



GAODENG XUEXIAO ZHUANYE JIAOCAI

• 高等学校专业教材 •

[高校教材]

微生物工程

张 卉 主编

MICROBIAL ENGINEERING




中国轻工业出版社

高等学校专业教材

微生物工程

张 卉 主编

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物工程/张卉主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2010. 4

高等学校专业教材

ISBN 978-7-5019-7129-9

I. ①微… II. ①张… III. ①微生物-生物工程-高等学校-教材 IV. ①TQ93

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 163723 号

责任编辑: 江 娟

策划编辑: 李亦兵 责任终审: 唐是雯 封面设计: 锋尚设计

版式设计: 王培燕 责任校对: 吴大鹏 责任监印: 马金路

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: 北京达利天成印刷公司印刷

经 销: 各地新华书店

版 次: 2010 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 19.75

字 数: 477 千字

书 号: ISBN 978-7-5019-7129-9

定价: 35.00 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

61187J1X101ZBW

前 言

微生物工程是生物工程的重要组成部分，是基因工程、酶工程、细胞工程实现产业化的桥梁。现代微生物工程在传统发酵工程的基础上，融入了分子生物学、代谢工程等新理论和新技术，结合现代生物过程控制及生物分离工程的新技术，使现代发酵工业的生产水平大幅度提高，而且应用领域也不断拓展，逐渐由医药、食品等传统领域扩展到化工、冶金、农业、能源和环保等新领域，给人类带来巨大的经济效益和社会效益。可以预见，微生物工程在现代工业发展中前景广阔、前途光明，学习、研究和发展现代微生物工程理论和技术具有重要意义。

本书以教育部全国高等学校生物工程与生物技术专业教学指导委员会关于生物工程专业是工科专业的认定为依据，强调理工结合，突出工程学，以培养应用型、技术型人才为主要目标而编写，详细介绍了现代微生物工程的原理、技术和设备，以及发酵经济学、清洁生产等内容。全书共分为十四章，以微生物发酵工业生产过程为主线，全面系统地介绍了微生物工程的概念、历史渊源、微生物工程的相关学科、工业微生物菌种选育和保藏、发酵工业培养基设计、微生物的代谢调控和代谢工程、生物反应动力学、发酵工艺控制、发酵过程的参数监测和自动控制、好氧发酵工艺与设备、厌氧发酵工艺与设备、灭菌工程、空气除菌工艺原理与设备、微生物下游工程概论、发酵工业的清洁生产、发酵经济学等内容。本书在注重先进性的同时更强调实用性，内容安排强调系统基础上的相互衔接，紧扣现代微生物工程最具发展潜力的领域和方向，既可作为生物工程、生物技术专业，以及生物化工、生物制药工程等相关专业本科学生的教科书，使学生全面掌握微生物工程的基本原理与技术应用，也可供相关专业的研究生和企事业单位的科研人员作参考。

本书的编著者均为教学经验丰富的一线教师，他们总结多年的教学和科研经验，结合自己的教学体会，参考经典及最新出版的相关教科书和论文资料编写而成。其中第一章、第十一章和第十三章由沈阳化工学院张卉老师编写，第四章由辽宁大学刘宏生老师编写，第六章、第十四章由东北大学仲崇斌老师编写，第九章由大连工业大学董刚老师、赵长新老师编写，第八章由鞍山师范学院辛广老师、李书倩老师和辽宁科技大学高云老师编写，第二章由沈阳农业大学郑艳老师编写，第三章、第十章由沈阳药科大学孙艳老师编写，第五章由辽宁大学魏杰老师编写，第七章由沈阳化工学院全桂静老师编写，第十二章由沈阳化工学院朱建星老师编写。全书由张卉老师统稿。沈阳化工学院张万忠教授、内蒙古民族大学陈永胜教授和东北大学夏彬彬同学也为本书的编写做了大量工作。在此，向各位参编的老师致以衷心的感谢！

在本书编写过程中，参考了生物工程、生物技术等领域众多同仁的教材、专著和论文，在此深表谢意！

由于微生物工程技术的发展日新月异，而编写任务繁重，时间紧迫，再加上编者水平、能力有限，本书的遗漏和不妥之处，恳请读者予以批评指正。

编者

2008年12月于沈阳

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 生物工程概述	(1)
第二节 生物工程的相关学科	(2)
第三节 生物工程发展简史	(4)
第四节 生物工程的应用领域	(6)
第五节 生物工程技术产业化的关键因素	(9)
第六节 我国生物工程现状	(10)
第七节 生物工程的未来发展趋势	(11)
第二章 工业微生物菌种选育和保藏	(13)
第一节 工业微生物包含的微生物类群	(13)
第二节 菌株的分离与筛选	(16)
第三节 工业微生物的育种	(20)
第四节 菌种的保藏	(37)
第五节 菌种的复壮与种子的制备	(40)
第三章 发酵工业培养基的设计	(45)
第一节 发酵工业培养基的设计原则	(45)
第二节 发酵工业培养基的成分及其调节作用	(46)
第三节 发酵工业培养基的类型	(54)
第四节 发酵工业培养基的设计	(58)
第四章 微生物的代谢调控和代谢工程	(62)
第一节 微生物的代谢调控	(62)
第二节 初级代谢与次级代谢的调控	(70)
第三节 代谢工程	(77)
第五章 微生物发酵培养	(84)
第一节 发酵动力学类型	(85)
第二节 微生物发酵的动力学	(86)
第三节 杂菌的污染与控制	(96)
第六章 发酵过程控制	(102)
第一节 温度对发酵的影响及其控制	(102)
第二节 pH 对发酵的影响及其控制	(103)
第三节 溶解氧对发酵的影响及其控制	(105)
第四节 泡沫对发酵的影响及其控制	(111)

第五节	基质浓度对发酵的影响及其控制	(113)
第六节	高密度发酵	(115)
第七节	发酵终点的判定	(119)
第八节	二氧化碳和呼吸商	(120)
第七章	发酵过程的参数检测和自动控制	(122)
第一节	发酵工艺参数及其检测	(122)
第二节	发酵过程的自动控制	(141)
第三节	生物传感器的数据采集和分析	(145)
第四节	计算机在发酵过程中的应用	(146)
第五节	微生物工程的系统控制	(147)
第八章	好氧发酵	(153)
第一节	好氧发酵概述	(153)
第二节	好氧发酵设备	(155)
第三节	好氧发酵实例	(168)
第九章	厌氧发酵	(202)
第一节	啤酒发酵工艺	(202)
第二节	啤酒发酵设备	(210)
第三节	酒精生产工艺	(219)
第四节	酒精发酵设备	(223)
第十章	灭菌工程	(227)
第一节	湿热灭菌原理	(227)
第二节	分批灭菌的设备与计算	(234)
第三节	连续灭菌的流程及设备	(237)
第四节	发酵设备及管道的灭菌	(239)
第十一章	空气除菌工艺原理与设备	(240)
第一节	空气除菌的方法	(240)
第二节	空气介质除菌原理	(241)
第三节	介质过滤效率和过滤器的计算	(244)
第四节	空气过滤除菌流程与设备	(247)
第十二章	下游加工过程概论	(258)
第一节	下游加工过程的特点及一般工艺流程	(258)
第二节	发酵后物料的预处理与初步分离	(260)
第三节	产品的初步纯化	(264)
第四节	产品的精制	(267)
第五节	成品加工和包装	(275)
第十三章	发酵工业的清洁生产	(279)
第一节	清洁生产的概念、内容和意义	(279)

第二节	清洁生产技术的研究内容、特点和关键	(282)
第三节	清洁生产与末端治理的比较	(284)
第四节	企业实行清洁生产的程序和管理体系	(285)
第五节	国内外清洁生产概况	(287)
第十四章	发酵经济学	(290)
第一节	发酵经济学概述	(290)
第二节	发酵经济学应用	(291)
参考文献	(299)

第一章 绪 论

微生物工程是生物工程的基础和重要组成部分，是生物技术产业化的重要环节。长期以来，微生物工程为人类生产了大量有用产品，在农业、工业、医学、能源、环保、冶金、化工原料等领域有广泛的应用。随着基因工程、分子育种、自动控制等技术的发展及渗透，微生物工程将为人类社会的发展做出更大的贡献。

第一节 微生物工程概述

微生物工程 (microbial engineering) 是由工程技术和微生物学相互渗透、有机结合而形成的学科；是利用微生物的特定性状和功能，通过现代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 DNA 重组、细胞融合、分子修饰和改造等新技术合并发展起来的现代发酵技术。

微生物工程通常也被称为微生物发酵工程，这是由于以往微生物技术的重要发展阶段，即利用发酵罐进行深层发酵生产大量重要发酵产品，创造了一段辉煌历史。但现代微生物技术已突破了曾给其带来里程碑转折发展的发酵罐时期，并广泛应用于环境保护、细菌冶金、能源开发等领域，特别是基因工程、细胞工程、生化工程技术的快速发展促进了微生物技术的发展，因而用“微生物工程”一词能更准确地概括其内涵。微生物工程与传统发酵工程相比具有显著特点：① 强化了上游基础研究，引入基因工程、细胞融合、分子育种等高新技术，所构建的工程菌用于发酵工业，可产生高效益；② 工艺流程后处理工序自动化程度逐步提高，并应用现代计算机技术优化各单元，使整个过程高效化；③ 由于发酵设备的体积和控制能力提高，生产规模大，所生产的产品量大质高；④ 上、中、下游各个环节的衔接和配套更趋于合理、有效；⑤ 工业化生产后，一般不造成环境污染。基于上述原因，可以预见现代微生物工程将比传统微生物工程为人类社会做出更大贡献。

现代微生物工程所利用的生物，除传统的微生物外，还包含两类生物形态：一是通过基因工程构建的工程菌，利用它们生产人类所需要的产品，其中不乏自然界尚未发现的新型生物工程产品；二是利用某些源于动物、植物细胞来生产的原来很难获得的有用产物。现代微生物工程不仅使用微生物细胞，也可以使用动植物的细胞来发酵，以生产出对人类有用的各类产品，例如利用培养罐对杂交瘤细胞进行发酵，生产出单克隆抗体等昂贵的生物工程药品。因此，随着研究的深化，发酵的实质含义应该是培养不同生命体获取所需要有用产品的过程。把微生物发酵技术、细胞培养技术与工程技术有机结合起来，大量生产有价值的产品以服务于工业、农业、医药卫生、能源、环保以及人类日常生活之所需，正是微生物工程的现代目标。

在 20 世纪中期兴起的生物工程中，微生物工程举足轻重，因为基因工程、细胞工程、酶工程、单克隆抗体和生物能量转化等高科技成果往往要通过微生物工程才能转化为生产

力。绵延几千年的传统发酵技术与现代生物工程相结合，使发酵业进入到微生物工程阶段。

第二节 微生物工程的相关学科

随着微生物学的发展和工程技术的介入，人们利用微生物的能力在不断增强，从原始手工作坊逐步发展到现代化的大规模生产，形成了微生物工程。而与其他学科（生物化学、遗传学、基因工程、化学工程以及生物经济学等）的相互渗透，则极大地促进了微生物工程的发展。

一、微生物学是微生物工程的基础

微生物（microorganism）是存在于自然界的一群体积微小、结构简单、必须借助于光学显微镜或电子显微镜放大数百倍甚至数万倍才能看到的微小生物。研究这些微小生物的形态结构及其生命活动的规律，就是微生物学的基本任务。

微生物种类繁多，广泛存在于土壤、空气、海洋、湖泊、动植物体表及体内等不同生态环境中。根据微生物有无细胞基本结构、分化程度和化学组成等差异，可将微生物分为三大类，即非细胞型微生物、原核细胞型微生物和真核细胞型微生物。

微生物显示了生命形态和功能的多样性，对极端环境有高度适应性和生存能力，是任何高等生物不可比拟的。微生物与人类关系密切，其重要性涉及我们日常生活的各个方面。它给人类带来的利益不仅是享受，而且实际上关系到人类的生存。微生物是人类生存环境中必不可少的成员，有了它们才使得地球上的物质进行循环；微生物在生产许多人类必需的工业产品中起到难以替代的作用，例如面包、奶酪、啤酒、抗生素、疫苗、维生素、酶等。然而，微生物是一把十分锋利的双刃剑，它们在给人类带来巨大利益的同时也可给人类带来重大的危害，其中最明显的是病原微生物对人类生存的威胁，病害对人类生命的破坏和对社会发展的影响是微生物学科赖以产生和发展的直接动力之一。

研究这些微小生物的形态结构、生理生化、遗传变异及其生命活动的规律，就是微生物学的基本任务。微生物学是一门实用性很强的生命科学，日本学者尾形学在著作中指出：“在近代科学中，对人类福利最大的一门科学，要算是微生物学了”。作为生命科学的重要组成部分，它与现代生物技术紧密联系在一起。微生物学正在不断丰富和发展，充满生机，发展前景广阔。

微生物工程所应用的微生物，主要是细胞微生物，其中包括“工程微生物”。通过发酵过程获得的所需产品，有的是它们的菌体，有的是它们在代谢过程中产生的形形色色的中间代谢产物或终产物。通常把这一产业称为微生物工业（microbial industry）。微生物工业的产品被应用于工业、农业、医药卫生、环保、能源、轻工、食品、生物材料等诸多行业。例如人们日常生活所用的味精、维生素、单细胞蛋白等产品，农业生产中越来越广泛应用的微生物杀虫剂、微生物饲料、微生物肥料等，在市场上都具有较强的竞争力，产生了很好的经济效益和社会效益，在国民经济中的地位日益重要。所以有的国家专门设立国家微生物工业部，专门管理这个行业的科研、生产、商业运作等。

二、工程学是微生物工程的发展武器

工程学 (engineering) 是探索工业生产规律性的科学。一切工业, 无论是重工业、轻工业, 还是微生物工业, 都是为了生产对人类社会有用的产品。与人类密切相关的医药、保健和生命安全的微生物产品以及其他具有实用价值的微生物本身或它们的代谢产物的获取, 正是微生物工业的目标。要使这些产品工业化生产达到经济上可行, 也是工程学研究的重任。这就要求我们考虑: ① 现代化的高效生产的设备, 就微生物工业而言, 必须有各种不同类型的生物反应器 (发酵罐) 及其配套附件 (如测量温度、pH 的仪器仪表, 自动化取样装置等), 以便实现高效自动化、功能多样化, 进而规模生产大型化; ② 合理的工艺流程, 就微生物发酵工程而言, 它的工艺流程主要有上游和下游两部分, 上游是整个生产过程的关键, 是获取发酵产品的前提条件; 下游在发酵生产中占有重要地位, 是发酵工程产品质量的重要保证。只有这两者有机结合才能达到发酵生产的正常运行。

从投入原料到最后发酵产品的获得, 整个过程是一个完整的生产体系。为了保证实验室中间试验所取得的成果尽快扩大到工业化生产并维持正常运转, 以达到最佳状态并获得优质的发酵产品, 还必须处理好整个发酵过程中出现的其他问题和专业技术人员素质的问题。

为了使发酵产品更符合需要, 可采取发酵与化学合成相结合的途径, 这是今后微生物工程发展的一个极其重要的方向。这种方法兼发酵与化学合成两者之所长, 不论以何种方式获得微生物产品, 都应有商品化潜力, 这样才能为市场所接受, 产生经济效益。只有这样的生物产品才富有生命力。因此, 工程学可以说是研究合理而高效的生产设备和生产工艺的一门学科。掌握和运用工程学原理和技术是微生物工程更好地服务经济建设所必需的。在建立工程学及其应用的全过程中, 发挥人的主观能动性和积极的创造性十分重要, 其目的在于完善生产所需要的设备和先进技术的介入, 以便更有效地提高微生物工业的生产能力, 很好地服务于全社会。

三、微生物工程学是一门边缘学科

简而言之, 微生物工程学就是研究微生物工程的科学, 它是以微生物学、生物化学和生物工程学为基础, 又与工程技术紧紧联系在一起而建立的一个完整的科学与工程技术体系。它既是微生物学的分支学科, 又是工程学的分支学科, 同时也是生物工程学的重要组成部分。因此, 就学科而言, 它是研究利用微生物 (包括“工程微生物”在内) 及其代谢产物与工艺生产过程原理的科学, 把它称之为微生物工程学或微生物生物工程学是有道理的。微生物工程学的特点是: ① 充分利用有重要经济价值的微生物资源, 实现研究开发; ② 通过发酵技术和工艺有效生产包括其有关代谢产品在内的微生物产品; ③ 这些微生物产品及“工程微生物”发酵生产的产品具有重要应用价值; ④ 这些微生物产品要面向国内外两大市场, 在参与市场竞争的过程中将不断提高产值。

当前微生物工程要在两方面努力: 一是对传统发酵生产菌、工艺的实际改造, 以提高产品质量和生产效率; 二是按国内外市场的需求, 采用现代生物技术手段构建新型的发酵生产用菌, 更好地提高生产效率。

举几个实例以供参考：① 通过分子载体（pBR322）将棒状杆菌的 2, 5 - 二酮基 - D - 葡萄糖酸（2, 5 - DKG）还原酶基因引入草生欧文菌（*Erwinia herbicola*）而构建成一种工程菌，使该酶高效表达，实现了一步法生产 2 - 酮 - L - 古洛糖酸（2 - KLG），以该化合物为前体，经酸碱催化生产维生素 C，在实验室条件下已经取得成功。据称此“工程欧文菌”能以 1g/（L·h）的产率直接从葡萄糖生产 2 - KLG，其最终浓度 120g/L，转化率达 60% 以上，有望实现规模生产；② 构建一种“工程酵母菌”用于环保、化工、能源等诸多方面，如把霉菌淀粉酶基因转入酵母菌并获得表达，则可利用它直接发酵淀粉原料生产酒精，可节能 60%，还有可能将木质素解聚酶、纤维素酶基因转入酵母菌，便有可能利用这种“工程酵母菌”直接用稻草、木屑等农林废弃物资源生产酒精。酒精既是化工产品，又是一种很有发展前途的新能源。从上述几个例子可以说明，“工程微生物”的构建是现代微生物发酵工程应用的必然结果，是科学转化为现实生产力的基础，有巨大的应用潜力。

总之，微生物发酵工程与现代生物工程技术的有机结合必将大大促进微生物工程的发展，它是现代生物工程不可缺少的重要组成部分。任何微生物产品，不论是天然的、经基因工程改造的或是重组微生物生产的，绝大部分都是通过发酵工程和生化工程（后处理工序）来完成的，最终将获得优质的微生物产品或微生物代谢产品。这些产品不论是有生命的或是无生命的，经安全检测合格后，无疑将在工、农、医等领域得到实际应用，必将产生巨大的经济效益、社会效益和生态效益。

第三节 微生物工程发展简史

微生物工程的发展历史十分悠久，可以追溯到人类文明的早期，随着社会的发展和科技的进步，微生物工程的内涵和应用越来越广。

一、天然发酵时期

人类利用微生物的代谢产物作为食品和医药有悠久的历史。不仅在四大文明古国，而且几乎一切原始部族都在生产生活实践中学会了酒精发酵。公元前 4000 年到公元前 2000 年，古埃及、古希腊、古罗马、古巴比伦人已经掌握了多种葡萄酒、啤酒的酿造方法。早在公元前 3000 年，波斯一带的闪米特人不仅会酿造啤酒，而且把做法刻在黏土板上献给农耕神女。巴黎卢浮宫博物馆内“蓝色纪念碑”上就记录着公元前 3 世纪巴比伦的苏美尔人以啤酒祭祀女神的事迹。

我国人民在距今约 8000 年至 4500 年间，已发明了制曲酿酒工艺。考古资料表明我国酒的出现，可以追溯到新石器时代中期以前，大汶口遗址出土的高柄陶酒杯、滤酒缸，仰韶遗址发掘了小口圆肩小底瓮、尖底瓶、细颈壶等酒具都是证明。在 2500 年前的春秋战国时期，已知制酱和醋。在医药方面，我们的祖先早在 2500 年前就知道利用麦曲治疗腹痛。在宋代，已采用老的曲子——“曲母”来进行接种，还根据红曲菌有喜酸和喜温的生长习性，利用酸大米和明矾水在较高温度下培养，以制造优良的红曲。在 900 年前，利用自养细菌生命活动的胆水浸铜法已正式用于生产铜。在 2000 年前，已发现豆科植物的根瘤有增产作用，并采用积肥、沤粪、压青和轮作等农业措施，来利用和控制有益微生物

的生命活动，从而提高作物产量。此外，在宋代还创造过“以毒攻毒”的免疫方法，发明用种人痘来预防天花，这要比英国人 E. Kenner 在 1796 年发明种牛痘预防天花早半个多世纪。

这一时期的普遍特点是人类并不明白发酵原理，只是凭借经验、口传心授地进行。

二、第一代微生物发酵技术——微生物工程的孕育时期

西方科学家在微生物发酵的研究方面做出了重要的贡献。1675 年，荷兰业余科学家、微生物学先驱者列文·虎克 (Antonie Van Leeuwenhoek, 1632—1723) 用自制显微镜发现了微动物，即后来的微生物；18 世纪法国科学家巴斯德 (Louis Pasteur, 1822—1895) 第一次证明酒精发酵是由酵母菌引起的，并得出结论：不同微生物进行的化学反应可以产生不同的化合物；德国科学家、细菌学的奠基人科赫 (Robert Koch, 1843—1910) 建立了微生物纯培养技术，获得不同微生物纯培养物，为有效地控制不同类型微生物及获取不同代谢产物奠定了基础，对生物工程或微生物工业的建立起了关键的作用；丹麦人汉森 (E. C. Hansen, 1842—1990) 研究引起啤酒酒精发酵的酵母菌，开创了用纯种酵母菌发酵啤酒的新纪元；1897 年，德国毕希纳 (Edward Buchner, 1860—1917) 用无细胞酵母菌压榨汁中的“酒化酶”(zymase) 对葡萄糖进行酒精发酵成功，证明酒精发酵是由微生物产生的酶催化一系列生化反应的结果，从而阐明了微生物发酵的化学反应本质。同时也表明存在于任何生物体内酶的重要价值。

20 世纪初，生物化学与微生物学的相互渗透，发现人体所需要的许多维生素和其他生长因子可以通过生物工程获得，面包酵母、乳制品和多种酶制剂都可以通过生物工程获取。在这个时期，表现出以下主要特点：① 通过在固体培养基上培养微生物，容易得到纯培养物，为获取微生物纯种创造了条件，从而建立了微生物纯培养技术；② 开创了人工控制发酵过程，并且建立了提取发酵产品的工艺，为进一步扩大生产发酵产品创造了条件；③ 发明了用于液体通气培养微生物的大型生物反应器——发酵罐，为实现大规模发酵生产奠定了基础。这一时期的主要产品有酵母、酒精、丙酮、有机酸等，主要是一些厌氧发酵和表面固体发酵产生的初级代谢产物。

三、第二代微生物发酵技术——生物工程发展时期

第一次世界大战期间，英国曼彻斯特大学 Weizmann 教授发明了利用微生物发酵方法生产丙酮，用以合成炸药。同时，德国 Newburg 也出于生产炸药的目的发明了利用微生物发酵生产甘油。这两种以生产炸药为目的的发酵技术，成为人类最早的主动利用微生物大规模生产工业产品的尝试，标志着近代微生物发酵工业的萌芽。

真正标志着微生物发酵成为成熟工业技术的是二战时期青霉素的商业化生产技术的开发。1928 年英国细菌学家弗莱明 (Alexander Fleming, 1881—1955) 发现青霉素，但直到 1945 年美国为满足第二次世界大战救助伤员的需要，才对青霉素进行了大规模的生产。青霉素及后来陆续发现的链霉素、氯霉素、金霉素、土霉素等多种抗生素，使人类的平均寿命增加了 10 岁，同时也使生物工程确立了不可动摇的地位。经过半个多世纪的发展，不仅抗生素的种类在不断增加，发酵水平也有了大幅度的提高。以青霉素为例，生产菌的培养从静置培养法转变为通氧培养法，发酵效价从最初 400u/mL 提高到目前的 90000u/mL；

菌种活力提高 2000 倍以上，产品纯度由 20% 提高到 99.9%。其他抗生素如链霉素、氯霉素、金霉素、土霉素、四环素等相继进入工业化生产，形成了抗生素工业，开创了微生物工业的新纪元。

由于抗生素工业的兴起还促进了大型发酵设备的研制，为微生物工程的发展提供了关键的设备，也为后来许多微生物发酵产品如酶制剂、维生素、有机酸、氨基酸、核酸等相关物质的发酵生产奠定了基础，后来以石油发酵生产饲料酵母、柠檬酸、水杨酸、长链二羧酸等有机酸也沿用了这些设备。直到今天，发酵罐仍然是微生物工程中不可或缺的基本设备。

这一时期新产品、新技术、新设备不断出现，微生物技术的应用范围也日益扩大，是近代发酵工业的鼎盛时期。

四、第三代微生物发酵技术——微生物工程的现代时期

1953 年 J. D. Watson 和 H. F. C. Crick 在英国的《自然》杂志上发表关于 DNA 结构的双螺旋模型。1973 年，美国 Boyer 和 Cohen 制备得杂合质粒，并完成大肠杆菌的转化。20 世纪 70 年代，微生物工程与酶工程、细胞固定化技术有机结合，应用于发酵生产，大大提高了生产能力。1973 年日本创立了微生物细胞固定化技术，用这种技术发酵生产 L-天冬氨酸、丙烯酰胺等重要化工产品，取得很好的效果。1973 年人类通过基因工程手段构建了第一个“工程菌”，用这种“工程菌”生产出了人生长激素释放抑制因子，随后又生产了胰岛素、干扰素、白细胞介素 II 以及其他一些细胞因子，还有一些氨基酸、酶制剂都能通过“工程菌”进行生产。20 世纪 90 年代，由于学科交叉、计算机技术的应用，生物技术进入计算机自控的现代发酵工程。进入 21 世纪，利用基因工程菌生产各类产品已成为微生物工程的重要发展方向之一。

现代微生物工程不仅使用微生物细胞，而且可用动植物细胞发酵生产有用物质。例如，采用培养罐大量培养杂交瘤细胞，生产用于疾病诊断和治疗的单克隆抗体，用培养罐大规模培养人参细胞和担子菌生产人参皂苷、生物碱、灵芝多糖等，可以大大缩短生产周期，提高生产效率。例如采用液态深层发酵技术用 200L 发酵罐两周生产的灵芝多糖，按常规固态栽培需要 6 个月。

微生物工程现代时期最显著的特点，是采用通过现代生物技术构建的新型生物，借助发酵或细胞培养途径生产人类所需要的产品。

第四节 微生物工程的应用领域

一、微生物工程在医药工业中的应用

微生物工程技术在医药领域的应用最广泛，创造的经济效益最好。并且由于利用微生物工程可以从各方面改进医药生产、开发新型药物、改善治疗手段，所以，微生物工程在医药领域发展潜力巨大、前景十分广阔。

抗生素是目前最大的一类治疗药物，已发现的抗生素有 6000 余种，其中绝大多数是由微生物产生的，已工业化生产、广泛应用的有 100 余种，包括抗细菌抗生素、抗原虫抗

生素、抗真菌抗生素和抗肿瘤抗生素 4 大类。

氨基酸、维生素、甾体激素（可的松、地塞米松）、生物制品、治疗用酶、酶抑制剂等也是重要的微生物发酵产品。

近年来，利用微生物转化生产手性药物是生物工程在医药领域的研究热点，已取得重大进展。随着研究的不断深入和扩展，将会造福于广大患者。

二、生物工程在食品工业中的应用

食品工业是人类最古老的工业之一，而同时又是永不落幕的朝阳工业，是世界所有国家的支柱工业之一。食品工业也是微生物技术最早开发应用的领域，至今其产量和产值仍占据生物工程的前列。据报道，由生物工程生产的产品可占食品工业总销售额的 15% 以上。

生物工程涉及食品工业的很多方面，如食品加工、含醇饮料、发酵乳制品、调味品、甜味剂、食品添加剂和食品检验等。例如利用微生物发酵生产的含醇饮料有葡萄酒、黄酒、白酒、啤酒、香槟、威士忌、白兰地、伏特加等；生产的调味品和发酵食品有味精、肌苷酸、鸟苷酸、酱油、醋、豆豉、纳豆、泡菜等；通过食品免疫检验可以检测出食品中微量的抗生素、农药、真菌毒素等。

三、生物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，微生物工程技术和产品为农业的发展做出了重要贡献。目前，在传统的绿色农业、蓝色农业的基础上，科学家们提出了白色农业的概念。白色农业是指微生物资源产业化的工业型新农业，其核心技术之一即为生物工程。

微生物农药是指利用生物活体及其代谢产物制成的防治作物病害、虫害、杂草的制剂，也包括保护生物活体的保护剂、辅助剂和增效剂，以及模拟某些杀虫毒素和抗生素的人工制剂。根据来源，微生物农药又可分为活体微生物农药和农用抗生素两大类。相对化学农药而言，大多数微生物农药由于来源于自然环境，具有如下特性：① 选择性强；② 对人、畜等生物比较安全，对环境相容性高；③ 通常对天敌较安全；④ 不容易产生抗性；⑤ 生产工艺比较简单；⑥ 开发与登记等费用低于化学农药等。目前，微生物农药已有较广泛的应用，例如著名的细菌杀虫剂苏云金杆菌，真菌杀虫剂白僵菌、病毒杀虫剂核型多角体病毒和动物杀虫剂新线虫等。

微生物增产剂主要是指固氮菌和钾细菌、磷细菌等菌剂，可以将空气中的氮固定并转化成氨、尿素、硝酸盐形式供作物吸收利用或将磷、钾从植物不能吸收利用的形态转化为可吸收利用的形态而达到增产的目的。

微生物饲料：随着畜牧业的发展，蛋白饲料的需求量不断增加，人畜争粮的矛盾越来越大。而微生物菌体的蛋白含量占细胞干重的 20% ~ 50%，利用微生物发酵生产单细胞蛋白（single cell protein）是解决这一矛盾的可行方法之一。

四、生物工程在化工能源领域中的应用

传统的化工生产需要高温、高压等条件，并且对环境影响很大。生物工程的发展不仅可制造新型化工产品，而且可以改变化学工业的面貌，创建节省能源、环境友好的新

工艺。

利用微生物工程技术发酵生产各类醇及其他有机溶剂、有机酸、多糖等化工产品已有几十年的历史。近年来，又提出生物炼制（Bio-Refinery）的概念。生物炼制是利用农业废弃物、植物淀粉和木质纤维素等可再生材料为原料，生产各种化学品、燃料和生物基材料。随着全球资源、能源、环境等问题的加剧，生物炼制已成为世界各国的战略研究方向。经过多年发展，美国计划 2020 年使生物质能源和生物质基产品较 2000 年增加 20 倍，达到能源总消费量的 25%（2050 年达到 50%），每年减少碳排放量 1 亿 t 和增加农民收入 200 亿美元的宏大目标。欧盟委员会提出，到 2020 年运输燃料的 20% 将用燃料乙醇等生物燃料替代。巴西、日本、加拿大等国也积极发展生物炼制技术，取得了较好的综合效益。目前，我国也在大力发展生物炼制技术，我国燃料乙醇生产能力已达 102 万 t/年，乳酸、谷氨酸、柠檬酸等产品的生产规模在国际上举足轻重。

我国科学家在生物化工领域的研究也取得了很大进展。如中国科学院微生物研究所创建的以山梨醇为原料应用两步发酵法生产维生素 C 中间体 *O*-酮基-L-古龙酸新工艺，与化学法相比工艺简化、三废减少、劳动环境改善、易于产业化生产，新工艺开发成功后迅速在国内企业全面推广，并以高价实现技术输出。

微生物工程在新型生物能源开发，石油开采、精炼，原煤脱硫等领域的应用也是目前的研究热点之一。欧盟已于 2007 年启动 BIOSYNERGY 项目开发并设计生物炼制技术与工艺，旨在生产生物质衍生制品，并在成本上与化石燃料竞争。欧盟能源政策主要目的之一是加速生物燃料的开发利用，包括源自生物质（植物或动物废弃物）的各种燃料，其中较为理想的原料有糖类、小麦和玉米。不像石油、煤炭和核燃料等自然资源，生物燃料属于环境友好的可再生能源资源。但是将生物质转化成燃料的成本比较高。为此，欧盟资助 1300 万欧元启动 BIOSYNERGY 项目，旨在建立可以生产高附加值化工产品（包括生物燃料）的大规模生物炼制示范工厂。承担项目方希望通过该项目的实施过程有效提高生物质化工产品的效益，同时以生物炼制燃料在一定程度上替代化石燃料。

五、微生物工程在环保领域的应用

微生物在自然界分布极广，与自然环境和生物体的内环境密切相关。自然界的有机物只有通过微生物才能分解为无机物；有些重要的蛋白质是在微生物体内合成的；有些微生物在空气净化、污水处理、垃圾处理和有害物质转化中发挥了重大的作用。

近年来，各国科学家已经成功地研究开发出可用于治理大面积的污染环境的生物技术，这就是生物修复（Bioremediation），也称生物整治、生物恢复、生态修复或生态恢复，是指利用处理系统中的生物，主要是微生物的代谢活动来减少污染现场污染物的浓度或使其无害化的过程。这种技术的最大特点是可以对大面积的污染环境进行治理，目前所处理的对象主要是石油污染及农田农药污染。生物修复最成功的例子是对阿拉斯加海岸线的石油污染的生物修复，经处理后，使得近百千米受污染海岸的环境得到改善。

六、微生物工程在冶金领域的应用

用微生物提取金属（生物湿法冶金）是利用某些微生物或其代谢产物对某些矿物

(主要为硫化矿物)和元素所具有的氧化、还原、溶解、吸收等作用,从矿石中溶浸有价金属或从中脱除有害金属。例如利用氧化亚铁硫杆菌的作用,将含硫金属矿石中的铜、钴、锌、铅、铀、金等金属转化成硫酸盐形式而释放出来。

生物湿法冶金与传统方法相比,具有资源利用充分、成本低、投资小、基本无环境污染、回收率高、流程灵活、过程易控制和操作简单等优点。生物湿法冶金是冶金领域发展最快、研究最活跃的领域之一。

七、微生物工程在高新技术研究中的应用

微生物工程在高技术研究中发挥了极为重要的作用,如为基因工程研究提供质粒、黏粒和病毒载体、限制性内切酶、连接酶、磷酸酶、磷酸激酶等。生物传感器和生物芯片是近年来研究的热点,在医学诊断、微电子工业和工业过程检验等领域有广阔的发展前景,其核心部件酶、DNA、微生物细胞等均为微生物工程的产品。

总之,微生物工程的应用十分广泛,涉及现代生活的方方面面。并且,随着微生物工程的不断发展,将为人类的生活和社会发展做出更大贡献。

第五节 微生物工程技术产业化的关键因素

微生物工程技术只有实现产业化才能造福人类,而能否实现规模化生产主要取决于三方面因素:生产菌种、发酵工艺和发酵设备。只有这三方面条件均具备,发酵生产才能顺利进行。

一、生产菌种

高效的微生物工程需要优质高效的菌种,这可以通过自然选育、诱变育种、基因工程构建新菌种等途径来实现。

进行工业化生产的菌种必须是纯种,生产能力稳定,对人类、动物、植物和环境不造成危害,能在较短发酵周期内获得较高的产率,抗噬菌体污染能力强。要达到工业化生产的要求,生产菌种需要经过多次选育,再通过实验室小试和中试以筛选出稳定有效的菌种,才能适合工业化生产的要求。

生产菌种的来源基本上有自己筛选和向有关持有单位索取购买两条途径。独立自主从大自然索取菌种是主要的途径。我们可以根据需求,分离、培养、选育所需的生产菌种(株),在此基础上有针对性地进一步改良和提高菌种的效能。我国长期用天然菌种生产腐乳、酱油、甜酒等,这是传统的生产模式;又如“堆肥”,则是传统的利用天然微生物进行混合发酵的结果;我国首创的维生素C二步法发酵所用的所谓“大菌与小菌”混合发酵,是我国微生物工业发酵生产的一大成就。有选择地学习或引进国外优良菌种为我所用,在今天也是行之有效的途径。当然,在引进时要对菌种进行严格的考核,引进后要不断地注意观察,不断地进行选优、复壮。至于采用基因工程或细胞工程技术改造有关菌种和构建新的菌种,是当前最有力的技术手段。例如我国最近选育的植酸酶生产菌种巴氏毕赤酵母(*Pichia pastoris*),就是工程微生物。其表达产量均在6g/L以上;该菌种还具有高表达肿瘤坏死因子(TNF)(108g/L)和破伤风毒素C片段(12g/L)的能