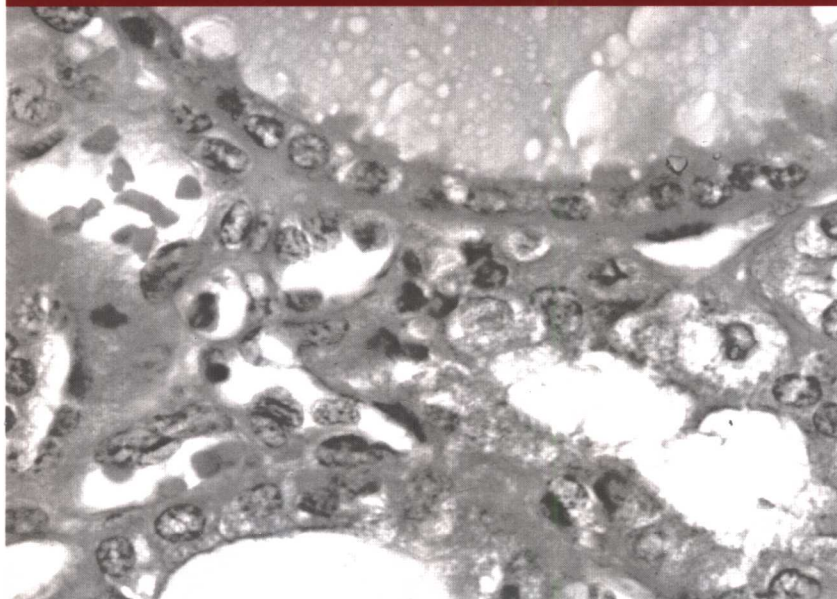


高 等 学 校 教 材

微生物工程 技术原理

程殿林 主编



Chemical Industry Press



化学工业出版社

高等学校教材

微生物工程技术原理

程殿林 主编



化学工业出版社

· 北京 ·

本书系统地介绍了微生物工程领域所涉及的基础理论知识、生产实际应用和新的科技成果。从微生物工程的共性技术到个性举例,对具有代表性的知识进行了较为详细的阐述。

本书共分九章,包括工业微生物菌种及其扩大培养、微生物的生长及代谢与调节、微生物培养基、工业发酵中的灭菌技术、微生物发酵、生物工程下游技术、典型微生物发酵产品生产工艺和废水的生物处理等内容。

本书可作为生物技术、生物工程和食品科学与工程专业本科生的教材,也可供科研和设计部门的工程技术人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

微生物工程技术原理/程殿林主编. —北京:化学工业出版社, 2007.7
高等学校教材
ISBN 978-7-5025-9619-4

I. 微… II. 程… III. 微生物-生物工程-高等学校-教材 IV. TQ93

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 041897 号

责任编辑:何 丽
责任校对:陶燕华

文字编辑:俞方远 周 佩
装帧设计:史利平

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:化学工业出版社印刷厂
787mm×1092mm 1/16 印张17½ 字数464千字 2007年5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:29.00 元

版权所有 违者必究

《微生物工程技术原理》编写人员

主 编 程殿林

副主编 王 燕 王亚楠 郭道森

主 审 贾士儒 天津科技大学教授、博士生导师

编 委 (按姓氏笔画排序)

王 燕 山东轻工业学院教授、博士

王亚楠 青岛大学讲师、博士

卢文玉 天津大学博士后

吉武科 山东食品发酵研究院研究员

林 剑 烟台大学教授

赵玉平 烟台大学副教授、博士

郭道森 青岛大学教授、博士

董永胜 山东轻工业学院副教授、博士

程殿林 青岛大学教授、博士

前 言

从传统的发酵技术到现代生物技术,其发展的时间和空间跨度越来越短。从自然发酵到纯粹培养时期,人类经历了几千年的漫长历程;从纯粹培养到通风搅拌发酵时期用了不到100年的时间;从通风搅拌发酵到代谢控制发酵时期用了约20年的时间;而从代谢控制发酵到基因工程时代仅用了十几年的时间。特别是20世纪90年代以来,生物技术的发展更是异常迅速。

生物技术(或生物工程)包括细胞工程、基因工程、酶工程和微生物工程四大工程技术,其中微生物工程是实现生物技术产业化的最主要的工程技术。任何高新技术的最终目标都是实现产业化,生产对人类有益的产品,造福人类。进入21世纪以来,生物技术已经成为高新技术中最具发展潜力的前沿性和交叉性学科之一,它与人类生活密切相关,其应用范围遍及医药卫生、农林牧渔、轻工食品、化工能源、环境保护和冶金采矿等各个领域,为解决人类当今所面临的食物、健康、环境和能源等诸多重大问题提供了科学的手段并开辟了新的途径。“十一五”时期是世界现代生物技术进入大规模产业化的重要阶段,微生物工程作为现代生物技术的重要组成部分,对生物技术的产业化起着至关重要的作用。

微生物工程是生物技术专业的必修主干课程,作为理工结合的一门交叉学科,作为实现生物技术产业化的关键性技术,受到教学和科研人员的高度重视。但由于微生物工程涉及的面非常广,现有教材也各有侧重,编写一部适合自身实际教学情况、同时又能兼顾其他方面内容的教材显得十分重要。正是基于此,我们组织编写了本教材,参加编写的人员都是长期在微生物工程领域从事教学、科研的专业人员,并已在某一相应领域有所建树。

全书共分九章,第一章由程殿林编写,第二章第一~三节由郭道森编写,第二章第四节由程殿林编写,第三章第一节由郭道森编写,第三章第二节由王亚楠编写,第四章由郭道森编写,第五章、第六章由王亚楠编写,第七章由王燕编写,第八章第一节由程殿林编写,第八章第二节由董永胜编写,第八章第三节由王燕编写,第八章第四节由林剑编写,第八章第五节由卢文玉编写,第八章第六节由吉武科编写,第九章由赵玉平编写,全书由程殿林负责统稿。本书由天津科技大学教授、博士生导师贾士儒担任主审。

本书在编写过程中参考了大量的中外文献,在此向这些前辈和同行们表示衷心的感谢。本书还得到了青岛大学和化学工业出版社的大力支持与帮助,在此一并表示感谢。

生物技术的发展日新月异,由于编者水平所限,不妥之处在所难免,恳请读者斧正。

程殿林

2007年1月于青岛大学

目 录

第一章 微生物工程概述	1
一、微生物工程的概念	1
二、微生物工程的特点	1
三、微生物工程的发展历史	2
参考文献	3
第二章 工业微生物菌种及其扩大培养	4
第一节 常用的工业微生物	4
一、微生物工业对菌种的要求	4
二、常用的工业微生物菌种	4
第二节 工业微生物菌种的选育	12
一、菌种的分离与筛选	12
二、诱变育种	18
三、代谢调节与微生物育种	22
四、基因重组育种	24
第三节 菌种的退化、复壮与保藏	27
一、菌种的退化	27
二、菌种的复壮	28
三、菌种的保藏	29
第四节 菌种的扩大培养	31
一、实验室菌种扩大培养	31
二、生产现场种子扩大培养	31
参考文献	32
第三章 微生物的生长、代谢与调节	33
第一节 微生物的生长	33
一、微生物生长曲线	33
二、微生物生长的测定	35
三、影响微生物生长的因素	37
第二节 微生物的代谢与调节	41
一、分解代谢	41
二、合成代谢	44
三、代谢调节与控制	45
参考文献	57
第四章 培养基	58
第一节 培养基的成分	58
一、碳源	58

二、氮源	58
三、无机盐和微量元素	59
四、生长因子	60
五、促进剂和抑制剂	60
六、水	60
第二节 培养基的配制原则和类型	61
一、培养基的配制原则	61
二、培养基的类型	62
参考文献	64
第五章 灭菌技术	65
第一节 灭菌原理与方法	65
一、化学物质灭菌	65
二、辐射灭菌	67
三、过滤介质除菌	68
四、干热灭菌	68
五、湿热灭菌	68
第二节 培养基灭菌	72
一、实验室培养基灭菌	72
二、大生产培养基灭菌	73
第三节 空气净化	78
一、发酵对空气质量的要求	78
二、空气净化方法	79
三、过滤除菌机理	80
四、空气除菌流程	82
参考文献	91
第六章 微生物发酵	92
第一节 微生物反应动力学	92
一、微生物反应过程的物料衡算	92
二、微生物反应动力学	96
第二节 微生物发酵培养	103
一、分批培养	103
二、反复分批培养	104
三、流加培养	105
四、连续培养	108
第三节 影响发酵过程的主要参数	114
一、基质浓度的影响	114
二、pH 的影响	116
三、温度的影响	118
四、溶解氧的影响	121
五、CO ₂ 的影响	125
六、泡沫的影响	127
参考文献	130
第七章 生物工程下游技术	131

第一节 发酵液的预处理	131
一、改善发酵液的可过滤性	131
二、去除无机离子和杂蛋白质	133
三、固液分离	134
四、细胞破碎	135
第二节 沉淀	138
一、盐析法	139
二、等电点沉淀法	141
三、有机溶剂沉淀法	141
第三节 萃取	142
一、溶剂萃取	142
二、双水相萃取	144
三、超临界流体萃取	145
第四节 离子交换	147
一、离子交换原理	147
二、离子交换树脂	147
三、离子交换操作	149
第五节 色谱分离	150
一、色谱分离原理	150
二、色谱分离介质	151
三、色谱分离方法	153
第六节 膜分离	155
一、膜及组件	156
二、膜分离原理	157
三、膜分离方法	158
第七节 结晶	159
一、结晶的基本原理	159
二、晶体生成	160
三、结晶方法	161
第八节 干燥	161
一、气流干燥	161
二、喷雾干燥	162
三、冷冻干燥	162
参考文献	163
第八章 典型微生物发酵产品生产工艺	164
第一节 啤酒酿造	164
一、啤酒酿造原料	164
二、麦芽制造	170
三、麦汁制备	178
四、啤酒发酵	185
五、啤酒的澄清与稳定性处理	187
六、啤酒包装	190
第二节 酒精生产工艺	190

一、原料及其预处理	191
二、淀粉质原料的蒸煮	192
三、糖化	194
四、发酵	197
五、酒精蒸馏	200
第三节 氨基酸生产工艺	207
一、概述	207
二、淀粉水解糖的制备	209
三、谷氨酸生产菌及其扩大培养	212
四、谷氨酸发酵机制	213
五、谷氨酸发酵控制	215
六、噬菌体与杂菌的污染和防治	218
七、谷氨酸的提取	218
八、由谷氨酸制味精	220
第四节 柠檬酸生产工艺	222
一、概述	222
二、柠檬酸生产菌及其扩大培养	224
三、柠檬酸发酵	226
四、柠檬酸的分离提取	231
第五节 青霉素生产工艺	234
一、概述	234
二、青霉素生产菌	235
三、培养基	235
四、青霉素发酵	236
五、青霉素的提取	237
六、抗生素的精制	239
第六节 黄原胶	239
一、黄原胶的分子结构、特性、分子根源及其应用	240
二、黄原胶生产菌	243
三、黄原胶的生物合成	244
四、黄原胶的工业化生产	246
参考文献	250
第九章 废水的生物处理	252
第一节 概述	252
一、废水来源	252
二、水体主要污染物质	254
三、废水排放标准	255
第二节 废水生物处理方法	259
一、好氧处理	260
二、厌氧处理	267
参考文献	270

第一章 微生物工程概述

生物技术可分为传统生物技术和现代生物技术，现代生物技术是 20 世纪 70 年代在分子生物学基础上发展起来的。进入 21 世纪以来，生物技术已经成为高新技术中最具发展潜力的前沿性和交叉性学科之一，它与人类生活密切相关，其应用范围遍及医药卫生、农林牧渔、轻工食品、化工能源、环境保护和冶金采矿等各个领域，为解决人类当今所面临的食物、健康、环境和能源等诸多重大问题提供了科学的手段并开辟了新的途径。“十一五”时期是世界现代生物技术进入大规模产业化的重要阶段，微生物工程作为现代生物技术的重要组成部分，对生物技术的产业化起着至关重要的作用。

一、微生物工程的概念

生物技术 (biotechnology) 有时也称生物工程 (bio-engineering)，但两者也有所区别。我国在生物科学领域本科专业设置上分生物技术和生物工程两个专业，生物技术是以理为主，以工为辅，理工复合，培养具有理科背景的应用性人才；生物工程则是以工为主，以理为辅，工理复合，培养应用性工程技术人才。

生物技术 (或生物工程) 包括四大工程技术，即细胞工程、基因工程、酶工程和微生物工程，其中微生物工程是使生物技术产业化的主要工程技术。

微生物工程是在过去 (微生物) 发酵工程的基础上不断发展和扩充而来的，所以有时仍称其发酵工程。Fermentation (发酵) 一词最初来自拉丁语 Fervere (发泡)，这是因为在自然发酵 (例如酿酒) 过程中由于生成 CO_2 而出现起泡现象。现代微生物工程技术已经不仅限于传统的厌氧发酵，而多数情况下是有氧过程。所以微生物工程是利用微生物在有氧或无氧条件下的生命活动 (新陈代谢) 来生产人类所需要的有用物质的工程技术，它是一门交叉性学科，需要微生物学、生物化学、细胞与分子生物学、化学工程等多学科交融。

二、微生物工程的特点

由于微生物工程是利用微生物进行生产的一门工程技术，所以不同于化学工程等其他工程，它有自身的特点。

① 能够定向创造对人类有用的新物种。基因工程技术的出现，使得人们可以定向改造原有微生物，使其产生对人类有用的物质。

② 大多数微生物的生长繁殖和代谢生成产物都是在比较低的温度下进行的，与化学合成反应相比，反应条件温和得多，因此可以节约大量能源和冷却水。同时，微生物适宜的 pH 接近中性，减轻了对设备的腐蚀性和对环境的影响。

③ 微生物发酵生产所用的原料通常以碳水化合物为主，这些资源是可再生的，来源广泛，不完全依赖地球上有限的不可再生资源。

④ 微生物生长繁殖速率快、发酵时间短、转化率高，可以大大缩短生产周期，提高设备利用率，降低生产成本。

⑤ 微生物发酵产生的有毒副产物少，生物制品有可靠的安全性。

三、微生物工程的发展历史

微生物工程从自然发酵到基因工程时代，经历了不同的发展阶段，每个时期都有标志性的新技术出现。

1. 自然发酵时期

人类在很早以前就利用微生物自然发酵制造产品，只是当时人们并不认识它的本质，不能从理论上去解释，因此所谓生产都是作坊式的，产品也是粗制品，如酒、酱、醋等。从苏美尔人偶然发现面包或谷物变湿后会发酵并逐渐形成一种有刺激性浆状物，距今已有 6000 年的历史；据载中国在 4000 多年前的夏代就会酿酒；相传中国造酒鼻祖杜康也是在无意中将剩饭倒进树洞里，发现经自然发酵能变成酒。自然发酵经历了漫长的历史时期，由于不了解发酵的本质，所以不能人工控制，只能依赖自然条件，所以产品也是粗放的，质量也不稳定。

2. 纯粹培养时期

17 世纪 80 年代，荷兰人 A. Leeuwenhoek 发明了能够放大 300 倍的显微镜，并首次用自制的显微镜观察到并描述了细菌的形状，为研究微生物提供了有利的工具。19 世纪 60 年代，法国科学家 Louis Pasteur 用实验证明发酵是微生物活动的结果，为后来的微生物纯粹培养奠定了理论基础。19 世纪末丹麦植物学家 Christian Hansen 成功地分离了单个酵母细胞，并发明了啤酒酵母的纯粹培养方法，首先在啤酒厂实现了大规模工业化生产，标志着人类从自然发酵到纯粹培养人工控制发酵的转折。与此同时，德国的 Robert Koch 等完成了细菌的纯粹培养技术，Edward Buchner 证明了酒精发酵是在微生物产生的酶（酒化酶）的催化下进行的，从而揭示了微生物发酵的本质。

3. 通风搅拌发酵时期

1928 年英国细菌学家 A. Fleming 在研究葡萄球菌时发现了由点青霉产生的青霉素，但当时既未分离出来，也没有得到重视。直到 1940 年才由 Haward Florey 和 E. B. Chain 分离精制得到青霉素，并由于战争的需要美国开始大规模生产，由此建立了深层液体通风搅拌培养技术。青霉素的成功产业化开辟了抗生素生产的新纪元，使得链霉素、氯霉素、金霉素、土霉素、四环素等抗生素相继进入工业化生产。抗生素工业的发展为许多微生物发酵产品的生产提供了技术和设备支持，带动了有机酸、酶制剂、氨基酸等初级代谢产物的生产。

4. 代谢控制发酵时期

20 世纪 50 年代日本微生物学者木下祝郎分离得到第一株谷氨酸棒杆菌，而后成功地用于谷氨酸发酵，标志着发酵法生产氨基酸的开始。到目前为止，几乎所有的氨基酸均可用微生物发酵法生产。以谷氨酸棒杆菌为代表的氨基酸生产菌是根据遗传学理论选育出来的典型的营养缺陷型突变株，这些突变株削弱（或打断）了代谢途径中的某些支路或目标产物以后的代谢路径，使得代谢流向着目标产物方向流动，从而积累目标产物。由于营养缺陷型突变株自身不能正常合成某些物质，所以应人工适量添加这些营养物质，以保证菌种的生长。

5. 基因工程时代

20 世纪 70 年代以来，随着生物技术的发展，特别是分子生物学发展迅速，人们对微生物的研究从细胞水平转入到分子水平和基因水平，能够人为地将任意生物有用的特定遗传基因整合到微生物基因中并得到表达，从而定向改变微生物的性状和功能，构建出新的微生物菌种，即“工程菌”。自从 1973 年美国构建出第一个“工程菌”至今，基因工程育种已经成为创造新物种的重要手段之一。

参 考 文 献

- 1 中国发展改革委员会高技术产业, 中国生物工程学会. 中国生物技术产业发展报告 2005. 北京: 化学工业出版社, 2006
- 2 Colin Ratledge, Bjorn Kristiansen. Basic Biotechnology. 北京: 科学出版社, 2002
- 3 瞿礼嘉等. 现代生物技术导论. 北京: 高等教育出版社, 1998

第二章 工业微生物菌种及其扩大培养

第一节 常用的工业微生物

一、微生物工业对菌种的要求

微生物工业发酵所用的微生物称为菌种。微生物是多种多样的，但不是所有的微生物都可作为菌种，即使是同属于一个种 (species) 的不同株 (strain)，也不是所有的株都能用来进行发酵生产。例如，发酵生产碱性蛋白酶 (洗涤剂的重要用酶) 的生产菌种地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis*)，就不是该种菌中所有菌株都能用来作为菌种，而是经过精心选育，达到生产菌种要求的菌株才可作为菌种。用于大规模发酵生产的菌种，不论是野生菌株，还是突变菌株，或是基因工程菌株，应该符合以下基本要求。

① 菌种生长繁殖能力强，具有在较短的发酵周期内产生大量有价值的发酵产物的能力。高产菌株的运用可以在不增加投资的情况下大幅度提高生产能力。

② 菌种的发酵培养基应价格低廉、来源充足、被转化为产品的效率高。如许多发酵工业都是用农副产品配制成发酵培养基，不仅能满足菌种发酵所要求的营养成分，转化率高，而且发酵原料易获得、价格低廉。

③ 菌种发酵后，非目标代谢产物少，而且产品相对容易分离，下游技术能用于规模化生产。

④ 菌种的培养条件易于控制，并具有抗噬菌体感染的能力。

⑤ 菌种的遗传特性稳定，不易变异和退化，这样才能保证发酵过程长期、稳定地进行，同时有利于实施最佳的工艺控制，保证发酵生产和产品质量的稳定性。

⑥ 菌种对人、动物、植物和环境不应该造成危害，还应注意潜在的、慢性的、长期的危害，要充分评估，严格防范。

二、常用的工业微生物菌种

微生物并非生物分类学中的名词，通常是指用肉眼看不见或看不清的微小生物的总称，包括病毒 (viruses)、真细菌 (bacteria)、古细菌 (archeobacteria)、真菌 (fungi)、原生动物 (protozoan) 和某些显微藻类 (algae)。微生物具有个体微小、结构简单、代谢能力强、繁殖速度快、适应能力强、易变异、种类多、分布广等特点。它们不仅是研究生物学基本规律的理想材料，而且被广泛地应用于医学、农业、工业、环境、食品、生物技术等方面，为人类创造巨大的财富。下面简要介绍常用的工业微生物。

(一) 细菌

细菌是一类细胞细而短、结构简单、细胞壁坚韧、主要以二分裂方式繁殖和水生性较强的原核微生物。细菌是微生物的一大类群，在自然界分布广、种类多，与人类生产和生活关

系十分密切,是原核微生物的主要研究对象。

细菌的基本形态可分为球状、杆状、螺旋状三种,分别称为球菌、杆菌和螺旋菌。但也有少数其他形状,如丝状、三角形、方形、星形和圆盘形等。在这三种基本形态的细菌中,发酵工业上常见的是球菌和杆菌,尤以杆菌最为常见。细菌大小因种类而异,大多数球菌为 $0.5\sim 1.5\mu\text{m}$,杆菌一般为 $(0.5\sim 1.0)\mu\text{m}\times(1\sim 5)\mu\text{m}$,螺旋菌一般为 $(0.25\sim 1.7)\mu\text{m}\times(2\sim 60)\mu\text{m}$ 。

细菌可根据革兰染色法区分为革兰阳性菌(G^+)和革兰阴性菌(G^-)两大类。革兰阳性菌的细胞壁化学成分以肽聚糖为主,其次是磷壁酸;革兰阴性菌的细胞壁中肽聚糖含量较低,不含磷壁酸,脂类和蛋白质含量较高。

细菌细胞的构造可分为一般构造和特殊构造两类。一般构造是指一般细菌都有的构造,包括细胞壁、细胞膜、细胞质、核区、核糖体、间体、内含物等;特殊构造是指部分细菌具有的或在特殊环境下才形成的构造,主要有鞭毛、菌毛、性菌毛、糖被(包括荚膜和黏液层)和芽孢等。

1. 革兰阳性菌

(1) 芽孢杆菌属(*Bacillus*) 细胞呈直杆状,单生、成对或短杆状,无荚膜,通常能运动,周生鞭毛,革兰染色阳性,内生一个芽孢,好氧或兼性厌氧,化能有机营养类型。该属中有许多种具有广泛的经济意义,如枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)是重要的工业生产菌种,主要生产蛋白酶、淀粉酶,还可用来生产多肽类抗生素、核苷、氨基酸、维生素、2,3-丁二醇、果胶酶等;地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*)可用于生产碱性蛋白酶、甘露聚糖酶和杆菌肽;多黏芽孢杆菌(*B. polymyxa*)可生产多黏菌素;巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)可产生头孢菌素酰化酶;苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis*)的伴孢晶体可杀死农业害虫如玉米螟虫、棉铃虫,是无公害的农药。该属中尚有炭疽芽孢杆菌(*B. anthracis*)能引起人与畜共患的烈性传染病——炭疽病。

(2) 短杆菌属(*Brevibacterium*) 细胞呈短杆状,一般为 $(0.5\sim 1.0)\mu\text{m}\times(1\sim 5)\mu\text{m}$,无荚膜,大多数不运动,运动的种具有周毛或极毛,革兰染色阳性,无芽孢。该属中的黄色短杆菌(*B. flavum*)是生产多种氨基酸的常用菌种;产氨短杆菌(*B. ammoniagenes*)可用来生产核苷酸类产物如腺苷三磷酸(ATP)、肌苷酸(IMP)、辅酶I、辅酶A等。

(3) 棒状杆菌属(*Corynebacterium*) 细胞呈杆状,菌直或微弯,常呈一端膨大的棒状,折断分裂而呈八字形排列或栅状排列。大多数种不运动,无芽孢,革兰染色阳性。该属中的谷氨酸棒状杆菌(*C. glutamicum*)、北京棒状杆菌(*C. pekinense*)可生产谷氨酸和其他多种氨基酸,如鸟氨酸、高丝氨酸、丙氨酸、色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸等。

(4) 乳酸杆菌属(*Lactobacillus*) 细胞形态变化大,从细长、偶有弯曲的杆状到短的球杆状,大小一般为 $(0.5\sim 1.0)\mu\text{m}\times(2\sim 10)\mu\text{m}$,多为成链排列,革兰染色阳性,老培养物中的细胞可能是阴性,无芽孢,多数不运动。微好氧,化能有机营养类型,营养要求复杂,需要生长因子。明显的特征是具有高度的耐酸性,最适pH5.5~6.2,在pH5.0以下仍可生长。多分布于乳制品和发酵植物食品如泡菜、酸菜等,以及青贮饲料和人的肠道中。利用葡萄糖可进行同型发酵(产物为乳酸)或异型发酵(产物除乳酸外还有乙醇和 CO_2)。该属中的多种菌被广泛用于乳酸生产和乳制品工业,如德氏乳酸杆菌(*L. delbruckii*)是生产乳酸的重要菌种,干酪乳酸杆菌(*L. casei*)、保加利亚乳酸杆菌(*L. bulgaricus*)、嗜酸乳杆菌(*L. acidophilus*)等用于生产发酵乳制品。

(5) 双歧杆菌属(*Bifidobacterium*) 细胞形态呈多样性,有的呈较规则短杆状,有的为纤细杆状带有尖细末端,有的呈长而弯曲状,也有的呈各种分支或分叉形、棍棒状或匙形。单个或链状,V形、栅状排列,或聚集成星状。革兰染色阳性,不形成芽孢,不运动,

厌氧。近年来,许多实验证明双歧杆菌产乙酸具有降低肠道 pH 值、抑制有害细菌滋生、分解致癌前体物、抗肿瘤细胞、提高机体免疫力等多种对人体健康有益的生理功能。目前发现的具有上述功能的双歧杆菌包括短双歧杆菌 (*B. breve*)、长双歧杆菌 (*B. longum*)、青春双歧杆菌 (*B. adolescentis*)、婴儿双歧杆菌 (*B. infantis*) 和两歧双歧杆菌 (*B. bifidum*) 等,常用来生产微生态制剂即口服双歧杆菌活菌制剂或含活性双歧杆菌的乳制品。

(6) 明串珠菌属 (*Leuconostoc*) 细胞呈球状或椭圆形,成对,成短链或长链排列,革兰染色阳性,微好氧至兼性厌氧。肠膜状明串珠菌 (*L. mesenteroides*) 能利用蔗糖合成大量荚膜物质,其成分为右旋糖酐,这种葡聚糖可作为血浆代用品,用于输液和战地救护。但这种菌也是制糖工业和食品加工工业的有害菌。

(7) 链球菌属 (*Streptococcus*) 细胞呈卵形或卵球形,直径不超过 $1\mu\text{m}$,大多成对或成短链,有些成长链,革兰染色阳性,无芽孢,发酵多种糖类,生长条件要求较高,需某些生长因子、氨基酸和可发酵性糖。乳链球菌 (*S. lactis*) 可用于生产乳链球菌肽和乳酸菌素。其中乳链球菌肽是一种细菌素,属多肽或蛋白质类抗菌物质,可作为一种高效、无毒的天然食品防腐剂,已被广泛应用于多种食品、饮料的防腐保鲜;嗜热链球菌 (*S. thermophilus*) 常与保加利亚乳酸杆菌 (*L. bulgaricus*) 混合作酸牛乳和干酪生产的发酵剂; β -溶血性链球菌 (*S. β -hemolyticus*) 用于生产酪氨酸脱羧酶、链激酶、双链酶等。

(8) 梭状芽孢杆菌属 (*Clostridium*) 细胞呈杆状,形成椭圆或球形芽孢,芽孢常使菌体膨大呈鼓槌状或梭状,一般为革兰染色阳性,少数为阴性或不定,大多数为专性厌氧。丙酮丁醇梭状芽孢杆菌 (*C. acetobutylicum*) 是工业上采用发酵法生产丙酮丁醇的菌种;丁酸梭状芽孢杆菌 (*C. butylicum*) 能生产丁酸;巴氏芽孢梭菌 (*C. barkeri*) 能生产己酸,它们在传统大曲酒生产中能赋予白酒浓香型香味成分,如己酸乙酯、丁酸乙酯等。

2. 革兰阴性菌

(1) 大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 细胞呈短杆或长杆状,大小一般为 $(0.5\sim1.0)\mu\text{m}\times(1.0\sim3.0)\mu\text{m}$,运动或不运动,运动者周生鞭毛,革兰染色阴性,无芽孢,一般无荚膜。该菌是动物和人肠道中的正常菌群,一般情况下不致病,但当机体处于极度衰弱或受到外伤时,它可侵入肠外组织或器官而引起炎症。工业上利用大肠杆菌制取氨基酸(如天冬氨酸、色氨酸、苏氨酸和缬氨酸等)和多种酶(如天冬酰胺酶、青霉素酰化酶、酰基转移酶、溶菌酶、谷氨酸脱羧酶、多核苷酸化酶、 α -半乳糖苷酶等);大肠杆菌经常用作分子生物学的研究材料,可作为基因工程受体菌,经改造后作为工程菌,用于生产各种多肽蛋白质类药物(如生长素、胰岛素、干扰素、白介素、红细胞生成素等)和氨基酸。另外,大肠杆菌还作为水和食品中微生物学检验的指示菌。

(2) 醋杆菌属 (*Acetobacter*) 细胞呈椭圆至杆状,直或稍弯曲,单个、成对或成链,革兰染色阴性,运动或不运动,运动者周生鞭毛,不生芽孢,好气性,在液体培养基上形成皮膜。可氧化乙醇为醋酸,也可氧化乙酸盐和乳酸盐成为 H_2O 和 CO_2 。其生长的最佳碳源是乙醇、甘油和乳酸,是制醋工业的菌种。

(3) 假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 细胞呈直的或微弯的杆状,大多数为 $(0.5\sim1.0)\mu\text{m}\times(1.5\sim4.0)\mu\text{m}$,单个,革兰染色阴性,无芽孢,以极生鞭毛运动(单毛或丛毛),有少数种不运动。能发酵产生维生素 B_{12} 、丙氨酸、谷氨酸、葡萄糖酸、色素、 α -酮基-葡萄糖酸、果胶酶、脂肪酶、酶抑制剂、一些有机酸和抗生素等产品,也能进行类固醇(甾体)的转化,有些菌株可利用烃类生产单细胞蛋白(SCP),有些菌株在污水处理、消除环境污染方面发挥重要作用。

(4) 黄单胞菌属 (*Xanthomonas*) 细胞呈直杆状,革兰染色阴性,极生鞭毛运动,专性好氧。最明显的特征之一是在固体培养基上产生非水溶性的黄色色素。所有的黄单胞菌都

是植物病原菌。导致甘蓝黑腐病的野油菜黄单胞菌 (*X. campestris*) 可作为工业菌种生产荚膜多糖, 即黄原胶。

此外, 发酵单胞菌 (*Zymomonas*) 可用来生产乙醇; 固氮菌 (*Azotobacter*)、根瘤菌 (*Rhizobium*) 可制备菌肥, 用于农业生产。

(二) 放线菌

放线菌 (actinomycete) 因菌落呈放射状而得名。放线菌是具有菌丝、以孢子进行繁殖、革兰染色阳性的一类原核微生物, 属于细菌范畴。根据放线菌菌丝的形态与功能不同, 分为基内菌丝、气生菌丝与孢子丝, 一般无隔膜, 直径 $0.2 \sim 0.8 \mu\text{m}$, 长度差别很大, 有的可产生黄、橙、红、紫、蓝、绿、灰、褐等水溶性或脂溶性色素。基内菌丝匍匐生长于培养基内, 吸收营养, 也称营养菌丝。基内菌丝发育到一定阶段, 伸向空间形成气生菌丝, 叠生于基内菌丝上, 可覆盖整个菌落表面, 在光学显微镜下观察, 颜色较深, 直径较粗 ($1 \sim 1.4 \mu\text{m}$), 有的产色素。气生菌丝发育到一定阶段, 其上可分化出形成孢子的菌丝, 即孢子丝, 又称产孢丝或繁殖菌丝。孢子丝有直线形、波状、螺旋形、轮生之分, 其形状和排列方式因种而异, 常被作为对放线菌进行分类的依据。放线菌主要通过无性孢子 (分生孢子、孢囊孢子) 及菌丝片段进行繁殖。放线菌多为腐生菌, 少数寄生, 广泛分布在含水量较低、有机物较丰富和呈微碱性的土壤中。放线菌最大的价值在于它们是抗生素的主要产生菌, 至今已报道过的近万种抗生素中, 约 70% 由放线菌产生。放线菌还可用于生产各种酶和维生素, 在甾体转化、石油脱蜡、烃类发酵、污水处理等方面也有所应用。有的放线菌还能与植物共生, 固定大气中的氮。由于放线菌有很强的分解纤维素、石蜡、琼脂、角蛋白和橡胶等复杂有机物的能力, 故它们在自然界物质循环和提高土壤肥力等方面有着重要的作用。此外, 少数放线菌也能引起人、动物、植物疾病, 如马铃薯疮痂病和人畜共患的诺卡菌病等。下面介绍几个发酵工业中常用的放线菌属。

1. 链霉菌属

链霉菌属 (*Streptomyces*) 有发育良好的分枝状菌丝体, 菌丝无隔膜, 孢子丝和孢子所具有的典型特征是区分各种链霉菌明显的表现特征, 主要借分生孢子繁殖, 包括几百个种, 是放线菌中种类最多的一个属。该属可产生 1000 多种抗生素, 用于临床的已超过 100 种, 是放线菌中产抗生素最多的属。此外, 有的种还可产生维生素、酶和酶抑制剂等。多数腐生型的链霉菌在环境保护、提高土壤肥力和自然界物质循环中起着重要作用。

2. 诺卡菌属

诺卡菌属 (*Nocardia*) 在培养基上培养十几小时菌丝体开始形成横隔膜, 并断裂成多形态的杆状、球状或带叉的杆状体, 以此复制成新的多核菌丝体。该属中大多数种无气生菌丝, 只有基内菌丝, 有的则在基内菌丝体上覆盖着极薄的一层气生菌丝, 有横隔膜, 断裂成杆状。地中海诺卡菌 (*N. mediterranei*) 可产生利福霉素, 有些诺卡菌可用于石油脱蜡、烃类发酵以及处理污水中腈类化合物。

3. 小单孢菌属

小单孢菌属 (*Micromonospora*) 基内菌丝发育良好, 多分枝, 无横隔膜, 不断裂, 一般不形成气生菌丝体。孢子单生, 无柄, 直接从基内菌丝上产生, 或在基内菌丝上长出短孢子梗, 顶端着生一个孢子。临床上广泛使用的庆大霉素是由该属中的绛红小单孢菌 (*M. purpurea*) 和棘孢小单孢菌 (*M. echinospora*) 产生的。

4. 链孢囊菌属

链孢囊菌属 (*Streptosporangium*) 基内菌丝体分枝很多, 气生菌丝体成丛、散生或同心环排列。主要特征是能形成孢子囊和孢囊孢子, 有时也可形成螺旋孢子丝, 产生分生孢子。该属中的一些种类可产生抗生素, 如粉红链孢囊菌 (*S. roseum*) 可产生多霉素, 绿灰

链孢囊菌 (*S. viridogriseum*) 可产生孢绿霉素, 西伯利亚链孢囊菌 (*S. sibiricum*) 可产生对肿瘤有一定疗效的西伯利亚霉素。

(三) 酵母菌

酵母菌 (yeast) 是一群属于真菌的单细胞微生物, 细胞形状有圆形、卵圆形、柠檬形、梨形、腊肠形。大小一般为 $(1\sim5)\mu\text{m}\times(5\sim30)\mu\text{m}$, 最大可达 $100\mu\text{m}$ 。有些酵母菌细胞与其子代细胞连在一起成为链状, 称为假丝酵母。酵母菌是以无性繁殖 (芽殖或裂殖), 极少数种可产生子囊孢子进行有性繁殖。

酵母菌与人类生活关系非常密切, 在酿造、食品、医药工业等方面占有重要地位。另外, 酵母细胞含有丰富的蛋白质、维生素及各种酶类, 工业上常用它制造单细胞蛋白, 供食用或作饲料蛋白。近年来利用石油原料生产单细胞蛋白、核酸、有机酸和利用味精废液、酒精废液制备单细胞蛋白也采用酵母菌。

1. 酿酒酵母

酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 又称啤酒酵母, 是发酵工业上最重要并且最常用的菌种之一。生长在麦芽汁琼脂上的菌落为乳白色, 有光泽, 平坦, 边缘整齐。在麦氏生孢培养基上培养, 营养细胞可直接形成子囊, 子囊内有 $1\sim4$ 个圆形的子囊孢子。能发酵葡萄糖、蔗糖、麦芽糖和半乳糖等多种糖类, 但不发酵乳糖和蜜二糖。按照细胞长与宽的比例可分为以下 3 组。

① 细胞多为圆形、短卵形或卵形, 长与宽之比为 $1\sim2$ 。通常不形成假菌丝。除用于酿造饮料和制造面包以外, 还用于乙醇发酵。但因不耐高浓度盐类, 所以只适用于淀粉质糖化原料乙醇发酵。

② 细胞形状以卵形和长卵形为主, 也有些细胞呈圆形或卵圆形, 长与宽之比通常为 2。常形成假菌丝, 但不发达也不典型。主要用于酿造葡萄酒和果酒, 也有的用于啤酒业、蒸馏酒业和酵母生产。有时简称为葡萄酒酵母。

③ 细胞较前两组长, 大部分细胞长与宽之比大于 2。常能形成很多假菌丝, 但不典型, 仅是由长细胞连接成树枝状。这组酵母可以经受高浓度盐, 是甘蔗糖蜜原料乙醇发酵的主要菌株。细胞中维生素和蛋白质含量高, 可作食用、药用和饲料酵母, 也可用于提取核酸、麦角固醇、谷胱甘肽、细胞色素 C、凝血激酶、辅酶 A、辅酶 I。其转化酶可用于水解蔗糖, 制造果糖和人工蜂蜜等。

2. 卡尔斯伯酵母

卡尔斯伯酵母 (*Saccharomyces carlsbergensis*) 细胞为圆形或卵圆形, 部分细胞的细胞壁有一平端。它与酿酒酵母的主要区别是能全发酵棉子糖, 此外在低温下的生长速度比酿酒酵母快。该酵母是啤酒酿造中典型的下面酵母, 又可生产食用酵母、药用酵母和饲料酵母。另外, 该酵母麦角固醇含量也较高, 而且是维生素测定菌, 可用于测定泛酸、硫胺素、吡哆醇、肌醇等。

3. 异常汉逊酵母

异常汉逊酵母 (*Hansenula anomala*) 细胞呈圆形, 直径 $4\sim7\mu\text{m}$, 或呈椭圆形、腊肠形, 大小为 $(2.5\sim6.0)\mu\text{m}\times(4.5\sim20.0)\mu\text{m}$ 。多边芽殖, 能形成发达的假菌丝。在液面上生长有白色菌膜, 培养液混浊, 有菌体沉淀于管底。产子囊孢子 $1\sim4$ 个 (多为 2 个)。由于异常汉逊酵母能产生香味成分乙酸乙酯, 故在增加食品的风味方面起到一定作用, 如可用于白酒和清酒的浸香和串香, 也可用于无盐发酵酱油的增香。该酵母能利用烃类、甲醇、乙醇和甘油作为碳源而旺盛生长繁殖, 故可用这些原料生产单细胞蛋白, 用作饲料添加剂。还可生产某些药物, 如 CDP-胆碱、FAD、L-色氨酸。

4. 假丝酵母属