

环境生物技术

赵开弘 董金荣 周明 主编

武汉理工大学出版社



环境生物技术

赵开弘 董金荣 周 明 主编

参加编写人员

马 聪 王宇飞 冉 勇 孙亚楠
李 梅 宋 波 武 栋 董依然

武汉理工大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

环境生物技术/赵开弘,董金荣,周明主编.—武汉:武汉理工大学出版社,2003.1

ISBN 7-5629-1882-1

I.环… II.①赵… ②董… ③周… III.环境生物技术-教材 IV.Q2

武汉理工大学出版社出版发行

(武昌珞狮路122号 邮编:430070)

荆州鸿盛印刷厂印刷

*

开本:850×1168 1/32 印张:10 字数:260千

2003年1月第1版 2003年1月第1次印刷

印数:1—2000册 定价:26.00元

(本书如有印装质量问题,可直接向承印厂调换)

前 言

现代工农业正以空前的速度推动人类社会物质文明的发展,与此同时也带来了严重的环境污染、生态破坏和资源危机问题,因此环境保护与可再生资源开发已经提高到事关人类社会可持续发展的战略高度而备受世人关注。只靠传统的环境治理与资源开发技术,已越来越难以胜任日益复杂的生态环境问题,而新兴的环境生物技术在解决复杂棘手的环境与资源问题方面表现出无比的优越性。生物技术是21世纪继信息技术之后最具发展前景的高新技术,其用武之地主要集中在环境、农业、医药三大领域。随着狭隘的“人类中心主义”的破灭,“天人合一”的人文思想日渐深入人心,“生态经济”发展方式初现端倪,应运而生的环境生物技术在21世纪必将大有可为,必定会开创出欣欣向荣的发展局面。

环境生物技术是现代生物技术,如基因工程、蛋白质工程、酶工程、细胞工程、发酵工程、生物代谢工程等和环境科学与工程相结合而形成的新兴交叉学科,其核心指导思想是实现生命活动与环境和谐共存,通过环境生物技术并与其它方法相结合,在生物与环境和谐、人与环境统一的基础上解决环境问题。因此,实现环境和谐、经济发展和社会进步,三位一体、互为表里,是我们编纂此书的基本指导思想;“还我碧水蓝天”、“再造山川秀美”,实现环境、经济和社会的可持续发展,是我们出版此书的根本宗旨。

环境生物技术作为一门横跨现代生物技术、环境科学、环境工程等众多领域的新兴综合学科,发轫于欧美诸国,20世纪末才落地生根于我国,短短的10余年间在学科建设、科学研究和技术开发等方面已奠定了一定的基础,并呈现出蓬勃地发展势头。然而,

目前的技术水平与我们预期的目标相距还很遥远,与国外发达国家的差距悬殊也是显而易见的。究其原因,除经济和政策这些外部因素之外,学科建设滞后是导致环境生物技术发展后劲不足的根本原因所在。为此,许多高校都纷纷设立环境生物技术课程,有关环境生物技术的教材也相继面世,为本学科的发展作出了重要贡献。为适应解决环境与资源问题的新要求,紧跟国外最新的发展动向,在国内外环境生物技术发展的基础上,结合编者本人的科研和实践经历,吸收国内外相关优秀教材的精华,特编此书,以资共勉。

本书共分8章,阐述了有关现代生物学、现代生物技术、分子毒理学、环境生物监测、污染物的生物处理技术、生物清洁技术、资源化利用、生物提取(如生物采油、生物冶金等)等各方面的基础理论、应用技术和最新发展。从“实践——认识——再实践”的高度,揭示环境生物技术的发展规律,以便在理论上和实践上完全摒弃“先污染后治理”这种亡羊补牢式的陈旧思维,全面树立以“绿色技术”打造“生态经济”这种基于可持续发展的环保新理念。就理论和技术层面上,分别阐述了基因工程、蛋白质(酶)工程、细胞工程和发酵工程,分章节详细介绍它们和环境科学与环境工程各方面的渗透融合,以及在解决实际环境与资源问题中的应用和发展。根据这些生物技术的环境生物技术中的地位和作用,力求做到既全面详尽,又主次分明重点突出。例如:基因工程是现代生物技术以及环境生物技术的基础,根据环境生物技术的发展规律和应用实践,在许多章节中结合不同的环境与资源问题加以重点介绍。

总之,全书以重大的环境与资源问题为中心,着眼于现代生物技术的最新发展,着眼于现代生物技术在解决环境与资源问题中的实际应用,力求内容新颖、覆盖面广、概念清晰、逻辑严谨、深入浅出、言简意赅,充分反映现代环境生物技术的总体面貌、最新成就和发展方向。本教材是我们编写的《环境生物技术实验》教材的

姊妹篇,《环境生物技术》主要在于阐述环境生物技术的基础理论、技术方法和实际应用,而《环境生物技术实验》则着重讲述相关的实验原理和实验技能。这两本教材虽然在编写体例上相互独立,但在内容上彼此照应和互为补充,两者相得益彰,因此配套使用能收到事半功倍的效果。本书可供环境科学与工程专业和相关专业的研究生、本科生作为环境生物技术课程的教材之用,也可作为从事环保、生物技术研究的有关科研人员的参考书。

本书由我们实验室集体编写,编写分工为:第1章:董依然,第2章:武栋,第3章:马聪,第4章:冉勇,第5章:王宇飞,第6章:宋波,第7章:李梅,第8章:孙亚楠。全书由赵开弘、董金荣、周明总纂。

本书在编写过程中参考了国内外许多优秀教材及科研论文,具体书目列于本书附录;在每章后面,列出了最近的相关科学研究论文,以便读者跟踪学科最新进展。对于上述所参考的文献资料,在此向其作者谨致谢忱。

编者用力虽勤,然限于水平,书中错漏之处在所难免,恳请业内同仁和广大读者不吝斧正,以便再版修订,使臻完善。来信请寄:武汉 邮编:430074 华中科技大学环境科学与工程学院,周明老师收。

赵开弘 董金荣 周明

2002年10月于喻家山

目 录

1 概述	(1)
1.1 生物技术	(1)
1.1.1 生物技术的发展	(2)
1.1.2 现代生物技术	(6)
1.2 环境生物技术	(8)
1.3 污染	(10)
1.3.1 工业污染	(13)
1.3.2 气体污染	(14)
1.3.3 农业污染	(16)
1.4 污染的生物技术处理	(17)
1.4.1 环境生物监测	(17)
1.4.2 生物修复法	(18)
1.4.3 污染生物预防(清洁技术)	(19)
1.5 环境综合保护	(20)
1.5.1 立法	(20)
1.5.2 污染的综合控制	(22)
2 现代生物学基础	(25)
2.1 核酸的结构及其功能	(25)
2.1.1 核酸的结构	(25)
2.1.2 核酸的性质	(29)
2.1.3 核酸的分离提纯与定量测定	(31)
2.1.4 核酸序列的含义及其序列测定	(32)

2.2	蛋白质基本结构特征	(34)
2.2.1	氨基酸及其性质	(34)
2.2.2	蛋白质的化学合成和分离提纯	(37)
2.2.3	蛋白质的一级结构	(38)
2.2.4	蛋白质的高级结构	(39)
2.2.5	免疫球蛋白(抗体)	(42)
2.2.6	酶	(44)
2.3	生命功能单元:细胞	(48)
2.3.1	细胞的基本组成	(49)
2.3.2	主要的亚细胞器及其功能	(49)
2.3.3	原核细胞和真核细胞	(50)
2.4	生物新陈代谢	(51)
2.4.1	生物氧化	(51)
2.4.2	物质代谢	(53)
3	现代生物技术基础	(62)
3.1	基因工程	(63)
3.1.1	基因工程的工具酶	(63)
3.1.2	基因工程的载体	(63)
3.1.3	分子克隆	(65)
3.2	蛋白质和酶工程	(72)
3.2.1	基因工程抗体	(73)
3.2.2	酶工程	(74)
3.3	细胞工程	(78)
3.3.1	细胞培养	(78)
3.3.2	细胞融合	(79)
3.3.3	细胞的遗传物质改造	(80)
3.4	发酵工程	(80)

3.4.1	发酵过程的四个阶段	(81)
3.4.2	微生物发酵方式	(82)
3.4.3	发酵过程的优化	(82)
3.4.4	生物反应器	(83)
3.5	农业生物技术	(84)
3.5.1	植物基因工程	(85)
3.5.2	植物的转化	(86)
3.5.3	再生	(93)
3.5.4	转基因植物	(93)
3.5.5	疫苗和诊断	(103)
3.5.6	动物改良	(105)
3.6	生物多样性	(105)
4	分子毒理学基础	(108)
4.1	肝脏与代谢转化	(109)
4.1.1	生物转化的反应类型	(110)
4.1.2	影响生物转化的因素	(118)
4.2	细胞损伤的分子机制	(121)
4.2.1	自由基与氧化损伤	(121)
4.2.2	外源化合物对生物大分子的结合	(126)
4.2.3	外源化合物与细胞钙稳态破坏	(129)
4.3	免疫毒性	(131)
4.3.1	人体免疫反应	(131)
4.3.2	免疫毒性反应机制	(133)
4.4	常见外源化合物在体内的毒性作用机制	(136)
4.4.1	化学致癌物的毒性作用机制	(136)
4.4.2	农药的毒性作用机制	(139)
4.4.3	有害金属的毒性作用机制	(142)

5	环境生物监测	(147)
5.1	取样	(148)
5.1.1	土壤取样	(148)
5.1.2	水取样	(148)
5.1.3	空气取样	(149)
5.2	生物分析方法	(149)
5.2.1	微生物学方法	(151)
5.2.2	生理学检测	(153)
5.2.3	DNA 重组技术	(155)
5.3	生物技术监测污染	(162)
5.3.1	生物标记	(162)
5.3.2	使用生物材料测定毒性	(165)
5.4	生物传感器	(167)
5.4.1	酶生物传感器	(168)
5.4.2	受体生物传感器	(169)
5.4.3	免疫传感器	(170)
5.4.4	细胞生物传感器	(171)
5.4.5	核酸生物传感器	(174)
5.4.6	基因芯片	(177)
5.4.7	生物传感器的研究前景	(178)
6	污染物的生物处理	(182)
6.1	污染	(182)
6.1.1	废水	(183)
6.1.2	气体废物	(184)
6.2	污水处理	(185)
6.2.1	污水组成	(186)

6.2.2	污水处理原理和工艺	(186)
6.2.3	氧化池或池塘	(188)
6.2.4	滴流过滤	(190)
6.2.5	活性污泥法	(194)
6.2.6	混合液悬浮固体和污泥滞留时间	(198)
6.2.7	污水生物处理系统	(199)
6.2.8	污水脱氮除磷	(203)
6.2.9	污泥处理	(207)
6.2.10	厌氧消化	(209)
6.3	生物修复法	(214)
6.3.1	无机废物	(214)
6.3.2	石油工业废物	(220)
6.3.3	合成有机物	(228)
6.4	植物生物修复法	(234)
7	生物清洁技术和资源化利用	(239)
7.1	生物清洁技术	(239)
7.1.1	过程变化	(240)
7.1.2	病虫害综合管理	(245)
7.1.3	生物控制	(246)
7.1.4	微生物生物聚合物	(248)
7.2	再生循环利用	(250)
7.3	生活废物	(251)
7.3.1	垃圾填埋法	(251)
7.3.2	焚烧法	(254)
7.3.3	堆肥法	(255)
7.4	农业废物	(257)
7.5	工业废物	(260)

7.6	煤和油的生物脱硫	(262)
8	生物燃料和自然资源生物提取	(269)
8.1	降低和除去二氧化碳	(272)
8.2	生物能源	(274)
8.2.1	生物量燃烧	(275)
8.2.2	生物气	(277)
8.2.3	生物油	(279)
8.2.4	乙醇	(281)
8.2.5	其它醇	(287)
8.2.6	生物燃料电池	(288)
8.2.7	生物制氢	(289)
8.3	生物采油	(292)
8.3.1	增强油提取	(293)
8.3.2	微生物增强油提取	(294)
8.3.3	微生物聚合物	(296)
8.4	生物冶炼	(297)
8.4.1	生物沥滤微生物	(297)
8.4.2	生物沥滤	(298)
8.4.3	生物沥滤的应用和发展	(301)
	参考书目	(304)

1 概 述

1.1 生物技术

解决生态环境问题必须依靠科技进步,当前的主要研究热点有“废物减量化、无害化、资源化”、“高度自动化、组合作化”、“全过程控制”、“清洁生产”、“生态农业”、“工业生态学”、“循环经济”等,生物技术是其最重要的技术支持。

要弄清什么是环境生物技术,首先要弄清什么是生物技术(biotechnology)。生物技术就是利用生物有机体(微生物、动物、植物)或其组成部分(包括器官、组织、细胞或细胞器等)开发新产品或新工艺的一种技术体系;通过操纵生物(微生物、动物、植物)的细胞、组织或酶,利用生物的新陈代谢和生长繁殖进行生物合成、生物降解、生物转化,并能大规模生产预期产品或达到特定目的的技术系统。欧洲生物技术联合会(European Federation of Biotechnology)定义生物技术是:为达到将微生物、养殖的动物或植物及其组成部分应用于工业、农业、医疗卫生和环境过程的目的,综合利用生物化学、微生物学、植物学、动物学、工程科学的技术体系。

简言之,生物技术是生物信息的控制利用。生物技术已成为一个学科,其实生物技术不是一个单一学科,而是一系列能被应用于生产活动的不同而又有相互联系的综合学科。生物技术本质上是交叉学科,涉及到微生物、分子生物学、细胞生物学、植物学、动物学和工程。生物技术各组成部分既自成体系,又相互渗透融合,共同构成了现代生物技术有机统一整体。

现代生物技术包括基因工程、蛋白质(酶)工程、细胞工程、发酵工程、代谢工程、组织工程,其中基因工程是基础。生物技术的许多重要成果发表在 1962 年创刊的 *Biotechnology and Bioengineering* 杂志,以及 1979 年创刊的 *Biotechnology* 杂志。

1.1.1 生物技术的发展

许多世纪以来,微生物(microorganism)已被用来加工食品和饮料,这很可能是生物技术初期应用的实例。过去加工食品和饮料的过程靠经验方式进行,对涉及的微生物及其作用过程并不了解,现在微生物学的发展已经让我们对这些过程有了一定认识和了解,从而为实现生物技术从经验方式向科学控制方式转变奠定了坚实的理论基础。可以将生物技术的发展划分为一系列时代(表 1.1),5000 年前,我们的祖先开始利用酒精发酵制造酒精饮料,然后发展出醋酸发酵生产醋。随着酿造业的发展,又发展出发酵蛋白质产品,如奶酪、酸奶和豆腐乳等。这些都涉及到微生物发酵(fermentation)过程。

随着近代微生物学(microbiology)的建立和发展,人们对食品发酵过程有了一定认识,并进一步开发出新型微生物工艺。如 19 世纪利用微生物生产乳酸,巴斯德(Pasteur)发现细菌产生丁醇。然后科学家发现厌氧细菌丙酮丁醇梭菌(*Clostridium acetobutylicum*)能产生丙酮、丁醇和乙醇。丙酮能用作溶剂,用于制造无烟火药。在此之前,丙酮通常由木材热解产生,产生 1 kg 丙酮需消耗 100 kg 木材。由于第一次世界大战的爆发,无烟火药需要的激增消耗了大量木材。为了克服这一问题,在 1915 年用 *C. acetobutylicum* 生产丁醇和丙酮的技术很快从实验室转化为工业生产。此细菌生产丙酮的过程比木材热解更有效和经济,每 100t 用来培养细菌的糖浆可以产生 12t 丙酮。这是一个由于战争压力使生物技术迅速发展的例子:抗生素青霉素(penicillin)的发现和应

用也是一个类似的典型例子。此细菌生产丙酮过程一直应用到 20 世纪 50 年代,这时由于石油工业的发展,能更有效和经济地从石油工业产生丙酮。最近,由于生物化学、分子生物学和废物处理技术的发展,微生物能使用可再生资源(renewable resource)来生产丙酮,因而利用此微生物生成丙酮的生物技术会重新启用。

表 1.1 生物技术的发展

-
- 一、前巴斯德时代(1865 年之前):酒精饮料(啤酒、葡萄酒)、乳制品(干酪、酸奶酪)和其它发酵食品
 - 二、巴斯德时代(1865 ~ 1940 年):乙醇、丁醇、丙酮、甘油有机酸(柠檬酸)和污水好氧处理
 - 三、抗生素时代(1940 ~ 1960 年):青霉素;浸没发酵各种抗生素;动物细胞培养技术;病毒疫苗;类固醇微生物转化
 - 四、后抗生素时代(1960 ~ 1975 年):氨基酸;单细胞蛋白(SCP);酶(洗涤剂);固定化酶与固定化细胞技术;废水厌氧处理(生物气);细菌多聚糖(黄原胶);乙醇汽油燃料
 - 五、现代生物技术时代(1975 年 ~):细胞杂交技术 - 单克隆;单克隆诊断试验(1980 年);基因工程(1974 年);动物痢疾疫苗(1982 年);人胰岛素(1982 年);基因工程农作物(1992 年);基因工程食品(1996 年);英国培养出第一只克隆绵羊多莉(1997 年);美国批准艾滋病疫苗进行人体实验(1998 年)
-

与此同时在 1914 年,运用污水生物处理、滤床(filter bed)和活性污泥(activated sludge)法的工厂在欧洲大陆也逐步发展起来。由于废水和废物的及时处理,给城市发展带来了可靠保障。

青霉素在 1928 ~ 1929 年间发现,其大规模生产到 1941 年才实现。尽管在 1941 年前已证明青霉素能有效防止细菌感染,但这时产生青霉素的点青霉(*Penicillium notatum*)生长在培养基表面,使其产业化非常困难。1941 年深层发酵(submerged deep fermentation)用于培养另一个高产率产生青霉素的菌株——产黄青霉(*P. chrysogenum*),1944 年最终实现工业化生产。随着青霉素实现微生

物工业化生产的成功,生物技术进入了抗生素时代,这时有多系列抗生素如:链霉素、四环素、红霉素、头孢霉素等被开发出来。

在这一阶段,生命科学的其它进展还有动物细胞培养和微生物的类固醇转化。动物细胞培养被用来分离病毒和生产疫苗,例如脊髓灰质炎疫苗(polio vaccine)。20世纪50年代,发现微生物能用来特别专一地转化众多化合物,而这些专一性转化过程往往难以通过化学途径来实现。微生物的这种转化作用被用来生产类固醇。

抗生素工业的发展进一步用来解决其它问题,这是后抗生素时代。这时微生物被用来生产氨基酸和维生素等,每年通过微生物生产约30000~40000t氨基酸,如赖氨酸和谷氨酸。通过微生物生产酶,特别是胞外酶,这些酶有的应用于去污剂(如加酶洗衣粉),有些作为淀粉的糖化酶生产葡萄糖、果糖等低聚糖。

酶的生产和使用是大量的,因为它们的活性只能持续较短的时间,并且当它们加入底物中后不能被回收使用。但是,如果酶被固定于一定的基质,即酶固定化(enzyme immobilization),则酶活性寿命延长,固定化酶易于与底物和产物分离而重复使用,且能应用于连续自动化生产过程,这意味着酶固定化能降低酶的使用成本。例如利用固定化的葡萄糖异构化酶生产高果糖含量的果汁。果糖的甜度是蔗糖的1.7倍,这样使用果糖则只需要较少量糖,因此果糖用在低热量食品和饮料中。高果糖含量的甜味剂较贵,这是因为将葡萄糖转化为果糖的葡萄糖异构化酶的生产成本较高。但是,如果将葡萄糖异构化酶固定化,可使其活性持续时间延长,且能应用于由葡萄糖果汁生产高果糖含量甜味剂的连续生产中,从而降低了成本。总之,酶或细胞固定化技术是一项重要的生物技术,它已广泛应用于生物反应器和生物传感器过程。

20世纪60年代由于人口增长,为防止发生粮食特别是蛋白质短缺,科学家开始寻找蛋白质替代资源,包括微生物如藻、细菌、

酵母和真菌等,这就是所谓的单细胞蛋白质(single cell protein,简称 SCP)。藻和酵母已被用作人和动物的食物。产生微生物数量的主要成本来自于培养基(culture medium),占成本的 60%。因此,用作 SCP 生产的培养基应该便宜和容易大量得到。目前试验的培养基包括可再生资源如农业废物、含淀粉和纤维素的作物残梗、或来自石油工业的培养基。当石油工业产生过量而低廉的甲烷、甲醇、烷烃时,许多大型石油公司将这些低分子量石油有机物用作培养基生产 SCP。SCP 生产过程应该大规模运行,以便发挥规模效应降低 SCP 生产成本。

英国化学工业公司发展的 Pruteen 生产是 SCP 生产的典范。他们发现细菌 *Methylophilus methylotrophus* 能生长在甲醇中,而甲醇能便宜地从英国北海油气田中的甲烷转化而得到。此细菌通过了安全和营养价值测试,能用作动物饲料,产品叫 Pruteen。英国化学工业公司在 20 世纪 80 年代早期建立了一个 150 万 L 的生物反应器(bioreactor),连续运行来生产 Pruteen。这代表了生物技术应用巨大成功。尽管此过程在生物技术上是成功的,但后来因石油价格上涨而使甲醇价格上涨;鱼粉和大豆粉因生产规模的扩大而使价格下降,所以生产 Pruteen 的过程后来被放弃了。然而由于现在动物蛋白质饲料被怀疑传播疯牛病,而 SCP 生产饲料具有特有的安全性和价值,所以此技术会重新得到发展。

20 世纪 70 年代的石油危机促使人们开始寻找石油替代品。酒精是其中较好的选择之一,可以由糖的发酵产生。酒精可以按 10% ~ 20% 比例添加于汽油中,或完全用酒精代替汽油,而汽车引擎却不需要作大的变化。另一种生物燃料是甲烷(生物气),能通过废水和废物的厌氧消化产生,甲烷可作为取暖、烹调等的燃料。在这期间发展的另一个微生物产品是微生物多糖黄原胶(xanthan),它能用在食品中增加食品粘性。同理因为它的粘弹性性质,多糖黄原胶可应用于油田钻井泥中。