

国外 应用微生物动态

上海科学技术情报研究所

毛主席语录

独立自主、自力更生、艰苦奋斗、勤俭建国。

对于外国文化，排外主义的方针是错误的，应当尽量吸收进步的外国文化，以为发展中国新文化的借镜；盲目搬用的方针也是错误的，应当以中国人民的实际需要为基础，批判地吸收外国文化。

我国人民应该有一个远大的规划，要在几十年内，努力改变我国在经济上和科学文化上的落后状况，迅速达到世界上的先进水平。

中国应当对于人类有较大的贡献。

前 言

奋战在微生物战线上的广大工人、农民和科技人员,遵照了伟大领袖毛主席“独立自主、自力更生”和“中国应当对于人类有较大的贡献”的教导,狠批了刘少奇一类骗子反动唯心论的先验论,积极地投入了群众性的科学实验活动,在应用微生物改进产品产量和质量、简化工艺及设备、节约原料和开展综合利用等方面已取得了可喜的成绩和累积了丰富的经验。

为了赶超世界先进水平,根据毛主席“洋为中用”的伟大教导,我们几个单位(上海复旦大学、上海新型发酵厂、中国科学院上海有机化学研究所包括实验工厂、上海植物生理研究所、中国科学院上海生物化学研究所、上海医药工业研究院、上海工业微生物研究所和上海科学技术情报研究所)共同收集编译了国外细菌冶金、氨基酸发酵、酶制剂、石油发酵和发酵设备等五方面的资料,供同志们参考。

由于我们学习马列主义毛泽东思想不够,专业水平有限和资料收集片面,必然会有不少谬误之处,望同志们批评指正。

编 者

1972.9.

细 菌 冶 金

细菌冶金是利用细菌的作用溶浸矿石回收金属的一种工艺方法。由于它能从某些低品位矿石、废矿与矿渣中回收金属，因此受到人们的重视。

世界上如西班牙、美国、墨西哥和葡萄牙等是在十七世纪以后，先后开始从矿水或用矿石堆浸方法回收铜与铀的，但当时对其作用原理并不完全清楚。自 1947 年美国柯尔默发表关于细菌氧化金属硫化物的研究报告后，这项工作才引起人们的注意。很多实验室对这种细菌的形态、生理特性和作用机理等问题进行了一系列的研究，并将它定名为氧化铁硫杆菌。1958 年美国肯赖可特公司的宾厄姆峡谷矿山开始应用氧化铁硫杆菌浸出贫矿中的铜、锌、镉等金属。这样细菌冶金工作才逐步开展，研究和应用的国家也逐年增加。

生产和研究情况

生产情况

到目前为止，据有关资料报道，用细菌冶金方法从贫废矿石中生产的金属主要有铀与铜两种，铀的生产规模以加拿大较大；铜以美国较普遍。表 1 是近几年来发表的用细菌冶金方法生产铀和铜的情况。

表 1 用细菌冶金方法生产铀和铜的情况

金 属	国 家	生 产 情 况
铀	加 拿 大	斯坦洛克公司 1963 年回收氧化铀 48 吨，1964 年每月回收氧化铀 6 吨多。
		里奥·阿尔干公司所属米利根矿山 1964 年共回收 57 吨多的氧化铀。
		典米申公司每个采场回收 454 公斤氧化铀。
	葡 萄 牙	1965 年回收 45 吨氧化铀。
铜	法 国	1961 年萨矿山回收氧化铀 2~9 吨。 1966 年爱加尔皮耶尔矿山回收氧化铀 30~35 吨。
	美 国	有 11 个铜矿公司采用此法。1965 年回收粗铜 13 万吨。1970 年回收粗铜 20 万吨。
	澳 大 利 亚	拉姆森林矿 1964 年堆浸 38 万吨品位为 1.7~2.0% 的硫化铜及氧化铜矿石，四年内回收 70% 的铜。1965 年 6 月起每星期产沉淀铜 10 吨。
	西 班 牙	利奥-顶托矿山每月回收铜 660 吨。
	葡 萄 牙	沙-多明哥矿山每月回收铜 100 吨。

研究情况

日本和瑞典等国家研究了铀的细菌冶金；日本和苏联等其他国家做了细菌回收铜的研究工作。

除了铀与铜外，国外尚有许多关于锰、锌、镍、钼、钴、铋、铅、砷、锑、锡、金，以及锆、镓、铟、铊、镉等金属矿物的细菌冶金研究报告。表 2 综合了这些报告中有关矿物名称、品位、细菌种类和浸出效果等数字，从中可看出目前研究的概况。

氧化铁硫杆菌是目前细菌冶金中研究得最多的一种细菌。利用自然存在的这种细菌

表 2 有色金属与稀有金属细菌冶金实验室研究数据

金 属	矿 石	品 位 (%)	细 菌*	溶浸时间	浸 出 效 果**
锰	锰 矿	含二氧化锰 4%	芽孢菌属	60 天	71.7~92.5%
		含二氧化锰 33.3%	硫	10 天	95.5%
		含锰 13.6%	硫	31 天	257 毫克/100 毫升 (对照 2 毫克/100 毫升)
钴	铜 钴 矿	含钴 0.42%	硫	70 天	17.9%
	辉 钴 矿		铁 硫	30 天	310 毫克/升 (对照 4 毫克/升)
锌	铜 铅 锌 矿	含锌 5.04%	硫	31 天	0.8 毫克/100 毫升 (对照 0.6 毫克/100 毫升)
	铜 矿	含锌 23.8%	硫	31 天	57 毫克/100 毫升 (对照 5.6 毫克/100 毫升)
	硫化锌精矿	含锌 60.78%	铁 硫	1 小时	125 毫克/升
	含锌碱性矿	含锌 1.5%	铁 硫	1 月	6.2 克/升
	闪 锌 矿	含锌 66.4%	铁 硫	30 天	7%
	铁 闪 锌 矿	含锌 50.6%	铁 硫	30 天	100%
钼	灰 钼 矿	含钼 56%	硫 铁硫	70 天	7.22~9.26 毫克/升 (对照 1.64 毫克/升)
		含钼 57.58%	铁 硫	9 个月	36% (比对照快 7 倍)
	灰钼矿精矿	含钼 53%	铁 硫		矿石对细菌有抑制作用
铋	硫化铋矿	含铋 0.4%	铁 硫	8 天	75%
镍	针 硫 镍 矿	含镍 1.83%	铁 硫	1 小时	6.3 毫克/升
		含镍 31.5%	铁 硫	13 天	70% (对照 57 天, 10%)
		含镍 31.5%	铁 硫		第 5, 12 天时, 接种细菌的矿石比对照组浸出镍多, 但第 19 天时两者镍浸出量相同
			铁 硫	10 天	90% 以上
	镍 矿	含镍 1%	铁 硫	3 个月	40 克矿石中浸出镍 58.75 毫克 (对照 29 毫克)
	镍 红 土 矿	含镍 1.54%	硫		矿石对细菌有抑制作用
	熔化的镍矿石	含镍 1.42%	硫		矿石对细菌有抑制作用
	工 厂 炉 渣	含镍 1.35%	硫		炉渣对细菌有抑制作用
铈	辉 铈 矿			40 天	从 40 克矿石中浸出 1084.4 毫克/升 (对照 393.2 毫克/升)
锡	铜 矿	含锡 3.9%	铁 硫		12% (对照 4%)
	硫 化 锡	含锡 3.86%	铁 硫		锡浸不出来
砷	辉 砷 矿			30 天	940 毫克/升
铅	锌 矿	含铅 1.15%	铁 硫		浸不出来
金			根癌病土壤杆菌		1.5 毫克/升
			芽孢菌属	2.5~3 个月	10 毫克/升
锗			铁 硫	1 个月	100 微克/升 (对照 17 微克/升)
镓	闪 锌 矿		铁 硫	40 天	60 微克/升 (对照 30 微克/升)
铟	闪 锌 矿		铁 硫	40 天	0.01~1 微克/毫升 (对照 0)
铊	斜方铊铅矿		铁 硫	40 天	比对照浸出快 2~5 倍
镉			铁 硫	6 天	7.6 微克/毫升 (对照 0.9 微克/毫升)

* 本项中,硫均指氧化硫杆菌(*Thiobacillus thiooxidans*);铁硫为氧化铁硫杆菌(*Thiobacillus ferrooxidans*)。

** 下列中的对照指未接种细菌。

(有时氧化硫杆菌也参加作用)的氧化作用不但在铜和铀的矿井中可溶浸矿石,而且在实验室条件下(表2)对其他金属硫化矿物也有很强的氧化与浸出作用。但由于这种细菌应用于氧化矿、碳酸盐和硅酸盐等金属矿物不够理想,为此还研究了其他种类的细菌对某些矿物的溶浸作用。1961年美国矿务局派克学院研究了氧化硫杆菌对铜、钴、锰、锌和镍五种金属的十四种矿石或矿渣的浸出作用,结果表明这种细菌对铜、锰、锌和钴的氧化矿物有不同程度的浸出。最近日本还报道了以氧化硫杆菌作为锰矿(二氧化锰)的细菌冶金菌种。用反硝化细菌来溶浸能溶于稀氨液的金属矿物的细菌冶金已有报道,这类细菌包括脱氮硫杆菌和脱氮芽孢杆菌等,它们在厌氧的条件下,能将培养基中的硝酸盐还原成稀氨溶液,因而使矿物中的金属溶浸出来。例如,碳酸铜含量高的孔雀石和蓝铜矿或硅酸铜含量高的硅孔雀石中的铜就可用这种方法溶浸,但从报道数字来看效果不是很好。此外,还研究了用排硫杆菌在pH为7.1~9的条件下氧化碱性矿(如碱性硫化铜矿,碱性硫化锌矿等)中的金属硫化物,同时加入一定量的氨水以提取金属,但有关研究者认为这种方法对于含石灰石超过10%的金属矿不能应用。综上所述,目前不仅研究了铀、铜以及其他金属硫化矿物的细菌冶金,同时也探索了对氧化矿和碱性矿等的细菌冶金。

在提高浸出率方面,常被重视的是如何增加细菌对金属离子的耐受能力问题。从矿水中刚分离得到的细菌,虽然能在含少量金属离子的培养基中生长,但当溶浸矿石时的金属化合物在溶液中溶解到一定数量后,就会抑制细菌的繁殖,从而阻碍金属化合物的进一步浸出。为了解决这个问题,一般都先将细菌先在逐步增大金属离子浓度的培养基中繁殖与传代,以提高细菌对高浓度金属离子的耐受能力。从有关资料看出,被驯化过的氧化铁硫杆菌能在含铜离子15克/升与含铁离子40克/升、pH值在0.5的生长条件下培养得到活性菌体。用同样方法,各实验室也获得了对其他金属离子有耐受能力的氧化铁硫杆菌菌株。另外,添加表面活性剂可增加细菌对矿物中金属的浸出量。据报道氧化铁硫杆菌在溶浸黄铜矿的精矿时,加入0.003%吐温20(表面活性剂),18天中铜的浸出量比不加表面活性剂的对照组增加79%。氧化铁硫杆菌在溶浸针硫镍矿时,加入0.003%吐温20,14天即可浸出镍70%,而不加吐温20的对照组23天只浸出58%。但是表面活性剂并不能增加那些不易被细菌作用的矿物的浸出作用,例如氧化铁硫杆菌对闪锌矿精矿(含锌66.4%)作用,30天浸出锌11%,而加吐温20,只浸出7%。这可能是表面活性剂的作用只是使矿石表面润湿而易被细菌作用而已。目前在生产中尚未见到应用表面活性剂的报道,估计今后在精矿的容器内浸出时,有应用的可能。

前面已经提到,细菌冶金一般都是处理低品位的矿石,但近来对高品位精矿与冶炼中间生成物应用细菌冶金的报道也在逐渐增加,如表2中列举的含锌60.78%的硫化锌精矿、含钼53%的灰钼矿精矿和含镍31.5%的针硫镍矿精矿就是例子。这可能是由于在有良好通气、搅拌与温度控制条件下(例如在容器中),氧化铁硫杆菌对金属硫化物的氧化速度可以大大增加,如硫化锌精矿浸出锌的速率可达125毫克/升/小时,而且溶液中的硫酸锌的浓度最后可达72克/升,符合电解回收金属锌的浓度要求。因此精矿的细菌冶金的研究正在进行中。

采用的方法

浸矿法

目前报道的浸矿法主要有矿床内溶浸、堆浸和容器浸出三种。

矿床内容浸 一般用于开采过的铀矿。由于有的矿石中本来就存在着氧化铁硫杆菌，因此只需在每隔一定时期用高压水冲洗经开采后留在矿井里的废矿石场，直到冲洗水中的金属含量降低为止。用高压水冲洗一方面可将沉积在矿石表面的氢氧化铁冲去，使矿石继续被细菌作用；另外冲洗出含铀的水送到工厂经离子交换树脂可回收铀。该法在不含黄铁矿的矿石中还需加上黄铁矿，若在每次冲洗后撒上细菌生长所需要的营养物质与混合盐类，就可促进细菌的生长繁殖来缩短每次冲洗的间隔周期。这种方法已在加拿大和法国的一些铀矿山中采用。

堆浸 在铜和铀的生产中虽然几十年前就有用堆浸法的，但是用堆浸法提高铜和铀的产量还是五十年代对细菌在浸矿中的作用进行广泛研究以后的事。研究表明，堆浸用的矿石的大小与矿石堆中的通气有关，矿石过细，不利空气进入而影响细菌的活力，因此矿石的大小，矿石堆的高度都是必需考虑的因素。此外控制浸矿循环液的酸度，可以加快下一次浸出速度。最近报道，美国肯纳可特公司与美国原子能委员会在某矿体用 2 万吨核爆炸破碎，产生一堆直径 67 米，深 149.3 米，有 136 万吨重的破碎矿石，铜品位平均为 0.5%，用细菌方法浸出，估计每天可产铜 25 吨左右。

容器浸出 此法大多用于回收精矿或冶炼中间生成物的研究试验。在容器中将细菌、培养液与矿粉混合在一起，进行通气搅拌和控制温度以提高浸出速率。由于其设备维修与动力费用较大，故目前尚未见投产的报道。

纯化和富集法

通过细菌的作用将金属从矿石中溶浸出来，这只是回收金属的前一过程，后一过程是将浸出液中的金属化合物纯化、富集并转变成金属状态。由于矿石的种类不同，浸出液中金属化合物浓度的高低和杂质的多少也有差别，因而采用纯化、富集的方法也将不同。对于铜来说，一般只需在浸出液中加入铁屑就可将铜从含硫酸铜的浸出液中置换出来，虽然置换的设备各有不同，但原理基本一样。1964 年美国的一些铜矿公司改用了萃取剂 LIX-64，从酸性的浸出液中萃取铜，因 LIX-64 高效、低耗和可反复使用，故比铁置换法优越。1968 年美国亚利桑那州蓝察斯开发与研制公司已将萃取剂用于生产，年产 5000 吨阴极铜。1970 年美国巴格德铜公司也用该法年产阴极铜约 6000 吨。除铜以外，用于其他金属化合物的高效专一性强的萃取剂目前报道的尚不多。

在湿法冶金中，有些资料还报道用环烷酸、Versatic-9（碳数目为 9 的有支链的饱和脂肪酸）与 SRS-100 [50% 的 Versatic acid (C_{15}) 及 50% 中性油的混合物] 从水溶液中萃取某些金属化合物，但专一性均不高。用离子交换树脂回收低浓度溶液的金属化合物也有较好的效果，例如在铀的回收中就有用离子交换树脂的。目前细菌冶金的投产除铀和铜外，其他金属投产规模都不大或尚未投产，部分原因可能与回收纯化问题没有完全解决有关。

结 束 语

总之，细菌冶金具有设备简单、成本低和可处理贫废的金属硫化矿石等优点。但还有许多问题有待今后研究解决，如对氧化矿、碱性矿和原生矿的溶浸问题；细菌冶金在寒冷地区的应用问题；纯化提炼问题等。目前各国正在开展研究。

氨基酸发酵

蛋白质是构成人和生物体的基础物质。氨基酸是构成蛋白质的基本单位，也是合成各种具有生理活性多肽的基础原料。因此，氨基酸除了在探讨生命起源过程中具有重大意义外，还在医药工业和食品工业等方面有广泛的用途。目前，国际上尤其是日本对氨基酸发酵工业较重视。

氨基酸的用途

医药方面

用氨基酸制造复合氨基酸注射液 制造的复合氨基酸注射液能代替水解蛋白质注射液。据报道，日本 1960 年左右开始生产复合氨基酸注射液，除含八种必需氨基酸外，还添加了丙氨酸、酪氨酸、脯氨酸、谷氨酸、天门冬氨酸、半胱氨酸、精氨酸和组氨酸等各种氨基酸*。在各种不同氨基酸注射液中有还添加了山梨醇和木糖醇等多种成份。1970 年日本年产 500 毫升装的复合氨基酸注射液达 100 万支左右。这种注射液不仅比水解蛋白质容易控制澄明度、热源和过敏物质，而且还可随用随配。

用某些氨基酸或衍生物防治疾病 例如，用 L-组氨酸、L-谷氨酰胺和 S-甲基蛋氨酸等可治疗胃溃疡；L-精氨酸治疗肝昏迷；苏氨酸的铁络合物治疗贫血；5-羟基色氨酸可防止放射线引起的疾病；4-羟胺基脯氨酸用于治疗慢性肝炎和防止肝硬化；L-二羟基苯丙氨酸 (L-dopa) 是美国 1970 年获得的十一个有效药物之一，用于治疗帕金森氏病(麻痹性震颤)。

用氨基酸为原料合成多肽药物 目前已有治疗肝炎和抗放射线疾病的谷胱甘肽；诊断胃机能的促胃激素；用于催产的催产素；用于增加血压的加压素以及治疗关节炎和过敏性疾病的促肾上腺皮质激素等。最近由于合成多肽或蛋白质的技术进展，特别是核糖核酸酶和人类生长激素等具有生理活性的蛋白质合成成功，这将使氨基酸的用量进一步增加。

食品工业

氨基酸可供从事高温、高压、低压、超速和超重作业人员作高能食物。谷氨酸可作调味品。

最近日本发现在小麦或大米中添加赖氨酸和苏氨酸可提高营养价值，如小麦中加 0.1% 赖氨酸可提高 50% 的营养价值；大米中添加 0.1% 赖氨酸和 0.2% 苏氨酸，营养价值可提高 30%。

其他工业

色氨酸、组氨酸和 5-羟基脯氨酸已广泛地用作抗氧化剂；聚谷氨酸用于制造高级人造皮革；甘氨酸和 β -丙氨酸作为各种络合物及表面活性剂的制造原料；此外氨基酸还可作为人造纤维和合成橡胶的原料。

* 日本生产混合氨基酸注射液的工厂有，田边药厂、第一制药厂、森下制药厂、光制药厂和十五荣营养药厂等。

氨基酸的发酵方法

几十年来氨基酸的生产都是采用蛋白质水解法。但由于该法生产过程复杂、产量低和成本高,故 1956 年日本改用糖质发酵生产谷氨酸以后,发酵法生产氨基酸就引起了世界各国的重视,并推动了其他一系列氨基酸的研究和生产,产量逐年增加,价格逐年下降。据统计,1970 年全世界谷氨酸的产量为 20 万吨,其中日本占 10 万吨。目前世界各国生产谷氨酸主要采用微生物发酵法,少量采用化学合成法。微生物发酵法生产氨基酸一般有如下几种方法。

直接发酵法

基本上分两类,一类是以糖质为基质培养野生菌株直接发酵获得所需氨基酸,利用此法生产的氨基酸有谷氨酸和丙氨酸等,其中谷氨酸收率为 40~50% (对糖而言)。随着谷氨酸生产的发展,粮食原料供不应求,日本还研究了石油化工产品(乙烯)制成的醋酸钠为原料发酵谷氨酸的工艺,并已投产,收率与糖质发酵相仿为 44%。另一类是以营养缺陷性菌种进行发酵获得氨基酸,如赖氨酸和鸟氨酸等。详见表 1。

表 1 直接发酵法生产的氨基酸

品 名	菌 属	菌 种	菌的类型	所依赖的物质	生 产 量 (克/升)	收 率 (%)
L-赖氨酸	小 球 菌 属	<i>Micrococcus glutamicus</i>	营养缺陷性	高丝氨酸, 蛋氨酸或苏氨酸	30~50	30~50
L-缬氨酸	小 球 菌 属	<i>Micrococcus glutamicus</i>	营养缺陷性	亮 氨 酸	12	—
	埃希氏杆菌属	大肠杆菌(<i>Escherichia coli</i>)	营养缺陷性	亮 氨 酸	12	—
L-鸟氨酸	小 球 菌 属	<i>Micrococcus glutamicus</i>	营养缺陷性	精 氨 酸	26	—
L-丙氨酸	短 杆 菌 属	<i>Brevibact. monoflagelum</i>	野 生 菌		40~50	40~50
	短 杆 菌 属	<i>Brevibact. amyolyticum</i>	野 生 菌		40~50	40~50
	棒 状 杆 菌 属	<i>Corynebact. gelatinosum</i>	野 生 菌		40~50	40~50

前体添加法

添加必要的前体作为发酵基质转化为所需的氨基酸(表 2)。由于目前前体添加剂成本尚高在技术经济上不如直接发酵法。但由于用此法能生产直接发酵法所难得的异亮氨酸和

表 2 前体添加法生产氨基酸

品 名	菌 属	菌 种	添加的前体	生产量(克/升)	对前体收率(%)
L-异亮氨酸	假单胞菌属	铜绿色极毛杆菌(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	α -胺基酪酸	12~14	—
	小 球 菌 属	<i>Micrococcus glutamicus</i>	α -胺基酪酸	12~14	—
	赛氏杆菌属	粘质赛氏杆菌(<i>Serratia marcescens</i>)	D-苏氨酸	8	—
L-苏氨酸	芽孢杆菌属	枯草杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>)	高丝氨酸	3.7	(C)
	小 球 菌 属	<i>Micrococcus glutamicus</i>	氨 基 酸	8.5	—
L-色氨酸	酵 母		咧 噪	14	—

色氨酸等,因而在生产上还具有一定意义。

酶转化法

先培养需要的菌体,再加基质进行酶转化氨基酸,这种方法与前体添加法类似,而且在天门冬氨酸的发酵中,收率或成本都比其他方法好(表 3),预计此法今后在氨基酸生产中将占重要地位。

表 3 酶转化法

品 名	转 化 法	生 产 量 (克/升)	收 率 (%)
L-天门冬氨酸	延胡索酸 $\xrightarrow{\text{天门冬氨酸酶}}$ L-天门冬氨酸	50~220	100
L-苯 丙 氨 酸	桂皮酸 $\xrightarrow{\text{大肠菌}}$ 苯丙氨酸	—	18

酶 制 剂 简 况

酶是一种生物催化剂,能催化生物体中各种生物化学变化,使生物体进行正常的新陈代谢活动。酶,目前不仅能从现有的生物体中提取,还能以微生物进行工业生产。实际上,微生物酶很早以前就被利用在酿造食品等方面。但作为酶制剂形式在工业上应用,还是近几十年内发展起来的,特别是最近几年发展更迅速。迄今为止,已知的酶有 1,300 多种,其中 40~50 种可广泛地用于食品、纺织、制革、造纸、化工和医药等工业。这方面的工作,以美国、日本较发达,西德、丹麦、荷兰、英国和法国也有一定的生产规模。

生 产 情 况

由于微生物具有种类多、生长快、含酶丰富和容易制造等优点,故多数酶制剂是用微生物发酵法制造的。据现有资料统计,美国现有 50 多个企业生产工业酶制剂,其中生产微生物酶者有 30 多家。日本 1965 年以来,有 27 个厂生产微生物酶,到 1968 年,总产量约为 13,000 吨左右(表 1)。目前世界总产量为 50,000 吨左右。

表 1 日本 1968 年微生物酶的生产情况

品 种	产 量 (吨/年)	产 值 (美元)
麦 芽 淀 粉 酶	350	97,500
霉 菌 淀 粉 酶	90	707,000
细 菌 淀 粉 酶	10,603	2,537,000
糖 化 酶	800	2,220,000
纤 维 素 酶	20	209,000
果 胶 酶	13	36,000
蛋 白 酶	982	744,500
脂 肪 酶	3	100,000
其 他 酶	4	1,800,000

应 用 情 况

工业用酶

目前美国和日本工业上所利用的酶如表 2。下面介绍几种近年来在工业上应用的酶。

制糖用酶 制糖用酶有淀粉酶、葡萄糖异构酶和蜜二糖酶。

淀粉酶在国际市场上约有 70 种以上,以 α -淀粉酶或糖化酶为主,但一般是两种酶的混合物。淀粉酶的生产目前正在向 50~200 吨罐发展。日本于 1959 年首先将糖化酶用于生

产葡萄糖,到1962年已将葡萄糖的生产全部改为酶法,产量达40万吨。美国不久前也应用酶法生产葡萄糖,1971~1972年总产量达160万吨左右(其中70%以上为液糖)。

葡萄糖异构酶能催化葡萄糖转化为果糖,因葡萄糖的甜味差,不能代替糖。用此酶能使甜度提高(果糖比蔗糖甜50%),从而开辟了一条新的制糖途径。有关这项研究美国在1958年就有报道,到1971年有一个厂已扩大至日产400吨的规模。日本也选出工业生产用的菌种,并于1965年正式投产。

蜜二糖酶。在甜菜糖的制造和浓缩过程中,由于存在着棉子糖杂质,妨碍砂糖的结晶和收率,蜜二糖酶能使棉子糖转化为砂糖和半乳糖,从而提高砂糖的结晶效率。预计用此酶可提高糖产量6~10%,按1968年全世界甜菜糖年产量3000万吨计,可增产180~300万吨甜菜糖。这是一项甜菜糖制造的新技术。此项研究日本已获成功并已向十多个国家申请了专利。

洗涤剂用酶 最近几年,欧美、日本等国家采用了合成洗涤剂中添加碱性蛋白酶的方法来提高洗涤效果。1968年欧美各国洗涤剂年产量达到15,000吨左右。但由于碱性蛋白酶引起皮肤过敏,影响了碱性蛋白酶的销售。最近,英、美各国又经仔细研究,认为在一定用酶情况下,可以安全使用,并已批准生产。

制奶酪用酶 制造奶酪时所用的凝乳酶,过去是在小牛第四胃中提取的。近几年由于奶酪制造量增加,小牛第四胃提取的凝乳酶的产量已供不应求。估计目前世界奶酪产量每年为400万吨,所需的凝乳酶为1,000吨,日本已从微生物中找到了凝乳酶,为凝乳酶提

表2 美国和日本工业上常用的酶

酶 的 分 类	名 称	来 源	主 要 用 途
水 解 酶	淀 粉 酶	细菌,霉菌,麦芽	食品加工,发酵原料糖化,饲料添加剂,纤维织物去糊剂,消化剂。
	蛋 白 酶	各种微生物和动植物	皮革加工,照相工业,食品加工,洗涤添加剂,明胶工业,蛋白纤维和再生革制造,消化剂,饲料添加剂。
	脂 肪 酶	酵母,霉菌	食品工业(脂肪分解,乳制品增香),洗涤添加剂,消化剂。
	纤 维 素 酶	霉 菌	谷类、水果和蔬菜加工,饲料添加剂,消化剂。
	半 纤 维 素 酶	霉 菌	同 上
	果 胶 酶	霉菌,细菌	果汁和果子酒的澄清,桔子脱囊衣,植物纤维精炼。
	磷 酸 二 酯 酶	霉 菌	制造化学调味品(5'-肌苷酸,5'-鸟苷酸)等。
	蜜 二 糖 酶	霉 菌	甜菜糖制造(使棉子糖分解)。
	柚 苷 酶	霉 菌	桔类去苦味。
	橙 皮 苷 酶	霉 菌	防止夏蜜桔罐头白色沉淀。
	凝 乳 酶	小牛胃,霉菌	奶酪制造。
	酰 化 酶	霉菌,细菌,放线菌	制造L-氨基酸(分离D,L-氨基酸)。
	转 化 酶	酵母,霉菌	液糖制造。
	异 淀 粉 酶	产气杆菌	生产直链淀粉,制造麦芽糖,食用薄膜。

(续表)

酶 的 分 类	名 称	来 源	主 要 用 途
氧化还原酶	葡萄糖氧化酶	霉菌	食品加工,生化试剂。
	过氧化氢酶	细菌,霉菌	食品加工(杀菌防腐),毛巾漂白后去过氧化氢,医药。
	D-氨基酸氧化酶	霉菌	制造 L-氨基酸。
转移酶	核苷磷酸转化酶	细菌	制造 5'-核苷酸, 5'-肌苷酸。
	转 氨 酶	细菌	制造 L-氨基酸。
脱氢酶	天门冬氨酸酶	细菌	制造天门冬氨酸。
	延胡索酸酶	细菌	制造苹果酸。
异构酶	葡萄糖异构酶	放线菌	制造果糖。
	D-氨基酸异构酶	放线菌, 细菌	制造 L-氨基酸。

供了新的生产方法。

医药用酶

过去医药上只用酶作消化剂,现已扩大到抗炎及利用酶的生理特性治疗各种疾病。

消化酶 这种酶在医药上应用最早,需要量最大,包括:淀粉酶、蛋白酶、纤维素酶及脂肪酶。当前这类酶制剂正在从过去的单一酶制剂向混合复方酶制剂方向发展,以对淀粉、蛋白质、纤维素及脂肪等起综合的消化作用。

生理活性酶 早在 1952 年就有人用胰蛋白酶静脉注射治疗血栓症,经过十几年探索,发现了新的生理活性酶领域。现将欧美和日本等国家用于临床上的部分微生物生理活性酶列于表 3。

表 3 生理活性酶的种类及用途

品 名	临 床 上 的 应 用
青 霉 素 酶	治疗青霉素过敏症。
链 激 酶	治疗皮下出血,血肿和血栓。
脱氧核糖核酸酶	治疗脓胸。
骨 胶 元 酶	治疗烫伤慢性溃疡。
枯草杆菌蛋白酶	抗炎,抗浮肿。
放线菌蛋白酶	抗炎,抗浮肿。
沙雷氏菌蛋白酶	抗炎,抗浮肿,脓核蛋白水解。
弗氏菌蛋白酶	抗炎,抗浮肿。
细胞色素 C	治疗脑血管障碍。

除此以外,目前已完成临床试验进行扩大试制的新酶制剂有,治疗急性白血病的天门冬酰胺酶、治疗关节痛的尿酸酶、防止婴儿吐奶症的乳糖酶、防止蛀齿的右旋糖酐酶和溶菌酶;荷兰生产的有治疗循环系统症的复方脂肪酶(Vasolastine)、治疗风湿性病的 Rheumajecta、治疗变态反应症的 Interactin 和治疗感染的 Antibiose 等。

诊断酶 用葡萄糖氧化酶及过氧化氢酶的试纸可快速定量血液中葡萄糖, 脲酶试纸能快速测定尿中尿素; 尿酸酶试纸可测定体液中的尿酸。

发 展 方 向

在上述介绍的酶制剂中, 消炎用的蛋白酶、洗涤剂用的碱性蛋白酶、制糖用的蜜二糖酶、制奶酪用的凝乳酶和防止蛀齿用的右旋糖酐酶等都是近年来的新品种, 当前的工作除了继续开发新的有价值的产酶微生物的菌种来开拓新的用途外, 还在对现有酶的合理使用、改变酶的化学结构以增强活力和稳定性等方面作进一步的研究。

合理使用酶

酶反应与化学合成相结合 酶反应具有能在温和条件下迅速催化复杂的化学反应, 生产设备简单, 一套设备能生产多种产品, 没有公害毒物排出等优点; 但也存在产物浓度低(仅千分之几或百分之几), 提取困难, 设备体积庞大, 生产周期长等缺点。而化学合成的优缺点则与其相反, 优点是产物浓度高, 生产稳定, 生产设备体积小; 缺点是, 难以合成天然的具光学活性的物质。因此工业生产中采用酶反应与化学合成相结合的工艺, 便能取长补短, 达到简化工序、提高生产效率、降低成本之目的。例如, 从孕酮合成可的松, 化学法需用三十步反应, 现采用化学法和微生物酶法相结合的工艺只须三步。避孕药炔诺酮的生产采用这类工艺可使工序减少六道, 收率提高好几倍。在生产青霉素时, 可先用酶法生产出化学合成难以生产的 6-氨基青霉素, 再用化学法使氨基酰化, 即可制得各种耐药性菌的新型青霉素。

改变酶的使用方式 通常酶反应是将酶溶于溶液中进行的, 反应后酶无法回收, 不能反复使用连续操作, 产品提纯困难。如果把酶作成固相酶(水不溶酶)则可象固体催化剂那样连续使用, 为酶催化工业的连续化和自动化提供可能性。现在各国都在研究(详见固相酶一文)。

改变酶的化学结构以增加酶的活力和稳定性

如改变酶的金属络合物, 将酶蛋白络合物中的金属离子改变为钙离子, 使成钙式酶, 可提高活力 20~30%。把酶做成衍生物, 可提高酶的热稳定性, 如将淀粉酶制成氯化烷二甲基苯胺衍生物, 在 90°C 下加热 10 分钟仍能保留 15% 的酶活; 作成聚碳酸酯化物的衍生物, 100°C 处理 5 分钟, 酶活力还能保留 35%。

纤 维 素 酶

纤维素(树木、秸秆和糠壳等)是自然界中存在最多的有机化合物,约占地球上植物总量的三份之一。过去纤维素除了用作造纸原料和部份作动物粗饲料外,多数是作为燃料或污物处理。近几年来,随着世界人口的增加和工、农业生产的需要,将微生物作用于纤维素来开辟食物资源和提高工业产率等工作,已引起世界上有关科研机构的重视。美国和日本已生产纤维素酶,日本在1968年纤维素水解酶的年产量达20吨。目前,研究的简况如下:

应 用 研 究

主要是通过微生物对纤维素的分解或合成,生成糖或蛋白质供作食用;利用纤维素酶可去除纤维素杂质和破坏细胞壁的作用来提高有关的工业产率。

食物资源

纤维素糖化 纤维素是由许多单糖构成的,通过纤维素酶的作用能转化为单糖。美国陆军某研究室,已将绿色木霉母本QM6a用高能电子照射诱变分离出菌株QM9123的纤维素酶。酶活要比母本提高两倍,经采用在马铃薯葡萄糖琼脂上经常移种的方法,保存在低压冷冻条件下,维持其增加的活力已超过了两年。把形成的纤维素酶液用分子筛浓缩5~8倍,加30%(重量/体积)粉碎的木质纸浆,在搅拌罐反应器中进行连续酶解糖化,随时移出糖液,经10天作用后,70%的纤维素转化成葡萄糖,其他为纤维二糖和木二糖。该实验已具5立升罐规模。

纤维素蛋白 用纤维素生产的微生物蛋白要比用石油二次产品生产的成本低,而且也不象用石油生产蛋白那样,还要解决毒性问题。为此,研究纤维素生产蛋白就具有特殊的意义。美国曾研究了用甘蔗渣和新闻纸等废纤维生产微生物蛋白。

以甘蔗渣为原料生产微生物蛋白,是将甘蔗渣粉碎以碱预处理后,放置于50加仑通气发酵罐中,再以纤维杆菌作用。发酵温度维持在32~35℃,菌体约一小时增加一倍,分批发酵需1~3天。

用新闻纸,硬纸板箱,麦秸或稻草生产微生物蛋白。美国路易安纳州立大学的方法是,将粉碎的原料用碱液处理后消毒杀菌,再加入细菌和产碱杆菌,能产生含75%蛋白质的棕色产物,所含必需氨基酸完全,其中赖氨酸、亮氨酸和缬氨酸超过规定指标。这种蛋白质消化率能达80%(牛奶中酪蛋白消化率为93%)。1970年6月开始,中间实验生产了300磅蛋白质已作了动物饲料试验。研究者期望四年中用该法生产出供人食用的蛋白质。

纤维素酶处理植物性废料,如三叶草,大麦或甘蔗渣等产生的单细胞蛋白可用作饲料。青饲料中加入纤维素酶能使饲料变得柔软,从而提高消化率。

经试验,鸡的大麦饲料中添加纤维素酶,可增加鸡的体重和产卵率;鼠饲料中加了纤维素酶能提高饲料利用率,增加鼠的体重。

工业中的应用

医药工业 日本制药公司在生产青霉素、链霉素和四环素等抗菌素的过程中,采用纤维素酶制剂提高了产量和加速了工艺流程。纤维素酶用于谷氨酸生产增产效果最明显。西德在生产多酶片和日本生产消化剂时添加纤维素酶及半纤维素酶都提高了产品的消化能力。

食品工业 纤维素酶制剂的粗制品含纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和几丁酶等,在食品工业中应用甚广:(1)提高大豆蛋白质的得率,吸水大豆在 40°C 时加酶搅拌四小时比对照提高蛋白质得率 24%;风干大豆加酶搅拌二小时增加蛋白质得率 73%;酱油大豆加酶后,静止作用五小时比对照增加蛋白质得率 2~6 倍。(2)作用于酵母或脱脂大豆制取混合氨基酸。(3)提高椰子蛋白、琼脂和茶叶抽出物成份的得率。(4)用于人造烟草、密桔脱囊衣和果蔬加工等。(5)日本斋藤氏用纤维素酶溶液浸泡米粒,能使米粒内外崩坏均匀,蒸煮饭后舌感良好。其次还进行了造酒米的试验和改良外来米等研究。(6)酿造上加入 0.05% 纤维素酶不仅能防止醪渣结块,而且还由于纤维素酶能提高甘薯和玉米淀粉的利用率可用来提高出酒率。这项工作日本已获一定效果。

造纸工业 纤维素酶用于低膨胀性的 α -亚硫酸盐木浆,可使木浆的抗张力显著提高。用纤维素酶处理漂白的半化学浆,纤维素长度降低;处理半漂白半化学浆,则微细纤维量与保水度明显增加,代替了打浆,从而清洁了机器和管道。

植物成份提取工业 纤维素酶用来提取植物成份比有机溶剂抽提法效率高,成本低。

理 论 研 究

早在 1912 年国外就已有微生物分解纤维素的报告。最近几年又获得了分解纤维素的无细胞纤维素水解酶系统,实际上纤维素水解酶是一种复合酶,内含 C_1 、 C_x 和 β -葡萄糖苷酶,不同菌种所产生的纤维素酶的种类比各不相同。绿色木霉被认为是将天然不溶性纤维素水解为葡萄糖的复合纤维素酶(C_1 和 C_x)的合适来源。同时,对 C_1 、 C_x 和 β -葡萄糖苷酶的作用机制也进行了研究。

美国 K. W. King 等对绿色木霉分离出的纤维素分解酶 C_1 和 C_x 的作用进行了研究。纤维素由结晶区和非结晶区构成,当纤维素酶作用时,非结晶区生成糖而结晶区残存着这种酶,称 C_x 。分解结晶区的酶为 C_1 ,目前对 C_1 的作用机制尚不清楚,但它在 β -1-4 葡聚糖酶水解排列规则的圆体纤维素(棉花)时,是必要的。 C_x 在 β -1-4 葡聚糖酶中有二种类型:外端分解型,即从纤维素链的外还原端逐一切下单个葡萄糖;内间分解型,带有任意作用性质,但水解末端键要比水解中间键敏感性小。

纤维素复合酶中的 β -葡萄糖苷酶,也称 β -葡二聚糖酶,它是对在纤维素破坏过程中产生的葡萄糖 β -二聚物(包括纤维二糖)等有高度活性的酶。

固相酶（水不溶酶）

固相酶是1960年左右出现在酶学研究中的新课题。固相酶的研究成功将为工业生产提供新技术，新工艺；为医学诊断和治疗提供新方法；为研究生命规律提供新途径。据近年来的研究，预计在七十年代，固相酶将引起有关工业的变革和有关理论研究的突破。

固相酶是将水溶性的酶制剂，通过物理或化学的方法使之不溶于水，而仍然保持酶的催化能力的制剂。它的作用特点，是用固相上的酶作用于液相的底物。

制备固相酶的方法大致可分四大类：吸附法、载体偶联法、交联法和包埋法。目前固相化方法共有20种左右，已被固相的酶有80多种。

固相酶与一般水溶性酶制剂相比，大致有以下几个优点：（1）固相酶比水溶性酶稳定，使用寿命长，一般可连续使用几百个小时甚至一个月。而水溶性酶稳定性差又难以回收，往往反应几小时就被扔掉。（2）固相酶悬浮于反应液进行作用，反应后可用过滤或离心的方法与反应液分离，从而可反复使用多次。固相酶还可装成酶柱，反应液流过酶柱后，流出液即为反应产物，这样就可能使生产管道化、连续化及自动化。（3）固相酶在使用前可以充分洗涤，除去水溶性杂质，因而不会污染反应液，产物的分离提纯就简单得多。

目前，国际上对固相酶的研究仅处于应用研究阶段，研究方面归纳如下：

工业生产上的应用

工业生产上应用较成功的是日本，已投产的是固相氨基酸酰化酶，用来拆分DL-氨基酸生产L-氨基酸。用此法能月产20吨氨基酸。

处于研究阶段，尚未投产的有：（1）用于葡萄糖生产的固相 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、 γ -淀粉酶和糖化酶；（2）使蔗糖变成转化糖的固相蔗糖转化酶；（3）使葡萄糖转变为果糖的固相葡萄糖异构酶；（4）用于制备蛋白水解液的固相蛋白水解酶；（5）使腺一磷转变成肌苷酸的固相腺三磷脱氢酶；（6）高产率地制备同聚核苷酸的固相多核苷酸磷酸化酶；（7）裂解苄基青霉素制备6APA的固相青霉素酰胺酶；（8）用于啤酒澄清的固相木瓜蛋白酶；（9）用于去除鸡蛋清中葡萄糖，而提高蛋白质量的固相葡萄糖氧化酶；（10）改进制造可的松和泼尼松的工艺，固相含有类固醇11- β -羟化酶的菌体和固相类固醇 $\Delta^{1,2}$ -脱氢酶。

近年来有不少人模仿微生物的多酶系统，研究了固相多种酶，以组成“多酶反应器”来完成一系列反应和生产贵重的生化试剂。如有人用两个或两个以上的固相酶，组成“还原辅酶I发生器”和“还原辅酶II发生器”。

估计，固相酶在工业上成功地使用，将会使目前工厂里的一个个大的反应罐变成精巧的管道系统，促使生产连续化和产量的提高。