

01113-1

微生物学革命

资料汇编

第七集

5083

16 W

C.1

中国科学院微生物研究所汇编

科学出版社

微生物学革命 資料汇编

第七集

中国科学院微生物研究所汇编

(内部資料·注意保存)

科学出版社

1970

内 容 简 介

本集刊载了“一支工人阶级的微生物科学技术队伍”一文,这是一篇记参加北京市微生物酶制剂学习班工农学员的报导。本集收集了“点青霉 P87 葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶混合酶制剂的生产和应用”等十二篇工业微生物方面的文章。另外简短地报导了利用亚硫酸钠法进行甘油发酵等消息,以及关于微生物酶制剂在医学上应用的国外科技文摘。

本集可供酶制剂、抗菌素、食品、制糖、酿酒等工业的工人、科技工作者、革命干部和微生物学专业的革命师生参考。

《微生物学革命》资料汇编 第七集

(只限国内发行)

中国科学院微生物研究所汇编

*

科学出版社出版

北京西直门外三里河路2号

北京市书刊出版业营业许可出字第061号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1970年12月第一版 开本:787×1092 1/32

1970年12月第一次印刷 印张:2 5/8

字数:58,000

统一书号:13031·2397

本社书号:3649·13—9

定价:0.20 元

毛主席语录

坚持政治挂帅,加强党的领导,大搞群众运动,实行两参一改三结合,大搞技术革新和技术革命。

知识分子如果不和工农群众相结合,则将一事无成。革命的或不革命的或反革命的知识分子的最后的分界,看其是否愿意并且实行和工农群众相结合。

我国人民应该有一个远大的规划,要在几十年内,努力改变我国在经济上和科学文化上的落后状况,迅速达到世界上的先进水平。

目 录

一支工人阶级的微生物科学技术队伍	
——记参加北京市微生物酶制剂学习班的工农学 员.....北京市微生物酶制剂学习班	(1)
点青霉 P87 葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶混合酶制剂的 生产和应用.....	
.....北京化工厂、江苏清江蛋品厂、江苏化 工研究所、中国科学院微生物研究所	(6)
桔青霉 5'-磷酸二酯酶的研究	
.....中国科学院微生物研究所	(14)
厚层通风培养宇佐美曲霉生产果胶酶	
I. 果胶酶的生产和应用.....山东酒精总厂革委会	(26)
厚层通风培养宇佐美曲霉生产果胶酶	
II. 果胶酶活力的测定方法及其一些特性	
.....山东酒精总厂革委会	(32)
土霉素生产菌“160”新菌株的选育	
.....杭州制药厂一连二排菌种室	(35)
饴糖的酶法生产新工艺	
(附: 固体通风培养 BF-7658 生产 α -淀粉酶)...	
.....浙江杭州饴糖厂	(39)
应用果胶酶澄清果露酒的试验初报...四川重庆果酒厂	(45)
酱油生产的几项改革.....北京市宣武区红卫酱油厂	(47)

自然通风回流酿醋法·····	上海醋厂 (51)
一步发酵 自动通风回流酿醋法·····	河南商丘酿造厂 (56)
黄浆水培养白地霉的试验和工业化生产·····	
·····	南京发酵厂、苏北农学院、 中国科学院微生物研究所 (58)
金刚刺及橡子仁混合酒的发酵·····	浙江淳安县酿酒厂 (64)
· 简报 ·	
利用亚硫酸钠法进行甘油发酵获得成功·····	(66)
蛋白酶在酱油酿造中的应用·····	(67)
· 会议动态 ·	
全国医用新抗菌素筛选工作经验交流会·····	(70)
· 国外科技动态 ·	
酶制剂在医学上应用的潜力·····	(75)

毛主席语录

根本的革命力量是工农，革命的
领导阶级是工人阶级。

一支工人阶级的微生物科学技术队伍

——记参加北京市微生物酶制剂
学习班的工农学员

北京市微生物酶制剂学习班

无产阶级文化大革命的深入发展，毛主席无产阶级革命路线的伟大胜利，极大地激发了广大工农兵建设社会主义的积极性。工农业生产捷报频传，群众性科学实验、技术革新运动攻下一个又一个科学技术尖端，解决一个又一个生产中的关键问题。

为了适应科学实验群众运动的需要，迅速赶超世界先进水平，北京市酶制剂协作组委托北京大学举办了北京市微生物酶制剂学习班。学员来自北京市六个局 48 个工厂，共 75 名。学习班有政治课和业务课，分二个阶段，前一段是结合实际学习理论知识，后一段是学员、教员组成小分队，分赴十个工厂，进行技术革新大会战。会战题目包括：微生物及其酶制剂在纺织、皮革、食品、化工、造纸和农业上的应用，蛋白酶和脂肪酶的生产，农用核酸的提取等 27 项。通过短短的一个月的战

斗,有18项取得初步成果,其中有些项目工厂准备进行中间试验和投产。

胸怀朝阳 雄心壮志冲云天

伟大领袖毛主席教导我们:“工人阶级最有远见,大公无私,最富于革命的彻底性。”“工人阶级必须领导一切。”工人阶级必须占领自然科学领域。但是,由于大叛徒刘少奇推行反革命修正主义科研路线,过去我国的微生物学的研究,把持在少数资产阶级学术“权威”手中,关闭在高楼深院的实验室内,脱离生产实际,脱离阶级斗争,毫无生气。1959年底,某大学旧生化专业有一个教授,带领五六个教员到工厂搞“科学研究”,一不同工人结合,二不了解生产实际情况,在实验室门口挂上一块“闲人免进”的牌子,闭门造车,搞了大半年,花了万余元,结果什么也没有搞出来。工人气愤地说:“这就是资产阶级专我们无产阶级的政。”

广大工人、贫下中农无产阶级觉悟最高,对毛主席有深厚的无产阶级感情。参加这次学习班的工农学员,文化水平虽然不高,一般才念到初小,甚至有的刚摘掉文盲帽子,但他们胸怀朝阳,雄心壮志冲云天。一跨进大学门,不少老工人含着热泪激动地说:“解放前,地主资本家不让我们穷人上小学,今天毛主席把我们送进了大学,我们一定要为毛主席争光,掌好文权,巩固政权”,“我们一定要有无产阶级的雄心壮志,敢于走前人没有走过的路,敢于攀前人没有攀过的高峰。”他们把学习与“会战”看作是与帝修反斗争时间,抢速度的战斗。他们满怀豪情地说:“新兵打硬仗,全靠思想红。”毛主席教导我们“要在阶级斗争中和向自然界的斗争中改造整个社会”,我们就要向微生物要粮,要煤,要电,要人力,赶超世界先进水平,打击帝修反。

微生物学掌握在广大工人和贫下中农手里，就象鱼儿遇到水，种子下到适宜的土壤中，立刻就活跃起来，在社会主义建设中显现出巨大的无限的生命力。

破除迷信 解放思想

北京烟丝厂王师傅，刚摘掉文盲帽子，进学习班前，从未听说过酶制剂，误认为是“煤制气”，但是他怀着一颗忠于伟大领袖毛主席的红心，为革命刻苦钻研，敢想，敢说，敢做，用烟梗汁直接培养酵母，用纤维素酶、生香酵母、甘油酵母发酵烟斗丝，试验 40 多次，初步获得成功，节约了甘油等战备物资，提高了产品质量。

战斗在田村化学酿造厂的小分队，破除迷信，土法上马，十天內利用几口大缸，从向来都认为是“废物”的豆腐浆水中成功地培养出啤酒酵母、假丝酵母、园酵母和白地霉。然后又制成酵母粉，从中提取出农用核酸。现在这个方法已迅速在北京市推广。北京市 12 家豆制品厂的豆腐浆水如都能充分利用，每年可以生产 100 万斤酵母粉，价值 20 万元，不仅可提供医用酵母片，还为核酸在农业上应用创造良好条件，每年还可节约培养酵母的粮食 500 多万斤。

工人阶级破除迷信、解放思想、敢想敢干、雷厉风行、高速度地发展微生物工业的先进事迹，这是吃了几十年洋墨水的资产阶级“专家”连想都不敢想的。

自力更生 艰苦奋斗

海淀酱油厂会战小分队，高举《鞍钢宪法》的伟大旗帜，一无资金，二无资料，胸怀朝阳，苦干巧干。没有钢材，就把废烟筒锯开，一节作总空气过滤器，一节作油水分离器和分空气过滤器；没有种子罐，就把废气包锯开，焊接好做种子罐；没有发

酵罐就利用一台废小锅炉。没有向国家要1片钢材，在短短的13天内做成了一整套小型发酵设备，并生产出蛋白酶。

为了改革酱油生产，工人学员又把蛋白酶用于酱油生产中，酱油出品率提高7—16%，酱油的鲜味增加，质量提高。一个每天投料4000斤的中小型酱油厂，如果使用蛋白酶，每年可为国家节约12—18万斤粮食。

“一颗红心，一双手，自力更生样样有。”工人学员的豪言壮语充分体现了工人阶级对毛主席无限热爱，无限忠诚，无限信仰。

敢想敢干 攀登高峰

“社会的财富是工人、农民和劳动知识分子自己创造的。”广大工农兵最热爱社会主义，对发展无产阶级科学事业最积极最迫切，又最有实践经验，是科学研究的主力军。

毛纺织品及其原毛中的草刺，是纺织业的“三座大山”之一，目前国内外均靠手工摘除，北京4家毛纺厂就有近400名工人专门从事这项工作，又脏又累，还常常引起职业病。为提高毛纺织品的质量和产量，战斗在这里的工人学员、教员决心与广大工人一起搬掉这座大山。于是一个轰轰烈烈地群众运动开始了，老工人从家里拿来陈旧发霉的棉衣来筛选菌种，老太太抱来了自家的老母鸡让分离鸡胃中的菌，工人们学习《愚公移山》的精神，决心用生物酶法除去毛纺织品及其原毛中的草刺。通过试验，现在用酶法可以除掉草刺30%以上，为进一步试验和应用打下了基础。

纺织局会战小组的工人师傅，还下定决心，攀登科学高峰，用酶法加工毛。经过136次试验，攻克一道道难关，用脂肪酶代替碱洗毛、洗成品，获得成功。酶法加工毛及毛织品，节约了碱、煤、电，避免了碱对毛的腐蚀，提高了产品质量，改

善了劳动条件,缩短了工艺,同时解决了污水问题。

实践雄辩的证明,用毛泽东思想武装起来的工人阶级和贫下中农,登上上层建筑斗、批、改的政治舞台,占领了科学技术领域,就显示出无穷智慧和力量。这是毛泽东思想的伟大胜利!这是毛主席无产阶级革命路线的伟大胜利!这是无产阶级文化大革命的伟大胜利!

“工人阶级必须领导一切。”工人阶级能够领导一切,让我们热烈欢呼工人阶级的科技队伍在毛泽东思想的哺育下茁壮成长!

毛主席语录

无产阶级认识世界的目的，只是
为了改造世界，此外再无别的目的。

点青霉 P87 葡萄糖氧化酶和 过氧化氢酶混合酶制剂的生产和应用

北京化工厂 江苏清江蛋品厂
江苏化工研究所 中国科学院微生物研究所

葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶在食品保藏、机械防锈和临床检验等方面均有广泛的使用价值。从我国社会主义建设的实际需要出发，在文化大革命期间我们开展了此项酶制剂新品种的生产和应用的研究工作。

1. 从 367 株青霉菌和曲霉菌中选出 3 株高产菌种，其中点青霉 P87 菌株具有酶活力高、易于扩大培养等优点。

2. 研究了点青霉 P87 深层通风培养工艺。采用持续较大的通风量，并控制风温；发酵终止后，静置，使菌体自溶，内酶释放，酶收获量显著增加。

3. 采用国产 110 树脂制备浓缩液体酶制剂，酶的交换及洗脱效果良好。

4. 把酶制剂用于干蛋白片的制造中，改革了旧的生产工艺。

一、菌种筛选

1. 方法

(1) 种子培养 采用察氏斜面培养基*, 接种后于 27℃ 冰箱中培养, 青霉菌培养 7 天, 曲霉菌培养 4 天。

(2) 摇瓶培养 培养基为蔗糖 5%, NaNO_3 0.2%, KH_2PO_4 0.1%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05%, KCl 0.05%; pH 5.6。25 毫升上述培养基盛于 200 毫升三角瓶中, 接种后于 30℃ 振荡培养 5 天。用脱脂棉滤除菌体, 取滤液测定酶活力。

(3) 葡萄糖氧化酶活力的测定 葡萄糖—酶液—磷酸缓冲液系统, 于 30℃ 温度下振荡通气, 完成酶促反应, 然后用酸碱滴定法测定葡萄糖酸的生成量。每分钟催化氧化一个微克分子葡萄糖的酶量定为一个酶活力单位。

(4) 过氧化氢酶活力的测定 过氧化氢—酶液—磷酸缓冲液系统于 25℃ 温度下完成酶促反应, 然后用碘量法滴定剩余的过氧化氢。每分钟催化分解一个微克分子过氧化氢的酶量定为一个酶活力单位。

(5) 葡萄糖氧化酶反应产物的纸层析 为鉴定酶促反应所生成的酸性产物的性质, 我们对产物进行了滤纸色层分析。层析使用新华 1 号滤纸, 长 30 厘米, 溶剂系统为丁醇、甲酸、水(10:1:5), 取用有机相。用溴酚蓝显色。

2. 结果

(1) 测定 343 株青霉菌和 24 株曲霉菌, 其中 3 株青霉菌产葡萄糖氧化酶能力较高(1.35—2.38 单位/毫升), 并产生一定数量的过氧化氢酶, 占全部测定菌株 0.8%, 占测定青霉菌株总数的 0.9%。

* 见本书桔青霉 5'-磷酸二酯酶的研究一文。

(2) P87 青霉菌发酵液作用于葡萄糖产物的层析图谱, 呈现两个黄色斑点和一个蓝色斑点(图 1)。同对照样品的层

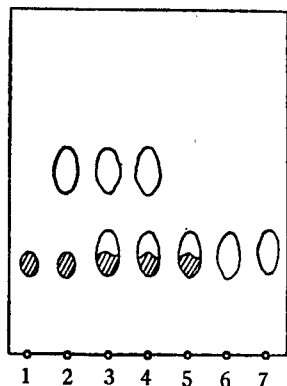


图 1 葡萄糖氧化酶反应产物纸层析模式图

衬底浅蓝色, ○黄色, ●深蓝色。

1. 氯化钠水溶液,
2. Na_2HPO_4 — NaH_2PO_4 缓冲液,
3. 商品葡萄糖氧化酶的反应产物,
4. P87 青霉菌葡萄糖氧化酶的反应产物,
5. 葡萄糖酸钠水溶液,
6. 用 H 型 Dowex-50 树脂处理的葡萄糖酸钠(被转成葡萄糖酸),
7. 葡萄糖酸内脂水溶液(即葡萄糖酸)。

析图谱比较可判定 R_f 值最小的深蓝色斑是反应系统中的钠盐; R_f 值最大的黄斑是反应系统中的磷酸盐; R_f 值居中的黄斑是反应产物葡萄糖酸。从而证明, P87 青霉菌发酵液的反应确系葡萄糖氧化酶所催化, 底物葡萄糖被氧化为葡萄糖酸。

(3) P87 青霉菌之鉴定: P87 青霉菌自北京土壤中分离, 菌落略局限型, 茸毛状, 有明显辐射状沟纹, 呈轮状外观, 分生孢子多, 亮绿色, 表面有黄色液滴, 菌落反面黄色, 略扩散于培养基中(图 2)。帚状枝非对称型, 一般为双轮分枝, 侧枝很少, 分生孢子球形或近于球形, 光滑, 大小一般为 $2.6\text{--}3.6\mu$

(图 3)。根据以上形态特征, 按 Raper 和 Thom 分类系统应属点青霉 (*Penicillium notatum*)。

二、深层通风发酵

1. 工艺流程(1800 升)

查氏或麦芽汁斜面种子 → 克氏瓶小米麸皮种子 → 种子罐 → 发酵罐 → 静置 → 过滤。

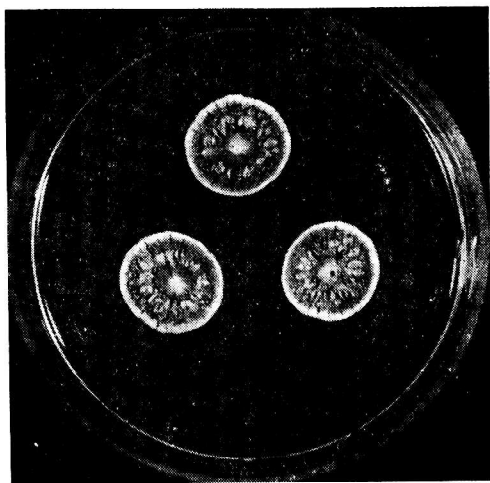


图 2 P87 青霉菌菌落形态

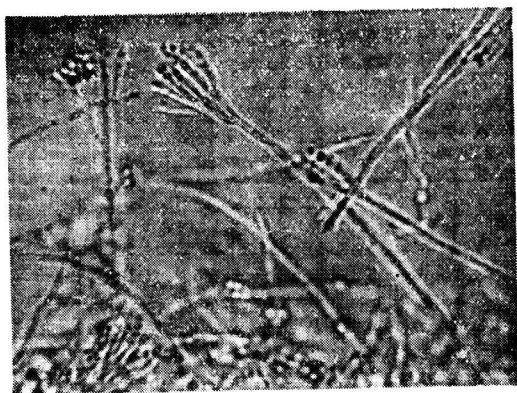


图 3 P87 青霉菌显微照相

2. 发酵工艺条件

(1) 培养基: 蔗糖 7%, NaNO_3 0.6%, KH_2PO_4 0.1%, KCl 0.05%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05% (以上均为工业原料), 用自来水配制。

(2) 种龄:

18 小时; 接种量为 8—15%; 罐温为 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 。

(3) 通风量: 实验证明, 小通风量对葡萄糖氧化酶的形成不利, 过大的通风量有延缓发酵周期的趋势, 比较适宜的条件是 1:0.6—1:0.8 (表 1)。

表 1 不同通风量对葡萄糖氧化酶生成的影响

通风量 测定项目 时间 (小时)	1:0.28			1:0.6			1:0.8			1:1		
	pH	活力 (单位 毫升)	残糖 (%)	pH	活力 (单位 毫升)	残糖 (%)	pH	活力 (单位 毫升)	残糖 (%)	pH	活力 (单位 毫升)	残糖 (%)
18	3.4	1.50	5.1	3.4	1.75	4.8	3.2	3.34	4.5	3.8	1.09	6.3
24	3.2	2.84	3.7	3.3	3.34	3.8	2.8	4.51	2.5	3.4	1.67	5.9
30	3.2	3.76	—	3.2	4.09	2.7	3.2	6.68	2.3	3.2	3.84	4.1
36	2.5	3.59	1.7	3.2	6.43	1.3	3.2	10.86	1.8	3.2	5.01	2.3
42	2.5	3.84	2.0	3.3	10.62	0.4	3.2	12.69	—	3.2	7.52	2.3
48	—	—	—	3.5	11.36	—	3.4	14.03	1.8	3.4	11.19	1.0
52	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12.02	1.0

(4) 风温: 实验中发现冬季发酵时两种酶的活力均比夏季发酵显著降低。对风温加以控制, 使与罐温一致 ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), 则葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶活力均显著提高 (图 4)。

(5) 静置自溶: 分析发现除胞外酶外, 菌体内尚含一定数量的胞内酶。为使后者得到适当利用, 发酵停止后静置若干时间, 镜检发现菌丝大量断裂破碎, 醪液粘度增加, 内酶释

表 2 靜置自溶对提高葡萄糖氧化酶收获量的影响

批号	靜置前酶活力 (单位/毫升)	靜置后酶活力 (单位/毫升)	增 长 值 (单位/毫升)
1	13.36	17.70	4.34
2	14.03	18.20	4.17
3	12.70	16.70	4.00

放，葡萄糖氧化酶的收获量显著增加（表 2）。增长值与靜置的温度和时间有关，为控制醪液粘度以便于后工艺处理，一般以靜置 12 小时为宜。

3. 发酵结果

按上述工艺条件操作，每毫升发酵液葡萄糖氧化酶活力一般可达 16—18 单位，约相当于工作初期筛选菌种时所测得酶活力的 8—9 倍。同时每毫升发酵液含有 88—98 单位过氧化氢酶。

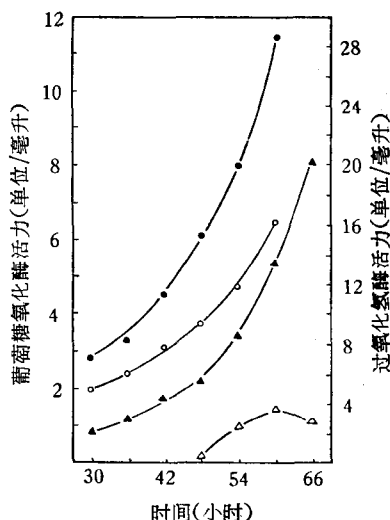


图 4 通风温度对葡萄糖氧化酶 (●, ○) 和过氧化氢酶 (▲, △) 生成的影响

●, ▲ 表示控制风速
○, △ 表示未控制风速

三、液体酶制剂之制备(离子交换法浓缩)

1. 工艺流程

国产 110 弱酸性阳离子交换树脂 → 用 pH 4.5 0.1M 醋酸缓冲液使树脂平衡 → 交换 → 淋洗 → 用 pH 5.0