

# 井冈霉素土法生产工艺

上海市农药研究所

为了适应农业生产的需要,使井冈霉素能在各地农村土法上马。我们与有关生产单位共同协作摸索出

了井冈霉素土法生产工艺。经生产实践证明这种方法是可行的。现将土法生产方法介绍如下:

## 生 产 工 艺

砂土管→斜面 $\xrightarrow[4-8\text{天}]{28-40^{\circ}\text{C}}$ 二级米饭种子 $\xrightarrow[5-8\text{天}]{28-35^{\circ}\text{C}}$ 三级固体发酵→固体发酵物→加水浸泡→浓缩→水剂成品  
(或用二级摇瓶种子) (或于60—70℃烘干得固体成品)

## 一级斜面菌种的培养

### 一、斜面培养基成分(%)

葡萄糖1、天门冬素0.05、磷酸氢二钾0.05、琼脂1.5、自然pH,0.6公斤/厘米<sup>2</sup>灭菌30分钟。

在无天门冬素情况下,可用下列斜面培养基代替。

- ①蛋白胨0.2,面粉1,琼脂1.5。
- ②酵母膏0.2,葡萄糖1,琼脂1.5。
- ③味精0.05,蛋白胨0.2,琼脂1.5。

### 二、接种与培养

取砂土管1支,按无菌操作,接种于斜面,置28℃培养7—8天,如需急用可在37—40℃,培养4—5天,当出现黑色吸水斑点(有时也不出现)即可取出放冰箱保存备用。

在生产中应严格控制菌种移植代数。砂土管或斜面以2—3代为宜。

## 二级液体种子的培养

### 一、培养基的配制

葡萄糖1%,黄豆饼粉2.2%,蛋白胨0.3%,碳酸钙0.4%。将上述成分分别用水稀释。用氢氧化钠调节pH值到7.2,然后分装三角摇瓶,装量为瓶体积的1/5左右,1.2公斤/厘米<sup>2</sup>压力灭菌20分钟。

### 二、接种与培养

培养基灭菌后接入斜面孢子,在28℃恒温下振荡培养45—48小时(旋转式摇床220转/分)。

种子长得好坏,是固体发酵成败的关键,移接三级固体发酵时必须检查种子质量。正常的发酵液,外观粘稠,镜检菌丝粗壮成网,美蓝试剂染色深,即可用无菌水稀释一倍移种三级固体发酵。

## 二级固体种子的培养

### 一、培养基的配制

籼米1斤加水6—7两,浸泡2小时左右,蒸熟成饭,趁热将饭打松散,分装入瓶,每只蘑菇瓶装1—1.5两,1公斤/厘米<sup>2</sup>压力灭菌半小时。

### 二、接种和培养

用无菌水将斜面孢子洗下,然后把孢子悬浮液接种于米饭中,置28℃培养3天,饭粒表面气生菌丝生长丰茂,由白色逐渐转为灰色,到7—8天大量绿灰色孢子形成。同时在瓶底部有水析出,微黄,清澈透明,即可接种至三级固体培养基进行固体发酵。若培养基析出的水浑浊,即表明已污染杂菌,不宜再作种子使用。

## 三级固体发酵

### 一、培养基成分

列举以下五种配方,各地可因地制宜选择使用。

- 1.大米100%,并按投料总量加入磷酸氢二钾0.5—1.5%。
- 2.米粉40%,麸皮30%,砵糠30%。
- 3.碎米40%,砵糠60%。
- 4.米粉20%,玉米粉30%,砵糠50%,并按投料总量加入煤屑10%,白地霉粉0.4%。
- 5.米粉20%,玉米粉10%,蚕蛹粉10%,棉花壳30%,木屑30%,并按投料总量加入石灰0.3%。

### 二、培养基的配制

#### (一) 配料水分用量

一般物料与水份的比例是1:1—1.41,应酌情掌握,以使发酵料吸透水为准,勿勿拌料易造成外湿里干的状态。水分过高或过低均不利于菌种的生长,从而

影响产品质量。

## (二) 酸碱度的控制

因物料在消毒时 pH 值要有所下降,所以,在消毒前的物料的 pH 值应用氢氧化钠调节至 8—9。若 pH 低于 8 则影响产品效价。

## (三) 装瓶

瓶子的物料不宜装得太满,一般占瓶体积的 1/2—2/3 左右,瓶口的棉塞不要塞得太紧,始终保持物料的疏松状态。以利于菌体的生长。装瓶后,1 公斤/厘米<sup>2</sup> 压力灭菌半小时。

## (四) 发酵

将培养好的二级液体种子或二级固体种子接入已

灭菌的固体发酵培养基,置 35—40℃ 进行发酵。发酵温度是三级固体发酵单位提高的关键。发酵时间应控制在 11—13 天左右。

防止杂菌污染是生产中很重要的一环,必须自始至终注意以下几点:

1. 原料不能发霉变质。
2. 物料拌水后应立即灭菌。
3. 培养基灭菌要彻底,灭菌时间与压力一定要达到指定的要求。
4. 各种用具应预先灭菌,并要严格遵守无菌操作规程。
5. 发酵室要注意经常消毒,保持环境的清洁卫生。

## 三、不同培养基对井冈霉素效价的影响(见表)

不同培养基对井冈霉素效价的比较

培养基成分 (%)	物料:水	单位/克
籼米 100, 磷酸二氢钾 0.5—1.5	1:1	10000—20000
米粉 40, 麸皮 30, 香糠 30	1:1.1	3000
碎米 40, 香糠 60	1:1.4	3000
香糠 30, 米粉 40, 玉米粉 30, 白地霉粉 1, 皂粉 0.1	1:1.2	6000
玉米粉 10, 米粉 20, 蚕蛹粉 10, 花壳 30, 青杠木屑 30, 石灰 0.3	1:1.2	5000—6000
米糠 30, 麸皮 30, 米粉 30, 香糠 10, 油脚 1, 碳酸钙 1	1:1.1	3000

## 产品的后处理及其贮藏

固体发酵物可于 60—80℃ 烘干,或于日光下晒干,然后将产品装塑料袋,扎紧袋口,放阴凉处贮藏,使用时再加水浸泡,测知效价后使用。

此外,经试验证明,趁湿浸泡的固体发酵物比烘干与晒干的井冈霉素得率高。因此又研究了液体保存方法,即将固体发酵物加 3 倍水,调 pH3,浸泡 12 小时,然后过滤、浓缩(煮沸浓缩 2—3 小时),浓缩液即为成品,直接贮存。也可把浓缩液用氨水调至 pH8,加

0.3—0.5% 苯甲酸钠防腐剂,作为成品贮藏。实践证明,提高浓缩倍数,减少产品中的水份,或于液体成品中加入 10% 的氯化铵,有利于抑制杂菌生长,延长保存期限。

## 大田药效试验

1975 年土法产品防治水稻纹枯病的面积已达数万亩,从大田药效试验结果表明,土法产品的防治效果与工业产品基本一致。施药浓度为 50ppm 时,对水稻纹枯病的防治效果均在 90—100%。