研究工作成果

有關金黴素試製的菌种选育、發酵及提煉的研究工作報告*

陈善晃　金培松　刘　璞　徐尚志
（輕工業部上海工業試驗所）
童　村　許文思
（國营上海第三製藥廠）
汪　猷　黄耀曾　倪大男　戴立信　屠傳忠　宗惠娟
（中國科学院有机化学研究所）
殷宏章　沈善炯　單慰曾
（中國科学院植物生理研究所）

一　金黴菌的选育

（一）建立了金黴菌紫外線选育法，以金黴菌 2020 号及 K 1001 号为原始材料，用不同的紫外線处理並試用了間歇照射方法，結果得到比对照菌种單位較高的新菌种，搖瓶發酵效價自 1,300—1,500 微克/毫升。一次处理得到的高單位菌种再經紫外線处理，得到的菌种在 63 加侖罐發酵已到達 1,600 微克/毫升。

（二）研究了金黴菌 X 射線选育法，以金黴菌 2020 号經 X 射線照射，按照不同的時間及不同的光照量得到的菌种產生金黴素效價在 600—1,000 微克/毫升 之間。X 射線选育法虽然亦發現效價較高的菌种，但不穩定。

（三）建立了金黴菌氮芥子气选育法，以金黴菌 K 1001 号經氮芥子气处理，得到的菌种在搖瓶發酵到達 1,400 微克/毫升，較对照菌种为高。

（四）用紫外線及氮芥子气选育法，得到比原菌种單位較高的变种，經过兩次处理後產生高單位变种的百分率有顯著增加。处理後得到的变种，在首次搖瓶發酵時單位往往不一定增高，但經傳代後，單位有顯著提高的現象。

二　金黴菌的發酵研究

（一）孢子培养基一般以麥麩、瓊脂培养基为適宜，其成份为麥麩 5%、瓊脂 2%，

---

* 本文曾在 1955 年抗生素学術会議上宣讀。

如添加少量鎂、錳、銅及鋅的鹽類，則孢子形成更茂盛。添加維生素 B_6 有利於孢子生長。孢子培养的 pH 以5.5 为適宜，生長時間須在 14 天以上。

（二）試驗室中的研究發現了初期用不同的接种培养基、不同的 pH，顯著地影响後期發酵及代謝，適宜地选擇接种培养基的成份及接种条件，可以提高金黴素的產量。

此外，还發現了兩种低產量的菌株混合一起培养可以变更其代謝類型，增高產量。

（三）發酵擴大試驗

1. 在中間試製發酵中研究了接种培养基及接种条件，結果以用酵母粉及葡萄糖为主的接种培养基（酵母粉 1%、葡萄糖 4%、磷酸二氫鉀 0.02%、硫酸 0.3%、食鹽 0.25%、碳酸鈣 0.35%）發酵產量最高(800 單位)。接种条件則以在生長过程中 pH 降到最低而再昇高的時候接种於發酵培养基內，如是得到的發酵單位較高。

2. 發酵培养基以用澱粉、花生餅粉、蛋白胨为主的培养基單位較高，其成份为澱粉 4%、蛋白胨 0.6%、花生餅粉 1.5%、糖蜜 0.2%、食鹽 0.4%、硫酸鎂 0.025%、磷酸二氫鉀 0.02%、碳酸鈣 0.3%，自然 pH。最適宜的發酵条件是温度 28°C、空气量 0.5 体積/單位体積培养基/分鐘、攪拌轉數 250 轉/分鐘。消沫油用豆油。

3. 中間試製發酵（63 加侖罐）採用了二級种子接种，第二級种子的 pH 易於掌握。單位穩定在 1,300—1,500 微克/毫升。

三 金黴素的提煉

（一）应用了經酸处理的葦漿作助濾剂和鼓形过濾机，解决了中間試製的發酵液的过濾問題。

（二）改進了 C. Pidacko 和 E. Starbird 的金黴素鈣鹽沉澱方法。应用碳酸鈉和氯化鈣結合沉澱与吸附的原理自發酵液提取金黴素，使平均回收率自原有的 40% 提高至 74%（平均在 61%）。粗製品純度 920 毫克/克。重結晶後可達到分析純及藥典規格。

（三）擴大試驗：120 升金黴菌發酵液（pH 5.5—7.0）加硫酸酸化至 pH 2.5—3.0，加入 2%葦漿，以鼓形过濾机过濾。濾液加氯化鈣及碳酸鈉（pH 8.8—9.2）。靜置後，將上層清液以虹吸排去，而將剩餘液和金黴素鈣鹽沉澱加 6 N 硫酸溶解，以丁醇消除泡沫，攪拌过濾。再用酸洗濾餅。合併濾液及洗液，加入食鹽，用丁醇提取。丁醇提取液減压濃縮至 1/2 体積。析出的結晶用乙醇、水、丙酮依次洗滌，可獲得 61% 的提取率及 920 微克/毫克 左右純度的金黴素鹽酸鹽粗結晶。再將粗結晶溶於蒸餾水，加鹽酸至 pH 1.2—1.4，加純丁醇及氯化鈉。攪拌後，結晶析出，过濾，以水、乙醇及丙酮依次洗滌。產品純度提高到 950 微克/毫克 左右。再結晶後可達藥典規格。