

---

---

# 第一章

## 发酵工程的过去、现在和未来

江南大学生物工程学院

---

# 本章内容

第一节 什么是发酵工程？

第二节 发酵工程的过去和现在

第三节 发酵工程的未来

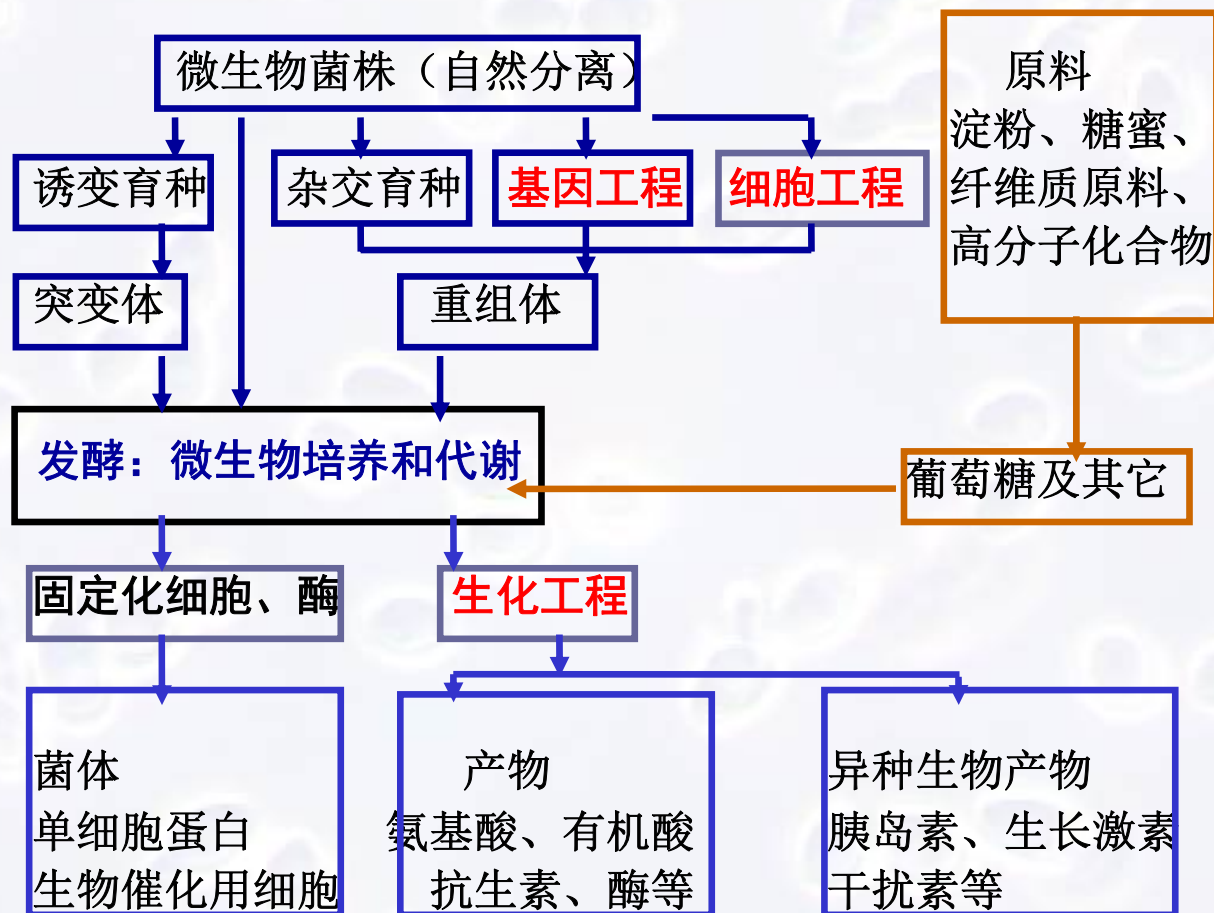
A microscopic view of numerous yeast cells, likely Saccharomyces cerevisiae, showing their characteristic oval shape and budding. The cells are densely packed and appear to be in various stages of growth. The background is a light, slightly textured blue-grey.

# 什么是发酵工程？

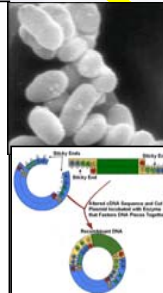
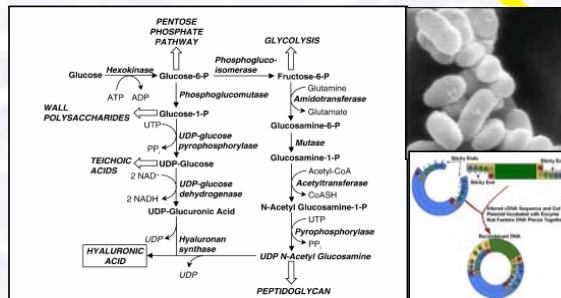
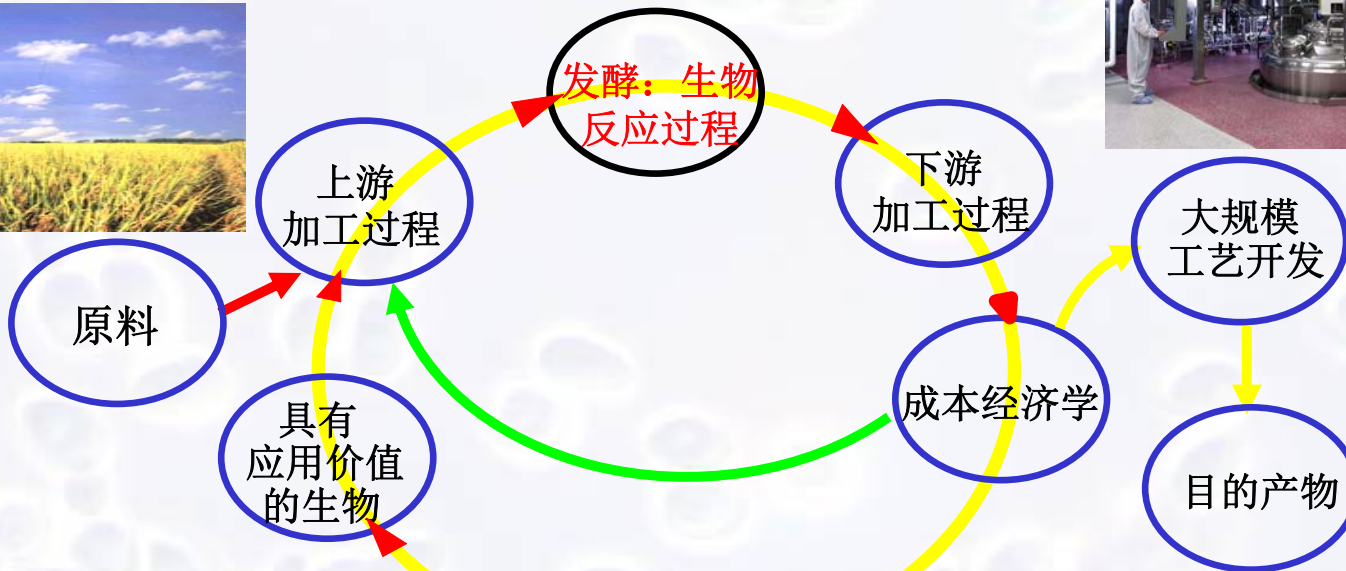
# 生物技术

- 以**生命科学**为基础
- 结合先进的**工程技术**手段和**其它自然科学原理**按照预先的设计改造生物体
- 利用**微生物、动物或植物体**对原料进行加工
- 生产出人类所需**产品**或达到**某种目的的技术**

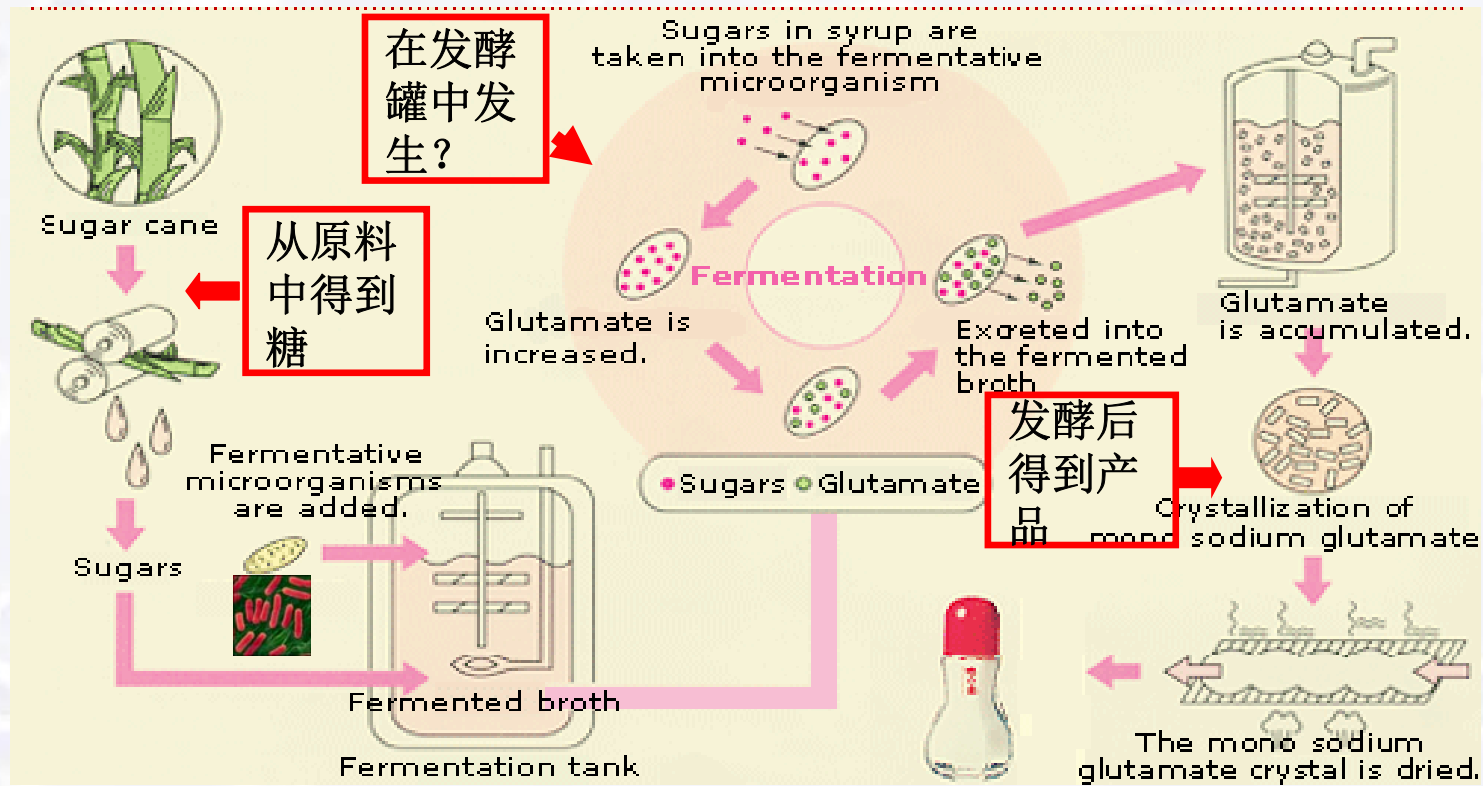
# 生物技术与发酵工程



# 发酵产品工程



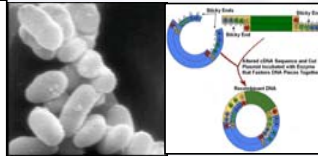
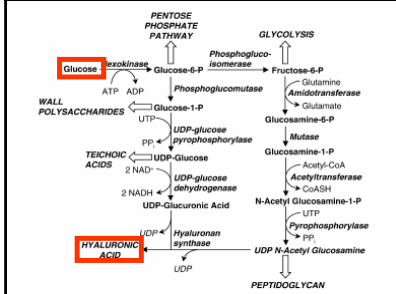
# MSG发酵过程



谷氨酸钠(味精)



# HA发酵过程



种子制备

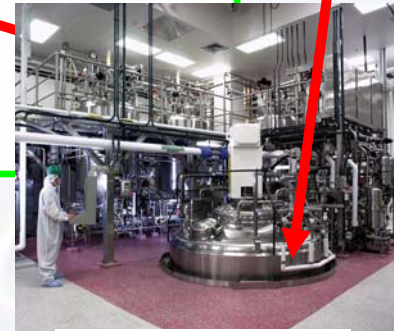
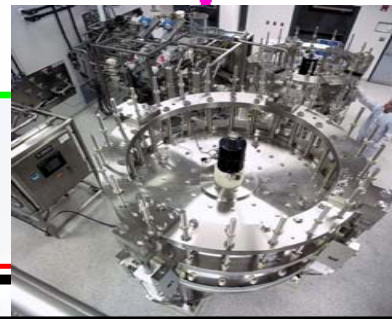
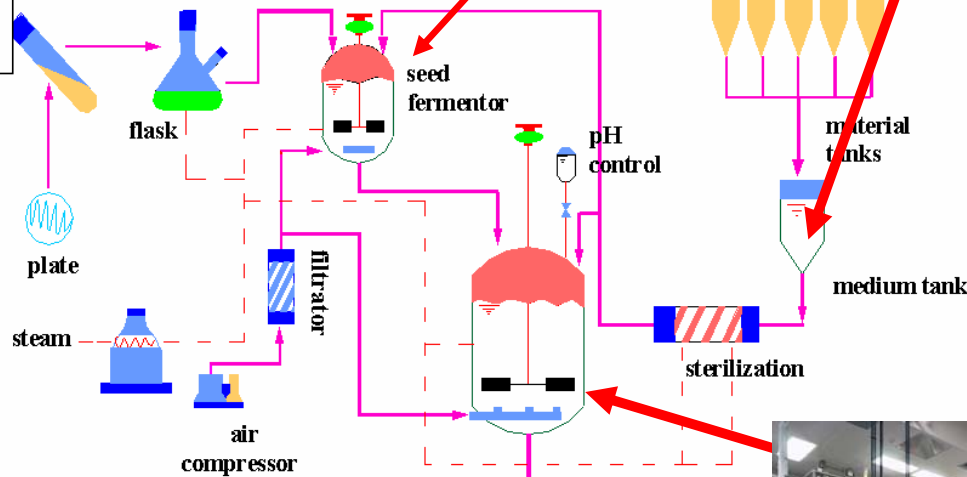
培养基制备

菌种筛选和改造

菌和HA

产品分离提取

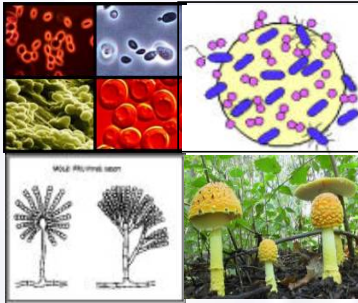
发酵罐系统





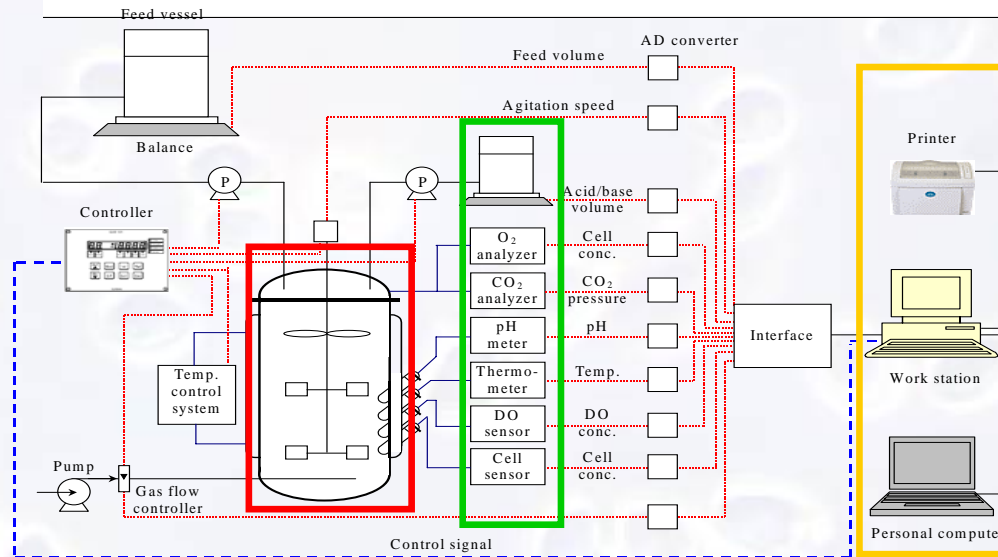
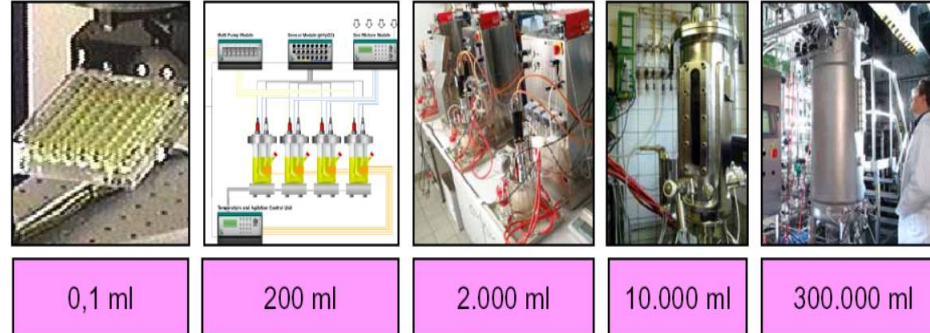
# 发酵过程研究

获得应用价值的微生物



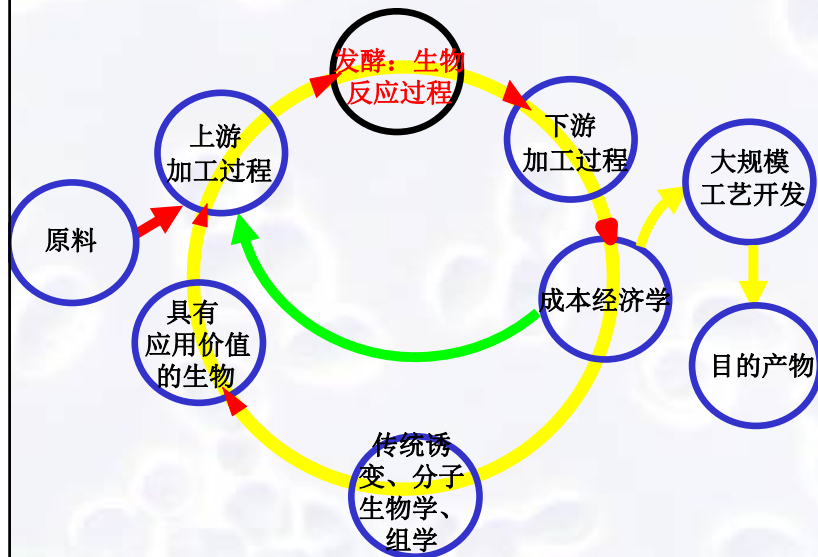
发酵产物分离提取

反应器放大

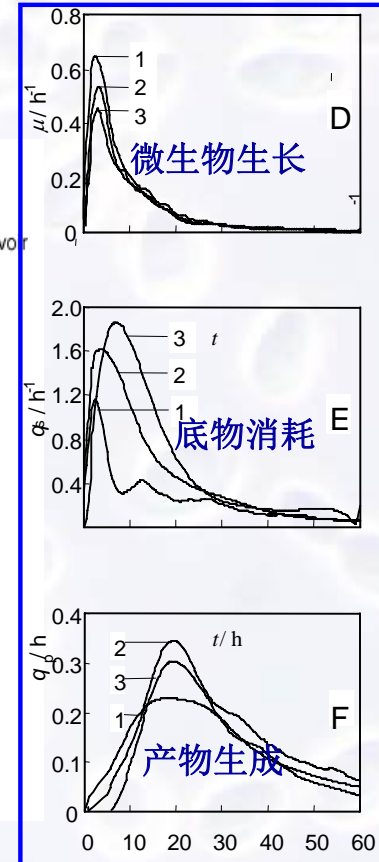
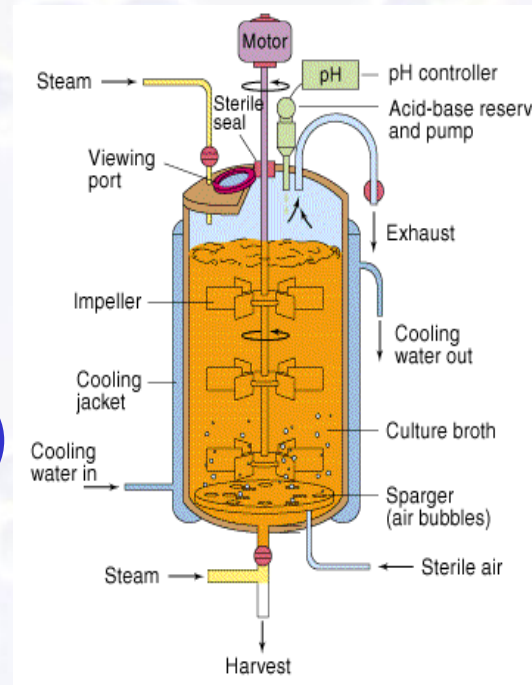


发酵过程优化和控制

# 什么是发酵工程？

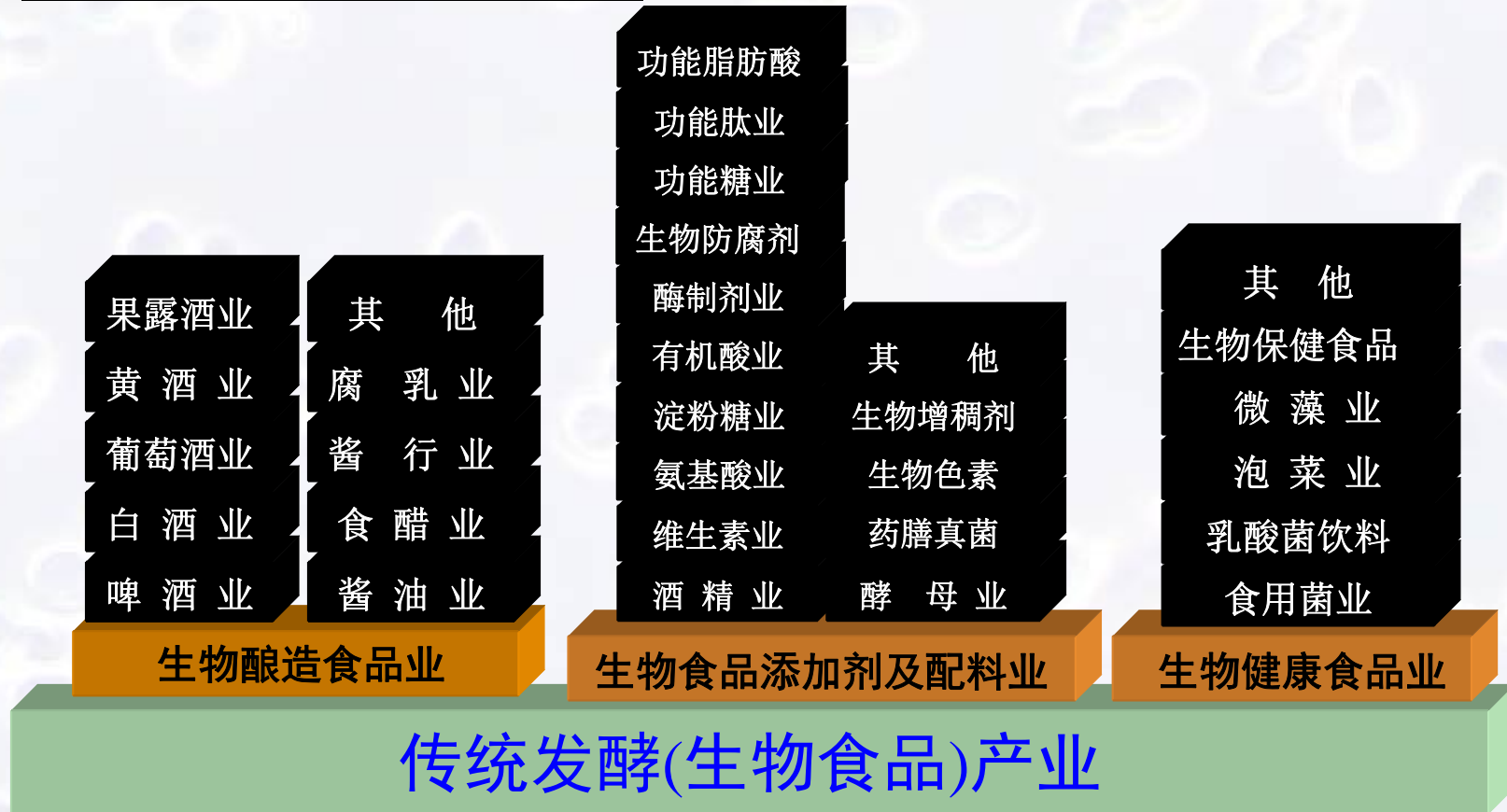


广义的概念：生物学(微生物学、生物化学)和工程学(化学工程)结合

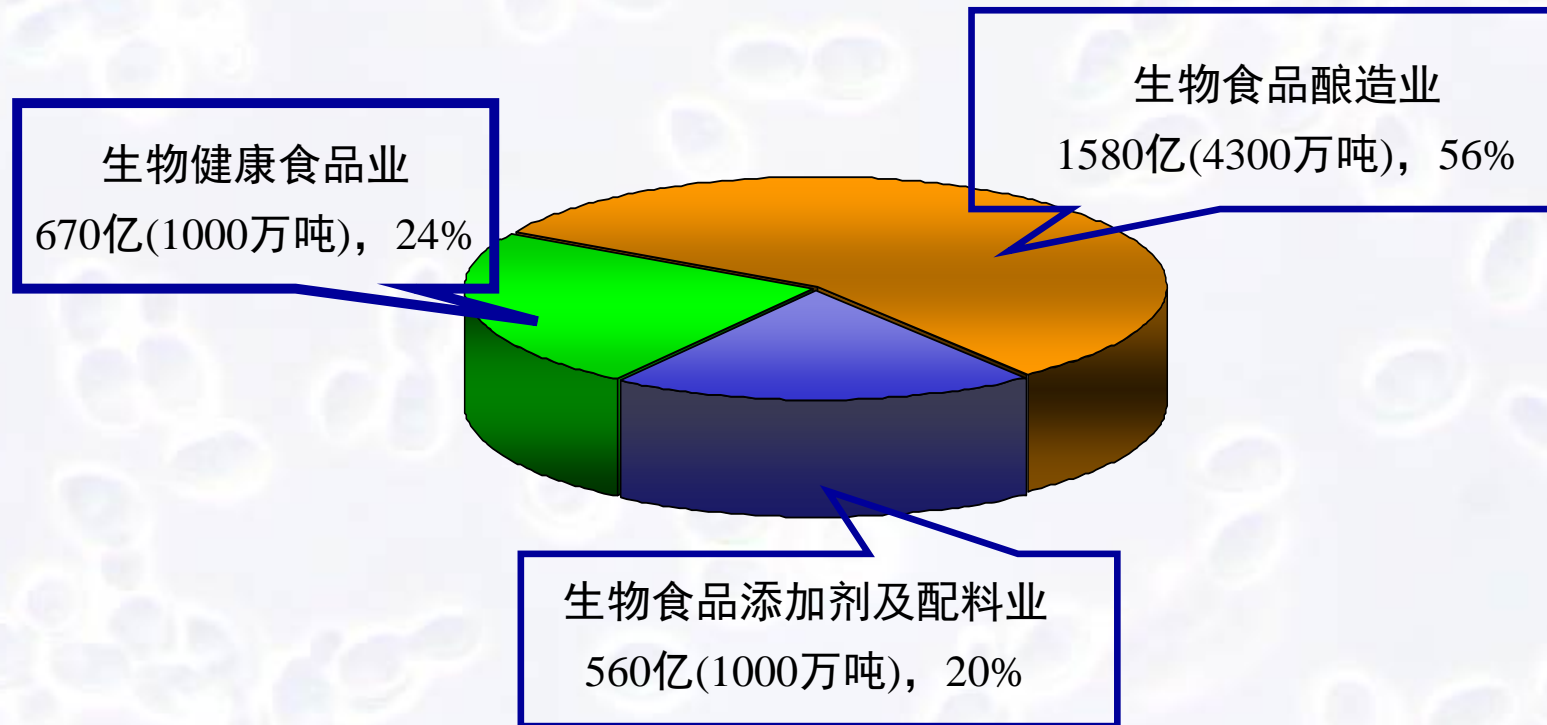


狭义的发酵概念：微生物培养和代谢过程

# 什么是发酵工业？



## 发酵工业举例—生物食品产业



中国生物食品产业总规模(2004年): 2810亿元(6300万吨)

A microscopic view of numerous yeast cells, likely Saccharomyces cerevisiae, showing their characteristic oval shape and budding. The cells are densely packed and appear to be in various stages of growth and division. The background is a light, slightly textured blue-grey.

# 发酵工程的过去和现在

# 发酵工程的过去——发酵工业发展年鉴

## 抗菌素发酵工业

### 第一阶段

1900年前

- 酒精、醋
- 使用温度计，比重计和热交换器
- 分批培养
- 使用纯酵母培养物(1896), 用优质醋接种发酵

### 第二阶段

1900—1940

- 面包酵母，甘油，柠檬酸和丙酮丁醇
- pH离线控制，温度控制
- 分批和补料培养
- 应用纯培养技术

由食品工业向非食品工业发展

### 第三阶段

1940—目前

- 青霉素，氨基酸，核苷酸，酶
- 可灭菌的pH和溶氧电极，计算机控制
- 分批和补料，连续培养开始
- 菌种筛选程序重要



# 发酵工程的过去——发酵工业发展年鉴

## 第四阶段

1960—目前

- 用烃和和别的贮存物生产单细胞蛋白
- 计算机控制
- 连续培养+培养基再循环
- 生产菌株的遗传工程技术

代谢控制发酵技术

## 第五阶段

1979—目前

- 通常微生物不产生的异质化合物，如胰岛素，干扰素
- 更先进的控制手段和传感器
- 分批，补料-分批或连续
- 用基因工程技术将外源基因引入微生物宿主

## 第六阶段

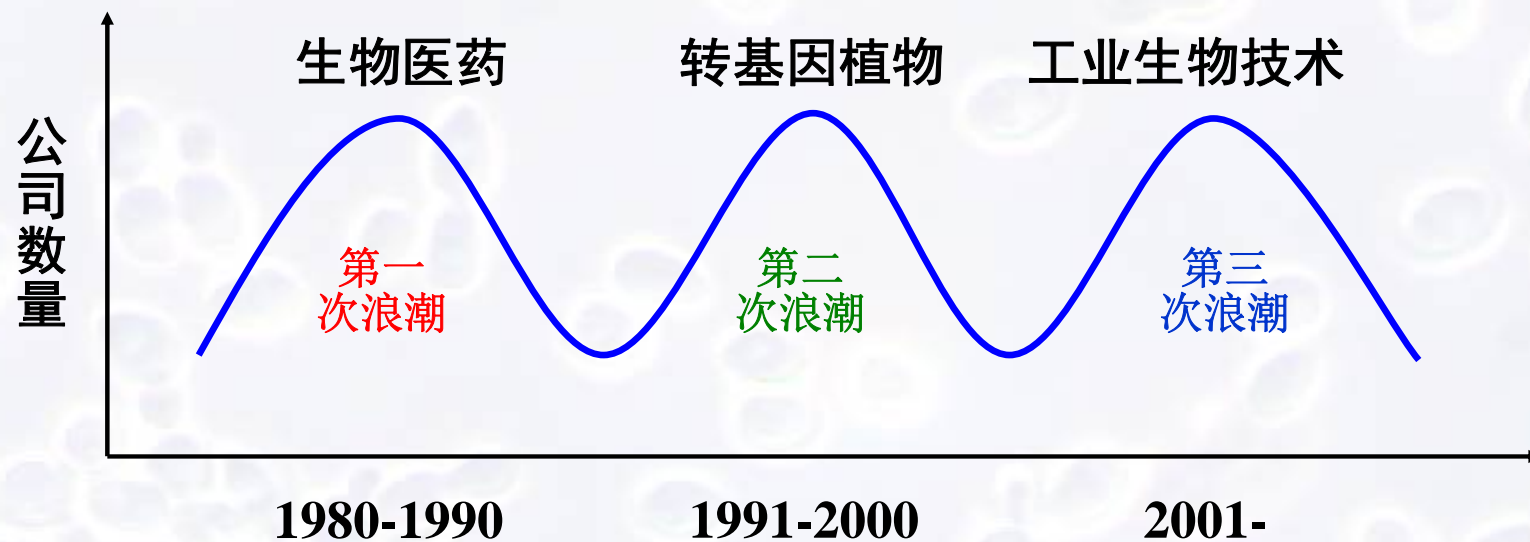
1990—目前

- 解决能源、资源、环境等问题的工业应用
- 基因组学、蛋白质组学、代谢组学等技术紧密结合

组学技术与发酵工程



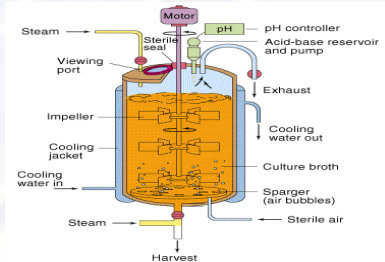
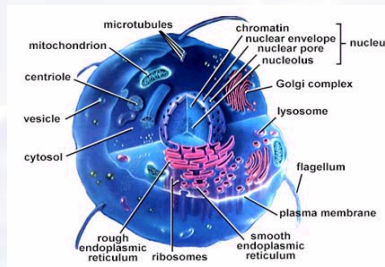
# 发酵工程的现在——生物技术的三次浪潮



# 工业生物技术主要部分--发酵工程



生物质原料



## 生物能源

- 生物酒精
- 生物柴油
- 甲醇
- 氢气
- 沼气



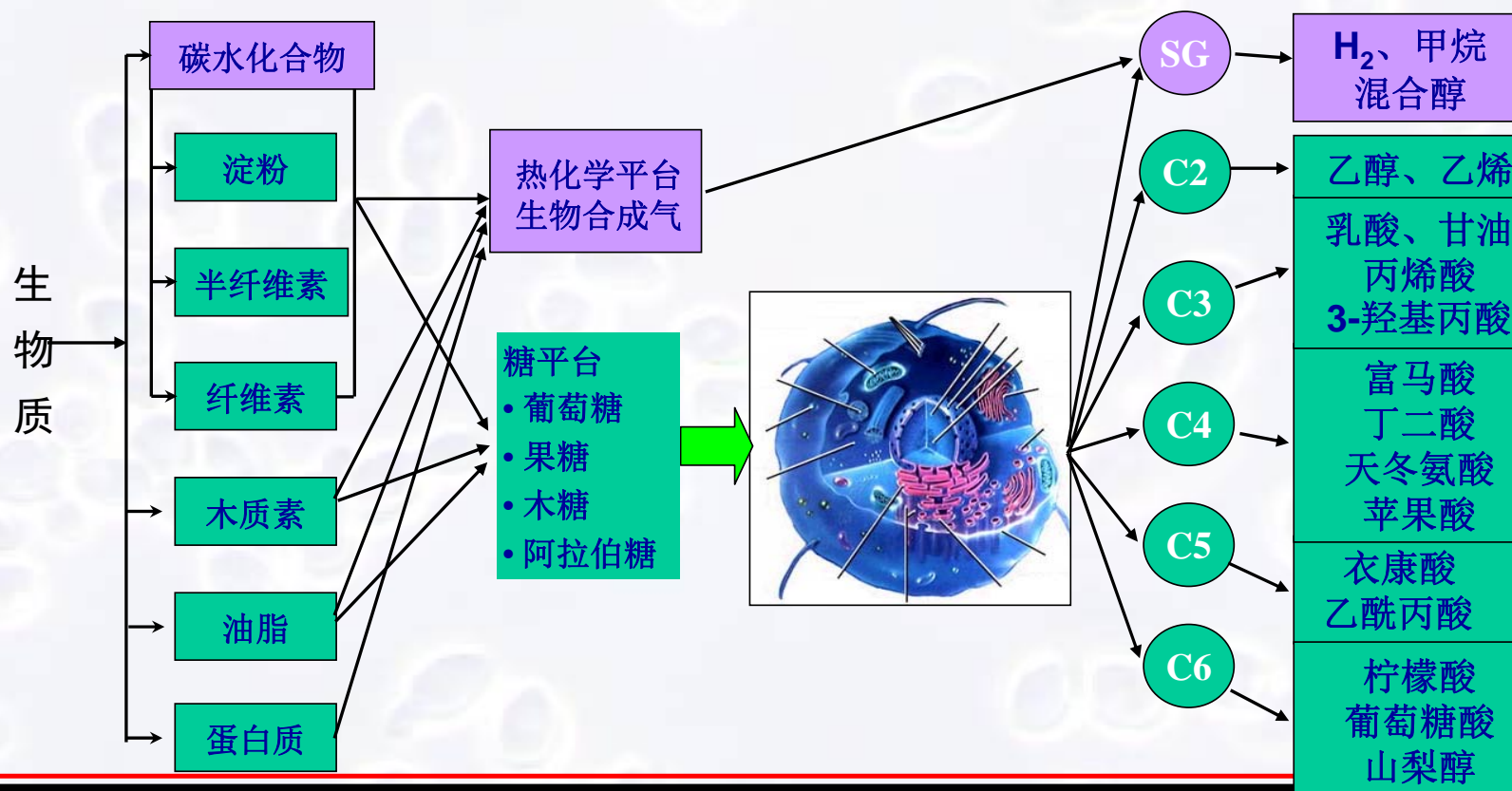
## 化学品

- 精细化学品
- 大宗化学品
- 食品添加剂
- 生物塑料
- 溶剂
- 酚类
- 粘合剂
- 脂肪酸
- 碳黑、颜料
- 燃料、香料、墨水
- 洗涤剂



# 发酵工程的现在——解决的问题

资源问题：生活资料和生产资料生产



# 发酵工程的现在——解决的问题

能源问题：大力开发生物能源



**Biodiesel cruise boat  
(Amsterdam, The Netherlands)**



**Ethanol powered car (Sweden)**



**Biodiesel-truck-loading  
(Germany)**



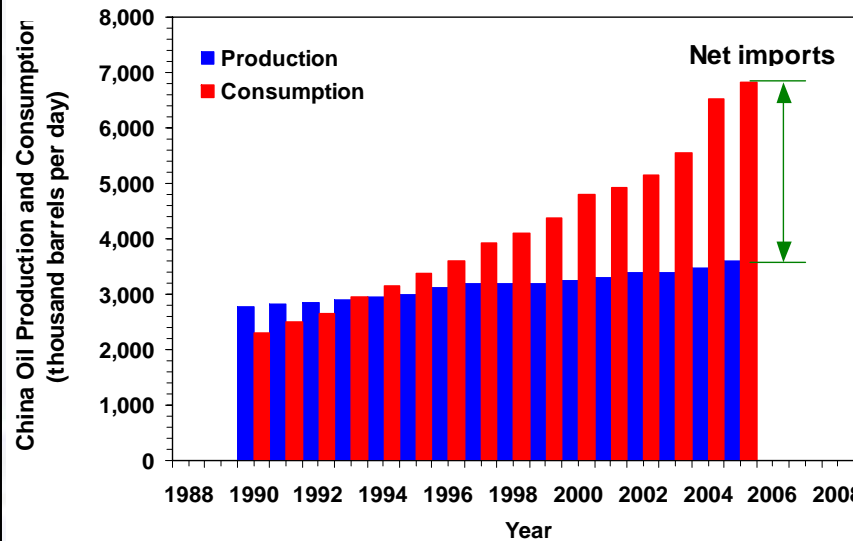
**Biodiesel  
filling station**



**Royal Nedalco truck at ethanol loading point  
(The Netherlands)**

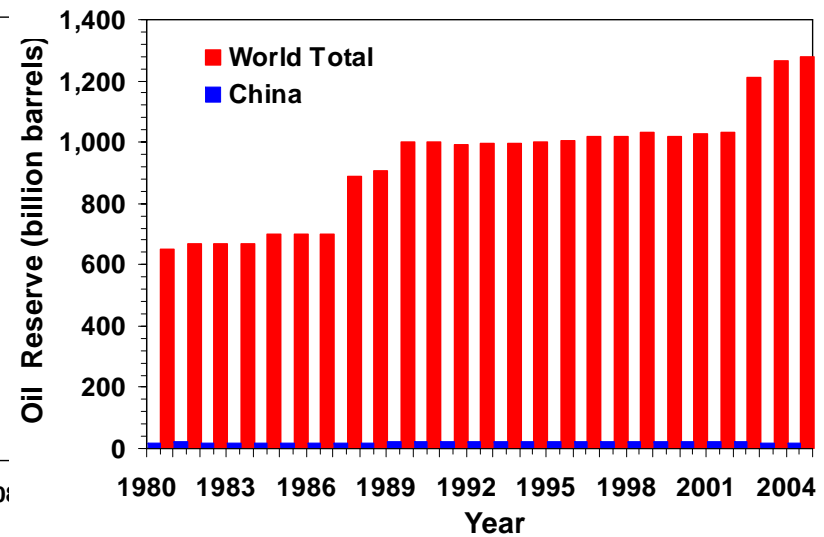
# 举例：开发生物能源

## Oil Consumption and Production in China



2005年进口依存度高达41.3%

## Oil Reserves in China



我国石油储量只有全球的2%

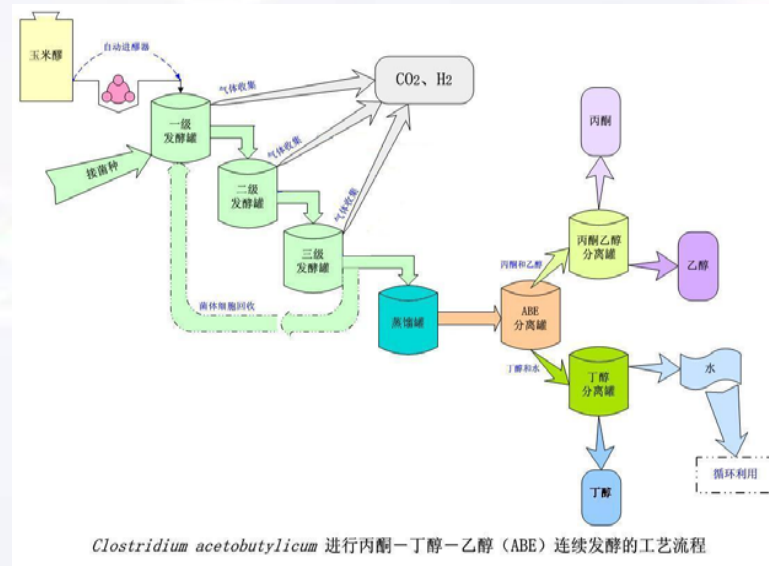


# 举例：开发生物能源

寻找性能相近、廉价、清洁、可再生的车用替代燃料

- 车用燃油占我国石油消费总量的三分之一
- 车用燃油消耗每年递增15-16%
- 2015年车用燃油消费量预计将达到全国石油消费量的65%

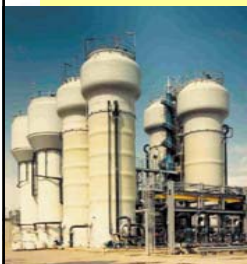
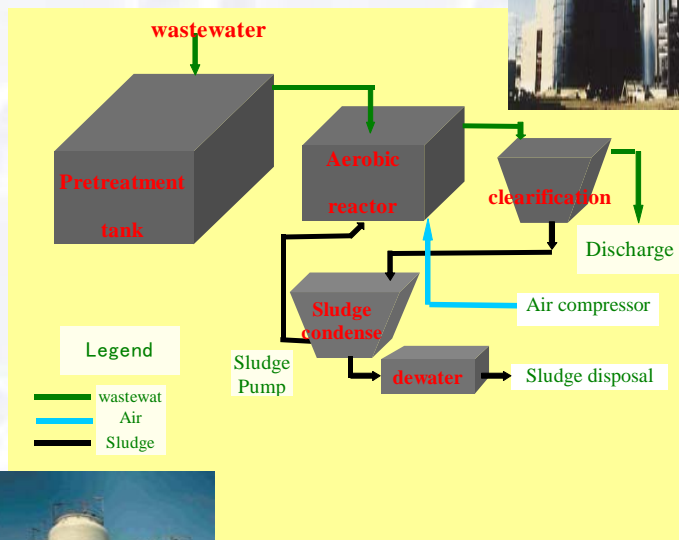
用生物质发酵生产生物乙醇、丁醇等！



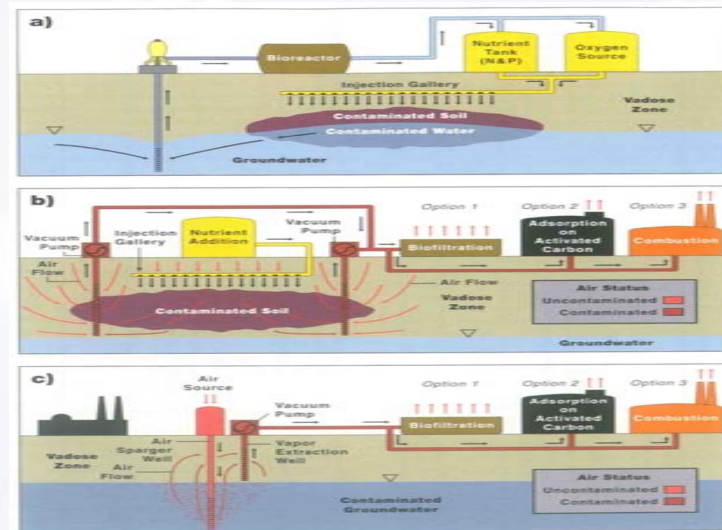
# 发酵工程的现在——解决的问题

环境问题：解决复杂环境问题的最经济有效手段

## 废水生物处理工程



## 生物修复



## 异位生物修复

## 原位生物修复

- ◆ 土著原位
- ◆ 工程原位



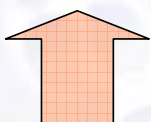
# 发酵工程的现在——研究的内容

## 1 微生物菌株选育 → 微生物菌株选育、改造与功能优化技术

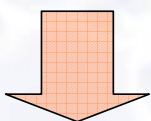
微生物及其分子的适应能力



工业环境与自然环境的巨大差异



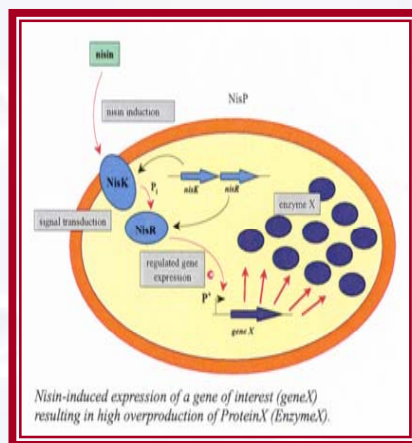
发酵工程的障碍



微生物效率与产率



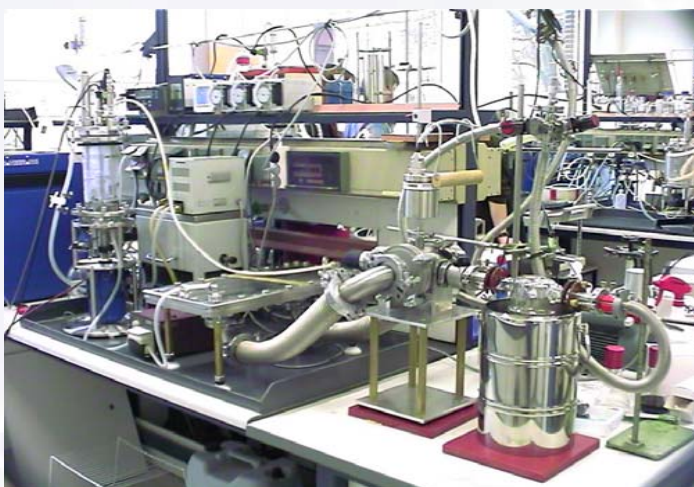
微生物长期进化的经济型生存本能



技术手段：  
代谢组学  
流量组学  
代谢工程  
生物信息学  
高通量筛选

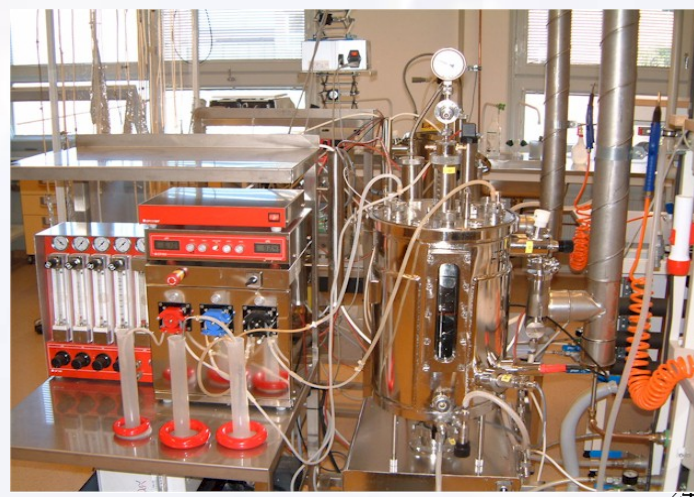
# 发酵工程的现在——研究的内容

## 2 发酵工艺 → 发酵过程优化、控制与反应器技术



- 基于工业微生物生理的发酵过程模型化、预测和控制技术
- 基于人工智能的生物转化过程精细控制技术

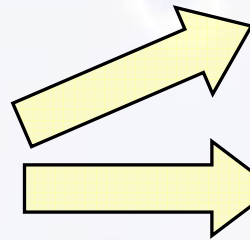
- 优化的目标是创造最适合微生物或酶工作的环境
- 需要发展过程环境参数和微生物生理参数的在线监测技术



# 发酵工程的现在——研究的内容

## 3 单元操作 → → 发酵工程过程工程技术

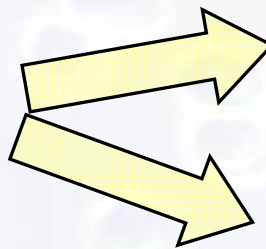
细胞群体效应及过程放大原理



1 大规模细胞群体行为及过程放大原理

2 生化反应过程放大原理与方法

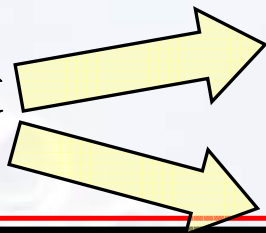
多相复杂体系物质和能量传递与生物转化规律



3 多相生化特性分析及生物过程模型化

4 生物/化学方法耦联设计与调控

生物过程单元耦合与过程优化原理

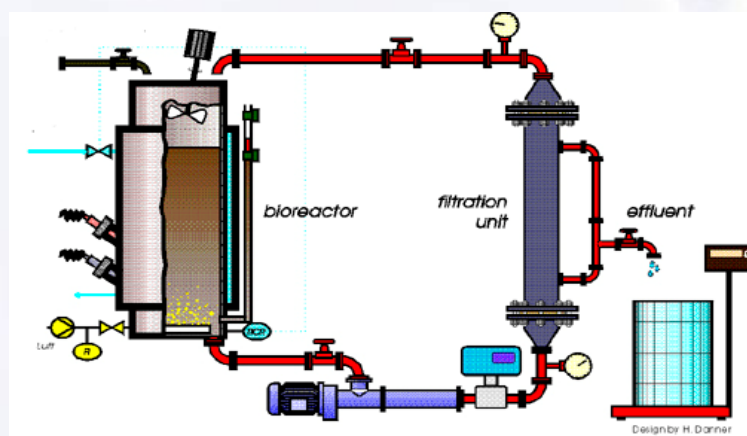


5 工业生物过程单元耦合与集成

6 工业生物过程的系统控制与优化

# 发酵工程的现在——研究的内容

## 4 发酵产品分离提取工艺→→发酵产品高效提取技术与装备



- 生物反应与产物分离的耦合技术
- 新型分离介质和新型分离方法



- 1、提高产品收率
- 2、降低生产成本





# 发酵工程的现在——研究的内容

## 5 废物处理→→绿色制造工艺的开发

- 利用微生物细胞或酶的生物催化功能，进行大规模的物质加工与转化的先进生产方式
  - 针对高污染、高能耗的化学工业过程，以生物加工取代化学加工
  - 采用酶技术等方法，改造造纸、皮革、纺织、医药、食品等行业
- 节约能耗、降低水资源消耗、降低污染物排放、实现环境友好过程

# 发酵工程的现在——关键技术问题

## 关键问题

1 微生物能够积累最大目的产物(产量)的**条件**是什么?

2 底物最多被微生物转化为产物(转化率)的**条件**是什么?

3 微生物最快速度发酵生产目的产物的**条件**是什么?

## 工程意义

高产量  $\Rightarrow$  便于产品分离提取

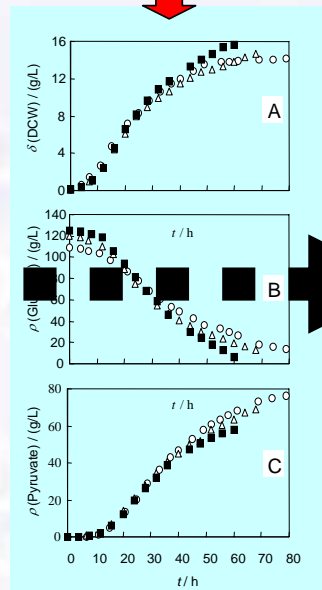
粮食原料为底物  $\Rightarrow$  高转化率  $\Rightarrow$  降低原料成本

分批操作为主  $\Rightarrow$  高生产强度  $\Rightarrow$  缩短生产周期

# 发酵工程的现在——关键技术问题

基于细胞表观特性进行优化

基于细胞内部分析进行优化

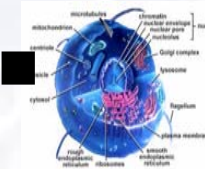
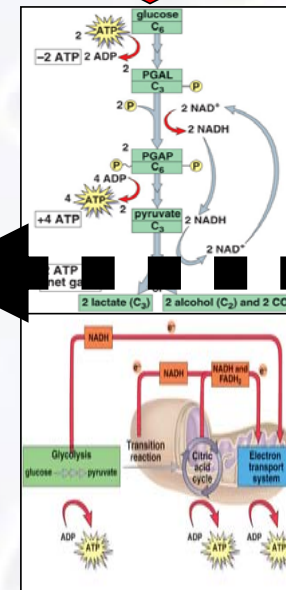


优化策略

高产量

高底物转化率

高生产强度

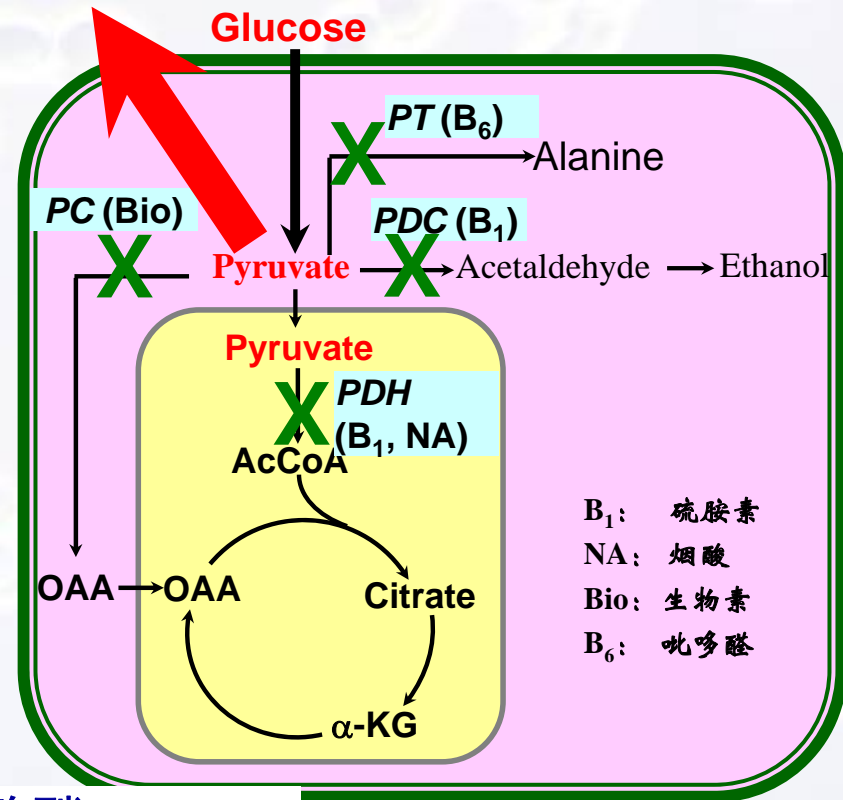
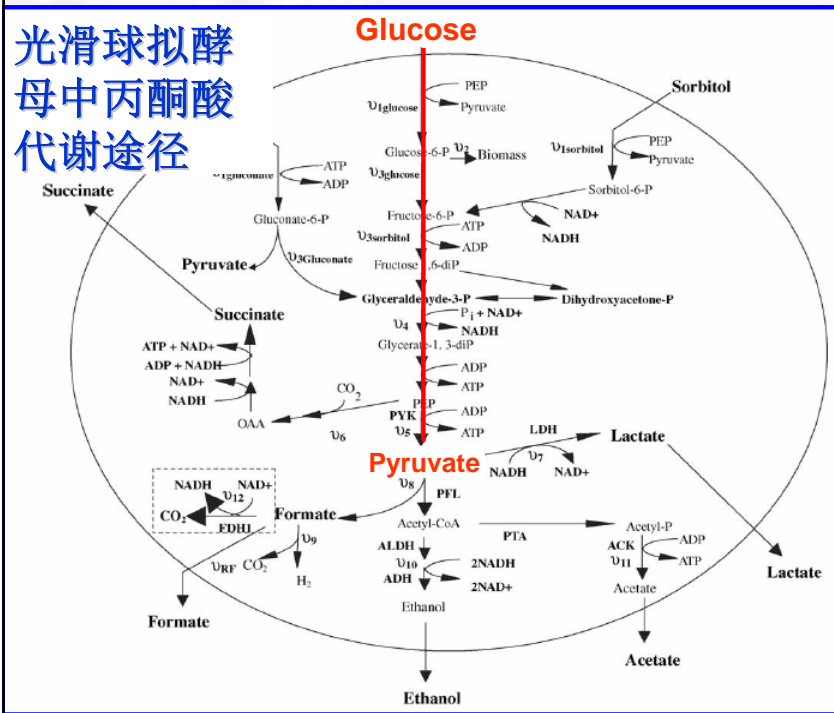


- 在理论和技术上有突破, 在工业生产中能广泛应用
- 显著提高发酵过程的经济性和科学性



# 举例：丙酮酸发酵

如何得到丙酮酸高产量发酵？——菌株选育和培养条件优化



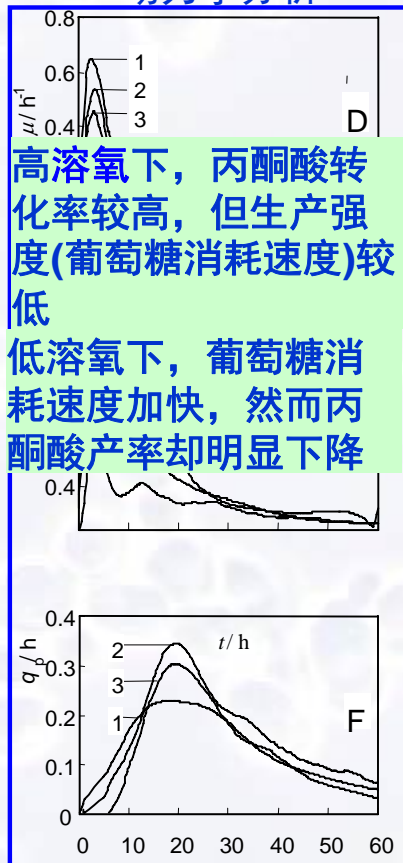
- 选育自身不能合成维生素的酵母(维生素缺陷型)
- 控制培养基中维生素浓度

Li Y, Chen J, Lun S. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2001, 55:680-685, 57:471-479. 30

Li Y, Chen J, Liang D, Lun S-Y. J. Biotechnol. 2000, 81:27-34

# 如何提高丙酮酸发酵的转化率和生产强度？——分阶段溶氧控制

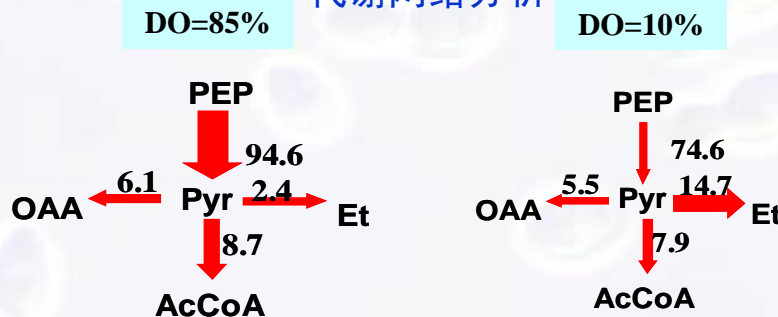
## 动力学分析



高溶氧下，丙酮酸转化率较高，但生产强度(葡萄糖消耗速度)较低

低溶氧下，葡萄糖消耗速度加快，然而丙酮酸产率却明显下降

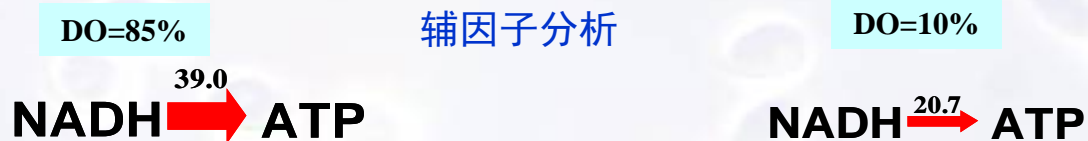
## 代谢网络分析



高溶氧下转化率高的原因

PEP到Pyr的通量增加了20%，丙酮酸进一步代谢的通量下降了63.3%

## 辅因子分析



低溶氧生产强度高的原因

总ATP下降31.4%，NADH下降18.6%

生产强度  
(葡萄糖消耗速度)

$$v = \frac{V_i \left( \frac{[NADH][DHAP]}{K_{NADH} \cdot K_{DHAP}} - \frac{[NAD^+][G3P]}{K_{eq}} \right)}{\left( 1 + \frac{[F1,6BP]}{K_{F1,6BP}} + \frac{[ATP]}{K_{ATP}} + \frac{[ADP]}{K_{ADP}} \right) \left( 1 + \frac{[NADH]}{K_{NADH}} + \frac{[NAD^+]}{K_{NAD^+}} \right) \left( 1 + \frac{[DHAP]}{K_{DHAP}} + \frac{[G3P]}{K_{G3P}} \right)}$$

↑ 59%

## ● 如何提高丙酮酸发酵的转化率和生产强度?—分阶段溶氧控制

采用单一高或低供氧模式，不能同时达到高转化率和高生产强度！

### 分阶段溶氧控制！如何分阶段？

#### 碳平衡分析

$k_L a / h^{-1}$	0~16h			16~32h			32~48h			after 48h		
	450	300	200	450	300	200	450	300	200	450	300	200
Glucose <sup>1</sup>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Cell growth <sup>2</sup>	47	30	27	17	13	16	13	13	11	3	10	11
Pyruvate	44	41	32	80	60	55	83	70	57	82	78	41
Ethanol	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Residual carbon	7	27	39	3	27	29	5	17	32	14	12	48

前16 h较高溶氧有利于碳流合成细胞；

16 h后耗氧速率恒定，碳流转向合成丙酮酸

确定分阶段供氧模式:发酵0-16 h控制 $k_L a$ 为450 h<sup>-1</sup>，16 h后将 $k_L a$ 降低至200 h<sup>-1</sup>

#### 结果

高产量(89.4 g/L)  
高产率(0.636 g/g)  
高生产强度(1.95 g/(L·h))

Liming Liu,\*Jian Chen. *Biotechnology and Bioengineering*, 2007, **97**(4):825-832

Liming Liu,\*Jian Chen. *Journal of Biotechnology*, 2006, **126**(2):173-185

## 发酵工程的现在

- 1** 发酵工程是工业生物技术的主要部分，由于国家需求和社会发展，主要目标已从生活资料的生产转向解决资源、能源和环境问题
- 2** 发酵工程的技术内涵，已经从主要是工业应用技术，发展为紧密依靠生物学、工程学基础研究的工程技术
- 3** 发酵工业与其它学科的交叉，已经从产品生产过程拓展到关键技术、方法学

## 发酵工业的现在

## 中国是发酵工业大国

### ◆ 生产规模大

- ❖ 醋、酱油、啤酒等产量世界第一
- ❖ 抗生素，如青霉素等产量世界第一
- ❖ 维生素C、氨基酸(味精)、有机酸(如柠檬酸)等产量世界第一

### ◆ 产品种类多

**5000**多家, 相关产业年产值超过**2**万亿元, 占国民经济的**20%**

## 发酵工业的现在

## 中国不是发酵工业强国

### ◆ 工艺技术落后

生产水平低25%-45%、能耗高40%、水耗高55%

产 品	国内水平	国际水平
谷氨酸	产酸12-13%，转化率45-55%	15-18%，60-65%
柠檬酸	产酸14-16%	25%
头孢菌素	30000-35000 u/ml	40000 u/ml以上
维生素C	糖酸转化率 94%	糖酸转化率97%

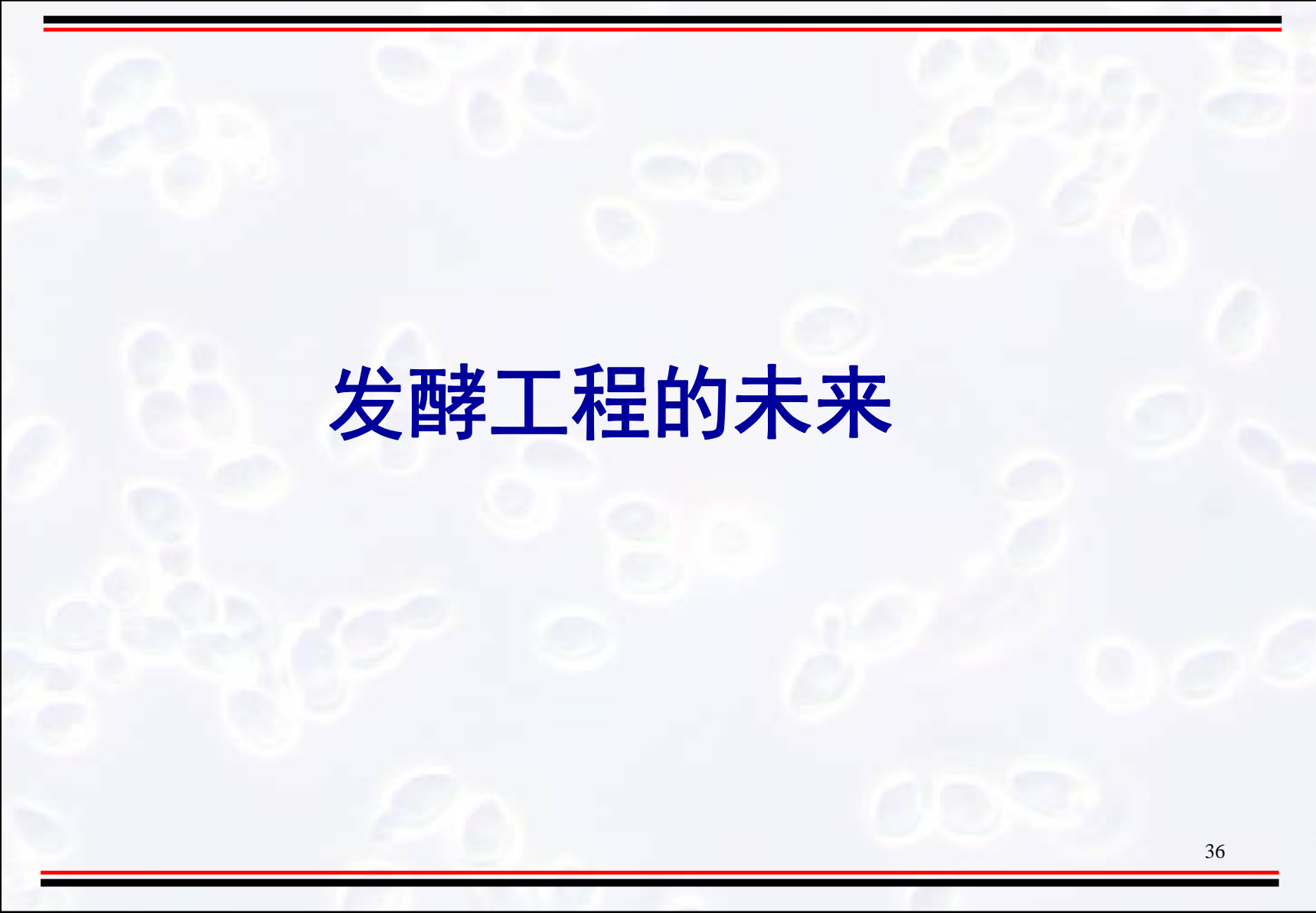
### ◆ 环境污染严重

每年废水达80亿m<sup>3</sup>(工业排放总量10%)，COD排放500万吨(20%)

产 品	每吨排放废水
硫氰酸红霉素	500吨，COD10万mg/L
味精	COD6-7万mg/L废母液近20吨，总排400吨
柠檬酸	COD1-4万 mg/L中和废水10吨，总排300吨

### ◆ 创新品种较少 部分产品长期依赖进口

35

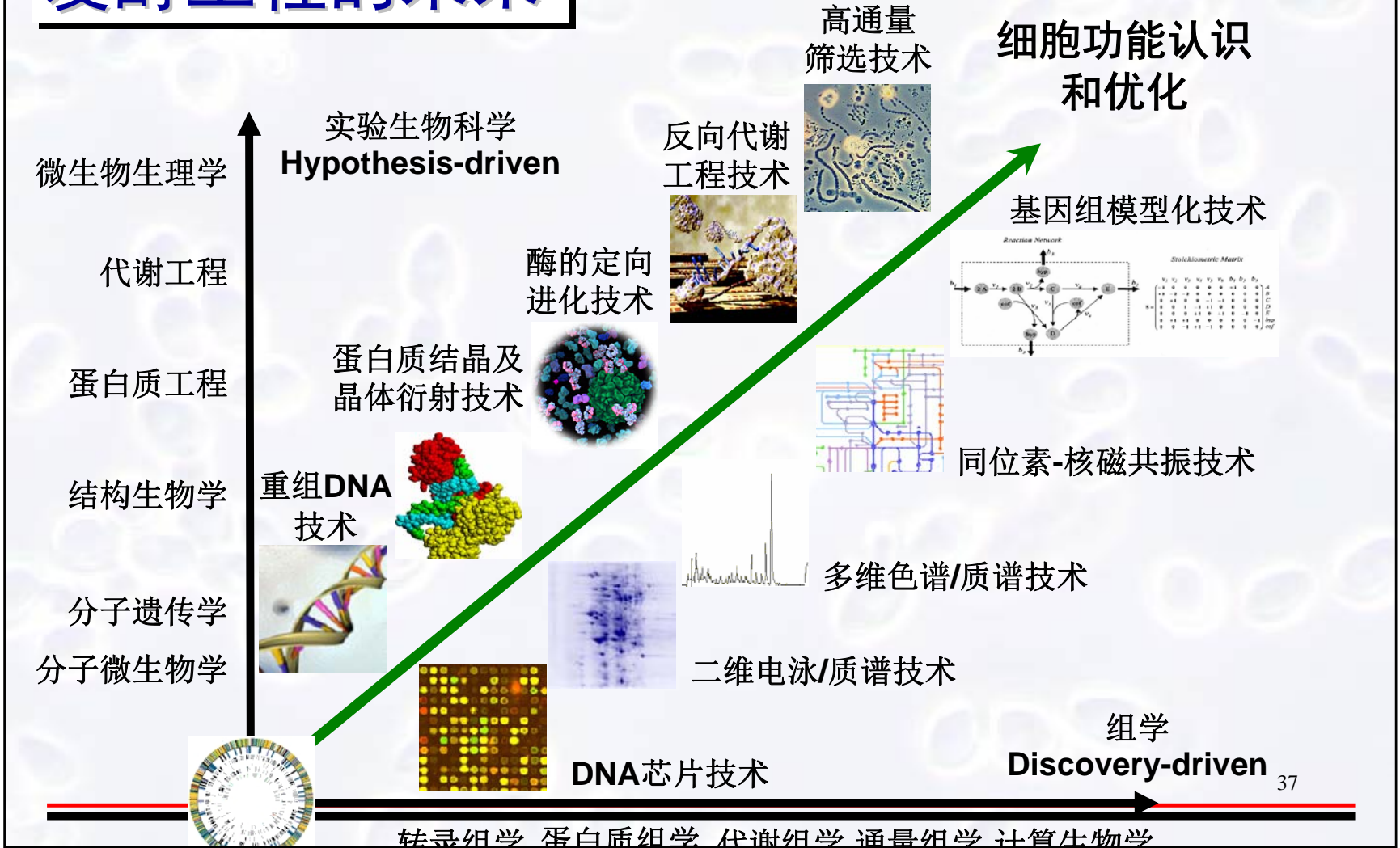
A microscopic view of numerous yeast cells, likely Saccharomyces cerevisiae, showing their characteristic oval shape and budding. The cells are densely packed and appear to be in various stages of growth. The background is a light, slightly textured blue-grey.

# 发酵工程的未来



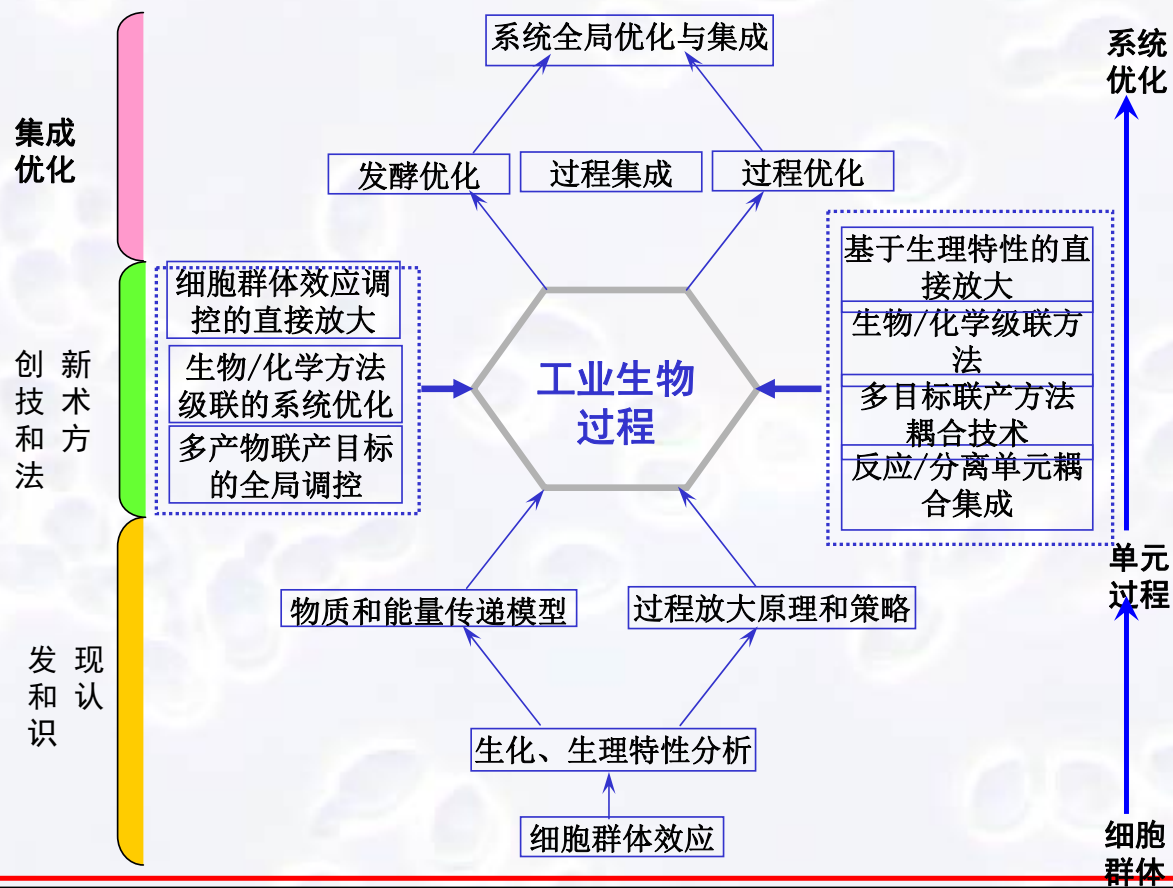
# 发酵工程的未来

# 生物学知识和技术



# 发酵工程的未来

## 工程学方法和规律



# 中国发酵工业的未来

## 从发酵工业大国转为发酵工业强国

### ◆ 产品选择

国内已形成较大规模，对国民经济产生重大影响的  
已形成出口能力，能参与国际竞争的  
受知识产权限制，长期依赖进口，急需技术突破的

### ◆ 技术方向

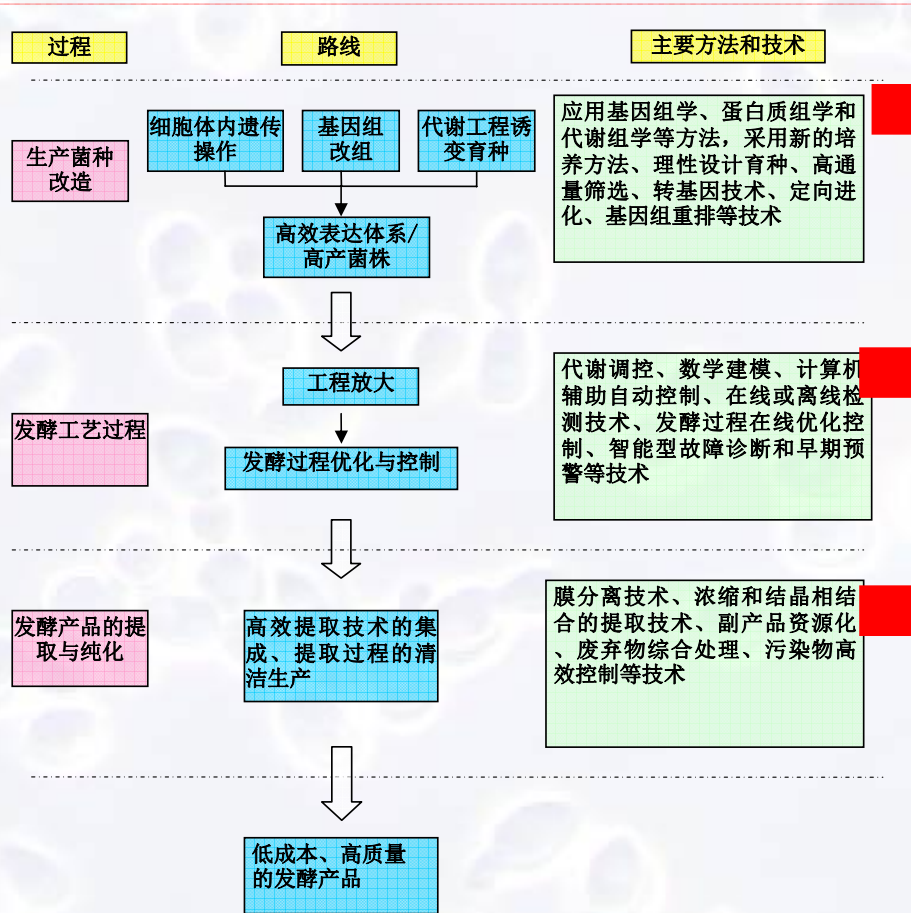
原料拓展  
菌株改造  
工艺优化  
综合利用

### ◆ 整体目标

提升发酵工业整体技术水平  
提高产品经济技术指标  
增强国际竞争力  
创造重大的社会和经济效益。

# 总体技术路线

# 发展的关键技术



- 1 基于组学技术的高通量菌种改造和筛选平台
- 2 基于组学和生物信息学的代谢途径分析与优化
- 3 基于实时代谢流分析、代谢途径模型和智控工程的集约型发酵过程控制与优化技术
- 4 基于发酵液及产品特性的高收率、低成本、高质量和环境友好的集成型提取精制技术
- 5 基于源头防治与过程监控的资源节约与废物资源化清洁生产技术

# 课后完成内容

- 1、给出发酵工程的基本定义
- 2、给出一个发酵产品生产技术的发展过程  
(可绘图说明)
- 3、提出研发一个发酵新产品的可能路线