

细菌利用工业

〔日〕朝井勇宜等 编著

細菌利用工業

[日]朝井勇宜等編著

平安 译

輕工業出版社

1966年・北京

内 容 简 介

译本系根据日本友田宜幸等编著的“微生物工学讲座”第六卷“细菌利用工业”一书译出。在翻译过程中，译者对原书中的少部分内容作了删略。

书中主要对氧化发酵、乳酸发酵、丙酸发酵、己酸发酵、丙酮·丁醇发酵和丁二醇发酵等的有关机理、生产条件、制造方法以及用途等作了较为系统的介绍。可供有关科学研究人员、生产技术人员和院校专业师生等参考。

细菌利用工业

共立出版株式会社

本书系根据日本共立出版株式会社1956年版本译出

细菌利用工业

(日) 朝井勇宣等 编著

平 安 译

轻工业出版社出版

(北京永安路173号)

北京市书刊出版业营业许可证出字第118号

中国财政经济出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经售

850×1168毫米1/32·11印张·279千字

1966年4月第1版

1966年4月北京第1次印刷

印数：1~1,300 定价：(科六) 1.60元

统一书号：15042·1255

目 录

羧化发酵.....	(9)
一、醋酸发酵	(9)
(一) 緒 言	(9)
(二) 醋酸菌	(10)
(三) 醋酸发酵的机理	(14)
(四) 制造醋酸(醋)的必要条件	(16)
(五) 醋酸(醋)的制造	(18)
(六) 醋酸的定性、检验和定量法	(20)
二、葡萄糖酸发酵.....	(21)
(一) 緒 言	(21)
(二) 葡萄糖酸发酵的机理	(23)
(三) 葡萄糖酸产菌.....	(23)
(四) 葡萄糖酸的产生条件	(25)
(五) 葡萄糖酸的制造	(26)
(六) 葡萄糖酸的回收与精制.....	(28)
(七) 葡萄糖酸的定性、检验与定量法.....	(29)
(八) 葡萄糖酸的用途	(30)
三、5-酮基葡萄糖酸发酵	(30)
(一) 緒 言	(30)
(二) 产生5-酮基葡萄糖酸的菌株	(30)
(三) 5-酮基葡萄糖酸发酵的机理	(31)
(四) 5-酮基葡萄糖酸的生成条件	(32)
(五) 5-酮基葡萄糖酸的制造.....	(34)

(六) 5-酮基葡萄糖酸的回收与提纯	(36)
(七) 5-酮基葡萄糖酸的定性、检出及定量法	(36)
(八) 5-酮基葡萄糖酸的用途	(39)
四、2-酮基葡萄糖酸	(40)
(一) 緒 言	(40)
(二) 2-酮基葡萄糖酸产菌	(41)
(三) 2-酮基葡萄糖酸的糖氧化机理	(46)
(四) 2-酮基葡萄糖酸的制造	(49)
(五) 葡萄糖和2-酮基葡萄糖酸的分别定量法	(52)
(六) 2-酮基葡萄糖酸的回收与精制	(54)
(七) 2-酮基葡萄糖酸的用途	(54)
五、山梨糖发酵	(55)
(一) 緒 言	(55)
(二) 山梨糖发酵菌	(58)
(三) 利用氧化细菌的氧化与基質立体结构的关系	(58)
(四) 山梨糖的发酵条件	(62)
(五) 原料山梨醇	(63)
(六) 山梨糖的制造	(65)
(七) 山梨糖结晶的分离与提纯	(70)
(八) 山梨糖发酵的分析法	(70)
六、 α -酮戊二酸发酵	(72)
(一) 緒 言	(72)
(二) α -酮戊二酸产菌	(73)
(三) α -酮戊二酸的发酵机理	(76)
(四) 生产 α -酮戊二酸的培养基	(79)
(五) α -酮戊二酸的制造	(83)
(六) α -酮戊二酸的定量法	(84)
(七) α -酮戊二酸的回收法	(88)
(八) α -酮戊二酸的用途	(88)

乳酸发酵.....(91)

一、简史(91)

二、乳酸的性质.....(93)

三、乳酸发酵时的化学变化(96)

(一) 己糖的分解.....(96)

(二) 戊糖的分解.....(97)

(三) 蔗糖的分解.....(97)

四、制造乳酸的微生物(101)

五、乳酸的制造.....(105)

(一) 制造乳酸的几种方式.....(105)

(二) 副原料(105)

(三) 用己糖和复糖类作原料的制造.....(106)

(四) 用淀粉和淀粉質原料作原料的制造(113)

(五) 用蕈根粉作原料的制造(117)

(六) 旋光性乳酸的制造(118)

(七) 发酵液的处理(118)

(八) 乳酸的精制.....(120)

(九) 乳酸的用途.....(123)

丙酸发酵.....(129)

一、绪言(129)

二、丙酸菌的性质(130)

(一) 丙酸菌的特性(130)

(二) 丙酸菌的种类(131)

三、丙酸发酵的机理(132)

四、丙酸菌的利用(137)

(一) 丙酸的制造.....(137)

(二) 琥珀酸的制造(144)

(三) 維生素 B ₁₂ 的制造	(144)
(四) 丙酸对生理方面的作用	(144)
(五) 干酪的制造与丙酸菌	(145)

己酸发酵.....(147)

一、简史	(147)
二、生成己酸的微生物	(148)
三、己酸菌的获得	(149)
四、己酸的生成机理	(151)
五、己酸的制造	(154)

丙酮·丁醇发酵.....(157)

一、简史	(157)
二、菌株	(160)
(一) 代表性的丁醇发酵菌株和近缘菌株	(166)
(二) 分离	(185)
(三) 保藏	(189)
三、生理	(190)
(一) 发酵经过	(191)
(二) 嫌气性(氧化还原电位其一)	(205)
(三) 氮的代谢	(214)
(四) 生长(发酵正常化)因素	(224)
(五) 其他菌种的助酶作用	(227)
(六) 各种碳水化合物的发酵	(230)
(七) 发酵的化学机理	(233)
(八) 发酵的转换	(256)
(九) 发酵机理的动态(氧化还原电位其三)	(266)
四、制造	(270)
(一) 原料	(270)

(二) 原料处理	(279)
(三) 设备灭菌	(283)
(四) 种菌培养	(284)
(五) 发 酵	(288)
(六) 发酵的异常现象	(298)
(七) 收 量	(302)
(八) 蒸 餾	(305)
(九) 副产品及其利用	(307)
(十) 用 途	(310)
(十一) 生产流程概图	(312)

丁二醇发酵.....(317)

一、概述	(317)
------------	-------

二、2,3-丁二醇的性质及其用途	(318)
------------------------	-------

三、自然界中2,3-丁二醇、3-羟基丁酮和联乙酰的分布情况	(323)
-------------------------------------	-------

四、2,3-丁二醇菌	(324)
------------------	-------

五、2,3-丁二醇发酵的形式	(327)
----------------------	-------

六、外界条件对2,3-丁二醇发酵的影响	(330)
---------------------------	-------

(一) 通气的影响	(330)
-----------------	-------

(二) pH 的影响	(331)
------------------	-------

(三) 糖浓度的影响	(332)
------------------	-------

(四) 营养要求	(333)
----------------	-------

七、2,3-丁二醇发酵的机理	(334)
----------------------	-------

八、2,3-丁二醇的制造	(337)
--------------------	-------

(一) 原 料	(337)
---------------	-------

(二) 发酵设备	(338)
----------------	-------

(三) 谷物和淀粉液的发酵	(338)
---------------------	-------

(四) 谷物和精制淀粉的酸糖化液的发酵	(340)
---------------------------	-------

(五) 谷物和淀粉酶糖化液的发酵	(341)
------------------------	-------

(六) 甘肅和甜菜糖蜜的發酵	(341)
(七) 纖維質原料的發酵	(343)
(八) 2,3-丁二醇發酵的污染菌	(344)
九、2,3-丁二醇的回收	(345)
(一) 化學回收法	(345)
(二) 溶媒抽取法	(346)
(三) 蒸汽排出法	(346)
(四) 2,3-丁二醇殘渣的利用	(349)
十、2,3-丁二醇的生產費用	(350)
附錄	(352)

氧化发酵

朝井勇宜, 相田 浩

一、醋酸发酵

(一) 緒言 醋酸发酵是指酒精因醋酸菌的作用而被氧化生成醋酸的氧化发酵而言。它与酒精发酵、乳酸发酵同是早就为人们所知道。古人就把稀醋酸叫作“醋”^{*}。英语的醋为 vinegar, 语源来自法语的 vinaigre, vin=wine, naigre=sour 或sharp, 这是指葡萄酒酸败而成的醋。现在已不单指葡萄酒了, 而把其它原料制成的也统称为醋, 因而就失去了语源的原意。古代是专门由家庭制造, 后来作为葡萄酒或啤酒工业的副产品生产, 至14~15世纪才发展成为独立的工业。现在除用发酵法制造醋酸外, 还用木材干馏法、合成法(用酒精或乙炔)进行大量生产。除了作各种化学工业的原料外, 还生产一种用作食醋的“合成醋”。醋酸发酵的条件, 早在了解它是从酒精变成醋酸的氧化过程之前, 就被人们根据经验而掌握了。譬如在速酿塔(generator)中制造啤酒醋、葡萄酒醋时, 为了加速进行反应, 必须供给充足的空气, 这种设备的历史可以追溯到1670年。但不管怎样, 整个的发酵过程都需要相当长的一段时间。1732年荷兰人保列哈夫成功地缩短了酿造时间。1815~1826年进而由舒曾巴赫发明了速酿制醋法(quick vinegar process)。1786及1793年罗济尔与拉佛西尔认识到空气对造醋的必要性, 同时也认识到其反应就是氧化过程。1814年伯泽留斯确定了醋酸的构造式。达维与多伯雷奈于1820~1821年用铂黑从葡萄酒制出醋酸。一年后, 皮尔松研究了醋或醋

* 食醋通常含3~5%左右的醋酸。

母(mother of vinegar)表面产生的皮膜, 并把它命名为醱酵母属(Mycoderma)。1837年顾津认为这种皮膜里含有微生物, 它与酒精变为醋酸的反应(acetification, 醋化作用)有密切关系。1868年根据巴斯德的实验, 明确了醱母的性质, 证实了顾津的论点, 即进行醋化作用的是产生啤酒和葡萄酒表面皮膜的微生物。此后的四十年间出现了各种醋酸菌的记载, 其中包括韩森、拉发尔、亨奈堡、贝杰林克、布龙、霍耶及其他等人的研究。1903年布赫奈和美森希麦发现了醋酸菌的酒精氧化酶系*。

有机酸发酵, 一般要待发酵完毕后, 将所得的酸分离提纯后才变成成品, 但醋酸发酵主要是制造醋, 因而发酵后的液体本身就是成品, 可用来制造辣酱油(sauce)、蛋黄牛乳酱(mayonnaise)之类的调料。关于醋的制造工艺将在本讲座第8卷中谈到, 这里只是论述醋酸发酵的原理。

(二) 醋酸菌 醋酸杆菌属的细菌叫醋酸菌, 是重要的氧化细菌。对手工业来说, 它的重要作用是使酒精氧化, 即制造醋酸和醱。其它尚有使葡萄糖变为葡糖酸或醱基葡糖酸, 使甘油变或二羟基丙酮, 使山梨醇变为山梨糖等的氧化作用。

其细胞为椭圆形, 或为长杆菌以至短杆菌, 单独或者成对, 也有呈短连锁或长连锁状的。此外, 还有球状的、细长的、纤维状的、棒状的、膨大的、弯曲的以及分枝的等等畸形。幼细胞多是革蓝氏阴性, 不形成内生孢子, 没有运动能力。有运动能力的则有鞭毛**。全都为绝对好气性菌, 且触酶反应全为阳性。营养

* 关于醋酸发酵的历史可参考下列著作:

(1) H. Wüstenfeld in Ullman: Enzyklopädie der technischen Chemie, 1929, 4. Band, Seite 616.

(2) R. H. Vaughn: Wallerstein Labs. Commun., 5, 5 (1942).

** 最近, 莱福松研究醋酸杆菌属细菌的鞭毛, 把它分为蠕虫间隔短(平均1.4微米)、有3~4根鞭毛的(极生多鞭毛 Polar multitrichous)型和蠕虫间隔长(平均2.9微米)、极少鞭毛的(周生鞭毛 Peritrichous)型两种类型。提出了与生理性质相关的新分类法。

要求有简单的和复杂的，也有能利用铵盐之类的无机物的，但一般都需要有机氮源*。

代表性的菌株有纹膜醋酸杆菌。从很早就由不少的研究者分离出很多菌株，并提出了各种不同的分类法。

- (1) 韩森的分类(1911)^①
- (2) 贝杰林克的分类(1899)^②
- (3) 亨奈堡的分类(1926)^③
- (4) 霍耶的分类(1899)^④
- (5) 罗森巴赫的分类(1898)^⑤
- (6) 赫尔曼的分类(1931)^⑥
- (7) 江克的分类(1916)^⑦
- (8) 窝恩的分类(1948)^⑧
- (9) 维赛尔·胡佛的分类(1925)^⑨
- (10) 朝井勇宜的分类(1935)^⑩

-
- ① E. O. Hansen and A. Klöcker; *Gesammelte theoretische Abhandlungen über Gärungsorganismen*. Jena, G. Fischer (1911) S. 115.
 - ② M. W. Beijerinck; *Cent. Bakt.*, I, 4, 209 (1898).
 - ③ W. Henneberg; *Handbuch der Gärungsbakteriologie*. Bd. I, 2, Aufl., Berlin, Paul Parey (1926) S. 190.
 - ④ D. P. Hoyer; *Cent. Bakt.*, I, 4, 867 (1899).
 - ⑤ F. Rothenbach; *Deutsch. Essigind.*, 35.
 - ⑥ S. Hermann; *Biochem. Zeit.*, 233, 130 (1931).
 - ⑦ A. Janke; *Cent. Bakt.*, I, 45, 1 (1916).
 - ⑧ R. H. Vaughn; *Wallerstein Labs. Commun.*, 5, 5 (1942); R. S. Breed, G. D. Murray and A. P. Hitchens; *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 6th Ed. Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md. U. S. A.
 - ⑨ F. Visser't Hooft; *Biochemische onderzoekingen over het geslacht Acetobacter*, Dissertation, Tech. Hoogeschool, Delft (1925).
 - ⑩ 朝井勇宜; *日农化*, 11, 680 (1935).
- * 关于醋酸菌的营养要求，可参考下列报告：M. R. Raghavendra Rao and J. L. Stokes; *J. B.* 65, 405 (1953).

(11) 田中庄助的分类(1937)^①

其中, 朝井勇宣主张把对酒精氧化力弱而对葡萄糖氧化力强的称为葡萄糖氧化杆菌属(*Gluconobacter*), 而有别于醋酸菌属。目前广泛采用的是柏格氏鉴定细菌学(*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*), 第6版(1948年)中的窝恩的分类, 列举如下:

(1) 氧化醋酸后生成碳酸气与水

①能够利用铵盐作唯一的氮源(使用霍耶培养基)

<1>纹膜醋酸杆菌(*Acetobacter aceti*)

②不利用铵盐作唯一氮源

甲、液体培养基表面产生厚而粘状的纤维质皮膜。

<2>胶醋酸杆菌(*Acetobacter xylinum*)

乙、液体培养基表面不产生厚的粘状膜。

<3>恶臭醋酸杆菌(*Acetobacter rancens*)

<3.甲>巴氏醋酸杆菌(*Acetobacter pasteurianum*)

<3.乙>顾氏醋酸杆菌(*Acetobacter kuetzingianum*)

(2) 不氧化醋酸

①在葡萄糖培养基上产生色素

甲、产生暗褐色的色素

<4>黑色醋酸杆菌(*Acetobacter melanogenum*)

乙、产生淡红色以至蔷薇色的色素

<5>玫瑰色醋酸杆菌(*Acetobacter roseum*)

②不产生色素

甲、最适温度30~35°C

<6>弱氧化醋酸杆菌(*Acetobacter suboxydans*)

乙、最适温度20~25°C

<7>氧化醋酸杆菌(*Acetobacter oxydans*)

① 田中庄助: 日农化, 13, 861 (1937)。

一般以许氏醋酸杆菌 (*Acetobacter schützenbachii*), 弯醋酸杆菌 (*Acetobacter curvum*) 作为制造速酿食醋的代表菌, 而以奥尔兰醋酸杆菌 (*Acetobacter orleanense*) 作为用奥尔兰 (Orlean, 法国地名——译者注) 法制造时的代表菌株。但宫路宪二在其著作^①中列举了日本产的醋酸菌的主要种类, 并列出了如下的分类表:

①日本醋酸菌群(多出现在米醋、糟醋中的菌株)

韩森氏纹膜醋酸杆菌 (*Acetobacter aceti* Hansen)

布龙氏纹膜醋酸杆菌 (*Acetobacter aceti* Brown)

白膜醋酸杆菌 (*Acetobacter acetosum*)

顾氏醋酸杆菌

氧化醋酸杆菌

恶臭醋酸杆菌

葡萄酒醋酸杆菌 (*Acetobacter vini acetaci*)

②西洋醋醋酸菌群(多出现在酒精醋、速酿醋中的菌株)

巴斯德纹膜醋酸杆菌 (*Acetobacter aceti* Pasteur)

产醋酸杆菌 (*Acetobacter acetigenum*)

攀膜醋酸杆菌 (*Acetobacter ascendens*)

许氏醋酸杆菌

③厚膜醋酸菌群

拟胶醋酸杆菌 (*Acetobacter xylinoides*)

胶醋酸杆菌 (*Acetobacter xylinum*)

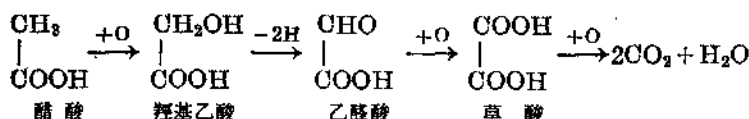
虽然可以分成上述数目繁多的菌株, 但究竟是哪一种菌对制造醋有用而且起主要作用, 这是至今仍在探索中的一个问题^②。应该是使酒精变成醋酸的能力强, 而分解醋酸能力弱的为最佳。拟胶醋酸杆菌和胶醋酸杆菌生酸能力弱, 且产生影响纤维素反应

① 宫路宪二: 応用霉菌学, 解説篇, 上巻, 修訂版, (1950), 岩波书店, 261頁。

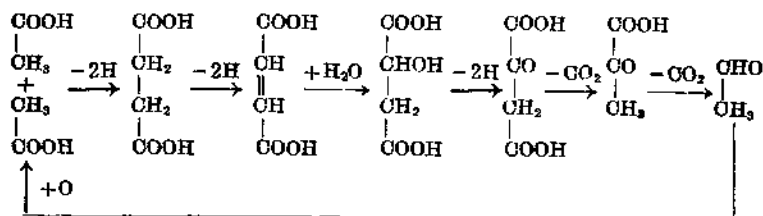
② J. L. Shimwell: J. of the Institute of Brewing, 60, 136(1954).

于固定变化再度变成醋酸和乙醇，反复进行这个反应而完成醋酸发酵。但此后魏兰德和伯梭^①用奥尔兰醋酸杆菌证明，虽然发生固定变化，然而实际上在利用生物细胞进行的好气性醋酸发酵的情况下，从反应速度来看，是不大重要的。西蒙^②认为，固定变化所起的作用和直接氧化所起的作用都因 pH 值的不同而异，例如在诺依堡和温迪什的实验中，因有碳酸钙的存在而以 pH8.1 进行；在魏兰德和伯梭的实验中则以 pH5.5 进行。与此相反，在酸性方面固定变化达到最小限度。这个事实，由后来的江克和克罗帕赛^③用乙醇和乙醛的脱氢酶进行的研究所证明。醋酸发酵某一时期内的发酵液中酒精、乙醛和醋酸在量上的关系，因氧的供给、pH 值、温度以及醋酸菌的种类而不同。

醋酸氧化时的过度氧化是造醋的一个大障碍。此外，醋酸菌究竟是以怎样的机理进行作用的，目前尚不明确。霉菌的氧化过程已被证明是按下式进行的：



醋酸菌大致是按以下汤堡(Thunberg)循环进行氧化的。



每进行一次循环，1 分子的醋酸就完全燃烧。估计在这个反

① H. Wieland and A. Bertho: Liebigs Ann., 467, 95 (1928).

② E. Simon: Biochem. Z., 224, 253 (1930).

③ A. Janke and S. Kropachy: Biochem. Z., 278, 37 (1935).

应的第一阶段，醋酸变成乙酰磷酸，进而聚合。此外，在动物体内，醋酸由于乙酰转位酶、辅酶-A和柠檬酸生合酶等的作用而生成柠檬酸，进入TCA循环(克列布斯三羧酸循环)后全部被氧化。对弱氧化醋酸杆菌来说，至少没有多大意义^①，但对其它醋酸菌来说，并非没有可能性。

(四) 制造醋酸(醋)的必要条件 利用微生物制造醋酸的主要目的在于造醋。因为将发酵完毕后的液体蒸馏后虽能制成浓厚的醋酸，但较之从乙炔合成、乙醇接触氧化或木材干馏所得的醋酸，在经济上是不合算的。

目前广泛采用的是速酿制醋法，但需注意下列各点：

- (1) 菌株的选择；
- (2) 原料的性质；
- (3) 所用酒精浓度以及使发酵醪变成酸性所添加的醋酸浓度；
- (4) 应该供给的氧量；
- (5) 速酿塔中填充物(supporting medium)的性质；
- (6) 发酵温度；
- (7) 酿造与贮藏；
- (8) 澄清；
- (9) 装瓶与杀菌；
- (10) 酿造期间与发酵醪接触的发醇罐、容器和设备的性质与质量。

(1) 菌株的选择 关于使用的菌株，前面已谈过，如果使用纯粹分离的菌，醋化作用一般较弱，普通都是用混合培养(mixed flora)作为种菌*。

(2) 原料 凡经过发酵能酿出酒来的都可作原料。苹果、

① T. E. King and V. H. Cheldelin; Biochim. et Biophys. Acta 14, 108 (1954).

* 一般用优质的醋醪作种醋。