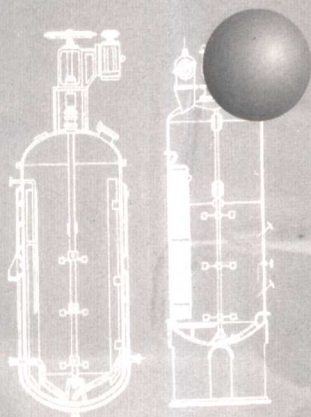


21世纪高等职业教育规划教材  
生物学系列

# 发酵工程

FAJIAO GONGCHENG

■ 黄方一 叶 斌 主编



教育部直属师范大学  
华中师范大学出版社

21 世纪高等职业教育规划教材·生物学系列

# 发 酵 工 程

主 编：黄方一 叶 斌

副主编：鲁性贵 刘振祥 姚志伟

编 者：(按姓氏笔画排序)

邓政东	叶 斌	刘振祥
刘 颖	李 勃	李万德
陈其国	吴 杰	罗世炜
姚志伟	高同伟	黄方一
鲁性贵	程爱芳	曾 亮
谢 芳		

华中师范大学出版社

## 内 容 提 要

《发酵工程》为 21 世纪高等职业教育规划课程教材。本教材内容突出体现“少而精、宽基础”和“先进性、实用性、可操作性”的特点,便于学生及企业生产人员熟练掌握生产操作要点。全书共十六章。基础理论部分主要介绍发酵工业的基础理论及发展动态、发酵微生物菌种的培养与扩大、灭菌与空气净化、发酵工艺的过程控制、常用发酵反应器、发酵产物的后处理;发酵工业各论分别介绍食品酿造,有机酸、氨基酸、抗生素等发酵,核酸类药物的生物合成,生物活性物质、糖类药物、酶制剂、单细胞蛋白等生产的原料、发酵机制、生产工艺及其关键点控制、后处理等环节。每章附有思考题供练习和复习。

本书可作为生物科学、生物工程、生物技术、食品工程、生物制药、微生物等专业的发酵工程课程的教材使用,亦可供相关技术岗位工作人员自学、参考。

### 新出图证(鄂)字 10 号

图书在版编目(CIP)数据

发酵工程/黄方一,叶斌 主编. —武汉:华中师范大学出版社,2006.1

(21 世纪高等职业教育规划教材·生物学系列)

ISBN 7-5622-3305-5/TQ·01

I. 发... II. ①黄... ②叶... 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(2005)第 134595 号

书 名: 发酵工程

主 编: 黄方一 叶斌◎

选题策划: 华中师范大学出版社第二编辑室 电话:027-67867362

出版发行: 华中师范大学出版社

地 址: 武汉市武昌珞喻路 152 号 邮编:430079

销售电话:027-67867076 67863040 67867371 67861549

邮购电话:027-67861321 传真:027-67863291

网址:<http://www.ccnp.com.cn> 电子信箱:hscbs@public.wh.hb.cn

经 销: 新华书店湖北发行所

印 刷 者: 石首市印刷厂

督 印: 姜勇华

责任编辑: 严定友 封面设计: 罗明波 责任校对: 张 忠

开本/规格: 787 mm×960 mm 1/16 印张: 13.5 字数: 230 千字

版次/印次: 2006 年 1 月第 1 版 2006 年 1 月第 1 次印刷

印 数: 1—4 500

定 价: 21.00 元

敬告读者: 欢迎举报盗版, 请打举报电话 027-67861321。

本书如有印装质量问题, 可向承印厂调换。

## 前 言

进入 21 世纪,我国高等教育已从精英教育逐步走向大众教育,将高等教育进一步推向大众化,高等职业教育培养应用型人才,已成为国家人才培养的重要组成部分。应用型人才的培养要求在教授“理论与技术”时,更注重技术、方法的教学;在教授“理论与实践”时,更注重理论指导下的可操作性,更注意实际问题的解决。

21 世纪是生物科学的世纪。发酵工程是生物工程五大工程之一,在生命科学领域占有十分重要的地位。为了满足高职院校相关专业发酵工程课程的教学要求,达到培养应用型人才的目的,根据教育部有关重点课程建设项目的要求和相关的教学大纲,我们组织了多年在这类高校中从教,并具有丰富工程经验和教学经验的教师来编写这套教材。

该教材的编写,我们提倡“先进性、实用性、可操作性”的编写原则,坚持“少而精、宽基础”的编写风格,以解决多年来在教材中存在的过深、过高且偏离实际的问题。编者力求使本书具有较高的科学性和系统性,同时也具有鲜明的时代性,能反映发酵工业的新进展及发酵工程与生物工程、食品工程、微生物制药工程、环境工程的联系,使其具有先进性和实用性。

全书共十六章,包括基础理论部分和发酵工业各论,在内容上按照“一条主线、两个基础、多个案例”的逻辑方式阐述。一条主线,即将发酵工程中各研究对象具有的共性规律提炼出来,按照发酵工艺过程的主线(菌种 → 培养基 → 种子扩大培养 → 发酵过程控制 → 后处理)来编排教学内容。两个基础,即生物学基础、工程学基础。坚持两个基础并重,让学生在掌握生物学基本原理的基础上,认识发酵过程的放大与控制的基本特点;多个案例,即针对不同专业的特点,列出食品、微生物、制药、环境等行业的一些典型工艺产品为代表。在教学中,可根据不同专业对本课程的要求,进行有选择地教学。这也体现了“宽基础”的风格。

本教材的量与单位均采用法定计量单位(SI 制),少数地方也保留了一些允许与 SI 制暂时并用的其他单位。本教材习题是在“少而精”原则的指导下编写而成的。内容包括基本概念、基本理论、数学演算、综合比较诸方面,力求做到思考性训练、技巧性训练和综合性训练相结合。

参加本书编写的有武汉生物工程学院的黄方一和武汉职业技术学院的陈其国(前言,第 7、8 章);武汉生物工程学院的叶斌(第 1、5 章),姚志伟(第 2、12 章),程爱



芳(第3章),李勃(第4章),邓政东(第6章),谢芳(第10、13章),曾亮(第14章);襄樊职业技术学院的刘颖(第9章),罗世炜(第16章);咸宁职业技术学院的刘振祥(第11章);华东理工大学的高同伟(第15章)。另外,湖北生物科技职业学院鲁性贵、武汉生物工程学院谭新国和吴杰、湖北生态工程职业技术学院李万德参加了全书的编写及书稿整理工作。全书由黄方一、叶斌统稿。

华中师范大学禹邦超教授集多年之心血编写而成的讲义《发酵工程概论》,并在教学中多年使用而积累的经验,以及对编写过程的具体指导,是本教材得以成功付梓的重要基础。同时也承蒙其他同行提供了宝贵意见,在此一并致谢!

本书在编写中,参考了国内外有关书籍和近期文献,但限于水平,书中谬误和不足之处在所难免,敬请读者赐教指正。

编 者

2006年1月

# 目 录

第1章 绪论	1
1.1 发酵工程的发展史	2
1.1.1 天然发酵阶段	2
1.1.2 微生物纯培养技术的建立	2
1.1.3 微生物液态深层发酵技术的建立	2
1.1.4 微生物酶转化及代谢调控技术的应用	3
1.1.5 微生物发酵原料的拓宽	3
1.1.6 微生物基因工程育种	3
1.2 发酵工程的内容和特点	4
1.2.1 发酵工程的内容	4
1.2.2 发酵工程的特点	4
1.2.3 发酵工程研究的对象、方法与手段	5
1.3 发酵工程产业的现状与展望	5
1.3.1 发酵工程的现状	5
1.3.2 我国发酵工程产业的现状	6
1.3.3 发酵工程产业的未来展望	6
第2章 发酵工业常用微生物及其培养	8
2.1 发酵工业常用菌种	8
2.1.1 生产中常用菌种的分离和选育	10
2.1.2 生产用菌种的保藏	13
2.1.3 防止菌种衰退的措施	14
2.2 培养基的制备	15
2.2.1 培养基的成分及来源	15
2.2.2 培养基的种类	17
2.2.3 培养基的设计	18
2.3 种子的扩大培养	18
2.3.1 种子制备的过程	19
2.3.2 影响种子质量的主要因素	20
第3章 灭菌与空气净化	22
3.1 灭菌	22
3.1.1 发酵工业灭菌的方法	22
3.1.2 湿热灭菌的原理	23
3.1.3 培养基的灭菌	24
3.1.4 培养基与设备、管道灭菌条件	30
3.2 空气净化	30



3.2.1	空气净化化的方法	31
3.2.2	空气净化化的流程	31
3.2.3	空气过滤除菌的原理和介质	33
<b>第4章</b>	<b>发酵设备</b>	<b>37</b>
4.1	通风发酵设备	37
4.1.1	机械搅拌式发酵罐	37
4.1.2	自吸式发酵罐	43
4.1.3	气升式发酵罐	46
4.2	嫌气发酵设备	47
4.2.1	酒精发酵设备	48
4.2.2	新型啤酒发酵设备	51
<b>第5章</b>	<b>发酵工艺过程及其控制</b>	<b>56</b>
5.1	概述	56
5.1.1	发酵的主要操作方式	56
5.1.2	发酵过程中的代谢变化参数	59
5.2	温度对发酵的影响及其控制	62
5.2.1	温度对发酵的影响	62
5.2.2	影响发酵温度变化的因素	63
5.2.3	最适温度的选择与发酵温度的控制	64
5.3	pH对发酵的影响及其控制	64
5.3.1	pH对发酵的影响	65
5.3.2	影响pH变化的因素	65
5.3.3	发酵pH的确定	66
5.4	溶氧对发酵的影响及其控制	67
5.4.1	溶氧对发酵的影响	67
5.4.2	发酵过程的溶氧变化	68
5.4.3	溶氧浓度的控制	69
5.5	泡沫对发酵的影响及其控制	70
5.5.1	泡沫的形成及其对发酵的影响	70
5.5.2	泡沫的控制	71
5.6	补料的控制	72
5.6.1	补料的内容	72
5.6.2	补料的方式及控制	73
5.7	发酵终点的判断	73
<b>第6章</b>	<b>发酵产物的提取与精制</b>	<b>75</b>
6.1	概述	75
6.1.1	发酵液的一般特性	75
6.1.2	提取和精制过程	75
6.2	发酵醪的预处理及菌体分离	76
6.2.1	发酵液的预处理	76



6.2.2 离心过滤与菌体分离 .....	77
6.2.3 细胞破碎与分离 .....	79
6.3 发酵产物的提取和精制 .....	80
6.3.1 沉淀法 .....	81
6.3.2 膜分离技术 .....	83
6.3.3 萃取法 .....	84
6.3.4 树脂法 .....	87
6.3.5 吸附法 .....	89
6.3.6 凝胶层析法 .....	90
6.4 发酵产物的成品加工 .....	91
6.4.1 浓缩 .....	91
6.4.2 结晶 .....	92
6.4.3 成品干燥 .....	94
<b>第7章 饮料酒的酿造</b> .....	<b>98</b>
7.1 白酒的生产 .....	98
7.1.1 原辅料和填充料 .....	99
7.1.2 制曲 .....	100
7.1.3 大曲酒的生产 .....	102
7.1.4 小曲酒的生产 .....	104
7.1.5 液态法白酒生产工艺 .....	105
7.2 啤酒的生产 .....	105
7.2.1 原辅料及生产用水 .....	106
7.2.2 啤酒酵母及其扩大培养 .....	106
7.2.3 工艺流程 .....	107
7.3 葡萄酒的生产 .....	109
7.3.1 葡萄的预处理 .....	109
7.3.2 酒精发酵 .....	110
7.3.3 葡萄酒酿造工艺流程 .....	110
7.4 黄酒的生产 .....	112
7.4.1 曲和酒药 .....	113
7.4.2 酒母 .....	113
7.4.3 发酵工艺 .....	114
7.4.4 压榨、澄清和杀菌(煎酒) .....	114
<b>第8章 酱油的酿造</b> .....	<b>116</b>
8.1 概述 .....	116
8.1.1 酱油的分类 .....	116
8.1.2 酱油中色、香、味物质的来源及形成机理 .....	117
8.2 原辅料及其处理 .....	117
8.2.1 酿造酱油的原辅料 .....	118
8.2.2 原辅料的处理 .....	118





8.3 种曲制备 .....	119
8.3.1 酱油酿造中的主要微生物 .....	120
8.3.2 种曲制备 .....	120
8.4 制曲 .....	121
8.4.1 厚层机械通风制曲设备 .....	122
8.4.2 制曲工艺流程 .....	122
8.4.3 通风制曲要点 .....	123
8.4.4 成曲的质量鉴定 .....	124
8.5 发酵 .....	124
8.5.1 固态低盐发酵工艺 .....	124
8.5.2 其他发酵工艺 .....	125
8.6 提取及加热、配制 .....	126
8.6.1 浸出 .....	126
8.6.2 加热 .....	127
8.6.3 配制 .....	127
<b>第9章 氨基酸发酵</b> .....	129
9.1 谷氨酸的发酵生产 .....	130
9.1.1 谷氨酸生产原料 .....	130
9.1.2 谷氨酸的生产菌及扩大培养 .....	131
9.1.3 谷氨酸发酵机制及工艺控制 .....	131
9.1.4 谷氨酸的提取工艺 .....	132
9.1.5 味精的生产 .....	134
9.2 赖氨酸的发酵生产 .....	135
9.2.1 赖氨酸的生产原料及菌种 .....	136
9.2.2 赖氨酸生产工艺 .....	136
9.2.3 赖氨酸的提取 .....	137
9.3 其他氨基酸的发酵生产 .....	138
9.3.1 苏氨酸发酵 .....	138
9.3.2 缬氨酸发酵 .....	139
9.3.3 异亮氨酸、亮氨酸发酵 .....	139
9.3.4 天冬氨酸发酵 .....	140
9.3.5 色氨酸发酵 .....	140
<b>第10章 有机酸的发酵生产</b> .....	142
10.1 柠檬酸的发酵 .....	142
10.1.1 合成途径 .....	143
10.1.2 生产原料 .....	143
10.1.3 生产菌种 .....	144
10.1.4 发酵工艺 .....	144
10.1.5 提取 .....	146
10.2 葡萄糖酸的发酵生产 .....	147



10.2.1	生产菌种 .....	147
10.2.2	发酵工艺 .....	147
10.2.3	提取 .....	148
10.3	其他有机酸的发酵生产 .....	148
10.3.1	延胡索酸 .....	148
10.3.2	乳酸 .....	148
10.3.3	苹果酸 .....	149
10.3.4	琥珀酸、 $\alpha$ -酮戊二酸和衣康酸 .....	149
<b>第 11 章</b>	<b>酶制剂生产 .....</b>	<b>150</b>
11.1	概述 .....	150
11.1.1	酶制剂工业化生产的优点 .....	150
11.1.2	酶制剂生产的一般工艺流程 .....	151
11.2	微生物蛋白酶的生产 .....	151
11.2.1	酸性蛋白酶的生产 .....	151
11.2.2	中性蛋白酶的生产 .....	155
11.2.3	碱性蛋白酶的生产 .....	156
11.3	淀粉酶的生产 .....	157
11.3.1	$\alpha$ -淀粉酶的生产 .....	157
11.3.2	$\beta$ -淀粉酶的生产 .....	158
11.3.3	糖化酶的生产 .....	159
11.3.4	异淀粉酶的生产 .....	160
<b>第 12 章</b>	<b>抗生素的生产 .....</b>	<b>162</b>
12.1	抗生素发酵生产的一般过程 .....	164
12.1.1	发酵过程及其控制 .....	164
12.1.2	提取和精制 .....	167
12.2	青霉素的发酵生产 .....	168
12.2.1	结构和用途 .....	168
12.2.2	生产菌种 .....	169
12.2.3	发酵工艺 .....	169
12.2.4	提取和精制 .....	171
<b>第 13 章</b>	<b>生物合成核酸类药物 .....</b>	<b>175</b>
13.1	肌苷的发酵法生产 .....	176
13.1.1	概述 .....	176
13.1.2	生产菌种 .....	176
13.1.3	培养基 .....	176
13.1.4	生产工艺 .....	177
13.1.5	发酵控制 .....	177
13.1.6	肌苷的生理作用和药用价值 .....	178
13.2	肌苷酸的生产 .....	178
13.2.1	生产菌种 .....	178



13.2.2	肌苷酸生物合成途径	179
13.2.3	肌苷酸的生产工艺	179
13.2.4	肌苷酸的用途	180
13.3	鸟苷酸的生产	180
<b>第14章</b>	<b>生理活性物质的发酵生产</b>	<b>182</b>
14.1	维生素的发酵生产	182
14.1.1	维生素A原( $\beta$ -胡萝卜素)	182
14.1.2	维生素B <sub>2</sub>	183
14.1.3	维生素C	184
14.2	甾体激素的微生物转化	187
14.2.1	微生物转化甾体激素的特点	187
14.2.2	工艺流程	188
14.3	酶抑制剂的生产	189
14.3.1	蛋白酶抑制剂	189
14.3.2	糖苷酶及淀粉酶抑制剂	190
14.4	植物生长激素的生产	190
<b>第15章</b>	<b>糖类物质的发酵生产</b>	<b>191</b>
15.1	右旋糖酐生产	191
15.1.1	右旋糖酐及发展状况	191
15.1.2	右旋糖酐的结构及理化性质	192
15.1.3	右旋糖酐的生产	192
15.1.4	右旋糖酐的应用	193
15.2	黄原胶生产	193
15.2.1	黄原胶的结构和特性	193
15.2.2	黄原胶的工业化生产	194
15.2.3	黄原胶的应用	196
15.3	低聚糖生产	196
15.3.1	低聚果糖	197
15.3.2	低聚异麦芽糖	197
15.3.3	低聚糖的生理学功能	198
<b>第16章</b>	<b>单细胞蛋白生产</b>	<b>199</b>
16.1	作为蛋白质资源的微生物	200
16.2	用糖类原料生产菌体蛋白	202
16.2.1	纤维素原料的预处理	202
16.2.2	利用纤维素生产单细胞蛋白的工艺过程	203
16.3	以甲醇等醇类原料生产菌体蛋白	204
<b>参考文献</b>		<b>206</b>



## 第1章 绪 论

“发酵”一词在《辞海》里的解释是“发酵一般泛指利用微生物制造工业原料或工业产品的过程。发酵可以在无氧或有氧的条件下进行。前者如酒精发酵、乳酸发酵和丙酮、丁醇发酵,后者如抗生素发酵、醋酸发酵、氨基酸发酵和维生素发酵等。在微生物能量代谢中,发酵仅指专性厌氧微生物和兼性厌氧微生物在无氧条件下利用各种有机物获得能量的一种方式。如某些酵母菌通过糖酵解途径从分解葡萄糖产生酒精的过程中获得能量”。

“fermentation”(发酵)这个英文术语最初是由拉丁语“ferver”(发泡、沸涌)派生而来的,其意思是指酵母菌作用于果汁或发芽谷物,进行酒精发酵时产生二氧化碳的现象,就像轻轻开启啤酒瓶盖后所看到的现象那样。其实,将发酵现象与微生物生命活动联系起来考虑,应归功于法国科学家、微生物学奠基人之一——巴斯德(Louis Pasteur),他第一个探讨了酵母菌酒精发酵的生理意义,认为发酵是酵母菌在无氧状态下的呼吸过程,即无氧呼吸,并阐明了它也是生物获得能量的一种方式。这一阐述尽管不很全面,但至今仍然是正确的。

从微生物学的观点来看,发酵是指微生物细胞将有机物氧化释放的电子直接交给底物本身未完全氧化的某种中间产物,同时释放能量并产生各种不同的代谢产物。在发酵条件下有机化合物只是部分地被氧化,因此,只释放出一小部分的能量。发酵过程的氧化是与有机物的还原偶联在一起的。被还原的有机物来自于初始发酵的分解代谢,即不需要外界提供电子受体。发酵的种类很多,可发酵的底物有糖类、有机酸、氨基酸等,其中以微生物发酵葡萄糖最为重要。

生物化学上发酵的定义是指在无氧条件下,底物在酶催化下脱氢后所产生的还原力[H],不经过呼吸传递而直接交给某一内源氧化型中间代谢产物的一类低效产能反应。

当今人们把利用微生物在有氧或无氧条件下的生命活动来大量生产或积累微生物细胞、酶类和代谢产物的过程统称为发酵。

发酵工程是指利用微生物的特定性状,通过现代工程技术,在发酵罐中生产有用物质的一种技术系统。发酵工程是化学工程与生物工程技术相结合的产物,它将微生物学、生物化学、化学工程学等的基本原理和技术有机地结合在一起,利用微生物进行规模化生产,是生产加工与生物制造实现产业化的核心技术。

发酵工程技术主要包括提供高性能生产菌种的菌种技术、实现低成本大规模生产产品的发酵技术和最终获得合格产品的分离纯化技术。进行发酵工程的关键技术(菌种技术、发酵技术和分离技术)及重大产品的研究开发,将发挥中国丰富的



生物资源优势,提高发酵工程的技术水平,促进生物化工、生物医药、食品加工等相关行业的产品竞争力和可持续发展。

## 1.1 发酵工程的发展史

### 1.1.1 天然发酵阶段

从几千年前一直到 19 世纪,人们利用自然发酵现象,从事酿酒、酱、醋、奶酪等生产,并积累了有关发酵的经验。但对这种“发酵”的本质的了解,直到 19 世纪末仍然是一知半解。因此,当时完全是凭经验而进行家庭作坊式生产,时常被杂菌污染所困扰。可见 19 世纪末以前的很长时间,发酵工程处于天然发酵阶段,主要产品有各种饮料酒、酒精、酱、酱油、醋、干酪、酸乳及酵母等。多数产品为嫌气发酵,非纯种培养,凭经验传授技术,产品质量不稳定是这个阶段的特点。

### 1.1.2 微生物纯培养技术的建立

人类历史上第一个真正看到并描述微生物的人,是荷兰商人、博物学家安东·列文虎克(Antonie van Leeuwenhoek),他利用自己发明制造的显微镜发现了微生物世界(当时被称为微小动物)。但此后的 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 19 世纪中叶,巴斯德通过著名的 Pasteur 实验,证明了发酵原理,指出发酵现象是微小生命体进行的化学反应。其后,他连续对当时的乳酸发酵、酒精发酵、葡萄酒酿造、食醋制造等各种发酵现象进行研究,明确了这些不同类型的发酵是由形态上可以区分的各种特定的微生物所引起的。他指出,“酒精发酵是由于酵母的作用,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)的第二次发酵作用所引起的。”随之发明了著名的巴氏消毒法,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”。

其后不久,布雷菲尔德(Brefeld)创建了霉菌的纯粹培养法(1872 年);汉逊(Hansen)建立了啤酒酵母的纯粹培养法(1878 年);柯赫(Koch R)完成了细菌纯粹培养技术(1872 年),从而确立了单种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。为此,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,开始了乙醇、甘油、丙酮、丁醇、乳酸、柠檬酸、淀粉酶和蛋白酶等的微生物纯种发酵生产,与巴斯德以前的自然发酵是两个迥然不同的概念。此阶段称为发酵工程的第一个里程碑——以微生物的纯种培养技术为主要特征。

### 1.1.3 微生物液态深层发酵技术的建立

1929 年,弗莱明(Fleming A)发现了青霉菌能抑制其菌落周围的细菌生长的



现象,并证明了青霉素的存在。但由于当时青霉素的产量非常低,并未受到广泛重视。其后在1940年,钱恩(Chain E B)和弗洛里(Florey H)两位博士精制出青霉素,并确认青霉素对伤口感染症比当时的磺胺药剂更具疗效,加上第二次世界大战爆发,青霉素作为医治战伤感染的药物而大力推进了青霉素的工业化生产和研究,成功创立了液态深层发酵技术。采用液态深层发酵技术,再配以离心、溶剂萃取和冷冻干燥等技术,使青霉素的生产水平有了很大提高,其中发酵水平从液体浅盘发酵的 $40 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 效价提高到 $200 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ (1943年)。随后,链霉素、金霉素等抗生素相继问世,抗生素工业迅速崛起。此阶段称为发酵工程的第二个里程碑——以微生物液态深层发酵技术为主要特征。

#### 1.1.4 微生物酶转化及代谢调控技术的应用

1950年—1960年,随着基础生物学如生物化学、酶化学、微生物遗传学等学科的飞速发展,再加上新型分析方法和分离方法的发展,发酵工程领域有了两个显著进步。其一是采用微生物进行甾体化合物的转化技术,其二是以谷氨酸等发酵生产成功为代表的代谢控制发酵技术的出现。前者以美国为中心,采用微生物的生化反应,将甾体转化成肾上腺皮质激素、性激素等技术,进行了非常广泛研究,结果几个甾体化合物系列的激素投入工业化生产。后者是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-谷氨酸的工业化生产。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。此阶段称为发酵工程的第三个里程碑——以微生物酶转化及代谢调控技术为主要特征。

#### 1.1.5 微生物发酵原料的拓宽

1960年—1970年这段时期,微生物代谢调控技术在发酵工程中得到了广泛的应用,几乎所有的氨基酸和核苷酸物质都可以采用发酵法生产。同时,石油微生物的发现,发酵原料多样化开发研究的开展,促进了单细胞蛋白发酵工业的兴起,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,拓宽了原料来源的途径。此时期称为发酵工程的第四个里程碑——以发酵原料的转变或拓宽为主要特征。

#### 1.1.6 微生物基因工程育种

1953年,华特逊(Watson J D)与克里克(Crick F H C)提出了DNA的双螺旋



结构,为基因重组奠定了基础。20世纪70年代成功地实现了基因的重组和转移。随着重组DNA技术的发展,人们可以按预定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,即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。从过去繁琐的随机选育生产菌株朝着定向育种转变,这给发酵工程带来了划时代的变革,被称为发酵工程的第五个里程碑——以引入基因工程,达到微生物定向育种为主要特征。

## 1.2 发酵工程的内容和特点

严格地说,发酵工程是以细胞为催化剂的化学反应工程。但实际上发酵工程长期以来,到目前仍然是微生物工程的代名词,本章对发酵工程所给出的定义也是这样,即发酵工程就是微生物工程。因此,发酵工程的内容和特点谈的也是微生物工程的内容和特点。

### 1.2.1 发酵工程的内容

发酵工程的内容随着科学技术的发展而不断扩大和充实。其主要内容有生产菌种的选育,发酵条件的优化与控制,反应器的设计及产物的分离、提取与精制过程等等。

目前,已知有生产价值的发酵类型大约有以下几种:一是微生物菌体本身,这是以获得具有某种用途的菌体为目的的发酵,如用于面包制作的酵母发酵、单细胞蛋白饲料添加剂、灵芝和虫草等菌丝体的生产等;二是微生物酶的发酵,如淀粉酶、糖化酶、蛋白酶、脂肪酶等粗酶制剂的生产等;三是微生物代谢产物发酵,如初级代谢产物(氨基酸、核苷酸等)生产,次级代谢产物(抗生素、生物碱、细菌毒素等)生产等;四是微生物转化发酵,它是利用微生物细胞的一种或多种酶把一种化合物转化成结构相关的更有经济价值的产物,如利用菌体将乙醇转化成乙酸的发酵,利用微生物细胞将甾体、薯蓣皂甙转化成肾上腺皮质激素、氢化可的松等;五是生物工程菌的发酵,这是指利用生物技术方法所获得的“工程菌”,以及细胞融合等技术获得的“杂交细胞”等进行培养的新型发酵,其产物多种多样,如用基因工程菌生产的胰岛素、干扰素等,用杂交细胞生产的用于诊断和治疗的多种单克隆抗体等。

### 1.2.2 发酵工程的特点

发酵工程与化学工程联系非常密切,化学工程中许多单元操作在微生物工程中得到广泛应用。但微生物工业是培养和处理微生物细胞,所以除了与化学工程有共性外,还有它的特殊性。如空气的除菌系统、培养基灭菌系统等都是微生物工程特有的。



与化学工程相比,发酵工程作为生物化学反应,通常是在温和的条件(如常温、常压、弱酸、弱碱等)下进行;发酵过程是以微生物细胞活的生命体的自动调节方式进行,若干个反应过程(几个、十几个、几十个甚至上百个反应过程)能够在反应器中一次完成;原料来源广泛,通常以糖、淀粉、黄豆饼粉为主,可以是农副产品、工业废水或可再生资源(如植物秸秆、木屑等),微生物本身可以有选择性地摄取所需要的物质;发酵产品多为小分子产品,但也能很容易生产出复杂的高分子化合物,如酶、核苷酸等;由于微生物细胞等活的生命体特有的反应机制,能高度选择性地在复杂化合物的特定部位进行氧化、还原、官能团导入或去除等反应;生产发酵产物的微生物菌体本身也是发酵产物,富含维生素、蛋白质、酶等有用物质,除特殊情况外,发酵液一般对生物体无害;发酵过程中需要防止杂菌污染,一旦发生污染,一般都会造成较大损失;通过微生物菌种的改良,尤其基因工程菌等高产菌株的选育和育出,能够利用原有设备较大幅度地提高生产水平。

### 1.2.3 发酵工程研究的对象、方法与手段

发酵工程主要是研究利用微生物的新陈代谢作用生产一定的产品或达到其他社会目的的工程学科。发酵工程研究的对象应该包括微生物(菌种选育和优化)、微生物学过程(培养基设计及其制造以及发酵过程优化等)和微生物体系(生物反应器)。其中有微生物生化问题、生化工程问题,也有分析与设备问题。

发酵工程研究的方法和手段既包括传统的、经典的方法和手段,也包括现代的、先进的方法和手段。譬如菌种技术既有传统的“经典”理化诱变方法手段,也有先进的基因工程改造等方法和手段。总之,一切现代生物工程的研究方法和手段都可以应用到发酵工程中去,因为发酵工程是生物工程的组成部分。

## 1.3 发酵工程产业的现状与展望

### 1.3.1 发酵工程的现状

发酵工程发展至今天经历了半个多世纪,最早主要生产抗生素,随后是氨基酸发酵、有机酸发酵、甾体激素的生物转化、维生素的生物法制备、单细胞蛋白和淀粉糖等工业化生产。随着现代生物技术的发展,发酵工程的应用已涉及国计民生的方方面面,包括农业生产、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领域。

由于发酵工程应用面广,涉及的行业多,所以应用发酵技术的企业也很多。据报道,目前生物技术企业美国有1200多家、欧洲1500多家、日本300多家。据统计,2000年美国的生物技术企业实现销售收入146亿美元,比1995年增加了15%。同时,生物技术公司在欧洲的发展速度也极为迅猛。在过去的3年里,德国





新建的生物技术公司已经增加了 150% 以上,成为欧洲生物技术公司最多的国家。

进入 21 世纪,生命科学已成为新世纪最具活力的领域之一。世界许多大公司正在把注意力向生命科学部分转化,如欧美许多传统的化学公司已将重点转向生物技术,其中包括美国的孟山都公司、德国的赫司特公司和法国的罗纳普朗克公司等。由此可以看到,生物技术尤其是发酵工程技术的发展将会使各国的产业结构发生巨大的变化,这必将给传统工业尤其是化学工业带来革命性的影响。

### 1.3.2 我国发酵工程产业的现状

当前,许多国际先进水平的发酵生产技术、设备和产品纷纷进入中国市场,使得原本就比较落后脆弱的国内发酵工程产业更是雪上加霜,大量的企业倒闭、转产或与国外企业合资。我国发酵工程产业正面临严峻的挑战,与先进国家相比存在的主要差距或者问题表现为:传统产品过快过大,如谷氨酸、柠檬酸、普通酶制剂、抗生素等;发酵工程产业产值在国民生产总值中的比例较低(1%以下);发酵产品档次低、品种少、不配套,如我国的氨基酸产品中,普通调味用的谷氨酸产量占世界第一位,而我国亦可用发酵法和酶法生产的约十种氨基酸(如赖氨酸、天冬氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、丙氨酸等),由于生产工艺不完善或生产成本过高等因素,未能形成正常的生产能力,导致了我国氨基酸品种少和相互不配套,需要从国外大量进口;我国很多企业普遍存在着重产量、轻质量,重产值、轻品种,缺上游、重中游、轻下游,原料能源消耗大,劳动生产率低,生产规模小,因而导致技术指标低,生产成本低,经济效益差等问题。

除此之外,在我国发酵工程领域还不同程度地存在着以下各类问题:重工业生产,轻科学研究;重应用研究,轻基础理论研究;重眼前利益,轻长远规划;重简单模仿,轻技术创新;重经济效益,轻社会效益等等。因此,出现了发酵工程产业技术创新力不够,低水平重复现象严重等问题。例如,国内对于谷氨酸、普通酶制剂(如淀粉酶、糖化酶)、乳酸饮料等产品的研究、生产和应用出现了许多低水平重复模仿的现象。

### 1.3.3 发酵工程产业的未来展望

随着生物工程技术特别是基因工程技术的发展,发酵工程技术也在不断改进和提高,其应用领域也在不断拓宽,显示出了它的巨大潜力。展望我国发酵工程产业的未来,我们认为,除了引进和消化吸收国外先进技术之外,更应培养大批具有国际竞争力的专业人才,开发具有自主知识产权的高水平的生产菌种和发酵工艺、产品后处理工艺。具体发展目标和方向有以下几个方面:

1. 微生物资源的开发和利用。这又分两个方面,第一是设计和开发更多的自动化、定向化、快速化的菌种首选技术和模型,筛选更多的新型菌种和代谢产物;其次是利用遗传工程等先进技术,人工选育和改良菌种。

2. 发酵工程技术的改进和完善。这又分三个方面,第一是加强固定化技术