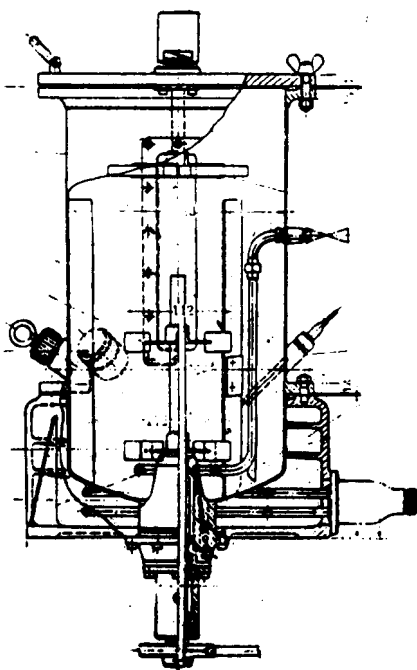


微生物應用工業

修訂第二版

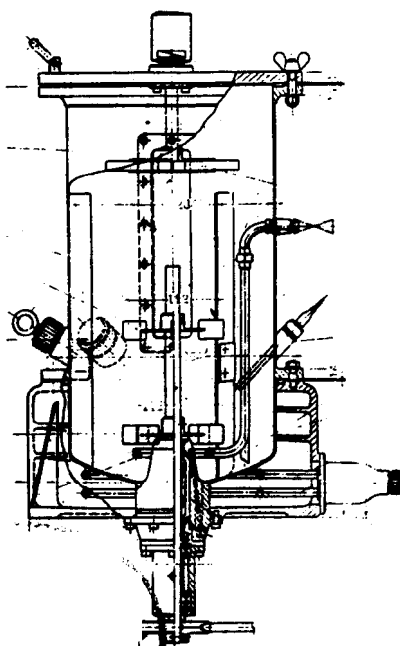
劉英俊 編著
汪金追



微生物應用工業

修訂第二版

劉英俊 編著
汪金追



中央圖書出版社出版

行政院新聞局出版事業登記證
局版台業字第〇九二〇號

微生應物工業
版權所有 翻印必究
實價新台幣貳佰伍拾元正

編著者：劉金英 連俊

發行人：林在 高

出版者：中央圖書出版社
發行所：中央圖書供應社

台北市重慶南路一段一四一號
電話：三三一五七二六
三七一九八九三

郵政劃撥帳戶：九一四號
印刷所：聯和印製廠有限公司

台北市寶興街二十一號
中華民國六十八年九月 修訂第二版

編號：2437

改訂再版序

「微生物應用工業」一書，自初版以來，做為「有關應用微生物科學」之研究與實際應用工業的初學者與希望進修者之教材或教科書，在學術界及企業界頗受大家愛好，因而於民國六十五年九月初版不久，即全部銷完。這是此門科學正在廣泛地推廣其應用，而逐漸受大家注重的結果。

作者藉第二版出版機會，鑑於科學的進步日新月異，而此類應用工業的蓬勃發展，促使本書必須部份加予改訂再版，增添刷新。諸如：固定化酵素及固定化微生物等酵素新應用技術之開拓，以應讀者之需要。

本書在改訂再版時承中央圖書出版社林經理靜之多方協助，使第二版順利改訂完成，編者在此謹誌謝意。

劉 英 俊
汪 金 追

於台北工專暨台北酒廠

民國六十六年九月

初版序

很久以前，人類在知其然而不知其所以然的情形下，即能利用自然發酵現象，製成各種飲料、食品。隨着科學進步，對微生物的瞭解日增，於是利用微生物的範圍也就愈廣。時至今日，已由局限於飲料、食品的早期家庭式釀造工業，發展至大量生產如酒精、丙酮、丁醇等溶劑工業；青黴素、鏈黴素等藥物化學工業；MSG、核酸系物質、維生素、酵素、類固醇、生物鹼、石油蛋白等複雜化合物工業。諸如此類，微生物在工業上的應用，還正方興未艾，科學家們不斷地從各方面從事研究、發展。因此，很明顯地，以往被稱為釀造或發酵工業，已不能涵蓋目前以及可見的將來的此種應用工業。我們應從單純的發酵觀念，推廣到微生物菌體的多方面用途，各種酵素劑的抽出、精製、及有機合成等，甚至包括非商業目的之社會福祉方面的微生物特種機能之應用等，而總稱之為“微生物應用工業”。

我國目前從事研究或實際參與微生物應用工業的技術人員很多，但有關這項科學的專門性中文書籍却很少，尤其能供初學者或希望進修者的教材。這種情形，實在大大地妨礙我國在這一方面工業的發展。編者等從事教學並同時實際參與研究與生產釀造食品有年，乃以實際經驗並參考其他國家有關之最新資料，以在執教“微生物應用工業”、“生物化學工程學”兩課程之講義，予以綜合整理、編著本書，以初學者為主要對象，基本理論與實際應用並重。全書共分十章，為使學者有明確之印象及容易記憶及瞭解，各章除文字說明外，並以插圖輔助；至於若干插表的數據資料，為實際應用上所必需，可供從業技術人員應用之參考。

本書第1, 2, 3, 4 四章屬於學理範圍，簡明扼要但並不遺漏地敘述有關微生物應用的基本理論，使初學者能先奠定良好的知識基礎；第5, 6, 7, 8 四章為分類應用工業，初學者讀完這幾章後，雖不能立即就能在工廠實際參與作業，但對應用技術與各生產製造程序，已有全般

概念，庶能適應其未來之實際工作；第九章醱酵動力學與培養工程學，爲學者不能不具備之知識；第十章微生物實驗法是研究、發展與應用上必需之技術。所以，本書不但爲大專學生用的教材，並且是研究者及從業人員參考、進修、與實用的書。只是限於篇幅與時間，疏漏不備之處，實難避免，尙盼國內外學者專家，不吝指正。

本書在編寫時，承蒙學術界、企業界前輩之鼓勵，且書中有很多地方係參考並採用甚多中外名著。而本書之整理與出版等亦承中央圖書出版社林經理靜之鼎力幫助，始能脫稿出版，編者統此謹誌謝忱之意。

劉 英 俊

汪 金 追

於台北工專暨台北酒廠

民國六十五年六月

目 錄

第一章 緒 論..... 1

第一節 微生物應用工業之定義..... 1

何謂微生物應用工業？ • 何謂微生物？何謂微生物學？ •

微生物應用工業工程師之任務 • 醱酵工業之歷史

第二節 微生物應用工業之分類..... 11

菌體之利用 • 酵素劑之利用 • 菌體特殊成分及特殊代謝
生產物之利用 • 釀造・醱酵飲料食品 • 非食品醱酵生產
物之利用 • 醱酵副產品及醱酵殘渣之利用 • 特殊機能之
利用

第三節 微生物應用工業與石油化學工業之比較..... 23

第四節 微生物應用工業技術之改進及展望..... 24

菌株之改良與具有特殊作用菌株之育成 • 醱酵操作之機械
化與連續化—生物化學工程學新技術之導入 • 利用碳氫化
物等廉價碳源或廢物為原料 • 應用範圍之擴大

複習題一..... 25

第二章 微生物之形態與分類..... 27

第一節 微生物之分類大綱..... 27

依微生物與其他生物之關係分類 • 依微生物應用工業之分
類 • 微生物之命名法

第二節 微 菌..... 32

微菌之構造及形態 • 微菌之繁殖方法 • 微菌之分類 • 主
要微菌

第三節 酵 母..... 44

酵母之形態 • 酵母之生殖 • 酵母之分類 • 主要酵母

第四節 細 菌..... 52

細菌之形態 • 細菌之分類 • 主要細菌	
第五節 放線菌	63
第六節 病 毒	63
第七節 藻類與原生動物類	67
第八節 菌株之變異與品種改良法	68
菌株之變異 • 變異株之種類及分離方法 • 變異之機構	
第九節 微生物菌株之保存與獲得	73
微生物菌株之保存 • 菌株之分配與獲得	
複習題二	78
第三章 微生物之特性	79
第一節 微生物之化學特性	79
第二節 微生物對自然界物質循環之任務	80
第三節 菌體成份	83
菌體之主要成份 • 灰分組成 • 有機成份	
第四節 微生物之營養	91
依營養要求性分類微生物 • 一般必需之營養素 • 微生物 定量法	
第五節 微生物之增殖與環境因子	95
氧 • 溫度 • 乾燥 • 氫離子濃度 • 滲透壓 • 光線及 放射線 • 靜水壓 • 化學藥品 • 微生物間之相互作用	
第六節 微生物之增殖	101
增殖測定法 • 生長曲線與菌體增殖動力學 • 同調培養	
第七節 微生物之化學反應	109
氧化反應 • 還原反應 • 脫羧反應 • 脫氨反應 • Glycosylation • 水解反應 • 甲基反應 • 酯化反應 • 脫水反應 • Asymmetric Dismutation • 縮合反應 • 胺化反應 • 乙醯反應 • Amidation	
複習題三	123
第四章 發酵生理	125

第一節 代謝作用	125
第二節 呼吸與醱酵	126
第三節 生物之氧化作用及能量之傳遞	127
第四節 碳水化合物(糖)之代謝作用	133
嫌氣性醱酵 • 好氣性醱酵	
第五節 脂質之代謝作用	151
第六節 其他碳水化合物之代謝作用	153
芳香族化合物之代謝作用 • C_1 基質之合併路徑	
第七節 氮之代謝作用	155
無機氮之代謝作用 • 氨基酸之生合成	
第八節 核苷之合成代謝	160
第九節 代謝控制	160
陰性回饋阻害 • 陰性回饋調節	
複習題四	165
第五章 釀造(醱酵)食品之製造	167
第一節 酒精飲料	167
清酒 • 啤酒 • 水果酒 • 蒸餾酒	
第二節 調味食品	185
醬油 • 豆瓣醬 • 食酢 • 鯉魚干	
第三節 乳製品	198
乾酪 • 養樂多 • 乳酸菌飲料 • 加糖乳酸飲料 • 奶油	
第四節 其他醱酵食品	201
麵包 • 醬菜	
複習題五	204
第六章 微生物利用工業	205
[I. 代謝生產物工業]	206
第一節 有機溶劑及有機酸醱酵	206
與EMP路徑有關連之醱酵 • 氧化醱酵 • TCA 循環之 關連醱酵	
第二節 氨基酸醱酵	233

應用野生菌株之氨基酸醱酵 • 應用營養要求變異株之氨基酸醱酵 • 利用前驅體添加法之氨基酸醱酵 • 利用酵素方法以生產氨基酸 • 由正脂肪烴生產氨基酸	
第三節 核酸關連物質之生產	252
核酸及關連物質之化學構造和其呈味性 • 高級調味粉(呈味性核苷)之製造	
第四節 抗生素	263
抗生素之定義 • 抗生素研究法 • 主要之抗生素 • 抗生素之作用機構	
第五節 生理活性物質	276
維生素 • 荷爾蒙 • 植物生長調整物質 • Dextran, D-Ephedrin and Ustilagic acid	
第六節 石油資源之微生物利用工業	287
碳化氫資化性微生物 • 碳化氫氧化機構	
第七節 由石油醱酵生產之物質	289
氨基酸之生產 • 水楊酸之生產 • 植物生長荷爾蒙之生產 • 其他	
[I. 微生物酵素製劑工業]	290
第一節 微生物酵素製劑之種類及用途	290
第二節 酵素製造方法	292
第三節 酵素之單位	294
第四節 酵素之命名法	294
第五節 酵素之分類與作用	294
第六節 主要微生物酵素概述	300
糖化酵素 • 纖維素分解酵素 • 轉化酵素 • 乳糖分解酵素 • 葡萄糖氧化酵素 • 葡萄糖轉異酵素 • 蛋白質分解酵素 • 微生物凝乳酵素 • 果膠分解酵素 • 脂肪分解酵素 • Naringinase • Hesperidinase • 催化酵素 • 青黴素分解酵素 • 丹寧分解酵素 • 天冬素分解酵素	
第七節 固定化酵素及固定化微生物(酵素之新利用技術)	308
固定化酵素之新觀念與歷史背景 • 酵素及微生物之固定化方法 • 固定化酵素及固定化微生物酵素之性質 • 固定化酵素及固定化微生物酵素之利用 • 將來性	

[Ⅷ. 微生物菌體之利用工業].....	325
第一節 麵包酵母.....	325
原料 • 種酵母之培養 • 本培養 • 酵母之分離	
第二節 微生物食品 • 飼料.....	329
食 • 飼料酵母 • 與SCP生產有關之一些生物化學工程問題	
• 綠藻類	
複習題六.....	346
第七章 食品之腐敗與貯藏.....	349
第一節 食品之腐敗.....	349
食品之腐敗與微生物 • 主要食品之腐敗 • 食物中毒 •	
腐敗過程中引起之化學變化	
第二節 腐敗作用之防止.....	360
防止微生物與食品之保存原理 • 殺菌法 • 低溫法 • 乾	
燥法 • 加工法 • 食品包裝 • 防腐劑之添加	
複習題七.....	380
第八章 微生物特殊機能之應用.....	381
第一節 微生物特殊機能之具體應用例.....	381
第二節 微生物選礦法.....	383
微生物選礦法之應用原理 • 主要微生物選礦法 • 各種金	
屬微生物選礦法之研究發展	
第三節 生物機械之應用.....	388
Bionics 之定義 • 微生物在 Bionics 之應用	
第四節 微生物化學電池.....	389
生物化學電池之構成原理 • 微生物化學電池之應用	
第五節 海洋微生物之機能應用.....	391
第六節 天敵之應用.....	392
第七節 探查油田、天然氣井等之應用.....	392
第八節 都市及產業廢水之處理.....	393

有機質廢水之微生物分解理論 • 有機質廢水之微生物處理工程	
第九節 合成有機毒害物質之生物分解.....	410
中性洗劑之微生物分解 • 農藥之微生物分解	
第十節 合成高分子廢棄物之生物處理.....	415
第十一節 原油之微生物脫硫精製.....	416
還原法 • 氧化法 • 氧化還原法 • 攝入菌體內之方法 • 原油中含硫化合物	
複習題八.....	419
第九章 醱酵動力學與培養工程學.....	421
第一節 醱酵動力學.....	421
酵素反應動力學 • 絕對反應速度理論應用於醱酵反應動力學	
第二節 醱酵型式之分類.....	430
通常之分類法 • Gaden 之分類法 • Deindofer 之分類法	
第三節 連續培養.....	434
連續培養裝置 • 連續培養法之理論 • 分批式培養與連續培養之比較	
第四節 好氣性培養之氧供給.....	444
微生物之氧要求性 • 氧供給 • 氣液間之氧移動測定方法 • 好氣培養之擴大規模設計	
第五節 培養基之熱殺菌.....	451
死滅之對照法則 • 耐熱性的定量指標 • 死滅速度與溫度之關係 • 培養基之殺菌時間	
第六節 空氣之除菌.....	456
除菌機構之理論 • 空氣通過濾層之壓力損失	
第七節 醱酵裝置與無菌操作.....	458
複習題九.....	463
第十章 微生物實驗法.....	465

第一節	微生物實驗應注意之一般事項	465
第二節	實驗用儀器及滅菌法	466
	培養用一般玻璃器具 • 棉塞 • 吸管 • 其他 • 白金線 • 或線綫 • 乾熱滅菌器 • 蒸汽殺菌器 • 火焰殺菌法 • 電氣殺菌法 • 殺菌用化學藥品 • 無菌箱 • 恆溫箱 • 振盪培養器 • 小型發酵槽 • 流體之除菌法 • 無菌水	
第三節	培養基及其調製法	481
	培養基之製備 • 天然培養基之種類 • 人工培養基 • 緩衝液	
第四節	微生物之純粋分離法	498
	微生物之集積培養 • 分離培養法	
第五節	微生物之純粋培養法	505
	純粹培養操作法 • 液體培養 • 畫線培養 • 穿刺培養 • 靜置培養與振盪培養 • 其他	
第六節	厭氣性(又稱嫌氣性)培養法	507
	機械遮斷法 • 吸收氧氣方法 • 氣體置換法 • 還原物質添加法	
第七節	肉眼的觀察法	510
	斜面培養之觀察 • 平面培養 • 液體培養 • 白明膠穿刺培養 • 巨大聚落	
第八節	顯微鏡檢查法	515
	顯微鏡之構造 • 顯微鏡之保養 • 鏡檢法 • 位相差顯微鏡 • 電子顯微鏡 • 菌體大小計測法	
第九節	染色法	526
	色素原液之製法 • 各種染色液之製備 • 鏡檢標本之製備方法 • 各種染色法	
第十節	發酵實驗、呼吸實驗與各種應用微生物實驗	532
	發酵實驗 • 呼吸實驗 • Warburg 氏檢壓計測定實例 • 酵母之酒精發酵試驗 • 醋酸菌之醋酸發酵 • 細菌之糖化酵素及蛋白質分解酵素生成試驗 • 菇類培養試驗	
	複習題十	546

附 錄.....	549
〔附錄一〕簡介「生物化學工程學」.....	549
〔附錄二〕一般釀造食品之簡易分析法.....	581
〔附錄三〕SCP 之工業生產.....	593
主要參考文獻.....	605
索 引.....	607
1. 一般名詞索引	607
2. 微生物菌名索引	626

第一章 緒 論

摘 要

微生物應用工業所生產的產品，包括有人類社會之最舊產品如酒類、醬油、食醋、醬菜類、麵包、饅頭之製造及麻之浸解等，與最新產品如抗生素、維生素、酵素、氨基酸及激素等，係應用微生物以從事生產有用物質之一切工業及應用其特殊機能以做有用工作之企業。其所包括之範圍有菌體之利用、酵素劑之利用、菌體特殊成分及特殊代謝產物之利用、釀造・發酵飲料食品、非食品發酵生產物之利用、發酵副產品及發酵殘渣之利用與特殊機能之利用等。其最大之企業競爭對手是石油化學工業，因而微生物應用工業之努力方向應以生產高級產品為主，而原料即採用如碳化氫類等廉價之碳源，甚至動物糞便、工業廢水等廢物之利用。在生產技術改進方面應導入生物化學工程學等新技術以促使生產設備之設計、管理、提煉等操作合理化。又用人工變異法等改良並育成具有特殊作用之微生物，以廣大其應用範圍。

第一節 微生物應用工業之定義

要學習“微生物應用工業”以前，除對微生物應用工業之定義應有充分之瞭解外，對微生物、微生物學的定義、微生物應用工業工程師之任務以及發酵工業之歷史等，亦應有充分之認識。

1. 何謂微生物應用工業？

“應用微生物以進行有用物質之生產的一切工業”均稱為微生物應用工業 (Microbial applied industry)。以往稱微生物應用工業為

醱酵工業(Fermentation industry)，其所含原意是由英文醱酵(Fermentation)，即表示“沸湧(to be boiling)”而來。換句話說；就是指“伴生起泡”的現象而言。這個定義事實上可在水果酒之酒精醱酵時，因伴生二氧化碳氣體之起泡現象容易想像得出。這種古典式的說法，隨着時代之進步不久就被淘汰。尤其是當人們發現如醋酸醱酵等好氣性微生物之代謝作用並不伴生起泡現象之事實，乃至通後從自然界分離出無數微生物並由解明其生理作用；諸如乳酸醱酵、酪酸醱酵、丁醇·丙酮醱酵、檸檬酸醱酵等新的種種醱酵現象後，發現這些厭氣性的（又稱嫌氣性的，Anaerobic），或好氣性的（Aerobic）微生物所引起的醱酵，有的有伴生起泡現象的，有的却沒有伴生起泡現象的事實，得到佐證。因此，“醱酵即沸湧”之定義，其原意已不復存在。現在這種現象包括青黴素（又稱盤尼西林 Penicillin）、鏈黴素（Streptomycin）等抗生素之生產，皆使用醱酵之定義來表示。所以廣義之醱酵範圍很廣泛。

可是微生物之利用範圍，並不僅包含這些醱酵現象。其他有關生物合成（Biosynthesis），諸如糖化酵素（Amylase）、蛋白質分解酵素（Protease）等酵素之生產；微生物菌體，諸如麵包酵母、食料·飼料酵母之直接或間接利用；又從菌體中抽取單一酵素應用於某有機合成反應；某有機化合物，諸如植物鹼（Alkaloids and Steroids）或某反應基（Radical）之轉換（Translation）作用等微生物之應用領域，亦具有很高之工業價值。

從上面所述看來，最初以“醱酵工業”字義來表示這類工業的原意，在科學觀念上已不適宜。因之，廣義的稱謂應以“微生物應用工業”比較適當。再者，自古以來，就被稱為“釀造工業”的，諸如釀酒、醬油、食酢工業等，當然亦應包含於微生物應用工業之範圍內。但根據以往觀念，亦有人將醱酵工業區分為“食品醱酵工業（Food fermentation industry）”與“非食品醱酵工業（Non-food fermentation industry）”兩種。

總之，微生物應用工業所包括的範圍非常廣泛。而且微生物之各種新生理現象究明後，新的醱酵生產物被發現的可能性亦逐漸增加。

故其所包括範圍將來亦勢必更為擴大。

2. 何謂微生物？何謂微生物學？

天地間之生命，不僅是動物 (Animals) 與植物 (Plants)，即使吾人周圍任何角落裏，均有無數細小之生命存在。這些小生命不是肉眼所能察覺，必須借用顯微鏡 (Microscope) 始能覺察其全貌。因而此種微小的生命，吾人即稱為微生物 (Micro-organism)*。

專門研究各種微小生物之形態、構造、生活方式以及微生物各種活動對人類影響之學問，稱為微生物學 (Microbiology)。又專門研究並應用微生物以從事生產有用物質之工業，就稱為微生物應用工業。

3. 微生物應用工業工程師之任務

吾人在青黴素發酵發明以前，可以說幾乎完全不懂得純粹培養之原理及操作方法。因此，以往對麵包酵母 (Baker's yeast) 或食料・飼料酵母之製造，檸檬酸 (Citric acid)、葡萄糖酸 (Gluconic acid) 等之發酵，常以人工方法提高其氫離子濃度，亦即降低 pH 值等經驗通則以阻止雜菌之繁殖。又對於五碳糖 (Sorbos) 、丙酮・丁醇 (Acetone-Butanol) 、乙醇 (Ethanol) 等之發酵，亦故意提高基質 (Substrates) 或生產物 (Products) 之濃度，以提高滲透壓來抑制雜菌之繁殖等。這樣靠經驗通則，固可達到預期之管理目的。但這種方法對於近代之發酵，諸如青黴素等抗生素之發酵需要高度之純粹培養技術與完全無菌操作管理者，已不能發揮其效力。

所以當時之工程師們最先面臨“如何防止雜菌污染”的艱難問題。對這項問題之解決，可想像得到的是殺菌技術之改良和設計一種易於殺菌之發酵槽 (Fermentor) 及附屬配管 (Fittings) 等。爲了要達到這個目的工程師們不斷地需要留意並研究改進下列三個重要問題；

註：這名詞導源於希臘字“Micro”與“Biose”。前者表示“微小”，後者即表示“生命”，或法文稱為“Microbe”。其原意係指生命體之體積微小，非借用顯微鏡不能觀察者，統稱為微生物。