



普通高等教育“十二五”规划教材



发酵工程简明教程

燕平梅 编著

中国石化出版社

[HTTP://WWW.SINOPEC-PRESS.COM](http://www.sinopec-press.com)

发酵工程简明教程

燕平梅 编著

中国石化出版社

内 容 提 要

本书系统介绍了发酵工程的基本内容及技术,全书共十二章内容,主要包括发酵菌种的筛选方法、优良发酵菌种的育种方法、发酵原料配制方法、种子的制备、发酵产物代谢控制理论和方法、发酵条件的调节方法、发酵培养基和空气的灭菌技术、发酵下游加工技术。

本书可作为综合性大学、工科院校、农林院校及师范院校的生物工程及生物技术专业的教材,也可作为生物制药、食品科学与工程、生物科学等专业的教学参考书,同时也可供相关领域专业人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

发酵工程简明教程/燕平梅编著. —北京:中国石化出版社,2013.9

ISBN 978-7-5114-2314-6

I. ①发… II. ①燕… III. ①发酵工程—教材 IV. ①TQ92

中国版本图书馆CIP数据核字(2013)第176803号

未经本社书面授权,本书任何部分不得被复制、抄袭,或者以任何形式或任何方式传播。版权所有,侵权必究。



中国石化出版社出版发行

地址:北京市东城区安定门外大街58号

邮编:100011 电话:(010)84271850

读者服务部电话:(010)84289974

http://www.sinopec-press.com

E-mail: press@sinopec.com

北京科信印刷有限公司印刷

全国各地新华书店经销

*

787×1092毫米 16开本 14印张 341千字

2014年9月第1版 2014年9月第1次印刷

定价:35.00元

前 言

发酵工程,是指采用现代工程技术手段,利用微生物的某些特定功能,为人类生产有用的产品,或直接把微生物应用于工业生产过程的一种新技术,其已经形成了一个品种繁多、门类齐全的独立工业体系,在国民经济中占有重要地位。其产品覆盖医药、轻工、化工、食品、农业、能源和环保等诸多行业,给人类带来巨大的经济效益和社会效益,是主导生物工程发展的前沿学科,具有完善的工程体系和很强的应用性。

《发酵工程简明教程》一书阐述了发酵的基本原理和具体方法,凝炼了各种发酵工艺的共同性。突出发酵的相关技术,重视技术原理的探讨和应用面的扩大,具有很强的实用性。并带有较强的自然科学的探索性和首创性。本书在编写过程中一方面注意保持了技术的系统性和完整性,另一方面强调了技术的先进性,引入了发酵技术的最新研究技术和方法。在内容选择上,力求基本理论可靠、论述准确,信息量大,尽可能包括微生物技术的最新进展和研究成果。本书可作为综合性大学、工科院校、农林院校及师范院校的生物工程及生物技术专业的教材,也可作为生物制药、食品科学与工程、生物科学等专业的教学参考书,同时也可供相关领域专业人员参考。对医药、食品、酶制剂、有机酸、溶剂等微生物的发酵生产,及其他生物技术和环境保护等领域的生产、研究和开发的科技人员具有一定的参考价值。

《发酵工程简明教程》一书主要包括 12 章。第 1 章,发酵工程概论;第 2 章,发酵菌种;第 3 章,发酵菌种选育技术;第 4 章,微生物菌种的保藏;第 5 章,发酵过程的调控原理;第 6 章,发酵原料;第 7 章,发酵种子的制备;第 8 章,发酵条件的控制;第 9 章,发酵微生物反应动力学;第 10 章,发酵原料的灭菌及空气除菌;第 11 章,发酵设备;第 12 章,发酵产品的制备。太原师范学院燕平梅完成第 1 章、第 2 章、第 3 章、第 4 章、第 5 章、第 6 章、第 7 章、第 8 章、第 10 章和第 12 章。第 9 章和第 11 章由太原师范学院赵文婧完成,本书编写过程中,编者参考了许多国内外相关文献资料,引用了其中部分重要结论及相关图表,在此向各位前辈及同行致以衷心的感谢。此外,我们团队的 2010 级、2011 级的研究生为本书的出版做了大量辛勤细致的工作,在此一并表示谢意。

近年来,发酵工程及相关学科发展迅速,加之编者的水平和经验有限,难免存在不足之处,敬请读者批评指正。

目 录

第1章 发酵工程概论	(1)
第1节 发酵工程的定义和发展简史	(1)
1 发酵工程定义	(1)
2 发酵工程发展史	(1)
第2节 发酵工程的特点和范围	(3)
1 发酵工程的特点	(3)
2 发酵工程的范围	(4)
3 发酵的类型	(5)
第3节 发酵工程的组成	(5)
1 发酵工程的组成	(5)
2 发酵工程的步骤	(5)
第4节 发酵工程的应用和发展趋势	(7)
1 发酵工程的应用	(7)
2 发酵工程的发展趋势	(11)
作业与思考	(13)
第2章 发酵菌种	(14)
第1节 发酵菌种的要求	(14)
1 微生物的特性	(14)
2 工业化菌种的要求	(16)
第2节 发酵菌种的应用	(16)
1 抗生素生产有关的微生物	(17)
2 氨基酸生产有关的微生物	(18)
3 酶制剂生产有关的微生物	(19)
4 有机酸产生微生物	(20)
5 有机溶剂产生微生物	(21)
6 核苷酸类物质生产菌	(22)
第3节 自然界中发酵菌种的分离	(23)
1 菌种的来源	(23)
2 新种分离与筛选的步骤	(23)
3 自然界中细菌的分离	(29)
4 放线菌的分离培养基的组成原则	(30)
5 真菌分离	(30)
作业与思考	(31)
第3章 发酵菌种的选育	(32)
第1节 自然选育	(33)

第2节 诱变育种	(34)
1 诱变剂和诱变处理	(34)
2 诱变育种步骤	(35)
3 突变菌株的筛选	(36)
4 诱变事例	(40)
第3节 原生质体育种	(41)
1 原生质体融合育种的特点	(41)
2 原生质体融合原理和育种步骤	(42)
3 原生质体融合育种的要点	(42)
4 原生质体融合技术在微生物育种中应用	(46)
第4节 基因育种	(47)
1 目的基因的获取	(47)
2 目的基因与载体在体外连接	(47)
3 重组DNA导入宿主菌	(48)
4 重组克隆的筛选与鉴定	(49)
5 基因表达系统	(49)
作业与思考	(52)
第4章 发酵菌种保藏的原理和方法	(54)
第1节 斜面保藏法和穿刺保藏法	(54)
1 斜面保藏法	(54)
2 穿刺保藏法	(55)
第2节 干燥保藏法	(55)
1 沙土管干燥保藏法	(55)
2 麸皮保藏法	(55)
第3节 真空冷冻干燥保藏法	(56)
第4节 液氮保藏法	(56)
第5节 悬液保藏法	(57)
第6节 低温保藏法	(57)
第7节 常见菌的保存方法	(57)
1 常见菌的保存方法	(57)
2 菌种保藏的注意事项	(58)
3 国内外菌种保藏机构	(58)
作业与思考	(59)
第5章 发酵过程的调控原理	(60)
第1节 微生物的代谢类型和自我调节	(60)
1 代谢类型	(60)
2 微生物自我调节	(60)
第2节 酶活性调节	(61)
酶活性调节的机制	(62)
第3节 酶合成的调节	(62)
1 酶的诱导(Enzyme induction)	(63)
2 酶的阻遏(Enzyme repression)	(63)

3 酶合成调节的操纵子学说	(65)
第4节 微生物代谢途径调节的形式	(68)
1 直线式代谢途径的反馈控制	(68)
2 分支代谢途径的反馈控制	(69)
第5节 代谢的人工控制	(72)
1 发酵条件的控制	(72)
2 改变细胞的透性	(74)
3 菌种遗传特性的改变	(74)
第6节 次级代谢与次级代谢调节	(75)
1 初级代谢和次级代谢	(75)
2 次级代谢的调节类型	(76)
作业与思考	(77)
第6章 发酵培养基	(79)
第1节 培养基的类型及功能	(79)
1 培养基的分类	(79)
2 发酵生产中的培养基类型	(80)
3 发酵培养基的选择	(81)
第2节 培养基的营养成分及来源	(81)
1 发酵微生物的主要营养来源	(82)
2 培养基组成物质的营养与作用	(82)
3 营养物质的调节	(85)
第3节 培养基的配制	(86)
1 培养基成分选择的原则	(86)
2 设计培养基的方法	(87)
3 培养基设计的步骤	(88)
4 培养基设计时注意的一些相关问题	(88)
第4节 淀粉质原料的糖化	(88)
1 淀粉水解原理	(88)
2 糖化方法	(89)
第5节 糖蜜原料的处理	(91)
1 糖蜜的来源及特点	(91)
2 糖蜜的处理方法	(92)
第6节 其他原料的处理	(92)
1 纤维素及发酵废液的处理	(92)
2 亚硫酸盐废液的处理	(93)
作业与思考	(95)
第7章 发酵种子的制备	(96)
第1节 种子的扩大培养	(96)
1 种子扩大培养的目的及对种子的要求	(96)
2 种子扩大培养的步骤	(96)
3 种子扩大培养的方法	(97)
第2节 工业发酵种子的制备	(97)

1 实验室种子制备阶段	(98)
2 生产车间种子制备	(99)
第3节 种子质量的控制	(100)
1 影响孢子质量的因素及孢子质量的控制	(100)
2 影响种子质量的主要因素及种子质量的控制	(101)
3 种子质量检查	(104)
4 种子异常的分析	(104)
作业与思考	(105)
第8章 发酵条件的控制	(106)
第1节 发酵条件控制的方法	(106)
1 发酵过程工艺控制的目的	(106)
2 发酵过程研究的方法和层次	(107)
3 发酵过程的中间分析	(108)
第2节 温度的控制	(108)
1 温度对发酵的影响	(108)
2 发酵过程引起温度变化的因素	(109)
3 最适温度的选择和控制	(110)
第3节 发酵过程的 pH 值控制	(111)
1 发酵过程 pH 值变化的原因	(111)
2 pH 值对发酵的影响	(112)
3 pH 值的控制	(112)
第4节 氧的供需	(113)
1 微生物对氧的需求	(113)
2 氧的供需	(114)
3 影响需氧的因素	(115)
4 反应器中氧的传递	(116)
5 影响 $K_L a$ 的因素	(118)
6 溶氧浓度的控制	(120)
第5节 二氧化碳对发酵的影响及控制	(122)
1 二氧化碳的来源	(122)
2 二氧化碳对发酵的影响	(123)
3 二氧化碳浓度的控制	(123)
第6节 发酵过程泡沫的形成与控制	(124)
1 泡沫形成的基本理论	(124)
2 影响泡沫稳定性的因素	(127)
3 消泡剂消泡	(128)
4 破泡剂与抑泡剂的区别	(129)
5 对消泡剂的要求	(129)
6 常用消泡剂的种类和性能	(130)
7 泡沫在发酵过程中的变化	(131)
8 泡沫的控制	(132)
第7节 发酵染菌的检测和防治	(133)

1 染菌对发酵的影响	(133)
2 无菌状况的检测	(135)
3 染菌情况分析	(136)
4 染菌的防止	(137)
5 染噬菌体对发酵的影响	(138)
第8节 基质浓度对发酵的影响及补料控制	(139)
1 基质浓度对发酵的影响	(139)
2 补料控制	(140)
第9节 发酵终点的判断	(141)
作业与思考	(142)
第9章 发酵微生物反应动力学	(143)
第1节 发酵反应动力学的研究内容	(143)
1 发酵动力学的研究目的	(143)
2 研究发酵动力学的作用	(143)
3 研究发酵动力学的步骤	(144)
4 反应动力学描述的简化	(144)
第2节 发酵过程的反应描述	(144)
1 发酵过程的反应描述	(144)
2 发酵过程反应速度的描述	(145)
第3节 分批培养动力学	(146)
1 分批发酵中细胞生长动力学	(146)
2 分批发酵产物形成的动力学	(148)
3 基质消耗动力学	(150)
第4节 连续培养动力学	(151)
1 连续培养的工艺种类	(151)
2 连续发酵类型	(152)
3 连续培养动力学	(152)
作业与思考	(156)
第10章 发酵原料灭菌及空气除菌	(157)
第1节 培养基的灭菌	(157)
1 灭菌方法	(157)
2 培养基的灭菌	(160)
3 培养基的分批灭菌	(163)
4 培养基的连续灭菌	(166)
第2节 空气除菌	(170)
1 过滤除菌原理	(170)
2 空气除菌设备	(171)
3 空气过滤除菌流程	(175)
作业与思考	(177)
第11章 发酵设备	(178)
第1节 发酵设备概述	(178)
第2节 厌氧发酵设备	(179)

1 酒精发酵罐的结构	(179)
2 发酵罐的冷却装置	(179)
3 酒精发酵罐的洗涤	(180)
第3节 通风发酵罐	(181)
1 机械搅拌发酵罐	(181)
2 其他类型的发酵罐	(185)
第4节 发酵罐的放大	(188)
1 几何尺寸放大法	(189)
2 空气流量放大	(189)
作业与思考	(191)
第12章 发酵产品的制备	(192)
第1节 发酵下游技术	(192)
1 微生物发酵下游技术的特点	(192)
2 发酵下游技术的一般过程	(193)
第2节 发酵液的预处理和过滤	(193)
1 发酵液的预处理	(193)
2 发酵液的过滤	(195)
3 细胞的破碎	(196)
第3节 发酵产品的提取与精制	(198)
1 沉淀法	(198)
2 蒸馏	(199)
3 离子交换技术	(199)
4 萃取技术	(201)
5 膜分离法	(202)
第4节 成品加工	(206)
1 浓缩技术	(206)
2 干燥	(206)
3 结晶	(207)
作业与思考	(208)
参考文献	(209)

第1章 发酵工程概论

第1节 发酵工程的定义和发展简史

1 发酵工程定义

发酵工程是利用微生物的特定性状,通过现代化工程技术产生有用物质或直接应用于工业化生产,以把粮食、能源、化学制品、环境保护等课题联系起来的一种技术体系。发酵工程通常也称之为微生物发酵工程。发酵(Fermentation)一词最初来源于拉丁语,是“沸腾”(fervere)的派生词,它描述了酵母菌作用于果汁或麦芽汁产生气泡的现象,或者是指酒的产生过程。“沸腾”现象是由浸出液中的糖在缺氧条件下降解而产生二氧化碳所引起的。生物化学上的发酵为生物在无氧条件下,分解各种有机物质产生能量的一种方式。如葡萄糖在无氧条件下被微生物利用产生酒精并放出二氧化碳,同时获得能量;丙酮酸被还原为乳酸而获得能量等。工业意义上的发酵泛指利用微生物的某种特定功能,通过现代工程技术手段生产人们所需的产品或达到某些特定目的的过程。它包括厌氧培养的生产过程,如酒精、乳酸、丙酮丁醇等的生产,以及通气(有氧)培养的生产过程,如抗生素、氨基酸、酶制剂等的生产。产品既有微生物细胞代谢产物,也包括菌体细胞(如单细胞蛋白)、酶等。

现代发酵工程所利用的活细胞,除传统的微生物外,还有两类生物细胞形态:一是通过基因工程构建的微生物称为“工程菌”,利用这些微生物可以生产人类所需要的产品,其中不乏自然界尚未发现的新型生物工程产品;二是利用某些源于动物、植物细胞或工程细胞来生产的原来从生物很难获得或含量很少的有用产物。因此发酵工程是将传统发酵技术与DNA重组、细胞融合、分子修饰和改造等新技术结合并发展起来的现代发酵技术。

现代微生物发酵工程是在传统微生物发酵基础上建立和发展起来的。但是现代微生物发酵工程有其显著特点:强化了上游的基础研究,渗入了现代生物技术,如基因工程、细胞融合、分子育种等现代生物技术,所构建的“工程种子”用于发酵工业,可产生传统发酵工业不能生产的产品,并提高了发酵工业的经济效益和社会效益;现代发酵工程工艺流程后处理工序自动化程度逐步提高,应用现代计算机优化各个生产单元,使整个生产过程高效化;现代发酵工程生产规模的扩大,所生产的产品量大且质高;上、中、下游各个环节的衔接和配套更趋于合理和有效;现代发酵工程工业化生产后,一般不造成环境污染。现代微生物发酵工程与传统微生物发酵工程的这些差别,必然使其给人类社会作出更大贡献。

2 发酵工程发展史

2.1 发酵现象的早期认识

人类很早就学会了主动利用微生物来为自己的生产和生活服务。4000多年前,我国古

代先民利用自然存在的微生物酿酒，制作酱油、醋、奶酪、面包、馒头和豆腐乳等发酵食品，在当时相当长的时期里，人们根本就不知道微生物的存在，但人们已经巧妙地利用微生物制造食品。显微镜诞生后 200 年，人们一直在进行着各种各样的微小生物的观察，但并没有把微生物的活动和发酵联系起来。直到 1857 年巴斯德通过巴氏瓶(鹅颈瓶)实验观察到加热的肉汁不发酵，不加热时则产生发酵，认识到发酵现象是由微生物活动引起的。之后巴斯德又通过其他一系列实验证明了酒精发酵、乳酸发酵、丁酸发酵是由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。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的，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 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 年毕希纳发现磨碎的酵母仍使糖发酵形成酒精，他把酵母汁中含有的有发酵能力的物质，叫做酒化酶。人们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。

2.2 发酵工程技术的发展史

2.1.1 传统微生物发酵技术——自然(天然)发酵时期

从史前到 19 世纪末，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、酵母、干酪、酸乳等。当时实际上还谈不上发酵工业，而仅仅是家庭式或作坊式的手工业生产。多数产品为厌氧发酵，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。

2.1.2 第一代发酵技术——纯培养技术的建立

1900 ~ 1940 年间，由巴斯德(Pasteur)和科赫(Koch)建立了微生物分离纯化和纯培养技术，人类才开始了人为地控制微生物的发酵进程，从而使发酵的生产技术得到巨大的改良，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，使生产规模扩大了，产品质量提高了，从而建立了真正的发酵工业并逐渐成为化学工业的一部分。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。

2.1.3 第二代发酵技术——深层培养技术

20 世纪 40 年代初，随着青霉素的发现(1928 年弗莱明发现青霉素，1965 年获诺贝尔医学生理学奖)，抗生素发酵工业逐渐兴起。由于青霉素产生菌是需氧型的，当时只能采用表面培养法生产，因此大规模生产存在很多困难。微生物学家就在厌氧发酵技术的基础上，成功地引进了通气搅拌和一整套无菌技术，建立了深层通气发酵技术。它大大促进了发酵工业的发展，使有机酸、酶、维生素、激素等都可以用发酵法大规模生产，并且逐渐形成和建立起生物工程学科，与此同时也有力地促进了菌体转化、微生物酶与氨基酸发酵工业的迅速发展。通气搅拌发酵技术的建立是发酵工业发展史上的第二个转折点。

20 世纪 60 年代，随着生物化学、微生物生理学和遗传学的深入发展，科学家在深入研究微生物代谢途径和氨基酸生物合成的基础上，通过对微生物进行人工诱变，得到适合于生产某种产品的突变类型，再在人工控制的条件下培养，即利用调控代谢的手段进行微生物菌种选育和控制发酵条件，从而大量生产出人们所需要的产品。例如，根据氨基酸生物合成途径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型菌株或抗代谢产物结构类似

物的菌株，在控制营养条件的情况下发酵生产，大量积累人们预期的氨基酸。1957 年，日本用微生物生产谷氨酸成功，如今 20 种氨基酸都可用发酵法生产。氨基酸发酵工业的发展，是建立在代谢控制发酵新技术的基础上的。目前，代谢控制发酵技术已用于核苷酸、有机酸和部分抗生素等的生产中。

2.1.4 第三代发酵技术——现代发酵工程

20 世纪 80 年代以后，由于 DNA 体外重组技术的建立，使发酵工业进入了一个崭新的阶段，即以基因工程为中心的生物工程时代，新产品层出不穷。基因工程是采用酶学的方法，将不同来源的 DNA 进行体外重组，再把重组 DNA 设法转入受体细胞内表达，并进行繁殖和遗传下去。这样人们就能够根据自己的意愿将微生物以外的基因构件导入微生物细胞内，从而定向地改变生物形状和功能，创造出“新”的物种，使发酵工业能够生产出自然界生物所不能合成的产物，大大地丰富了发酵工业的范围，使发酵工业发生了革命性的变化。主要产品有胰岛素、干扰素等。

利用基因工程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，只要 10L 的基因工程菌培养液就可得到同样数量的产品。胰岛素是治疗糖尿病的良好药，原来由猪胰脏中提取，生产 100g 胰岛素用 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。

第 2 节 发酵工程的特点和范围

1 发酵工程的特点

微生物发酵工程与化学工程有许多不同的特点。

1.1 生产原料广泛

发酵所用的原料通常以淀粉质、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。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。

1.2 生产主体是微生物

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。

1.3 生产反应条件温和，易控制

发酵过程一般来说都是在常温常压下进行的生物化学反应，反应安全，要求条件简单。

1.4 产物单一，纯度高

发酵过程是通过生物体的自动调节方式完成的，反应的专一性强，因而可以得到较为单一的代谢产物。微生物能够专一性地和高度选择地对某些复杂的化合物进行特定部位的转化反应，也可以产生比较复杂的高分子化合物。

1.5 投资少，效益好

工业发酵与其他工业相比，投资少，见效快，并可以取得较显著的经济效益。

2 发酵工程的范围

2.1 以微生物菌体细胞为产品的发酵工业

以微生物菌体细胞为产品的发酵过程例子很多，如利用酵母生产面包；作为人类或动物的食物的微生物细胞(单细胞蛋白)的制备；作为生物防治的苏云金杆菌以及各种人、畜疾病防治用的疫苗制备等。细胞物质的发酵生产特点是细胞的生长与产物的积累呈平行关系，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。

2.2 以微生物酶为产品的发酵工业

目前工业化生产的酶主要是各种水解酶类，如淀粉水解酶、蛋白水解酶、乳糖酶、青霉素酰化酶等，而非水解酶类除葡萄糖异构酶、葡萄糖氧化酶等少数酶已工业化生产外，多数非水解酶类尚未工业化生产。酶的生产受到微生物本身的严格控制，为改进酶的生产能力可以改变这些控制，如在培养基中加入诱导物和采用菌株的诱变和筛选技术，以消除反馈阻遏作用。

2.3 以微生物代谢产物为产品的发酵工业

以微生物代谢产物为产品的发酵工业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、中间代谢产物和次级代谢产物。对数生长期形成的产物是细胞自身生长所必需的，如氨基酸、核苷酸、多糖、乙醇、丙酮、甘油、有机酸等称为初级代谢产物或中间代谢产物。各种次级代谢产物都是在微生物生长缓慢或停止生长时期即稳定期所产生的，来自于中间代谢产物和初级代谢产物，如各种抗生素、生物碱、生长促进剂等。

2.4 生物转化或修饰化合物的发酵工业

生物转化是指利用生物细胞对一些化合物某一特定部位(基团)的作用，使它转变成结构相类似但具有更大经济价值的化合物。生物转化的最终产物并不是由于营养物质经微生物细胞的代谢后产生的，而是由微生物细胞的酶或酶系对底物某一特定部位进行化学反应而形成的。生物转化可以理解为，将一个化合物经过发酵改造其化学结构。在这里微生物细胞的作用仅仅相当于一种特殊的化学催化剂引起特定部位的反应。转化发酵过程的奇特之处是先产生大量菌体，然后催化单一反应。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等。转化反应包括脱氢、氧化、羟基化、还原、脱羧、氨基化、缩合、脱氨化、磷酸化、同分异构作用等。

2.5 微生物特殊机能的利用

微生物特殊机能的利用包括：

- (1) 利用微生物净化环境；
- (2) 利用微生物保持生态平衡；
- (3) 利用微生物探矿、冶金、石油脱硫；
- (4) 利用微生物基因工程菌株生产动、植物细胞产品。

3 发酵的类型

根据发酵工业的特点和范围,可以将发酵分成若干类型。

3.1 按发酵原料划分

按发酵原料来分,有淀粉质发酵、石油发酵、废水发酵等类型。

3.2 按发酵培养基的物理性状划分

按发酵培养基的物理性状来分,有固态发酵、半固态发酵和液态发酵。液体发酵是指将营养物质溶于(或悬于)液体灭菌后进行培养,液体发酵是目前最普遍采用的方法。制曲是固体发酵的一种,是利用麸皮、米糠或木屑并加入必要营养物质,灭菌后接种培养。由于这些物质疏松便于通气,因此在一定温度、湿度下需氧微生物能良好的生长并产生代谢产物。如果将固体培养基铺成薄层(2~3cm)装盘进行培养,则称为浅盘发酵;如果将固体培养基堆成厚层(30cm)并在培养期间不断通入空气,则称厚层通风制曲。

3.3 按发酵工艺流程划分

按发酵工艺流程来分,有分批式(间歇式)发酵、连续式发酵和流加式发酵等类型。

3.4 按发酵过程对氧的需求划分

按发酵过程中对氧的不同需求来分,有厌氧发酵和需氧发酵两大类型。厌氧发酵的特点是整个发酵过程不需要通入空气,是在密闭条件下进行的,发酵设备比较简单。需氧发酵的特点是在发酵过程中需不断供给氧气(或空气),以满足微生物呼吸代谢。需氧发酵的方法有通气、通气搅拌和表层培养等几种。

3.5 按发酵形式划分

按发酵形式来分,有传统工艺发酵和现代工业发酵两种类型。前者大多是固态发酵,后者大多采用液态深层(需氧)发酵。

3.6 按发酵产物划分

按发酵产物来分,有酒类发酵、氨基酸发酵、有机酸发酵、抗生素发酵、维生素发酵等类型。

第3节 发酵工程的组成

1 发酵工程的组成

习惯上将发酵工程分为上游工程、发酵和下游工程三个部分。上游工程包括微生物菌种的选育。发酵工程包括扩培技术、发酵原料的选择及预处理、灭菌技术、接种技术、最佳工艺条件的选择和控制。下游工程包括发酵产物的分离提取、三废处理、环境工程。

发酵工程的内容包括菌种的选育、培养基的配制、灭菌、扩大培养和接种、发酵过程和产品的分离提纯等方面。

2 发酵工程的步骤

发酵工程分为七个步骤。

- (1)生产用菌种的扩大培养(微生物菌种的选育及扩培技术);
- (2)用作培养菌种及扩大生产的发酵培养基的配制(发酵原料的选择);
- (3)培养基、发酵罐以及辅助设备的消毒灭菌(灭菌技术);
- (4)将已培养好的有活性的纯菌株以一定量转接到发酵罐中(接种技术);
- (5)将接种到发酵罐中的菌株控制在最适条件下生长并形成代谢产物(最佳工艺条件的选择和控制在生物反应器的设计和设备选型;生物传感器等);
- (6)将产物提取并进行精制,以得到合格的产品(发酵产物的分离提取);
- (7)回收或处理发酵过程中产生的废物和废水(三废处理、环境工程)。

2.1 菌种的选育

要想通过发酵工程获得在种类、产量和质量等方面符合人们要求的产品,首先要有性状优良的菌种。最初,人们是从自然界寻找所需要的菌种的,但用这种方法得到的菌种,产量一般都比较低,不能满足工业上的需要。20世纪40年代,微生物学家开始用人工诱变的方法育种,就是用紫外线、激光、化学诱变剂等处理菌种,使菌种产生突变,再从中筛选出符合要求的优良菌种,如不能合成的高丝氨酸脱氢酶的黄色短杆菌就是用这种方法获得的。这种育种方法已在氨基酸、核苷酸、某些抗生素等的发酵生产中获得成功。例如,在1943年刚开始生产青霉素时,青霉素的产量只有20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 左右,经过长期的诱变育种,如今青霉素的产量已达到85000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上。

随着生物技术的发展,生物学家开始用细胞工程、基因工程等方法,构建工程细胞或工程菌,再用它们进行发酵,就能生产出一般微生物所不能生产的产品。例如,将大肠杆菌的质粒取出,连接上人生长激素的基因以后,重新置入大肠杆菌细胞内,然后,用这种带有人生长激素基因的工程菌进行发酵,就能得到大量的人生长激素。

2.2 培养基的配制

在菌种确定之后,就要根据培养基的配制原则,选择原料制备培养基。由于培养基的组成对菌种有多方面的影响,因此,在生产实践中,培养基的配方要经过反复的实验才能确定。

2.3 灭菌

发酵工程中所用的菌种大多是单一的纯种,整个发酵过程不能混入其他微生物(称杂菌),一旦污染杂菌,将导致产量大大下降,甚至得不到产品。例如,如果青霉素生产过程中污染了杂菌,这些杂菌会分泌青霉素酶,将形成的青霉素分解掉。因此,培养基和发酵设备都必须经过严格的灭菌。

2.4 扩大培养和接种

在大规模的发酵生产中,需要将选育出的优良菌种经过多次扩大培养,让它们达到一定数量以后,再进行接种。

2.5 发酵过程

微生物发酵阶段是将已经扩大培养、旺盛繁殖的种子在一定条件控制下继续生长繁殖并积累代谢产物。应该说种子扩大培养和发酵是微生物生命过程中的两个彼此相关的不同阶段,获得大量产品则是发酵的目的。在这个阶段,除了要随时取样检测培养液中的细菌数目、产物浓度等,以了解发酵进程外,还要及时添加必需的培养基组分,以满足菌种的营养需要。同时,要严格控制温度、pH值、溶氧、通气量与转速等发酵条件。这是因为环境条件的变化,不仅会影响菌种的生长繁殖,而且会影响菌种代谢产物的形成。例如,在谷氨酸

发酵过程中，当呈酸性时，谷氨酸棒状杆菌就会生成乙酰谷氨酰胺；当溶氧不足时，生成的代谢产物就会是乳酸或琥珀酸。因此，随时检测影响发酵过程的各种环境条件，并予以控制，才能保持发酵的正常进行。

对发酵条件的控制可以通过发酵罐上的各种装置进行。例如，温度控制可以通过发酵罐上的温度自动测试、控制装置进行检测和调整；对溶氧的控制，可以通过通气量和搅拌速度加以调节；对 pH 值的控制，可以通过加料装置，添加酸或碱进行调节，也可以在培养基中添加 pH 值缓冲液等。20 世纪 60 年代，生物学家将计算机应用到发酵工程中，实现了对温度、pH 值、通气量、转速等的自动记录和自动控制。

2.6 分离提纯

这是制取发酵产品不可缺少的阶段。应用发酵工程生产的产品有两类：一类是代谢产物；另一类是菌体本身，如酵母菌和细菌等。产品不同，分离提纯的方法一般不同。如果产品是菌体，可采用过滤、离心沉淀等方法将菌体从培养液中分离出来，也可以用喷雾干燥的方法直接做成粉剂；如果产品是代谢产物，要根据产物的不同特性，可采用蒸馏、萃取、离子交换等方法进行提取。分离提纯后的产品，还要经过质量检查合格后，才能成为正式产品。

2.7 废物的回收和利用

在工业发酵过程中，经常排放大量废水和下脚料，对环境造成污染和危害。因而，开展工业“三废”处理和综合利用也是工业发酵生产中不可忽视的一环。

第 4 节 发酵工程的应用和发展趋势

1 发酵工程的应用

发酵工程以其生产条件温和、原料来源丰富且价格低廉、产物专一、废弃物对环境的污染小或容易处理等特点，在食品工业、医药工业、农业、冶金工业、环境保护等许多领域得到了广泛的应用，逐步形成了规模庞大的发酵工业。在一些发达国家，发酵工业的总产值占到国民生产总值的 5% 左右。20 世纪 80 年代以来，我国的发酵工业也有了较大的发展。发酵工程应用范围包括：食品工业、酶工业、氨基酸工业、有机酸工业、饲料工业、新材料开发、生物化工、环境保护。下面介绍发酵工程在食品工业和医药工业等方面的应用。

1.1 在食品工业中的应用

发酵工程能为人们提供丰富优质的传统发酵产品，如酒精类饮料、醋酸、面包、氨基酸、酶等，使产品的产量和质量得到明显的提高。人们日常生活中广泛使用的味精、维生素 B2 等也是发酵工程的产品。

发酵工程能生产各种食品添加剂，改善了食品的品质及色、香、味。例如，用发酵方法制得的 L-苹果酸是国际食品界公认的安全型酸味剂，广泛用于果酱、果汁、饮料、罐头、糖果、人造奶油等的生产中。

发酵工程能为解决人类粮食短缺问题开辟新途径。研究表明，微生物含有丰富的蛋白质，如细菌的蛋白质含量占细胞干重的 60% ~ 80%，酵母菌的占 45% ~ 65%，而且它们的