

生物工程专业综合素质培养型系列教材

微生物工程

Microbial Engineering

汪 钊 主编



科学出版社

生物工程专业综合素质培养型系列教材

微生物工程

主 编 汪 钊
副主编 魏 春 应向贤
主 审 岑沛霖



科学出版社

内 容 简 介

本书以大量应用案例,系统介绍了微生物工程的基本内容及工业生产技术,全书分上下两篇,共20章。上篇为微生物工程原理及案例分析,内容包括绪论、工业微生物菌种选育、微生物基因工程、微生物发酵培养与来菌、微生物发酵过程及控制、微生物发酵放大技术概述、微生物转化技术、环境保护中的微生物工程等方面,在介绍基础原理的同时,以大量简明的应用案例加以说明,便于加深理解。下篇为微生物工程典型产品案例,以更完整的案例阐述了与上篇对应的微生物工程原理及应用,包括氨基酸、有机酸、有机溶剂、核苷酸、维生素、抗生素、微生物多糖、酶制剂、甾体类药物的微生物转化、微生物菌体、藻类发酵技术等方面的发酵生产原理及应用技术。另外以柠檬酸生产经济学为例,介绍微生物工程经济学原理。

本书可作为综合性大学、工科院校、农林院校、师范院校的生物工程及生物技术专业的教材,也可作为生物制药、食品科学与工程、生物科学等专业的教学参考书,同时也可供相关领域的专业人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

微生物工程 / 汪钊主编. —北京: 科学出版社, 2013. 6

生物工程专业综合素质培养型系列教材

ISBN 978-7-03-037628-2

I. ①微… II. ①汪… III. ①微生物—生物工程—高等学校—教材
IV. ①TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 115955 号

责任编辑: 刘 畅 / 责任校对: 韩 杨

责任印制: 阎 磊

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

骏杰印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013 年 7 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2013 年 7 月第一次印刷 印张: 18 1/2

字数: 470 000

定价: 38.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

微生物工程是生物工程的重要组成部分，它将微生物学与工程学有机结合，对基因工程、酶工程、细胞工程、蛋白质工程等生物技术成果实现产业化起着至关重要的作用，在理论与应用间搭起了一座桥梁。

本书的特点是以工业生物技术为核心，将微生物作为细胞工厂，在生物工程专业本科学生掌握的微生物学知识基础上，强调微生物工程化概念，通过典型案例以具体应用实例和相关实验来说明抽象的、不易被学生理解的重点内容，内容精炼，便于学生理解、自学，并能迅速达到学以致用、触类旁通、举一反三的目的，为学生从事微生物工程领域的工作打下坚实的基础，另外尽可能在内容上反映本学科的最新概念和成果。结构上，在基本原理的基础上以微生物生产的不同类型典型产品为案例，阐述微生物工程学科的内容及应用。

本书共上下两篇 20 章。全书以微生物工程基本原理为出发点，以具体应用实例为手段展开论述，结合微生物工程技术的最新进展，最终落实到典型微生物发酵产品工艺阐述上。上篇为微生物工程原理及案例分析，包括绪论、工业微生物菌种选育、微生物基因工程、微生物发酵培养与灭菌、微生物发酵过程及控制、微生物发酵放大技术概述、微生物转化技术、环境保护中的微生物工程等内容。下篇为各类微生物工程典型产品案例，包括氨基酸、有机酸、有机溶剂、核苷酸、维生素、抗生素、微生物多糖、酶制剂、甾体类药物的微生物转化、微生物菌体、藻类等方面的发酵生产原理及应用技术，以及柠檬酸生产经济学。微生物发酵产品的分离提取理论和技术本教材不再赘述，具体应用则在典型产品案例中提及。

本教材可作为普通理工科院校及一般综合类大学、农林院校、师范院校的生物工程、生物技术专业教材，也可作为生物制药、食品科学与工程、生物科学等专业的教学参考书，同时也适合微生物工业生产及相关领域的专业人员参考。由于本书涉及专业知识面较广，本书的学习应安排在学生完成微生物学及生物化学等专业基础课之后进行。

本书由浙江工业大学汪钊教授主编，浙江工业大学汪钊、魏春、应向贤、郑建永，华东理工大学王风清，太原师范学院燕平梅集体编写完成，浙江大学岑沛霖教授担任主审。本书的编写过程中，编者参考了许多国内外相关的教材等文献资料，引用了其中部分重要结论及相关图表，在此向各位前辈及同行致以衷心的感谢。此外，本书的编写得到浙江工业大学学术著作出版基金资助，我们团队的 2009、2010、2011 级的研究生为本书的出版做了大量辛勤细致的工作，在此一并表示谢忱。

近年来微生物工程及相关学科发展迅猛，加之编者的水平和经验有限，难免存在不足之处，敬请读者批评指正。

编 者

2013 年 6 月

目 录

前言

上篇 微生物工程原理及案例分析

第一章 绪论	3
思考题	16
第二章 工业微生物菌种选育	17
第一节 工业微生物菌种的分离筛选	17
第二节 工业微生物菌种的选育	31
第三节 菌种保藏的基本原理及方法	37
思考题	41
第三章 微生物基因工程	42
第一节 基因工程菌的构建	42
第二节 代谢工程原理、方法及实例分析	50
第三节 合成生物学简介	56
思考题	59
第四章 微生物发酵培养与灭菌	60
第一节 微生物发酵培养基设计原理	60
第二节 微生物培养基灭菌技术	74
第三节 空气除菌	84
思考题	87
第五章 微生物发酵过程及控制	88
第一节 通风发酵罐基本结构与功能	88
第二节 菌种活化与扩大培养	91
第三节 分批发酵、补料分批发酵及连续发酵	95
第四节 细胞高密度培养	110
第五节 固态发酵原理及实例分析	116
第六节 影响发酵的因素及其控制工艺实例分析	127
思考题	142

第六章 微生物发酵放大技术概述	143
第一节 微生物反应器放大技术概述	143
第二节 从摇瓶发酵过程到发酵罐的放大	146
第三节 从小型发酵罐到大型发酵罐的放大及实例分析	151
思考题	160
第七章 微生物转化技术	161
第一节 微生物转化技术概述	161
第二节 微生物转化的关键技术	162
第三节 微生物转化技术的分类	165
第四节 微生物转化应用实例分析	166
思考题	168
第八章 环境保护中的微生物工程	169
第一节 废水、废气及固体废弃物治理的环保微生物工程	169
第二节 微生物工程在环境保护中的其他应用及实例分析	177
思考题	181
主要参考文献	182

下篇 微生物工程产品案例

第九章 氨基酸	185
L-赖氨酸的生产工艺	185
思考题	192
第十章 有机酸	193
乳酸发酵生产	193
思考题	203
第十一章 有机溶剂	204
丙酮、丁醇发酵生产	204
思考题	211
第十二章 核苷酸	212
肌苷酸发酵生产	212
思考题	221
第十三章 维生素	222
核黄素的生物合成	222
思考题	228

第十四章 抗生素	229
青霉素及半合成抗生素	229
思考题	236
第十五章 微生物多糖	237
黄原胶发酵生产	237
思考题	246
第十六章 酶制剂	247
淀粉酶发酵生产	247
思考题	254
第十七章 甾体类药物的微生物转化	255
甾体类药物	255
思考题	263
第十八章 微生物菌体	264
活性干酵母	264
思考题	269
第十九章 藻类发酵技术	270
思考题	276
第二十章 柠檬酸生产经济学	277
第一节 微生物工程经济学概述	277
第二节 应用实例——柠檬酸生产经济学	278
思考题	283
主要参考文献	284

上 篇

微生物工程原理及案例分析

- ◎第一章 绪论
- ◎第二章 工业微生物菌种选育
- ◎第三章 微生物基因工程
- ◎第四章 微生物发酵培养与灭菌
- ◎第五章 微生物发酵过程及控制
- ◎第六章 微生物发酵放大技术概述
- ◎第七章 微生物转化技术
- ◎第八章 环境保护中的微生物工程

第一章 绪 论

学习目标

- ①掌握微生物工程的含义、特点及微生物工程的发展简史；
- ②认识微生物工程的应用领域及其对人类社会发展的影响。

一、微生物工程的定义

世界各国都将生物技术视为一项高新技术。生物技术的发展对解决人类所面临的食品短缺、健康、环境及经济发展等问题具有至关重要的作用，因此许多国家都将生物技术确定为增强国力和经济实力的关键技术之一。

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、蛋白质工程等生物技术成果实现产业化的桥梁和关键技术，涉及面广。微生物工程不完全是一门新兴学科，它包括传统发酵工程和现代微生物工程两部分。传统发酵工程内容包括菌种选育、培养基的配制、灭菌、种子扩大培养和接种、发酵过程和产品的分离提纯（生物分离工程）等方面，主要涉及酱、醋、酒、面包、奶酪、酸奶及其他食品的传统发酵工艺；现代微生物工程则是指 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。微生物工程将微生物作为细胞工厂，广泛应用于食品、医药、化工、农业、能源采矿、环境保护等领域。

微生物工程最早起源于传统的食品发酵。人类早在发现微生物以前就掌握了很多种发酵食品的制造方法。发酵（fermentation）这个英文术语最初是由拉丁语 *fervere*，即“发泡”、“沸涌”派生而来的，当酵母作用于果汁或发芽的谷物时，在产生酒精的同时产生大量泡沫，这种现象是因为糖无氧代谢时产生二氧化碳（ CO_2 ）。巴斯德探讨了酵母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，并阐明其和呼吸一样是生物获得能量的一种形式。典型的厌氧发酵可定义为：“发酵是供给能源的氧化-还原反应”。发酵是供能氧化还原反应，有机底物起着供氧体和受氧体两方面的作用，既是电子供体，又是电子受体。需氧发酵定义为：“有机化合物借助于分子态氧而受到不完全氧化的反应”。巴斯德的基本认识依然适用于需氧发酵，即呼吸和发酵均可统一理解为生物为获得能量所进行的氧化还原反应。目前人们把通过对微生物进行大规模的生长培养，使之发生化学和生理变化，从而产生和积累人们所需要的代谢产物的过程称为发酵，而现代发酵工程主要研究微生物发酵过程中有普遍性意义的工程技术问题，如大规模微生物细胞培养过程、大规模培养基灭菌和空气灭菌过程、微生物细胞生长和产物形成动力学、发酵过程的优化、生物反应器的放大和设计、发酵

过程的参数监控和计算机应用、发酵产品的分离和纯化等工程技术问题。科学技术的突飞猛进及各学科的相互交叉、相互渗透，给予了发酵工程这门既有悠久历史又有崭新发展的工程技术以更新内涵，特别是基因工程、代谢工程、合成生物学、现代信息控制技术的发展，为传统的发酵工程注入了崭新内容，归纳起来有三个特点：①微生物工程是一门多学科、综合性的科学技术；②反应中需要有生物催化剂的参与；③其最终目的是建立微生物工业生产过程或进行社会服务。

二、微生物工程的发展简史

微生物与人类生存息息相关，食品工业、医药工业等的发展与微生物发酵技术的进步密切相关，早在公元前两三千甚至六七千年前，我国人民就已经利用微生物进行酿酒。古埃及人也开始制造啤酒。但是微生物用于发酵工业却是近百年前才发展起来的。微生物工程的发展大致经历了以下几个阶段（表 1-1）。

表 1-1 微生物工程的发展历史

时间	发展阶段	主要产品和应用	主要技术
公元 1900 年前	天然发酵	酒、醋、酵母、干酪	天然接种、分批培养
	↓		
1905 年	纯培养	乙醇、丙酮、丁醇	密闭纯培养
	↓		
1940 年	通气搅拌	抗生素、有机酸、维生素	通气搅拌发酵罐、连续发酵
	↓		
1957 年	代谢控制发酵	氨基酸、核苷酸	选育代谢调节和缺陷生产菌株
	↓		
1960 年	开拓原料	单细胞蛋白	采用石蜡等原料 3000t 连续发酵
	↓		
1979 年	基因工程菌	胰岛素、干扰素、生理活性物质等	DNA 重组技术、现代信息控制技术
	↓	新型生物催化剂，融合蛋白、抗体等蛋白类药物	微生物基因定向改造、合成技术、蛋白质工程，计算机辅助设计
1991 年	代谢工程	生物能源、生物材料、大宗化学品、精细化学品、污染物降解	基因工程新技术 系统生物学和合成生物学技术

1. 天然发酵

从史前至 19 世纪末，在微生物的性质尚未被人们所认识时，人类已经利用自然接种方法进行发酵食品的生产，主要产品有黄酒、白酒、啤酒、乙醇、醋、干酪等。当时实际上还谈不上发酵工业，而仅仅是家庭式或作坊式的手工业生产。多数为厌氧发酵产品，非纯种培养，凭经验传授技术和产品质量不稳定是这个阶段的特点。

2. 微生物纯培养技术的建立

在巴斯德卓越的工作之后，微生物学发展史上的又一奠基人科赫建立了微生物分离纯化

和纯培养技术,人类才开始了人为地控制微生物的发酵进程,从而使发酵生产技术得到巨大的改良,提高了产品的稳定性,这对发酵工业起了巨大的推动作用。由于采用纯种培养与无菌操作技术,包括灭菌和使用密闭式发酵罐,发酵过程避免了杂菌污染,生产规模扩大,产品质量提高。特别是在第一次世界大战中,由于战争的需要,丙酮、丁醇和甘油等工业飞快发展,由此不仅建立起真正的发酵工业,而且使其逐渐成为化学工业的一部分。此外,由于酵母生产日益扩大,发酵过程中供氧不足,导致菌体生产受影响和乙醇的积累,开始出现了补料发酵工艺及设有空气分布的发酵罐,因此可以认为纯培养技术的建立是发酵技术发展的第一个里程碑。

3. 微生物通风搅拌发酵技术的建立

青霉素的问世,给人类医疗保健事业作出了巨大贡献,使千百万生命免除了死亡的威胁,同时在发酵工业发展史上开创了崭新的一页。由抗生素发酵开始发展起来的通风搅拌液体发酵技术是现代发酵工业最主要的生产方式,它使需氧菌的发酵生产从此走上大规模工业化生产途径,并且逐步形成和建立了生化工程学科。与此同时也有力地促进了菌体转化、微生物酶与氨基酸发酵工业迅速发展,因而可认为通风搅拌发酵技术的建立是发酵工业史上第二个里程碑。

4. 微生物代谢控制发酵技术

随着生物化学、微生物生理学及遗传学的深入发展,对微生物代谢途径和氨基酸生物合成的研究和了解的加深,人类开始利用调控代谢的手段进行微生物选育和控制发酵条件。1956年日本首先成功地利用自然界存在的野生谷氨酸棒杆菌的营养缺陷型菌株进行谷氨酸发酵生产。此后,赖氨酸、苏氨酸等许多氨基酸都实现了发酵法生产。显然,利用微生物生产氨基酸是以代谢调控为基础的新的发酵技术。它是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,选育出某些营养缺陷株或抗代谢类似物的菌株,随后在对营养条件进行控制的情况下发酵生产,大量积累人们预期的氨基酸。由于氨基酸发酵而开始的代谢控制发酵使得发酵工业进入一个新的阶段。随后,核苷酸、抗生素及有机酸等方面也利用代谢调控技术进行发酵生产,大幅度提高了发酵水平,降低了生产成本。

5. 开拓微生物发酵原料

传统的发酵原料主要是粮食、农副产品等糖质原料,随着对饲料酵母及其他单细胞蛋白的需要日益增多,20世纪50~60年代急需开拓和寻找新的原料。因此石油化工副产物石蜡、乙酸、甲醇及甲烷等碳氢化合物被用来作为发酵原料,开始了所谓石油发酵时期。由于利用碳氢化合物大规模生产单细胞蛋白,发酵罐的容量发展到前所未有的规模,ICI公司连续的压力循环发酵罐达3000m³,同时以碳氢化合物为原料在发酵时氧耗大,这就给发酵设备带来新的要求,发展了循环式、喷射式等多种发酵罐,并通过用计算机控制进行灭菌、控制发酵pH和应用氧电极等措施,使发酵生产朝自动控制前进了一大步。目前随着石油资源的日益减少,价格上涨,已经淘汰了石油发酵。

6. 基因工程

20世纪70年代开始,由于DNA体外重组技术的建立,发酵工业又进入一个崭新的阶段,这就是以基因工程为中心的生物工程时代。基因工程(genetic engineering)又称基因拼接技术和DNA重组技术,是以分子遗传学为理论基础,以分子生物学和微生物学的现代方法为手段,将不同来源的基因按预先设计的蓝图,在体外构建杂种DNA分子,然后导入

活细胞,以改变生物原有的遗传特性、获得新品种、生产新产品。基因工程技术为基因的结构和功能的改造提供了有力的手段,是现代微生物工程不可缺少的强大工具。

7. 代谢工程

代谢工程,即通过基因工程的方法改变细胞的代谢途径。从20世纪90年代初期发展至今已有20年历史,对微生物发酵工业的发展起到了极大的推动作用。Jay和Gregory于1991年最先提出了代谢工程的概念:“利用重组DNA技术,有目的地操纵细胞的酶、转运和调控功能,从而改善细胞的活性”。代谢工程和基因工程最重要的区别有两点:第一,代谢工程是基于细胞代谢网络的系统研究,更多地强调了多个酶反应的“整合”作用;第二,在完成代谢途径的遗传改造后,还要对细胞的生理变化、代谢通量进行详细分析,以此来决定下一步遗传改造的靶点。通过多个循环,不断地提高细胞的生理性能(发酵能力)。在随后的近20年里,这一概念逐渐发展成为一个新的学术领域,并被大量用于微生物发酵工业。传统代谢工程只是对局部的代谢网络进行分析及对局部的代谢途径进行改造。因为其还没有真正意义上从全局的角度去分析改造细胞,所以具有很大的局限性。高通量组学分析技术和基因组水平代谢网络模型构建等一系列系统生物学技术的开发能够从系统水平上分析细胞的代谢功能。将这些系统生物学技术和传统代谢工程及下游发酵工艺优化相互结合,科学家们进一步提出了系统代谢工程的概念。典型系统代谢工程的策略分为以下三轮步骤:①构建起始工程菌。这一阶段和前面提及的传统代谢工程策略类似,通过分析局部代谢网络结构对局部代谢途径进行改造(如通过敲除竞争途径减少副产物的生产)、优化细胞生理性能(如解除产物毒性和反馈抑制效应)等。②基因组水平系统分析和计算机模拟代谢分析。如前所述,各种高通量组学分析技术的联合使用能有效地鉴定出提高细胞发酵生产能力的新靶点基因和靶点途径。与此同时,通过使用基因组水平代谢网络模型也可以模拟分析出另外一些新的靶点基因。需要强调的是,这两种系统分析方法鉴定出的靶点基因很多都是和局部代谢途径不相关的,用传统的代谢分析是不可能鉴定出来的。③工业水平发酵过程的优化。第一轮和第二轮的微生物发酵都是在实验室条件下进行的,其发酵性能和大规模工业发酵相比有很多差异。规模扩大后经常会伴随高浓度的副产物产生,因此还需要再进行下一轮代谢工程改造来优化菌种发酵能力。此外,还需要通过进化代谢工程来进一步提高细胞发酵的产率、速率和终浓度,以达到工业发酵的要求。

与基因工程把一个物种的基因延续,改变并转移至另一物种的做法不同,合成生物学的目的在于建立人工生物系统(artificial biosystem),让它们像电路一样运行。合成生物学是以工程学理论为依据,设计和合成新的生物元件,或是设计改造已经存在的生物系统。这些设计和合成的核心元件(如酶、基因电路、代谢途径等)具有特定的操作标准;小分子生物元件可以组装成大的整合系统,从而解决各种特殊问题,如可再生生物能源和化合物的生产、药物前体合成、基因治疗等。合成生物学和传统的代谢工程在用于微生物发酵生产时,其目的是一样的,区别在于所使用的方法。传统的代谢工程是从整体出发,先研究微生物的代谢网络,分析控制代谢通量分布的调控节点,再在关键节点处进行遗传改造,从而改变细胞的代谢网络和代谢通量分布;合成生物学则是从最基本的生物元件出发,按照标准的模式和程序,将生物元件一步步地组装,整合成一个完整的系统(化合物的合成代谢途径)。合成生物学技术在微生物改造应用中有如下优势:①能减少遗传改造的时间、提高改造的可预测性和可靠性;②能创建有用、可预测、可重复使用的生物元件,如表达调控系统、环境

EPA (原来从鱼油中提取)、 γ -亚麻酸 (原来从植物月见草中提取), 虾青素 (原来从虾壳中提取), 现在可以通过培养真菌或藻类来生产。

6. 微生物酶制剂

淀粉酶、糖化酶和葡萄糖异构酶用于食品加工, 可生产葡萄糖、麦芽糖和果葡糖浆等, 还可以代替酒曲和麦芽酿酒; 果胶酶可用于果汁加工, 提高出汁率, 改善澄清效果, 加快过滤速度。乳糖酶可用于分解牛奶中的乳糖; 脂肪酶可用于改进食品的风味; 蛋白酶可用于制造蛋白胨、多肽、氨基酸, 还可用于嫩化肉类、改善焙烤食品的品质等; 柚苷酶可除去柑橘果汁的苦味; α -乙酰乳酸脱羧酶可以有效地降低啤酒中的双乙酰含量, 加快啤酒的成熟。利用基因工程和蛋白质工程可以设计出新酶种, 以适应食品工业的新需求。

(二) 生物能源

清洁可再生生物能源的开发和利用是公众关注热点之一, 目前, 生物能源主要包括由微生物生产的燃料酒精、生物柴油、沼气和氢等产品, 也包括生物采油等能源开采技术。

1. 燃料乙醇

燃料乙醇是目前应用最广泛的生物燃料, 是较为理想的汽油替代品。美国和巴西已经发展了大规模的以玉米、甘蔗为原料生产燃料酒精的发酵工业。中国由于人多地少, 不宜发展大规模粮食发酵生产燃料乙醇的路线, 正在开展以木质纤维素为原料生产乙醇的综合利用技术, 通过大力发展高效产糖的能源植物, 如新品种甜高粱和甘蔗等, 以扩大原料来源。

2. 生物柴油

生物柴油是脂肪酸与低碳醇在催化剂的存在下, 发生酯化反应, 形成脂肪酸甲酯或乙酯, 可代替柴油燃烧。生物柴油环境友好, 无需对现有柴油发动机进行任何改造即可使用, 我国已开发了以餐饮废油脂为原料的生物柴油工艺路线。

3. 生物制氢

生物制氢是利用某些微生物代谢过程来生产氢气的一项生物工程技术, 所用原料是阳光和水, 也可以是有机废水、秸秆等, 来源丰富, 具有发展潜力。

4. 甲烷燃料

以沼气为代表的甲烷燃料可以用可再生的废弃有机物资源如人畜粪便、秸秆、污水等在密闭的沼气池内, 厌氧条件下发酵, 即被种类繁多的沼气发酵微生物分解转化, 从而产生沼气。沼气是一种混合气体, 含有 50%~80% 甲烷, 与其他燃气相比, 其抗爆性能较好, 是一种很好的清洁燃料, 对水资源和土壤等再生和资源化有促进作用。我国是世界上沼气综合利用开展得最好的国家之一, 沼气技术已经相当成熟, 目前已进入商业化应用阶段。

5. 生物采油

生物采油是利用微生物发酵工程技术, 提高石油的开采量、降低生产成本, 并减少环境污染。

(三) 生物可降解新材料

利用微生物发酵技术生产可降解新材料, 如以下材料。

1. 微生物合成高分子材料

聚羟基丁酸酯 (PHB)、聚羟基脂肪酸酯 (PHA) 和聚羟基丁酸-羟基戊酸酯 (PHBV)

基于以上特点,形成了现代微生物产业,和传统的发酵工业相比,现代微生物工程除了上述的特征之外更有其优越性。因此微生物工程在工业生产中的应用越来越广,应用范围主要包括食品及饲料工业、能源工业、化学工业、医药工业、农业、环境保护等各个方面。随着系统代谢工程和合成生物学的发展,现代微生物工程在生产用微生物菌株的人工改造技术方面不断进步,具有更优良生产性能的工程菌株不断涌现,“超级微生物”和“通用工程菌株”有可能会成功构建;另外,现代微生物工程在结合了先进的机械、电子、化工和能源技术的基础上,工程化、自动化程度也不断加强,先进的生物反应器将取代传统的发酵罐,使发酵水平在原有基础上大大提高,从而使微生物能更好地为人类服务。

(一) 食品及饲料工业

传统的微生物工程主要应用在食品行业,如啤酒、葡萄酒、黄酒、清酒、白兰地、威士忌等酒类,酱、酱油、醋等调味品及乳酪、酸奶等奶制品,均已有悠久的历史。目前,微生物工程在新型功能食品、营养因子及饲料添加剂生产方面也广泛涉及。

1. 酒类

葡萄酒、啤酒、白酒、黄酒及其他酒均是利用酿酒酵母在厌氧条件下进行发酵,将葡萄糖转化为乙醇生产的含乙醇饮品。白酒是蒸馏酒,主要成分是水 and 乙醇,以及一些加热后易挥发物质,如各种酯类、其他醇类和少量低碳醛酮类化合物。葡萄酒、黄酒和啤酒是非蒸馏酒,发酵时酵母将葡萄汁中或发酵液中的葡萄糖转化为乙醇,而其他营养成分会部分被酵母利用,产生一些代谢产物,如氨基酸、维生素等,进入发酵的酒液中。因此,葡萄酒、黄酒和啤酒营养价值较高。

2. 醋

市售的醋是由酵母菌和醋酸菌发酵生产,酵母菌先将原料中的糖发酵成乙醇,然后再由乙酸菌在好氧条件下将乙醇转化为醋酸生产出产品。由于使用的微生物菌种或曲种的差异,在葡萄糖发酵过程中会产生乳酸或其他有机酸,因而使醋有不同的风味。

3. 酱油

酱油生产以豆粕为主要原料,其他有麦麸、小麦、玉米等,将上述原料经粉碎制成固体培养基,在好氧条件下,利用黑曲霉、米曲霉进行发酵产生蛋白酶等酶类,再利用蛋白酶将培养基中的蛋白质水解成小分子的肽和氨基酸,然后淋洗、调制成含氨基酸和肽、具有特殊香味的酱油产品。

4. 酸奶

牛奶在厌氧条件下,由乳酸菌发酵,将乳糖分解,并进一步发酵产生乳酸和其他有机酸,以及一些芳香物质和维生素等;同时蛋白质也部分水解。因此,酸奶营养丰富,易消化,乳糖含量少,是适合于乳糖不适应症者的优良食品。

5. 功能食品及添加剂

利用微生物发酵或转化技术生产功能性食品、食品添加剂和饲料添加剂是近年来生物技术发展的热点,如用微生物技术生产维生素、保鲜剂、香精香料、防腐剂(如乳酸链球菌素、纳他霉素、聚赖氨酸)、黄原胶、结冷胶、天然色素(如功能红曲)等产品;开发具有免疫调节、延缓衰老、抗疲劳、耐缺氧、抗辐射、调节血脂、调整肠胃等功能性食品,如真菌多糖、蛋白质活性因子和对人体健康有益的活菌制品等。多不饱和脂肪酸,如 DHA 和

安全性好、原料易得等优点。今后重点应是生产食品级和医药级甘油。

5. 有机酸

(1) 柠檬酸：柠檬酸是世界上用发酵法生产的产量最大的有机酸，近年来我国柠檬酸生产量和出口量迅速增长，成为世界柠檬酸生产和出口第一大国。我国柠檬酸行业应着眼于通过技术创新和规模经营，降低生产成本，增强竞争能力，同时，还应扩大柠檬酸新的应用领域研究和开发。

(2) 乳酸：我国乳酸生产已有数十年历史，主要有 DL-乳酸和 L-乳酸两种。近年来人们利用 L-乳酸聚合生产可生物降解塑料、绿色包装材料及农用薄膜等，来解决日益严重的环境污染问题，引起了世界范围的广泛关注。D-乳酸也在开发中。

(3) 衣康酸：衣康酸是一种重要的化工原料，主要用于腈纶化纤、树脂、橡胶、涂料、造纸、医药、农药、轻工、食品、丝绸等领域。可与多种物质进行加成、聚合反应，广泛应用于有机化工行业。

(4) 苹果酸：苹果酸主要用作食品酸味剂，同时 L-苹果酸在某些特殊行业如医药大输液、手性药物的合成中具有极其重要的作用。

(5) 曲酸：在化妆品中添加少量曲酸，可以强烈抑制皮肤黑色素形成；在食品加工过程中，曲酸可作为食品添加剂，起防腐、保鲜和抗氧化等作用。

(6) 葡萄糖酸：葡萄糖酸是众多有机酸中唯一的双歧杆菌增殖因子。作为补钙剂的葡萄糖酸钙和作为豆腐凝固剂的葡萄糖酸- δ -内酯已在许多国家生产并应用。

(7) 酒石酸：世界上酒石酸仍然由葡萄酒的副产物即酒石转化生产。我国 L-酒石酸主要是采用微生物酶转化环氧琥珀酸生产。

6. 氨基酸

目前能够工业化生产的氨基酸有 20 多种，大部分采用发酵技术或酶催化法生产，主要有谷氨酸（即味精）、赖氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、缬氨酸等。

(1) 赖氨酸：95% 的赖氨酸产品用于饲料添加剂，3% 用于食品强化，2% 用于医药工业。发酵法生产赖氨酸的限制因素是原料成本高，目前原料成本占 50% 以上，必须从改良菌种、工艺和原料利用率等方面着手，降低生产成本。

(2) 谷氨酸：谷氨酸（味精）是世界市场销售量最大的一种氨基酸，国内味精已形成独立工业体系，规模和技术水平仅次于抗生素工业。我国味精增长率很快，但考虑到随着国内核苷酸工业的发展，特鲜味精产量增加，从而对味精需求量会减少。

(3) L-天冬氨酸：L-天冬氨酸主要用于食品及医药工业，可用作营养增补剂和各种清凉饮料的添加剂，医药上用作氨解毒剂、肝功能促进剂、疲劳恢复剂。

(五) 精细化学品

1. 抗生素、生物农药

发展抗生素和生物农药，减少化学合成农药的使用，已成为全球农药产业发展的新趋势。抗生素和生物农药主要是指微生物、植物、动物等产生的具有生物活性的次生代谢产物，用于治疗各种细菌感染或抑制致病微生物感染的药物。微生物农药可以毒杀害虫和抑制病菌，具有较高的生物活性和选择性，同时病虫兼治、成本低、无污染，具有高效、安全、低毒、低残留、使用简便、选择性高、用量少、污染小、病虫害不易产生抗性等优点，是一

是性能优良的生物可降解高分子, 由于具有生物可降解性、生物相容性、压电性等许多优良性能, 可能在众多领域, 如生物降解性包装材料、组织工程材料等方面得到广泛应用。

2. 聚乳酸

利用微生物发酵制得乳酸, 再通过化学合成制备聚乳酸是目前国外工业化成功的生物可降解的高分子材料。

3. 聚氨基酸

聚天冬氨酸及聚谷氨酸是一类优良的生物可降解的高分子材料, 可用于水处理剂、吸水树脂及农用化学品。目前国外, 如美国的东大公司、德国的拜尔公司都已建立了千吨级聚天冬氨酸的装置。

与石油化工材料相比, 生物材料具有可再生、可生物降解、应用前景广阔的突出优点, 但实现商业化还需要在价格上形成竞争力。目前已成功实现商业化的有 Cargill Dow 公司的聚乳酸工厂和 DuPont 公司由 1, 3-丙二醇生产聚对苯二甲酸丙二醇酯 (PTT) 的工厂。这两项成果标志着用生物原料生产的生物材料已经开始具备市场竞争优势。

(四) 大宗化学品

大宗化学品是量大、面广的化学品, 如对苯二甲酸、己二酸、乙二醇、异丙二醇、1,4-丁二醇和 2,3-丁二醇等, 它们的生产能力和市场需求目前都在每年上百万吨到上千万吨以上。微生物发酵在这个领域具有巨大潜力。

1. 长链二元酸

长链二元酸是一类有着重要和广泛工业用途的精细化工产品, 微生物发酵正构烷烃生产长链二元酸是生物技术在石油领域中应用的最成功典范之一, 将会逐渐形成产业链和产品树。

2. 己二酸

己二酸是最重要的脂肪族二元酸, 主要用于制造尼龙 66 纤维和尼龙 66 树脂、聚氨酯泡沫塑料, 还可用于医药等方面。随着尼龙 66 工业的发展, 特别是随着聚氨酯产品的快速发展, 将极大地刺激己二酸产品市场的发展。

3. 1,3-丙二醇

1,3-丙二醇是重要的化工原料, 可用作溶剂、抗冻剂或保护剂、精细化工原料及新型聚酯 (如 PTT) 和聚氨酯的单体。PTT 不仅可以作为新型合成纤维在地毯和纺织品方面有着广阔的应用前景, 而且在工程热塑性塑料领域也有巨大的应用潜力, 因此 PTT 将成为聚对苯二甲酸乙二酯 (PET)、聚对苯二甲酸丁二酯 (PBT)、尼龙 66 等聚合物的强劲竞争对手。微生物法生产 1,3-丙二醇和 PTT 的产品开发受到国内外众多知名企业 (如 Dupont、Shell 等) 的高度重视, 将成为“绿色化工”的新典范。

4. 有机溶剂

(1) 总溶剂: 早期的丙酮、丁醇采用粮食发酵法生产, 20 世纪 70 年代后由于化学法的发展, 发酵法生产技术逐渐淘汰。近年来由于石油价格的飞速上涨, 加之石油资源的日益紧缺, 粮食发酵法生产丙酮、丁醇的技术重新显示出其优势, 特别是发酵法生产丙酮丁醇是以再生资源替代不可再生的石油基原料制造, 符合国家能源安全的长远战略考虑。

(2) 甘油: 发酵法生产甘油是继皂化法、化学合成法之后的第三种甘油生产方法, 具有