

高等学校专业教材

微生物工程原理

肖冬光 主编

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物工程原理 龔冬光主编 北京：中国轻工业

出版社，1999.12

高等学校专业教材

ISBN 7-5019-3689-9

I 龔... II 龔... III 龔微生物 原生物工程 原高等学校 原教材 IV 龔G72

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (99) 第 12345 号

责任编辑：白洁 责任终审：劳国强 封面设计：张华伟
版式设计：铎声 责任校对：李靖 责任监印：吴京一

出版发行：中国轻工业出版社（北京东长安街 25 号，邮编：100020）

印刷：

经销：各地新华书店

版次：1999 年 12 月第 1 版

1999 年 12 月第 1 次印刷

开本：787mm×1092mm 1/32

印张：8

字数：200 千字

书号：ISBN 7-5019-3689-9

读者服务部邮购热线电话：010-63906400 传真：010-63906401

发行电话：010-63906400

网址：http://www.clip.com.cn

精于设计 精于印刷 精益求精

如发现图书残缺请直接与我社读者服务部联系调换

010-63906400

前 言

微生物工程是利用微生物的特定性状和机能，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一种技术体系；是将传统的发酵技术与现代的基因工程、细胞工程、代谢工程、生物信息工程和计算机控制等新技术结合并迅速发展的现代发酵技术。

微生物工程是生物技术的基础和重要组成部分，是生物技术产业化的重要环节。《微生物工程原理》课程是生物工程专业必修的一门专业课程，它是从微生物工程的范畴出发，阐明生物产品生产的工艺原理。通过本课程的学习，使学生掌握微生物产品生产工艺的基本理论，能进行发酵工厂的工艺设计和解决产品生产过程中出现的主要问题，并为从事生物新产品和新工艺的研究与开发打好应有的理论基础。

一般而言，微生物工程可分培养基制备、无菌空气供应、菌种及种子扩大培养、发酵培养、发酵产品下游加工过程和微生物过程废弃物处理等六部分。其中发酵培养反映了微生物发酵生产的水平，是微生物工程的核心部分；培养基制备、无菌空气供应和菌种扩大培养是发酵生产的基础；发酵产品下游加工过程是发酵生产的保证；而发酵废弃物的综合利用和处理是实现发酵工业可持续发展所必不可少的重要环节。本书第二、三、四、五章为发酵生产的基础部分，第六、七、八章为发酵生产的核心部分，由此构成本书的基本内容；本书第九章、十章扼要介绍发酵产品的下游加工过程和发酵废弃物的利用和处理（清洁生产），详细内容请读者参阅《生物工业下游技术》和《发酵工业废水处理》等书籍；最后，在本书第十一章讨论微生物过程的经济问题。

本书第一、十一章及第九章第一节由肖冬光编写，第二、七章及第九章第四、五节由赵华编写，第三章由张云瑞编写，第四章由彭新邦编写，第五章第一节由王岁楼编写，第五章第二、三节由马歌丽编写，第六、八章由李长文编写，第九章第二、三节由刘凤珠编写，第十章由王兰芝编写。

由于生物技术的发展很快，有许多微生物工程的新技术、新成果来不及消化吸收编入本教材，加上编者水平有限，错误和不足之处在所难免，诚恳希望读者批评指正。

肖冬光

目 录

第一章 微生物工程概论.....	员
第一节 微生物工程的定义、特点和内容.....	员
一、微生物工程的定义	员
二、微生物工程的特点	员
三、微生物工程的组成部分	源
第二节 微生物工程发展简史.....	缘
一、传统（古老）发酵技术.....	缘
二、近代发酵技术的建立（纯培技术的建立）.....	缘
三、青霉素与好气培养技术	苑
四、人工诱变育种与代谢控制技术	苑
五、基因工程与克隆技术	愿
第三节 微生物工业.....	怨
一、微生物工业产品的类型	怨
二、微生物工业的范围	员
第四节 微生物工程的发展趋势	员
一、基因工程技术	员
二、微生物资源的开发	员
三、发酵过程优化与控制	愿
四、生物分离新技术.....	愿
参考文献	员
第二章 工业微生物	员
第一节 工业用微生物菌种	员
一、工业生产对菌种的要求	员
二、工业微生物常用菌种	员
第二节 工业微生物菌种的选育	猿
一、生产菌种的分离与筛选	猿
二、工业生产菌的育种	猿

第三节 工业生产菌种的复壮与保藏	缘
一、工业生产菌种的退化现象及原因	缘
二、工业生产菌种的复壮	缘
三、工业生产菌种的保藏	缘
四、国内外菌种保藏机构	缘
参考文献	缘
第三章 培养基与原料处理	远
第一节 培养基的成分及来源	远
一、碳源	远
二、氮源	远
三、无机盐	远
四、生长因子	远
五、发酵促进剂与抑制剂	远
第二节 培养基的类型与设计	远
一、培养基的类型	远
二、发酵培养基的设计	远
第三节 淀粉质原料的糖化	远
一、淀粉水解原理	远
二、糖化方法	远
第四节 糖蜜原料的处理	远
一、糖蜜的来源及特点	远
二、糖蜜的处理方法	远
第五节 其他原料的处理	远
一、纤维素及发酵废液的处理	远
二、亚硫酸盐废液的处理	远
三、木屑水解液发酵生产衣康酸	远
参考文献	远
第四章 灭菌技术	远
第一节 培养基灭菌	远
一、常用灭菌方法的基本原理	远
二、生产上培养基的灭菌方法	远
三、空罐灭菌与发酵附属设备及管路的灭菌	远

四、固体培养基的灭菌	员愿
五、膜技术的应用	员园
第二节 空气除菌	员猿
一、概述	员猿
二、介质深层过滤除菌原理	员远
三、过滤介质与过滤器	员怨
四、无菌空气制备流程的选择	员愿
参考文献	员员
第五章 种子制备	员圆
第一节 概述	员圆
一、种子扩大培养的目的	员圆
二、优质种子必须具备的条件	员圆
三、种子扩大培养的工艺流程	员猿
四、种子扩大培养的方法	员猿
第二节 工业发酵种子的制备	员源
一、实验室种子制备	员源
二、生产车间种子制备	员缘
三、基因重组微生物种子的培养	员远
第三节 种子质量的控制	员愿
一、影响孢子质量的因素及孢子质量的控制	员愿
二、影响种子质量的主要因素及种子质量的控制	员员
三、种子质量检查	员苑
四、种子异常的分析	员苑
五、影响基因重组微生物种子质量的主要因素	员愿
参考文献	员怨
第六章 微生物发酵培养	员员
第一节 微生物发酵动力学	员员
一、发酵动力学类型	员员
二、微生物生长动力学	员猿
三、产物形成动力学	员园
四、生长得率与产物得率	员圆
第二节 发酵培养方法	员员

一、概述	页码
二、分批培养	页码
三、流加培养	页码
四、连续培养	页码
五、连续培养的应用	页码
六、关于连续培养的一些问题	页码
第三节 影响发酵过程的主要因素	页码
一、温度	页码
二、 μ	页码
三、溶解氧	页码
四、基质浓度	页码
五、二氧化碳和呼吸商	页码
六、泡沫对发酵的影响	页码
第四节 杂菌的污染与防治	页码
一、种子培养和发酵的异常现象	页码
二、染菌的检查和判断	页码
三、发酵染菌的原因	页码
四、杂菌污染的防治	页码
参考文献	页码
第七章 浓醪发酵	页码
第一节 概述	页码
第二节 影响浓醪发酵的因素	页码
一、菌种方面的原因	页码
二、工程方面的问题	页码
第三节 浓醪发酵的方法和措施	页码
一、菌种改良	页码
二、流加(补料)培养	页码
三、工艺条件控制	页码
四、发酵与产品分离耦合	页码
五、发酵罐的改造	页码
参考文献	页码

第八章 发酵过程参数的检测与控制	圆园
第一节 概述	圆园
一、发酵过程参数控制的必要性	圆园
二、人工控制与自动控制	圆园
三、传感器	圆园
第二节 环境参数的检测	圆园
一、物理参数检测	圆园
二、化学参数检测	圆园
第三节 间接参数的检测与计算	圆园
一、体积溶氧速率与溶氧系数	圆园
二、糖的释放速率与呼吸商	圆园
三、比生长速率和比生产速率	圆园
第四节 生物传感器	圆园
一、生物传感器概况	圆园
二、生物传感器的原理	圆园
三、信号转换器	圆园
四、酶传感器	圆园
五、微生物传感器	圆园
第五节 发酵过程控制	圆园
一、自动控制	圆园
二、计算机控制基本概念	圆园
参考文献	圆园
第九章 发酵产品下游加工过程	圆园
第一节 概述	圆园
一、下游加工过程在发酵产品生产中的地位	圆园
二、下游加工过程的特点	圆园
三、下游加工过程的一般操作流程	圆园
第二节 发酵液预处理	圆园
一、发酵液过滤特性的改变	圆园
二、固-液分离	圆园
三、细胞的破碎	圆园
第三节 发酵产品的提取	圆园

一、沉淀法	園園
二、蒸馏	園源
三、萃取	園苑
四、离子交换	園園
第四节 发酵产品的精制	園源
一、结晶	園源
二、电泳	園苑
三、色谱分离	猿园
第五节 成品加工	猿缘
一、蒸发浓缩	猿缘
二、膜浓缩	猿园
三、干燥	猿苑
四、包装	猿苑
参考文献	猿愿
第十章 清洁生产	猿怨
第一节 概述	猿怨
一、清洁生产的概念	猿怨
二、实现清洁生产的有效途径	猿员
第二节 废液处理	猿原
一、概述	猿原
二、废液处理方法	猿丘
三、废弃资源的综合利用	猿猿
第三节 清洁生产实例	猿苑
一、啤酒厂清洁生产	猿愿
二、山东日照酒业公司用废酒糟生产有机肥	猿园
三、东北制药厂实施清洁生产	猿园
参考文献	猿园
第十一章 发酵经济学	猿源
第一节 影响发酵产品成本的主要因素	猿源
一、菌种	猿源
二、原材料	猿缘
三、发酵工艺	猿苑

四、生产规模	猿獭
五、能源消耗	猿獭
六、设备负荷率与维修	猿员
七、产业政策	猿圆
第二节 发酵经济学	猿圆
一、发酵过程的经济学评价	猿圆
二、发酵产品成本分析	猿源
三、经济效益分析	猿苑
参考文献	猿怨

第一章 微生物工程概论

第一节 微生物工程的定义、特点和内容

一、微生物工程的定义

微生物工程是生物技术的基础和重要组成部分，是生物技术产业化的重要环节。它将微生物学、生物化学、化学工程的基本原理有机地结合起来，是一门利用微生物的生命活动来生产人们所需的有用物质的工程技术。由于它是在酵母发酵生产饮料酒的基础上发展起来的，所以又称为发酵工程。

“发酵”（~~发酵~~）一词最初来自于拉丁语的“发泡”（~~发泡~~），它描述酿酒过程中因产生大量气体而引起的沸腾现象。巴斯德研究了酒精发酵的生理意义，认为发酵是酵母菌在无氧条件下的呼吸过程。生物化学上发酵为生物在无氧条件下的分解代谢，即糖酵解途径。随着科学技术的发展，微生物的秘密被逐渐揭开，微生物资源的利用逐渐扩大，除酿酒外，目前利用微生物生产的各种生物产品已达数千种，而其中绝大多数是有氧过程。基于历史的原因，人们把利用微生物在有氧或无氧条件下的生命活动来生产微生物菌体或代谢产物的过程统称为发酵。

由于“发酵”一词产生于微生物被发现之前，因而它不可能包涵微生物的所有生命活动，也不可能确切反映现代微生物工业。作为现代科学概念上的微生物发酵工业，是19世纪末20世纪初随着抗生素工业的兴起而得以迅速发展的。就目前的发展状况而言，微生物工程是利用微生物的特定性状和机能，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一种技术体系；是将传统的发酵技术与现代的基因工程、细胞工程、代谢工程、生物信息工程和计算机控制等新技术结合并迅速发展的现代发酵技术。

二、微生物工程的特点

微生物工程的一般特点如下：

①生产所用的原料通常以淀粉、糖蜜等碳水化合物为主，辅料包括一定的有机或无机氮源和少量无机盐。只要不含有毒物质，所用原料一般没有精制的必要，微生物本身能有选择地摄取其中所需的有用物质。因此，微生物工程所用原料来源广泛，其中包括各种农副产品及食品、制糖、造纸等工业的废水和废料。

②微生物反应过程以生命体的自动调节方式进行，数十个生化反应过程能通过单一微生物的代谢活动来完成，因而所需产品可在单一发酵设备中一次合成。

③微生物能利用简单的物质合成复杂的高分子化合物。酶制剂、活性蛋白、活性肽和多糖等生物产品的生产是微生物工业最有发展前景的领域。

④由于生命体特有的反应机制，微生物能高度选择性地对复杂化合物的特定部位进行氧化、还原、官能团导入等转化反应，从而获得某些具有重大经济价值的物质。

⑤微生物在自然界中分布很广，种类繁多。人们可有目的地从自然界中筛选有用的微生物菌种，并可通过物理和化学诱变、细胞融合和基因重组等育种技术获得高产菌株。从分子生物学的观点看，微生物的基因组相对较小，调控系统相对简单，进行基因操作比动、植物要容易得多。例如最初从微生物生产青霉素时，其产率不到 10^{-6} ，经过人们的不断改造，今天已达 10^3 以上，产率提高了 10^9 多倍。

与化学工程相比，微生物工程的特点为：

① 作为生物化学反应，通常在常温常压下进行，因此没有爆炸之类的危险，各种生产设备一般不必考虑防爆问题。

② 微生物发酵过程需防止杂菌污染，生产过程所需的设备、培养基和空气都需进行严格的无菌处理，一旦杂菌入侵就有可能导致发酵生产的失败。

③ 微生物发酵液成分较复杂，大多为非牛顿流体，其产品分离与纯化过程比化学反应过程产品复杂得多。

④ 制造发酵产物的微生物菌体也是发酵产物，微生物细胞富含蛋白质、核酸、维生素等有用物质。微生物发酵液一般不含对生物体有害的物质。

与生物工程的其他技术相比，微生物工程的特点为：

① 与酶工程相比，微生物工程的特点是微生物的来源广、价格低，而且可以再生，但发酵液中含有一定副产物，给产品提取与纯化带来困难；而酶催化反应专一、无副产物、转化率高，但原酶价格高，有些酶来源受限制，且酶失活后不能再生。有关微生物工程与酶工程的比较见表 1-1。

表 1-1

微生物工程与酶工程的比较

项 目	微生物工程	酶 工 程
应 用	系列串联反应，产物包括微生物代谢产物、微生物细胞本身和细胞组成部分（胞内产物）	单酶系统时，为单一反应；多酶系统时，可用于若干串联反应或多底物、多产物反应
来源与价格	来源广、价格低，菌种可传代；在发酵开始时，接入少量种子液，即可在过程中自行繁殖	从细胞中提取或通过微生物发酵制得。除若干大宗工业酶制剂外，大多价格昂贵

续表

项 目	微生物工程	酶 工 程
稳 定 性	较高, 可通过多种途径保持其稳定性	较差, 只有高稳定性或经稳定性修饰的酶才能在工业上应用
辅酶再生	在微生物新陈代谢中自行解决	在需要辅酶再生的反应中, 技术和经济问题难以解决
原料要求	可用粗原料, 但培养基中需提供菌体生长和产物形成所必需的成分	简单, 但要求纯度较高的化合物作底物
反应时间	较长, 几天至一周以上	较短, 数分钟至几十小时
反应器	体积较大, 但结构较简单	体积较小, 但结构较复杂
操作方式	多为分批式、少量连续式; 对于固定化细胞, 也可用固定床、流化床反应器进行连续操作	对游离酶反应, 分批式和连续式无明显区别; 对于固定化酶, 以连续固定床、流化床反应器为主
过程控制	较复杂, 过程常分为菌体生长和产物形成两个阶段; 物料成分及性质复杂, 代谢途径较难控制	简单
产品分离	较复杂, 反应终了时, 发酵液中含有菌体、残余培养基和较多的副产物	简单
工业生产	较多, 有上千种工业产品	较少, 目前常见的工业产品仅十余种

②与动、植物细胞培养比较, 微生物培养具有生长速度快、营养要求简单、对环境条件要求较低等特点。正因为如此, 利用转基因微生物生产动、植物细胞产品已成为当前生物工程领域的研究热点。有关微生物培养与动、植物细胞培养的差异见表 员圆

表 员圆 微生物培养与动、植物细胞培养的比较

项 目	微 生 物	哺乳动物细胞	植物细胞
细胞直径/μm	员- 员圆	员圆- 员圆园	员圆- 员圆园
细胞壁	有	无	有
生长形式	悬浮	多数贴壁, 也有悬浮生长	悬浮, 但易成团, 无单个细胞
营养要求	简单	非常复杂	较复杂
生长速度	快, 倍增时间 园- 缘 小时	慢, 倍增时间 员圆- 员圆园 小时	慢, 倍增时间 圆- 苑 天
供氧要求 (呼吸值) μmol/L	员圆- 员圆园	员- 圆	圆- 猿

续表

项 目	微 生 物	哺乳动物细胞	植物细胞
细胞培养浓度(早期)	员-员	园-员	员-园
产物浓度	较高	低	较低
细胞分化	无	无	有
代谢调节	内部	内部、激素	内部、激素
对环境敏感性	忍受范围宽	非常敏感, 忍受范围很窄	忍受范围较宽
对剪切应力敏感性	低	非常高	高

三、微生物工程的组成部分

图 员员 所示为典型微生物发酵过程示意图。除某些转化过程外, 微生物工程可分为如下六个基本组成部分。

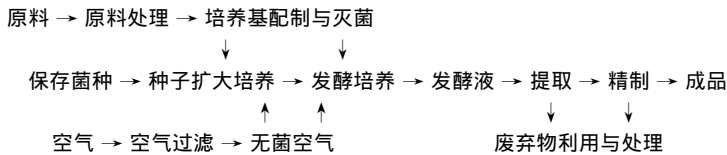


图 员员 典型微生物发酵过程示意图

①培养基制备：包括原料的选择, 必要的物理、化学方法加工(除杂、粉碎、蒸煮、水解、固液分离等), 培养基的配制和灭菌等。

②无菌空气的制备：氧在发酵培养基中的溶解度是很低的, 其饱和溶氧浓度一般不超过远-愿, 而整个好氧发酵过程中的需氧量达员-员, 是饱和溶氧浓度的几千倍至上万倍。因此, 好氧发酵过程中必须源源不断地通入无菌空气。

③菌种与种子扩大培养：在微生物发酵过程中, 首先应采用诱变育种、细胞融合和基因重组等技术对生产菌种进行改造, 选择高产、稳产、对培养要求较低的生产菌种。发酵前必须经多级扩大培养获得足够数量和一定质量要求的种子, 以满足发酵生产的需要。

④发酵培养：发酵培养操作的基本原则是按照特定微生物发酵的要求, 保证和控制各种环境条件, 如营养物浓度、温度、压力、溶氧浓度等, 以促进微生物的新陈代谢, 使之能在低消耗下获得较高的产量。对于不同的发酵生产, 所要求的环境条件各不相同。如酒精、丙酮、丁醇、乳酸等的发酵生产为厌氧发酵, 氨基酸、抗生素、单细胞蛋白等大多数发酵产品的生产为好氧发酵。因此, 必须根据具体微生物的特性、代谢规律和产品特点, 来选

择合适的发酵设备和发酵条件。

⑤发酵产品下游加工过程：从微生物发酵液中分离、精制生物产品的过程常称为下游加工过程(下游加工包括精制等)。一般说来,下游加工过程可分为发酵液预处理、初步纯化(即提取)、高度纯化(精制)和成品加工四部分,所用单元操作包括絮凝、固液分离、细胞破碎、沉淀、吸附、膜分离、萃取、离子交换、电泳、结晶、色层分离、浓缩、干燥、包装等。

⑥微生物过程废弃物的处理：微生物发酵工业的废弃物包括三部分：原料处理过程中剩下的废渣，产品分离与提取过程剩下的细胞、废糟和废母液，以及生产过程中的各种洗涤水、冷却水。发酵废弃物一般不含有毒物质，但有机物和糖含量很高，其中不乏许多有用物质。如果直接排放，不仅会造成严重的环境污染，而且是资源的浪费。综合利用发酵液废弃物，发展高效、低能耗的废水处理技术，以实现发酵过程的清洁生产，是近年来微生物工程研究的重点之一。

第二节 微生物工程发展简史

一、传统(古老)发酵技术

微生物学诞生于19世纪末年代，但人类利用微生物的实践却可追溯到原始人类的生活期间。远在人类的穴居时代，人们就发现吃剩并经过贮存后的兽肉比鲜肉的味道更好，过熟的或开始有些腐烂的果子可制得醉人的饮料。肉类的贮存和酒类的酿造是人类利用微生物制造生物产品的开端，只是当时人们并不知道这些都是微生物发酵作用的结果。

古埃及人在公元前4世纪时开始用经发酵的面团制作面包，公元前16世纪已掌握了用裸麦制作啤酒的技术；公元前6世纪古巴比伦人开始制作酸奶；公元前16世纪古亚述人已会用葡萄酿酒；公元前16世纪古西班牙人曾用类似目前细菌浸取铜矿的方法获取铜。我国传统发酵的历史同样悠久，用黏高粱(秫)造酒始于第一个奴隶制朝代——夏代的初期(迄今约4000年)；在约3000多年前的商代，开始了用人畜的粪便和秸秆、杂草等沤制堆肥；在约2000多年前的商代后期，人们发现用发了霉的豆腐可以治外伤；在约1500多年前的汉武帝时代，开始有了葡萄酒；白酒的起源，当在元朝以前。

对照前述微生物(发酵)工程的定义，上述生产实践活动都应归属于微生物发酵技术的范畴。当然这些实践是只知其然而不知其所以然的经验活动，并没有上升到理论，更没有以理论来指导和提高生产实践，因此在其后相当长的历史时期没有获得大的进展。尽管这样，这些生产实践还是十分可贵的，因为它为其后微生物发酵工程的建立创造了条件。

二、近代发酵技术的建立(纯培技术的建立)

微生物的发现和发酵技术的建立与显微镜的诞生是密不可分的。1664年荷兰人詹生

(在(列文霍克)最早制作了显微镜,但因放大倍数的限制而无法观察到微生物的活动。1665年英国人胡克(罗伯特·胡克)制作的显微镜观察到了霉菌,还观察到了植物切片中存在胞粒状物质,因而把它称为细胞(拉丁文),此名称一直沿用至今。1681年荷兰人列文霍克(安东尼·范·列文霍克)制成了能放大200-300倍的显微镜,观察了污水、牙垢、腐败有机物等,直接看到了微小生物,并对杆菌、球菌、螺旋菌等作了相当正确的描述,为人类进一步了解微生物创造了条件,并为近代发酵技术的建立奠定了基础。

在显微镜诞生后的160年间,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与发酵联系起来。直到19世纪末,法国人巴斯德(路易·巴斯德)才揭示了发酵的秘密,认识到发酵是由微生物的活动引起的。他发现了加热的肉汁不发酵,不加热时则产生发酵,由此提出了一种科学的消毒方法——巴斯德消毒法,即将食品、牛乳和饮料酒等加热至60℃并维持一段时间后可杀死其中的微生物,防止酸变与腐败。时至今日,这种既可杀死营养细胞又不明显破坏食品和饮料营养成分的消毒方法仍在广泛应用。他接连对酒精发酵、乳酸发酵、葡萄酒酿造和食醋制造等各种发酵现象进行了研究。1857年他明确指出酒精是酵母细胞生命活动的产物,并在1859年进一步指出所有的发酵都是微生物作用的结果,而不同的微生物引起不同的发酵。

巴斯德的发现使人类认识了微生物与发酵的关系,但他没有建立纯粹培养技术,即只含一种微生物的培养方法。19世纪末,德国人科赫(罗伯特·科赫)首先应用固体培养基分离微生物。1881年他与他的助手们发明了加入琼脂的固体培养基,此为琼脂培养基的起源。马塞蒂(皮特里)创造了一种“皮式培养皿”,供平板培养之用;在平皿中用接种针蘸上混合菌液在固体培养基表面划线,经培养后即可获得由单个细胞长成的菌落,此种方法一直沿用至今。与此同时,丹麦人汉逊(瓦格纳)研究成功了啤酒酵母的纯粹培养法,并于1882年确定了“汉逊稀释法”纯粹培养原理。1884年,在明茨上采用“汉逊稀释法”选择优良酵母菌株用于啤酒发酵,由此揭开了人类有目的地分离有益微生物来生产所需产品的序幕。

微生物纯培技术的建立,开创了人为控制微生物的时代,促进了近代微生物发酵工业的形成。首先,通过上述技术的应用,改进了发酵管理工程技术,发明了简便的密闭式发酵罐,初步建立了人工控制环境条件的发酵系统,使啤酒、葡萄酒、酱油等生产的腐败现象大大减少,生产规模和发酵效率不断提高,并逐渐由手工作坊向大型工业化生产转变。在此基础上,逐渐建立了丙酮、丁醇、甘油、酒精、有机酸、固体酶制剂等工业,至20世纪50年代,近代微生物发酵工业已基本形成。

在近代微生物发酵工业中,主要的发酵产品为饮料酒、有机溶剂和多元醇等厌氧发酵产品,有机酸、粗酶制剂(包括中国的酒曲)等好氧微生物的发酵培养产品的生产则主要采用固态培养法和表面培养法。1897年马奎阿特(阿瑟·阿特)根据巴斯德效应理论(在有氧条件下酵母的繁殖速度加快,而酒精的产率下降,这种通风抑制酒精发酵的现象称为巴斯德效

应), 首先使用通气法生产酵母。随后, 丹麦和德国的科学家提出了连续补料培养酵母的方法, 使酵母产量大大增加。到目前为止, 这是一种能生产大量酵母菌体而不产生大量酒精的惟一方法。20世纪 50年代后, 连续补料的培养方法被其他微生物工业广泛采用, 可用来消除底物抑制和提高产物的转化率。

三、青霉素与好气培养技术

青霉素的发现, 不仅开创了微生物产品在医药方面的应用, 同时开创了好气发酵工程, 促进了微生物工业的迅速发展, 是微生物发酵工业的第一次技术革命。

1928年, 弗莱明(英国)在研究金黄色葡萄球菌时发现了一个奇怪的现象。在一个偶然被青霉菌所污染的培养皿中, 被青霉菌污染部分周围的葡萄球菌被杀死, 形成透明圈。弗莱明分离出这种青霉菌株并加以培养, 从中提取出了一种能杀死金黄色葡萄球菌的化学物质, 即青霉素。后来他提取的少量青霉素成功地治愈了一名遭到感染的伤病员。

由于青霉素是微生物所产生的次级代谢产物, 其产量远比乙醇、有机酸等初级代谢产物低, 且青霉菌为好氧微生物, 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。第二次世界大战的爆发, 大量伤员需要一种比当时磺胺类药物更为有效和更为安全的药物来治疗外伤炎症及其继发性传染病, 从而促进了青霉素等微生物药物的研究与发展。在英美许多科学家的共同努力下, 至 20世纪 40年代建立了深层液体通风培养技术(包括无菌空气制备技术和通风机械搅拌发酵罐的发明), 并在辉瑞(美国)药厂建立了一座具有 10个约 100L发酵罐的青霉素生产车间。1945年, 弗莱明等因发明和开发青霉素而被授予诺贝尔医学奖。我国第一座生产青霉素的工厂于 1958年在上海建成投产。

青霉素的工业化生产, 开辟了上百种新的抗生素和其他次级代谢产物的工业微生物产品的开发。同时, 在其基础上发展起来的好气培养技术, 被很快应用于有机酸、酶制剂、氨基酸等初级代谢产物的生产, 从而取代原来落后的固体或表面发酵方式, 并由此诞生了一个新的学科——微生物发酵工程。

四、人工诱变育种与代谢控制技术

随着生物化学和微生物遗传学的发展, 促进了 20世纪 30年代氨基酸、核苷酸等微生物工业的建立。1933年, 日本微生物学者木下祝郎成功地用谷氨酸棒杆菌(悦)发酵生产获得了谷氨酸, 以后鸟氨酸(悦)、赖氨酸(悦)、异亮氨酸(悦)、缬氨酸(悦)、高丝氨酸(悦)等相继投产, 目前几乎所有的氨基酸均可用微生物发酵法生产。氨基酸发酵的迅速发展是与巧妙地采用了“营养缺陷型”突变株的筛选方法分不开的。所谓营养缺陷型菌株(悦)是指自己不能产生生长所必需的物质, 而必须要外加这些物质后才能生长的菌株, 可以通过诱变使正常的菌株突变为营养缺