

高等职业教育项目课程教材



GAODENG ZHIYE JIAOYU JIAOCAI

• 高等职业教育教材 •

Microbial Technology

微生物工艺技术

邓毛程 金 鹏 主编

王 瑶 朱晓立 副主编



中国轻工业出版社

高等职业教育项目课程教材

微生物工艺技术

邓毛程 金 鹏 主 编
王 瑶 朱晓立 副主编



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物工艺技术/邓毛程, 金鹏主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2011.2

高等职业教育项目课程教材

ISBN 978-7-5019-7931-8

I. ①微… II. ①邓…②金… III. ①微生物学—高等学校: 技术学校—教材 IV. ①Q93

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 221594 号

责任编辑: 江 娟

策划编辑: 江 娟 责任终审: 唐是雯 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 宋振全 责任校对: 燕 杰 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: 北京京都六环印刷厂

经 销: 各地新华书店

版 次: 2011 年 2 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 15.75

字 数: 317 千字

书 号: ISBN 978-7-5019-7931-8 定价: 28.00 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

100163J2X101ZBW

前 言

生物工程是以生物科学和生物技术为基础,结合化学工程、机械工程、控制工程、环境工程等工程科学,研究和发展利用生物体系或其中的一部分生产有益于社会的产品或达到一定社会目标的过程工程学科。它涉及领域宽、涵盖范围广、基础性强。发酵工程是生物工程的基础和重要组成部分,与基因工程、细胞工程和酶工程等相互渗透、相互结合,其迅速发展对生物工程的发展起着重要促进作用,吸引了众多技术人员从事相关的研究与开发。

我国是微生物发酵生产大国,柠檬酸、谷氨酸、酱油、食醋、啤酒、白酒、抗生素和黄原胶等发酵产品的产量均居世界第一位,而其他一些发酵产品的产量每年增长幅度也很可观。但是,我国发酵行业的技术人员数量严重不足,从业人员的职业素质普遍偏低,制约了发酵产业的进一步发展。解决这个制约因素,是我国高职生物技术专业的人才培养任务和发展机遇。因此,有必要根据发酵产业的岗位需求,将现代发酵技术构建成一门核心课程。

本教材的编写理念:根据现代发酵生产岗位的工作内容和发酵类职业技能资格证书的要求,以完成现代发酵生产岗位工作任务所需的职业能力培养为核心,以贯穿性项目为导向组织教材内容,以工作任务为驱动实施教学,采用教、学、练三者结合以练为主的教学方式,将从业所需的技能、知识、态度有机地结合在一起,使学生在完成具体项目的过程中培养职业能力及获取相关理论知识。

本教材是根据高职生物技术类专业的教学需要编写的。由于发酵产品繁多,发酵工艺技术也是多种多样,本书篇幅有限,不能将过多发酵产品生产技术囊括其中,只能选取一些典型的工艺技术作为教学内容,期望通过这些项目的教学,起到举一反三、触类旁通的效果,从而达到能力培养的目的。同时,本教材也可供从事发酵生产、发酵产品研究与开发的技术人员参考。

本教材由六个单元组成:初识微生物工艺技术,项目1培养基的制备,项目2空气除菌与培养基及设备灭菌,项目3菌种选育、保藏与扩大培养,项目4发酵过程控制与染菌处理和项目5发酵产物的提取与精制。

本教材编写人员:广东轻工职业技术学院的邓毛程、朱晓立、王瑶,天津开发区职业技术学院的金鹏。本教材编写分工:邓毛程编写初识微生物工艺技术、项目4、项目5部分内容;金鹏编写项目3;王瑶编写项目1和项目2;朱晓立编

写项目 5 的部分内容。由邓毛程、金鹏担任主编。

由于编者水平有限，书中肯定存在不少错误与不足之处，恳请读者批评指正。

广东轻工职业技术学院 邓毛程

2010 年 8 月 8 日

目 录

初识微生物工艺技术	1
一、发酵产品类型	1
二、发酵工程技术的发展历程、特点与应用	4
三、发酵生产流程与工作任务	10
项目 1 培养基的制备	13
项目 1.1 淀粉双酶法制取葡萄糖	13
项目引导	13
一、淀粉的组成及特性	13
二、淀粉酶解工艺原理	14
三、双酶法制取葡萄糖工艺	15
四、淀粉双酶法制糖的影响因素	17
任务 1 淀粉液化生产的控制	19
任务 2 糖化及后处理生产的控制	20
项目 1.2 谷氨酸生产培养基的配制	20
项目引导	20
一、谷氨酸生产培养基的组成	20
二、生物素用量计算	23
任务 1 种子培养基的配制	23
任务 2 发酵培养基的配制	24
项目 1.3 柠檬酸生产培养基的配制	24
项目引导	24
一、柠檬酸生产培养基的组成	24
二、不同原料的碳氮控制	26
任务 1 种子培养基的配制	26
任务 2 发酵培养基的配制	26
归纳知识	26
一、工业培养基的选择原则与配制要求	26
二、营养基质对发酵的影响及其控制	29
拓展知识 1.1 啤酒酿造原辅料及培养基制备	33
一、啤酒酿造原辅料	33
二、啤酒酿造培养基的制备	34

拓展知识 1.2 白酒酿造原辅料及培养基制备	41
一、白酒酿造原辅料	41
二、白酒酿造培养基的制备	41
拓展知识 1.3 酱油酿造原辅料及培养基制备	43
一、酱油酿造原辅料	43
二、酱油酿造培养基的制备	43
项目 2 空气除菌与培养基及设备灭菌	46
项目 2.1 空气除菌	46
项目引导	46
一、空气除菌的方法	46
二、空气除菌原理	47
三、空气除菌工艺流程	49
任务 1 空气过滤器拆装操作	52
任务 2 空气过滤器灭菌操作	53
任务 3 空气过滤器使用与维护	54
项目 2.2 培养基及设备灭菌	55
项目引导	55
一、灭菌方法	55
二、湿热灭菌的原理	56
任务 1 发酵罐灭菌操作	60
任务 2 培养基实罐灭菌操作	62
任务 3 培养基连续灭菌操作	63
归纳知识	64
一、空气过滤除菌效率及影响因素	64
二、培养基灭菌的影响因素	65
拓展知识 2.1 无菌操作室与微生物检测方法	67
一、无菌操作室的设计要求与使用管理	67
二、空气与培养基的微生物检测方法	69
拓展知识 2.2 灭菌的节能措施与灭菌时间计算	69
一、培养基连续灭菌的节能措施	69
二、培养基灭菌时间计算	70
项目 3 菌种选育、保藏与扩大培养	73
项目 3.1 菌种的选育	73
项目引导	73
一、发酵工业对菌种的要求	73
二、菌种选育的方法	74

任务 1 谷氨酸生产菌的选育	77
任务 2 柠檬酸生产菌的选育	80
项目 3.2 菌种的保藏	82
项目引导	82
一、菌种退化的预防	82
二、菌种的保藏方法	83
任务 1 谷氨酸生产菌的保藏	84
任务 2 柠檬酸生产菌的保藏	86
项目 3.3 菌种的扩大培养	86
项目引导	86
一、种子扩大培养的目的	86
二、种子扩大培养流程	87
任务 1 谷氨酸生产菌的扩大培养	88
任务 2 柠檬酸生产菌的扩大培养	91
项目 3.4 种子移接操作	92
项目引导	92
任务 1 摇瓶种子接入种子罐的操作	93
任务 2 种子罐种子接入发酵罐的操作	94
归纳知识	95
一、诱变育种的影响因素	95
二、菌种扩大培养的影响因素	96
拓展知识 3.1 代谢控制发酵的育种思路	98
一、切断支路代谢	98
二、解除菌体自身的反馈调节	100
三、增加前体物的合成	100
四、提高细胞膜的渗透性	101
五、代谢互锁的利用	102
六、选育条件突变株	102
拓展知识 3.2 啤酒工业中的种子扩大培养技术	102
一、实验室扩大培养	103
二、生产车间扩大培养	103
拓展知识 3.3 酱油工业中的厚层通风制曲技术	104
一、厚层通风制曲流程	105
二、操作要点	105
项目 4 发酵过程控制与染菌处理	109
项目 4.1 谷氨酸发酵过程控制	109

项目引导	109
一、谷氨酸发酵机制	109
二、谷氨酸发酵工艺	115
三、谷氨酸发酵工艺流程与菌体形态变化	117
四、谷氨酸发酵过程控制原理	118
五、谷氨酸发酵指标	126
任务1 溶解氧的控制	127
任务2 温度的控制	133
任务3 pH 的控制	135
任务4 泡沫的消除	137
任务5 补料的控制	139
任务6 放罐操作与发酵转化率的计算	141
项目 4.2 柠檬酸发酵过程控制	142
项目引导	142
一、柠檬酸发酵机制	142
二、柠檬酸发酵工艺流程	144
三、柠檬酸发酵过程控制原理	145
任务1 溶解氧的控制	146
任务2 温度的控制	147
任务3 pH 的控制	147
项目 4.3 发酵染菌的处理	148
项目引导	148
一、染菌造成的异常现象	148
二、染菌的危害	148
三、染菌的检查与判断	150
四、染菌原因分析	151
五、染菌的预防	152
任务1 原罐进行灭菌处理	154
任务2 换罐进行灭菌处理	155
任务3 放罐进行灭菌处理	156
归纳知识	156
一、微生物发酵类型	156
二、影响发酵的其他因素及其控制	158
三、氧的传递及其影响因素	160
拓展知识 4.1 啤酒发酵控制	166
一、啤酒发酵机理	166

二、啤酒发酵的工艺控制	170
拓展知识 4.2 酱油发酵控制	174
一、酱油发酵的基本原理	174
二、酱油发酵的工艺控制	175
项目 5 发酵产物的提取与精制	179
项目 5.1 发酵液的菌体分离	179
项目引导	179
一、发酵产物的类型与发酵菌的特征	179
二、菌体分离的方法	180
任务 1 酵母发酵液的活性酵母分离	186
任务 2 谷氨酸发酵液的菌体分离	187
项目 5.2 发酵产物的沉淀法提取	189
项目引导	189
一、等电点法	189
二、金属盐沉淀法	191
任务 1 谷氨酸的等电点法提取	191
任务 2 柠檬酸的金属盐沉淀法提取	194
项目 5.3 发酵产物的离子交换法提取	195
项目引导	196
一、离子交换树脂的结构与分类	196
二、离子交换树脂的理化性能和测定方法	198
三、离子交换法提取工艺原理	201
任务 1 离子交换法提取谷氨酸	204
任务 2 离子交换法净化粗柠檬酸液	206
项目 5.4 发酵产物的结晶法精制	207
项目引导	207
一、蒸发浓缩的原理与基本流程	207
二、结晶的原理、方法与操作方式	210
三、干燥的原理与方法	214
任务 1 谷氨酸中和液结晶法精制味精	217
任务 2 结晶法精制一水柠檬酸	221
归纳知识	222
一、等电点法提取谷氨酸的影响因素	222
二、离子交换树脂柱提取谷氨酸的影响因素	225
三、结晶的影响因素	226
拓展知识 5.1 啤酒的过滤	228

一、啤酒过滤的目的与基本要求	228
二、啤酒的过滤方式与控制要点	229
三、啤酒过滤的常见流程	230
拓展知识 5.2 α -淀粉酶的盐析法提取	230
一、盐析原理	230
二、影响盐析的因素	231
三、硫酸铵盐析法分离蛋白质	232
四、枯草杆菌 BF-7658 α -淀粉酶的盐析法提取	234
参考文献	237

初识微生物工艺技术

微生物工艺技术是一门以微生物为生产菌种，通过现代发酵工程手段生产人们所需产品的现代工程技术。它是现代发酵工程技术的重要分支，与酶工程技术、细胞工程技术、基因工程技术等共同构成现代生物工程技术体系。

一、发酵产品类型

发酵（fermentation）一词是从拉丁文“fervere”（发泡、沸涌）派生而来，用于描述由果汁、麦芽汁或谷类发酵生产果酒、啤酒、黄酒时产生的 CO_2 气泡而引起的“沸腾”现象。19 世纪中叶，巴斯德（Louis Pasteur）研究了酒精发酵的生理学意义，认为发酵是酵母菌在进行“无氧呼吸”，是“生物体获得能量的一种形式”。从生物化学的能量代谢角度分析，在酒精、乳酸、乙酸、丙酸等厌氧发酵中，有机化合物的分解代谢可为生物体提供能量。但是，随着生物技术的发展，在抗生素、氨基酸、酶制剂、核苷酸等发酵中，人们发现生物代谢产物形成过程包括了无氧过程和有氧过程，同时也涉及了分解代谢和合成代谢过程。因此，从产物代谢角度分析，发酵即“发泡”或“无氧呼吸”的定义是不完整的，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人类所需产品的生物反应过程统称为发酵。

微生物发酵工业产品种类繁多，根据最终发酵产品的类型，可分为四个主要类型：微生物菌体、微生物代谢产物、微生物酶制剂、微生物转化的化合物。

1. 微生物菌体

微生物细胞中蛋白质含量为 40% ~ 80%，可供食用。例如，酵母含有 50% 左右的蛋白质，其中氨基酸含量齐全，还含有 B 族维生素，早在 20 世纪初期面包酵母已形成大规模生产，并被广泛用作人类主食面包、馒头、饼干、糕点等的优良发酵剂和营养剂。微型藻类（简称微藻）是一类分布最广、蛋白质含量很高的微型光合水生生物，其中螺旋藻是目前所知食物营养成分最全面、最充分、最均衡的食品，因而被联合国世界食品协会誉为“明天最理想的食品”，联合国粮农组织（FAO）称之为“二十一世纪的食品”，在我国也被学生营养促进会推荐为五种营养食品之一。

单细胞蛋白又称生物菌体蛋白或微生物蛋白，是指酵母菌、真菌、霉菌、

非致病性细菌等单细胞微生物体内所产生的菌体蛋白质，以单细胞蛋白作为饲料不仅蛋白质含量高，还含有脂肪、碳水化合物、核酸、维生素和无机盐，以及动物机体所必需的各种氨基酸，特别是植物饲料中缺乏的赖氨酸、蛋氨酸和色氨酸含量较高，生物学价值大大优于植物蛋白饲料。20 世纪 60 年代开始，作为动物饲料蛋白来源的单细胞蛋白饲料的研究开发与应用推广备受关注，据联合国粮农组织统计，在 20 世纪末全球的蛋白质短缺量已达 2500 万 t，其发展前景十分广阔。

由于微生物细胞内含有丰富的酶系以及多种经济价值很高的生理活性物质，如一些结构复杂的生化药物和生化试剂产品——辅酶 A、辅酶 I、辅酶 Q、细胞色素 C、凝血质、谷胱甘肽、卵磷脂、麦角固醇和核糖核酸等，可应用于保健品与医药工业。例如，酵母可用来提取制备凝血质、谷胱甘肽、卵磷脂以及辅酶 A 等医药。凝血质适用于各种内外科及妇产科手术和治疗胃、痔、癌及鼻出血。卵磷脂对冠状动脉硬化及神经衰弱有一定疗效。辅酶 A 临床上可用于防治动脉硬化、白血球较少和慢性脉管炎等症。食用菌所含营养物质非常齐全，具有降低胆固醇、增强免疫力、抑制肿瘤、抗衰老、止血、消炎、解毒、润肺、健美、护肤、健脑等功效。我国利用真菌作为药物已有悠久历史，汉代的《神农本草经》记载有灵芝、茯苓、银耳、冬虫夏草等作为药物使用，这些真菌产品均可通过人工培养方式进行生产。

近年来，微生态制剂的研究、开发与应用已成为水产安全和高效养殖的一个新方向。微生态制剂是从天然环境中筛选出来的微生物菌体，经培养、繁殖后制成的含有大量有益菌的活菌制剂。其主要被用作控制和改善养殖水体微生态环境的水质调节和用作促进生长的饵料添加。目前，水产养殖中使用的主要微生态制剂有光合细菌制剂、EM（有益微生物菌群）制剂以及复合微生态制剂等。另外，微生物农药的发现和运用已有半个世纪，作为化学农药的替代品主要包括细菌杀虫剂、农用抗生素、病毒杀虫剂和真菌杀虫剂等。其中，细菌杀虫剂是应用最早的微生物农药，主要是从昆虫病体上分离得到的病原菌，目前已成功开发了某些芽孢杆菌，如苏云金芽孢杆菌、球形芽孢杆菌、金龟子芽孢杆菌等，其作用对象主要是咀嚼式口器的害虫，如鳞翅目、鞘翅目和双翅目等有害农作物昆虫。随着人类环保意识的加强与农业可持续发展的需要，微生物农药的发展前景十分广阔。

2. 微生物代谢产物

微生物利用外界环境中的营养物质，通过包括分解代谢和合成代谢在内的两种紧密相关的物质代谢过程，生产许多重要的代谢产物，因此微生物代谢产物产品很多，大致可分为初级代谢产物和次级代谢产物两大类。发酵代谢产物类型与微生物生长过程密切相关。在细胞生长阶段所产生的代谢产物往往是细胞生长和

繁殖所必需的物质，如各种氨基酸、核苷酸、核酸、有机酸等，这些代谢产物称为初级代谢产物。丝状菌、真菌及产芽孢的细菌都能进行次级代谢，各种次级代谢产物都是微生物生长进入缓慢生长或停止生长时期所产生的，如抗生素、毒素、生物碱、生长促进剂等。次级代谢产物在微生物生长和繁殖的功能多数尚不明确，但对人类却是十分有用的。许多代谢产物具有重要应用价值，工业微生物学家通过改良菌种性能和发酵条件来提高产率，以适应工业生产的需要。

可利用微生物发酵法生产许多种氨基酸，其中以谷氨酸单钠（味精）、赖氨酸、苏氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸等氨基酸产品的产量较大。微生物发酵生产的有机酸产品包括柠檬酸、醋酸、乳酸、葡萄糖酸、衣康酸等，有机溶剂产品包括酒精、丙酮、丁醇等，核苷酸产品包括肌苷、肌苷酸、鸟苷酸等，维生素产品包括核黄素、维生素 C、维生素 B₁₂ 等，多糖产品包括右旋糖酐、多糖 B-1459 等，抗生素产品包括青霉素、链霉素、四环素、土霉素、金霉素、庆大霉素、新霉素、利福霉素等。

3. 微生物酶制剂

酶制剂可由植物、动物或微生物来生产，而通过微生物发酵可大量生产酶制剂，具有动物、植物无法比拟的优点。目前，工业用酶大多来自微生物发酵产生的胞外酶或胞内酶，经提取、精制而得到酶制剂，其种类已有 100 种以上，如 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、异淀粉酶、葡萄糖异构酶、葡萄糖氧化酶、右旋糖酐酶、蛋白酶、纤维素酶、果胶酶、转化酶、蜜二糖酶、柚苷酶、花青素酶、脂肪酶、凝乳酶、氨基酰化酶、天冬氨酸酶、青霉素酰化酶、磷酸二酯酶、天冬酰胺酶等。例如，淀粉酶应用于淀粉糖制品的生产；果胶酶应用于澄清果汁、精炼植物纤维素等；蛋白酶应用于皮革加工、饲料添加剂等；青霉素酰化酶应用于青霉素水解制备 6-氨基青霉素烷酸（6-APA）。此外，还有许多特殊酶制剂在医疗上作为诊断试剂或分析试剂。

4. 微生物转化的化合物

利用微生物细胞中的一种或多种酶作用于某一底物的特定部位（基团），使其转化为结构类似并具有更大经济价值的化合物的生化反应，称为微生物转化发酵。微生物转化的最终产物不是微生物细胞利用营养物质经过代谢而产生，而是微生物细胞中的酶或酶系作用于某一底物的特定部位（基团），进行生化反应而生成，转化反应包括脱氢、氧化、脱水、缩合、脱羧、羟化、氨化、脱氨、异构化等。其特点是特异性强、工艺简单、条件温和、环境污染小。目前，发酵工业中的微生物转化主要用于一些高附加值化合物的生产，如结构类似的同族抗生素、类固醇、前列腺素等的生产。

二、发酵工程技术的发展历程、特点与应用

1. 发酵工程技术的发展历程

发酵工程技术的发展历程大致可分为天然发酵时期、纯培养技术建立时期、深层培养技术建立时期、代谢调控发酵技术建立时期、全面发酵时期、基因工程引入发酵工程时期等六个阶段。

(1) 天然发酵时期 人类进行发酵生产的历史悠久。早在公元前 6000 年, 古代萨马人和巴比伦人已经开始酿造啤酒, 我国利用谷物酿酒的历史至少可追溯到 4000 年前的龙山文化时期, 而酿制酱油、醋等食品在《周礼》中已有记载, 距今也有两千多年的历史。但是, 在 19 世纪末以前, “发酵”的本质及微生物的性质尚未被人们所认识, 人们利用自然接种方法生产酒、醋、酱油、干酪、酸乳等发酵制品, 完全依靠人们积累的实践经验。因此, 这一时期称为天然发酵时期。此时期, 发酵生产处于手工操作、自然发酵的落后状态, 经常被杂菌污染所困扰, 发酵产品质量非常不稳定。

(2) 纯培养技术建立时期 1680 年, 荷兰人列文虎克 (Antony Van Leeuwen - hoek) 制成了能放大 200 ~ 300 倍的显微镜, 通过显微镜观察了污水、牙垢、腐败有机物等, 认识到微生物的存在, 并对杆菌、球菌、螺旋菌等做了正确的描述。19 世纪末 (1850—1880 年), 法国的巴斯德通过实验证明酒精发酵是由于酵母菌的作用, 揭示了发酵是由微生物的活动引起的; 随后, 他对乳酸发酵、酒精发酵、葡萄酒酿造、食醋酿造等进行了研究, 明确了这些不同类型的发酵是由不同形态类群的微生物引起的。在此期间, 巴斯德证明了葡萄酒受到醋酸菌污染而造成酸败, 并发明低温消毒法, 使法国葡萄酒酿造业免受酸败的损失。至今, 酒类等饮料的消毒大多采用巴氏消毒法。由于巴斯德在发酵方面的卓越贡献, 他被誉为“发酵的奠基人”。

1881 年, 德国的罗伯特·科赫 (Robert Koch) 首先发明了固体培养基, 并应用固体培养基分离培养出炭疽芽孢杆菌、结核分枝杆菌、霍乱弧菌等病原细菌, 建立了一套微生物纯培养的技术方法。由于结核菌研究工作相当出色, 科赫在 1905 年获得诺贝尔奖。此外, 丹麦的汉逊 (Hansen) 在研究啤酒酵母时, 建立了啤酒酵母的纯培养方法。

巴斯德、科赫的工作为微生物发酵奠定了坚实基础, 开创了人为控制微生物发酵的时代, 使发酵生产技术得到巨大改进。纯培养技术的建立是发酵工程发展的第一个转折时期, 由于采用了纯种培养技术、无菌操作技术以及简单密闭式发酵罐等, 大大减少了发酵过程中的杂菌污染, 产品质量、发酵效率以及生产规模均得到逐步提高, 从而促进了近代微生物发酵工业的建立。此时期的发酵产品主

要有甘油、柠檬酸、乳酸、丁醇、丙酮等微生物的初级代谢产物。在第一次世界大战中，德国需要大量甘油用于制造炸药，促进甘油发酵进入工业化生产；英国需要大量丙酮制造无烟火药，促进了丙酮-丁醇发酵生产的建立。在这一时期，发酵产品生产过程较为简单，对生产设备的要求不高，规模也不大，但是，随着丙酮-丁醇、甘油等发酵工业的建立，近代微生物发酵工业逐渐成为近代化学工业的一部分。

(3) 深层培养技术建立时期 1929 年英国弗莱明 (Alexander Fleming) 发现能够抑制葡萄球菌的点青霉，其产物被称为青霉素。当时，弗莱明的成果没有引起人们的重视，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，确认青霉素对伤口感染比当时广泛使用的磺胺药更有疗效。20 世纪 40 年代初，第二次世界大战中对于抗细菌感染药物的需求极大，促使英美两国合作对青霉素进行深入研究开发，建立了深层液体培养技术，把通气搅拌技术引入发酵工业。随着抗生素发酵工业的发展，促进了菌体转化、微生物酶制剂、氨基酸等发酵工业的发展，使好氧菌的发酵生产逐渐进入工业化生产道路。深层培养技术明显提高了发酵生产规模、产品质量以及得率，成为现代发酵工业的主要生产方式，这是发酵工程上的一个大飞跃，也是微生物发酵史上的第二个转折点。

(4) 代谢调控发酵技术建立时期 20 世纪 40 年代的时候，还没有代谢控制理论的指导，青霉素发酵生产所用的菌株只能采用自然选择的方法，以 10^{-6} 的突变几率来筛选所谓的高产菌株。随着生物化学、微生物生理学以及遗传学的深入发展，促进了人们对微生物代谢途径的研究，并开始利用代谢控制发酵技术进行选育微生物菌种和控制发酵条件。20 世纪 50 年代，氨基酸发酵工业引进了代谢控制发酵技术，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，获得代谢发生改变的突变株，在控制条件下选择性地大量生产所需的氨基酸。同时，代谢控制发酵技术也在核苷酸、有机酸和抗生素的生产中得以广泛应用。代谢控制发酵技术的建立，是发酵工程发展史上的第三个转折时期。

(5) 全面发展时期 传统的发酵原料主要是粮食、农副产品等，随着代谢控制发酵技术广泛应用，发酵工业发展迅速，需要大量粮食、农副产品等作为发酵原料。20 世纪 60 年代初期，为了解决微生物与人类争夺粮食，微生物学家对发酵原料的多样化开发进行了研究。随着石油微生物的发现，出现了利用烷烃、天然气、石油等作为原料进行发酵，如美国、英国、日本、中国等国家采用烷烃为原料发酵生产单细胞蛋白 (SCP)。发酵原料的改变使发酵技术又进入一个新时期，这是发酵工程发展史上的第四个转折时期。在这个时期，利用了生物合成与化学合成相结合的工程技术生产维生素、新型抗生素，发展了循环式、喷射式等多种发酵罐，发酵生产向大型化、多样化、连续化、自动化等方向发展。

(6) 基因工程引入发酵工程时期 随着现代生物技术，特别是基因工程的

发展,发酵工程技术又有了迅猛的发展。DNA 体外重组技术在微生物育种方面得到实际应用,使得任意生物的特定有用基因组合到特定的微生物基因中去,从而获得新的菌种。这类菌种称为“工程菌”,它能够生产自然界一般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。另外,通过基因工程构建菌种,可以提高一般代谢产物(如氨基酸、抗生素、有机酸、酶制剂等)的产量与质量,并缩短发酵周期和降低成本等。例如,胰岛素是治疗糖尿病良药,原来生产 100g 胰岛素需从 720g 的猪胰中提取,而 1978 年美国采用基因工程菌发酵生产,由 2000L 基因工程菌即可提取等量的胰岛素。又如,20 世纪 80 年代以来,一些发达国家的研究人员纷纷试验将大豆球蛋白基因转导到大肠杆菌中,然后通过发酵工程培养,可生产出大豆球蛋白,且大豆球蛋白产量倍增。若种植大豆获得大豆球蛋白,至少需要一个生长季,而应用“工程菌”发酵只需要 3 天时间就可以生产出大量的大豆球蛋白。基因工程的引入,使发酵工程产生革命性的变化,这是发酵工程发展史上的第五个转折点。

2. 发酵工程技术的特点

生物工程是以生物科学和生物技术为基础,结合化学工程、机械工程、控制工程、环境工程等工程科学,研究和发展利用生物体系或其中的一部分生产有益于社会的产品或达到一定社会目标的过程学科。

生物工程的研究领域包括基因工程、酶工程、细胞工程和发酵工程,构成生物工程的各组成部分之间都不是孤立存在的,而是彼此相互渗透、相互结合的。基因重组技术和细胞融合技术可以创造出许多具有特殊功能的工程菌和超级菌,再通过微生物发酵来生产有用物质。酶工程和发酵工程相结合,可以改善发酵工艺,从而可以提高产品的产量和质量。

发酵工程是利用微生物、动植物细胞和基因工程菌在人工生物反应器中培养而获得产物的工业过程。因此,任何需要经过细胞培养获得的生物技术产品都离不开发酵工程的支持,发酵工程的技术进步将促进生物工程的发展。

发酵工程与生物活动息息相关,具有如下一些显著特征:

(1) 由于生物体具有多种多样的化学活性,可以通过自身调节来完成一系列复杂的生物化学反应,并且反应的专一性强,可以得到较为单一的代谢产物。

(2) 由于生物种类繁多,代谢途径多样化,发酵工业可以为人类提供种类繁多的产品,包括化学工程所不能合成的一些复杂高分子化合物或生理活性物质。

(3) 与化学工程相比,发酵过程一般在常温常压下进行,反应条件比较温和。

(4) 发酵生产培养基一般采用天然培养基或半合成培养基,原料可从农副