

我国台湾微生物技术若干方面的发展

罗明典

(中国科学院微生物研究所)

台湾是我国的宝岛,自然资源丰富,岛内已建立十几个生物科学及其有关的研究机构,开展生物科学研究有较好的基础,科学工作者很重视应用开发工作。这些年来,微生物资源的开发研究在若干方面取得了一些成就,现就所掌握的资料介绍如下。

(一) 有机酸

有机酸除用作食品添加剂外,在医药、化妆品以及工业等部门有多方面用途,台湾除柠檬酸、醋酸尚能自行生产外,其余的多依赖进口(表1)。柠檬酸年产量自给自足,要开辟外销也不容易。乳酸除作为饮料、食品添加剂外,还用于皮革工业、纤维工业和树脂制造业。为开发新的原料来源和保护环境,还充分利用糖类和农产品废弃物为原料发酵生产乳酸,其产率较高,可达90%,有可能在乳酸发酵生产方面形成优势。

表1 1977—1978年有机酸进口情况

有机酸种类	进口量(公斤)	金额(新台币,元)
乳酸	22,202	2,241,000
甲酸	1,270,194	18,442,834
苹果酸	121,500	4,649,177
丙酸	60,125	1,510,747
草酸	357,480	9,350,000
柠檬酸	14,000	—

(二) 氨基酸

台湾在氨基酸发酵生产方面有较好的基础,60年代氨基酸(味精)仅年产1,836吨,1984年产量已达到5.9万吨,为世界出口量最多的地区之一,由原来的年出口78吨至目前2.65万吨。为发展牲畜养殖业还生产饲料级赖氨酸,年产量420吨,供不应求,尚需进口。

(三) 酒精

随着石油化能有衰竭之势,酒精以再生性农产品为原料可大规模生产的问题,再次提到日程上来。它不仅在能源上是个重要补充,而且成为石化工业的基本原料之一。台湾十分重视以农副业废弃物为原料发酵生产酒精,如台糖公司以糖蜜为原料发酵生产酒精供应岛内市场。还设想更经济、更有效地将纤维素水解或者糖化,进而发酵生产酒精,这样,完全有可能取代酒精的化学合成途径,这是岛内能源研究的一个方向。

(四) 抗生素

台湾的生产能力不大,有一家公司(氰胺公司)能够自行发酵合成四环素,还发酵生产金霉素,两项产品年产量50吨。对头孢菌素C发酵生产也进行了研究,以稻米为原料,采用顶头孢(*Cephalosporium acremonium*) M 8650-R-3为生产菌,固态发酵生产,发酵七天,产量可达6420 $\mu\text{g/g}$ 基质,最高可达11000 $\mu\text{g/g}$ 。

实验证明工业化生产是可行的。除上述的以外,大都进口中间体原料经化学方法生产半合成抗生素。同时也进行一些抗生素生产的基础研究如“新抗”的筛选,台湾大学科研工作者从亚藏抑病土壤中获得一株新的芽孢杆菌(*Bacillus* sp.),它具有抑制许多植物病原菌的生长能力,从培养液所获抽提物的抗菌活性比400 $\mu\text{g/ml}$ 的放线菌酮或200 $\mu\text{g/ml}$ 的制霉菌素还要高。这种抗生物物质热稳定性高,100 $^{\circ}\text{C}$ 10分钟,其活性不变,30分钟,其活性降低28%。最近报道,美籍台湾科学工作者(陈良博)与大陆科学工作者在美国获得一种新的抗癌药物,叫若丹明(rhodamin),对小儿血癌、睾丸癌、乳腺癌、胃癌、大肠癌的疗效显著。尽管台湾对抗生素生产及其基础研究取得一些成果,但发酵生产抗生素先天不足,〈1〉制造抗生素的中间原料依赖于国外进口;〈2〉国内市场小;〈3〉制造原料中间体的技术有求于国外。

(五) 维生素

台湾对维生素的需求主要靠进口(表2)。进口的(如维生素E等)大都作为饲料添加剂或食品抗氧化剂。也能发酵生产维生素B₂、B₁₂、D、C。如有一家工厂曾用Reichstein工艺生产维生素C,因产率低宣告停工;另一家工厂试图用微生物直接将L-山梨糖转化成维生素C,在实验室里的效果不错,可是放大实验未获成功。因此,目前维生素的发酵生产还处于停滞状态。没有一家生产维生素的工厂。

(六) 酶制剂

据估计,1985年全世界生产价值6亿美元的7.5万吨酶制剂,其中80%是水解酶。台湾生产的工业用酶很少,主要是菠萝蛋白酶和尿激酶,这两种酶又均以外销为主,蛋白酶(皮革用)年产量1800吨,80%外销, α -半乳糖苷酶为0.5吨/年,碱性蛋白酶为1吨/年, α -淀粉酶每年生产1000吨。台湾大学科研工作者从土壤中分离了一株地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*) B7,

表2 1977—1978年台湾维生素进口情况

维生素种类	数量(公斤)	金额(新台币元)	维生素种类	数量(公斤)	金额(新台币元)
维生素A	60,904	26,496,000	叶酸	848	2,519,000
B ₁	25,838	19,373,000	叶酸C	104,108	31,103,750
B ₂	27,214	30,121,000	叶酸E	146,994	39,333,000
B ₆	7,970	7,327,000	生物素	1,476	4,996,000
B ₁₂	43,002	8,511,000	生物素K	2,405	1,067,000
维生素B复合物	8,284	2,190,000	烟碱酸	27,112	4,306,000
泛酸	200	429,000			

能产生稳定性高的高温 α -淀粉酶,最适温度 90℃,最适 pH 为 9,这种耐高温淀粉酶用于酒精生产可取代盐酸,不仅可提高酒精品质,而且还可节省人力和能源。中兴大学还开展了野油菜黄单胞菌稻米变种 (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) 的麦芽糖酶和 β -半乳糖苷酶的研究,大同工学院用酶法生产环状糊精,国立阳明医学院对绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 产生的卵磷脂酶及其活性进行了研究,高雄医学院对具破坏血管弹力蛋白 (elastin) 的绿脓杆菌进行了研究,发现血管之破裂、内脏之出血是该菌产生一种弹力蛋白酶 (elastase) 分解血管弹力蛋白而引起的。台湾大学科学工作者从土壤中还分离一株分解纤维素的纤维单胞菌 (*Cellulomonas* sp.), 分泌的酶所显示的活性不亚于李氏木霉 (*Trichoderma reesei*)。总之,这些基础研究的成果为开发新酶源、扩大酶的应用提供了可能。

(七) 拮抗微生物的利用

台湾科学工作者把某些具有拮抗作用的有益微生物用于食品工业产生良好效果。利用三种细菌即噬柠檬明串珠菌 (*Leuconostoc citrovorum*)、胚芽乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*)、双乙酰乳酸链球菌 (*Streptococcus diacetylactis*) 不仅能使食品产生香气,改良香味,促进成熟,而且对杂菌的污染有防止或抑制作用。特别是双乙酰乳酸链球菌能利用柠檬酸生成特殊风味物质,并产生丁二酮对腐败菌、病原菌及其他有害细菌均有明显的抑制效果。这是由于上述这些乳酸细菌能产生抗生物质如宁素 (nisin) 抑制有害细菌的增殖。或者由于这些细菌产生过氧化氢对杂菌产生抑制作用,或者由于这些细菌在营养环境中占优势而具有强的竞争力,或者由于这些细菌的产酸力而降低 pH 值使有害细菌难以生存。值得注意的是 starter culture 拮抗活性在食品工业上得到有效利用,实质上这是为制造发酵食品所添加的有益纯培养微生物的利用,其作用在于避免杂菌污染,确保发酵食品品质(如香肠风味、组织、色泽),减少腐败率,并提高其安全性,在发酵香肠方面有所应用。

(八) 生物共生固氮

共生固氮的第一步是细菌侵染性问题,台大农化

研究所科研工作者研究了酸性环境对大豆根瘤菌外多糖的吸附、对大豆根毛的影响。中兴大学陈伯中等从台湾水稻田分离到项圈藻 (*Anabaena* sp. ch1 和 ch2) 均有良好固氮效果。光照时,能量来源系光合作用(80%)和呼吸作用(20%),黑暗时,呼吸作用可供固氮作用所需要能源,可达光照时 50% 的固氮活性。项圈藻 ch2 营养细胞内的异柠檬酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶活性较 ch1 为高。而 ch1 的异形细胞所含的另两种酶即磷酸葡萄糖异构酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性比 ch2 的要高。他们还发现解偶剂 CCCP 对项圈藻 ch1、ch2 的生长和光合作用及固氮酶活性均产生抑制作用。

(九) 饲料蛋白

台湾大学科学工作者与法国科学工作者采用固体发酵法,接种白色木霉 (*Trichoderma album*) 分生孢子强化甜菜渣蛋白质含量,孢子生成最佳条件是, C/N 比值介于 4—7, pH = 5; 强化甜菜渣蛋白质含量的最适最初水分分为 76%, pH = 4.5, 添加 1% 的氮, 28℃ 发酵四天, 获得蛋白质产物含量为 22%, 经简单干燥后,即可供动物饲料之用。

(十) 基因工程研究

基因工程技术在台湾引起了注意,中兴大学建立了遗传工程中心,开展基因工程的基础研究工作。如汪智等对菊欧文氏菌 (*Erwinia chrysanthemi*) 的转化研究,利用大肠杆菌质体 (pMB 9、pBR 322) 转化菊欧文氏菌感受态细胞,其转化率分别为 1.5×10^{-7} 及 4.5×10^{-7} , 转化效果与 *rec⁻* 大肠杆菌相比分别约低 1/60 和 1/80, 这种用于转化的质体在含有抗生素的培养基中能稳定地存在于细胞之中。所构建的两个重组质体 pEC1 和 pEC6 (分别含有 pBR 322, 2.4×10^6 道尔顿和菊欧文氏菌染色体 DNA, 3.5×10^6 道尔顿) 转化 *E. chrysanthemi* 的频率与 pBR 322 的转化频率相近,而且相当稳定。证明 pBR 322 和 *E. chrysanthemi* 可以作为载体寄主的分子克隆系统。台湾大学和中央研究院有关单位还着重研究了抗药性质粒 (RP 4) 对植物致病菌的转化及其与致病力关系,发现 RP4 通过接合作用可以从大肠杆菌转入植物致病菌如蕃茄青枯菌 (*Pseudomonas solanacearum*)、水稻白叶枯

(下转第 225 页)

(上接第 239 页)

病菌、蔬菜黑腐病菌以及柑桔溃疡病菌等,转化频率分别为 1.8×10^{-6} 、 2×10^{-3} 和 1.4×10^{-2} 。受体菌获得

RP4 这种抗药性质粒后,尽管使致病力稍有减弱,但是否与 RP4 的作用有关,需要作进一步研究。