

3665
23007
T.3

201561

成都工學院圖書館
基本館藏



《工业技术资料》汇编

微生物菌体的综合利用

第三辑

上海人民出版社

《工业技术资料》汇编第三辑

微生物菌体的综合利用

上海市应用微生物展览会编

上海人民出版社

《工业技术资料》汇编第三辑
微生物菌体的综合利用

上海市应用微生物展览会编

上海人民出版社出版

(上海绍兴路5号)

新华书店上海发行所发行 上海市印刷三厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 1.875 字数 40,000
1972年7月第1版 1972年7月第1次印刷

书号: 13·4·232 定价: 0.12 元

只限国内发行

前 言

经过无产阶级文化大革命，在毛主席关于“工业学大庆，农业学大寨，全国学人民解放军，解放军学全国人民”的伟大号召鼓舞下，应用微生物这门既古老又新兴的技术领域，冲破资产阶级专家的垄断，日益广泛地为广大工农兵群众所掌握，在国民经济的许多部门发挥着越来越大的作用。

根据广大工农兵、革命干部和上山下乡知识青年的迫切需要，在展览会资料交流的基础上，我们请供稿单位将有关资料作了进一步的修改、校正，选编成《微生物的选种和育种》、《微生物菌体的综合利用》两册出版。

在党中央和毛主席的正确领导下，只要我们坚持辩证唯物主义的反映论和认识论，不断批判唯心论的先验论和不可知论，我们一定能够认识微生物世界中许多暂时尚未被认识的领域，同时使应用微生物为社会主义革命和社会主义建设作出更大的贡献。

上海市应用微生物展览会

一九七二年三月

74000/10

目 录

酵母浸出汁生产工艺	上海酵母厂(1)
从酵母中提取凝血质、麦角固醇、卵磷脂、 酵母海藻糖、多种氨基酸	上海酵母厂(5)
从酵母中提取辅酶甲	上海酵母厂(17)
细胞色素丙生产工艺	上海酵母厂(26)
从味精发酵菌体中提取四种 δ' -单核苷酸	上海味精厂(43)

酵母浸出汁生产工艺

上海酵母厂

一、概 况

酵母中维生素含量很丰富,种类也多,已经研究过的就有14种。除了油溶性维生素原麦角固醇之外,其余的是水溶性维生素。

酵母中含有40~50%蛋白质,从氨基酸组成方面来看,这种蛋白质近似动物蛋白质,它的营养价值相当高。

酵母的自溶作用是很多反应过程的综合。这些反应是在没有外界养分供应的情况下由酶(解朊酶等)催化的,反应温度是50°C左右。

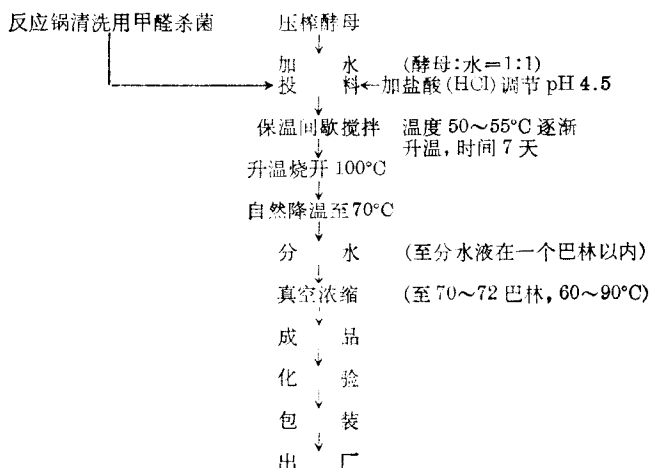
要使自溶过程有效地进行,最要紧的是使反应物料的温度保持在45~50°C的范围内,在60°C时解朊酶开始分解而失去作用。酸度应保持在pH4.5~5.0。

酵母浸出汁为棕黄色粘稠液体,具特殊臭味,但无腐败气及不快气味,能溶于水,溶液呈黄色至棕色,反应为弱酸性。

酵母浸出汁成品规格要求:浓度70巴林(糖度)以上,氯根5%以下,含氮量7%以上,炽灼残渣在15%以下。

酵母浸出汁可用于生物培养,食品工业作调味滋补剂,亦可代替味精用作日常调味品,牛肉汁中的营养填充剂,儿童营养食品滋补剂,医药工业高蛋白质制品等。

二、工 艺 流 程



三、主 要 设 备

保温桶(内装盘香管)、分水器、真空浓缩锅。

四、测 定 方 法

1. 氮的测定(通用半微量定氮法)

试剂为 40% 氢氧化钠(NaOH)、纯硫酸铜(CuSO_4)、硫酸钾(K_2SO_4) (据中华人民共和国药典), 0.01N 标准硫酸(H_2SO_4) 溶液, 0.01N 标准硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 溶液, 0.5% 淀粉液, 碘化钾(KI) 和碘酸钾(KIO_3) 混合液。

操作方法, 精密称取试样 50~90 毫克, 加硫酸钾(K_2SO_4) 350~400 毫克及硫酸铜(CuSO_4) 45~50 毫克, 浓硫酸 2~3 毫升, 放在 100 毫升 K 氏烧瓶中, 先在电炉上用小火加热烧

至无白烟出来，改用大火并保持沸腾至溶液无色透明为止。冷却后，加蒸馏水 25~30 毫升，此时又有一个发热再冷却的过程，然后倒入蒸馏器内，用蒸馏水将 K 氏烧瓶洗 3~4 次，把洗液也放入蒸馏器中，加入 40% 氢氧化钠 10~12 毫升，蒸馏所产生的氨气(NH_3)，用 0.01N 标准硫酸液 25 毫升吸收，使蒸馏液中加入 75 毫升左右为止(可用石蕊试纸检验，到石蕊试纸不变色为止)。蒸馏液冷却 1~2 小时，在蒸馏液中加入 5 毫升碘化钾和碘酸钾混合液，停放 5 分钟，用 0.1N 硫代硫酸钠滴定，以淀粉作指示剂，至蓝色消失为终点。

空白试验，吸取 0.01N 硫酸液 25 毫升加入碘化钾、碘酸钾混合液 5 毫升，5 分钟后，用 0.01N 硫代硫酸钠滴定，同样以淀粉作指示剂，至蓝色消失为终点。

计算可按下列公式：

$$\text{氮}(\text{N}_2)\% = \frac{(\text{空白滴定} - \text{样品滴定数}) \times 0.014 \times 0.01N}{\text{样品重(克)}} \times 100\%$$

2. 氯根的测定

试剂为 0.1N 硝酸银 (AgNO_3)：称取硝酸银 16.99 克用蒸馏水稀释到 1000 毫升；

0.1N 铵盐(NH_4SCN)：称取 7.162 克铵盐用蒸馏水稀释到 1000 毫升；

10% 硫酸铁铵($\text{NH}_4\text{FeSO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)：称取硫酸铁铵 10 克加浓硝酸(HNO_3)10 毫升，用蒸馏水冲释到 100 毫升即得。

操作方法，称取样品 0.3~0.5 克加蒸馏水稀释到 500 毫升，混合均匀，吸取 100 毫升至 250 毫升的瓶中，再加 10% 硝酸溶液 10 毫升，使呈酸性，然后吸取 0.1N 硝酸银 20 毫升于溶液中煮沸，即放于无光线的阴暗处冷却 1 小时后取出，加 10% 硫酸铁铵 0.2 毫升(指示剂)，用 0.1N 铵盐溶液滴定，滴

至红色为止。

空白试验,用 0.1*N* 硝酸银 20 毫升加 10% 硫酸铁铵 0.2 毫升,用 0.1*N* 铵盐溶液滴定。

计算方法可按下列公式:

$$\text{氯}(\text{Cl}^-)\% = \frac{(\text{空白滴定} - \text{样品滴定数}) \times N \times 0.0585 \times 5}{\text{样品重(克)}} \times 100\%$$

式中: 空白滴定数为 20 毫升硝酸银以空白用去的铵盐量滴定数;

样品滴定数为加样后分析时, 20 毫升硝酸银所消耗的铵盐量;

N 为铵盐的当量浓度;

0.0585 为氯化钠(NaCl)的毫克当量;

5 为样品稀释倍数。

3. 可凝性蛋白质

称取样品 5 克加蒸馏水 100 毫升,使完全溶解后,用滤纸过滤,将滤液静止一定时间观察其是否有沉淀发生,如有沉淀则说明有可凝性蛋白存在(据中华人民共和国药典)。

从酵母中提取凝血质、麦角固醇、卵磷脂、酵母海藻糖、多种氨基酸

上海酵母厂

一、概 况

(1) 凝血质为淡黄色粉末, 略带特殊臭味。易溶于醚中, 醚溶液 (1:3 或 1:6) 应透明。不溶于丙酮及无水乙醇中。在水中能乳化成不透明之胶体溶液。

适用于内外科、妇产科、外科手术, 胃、痔、癌、鼻出血等止血。

(2) 麦角固醇为无色结晶, 在酒精溶液中成无色片状结晶析出, 在醚酮混合液中成针状无色结晶析出, 熔点为 $158\sim 162^{\circ}\text{C}$, 溶于水, 易溶于有机溶剂。

是制造维生素 D_2 之原料, 用于治疗小儿软骨病疗效最佳。

(3) 卵磷脂为稠密油膏状粘厚的均匀物质, 黄色或黄褐色, 可溶于无水乙醇 (12 份)、乙醚 (10 份) 和氯仿 (10 份) 中形成澄明溶液, 难溶于脂肪油类中, 在空气中受光线的影响被分解和氧化。

对冠状动脉粥样硬化及神经衰弱有一定的疗效。

(4) 酵母海藻糖, 结晶无色, 溶于水。

(5) 酵母多种氨基酸呈胶状, 溶于水, 应透明, 棕黄色。

现作为培养试剂和营养补品。

二、原 料

(1) 主要原料是干酵母粉, 性状为淡黄色粉末, 有特异酵母味。

(2) 辅助原料:

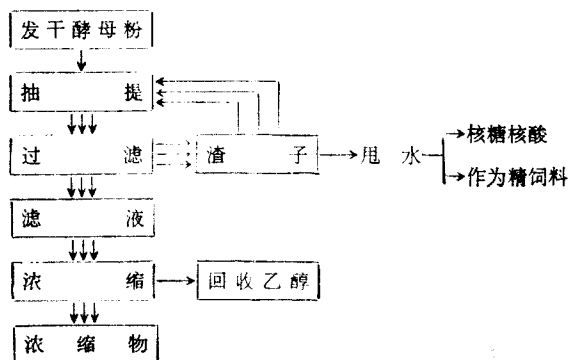
酒精规格, 除易炭化的物质外, 其他各项均须符合中华人民共和国药典规定(1953 年版), 密闭存放于危险品仓库。

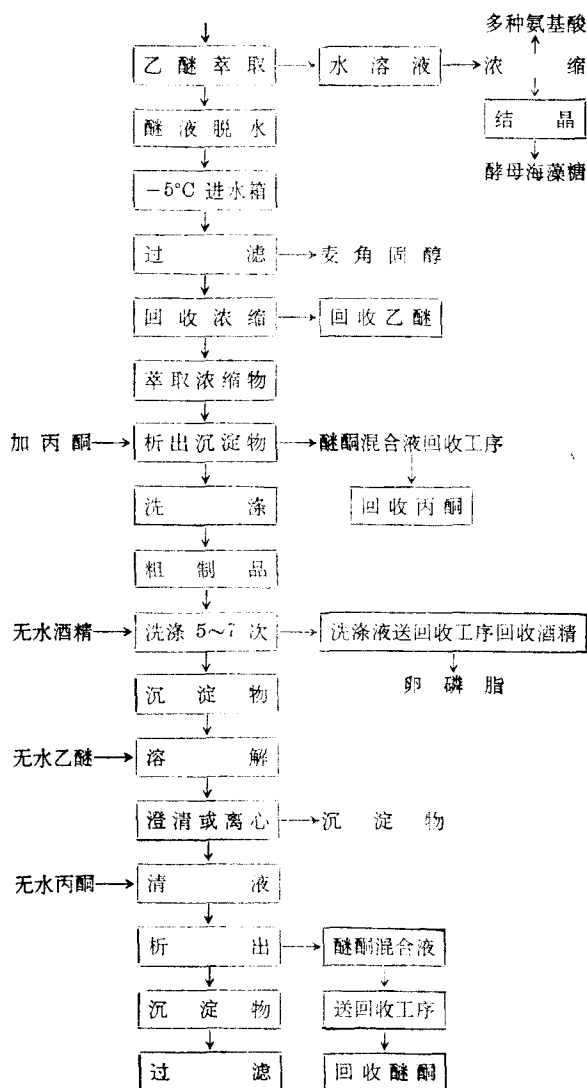
乙醚规格, 无色澄明液体, 沸点 $33.5\sim 37^{\circ}\text{C}$, 蒸馏后残渣不能超过 4%, 对石蕊试纸显微酸性。车间不能大量储存, 应随到随用。存放阴凉处, 不能暴晒。

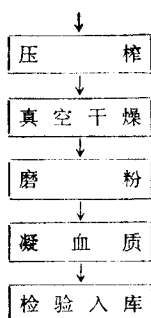
丙酮规格, 无色澄明液体, 沸点 $55\sim 58^{\circ}\text{C}$, 蒸馏后之残渣液不超过 3%, 比重在 0.789 以下。贮藏与乙醚同。

无水硫酸钠规格, 要求符合中华人民共和国药典之规定。放置干燥处, 烘干后应密闭。

三、凝血质、麦角固醇、卵磷脂、酵母海藻糖、多种氨基酸生产工艺流程







四、生 产 过 程

1. 酒精浸提

(1) 将经过 60~80 孔筛的干酵母粉 200 公斤，用 82~84% 酒精 600 公斤(1:3)浸入铁桶中搅拌 18~24 小时，用三角泵打入反应锅连续搅拌，开汽升温，升至 68~70°C 保持温度 3 小时。3 小时后冷却至 30°C 以下，用三角泵打入过滤桶过滤，滤渣仍按第一次再反复进行二次，最后酵母渣子用甩水机甩出酒精，澄清并入三次清液中。

(2) 酵母渣还可提取核糖核酸及酵母多糖，而酵母渣仍可经烘干，磨粉，包装，可回收 60~70% 酵母粉作为精饲料。

(3) 三次清液进行真空浓缩至结粒膏状，锅内温度不超过 70°C，浓缩时间不超过 24 小时，从锅底出口处放出，附着锅壁之结粒膏状物要用棒刮出或很好顺利放出。

2. 乙醚萃取

(1) 将三次结粒膏状物倒入萃取桶中并加少量水(约 5~10%)，再加入乙醚(约是浓缩物的 3~5 倍)，剧烈搅拌 2~3 小时后静止 16~20 小时澄清，将上层清液放出，放入零下 5°C 冰箱，至 20~24 小时，麦角固醇结晶析出，以后过滤麦

角固醇，再将萃取液回收蒸馏 $1/2$ 的乙醚。再放入零下 5°C 冰箱内 $18\sim 22$ 小时，加 $1\sim 2$ 公斤硫酸钠(无水)，以及过滤麦角固醇，回收蒸馏约 $2/3$ 的乙醚。最后将回收浓缩物放出，待进一步粗制用。

(2) 将萃取后的水溶液清液进行真空浓缩至浓度 70 个巴林左右，放出胶状物，每 100 公斤干酵母粉约得 $4\sim 5$ 公斤。

(3) 将水溶液浓缩物放在室温结晶，将结晶体取出，每公斤溶解 10 公斤水中，进行过滤，经过脱色树脂和 732 树脂再经过 766 活性炭过滤至清液无色。在温度 70°C 左右再将流出清液真空浓缩至 $70\sim 73$ 巴林，再在室温结晶，将结晶体甩干烘干，得白色结晶物，即酵母海藻糖。

3. 粗制品

(1) 将回收浓缩物 1 份和丙酮 $3\sim 5$ 份放入桶中，一面搅拌，一面加丙酮，加完后放置片刻，倾出醚酮混合液，再反复用丙酮洗 $3\sim 4$ 次，搜集沉淀物。

(2) 将洗净沉淀物加无水乙醇 $(1:2)$ 在 70°C 水溶液隔层保温，搅拌至全部溶解。约 $1\sim 2$ 小时后进入冷库冷却过夜，次日早上倾出上层清液，再反复同上处理 $5\sim 7$ 次，至醇洗涤液无色或微黄色，合并无水乙醇洗涤液，送回收工序回收卵磷脂。

(3) 将无水乙醇洗涤沉淀物，加无水乙醚，搅拌至全部溶解，再放入蒸馏水瓶中静止沉淀 7 天。

(4) 卵磷脂用乙醚萃取，吸出上清液，再用丙酮析出，反复洗涤 $3\sim 4$ 次，倾出丙酮。加酒精保温 70°C 左右，溶解去掉丙酮气味烘干，待测定。

(5) 麦角固醇处理，将粗制品麦角固醇 1 份，加醚酮混合液约 10 份，进行隔层水浴保温 (温度 $50\sim 54^{\circ}\text{C}$)，间隔搅拌

30~40 分钟，扛出静止片刻，倒出上层清液，再反复数次，将清液放入零下 5°C 冰箱过夜，次日早上进行过滤，室温干燥，得白色针状结晶，测定熔点。

4. 精制品

(1) 将沉淀后的上层清液用无水丙酮(1:2)析出，一面搅拌一面加清液(应透明)，此时有乳白或淡黄色之沉淀析出，而醚酮混合液应为无色或微淡黄色，但 pH 5 以上有混浊现象，pH 5 左右沉淀物呈液体，清、混合液送回收工序，回收醚酮混合液，反复使用。

(2) 将精制沉淀物用绸布袋过滤，并在压榨机中压干，将压干沉淀物在真空干燥桶中抽干约 24~48 小时。

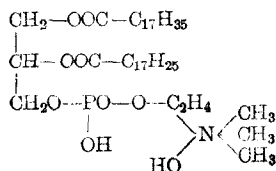
(3) 将干燥好的凝血质迅速放入预热磁钵中磨成细粉，防止吸潮，立即包装检查入库。

五、主要设备

1000~1200 升投料过滤桶，金属材料有铁、铝、不锈钢；三角泵，V₃ 真空泵(卧式)；1000 升反应锅(附搅拌机)；300 升真空浓缩锅(附冷凝器冷却设备)；300 升萃取桶；真空干燥桶；小压榨机。

六、成品检验

卵 磷 脂



含氮量1.6~1.8%,含磷量3.5~4.0%,磷氮不超过2.2。

1. 鉴别

(1) 卵磷脂的0.5%醇溶液,加入醇制氯化镉(氯化镉0.5克溶于10毫升乙醇中加热使溶解)即生成黄白色沉淀。

(2) 取本品2克置小烧杯中,加20毫升蒸馏水,搅拌过滤,取滤液2~3毫升,加碘化铋钾试剂(碘化铋钾一般10%)2滴应生成砖红色沉淀。

2. 检查

(1) 精确称取本品2克,置于带有短玻璃棒、有沙及已知重量的称量瓶内,加入乙醚10毫升,用玻璃棒搅拌,使样品均匀散开,置水浴上蒸干,残渣置105°C干燥至恒重,减少重量不得超过10%。

(2) 含磷量按干燥品计算不得少于2.5%。

(3) 灼烧残渣不得超过12%(据中华人民共和国药典,1963年版第二部分附录41页)。

(4) 酸价应不超过60。

取本品约0.5克(精密称定),置于150毫升磨口回流瓶内,加乙醇与乙醚的等溶混合液(本液需先加入酚酞指示剂用0.1N氢氧化钾滴定至中性)50毫升,随回流冷凝管缓缓转动并稍加热使完全溶解,放冷,溶液中再加中性的乙醇与乙醚等溶混合液50毫升,加酚酞指示剂1毫升,用0.1N氢氧化钾滴定至鲜明的红色即得。根据消耗的0.1N氢氧化钾液毫升数,按下列公式计算:

$$\text{酸价} = 0.1N \text{ 氢氧化钾毫升数} \times 5.611 / \text{样品克数}$$

(5) 胆固醇不得超过1%含量。

样品溶液配置:精密称取样品0.5克,用丙酮分次(20、15、10毫升)提取,提取时用玻璃棒将样品充分搅拌,并过滤

到 50 毫升容量瓶内，用丙酮洗涤滤纸，稀释至刻度，摇匀，精密吸取 25 毫升，蒸干，残渣用氯仿使溶解，并移至 25 毫升容量瓶内，用氯仿稀释至刻度备用。

标准液配制：精密称取干燥的胆固醇 50 毫克置于 50 毫升容量瓶内，用氯仿使溶解，并稀释至刻度，备用（应用时再稀释 10 倍，即每毫升含 1 毫克）。

测定方法：精密吸取样品与标准液各 2 毫升，分别置于 25 毫升容量瓶内（要干燥），各加氯仿 15 毫升、醋酐 4 毫升、硫酸 0.4 毫升，搅匀放置暗处 20 分钟。用氯仿稀释至刻度，摇匀，于波长 630 毫微米处测定光密度，同时作空白，样品溶液所测得的光密度，不得超过标准溶液所测得的光密度。

(6) 含量测定，精确称取样品约 1 克，置于 500 毫升 K 氏烧瓶内，加浓硫酸 20 毫升和浓硝酸 5 毫升混合，在石棉网上用小火小心加热，至溶液完全退色为止。将冷却的无色溶液移入烧杯中，小心地用浓氨水中和（以甲基红为指示剂），再加稀盐酸数滴使显酸性，加 10% 氯化铵溶液，加热至 $60\sim 70^{\circ}\text{C}$ ，加氯化铵镁试剂 25 毫升，再加 2.5% 氨溶液，边加边搅拌至产生氨臭。放置 20~30 分钟后，加浓氨试剂 20 毫升，静置至完全沉淀。经 12 小时后，用无灰滤纸过滤，用 2.5% 氨试剂 5 毫升洗涤，将沉淀后的滤纸置入已知重量的坩埚中烘干，加入 50% 的硝酸铵溶液 1 毫升，再烘干灼烧至恒重，将得到的焦性磷酸镁乘以 0.2783 换算成磷即得。

综合上述卵磷脂的检验项目：水分、灼烧残渣、酸价、胆固醇。

麦角固醇

只有测定一个，熔点 $158\sim 162^{\circ}\text{C}$ （方法见中华人民共和国