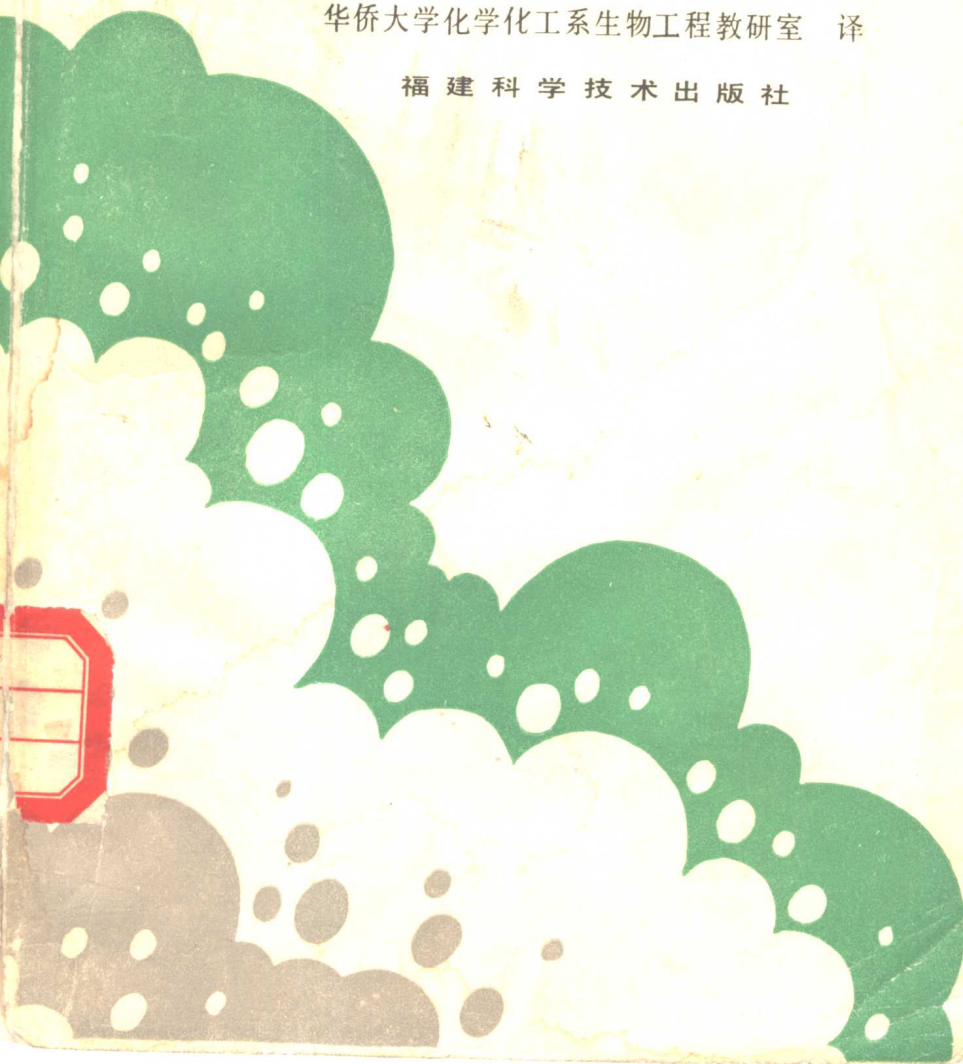


发酵与酶工艺学

〔美〕丹尼尔等著

华侨大学化学化工系生物工程教研室 译

福建科学技术出版社



发酵与酶工艺学

【美】丹尼尔等著

华侨大学化学化工系
生物工程教研室译

福建科学技术出版社

一九八三年·福州

发酵与酶工艺学

〔美〕丹尼尔等著

华侨大学化学化工系生化工程教研室译

福建科学技术出版社出版

（福州得贵巷27号）

福建省新华书店发行

福建三明印刷厂印刷

开本787×1092毫米 1/32 13.625印张 300千字

1984年4月第1版

1984年4月第1次印刷

印数：1—2,670

书号：15211·31 定价：1.55元

译者的话

从事发酵工程或者酶工程的人员，需要具有微生物学、生物化学和化学工程技术等广泛知识，以满足这一领域各个环节的需要。《发酵与酶工艺学》这本书正体现了微生物学、生物化学和化学工程学的相互结合和渗透。涉及的问题是六十年代初国外许多著名大学相继开设的生化工程课的重要内容。《发酵与酶工艺学》是John Wiley & Sons, Inc出版的“理论和应用微生物技术”丛书之一。主要作者Daniel I. C. Wang和Arnold L. Demain等是国际知名的学者，有多年的教学和科研经验，在创立该课程和开发这一领域的工作中成绩卓著。本书是他们多年工作的资料积累。全书理论和实践并重，资料收集广泛，是一本从实际出发论述生化工程基本原理纲要性的教材。本书对从事发酵工程、酶工艺、工业微生物学、生物化学、生化工程和化学工程的科研、教学与生产工作者以及从事食品行业的科技人员均有参考价值。

本书的第一至第五章由徐文玉翻译；第六至第八章由林文銮翻译；第九和第十四章由余俊生翻译；第十至第十三章由刘幸翻译。译稿由王轩荪、王连阳作全面校对。原文有若干错漏，已作必要的修正，不一一列出。在翻译过程中承蒙雷霆付校长和福建省微生物研究所所长王嶽教授的亲切关怀和指导，在此表示衷心感谢。由于译者水平有限，译文中难免有错误之处，敬希读者批评指正。

译者

1982年5月

丛书序言

这套便览丛书是试图给活跃在应用微生物学各个领域里的绝大多数实验室工作者需要的实用性指南，内容上力求避免过多的理论份量，但并不是说本书对于从事理论研究的实验室工作者缺乏参考价值。鉴于微生物广泛用作研究工具（这在现代的生物物理学家、分子生物学家、免疫学家、生物工程学家和其他许多专家中间是共同的），大家认为需要有一本公认的处理细菌和病毒技术的简便参考书。

理论微生物学和应用微生物学要互相配合，它们是同一事物的两个方面。前者常被比喻为艰险陡坡上若隐若现的小径；而后者是所要达到的目的。不论如何，正如 Orville Wyss 所强调的那样，应用微生物学构成我们科学的骨架，纵然“我们已经对总是反对把大学放弃优美安静的环境而搬进繁华闹市来的人本主义者的嘲笑作出了回答，但对于培养人们的思考能力也从来没有证明过在穷乡僻壤的地方有任何方面比闹市更为优越，这样是否也应该说作为智慧的动力应用科学在任何方面不如纯理论科学。”有许多迹象表明，青年学生一代对于这一点的感觉比起大多数他们的教授们更为敏锐，但是不应该因此而使学生们忘记 Louis Pasteur 的名言：“没有理论，实践只不过是习以为常的例行琐事，只有理论才能够推动和发展发明创造的精神。”如果学生们能牢记这些话，他就会发现，选择微生物学这一学科，比他可能选择的别的绝大多数学科在从事人类未来的健康和福利事业的发明创造方面能够提供更多成功的机会。

Carl—Göran Hedén

前 言

1962年，麻省理工学院开设了一门称为“发酵工艺学”为期一周的夏季专门课程。课程的创始人Richard I. Mateles，当时是麻省理工学院营养与食品科学系的教授会成员，现在是希伯来等大学微生物学系的教授和系主任。最初讲授这门课程的包括营养和食品科学系的Cecil Dunn、生物系的Boris Magasanik和化学工程系的Arthur E. Humphrey等人。这门课程一开始就被发酵界所接受，在剑桥除了1964和1966年之外每年夏季都开设，在苏黎世和伦敦分别在1976和1978年的一月份开设。至今接受这门课程严格训练的学生总数达到一千名。这门课程的设置有如下目的：（1）通过对基本原理的概括，特别着重应用方面，为学习发酵工艺学提供入门；（2）使发酵工艺学赶上最新的发展和要求；（3）给在工业、政府部门和学术界中的生物工艺学家们提供一个可以相互接触和进行讨论的讲坛。为了反映当前科学和工程界所关注的学术新动向，课程内容每年略有更改。这些修改也反映在对这门课程作出贡献的教师们的不同背景：如Paul A. Belter（Upjohn公司），Charles L. Cooney（麻省理工学院），Fred Deindorfer（Memorex有限公司）、Arnold L. Demain（麻省理工学院）、Cecil Dunn（麻省理工学院，已退休）、Peter Dunnill（伦敦大学附属学院）、Dennis Herbert（Portor微生物学研究院）、David A. Hopwood（挪利其，John Innes学院）、Jaroslav Hopodka（Wyeth研究室）、Arthur E. Humphrey（宾夕法尼亚大学）、Malcolm D. Lilly（伦

敦大学附属学院)、Boris Magasanik(麻省理工学院)、Richard I. Mateles(希伯来大学)、Daniel I. C Wang(麻省理工学院)、George M. Whitesides(麻省理工学院)以及Frank Wolf(Merck Sharp和Dohme研究实验所)。

多年来,授课人和学生们迫切需要一本适用于本课程的,可以在讲授前和讲授后或讲授期间使用的书本。《发酵与酶工艺学》体现了微生物学、生物化学和化学工程的相结合,这是一本概括这些领域的基本理论纲要的书。我们希望本书能满足这一需要。书中选择了发酵和酶工艺学的重要方面,而着重于我们自己研究小组所正在积极从事研究的课题。本书从微生物学、生物化学和遗传学的基础部分进而涉及到发酵的工程方面以及发酵罐测量仪表和控制的先进方法。近年来,能够将酶和细胞联接到固相载体上,促进了发酵工艺学的扩展。这些报道确定了酶的使用价值以后,就涉及到酶的分离,特别是那些在微生物细胞内存在的酶的分离问题。本书最后叙述酶的固定化和影响酶在反应器中使用的各种因素。

工业微生物学和生化工程的前景确实是非常光辉灿烂的。现在抗菌素的作用已经得到肯定,微生物酶的应用日益增长,将来用微生物生产能量和生产像目前石油化学用品那样常见的化合物必定是大有前途的。我们希望发酵工艺学课程和本书在向未来作振奋人心的进军中至少能起一点微薄的作用。

Cambridge, Massachusetts Daniel I. C. Wang
(Wang) and Charles L. Cooney
Arnold L. Demain

London, England Peter Dunnill
Philadelphia, Pennsylvania Arthur E. Humphrey
London, England Malcolm D. Lilly .

1978年4月

目 录

1. 微生物代谢的协调作用	1
2. 初级代谢物的生物合成	16
3. 次级代谢物的生物合成	30
4. 生物转化	44
5. 酶生产的调节	56
9. 发酵动力学	71
7. 连续培养	117
8. 培养基消毒的动力学与工程学	164
9. 通气和搅拌	185
10. 实验室、中间试验和工厂规模的数据转移	224
11. 仪表的检测和控制	243
12. 酶分离	272
13. 酶动力学和固定化酶	356
14. 酶反应器	391

第一章 微生物代谢的协调作用

微生物为了生长与维持生命必须进行多种多样的酶催化反应。如果将细胞放在含有多聚体（如淀粉）加铵盐和无机盐的环境中，那么它首先必须将淀粉水解为葡萄糖，将葡萄糖吸入细胞，将己糖降解为三碳和二碳化合物，然后才能将这些小分子输入三羧酸循环以提供能量与某些中间物（图 1.1）。由这种或其他反应系列产生的各种中间物必须转化为构成材料，如20种氨基酸、4种核糖核苷酸、4种脱氧核糖核苷酸、约10种维生素、脂肪酸类、糖类、糖醇类、糖酸类和氨基己糖类。再将这些构成材料转化成大约2000种蛋白质、DNA、三类RNA、粘肽类、多糖类、辅酶类和脂质类。然后，这些分子用于构成细胞结构，如核、核糖体、鞭毛、细胞壁、膜和线粒体。

显然，要制造出几百种酶并协调地行使功能，使各种分子能以正确的比例生产出来，以便有价值的营养物不致于浪费掉。只有在这样一种高度协调的细胞中，我们才能预期短至20分钟的代时。由于典型的细菌细胞有产生1000种以上的酶的基因潜力，所以，代谢的协调作用应该在任何特定的时间内，保证仅生成所必需的酶，而且生成的各种酶数量恰当，酶一旦生成之后，其活性是通过活化与抑制来调节的。

1.1 代谢调节

微生物细胞中的 DNA 指导酶促机构的具体合成。尽管

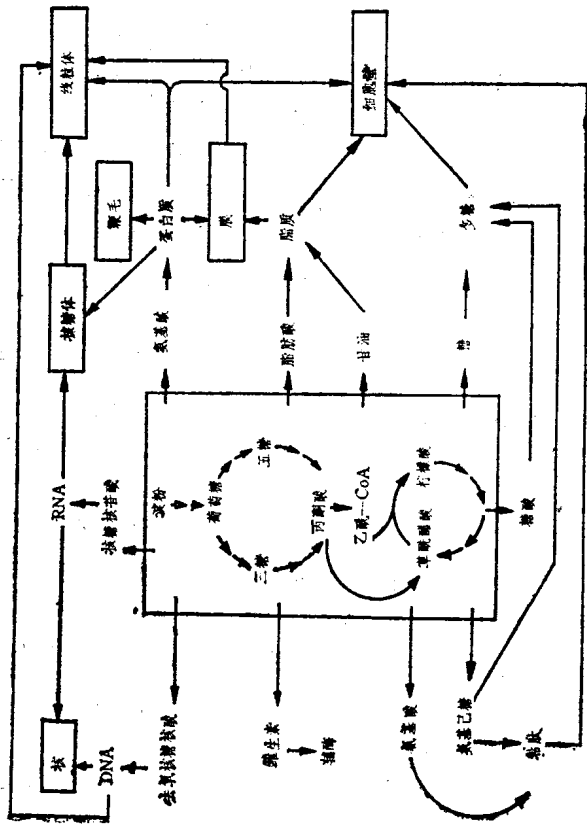


图1.1 在生物合成中淀粉的微生物代谢阶段。中心方框表示淀粉分解代谢产生能量与中间物。由这些过程产生的构成材料然后转化成高分子量和低分子量的各种产物。其中某些产物被转化为细胞的结构成分：核、核糖体、线粒体、细胞壁、鞭毛、膜。

微生物都具有稳定的基因型，但它们在改变细胞组分和代谢作用以适应环境变化的能力却是令人吃惊的。环境不能改变细胞的基因构造，但可显著地影响基因的表型表达。借助于代谢调节机理（图1.2）。

尽管环境发生强烈变化，但微生物细胞一般不会让代谢物过多合成。本章叙述产生这种可能协调作的用某些调控机理。

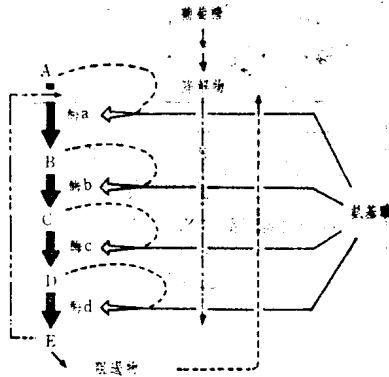


图1.2 从A到E的简单生化过程——表示诱导，---表示反馈抑制，- - -表示反馈阻遏，- - -表示降解物阻遏。

1.1.1 诱导

在微生物能生产的几千种酶中，有许多种酶，不管细胞在任何培养基中生长，总是以相当大的浓度存在。上述“组成”酶的例子是将葡萄糖转化为丙酮酸的各种酶。其他的酶只有当它的基质（或相近似的化合物）存在于培养基中时才能形成。酶诱导是定义为由于暴露在化学物质（诱导物）之下而引起专一性酶的合成速率的相对增高。如果不存在基质，

基质的类似物常常就是优良的诱导物。这样的诱导物叫做“安慰”诱导物。有时反应产物就是诱导物。当微生物限于例如以多糖、寡糖和氨基酸为唯一碳源和氮源而生存时，就需要诱导酶。诱导作用保证能量与氨基酸不耗用于制造非必需的酶，而当需要时，这些酶便能迅速地形成。

Jacob和Monod模型 被广泛接受的诱导模型是由Jacob和Monod (1961)设计的并受到很多遗传学和生理学资料的支持。描绘在图1.3中的这个图式中，在染色体(DNA)上至少有四种指导核糖体生产某一种酶的基因。调节基因

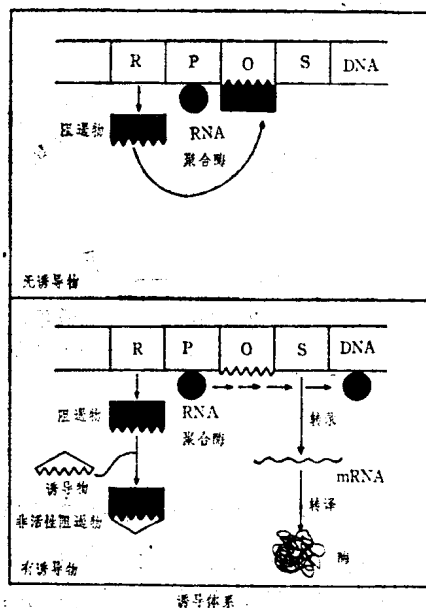


图1.3 酶诱导体系的Jacob和Monod模型

(R)对生产阻遏物(蛋白质)编码。阻遏物能够同操纵基因(O)结合，O基因控制邻近结构基因(S)的功能。启

动基因 (P) 是RNA聚合酶的起动部位, 这个酶催化 DNA 转录成信使RNA (mRNA)。如果阻遏物 (蛋白质) 同 O 结合, RNA聚合酶就不能移动, mRNA 就不能和S的DNA 序列互补 (图解上部)。这样便不能制造酶。当O不和阻遏物 (蛋白质) 结合时, RNA聚合酶便可由P移动, 并转录基因S, 如图解的下部所示。R或O基因的突变可能干扰阻遏物 (蛋白质) 的形成或结合, 于是消除了对诱导物的需求。这样的突变体称为“组成”突变体。组成酶是由R失去功能或制造无活性的阻遏物 (蛋白质) 或O基因对阻遏物 (蛋白质) 没有亲和力的体系制造的。另一方面, 诱导酶是因加入诱导物而形成的, 诱导物可使阻遏物 (蛋白质) 消失或失活。由于诱导酶的结构基因常处于被阻遏状态, 就是说, 因阻遏物 (蛋白质) 同操纵基因互相作用而被关闭, 所以诱导作用也叫做去阻遏作用。

在许多情况下, 一种以上的结构基因受一种操纵基因的调控。结构基因、操纵基因、启动基因组成一个操纵子。

已经由肠道细菌 (*Escherichia coli*) 细胞中分离出几种阻遏物 (蛋白质)。lac操纵子 (β -半乳糖苷酶复合物) 的阻遏物 (蛋白质) 是150,000道尔顿的四聚体, 每个R基因约可产生10分子 (Riggs等人, 1970)。虽然生长在乳糖上可引起lac操纵子的诱导, 但是乳糖 (1-4-O- β -D-吡喃型半乳糖基-D-葡萄糖) 不是真正的诱导物; 它必须首先转化成别乳糖 (1-6-O- β -D-吡喃型半乳糖基-D-葡萄糖) (Jobe和Bourgeois, 1972)。lac操纵子的最好的诱导物是安慰诱导物, 即异丙基- β -D-硫代半乳糖苷。其他的化合物可使阻遏物—操纵基因复合物稳定化, 于是起着抗诱导物的作用。对lac操纵子起这样作用的一种化合物是苯基- β -

D-半乳糖苷。

Jacob和Monod模型中的诱导作用是负性调控类型，调节基因的产物〔即阻遏物（蛋白质）〕防止转录。近几年来已经发现了另一种类型的调节，实际上是正性调控。在这里，R基因的产物是一种蛋白质，在诱导物的存在下，它被转化为转录的活化物。因此，R基因的产物对转录是必需的。正性诱导最熟知的例子是阿拉伯糖操纵子，它负责大肠杆菌中L-阿拉伯糖的利用（Irr和Englesberg, 1971）。

1.1.2 降解物调节

当环境中存在一种以上的可利用基质时，微生物细胞便面临着一个问题，它应该产生对所有基质分解代谢的酶，但这必然是其蛋白质合成机构的一种浪费。其实细胞先产生能利用所存在的最佳基质（一般是葡萄糖）的酶。只有在第一种基质耗竭之后，才形成分解代谢第二种基质的酶。降解物阻遏（图1.2）可以定义为由于暴露在易同化碳源下引起的专一性酶合成速率的相对降低。经典的例子是 β -半乳糖苷酶（实际上是lac操纵子）受生长在葡萄糖上大肠杆菌的降解物阻遏（Nakada和Magasanik, 1964）。

葡萄糖效应 降解物阻遏在历史上叫做葡萄糖效应。然而，必须记住其他碳源也可以起阻遏作用，甚至比葡萄糖更容易阻遏。而且，在某些细菌中，葡萄糖是代谢已受阻遏的菌体碳源。例如，在*Pseudomonas aeruginosa*中，柠檬酸作为源碳更优于葡萄糖，而柠檬酸可阻遏葡萄糖分解代谢的酶（Clarke和Lilly, 1969）。细胞中的诱导作用和降解物阻遏的潜力都是保证诱导酶只有在基质存在下才能产生。如果几种基质同时存在，只有作用于最合适的基质的酶才能被

生成。

另一类降解物调节是降解物抑制，即快速被利用的碳源分解代谢抑制某些酶的活性（Paigen和Williams, 1970）。C'AMP亏缺 降解物阻遏是经由环3', 5'-腺苷一磷酸（C'AMP）不足诱发的。粗略地说，支持缓慢生长的碳源比快速被利用的碳源能引起产生更高浓度的胞内C'AMP。例如，在大肠杆菌中，葡萄糖代谢可使细胞内C'AMP含量减少1000倍，而非阻遏性的醋酸代谢则对C'AMP的浓度影响不大。在大肠杆菌中，C'AMP可刺激很多种酶的合成，而且是同一切诱导性操纵子相对应的mRNA的合成所必需的。核苷酸（指C'AMP—译者注）是由特殊的蛋白质（C'AMP结合蛋白）结合在启动基因上，并且增加RNA聚合酶对P基因的亲和力，从而增加转录的频率（Pastan和Perlman, 1970）。启动基因看来至少是由两种成分组成的，一种和RNA聚合酶相结合，另一种和结合蛋白质-C'AMP复合物相结合。C'AMP复合物结合在它的位置上显然对RNA聚合酶结合在其位置上是不可少的。

虽然细胞内C'AMP的水平是腺苷酸环化酶（将ATP转化成C'AMP的酶）和C'AMP磷酸二酯酶的函数，然而有关C'AMP浓度降低的机理目前还不知道。因为细菌细胞是需要通过诱导性渗透体系吸收许多碳水化合物，这就容易理解为什么不能制造有效C'AMP结合蛋白或腺苷酸环化酶的大肠杆菌突变体在乳糖、麦芽糖、阿拉伯糖、甘露醇、甘油和其他糖类上不能生长或生长不好。另一方面，缺乏C'AMP磷酸二酯酶的突变体对降解物阻遏是不敏感的（Monard等人, 1969）。

1.1.3 反馈调节

实际上，降解酶通常是受诱导作用与降解物调节控制的，而将代谢中间物转化为大分子的构成材料的生物合成酶则主要是由反馈调节控制的。已知有两种主要类型的反馈调节：反馈抑制与反馈阻遏（图1.2）。反馈抑制是指一种生化反应途径的最终代谢物用以抑制该途径早期的酶（一般是第一个酶作用的现象。反馈阻遏系指抑制酶的生成。阻遏作用是由生化反应途径最终产物的衍生物完成的。两种机理是起着调整生化反应途径中的最终产物生成速度与大分子合成速度相适应的作用。

在反馈抑制中，抑制剂是最终产物而不是衍生物。和典型的竞争性抑制〔即在同配（同形）的抑制剂与基质相似情况下〕相反，反馈抑制剂和基质彼此在大小、形状或电荷方面不要求相似。这种情况的抑制作用称为变构（别形）抑制。变构酶通常是由二个蛋白亚基—携带有活性催化中心的结合基质的亚基和具有用于反馈抑制剂结合中心的调节亚基—组成的。最终产物占据抑制中心使酶分子变形，于是干扰基质在结合中心上的结合，这种作用叫做变构作用。就是说，两个分子可以结合在蛋白质的不同中心上。但结合一个分子就可以改变蛋白质的构象，这样便影响另一个分子的结合。

酶受到反馈阻遏是以R基因产生阻遏物蛋白（aporepressor）为先决条件的。阻遏物蛋白是无活性的，但可被生物合成途径的终产物（辅阻遏物）活化（图1.4）。然后被活化的阻遏物蛋白和O基因互相作用而防止S基因转录成mRNA。有时终产物的衍生物（而不是终产物本身）就是辅阻遏物。例如，在鼠伤寒沙门氏菌（*Salmonella typhi-*