

近代工业微生物学

上册

陈 驹 声 编 著

37

上海科学技术出版社

JINDAIGONGYEWEI SHENGWUXUE

内 容 简 介

本书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。次述酶制剂的进展,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。

本书内容丰富,文字简明,可供大学生物系、生化系、食品系师生及从事食品、发酵、医药、化工、环境保护等微生物工作者阅读参考。

近代工业微生物学

下 册

陈 驹 声 编著

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

本书在上海发行所发行 松江科技印刷厂印刷

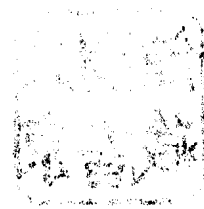
开本 787×1092 1/16 印张 24.5 字数 600,000

1982年12月第1版 1982年12月第1次印刷

印数:1—6,000

统一书号: 13119·1000 定价: (科五)3.00 元

A



Q939.97
2
2:2

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

陈驹声 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11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法	282
一、物理、化学处理法	275	一、特殊微生物处理法	282
二、微生物处理法	276	二、酶处理法	285
第二节 发酵废液的处理方法	279	参考文献	288
一、发酵废液的特征	279		
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、极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霉·····	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、工业制品的防霉·····	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		

第一章 工业微生物学概说

第一节 发酵理论的演进^[1~2]

公元前 4000~3000 年, 埃及人已熟悉酒、醋的酿造方法, 约在公元前 2000 年, 希伯来人已会酿制葡萄酒。人类酿酒的历史虽然很悠久, 但是到了十六世纪发明显微镜后, 才能由肉眼通过显微镜看到微生物。自微生物被发现以后, 自然发生说与关于发酵的化学理论和生命理论争论不休, 直至 1897 年 Buchner 提出酶的理论后, 对发酵机制才开始有所认识。

一、显微镜的发明

1590 年荷兰人 Hans 及 Zacharias Jannsen 父子首创复式显微镜, 但是它的构造不够完善。1680 年荷兰人 Anthony Leeuwenhoek (1632~1723 年) 制成放大倍数 40~150 的透镜。在历史上他是由肉眼通过显微镜看到细菌、酵母菌等微生物的第一个人。当时他把在显微镜里见到的生物画成图片, 送给皇家学会, 但是没有受到应有的重视。

二、自然发生说

古时认为生命是自然发生的, 公元前 384~322 年希腊哲学家 Aristotle 确认蠕虫、昆虫、鱼、蛙都是由湿污泥生成。到了中世纪, 自然发生说仍为一般学者所公认。炼丹术者列举了由空气、水和木生成蛙和蚯蚓的方法。这就是“自然发生说”。

1688 年意大利物理学家 Francesco Redi (1626~1697 年) 首先反对自然发生说, 并以简单实验证明生蛆的原因。他用一张网布盖在装肉块的罐口, 发现由于苍蝇在网布上撒卵, 因此肉块生蛆。但是他的主张, 尚不能为人们所接受。

1745 年英国牧师 Needham 也以实验证明自然发生说。他将肉及肉汁放于有塞瓶中煮沸, 放置一小时后, 还是要腐败。他认为煮沸可以杀灭肉汁中的“卵”, “卵”既杀灭, 但肉汁依然会腐败, 生命是自然发生的。

约在 1747 年, Spallanzani 反驳 Needham 的实验结果, 他说: “Needham 瓶内的肉汁所以会腐败, 是因为进入瓶中的空气未经火(即灭菌)之故。”

1836 年 Franz Schulze 又用实验反驳了自然发生说。他将空气通过硫酸, 除去微生物后, 再通入已经煮沸并冷却的发酵或腐败的汤汁中, 经过很长时间, 瓶中内容物没有发酵或腐败现象。如果空气不通过硫酸而直接通入瓶中, 则发生污染现象。因此他认为, 空气中含有许多微生物, 如果营养培养基与空气相接触, 那末, 微生物就会在这培养基中繁殖了。

三年之后, 约 1839 年, Schwann 以实验证明 Spallanzani 说法的正确性。他的实验装置是将进入瓶中的空气预先用火加热, 其结果, 空气中微生物已经杀灭, 因此瓶中物质不致腐败。当实验完毕时, 将瓶开放, 则微生物进入, 不久物质便腐败了。这个实验不但证明物质腐败是由微生物所引起, 而且为现代消毒工作奠定了基础。

1853年, Schröder 及 Dusch 使用空气的棉花滤器, 也得到同一结果, 这和现在使用的棉花过滤法是一样的。

上述两个实验虽然有力地反驳了自然发生说, 但反对者仍坚持说: 空气中含有某些物质, 可使无生命的培养液生成生物, 并促进物质的变化(即发酵与腐败)。空气加热之后, 这些物质被破坏, 就不适于微生物的发育。不管空气是经过加热或用硫酸或棉花过滤, 都可使空气中所含的某些物质失去使物质腐败和生成生物的能力。

Louis Pasteur (1822~1895年) 经过反复实践创造巴氏瓶。巴氏瓶是将一般烧瓶的头引伸成毛细管状, 如“S”形。此瓶内盛肉汁或其它物质, 煮沸并冷却后, 经过多时仍不至发酵或腐败; 但是除去瓶头, 则二日后即发酵或腐败了。然反对者仍说物质既经加热, 就不适于生物的发生。Pasteur 将加热的物质接种菌种, 依然可以繁殖, 这给自然发生说以有力的批驳。

三、关于发酵的化学理论

当时闻名的瑞典植物学家林奈 (Linné, 1707~1778年) 及其同事曾猜想发酵和腐败是由微生物所引起, 但没有证明。

十八世纪末近代化学奠基者拉瓦西 (Lavoisier, 1743~1794年) 首先发表发酵的理论。他说糖经过发酵后得到酒精、二氧化碳和醋酸。但是对于发酵的真正原因还不清楚。

1810年 Gay-Lussac (1778~1850年) 发表他的有名的发酵公式: 一分子己糖分解为二分子酒精和二分子二氧化碳。他于1804年看到法国厨师 Nicholas Appert 用密封玻璃瓶可以长久保藏食物, 他为了设法说明发酵的过程, 特将此瓶内空间的空气进行分析, 发现其中没有氧气。他从他的发现里得出结论, 认为氧本身可以促使发酵和腐败, 这个观点流行了一个时期。

约在1840年, 这个时期化学家成功地阐明了极其复杂的有机过程是一种化学过程, 并且能够用简单的化学方法制成各种有机物, 因此化学家 Liebig (1803~1873年) 提出发酵液中的酵母细胞是一种物质, 它在分解后放出能量, 而这能量传入糖分子中, 使糖变为酒精和二氧化碳。照 Liebig 的意见, 酵母是无生命的, 它虽是一种细胞结构, 但不是发酵的原因。

这时期的化学家 Berzelius 和 Wöhler 在原则上也赞同 Liebig 的说法。

四、关于发酵的生命理论

1837年 Cagniard-Latour (1777~1859年) 说啤酒酵母是属于植物界, 它呈圆形而且可以繁殖。这些圆形体在发酵时, 可以发生二氧化碳和生成酒精。

在同一年, Schwann (1810~1882年) 也说啤酒和葡萄酒的酵母是圆球细胞, 这些酵母无疑地是一种植物。他叫酵母为“Zuckerpilz”, 这个字就是现代使用的“Saccharomyces”的来源。此外他认为酵母需要含氮物质以便繁殖并发酵。这些“糖真菌”(sugar fungi) 被杀灭后, 发酵就停止了。

同年 Kützing (1807~1893年) 用图描绘了酵母细胞。他又于1840年通过实验发现, 由酒精变醋是因一种生物引起的。但是这些研究者的意见, 并没有被人采纳。

1857年 Pasteur 以实验证明, 要把培养基中所含的有机的微生物杀灭, 必须加热并要有一定的加热温度与加热时间。此外培养基经过加热后仍然适于微生物的繁殖。这不但为

“生命理论”提供了有力的根据,而且这种灭菌操作对微生物工作者来说,也是很重要的。

同年他又找出发生乳酸发酵的细菌,并且对于醋酸发酵和丁酸发酵也进行了研究,他发现在无氧条件下可以生成丁酸,进一步把发酵分为好氧的和嫌氧的两种。他确认各种发酵,例如酒精发酵、乳酸发酵、丁酸发酵都是由于各自不同的发酵菌所引起的。自此,建立了发酵的生命理论。

五、关于发酵的酶学理论

自“生命理论”成立后,还有一个未能解决的问题,那就是糖分子分解的真正原因,是否由于细胞原生质有一种分解活力通过发酵液转移至糖分子而发生的?还是不能解答。早在1858年, Morits Traube (1826~1894年)曾经设想发酵是由于酵母细胞含有一种物质叫做酶素(ferment)的缘故。1894年 Emil Fischer (1852~1919年)在合成碳水化合物时得到一种启发,即酵母对培养基中所含糖的反应,可用解糖酶来解释,但是他们都没有实验证明。

1897年 Eduard Buchner (1860~1917年)依照前人所指的方向进行研究。他将酵母的细胞壁磨碎,得到的酵母汁可使糖液发酵。他把酵母汁中含有的有发酵能力的物质,叫做酒化酶(zymase)。由此得出结论:酵母可以生酶,而这些酶既离酵母体,仍可引起酒精发酵。此为近代酶学的基础。

参 考 文 献

- [1] Franz Lafar: Technical Mycology, 1911 (由 Charles T. C. Salter 译成英文). [2] 陈驹声: 实用微生物学, 1957 (二版).

第二节 工业微生物的发现^[1]

1905年德国人 Robert Koch (1843~1910年)的肺结核菌研究工作获得诺贝尔奖金。他首先发明固体培养基,应用固体培养基分离培养细菌,得到了细菌的纯粹培养,同时他又改进了细菌的染色法,为进一步研究细菌的形态与结构创造了有利的条件。

荷兰人 Emil Christion Hansen^{*} (1842~1909年)在丹麦哥本哈根的卡尔斯帕研究室工作。他研究啤酒发酵的酵母,并创造了单细胞的纯粹培养法。

Alfred Jørgensen (1843~1925年)于1881年首先采用 Hansen 的纯粹培养法选择适当酵母于啤酒的工业生产,为纯粹培养法在工业发酵上的应用开辟了道路。

当时所用的固体培养基是由明胶制成的。Koch 的学生 Hesse 在研究水和空气的细菌时,发现明胶培养基在培养温度下易于液化,而且有的细菌可以液化明胶,以致在使用上发生困难。Hesse 的妻子建议改用琼脂,这就是现在使用琼脂培养基的起源。以后, Petri 创造一种培养皿(petri dish)可供微生物平板分离用。Winograsky 和 Beijerinck 的富集培养法(enrichment culture 或 accumulation culture)可以分离特定微生物。从此微生物的分离方法益见完善,新发现的微生物日益增多。本章仅就与工业发酵有关的微生物简介如下:

工业微生物分为: 1. 细菌和放线菌; 2. 酵母菌; 3. 霉菌三大类。

一、细菌和放线菌的发现

自一百数十年前发现醋酸菌、乳酸菌、酪酸菌等以来,被发现的细菌种类日益增多,它与医学、工农业及其它方面有着密切的关系。1906年 F.D.Chester 第一次编著《细菌鉴定法》(《Determinative Bacteriology》)。到了1917年细菌的分类又有了新的发展,因此美国微生物学会的微生物特征和分类委员会的贝盖(David H. Bergey)等又编辑微生物鉴定手册,书名为《贝盖细菌鉴定手册》(《Bergey's Manual of Determinative Bacteriology》),于1923年出版,至今已50多年了。1974年第8版比1957年版又作了很大的更动,把细菌分19类,每类下有科、属、种的检索表,重点放在属上。并指出了分类地位还未确定的属,也减少了大量同物异名的种。书后附 Sherman 改订的本书内细菌属的检索表,颇合实用^[2]。

兹述醋酸菌、乳酸菌、酪酸菌及放线菌的发现简史如下:

1. 醋酸菌的发现

将啤酒、葡萄酒等含酒精较少的酒精饮料放置空气中稍久,上面长一层薄膜,酒精逐渐变为醋酸。将此薄膜少许移置于啤酒或葡萄酒中,则这些酒很容易变成醋。因此叫它为“醋母”。1822年 Person 叫这些有生命的薄膜为醭酵母(*Mycoderma*),此词的意义是指粘质薄膜或菌态薄膜,但没有说明与醋酸发酵的关系。1837年 Fr. Kützing 发现这种醋母是由小点生物(就是现在所谓“细菌”)所组成。但是两年之后,德国化学家 Liebig 说“醋母”是一种没有生命的蛋白质沉淀。当时荷兰著名葡萄酒化学家 G. Mulder 进行“醋母”的分析,没有发现灰分,所以他也认为“醋母”是一种蛋白质和纤维素的化合物。因此 Liebig 学说得到了支持。1852年 R. Thomson 根据分析结果发现“醋母”含有 94.53% 水、5.134% 有机物和 0.336% 灰分,因此 Mulder 的分析结果被否认了。1864年 Pasteur 发表两篇论文重新提起了 Kützing 的说法。他说醋酸发酵是一种微小菌体叫做醋酸醭酵母(*Mycoderma aceti*)的一种生理现象,但是对此菌的形态没有进一步说明。直至1878年 Hansen 研究啤酒的自然发酵,发现引起此种发酵至少有两种细菌,一为醋酸醭酵母,一为巴氏醭酵母(*Mycoderma pasteurianum*),后来分别改称为醋酸杆菌(*Bacterium aceti*)和巴氏杆菌(*Bacterium pasteurianum*)。1900年他又据别人的发现增加了库氏杆菌(*Bacterium kützingianum*)。他对这三种醋酸菌的形态进行了详细的研究,为现代醋酸菌分类奠定了基础。

2. 乳酸菌的发现

在游牧时代,兽畜乳汁变质是常见的现象,因此乳酸发酵和醋酸发酵都有悠久的历史。

1857年 Pasteur 首先描述乳酸菌的特征,并证明此菌可使无菌的甜乳变酸。当时他叫此菌为发酸剂或酵母,实际上是一种细菌。Pasteur 用实验证明在含糖培养基中一种发酵剂可以引起乳酸发酵,另一种可以引起酒精发酵。他认为“在化学上不同的发酵是由生理上不同的生物所引起的”。

3. 酪酸菌的发现

1814年 Chevreul 发现酪酸,1840年 Marchand 发现酪酸可由发酵生成。

1861年 Pasteur 发现酪酸发酵分为两个步骤:第一步由糖变为乳酸或乳酸钙;然后由