

国家级 骨干高职院校建设 规划教材

发酵生产技术

■ 于文国 主编
■ 穆军明 主审

FAJIAO SHENGCHAN
JISHU



化学工业出版社

国家级 骨干高职院校建设 规划教材

发酵生产技术

■ 于文国 主编
■ 穆军明 主审

FAJIAO SHENGCHAN
JISHU



化学工业出版社

· 北 京 ·

本书主要介绍了发酵生产的主要工作任务、基本原理、生产工艺及操作过程、主要设备结构及作用、生产影响因素及工艺控制手段、生产过程问题分析及解决方法、物料与能量衡算等；介绍了典型微生物发酵产品的理化性质、生产原理、生产工艺过程及操作控制要点、技术发展等；简要介绍了发酵下游加工过程所涉及的基本技术及工业“三废”治理技术等。

教材内容适用于生物技术类专业及制药技术类专业教学及专业技术人员培训，也可作为发酵生产技术人员提供参考资料。

图书在版编目 (CIP) 数据

发酵生产技术/于文国主编. 北京: 化学工业出版社, 2013.7

国家级骨干高职院校建设规划教材

ISBN 978-7-122-17644-8

I. ①发… II. ①于… III. ①发酵-生产工艺-教材
IV. ①TQ920.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 129475 号

责任编辑: 于 卉
责任校对: 王素芹

文字编辑: 李 瑾
装帧设计: 尹琳琳

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 装: 北京云浩印刷有限责任公司

787mm×1092mm 1/16 印张 13 $\frac{3}{4}$ 字数 357 千字 2013 年 9 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 32.00 元

版权所有 违者必究

配合国家骨干高职院校建设，推进教育教学改革，重构教学内容，改进教学方法，在多年课程改革的基础上，河北化工医药职业技术学院组织教师和行业技术人员共同编写了与之配套的校本教材，经过3年的试用与修改，在化学工业出版社的支持下，终于正式编印出版发行，在此，对参与本套教材的编审人员、化学工业出版社及提供帮助的企业表示衷心感谢。

教材是学生学习的一扇窗口，也是教师教学的工具之一。好的教材能够提纲挈领，举一反三，授人以渔，而差的教材则洋洋洒洒，照搬照抄，不知所云。囿于现阶段教材仍然是教师教学和学生学习不可或缺的载体，教材的优劣对教与学的质量都具有重要影响。

基于上述认识，本套教材尝试打破学科体系，在内容取舍上摒弃求全、求系统的传统，在结构序化上，从分析典型工作任务入手，由易到难创设学习情境，寓知识、能力、情感培养于学生的学习过程中，并注重学生职业能力的生成而非知识的堆砌，力求为教学组织与实施提供一种可以借鉴的模式。

本套教材涉及生化制药技术、精细化学品生产技术、化工设备与机械和工业分析与检验4个专业群共24门课程。其中22门专业核心课程配套教材基于工作过程系统化或CDIO教学模式编写，2门专业基础课程亦从编排模式上做了较大改进，以实验现象或问题引入，力图抓住学生学习兴趣。

教材编写对编者是一种考验。限于专业的类型、课程的性质、教学条件以及编者的经验与能力，本套教材不妥之处在所难免，欢迎各位专家、同仁提出宝贵意见。

河北化工医药职业技术学院 院长 柴锡庆
2013年4月

前言

F O R E W O R D

21 世纪是生物技术迅猛发展的时代,以基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程和蛋白质工程为代表的现代生物技术的诞生和发展,给有关产品的生产带来了极大的活力。随着生物技术的迅速发展,生物技术的工业化应用也越来越广泛,特别是生物技术与工程技术的结合推进了生物技术工业化的进程,生物技术产业正呈现良好的发展态势。但就目前而言,生物技术产业应用最为广泛、最为成熟的技术还是发酵技术,而生物技术产品中发酵技术产品也是规模最大、产量最大的产品。

为了更好地推进生物技术产业的发展,必须提高生产一线人员的工作能力与职业素质。高等职业技术学院肩负着培养面向生产、建设、服务和管理第一线需要的技术技能型人才的使命。只有培养熟悉生产工作,掌握生产技术,并能应用理论准确分析问题,及时采取手段或方法解决问题,优化生产工艺过程的专业人才,才能促进产业发展,适应社会经济发展的需要。本教材的编写旨在适应高职院校生物技术类专业培养从事发酵生产工作的专业人才的需要。

《发酵生产技术》从原料药品生产工作的实际需要出发,以发酵生产单元过程为对象,以工作任务为载体,以工作过程为导向,以完成岗位工作任务所需的知识、技能与素质为要素,设计适当理论知识,突出实践性知识,在加强介绍共性生产技术的同时,也注重典型产品生产工艺的介绍,旨在使学生学习后能做、会做、做好,并具备一定的创新能力。

为了更好地反映生产技术现状,编者深入多家代表性的大中型原料药生产企业进行调研,并请多名企业技术人员给予指导和帮助。在企业通过与技术人员及生产操作人员进行深入的交流与研讨,掌握了大量的生产一线技术资料,为编写教材内容积累了丰富的素材,使得教材内容更加实用,生产实践知识得以加强。希望这本教材有助于培养学生从事生产一线工作的能力。

全书共十三章,于文国编写了绪论、第七章、第八章、第十章及第十二章;陶秀娥编写了第二章、第四章、第六章及第九章;张铎编写了第一章、第三章、第五章及第十一章;全书由于文国统稿,由华北制药集团河北华民药业有限公司穆军明主审。

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

编者

2013 年 6 月

目录

C O N T E N T S

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 /3
- 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 培养基的制备 /7

第一节 主要工作任务 /7

第二节 培养基的制备过程 /8

- 一、基本概念 /8
- 二、培养基成分 /9
- 三、培养基的类型 /13
- 四、培养基的选择 /14
- 五、工业发酵培养基的制备工艺及生产操作过程 /15

第三节 问题分析及处理手段 /23

- 一、培养基制备过程中的影响因素 /23
- 二、常见问题及其处理手段 /25

思考题 /26

第二章 无菌空气的制备 /27

第一节 主要工作任务 /27

第二节 基本原理 /28

- 一、基本概念 /28
- 二、制备的基本方法 /28
- 三、过滤除菌的原理 /29
- 四、过滤介质 /31

第三节 无菌空气的制备过程 /33

- 一、制备工艺 /33
- 二、主要设备 /36
- 三、无菌空气生产操作过程 /42
- 四、注意事项 /42

第四节 问题分析及处理手段 /44

- 一、影响因素 /44

二、主要措施 /45

三、常见问题及其处理 /45

思考题 /46

第三章 灭菌 /47

第一节 主要工作任务 /47

第二节 灭菌原理 /48

一、基本概念 /48

二、灭菌方法 /49

三、湿热灭菌原理 /49

第三节 灭菌过程 /52

一、主要生产设备 /52

二、灭菌操作 /58

第四节 问题分析及处理手段 /66

一、影响培养基灭菌的因素 /66

二、常见问题及其处理手段 /67

思考题 /68

第四章 种子的制备 /69

第一节 主要工作任务 /69

第二节 种子制备过程 /70

一、基本概念 /70

二、种子制备工艺及生产操作过程 /71

三、注意事项 /76

第三节 问题分析及处理手段 /77

一、种子培养过程中影响因素 /77

二、常见问题及其处理手段 /79

思考题 /80

第五章 微生物发酵及工艺控制 /81

第一节 主要工作任务 /81

第二节 发酵基本原理 /82

一、基本概念 /82

二、发酵方法 /83

三、发酵动力学 /86

第三节 发酵过程及其工艺控制 /93

一、厌氧发酵过程 /94

二、好氧发酵过程 /94

三、发酵过程的影响因素 /94

四、发酵过程工艺控制 /99

五、发酵生产操作过程 /104

第四节 问题分析及处理手段 /105

一、染菌及其防治处理 /105

- 二、发泡及其控制 /112
- 三、发酵液异常及其处理 /114
- 四、其他 /115
- 第五节 发酵过程参数的检测 /115
 - 一、传感器 /116
 - 二、发酵过程变量的间接估计 /117
- 第六节 发酵过程的自动控制 /119
- 第七节 发酵过程中的新技术 /122
 - 一、生物反应与生物分离的偶合技术 /122
 - 二、基因工程技术应用于生物合成药物的研究和生产 /123
 - 三、新型生物反应器在发酵过程中的应用 /123
- 思考题 /123

第六章 物料与能量衡算 /125

- 第一节 物料衡算 /125
 - 一、物料衡算的理论基础 /125
 - 二、物料衡算的步骤 /126
 - 三、物料衡算 /127
- 第二节 能量衡算 /129
 - 一、能量衡算的理论基础 /129
 - 二、能量衡算的步骤 /129
 - 三、能量衡算 /130
- 第三节 工艺计算举例 /134
- 思考题 /136

第七章 发酵下游过程简介 /137

- 第一节 下游加工过程及技术 /137
 - 一、发酵液的预处理和固液分离 /138
 - 二、初步纯化(提取) /138
 - 三、高度纯化(精制) /141
 - 四、成品加工 /141
- 第二节 下游加工技术的选择及发展趋势 /142
 - 一、下游加工过程的特点 /142
 - 二、下游加工技术的选择 /142
 - 三、下游加工技术的发展趋势 /143
- 思考题 /143

第八章 环境保护及“三废”的防治 /144

- 第一节 发酵工业废气的处理 /144
 - 一、工业废气的一般处理方法 /144
 - 二、发酵工业废气的安全处理 /144
- 第二节 发酵工业污水的处理 /145
 - 一、基本概念 /145

- 二、发酵工业废液的特点 /145
- 三、发酵工业废水的生物处理技术 /146
- 第三节 发酵工业废渣的处理 /150
 - 一、废菌渣的处理 /150
 - 二、污泥的处理 /151
- 思考题 /153

第九章 青霉素的生产 /155

- 第一节 概述 /155
 - 一、理化性质 /156
 - 二、作用及应用范围 /157
 - 三、化学反应 /157
- 第二节 生产原理 /159
 - 一、青霉素产生菌的培养 /159
 - 二、青霉素的生物合成 /159
 - 三、发酵 /160
 - 四、发酵液的预处理和过滤 /161
 - 五、青霉素的提取 /162
 - 六、青霉素的精制及烘干 /163
 - 七、成品的检验及分包装 /165
- 第三节 青霉素生产工艺过程 /165
 - 一、青霉素的发酵工艺过程 /165
 - 二、青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 /172
 - 一、现代生物技术的应用 /172
 - 二、合成新的半合成青霉素 /172
 - 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 /172
 - 四、其他分离提取技术的应用 /173
- 思考题 /173

第十章 红霉素的生产 /174

- 第一节 概述 /174
 - 一、理化性质 /174
 - 二、作用及应用范围 /175
 - 三、化学反应 /175
- 第二节 生产原理 /176
 - 一、红霉素产生菌的培养 /176
 - 二、红霉素的生物合成 /177
 - 三、发酵 /178
 - 四、发酵液的预处理和过滤 /178
 - 五、红霉素的提取 /178
 - 六、红霉素的精制 /178
- 第三节 红霉素生产工艺过程 /179

- 一、红霉素的发酵工艺过程 /179
- 二、红霉素的提取和精制工艺过程 /181
- 第四节 其他工艺技术及技术改造方向 /182
 - 一、大孔吸附树脂提取工艺 /182
 - 二、离子交换树脂的提取工艺 /182
 - 三、开发新产品 /182
- 思考题 /183

第~~十~~一章 氨基酸的生产 /184

- 第一节 概述 /184
- 第二节 合成原理 /185
- 第三节 谷氨酸生产工艺过程 /185
 - 一、谷氨酸的发酵工艺过程 /186
 - 二、谷氨酸的提取和精制工艺过程 /189
- 第四节 其他氨基酸生产 /193
 - 一、L-天冬氨酸的生产 /193
 - 二、赖氨酸的生产 /193
 - 三、异亮氨酸及亮氨酸生产 /194
- 思考题 /195

第~~十~~二章 维生素 C 的生产 /196

- 第一节 概述 /196
- 第二节 合成原理 /197
 - 一、莱氏法 /197
 - 二、两步发酵法 /198
 - 三、其他方法 /198
- 第三节 生产工艺过程 /199
 - 一、莱氏法维生素 C 生产工艺过程 /199
 - 二、两步发酵法维生素 C 生产工艺 /202
- 思考题 /207

参考文献 /208

绪论

学习目标

- ① 了解微生物药物、微生物制药、微生物发酵的含义。
- ② 掌握微生物发酵的一般过程及工业发酵类型。
- ③ 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,包括细菌、病毒、真菌以及一些小型的原生动物等在内的一大类生物群体。它们是地球上分布最广、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,到今天人类利用微生物发酵生产各种产品,并应用在环境保护、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,微生物发酵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发酵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等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。

发酵一词最初来源于拉丁文的“fervere”,主要描述果汁或麦芽汁经酵母作用后的沸腾现象。这种现象是酵母在厌氧条件下利用糖类物质,经胞内代谢产生 CO_2 所引起的。后来生物化学家将这种无氧条件下微生物利用能源物质进行的一系列生物化学反应,以取得能量来维持生命活动的过程称为发酵。发酵过程不仅使微生物体获得维持生命活动所需的能量,同时也积累了一系列产物,这些代谢产物具有很大的工业、生活的用途。因此,利用微生物发酵积累代谢产物也就被逐渐推向工业化。随着发酵工业化进程的推进,人们对发酵认识也有了新的内涵,不仅仅局限在无氧条件下的代谢过程,而将其含义更广义化。生产上笼统地把一切依靠微生物的生命活动而实现的工业生产均称为“发酵”。这样定义的发酵就是“工业发酵”。工业发酵要依靠微生物的生命活动,生命活动依靠生物氧化提供的代谢能来支撑,因此工业发酵应该覆盖微生物生理学中生物氧化的所有方式:有氧呼吸、无氧呼吸和发酵。

微生物制药主要是利用微生物发酵技术,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的产物,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。

发酵生产技术课程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,是描述生物技术产业化的重要组成部分,它将微生物学、生物化学、化学工程学等学科的基

本原理及生产实践知识有机地结合起来,利用微生物生长和代谢活动来说明、分析、讨论生产药物的工程技术问题。

2. 微生物药品种类

微生物药品包括: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、利维霉素、吉他霉素、林克霉素、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、西索米星、螺旋霉素、链霉素、四环素、妥布霉素、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、脯氨酸、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-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、泼尼松龙、肤氢松、地塞米松等。

(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,如牛痘和麻疹伤寒疫苗;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,并研究利用微生物。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,但临床用药量很大,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,英国人 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,但成本高、劳动力强、价格高。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等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,抗生素的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 能人工合成。

2. 代谢控制发酵工程技术时期

随着微生物遗传学、生物化学和分子生物学的发展,促进了 20 世纪 60 年代氨基酸、核苷酸微生物工业的建立,这是遗传水平上控制微生物代谢的结果。氨基酸发酵工业采用了人工诱变育种,是通过控制代谢途径来实现产品发酵的新技术,即首先将微生物进行人工诱变,得到具有所需代谢途径适合生产某种产物的突变株,然后通过人工控制培养,选择性地大量生产人们所需要的物质。此项工程技术称为代谢控制发酵工程技术,已用于核苷酸类物质、有机酸和一部分抗生素的发酵生产。因此,代谢控制发酵工程技术的创立使微生物工程发酵制药技术实现了新的突破和飞跃。

3. 现代微生物制药技术的产生

20 世纪 70 年代重组 DNA 技术的建立,标志着生物核心技术——基因工程技术的开始,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。

在工业上,以数学、动力学、化工原理等为基础,通过计算机实现发酵过程自动化控制的研究,使发酵过程的工艺控制更为合理,相应的新工艺、新设备也层出不穷,发酵工业的

连续化、大型化以及计算机控制技术使微生物发酵制药技术又步入了一个崭新的时期。

4. 我国微生物制药业的发展过程

我国微生物制药业的发展已有近 60 年的历史。1953 年青霉素在上海第三制药厂正式投产, 1958 年我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生产厂, 使我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, 现在国产量很大, 基本已能满足国内需要。1960 年开始核酸类物质的发酵生产, 呈味核苷酸、肌苷等已批量生产, 70 年代我国研究成功“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、痢疾菌苗等)、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(rhuIL-2)等]已步入生产, 计算机控制大型化微生物发酵生产也已成为现实。

三、微生物制药工业

微生物制药工业是利用微生物的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, 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见图 0-1 所示。

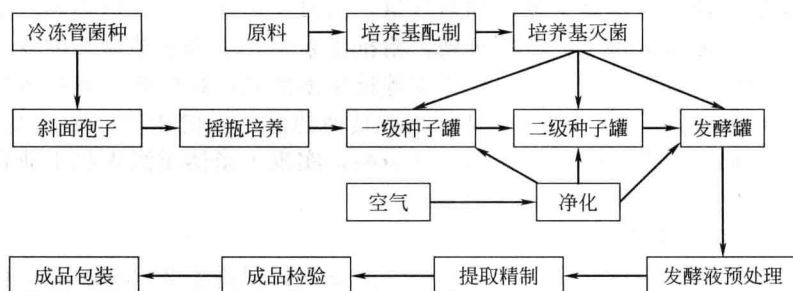


图 0-1 较常用的深层发酵生产过程

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、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, 如采用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变

株等方法,以解除菌体对酶合成的反馈阻遏,进而提高酶产量。

(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,这些产物叫初级代谢产物,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,叫次级代谢产物,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,其受到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,从而得到了大力发展,现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,脱羧反应,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。用基因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、传质能力的限制。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,能够高度选择性地进行复杂化合物在特定部位的氧化、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、不经济的代谢过程,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,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,因此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,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,可促进发酵工业向更高水平发展。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世纪将是生物技术突飞猛进发展的新时代,特别是基因组学、转录组学、蛋白质组学、表观遗传组学、代谢组学及结构基因组学等前沿生物技术的发展使人类对生命世界的认识水平发生质的飞跃,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,可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他医药产品。应用工程菌进行工业化生产将是我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。其中应重点研究相关产品生物合成途径构建与优化、原料综合利用与生物炼制、工业生物催化与转化、生物-化学组合合成等关键技术,突破产品生物制造的产业化瓶颈,形成创新生物制造路线。



思考题

1. 名词解释:微生物药物、微生物发酵、微生物制药。
2. 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?
3. 微生物制药有何特点?发展方向如何?

学习目标

- ① 了解培养基制备过程的主要工作任务。
- ② 了解培养基制备所涉及的基本概念、培养基的主要组成成分及培养基的类型。
- ③ 理解培养基制备过程中影响质量的各种因素。
- ④ 掌握培养基各成分的主要作用，培养基设计、选择基本原则以及不同类型培养基的特点及应用范围。
- ⑤ 掌握双酶法制糖的基本工艺及工业培养基配制生产操作过程。
- ⑥ 会选择培养基组成成分、配制合格的生产培养基，并处理配制过程中的相关问题。

利用微生物发酵生产药用物质，必须供给微生物一定量的营养物质，以满足微生物在不同的培养阶段（生长繁殖阶段、代谢和合成产物阶段）获得能量、合成细胞物质、积累代谢产物的需要。制备培养微生物所需营养物质的过程称之为制备培养基。

第一节 主要工作任务

培养基的制备过程可长、可短，可根据工厂的实际情况选择不同的生产操作单元。复杂的生产过程包括：固体物料加工处理、制备液体物料、配料和灭菌等。固体物料加工处理主要是对固体物料进行粉碎、筛分等，以获得一定粒度的固体物料；制备液体物料主要是对淀粉、纤维素等多糖类物质进行加工处理以获得水解糖溶液或对糖蜜等含糖原料进行处理获得可用于发酵的糖溶液；配料主要是按照培养基配方将固体、液体等物料混合均匀，制备成一定浓度和组分含量的混合物；灭菌主要是对混合物进行高温处理，以杀死物料中一切生命物质获得微生物培养所需的无菌培养物。培养基配制所需的固体物料、液体物料绝大多数生产企业是从相关企业购买，企业本身制备培养基主要完成的是配料和灭菌。制备固体物料的相对比较简单，本章主要介绍液体物料的制备和配料操作，灭菌操作在后续章节进行介绍。

液体物料的制备过程由于所用的原料不同而有所区别。以淀粉为原料的生产操作单元主要包括配料罐、过滤器、离心泵、蒸汽喷射器、层流罐、贮槽、糖化罐、过滤机、缓冲器等设备，以及连接设备的管路及其上的各种管件（如法兰等）、阀门、仪表（温度表、流量计、压力表等）。以纤维素（木材）为原料的生产操作单元主要包括固体物料输送机、水解器、酸贮槽、往复泵、高压蒸发器、低压蒸发器、中和器、过滤器等设备，以及连接设备的管路及其上的各种管件（如法兰等）、阀门、仪表（温度表、流量计、压力表等）；以糖蜜为原料的生产操作单元主要包括稀释器、澄清器、过滤器、离心泵、贮槽等设备，以及连接设备的