

# 用減糖豆餅消化液制备單糖基础培养基的試驗\*

張寬厚 俞用川

(中国协和医学院細菌免疫学系)

陈、宋二氏<sup>[1]</sup>报告用大豆浸汁培养基代替肉蛋白胨培养基,一般細菌生長良好并保存原有的抗原性,而用費約可减少40倍。大豆榨油后所剩的豆餅尚含有多量蛋白質,用胃蛋白酶及鹽酸分解之,則产生蛋白胨及其他产物,叫做豆餅消化液<sup>[2]</sup>,可作一般細菌生長时所需要的氮源;用以制备大豆湯、大豆琼脂、大豆血琼脂、胆鹽中性紅大豆培养基等,可供分离及培养一般細菌之用。但因豆餅消化液含有相当多量的糖分,故不能代替蛋白胨水用作單糖基础培养基。林氏<sup>[3]</sup>曾报告用大腸杆菌分解豆餅中所含的糖分,制成無糖豆餅消化液,可作單糖培养基的基础成分,但对于糖量减少的程度,未作报告。

本試驗欲查明經大腸杆菌处理后豆餅消化液中糖氮含量改变的情形,及其供作單糖基础培养基的可能性。

## 試驗的材料及方法

減糖豆餅消化液的制备:將豆餅磨成粉末,取50克,加入1000毫升蒸餾水,在8磅下加热15分鐘,冷后,加入濃鹽酸6毫升及胃蛋白酶0.9克,在45°C水箱中放置96小时,濾过,調节pH至7.2—7.4,如有沉淀再行過濾,濾液灭菌后,叫做豆餅消化液。每1,000毫升豆餅消化液加大腸杆菌24小时肉湯培养液20毫升,37°C下培养24小时,煮沸20分鐘,濾过,濾液灭菌后,即成減糖豆餅消化液。

还原糖的測定用 Shaffer-Hartmann-Somogyi 氏法<sup>[4]</sup>。氮的測定用微量 Kjeldahl 氏法。

單糖培养基的制备及發酵試驗: 取各种分量的豆餅消化液或減糖豆餅消化液,加氯化鈉(0.5%)及各种試驗糖类(0.6%),調节pH为6.8、7.2及7.8,以酸性复紅做指示剂,制成單糖培养基。用我們保存的菌种及由临床标本所分离的腸系菌株做發酵試驗;

\* 1956年5月29日收到。

并与常规用的蛋白胨水单糖培养基做比较。

## 结 果

为了明了各批豆饼消化液、减糖豆饼消化液、及2%蛋白胨水(常规用单糖基础培养基)中还原糖及氮的含量,我们测定了数批制品的糖量及氮量,结果见表1。

表1 豆饼消化液及蛋白胨水中还原糖量及氮量

	还原糖量,毫克/100 毫升	氮量,毫克/100 毫升
豆饼消化液:		
第一批	185.2	292.7
第二批	184.0	285.9
第三批	152.2	277.5
第四批	150.8	310.9
第五批	133.8	294.0
减糖豆饼消化液:		
第一批	51.6	294.5
第二批	51.6	259.4
第三批	60.8	285.5
第四批	62.4	300.7
第五批	65.8	339.0
2% 蛋白胨水:		
第一批	36.7	262.1
第二批	28.2	271.1

由表1可以看出:豆饼消化液每100毫升中还原糖含量约在133—185毫克之间,氮量约在277—310毫克之间。经大肠杆菌处理后,糖量减为51—65毫克,比2%蛋白胨水约多1倍;氮量则无多大改变。

为了试验豆饼消化液是否可以用来制备单糖培养基,我们用了第五批豆饼消化液及第二批蛋白胨水按下列组成配制单糖基础培养基,加入各种试验糖类、食盐及指示剂,调节pH为6.8、7.2及7.8。接种伤寒杆菌、甲类副伤寒杆菌、福氏痢疾杆菌及大肠杆菌。在37°C培养24小时,发酵结果见表2。

试验的结果指出:用豆饼消化液本身制备单糖培养基,100毫升培养基中糖量虽仅为30毫克(不包括加入的试验糖类),不论pH为6.8、7.2或7.8,发酵结果都和常规单糖培养基不一致。若加入20—40毫升的2%蛋白胨水,并将pH调节为7.8,不论糖量为30毫克或增至90毫克(第二号及第四号培养基),都可以供作单糖培养基之用。

为了避免在豆饼消化液中添加蛋白胨,我们试用大肠杆菌分解豆饼消化液中的糖分,制成减糖豆饼消化液,按下列组成制备单糖培养基,接种与表2相同的菌种,发酵结

果見表 3。

表 2 豆餅消化液單糖培养基的發酵結果

基础培养基号数	豆餅消化液, 毫升/100毫升培养基	2%蛋白胨水, 毫升/100毫升培养基	糖量(不包括試驗糖類), 毫克/100毫升培养基	氮量, 毫克/100毫升培养基	糖/氮	發酵結果		
						pH		
						6.8	7.2	7.8
一	22.4	0	30	65.9	1:2.2	×	×	×
二	18.2	20	30	107.7	1:3.6	×	×	✓
三	67.2	0	90	197.7	1:2.2	×	×	×
四	57.7	40	90	278.0	1:3.1	×	×	✓

✓ 与常规蛋白胨水單糖培养基的發酵結果一致。

× 与常规蛋白胨水單糖培养基的發酵結果不一致。

表 3 減糖豆餅消化液單糖培养基的發酵結果

減糖豆餅消化液, 毫升/100毫升培养基	糖量(不包括試驗糖類), 毫克/100毫升培养基	氮量, 毫克/100毫升培养基	糖/氮	發酵結果		
				pH		
				6.8	7.2	7.8
20.0	13.2	67.8	1:5.1	✓	✓	✓
45.6	30.0	154.6	1:5.1	✓	✓	✓

✓ 与常规蛋白胨水單糖培养基的發酵結果一致。

上述試驗証明減糖豆餅消化液可以代替蛋白胨水供作單糖基础培养基之用。

为了試驗減糖豆餅消化液單糖培养基对于由临床标本所分离的菌株是否适用, 我們制备了数批(表 1 中第一、二及第三批)減糖豆餅消化液, 其糖氮比例在 1:4.7—5.8 之間。取減糖豆餅消化液 20 毫升, 加糖、鹽、指示剂及水至 100 毫升, 制成 9 种單糖培养基, 調节 pH 为 7.8。用临床化驗室所分离的 11 种腸系細菌共 100 菌株做發酵試驗, 并与常规蛋白胨水單糖培养基做比較, 結果見表 4。

表 4 的結果指出: 減糖豆餅消化液單糖培养基的發酵結果絕大部分是和常规蛋白胨水單糖培养基一致的; 仅 3 株福氏痢疾杆菌的麦芽糖發酵, 4 株副伤寒杆菌的肌醇發酵和常规培养基不一致。其原因可能由于不同批的常规單糖培养基的 pH 或加热的程度稍有上下, 或由于減糖豆餅消化液培养基的加热程度或其他方面有問題。为了查明原因, 我們重制了一批常规單糖培养基及減糖豆餅消化液單糖培养基, 接种福氏痢疾杆菌及副伤寒杆菌, 結果两种培养基的發酵反应完全一样。上述資料充分說明減糖豆餅消化液可以代替蛋白胨水做單糖基础培养基。

表4 减糖豆餅消化液單糖培养基与常规單糖培养基發酵結果的比較

菌名	菌株数	單糖培养基种类	發酵結果(与常规比較)	
			結果完全一致的菌株数	部分結果不一致的菌株数
福氏痢疾杆菌	63	5*	60	3 (麦芽糖發酵)       1 (肌醇發酵) 3 (肌醇發酵)
施密次氏痢疾杆菌	8	5	8	
宋内氏痢疾杆菌	2	5	2	
异型痢疾杆菌	2	5	2	
伤寒杆菌	6	9**	6	
甲类副伤寒杆菌	2	9	2	
乙类副伤寒杆菌	1	9		
丙类副伤寒杆菌	3	9		
猪霍乱沙門氏杆菌	1	9	1	
麻根氏变形杆菌	1	9	1	
大腸杆菌	11	5	11	
共計	100		93	7

\* 5种單糖培养基是:乳糖、葡萄糖、甘露醇、麦芽糖及糊牙醇培养基。

\*\* 9种單糖培养基是:除上述5种外,尚有蔗糖、肌醇、木糖及阿拉伯糖培养基。

减糖豆餅消化液和2%蛋白胨水所需的原料价格的比較:

(一) 减糖豆餅消化液每1000毫升的原料費:

豆餅 50 克	0.3 分
鹽酸 6 毫升	3.1 分
胃蛋白酶 0.9 克	5.4 分
肉湯 20 毫升	2.0 分
合計	10.8 分

(二) 2%蛋白胨水每1,000毫升的原料費:

蛋白胨 20 克	22.0 分
----------	--------

减糖豆餅消化液制备的手續虽比蛋白胨水为繁,但成本比蛋白胨水約低一半;已經采用豆餅消化液做各种培养基的基础成分的化驗室,將它减糖后用来制备單糖培养基,則更为簡便。

## 討 論

未經大腸杆菌处理的豆餅消化液糖氮比例較高(1:2.2),虽减少用量使每100毫升培养基中糖量只有30毫克(不包括加入的試驗糖类),并將pH提高为7.8,但豆餅消化液本身所含的糖分受細菌發酵作用时所产生的酸类,由于蛋白胨的緩冲力量不够,仍可使培养基中的指示剂变色,故不适于做單糖基础培养基之用。若加入少量蛋白胨,降低糖氮比例(1:3.1—3.6),則在較低的pH(6.8及7.2)情况下,每100毫升培养基中糖量

虽不多(30 毫克), 發酵結果仍不正常; 但若將 pH 提高为 7.8, 虽糖量增加(90 毫克), 而發酵結果仍和常規用蛋白胨水單糖培养基一致。由此可見, 加入蛋白胨时, 虽每 100 毫升培养基中糖的总量由 30 毫克增至 90 毫克, 但由于蛋白胨含量增加, 糖氮比例降低, 培养基的緩冲能力加大, 在較高的 pH 下, 豆餅消化液中固有糖分發酵时所产生的酸类被緩冲或中和, 指示剂不至变色, 故可供制备單糖基础培养基之用。

豆餅消化液經大腸杆菌作用后, 糖量减少約三分之二, 氮量則無多大的改变, 因而糖氮比例降低(1:4.7—5.8), 緩冲能力增大, 在 pH 6.8—7.8 范圍内, 都可以用来制备單糖基础培养基。

上述結果証明 Levine 氏<sup>[3]</sup>及金、赵二氏<sup>[6]</sup>的报告, 即糖培养基中蛋白胨及糖分保持一定的比例时, 才能呈現正常的發酵反应。

## 摘 要

1. 豆餅消化液用大腸杆菌处理后糖分减少, 糖氮比例降低, 緩冲能力增加, 可供制备單糖基础培养基之用。原料成本比蛋白胨水單糖基础培养基的成本約低一半。

2. 加少量蛋白胨于未經大腸杆菌处理的豆餅消化液中, 降低其糖氮比例; 同时將培养基的 pH 提高为 7.8 时, 亦可用以制备單糖培养基。

3. 未經大腸杆菌处理的豆餅消化液糖氮比例高, 不适于制备單糖培养基。

本实验由技术員楊燕玲同志协助进行, 特此致謝。

## 参 考 文 献

- [1] 陈宗賢、宋世鉄: Soy bean culture media. A preliminary report. *Chinese Med. J.*, 46: 603, 1932.
- [2] 細菌学講义及实验大綱 (第二編), 中国协和医学院細菌科編, 第 20 頁, 1951.
- [3] 林飞卿: A soybean digest medium for diagnostic work. *Chinese Med. J.*, 48: 571, 1934.
- [4] Somogyi, M: Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, 70: 599, 1926.
- [5] Levine, M.: Dysentery and allied bacilli. *J. Inf. Dis.*, 27: 31, 1920.
- [6] 金啓頌、赵家琪: 半固体双糖培养基之再进一步观察(一)各种因素的調查。内科学报, 3: 559, 1951.

## USE OF SOY BEAN CAKE DIGEST AS A BASIC MATERIAL FOR MEDIA IN BIOCHEMICAL TESTS

CHANG KUANG-HOU AND YU YUNG-CHUAN

*Department of Bacteriology, Chinese Union Medical College, Peking*

While soy bean infusions of various types have been in use in various laboratories in the country since 1932, their use as a basic material for biochemical tests has been limited owing to the high content of fermentable carbohydrates present in these preparations. The present study deals with an experiment to remove the action of the fermentable carbohydrates by two procedures. In the first method, partial reduction of the amount of fermentable carbohydrates was affected by the action of *B. coli*, while in the second method, addition of a small amount of peptone to the untreated digest was made. In both instances, when a proper ratio between fermentable carbohydrate and nitrogenous material was reached and when a high pH was used, the modified digest can then be satisfactorily serve for the basic material in the preparation of bacterial media employed for biochemical tests. Besides, the theoretical basis of these procedures was also briefly discussed.