



高等院校生物类专业系列教材



# 发酵工程

FERMENTATION ENGINEERING



主 编 蒋新龙

副主编 李加友 陈宜涛 薛栋升



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS  
浙江大学出版社



高等院校生物类专业系列教材

# 发酵工程

FERMENTATION ENGINEERING

沈维群 主编

李 健 主审

编



ZHEJIANG UNIVERSITY PRESS  
浙江大学出版社

## 图书在版编目(CIP)数据

发酵工程/蒋新龙主编. —杭州:浙江大学出版社,  
2011.1

ISBN 978-7-308-08381-2

I. ①发… II. ①蒋… III. ①发酵工程—高等学校:技  
术学校—教材 IV. ①TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 013642 号

## 发酵工程

蒋新龙 主编

---

丛书策划 樊晓燕 季 峥

责任编辑 季 峥 (really@zju.edu.cn)

封面设计 林智广告

出版发行 浙江大学出版社

(杭州市天目山路 148 号 邮政编码 310007)

(网址: <http://www.zjupress.com>)

排 版 杭州大漠照排印刷有限公司

印 刷 杭州杭新印务有限公司

开 本 787mm×1092mm 1/16

印 张 12

字 数 307 千

版 次 2011 年 2 月第 1 版 2011 年 2 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-308-08381-2

定 价 25.00 元

---

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江大学出版社发行部邮购电话 (0571) 88925591

# 《发酵工程》

编委会

主 编 蒋新龙

# 前 言

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,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。

进入 21 世纪,我国高等教育已从精英教育逐步转向大众教育。将高等教育进一步推向大众化,培养应用型人才,已成为国家人才培养的重要组成部分,尤其是普通高等教育更需要体现应用型。应用型人才的培养要求教师在教授“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。在该教材的编写过程中,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。我们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,同时还充分考虑与微生物学、生物化学、基因工程、分子生物学、生物下游技术、发酵设备等相关学科的相互联系,避免教学内容的过多重复。

本书共 11 章:第 1 章由浙江树人大学蒋新龙、宁波万里学院王志江编写;第 2 章由浙江树人大学张建芬编写;第 3 章由浙江大学陈少云编写;第 4 章由绍兴文理学院沈美编写;第 5 章由浙江中医药大学陈宜涛编写;第 6 章由浙江大学薛栋升编写;第 7 章由嘉兴学院李加友编写;第 8 章由广东石油化工学院刘杰凤编写;第 9 章由蒋新龙编写;第 10、11 章由嘉兴学院冯德明编写。书中的插图由浙江中医药大学葛立军校对修改。全书由蒋新龙统稿。

编者在编写本书时参考了国内外相关的教材和文献资料,引用了一些结论和图表,在此向各位前辈及同行致以衷心的感谢。由于编者的水平有限,加之时间仓促,书中错误和不足之处在所难免。敬请读者赐教指正。

编 者

2010 年 9 月

# 目 录

|                             |    |
|-----------------------------|----|
| 第 1 章 绪论 .....              | 1  |
| 1.1 发酵工程的基本概念 .....         | 1  |
| 1.1.1 发酵与发酵工程的定义 .....      | 1  |
| 1.1.2 发酵工程的内容、发酵方式和特点 ..... | 2  |
| 1.2 发酵工程发展简史 .....          | 5  |
| 1.2.1 传统发酵技术 .....          | 5  |
| 1.2.2 近代发酵技术 .....          | 6  |
| 1.2.3 现代发酵技术 .....          | 6  |
| 1.3 发酵工程的发展前景 .....         | 7  |
| 第 2 章 工业微生物菌种选育 .....       | 9  |
| 2.1 菌种的来源 .....             | 9  |
| 2.1.1 菌种类型 .....            | 9  |
| 2.1.2 菌种的分离筛选 .....         | 11 |
| 2.2 菌种的选育 .....             | 12 |
| 2.2.1 诱变育种 .....            | 12 |
| 2.2.2 原生质体融合育种 .....        | 14 |
| 2.2.3 基因工程育种 .....          | 15 |
| 2.3 生产菌种的保藏 .....           | 17 |
| 2.3.1 生产菌种的衰退与复壮 .....      | 18 |
| 2.3.2 生产菌种的常规保藏方法 .....     | 19 |
| 2.3.3 国内外菌种保藏机构 .....       | 20 |
| 第 3 章 发酵代谢机制 .....          | 22 |
| 3.1 微生物的基本代谢及产物 .....       | 22 |
| 3.1.1 初级代谢及产物 .....         | 22 |
| 3.1.2 次级代谢及产物 .....         | 23 |
| 3.1.3 初级代谢与次级代谢的关系 .....    | 24 |
| 3.2 微生物代谢的调控 .....          | 25 |
| 3.2.1 酶合成的调节 .....          | 25 |
| 3.2.2 酶活性的调节 .....          | 31 |
| 3.2.3 微生物代谢调节的模式 .....      | 34 |

|                             |           |
|-----------------------------|-----------|
| 3.2.4 代谢调控在发酵工业中的应用 .....   | 37        |
| 3.3 微生物发酵动力学 .....          | 40        |
| 3.3.1 微生物发酵动力学一般描述 .....    | 41        |
| 3.3.2 微生物发酵动力学分类 .....      | 43        |
| 3.3.3 微生物发酵动力学模型 .....      | 44        |
| <b>第4章 发酵培养基</b> .....      | <b>56</b> |
| 4.1 发酵培养基的类型及功能 .....       | 56        |
| 4.1.1 按成分不同划分 .....         | 56        |
| 4.1.2 按物理状态不同划分 .....       | 57        |
| 4.1.3 按用途不同划分 .....         | 58        |
| 4.1.4 按微生物种类不同划分 .....      | 60        |
| 4.2 发酵培养基的成分及来源 .....       | 61        |
| 4.2.1 碳源 .....              | 61        |
| 4.2.2 氮源 .....              | 62        |
| 4.2.3 无机盐及微量元素 .....        | 63        |
| 4.2.4 生长因子 .....            | 65        |
| 4.2.5 前体和产物促进剂 .....        | 66        |
| 4.2.6 水 .....               | 67        |
| 4.3 发酵培养基的设计和优化 .....       | 68        |
| 4.3.1 培养基设计原则 .....         | 68        |
| 4.3.2 培养基设计步骤 .....         | 69        |
| 4.3.3 摇瓶水平到反应器水平的配方优化 ..... | 72        |
| 4.4 特殊培养基 .....             | 73        |
| 4.4.1 大肠杆菌高密度发酵培养基 .....    | 73        |
| 4.4.2 动物细胞培养基 .....         | 73        |
| 4.4.3 植物细胞培养基 .....         | 74        |
| <b>第5章 发酵工程无菌技术</b> .....   | <b>76</b> |
| 5.1 消毒与灭菌 .....             | 76        |
| 5.1.1 消毒与灭菌的意义和方法 .....     | 76        |
| 5.1.2 消毒与灭菌在发酵工业中的应用 .....  | 77        |
| 5.2 培养基和设备灭菌 .....          | 77        |
| 5.2.1 加热灭菌的原理 .....         | 77        |
| 5.2.2 影响灭菌的因素 .....         | 81        |
| 5.2.3 灭菌时间计算 .....          | 82        |
| 5.2.4 培养基与设备、管道灭菌条件 .....   | 84        |
| 5.2.5 分批灭菌和连续灭菌比较 .....     | 85        |
| 5.3 空气除菌 .....              | 85        |

|                                     |            |
|-------------------------------------|------------|
| 5.3.1 空气中的微生物与除菌方法 .....            | 86         |
| 5.3.2 介质过滤除菌 .....                  | 87         |
| 5.3.3 空气过滤器类型 .....                 | 88         |
| 5.3.4 空气过滤流程 .....                  | 90         |
| <b>第6章 种子制备及扩大培养 .....</b>          | <b>92</b>  |
| 6.1 种子扩大培养的目的与要求 .....              | 92         |
| 6.1.1 种子扩大培养的目的 .....               | 92         |
| 6.1.2 种子的要求 .....                   | 92         |
| 6.2 种子制备的技术概要 .....                 | 93         |
| 6.2.1 种子制备流程 .....                  | 93         |
| 6.2.2 影响种子质量的因素及控制方法 .....          | 97         |
| 6.3 种子制备过程举例 .....                  | 98         |
| 6.3.1 啤酒酵母的扩大培养 .....               | 98         |
| 6.3.2 谷氨酸生产的种子制备 .....              | 99         |
| 6.3.3 青霉素生产的种子制备 .....              | 100        |
| <b>第7章 生物反应器 .....</b>              | <b>102</b> |
| 7.1 液体好氧发酵罐 .....                   | 102        |
| 7.1.1 机械搅拌通风发酵罐 .....               | 102        |
| 7.1.2 自吸式发酵罐 .....                  | 108        |
| 7.1.3 气升式发酵罐 .....                  | 111        |
| 7.2 液体厌氧发酵罐 .....                   | 113        |
| 7.2.1 酒精发酵罐 .....                   | 113        |
| 7.2.2 啤酒发酵罐 .....                   | 114        |
| 7.3 固态发酵反应器 .....                   | 116        |
| 7.3.1 静态固态发酵反应器 .....               | 117        |
| 7.3.2 动态固态发酵反应器 .....               | 118        |
| 7.4 新型生物反应器 .....                   | 120        |
| 7.4.1 新型液体生物反应器——膜生物反应器 .....       | 120        |
| 7.4.2 新型固态生物反应器——气相双动态固态发酵反应器 ..... | 122        |
| <b>第8章 发酵工艺过程控制 .....</b>           | <b>123</b> |
| 8.1 发酵工艺过程控制概述 .....                | 123        |
| 8.1.1 发酵的相关参数 .....                 | 123        |
| 8.1.2 发酵过程的种类 .....                 | 124        |
| 8.1.3 发酵过程的参数检测 .....               | 126        |
| 8.1.4 发酵过程的代谢调控 .....               | 128        |
| 8.2 温度变化及其控制 .....                  | 130        |

|               |                          |            |
|---------------|--------------------------|------------|
| 8.2.1         | 温度对微生物生长的影响 .....        | 130        |
| 8.2.2         | 发酵过程引起温度变化的因素 .....      | 131        |
| 8.2.3         | 温度对发酵过程的影响及其控制 .....     | 132        |
| 8.2.4         | 最适温度的选择 .....            | 133        |
| 8.3           | pH 变化及其控制 .....          | 134        |
| 8.3.1         | 发酵过程 pH 变化的原因 .....      | 134        |
| 8.3.2         | pH 对发酵的影响 .....          | 135        |
| 8.3.3         | pH 的控制 .....             | 136        |
| 8.4           | 溶解氧变化及其控制 .....          | 137        |
| 8.4.1         | 微生物对氧的需求 .....           | 138        |
| 8.4.2         | 反应器中氧的传递 .....           | 139        |
| 8.4.3         | 溶氧浓度的变化及其控制 .....        | 142        |
| 8.5           | 泡沫的形成及其控制 .....          | 144        |
| 8.5.1         | 泡沫的产生及其影响 .....          | 144        |
| 8.5.2         | 发酵过程泡沫的消长规律 .....        | 145        |
| 8.5.3         | 泡沫的控制 .....              | 146        |
| <b>第 9 章</b>  | <b>发酵工业杂菌污染及防治 .....</b> | <b>149</b> |
| 9.1           | 染菌的影响 .....              | 149        |
| 9.1.1         | 染菌对发酵的影响 .....           | 149        |
| 9.1.2         | 发酵染菌对产品提纯和质量的影响 .....    | 151        |
| 9.2           | 染菌的检测与分析 .....           | 151        |
| 9.2.1         | 发酵染菌率计算 .....            | 151        |
| 9.2.2         | 无菌状况的检测 .....            | 152        |
| 9.2.3         | 染菌原因分析 .....             | 153        |
| 9.3           | 染菌的防治 .....              | 155        |
| 9.3.1         | 防止种子带菌 .....             | 155        |
| 9.3.2         | 防止设备渗漏 .....             | 156        |
| 9.3.3         | 防止培养基灭菌不彻底 .....         | 156        |
| 9.3.4         | 防止空气引起的染菌 .....          | 157        |
| 9.3.5         | 发酵染菌后的措施 .....           | 158        |
| 9.4           | 噬菌体的防治 .....             | 158        |
| 9.4.1         | 噬菌体对发酵的影响 .....          | 158        |
| 9.4.2         | 产生噬菌体污染的原因 .....         | 159        |
| 9.4.3         | 噬菌体污染的检测 .....           | 159        |
| 9.4.4         | 噬菌体的防治措施 .....           | 159        |
| <b>第 10 章</b> | <b>发酵工程的应用 .....</b>     | <b>161</b> |
| 10.1          | 传统发酵产品生产 .....           | 161        |

---

|               |                            |            |
|---------------|----------------------------|------------|
| 10.1.1        | 酒类酿造 .....                 | 162        |
| 10.1.2        | 调味品生产 .....                | 164        |
| 10.1.3        | 微生物发酵制药 .....              | 166        |
| 10.2          | 现代发酵技术与产品 .....            | 167        |
| 10.2.1        | 生物农药 .....                 | 168        |
| 10.2.2        | 生物能源 .....                 | 169        |
| 10.2.3        | 生物冶炼 .....                 | 169        |
| 10.2.4        | 生物催化与转化 .....              | 170        |
| <b>第 11 章</b> | <b>发酵行业清洁生产与环境保护 .....</b> | <b>172</b> |
| 11.1          | 清洁生产的概念及主要内容 .....         | 172        |
| 11.1.1        | 清洁生产的定义 .....              | 172        |
| 11.1.2        | 清洁生产的主要内容 .....            | 173        |
| 11.1.3        | 发酵行业开展清洁生产的重要意义 .....      | 173        |
| 11.1.4        | 发酵行业清洁生产工艺 .....           | 174        |
| 11.2          | 发酵工程在环境保护中的应用 .....        | 177        |
| 11.2.1        | 污水的生物处理 .....              | 177        |
| 11.2.2        | 有机固体废弃物的微生物处理 .....        | 177        |

## 第 1 章

# 绪 论

---

### 1.1 发酵工程的基本概念

#### 1.1.1 发酵与发酵工程的定义

发酵(fermentation)的英文术语最初来自拉丁语“fervere”(发泡、沸涌)这个单词。它是指酵母菌作用于果汁或发芽谷物,产生二氧化碳的现象。被称为微生物学之父的法国科学家巴斯德(Louis Pasteur)第一个探讨了酵母菌酒精发酵的生理意义,将发酵现象与微生物生命活动联系起来考虑,并指出发酵是酵母菌在无氧状态下的呼吸过程,即无氧呼吸,是生物获得能量的一种方式。也就是说,发酵是在厌氧条件下,原料经过酵母等生物细胞的作用,菌体获得能量,同时将原料分解为酒精和  $\text{CO}_2$  的过程。从目前来看,巴斯德的观点还是正确的,但也不是很全面,因为发酵对于不同的对象具有不同的意义。

对生物化学家来说,发酵是微生物在无氧时的代谢过程。而对工业微生物学家来说,发酵是指借助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代谢产物的过程。

如今,人们把利用生物细胞(指微生物细胞、动物细胞、植物细胞、微藻)在有氧或无氧条件下的生命活动来大量生产或积累生物细胞、酶类和代谢产物的过程统称为发酵。

发酵工程是指利用生物细胞的特定性状,通过现代工程技术手段,在反应器中生产各种特定有用物质,或者把生物细胞直接用于工业化生产的一种工程技术系统。发酵工程涉及微生物学、生物化学、化学工程技术、机械工程、计算机工程等基本原理和技术,并将它们有机地结合在一起,利用生物细胞进行规模化生产。发酵工程是生物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优质生产菌种的菌种技术、实现产品大规模生产的发酵技术和获得合格产品的分离纯化技术。其典型工艺流程如图 1-1 所示。

从图中可以看出,发酵工程主要内容包括:发酵原料的选择及预处理,微生物菌种的选育及扩大培养,发酵设备选择及工艺条件控制,发酵产物的分离提取,废弃物的回收和利用等。

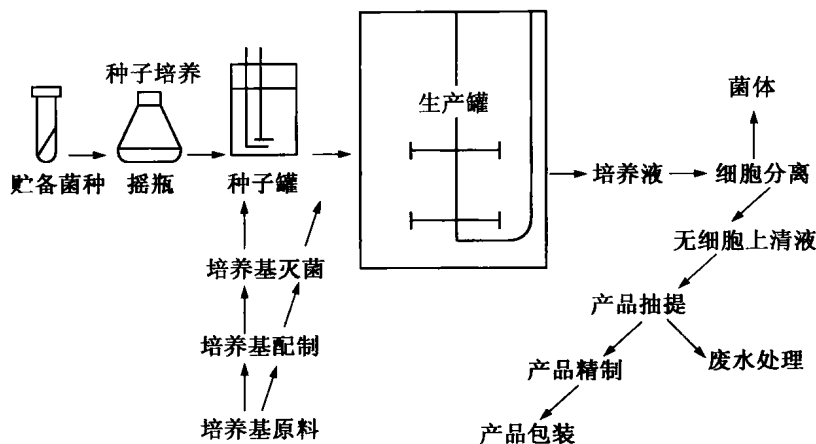


图 1-1 发酵工程的典型工艺流程示意图(参考熊宗贵,2000)

### 1.1.2 发酵工程的内容、发酵方式和特点

发酵工程是生物反应过程,其本质是以生物细胞为催化剂的化学反应工程。但长期以来,发酵工程仍然是微生物工程的代名词。因此,发酵工程的内容和特点也就是微生物工程的内容和特点。

#### 1. 发酵工程的内容

发酵工程主要包括菌种的选育和培养,发酵条件的优化,发酵反应器的设计和自动控制,产品的分离纯化和精制等。发酵工程涉及食品工业、化工、医药、冶金、能源开发、污水处理等领域。发酵工程的产品可大致分为以下几大类:

##### (1) 传统发酵产品

① 发酵食品: 面包、馒头、包子、发面饼、火腿、发酵香肠、豆腐乳、泡菜、咸菜等;② 酒类: 葡萄酒、啤酒、果酒、黄酒、青酒、白酒、白兰地等;③ 发酵调味品: 酱、酱油、豆豉、食醋、酵母自溶物等;④ 发酵乳制品: 马奶酒、干酪、酸奶等。

##### (2) 微生物菌体细胞

① 饲料用单细胞蛋白: 酵母、细菌、藻类、丝状真菌和放线菌等;② 活性益生菌类: 活性乳酸菌、双歧杆菌、食用和药用酵母菌等;③ 大型真菌: 食用菌和药用真菌;④ 微生物杀虫剂: 苏云金芽孢杆菌、虫霉菌、白僵菌等;⑤ 生物增产剂: 固氮菌、钾细菌、磷细菌等。

##### (3) 微生物酶类

包括各种酶类、酶制剂和各种曲类的生产。目前,由微生物生产的工业用酶制剂主要有糖化酶、 $\alpha$ -淀粉酶、异淀粉酶、转化酶、异构酶、乳糖酶、纤维素酶、蛋白酶、果胶酶、脂肪酶、凝乳酶、氨基酰化酶、甘露聚糖酶、过氧化氢酶等。

##### (4) 微生物代谢产物

① 初级代谢产物: 氨基酸、有机酸、有机溶剂、核苷酸、蛋白质、核酸和维生素等;② 次级代谢产物: 抗生素、生物碱和植物激素等。

##### (5) 微生物的转化产物

微生物的产物转化是指利用微生物代谢过程中的某一种酶或酶系将一种化合物转化成含

有特殊功能基团产物的生物化学反应。这种转化一般是通过脱氢、氧化、羟基化、脱水、缩合、脱羧、氨基化、脱氨、异构化等的酶促反应。例如,利用微生物转化技术将甘油转化为二羟基丙酮,将葡萄糖转化为葡萄糖酸,将山梨醇转化为L-山梨糖等;利用微生物细胞将甾体、薯蓣皂甙转化成副肾上腺皮质激素、氢化可的松等。

#### (6) 工程菌发酵产物

生物工程菌的发酵,是指对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。这是一种新型发酵,其产物多种多样,如用基因工程菌生产的胰岛素、生长激素、干扰素、疫苗、血纤维蛋白溶解剂、红细胞生成素等,用杂交细胞生产的用于诊断和治疗的各种单克隆抗体等。

#### (7) 动物、植物细胞大规模培养的产物

如利用木瓜细胞大规模培养生产木瓜蛋白酶,利用紫草单细胞培养技术生产天然食用色素等。

### 2. 发酵方式

发酵是一个错综复杂的过程,尤其是大规模工业发酵,需要采用各式各样的发酵技术,发酵的方式就是其中最重要的发酵技术之一。发酵方式可从多个角度进行分类:根据发酵过程对氧的需求分,发酵分为好氧发酵和厌氧发酵;按发酵培养基的相态分,发酵可分为液态发酵和固态发酵;按发酵培养基的深度或厚度分,发酵分为表面发酵和深层发酵;按发酵过程的连续性分,发酵可分为分批发酵、补料分批发酵和连续发酵;按菌种生活的方式分,发酵分为游离发酵和固定化发酵;按菌种的种类分,发酵分为单一纯种发酵和多菌种混合发酵。在实际工业生产中,大都是将各种发酵方式结合进行的。目前应用最多的是需氧、液体、深层、分批、游离、单一纯种相结合的发酵方式。下面是几种常见的发酵操作方式:

#### (1) 分批发酵

分批发酵也叫间歇式发酵,是指在灭菌后的培养基中按比例接入相应的菌种进行发酵,发酵过程不再添加新的培养基或新的菌种,直至发酵结束的发酵方式。其特点是每次发酵过程都要经过装料、灭菌、接种、发酵、放料等一系列过程,非生产时间长,生产效率低,成本较高。典型的分批式发酵流程如图1-2所示。

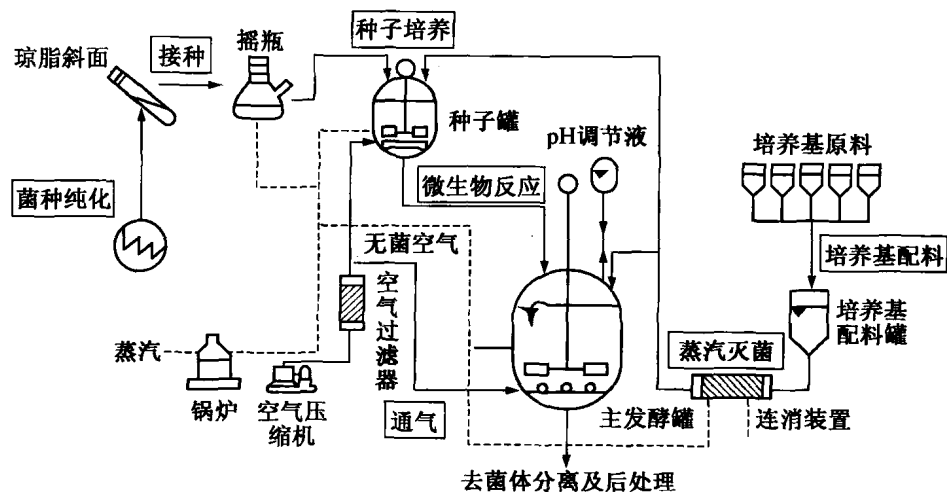


图1-2 典型的分批式发酵流程图(参考韦革宏,2008)

## (2) 补料分批发酵

补料分批发酵即半连续发酵,是指在分批发酵过程中间歇或连续地补加新鲜培养基或某些营养物质的发酵方式。目前,它的应用范围非常广泛,几乎遍及整个发酵行业。补料分批发酵的理论研究在 20 世纪 70 年代以前几乎是空白,在早期的工业生产中,补料的方式非常简单,采用的方式就仅仅局限于间歇流加和恒速流加,控制发酵也是以经验为主。直到 1973 年日本学者 Yoshida 等人提出了“fed-batch fermentation”这个术语,并从理论上建立了第一个数学模型,补料分批发酵的研究才进入理论研究阶段。近年来,随着理论研究和应用的不断深入,补料分批发酵的内容大大丰富了。

和传统的分批发酵相比,补料分批发酵可以有效地减少发酵过程中培养基黏度升高引起的传质效率降低,解除降解物的阻遏和底物的反馈抑制,很好地控制代谢方向,延长产物合成期和增加代谢积累。

## (3) 连续发酵

连续发酵是指以一定的速度向发酵罐内添加新鲜培养基,同时以相同速度流出培养液,从而使发酵罐内的液量维持恒定的发酵过程。连续发酵系统如图 1-3 所示。

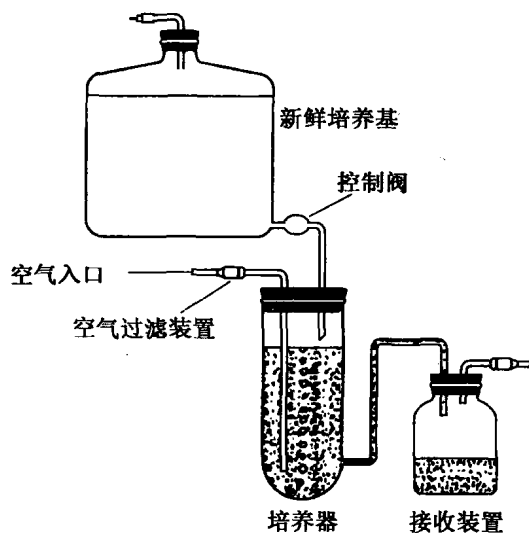


图 1-3 连续培养系统示意图(参考韦革宏,2008)

连续发酵可分为单罐连续发酵和多罐串联连续发酵等方式。其优点有:简化了菌种的扩大培养,缩短了发酵周期,提高了设备利用率,操作管理方便,便于自动化控制,同时,产物稳定,人力物力节省,生产费用低,使产品更具商业竞争力。缺点有:①对设备的合理性和加料的精确性要求甚高;②营养成分的利用较分批发酵差,产物浓度比分批发酵低,产物提取成本较高;③杂菌污染的机会较多,菌种易因变异而发生衰退。

## (4) 固定化酶和固定化细胞发酵

固定化酶和固定化细胞发酵是酶工程中固定化酶技术在发酵工程中的应用。其优势在于固定化酶和固定化细胞可以重复使用,酶活力稳定,反应速率快,生产周期短,产品的分离和提纯也比较容易,易于机械化和自动化。

## (5) 多菌种混合发酵

多菌种混合发酵与传统的混合菌发酵不同。它是指利用两种以上的纯菌种按一定比

例,同时或按顺序接种到同一培养基中进行发酵的过程。它的主要特点是可以形成多菌共生、酶系互补,不但可以提高发酵效率和产品数量、质量,甚至还可以获得新的发酵产品。它是一种不需要进行体外 DNA 重组也能获得类似效果的新型发酵方式。

### 3. 发酵工程的特点

微生物具有种类繁多、繁殖速度快、代谢能力强的特点,而且往往可以通过人工诱变获得有益的突变株。微生物酶的种类也很多,能催化各种生物化学反应。此外,微生物能够利用有机物、无机物等多种营养源,一般可以不受气候、季节等自然条件的限制,通过室内反应器来生产多种多样的产品。因此,从传统的酿酒、酿酱、酿醋等技术上发展起来的发酵工程技术发展非常迅速,而且形成了与其他学科不同的特点:

① 发酵过程以生物体的自身调节方式进行,多个反应就像单一反应一样,在单一发酵设备中完成。

② 反应通常在常温常压下进行,条件温和,能耗少,设备比较简单,对场地要求不高。

③ 微生物本身能有选择性地摄取所需物质,因此,其发酵原料往往比较广泛。原料通常是以糖蜜、淀粉等碳水化合物为主的农副产品,也可以是工业废水或可再生资源,如植物秸秆、木屑等。

④ 容易合成复杂的化合物,能高度选择性地在复杂化合物的特定部位进行氧化、还原、官能团引入等反应。

⑤ 发酵过程中需要防止杂菌污染。生产设备及其附件需要进行严格的冲洗、灭菌,空气需要过滤除菌等。

发酵过程的这些特征体现了发酵工程的种种优点。在目前能源、资源紧张,人口、粮食及污染问题日益严重的情况下,发酵工程作为现代生物技术的重要组成部分之一,得到越来越广泛的应用。

## 1.2 发酵工程发展简史

### 1.2.1 传统发酵技术

人类利用自然发酵现象生产食品已有几千年的历史。酿酒是最传统的发酵技术之一。大约在 9000 年前,就有人开始用谷物酿造啤酒。在 4000 年前的龙山文化时期,我国就出现了黄酒酿造技术。豆酱、醋、豆腐乳、酱油、泡菜、奶酪等传统食品的生产历史也均在 2000 年以上。这些产品都是数千年来人类凭借智慧和经验,在没有亲眼见到微生物的情况下巧妙地利用微生物所获得的。当时,人们不知道发酵的本质,也就不会人为地控制发酵过程,生产只能凭经验,因此这个时期也称作天然发酵时期。现在,传统发酵技术仍然广泛应用于食品生产。

## 1.2.2 近代发酵技术

### 1. 微生物纯培养技术时期

1680年,荷兰商人、博物学家列文虎克(A. Leeuwenhoek)用自己发明制造的显微镜发现了微生物世界,这是人类第一次看到了微生物。19世纪中叶,巴斯德(L. Pasteur)通过实验证明了酒精发酵是由活酵母引起的,并指出发酵现象是微生物进行的化学反应。巴斯德通过一系列发酵现象的研究,发明了著名的巴氏消毒法,并因此被后人誉为微生物学鼻祖、发酵学之父。1872年,布雷菲尔德(Brefeld)创建了霉菌的纯粹培养法,科赫(R. Koch)完成细菌纯粹培养技术,从而确立了单种微生物的纯培养技术,使发酵技术从先前的凭借经验的天然发酵转变为可以靠人类控制和调节的纯培养发酵。

### 2. 深层发酵技术时期

1928年,弗莱明(A. Fleming)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。20世纪40年代,第二次世界大战爆发,由于前线对抗生素的需求量非常大,从而推动了青霉素的研究进度。青霉素发酵从最初的浅盘培养到深层培养,使青霉素的发酵水平从 $40\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 效价提高到了 $200\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。现在常采用通气搅拌深层液体培养, $100 \sim 200\text{m}^3$ 大型发酵罐的青霉素的发酵水平可达 $5 \times 10^4 \sim 7 \times 10^4 \text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。青霉素发酵技术的迅速发展推动了抗生素工业乃至整个发酵工业的快速发展。1944年,人们发现了用于治疗结核杆菌引起的感染的链霉素,随后,又陆续发现金霉素、土霉素等抗生素。此阶段的发酵工程表现出的主要特征是微生物液态深层发酵技术的应用。

## 1.2.3 现代发酵技术

### 1. 代谢调控技术的应用

随着基础生物科学,如生物化学、酶学、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,发酵工程领域的研究及应用有了显著进步,特别是在微生物酶转化技术、微生物人工诱变育种技术以及微生物代谢调控技术等方面取得了可喜的成果。如采用微生物进行甾体化合物的转化技术,成功地将甾体转化成副肾上腺皮质激素、性激素等。如利用代谢调控为基础的新的发酵技术,使野生的生理缺陷型菌株代谢产生谷氨酸。又如可通过人工诱变育种技术,选育获得谷氨酸高产菌株,从而大大提高了谷氨酸产量,实现了谷氨酸的工业化生产。由此也促进了代谢调控理论的研究,推动了其他氨基酸,如L-赖氨酸、L-苏氨酸等的工业化生产步伐。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也可通过代谢调控技术进行发酵生产。

### 2. 基因工程技术的应用

1953年,沃森(J. Watson)与克里克(F. Crick)提出了DNA的双螺旋结构模型,为基因重组奠定了基础。20世纪70年代,人们成功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,人为制造我们需要的“工程菌”,通过“工程菌”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。微生物菌种从过去繁琐的随机选育朝着定向育种转变,从而达到定向改变生物性状与功能的目的,通过发酵工业能够生产出自然界微生物所不能合成的产物,大大地丰富了发酵工业的范围,使发酵技术发生了革命性的变化。

### 1.3 发酵工程的发展前景

生物技术是当前迅速发展的学科产业,世界各国都把它列为发展的重要内容。生物工程包括基因工程、细胞工程、酶工程、蛋白质工程和发酵工程。发酵工程是生物工程的重要内容之一,是生物细胞产物通向工业化生产的必经之路。发酵工程发展至今,经历了半个多世纪,已形成一个产业,即发酵工程产业。当前发酵工程的应用已深入国计民生的方方面面,包括农业生产、轻化业、医药卫生、食品、环境保护、资源和能源开发等领域。随着生物工程技术的发展,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,显示出了强大潜力。

我国发酵工程产业的发展除了要引进和消化吸收国外先进技术之外,更需要具有国际竞争力的专业人才及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 开发和利用微生物资源。首先是设计和开发更多的自动化、定向化、快速化的菌种筛选技术和模型,筛选更多的新型菌种和代谢产物;其次是利用基因工程等先进技术,进行菌种改良。

② 改进和完善发酵工程技术。例如,为了提高生产能力,将发酵工程与固定化技术相结合是发酵生产的一个趋势。将发酵工程与酶工程相结合,会起到更加有效的催化作用。将发酵与提取相耦合是当今的一个热门课题,例如将萃取与发酵相耦合的萃取发酵。超临界  $\text{CO}_2$  萃取发酵以及将膜过滤与发酵相耦合的膜过滤发酵等都会在发酵过程中把产物提取出来,避免反馈抑制作用,以提高产物的产量。生态发酵技术(混合培养工艺)不但可以提高发酵效率和产品数量、质量,甚至还可以获得新的发酵产品,它是一种不需要进行体外DNA重组也能获得类似效果的新型培养技术,它的意义并不逊色于基因工程,其前景也是十分广阔和诱人的。生态发酵技术的类型很多,主要有联合发酵、顺序发酵、共固定化细胞混合发酵、混合固定化细胞发酵等。

③ 研制和开发新型发酵设备。发酵设备正逐步向容积大型化、结构多样化、操作控制自动化的高效生物反应器方向发展。其目的在于节省能源、原材料和劳动力,降低发酵产品的生产成本。

④ 重视中、下游工程的研究。发酵工程的中、下游加工由多种化工单元操作组成。由于生物产品品种多,性质各异,故用到的单元操作很多,如沉淀、萃取、吸附、干燥、蒸馏、蒸发和结晶等传统的单元操作,以及细胞破碎、膜过滤和色谱分离等新近发展起来的单元操作。一些新技术、新工艺、新材料、新设备的使用,大大提高了生物技术产品的产量和质量。但对于高水平的后处理技术和设备的研究还有待加强,尤其是对有关基础理论和应用理论的研究。