



GAODENG XUEXIAO ZHUANYE JIAOCAI

• 高等学校专业教材 •

ANJISUAN GONGYI XUE
氨基酸工艺学

陈 宁 主 编



中国轻工业出版社

高等学校专业教材

氨基酸工艺学

陈 宁 主编

编写人员（按姓氏拼音排列）

陈 宁 江 洁 寇广会 马歌丽
王东阳 王瑞明 王岁楼 徐国华
徐庆阳 张 惠 张伟国 周昌平

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

氨基酸工艺学/陈宁主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2007. 1

高等学校专业教材

ISBN 7-5019-5697-9

I. 氨... II. 陈... III. 氨基酸-发酵-生产工艺-高等学校-教材 IV. TQ922

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 131623 号

责任编辑: 白洁 责任终审: 滕炎福 封面设计: 邱亦刚
版式设计: 马金路 责任校对: 燕杰 责任监印: 胡兵 张可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印刷: 三河市世纪兴源印刷有限公司

经销: 各地新华书店

版次: 2007 年 1 月第 1 版第 1 次印刷

开本: 787×1092 1/16 印张: 25

字数: 608 千字

书号: ISBN 7-5019-5697-9/TS·3304 定价: 42.00 元

读者服务部邮购热线电话: 010-65241695 85111729 传真: 85111730

发行电话: 010-85119817 65128898 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社读者服务部联系调换

50232J4X101ZBW

前 言

氨基酸作为生命有机体的重要组成部分,是生命机体营养、生存和发展极为重要的物质,在生命体内物质代谢调控、信息传递方面扮演着重要的角色。氨基酸工业是自 20 世纪 50 年代以来,一个朝气蓬勃的新兴工业体系,是利用微生物的生长和代谢活动生产各种氨基酸的现代工业。近 50 年来,国内外在研究、开发和应用氨基酸方面均取得重大进展,新发现的氨基酸种类和数量已由 20 世纪 60 年代的 50 种左右,发展到 20 世纪 80 年代的 400 种,目前已达 1000 多种。其中用于药物的氨基酸及氨基酸衍生物的品种达 100 多种。在产量方面,20 世纪 60 年代初世界氨基酸产量不过 10 万吨,现在已跃上百万吨,产值超百亿美元,其中作为调味品及食品添加剂的约占 50%,饲料添加剂约占 30%,药用及保健化妆品及其它用途的氨基酸约占 20%。氨基酸作为人类营养添加剂、调味剂、饲料添加剂、医药、农药等,在食品工业、农业、畜牧业及人类健康、保健等诸方面有着广泛的应用。

氨基酸发酵是典型的代谢控制发酵,由发酵所生成的产物——氨基酸,都是微生物的中间代谢产物,它的积累是建立于对微生物正常代谢的抑制上。也就是说,氨基酸发酵的关键,取决于其控制机制是否能够被解除,能否打破微生物正常的代谢调节,人为地控制微生物的代谢。氨基酸发酵的成功,把代谢控制发酵技术引入微生物工业,使微生物工业能够在脱氧核糖核酸(DNA)的分子水平上改变、控制微生物的代谢,使有用产物大量生成、积累。

“氨基酸工艺学”是一门新型发酵的技术科学,以探讨氨基酸发酵工厂的生产技术为主要目的。氨基酸发酵为好气性发酵。在氨基酸发酵中,要发生一系列复杂的生物化学变化,全部生产程序应符合客观规律,代谢控制发酵理论是氨基酸发酵的理论基础。虽然氨基酸发酵生产以发酵为主,发酵的好坏是整个生产的关键,但后处理提纯操作和提纯装备选用与否,也会大大影响总的得率。所以,氨基酸工艺学研究的对象应该包括从投入原料到最终产品获得的整个过程,其中既有微生物生化问题、生化工程问题,也有分析与设备问题。

学习“氨基酸工艺学”的目的是使学生能运用已学过的微生物学、生物化学、化工原理和分析化学等基础知识,进一步深化与提高,来认识与解决氨基酸发酵工业生产中的具体问题;掌握选育氨基酸生产菌的基本原理,了解氨基酸代谢与代谢控制发酵的基本理论、发酵控制的关键及分离精制氨基酸的一般原理与方法,从而使学生初步具有选育新菌种、探求新工艺、新装备和从事氨基酸发酵研究的能力。

本书用八章(前八章)的篇幅,介绍了具有代表性的味精生产工艺,目的是使学生先学习和掌握好氨基酸发酵的一般知识。然后用两章篇幅阐述了氨基酸发酵的机制、生产菌的选育、发酵技术及分离精制的一般方法。最后在此基础上用五章篇幅分别讲解各种氨基酸的生产菌种、调节机制与发酵工艺。本书共分十五章,各章编写人员及所在单位如下:

绪 论 陈宁(天津科技大学)

第一章 徐国华(中国阜丰发酵集团有限公司)、寇广会(天津科技大学)

第二章 江洁(大连民族学院)

第三章 陈宁、周昌平(天津科技大学)

第四章 王东阳（山东鄞城菱花味精股份公司）、徐国华（中国阜丰发酵集团有限公司）、周昌平（天津科技大学）、陈宁（天津科技大学）

第五章 王岁楼（郑州轻工业学院）

第六章 马歌丽（郑州轻工业学院）

第七章 江洁（大连民族学院）

第八章 王瑞明（山东轻工业学院）

第九章 陈宁（天津科技大学）、周昌平（天津科技大学）

第十章至第十二章 张伟国（江南大学）

第十三章 徐庆阳（天津科技大学）

第十四章 张惠（河南味之素氨基酸有限公司）、寇广会（天津科技大学）

第十五章 张伟国（江南大学）

本书由陈宁负责最后的统稿和定稿。在本书编写过程中得到了天津科技大学、江南大学、大连民族学院、郑州轻工业学院、山东轻工业学院的领导和专家的大力支持。另外，本书在编写过程中参考了同行专家、学者的研究成果或著作，在此一并表示感谢。

由于氨基酸发酵技术的发展非常迅速，许多氨基酸发酵的新技术、新成果尚来不及消化吸收编入本教材，加上水平有限，错误及不妥之处在所难免，恳请读者批评指正。

陈 宁
于天津科技大学

目 录

绪论	1
第一节 概述	1
第二节 氨基酸发酵的历史与发展动向	6
第三节 我国氨基酸行业存在的问题和解决措施	11
第一章 淀粉水解糖的制备	14
第一节 淀粉的组成及其特性	14
第二节 淀粉水解糖的制备方法	19
第三节 双酶法制糖工艺	22
第二章 谷氨酸发酵机制	35
第一节 谷氨酸的生物合成途径	35
第二节 谷氨酸生物合成的调节机制	39
第三节 谷氨酸发酵过程中细胞膜渗透性的控制	42
第三章 谷氨酸生产菌的特征、育种及扩大培养	47
第一节 谷氨酸生产菌的主要特征	47
第二节 国内谷氨酸生产菌及其比较	53
第三节 谷氨酸生产菌在发酵过程中的形态变化	59
第四节 谷氨酸发酵的代谢控制育种策略	61
第五节 利用生物工程新技术选育谷氨酸生产菌	64
第六节 菌种的扩大培养及种子的质量要求	72
第四章 谷氨酸发酵过程控制	77
第一节 发酵培养基对谷氨酸发酵的影响	78
第二节 培养条件对谷氨酸发酵的影响	83
第三节 泡沫的消除	91
第四节 发酵过程中主要变化及中间代谢控制	94
第五节 糖蜜原料强制发酵工艺	98
第六节 低糖流加工艺及后期补糖工艺	104
第七节 采用温度敏感突变株发酵生产谷氨酸	106
第八节 提高发酵产率的主要措施	109
第五章 噬菌体与杂菌的防治	113
第一节 谷氨酸发酵中噬菌体的污染与防治	113
第二节 杂菌的污染与防治	119
第六章 谷氨酸的提取	127
第一节 概论	127
第二节 谷氨酸发酵液的性质	127
第三节 等电点法提取谷氨酸	132

第四节	离子交换法提取谷氨酸	140
第五节	等电点-离子交换法提取谷氨酸	156
第六节	浓缩连续等电点法提取谷氨酸	157
第七节	谷氨酸发酵液的综合利用	158
第七章	谷氨酸制味精	163
第一节	味精的性质	163
第二节	谷氨酸制味精的工艺流程	168
第三节	谷氨酸的中和与除铁	168
第四节	谷氨酸中和液的脱色	177
第五节	谷氨酸中和液的浓缩与结晶	183
第六节	味精生产中异常现象及其处理	194
第八章	谷氨酸清洁生产工艺	199
第一节	概述	199
第二节	提取谷氨酸闭路循环工艺	202
第三节	发酵废母液提取菌体蛋白工艺	204
第四节	谷氨酸发酵母液生产饲料酵母工艺	207
第五节	谷氨酸发酵母液浓缩生产复合有机肥工艺	215
第六节	谷氨酸发酵废水生物处理工艺	218
第九章	氨基酸发酵机制	222
第一节	概述	222
第二节	酶活性的调控	226
第三节	酶合成的调控	236
第四节	氨基酸生物合成的调节机制	248
第十章	氨基酸产生菌的选育与发酵技术	252
第一节	氨基酸产生菌的选育与定向育种策略	252
第二节	用细胞内基因重组手段选育氨基酸产生菌	261
第三节	用重组 DNA 技术构建氨基酸工程菌	269
第四节	氨基酸产生菌的稳定化	278
第五节	发酵条件对氨基酸发酵的影响	281
第六节	氨基酸的提取与精制	284
第十一章	天冬氨酸族氨基酸发酵	313
第一节	天冬氨酸族氨基酸生物合成途径	313
第二节	天冬氨酸族氨基酸生产菌的选育及发酵机制	313
第三节	影响天冬氨酸族氨基酸发酵的主要因素	315
第四节	赖氨酸发酵	316
第五节	苏氨酸发酵	322
第六节	蛋氨酸发酵	329
第七节	高丝氨酸发酵	330
第八节	天冬氨酸发酵	331

第十二章	鸟氨酸、瓜氨酸和精氨酸发酵	334
第一节	生物合成途径和代谢调节机制.....	334
第二节	鸟氨酸和瓜氨酸发酵.....	335
第三节	精氨酸发酵.....	338
第十三章	异亮氨酸、亮氨酸与缬氨酸发酵	342
第一节	分支链氨基酸的生物合成途径和代谢调节机制.....	342
第二节	异亮氨酸发酵.....	346
第三节	亮氨酸发酵.....	353
第四节	缬氨酸发酵.....	359
第十四章	色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸发酵	366
第一节	生物合成途径和代谢调节机制.....	366
第二节	色氨酸发酵.....	369
第三节	苯丙氨酸发酵.....	375
第四节	酪氨酸发酵.....	379
第十五章	丙氨酸、脯氨酸、谷氨酰胺和组氨酸发酵	382
第一节	丙氨酸发酵.....	382
第二节	脯氨酸发酵.....	382
第三节	谷氨酰胺发酵.....	385
第四节	组氨酸发酵.....	387

绪 论

第一节 概 述

氨基酸是生命有机体的重要组成部分，是生命机体营养、生存和发展极为重要的物质，在生命体内物质代谢调控、信息传递方面扮演着重要的角色。氨基酸工业是自 20 世纪 50 年代以来，一个朝气蓬勃的新兴工业体系。近 40 多年来，国内外在研究、开发和应用氨基酸方面均取得重大进展，新发现的氨基酸种类和数量已由 20 世纪 60 年代的 50 种左右，发展到 20 世纪 80 年代的 400 种，目前已达 1000 多种。其中用于药物的氨基酸及氨基酸衍生物的品种达 100 多种。在产量方面，20 世纪 60 年代初世界氨基酸产量不过 10 万吨，现在已跃上百万吨，产值超百亿美元，其中作为调味品及食品添加剂的约占 50%，饲料添加剂约占 30%，药用及保健化妆品及其它用途的氨基酸约占 20%。氨基酸作为人类营养添加剂、调味剂、饲料添加剂、医药、农药等，在食品工业、农业、畜牧业及人类健康、保健等诸方面有着广泛的应用。

一、氨基酸的种类

氨基酸分为两大类，即蛋白质氨基酸和非蛋白质氨基酸。前者种类只有 20 种，是蛋白质的组成成分，在自然界中绝大多数氨基酸都是蛋白质氨基酸。另一类为不参与蛋白质构成的氨基酸，属于非蛋白质氨基酸，这一类氨基酸种类繁多，结构不一，但其量甚少。工业生产的主要为蛋白质氨基酸，共 20 种。不管来源于动物、植物或微生物的蛋白质，其氨基酸均为 α -氨基酸，即氨基酸中的氨基 ($-\text{NH}_2$) 连接在羧基 ($-\text{COOH}$) 的 α 碳原子上。除甘氨酸外，其它的氨基酸的 α 碳原子都是手性碳原子，有旋光性。组成蛋白质的氨基酸均为 L- α -氨基酸，人体发育要求自身不断合成新的蛋白质，人体蛋白质的动态平衡是以氨基酸为基础进行的。氨基酸中有 8 种人体本身不能合成，只能从食物的蛋白质中摄取，称为必需氨基酸，它们是 L-赖氨酸、L-色氨酸、L-苏氨酸、L-缬氨酸、L-亮氨酸、L-异亮氨酸、L-苯丙氨酸和 L-蛋氨酸。还有两种半必需氨基酸，即精氨酸和酪氨酸。在鸡蛋、牛乳等动物性蛋白质中各种必需氨基酸之间的比值与人体构成蛋白质需要的比值基本一致，可以全被人体吸收，称之为全价蛋白质；而各类植物蛋白质中的各种氨基酸比值不很适宜，缺少的氨基酸称之为限制氨基酸，影响人体对其它必需氨基酸的吸收，造成蛋白质利用率低，因而降低了这些食物的营养价值。表 1 列出几种植物蛋白质中缺少的必需氨基酸（均为 L 型）。

表 1 植物原料的限制氨基酸

原料	蛋白质含量/%	第一限制氨基酸	第二限制氨基酸	第三限制氨基酸
大米	7~8	赖氨酸	蛋氨酸	苏氨酸
玉米	9.0	赖氨酸、蛋氨酸	色氨酸	精氨酸
高粱	9.5	赖氨酸	精氨酸	蛋氨酸
小麦	12.6	赖氨酸	苏氨酸	精氨酸

续表

原料	蛋白质含量/%	第一限制氨基酸	第二限制氨基酸	第三限制氨基酸
大麦	11.0	赖氨酸	蛋氨酸	精氨酸
大豆渣	46.2	蛋氨酸	苏氨酸	缬氨酸
棉子渣	36.1	赖氨酸	亮氨酸	蛋氨酸

根据组成蛋白质的 20 种氨基酸的侧链 R 基的化学结构, 可将它们分为 4 大类:

(1) 脂肪族氨基酸 含一氨基一羧基的氨基酸: 甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸 (或称蛋氨酸)、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸; 含一氨基二羧基的氨基酸及其酰胺: 谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸、天冬酰胺; 含二氨基一羧基的氨基酸: 赖氨酸、精氨酸。

(2) 芳香族氨基酸 苯丙氨酸、酪氨酸。

(3) 杂环氨基酸 组氨酸、色氨酸。

(4) 杂环亚氨基酸 脯氨酸。

根据侧链 R 基团的不同, 还可把 20 种氨基酸分为两大类: 极性氨基酸和非极性氨基酸。

极性氨基酸又根据它们在 pH6~7 范围内是否带电, 区分为: ① 极性不带电荷: 有丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、酪氨酸、半胱氨酸; ② 极性带负电荷: 有天冬氨酸、谷氨酸; ③ 极性带正电荷: 有组氨酸、赖氨酸、精氨酸。

非极性氨基酸: 甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、脯氨酸和色氨酸, 共 9 种氨基酸。其中甘氨酸按理属于极性氨基酸, 因 α -碳上的氢受到易解离的 α -氨基和 α -羧基的影响, 体现不出它的极性, 故列于非极性这一大类。

二、氨基酸的性质

1. 物理性质

由于组成蛋白质的氨基酸大部分是具有不对称碳原子的 α -氨基酸及其衍生物, 因而具有某些物理共性: 属光学活性物质, 有旋光性, 大多数是 L-型。

(1) 晶形和熔点 α -氨基酸都是无色的结晶体, 各有其特殊的结晶形状, 熔点都很高, 一般在 200~300℃ 之间, 而且在这温度之间便分解。氨基酸的一些物理常数见表 2。

表 2 氨基酸的一些物理常数

氨基酸	物理形状	熔点/℃
甘氨酸	白色单斜晶	292°
丙氨酸	自水, 菱形晶	变黑, 232~233
缬氨酸	自乙醇, 六角形叶片状晶 自水**, 柱状晶	297°
亮氨酸	自水, 无水叶片状晶	337°
异亮氨酸	自乙醇**, 菱形叶片或片状晶	285~286°
天冬氨酸	无色, 菱形叶片状晶	269~271
谷氨酸	无色, 四角形晶	202~203
精氨酸	自水, 柱状晶; 自乙醇, 片状晶	变黑, 238
赖氨酸	自乙醇, 扁六角形片状晶	224~225

续表

氨基酸	物理形状	熔点/℃
苏氨酸	斜方晶	253
丝氨酸	六角形片或柱状晶	223~228°
胱氨酸	自稀 HCl, 六角形或六角形晶	258~261°
半胱氨酸	晶粉	178
蛋氨酸	六角形片状晶	283°
苯丙氨酸	自水, 叶片状晶	283~284°
酪氨酸	自水, 丝状针晶	342~344°
组氨酸	自水, 叶片状晶	277°
色氨酸	无色、六角形叶片状晶	281~282
脯氨酸	自水, 柱状晶; 自乙醇, 针状晶	220~222°
羟脯氨酸	菱形片或细针晶	270°

* 表示熔点后分解。

** “自水”指从水中结晶, “自乙醇”指从乙醇中结晶。

(2) 溶解度 各种氨基酸均能溶于水, 其水溶液都是无色的。但溶解度不同: 在凉水中酪氨酸很难溶解, 而在热水中溶解度较大; 脯氨酸非常容易溶解, 在乙醇中, 除脯氨酸外, 其它均不溶解或很少溶解; 胱氨酸难溶于凉水和热水。但氨基酸的盐酸盐比游离的氨基酸易溶于酒精中; 所有氨基酸都不溶于乙醚、氯仿等非极性溶剂, 而均溶于强酸、强碱中。天然氨基酸的溶解度见表 3。

(3) 旋光性 除甘氨酸外, 所有天然氨基酸都具有旋光性。天然氨基酸的旋光性在酸中可以保持, 在碱中由于互变异构, 容易发生外消旋化。氨基酸的旋光度见表 3。用测定比旋光度的方法可以测定氨基酸的纯度。

表 3 天然氨基酸的溶解度和旋光性

氨基酸	25℃水中的 溶解度/%	旋 光 性				
		左或右旋*	比旋光度/ (°)	浓度/%	溶剂	温度/℃
胱氨酸	0.011	—	—212.9	0.99	1.02mol/L HCl	25
酪氨酸	0.045	—	—7.27	4.0	6.08mol/L HCl	25
天冬氨酸	0.05	+	+24.62	2.0	6mol/L HCl	24
谷氨酸	0.84	+	+31.7	0.99	1.73mol/L HCl	25
色氨酸	1.13	—	—32.15	2.07	水	26
苏氨酸	1.59	—	—28.3	1.1	水	20
亮氨酸	2.19	+	+13.91	9.07	4.5mol/L HCl	25
苯丙氨酸	2.96	—	—35.1	1.93	水	20
蛋氨酸	3.38	+	+23.4	5.0	3mol/L HCl	20
异亮氨酸	4.12	+	+40.6	5.1	6.1mol/L HCl	25
组氨酸	4.29	—	—39.2	3.77	水	25
丝氨酸	5.02	+	+14.5	9.34	1mol/L HCl	25
缬氨酸	8.85	+	+28.8	3.40	6mol/L HCl	20
丙氨酸	16.51	+	+14.47	10.0	5.97mol/L HCl	25
甘氨酸	24.99	无				
羟脯氨酸	36.11	—	—75.2	1.0	水	22.5

续表

氨基酸	25℃水中的 溶解度/%	旋光性				
		左或右旋*	比旋光度/ (°)	浓度/%	溶剂	温度/℃
脯氨酸	62.30	—	-85.0	1.0	水	20
精氨酸	易溶	+	+25.58	1.66	6mol/L HCl	23
赖氨酸	易溶	+	+25.72	1.64	6.08mol/L HCl	25

* “—”表示左旋，“+”表示右旋。

2. 化学性质

氨基酸的化学性质与其分子的特殊功能基团，如羧基、氨基和侧链的 R 基团（羟基、酰胺基、羰基、碱基等）有关。氨基酸的羧基具有羧酸羧基的性质（如成盐、成酯、成酰胺、脱羧、酰氯化等），氨基酸的氨基具有一级胺（R—NH₂）氨基的一切性质（如与 HCl 结合、脱氨、与 HNO₂ 作用等）。氨基酸的化学通性皆由此二基团所产生。一部分性质是氨基参加的反应，一部分是羧基参加的反应，还有一部分则为氨基、羧基共同参加或侧链 R 基团参加的反应。氨基酸的重要化学反应见表 4。

表 4 氨基酸的重要化学反应

有关反应基团	氨基酸的化学反应	重 要 性
—NH ₂ 参加的反应	与 HNO ₂ 作用 与甲醛作用 成盐(—NH ₂ 与 HCl 结合) 酰基化(—NH ₂ 的 H 被酰基代替) 烃基化(—NH ₂ 的一个 H 被烃基取代) 脱氨(氧化脱氨)	为测定氨基氮方法的基础 作为氨基酸两性离解的旁证 为氨基酸是两性离子的证据及制备晶体氨基酸的依据 在人工合成肽时作为—NH ₂ 的保护基 用于测定肽链 N 端氨基酸，并为—NH ₂ 的保护基 氨基酸分解代谢的重要反应
—COOH 参加的反应	成酯或盐 酰氯化 成酰胺 脱羧 迭氮 还原成醇	人工合成肽链保护羧基用 人工合成肽链活化羧基用 生物体储 NH ₂ 的方式 是氨基酸代谢的重要反应之一 对人工合成肽链使羧基活化 鉴定肽链末端用
—NH ₂ 与—COOH 共同参加的反应	两性离解 成肽 茚三酮反应 离子交换反应 与金属离子形成络合物	对酸碱有缓冲作用 为肽链形成的基本反应 氨基酸定性、定量显色用 分离、提纯氨基酸、肽或蛋白质用 为解释酶及结合蛋白质某些性质的基础
苯环	与浓 HNO ₃ 作用产生黄色物质	可作为蛋白质定性试验
酚基	1) 与 Hg(NO ₃) ₂ 、Hg(NO ₃) ₂ 和 HNO ₃ 作用呈红色 2) 能还原磷酸、磷酸、成钼蓝和钨蓝	为米伦氏 (Millon) 反应的基础，可供测酪氨酸用 是 Folin 反应的基础，可用于蛋白质定性、定量
吡啶基	1) 与乙醛酸及浓 H ₂ SO ₄ 作用呈紫红色 2) 能还原磷酸、磷酸成钼蓝、钨蓝	为蛋白质定性试验和测色氨酸的基础 同上

续表

有关反应基团	氨基酸的化学反应	重 要 性
胍基	1) 与 α -萘酚和次溴酸盐作用生成红色物质 (在碱性液中) 2) $\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \\ \text{C}=\text{NH} \xrightarrow[\text{H}_2\text{SO}_4]{\text{HNO}_3} \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{H}-\text{N}-\text{NO}_2 \\ \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{NH} \end{array}$	可用于蛋白质定性试验 (坂口氏 [Sakaguchi] 反应) 可保护胍基, 用于肽合成
咪唑基	亚胺—NH 部位可同三苯甲基或磷酸结合	有保护咪唑基的作用
巯氢基 (—SH)	1) —SH 可与 $(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{C}$ —结合成 $-\text{S}-\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ 2) —SH 可氧化成 $-\text{SO}_3\text{H}$	有保护—SH 的作用 半胱氨酸代谢中的一种反应
—OH (丝氨酸、酪氨酸)	可与乙酸作用成 $\text{O}-\text{OC}-\text{CH}_3$, 与磷酸作用成酯	有保护丝、酪两氨基酸的—OH 的作用, 在合成肽工作中, 有时有必要

三、氨基酸的生产方法

氨基酸的制造从 1820 年水解蛋白质开始, 1850 年用化学法合成了氨基酸, 直至 1957 年日本用发酵法生产谷氨酸获得成功, 推动了其它氨基酸的研究开发。至今氨基酸生产方法虽有抽提法、化学合成法以及生物法 (包括直接发酵法和酶转化), 但绝大多数氨基酸是以发酵法或酶法生产的 (见表 5)。

表 5

主要氨基酸的生产方法

名 称	生产方法	名 称	生产方法
L-缬氨酸	发酵法、合成法	甘氨酸	合成法
L-亮氨酸	抽提法、发酵法	D, L-丙氨酸	合成法
L-异亮氨酸	发酵法	L-丙氨酸	发酵法、酶法
L-苏氨酸	发酵法	L-丝氨酸	发酵法
D, L-蛋氨酸	合成法	L-谷氨酸	发酵法
L-蛋氨酸	合成法、酶法	L-谷氨酰胺	发酵法
L-苯丙氨酸	合成法、酶法	L-脯氨酸	发酵法
L-赖氨酸	发酵法、酶法	L-羟脯氨酸	抽提法
L-精氨酸	发酵法、酶法	L-鸟氨酸	发酵法
L-天冬氨酸	发酵法	L-瓜氨酸	发酵法
L-半胱氨酸	抽提法	L-酪氨酸	抽提法

第二节 氨基酸发酵的历史与发展动向

一、氨基酸发酵的历史

氨基酸的制造是从1820年水解蛋白质开始的。1850年在实验室内用化学法也合成了氨基酸。1866年德国化学家里豪森利用硫酸水解小麦面筋,分离到一种酸性氨基酸,依据原料的取材,将此氨基酸命名为谷氨酸。1872年赫拉西维茨等用酪蛋白也制取了谷氨酸。1890年沃尔夫利用 α -酮戊酸经溴化后合成DL-谷氨酸。日本池田菊苗教授在探讨海带汁的鲜味时,提取了谷氨酸,并在1908年开始制造商品味之素。1910年日本味之素公司用水解法生产谷氨酸。1936年美国从甜菜废液(司蒂芬废液)中提取谷氨酸。

利用微生物发酵法制造氨基酸的最初产品是L-谷氨酸。第二次世界大战后不久,美国农业部研究所的L. B. Lockwood发现在葡萄糖培养基中,好气性培养荧光杆菌时能积累 α -酮戊二酸,并发表了用酶法或化学法将此酮戊二酸转换为L-谷氨酸的研究报告。日本从1948年起由坂口、胡井、片桐、增尾、相田等教授进行了积极的研究,发现了对糖转化率50%~60%的 α -酮戊二酸产生菌,暗示了用发酵法生产L-谷氨酸为期不远。1954年多田、中山两博士报告了直接发酵谷氨酸的研究。1956年日本协和发酵公司的木下视郎分离选育出一种新的细菌——谷氨酸棒杆菌,同化利用100g葡萄糖,可在发酵液中直接积累L-谷氨酸40g以上。随后进行了工业化研究,自1957年起发酵法味精正式商业性生产。日本味之素、三乐、旭化成工业公司等也相继投产。谷氨酸发酵各方面的研究飞速发展,从而进入繁盛的时代。伴随L-谷氨酸发酵的扩大,产生了利用糖蜜、醋酸等原料发酵法生产谷氨酸,进而又有利用正烷烃、醇类的研究。发酵法生产谷氨酸的成功,是现代发酵工业的重大创举,也是氨基酸生产中的重大革新,同时大大推动了其它氨基酸发酵研究和生产的发展,逐步形成了用发酵法制造氨基酸的新型发酵工业部门。

协和公司的木下博士等为了改良谷氨酸棒杆菌的性能,引入遗传生物化学的知识与技术,培养了许多人工诱发突变株,发现能生产颇为多量的L-赖氨酸、L-鸟氨酸、L-缬氨酸等,从而使L-赖氨酸发酵、L-鸟氨酸发酵、L-缬氨酸发酵等的生产得以实现。三乐、味之素公司的研究小组,在从自然界筛选L-谷氨酸产生菌时,发现了丙氨酸产生菌。

随后,对各种氨基酸发酵及其工业化的研究颇为活跃。1958年志村、植村两教授研究苏氨酸、异亮氨酸发酵时,提出了添加前体的发酵法。1959年北原等报道了通过酶转化法由反丁烯二酸铵生产L-天冬氨酸的发酵,转化率接近100%,产率为25~40g/100mL。1960年至1961年,协和公司先后发表了L-高丝氨酸、L-苯丙氨酸、L-酪氨酸发酵的研究结果。1962年以后,进行了大量的石油氨基酸发酵研究,发现了能够以石油为原料生产谷氨酸、缬氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、丙氨酸、甘氨酸等。其中石油发酵谷氨酸、赖氨酸等均已达到糖质原料的水平,但因安全与成本等问题而未能工业化。1965年报道了L-瓜氨酸发酵、L-脯氨酸发酵的研究。1966年日本大规模地转为以醋酸为原料发酵法生产谷氨酸。1967年三乐公司研究小组发表了以乙醇为原料的L-谷氨酸发酵,发酵成绩超过了葡萄糖。

我国氨基酸生产最早在1922年用酸法水解面筋生产谷氨酸钠即味精,在上海开办了天厨味精厂,该味精的制造方法曾向美、英、法申请专利,并取得了专利权。并先后建立了沈阳味精厂、青岛味精厂和天津味精厂,规模均很小,1949年全国味精总产量不到500t。

1965 年发酵法生产味精取得成功, 带动了其它氨基酸的研究开发。1965 年以后, 我国味精生产全部采用以淀粉质或糖蜜为原料的微生物发酵工艺, 大大地促进了生产的发展, 到 1985 年全国味精生产企业达到 140 家。随着酶制剂的应用和生产工艺及装备的改进, 技术水平不断提高, 进一步推动了味精生产的快速发展。发酵法 L-赖氨酸生产起步于 20 世纪 70 年代, 当时仅有上海天厨味精厂少量生产, 1981 年在广西建成年产 100t 食品级 L-赖氨酸试验工厂, 于 1987 年投产。

二、氨基酸发酵的现状

自从发酵法生产谷氨酸成功以后, 世界各国纷纷开展氨基酸发酵的研究与生产, 产量增长很快。根据日本必需氨基酸协会的市场调查, 1996 年世界氨基酸总产量达 165 万吨, 产值近 25 亿美元, 到 2000 年氨基酸产量达 237 万吨, 销售额接近 45 亿美元, 占生物技术产品销售额的 7%。但除谷氨酸、赖氨酸和蛋氨酸外, 其它品种产量均不大。世界氨基酸产量见表 6。目前氨基酸产业发展较快的国家, 前几位是美国、日本和中国, 近年来西欧和亚洲一些国家也加快了发展, 如印度尼西亚、韩国的谷氨酸钠和赖氨酸也大量出口。

表 6

世界氨基酸产量

单位: t

品 种	世界氨基酸产量			
	1969 年	1990 年	1996 年	2000 年
甘氨酸	3000	6000	22000	19000
L-丙氨酸	20	200	500	1800~2000
L-天冬氨酸	100	6000	7000	12000~13500
L-半胱氨酸	—	1500	1500	4500
L-精氨酸	250	1000	1200	1400~1500
L-谷氨酸钠	185000	640000	1000000	1500000
L-组氨酸	50	350	400	400~420
L-异亮氨酸	20	300	400	400
L-亮氨酸	30	400	500	500
L-缬氨酸	50	400	500	600
D, L-蛋氨酸	40000	300000	350000	>400000
L/D, L 苏氨酸	30	700	4000	15000~17000
L-苯丙氨酸	50	7000	5000	11000~12000
L-赖氨酸盐酸盐	18000	150000	250000	>400000
L-丝氨酸	4	150	200	250~270

1. 日本氨基酸生产的发展

日本是世界氨基酸产品的主要生产国。1981 年在华沙召开第一次氨基酸国际会议以后, 日本看准了氨基酸产业, 1987 年日本为保持其氨基酸生产与出口大国地位, 通产省成立了由产业、大学和政府有关专家组成的“氨基酸化学研究会”, 着手研究建立以氨基酸为基础的新型化学产业体系, 这进一步促进了日本氨基酸工业的发展和技术进步。近年来由于日本国内原料价格高, 三废处理耗费大, 很多企业向海外发展, 而日本国内需要的氨基酸从国外

进口,数量不断增加,使日本国内氨基酸产量有些减少,但从氨基酸的研究开发和氨基酸品种的齐全来说,日本仍是氨基酸的重要开发基地之一。

目前日本氨基酸在世界市场的占有率为35%,销售额占50%。日本的主要氨基酸生产企业为日本味之素公司。该公司是氨基酸产业历史最长、最具实力的国际大公司,其氨基酸产业的发展在国际上是处于前列的,因饲料用赖氨酸市场需求量大,在国外抢先建厂,1996年味之素公司生产的赖氨酸已占国际市场的4成,到2000年发展到20万吨。在美国、法国、意大利、泰国设有分公司,近期又在巴西、中国合资生产赖氨酸,在氨基酸的技术研究方面利用基因重组技术生产L-苏氨酸和氨基酸体系表面活性剂,氨基酸基生物可降解洗涤剂已于1998年上市。

日本协和发酵公司在美国、墨西哥建立赖氨酸生产厂,生产能力分别达2.5万吨和4万吨,同时在美国的分公司还生产苏氨酸和色氨酸,由该公司采用基因重组技术开发的药物中间体——羟基脯氨酸已开始上市,该公司在氨基酸生产菌的基因育种方面一直走在前面;近年来日本的味之素公司和协和发酵公司在中国上海合资生产药用氨基酸规模较大。

2. 美国氨基酸生产的发展

美国的基因重组技术选育氨基酸高产菌的工作也走在世界前列,ADM公司是美国生产氨基酸产品的大公司之一,公司以市场为导向,对生产甜味剂的原料天冬氨酸和L-苯丙氨酸,饲料用的赖氨酸、苏氨酸、色氨酸首先加大开发力度,抢占市场。如20世纪90年代后期美国ADM公司赖氨酸生产能力就达11.3万吨,占当时世界赖氨酸产量25万吨的45.25%。在生物制品方面,ADM的最主要的产品就是L-赖氨酸,2003年其赖氨酸生产能力为18万吨。其它发酵产品有乳酸、柠檬酸、黄原胶、苏氨酸和色氨酸。基因重组的工程菌生产苏氨酸、色氨酸向日本输出,并已获得准许。

美国继天冬二肽甜味剂热销市场以来,又开发新一代人造甜味剂,称之阿丽泰(Alitame),由天冬氨酸与丙氨酸合成,其甜味比天冬二肽更为纯正,耐热性更好,上市以来发展迅速。

3. 我国氨基酸生产的发展

随着氨基酸优良菌种筛选及新工艺的开发,在全国科研院所涌现出一大批成果,促进了我国氨基酸产业的发展。目前我国谷氨酸钠的年产量位居世界首位。2003年达到119万吨,占世界产量的70%以上,已建赖氨酸生产能力超过30万吨。据最新统计,2006年1月至5月,我国味精总产量为60.89万吨,生产企业76家,实现工业总产值64.47亿元,利税4.09亿元,从业人数4.7万人。此外采用发酵法或酶法结合化学合成和抽提法生产的氨基酸,于1999年形成工业规模,达到产业化的有13种氨基酸,其中包括L-谷氨酸钠、L-赖氨酸及其盐酸盐、L-天冬氨酸、甘氨酸、DL-蛋氨酸、L-半胱氨酸、L-丙氨酸、L-脯氨酸、L-异亮氨酸、L-缬氨酸、L-苏氨酸和DL-丙氨酸。随着氨基酸国产化速度的加快,自主研究成果的有效转化,应用于输液的18种药用氨基酸原料,至今只有两种氨基酸即L-丝氨酸和L-色氨酸尚不能大规模工业化生产,其余均已投产,国产化已达80%以上,但由于药用和饲用氨基酸中一些小品种和需要量增长快的大品种仍不能完全满足市场需求,每年尚从国外进口,花外汇在数亿美元以上。

三、氨基酸发酵的发展动向

目前,世界各大氨基酸生产国的厂商积极发展氨基酸发酵新技术,国内外氨基酸产业的发展除了在生产技术和手段方面突飞猛进外,氨基酸深层次加工及新产品开发是今后发展方

向。氨基酸产品的涵义已从传统的蛋白质氨基酸发展到包括非蛋白质氨基酸、氨基酸衍生物及短肽类在内的一大类对人类生活和生产起着越来越重要作用的产品类群。这为氨基酸工业的进一步发展提供了巨大的动力,为氨基酸及相关产业注入新的活力。

(一) 新技术和工艺的开发应用

1. 现代生物技术在氨基酸工业中的应用

近年来,氨基酸产生菌的育种工作广泛运用细胞内基因重组技术和重组 DNA 技术,从而提高了氨基酸生产菌育种的有效率和新菌株的产酸水平。三井化学公司利用重组 DNA 技术构建的 L-色氨酸工程菌可使目的产物的产量提高一倍以上,目前该公司正建成一条年产 3000t 的 L-色氨酸的新生产线。除色氨酸外,通过对工业微生物的 DNA 改造可使 L-苏氨酸和 L-精氨酸的产量大大提高,从而使其生产成本大幅下降,并为市场用量的扩大奠定了基础。据统计,利用生物工程(重组 DNA)技术改造过的菌种,已用于包括谷氨酸在内的 6 种氨基酸的生产。因此利用现代生物技术构建氨基酸工程菌已成为一种趋势。

2. 生物化工技术在氨基酸工业中的应用

生物化工技术是生物工程与化学工程技术相结合的产物。生物化工技术的发展将有力地推动氨基酸工业的技术进步。目前许多大型企业如杜邦、孟山都、拜耳、陶氏化学都在投巨资和科研力量进行研究。已开发出的许多氨基酸、聚合氨基酸生产技术在氨基酸工业中广泛应用。国内氨基酸行业应高度重视,尽快解决目前氨基酸行业存在发酵周期长、分离提纯技术落后、产品收率低和产品质量不高等问题,以促进我国氨基酸行业的腾飞。

(二) 新产品的开发、新应用领域的拓展

目前氨基酸主要用作食品补充剂、饲料添加剂、临床营养制剂以及氨基酸药物(如氨基酸注射液、氨基酸口服液、氨基酸制剂)等。不可否认,应以营养和医药为本,扩大氨基酸在这些领域的应用。此外,尚有许多氨基酸应用新领域有待拓展。

1. 医药中间体

市场对手性药物需求的日益增长也促进了药用氨基酸的增长,氨基酸及其衍生物成为合成手性药物的重要原料。L-脯氨酸是胆碱酯抑制剂(ACE)的合成原料。D-苯甘氨酸和 D-对羟基苯甘氨酸是制备羟氨苄青霉素、头孢羟氨苄等 β -内酰胺类半合成抗生素的主要原料。L-缬氨酸是合成环孢菌素的原料。L-苯甘氨酸是合成 HIV 蛋白酶抑制剂和抗肿瘤药物紫杉的重要原料。位于日本大阪和美国纽约的 KaneKa 公司擅长于将合成中的生物转化和微生物拆分。在新加坡设有年产 1000t 的氨基酸工厂,生产的手性中间体包括 α -内酰胺抗生素侧链 D-苯甘氨酸和 D-对羟基苯甘氨酸。

氨基酸在手性药物合成中的应用,使手性药物成为世界新药研究和开发的新方向和热点之一。

2. 肽类

乳链菌肽也称乳酸链球菌素,是从乳酸链球菌发酵中制备的一种多肽物质,对大部分革兰氏阳性菌有强烈的抑制作用。在食品中添加十万分之几到万分之几的乳链菌肽,即可强烈抑制食品腐败,不会出现传统抗生素所引起的抗药性。1969 年,WHO 将之确认为一种高效、无毒的天然食品防腐剂。近年来发现乳链菌肽除了可以作为天然防腐剂外,还可以防治胃、十二指肠溃疡、口腔溃疡和皮肤病。2005 年 3 月,世界规模最大的乳链菌肽专业化生产厂——浙江银象生物工程有限公司新厂在浙江天台建成。该厂年产 150t 乳链菌肽,不仅可大大缓解食品行业对乳链菌肽的需求,也可以保持我国在乳链菌肽生产、研究领域的世界