

306

387695



56
51

工业微生物学

上海人民出版社

工业微生物学

上海人民出版社

工业微生物学

上海市轻工业局工业微生物学习班
复旦大学

上海人民出版社出版

(上海绍兴路5号)

新华书店上海发行所发行 上海市印刷三厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 4.75 字数 101,000

1971年12月第1版 1971年12月第1次印刷

书号: 15·4·200 定价: 0.27元

前 言

中国是世界文明发达最早的国家之一，由于我们祖先的辛勤劳动，创造了我国灿烂的古代文化。世界上最早把微生物应用于工业生产的，是我国古代的劳动人民。早在公元前两千多年，我国已经应用曲子作酒制酱，后来又有制醋法的记载。可是在解放前，由于帝国主义、封建主义和官僚资本主义三座大山的压迫和剥削，使我国生产和科学的发展，受到严重的阻碍，微生物发酵工业和我国其它工业一样，也处于极为落后的状态。

解放后，在伟大领袖毛主席和中国共产党的英明领导下，劳动人民翻身作主人，他们的聪明才智得到了充分的发挥，微生物在工农业生产上的应用也有了迅速的发展。特别在 1958 年，在伟大领袖毛主席提出的“鼓足干劲，力争上游，多快好省地建设社会主义”的总路线指引下，用毛泽东思想武装起来的广大工农兵和革命知识分子，破除迷信，解放思想，使微生物在生产上的应用，取得了新的成绩。但由于叛徒、内奸、工贼刘少奇反革命修正主义路线的干扰，在很大程度上阻碍了工业微生物的发展。

无产阶级文化大革命是使我国社会生产力发展的一个强大的推动力。在毛主席革命路线指引下，广大工人群众和革命的科技人员，批判了刘少奇所鼓吹的“洋奴哲学”、“爬行主义”等修正主义黑货，自力更生，大搞技术革新，使工业微生物和其它工业部门一样，得到了广泛的发展。石油微生物发酵脱蜡，酶法制革新工艺的试验成功到全面投产，就是突出的

例子。

无产阶级文化大革命以来，微生物在工业、农业、医药各个领域，都得到更为广泛的应用。例如，抗菌素、维生素、有机酸、有机溶剂、核酸、氨基酸等等的制造，很多都采用了微生物方法。微生物酶制剂在制革、纺织、制药、食品加工等过程的应用，正在为工艺革新提供新的途径。石油发酵、煤焦油综合利用、湿法冶金、工业污水处理的研究，已为微生物与重工业的结合展示了广阔的前景。微生物用于农用刺激素、杀虫剂的制造，已经有了不少新的发现和创造。我国工业微生物的发展是极为迅速的，但是我们不能停止在一个水平上，我们还要继续革命，继续前进。产品的种类和产量要继续增加，质量要不断提高。我国土地辽阔，蕴藏着大量微生物资源，我们一定能够筛选出更多的能合成各种有用产品的菌种，更快地发展我国的微生物工业，夺取更大的胜利。

为了促进工业微生物的发展，上海市轻工业局与复旦大学合作编写了这本《工业微生物学》，供从事微生物生产的工人同志学习。本书收集了生产实践中一些有关的典型材料，介绍微生物发酵的一般原理与方法。在编写过程中，我们力求使内容体现革命性、实践性、科学性。但由于我们对微生物的认识和实践很有限，一定存在不少问题，希望读者提出意见，以求充实提高。

编者

1971年7月

毛主席语录

备战、备荒、为人民。

社会主义不仅从旧社会解放了劳动者和生产资料，也解放了旧社会所无法利用的广大的自然界。人民群众有无限的创造力。他们可以组织起来，向一切可以发挥自己力量的地方和部门进军，向生产的深度和广度进军，替自己创造日益增多的福利事业。

目 录

前言	1
第一章 工业上常用的微生物	1
一、微生物的特性	1
二、常用的微生物	3
三、微生物的形态结构	6
第二章 微生物的营养与培养基的制备	22
一、微生物的基本营养	22
二、培养基的选择	28
三、灭菌和消毒	32
第三章 微生物的选种、育种、保藏和复壮	37
一、选种	37
二、育种	48
三、菌种保藏和复壮	59
第四章 微生物发酵	65
一、工业发酵的类型	65
二、微生物发酵的工艺流程	66
三、综合利用	86
四、发酵设备	88
第五章 微生物酶制剂	101
一、什么是酶	101
二、酶的分类和应用	105
三、酶的活力测定	113
四、影响酶作用的因素	116
五、酶的工业生产	123

附录	130
一、常遇元素、元素符号及原子量的对照表	130
二、常用药品、试剂配制	131
三、缓冲液配制	132
四、常用试剂的比重及浓度	132
五、饱和水汽压力与温度	133
六、比重糖度换算表	134
七、指示剂	135
八、培养基	136

第一章 工业上常用的微生物

毛主席教导我们：“人们为着要在自然界里得到自由，就要用自然科学来了解自然，克服自然和改造自然，从自然里得到自由。”

自然界里存在着各种各样的微生物，它们可以分成不同的类群，具有不同的形态结构。我们了解微生物的种类及其形态结构，是为了认识微生物的特性，掌握其生命活动的规律，从而能够应用微生物，使其在工业生产上充分发挥作用。

微生物的细胞非常微小，必须用显微镜把它们放大后才能看到。在日常生活中，可以通过微生物的生命活动来认识它的存在。例如牛奶的发酵是乳酸杆菌引起的，面粉的发酵是由于酵母菌的作用，谷物酿酒是利用霉菌及酵母菌的作用等等。

微生物一般包括细菌、放线菌、酵母菌、霉菌、病毒、立克次氏体、单细胞藻类和原生动物等。工业上常用的微生物主要有细菌、放线菌、酵母菌和霉菌等四大类群。

一、微生物的特性

毛主席教导我们：“大家明白，不论做什么事，不懂得那件事的情形、它的性质，它和它以外的事情的关联，就不知道那件事的规律，就不知道如何去做，就不能做好那件事。”微生物具有体积小、种类多、分布广、繁殖快、便于培养和容易发生变异等特性，并且在生产中不易受时间性、季节性、地区性的限制，所以在工农业生产上越来越广泛地被重视和应用。

现将微生物的上述共同特性分别加以说明。

1. 分布广、种类多 工业上应用微生物进行生产,首先要找到一个符合我们具体要求的菌种。由于微生物在自然界分布广而且种类多,因此,在空气、土壤、水及一些腐败物上面均能找到。

2. 繁殖快 微生物的繁殖速度很快,而且基本上每一个细胞能独立生活。例如,生产丙酮丁醇的梭状芽孢杆菌,在生长旺盛的时候,二十分钟左右就能繁殖一代,因此在短时间内可以产生很多细胞。由于细胞基本上都能独立生活,它们能充分接触并吸收养料,所以有利于在短期内积累大量的产物。又如生产酒精的液体曲,从一个试管里的黑曲霉孢子开始,逐步扩大到几十万升的液曲,其繁殖时间只要花三、四天。这些液曲能把几百吨的山芋干转化为发酵时酵母菌所能利用的糖类,生产几百吨的酒精。

3. 易于变异 大多数微生物都进行无性繁殖,容易发生变异,而且这种变异具有相对的稳定性,因此在工业上就利用这一特性,通过生产菌种的选育工作,配合发酵条件的改革,可以使产量大幅度地提高。例如,在某些抗菌素生产中,开始产量每毫升中只有几十或上百单位,经过菌种的选育,配合发酵工艺的改革,产量可以提高到上万单位。

4. 易于培养 工业上应用的微生物不但要求能很快地繁殖,而且要求容易培养。微生物在固体培养基上已经比别的生物长得快,而在液体培养基中则比在固体培养基上长得更快,同时还能产生更多的发酵产物。工业上培养微生物的原料主要是山芋粉、玉米粉、麸皮、米糠或糖厂的下脚(糖蜜)等,这些原料成本低,容易得到。现在正在进一步利用野生植物或农副产品作为原料,这是贯彻落实毛主席关于“备战、备

荒、为人民”的伟大战略方针，有利于因地制宜、就地取材，发展农村经济。

同时微生物的作用比较温和，它的转化作用一般是在常温常压下进行的。因此它相对于某些化工生产工艺来讲，有独特的优点。由于以上这些原因，目前在生产实践上微生物已受到越来越广泛的重视和应用。

二、常用的微生物

目前微生物应用于工农业方面，包括农业、医药、纺织、食品加工、化工、水产、石油勘探及石油发酵等方面，有的直接利用微生物的细胞，有的利用它们的产物，有的利用它们所产生的酶。工业生产上常用的微生物见下表。

工业生产上常用的微生物

微生物类别	微生物名称	产 物	用 途
细 菌	枯草杆菌	蛋白酶	皮革脱毛柔化、胶卷回收银、丝绸脱胶、酱油速酿、水解蛋白、饲料、明胶制造
		碱性蛋白酶	加酶洗涤剂
		淀粉酶	酒精浓醪发酵、啤酒酿造、葡萄糖制造、糊精制造、糖浆制造、纺织品退浆
	梭状芽孢杆菌	丙酮丁醇	工业有机溶剂
	巨大芽孢杆菌	葡萄糖异构酶	由葡萄糖制造果糖
	大肠杆菌	酰胺酶	制造新型青霉素
	杀螟杆菌	杀螟杆菌粉剂	农用杀虫剂
	短杆菌	谷氨酸	食用
		肌苷酸	医药治疗肝炎、食用

(续表)

微生物类别	微生物名称	产 物	用 途
细菌	节杆菌	强的松	医药
	蜡状芽孢杆菌	青霉素酶	青霉素的检定、抵抗青霉素敏感症
	裂链棒状杆菌	核苷、核苷酸	医药、食用
酵母菌	假丝酵母	石油脱蜡	制造低凝固点石油、及酵母菌体蛋白等
		精制环烷酸	工业
	啤酒酵母	细胞色素丙	医药
	酵母菌	辅酶甲	医药
		酵母片	医药
		凝血质	医药
	类酵母	脂肪酶	医药、绢纺脱脂脱蜡、制皂
	阿氏假囊酵母	核黄素	医药
	脆壁酵母	乳糖酶	食品工业
	酒精酵母	酒精	工业、医药
酵母	甘油	医药、军工	
霉菌	黑曲霉	柠檬酸	工业、食用、医药
		酸性蛋白酶	啤酒防浊剂、消化剂、饲料
		糖化酶	淀粉糖化用
	栖土曲霉	蛋白酶	同枯草杆菌蛋白酶
霉菌	根霉	根霉糖化酶	制造葡萄糖、酒精厂糖化用
		甾体激素*	医药

* 通过微生物脱氢酶进行转化的中间产物。

(续表)

微生物类别	微生物名称	产 物	用 途
霉	根霉	反丁烯二酸	医药
	土曲霉	甲义丁二酸	工业
	赤霉菌	赤霉素	植物生长刺激素
	梨头霉	甾体激素	医药
	青霉菌	青霉素	医药
	青霉菌	葡萄糖氧化酶	蛋白除去葡萄糖、脱氧、食品罐头贮存、医药
	灰黄霉菌	灰黄霉素	医药
	木霉	纤维素酶	淀粉加工、食品加工、饲料
	黄曲霉菌	淀粉酶	医药
	白地霉菌	核苷酸*	作物生长刺激素
放 线 菌	各种放线菌	链霉素	医药
		氯霉素	
		土霉素	
		金霉素	
		红霉素	
		新生霉素	
	卡那霉素		
小单孢菌	庆大霉素等	医药	
灰色放线菌	蛋白酶	同枯草杆菌蛋白酶	
球孢放线菌	甾体激素	医药	

* 利用发酵后的白地霉菌体提取的综合利用产物之一。

三、微生物的形态结构

工业生产上常用的微生物形态结构包括群体形态、个体形态、一般结构和特殊结构等方面,现分别介绍如下:

(一)细菌

1. 细菌的形态大小 细菌的单个细胞是肉眼看不见的,但是把细菌接种到固体培养基上,经过一定时间的培养、生长繁殖,在培养基上就形成各种各样肉眼看得见的微生物群体,称为菌落。菌落的形态、结构、大小,色泽、透明度,粘稠度、边缘结构以及菌落所产生的色素等,均随着细菌种类的不同而不同。根据这些菌落的特征,可以区别各种类型的细菌。在一定的条件下,每一种细菌保持一定的形态:如球状、杆状,弧状或螺旋状等几种基本形态。但是当生活环境条件改变时,细菌个体形态常有所改变。在工业生产上常用的细菌以杆状菌为多,如生产谷氨酸的短杆菌,生产丙酮丁醇的梭状芽孢杆菌、生产蛋白酶及淀粉酶的枯草杆菌都属于杆菌类。

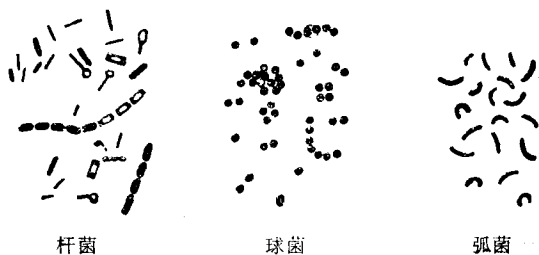


图1 细菌的形态

细菌的大小必须在显微镜下用测微计来测量,大小以微米(μ)作单位($1\text{微米} = \frac{1}{1000}\text{毫米}$)。球菌一般直径为 $0.5\sim$

2.0 微米。杆菌一般长 1~5 微米，宽为 0.5~1.0 微米，一般产生芽孢的细菌比不产生芽孢的细菌要大些。

细菌以裂殖的方式来繁殖，即细菌细胞由一个分裂为二个，而且这两个细胞一般互相脱离而成为两个个体，然后继续由二个分裂为四个，由四个分裂为八个，如此继续不断地进行分裂繁殖(即无性繁殖)。

2. 细菌的细胞结构 细菌细胞是微小的，但其内部构造与高等生物细胞一样是很复杂的。它的基本结构包括细胞壁、细胞质膜、细胞质及核(如图 2)。有些细菌细胞还有荚膜、鞭毛和芽孢等特殊结构。基本结构是任何一种细菌都具有的，特殊结构则只限于某些种类才有，因此这是分类鉴定的重要依据。

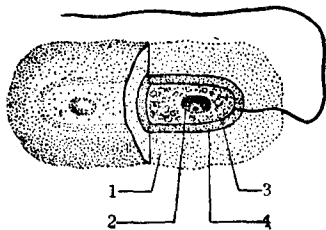


图 2 细菌细胞结构模式图

1—荚膜 2—细胞核
3—细胞质膜 4—细胞壁

(1) 细菌的基本结构:

细菌由细胞壁、细胞质膜、细胞质和细胞核等构成。

〔细胞壁〕 细胞壁处于细菌细胞的最外层，无色透明，坚韧而富有弹性，能使细菌保持一定的外形，并且有保护作用。

〔细胞质膜〕 细胞质膜是在细胞壁里面的一层薄膜，主要由脂类、蛋白质和核糖所组成。它是具有选择性吸收作用的半透性膜，在吸收营养物质方面起着重要作用。

〔细胞质〕 细胞质是细胞质膜里面的一种粘稠的胶体物质，其主要成份是水、蛋白质、核糖核酸、类脂质等。细胞质中含有一系列酶系统，依靠酶的作用，将营养物质进行合成和分解，不断更新细胞内部的结构和成份，维持菌体的生长代谢

等活动。

〔细胞核〕 细胞核和核质中的脱氧核糖核酸与微生物的遗传变异有密切的关系。细菌和放线菌的核没有核膜，霉菌和酵母菌的核具有核膜。一般霉菌的菌丝细胞为多核，孢子则常为单核。酵母菌一般只具单核，细菌则常是单核的或双核的。

某些细菌除了上述的结构外，在一定条件下或生长到一定阶段时，能产生另外一些特殊结构，可作为鉴别细菌种类的依据。

(2) 细菌的特殊结构：

〔荚膜〕 有些细菌在一定条件下，向细胞壁表面分泌一种粘液状物质，形成粘液层，某些细菌的粘液层增厚，就成为荚膜。细菌的荚膜有保护作用，是一种多糖类物质。当营养缺乏时，细菌可以利用荚膜多糖作为它的碳源和能源物质。

〔鞭毛〕 某些杆菌、弧菌及少数球菌的幼龄时期，菌体上长有纤细的丝状物，称为鞭毛，鞭毛的成份是蛋白质，它是细菌的运动“器官”。细菌鞭毛的数目和着生位置随种类不同而异，因此可作为鉴别细菌的依据之一。由于鞭毛极其细微，在

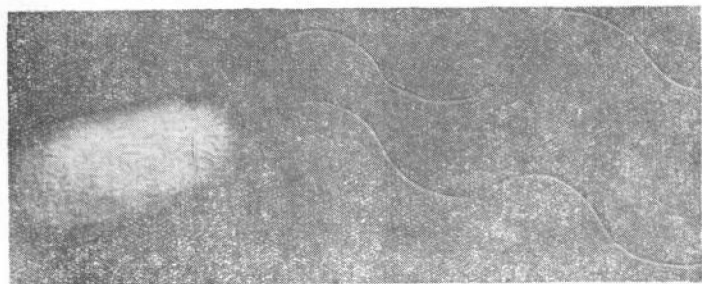


图 3 绿硫杆菌的鞭毛(放大 20000 倍)

普通染色涂片上不易见到，所以一般可以通过深层半固体培养基穿刺接种来判断鞭毛的有无。即在半固体培养基(试管)内穿刺接种，如该菌有鞭毛，则在接种线的周围弥漫生长，若该菌没有鞭毛则菌只能在接种线上生长。

〔芽孢〕 某些细菌在其生活过程中，由营养细胞内原生质和核质凝缩起来，外面形成一层致密的膜，成为一个休眠体，称为芽孢。芽孢的折光性强，在显微镜下成为一个透明体。芽孢的含水量较营养细胞少，代谢活力低，对不良的外界环境如高温、干燥、光线、化学药品等有较强的抵抗力。有些芽孢能保持十几年以上，而不丧失其活力。一般细菌的营养细胞约在 100°C 沸水内 10 分钟就死亡，而芽孢在湿热加压的情况下，则要到 120°C 以上 15 分钟才能杀死。因此，在工业生产中，如何杀死有芽孢的细菌是值得重视的问题。

芽孢的形状、大小、在菌体中的位置等都因细菌的种类而不同。芽孢是芽孢杆菌鉴定的标志之一。

(二)放线菌

放线菌最大的经济价值是它们能产生各种抗菌素。目前，据统计，应用于临床医疗的抗菌素占西药总用量的 50% 以上。放线菌除在抗菌素医药上广泛应用外，目前还应用于甾体激素的转化和酶制剂的生产以及农业抗菌素等方面。

放线菌的主要特征是：它们是由不同长短的纤细菌丝所形成的单细胞微生物，其菌丝交织成网状。从进化观点来讲，放线菌是介于细菌与霉菌之间，一方面它们的细胞的粗细和结构与细菌相似，另一方面放线菌也象霉菌那样以菌丝形式生长，不过又不象霉菌菌丝那样无限制地扩张，而形成紧密干硬的圆形小菌落。