

SPT 21世纪高等院校教材

生命科学类

微生物工程

曹军卫 马辉文 编著



科学出版社

www.sciencepress.com

内 容 简 介

本书是为了配合生物技术专业的学科建设而编写的本科生教材,作者是多年从事微生物工程教学和科学研究的教师,有丰富的教学经验和科研开发能力。

全书共分四大部分:第一部分微生物工程原理包括9章,第二部分微生物下游加工工程包括8章,第三部分微生物工程生产设备包括4章,第四部分微生物工程生产举例包括4章。

本书的特点是将理科的有关知识与必要的工程技术知识有机地结合起来,使学生既能掌握比较专业的理论知识,又能掌握基本的计算和设计工艺流程的原理和方法。

图书在版编目(CIP)数据

微生物工程/曹军卫,马辉文编著. —北京:科学出版社,2002.8

(21世纪高等院校教材(生命科学类))

ISBN 7-03-010277-0

I. 微… II. ①曹… ②马… III. 微生物工程-高等学校-教材 IV. TQ92

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 016458 号

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>

源海印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2002年8月第 一 版 开本:B5 (720×1000)

2002年8月第一次印刷 印张:24

印数:1—3 500 字数:465 000

定价:29.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈北燕〉)

前 言

生物技术是一门涉及领域宽、涵盖范围广、基础性强的新兴技术,是现代生物学发展并与相关学科交叉融合的产物。生物技术包括基因工程、蛋白质工程、细胞工程、微生物工程(即发酵工程)等领域。生物技术产业是世界发达国家在 21 世纪优先发展的支柱产业,它对不断提高人类的生活质量,与严重威胁人类健康的疾病进行斗争,以及改善自工业革命以来遭受严重破坏的、人类赖以生存的生态环境具有至关重要的作用。在生物技术领域里,由于微生物生物技术的高速发展和对其他生物技术发展的重要影响,使其一直处于领先地位,并且还将在相当长的时期内处于领先地位。

当今世界各国的竞争,实际上是科学技术的竞争。高等教育是为了适应国民经济和科学技术高速发展的需求,同时也是为了高等教育自身的发展需求,从 1997 年经教育部正式批准建立生物技术专业至今,全国高校已有生物技术专业 70 多个,生物工程专业 20 多个,在校学生近万人。尽管全国各高校的生物技术专业已经开始招生,但办好这一新兴的、具有中国特色的专业,需要有更多的教育工作者下功夫来研究,并在实践中探讨。生物技术专业与生物科学专业既有共性又有差别,差别体现在培养目标、课程设置、实验技能等方面。生物技术专业是理工结合的新兴学科专业,办好该专业应加强教学研究。

本书就是为了配合新兴的理工结合的生物技术专业的学科建设编写的本科生教材。其目的是希望通过本教材的编写,对办学模式、培养目标、课程设置、教学内容等作进一步的探讨、研究和实践,为生物技术专业的发展和培养大批量高素质生物技术人才探索更多的教学经验。本书共分为四大部分,包括 25 章。第一部分微生物工程原理包括 9 章,第二部分微生物工程下游加工工程包括 8 章,第三部分微生物工程生产设备包括 4 章,第四部分微生物工程生产举例包括 4 章。其特点和独到之处是将理科的有关知识与必要的工程技术知识有机地结合起来,使学生既学到比较专业的微生物学理论知识,又掌握工程技术方面的基本计算和设计工艺流程的原理和方法。

在本书编著过程中,参考了许多国内外相关的书籍和文献资料,在此向这些前辈和同行们一并表示衷心的感谢! 本书的部分插图由陈宝联同志绘制,特表示感谢。也欢迎这些前辈和同行们,以及广大读者提出宝贵意见。

曹军卫 马辉文

2001.12

目 录

前言

第一部分 微生物工程原理

1 微生物工程概论	(1)
1.1 微生物工程的发展简史	(1)
1.1.1 传统的微生物发酵技术——天然发酵	(1)
1.1.2 第一代微生物发酵技术——纯培养技术的建立	(2)
1.1.3 第二代(近代)微生物发酵技术——深层培养技术	(2)
1.1.4 第三代微生物发酵技术——微生物工程	(4)
1.2 微生物工程的应用	(5)
1.2.1 微生物工程在食品工业中的应用	(6)
1.2.2 微生物工程在医药卫生中的应用	(6)
1.2.3 微生物工程在轻工业中的应用	(10)
1.2.4 微生物工程在化工能源产品中的应用	(11)
1.2.5 微生物工程在农业中的应用	(11)
1.2.6 微生物工程在环境保护中的应用	(12)
1.2.7 微生物工程在细菌冶金中的应用	(13)
1.2.8 微生物工程在高技术研究中的应用	(13)
2 生产菌种的来源	(14)
2.1 生物物质产生菌的筛选	(14)
2.1.1 微生物是生物活性物质的丰富资源	(14)
2.1.2 含微生物材料的标本采集	(14)
2.1.3 标本的预处理	(15)
2.2 菌种的分离	(16)
2.2.1 施加选择性压力分离法	(16)
2.2.2 随机分离方法	(18)
3 优良菌种选育	(22)
3.1 自然选育	(23)
3.2 诱变选育	(24)
3.2.1 诱变育种的原理	(24)
3.2.2 诱变育种的基本方法	(24)
3.2.3 突变菌株的筛选	(25)

3.3	杂交育种	(29)
3.3.1	细菌的杂交育种	(29)
3.3.2	放线菌的杂交育种	(29)
3.3.3	霉菌的杂交育种	(31)
3.3.4	酵母的杂交育种	(33)
3.4	原生质体融合技术	(34)
3.4.1	原生质体融合优越性	(34)
3.4.2	原生质体融合方法	(34)
3.4.3	原生质体融合技术在微生物育种中的应用	(35)
3.5	基因工程技术	(36)
3.5.1	基因表达系统	(37)
3.5.2	利用大肠杆菌的表达系统	(39)
3.5.3	利用酵母菌的基因表达系统	(42)
3.5.4	基因工程菌的稳定性	(45)
4	菌种保藏的原理和方法	(47)
4.1	斜面保藏法和穿刺保藏法	(47)
4.1.1	斜面保藏法	(47)
4.1.2	穿刺保藏法	(48)
4.2	沙土管干燥保藏法	(48)
4.3	真空冷冻干燥保藏法	(49)
4.4	液氮保藏法	(50)
4.5	悬液保藏法	(50)
4.6	低温保藏法	(50)
5	微生物的代谢调节和代谢工程	(51)
5.1	微生物的代谢类型和自我调节	(51)
5.1.1	代谢类型	(51)
5.1.2	微生物自我调节的部位	(52)
5.2	酶活性调节	(52)
5.2.1	酶的激活作用与抑制作用	(53)
5.2.2	酶活性调节的机制	(54)
5.3	酶合成的调节	(55)
5.3.1	酶合成的诱导作用	(55)
5.3.2	酶合成的阻遏	(56)
5.3.3	酶合成调节的机制	(57)
5.4	分支生物合成途径的调节	(60)
5.4.1	同工酶调节	(61)

5.4.2	协同反馈调节	(61)
5.4.3	累加反馈调节	(61)
5.4.4	增效反馈调节	(62)
5.4.5	顺序反馈调节	(62)
5.4.6	联合激活或抑制调节	(63)
5.4.7	酶的共价修饰	(63)
5.5	能荷调节	(64)
5.6	代谢调控	(65)
5.6.1	发酵条件的控制	(66)
5.6.2	改变细胞透性	(67)
5.6.3	菌种遗传特性的改变	(68)
5.7	次级代谢与次级代谢调节	(69)
5.7.1	初级代谢和次级代谢	(69)
5.7.2	次级代谢的调节类型	(70)
5.8	代谢工程	(73)
5.8.1	改变代谢途径	(74)
5.8.2	扩展代谢途径	(77)
5.8.3	转移或构建新的代谢途径	(78)
6	培养基	(80)
6.1	培养基的成分	(80)
6.1.1	能源物质	(80)
6.1.2	碳源物质	(81)
6.1.3	氮源物质	(82)
6.1.4	无机盐和微量元素	(83)
6.1.5	前体	(84)
6.1.6	促进剂和抑制剂	(85)
6.1.7	水分	(86)
6.2	营养物质的调节	(86)
6.2.1	不同碳源的利用速度	(86)
6.2.2	氮源利用及与碳源利用的关系	(87)
6.2.3	碳氮比例的调节	(87)
6.2.4	前体的控制	(87)
6.2.5	补料	(88)
6.3	培养基的类型	(89)
6.3.1	孢子培养基	(89)
6.3.2	种子培养基	(90)

6.3.3	发酵培养基	(90)
7	发酵工艺控制	(91)
7.1	温度对发酵的影响及其调节控制	(91)
7.1.1	温度对发酵的影响	(91)
7.1.2	影响发酵温度的因素	(93)
7.1.3	发酵热的测定	(95)
7.1.4	最适温度的选择与发酵温度的控制	(95)
7.2	pH对发酵的影响及控制	(96)
7.2.1	pH对发酵的影响	(97)
7.2.2	影响发酵 pH 的因素	(98)
7.2.3	最适 pH 的选择和调节	(98)
7.3	氧对发酵的影响	(100)
7.3.1	氧的传递和传质方程式	(101)
7.3.2	影响微生物对氧需求的因素	(104)
7.3.3	培养基的流变特性	(108)
7.3.4	影响供氧的因素	(111)
7.3.5	液相体积氧传递系数 K_{La} 的测定	(120)
7.4	二氧化碳对发酵的影响及控制	(122)
7.4.1	二氧化碳的来源及对发酵的影响	(122)
7.4.2	二氧化碳浓度的控制	(123)
7.5	泡沫对发酵的影响与控制	(124)
7.5.1	泡沫产生的原因	(124)
7.5.2	泡沫对发酵的危害	(124)
7.5.3	泡沫的消长规律	(125)
7.5.4	泡沫的消除和防止	(126)
8	发酵过程的参数检测和自动控制	(129)
8.1	发酵过程的参数检测	(129)
8.1.1	物理参数检测	(130)
8.1.2	化学参数检测	(141)
8.1.3	间接参数检测	(155)
8.2	发酵过程的自动控制	(160)
8.2.1	基本的自动控制系统	(161)
8.2.2	发酵自控系统的硬件组成	(163)
9	微生物反应动力学	(165)
9.1	发酵类型	(165)
9.1.1	第 I 型	(165)

12.3.1	有机溶剂沉淀的原理	(212)
12.3.2	有机溶剂的选择和使用浓度计算	(213)
12.3.3	影响有机溶剂沉淀的因素	(213)
12.4	非离子型多聚物沉淀法	(215)
12.5	聚电解质沉淀法	(216)
13	溶剂萃取法	(217)
13.1	溶剂萃取的原理	(217)
13.1.1	分配定律	(217)
13.1.2	弱电解质萃取的分配平衡	(218)
13.2	有机溶剂的选择	(220)
13.3	影响水相溶质溶解度的因素	(221)
13.3.1	离子强度	(221)
13.3.2	pH	(221)
13.3.3	温度	(222)
13.3.4	带溶剂的使用	(222)
13.4	乳化与去乳化	(223)
13.4.1	乳浊液的形成原因和稳定条件	(223)
13.4.2	去乳化的方法	(224)
13.5	萃取方法和理论得率计算	(226)
13.5.1	单级萃取	(226)
13.5.2	多级错流萃取	(227)
13.5.3	多级逆流萃取	(228)
13.5.4	萃取计算诺模图	(229)
14	双水相萃取法	(231)
14.1	水相体系	(231)
14.1.1	双水相的形成	(231)
14.1.2	相图	(232)
14.2	分配理论	(233)
14.2.1	表面自由能的影响	(233)
14.2.2	表面电荷的影响	(234)
14.3	影响物质分配的因素	(234)
14.3.1	聚合物及其相对分子质量的影响	(235)
14.3.2	系线长度对分配平衡的影响	(235)
14.3.3	离子环境对分配的影响	(236)
14.3.4	pH 的影响	(236)
14.3.5	温度的影响	(237)

9.1.2	第Ⅱ型	(166)
9.1.3	第Ⅲ型	(166)
9.2	分批培养动力学	(167)
9.2.1	分批培养中细胞的生长动力学	(167)
9.2.2	分批培养中基质的消耗动力学	(169)
9.2.3	产物的生成动力学	(172)
9.3	连续培养动力学	(173)
9.3.1	连续培养的优点	(173)
9.3.2	单级连续培养	(173)
9.3.3	多级串联连续培养动力学	(177)
9.3.4	细胞循环使用的单级连续培养动力学	(178)
9.3.5	连续培养的实施	(180)
第二部分 微生物工程下游加工工程		
10	微生物工程下游加工工程概论	(183)
10.1	微生物工程下游加工工程的特点和重要性	(183)
10.2	微生物工程下游加工工程的基本原理	(184)
10.3	微生物工程下游加工工程的一般程序	(190)
11	发酵液的预处理和过滤	(191)
11.1	发酵液的预处理	(191)
11.1.1	高价无机离子的去除方法	(191)
11.1.2	可溶性杂蛋白质的去除方法	(192)
11.1.3	色素及其他物质的去除	(193)
11.2	发酵液的过滤	(194)
11.2.1	发酵液的过滤特性和滤饼的比阻值	(194)
11.2.2	影响发酵液过滤的因素	(195)
11.2.3	提高过滤性能的方法	(196)
11.3	微生物细胞的破碎和分离	(197)
11.3.1	微生物细胞壁的组成和结构	(197)
11.3.2	微生物细胞破碎的方法	(199)
11.3.3	细胞破碎率的测定	(203)
12	沉淀法	(205)
12.1	盐析法	(205)
12.1.1	盐析原理——Cohn 方程式	(205)
12.1.2	影响盐析的主要因素	(207)
12.2	等电点沉淀法	(211)
12.3	有机溶剂沉淀法	(212)

14.4	双水相萃取技术的应用	(237)
14.4.1	酶的分离纯化	(238)
14.4.2	核酸的分离纯化	(239)
14.4.3	人生长激素的提取	(239)
14.4.4	β -干扰素的提取	(239)
14.4.5	病毒的分离纯化	(240)
14.4.6	双水相分析法	(240)
14.5	双水相萃取技术的发展	(240)
14.5.1	提高分离效率的双水相萃取技术	(241)
14.5.2	廉价双水相系统的使用	(242)
15	吸附法	(244)
15.1	吸附过程的基础理论	(244)
15.2	吸附类型	(245)
15.2.1	物理吸附	(245)
15.2.2	化学吸附	(245)
15.3	影响吸附的因素	(246)
15.3.1	吸附剂的性质	(246)
15.3.2	吸附物的性质	(246)
15.3.3	溶液 pH 的影响	(246)
15.3.4	温度的影响	(246)
15.3.5	溶液中其他溶质的影响	(247)
15.4	大网格聚合物吸附剂	(247)
16	离子交换法	(249)
16.1	离子交换树脂的分类	(249)
16.1.1	强酸性阳离子交换树脂	(249)
16.1.2	弱酸性阳离子交换树脂	(250)
16.1.3	强碱性阴离子交换树脂	(250)
16.1.4	弱碱性阴离子交换树脂	(250)
16.2	离子交换树脂的命名法	(251)
16.3	离子交换树脂的物理化学性能测定	(252)
16.3.1	交联度	(252)
16.3.2	膨胀度	(252)
16.3.3	交换容量	(253)
16.4	离子交换过程的机制	(253)
16.4.1	离子交换静力学	(253)
16.4.2	离子交换动力学	(254)

16.5	树脂的选择和操作条件控制	(254)
16.5.1	树脂的选择	(254)
16.5.2	操作条件的控制	(255)
17	结晶法	(256)
17.1	晶体的一般性质	(256)
17.2	生物物质形成晶体的条件	(257)
17.2.1	样品纯度	(257)
17.2.2	溶液的饱和度	(257)
17.2.3	溶剂的影响	(258)
17.3	结晶的方法	(258)
第三部分 微生物工程生产设备		
18	培养基灭菌及灭菌设备	(261)
18.1	灭菌的方法	(261)
18.2	培养基的灭菌	(262)
18.2.1	热灭菌的原理	(262)
18.2.2	培养基灭菌温度的选择	(265)
18.3	培养基的分批灭菌	(267)
18.3.1	升温阶段	(267)
18.3.2	冷却阶段	(268)
18.3.3	保温阶段	(269)
18.4	培养基的连续灭菌	(270)
18.4.1	连续灭菌的流程	(270)
18.4.2	连续灭菌的设备和计算	(272)
19	发酵设备	(279)
19.1	机械搅拌发酵罐	(279)
19.1.1	发酵罐的基本条件	(279)
19.1.2	标准式发酵罐的几何尺寸	(280)
19.1.3	发酵罐的结构	(280)
19.2	其他类型的发酵罐	(287)
19.2.1	空气带升环流式发酵罐	(287)
19.2.2	机械搅拌自吸式发酵罐	(290)
19.2.3	高位塔式发酵罐	(293)
19.3	搅拌轴功率的计算	(295)
19.4	发酵罐的放大	(298)
19.4.1	几何尺寸放大法	(298)
19.4.2	空气流量放大法	(299)

23.1.2	培养基	(347)
23.1.3	发酵条件控制	(348)
23.1.4	氨基酸分离纯化	(348)
23.2	赖氨酸生产工艺	(348)
23.2.1	赖氨酸的生物合成途径和菌种	(349)
23.2.2	赖氨酸的发酵条件控制	(350)
23.3	异亮氨酸、亮氨酸生产工艺	(351)
23.3.1	异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸的生物合成途径	(351)
23.3.2	异亮氨酸发酵	(352)
23.3.3	亮氨酸发酵	(353)
24	甾体类化合物的微生物转化工艺	(354)
24.1	微生物转化的反应类型	(354)
24.1.1	氧化反应	(355)
24.1.2	还原反应	(356)
24.1.3	水解反应	(356)
24.2	微生物转化工艺	(356)
24.2.1	生产工艺流程	(356)
24.2.2	转化反应工艺控制	(357)
24.3	犁头霉菌的 11β -羟化反应工艺	(357)
25	污水的生物处理	(359)
25.1	污水生物处理的原理	(359)
25.2	污水的来源	(360)
25.3	水质污染的衡量指标和排放标准	(360)
25.3.1	水质污染的衡量指标	(360)
25.3.2	废水排放标准	(362)
25.4	污水处理的基本方法	(362)
25.5	好气生物处理技术	(363)
25.5.1	活性污泥法	(363)
25.5.2	生物膜法	(365)
25.6	厌氧生物处理技术	(368)
	主要参考文献	(369)

20	空气除菌设备	(302)
20.1	介质除菌的原理	(302)
20.1.1	惯性冲击滞留作用	(302)
20.1.2	拦截滞留作用	(304)
20.1.3	布朗扩散作用	(304)
20.1.4	重力沉降作用	(304)
20.1.5	静电吸引作用	(305)
20.2	介质过滤效率和过滤器计算	(305)
20.2.1	对数穿透定理	(305)
20.2.2	过滤器的计算	(306)
20.3	空气除菌设备	(308)
20.3.1	压缩空气的预处理	(308)
20.3.2	空气过滤除菌流程	(311)
21	产品纯化设备	(318)
21.1	两相分离设备	(318)
21.1.1	过滤设备	(319)
21.1.2	离心分离设备	(323)
21.2	蒸发浓缩设备	(329)
21.2.1	真空浓缩器	(330)
21.2.2	薄膜蒸发器	(330)
21.3	干燥设备	(334)
21.3.1	气流干燥设备	(334)
21.3.2	沸腾干燥	(336)
21.3.3	喷雾干燥	(337)
第四部分 微生物工程生产举例		
22	抗生素生产工艺	(341)
22.1	抗生素的分类	(341)
22.2	抗生素的生产工艺	(342)
22.3	青霉素的生产工艺	(342)
22.3.1	菌种	(344)
22.3.2	培养基	(346)
22.3.3	发酵条件控制	(346)
22.3.4	青霉素分离和纯化	(346)
23	氨基酸生产工艺	(347)
23.1	氨基酸发酵工艺控制	(347)
23.1.1	菌种	(347)

第一部分 微生物工程原理

1 微生物工程概论

生物技术在 21 世纪会成为带动人类社会经济发展的关键技术之一这一点，已在国内外各界人士中得到共识。其中微生物的生物技术由于其发展迅速，给人类带来巨大经济利益，以及对其他生物技术的重要影响，一直处于生物技术的领先地位。以往是用发酵技术一词来描述微生物技术，随着微生物技术快速发展，微生物技术已走出了曾给其带来里程碑转折发展的发酵罐时期，广泛用于发酵罐以外形式的环境保护、细菌冶金、细菌勘探和能源开发等领域，特别是基因工程菌的大量产生和使用，因而用“微生物工程”一词更能准确地概括所有微生物的应用领域。

微生物工程的主体是利用微生物生长代谢活动产生的各种生理活性物质来生产商业产品。这项工程需要微生物学、生物化学、化学工程学和市场营销学等有关知识来共同营建。面对 21 世纪市场经济发展的大潮，需要有更多交叉学科知识的人才来参加微生物工程的研究、开发、生产和市场营销。因而微生物工程已成为微生物学、生物化学和化学工程学等多学科密切相关的交叉性学科。

1.1 微生物工程的发展简史

1.1.1 传统的微生物发酵技术——天然发酵

人类利用微生物的代谢产物作为食品和医药，已有几千年的历史了。几乎一切原始部族都由含糖的果实贮藏时发酵，而学会了酒精发酵。公元前 4000～3000 年，古埃及人已熟悉了酒、醋的酿造方法。约在公元前 2000 年，古希腊人和古罗马人已会利用葡萄酿造葡萄酒。在巴黎卢浮宫保存的“蓝色纪念碑”上，记载着公元前 3 世纪古巴比伦居民利用谷物酿造某些品种的啤酒，有约 20 种不同啤酒品种，如用大麦芽酿造的含乳酸的酸啤酒。因而可知，当时巴比伦存在有专业的酿造行业。古埃及人对古巴比伦的外销啤酒评价很高。随后就发明出用烘焙的“啤酒面包”酿造的黑啤酒，以及加入了红花和各种植物果实作为香料的啤酒。并且许多啤酒的酒精含量高达 12%～15%。但是随着古埃及帝国的解体，

古代的酿造技术随之失传了。

据考古证实，我国在距今 4200~4000 年前的龙山文化时期已有酒器出现，公元前 1000 多年前，商朝甲骨文中“醋、酒、鬯”的记载。“周礼夫官篇”记载了当时能酿造出久陈不坏的黄酒。北魏时期据《齐民要术》记录了我国劳动人民已能用麴制造饴糖，用散曲中的黄曲霉的蛋白质分解力和淀粉糖化力制造酱和酿醋等等。属于传统的微生物发酵技术产品的还有酱油、泡菜、奶酒、干酪等，此外还有面团发酵，粪便和秸秆的沤制，用发霉的豆腐制腐等技术。但那时人们并不知道微生物与发酵的关系，因而很难人为控制发酵过程，生产也只能凭经验，口传心授；所以被称为天然发酵时期。

1.1.2 第一代微生物发酵技术——纯培养技术的建立

1680 年，荷兰人安东尼·列文虎克 (Anthony Leeuwenhoek) (1632~1723 年) 制成了放大率为 40~150 倍的显微镜，第一个通过显微镜观察到用肉眼看不见的微生物，包括细菌、酵母等。1857 年法国著名生物学家巴斯德 (Louis Pasteur, 1822~1895 年) 用巴氏瓶实验，证明了酒精发酵是由活酵母引起的，各种不同的发酵产物是由不同的微生物产生的。1897 年德国的毕希纳 (Eduard Buchner, 1860~1917 年) 将酵母细胞磨碎，得到的酵母汁仍能使糖液发酵产生酒精，他将这种具有发酵能力的物质称为酒化酶 (zymase)。在这之后，德国人柯赫 (Robert Koch, 1843~1910 年) 1905 年因其关于肺结核的出色工作获得了诺贝尔奖，他首先发明固体培养基，得到了细菌的纯培养物，由此建立了微生物的纯培养技术。这就开创了人为控制发酵过程的时期，再加上简单密封式发酵罐的发明，发酵管理技术的改进，发酵工业逐渐进入了近代化学工业的行列。这时期的产品有酵母、酒精、丙酮、丁醇、有机酸、酶制剂等，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。

1.1.3 第二代 (近代) 微生物发酵技术——深层培养技术

1928 年英国细菌学家弗莱明发现能够抑制葡萄球菌的点青霉 (*Penicillium notatum*)，其产物被称为青霉素，而当时弗莱明的成果并没有引起人们的重视。20 世纪 40 年代初，第二次世界大战中对于抗细菌感染药物的极大需求，促使人们重新研究了青霉素。经过多年的研究，在 1945 年大规模地投入生产。同时由于采用了深层培养技术，即机械搅拌通气技术，从而推动了抗生素工业乃至整个发酵工业的快速发展。随后链霉素、氯霉素、金霉素、土霉素、四环素等好氧发酵的次级代谢产物相继投产。经过半个多世纪的发展，不仅抗生素产品的种类在不断增加，发酵水平也有了大幅度的提高。以青霉素为例，发酵的效价单位从最

初的 40U/ml 提高到目前的 90 000U/ml, 菌种的活力提高了 2000 倍以上。在产品分离纯化上, 由最初纯度仅 20% 左右, 得率约 35%, 提高到现在的纯度 99.9%, 得率 90%。

抗生素工业的发展很快促进了其他发酵产品的出现。如 20 世纪 50 年代氨基酸发酵工业, 在引进了“代谢控制发酵技术”后, 得以快速发展, 即将微生物通过人工诱变, 获得代谢发生改变的突变株, 在控制条件下, 选择性地大量生产某种人们所需要的产品。这项技术也被用于核苷酸、有机酸和抗生素的生产中。又如 20 世纪 60 年代, 发现许多石油及石油产品可以代替糖质原料进行发酵, 而出现了石油发酵。已开始利用醋酸为原料发酵生产谷氨酸, 赖氨酸等氨基酸, 利用正构石蜡发酵生产柠檬酸等有机酸及单细胞蛋白。同时也有抗生素、酶制剂、辅酶和维生素等的石油发酵研究 (表 1-1)。可以说, 这是一个近代发酵工业的鼎盛时代。新产品、新技术、新工艺、新设备不断出现, 应用范围也日益扩大, 如广泛应用于能源开发、环境保护、细菌冶金和石油勘探等。

表 1-1 重要的近代微生物技术产品产业化年代

年 代	产 品
公元前 4000~2000 年	果汁酿酒、醋、酱、原始啤酒、面包发酵、奶酪
公元前 1000 年	酱油
公元前 600 年	用霉制疡
公元 11 世纪	人痘接种
公元 12 世纪	蒸馏酒精
公元 17 世纪	人工栽培食用菌
公元 18 世纪	牛痘接种
1880~1920	乳酸、面包酵母、甘油、丙酮、丁醇、淀粉酶、转化酶
1920~1940	柠檬酸、葡萄糖酸、蛋白酶、核黄素、山梨糖
1940~1950	青霉素、短杆菌肽、链霉素、金霉素、新霉素、两性霉素、衣康酸、纤维素酶、果胶酶、淀粉酶
1950~1960	谷氨酸、赖氨酸、土霉素、四环素、新生霉素、红霉素、制霉菌素、卡那霉素、丝环氨酸、庆黄霉素、曲酸、柠檬酸、葡萄糖酸、过氧化氢酶、甾体氧化产物、赤霉素、葡聚糖、单细胞蛋白、水杨酸
1960~1970	葡萄糖酸、糖化酶、氨基酰化酶、脂肪酶、乳糖酶、头孢霉素、林可霉素、利福霉素、万古霉素、核糖霉素、杀稻瘟菌素、多氧霉素、泰勒霉素、缬氨酸、甾体氧化产物、核苷酸、生物杀虫剂、黄原胶、石油发酵、污水处理、能源开发、细菌冶金、单细胞蛋白
1970~1980	博来霉素、阿霉素、杀念珠菌素、交沙霉素、西梭霉素、有效霉素、门冬氨酸、苏氨酸、凝乳酶、右旋糖苷酶、维生素 C、木糖醇、苹果酸、长链二元酸、普鲁兰多糖
1980~	阿维霉素、苯丙氨酸、环氧乙烷、丙烯酰胺、聚羟基丁酸酯, 酶抑制剂

1.1.4 第三代微生物发酵技术——微生物工程

1953年,美国的Watson和Crick发现了DNA双螺旋结构。1973年,美国加利福尼亚旧金山分校的Herber Boyer和斯坦福大学的Stanley Cohen将两个质粒用EcoR I酶切后,在连接酶存在条件下连接起来,获得了具有两个复制起始位点的杂合质粒,并转化大肠杆菌。尽管他们的实验并没有涉及任何目的基因,但意义却极为重大深远,为基因工程的理论和实际应用奠定了基础。此后很快全世界各国的研究人员发展出大量基因分离、鉴定和克隆的方法,不但构建出高产量的基因工程菌,还使微生物产生出它们本身不能产生的外源蛋白质,包括植物、动物和人类的多种生理活性蛋白。而且很快形成了产品,如胰岛素、生长激素、细胞因子及多种单克隆抗体等基因工程药物和产品已正式上市(表1-2)。

表 1-2 已上市和一些正在研究开发的基因工程产品

医药产品 (包括兽用产品)	胰岛素(insulin); 生长激素(growth hormone)包括人和其他哺乳动物生长激素及其相关因子(growth hormone releasing factor); 干扰素(interferon, IFN)包括白细胞干扰素(IFN _α),成纤维细胞干扰素(IFN _β),免疫干扰素(IFN _γ); 淋巴细胞活素(lymphokine),包括白细胞介素2(interleukin-2, IL-2),白细胞介素3(interleukin-3, IL-3),巨噬细胞激活因子(macrophage activating factor, MAF),B-细胞生长因子(B-cell growth factor); 血纤维蛋白溶解剂(fibrinolytics)包括链激酶(streptokinase, SK),尿激酶(urokinase, UK),组织血纤维蛋白溶酶原激活素(tissue plasminogen activator, TPA)等; 疫苗(vaccine)包括腺病毒(adenovirus),霍乱(cholera),巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV),脑炎病毒(encephalitis),甲型肝炎病毒(hepatitis A),乙型肝炎病毒(hepatitis B),疱疹病毒(herpes),流感病毒A和B(influenza A and B),副流感病毒(parainfluenza),疟疾(malaria),狂犬病毒(rabies),骨髓灰质炎(poliomyelitics),动物腹泻(animal scours),口蹄疫(foot and mouth disease),人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV),呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus),轮状病毒(rotaviria),水痘-带状疱疹病毒(varicellazoster),黄热病毒(yellow fever)等; 菌苗如百日咳杆菌(<i>Bordetella pertussis</i>),破伤风杆菌(<i>Clostridium tetani</i>),致腹泻大肠杆菌(<i>E. coli</i> enterotoxin strain),流感嗜血杆菌(<i>Haemophilus influenzae</i>),麻风分枝杆菌(<i>Mycobacterium leprae</i>),结核杆菌(<i>M. tuberculosis</i>),伤寒杆菌(<i>Salmonella typhi</i>),淋病奈瑟球菌(<i>Neisseria gonorrhoeae</i>),脑膜炎奈瑟球菌(<i>N. meningitidis</i>),A组链球菌(<i>Streptococcus</i> group A),B组链球菌(<i>S. Group B</i>),肺炎链球菌(<i>S. pneumoniae</i>),志贺菌属(<i>Shigella</i>),霍乱弧菌(<i>Vibrio cholerae</i>)等;
------------------	--