

制造漁用金霉素的初步試驗

戴 爱 雲

(中国科学院动物研究所十三陵工作站)

目前金霉素已广泛应用到禽畜飼养上,証明有催肥作用,但近年来根据苏联及我国生产部門的应用,发现金霉素对魚的生长亦有一定的刺激作用,既可防治某些魚病,又可增加魚的抵抗力,因此我們按本站試驗工作的需要,开展了試制金霉素的工作,要求:(1)进一步改变它的发酵培养基,使它更适合水生动物的需要,特别是适于魚用;(2)开展金霉素对魚的生长刺激試驗;(3)准备在制造过程中,用廉价易得的培养基代替罕有的高貴藥品;簡化操作过程;(4)在各地生产单位中推广。这仅是我們初步的試作,不正确的地方,希同志們加以指正。

我們所用的菌种是中国医学科学院发出的 U_8-253 号,試用了不同的孢子培养基,最后分別接种在目前我們試驗魚缸中魚种的主要餌料上。現将制作过程分述如下:

1. 孢子培养:先配制了孢子培养基:

麸皮或玉米皮 5%
琼脂 1.5—2%或淀粉 25%
水 100 毫升
pH 自然

用水将麸皮或玉米皮浸泡半天,然后煮沸30分钟,加入琼脂,如用淀粉,則煮沸后先过滤,待冷却后再混入淀粉。用 0.1N 的 NaOH 将 pH 調整至 7.0 左右,如为硷性可用 HCl 調整。用高压蒸气 15 磅灭菌30分钟,我們是用蒸籠蒸,每天在同一時間內蒸 1 小时,連續 3 天。用淀粉的培养基一定要在蒸前,摆成斜面,否則淀粉凝固后,不可能再成平面。接种时最好是在无菌操作箱内进行,不然室內也要用 2% 来苏儿水及紫外綫灯灭菌。手一定要洗淨,用 70% 的酒精消毒,尽量穿上干淨的工作服,戴上口罩。在試管内接种只需用白金耳刮少量孢子,在斜面的表层划曲綫,不要将培养基划破。在柯氏瓶内,可多刮几次孢子,划纵横綫,每綫距离可隔 1.5 厘米。以上操作过程需在酒精灯的火焰上进行。接种毕,置于我們用木箱及电热棒作成的恆温箱内,在 28°C 下,培养 5—6 天,最后菌落呈灰白色,即可进行种子培养。

用玉米皮或用麸皮的生长情况同样良好,这样使

培养基的材料来源更广。用淀粉代琼脂的,不但生长好,而且成熟更快,一般只需 4—5 天,同时淀粉价廉易得,我們认为可在各生产单位广泛应用。

用电热棒作温箱的优点是具有温度調節器,較用灯泡易于控制。虽然用火炉也可提高温度,但我們需要的热量范围很小,整个房間升温是没有必要的,如无电或大量生产,仍可用火炉提高室温的办法。

2. 种子培养:先配制了孢子培养基,成份如下:

酵母粉 1%
葡萄糖 3%
氯化鈉 0.25%
硫酸銨 0.3%
磷酸二氢鉀 0.02%
碳酸鈣 0.12%
水 100 毫升
pH 自然

种子培养基的灭菌方法仍如上述。接种仍需較严格的无菌操作,用 1—2 毫升的无菌蒸餾水,倒入試管內的孢子培养基上,然后用白金耳輕輕将孢子刮下,待水呈灰黄色即可倒入 100 毫升种子培养基中。我們先后用打气及間歇振盪的方法作了試驗,而后者效果較好,易于保持无菌。室内升火在 28°C 下培养 5 天。培养后需制片,用革兰氏染色*,置显微镜下检查,如金霉菌菌絲体生长良好而无杂菌,便可进行固体发酵。

3. 固体发酵:

先后用麸皮、魚虫干、豆餅粉、新鮮水草(水毛茛、豆瓣菜)作为发酵培养基,放入广口器皿中,用 4—5 层紗布垫好,放蒸籠内蒸 2—3 小时,然后以它的 1/2—1/4 量混入种子培养基,在 28°C 下,发酵 5 天,凉干而成。发酵結果以魚虫干最好,而水草未能成功,还有待于进一步地試驗。

4. 效价測定:

称取金霉素固体发酵物 5 克(干重),加 0.01N HCl 30 毫升,然后用 1N HCl 調整 pH=2—3,記錄用量,浸泡 30 分钟,用滤紙过滤,取 2 毫升过滤液加 2N HCl 5 毫升,在 100°C 水鍋中煮沸 10 分钟,冷却后稀释至 50

* 革兰氏染色法如下:草酸銨結晶紫溶液(1—3分钟)→水洗→革兰氏碘溶液(1—3分钟)→95%酒精(1/2—1分钟)→水洗→沙黄(1分)→水洗→吸干。

毫升,放入納氏比色管,与金霉素标准管比色。

小 結

金霉素标准比色管配制

号	0.1%K ₂ Cr ₂ O ₇ 量(毫升)	蒸餾水或煮 开后凉水量 (毫升)	相当于金 霉 素 量 (单位/毫升)
1	1.64	98.36	2.0
2	2.05	97.95	2.5
3	2.46	97.54	3.0
4	2.87	99.13	3.5
5	3.28	96.72	4.0
6	3.69	96.31	4.5
7	4.10	95.90	5.0

单位計算依下列公式:

$$\frac{1 \text{ 克固} \times 0.1\% \text{ K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \text{ 所标示量} \times \text{稀释的总体积}}{\text{体中所} \times (50 \text{ 毫升}) \times 1 \text{ 克固体所加 HCl 量 (包括 0.01 及 1N)}} = \frac{\text{含金霉} \times \text{所取滤液毫升数}}{\text{素量}}$$

效价測定的結果,魚虫干每克为 1,000 单位,麸皮和豆餅粉每克为 400—500 单位。

1. 由于禽、畜和魚类生活环境的绝对不同,以及飼料的相异,我們认为有必要将金霉素广泛的应用,使固体发酵物能适于魚用。为了寻找魚类常用飼料作为发酵培养基的途径,我們作了以上实验,証明魚虫干、豆餅粉是可能的,而水草等非商品性飼料,还需作进一步的試驗。对魚类所引起的生理变化,也有待进一步的研究。

2. 魚类一般生活在 pH 值較高的水中,而金霉素在硷性溶液中容易破坏,而降低效价,同时因溶解而損失很多,因此我們已利用魚类混合飼料,使金霉素保存在块状飼料中,是否可进一步改变其耐硷性及溶解的程度,在此我們愿向有关研究单位提出建議。

3. 孢子培养基中,以玉米皮代麸皮也可生长很好,这样便扩大了培养基的可用材料。淀粉較琼脂价廉易得,培养效果良好,生长又快,完全可以普遍应用。在种子培养过程中,用間歇振盪法較好,既易保持无菌,又节省時間,希望进一步减少震盪時間,或根本无需振盪。