

全民办化学工业参考資料

# 畜用抗菌素的生产与应用

土霉素（地霉素）、金霉素

1958年9月河北省畜用抗菌素生產經驗現場交流會議資料

化学工业出版社

## 目 录

|                                |                         |
|--------------------------------|-------------------------|
| 一、序 言 .....                    | (2)                     |
| 二、畜用土霉素生产技术资料 .....            | 天津市化学原料制药厂(3)           |
| 三、畜用土霉素的制造方法 .....             | 中国医学科学院抗生素系(15)         |
| 四、畜用土霉素简单化验方法 .....            | 天津市化学原料制药厂(19)          |
| 五、畜用土霉素喂猪效果试验 .....            | 北京市地方国营清河农场(23)         |
| 六、畜用抗菌素喂猪比较实验 .....            | 中央农业科学院畜牧研究所(28)        |
| 七、怎样生产金霉素饲料喂幼猪 .....           | 河北省农林厅畜牧兽医局(35)         |
| 八、农业和食品工业用抗菌素的生产工艺<br>.....    | 〔捷克〕M. 盖罗尔特, E. 伯里克(46) |
| 九、张家口专区推广“粗制金霉素”的经验介绍<br>..... | 张家口专区畜牧兽医局(52)          |
| 十、畜用土霉素建厂设计简要说明 .....          | 天津市化学原料制药厂(55)          |

## 序 言

抗菌素的应用范围日益广泛，不仅可以防治人的疾病，亦可用于牲畜、农业和食品工业等。用于牲畜，可以治疗疾病并能促进牲畜的发育增长；用于农作物，可以减少病害和促进生长，增加产量；用于食品，可以防腐。因此抗菌素在保证人民的健康和国民经济的发展上，具有很大的作用。

今年五月間，化学工业部在召开全国医药工业会议上曾提出，今后要发展畜用抗菌素。六月，化工部河北省工作组与前河北省第二工业厅，在天津市化工局、制药公司的大力支持下，指定了天津市化学原料制药厂作为試驗田，建立一个畜用抗菌素的示范性車間，用簡易方法(固体发酵)生产土霉素。該厂接受任务后，职工积极性很高，三天設計，十五天即建成。八月正式投入生产。在生产过程中，創造了不少先进經驗，主要的有菌种連續接种、堆积培养、有菌情况下发酵和比色檢驗等。由于生产方法的改进，簡化了設備和操作手續，使工人容易掌握，适于广大农村生产。为了将土霉素的生产和使用在河北全省遍地开花，河北省化学石油工业局、农林厅、商业厅三个部門，于九月廿一、廿二日在天津市召开了一个“畜用抗菌素生产經驗现场交流会”，会上除由天津市化学原料制药厂介紹該厂經驗外，张家口专区代表也介紹了該专区如何推广畜用金霉素。另外中国医学院抗生素系和中国农业科学院畜牧研究所，也分別派研究員作了有关土、金霉素的研究和使用效果报告。會議的收获是很大的。

为了更广泛的交流經驗，使畜用抗菌素在广大农村普遍生产和应用来促进畜牧业的大发展，特将会議有关資料加以彙編付印，供生产和使用单位参考。

河北省畜用抗菌素生产經驗现场交流会

一九五八年九月廿五日

# 畜用土霉素生产技术资料

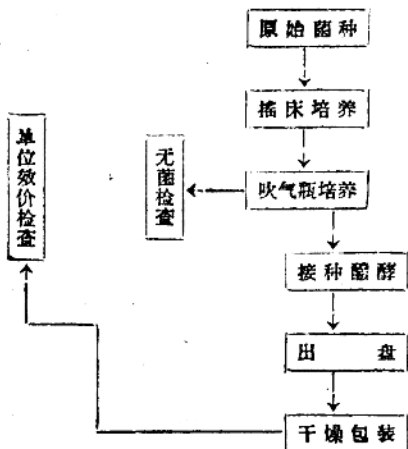
天津市化学原料制药厂

## 畜用土霉素在农业牧畜业上的重大意义

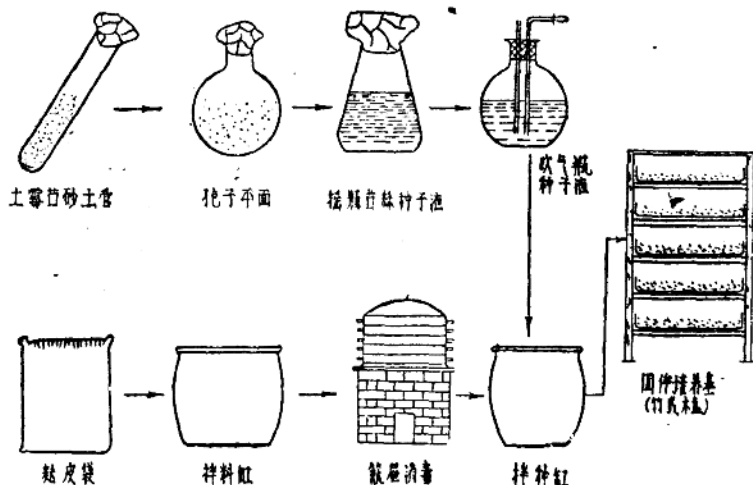
用土法生产畜用土霉素掺入饲料中喂猪及家禽，能更好地促进仔猪发育和成长，提高仔猪重量，同时在预防疾病方面不管对仔猪、幼猪和成猪都有显著效果，一般仔猪随饲料掺入畜用土霉素以纯品计2~3公分，在90天内可增重15~40%，如果以1000万头猪加喂畜用土霉素，每头按50公斤增重20%计算，全年可增重10000吨，如全部出口可换回外汇1亿元，因此以畜用土霉素喂猪催肥，在农业大跃进中对发展我国畜牧事业及在农业技术革命方面均具有极其重要的意义。

## 制造工艺过程

工艺过程分为菌种配料、发酵、检定、干燥五个步骤，今归纳如下：



## 菌用土霉素操作流程圖



### 一、种子培养

柯氏瓶培养：取砂土管菌种以无菌操作接种入柯氏瓶固体培养基中于 $37^{\circ}\text{C}$  恒温箱內培养7~10、13~15天，土霉素 *S. rimosus* 孢子为灰白色。柯氏瓶固体培养基处方：

麦麸残片                      5%                      洋菜(琼脂)2~3%

以上分别定量混合，加压15磅蒸气灭菌30分钟，冷却成平面，送入 $37^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中培养3日，无杂菌生长即可应用。

孢子培养注意事项：

1. 柯氏瓶及試管应洗刷洁净控干方合于使用；

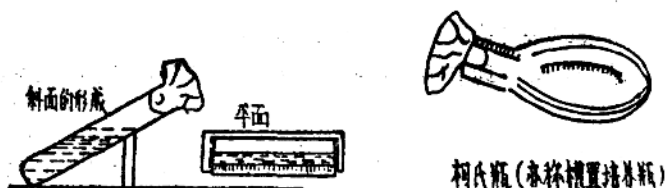
2. 所用棉塞应掌握松紧适宜并保持清洁；

3. 柯氏瓶及試管，吸管，双碟（培养皿）使用前需經干热 $160^{\circ}\text{C}$  二小时灭菌，冷却后方可使用，暂时不用可保存白鉄盒內，盖好。

#### 4. 平面及斜面培养基的制备:

(1) 斜面用50毫升試管，装入固定量的培养基，距离棉塞要1.5至2厘米如图。

斜面的形成：(亦称横置培养瓶)加紗布棉塞后干热灭菌备用。



(2) 柯氏瓶培养基不可有膠过凸处，亦不可有膠粘于塞上及面上。

5. 灭菌时间以压力上升到15磅后放到0，再上升至15磅（1.06公斤）灭菌30分钟，应严格掌握灭菌罐的压力及时间。

6. 配料时一切原材料及牌号不可随意变更，必要时通过技术负责人同意后得变更(必要时需经过化验或试验后再决定)应由配料人严格掌握。

7. 平面或斜面制得后放于 $37^{\circ}\text{C}$ ±培养3天經检查无杂菌合格者存于白鉄盒內盖好，保存于干冷处备用，勿暴露于空气不洁之处。

#### 8. 无菌室及无菌箱之灭菌法:

无菌室每周用甲醛蒸气或石碳酸灭菌一至二次。每日在用前1小时开紫外綫灯管30分钟，进行室内灭菌。

无菌箱內每用完后用酒精紗布擦净，以甲醛蒸气灭菌（每次用甲醛15~10克）12~16小时，如保持清洁时可縮短时间，以无菌检查为依据。

9. 接种时无菌箱需先用氨水中和至无氨臭亦无甲醛臭为止。如有則对菌种的发育有影响，或完全被杀死。

10. 接种时使用之白金耳需經火焰随时灭菌，注意冷却后再

用，以免将菌种烫死。

11. 接种量，每柯氏瓶用白金耳点砂土勺（白金耳需粘以柯氏瓶上的无菌水）先划三条直线再划横线使之均匀，操作需在酒精灯的火焰上边进行，以防杂菌侵入，将塞再由火焰灭菌后塞好培养。

12. 培养：培养箱的温度应特别注意，（保持  $37^{\circ}\text{C}$  士）应有专人负责并每隔二小时检查一次，记录其温度。

13. 培养时如发现有杂菌，应及时提出研究找出原因加强操作控制。

14. 保存：将培养成熟之孢子，取出放于洁净、冷暗、干燥处保存之（温度  $0\sim5^{\circ}\text{C}$ ）。

## 二、搖瓶培养

1. 一级种子培养：取种子培养基分装于 500 毫升锥形瓶中，（每瓶 50 毫升）瓶口扎紧纱布，以 15 磅压力加压灭菌 30 分钟，冷却后接种，于  $28\sim30^{\circ}\text{C}$  恒温室内振荡培养 48 小时，种子成熟后冷藏备用。

种子培养基成分：

|     |       |     |       |    |      |
|-----|-------|-----|-------|----|------|
| 玉米浆 | 0.5%； | 淀粉  | 3%；   | 食盐 | 0.5% |
| 碳酸钙 | 0.5%； | 硫酸镁 | 0.4%。 |    |      |

2. 吹瓶及三角瓶液体培养基注意事项：

（1）将瓶子洗净、控干，用 8 层纱布作成塞子，用纸包好灭菌。

（2）灭菌后如果塞子湿，可预先用无菌纱布将湿纱布换下，否则湿塞易染杂菌。

（3）接种时应保持，避免杂菌感染。

（4）接种量每 120 毫升（一个 1000 毫升三角瓶）接种孢子 2 厘米<sup>2</sup> 为宜。（以白金耳直接接入）

（5）摇床温度  $28\sim30^{\circ}\text{C}$ ，每二小时检查一次，并作记录。摇床马达每二日加油一次，其他零件机器零件也应经常加油。

(6) 每隔10~20小时检查菌絲形态、pH, 并作出记录。

(7) 保存方法同吹瓶一样。

(8) 搖床振距(幅)为10厘米单程振动1000次。

### 三、吹瓶培养

种子培养基配制后盛入10立升圆底烧瓶内, 以15磅蒸汽灭菌40分钟, 冷却后接种, 以  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  培养28小时, 不断吹入无菌空气, 经过以下检查鉴定。

(1) 菌絲形态及菌絲量。(2) pH。(3) 无菌检查。

吹瓶培养基:

(1) 加压灭菌时压力上升到15磅后放冷空气, 然后再上升至15磅, 自此时起以40分钟为度。

(2) 吹瓶塞可用胶塞, 通气管道需灭菌。

(3) 接种时应严格防止杂菌侵入。

(4) 吹瓶与吹气管道进行連結时应以火焰封着管口, 以防止杂菌侵入。

(5) 保温  $28^\circ\text{C}$  士, 避光, 每分钟应通入相当体积的气体。

(6) 如泡沫大时可以加0.2~0.5%米糠油(已灭菌者)以防止泡沫过多(加油量以少为宜, 多则影响发育)。

(7) 检查: 每隔6~12小时检查 pH及菌絲的形态, 至分节后取下保存备用。

(8) 保存于冷暗干燥处, 塞上盖以升汞紗布, 以防杂菌侵入。

(9) 接种量: 以一級培养液扩大10倍, (处方不变)接入10立升吹瓶或罐内。

### 四、配料灭菌

1. 配料比例: 麦麸1公斤; 食盐水1立升(0.4%)

2. 麦麸料灭菌: 以定量之麦麸料装入布袋中, 扎紧口, 送入灭菌器中, 以15磅蒸汽加压灭菌1小时, 或以大鍋蒸籠煮沸1.5小时。

3. 灭菌后的麦麸料放于清洁室内，使其自然冷却到 $30^{\circ}\text{C}$ （或平铺于发酵盘上，使其冷却到 $30^{\circ}\text{C}$ ）准备接种。

### 五、接种装盘

麦麸料 固形物干計 1 公斤

种子液 0.5 立升

首先将已灭菌冷却之麦麸料定量倒入铝桶内过筛加入种子液搅拌均匀勿使其有块状以后装盘。

装盘：

1. 竹盘各盘敷灭菌布一块预先放于缓冲室内其上加入 1 公斤已接种之麦麸料每盘上下顺序迭放每列排十个盘，其厚度约为 2~3 厘米。

2. 竹篾不加敷布直接平铺于篾内以旁插叠放其厚度同上。

3. 席盖不加敷布直接平铺于席上其厚度同上。

### 六、醱 酵

1. 温湿度：接种时温度应控制  $30^{\circ}\text{C}$  湿度控制 70~80% 经常醱酵温度控制在  $26\sim 30^{\circ}\text{C}$  醱酵中一旦温度升高至 30 度以上时应及时设法降温，（开排风扇等）。

2. 每日检查品温室各三次（不低于三次）详细作记录。

3. 搅拌在醱酵期间每一班，搅拌翻动各二次（四小时一次）并同时检查和调正湿度使经常保持湿度含水量，55~65% 如有干燥情况应及时喷入冷开水或拌入种子液以调正湿度。

4. 取样醱酵开始以后第四天每日取样测定单位。

5. 每日早班将每室内由固定盘中（每日准七点）取出半成品 5 克添具送验单交化验室进行单位测定。

6. 每日必须用来苏水拭布擦地一遍。

### 七、醱酵室清理消毒

1. 在未进行醱酵以前首先将醱酵室用水冲洗，除去地上积水，再用 2% 来苏水拭布擦净门帘及地面，室内用 2% 来苏水喷雾

使牆壁及上下四周完全噴到，關好門帘。

2. 醱酵室必須通風良好、保持整潔和無蠅蚊。

3. 前批出盤以後必須按照(1)項進行處理。

4. 未使用之醱酵盤或已使用完之一般醱酵盤先用清水沖洗干淨，再用2%來蘇水浸漬30分鐘，用2%來蘇水拭布拭淨送入醱酵室內備用，如系大席盤先用水沖洗干淨，再用2%來蘇液噴射消毒，用清水洗淨再用干布擦淨備用。

## 八、干 燥

出盤後送入干燥室內以40°C左右溫度進行干燥，在干燥至半干易于過篩時必須過篩一次，每日必須有專人掌握濕度，每隔四小時開鼓風機一次，每次10分鐘，至成品完全干燥後取稱器具送驗單進行化驗成品送驗必須盛裝在密閉的容器內，根據化驗傳單進行稀稱後一定手續交庫并有詳細的成品記錄。

## 九、注意事項

1. 每班醱酵工作人員必須經常保持醱酵室的清潔衛生條件。

2. 各室內醱酵盤必須排列整齊。

3. 攪拌時不得將醱酵藥品撒于地上，拌攪後必須保持室內清潔。

4. 醱酵中間如遇有盤上或布上有雜菌生長，必須採取換盤換布或擦盤工作。

5. 如出盤或倒盤後必須將醱酵盤及布作好清潔整理和準備工作。

6. 如用電爐調溫度時必須注意爐綫電源和周圍的盤，不得將電爐放于木制家具上。

7. 一切處方工藝操作方法配方比例未通過正式手續以前不得隨便更改或代替。

8. 本組內所用儀器、工作服、无菌服等，由專人負責保管，工作完了後須注意保存防止混亂避免損失。

## 十、畜用土霉素的效价测定——化学法

### 一、化学法：

此法根据土霉素与氯化高铁在酸性溶液中产生棕色反应，利用土霉素浓度与显色度成正比求得土霉素的效价。

### 二、标准曲线制法：

取标准土霉素溶于0.01N HCl 中使成不同浓度的土霉素溶液，一管内加入18毫升0.01N HCl 作为空白对照，其它管内加入 0.01N的HCl 10 毫升及 0.05%的  $\text{FeCl}_3$  8 毫升，然后每管内各加不同浓度的标准土霉素溶液 2 毫升，摇匀，放置15分钟后用光电比色计进行比色(用 490毫米滤色板)，所得之读数与土霉素浓度之关系制成标准曲线。

### 三、效价测定：

#### (1) 培养物的处理：

取含水50%的半成品(成品干样另加水50%)加入 0.01N HCl (加入量以使单位体积内土霉素效价含量能进行测定为度)，用玻璃棒搅拌后静置30分钟，然后用 6 N HCl 调节到pH2.0，用亚麻布过滤，滤液中加入10%  $\text{CaCl}_2$  溶液 2 %，然后加 1 N的NaOH，调节到pH 6 此时有蛋白质沉淀下来，加入倍量体积的96%酒精，过滤，将滤液调节到 pH 2，此滤液依据下法进行比色。

#### (2) 比 色：

同标准曲线制法之比色步骤。

#### (3) 计 算：

設

A 为固体物含水50%重量(克)

B 为加入盐酸体积(毫升)

C 为加入氢氧化钠体积(毫升)

D 为加入氯化镁体积(毫升)

E 为每毫升中的土霉素含量(微克/毫升)

G 为每克固体培养物上土霉素含量(微克/1克)

則得公式

$$\frac{G = FX(B + C + D)}{A}$$

### 十一、畜用土霉素的規格

[性状]外形，为深黄色至棕褐色的顆粒或粉末，有特臭无味。

[鉴别]取本品10克，加100毫升2 N 的盐酸，泡浸30分钟(随时搅拌)用麻布过滤，滤液用碳酸鈉調整至 pH9.5, 加体积20%的丁醇提取，取丁醇液2 毫升，加2 毫升浓硫酸，生成棕紅色。与此同时应另取單純麦麸以同样方法抽提，并加入浓硫酸其显色为紫紅色，本鉴定应与單純麦麸对照比較进行。

[检查]水分：取本品10克在100°C 温度下干燥至恒量。减失重量不得超过15%。

灰分：取本品2.4 克置坩堝中，用低暗紅热熾灼，灰分不得超过14%。

[含量]本品每克的效价不低于900单位(微克)。

### 十二、生产100公斤成品需用

設 备 及 工 具 一 覽 表

| 名 称       | 規 格      | 单 位 | 数 量 | 备 考            |
|-----------|----------|-----|-----|----------------|
| 保 温 箱     | 16×14×14 | 个   | 1   | 高25.5英吋寬22.2英吋 |
| 无 菌 箱     | 长34英吋3   | 个   | 1   |                |
| 搖 床       |          | 个   | 1   |                |
| 空 气 压 缩 机 | 2 匹馬力    | 台   | 1   |                |
| 蒸 气 灭 菌 鍋 |          | 个   | 1   |                |
| 大 鍋       | 容量50公斤   | 口   | 2   |                |
| 隨 履       | 直径44英吋   | 个   | 8   |                |
| 发 酵 盘     | 0.8×1.8米 | 个   | 112 |                |
| 发 酵 架     |          | 个   | 14  |                |
| 三 角 燒 瓶   | 1000毫升   | 个   | 80  |                |
| 試 管       | 50毫升     | 个   | 200 |                |
| 吹 瓶       | 10升      | 个   | 30  |                |
| 空 气 过 滤 瓶 | 20升      | 个   | 6   |                |

| 名 | 称 | 規 格 | 单 位   | 数 量 | 备 考 |
|---|---|-----|-------|-----|-----|
| 標 | 拌 | 桶   | 20公斤  | 个   | 2   |
| 鐵 |   | 篩   | 40目   | 个   | 2   |
| 天 |   | 平   | 千分之   | 台   | 1   |
| 磅 |   | 秤   | 50公斤  | 台   | 1   |
| 量 | 微 | 鏡   | 1500倍 | 台   | 1   |
| 分 | 析 | 天   | 1 %   | 台   | 1   |
| 酒 | 精 | 灯   |       | 个   | 2   |
| 波 |   | 斗   |       | 个   | 1   |
| 濾 | 斗 | 架   |       | 个   | 1   |
| 吸 | 濾 | 管   |       | 支   | 3   |
| 量 |   | 桶   | 25毫升  | 个   | 3   |
| 量 |   | 桶   | 50毫升  | 个   | 3   |
| 試 | 藥 | 瓶   | 250毫升 | 个   | 10  |

### 十三、劳动組織：

按日产100公斤成品需要劳动組織情况

| 部 門   | 技 术 程 度  | 人 数 | 备 注 |
|-------|----------|-----|-----|
| 菌 种   | 熟 練 工 人  | 3   |     |
|       | 一 般 工 人  | 10  |     |
| 醱 酵   | 熟 練 工 人  | 3   |     |
|       | 一 般 工 人  | 4   |     |
| 化 驗   | 技 术 工 人  | 1   |     |
|       | 干燥包裝一般工人 | 2   |     |
| 技 术 員 | 高或中級     | 1   |     |
| 計     |          | 24  |     |

### 十四、畜用土霉素計劃成本(金額單位：元)

产品名称：畜用土霉素。

規 格：1公斤包裝25公斤裝一箱，每克含量1000單位。

單 位：箱(25公斤)。

## 單 位 成 本

| 成 本 項 目   | 25公斤一箱成本  | 折合—公斤成本 |          |
|-----------|-----------|---------|----------|
| 原料及主要材料   | 12.55275  | 0.50211 |          |
| 輔 助 材 料   | 4.50      | 0.18    |          |
| 燃 料       | 2.2625    | 0.0905  |          |
| 動 力       | 3.315     | 0.1326  |          |
| 生产工人工资    | 14.6875   | 0.5875  |          |
| 附 加 工 資   | 2.056     | 0.08224 |          |
| 車 間 經 費   | 34.31     | 1.3724  |          |
| 企 業 管 理 費 | 29.41     | 1.1764  |          |
| 工 厂 成 本   | 103.09375 | 4.12375 |          |
| 銷 售 費     | 40        | 0.016   |          |
| 全 部 成 本   | 103.49375 | 4.13975 |          |
| 稅 金       | 6.3125    | 0.2525  | 稅率5.05%  |
| 利 潤       | 15.19375  | 0.60775 | 利潤率14.7% |
| 銷 售 价 格   | 125.00    | 5.00    |          |

## 成本計算參考說明：

計劃產量：日產100公斤，月產2,600公斤。

原料及主要材料(根據規定處方)

| 名 稱   | 單位             | 1 公斤處方用量 | 25公斤處方用量 | 單 价   | 金 額      |
|-------|----------------|----------|----------|-------|----------|
| 小 麥   | 公斤             | 0.0025   | 0.0625   | 0.272 | 0.017    |
| 洋 菜   | 公斤             | 0.001    | 0.025    | 26.40 | 0.66     |
| 酵 母 粉 | 公斤             | 0.0025   | 0.0625   | 5.00  | 0.34     |
| 淀 粉   | 公斤             | 0.015    | 0.375    | 0.88  | 0.33     |
| 食 糖   | 公斤             | 0.0085   | 0.2125   | 0.24  | 0.051    |
| 硫 酸 銨 | 公斤             | 0.002    | 0.050    | 0.33  | 0.0165   |
| 硫 酸 鈣 | 公斤             | 0.0025   | 0.0625   | 0.146 | 0.04     |
| 豆 油   | 公斤             | 0.005    | 0.125    | 1.13  | 0.14     |
| 麥 鈣   | 公斤             | 1.2      | 30       | 0.105 | 3.15     |
| 甲 醛   | 公斤             | 0.070    | 1.75     | 1.695 | 2.956    |
| 酒 精   | 公斤             | 0.050    | 1.25     | 1.643 | 2.06     |
| 石 炭 酸 | 公斤             | 0.010    | 0.25     | 3.33  | 0.825    |
| 氨 水   | 公斤             | 0.050    | 1.25     | 1.02  | 1.275    |
| 种子培养液 | (原材料成本 1—7 項%) |          |          |       | 0.71225  |
| 原材料合計 |                |          |          |       | 12.55275 |

## 輔 助 材 料

| 品 名   | 規 格   | 單 位 | 數 量 | 單 價  | 金 額  |
|-------|-------|-----|-----|------|------|
| 塑 料 袋 | 1 公斤裝 | 个   | 25  | 0.10 | 2.50 |
| 紙 箱   | 25公斤裝 | 个   | 1   | 2.00 | 2.00 |
| 合 計   |       |     |     |      | 4.50 |

## 燃料：

每日用煤 $\frac{1}{2}$ 吨(一号末单价18.10/吨)

單位成本( $\frac{1}{2} \times 18.10$ )  $\times \frac{1}{4} = 2.2625$

## 動力：

動力設備：粉碎機(五馬力)一台，壓縮機(一馬力)一台，排風及其它用電 4 馬力，共計10個馬力，晝夜連續三班制生產，動力機器利用率80%，每小時基本用電量0.746K.W.單位電費0.0926。

單位成本  $(24 \times 10 \times 0.746 \times 80\% \times 0.926) \times \frac{1}{4} = 3.315$

## 工資：

生產工人 25人 平均日工資2.35

單位成本 $(25 \times 2.35) \times \frac{1}{4} = 14.6875$

## 附加工資：

按工資 $\times 12.5\%$  加入超支1.5%共計14%

單位成本 $14.6875 \times 14\% = 2.056$

## 車間經費：

每月預計 3.500

單位成本 $(3.500/25.5 \times 1) \times \frac{1}{4} = 34.31$

## 企業管理費：

每月預計3.000 每天平均 117.65

單位成本 $117.65/100 \times 25 = 29.41$

工廠成本合計103.9375。

## 銷售費用：

運輸費及裝卸費每箱 .40

全部成本: 103.49375 (一箱25公斤)

## 畜用土霉素的製造方法

中國醫學科學院抗生素系

### 一、用固體培養法製造土霉素

本法主要优点是方法簡便，成本低，适于推广到农村、合作社进行中、小型製造，其製造过程如下：

1. 菌种保存 所用菌种保存在砂土管內 存放于冰箱內 0~4°C，倘若在条件差，而沒有冰 箱 設 备 时，可考虑在地下挖个小窖，这样保存也可以，因为地窖內溫度比較低，还是适用的，这样一般可保存一年左右。

2. 孢子培养 将土霉素菌由砂土管內用白金耳接种棒以无菌操作法取出上述的砂土种入孢子斜面培养基上(孢子培养基成份)：

|         |         |        |
|---------|---------|--------|
| 肉膏0.5%  | 酵母膏0.1% | 蛋白0.4% |
| 食盐0.25% | 葡萄糖1%   | 洋菜2.5% |

pH (7.2~7.4)在27~28°C。培养7~8天后，土霉菌就生长成熟，形呈灰白色龟裂状梅花形或圓形菌落，孢子生长成熟后放置冰箱或地窖保存备用，一般每批孢子可以用一个月，因此每月培养一次足够用的孢子就可以了。

3. 种子培养 将培养成熟的土霉菌孢子用灭菌蒸餾水洗刮制成孢子悬液，将孢子种入液体的种子培养基中种子培养基成份如下：

|            |         |             |         |
|------------|---------|-------------|---------|
| 黃豆餅粉1.5%   | 淀粉3%    | 食盐0.4%      | 硫酸銨0.5% |
| 磷酸氫一鉀0.04% | 磷酸鈣0.8% | 天然pH接种量为5%。 |         |

在 27~28°C 条件下振盪培养48~72小时，即用来接种到生产

培养基上，进入固体培养阶段制成畜用土霉素。此种子培养液生长得正常时呈深黄色，也比较粘稠。菌种体生长得是否正常，是否污染其他杂菌，可用细菌的革兰氏染色法进行检查。倘若污染杂菌时就不能用来接种生产培养。

**4. 生产培养** 将上面培养成熟的土霉素菌种种子液种入生产培养基中。（生产培养基成份如下：麦麸1份、麦片1份、水份75%），接种量为40~50%，在接种时必须要把此固体培养基能完善地与种子液拌匀，避免有空白点，同时避免使培养基形成浆状或团状，因为这样也会影响到土霉菌的正常生长。以上操作完善后将此培养基在27~28°C条件下静止培养7、8天（在培养过程中最好每天将培养基上下翻拌，使更好地利用空气），即可产生土霉素。然后将此培养物进行土霉素的效价测定。用此法制成的每克固体物上可产生大量土霉素，按干重来算每克最高可产土霉素4000单位，一般在3000单位以上，所以总的来说单位产量是比较高的。

#### 5. 土霉素产量的测定

（1）培养物的处理：将上面培养成熟的培养物称一定量，我们一般称10克，然后加入0.01当量盐酸，（一般加入量是培养物重量的四倍左右）后再加入几滴浓盐酸，主要目的是使培养物与盐酸搅拌均匀后pH维持在1.5~2.0（倘若农村无条件试pH测定时无甚影响），为此静放半小时后取其滤液进行效价测定。

（2）测定方法：有化学法及生物法。由于此二者准确性一般来说比较接近，由于生物测定法，我们认为手续复杂，而化学法比较简便，可迅速取得结果，故在此重点地介绍一下化学方法：

●原理：根据土霉素与三氯化铁在酸性溶液中产生棕色反应，土霉素含量愈高，颜色反应愈深，利用这点可测定出土霉素产量的高低，但事先必须用标准土霉素成品以不同含量做一标准曲线，用作测定样品时来查得土霉素含量。

标准曲线制法：精确地称取标准土霉素溶于0.01当量盐酸中，