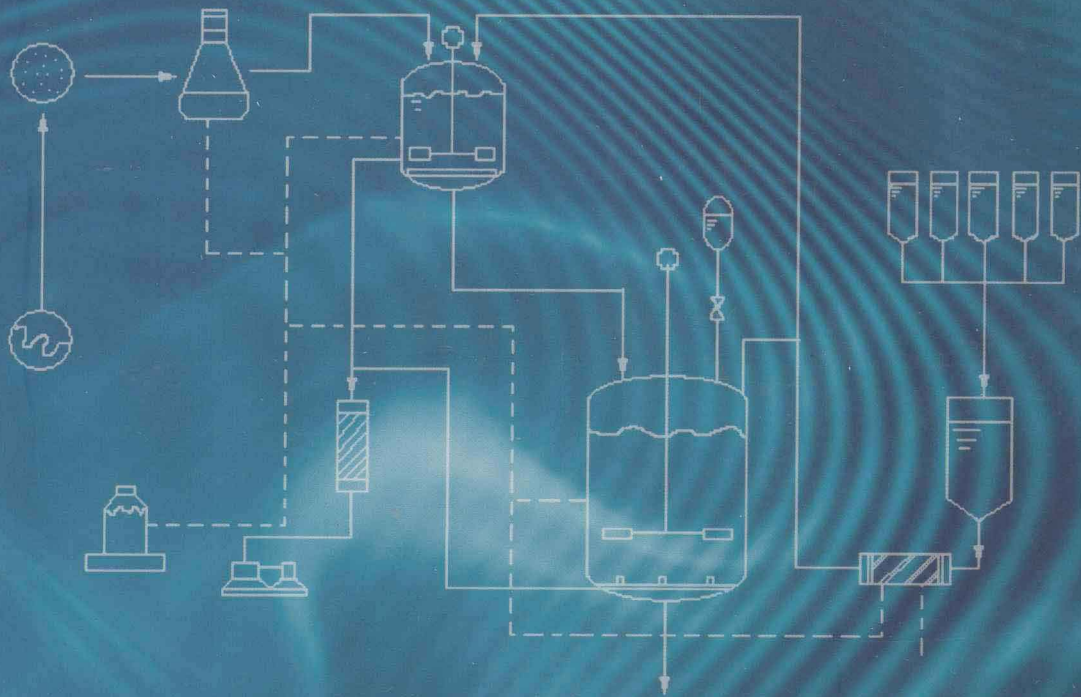


高等学校生物技术、生物工程系列教材

*Principle and Technology of Fermentation Engineering*

# 发酵工程原理与技术

宋存江 主编



高等教育出版社

*Principle and Technology of Fermentation Engineering*

# 发酵工程原理与技术

主 编 宋存江

副 主 编 方柏山 刘建忠

编写人员（按姓氏笔画排序）

方柏山 厦门大学化学化工学院

王 健 吉林大学生物与农业工程学院

王 霞 山东大学生命科学学院

王淑芳 南开大学生命科学学院

乔代蓉 四川大学生命科学学院

刘建忠 中山大学生命科学学院

宋存江 南开大学生命科学学院

辛秀明 北京师范大学生命科学学院

李国强 南开大学生命科学学院

陈振民 华中农业大学生命科学技术学院

黄玉屏 武汉大学生命科学学院

## 内容提要

本书共十七章，全书聚焦发酵工程原理与技术，以菌种/细胞—发酵—分离纯化—产物为主线，涵盖生物学和工程学主题，以传统的微生物发酵与动、植物细胞发酵为主要对象，强化发酵过程的过量生产，生物反应质能平衡，氧气的溶解、传递、测定、影响等基础问题，凝练灭菌、空气除菌、发酵控制和产物分离四项工程，重点介绍分批发酵与补料分批发酵、连续发酵、高密度发酵、工程菌发酵和现代固态发酵五种方式。

本书主要供高等院校生物科学、生物技术、生物工程、生物制药和食品工程等专业本科生作为教学用书，也可作为相关专业的研究生、教师、研究人员及从事生物技术产业的工程人员的参考用书。

## 图书在版编目(CIP)数据

发酵工程原理与技术 / 宋存江主编. — 北京: 高等教育出版社, 2014.2

ISBN 978-7-04-038233-4

I. ①发… II. ①宋… III. ①发酵工程—高等学校—教材 IV. ①TQ92

中国版本图书馆CIP数据核字(2012)第310483号



策划编辑 王莉 赵晓媛 责任编辑 赵晓媛 封面设计 张楠 责任印制 朱学忠

出版发行 高等教育出版社  
社址 北京市西城区德外大街4号  
邮政编码 100120  
印刷 高教社(天津)印务有限公司  
开本 850mm×1168mm 1/16  
印张 22.5  
字数 630千字  
购书热线 010-58581118

咨询电话 400-810-0598  
网址 <http://www.hep.edu.cn>  
<http://www.hep.com.cn>  
网上订购 <http://www.landaco.com>  
<http://www.landaco.com.cn>  
版次 2014年2月第1版  
印次 2014年2月第1次印刷  
定价 39.80元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题，请到所购图书销售部门联系调换  
版权所有 侵权必究  
物料号 38233-00

本书出版特别感谢如下单位和项目的支持和资助  
教育部高等学校生物技术、生物工程类专业教学指导委员会  
国家基础科学人才培养基金 (NO. J1103503)  
南开大学微生物学国家重点学科  
分子微生物与技术教育部重点实验室

数字课程（基础版）

# 发酵工程原理 与技术

登录以获取更多学习资源!

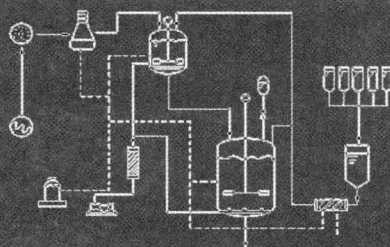
## 登录方法:

1. 访问 <http://res.hep.com.cn/38233>
2. 输入数字课程账号（见封底明码）、密码
3. 点击“LOGIN”
4. 进入学习中心，选择课程

账号自登录之日起一年内有效，过期作废  
使用本账号如有任何问题  
请发邮件至：[lifescience@pub.hep.cn](mailto:lifescience@pub.hep.cn)

## 发酵工程原理与技术

宋存江 等



内容介绍 | 纸质教材 | 版权信息 | 联系方式



### 内容介绍

本数字课程与《发酵工程原理与技术》纸质教材紧密配合，分两个章节着重介绍发酵工程常用微生物、菌种选育与改造等。这些内容是学习本课程的重要基础。

数字课程是对纸质教材的扩展与补充，为教师根据不同的教学目标和需求组织课堂讲授，或学生进行自主学习提供了更大空间。

高等教育出版社版权所有 2013

# <http://res.hep.com.cn/38233>

请在具有 IE 内核的浏览器下访问数字课程。其他浏览器访问，可能造成课程资源无法正常显示。

# 序

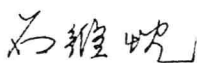
《国家中长期科学和技术发展规划纲要》把生物技术作为科技发展的五个战略重点之一。2012年6月国务院审议通过了《促进生物产业加快发展的若干政策》，提出加快把生物产业培育成为高技术领域的支柱产业和国家的战略性新兴产业。2012年12月国务院发布了《生物产业发展规划》要求进一步推动生物产业发展。培养生物技术专业人才是发展生物产业的前提，教材和参考书的编写又是人才培养的基础性工作。

与“发酵工程原理与技术”有关的教材和参考书国内已经出版多种，但大多是针对工科院校专业学生或工科背景技术人员而编写。因而缺少更适合于理科高校开设发酵工程课程或理科背景从事发酵工程系统而全面介绍当代发酵工程原理与技术的教材或参考书。高等教育出版社出版的本教材由南开大学、武汉大学、华中农业大学、中山大学、厦门大学、山东大学、四川大学、吉林大学和北京师范大学等重点理科院校教学与科研一线的相关教师共同编写。编写人员具有丰富的教学和科研经验，充分把握理科院校开设发酵工程课程的特点；在课堂教学、综合性研究型实验、深入科研和生产实地的实践教学过程中，积累了大量贴近实际、借鉴性强的现代发酵工程的实例与素材，这些内容在本书的编写中得到了体现。书中反映了发酵工程领域的基本理论、基本技术、基本规律和他们自己的宝贵经验及有关领域的最新成果。该教材内容系统性强，符合发酵工程的学科规律；内容全面、深入浅出、新颖实用。适于作为理科院校开设发酵工程课程的教材，也可作为理科背景从事发酵工程人员系统学习和技术工艺研发的参考书。

中国发酵工业协会主要职能是推广新产品、新工艺、新技术、新材料、新设备，开拓技术市场，进行技术咨询服务和组织生物技术发酵制品进出口业务，接受政府委托、承办质量监督检验、质量标准制定，开展行业经济技术交流和人才与技术培训等。协会将按照国家产业政策，积极为政府、行业服务，为大专院校提供科研成果转化平台，为行业培养和推荐德才兼备的人才。让我们为推动我国生物发酵产业的发展而共同努力！

值此书出版之际，特书此以为序。

中国生物发酵产业协会

理事长 

2013年12月20日

# 前 言

生物产业已列入国家战略性新兴产业。以生物农业、生物医药、生物能源、生物环境和生物制造为代表的生物技术产业在国民经济中发挥着越来越重要的作用。发酵工程作为生物技术的核心内容之一，是生物技术、生物工程、生物制药和食品工程等专业人才培养的重要内容之一。

发酵工程是利用微生物或动、植物细胞的生长繁殖、代谢活动和特定功能，通过现代化工程技术生产有用物质或直接应用于工业化生产的技术体系；是将传统发酵与现代的 DNA 重组、细胞融合、分子修饰和改造、基因组精简与优化等新技术结合并逐步完善而发展起来的现代发酵理论与技术。

在漫长的生物进化过程中，动、植物细胞和微生物菌种已经建立了完善的生长繁殖、营养利用、代谢产物合成与调控机制。它们从不过量合成自己所不需要的代谢产物。因此，人们过量生产某些代谢产物的发酵过程，对于生产用动、植物细胞和微生物菌种而言，是一种“病态”过程。

一个“完美”的发酵生产过程应该具备以下几个方面：① 动、植物细胞或微生物菌种具有优良的高产或强降解性状，涉及动、植物细胞或微生物菌种的改造；② 具有最佳的生长、发育、繁殖和积累代谢产物的场所，即优良的生物反应器；③ 具有动、植物细胞或微生物菌种所需的各种最适营养物和最佳培养条件；④ 全程满足动、植物细胞或微生物菌种生长、发育、繁殖和积累代谢产物的各种需要，主要指发酵过程的控制包括“软件”与“硬件”设施；⑤ 具有最佳的过程在线检测手段和改善发酵过程的措施，包括在线检测系统、补料系统和通气系统等；⑥ 具有最大化地从发酵液中分离、纯化出目的产物的方法及其配套的仪器和设施。

“发酵工程原理与技术”是横跨“理”、“工”两科的理论与技术体系，包括以动、植物细胞和微生物菌种的分子改造与构建为代表的生物学主题，涉及发酵反应器和发酵动力学的工艺设计和中试放大为代表的工程学主题。随着生物技术的不断发展，动物细胞重组蛋白与植物细胞发酵产品的广泛应用，原本主要以微生物作为研究对象的发酵工程得以拓展，发酵工程理论与技术体系逐步趋于完善。这是本教材所强调的两大主题与两类对象。

打破动、植物细胞与微生物菌种的固有规律，使其按照人们的意志进行生产，就必须研究它们“过量生产”的内在规律，研究“生物反应的质能平衡”；对于好氧发酵而言，氧气的溶解、传递、测定和对发酵过程的影响至关重要。这些内容构成了本教材的三大基础。

发酵生产中的灭菌与空气除菌是保证发酵过程顺利进行的重要措施；掌握不同发酵过程的规律，应对发酵过程中各种变化，满足细胞或菌种的需要是发酵控制工程的核心。同时，行之有效的产物分离与纯化方法是获得发酵产品的保证。以上内容构成了本教材的四项工程，即：灭菌工程、空气除菌工程、发酵控制工程和产物分离工程。

目前，发酵工业生产采用最多的方式为补料分批发酵与阶段性连续发酵。重组蛋白的发酵生产已广泛采用工程菌株，某些产品使用高细胞密度发酵获得了很好的经济效益。另外，传统的固态发酵方式越来越被研究者和生产者所接受。与此同时，在实验室中开展发酵工程研究采用最多的方式仍然为分批发酵。因此，分批发酵和补料分批发酵、连续发酵、高细胞密度发酵、工程菌发酵和现代固态发

## 前 言

酵是发酵工程中最重要五种基本方式。

本书是专为理科院校开设发酵工程课程而编写的教材，由南开大学、武汉大学、华中农业大学、中山大学、厦门大学、山东大学、四川大学、吉林大学和北京师范大学9所重点理科院校教学一线的教师共同编写。编写人员具有丰富的科研和教学经验，充分了解理科院校开设工科类课程的特点。他们在课堂教学、综合性与研究型实验、深入科研与生产一线，特别是发酵产品产业化的实践教学过程中，积累了大量贴近实际、借鉴性强的现代微生物发酵工程的实例与素材，这些内容在本书的编写中得到了充分的体现。

全书共十五章，第一、五、九章由宋存江教授编写；第二章第一节由南开大学李国强副教授编写；第二章第二节与第四章由吉林大学王健副教授编写；第三章由北京师范大学辛明秀副教授编写；第六、第十二章由厦门大学方柏山教授编写；第七、八章由四川大学乔代蓉教授编写；第十章由华中农业大学陈振民副教授编写；第十一章由山东大学王霞副教授编写；第十三、十四章由中山大学刘建忠教授编写；第十五章由南开大学王淑芳和宋存江教授编写。另外，鉴于教师在授课初期，都要对发酵工业常用微生物、菌种选育与改造进行复习与归纳讲解，因此本教材增加了附第一章（发酵工业常用的微生物）和附第二章（发酵生产菌种的选育及其改造），由武汉大学黄玉屏副教授编写。由于篇幅所限，这两章内容在本书数字课程中呈现，供读者阅读与参考。本教材主编为宋存江教授，方柏山教授和刘建忠教授担任副主编。

感谢南开大学发酵工程课程组的全体老师！感谢刘如林教授在教材编写过程中给予的建议和帮助！感谢南开大学环境微生物与微生物催化合成研究室全体师给予的帮助！感谢高等教育出版社吴雪梅主任，王莉、赵晓媛等编辑对出本书出版付出的辛勤劳动。

生物技术发展日新月异，由于编者水平所限，错误和不足之处在所难免，恳请广大读者予以批评指正，以便再版时更正。

编 者

2013年8月于天津南开园



# 目 录

第一章 绪论 .....	1	一、种子培养基和培养条件 .....	44
第一节 基本概念 .....	1	二、种子制备工艺 .....	45
一、生物技术与发酵工程的概念 .....	1	三、种子质量的控制措施 .....	47
二、发酵工程的研究内容 .....	3	第三节 发酵培养基 .....	48
第二节 发酵过程的特点及其发展简史 .....	6	一、发酵培养基的一般特点 .....	48
一、发酵反应过程的特点 .....	6	二、发酵培养基的组成与制备 .....	48
二、发酵工程的简略历程 .....	8	三、发酵培养基的设计和优化 .....	51
第三节 发酵工程的任务和发展方向 .....	9	第四节 发酵过程的中间分析 .....	53
一、发酵工程的任务 .....	9	一、中间分析项目 .....	54
二、发酵工程的发展方向 .....	10	二、发酵终点的判断 .....	57
第二章 微生物反应的质能平衡与 代谢产物的过量生产 .....	12	第四章 微生物发酵动力学 .....	59
第一节 微生物反应的质能平衡 .....	12	第一节 数学模型 .....	59
一、微生物反应物的化学式 .....	12	一、微生物反应速率的数学模型 .....	59
二、微生物反应方程式的确定 .....	14	二、动力学模型分类 .....	59
三、微生物反应的质能平衡 .....	17	三、建立数学模型的一般原则 .....	61
第二节 代谢产物的过量生产 .....	20	第二节 微生物的生长速率 .....	62
一、微生物的代谢调控 .....	20	一、单一细胞的生长 .....	62
二、提高初级代谢产物产量的方法 .....	27	二、细胞生长速率与比生长速率 .....	63
三、提高次级代谢产物产量的方法 .....	32	三、Monod 生长动力学模型及其推广 .....	64
四、提高高产菌种的稳定性和改进发 酵产品的品质 .....	33	四、有抑制的细胞生长速率 .....	66
第三节 生物发酵的基本过程 .....	36	五、多底物模型 .....	67
第一节 生物发酵简述 .....	36	第三节 底物消耗 .....	68
一、发酵类型 .....	36	一、底物消耗动力学 .....	68
二、发酵的一般过程和操作方式 .....	39	二、底物消耗速率与比消耗速率 .....	69
三、发酵过程的代谢特征 .....	40	三、包括维持能的底物消耗速率 .....	69
四、主要技术经济指标 .....	41	四、包括产物生成的底物消耗速率 .....	70
第二节 种子扩大培养 .....	44	五、氮源的消耗及碳氮比 .....	71
		六、氧消耗速率 .....	71
		第四节 代谢产物生成 .....	73
		一、代谢产物生成速率 .....	73
		二、产物生成动力学 .....	73

第五节 动力学参数的确定 .....	75	第二节 现代固态发酵与其他形式 发酵的区别 .....	132
一、最大比生长速率 $\mu_{\max}$ 和 饱和常数 $K_s$ 的确定 .....	75	一、现代固态发酵与传统固态 发酵的区别 .....	132
二、生长关联模型中 $\alpha$ , $\beta$ 的确定 .....	77	二、现代固态发酵与液态 发酵的区别 .....	133
第六节 发酵过程模拟与计算机 在线优化控制 .....	78	第三节 现代固态发酵技术及反应器 .....	135
一、菌体生长的模拟与优化 .....	78	一、混合固态发酵技术 .....	135
二、产物合成的模拟与优化 .....	79	二、静态密闭式固态发酵技术 .....	137
第五章 分批发酵、补料分批发酵和 高细胞密度发酵 .....	81	三、动态密闭式固态发酵技术 .....	140
第一节 分批发酵 .....	81	四、气相双动态固态纯种发酵技术 .....	143
一、分批发酵操作工艺 .....	82	五、吸附载体固态发酵技术 .....	146
二、分批发酵中的菌体生长规律 .....	83	第四节 三个固态发酵应用的案例 .....	149
三、分批发酵过程中的代谢变化 .....	86	第八章 基因工程菌株发酵 .....	154
四、分批发酵过程最优化 .....	88	第一节 工业化生产的基因工程菌株 应具备的条件 .....	154
五、分批发酵的生产率 .....	92	第二节 基因工程菌的发酵 .....	155
第二节 补料分批发酵 .....	93	一、基因工程菌株的培养操作及其 发酵设备 .....	155
一、补料分批发酵的适用范围和 不同类型 .....	94	二、基因工程菌株的高密度发酵 .....	156
二、物料的流加方式及其控制 .....	95	第三节 基因工程菌株的发酵生产 案例 .....	159
三、补料分批发酵的动力学 .....	96	第九章 发酵过程中氧的溶解、传递、 测定及其影响因素 .....	167
第三节 高细胞密度发酵 .....	98	第一节 氧的溶解和微生物的耗氧 .....	167
一、概述 .....	98	一、氧在液体中的溶解与微生物 对氧的需求 .....	167
二、影响高细胞密度发酵生产的因素 .....	99	二、微生物的摄氧速率 .....	168
三、高细胞密度发酵的模式及控制 .....	102	三、微生物对溶氧浓度的适应性 .....	169
第六章 连续发酵 .....	105	四、影响微生物需氧量的因素 .....	169
第一节 罐式连续发酵 .....	105	第二节 培养液中氧的传递 .....	169
一、单罐连续发酵 .....	106	一、氧在液体中的溶解特性 .....	170
二、多罐串联连续发酵 .....	110	二、发酵液中氧的传递 .....	170
第二节 管式(塔式)连续发酵 .....	113	三、氧传递方程式 .....	171
第三节 膜连续发酵 .....	114	四、发酵罐的溶氧系数 .....	172
第四节 连续发酵的实际应用 .....	114	第三节 影响供氧的因素 .....	173
一、连续发酵与分批发酵的比较 .....	114	一、影响氧传递推动力的因素 .....	173
二、连续发酵的设计 .....	115	二、影响体积传递氧系数 $K_L a$ 的因素 .....	174
三、连续发酵在工业中的运用 .....	117	三、影响氧溶解的其他因素 .....	177
第七章 微生物的现代固态发酵 .....	121	第四节 溶解氧、摄氧率及溶氧系数的 测定 .....	178
第一节 现代固体发酵及应用 .....	121		
一、现代固体发酵 .....	121		
二、现代固态发酵的应用 .....	127		

一、溶解氧的测定方法 .....	179	五、影响培养基灭菌的因素 .....	234
二、摄氧率 $\gamma$ 的测定原理与方法 .....	180	第二节 分批灭菌的设备与计算 .....	237
三、氧传递系数的测定 .....	181	一、分批灭菌操作的要点 .....	237
第十章 发酵控制工程 .....	183	二、分批操作的计算 .....	238
第一节 温度对发酵的影响及其控制 .....	184	第三节 连续灭菌的设备与计算 .....	241
一、发酵热 .....	184	一、连续灭菌流程及设备 .....	241
二、发酵热的测定 .....	185	二、连续灭菌时间的计算 .....	248
三、温度与发酵的关系 .....	186	第十二章 空气除菌工程 .....	250
四、最适温度的选择与控制 .....	188	第一节 空气除菌的方法 .....	250
第二节 pH 对发酵的影响及其控制 .....	190	一、通风发酵对无菌空气的要求 .....	250
一、pH 对菌体生长和产物合成的影响 .....	190	二、空气除菌方法 .....	251
二、影响发酵 pH 变化的因素 .....	192	三、过滤除菌的原理 .....	251
三、最适 pH 选择 .....	193	四、深层过滤效率和过滤器的计算 .....	253
四、发酵过程中 pH 的控制 .....	195	第二节 过滤除菌的流程与设备 .....	255
第三节 溶解氧对发酵的影响及其控制 .....	197	一、空气过滤的工艺要求 .....	255
一、发酵过程中溶解氧浓度的变化 .....	198	二、过滤除菌设备结构与过滤介质 .....	257
二、影响液相体积氧传递系数 $K_L a$ 的因素 .....	201	第十三章 发酵设备及其检测与控制 .....	265
三、溶解氧浓度的控制 .....	201	第一节 通风发酵设备 .....	265
第四节 基质浓度对发酵的影响及补料控制 .....	204	一、通用式发酵罐 .....	265
一、基质浓度对发酵的影响 .....	204	二、机械搅拌自吸式发酵罐 .....	270
二、补料对发酵的影响及其控制 .....	210	三、气升式发酵罐 .....	271
第五节 泡沫控制 .....	215	四、喷射自吸式发酵罐 .....	272
一、泡沫的形成和性质 .....	216	第二节 厌氧发酵罐 .....	273
二、发酵过程中泡沫的消长规律 .....	216	一、乙醇发酵罐 .....	273
三、发酵过程中泡沫的控制 .....	218	二、啤酒发酵设备 .....	274
第六节 杂菌与噬菌体的防治 .....	221	三、废水的厌氧处理生物反应器 .....	277
一、杂菌污染的原因与防治 .....	221	第三节 机械搅拌与搅拌功率 .....	280
二、噬菌体污染的防治 .....	224	一、搅拌器 .....	280
三、生产技术管理对染菌防治的重要性 .....	226	二、搅拌流型 .....	282
第十一章 发酵工程中的灭菌工程 .....	228	三、搅拌功率 .....	282
第一节 湿热灭菌原理 .....	228	第四节 发酵罐放大 .....	283
一、灭菌的原理和方法 .....	228	一、几何相似放大 .....	284
二、微生物的热阻 .....	229	二、单位体积搅拌功率相等放大 .....	284
三、理论灭菌时间——对数残留定律 .....	230	三、单位体积培养液空气流量相同原则放大 .....	284
四、灭菌温度与菌死亡反应速率常数的关系 .....	232	四、以空气线速度相同原则放大 .....	285
		五、 $K_L a$ 相等的放大 .....	285
		六、各种放大方法的比较 .....	286
		第五节 发酵过程参数和发酵过程的自动控制 .....	287

## 目 录

一、发酵过程中的参数 .....	287	一、发酵液的预处理 .....	314
二、罐压、温度的检测和自动控制 .....	288	二、培养液的固液分离 .....	315
三、发酵液 pH 的检测和自动控制 .....	289	三、细胞破碎 .....	315
四、发酵液溶氧的检测和自动控制 .....	289	第三节 发酵产品分离和纯化方法 .....	316
五、计算机在发酵过程中的应用 .....	289	一、萃取法 .....	316
六、系统生物学技术在发酵过程 优化与控制中的应用 .....	290	二、沉淀分离技术 .....	321
第十四章 动、植物细胞的 发酵工程 .....	292	三、浓缩技术 .....	323
第一节 动、植物细胞与微生物菌体的 差异 .....	292	四、色谱分离技术 .....	324
一、动、植物细胞与微生物菌体 培养的差别 .....	292	五、膜分离技术 .....	334
二、发酵工业常用的动物细胞 .....	293	六、样品干燥技术 .....	338
三、发酵工业常用的植物细胞 .....	295	附第一章 发酵工业上常用的微生物 ①	
第二节 动物细胞大规模培养 .....	296	第一节 用于发酵工业生产的菌种应满足的 条件	
一、动物细胞的特性 .....	296	第二节 微生物发酵工业上常用的微生物	
二、动物细胞培养技术 .....	296	附第二章 发酵生产菌种的选育及其改造 ②	
三、动物细胞培养用生物反应器 .....	304	第一节 菌种的分离与筛选	
第三节 植物细胞大规模培养 .....	310	第二节 生产中的自然选育、诱变育种和原生 质体融合	
一、植物细胞培养 .....	310	第三节 基因工程菌的构建	
二、植物细胞培养的特性 .....	311	第四节 菌种的保藏	
三、植物细胞培养用反应器 .....	311	主要参考文献 .....	340
第十五章 产品分离与纯化工程 .....	313	索引 .....	341
第一节 发酵产品分离纯化方法简介 .....	313		
第二节 发酵液的预处理、固液分离和 细胞的破碎 .....	314		

# 第一章

## 绪 论

生物技术是应用生命科学研究成果，以人们意志设计，对生物体或生物的成分进行改造和利用的技术。现代生物技术综合了分子生物学、生物化学、遗传学、细胞生物学、胚胎学、免疫学、化学、物理学、信息学、计算机等多学科技术，用于研究生命活动的规律和提供产品为社会服务等。生物技术产业在国民经济中发挥着越来越重要的作用。发酵工程是生物技术的核心内容之一。

### 第一节 基本概念

#### 一、生物技术与发酵工程的概念

##### 1. 生物技术与生物工程

生物技术包括传统生物技术和现代生物技术。传统生物技术指旧有的制造酱、醋、酒、面包、奶酪、酸奶及其他食品的传统工艺；现代生物技术则是指 20 世纪 70 年代末 80 年代初发展起来的，以现代生物研究成果为基础，以基因工程为核心的新兴学科。当前所称的生物技术基本上都是指现代生物技术。生物技术 (biotechnology)，有时也称生物工程 (bioengineering)，是指人们以现代生命科学为基础，结合其他基础学科的科学原理，采用先进的工程技术手段，按照预先的设计改造生物体或加工生物原料，为人类生产出所需要的产品或达到某种目的。因此，生物技术是一门新兴的、综合性的学科。先进的工程技术手段包括：基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程和蛋白质工程等新技术。改造生物体是指获得优良品质的动物、植物或微生物。生物原料则是指生物体的某一部分或生物生长过程产生的能利用的物质，如淀粉、糖蜜、纤维素等有机物，也包括一些无机化学品，甚至某些矿石。为人类生产出所需的产品，包括药物、食品、化工原料、能源和金属等。达到某种目的则包括功能发酵制品的生产，疾病的预防、诊断与治疗，食品的检验，环境污染的检测和治理等。

那么，生物技术和生物工程有区别吗？众所周知，“技术”泛指依据生产实践知识和经验以及自然科学原则而发展起来的各种工艺操作方法和技能；而“工程”是将自然科学的原理应用于工农业生产部门而形成的各种学科的总称。二者是自然科学因生产实践而派生出来的两个分支，技术带有较强自然科学的探索性和首创性，学科归属理科范畴；而工程则重视过程的可操作性和经济上的合理性，学科归属工科范畴。事实上，人们现在已不再刻意地去探究二者的不同了。

##### 2. 发酵工程

发酵 (fermentation) 来自拉丁语“发泡” (fervere)，是指酵母作用于果汁或发芽谷物产生  $\text{CO}_2$  的现象。巴斯德研究了乙醇发酵的生理意义，认为发酵是酵母在无氧状态下的呼吸过程，是“生物获

得能量的一种形式”。即：发酵是在厌氧条件下，糖类化合物在酵母等生物细胞的作用下进行分解代谢、向菌体提供能量，从而得到产物乙醇和 CO<sub>2</sub> 的过程。对于生物化学家来说，它是指有机物分解代谢释放能量的过程。对工业微生物学家而言，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或其代谢产物的过程统称为发酵。现代发酵工程又扩展到了培养动、植物细胞来制得产物的所有过程。

发酵工程 (fermentation engineering) 是利用微生物或动、植物细胞的生长繁殖和代谢活动以及特定功能，通过现代化工程技术生产有用物质或直接应用于工业化生产的技术体系；是将传统发酵与现代的 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；它是渗透有工程学的微生物学和细胞生物学，是现代生物技术产业的基础与核心。例如：利用阿氏假囊酵母 (*Eremothecium ashbyii*) 或棉病囊霉 (*Ashbya gossypii*) 发酵法生产维生素 B<sub>2</sub> (核黄素)；利用黏细菌中纤维堆囊菌 (*Sorangium cellulosum*) 发酵法生产抗肿瘤抗生素埃博霉素；采用连续灌流培养方法以中国仓鼠卵巢细胞 (CHO 细胞系) 表达重组糖蛋白抗血友病因子；1983 年日本三井石油化学公司开发出世界上第一个植物细胞培养的工业化产品红色色素紫草宁；利用活性污泥法进行生活污水或工业污水的净化处理；利用氧化亚铁硫杆菌进行生物淋滤的湿法冶金等。从上述实例就可发现，进行发酵工程的前提条件包括两个重要方面，即：① 应具有合适的生产菌种、工业过程用微生物种源或动物、植物细胞系；② 应具备控制微生物、动物、植物细胞生长、繁殖、代谢的工艺条件和工业过程控制的工艺条件。

大部分以动物、植物、微生物细胞发酵法生产某种代谢物产品的发酵工程是在发酵罐中完成的。图 1-1 是微生物发酵工程的一般流程。但是，发酵工程实施的场所并非全部在发酵罐中，例如：采用对原油具有降解作用和能够分泌表面活性物质的“石油微生物”进行微生物驱油的过程是在油井中；以氧化亚铁硫杆菌和氧化硫硫杆菌进行的湿法冶金（即生物淋滤）是在矿石的作业场等。图 1-2 是黄铜矿矿石生物淋滤的示意图。

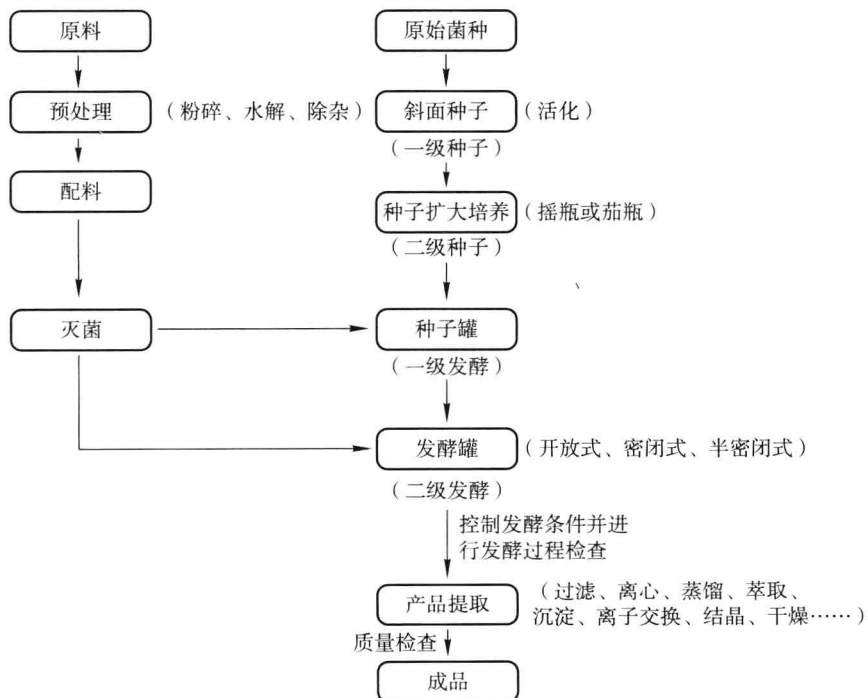


图 1-1 微生物发酵工程的一般流程

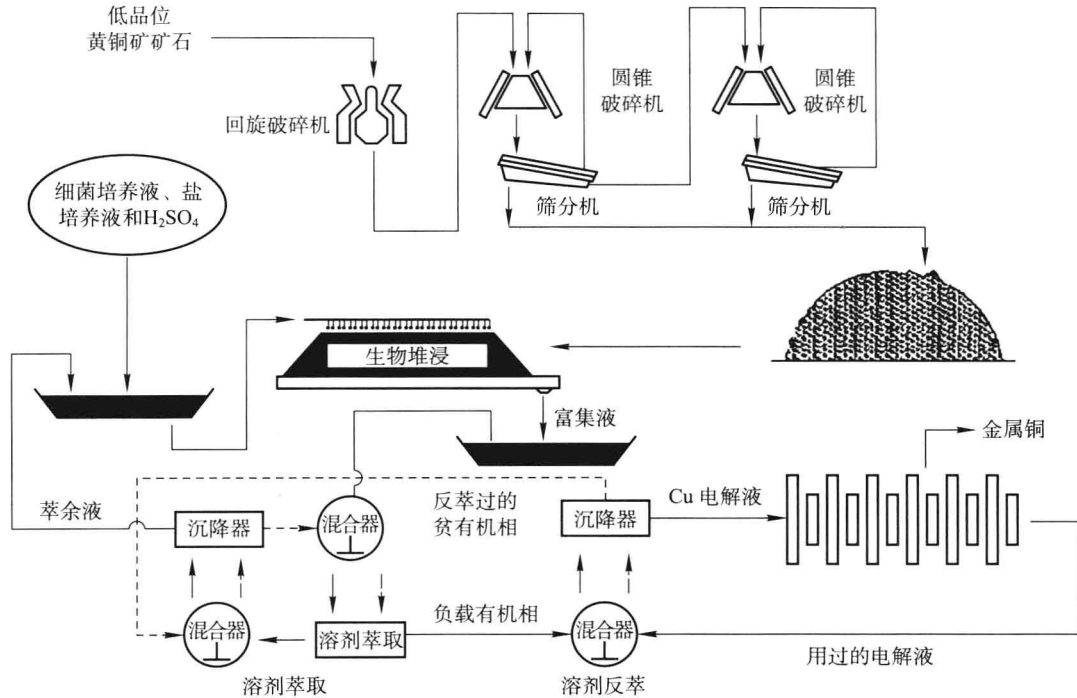


图 1-2 微生物菌群完成生物过程（黄铜矿矿石生物淋滤）示意图

## 二、发酵工程的研究内容

随着生物科学和生物技术的不断发展，发酵工程研究内容不断扩展和充实。但是，研究始终围绕核心问题不断展开，即：如何以最小的投入，通过发酵工程获得最大化的回报，也就是最大化地获得产品或最优化地完成生物过程。这里包括：① 发酵菌种或动、植物细胞的分子改造，以及研究开发新的菌种或动、植物细胞资源；② 发酵设备、发酵过程环境及营养成分的优化；③ 优化发酵工艺过程，优化工艺控制参数；④ 优化下游技术工艺；⑤ 探索低值原料，例如：植物纤维素作为发酵原料与废弃物的资源化，以及发酵过程中的节能减排研究已成为发酵工程研究的主要内容之一。

发酵工程就其是否需要供氧可分为厌氧发酵和好氧（通风）发酵两大类。厌氧发酵包括酒类发酵、乙醇发酵、丙酮丁醇发酵、乳酸发酵和甲烷发酵等。好氧发酵的主要代表有酵母发酵、抗生素发酵、有机酸发酵、酶制剂生产和氨基酸发酵等。目前，采用发酵工艺过程生产的发酵产品已经涉及理、工、农、医等许多方面。

生物发酵过程及其发酵产物的类型可分为以下四大类：

### 1. 获得菌体或细胞的发酵

以获得具有多种用途的菌体为目的的发酵。对动、植物细胞而言，就是获得具有应用价值的大量的培养细胞。即：菌体、细胞发酵（cell fermentation）。

由于微生物菌体本身具有各种不同的用途，因而生产这些菌体也有不同的发酵工艺。例如：利用面包酵母菌（*Saccharomyces cerevisiae*）生产单细胞蛋白（single cell protein, SCP），利用真氧产碱杆菌（*Ralstonia eutropha*）生产生物可降解高分子——聚羟基丁酸酯与聚羟基戊酸酯的共聚物 [poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate), PHBV]，利用趋磁细菌（magnetotactic bacteria）生产磁性材料——趋磁细菌的纳米磁小体（magnetosomes），香菇类、依赖虫蛹而生存的冬虫夏草菌，以及与天麻共生的密环菌等药用真菌。微生物杀虫剂——苏云金芽孢杆菌的菌体发酵也属于此类。迷迭香酸可以从鞘蕊花属植物中提取，但是，采用鞘蕊花属植物细胞培养进行生产比从整个植株

栽培得到的产量要高出 8 倍。植物细胞培养中可用来生产人参及其活性成分的发酵属于此类发酵。英国 Celltech 公司采用气升式生物反应器发酵培养杂交瘤细胞生产单克隆抗体的发酵亦属于此类发酵。

## 2. 获得代谢产物的发酵

代谢产物包括初级代谢产物和次级代谢产物。细胞将从外界吸收的各种营养物质，通过分解代谢和合成代谢生成维持生命活动的物质和能量的过程，称为初级代谢，这一过程的产物即为初级代谢产物。主要是与细胞生长有关的产物，如氨基酸、核酸、蛋白质、糖类化合物以及与能量代谢有关的副产物，诸如乙醇、丙酮、丁醇等。利用大肠杆菌 H-7256 (*Escherichia coli*) 生产 L-苏氨酸就属于获得代谢产物的发酵 (metabolites fermentation)。

次级代谢产物是微生物在一定的生长时期、以初级代谢产物为前体、合成一些对微生物的生命活动无明确功能的物质的过程。这一过程的产物即为次级代谢产物。有人把超出生理需求的过量初级代谢产物也称为次级代谢产物。次级代谢产物包括：抗生素、维生素、激素、生物碱、某些色素、某些胞外聚合物等。例如：利用地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*) 发酵法生产聚谷氨酸 (Poly- $\gamma$ -glutamic acid)。

应用动物细胞生产的产品除了一部分属单克隆抗体外，主要是基因工程中必须用动物细胞进行表达的复杂蛋白质，其中一部分为糖蛋白。例如：① 病毒疫苗，包括口蹄疫、狂犬病和小儿麻痹症等疫苗；② 非抗体免疫调节剂，如干扰素、白介素、B-细胞生长因子和 T-细胞替代因子等免疫调节剂；③ 多肽生长因子，如神经生长因子、成纤维生长因子和血清扩展因子等；④ 酶或酶激活剂，如组织血纤维溶酶原激活剂等；⑤ 激素，红细胞生成素、促黄体生成素和促滤泡素等；⑥ 病毒杀虫剂。如杆状病毒和癌胚抗原等。

通过植物细胞培养可获得的产物包括：① 药品，如阿托品、小檗碱、可待因、薯蓣皂苷配基、吗啡、莨菪胺、紫杉醇和长春花碱等；② 食品色素或染料，如花色素、藏红花和紫草宁等；③ 香料，如茉莉、柠檬、薄荷、玫瑰和檀香等；④ 调味剂，如香草、草莓、葡萄、洋葱和大蒜等；⑤ 甜味剂，如非洲山榄果和金叶素等；⑥ 农业化学制剂，如除虫菊酯、鱼藤酮和噻吩等。

## 3. 微生物细胞进行生物转化以获得转化产物的发酵

生物转化 (biotransformation) 是指利用动植物细胞、微生物细胞或酶对一些化合物的某一特定部位进行催化修饰，使其转变成结构相似但具有更高经济价值的化合物。生物转化的终产物并非是由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对底物进行生物催化 (biocatalysis) 修饰形成的。生物转化反应种类繁多，包括脱氢、氧化、羟化、缩合、还原、脱羧、酰化、脱氨、磷酸化、氨化或异构作用等。微生物生物转化过程具有催化专一性强、效率高、条件温和等特点。发酵工业中有许多重要的转化如甾体转化等。微生物转化反应也广泛用于生产新型抗生素和合成手性药物。微生物生物转化的例证如：以化合物 S (Reichstein compound S, 即  $17\alpha, 21$ -二羟基-4-烯-3, 20-二酮孕甾) 为底物，经过蓝色犁头霉羟化即得到氢化可的松。反应式如图 1-3。

## 4. 微生物群体发酵过程

与普通的生物发酵过程不同，该过程是泛化了的“发酵”过程，它是以完成某些目的性的过程为发酵宗旨，多采用微生物菌群而非单一微生物进行的发酵过程。例如：采用活性污泥法进行生活和工业废水处理的过程，采用嗜酸性氧化亚铁硫杆菌、嗜酸性氧化硫硫杆菌和嗜酸性异养菌组成的混合菌群进行生物淋滤 (即湿法冶金) 的过程。其实，利用酒曲采用固体发酵生产白酒的发酵过程亦属于此。

此外，发酵工程产品的种类越来越多，所涉及的领域也越来越广泛，试归类如下：

- (1) 酿酒工业：如啤酒、白酒、米酒、果酒等。
- (2) 食品工业：如酱、食醋、腐乳、面包、酱油、纳豆和豆豉等。



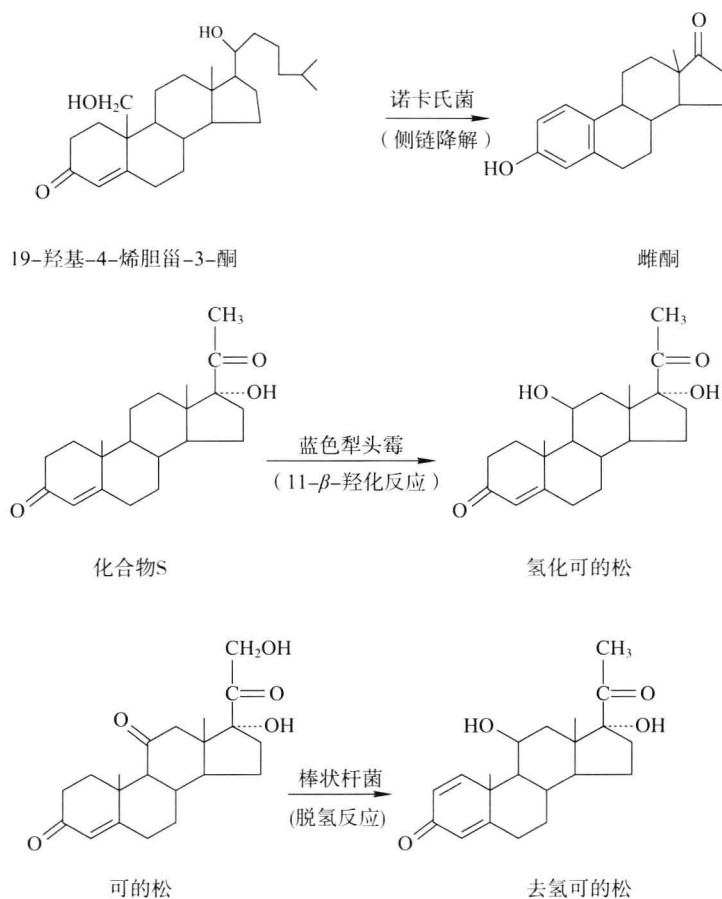


图 1-3 几种微生物进行的生物转化反应

(3) 乳品业：如发酵乳、酸奶、奶酪及其他乳制发酵品等。

(4) 有机溶剂工业如：乙醇、丙酮、丁醇、异丙醇和甘油等。

(5) 抗生素工业：如青霉素、灰黄霉素、链霉素、杆菌肽、制霉菌素、多黏菌素、氯霉素、金霉素、新霉素、土霉素、红霉素、螺旋霉素、四环素、万古霉素、卡那霉素和诺卡霉素等。

(6) 有机酸工业：如柠檬酸、葡萄糖酸、乳酸、乙酸、丙酸、曲酸（5-羟基-2-羟甲基-1,4-吡喃酮）、富马酸、草酸（乙二酸）、己酸、水杨酸、古龙酸、 $\alpha$ -酮戊二酸、苹果酸、赤藓酸、衣康酸和琥珀酸（丁二酸）等。

(7) 酶制剂工业：如淀粉酶、糖化酶、蛋白酶、果胶酶、凝乳酶、纤维素酶、脂肪酶、过氧化氢酶、葡萄糖异构酶、碱性或中性蛋白酶等。除了这些食品与医药工业酶之外，还有医疗与诊断用酶，如胰酶、胰脂肪酶、乳糖酶、溶菌酶、超氧化物歧化酶、菠萝蛋白酶、木瓜蛋白酶、链激酶、胰蛋白酶、尿酸氧化酶、尿素酶、 $\alpha$ -糜蛋白酶、促凝血酶原激酶、L-天冬酰胺酶和羧基肽酶等。

(8) 氨基酸工业：氨基酸为初级代谢产物，可规模生产有L-谷氨酸、L-精氨酸、L-苯丙氨酸、L-赖氨酸、L-苏氨酸、L-缬氨酸、L-亮氨酸、L-异亮氨酸、L-色氨酸、L-组氨酸、谷氨酰胺、鸟氨酸、高丝氨酸和二羟基苯丙氨酸等。

(9) 核苷酸类发酵工业：最早的产品是助鲜剂 [加入到味精（谷氨酸钠）中而成为“特鲜味精”] 的肌苷酸（一磷酸肌苷，IMP）和鸟苷酸（一磷酸鸟苷，GMP）。还可生产三磷酸腺苷（ATP）、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD）、黄素腺嘌呤二核苷酸（FAD）和单磷酸尿嘧啶（UMP）等。