

5147134

国外应用微生物

(第一辑)

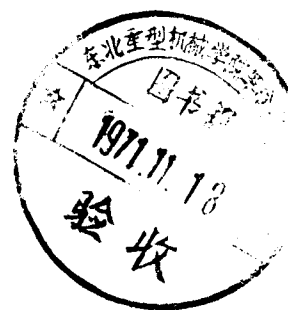
《国外应用微生物》编译组

9

上海科学技术情报研究所

15.12.

55



国外应用微生物

(第一辑)

《国外应用微生物》编译组

*

上海科学技术情报研究所出版

新华书店上海发行所发行

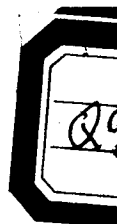
上海东方红印刷厂印刷

*

1971年7月出版

代号: 1624021 定价: 0.35元

(只限国内发行)



毛主席语录

鼓足干劲，力争上游，多快好省地建设社会主义。

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。

我们不能走世界各国技术发展的老路，跟在别人后面一步一步地爬行。我们必须打破常规，尽量采用先进技术，在一个不太长的历史时期内，把我国建设成为一个社会主义的现代化的强国。

Q 939.9/3

我们中华民族有同自己的敌人血战到底的气概，有在自力更生的基础上光复旧物的决心，有自立于世界民族之林的能力。

02

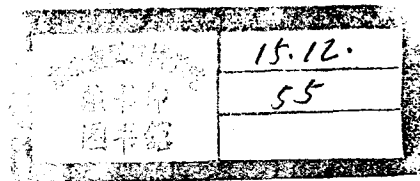
g



0663848

d

5944059



8525170

前言

震撼世界的无产阶级文化大革命，有力地推动着我国生产和科学技术迅速的发展。全国各条战线在伟大领袖毛主席“团结起来，争取更大的胜利”的伟大号召下，在毛主席无产阶级革命路线的指引下，为积极贯彻执行“九大”提出的各项战斗任务，作出了很大的成绩。

随着我国工农业生产的发展，微生物的利用和研究也越来越广。广大工人、贫下中农和革命科技人员，遵照伟大领袖毛主席“备战、备荒、为人民”和“中国应当对于人类有较大的贡献”的教导，批判了叛徒、内奸、工贼刘少奇的“洋奴哲学”和“爬行主义”等修正主义的科研路线，坚持“打破洋框框，走自己工业发展道路”，大搞群众性的科学实验活动，使我国微生物在工农业生产上应用的群众运动蓬勃发展。

为了适应当前发展应用微生物的需要，根据毛主席“知彼知己，百战不殆”和“洋为中用”的伟大教导，我们十个单位（上海第三制药厂、上海味精厂、上海农药研究所、上海医药工业研究院、上海工业微生物研究所、上海有机化学研究所、华东化工学院、复旦大学、上海植物生理研究所、上海科学技术情报研究所）组成“国外应用微生物”编译组，对近年来国外有关资料选择了一部分进行编译出版，供同志们参考。对于外国的资料我们应该按照毛主席关于“一切外国的东西，如同我们对于食物一样，必须经过自己的口腔咀嚼和胃肠运动，送进唾液胃液肠液，把它分解为精华和糟粕两部分，然后排泄其糟粕，吸收其精华，才能对我们的身体有益，决不能生吞活剥地毫无批判地吸收”的教导，批判地引进其有用部分，为我们所利用。由于我们活学活用毛泽东思想不够，专业水平有限，必然有不少缺点和错误，本书有不符合毛泽东思想的地方望读者按照毛主席关于“认真作好出版工作”的教导，加以批评指正。

《国外应用微生物》编译组

1971.7.

15.12./20

cut/10/

目 录

1. 石油蛋白质的生产..... (1)
2. 石油化学工业产品的微生物利用..... (8)
3. 利用碳氢化合物的微生物研究
 从土壤分离产氨基酸细菌..... (18)
4. 酶制剂技术发展近况..... (23)
5. 培养基添加物的流变作用对发酵产率的影响..... (32)
6. 抗菌素综述..... (33)
7. 国外的酵母综合利用及核酸物质在农业上的应用..... (37)
8. 微生物杀虫剂近况..... (46)
9. 用在微生物工程中的“自吸式”通气装置与机械消沫装置..... (51)

工业学大庆，农业学大寨，全国学人民解放军。

化河东

石油蛋白质的生产

石油烃氧化菌

关于用烃类作为唯一碳源来培养菌体，以往已有很多报道，本文概要地叙述其中以菌体生产为目的的研究工作。

1955年 Hoerburger 用热带假丝酵母 (*Candida tropicalis*) 在含 230~290°C 石油馏分的培养基中培养，经 22 小时培养后，得到相当于烃类重量 92% 的菌体。在此情况下，增大通气量是必要的。1958 年 Azoulay 等用假单孢菌 (*Pseudomonas*) 在正庚烷中培养，从 50 毫升烃类中仅得 2 克菌体。

Raymond 用诺卡氏菌 (*Nocardia*) 在正十六烷中培养，得到 83% 的菌体。英国 Champagnat 发表了石油发酵脱蜡兼生产酵母蛋白的报告，声称该酵母菌体含有 43.6% 的蛋白质，蛋白质的氨基酸组成也很好。关于这一类，将于后述。

1964 年 Guenther 等提出以 *Micrococcus cerificans* 为主的细菌生产的专利。Kallio 等在 1959 年也发表了报告，认为该菌可能与 *Arthrobacter urefacenes* 相似。繁殖速率非常大，在 $C_1 \sim C_{30}$ 范围的正构烃中都能生长，菌体收率能得到相当于烃类重量的 100~130%，菌体蛋白含量为 70~75%。该菌增殖时间约为 1 小时，故可进行连续培养。此菌不仅能利用正构烷烃，而且还能用于柴油馏分的脱蜡。其中有关发酵培养装置的说明将于后面

详述。除该菌外，Guenther 等还描述了铜绿极毛杆菌 (*Ps. aeruginosa*)、荧光杆菌 (*Ps. fluorescens*)、不透明诺卡氏菌 (*Nocardia opaca*)、红色诺卡氏菌 (*N. rubra*)、珊瑚色诺卡氏菌 (*N. coralina*)、*Ps. methanica*、*Ps. desmolytica* 及草分枝杆菌 (*Mycobacterium phleic*) 等在烃类中生长情况。

1963 年驹形等从 497 株酵母菌种中筛选得到几株氧化烃类能力强的菌种，鉴定结果为异常汉逊氏酵母 (*Hansenula anomala*)、白色假丝酵母 (*Candida albicans*)、解脂假丝酵母 (*C. lipolytica*)、皱折假丝酵母 (*C. rugosa*)、克柔氏假丝酵母 (*C. krusei*) 及 *C. tropicalis*。有趣的是在煤油中能生长的酵母都是假丝酵母属，生长的细菌多数是假单孢菌。1963 年山田浩一等分离到一支铜绿极毛杆菌 S7B1 菌株，培养在煤油中能得 60% 的菌体。用 C_{12} 以上的正构烃培养则能得到更多的菌体，例如用二十二烷和十八烯-[1]来培养，则能得到 70% 以上的菌体。

1964 年井口等用原油、煤油、轻油及重油等作碳源来分离酵母和细菌，结果发现酵母中假丝酵母属 (*Candida*)、圆酵母属 (*Torulopsis*) 及酒香酵母属 (*Brettanomyces*)，细菌中假单孢菌是烃类氧化优秀的菌属。圆酵母属在 220~350°C 石油馏分中培养，能得到 70% 菌体。用假单孢菌在 150~218°C 石油馏分中培养，则能得到 80% 菌体。

1964 年饭塚等描述了皱折假丝酵母 JF 101 菌体在 $C_9 \sim C_{10}$ 的正构烃中生长的情况, 认为该菌对偶数烃类易氧化。1964 年驹形等对石油酵母进行广泛研究, 把许多菌株(包括保藏菌株)进行了对烃类氧化性的筛选, 结果选到最优秀的菌株为热带假丝酵母及 *C. cloacae*。1965 年作者在筛选中也认为热带假丝酵母是理想的酵母, 该菌被认为是石油蛋白生产的重要酵母。

Johnson 等 1964 年发现除了热带假丝酵母和解脂假丝酵母是重要的菌株外, 从菌体产量这一点来看则中型假丝酵母 (*C. intermedia*) 也是好的菌株。此菌能较好氧化 $C_{12} \sim C_{18}$ 正构烃, 特别是在高碳烃中培养, 菌体收率可达 82%。在正十七烷中培养出来的菌体, 含氮量最高达 7.5% (相当于粗蛋白的 46.8%), 含脂量为 10.3%。

1965 年有马等用煤油和液体石蜡筛选酵母, 分离到毕赤氏酵母属 (*Pichia*), 该菌在 $C_{10} \sim C_{18}$ 正构烃中能很好生长。

1965 年武田等用 *Ps. desmolytica* 及 *Corynebacterium petrophylum* 菌在含铁离子和镁离子特别多的培养基中培养, 得到产量显著高的菌体。在烃类培养基中加入适量的 $CaCO_3$, 则每升培养液能得 57 克菌体。

山口等在培养 *Mycotorula japonica* 菌发现, 发酵时生成的脂肪酸阻碍菌体进一步的生长, 因而在培养器中装有透析膜, 用 $C_8 \sim C_{16}$ 正构烃特别是正十六烷来作基质, 能得到很高菌体收率。

1966 年大塚等用热带假丝酵母 YO-148 菌株进行菌体生长速度研究, 发现该菌的产率比英国 Champagnat 用的解脂假丝酵母产率 (0.360 克/升/小时) 要高一些, 它的生长速率为 0.367 克/升/小时。该菌最适 pH 为 7, 在含 10% 轻油的培养基中能很好生长, 含脂量高达 7%。

其它酵母, 季也蒙氏假丝酵母 (*C. guilliermondii*)、*C. pulcherrima*、松球拟酵母

(*Torulopsis pinus*) 和 *C. arborea* 等, 据报道也是烃类氧化较好的菌株。

饭塚发现变异菌株日本丝孢酵母 (*Trichosporon japonicum* n. sp.) 能很好氧化 $C_{10} \sim C_{22}$ 正构烃。

从上述可以看出, 在酵母和细菌中能很好氧化烃类的菌株是很多的, 特别是假丝酵母属和假单孢菌属的菌株氧化烃类能力较好。应该根据烃的种类来确定选用那一类菌株。例如以气态烷烃作原料, 常常选用细菌。一般讲来, 因为细菌菌体蛋白含量较多, 繁殖速度快, 故如 Guenther 等那样, 用特别优秀的菌株, 是很有前途的。但细菌形态较小, 因而菌体的分离有困难。酵母菌比细菌大, 可以使用普通的 Westfalia 或者 De Laval 酵母离心机将它分离, 这是酵母发酵的优点。

有关培养的一些问题

基质石油烃

以石油烃作碳源生产微生物菌体蛋白可考虑用二种方法。其一, 使微生物与粗柴油或原油作用, 仅使其中的正构烃转入菌体, 这样油品的脱蜡和菌体蛋白生产同时进行。另一方法, 就拿微生物易用的正构烃作原料, 生产菌体。

用第一种方法虽不能期望得到大量菌体, 但感兴趣的是菌体生产和油品脱蜡可同时进行, 这样适于生产大量低凝固点的喷气燃料。用第二种方法虽能得到大量菌体, 但正构烷烃的价格较贵。

混合培养

烃类氧化菌(酵母或细菌)对各种烃类的氧化是有选择性的, 不难想象, 要一种菌对各种不同碳原子的烃类都能氧化这是困难的。因而当基质是各种烃类混合物时, 同时接种二株或二株以上的菌株, 是能提高菌体产率的。

武田等把能氧化轻油 60% 的菌株 *C. petrophylum* 和氧化烃类 53% 的菌株 *Brett-*

anomyces petrophylum 进行混合培养, 这样从低馏分到高馏分的烃类都能氧化, 以轻油作原料, 获得 70% 菌体。

Miller 等也发表了混合培养的研究结果。即同时接种中型假丝酵母和解脂假丝酵母于含有溶解 2,6,10,14-四甲基十五烷的高碳蜡中, 这样 $C_{15} \sim C_{28}$ 范围的正构烷烃类都能氧化。繁殖时间为 3~8 小时, 菌体收率达到 74.2~89.5%, 菌体含氮量为 6.75~8.81% (相当于粗蛋白量 42.2~55.0%), 含脂量为 1.9~13.4%。

Miller 等不仅用正构烃, 而且还用柴油对同种菌进行混合培养, 菌体收率达到柴油中正构烃含量的 70~90%, 繁殖时间为 4~9 小时, 柴油中 $C_{19} \sim C_{24}$ 的正烷烃都能很好氧化。菌体含氮量是 8.8~9.3% (相当于粗蛋白 55.0~58.1%), 作为酵母菌, 该蛋白含量是高的。由于原油或一般柴油中含有各种烃类, 为了提高氧化收率, 可以想象混合培养是一种有希望的方法。今后可指望对此会有进一步的研究。

培养装置——发酵罐

作为基质的烃类是不溶于水的, 在发酵器中, 为了使菌体生长能力提高, 有必要使发酵液成为极细的乳状液。虽然主要由适当的通气和搅拌或混合使培养液乳化, 有时加入表面活性剂也是一种有效途径。可是为了使制品的价格能下降, 尽可能地不加添加剂, 而靠机械法来解决。

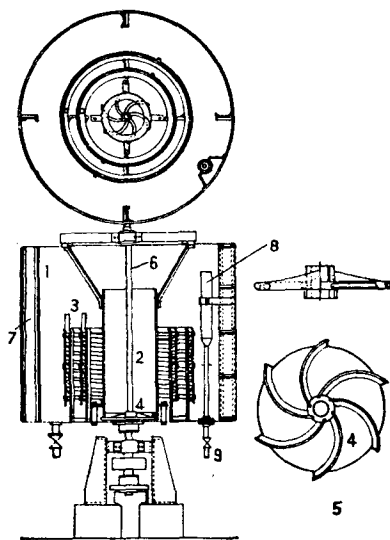
Darlington 指出, 培养酵母时, 用烃类作为基质需要的氧气量为用碳水化合物作基质的三倍, 以烃类作为基质繁殖时间长, 生长速度也较慢。

在发酵罐类型方面, Esso-Nestle 公司用普通通气搅拌发酵罐来培养 *Micrococcus cerificans*, 日本准备用空气提升型 (Air lift type) 发酵罐来生产, 也有用 Waldhof 型发酵罐来发酵假单胞菌 No. 5401。以下简单介绍有关这些发酵装置。

① Waldhof 型发酵罐

此发酵罐的特点能机械地消泡, 并能进行连续发酵。现在许多国家都用以培养酵母。在用糖蜜或纸浆废液等发泡性强的基质作培养基时, 它的效果特别好。

按图 1 所示, 设置于发酵罐主体 1 中间的通风管 2 下部装有高速度旋转的通气轮 4, 空气通过主轴 6 由通气轮上的喷嘴 5 喷向发酵液中。通气轮和通风管之间的缝隙产生了泵的作用, 这样一面使发酵液增加通气量, 同时也使发酵液不断地从通风管的上部流入其内部, 再通过缝隙在罐中不断流动。这样发酵液一面旋涡, 一面上下不断循环。发酵开始时, 先投入一定量培养基和菌体, 待菌体浓度达到要求时, 新鲜培养基就开始连续流加, 菌体就不断通过溢流管 8 连续取出, 菌体经过水洗, 干燥就成为制品。



1. 发酵罐主体 2. 通风管 3. 冷凝管 4. 通气轮 5. 喷嘴 6. 主轴 7. 挡板 8. 溢流管 9. 发酵液取出口

图 1 Waldhof 发酵罐

发酵罐中液体容量由 V 表示, 1 小时添加的新鲜培养基由 v 表示, 则 $\frac{V}{v}$ 就代表“停留时间” (holding time), 它也相当于间歇发酵系统的发酵时间。根据添加培养基的组成,

菌体性质和浓度,发酵罐性能等来决定“停留时间”,也就是该设备的进料速度。

② 按 Esso-Nestle 法由正构烃生产酵母的装置

图 2 是 1966 年 J. G. McNab 等发表的装置图。

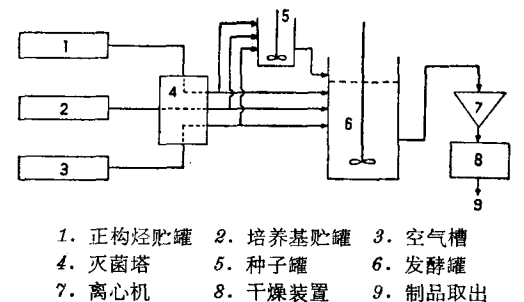


图 2 Esso-Nestle 法从正构烃生产酵母装置

原料正构烃、培养基和过滤空气分别由 1、2、3 进入灭菌塔 4，随后一部分进入种子罐 5，培养种子。待发酵罐 6 的温度等都调节好了，就由种子罐接种。菌体浓度达到所需浓度，新鲜培养基就开始连续流加，另一面与培养基流加量相等的发酵液就连续取出，再经离心机 7 离出酵母，酵母经干燥装置 8 干燥就成为产品。酵母在干燥之前，一般用温水洗涤二次左右。用正构烃培养酵母的后处理比用柴油作原料的后处理简单。

③ 按 BP 法（英国石油公司）从柴油生产酵母的装置

此法如图 3 所示，柴油和培养基分别由 1、3 进入发酵罐，无菌空气由 2 导入发酵罐，

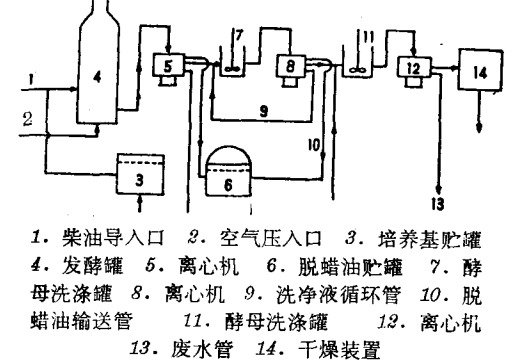


图 3 BP 法从柴油生产酵母的装置

通过分布器进行通气。发酵液经离心，分离成泥浆状酵母和脱蜡油。脱蜡油由 6 贮藏，酵母经 7 进行洗涤。洗过酵母接着再通过离心机 8 经 11 洗涤，然后经 12 第三次离心所得的菌体再经 14 干燥最后成为成品。

与用正构烃作原料不同，在酵母洗涤罐 7 中，需要加入己烷一类的溶剂，这一点是柴油作原料不利之处，因为它必须使酵母脱臭和除去有害物质。

④ 空气提升型发酵罐

此类型发酵罐日本已用于液体曲的生产，也有工厂用于从糖蜜生产酵母。现根据 Shepherd 发表的进行介绍(图 4)。

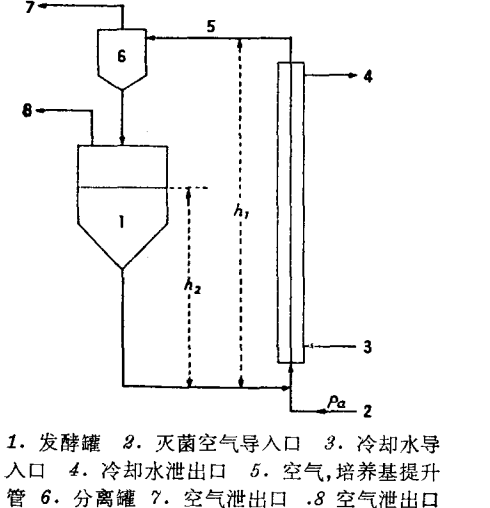


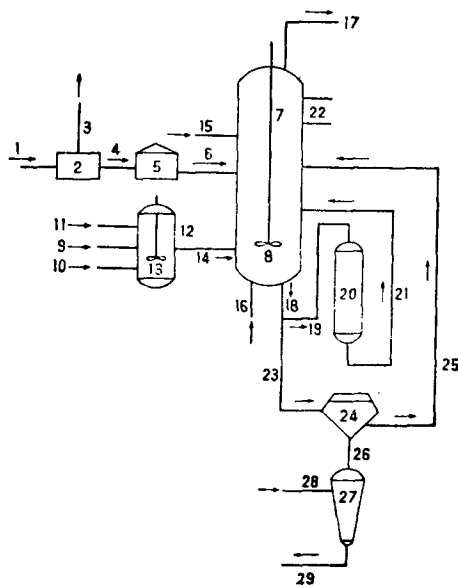
图 4 空气提升型发酵罐

从发酵罐 1 下部通过管道流下的发酵液，经由 2 导入的强力空气流压着提上，经 3、4 的冷却水调节温度，再经提升管 5 流入分离罐 6。分离出的空气由 7 排出，含有空气的培养液再次回到发酵罐 1。重复这样操作，就有可能进行非常嗜气的发酵。由 2 导入的空气压 P_a ，如与图中所示 h_1 和 h_2 压力差保持平衡的话，就可以开始正常的运转。

⑤ Esso-Nestle 法细菌培养装置

该法用它来培养 *Micrococcus cerificans* (认为与 *Arthrobacter ureafacenes* 是同一种) 得到非常好效果。

按图 5 所示, 该法虽是用分子筛精制石油所得正构烃作原料而设计, 但也能用于柴油的脱蜡。此二种情况都能连续地得到高产率的菌体。由 1 导入石油烃, 在 2 中除去不纯物和非正构烃, 正构烃由 5 贮藏。培养基在 12 中混合成液体状, 控制 pH 作为氮源的氨水 15 直接导入发酵罐 7。发酵液一部分经过 18、19 管道, 在冷却塔 20 除去发酵热后, 再循环至发酵罐。另一部分发酵液经管道 23 在离心机 24 中分离或沉降, 菌体经喷雾干燥或鼓式干燥 27 最后得到成品。



1. 石油烃进口 2. 石油烃精制塔 3. 非正构烃除去口 5. 正构烃贮罐 7. 发酵罐 8. 搅拌器 9. 磷酸进口 10. 无机盐进管 11. 水进管 12. 混合塔 13. 搅拌器 15. 氨水供给口 16. 空气入口 17. 空气, CO₂, 水蒸气排出口 18. 培养基, 菌体连续排出口 19. 培养基, 菌体循环使用管 20. 冷却塔 21. 冷却发酵液循环管 22. 发酵罐冷却螺旋管 24. 离心机或沉降机 25. 上层液导管 26. 分离泥状菌体用的导管 27. 喷雾干燥 28. 热空气导入口 29. 干燥菌体取出口

图 5 Esso-Nestle 法细菌生产装置

该装置如兼用于油品脱蜡时, 分离后的菌体必需经过溶剂洗涤, 这与图 3 处理相同。

石油蛋白营养价值

英国石油酵母和苏联石油酵母的菌体化

表 1 英国石油酵母菌体组成表(%)

水	分	7.03
干	物	92.97
全	氮	6.92
粗	蛋	43.3
脂	白	18.5
碳	类	21.9
水	化	4.43
化	物	0.211
合	分	1.250
物		0.500
灰		0.060
	钙	
	磷	
	钾	
	钠	

表 2 苏联石油酵母化学组成(%)

粗 蛋 白 质	50~55
脂 类	1~2
碳 水 化 物	12~22
核 酸	6~12
无 机 盐	6~10
钙	0.1~1.8
磷	1.5~3.5
钾	1~2
钠	0.04~0.45
铁	0.02~0.3
铜	0.0011~0.053
锰	0.0012~0.025
复合维生素 B	1
麦 角 固 醇	0.2~0.5

表 3 菌体蛋白氨基酸组成

原 料	石 油 烃	纸 浆 废 液
菌 株	假丝酵母 (Candida)	假 丝 酵 母
研究单位	英国石油公司	日本东洋纺织公司
粗蛋白含有量(%)	43.6	52.0
氨基酸(相对菌体%)		
亮 氨 酸	3.05	3.54
异 亮 氨 酸	1.33	2.63
缬 氨 酸	3.66	3.20
苏 氨 酸	3.97	2.65
甲 硫 氨 酸	0.55	0.51
胱 氨 酸	0.44	0.17
赖 氨 酸	5.06	3.76
精 氨 酸	3.49	2.50
组 氨 酸	3.53	0.90
苯 丙 氨 酸	3.43	2.20
色 氨 酸	0.52	0.66
天 冬 氨 酸	—	3.11
丝 氨 酸	—	2.75
谷 氨 酸	—	6.21
甘 氨 酸	—	2.18
丙 氨 酸	—	2.86
酪 氨 酸	—	1.30
脯 氨 酸	—	1.77

表4 石油蛋白化学组成和必需氨基酸含量

研究场所	英国石油公司 Lavera*	英国石油公司 Grange- month**	Esso 公 司	Esso 公 司	苏 联	日本味之素 中央研究所	东京大学 山田研究室	东 京 大 学 山田研究室
菌 株	假丝酵母 (<i>Candida</i>)	假丝酵母 (<i>Candida</i>)	酵 母	细 菌	酵 母	解脂假丝酵母 (<i>Candida</i> <i>lipolytica</i>)	热带假丝酵母 (<i>Candida</i> <i>tropicalis</i>) S815Y1	铜绿极毛杆菌 (<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>)
水 分 (%)	5.0	5.0				5.1		
粗 蛋 白 质 (%)	66	60	54	62~73	53	44.7	49.0	58.3
脂 类 (%)	0.5	8	10	10~15		4.2		
碳水化合物 (%)			26	10				
灰 分 (%)	10	6	7	6~12		7.0		
必需氨基酸 (相对蛋白量%)								
亮 氨 酸	8.1	7.3	5.9	5.6	7.0	7.7	8.0	11.2
异 亮 氨 酸	5.4	4.7	3.6	3.6	5.2	5.6	5.5	4.6
缬 氨 酸	5.7	5.6	4.0	4.5	5.1	5.9	6.0	6.2
苏 氨 酸	5.2	4.9	3.9	4.0	5.7	4.0	6.2	4.6
甲 硫 氨 酸	1.7	1.8	1.2	2.0	1.1	0.8	1.2	1.9
胱 氨 酸	0.9	1.1	—	0.6	—	0.2	0.6	—
赖 氨 酸	7.7	7.1	7.0	6.5	6.7	7.8	8.2	8.9
苯 丙 氨 酸	4.6	4.7	3.7	2.9	4.8	4.8	4.7	4.2
色 氨 酸	1.3	1.5	0.5	0.9	2.3	0.8	0.6	—
总 计	40.6	38.7	29.8	30.6	37.9	37.6	40.2	—

* 用柴油作原料,经正己烷洗净的制品

** 用正构烃作原料,经水洗脱的制品

学组成,分别列于表1和表2。另外英国一株酵母菌体蛋白的氨基酸组成与日本用纸浆废液生产的酵母菌体蛋白组成相比较列于表3。表4列出了以往资料发表的有关必需氨基酸的比较表。

从上列这些表中可以看出,石油酵母与一般用纸浆废液培养的酵母相比,在化学组成方面并不逊色,相反在赖氨酸等含量方面还比较高。

据Chepigo报道,苏联已用石油蛋白来饲养了数代的猪、羊、鸡、鸭、马、猿等,从精制的液态烷烃培养得到的菌体蛋白中,还残存0.2~0.7的烃类,这些烃类已完全没有毒性,这与用糖蜜等碳水化合物生产的菌体蛋白相比,在饲养效果方面没有什么不同。完全没有发现致癌性及致白血症等的毒性。

并据国家机关的确认,在饲料中添加10~15%石油蛋白是安全的。还报道,用1吨石油蛋白来饲养猪的话,能增加体重0.45吨,饲养鸡的话,能增重1.5吨。但对以原油作原料或兼做柴油脱蜡,而得到的菌体来饲养动物时,据说现在还需要慎重考虑。

从作者发表的文章来看,细菌菌体蛋白在蛋白质含量、氨基酸组成等方面都是很好的,但与酵母相比,它的分离是困难的。而从Guenther实验结果看来,把细菌作为石油蛋白的目标,还是应该考虑的。

用正构烃培养的酵母或细菌的蛋白中,即使有残存烃类,但它完全没有毒性,是安全的。相反,当有重量的0.05%的单环或多环芳烃存在时,就显著地阻害了动物的发育。因此即使不存在致癌性的杂环芳烃化合物,用

它作为饲料还是不适合的。由柴油制备的菌体也存在这一危险性,在这方面,希望能用己烷等溶剂进行洗脱,使之制品化。Guenther把用柴油和正构烃作原料得到的菌体蛋白毒性作了比较,结果如表5所列。

表5 柴油细菌蛋白的毒性

原 料	含正构烃重量(%)	菌体产率	生物营养值*
Lirik 柴油	60	59	50
Slack 蜡	76	97	53
正十六烷	100	105	76

* $\frac{\text{体内贮存 } N}{\text{体内吸收 } N} \times 100$

表6 正构烃的无毒性

酪素中含烃量 (%)	以100%酪素饲养老鼠的发育情况	
	Lirik 柴油残渣	分子筛得正构烃
0	100	100
1	77.5	103
3	75.0	100
5	61.9	104
7	—	94
10	—	103

表6是用十只老鼠作为一组,以酪素来饲养,在酪素中加入不同量的正构烃和柴油,看它对鼠发育的影响。从表中可以看出,在酪素中加入10%正构烃对鼠发育没影响,而加入1%柴油时,已经阻碍了老鼠的发育。该种Lirik柴油组成:正构烃31.4%,环烃19.2%,芳香烃49.4%。正构烃是用分子筛制得。

讨 论

以正构烃制造单细胞蛋白,蛋白质含量很高,氨基酸组成良好,不需要特殊的生长因子,而且生长速率高的菌体如能很好分离的话,那从实验室角度来看,这已是成功的。但是要从工业化角度来考虑时,必然会出现许多必须解决的问题,但如使用酵母的话,似乎不存在什么大问题。例如,用烃类作原料发酵时产生的热量比碳水化合物发酵时产生的

热量要大得多(碳水化合物的燃烧热:37.3千卡/100克,烃类:1143千卡/100克)。Ohepigo认为,应当筛选适应40°C的酵母,这样可以部分地解决发酵热的问题。

利用正构烃生产细菌蛋白时,与酵母相比,更有一些问题要考虑。首先,细菌生长速率大,在单位时间中给予的氧气也要多,因而有必要测定通气量和发酵时间对菌体收率的影响。Guenther等用*Micrococcus*菌进行实验,测出氧气吸收速度系数 $K_d=3.5\sim7.0$ (毫克分子氧气/升/分),表7是实验结果。

表7 培养时间和氧气的消耗

逗留时间 (小时)	细胞干重 十六烷消耗量(%)	氧气消耗(磅) 干细胞(磅)	产生CO ₂ (磅) 干细胞(磅)
4	113	1.27	0.97
2	130	0.89	0.62

从上表看出,在间歇培养或连续培养时,培养时间或逗留时间如果是2小时,那末与4小时相比,既增加菌体收率,又能节约40%以上氧气和降低50%左右的发生热。

另外,当烃类浓度低时尚可设法提高菌体收率,但浓度从低到高的时候,培养越发困难。如表8所示。当正十六烷浓度是2%时,用空气通风,就感到氧气不足,但是导入氧气后,就能恢复正常收率。培养条件与表7相同。

表8 烃类浓度和氧气要求

正十六烷浓度 (克/升)	氧气来源	菌体重量 十六烷转化量(%)	正十六烷 转化(%)
9.3	空气	114	96
10.9	氧气	120	91
19.1	空气	112	73
19.1	氧气	113	85

用细菌进行发酵碰到的第二个问题是菌体分离问题。用上述酵母离心方法来分离细菌,则是相当困难的。因而考虑在发酵终了时,加入凝集性菌使之沉降的方法。当然,如发酵液加热,也可使菌体能凝固下来,但从成

(下转第31页)

中国人民有志气,有能力,一定要在不远的将来,赶上和超过世界先进水平。

毛泽东

石油化学工业产品的微生物利用

序 言

近年来,由于气体色层分析及其它技术的应用,生物体中或食品中的微量成分已被陆续查明。还发现了各种生物产物或经过二次变化生成的物质,例如脂肪族碳氢化合物、醇类、羰基化合物,似乎其中很多物质与生物没有太大关系。

另外也知道这样一些情况:和生物似乎没有关系的物质,例如甲醛,置于碱性条件下反应时,可制成单糖类的混合物甲醛聚糖(Formose),然后把尿素加到甲醛聚糖中并加热,则能产生约十种氨基酸;将氰酸的氨溶液加热,可形成核酸的碱基成分腺嘌呤。

这样,与生物似乎没有关系的物质可由各种生物制造出来,而存在于生物体中的物质也可以很便当地从与生物似乎没有关系的物质中制出。

此外,目前由于有机合成化学及其它学科的发展,无数的有机化合物由石油和其它东西合成,可是其中大部分物质似乎是与生物没有关系的。然而,如上所述,与生物似乎没有关系的物质实际上也能够由生物制造出来;此外,以为只有人类智慧才能合成的物质在地球内部的高压、高温作用下,也存在着被合成的可能性(尽管其量是少的)。这样看来,

从远古的时候起,微生物就生活在这些似乎与生物没有关系的种种有机化合物中,就和这些物质发生各种代谢作用。因此,我们认为能够将微生物的潜在能力发掘出来,为我们利用。

最近,由于石油化学的进展,低分子的各种醇类和有机酸等已可从石油中廉价地生产出来。这些化合物中很多是易溶于水的;此外能够对各种化合物起作用的微生物种类也是很多的。在对石油成分中的链状饱和烃进行代谢作用时,大都是先分解产生乙酰辅酶A,再受各种微生物代谢作用,成为发酵产物。若以各种不同的低分子醇类及有机酸类为原料,使微生物作用时,这些物质一般受到氧化作用等简单变化之后,便可进行碳与碳的缩合反应,再进一步变化。也可看到这样可能性:根据醇及有机酸的种类、微生物种类的不同,可发生各种特异的缩合反应,从而可得到特殊的产物。

生物进行碳与碳的缩合反应,很多是活性亚甲基化合物和羰基化合物的反应以及羰基化合物彼此之间的反应等。因此,我们以下介绍关于和生物化学反应有关系的活性亚甲基和羰基的有机化学反应;在微生物中的碳与碳的缩合反应;有关醇类特别是乙二醇的氧化;用微生物来利用醇类及有机酸的研

究成果。

与生物合成有关的碳和碳的缩合反应

把甘氨酸的水溶液和碱性碳酸铜放到一起加热, 可得到甘氨酸的铜盐。由于甘氨酸变成甘氨酸铜盐, 甲基就有更大活性, 另一方面氨基可被保护而不起反应。这个物质和乙醛的缩合反应, 在 50~70°C、弱碱条件下进行 1, 2 个小时, 便可以获得 64% 产量的苏氨酸和别苏氨酸(18:1)的混合物(图 1)。

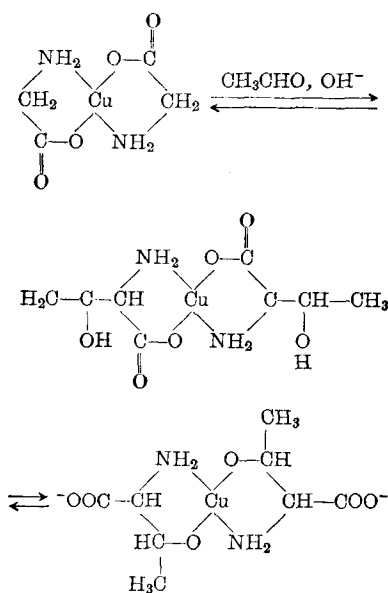


图 1

这个反应是 1957 年由赤堀等人所发现的, 表明苏氨酸生物合成的机制。这个反应也被用为苏氨酸的工业生产。与上述研究报告发表的同年, Gilbert 根据老鼠肝脏的酶样品, 发现由于苏氨酸醛缩酶的作用, 可从乙醛和甘氨酸制成别苏氨酸和苏氨酸的混合物。这个反应在动物中不一定是正常的代谢, 可是在微生物中, 特别在酵母中, 因为乙醛是正常的代谢产物, 所以认为它是重要的代谢。Benoiton 等把赤堀等的这个反应加以发展, 他们发现: 以铜甘氨酸和丙酮酸为原料, 可生成 β -羟- β -甲基天冬酰胺。此外, 赤堀等进一

步发现了在少量铜离子触媒下, 把甘氨酸和甲醛在有碳酸钠的存在下加热到 100°C, 可以合成外消旋的丝氨酸。还发现在这反应中倘有稍多的铜离子存在时, 因为另一个分子的甲醛起作用而产生 α -羟甲基-丝氨酸。大谷等人则进一步揭示了 α -氨基- β -羟酸的一般合成法(图 2), 将那些反应整理起来, 如表 1。

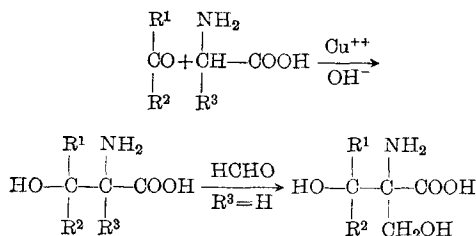


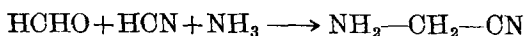
图 2

表 1 由于 α -氨基酸和羰基化合物的缩合而生成 β -羟氨基酸

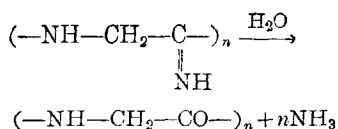
α -氨基酸	羰基化合物	β -羟氨基酸
甘氨酸	甲 醛	丝氨酸
甘氨酸	甲 醛	α -羟甲基丝氨酸
丙氨酸	甲 醛	α -甲基丝氨酸
丁氨酸	甲 醛	α -乙基丝氨酸
丝氨酸	甲 醛	α -羟甲基丝氨酸
甘氨酸	乙 醛	苏氨酸, 别苏氨酸
甘氨酸	异 丁 醛	β -羟亮氨酸
甘氨酸*	乙 醛	β -羟天冬酰胺
甘氨酸	对硝基苯甲醛	β -硝基苯丝氨酸
甘氨酸	丙 酮 酸	β -羟- β -甲基天冬酰胺

* 如后所述, 这个反应也能由 *Micrococcus denitrificans* 的酶实现。

赤堀等人还根据他们的反应, 试图说明天然蛋白质的起源。即认为天然蛋白质不是由各种氨基酸直接缩合而成, 乃是多甘氨酸的侧链上, 按上述的反应结合起来。首先, 以这样的反应



产生氨基腈, 再下面的步骤是: 氨基腈聚合, 加入水, 生成多甘氨酸。在多甘氨酸的活性亚甲基中各种羰基化合物按照如下的反应结合起来而成为蛋白质。



由微生物作用所发生的 碳与碳的缩合反应

利用微生物把各种有机化合物变为有用的物质时，有的象从反丁烯二酸产生天冬酰胺那样，单单利用一个酶反应，可是很多情况是加进一系列的反应，例如将碳链切断，结合成新的碳链，进而使氨基酸与其连接进行氧化等反应而变成有用的物质。考虑到今后以各种有机化合物为材料的微生物利用时，不能依赖于以葡萄糖为中心的代谢酶系，而应在特殊的微生物中寻找，现在还没有预期到的那类新的酶系，利用这些酶系而得到各种产物，自然是很重要的。碳和碳的新的缩合反应、裂解反应，今后大概可以陆续发现，在这里举出几种在微生物中的缩合反应。

1. 关于乙醛酸和甘氨酸的缩合反应

2 分子乙醛酸的缩合酶可在以乙二醇为唯一碳源的大肠杆菌(*E. coli*)中找到，缩合物甘油醛酸(tartronic acid semialdehyde)进一步变化而变成甘油酮酸(图3)。乙醛酸和甘氨酸的缩合反应在 *Micrococcus denitrificans* 中发现(图4)，此外，2 分子甘氨酸缩合在 *Arthrobacter globiformis* 中发现(图5)，各得到了3 碳或4 碳的化合物。已知甘氨酸和乙醛能够产生苏氨酸；甘氨酸和琥珀酰辅酶A能够产生 δ -氨基乙酰丙酸，该化合物继续变成卟啉。还有，异柠檬酸被分解成为乙醛酸和琥珀酸的反应是可逆反应。

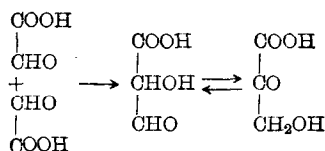


图 3

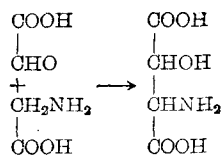


图 4

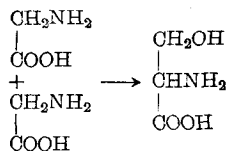


图 5

乙醛酸循环中的重要反应乙醛和乙酰辅酶A的缩合反应(图6)是 Wong 和 Ajl 最初在 *E. coli* 中找到的，后来知道它在各种微生物中广泛分布，接着在以丙酸、丁酸、戊酸为唯一碳源培养的 *E. coli* 中，发现各种有机酸的辅酶A和乙酰起缩合反应(图7~9)，由于特殊的酶作用而得到各种产物。

α -羟戊二酸合成酶在以葡萄糖、琥珀酸、乳酸、醋酸培养时不能产生，而在以丙酸、丁

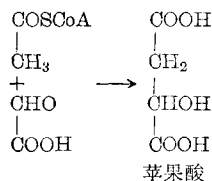


图 6

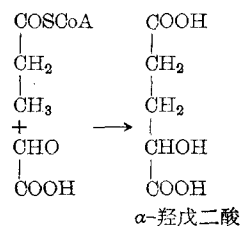


图 7

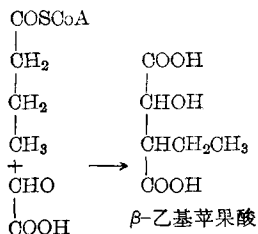


图 8

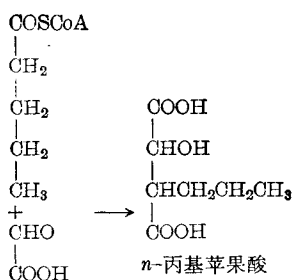


图 9

酸、戊酸、己酸培养时能够产生。特别是以戊酸培养时， α -羟-戊二酸合成酶产生得非常多。这是因为以戊酸作为碳源培养时产生了能生成 α -羟戊二酸合成酶的变异株，象这样产生的变异株 E26U 即使在葡萄糖培养基上生长，也能生成上述的酶。与此相反，苹果酸酶原来是亲株也能制造的。

最近分离出能以 β -甲基苹果酸为唯一碳源的菌，但是值得注意的是这种菌不能利用葡萄糖，由于没有三羧酸(TCA)循环的弱氧化醋酸杆菌(*Acetobacter suboxydans*)的作用，乙醛酸和乙二酸缩合成为草酰苹果酸。草酰苹果酸经脱羧作用而成为 α -羟- γ -酮戊二酸，再进而成谷氨酸(图 10)。在黑曲霉(*Asp. niger*)方面，乙醛酸和 α -酮戊二酸缩合，可以形成 α -酮- β -羟己二酸(图 11)。

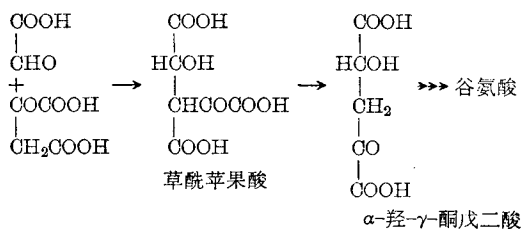


图 10

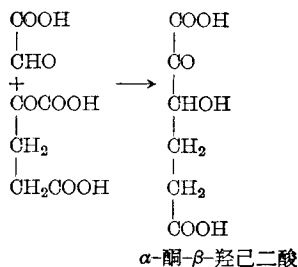


图 11

2. 关于乙酰辅酶 A(乙酰 CoA)的缩合反应

乙酰辅酶 A 和草酰乙酸的缩合反应是形成柠檬酸的反应，是三羧酸循环的重要反应。另外，如前所述，乙酰辅酶 A 和乙醛酸可形成苹果酸。还有，柠檬酸分解为醋酸和草酰乙酸的反应是可逆反应。并且知道，乙酰辅酶 A 和乙酰乙酸辅酶 A 的缩合反应(图 12)是由于酵母抽提液作用的酶反应，但这个生成物变成 3,5-二羟-3-甲基戊酸(mevalonic acid)，再进而产生胆甾醇等物。

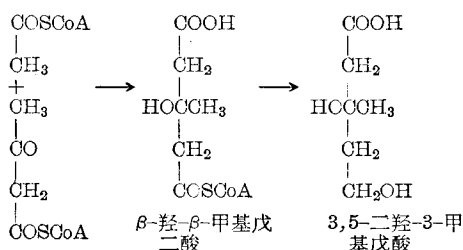


图 12

酵母抽提液用乙酰辅酶 A 和 α -酮异戊酸的缩合反应制成 α -异丙基苹果酸。进一步被脱水而成异丙基丁二烯二酸，继续变化而成亮氨酸(图 13)。若不用 α -酮异戊酸，而用 α -酮戊二酸则由同样的反应，或许可生成赖氨酸。

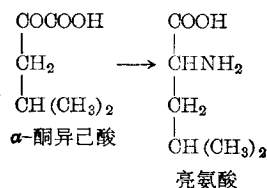
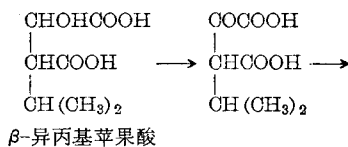
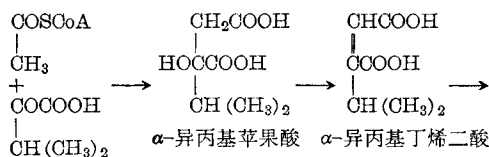


图 13

产生柠草酸(图 15)。柠草酸继续变化而成为谷氨酸。

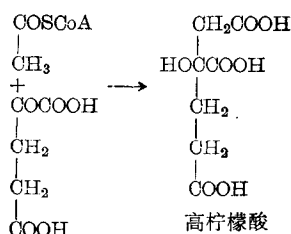


图 14

Strassman 等用面包酵母的抽提液来促成乙酰辅酶 A 和 α -酮酸的缩合反应。除上述的反应以外,如乙酰辅酶 A 和 α -丁酮酸缩合的话,可生成 α -乙基苹果酸,而乙酰辅酶 A 和 α -酮戊酸缩合的话,则可生成 α -(n-丙基)苹果酸。图 16 表明这种变化的一般方式。也已知道 2 分子乙酰辅酶 A 缩合可形成乙酰乙酸钠辅酶 A 的反应(图 17),以及乙酰辅酶 A 和丙酰辅酶 A 缩合可形成奇数脂肪酸的反应。

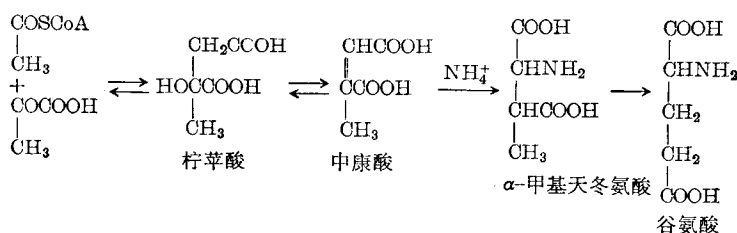


图 15

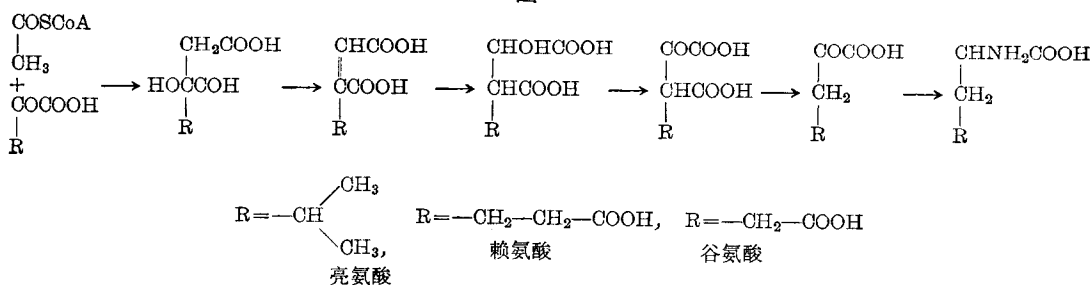


图 16

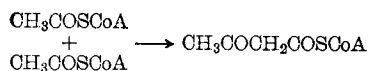


图 17

3. 关于丙酮酸、乙醛的缩合反应

(TPP) 由于醛缩酶 (carboligase) 的作用而缩合成 α -乙酰乳酸, 随后成为乙酰甲基甲醇 (图 18)。另一方面知道, 酵母等只利用乙醛产生乙酰甲基甲醇, 这时的缩合反应是在乙醛与乙醛·硫胺素焦磷酸中间发生的, 不经过 α -乙酰乳酸而成为乙酰甲基甲醇 (图 19)。由于乙醛和丙酮酸的缩合反应而生成的 α -乙酰乳酸, 发生烷基转位而变为 α -酮异戊酸, 进而变成缬氨酸。同样也可在 *Torulopsis*