

上海市科学技术研究工作跃进展览会

技术交流参考资料

第二种



畜用金霉素的制造 与喂猪试验

化学工业部上海医药工业研究所编

科技卫生出版社

內 容 提 要

本書是1958年上海市科学技术研究工作跃进展覽会上的化学化工技术交流參考資料之一。內容介紹畜用金霉素的制造与餵猪試驗。可供各地在制造与研究畜用金霉素参考用。

上海市科学技术研究工作跃进展覽会
技 术 交 流 參 考 資 料
(第 二 种)

畜用金霉素的制造与餵猪試驗

編者 化学工业部上海医藥工业研究所

科技卫生出版社出版
(上海南京西路2004號)

上海市書刊出版業營業許可証出 093 號

上海市印刷三厂印刷 新华書店上海发行所总經售

开本 850×1168 耗 1/32 • 印張 5/8 • 字數 16,000

1958年12月第1版

1958年12月第1次印刷 • 印數 1—4,500

統一書号：15119·924

定 价：(6)0.09元

畜用金霉素的制造与餵猪試驗

目 錄

- | | |
|-------------|----|
| 1. 畜用金霉素的制造 | 1 |
| 2. 金霉素餵猪試驗 | 11 |

畜用金霉素的制造

(1) 原 理

在金霉素发酵培养液中含有碳酸钙，在发酵过程中当金霉素产生后，即与钙离子结成金霉素钙盐，金霉素钙盐不溶于水。化学性极为稳定，不因受热而破坏，当其遇酸后即分解成金霉素盐类，畜用金霉素即应用此种原理制成。

(2) 制 造 过 程

畜用金霉素制造过程如下：

(1) 金霉素发酵液 + CaCO_3 1~2% 板框压滤 滤渣烘干 磨粉 畜用金霉素。

(2) 金霉素发酵液 板框压滤 滤渣烘干 磨粉 畜用金霉素。

(3) 发 酵 方 法

发酵部分有二种方法：

(1) 与药用金霉素同样方法：即在无杂菌条件下发酵，罐内维持一定压力。

(2) 常压发酵：即将培养基煮沸在常压下发酵，可利用有盖之大桶作为发酵罐，在发酵36小时前须防止大量杂菌进入，待36

小时后金霉素已产生则杂菌进入无甚妨碍。常压发酵效价与正常者相同，甚至较正常略高。今将几次常压发酵效价列下：

1. 1900/單位毫升
2. 2050單位/毫升
3. 1150單位/毫升
4. 1340單位/毫升
5. 2090單位/毫升
6. 2600單位/毫升
7. 2000單位/毫升

其中不开搅拌，單通空气者不产生抗生素，最高亦不超过 300 單位/毫升，又其中二次因早期長杂菌放棄。

(4) 实验内容

实验证明金霉素鈣鹽极为稳定不受热而破坏，在制造过程中损失极微，在过滤液中残留金素霉极为微量。

金霉素能促进猪的生长已由实验证明，至于金霉素粗制品（即菌絲和金霉素鈣鹽）的功用是否与純粹金霉素功用相同，尚待实验证明，今已由上海郊区农場試驗，試驗内容为：

(1) 金霉素与粗制金霉素的比較；(2) 給金霉素的最适当时间；(3) 給金霉素的适当量；(4) 剂型。

在发酵培养基中放入 2 p.p.m. 的鈷鹽 $[\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 或 $\text{CoCl}_2]$ 能产生維生素 B_{12} ，过滤后大部分 B_{12} 留于滤渣中，少量留于渣液中，如此可获得含維生素 B_{12} 之金霉素粗制品。

(5) 初步試驗数据

今將初步試驗数据敘述如下：

1. 成品規格

畜用金霉素为棕褐色粉，具有特殊之香气，无味，不溶于水。一般含水分 3 % 左右，内含填充基碳酸鈣或不含填充物。金霉素含量随发酵液效价高低而異。每克畜用金霉素量自 30,000 至 80,000 單位即含 3 ~ 8 %。

畜用金霉素有二种，除上述一种外，尚有含維生素 B_{12} 者。維生素 B_{12} 之含量可高达 24 γ /克 (γ = 百万分之一克)。

2. 中間体規格

发酵液的规格：金霉素含量不低于 1900 γ /毫升

pH 值 6.8~7.5

颜色 棕黄色

温度 $28^{\circ}\pm$

3. 原材料规格

(a) 孢子培养及无菌试验用原料：

1. 麸皮——新小麦洗净，晒干后磨粉，除去麵粉。

2. 瓊脂——白色，純淨(海燕牌)。

3. 牛肉汁——棕色糊狀物(強力牌)。

4. 氯化鈉——工业用精鹽，白色結晶含氯化鈉量 $>98\%$ ，水分 $<2\%$ 。

5. 酵母粉——藥用棕黃色粉末，蛋白質 $>40\%$ (大华利厂出品)。

6. 蛋百肰——牛肝渣或魚粉制取，淡黃色粉末，总N $>13\%$ ，水分 $<5\%$ ，灰粉 $<10\%$ (环球出品)。

7. 葡萄糖——藥用，白色結晶性粉末。

(b) 发芽及繁殖用原料：

1. 葡萄糖——同前。

2. 酵母粉——同前。

3. 硫酸銨——工业用，白色結晶，純度 $>9.8\%$ ，水分 $<1\%$ 。

4. 氯化鈉——同前。

5. 磷酸二氫鉀——化学純，白色結晶性粉末，水分 $>0.2\%$ ，純度 99% 。

6. 碳酸鈣——輕質，白色粉末狀，含鈣量 98.5% ，水分 $>1\%$ ，酸不溶物 $<0.2\%$ 。

7. 米糠油——純淨，酸价 <35 ，折光率 ($15^{\circ}.5^{\circ}\text{C}$) 1.4768。

(c) 发酵用原料：

1. 花生餅粉——土黃色至棕黃色，水分 $<6\%$ ，蛋白質 $>40\%$ ，含油量 $<6\%$ (山东甲級大花生)，不应有霉坏及花生外壳，含雜質不应过多，加工时炸油温度为 $110\sim 120^{\circ}\text{C}$ (山东二道)。

2. 淀粉——玉米生粉，白色粉末，水分 $<14\%$ ，純度 $>80\%$
(东莞厂出品)。

3. 碳酸鈣——同前。

4. 氯化鈉——同前。

5. 磷酸二氫鉀——同前。

6. 米糠油——同前。

4. 工艺过程

(a) 孢子培养：从沙土保存之 *Streptomyces Aureofaciens* U₈~253 孢子接种到斜面培养基下，在 37°C 培养5~6天即可应用。

斜面培养基成分：

小麦麸皮	5 克
瓊 脂	2 克
自来水	100 毫升
pH -	自然

用15磅蒸气消毒30分鐘

(b) 种子及繁殖培养：

培养基成分：

酵母粉	1 %
氯化鈉	0.25 %
磷酸二氫鉀	0.02 %
葡萄糖	3 %
硫酸銨	0.3 %
碳酸鈣	0.13 %
pH -	自然

用15磅蒸气消毒30分鐘

培养条件：温度 $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$

种子培养約24小时左右，再移至繁殖罐，在繁殖罐內培养24小时左右取样测定 pH，种子的 pH 下降到4.0左右而又上升时即种入发酵罐內发酵。

二級所用空气量为0.8体积/每体积，轉速約250~270轉/分。
培养基成分相同。

(c) 发酵:

培养基: 磷酸二氢钾 0.02% 磷酸钙 0.45%

花生饼粉 3% 淀粉 5%

蛋白胨 0.8% 氯化钠 0.4%

发酵条件: 接种量 5~10%

温度 $27 \pm 1^\circ \text{C}$

空气量 0.6 体积/体积每分钟

搅拌转速 200 转/分 (用 200 介命罐)

发酵时间 72 小时左右, 自 36 小时起, 每隔 6

小时测定金霉素含量

(d) 原材料定额: 按 10 亿单位酸化液计划。

、计算根据: 620 公升, 培养液发酵后发酵液损失 10%, 发酵单位 1800 γ /毫升过滤及烘干工价损失 5% (假设), 得 $620 \times 90\% \times 1800 = 9.5$ 亿单位

金霉素 10 亿单位 (即 1 公斤纯粹金霉素) 之原料定额:

① 葡萄糖 药用 (口服) 2.4 公斤

② 酵母粉 药用 0.8 公斤

③ 硫酸铵 工业用 0.3 公斤

④ 磷酸二氢钾 (化学纯净) 0.15 公斤

⑤ 氯化钠 工业用精盐 2.8 公斤

⑥ 碳酸钙 轻质 8.4 公斤 (若不加 CaCO_3 为助滤剂, 则量可减少, 仅需 2.6 公斤)

⑦ 米糠油 纯净 7 公斤

⑧ 淀粉 (玉米生粉) 26 公斤

⑨ 花生饼粉 (山东二道) 19.5 公斤

⑩ 蛋白胨 (环球) 5.2 公斤

附：农业及食品工业用抗生素的生产工藝

捷克抗生素研究所：М. Герольб, Е. Белик

Антибиотик 1958, III, 1, 67

(1) 抗生素在农业及食品工业上的应用

抗生素在农业和食品工业上的应用,主要是刺激家畜的生長,消灭植物病害,預防菓物的腐敗及刺激植物生長,食品工业上用以防腐,发酵工业上用以防止杂菌的生長。

作为飼料最有效的是每吨飼料中放入青霉素或金霉素10~20克或更多些,常用的是純品,在植物病理学上应用鏈霉素或土霉素来治疗細菌病,应用制霉菌的抗生素来治疗霉菌病,通常应用的是抗生素的水溶液,其中含有甘油或乳剂用以噴洒。在食品工业上应用的是較純的制品:金霉素以保存魚类,在牛乳及乳酪工业上当应用青霉素、鏈霉素 НИСИН 及其他抗生素,工业純的抗生素可預防杂菌的生長,因此可用于发酵工业上。应用抗生素作飼料对于食品工业就要注意用量問題,不要使抗生素在人体内积儲起来,同时須注意,不使产生对此抗生素有抗性及副作用。

、抗生素的世界产量为年产量 2000~3000 吨,其中一半以上是四环类抗生素。有些国家不是应用以治疗疾病而是应用于农业及食品工业。

(2) 簡單生产抗生素方法

制造抗生素的工业品在化学提炼上应用較簡單的方法。至于发酵則与藥用抗生素相同,我們的任务是研究較簡單及較廉价的抗生素发酵方法,以供农业之用。

采用了两种方法:

(一) 直接在家畜飼料上培养放綫菌以获得四圓类抗生素及維生素 B₁₂。

(二) 有菌发酵即金霉素及維生素 B₁₂ 在开口罐內发酵。

研究了抗生素的簡單化学提取法：(1) 菌絲体及不溶于水的四圓类抗生素以鼓形过滤器过滤，在鼓形过滤器上鋪有一层淀粉質或其它能应用的物質。(2) 抗生素物質以无水硫酸鈣或磷酸鈣以去水。(3) 发酵液中抗生素以油类提取，抗生素的油溶液可制成乳剂，应用在噴洒植物上。

除研究了以上的方法外，也研究了藥用抗生素的副产物。

(3) 主要試驗方法

抗生素能否在农业及食品工业上的应用，为了去除我們的怀疑，必須采用較重要的几种抗生素来飼养数万头动物来做試驗。

主要方法：

1. 直接的丰富飼料

通常家畜飼料中的主要穀物，將其磨碎，湿潤后使含水40~50%，然后鋪于鉛片上，量約5~10公斤，厚約50厘米放在消毒鍋內以105~110°的温度消毒1小时，消毒后于穀物表面接种，产生抗生素的接种物。

接种物（菌絲体）培养于种子罐內，穀物接种菌絲体后在其表面再撒一层干的消毒过的穀物粉末，麸皮或其它物質，厚度 $\frac{1}{2}$ ~1厘米，操作都在无菌室內进行，然后在恆溫室內保持26~30°放置数天。

6~8天后培养物温度約50%，每1克干品中含金霉素800~1000 γ ，維生素B₁₂0.2~0.4 γ ，成品与飼料的混合比例，依所含抗生素效价而定1:50或1:100的比例，很少將其制成干品的。

2. 有菌发酵

从文献上知道抗生素的发酵工作最主要的正常条件是整個过程中的保持无菌状态。在青霉素的发酵中为了避免長杂菌采用各种方法：培养基中加甲醛或硼酸、菲那突司（1959）做了青霉素发酵中的防止杂菌生長的試驗，在实验室的范围試驗了各种物質，認為最有效的是甲苯，但在生产中不能应用，在广制菌譜抗生素的发酵中有菌不是很严重的問題，因为在接种物上已有抗生素产

生，所以在开始发酵时抗生素能消灭杂菌或阻止其繁殖，广制菌谱抗生素不会像青霉素一样受青霉素酶的破坏。但是文献上还是强调广制菌谱抗生素的发酵仍须在无菌条件下进行。

我们的目的是以实验来证明各种抗生素发酵的无菌程度的是否必需在瓶内装无菌的培养基接种孢子，瓶口塞以棉花，在正常的发酵条件下产生金霉素 1000~1500 γ /毫升。

表1 开口与塞口的摇瓶发酵

发酵方式	金霉素 γ /毫升			与对照比较的百分数
	实验1	实验2	平均	
塞口摇瓶	1305	1352	1328	100
开口摇瓶	1212	1460	1338	100.6

非无菌状态的发酵以下列方式进行的：灭菌过的培养基，以孢子接种这与对照试验相同，只不过瓶口不塞棉花，在发酵过程中完全开口的。开口发酵所得的效价与对照相同，在作无菌试验时开口发酵未曾发现杂菌。

甚至将开口发酵液接种传代数次，亦未曾发现杂菌，效价亦不见降低。

表2 开口与塞口的摇瓶发酵传代四次的结果

时代次数	塞口摇瓶 (二实验的平均金霉素产量 γ /毫升)	开口摇瓶 (二实验平均金霉素产量 γ /毫升)	对照的百分比
2	1328	1339	100.8
3	1244	1068	85.6
4	1094	1099	100.2
5	1267	1218	96.1

曾经做过非严格的无菌条件下进行金霉素发酵，在培养液中染以微菌霉菌，泥土或河水，培养基（摇瓶内装80毫升灭菌培养基）内在接种后加入0.5毫升之细菌或霉菌浮悬物或0.25克在泥土或1毫升河水（每毫升中含孢子200,000个）染杂菌后摇瓶以棉

花塞口，以防止空气中之杂菌再侵入。

表 3 染霉菌后的摇瓶发酵

菌 名 称	二次試驗平均值 金霉素 γ /毫升	对照的百分比
对 照	1338	100
<i>Rhodotomla grucilis</i>	1354	101.2
<i>Sucheromyces frugilis</i>	1240	92.87
<i>Sucheromyces cerevisial</i> R. X II	1317	98.3
<i>Torulopsis utilis</i> Var. maior	794	59.4
<i>Torulopsis utilis</i> Var. thermophilia	840	62.8
<i>Hansenula anomala</i>	1302	97.4
<i>Candida arboral</i>	1360	101.7
<i>Candida fropicalis</i>	1302	97.4
<i>Oidium lactis</i>	1317	98.4

从表 3 可看出属于 *Torulopsis* 属的繁殖得很快，較降低單位为显著，*Torulopsis* 繁殖后使 pH 降低，这使金霉菌生長停止。

染杂菌的发酵中，在发酵刚开始时发现革蘭氏阴性菌，但在 20 小时后即消失。但把它接种至肉湯培养基或血瓊脂培养基上，整个时期都能发现細菌生長。

在这些搖瓶試驗中我們发现 2 种对金霉素有耐藥性的革蘭氏阴性菌，其中一种可把它移殖在肉湯培养基中，表 4：染这种杂菌后使金霉素产量較对照的百分比提高（对照效价 1216~1454 γ /毫升，平均 1341 γ / 毫升，染菌后效价 1556~1734 γ / 毫升，平均 1653 γ / 毫升），

在接种菌絲体中必須已产生足夠的金霉素，它的濃度能抑制杂菌的生長。

表 4 染对金霉素有耐药性的革兰氏阴性杂菌后的搖瓶发酵

搖 瓶 发 酵	实验1	实验2	平 均	对照的百分比
	金霉素γ/毫升			
对 照	1368	1315	1341	100
种入 0.5 毫升革蘭氏 阴性桿菌培养物	1646	1660	1653	123

長了杂菌后发酵效价不一定会跌，除非在发酵剛一开始时就染了 *Torulopsis*。

实验証明了在金霉素的生产中不一定需要保持无菌状态，我們做了半生产性及生产性的試驗，就是金霉素的发酵罐用較便宜的物質做的，比如用木料来做，并且通不會灭菌的空气。

我們利用淀粉厂1000公升的木桶来作有菌发酵的試驗。

在1956~1957年所得到的試驗結果的基础上，我們进一步推广应用这方法来生产金霉素。

用有菌发酵产生的金霉素与維生素 B_{12} 我們叫它 Aypeobut-ro 12。

將金霉菌菌絲在搖瓶內培养，然后在种子罐內培养，最后在开口的裝有攪拌，通气管及蛋形莖的本桶內发酵。培养基成分与藥用金霉素用的培养基成分相同，也在无菌条件下配制的，发酵時間約50小时，温度 $28\sim30^{\circ}$ ，发酵液效价每毫升可達 2000γ /毫升及 $0.2\sim0.3\gamma$ 維生素 B_{12} 。

发酵液以鼓形过滤器过滤，用淀粉或糠来代替硅藻土以助滤，淀粉亦作为飼粉的一种成分，过滤物可用食品工业用以干燥蔬菜用的通热空气干燥法。干燥物可用飼料用的物質来稀释，使每毫克含金霉素 2000γ 及每克干物中維生素 B_{12} $2\sim4\gamma$ 。

用无水硫酸鈉，硫酸鈣或磷酸鈣以 1:5 或 1:10 的比例来干燥过滤物，这样所得物中每克含金霉素 2000γ 及維生素 B_{12} 0.2γ 。

第三种最快而簡單方法就是以脂肪油类提取抗生素，这样可先將培养液调节 pH 至 5 以脂肪酸或油酸或油类提取，提取时温度須足以保持脂肪酸为液体状态，攪拌停后冷却之，在发酵液表面形成一层。它很容易与发酵液及菌絲体分离。这种制成品每克含金霉素 $5000\sim10000\gamma$ ，与飼料調和时的比例为 1:1000。

为了防止抗生素进入肉类的量超过限度，所以飼料中加入抗生素的量須有严格数量上的限制。

2

金 霉 素 餵 猪 試 驗

一、关于用金霉素餵猪实验方法的初步意見

1. 選擇試驗猪：試驗猪需用同窩或体重相近似的仔猪（生下后养5~10天）或断乳仔猪（日齡約50天），所有試驗猪一律編定耳号，而断乳小猪在試驗开始前进行閹割，預防注射和驅虫，每个試驗組最好选用猪50头以上，而对照組的猪数約15头左右。

2. 試驗分組：

(1) 句容一社試驗組：小猪从落地后6天开始至160天結束，分三个阶段进行試驗，第一个阶段6~50天，第二个阶段51~100天，第三个阶段101~160天。

(2) 吳县永星23个社試驗組：断乳小猪从生后51天开始至160天結束，分二个阶段进行試驗，第一个阶段51~100天，第二阶段101~160天。

(3) 淮阴漁溝乡前进社試驗：内容与(2)相同。

上列各組进行試驗时，另外飼养体重相等的15头猪不餵金霉素作为对照組，以便比較猪吃金霉素后長肉情况。

3. 生活条件：試驗組与对照組的猪，要分圈飼养，但两个組的猪的生活条件，如圈的大小，活动場所及清洁条件等都应该保持相似。

4. 金霉素与饲料的调配与饲养方法：在試驗时可采用純金霉素或粗制金霉素为原料。对于饲料，各农业社可根据当地的情况采用一般餵猪饲料，試驗組与对照猪的饲料种类和用量必須完全相同。

(1) 饲料中加入金霉素的用量，随着仔猪長大而逐漸增加。現將一般做試点的用量列表如下：

表 1

日 齡	每次 100 头仔猪的金霉素用量
6~10天	0.8分 (0.25克)
11~20天	1.6分 (0.5克)
21~30天	3.2分 (1克)
31~40天	4.0分 (1.25克)
41~50天	4.8分 (1.5克)

表 2

日 齡	每次 100 头断乳后仔猪的金霉素用量
50~100天	4.8分 (1.5克)

表 3

日 齡	每次 100 头中猪的金霉素用量
101~160天	9.6~16分 (3~5克)

(2) 金霉素调配与餵用

甲、配制金霉素溶液可按試驗猪的总头数的一次用量配制，其用量可按照表(1)~表(3)的分量折算，將称好的金霉素溶化在一定份量洁淨的凉水中。金霉素与水的重量比例为1.6:1000，例如1.6分的金霉素要用10兩 (即1000分) 水溶化，然后将溶化后的液体加入预备餵猪的饲料中，拌勻后餵猪。对正在吃奶的仔猪也可用滴管吸取含金霉素的水直接滴入試驗組每头猪嘴里。对照組吃奶的仔猪可用滴管吸取清水滴入每头猪嘴里。

乙、金霉素与干饲料粉混合时，可用下面的簡易办法，就是

先把3.2分(1克)的金霉素十分均匀地和7市兩的粉狀飼料(如玉米粉或米糠)翻來復去的攪拌3~5分鐘,然後將7市兩的混合物分為二份,每份內含金霉素1.6分(0.5克)。再將每一份混合物分成50份,每份約重6.4分,其中含金霉素為0.032分(10毫克)。用紙包好放在乾燥陰涼的地方。這樣混合一次可將一星期內(即14次)的金霉素餵用量準備好,如果份數超過一星期用的,會因貯藏時間太長,效用要降低。每包金霉素混合飼料可根據飼養時的需要而決定。依照豬頭數和金霉素的需用量,將一次需用的小包數量,打開加入飼料內拌勻餵豬。

試驗組在飼料中加入金霉素每日為二次,即每天早晚各餵一次,吃奶仔豬早晚各滴餵一次。金霉素加入飼料中餵仔豬和中豬效果比較顯著,對肥豬效力差些。

5. 注意事項: 配制好的金霉素溶液最好配後就用,假使不能立即使用,要放在冷的地方,但不能超過三小時,因時間過長其效力要降低。

飼料中加入金霉素後,不允許再將飼料用水泡或再養一遍,而且也不應該保存不用,否則也會降低效力。

試驗組和對照組的飼料要嚴格分開,不要讓對照組的豬也吃到了金霉素,如果條件許可,盛裝飼料用的桶、食槽完全分開最好,如果條件不夠亦不到,也要注意用後洗刷乾淨,否則要影響試驗的正確性。

在試驗過程中,豬飼料中要增加食鹽及骨粉(蒸制骨粉或骨灰)以補充磷鈣的不足,其分量為日糧總量的1%。

6. 試驗紀錄: 方法上除(1)試驗組外,(2)(3)兩組在正式開始前預先餵飼相同日料7天,以後按體質體重健康情況,平均搭配分組,在試驗開始前連續稱重3天,以其平均體重作為開始體重,以後每隔10天試驗組與對照組的豬都要稱體重一次,在稱重時應統一在上午或下午,以比較二組體重增長快慢的情況,並且要隨即記載下來。試驗結束時連續稱重3天,以其平均體重為結束時體重,一般在試驗開始或結束後的第二天作為試驗正式開始。

与結束的日期。

在試驗过程中迭次称重时，发现体重的增重有問題时，必須研究原因及时解决。

××社金霉素喂猪試驗对比表（××月）

項 目	試 驗 組	对 照 組	备 註
1. 采用猪品种			
2. 猪 齡			
3. 头 数			
4. 飼料成份与数量			
5. 金霉素用量			
6. 調制配合方法			
7. 飼养方法			
8. 生活条件			
9. 外貌变化			
10. 体重增加	平均 最高 最低		
11. 发病情况			
12. 死亡情况			

附：重量折算表

1 市斤 = 16 兩

1 兩 = 10 錢

1 錢 = 10 分

1 分 = 10 厘

1 市斤 = 500 克

1 兩 = 31.2 克

1 錢 = 3.12 克

1 分 = 0.31 克 = 310 毫克

1 厘 = 0.031 克 = 31 毫克

1 千克（公斤） = 2 市斤

1 千克（公斤） = 1,000 克（1 克 = 1000 毫克）

1 克 = 3.2 分

1 毫克 = 0.0032 分 = 0.032 厘

附：福建省农学院用金霉素养猪試驗情况簡介

金霉素用作飼料，已有很多实验証明，对动物生長有显著的刺激作用，对猪的体重增加尤为显著，在国外，含有抗生素的飼料畜牧业上已广泛应用。福建省农学院从1956年开始即进行了以金霉