



GAODENG XUEXIAO ZHUANYE JIAOCAI

• 高等学校专业教材 •

[高校教材]

发酵工业概论

(第二版)

主编 李 艳

INTRODUCTION TO
FERMENTATION INDUSTRY



中国轻工业出版社

高等学校专业教材

发酵工业概论 (第二版)

主编 李 艳

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

发酵工业概论/李艳主编. —2 版. —北京: 中国轻工业出版社, 2011. 7

高等学校专业教材

ISBN 978-7-5019-8202-8

I. ①发… II. ①李… III. ①发酵工业 - 概论 - 高等学校 - 教材 IV. ①TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 065090 号

责任编辑: 白 洁

策划编辑: 白 洁 责任终审: 张乃柬 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 宋振全 责任校对: 吴大鹏 责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 河北高碑店市德裕顺印刷有限责任公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2011 年 7 月第 2 版第 1 次印刷

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 22

字 数: 601 千字

书 号: ISBN 978-7-5019-8202-8 定价: 38.00 元

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

100021J1X201ZBW

编委会名单

主 编：李 艳 河北科技大学 教授

编写人员：牟德华 河北科技大学 教授

贺小贤 陕西科技大学 教授

张永志 肇庆蓝带啤酒有限公司 教授级高级工程师

张志民 河北衡水老白干酿酒集团有限公司 教授级高级工程师

杨 辉 陕西科技大学 博士 教授

崔建东 河北科技大学 博士 副教授

丁 勇 陕西科技大学 博士 副教授

第一版前言

发酵工业是既古老又崭新的工业，它的形成经历了漫长的岁月。随着科学技术的发展，发酵工业不断地得到发展和充实。现代发酵工业就是传统的发酵技术与现代 DNA 重组、细胞融合等新技术结合，而发展起来的现代生物技术，并通过现代化学工程技术生产有用物质或直接用于工业化生产的一种大工业体系，是生物技术的重要组成部分。生物技术被列为在我国正在实行的六大高技术（包括生物技术、信息技术、新材料技术、新能源技术、海洋技术和空间技术）研究发展计划之一。本书全面介绍了发酵工业定义、技术进步、发展前景、工业范围和特征；发酵工业常用菌种及培养；工业微生物基础物质代谢、初级代谢产物和次级代谢产物形成的发展机理；生物化学工程各单元操作及产物提取和精制工程；清洁生产等内容。重点介绍了目前国内外现代发酵工业各种产品生产的水平，目前本学科发展的概况及新的科研方法和实验手段。可作为高等学校生物工程、食品科学与工程等专业的教科书，也可供从事发酵工业生产和研究的科技人员参考。

本书是在作者多年教学及科研的基础上，参考国内外最新出版的教科书及科技资料编写而成的，涉及面较宽，深度适宜。全书共分七章。第三章第三、四节和第六章第五、六节由张永志执笔，第六章第一、三节由张志民执笔，第六章第二、十节由牟德华执笔，其余章节均由李艳执笔并负责全书最后的统稿和定稿。全书由无锡轻工大学顾国贤教授审定。

在编写过程中，得到了全国发酵专业教学指导小组、无锡轻工大学、天津轻工业学院、河北科技大学领导的关怀和支持，在此一并谨示谢忱。

全书中凡成分的含量（浓度）等以%表示的，均指质量分数。酒精含量一般指体积分数。由于编著者学识和水平有限，书中难免有不妥甚至错漏之处，恳请读者批评指正。

河北科技大学生物科学与工程系
李 艳

第二版前言

发酵工业是生物技术产业化中最重要的组成部分之一。随着科学技术的发展，生物技术已经成为当今社会最活跃、发展最迅速、最重要的科学技术之一。发酵技术在实现生物技术的最终目标和产业化，以获得真正的社会和经济效益方面扮演着重要的角色。发酵工业从古老的传统酿造类发酵食品到辐射于食品、农业、医药、化工、环境等多个国民经济领域的上百类产品，深入我们生活的各个方面。本书结合近十多年来在发酵工业技术领域的技术进步和产业发展，对第一版进行了补充和更新，注重补充了微生物育种、发酵工艺优化和发酵经济学分析。更新和补充了第一版第六章所涉及的各种发酵产品生产领域的产业现状和技术进步。

在本书的修订和编写过程中，各位作者结合了自己多年的教学、科研和生产经验，参考了国内外最新出版的教科书及科技文献资料，做到了内容全面、深度适宜和技术更新。全书共分八章，第六章第二、九、十节由牟德华执笔；第三章第三、四节和第六章第五、六节由张永志执笔；第六章第一、三节由张志民执笔；第四章第三、四、五节由贺小贤执笔；第二章第二节，第六章第七、八、十三节由李艳、崔建东执笔；第五章由李艳、杨辉执笔；第七章由李艳、丁勇执笔；其余章节均由李艳执笔，并负责全书最后的统稿和定稿。

在编写过程中，得到了各作者所在单位的关怀和支持，在此一并谨示谢忱。

全书中凡成分的含量（浓度）等以%表示的，一般指质量分数。酒精含量一般指体积分数。

因编著者学识和水平所限，书中难免有不妥甚至错漏之处，恳请读者批评指正。

河北科技大学生物科学与工程学院

李 艳

目 录

第一章 总论	1
第一节 发酵工业的定义	1
第二节 发酵工业的沿革	4
第三节 发酵工业的范围	7
第四节 发酵工业的特征	10
第五节 发酵工业的未来	11
第二章 工业微生物及其培养	14
第一节 发酵工业常用的微生物菌种	14
第二节 工业微生物菌种选育	25
第三节 菌种的培养	36
第四节 优良菌种保藏技术	44
第三章 发酵机制	47
第一节 工业微生物基础物质代谢	47
第二节 糖代谢产物的发酵机制	60
第三节 氨基酸和核苷酸发酵机制	72
第四节 抗生素发酵机制	87
第四章 发酵工程	101
第一节 发酵动力学模式和发酵培养方法	101
第二节 发酵罐	110
第三节 发酵工程基本操作	114
第四节 采用非糖类原料的发酵工程学问题	134
第五节 发酵工艺优化设计	138
第五章 发酵产物的提取与精制工程	145
第一节 发酵液的特性及提取精制工程概要	145
第二节 发酵液的预处理及菌体分离	151
第三节 发酵产物的提取	154
第四节 发酵产物的精制	185
第六章 现代发酵工业	189
第一节 饮料酒的生产	189

第二节	发酵食品的酿造	204
第三节	酮醇类发酵生产	212
第四节	发酵法生产有机酸	221
第五节	氨基酸生产	233
第六节	核苷酸类物质生产	240
第七节	酶制剂生产	243
第八节	生理活性物质的发酵生产	255
第九节	单细胞蛋白生产	267
第十节	糖类物质生产	276
第十一节	抗生素物质生产	286
第十二节	食用、药用真菌培养与发酵	302
第十三节	生物质能源发酵	307
第七章	清洁生产与发酵工业废水净化	314
第一节	清洁生产的概念与途径	314
第二节	环境污染及微生物	314
第三节	水质污染度指标及国家允许排放标准	316
第四节	天然水系中生物群变化和微生物处理废水的必要条件	318
第五节	微生物处理废水方法	318
第八章	发酵经济学及其技术经济分析	328
第一节	发酵产品主要成本	328
第二节	技术经济效果综合分析	330
参考文献		336

第一章 总 论

第一节 发酵工业的定义

一、什么是发酵

发酵的英文术语 fermentation 最初是由拉丁语 ferver 即“发泡”、“沸涌”派生而来的，是指酵母作用于果汁或谷物，进行酒精发酵时产生二氧化碳（ CO_2 ）的现象。实际上，在黄酒、啤酒、果酒等的酿造中，至今人们常常以起泡现象作为直接观察发酵的指标。随后，法国科学家路易·巴斯德探讨了酵母酒精发酵的生理意义，认为发酵是酵母在无氧状态下的呼吸过程，即“无氧呼吸”，并阐明了它和呼吸一样是生物获得能量的一种形式。这一认识完全符合乳酸发酵的情况。从生物学观点来看，发酵是指有机化合物进行无氧代谢释放能量的过程。糖进行分解代谢是产生还原型 NADH（烟酰胺腺嘌呤二核苷酸）的过程。还原型 NADH 一定要被氧化再生成氧化型 NAD，这样代谢过程才能继续进行。在有氧条件下，NADH 被氧化是通过细胞色素系统进行电子转移来实现的，通入的氧是作为末端电子的受体。然而在厌氧条件下，还原型 NADH 被氧化是与有机物被还原相偶联的，结果产生分解代谢途径中的中间产物或某些分支代谢途径的产物。酵母对果汁中有机物的发酵，NADH 的再生就是通过丙酮酸被脱羧生成乙醛，乙醛被还原生成乙醇来完成的。各种不同的微生物类群可以将丙酮酸还原成各种不同的产物，除乙醇外，还有乳酸、乙酸、丙酸、丁酸、丁醇等，同时产生 ATP（三磷酸腺苷）。所以，从严格的生化意义来说，对这种典型的嫌气发酵，可定义为“发酵是供给能源的氧化-还原反应”。更明确地说，也就是，发酵是供能氧化还原反应，有机物（代谢中间体）起着供氧体和受氧体两个方面的作用，既是电子的供体，又是电子的受体。这些都是发酵的传统定义。随着时代的发展，尤其是近代微生物技术的进步，这些定义逐渐被淘汰，特别是当人们发现好气微生物的代谢作用时，例如，利用醋酸菌的醋酸发酵和利用霉菌的柠檬酸及其他有机酸发酵，氧都是必需的，且并不伴随着起泡沸涌现象。显然巴斯德关于发酵是无氧呼吸的说法并不是通用的。以后从自然界分离了成千上万的微生物，并阐明了这些微生物的生理作用。例如丙酮-丁醇、抗生素、有机酸、酶制剂、氨基酸、核苷酸等发酵是由嫌气性或好气性微生物引起的发酵；有的伴随起泡现象，有的却不伴随起泡现象；有的是无氧呼吸，有的却是好氧的不完全氧化作用。因此，从以上分析来看，发酵即“沸涌”、“翻涌”或者“无氧呼吸作用”的定义是不完整的。好氧发酵要经过厌氧发酵和有氧呼吸这两个代谢过程，因而它介于这两者之间，所以，当需氧发酵定义为“有机化合物借助于分子态氧而受到不完全氧化的反应”时，巴斯德的基本认识依然是正确的，即呼吸和发酵均可统一理解为生物为获得能量所进行的氧化还原反应。工业微生物学家则把发酵扩展到利用培养微生物来制得产物的有氧或厌氧的任何过程，现在又扩展到培养生物细胞（含动、植物细胞和微生物）来制得产物的所有过程。

二、发酵工业的定义

随着科学技术的发展，发酵作为一门工程学科的定义不断地得到发展和充实。目前人们把利用微生物在有氧或无氧条件下的生命活动来制备微生物菌体本身或其直接代谢产物或次级代

谢产物的过程统称为发酵。所谓发酵工业，就是利用生物的生命活动产生的酶，对无机、有机原料进行酶加工（生物化学反应过程），获得产品的工业。其主体是利用微生物进行生化反应的工业。它应包括传统发酵（有时称酿造），如某些食品和酒类等的生产，也包括近代的发酵工业，如酒精、乳酸、丙酮-丁醇的生产等，还包括新兴的如抗生素、有机酸、氨基酸、酶制剂、核苷酸、生理活性物质、单细胞蛋白等发酵生产。根据以往的观点，有的人将发酵工业划分为食品发酵工业（food fermentation industry）和非食品发酵工业（non - food fermentation industry）两大类。在我国，人们常常把由复杂成分构成的，并有较高风味要求的发酵食品，如啤酒、白酒、黄酒、清酒、葡萄酒等饮料酒以及酱油、酱、豆豉、腐乳、酱腌菜、食醋等副食佐餐调味品的生产称为酿造工业（brewing industry）；而把经过纯种培养，提炼精制获得的成分单纯、无风味要求的酒精、抗生素、柠檬酸、谷氨酸、酶制剂、单细胞蛋白等的生产称为发酵工业（fermentation industry）。

从发酵和发酵工业的定义可知，要实现发酵过程并得到发酵产品，就必须具备以下几个条件：①要有某种合适的微生物；②要保证或控制微生物进行代谢的各种条件（培养基组成、温度、溶氧浓度、酸碱度等）；③要有进行微生物发酵的设备（反应场所）；④要有将菌体或代谢产物提取出来，精制成产品的方法和设备。

20 世纪 70 年代初，在分子生物学和细胞生物学基础上发展起来的新兴技术领域——生物技术或生物工艺学，极大地促进了发酵工业的发展。现代发酵工业将是传统发酵技术和现代 DNA 重组、细胞融合等新技术相结合并发展起来的现代生物技术，并通过现代化学工程技术，生产有用物质或直接用于工业化生产的一种大工业体系。目前相继建立起许多独立的工业体系，如食品、饲料、酒精、抗生素、有机酸、酶制剂、氨基酸、维生素、甾体激素、单细胞蛋白、生物燃料等工业部门。

三、现代发酵技术与生物技术的关系

关于生物技术，目前能广泛接受的定义是由国际经济合作及发展组织在 1982 年提出的。生物技术是应用自然科学及工程学的原理，依靠生物作用剂（biological agents）的作用将物料进行加工以提供产品或为社会服务的技术。这里所谓的生物作用剂可以是酶、整体细胞或多细胞生物体，也称为生物催化剂。生物技术是我国正在实行的六大高技术（包括生物技术、信息技术、新材料技术、新能源技术、海洋技术和空间技术）研究发展计划之一。高技术凝聚着人类早期的发明和近期的创造，代表着当代的科技文明，是世界拥有的先进技术构成的一个强大的、活跃的技术群体。

生物技术有三个特点：

（1）生物技术是一门多学科、综合性的科学技术。

Moo - Young 把相关学科与生物技术之间的关系形象地用一个三环图表示，见图 1 - 1。

（2）生物反应中需要生物催化剂的参与，它是游离或固定化的细胞或酶的总称。随着原生质体融合技术（可看作细胞水平的杂交）、DNA 重组技术（可看作分子水平的杂交）等现代生物技术的发展，人们有可能组建出许多具有特殊性能的非天然存在的新型生物催化剂（如基因工程菌）。生物催化剂分类如下：

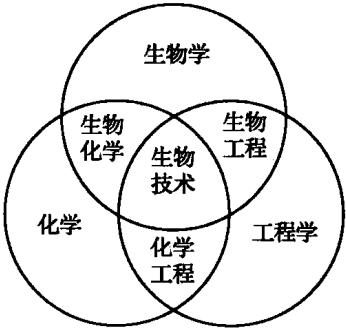
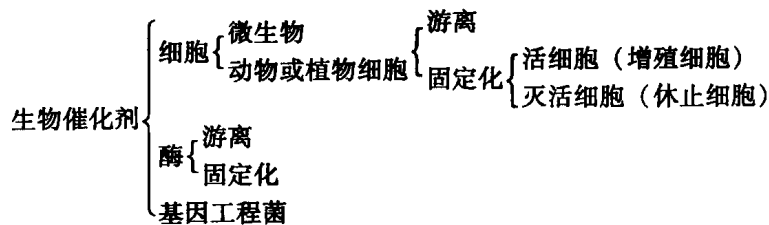
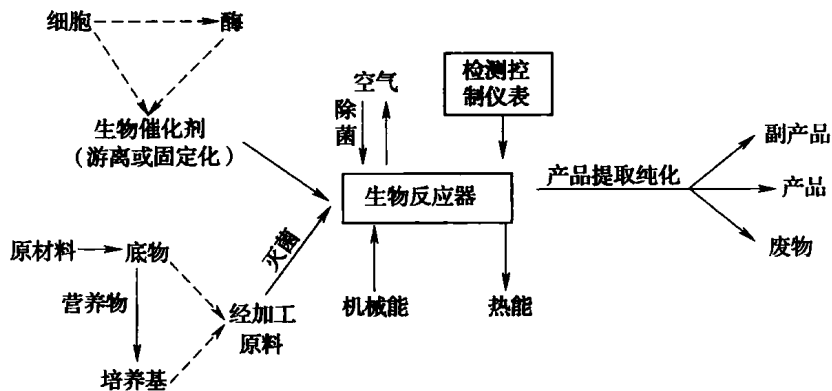


图 1 - 1 生物技术的多学科性示意图



(3) 生物技术最后的目的是建立工业生产过程或进行社会服务，称为生物反应过程 (bio-process)。包括原材料的预处理、生物催化剂的制备、生物反应器及反应条件的选择和产物的分离纯化四个组成部分。一般生物反应过程示意如下：



实质上，现代发酵技术处于生物技术的中心地位，绝大多数生物技术的目标都是通过发酵工程来实现。因此生物技术的主要应用领域往往就是发酵工程的应用和研究或生产的对象，如生物技术的一些新领域，废料工程、环境工程、再生资源工程等都是以发酵工程作为基础或主要手段的。发酵技术由两个核心部分组成：第一部分是涉及获得特殊反应或过程所需的最良好的生物细胞（或酶）；第二部分则是选择最精良设备，开发最优技术操作，创造充分发挥生物细胞（或酶）作用的最佳环境。

在迄今所研究的大部分实例中，用于发酵技术过程的最有效、最稳定和方便的催化剂形式是整体生物，目前较普遍采用微生物细胞。因此许多发酵技术都是围绕着微生物过程进行的。当今的发酵技术也并非排斥利用较高级的生物，尤其是植物及动物细胞的培养，它们将在发酵技术中发挥日益重要的作用。

微生物既可被视为光合作用中能量的初级摄取者，又可被视为使几乎所有形式的天然和人造有机物分子发生化学变化的体系。总而言之，微生物具有一个巨大的基因库，它能提供几乎无穷无尽的合成和降解潜力。此外，微生物具有比任何（像植物及动物）高级生物快得多的生长速率，一般为常温、常压条件，因而微生物能在适宜环境下，在短时间内大量地进行生产。

从自然环境中筛选出的微生物，一般采用基因突变育种的方法进行改良，新近的方法是应用 DNA 基因重组、细胞融合等分子生物学新技术，从而最终构建出具有崭新生物化学特征的微生物。这些经精心筛选和培育的优良微生物菌株，必须以基本稳定的形式保存，确保菌株在工业生产中维持其基本特征和优良性状。在许多情况下，人们将微生物细胞或酶固定化后加以使用。这方面的技术将是现代发酵技术的重要部分。

现代发酵技术的第二个核心部分涉及微生物细胞发挥作用的系统或反应器方面的问题（这将在第四章做详细的论述）。首要的问题是提供使微生物能够最优生长，最优形成产物的可控系统和环境。例如提供设备设计及仪表装置，以使温度、通气、pH 等物理、化学条件得到有效的维持和控制，从而使微生物细胞呈现出最佳的性能，生成和积累大量产物。由此可见，某

项发酵技术的成功，必须依赖数门学科的知识 and 技能。图 1-2 为生物技术树，它清楚地表示了发酵技术在生物技术中的地位，以及和其他许多学科的关系。

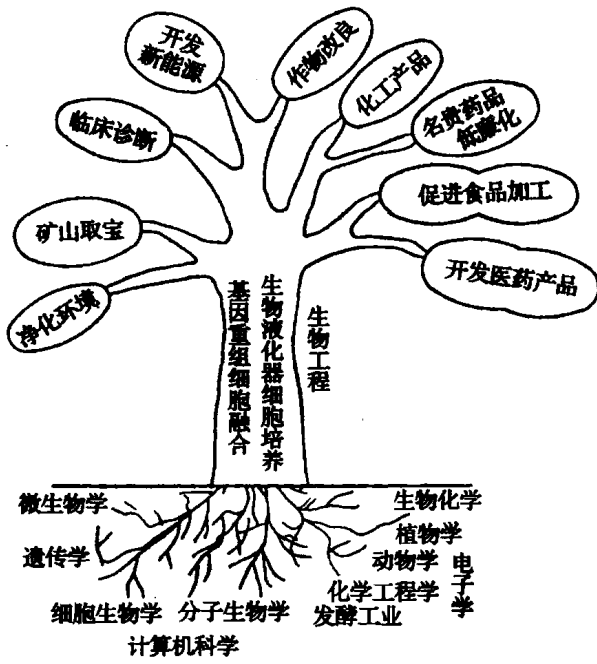


图 1-2 生物技术的基础和应用示意图

第二节 发酵工业的沿革

几乎在地球上诞生生命的同时，发酵现象就已经存在了。但是对于发酵本质的认识，并发展形成发酵工业却只有近几百年的历史。回顾其发展的进程大致经历如下几个阶段。

1. 天然发酵阶段

从史前到 19 世纪，人类在知其然而不知其所以然的情况下，即不了解发酵本质之前，就利用自然发酵现象制成各种饮料酒和其他食品。我国是世界上文明发源最早的国家之一。在长期的生产实践中，对利用微生物有悠久的历史，并积累了丰富的经验。几千年前我们的祖先就知道如何利用黄豆发酵制造酱油（soy sauce）。3000 多年前，中国医师们就知道用生长在豆腐上的霉菌治疗皮肤病等。公元前 2300 多年，我国有一种叫做 kui 的米酒。哥伦布发现美洲新大陆时，曾发现当地印第安人已在饮由玉米制成的烧酒。

直到中世纪，人类不断地积极努力改进酒类、面包、啤酒、干酪等的风味及品质，对这种“发酵”本质的了解直到 19 世纪末仍属一知半解，因此当时完全是靠经验而进行家庭作坊式生产，时常被杂菌污染所困扰。这一时代称为天然发酵工业时代，主要产品有各种饮料酒、酒精、酱、酱油、醋、干酪、酸乳及酵母等，仅仅是家庭式或作坊式手工业生产，还谈不上发酵工业。多数产品为嫌气发酵产品，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。

2. 纯培养技术的建立

1680 年，荷兰博物学家安东·列文虎克（Anthry Van Leewenhock，1632—1723 年）发明显微镜（放大倍数 270 倍），在人类历史上第一次看到大量活的微生物。19 世纪中叶，法国科学家（1859 年）路易·巴斯德（Louis pasteur，1812—1895 年）以著名的 Pasteur 实验，证明发酵原理，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，是由形态上可以区别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（yeast）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”。随之发明了著名的低温杀菌法（Pasteurization），挽救法国葡萄酒酿造界免受酸败之苦。巴斯德也因此被人们誉之为“发酵之父”。

其后不久，布雷菲尔德（Brefeld）创建了霉菌纯粹培养法（1872年），被称为近代细菌学之父。曾获得1905年诺贝尔奖的德国的利斯特·柯赫等（Robert Koch, 1843—1910年）完成了细菌纯粹培养技术（1881年）。另外，丹麦的汉逊（Hansen）建立了啤酒酵母的纯粹培养方法（1878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，实现了第一个技术进步（也可称转折）。因此，人类开始了人为地控制微生物的发酵进程，从而使发酵生产技术得到巨大的改良，提高了产品的稳定性。

1897年，法国布赫纳（Buchner, 1860—1917年）以制药为目的，将酵母与沙混合磨碎，为了防腐添加砂糖，放置一段时间后发现此细胞萃取液同样能产生酒精发酵现象，证明了任何生物都有引起产生发酵的物质（酶），导致了生物化学的出现。

“需求是发明之母”，发酵技术的进步始终和社会需求相关，社会需求的增加推动发酵技术的迅速发展。第一次世界大战中，德国需求大量用于制造炸药的确化甘油，而使甘油发酵工业化。英国因制造无烟火药的确化纤维而需要大量的优质丙酮，促使Weizman发明了丙酮-丁醇发酵，并实现了工业化，形成了德、英两国在发酵技术上的竞争。

第二次世界大战中日本为补充航空机燃料的不足，由藤井三郎发明了用砂糖发酵制取正丁醇，再通过化学反应生成异辛烷的方法，并发展成工业化生产。与此同时，英国、美国也强有力地推进此项发展计划。

从19世纪末到20世纪30年代出现的发酵产品有乳酸、酒精、面包酵母、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，均为表面培养。产品的生产过程较为简单，对生产设备的要求不高，规模不大。

3. 通气搅拌发酵技术（液体深层培养）的建立

1929年，英国弗莱明（A. Fleming）发现青霉素，其后在1940年，英国的弗洛里（Howard Florey）及钱恩（E. B. chain）两位博士精制分离出青霉素，并确认青霉素对伤口感染症比当时的磺胺药剂（sulfur drugs）更具疗效，具有奇迹般的妙药作用。1941年，美、英两国合作对青霉素进行进一步的研究和开发。联合国将青霉素作为医治战伤的药物而大力推进青霉素工业化生产的研究，获得成功。青霉素发酵生产的成功，给人类医疗保健事业作出了巨大贡献，同时在发酵工业发展史上开创了崭新的一页，给发酵技术带来了以下两大功绩：

（1）开拓了以青霉素为先锋的庞大的抗生素发酵生产工业。

（2）建立了深层培养法（submerged culture），把通气搅拌技术引入发酵工业。它使需氧菌的发酵生产从此走上大规模工业化生产途径，通气搅拌液体深层发酵技术是现代发酵工业的最主要的生产方式。这是发酵技术进步的第二个转折期。

4. 代谢控制发酵技术

20世纪50到60年代，随着基础生物学即生物化学、酶化学、微生物遗传学等的飞速发展，再加上新型分析方法和分离方法的发展，发酵工业也有两个显著进步。其一是采用微生物进行甾体化合物的转化技术，其二是以谷氨酸和赖氨酸发酵生产成功为契机的代谢控制发酵技术的出现。前者是以美国为中心，对采用微生物的生化反应，将甾体化合物转换成肾上腺皮质激素、性激素等技术，进行非常广泛的研究，结果几个甾体化合物系列的激素投入工业化生产。其技术特点是将微生物具有高度专一性的酶反应作为合成手段的一部分加以利用，也给今

天的酶制剂利用工业以极大的促进。后者是自 1956 年由日本木下祝郎发明谷氨酸发酵技术开始，而逐渐发展的，至今已成为发酵生产的一种基本思路 and 主要技术手法。代谢控制发酵技术是应用动态生物化学的知识和遗传学的理论选育微生物突变株，从 DNA 分子水平上，控制微生物的代谢途径，进行最合理的代谢，积累大量有用的发酵产物的技术。此技术不仅已在一系列氨基酸以及核苷酸物质的发酵生产中得到广泛应用，而且在抗生素等次级代谢产物的发酵中也得到广泛应用。据此考虑，代谢控制发酵技术为发酵技术发展的第三个转折期。

5. 开拓发酵原料时期

20 世纪 60 到 70 年代，这段时期是代谢控制发酵技术广泛应用的鼎盛期，如今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，由于世界未来粮食的缺乏，为满足未来的粮食、饲料的来源需要，而发现了石油微生物，开展发酵原料多样化的开发研究，出现了所谓发酵蛋白（单细胞蛋白）的研究和生产，为世界各国所重视。目前已确认采用发酵法生产单细胞蛋白是粮食工业化生产的最好捷径。尽管以正烷烃为原料生产的蛋白的安全性有待深入研究，但采用甲醇、醋酸、甲烷、氢气等原料也可以生产单细胞蛋白。改变发酵原料不仅能制造发酵蛋白，而且还可以发酵生产各种各样的发酵产品，同时可以节省粮食。可以说发酵原料的改变使发酵技术又进入一个新时期。这是发酵技术发展的第四个转折期。

6. 基因工程阶段

1953 年，Watson 和 Crick 发现了 DNA 双螺旋结构。1973 年，美国加利福尼亚大学旧金山分校的 Henber Boyer 和斯坦福大学的 Stanley Cohen 将两个质粒用 *EcoR* I 酶切后，用连接酶连接起来，获得了具有两个复制起始位点的杂合质粒，并转化大肠杆菌，为基因工程的理论和实际应用奠定了基础。20 世纪 70 年代以来，随着基础生物科学的日益发展，以及边缘科学技术的发展，使发酵工业更加五彩缤纷。尤其是 20 世纪 80 年代以后，随着世界生物技术的发展，发酵技术又有了突飞猛进的进步。例如：在微生物育种上，应用分子生物学和分子遗传学的方法，人为地将任意生物的特定有用遗传基因组合到特定的微生物基因中去，在分子水平上选育新的有用微生物，这类菌被称为“基因工程菌”，从而达到定向改变生物性状与功能，创造新的“物种”，使发酵工业能够生产出自然界微生物所不能合成的产物，如胰岛素、干扰素、凝血因子Ⅷ、超氧化物歧化酶（SOD）等，使发酵工业发生革命性变化。也可用此技术改造传统发酵产品，如氨基酸、抗生素、有机酸、酶制剂等微生物的菌种选育，可提高产品的产量、质量和降低成本。又如固定化酶和固定化细胞利用技术的大发展。另外，从省力、节能、低碳和有利环境保护的需要出发，进行新型反应器的研究与设计，对特殊环境微生物进行研究，对动植物组织培养技术进行研究等，都将使传统的发酵工业向着综合性的生物技术工业发展，成为现代生物技术的重要组成部分。基因工程的引入，使发酵工业产生革命性变化，这是发酵技术发展的第五个转折期。

发酵工业发展简史见表 1-1。

表 1-1 发酵工业发展简史

年份	科学发展	发酵技术	发酵工业及产品
1680	Leewenhock 发明显微镜	天然发酵	酒类、酱、酱油、腐乳、食醋、干酪等
1859	Pasteur 证明微生物的作用和发酵的原理	↓	
1872	Brefeld 创建霉菌纯粹培养技术	纯培养	酵母、酒精、丙酮、丁醇、淀粉酶等
1878	Hansen 建立啤酒酵母的纯粹培养技术	↓	
1881	Koch 创建细菌纯粹培养技术	↓	
1897	Buchner 证明发酵是酶的作用，生物化学诞生	↓	

续表

年份	科学发展	发酵技术	发酵工业及产品
1905	Koch 应用固体培养基分离培养微生物	↓	抗生素、维生素、有机酸、酶制剂等
1929	Fleming 发现青霉素	通气搅拌技术， 深层培养	
1940	Florey、Chain 精制分离青霉素，青霉素生产	↓	
1950	生物化学发展	代谢控制发酵 技术	氨基酸、核苷酸等
1952	木下祝郎谷氨酸发酵技术开始 生物化学、酶化学的发展推动 Peterson、Murray 采用微生物进行甾体类药物的转化技术	↓ ↓ ↓	单细胞蛋白及其他利用正烷烃的石油化 工产品的发酵生产
1960	发酵原料的改变 石油微生物的研究与应用 微生物消除环境污染	发酵原料的开拓 和转换	
		↓	
		应用范围的 扩大	污水处理、能源开发、细菌冶金等
1970	分子生物学发展 细胞融合 基因扩增 重组 DNA 技术	↓ 遗传工程即 生命科学 的高度发展	利用工程菌生产干扰素、胰岛素、生长 素、激素等
1980	美国最高法院对 Diamond 和 Chakrabarty 专利案 做出裁定，认为经基因操作的微生物可获专利	↓ 工程菌的发酵 制药等工业 得到发展	基因工程菌可获专利
1990	微生物学与分子生物学紧密结合，计算机在发 酵工业中的应用逐渐推广	↓ 发酵工业迅 速发展	微生物新资源，新代谢产物，新疫苗， 抗肿瘤、抗艾滋病等药物

第三节 发酵工业的范围

现代发酵工业涉及广泛的产业领域，这里按微生物发酵产品的性质分为以下几方面。

一、微生物菌体发酵

这是以获得具有多种用途的微生物菌体细胞为目的产品的发酵工业，包括单细胞的酵母和藻类、担子菌以及人、畜防治疾病用的疫苗等。细胞物质的发酵生产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，生长稳定期细胞物质浓度最大，同时也是产量最高的收获时期。传统的菌体发酵工业有用于面包工业的酵母发酵及用于人类或动物食品的微生物菌体蛋白（单细胞蛋白）发酵两种类型。现代又增加了杀虫剂和疫苗等。

藻类因其含有多量的必需氨基酸及蛋白质和维生素，其营养价值超出农作物，可用作食物和饲料。属担子菌类的洋菇（mushroom）、草菇（strew mushroom）、鲍鱼菇（ostermushroom）、金茸（golden mushroom）等，均含有丰富的蛋白质和维生素 D 母体（provitamin D）等营养物，

且其子实体味道鲜美，是一些大众欢迎的优良食品。

活性乳酸菌制剂，系在干燥菌体中混合活性保护物质，用以提高人体整肠作用效率，这也可以说是一种菌体的直接利用。

由于微生物菌体有其他功能，所以还有一些新的菌体发酵产品，如从多孔菌科的茯苓菌获得的名贵中药茯苓和担子真菌的灵芝、香菇类，依赖虫蛹而生存的冬虫夏草菌及与天麻共生的密环菌等药用菌，在我国作为医药品已有悠久的历史，对医疗事业的发展作出了贡献。我国已分离出虫草头孢菌，并用于工业化发酵生产冬虫夏草产品，以及利用自吸式发酵罐来培养灵芝。

另外，微生物杀虫剂的发酵，如苏云金杆菌、蜡样芽孢杆菌和侧孢芽孢杆菌，其细胞中的伴孢晶体可毒杀鳞翅目、双翅目的害虫。丝状真菌的白僵菌、绿僵菌可防治松毛虫等，制成新型的微生物杀虫剂可用于农业生产中。

二、微生物酶发酵

酶普遍存在于动植物和微生物细胞中。最早，人们都是从动植物组织中提取酶。自1894年日本高峰利用米曲霉制造高峰淀粉酶（Take-dia-stase）以来，利用发酵法制备生产并提取微生物产生的各种酶已是当今发酵工业的重要组成部分。与动植物来源的酶相比，这既易于进行大规模生产，也便于改善工艺、提高产量。目前工业应用的酶大多来自微生物发酵，如糖酶，包括 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、葡萄糖苷酶（即糖化酶）、支链（异）淀粉酶、转化酶（蔗糖酶）、异构酶、半乳糖酶、纤维素酶；蛋白酶，包括碱性蛋白酶、酸性蛋白酶、中性蛋白酶；果胶酶；脂肪酶；凝乳酶；过氧化氢酶。还有部分药用酶，包括青霉素酰化酶、胆固醇氧化酶、葡萄糖氧化酶、氨基酰化酶等。

这里所说的酶，大部分是利用微生物生产多量的菌体胞内酶和菌体胞外酶，并以萃取方法得到精制的酶纯品，称为酶制剂，以供各行业之用。现在又发展成为固定化酶，促进了发酵工业和酶的应用范围发生了重大变化。

白酒、黄酒及酱油等生产用的各种曲也属培养多种微生物并使其分泌多种酶，用以体现分解原料淀粉和蛋白质等物质的酶作用。

三、微生物代谢产物发酵

以微生物代谢产物为产品的发酵生产是发酵工业中数量最多、产量最大也是最重要的部分，它们包括初级代谢产物、中间代谢产物和次级代谢产物。已知微生物代谢产物不下数千种，一般认为生长对数期形成的产物往往是细胞自身生长所必需的，如各种氨基酸、核苷酸、蛋白质、核酸、脂类及碳水化合物等，称为初级代谢产物或中间代谢产物。由于初级代谢产物是供菌体生长繁殖使用的，所以野生菌株合成产物的量在满足自身需要后，就受到许多调节机制的控制而停止合成。为了提高产量，就要了解菌株在合成产物中所受的调节机制，研究修饰菌体的遗传基因，改良培养条件，设法予以解除菌株自身的调节机制。

稳定期是微生物细胞数量大体保持不变的平衡阶段，一部分细胞继续繁殖，另一部分则自溶消失。这个时期某些微生物所合成的化合物并不表现在细胞代谢中有什么显著的功能，它们往往出现在连续培养中，虽然生长速率很低，但代谢产物却具有明显的优势，这类自发产生的化合物被称为次级代谢产物，次级代谢产物来自中间代谢产物和初级代谢产物。抗生素是人们熟知的次级代谢产物。次级代谢产物的产生菌仅有少数几个类群，一般是丝状放线菌、真菌和产孢子的细菌。按生理学作用来研究，许多次级代谢产物具有拮抗微生物的活性，有些是特殊的酶抑制剂，有些是生长促进剂，许多还具有药物功效。次级代谢产物发酵同初级代谢一样，

受到许多调节机制的控制，如诱导调节、分解代谢产物阻遏和反馈调节等，要提高产量，就要设法解除其控制，提高合成基因的量，但目前对一些产物合成途径及哪些步骤是限速反应尚不清楚，还有待进一步研究。

四、微生物的生物转化发酵

微生物的生物转化发酵是指利用微生物细胞的一种或多种酶，作用于一些化合物的特定部位（基团），使它转变成结构相类似但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并不是微生物细胞利用营养物质经代谢而产生的，而是微生物细胞的酶或酶系作用于底物某一特定部位，进行化学反应而形成的。生长细胞、静止营养细胞、孢子或干细胞均能进行转化反应，目前也在研究利用固定化细胞和固定化酶进行生物转化发酵，以提高转化效率和降低成本。在转化反应里，微生物细胞的作用仅仅相当于一种特殊的生物催化剂，引起特定部位发生反应。可进行的转化反应包括脱氢、氧化、脱水、缩合、脱羧、羟化、氨化、脱氨、异构化反应。生物转化反应与化学反应相比具有许多优点，如反应条件温和、对环境无污染等。生物转化反应最明显的特点是特异性强，包括反应特异性（反应的类型）、结构位置特异性（分子结构中的位置）和立体特异性（特殊的对映体），其中以反应的立体特异性显得更为重要。发酵工业中最重要的生物转化是甾体转化。

五、微生物特殊机能的利用

发酵工业除前述四方面的发酵生产外，还涉及如下几个领域：

（1）利用微生物消除环境污染 环境恶化，包括环境污染和生态破坏，是人类面临的重大问题之一。在环境保护方面，生物技术可以大有作为，它可以直接用来消除环境污染，比如废气和废渣污染的生物净化，废弃物的生物综合利用，污染的生物监测等。利用生物技术进行污水处理用得最多，需氧生物处理（活性污泥法）和厌氧生物处理（沼气发酵）最常见。

农业、林业和食品等工业部门的许多废弃物，也是造成环境污染的一个原因，通过微生物发酵加以综合利用，不但可以使废弃物具有可观的经济价值，而且可以减轻环境污染，化害为利，如利用工农业废弃物生产单细胞蛋白质。

在环境保护中，还可利用生物监测来判断环境污染状况。生物对污染的反应有很多种，有群落变化、种群变化、变种、畸形、受害症状等。生物监测能够反映污染物质对生物的影响，并能够进行连续监测，而且所用材料来源广、成本低、方法简便、容易推广。

（2）利用微生物发酵保持生态平衡 利用生物技术开创新的绿色革命新纪元，体现在：① 用生物固氮代替化学肥料；② 用生物杀虫剂代替化学农药；③ 培育和创造能够在恶劣条件下生长，并且能抗病虫害和草害的农作物新品种；④ 为人类提供高蛋白含量、高单位面积产量的农作物和丰富的动物蛋白质，将滥加开垦的土地还之以森林牧场等。

（3）微生物湿法冶金 利用微生物对某些金属氧化物的氧化还原反应，使低品位矿中的某些金属成为可溶性的化合物而得以冶炼。如细菌炼铜。目前，世界上已有 20 多个国家用细菌进行采矿，科学家们发现能够帮助人类采矿的细菌有 20 多种，这些细菌不但能够从低品位矿和废矿渣里提炼铜，还能够提炼铁、锌、镍、钴、钛、铝、铀、金、锗、镓、铟等金属。这些细菌里最常见的是硫化细菌。

（4）利用基因工程菌株开拓发酵工程新领域 这是指建立在利用细胞融合和 DNA 重组等生物技术所获得的基因工程菌株或杂交细胞，以及动植物细胞或固定化活细胞等基础上的新型发酵，其产物可以是各种各样的。所用的发酵设备是各种类型的新型生物反应器。发酵工业也将与传统工业有所不同，开拓出更广阔的新领域。