

酿造微生物学基础

江苏省调味副食品科技情报站印

酿造微生物学基础

檀耀辉 赵玉莲编著

江苏省调味副食品科技情报站印

序

本书是专为从事酿造行业的工程技术人员、工人、管理干部和酿造专业的学生编写的。目的在于更好的研究、学习微生物学的理论基础和掌握熟练的操作技能。

本书包括绪论、微生物的形态、营养、生长、生理、酶、代谢、环境保护、遗传与育种、以及遗传工程在酿造微生物中的应用等内容。其中，对微生物的基本理论、实验技术叙述得比较透彻，并根据生物工程的发展，对微生物遗传育种和基因工程技术作了介绍。

本书还可作为高等院校生物系科以及有关大、中专学校食品和酿造学科师生的教学或参考用书。

书中选材和观点如有不妥之处，尚请读者随时予以批评指正。

檀耀辉

酿造微生物学基础

目 录

绪 论	(1)
一、概述	(1)
二、微生物学的发展简史	(7)
三、我国工业微生物学的发展概况	(12)
四、微生物在生物界中的地位、分类和命名	(18)
第一章 微生物的形态	(21)
第一节 研究微生物的基本方法	(21)
一、微生物形态的重要性	(21)
二、研究微生物的基本方法	(22)
第二节 霉菌	(28)
一、霉菌的形态和构造	(28)
二、霉菌的繁殖和生活史	(31)
三、酿造工业上常见的几种霉菌及其生理特征	(40)
第三节 酵母	(60)
一、酵母菌的形态	(61)
二、酵母的细胞结构	(61)
三、酵母菌的繁殖方式	(64)
四、酵母的繁殖条件与发酵条件	(70)
五、工业上常用的酵母菌	(77)
第四节 细菌	(97)

一、细菌的形态·····	(98)
三、细菌细胞的结构·····	(104)
三、细菌的繁殖方式与菌落形态·····	(110)
四、酿造工业上常用的细菌·····	(114)
第五节 放线菌·····	(126)
一、放线菌的形态与构造·····	(126)
二、放线菌的繁殖方式·····	(128)
三、几种常用的放线菌·····	(130)
第六节 担子菌·····	(132)
一、凤尾菇的栽培·····	(134)
二、蘑菇5.176菌株栽培·····	(143)
第二章 微生物的营养 ·····	(148)
第一节 微生物的营养需要·····	(148)
一、微生物细胞的化学组成·····	(148)
二、营养物及其功能·····	(151)
第二节 微生物的营养类型·····	(158)
一、自养型·····	(158)
二、异养型·····	(161)
第三节 微生物营养的吸收和代谢产物的分泌·····	(163)
一、单纯扩散（被动运输）·····	(165)
二、促进扩散·····	(166)
三、主动运输·····	(167)
四、基团转位·····	(169)
五、代谢物质的分泌·····	(170)
第四节 培养基·····	(171)
一、培养基的种类·····	(171)

(718)	二、配制培养基的原则·····	(176)
第三章 微生物的生长·····(180)		
(818)	第一节 微生物纯培养的生长·····	(180)
(018)	一、纯培养分离的方法·····	(181)
(518)	二、微生物的生长·····	(183)
(218)	第二节 微生物生长的一种化学描述·····	(186)
(318)	第三节 微生物生长的测定·····	(187)
(078)	一、直接计数法·····	(188)
(208)	二、间接计数法·····	(190)
(838)	三、微生物的生长曲线·····	(191)
(548)	第四节 影响微生物生长的因子·····	(193)
(808)	一、物理因素对微生物的影响·····	(194)
(608)	二、化学因素对微生物的影响·····	(215)
第四章 微生物的代谢·····(219)		
(018)	第一节 微生物代谢的分子工具——酶·····	(219)
(178)	一、酶的特点·····	(219)
(088)	二、酶的分类·····	(223)
(008)	三、酶的结构与功能·····	(224)
(088)	四、酶的应用·····	(226)
(118)	第二节 微生物的代谢·····	(229)
(488)	一、代谢类型·····	(229)
(028)	二、代谢过程的调节·····	(233)
(728)	三、蛋白质的生物合成·····	(242)
(818)	第三节 微生物代谢调节与控制的应用·····	(244)
(288)	一、谷氨酸发酵·····	(244)
(008)	二、利用营养缺陷型选择赖氨酸发酵菌种·····	(246)

三、在酶制剂生产上的应用·····	(247)
第五章 微生物与环境保护·····	(248)
第一节 自然界中的微生物·····	(248)
一、土壤中的微生物·····	(249)
二、水中的微生物·····	(252)
三、空气中的微生物·····	(255)
四、工农业产品中的微生物·····	(258)
五、微生物与自然界中的物质循环·····	(260)
第二节 微生物之间的相互关系·····	(265)
一、微生物间的互生关系·····	(266)
二、微生物间的共生关系·····	(267)
三、微生物间的拮抗关系·····	(268)
四、微生物间的寄生关系·····	(269)
第三节 微生物与环境保护·····	(269)
一、微生物与无机污染物·····	(270)
二、微生物与有机污染物·····	(271)
第六章 酿造微生物的遗传变异和育种技术·····	(280)
第一节 遗传变异的物质基础·····	(280)
一、遗传物质的发现和证实·····	(280)
二、DNA的化学结构和复制方法·····	(281)
三、遗传物质在细胞中存在的形式·····	(284)
第二节 微生物变异的类型和机制·····	(286)
一、基因突变的类型·····	(287)
二、基因突变的规律·····	(288)
三、突变的机制·····	(289)
第三节 酿造微生物菌种选育的方法与原理·····	(290)

(288)	一、自然选育	(290)
(388)	二、诱变育种	(293)
(188)	第四节 基因重组和杂交育种	(338)
(488)	一、原核微生物(细菌)的基因重组	(338)
(388)	二、真核微生物的基因重组和杂交育种	(348)
(788)	第五节 菌种的衰退、复壮和保藏	(350)
(888)	一、菌种的衰退与复壮	(350)
(188)	二、菌种的保藏	(356)
	第七章 基因工程及其在发酵工业上的应用	(360)
(588)	第一节 基因工程的概见	(360)
(388)	一、基因分离	(361)
(288)	二、体外重组	(361)
(788)	三、载体传递	(363)
(888)	四、复制	(363)
(188)	五、筛选	(363)
(1088)	第二节 基因工程在发酵工业上的应用	(364)
	一、氨基酸发酵	(364)
	二、酶的发酵生产	(369)
	三、酒精生产新技术	(369)
	四、新型甜味剂的开发	(373)
	五、多肽激素	(375)
	六、单细胞蛋白(SCP)	(377)
	第八章 酿造微生物的几个实验法	(380)
	第一部分 酵母实验法	(380)
	实验一、曲中酵母的分离	(380)
	实验二、酵母细胞死活的区别	(381)

(002)	实验三、酵母子囊孢子的生成.....	(382)
(802)	实验四、酵母的死灭温度.....	(383)
(852)	第二部分 霉菌实验法.....	(384)
(838)	实验一、米曲霉孢子数的测定.....	(384)
(818)	实验二、米曲霉的个体形态观察.....	(386)
(000)	实验三、黄曲霉生曲酸的证明.....	(387)
(666)	实验四、成曲的蛋白酶.....	(388)
(866)	第三部分 细菌实验法.....	(391)
(088)	实验一、革兰氏染色法.....	(391)
(008)	实验二、醋酸菌.....	(392)
(138)	实验三、乳酸菌.....	(393)
附录 1	培养基.....	(395)
附录 2	染色液.....	(397)
附录 3	指示剂.....	(399)
附录 4	缓冲液.....	(401)
附录 5	比重换算表.....	(404)

绪论

一、概述

(一) 酿造微生物学研究的对象与任务

所谓微生物是指一群个体微小构造简单的生物，一般要借显微镜的帮助才能看清它们的形态。大多数微生物是单细胞（细菌酵母等）部份是多细胞（霉菌等）。它们的个体都很小，一般要用微米作单位来测量。它们中有些没有完整的细胞结构如病毒、支原体等，要用放大几万倍至几十万倍的电子显微镜才能看到。广义的微生物包括病毒、支原体、立克次氏体、细菌、放线菌、酵母菌、霉菌、单细胞藻类、原生动物等。但在酿造工业中经常遇到和应用的是细菌、放线菌、酵母菌、霉菌、吞噬细菌和放线菌的噬菌体。细菌和放线菌属于原核生物（即没有核膜），酵母和霉菌属于真核生物（即有完整的细胞核、核内有两套以上的染色体）。这群微小生物虽然形态不同，大小各异，但是它们的生活习性、繁殖方式、分类地位及分布范围又很相近似，尤其是它们的培养方法、研究技术基本相同，所以把它们归属于微生物界，作为一群生物来研究，是符合生物学体系的。

编写《酿造微生物学基础》一书的目的是：为了能使学习酿造专业的学生和从事酿造工业生产的工人及科学研究的工程技术人员更好地学习微生物学的理论基础和掌握熟练的操

作技能。本书既扼要地讨论了酿造行业所用的主要微生物的形态、分类、生理、生态和遗传变异等生物科学的共同特性，又介绍了与酱油发酵，食醋酿造、酱腌菜浸渍等有关微生物的特殊生长规律和代谢机理。具体地说在形态上阐明了细胞结构与功能；生理上阐明了新陈代谢规律和各种酶类合成速率对酿造产品、产量和质量之间的关系；在生态上探讨了微生物在自然界中分布情况、为寻找新菌种和防止杂菌污染提供依据；在遗传育种上阐述了微生物的遗传特性与环境条件之间的辩证关系；以便读者掌握这一规律为选种育种打下理论基础。

近年来，由于生物化学、分子生物学、分子遗传学等学科的飞跃发展，对微生物遗传物质的理化性质作了深入的研究。并对控制遗传功能的遗传信息和遗传信息的传递，遗传密码的转录、反转录及遗传信息的表达等均有较透彻的了解，在此基础上于七十年代中期发展了遗传工程学。

所谓遗传工程就是用人工的方法，把目的基因从供体DNA用工具酶切下，并用连接酶与载体DNA粘合，再导入受体细胞，使受体细胞与外源基因重组，从而改变受体生物的遗传性能，并按照人们预定的“工程蓝图”产生新一代，培育出符合生产需要的新物种。对酿造工业来讲，就是利用遗传工程这一手段，来改造原有生产菌性能上的缺点。例如：发酵周期长，原料利用率低，（酱油生产中的大豆蛋白质利用率低），蛋白酶不耐温等，从而可以改革工艺，提高劳动生产率，降低生产成本，为四化建设服务。

微生物的遗传现象，是由微生物自身的遗传基因所决定的。每种微生物的遗传基因是代代相传，自然变异的频率很

小。这种基因就记载在DNA的分子链上,在DNA分子链上有编码功能的片段称为基因。基因决定每种生物的外形、生理特性、代谢性能、产酶活力。最近日本人Y. Takeichi用基因工程技术组建 α -淀粉酶高产菌株,使 α -淀粉酶活力提高了1000~2000倍。这说明基因工程技术在组建酿造工业高产菌株是大有前途的。利用遗传工程手段,不仅可以定向改变微生物的遗传特性,而且可以跨越种属界限,人为地创造自然界还不存在的具有优异性能的新菌种。

(二) 微生物的特点

当前国际上第四次产业革命中,把生物工程列为重点。而生物工程的四大内容(基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程)中又以发酵工程最为重要,其原因就是微生物具有种类多、繁殖快、分布广、容易培养、代谢能力强、很方便地被用来解决物质循环,工农业生产及医学中许多疑难问题。

1. 种类多

根据统计,目前已发现的微生物有十万种以上。而且不同种类的微生物具有不同代谢的方式,能分解各式各样的有机物质。因此在自然界中虽然存在着各种分解程度难易不同的物质,但亿万年来,地面上并没有堆积起来任何一种物质,这就是因为不同种类的微生物能分解不同的物质所致。当前国内外都喜欢利用微生物来防治公害,就是利用微生物各尽所能、各取所需、协同作用于三废中许多毒性强烈、结构复杂的物质。另一方面,不同的微生物能积累的代谢产物也不同,所以发酵工业上常利用各种微生物来生产各种发

酵产品。如酒类、酒精、丙酮丁醇、抗生素、酶制剂、有机酸、氨基酸、核酸、维生素、菌体蛋白、医药产品和化工原料等等。

2. 繁殖快

在适宜条件下，大肠杆菌在20~30分钟繁殖一代，24小时可繁殖72代，从一个细胞可增至 47×10^{22} 个，如果把这些细胞排列起来，可将整个地球表面盖满。但是随着菌体数目的增加，营养物质迅速消耗，代谢物质逐渐积累、pH、温度、溶氧均随之而改变，因此适宜环境是很难持久的，所以微生物的繁殖速度，永远达不到上述水平。但是比高等植物的生长速度还是要快千万倍。例如培养酵母生产蛋白质，每8小时就可以收获一次，若种大豆生产蛋白质，最快也要100天。又如用乳酸菌生产乳酸，每个细胞产生的乳酸为其体重的 10^3 至 10^4 倍。可见利用微生物生产发酵产品，其生产速度虽然赶不上化工合成，但比利用高等动植物要快得多。而且有许多生理活性物质，如蛋白质(酶)、绝大部分的抗生素等，用化学合成尚不能生产。

3. 分布广

在自然界中，上至天空、下至深海到处都有微生物存在。特别像土壤，是各种微生物的大本营。据估计：一亩肥沃的土壤，150厘米深的表土内，就含有300公斤以上的真菌和裂殖菌。任意取一把土或一粒土，就是一个微生物的世界，其中含有不同种类和不同数量的微生物。因此我们可以就地取材，分离到所需要的菌种。当然在采土样时，也要考虑微生物的生态特征，如分离酒类发酵的酵母，一般都从水果表皮或果园土壤中分离。分离石油发酵菌类，也容易从油

田附近的土壤中获得。微生物除分布在空气、土壤、水中外，在谷粒、果、蔬的表面和动物的内脏里，都有微生物存在。

4. 容易培养

大多数微生物都能在常温、常压下，利用简单的营养物质生长，并在生长过程中积累代谢产物。因此利用微生物进行发酵生产食品、医药、化工原料都比化学合成法具有许多优点：1) 不需要高温、高压设备。有些发酵产品，如：酒、酱油、醋、乳酸在较简单的设备里就可以进行生产。2) 利用原料比较粗放，不但生产白酒、酒精和柠檬酸等可以利用廉价的山芋干为原料，就是许多精细的抗生素也是利用豆饼粉和玉米粉为原料生产的。3) 不用特殊催化剂，一般产品是无毒的。例如：微生物发酵方法，从醋酸可的松生产醋酸强的松，只用葡萄糖、玉米浆作原料，产品无毒性。用化学合成方法生产，原料中有二氧化硒、有毒性。

5. 代谢能力强

由于微生物的个体很小，具有极大的表面积和容积的比值。因此，它们能够在有机体与外界环境之间迅速交换营养物质与废物。从单位重量来看，微生物的代谢强度比高等动植物的代谢强度大几千倍至几万倍。例如酒精酵母，一公斤菌体一天内可以发酵几千公斤糖、生成酒精。从发酵工业的角度来看，代谢能力强，在短时间内能把大量基质转化为有用产品，这是极其有利的。从污水处理和制造堆肥的角度来看，能在短时间内把有害物质化为无害，把不能利用的物质分解为植物能吸收的肥料，这些都是极其有利的。只有霉腐微生物在代谢强度大了以后，破坏的物质就愈多。

6. 容易变异

由于大多数微生物是单细胞，利用物理的或化学的诱变剂处理以后，容易使它们的遗传性发生变异，从而可以改变微生物的代谢途径。例如谷氨酸生产菌经过诱变后，它的高丝氨酸缺陷型就可产生赖氨酸；它的抗乙硫氨酸变异株就可产生蛋氨酸。总之许多氨基酸和核苷酸生产菌，都是利用它们容易变异的特点、经过诱变处理，挑取营养缺陷型，调节代谢机制，解除反馈作用，就可产生氨基酸。又如许多抗生素生产菌株，都是经过诱变处理提高产量的。例如青霉素生产菌，开始时每毫升发酵液只有几十个单位的青霉素，现在经过诱变处理，已提高到几万单位，其他抗生素也是如此。又如柠檬酸发酵，最初在发酵液中必须添加黄血盐将铁离子除掉，或添加甲醇制剂才能大量积累柠檬酸。后来经诱变处理，改变了菌种对铁离子的敏感性；现在直接就可以利用废糖蜜进行发酵。我国利用甘薯干粉直接发酵生产柠檬酸的菌种，也是经过诱变处理的。总之由于微生物容易变异的特性，对提高菌种的生产能力是非常有利的。

（三）微生物在自然界物质循环中的作用

微生物在自然界物质循环中起着巨大的作用。例如：绿色植物进行光合作用时所需要的 CO_2 ，有90%是由细菌或真菌所提供的。如果土壤中没有微生物，则有机物质就不能迅速分解，无机物质不能转化，绿色植物就得不到丰富的养料，农业收成就成问题。提供给人人类消耗的粮食就得不到满足。更有甚者，在自然界中如果没有微生物的活动，则遗留在地面上的动植物尸体不能迅速分解，整个地面被动植物尸体堆满，连人类的立足之地也没有。有人说没有微生物就没有世

界，此言并非过份夸大。不仅碳素循环要靠微生物，就是氮素循环，也是微生物起着主导作用。例如：地面每年固定的氮素约一亿吨左右，其中由根瘤菌固定的占50%，由非共生固氮菌和蓝绿藻等所固定的占40%，而人工化学合成的仅占10%。其他如磷、硫、钾等元素的转化，也是离不开微生物的。由上所述，可见微生物对人类生存和世界文明起着极其重要的作用。当然事物总是一分为二的，微生物虽然起着许多有益的作用，但它们的活动，多数对人类是有害的。如电讯器材、棉、麻织物和粮食的发霉，使工农业生产每年都受到很大的损失。许多流行病的传染更夺去了亿万人的生命。

二、微生物学的发展简史

（一）我国古代劳动人民对微生物的利用和控制

远在四千多年以前，我国劳动人民就会利用微生物酿酒。虽然当时做酒的人，还不知道酒是糖经过酵母发酵而成。也不知道微生物的存在，但却利用微生物的作用制成酒、酱、醋、饴等发酵食品。

关于微生物是许多疾病的病源，我国人民也知道甚早。远在公元前六世纪，我国古代名医扁鹊就主张防重于治，是世界发展较早的医学思想。公元前556年已知驱逐狂犬，为预防传染病的有效方法。公元二世纪张仲景认为“伤寒病的流行与环境季节有关，并提出禁食病死的兽肉和不清洁的食物”。名医华佗除首创麻醉技术和剖腹外科手术外，还主张割去腐

肉以防传染。公元四世纪中葛洪著的《肘后方》一书中，除详细记载天花病状况外，并注意到天花流行的方式。种牛痘防治天花的方法，在宋真宗时代已广泛应用，后来传到亚洲其他国家。1717年经土耳其传到英国，继而传到欧洲和美洲各国。这不仅反映我国人民与天花疾病作斗争的成果，还在理论与方法上大大启示后人种牛痘的方法，而成为一切免疫方法的起源。

(二) 微生物的发现和微生物学的发展

人类对于微生物的利用，虽然起源甚早，但人类发现微生物的存在，却在显微镜的发明之后。直到十六世纪荷兰人列文虎克才首先看到微生物。

1. 微生物的启蒙时代——形态学期

十六世纪，列文虎克首次制成了放大200~300倍的显微镜。他利用自己制的显微镜观察了不同的物质，包括雨水、污水、血液、体液、辣椒水、腐败物质、有机物质浸出液、酒、醋、黄油、牙垢等物质，并在其中看到各种微小生物，称为“微动体”。随着显微镜技术的发展，许多微生物学家从事于“找微生物和进行分类鉴定”等工作。至于微生物所引起的发酵作用和由它们诱发的疾病，当时都不能理解。因此奠定微生物学基础的，还是列文虎克以后大约二百年的巴斯德和柯赫等人。

2. 微生物学的奠基时代——生理学期

微生物学的建立和发展是十九世纪五十年代开始的。当时伟大的微生物学家巴斯德经过长期对微生物的研究，不仅在理论方面作出了贡献，而且在实用方面也造福于人类。巴斯