



工业微生物学基础

章名春 编著

上海科技教育出版社

工业微生物学基础

章名春编著

上海科技教育出版社

内 容 简 介

本书主要介绍微生物在工业发酵中的应用及其基础知识。书中涉及的面较广，诸如氨基酸和抗生素的发酵、酶制剂、有机溶媒和有机酸发酵、核酸类发酵、微生物多糖和微生物脂肪、生理活性物质(如维生素、激素、植物生长调节剂)生产、食品发酵、单细胞蛋白、石油烃类非糖质原料发酵、污水净化及细菌冶金等，对其所采用的细菌、放线菌及真菌(酵母菌和霉菌)菌种，微生物的培养和生长，代谢，遗传，菌种保藏和实验技术均作了梗概介绍。附录中介绍了各国菌种保藏机构名单。

本书可供科研单位、大中专院校、乡镇企业、工厂的科技人员、技术工人参考，也可作为培训教材。

工业微生物学基础

章名春 编著

上海科技教育出版社出版、发行

(上海冠生园路393号)

各地新华书店经销 上海东方印刷厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 12 字数 267000

1990年8月第1版 1990年8月第1次印刷

印数 1—500

ISBN7-5428-0364-6

G·365

定价：4.00元

前　　言

微生物工业是十分活跃的领域。随着分子生物学的崛起和其他现代新技术的开发应用，微生物工业有了蓬勃发展，遍及工、农、医等国民经济领域的各个方面，种类繁多的产品得到了开发、生产，其发展前景不可估量。

笔者长期从事于微生物的研究和生产，在同行们的鼓励和支持下，写成了本书，想为微生物工业领域中从事科研和生产的有关人员提供一本基础知识方面的较实用的参考资料。

本书共分 7 章。第一章概述当前微生物工业诸领域的发展概况；第二章对微生物工业中应用的菌种作较全面的介绍，并将所收集到的各种发酵产品的有关菌种资料汇编列表；第三章介绍如何培养优良菌种的一些基本知识；第四、五两章介绍微生物生命活动的基础代谢和代谢调节；第六章是微生物遗传和良种选育的基础知识；第七章是工业微生物实验方法及综述国内外微生物资源利用动态和有关组织情况，并简要介绍了各种菌种保藏方法。

书中附表偏重于实用价值，为笔者亲自从工作中获得的材料，大部分系从散见的各种资料中搜集的。

限于水平，本书能否达到预期目的，尚待实践检验，错漏之处，敬请专家、学者及广大读者不吝赐教，予以指正。

本书承陆青同志多方协助，使之得以早日脱稿，特致谢意。

作者

1988 年 7 月

目 录

前言

第一章 微生物在工业发酵中的应用 1

1.1 氨基酸发酵	2
1.2 抗生素发酵	10
1.3 酶制剂	17
1.4 有机溶媒与有机酸发酵	25
1.5 核酸类发酵	32
1.6 微生物多糖和微生物脂肪	34
1.7 生理活性物质生产	38
1.8 食品发酵	46
1.9 单细胞蛋白	47
1.10 石油烃类非糖质原料发酵	50
1.11 其他	51

第二章 微生物工业中的菌种 58

2.1 微生物的分类	58
2.2 原核微生物和真核微生物	59
2.3 细菌	67
2.4 放线菌	84
2.5 真菌——霉菌	97
2.6 真菌——酵母菌	112

试读结束：需要全本请在线购买：www.ertongbook.com

2.7 噬菌体及其对工业发酵的影响	116
第三章 微生物的培养和生长..... 124	
3.1 微生物的培养	124
3.2 微生物的生长	150
第四章 微生物的代谢..... 167	
4.1 酶	167
4.2 糖类的代谢	177
4.3 氮源代谢	191
4.4 脂肪的代谢	196
4.5 核苷酸的代谢	199
第五章 微生物的代谢调节..... 205	
5.1 酶活性的调节	207
5.2 酶合成的调节	209
5.3 分支途径的反馈调节	215
5.4 ATP 调节.....	220
5.5 细胞膜透性的调节	221
5.6 次级代谢及其调节	222
5.7 代谢调节在工业发酵中的应用	237
第六章 微生物的遗传..... 241	
6.1 遗传的物质基础——DNA	241
6.2 遗传密码	246
6.3 遗传信息的转录与转译:RNA和蛋白质的合成	249
6.4 遗传物质的存在形式	257

6.5	突变.....	268
6.6	细菌遗传.....	279
6.7	放线菌遗传.....	283
6.8	酵母遗传.....	285
6.9	霉菌遗传.....	286
6.10	原生质体融合.....	288
6.11	重组 DNA 技术.....	289
第七章 工业微生物实验技术.....		293
7.1	器皿和装备	293
7.2	显微镜	299
7.3	微生物纯种分离法	303
7.4	生产种子制备法	305
7.5	诱变育种方法	316
7.6	突变株筛选方法	323
7.7	原生质体融合法	333
7.8	菌种保藏	337
附录 各国菌种保藏机构名单		363
主要参考文献目录		372

第一章 微生物在工业发酵中的应用

人类在对微生物有系统性的理性认识以前，已经从事了酿酒、作醋和制酱等传统发酵作业。5千多年前，我国就已有这类活动的记载。但科学的微生物发酵技术的建立，则是在近代微生物学奠基人巴斯德发现微生物以后。他不仅用显微镜观察到酒类发酵中有酵母存在，并证明了不同种类的酵母能产出不同品种的酒，以及酒的变质是由于其他微生物作祟。巴氏的创造性活动，奠定了近代微生物学的发展基础，开辟了人类自觉地利用微生物的道路。以后，无菌操作的发展，微生物纯培养的兴起，给微生物发酵技术的发展开创了广阔前景。其他科学技术的进步和渗透，以及人类的客观需要的增长，又大大地推进了微生物发酵技术的发展。第一次世界大战期间，由于炸药原料甘油和丙酮短缺，促进了甘油和丙酮发酵的工业化；由于战争造成一些国家食品短缺，食用酵母工业应运而生。第二次世界大战中，由于治疗战地伤病员的迫切需要，促进了抗生素工业生产。其后，通气搅拌深层沉没发酵又开创了工业发酵的新局面。随着生物化学、酶化学、遗传学、生物物理学、生化工程技术以及分子生物学技术的长足进步，微生物发酵工业日新月异。现代化工技术的渗透、DNA重组、细胞融合等新技术的结合应用，又建立和发展了一系列崭新的工业发酵领域，使微生物发酵工业在人类生活中日益发挥更大作用，给人类带来巨大的社会效益和经济效益。现分别按不

同的工业发酵领域中微生物的应用情况作简略介绍。

1.1 氨基酸发酵

由于应用范围不断扩展，氨基酸生产近年来发展十分迅速。19世纪初，它们只能由动植物蛋白质分解制得，分离非常困难。1850年，人工合成的丙氨酸出现。以后其他一些品种如甘氨酸、甲硫氨酸等也都发展了合成法工业生产。合成法产品都是DL混合型，而除了D-甲硫氨酸外，药用或食用一般只要L-型。混合型产品如要提纯为L-型，需经光学离析，很不经济。但如改用发酵法，所得产品多为单一L-型产品，因而发酵法蓬勃兴起，目前已有17种氨基酸可用直接发酵或酶法生产。

1.1.1 微生物直接发酵生产氨基酸

本法所用原料有糖质(包括废糖蜜、蔗糖、葡萄糖、淀粉或其水解物等)、醋酸、醇类或烷烃类等。

氨基酸在细胞内生物合成受代谢调节严格控制，其自然生产量一般只限于满足生物自体消耗，因而产量往往有限。后来人们发现在少数野生菌株中，某些氨基酸有超常产生的生理现象，因而设想对此加以利用。1956年木下祝郎首创用谷氨酸棒杆菌(*Corynebacterium glutamicum*)生产谷氨酸。以后，随着氨基酸生物合成代谢和代谢调节机制的深入研究，人们进而采用人工诱发缺陷型和代谢调节型突变株，使氨基酸发酵生产品种和产量都大大增加，从而推动了氨基酸工业的发展。

一、野生型菌株发酵

主要产品为谷氨酸，次之有丙氨酸和缬氨酸。谷氨酸产生菌多为革兰氏阳性短杆菌（有时呈球形），不产孢子，无运动性。生物素对谷氨酸产量影响很大，有时需采取限制措施。加入青霉素或 $C_{16} \sim C_{18}$ 饱和脂肪酸可以改善细胞膜透性，使谷氨酸分泌出体外而蓄积。

从自然界分离出了大量野生型谷氨酸产生菌，其代表性菌株主要有：

1. 棒杆菌属 (*Corynebacterium*)：谷氨酸棒杆菌 (*C. glutamicum*)、百合棒杆菌 (*C. lilyum*)、美棒杆菌 (*C. callunae*)、力士棒杆菌 (*C. herculis*)；
2. 短杆菌属 (*Brevibacterium*)：叉开短杆菌 (*B. divaricatum*)、产氨短杆菌 (*B. ammoniagenes*)、黄色短杆菌 (*B. flavum*)、乳发酵短杆菌 (*B. lactofermentum*)、溶糖短杆菌 (*B. saccharolyticum*)、玫瑰色短杆菌 (*B. roseum*)、丙氨酸短杆菌 (*B. alanicum*)、硫殖短杆菌 (*B. thiogentalis*)；
3. 微杆菌属 (*Microbacterium*)：嗜水杨苔微杆菌 (*M. salicinovolum*)、嗜氨微杆菌 (*M. ammoniphilum*)、黄色微杆菌谷氨酸变株 (*M. flavum var. glutamicum*)；
4. 节杆菌属 (*Arthrobacter*)：球形节杆菌 (*A. globiformis*)、生氨节杆菌 (*A. aminoaciens*)。

二、营养缺陷型突变株发酵

上文曾提到，氨基酸生物合成存在着严格的调节机制。例如：在 $X \rightarrow A \rightarrow B \rightarrow C$ 这一生物合成反应中，有 C 对于 $X \rightarrow A$ 的反馈抑制，使 A、B、C 的产量都受到严格限制。但是，如果

通过人工诱发突变得到需要 C 的缺陷型突变株，这一突变株因缺乏 B→C 反应酶，其自身不能合成 C，从而使 C 不能达到反馈抑制所需的浓度，于是 X→A→B 代谢途径通行无阻，结果使 B 的蓄积达到人们的期望。运用这一原理，最早是采用谷氨酸棒杆菌的苏氨酸和甲硫氨酸缺陷型，成功地生产了 L- 赖氨酸。其后，通过筛选出大量缺陷型突变株，其生产能力明显高于野生型菌株，使多种氨基酸均得以采用发酵法进行工业生产（表 1.1）。

表 1.1 缺陷型突变株生产的氨基酸

氨基酸 名称	微 生 物 名 称	"-"为缺陷型 标记	备 注
L-谷氨 酸	硫殖短杆菌 溶链烃棒杆菌 (<i>Coryneb. alkanolyticum</i>)	ole- glycerol- Ile-	ole=油酸 甘油缺陷型 Ile=异亮氨酸
L-脯氨 酸	黄色短杆菌 谷氨酸棒杆菌 短杆菌 (<i>Brevibacterium sp.</i>) 栖糖蜜棒杆菌 (<i>Coryneb. molassescola</i>) 链形库特氏菌 (<i>Kurthia cateniforma</i>)	Ile- His- Tyr-、Phe- Ser-	His=组氨酸 Tyr=酪氨酸 Phe=苯丙氨酸 Ser=丝氨酸
L-缬氨 酸	谷氨酸棒杆菌	Ile-、Leu-	Leu=亮氨酸
L-赖氨 酸	谷氨酸棒杆菌 黄色短杆菌	Hom-、Thr-、 Met-	Hom=高丝氨酸
L-瓜氨 酸	枯草杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>) 黄色短杆菌 谷氨酸棒杆菌	Thr- Arg- Arg-	Thr=苏氨酸 Met=甲硫氨酸 Arg=精氨酸
L-亮氨 酸	谷氨酸棒杆菌	Arg- Arg- His-、phe-	
L-鸟氨 酸	柠檬节杆菌 (<i>Arthrobacter citreus</i>)	Cit-、Arg-	Cit=瓜氨酸

(续表)

氨基酸 名 称	微 生 物 名 称	⁻ 为缺陷型 标记	备 注
L-苯丙 氨酸	谷氨酸棒杆菌	Arg ⁻	
L-甲硫 氨酸	谷氨酸棒杆菌	Tyr ⁻	
L-苏氨 酸	谷氨酸棒杆菌	Thr ⁻	
L-高丝 氨酸	大肠杆菌 (<i>E. coli</i>)	Dap ⁻ 、Met ⁻	Dap = 氨基 庚二酸
L-酪氨 酸	谷氨酸棒杆菌	Ile ⁻	
L-色氨 酸	谷氨酸棒杆菌	Thr ⁻	
L-组氨 酸	雷氏变形菌 (<i>Proteus rettgeri</i>)	Phe ⁻ 、Purine ⁻	Purine = 嘧啶
		Ile ⁻ 、Val ⁻	Val = 缬氨酸

三、代谢调节型突变株发酵

这类突变株多数为类似物抗性突变株。它们的被发现和应用，扩大了氨基酸的生产范围。在实践中，有时集合了缺陷型及代谢调节型突变标记于同一突变株上而取得高产变株。(表 1.2)

1.1.2 氨基酸的酶法生产

氨基酸的酶法生产(表1.3)，源于近年来工业微生物重要技术革新成果——固定化酶技术。固定化酶技术具有连续运行、原料直接转化为产品的特点，方法简便，用酶量较少。固定化细胞则比固定化酶更胜一筹，它不但可固定微生物母体，而且可固定增殖的细胞，又无需用酶提取。不仅节约分离及

表 1.2 代谢调节型突变株生产氨基酸

氨基酸	微生物	遗传标记	生产能力(g/l)
L-精氨酸	黄色短杆菌	TA ^r	34.8
	枯草杆菌	ArgHx ^r	4.5
L-组氨酸	谷氨酸棒杆菌	D-ser ^r 、D-Arg ^r 、ArgHx ^r 、Ile回复突变株TA ^r 、SG ^r 、AHV ^r 、ETH ^r 、ABTr ^r	19.6
	黄色短杆菌	TRAr ^r 、MGr ^r 、AG ^r 、TUR ^r 、MP ^r 、5MT ^r	10
	谷氨酸棒杆菌 (<i>Serratia marcescens</i>)	Hisd ⁻ 、TRA ^r	15
L-异亮氨酸	黄色短杆菌	AHV ^r 、DMTr ^r	14.5
	粘质沙雷氏菌	IleHx ^r 、ABA ^r	12
L-亮氨酸	谷氨酸棒杆菌	Met ⁻ 、AHV ^r 、AEC ^r	10.6
	乳发酵短杆菌	TA ^r 、Met ⁻ 、Ile ⁻	28
L-赖氨酸	粘质沙雷氏菌	ABA ^r 、Ile回复突变株	13.6
	黄色短杆菌	AEC ^r	57
L-苯丙氨酸	谷氨酸棒杆菌	Ty ^r ⁻ 、PFP ^r 、PAP ^r	9.5
L-色氨酸	黄色短杆菌	Phe ⁻ 、5FT ^r 、PFP ^r	6.2
	谷氨酸棒杆菌	5MT ^r 、TrpHx ^r 、5FT ^r 、4MT ^r 、PEPr ^r PAP ^r 、TyrHx ^r 、PheHx ^r	12
L-酪氨酸	谷氨酸棒杆菌	AT ^r 、PAP ^r 、PFP ^r	17.6
L-苏氨酸	黄色短杆菌	AHV ^r 、Met ⁻	18
	谷氨酸棒杆菌	Met ⁻ 、AHV ^r 、AEC ^r	14
L-缬氨酸	乳发酵短杆菌	TA ^r	31

“-”=缺陷型; “r”=抗性标记; TA=2-噻唑精氨酸; ArgHx=精氨酸氧肟(*Arginine hydroxamate*); SG=磺胺胍; AHV= α -氨基- β -羟基戊酸; ETH=乙基硫氨酸; ABT=2-氨基苯噻唑; TRA=1,2,4-三唑丙氨酸; MG=6-巯基胍; AG=8-氨基嘌呤; TU=4-硫尿嘧啶; MP=6-巯基嘌呤; Hisd=组氨酸酶; 5MT=5-甲(基)色氨酸; 4MT=4-甲(基)色氨酸; OMT=O-甲基苏氨酸; IleHx=异亮氨酸氧肟; ABA= α -氨基丁酸; AEC=S-(2-氨基乙基)-L-半胱氨酸; PFP=对氟苯丙氨酸; PAP=对氨基苯丙氨酸; 5FT=5-氟色氨酸; 3FP=3-氟苯丙氨酸; PEP=对乙基苯丙氨酸; TrpHx=色氨酸氧肟; PheHx=苯丙氨酸氧肟; TyrHx=酪氨酸氧肟。

提纯费用,且可使酶保持其原始状态,损失很小。L-天冬氨酸和L-丙氨酸已分别于1973年和1982年进行了酶法工业化生产。此外,L-赖氨酸、L-色氨酸、L-半胱氨酸及L-胱氨酸的酶法生产开发也有较大进展。

表1.3 酶法生产氨基酸

氨基酸	酶	酶源
L-丙氨酸	天冬氨酸脱羧酶 (aspartate decarboxylase)	<i>Pseudomonas docunhae</i>
L-天冬氨酸	天冬氨酸酶 (aspartylase)	大肠杆菌
L-半胱氨酸	DL-2-氨基噻唑啉-4-羧酸消旋酶 (DL-2-aminothiazoline-4-carboxylate racemase) L-2-氨基噻唑啉-4-羧酸酯水解酶 (L-2-aminothiazoline-4-carboxylate hydrolase) S-氨甲酰基-L-半胱氨酸水解酶 (S-carbamoyl-L-cysteine hydrolase)	嗜噻唑啉假单胞菌 (<i>Pseudomonas thiazolinophilum</i>)
	半胱氨酸脱巯基酶 (Cysteine desulphahydrolase)	产气气杆菌 (<i>Aerobacter aerogenes</i>)
L-赖氨酸	D-己内酰胺消旋酶 (D-caprolactam racemase)	奥贝无色杆菌 (<i>Achromobacter obae</i>)
	L-己内酰胺水解酶 (L-caprolactam hydrolase)	
L-苯丙氨酸	D-苯丙氨酸乙内酰脲消旋酶 (D-phenylalanine hydantoin racemase) L-苯丙氨酸乙内酰脲水解酶 (L-phenylalanine hydantoin hydrolase) N-氨甲酰基-L-苯丙氨酸水解酶 (N-carbamoyl-L-phenylalanine hydrolase)	氨基酸黄杆菌 (<i>Flavobacterium aminogenes</i>)

(续表)

氨基酸	酶	酶源
L-色氨酸	色氨酸酶(Tryptophanase)	勒氏青霉 (<i>Penicillium rettgeri</i>)
	D-色氨酸乙内酰尿水解酶 (D-tryptophan hydantion hydrolase)	氨基酸黄杆菌
	N-氨甲酰基-L-色氨酸水解酶 (N-carbamoyl-L-tryptophan hydrolase)	
	L-色氨酸水解酶 (L-tryptophan hydrolase)	
L-酪氨酸	酪氨酸苯酚裂解酶 (Tyrosine phenol lyase)	草生欧文氏菌 (<i>Erwinia herbicola</i>)

表 1.4 氨基酸工业生产概况¹⁾(1979年,世界产量)

氨基酸	主要生产方法	产量 (t/a)	氨基 酸	主要生产方法	产量 (t/a)
丙氨酸	酶 法	130	亮 氨 酸	提 取、发 酵	150
精氨酸	发 酵 法	500	赖 氨 酸	发 酵 法	25 000
天冬酸	酶法、化 学 法	50	DL-甲硫氨酸	化 学 法	180 000
天冬氨酸	酶 法	250	鸟 氨 酸	发 酵 法	50
瓜氨酸	发 酵 法	50	苯丙氨酸	化 学 法、发 酵 法	150
胱氨酸	抽 提 法	700	脯 氨 酸	发 酵 法	100
(及半胱氨酸)					
谷氨酸	发 酵 法	270 000	丝 氨 酸	发 酵 法、化 学 法	50
谷氨酰胺	发 酵 法	500	苏 氨 酸	发 酵 法	160
甘氨酸	化 学 法	6 000	色 氨 酸	化 学 法	200
组氨酸	发 酵 法	200	酪 氨 酸	提 取 法	100
异亮氨酸	发 酵 法	150	缬 氨 酸	发 酵 法、化 学 法	150

1) 引自 K. M. Herrmann, et al: Amino Acids biosynth. and genet. regulation, 1983.

生物工程技术的进展还推进了另一些氨基酸的生产, 如苏氨酸和高丝氨酸工程菌的应用, 使生产水平分别达到 30 和

60g/l。近年还发展了一种微生物酶促反应结合化学合成法来生产氨基酸，例如：化学合成的 DL-氨基酸，用固定化氨基酰化酶进行酶法拆分，收率可达 70~90%。

近年来氨基酸生产发展很快，如 L-赖氨酸、L-天冬氨酸等，其产量以 5~10% 的速度增长，1981 年赖氨酸的世界年产量已达 35 000 吨。氨基酸工业生产概况见表 1.4。

1.1.3 氨基酸的用途

一、医药

医用复合大输液中配有 17 种人体必需的氨基酸、保肝药物、降低血氨解除血中毒、抗胃溃疡药、治疗贫血、辐射损伤防护药物等。

二、饲料添加剂

提高产蛋率、瘦肉率、促进生长等等。

三、食品添加剂及调味品

可强化谷物的营养价值，补充天然来源食品的某些不足，如小麦缺赖氨酸，大米缺赖氨酸和酪氨酸，玉米则缺赖氨酸和色氨酸，蚕豆和豌豆缺甲硫氨酸等，适当补入相应的氨基酸，可提高原有食品的营养价值。又如天冬氨酸可作为合成低能量新型甜味剂(L-天冬酰-L-苯丙氨酸甲酯)的主要原料，此化合物比蔗糖甜 150~200 倍。

四、其他

可作表面活性剂、皮革涂料、人造革原料及日用化妆品添加剂等。

1.2 抗生素发酵

抗生素发酵工业始建于第二次世界大战，现已发展成现代发酵工业重要领域之一。其生产一般为次级代谢过程，机制比较复杂，发酵条件对生产影响很大。世界上已筛选出的抗生素达5000种以上，当前每年还以成百种的数量增加，但有临床价值且投入工业发酵生产的品种仅60种左右（不计半合成抗生素）。它们的微生物来源很广，有细菌、放线菌和真菌，除对人身疾病有良好治疗作用外，还可作农、林、牧和禽畜用药，以及禽畜生长促进剂和饲料添加剂等，应用范围仍在不断拓展中。

1.2.1 医用抗生素

主要医用抗生素见表1.5及表1.6。

1.2.2 非医用抗生素

近年来世界上非医用抗生素也有很大发展，如用于饲料添加剂以促进禽畜生长或防治疾病；用于农作物病虫害的防治等；在食品保藏方面，也有开始应用的。