

168329

内部

微生物在医学上的应用

湖南省革委会生产指挥部科技情报服务站

一九七一年元月

目 录

春雷霉素試驗总结	(1)
庆大霉素的研究	(35)
万古霉素試制总结	(43)
爭光霉素的研究	(58)
爭光霉素試制工艺总结	(83)
放綫菌素K 資料总结	(127)
附一：制剂規格标准	(132)
附二：更生霉素（即放綫菌素K）注射剂	(134)
放綫菌素K 治疗絨癌、恶萄 162 例临床資料分析	(135)
放綫菌素K 治疗恶性肿瘤的經驗（附74例病例分析）	(144)
醋氢潑尼松联合发酵工艺中型实验总结	(148)
輔酶A 生产制造工艺	(157)
酵母細胞色素丙研制成功	(160)
凝血质、麦角固醇、卵磷脂、酵母海藻醣、多种 氨基酸資料	(162)
酒糟廢水提取凝血质	(167)
白地霉、核苷酸生产	(171)
自容法生产核苷酸	(204)
核苷酸治疗白細胞减少症临床小结	(206)
单核苷酸(AMP、CMP)治疗粒細胞减少症临床試驗小结	(211)

核苷酸臨床試用小結.....	(217)
核苷酸治療白血球低落症療效觀察.....	(222)
肌苷酸治療射線性白細胞減少症的觀察.....	(224)
“七號”枯草芽孢桿菌的實驗研究.....	(239)
七號菌丸(枯草桿菌丸)治療94例腸炎病人的初步觀察.....	(242)
枯草桿菌加撲爾敏治療慢性氣管炎83例小結.....	(244)
復方枯草桿菌片對慢性氣管炎155例療效的初步觀察.....	(247)
細菌——藥敏試驗的幾項研究.....	(250)
“九二〇”土法產品醋酸乙酯法提純工藝介紹.....	(259)
介紹一種“920”固體發酵的提煉方法.....	(262)
土法生產“九二〇”注射液.....	(266)
“九二〇”治療某些疾病的療效.....	(267)
“九二〇”在醫療上應用的初步調查.....	(273)
採用“920”治療肺結核空洞療效小結.....	(275)
國外動態：酶制劑在醫學上應用的潛力.....	(281)

春雷霉素試驗总结

华北制药厂革委会

(一) 前 言

在伟大领袖毛主席“提高警惕，保卫祖国”。“要准备打仗”的号召的鼓舞和党的“九大”团结、胜利的旗帜的指引下，在我国建国二十周年大庆前夕，一个具有战备意义的新抗菌素——春雷霉素试制成功了。

春雷霉素与国外报道的春日霉素(Kasugamycin)为同一种物质，它是一种仅医两用的碱性水溶性抗菌素，对人的毒性极低，在农业上主要用于防治水稻瘟病；医疗上用于G(+)和G(-)球菌3122的各种感染，尤其对多粘菌素，粘菌素，庆大霉素，卡那霉素，链霉素，氯霉素等耐药的绿脓杆菌的感染具有较高的疗效。

为毛主席争光 为社会主义祖国争光

春日霉素是1964年由日本首先宣布发现的一种新抗菌素，日本垄断资本集团曾为之大吹大擂，並作为“专利”商品高价向我国推销。

“外国有的，我们要有，外国没有的，我们也要有”。“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。”毛主席的伟大教导，激励着我国的工人阶级和革命的科学技术人员，他们怀着对帝国主义无比仇恨和蔑视，对社会主义祖国无限热爱的深厚阶级感情，立即开展了春日霉素产生菌的寻找和这一新抗菌素的试制工作，同年即由国内土壤中分离得一菌株，其产生的抗菌物质经鉴定和国外报道的春日霉素为同一物质。

在建国二十周年大庆前夕，中国科学院微生物研究所年轻的革命技术人员，怀着为伟大领袖毛主席争光，为伟大社会主义祖国争光的雄心壮志，来到了华北制药厂，与工人群众相结合，试制新抗菌素的临床样品。在短短的4个多月时间里，不仅制成了高纯度、高质量的外用、口服和针剂几种合格样品，而且不断改革和完善了试制工艺，使发酵单位和提炼收率都有了很大的提高。这是毛泽东思想的伟大胜利，是毛主席“独立自主”“自力更生”方针的伟大胜利，是无产阶级文化大革命的丰硕成果，是革命的知识分子和工人群众相结合的结晶。

由于这一新抗菌素将在1970年春正式交付临床应用，而这七十年代第一春在世界无

产阶级革命历程中具有非常重要的意义，为了迎接世界革命春天的到来，所以我们把它定名为春雷霉素。

春雷霉素试制小组成立不久，毛主席就向全国人民发出了“要准备打仗”“全世界人民团结起来，反对任何帝国主义，社会帝国主义发动的侵略战争，特别要反对以原子弹为武器的侵略战争！如果这种战争发生，全世界人民就应以革命战争消灭侵略战争，从现在起就要有所准备！”的伟大号召，这对于全组同志是一个极大的鼓舞和鞭策。大家深深认识到，春雷霉素是一种具有重要战备意义的抗菌药品，面对当前苏修、美帝对我国发动大规模侵略战争的危险，我们早日完成试制工作，使这一新抗菌素尽快投入生产，就是以实际行动落实战备，就是对帝、修、反的一个重大打击。

为了更好地用战备的观点促进春雷霉素的试制工作，我们的试制人员还走出试验室，到医院访问临床试验的病人，了解临床试验的情况，听取医务人员对药品试制工作的意见和要求。当我们亲眼看到自己亲手试制的药品在治疗烧伤和创伤感染中的独特效果，亲耳听到广大工农兵群众对我们早日投产这一药品的亲切期望，更加激发了每个人的工作热情和责任心。一致表示要尽全力加速春雷霉素试制，让它在反侵略战争中发挥应有的作用，并为支援世界革命贡献出它的力量。

在整个试制过程中，我们以张思德、白求恩、老愚公等英雄人物为榜样，对照检查自己的思想和工作，促进自己的思想革命化。因此，在工作中大家都干劲十足，为了攻克一个个难关，经常日夜奋战，星期天也不休息，从而保证了春雷霉素的试制工作能够在人员少，工作量大，设备不足的情况下，以较快的速度向前推进。

打破洋框框 走自己工业发展的道路

“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。”在春雷霉素试制中，是按照洋框框，跟在洋人后面爬行，还是独立自主，自力更生，走自己工业发展的道路，这是摆在我们面前的一个尖锐问题。针对这个问题，我们狠批了叛徒、内奸、工贼刘少奇的“爬行主义”“洋奴哲学”，用毛泽东思想统一了自己的思想，决心打破洋框框，摸索一套适应我国具体情况，简单易行的生产工艺。

发酵中调节PH 据外国文献报道是用乳酸，大家认为乳酸价格较贵，用于生产不合适，而华北制药厂旋光车间的副产品玉米浆中也含有丰富的乳酸，是否可以代用，经过

试验，证明玉米浆确实可以代替乳酸，而且效果很好，使发酵单位有所提高，成本大大降低。

提取原采用活性炭吸附法，这是国外生产初期曾经用过的一种方法。这个方法操作麻烦，劳动强度大，而且成本高，根本不适应于工业生产。担负提取工作的同志经过多次的反复试验，终于成功的用离子交换法代替了炭吸附法，使工艺过程大大缩短，操作大大简化，收率也有所提高。

检定也是这样。日本垄断资本集团在向我国推销春日霉素商品时，曾在上海做过效价检定表演，他们用萤光假单孢菌作为检菌，抑菌圈边缘非常模糊。我们以蔑视日本帝国主义的革命气概，从国内枯草杆菌中筛选出一株检菌，虽然抑菌圈还有些缺陷，但比他们用萤光假单孢菌作为检菌要清晰得多，而且操作也比较简便。

以上事例充分说明，我们完全能够打破洋框框，丢掉洋拐棍，走自己工业发展的路，而且有可能比洋人干得好一些。让刘少奇的“爬行主义”“洋奴哲学”见鬼去吧！让一切帝国主义、社会帝国主义在我们用毛泽东思想武装起来的人民的英雄气概面前发抖吧。

工人阶级必须领导一切

毛主席教导我们：“工人阶级必须领导一切”，“知识分子如果不和工农民众相结合，则将一事无成”。春雷霉素的试制成功，其中的一个重要因素就是有工人阶级的领导和革命的知识分子同工人群众的结合。

在无产阶级文化大革命以前，春雷霉素已经开始试制了，但由于叛徒、内奸、工贼刘少奇推行的修正主义科研路线的影响，这项工作只是在科学院里关起门来搞，因而进展很慢。无产阶级文化大革命的洪流，冲决了刘少奇把知识分子与工农群众相隔离的堤坝，革命的科学技术人员从修正主义科研路线的束缚下解放出来，他们走出科学院的大门，到工厂、农村和广大的工农群众相结合，接受工人阶级和贫下中农的再教育，在阶级斗争和生产斗争的第一线更好地开展科学实验工作。1969年7月，根据杭州全国抗菌素行业活学活用毛泽东思想会议的决定，春雷霉素的试制工作，也拿到工厂里来搞了，在毛主席的无产阶级科研路线的指引和工人阶级的领导下，革命的知识分子和工人群众相结合，使这项工作的面貌焕然一新。短短的四个多月时间，工作的进展速度超过了过去的几年，其中发酵单位比下厂前提高了几倍，提取收率提高了50%，产品增加了盐酸盐针剂和硫酸盐针剂两个品种，实现了重大工艺改革4项。

在和工人群众相结合的过程中，革命的技术人员虚心接受工人阶级的再教育，处处以工人阶级的高贵品质对照、检查和要求自己，在改造世界观，实现思想革命化方面也取得了可喜的成绩。

(二)菌 种 部 分

一、春雷霉素产生菌的分类学特性

春雷霉素产生菌(730*)是1964年秋从我国江西土壤地区所采土样中分离出来的一株放线菌,经分类鉴定与日本的春日霉素产生菌——春日链霉菌(*Str. Kasugaensis* M 388—M₁)不同,而是属于金色放线菌类群的一个新种,命名为小金色放线菌(*Actinomyces microaureus* SP.)。

1.形态特征:

孢子丝紧密,小螺旋形,1~6圈,成密集簇状。孢子丝未断裂成孢子时,螺旋较松弛,显微镜下易于观察(图1);孢子成熟后,孢丝螺旋紧密且聚生成团,不易观察分辨(图2)。孢子椭圆形(0.6~0.8×1.0~1.2微米),或球形(0.6~0.8微米)。

2.培养性状:

(1)葡萄糖天冬素琼脂:气丝少,白至微粉灰状,基丝反面赭黄至淡密黄,褐黄,有时有笋皮棕至褐色斑点,可溶性色素赭黄,炒米黄至浅黄。

(2)葡萄糖苹果酸钙琼脂:气丝少,污白,蚌肉白至猴毛灰,基丝正面桂皮淡棕、淡咖啡,基丝反面褐黄至褐色,基柱皮淡棕,玳瑁黄、褐黄。

(3)葡萄糖酪氨酸琼脂:气丝无至薄,白至灰,基丝浅污黄至沙石黄,基淡污黄,反面笋皮棕至褐色。

(4)淀粉水解琼脂:微有生长,接种块周围长出菌丝约半毫米即停止生长,不水解。

(5)在克氏合成一号琼脂、蔗糖察氏琼脂、高氏淀粉琼脂、淀粉琼脂4种合成培养基上不生长。

(6)土豆块:气丝无或生长很弱,白色,基丝与基质同色,生长弱至中度,土豆块顶端变为褐色,有时变为黑色。

(7)瓦氏肉汁琼脂:无气丝、基丝正面香水玫瑰黄、甘草黄、基芒果棕至椰壳棕、落叶棕。

(8)炭源基础培养基加葡萄糖或乳糖或半乳糖:气丝白至浅灰,基丝象牙黄,可溶性色素浅炒米黄。

(9)碳源基础培养基加果糖:气丝白至中灰,粉状,基丝炒米黄,可溶性色素深炒米黄。

(10)碳源基础培养基加甘油:气丝浅灰至夜灰,绒粉状,孢子丝极多,基丝土黄,可溶性色素深污黄。

(11)碳源基础培养基加肌醇:气丝浅灰,基丝炒米黄至深污黄,可溶性色素深炒米黄至污黄。

3. 生理特性: (表1~3)

表1: 730*的生理特征

明胶液化	牛 奶	淀粉水解	硝酸盐还原	纤维素上生长
	胨 化 凝 固			
+++	+++	+	+++	+

注: “+~+++”有反应至反应强; “—”无反应。

表2: 730*对不同碳源的利用

葡萄糖	乳糖	半乳糖	果糖	蔗糖	麦芽糖	甘露糖	阿拉伯糖	木糖	棉子糖	鼠李糖	淀粉	菊糖	卫矛醇	甘油	肌醇	甘露醇	山梨醇	七叶树素	柠檬酸钠	草酸钠	醋酸钠
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注: “+~+++”利用至利用良好; “—”不利用。

4. 730*和春日链霉菌M338—M1的比较: (表4)

表4: 730*与M₃₃₈—M₁的比较。

	730*	M ₃₃₈ —M ₁
葡萄糖苹果酸钙琼脂	气丝污白至猴毛灰。基丝淡咖啡反面褐黄至褐色。苹果酸钙溶解不明显。	气丝白至砂色。基丝象牙黄。无可溶性色素。苹果酸钙被溶解。
葡萄糖酪氨酸琼脂	气丝无至薄, 白至灰粉状。基丝浅污黄到沙石黄, 有时褐色。基浅污黄至污黄。	无气丝。基丝橄榄色至灰黄茶色。可溶性色素, 淡黄茶色至橄榄色。
淀粉琼脂	不生长或生长很微弱。淀粉不水解。	气丝白色。基丝象牙黄。几无可溶性色素。淀粉水解差。
牛 奶	无气丝。基丝无色。微黄至褐、浅褐色可溶性色素。凝固並胨化明显。	无气丝。基丝无色。无可溶性色素。凝固、胨化均难于看出。
明 胶	气丝一般无, 偶尔有白斑。基丝无色、微黄至褐。可溶性色素褐色明显液化。	无气丝。基丝初无色, 后红褐色可溶性色素淡褐色。明胶液化。

	730*	M ₃₃₈ —M ₁
0.2%NaNO ₃ 胨液	硝酸盐还原	硝酸盐还原
碳源利用	能很好地利用甘油、果糖、葡萄糖、肌醇、利用麦芽糖、半乳糖、棉子糖、甘露糖、柠檬酸钠、醋酸钠，不利用乳糖、蔗糖、阿拉伯糖、木糖、鼠李糖、淀粉、菊糖、甘露醇、山梨醇和草酸钠。	半乳糖、甘露糖、葡萄糖、棉子糖、麦芽糖、果糖、甘油、肌醇利用良好，山梨醇、水杨甘、鼠李糖、菊糖、蔗糖、甘露醇、木糖利用较差，阿拉伯糖、糊精、乳糖、淀粉利用最差。

二、春雷霉素产生菌的选育

在这次中型试制以前，730*菌株已经过两次紫外线照射。在试制过程中，又对该菌株进行了初步的自然选育及几种强烈因子的处理。现将选育结果报告如下：

1. 730* 的菌落类群：

在黄豆饼粉、葡萄糖琼脂培养基上，于28°C 培养11~12天，730*的菌落形态可分为五种不同类型。

Ⅰ.菌落直径7~8毫米，放射纹路整齐，呈梅花型，中央突起，气生菌丝灰白至粉灰色，菌落背面黄绿色。

Ⅱ.菌落大小、形状同（Ⅰ），但气生菌丝呈深灰绿色。

Ⅲ.菌落小，直径4~5毫米左右，放射纹路少，气生菌丝灰白色。

Ⅳ.半光秃型，大部分菌落形状不规则，有的甚至延伸较大。扁平。在培养8天以前，大部无气生菌丝生长，以后逐渐在部分部位有一些孢子，有的白色，有的粉红色或灰绿色。

其他，有的是无孢子的光秃型，有的菌落皱纹特别多，碎细，孢子深灰色，略带粉红色。

Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ类型的菌落移种至斜面后，相互之间看不出显著的差异，至于它们产生春雷霉素的能力如何，尚待进一步考察。

Ⅳ及其他类型，移种至斜面后，则保持其上述的菌落特点。

因此，我们初步确定，Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ型为730*的正常型，而以Ⅳ、Ⅴ型出现的比例作为自然变异率。

2.730*的自然选育：

由于730*菌落类型比较多，故进行一次自然分离，挑选出17*、23*两个菌株，其菌

落类群较为统一，而产生春雷霉素的能力与原株相近，可作为试制和生产的备用菌株。

3. 强烈因子处理：

730*对紫外线、氮芥子气、乙烯亚胺都较敏感（表5），在形态变异方面。经过强烈因子处理后，变异类型的菌落增多，特别是弱孢子类型的比例增大。

表5：730*对几种强烈因子的敏感情况

因 子	剂	量	死 亡 率
紫 外 线	38Cm	20"	97~98%
	46Cm	20"	95.7%
氮 芥 子 气	0.1mg/ml	2	97.16%
	0.2mg/ml	2	99.67%
	0.5mg/ml	2	99.99%
乙 烯 亚 胺	1/1000	10	94.27%
	1/2000	20	64.8%

我们用紫外光照射，仅筛选了16株，即获得一较高单位的菌株（U₉），摇瓶单位比730*提高15~20%（表6）。其形态特征为孢子较弱，呈灰白色，可与730*明显区别。

表6：U₉与730*效价比较

菌 培 养 基	黄豆饼粉3% NaCl 0.3% 玉 米 油 2%			黄豆饼粉5% NaCl 0.3% 玉 米 油 4%		
	1	2	3 *	1	2	3 *
U ₉	1855	2087	1970	2625	2800	3225
730*	1530	1210	1500	2205	2590	2890

注：* 培养基中添加0.6%的玉米浆

由此可见，利用强烈因子诱变，在提高菌种产春雷霉素能力方面，是很有前途的。

4. 存在的问题：

菌种本身的稳定性及筛选工艺方面，尚需进一步考察。

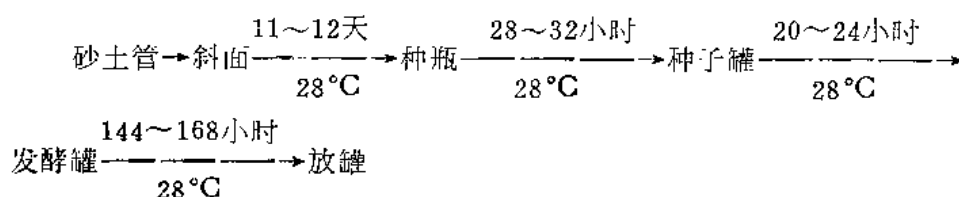
三、菌 种 保 藏

可将孢子保存于砂土管或冷冻管中。

(三) 发 酵 部 分

一、发酵的基本工艺

1. 工艺流程 (暂按二级发酵定):



(1) 斜面孢子的制备。

菌种: 730*

培养基: 黄豆饼粉 (热榨) 1 % , 葡萄糖 1 % , 蛋白胨 0.3 % , NaCl 0.25 % , CaCO_3 0.2 % , 洋菜 2 ~ 2.5 % , 蒸馏水配制, PH 7.2 ~ 7.3。

注: 黄豆饼粉 (热榨) 加入 10 倍量体积的蒸馏水中, 于 $80\sim 85^{\circ}\text{C}$ 加热搅拌 10 分钟, 然后用四层纱布过滤, 取用滤液。

分装灭菌: 培养基配制后, 分装入 $30\times 210\text{mm}$ 的试管中, 每支 25mg , 于 120°C 蒸汽灭菌 30 分钟, 取出后放成斜面, 于 37°C 放置 2 ~ 4 天, 无染菌及表面无冷凝水方可使用。

接种培养: 在无菌室用接种耳沾取少许砂土孢子, 涂布于斜面上, 于 28°C 恒温培养 11 ~ 12 天, 至表面孢子丰满, 呈粉灰至粉红色, 取出放冰箱保存备用, 保存时间以不超过一个半月为宜。

(2) 种瓶培养。

培养基: 葡萄糖 1.5 % , 黄豆饼粉 (冷榨) 1.5 % , NaCl 0.3 % , KH_2PO_4 0.1 % , $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 % , 自来水配制, 用 NaOH 调 PH 至 6.5 ~ 7.0。

灭菌: 于容量 750ml 的三角瓶中分装上述培养基 200ml , 加棉塞于 120°C 蒸汽灭菌 30 分钟。

接种培养: 在无菌室用接种铲刮取少量斜面孢子接种入种瓶中 (每只斜面约接种瓶 10 瓶) , 于 28°C 恒温振荡培养 28 ~ 32 小时, 取下镜检菌丝最多, 长而粗壮, 原生质尚未分化或部分分化, 无染菌, 方可使用。

(3) 种子罐:

培养基: 将 1.5 % 的葡萄糖改为 1 % 的玉米油 (或豆油) , 其余与种瓶培养基同。自然 PH 。

灭菌: 120°C 实罐蒸汽灭菌 30 分钟。

接种量: 1 % 左右。

培养条件：罐温 $28 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ，通气 $1:0.5 \sim 0.6 \text{ V/V/分}$ ，搅拌连续。

移种指标：当 PH 上升至 6.8 左右，镜检菌丝量多而长，原生质尚未分化或部分分化，无染菌，即可移种，这时种令约 20~24 小时。

(4) 发酵罐：

培养基：黄豆饼粉(冷榨) 6%，玉米油(或豆油) 4%，NaCl 0.3%，PH 自然。

接种量：5~10%。

发酵条件：罐温 $28^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ ，通气 $1:0.3 \sim 0.5 \text{ V/V/分}$ ，搅拌连续，泡沫大时可少量多次加油，但加油量不得超过发酵液总体积的 0.5%。

中间补料(调 PH)：接种后 16 小时左右，PH 上升至 7.8 以上，即加入玉米浆 0.2~0.5%，(依 PH 上升幅度而定)，4 小时后若 PH 仍在 7.8 左右，再加入玉米浆 0.2~0.5%，直到 PH 降到 7.5 以下为止。

放罐指标：发酵 144 小时以后，发酵液表面无残油或很少残油，效价不再上升，即可放罐。

2. 发酵中间分析：

(1) 种子罐：

	消 前	消 后	8 小时	16 小时	20 小时	放
PH	★	★	★	★	★	★
氮氮		★				★
无菌		★	★	★		★

(2) 发酵罐：

	消 后	8 小时	每 4 小时一次	36 小时	24 小时一次	放
PH	★	★	★	★	★	★
氮氮	★				★	★
效价				★	每 12 小时一次	★
无菌	★	每 8 小时一次		★		

3. 发酵过程的代谢情况：

(1) 代谢曲线：(图 3)

(2) 菌丝阶段：接种后菌丝大量繁殖，生长 8 小时菌丝长而粗壮，有短分支，原生质均匀，美兰染色深；16 小时后原生质开始分化，菌丝不断分裂为短杆状，染色仍较深；24 小时后菌丝大部分成为粗短杆状，部分再生形成稍长的细菌丝；32 小时短菌丝大部份再生为稍长的细菌丝，原生质有凝聚现象，染色较低；40 小时菌丝开始形成空胞，以后空胞不断增多，增大，染色逐渐变浅，直至放罐。

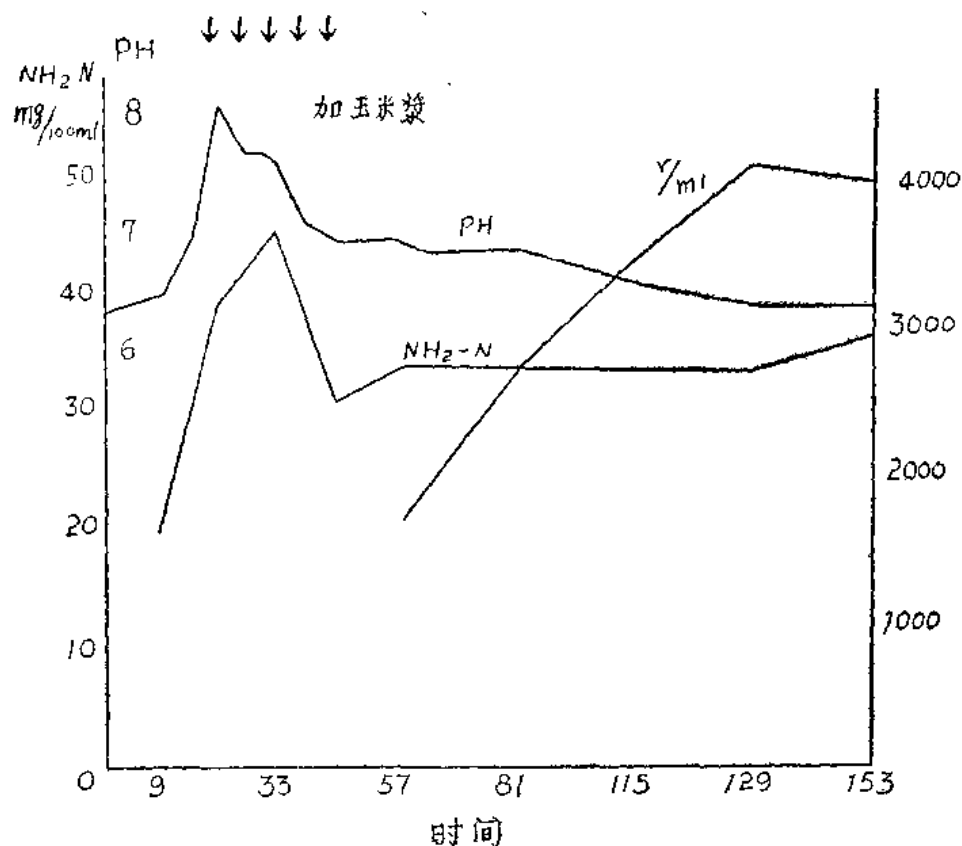


图 3：春雷霉素发酵代谢曲线（54~27）

二、摇瓶试验

1. 材料和方法：

试验流程：斜面孢子→种瓶→发酵。

菌种：730*

培养基：斜面、种瓶同前。发酵基础培养基有两种，一种为黄豆饼粉 3%，玉米油 2%，NaCl 0.3%；一种为黄豆饼粉 5%，玉米油 4%，NaCl 0.3%。前者简述为 3:2 配方，后者为 5:4 配方。两种均为自然 pH。

装量：种瓶和发酵瓶均用容量 500 ml 的三角瓶分装培养基 100 ml，前者用棉塞塞口，后者用六层纱布扎口。

接种量：每只斜面接 12~15 瓶种瓶，种瓶接发酵瓶 3~5%。

试验条件：种瓶培养和发酵温度均为 28°C，种瓶令 32 小时。摇瓶机为回转式，转速 130~180 转/分。

2. 试验内容：

(1) 发酵培养基的改进：

在中型试制前，采用的发酵培养基为：麦芽糖 1.5%，黄豆饼粉 1.5%，NaCl 0.3%

表7：发酵培养基的改进（I）

组别	培养基成分（%）					效价			
	麦芽糖	豆饼粉	玉米油	肉膏	NaCl	K ₂ HPO ₄	MgSO ₄	(NH ₄) ₂ SO ₄	
1	1.5	1.5	—	0.3	0.3	0.1	0.05	0.2	600
2	1.5	1.5	2	—	0.3	0.1	0.05	—	1500
3	—	5	4	—	0.3	—	—	—	2000
									3000 -
									2000 +

表8：发酵培养基的改进（II）

组别	培养基成分（%）					效价			
	麦芽糖	豆饼粉	玉米油	NaCl	K ₂ HPO ₄	96小时	120小时	144小时	
1	2.5	3	—	0.3	—	1000	1200 +	1200 +	
2	1.5	3	2	0.3	0.1	1000	1600	1600	
3	—	3	2	0.3	—	1000	1400	1440	

表9：发酵培养基的改进（III）

组别	培养基成分（%）				效价			
	豆饼粉	玉米油	NaCl		96小时	120小时	144小时	
1	3	2	0.3	—	1100	1600	1600	
2	5	4	0.3	—	1400	2200	2200	

注：表7～9中每个效价数值均为两个或三个样品的平均值，下同。

(NH_4)₂SO₄ 0.2%, K_2HPO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, 肉膏 0.3%, 灭菌前调节PH为7.5左右, 发酵水平为800u/ml 上下。在中型试制中, 逐渐改成以油为主要碳源的培养基, 使发酵水平提高到2000u/ml 以上(表7~9)。

(2) 铁对发酵效价的影响:

在用长期放置不用而生锈的铁罐进行发酵试验时, 单位很低, 故在摇瓶中加入铁屑进行试验, 证明大量的 Fe^{++} 确实影响发酵效价(表10)因此, 铁罐在使用前应预先除铁。

表10: Fe^{++} 对发酵效价的影响

组别	Fe^{++}	效 价		备 注
		96小时	120小时	
1	/	1700	2000	用 5 : 4 配方
2	加铁屑	800	1300	”

(3) 葡萄糖对发酵效价的影响:

葡萄糖在代谢过程中产生有机酸, 使 PH 降低, 因此在罐试验中曾用它来调节PH。但摇瓶试验结果表明, 加入葡萄糖明显地降低发酵效价。(表11~12)

表11: 葡萄糖对发酵效价的影响 (I)

组别	培养基配方	葡 萄 糖		效 价		
		加入量(%)	加入时间	84小时	108小时	132小时
1	3 : 2 配方	/		1200	1700	1700
2	”	0.5	消前	1000	1000	1000
3	”	0.5	接后16小时	1400	1500	1500
4	5 : 4 配方	/		2000	2000	2200
5	”	0.6	消前	1150	1600	1600

表12: 葡萄糖对发酵效价的影响 (II)

组别	培养基配方	葡 萄 糖		效 价	
		加入量(%)	加入时间	120小时	144小时
1	3 : 2 配方	0.2	消前	1380	1200
2	”	/		1530	2000

(4) 玉米浆的作用:

玉米浆呈酸性, 可在发酵中用来调 PH, 而且摇瓶试验表明, 加适量还能使发酵效价有所提高。(表13)

表13: 玉米浆对发酵效价影响

组别	编号	玉米浆(%)	效 价			备 注
			96小时	120小时	144小时	
1	1	0.1		1380	1850	3 : 2 配方
	2	/		1530	2000	„
2	3	0.1		900	1070	„
	4	0.2		1120	1200	„
	5	0.3		1980	1950	„
	6	/		750	940	„
3	7	0.2	1665	1770	1915	„
	8	0.3	1635	1820	1850	„
	9	0.5		1640	1860	„
	10	/	895	1020	1185	„
4	11		1900	2180	2300	5 : 4 配方
	12		1890	2110	2470	„
	13		1615	1970	2260	„
	14		1290	1715	1800	„

注: 玉米浆均于消前加入, 加后调节培养基PH至 6.5 左右。

(5) 磷的作用:

在发酵培养基中添加0.1%的 K_2HPO_4 , 效价略有提高(表14)。这一点, 和玉米浆提高效价的作用是一致的(玉米浆中含有较多量的磷)国外文献也有报道用磷酸调节发酵过程中 PH 的。但研究磷的需要量如何尚待进一步考察。

表14: 磷对发酵效价的影响

批 次	K_2HPO_4 (%)	效 价			备 注
		96小时	120小时	144小时	
1	0.1	1330	1290	1410	8 : 2 配方
	/	1065	1065	1225	”
2	0.1	1405	1535	1720	”
	/	1105	1420	1520	”
3	0.1	1760	1990	2420	”
	/	1470	1930	2090	”

(6) 几种油类的比较:

为了扩大原料的来源, 适应因地制宜的要求, 我们做了几种油类的比较试验, 结果表明, 豆油、玉米油、花生油效果差不多, 棉子油、鱼油较次(表15)。

表15: 几种油的发酵比较

编 号	油 类 名 称	平 均 效 价		
		96小时	120小时	144小时
1	玉 米 油	1260	1500	1570
2	豆 油	1310	1520	1600
3	花 生 油	1310	1700	1820
4	棉 子 油	960	1020	1110
5	鱼 油	950	960	1110

注: (1) 除花生油系一批的数据外, 其他都是三批的平均数据;

(2) 均用 3 : 2 配方。

(7) 斜面孢子令及保存时间试验:

砂土孢子接种斜面后, 于28°C 培养8~14天, 发酵效价无显著差异。成熟斜面放冰箱保存半个月到一个半月, 对发酵效价无影响。

(8) 种瓶令试验:

斜面孢子种种瓶后, 分别培养24~44小时, 发酵效价呈显著差异(表16)。