



教育部高职高专规划教材

微生物制药工艺及反应器

► 于文国 主编
乔德阳 主审



化学工业出版社

教材出版中心

教育部高职高专规划教材

微生物制药工艺及反应器

于文国 主编

乔德阳 主审



化学工业出版社
教材出版中心

· 北 京 ·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

微生物制药工艺及反应器/于文国主编. —北京: 化学工业出版社, 2005. 5

教育部高职高专规划教材

ISBN 7-5025-6578-7

I. 微… II. 于… III. 微生物培养-应用-药物-生产工艺-高等学校: 技术学院-教材 IV. TQ460.38

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 048391 号

教育部高职高专规划教材
微生物制药工艺及反应器

于文国 主编

乔德阳 主审

责任编辑: 于 卉 张双进

文字编辑: 李 瑾

责任校对: 洪雅姝

封面设计: 于 兵

*

化学工业出版社 出版发行
教材出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

化学工业出版社印刷厂印装

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 14½ 字数 346 千字

2005 年 6 月第 1 版 2005 年 6 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6578-7/G·1704

定 价: 25.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

出版说明

高职高专教材建设工作是整个高职高专教学工作中的重要组成部分。改革开放以来,在各级教育行政部门、有关学校和出版社的共同努力下,各地先后出版了一些高职高专教育教材。但从整体上看,具有高职高专教育特色的教材极其匮乏,不少院校尚在借用本科或中专教材,教材建设落后于高职高专教育的发展需要。为此,1999年教育部组织制定了《高职高专教育专门课程基本要求》(以下简称《基本要求》)和《高职高专教育专业人才培养目标及规格》(以下简称《培养规格》),通过推荐、招标及遴选,组织了一批学术水平高、教学经验丰富、实践能力强的教师,成立了“教育部高职高专规划教材”编写队伍,并在有关出版社的积极配合下,推出一批“教育部高职高专规划教材”。

“教育部高职高专规划教材”计划出版500种,用5年左右时间完成。这500种教材中,专门课(专业基础课、专业理论与专业能力课)教材将占很高的比例。专门课教材建设在很大程度上影响着高职高专教学质量。专门课教材是按照《培养规格》的要求,在对有关专业的人才培养模式和教学内容体系改革进行充分调查研究和论证的基础上,充分汲取高职、高专和成人高等学校在探索培养技术应用型专门人才方面取得的成功经验和教学成果编写而成的。这套教材充分体现了高等职业教育的应用特色和能力本位,调整了新世纪人才必须具备的文化基础和技术基础,突出了人才的创新素质和创新能力的培养。在有关课程开发委员会组织下,专门课教材建设得到了举办高职高专教育的广大院校的积极支持。我们计划先用2~3年的时间,在继承原有高职高专和成人高等学校教材建设成果的基础上,充分汲取近几年来各类学校在探索培养技术应用型专门人才方面取得的成功经验,解决新形势下高职高专教育教材的有无问题;然后再用2~3年的时间,在《新世纪高职高专教育人才培养模式和教学内容体系改革与建设项目计划》立项研究的基础上,通过研究、改革和建设,推出一大批教育部高职高专规划教材,从而形成优化配套的高职高专教育教材体系。

本套教材适用于各级各类举办高职高专教育的院校使用。希望各用书学校积极选用这批经过系统论证、严格审查、正式出版的规划教材,并组织本校教师以对事业的责任感对教材教学开展研究工作,不断推动规划教材建设工作的发展与提高。

教育部高等教育司

2001年4月3日

前 言

本教材是在全国化工高职教学指导委员会制药专业委员会的指导下,根据教育部有关高职高专教材建设的文件精神,以高职高专制药技术类专业学生的培养目标为依据编写的。教材在编写过程中广泛征求了制药企业专家的意见,具有较强的实用性。

随着我国国民经济的稳步发展,对适应生产、建设、管理、服务第一线的应用型高素质人才的需求也逐年递增。特别是近几年高等职业教育呈现出前所未有的良好发展势头。开发相适应的高等职业技术教育的教材具有重要的意义。中国高等职业教育还处在一个起步阶段,适合于职业教育的相关教材种类少,特别是制药技术类专业教材更是非常匮乏,因此加强教材建设是职业教育迫切需要的。

《微生物制药工艺及反应器》是根据教育部高职高专制药技术类专业人才培养方案及指导性教学大纲而编写的,是制药技术类专业开设的一门主干专业课。本书以微生物制药生产中共性工艺技术的理论和实践为主线,兼顾典型药品生产、生物反应器及生产过程中的物热衡算等内容。对微生物制药生产的共性的工艺技术理论和实践重点介绍上游工艺过程,下游工艺过程重点在配套教材《药物分离与纯化技术》一书中介绍。因此,在工艺专业的教学中两本教材要配套使用。

本教材以“应用”为主旨和特征构建教材内容体系,以培养技术应用能力及实践操作能力为主线设计具体内容。编写内容上注重一般性、实用性,尽量避免了过多的理论分析及复杂的数学推导及运算,对某些新技术进行了适当介绍。

全书共十五章,第一至九章主要介绍微生物制药上游过程的共性工艺、反应器及物热衡算,并简单介绍下游过程、环境保护及三废的防治;第十至十五章主要介绍典型药用产品的生产。河北化工医药职业技术学院于文国编写了绪论、第五章、第六章、第七章、第十章及第十一章;湖南工业职业技术学院兰立新编写了第二章、第四章、第八章、第十三章及第十四章;广西化工职业技术学院李善斌编写了第一章、第三章、第九章、第十二章及第十五章;全书由于文国统稿,由徐州工业职业技术学院乔德阳主审。

多明尼克汉德净化设备有限公司的胡明高级工程师对本书的内容提出了许多指导性的建议,并对部分内容进行修改及补充,在此一并表示衷心的感谢。

限于编者业务水平,以及编写时间仓促,书中疏漏之处在所难免,敬请广大读者批评指正。

编 者
2005年3月

目 录

绪论.....	1
一、微生物药物与微生物制药.....	1
二、微生物制药业的发展过程.....	2
三、微生物制药工业.....	4
四、微生物制药业的现状及发展方向.....	6
思考题.....	6
第一章 种子的扩大培养.....	7
第一节 基本概念.....	7
第二节 种子培养过程.....	8
一、种子制备工艺.....	8
二、注意事项.....	12
第三节 问题分析及处理手段.....	13
一、种子培养过程中影响因素.....	13
二、常见问题及其处理手段.....	14
思考题.....	16
第二章 培养基的制备.....	17
第一节 基本概念.....	17
第二节 培养基的制备过程.....	17
一、培养基成分.....	18
二、培养基的类型.....	21
三、培养基的选择.....	22
四、工业发酵培养基的制备过程.....	23
第三节 问题分析及处理手段.....	28
一、培养基制备过程中的影响因素.....	28
二、常见问题及其处理手段.....	30
思考题.....	30
第三章 无菌空气的制备.....	32
第一节 基本概念.....	32
第二节 基本原理.....	33
一、制备的基本方法.....	33
二、过滤除菌的原理.....	33
三、过滤介质.....	35
第三节 无菌空气的制备过程.....	37
一、制备工艺.....	37
二、注意事项.....	40

第四节 问题分析及处理手段	40
一、影响因素	40
二、主要措施	41
三、常见问题及其处理	41
思考题	42
第四章 灭菌	43
第一节 基本概念	43
第二节 灭菌原理	44
一、灭菌的方法	44
二、湿热灭菌原理	44
第三节 灭菌过程	47
一、发酵罐或种子罐灭菌前的准备工作	47
二、培养基与发酵设备的灭菌	47
三、发酵罐附属设备、空气过滤器及管路等的灭菌	51
第四节 问题分析及处理手段	52
一、影响培养基灭菌的因素	52
二、常见问题及其处理手段	53
思考题	53
第五章 微生物发酵及工艺控制	54
第一节 基本概念	54
第二节 发酵的基本原理	55
一、发酵方法	56
二、发酵动力学	59
第三节 发酵过程及其工艺控制	67
一、厌氧发酵过程	67
二、好氧发酵过程	67
三、发酵过程的影响因素	67
四、发酵过程工艺控制	72
第四节 问题分析及处理手段	78
一、染菌及其防治、处理	78
二、发泡及其控制	84
三、发酵液异常及其处理	86
四、其他	87
第五节 发酵过程参数的检测	87
一、传感器	87
二、发酵过程变量的间接估计	89
第六节 发酵过程的自动控制	91
第七节 发酵过程中的新技术	93
一、生物反应与生物分离的耦合技术	93
二、基因工程技术应用于生物合成药物的研究和生产	94

三、新型生物反应器在发酵过程中的应用	95
思考题	95
第六章 物料与能量衡算	96
第一节 物料衡算	96
一、物料衡算的理论基础	96
二、物料衡算的步骤	97
三、物料衡算	98
第二节 能量衡算	100
一、能量衡算的理论基础	100
二、能量衡算的步骤	101
三、能量衡算	101
思考题	105
第七章 生物反应器	107
第一节 概述	107
第二节 反应器的类型及操作要点	108
一、机械搅拌式反应器	108
二、鼓泡反应器	111
三、气升式反应器	112
四、膜生物反应器	114
五、固定床和流化床反应器	118
第三节 基本计算	121
思考题	123
第八章 发酵下游过程简介	124
第一节 下游加工过程及技术	124
一、发酵液的预处理和固液分离	125
二、初步纯化（提取）	125
三、高度纯化（精制）	127
四、成品加工	128
第二节 下游加工技术的选择及发展趋势	128
一、下游加工过程的特点	128
二、下游加工技术的选择	129
三、下游加工技术的发展趋势	129
思考题	130
第九章 环境保护及三废的防治	131
第一节 发酵工业废气的处理	131
一、工业废气的一般处理方法	131
二、发酵工业废气的安全处理	131
第二节 发酵工业污水的处理	132
一、基本概念	132
二、发酵工业废液的特点	132

三、发酵工业废水的生物处理技术.....	133
第三节 发酵工业废渣的处理.....	137
一、废菌渣的处理.....	137
二、污泥的处理.....	138
思考题.....	141
第十章 青霉素的生产	142
第一节 概述.....	142
一、理化性质.....	143
二、作用及应用范围.....	144
三、化学反应.....	144
第二节 生产原理.....	146
一、青霉素产生菌的培养.....	146
二、青霉素的生物合成.....	147
三、发酵.....	147
四、发酵液的预处理和过滤.....	148
五、青霉素的提取.....	149
六、青霉素的精制及烘干.....	150
七、成品的检验及分包装.....	152
第三节 青霉素生产工艺过程.....	152
一、青霉素的发酵工艺过程.....	152
二、青霉素的提取和精制工艺过程.....	155
第四节 其他工艺技术及技术改造方向.....	159
一、现代生物技术的应用.....	159
二、合成新的半合成青霉素.....	159
三、菌丝悬浮法、固定化细胞及固定化酶法在 6-APA 生产中的应用	159
四、其他分离提取技术的应用.....	160
思考题.....	160
第十一章 红霉素的生产	161
第一节 概述.....	161
一、理化性质.....	161
二、作用及应用范围.....	162
三、化学反应.....	162
第二节 生产原理.....	163
一、红霉素产生菌的培养.....	163
二、红霉素的生物合成.....	164
三、发酵.....	165
四、发酵液的预处理和过滤.....	165
五、红霉素的提取.....	165
六、红霉素的精制.....	166
第三节 红霉素生产工艺过程.....	166

一、红霉素的发酵工艺过程	166
二、红霉素的提取和精制工艺过程	168
第四节 其他工艺技术及技术改造方向	169
一、大孔吸附树脂提取工艺	169
二、离子交换树脂的提取工艺	169
三、开发新产品	169
思考题	170
第十二章 氨基酸的生产	171
第一节 概述	171
第二节 合成原理	172
第三节 谷氨酸生产工艺过程	173
一、谷氨酸的发酵工艺过程	173
二、谷氨酸的提取和精制工艺过程	176
第四节 其他氨基酸生产	178
一、L-天冬氨酸的生产	178
二、赖氨酸的生产	179
三、异亮氨酸及亮氨酸生产	179
思考题	180
第十三章 维生素 C 的生产	181
第一节 概述	181
第二节 合成原理	182
一、莱氏法	183
二、两步发酵法	183
三、其他方法	184
第三节 生产工艺过程	184
一、莱氏法维生素 C 生产工艺过程	184
二、两步发酵法维生素 C 生产工艺过程	188
思考题	193
第十四章 甾体激素的微生物转化工艺	194
第一节 概述	194
第二节 微生物转化反应原理	195
一、羟化反应	196
二、环氧化反应	197
三、脱氢反应	197
四、甾体母核及边链的选择性降解机理	198
第三节 甾体激素的生产工艺过程	199
一、甾体的微生物转化生产流程	199
二、甾体微生物转化方式	199
三、影响转化的一般因素	200
四、产物的分析与分离方法	201

五、氢化可的松的制备.....	201
思考题.....	202
第十五章 微生物酶的生产	203
第一节 概述.....	203
第二节 合成原理.....	204
一、酶的生物合成模式.....	204
二、微生物酶合成的调节与控制.....	205
第三节 酶的生产工艺过程.....	206
一、酶的发酵工艺过程.....	206
二、酶的提取和精制工艺过程.....	209
第四节 其他酶的生产.....	213
一、青霉素酰化酶的生产.....	213
二、 β -半乳糖苷酶（乳糖酶）的生产.....	214
三、天冬酰胺酶的生产.....	214
思考题.....	215
参考文献	216

绪 论

【学习目标】

1. 了解微生物药物、微生物制药的一般过程及工业发酵类型。
2. 认识微生物制药的发展过程、特点、现状及发展方向。

微生物是指那些形体微小, 结构简单的生命体。它是地球上分布最广、物种最为丰富的生物种群, 具有个体小、繁殖快、容易培养、代谢能力强、易变异改造等特点。微生物与人类的生命活动息息相关, 微生物既可以导致人体生病, 又可为人类所利用, 造福人类。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。从古代人类利用微生物进行酿酒、酿醋及治疗疾病开始, 至今人类利用微生物发酵生产各种产品, 甚至应用在环境保护、细菌冶金、细菌勘探和能源开发等领域, 尤其是基因工程菌的大量产生和使用, 微生物技术给人类带来了巨大的经济效益及社会效益。特别是在制药领域微生物技术的应用越来越广泛。

一、微生物药物与微生物制药

1. 微生物药物与微生物制药的含义

微生物药物是包含抗生素、维生素、激素、核酸、多糖等物质在内的通过微生物发酵方式生产制造或从中分离得到的具有抗细菌、抗真菌、抗病毒、抗肿瘤、抗高血脂、抗高血压作用的药物及抗氧化剂、酶抑制剂、免疫调节剂、强心剂、镇定止痛剂等药物的总称。一般为生物活性的初级代谢、次级代谢或转化产物。

微生物制药是利用微生物技术, 通过高度工程化的新型综合性技术, 以利用微生物反应过程为基础, 依赖于微生物机体在反应器内的生长繁殖及代谢过程来合成一定产物, 通过分离纯化进行提取精制, 并最终制剂成型来实现药物产品的生产。

微生物制药工艺与反应器主要阐述利用微生物发酵工程技术来实现药物产品生产的工业过程, 是生物技术产业化的重要环节, 它将微生物学、生物化学和化学工程学等学科的基本原理有机地结合起来, 利用微生物生长和代谢活动来说明、分析、讨论生产各种药物的工程技术问题。

2. 微生物药品种类

微生物制药品种包括抗生素、维生素、氨基酸、核酸、酶及酶抑制剂、生物制品、甾体激素等药物。

(1) 抗生素 现在发现的抗生素有 6000 余种, 其中绝大多数是由微生物产生的, 已形成产品的有百余种。

① 抗细菌抗生素 杆菌肽、头孢菌素、氯霉素、金霉素、环丝氨酸、红霉素、庆大霉

素、卡那霉素、青紫霉素、杜晶白霉素、林可霉素、麦迪霉素、新霉素、新生霉素、竹桃霉素、土霉素、巴龙霉素、青霉素、磷霉素、多黏菌素、核糖霉素、利福霉素、相模湾霉素、紫苏霉素、螺旋霉素、链霉素、四环素、托普霉素、短杆菌肽、万古霉素、紫霉素等。

② 抗真菌抗生素 两性霉素 B、杀假丝菌素、灰黄霉素、制霉菌素等。

③ 抗原虫抗生素 烟古霉素、古曲霉素等。

④ 抗肿瘤抗生素 放线菌素、阿德里亚霉素、博来霉素、丝裂霉素、内瘤霉素等。

⑤ 起免疫抑制作用的抗生素 环孢菌素 A 等。

(2) 氨基酸 现在可经微生物发酵获得的氨基酸有谷氨酸、赖氨酸、丙氨酸、精氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸、肌氨酸、鸟氨酸等。可用酶法获得的氨基酸有天冬氨酸、丙氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、赖氨酸、酪氨酸、半胱氨酸等。

(3) 维生素 目前可用发酵获得的维生素或合成维生素中间产物有维生素 B₂、维生素 B₁₂、2-酮基-古龙酸（维生素 C 前体）、 β -类胡萝卜素（维生素 A 的前体）、麦角甾醇（维生素 D₂ 前体）等。

(4) 甾体激素 可在生产过程中采用微生物发酵转化的甾体激素有可的松、氢化可的松、泼尼松、氢化泼尼松、肤氢松、地塞米松、去炎松等。

(5) 生物制品 生物制品通常是指含抗原制品，包括有减毒或死的病毒和立克次体制造的疫苗，如牛痘和斑疹伤寒疫苗；减毒或死的病原菌制造的菌苗，如卡介苗和伤寒菌苗；类毒素，如白喉类毒素；以及含抗体的制品。现在由基因工程技术制造的生物制品，包括亚单位疫苗（如单纯疱疹病毒疫苗、口蹄疫病毒疫苗、肽疫苗等）、活体重组疫苗（如流感病毒载体疫苗、乙肝病毒载体疫苗等）、避孕疫苗、肿瘤疫苗、DNA 疫苗等。

(6) 治疗用酶及酶抑制剂

① 蛋白酶和核酸酶可用于加速坏死组织、脓汁、分泌物、血肿的去除；胃蛋白酶、脂肪酶、蛋白酶可帮助消化；尿激酶、链激酶可溶化血栓；胰蛋白酶可释放激肽；天冬酰胺酶是抗肿瘤药物；超氧化物歧化酶可治疗因 O₂ 的毒性引起的炎症等。

② 酶抑制剂，如棒酸可抑制细菌产生的 β -内酰胺酶对青霉素的破坏；淀粉酶的抑制剂可治疗糖尿病；胆固醇抑制剂作为治疗高血压、高血脂的药物；抑肽酶素用于治疗胃溃疡；抑氨肽酶素作为免疫活性物质用在肿瘤放疗中；多巴丁有降血压作用等。

(7) 其他

① 核苷酸类药物 如肌苷、辅酶 A 可治疗心脏病、白血病、血小板下降、肝病等；5-腺苷酸用于治疗循环系统紊乱、风湿病；三磷酸腺苷可治疗代谢紊乱、肌肉萎缩、心脏病、肝病；黄素腺嘌呤二核苷酸可治疗维生素 B 缺乏症、肝病、肾病；辅酶 I 可治疗糙皮症、肝病、肾病；胞苷二磷酸胆碱可治疗头部外伤或大脑外伤引起的意识模糊。

② 其他发酵药物 如麦角新碱、麦角胺等。

③ 生物农药 如苏云金杆菌制备细菌杀虫剂、重组杆状病毒制备病毒杀虫剂、虫霉菌制备的真菌杀虫剂等。

④ 基因工程药物 如白细胞介素、红细胞生成素、淋巴细胞毒素、干扰素等。

二、微生物制药业的发展过程

1. 传统微生物制药技术的产生

1676 年荷兰人 Leeuwen Hoek 制成了能放大 170~300 倍的显微镜并首先观察到了微生物,至此人们可以借助光学仪器来观察、认识微生物,并进行研究以利用微生物。19 世纪 60 年代法国科学家 Pasteur 首先证实发酵是由微生物引起,并首先建立了微生物纯培养技术,从而为发酵技术的发展提供了理论基础,将发酵技术纳入了科学的轨道。19 世纪末至 20 世纪 40 年代,以微生物发酵生产的产品逐渐发展起来,有很多药品或医药有关产品,如乳酸、柠檬酸、甘油、葡萄糖酸、核黄素等的相继生产,诞生了第一代微生物制药技术。但这些产物均属于初级代谢产物,代谢形成过程比较简单,产物化学结构和原料也简单,代谢类型大多属分解代谢兼发酵过程,这些发酵条件调控简单,大多表面培养,设备要求不高,规模不大。

20 世纪 40 年代以后以抗生素为代表,这是一类由次级代谢产物产生的生物合成药物,形成途径复杂、发酵周期长,产物结构较原料复杂和不稳定,绝大多数属于好氧性发酵,通气量要求大,氧供应要求高;次级代谢途径许多是由质粒所调控,原始菌合成单位很低,但临床药用量很大,这一矛盾促进了对微生物制药技术的进一步研究开发,使微生物制药技术步入新的阶段,如菌种筛选、培养、诱变及驯育、深层多级发酵、提炼等。

这段时期始于 1928 年英国 Fleming 发现了抗菌物质,1940 年英国牛津大学病理学教授 Florey 和生化专家 Chain 等提取并证明了青霉素的疗效。起初是沿用初级代谢产物的发酵条件,采用表面培养法生产青霉素,虽然设备要求不高,规模不大,但高成本、强劳动力、高价格。这是由于次级代谢产物形成途径复杂、周期长、产物结构复杂并且不稳定。随后研发了搅拌发酵沉没法,提高了供氧和通气量,同时在菌株选育、培养和深层发酵、提取技术和设备的研究方面取得了突破性进展,给抗生素生产带来了革命性的变化,开始了微生物工业时代。以后链霉素、金霉素、红霉素等抗生素出现,抗生素工业迅速发展,成为制药业的独立门类,抗生素生产经验很快应用于其他药品的发酵生产,如氨基酸、维生素、甾体激素等,黑根霉一步生物转化孕酮为羟基孕酮,实现了甾体类激素的工业化生产,醋酸杆菌转化山梨醇,使得维生素 C 能人工全合成。

2. 现代微生物制药技术的产生

现代生物制药技术是以 20 世纪 70 年代重组 DNA 技术的建立,标志着生物核心技术——基因工程技术开始,它向人们提供了一种全新的技术手段,使人们可以按照意愿在试管内切割 DNA,分离基因并重组后导入其他生物或微生物细胞,借以产生大量有用的蛋白质或作为药物或作为疫苗。基因工程菌在工业上的应用;开辟了微生物发酵新天地。另外,原生质体和原生质体融合技术、突变生物合成技术、利用微生物选择性催化合成重要手性药物技术等也为生物制药技术增添了新的活力。

3. 中国微生物制药业的发展过程

中国微生物制药业的发展,已有近 50 年的历史。自 1953 年青霉素在上海第三制药厂正式投产,1958 年中国最大的抗生素生产厂华北制药厂建成,随后全国各地陆续建成一批抗生素厂,使中国抗生素工业开始蓬勃发展,主要品种都能生产,产量已满足国内的需要,并部分出口。1957~1964 年谷氨酸发酵研制成功并投入生产,产量很大,基本已能满足国内需要。1960 年开始核酸类物质的发酵生产,肌苷等已可以批量生产。20 世纪 70 年代中国研究成功“二步法”生产维生素 C,在国际上处于领先地位。目前,甾体激素类药物也通过微生物转化法步入生产,各种疫苗(重组乙肝疫苗、痢疾疫苗等)、基因工程药物[如干扰素(IFN)、重组人生长激素(rhGH)、促红细胞生成素(EPO)、白细胞介素-2(rhIL-2)等]

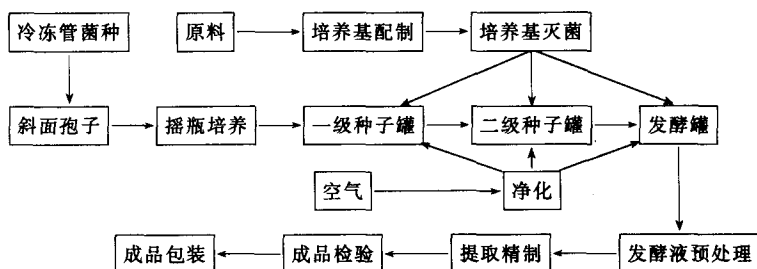
也已步入生产。

三、微生物制药工业

微生物制药业是利用微生物机能将物料加工成所需产品的工业化过程，即工业微生物发酵过程。无论是从微生物体内还是从其代谢产物中获得产品，亦或是用遗传工程菌获得产品，都必须依赖于发酵工程技术，因此发酵工程技术是微生物制药的基础。

1. 微生物制药的一般过程

微生物制药工艺过程一般包括菌体生产及代谢产物或转化产物的发酵生产。其主要内容包括生产菌种的选育培养及扩大，培养基的制备，设备与培养基的灭菌，无菌空气的制备，发酵工艺控制，产物的分离、提取与精制，成品的检验与包装等。较常用的深层发酵生产过程如下：



2. 微生物制药的工业发酵类型

(1) 微生物菌体发酵 这是以获得具有某种用途的菌体为目的的发酵，菌体发酵可用来生产一些药用真菌，如香菇类、冬虫夏草菌及与天麻共生的密环菌、茯苓菌、担子菌等，可通过发酵培养的手段来产生与天然产品具有等同疗效的药用产物。有的微生物菌体还可用作生物防治剂，如苏云金杆菌、蜡状芽孢杆菌和侧孢芽孢杆菌，其细胞中的伴孢晶体可杀死鳞翅目、双翅目害虫；丝状真菌的白僵菌、绿僵菌可防治松毛虫。这类发酵细胞的生长与产物的积累呈平行关系，生长速率最大的时期也是产物合成最高的阶段，生长稳定期细胞物质浓度最大，同时也是产量最高的收获时期。

(2) 微生物酶发酵 通过微生物发酵手段来实现酶的生产，用于医药生产和医疗检测中。如青霉素酰化酶用来生产半合成青霉素所用的中间体 6-APA；胆固醇氧化酶用于检查血清中胆固醇的含量；葡萄糖氧化酶用于检查血液中葡萄糖的含量等。酶生产菌大多是细菌、酵母菌和霉菌等，酶的生产受到严格调节控制，为了提高酶的生产能力，就必须解除酶合成的控制机制，如培养基中加入诱导剂来诱导酶的产生，或者诱变和筛选产生菌的突变株，来解除菌体对酶合成的反馈阻遏等方法，以提高酶产量。

(3) 微生物代谢产物发酵 利用微生物发酵，可以获得不同的代谢产物。在菌体对数生长期所产生的产物，是菌体生长繁殖所必需的，这些产物称为初级代谢产物，如氨基酸、核苷酸、蛋白质、核酸、糖类等。在菌体生长静止期，某些菌体能合成一些具有特定功能的产物，如抗生素、细菌毒素等，这些产物与菌体的生长繁殖无明显关系，称为次级代谢产物，这类产物是菌体在生长稳定期合成的具有特定功能的产物，也受许多调节机制的控制。由于抗生素不仅具有广泛的抗菌作用，而且还有抗毒素、抗癌、镇咳等其他生理活性，得到了大力发展，已成为发酵工业的主导产品。

(4) 微生物转化发酵 微生物转化发酵是利用微生物细胞的一种或多种酶把一种化合物

转变成结构相关的更有经济价值的产物。可进行的转化反应包括：脱氢反应，氧化反应，脱水反应，缩水反应，脱羟反应，氨化反应，脱氨反应和异构化反应。最突出的微生物转化是甾类转化，甾类激素包括醋酸可的松等皮质激素和黄体酮等性激素。过去制造甾类激素是采用单纯化学法，工序复杂，收率很低，利用微生物转化后，合成步骤大为减少。如从胆酸化学合成可的松需 37 步，用微生物转化减少到 11 步；又如从胆固醇化学合成雌酚酮需经 6 步反应，用微生物法可减少至 3 步。因此，微生物转化法在许多复杂反应的应用上有更大优势，今后利用微生物转化法来实现复杂药物的合成会越来越多。

(5) 生物工程细胞的发酵 这是利用生物工程技术所获得的细胞，如 DNA 重组的“工程菌”以及细胞融合所得的“杂交”细胞等进行培养的新型发酵，其产物多种多样。用工程菌生产的有胰岛素、干扰素、青霉素酰化酶等，用杂交瘤细胞生产的有用于治疗 and 诊断的各种单克隆抗体。

3. 生物反应器

生物反应器是微生物实现目标生物化学反应过程的关键场所。生物反应器性能的好坏将影响产品的质量及产量，生物反应器的性能常常受到传热、传质能力限制。因此，改进生物反应器的传递性能，同时力争反应器向大型化及自动化方向发展是今后发展的主要方向。比较常见的生物反应器有机械搅拌式反应器、气升式反应器、鼓泡式反应器、固定床反应器、流化床反应器、膜生物反应器等。

4. 微生物制药的特点

① 以活的生命体（微生物）作为目标反应的实现者，反应过程中既涉及特异的化学反应的实现又涉及生命个体的代谢存活及生长发育，生物反应机理非常复杂，较难控制，反应液中杂质也多，不容易提取、分离。因此，微生物制药是一个极其复杂的生产过程，但目标反应过程是以生命体的自动调节方式进行，数十个反应过程能够在发酵设备中一次完成。

② 反应通常在常温常压下进行，条件温和，能耗小，设备较简单。

③ 原材料来源丰富，价格低廉，过程中废物的危害性较小，但原料成分往往难以控制，给产品质量带来一定影响。生产原料通常以糖蜜、淀粉及碳水化合物为主，可以是农副产品、工业废水或可再生资源，微生物本身能选择地摄取所需物质。

④ 由于活的生命体参加反应，受微生物代谢特征的限制（不能耐高渗透压，高浓度底物或产物易导致酶活下降），反应液中底物浓度不应过高，产物浓度不应过高，导致生产能力下降，设备体积庞大。

⑤ 微生物参与制药反应，能够高度选择地进行复杂化合物在特定部位进行氧化、还原、脱氢、脱氨及官能团引入或去除等反应，易产生复杂的高分子化合物。

⑥ 微生物发酵过程是微生物菌体非正常的、不经济代谢过程，生产过程中应为其代谢活动提供良好的环境。因此，需防止杂菌污染，要进行严格冲洗、灭菌，空气需要过滤等。另外，微生物药物生产周期长，生产稳定性差，技术复杂，不确定因素多，废物排放及治理要求高，难度大，因此应在实践中不断摸索创新。

⑦ 药品的质量标准不同，生产环境亦不同，对要求无菌的药品，其最后一道工序必须在洁净车间内完成，所有接触该药物的设备、容器必须灭菌，而操作者亦需进行检验及工作前的无菌处理等。

⑧ 现代微生物制药的最大特点是高技术含量、智力密集、全封闭自动化、全过程质量控制、大规模反应器生产和新型分离技术综合利用等。

四、微生物制药业的现状及发展方向

目前,全世界的医药产品生产已有一半是由生物合成的,抗生素、维生素、激素绝大部分都是由微生物发酵而产生的。微生物制药产品在医药产品中占有特别重要的地位,其产值占医药工业总产值的20%以上,通过微生物发酵生产的抗生素品种就达200多个。由于微生物发酵工业具有投资少、见效快、污染小、外源目的基因易在微生物菌体中高效表达的特点,日益成为全球经济的重要组成部分。近年来,微生物药物的产量不断增加,品种也在不断扩大,人干扰素、胰岛素、生长激素、乙肝疫苗等大批新型药物已经由基因工程菌发酵生产,随着代谢工程、基因工程和蛋白质工程技术的研究进展以及抗生素、蛋白质及其他生物活性物质发酵工业的应用,必将会减少微生物制药业的能量消耗、工艺步骤,提高产率,缩短发酵周期,并且实现积累特异性的活性产物,从而,使微生物制药工业的水平进一步提高,成本也进一步下降,前景也更加光明。

在生产领域,对微生物制药工艺的研究,仍以抗生素生产较为活跃,在使用和推广新技术、新设备、新材料、新工艺方面将不断取得可喜成绩。在发酵工艺的控制方面,随着对代谢产物的生物合成和调节机制的了解以及在发酵过程中应用传感器和电子计算机来自动测定和控制发酵参数,则产生菌的生产潜力会得以充分地表达,生产水平也会得到明显提高。在提炼方面,使用先进设备、先进材料、先进技术简化了提取工艺,提高了产品质量与收率(如采用各种新型滤膜)。固定化活细胞发酵技术也将为发酵工业带来重大变化,新型生物反应器的开发及实际生产的应用,可促进发酵工业更高水平的发展。特别在育种方面,诱变技术、原生质体融合、基因工程等技术的应用,将使菌种的工业化应用更为普及。随着基因工程、生化工程等科学技术的发展,微生物制药也必将会得到飞跃的发展。

21世纪将是生物技术发展突飞猛进的新时代,微生物制药工业必将会进一步利用现代生物技术,重点利用重组DNA技术及原生质体融合技术构建新菌种或改造抗生素、维生素、氨基酸等产品的生产菌种,提高发酵水平,降低消耗,缩短工艺,提高产值。另外,通过现代生化工程技术手段,利用基因工程改良的微生物菌种的特定功能生产出人类所需的其它医药产品。应用工程菌进行工业化生产将是中国医药生物技术产业的主流。随着环保意识的进一步加强,应用现代生物技术发酵法代替从植物中提取天然药物,保护人类的生存环境,避免大量砍伐森林,也是今后微生物制药的一个发展方向。如植物药紫杉醇可由植物内生真菌或寄生菌发酵生产。

思 考 题

1. 微生物制药的一般过程是什么?微生物制药的工业发酵类型有哪些?
2. 微生物制药有何特点?发展方向如何?