

抗生素发酵研究法

陈駒声 編著

2

科学技術出版社

抗生素發酵研究法

陈 駒 声 編 著

江苏工业学院图书馆
藏 书 章

科学技術出版社

內 容 提 要

本書首述主要的抗生素及其用途，次述抗生菌的分离与变异方法，以后分章叙述抗生素發酵应用的設備与培养基以及發酵方法与代謝作用，此外对于防止染菌、防止產率不一，增加產率方法及副產品利用等問題均擇要述及。可供从事抗生素及其他發酵工業者作为参考用書。

抗 生 素 發 酵 研 究 法

編 著 者 陳 駒 声

*

科 学 技 術 出 版 社 出 版

(上海南京西路 2004 号)

上海市書刊出版業營業許可証出 079 号

上海啓智印刷厂印刷 新華書店上海發行所总經售

*

統一書号：13119·121

开本 787×1092 毫米 1/32·印張 5 3/16·字數 101,000

1958 年 3 月第 1 版

1958 年 3 月第 1 次印刷·印數 1—1,300

定价：(10) 0.80 元

前 言

1. 自从党和政府号召向科学进军以后，我們科学工作者感到无限兴奋与鼓舞。但是各主要学科应如何研究？國內外参考文献应如何整理？大家都觉得头緒万千，望洋兴歎，因此希望中國化学会多多举办此等講座。作者为了配合实际需要起見，曾作“抗生素發酵研究法”的报告。此書即由講稿补充而成。

2. 抗生素制造固要集合多方面力量方能完成，但是选种及發酵部分，关系着抗生素整个工業的成敗。我國既將抗生素列为科学研究的重点之一，而选种及發酵部分，又为抗生素工業的最重要环节，因此本書編輯的意义是相当重大的。

3. 本書内容以总结國內外文献为重点。近來國內各研究機構搜罗國外雜誌漸多，参考文献不虞貧乏，因此本書引用國內外資料时，僅述要点，而于每章之末，列举参考文献，讀者既可鍛鍊閱讀文献的能力，而全書字数亦可减少，采用的文献截至1957年年底止。

4. 抗生素范围广泛，本書以介绍与發酵有关的抗生菌以及培养基、發酵設備、發酵方法、化学变化等为主。他如發展沿革、化学結構、提煉方法、效价測定法及藥理等等，不在本書范围之内。

5. 國內外抗生素專書以介绍个别抗生素尤其青霉素为主要部分，讀者必須博覽群集，方能通曉。本書試作綜合性的叙述，

务期讀者能于較短期內得到較完整較新穎的資料，但遺漏或錯誤之處，在所不免，尚望讀者隨時指正！

6. 本書所用主要的參考書籍與雜誌（引用的文獻具體日期詳見每章）如次：

- [1] 微生物學報
- [2] 科學通報
- [3] АНТИБИОТИКИ
- [4] Микробиология
- [5] Applied Microbiology
- [6] Chemical Abstract
- [7] Industrial & Engineering Chemistry
- [8] Journal of Bacteriology
- [9] Antibiotics and Chemotherapy
- [10] Antibiotic Medicine
- [11] Journal of Antibiotics (Japan)
- [12] 馬譽澂：“抗生素”(1955)及“抗生素論文集”(1954)
- [13] 陳駒聲：實用微生物學(1954)
- [14] Bergey's Determinative Bacteriology(1948)
- [15] Goerge Smith: An Introduction to Industrial Mycology. (1947)
- [16] Waksman, S. A.: Microbial Antagonisms and Antibiotic Substances (1947)
- [17] Underkofler, L. A. and Richard J. Hickey: Industrial Fermentation (1955)
- [18] Prescott, S. C. and Cecil G. Dunn: Industrial Microbiology(1949)
- [19] Florey, H. W. 等: Antibiotics (1949)
- [20] Waksman, S. A.: Streptomycin (1949)
- [21] Fleming, A.: Penicillin (1949)

本書的編著，承華東化工學院馬譽澂教授及科學技術出版社編輯部提供許多寶貴意見，復承顧善揚、胡元吉、朱金山諸同志協助一切，謹此致謝。

陳駒聲

1957 年 12 月于上海

目 錄

前 言	1
第一章 重要的抗生素及其用途	1
第一節 重要的抗生素	1
第二節 抗生素的用途	16
第二章 抗生素發酵用抗菌菌	21
第一節 互助生活与对抗生活	21
第二節 抗菌菌的來源	23
第三節 抗菌菌的分离法	24
第四節 抗菌菌抗生作用的試驗法	29
第五節 已知的抗菌菌	33
第六節 抗菌菌的变异	38
第七節 抗菌菌的选拔与改造	39
第八節 抗菌菌的改造实例	46
第九節 抗菌菌的保藏方法	57
第三章 抗菌菌的培养基	63
第一節 概說	63
第二節 配制培养基的主要原料及其功用	64
第三節 培养基实例	77
第四節 培养基的殺菌方法	86
第四章 發酵設備	90
第一節 試驗室的培养用具	90

第二節 大規模工厂培养用具	99
第五章 發酵方法	104
第一節 概說	104
第二節 通氣与攪拌	105
第三節 氧的轉移速度測定法	107
第四節 防止染菌的方法	109
第五節 防止抗生素產率不一的措施	112
第六節 青霉素發酵	115
第七節 鏈霉素發酵	120
第八節 金霉素發酵	124
第九節 增加抗生素產量的研究	128
第六章 抗生素發酵的化學變化	133
第一節 概說	133
第二節 青霉素發酵的化學變化	133
第三節 鏈霉素發酵的化學變化	139
第四節 金霉素發酵的化學變化	143
第五節 氧的消耗	145
第六節 同位素的应用	146
第七章 發酵液的檢驗及廢液的处理	151
第一節 發酵液的檢驗	151
第二節 廢液的处理	157

第一章 重要的抗生素及其用途

第一節 重要的抗生素

抗生素是一种由生物生成的化合物。此种化合物，可使在生物中或在試驗管中的微生物停止作用或死亡。

某种动植物可生抗生素，但以微生物及綠色植物为主要。現今所分离或研究的大多数抗生素乃真菌（如青霉、放綫菌、麴霉及高等真菌）及細菌所產生。植物如番茄、萊菔籽、洋蒜等等，动物如魚等，都是抗生素的來源。

已發現的抗生素的种类有千余种，但現在已大規模制造以供医療的用途者，只有十余种，此乃因医療人类所需的条件甚苛。例如，1. 必須在人体中可以抵抗病原菌；2. 在人体中不生不良反应；3. 对于人体的細胞、組織及器官无毒；4. 不溶解血液；5. 不使血清蛋白沉淀；6. 可以溶于水或生理食鹽水中；7. 穩定。現在通用的抗生素只有青霉素、鏈霉素、金霉素、氯霉素、白霉素、土霉素、四圓素、魚素、生霉素等。

在 1955 年起大規模生產的有杆菌肽 (bacitracin) 碳霉素 (carbomycin)、殺霉菌素 (nystatin)、多粘菌素 (polymyxin)、短杆菌素 (tyrothricin) 及紫霉素 (viomycin)，但是关于此等抗生素的論文甚少。

殺霉菌素乃最新工業化的抗生素，对于腸中酵母數目的

調節，具有價值。據云：當口服某種抗生素時似酵母的真菌如 *Candida albicans* 有時繁殖過多，殺霉菌素即有減少腸中的酵母數目的功用，且副作用少^[1,2]。

嘌呤霉素 (puromycin) 的研究，近年頗受人們的注意。此抗生素是 *Streptomyces albo-niger*^[8] 所產生，於 1952 年發現^[4]。此抗生素的結構式為 6-dimethyl-9-(3'-p-methoxy-L-phenylalanylamine-D-ribosyl) purine^[5,6]。據報^[7] 此抗生素及其多種氨基酸類似物完全可用化學方法合成。此抗生素的分子略為更動，可以增加各方面的活力^[8]。此抗生素對於醫治非洲腫病有效^[8]；數種氨基酸類似物對腫瘤的抑制似乎有效。

嘌呤霉素分子中氨基核甙、抗癌霉素、(sarkomycin)(1953) 和重氮霉素 (azaserine)^[9] 都對癌細胞有作用。重氮霉素與 6-硫醇基嘌呤 (6-mercaptapurine) 共同使用時，對被試驗動物的某種癌細胞似有抑制結果^[10,11]。此種試驗雖尚待證明，但對於抗生素治療癌疾開了一個新路徑。

Kenji Maeda 等^[12] 發現由新系的放線菌 *S. pluricolor-scens*，產生一種新抗生素名曰 Pluramycin。有二種抗腫瘤物質，一名 Pluramycin A，為主要的抗腫瘤物質，依所用溶劑的不同，而呈黃色針狀結晶或橘黃棱晶。具鹼性性質、最大吸收光譜為 245m μ 。另一種為 Pluramycin B，尚未提純。

最近中國科學院由桂林分離得到的新種 *Streptomyces melanochromogenes* No. 1779 所產生的抗生素，其特性與文獻所載的放線菌素 (actinomycin) 有一定的區別，因之命名為放線菌素 K。此菌株的菌集為黃色而帶有灰白斑點，能產生黑色素。菌絲長為直分枝，孢子圓球形。在試管試驗中放線菌素 K

能抑制格蘭姆陽性細菌以及 Ehrlich 氏腹水瘤細胞的生長。體內試驗中也可以看出對腹水瘤有顯著的抑制作用^[13]。

關於抗結核菌的抗生素亦在進展之中。新的抗肺結核病的抗生素名曰 cycloserine^[14]，但關於此抗生素的構造及製造方法均未詳。據云：此抗生素與 Oxamycin^[15] 及 Pfizer's PA94^[16] 是相同的。

最近英國發現一種由 *Streptomyces roseochromogenus* 產生的新抗生素，即抗生素 PA95。此種抗生素是針狀結晶，實驗式為 $C_9H_{15}NSO_8$ ，可以抑制 *Mycobacterium tuberculosis*^[17]。

Cron 等^[18] 發現一種新抗生素，名曰 Bryamycin 由 *Strep. hawaiiensis* n. sp. 產生。是一種結晶的多肽抗生素，對格蘭姆陽性細菌，有抑制作用，無毒。

Smith 等^[19] 由 Queens 村土壤中分出 *Strep. niveus*, n. sp. (即 NRRL 2466)，產生一種新抗生素，名曰 Streptonivicin，在試管中對格蘭姆陽性及陰性細菌均有抑制作用。據云：此種抗生素與 Cathomycin^[20] 及 Pfizer's PA93^[21] 是相同的。

Билай^[22] 曾由種植各種不同植物的土壤中，分離而得各系的 *Trichoderma*。此等 *Trichoderma* 可以產生揮發性抗生物質。凡是可發生特殊氣味的 *Trichoderma*，亦具有特殊的形態和培養特徵。在麥芽汁琼脂培養基中，在 25~28°C 培養 2~30 日所生揮發性物質或對細菌有抑制作用，而對真菌有致死作用；或對細菌及真菌均僅有抑制作用。某種 *Trichoderma* 或可用以防止植物病。當試驗 *Trichoderma* 的抗生作用時，所用試驗菌種有 *Bact. coli*, *Bact. prodigiosum*, *Bact. proteus*, *B. pyocyaneum*, *Bac. mesentericus*, *Bac. mycoides*, *Myco-*

bacterium sp., *Ps. malvacearum*, *Staph. aureus*, *Verticillium danliae*, *Fusarium oxysperum*, *Rhizopus nigricans*.

对于真菌有抑制作用的抗生素已發現的較少，茲摘要列表如次^[28]：

抗 生 素	來 源
Actidione	<i>Streptomyces griseus</i>
Ascosin	<i>Streptomyces canescens</i>
Aureothricin	<i>Streptomyces thioluteus</i>
Bacillomycin	<i>Bacillus subtilis</i>
Candicidin	<i>Streptomyces griseolus</i>
Candidulin	<i>Aspergillus clavatus</i>
Clavacin	<i>Asp. clavatus</i>
Detemycin	<i>Bac. subtilis</i>
Endomycin	<i>Streptomyces albus</i>
Eurocidin	<i>Strep. eurocidicus</i>
Fermicidin	<i>Strep. griseolus</i>
Flavacid	<i>Strep. No. 0-0 strain</i>
Fungicidin	<i>Strep. norsei</i>
Griseofulvin	<i>Pen. griseofulvum</i>
Hygrocopin A.	<i>Strep. hygroscopicus</i>
Mycelin	<i>Strep. roseoflavus</i>
Mycosubtilin	<i>Bac. subtilis</i>
Rimocidin	<i>Strep. rimosus</i>
Thiolulin	<i>Strep. albus</i>
Tayokomycin	<i>Strep. albus</i>

Trichomycin	Strep. haihycensis
Trichonin	Strep. rubrirciculi
Viridin	Trichoderma viride
E-150 substances	Strep. No. E-150 系 (strain)

应用 Ishida 等方法^[24] (即紙上色層分析法) 可將 17 种由放綫菌所生抗霉物質分为 7 类, 4 种由真菌所生的分为 2 类, 3 种由細菌所生的分为 2 类。

Satoru Yamashita 等^[25] 由 Tottori 找到 No. 81 放綫菌頗似 *Streptomyces cacaoi*, 產生一种抗生素, 酵母对此抗生素極為敏感, 名曰 Cereviocidin, 分子式为 $C_{22}H_{39}O_4N_5$ 。

Ammann 等^[26] 叙述了一种新的抗霉素名曰 Filipin. 此种抗生質是由菲律賓土壤中分出的 *Streptomyces filipinensis* 生產的。此抗生素可以防止寄生于植物及动物的各种真菌的繁殖而使真菌不至侵害种籽及叶。此抗生素的實驗式为 $C_{30}H_{50}O_{16}$ 。

茲將各种重要抗生素的化学式与溶解度等列表如次:

由細菌產生的抗生素

抗 生 素	來 源	實驗式或結構式	溶解度	對於何種微生物有抑制作用	備 考	參 考
多粘菌素(Aerosporin) 或 (Polymyxin) (1947)	Bacillus aerosporus 或 Bacillus polymyxa	鹽基性多肽與脂肪酸 ($C_8H_{17}COOH$) 相結合	溶于水(超過40%)、 甲醇; 不溶 於高級醇 中。	格蘭姆陰性細菌	1955年工業 生產, 肌肉注 射, 外用	27, 28
杆 菌 肽(Bacitracin) (1945)	Bacillus subtilis	多肽混合物約含 14~15%氮	溶于水95% 酒精, 木精 等。	格蘭姆陽性細菌	已制成商品	29
枯草菌素(Subtilin) (1943)	Bacillus subtilis	鹽基性多肽; N 15.8%, S 4.2 %, P 痕迹。 多肽	溶于水及酒 精與木精 (含5%水)。	格蘭姆陽性及陰 性細菌, 在生活 細胞中無效		30
短杆菌素(Tyrothricin) (1939)	Bacillus brevis		不溶于水, 氣仿; 溶于 酒精中。	格蘭姆陽性球菌	工業生產、 外用	31, 32, 33

由放綫菌產生的抗生素

抗 生 素	來 源	實驗式或結構式	溶 解 度	對於何種微生物有抑制作用	備 考	參 考
鏈黴素 (Streptomycin) (1944)	Actinomyces griseus	$C_{41}H_{73}N_7O_{12}$ (注一)	溶于水，酸性酒精，木精；不溶于丁醇、乙醇及吡啶。	格蘭姆陰性細菌及數種格蘭姆陽性細菌，在生活細胞中有效。	工業生產，注射及外用	34, 35, 36
金黴素 (Aureomycin) (1948)	Streptomyces aureofaciens	$C_{27}H_{23}N_5O_8Cl$ (注二)	溶于蒸餾水及5%葡萄糖的蒸餾水溶液中。	是廣譜抗生素之一，對格蘭姆陽性菌及陰性菌、數種立克次氏體及過濾性病毒，有抑制作用。	工業生產，口服及外用	37, 38, 39
氯黴素 (Chloromycetin) (1947)	Streptomyces venezuelae	$ \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{O}_2\text{N}-\text{C}=\text{C}-\text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}=\text{C}-\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array} \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \quad \text{N}-\text{CO}-\text{CHCl}_2 \\ \quad \\ \text{C}-\text{C}-\text{CH}_2\text{OH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{H} \end{array} $	微溶于水；溶于丙酮、丁醇、乙醇、甲醇等。	是廣譜抗生素之一，對常見的格蘭姆陽性菌及陰性菌、一切立克次氏體、一部分過濾性病毒及部分螺旋體，有抑制作用。	已用合成法，口服及外用	40, 41, 42 43, 44

續 前 表

抗 生 素	來 源	實驗式或結構式	溶 解 度	對於何種微生物有抑制作用	備 考	參 考
土霉素(Terramycin) (1950)	Streptomyces rimosus	$C_{22}H_{44}N_2O_9 \cdot 2H_2O$ (注二)	不溶于碱及石油 碱而溶于甲醇、 乙醇、丙酮及丙二 醇。是鹼鹼两性 的物質，在pH5的 水中溶解度很小。	与金霉素相似， 亦为廣譜抗生素。	工業生產，口服	45
紫放線菌素 (Streptothricin) (1941)	Streptomyces lavendulae	$C_{70}H_{84}O_{10}N_8 \cdot 3HX$ (鹽酸鹽等)	溶于水及酸性酒 精。不溶于乙醚 及其他有機性溶 劑。	格蘭姆陽性及陰 性細菌和某些酵 母菌及霉菌	可能应用于高等 动物感染霉菌或 結核杆菌的治 療。 要改善其毒性， 方可治療結核病。	46
新霉素(Neomycin) (1949)	Streptomyces fradiae	似为 $C_{29}H_{53}N_9O_{16}$ 鹼性 物質	可溶于水	在試管中对很多 細菌有抑制作用， 对于結核菌亦有 強大抑制作用， 但不能透過鏈霉 素。	1955年工業生產	47

紫霉素(Vi- omycin) (1950)	Streptomycin cos puniceus	或为 $C_{18}H_{31-33}N_9O_8$, 似 为游离碱基	硫酸鹽不溶于 50% 甲醇中。	对于結核菌的效 力与鏈霉素相似, 但因它能誘致血 液电解质平衡的 紛乱, 不能代替 鏈霉素	1955年工業生產	48, 49
紫霉素(My- comycin) (1947)	Nocardia acidophilus n. sp.	$HO \equiv C - C \equiv C - CH = C$ $= CH - CH = CH - CH$ $= CH - CH_2 \cdot COOH$	—	对产菌絲的微生物和分枝杆菌有效, 故名。用小鼠实验对于結核病的治療效果很好, 但尚未作臨床試驗	尚未工業生產	50
紅霉素(Ery- thromycin) (1952)	Streptomycin cos erythreus	尚未确定可能为 $C_{27}H_{45}NO_{13}$	不甚溶于水, 十分易溶于醚、丙酮、氯仿和乙酸乙酯等有机溶剂	抗菌范围与青霉素相似, 对于溶血鏈球菌、肺炎球菌和葡萄球菌的急性感染有效	尚未工業生產, 口服	51
碳霉素(Car- bomycin)	Streptomycin cos halstedii	或为 $C_{41-43}H_{67-69}NO_{16}$ 一鹼化合物	在水中溶解度甚小, 反之其鹽酸鹽剂基溶于水	格蘭姆陽性細菌及腐物寄生的分枝杆菌	与紅霉素相似, 口服, 1955年工業生產	52

續前表

抗 生 素	來 源	實驗式或結構式	溶 解 度	對於何種微生物有抑制作用	備 考	參 考
白霉素(Аль- боміцин) (1949)	Actinomy- ces subtro- picus	未檢定	易溶于水 在 18°C 水中的 溶解度為 13 毫 克/毫升	格蘭姆陽性及陰 性細菌，並能增 加白血球的吞噬 功能，使病人的 抵抗力增強。	在蘇聯已大量生 產，對小兒肺炎 及痢疾并發敗血 病有效	53
生霉素(Би- оміцин) (1952)	未檢定	未檢定		格蘭姆陽性及陰 性細菌、立克次 氏體、螺旋體及 某些病毒，抗菌 譜廣大。	口服，注射	54, 55
放線菌酮 (Actidione) (1946)	Streptomy- ces griseus	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH} \begin{array}{c} \diagup \text{C=O} \diagdown \\ \text{CH}_2 \quad \text{CH}_2 \end{array} \text{CH} \cdot \text{CHOH} \cdot \text{CH}_2-\text{CH} \begin{array}{c} \diagup \text{CH}_2 \diagdown \\ \text{CH}_2 \quad \text{NH} \end{array} \text{C=O} \\ \quad \quad \quad \diagdown \text{CH} \diagup \\ \quad \quad \quad \text{CH}_3 \quad \quad \quad \text{C=O} \end{array}$	易溶于普通有機 溶剂中（飽和碳 氫化合物在外）。 在 2°C 時，每 100 毫升水可溶 2.1 克。	與鏈霉素不同， 對於細菌無顯著 的抑制作用，但 對於多種酵母菌 及霉菌有很大效 用。	可利用于控制植 物病如豆類的電 病。瓊脂培养基 中注加放線菌酮 后，可以防止真 菌的繁殖，而使 細菌繁殖于培养 基上。	56