

微生物工程的基础和应用

日本发酵工程学会编

张震元 张启先 陈玉铭 刘宏迪 译

程光胜 校

轻工业出版社

内 容 简 介

本书是由日本著名专家集体编写的专著，反映了80年代初日本微生物工业的水平。内容包括：1.微生物的概述；2.微生物的结构和功能；3.微生物的利用：（1）微生物培养法，（2）酿造工业，（3）有机酸发酵，氨基酸·核酸发酵，（4）抗生素及其他抑制剂生产的基础和应用，（5）酶的生产和利用，（6）固定化酶及其应用，（7）应用微生物菌体作食品和饲料，（8）微生物侵害及防止，（9）环境净化和废水处理，（10）微生物活性在有机合成化学中的应用；4.应用微生物学展望。

本书可供从事微生物工程的技术人员和大专院校的师生参考。

微生物工学 —基础と応用—

产业图书株式会社

本书系根据日本产业图书株式会社昭和

58年7月29日初版本译出

微生物工学的基础和应用

日本发酵工程学会编

张震元 张启先 陈玉耀 刘宏迪 译

程光胜一校

*

轻工业出版社出版

（北京广安门南滨河路25号）

顺义联合印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经售

*

850×1168毫米 1/32 印张：104/32 字数：252千字

1988年9月 第一版第一次印刷

印数：1—3,000 定价：3.95元

ISBN7-5019-0241-0/TS·0151

执笔者（按执笔顺序）

- 田口久治（大阪大学工学部教授）
门田 元（京都大学农学部教授）
驹形和男（东京大学应用微生物研究所教授）
水島昭二（名古屋大学农学部教授）
岡田弘輔（大阪大学工学部教授）
大嶋泰治（大阪大学工学部教授）
永井史郎（广島大学工学部教授）
秋山裕一（协和发酵工业（株）酒类事业本部技术顾问）
相田 浩（茶之水女子大学家政学部教授 东京大学名誉教授）
岡见吉郎（微生物化学研究所副所长）
山本武彦（大阪市立大学理学部教授）
千畑一郎（田边制药（株）理事、研究开发总部副部长）
蓑田泰治（东京大学农学部教授）
芝崎 勲（大阪大学工学部教授）
市川邦介（大阪大学名誉教授）
山田秀明（京都大学农学部教授）
原田笃也（神戸女子大学家政学部教授）
福井三郎（京都大学名誉教授）

译 序

《微生物工程的基础和应用》一书的中译本要出版了，我乐之为序。这本由日本专家集体编写的专著，反映了80年代初日本微生物工业的水平。

当前，我们正在积极为我国微生物工业的现代化奋斗，以便为实现到本世纪末工农业总产值翻两番贡献更多的力量。了解中外情况，特别是日本微生物科技的情况，对于我们更为重要。这是因为中日两国是一衣带水的邻邦，许多事物有相似之处，易于彼此交流，取长补短。日本的微生物工业居世界之魁首，从日本的现状可知当前国际之最高水平；日本微生物科技的发展历史，可供我国借鉴之处亦多。

日本用近代科学理论和方法研究微生物发酵，开始得比我国早数十年。在日本，农学院及工学院多设有微生物发酵专业，培养出了不少专家；而且化学家较早就参加到发酵研究的队伍中，很早就鉴定出许多种新的微生物代谢产物，如曲酸、赤霉素等。日本的传统发酵食品，如清酒等，已成为世界名酒；糖化用的米曲霉是日本首先培育成的，它与德国培育的低温发酵底面啤酒酵母、中国培育的糖化用根霉一起，都是世界上的优良生产菌种。

抗日战争胜利前，日本曾在我国台湾、大连和上海等地设立的研究单位，对我国的微生物工业也进行了颇为深入的研究，在这些单位也为日本造就了一批微生物科技人才。二次世界大战后，日本的发酵工业在美国工业微生物学家Foster的帮助下，很快恢复并发展起来。尤其是抗生素工业发展最快，例如1977年进入世界市场的12种抗生素中，就有7种是日本生产的。更使人钦佩的是日本在50年代中期发明的谷氨酸发酵生产法和60年代初的核苷酸发酵，从此，使发酵工业发展到代谢控制发酵的新阶段。

日本的微生物工业产值占全国工业总产值达5%，1972年日本微生物工业技术研究所所长七字三郎曾说，他的研究所是国立研究所中最早向国外输出技术的单位，每年为国库贡献大笔收入。

我国的传统发酵食品在世界上久享盛名，如茅台酒、绍兴酒、泸州大曲等是世界名酒；外来酒中的啤酒，有的如青岛啤酒等也在国外得到好评。以产量论，因为中国人口众多，尽管绝对产量1984年的酒类生产已达900万吨，超过当年日本747万吨的总产量，但人均量只有9升，而日本人均量达60升以上。如果到本世纪末我国人均酒消费量可达到日本1984年的三分之一，我国酒类的总产量就应该达到2300万吨以上。日本1979年酒的总产量为667万吨，酒税总额为14612亿日元，假如我国的酒税与日本按相似的比率征收，那么到本世纪末国家税收将可达6万亿日元左右，以百元日币折一元人民币计，国家仅从酒税一项即可收入600亿元。

到本世纪末，我国酒类总产量能达到2500万吨吗？我们估计是没有问题的。这可从“六五”期间的发展情况来看。五年中，白酒年产量翻了一番，啤酒翻了两番，其他酒的产量也增加两到三倍。据权威人士估计，本世纪末仅啤酒一项的产量即可年产1000~1600万吨，如果其他酒总计与啤酒产量相当，就是2500万吨以上了。

至于我国的近代微生物工业，前景也是可以乐观的。举维生素C的发酵生产为例。几十年来，各国均采用化学方法完成其中间步骤。中国科学院微生物研究所的科学工作者选育出了优良菌株，开创了两步发酵法，提高了产率，取得了不小的经济效益，并且将技术转让给国外，成了我国出口技术的重要项目之一。由此可见，只要我们充分发挥我国地广菌多的优势，选育优良工业微生物菌种的工作是大有可为的。有了优良菌种，再不断改造工艺设备，就将大大缩短我国与日本美国等先进国家发酵科技的差距。

从微生物工业的总产值，传统发酵工业的科技现代化，以及某些现代发酵工业的突破性成就这三方面看，我国的微生物工业与先进国家的差距必将逐渐缩小。但是，总体来看当前我们还较落后。例如谷氨酸等发酵，尽管我国在60年代已开始用发酵法生产，但至今成本仍然无法与日本货竞争。其原因是多方面的，科学技术知识薄弱就是一个重要原因。至今各发酵工厂工程师不多，熟练的技术人员也不足。因此，为了加速我国微生物工业的发展，培养专业技术人员是当务之急，这就要有书刊可读，《微生物工程的基础和应用》一书必将受到欢迎。

方心芳

原 序

生物工程、生物产业，这些新名词正在唤起人们深切的关注，因为这是深刻影响我们生活的最尖端技术。

把生物所进行的巧妙的生命现象和生物所具有的卓越功能实际应用于造福人类，正是生物工程所体现的意义与作用。无论从科学技术发展的历史，还是从产业与社会的关系上来看，生物工程的诞生都是具有划时代意义的大事。

当前，无论是发达国家，或是发展中国家，都从各自的需要考虑，把发展生物工程作为自己的国策，在充实基础研究和开发应用技术两方面进行着激烈的竞赛。

日本有着适合微生物生长的气候和环境，具有应用微生物形形色色能力的优良传统。在日本的应用微生物学家看来，生物工程与其说是革命性的新鲜事物，毋宁说是以往理论与技术相融汇而延伸的产物。

实际上，生物工程的核心理，就是关于如何巧妙利用微生物的理论和技術。从这种意义上说，日本的生物工程技术，其水平与能力应该是居于世界先进水平的。

日本发酵工程学会对日本的应用微生物学和微生物工业的发展曾贡献过一份力量，在该会成立六十周年之际，按计划出版了这本《微生物工程的基础和应用》作为纪念。

由代表着日本水平，活跃在世界第一线的优秀作者集体共同努力，编写了这本著作。本书用尽可能通俗的语言涵盖了关于微生物的基础和应用的内容，并把最新的学说也包括进去了。我们奉献出本书，深信对于关心作为生物工程中心的微生物工程的在校学生及社会上的各界人士，将会有很大的用处。

日本发酵工程学会会长 福井三郎

1983年5月1日

目 录

第一章 绪论 (田口久治)	(1)
一、什么是微生物工程.....	(1)
二、微生物工程和微生物工业的发展史.....	(2)
三、日本的微生物工业.....	(5)
第二章 微生物概述	(6)
一、微生物的作用..... (门田 元)	(6)
(一) 自然界中的微生物.....	(6)
(二) 微生物在自然界中的作用.....	(8)
(三) 物质循环与微生物.....	(11)
二、微生物的种类和分布..... (驹形和男)	(19)
(一) 前言.....	(19)
(二) 微生物的特征.....	(19)
(三) 原核生物和真核生物.....	(20)
(四) 微生物的种类.....	(22)
(五) 微生物的分布.....	(31)
第三章 微生物的结构和功能	(37)
一、微生物的结构..... (水岛昭二)	(37)
(一) 微生物的形态.....	(37)
(二) 细胞的结构.....	(37)
(三) 细胞壁.....	(39)
(四) 鞭毛, 纤毛, 菌毛.....	(45)
(五) 荚膜和粘质层.....	(48)
(六) 细胞的膜系.....	(48)
(七) 核.....	(51)
(八) 线粒体.....	(51)

(九) 叶绿体.....	(52)
(十) 核(糖核)蛋白体.....	(52)
(十一) 其他细胞器.....	(53)
(十二) 细胞内的贮备物质.....	(54)
二、酶和代谢..... (岡田弘辅)	(54)
(一) 酶是什么.....	(54)
(二) 酶的一般性质——应用上的优缺点.....	(56)
(三) 酶的命名和分类——酶能催化什么样的反应.....	(56)
(四) 辅酶.....	(68)
(五) 代谢途径.....	(71)
三、微生物的遗传和育种..... (大嶋泰治)	(80)
(一) 前言.....	(80)
(二) 微生物的遗传特性.....	(80)
(三) 基因的表达和细胞活性的调节.....	(82)
(四) 微生物的杂交和遗传重组.....	(84)
(五) 质粒.....	(94)
(六) 微生物的育种.....	(95)
第四章 如何利用微生物	(106)
一、微生物培养法..... (永井史郎)	(106)
(一) 前言.....	(106)
(二) 液体培养.....	(106)
(三) 固体培养.....	(118)
二、酿造工业..... (秋山裕一)	(121)
(一) 清酒.....	(122)
(二) 啤酒.....	(126)
(三) 葡萄酒.....	(128)
(四) 烧酒.....	(131)
(五) 酱油.....	(133)
(六) 豆酱.....	(135)

(七) 食醋.....	(136)
三、有机酸发酵, 氨基	
酸·核酸发酵..... (相田 浩)	(138)
(一) 有机酸发酵.....	(138)
(二) 氨基酸发酵.....	(144)
(三) 核酸发酵.....	(154)
四、抗生素及其他抑制剂生产的基础	
和应用..... (岡見吉郎)	(161)
(一) 用微生物生产抑制剂.....	(161)
(二) 产生抑制剂的代谢过程.....	(168)
(三) 抑制剂生产的调节.....	(175)
五、酶的生产和利用..... (山本武彦)	(178)
(一) 前言.....	(178)
(二) 酶的生产.....	(179)
(三) 酶的应用.....	(186)
六、固定化酶及其应用..... (千畑一郎)	(193)
(一) 前言.....	(193)
(二) 酶及微生物的固定化方法.....	(195)
(三) 固定化酶的性质和特征.....	(196)
(四) 固定化酶的应用.....	(197)
(五) 结语.....	(206)
七、应用微生物菌体作食品和饲	
料..... (菱田泰治)	(207)
(一) 用作食品和饲料的微生物菌体.....	(207)
(二) 微生物蛋白质资源和开发.....	(211)
(三) 微生物蛋白实用化的条件.....	(218)
八、微生物侵害及防止..... (芝崎 勲)	(224)
(一) 微生物侵害.....	(225)
(二) 微生物侵害的防止.....	(228)

九、环境净化和废水处理····· (市川 邦 介) (241)	
(一) 富营养化····· (241)	
(二) 评价水质污染的尺度····· (242)	
(三) 与环境净化有关的微生物····· (245)	
(四) 废水处理类型····· (246)	
(五) 活性污泥法净化废水的机制····· (250)	
(六) 活性污泥和膨胀现象····· (251)	
(七) 生物脱氮法····· (251)	
十、微生物活性在有机合成化学中的 应用····· (山田 秀 明) (253)	
(一) 氨基酸的合成····· (253)	
(二) 核酸类物质的合成····· (263)	
(三) 辅酶类的合成····· (267)	
(四) 有机酸的合成····· (270)	
(五) 生理活性物质····· (272)	
十一、微生物生产的多糖····· (原田 篤 也) (278)	
(一) 微生物的胞外多糖····· (278)	
(二) 微生物多糖生产能力, 稳定性和增产潜力····· (279)	
(三) 生产多糖的原料····· (280)	
(四) 多糖的生产条件····· (281)	
(五) 多糖的分离和提纯····· (282)	
(六) 多糖和微生物的种类····· (284)	
(七) 工业上重要的多糖····· (284)	
(八) 结 语····· (292)	
第五章 应用微生物学展望····· (福井 三 郎) (294)	
索 引····· (301)	

第一章 绪 论

一、什么是生物工程

工程学是探索工业生产规律性的科学。一切工业，都必须生产对人类有用的产品。要使工业生产在经济上可行，就要用适当的生产设备按合理的方式进行。因此，工程学可以说就是研究合理的生产设备和生产手段的科学。

工业发展和工程学的形成是相辅相成的。时至今日，从机械工程、电气工程和化学工程到汽车工程、航空工程、通讯工程、电子工程和生化工程等等，都已逐步形成独立的分支学科。

微生物工程（发酵工程）也不例外，它是研究利用微生物的工业，即由微生物参与的工艺过程的原理的科学。这门科学的目的是为发酵技术奠定理论基础，以便开发微生物所具有的卓越功能和潜在能力。

微生物工业所涉及的范围很广。在本书第四章里，就包括了食品、酒类、医药品、农药和化学制品等。尤其是在日本，微生物工业是一个庞大的工业部门，年产值已达5万亿日元。微生物的利用，当前已扩展到了环境保护（废物处理）和采矿等方面。

然而，工程学和技术显然不是同一回事。新技术的开发是以工程学的基本原理为基础的。

近年来，一个崭新的分支学科就是生物工程。有时人们以为这一学科专门指的是基因操作技术。其实，生物技术与生物工程杂志（*Journal of Biotechnology and Bioengineering*）早在1962年就创刊了。最近，人们给生物工程下了明确的定义：应用科

学和工程学的原理,利用生物材料的工业。所谓生物材料,不但有历来应用过的微生物,还应包括由动植物组织培养获得的细胞。但目前这一学科的主角仍然是微生物。客观地说,DNA重组、细胞融合等只不过是生物工程中的个别技术而已。微生物工程乃是发展生物工程的主要基础。

二、微生物工程和微生物工业的发展史

在我们的生活中,微生物起着多方面的重要作用。拿传统的食品和饮料来说,在西方有啤酒、葡萄酒、面包、干酪;在东方有酱、酱油、清酒;在中东和近东有酸乳等。这些产品都是数千年来,凭借人类的智慧和经验,在还没有亲眼见到微生物的情况下,巧妙地利用微生物所获得的产品。公元前2400年埃及第五王朝墓壁上已描绘了制造啤酒和面包的工匠形象。这可能由于面粉不太好吃,因而人们制成了既富营养又易消化的面包以及经酿制的啤酒。3000年前,中国已有用长霉的豆腐治疗皮肤病的记载,很可能其中长有能产生青霉素之类抗生素的微生物。

在农业方面,微生物和粮食生产的关系密切。微生物将空气中的氮素固定为氨,氨再进一步被氧化成硝酸,并使磷、钾、镁等形成可溶性盐类,从而使植物可以从土壤中吸收它们作为营养。今天我们知道,固氮是根瘤菌的作用,但早在古希腊时代人们就已经知道,与细菌共生的豆科植物可使土壤肥沃。

然而,尽管微生物与人类的关系十分密切,人类在漫长的岁月中对微生物的存在却一无所知。

直到1675年,荷兰人吕文虎克(Leeuwenhoek)在用手磨的显微镜观察植物的种子、动物的精子和红血球时,才首次在雨水及醋中观察到大量活着的微生物(当时称作微动物)。此后经过大约200年,被现代誉为微生物学鼻祖、发酵学之父的巴斯德(Pasteur),首次证明酒精发酵是由酵母菌引起的。他还粉碎了自

然发生论，使人们认识到生物只能由生物而来，发酵现象是由微生物所进行的化学反应，而且不同的发酵与不同的微生物有关。从此，对发酵的生理学意义也有了认识。随后，柯赫（Koch）建立了微生物的纯培养技术，布赫纳（Buchner）证明了酒精发酵过程是由酶催化的一系列化学反应，近代微生物学和生物化学便应运而生了。柯赫在研究炭疽病时，发现动物的传染病是由特定细菌引起的。在这项研究过程中，发明了单种微生物的纯培养技术。从此得知，微生物也和高等植物一样，可根据它们的种属彼此明确加以区分。因此可以说，在纯培养技术建立之前，对微生物的利用还是自然发酵或天然发酵的时代，而以后，则是靠人类的智慧来控制微生物的生态系统。后来纯培养技术被用于各种发酵工业，在产品防腐和稳定质量等方面起了重要作用。

另一方面，布赫纳阐明了微生物的化学反应本质。他用砂磨碎酵母菌细胞制成酵母汁，当加入大量蔗糖希望保存这些酵母汁时，发现会有二氧化碳和乙醇形成。这时人们才知道，原来任何生物都有引起发酵现象的物质（酶）。后来对微生物的酶进行过详细研究，到20世纪初，人们认识到，生物化学领域中研究过的肌肉糖酵解作用，与微生物引起的乳酸发酵和乙醇发酵，在本质上是相似的。于是生物化学和微生物学彼此沟通起来了。后来又进一步了解到，动物所要求的维生素与微生物所需要的生长因子，其化学组成是相同的，这就进一步使生物化学和微生物学紧密联系在一起了。

在20世纪的前50年，发酵工业在技术上虽未见特别的改进，但在第一次世界大战中，英国和德国曾分别发明了丙酮丁醇发酵和甘油发酵，并用这些产品来制造火药。

英美两国对弗莱明（Flemming）发现青霉素的投产研究，以及第二次世界大战中成功地进行青霉素的大规模生产，是当代微生物工业兴旺和丰富多彩的开端。在此之前，微生物工业主要是厌氧发酵，而生产青霉素之后，才开始大规模的好氧发酵。

此后建立了一整套发酵技术，这些技术主要是大量向发酵罐中通入无菌空气，以及培养液的灭菌和接种等。青霉素的发现，不仅使人们相继发现了许多种新抗生素，而且使深层培养法发展起来了。今天，微生物酶制剂的生产、柠檬酸发酵、甾体转化等许多种发酵，都是采用深层培养法。

微生物工业的发展，导致了生化工程的形成和微生物工程的体系化。这就是说，微生物工程以微生物学、生物化学和生化工程为三大基础迅速形成一个完整的体系。本书第二、三章和第四章第一节简要地论述了这三大基础。关于生化工程，已有专著论述，且本书篇幅有限，故这里只述及培养微生物的方法。钻研微生物工程的读者，对于那些重要的工程学概念，如物质转移、物料平衡等，尤其应有充分的理解。

在早期，微生物学的发展与当时达尔文创立的生物学完全无关。本世纪初，即所谓生物学的第二次大发展时期（从孟德尔遗传学的建立到本世纪前半期），微生物学也与生物学不相干。直到1940年，生物的遗传学和微生物学才有了重要的接触。人们普遍认识到，主要是红色链孢霉，以及大肠杆菌和酵母菌等微生物，是遗传学研究的好材料，而遗传学正是生物学中的基本课题。微生物遗传学的发展，使人们得以了解遗传物质的化学性质和基因的本质。这些研究包括由游离的DNA为载体进行的基因转移，即转化，Watson和Crick的DNA双螺旋模型，以及了解到DNA是由一个个核苷酸为单位构成的长链。

微生物学、遗传学和生物化学的融汇，带来了分子生物学的迅速发展。分子生物学和微生物遗传学的应用，使20世纪50年代后出现了以谷氨酸、赖氨酸为代表的氨基酸发酵和以肌苷酸、鸟苷酸为主的核酸发酵。

上述两类发酵采用的是微生物的变异菌株，这是有目的地最合理地控制微生物所具有的一系列代谢反应途径，也就是建立了代谢控制发酵技术。

近年建立起来的基因操作技术，打破了生物的种间壁垒，无论是动物、植物，还是微生物，都可以人为地把特定的有用基因重组进特定的微生物基因中去，从而能够制造出新的有用微生物。用微生物生产胰岛素和干扰素就是例子。

上面，我们围绕微生物工程形成的历史叙述了应用微生物技术的进步及其与微生物工业发展的关系。这些技术包括从自然发酵开始，到纯培养、深层培养、代谢控制发酵，以至于基因操作等。微生物工业不象其他工业，不一定需要巨额投资，今后取得突破性发展的潜力是很大的。

三、日本的微生物工业

日本有很高水平的微生物工程，微生物工业的产值在工农业总产值中的比例已达3%以上。这在全世界是独一无二的。山田教授认为其原因有三：第一，在长期生产优质传统酿造制品的过程中，掌握了利用微生物的方法；第二，从明治时代以来大力发展了与微生物有关的学科，如应用微生物学，发酵工程学等；第三，优秀的人才不断涌现。关于第一点，可举世界闻名的日本酒（酒精浓度约20%）为例。凭借日本民族的独创才能，古日本已建立了恒定的技术〔现在所采用的酿酒法，在镰仓时代（13世纪）已基本成型了〕。第二点，全国的大学几乎都设立了农艺化学、发酵工程等专业，大学和企业内从事微生物工程有关专业科研人员的数量和质量都远远超过世界各国。代谢控制发酵和固定化酶的应用技术，都是日本人发明的。

当前人类面临着粮食、能源缺乏、疾病和人口增多等严重问题，要解决这些问题，利用微生物是重要的一环。日本所具有的利用微生物的卓越技术，无论是技术贮备或今后的发展，都有巨大潜力，必将在解决上述问题方面作出贡献。

（程光胜 译）

第二章 微生物概述

一、微生物的作用

(一) 自然界中的微生物

所谓微生物,是指难以用肉眼观察到的微小生物,在生物学上,包括属于细菌、真菌、藻类、原生动物等类群的原核生物及部分真核生物。从生物学来看,微生物是混杂的一群生物,但其研究方法都有许多共同之处。也就是说,与研究肉眼可见的一般生物有所不同,研究微生物的共同点是,观察形态都得使用光学显微镜或电子显微镜;进行生理和代谢等研究时,研究对象要在实验室内通过培养使个体增殖长成群体。

地球生物圈中到处可以发现微生物,它们在各自的生态环境中同周围环境保持密切的关系。生物圈内物理的及化学的环境条件,无论从宏观上还是微观上看都是极其多样的,场所不同,差异显著。其中也有高等生物不能生存的严酷环境,但微生物都具有适应这种环境生存的巧妙功能。

例如,就环境温度而言,从冬季气温低达摄氏零下数十度的极地和高山地带,到水温接近 100°C 的温泉中,都有微生物存在。在这些地方,有的微生物仅能生存,有的不仅能生存,还能增殖。例如芽孢杆菌属(*Bacillus*)和梭菌属(*Clostridium*)细菌的内生芽孢就属前者,内生芽孢中心部位,即核内DNA,因为它的四周游离水分少,并且加热易受到损伤,所以这些芽孢发芽时具备能修复DNA分子的功能。由于这种芽孢具有这类特殊机