关于发酵本质的酶学理论

发酵的生命理论建立以后，还有一个未能解决的问题，那就是微生物是如何起作用从而导致汤汁的腐败，即发酵的本质是什么？比如糖分子分解的真正原因是什么？早在 1858 年，Morits Traube (1826—1894) 曾设想发酵是由于酵母细胞含有一种物质叫做酵素的缘故。1894 年，埃米尔·菲舍尔 [Emil Fischer (1852—1919)] 在合成碳水化合物时得到启发，即酵母对培养基中糖的分解利用，可用分解糖的酵素物质来解释，但都没有得到实验证明。

1897 年，德国人 Buchner (1860—1917) 参照前人的方向继续研究。他发现将酵母的细胞壁磨碎，得到的酵母汁也可使糖液发酵。他把酵母汁中含有的有发酵能力的物质，叫做酒化酶 (酵素 enzyme)。由此得出结论：酵母可以产生酶，而这些酶即使离开酵母体，仍可引起酒精发酵，这就是近代酶学的基础。至此，人们才真正认识到发酵的本质就是由微生物的生命活动所产生的酶的生物催化作用所致。

1.2.2 发酵工程技术的发展史

发酵工程技术的发展史，可以根据发酵技术的重大进步大致划分为六个阶段。

① 1900 年以前，在微生物的性质尚未被人们所认识时，人类已经利用自然接种方法进行发酵制品的生产。主要产品有酒、酒精、醋、啤酒、干酪、酸乳等。当时实际上还谈不上发酵工业，仅仅是家庭式或作坊式的手工生产。古埃及人虽然早已会酿造啤酒，但直到 17 世纪才能在容量为 1500 桶 (一桶约相当于 136L) 的木质大桶中进行第一次真正的大规模酿造。然而即使在早期的酿造中，也尝试对过程的控制。历史记载，在 1757 年已应用温度计，在 1801 年就有了原始的热交换器。这一阶段的多数产品属嫌气发酵，且非纯种培养，凭经验传授技术和产品质量不稳定是这个阶段的特点。这一阶段也可以称为自然发酵阶段。

② 1900~1940 年是第二阶段。在 Pasteur 卓越的工作后，微生物学发展史上的又一奠基人科赫 (Koch) 建立了微生物分离纯化和纯培养技术。科赫是德国人，他在 1905 年因肺结核菌研究工作获诺贝尔奖。科赫首先发明了固体培养基，应用固体培养基分离培养细菌，得到了细菌的纯培养，同时他又改进了细菌的染色法，为进一步研究细菌的形态与结构创造了条件。荷兰人汉森 (Hansen) 在研究啤酒发酵用酵母时，创造了单细胞纯培养法。当时所用的固体培养基由明胶制成。科赫的学生 Hesse 在研究细菌时，发现细菌可以液化明胶，以致在使用上出现困难。

Hesse 的妻子建议改用琼脂，这就是现在使用琼脂培养基的起源。以后，Petri 创造了一种培养皿 (Petri dish) 可供微生物平板分离用。Winograsky 和 Beijerinck 的富集培养法可以分离特定的微生物，微生物的分离及纯培养技术日益完善。随着微生物纯培养技术的确立，人类开始了人为控制微生物的发酵进程，从而使发酵生产技术得到巨大改善，提高了产品的稳定性，这对发酵工业起了巨大的推动作用。由于采用纯种培养与无菌操作技术，包括灭菌和使用密闭式发酵罐，使发酵过程避免了杂菌污染，如使啤酒、葡萄酒、酱油等生产的腐败现象大大减少，发酵效率逐步提高，生产规模逐渐扩大，产品质量稳步提高。这一时期的主要产品是甘油、柠檬酸、乳酸、丁醇、丙酮等微生物的初级代谢产物。其中面包酵母和有机溶剂发酵取得重大进展。在第一次世界大战时，魏茨曼 (Weizmann) 开拓了丙酮丁醇发酵，并建立了真正的无杂菌发酵。丙酮丁醇和甘油等有机溶剂发酵技术的飞速发展，不仅建立起真正的发酵工业，并使之逐渐成为近代化学工业的一部分。因此，可以认为纯培养技术的建立是发酵技术发展的第一个转折时期。

③ 第三期发酵工业的主要进展与当时第二次世界大战的需要 (1940 年后) 密切相关，并以深层液体通气搅拌纯种培养大规模发酵生产青霉素为典型代表。青霉素 1929 年由弗莱明 (Fleming) 发现，它的问世使千百万生命免除了死亡的威胁，同时在发酵工业的发展史上开创了崭新的一页。青霉素的发酵属好气型发酵，产物为次级代谢产物，其分子结构较为复杂，在发酵液中的含量很低，生产过程中需要维持纯种培养，无菌要求高。早期的青霉素生产采用表面培养法，占地面积大、劳动强度高、产量很低。为了满足战时的需要、增加青霉素的产量，需改变原来的生产方法，尝试采用大容积发酵罐深层通气培养及大规模高效提取精制设备来代替原来的实验室发酵制备方法。于是英美等国的一批工程技术人员特别是化学工程师参加了青霉素工业生产性开发工作。经过他们的努力，终于研制出适用于纯种深层培养带有通气和搅拌装置的发酵罐，并成功地解决了大量培养基和生产设备的灭菌以及大量无菌空气的制备问题，且在提取精制中采用了离心萃取机、冷冻干燥器等新型高效化工设备，使生产规模、产品质量和收率均明显提高。初期生产青霉素的发酵罐容积为 5m^3 ，比起表面培养时的 1L 玻璃瓶产量大为增加，劳动强度也大大降低。青霉素的工业化不仅大大促进了抗生素产业的发展，而且孕育了一门新型交叉学科——生化工程。由抗生素发酵工业发展起来的深层液体通气搅拌发酵技术是现代发酵工业最主要的生产方式，它使耗氧菌的发酵生产从此走上了大规模工业化的道路。与此同时，有力地促进了菌体转化、微生物酶制剂与氨基酸发酵工业的迅速发展。因此，通气搅拌大规模发酵技术的建立是发酵工业发展史上的第二个转折点。此外，需要提及的是，早期青霉素发酵单位极低，使发酵工业菌种改良提上研究日程，这对以后的发酵工业发展起到了举足轻重的作用。

④ 随着生物化学、微生物生理学以及遗传学的深入发展，对微生物代谢途径和氨基酸生物合成的研究不断加深，人类开始利用代谢调控的手段进行微生物菌种选育和发酵条件控制。如 1956 年，日本首先成功地利用自然界存在的生物素缺陷型菌株进行谷氨酸发酵生产。至今至少已有 22 种氨基酸可用发酵法生产，其中 18 种是直接发酵，4 种则是用酶法转化。显然，利用微生物发酵生产氨基酸是以代谢调控为基础的新的发酵技术。它根据氨基酸生物合成途径采用遗传育种方法进行微生物人工诱变，选育出某些营养缺陷株或抗代谢类似物菌株，在控制营养条件的情况下发酵生产，并大量积累人们所预期的氨基酸。由氨基酸发酵而开始的代谢控制发酵，使发酵工业进入了一个新的阶段。随后，核苷酸、抗生素以及有机酸等方面也利用代谢调控技术进行发酵生产。因此，可以说代谢控制发酵工程技术的建立，是发酵技术发展的第四个转折时期。

⑤ 在 20 世纪 60 年代初期，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，许多跨国公司决定研究生产微生物细胞作为饲料蛋白质的来源，甚至研究采用石油产品作为发酵原料，这一举措推动了发酵放大技术的进一步发展。这一时期可视为发酵工业发展的第五阶段。传统的发酵原材料主要是粮食、农副产品等，而这一时期主要研究如何利用石油化工副产品石蜡、醋酸、甲醇等碳氢化合物作为发酵原料生产产品，特别是生产需求日益增长的单细胞蛋白饲料，开始了所谓的石油发酵时期。由于微生物蛋白饲料售价较低，所以，必须比其他发酵产品的生产规模更大才有发展前景，这就使得发酵罐的容量发展到前所未有的规模，如 ICI 公司用于生产单细胞蛋白的发酵罐容积高达 3000m^3 。由于以碳氢化合物为原料在发酵时氧耗大，这也给发酵设备提出了更高的要求；于是发展了高压喷射式、强制循环式等多种形式的发酵罐，并逐步运用计算机及自动控制技术进行灭菌和发酵过程的 pH、溶解氧等发酵参数的控制，使发酵生产朝连续化、自动化方向前进了一大步。

⑥ 发酵工业的最新技术进步主要表现在可以采用以分子生物学为核心的现代生物技术手段，构建基因工程菌，实现原有微生物发酵工业的发酵水平大幅度提高或诞生新型的发酵工业，即采用基因工程菌生产原有微生物所不能生产的新的代谢物质。这一阶段主要是指 20 世纪 70 年代以后，由于 DNA 体外重组技术的建立，发酵工业又进入了一个崭新的阶段，即以基因工程为中心的时代。基因工程不仅能在不相关的生物间转移基因，而且还可以很精确地对一个生物的基因组进行交换，从而达到定向改变生物性状与功能，创造新“物种”目的，赋予微生物细胞具有生产较高等生物细胞所产生的化合物的能力，由此形成新型的发酵产业，如胰岛素和干扰素的发酵生产，使工业微生物所产生的化合物超出了原有微生物的范围，大大丰富了发酵工业的内容，使发酵工业发生革命性的变化。利用基因工程菌生产的第一个有用物质是 1977 年美国试制成功的“激素释放抑制因子”，它是由十四个氨基酸残基组成的多肽激素，可以抑制脑垂体激素的分泌。原来由羊脑垂体中提取，用 50 万只羊脑只能提取 5mg 的产品，用基因工程菌生产时，只要用 10L 的基因工程菌培养液就可得到同样量的产品。胰岛素是治疗糖尿病良药，原来由猪胰脏提取，生产 100g 胰岛素需用 720kg 的猪胰，而 1978 年美国采用基因工程菌生产，由 2000L 基因工程菌培养液即可提取等量的胰岛素。通过比较这些数字，可以明显地感受到现代发酵工业的巨大威力和诱人前景。其他新型发酵产品如乙肝疫苗、人的生长激素等，都可用基因工程菌发酵生产。

1.3 发酵工业的特点及其研究范畴

1.3.1 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，将廉价的发酵原料转变为各种高附加值产品的产业。其主要特点如下。

① 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。

② 可采用较廉价的原料（如淀粉、糖蜜、玉米浆或其他农副产品等）生产较高价值的产品。有时甚至可利用一些废物作为发酵原料，变废为宝，实现环保和发酵生产的双层效益。

③ 发酵过程是通过生物体的自适应调节来完成的，反应的专一性强，因而可以得到较为单一的代谢产物。

④ 由于生物体本身所具有的反应机制，能专一性地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 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