

生物技术与基因工程 图解小百科

[德]罗尔夫 D.施密德 著
鲁思·哈梅勒尔 图

李慎涛 等 译

科学出版社

北京

图字:01-2003-5877 号

内 容 简 介

生物技术是 21 世纪的一项核心技术,也是一门应用学科。本书对生物技术与基因工程所涉及的众多学科领域进行了简明扼要的阐述。内容包括:食品生物技术;现代生物工艺技术,包括乙醇、有机酸、氨基酸、抗生素、化学品、酶、面包酵母和饲料酵母等的生产;环境生物技术;医学生物技术;农业生物技术;微生物学、生物工程、分子遗传学的基础知识;最新趋势和安全问题;伦理学和经济学问题;这一技术的一些前沿领域(如 DNA 芯片、蛋白质组学、代谢工程和系统生物学)和公众的担忧、专利申请以及国际情况。

本书是为那些要对现代生物技术各个领域有一个初步了解的生物学、生物化学和生物工艺工程的教学科研人员而写的,也可作为进一步研究的入门书。

Originally published in the English language by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Boschstra Be 12, D-69469 Weinheim, Federal Republic of Germany, under the title "Schmid; Pocket Guide to Biotechnology and Genetic Engineering".

Copyright 2003 by WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

图书在版编目(CIP)数据

生物技术与基因工程图解小百科/(德)施密德(Schmid, R. D.)
著;李慎涛等译. —北京:科学出版社,2005

ISBN 7-03-013763-9

I. 生… II. ①施…②李… III. ①生物技术②基因-遗传工程
IV. ①Q81 ②Q78

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 077346 号

责任编辑:莫结胜 王玉水/责任校对:钟 洋
责任印制:钱玉芬/封面设计:王 浩

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

印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005 年 2 月第 一 版 开本:A5(890×1240)

2005 年 2 月第一次印刷 印张:11 1/2

印数:1—4 000 字数:349 000

定价:40.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

作者简介



罗尔夫 D. 施密德于 1942 年出生于奥地利的萨尔茨堡，在德国的慕尼黑和弗莱堡学习化学和生物化学，在 Gif-sur-Yvette (法国) 和得克萨斯的奥斯汀 (美国) 接受博士后训练。1972 年，他加入 Henkel 公司 (德国一家洗涤剂、化妆品和油化学公司)，成为生物技术研究 and 开发部的主任。1987 年，他任职于位于布伦瑞克的德国国家生物技术中心的生物技术研究协会 (Gesellschaft fuer Biotechnologische Forschung, GBF)；同时，他也担任布伦瑞克大学酶技术部的教授。1993 年，德国斯图加特大学邀请他担任生物工艺工程中心 (他仍是该中心的指导) 的工业生物化学研究所的主任。他在国家标准和技术局 (美国马里兰的盖兹堡)、东京大学 (日本)、佛罗伦萨大学 (意大利) 和莱比锡马普学会分子人

类学研究所 (德国) 度过了他的休假年。在 www.itb.uni-stuttgart.de 可以见到发表文章的列表。

本书译者名单

主 译

李慎涛	首都医科大学
祁雅慧	首都医科大学

其他译者(按姓氏拼音排序)

陈振文	首都医科大学
邓旭明	解放军军需大学
梁文学	上海第二医科大学
廖晓萍	华南农业大学
蔺晓薇	吉林大学口腔医学院
年春志	沈阳军区疾病预防控制中心
欧阳红生	解放军军需大学
章 兰	清华大学
孙 明	农业部兽医诊断中心
徐彦辉	清华大学

译者的话

生物技术的发展日新月异，已渗透到我们生活的方方面面。在很早以前，我们的祖先就掌握了一些生物技术，将其应用到食品加工、酿造、制革等领域中；1928年，Fleming发现了青霉素，使人类抵抗疾病的能力大大提高，生存质量明显改善；1953年，Watson和Crick发现了DNA双螺旋，从分子水平上揭示了遗传的本质，使生物技术向前迈进了一大步；1972年，DNA体外重组技术的诞生为现代生物技术方法学奠定了基础，后来一批新方法相继诞生，使我们可以随心所欲地修饰和体外表达蛋白质，为进行生命科学的基础研究及疾病的预防、诊断和治疗提供了有力的手段；1998年，克隆羊的诞生在生命科学领域引起了轰动，从此，人们便可以利用克隆技术进行动物的育种，来改良动物的品种以及在动物体内生产我们所需的药用蛋白质，并在法律允许的范围内，充分利用克隆技术，为人类健康服务；1996年，酵母基因组测序完成；2003年，人类基因组测序完成，这标志着“后基因组”时代的到来，这是生命科学历史发展中一次新的飞跃。在以基因组全序列为基础的“后基因组”时代中，将有可能从整个基因组及其全套蛋白质产物的结构和功能的高度去了解生命活动的全貌，并系统整合有关生物学的知识，揭示生命物质世界的各种前所不知的规律，完全揭开生命之谜。

当然，随着现代生物技术的发展，其分工也越来越细，有关文献呈爆炸式增长，这样，势必会造成这样一种局面：从事动物科学研究的人员不一定了解植物科学研究方面的情况，甚至从事基因工程上游研究的人员不一定知道基因工程下游的技术，反之亦然。所以，我认为对于任何一位从事生物技术研究的人员来说，有必要从宏观上对生物技术的各个方面有一个总体的了解，而本书正是能够满足这种要求的一部难得的读物。本书由142个专题组成，涵盖了生物技术的各个方面，每个专题就是一篇小综述，用10分钟的时间，可以了解一个专题方面的发展概况，书后附有相关的文献，可以进一步研究。读完此书后，你会知道我们日常生活中的许多生物技术，如面包、啤酒、葡萄酒、醋、果汁、皮革、纸张、生物药品是怎样生产的，甚至会会对生物化妆品感兴趣；你会

知道怎样利用生物技术来处理废水、废气，使我们的环境更加美好！同样也会对现代生物技术的方方面面都有一个宏观的了解，开阔视野，为今后的研究工作打下良好的基础。

李慎涛

前 言

生物技术是 21 世纪的一项核心技术，是多学科努力的成果。根据特定研究对象的不同，需要以下各个学科的知识：普通生物学、分子遗传学和细胞生物学；人类遗传学和分子医学；病毒学、微生物学和生物化学；农业和食品科学；酶技术、生物工艺工程和系统科学。此外，生物统计和生物信息学也发挥着越来越重要的作用。在这种背景下，试图阐述整个领域的简明书籍极少，而且，即使在多卷的专题论述中，重要的应用方面（如动植物的育种或分析生物学）也经常被忽略，这一点儿也不奇怪。

另一方面，在我的研究和教学生涯中，我体会到，从浩瀚的细节中偶然遇到一些必须要掌握的东西，要是能了解到一个整体的观点，那是多么的省力。

《生物技术与基因工程图解小百科》试图提供这样一种全景式的概观。显然，要在一页纸上，再加一页的图表来讨论本书中的每个专题（从“啤酒”到“组织工程”和“系统生物学”）是一个大胆的尝试。终究，此书中的每一条目都来自于专题论文、书的章节、综述和大量的科学出版物（许多列在引用文献中）。另一方面，用仅仅 4 000 多个字符来概括每一条目，这种挑战迫使你集中到要点上，并对其进一步展望。

我希望这种努力至少在某种程度上获得成功，并希望你能找到那些线索，从高度专业化的科学世界及其复杂的术语中，对现代生物技术提供给我们所有人的机会和挑战做出自己的评估。

原版本于 2001 年 12 月用德语出版，本英文版本并不是对原版本的简单翻译，而是修订和增补了的第二版，除了对所有资料进行了总体的更新，还增加了三个新条目（组织工程、RNA 和系统生物学）。对于这一点，我要感谢对本书做出重要贡献的人们。首先，我要感谢绘图天才鲁思·哈梅勒尔（德国，Kirchheim），鲁思做了一项很伟大的工作，将科学语言诠释成非常清晰美丽的图表。感谢 Marjorie Tiefert（加利福尼亚 San Ramon），她不止是一位编辑，而且完全领会和表达了本书的灵魂。我还要感谢出版商，特别是 Romy Kirsten。特别感谢学术界和

企业界的许多同事，他们花费时间和精力读完其专业内的条目，并提出了许多有建设性的意见，他们是：维也纳大学的 Max Roehr, Kundl 生物化学公司的 Waander Riethorst, 波恩 Heinrich Frings 公司的 Frank Emde, Ulm 大学的 Peter Duerre, 柏林技术大学的 Edeltraut Mast-Gerlach、Ulf Stahl 和 Dietrich Knorr, 耶拿 Hans-Knoell 研究所的 Udo Graefe, 布伦瑞克生物技术研究协会的 Jochen Berlin, 哥本哈根诺维信 A/S 的 Allan Svenson, Breisach 的 Helmut Uhlig、波茨坦大学的 Frieder Scheller, 慕尼黑-Weihenstephan 大学的 Bertold Hock, Hohenheim 大学的 Rolf Blaich、Rolf Claus、Helmut Geldermann 和 Gerd Weber, 斯图加特大学的 Hans-Joachim Knackmuss、Dieter Jendrossek、Karl-Heinrich Engesser、Joerg Metzger、Peter Scheurich、Ulrich Eisel、Matthias Reuss、Klaus Mauch、Christoph Syldatk、Michael Thumm、Joesph Altenbuchner、Paul Keller 和 Ulrich Kull, 斯图加特的 Thomas von Schell, Penzberg Roche AG 的 Joachim Siedel, Biberach Boehringer-Ingelheim 的 Rolf Werner 和 Kerstin Majer, Wuppertal Bayer AG 的 Frank-Andreas Gunkel, Marberg Chiron Bering 公司的 Micheal Broeker, Ludwigshafen BASF AG 的 Bernhard Hauer 和 Uwe Pressler, Hoechst Aventis 药厂的 Frank Zocher, Bergkamen Schering AG 的 Tilmann Spellig, Chosi Yamasa 公司的 Akira Kuninaka, 爱丁堡格大学的 Ian Sutherland, 法兰克福 Ernst & Young 的 Julia Schueler。在斯图加特对本书原稿给予帮助的同事中，我要特别感谢 Jutta Schmitt、Till Bachmann、Jurgen Pleiss 和 Daniel Appel。

尽管付出了巨大的努力并进行了耐心的交叉校对，但谬误仍难免，这都是作者的过错，希读者指出，不胜感谢，请访问网址：www.itb-unistuttgart.de/pocketguide，在此本书可得到进一步的完善。

罗尔夫 D. 施密德

2002/2003 新年于斯图加特

目 录

译者的话		
前言		
导论	1	
历史回顾		
早期进展	2	
今日生物技术	4	
食品生物技术		
酒精饮料	6	
啤酒	8	
发酵食品	10	
食品和乳酸发酵	12	
乙醇、酸和氨基酸		
乙醇	14	
1-丁醇、丙酮	16	
醋酸 / 醋	18	
柠檬酸	20	
乳酸、葡萄糖酸	22	
氨基酸	24	
L-谷氨酸	26	
D, L-甲硫氨酸、L-赖氨酸和 L-苏氨酸	28	
阿斯巴甜、L-苯丙氨酸和 L-天冬氨酸	30	
通过酶转化的氨基酸	32	
抗生素		
抗生素: 来源、应用、作用机制	34	
抗生素: 工业生产、耐药性	36	
β 内酰胺类抗生素: 结构、生物合成和作用机制	38	
β 内酰胺类抗生素: 生产	40	
氨基酸和肽类抗生素	42	
糖肽类、聚醚类和核苷类抗生素	44	
氨基糖苷类抗生素	46	
四环素类、醌类、喹诺酮类和其他芳香族抗生素	48	
大环内酯类抗生素	50	
抗生素的新途径	52	
专门的化学品		
维生素	54	
核苷和核苷酸	56	
生物表面活性剂和生物化妆品	58	
微生物多糖	60	
生物材料	62	
生物转化	64	
类固醇生物转化	66	
酶		
酶	68	
酶催化作用	70	
分析用酶	72	
酶检验	74	
添加剂用酶	76	
洗涤剂酶	78	
淀粉水解酶	80	
淀粉的酶水解	82	
酶和甜味剂	84	
水解纤维素和聚糖的酶	86	
木浆和纸加工用酶	88	
果胶酶	90	
酶和乳产品	92	
焙烤食品和肉品加工用酶	94	
皮革和纺织处理用酶	96	
获得新工业用酶的方法	98	
面包酵母和单细胞技术		
面包酵母和饲料酵母	100	

单细胞蛋白质和单细胞油..... 102

生物技术和环境处理

需氧废水处理..... 104

厌氧废水处理和污泥处理..... 106

废气的生物学处理..... 108

生物土壤处理..... 110

微生物浸矿、生物膜和生物腐蚀 ... 112

医学生物技术

胰岛素..... 114

生长激素和其他激素..... 116

血红蛋白、血清白蛋白和乳铁蛋白
..... 118

血凝剂..... 120

抗凝血剂和血栓溶解剂..... 122

酶抑制剂..... 124

免疫系统..... 126

干细胞..... 128

组织工程..... 130

干扰素..... 132

白细胞介素..... 134

促红细胞素和其他生长因子..... 136

其他治疗用蛋白质..... 138

疫苗..... 140

重组疫苗..... 142

抗体..... 144

单克隆抗体..... 146

重组和催化抗体..... 148

免疫分析..... 150

生物传感器..... 152

农业生物技术

动物育种..... 154

胚胎移植、克隆动物..... 156

基因图谱..... 158

转基因动物..... 160

基因农场和异种移植..... 162

植物育种..... 164

植物组织表面培养..... 166

植物细胞悬浮培养..... 168

转基因植物：方法..... 170

转基因植物：抗性..... 172

转基因植物：产品..... 174

微生物学基础知识

病毒..... 176

噬菌体..... 178

微生物..... 180

细菌..... 182

生物技术用到的一些重要细菌..... 184

真菌..... 186

酵母..... 188

微生物：分离、保存、安全性..... 190

微生物：菌株改良..... 192

生物工程基础知识

微生物的生长..... 194

生长动力学和产物形成..... 196

分批补料发酵和连续发酵..... 198

发酵技术..... 200

发酵技术：规模放大..... 202

哺乳动物细胞的培养..... 204

哺乳动物细胞生物反应器..... 206

酶和细胞反应器..... 208

生物产品的回收..... 210

蛋白质回收：层析..... 212

工业工艺的经济因素..... 214

分子遗传学的基础知识

DNA：结构..... 216

DNA：功能..... 218

基因工程：常规步骤..... 220

DNA 的制备..... 222

DNA 操作中其他有用的酶..... 224

PCR：常规方法..... 226

PCR: 实验室步骤	228	基因治疗	262
DNA: 合成与长度测定	230	蛋白质组学	264
DNA 测序	232	药物筛选	266
将外源 DNA 转入活细胞内 (转化)		生物学信息学	268
.....	234	代谢	270
基因克隆与鉴定	236	代谢工程	272
基因表达	238	系统生物学	274
基因沉默	240		
RNA	242	安全性、伦理学和经济学问题	
基因文库与基因图谱	244	基因工程的安全性	276
原核生物的遗传图谱	246	生物技术产品的法规	278
真核生物的遗传图谱	248	道德考虑和认可	280
人类基因组	250	生物技术专利	282
人类基因组的功能分析	252	生物技术的国际情况	284
最新趋势		索引	286
DNA 分析	254	文献	326
DNA 和蛋白质芯片	256	资料来源	351
报告基因	258	缩写	352
蛋白质设计	260		

导论

本书是为那些要对现代生物技术各个领域有一个初步了解的生物学、生物化学和生物工艺工程的学生们而写的。本书的写作和排版采用了一种标准模式，每个条目附有大量的引用文献，并有一个综合索引，也可作为进一步研究的入门书。

对 142 个研究领域中的每一个都用一页写成，并附有彩色插图，每页都有彩色栏目标题，以便于定位^①。

本书首先进行了简短的**历史回顾**，由于生物技术是一门应用科学，你将在本书中得到一些生物产品经济意义的第一手资料。**食品生物技术**是整个领域的起始点，这样将在下一条目中讨论，基于这些古老的技能，首批现代生物技术工艺诞生了，能够生产**乙醇、酸和氨基酸**，之后能够生产**抗生素、专门的化学品**，一些非常重要的分析用和工业用**酶**，最后，能够生产**面包酵母和饲料酵母**。**生物技术和环境处理**一章着重介绍水、空气和土壤的净化，并包括微生物浸矿。大量章节用于介绍**医学生物技术**，包括药物生产的条目，如第八因子和促红细胞生成素，还有疫苗、抗体、免疫测定和生物传感器。对免疫系统只进行了简要的概述，之后介绍了干细胞的特点以及新兴的组织工程。另一个较大的章节是**农业生物技术**，特别是动物和植物育种、克隆和遗传修饰。

本书的第二部分介绍了一些基本知识和技术，这些都是现代生物技术的核心。首先是**微生物学基础知识**，之后是**生物工程基础知识**，并用相当多的篇幅和深度介绍了**分子遗传学的基础知识**。本书最后一部分介绍了生物技术的**最新趋势和安全问题**，以及**伦理学和经济学问题**，包括这一技术的一些前沿领域（如 DNA 芯片、蛋白质组学、代谢工

程和系统生物学）和公众的担忧、专利申请以及国际情况。

当读者对某一领域中的许多技术术语理解有困难时，我希望综合索引能帮助你从其他条目中找到帮助和解释，文献索引只集中在英文文献，包括最新专题论文和主流的综述。对本书中讨论的许多研究领域，可以在网络上得到进一步的信息，并可通过工具诸如 PubMed 等来检索。

^① 本书英文原版为彩色印刷制作。——出版者注

早期进展

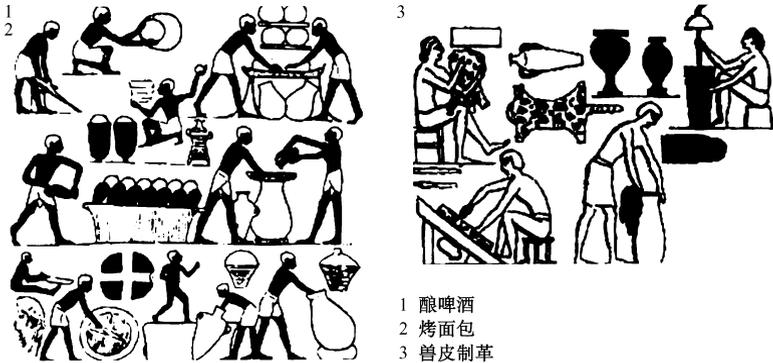
历史 我们今天所称的生物技术可能和农业一一起源，可以追溯到很久以前。食物通过微生物酸败而损坏，通过干燥、盐渍和糖化来保存，可以通过发酵生产酒精饮料等等，大概从一开始，人们就从上述情形中得到了许多经验。沿着最初的城市文化的发展轨迹，我们找到了用生物技术原理生产面包、啤酒、葡萄酒和奶酪以及兽皮制革的文字记载和绘画。在欧洲，从公元6世纪开始，僧侣们和其组织良好的各个部门研制出酿造、造酒和烘焙技艺的具体方法，我们应当把烈性的、富含酒精的啤酒归功于僧侣们对“Liquida non fragunt ieiunum”（酒不影响工作）的虔诚理解。然而，现代生物技术只不过是微生物学的一个孩子，微生物学在19世纪晚期得到了良好地发展，在20世纪前半叶，第一次和第二次世界大战可能为微生物学家、化学家和工程师们提供了前所未有的机遇来建立现代工业生物技术，来生产有机溶剂和抗生素等产品。在此时和之后的一段时间内，生物化学家、遗传学家和细胞生物学家取得了许多惊天动地的发现和成就，分子生物学随之产生。基于基因工程和细胞工程，现代生物技术，在这个阶段被提出，并于20世纪八九十年代诞生。随着信息技术的出现，现代生物技术最终促进了基因组学、蛋白质组学和细胞组学的形成，这些都将成为21世纪的主要技术，将在医药、食品和农业、化学和环境保护方面得到广泛的应用。

早期的先驱者和产品 生物技术是一门应用科学，其许多成就的产生都受到经济利益的驱动。1864年，巴斯德（Louis Pasteur，法国化学家）首次用显

显微镜来观察葡萄酒和乳酸的发酵。他使用无菌培养基（巴氏消毒），得到了微生物的纯培养物。这样应用微生物学便产生了，并将本领域扩展到致病微生物的控制上。在20世纪的开始，德国化学家 Otto Roehm 和日本科学家 Jokichi Takamine 突然想到，在工业加工中，从动物废料或霉菌培养物中分离的酶会有用的催化剂，Otto Roehm 的想法使制革工业发生了革命，因为直至那个时期，还是使用狗的粪便来制革。在公共卫生领域，在1900年前后，生物污水处理的应用堪称是流行病预防的一个里程碑。在第一次世界大战期间，德国的 Carl Neuberg 和从俄罗斯移民到英国的犹太人 Chaim Weizmann 研制了生产弹药成分（生产硝酸甘油的甘油和生产线状无烟火药的丙酮）的大规模发酵工艺，《贝尔福宣言》以及随后的以色列国的成立（Weizmann 成为其第一位总统），都直接与生物技术的早期成功有关。在战后时期，Weizmann 基于梭菌发酵工艺的第二个产品——1-丁醇在美国十分重要，被用作汽车油漆的溶剂。Alexander Fleming（1922年）偶然发现了青霉素，很久之后，由 Howard Florey 将其变成药品，启动了青霉素和其他抗生素在第二次世界大战期间的大规模生产。早在1950年，1000多种不同的抗生素已被分离，在医药、动物饲料和植物保护方面大量地应用。从1950年开始，酶及其后抗体在分析方面的应用，开辟了现代生物技术另一个重要的领域。在20世纪60年代石油危机和人口过度增长的阴影下，人们成功地开发了将生物量^①转化成生物能量（乙醇、甲烷），以及将石油或甲醇转化为单细胞蛋白质的技术。

^① biomass，生物资源总称，生物产生的尚未利用的资源。——译者注

早期埃及绘图中的生物技术



1 酿啤酒
2 烤面包
3 兽皮制革

早期历史	将含糖的果汁发酵成各种酒精饮料 通过乳酸和酵母发酵生产酸奶和发酵面团 使用诸如动物粪便等将兽皮制成革
1650 年	法国:用乙醇制备醋的 Orléans 工艺
约 1680 年	荷兰:Anthony van Leuwenhoek 用显微镜观察到细菌
1856 年	法国:巴斯德从乳酸杆菌中分离到酿酒酵母
约 1890 年	法国、德国:巴斯德、科赫研制出第一批疫苗
1900 年	日本:Jokichi Takamine 用 α -淀粉酶降解淀粉
1908 年	德国:Otto Roehm 将胰蛋白酶用于洗涤剂和制革
1916 年	英国:Chaim Weizmann 研制出生产丙酮和正丁醇的发酵工艺
自 1920 年	使用黑曲霉表面发酵工业化生产柠檬酸
1928/29 年	英国:Alexander Fleming 发现青霉素
1943 年	美国:Selman Waksman 发现链霉素
自 1949 年	美国:大规模类固醇微生物转化
自 1957 年	日本:用谷氨酸棒状杆菌罐发酵工业化生产谷氨酸
自 1960 年	丹麦:将芽孢杆菌蛋白酶用于洗涤剂
自 1965 年	丹麦:用微生物凝乳酶生产奶酪
自 1970 年	美国:用酶技术生产的高果糖糖浆代替软饮料中的蔗糖
1972/73 年	美国:Stanley Cohen 和 Francis Boyer 研制了质粒载体的 DNA 体外重组技术
1975 年	英国/瑞士:Cesar Milstein 和 Georges Koehler 用杂交瘤细胞生产单克隆抗体
自 1977 年	使用细菌发酵能够生产重组蛋白质
自 1982 年	第一种转基因植物(抗除草剂)和第一种转基因动物(基因敲除)
1985 年	美国:Kary Mullis 发现聚合酶链反应(PCR)
从 1990 年	美国:启动人类基因组计划(HUGO)
1995 年	在美国和英国注册了食用转基因西红柿(FlavrSavr)
自 1995 年	在人身上进行基因治疗实验
1996 年	酵母基因组测序完成
1998 年	多莉羊为第一个克隆动物,是其母亲的复制体
1998 年	在 DNA 数据库中存储了 20 多亿碱基对
1999 年	在约 4 个月内,16 亿碱基对的果蝇基因组被完全测序
1999 年	能够培养人类干细胞
1999 年	重组治疗性蛋白质的年销量超过 100 亿美元

今日生物技术

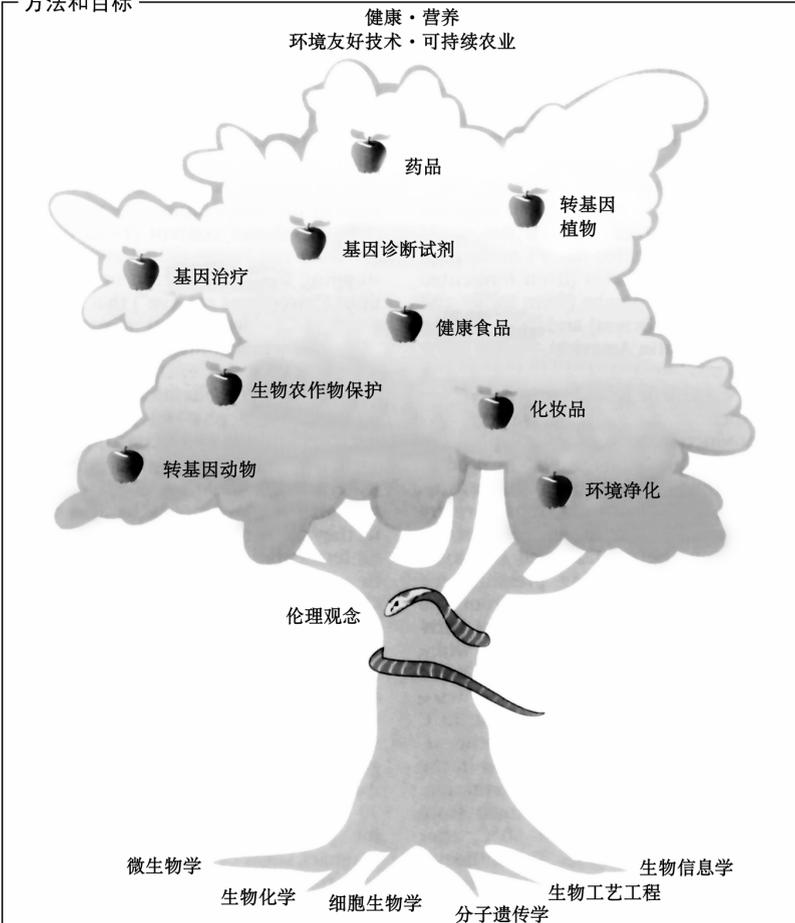
基因工程和细胞技术 1973年，旧金山的 Stanley Cohen 和 Frederick Boyer 首次将经过设计的外源基因在宿主菌中表达，大约 10 年后，注册了第一个重组药物——生长激素。自此以后，50 多种基因工程蛋白质被注册作为治疗药物，包括胰岛素（治疗糖尿病）、促红细胞生成素（用于贫血患者）、第八因子（用于血友病患者）和 β 干扰素（用于多发性硬化症患者），还有几百种药物正在研发中。尽管这一新技术首先被用于医药，但其在农业和食品生产方面的创新潜力很快就开始显露出来，种植了抗除草剂、昆虫或病毒的转基因农作物，现在，这些作物主要生长在北美。通过基因修饰，使花朵展现出新的颜色，蔬菜和水果的营养成分更高，木材的木质素含量降低，以改善纸的生产。在化学工业方面，基于生物催化剂的工艺数量稳定地增长，因为酶和微生物能够在遗传学方面适应工艺条件。但是，生物技术的现代焦点是基因组学和后基因组学，已研制出一些方法，能够对 50 多种微生物的基因组、植物和动物基因组，以及在 2001 年对人类基因组进行快速测序，现在这些信息被广泛地用于分析疾病的分子基础，以及通过靶向筛选的方法来开发新药。一些新的方法，如蛋白质组学和结构生物学，使我们对生命和疾病的化学有一个基本的理解。应用基因治疗方法，我们尝试用正常功能的基因去替换功能异常的基因，这些进展与细胞生物学的巨大进步相一致，细胞生物学的进步集中在多细胞生物中细胞之间复杂的相互作用。组织工程是修复创伤组织的一种实用方法，系统生物学是理解细胞功能的一种基于计算机的方法，这两个学科只

是应用学科。

公众认可 多莉羊出生于 1998 年，是第一个从其母亲体细胞克隆的动物，与其母亲完全相同。这种成就的轰动和可能造成的结果（例如对于胚胎的操作或个体遗传指纹的测定）引发了公众对情感的讨论。典型的问题有：人的生命是从什么阶段开始的？我们能接受克隆人吗？对于决定命运的个体健康风险的查验（如雇主或保险公司的查验），我们能接受到什么程度？分子遗传学和基因治疗将如何影响我们社会的年龄分布？随意对植物和动物进行遗传修饰道德吗？这种操作与生态系统和其自然多样性要协调到什么程度？新的生物技术将如何影响工业化国家和发展中国家之间的关系？还没有一个问题得到完全的解决。随着我们接近另一条界线（对人脑机制的功能理解），这些问题在全球范围内的解答将变得越来越紧迫。

市场 在过去的几十年间，新药增长最快的是重组人蛋白质或在其研发过程中所用的重组细胞靶蛋白质。医学诊断试剂将越来越依赖于个体基因组的信息，最终药物学也将越来越依赖于个体基因组的信息（药物基因组学）。在动植物育种（食品生产的基础）中，基于遗传标记的育种将发挥越来越重要的作用。而且，通过基因组测序，基因工程的应用将越来越方便，基因工程产品的市场分量在经济重要性方面普遍早已超过了传统发酵产品，如氨基酸或抗生素，而且将有进一步的快速增长。

方法和目标



一些生物产品的市场资料 (~2000年, 估计值)

	产量	价值	价格
啤酒	130 000 000t	3 300 亿€	2.50€/kg
乙醇	19 000 000t	50 亿€	0.25€/kg
谷氨酸	800 000t	8 亿€	1.00€/kg
柠檬酸	700 000t	7 亿€	1.00€/kg
洗涤剂蛋白酶	100 000t	3 亿€	3.00€/kg
阿斯巴甜	10 000t	0.5 亿€	5.00€/kg
头孢菌素	5 000t	25 亿€	500.00€/kg
四环素	5 000t	2.5 亿€	50.00€/kg
胰岛素	8t	10 亿€	125.00€/kg ^①
促红细胞生成素	10kg	40 亿€	5 亿€/kg ^②

酒精饮料

概述 即使不是在所有的也是在大多数的人类文化中,人们都研制出酒精饮料。在西方文化中,主要有葡萄酒、啤酒、发酵果汁、香槟和蒸馏的烈性酒,亚洲主要的本地产酒精饮料是米酒,世界其他地方的地区特产有乳酒(发酵的马乳,蒙古游牧民族)、格瓦斯(来自于发酵的谷物,俄罗斯)、粟酒(来自于黍和高粱,靠近东方)和龙舌兰酒(来自于龙舌兰属植物汁,拉丁美洲)。

葡萄酒 是通过酵母发酵葡萄浆或葡萄汁来生产的,葡萄生长的地区、葡萄的品种和生产技术都对葡萄酒的质量有重要的影响,生产技术包括收获、压榨、葡萄浆的处理、葡萄浆的发酵和藏酒窖的处理。收获取决于天气,这对酒的质量至关重要。在压榨的过程中,通常将葡萄从茎上摘下,在榨汁过程中不破坏葡萄籽。生产白葡萄酒时,将葡萄浆立即过滤以获得葡萄汁;而生产红葡萄酒时,传统的方法是将葡萄浆在20℃发酵6~8天,将葡萄皮中的红色花青甙溶解到发酵生成的乙醇中。现代工艺是将红色葡萄的葡萄浆加热至40~45℃,加入果胶酶以后,葡萄皮中的红色花青甙将在2~4 h内溶解,随后进行压榨,对葡萄浆的处理进行适当的改良,使葡萄酒商能够得到(在一定范围内)特定类型的葡萄浆,甚至在葡萄质量不高的年份也可以得到。根据国家的法规,可以加入糖或酸,可以加入CaCO₃将酸中和,可加入SO₂或焦硫酸钾中止发酵,这样的工艺能够使品味保持一致、抑制葡萄浆变成褐色(通过抑制酚氧化酶)、保护对氧敏感的色素和香气成分、抑制需氧微生物的生长(如醋酸菌、野生酵母和霉菌)。现在可以进行葡萄浆发酵了,传统的方法是在木桶中进行,现在通常是在不锈钢或聚酯罐中进行。接种可以用自发的方式,也可以加入酿酒酵母 *ellsoideus* 变

种的种子培养物,根据葡萄浆类型的不同,可以发酵几天到几个月,可通过温度进行调节。可以通过人工中止发酵或加入在8巴^①压力的CO₂下保存的葡萄浆(“甜度保留”),来确定葡萄酒的残留糖和酒精含量(7%~15%,按体积计),干葡萄酒含<9 g·L⁻¹的残留糖。在随后的葡萄酒窖藏处理期间,化学的、生物化学的、生物学的和物理的过程都难以控制来使葡萄酒成熟和保持一致。在窖藏期间,pH>3.2有利于醋酸菌的生长,醋酸菌通过马来酸-醋酸发酵,将马来酸转化成较弱的醋酸和CO₂。

香槟 是通过在优质葡萄酒中加入1%~3%的蔗糖和酵母培养物来生产的。发酵是在罐中进行的,而一些比较名贵的品种,则是在瓶中发酵的。香槟在20℃必须产生至少3巴的压力。

烈性酒 是通过蒸馏谷物、蔬菜和水果的糖提取物生产的,其酒精含量在30%~60%之间。烈性酒的一些原料有:葡萄酒(白兰地酒、法国白兰地酒、干邑、雅文邑)、甘蔗汁或糖蜜(arrak、朗姆酒)、谷物(Korn、威士忌酒)、马铃薯(伏特加酒)、水果汁(水果白兰地酒)或龙舌兰属植物(龙舌兰酒)。

米酒 与葡萄酒或啤酒发酵不同,米酒是通过需氧固相发酵而生产的。首先,用米曲霉(*Aspergillus oryzae*)接种浸泡的用蒸汽煮成半熟的大米,在约30℃培养,在高湿度条件下,约在2天内便可形成酒曲(koji),这是一种发酵材料。在这种酒曲中,大米淀粉大部分被解聚成糖,往酒曲中加入更多煮过的米、水和酵母起始培养物(moto),制成糊状物(moromi),在25℃发酵20天,通过过滤和巴氏消毒,便制成米酒。

^① 巴为非法定计量单位。1巴(bar)=1×10⁵帕(Pa)。—— 出版者注

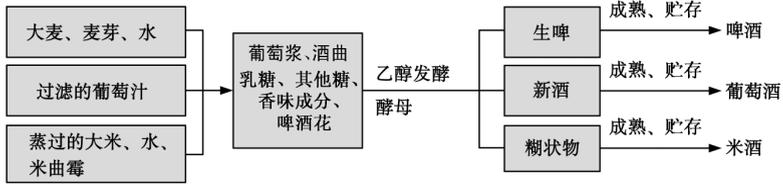
酒精饮料

啤酒	大麦淀粉被大麦淀粉酶降解成糖,加入啤酒花提取物,酵母将糖溶液发酵成乙醇
葡萄酒	酵母发酵葡萄汁
香槟	往葡萄酒中加入糖和酵母,接着进行二次发酵
苹果酒	酵母发酵苹果汁
米酒	米曲霉淀粉酶将大米淀粉解聚,酵母发酵糖
威士忌	酵母发酵大麦、酵母、黑麦或玉米提取物,蒸馏
伏特加	酵母发酵马铃薯或小麦提取物,蒸馏

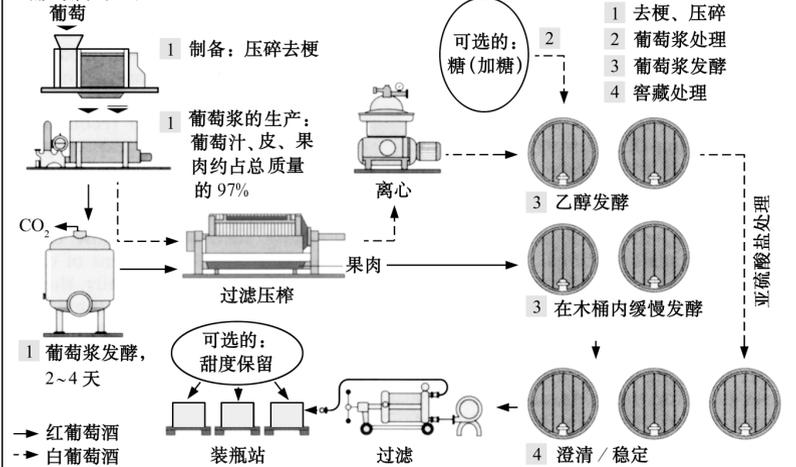
生产数字

啤酒		葡萄酒		米酒	
总计(2001年)	1420 亿升	总计(1999年)	281 亿升		
美国	231 亿升	法国	60 亿升		
中国	227 亿升	意大利	58 亿升		
德国	109 亿升	西班牙	33 亿升		
巴西	84 亿升	美国	20 亿升		
日本	71 亿升	阿根廷	16 亿升		
俄罗斯	63 亿升	德国	12 亿升		
英国	56 亿升	澳大利亚	9 亿升		
				日本(1997)	9.1 亿升

啤酒、葡萄酒和米酒的一般生产流程



葡萄酒的生产



啤酒

概述 啤酒是人类最古老的而且可能是分布最广的一种酒精饮料，是通过酵母（酿酒酵母）发酵麦芽来生产的，发酵时要加入啤酒花提取物（能提供苦味）。全世界的产量约为 1 400 亿升，或约 1.4 亿吨。最大的生产国有美国、中国、德国、巴西、日本、俄罗斯和英国。德国 1516 “纯度法”规定，生产啤酒时，只能使用大麦（有时用小麦）、酵母、啤酒花和水，在其他大多数国家，可使用的原料更广一些。现代加工技术能够生产低热量啤酒和淡味啤酒（酒精含量降低）。

生产 将大麦发芽，在干燥炉干燥，便制成可以保存的麦芽。麦芽富含碳水化合物和酶，当用水将其悬浮时，便形成糊状物，加入啤酒花水提取物，它含有典型的苦味成分。通过麦芽酶（主要是淀粉酶）的作用，生成的麦芽汁中含有单糖和二糖，可以被酵母发酵。用酵母培养物接种糊状物，发酵几天。根据发酵工艺的不同，啤酒的乙醇含量在原始麦芽汁（发酵前提取物的净重，单位为 g/100g）的 2% 和 >18% 之间。最后的成熟在啤酒窖内完成，温度约为 0℃，需要几天到几周的时间。在这个过程中，混浊成分沉降下来，发酵过程中产生的一种影响口味的成分丁二酮，这时也被转化成 3-羟-2-丁酮（acetoin）和 2, 3-丁二醇（butane-2, 3-diol）。此外，还发生了其他的酶转化，这些转化对啤酒口味的影响很大。过滤后，对外销型啤酒进行巴氏消毒。

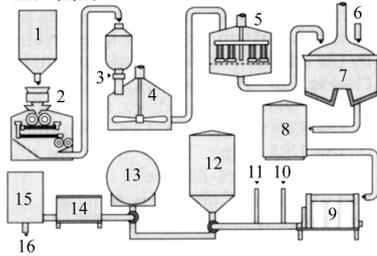
啤酒的类型 根据主发酵和后发酵所用的时间和温度、所用原料及其加工、所用的酵母培养物（例如“表面发酵酵母不能水解蜜三糖”），许多种类的

啤酒有所不同，大多根据以下两点来区分啤酒：所用的发酵工艺（底部发酵啤酒，如 lager、pilsner；顶部发酵啤酒，如 porter、ale 和 stout）和麦芽汁的含量 [高比重啤酒 (>16%)、中比重啤酒 (11%~14%)、干啤酒 (7%~8%) 和低比重啤酒 (2%~5.5%)]。

淡味啤酒和无酒精啤酒 生产淡味啤酒 (<1.5% 乙醇) 或无酒精啤酒 (<0.5% 乙醇) 时，或于早期停止发酵，或发酵后用适当的工艺技术将乙醇除去（真空蒸馏、膜工艺）。

生物技术创新 除德国外，大多数国家都通过加入微生物酶来加速淀粉的糖化、蛋白质的降解或过滤步骤，有时加入植物蛋白酶木瓜蛋白酶来防止蛋白质在冷藏时沉淀（“防冷”）。最近的进展有：①转基因大麦的育种和使用，特别是热稳定性 β 葡聚糖酶和其他酶的活性增强；②在发芽时，使用醋酸菌作为起始培养物，以减轻麦芽受到镰刀菌和其他细菌的污染；③加入细菌 α 乙酰乳酸脱羧酶（能够将 α 乙酰乳酸直接转化成乙酰甲基原醇的一种酶），缩短降解联乙醚所需要的漫长的成熟时间；④使用重组的酿酒酵母株，它能表达诸如葡聚糖酶或淀粉酶（能够更好地利用原料）或 α 乙酰乳酸脱羧酶（能更快地形成口味）的基因，使用这样的菌株，能够酿造碳水化合物含量极低的“低热量啤酒”。加工技术正在全面的改进之中，过去需要在酒窖保存一周来优化啤酒的口味，现在将啤酒加热至 90℃，然后使用固定化酵母在生物反应器中成熟 2 h 即可。

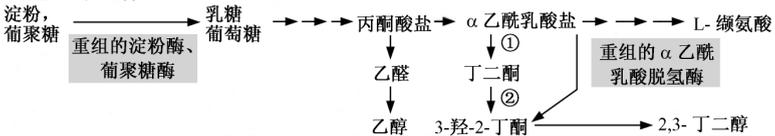
生产图解



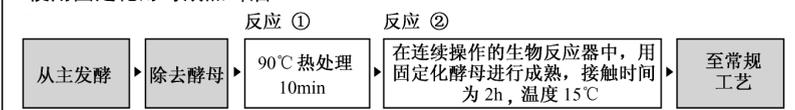
- 1 麦芽
- 2 磨
- 3 水
- 4 糊状物罐
- 5 滤桶
- 6 啤酒花
- 7 麦芽汁加热
- 8 回旋池
- 9 冷却过滤压榨
- 10 空气
- 11 酵母
- 12 发酵罐
- 13 贮存罐
- 14 啤酒过滤
- 15 压力罐
- 16 装瓶站

	术语	工艺步骤	细节
1	浸泡和发芽	大麦生成芽	10~18℃, pH7.0, 8天, 淀粉酶和蛋白酶被激活
	干燥	大麦胚乳被干燥	一步一步地将水分低至<3%, 将温度升至约125℃
	去胚芽	除去大麦胚芽	动物饲料
4	制糊	干燥的麦芽被重新激活	在糊状物罐内, 麦芽淀粉酶将大麦淀粉解聚, 形成糊精和乳糖, 并形成香味前体
5	滤清	除去混浊的聚合物	
6	啤酒花和麦芽汁	加入啤酒花提取物与麦芽汁一起加热	在锅内1.5~2.5h后, 麦芽淀粉酶被灭活, 苦味成分被溶解, 蛋白质被沉淀, 营养液被灭菌
8	过滤	除去沉淀物	
9	喷淋	洗涤沉淀物	
11	接种	接种	用酿酒酵母纯培养物
12	主发酵	发酵	底部发酵: 5~10℃, 8~10天; 酵母和乳酸菌顶部发酵: 10~25℃, 2~3天
		除去酵母	a) 倾注洗涤或 b) 除去表面层
13	啤酒成熟		在啤酒窖中, 0℃, 几天或几周的时间, 聚合沉淀物、丁二酮降解成3-羟-2-丁酮
14	过滤	巴氏消毒	酿造后再贮藏成熟的啤酒(lager beer)

重组酵母的潜力



使用固定化酵母成熟啤酒



发酵食品

概述 在所有的人类文明中，通过微生物发酵，许多食品都得到改良。最初，传统的技巧都是为了保存食品，这样，通过生成有机酸降低 pH，延长蔬菜的食用寿命（泡菜、酸菜），在贮存前通过酶水解可以增加可消化性 [发酵面团、香肠、天贝（tempeh）]、可以改善口味（发酵乳产品）或生产调味料（酱油、日本豆酱）。在工业化国家，约三分之一的食品通过发酵来改良，通常使用背景清楚的微生物起始培养物。

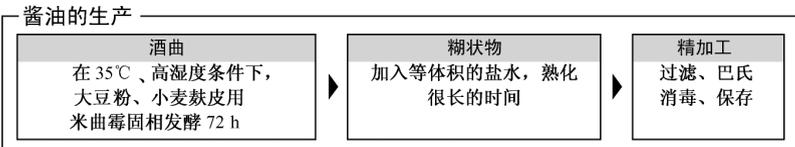
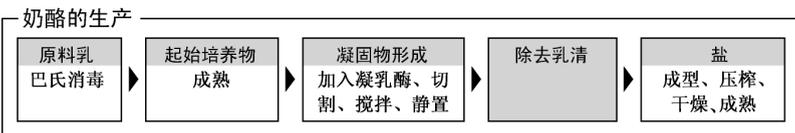
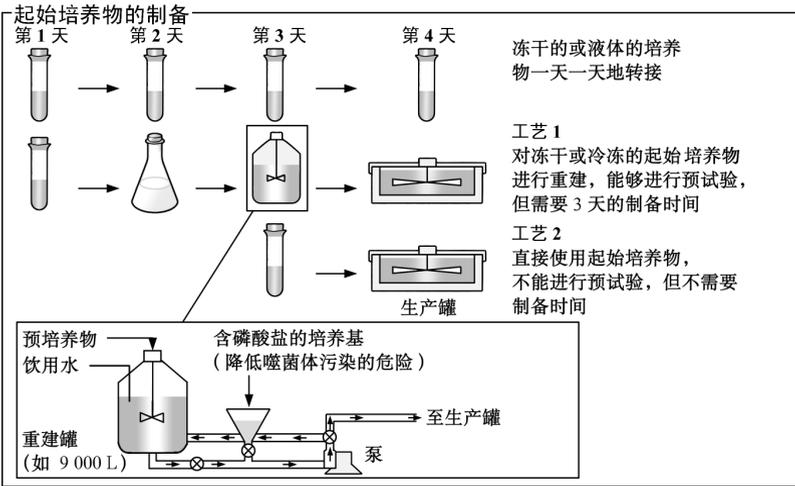
起始培养物 广泛用于食品工业，用于大量生产发酵食品，在发酵乳品（如酸奶酪和奶酪）、发面面包（面起子）和其他烤制食品（面包酵母）的生产中，以及在酿造和酿酒业（酿酒酵母）中，发挥着重要的作用。起始培养物可以分为单株、单种和混合种培养物。选用起始培养物的主要原则是：快速可靠地启动发酵、可靠地生产目标产品、能够抗抗生素和噬菌体。起始培养物的生产值约为 1 亿美元。

香肠 那些无须冷藏保存的香肠大多数是通过加入葡萄球菌（如肉葡萄球菌）起始培养物来生产的，尽管也可以使用乳酸杆菌株和青霉菌株。肌肉组织中的糖元经过发酵产生乳酸，将 pH 降至 5 以下，结果，防止了酸敏感性微生物的污染，肌肉蛋白质（等电点：pH 5.3）变成胶冻状。脂肪和蛋白质发酵降解的产物对香肠的口味起着重要的作用，已使用盐稳定性葡萄球菌和乳酸杆菌的起始培养物来生产咸肉和香肠（通过加入盐、硝酸盐或亚硝酸盐来保存）。

奶酪 1999 年，世界共生产了约 1 570 万吨奶酪，欧洲国家约 680 万吨，

美国约 380 万吨，在欧洲有 1 000 多种奶酪。通过凝乳（通过加入粗制凝乳酶或重组的凝乳酶，从酸奶中除去乳清，取沉淀物）的自然感染，或往里加入起始培养物来开始生产奶酪，在这些工艺中，使用了许多种类的微生物，通常是青霉菌（法国 Camembert 村所产的软质奶酪、羊乳干酪）、链球菌（Emmentals）或乳酸球菌（Gouda 型奶酪），根据奶源的不同（牛、山羊、绵羊）、加工工艺的不同（需氧、厌氧、需氧-厌氧）和起始培养物的加入方式（加到表面还是通过接种），传统工艺的差异很大。

非西方发酵产品 Ang-kak 是中国产的一种“红米”，是用紫色红曲霉（*Monascus purpureus*）孢子接种湿米来生产的，用作调味品，由于含有抗生素，也用作消化系统的治疗药物。Kishk 是亚洲的一种小菜，是用酸奶来发酵小麦芽而制成的。日本豆酱是一种食品调味品，是在蒸过的米中加入米曲霉来生产的。酱油是一种味道很浓的蛋白质水解物，在中国已有 1 000 多年的生产历史，现在，是用大豆和小麦的混合物来生产的，在高湿度、35℃ 的条件下，接种米曲霉，便形成表面培养物，与等体积的盐水（>13% 的盐）混合，形成的糊状物（moromi）在室温下用乳酸菌和酵母发酵长达一年的时间。在印度尼西亚和马来西亚，主要食品天贝是通过少孢根霉（*Rhizopus oligosporus*）发酵蒸过的大豆和大米来生产的。



非西方文化发酵产品

产品	国家	用途	原料	微生物
酒曲	日本	酱油和日本豆酱的起始产品	大豆粉、小麦麸皮和炒米	米曲霉 大豆曲霉
酱油	日本	深色调味品	酒曲	片球菌
日本豆酱	日本	淡味调味品	酒曲	曲霉、乳酸杆菌
豆腐	日本、中国	凝固蛋白	大豆、豆浆	豆腐毛霉菌和其他
水豆豉	日本	辣味调味品	在松针中炒过的大豆	纳豆芽孢杆菌
天贝	印尼	主要食品	在香蕉叶中煮过的大豆	少孢根霉
Ang-kak	印尼、中国	调味品、着色剂、药物	炒过的米	紫色红曲霉
gari	尼日利亚	食品装饰	木薯	地霉、棒状杆菌

食品和乳酸发酵

概述 在许多文化中,生产发酵乳品,或用发酵卷心菜生产泡菜,或通过发酵增强甜菜的消化性来作为饲料(青贮饲料),这些技术已传了几百代。1856年,当巴斯德发现了乳酸菌后,他再开发了这些传统的技术,他发现对食品进行乳酸菌发酵,可以将 pH 降低至 4,这样可以防止大多数其他微生物的污染。

乳酸菌 形状各异,但根据其生物化学和生理学特点,可以很好地对其进行鉴定,它是革兰氏阳性的兼性厌氧菌,尽管不含血红素蛋白,如过氧化氢酶,但能够在有氧的条件下生长,能够将乳糖分解成葡萄糖和半乳糖,并进一步代谢成乳酸。“同型发酵”的乳酸杆菌,如酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)和乳酸乳球菌(*Lactococcus lactis*),每摩尔葡萄糖生成两摩尔当量的乳酸;“异型发酵”的乳酸杆菌,如肠膜样明串珠菌(*Leuconostoc mesenteroides*)和短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*)乳酸杆菌只生成 1 摩尔当量的乳酸。生成多少的 L-(+)乳酸(通常为 50%~90%)、D-(-)乳酸或 D、L-乳酸取决于一种种属特异性的乳酸消旋酶,除乳酸外,发酵的乳品中还含有部分水解的蛋白质、非乳糖和一个温和的微生物区系,这些都被认为在人类食品中是有价值的。

发酵乳品 在欧洲,最重要的产品有酸奶和酸奶油,酸奶酪(yoghurt)、kefer 和酪乳(buttermilk,脂肪含量 < 1%),这些都可以由未经处理的奶自然感染而成,在商品牛奶场,是往巴氏消毒的奶中加入起始培养物来生产的,之后的发酵导致乳酸的生成,酸化后 pH 至 4~5。例如,含 95%以上 L-(+)乳酸的酸奶酪产品的生产是加入嗜酸乳杆菌起

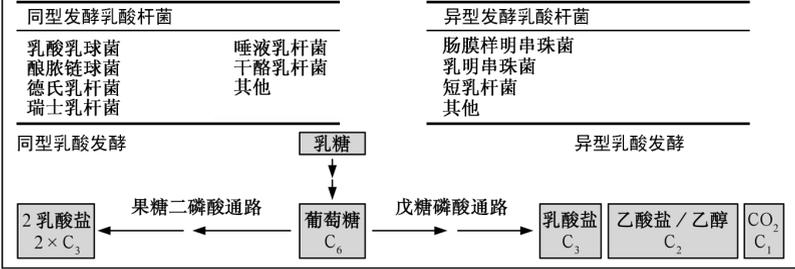
始培养物,可能还补加严格厌氧的双歧乳杆菌(发现于母乳喂养的婴儿肠道菌群中),认为这种酸奶酪特别容易消化,并刺激免疫系统。乳发酵的另一个特点是通过起始培养物中所含的蛋白酶和脂肪酶的作用,形成各种风味,这里面特别重要的微生物菌株有:链球菌、乳杆菌、明串珠菌以及在某些情况下还有酵母。

乳酸发酵蔬菜、水果和果汁 重要的实例有泡菜和腌黄瓜,泡菜的年产量为几百万吨,其生产工艺是:将卷心菜精切成条,装入大木槽(容量高达 100 吨)中,自然感染,这样,所形成的微生物区系具有多样性,包括乳酸菌和其他细菌、酵母和霉菌。目前正在研究使用起始培养物。其他乳酸发酵蔬菜的实例有:罗宋汤(borscht)(发酵的甜菜根,俄罗斯和波兰)和朝鲜泡菜(kimchi)(发酵的白菜或萝卜,朝鲜)。乳酸发酵的菜汁贮存稳定、富含维生素和矿物质、特别易于消化,如番茄汁和胡萝卜汁。

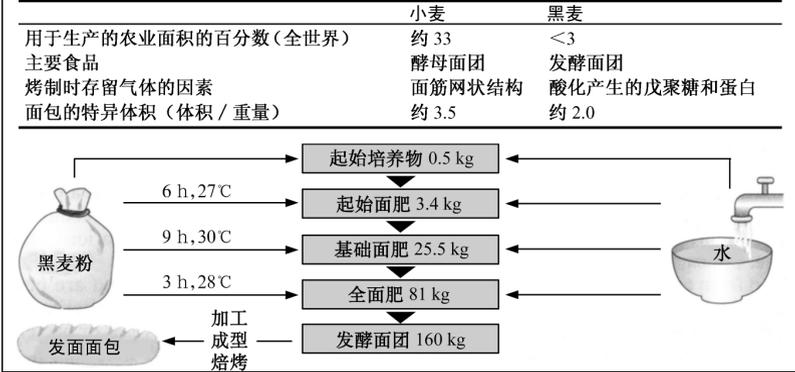
发酵面团 与小麦粉不同,只有当 $\text{pH} < 4.3$ 时,黑麦粉才能明显膨胀,这是生产有弹性和能消化的小麦和黑麦面包、谷物面包和全谷物面包的先决条件,由于这个原因,通过基于乳酸菌和面包酵母共同作用的工艺,将黑麦粉变成 pH 4.2 的发酵面团。

青贮饲料 是一种牛的发酵冬季饲料,通常使用甜菜,将其收集在地窖中,或堆成堆,以排除空气,导致乳酸发酵,如果发酵过程不彻底,不能生成足够的乳酸使 pH 降至 5 以下,会形成梭菌而污染饲料。大多数青贮饲料含有嗜冷性(psychotropic)病原体——单核细胞增多性利斯特氏菌(*Listeria monocytogene*),该菌在冰箱中也能繁殖,这样会引起食品的污染,如软奶酪、肉渣和凉拌卷心菜(coleslaw),即使是冷藏也不行。

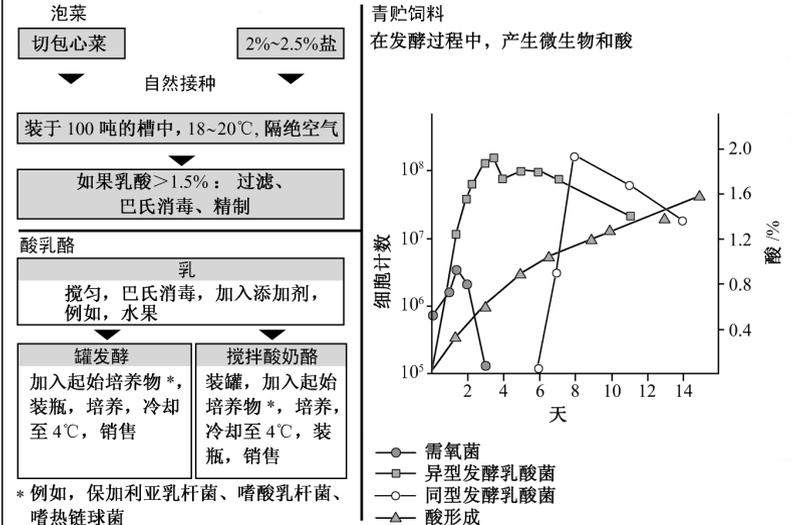
乳酸发酵



发酵面团



泡菜、酸乳酪和青贮饲料



乙醇

概述 乙醇是一种重要的工业溶剂，是有机化学品合成的起始原料，也是一种能源（“生物酒精”）。1997年乙醇的产量约为230亿升（1850万吨），30%是化学合成的，70%是通过发酵生产的。只有当葡萄糖（或生物量）的价格低廉时，或当石油价格高时，或当政府进行调控时，生物乙醇的生产才在商业上有竞争力，这样，生物乙醇只是一种保留的能源生产技术，从1975年开始，巴西和美国使用乙醇来部分或完全代替汽车燃料。

微生物和生物合成 用于生产乙醇的最重要微生物是面包酵母（酿酒酵母），通过糖分解，将1摩尔的葡萄糖分解成2摩尔当量的乙醇，运动发酵单胞菌（*Zymomonas mobilis*）是从龙舌兰属植物分离的一种细菌，也可以产生相同摩尔量的乙醇，但其合成是基于酮脱氧磷酸葡萄糖酸（KDPG）代谢通路。微生物不能合成降解多糖的酶，如淀粉酶，只能用蔗糖或淀粉水解物作为碳源。如果使用多糖，则需在发酵前进行酶糖化，或者使用重组的酵母，它能表达适当的解聚酶，这样便能降解淀粉、半纤维素或纤维素。另一种有潜力的工艺是基于产乙醇热厌氧杆菌（*Thermoanaerobacter ethanolicus*）（一种嗜热厌氧菌，最适生长温度为70℃），它能在较宽的pH范围（4.5~9.5）内代谢多糖或糖。

发酵和回收 通常使用大规模的生物反应器（容积可达500 m³），以分批补料发酵的方式进行生物乙醇的生产。选用的微生物是酿酒酵母，与运动发酵单胞菌相比，这种菌即使在非完全无菌

的情况下，也不易感染乳杆菌。在培养时，使用富含氮源和矿物质的培养基，经过一个需氧生长期后，停止通气，20 h后，乙醇的产量可达到理论最大值的90%。由于代谢物的抑制作用，高浓度的葡萄糖可使本过程受到抑制，可通过连续或半连续补加糖（补料分批发酵）来预防。由于乙醇浓度>8%（通常在72 h后达到）会抑制酵母代谢，所以要将含有乙醇的培养基除去，通常通过共沸蒸馏来分离乙醇，生成95%的乙醇（可用于汽车）可用萃取蒸馏、分子筛和膜技术（过蒸气化）来制备无水乙醇。在一些工艺中，如Melle-Boinot工艺，在收集含有乙醇的培养基时，通过分离器收集到的细胞可重新利用，作为下一批的预培养物，这种工艺缩短了总的发酵时间。已研制成功了乙醇连续发酵的方法，偶尔也使用。也研制了将酵母和细菌固定在一种支持材料上的细胞反应器实验，并进行了小规模实验。

经济方面的考虑 在工业乙醇发酵工艺中，大多使用甘蔗汁（巴西）和玉米淀粉水解物（美国）。目前，有700个发酵工厂生产生物乙醇。巴西1975年启动了一个“Proalcool”计划，目标是降低石油进口，在100多个发酵工厂中，使用简单的技术（连续发酵、蒸馏），每年从甘蔗和糖蜜中生产120亿升乙醇（2001年）。美国从1975年开始，在汽车燃料中添加10%的乙醇（来自玉米淀粉），2001年产80亿升。这种技术比较麻烦（如发酵、过蒸气化）。在这两个国家，发酵的固体物（细胞团和固体培养基成分）当作饲料出售，日本已建立了几个基于固定化酵母的生物乙醇生产示范工厂。

乙醇


 M_r 46.07

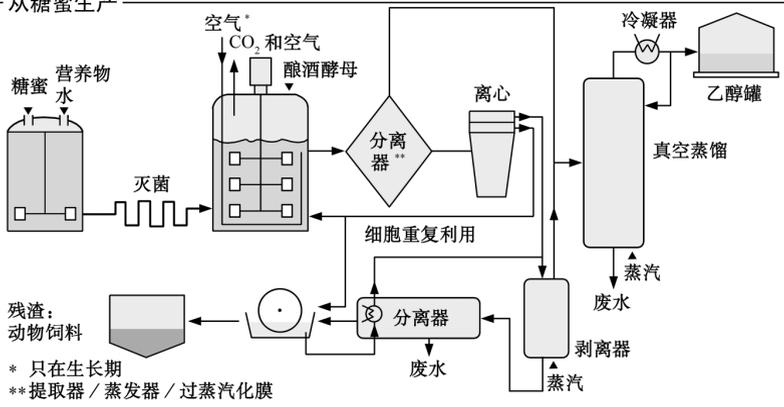
 D . 0.793 67(15°C)

b.p. 78.32°C 工业生产:

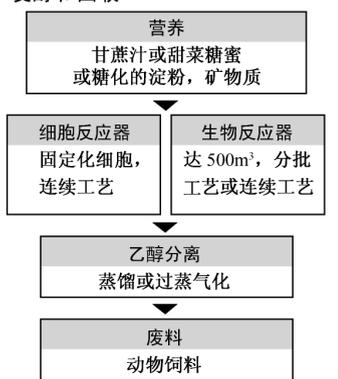
CAS 64-17-5 主要是乙烯和水的加成反应, 使用催化剂



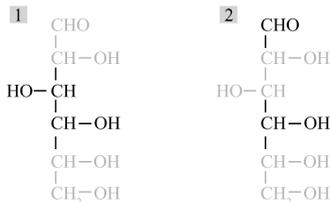
从糖蜜生产



发酵和回收



乙醇



在用 1 和 2 对葡萄糖进行代谢时乙醇 C 原子的来源

1 酿酒酵母

糖酵解

2 运动发酵单胞菌

KDPG 通路

微生物	系统	葡萄糖加量 /(g·L ⁻¹)	稀释倍数 /h ⁻¹	细胞浓度 /(g·L ⁻¹)	乙醇浓度 /(g·L ⁻¹)	最大产率 /(g·L ⁻¹)
①酿酒酵母	无细胞重利用	100	0.17	12	41	7.0
①酿酒酵母	细胞重利用	100	0.08	50	43	29
②酿酒酵母	细胞重利用	150	0.53	48	60.5	32
①酿酒酵母	细胞重利用 真空 (6.7kPa)	334	0.23	124	110~160	82
③运动发酵 单胞菌	细胞重利用	100	2.7	38	44.5	120

①ATCC 4126 ②NRL Y-132 ③ATCC 10988

1-丁醇、丙酮

概述 1-丁醇（全球年产量约为120万吨）是一种重要的汽车漆溶剂和生产酯（例如丁基纤维素）的基本材料，在石油化学诞生之前，它被广泛用于通过丁-1,4-二烯生产合成橡胶。丙酮（全球年产量约为300万吨）也用作溶剂。在第一次世界大战期间，它的需求很大，用于生产线状无烟火药，这是英国海军使用的一种炸药。目前，广泛地使用石油化学原料来生产这两种化合物。但在1950年以前，大多是使用梭菌通过发酵来生产的，以淀粉或糖蜜为碳源。1915年，俄国/英国化学家 Chaim Weizmann（后来成为以色列的第一届总统）发明了工业生产工艺。由于分子遗传学和加工技术的发展，发酵生产这两种溶剂最终又会在商业上具有吸引力，因此被作为一种保留技术而进行研究。

微生物和生物合成 在能够生成丙酮和1-丁醇的极少数厌氧菌中，梭菌属是最重要的。在发酵过程中，在细胞生长的末期，由生成丁酸和乙酸（乙酸生成）变为生成丁醇，这时pH下降至5以下，各个菌种之间这种产物混合物的成分存有差异，研究最细的微生物是丙酮丁醇梭菌（*Clostridium acetobutylicum*），它对所形成的细胞毒性溶剂表现出很高的耐受性，能将100g葡萄糖形成达38g的1-丁醇和丙酮，产率为3:1。许多梭菌合成淀粉酶、淀粉葡萄糖酶和其他细胞外水解酶，这样便能代谢便宜的碳源，如淀粉。另一个有吸引力的经济的选择是利用乳糖（乳清）。对参与这两种溶剂生物合成的酶进行详细的研究，对其基因进行了克隆。通过糖酵解形成丙酮酸，在丙酮酸和铁氧化

还原蛋白氧化还原酶的参与下，丙酮酸通过脱羧作用，生成乙酰辅酶A，使用NADH通过糖酵解进一步还原成几种C₂-、C₃-或C₄-代谢物，还有一种氢化酶参与，它将一些电子转移到质子上生成氢。为了提高溶剂的产量以及改善其组成成分（代谢工程），对这些酶的调节进行了深入的研究，对丙酮丁醇梭菌的基因组进行了全测序，这样，由于能够得到用于大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的穿梭载体、特异的噬菌体和转座子，所以这种菌很有希望用于克隆工作。使用适当的基因构建体来转化野生型和生产菌株，可显著地提高溶剂的产量。

发酵和回收 使用丙酮丁醇梭菌和体积大于100 m³的补料发酵罐来大规模生产丙酮和1-丁醇，此工艺已用了40多年，在本工艺中，底物成本为60%，产品蒸馏的能源成本为12%。目前，在美国和南非使用了40多年的以玉米淀粉和蜜糖为碳源的批发酵工艺与基于石油化学的合成工艺相比，已失去竞争力。重新使用发酵工艺的决定性因素是原料产量（每千克糖产生的溶剂的千克数）和本工艺的生产性能（每升每小时生产出的溶剂克数）。现代工艺的发展主要瞄准：①细胞重新利用的二相工艺；②连续发酵工艺；③使用固定化微生物；④通过膜工艺（过蒸汽化、逆渗透）改善从发酵培养基中的溶剂回收率。这样，除了开发了耐受溶剂的生产菌株以外，通过基因工程和代谢工程提高产量、工艺工程（特别是下游处理）的优化，是使这种在历史上发挥过重要作用的发酵工艺复活的根本。

1-丁醇



M_r 74.12

D 0.813

m.p. $-90^\circ C$

b.p. $117\sim 118^\circ C$

CAS 71-36-3

1-丁醇的化学合成：
丙烯加氢醛化和氢化



丙酮



M_r 58.08

D 0.7908

m.p. $-95^\circ C$

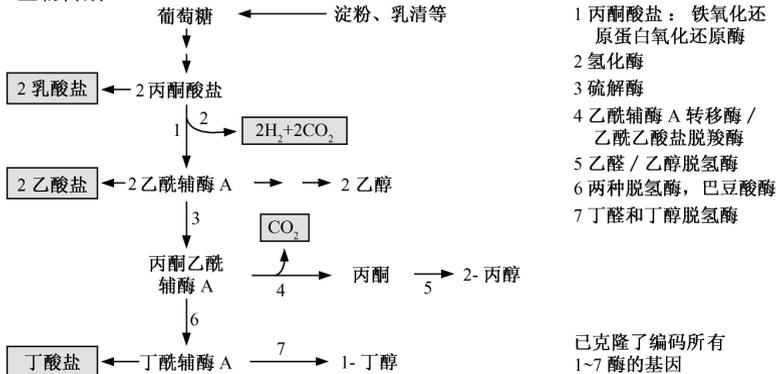
b.p. $56^\circ C$

CAS 67-64-1

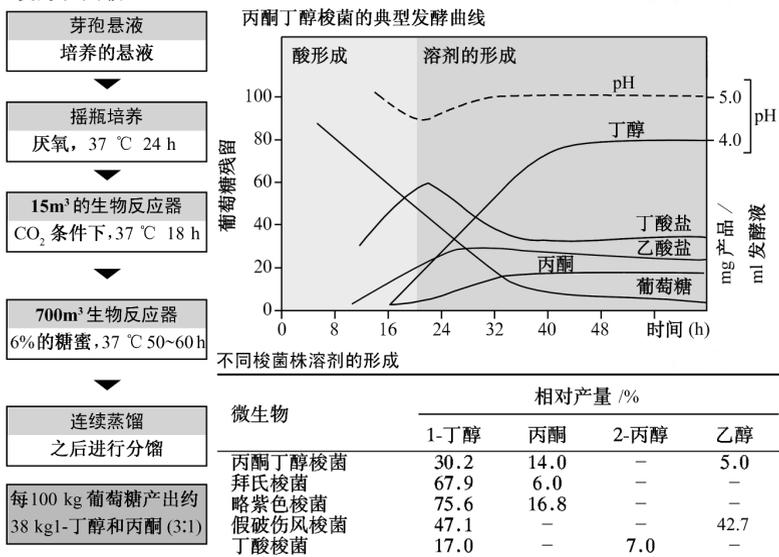
丙酮的化学合成：
2-丙醇催化脱氢、丙烯直接
氧化、氢过氧化异丙苯的裂解



生物合成



发酵和回收



醋酸 醋

概述 在许多文化中，醋被用于蔬菜、生菜、米和其他食品的酸化和保存，它在这些食品和提神饮料中的应用可以追溯到古代，以前是从发酵的水果汁（如葡萄酒）中生产，现在仍然是这样。在18世纪，在法国研制成了“固相工艺”，即将稀释的葡萄酒缓慢地通过污染有醋酸菌的小嫩枝。Louis Pasteur于1868年定义了醋酸菌选择性生长的条件，这样便建立了现代醋生产工艺的基础。在那些日子里，使用醋酸杆菌属的菌株通过发酵从乙醇中生产醋，如果用葡萄酒作原料，产品为葡萄酒醋（6%的醋酸水溶液，pH约为4.8），如果用精馏的乙醇，醋的浓度为5%。美国自己的年产量约为7.5亿升或75万吨，冰醋酸（99.7%）是一种重要的化学原料，它是通过催化氧化反应从乙烯生产的， pK_a 为5.6。在美国，用玉米淀粉生产的醋酸钙镁（熔点 -7.7°C ）被提出作为抗冻剂（Nicer De-Icer）。

微生物和生物合成 只有极少数葡糖酸杆菌属和醋酸杆菌属的菌能够通过“亚端氧化”将醋酸氧化成乙醇，对这些菌的分类很复杂，因为在其生长过程中，其表型变化很快，通常要通过测定其16S RNA的类型来进行分类，最近也通过分析其质粒特性来分类。通过乙醇脱氢酶（ADH）和乙醛脱氢酶（ALDH）连续的反应来进行乙醇的氧化反应，这两种酶都是膜结合的酶，含有吡咯喹啉（pyrroloquinoline）醌^①作为辅基，ADH含有一个额外的亚铁血红素C残基，它们通过辅酶Q将乙醇氧化反应所产生的电子转移到一种膜结合的末端氧化酶上。在生长期，这些菌通过糖酵解和KDPG通路，进一步

通过柠檬酸循环将葡萄糖代谢成丙酮酸，两个菌株都对缺氧敏感，即使中断供氧仅几分钟也将导致乙醇氧化显著下降，如果乙醇耗尽，在 O_2 的存在下，醋酸进一步氧化成 CO_2 。

发酵和回收 工业化生产醋酸时，使用醋酸杆菌。在剧烈的通气条件下，将这种微生物在含有葡萄酒或精馏乙醇、其他营养物和浓度大于 $60\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸的醪液中培养，以防止醋酸的进一步氧化。这一过程以反复分批补料的方式进行，一旦乙醇浓度降至约0.2%（乙醇传感器），则除去一定量的发酵液，补充新的醪液。由于需要很均匀的通气（0.1vvm，即每分钟每发酵罐体积0.1体积的空气），使用高效的转子/定子搅拌器，并带有启动通风装置（Frings通风装置）。酸形成开始时很快，并产热，通过散热器将热量散掉。使用这种工艺，一个 100 m^3 的生物反应器的平均产量为每升每小时1.6g醋酸。使用特殊的起始培养物和适当的监测和控制，这一工艺可以在50~70h内生成17.5%的醋溶液，如果再发酵45~55h，可以得到像罐头制造业所需的更浓的溶液（达21%），一旦醋酸浓度达到20%，醋酸菌便死亡，发酵结束。原醋通过膜工艺过滤和纯化、巴氏消毒，稀释成可在市场上出售的5%~6%的醋溶液，醋酸全球供应量的约70%是在700多个这种设计的生物反应器（Frings醋酸发酵罐）中生产的，其他的生产工艺，如带细胞重复利用的连续发酵或在气升式生物反应器中使用固定化的醋酸菌，有时可以得到较高的产量（达 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 以上）。

① PQQ，原文误为PAA。——译者注

醋酸



M_r 60.05

Sdp. 117.9 °C

pK_a 4.76(25 °C)

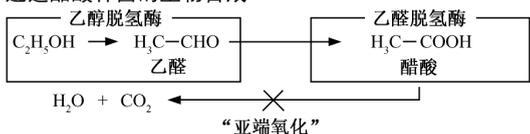
CAS 64-19-7

化学合成:

乙烯和氧
或甲醇和 CO 的加成反应



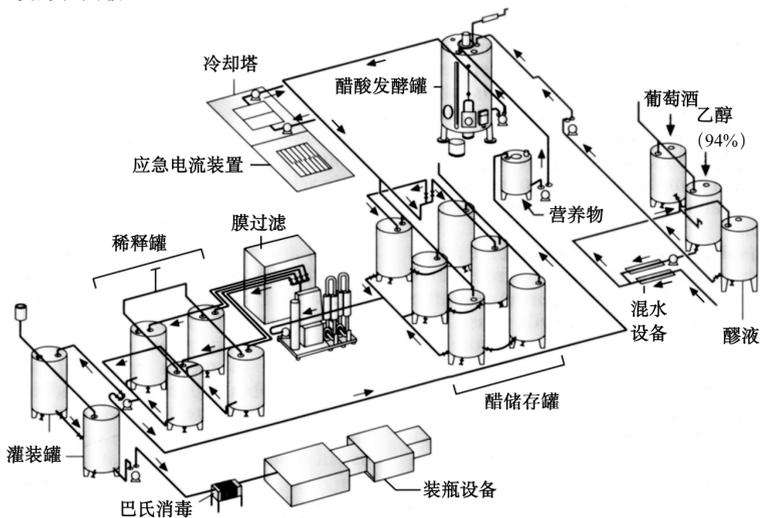
通过醋酸杆菌的生物合成



膜结合的、依赖 PQQ 的脱氢酶通过辅酶 Q 将乙醇氧化反应所产生的电子转移到一种膜结合的末端氧化酶上。



发酵和回收



其他工艺

	最大醋 产量/%	产率 /(L·m ⁻³ ·d ⁻¹)	备注
标准工艺(反复批发酵)	15	35~50	简单工艺方案
一步法高百分比工艺	18.5	30~50	高醋浓度,低储存和运输成本
两步法高百分比工艺	>20	30~50	高醋浓度,低储存和运输成本
连续工艺	>10	达 60	高醋浓度,低储存和运输成本
固定化醋酸杆菌(实验)	<9	-	液体补给或气升式反应器,达 460 天