


高等职业教育生物技术类专业系列教材

发酵工艺原理

主 编 邓毛程

副主编 张邦建

 中国轻工业出版社

《发酵工艺原理》编委会名单

主 编 邓毛程

副主编 张邦建

编 者 (按姓氏笔划排序)

邓毛程(广东轻工职业技术学院)

石 琳(广东轻工职业技术学院)

孙宏民(陕西科技大学职业技术学院)

朱晓立(广东轻工职业技术学院)

张邦建(包头轻工职业技术学院)

杨国伟(北京电子科技职业学院)

梁蕊芳(包头轻工职业技术学院)

图书在版编目(CIP)数据

发酵工艺原理/邓毛程主编. —北京:中国轻工业出版社,2007.9

高等职业教育生物技术类专业系列教材

ISBN 978-7-5019-5985-3

I. 发… II. 邓… III. 发酵-工艺学-高等学校:技术学校-教材 IV. TQ920.6

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第076739号

责任编辑:江娟 责任终审:滕炎福 封面设计:刘鹏
版式设计:马金路 责任校对:李靖 责任监印:胡兵 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:

经销:各地新华书店

版次:2007年9月第1版第1次印刷

开本:720×1000 1/16 印张:18.75

字数:352千字

书号:ISBN 978-7-5019-5985-3/TS·3490

定价:30.00元

读者服务部邮购热线电话:010-65241695 85111729 传真:85111730

发行电话:010-85119845 65128898 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读者服务部联系调换

60303J4X101ZBW

前 言

生物技术是现代生物学与相关学科发展并交叉融合的科学技术,也是一门涉及领域宽、涵盖范围广、基础性强的高新技术。发酵工程是生物技术的基础和重要组成部分。传统发酵技术与基因工程、细胞工程、代谢工程、生物信息工程等技术紧密结合,迅速发展成为现代发酵工程。当今,现代发酵工程在生物技术产业化中起着重要作用,也吸引了众多技术人员从事相关的研究与开发。

编者结合发酵工业的最新发展与高职教育特点,以具体发酵产品生产工艺的形式,比较全面地介绍了发酵工艺基本原理和国内外实用性较强的发酵新技术。本书共分 12 章,内容包括:培养基及其制备,培养基与设备灭菌,空气除菌,微生物代谢产物的生物合成与调节,菌种的选育、保藏与种子扩大培养,发酵工艺控制,发酵染菌及其防治,发酵产物的提取与精制,发酵工艺综合实训等。

本书可作为高职院校生物技术专业、生物工程专业、生物化工工艺专业和生物制药专业的教材,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。由于本书内容较多,教师可根据实际情况选择教学内容,建议理论教学 80 学时,理论自学 20 学时,实训教学 3~4 周。通过本课程的学习,使学生理解发酵工艺的基本理论,掌握发酵生产的基本操作,能分析、解决产品生产过程中的常见问题,能灵活、系统地运用发酵工艺原理进行发酵工艺设计以及新工艺、新产品的研究与开发。

参加本书编写工作的有:广东轻工职业技术学院的邓毛程、朱晓立、石琳,包头轻工职业技术学院的张邦建、梁蕊芳,陕西科技大学职业技术学院的孙宏民,北京电子科技职业学院的杨国伟。编写分工为:邓毛程编写第一章、第五章、第七章、第十二章的实训一、实训二、实训三;朱晓立编写第十二章的实训四、实训五;石琳编写第二章;张邦建、梁蕊芳编写第九章、第十章、第十一章;孙宏民编写第六章、第八章;杨国伟编写第三章、第四章。由邓毛程担任主编,张邦建担任副主编,郑州轻工业学院马歌丽教授和华南理工大学梁世中教授担任主审。

由于现代发酵工程发展迅猛,涉及面广,本书未能将国内外所有先进的发酵技术涵盖其中,加上编者水平有限,书中肯定存在不少错误与不足之处,恳请读者批评指正。

编者

2007 年 6 月

第一章 绪 论

教学目标

[了解] 发酵工程的特征、发酵工程的发展简史、发酵工程的应用以及发酵工业产品类型。

第一节 发酵工程的特征

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。

发酵工程是利用生物的生长和代谢活动大量生产人们所需产品过程的理论和工程技术体系,是生物工程与生物技术学科的重要组成部分。发酵工程最初建立于微生物发酵基础上,且微生物发酵生产最为广泛,故又称为微生物工程,其技术体系主要包括:菌种的选育、保藏及其扩大培养,培养基及其制备,培养基与设备灭菌,空气的除菌,微生物代谢产物的生物合成与调节机制,发酵过程控制,发酵染菌的防治,发酵产物的提取和纯化,发酵废液及废料的综合利用、处理以及环境污染的防治等。

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,原料可从农业副产品、工业副产品、工业废水等获取,来源广泛,且价格低廉。有些化工产品通过发酵工程进行生产,可解决资源匮乏问题,甚至生产成本更低;有些废物作为发酵原料,可以解决环保问题,实现“变废为宝”。

⑤ 发酵醪成分复杂,发酵过程中的传质、传热等一般涉及到固相、液相、气相,影响因素众多,实验室的研究成果比拟扩大到工业化生产中比较困难。

⑥ 大多数发酵过程采用纯种培养方式,需要防止杂菌污染。

⑦ 发酵产物的提取和纯化建立在化学工程有关理论和单元操作上而发展起来,与化学工程联系非常紧密。

第二节 发酵工程的发展简史

一、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,古埃及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 4 000 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,距今也有二千多年的历史。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。

二、纯培养技术的建立

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、螺旋菌等作了正确的描述。19 世纪末(1850—1880 年),法国的巴斯德(Louis Pasteur)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的硝化纤维,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。

三、深层培养技术的建立

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年英国的佛罗里(Haward 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,促进了甾体转化、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。

四、代谢控制发酵技术的建立

20世纪40年代的时候,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。

五、发酵原料的转变

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,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。

六、基因工程引入发酵工程

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的良药,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基因工程菌发酵液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。

第三节 发酵工程的应用

生物技术是当今最基础、最前沿、应用最广泛、发展前景最广阔的学科之一,而发酵工程是生物技术学科的重要研究领域之一。发酵工程技术的应用已遍及食品、化工、农业、医药、环保、能源、信息等各个领域,充分显示了它对解决人类所面临的食物、健康、资源、环境等重大问题的巨大作用与潜力。

一、发酵工程在食品工业中的应用

食品工业是世界上最大的工业之一,在工业化国家的食品消费要占家庭消费的 20% ~ 30%,而食品工业是微生物技术最早开发应用的领域,据报道,发酵工程生产的食品可占食品工业总销售额的 15% 以上。

许多传统食品加工采用了发酵技术,如各种酒类、酱、酱油、食醋、腐乳、奶酪、酸乳等的生产,可赋予食品特殊的风味。微生物菌体的蛋白质含量高,是一种理想的蛋白质资源,利用微生物发酵生产酵母菌、藻类等单细胞蛋白,可作为食品添加剂,直接供人类食用,可有效地解决全球蛋白质资源紧缺的问题。发酵生产的活性干酵母,已广泛应用于烘焙食品。利用发酵技术可以生产调味剂、营养强化剂、增色剂等多种食品添加剂,如味精可作为鲜味剂,氨基酸、核苷酸等可作为营养强化剂,红曲色素可作为增色剂,发酵法生产的食品添加剂比化工合成法生产更有利于人体的健康。

功能性食品在保健食品产业中形成一个新的主流,在大型真菌的开发、 γ -亚麻酸的制备、微生态制剂的制备、有机形式的微量元素的制备、超氧化物歧化酶(SOD)的制备、L-肉碱的制备、微生物油脂的生产和开发新糖源等方面,发酵工程技术都起到了关键的作用。利用发酵技术可以开发新型营养保健茶,如传统普洱茶生产是利用自然滋生微生物发酵生产普洱茶,实际上是由复杂的多种微生物体系形成极其复杂的传统普洱茶风味物质,但近期研究表明,从传统工艺中分离出有益微生物,经分离、纯化、快繁等程序用于普洱茶固态发酵,所产的普洱茶冲泡不仅香气明显,且香气持久,耐泡性好,传统普洱茶风味与保健功效可以在较短时间内形成。此外,发酵技术还可以提高茶叶的综合利用。

二、发酵工程在医药工业中的应用

抗生素、氨基酸、核酸、有机酸、维生素、辅酶、酶制剂、激素、免疫调节物质以及其他生理活性物质等均可作为医药原料,而发酵工程为医药工业提供了这些原料,有效地改善了医疗手段。至今发现的抗生素有 6 000 余种,其中绝大多数是微生物发酵产品,已有近 200 种产品作为医用抗生素。氨基酸在医药中除了作为大输液外,还广泛应用于临床治疗,如精氨酸、鸟氨酸、瓜氨酸对高氨血症、肝机能障碍等疾病具有显著疗效;天冬氨酸盐可用于治疗心脏病、肝病、糖尿病等疾病;谷氨酸及其衍生物可改进和维持脑机能,用于治疗运动障碍、脑炎、蒙古症、肝昏迷等疾病。核苷酸类药物很多,如肌苷、辅酶 A 可治疗心脏病、白血病、肝病等;黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)治疗维生素 B 缺乏症、肝病、肾病等;辅酶 I(NAD)可治疗肝病、肾病等。微生物产生的酶抑制剂种类繁多,包括蛋白分解酶抑制剂、细胞膜酶抑制剂、糖苷水解酶抑制剂、儿茶酚胺合成酶抑制剂、胆固

醇生物合成酶 HMG - CoA 还原酶抑制剂等,已有多种酶抑制剂作为医药投入生产。利用基因工程技术构建高效生产药物的细胞株,用于发酵生产人体内的生理活性因子(激素、免疫球蛋白和细胞生长因子等),备受国内外生物技术界的关注,现在已有 19 种蛋白质和多肽类药物应用于临床。

三、发酵工程在能源工业中的应用

生态危机是当今社会已经面临的巨大挑战,能源危机是本世纪中叶即将面临的巨大挑战,因此,清洁能源的研发已成为世界重大热门课题之一。通过发酵工程,可以将含淀粉、糖质、纤维素、木质素等植物资源生产燃料乙醇,美国、巴西、中国以及欧洲一些国家已经开始大量使用“酒精汽油”作为汽车的燃料。纤维素是地球上最丰富的再生资源,占地球总生物量的 80%,含有纤维素的农业废弃物和加工副产物如秸秆、稻壳等的充分利用,对解决能源、资源短缺及环境污染等具有重大现实意义,因此,利用微生物转化天然纤维素资源已经成为 21 世纪世界各国的重要战略性课题。

微生物开采石油也是一个研究热点。利用微生物代谢多种产物而改善重油不利性质,从而提高采收率。微生物代谢产物可以降低原油黏度,使原油膨胀,改变岩石表面润湿性,降低界面张力,形成稳定的油 - 水乳状液,改善原油在多孔介质中的流动性和运移性质,将残留在岩石空隙间的深层黏滞性原油从“枯竭”的油田中采出,产量可提高 20% ~ 30%。现在许多国家均在大规模现场试验,并取得满意结果。

一些国家正在从事微生物电池的研究,以微生物的代谢产物作为电极活性物质,从而获取电能。目前已有多种微生物被报道具有直接释放电子至阳极或利用电催化代谢物释放电子至阳极的功能。科学家用一种叫产气单胞菌的细菌,处理 100g 分子椰子汁,使其生成甲酸,然后把以此作电解液的 3 个电池串联在一起,生成的电能可使半导体收音机连续播放 50 多个小时。美国宾夕法尼亚州立大学科学家开发了一种高效能的微生物燃料电池,细菌在分解有机废水时,将电子传送到电池的阳极,将质子传送到电池阴极,质子和电子结合就可以产生大量的氢,产氢率是传统发酵过程的 4 倍,这种电池不仅可以产氢作为清洁能源,也可以净化有机废水。

四、发酵工程在化学工业中的应用

发酵工程为化学工业提供大量的原料,已经部分或全部取代化工合成法生产许多化工产品,甚至生产一些化工合成法难以生产的稀有化工产品。例如,乙醇、丙酮、丁醇、柠檬酸、衣康酸、水杨酸、长链二羧酸、2,3 - 丁二醇等数十种化工产品都已经采用微生物发酵进行生产。科学家经过基因重组构建“工程菌”,可

积累占菌体质量 70% ~ 80% 的聚酯塑料,通过发酵工程可生产生物可降解塑料。生物表面活性剂是由微生物发酵产生的,属于天然产物,除了具有与化学合成表面活性剂相同的作用外,还具有降低表面张力的作用,生物降解性好,对环境无毒害。

五、发酵工程在农业中的应用

农业是世界上规模最大和最重要的产业,许多发达国家的农业总产值占国民生产总值的 20% 以上,发酵工程技术及其产品可以为农业发展提供有利的支持。利用发酵技术可以生产生物杀虫剂、生物除草剂、生物肥料等,生物杀虫剂如苏云金杆菌或其变种,能产生伴孢晶体杀死蛾类幼虫的毒蛋白等;生物除草剂主要是杂草的病原微生物制剂,包括真菌、线虫、病毒等;生物肥料主要有固氮菌、钾细菌、磷细菌等,具有为土壤增肥的作用。

此外,开发微生物资源,创建微生物工业的新型农业——“白色农业”,是当今社会和科技发展的必然。所谓“白色农业”,即农业生产是在高效洁净的工厂内进行,人们都穿戴白色工作服从事生产劳动。“白色农业”领域包括:微生物食品、微生物饲料、微生物肥料、微生物农药、微生物兽药、微生物能源、微生物生态环境保护剂等。白色农业把传统绿色农业向阳光、土地要粮的生产方式,转变为向秸秆要粮、向废弃物要粮,是世界农业可持续发展的重要理论之一。

六、发酵工程在环境净化中的应用

农业上使用的各种化学农药和工业上产生的废水、废气、废渣等排放到环境,都会带来严重污染,严重威胁着人类健康。环境污染已是当今社会的一大公害,但是微生物却对污染物有着惊人的降解能力。美国报道,使用细菌制剂,处理 55kg 石油污染的水面,24h 后 90% 的石油被细菌分解掉。在煤矿开采中使用高效甲烷菌制剂,可以清除瓦斯(将甲烷氧化分解)。利用一氧化碳氧化菌发酵丁酸或生产单细胞蛋白,不仅消除或降低了有毒气体,还从菌体中开发了有价值的产品。一些解毒的微生物能将重金属(如铬、镉、铅、汞、硒等)转化为无毒的金属化合物,有些细菌还能将废水中核废弃物内的放射性铀、钚等还原成固体排出水体。

利用微生物发酵可以处理工业三废、生活垃圾及农业废弃物,不仅净化环境,还可以变废为宝。例如,单细胞蛋白(SCP)又称为微生物蛋白或菌体蛋白,可以利用工业废水、废气以及有机垃圾等作为培养基,培养酵母、非病原性细菌、真菌等单细胞生物体,然后经过净化干燥处理后制成。最典型的的就是利用氨基酸工业产生的大量废渣废液生产单细胞蛋白,既可获得蛋白质含量高的饲料蛋白,又可降低对环境的污染,具有明显的经济效益和社会效益。

当然,环境中排放的污染物往往是混杂的,因此,目前研究工作已发展到采用基因重组技术构建具有多种特殊功能、高效降解力的“工程菌”。

七、发酵工程在冶金工业中的应用

地球上的矿藏蕴量丰富,但大多数矿床品位太低,随着现代工业的发展,高品位富矿也不断耗尽。面对数以万吨计的废矿渣、贫矿、尾矿、废矿,采用细菌冶金给冶金工业带来了新的希望。细菌冶金是指利用微生物及其代谢产物作为浸矿剂,喷淋在堆放的矿石上,浸矿剂溶解矿石中的有效成分,最后从收集的浸取液中分离、浓缩和提纯有用的金属。堆浸的矿石不要求粉碎,只需提供一个简陋的堆放矿石的浸取池,故又称为湿法冶金技术。可浸提金、银、铜、铀、锰、钼、锌、钴、镍、钡、钨等 10 余种贵重和稀有金属,特别是黄金、铜、铀的开采。我国在采矿工业中应用先进的细菌冶金技术,也已取得了显著的成绩。例如,四川南汇铜矿用自然培养铜细菌循环浸出工艺,首次浸铜成功,浸出率高达 46%,1t 海绵铜成本仅为普通炼铜法的 1/3。

第四节 发酵工业产品类型

微生物发酵工业产品种类繁多,根据发酵类型可分为三种类型:微生物菌体、微生物代谢产物、微生物酶制剂。

一、微生物菌体

微生物菌体产品种类繁多,根据不同微生物的生理学特性,采用不同发酵工艺可以生产大量微生物菌体产品。

随着全球人口迅速增加及生活水平提高,人类可能将面临着蛋白质严重缺乏,而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,20 世纪初期酵母已被广泛用作人类主食面包、馒头、包子、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。

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 2 500 万吨,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的历史,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健康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)制剂以及复合微生物制剂等。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。

二、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。

许多种氨基酸均可利用微生物发酵法进行生产,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;有机酸发酵产品包括柠檬酸、醋酸、乳酸、葡萄糖酸、衣康酸等;有机溶剂发酵产品包括酒精、丙酮、丁醇等;核苷酸发酵产品包括肌苷、肌苷酸、鸟苷酸等;维生素发酵产品包括核黄素、维生素 C、维生素 B₁₂等;多糖发酵产品包括右旋糖酐、多糖 B-1459 等;抗生素发酵产品包括青霉素、链霉素、四环素、土霉素、金霉素、庆大霉素、新霉素、利福霉素等。

三、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、植物无法比拟的优点。目前,发酵生产的微生物酶制剂已有 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、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、青霉素酰胺酶、磷酸二酰酶、天冬酰胺酶等,均在工业上和医药上发挥作用。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。

思 考 题

1. 什么是发酵工程? 发酵工程有哪些特征?
2. 简述发酵工程的发展史。
3. 简要说明发酵工程的应用。
4. 简要说明发酵工业产品类型。

参 考 文 献

- [1] 罗大珍. 现代微生物发酵及技术教程. 北京:北京大学出版社,2006
- [2] 余龙江. 发酵工程原理与技术应用. 北京:化学工业出版社,2006
- [3] 李艳. 发酵工业概论. 北京:中国轻工业出版社,2003
- [4] 白秀峰. 发酵工艺学. 北京:中国医药科技出版社,2003
- [5] 曹军卫. 微生物工程. 北京:科学出版社,2002
- [6] 肖冬光. 微生物工程. 北京:中国轻工业出版社,2004

- [7] 姚汝华. 微生物工程工艺原理. 广州: 华南理工大学出版社, 2002
- [8] 邓毛程. 氨基酸发酵生产技术. 北京: 中国轻工业出版社, 2007
- [9] 赵龙飞等. 微生物固态发酵提高普洱茶品质风味的研究. 食品研究与开发, 2006, 27(4): 155 ~ 156
- [10] 史先振. 现代发酵工程技术在食品领域的应用研究进展. 中国酿造, 2005, 12: 1 ~ 3
- [11] 张致平等. 生物技术在医药工业中的应用. 药物生物技术, 1994, 1(1): 56 ~ 64
- [12] 冯永忠等. 能源农业技术体系的构建研究. 西北农林科技大学学报, 2006, 34(1): 30 ~ 34
- [13] 黄木姣等. 美国粮油深加工生物技术的研究机构及研发热点. 粮油食品科技, 2006, 14(4): 59 ~ 61
- [14] 徐敏. 冶金与环保. 江西化工, 2003, 2: 50 ~ 51
- [15] 王新等. 生物技术在重油开采中的应用. 国外石油工程, 2003, 19(4): 7 ~ 9
- [16] 美国科学家开发出微生物电池. 能源研究与信息, 2005, 21: 124
- [17] 于洁等. 生物质制氢技术研究进展. 中国生物工程杂志, 2006, 26(5): 107 ~ 110
- [18] 李彬. 现代发酵工程展望. 商洛师范专科学校学报, 2003, 17(4): 48 ~ 51
- [19] 叶丽等. 菌体微生物转化在制药工业中的应用. 工业微生物, 2001, 31(4): 40 ~ 48
- [20] 陈代杰. 生物转化与药物开发. 精细化工原料及中间体, 2005, 10: 5 ~ 7
- [21] 刘建华等. 微量元素硒的微生物转化研究进展. 湖北民族学院学报(自然科学版), 2006, 24(3): 288 ~ 291
- [22] 石陆娥等. 酵母的开发利用研究进展. 中国食品添加剂, 2006, 05: 62 ~ 65
- [23] 黄群等. 单细胞蛋白及其在食品加工中应用. 粮食与油脂, 2003, 07: 17 ~ 19
- [24] 郭雪山等. 单细胞蛋白的应用及其开发前景. 中国食品与营养, 2006, 05: 23 ~ 24
- [25] 张继等. 单细胞蛋白饲料研究进展. 饲料工业, 2006, 27(19): 50 ~ 52
- [26] 梁敏等. 食用菌的功能性与产业开发. 食品研究与开发, 2006, 27(4): 99 ~ 101
- [27] 刘子梅. 微生态制剂在水产养殖中的应用. 现代农业科技, 2006, 10: 139
- [28] 李勇等. 微生物农药的研究与应用进展. 贵州农业科学, 2003, 31(2): 62 ~ 63
- [29] 赵兴秀等. 微生物农药的研究应用及前景展望. 四川理工学院学报(自然科学版), 2005, 18(1): 108 ~ 110
- [30] 陈守文等. 微生物农药及产业化发展. 化学与生物工程, 2003, 5: 12 ~ 15
- [31] 胡梦红等. 菌体蛋白发展现状及在水产饲料中的应用前景. 北京水产, 2006, 3: 42 ~ 45

第二章 培养基及其制备

教学目标

[了解] 微生物细胞的化学组成及胞外代谢产物;培养基的组成。

[一般掌握] 培养基的类型;糖蜜原料及预处理。

[重点掌握] 工业培养基的选择与配制原则;淀粉制备葡萄糖的工艺
技术。

第一节 微生物细胞的化学组成及胞外代谢产物

微生物营养物质的确定主要依据微生物细胞及其所代谢产物的化学组成,因此,分析微生物细胞的化学组成是了解微生物营养的基础。

一、微生物细胞的化学组成

通过对各类微生物细胞物质成分的分析,发现微生物细胞的化学组成和其他生物没有本质上的差别。从元素水平上看,微生物细胞都含有碳、氢、氧、氮和各种矿物质元素,其中碳、氢、氧、氮、磷、硫六种元素约占细胞干重的 90% ~ 97%。表 2-1 列举了大肠杆菌细胞的主要元素。

表 2-1 微生物细胞的主要元素成分

元素	占总干物质比例/%	元素	占总干物质比例/%
碳	50	钾	1
氧	20	钠	1
氮	14	钙	0.5
氢	8	镁	0.5
磷	3	氯	0.5
硫	1	铁	0.2

从化合物水平上看,微生物细胞中都含有水分、糖类、蛋白质、核酸、脂质、维生素和无机盐等物质。表 2-2 列举了几种微生物细胞的化学组成。

细胞内的有机质、无机质和水等物质共同赋予细胞的遗传连续性、通透性和生化活性。组成细胞的化学物质分别来自不同的营养物质,微生物在适宜条件下从环境中获得绝大多数的小分子营养物质,而大分子物质则由细胞自身合成。

微生物细胞的化学组成不是绝对不变的,往往与菌龄、培养条件、环境及生理特性相关。

表 2-2 微生物细胞中主要物质的含量

微生物	水分/%	干物质总量/%	干物质其中比例/%				
			蛋白质	核酸	糖类	脂质	无机盐类
细菌	75~85	15~25	50~60	15~25	6~15	5~10	3.8~12
酵母菌	70~80	20~30	35~45	5~10	30~45	5~10	2~9
霉菌	85~95	5~15	25~40	2~8	40~55	5~10	1~11

二、微生物胞外代谢产物

微生物在生长过程中,除了利用外源营养物质合成新细胞外,还会产生一些有机化合物并将其分泌到微生物细胞外,这些胞外代谢产物种类繁多,因微生物种类而异。了解胞外代谢产物的化学组成,有助于选择培养微生物的营养物质。一般来说,微生物的胞外代谢产物主要包括四个部分。

1. 代谢副产物

代谢副产物主要是指伴随微生物正常代谢作用所产生的一些小分子化合物,一般是嫌气培养过程的产物,包括 CO_2 、 H_2 、 CH_4 等气体和乙醇、丙酮、丁醇、丙酸、乳酸等低分子质量的醇类、酮类和脂肪酸类。

2. 中间代谢产物

中间代谢产物是细胞在代谢途径中产生的一些小分子物质,如氨基酸、核苷酸、有机酸和单糖的衍生物,主要用于合成蛋白质、核酸、类脂和多糖等细胞物质。中间代谢产物一般不分泌到微生物细胞外,只有在微生物细胞生物合成受阻或外源碳源浓度较高的情况下,才会大量积累和分泌于细胞外。

3. 次级代谢产物

次级代谢产物由微生物细胞合成,既不参与细胞的组成,又不是酶的活性基团,也不是细胞的贮存物质。次级代谢产物种类很多,通常有抗生素、毒素、激素和色素等几类,大多数分泌于微生物细胞外。

4. 胞外水解酶类

许多微生物可产生胞外水解酶类,有淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶、果胶酶、纤维素酶、葡萄糖氧化酶、葡萄糖异构酶等。

第二节 培养基组成

培养基是提供微生物生长繁殖和生物合成各种代谢产物所需要的按一定比