

近代工业微生物学

上册

陈驹声 编著

17

上海人民卫生出版社

JINDAIGONGYEWEISHENGWUXUE

近代工业微生物学

下 册

陈 驹 声 编 著

上海科学技术出版社



A603908

序

自然界中存在的微生物,种类繁多,变化万千。自二十世纪四十年代抗生素生产采用深层培养法以来,微生物工业蓬勃发展,在工业、医药、农业等方面,得到普遍的应用。

氨基酸可为医药、食品和饲料等方面用途。自五十年代 L-谷氨酸发酵研究成功后,许多氨基酸如 L-赖氨酸等均已改用发酵法生产。现氨基酸发酵已成为一种独立的微生物工业。

核酸类物质的应用潜力较氨基酸尤大。5'-肌苷酸和 5'-鸟苷酸是制造“强力味精”的重要原料,可用发酵法大量生产。此外如肌苷、腺苷、辅酶 A、辅酶 1、腺三磷、乳清酸、CDP-胆碱等重要药品,均可用发酵法生产,前途未可限量。

其它如酶制剂、有机酸等微生物工业亦有很大进展。

粮食、能源和污水处理是当前国民经济中三个重要问题,微生物也能作出许多贡献。

本书分上下两册。上册分为四章:第一章总论,简介国外微生物工业的发展情况,和工业微生物的培养、保藏、选育、代谢调节、细胞渗透性等;第二、三章氨基酸发酵;第四章核酸类物质发酵。

下册分为七章:第一章至第三章单细胞蛋白质、污水处理和能源开发;第四、五章酶制剂的新进展与酶和菌体的固定化;第六章有机酸;第七章其它微生物工业,如石油发酵、生理活性物质、多糖类、色素、甜味剂等。

我国解放后,微生物工业有很大发展,著者不揣浅陋,特将平日研究心得及广泛搜集的文献资料,整理成书,关于国内研究部分已详拙著《中国微生物工业发展史》。

全稿完成后,承中国科学院上海植物生理研究所微生物研究室焦瑞身同志,沈永强同志提供宝贵意见,在此表示衷心的感谢!

书中选材和观点如有不妥之处,尚请读者随时予以批评指正

陈驹声

1978年12月

下 册 序

《近代工业微生物学》下册首先叙述微生物在食品生产、能源开发和污水处理三方面的功用贡献。次述酶制剂的新进展,着重介绍七十年代新发展的酶工程。有机酸中以柠檬酸及二羧酸为重点。其他微生物工业一章中列举石油发酵、生理活性物质、微生物多糖类、色素、甜味料及食品的防腐和工业制品的防霉等六节,涉及范围相当广泛。“编后记”把本书上下册作简略的总括,并补充一些新资料,参考文献截至1982年。

本书以介绍国外资料为主,关于国内资料详见拙著《中国微生物工业发展史》。

本书所举文献以论文为主,但遇到有参考价值的专利说明书,亦酌量采用,以供参考。

菌名汉译采用科学出版社刊行的《真菌名词及名称》,《细菌名称》,《遗传学词典》等。有些菌名请施有光教授代译。

本书有关章节承马瑞德、赵伯龙、刘其明、陈炜、陈志豪、王伯飞、林云新、王恩镛、张家锐、马雯、彭武厚、马振瀛、梁礼群、王国英、钱建琪、林怡诸同志校阅。徐则文、朱金山两同志细校全书,提供宝贵修改意见,特此致谢!

陈驹声

1982年6月

内 容 简 介

本书系统、全面地介绍了近代工业微生物学的发展,以及微生物工业的原理和技术,是作者多年来从事教学、生产和科研中研究心得及广泛搜集的文献资料的总结。本书分上、下两册,上册简介国外微生物工业的发展,工业微生物的培养、保藏、选育等,以及氨基酸发酵和核酸类物质发酵。下册介绍单细胞蛋白质、污水处理和能源开发,酶制剂的新进展与酶和菌体的固定化,有机酸以及其它微生物工业。

本书内容丰富,文字简明扼要,叙述偏重于理论,但对实践也有重要的参考价值,可供大学生物系师生及工业、农业、医药方面从事微生物工作者阅读参考。

近代工业微生物学

上 册

陈晦声 编著

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所发行 上海商务印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 14.75 字数 350,000

1979年12月第1版 1979年11月第1次印刷

印数 1—7,000

书号: 13119·809 定价: 1.85元

上册目录

序

第一章 工业微生物学概说

第一节 发酵理论的演进..... 1	第四节 工业微生物的培养与保藏.....17
一、显微镜的发明..... 1	一、工业微生物的培养.....17
二、自然发生说..... 1	二、工业微生物的保藏.....19
三、关于发酵的化学理论..... 2	[附述] 美国典型菌种保管所的历史.....22
四、关于发酵的生命理论..... 2	参考文献.....22
五、关于发酵的酶学理论..... 3	第五节 工业微生物的遗传育种.....22
参考文献..... 3	一、转化.....23
第二节 工业微生物的发现..... 3	二、转导.....24
一、细菌和放线菌的发现..... 4	三、杂交.....24
二、酵母菌的发现..... 5	四、微生物质粒遗传的应用.....25
三、霉菌的发现..... 6	参考文献.....25
参考文献..... 7	第六节 工业微生物的代谢调节.....25
第三节 国外工业微生物学的发展..... 7	一、与代谢调节有关的酶.....26
一、啤酒发酵..... 7	二、反馈抑制与反馈阻遏.....27
二、醋酸发酵..... 7	三、反馈抑制的类型.....27
三、乳酸发酵..... 8	四、次级代谢的调节.....30
四、酵母工业..... 8	参考文献.....32
五、酒精工业..... 9	第七节 细胞渗透性与工业发酵.....32
六、微生物酶制剂..... 9	一、生物素和细胞渗透性.....33
七、丙酮、丁醇发酵.....10	二、锰离子与细胞渗透性.....33
八、甘油发酵.....10	三、脂肪酸组成与细胞渗透性.....34
九、有机酸发酵.....11	四、细胞膜磷脂与细胞渗透性.....34
十、维生素发酵.....12	五、青霉素与细胞渗透性.....36
十一、抗生素发酵.....13	参考文献.....37
十二、甾体氧化.....13	第八节 噬菌体与工业发酵.....38
十三、多糖发酵.....14	一、丙酮、丁醇发酵与噬菌体.....39
十四、氨基酸发酵.....14	二、枯草杆菌发酵与噬菌体.....40
十五、核酸类物质发酵.....15	三、谷氨酸发酵与噬菌体.....40
十六、石油发酵.....15	四、抗菌素发酵与噬菌体.....42
十七、工业微生物学的发展图解.....16	参考文献.....42
参考文献.....17	

第二章 谷氨酸发酵

第一节 氨基酸的命名	44	四、采用营养缺陷型和温度敏感性变异株法	69
第二节 谷氨酸的生物合成途径	45	参考文献	71
一、糖质发酵谷氨酸的合成途径	45	第五节 由正构石蜡发酵生产谷氨酸技术的进展	71
二、利用甘油缺陷型变异株由正构石蜡发酵谷氨酸的合成途径	50	一、石油发酵谷氨酸产生菌的发现	71
三、醋酸发酵谷氨酸的合成途径	51	二、生长因子	71
参考文献	52	三、发酵技术的进展	74
第三节 由葡萄糖发酵生产谷氨酸技术的进展	52	参考文献	79
一、谷氨酸发酵是什么时候开始的?	52	第六节 由醋酸发酵生产谷氨酸技术的进展	80
二、谷氨酸产生菌的分离	53	一、菌种的选育	80
三、谷氨酸发酵条件的研究	54	二、发酵技术的进展	84
四、谷氨酸发酵技术的进展	60	参考文献	86
参考文献	65	第七节 谷氨酸发酵总结	86
第四节 由糖蜜发酵生产谷氨酸技术的进展	65	一、谷氨酸发酵原料的转变	86
一、糖蜜预处理法	66	二、各种碳源谷氨酸发酵的控制方法	87
二、添加化学剂法	66	三、各种碳源谷氨酸发酵所用的菌种	88
三、追加糖蜜法	68	四、谷氨酸发酵技术的进展	88
		五、谷氨酸发酵工业的展望	89

第三章 谷氨酸以外的氨基酸发酵

第一节 概况	90	第四节 天门冬氨酸发酵	122
一、氨基酸的生产方法	90	参考文献	124
二、氨基酸产生菌的选育	94	第五节 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸发酵	124
三、氨基酸的用途	96	一、谷氨酸棒状杆菌芳香族氨基酸生物合成的调节机制	124
参考文献	99	二、苯丙氨酸和酪氨酸发酵	125
第二节 赖氨酸发酵	100	三、色氨酸发酵	127
一、抽提法	100	参考文献	131
二、二步发酵法	100	第六节 异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸发酵	132
三、直接发酵法	101	一、异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸的生物合成途径	132
四、由 α -氨基- ϵ -己内酰胺(ACL)发酵生产赖氨酸法	115	二、异亮氨酸发酵	132
五、赖氨酸发酵总结	117	三、亮氨酸发酵	135
参考文献	117	四、缬氨酸发酵	136
第三节 苏氨酸发酵	118	参考文献	138
一、苏氨酸的生物合成途径	118	第七节 鸟氨酸、瓜氨酸和精氨酸发酵	138
二、发酵法	119	一、生物合成途径	138
参考文献	122		

二、鸟氨酸发酵.....	140	第十节 组氨酸发酵.....	145
三、瓜氨酸发酵.....	141	参考文献.....	147
四、精氨酸发酵.....	141	第十一节 脯氨酸发酵.....	147
参考文献.....	142	参考文献.....	148
第八节 丙氨酸发酵.....	143	第十二节 其它氨基酸发酵.....	149
参考文献.....	144	参考文献.....	149
第九节 高丝氨酸发酵.....	144	第十三节 氨基酸发酵的展望.....	150
参考文献.....	145	参考文献.....	151

第四章 核酸类物质发酵

第一节 概说.....	153	二、肌苷产生菌的选育.....	179
一、核酸类物质的范围.....	153	三、肌苷产生菌的培养条件.....	181
二、核酸类物质的生产方法.....	153	参考文献.....	184
三、核酸类物质的用途.....	154	第六节 肌苷酸发酵.....	185
四、日本核酸类物质的产量.....	155	一、肌苷酸生物合成的调节机制.....	185
[附录] 核酸类物质缩写说明.....	156	二、肌苷酸产生菌.....	186
参考文献.....	156	三、肌苷酸产生菌的培养条件.....	188
第二节 应用酶解法由核糖核酸制造单核苷酸.....	157	参考文献.....	191
一、核糖核酸的化学结构.....	157	第七节 鸟苷酸发酵.....	192
二、核糖核酸的酶解.....	159	一、一步法.....	192
三、核糖核酸的制备.....	160	二、二步法.....	193
四、核酸酶 P_1 的制备.....	160	三、生物合成与化学合成并用法.....	196
五、核酸酶 P_1 的性质及反应.....	161	四、由 XMP 转变为 GMP 法.....	202
六、酶解法制造单核苷酸的具体方法.....	162	参考文献.....	204
参考文献.....	164	第八节 腺三磷发酵.....	205
第三节 核酸类物质产生菌的选育.....	164	一、AMP 的生产.....	205
一、核苷、核苷酸产生菌的分离.....	164	二、微生物磷酸化方法.....	208
二、产氨短杆菌的分离和诱变.....	165	参考文献.....	211
三、枯草杆菌的诱变.....	167	第九节 辅酶 A 发酵.....	212
四、枯草杆菌的转化.....	168	一、辅酶 A 的生物合成途径.....	212
参考文献.....	169	二、发酵法生产辅酶 A.....	212
第四节 核苷酸的生物合成及其调节.....	169	参考文献.....	215
一、嘌呤核苷酸的生物合成途径.....	169	第十节 NAD 发酵.....	215
二、嘌呤核苷酸生物合成的调节机制.....	170	一、抽提法.....	215
三、嘧啶核苷酸的生物合成及其调节.....	175	二、发酵法.....	216
参考文献.....	176	参考文献.....	218
第五节 肌苷发酵.....	177	第十一节 FAD 发酵.....	218
一、肌苷的生物合成及其调节.....	177	参考文献.....	219
		第十二节 cAMP 发酵.....	219

一、二步法.....	220	二、发酵方法.....	224
二、一步法.....	220	三、CDP-胆碱的生物合成途径	225
三、cAMP 的生物合成机制	221	参考文献.....	225
参考文献.....	222	第十六节 乳清酸发酵.....	225
第十三节 DNA 发酵	222	一、菌种.....	226
参考文献.....	222	二、培养条件.....	226
第十四节 D-核糖发酵	223	三、乳清酸的生物合成途径.....	227
参考文献.....	224	参考文献.....	227
第十五节 CDP-胆碱发酵.....	224	第十七节 糖核苷酸发酵.....	227
一、菌种.....	224	参考文献.....	228

下 册 目 录

第五章 单细胞蛋白质

第一节 概 况.....	229	四、气液混合与爆炸界限.....	253
一、单细胞蛋白质的优缺点.....	229	五、甲烷 SCP 的组成.....	253
二、单细胞蛋白质的原料.....	230	第四节 由乙醇发酵生产 SCP.....	254
三、生产单细胞蛋白质的微生物.....	231	第五节 由甲醇发酵生产 SCP.....	256
四、单细胞生长的理论.....	239	第六节 由氢细菌发酵生产 SCP.....	263
第二节 石油脱蜡和由正烷烃发酵生产 SCP.....	242	一、第一类型氢细菌.....	263
一、石油脱蜡和 SCP 生产.....	242	二、第二类型氢细菌.....	265
二、由正烷烃生产 SCP.....	244	第七节 由糖质原料发酵生产 SCP.....	267
三、关于石油脱蜡和 SCP 生产的一些具体问题.....	246	第八节 由细菌分泌蛋白质.....	268
四、石油蛋白质的营养价值.....	250	第九节 由各种原料生产 SCP 的现状与比较.....	269
第三节 由甲烷发酵生产 SCP.....	251	第十节 单细胞蛋白质的用途.....	271
一、利用甲烷发酵生产 SCP 的优缺点.....	251	一、用作饲料.....	271
二、培养设备.....	252	二、用作食品.....	272
三、培养方法.....	252	三、用作医药及其他.....	274
		参考文献.....	274

第六章 污 水 处 理

第一节 各种污水处理法概述.....	275	第三节 石油及其他化工厂的废水处理方	
一、物理、化学处理法.....	275	法.....	282
二、微生物处理法.....	276	一、特殊微生物处理法.....	282
第二节 发酵废液的处理方法.....	279	二、酶处理法.....	285
一、发酵废液的特征.....	279	参考文献.....	288
二、发酵废液的处理方法.....	280		

第七章 能 源 开 发

第一节 甲烷发酵法.....	290	五、利用固定化甲烷菌生产沼气.....	298
一、甲烷发酵的机理.....	290	六、沼气发酵的优点.....	299
二、与甲烷发酵有关的微生物.....	291	第三节 酒精.....	299
三、甲烷的生成.....	292	第四节 氢气.....	303
四、甲烷发酵菌的富集培养.....	295	一、由光合生物生成氢气.....	304
五、甲烷发酵的要点.....	295	二、由非光合氢产生菌生成氢气.....	307
第二节 农村废料的处理.....	296	三、氢产生菌由葡萄糖生成氢气的代谢途径.....	309
一、沼气池的类别.....	296	第五节 微生物电池.....	309
二、沼气池操作法.....	297	一、氢-氧(空气)型微生物电池.....	310
三、沼气发酵的要点.....	297	二、使用固定化氢产生菌的电池.....	310
四、沼气在农村中的应用.....	298		

三、使用固定化菌体由废水产生氢气.....	311	参考文献.....	313
-----------------------	-----	-----------	-----

第八章 酶制剂的新进展

第一节 淀粉酶.....	316	第六节 蛋白酶.....	358
一、淀粉酶的种类.....	316	一、蛋白酶的发现.....	358
二、 α -淀粉酶.....	317	二、蛋白酶的分类.....	359
三、 β -淀粉酶.....	321	三、蛋白酶产生菌的诱变.....	360
四、异淀粉酶.....	322	四、生产技术.....	361
五、糖化酶.....	328	五、提取方法.....	363
六、转移酶.....	336	六、培养原料的转变.....	364
参考文献.....	337	七、特征.....	366
第二节 葡萄糖异构酶.....	339	八、基质专一性.....	366
一、菌种.....	340	九、蛋白酶的组成.....	366
二、培养法.....	340	十、蛋白酶的化学修饰.....	367
三、提取法.....	344	参考文献.....	367
四、葡萄糖异构酶的特性.....	345	第七节 右旋糖酐酶.....	368
参考文献.....	346	一、菌种.....	368
第三节 纤维素酶.....	347	二、菌种的筛选和诱变.....	369
一、菌种.....	347	三、培养法.....	369
二、菌种的诱变.....	348	四、右旋糖酐酶的组成.....	370
三、培养法.....	349	五、右旋糖酐酶的提纯法.....	370
四、纤维素酶的作用机理.....	349	六、用途.....	370
五、用途.....	350	参考文献.....	371
参考文献.....	352	第八节 其他酶制剂.....	371
第四节 β -葡聚糖酶.....	353	参考文献.....	377
参考文献.....	355	第九节 酶制剂综述.....	378
第五节 脂肪酶.....	355	一、酶的分类法.....	378
一、菌种.....	355	二、酶的一般性质.....	378
二、培养法.....	356	三、酶的提取.....	381
三、特征.....	356	四、正在研究中的酶制剂.....	384
四、精制及测定法.....	357	五、亟待改良和发展的问題.....	385
五、用途.....	357	参考文献.....	386
参考文献.....	358		

第九章 酶及细胞的固定化

第一节 固定化酶.....	388	七、固定化酶的其他用途.....	404
一、载体结合法.....	388	八、辅酶的分类.....	409
二、交联法.....	396	九、辅酶的固定化.....	411
三、包埋法.....	397	十、辅酶的再生.....	411
四、多级酶反应.....	401	十一、用固定化酶生成的产品.....	412
五、固定化酶的性质.....	401	参考文献.....	416
六、固定化酶反应器.....	403	第二节 固定化细胞.....	419

一、通论.....	419	五、吸附法.....	438
二、不用载体的细胞固定化法.....	421	六、固定化细胞的特性.....	440
三、用聚丙烯酰胺凝胶的包埋法.....	421	七、用固定化细胞生成的产品.....	442
四、用其他载体的包埋法.....	434	参考文献.....	449

第十章 有机酸发酵

第一节 柠檬酸发酵.....	454	二、 α -酮戊二酸发酵.....	478
一、糖质发酵柠檬酸简史.....	454	三、琥珀酸发酵.....	479
二、发酵机理.....	456	四、延胡索酸发酵.....	480
三、由糖蜜等糖质原料发酵生产柠檬酸.....	457	五、L-苹果酸发酵.....	480
四、由淀粉质原料发酵生产柠檬酸.....	466	六、衣康酸发酵.....	482
五、由正构石蜡发酵生产柠檬酸.....	467	七、葡萄糖酸发酵.....	483
六、利用正烷烃以外的非糖基质发酵生产柠檬酸.....	474	八、异抗坏血酸发酵.....	484
参考文献.....	475	九、酒石酸发酵.....	484
第二节 其他有机酸发酵.....	477	十、曲酸发酵.....	486
一、乳酸发酵.....	477	十一、由脂烃发酵生成的有机酸.....	489
		十二、由芳烃发酵生成的有机酸.....	492
		参考文献.....	494

第十一章 其他微生物工业

第一节 石油发酵.....	497	八、其他多糖类.....	550
一、石油微生物.....	497	参考文献.....	552
二、脂烃的氧化.....	499	第四节 色素.....	553
三、脂环烃的氧化.....	502	一、色素的类别.....	553
四、芳烃的氧化.....	503	二、红曲色素.....	553
五、微生物对萜烯的利用.....	506	三、 β -胡萝卜素.....	561
六、脂烃及石油化工产品的发酵产物.....	507	四、微生物红色色素.....	563
参考文献.....	511	参考文献.....	564
第二节 生理活性物质.....	512	第五节 甜味料.....	565
一、维生素.....	512	一、糖类.....	566
二、抗生素.....	517	二、糖醇类.....	571
三、甾体激素.....	520	三、蛋白质甜味料.....	572
四、其他生理活性物质.....	534	四、配糖体甜味料.....	573
参考文献.....	535	五、人工甜味料.....	575
第三节 微生物多糖类.....	536	参考文献.....	577
一、通论.....	536	第六节 食品的防腐和工业制品的防腐.....	578
二、多糖类产生菌.....	537	一、食品的防腐.....	578
三、多糖类产生菌的选育.....	537	二、工业制品的防腐.....	596
四、右旋糖酐.....	538	参考文献.....	601
五、黄原胶.....	540	编后记.....	602
六、热凝多糖.....	546	参考文献.....	612
七、茁霉多糖.....	548		

第五章 单细胞蛋白质

第一节 概 况

现代世界上面临着三大问题：食物问题、环境问题和能源问题。这三个问题应如何解决？微生物工作者肩负着重大责任。本书将分别予以叙述。

本章叙述与食物供应有关的单细胞蛋白质。它的发酵生产可以正烷烃、气态烃、甲醇、乙醇、农村废料(稻草、麦秆等)为原料，也可由水、空气和碳酸气为原料。制成的单细胞蛋白质(简称 SCP)可为食品或饲料，对人类食物的供应将起很大效用。

一、单细胞蛋白质的优缺点

1. 优点

(1) 农产品如大豆等蛋白质的生产受到气候的影响，而微生物蛋白质则不受此影响。

(2) 藻类蛋白质的生产需要吸收太阳光线，而微生物的繁殖则无此必要。

(3) 微生物的生长速度较高等植物或动物快得多。兹将各种细胞的倍增时间比较如下：

细菌、酵母	20~120 分钟
霉菌、绿藻类	2~6 小时
草及某些植物	1~2 周
人	1/4~1/2 年
牛	1~2 个月
猪	4~6 周
鸡	2~4 周

(4) 微生物的培养是在立体的培养罐中进行，可以节约占地面积，在小面积的土地上可以生产大量的菌体。例如 35 个容量 250 立方米的培养罐，每日可以生产 300~400 吨的干酵母。如果每年工作 300 日，就可产 45000~60000 吨的优质蛋白质。作为饲料，相当于 280 万~400 万平方米土地栽培大豆的生产力。

又与牛等相比，其生产速度高达 2500 倍。例如，在牧场中体重 500 公斤的牛、每 24 小时才能合成蛋白质 0.5 公斤；而 500 公斤活菌体，当供给适当的碳源、氮、钾和空气在发酵槽中连续培养，则在 24 小时内，可产 2500 公斤的干菌体，即可产 1250 公斤的蛋白质。

(5) 微生物菌体含有多量蛋白质，蛋白质中的氨基酸组成齐全，且富含维生素等生长促进物质。

2. 缺点

- 1) 人们以微生物蛋白质作为食物, 在习惯上一时尚难适应。
- (2) 有些原料发酵制成的微生物蛋白质例如石油蛋白质的安全性问题, 需要长期的饲养试验。
- (3) 连续培养的工业化问题, 在工程上的各种数据还不够充分。
- (4) 生产价格较鱼粉和大豆蛋白质为高, 尚难与之竞争。

二、单细胞蛋白质的原料

生产单细胞蛋白质所用原料一般为四类: (1)糖质原料, 例如淀粉糖化液、淀粉或纤维素的酸水解液、亚硫酸纸浆废液、糖蜜等; (2)石油原料, 例如柴油、正烷烃, 天然气等; (3)石油化工产物, 例如醋酸、甲醇、乙醇等; (4)氢气和碳酸气。近年来对于利用淀粉、水果加工厂和食品制造厂的废水发酵生产微生物蛋白质正在开展之中。

近代微生物蛋白质的发酵原料以正烷烃及石油化工产品为中心, 兹分别简介如下:

1. 正烷烃

正烷烃是由原油中提出。原油中含正烷烃约 6%, 但不是每种原油都可用以生产正烷烃, 而以原油中含多量长链正烷烃最为适用。

石油的正烷烃馏份经过精制后, 可以除去致癌性的芳烃。将正烷烃(沸点 320°C 为止)通过分子筛和尿素络合法收集 $5\text{\AA}$ 以下的分子, 纯度为 98~99%, 并除去 3, 4-苯并芘(3, 4-benzpyrene)。UOP(Universal Oil Products)的 Molex 法, UCC(Union Carbide Corp.)的分子筛或尿素络合法, 均可避免大分子的混入。最后再用高压还原法进行脱硫, 并用发烟硫酸进行后处理, 就可获得不含致癌性物质的正烷烃。

2. 甲醇

甲醇可由天然气、原油产生, 例如粗挥发油(naphtha)、重燃料油和煤为原料而获得。近年对于利用甲醇发酵生产 SCP 正在开展, 每年生产 100, 000 吨 SCP, 需用 200, 000 吨甲醇, 此大量甲醇已由标准工厂来制造了。

3. 乙醇

乙醇原由糖质或淀粉质原料经过酵母发酵而生成。近代石油化工日益发展, 利用乙烯和水即可合成乙醇, 现在石油化工发达的国家多以合成乙醇代替发酵乙醇以供工业上应用。由于合成乙醇价格低廉, 可与水混合, 且无毒性, 如作为制造 SCP 的原料, 则生产的 SCP 无提纯的必要, 可以直接作人类食品添加剂。

4. 氢气

氢气可由水电解而生成, 但电力耗费较大。利用细菌产氢, 正在研究, 但距离工业化水平尚远。

三、生产单细胞蛋白质的微生物

生产单细胞蛋白质的微生物种类繁多,有酵母菌、细菌、霉菌、担子菌等。微生物的选择依原料的不同而异,一般标准有下述几点:

(1) 对基质的菌体(细胞)产率高、生长速度高为主要标准(所谓生长速度一般指倍增时间的长短)。

(2) 菌体以大的为好,一般酵母较细菌为佳,此外菌体以多含蛋白质为佳。

(3) 培养的最适温度以较高为佳,生长的最适 pH 以偏酸性为佳。

(4) 基质浓度以高为佳,培养基成分以不含异质为佳。

(5) 为了保证制品的安全性,使用的菌种应无毒性,在培养期间菌种应不发生变异,基质也应不变质。

利用糖类原料发酵生产微生物蛋白质,所用微生物以能利用葡萄糖、蔗糖为碳源的酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)及利用戊糖为碳源的假丝酵母为主要。

兹将以正烷烃、甲醇、乙醇及醋酸为碳源的微生物分别叙述如下:

1. 正烷烃利用菌

1895 年,日本植物学家三好学发现葡萄果皮上的石蜡可被灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)所分解,此为研究石蜡利用菌的开端。1906 年 Rahn、1908 年 Störmer 先后进行可以利用石蜡的霉菌和食己烷芽孢杆菌(*Bacillus hexacarbovorum*)的研究。自 1940 年开始,美国石油工业发达,石油利用菌的研究亦大有进展。

能利用正烷烃为碳源的微生物,可由油田、飞机燃料槽的污泥、耕地等分离而得。石油微生物的种类很多,其中以假丝酵母属的酵母菌体产率为最高。优良菌种以无孢子的酵母比有孢子的酵母为多。

$C_{12} \sim C_{20}$ 的长链正烷烃,易为假丝酵母所利用,如图 5-1 所示^[1]。

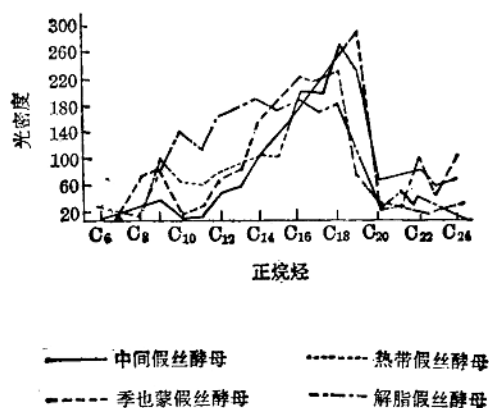


图 5-1 各种酵母对正烷烃的同化性比较

石油微生物的分离方法可简介如下:

(1) 分离方法: 能利用烃类的微生物是用图 5-2 所示的富集培养法, 在 $27 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 由土壤中分出。

(2) 分离培养基^[2]:

	细菌	霉菌	酵母菌
灯油	25 克	35 克	35 克
石蜡油	35 克	25 克	35 克
硝酸铵	—	—	5.0 克
尿素	3.0 克	3.0 克	—
KH_2PO_4	—	2.5 克	2.5 克
K_2HPO_4	2.5 克	—	—
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.0 克	1.0 克	1.0 克
替普尔*(Teepol)	0.5 毫升	0.5 毫升	0.5 毫升
自来水	1.0 升	1.0 升	1.0 升
pH	7.0	5.0	5.0

仅用一般平板分离法很难分出石油微生物, 因此必须交互采用富集培养和平板培养法, 如图 5-2 所示。

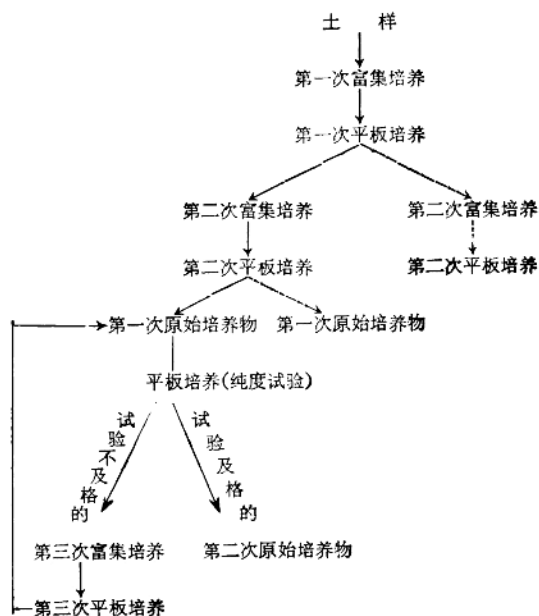


图 5-2 分离方法

将 50 毫升的分离培养基放入 500 毫升摇瓶内, 接入土样 0.1 克, 振荡培养 3 日 ($27 \pm 0.5^\circ\text{C}$) (第一次富集培养), 然后用固体培养基进行平板培养, 在 $27 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 培养 4~6 日。将每个菌落移入 5 毫升分离培养液中 (放在 30 毫升试管内), 在 $27 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 振荡培养 3 日

* 一种阴离子表面活性剂的商品名称。

后,再按图 5-2 方法进行(第二次及第三次富集摇瓶)。第一次原始培养物用一般平板培养法(营养琼脂或曲汁琼脂)进行纯度试验。第二次原始培养物一般是纯种,以备试验之用。

2. 甲烷利用菌

早在 1906 年发现以甲烷为唯一碳源的细菌,1938 年开始利用微生物于石油、天然气矿床的勘探。

甲烷利用菌分布于油田、天然气田、一般土壤、湖、沼、海洋等处,以细菌为主,能够利用甲烷的酵母、霉菌、藻类不多。甲烷利用菌也为甲醇利用菌,但甲醇利用菌未必均为甲烷利用菌。甲烷专性菌有革兰氏染色阴性的甲烷假单胞菌(*Pseudomonas methanica*),嗜甲烷单胞菌(*Methanomonas methanica*),荚膜甲基球菌(*Methylococcus capsulatus*)等。甲烷兼性菌有革兰氏染色阳性菌甲烷分枝杆菌(*Mycobacterium methanicum*)等。

甲烷是微生物生长最廉价的碳源。许多微生物可以甲烷为唯一的碳源和能源,但其生长速度太慢,不适工业上应用。

纯粹菌株的甲烷氧化力不如混合菌株,但使用混合菌株由甲烷生产单细胞蛋白质不易控制。

日本味之素公司由土壤中分离出一株对甲烷氧化力很强的细菌,可由甲烷生成单细胞蛋白质。此菌经过鉴定,认为是一株新菌种,名为鞭毛甲基单胞菌(*Methylomonas flagellata*)。它是革兰氏阴性杆菌,1.0~1.2×2.0~3.0 微米,常用极端鞭毛进行运动。此菌显示较高的生长速率 $\mu=0.17$ 小时⁻¹(对甲烷氧化言)^[3]。

Bergey 的细菌鉴定手册(1974 年版)将旧时定名的甲烷单胞菌科(*Methanomonadaceae*)又分 2 属 4 种。

兹再将甲烷利用菌的分离方法举例如下:

【例 1】^[4] 由土壤、沉积物或水源分出的甲烷氧化菌可先用甲烷或空气进行富集培养,再采用冲淡法和单细胞抽取法获得纯粹培养,富集培养法的培养温度为 30℃ 或 37℃,培养温度 55℃ 时不能生长。

培养基:供甲烷氧化菌生长用的简单矿盐溶液如表 5-1 所示。

表 5-1 供甲烷氧化菌生长的矿盐培养基

矿 盐 名 称	克/升
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0
K ₂ HPO ₄	1.0
MgSO ₄	0.5
CaCl ₂	0.1
NaCl	0.1
FeSO ₄	0.001

以硝酸盐代替铵离子为氮源,可使最适生长的 pH 范围由 6.0~6.6 扩大至 6.6~6.8,但倍增时间延长了。

微量元素和生长因子是否需要,都没有确定。