應用科學叢書

發酵學

郭質良 編著

正中書局

應用科學叢書

發　酵　學

著　者
郭　質　良

正　中　書　局　印　行

目　次

第一篇　發酵概論

第一章　微生物發見簡史…　…　…　…　…　…　…　…　1
第二章　發酵之理論及其演變…　…　…　…　…　…　…　3
　第一節　古代及中世之傳說…　…　…　…　…　…　…　3
　第二節　斯塔爾之發酵理論…　…　…　…　…　…　…　4
　第三節　該律薩克之氧氣說…　…　…　…　…　…　…　4
　第四節　卡尼諾拉圖爾之生物發酵說…　…　…　…　…　5
　第五節　利俾喜之化學發酵說　…　…　…　…　…　…　5
　第六節　巴士特之生活機能發酵說　…　…　…　…　…　6
　第七節　內該利之物理發酵說　…　…　…　…　…　…　6
　第八節　特勞培之酵素說　…　…　…　…　…　…　…　7
第三章　酒精發酵之化學…　…　…　…　…　…　…　…　8
　第一節　醣和磷酸之變化　…　…　…　…　…　…　…　8
　第二節　己醣之分裂　…　…　…　…　…　…　…　…　9
　第三節　發酵中之副產物　…　…　…　…　…　…　…　11
　　第一項　甘油　…　…　…　…　…　…　…　…　…　11
　　第二項　雜醇油…　…　…　…　…　…　…　…　…　13
　　第三項　丁二酸…　…　…　…　…　…　…　…　…　15

第四節　氧對于酒精發酵之影響 ………………… 17

第二篇　酵素

第一章　酵素概論 ………………………… 22
第二章　酵素之性質 ………………………… 23
第一節　物理性質 ………………………… 24
第一項　光線對于酵素之作用 ………………… 24
第二項　溫度對于酵素之影響 ………………… 24
第三項　熱對于酵素之作用 ………………… 25
第二節　化學性質 ………………………… 25
第一項　物理化學及膠質化學之性質 ………… 25
第二項　氫離子之濃度 ………………………… 26
第三項　酵素之濃度 ………………………… 26
第四項　溶媒之作用 ………………………… 27
第五項　酵素之可逆反應 ………………………… 27
第六項　加速劑與麻痺劑 ………………………… 27
第七項　抗酵素 ………………………… 29
第八項　動酵素 ………………………… 30
第九項　氧化及還原作用 ………………………… 30
第十項　加氧之氧化作用 ………………………… 32
第十一項　脫氧之氧化作用 ………………………… 33
第十二項　硫氫基在氧化作用中之變化 ………… 35
第三章　酵素之命名法及其分類 ………………… 37

第四章 酵素之分佈及其化學作用 …… 43
第一節 加水分解酵素族 …… 43
第一項 醣分解酵素類 …… 43
第二項 配醣物分解酵素類 …… 51
第三項 脂肪分解酵素類 …… 55
第四項 蛋白質分解酵素類 …… 57
第五項 凝固酵素類 …… 64
第六項 醯胺分解酵素 …… 65
第七項 核質酵素類 …… 67
第二節 氧化及還原酵素族 …… 67
第一項 氧化酵素類 …… 69
第二項 還原酵素類 …… 73
第三項 尿酸環氧化酵素 …… 73
第三節 發酵酵素族 …… 74
第一項 釀醇酵素類 …… 74
第二項 磷酸酵素類 …… 76
第三項 乳酸酵素類 …… 77
第四項 醋酸酵素類 …… 78

第三篇 發酵菌類

第一章 釀母 …… 79
第一節 釀母之形態 …… 79
第二節 釀母之組織 …… 80

東方圖書館

第三節　釀母之化學成分 … … … … … … … 83
第四節　釀母之營養 … … … … … … … 84
第五節　釀母之生理 … … … … … … … 85
第六節　釀母孢子之形成 … … … … … … … 87
第七節　釀母之生長階段 … … … … … … … 87
第八節　釀母之生長速率 … … … … … … … 89
第九節　釀母之生長與物理化學之關係 … … … … 90
　第一項　物理方面 … … … … … … … … 90
　第二項　化學方面 … … … … … … … … 91
第十節　釀母之分類 … … … … … … … … 94
　第一項　實用的分類… … … … … … … … 94
　第二項　學術的分類… … … … … … … … 95
第十一節　釀母異同之識辨… … … … … … … 96
第十二節　釀母各論 … … … … … … … … 97
　第一項　眞釀母族 … … … … … … … … 97
　第二項　擔子釀母族… … … … … … … …102
　第三項　假釀母族 … … … … … … … …104
第十三節　釀母之大量培養… … … … … … …106
　第一項　維也納法 … … … … … … … …106
　第二項　黑達克法 … … … … … … … …106
第十四節　釀母之變性與貯藏法… … … … … …107
　第一項　母釀之變性… … … … … … … …107
　第二項　釀母之貯藏法 … … … … … … …108

第十五節　釀母之用途…………………………103
第二章　黴菌…………………………………109
第一節　黴菌之形態及其構造………………109
第一項　子實體………………………………109
第二項　菌絲體………………………………111
第二節　黴菌之生長及其繁殖………………113
第一項　黴菌之生長…………………………113
第二項　黴菌之繁殖…………………………113
第三節　黴菌之生理…………………………117
第一項　黴菌之營養…………………………117
第二項　溫度之影響…………………………118
第三項　酵素之生產及在工業上之價值……118
第四節　黴菌之分類…………………………120
第一項　接合菌族……………………………121
第二項　Plectomycetes………………………124
第五節　根黴屬………………………………125
第一項　一般之性狀…………………………125
第二項　根黴屬之分類………………………126
第三項　根黴屬中重要菌種之性狀…………128
第六節　毛黴屬………………………………131
第一項　一般之性狀…………………………131
第二項　分類法………………………………132
第三項　重要菌種之性狀……………………137

第七節 麴菌屬 … … … … … … … … …140
第一項 一般之性狀… … … … … … … …140
第二項 分類 … … … … … … … … …141
第三項 重要菌種之性狀… … … … … … …143
第八節 檸檬屬 … … … … … … … … …146
第九節 青黴屬 … … … … … … … … …146
第一項 一般之性狀… … … … … … … …146
第二項 分類 … … … … … … … … …148
第三項 重要菌種之性狀… … … … … … …148
第三章 細菌 … … … … … … … … … …150
第一節 一般之性狀 … … … … … … … …151
第一項 形態 … … … … … … … … …151
第二項 構造 … … … … … … … … …152
第三項 生理 … … … … … … … … …153
第二節 細菌之分類 … … … … … … … …156
第一項 醋酸菌類 … … … … … … … …156
第二項 乳酸菌類 … … … … … … … …157
第三項 酪酸菌類 … … … … … … … …159
第四項 粘敗菌類 … … … … … … … …160
第三節 重要醋酸菌之性狀… … … … … … …161
第四節 重要乳酸菌之性狀… … … … … … …164
第五節 重要酪酸菌之性狀… … … … … … …166
第六節 粘敗菌 … … … … … … … … …167

第四篇　發酵菌類研究法

第一章　檢查法……169
第一節　顯微鏡及其使用法……169
第一項　顯微鏡之構造……169
第二項　顯微鏡之使用法……173
第三項　顯微鏡之附屬器及其使用法……173
第二節　本色檢查法……176
第一項　普通本色檢查法……176
第二項　懸滴本色檢查法……177
第三項　暗視檢查法……178
第四項　墨水檢查法……178
第三節　染色檢查法……179
第一項　染色液之調製法……179
第二項　普通染色檢查法……181
第三項　識別染色檢查法……182
第四項　內生孢子染色法……183
第五項　鞭毛染色法……183
第六項　包囊染色法……184
第七項　細胞中內容物之染色法……185
第八項　細胞核染色法……186
第四節　由土壤塵埃穀類空氣及水中菌類之檢查法……187
第一項　土壤中菌類檢查法……187
第二項　塵埃及穀類中菌類檢查法……187

第三項　空氣中菌類檢查法 ……………………188

第四項　水中菌類檢查法 ……………………188

第二章　培養法 ……………………………191

第一節　培養基之種類及其製法 ……………191

第一項　液體培養基 ………………………191

第二項　固體培養基 ………………………196

第三項　培養基之反應及其濃度 ……………202

第二節　滅菌法 ……………………………204

第一項　濾過除菌法 ………………………205

第二項　加熱殺菌法 ………………………207

第三項　藥劑滅菌法 ………………………208

第三節　分離法 ……………………………210

第一項　普通分離法 ………………………210

第二項　生理分離法 ………………………211

第四節　培養法 ……………………………211

第一項　普通培養法 ………………………211

第二項　純粹培養法 ………………………214

第三項　嫌氣性菌類培養法 …………………216

第三章　實驗法 ……………………………218

第一節　酵母之生長狀態 ……………………218

第一項　畫線培養 …………………………218

第二項　穿刺培養 …………………………219

第三項　液體培養 …………………………220

第四項　扁平培養 …… 220
第五項　巨大聚落培養 …… 221
第二節　釀母之生理試驗 …… 221
第一項　釀母之形狀及其繁殖之情形 …… 221
第二項　釀母細胞之內容物 …… 222
第三項　釀母生長之適溫 …… 223
第四項　適宜 pH 值 …… 224
第五項　酒精之抵抗力 …… 224
第六項　死滅溫度 …… 224
第七項　釀母之營養試驗 …… 225
第三節　釀母生產物試驗 …… 226
第一項　孢子之生產 …… 226
第二項　被膜之形成 …… 227
第四節　釀母發酵之試驗 …… 228
第一項　對于糖分之作用 …… 228
第二項　發酵試驗 …… 229
第三項　發酵力之測定 …… 231
第五節　實用釀母鑑識法 …… 233
第一項　培養釀母及野生釀母 …… 233
第二項　上面釀母及下面釀母 …… 234
第六節　純粹釀母之大量純植 …… 235
第七節　細菌之生長狀態 …… 237
第一項　形狀 …… 237

第二項 內容 ………………………………238
第三項 運動性………………………………238
第四項 大小 ………………………………238
第八節 細菌之生理試驗 ……………………239
第一項 運動 ………………………………239
第二項 發熱 ………………………………239
第三項 發光 ………………………………239
第四項 色素之生產…………………………240
第五項 毒素 ………………………………241
第六項 營養 ………………………………242
第七項 孢子生芽之試驗……………………242
第八項 抵抗力之測定………………………243
第九項 氧氣及溫度需要試驗………………245
第十項 氣體發生試驗………………………245
第九節 細菌培養之特徵……………………245
第一項 平面培養 …………………………246
第二項 穿刺培養 …………………………247
第三項 畫線培養 …………………………249
第四項 液體培養 …………………………249
第十節 酵素之檢定 …………………………249
第一項 蛋白質水解酵素……………………250
第二項 糖化酵素 …………………………251
第三項 轉化酵素 …………………………251

第四項　凝固酵素 …………………………………251
第五項　解脂酵素 …………………………………252
第六項　氧化酵素 …………………………………252
第七項　過氧化酵素 ………………………………252
第八項　溶血酵素 …………………………………252
第九項　麥芽糖分解酵素 …………………………253
第十項　還原酵素 …………………………………253
第十一項　接觸酵素 ………………………………253
第十二項　醇化酵素 ………………………………253
第十一節　發酵終產物之檢定 ……………………254
第一項　中性蒸餾液之檢定法 ……………………254
第二項　酸性蒸餾液之檢定法 ……………………257
第十二節　菌類作用之化學檢查法 ………………259
第一項　還原作用 …………………………………259
第二項　芳香族物質之檢定 ………………………260
第三項　鹼性生產物之檢定 ………………………261
第四項　酸及醇之生產 ……………………………262
第十三節　菌體數量測定法 ………………………263
第一項　培養法 ……………………………………263
第二項　直接計算法 ………………………………263
第四章　研究室之設備 ……………………………266
第一節　實驗室之設備 ……………………………266
第一項　試驗室 ……………………………………266

第二項 試驗室之裝置 …………………267
第二節 儀器…………………………269
第一項 滅菌用之儀器 ………………269
第二項 培養用之儀器 ………………269
第三項 檢查用之儀器 ………………271
第四項 實驗用之儀器 ………………271

第一篇　發酵概論

第一章　微生物之發見簡史

由人文發達史上觀之，微生物之發見並非古遠，其最初發見者，相傳爲天主教僧徒刻爾赫(Kircher)氏。時在1671年，當時彼所用之顯微鏡，構造甚簡，而所見之微生物，概名之爲細菌。實際彼所見者除今日所謂細菌外，其他微小動物，如原蟲類，亦包括在內，故確實發見微生物者，爲荷蘭人雷文胡克 (Anton von Leeuwenhoek)氏，係於公元1632年，生於荷蘭之得爾夫特 (Delft) 城，其父業鏡片之製造，氏以獨特之天才，組合數個鏡片，以檢查腐敗物質，及污水等，而繪圖記載微生物之形狀。當時雷氏所用之顯微鏡，現仍保存於荷蘭之攸特累克特 (Utrecht)大學中，復於1683年，組成160倍之放大鏡，用以觀察植物浸出液中之微生物。見有能運動者，認爲係動物體，名之曰浸液蟲 (infusoria)。此後繼雷氏而起以顯微鏡檢查微生物者，頗不乏人，因之微生物之發見，亦漸次增多。

自雷氏以後，發見之微生物，種類漸多，於是此等微生物之來源，亦漸加研究，有謂此種微生物，係由原溶液中之無機物質自然發生者，稱爲自然發生說(spontaneous generation)。有謂非由原物質發生，乃內有別種因子存在，而發生者，稱爲非自然發生說 (heterogensis)，或異種發生說。自然發生說之起源頗古，卽亞理斯多德(Aristoteles)

氏亦倡之；及至十八世紀中葉，爭論益甚。1745 年，英人尼達姆(Needham)氏，曾行實驗，煮沸肉汁而封閉保存之，仍見有微生物之發生，於是倡說微生物之自然發生爲可能之事。自尼氏後約二十年，意大利人斯巴闌薩尼(Spallanzani)氏，始反對之。謂尼氏實驗結果之錯誤，由於煮沸時間過短，若煮至十五分鐘以上，即不能見生物之發生。1809 年阿培爾(Appert)氏，謂食品經過相當時間之煮沸後，封存於罐中，能歷久不腐，故主非自然發生說；繼謂煮沸過久，則器中空氣已不適於生物之發生，而又反對之。是以在十九世紀之初，許多研究微生物學者，均各持一說，互有爭論。

1836 年，舒爾最(Franz Schulze)氏，始注意於空氣中微生物之存在，將各種動物性或植物性之物質，與蒸餾水相混合後，於沙浴(sand bath)上灼熱之，至溶液沸騰，經相當時間，再使冷卻後，每日於此混合物內，通入經過硫酸之空氣二次，如是經二個月，未見生物之發生。如使此混合物，直接與未經過硫酸之普通空氣相接觸，稍經數小時，即有微生物發見。

其後三年，什凡(Theoder Schwann)氏亦起而反對自然發生說，將舒氏之實驗裝置，稍加改良，如前法實驗，唯使空氣經灼熱之管而入器內，亦得同樣結果。然當時主張自然發生者，其論調頗爲頑固，謂經此等實驗後，則空氣中生物生活之某種要素，因通過化學藥品，或灼熱管之結果而破壞，已不適於微生物之生長矣。

1853 年什勒得(Schroeder)及杜什(Dusch)二氏，仍將舒氏之實驗裝置，稍加改良，使空氣經過棉花，而後進入器內，結果亦未見微生物發見。遂證明空氣中實有微生物存在。現今對於微生物培養管

之管口，通行塞以棉花之法，蓋起於二氏之實驗者也。

1860年荷夫孟(Hoffmann)氏，曾於瓶頸彎長如鵝頸狀之燒瓶中，貯以肉汁，煮沸後，放置之，發見其亦不起腐敗現象。翌年巴士特(Pasteur)氏應巴黎科學院之獎題：「試用適當實驗闡明自然發生問題」，而從事於發酵之實驗，第二年發表其結果，略謂：「任何物質，加熱至相當時間及溫度後，均可達到滅菌目的；滅菌後之物質，如不直接使與外界空氣相接觸，則不復起分解，與變質作用」。此種方法後人稱為巴士特滅菌法(Pasteurization)。當時巴氏實驗所用之長頸瓶，現今稱為巴士特瓶(Pasteur flask)。自巴氏之研究發表後，可以證明下列兩點：

(1)物體之腐敗與發酵，確係微生物之作用；

(2)微生物非由自然發生，彼等之來源，亦如各種高等生物，須生種子，而後可以繁殖。

自此以後，微生物之自然發生說，遂無人復信矣。

第二章　發酵之理論及其演變

第一節　古代及中世之傳說

甘味果實汁，貯藏多時，常發現有新物質存在，此即現代盛行之飲料酒之起源。據傳說希臘巴西屋(Bacchius)氏，發現葡萄能釀酒。埃及俄西利斯(Osyris)氏，創造麥酒，在當時僅知皮毛，其現象如何發生，茫然不曉。迨至歐洲中世紀時代，始有言發酵(fermentatio)與消化(digestio)同意，並謂此種化學反應，為由一種所謂酵屬

(ferment)所誘起。

當時世人觀察發酵時，見能生泡沫，且使液汁生溷濁色，並有許多殘渣沉降，而謂之爲酒糞。其實即今所謂之釀母(yeast)。其後德人挨爾孚特(Erfurt)氏，及古代學者巴西利阿斯(Basilius)氏，發楞泰那斯(Valentinus)氏等，倡言此種殘渣(釀母)，即爲誘起發酵之有力酵素。惟當時每與腐敗(putrefactio)一詞相混，至柏恩(Sylvius de la Böe 1614—72)氏時，始言能發生碳酸氣者，謂之發酵。此後勒麥利(Lemery)氏及培赫(Becher 1635—82)氏，亦言腐敗與發酵不同，復證明：由甜性物質變化生酒者，爲酒精發酵；生酸者，爲酸性發酵。

第二節 斯塔爾之發酵理論

斯塔爾(Stahl)氏爲中古煉金時代之德化學家(1660—1734)。彼於1697年發表學說，謂發酵與腐敗意義相同，均爲內部分子運動之現象。即由於酵素分子運動，傳達於被發酵物質，因而被發酵物質，亦起運動或分解，此爲發酵現象。故稱此理論，爲運動傳達說，或分解說。其後利俾喜(Liebig)氏，亦採用之。

第三節 該律薩克之氧氣說

自拉發西埃(Lavoisier)倡燃燒爲一種氧化作用後，1810年法化學家該律薩克(Gay-Lussac)，即懷疑發酵與氧有重大關係。當時巴黎市之糖果店主阿培爾氏，將肉類、蔬菜、與液體飲料等，經熱後密封於罐中，能經久不腐，曾喧傳一時。該氏聞之，甚爲注意，旋將其所保貯之食品，施以檢查，發現其容器內無氧存在，因思此或即爲食

物不起發酵或腐敗之原因。於是舉行葡萄醪之發酵試驗，燃硫於葡萄汁之貯藏桶中，再貯入葡萄汁，亦不見起發酵現象，結果謂桶內之氧已與硫化合，因此缺乏發酵上必需之氧，故不發酵。至 1836 年，什凡氏亦主張是說，謂釀母由糖分及含氮物質中，攝取其必要之氧分，其殘留元素，互相化合，生產酒精，此卽謂之發酵作用。

第四節　卡尼諾・拉圖爾之生物發酵說

奧醫師普楞西芝(Ma Plenciz)於 1762 年藉顯微鏡之力，檢查腐敗物及發酵液內，有微粒或細蟲樣之生活胚芽存在，法國阿斯提爾(Astier)及得斯馬西爾斯(Desmazieres)亦同樣發見之。並於麥酒中，找出能生膜狀物之菌類。至1818 年德之挨斯雷本(Erxleben)，始認此種菌類爲釀母。其生活現象，卽爲發酵，其後二十年，法之卡尼諾・拉圖爾(Cagniard-Latour)，德之什凡及庫青(Friedrich Kützing)諸氏，均言微生物生活現象，卽爲發酵作用，而酒精發酵，卽爲微生物生活現象之一種，卡尼諾復證明麥酒發酵，係由球形之微生物所誘起，而此種微生物在糖溶液內，能使糖質變爲酒精及二氧化碳，同年忒平(Turpin)亦主張含糖物質之起發酵作用，係因微生物吸收糖分以供自己營養所致，其排泄物爲二氧化碳及酒精。

第五節　利俾喜之化學發酵說

自生物發酵說發表後，未及二年，利俾喜卽表示反對，謂以 1.5 克之釀母，在十八小時內，能分解 100 克之葡萄糖，如認糖分爲釀母之營養物，則釀母於如此短時間內能消費重於自體六十六倍之食

物，宇宙間漸無如此大食量之生物。遂公開發表一種發酵假說，謂釀母爲富於含氮之物質，極易分解，發酵係純粹之化學反應，其起因卽由於此釀母分解時，發生分子勁力，傳達於糖分子，糖分子受此動力作用，失其平衡，遂被破壞而成各個獨立之原子，此種原子復重新結合而生產酒精及二氧化碳。其後微生物學之研究，漸次進步，結果利俾喜遂不得不承認釀母有生活力，於是訂正其前說云：「有生活力之釀母，其內容物與糖分結合，生成一種化合物，此種化合物，因釀母死滅時，發生分子之運動，使物質與物質間失其平衡，因此誘起糖分分解，此卽發酵現象」。

第六節　巴士特之生活機能發酵說

巴士特最初係化學家，對於微生物學方面，特感興趣，於 1857 年努力研究發酵作用，結果對於當時有名之化學家利俾喜所倡之化學發酵說，力加反駁，且證明發酵者係微生物之生活機能所引起，因此種微生物之物質代謝作用，實有賴於氧之供給，而氧在發酵液內，甚覺缺乏，故必由附近物質中以攝取之，致將被發酵之物質分解而呈發酵現象。彼復證明發酵作用有種種型式，各種發酵各有其特異之微生物，例如牛乳酸敗，或果汁釀酒等，依原料之不同，其誘起發酵微生物之種類亦異，巴氏又進而應用人工配成之糖類溶液，以研究乳酸發酵與酪酸發酵之現象，而知主要微生物之種類不同。又知其他如酒精發酵及醋酸發酵等，亦各有其特異微生物之存在，於是利俾喜之純化學發酵說遂被否定矣。

第七節　內該利之物理發酵說

巴士特之學說曾風靡一時，惟至 1874 年夫勒 (Hüfner) 曾反對之。其後五年，內該利 (C. Nägeli)，復反對之。內氏研究發酵現象之結果，創立分子之物理發酵說，謂發酵係微生物之生活細胞體內原形質中之分子或原子團之振動，傳到外界之糖分子，因而誘起糖分子之分解，而呈發酵現象。其所以異於利倍喜之學說者，爲此學說謂運動發源於生活細胞內。

第八節 特勞培之酵素說

自培恩(Payen)及柏梭(Persoz)二氏，於1833年由麥芽之浸出汁中，發見澱粉水解酵素(diastase)及1838年什凡於胃液中發見胃液蛋白質分解酵素 (pepsin)後，特勞培氏遂以酵素爲根基，於1858年發表酵素學說。謂酵素有兩種，一種爲有生機者；一種爲無生機者。前者爲發酵微生物，後者爲酵素 (enzyme)。並謂發酵，實爲發酵微生物所分泌之酵素所誘起，而非由微生物自身所誘起。當時很博得一般佳評。名學者荷貝塞雷 (Hoppe-Seyler) 卽首先贊許。迨至1889年，法人密開爾(P. Miquel) 又發現分解脲之脲酵素 (urease)。於是特勞培之酵素說漸爲世人所重視。至 1897 年，德人彪赫納 (Büchner) 由釀母體內，實際用大壓力分離得醣酵素 (zymase)，能誘起酒精發酵，雖在烈性之防腐劑，如甲苯中，亦顯示其發酵作用，1906 年英之哈頓(Harden) 與楊格(Young) 二氏，研究酒精發酵時，發見誘起此種作用，非僅醣酵素之力，且另有一種酵素輔助之始可，特名之爲輔酵素 (co-enzyme)。在發酵液中，如非輔酵素與醣酵素同時存在，往往不能誘起發酵作用。並知此輔酵素係一種磷酸化合物。

1912年那柏格(Neuberg)及刻培(Kerb)二氏復由醇酵素中分出一種酵素，能將因發酵作用而生之一種中間產物丙酮酸(pyruric acid)變爲乙醛，名曰脫羧酵素(carboxylase)。於是發酵學說，大爲闡明。

第三章 酒精發酵之化學

第一節 糖和磷酸之變化

酒精發酵係因醇酵素接觸之關係而誘起，前已述及。但此種醇酵素常被發酵液中所含之蛋白質分解酵素分解破壞，故欲免此弊，事先必須加入另一種試劑，以防止之。此種試劑，即任一種可溶性之磷酸鹽都能勝任。據實驗結果 此種磷酸鹽不僅能增進發酵作用，如無磷酸鹽存在時，有時反不易爲醇酵素等誘起發酵作用。

哈頓及楊格二氏發現發酵第一步爲無機磷酸鹽之消失，生出有機磷酸酯，而此有機磷酸酯復因醇酵素之接觸，與一分子糖起作用，生出另一種新化合物，此新化合物爲糖與磷酸酯化合而成，名爲己醣一磷酸酯(hexose monophosphoric ester)或稱那柏格酯(Neuberg ester)。再彼此相作用，而生己醣二磷酸酯(hexose diphosphoric ester)，係一分子磷酸在醣之第一個原子碳上結合，另一分子磷酸，在第六個碳原子上結合而成。並有丙酮醛(methyl glyoxal)生成，其反應式如下：

$$\underset{\text{己醣}}{C_6H_{12}O_6}+\underset{\text{有機磷酸酯}}{HPO_4R_2}\xrightarrow{\text{醇酵素作用}}\underset{\text{己醣一磷酸酯}}{C_6H_{11}O_5PO_4R_2}+\underset{\text{水}}{H_2O}\ ;$$

$$2C_6H_{11}O_5PO_4R_2 \xrightarrow{\text{酵酵素作用}} C_6H_{10}O_4(PO_4R_2)_2 + 2CH_3COCHO + 2H_2O。$$

己醣二磷酸酯　　　　丙酮醛

此外尚有一種己醣一磷酸酯，係一分子磷酸在第六個碳原子上結合而成。特稱魯濱孫酯(Robinson ester)。最近發堡(Warburg)氏，已能將此酯之鈣鹽結晶體製出。

此種磷酸酯在發酵過程中，爲一種中間產物，發酵時，先形成一磷酸酯，後生二磷酸酯，普通一磷酸酯之發酵，較二磷酸酯快。

酵母汁和葡萄糖混合經若干小時後，方開始發酵，此若干小時之經過，稱爲誘發期(induction period)。如加入少量之己醣磷酸酯於葡萄糖內，則誘發期能縮短，或竟可解除而立顯發酵作用。由此證明磷酸酯不僅爲發酵期中之中間產物，並有促進作用。

第二節　己醣之分裂

挨姆頓(Embden)於1924年首先發明己醣磷酸酯之六碳鏈分裂法，其後刻魯佛(Kluyver)及斯特魯克(Struyk)二氏，於1926年證明己醣一磷酸酯因其來源及其所生之構造不同，其分裂後所得之產物亦因之而異。在由葡萄糖發酵時所生之己醣一磷酸酯，其構造式如下：

$$CH_2OHCH(PO_4R_2)\cdot\underset{\lfloor\underline{\quad\quad O\quad\quad}\rfloor}{CHCHOHCHOHCH}OH\ ;$$

在由果糖發酵時，則得下列構造式之磷酸酯：

$$CH_2OHCH(PO_4R_2)CHCHOHCOHCH_2OH_{\circ}$$
$$O$$

此兩種酯均不穩定而易分裂。由葡萄糖而來之酯，分解後，生二羥丙醛(glyceraldehyde)及丙醣磷酸酯 (triosephosphoric ester)，或稱二羥丙醛磷酸酯 (glyceraldehyde phosphoric ester)。由果糖來者，分解生二羥丙酮(dihydroxy acetone)，及丙醣磷酸酯，其反應如下:

$$C_6H_{11}O_5(PO_4R_2) \longrightarrow C_3H_6O_3 + CH_2OHCH(PO_4R_2)CHO\ 。$$

此所生之二羥丙醛及二羥丙酮，如使之發酵，則生下式反應:

$$C_3H_6O_3 \longrightarrow CO_2 + C_2H_6O;$$

同時丙醣磷酸酯可聚合而形成己醣二磷酸酯:

$$CH_2(OH)CH(PO_4R_2)CHO + CHOCH(PO_4R_2)CH_2OH \longrightarrow$$
$$CH_2OHCH(PO_4R_2)COCHOHCH(PO_4R_2)CH_2OH\ 。$$

此酯再行新分裂作用。1930 年，邁爾荷夫 (Meyerhof) 及羅曼 (Lohmann) 二氏繼續研究，證明其分裂法係由一種酵素將此磷酸酯分裂，而生兩個分子之丙醣一磷酸酯 (triosemonophosphoric ester)，一為酮醣酯(ketose ester)，一為醛醣酯(aldose ester):

$$C_6H_{10}O_4(PO_4R_2)_2 \longrightarrow CH_2OHCOCH_2(PO_4R_2)$$
$$+ CH_2OHCH(PO_4R_2)CHO\ 。$$

此己醣磷酸酯之分裂反應並不完全，係成平衡狀態，並呈醛性反應，其平衡狀態，約能支持一分鐘，能為溫度所左右，溫度如升高，並能增進其綜合力。

在平衡時，能呈醛性反應者，即因兩分子之二羥丙酮磷酸酯 (dihydroxyacetone phosphate)，彼此互相作用結果，一被還原，一被

氧化。此種反應稱爲康尼乍羅氏反應(Cannizzaro's reaction),或稱互化作用(dismutation),經此變化後,生等量之甘油磷酸(glycerophosphoric acid),及磷甘油酸(phosphoglyceric acid):

$$2CH_2OHCOCH_2(PO_4R_2) \longrightarrow CH_2OHCHOHCH_2(PO_4R_2) + (R_2PO_4)H_2C.CHOHCOOH$$ 。

邁羅二氏復於研究蛙筋新陳代謝作用(metabolism)時,發現磷甘油酸經水解後,先形成一種丙酮酸磷酸酯,稱爲磷丙酮酸(phosphopyruvic acid)之中間產物:

$$CH_2(R_2PO_4)CHOHCOOH \longrightarrow CH(R_2PO_4)=C(OH)COOH$$ 。

再水解,並不似其他酯類被水分裂,而此種酯能由其他有機部分,吸出氫原子,而生磷酸,殘餘丙酮酸:

$$CH(R_2PO_4)C(OH)COOH \longrightarrow CH_2=C(OH)COOH$$ 。

此酸復被脫羧酵素作用,分裂爲二氧化碳和乙醛。此乙醛再經還原作用,則生酒精。此卽爲酒精發酵作用之主要終產物:

$$CH_2=C(OH)COOH \longrightarrow CO_2+CH_3CHO\ ;$$

$$CH_3CHO \longrightarrow C_2H_5OH$$ 。

第三節 發酵中之副產物

第一項 甘油

發酵中之重要副產物,卽爲甘油。普通甘油磷酸,被酵素分解,卽產生少量甘油:

$$CH_2OHCHOHCH_2(R_2PO_4) \longrightarrow HR_2PO_4 + CH_2OHCHOHCH_2OH$$ 。

在水解己醣一磷酸酯時，生少量之丙酮醛；丙酮醛若經 glutathione 之氧化還原影響，亦生少量甘油：

$$2CH_3COCHO + 2H_2O \longrightarrow CH_2 = C(OH)COOH + CH_2OHCHOHCH_2OH$$ 。

有時丙酮醛，因丙酮醛酵素(methyl glyoxalase)之作用，卽產生少許乳酸：

$$CH_3COCHO + H_2O \longrightarrow CH_3CHOHCOOH$$ 。

1920 年新恩富士(Reinfurth)及賽雷(Zerner)氏，證明丙酮酸發酵時，如加入亞硫酸鈉或亞硫酸鈣，則生丙酮酸之亞硫酸化合物，而不能使丙酮酸發酵生醛：

$$CH_3COCOOH + Na_2SO_3 \xrightarrow{H_2O} CH_3C(OH)SO_3NaCOOH + NaOH$$ 。

1923 年黑密(Hemmi)氏，發現於發酵時所生之醛，能被亞硫酸鹽固定，卽不能還原生酒精，而能生添加物：

$$CH_3CHO + Na_2SO_3 \xrightarrow{H_2O} CH_3CHOH.SO_3Na + NaOH$$ 。

故在葡萄糖發酵時，如於其發酵液中，預加適量亞硫酸鈉，則能生產大量甘油：

$$C_6H_{12}O_6 + Na_2SO_3 + H_2O \longrightarrow CH_3CHOHSO_3Na + NaHCO_3 + CH_2OHCHOHCH_2OH$$ 。

此外三碳化合物(丙醣)在鹼性中發酵時，雖無亞硫酸鈉存在，亦常易與乙醛化合，而生少量甘油：

$$CH_2OHCHOHCHO + 2CH_3CHO \longrightarrow$$

$$CH_3COCH_2CHO + CH_2OHCHOHCH_2OH \text{ 。}$$

故在甘油發酵工業上，多使酵母於鹼性溶劑中發酵，並加亞硫酸鈉以增進之，每百克糖加入百克亞硫酸鈉，約能生甘油 36.9 克。

第二項 雜醇油

1903 年，挨爾利赫 (Ehrlich) 發現發酵後之副產物，除甘油外，尚有 0.1—0.7% 之雜醇油，(fusel oil) 即高級醇，如 3--甲基丁醇 (iso-amyl alcohol,) 又名異戊醇，及 d-戊醇(d-amyl alcohol)等。但雜醇油不能由一種碳水化合物而來，係因發酵液中，含有蛋白質，而此蛋白質經水解後，生氨基酸類 (amino acids)，此類酸復經水解變化，而生各式相當之醇：

$$RCH(NH_2)COOH + H_2O \longrightarrow RCH_2OH + NH_3 + CO_2 \text{ 。}$$

蛋白質水解後，所生之氨基酸類，種類繁多，在發酵情形下，其所生之氨基酸類，較常見而重要者，為 l-氨基[2]甲基[4]戊酸(l-leucine) 及 d-氨基[2]甲基[3]戊酸(d-isoleucine)等。由此等酸水解後，所生之醇亦各異，例如：由 l-氨基[2]甲基[4]戊酸，生 3—甲基丁醇：

$$(CH_3)_2CHCH_2CH(NH_2)COOH + H_2O \longrightarrow$$

$$(CH_3)_2CHCH_2CH_2OH + CO_2 + NH_3 \text{ 。}$$

由 l-[2]氨基[3]甲基戊酸而來者，生 d-戊醇：

$$CH_3CH(C_2H_5)CH(NH_2)COOH + H_2O \longrightarrow$$

$$CH_3CH(C_2H_5)CH_2OH + CO_2 + NH_3 \text{ 。}$$

其他氨基酸類水解後，亦生相當之醇，如：l-氨基[2]對羥苯基[3]丙

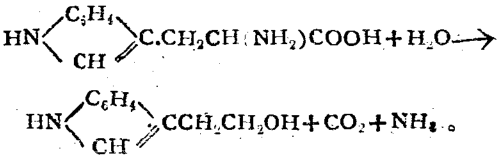
酸 (l-typocine) (俗名陳乾酪酸)，生苦味之對羥基苯乙醇 (p-hydoxyphenyl ethyl alcohol 或 tyrosol)：

$$OHC_6H_4CH_2CH(NH_2)COOH+H_2O\longrightarrow$$
$$OHC_6H_4CH_2CH_2OH+CO_2+NH_3 \text{。}$$

如 l-氨基[2]苯基[3]丙酸 (phenyl alanine)，生苯基乙醇 (phenylethyl alcohol)：

$$C_6H_5CH_2CH(NH_2)COOH+H_2O\longrightarrow$$
$$C_6H_5CH_2CH_2OH+CO_2+NH_3 \text{。}$$

如 l-氨基[2]茚基[3]丙酸 (tryptophan)，生苦味之茚基丙醇 (tryptophol)：



據多人之研究，氨基酸類之水解而生各式高級醇，其反應異常複雜，非如前述之簡單。其主要之變化，在 $—CH(NH_2)—$ 組之變換不同，其分解法亦異。茲分述如後：

(1) 樸彼斯特秦姆卡 (Pistschimuka, 1912) 及巴格 (Barger, 1914) 二氏之研究，在發酵液內，由於各種菌類，如釀母細菌等之作用，其氨基酸類，先直接放出二氧化碳，而生胺類 (amines)，後再水解，而生醇類，並放出氨：

$$RCH(NH_2)COOH\longrightarrow RCH_2NH_2+CO_2\uparrow;$$
$$RCH_2NH_2+H_2O\longrightarrow RCH_2OH+NH_3\uparrow,$$

（2）據那鮑爾(Neubauer)及夫盧姆赫茲(Fromherz)二氏(1911)之實驗，在糖溶液內，因酵母之作用，其氨基酸類之氨根(NH_2)先被氧化而除去，生α酮酸類(α-kitonic acid)：

$$RCH(NH_2)COOH + [O] \longrightarrow RCOCOOH + NH_3;$$

其後α酮酸類分解而生醛，再還原之，則生醇：

$$RCOCOOH \longrightarrow RCHO + CO_2;$$

$$RCHO + 2[H] \longrightarrow RCH_2OH。$$

又據克努普(Knoop, 1910)，將氨基酸類氧化亦能生氧之加成物，而生含羥之亞氨基酸類(hydrated imino-acids)，但未能實際分出之：

$$RCH(NH_2)COOH + [O] \longrightarrow RC(OH)(NH_2)COOH。$$

此二種分解法，以後一種爲最普通，且最易發見。例如：由1-氨基[2]甲基[4]戊酸之分解，生3-甲基丁醇時，卽先將其中之氨根氧化生4-甲基戊酮[2]酸(α-keto-iso-valerimic acid)：

$$(CH_3)_2CHCH_2CH(NH_2)COOH + [O] \longrightarrow$$
$$(CH_3)_2CHCH_2COCOOH + NH_3.$$

再逸出二氧化碳，而生異戊醛(iso-valeraldehyde)：

$$(CH_3)_2CHCH_2COCOOH \longrightarrow (CH_3)_2CHCH_2CHO + CO_2.$$

復經還原作用，卽生異戊醇：

$$(CH_3)_2CHCH_2CHO + 2[H] \longrightarrow (CH_3)_2CHCH_2CH_2OH.$$

第三項　丁二酸(琥珀酸)

埃爾利赫於酒精發酵試驗中，知丁二酸(succinic acid)亦爲氨

基酸類所生成，特以二鹽基氨基酸類（dibasic amino acids），即含有兩個羧基（carboxyl）之氨基酸類爲尤然。如氨基丁二酸（amino succinic acid, 又名天冬酸, aspartic acid），因被菌類發酵作用所生之氫，還原而生此酸：

$$COOHCH_2CH(NH_2)COOH+2H \longrightarrow$$
$$COOHCH_2CH_2COOH+NH_3$$ 。

同樣2-氨基戊二酸（α-amino glutaric acid 或 glutaric acid）（又名谷麩質酸，或麩氨基酸），經還原作用，則生戊二酸(glutaric acid)：

$$COOHCH_2CH_2CH(NH_2)COOH+2H \longrightarrow$$
$$COOHCH_2CH_2CH_2COOH+NH_3$$ 。

但實際上，含有兩個羧基之氨基酸類，亦能因發酵，而具有產生雜醇油之變化，往往先生酮酸類，後再失去一分子二氧化碳而成醛類，且此種醛類，如經還原，則生醇酸（hydroxy acid）。如氧化之，則生較原來氨基酸少一碳原子，且具有兩個羧基之酸類，例如由2-氨基戊二酸經氧化作用，則生戊酮〔2〕二酸〔1, 5〕(α-keto-glutaric acid)：

$$COOHCH_2CH_2CH(NH_2)COOH \xrightarrow{+O}$$
$$COOHCH_2CH_2COCOOH+NH_3$$ 。

再逸出二氧化碳，則生丁醛〔4〕酸（succinic semialdehyde）：

$$COOHCH_2CH_2COCOOH \longrightarrow COOHCH_2CH_2CHO+CO_2$$ 。

此醛如經還原，則得丁醇酸（hydroxyl butyric acid）：

$$COOHCH_2CH_2CHO+2[H] \longrightarrow CH_3CH_2CH(OH)COOH$$ 。

如將此醛氧化之，則生丁二酸：

$$COOHCH_2CH_2CHO+[O] \longrightarrow COOHCH_2CH_2COOH$$ 。

此2—氨基戊二酸，有時亦可直接水解，生丁醇[4]酸（γ-hydroxy butyric acid）：

$$COOHCH_2CH_2CH(NH_2)COOH+H_2O \longrightarrow$$
$$COOHCH_2CH_2CH_2OH+CO_2+NH_3\text{。}$$

此丁醇[4]酸，再經氧化作用，而生丁二酸，惟行如此之反應，不多見耳：

$$COOHCH_2CH_2CH_2OH+2[O] \longrightarrow$$
$$COOHCH_2CH_2COOH+H_2O\text{。}$$

在糖液發酵時，如無含氮物質之加入，則因釀母蛋白質之自溶作用（autolysis），丁二酸之產量，有時能達0.2—0.6%之高。如另加入含氮物質，如天冬素（asparagine），或銨鹽，則其產量低減至0.05—0.1%。據該律薩克之研究，百分之糖，可以生產51.11%酒精，和48.89%二氧化碳。但依巴士特之研究，則百分之糖，僅有94.83%變爲酒精及二氧化碳，其餘之5.17%，係變爲副產物，而此副產物以丁二酸及甘油爲主云。

第四節 氧對於酒精發酵之影響

站在發酵作用之對面，即爲呼吸作用（respiration），是由於有空氣——即有氧存在所致。碳水化合物，無論是藉釀母等之發酵作用，抑爲高等細胞——筋肉之新陳代謝作用，一有氧存在，都生二氧化碳和水，此種現象，即稱爲呼吸作用。

至於發酵作用，是僅在無空氣——即無氧之地方，始能顯示其效用。碳水化合物經釀母作用，則生酒精及二氧化碳，經高等細胞作

用，則生乳酸(lactic acid):

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{釀母作用}} 2C_2H_5OH + 2CO_2\ ;$$

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{高等細胞作用}} 2C_3H_6O_3\ 。$$

依邁爾荷夫之實驗，在氧中，僅約五分之一之乳酸被氧化而燃燒，以產生二氧化碳及水。而此少量乳酸之燃燒，所放出之能，不僅能供細胞之生活上的需要，且能將殘餘之乳酸，綜合而生肝醣 (glycogen)。

巴士特對於氧之問題，有相當成功，據彼解說，謂有若干細胞，僅在無空氣之地方，能使醣發酵。復有若干細胞必須有空氣存在，始能燃燒碳水化合物，生二氧化碳及水，以呈呼吸作用。至於釀母則無論空氣之有無，均能發酵，不過發酵終了時，所得之產物不同而已。

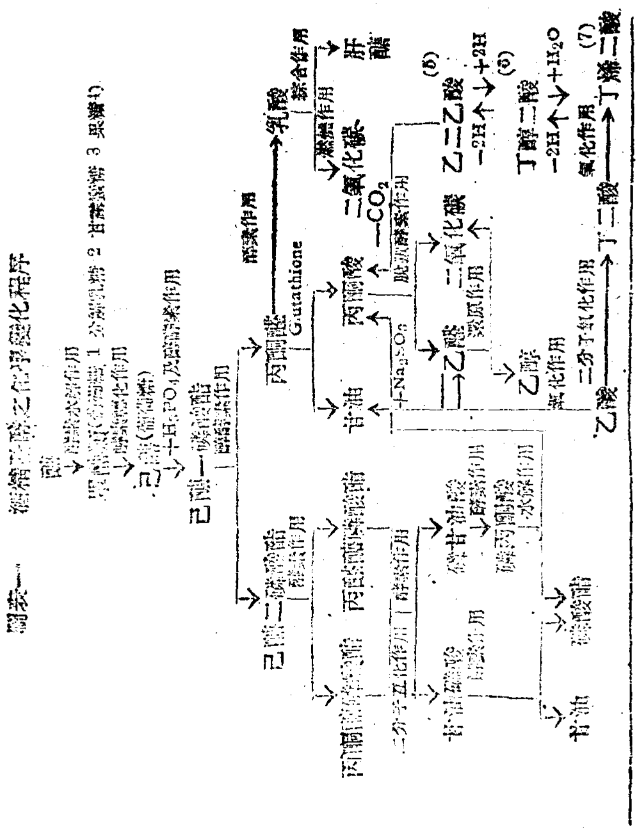
邁爾荷夫對於巴士特之發見，曾加一番工夫，彼研究各種培養釀母，如製啤酒和葡萄酒者，以及各種天然之野生釀母，找出一種釀母 torula utilis 變種，很能適合巴氏之發見，此種釀母，在無空氣時，則發酵而生乳酸，反之，在有空氣時，則幾不能發酵，而代以呼吸作用，不能生乳酸，即生之亦屬甚少。

後來發保證明，有氧存在時，則厭氣性之發酵作用，大部變爲需氣性之呼吸作用。此種證明雖不能概括一切，但在工業上，確特別重要。因酒精發酵目的，在有大量酒精產生，所以須使釀母有大發酵能力，以防止需氣性之呼吸作用。如果有氧存在時，各釀母細胞之生活力，大爲增加，即發育旺盛，單就作用之速度而言，彼等確是增加，但就發酵之力量而言，則因此反形減少。故知氧雖能增進釀母生活力，

但亦能減低其發酵力，關於氧之調節，故須特別注意，不然，則徒消耗有用之碳水化合物，而無補於酒精工業上之用途。

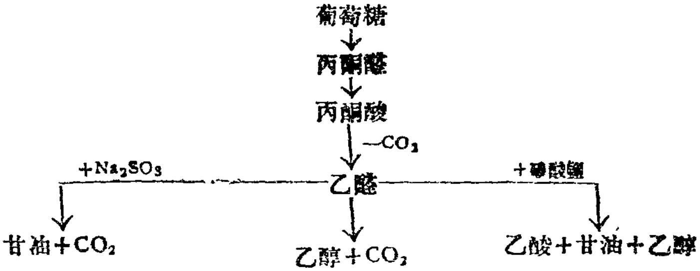
綜合上述，可見酒精發酵，亦爲一種化學之變化，乃藉釀母體內之酶酵素接觸以完成之。發酵結果，係產生二氧化碳及酒精。欲生產大量酒精，須使釀母生高度之發酵作用。即須隔絕空氣，一方面停止其呼吸作用，以免醣之無謂消耗，一方面使其僅有之呼吸作用，不能將發酵作用所生之產物（酒精），燃燒而損失。

現在將酒精發酵中之重要化學變化之程序，列成一圖表（圖表一）。

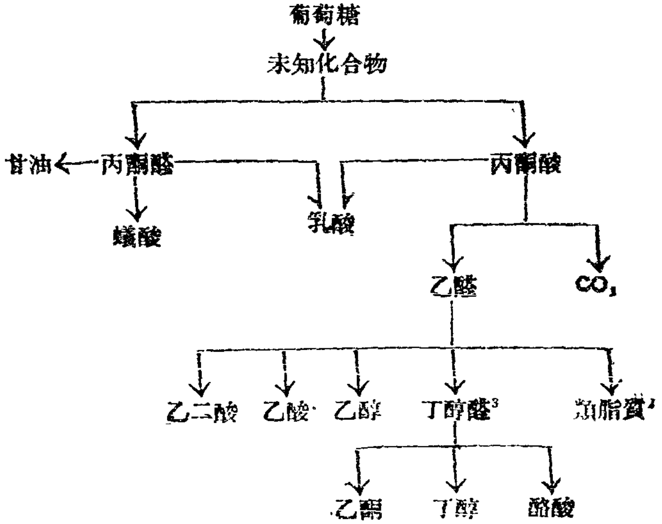


茲為便利讀者起見，再將上述圖表，按酵母及細菌之作用，所得不同之結果，分列成二附表（圖表二，三）：

圖表二 葡萄糖經釀母之發酵作用



圖表三 葡萄糖經細菌之發酵作用(舍恩氏表)[1]



1.schoen 2.lipoids 3.aldol

第二篇 酵素

第一章 酵素概論

酵素為何物，此問題曾經過許多人的研究與許多人的討論，以往各種學說，茲不重提。1926年，美國康南耳大學教授薩姆納(Sumner)氏，從刀豆內提取酵素時，得一種結晶體之蛋白質，此種蛋白質，可以使之反復結晶，而不損失酵素之效能，且一經變性或消化，此酵素之效能亦隨之消滅。若使變性之蛋白質復原，則酵素之效能亦隨之恢復。由是可知酵素，是一種蛋白質，是一種接觸劑，按理論，酵素只能改變化學反應之速度，而不能改變化學反應之平衡點，是現代化學中最有趣味之問題。存於釀母體中之酵素，種類甚多，各是特殊之化學反應，在現在之智識中，釀母體內之酵素，尚無能製成化學結晶者。至多亦不過分離或能提出而已。考酵素原字 enzyme，為在「釀母中」(in yeast)之意，因最初發見者，係釀母所誘起之發酵故也。

酵素直接與發酵有關之最顯著者，即為醇酵素。當釀母汁透析時，其透析者，或透析液，如果分開來用，全無發酵能力，將此二者混合，則其發酵力仍然顯明。由是可知，酵素在單獨存在時，有不能顯示其本能者，須有另一種補助劑存在，始能發生效能。薩曼氏曾知丙酮醋酵素，非有 glutathione 存在不為功。醇酵素亦然。釀母汁透析

作用之結果，生兩種物質，一是膠狀體，不能透析者，另一種是分子最小，而易擴散者，前者稱爲脢酵素，後者稱爲輔酵素。脢酵素對熱感覺很靈敏，但輔酵素較能抵抗高熱，約能達水之沸點，而不受損害。羅氏並謂在此兩種酵素系統之中，少量之鎂鹽，是不可或缺者，不甚純潔之脢酵素，仍不失其發酵效能。瓦勒(Euler, 1923)曾製得較純之輔酵素，但非化學上之純淨。惟脫羧酵素則較其他酵素爲易於分離。彼復發現另一種補助物質，稱爲Z-因素（Z-factor），此因素之抗熱本領較輔酵素尤強，能增大活釀母細胞之發酵力，但在發酵時，與釀母汁並無作用。

酵素間接與發酵有關者，多在發酵作用之準備期中，如能水解而轉化甘蔗糖之轉化酵素（invertase），與能水解麥芽糖之麥芽糖酵素（maltose）等，此類酵素均能將複醣水解，使變爲單醣，以便於發酵。然有時在某種情形下，複醣亦不需此類酵素預爲水解，而亦能發酵者。其他尙有磷酸分解酵素（phosphotase），能水解己醣之磷酸酯，甘油磷酸分解酵素（glycero-phosphotase），能水解甘油磷酸爲甘油及磷酸，以及能分解磷甘油酸爲磷酸及丙酮酸之磷甘油酸分解酵素（phospho-glycerotase），能分解丙酮酸爲二氧化碳之脫羧酵素等。達金(Dakin)及那柏克二氏，尙研究一種酵素，能水解丙酮醛爲乳酸，名爲丙酮醛分解酵素。

第二章　酵素之性質

酵素是一種蛋白質，前已述及。此種物質爲具有接觸作用之有機物質，乃生物生活過程中之一種生成物，對於某種變化，有無促進

作用、各有一定，彼能溶於稀甘油中，此外，如氯化鈉溶液、稀酒精、以及水中亦均能溶解。能用硫酸銨及濃酒精以沉澱之，酵素爲膠體物且不易擴散，並常與蛋白質同時存在，故其性質亦與蛋白質相近。威爾斯台特 (Willstätter, 1921) 曾研究酵素性質頗詳，每種酵素在某種溫度下，有其特異之作用力，此種溫度卽稱爲適溫 (optimum temperature)，同時尚有一極高溫與一極低溫，在溫度過低時，酵素作用力常略爲減退，但有數種酵素，卽在零度或更為低時，其作用力亦仍不減退。大多數酵素在溶液情形下，如熱至 70－100°C 時，極易破壞。普通溫度在 35—45°C 之間，其發酵之作用力最大。酵素有喜酸性者，亦有以在鹼性液中爲特別活潑者，今將其理化性質，分述於下。

第一節　物理性質

第一項　光線對於酵素之作用

一般酵素對於光線之作用，甚爲敏銳，但其作用力之大小，保視有無空氣存在而定。例如轉化酵素，乳糖酵素 (lactase)，氰醣酵素 (emulsin)、澱粉酵素 (amylase)、胰蛋白酵素 (tryptase)等，於空氣中，尤其有氧存在時，經日光照射後，其酵素作用力卽顯著減退；反之，如在無空氣之情形下，則無若何傷害。就各種光線言，以紫外線對於酵素之破壞力爲較強，其他光線之麻痺力，如下：

白光＞藍光＞紅光＞暗光 。

第二項　溫度對於酵素之影響

溫度對於酵素，不僅影響反應之平衡，且影響其速度，但此種影響有一定限度，溫度上升，固可促進酵素之反應作用，但如超過一定限度，則反可使酵素漸漸失去其活性。各種酵素之最適溫度，各不相同，卽同一酵素之最適溫度，亦因時間久暫而互異。如爲短時間作用，其最適溫度常較長時間作用時爲高，普通所謂最適溫度，均指短時間作用酮言。

第三項　熱對於酵素之作用

各種酵素之耐熱力，各不相同，就一般酵素言，熱至高溫，皆可失其作用，若長時間加熱，卽非高溫，其作用力亦減弱。如麥芽中之澱粉水解酵素（diastase），在水溶液中，熱至 60—65°C.，經半小時，其糖化力(saccharogenic power)卽減弱，卽熱於 45°C 下，經七小時之久亦然。但乾麥芽中酵素之耐熱力爲較強，故工業上有乾燥麥芽之製造。

第二節　化學性質

第一項　物理化學及膠質化學之性質

自然界之各種酵素，皆與夾雜物共同存在，水溶液狀態之酵素，爲膠態物質，對於各種動植物質之皮膜，多爲不滲透性，且易爲各種有機和無機之吸着劑(adsorptive agents)所吸附，生成吸着性化合物，溶液中酵素粒子之大小，依赫左格(R. O. Herzog)及瓦勒二氏1904年測定分子擴散速度之結果，得酵素之分子量爲 10,000—44,900，其粒子之直徑，平均爲 4.2—9μ，約與卵蛋白粒子之大小相近。

膠態物質之通性，爲能吸着他物質，亦易爲他物質所吸着，由吸着劑之性質，可以推定酵素之吸着性。1910年密卡挨利斯(Michaelis)及得維德松 (H. Davidsohn) 二氏，藉電化學之吸着原理，以實驗酵素之電化學的性質時，發現酵素有具酸性者，如轉化酵素能被氫氧化鋁所吸着，而不能爲酸性之高嶺土所吸着。即爲證明轉化酵素具有酸性之一例。於1911—1914 年，密氏復單獨實驗，又發見酵素具有兩性 (amphoteric character) 者，如試驗唾液中之澱粉酵素，及胰蛋白酵素等，均既能爲氫氧化鋁所吸着，又能爲高度嶺土所吸着，故知此二種酵素爲兩性者。

第二項 氫離子之濃度

酵素作用之速度，與其作用液中氫離子之濃度有關，各酵素作用之最適宜之氫離子濃度，各不相同，即同一酵素，因其來源不同，其最適的氫離子濃度，亦因之而異。如解脂酵素 (lipase) 之來自胰臟者，其 pH 值爲8，其來自胃液中者，爲 4—5，來自蓖麻子中者，爲4.9。

第三項 酵素之濃度

在一定酸度情形下，酵素作用之速度，常與其濃度成比例，據瓦杰之測定，酵素作用之速度，與酵素濃度之關係，可用下列公式表示之:

$$E=\frac{K\cdot\text{可溶解物質之克數}}{\text{酵素之克數}}。$$

E＝酵素能量

K＝作用速度之常數。

第四項　溶劑之作用

酵素作用之速度，復與溶媒(midium)有關。溶媒中可分解之物質的濃度背高時，在一定範圍內，酵素作用之速度亦增高。酵素作用後之生成物，對之亦有影響，通常均有妨礙。此種妨礙，或由於酵素與其分解生成物，有結合力之原故，致使酵素失卻作用。倘能利用滲透分析法，或發酵法，將分解生成物除去，或添加新酵素，及可分解物質，則一時呈靜止狀態之酵素作用，可重新恢復，

第五項　酵素之可逆反應

在酵素之分解作用中，未分解物質與分解生成物，常保持平衡狀態，例如酪酸乙酯 (ethyl butyrate) 被膵臟內之解脂酵素鹼化時，其最終生成物，為酪酸及乙醇，其化學反應如下:

$$C_3H_7COOC_2H_5+H_2O \leftrightarrows C_3H_7COOH+C_2H_5OH$$ 。

此反應之意義，並非不進行，故依化學平衡法則言，酵素亦能營合成作用，但由多醣類分解而為單醣類之事例甚多，而由單醣類合成為多醣類，則極為罕見。現在常見者，僅有解脂酵素之合成作用，此種酵素在腸壁內能營脂肪分解作用，同時亦營脂肪合成作用，1925年，瓦斯特尼斯 (Wasteneys) 及普爾左克 (Borsook) 二氏，在適宜條件下，能使縮氨酸(peptide)有 39% 合成為卵蛋白。

第六項　加速劑及麻痺劑

能增進酵素作用速度之藥劑，稱爲加速劑(accelerators)；反之，能減抑其速度者，稱爲痲痺劑(paralyzers)。此種藥劑對於酵素作用之影響，依其性質而異，如對於酵素本質，有無刺激及破壞力，對於可爲酵素作用之作用物質有無增減與變性，以及能否增進反應速度等。

酵素作用能否活潑與痲痺，各種電離子爲其主要因素，如氯離子大量存在時，常呈痲痺作用，如加入氯化鈉，則能恢復，而呈加速。至於酸鹼或鹽等，依其濃度而呈加速或痲痺之效。少量之酸，對於澱粉水解酵素，有促進效力，極少量之氟化鹽，對於醇酵素有痲痺效力。鹽之濃度小於 2—5% 時，均有加速之效，反之，濃度稍高，即呈痲痺之效，重金屬鹽之痲痺濃度，依其金屬性質及酵素種類而不同，例如澱粉水解酵素之糖化作用，因重金屬鹽之影響，而呈減退，其濃度如下所示：

鹽	阻制酵素作用之濃度
硝酸銀	0.00001
氯化金	0.00008
氯化汞	0.000033
氯化銅	0.00012
氯化鎳	0.0011
氯化鈷	0.01
氯化鋅	0.003

此外，其他之鹽類，均有加速之效，如錳鹽，對於氧化酵素(Oxydase)之作用，有促進力，如鹼金屬及鹼土金屬等之中性鹽，對於發酵

作用，大多有加速作用，而以鎂對於發酵作用爲有特效。尤其在葉綠素物質的形成上，爲不可或缺者，以及鈣與磷酸鎂或各種酸性磷酸鹽，均有促進作用。至於唾液中之唾液澱粉酵素(ptyalin)，若無磷酸鹽存在時，即失去其活性。

至於有機藥劑，如三氯甲烷、甲苯、丙酮以及蟻酸等，對於酵素均有麻痺效力，其麻痺力因酵素種別而異，且因此種藥劑作用之時間久暫而不同，通常時間愈長，其麻痺力亦愈強。各種氨基酸適量存在時，能促進發酵作用，有加速酵素作用效力。又酵素溶液，如經長時間之震動與搖盪，則多呈麻痺現象。

第七項　抗酵素

生物體中之酵素，其能調節或抵抗其他酵素之作用者，稱爲抗酵素(anti-enzyme)。1900年摩爾根羅斯(Morgenroth)以凝乳酵素液(lab或rennin)，注射於動物體內，由此動物之血液中，檢知凝乳酵素已變爲不活性，而不能將牛乳中之乾酪素(casein)凝固。因此知動物體中，有一種能使凝乳酵素變爲不活性之抗酵素存在，特稱爲抗凝乳酵素(antilab)。1903年彪赫納及海恩(Haehn)二氏，復於酵母體中發見一種酵素名爲抗蛋白分解酵素(anti-protease)，能抵抗高熱之煮沸，對於各種蛋白質(proteins)，有保護作用。1906年衛恩蘭德(Weinland)，言及胃液之所以不能自己消化胃壁者，即因胃中有一種抗酵素，名爲抗胃液素(anti-pepsin)存在，使其中之胃液素(pepsin)起麻痺作用，同理腸液中亦有抗胰蛋白酵素(anti-trypsin)存在。

第八項　動酵素

許多重要酵素在細胞內多呈不活性存在，特稱爲酵素原（zymogen）或稱母質（mother substance），欲得活性酵素，必使酵素原在某種情形下，被某一種特殊物質作用後始可，此種不活性之酵素，卽爲該活性酵素之酵素原。此種由不活性之酵素原，變爲有活性酵素之作用，稱爲活化作用（activation）。例如胃液中之胃液素之母質，名爲胃液酵素原（pepsinogen），可以胃細胞分泌之鹽酸促活之，而腸中之胰蛋白酵素原（trypsinogen），可被腸粘液中之腸動酵素（enterokinose）作用而活化之，此種活化作用在動物體內，屢見不鮮，上述鹽酸是已知構造式之活性劑（activator），而腸動酵素爲不明構造式之活化劑，此種活化劑，稱爲動酵素（kinase）。

第九項　氧化及還原作用

在植物或動物體內，最常見之酵素作用，卽爲氧化酵素之作用，各種有機物質，如用人工使起氧化作用，殊非易事，因碳水化合物、脂肪、以及蛋白質等有機物質，在普通溫度下，絕難氧化，卽在實驗室中，猶須用大壓力、濃酸、強鹼、以及高溫等，始能將此種有機物質，達到氧化作用，而其氧化作用之眞正方法，迄今尙未完全明瞭。但在動植物體內有機組織中，藉氧化酵素之酵素作用力，以完成氧化作用，則極其容易，在動物組織內之氧化作用，可用微量呼吸計（microrespirometer），（圖1）以測定之。

伊爾脈（1）磨碎組織，懸浮於穩階液，如林格氏溶液（Ringer's

solution,0.7%氯化鈉,0.03%氯化鉀,及0.025%氯化鈣,溶於水內)內,伊爾瓶(II)內盛等量之林格氏溶液,但不含組織,此種伊爾瓶,連接於巴爾克羅夫特式(Barcroft type)之壓力計(manometer)上,其小管腔中,盛以石油,其伊爾瓶中之小坩堝內,盛有少量之氫氧化鉀溶液,此種伊爾瓶,保持於溫度不變之器內,其中之空氣,換以氧,在開始時,務使壓力計上之兩臂管腔液面相等,以後將伊爾瓶水平式前後搖動之,則伊爾瓶(I)中之氧,被其中之組織所吸收,因而此伊爾瓶中之氣壓減低,則其臂上之液面升高,而其他臂上之液面,為之降低。由此實驗中,兩臂液面之差,可以測定組織消耗氧之量,其小坩堝中之鹼,用以吸收由此實驗中,所發生之碳酸氣。

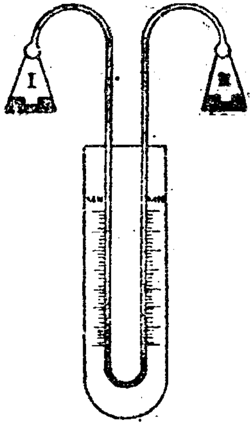


圖1. 氧消耗實驗裝置

另有一法,為香柏格(Thunberg)法,其原理為用極碎之組織,懸浮於含有四甲基藍(methylene blue)之液中,置於帶玻塞之試管內,並加少許磷酸鹽,以校正其中之酸性,其後將此試管於水浴上蒸發;觀其需要若干時間,始能將色消失殆盡,由此時間之長短,可測知氧化作用之速度。麥克納爾(McNair)曾於1917年用凡斯賴克(Van Slyke)之氨基氮測定器,研究此種氧化酵素之作用,結果甚佳。

站在氧化作用之對面,即為還原作用,並有氧化作用時,同時亦有還原作用,比如當氫與氧化合生水時:

$$2H_2+O_2\longrightarrow 2H_2O;$$

其反應中之氫，可謂被氧化，而氧可謂為還原。此為各種氧化作用之過程內重要現象。換言之，卽氧化者，將其負電子移給還原者，同時氧化者之負價減少，亦可謂正價增加，在氯化鐵及碘化鉀的反應中，碘離子將其負電子移給鐵離子，故碘化物謂為氧化者，而鐵謂為還原者。

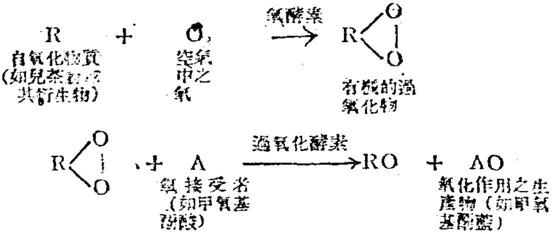
$$Fe^{+++}+3Cl^-+K^++I^-\rightarrow Fe^{++}+3Cl^-+K^++I^{\circ}。$$

在生物界中之氧化作用，亦如此，不過有若干反應，尚未十分清楚耳。

第十項　加氧之氧化作用

過氧化氫在二價鐵之化合物中，所發生之氧化作用，與動物體內之作用相似，故在動植物之細胞內，雖有氧化氫，或其他之過氧化物存在，必藉酵素之力以使此種過氧化物發生氧，而行氧化作用。如於試管中加入少許水，再加少許甲氧基酚（guaiac，癒瘡膠酚）溶液，以後再加入過氧化氫，則甲氧基酚酸（guaiaconic acid）不被氧化，並無色變，但如加少許白薯汁，或其他之植物浸出液，則有遊離氧由過氧化物生出，因而甲氧基酚變藍色。此種能分解過氧化氫，或有機的過氧化物，使生活性氧之酵素，稱為過氧化酵素（peroxidase）。但有許多植物，其浸出液雖不加過氧化氫，而能自有甲氧基酚藍色變者，此種浸出液是因含有兒茶酚（catechol，卽o-dihydroxy benzene），或其衍生物所致。暴露於空氣中，則此種兒茶酚吸收氧，而形呈暗色化合物。同時有機過氧化物，或過氧化氫生出。在此種情形下，能由空氣中攝氧的物質，謂之自氧化物質（autoxidizable substance）。此兒

茶酚之自氧化作用，在純溶中進行很慢，但在植物浸出液內，則極快。此種在植物浸出液內，能接觸自氧化物質，使起氧化作用之物質，特稱爲氧酵素(Oxygenase)：



根據此種情形，過氧化酵素與此系酵素同時組合，稱爲氧化酵素系(oxydase system)，在此系內，除氧化物質外，尙有第三種物質，稱爲氧接受者(oxygen acceptor)，以完成之。

發堡研究生活細胞內氧化作用之方式，是因爲有呼吸力之酵素——海明(hemin)衍生物 ($C_{34}H_{33}O_4N_4FeCl$)所致。其作用與其分子內之鐵有關，鐵能分解過氧化氫，形呈活性氧 (active oxygen)，而生甲氧基酚藍色變，再含鐵之炭，亦能使氨基酸生氧化作用，此炭爲血炭或純炭，與少許二價鐵共熱而得。生活組織內之氧化作用，由於炭鐵複合物 (charcoal iron complex) 所作用者，能因少量之氰化物而阻止，以此氰化物能與鐵化合故也。總言之，氧化作用由於氧之活化作用，是因含有接觸性的鐵所致。此可以下式表示之：

二價鐵 $+O_2$ ⟶三價鐵＋有機物質⟶氧化作用之生產物＋二價鐵 。

第十一項 脫氫之氧化作用

除因活性氧所誘起之氧化作用外，尚有不用氧之作用，而行氧化作用者，此種氧化作用是藉脫氫作用 (dehydrogenation)，以完成之。比如一氧化碳在無氧之環境時，藉接觸劑如鈀之力，亦能被氧化，此種氧化作用之反應，係先行水合作用 (hydration)，後行脫氫作用：

$$CO+H_2O\longrightarrow HCOOH\longrightarrow CO_2+2H^+。$$

在此反應終了時，尚需一種物質，以吸收活性氫，此物質稱爲氫接受者(hydrogen acceptor)。四甲基藍即可用爲氫接受者。於是其完全之反應如下：

M(四甲基藍)＋2H⁺⟶MH₂(四甲基白，methylene white)。在生活組織中之反應，亦如此。吞柏克證明丁二酸行脫氫作用，以形成丁烯二酸時，其生產活性氫之酵素，名爲脫氫酵素(dehydrogenase)，其反應如下：

$$\begin{array}{l} CH_2COOH \\ | \\ CH_2COOH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{l} CHCOOH \\ \| \\ CHCOOH \end{array} +2H^+$$

$$M+2H^+\longrightarrow MH_2。$$

利用氧或氫之活化作用，以行氧化作用，不僅能單獨反應，且二者能同時發生，在有氧存在時，其作用可視爲氫接受者，以形成過氧化氫，後分解生活性氧。而再進行第二步氧化作用。在無氧存在時，如厭氣情形 (anaerobic conditions)，其氧化作用之R，可因四甲基藍存在，而被M置換，其反應如下：

$$RH_2\longrightarrow R+2H^+,\quad M+2H^+\longrightarrow MH_2。$$

在有氧存在時，如需氣情形 (aerobic conditons)，其氧化作用，

有下列幾型:

a. $RH_2 + \longrightarrow R + 2H^+$　　被脫氫酵素所作用;

b. $2H^+ + O_2 \longrightarrow H_2O_2$　　過氧化物之形成;

c. $H_2O_2 \longrightarrow H_2O + O^-$　　被過氧化酵素所作用;

d. $R_1 + O^- \longrightarrow R_1O$　　第二種物質之氧化作用;

e. $2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$　　接觸酵素 (catalase) 之作用以生成分子氧。

瑟爾羅(Thurlow)曾用亞黃花色精 (hypoxanthine)、黃花色精 (xanthine)，氧化酵素，過氧化酵素，及亞硝酸鹽等於上述各反應，以觀察之，其亞黃花色精，可被反應(a)氧化，亞硝酸鹽可被反應(d)氧化，如有接觸酵素存在時，則形成反應 (e)，以替反應 (c)，而生出分子氧。因接觸酵素對於過氧化酵素有破壞力，故能阻止過氧化物之消耗。

在過氧化酵素系內，其活性氧之生成，係鐵為接觸劑，但在脫氫酵素系 (dehydrogenase system)內，則鐵不為接觸劑，不能生活性氫。氰化物，對於氧化作用，有阻止力，但對脫氫作用則無害。

第十二項　硫氫基在氧化作用中之變化

據實驗結果，各種生物組織、被亞硝基、亞鐵氰化鈉 (sodium nitroprusside) 及氨等相作用，均成紫色。此即表示其有硫氫基 (sulphydryl group) R—SH 之存在。此硫氫基在氨基酸之 3-氫硫化 [2] 氨基丙酸 (cysteine)，即為常見，此種氨基酸在各種組織中雖均有之，但常呈 glutathione (即氨基乙酸氨基戊二酸，及 3-氫硫化 [2]

氨基丙酸等，所聯合之三式縮氨酸)形而存在，其構造式如下:

$$\underset{\displaystyle NH_2}{COOH\underset{|}{C}H}CH_2CH_2CO-NH\underset{\displaystyle \overset{|}{C}H_2SH}{CH}CO-NHCH_2COOH$$

在氧化作用時，3-氫硫化[2]氨基丙酸，可變爲二硫化物，名爲 l-雙[3]硫化[2]氨基丙酸 (l-cystine):

$$R-SH+HS-R+O\longrightarrow R-S-S-R+H_2O\ 。$$

而此 l-雙[3]硫化[2]氨基丙酸，再還原之，則復生 3-氫硫化[2]氨基丙酸:

$$R-S-S-R+2H^+\longrightarrow 2RSH\ 。$$

至glutathione 亦可被氧化，而成二硫化物形:

$$2G-SH\xrightarrow{[O]}G-S-S-G\ 。$$

此反應爲可逆者，glutathione 分布甚廣，並在細胞內，有大量存在，足證明其爲細胞新陳代謝中之重要物質，至其作用之眞正方式，現仍未明，在需氧情形下，此種物質之作用，可以形成過氧化氫，如有過氧化酵素存在，則能生活性氧:

$$2GSH+O_2\longrightarrow G-S-S-G+H_2O_2\longrightarrow H_2O+[O]\ 。$$

此種氧化者，可因洗刷或煮沸組織殘渣，而還原之:

$$TH_2+G-S-S-G\longrightarrow 2GSH+T\ 。$$

glutathione 與組織殘渣間，爲極穩固之氧化還原系 (oxydation-reduction system)，其還原時，可視爲氫之贈與者，能使四甲基藍褪色:

$$2GSH+M\longrightarrow G-S-S-G+MH_2\ 。$$

第四章　酵素之命名法及其分類

酵素之命名，頗不一致，現今通行者，爲韋克斯曼及得維松(Davison)二氏(1926)之命名法，其基本原則有四：

1. 於其作用物質 (substrate) 之名字，加以 ase 字尾而成，如：amylase, urease, protease 等。

2. 於其終產物之名字，加以 ase 字尾而成。如：alcoholase, glucase 等。

3. 按其反應之自然性質，並加 ase 字尾，而定名。如：oxidase, reductase, invertase 等。

4. 習慣或沿用名字，如 zymase, emulsin, pepsin, trypsin 等。

任一種酵素作用，均有其一二種特殊性質，如以此爲根據，而行酵素之分類，頗非易事，通常均按酵素之作用物質之性質；或依其反應之形式，而分類之。今爲分類便利起見，特將凡能變換澱粉之酵素，或水解澱粉酵素 (amylolytic enzymes)，統名之曰澱粉酵素，凡能分解脂肪之酵素，統名之曰解脂酵素等，而唾液中澱粉酵素，必名之曰唾液澱粉酵素，以與來自胰臟中之胰液澱粉酵素 (pancreatic amylase 或 amylopsin)，及來自植物中之植物澱粉酵素(vegetable amylase 或 diastase) 等有別。同時其脂肪分解酵素，來自胃液中者，必名之曰胃液解脂酵素 (gastric lipase)，以其與來自胰液中之胰液解脂酵素(pancreatic lipase 或 steapsin)不同也。

今爲便利讀者起見，特將酵素名稱、分佈、作用物質、及其終產物，列表如下(表四)：

(圖表四) 酵素之分類

名稱	作用物質	終產物
(一)加水分解酵素(1)		
A.醣分解酵素(2)		
I.多醣體分解酵素(3)		
a.澱粉酵素		
1 澱粉水解酵素	澱粉糊精等(4)	麥芽糖
2 唾液澱粉酵素	澱粉糊精等	麥芽糖
3.胰液澱粉酵素	澱粉糊精等	麥芽糖
b.土木香酵素(5)	土木香(6)	果糖
c.纖維酵素(7)	纖維質(8)	可溶性醣
d.細胞溶解酵素(9)	半纖維質,多醣配醣物(10)	葡萄糖
II.三醣體分解酵素(11)		
a.棉子糖酵素(12)	棉子糖(13)	果糖及蜜甘露糖
III.二醣體分解酵素(15)		
a.麥芽糖酵素	麥芽糖	葡萄糖
b.轉化酵素	蔗糖	葡萄糖及果糖
c.黴蜜酵素(16)	黴蜜糖(17)	葡萄糖
d.乳糖酵素	乳糖(18)	葡萄糖及分解乳糖
e.二甘露糖酵素(19)	二甘露糖	葡萄糖及分解乳糖
IV.配醣物分解酵素(20)		

a.杏仁酵素	配醣物(21)	葡萄糖及氫氰酸
b.芥子酵素(22)	配醣物芥子酸鉀(23)	葡萄糖及芥子油(24)
c.其他配醣物酵素	配醣物	葡萄糖等
B.脂肪分解酵素		
I.解脂酵素		
a.自解脂酵素(25)	脂肪	有機酸及甘油
b.胰液解脂酵素	脂肪	有機酸及甘油
c.植物解脂酵素(26)	脂肪	有機酸及甘油
II.葉綠素酵素(27)	葉綠素(28)	結晶性葉綠素(29)
C.蛋白水解酵素(30)		
I.蛋白分解酵素(31)		
a.胃液素	蛋白質	蛋白醣(32)，消化蛋白質(33)
b.胰液素	蛋白質	蛋白醣，消化蛋白質
c.腸液素(34)	縮氨酸消化蛋白質	簡單縮氨酸及氨基酸
d.植物體蛋白酵素(35)		
1.鳳梨酵素(36)	蛋白質	蛋白醣及消化蛋白質
2.番瓜酵素(37)	蛋白質	蛋白醣及消化蛋白質
3.食肉植物蛋白酵素	蛋白質	蛋白醣及消化蛋白質
4.菌類蛋白酵素(38)	蛋白質	蛋白醣及消化蛋白質
II.凝固酵素(39)		
a.凝乳酵素	乾酪素	凝固乾酪素(40)
b.凝血酵素(41)	血色素(42)	血蛋白(43)

c.膠質酵素(44)	果膠(45)	果膠酸(46)
III.醯胺分解酵素(47)		
a.脲酵素	尿素(48)	二氧化碳及氨
b.腺鹼酵素(49)	腺鹼(50)	亞黃花色精
c.氨基胍基戊酸酵素(51)	d-(2)氨基(5)胍基戊酸(52)	d-(25)二氨基戊酸及尿素(53)
d.鳥糞素酵素(54)	鳥糞素(55)	黃花色精
IV.核質酵素(56)		
a.多核酸酵素(57)	核酸(58)	核磷苷(59)
b.核酸酵素(60)	核磷苷	磷酸及核苷(61)
c.核苷酵素(62)	核苷	醣及鹼
(二)氧化及還元酵素:		
A.氧化酵素:		
I.漆氧化酵素(63)	多元對酚類(64)	各種顏料
II.酪胺酸酵素(65)	左(2)氨基(3)對羥苯基丙酸	黑色素(66)
III.植物性氧化酵素		
IV.動物性氧化酵素		
B.過氧化酵素	過氧化物	活性氧及其氧化作用產物
C.接觸酵素	過氧化氫	分子氧
D.還原酵素(67)		
I.硫酵素(68)	硫酸鹽及亞硫酸鹽	硫化二氫
II.硝酸酵素(69)	硝酸鹽	亞硝酸鹽
E.尿酸還氧化酵素(70)		

I 亞黃花色精氧化酵素(71)	亞黃花色精	黃花色精
II. 黃花色精氧化酵素(72)	黃花色精	尿酸(73)
III 尿酸氧化酵素(74)	尿酸	尿膜精(75)
(三)發酵酵素		
A. 釀酒酵素(76)		
I. 醇酵素	糖質	酒精及二氧化碳
II. 脫羧酵素	丙酮酸	二氧化碳及水
B. 磷酸酵素(77)		
I. 氧四甲基磷酸酵素(78)	氧四甲苯二磷酸(79)	環抗醇及磷酸(80)
II. 甘油磷酸酵素	甘油磷酸	甘油及磷酸
III. 已醣磷酸酵素(81)	已醣磷酸	已醣及磷酸
C. 乳酸酵素(82)	乳糖及單糖質	乳酸
D 醋酸酵素(83)	醇類	乙酸

(1) hydrolytic enzymes (2) carbohydrases (3) polysaccharidases
(4) dextrins (5) inulase (6) inulin
(7) cellulase (8) cellulose (9) cytase
(10) hemicellulose (11) trisaccharidases (12) raffinase
(13) raffinose (14) melibiose、 (15) disaccharidases
(16) trehalase (17) trehalose (18) lactose
(19) metibiase (20) glucosidases (21) glucosides
(22) myrosinase (23) sinigrin (24) mustard-oil
(25) autolyticlipase (26) vegetable lipase (27) chlorophyllase

(28) chlorophyll
(29) chlorophyllid
(30) proteolytic enzymes
(31) protease
(32) albumose
(33) peptone
(34) erepsin
(35) vegetable proteases
(36) bromelin
(37) papain
(38) fungi protease
(39) coagulating enzyme
(40) paracasein
(41) thrombin
(42) fibrinogen
(43) fibrin
(44) pectinase
(45) pectin
(46) pectinic acid
(47) amidases
(48) urea
(49) adenase
(50) adenine
(51) arginase
(52) arginine
(53) ornithine
(54) guanase
(55) guanine
(56) nuclease
(57) polynucleotidase
(58) nucleic acid
(59) nucleotide
(60) nucleotidase
(61) nucleoside
(62) nucleosidase
(63) laccase
(64) polyhydric paraphénols
(65) tyrosinase
(66) melanin
(67) reductase
(68) hydrogenase
(69) perhydridase
(70) purine oxidase
(71) hypoxanthine oxidase
(72) xanthineoxidase
(73) uric acid
(74) uricase
(75) allantoin
(76) alcoholase
(77) phosphatase
(78) phytase
(79) phytin
(80) inositol
(81) hexosephosphatase
(82) lactolase
(85) acetoxydase

第五章　酵素之分布及其化學作用

第一節　加水分解酵素族

此族酵素能使構造複雜之有機化合物起加水分解或鹼化作用，而分解爲簡單物質，一如酸鹼作用然，故名。分布於自然界中甚廣，各種植物之種子，動物之腸、胃、以及微生物之菌體中，均有存在。今按其作用物質之不同，而分爲下列七類，並逐類略述之。

第一項　醣分解酵素類

此類酵素能使各級醣起加水分解，而爲各種單醣類，爲發酵工業上最關重要者，其種類甚多，最要者，有下列十種：

1．澱粉酵素

此種酵素，復因其來源不同，分爲澱粉水解酵素，唾液澱粉酵素，及胰液澱粉酵素三種。就中以澱粉水解酵素，於釀造上，特關重要，今詳述之如下。

1，**分布狀況**　麥芽爲此種酵素存在之大本營，在未發芽之大麥中，亦有存在。但性不靈活，係呈酵素原狀態，發芽時，遂變爲活性狀態。不活性者，特稱爲轉移澱粉酵素（translocations diastase），分布於植物細胞中，使其中之澱粉，易於溶解，司轉移責任，最適溫度爲45—50°C。其活性者，稱爲分泌澱粉酵素（secretions diastase），僅限於發芽種子，特別是禾本科植物種子，發芽時，其胚之盤狀體上皮（shieldepithelium），所分泌之胚乳中最多，卽在休止種子之胚乳、

及其糠皮中，亦含有少量，能破壞澱粉粒，分解爲種種化合物，最適溫度爲 50—55°C。

植物界之甜菜根、甘藷、馬鈴薯、豆類、各種草木之葉與種子等，以及下等植物，如菌類，均含有之。特別以種子外殼，與澱粉接觸層爲最多。例如有些小酒精工廠，用小麥作原料，不加任何麥芽，亦能完成糖化作用，因爲小麥中所含之澱粉水解酵素，足能使澱粉變糖，無庸外力之參加。同樣麥類之麩皮，具有甚高之糖化力，因之麩皮在發酵工業上，成爲一種有價値之糖化劑。我國自古以來，利用酒麴釀造酒類，卽因酒麴中，含有相當量之澱粉水解酵素故也。

此外動物之唾液、膵液、肝液、腸液、筋肉、以及下等動物之消化液中，均含有之。

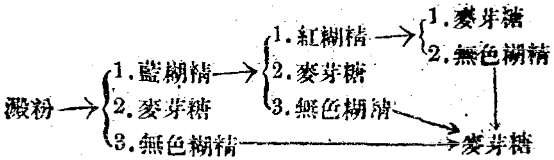
2. 性質　爲黃白色，或灰色粉末，易溶於水，其糖化力，對於溫度有關。據胡培之研究，此種酵素，在乾燥狀態下，能耐熱至 150°C，如超過至 158°C 時，則消失效力，但在水溶液狀態時，則對熱感覺很銳敏，若熱至 70°C 以上，其糖化力，卽行減退。惟其液化力作用較強，熱至 80°C 以上，其液化作用，仍能徐徐進行。至 85°C 以上，其液化力全消失，其糖化力，最適溫度，在 50—57°C 之間。

光線特別是紫外光線，對於此種酵素作用，有阻害力，至於化學物質之影響，據 1892 年，埃夫朗特(Effront)之實驗報告，鋁鹽類、磷酸鹽類、以及氨基酸化合物等，對於酵素作有，有促進功效。蛋白質類略有幫助之功。少量中性鹽類，有促進力。食鹽有增強作用力。至於少量無機酸及有機酸，如檸檬酸、乳酸、醋酸、酪酸等，均有促進力。然磷酸則有妨礙作用，是其例外。至於鹼類，則雖稀液，如 0.3%

碳酸鈉，亦能減退其作用力至一半。

其適宜pH值，因其來源而不同，其來自膽汁者，為7.1，胰液中者6.8，唾液中者6.7，枯草菌中者6.7，麥芽中者4.9，而麴菌中者為4.7—5.2。

此種酵素溶解澱粉甚速，其糖化作用之進行程序，概先由不溶性澱粉，或糊狀之澱粉，變為可溶性之澱粉，再由可溶性澱粉，分解為各種糊精，最後分解而為麥芽糖。關於此點，有兩種說法：一為同時生產說，即(1)澱粉被分解成多量之藍糊精(amylo dextrin)，此物對於碘液呈藍色，為可溶性澱粉之主要成分，(2)微量糖類，及(3)無色糊精(achro-dextrin)，此物對於碘液不呈色變，其後藍糊精再分解為紅糊精(erythro-dextrin)，此物對於碘液成赤色，麥芽糖及無色糊精，紅糊精再分解為麥芽糖及無色糊精，最後糖化作用完全時，所生之無色糊精，全部再分解為麥芽糖。其糖化程序如下：



另一種為順序生產說，澱粉藉酵素之作用，順序生為三種中間產物：(1)藍糊精，(2)紅糊精，(3)無色糊精，最後亦由無色糊精，再分解生麥芽糖。其糖化程序如下：

澱粉 → 藍糊精 → 紅糊精 → 無色糊精 → 麥芽糖。

從麥芽製得之澱粉酵素，為黃白色物體，成蛋白精之特殊反應，若用顯微鏡觀查之，則呈膠體形狀，其水溶液加熱即凝固，最活動之

樣品，含氮量約 14%，最純之酵素成分如下所示：

灰分	0.6%
碳	52.5%
氫	6.7%
氮	16.1%
氧	22.2%
硫	1.9%

3. 製法　培恩及柏梭二氏，曾將麥芽用冷水浸漬，加熱至 70°C，濾去固形物，加過量純酒精，使之沉澱，遂得粗品。再令溶解於水中，復施過濾沉澱等手續，以精製之，在 40—50°C 下，乾燥之，即得一種白色無味之粉末，是爲純品。

製備此種酵素最良之法，爲林特諾 (Lintner) 氏法，係令麥芽之水浸提液 (water extract) 結冰，用布過濾，除去冰塊，所得濾液，即爲此種酵素在溶液狀態之淨製品，復加硫酸銨，本品即沉澱析出。

精製法　將麥芽研碎加 2½ 倍其重之冷水處理之，再加稀酒精，或極稀之磷酸一鈉 (sodium monophosphate) 溶液，經 1.5—2 小時，溫度約 10°C，次用傾瀉法 (decantation) 或過濾法 (filtration)，除去固形體物，再用透析法 (dialysis)，將溶液置入火棉膠質的袋 (collodion bags) 中，外通十倍容量之冷水 (7—15°C)，經過 25—42 小時，中間移換膠袋二三次，其末次施行過濾，所得濾液，加等體積之純酒精或乙酮，棄去初生成之沉澱物，繼續加酒精或乙酮，至濃度達 65% 或 70%，然後將所得沉澱取下，置於半真空之硫酸乾燥器中，約於 10°C 下，乾燥之，即得。全部工作，均在 10°C 左右進行，最高不得超過 20°C。

此種酵素溶液，如需長時間貯藏者，製備時所浸漬之麥芽，不用普通溶劑如水、酒精、乙酮、三氯甲烷等，而用甘油之水溶液，或吡啶(pyridine)，或喹啉(quinoline)之3－6%水溶液。甘油之濃度，最好爲50%。但濃度在20—90%之間，均可適用。用此溶劑，所得含此種酵素5－8%之溶液，曾據多人之試驗，其澱粉之液化力、糖化力及糊精生成力，結果表示此種酵素之液化力與糖化力中間，並無若何確定關係。故澱粉之液化與糖化，或爲兩種不同之酵素所促成。至糊精生成力，則與液化力有密切關係，倘液化力小，則生成力亦小。

4.糖化力之測定法（林特諾氏法）　以移液管，吸取0.1c.c.，0.2 c.c.，0.3 c.c.，…… 0.9 c.c. 1.c.c.，之酵素液，移入十個乾而且淨之試管中，每試管中，加入5c.c.，2%之澱粉溶液，保持21°C，約經一小時後，每試管中加入5c.c. 斐林（Fehling）氏混合液，置於水浴上熱之，約十分鐘取去，序列於試管架上，其後面遮以白色紙，在此一羣試管中，有鄰接之三管，很明顯的可以看出：一管表示還原作用不及(under reduction)，而上浮液體尙呈藍色，一管表示還原太過(over-reduction)，而上浮液體呈成黃色，甚至紅色；其中之一管，表示還原作用剛好(exact-reduction)，而上浮液體成無色，或微黃色。按林特諾氏之規定：5%之0.1c.c.酵素液，於21°C.下，一小時內，所糖化之澱粉，剛好把5c.c.規定之斐林氏混合液完全還原，則謂其糖化力爲100。例如：其終點即其還原剛好完全之酵素含量，爲0.25 c.c.，則：

$$0.25:0.1=100:x, \quad x=40 \quad \therefore x=\text{糖化力。}$$

如酵素係取自麥芽，（以25克麥芽粉，浸於500c.c.水中，在室溫內，經六小時過濾而得之溶液者），而其原麥芽含有水分爲40%，則其

乾燥重量爲 60%，則其糖化力，爲 $\frac{40\times100}{60}=66.7$。

2. 土木香酵素

此種酵素，分布於植物界甚廣，例如：菊科、百合科、石蒜科等植物，莖、葉以及單子葉類之塊根中，均有之。爲1887年，格林(Green)於根莖發芽，糖化其中之土木香時，所發見。氏將發生嫩芽之塊根，剉碎之，以甘油浸漬約二十四小時，以布濾過，並除去其中之還原性糖(reducing sugar)，加入防腐劑，靜置後，復現有還原性糖之生成，此浸出液，如經煮沸，則毫無糖化作用。1893年部爾奎婁特(Bourquelot)，復於菌體中發見之。

此種酵素爲中性，於微酸性溶液中，其作用力最爲顯著。其酸度以0.001%鹽酸爲最適宜。室溫以至40°C.時之作用爲最強盛。如至70—75°C，則作用消失，能作用於土木香而生左旋糖。

3. 纖維酵素

各種菌類，各種種子，以及麥芽中，均含有之。能破壞纖維素與木質而變爲可溶性糖。在麥芽中，能侵蝕澱粉細胞之纖維膜壁，軟化或溶解之，實爲澱粉酵素之急先鋒。因經此酵素先將纖維膜壁蝕去。澱粉酵素始能與澱粉接近，而呈其糖化作用故也。

4. 半纖維酵素

各種種子，如椰子、大麥、穀種、以及各種菌類，均含有之，草食動物之腸管中尤多。蚯蚓之腸液與蝸牛之肝液中亦有之。

其性質與纖維酵素略同，亦能將種子之胚乳細胞膜溶解，並將其周圍糊粉層軟化，每與澱粉酵素同時存在，如在微酸性液，如醋酸，及蟻酸等液內，則其作用力尤爲活潑。此種酵素，除能分解半纖維質

外，復能與各種配醣相作用，而生葡萄糖等。

5. 棉子糖酵素

此種酵素廣含於甜菜根及草棉種子中，馬犬之小腸中亦有之，至於下面酵母體中，則有大量存在。而上面酵母則無之。能作用於棉子糖，而分解之，生果糖及二甘露糖：

$$C_{18}H_{32}O_{16}+H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6+C_{12}H_{22}O_{11}\text{。}$$

6. 麥芽糖酵素

麥芽糖酵素亦係麥芽中所含酵素之一種，分布甚廣，各種植物種子與下等植物（如菌體），以及動物體（如肝、胰、腸、血液）中，均含有之。

其作用之最適溫度為 40°C。溫度稍高，達 50–55°C 時，即變為不靈活，不甚溶解於水；若麥芽糖溶液微呈酸性，其作用力最旺，如酸度過量，或為鹼性，則其作用極感遲鈍，或完全停止。

此種酵素可由將乾之啤酒釀母，加氫氧化鈉稀溶液及甲苯，分別處理，即得呈溶解狀態之酵素液，能分解麥芽糖，變生更簡單之糖類（如葡萄糖）其反應如下：

$$C_{12}H_{22}O_{11}+H_2O \longrightarrow 2C_6H_{12}O_6\text{。}$$

7. 轉化酵素

轉化酵素又名蔗糖酵素（sucrase），在顯花植物，禾本科植物等種子中，以及釀母、絲狀菌、細菌等細胞中，均含有之。動物體如腸液、膵液、唾液、以及血液中，亦有之。

此種酵素，能溶於水，不溶於酒精中、極稀之硫酸，對之有促進效力。酸度增加，其作用即破壞，鹼性液以及汞鹽對之均有阻害力。

蔗糖濃度應在20%左右爲適宜。能分解蔗糖，而爲轉化糖(invert sugar)，即一分子葡萄糖，及一分子果糖。其反應如下：

$$C_{12}H_{22}O_{11}+H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6+C_6H_{12}O_6 \ 。$$

其反應最適溫度，爲55—60°C。在65°C.時，則作用減退，70°C.時，即完全消失。乾燥之轉化酵素，比較能抗高熱，有時熱至140—150°C，尚不至損壞其作用力。至其化學組成，依俄斯本(Osborne)與沙爾高斯基(Salkowski)二氏之研究，其精製品，不含蛋白質，而含有糖類及磷酸。其後復有人用吸附法精製者，亦得同樣之結果。

此種酵素可由釀母體製得，法將釀母在105°C.乾燥，次用冷水提取之，所得溶液，加過量純酒精，使之沉澱，即得粘塊狀沉澱，再復溶於水，復用純酒精沉澱之。其乾燥製品爲白色粉末，其溶液與稀醋酸相處理，則呈混濁現象。

8. 蘭蜜糖酵素

此種酵素廣含於菌絲體中，其他如麥芽以及小腸中，亦含有之。

此種酵素，在微酸性液(0.03%硫酸)中，其作用力最旺盛。酸度加強至0.2%硫酸，則其作用完全消失。至其他性質，則與麥芽糖酵素頗類似。其所不同者，即此種酵素之作用力與抗熱力較低，在54°C時，即呈減退現象，在64°C時，即完全破壞。

其製取法係由麴菌菌絲，與乾砂相混，於乳鉢中研之，以純酒精浸約六小時，置於濾紙上，於眞空中乾燥，復以水提取之，其濾液以酒精沉澱，而收集於濾紙上。復於眞空中乾燥之，即得。其作用力即能分解蘭蜜糖爲葡萄糖。

9. 乳糖酵素

此種酵素廣存於各種菌體中。在動物體，如犢與犬之小腸、鷄腸、兔腸，以及初生動物之腸中，均含有之。每與麥芽糖酵素同時存在，與氰醣酵素相似，作用於乳糖，能分解之而生葡萄糖及分解乳糖。

10. 二甘露醣酵素

此種酵素廣含於下面釀母中，而上面釀母中則無之，能作用二甘露蜜糖，而分解生葡萄糖，及分解乳糖：

$$C_{12}H_{22}O_{11}+H_2O\longrightarrow C_6H_{12}O_6+C_6H_{12}O_6\ 。$$

第二項 配醣物分解酵素類

此類酵素大量存於苦杏仁，及其他桃科植物種子中，十字科植物亦有之。釀母體中亦有之，能分解配醣物而生葡萄糖及其他芳香體化合物等。

1. 氰醣酵素

此種酵素，廣含於各種顯花植物體中，就中以苦杏仁爲其大本營。其他薔薇科植物種子亦有之。至於菌類、地衣類，均有大量存在。動物體中，如家兔之腸液中，亦有之。

爲白色無定形蛋白樣粉末，無嗅、無味、易溶於水，不溶於醚及酒精中。其化學成分爲：

碳	48.7%
氫	7.1%
氧	28.7%
氮	14.1%
硫	1.25%

普通有蛋白質反應，在光學上，具有左旋性，其作用力之最適溫度爲45－50°C，其水溶液，在80°C時，則無作用力，其分解作用，以在中

性溶液中，為最活潑，微量之酸、鹼，均有阻害作用，能水解配醣物而生葡萄糖及其他之化合物，如分解苦杏仁素(amygdalin)，生右旋糖、苯醛、及氫氰酸，其化學反應如下：

$$C_{20}H_{27}NO_{11}+2H_2O \longrightarrow 2C_6H_{12}O_6+C_7H_6O+HCN$$ 。

近世研究上述反應，知非若是簡單，因此種酵素，實為含二種以上之酵素混合物，故其分解反應，應有下列三階段：

(1)苦杏仁酵素(amygdalase) 苦杏仁素先被此酵素作用而分解，生葡萄糖及苦杏仁酸(prunasin)：

$$C_6H_5\cdot CH(CN)OC_6H_{10}O_4\cdot O\cdot C_6H_{11}O_5+H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6+C_6H_5CH(CN)OC_6H_{11}O_5$$

(2)苦杏仁酸酵素(prunase) 苦杏仁酸再經此種酵素分解，而生葡萄糖，及苯甲醛氰醇(benzaldehyd cyanhydrin)

$$C_6H_5CH(CN)OC_6H_{11}O_5+H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6+C_6H_5CH\begin{matrix}\diagup OH\\ \diagdown CN\end{matrix}$$ 。

(3)苯氰醇素(benzacyanase) 苯甲醛氰醇，復被此酵素作用，而分解生苯甲醛，及氫氰酸，以完成氰醣酵素之分解作用：

$$C_6H_5CH(OH)CN \longrightarrow C_6H_5CHO+HCN$$

氰醣酵素除能分解苦杏仁素外，尚能分解其他配醣物，如：含於楊柳科植物中之水楊糖(salicin, $C_{13}H_{18}O_7$)，日光糖(helicin, $C_{13}H_{16}O_7$)，以及松柏科植物中之松柏糖(coniferin, $C_{16}H_{22}O_8\cdot 2H_2O$)等，而生葡萄糖，及其誘導產物。

其製法係將苦杏仁於乳鉢中搗碎，加三倍量之水，浸約二十四小時，過濾，加少許醋酸於其濾液中，則蛋白質大量析出，再過濾，再

加四倍量之純酒精於其濾液內，則此種酵素沉澱析出，收集於濾紙上，而以純酒精及醚洗之，置於眞空中乾燥之，即得。

2. 芥子酵素

此種酵素廣含於十字花科 (cruciferae)、白花菜科 (capparidaceae)、木犀草科(resedaceae)、番瓜樹科(caricaceae)，等植物之莖、根、葉、花及種子各部之組織中。特以十字花科中之黑芥子 (sinapis nigra) 及白芥子 (sinapis alba) 中爲最多。

此種酵素之性質與其他酵素略同，唯耐熱性比較強大，其在水溶液中，溫度達 85°C. 時，始能破壞，其作用力能分解配醣物，如黑芥子中之芥子酸鉀；及白芥子中之白芥配醣物 (sinalbin) 等爲芥子油及葡萄糖等，其化學反應如下：

$$C_{10}H_{18}NKS_2O_{10} \longrightarrow C_3H_5NCS + C_6H_{12}O_6 + KHSO_4$$ 。

此種酵素可由番瓜 (carica papaya) 種子外皮，及白芥子等製出，法將此等種子粉碎，後在 40°C. 下，以水浸約數小時，過濾，其濾液加熱至 70°C，則其蛋白質大部分凝固，復過濾加二倍量 90% 純酒精於其濾液中，則此種酵素沉澱析出，然後置於 30°C. 下之水浴上，以使之乾燥，復以純酒精及醚等洗淨之，即得。

3. 其他配醣物分解酵素

能分解配醣物之酵素，除上述二種外，種類尚多，其比較重要者，有下列幾種：

(1) 鼠李酵素 (rhamnase) 鼠李科(rhamnaceae) 植物種子及果實中廣含之。能分解鼠黃色素 (xanthorhamnin, $C_{48}H_{66}O_{29}$) 爲黃色素染料 (dye rhamnin, $C_{16}H_{12}O_5$) 及葡萄糖等，其作用力之最適溫

度爲70°C,至85°C時則破壞而失其效力。

(2)紅酵素(erythrozyme) 廣存於茜草科 (rubiaceae) 植物之根中,以茜草根 (madder) 中爲最多。能分解茜根酸(ruberythric acid);爲茜紅素(alizarin)及葡萄糖:

$$C_{26}H_{28}O_{14}+2H_2O \longrightarrow C_{14}H_8O_4+2C_6H_{12}O_6 。$$

(3)冬青酵素 (gaultherase) 於樺木科植物(betulaceae)體中發見之,能分解冬青醣(gaultherin),爲冬青油 (winter green oil) 香料及葡萄糖:

$$C_{14}H_{18}O_8+H_2O \longrightarrow C_6H_4(OH)COOCH_3+C_6H_{12}O_6 。$$

(4)鞣質酵素 (tannase) 能分解鞣質 (tannin),爲沒食子酸 (gallic acid) 及葡萄糖:

$$C_{27}H_{22}O_{17}+4H_2O \longrightarrow 3C_7H_6O_5+C_6H_{12}O_6 。$$

(5)靛酵素 (indicanase) 廣存於生成靛藍(indigo blue)之植物中,如蓼藍 (polygonum tincloria)、菘藍 (isatis tincloria)、木藍 (indigofera-tincloria)等,能水解靛原質(indican),爲純靛(indigstin)及靛糖(indiglucin):

$$2C_{26}H_{31}NO_{17}+4H_2O \longrightarrow C_{16}H_{10}N_2O_2+6C_6H_{10}O_6 。$$

此後對於靛原質之研究,頗爲進步,並能製出結晶狀態者,復定其分子式爲 $C_{14}H_{17}NO_6$,故其水解方式,應如下式:

$$C_{14}H_{17}NO_6+H_2O \longrightarrow C_8H_7NO+C_6H_{12}O_6 。$$

即水解後,生吲哚酚 (indoxyl) 及葡萄糖,而此吲哚酚,再經氧化作用,則生靛藍:

$$2C_8H_7NO+O_2 \longrightarrow C_{16}H_{10}N_2O_2+2H_2O$$

第三項　脂肪分解酵素類

此類酵素分布於自然界甚廣，在動植物體中，對於脂肪之分解與合成，甚關重要。

1. 解脂酵素

此種酵素在哺乳動物之膵、腸、胃中存在甚多。有分解與合成二種作用。對於動物腸、胃，膵上脂肪質之吸收機能，甚爲重要。下等動物如頭足類、甲殼類、蜘蛛類等之肝內，以及昆蟲之腸內，均含有之。在植物界中，則以蓖麻子內之含量最多。所以在工業上製造脂肪酸時，多利用之。此外，如南瓜、椰子、罌粟、玉蜀黍、大麻、苦杏仁、黑芥子等，亦均含有之。微生物中之各種絲狀菌、酸母菌、及細菌等均能產生之。在酒精發酵時，釀母細胞中之脂肪質之所以能分解而爲甘油及琥珀酸者，即爲此種酵素之作用。

由動植物組織中分離出之此種酵素，極難精製，對於酸及其他化學物質等之抗抵力，均甚微弱。在中性液內，作用力最強。雖在0.6%磷酸液內，其作用力亦能減退一半。0.13%之鹽酸液內，則全失效用。故在血清中，其所分解而生之脂肪酸，卽有阻害作用，其作用最適溫度在 50°C. 內外，至 71°C. 時，卽失作用。

此種酵素有酯化作用，能分解脂肪，如棕櫚脂 (palmitin)、脂臘脂(stearin)、油脂(olein)等而生甘油，及各種脂肪酸，如脂臘脂之分解，生成甘油及脂臘酸(stearic acid)：

$$C_3H_5(C_{18}H_{35}O_2)_3+3H_2O \longrightarrow C_3H_5(OH)_3+3C_{17}H_{35}COOH$$

此種酵素復因其來源不同，而有下列三種：

（1）自解脂酵素；

（2）膵液解脂酵素；

（3）植物性解脂酵素。

此三種酵素，以膵液解脂酵素，較爲重要。

解脂酵素作用力之測定法：

韋爾斯台特(Willstatter)，瓦爾得什密特—來茲(Waldschmidt-Leitz)及美曼(Memmen)三氏法：

取容量 30 c.c.，具有玻塞之廣口燒瓶，加入 10 c.c.此酵素之水溶液，2.5 克之橄欖油(olive oil)，2 c.c.之緩衝劑(buffer)(0.66 c.c. N. NH_3+1.34c.c. N.NH_4Cl)，及 0.5 c.c. 2% 之氯化鈣，搖盪片刻，加入 0.5 c.c. 之 3% 卵蛋白質(albumin)溶液，復搖盪，經三分鐘，使成乳濁液，後置於 30°C. 之恆溫槽中，經 57 分鐘(解脂酵素作用之全時間爲一小時)，洗入伊爾瓶中，以 96% 之酒精配成 125 c.c.，復加 20 c.c. 醚而混合之，使其解脂作用停止，加入 1—2 滴 1 % 之百里香酚酞(thymolphthalein)，以 0.1 N 酒精之氫氧化鉀溶液滴定之，至微成藍色時爲止，記下此酵素水解物所需之量，及緩衝劑所用之量。其解脂酵素作用力之單位，爲在特殊情形下，能分解 2.5 克橄欖油之百分之二十四，其鹼化價定爲 185(卽 1 克橄欖油，完全水解時，需185 mg. 之 KOH，始能中和之)。其計算法如下：

設酵素水解生成物，所需之鹼量，爲 12.5 c.c.，以 S 代表酵素之水解力，則：

1c.c. 之 0.1 N.KOH=5.61 mg. KOH；

12.5c.c.×5.61=70.6 mg. KOH；

故　　$$S=\frac{70.6\times100}{185\times2.5}=15.1\%$$

設所得之水解力，大於24，或小於10，則須再重做，因10%之水解力，相當解脂酵素值(lipase value)為0.28，而24%相當於1.0故也。

葉綠素酵素

在綠植物中，有一種專司光合作用之色素，即為葉綠素（$\alpha=C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$，$\beta=C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$），據韋爾斯台特之研究，葉綠素為含三個羧基與高級醇——二十碳烯醇(phytol)，呈醚狀結合者。經酵素作用後，則二十碳烯醇分離，而生結晶性葉綠素——葉綠素乙烷(ethyl chlorophyllid)：

$$RCOOC_{20}H_{39}+C_2H_5OH\longrightarrow C_{20}H_{39}OH+RCOOC_2H_5$$。

此酵素能在酒精液中，行水解作用，與酒解作用(alcoholyse)同。

第四項　蛋白質分解酵素類

蛋白質分解酵素能將各種蛋白質分解，而成簡單之氮化合物，在動植物之生理上，有重要之意義，其化學變化之過程如何，至今尚未詳知，其原因即基於蛋白質尚未有明晰之分子構造式故也。其重要者，有下列幾種：

1. 胃液酵素

脊椎動物之胃粘膜中之管狀腺、血液、筋肉、尿等，均含有大量胃液酵素。下等動物，如頭足類之肝消化管以及鷄蛋中，亦均有之。

將胃粘膜剉碎，以多量之5%磷酸水溶液浸之，其濾液中，加入石灰水，則磷酸呈鈣鹽以與胃液酵素相伴而沉澱，以極稀之鹽酸水

溶液使之溶解，復以酒精沉澱之，或將碎胃粘膜以甘油浸漬後，再以酒精使之沉澱，亦可得之。

此種酵素爲白色或黄白色之無定形粉末，略溶於水，易溶於稀酸液中，不溶於酒精。在酸性液中，其作用力，特別活潑，故又稱爲酸性蛋白質分解酵素 (acid proteinase)，在胃中常因有少量 0.2—0.5% 之鹽酸存在，而益形活化。即其他之礦酸，如磷酸、硝酸、以及有機酸等，亦有同樣之活化效力。一般之中性鹽類，對之有阻礙效用，如 0.5% 以上之食鹽水，即有阻止力，而鹼性液對之，尤爲有害，即如 0.005% 之碳酸鈉稀溶液，在普通溫度下一二小時內，即能破壞之，如此時有少量蛋白質共同存在，則能防護其破壞。此種酵素之分解作用，對於溫度影響甚著，其最適溫度爲 50—60°C，溫度稍高，即減退，至 80°C. 時，則全無效力。另有學者報告，以 38—40°C. 爲其最適溫度，其最適 pH 值，爲 1.4—1.6。

此種酵素之分解產物，因其作用物質之不同，頗不一致，據多數學者之研究，如作用於眞正蛋白質(true albumin)，則先生酸性蛋白質 (acid albumin)，及凝固蛋白質 (syntonin)，最後生成蛋白䏡及消化蛋白質，而蛋白䏡復有三種，即異素蛋白䏡(hetoroalbumose)，單蛋白䏡(protalbumose)，及複蛋白䏡(deutero albumose)。此三種蛋白䏡，再行水解，則均生消化蛋白質。

如作用於類似蛋白質 (albuminoid) 時，則其分解產物亦異，如作用於白明膠 (gelatin) 時，即生單膠䏡 (protogelatose)，複膠䏡 (deuterogelatose)，及消化蛋白質膠(gelatin peptone)，其他如軟骨素(chondrin)，生膠質 (collagen)，氧血赤素 (oxyhaemoglobin) 等，

亦有同樣之分解產物。即乳汁中主要成分，如乾酪素(casein)，亦能爲此酵素所作用。

此種酵素作用於核酸蛋白質(nucleoalbumin)時，則其蛋白質部分，分解爲蛋白䏡，及消化蛋白質，同時遊離其含有磷素部分之磷蛋白質(nuclein)。

2. 膵液酵素

此種酵素分布於動植物界甚廣，如單細胞動物之原形質(protoplasm)內，腔腸動物、棘皮動物、蠕蟲動物之體液消化線中，甲殼類及軟體動物之肝臟內均有之。而以高等動物之膵液內爲尤多。下等植物如菌類，亦均含有之。

其製法，係將膵臟剉碎，在35—40°C.下，以酒精及醚，並加少量0.1%水楊酸之混合液，浸漬約四小時，後榨壓之，其殘渣復以0.25%碳酸鈉溶液，浸漬約12小時，更壓榨之，將此兩種榨壓汁混合，再加碳酸鈉，使其含量達0.5%，再加入甲苯及三氯甲烷等適宜防腐劑，放置之，經一周間，過濾，加醋液於其濾液中，使呈微酸性，以中性硫酸銨飽和之，則膵液酵素析出，收集於濾紙上，乾燥後，即得。

此種酵素爲微黃色粉末，能溶於水，其作用力以在弱鹼性(1%碳酸鈉)溶液內，最爲活潑。在0.05%鹽酸液內，即有阻害，故又稱爲鹼性蛋白質分解酵素(alkali proteinase)。多量之酸鹼，對之均有破壞力，少量之中性鹽類，例如1—2%之食鹽，對之有促進作用，如至8%時，則呈阻害，胃液酵素之鹽酸溶液，對於此種酵素，亦有破壞作用。

此種酵素之作用力，在60°C.時最旺。溫度增高至75—80°C，則

失作用，然據俾爾納奇（Biernacki）之研究，謂此酵素在微鹼性液內，於50°C.時，即能破壞，而乾燥之酵素，能抗160°C.之高熱云。其適宜酸度爲pH 7.8—8.7，能分解各種蛋白質、蛋白䏡及消化蛋白質，而爲各種縮氨酸及氨基酸，而此氨基酸爲釀母營養上，不可缺之養料，其攝取即分解蛋白質以供其營養，若蛋白質缺乏，則此酵素極易侵及釀母之本體，分解其體內所含之蛋白質，釀母遂致死亡，即釀母中所含之醇酵素，亦被此酵素作用，分解而失其發酵力，在20°C.與45°C.之間，溫度愈高，其分解力愈大，故用高溫度保養釀母，所用之糖汁內，必須加入多量之蛋白質，以防止之。

膵液酵素活動力之測定法：

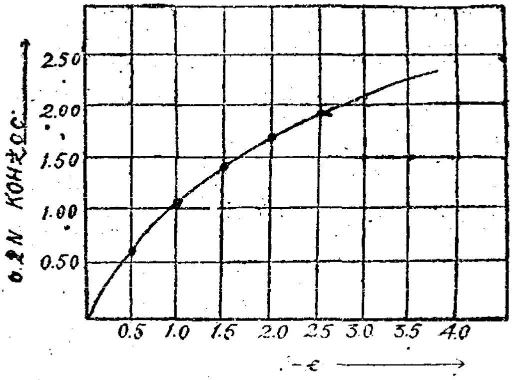
格羅斯（Gross）氏法. 取若干試管，每支加入10c.c.之0.1%純潔乾酪素溶液〔溶一克格盧布諾（Grübler）之乾酪素，於一升之0.1%碳酸鈉液內，加少許三氯甲烷，以防腐〕，後熱至40°C.，每支加入膵液酵素量0.1c.c.，0.2c.c.，0.3c.c.，……，1.0c.c.，復於40°C.下，保持15分鐘，每管加入數滴1%之醋酸，由此，則乾酪素全被酵素消化者，經酸化後，成澄清狀態；反之，其有殘留乾酪素，即未全被消化者，經酸化後，則成混濁狀態。於是選出此羣試管中之澄清而用酵素量最少者爲標準，其計算法如下：在15分鐘內，1c.c.酵素液，能將10c.c.之0.1%乾酪素液，消化完全者，稱爲一單位，今如0.5c.c.酵素液，在15分鐘內，即能將10c.c.之0.1%乾酪素液完全消化，則

$$膵液酵素活動力=1\div0.5=2$$。

膵液酵素量測定法：

韋爾斯台特及高爾巴鮑雷特斯二氏法：

取容量 50 c.c. 之伊爾瓶，加入 1 c.c. 膵液酵素之甘油提取液，加入0.3c.c. 動酵素液，後以水使成 3 c.c.，在 30°C. 下，經 30 分鐘，使其活化，加 5 c.c.6% 乾酪素溶液，2 c.c.pH 8.9 之緩衝劑，再於 30°C. 下，保持 20 分鐘，後移入容量 250 c.c. 之伊爾瓶中，加 5c.c. 水，15c.c.純酒精，2 c.c.0.5% 之百里香酚酞酒精液，以 0.2 N 氫氧化鈉滴定之，至微藍時為止，加入 120c.c. 沸純酒精，再滴定於白天或其他強光之下，呈綠色時為止，在上述條件下，用 1.05 c.c. 0.2 N 之氫氧化鈉者，稱為一膵液酵素單位。今將二氏試驗所得之膵液酵素量之曲線，成一圖(圖2)：



T-e為膵液酵素單位　　(在20分鐘30°C. 下)

圖 2　膵液酵素量與鹼之用量

腸液酵素

腸液酵素為小腸粘膜中之一種蛋白質分解酵素。在膵液中亦發現之。其他之動植物組織中，亦有存在。據近世研究，此種酵素不是

一種不可分離之單體酵素，而是兩種酵素之混合體，一為複縮氨酸酵素 (dipeptidase)，能分解複縮氨酸 (dipeptide) 而生成氨基酸；一為氨基多縮氨酸酵素 (amino-polypeptidase)，能分解多縮氨酸 (polypeptide)而生成複縮氨酸，及少量之氨基酸。前者之適宜 pH 值為 8.0，後者之適宜 pH 值為 7.0，惟此種酵素對於自然蛋白質無作用。

4. 植物體蛋白質分解酵素

(1)鳳梨酵素　在鳳梨 (anauassa sativa) 之果實汁中，含有大量鳳梨酵素，如將此種果汁，以食鹽硫酸鎂以及硫酸錏等飽和之，則此種酵素即析出。就中以食鹽製品為最有力。在中性液中，此酵素之作用力，不甚顯著，在 0.25—0.5% 鹽酸，及 0.25—1% 醋酸內，則特別活潑，最適溫度為 50—60°C，至 70°C，則減退，其分解產物與膵液酵素略同。

(2)蕃瓜酵素　此種酵素，廣存於蕃瓜樹(carica papaya)之果實、幹、葉各部內，在無花果(ficus carica)之乳液以及印度產之瓠果(cucumis utilissimus)之果肉中，均含有之。

此種酵素以在中性或微鹼性(0.25%碳酸鈉)液中，作用力為最活潑。在 0.05%以上之鹽酸液中，即被破壞。鹼量增加，對之亦有阻害，其作用最適溫度，為 35—40°C.，至 75°C. 則減退，至 82.5°C. 則其作用完全消失。其分解產物介乎胃液與膵液二種酵素作用之間。即產生多量蛋白腖及大量氨基酸。

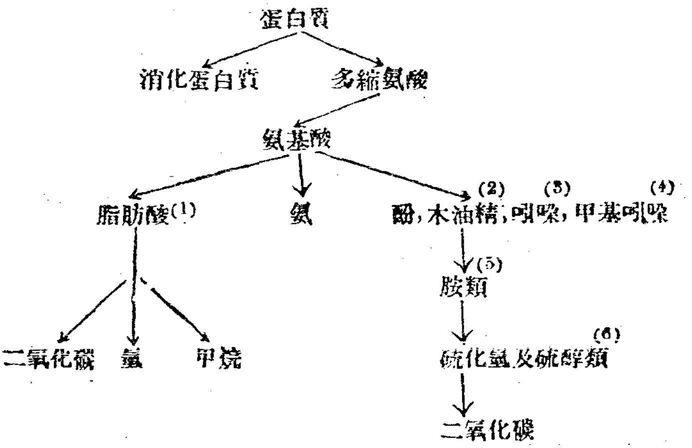
(3)肉食植物蛋白質分解酵素　所謂肉食植物 (insectivor)者，即其體中具有能捕捉昆蟲之特殊器官，並具有消化與吸收機能之種

致也。就中以豬籠草屬(nepenthes)植物之如壺狀葉中，含有此種酵素為最多。能消化蛋白而生結晶性之含氮化合物。

(4)菌類蛋白質分解酵素　此種酵素在菌體中甚為重要。其含量以絲狀黴菌中為最多。釀母體以及各種細菌，如馬鈴薯菌(bacillus mesentericus vulgatus)、枯草菌(bacillus subtilis)、脾脫疽菌(bacillus anthracis)、以及虎列剌菌(vibrio cholerae asiaticae)等，均含有之，能分解蛋白質而生各種氨基酸。

據利普(Rippel)之研究，其分解蛋白質所生之各種中間產物，及其較重要之終產物，有如圖表四：

圖表四　蛋白質之分解產物



(1) fatty acid　(2) cresol　(3) indol
(4) skatol　(5) amines　(6) mercaptans

第五項 凝固酵素類

此類酵素之作用，與以前者不同，係使溶液狀態之化合物凝固，而成膠凝體之生成物。且此種變化，均與鈣化合物之存在有關，此類酵素，有下列三種：

1. 凝乳酵素

此種酵素廣存於動物體中之胃粘膜、肺、肝、腎、睪丸、腦等，以及血液和乳汁中，而以存於犢牛之胃粘膜中為最多。下等動物，如魚，鳥等之消化器中，亦有之。在植物界，如蕃瓜、鳳梨、以及其他之果實種子等，亦廣有之。此外，如各種絲狀菌以及細菌體中、亦有之。

其製法係將胃粘膜剉碎，以0.1—0.2%鹽酸，浸24小時，過濾，以碳酸鎂中和之，即得不純之酵素液，復加醋酸鉛，則胃液酵素沉澱，過濾，復加醋酸鉛及少量氨於其濾液中，則凝乳酵素沉澱，濾集後，以水稀溶之，加硫酸則鉛化合物分解而沉澱，再行過濾，即得。

此種酵素之水溶液，加熱即凝固，遇酒精、硝酸、鞣質，則沉澱。其作用最適溫度，約在40°C.左右。在中性溶液內，熱至70°C.，能耐五小時，經二十小時，即被破壞，在0.3%鹽酸液內，溫度63°C.，亦破壞。在中性，微酸性，或弱鹼性液內，均顯作用。如酸、鹼過量，則失效。1%鹽酸者，即有阻害。食鹽等中性鹽液之濃度，在1%以下者，均有促進效用，4%以上，即有阻害。大量之消化蛋白質，對其凝固作用，有遲緩力。能凝固各種蛋白質，如牛乳中之乾酪素，可使其凝固而成凝固乾酪素。其所以能有凝固效力者，因其中含有鈣鹽，故其化學反應，即此酵素將其中之乾酪素分解，而生凝固乾酪素，而此

凝固乾酪素，復與其中之鈣鹽化合，而呈一種鈣之化合物，即成乾酪(cheese)而凝固。

2. 凝血酵素

脊椎動物之血液，流出體外片刻，則呈凝固狀態，即因其血漿中，含有此種酵素之故。其化學反應即將血漿中之血色素，或血球素(globulin)凝固而呈血蛋白，其反應最顯著之溫度，在38°—40°C.之間，至50°C.時，即無效力。以鈣鹽之存在，爲其必要之條件。消化蛋白質及蛭之口腺分泌物，對之有阻害效力，死後之所以殭直者，乃因筋肉中有一種名肌漿質凝固酵素（myosinenzyme）之作用，而生肌漿質(myosin)之故，非凝血酵素之力也。

3. 凝質酵素

各種植物細胞膜中，如胡蘿蔔、甜菜根中之細胞液，以及果實汁中，均含有之，即各種植物之綠葉中，亦有之，能將植物細胞膜中之果膠分解，而生果膠酸，而此酸復與其中之鈣鹽化合，生果膠之鈣鹽，而呈凝固狀態。其作用最適溫度爲30°C，煮沸之，即失效力，不溶於酒精，在中性液內，反應最著，0,1%鹽酸內，即無作用。

第六項 醯胺分解酵素類

除前述蛋白質分解酵素及凝固酵素外，在動植物體內，尚有一種能分解類似蛋白質或蛋白質，而生大量氨之酵素。此種特殊酵素，除能生氨外，復有簡單氨基類之含氮化合物生成，如肝腎均能分解馬尿酸（hippuric acid）爲安息香酸（benzoic acid），及氨基乙酸(glycocoll)(糖膠)：

$$C_6H_5CONHCH_2COOH + H_2O \longrightarrow C_6H_5COOH + NH_2CH_2COOH\text{。}$$

即滅菌之釀母乾燥粉，使呈漿狀，亦能將尿素及乙醯胺 (acetamid) 分解而生碳酸銨及醋酸銨等:

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O \longrightarrow (NH_4)_2CO_3\text{；}$$

$$CH_3CONH_2 + H_2O \longrightarrow CH_3COONH_4$$

上述使氨基離分解之酵素，統稱為醯胺分解酵素，復因其作用物質不同，而別為下列四種:

1. 尿素(脲)酵素

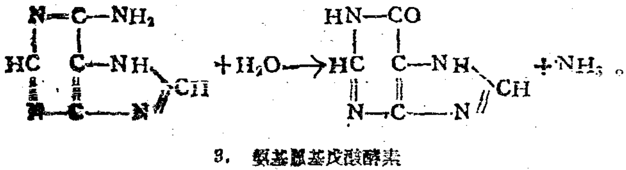
此種酵素廣存於各種細菌體中，豆科植物種子以及竹筒中，均含有之。能作用於尿素，以使之分解而生氨，其反應如下:

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O \longrightarrow (NH_4)_2CO_3\text{。}$$

$$(NH_4)_2CO_3 \longrightarrow 2NH_3 + H_2O + CO_2$$

2. 腺鹼酵素

腺鹼酵素廣含於動物組織中，菌體內亦有之，能分解組織中之醯胺化合物(如腺鹼)而生亞黃花色精及氨，其反應如下:



3. 氨基胍基戊酸酵素

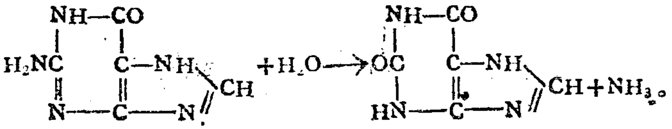
廣存於動物體之小腸粘膜，及腎臟中，菌類亦有之。能分解 d-[2]氨基[5]胍基戊酸，為 d-[2,5]二氨基戊酸，及尿素。其分解作用之反應式，如下:

$$\begin{matrix} NH_2 \\ NH \end{matrix}\!\!>\!CNH(CH_2)_3CHNH_2COOH + H_2O \longrightarrow$$

$$CH_2NH_2(CH_2)_2CHNH_2COOH + CO(NH_2)_2 .$$

4. 鳥尿素酵素

廣存於動物體中之脾臟中，菌體中亦有之。能分解鳥尿素為黃花色精及氨。其反應如下:



第七項 核質酵素類

此類酵素富含於動物體之腸、胃、及其各種組織中，在植物中，亦有之。各種菌類，亦有大量存在。能分解核酸蛋白質為各種核酸衍生物，復因其作用物質，及分解產物不同，而分為下列三種:

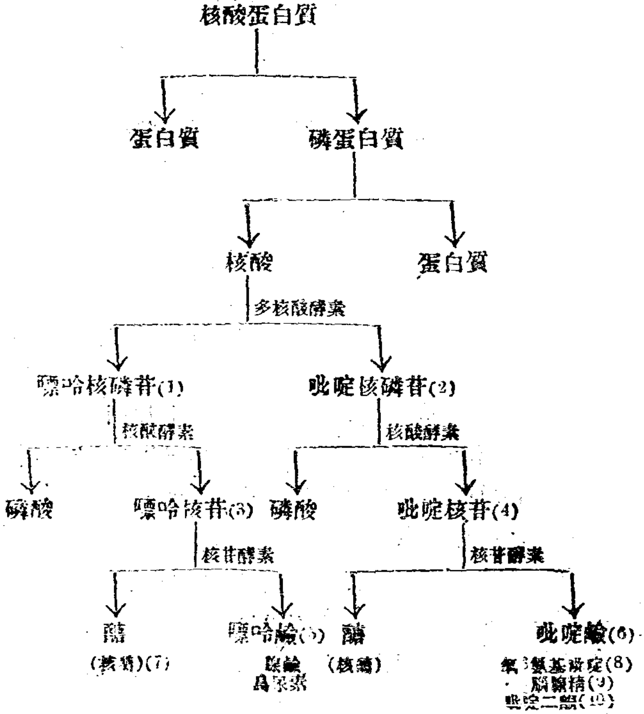
1. 多核酸酵素　能分解核酸，為核磷苷;
2. 核酸酵素　能分解核磷苷為磷酸及核苷;
3. 核苷酵素　能分解核苷為醣及鹼。

今將此類酵素之分解作用及化學反應，列成圖表五。

第二節 氧化及還原酵素族

上述第一族之酵素均為於動植物體內，行加水分解，而呈消化作用者，晚近學者更於生物體中，研究得有一族對於有機化合物行氧化或還原作用之酵素，惟對於化學作用，及其生理上之意義，尚欠明晰。茲將最近關於此族酵素作用之研究成績，略述於後:

圖表五　核酸蛋白質之分解產物



(1) purine nucleotide　　(2) pyrimidine nucleotide

(3) purine nucleoside　　(4) pyrimidine nucleoside

(5) purine bases　　(6) pyrimidine bases

(7) ribose ($C_5H_{10}O_5$)　　(8) cytosine

(9) thymine ($C_5H_5O_2N_2$)　　(10) uracil ($C_4H_4O_2N_2$)

第一項　氧化酵素類

此類酵素，在動植物界，分布最廣。其作用能自遊離狀態之氧，傳遞至易與氧結合之物質，如芳香屬之有機化合物，使營氧化作用，故名。普通生物體中之呼吸作用，即其中之碳水化合物及蛋白質等，直接爲此類酵素氧化所致。至其生理上之意義，尚未詳知。

氧化酵素因其作用形式之不同，普通分爲下列三類：

(1)直接氧化酵素　空氣中之氧傳遞他物而呈氧化作用，例如癒瘡脂酒(guaiacum tincture)之暴露於空氣中，能直接變黑，其酵素之著者，爲漆氧化酵素與陳乾酪酸酵素等。

(2)間接氧化酵素　以過氧化物所分解而來之氧爲氧化劑者，稱爲間接氧化酵素，過氧化酵素即屬於此。

(3)接觸酵素　能使過氧化物，因其接觸作用而將其中所含之氧，呈遊離狀態，如觸媒酵素。

1. 漆氧化酵素

爲氧化酵素中之最著者，乃1883年吉田彥六郎於漆汁中所發見。係割傷漆樹幹，所流出之白色液汁，經空氣接觸，即變色，終有黑色固形物體生成。該氏用適當方法，將漆汁中主要成分，所謂漆酸(urushic acid)者分出，此物質能溶於苯及酒精等液內，不溶於水。此外，漆汁中尚有膠質，及3—8%氮化合物，加酒精於漆汁中，則此類物質沉澱析出。然後將此氮化合物之水溶液，加少量於漆酸中，即有黑色固形物析出，如將此氮化合物之水溶液，熱至63°C，則無此種作用，因此知此種水溶液內，含有一種能使漆酸誘起化學變化之酵

素。

爾後十年，經柏特隆（Bertrand）之研究，始將漆汁中具有氧化性之酵素分出，名爲漆氧化酵素。此種酵素分布於植物界甚廣，無論顯花植物之諸部分，以及隱花植物，均有存在，即高等菌類，亦含有之。

此種酵素之所以能呈氧化作用者，據研究結果，知與錳有關係，因其灰分中，常含有氧化錳，且其氧化力與錳之含量成比例，少量之錳鹽，促進此酵素之氧化力卓著。據柏特隆之研究，謂此酵素係一種蛋白質，其酸基即與錳相結合，而其氧之傳介作用，即此錳所使然，能氧化多元對酚類，如芳香屬之胺類，及酚類，而形成顏料，故又名酚酵素（phenolase），例如使對苯二酚（hydroquinone）氧化而生醌(quinone)：

$$2C_6H_4\left\langle\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix}\right. + O_2 \longrightarrow 2C_6H_4\left\langle\begin{matrix}O\\|\\O\end{matrix}\right. + 2H_2O\ 。$$

氧化漆酸而生氧漆酸(oxyurushic acid)：

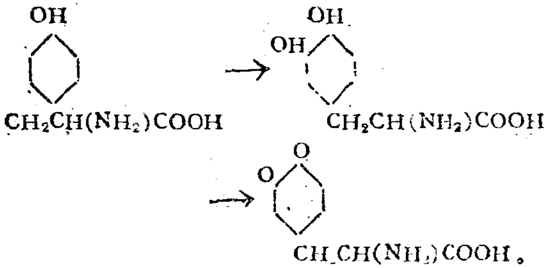
$$C_{14}H_{18}O_2 + [O] \longrightarrow C_{14}H_{18}O_3\ 。$$

此種酵素在鹼性溶液中，能有呈色反應，在酸性液中，則無作用，中性鹽類對之很少影響。溫度達 70—75°C 時，即被破壞。在工業上很重要，如漆之製造、煙草發酵、以及紅茶製造等，均不可缺少此種酵素。

2. 除乾酪酸酵素

蕈菌類、甜菜根、馬鈴薯之塊莖等之壓榨汁曝露於空氣中，則其

初顯赤色，終變黑色，此種變化卽因液汁中含有此種酵素之故，彼能氧化酪乾酪酸，而生 3:4 雙羥苯氨基丙酸（3:4－dihydroxy phenylalanine），再氧化之，則生苯氨基丙酸之 3:4 醌（3:4－quinone of phenylalanine），其反應式如下：



此後再反應，可分爲三步：（1）因氧及酵素之作用，將苯氨基丙酸之 3:4 醌變成一種紅色物質，惟此物質之構造式，尙未測定；（2）此紅色物質，因酵素之作用，而成無色物質，係爲吲哚之衍生物；（3）此無色物質，再因氧之氧化作用，而成黑色物質，卽黑色素（$C_{77}H_{98}O_{33}N_{14}S$）。

此酵素分布於菌類，及高等植物體中。常與漆氧化酵素同時存在。其抗熱力比較低，通常在 50—60°C.，卽無酵素作用力。其適宜 pH 當爲 5.0—11.0。

3．植物性氧化酵素

（1）葡萄酒氧化酵素（oenoxydase）　葡萄酒之脫色病害，卽由於赤酒中含有此種酵素，將其固有色素氧化，並沉澱之，致赤色變爲黃色。此種酵素在葡萄漿中，以及橘、梅、梨等成熟果實中，均含有之，其來源係因寄生此種漿果中之 botrytis cinerea 所分泌者。

此種酵素在中性水溶液內，溫度達72.5°C.，卽失其氧化作用。又於10%酒精中，及0.5%酒石酸中之含有液內，溫度在52.5°C.，亦失氧化作用。微量之亞硫酸溶液(0.002%)，卽足破壞之。

(2)釀母氧化酵素　據托羅麥(Tolomei)之研究，各種葡萄酒之所以具有特殊香味(bouquet)者，係因釀母菌所分泌之氧化酵素所致，此種酵素在通常麥酒釀母中，亦含有之。

4. 動物性氧化酵素

(1)水楊酸酵素(salizylase)　廣含於血清及肝臟中，其他肺臟、脾臟中，亦有之，能氧化水楊酸，其作用力在60°C.時，最強。100°C.時，卽破壞，鹼性液對之有害，易溶於水。

(2)動物性漆氧化酵素　廣含於牡蠣，及其他之貝類之血液與鰓等中。

(3)動物性陳乾酪酸酵素　在麥粉中之一種甲蟲之幼蟲腸液中發見之。昆蟲特別是鱗翅類之體液，烏賊類之墨汁素中，均含有之。

5. 過氧化酵素

分布於動植物界甚廣，菌體中亦有之。爲一種間接之氧化酵素。對熱之抵抗力甚強。在80°C.下，始被破壞，能分解過氧化氫，及其他過氧化物而生活性氧：

$$H_2O_2 \longrightarrow H_2O + O\text{。}$$

6. 觸媒酵素

各種動植物器官之液汁中，均含有此種酵素，卽釀母菌類亦有之。在生理上，甚關重要。因生活細胞中之呼吸作用，常伴生若干量之過氧化氫，而此物對於細胞內之原形質，頗爲有害，故必藉此酵素

以使之分解，而除去之，因此多數研究學者，認細胞內有此酵素存在，可以調節過度之氧化作用，醋酸菌因此酵素之作用，不致將已成之醋酸，進一步氧化為二氧化碳及水。醋酸之收穫量，因以增加。此酵素普通分為二種：一種為不溶性者，名為甲種觸媒酵素（α-catalase）；一種為可溶性者，名為乙種觸媒酵素（β-catalase）。均能分解過氧化物而生成分子氧：

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2\text{ 。}$$

此酵素之活動力，於溫度在 10—40°C. 之間，為最適宜。在溫度為 45—55°C.時，其作用力即減退，至 65°C.以上，即形破壞。具有兩性，在中性中比較活潑，稀薄之酸鹼中均呈作用。pH 值在 4.5 及8.5 以外者，即足破壞之，鹽對之有阻害力，而其阻害力，因鹽之種類而異，如下所示：

$$CNS > ClO_3 > CN > NO_3 > OH > I > Br_2CO_3 > Cl >$$

$$B_4O_7 > F > HPO_4 > SO_4\text{ 。}$$

三氯甲烷，及其他防腐劑，對之微呈阻害效用。

第二項　還原酵素類

此類酵素，廣含於動植物體中，菌體亦有之，其作用恰與氧化酵素相反，故即為氧化酵素之對抗酵素，或稱抗氧化酵素（anti-oxydase）。

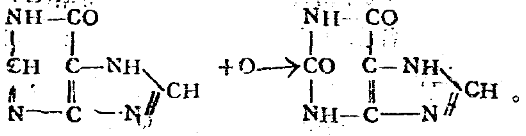
1. 氫酵素　氫酵素能使硫黃或亞硫酸鹽還原而生硫化氫。
2. 過氫酵素　過氫酵素能還原硝酸鹽，而為亞硝酸鹽。

第三項　尿酸氧化酵素類

此類酵素廣存於動物組織中，能氧化嘌呤鹼而生各式嘌呤之氧化物，其主要之酵素，有下列三種：

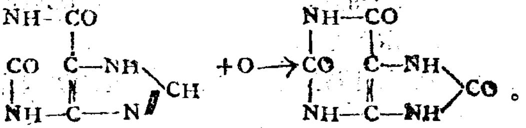
1. 亞黃花色精氧化酵素

此種酵素能氧化亞黃花色精而生黃花色精，其反應如下：



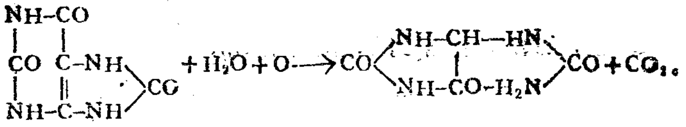
2. 黃花色精氧化酵素

此種酵素能氧化黃花色精而生尿酸，其反應如下：



3. 尿酸酵素

此種酵素能氧化尿酸而生尿膜精，其反應如下：



第三節 發酵酵素族

發酵酵素富含於各種微生物中，其種類甚多，有行酒精發酵者，亦有行酸發酵者。

第一項 釀醇酵素類

此類酵素中在工業上最有應用價值者爲醇酵素及脫羧酵素，此

二種酵素在酒精發酵作用上，常相互為用，不易分開，前者為彪赫勒由釀母壓榨汁中分離而出，後者為那柏克自醇酵素中分離而得。

1. 醇酵素

此種酵素為釀母細胞之主要分泌物，能從右旋糖（dextrose）及左旋糖（laevulose），直接產生酒精，站在製造酒精的觀點看來，以前所述之酵素，有幾種如纖維分解酵素，轉化酵素，糖化酵素，以及麥芽糖酵素等，所負擔之工作，完全為了創造一種適合於起酒精發酵作用之物質，以使此種酵素顯示其發酵作用。

此種酵素存於釀母細胞之液體內容物中，但不能通過細胞膜，如欲提取，則只有裂破細胞之一法。1897年彪赫勒發表一種提取此酵素之方法：（1）將新鮮之啤酒釀母，用壓力完全榨去水分；（2）令與石英砂和矽藻土（為灰色或土紅色之粉末，此物生於淡水湖中，原係一種矽殼黴菌，或矽藻，死後沉於水底，堆積成層，後來分解，留下矽質之骨架，仍保持原來形狀，含90—95%之純無水矽酸，用肉眼看之，是一種細粉狀，但在顯微鏡下觀之，則為各式之形狀，有圓形，橢圓或針狀者，大小亦不一致，因種類而異），混合研磨使碎；（3）所得泥漿狀物，令與水混合，盛入布袋中，以水壓機，應用400—500氣壓之大壓力，壓榨之，榨汁微帶混濁，為黃色液體，令與右旋糖、蔗糖、或麥芽糖等之水溶液混合，即起急烈之發酵作用；（4）加酒精及醚於此榨汁內，則酵素沉澱，過濾，仍用醚洗滌沉澱，即得醇酵素。如此提取之酵素，並非純粹，係與多數其他酵素，共同存在，故關於此酵素性質之研究，迄未詳密。

此酵素經哈德及楊格二氏研究後，知為不活性之醇酵素與輔酵

素之混合物，此混合物能分解單醣類而成酒精及二氧化碳，依該侔薩克所提取之放熱反應式，如次：

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

但實際上，其反應非如是簡單，其間經過種種複雜之化學變化，經邪柏克等研究報告後，始爲世人所明瞭。

此種酵素爲一種無定形之白色粉末，不完全溶解於水中，但幾能完全溶解於水與甘油之混合液（100分水2.5—20分甘油）內，此溶液之活動性，與原來之釀母榨汁無異，能迅速誘起發酵作用，此酵素乾燥時，能抗百度之高熱，達六小時之久，在22°C時，作用緩慢。

6. 脫羧酵素

此種酵素係由醇酵素分離而得，能分解甲酮酸（α-ketonic acid）及其同系物，如丙酮酸而生乙醛及二氧化碳，其化學反應式，如下：

$$CH_3COCOOH \longrightarrow CH_3CHO + CO_2;$$

$$COOHCH_2COCOOH \longrightarrow CH_3CHO + 2CO_2$$

此酵素在酒精發酵上，負一部分重要工作，其作用之溫度、速度、以及對於毒物之關係，均與醇酵素不同。

第二項 磷酸酵素類

在生物體中，磷酸酯之化合物對於生理作用，有重要關係。例如生活細胞質中之重要成分卵黃素（lecithin），其構造式如下：

$$\begin{array}{l} CH_2\cdot O\cdot CO\cdot R \\ | \\ CH\cdot O\cdot CO\cdot R \\ | \\ CH_2\cdot O\cdot PO(OH)\cdot O\cdot CH_2\cdot CH_2NMe_3\cdot OH \end{array}$$

式中之—COR，表示脂肪酸。又葡萄糖之行酒精發酵時，磷酸酯之生成，亦爲必要之過程，此等磷酸酯，常藉特殊酵素，以分解而完成其偉大效用，此等能分解磷酸酯之酵素，總稱爲磷酸酵素。

1．氧四甲基磷酸酵素　此種酵素廣含於米及麥糖中，動物之肝、血內，亦有之。能分解氧四甲基二磷酸，而遊離磷酸，及環六元醇。

2．甘油磷酸酵素　腸粘液中最多，菌體中亦有之，能分解甘油磷酸爲磷酸及甘油。

3．己醣磷酸酵素　腸粘液中廣有之，能分解己醣磷酸爲磷酸及己糖。

第三項　乳酸酵素類

此類酵素僅有一種，在諸種動植物體中，均含有之。尤以微生物體內爲最多，能作用於葡萄糖、果糖、分解乳糖等之單醣類，蔗糖、乳糖及其他之複醣類、多醣類等，呈乳酸發酵以使之分解而生成乳酸。其化學變化如下：

$$\underset{\text{乳糖}}{C_{12}H_{22}O_{11}} + H_2O \longrightarrow \underset{\text{分解乳糖}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{葡萄糖}}{C_6H_{12}O_6}；$$

$$\underset{\text{分解乳糖或葡萄糖}}{C_6H_{12}O_6} \longrightarrow \underset{\text{乳酸}}{2C_3H_6O_3}。$$

所生之乳酸最初爲無旋光性，旋被乳酸菌（lactic acid bacteria）所分裂，則左旋性乳酸消耗，而右旋性乳酸殘留，此等乳酸發酵，常有若干量有機酸及其他之化合物伴同產生，此等副產物對於乳酸生成之化學變化有否直接關係，現尙未明瞭。

此酵素之分解作用，在糖類原料中，以氮養料之存在爲必要條

作，最佳者為消化蛋白質，在溫度 30—40°C 時，生育最適宜；對於諸種毒物，尤以重金屬化合物之感覺非常敏銳；對酸之抵抗力，亦頗弱，故在發酵時，碳酸鈣之中和作用，爲增加乳酸產量之要件。

第四項　醋酸酵素類

含有酒精之液體，曝露於空氣中，日久變酸味，此即古時製醋之舊方法，其所以能變酸者，據柏松 (Persoon) 氏之研究，謂由於一種產膜釀母菌 (mycoderma) 所致，古時謂產膜釀母中，包括多種醋酸菌，至拉法(Lafar) 氏始將一種釀母形之醋酸菌，名爲 mycoderma cerevisiae，證明有醋酸發酵機能，採取醋酸菌之皮膜，滅菌後，與矽藻土共磨之，後加入 4% 酒精 20c.c.，碳酸鈣 0.8 克，於古的阿寇 (Chudiakow) 氏瓶中，通入空氣，保持溫度於 30°C，經三日，即有 0.4 克醋酸生成。因此，知此種菌體中，有一種酵素，名爲醋酸菌之氧化酵素 (acetic acid bacteria oxydase)，今簡名爲醋酸酵素，其作用係將酒精氧化以生乙醛，再氧化之以生醋酸，其反應如下：

$$2CH_3CH_2OH + O_2 \longrightarrow 2CH_3CHO + 2H_2O\ ;$$

$$2CH_3CHO + O_2 \longrightarrow 2CH_3COOH\ 。$$

第三篇　發酵菌類

第一章　釀母

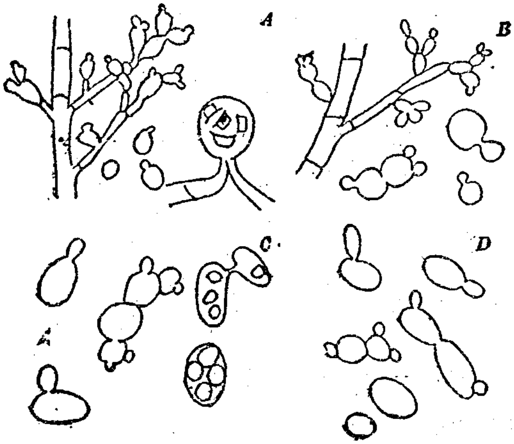
第一節　釀母之形態

釀母菌係單細胞之微生物，通常較細菌爲大，較黴菌爲小，團集不如細菌之有定則，其形態因培養基之種類及培養時間之久暫而異，大別爲圓形、卵形、橢圓形、及臘腸形，皆不生菌絲或鞭毛，其他菌類亦有暫時呈此酵母形態者，伏克斯(Fuchs)證明酵母是由多形體菌類進化而來，其進化之程序有如下述：

endomyces 生菌絲及芽生單細胞，其菌絲由鄰近細胞融合而成子囊，如失其孢子生成力，則成 monillia，生菌絲及芽生單細胞，但不生子囊孢子，失其菌絲生成力，則成 torula，此爲假釀母，生單細胞，係芽生繁殖，永不生菌絲及孢子。

endomyces 失其菌絲生成力，則成 sa-charomyces，此爲眞釀母，永不生菌絲，爲單細胞，並由鄰細胞形成子囊，失其孢子生成力，亦成 toruta，

子囊菌門(ascomycetes)　不完全菌門(fungi imperfecti)



A. endomyces B. monilia C. saccharomyces D. torula

圖3. 釀母進化之程序

第二節 釀母之組織

釀母細胞之外有被膜，老熟時，被膜積厚，然在幼弱時，其膜頗薄，以酒精、甘油、或稀酸處理之，則細胞的內容物收縮，釀母被膜，即易發見。

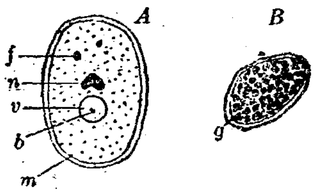
細胞膜之厚薄，不惟視釀母的老幼而異，且因培養液之濃淡，及釀母之種類，亦有差異。此種細胞膜，不易用普通的色素以使之着色，且生產黏質液，故細胞常呈團集狀態。

其內容物爲原形質、細胞核 (nucleus)、脂肪體 (fat)、碳水化物 (carbohydrate)、蛋白質空胞(vacuoles)、及光粒(volutin)等所組成，

較細菌細胞的內容物，容易分別，且因細胞之老幼，其外形亦有很鮮明的區別(圖4)。

1. 原形質　與其他菌類同，皆爲異質同形的質體，在釀母細胞之幼時，比較均一。

2. 細胞核　謨勒(Moller)首先證明細胞核並非位於細胞之正中央，爲圓形體，惟有時因空胞之壓縮，而呈腎形。其未染色之細胞，不易發見，用鐵蘇木染料(iron haemotoxyline)或日署紅(eosine)、四甲基藍(methylene blue)染色後，始能見之。有時呈不規則的形狀。在芽生開始後，此核移至細胞之一邊，而呈延長形，後在其一端膨脹，其膨脹部繼續延長，與母體以極細帶狀連接，終至分裂，在細胞幼時，其體積比較寬大。



A　幼細胞
n　細胞核
v　空胞
b　動體
f　脂肪
m　細胞膜
B　老細胞
g　肝液素
圖4　細胞之組織

3. 脂肪體　依韋爾(Will)氏的研究，脂肪體有兩種，一爲純粹脂肪，一爲蛋白質和脂肪的混合體，在老細胞內見之。

4. 碳水化物　呈肝醣素存在。當細胞漸漸增大其體積的時候，原形質中間開始呈現空胞，在空胞和原形質裏面，常生成許多顆粒，四甲基藍，使此種顆粒染成很深的顏色，稱爲色粒，以後細胞愈老，此種顆粒愈多，用格拉姆氏碘(Gram's iodine)，溶液染色則生深紅棕色，稱爲肝脓素反應，其餘則呈淺黃棕色，最後細胞極老時，則此種

顆粒完全失蹤。

(附)格拉姆氏染色法　釀母細胞幼時，用此法染色，則其全細胞呈同一之深藍黑色。阿爾柏芝(Alberts)謂釀母細胞如以一種手術破壞之(以乙醚處理)，其中酵素並不破壞，如懸浮於水內，猶能自析。將此自析細胞，以格氏法染之，則部分原形質不着色，其着色者，僅其中之顆粒，此種顆粒後因水內蛋白氣增加逐漸消失。

取一組未自析之新釀母細胞，用格氏法染之，以不同濃度之酸性酒精去色，則能發見一新系統，卽此一組新釀母，以1%酸性酒精去色者，其釀母已自析一小時，以5%始能去色者，則其自析時間，已經過二小時，餘類推。

5. 蛋白質　在核外原形質(cytoplasm)中呈細粒狀，爲科爾(Kohl)氏所發見，並命名爲蛋白粒(albuminous granules)，可以鹼性染料染色後，以去色劑分別之。

6. 空胞　空胞之大小及數目，因釀母之種類與細胞之老幼而異，普通衰弱細胞內爲數頗多。空胞內充滿酸性或中性之汁液，又常存有諸種微小或能動的物體，且有時呈方形、長形、或針形的結晶，惟頗不常有。

7. 光粒　在釀母細胞中之另一種很顯著的形狀，卽爲光粒或着色物質(metachromatic material)，在所有高等菌或細菌體內，均含有之，而以在釀母體內尤爲顯著。每一細胞中，至少有一空胞滿貯此物。其位置常近於細胞核，其反光力不若脂肪空胞之強，普通在空胞內，如含一小粒時，則此粒卽能呈布朗氏運動，故通常名爲動體(dancing body)，此項運動表示空胞之內容物爲不甚黏稠液體。此粒在空泡內，忽見忽沒。

用普通手續固定平面時，此物質在空胞內凝結，變皺或歪扭，而在核外原形質內呈不規則之物質，以鹼性染料染之，普通與着色

質(chromatin)相近，如將活細胞懸浮於水內，加一滴1%中性紅(neutral red)之水溶液，則光粒在胞內呈美麗的亮紅，終至深紅色，而死細胞則呈平均紅色。

此光粒不存於極幼的細胞內，惟在衰弱的細胞內則頗多，釀母體內如發現有大量之此光粒存在時，則其發酵力多消失殆盡。

第三節 釀母之化學成分

組成釀母之成分，因養料之供給而異，大部分爲含氮化合物，如蛋白質等，此外尚有肝液素、樹膠(gum)、黏液質(mucilage)、脂肪、松香類物質、纖維、以及少許無機物質等，普通乾燥釀母中所含之平均成分，如下：

氮化物	51.8%
樹膠及其他種碳水化物	29.5%
無機物質	11.0%
纖維	6.7%
脂肪	1.0%

組成釀母之成分，若施以元素分析，其各元素之平均含量如下表：

碳	45%
氧	32%
氮	9%
氫	6%

其餘8%，則爲無機物質，而幾有90%爲磷酸鹽，此類磷酸鹽，大部分爲磷酸鉀，其餘則爲磷酸鎂與磷酸鈣，此外尚有少許之硫酸鹽、矽酸鹽、和鐵的化合物等。

第四節 釀母之營養

依上述各表之分析結果，可以看出當培養釀母時，有機物質與無機物質之養料，應同時供給，尤以碳、氮、磷、和鉀等元素之化合物爲最重要，茲分述如下：

1. 碳水化物 構成釀母細胞之主要原料是碳元素，而釀母是不含葉綠素的生物，無葉綠素即不能消化空氣中所含有的碳酸氣，而必須取諸具有可溶性與可消化性之碳水化物不可，在碳水化物中，以糖類爲最重要，凡單糖類如葡萄糖、甘露蜜糖、分解乳糖、以及果糖等，最適宜釀母之營養，極易爲其發酵，其他如甘蔗糖、麥芽糖，乳糖、以及多糖類，如澱粉、糊精、纖維等，須先水解爲單糖類，乃能發酵，此外之糖類，很少能爲釀母所作用者，惟五碳糖可受某種釀母作用，是其例外。

2. 氮化物 有機氮化物，以蛋白質分解後所生成之氨基酸及消化蛋白質等，爲釀母營養品之最佳者，培養液中如缺乏此等含氮養料，則發酵極爲緩慢，糖分不能完全發酵，無機氮化物以銨鹽，如硫酸銨、磷酸銨等爲佳，至於硝酸鹽則對於釀母很少營養，或竟不能，以其有害釀母之生活力故也。

3. 無機物 無機物之最主要者爲磷酸或其鹽類，發酵液中如加以少許磷酸或其鹽類，如磷酸鉀或磷酸銨等，即能促進釀母之發酵力，較近發酵理論日漸昌明，磷酸鹽之爲用甚大增，除爲釀母之營養及助增發酵力外，尚能爲發酵液中之緩衝劑，以校正發酵液之pH值，以適應釀母之繁殖，最近繼有人發現磷酸甘油爲酒精發酵中

之主要中間產物，由此可見磷酸鹽在發酵化學上之重要，其他如鉀能增大釀母之細胞，鎂、鈣、鐵等則能刺激釀母之生活力，故均為釀母營養上之必需品。

第五節　釀母之生理

釀母之生長與其他菌類相似，依芽生生殖(budding)，初從母細胞之一端生小突起，母細胞之內容物即徐徐流入其中，突起處漸次膨脹後，結合部分漸產生隔膜而成為獨立之細胞，卽與母細胞分離或暫時附着之，新細胞分離後，母細胞之分離點的壁膜不甚堅厚，遂復生小突起，營芽生生殖如前，有時新細胞附着於母體，則於母體之另一小端，同樣生小突起，產生第二個新細胞。因釀母細胞，能分泌黏液物質，故許多新細胞常相連接而構成芽生團(圖5)。

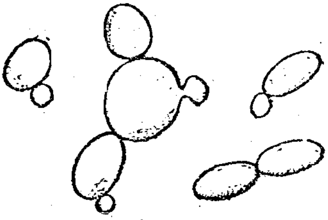


圖5　釀母之生殖

釀母從食料取得營養後，卽如上述法繁殖而增加其質量，同時營養品大部分被其消耗或分解，而產生另一類的物質，定量之釀母能分解約與其體重十倍、二十倍、甚至百倍以上之糖質，此種性質與植物界之生長慣例大不相同，此是釀母特殊本能，在有空氣的地方，可以將糖完全氧化而逸出二氧化碳，是為呼吸作用，反之，在無空氣之情形下，則不能將糖完全氧化，因而產生多量之酒精與二氧化碳，是為發酵作用。

講到發酵作用，以前曾經過許多學者之研究與討論，迄無明確

結論，直至巴士特氏在巴黎化學會之定期報告內，發表一篇「氧對於釀母的發育和酒精發酵的影響」一文後，發酵理論，始漸明瞭，布郎(Brown)氏復發現釀母之發酵作用，在釀母細胞不增加時纔顯著。進言之，卽釀母在無空氣——卽無氧氣的地方生長，纔能將糖破壞而發展其特殊本能(發酵作用)。

近來邁爾荷夫氏關於釀母之呼吸與發酵的關係，詳加研究。彼用各種不同種之釀母，在有空氣與無空氣處分別培養，任其繁殖，測得因釀母之作用所逸出之二氧化碳量，證明釀母發酵之速率，在有空氣處確遠遲於在無空氣處，

釀母作用後，糖之分解，可有下列兩種反應：

$$C_6H_{12}O_6+6O_2\longrightarrow 6CO_2+6H_2O \cdots\cdots\cdots (1)$$

$$C_6H_{12}O_6\longrightarrow 2C_2H_5OH+2CO_2 \cdots\cdots\cdots (2)$$

$$2C_2H_5OH \xrightarrow{+6O_2} 4CO_2+6H_2O$$

第一式之反應係表示釀母在有空氣處營呼吸作用之結果，第二式之反應係表示釀母在無空氣處營發酵作用之結果，但在第二式之反應內，如滲入氧，則復生與第一式相同之反應，卽由發酵作用一變而為呼吸作用。

故氧對於釀母之培養是否需要，當視所取之目的而異，在製造釀母者，以釀母產量為前提，當然必須在有空氣處，使之充分攝取氧以營呼吸作用，而達繁殖細胞之目的。必要時，尙須由外界通入氧於其培養液中，以助成之。至於以製造酒精為目的者，當然要嚴格的隔絕空氣。使釀母在無空氣之情形下，欲維持生活，勢必由糖分以攝取

氧，因而發生發酵作用，以期獲得大量酒精之產生。

第六節　釀母孢子(spores)之形成.

釀母依芽生生殖外，尚產生孢子，即釀母細胞內，生一物體，內容物漸移入其中而成爲一獨生物，名爲孢子（圖6），此孢子較植物細胞能抗高熱及乾燥，其形成孢子之目的，即因環境不適或營養不良，欲謀保護自己種屬故也。

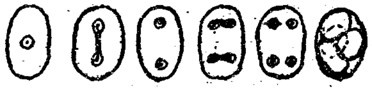


圖6　釀母孢子之形成.

1. **形成孢子之要件**　釀母細胞須供給足量之空氣，且須放於潤溼表面，至於缺乏養料之老細胞，尤非有足量氧不可，大多數釀母形成孢子時，最適溫度爲25°C.。

2. **孢子之概狀**　孢子係因釀母之種類而大異，大部分爲圓形或帽形，細胞內孢子數目亦不一定，少至一個，多至十一個。如供給水分及營養物於成熟孢子，則復營發芽作用。

3. **孢子之組成**　孢子係由原形質細胞核及粒狀物所組成。原形質之組織緻密，有細小的空胞，細胞核大都不存在於孢子之中心，其粒狀物大約爲脂肪體。

第七節　釀母之生長階段

釀母經培養後，在生長期間，其細胞之繁殖，因時而有顯著之變異，在開始時，其細胞數無大變化，其後慢慢增加，至細胞有一定之增殖率後，方始低減，終至於零，而停止生長。

據蘭克拉芬(Lane Claypon)氏之研究，釀母之生長期間，可分為下列之四個階段，並繪曲線圖以明之：

1. **潛伏階段** 此階段開始若干時，釀母細胞數並無變化，其後略見增加，如曲線中之A—I段。

2. **生長階段** 此階段釀母細胞生長正常，繁殖甚旺，增加甚多，如曲線中之I—II段。

3. **固定階段** 此階段釀母細胞之繁殖率已達最高點，不再增加，如曲線中之II—III段。

4. **減退階段** 此階段釀母細胞，不但不增加，反因死亡而減少，如曲線中之III—IV段。

又據布恰南(Buchanan)氏之研究，釀母生長期間，可分為下列七個階段：

1. **生長呆滯階段** 此階段內，釀母細胞數，並不增加，如曲線中之A—I段。

2. **生長加速階段** 此階段內，釀母細胞數，增加過多，變化太劇，如曲線中之1—2段。

3. **生長等速階段** 此階段內，每細胞已有一定之增殖率，故其細胞數之對數，呈一直線，如曲線中之2—3段。

4. **生長減速階段** 此階段內，釀母細胞仍在增殖，惟增殖率因時而減，如曲線中之3—4段。

5. **生長不變階段** 此階段內，釀母細胞不復增殖，故曲線與橫軸平行，如曲線中之4—5段。

6. **死亡加速階段** 此階段內，釀母細胞開始死亡，其死亡率因

時而增，如曲線中之 5—6 段。

7. 死亡等速階段　此階段內釀母細胞之死亡率，已增至等於一常數，故生活細胞數之對數成一直線，如曲線中之 6—7 段。

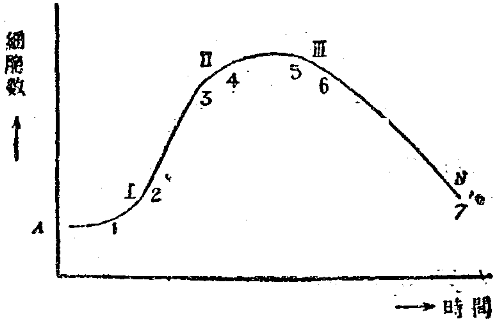


圖 7. 釀母生長各階段之曲線圖

第八節　釀母生長速率

釀母之生長速率，在工業上特別重要，在 30°C.，和在最適宜的環境下，任其繁殖，不及兩小時，釀母之體量即能增加兩倍之多，因此生長速率，依許多情形而變，例如釀母之種別，營養品之性質及量，溫度之高低，氧之有無，酸度之大小，代謝產物之濃度，發酵液運動與否，以及細胞羣之多少，和阻止或增進，生長之特殊作用的化合物之有無存在，皆有莫大之關係。

計算釀母之生長速率，所用之公式很多，據實驗結果，釀母生長在無限制的條件下，其所得之體量，適與時間成對數增加，其式表之如下：

$$\frac{dx}{dt}=K(a-x)$$

或其積分式如下:

$$0.4343Kt=\log(a+x)-\log a,$$

此處$(a+x)$是表示釀母由a量的釀母種，經過t時間所得之體量。此生長常數，$0.4343K$，有時稱繁殖常數(propagation constant)，並在某一定組情形下，計算某一種釀母之生長速率，此數稍有不同。

第九節　釀母生長與物理化學之關係

第一項　物理方面

(1)溫度之關係　因釀母之種類，培養基之性質，加熱時之久暫，以及生理之狀態等而有差異，然熱至50—60°C.時，則多失其生活力，惟在乾燥時，能抗高溫，甚至有能抗100—120°C之高溫者，孢子抵抗高溫之能力猶強。

a.高溫之影響　經寇克蘭(Cochran)和柏琴(Perkin)二氏之研究，知熱釀母於漿內，在58°C.，經30分鐘，仍不失發酵能力，在65°C.，經30分鐘，則不甚活潑，因而發酵力減低，在70°C.下，即被殺死。韋爾斯(Wells)研究釀母之熱死點，因某種物質存在而變更，澱粉與糖即能升高其熱死點，彼在麵包中所找出者幾達68°C.。

b.低溫之影響　彼克泰(Pictet)和楊格(Young)二氏研究，知釀母能抵抗低溫，即在−130°C.，經二十四小時，仍不失其生活，在−180°C.下，尚能抵抗5—20分鐘。

(2)乾燥之影響　大部分釀母喜潮潤，對於乾燥之影響，亦因釀母之種類，培養基之性質，乾燥之久暫，以及生理之狀態等，而有

差異，密集之釀母細胞較孤立者能抗乾燥，而孢子對於乾燥之抵抗力則更大。

（3）光之作用　光對於釀母無顯著之作用，據馬什窩德(Marshae Ward)之研究，知不同之光線有增加或阻滯釀母生成孢子之影響。按馬爾莫安德(Martiand)氏之試驗，曝露釀母於日光下，在40—45°C.時，歷四小時，則毀滅，在36°C.下曝露三天，亦能死滅，在無光下，則雖經長時間，亦無變化。

部克塔（Buchta）氏研究釀母久曝於日光下，能停止其芽生作用，故釀母細胞之繁殖，未曝露者較已曝露者約快二倍，電光與之有同樣影響。又釀母培養與光源距離不同時，其影響亦異，在離光源最遠者，其繁殖力亦愈大。各色光線對於釀母亦有不同之影響，紅光較白光能增進孢子之生成，綠光有阻止之力，藍光和紫光較綠光之阻止力尤強，紫外光作用最強，非但能阻止孢子之生成，且釀母細胞經照十秒鐘，即能停止其芽生作用，時間稍長，則細胞殺死。然據最近研究，釀母種於某種培養液中，照以數秒鐘紫外線，則可刺激其生活力及發酵力云。

若克明(Jacquemin)和奎立爾(Giurel)二人研究，知鐳射線對於發酵很有好處。

（4）壓力　據多人之研究，知釀母能抗高壓力，雖在1000—8000氣壓下，歷經一小時之久，釀母之生活力並不減弱，但因急烈震動，可以損失其生活力。

第二項　化學方面

數種有機及無機之化學藥品，因溫度及培養基之種類，釀母之類別及其生理狀態，釀母之用量，釀母之新陳與馴養，化學藥品之種類，化學藥品本身之分子構造，化學藥品之作用時間，以及化學藥品濃度之大小等，對於釀母之效用，大有區別，據李傑喜(Liebig)氏之研究，謂少量之化學藥品(如硫酸、磷酸、和乳酸等)之供給，能促進釀母之生活力，但量過多而刺激過烈時，則反有阻礙之害。

(1)溫度 同一化學藥品、同一濃度，如在釀母生活最適宜之溫度時，則為害最少。

(2)培養基之種類 同一化學藥品存於培養基內的毒性，較存於發酵醪內之毒性為和緩，此外尚有化學藥品在某種培養基內呈不溶狀態者，則無毒作用。

(3)釀母之類別及其生理狀態 同一化學藥品因釀母之類別而大異，例如酒精在紹酒釀母，則能抵抗較高濃度，而麥酒釀母則否。至於生理狀態，亦大有關係，營養健全之釀母，對於化學藥品之抵抗力甚強，而孢子之抵抗力尤強。

(4)釀母之用量 同一化學藥品因釀母之用量多寡，其毒效亦異。釀母用量較多時，則因化學藥品之毒效作用，一部分釀母既蒙其害，而此化學藥品之濃度亦因之而減低，故尚有一部分未蒙其害之釀母，仍能顯示其發酵作用。

(5)釀母之新陳與馴養 新釀母較陳釀母之抵抗力大，釀母久經馴養於內含某種化學藥品之培養液內，漸成慣性，後對於化學藥品之毒效，顯示麻痺狀態。

(6)化學藥品之種類 無機之各種金屬，對於釀母多有刺激生

活力之性能，砷鹽雖有毒，但不能致釀母於死地，其他不溶之鹽類，率無毒效。有機藥劑多呈毒效作用。如酒精、檸檬酸、林檎酸、乳酸、琥珀酸、酒石酸、砷酸、食鹽等之毒效較小，醋酸、酪酸等之毒效較強，其他如蟻酸、草酸、水楊酸、亞硫酸、二氯化汞等之毒效最強。

（7）**化學藥品本身之分子構造** 同一化學藥品，因其本身之分子構造不同，對於釀母之毒效亦異，例如同一之氧苯甲酸［oxybenzoic acid, $C_6H_4(OH)COOH$］，鄰位(ortho)較間位(meta)和對位(para)的毒性強，又石炭酸(phenol,C_6H_5OH)，樹脂酚［resorein,$C_6H_4(OH)_2$］，沒食子酚［pyro gallol, $C_6H_3(OH)_3$］，因羥基之增加而毒性減少，累那(Regnard)謂$C_nH_{2n+1}OH$系的醇類，其碳原子的數目增加，毒效因之亦劇。

表七 藥品之濃度對於釀母之毒害作用

化學藥品	防止繁殖之濃度	防止發酵之濃度	死滅釀母之濃度
亞硫酸	1000	1000	0.3% 五分鐘
二氯化汞	1000	1000	0.1% 五分鐘
水楊酸	1000	400	0.2% 三十日以內
蟻酸		200	
醋酸		70—140	
酪酸		70—140	
乳酸	50	12—15	
酒石酸	100	12	
琥珀酸	100	11	
林檎酸	100	7	
檸檬酸	100	7	
酒精	20—30	5—10	
砷酸	10	10	1% 二十日以內
食鹽	10	10	

表中之數字乃表一量化學藥品溶解於水中之毫升量

（8）**化學藥品之作用時間**　釀母培養於含有化學藥品之培養基內，依其作用時間之久暫，其毒效亦異，或失其酵力，或竟失其生活力。

（9）**化學藥品濃度之大小**　毒效作用因其濃度之大小，或防止釀母之繁殖力，或防止釀母之發酵力，或竟消失釀母之生活力，觀表七可知：

第十節　釀母之分類

釀母是眞正菌類，屬於子囊菌門之裸子囊菌族（gymnoasceae），種類繁多，現尚不能盡然分屬。

第一項　實用的分類

（1）**野生釀母**　廣存於空氣或野外大地中，爲天然存在之物，冬期存於土中，營休眠生活；氣候溫暖，果實類成熟時，依風或昆蟲之媒介，以達於其表面，遂得營養物而營繁殖作用，此類釀母多爲臘腸狀或絲狀，細胞之內容物較爲透明，其空胞甚大，能繁殖於低溫度，新細胞常較母細胞爲小。

（2）**培養釀母**　爲依人工多年培養之物，常培養於適當之培養基中，營繁殖作用，此類釀母概爲圓形或橢圓形，細胞之內容物較不透明，其空胞較小，能繁殖於比較高的溫度，新細胞概與母細胞同大。

此外尚有從釀母用途上區別爲麵包、醬油、麥酒、葡萄酒、紹興酒、以及酒精等釀母多種，其他復依發酵狀態，而區分爲頂面釀母及

底面釀母，此二類釀母之性質相異者極多，其重要者，卽孢子生產力，以頂面釀母較底面釀母爲大。

第二項　學術的分類

釀母之種類甚多，至善盡美之分類法現尙未發見，普通多按其孢子之生成與否，大別之爲三族：(1)爲細胞內能生產孢子者；(2)爲細胞外能生產孢子者；及(3)爲不能生產孢子者。今列表如下：

表八　釀母之分類

(一)細胞內能生產孢子者：

A.裂生者(fission)：　schizosaccharomyces

B.芽生者或介於芽生與裂生之間者：

I 孢子由同胎接合形成者：

a.芽生繁殖者：　zygosaccharomyces

b.介於芽生與裂生之間繁殖者：　zygosaccharomycodes

II 孢子由異胎接合形成者：

a.孢子面帶有刺狀膜者：　debaromyces

b.孢子無異狀者：　nadsoni

III 孢子不接合者：

a.孢子帶有頸圈者：　schwannomyces

b.孢子無異狀者：　torulaspora

IV 無性孢子生成者：

a.在液體培養基之底面上繁殖，不生薄膜，或僅在其繁殖停止時生長者：

1.介於芽生與裂生之間者:

甲 孢子爲單膜構成者: saccharomycodes

乙 孢子爲雙膜構成者: saccharomycopsis

2.眞正芽生者:

甲 細胞不呈檸檬形者: saccharomyces

乙 細胞呈檸檬形者: hansenia

b.在液體培養,繁殖開始時,生膜,膜爲乾狀,並有氣泡:

1.孢子呈圓形或半球形者: pichia

2.孢子呈檸檬形或帽子形者: willia

C.稀有之釀母:

I 芽生有一個單柄形孢子者: monospora

II 芽生有四個紡錘形能動之孢子者: nematospoa

III芽生有八個紡錘形之孢子者: coccidiasaes

(二)細胞外能生產孢子者:

A.生腎形孢子者: sporobolomyces

B.生球形孢子者: nectaromyces

(三)細胞不能生產孢子者:

A.細胞繁殖其幼細胞中無脂肪粒者: torulopsis

B.易生乾燥皮膜於培養液面者 mycoderma

第十一節 釀母異同之識辨

在現在的知識中，很難將某種未明之釀母識辨，如此某種未明之釀母能生產孢子時，則盡歸某一族，尙比較容易與不能生產孢子

者分別。但某一族內有許多種，而此某種未明之釀母是否已知或係新種，實難判定。

然某種釀母呈顯其特殊性質時，則不難立即判明，特別是用大羣落培養時爲尤然。據林德納(Lindner)之研究，各種釀母皆有其特殊大羣落形態之形成，因精膠之用量及糖質之純否而能改變其大羣落之形態。

大羣落之形態，因釀母種而異，有呈扇形、圓形、或雙層者，其面有呈平滑者，有呈粗糙者，判明形態，爲識辨釀母種重要方法之一。

第十二節 釀母各論

第一項 眞釀母族

眞釀母族(saccharomycetes)之釀母菌之各細胞內，皆能生產孢子，孢子從單一細胞而成，每一囊中之孢子數概爲一至四個，最多有十二個者，然不常見。

第一羣 schizo-saccharomyces 此羣釀母率依分裂法而繁殖，細胞之中央最初生隔膜，然後分裂，其孢子有一層被膜，在產生孢子之前，普通兩個細胞互相聯合，呈同胎接合性態，一孢子囊中之孢子數爲一至八個，現在已知有一種不生孢子者。

此羣釀母大半爲熱帶釀母，廣存於熱帶之果實、糖蜜、及各種蟲體內，已知者有七種。

第二羣

第一類

第一屬 zygo-saccharomyces 此屬之釀母係依芽生而繁殖，生

產孢子之前，細胞互相聯合，其孢子數因種而異，通常為四個，在許多情形下，其互相聯合之細胞爲同大小，亦有異胎接合者。

此屬廣存於薑味皮酒(giner beer)、豆醬汁(soya sauce)、黴菜、土壤與醬油中，雖皆能發酵，但工業上很少用之，以其有腐敗性故也。已知者有三十八種。

第二屬 zygo-saccharomycodes 此屬之釀母繁殖介於芽生與裂生之間，其孢子亦由同胎接合而形成者。

此爲最近尼西屋吉(Nishiwaki)所發現，由日本酒中分離得之，其性質與第一屬相似，但在日本酒中，生特殊之黑色沉渣。

第二類

第一屬 debaromyces 此屬釀母係依芽生繁殖，其孢子由異胎接合而形成，間亦有同胎接合者，其特性即生成單孢子，且孢子面帶有刺狀被膜。

此屬爲克綠客(Klöeker)氏由土壤或俄國麵包中所析出，近來俄塔(Ota)氏復由人的某種疾病中分得此屬。其已知者有十二種。

第二屬 nadsonia 此屬釀母之細胞頗大，係芽生繁殖，其特狀即其細胞之一端常生乳狀小突起，在老時，則生兩個幼芽，每細胞內有一孢子，其膜很厚，經若干時後，其外層薄皮呈不規則剝落，而殘留粗糙或多孔之面，已知者有三種。

此屬中之第一種爲 nadsonia fulocacens，此種釀母在幼時

爲白色，並很黏，其細胞很大，生長孢子，增加脂肪粒，結果變爲褐黃色或紅棕色，在某種情形下，培養至老時，能呈白扇形。

第三類

第一屬 schwanniomyces 此屬爲裂生繁殖，在適宜條件下，易生孢子，其細胞爲細長管形，附有環狀，如頸圈，並帶刺面。已知者有二種。

第二屬 torulaspora 此屬亦爲裂生者，無眞孢子生成，其細胞內生大量脂肪粒。已知者有四種。

第四類

第一屬 saccharomycodes 此屬釀母之繁殖，介於芽生與裂生之間，無性孢子形成，在液體培養基之底面繁殖，不生薄膜，或僅在其繁殖停止時，略生薄膜，其孢子爲單膜構成。現已知者，僅有二種，一種爲由槲樹汁中分離得之，另一種由洋葎草花分離得之。此二種釀母，芽生時，是先生隔膜，後再分開，

第二屬 saccharomycopsis 此屬與第一屬同，唯其孢子爲雙膜構成，是其異點，已知者僅有一種。名爲 saccharomycopsis guttulatus。

此種釀母是兔之腸內寄生物，在巴西豬、或豚鼠的糞內含有大量，細胞特別大，不易培養，易生長在酸性甘油醪內。

第三屬 saccharomyces 此屬釀母在工業上很重要，其特性卽爲純芽生繁殖及無性生成孢子，現在釀母方面之研究較詳者，多爲此屬釀母。按其能誘起糖發酵與否，可分下列幾等：

第一等 葡萄糖、麥芽糖、及甘蔗糖等能發酵，而乳糖不能發酵

者；

第二等 葡萄糖及麥芽糖能發酵，而甘蔗糖或乳糖不能發酵者；

第三等 葡萄糖及甘蔗糖能發酵，但麥芽糖或乳糖不能發酵者；

第四等 僅能發酵葡萄糖者；

第五等 能發酵乳糖者；

第六等 任何糖分，皆不能發酵者。

工業上所用之重要釀母，概屬於上表之第一等，已知者約有八十種之多，現舉其重要代表者，略述如下：

第一種 saccharomyces cerevisiae 此種釀母，廣用於釀造工業及麵包工業上，其細胞甚大，多爲圓形或卵圓形，孢子數爲一至五，通常爲四，適宜生孢子之溫度爲 30°C.，孢子爲圓形，並強度反光。

漢森(Hansen)氏首倡用於發酵工業而加以純粹培養，並給以商業名爲釀造釀母，復因其發酵狀態，而分爲頂面釀母與底面釀母兩種，普通以生產酒精量言之；以頂面釀母爲佳。輓近製造榨壓釀母之原料，幾全用頂面者。

第二種 saccharomyces ellipsoideus 此種釀母之天然存在者甚多，廣存於葡萄上，在葡萄園的土壤中，蘊藏尤富，其細胞概爲橢圓形，孢子數爲一至四，其適宜溫度爲 25°C，常能雜生於其他釀母種或黴菌種內，而突出於上面，爲製酒用原動力之鼻祖，而另賜以商名如東京第一號等。

第三種 saccharomyces pastorianus 此種釀母由商業酒麴中分離而得之，其細胞很大而爲臘腸形，培養至衰老時，呈殘渣現

象，釀造品常被其汚損，如啤酒生不良香味，卽此釀母之作用所致。

此種釀母，現尙有用以製蘋果酒、日本醬油及其他各種發酵飲料者。

第四種　乳糖發酵釀母　乳糖發酵釀母廣爲各國所採用，尤以東南歐爲最，由牛乳製發酵飲料時，尤廣用之。其發酵作用很複雜，單用純粹培養者，不能收效，須有各種細菌及幾種釀母助之始可，因此種釀母不能直接將乳糖發酵，但其抵抗細菌力很強，故可先用細菌將乳糖分解，以變爲葡萄糖或分解乳糖後，再以此種釀母發酵，使生產二氧化碳及酒精。

第四屬　hansenia　此屬釀母之細胞爲檸檬形，帶一頸圈式的環狀線，生圓形孢子。廣存於果實中，酒內亦有，不甚重要，因其易於發見，故被漢森氏首先用以研究釀母自然生活之情形，遂由是得名。已知者有四種。

第五屬　pichia　此屬釀母亦易發見，如培養於糖液內，容易生被膜，故普通稱之爲產膜釀母，此被膜與此類之前四屬所產者不同，係乾燥而無光，且生皺紋及氣孔，一見卽可區別。且此屬釀母經培養一晝夜或二三日後，卽有被膜產生，而此類之前四屬釀母，則非經數月後，不能生產，其孢子之形狀有數種，皆有一層細胞膜，此屬釀母發酵糖時，卽產生脂，如乙酸脂(ethyl acetate)，乙酸戊脂(amyl acetate)等，生特殊氣味與大量二氧化碳，但不能生多量之酒精，有時甚或將僅有之酒精，消耗殆盡，故在酒精工業上甚爲重要。已知者有十六種之

多。

此屬釀母之細胞多為臘腸形，依芽生繁殖，並在培養基面上，生特有之網狀菌絲，生圓形或半圓形孢子，有時呈不定形而具角狀，係因種而異，每細胞中含有一特別小且極度反光之脂肪粒，由此易於識辨。

第六屬 willia 此屬釀母與前第五屬者大同小異，僅其孢子形比較有定則，多為帽子形或為檸檬形，有時生突出之邊緣，而呈圓頂硬氈帽狀，此屬發酵後，生多量之酯，而賦以特異之果香味，已知者有十六種之多。

第三羣 稀有之釀母

第一類 monospora 此類釀母乃由美赤尼科夫(Metchniboff)氏所發見，為小節腿蟲(daphnia)之寄生物，能貫入消化地方及進入體內空處，生一個單柄形孢子。已知者僅有一種。

第二類 nematospora 此類釀母之細胞多為卵圓或長圓形，依芽生繁殖，生四個紡錘形孢子，每一鞭毛能徽動，生芽後，卽不復見，已知者有四種，二種由榛實內得之，二種由番茄內得之。

第三類 coccidiascus 此類釀母之細胞呈圓形，芽生繁殖，生八個紡錘形或香蕉形之孢子，多寄生於果實中，已知者僅有一種，

第二項 擔子釀母族

擔子族釀母(basidiomycetes)所生之孢子突出於細胞外，以管形物與母體聯接，因而形成擔子形。

第一羣 sporobolomyces 此羣釀母之細胞生腎形孢子於其梗上，

如此而形呈擔子形，菲雪(Fischer)與布雷貝克(Brebeck)二氏研究頗詳，復經克魯握(Kluyver)，凡尼爾(Van Niel)二氏示知其特殊性質，而益為明瞭。將此菌培養於二重皿內，倒置孵育，經若干時後，則因其孢子沉積在二重皿之蓋上，生細薄之菌叢，稱為鏡狀菌落(mirror colonies)。

在顯微鏡下檢查之，其幼菌落僅呈卵圓形，其細胞係芽生；其老細胞則發見有延長之梗子，有如蕈菌之柄然，在其頂端附着一腎形細胞，據布勒(Buller)之研究，一梗子上有時附有四個孢子。

此羣釀母之細胞內僅有一核，已知者有三種，各生不同之玫瑰色素，在穀莖上存在者甚多。

第二羣 nectaromyces 此羣釀母為近來格魯斯(Gruess)，那特松(Nadson)，科拉西爾多夫(Korassilndov)諸氏所發見，初命名為antnomyces，意即能生鍔的菌，後經射恩鮑恩(Schoellborn)氏之研究，始改今名，現已知者僅有一種。

此羣釀母在短桿上生球形細胞，呈輪生狀，與分生子(conidia)相類似，芽生繁殖，廣存於花蜜中，最初發見時，為四個細長細胞，排列如飛機形，故格魯斯氏開始研究時，名為飛機形菌，後知在營養不良時，極易生成此特殊形狀，在通常之培養基內，則生大型卵圓形細胞，如此培養基營養減退時，則復生飛機形，其所以能生此特殊之形態者，據多人之研究，知與天演競存有關係，極易附着於昆蟲之頭毛上，而移至新花上，以促其繁殖。

第三項 假釀母族(不完全菌族)

假釀母族[torulaceae (fungi imperfecti)]概不生產孢子，係依芽生而繁殖。

第一羣 torulopsis 此羣釀母與前眞釀母族酷似，惟不生孢子及不發生菌絲而已，此羣釀母細胞概爲小形，且多呈圓形，其菌種甚多，有能誘起發酵作用者，有不能誘起發酵作用者，在釀造工業上有益者固多，有害者亦復不少。

第一類 torula cremoris 此類釀母之菌苔爲白色，可使乳糖發酵甚烈，生大量發酵泡沫。

第二類 red torula 此類釀母很普通，爲在細菌實驗室中之極易分離與培養者，各種作用物質中，皆能發見之，特別是在牛乳業爲然。其重要性質，卽能生珊瑚或紅色菌苔，其細胞常呈卵圓或長圓形，或生假菌絲，培養後，特別潮溼，呈黏液狀，能在斜面固體培養基面上流動，經時過久，則因生假菌絲之故，而漸漸變乾，終至生皺紋，屬於此類之釀母之發酵力極小。

第三類 torula pulcherrina 此類釀母之特徵，亦爲能生紅色菌苔，但與前者不同，爲暗褐紅色，不僅細胞有此色素，甚至其作用物質(卽培養基)亦着色，按拜尼林克(Beijerinck)氏之研究，此色素與無色之發色體(chromogen)同，在有鐵鹽存在或於空氣中，皆能變爲暗赤色，在葡萄糖之固體斜面培養基中培養之，常生乳色，而在培養基面下，生褐紅色條紋，有時在此培養基之底端，生圈狀紋，如用葡萄糖焦炭培養之，則生黑色，此因有鐵

等不純物存在之故，有少量之鐵質存在，即足以使之變色，在老細胞中，有很大的脂肪粒，此粒能改變其細胞之形，如由卵圓形變成圓形等，廣存於葡萄中。

第二羣 mycoderma 此羣釀母在培養液中，易生被膜於其表面，其細胞中不生孢子，普通稱爲產膜釀母，對於釀造業爲害甚大，尤以對紹興酒、麥酒、及葡萄酒等、爲害尤烈，其性質與其他釀母大異，極易識辨。

此羣釀母之細胞因氧供給之充足與否，而能變異其形態，即一細胞繁殖之細胞，亦有大小之別，其形狀亦不同，其所產之被膜，初生時，軟滑且薄，無特別之色，經時過久，則加厚，生皺紋，並着深色，其色澤與狀態之變化，因種類而異，依韋闊古雷特斯吉 (Winog.asdky) 氏之研究，普通釀母生於液底之沈澱細胞，較之生於液面之浮游細胞爲短縮，而在此羣之釀母則不然，其沉澱細胞反較浮游被膜中之細胞爲延長，即其生理性質亦與普通釀母不同，在普通釀母之攝取氮營養物，則大都取諸胃液蛋白，以及氨基化合物等之易溶氮化合物，攝取碳營養物，則取諸糖分，而此羣釀母則不然，能取錏鹽類之氮及能由酒精或有機酸鹽類攝取碳營養。

此羣釀母分解酒精、醋酸及其他有機酸類之力甚強，故如繁殖於葡萄酒或麥酒中，則能變異其風味及色澤，甚爲有害。但亦有益處，以其能分解酸類，亦能生產其他酸類，主要者爲琥珀酸及酪酸等，且有分解蛋白質而生氨之特性。已知者有十五種。

此外，有介於釀母與黴菌之間者，不能別其屬於何族，名之曰不完全釀母。種類甚多，其主要者爲 monilia 羣，屬於此羣之釀母，大都能生皮膜於培養液之表面，且生菌絲，其細胞之形狀亦不定形，其發酵作用率皆微弱。

第十三節　釀母之大量培養

第一項　維也納方法

約在七十五年前，發明壓榨釀母時，稱爲維也納(Vienna)方法，此方法是將釀母在稀釋而未過濾(15—20° Balling)，且無空氣之穀漿內繁殖，約經 20—23 小時後，撇出釀母，洗淨，並過篩，以除去滲雜釀母內之雜質(如未溶解之穀分)，此洗淨之釀母，再以大壓力壓榨之，卽得。用此法所得之釀母量，約爲穀之用量 10—14%，同時尙收穫約 30% 之酒精副產品，後至 1890 年，將此方法稍加改良，卽通氧於釀母繁殖液內，結果釀母之產量約增至 20—25%，而酒精之副產品約減至 20—22%。以後釀母工業漸次發達，關於釀母之產量特別重視，旋經學者研究，將上述方法迭加改良，例如：用極稀薄和濾過之培養液，俾免進一步之移出雜質等煩重手續，通入足量氧，以促進其呼吸作用，並在低溫度(約 15°C.)之下，任其繁殖。如是行之，結果釀母之產量可達 40%，酒精之副產品僅約 14—15%而已。

第二項　黑達克方法

上述方法雖幾經改良，然由經濟立場與工業上之需要觀之，實尙不適用，後至 1915 年，柏林釀造研究所黑達克(Hagduck)氏研究

利用糖蜜與氨爲釀母繁殖時碳和氮的主要營養品，以製取釀母之試驗成功，並公開發表後，製取釀母之方法，爲之一新，此法較上述之法，勝強殊多，現最流行。釀母繁殖時，往往生酸，此酸如不除去，即足以危害其生活力，並減退釀母之產量，故必須中和始可。應用黑達克氏方法以製釀母，即能免除此弊，因其所用之氨能生二重效用，一爲供給釀母可溶性氮的營養品，一能中和因釀母作用所生之酸，且其所用之原料，亦甚經濟，開始用極稀糖蜜（約1.5°—2°Balling），因釀母繁殖之影響，將其僅有之酒精副產品，亦爲之同化而消失殆盡，結果糖液反復增濃，因是應用此法，對於釀母毫無原料過剩與食料缺乏之虞，進言之，在釀母繁殖期間，如隨時添加相當之營養品，並通入相當之空氣於培養液內，則釀母之產量更高。

第十四節　釀母之變性與貯藏法

第一項　釀母之變性

（1）暫時變性　釀母經長時間培養於同一培養基內，往往失去其孢子生成力，如將其培養於新鮮含有葡萄糖之培養液內，有時可以恢復原有之孢子生成力者，稱爲釀母暫時變性。此外，尚因其他境遇之影響，而亦呈暫時變性者，例如麥酒釀母長久使用，則其發酵力大衰，然培養於甘蔗糖液中，則其發酵力可以恢復。又如麥酒釀母培養於麥芽汁中，不通空氣，使其繁殖後，用以釀麥酒，則其固形物不易沉澱，麥酒因之混濁。然將此種釀母繁殖於通空氣的培養基中，再用以釀酒，則無異狀發生。他如與麥酒以不快臭味之某種有害釀母，如將其釀母培養於蔗糖液中，則能消失其有害性等，均爲暫時變性之

之顯例。

（2）永久變性　釀母一經變性，有時雖用種種方法仍不能恢復原態者，即稱爲永久變性，例如能生孢子的釀母培養於麥芽汁中，通入空氣，於芽生繁殖最高溫度及孢子生成最高溫度之間，反復培養，使其繁殖；遂得不生產孢子之新種，而此性質能遺傳，遂得永久無孢子種。又如將底面釀母，於 50°C. 以下之溫度，於麥芽汁中靜置三至五個月後，則變爲頂面釀母。

第二項　釀母之貯藏法

在發酵工業研究機關或工廠，往往貯藏多種釀母，以資發酵力之比較試驗。惟貯藏之目的，在使釀母能經長時間之生活而不變性，故貯藏之方法，亦甚重要。

1.甘蔗糖法　培養釀母於10%之純甘蔗糖液內，能保持其生活力至十年之久，而不變性。

2.冰室法　將釀母與水相混合，使其冰結後，貯藏於冰室內，可維持其生活性至數月之久。

3.韋爾氏法　將釀母與木炭末混合乾燥於 25°—°48C，入麻袋中貯藏之，可保存至十年之久。

4.頡恩克氏法　密閉乾燥壓榨釀母於鐵罐內，或無水石膏中亦可。

第十五節　釀母之用途

釀母常大量應用於麵包、釀造及酒精等工業上，近二十年來，醫

以照射後之乾釀母爲母牛之食料，能於牛乳中增加維他命D之含量。至於釀母提出液，又常利用爲工業上或醫藥上培養細菌之佳良培養基之有效成分。輓近科學發達，釀母之應用亦日新月異，而釀母中所含各種酵素之提取與應用，尤爲現代化學中極有趣味和最重要之問題，願有志於斯道者，注意及之。

第二章 黴菌

第一節 黴菌之形態及構造

黴菌(mould)之菌體(thallus)與細菌或釀母不同，爲多數細胞所組成。構成黴菌菌體之諸細胞，其形狀、大小及功用，各不相同，故就菌體形態言之，可分爲二部：

第一項 子實體

子實體(fructification organ)爲繁殖器官，其形式有多種，因菌種而有重要之差異，今分別述之如次：

1. 藻狀菌類

藻狀菌類(phycomycetes)子實體分爲二種：

(1)在有性生殖者，其器官有配偶子，及配偶子囊，配偶子復有雌雄之別，雌者名爲藏卵器(ooganium)，雄者名爲藏精器(antherid-ium)，在受精時，雌性者變成爲失去運動力之卵球，雄性者成爲有運動力之精子，其後所生之胞子，稱爲卵生胞子(Oosporen)，或雌雄兩

性區別之接合器(gometen)互相接合，其接合後所生之胞子，稱爲接合孢子(zygosporen)。

(2)在無性生殖者，其孢子之形成，有三種異型：

(a)內生胞子 (endosporen) 係由稱爲胞子囊 (Sporengien) 之球形囊狀物所包圍，其內容物全部爲原形質，分化之，則成無數之內生孢子，此種內生孢子如具有纖毛能在水中營運動作用者，稱游走孢子(Zoosporen)，容存游走孢子之囊，特稱爲游走子囊(Zoosporangien)。

(b)外生孢子(exosporen) 生于孢子囊之外部，因多呈分生狀態，故又名分生孢子 (conidien)。係由菌絲之頂端漸次絞斷，後全部化爲孢子所成，支持此分生胞子者，稱爲分生孢子柄(conidiophore) 此外菌絲作成隔壁，分裂爲一個一個之細胞而變爲孢子時，此孢子稱爲裂生子(oidien)。

(c)厚膜孢子(chlamydosporen) 爲菌絲之頂端絞斷後，一部化爲孢子而蔽以厚膜者，又稱爲芽子(gemmen)。

2. 子囊菌類

子囊菌類 (ascomycetes) 營有性生殖之生殖器亦生藏卵器及藏精器等之構造，但不如藻狀菌類之能生成卵生或接合孢子。此類受精後，其接胎細胞漸次發育，被其鄰近之菌絲，稱爲子囊菌絲 (ascogene hyphen) 者所包圍，而擴大生成特殊之囊狀，稱爲子囊(ascus)，囊中雌雄兩核，先合着而造成複相之核，稍後行減數分裂，生成四個單相核，再行一次分裂而成爲八個，各個核都成爲孢子之核，所以稱果此子囊內含有八個一定數之內生孢子，與藻狀菌類之造成不

定數之內生孢子者大異，但因種類不同，亦有不爲八個，而爲二個至四個或十六個者，亦有祇造生一個，或造生許多個者，然爲數極少。此種孢子特名爲子囊孢子 (ascosporen)，此種子囊通常被有營養性之菌絲所包圍，而呈一大囊形，稱爲被子器 (perithecium) 或稱盤子器(apothecium)。

至其無性生殖之形態，則多爲前述之分生孢子，其形成法隨種類而各具特徵，不特如此，有某種子囊菌，其分生子所附着之柄，(分生子柄)互相結束，而成爲結束絲 (coremien)，又有其他種類，則造成粉子器 (pyknidien)，菌核 (scleotien) 等，除生分生孢子外，尚生裂生子及厚膜孢子等。

3. 擔子菌類

擔子菌類(basidiomycetes) 殆全無有性生殖器之構造，其無性生殖之主要部分爲擔子孢子(basidiosporen)，就中以黑穗菌(brandpilze)，及銹菌(rostpilze)，具有特殊之厚膜孢子。

第二項 菌絲體

2. 菌絲體(mycelium) 爲多數菌絲(hyphae)所構成，係黴菌之發育器官，菌絲在同一菌體內，因功用之不同，有兩種式樣：一種司生產芽孢之功用者，名爲授胎菌絲 (fertile hyphae)；另一種司營養之功用者，名爲生長菌絲(vegetative hyphae)。又因其構造不同，而復分爲二：一種菌絲之細胞，被一種細胞膜互相隔離形成鎖鍊，換言之，卽在兩個細胞之間，生成一座過渡之牆壁，如圖 8 b 所示，此過渡之牆壁，稱爲隔膜(septum)，具有隔膜之菌絲，稱爲有隔菌絲(sep-

ate)；一種菌絲之細胞中間，無如前述之隔膜，而多少發爲分枝形成機續之管，此種不具隔膜之菌絲，稱爲無隔菌絲(non-septate)，如圖 8 a 所示。普通有隔菌絲之黴菌，其菌絲之每一段中，僅有一個細胞核，連同細胞質 (cytoplasm)；一齊存在，若在無隔菌絲之黴菌菌絲中，則否，其菌絲中有多數之細胞核存於原形質中。按細胞之定義爲一個細胞核居中，周圍爲少許原形質所包圍，而此無隔菌絲之黴

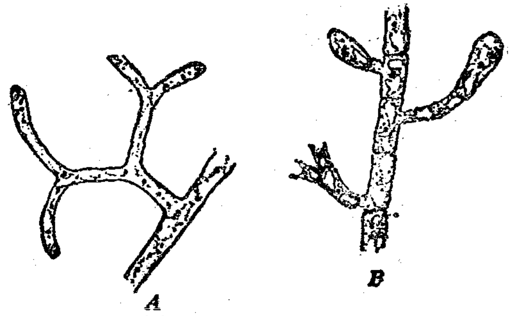


圖 8 黴菌菌絲之形式

a 無隔菌絲內有多數細胞核

b 有隔菌絲每段有一個細胞核

菌，具有多數之細胞核，故仍可視爲多數細胞所組成，如圖8。

此種菌絲體又因所承受之各種子實體而異其名，在承接孢子囊者，稱爲孢子囊柄(sporangiophore)，有許多黴菌之孢子囊柄，形成分枝形狀者，每一枝之尖端，均生於一個孢子囊，其上端進入孢子囊中之部分，稱爲中軸體 (columella)，其形不一，有球形梨形等。其承接分生孢子者，稱爲分生孢子柄，有分枝者，有不分枝者，其上端連接之球

形物，稱爲頂囊(vesicle)，頂囊之形不一，有呈棍形，或瓶形者，多呈灰綠色，與頂囊之上端相連接者，稱爲小梗(sterigmata)，其形如小梣狀，有生分枝者，有不生分枝者，其生分枝者，又分生對稱形及不對稱形二種，與小梗之上端相連者，卽爲分生孢子。

黴菌菌體之各種細胞內，均充滿原形質，外存細胞膜，內容物與酵母無異，概爲流動性，含有甘露蜜糖與葡萄糖等，常有草酸鈣之晶體或假晶體形成，並有油脂存在，故每呈黃色或褐色，在老時細胞膜變厚，其表面生產諸種色素及結晶之物質者亦頗多。

第二節　黴菌之生長及其繁殖

第一項　黴菌之生長

菌絲之尖端漸向上長，菌體因以增加其體積，凡位於菌絲尖端細胞發育以後卽成分枝，如此只有尖端細胞生長而分枝者，稱爲局部生長 (apical growth)，至菌體各部分之細胞全部向上生長，增加長度而分枝者，稱爲全部生長 (imtercalany growth)。

第二項　黴菌之繁殖

黴菌均用一種特殊之細胞以營繁殖，此種特殊細胞，稱爲孢子，許多種黴菌之孢子，數目繁多，有使此菌渡過不適宜之環境而繁榮其種類之功用。

同一黴菌可產生數種不同之孢子，且有若干種黴菌，因其生活歷史較爲複雜，在每一個發育之節段中，能產生若干不同之胞子，通

常孢子生殖之方法，有二：一爲相接近之二細胞，溶合而成孢子，稱爲有性生殖。此種孢子稱爲有性孢子 (sexual spores)；一爲各個細胞不相溶合而生孢子，稱爲無性生殖，此種孢子稱爲無性胞子 (asexual spores)，實際所有黴菌，生無性孢子者多，而生有性孢子者少。

1.黴菌之有性生殖　具無隔菌絲之黴菌，常生一種有性孢子，稱爲接合孢子，如圖9，係由接近兩菌絲，各發生一分枝，兩枝漸伸漸近，終至於接觸，兩枝尖端之細胞膜，互相吸引，結果兩細胞中之原形質因而互相溶合，漸次生成新細胞膜，使原形質之溶合體與母菌絲分開，至於兩原形質中之核，則溶合成偶，如是所成之接合孢子漸漸脹大，蔽以松樁狀而帶棕色之厚細胞膜，通常呈現不規則之濃厚物，此種接合孢子，如遇優良之環境，即可發芽而成爲新幼黴菌。

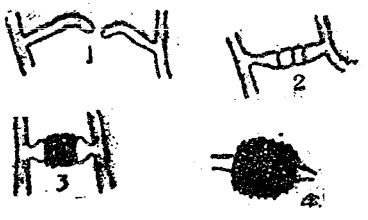


圖9　　黴菌接合孢子之生成

具有隔菌絲之黴菌，所生之有性孢子，稱爲子囊孢子，較其生成接合孢子者爲複雜，如圖 10，常見兩個大小形狀不同之細胞，從同一菌絲體或鄰接之兩菌絲體發育兩細胞，彼此盤繞，其尖端終於溶合爲一，此種溶合之細胞，名爲授胎細胞 (fertilized cell)，其後此細胞漸漸長大，並生分枝，而大多數，每爲生長於其鄰近之菌絲圍所包圍，經過此種受胎作用之細胞，更擴大爲囊 (asci)，在每一囊中生成兩個或兩個以上之孢子（通常爲八個），包圍孢子囊之結構，即名爲被子

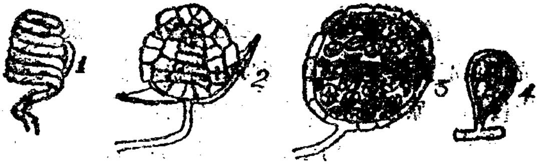


圖10 子囊孢子及孢子囊之生成
1.2.3.　爲被子器生成之步驟
4.　被子器內之單一孢子囊

器，普通係球形，常呈鮮艷之色，試驗室中常見之黴菌，多不生被子器，惟麴菌 (aspergillus) 中有幾種常見之黴菌，在適宜環境中，能生橘黃或鮮黃色被子器。

2.黴菌之無性生殖　許多黴菌所生之無性孢子，可以自由生殖或被包存於一種特殊囊中，此囊名爲孢子囊。具無隔菌絲之黴菌，多能生之，但具有隔菌絲之黴菌，則不生之。

a 內生孢子　爲說明此種孢子囊之生成，可舉毛黴屬 (mucor) 爲例，如圖11。

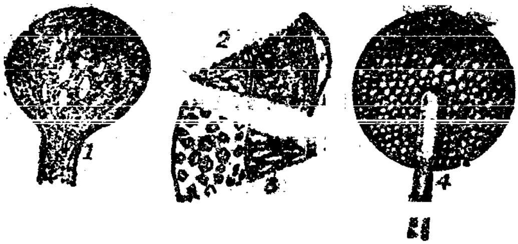


圖11 毛黴孢子及孢子囊之生成
1.　幼孢子囊含有多數細胞核　　2.　原形質之分裂
3.　原形質之分裂及孢子之分離　　4.　成熟之孢子囊

黴菌在培養基之表面上，生一直立之授胎菌絲，此菌絲之長度漸增，其頂端亦漸擴大，最後形成較長之菌絲，頂端腫脹，在此腫脹頂端內部，充滿原形質及多數之核，同時由菌絲頂端起，生出特殊之囊皮，多數之核，又被原形質所包圍後，漸次發育，生成細胞膜，即成內生孢子，有若干種黴菌之孢子囊柄能生分枝，每枝頂端均生有一孢子囊，孢子囊在老熟時，其外部囊皮極易破裂，因而胞子遂四散分布。

b 外生孢子　即分生孢子，其生殖方法有二：一爲向心型生殖(basipetal)，一爲離心型生殖(basifugal)。

分生孢子之形狀大小均有種種不同，有卵形、圓形、延長形、紡錘形及棒形等等，此外，尚有：(a)具有二個細胞者，(b)具有延長形而有數個以上之橫隔膜者，(c)多數之細胞之隔膜，或橫，或直，或爲不規則者，(d)具彎曲形或似彈簧之螺旋形者，如圖12，及13。

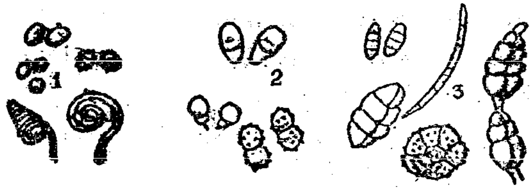


圖12 分生孢子之形狀

1. 各種單細胞之分生孢子

2. 各種二個細胞之分生孢子

3. 各種多數細胞之分生孢子

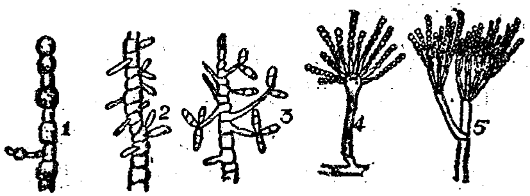


圖13 分生孢子之生成

1. 原膜孢子(爲菌絲之一部化爲孢子而被以原膜)
2. 僅生分生孢子而不生分生子柄,其分生孢子直接于菌絲體上生之
3. 有分生孢子柄之分生孢子
4. 麴菌之分生孢子柄
5. 青黴(penicillium)之分生孢子柄

第三節 黴菌之生理

第一項 黴菌之營養

黴菌菌體之成分,因菌種而不同,大體言之,據分析結果,如下:

水	85.45%
蛋白質	10.33%
灰分	1.75%
脂肪	[illegible]
殘餘	1.57%

灰分中成分以鉀與磷爲主,硫、鎂、鈣、鈉、鐵、矽及氯等,亦含有少量。

至有機物質營養,亦如釀母,唯能自氨,或銨鹽,或硝酸鹽等內攝取氮素。其無機物質營養,以鉀、鎂、磷、硫及鐵爲主要元素,而對鎂爲絕對必要,少量之鋅及矽等能刺戟菌絲生長旺盛。鈉、錳、鈷、鎳、

銅、汞等之化合物，亦有刺戟作用，但如量稍多，即呈毒性，對於菌絲之生長，爲有阻害，例如培養液中含有硫酸鋅0.0005%時，則菌絲生長特盛，如含有0.003%，其影響甚大，至0.05%時，即有顯著之毒性。

黴菌孢子之發芽，日光對之一般無影響，在射光線則能損失其發芽力，但亦不一致，有若干菌種在暗處反不易生長，甚或死滅者。

其內生孢子或分生孢子在空氣中亦能發育，喜比較乾燥之空氣。

其繁殖力較細菌爲慢，在含澱粉食物或含較濃糖分上，均易生長，大多爲好氣性菌，僅有數種在無氧情形下，始能生長。

第二項　溫度之影響

各種黴菌，所需要之溫度亦異，普通大多數菌種之最適宜溫度，均在 30°C.左右，有幾種生長於較此爲低之溫度，並有若干種能生長於較此爲高之溫度，甚至有能生長於高至 37°C. 或較此尤高之溫度者。

例如青黴，其生長適宜溫度均在 20—25°C. 之間，如在36°C.下，則不能繁殖，麴菌則能在35°C.下繁殖，尙有能於40°C.下繁殖者。

其熱死點亦不同，在孢子均較生長菌絲能抗高熱，但在 145°F (62.8°C.)，熱經三十分鐘，均能死滅，在165—175°F(73.9—79.4°C.)，驟熱三十秒即能死滅一半。

第三項　酵素之生產及在工業上之價值

大部黴菌均能生產若干種酵素，並因其培養基之成分關係，而產

生之酵素亦異。

例如麴菌屬種之黑黴菌(aspergillus niger),及青黴菌中之pencillium glaucum,在5%之蔗糖甘油溶液中,則生轉化酵素,麴菌中之aspergillus oryzae,培養於5%葡萄糖肉汁中,則生糖化酵素,其中如含有氯化銨時,反不能生之。今為便利起見,特將諸種營養物質對於酵素生產之影響,列表於下:

表中有+號者,表示黴菌於此種培養基中能生產酵素,○號者表示不能生產。

各種培養基中黴菌酵素之生產

營養物質/酵素生產	乾酪素	消化蛋白	麥芽糖	hab	葡萄糖	甘油	醋酸
漆氧化酵素	+	+	○	○	○	○	○
膵液素	+	+	○	+?	○	○	○
[illegible]乾酪[illegible]酵素	+	+	+	+	+	+	+
麥芽糖酵素	+	+	+	+	○	○	○
轉化酵素	—	+	+	+?	+	+	+
糖化酵素	—	+	+	+	+	+	+

總言之,黴菌分泌之酵素,其主要者有三類:(1)澱粉水解酵素,如糖化酵素,麥芽糖酵素等,能分解澱粉為糖類;(2)蛋白質分解酵素,如胃液素、膵液素及腸液素等能分解蛋白質為各短縮氨酸,及氨基酸;(3)氧化酵素能氧化葡萄糖而為各種有機酸類,如:草酸、檸檬酸、葡萄糖酸(gluconic acid)、以及[illegible]酸([illegible] acid)等,甚或有能氧

化草酸，而為沒食子酸者。又有數種黴菌能分泌醣酵素，在含糖溶液中，可營酒精發酵作用，故在釀造工業上，多重視之。

第四節 黴菌之分類

自來學者對於黴菌之分類，頗不一致，且因其種類繁多，復有相似之處，欲得有系統而判然之分類，殊為不易，普通多按其菌絲體之構造而分為兩大類，復因其繁殖情形，以及孢子生成之性質，而分為四大門。列表如下：

第一類 營養菌絲不具隔膜者

A.藻狀菌門

I 卵菌族（oomycetes） 有性生殖，雌雄異體，生卵及孢子。

II 接合菌族(zygomycetes) 有性生殖，雌雄同體，生接合孢子。

第二類 營養菌絲具有隔膜者

B.子囊菌門(ascomycetes) 形成子囊，生子囊孢子，有性生殖，內生孢子。

I Plectomycetes 子囊排列不規則，不生保護組織，即生之亦甚不規則者，無一定裂口。

II 盤菌族（discomycetes） 子囊生於組織很規則之盤子器內。

III Pyrenomycetes 子囊生於很規則之殼子器內。

C.擔子菌門（basidiomycetes） 其柄形成擔子形，兩端裁齊

子孢子，爲有性生殖之菌類，生外生孢子。

I Hemibasidiomycetes 擔子孢子無定數者。

II Protobasidiomycetes 擔子孢子有定數者，常爲四個，擔子體(basidium)有隔膜。

III Autobasidiomycates 擔子孢子有定數，通常爲四個，但擔子體無隔膜。

D.不全菌門 (fungi imperfect) 無性孢子，其繁殖器官尚未明悉者。

此四門黴菌中之在發酵學上特關重要者，爲藻菌門中之接合菌族，及子囊門中之plectomycetes，其餘多屬次要或無關重要者，今將有關重要之二族，分述於後:

第一項 接合菌族

接合菌族因其繁殖器官無性孢子之構造不同，而復分爲二類:

(1) Entomophthorales 以分生孢子爲繁殖器官者。

(2) Mucorales 以孢子囊胞子(sporangiospores)繁殖者。

在此族內所言之分生胞子與子囊菌族內之眞正分生孢子截然不同，在顯微鏡下可以分出，此族之分生孢子呈孢子囊形，而僅含有一個孢子囊孢子，且具有多核，故有時特名之曰假孢子囊(sporangiola)又mucorales常能在孢子囊柄之末端，形成定形孢子囊，且其囊中有許多孢子囊孢子，至於entomophthorales之分生孢子，或假孢子囊，則在孢子囊柄之側面或橫支上生長。

Mucorales又因其能生孢子囊或能生分生孢子者，而分爲二部:

A.形成孢子囊者按蘭德雷(Lendner)氏之研究，分爲下列四類。

I Mucoraceae 其孢子囊僅有一種附有中軸體，其孢子囊之囊皮甚薄，極易破裂。

II Thamnidiaceae 其孢子囊有二種形式，一種形大者，生於孢子囊柄之頂端，附有中軸體，囊皮脆弱，融溶後，形成多數孢子；一種形小者，生於孢子囊柄端之側面上，無中軸體，囊皮甚堅，僅能形成少數孢子。

III Pilobolaceae 孢子囊囊皮甚堅，如在適宜情形，即營養佳良時，則由其底部溶解，致全部與中軸脫離。

IV Mortierellaceae 其孢子囊與(I)相似，但無中軸。

B.生成分生孢子者，分二類:

I Chaetocladiaçeae 其分生孢子爲單一細胞，生於分生孢子柄之尖端上。

II Cetphalidaceae 其分生孢子爲二個細胞或複細胞，並排列成鏈狀。

就上述諸類中，比較常見且較爲重要者，首推mucoraceae，在微生物中亦研究比較詳盡，此類中有若干種常稱爲麵包黴菌，因在食物、肥料、果實、以及澱粉食料等面上，常有大量存在故也。此類囊菌之構造特異，極易與他類區別，生大量無膈膜且甚疏鬆之菌絲，其菌絲通常爲白色或黑色，其孢子多呈黑色或棕褐色，故在古書內常將此類稱爲黴菌，而將不全菌類稱爲黴(milrdews)。

此類與他們中諸類不同之點，在能生接合孢子，此種孢子係由鄰近二細胞相溶合而成，前已述及，此孢子通常爲一大細胞，色黑，此

類已知之菌種甚多，今列舉其較重要者，於下：

A.孢子囊之囊壁極薄，易於破裂者。

I 在培養基面上，呈匍枝狀或根鬚狀而蔓延，孢子囊柄，即於此等匍狀枝上生長者。

a 孢子囊柄，生於匍狀枝之結節上，孢子囊爲圓形者：Rhizopus。

b 孢子囊柄生於匍狀枝之節間，孢子囊多呈梨形者：Absidia

II 無匍狀枝或假根枝形成者。

a 孢子囊柄單一或分枝，孢子囊生於孢子囊柄或其分枝之頂端上者，孢子囊全爲一種。

1.有中軸者：

甲、其菌絲體不呈單色或多刺狀者；

子、由等數結合體而形成接合孢子，通常爲同胎接合者：Mucor。

丑、由不等數結合體之異胎接合而形成接合孢子者：Zygorhynchus。

乙、其菌絲體呈棕色或多刺狀者：Spinellus。

2.無中軸者：Mortierella。

b 孢子囊有二種形式者：

1.一種形大而具中軸之孢子囊，及一種形小而不具中軸者：Thamnidium。

2.二種均具有中軸者：Dicranophora。

B.孢子囊之囊壁較厚，而以其頂端尤厚者：

I 孢子囊之下部具有薄壁而膨脹，而上部靠近頂端者壁厚：Pilaria。

II 孢子囊壁厚，外被黏液，其下端連接之孢子囊柄呈膨大形，在發育時，脹裂變形，極易使孢子囊與之脫離者：Pilobolus。

第二項 Plectomycetes

此族黴菌均有特異之色，故其分類多按其菌絲所具之色澤而行之。所有菌絲呈白色或淺色者，均歸 Mucedinaceae；所有菌絲呈暗色、烟色即黑色或棕色，褐色或橄欖色者，均歸 Dematiaceae。

A.菌絲體呈白色或淺色者：Mucedinaceae。

I 分生孢子爲單一細胞者：

a 分生孢子不生於分生孢子柄上定處者：

1.分生孢子不易與裂生子相分開者，且大多數均以裂生子繁殖者，其形態介於黴菌與酵母之間者：Oidium或Monilia。

2.在菌絲體之定處，如横側或尖端之各部，均能生成分生孢子者：Sporotrichum。

b 僅在分生孢子柄之頂端生成分生孢子者：

1.分生孢子呈零，而不成鏈形者：Trichodirma。

2.分生孢子呈鏈形者：

甲、分生孢子柄不生分枝，由一底細胞長起分生胞子，由分生孢子柄之頂端膨脹而生之小梗所形成者：

子、小梗較短且多：Aspergillus。

丑.小梗甚長且少: Citromyces。

乙、分生孢子柄之頂端分枝者:

子 分生孢子膜壁薄，在其底部無環或圈形者:
Penicillium。

丑、分生孢子膜壁厚，在其底部有環或圈形者:
Scopulariopsis

Ⅲ 分生孢子爲二個細胞所成者: Cephalothecium。

B.菌絲體呈暗色或烟色者: Dematiaceae。

Ⅰ 分生孢子爲單細胞者，在分生孢子柄之頂端生無數分枝，因而形成孢子之鏈狀分枝者: Hormodendrum。

Ⅱ 分生孢子爲二個細胞者，其餘與(Ⅰ)同: Cladosporium。

Ⅲ 分生孢子爲多數細胞者，呈壁磚狀之鏈形者: Alternaria。

第五節　根黴屬 (rhizopus)

第一項　一般之性狀

此屬分布於自然界甚廣，初生長時，狀似白棉，嗣因生長胞子囊，

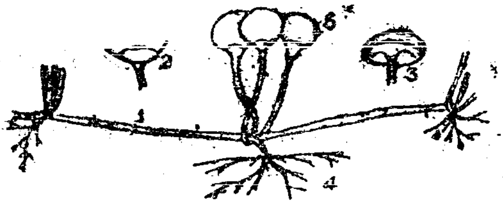


圖11　根黴繁殖之習性

1 假枝　2 中軸
3 中軸　4 假根
5 孢子囊

遂呈暗色，如圖14，其菌絲體深入培養基，當生成孢子時，此菌絲體生出細長如鬚狀之絲，俟此絲之尖端與某種固體物相接觸時，即由尖端發生一叢黑褐色短形毛狀物，名曰假根(rhizoids)，由假根復生假枝(stolon)，此假枝復與他處相接觸，而再生假根，每叢假根中生一叢孢子囊柄，孢子囊柄向空中生長，其頂端生黑棕色或黑色之孢子囊，孢子囊之軸體，多呈傘形。

此黴菌種在我國各地所產之酒麴中頗多，有發酵作用，與酵母同，然其作用比較緩慢，生產量不過3—5%。故其主要作用爲轉變澱粉爲糖，且有蛋白質分解力，其中所含最要之酵素，即糖化酵素，並能生產有機酸，以乳酸與反丁烯二酸爲較多，對於釀造工業上，用澱粉原料，如高粱玉蜀黍等製造酒類或酒精等，多應用之。

第二項 根黴屬之分類

(一)孢子不規則，呈角形、半圓形或卵圓形者：

A.孢子面有線紋者：

1 孢子囊柄直立者：

a 孢子囊柄叢生孢子大小在 4μ 以上者：

1.假根生長佳良者：

(甲)在馬鈴薯上，於 39°C. 下培養之，不發育者：

R: Nigricans,

(乙)在馬鈴薯上，於 39°C. 下培養之，能發育者：

(子)在37—39°C.下發育良好者：R. Oryzae。

(丑)在37—39°C.下發育不佳者：

(i)不能發酵蔗糖、棉實糖、二甘露糖、或土木香，而僅能發酵麴蜜糖者：R. Tonkinensis。

(ii)能發酵蔗糖、二甘露糖、棉實糖及土木香，而不能發酵麴蜜糖者：R. Japonicas。

(iii)孢子囊大小在 85—210μ，孢子大小為5—6μ，並常呈不規則之形者：R. Tritici。

2. 假根生長不佳者：

(甲)假根稀少，色淺且短，孢子卵圓形、或圓形，大小在 5—7μ，孢子囊柄無膨大部分者：R. Arrhizus。

(乙)假根稀少，孢子卵圓形，多角或呈不規則之多角形，大小6—9μ 胞子囊柄及其假根均有分枝者：R. Nodosus

b 孢子囊柄單生且短小，孢子大小在 4μ 以下：

1. 孢子囊柄長 0.5—0.8mm，孢子大小爲 4μ：R. Microsporus

2. 孢子囊柄長不超過 0.3 mm，孢子大小爲3μ：R. Minimus

Ⅲ 孢子囊柄不直立而彎曲者：

a 孢子囊柄叢生，高2—2.5 mm，孢子大小爲 8—10μ：R. Reflexus

b 孢子囊柄單生，高 0.2 mm，孢子大小爲5—6μ：R. Circinans

B.孢子面平滑者:

I 形成多數孢子，其大小爲 5—7 μ 孢子囊大小爲 70—80 μ 者: R. Chinensis。

II 形成少數孢子者，其大小爲 7—10 μ，孢子囊大小爲 180 μ 者: R. Oligosporuo

(二)孢子圓形無角，面平滑或有刺:

A.孢子面有刺，直徑爲 15 μ 者: R. Echinatus

B.孢子面平滑，直徑爲 5—7 μ，孢子囊大小爲 50—70 μ 者: R. Elegaus。

C.孢子面平滑，直徑爲 2—4 μ，胞子囊大小爲 90—140 μ 者: R. Speciosus。

第三項　根黴屬中重要菌種之性狀

(1) R. Nigricans 於麥芽、穀類及果實等面上，常見之。菌絲呈綠絹狀，蔓延於培養基面上，菌叢(turf)初爲白色或無色，後變褐色或黑褐色，在假根之一節端上生三條至十條之孢子囊柄，高約0.5—4 mm，成熟之孢子囊呈黑色，爲半圓形，其幅之大小約爲 100—350 μ，中軸亦爲半球形，老熟時，常向下翻落，孢子球形或卵圓形，有鈍角稜，呈灰青色，其接合孢子球形，面有刺，黑褐色，大小爲 160—200 μ，有時生厚芽子，在諸種廣含碳水化合物之植物性物質上，均能繁殖良好，發育温度以在 32—34°C之間爲佳，其最適温度爲 37°C，能分泌各種酵素，其酒精發酵力微弱，而能生產檸檬酸及順丁烯二酸等。

(2) R. Oryzae 由爪哇麴(razgi)中分離而得之，菌叢灰白色，乃至灰黑色，孢子囊大小爲 100—180 μ，中軸爲不整形，大小爲 80

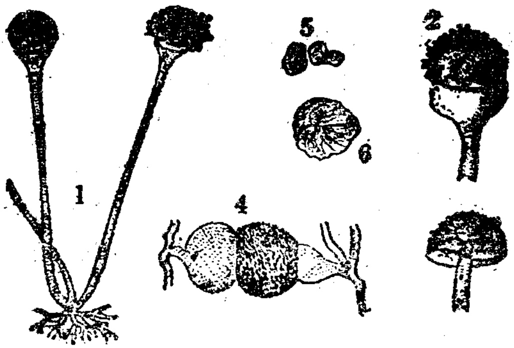


圖15 Rhizopus nigricans

1. 孢子囊柄 24/1, 2. 孢子囊 Ca. 40/1, 3. 中軸體 60/1,
4. 接合孢子 54/1, 5-6 孢子囊孢子 (5) 240/1, (6) 960/1,
(參考 Lafar 及 Klocker)

—120 μ, 孢子大小爲 5—8 μ, 生少數芽子, 不生接合孢子, 能發酵蔗糖, 發育適溫爲 37°C. 有發酵力與糖化力, 能生少量酒精, 順丁烯二酸及乳酸等。

(3) R. Japonicus 一名 Amylomyces-β, 初由日本產之米麹中分離得之, 糖化力甚強, 法阿等國以玉蜀黍製酒精時, 多用之。菌叢爲灰色乃至褐黑色, 培養於液體培養基上, 發生直立菌絲, 孢子囊柄之一部常膨大, 高約3—6 mm, 孢子囊有種種形式, 爲黑色, 直徑 160—215μ, 菌絲之近假根處或其分枝部均異常膨大, 呈棒形, 乃至球狀, 孢子囊柄卽於此處生長, 孢子在外觀上, 呈多角形或卵圓形, 面有條痕, 卽有無數纖細皺襞, 生於其面上。直徑 4×5 μ—8×12 μ, 大抵多爲 6×9 μ, 生厚膜孢子而不生接合孢子, 發育適溫爲 30° C. 有時在

36－38°C.時，亦能生長，在麥芽汁、米、馬鈴薯等普通之培養基上繁殖時，能產生多數芽子.對於蔗糖，棉子糖、二甘露糖.以及土木香等，均能發酵之.而對於滿蜜糖則不能發酵之，其生產酒精量達5%。

（4）R. Tonkinensis 一名 Amylomyces-γ，自酒麴中發見之，菌叢灰色乃至褐黑色，孢子囊有種種形式，大小爲75－100μ，孢子大小爲 8×5.65－6.5μ，發育適溫爲 36－38°C．僅能發酵蜜糖而不能發酵蔗糖、棉子糖，二甘露糖以及土木香等。

（5）R. Chinensis 初自紹興酒麴中分離得之.高粱酒麴中亦有存在.菌叢初爲白色，後變灰色乃至黑色.孢子囊柄有球形膨大部，高約1－4.5mm，通常二個或五個柄叢生於假根之節部分枝上，孢子囊爲球形，始爲白色，後變黑色，直徑50－80μ，其表面甚平滑，中軸呈球形或橢圓形乃至卵圓形或洋梨形，大小約爲30－37μ(23－40×20－55μ)，不作接合孢子，常生多數厚膜孢子，孢子卵圓形，表面平滑，大小爲 5－7 或 8×10μ，在菌絲上，並能生多數大小不同之芽子，發育適溫爲 30－40°C.對於蔗糖、二甘露糖、棉子糖等，均不能發酵，其澱粉液化力，則甚大，能生產酒精、芳香旨類，以及左旋乳酸等。

（6）R.Tritici 初由紹興酒麴中分出，菌叢初爲純白色，後變黃褐色，孢子囊柄有特異之膨大部，叢生於節部，至假枝則隨處散生，且分枝.高約0.5－1 mm，孢子囊老熟後，呈黑色球形，堅而脆，面有細刺，中軸呈球形或卵圓形，具有盤子器，孢子概爲球形，直徑爲5－6μ，其表面有條紋，發育適溫爲 30°－35°C.對於蒸米及麥芽汁等，繁殖甚佳。

（7）R. Olygosporus 我國酒麴中常見之，菌叢白色，附有小黑

點散布，孢子囊柄有膨大部，孢子囊球形黑色，直徑180μ，面呈粗糙，中軸球形，稍形扁平，直徑爲120×(100－120)μ，孢子卵圓形，大小爲7－10μ，能生芽子，假根甚少，發育適溫爲30－35° C．有精膠液化力，對於蔗糖不能發酵而能發酵二甘露糖及棉子糖等。

第六節　毛黴屬

第一項　一般性狀

此屬菌種之外觀呈毛狀，常爲單細胞所組成，不生假根或假枝，絲體呈分枝狀繁殖，其外壁無色，內部帶褐色，孢子囊柄呈多數叢生狀，有分枝亦有不分枝者，每枝頂端均附一孢子囊，孢子囊爲球形，其表面往往有草酸鈣晶體，呈細刺狀密布，中有中軸體形成，其形不一，有球形、卵圓形、梨形或長柱形等，孢子爲球形或橢圓形，面平滑，無色或淺色，生接合孢子，接合枝屈曲，且生芽子，在液體培養基內，其菌絲呈分節狀，生裂生孢子，具有發酵力。

此屬多發見於腐敗之動植物體上，卽如草食或肉食動物之糞上，繁殖亦甚旺．且有寄生於生活動物體內者．此屬中之各菌種，均有其特異之性狀，如孢子囊柄之分枝與否，高及厚若干，孢子囊直徑之大小，中軸體之直徑與厚薄及形狀，以及孢子之直徑形狀等，均可詳細記載，而易區別之，但在培養時，不易生接合孢子，故不可以此爲分類之根據，在分類上，其最要之特性，卽爲孢子囊柄之能否分枝，然在普通培養時，常呈不分枝狀態，故須用特殊培養手續，於凹玻片中培養之始可。

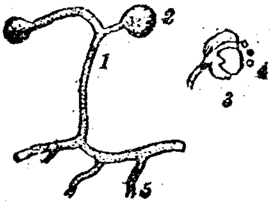


圖16 毛黴
1 分枝孢子囊柄
2 孢子囊
3 破裂孢子囊中之中軸體
4 孢子
5 菌絲

第二項 分類法

普通按其孢子囊柄分枝與否而分為三羣:

1. Monomucors 羣菌種不分枝者;

A.孢子囊柄初呈直立,後頹萎,而呈毛狀,具銹色: M. Rufescens。

B.孢子囊柄常常直立,而呈一菌叢:

1.孢子囊柄高不過2cm者:

a 孢子囊柄高不過300μ者:

1.在固體培養基上,菌叢極短小,呈天鵝絨樣,最初赤褐色,後呈灰色,孢子囊最大者,直徑20μ: M. Ramannianus。

2.菌叢短小,極難辨認,孢子囊柄為210μ,無色有隔,孢子囊直徑為40—45μ: M. Subtilissimus。

b 孢子囊柄高於0.5cm,最高2cm者:

1.孢子囊膜皮呈片狀剝落,殘留不規則之輪紋,孢子囊大小為36—42μ,孢子為橢圓形,大小為8×6μ,菌叢高1.5cm: M. Hygrophilus。

2.孢子囊膜皮亦剝落,孢子囊大者,為80—98μ,孢子為橢圓

形。大小為 8×5 μ： M. Adventitius。

3.同上中軸，呈橘紅色者： Var aurantiaca。

2 孢子囊柄，高於 2 cm者：

一 孢子中含有脂粒及原形質粒之混合物者： M. plasmaticus。

二 無脂粒於孢子囊中者：

1.孢子囊柄高約2－3cm：

甲、孢子囊直徑為 80 μ，中軸卵圓形，孢子大小為10×8 μ： M. Hiemalis

乙、孢子囊大者，為 250—350 μ 中軸較大為洋梨形，孢子大小為 5－13 μ ×6－12 μ： M. Piriformis。

2.孢子囊柄高於3 cm者：

甲、孢子囊膜極易溶碎，中軸大抵為黃色，孢子大小為 3－6 μ×6－12 μ： M. Mucedo。

乙、孢子膜溶碎較慢，中軸為無色，孢子很大約為 15 μ×30－33 μ： M. Muncilagineus。

(二) Racemomucors 羣菌種分枝而不規則者：

A.孢子囊柄呈輪生狀之分枝： M. Glomerula。

B.孢子囊柄呈葡萄狀，或呈繖房花形之分枝：

I 中軸呈半球形，其表面被以無色纖毛： M. Comatus。

II 中軸圓形或卵圓形者：

a 孢子囊柄最初直立狀，後頹萎呈彎曲狀： M. de Baryanus。

b 孢子囊柄常呈直立狀：

1.常生於此屬之他種毛黴上者： M. Parasiticus。

2.不寄生於他種上者:

甲、孢子囊柄有二種,一種爲帶有皮膜剝落之大形孢子囊;一種爲帶有皮膜不剝落之側生小形孢子囊: M. Agglomeratus。

乙、孢子囊柄僅有一種:

子、孢子大小極不等者:

(i)孢子囊柄高 0.5–1 cm,直立,孢子囊直徑 80–125μ,孢子圓形,或多角畸形,直徑4–15μ: M. Heterosporus。

(ii)孢子囊柄,普通高3–4 mm,最高1cm,在其中部,生大形厚膜孢子,孢子囊最大者 70μ,孢子卵圓形或半圓柱狀,大小2–6μ×6–8μ: M. Sylvaticus。

(iii)孢子囊柄高1 cm,孢子囊直徑40–54μ,囊膜呈片狀剝落: M. Lausannensis。

丑、孢子大小同等者:

(i)孢子囊膜不呈溶裂狀,而呈斷片剝落者:

(一)孢子圓形,直徑7μ: M. Corymbosus。

(二)孢子卵圓形:

α 孢子囊柄常不分枝,厚膜孢子表面有小突起,易形成單性接合孢子: M. Tenuis。

β 孢子囊膜分枝,厚膜孢子表面呈平滑,因單性或兩性之接合孢子均能形成: M. Racemosus。

(ii)孢子囊膜呈溶裂狀態者:

(一)孢子圓形,大小3—3.5μ; M. Pusillus,

(二)孢子卵圓形或長形者:

α.菌叢普通高過2cm,而達6—8cm者:

A.孢子囊柄高 6—7 cm, 孢子囊直徑 300—400μ,孢子大小7.5×17.5μ; M.Proliferus,

B.孢子囊柄高 6—8 cm, 孢子囊直徑 140—160μ, 孢子大小9—12μ×4.2μ; M.Flavus,

β.菌叢高不過 2cm 者:

A′中軸爽與孢子囊膜相固着,直徑100μ,孢子大小 4—2μ; M. mollis,

B′中軸獨立,或其底部稍呈扁平者:

a′孢子卵圓形 4.2×2.1μ,青灰色:
M. Frazilis,

b′孢子長形表面凸起大小不同,2—5μ×5-10μ:

(1′)孢子囊大大過80μ,常生接合孢子形呈特殊分枝: M. Genevensis,

(2′)孢子囊平均為80μ,亦有120μ者:
M. Erectus,

(丙)Cymomucor 羣菌種分枝而有規則者:

A.孢子囊有二種:一種直立帶一普通球形孢子囊;一種彎曲蔓延,分枝帶有洋梨形孢子囊: M. Pirelloides,

B. 孢子囊柄僅有一種:

I 孢子囊柄彎曲者:

a 孢子囊柄高1cm. 孢子卵形圓形大小 6μ:

1. 孢子囊膜棕褐色, 孢子 3–4μ×5–6μ: M. Circinelloides.

2. 孢子囊膜青黑色, 孢子 5–6μ×4μ: M. Griseo-cyaneus.

b 孢子囊柄高 1–2cm, 孢子圓形, 大小 10μ:

1. 孢子囊柄平鋪狀, 高僅0.5–2.0 cm, 孢子囊黑色, 幅約120–200μ, 孢子 10.5–14μ: M. Augariensis.

2. 孢子囊柄長者直立, 不甚彎曲, 其較短者, 有多數分枝, 並彎曲, 孢子囊幅約60–90μ, 孢子10–12μ: M. Lamprosporus

II 孢子囊柄直立不彎曲者:

a 孢子圓形且同大小者:

1. 膠上發育不良, 其面上菌叢高約 2–3mm, 孢子囊幅約50–70μ, 孢子 5–6μ: M. Jansseni.

2. 膠上發育佳良, 其面上菌叢高約1–3cm:

甲、中軸面有刺狀者:

子、孢子囊柄高約2 mm, 孢子囊幅約60–68μ, 孢子面平滑, 大小為 7–8μ: M. Spinescens.

丑、孢子囊柄高 1 cm, 孢子面不平滑, 大小 5–8μ: M. Plumbeus.

乙、中軸面平滑, 呈梨形或鈴形, 孢子囊幅約 75–120μ, 孢子大小為 4–8μ: M. globosus.

b 孢子卵圓形, 菌叢極短小:

1. 孢子囊膜呈斷片剝落：M. Brevipes。

2. 孢子囊膜呈溶裂狀態者：

甲、孢子長形有突起面，孢子囊黑色，幅約100 μ：M. Ambiguns。

乙、孢子球形，面平滑：

子、培養於麵包或膠上，呈黃色短小之毛狀菌叢：M. Rouxii。

丑、菌叢高1－3cm孢子囊柄分枝：

(i)孢子囊幅約35－70 μ，孢子大小8×6 μ－8－10μ，菌絲能生黃色素發育微弱：M. Prainii。

(ii)孢子囊幅約18－60μ，孢子大小3×4μ，或4－5μ，M. Mandshuricus。

(iii)孢子囊幅約 50 μ。其囊膜不溶裂，孢子多爲卵圓形，大小爲 5－7 μ×4－5 μ：M. Javanicus。

第三項 毛黴屬中重要菌種之性狀

(1)M. Mucedo 爲此屬中之最熟知者，菌叢爲灰白色至褐色，孢子囊柄高2—15 cm，其頂端直徑爲 200 μ，孢子囊球形，橙黃色，暗褐乃至黑色，有刺面，幅約100－200μ，中軸凸起，呈圓柱形，無色，大約120μ，孢子橢圓，面平滑，大小 12－18×6－7μ，生接合孢子，爲雌雄異體，色黑，有刺面，大小90－250μ，不生芽子，發育適溫在30°C以下，能分解蛋白質及油脂等，而精膠液化，酒精發酵等作用，則極微弱，常繁生於肉類，麵包及其他蔬菜，果實等上。對於醬麹及製革工

業上，認爲有害菌，無任何價值。

（2）M.Hiemalis 菌叢雪白色，非薄狀，孢子囊柄高約1－2cm，孢子囊卵圓形或圓形，大小約28－48μ，孢子長圓或豆形，大小約7×3.2μ，生接合孢子，爲雌雄異體，色黑球形，面粗糙，發育適溫在30°C，能發酵葡萄糖而不能發酵蔗糖，在蔗莖或其他腐敗纖維上，多見之。

（3）M.Piriformis 菌叢灰白色孢子囊柄不分枝，高約1－3cm，胞子囊色褐黑，面平滑，幅約400μ，中軸爲洋梨狀，卵圓或圓形，大小爲80×65μ，孢子橢圓形，生芽子，發育適溫在30°C以下，能生產檸檬酸，且能生酯類香味，常繁生於腐敗果實上。

（4）M. Racemosus 菌叢綠白色，孢子囊柄直立，高約0.5－4cm，能生分枝，孢子囊色黃褐或黃色，面平滑，爲圓形，幅約50μ。中軸卵圓形，無色，面平滑，大小約22×7μ，孢子橢圓，或不正形，面平滑，無色，大小爲6×4.2μ。接合孢子爲黑褐色球形，面有刺，大小約70－80μ，發育適溫在20°－25°C之間，在食糖溶液內，其菌絲能生分節芽子，能轉化蔗糖，具有強發酵力，能產生70%酒精，在植物性腐敗有機物質上繁殖甚旺，爲分泌轉化酵素之佳良菌種，

（5）M.Erectus 其菌叢與孢子囊柄等性狀，與前種殆同，唯其孢子囊爲灰黃色，圓形，面色粗糙，大小約80μ。中軸爲無色球形，大小爲20－65μ。孢子爲橢圓或扁圓形，黑色，大小爲2.5－5×5－10μ。接合孢子爲球形，稍帶赤色，大小爲40－65μ，亦生單性孢子，在麵包馬鈴薯上，均易見之。

（6）M. Corymbifer 菌叢直立，孢子囊柄，葡匐分枝，孢子囊爲無色，梨形，幅約10－70μ，孢子甚小，爲橢圓形，大小爲3×2μ，發

育適溫爲37°C。

（7）M. spinosus 中軸體上有不規則之刺狀突起面，生厚膜孢子及裂生子，在葡萄糖液中，能行酒精發酵。

（8）M. Circinelloides 孢子囊柄短小，分枝且叢生。孢子囊球形，中軸體亦爲球形，面平滑。孢子球形或橢圓形，接合孢子爲赤褐色，面呈棘皮狀，能生芽子，在葡萄糖液中，酒精發酵力較微弱，然能分泌糖化酵素，故能發酵蔗糖。

（9）M. Rouxii 即 M. Rouxianus，又名 Amylomyces-α，初由中國麴中發見之，在從前用古法製造酒精時，此菌極爲重視，其菌叢爲黃色，孢子囊柄高約 1 cm 左右，有假軸狀分枝，孢子囊爲球形，色黃而透明，直徑爲50μ，面平滑，中軸球形，面平滑，大小爲20×23μ，孢子爲無色平滑橢圓形，大小爲5×2.5μ，不作接合孢子，能生芽子，在中國麴中者，卽呈芽子狀存在。發育適溫在30°－40°C.之間，在適宜培養液內，其芽子發育而成菌絲，本種能分泌有力之糖化酵素，近時歐洲發酵工業上廣用之，並具有發酵性，復能生產草酸等，故爲優良菌種之一。

（10）M. Mandschuricus 初由中國麴中分離而得，在蒸米上培養時，其孢子囊柄高約 3 cm，呈假軸狀分枝，初呈直立，後則上半部呈彎曲而垂折，孢子囊爲灰褐色，球形，直徑爲18－60μ，孢子囊膜呈滲裂狀態，老熟之中軸爲卵圓形，或梨形，面平滑，孢子爲無色，卵圓形，大小約3－4μ，或球形，大小約4－5μ，在含糖培養液中，易生芽子，能發酵葡萄糖、果糖、麥芽糖，而不能發酵蔗糖或乳糖。發育適溫在29°－30°C.之間，不能生接合孢子。

(11) M. Javanicus 為由爪哇麴中分離而得之一新種，中國麴中亦有存在，在形態上與前述之 circinelloidés 極相似，菌叢初為鼠灰色，後為黃褐色，孢子囊柄高約1Cm，呈假軸狀分枝，孢子囊球形，直徑為50－20μ，無色，有時呈黃色，乃至黃褐色，面平滑，有少數刺，中軸球形，面平滑，大小約 10－35 μ，孢子球形或橢圓形，無色，面滑，大小約 5－7×4－5 μ，在培養液中生芽子，且能培養至五年之久，仍不失其發芽力，發育適溫為 37°C。在葡萄糖液內，能營酒精發酵，至能否分泌糖化酵素，則尚未確定。

第七節 麴菌屬

第一項 一般之性狀

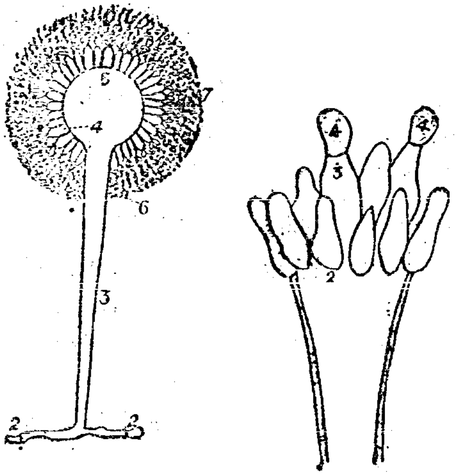


圖 麴菌屬

A 麴菌屬之頂孢子囊及柄
1. 足細胞
2. 生長細胞
3. 孢子囊柄
4. 第一小梗
5. 頂囊
6. 第二小梗
7. 分生子

B 麴菌屬之頂附有單層小梗者
1. 孢子囊柄
2. 頂囊之表面
3. 小梗
4. 發育中之分生子

此屬爲最常見者，生長於腐敗植物，如發黴之玉蜀黍穀類及麵包等之上，常具微綠色、黃色、橘黃色、黑色或棕色之菌叢，外觀上，或爲絨狀或爲粉狀，其菌絲匍匐分枝，且具隔膜．其孢子囊柄直立狀而分枝，概無隔膜，其下端菌絲細胞稱爲足細胞(foot cell)，其頂端呈球狀膨大，稱爲頂囊，頂囊之表面，環生多數小瓶形體，稱爲小梗，各小梗之末端，順次羅列呈串球形或鎖鏈形，此小梗如能分枝者，則由其分枝之尖端，生成孢子，如不能分枝者，則逕自小梗之頂端生成孢子．其孢子之形成，有向四圍輻射者，有相接呈錬形而向上發育者，有呈羽毛狀者，有少數菌種尙能生被子器，又有二三種能生菌核，正在培養情形下，並能生芽子。

第二項 麴菌屬之分類

此屬菌種之分類，可按其分生孢子，分生孢子柄之特異性狀，而分別之，即其分生孢子柄之分枝與否，其尖端頂囊上所附之小梗分枝與否，分生孢子排列狀態，以及其所呈之色澤等。

A.分生孢子白色，或淺白色：

I 小梗不分枝者，分生孢子柄爲無色，其頂囊呈球狀：A.Candidus。

II 小梗分枝者：A. Albus.

B.分生孢子有深色者：

I 分生孢子綠色、灰色、靑色、或黃綠色者：

a 小梗不分枝者：

1.易形成被子器，其分生孢子柄面平滑者：

甲、被子器顯明，且呈黃色，頂囊爲瓶形、或球形，其分生無，

子常爲長圓形，大小超過4μ者：A. Glaucus。

乙、被子器不顯明者：

子、分生孢子柄尖端稍平滑，呈圓棒形，頂囊爲圓筒形，小梗在其周圍環生者：A. Clavatus。

丑、分子孢子柄之尖端爲半圓形，頂囊瓶形或球形，小梗僅在其頂端生長者，分生胞子常爲圓形球者：

A. Fumigatus。

2.不生被子器者：

甲、分生孢子柄端很大，且呈延長 80—100×500—800μ：

A. Giganteus。

乙、分生孢子柄端很小。且呈圓形或半圓形：

子、分生孢子柄面粗糙，且具多角形：

(i)分生孢子柄高約0.5—0.7mm×7—10mm：

A. Flavus。

(ii)分生孢子柄高約1—2.5mm×10—25mm：

A. Gymnosardae。

丑、分生孢子柄面平滑者：

(i)分生孢子面亦平滑，大小爲6—7μ：A. Oryzae。

(ii)分生孢子面呈粗糙，大小爲4—5μ：A. Luchuensis。

B. 小梗分枝者：

1.菌絲體呈疏鬆褐色，分生孢子頂皮爲青綠綠，或黃綠色者：

A. Versicolor。

2.絲狀體之呈疏鬆狀者：

甲、分生孢子柄尖端呈圓棒形，在其周圍及其頂端均生小梗者：A. Pseudoclavatus。

乙、分生孢子柄尖端呈半圓形，小梗僅在其頂端生長者：A. Nidulaus。

II 分生孢子爲黑色，或暗棕色，或深褐色者：

a 小梗不分枝者：A. Calyptratus。

b 小梗分枝者，分生孢子頂皮爲棕或黑色者：A. Niger。

III分生孢子爲黃褐色、黃色、棕色或微紅色者：

a 小梗不分枝，分生孢子爲咖啡紅色者：A. Wentii。

b 小梗分枝者，分生孢子爲黃褐色：A. Ochraceus。

第三項　麴菌屬中重要菌種之性狀

（1）A. Glaucus. 菌叢初爲青綠色，後變暗綠色，乃至褐色，分生孢子柄高約 1—2 mm，頂囊球形或瓶狀，大小約60μ，小梗不分枝，大小約 10—14×5—7μ，分生孢子爲球形或橢圓形，面平滑或有刺，大小爲7—10，9—15×5—7μ，易生黃色被子器，大小爲 100—250μ，其子囊大小爲 18—20μ，孢子大小爲 9×6 μ，發育溫度在 15—20°C. 之間，能分泌糖化酵素及蛋白質分解酵素，但量不多，能分解葡萄糖、蔗糖及纖維素等，而產生各種有機酸及色素等。

（2）A. Fumigatus 菌叢爲青綠色，分生孢子柄高約 0.1—0.3mm×5—6mm，頂囊爲瓶子形，大小爲10—20μ，小梗6—15×3μ，分生孢子爲球形，面平滑，初色青綠，後變褐色，大小爲 2—3μ，發育適溫爲 37°C. 廣存於植物質上。

（3）A. Flavus 菌叢爲黃綠色或黃色，分生孢子柄高約0.5—0.7 mm，其膜壁有細刺，頂囊球形乃至瓶形，大小約30—40μ，小梗分枝，大小約20×6μ，分生孢子爲球形，面平滑或附有細小突起，大小約5—6（4—8）μ，分生孢子團，初呈黃色，後呈黃綠色，能形成菌核，表面凹凸不平，呈黑色，內部呈赤黃色。

（4）A. Oryzae 菌叢黃綠色，亦有初由黃色後變褐色者，分生孢子柄高約1—3mm，輻寬10—30μ，膜壁厚而平滑，帶有少許細刺，頂囊球形或瓶子形，大小約50—80μ，小梗爲圓筒形或瓶子形而分枝，大小約12—20×5—7μ，分生孢子團塊始爲黃色，後變黃綠色或黃褐色，不生被子器，而有時能生菌核，發育適溫爲37°C. 在室溫時，發育緩慢，在含澱粉固形培養基上，繁殖旺盛，菌絲初爲雪白，後漸變黃褐色。

此種能分泌強力酵素，據奇爾諾氏之研究，此酵素能將澱粉、糊精、二甘露糖、蔗糖以及麥芽糖等分解，依古在由直氏之實驗，溶媒中酒精之含量，對於酵素分解作用之影響，有如下表：

酒精含量	0	2%	6%	10%	20%	32%
酵素分解力	100	82	70	50	20	0

此種卽普通所謂之麴菌，在酒麴及醬麴中，均有大量存在，我國酒精及醬油之製造，以及日本淸酒之製造等，均利用之，其酵素之分泌種類甚多，如糖化酵素、麥芽糖酵素、轉化酵素、纖維酵素、酵液素、解脂素等，而以蛋白質分解酵素及糖化酵素之分泌產量爲最多，且其作用力亦甚大，爲優良菌種之一。

（5）A. Pseudoclavatus 菌叢爲黃綠色，分生孢子柄長3—

5mm，頂囊爲細長瓶子形，大小約260—300×60—70μ，小梗分枝長者爲8—9μ，短者爲2.5—4μ，分生孢子橢圓形，面平滑，大小爲3.7×2.7μ，生被子器，大小爲60—70μ，發育適溫在25°C。在培養釀母時，常混合存在。

（6）A. Nidulans 菌叢爲黃綠色，分生孢子柄高0.6—0.8mm，頂囊呈倒立圓錐形或瓶形，大小約15—20μ，小梗分枝，分生孢子球形，面平滑，或有粒狀體，直徑爲3μ，被子器球形，直徑0.2—0.3mm，子囊爲10—11μ，孢子大小爲5×4μ，發育適溫爲37°C。

（7）A. Niger 菌叢黑褐色，分生孢子柄高1—1.5mm，幅15—18μ，頂囊瓶子形，大小爲80μ，小梗分枝，分生胞子球形，面平滑，有小突起，大小爲5μ，黑色或黑褐色，生菌核，球形，表面凸凹，黃褐色或赤褐色，內部淡黃色，大小爲1—3mm，發育適溫爲37°C。喜生於溼潤之植物質上，亦有寄生動物體上者，能分泌氰糖酵素、鞣酸酵素、糖化酵素、麥芽糖酵素及轉化酵素等，爲產生草酸、檸檬酸及沒食子酸等之著名菌。

（8）A.Wentii 菌叢初爲雪白，後爲黃褐，終變咖啡色。分生孢子柄叢生，高3—4mm，幅17—30μ，其膜壁厚而平滑，其頂囊球形，大小約75—90μ，小梗呈放射狀生殖，大小約15×4μ，分生孢子呈串球狀生長，球形，面平滑，有小突起，大小約4.2—5.6μ，其分生孢子團塊呈咖啡褐色，或至褐色，無被子器，發育適溫爲37°C。

此菌爲爪哇醬油釀造之主要菌，將煮熟大豆冷却爆乾於日光下，少時後，以木槿屬（hibiscus）菩提樹科（tiliaceus）之葉被覆之，經若干日後，即有此菌種發生，能分泌糖化酵素，其蛋白質分解力及液化

力均甚大，培養於麥芽汁中，能生產葡萄糖酸、順丁烯二酸及檸檬酸等。

（9）A.Ochraceus 菌叢為赤土色，分生孢子柄，高約3mm，幅7—15μ，頂囊為球形，小梗瓶形，分枝，分生孢子球形，面有細小突起，大小約3.5—5μ，生菌核，大小約500μ，常生於麵包及其他溼潤植物質上。

第八節 檸黴屬 (citromyces)

本屬菌叢初呈綠色，老熟時，則呈灰褐色，頂囊球形或棍棒狀，其表面生筆狀小梗，分生孢子由小梗之頂端順次連生，呈串球狀，有能氧化葡萄糖而生檸檬酸之特性。

1. C. Pfefferianus 菌叢初呈綠色，絨毛狀，老熟時，變為灰綠色，陳久培養，則變為灰色或綠色，易繁殖於砂糖液，及各種果實，如檸檬等汁液中，分生孢子柄無色，高70μ，幅3μ，頂囊球形，大小約4—8μ，其表面有擂木狀小梗，排列很規則。分生孢子球形，直徑2.3—2.8μ，面平滑，無被子器產生，能分解糖分而產生檸檬酸。

2. C. Glaber 此種與前種極相似，惟較小，菌絲叢生，暗綠色，表面平滑，分生孢子柄高15μ，其頂囊、小梗、ν分生孢子等，均與前種相同，在蒸米上培養之，則生黃色素而着色，亦營檸檬酸之發酵作用。

第九節 青黴屬

第一項 一般之性狀

此屬菌叢常呈灰綠色或青綠色，有時亦有呈灰白色、黃褐色，甚至赤褐色等，然甚少，與前述之麴菌屬頗多相似之處，惟小梗之生成

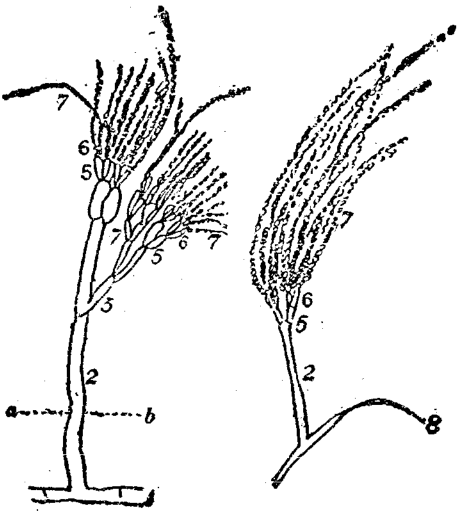


圖18 青黴屬

b 培養基之平面
1 嫌氣菌絲(深入)
2 分生子柄
3 分枝
4 再分枝
5 第二分枝
6 小梗
7 分生子
8 好氣菌絲

情形稍異，係直立，於分生孢子柄之頂端作帚狀分枝，其分枝之數在二與十四之間，於最末次分枝之頂端，生成相結連呈鍊形，或呈半球形之分生孢子，俟達相當之長度，其分生孢子鍊卽斷離而脫落。此屬在空氣中，土壤及穀物上，分布頗廣，其他腐敗植物，以及橘、檸檬、麵包及果子醬等，均有繁殖之。在低溫度下，於微量之營養物上卽能發育，歐美各國製造牛酪時，多利用之，可使牛酪生成特有之香味，且可以促其易於成熟。

第二項 青黴屬菌種之分類

2.青黴屬中各菌種頗難檢別，因同一菌種，如培於不同之培養基內，其外觀上即往往不同，今爲便利起見，特以於10%白明膠與3%蔗糖之培養基內培養後，按其液化之情形及菌絲生長之狀態，分類如下：

A.菌絲直立：

I 菌絲高約3—10mm者：

a 分生孢子在分生孢子柄之頂端生長，呈橄欖綠色者：

P. Claviforme。

b 分生孢子在菌絲之上部約三分之一處生長，呈綠色者：

P. Duclauxii。

II 菌絲短小而堅硬；密生，菌叢底呈橙色： P. Glaucum,

B.培養時菌絲發育不良，且稀少：

I 常生子囊塊狀菌核：

a 菌核呈黃色至赤色者：P. Luteum,

b 菌核經陳久培養，而呈白色：P. Italicum,

II 菌絲較多：

a 膠液化速，5—12日，即可有多量液體：

甲、有氨臭味者，其分生孢子表面呈黃褐色，且帶刺面：

P. Brevicaule。

乙、有氨臭味者，其液化膠呈黃色者：

子、菌叢小，分生孢子柄高約200—300μ：P.Chrysogenum,

丑、菌叢大，分生胞子柄高約200—300μ: P.Chrysegenum。

b 膠液化慢，在10—12日以後，始能開始液化者:

甲、菌叢不呈綠色者.

子、菌叢呈黃褐色，分生孢子橢圓形: P. Divaricatum。

丑、菌叢白色，或淡紅色，膠液化最慢: P. Lilacinum。

乙、菌叢呈綠色者:

子、菌叢底通常呈赤色，培養基亦變赤色，而分生孢子呈暗綠色: P. Funiculosum。

丑、表面菌絲呈雲絮狀:

(i)菌叢灰綠色菌絲較長，無臭味發生: P.Camenikerti。

(ii)菌叢灰綠色，菌絲較短，有強烈臭味發生:

P. Biforme。

寅、菌叢呈粗毛狀，分生孢子呈柱狀面平滑:

(i)菌叢綠色，面大，分生孢子球形，直徑爲4—5μ:

P. Roqueforti。

(ii)菌叢綠色，面小，分生孢子橢圓形，其培養基呈濃紅色變: P. Purpurogenum。

第三項 青黴屬中重要菌種之性狀

(1) P.Glaucum 本種爲青黴屬中之最普通者，菌絲體初爲白色，直立，後變爲青色或綠色，分生孢子柄呈輪狀分枝，小梗之末端，再生分孢子，分生孢子爲球形，直徑2.5—4μ，面平滑，內容脂肪性物甚多，水難浸潤，分生孢子團塊呈淡綠色或青綠色，據布累非爾特

(Brefeld) 氏之研究，其被子器形成時，先一部菌絲呈螺旋狀，後漸漸緻密包圍之，其內部有時析出草酸鈣晶體，後漸生子囊，子囊孢子常爲八個，呈黃色，橢圓形，長5—9μ，幅7μ，發育適溫爲 25°C. 然溫度高至 40°C. 時，亦能發育，其孢子對熱之抵抗力極強，能達111°—121°C. 在百分之十硫酸銅溶液內，仍不失其生活力，故在實驗室中，往往藥品溶液中，有白色絮狀物之形成，卽爲此菌種繁殖所致。

此菌種能分泌糖化酵素、轉化酵素、氯醣酵素及解脂酵素等，對膠之液化力頗強，能生產蓚草酸及酒精等。

（2） P. Luteum 菌叢綠色，小梗形長而端尖，分生孢子卵圓形，面平滑，能生被子器，發育適溫爲37°C. 能生產葡萄酸。

（3） P. Italicum 與前述(1)相似，惟分生孢子爲橢圓形，大小爲 2.3× (3—5) μ，菌叢青綠色，有時因環境之變遷而呈白色，常於橘或檸檬上見之。初由意大利產橘內分離而得，故名，在含砷酸之培養基上培養之，能分解而生砷化氫之蒜臭，故檢查亞砷酸時多用之。

（4）P. Camemberti 菌叢青綠色或灰白色，分生孢子球形，或卵形，面平滑，不生被子器或菌核，對於白明膠有溶解性，爲製造乳酪時之主要菌種。

（5）P. Roquefortii 菌叢深綠色至汚褐色，分生孢子爲青綠色，球形，面平滑，直徑爲4—5μ，不生被子器與菌核，其他性質與前述(1)相似，僅其分生孢子較大，並能分解乾酪素而生特異之香味，故在乳酪製造上，亦爲重要之菌種。

第三章 細菌

第一節　一般之性狀

細菌 (bacteria)亦稱分裂菌(fission fungi),種類甚多,其性質亦各異,在發酵工業上,有害之細菌為數甚多,而有益及可應用之細菌,亦不在少數。

第一項　形態

(1) 形狀

細菌之形狀,大別有三:一球狀菌(cocci);二桿狀菌(baccillen);三螺狀菌 (spirilli)。但有時因環境之不適宜,致有種種變形之細胞。

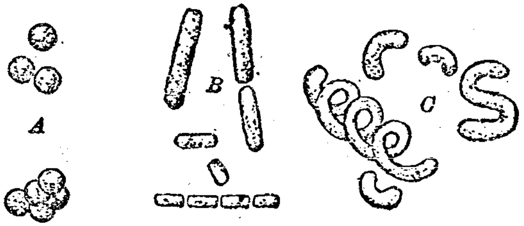


圖19　細菌之形狀

A　球狀菌　　B　桿狀菌　　C　螺狀菌

1.球狀菌　菌細胞分裂後,單獨存在,呈正圓形者,單球菌mono-cocci,兩個相連者,稱重球菌 (diplococci),數個相連成一線者,稱串球菌(streptcoccci),數個集聚一處,而無規則且其細菌大小不一者,稱葡萄球菌 .(staphylococci),四個相連呈田字形者,稱四聯球菌(tetmcocci),八個相連呈一立體形者,稱八聯球菌(sarcina)。

2.桿狀菌 兩端鈍闊，長較寬爲二倍以上者，稱長桿菌（long rods），兩端銳圓，長寬相似者，稱短桿菌(short rods)。

3.螺狀菌 菌體短而彎曲如句逗狀者，稱短螺菌(vibrio)，菌體長而呈螺旋狀者，稱長螺菌(spirillum)。

2. 變 態

細菌之形狀，本有一定，然因外界之影響，如培養之久暫，養料之供給，温度之高低，以及細菌生成物之多寡等，而將原形變態，如原爲直長，而變彎曲，或原豐滿而變缺陷，是曰退縮變形 (involution form)；有原爲單體而變生小枝或原爲單體而變分叉，是曰歧出變形 (branch form)。

圖29 細菌之變態

a 未變形前之細胞　　b 已變形後之細胞

第二項 構造

內容物 細胞之外皮爲一種近似木質纖維，富有彈力之薄膜，其內容物種類甚多，大別之爲原形質、核及顆粒等。

1.原形質 係一種較濃厚之漿液，通常無色。

2.核　核之有無，言人人殊，卽有之，其位置亦不一定。

3.顆粒　有種種，如染色粒、肝醣粒、澱粉粒、脂肪粒以及硫磺粒等。

此外尙有空胞，然不一致，以及含氮之物質等。

(2) 器 官

1.器官　包裹菌體之一種皮膜，稱爲菌囊(capsule)，係由膠質或黏液質所成，返光甚強，不易着色，每菌囊內所藏之菌體數目不一，有二，四，八，十等，總之，其個數皆爲偶數。

2.鞭毛(flagella)　鞭毛爲細菌唯一之運動器官，自其體之細胞外皮生長而出，而生長之處，有在其體之一端或兩端者，曰極生(polar)；有在其四周任何處生長者，曰緣生(peripheral)，其形似極細之彎曲絲狀或波紋狀，其長約0.5u。

3.孢子　孢子形狀有二：卽圓形及橢圓形，無色而有光輝，爲由被膜與原形質而成，其大小因菌種而異，能抵抗高熱及乾燥，故在環境不良時，多見之。

第三項　生理

(1) 營 養

細菌體之成分，以水分最多，占約85.45%，餘者均爲固形分，固形分爲蛋白質、脂肪，以及無機物之鉀，鈉，鈣，鎂，矽，磷等；其營養之要素，不外碳、氧、氮、鹽類及水分等，與前章所述之釀母等極相似。唯所需之氮素，以蛋白質及醯胺供給者爲適宜，且有能自空氣中攝取二氧化碳，以組成有機化合物，攝取氮素以爲養料者，對於氧氣之

供給，亦因菌種而異，有在無氧存在之情況下，始能發育者，稱厭氣菌（anaerobe）；有在氧存在情況之下，始能發育者，稱好氣菌（aerobe）。尚有無論氧氣之有無存在，均能發育者。

（2）繁 殖

細菌之繁殖可概分為分裂繁殖與孢子形成。

1.分裂繁殖　又分一方分裂，二方分裂，及三方分裂等，一方分裂者，即由菌體延長，繼生橫隔，終至分裂為二。二方分裂者，由一個菌體，一次分裂而為四個者。三方分裂者為由一個菌體一次分裂而為八個者。其分裂之狀態及分裂之速度等，均因菌種而不同。

2.孢子形成　亦細菌繁殖之一法，因生理障害或營養不良而生孢子，以抵抗外界不良環境，在孢子形成時，其分裂即停止，運動亦停止，其體之光澤漸次消失，體內生一個或數個明亮小粒，後變生孢子。其位置多在菌體之中央，其形狀概為橢圓形；對於光線之屈折力甚強，其內容物質甚均勻，概為蛋白質，含水分甚少，能抵抗高熱，如遇優良環境時，其體即漸漸膨大而失其原有之特別光澤，破裂其周圍細胞膜之一部，或軟化胞膜之全部而發芽，後發育成為細菌。

3. 發酵作用

因細菌分泌之酵素種類繁多，其作用亦異，祇就發酵作用言之，其主要者，有醋酸發酵、酪酸發酵、乳酸發酵、酒精發酵、黏液發酵，以及氨發酵等六種：

1.醋酸發酵　係由酒精經醋酸菌（acetic bacteria）所分泌之酵素作用，而氧化為醋酸之發酵，其化學變化如下：

$$C_2H_5OH + O_2 \longrightarrow CH_3COOH + H_2O,$$

2.酪酸發酵　爲由各種糖類及澱粉等,經細菌分泌之酵素作用,而分解所生之現象,例如飯食、菓品以及肉類等之惡變而生酸性臭味者,均屬此類發酵作用,營此種發酵作用之細菌,稱爲酪酸菌(butyric bacteria),其化學變化如下:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + H_2$$

3.乳酸發酵　係由乳糖、蔗糖及葡萄糖等變化而成,於牛乳中最爲顯著,放置新鮮牛乳,經相當時間,則生酸味,卽因其中乳糖經細菌之發酵作用分解,而形成乳酸之故,營此種作用之細菌,稱爲乳酸菌(lactic bacteria),其化學反應如下:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \longrightarrow 4C_3H_6O_3$$

4.酒精發酵　由糖類分解,而生酒精之發酵,通常易見之,其化學變化如下:

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

5.黏液發酵　爲由糖類分解而成,普通如各種食物在夏日或溫度較高之情形下,靜置若干時後,因黏液菌(mucous bacteria)之發酵作用,致將糖分分解,於食物與盛具之間,有黏液產生,其化學變化如下:

$$2C_6H_{12}O_6 \longrightarrow C_{12}H_{20}O_{10} + 2H_2O$$

6.氨發酵　爲各種有機物分解而起,最著者爲尿素分解而生氨,作用於此種反應之細菌,稱尿素菌(urea bacteria),其化學變化如下:

$$CO(NH_2)_2 + 2H_2O \longrightarrow (NH_4)_2CO_3$$

$$(NH_4)_2CO_3 \longrightarrow 2NH_3 + H_2O + CO_2$$

第二節 細菌之分類

細菌之分類，頗不一致，完全而有系統之分類，現尚未有。普通多按細菌之形態上特徵而分類，亦有按其生理性質而分類者，今爲便利起見，特按工業上之用途，而分爲醋酸菌、乳酸菌、酪酸菌及粘液菌四大類。

第一項 醋酸菌類

A.能生皮膜，以碘液染之，即呈青色者：

I 液體混濁，細胞各個獨立：Bacterium Kützingianum。

II 液體透明，細胞呈連鎖狀者：B. Pasteurianum。

B.能生皮膜，以碘液及硫酸染之，始呈青色者：

I 皮膜甚厚，如革質，液體不混濁，細胞無運動性：

a 能使麥芽糖酸變，於麥芽汁瓊脂（agar-agar）培基上，生無色透明黏質，雜以黃褐色小塊：B. Xylinoides。

b 麥芽糖不能酸變，於麥芽汁瓊脂培基上，生乾燥鮮褐色塊狀：B. Xylinum。

II 皮膜甚薄，稍呈固結，液體混濁，細胞有運動性：B. Acetigenum，

C.皮膜以碘液染之，不呈青色，即再以硫酸媒染之，亦不呈青色者：

I 細胞有運動性者：

a 皮膜甚薄能攀瓶壁而上昇：

1.能使麥芽糖酸變，細胞常有一端膨大，且生側枝：B. Oxydans，

2.不能使麥芽糖酸變、細胞雖有一端膨大而不生側枝，即生之亦甚少：Termobacterium aceti。

b 皮膜甚厚，有黏性，沿瓶壁生有皺紋：B. Industrium。

II 細胞無運動性者：

a 能使麥芽糖酸變者：

1.液體混濁：B. Vini acetati。

2.液體不混濁：

甲、皮膜不固結而易破碎：B. Schützenbachi。

乙、皮膜固結而厚，如革質：B. Orleanense。

b 不能使麥芽糖酸變者：

1.液體混濁：

甲、不生色素者：B. Acetosum。

乙、生呈色素者：B. Hoshigaki var rosea。

2.液體稍混濁：

甲、皮膜能攀瓶壁上昇者：B. Asceadens。

乙、皮膜不能攀瓶壁上昇者：

子、皮膜有粘性，且具斑紋，細胞一端膨大，且具側枝：B. Aceti。

丑、皮膜易碎者：B. Curvum。

第二項 乳酸菌類

A.細胞呈短桿狀者：

I 在膠中生成直桿形，在懸滴培養時，呈稍彎曲：

a 醪中發育有氣體發生者: Bacillus aderholdi

b 醪中發育無氣體發生者:

1. 不能酸變乳糖，亦不能凝固牛乳者: B. Delbrücki。

2. 能酸變乳糖亦能凝固牛乳者:

甲、在瓊脂培基中，行刺穿培養時，其菌細胞沿穿刺線發育旺盛: B. Lactic acidi,

乙、在瓊脂培基中，行穿刺培養時，其菌細胞沿穿刺線之兩側發育，呈樹枝狀之分枝者: B. Bulgaricus。

II 醪中常生彎曲桿形:

a 不能酸變蔗糖者: B. Lindneri,

b 能酸變蔗糖者:

1. 能酸變乳糖者: Saccharc bacillus Pas'orianus.

2. 不能酸變乳糖者(爲上之變種): Borolinensis.

III 醪中及懸滴培養，均呈短型連鎖桿狀:

a 醪中發酵生呈氣體者:

1. 能酸變乳糖者:

甲、生酸之最高溫度在 47°C. 以上，最適溫度在 37°—40°C. 之間: B. Buchneri。

乙、生酸之最高溫度爲 40°—46°C. 最適溫度在 35°—39°C. 之間: B. Wehmeri.

2. 不能酸變乳糖者:

甲、能酸變甘露配糖質 (manniside) 者:

子、生酸之最高溫度爲50°C. 最適溫度在45°—6°C. 之間:

B. Hayducki。

丑、生酸之最高溫度爲45°C.最適溫度在34°—8°C.之間:

P. Brassicae fermentati。

乙、不能酸變甘露配糖質者: B. Panis feementati。

b 醪中發酵不生氣體者:

1.能酸變甲基配糖質(methyl glucoside)者: B. Wortmanni。

2.不能酸變甲基配糖質者:

甲、生酸之最高溫度在47°C.以上: B. Maer keri。

乙、生酸之最高溫度在45°C: B. Cucumeris fermentati。

IV醪中呈短桿形,懸滴培養之,呈極長之連鎖形:

a 能酸變乳糖者: B. Listeri。

b 不能酸變乳糖者:

1.能酸變甘露生糖質及甲基生糖質者: B. Leichmanni I。

2.不能酸變甘露生糖質: B. Beijerincki。

B.細胞爲球形,常爲單一或二,四個相連者: B. Sarcina。

第三項 酪酸菌類

A.嫌氣性:

I 有運動性者:

a 不能生產酪酸者: Granulobacter butylicum。

b 能生產酪酸者:

1.能使各種碳水化物酸變者:

甲、有酪酸臭味者: Granulo bacter Sacchatobutyricum。

乙、有糞尿等臭味者: B. Foetidus。

2.能使蛋白質生酪酸者: B. Putrificus。

II 無運動性者: Granulo bacter Saccharobutyricum immobilis,

B.好氣性者:

I 能使乳糖酸變者: B. Butyricus,

II 不能酸變乳糖者:

a 能在含酒之瓊脂培基上發育者: B. Butyricus aromaticus moromi I。

b 不能在含酒之瓊脂培基上發育者:

1.馬鈴薯培基上,能生白色假皮膜者: B. Butyricus aromaticus moromi II。

2.馬鈴薯培基上,生暗赤色皮膜者: B. Butyricus rogeus moromi。

第四項 黏敗菌類

A.球狀菌無運動性,不能將膠液化者: Streptococcus Mesenteriodes,

B.桿狀菌:

I 不能液化膠者:

a 好氣性:

1.在葡萄糖培液中,能生氣體者:

甲、能生色素者; B. Viscosus。

乙、不能生色素者: Bact Japonicum。

2.在葡萄糖培液中,不能生氣體者; B. Viscosus Lactis,

2.厭氣性: B. Viscosus vini。

II 能液化膠者:

a 有運動性且爲短桿狀者: B. Gelatinosus。

b 無運動性者: B. Viscosus Sacchari。

三節 重要醋酸菌之性狀

醋酸菌大部爲短桿形，且爲好氣性菌，發育適溫，在 34°C. 其營養品之需要以及醋酸之產量等，均因種別而異，且因生理狀態而有差異。大部氮之營養以由消化蛋白質之供給，碳之營養，以由葡萄糖酒精等之供給爲最佳。其醋酸生產量，最高者能達 9%，最少者僅達 2.7%，對於酒精之抵抗力，常在 4—12% 之間，其效用除能利用之以釀造醋酸，且能酸敗酒精。

人工培養之醋酸菌，對於釀造工業頗爲有益，而野生之醋酸菌，則對之有害，能使所製之醋酸生不快之臭味，或使混濁，甚或產量減少。

(1)B. Kutzingianum 此菌在麥酒中，於34°C. 下經二十四小時，卽能形成皮膜，其皮膜稍具粘性，甚薄，平滑而易破碎，並能攀瓶壁上昇 其細胞通常爲兩個相連而成小桿狀，但很少連成長桿形者，在平面培養於 25°C. 下經四日，卽生聚落(colony)，其表面平滑，粘液作青灰色，發育最高溫度爲 42°C.，最低爲 6—7°C. 最高葡萄糖抵抗量在 35—40%之間，最大酒精抵抗力爲9.5%，醋酸生產最高量爲6.2，葡萄糖酸最高生產量爲 0.8%，能分解葡萄糖、酒精、戊醇及二元醇等而產生醣類。

(2)B. Pasteurianum 存在於上面發酵麥酒中，生產皮膜，初呈濕潤，後成乾燥，有皺紋，易破碎，其細胞形大為2×1μ，常數個連合成連鎖形，在麥芽汁白明膠培基上，於 25°C. 下培養，經若干日後，其聚落乾固，呈纖黃色，其發育最高溫度為42°C. 最低溫度為5°C，最適溫度為34°C. 葡萄糖最大抵抗為35%，能發育於含量9.5%之酒精溶液中，醋酸產量達 6.2%，葡萄酸產量0.5%，無分解醋酸力，但所釀之醋，有特種風味，故不適用，此菌能分解葡萄糖、糊精、酒精以及戊醇等而生產酸類。

(3)B. Xylinoides 為釀造酒醋必要之醋酸菌。能生產乾燥性之皮膜，或有粘着性皮膜，其細胞形不一，有球形及桿形等，在麥芽汁白明膠培基上，聚落透明，呈鮮褐色核，周圍白色，有粘性，如行劃線培養時，則其白色團塊可以流動，發育最高溫度為 35°C. 最低溫度當6°C. 能由酒精、戊醇、樹膠、醛糖 (arabinose) 果糖、葡萄糖、分解乳糖、蔗糖、乳糖、棉子糖、麥芽糖、以及甘油、糊精等，以生產酸類，且能生產一種有特異香味之醋。

(4) B. Xylinum 存在於葡萄酒及上面發酵麥酒中，於諸種培養液內，均能生產，皮膜白色透明甚厚，細胞短長不一，在麥芽汁瓊脂培養上，聚落呈濕潤，有鮮明光澤，呈褐色圓形，中央隆起，表面粗糙，發育最高溫度為34°C. 最適溫度為33°C. 酒精抵抗力在6—7%之間，醋酸最大生產量為 4.5%，能分解葡萄糖、蔗糖、酒精、戊醇、甘油與糊精等而生產酸類，此菌分解醋酸力亦甚強，所生產之醋酸，不但無芳香，且有不快臭氣，故為製造醋時之有害菌。

(5)B. Acetigenum 此為自醋中分離而得者，培養于麥酒中，生

膜有光澤之薄皮膜，稍呈固結，細胞爲圓形，大小爲1.2—1.4×0.8—1.2μ，各個分離，發育適溫爲33°C，生酸適溫亦爲33°C，酒精抵抗力爲4.8%，醋酸生產量爲3.5%，能分解葡萄糖、酒精及戊醇等而生酸類，亦有分解醋酸之力。

(6)B. Oxydans　常繁殖于麥酒中，生產薄皮膜，能攀瓶壁上昇，細胞初爲二個相連，後多數相連，呈絲狀，大小爲2.4—2.8×0.8—1.2μ，在葡萄糖，白明膠上呈粘性汚白色菌苔，發育適溫爲30—33°C，最低溫度爲8°C，生酸最適溫度爲18—21°C，酒精抵抗力爲7%，葡萄糖抵抗量爲35%，醋酸生產量爲2%，葡萄酸量爲8%，能分解各種碳水化合物，如樹膠、醛醣、右旋糖、左旋糖、分解乳糖以及麥芽糖等，而產生酸類，且此菌對于游離酸之感覺，比較銳敏，故培養液中，如含有醋酸或乳酸量達2%以上時，即不能發育。

(7) Termobacterium aceti　初在德國下面發酵之麥酒中，發現之。有運動性，能生不整形之皮膜，其攀壁上昇力甚強，細胞概爲各個分離，互相連結者極少，能分解糊精與酒精等而生產酸類，如在空氣供給不充分時，則能生醛類。

(8) B. Industrium　最初由美國在壓榨酵母中分離而得，後由柏林釀造試驗場之麥芽汁中，亦發見之。有運動性，能生粘性厚皮膜，其面生有皺輪，細胞大小爲0.8—1.2×1.6—1.8μ，形狀不一，爲連鎖狀者甚少，發育最高溫度爲35°C，最低溫度爲8°C，生酸適溫爲21°C，酒精抵抗力爲6—7%，醋酸生產量爲2.7%，葡萄酸產量爲16.6%，如培養于含糊精液中，則生黏稍性液體，熱至30°C，即凝固，爲此菌之特性，能分解各種碳水化合物及醇等而生產酸類，且生多量之醛。

(9) B. Schüzen bachi　爲釀醋最重要之菌，長時間培養後，能于培養液內生產皮膜，細胞圓形，常二個相連或各個分離，發育最高溫度爲 37°C. 醋酸生產量爲 11.5%，能分解各種碳水化合物而生產酸類，亦能分解之。

(10) B. Curvum　亦爲釀醋最重要之菌，長時間培養後，亦能生產易破碎之皮膜，如振盪之，有一部分殘留瓶壁，細胞形狀不一，大小爲1.6—4×0.4—0.5μ，大抵爲長短之卵圓形，或兩端尖及兩端圓之桿狀，亦有彎曲者，發育最高溫度爲 39°C. 最低等 8°C. 能分解樹膠、醛醣、果糖、分解乳糖、葡萄糖、棉子糖、糊精、酒精、丙醇、甘油以及甘露糖 (mannite)　等而生產酸類。

第四節　重要乳酸之性狀

乳酸菌大部能由糖類分解而生乳酸，其能由蛋白質分解而生乳酸者，亦有少數，但因其種類不同，對於各種糖類之作用亦異，乳酸大別可分爲2—羥丙酸 ($CH_3CH(OH)COOH$)，及3—羥丙酸 (CH_2OH CH_2COOH) 二種，在行乳酸發酵時，所產生者多爲2—羥丙酸，而此種又有左旋、右旋及無旋光性三種，普通乳酸菌所生者，大部分爲右旋及無旋光性二者。

據培利 (Pere) 氏研究，由易於發酵之糖，如葡萄糖或蔗糖等，則常能生右旋光性乳酸，由不易發酵之糖如樹膠，醛醣或乳糖等，常生左旋光性乳酸，至由發酵中等之糖，如甘露醇糖 (mannose) 或分解乳糖等，則生無旋光性乳酸。

乳酸菌大概不喜多量空氣，故於缺氣情形下，有礙乳酸發酵，爲

與醋酸菌之醋酸發酵之不同處。其形狀多爲長桿形，亦有卵圓或圓形者；培養時多須高溫，就一般言之，於35—40°C.之間培養之，爲最適宜。對於酒精之需要量，亦不一定；槪於1—2%之間，可以促進發酵，過此則有害，但經培養於麥酒中者，則能於4—6%酒精內繁殖，發酵糖時，除能生產乳酸外，並有時尚能生產少量之醋酸、酒精，以及氫氣和二氧化碳等，在製造乳酸，釀造酒精與白麥酒等，此菌爲最重要者。

(1) B. Delbrücki　爲製酒精或白麥酒之最重要之菌，其生長聚落形小而低平，且顯明在醪內，爲長直細胞，各個分離或二個相連，大小爲2.8—7×0.5-0.7μ，產酸最高溫度爲54°C.最適溫度爲46-7°C.生酸量爲1.79%，能分解麥芽糖、蔗糖、糊精、分解乳糖以及葡萄糖等，而生右旋乳酸等。

(2) B. Lactis acidi　聚落形小而鮮明，中心有白色，細胞爲短桿狀，各個分離或二個相連，大小爲20—300×0.7μ，其發育與空氣無關，生酸最高溫度爲54°C，最適溫度爲41—42°C.產酸量爲1.47%，能分解果糖、蔗糖及麥芽糖等而生乳酸。

(3) Saccharo bacillus Pastorianus　從柏林麥酒中分離而得，爲釀造白麥酒時之重要菌種，能使白麥酒生特異風味。細胞多數相連，呈絲狀，生酸最高溫度爲38°C.最適溫度爲20—24°C.生酸量爲1.1%，麥酒中發育甚佳，於濃醪中培養經2—13日，即生氣體，能分解葡萄糖、麥芽糖、分解乳糖、果糖、蔗糖、樹膠、醛醇以及糊精等而生產乳酸，同時，有少量之醋酸、蟻酸、酒精及二氧化碳等相伴產生。

(4) B. Wortmanni　由壓榨酵母內分離而得，細胞單生，大小約

1.4×0.5μ，雙生者大小為2.1—3.5μ，亦有少數彎曲者，生酸最高溫度為45°C.最適溫度為33—40°C.生酸量為1.5%，在濃醪中培養經2—6日；即能發生氣體，能分解糊精、樹膠、蔗糖、麥芽糖、蔗糖、葡萄糖、分解乳糖以及乳糖等而生產乳酸，惟不生其他揮發性酸類，對於釀母之發育無妨害，故在酒精製造上多用之。

(5) B. Maerkeri 天然存在者甚多，細胞大抵單生，2.4—3.8×1.0μ，生酸最高溫度在47°C.以上，最適溫度為35°C.生酸量為1%、能分解麥芽糖、葡萄糖、蔗糖、乳糖、分解乳糖以及糊精等，而生酸類。

(6) Sarcina Ba. 細胞各個分離，或二個或四個相連，呈半球狀，能使麥酒混濁，或損害風味，或使之色淡薄，故為有害菌。

第五節 重要酪酸之性狀

酪酸菌概為厭氣性菌，釀造工場中，隨處常有發見，其發育溫度在30—40°C.之間，能分解各種碳水化合物而生產酪酸，產酸量常在0.3%以下，並能生丁醇、乙醇、戊醇以及醋酸等，就中以丁醇之產量為最高，亦有能分解蛋白質而生產酪酸者。

(1) Granulobacter butylicum 細胞肥大，長桿或長卵圓形，能形呈孢子，為紡錘狀，其細胞內有卵圓形孢子，大小為1.8—2.5×1.3—1.7μ，有運動性，其聚落在麥芽汁膠培養基上生長者，形小而呈鮮褐色，往往帶粘性，無液化力，其發酵溫度以於32—42°C.時為佳，能發酵葡萄糖及麥芽糖等而生產酸類。

(2) B. butyricus 細胞頗大，端呈扁平，大小為3—8×1—1.2μ，

其孢子爲卵圓形，有運動性，聚落在膠基上呈黃白色，或黃褐色，有黏性，有液化力，能生皮膜，能發酵葡萄糖蔗糖以及乳糖等而生酸類。

第六節 黏敗菌

黏敗菌常見於果汁，果實酒，葡萄酒及牛乳等物質上，能發酵各種碳水化合物而生黏液，即所謂黏液發酵是也。又麥酒及葡萄酒中，時有亦因此菌之作用而黏敗，故對於工業，尤對於製糖業最爲有害。

此菌有球狀與桿狀二種，均具運動性，且爲好氣性菌，亦有厭氣性菌者。有液化力，其他性質，因種而異，培養溫度以於30—36°C.之間爲宜，除能分解碳水化合物而生黏液質外，尙有少量二氧化碳及乳酸伴生。

（1）Streptococcus mesenteriodes(Leuconostoc) 能由蔗糖中，生產黏液質及乳酸，且能轉化蔗糖，使其結晶糖分減少，故於製糖工業上，甚爲有害，其所生之黏液質，名爲Dextrau。又能分解蔗糖及葡萄糖等而生黏液質，但不能分解麥芽糖、乳糖及糊精等而生黏液質。

其細胞單生，直形，無運動性，呈連鎖形，個體大小約1μ，於含糖培基上，能生黏樣皮膜，不生孢子，無液化力，在6%含糖膠培基上所生之皮膜有皺襞，在無糖膠培基上，生小形乳白色皮膜，邊線整齊，在含糖膠培基內，行穿刺培養時，則生鐘乳石樣之垂直體，生育在無糖膠培基上，行穿刺培養時，則在培基上部生小球狀之囊形，最適溫度爲30—35°c。

（2）B. Viscosus I 及 II 此兩種菌，均爲凡來爾(Van Laer)氏由麥酒中分離而得，細胞長1.6—2.4×0.8μ，各個分離，有時二個細胞

相連者，在肉汁培基中培養時，此二者外觀相同，行劃線培養時，生白色菌苔，有皺紋，能使麥芽汁生特異之臭味，其發育最適溫度在33°C。在發酵不全之麥酒中而生黏敗現象者甚少。

（3）B. Viscosus Sacchar: 細胞爲大桿菌，往往連結呈絲狀，無運動性，無孢子形成，有液化力，在酸性培基內不發育，在含蔗糖膠培基上，其聚落爲白色，細胞長圓形，能從中性，或鹼性甘蔗糖培養液內生產黏液質，或從葡萄糖內生產甘露糖及二氧化碳。

第四篇　發酵菌類研究法

第一章　檢查法

第一節　顯微鏡及其使用法

第一項　顯微鏡之構造

顯微鏡 (microscope) 之構造，依製造公司而稍有不同，其主要部分，大抵可分為二部:

1. 鏡　基

鏡基(lens-system)係用以支持晶片(lens)者．乃由下列各物所構成:

(1)鏡足 (base) 在鏡基之最下部，普通為馬蹄形之座盤，以之支持顯微鏡。

(2)鏡柱 (pillar) 普通為弓形，可以關節為支點而彎轉之。

(3)鏡筒(tube) 其中有抽筒(draw tube)，刻有尺寸，鏡筒之長短與晶片之擴大力關係頗重，伸長則擴大力增，縮短則擴大力減，通常以鏡筒之長，約一百六十毫米為準．

(4)載物台(stage) 普通為圓形，可以旋轉，中央有圓孔，上部

壓片鐵(clip)二個。

(5)反射鏡 (mirror),集光器 (condenser),遮光器 (subcondenser)等,均裝置於載物台下面,反射鏡有平凹二面,可以任意轉向。

(6)轉環器(revoling nosf) 連附於鏡筒之下端,其上具數個裝晶片之圓孔,普通為三個,可以左右迴轉。

(7)粗細螺旋 依齒輪之迴轉,可使鏡筒上下,用強擴大力之鏡頭,以檢鏡時,先用粗螺旋,自下而上,轉至相當視野時,再以細螺旋校正之,使其清晰。

2. 晶 片

晶片係用以擴大物體之影像,增進吾人之目力者。

(1)接目鏡(eye piece) 為接近鏡檢者眼之鏡頭,其形因鏡之擴大力大小,而有長短之別,普通擴大力小者形長,大者形短,其擴大力之大小,以鏡頭上所刻之數字表之。

(1)接物鏡(objective) 為接近被鏡檢標本之鏡頭,其形亦因鏡之擴大力大小而有長短,但與接目鏡之情形相反,其擴大力愈大者,其形愈長而其鏡之面積愈小,至其擴大力之表示,亦有一種特別符號。

此種接物鏡分乾式與濕式二種,其擴大力小之鏡頭,晶片面積較大,所得由反射鏡集光器送來之光線損失不多,可以直接檢查,不必施何種特殊處理,謂之乾式,其擴大力大者,面積甚小,所得之光線,不足應用,必賴水或油等〔洋杉油(cedar oil)或甘油〕濕之,以免光線之損失,藉增物鏡內之明度,謂之濕式,或稱油濱式 (oil immersion)。

如上述之接目鏡與接物鏡，其擴大力各有大小，互相配合，等差極多，故在使用時，應特別注意所用之鏡頭，記其上所刻數字或符號，後，再以其數字相乘之，即得所檢時之擴大力倍數，例如:

蔡司(Zeiss)鏡頭:

接目鏡上所刻之數字爲:	2	3	5…
檢其單獨擴大力知爲:	5×	7×	15×
接物鏡上所刻之符號爲:	A	D	1/12
檢知其單獨擴大力爲:	8×	40×	90×

(圖21) 顯微鏡

如檢鏡時所用之鏡頭之接目鏡為(5),接物鏡為$^1/_{12}$,則其二者之擴大力,為15×90=1350倍.

又如用賴芝鏡頭:

接目鏡上所刻之數字為:	II	III	V
檢知其單獨擴大力為:	6×	8×	12×
接物鏡上所刻之符號為:	3	6	$^1/_{12}$
檢知其單獨擴大力為:	10.3×	48×	105×

如鏡檢時所用之鏡頭接目鏡為III,接物鏡為3,則其二者之擴大力為:8×10.3=82.4倍。

今將克來恩(Klein)公司出品12070號之顯微鏡其擴大力之倍數,列表於下,以資參考。

	接物鏡上符號 \ 接目鏡之號數	接物鏡之單獨擴大力 \ 接目鏡之單獨擴大力	0 4×	1 5×	2 6×	3 8×	4 10×	5 12×	6 15×	 20×	 25×
乾式	1	2.7	11	14	16	22	27	32	41	54	68
	16	3.2	13	16	19	26	32	38	48	64	80
	2	5.8	23	29	35	46	58	70	87	116	145
	3	10.3	41	52	62	80	103	124	136	206	260
	4	16.5	66	83	99	132	165	198	249	330	415
	5	33.3	133	167	200	266	333	400	501	666	833
	6 a	44.0	176	220	264	352	440	528	660	880	1000
	6	48.0	193	240	288	384	480	576	720	960	1200
	6 h	48.0	192	240	288	384	480	576	720	960	1200
	7 a	58.0	232	290	348	464	580	696	870	1160	1450
	7	62.0	248	310	372	496	620	744	930	1240	1550
	8 a	70.0	280	350	420	560	700	840	1050	1400	1750
	9 a	80.0	320	400	480	640	800	960	1200	1600	2000

蔡式	1/12 a	98.0	392	490	588	784	980	1076	1470	1930	2450
	1/12	105.0	420	525	630	840	1050	1260	1575	2110	2525
	1/16 a	114.0	456	570	684	912	1140	1368	1710	2280	[illegible]

第二項　顯微鏡之使用法

（1）先將接目鏡及接物鏡取下，以毛刷或沙布拭去塵埃或汚物。

（2）實行對光線，先視光線來源之強弱，天晴時，則遮光器收閉其孔以使小，天陰時，則開放，使大，又反射鏡有平凹兩面，於高度擴大，或無色標本檢查時，當用平之一面，於低度擴大，或染色標本時，當用凹面。

（3）置欲檢之標本於載物台上，先用低度擴大接物鏡，對好光線，後轉下鏡頭使其幾與標本玻片相接，再將鏡頭徐徐向上迴轉，使物像明晰。

（4）掉換適當之接物鏡，而檢查之。

（5）如用高度擴大接物鏡檢查時，則先滴一滴洋杉油或甘油於玻片面上，後將此鏡頭浸入油內，仍轉下，使幾與玻片相接，再復徐徐轉上鏡筒，至被檢物像明晰爲止。通常至物像明晰時，其鏡頭仍浸於油內。

（6）鏡檢終了時，轉上鏡筒，其經油浸之鏡頭，浸入酒精或苯(benzene)或炭質油(xylol)中，後用脫脂棉紗拭之，以去其油質。

（7）當鏡檢時，應兩眼同視，以免此勞彼逸之弊。

第三項　顯微鏡之附屬器及其使用法

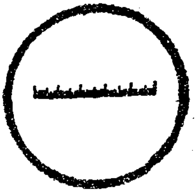


圖22 接目測微計

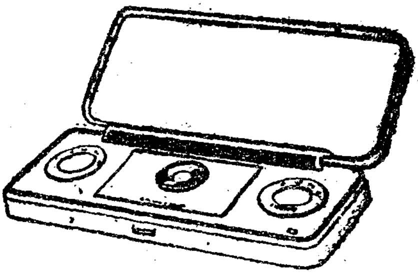


圖23 測微計全套

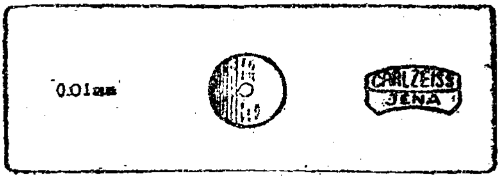


圖24 接物測微計

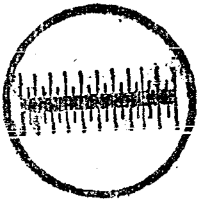


圖25 接物測微計之放大

（1）測微計 (micrometer) 用以測定微生物之大小，普通常用者爲玻璃製，有二種：一種用時裝於接目鏡之內，曰接目測微計(ocular micrometer)，爲圓形玻片，其中央刻有極細五十格或百格等距離之劃線；一種用時放在載物台上，而其位置居於接物鏡之下，曰接物測微計（object micrometer.），爲一長方形之厚玻片，其中央刻有一毫米長之一百個等分格，每格爲 0.01 毫米，亦卽 10μ 之大小，如圖：($1\mu=\frac{1}{1000}$毫米)

使用時，須先測知接目測微計上每格之大小，法先轉下接目鏡上面之晶片，裝接目測微計於其內，再將晶片如法轉上，以此爲接目鏡，後將接物測微計，安置於載物台上，以擴大適當之接物鏡檢之，使此兩種測微計上之劃線，有兩線上下重合，復於相當距離外，又找出有兩線上下重合，將此上下各兩線重合中之格數，分別記下，已知接物測微計上每格爲0.01毫米，或 10μ，則接目測微計上每格之寬度，可按此比例計算而得之，例如接物測微計三格，適與接目測微計三十格相等，則接目測微計每格之大小爲 $0.01\times3\div30=.001$ 毫米或1μ。

測定微生物之大小時，可取去接物測微計，而插入標本，僅用接目測微計以測定之，例如微生物之直徑，由此鏡檢適爲接目測微計之二格，則此微生物之直徑爲2μ，此時應注意鏡頭號數，及鏡筒之長短，須與測定接目測微計時相同，因接物測微計每格之大小，於顯微鏡下觀察時，依顯微鏡與鏡頭之種類，以及鏡筒之長短而不同，故須事先記下，以免第二次之再度測定，例如：

使用之顯微鏡爲克來恩出品，號數爲12070

接目鏡	接物鏡	接目測微計格數	接物測微計格數	接目測微計每格寬度
4	8	50	95	19 μ
4	9	50	21	4.2 μ
4	12	46	9	1.96 μ
5	12	24	5	2.07 μ

5	9	50	22	4.4 μ
5	3	30	60	20 μ

（2）顯微鏡描畫器　檢查微生物時，有時應繪出所檢查之微生物之形態，欲繪此圖，可用一種描畫器，器有多種，繁簡不一，最適用者，爲阿倍氏描畫器（Abbés drawing apparatus），其構造大抵分三稜鏡與返射鏡二部，使用時係先取去接目鏡，裝入描畫器，復播入原來之接目鏡於右側，置一繪圖板，板上釘住圖畫紙，調節鏡頭，至發見明晰之物像時，則於顯微下，同時可見圖畫紙與鉛筆尖，乃依像之大小，形狀，而繪其輪廓，次除去描畫器，而行精密寫生。

（3）顯微鏡加溫器　在檢查微生物時，欲使不受天然低溫度之影響，宜以顯微鏡加溫器加溫，以補溫度之不足，其器之種類甚多，一種能溫週顯微鏡之多半部者，名爲定溫器（nutall incubator）構造較複雜，形略如箱，皆由金屬製之，其蓋及底，均爲二重連繫成空腔，內可盛水，藉煤氣燈或酒精燈以暖其水，因而器內溫度增高，並附有溫度調節器，以調節溫度，又有一種僅溫顯微鏡之載物台者，稱爲暖熱載物台（heating stage），種類甚多，其著者有斯特利克爾（Stricker）舒爾儲（Schultze），普渫斐（Pfeiffer）諸氏暖熱載物台，而以斯特利克爾氏者爲最簡便合用，其構造外觀與鏡基上之載物台無大異，內部爲空格，可貯熱水以加溫。

第二篇　本色檢查法

第一章　普通本色檢查法

其目的在檢查發酵菌之形狀大小及計其數目之多少，初學者多用之，法用已在酒精燈上滅菌之白金針，或白金耳，鈎取檢查材料少許，塗於已擦拭清淨之載玻片上，若所檢查之物為固體，則可用0.75—0.85% 之食鹽水以稀釋之，再塗於載玻片上，或先滴一滴食鹽水於載玻片上，後再鈎取少許欲檢物體溶入其中亦可，次以已拭淨之覆玻片，蓋於檢查液之上，用白金針之柄輕壓之，使檢查液成為薄層，即放於顯微鏡載物台上檢查之，觀察黴菌時，可置甘油或酒精一滴，於載玻片上，後混入少許菌絲，蓋以覆玻片，而如法檢查之，此際顯微鏡之遮光器，當縮小其孔，返射鏡應擇其平之一面者用之，而擴大力以自600至1000倍為度，倍數過高，則視野不易明晰，於此情形下，所見之菌體，大半為灰白色，由其種類之不同，形狀亦異，檢畢，即以鑷子將覆玻片與載玻片輕輕剝開，投入殺菌液內，滅菌經一二日，取出拭淨，仍可復用，其欲保存者，可塗松膠 (canada balsam)，(溶於炭質油中者)於蓋玻片四周而固封之。

第二項　懸滴本色檢查法

檢查發酵菌自然生活之狀態，應用此法，法取中央具有凹窩之載玻片用酒精全部滅菌後，於此種凹載玻片之凹窩四周點塗以礦脂(vaselin)復取已滅菌之白金針，鈎取少許已稀釋之檢查材料，點抹於已拭潔淨蓋玻片之中央，面積不可太大，作一分圓周已足，點抹亦不可太厚，否則難於檢查，且易於滴落，點抹後之蓋玻片，即反轉置於凹載玻片之凹窩上，稍用力壓之，使凹載玻片凹窩周圍之礦脂黏着蓋玻片。於是檢查液在凹載玻片之中央作一懸滴，稱為懸滴標本，以

此標本可檢查微生物之形態，與運動性之有無時，或其細菌運動太速，檢查不明，則將其檢查液內加入少許5% 石炭酸(carbolic acid)，或氯仿(chloroform)，再行檢查。

第三項 暗視檢查法

此於觀察細菌之運動時，為必要之方法，其原理與前法同，即取本色標本或懸滴標本檢查之均可；但須於載物台下，換裝一種特別集光器，稱為暗視集光器，此種集光器，其形與普通所用之集光器相同，其種類有二：在用油浸接物鏡時，則用鏡面集光器（spiegel condenser)，在不用油浸接物鏡時，則用拋物線集光器(paraboloid condensor)，惟所用之凹截玻片，以厚者為佳，檢查液以最稀為宜，此時顯微鏡下之反射鏡，則用平面者，以期光線平勻，且其光源亦以愈強愈好，或用電燈光，或用煤氣燈光，或採直射之日光，依此項暗視野之觀察，可見細菌之鞭毛，其有運動性之細菌之運動情形，更分明可見。

第四項 墨水檢查法

此法為部趨(Burei)氏所發明，故亦稱部趨氏檢查法，為一種觀察細菌形狀之方法，取德製之黏墨 (peli-kaulusche)，或國產上等質料之墨水，以滅菌之白金耳，鈎取一滴，滴於乾淨無菌之載玻片上面，更混以少許檢查液，周圍塗布，使成薄層，復用濾紙，吸去過剩之墨水，於空氣中乾燥，後蓋以覆玻片，用鏡檢之，欲保存者，先用柏質油輕塗，復以松膠固封之。

第三節　染色檢查法

第一項　染色液之調製法

染色液所用之色素，有二種：一種爲鹼性者，用以染細菌體及各種細胞之核；一種爲酸性者，用以染各種細胞體之各部。

A.主要鹼性色素如下：

(1)洋紅(fuchsine)；　(2)天竺牡丹紫(dahlia)；
(3)龍胆草紫(gentiana violet)；　(4)甲基紫(methyl violet)；
(5)晶紫(crystal violet)；　(6)俾斯麥褐(Bismarck brown)；
(7)四甲基藍；　(8)番紅花紅(Zafranin)。

B.主要酸性色素如下：

(1)酸性洋紅(acid fuchsine)；　(2)剛果紅(Congo red)
(3)曙紅(eosin)；　(4)螢光黃(fluorescein)；
(5)苦味酸(picric acid)。

以上各種色素之溶液之調製法，係先將各種色素分別溶於適當量絕對酒精中，時常振盪，使色素充分溶解後，過濾之，其濾液卽稱爲色素原液，

使用時，將此等色素原液，以適當量之蒸餾水稀釋之，卽可，稱爲普通染色液。此等色素液在細菌行普通染色時，多用之，惟難着色之細菌，使用此等普通染色液，往往不能着色，須用作用較強之特別染色液以染之，此種特殊染色液甚多，而最常用者，有下列五種：

(1)駱夫勒爾(Loeffler)氏液：

四甲基藍原液	30 c.c.
0.01%氫氧化鉀溶液	100 c.c.

(2)齊爾(Ziehl)氏液:

洋紅末	1.0 克
石炭酸	5.0 克
酒精	10.0 克
蒸餾水	90.0 克

(3)柴普留斯基(Czaplewsky)氏液:

洋紅末	1.0 克
石炭酸	5.0 克
甘油	50.0 克
蒸餾水	100.0 克

(4)庫奈(Kühne)氏液:

四甲基藍	1.5 克
石炭酸	5.0 克
純酒精	10.0 c.c.
蒸餾水	95.0 c.c.

(5)挨爾利赫(Ehrlich)氏液:

龍膽草紫	0.4 克
蒸餾水	10.00 c.c.

惟以染色液染色時，無論染細菌，或染其他菌類，每有或失於過淡，或失於過濃之時，太淡者可以重染，過濃者須行脫色，即染色適宜，標本上多餘之色液亦必須除去其脫色液有下列諸種:

(1)蒸餾水；　(2)2%醋酸液；　(3)25%硫酸液；

(4)70%酒精；　(5)3%鹽酸酒精；　(6)10%硝酸酒精。

上述六種脫色液之脫色效用，以後四種為最強，前二種為最弱。

第二項 普通染色檢查法

1. 染色術

1.塗抹 將被試細菌等培養於固體培養基斜面上，於適宜溫度下培養 24—48 小時之久，取已揩拭潔淨之載玻片，滴一滴無菌水於其上，再以滅菌之鉑絲，拈取此種新培養之菌種少許，俟與水滴混合之後，復以滅菌鉑絲，取此稀釋之菌液，塗抹於已揩拭潔淨之蓋玻片上，使其全面極薄，且各處均勻。

2.乾燥 取上塗就之標本，置於空氣中，乾燥之。

3.固定 此法分用火與用藥兩種，用火者，即取已乾燥之標本，將其塗抹面向上，於火焰上來往兩三回即可，用藥者，於其塗抹面上，滴加酒精醚等分混合液，或木精一滴，任其揮發乾燥即得。

4.染色 滴加多量之染色於塗抹面上，使其全面蓋滿，靜置數分鐘後，於清水中洗之，以除去剩餘之染色液。

5.鏡檢 將已染色之標本，待其乾燥後，使塗抹面向下，覆於已潔淨之載玻片上，施行鏡檢，必要時或逕取水洗，已染色之標本，帶水只置於載玻片上，而檢查之。

2. 普通染色時應注意之事項

1.染色時，菌體着色應均勻，如不均勻，則細菌必生變性變形(degeneration form)，或退縮變形，但當固定時，如加熱過度，亦呈此現象，又所製之染色液之濃淡，細菌對於此種染色液抵抗力之大小，亦有關係。

2.菌體經染色後，如其周圍無色，或着色極淡，則認有菌囊之存在所致，應用特別法染之。

3.菌體內如有具光輝無色之圓形，或橢圓形物體存在時，先檢查其有否孢子，並檢其變形與否。

4.菌體內如有着色濃厚小粒存在，即爲原形質凝縮所致。

第三項 識別染色檢查法

此法爲格拉姆(Gram)氏所獨創，故學者多稱爲格拉姆氏染色法。其手續與普染染色法相同，至染色則用意爾利西氏液，或2%之石炭酸龍胆草紫液，染後，浸於格氏液中，經三數分鐘，其格氏液之處方如下：

碘 1.0克 碘化鉀 2.0克 蒸餾水 300 c.c.

後復浸於95%酒精中，使之脫色，經二三分鐘，更用水洗之，置於載玻片上，用鏡檢之，依細菌種類之不同，其所染之色素，有爲酒精脫色者，稱爲格拉姆陰性(Gram negative)，呈淡青色或直無色，有不爲酒精脫色者，稱爲格拉姆陽性(Gram positive)，呈紫色或至黑色。

又菌類之生死，亦可用染色法以識別之，對於釀造工業上，特關重要，常用之染色法，有二種：

(1)普羅卡(Proca)氏法 係用石炭酸洋紅液8 c.c.，蒸餾水100 c.c.，氫氧化鉀四甲基藍100c.c.，三者混合，配經二十四小時後，用之，則生活細胞呈青色，死細胞呈淡紅色至紅色。

(2)魯其卡(Ruzicka)氏法 係用0.5%四甲基藍，與0.5%中

性紅(neutral red)液等量混合液染之，則生活細胞呈赤色，死細胞呈青色。

(3)用0.01%四甲基藍溶液，或靛卡明(indigo-carmin)溶液(1：20)染之，則生細胞不着色而死細胞則着色。

第四項 內生孢子染色法

細菌或酵母之內生孢子，用普通染色法極難使其着色，常用勒夫樂氏液染之，使菌體染成青色，以區別之。如欲其孢子有顯明着色者，通常多用美諾(Moeller)氏法以染之。

此法係將乾燥而固定之標本，浸於氯仿中，以除去脂肪質，後於標本塗抹面上，滴加5%之醋酸，經2—3分鐘，以水洗去醋酸，乃用柴爾氏液染之，於火焰上加溫，約一分鐘，以水洗後，復用25%硫酸洗之，見塗抹面之色大半脫除而止，再以水洗去硫酸，再用勒夫樂氏液重染之，經數分鐘，以水洗之，乾燥後，鏡檢之，則見孢子染成紅色，而菌體仍呈青色。

第五項 鞭毛染色法

細菌鞭毛之染色，更難於孢子，非用相當之媒染液，不能使其着色，而被檢之菌種，尤須新鮮者，即於適溫下，培養18—24小時者為佳。

(1)勒夫樂氏法　乾燥而且已經固定之標本塗抹面，用勒夫樂氏媒染液染後，於火焰上微烘數分鐘後，以水洗之，復以酒精洗之，臨時製苯胺水洋紅液100c.c.，加1%氫氧化鈉水0.1c.c.，加溫染之。

後以水洗之，乾後，鏡檢，則見鞭毛及菌體均呈赤色。

勒氏媒染液之處方：

鞣酸(25%水溶液)	10 c.c.
硫酸鐵(飽和水溶液)	5 c.c.
洋紅(飽和酒精溶液	1 c.c.

將以上三者混合濾過而用之。

（2）凡挨爾曼根（Van Ermengem）氏法　於乾燥而且已經固定之標本，塗抹面上，注滿挨氏媒染液，加溫後，水洗之，復用酒精洗之，浸於 0.2—0.5% 硝酸銀液中，經數分鐘，復浸於醋酸液中，後再浸於硝酸銀液中，至見塗抹面全呈黑色時止，取出以水洗之。乾燥鏡檢，則見鞭毛呈黑色，菌體呈黑褐色。

挨氏媒染劑之處方：

鞣酸　(20%)	60 c.c.
鋨酸(osmium acid)　(2%)	30 c.c.
冰醋酸	4—5 滴

醋酸液配製法：

鞣　酸	0.3 克
沒食子酸	0.5 克
醋酸鈉	1.0 克
蒸餾水	85.0 c.c.

第六項　包囊染色法

（1）希斯（Hiss）氏法　取培養於血清培養基上之新鮮菌種，依常法塗製成標本後，滴加少許冰醋酸，後再以染色液，（龍膽紫之

酒精飽和液一分，蒸餾水十九分相混合）染之，加溫數分鐘，以 20%之硫酸銅溶液洗之，乾後，鏡檢，則見菌體呈深紫色，而包囊呈淺紫色。

（2）牟爾（R. Muir）氏法　取已固定之標本，以濃石炭酸洋紅液染經一分鐘，微熱之，以酒精洗之，復以水洗之，後注以媒染劑，經30秒鐘，復以水洗之，再以少許酒精處理之，至呈微紅色為止。以水洗去，再以勒夫樂氏液複染一二分鐘，以水洗滌，乾後，鏡檢，則見菌體呈亮紅色，而其包囊呈亮藍色。

牟氏法媒染液之處方：

飽和之氯化汞溶液	2 分
20%之鞣酸溶液	2 分
飽和之鉀明礬溶液	5 分

第七項　細胞中內容物之染色法

釀母菌及黴菌等，用常法加熱固定時，其菌體往往皺縮，或至變形，其內容物遂不易識別，故必須用化學藥劑以固化之始可。

（1）空胞　先用濃昇汞液，或普淮甕氏混合液（甲醛液，甲醇及丙酮之等量混合液）固化之，後用稀薄之勒夫樂氏液染之，呈青色。

（2）光粒　光粒係一種含磷之蛋白質之粒狀體，稱為光球體（volutinbo），使其着色，須先將菌體於甲醛中，浸約 24 小時，以離心機沉澱之，取其少量，製成標本，以1%之四甲基藍（溶於 25% 酒精內），染約數分鐘，復加 1% 硫酸，而鏡檢之，則見光粒呈青色或青紫色，其餘部分均不着色。

(3)獸臘粉 用魯高爾(Lugoe)氏碘溶液染之，熱時無色，冷時呈赤褐色。

(4) Ganulose (Iogen) 用碘溶液染之，呈青色。

(5)脂肪 用 0.01 克 Sudan III 溶於甘油酒精等量混合液 10 c.c., 中染之，則呈紅黃色，以鋨酸染之，呈暗褐色，以二甲氨苯基偶氮苯 (dimethyl amino azobenzene)染之，呈紅色，以三氯乙二醇 (chloral hydrate)液(三氯乙二醇五分，水二分之混合液)作用之，則立解溶解。

第八項 細胞核染色法

(1)柏歐爾寇斯吉(Biokowsik)氏法 先以拉貝爾(Rabel)氏混合液(苦味酸一克，昇汞五克，醋酸 5c.c., 水 100c.c., 作用時間 12 小時)，或波藍吉(Perengi)氏混合液(硝酸10%，酒精90%，鉻酸0.5%，作用時間4—5小時)，或魯高爾氏溶液(碘一分，碘化鉀二分，水三百分)，固化後，依常法製得之標本，以鹽氧化鉀四甲基藍液，加溫染色，經一分鐘，以3%鹽酸酒精洗數次，再以1%曙紅液，染經一分鐘，以水洗之，乾後鏡檢，則見菌體呈粉紅色，而核粒呈青色。

(2)瓦格(Wager)氏法(尤適用於釀母) 取新鮮培養之菌種，置入試管內，加入飽和之氯化汞水溶液，靜置12小時，則其細胞沉離於管底，可以移液管去其上浮清液，後加水振盪之，以離心機使其沉澱，而去其水，後將此細胞以30%酒精，70%酒精，以至純甲醇依次洗之，則能使釀母中之原形質固定，並硬化之，以防止其細胞皺縮及其原分質之分離，取此含釀母之甲醇液一滴，置於載玻片上，待其乾

膜，以滅菌水平鋪之，復待其乾燥，以洋紅及四甲基藍之稀薄混合液染之，以水洗之，乾後鏡檢。

第四節 土壤塵埃穀類空氣及水中菌類之檢查法

第一項 土壤中菌類檢查法

土壤中菌類之檢查，普通多用扁平培養法，其培養基之成分如下：

葡萄糖	1.0 克
磷酸二鉀	0.5 克
硫酸鎂	0.2 克
中性卵白粉末	0.25 克
澱粉	20.00 克
蒸餾水	1000.00 克

法取土壤十克與滅菌井水 100 c.c. 相混合，徐振盪之，靜置數十分鐘，以滅菌移液管，吸取其上層澄清液1c.c.，使再與99c.c.滅菌井水相混合，徐徐振盪之，復如法稀釋之，取最後稀釋液 1 c.c.，注入已含滅菌後溶液之二重皿中，培養基面上，水平或徐徐振盪，倒置於恆溫培養箱中，於 30°C 下，任其繁殖，其培養時間，細菌約為7—10日，放線狀菌(actinomyces)約為12—15日，自發生之聚落數以計算一克土壤中之全菌數，並須測定土壤中之水分，而換算至一克乾燥土壤中之菌數，並檢定其菌種。

第二項 塵埃及穀類中菌類檢查法

（1）塵埃 取一定量之塵埃（約0.5克）與滅菌井水（500c.c.），相混合，振盪二三十分鐘，取其混合液1 c.c.，復用滅菌井水稀釋至100c.c.，然後取最後稀釋液1c.c.，如前法而行扁平培養，由其發生之聚落數以計算一定量塵埃中之菌數，並檢定其菌種。

（2）穀類 取一定量之穀類（0.5—1克），置於滅菌之乳鉢中，和以少量滅菌井水，於無菌箱中，壓碎之，後以無菌水稀釋至一定量，如法行扁平培養（法詳後章），或竟取原試料一定量與滅菌水混合後，振盪三十分鐘，卽取此混合液一定量，於肉汁膠培養基上，行扁平培養，由其發生之聚落數，以計算一定量穀類中之菌數，並檢定其菌種。

第三項 空氣中菌類檢查法

（1）普通法，又稱林得雷（Lindner）氏法 卽取已含膠或凍粉培養基之二重皿，曝露於被試室內之地上，約5—10分鐘，覆蓋之，而倒置培養箱中，任其繁殖，經一星期後，計算聚落數，並檢定其菌種。

（2）吸收法，又稱漢松（Hansen）氏法 使定量之空氣（約五升），通過定量（100c.c.）之滅菌水中，取此通過空氣之滅菌水1c.c.，如前法行扁平培養，自發生之聚落數，計算一升空氣中之菌數，並檢定其菌種。

第四項 水中菌類檢查法

（1）林得雷氏法 取定量之水（1c.c.）與定量之培養液（麥芽汁葡萄汁，或米麴汁10 c.c.）相混合，以滅菌之移液管，吸取此混合液

點滴於已滅菌之二重皿中，正置於培養箱中(於培養箱內之一隅，預置一杯無菌水，以保持箱內濕度)，于33°C下，培養三日，後取出觀察之，若總滴數之半數呈混濁時，則每滴中有一個菌類混入，故易算出一定量水中所含之菌數，如有半數以上呈混濁時。則將試料，重加稀釋之，再行試驗。

(2)漢森氏法　取內容30 c.c.之伊爾瓶二十個，每瓶中加入培養液(麥芽汁，葡萄汁，米麴汁)10c.c.，及酒類(啤酒，葡萄酒，或黃酒5c.c.，加滅菌水5c.c.混合之)，10c.c.，混合後，依常法滅菌，再每瓶各加入檢水一滴(約相當於1/40c.c.)，置於恆溫箱中，於30°C下，任其繁殖，培養3—6天，取出觀察之，若燒瓶之半數，即有十瓶呈混濁狀態時，則認為每瓶中有一個菌類混入，故由此可易算出一定量檢水中之菌數，如有半數以上呈混濁時，則須預將檢水稀釋之，再行試驗。

(3)韋斯曼(Wichmann)氏法　取試管四支，記以1，2，3，4，等號於試管上端，每支加入麥芽汁10 c.c.，滅菌後，每支加入不等量之檢水，即1號試管中加入1c.c.，2號者加入0.75c.c.，3號者加入0.5c.c.，4號者加入0.25c.c.，置於恆溫箱中，於30°C下培養之，記其培養液開始混濁之時日，以計算其檢水之分解力，如此四支試管於24小時後，悉呈混濁時，則其分解力為100，係將試管之各號數乘以10，再相加而得。如：

每支試管中檢水加入量		試管之號數		係數		
1c.c.		1	×	10	=	10
0.75c.c.		2	×	10	=	20
0.5c.c.		3	×	10	=	30
0.25c.c.	+	4	×	10	=	40
						100

如各試管中之培養液之混濁時日延長；則其所乘之係數亦減少，卽二日後混濁者乘以8，三日後者乘以6；四日後者乘以4，五日後者乘以2，例如：

(1)

檢水用量c.c.	混濁之時日	試管號數		係數		
1.c.c.	一日後	1	×	10	=	10
0.75	二日後	2	×	8	=	16
0.50	三日後	3	×	6	=	18
0.25	四日後	+ 4	×	4	=	16
						60

(2)

1.00	二日後	1	×	8	=	8
0.75	三日後	2	×	6	=	12
0.50	四日後	3	×	4	=	12
0.25	五日後	+ 4	×	2	=	8
						40

卽第一例之檢水，對於麥芽汁之分解力爲60，第二例爲40，

同樣，可以計算出水對於啤酒之分解力，法取四支試管，內貯啤酒10 c.c.，如前法滴入檢水後，培養之，如三日後，四支試管內之啤酒液均呈混濁時，則其水之分解力爲100，其對麥芽汁之係數爲1.67倍，故其計算法如下：

檢水用量 c.c.	混濁時日	試管號數		係數
1.00	二日後	1	×	(8×1.67)=12.36
0.75	四日後	2	×	(4×1.67)=3.33
0.50	五日後	3	×	(2×1.67)=10.02
0.25	五日後	+ 4	×	(2×1.67)=13.36
				49.10

則此時檢水之分解力約爲50。

第二章 培養法

第一節 培養基之種類及其製法

培養基之種類甚多，可大別爲二大類，一爲液體培養基，二爲固體培養基。

第一項 液體培養基

液體培養基略分爲二類，(一)其所含之化學成分，未能確知，僅知其爲複雜營養液者，稱爲自然培養基，概以植物性或動物性物質爲原料，(二)其中所含之化學成分，係由人工組成，而有一定含量者，稱爲人工培養基，概以定量之無機鹽或有機化合物爲原料。

(1) 自然培養基

此類培養基之種類甚多，其常用，而且有實效者，如下：

(1)麥芽汁(malt extract) 此汁應用極廣，爲液體培養基中之最普通者，黴菌及釀母等之培養，均適用之，其製法如下：

取大麥一仟克，于水中浸漬二十四小時，取出，舖于木盤中，堆厚約半寸許，置于恆溫箱中，于25°C下，任其發芽，至麥芽長約爲其原粒之三分之二時，即取出，篩去其幼芽，置于乾燥箱中，于100°C下烘乾之。

取此乾燥麥芽一仟克，碎粉之，加井水5–6升置于糖化器中，徐徐加溫，至55–60°C，保持8–10小時之久，取少許澄清液，以碘溶液試之，至不呈藍色時止，加溫充分煮沸之，使其中所含之蛋白質凝

凝固，冷却後，過濾，其濾液如仍不透明，可加生卵白 3-4 個，攪拌後，再煮沸之，冷後過濾，以糖度表測定其糖之濃度，以在10-12° Bx 為宜，滅菌後，即可應用（滅菌法請參照下節）。

(2)沙鮑蘭得氏液(Sabourand)　即取市售之麥芽糖，溶于井水中，以製成 4-6% 之溶液即得，有時每升此液中加入十克消化蛋白質而用之，為黴菌及釀母等之優良培養基。

(3)釀母水 (yeast water)　為釀母及細菌之最優良培養基，其製法如下：

取壓榨釀母 50-100 克，與一升井水共煮之，約一小時後，過濾，並滅菌即得，或取已滅菌之麴汁(koji-water)培養基(製法詳後)，種入釀母，置于恆溫箱中，于 30°C 下，令其發酵，經一星期，至發酵終了時，用離心機分取釀母細胞，使與井水共煮後，過濾，如法滅菌亦可。

此種釀母水，如加入 1% 葡萄糖，則稱為葡萄糖釀母水(glucose yeast water) 如加入 1% 消化蛋白質，則稱消化蛋白質釀母水(peptone yeast water)其效用與前同。

(4)麴汁　為黴菌及釀母良好之培養基，其製法如下：

取良好酒麴二百克，磨碎後，加入一升井水，于 50°C 內外，浸約一晝夜，或加溫 60-63 °C，經 6-8 小時亦可，煮沸之，冷後過濾，如法滅菌即得。

(5)米麴汁(rice koji water)　為黴菌之優良培養基，其製法如下：

取一升大米，以清水掏淨蒸煮使熟，取出置于已滅菌之纖炉台

上，冷至 30°C 時，撒布少許純粹麴種，（多爲 Asperqillus Oryzal），拌勻之，攤置于已滅菌之木盤中，堆厚約半寸，置于恆溫箱中，于 30°C 下，任其繁殖，至次日，則見米粒上，有白色菌絲附生，即翻拌之，以調節其溫度，第三日可見黃白色菌絲于米粒上繁殖，取出放冷，而乾燥之是爲米麴。

取此製得之米麴約 500 克，與一升井水共置于糖化器中，加溫 60–65°C 保持 6–8 小時，任其糖化，至以碘溶液試之，不呈藍色時過濾，加入蛋白二個，復加熱至沸，冷後過濾，如法滅菌，即得。

(6)肉汁（flesh water） 爲培養細菌用之培養基中之最普通者，其製法如下：

取不含脂肪之精牛肉（馬肉代之亦可）500 克，挫碎之，與一升井水共攪拌之，置于冰箱中冷浸 24 小時，或于 60°C 下，溫浸一小時亦可，煮沸之，約經 1 小時，過濾，並壓榨之，復置于冰箱中，至冷，如有脂肪凝固于表面，再過濾之，以井水稀釋至約成一升，滅菌後即得。

(7)果汁 取新鮮果實，壓榨其果汁，後以水稀釋，至相當濃度，滅菌即得，或取乾燥果實一仟克，破碎後，與水五升及酒石酸二十克共混合之，浸約 24 小時後，過濾而壓榨之，如法滅菌即得。

(8)血汁 取鮮豬血或牛血留于大燒杯中，靜置于冰箱中，一晝夜，過濾滅菌，即得。

(9)醬油液 培養黴菌時常用之。

取葱頭五百克，切成細末，加井水 500 c.c.，煮沸而過濾即得葱頭煎汁，後以之配製醬油液培養基，如下：

a 蒸頭麴汁	100 c.c.
醬油	50 c.c.
蔗糖	50 克
井水	850 c.c.
蒸頭麴汁	250 c.c.
醬油	200 c.c.
蔗糖	50 克
井水	500 c.c.

(2) 人工培養基

(1)蕭范佛氏液　一般黴菌之培養，均適用之，其化學成分如下:

蔗糖	5 克
硝酸銨	1 克
磷酸一鉀	0.5 克
硫酸鎂	0.2 克
氯化鐵	痕跡
蒸餾水	100 克

(2)諾蓋禮(Nögeli)氏液　黴菌或釀母菌之培養，均適用之，其化學成分如下:

酒石酸銨	1 克
磷酸一鉀	0.1 克
硫酸鎂	0.02 克
氯化鈣	0.01 克
蒸餾水	100.00 克

或

消化蛋白質	1 克

磷酸二鉀	0.2 克
硫酸鎂	0.04 克
氯化鈣	0.02 克
蒸餾水	100.00 克

以上二種液內，可各加入蔗糖或葡萄糖 2-15%，

下列之培養液，對于黴菌或釀母之培養，及發酵試驗，多用之。

蔗糖	15.00 克
硝酸銨	1.00 克
磷酸一鉀	0.50 克
磷酸鈣	0.05 克
結晶硫酸鎂	0.50 克
蒸餾水	100.00 克

上式中之硝酸銨，代以酒石酸銨一克，亦可。

(3)海大克氏液　甚適宜於釀母之培養。

第一液	砂糖	100 克
	天冬精	2.5 克
	井水	1000.00 克
第二液	磷酸一鉀	50.00 克
	結晶硫酸鎂	17.00 克
	井水	1000.00 克

臨用時，取上述第一液 1000 c.c. 與第二液 20 c.c，混合而用之。

(4)空 (Cohn) 氏液　為培養細菌用之最良者，有標準培養液之名，其化學成分如下：

磷酸鉀	1.0 克
結晶硫酸鎂	1.0 克

磷酸鈣	0.2 克
酒石酸銨	2.0 克
蒸餾水	200. c.c.

(5)佛藍克爾(Frankel)氏液　廣用于細菌之培養。

食鹽	5 克
磷酸一鉀	2 克
乳酸銨	6 克
天冬精	4 克
蒸餾水	1000 克

(6)遇爾氏液　適用於酸酵母之培養,

醣類	15.00 克
酒石酸銨	1.00 克
磷酸鉀	0.50 克
硫酸鎂	0.25 克
磷酸鈣	0.05 克
蒸餾水	100.00 c.c.

(7)克恰拍克(Czapek)氏液　最適宜於用作黴菌之培養。

蔗糖	30.00 克
硝酸鈉	3.00 克
磷酸二鉀	1.00 克
氯化鉀	0.50 克
硫酸鎂	0.50 克
硫酸鐵	0.01 克
蒸餾水	1000.00 c.c.

第二項　固體培養基

固體培養基因所用之目的，如觀察菌類之生理狀態等，其製法大異，約言之，有二種：一種將固體培養基製成後，熱之使其全溶，復趁其尚未凝固之前，傾少量(約5c.c.)于試管中，管口塞以棉花，如法滅菌，待滅菌事畢，取出，復趁熱時，斜置于木盤中，此木盤之一邊，較他邊稍高，待冷後凝固時，則成斜面形，稱爲斜面培養基，廣用于菌類之分離以及各種培養法，生理試驗時，亦用之，並須于使用前二日製好，使其管內上部凝結之水分蒸發，以免流下，致影響菌類繁殖時之生長狀態，且使用時間，亦不可過久，每使用二月後，須換新製培養基接種之。

另一種係將溶好之固體培養基，趁熱時傾入 10c. c. 于試管中，管口仍塞以棉花，施行滅菌畢，趁熱時取出，直立于鐵絲籠中，冷却後，即成直立之棒形，稱爲柱狀培養基，專供菌類之生理試驗時之用。

固體培養基又因所用之凝固物不同，而分爲膠培養基，(gelatine medium) 瓊脂培養基 (agar midium) 及植物性培養基 (plant medium)三種，今分述之如下：

(1) 膠培養基

膠(gelatin)爲由骨所製出之glutin，係蛋白質之一種，爲無色透明，無臭，無味之非結晶體，在冷水中能膨脹，在熱湯中溶解，呈粘着性之溶液，冷却時，其含量如在 1 % 以上，則凝固，呈透明而富有彈力之固體，其凝固時之溫度，因其所含之濃度而變，例如 5 % 之膠體，在 15°C時，呈凝固狀態，在 27–8 °C 時，則呈液化，故便於培養用時之濃度多在 25% 左右者。

膠加熱過久，則附有粘着性之 β-glutin 變為 Lecin 蛋白腖類，及 Lecin 消化蛋白質，故膠熱時愈久，則其凝固性愈減，據亥得(Va-nderHeide) 氏之試驗，膠在100°C下，熱約一小時，其凝固點能降低二度，在100°C以上，則其凝固點降低尤甚，故用膠製培養基時，應避免加熱過久，行滅菌作用時，宜用高壓蒸煮釜為佳。

膠與酸或鹼共煮時，其蛋白質分解甚劇，影響其凝固點，亦甚大，即在中性時，亦往往呈酸性反應，故在製酸性或鹼性之膠培養基時，宜特別注意之。

(1)麥芽汁膠　為最適宜釀母或黴菌之培養者。

取 2 升之麥芽汁(麥芽汁之製法見前)，加入 150 克之膠，加熱使膠全溶，凝固時如不透明，可將麥芽汁膠加熱至 40-50°C時，加入卵白一個，振盪之，再加熱至卵白凝固，以熱水漏斗趁熱過濾。

所用之麥芽汁，如酸性太強時，即對于膠之凝固性有害，可預先加入少許碳酸鈉以中和之。

(2)麯膠　製法與麥芽汁膠同；為培養黴菌或釀母之優良膠培養基。

(3)果汁膠　同麯膠。

(4)肉汁營養膠　此膠適于細菌之培養，其製法係取肉汁與1%之消化蛋白質 0.5 %，食鹽及 15 %膠相混合而攪拌之，熱至 40°C，至膠溶解後，調其反應，中和後，再煮沸，滅菌濾過即可。

(5)鹼性釀母汁膠　此膠適宜於細菌之培養，其製法係取釀母汁，加入 15 %膠及少許鹼，使微呈鹼性後，如法滅菌。

上述二種膠培養基，在夏季溫度較高時，往往溶解，故須于10%

之膠中，加入 0.5–0.75 %瓊脂，以防止之。

(6)啤酒膠　爲培養細菌之膠培養基，取啤酒加熱振盪，驅出其中之二氧化碳，後加少量碳酸鈣，使微呈酸性，加入 15 %膠，煮沸過濾，如其中酒分因滅菌蒸散而略有損失時，可將此膠培養基，微熱使溶後，加入 2–4 %酒精，以補償之。

(2) 瓊脂培養基

瓊脂一名凝菜，又名洋菜，日人稱爲寒天，其製法之發明，始于 1760年之日人，爲複雜之碳水化合物，係由東印度，馬來及日本海濱沿岸所繁殖之含糊分豐富之海藻中所製得，如石花菜 (gigartene-ase) 即爲製此物之優良原料，普通市中所售之凍粉，即爲此物桿狀或粉末狀之商品。爲各種多醣類之混合物，其主要成分，爲Pararalsin ($C_{12}H_{22}O_{11}$)，據美國海產商品叢書記載，用十五種不同之瓊脂化驗而得之平均化學成分，如下：

水分	16.07 %
粗蛋白	2.34 %
可溶性無氮物	76.15 %
粗纖維	0.[illegible] %
灰分	3.25 %
[illegible]	0.6[illegible] %

(1)麥芽汁瓊脂培養基　爲適宜培養黴菌及釀母者，其製法係取麥芽汁一升，加入切碎之瓊脂 1–2 %，煮沸後，如混濁時，可行過濾。

(2)麴瓊脂培養基　全(1)

(3)肉汁瓊脂培養基　爲適宜於細菌之培養者，其製法係取肉

汁與1.5-2%之瓊脂粉末，共煮沸之，加入1-2%消化蛋白質，及0.5%食鹽，檢其反應，如呈酸性，可以碳酸鈉中和之，過濾滅菌即得。

(4)麵包　為最適于黴菌之培養者，亦可用以培養細菌，惟須預先以碳酸鈉中和之始可，其製法係取麵包二十克，粉碎之，加入蒸餾水，使呈糊狀，滅菌後，即可應用。

(5)糖瓊脂培養基　為適宜於細菌之培養者，即將肉汁瓊脂培養基於溶後加入0.3-0.5%葡萄糖，即得。

(6)牛乳清瓊脂培養基　為細菌之培養基，取牛乳一升與稀硫酸共煮之，則乾酪素凝固分離，過濾而以碳酸鈣中和之後，再行過濾並加入1-2%乳酸鈣及1-1.5%瓊脂，煮溶，滅菌，即得。

(7)其他人工固體培基　可用前述之液體培養基，加入適量之瓊脂，俟溶後滅菌，即可應用。

(3)　植物性培養基

(1)馬鈴薯培養基　取馬鈴薯水洗後，以小刀剔去其芽及腐敗部分，並去其皮，因皮上常有耐熱細菌之芽孢附着故也。以0.1%昇汞水洗半小時至一小時，後以清水洗之，于蒸氣釜中滅菌一小時，後以已滅菌之小刀，劃成二分深之坑，即于此坑中，培植菌類。

如斯製得者，適于培養黴菌，如欲培養細菌時，尚須將切成之馬鈴薯，于1%碳酸鈉中浸約12-24小時，始可應用。

(2)板形馬鈴薯培養基　即將馬鈴薯洗淨，除去表皮，以刀横切成厚約1-2厘米之圓片，浸于清水或稀碳酸鈉溶液中，十餘小時後取出，置于二重皿中，施行滅菌以備用。

(3 斜形馬鈴薯培養基　將馬鈴薯洗淨後，以木塞打孔器鑽取之，則得圓柱形之馬鈴薯柱，取出去其兩端附着之表皮，後于其一端，切成斜面，置于試驗管中，此試管之底部預先放入少許棉花，或玻璃棉，以免馬鈴薯直接與試管底部相接觸，致於管之上端所凝結之水流下時，爲其所浸而腐爛變形，滅菌後，即可應用，或將此斜面體置入特種試管，如盧(Roux tube)氏試管中，此試管之底部，附有細頸，突出呈一小球狀，于此球內，置入少許蒸餾水，以保持此斜面體之濕度，藉免乾燥，而生裂隙，滅菌後，即可應用。

(4)泥狀馬鈴薯培養基　取水牛乳與剉碎之馬鈴薯相混合，置于瓶中，滅菌後即得。如斯所製成者，通常呈酸性，故對於酸性敏銳之細菌培養爲有害，然甚適于黴菌及釀母之培養，如用以培養細菌時，須先預加碳酸鈉中和之，使呈微鹼性而後可。

圖20　內貯斜形馬鈴薯培養基之盧氏試管

(5)甘露蜜培養基　此種培養基，亦如馬鈴薯，適用于觀察細菌之發育狀態。

a 畫線用之培養基　取普通市售之甘露蜜，以木塞打孔器鑽取柱狀體，後將其一端切成斜面，而呈楔形，納入試管中，加入少量水；于120°C下，滅菌一小時，經四日，如呈鹼性反應較強時，可以少量酸中和之。

b 穿刺用之培養基　取30克之剉碎甘露蜜纖根末，加5c.c.肉汁與少量碳酸鎂攪拌後，加水一升，後置于蒸氣釜中，于70-80°C下，加熱以凝固之。

c 扁平用之培養基　取1%消化蛋白質水 10c.c.，肉汁及8%

甘露蜜根末相混合，加入少量硫酸鎂，于 70–80 °C 下，加熱以凝固之。

(6)大豆培養基 取大豆粉 30 克，蒸餾水一升，共煮沸之，經一小時後，過濾，加適量之肉膠與食鹽卽得，可代肉汁培養基，應用于細菌之培養。

(7)蠶豆培養基 適于黴菌之培養，取蠶豆粉 150 克，加溫水一升，保溫 30 分鐘後，煮沸之，經半小時，以布過濾，加 2 %凍粉，依常法滅菌後，備用。

(8)玉蜀黍培養基 適于細菌之培養，取 300 克玉蜀黍，剉碎之，加水一升，煮沸之，經十五分鐘，過濾，加 2 % 凍粉，依常法滅菌備用。

第三項 培養基之反應及其濃度

(1) 培養基反應之調節

培養基之反應，卽其相當之酸度或鹼度，對於菌類發育之影響甚鉅，一般言之，反應呈中性或鹼性之培養基，多適於細菌之培養，反應呈酸性者，多適于黴菌或釀母之培養，故在製培養基時，其反應之呈酸性或鹼性，視應用之目的而調節之。如呈鹼性較強時，以鹽酸溶液中和之，如呈酸性稍強時，以氫氧化鈉中和之，所謂酸性者，卽培養基中氫離子濃度過高，普通以 pH 值表之，pH 值等于 7 時，則呈中性，大于 7 時，則呈鹼性，小于 7 時，則呈酸性，故對于黴菌或釀母之培養時，其反應應以 pH 値為 4–6 為佳，對于細菌，則以 7–8 為適宜。

欲精密測定pH值時，須用電化學方法，即用氫極等以測定之，或用比色法測定之，但其手續繁重，而器具價值尤昂，故普通多用pH值迅速測定器以測定之，手續既簡，價亦較宜，但如非需要十分精確時，可自配一種混合指示劑以應用，尤較便利，唯指數稍嫌不甚確耳。

其混合指示劑之配合量，如下：

純酒精	100 c.c.
溴化百里香草藍(bromthymol blue)	0.080 克
甲基紅(methyl red)	0.019 克
酚酞(phenolphthalein)	0.050 克
百里香草藍(thymol blue)	0.005 克

將上述各種藥品，混合振盪，使全溶解後，以蒸餾水稀釋之，至約二倍，以$\frac{1}{10}$N之氫氧化鈉溶液，精細中和之，至微呈綠色時為止，于測定培養基之pH值時，可取培養基1 c.c.，置于白色磁片上，滴加此混指示劑1 c.c.，觀其色變，以定其數值，此指示劑之各種呈色之pH值，如下：

	赤	橙	黃	綠	青	藍	紫
pH值	4	5	6	7	8	9	10

(2) 培養基濃度之測定

培養基之濃度，因繁殖菌類之種類而不同，均有一定適當之濃度，在釀母對于培養基濃度之抵抗力，比細菌大，釀母繁殖，其培養基最適宜之濃度，以單糖含有量計算之，則適在5%上下，但若濃度加高時，釀母亦能繁殖，據[illegible]氏之試驗，在75%之麥芽糖液內，釀

母仍能發酵，又在含多量糖分及食鹽之醬油醪中，其繁殖力亦甚不弱。

至于細菌，則在含有 80 % 水分之固體培養基上，發育甚旺，如其中所含之營養品過于稀少時，繁殖力即減退甚顯，但在液體培養基中，則影響較微，故營養品對于細菌之供給量最少時，對其繁殖甚有妨礙，但供給量如過高時，亦屬不宜，據卡普斯 (Kappes) 氏之試驗，在含有 20 %乾燥物之培養基內，細菌發育甚佳，然據斐爾氏之試驗，其濃度在用食鹽時，僅爲 12 %，在硝酸鉀，則爲 21 %云。

所言培養基之濃度，猶須注意含有營養物之性質，例如在釀母培養液中，氨鹽量如在 1 % 以上時，雖其所含糖分量在 55 %，亦能充分發育。

至于調節繁殖釀母或細菌之培養基時，其所用之水，以普通井水爲適宜，因其中含有生理上適當量之營養品，在試驗其生理狀態時，以純水爲宜，且因水之溶解力甚大，如與銅器接觸，往往有少量銅分溶入，與玻璃器接觸時，往往有鉀，鈣或鈉溶入，故在行特殊試驗時，其所用水之來源及其容器，均須注意，據利赫特(Richter)氏之試驗，以耶那 (Jena) 製之蒸餾瓶，及白金冷卻器所蒸餾之水，以水晶瓶或內塗蠟之玻璃瓶貯之爲佳。

第二節 滅菌法

各種菌預於行純粹培養之實驗時，其所用之各種材料，如培養基以及各種器具等，多有雜菌附着，必須事先以各種方法除去其附着之雜菌，務使完全殺滅達無菌程度而後可，此種除去或殺滅雜菌

附着之雜菌方法，簡名之曰滅菌法，(sterilization)其種類甚多，可大別爲下列三種：

(1)濾過除菌法： 藉機械之力，以濾除其雜菌。

(2)加熱殺菌法： 藉物理學之高熱，以殺死雜菌。

(3)應用化學藥品滅菌法： 藉化學藥品之作用，以殺死其雜菌。

滅菌之目的，在除去或殺死不必要之雜菌，已如前述，但在殺菌時，應顧及物質之性質，而變異其殺菌法，要以不改變物質之原質，而僅能殺死不必要之雜菌爲原則。

第一項 濾過除菌法

(1)氣體 ：氣體中之雜菌，以濾過法除去之，最爲簡便，即以棉片代替濾器，普通以乾燥者較濕者爲易收實效，故多用生棉，因脫脂棉易于吸收水分而潮濕故也，至于石英砂或玻璃砂等，亦能應用，若以水洗之亦收同效。

(2)液體 ：不耐加熱之液體，或其性質因藥品之加入而異變化者，均通用此法，倘有欲試驗菌類繁殖期之生產物時，亦用此法，因用熱殺菌，則其生產物難免分解，用藥殺菌則恐更多變化。如僅欲去其菌類，其所用之器具，概爲素燒陶器，(如黏土，矽藻土，石膏，或石棉等，)所製成之濾過器，應用時，加壓力以使不必要之雜菌，由培養液中濾出。

濾過器雖有種種，然應用較廣者，一爲藉上氣機加壓濾過者，係爲黏土製之燭形體，名爲查姆柏蘭得(Chamberland)氏濾器，其上氣壓以氣壓表有二度以上，即可，不宜過高，二爲藉抽氣機吸引濾過者，係用矽藻土製之伯克費爾得(Berkefeld)氏濾器，倘有不藉抽氣

機吸引者，如西爾柏斯密特(Silberschmidt)氏濾器，形甚小，其他如蒲卡爾(Pukall)氏，賴歇爾(Reichel)氏麥松氏等濾器，亦常應用。

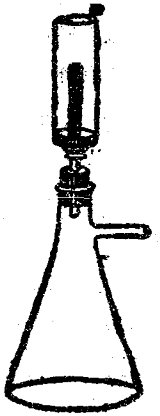


圖 27 柏克費爾德氏濾器

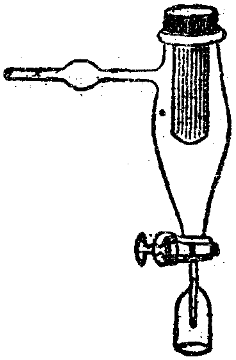


圖 28 麥松氏濾器

新濾器使用時，應先試其有否裂隙，法將濾器沉入水中，其底端之乳頭，連于抽氣機上，而壓入空氣，如有多數空氣泡連續發生，則證明有裂隙，不能應用。

使用時，先浸濾器于煮沸之蒸餾水中，次裝置于過濾瓶上，以蒸餾水濾過，置空氣中充分乾燥後，于鐘形濾器之上端，施以棉塞，連同其連接部分，以棉花包裹後，置于高壓殺菌器中，加熱殺菌，于115-120 °C下，經20-30分鐘，然後取出應用。復將被濾之液汁，先以濾器或脫脂棉濾過，如其中所含之固體物較黏，可以離心機分去之，後再以此濾菌過之濾器，接以抽氣機而濾過之。

在最初濾過之濾液中，往往含有少量之雜菌，故須棄之，如長時

間之使用，或使用回數過多，每有濾器毛孔害塞，過濾不良，故須于適當時間內，更換之，將此不良之濾器置于高壓殺菌器中加熱，而急變氣壓，以透通氣孔，或置于坩堝爐中，灼熱之，以恢復原狀。

第二項 加熱殺菌法

(1) 乾燥殺菌法

(1)火焰 火焰殺菌，奏效甚速，凡檢查菌類或培養菌類時，所用之各種器具，能經火燒而無害之物，如白金絲、鉗子、玻璃棒以及蓋玻片，載玻片等，均可直接置于火焰中燒灼，至于移植時，試管口或燒瓶口亦可于火焰中灼熱之，其所用之棉塞，可使之着火，後用手指捺息，其他需迅速殺菌時，可使預浸于酒精後，即于火焰上引火，使酒精燃燒，而收殺菌之效。

(2)乾熱 所用之玻璃器，如二重皿、試管、滴管、燒瓶，其他如濾紙及棉等，均適用此法殺菌，在行此法時，其玻璃器須預爲乾燥，以免在高溫時，其表面或有凝縮水分滴下，以致破裂，並將試管口等，塞以棉塞，二重皿滴管等，則用白紙包裹，置于乾熱滅菌箱內行之，溫度達 140-160 °C，時間歷 1-1.5 小時，棉塞卽呈黃色，但亦因器具性質不同而所用之溫度亦異，如銅錫鐵等製品，雖熱至 200 °C，亦無害，殺菌畢，不可即時取出，須待溫度冷至 40-50 °C 左右始可。

(2) 濕熱殺菌法

(1)蒸氣 液體或固體之培養基，概用此法殺菌，其殺菌力較乾燥者爲大，故其溫度常在百度上下，時間僅半小時餘卽足，所用之器具種類甚多，最常用者，爲科赫(Koch)氏之蒸氣釜。

普通不生胞子之菌類，多用此法殺菌，但經此高溫度(100 C)之

加熱後，培養基有變更其性質者，故須降低其溫度，而行長時間之殺菌，例如血淸培養基，普通于 55-65 °C 下行三二小時之久，卽可，此種低溫殺菌法，普通稱爲巴士特氏殺菌法，

(2)煮沸 簡單器具，如雜用之金屬器具等，可逕置于水中煮沸之，以收殺菌之效，

(3) 高壓殺菌法

有孢子之菌類，或于高壓下可不生變化之培養基，均適用此法，其所用之器具，稱高壓蒸煮器(autoclave)，至時間之長短，則係隨溫度之高低而變，卽因壓力之大小而異，普通 20-40 分鐘卽可，今將壓力與溫度之關係，列下:

壓力(氣壓)	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	4.5	5.0
溫度(°C)	111.7	120.6	127.8	133.9	139.2	144.0	148.3	152.2

在使用前，須將器內水分加足，再置入應行殺菌之物，後將蓋扭緊，加熱後，開放氣門，驅出器內之空氣，待有水蒸汽噴出時，乃緊閉之，此時須調節火力，使壓力計指針，表示所希望之壓力，經一定時間後，熄火，待壓力降至常壓後，開放氣門，待冷，始開蓋取出內容物。

(4) 間斷殺菌法

此法最爲常用，凡能生耐熱孢子之菌類，均適用之，爲丁達爾(Tyndale)氏所首創，首先于短時間之加熱，期殺死其抗熱較弱之菌類細胞，後于常溫下，俟殘留其中之孢子發育，再加熱殺死之，如是反覆施行，卽能達到完全殺菌目的，此法稱爲間斷殺菌法，此時之溫度達 100 °C，每日一次，每次時間歷 1-2 小時，連續 3-7 日卽可。

第三項 藥劑滅菌法

藥劑滅菌法與前述各法異，其應用範圍甚廣，凡于皮膚以及實驗用之各種器具，如台、桌、木盤等之殺菌均用之，即玻璃器，如二重皿、試管、玻片等，欲行迅速殺菌時，亦無不用之。所用之藥品，種類甚多，性質各異，應用殺菌時，當選擇其與殺菌之物，相宜者而用之。至對于金屬器械有腐蝕作用，或對于人體有毒害者，雖有殺菌之效，亦可不用，今將常用之殺菌藥劑，列下：

(1)昇汞 0.1％之水溶液，殺菌力甚大，且不刺戟皮膚，故行洗手殺菌時多用之，其他如玻璃罩之內部，二重皿之外部，以及溫室內，均可塗搽，或噴霧用之。

昇汞水對于金屬器械有腐蝕作用，故宜忌用，可用千倍之氰酸汞液代之，又富于蛋白質之物，遇昇汞亦起化學變化，其殺菌效力亦因之減退，故宜改用其他藥劑，如石炭酸等始可。

(2)氫氧化鉀及碳酸鉀 氫氧化鉀之殺菌力較碳酸鉀稍強，濃度在10％；如同時加熱，收效尤大。

(3)甲醛液 普通0.01–0.1％之溶液，即具有強力之殺菌力，市售品多為40％左右，故取此稀釋至5–10倍時，即可應用，雖無害于皮膚，但刺激鼻管及眼部，故不宜常用，僅可用之噴霧，以行全室殺菌。

(4)酒精 絕對酒精之殺菌力甚弱，故普通多用其稀釋液，如50–70％即足，玻璃棒、玻片、無菌箱、手指以及各種器械，均可用之。

(5)石炭酸 2–3％之溶液，可用於皮膚消毒。

(6)硝酸銀棒 即取其結晶體，作殺滅菌類之聚落用。

(6)高錳酸鉀 亦取用其結晶體，其功效與前同。

(8)水楊酸（salicylic acid） 用10%之酒精溶液，作殺滅黴菌之聚落用。

(9)鉀肥皂，來沙爾等 2%溶液其效甚佳，可用於手消毒。既無刺戟又無毒性。

其他如氯仿、丙酮、甲苯及百里香酚等，對于菌類之繁殖，僅有防止之力，對于酵素之作用，甚爲有害，故不常用做殺菌劑。

第三節 分離法

第一項 普通分離法

(1)菌種原液之配製

a 取容積120 c.c.之伊爾瓶十個，洗淨烘乾，每個加入0.8%食鹽水30 c.c.，並置少許小塊或碎形玻璃塊，瓶口塞以棉花，置于蒸汽滅菌釜內，煮蒸一小時，連續滅菌三日後取出。

b 復取120 c.c.容積之伊爾瓶十個，乾淨後，每個加入4%之麥芽糖液30 c.c.，瓶口塞以棉花，如上述法施行滅菌。

c 採取試料中心之一部分，研成粉末，分別置于上述a、b已滅菌之瓶內，微振盪之，靜浸二三日後，即可應用。

(2)菌種之分離 取直徑約20厘米之二重皿三十個，洗淨烘乾，外以白紙包裹，置于乾燥殺菌箱中，行乾燥滅菌，溫度達160–180°C，時間歷1–2小時之久，如此連續三天，取出，每個微掀一邊，傾入已滅菌而復熔之固體培養基5 c.c.，水平式徵徵搖動，使液體平鋪于二重皿之底面上，待冷，凝成薄片，透視之如無物然。後以滅菌白金絲，拈取前製菌種原液少許，以畫綫或塗抹法，種植于此等二重皿中，每

種種植三個，復以白紙包裹，移置于恆溫箱中，溫度 25-28 °C. 培養經 2-3 日，每日檢視一次，至現有菌叢，則以滅菌之白金絲取下，于顯微鏡下略檢查之，知其為何種菌類，而移植于斜面固體培養基面上，復置于恆溫箱中，任其繁殖，

第二項　生理分離法

利用菌類生理之特性，使其發育良好，而使其他不必要之雜菌發育不良或竟不發育，因之可得分離出所希望之菌種，此法有種種，常用者如下:

(1)加熱分離法　普通菌類之營養細胞，于溫度 60 °C 下，概行死滅，唯有孢子之菌類，不至死滅，雖于 100 °C 下，五分鐘內，亦能殘存，故利用加熱至適當程度，可分得有孢子或抗熱性之菌類，

(2)適溫分離法　各種菌種之發育，皆有其適溫，在其適溫下培養，則發育特別旺盛，反之，則發育不良或竟不發育，利用此點，能分得所希望之菌類，

(3)營養分離法，又稱巴士特氏法　此法又名競選分離法，某種菌種適宜於此種培養基之營養，而不適宜於他種，適宜于他種者，于此種內或呈營養不良狀態，利用此點，亦可得所希望之菌類，

(4)克雷普斯(Klebs) 氏分割法　以白金絲捎取不純之菌液，畫線培養于已滅菌之固體培養基面上，俟其發育良好後，擇其較純者，再反復行畫線培養，即得，

第四節　培養法

第一項　普通培養法

普通培養法常與分離法同時進行，因在行此種培養法時，往往希望某種菌種達到純粹程度，並利用種種培養法，以期所希望之菌種分離而得純種。

普通培養方法甚多，其原理均不外將菌類以無菌水稀釋至某種程度後，培植之，其最適用者，有下列數種：

(1)漢松氏之稀釋培養法　取釀母種少許與無菌水相混合，而振盪之，後以計算器檢定此混合液每滴中之釀母數，復以無菌水稀釋之，至約每二滴混合液中，恰含釀母細胞一個，取此一滴與一滴麥芽汁相混合後，置于二重皿中振盪之，再置于恆溫箱中，任其繁殖，如是操作三五次，直至釀母發育之斑點，為一個細胞所成時止，細菌之培養亦適用之。

(2)林得雷氏小滴培養法　此為培養釀母之最單純，而且最確實之方法，法以滅菌之白金絲鈎取不純菌種少許，混于菌體培養基(如麥芽汁麴汁)中，復以滅菌之小鋼筆尖，拈取此混合之菌液，作多數小滴于已滅菌之蓋玻片上，復反置于凹面載玻片上，將此蓋玻片之四周，用石臘固封，于顯微鏡下檢查之，其某一滴中僅有一個細胞存在者，于蓋玻片上用墨水記之，後置于恆溫箱中任其繁殖，待有記號之菌滴聚落發育良好後，用滅菌之濾紙條吸取之，而投入于液體培養基中，以資培養。

(3)射恩駢爾得(Schonfeld)氏畫線培養法　此法與前法大同小異，取液化之麥芽膠與釀母稀釋液相混合，以滅菌之鋼筆尖，拈取此菌液，畫短線于已滅菌之蓋玻片上，復反置于凹玻片上，將此蓋玻片之四周，用石臘固封，于顯微鏡下檢查之，擇其孤立者，以墨水記

之，俟其發育良好後，如法分離而培養之。

(4)漢松氏膠培養法 取無菌水少許與釀母混合後，置于顯微鏡下，檢查此混合菌液，一滴中釀母之概數，取定量麥芽膠置于玻瓶內，于水浴上熱之，溫度達 30-35°C 下，使膠液化後，加入適量之釀母液，使此全混合液，每一滴中約含釀母細胞二十個時，振盪之，使其細胞分配平匀，振盪時應取水平式，切忌氣泡發生，後以滅菌之玻璃棒拈取一滴，塗抹于已滅菌之蓋玻片上，待膠凝固，即反置于凹玻片〔蒲特歇(Böttcher)氏小室〕上，此際蓋玻片之四周用石臘固封，于顯微鏡下精密檢查之，擇膠中釀母之孤立者，標記其位置，靜置于恆溫箱中，經 24 小時後，再檢查之，如此標記之釀母細胞發育良好，即以滅菌之白金絲或玻璃棒之尖端採取之，而另行培養。

又法手續較前稍為簡單，而成績並不稍遜，即用無菌水稀釋釀母，于顯微鏡下檢查之，至其一滴中約含五至六個細胞時，取此一滴塗抹于已附有薄層麥芽膠之蓋玻片上，後同樣反置于凹玻片上，而固封之，擇其孤立者，墨記之，俟其發育後，移出另行培養。

(5)林得雷氏點滴培養法 拈取不純菌種少許，混於 10 c.c. 之液體培養基中，以滅菌之移液管吸取此菌液少許，點滴于已有薄層瓊脂培養基之二重皿底面上，蓋好後，以紙包裹，倒置于恆溫箱中，待其繁殖，聚落充分發育後，擇其孤立者，接種于試管中。

(6)韋克曼(Wichmann)及蔡克(Zike)二氏法 此法係將漢松及林得雷二氏法混合而用之，即先將已滅菌之蓋玻片上，塗以膠培養基薄層後，用毛細管吸取稀釋之釀母液點滴于其上，于顯微鏡下檢查之，某滴中僅含一個細胞時，加以標記，俟其繁殖後，再採取而培養之。

(7)霍克氏平面培養法　此法常用于細菌之培養，對于釀母，則因已有其他優良而簡捷之方法，且由此法欲得單一釀母細胞者，殊為困難，故不常用之，今將其手續分述如後：

a 預備滅菌過之二重皿六個，每三個作爲一組，各于其蓋上之一隅，黏貼一，二，三號之標記，並記載其材料名或菌名。

b 取膠或瓊脂培養基各三試管，亦各于其上部黏貼一，二，三號之標記，于水浴上加熱使熔，後稍放冷，在膠培養基約冷至 25°C，在瓊脂培養基，則冷至 45°C，

c 取不純之菌種少許，以無菌水稀釋之。

d 以滅菌白金絲拈取稀釋菌液少許，混入內含已熔且冷至相當溫度之培養基之第一號管中，並振盪使勻，

e 同樣由第一號管中，以滅菌白金絲拈取少許混合液，轉種于第二號試管中搖動之，復自第二號管中，拈取少許，再轉種于第三號管中，搖動之，

f 將此已接種之試管，依次分別傾入同號之二重皿中，水平式搖動之，使培養基凝成平勻之薄層，

g 倒置二重皿于恆溫箱中，任其繁殖，

h 俟其發育後，取出檢查，擇其聚落孤立者，于顯微鏡下，復精細檢查之，如爲所希望之菌種，而且純一時，則採出另行培養，否則尙須重新配製，反覆操作，直至達所希望之目的時爲止。

以上所述各法，各種菌類均適用之，

第二項　純粹培養法

關于所需要之菌種，由雜菌中如何分離而出，並如何培養始得

純種，前項中已述其大概，至如檢查菌種之生活狀況，繁殖情形，以及各種生理學上之應用等，猶須將上述之純種，行如下之培養始可，在行下列各種培養時，須於無菌室內行之，並須嚴防雜菌之或然侵入，因純粹培養之目的，僅在培養一種純粹菌類，預備將來檢查此一純粹菌類之各種性質，絕對不容有他種雜菌之混入，故在採取純種時，應特別注意，並將所有應行操作之手續，愈精細而敏捷愈佳。

(1)液體培養(liquid culture) 取已滅菌之試管若干支，每支注入液體培養基(麥芽汁濃度 12° Balling，酸度pH6.5)10c.c.，後如法滅菌，以滅菌白金絲拈取菌種少許，接種于內，搖動之，使菌種脫離白金絲而入培養基內，置于恆溫箱中，保持溫度 20-30°C，經 24 小時，卽可取出檢查之。

(2)畫線培養 (streak culture) 以滅菌白金絲，拈取菌類純種少許，于斜面固體培養基面之中央，自下而上直畫長線一條，于是所採取之菌種，同時卽籍種于此條長線之上，此條長線之長度，當較固體培養基之斜面之長略短，其下端應與試管底部離開少許，以免此畫線之底端，與凝集管底之水分相接觸；又在此斜面上，所畫之線條通常僅爲一直線，然亦有畫一蛇行之曲線者，或畫二條或三條平行直線者，亦無不可，畫線完畢，置于恆溫箱中，任其繁殖，數日後，則見有菌叢沿畫線發育，

(3)穿刺培養(stab culture) 以滅菌白金絲拈取菌類純種少許，倒持培養管，于柱狀固體培養基面之中央，由下至上直穿入內，穿刺之深度，約爲培養基之全柱長四分之三卽可，後直置于恆溫箱中，任其繁殖

(4)扁平培養(plate culture) 此法爲林得雷氏所創，在檢查各菌聚落生長之形態，以及產膜之有無，微皮之形成等，均利用之，法取方形培養瓶，內盛固體培養基，使呈斜面後，以滅菌白金絲，拈取菌種純種少許，劃短線于此培養基之斜面上，後置于恆溫箱中，任其繁殖。

(5)巨大聚落培養(giant colony culture) 巨大聚落之形狀因菌類而異，故在檢定菌之種類時，爲常用之法，取滅菌伊爾瓶，注入滅菌而且復溶之固體培養基少許，水平式搖動，使于瓶之底部形成薄層，乃以滅菌白金絲，拈取菌種少許，點植于培養基面之中央，後置于恆溫箱中，任其繁殖，約經月餘，待其聚落長大至約2-4厘米時，取出檢定，或加甲醛液數滴，而保存之。

(6)浮利氏墨汁培養法(Buri's ink-speck culture) 法將稀釋之墨汁(黏墨 1 c.c.蒸餾水 9 c.c.)，置于試管中，如法滅菌，以滅菌之鋼筆尖，拈取稀墨汁一滴與稀釋菌液一滴，相混合後，取此混合液一滴，後以滅菌之鋼筆尖，拈取少許，點滴于已凝有薄層膠培養基之蓋玻片上，順次作5-30點，每點距離約半分至一分，點妥後，反置于凹面載玻片上，于顯微鏡下檢之，則每一細菌體，于此黑視野內，呈一光亮之小點，擇其孤立而四周無他小點接連者，于其背面以墨記之，後用滅菌之小刀，仔細分割，削除餘者，置入二重皿中，于低溫下培養之。

第三項　嫌氣性菌類培養法

嫌氣性菌類在有氧之處難生活，故培養時，當用特別之培養法，以排除培養基內之氧，並使培養基長時間保持無氧狀態，其法有下

三種:

(1) 機械遮斷法

(1)霍克氏法　即將菌種培植于固體培養基內，後以玻璃板或雲母板，將空氣遮斷之。

(2)挨斯(Hesse)及利鮑利爾斯(Liborius)二氏法　此法甚普遍，係于固體培養基中，施行深層或穿刺培養後，于此培養面上，再流入滅菌而復熔之固體培養基少許，待凝固後，則空氣爲之遮斷，遂置于恆溫箱中，任其繁殖。

如于液體培養基中，培養時，則加入液體石臘，以遮斷空氣，

(2) 藥品吸收法

(1)賴特(Wright)氏法　取化學分析上所用之乾燥器，于此器底部，注入10%焦性沒食子酸，及20%之氫氧化鉀之混合液，注入量以與乾燥器內隔板相平爲適宜，後將已接種之二重皿，開蓋平直置于乾燥器中之隔板上，後將乾燥器蓋好，即可。

(2)彪赫勒氏法　取容量100 c.c.之大型試管，于管底預置入S形玻璃棒二根，後加入10%之焦性沒食子酸，及20%之氫氧化鉀之混合液相當量(焦性沒食子酸一克，及10%氫氧化鉀溶液10 c.c.，能吸收100c.c.空氣中之氧)，用純粹培養法培植嫌氣性菌種後，即將此試管投入此大型試管中，管口塞以橡皮，塞後復用石臘固封，于恆溫箱中，培養之。

(三) 氣體置換法

此法中之最常用者爲夫朗閣胡培氏(Franke Hüppe)法，茲略舉如下:

取容量 100 c.c. 之大型試管或伊爾瓶，管口塞以二孔之橡皮塞；一孔通以長玻璃管，達于管底，一孔通以短玻璃管，僅達于橡皮塞之下面，用此裝置製成斜面培養基，于其管內滅菌後，將嫌氣菌接種于此斜面上；後將長玻管，接于氫發生器上，使氫經洗滌液 (1) 50% 氫氧化鉀溶液及 1% 焦性沒食子酸，(2) 10% 醋酸鉛溶液，(3) 5% 硝酸銀溶液，而通入此大型試管中，最後用火焰融熔此大型試管上之長短兩玻管，而封固之後，如法培養之。

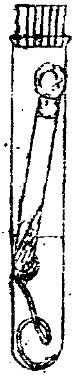


圖29 彪赫爾氏裝置

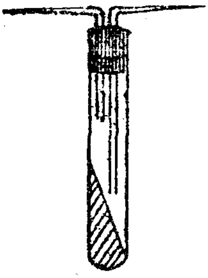


圖30 夫蘭開胡培氏裝置

第三章　實驗法

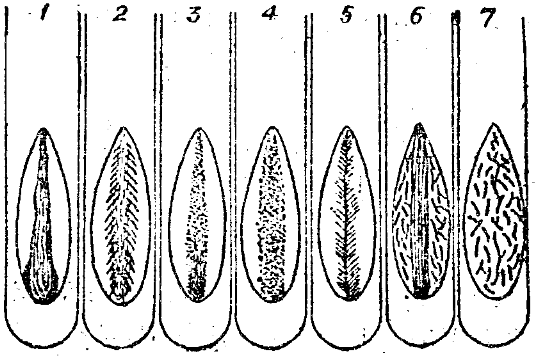
第一節　釀母之生長狀態

第一項　畫線培養

取純菌種，畫線培養於斜面固體瓊脂培養基面上，於 25-30 °C 下，培植 2-4 日後，檢查之，則見菌類發育於此線上，形成一條帶狀之菌苔，此菌苔之性質，因各菌之種類而不同，其形有呈直線者，有呈串珠狀者，有呈扇形者，其組織有呈黏稠者，有呈疏鬆者，其表面有

呈平滑者，有呈粗糙者，有乾燥者，有潮濕者，有凸起者，有凹伏者，有附有氣孔者，有呈皺紋者，其光澤有呈反光者，有呈暗昧者，其邊緣有呈正緣者，有呈缺邊者，有呈花瓣形者，其色有呈乳白、濁黃、赤紅以及其他色者。

圖31 畫線培養之生長狀態



1 線狀　2 有刺之線狀　3 念珠狀　4 擴散狀
5 羽毛狀　6 喬木樹狀　7 假根狀

第二項　穿刺培養

取純菌種少許，穿刺於柱狀固體膠培養基面之中央，於25-30°C下，培植20-40日，逐日檢查之，則見菌體逐漸發育，有於穿刺線之上端發育旺盛者，有於下端旺盛者，有於中部旺盛者，有將培養基內之糖分發酵而有氣體發生，致培養基生裂隙者，甚或在其發育之處，將膠基液化爲水樣或油樣，且現種種液化之形式，有呈漏斗狀者，有呈管狀者，有呈囊狀者，有呈皿狀者，有呈層狀者，有呈全部液化者，其液化力因菌之種類不同而有大小，卽液化時間之長短，進行之快

慢，間有僅能發育，而不能液化，在穿刺線處呈丁字形者.

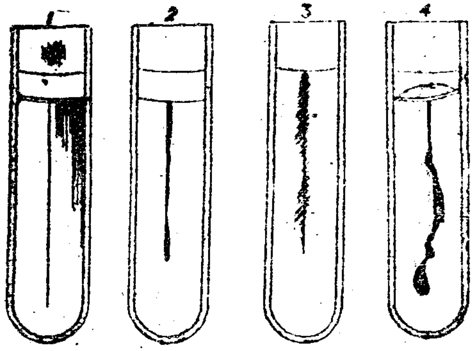


圖32 穿刺培養生長之狀態

1 不豐富顯狹小狀
2 線狀
3 毛蓋狀
4 翼狀

第三項 液體培養

取純菌種少許，培養於液體培養基（肉汁，消化蛋白汁，麥芽汁等）內，於25-30°C下，培養2-10日，逐日檢查之，則見有菌類發育，遍滿於培養液內，而使其全部混濁者，有於液面旺盛，甚或形成被膜，被膜有厚者，有薄者，膜面有呈皺襞壘起者，有平滑者，有沿管壁四周向上攀昇者，又有在液底部發育旺盛而呈絮狀體者，有菌體雖發育，培養液不呈混濁而仍透明者，故由此外觀之如何，可約略知其爲上面，或下面釀母，並可取出於顯微鏡下，檢查其形狀，大小，前者多含於培養液之表面細胞層間，及球狀泡沫中多呈乳色，至於後者，則多沉於液底，在表面泡沫中，僅含有少量

第四項 扁平培養

取純菌種少許，培植於四角玻璃瓶內之斜面固體培養基面上，於常溫下，培養2-10日，檢查其發育情形及生長狀態，有呈平面

者，有隆起者，有呈半圓形者，有呈彌裂者，

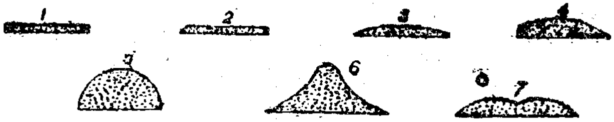


圖 33 巨大培養聚落橫斷面之各種形式

1 平形　2 隆起形　3 凸形　4 枕形　5 頭狀　6 心洸形　7 臍狀

第五項　巨大聚落培養

巨大聚落因釀母種類之不同，其色澤，形狀，組織等，亦因之而異，故在研究釀母種類時，巨大聚落爲必要之特徵，取純菌種少許，點種於直徑約30-50厘米之平面固體培養基面之中央，於室溫下，培養 20-40 日，隔日檢查一次，並注意避免熱及光之射入，以免影響其發育。

第二節　釀母之生理試驗

第一項　釀母之形狀及其繁殖之情形

釀母之形狀及其繁殖之情形，可採用前章第四節 1 項 (2)，(4) 目小滴培養及膠培養諸法，培養經 24-48 小時之繁殖，以檢查之。

(1)形狀　接種繁殖後，於顯微鏡下，檢查其細胞大小及形態，如圓形、橢圓形、臘腸形、及卵圓形等，此時應須注意，釀母之形狀係因培養之情形而異，同一釀母於同一成分之培養基內，培養於液體中者，與培養於固體中者不同，即同一培養於液體中者，繁殖於上面與繁殖於下面者，亦稍異，且因培養之時日久暫，亦大異其趣，故在

檢查釀母之形狀試驗時，其生理狀態，肯須詳記，如培養時日若干，培養基之性質，以及培養之方法等，均須詳細記載，以備參考，例如培養於啤酒、麥芽汁或麴汁中，經 24 小時，檢查釀母之形狀為圓形，但培養於麥芽汁膠中，經四十八小時後，則呈橢圓形。

(2)繁殖之情形　釀母普通均依芽生增殖，僅 Schizosaccharomyces 屬之釀母，依裂生增殖，關於增殖之情形，應注意下列三事：

(a)檢查其繁殖之方法及遲速。

(b)母細胞與子細胞是否直接分離，或以小柄互相連接（在培養釀母中之上面釀母，多以小柄使母細胞與子細胞相連接，而野生釀母則不然，概呈分離）。

(c)母細胞與子細胞大小之區別，在培養釀母中之母細胞與子細胞約同大，在野生釀母，則不然。

第二項　釀母細胞之內容物

取新培養之幼釀母細胞（培養 24 小時），於顯微鏡下檢查之，其應注意之事項如下：

(1)細胞之內容物，有平勻者，有呈顯然之粒狀者。

(2)細胞之內容物，有呈透明者，有呈混濁者，在培養釀母，多呈混濁狀態，而在野生釀母，概呈透明體。

(3)細胞中是否有多量之肝液素。細胞中肝液素之含量，可由克拉姆氏染色法，以判明之，經鹼性碘液加染後，其含量多者，細胞呈赤色或帶褐色，其含量微少者，則呈黃色。

(4)細胞內空胞之存在數與大小。在培養釀母，其空胞極小，而

在野生釀母，則較大。

(5) 粒狀體之有無，及其靜動與否，細胞內因光線之屈曲力甚強，如有粒狀存在時，往往呈激烈之迴轉，此等之粒狀體，概爲脂油及蛋白質所成，用 1% 鋨酸染之，呈暗褐色，指甲花酒 (henna-tincture)染之，呈赤色。

第三項　釀母生長之適溫

(1)定量細胞種植法　此法在測定釀母繁殖力，並比較各種釀母繁殖力之大小時，最爲重要。法先將欲試釀母，以無菌水稀釋之，充分振盪，使其細胞個個分離後，於釀母未沉澱之前，速以滅菌小滴管，吸取 1 c.c. 與 1 c.c. 1 %硫酸相混合，復由此混合液中，取一滴，滴於托馬斯氏血球計算器(Thomas haemacytometer)上之凹處，如法計算，(計算法詳後第十三節)如是而知釀母混合水液內，每滴所含之細胞數爲 a，後將此釀母種移種於庫氏培養液中，假定此培養液之量爲 P cm^3，俟種植後，此釀母及培養液之混合液之一滴中，所含釀母細胞數，復如法測定後知爲 a_1，以X代表含有 a 數之原釀母種植量，則

$$\frac{a}{a_1}=\frac{P+X}{X}$$

換言之，卽釀母與水混合液之細胞數，與種植後細胞數之比，等於種植全液量，與種植液量之比，故據前述之方程式解之則：

$$X=\frac{a_1P}{a-a_1}$$

(2)適溫之選定　取新釀母種，移植於麥芽汁若干管中，分別於

各種溫度下，培養24小時後，採取此新培養之釀母液，分別如法檢定，每滴中之細胞數，擇其繁殖細胞數最大之溫度，定爲此釀母生長之適溫。

第四項 適宜之pH值

pH值因釀母之種類而異，各種釀母均各有其適宜pH值，故在檢定釀母種時，此法亦甚關重要，法取8%麥芽糖及2%葡萄糖之混合液，加入酒石酸水溶液，配製各種不同pH值之培養液，如法滅菌後，移植新幼釀母種少許，於其適溫下，培養二三日後，取出如前法計算其細胞繁殖數，而選定之。

第五項 酒精之抵抗力

釀母之酒精抵抗力大小，對於酒精發酵工業之關係，特爲重要，而對於檢定其菌種，亦爲不可或缺之重要因素，法取新培養之釀母種少許，移植於含有各種不同濃度(5%，8%，…20%等)酒精之6%麥芽糖，2%葡萄糖之混合培養液內，於其適溫及適宜pH值下，培養2-3日，取出，如法檢定其細胞繁殖數最少或死滅最多者，而推定之。

或於同大之發酵管中，如法培養之，視其氣體發生之多少，而推定之。

第六項 死滅溫度

釀母之死滅溫度，因其種類而異，且因所用培養基之性質，營養環境之良否，與加熱時間之久暫而不同，通常急劇加熱死滅溫度，往往較徐緩加熱時爲低。

其測定法係用少量釀母，培植於內盛麥芽汁或麴汁之試管中，

液懸於杯內，而置於水浴上，徐徐加熱，同時於水浴內，置一攪拌器，時時攪拌之，使其溫度平勻，至溫度達於 50 °C 時，取出釀母少許，檢其是否生存，同樣於52°C, 54°C, 56°C, 58°C…下，反覆檢查之。

檢查釀母之生存與否，在第十一章第三節 3 項內，已略有述及，或即將釀母取出，行點滴或平面培養，以視察其能否發育，亦可。又於顯微鏡下觀查之，亦可顯然分出，如釀母細胞收縮，原形質凝固，光線屈折力甚強，空胞多消失，即為細胞死滅之證。

第七項 釀母之營養試驗

釀母在發育時，由種種化合物內，攝取其必要之氮素與碳素量，以及此等營養品之來源等，亦因其種別而異，例如氮素之營養，在酒精釀母麥酒釀母以及葡萄酒釀母等，以來自氨基及消化蛋白質內者為佳，產膜釀母能由銨鹽化合物內取之，並能由亞硝酸鹽化合物內吸收而利用之，在 Saccharomyces acetethylicus，則能由硝酸鹽化合物內攝取之，至於碳素營養，在麥酒釀母，則由麥芽糖內攝取之，Saccharomyces apiculatus 及 S. mycoderma 則僅能由葡萄糖內攝取之，其他如S. pastorianus Rees 能由糊精內攝取之，S. acetaethylicus 能由甘油內攝取之，S. Kefyr. 能由乳糖內攝取等，以供其繁殖。

(1) 氮素營養試驗　以不含氮素之培養液（如葡萄糖，磷酸鉀，硫酸鎂，氯化鈣等之混合液）內，加入各種氮素不同來源之化合物，(1)消化蛋白質，(2)天冬精，(3)銨鹽，(4)硫酸鹽等，後以之培植釀母，檢其能否繁殖並其繁殖情形。

(2)碳素營養試驗　以不含碳素之培養液（如硫酸銨，磷酸鉀，硫酸鎂氯化鈣等之混合液）內，加入碳素之各種不同來源之化合物，

(1)葡萄糖，(2)乳糖，(3)糊精，(4)甘油，(5)乙酸鹽，(6)酒精等，後以之培植釀母，檢查其能否繁殖及其繁殖情形。

第三節　釀母之生產物試驗

第一項　孢子之生產

釀母孢子之生產依釀母之種類而異，且因培養之時間與溫度，以及繁殖環境如何，而不同。

供孢子生產試驗之釀母，須採取其營養充分而強壯者，因衰老之釀母，往往對於孢子之生產力微弱，強壯之釀母，可由培養釀母種，於麥芽汁或麴汁中，於適溫下經24小時，更由此採取新幼釀母種少許，再重新於25°C下培養一次即得，取此強壯之釀母種，培植於石膏皿上，而行孢子生產之試驗，在以諸種釀母做比較研究時，必須使在同一條件下，如同一溫度，同一培養基，同一時日等，為最關重要。

所用之石膏皿，係用純潔硫酸鈣之粉末，乾炒一小時，溫度達115°C，冷後，以適當之水攪拌之，使成糊狀，傾入內部已塗礦脂之模型中，後輕輕敲擊之，使石膏糊內之空氣，完全逸出，靜置之，使石膏固化後，取出，通常石膏皿均如截去尖端之圓錐形，高約3厘米，其上面有直徑為3.8厘米，附有淺凹面，下面直徑為5.8厘米。

此外又有一種石膏柱，為雪寧(Schiönning)氏所用，係用紙製成圓筒，鑄成石膏圓柱，其兩端均成凹面，其柱長以相當於韋松氏壺之二分之一高，為適當，後即置於此壺中而用之，在應用上，仍以前者較為便利。

取前處製成之石膏皿，置於大型帶蓋之玻璃皿（大型二重皿）中，行乾熱殺菌後，傾入無菌水，約為石膏皿之一半高，將培養已強壯酵母之麥芽汁，傾去上浮之液汁，殘留沉渣，即為酵母。取此沉渣，傾入石膏皿面上塗展成薄層，其層愈薄愈佳，此種手續要迅速敏捷，後將蓋蓋上而密封之，置於恆溫箱中，培養約 2–10 日。

此時所用之培養溫度，對於孢子生產之關係，甚為重要，故應研究酵母在定時間內種種溫度下，對於孢子生產力之影響，以柏拿木氏溫度計，檢查其最高溫度、適宜溫度及最低溫度。

如法培養後，每隔若干時，以滅菌之鋼筆尖，取出菌種少許，畫若干短線於已淨之蓋玻片上，後置於顯微鏡下檢查之，則見有二種現象，一種係細胞之中央生一大空胞，其周圍之原形質漸漸凝縮，以後生孢子，另一種係細胞中生空胞，形小而數多，且有粒狀原形質呈現以後再漸漸凝縮始生孢子，無論何種現象，既生孢子，即將其形狀、大小、以及數目等，詳細記錄，即不生孢子之細胞，亦應特別注意，而記載之。

第二項　被膜之形成

被膜 (film) 之形成與否與其形狀如何，亦為檢定酵母種之重要因素，故須特別培養而加以詳密之檢查。

酵母之最易產生被膜者，特稱為產膜酵母，但將普通酵母靜置培養，亦有生被膜或酵母環 (yeast ring) 者，然其生長之遲速，與酵母之種類及培養時之溫度而大不同，故在研究酵母時，應在種種溫度下，測其被膜及酵母環之形成之最高溫度、適宜溫度及最低溫度

酵母被膜之生產力之試驗，普通均以伊爾瓶傾入麥芽汁，行蒸

氣滅菌後，接種菌種，復將瓶口塞以棉塞，以紙包裹之，在室溫下，靜置之，每隔若干時，外觀檢查之，至有膜生產時，則檢查其形狀，並取出少許而於顯微鏡下檢查其構造。

第四節 釀母發酵之試驗

第一項 釀母對於糖分之作用

釀母對於各種糖分的作用，因其種類而異，在研究釀母種類時，對於葡萄糖之發酵與否，以及蔗糖、麥芽糖、乳糖、糊精等之能否分解，須有精細之檢查。

此種試驗多在愛恩荷恩（Einhorn）氏發酵管中行之，即將各種糖液置於此管內，滅菌後，培植釀母入內，於其適溫下培養之，如其糖分起發酵作用，則有二氧化碳氣體發生，集於發酵管之上部，由此容易識別。

又於各種糖之膠或瓊脂之培養基面上，行穿刺培養時，亦可由其氣體發生之有無，而檢查之。

林得雷氏之試驗，係採取生活力強盛之釀母種，約豌豆粒大小，混合於 10 c.c. 之滅菌井水中，以移液管移取一二滴，滴於凹面載玻片之凹面上，後以滅菌之白金絲移入少許糖粉末，混合之，後以蓋玻片蓋之，以滅菌之濾紙吸去剩餘之液分，以石臘固封，於 25 °C下，靜置之，至翌日檢其能否有氣泡發生，以定其發酵與否，如在外觀上毫無變化，只見釀母薄層沉於凹底，表示發酵微弱，碳酸氣溶於液中，可於酒精燈火餘上微溫之，則見有氣泡發生，如發酵旺盛，則見有大小氣泡滿佈凹面，可以氫氧化鉀，或氫氧化鈉溶液一滴，由蓋玻璃片之一側向下流入，則見其氣泡立即消失。

此種試驗當注意下列六事:

(1)同一釀母對各種糖分,有呈發酵作用者,有呈內分子呼吸作用者,應特別注意及之,

(2)在凹載玻片之凹處,以蓋玻片蓋緊後,有否氣泡殘留,應注意之,

(3)與釀母所混合而用之井水,如含有多量之碳酸氫鈣時,滅菌後,則有酸碳鈣分離,如用以供此試驗,在釀母將糖分分解而生酸類時,卽能與之作用而生碳酸氣體,極易誤認,應避免之。

(4)試驗所用之糖分,必須行濾菌作用,雖爲精製者,亦恐含有多數其他之雜菌。

(5)試驗時所用之糖分濃度,亦有關係,太稀時,則二氧化碳氣當然僅發生少量,故約以 10–20 % 之濃度,爲適宜,

(6)在行多數釀母之比較試驗時,所用之白金絲應特別注意,每用一次,務須洗滌後,再以火焰滅菌,如直接行火焰滅菌,則附着白金絲上之釀母,燒灼後,殘留灰分,中含有大量之碳酸鉀,如溶於糖液中,則能使之呈鹼性反應,影響釀母之發育,且此灰分中之碳酸鉀,易與釀母生產之酸類起分解作用,而遊離二氧化碳,不可不注意之。

第二項 發酵試驗

釀母對於各種糖分之作用,旣因種類而有不同,前已述及,卽對於含糖之麥芽汁及麴汁等之發酵程度,亦因之而異,故對於此種發酵試驗時所生之各種現象,宜特別詳細記錄之。

(1)發酵之情形 開始之遲速,作用之緩急,時間之長短,泡沫

之多少、大小及狀態，如呈透明或乳濁等，以及發酵度、發酵力、發酵液之香味，酸度之增加與否等。

(2)沉澱釀母層之狀態 在液底沉澱之釀母層之上面，平滑與否，有否凹凸面，其組織之緻密與疎鬆，以及繁殖量等。

(3)發酵後釀母沉降之情形 發酵時釀母沉降之遲速，即發酵液澄清時間之快慢等。

發酵試驗法 取一升容積之玻璃瓶，傾入 350-500 c.c. 之麥芽汁，瓶口塞以棉塞，如法滅菌後，移入 1-3 克釀母種，瓶口改置一曲玻管，通入濃硫酸中，初於室溫下，靜置之，後于 25 °C 下，使其釀母繁殖，時時搖盪之，驅出所發生之二氧化碳，充分供給氧氣，復于此發酵過程中，每日稱知其重量，而計算其損失量，至其消失量僅有 0.2克左右時，再過數日，即能發酵完畢，稱爲發酵末期，于此時將發酵液傾出，于褶曲濾紙上過濾，微溫其濾液，至17.5°C以驅出其中之二氧化碳，後以巴林氏檢糖計（Balling's saccharometer）測定其殘留之糖量，與發酵前原液之含糖量相比，而求其發酵度（apparent fermentation degree），例如原液之含糖量爲巴林氏14°，發酵後測知爲6°，則因發酵而分解之糖量爲 14-6＝8°，故其視發酵度X爲：

$$14:8=100:X,\quad X=57.14\%,$$

即發酵液中之含糖量，有 57.14 %已起發酵作用。

如取定量之發酵液，施行蒸餾，知蒸出若干量之酒精，後復以同量之蒸餾水，補入再以檢糖計測其含糖量，而與原液含糖量相比，則得眞發酵度（actual fermentation degree）例如原液之含糖量爲巴林氏之14°，蒸去酒精之發酵液爲 6.5°，則因發酵作用而起分解之糖分

爲:　　14-6.5=7.5°，故如以 y 代表眞發酵度，則:

$$14:7.5=100:y,\quad y=53.37\%.$$

上述之發酵試驗，如於巴士特瓶內行後，可用滅菌之濾紙過濾，後再以滅菌之濾紙壓榨釀母沉渣內之液分，秤知其重量，以測其繁殖量若干，可做一比較的試驗，在此試驗內，須用重量，而不能用數量，因釀母細胞因其種類而有大小，其重量亦異故也。

第三項　釀母發酵力之測定

釀母之發酵力 (Fermenting power)，可于定量之釀母，于定時間內，將糖分分解所發生之二氧化碳量，而測定之，其法有二:

(1)麥塞爾(Meissel)氏重量法　先配發酵液如下:

蔗糖	400 克
磷酸銨	25 克
磷酸一鉀	25 克

將上三種物質置于乳鉢內研碎並混合後，秤用 4.5 克，溶于 50 c.c. 非水內，後傾入碳酸量器中，如法滅菌，後加入一克之壓榨釀母，稱知其重量，于 30 °C下，發酵六小時，再秤知其重量，由此二次重量之差，以計算之。

按麥塞爾氏之規定，在此情形下，能發生 1.75 克二氧化碳者，稱爲規定釀母(normal yeast)，其發酵力定爲 100。如試驗中能發生二氧化碳 N 克，則其發酵力 X 爲:

$$1.75:N=100:X,$$

例如：能發生 1.4 克，則其發酵力 X 爲:

$$1.75:1.4=100:X,$$

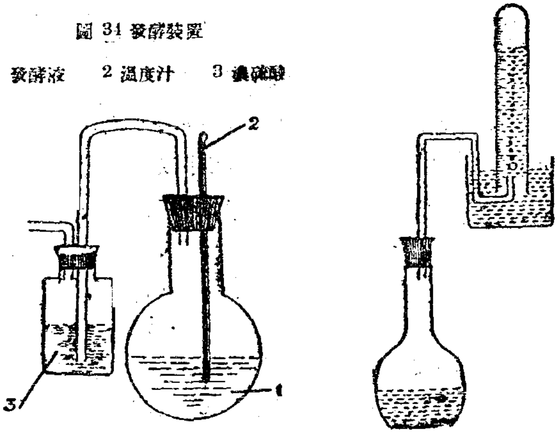
卽 X＝60.

通常良好壓榨釀母之發酵力，按此方法計算，爲 75-85。

(2)海達克及庫塞晏(Kusserow)二氏容量法 此法所用之裝置與前所述略異，係以定量之釀母與定量之糖液，于定時間內，發生二氧化碳之容量，而測定之。

圖 34 發酵裝置

1 發酵液 2 溫度汁 3 濃硫酸



取 40 克純蔗糖，于熱水上溶之，冷後，配製爲 400 c.c.，後秤取壓榨釀母 10 克，於玻璃乳鉢內，以前配之糖液少量混合之，使呈稠粥狀，後傾入容量一升之瓶內，再傾入前配之糖液全量，搖盪之，後置於30°C溫度之水浴中，經一小時，將此發酵瓶口，連入一氣體量管上，此量管內滿貯以水，其液面浮一石油層，三十分鐘後，由量管上精密讀出二氧化碳之體積，而計算其發酵力，按 342 克之蔗糖，能生 176 克之二氧化碳，則1c.c.二氧化碳重 0.001977 克，故$\frac{342}{172}$×0.00

1977＝0.003841 克之蔗糖內，能生出 1 c.c. 之二氧化碳，卽將此試驗由十克釀母所得之二氧化碳 c.c. 數，乘以 0.003841，卽得百克釀母所分解之糖量。

第五節　實用釀母鑑識法

第一項　培養釀母及野生釀母

培養釀母係依人工經多年培養者，在釀造工業上多用之，野生釀母係自然界存在者，對於釀造工業，往往有害，故培養釀母中，有否野生釀母之混入，應特別檢查之。

(1)點滴培養法　將欲檢查釀母，稀釋至每二滴中，僅能含有一個細胞時，於二重皿內，行點滴培養(法詳前章)，俟其發育後，而檢查之。

培養釀母之細胞膜，富有粘着力，於鏡檢下，其細胞概爲圓形，有時呈橢圓形，其原形質呈混暈狀態，至於野生釀母則不然，其細胞膜之粘着力甚弱，細胞多呈長形，原形質呈透明狀態。

(2)小滴培養法　如法培養後，則可見培養釀母之發芽狀態，其細胞與細胞間互相連絡，呈芽胞團 (germ binding)，無論細胞爲圓形或橢圓形，其母子細胞均同大，且原形質混暈，帶有若干粒體狀態，空胞均小，至於野生釀母，其細胞多呈各個分離狀態，且多呈長形，母子細胞不同大，原形質透明空胞甚大。

(3)漢松氏胞子法　取釀母種於麥芽汁內，於25°C下培養 24 小時，後依常法培植於石膏皿上，經 40–72 小時後，檢查之，如有胞子發見者，卽爲野生釀母。

(4)酒石酸法 將釀母于室溫內，培養于4%酒石酸與10%蔗糖混合液中，經24小時，取出，再從新如前法培養，如是四次，最後培養于麥芽汁中，取其沉渣釀母，如常法培植于石膏皿上，後檢查之，則見培養釀母之孢子內容無光澤，而野生釀母之孢子內容，則有光澤。

第二項 上面釀母及下面釀母

上面釀母及下面釀母之性質各異，約言之，上面釀母細胞常浮出表面，發酵作用迅速，其所生之二氧化碳呈乳狀泡沫，至下面釀母，則發酵較遲，細胞沉下，泡沫透明，其鑑別法如下:

(1)在小滴培養下，見上面釀母細胞互相連絡，而呈多數之芽胞團，且其芽柄銳呈直線，而下面釀母則反是，其細胞雖能相連結，但無芽柄。

(2)在點滴培養下，則見上面釀母，細胞膜之粘着性較弱，故細胞相連合甚少，混于液內，即呈乳狀，而下面釀母細胞膜之粘着性較強，混于液內、呈絮狀散亂。

(3)取少量釀母與水混合後，傾于載玻片上，暫時靜置之，細胞互相連合而沉於玻片上，如將此玻片徵斜搖動之，則見上面釀母之釀母層呈片塊狀分裂而迴轉，更於顯微鏡下，檢此片塊之表面，則見細胞漸次疏散而呈斑點形，至下面釀母，則仍如故。

(4)將釀母混於水內後，於玻璃板上做一薄層之沉澱，後以一滴水滴落此面上，如爲上面釀母時，則呈美麗之環紋形，而下面釀母則呈不規則之水紋。

(5)上面釀母之孢子生產力，較下面釀母爲大，如於石膏皿上在

25°C下培養經35小時，則見上面釀母之孢子生產數約占50-90%，反之，下面釀母雖在同一條件下，即30-40小時間，極難見有孢子之生產，即有，亦爲十萬分之一，再上面釀母孢子之內容物爲勻一形，而在下面釀母者，則呈粒狀。

(6)利用下面釀母體中獨有之二甘露糖酵素能分解二甘露糖爲葡萄糖及分解乳糖之特性，以與上面釀母相區別，故由檢查發酵液中有無二甘露糖，即可知之。

普通釀母中均有轉化酵素，能由棉子糖分解而生二甘露糖及左旋糖，其化學反應如下：

$$C_{18}H_{32}O_{16}+H_2O \xrightarrow{\text{轉化作用}} C_{12}H_{22}O_{11}+C_6H_{12}O_6。$$

而此二甘露糖再由下面釀母體中之二甘露糖酵素之作用，即分解爲右旋糖及分解乳糖，其反應如下：

$$C_{12}H_{22}O_{11}+H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6+C_6H_{12}O_6,$$

在試驗時係用兩個愛恩厚恩氏發酵管，內盛1%之棉實糖溶液，一個接種已知確能與二甘露糖起作用之釀母，另一個接種欲試釀母，後於20-25°C下，靜置24小時後，比較二管中之二氧化碳之發生量，其一已知確能分解二甘露糖之釀母，則全部發酵，另一如不含下面釀母時，則僅有三分之一的糖分被分解。

此外上面釀母之產膜作用，較下面釀母既多且速，並行大聚落培養時，其構造上亦有相異之處，均可不難分別之。

第六節　純粹釀母之大量培殖

在工業上或學術研究上，常需大量之純粹釀母，此種大量之純

粹釀母，係由單一細胞於試管中培養後，於巴士特瓶，卡爾士柏格(Carlsberg)氏罐，以及純粹培養釀母槽等，順次繁殖而得來，其方法概如下述：

(1)試管培養　取純釀母，依常法培養於麥芽汁中，於25°C下，培養約二日，即可準備移種。

(2)巴士特氏瓶培養　用容量約600 c.c.之巴氏瓶，盛入麥芽汁約400 c.c.，加熱至沸，初將此瓶之旁管去塞，使瓶內蒸汽從旁管噴出，約經30分鐘，旁管上預連有橡皮管再以玻棒塞住，蒸汽即改從其彎曲管噴出，如此又經過30分鐘，可將彎曲管口中之凝結水吸去，加以棉塞，移入無菌箱中，冷至25°C左右，用酒精將巴氏瓶之外面，全部擦拭，又將已培養釀母完成之試管，如法殺菌，亦移入，然後拔去巴氏瓶之旁管，及瓶管之棉塞，將試管內之釀母液，徐徐由旁管注入瓶中，注入畢，從速以玻塞塞好，再移出箱外，稍加搖和，置於25°C下，培養二日，即可準備移種於卡氏罐中。

(3)卡氏罐培養　用容量約50升之卡氏罐，盛入麥芽汁，約20升，用直接火加熱，煮沸後，亦如巴氏瓶之方法，驅出兩旁管中之雜菌，如此連續三天，每天滅菌時，須加以無菌水一升，以補因殺菌而蒸發之水量，滅菌畢，冷至25-30°C，將上述巴氏瓶培養液如法殺菌後，將卡氏罐及巴氏瓶上旁管之玻塞拔去，使巴氏瓶旁管之橡皮管插入卡氏罐旁管之橡皮管中，將釀母液徐徐注入罐中，此時巴氏瓶之彎曲管口，不斷以酒精燈火焰燒之，以免雜菌侵入，釀母注入畢，立即加塞，繫以棉花，移入溫室中，培養2-3日後，即可準備移種於較大之純粹釀母培養裝置內。

(4)林得雷氏純粹酵母培養裝置培養 其法與前述大同小異，故不多述，

第七節 細菌之生長狀態

細菌之生長狀態，可用懸滴法於顯微鏡下檢查之，法先於清潔蓋玻片之中央，以白金絲滴入肉汁或生理食鹽水（0.7%氯化鈉，因蒸餾水對於細菌之運動有害，故不用之）一滴後，混入少量細菌含有液，反置於載玻片之凹處，以石臘固封，先以低倍顯微鏡檢查之，使懸滴邊緣，置於視野之中央，因通常邊緣中之細菌，皆多於中央，且生長運動亦旺盛，故檢查邊緣當重於中央，後用油浸鏡檢之，以洋紅溶液使懸滴着色，則檢查時尤爲明顯，如細菌運動過速，檢查不明時，則揭開蓋玻片，於檢查液中，加入5%石炭酸或氯仿少許，仍舊封好，再行檢查，又在天氣溫度低時，細菌之生長運動，殆全停止，檢查時，須用顯微鏡加溫器補溫，而後可。

懸滴檢查所見之細菌體色，大多爲灰白色，光線屈折強時，更呈判然之輪廓，檢查有運動性之細菌，其運動現象，於此最爲著明，在視野之內，東出西沒，忽彼忽此，位置轉變，非常活潑，若爲無運動性之細菌，其位置但能旋轉而不變動，即僅止於動，不能自甲處而運動至乙處，蓋其動乃分子的，而非自發的，乃受水流影響的，而非由體部作用的，與有運動性者，根本不同。

第一項 形狀

細菌之形狀，大別有三：

(1)桿狀 有短桿及長桿之別，

(2)螺旋狀 有短螺旋及捻螺旋狀之不同。

(3)球形 有單球形、重球形、四聯球形、八聯球形、串球形及葡萄球形等。

桿狀菌有時呈長形之絲狀，然精密檢查之，則爲數個細胞相連接而成，稱爲假絲狀(pseudo thread)，又細胞呈衰老退化之現象者，稱爲退縮變形，細胞呈分枝態者，稱爲假枝狀(pseudo-branch)。

檢查細胞時，應注意細胞兩端圓曲與否及兩側平行與否，此種形狀因其生理關係而略有變化，在細菌分裂時，則其體比較長，其幼細胞卻比較短。

第二項 內容

細胞之內容，應注意其原形質平勻否、粒狀孢子、空胞、肝液素、光粒以及 Iogen 等存在與否，並其位置與數量等。

第三項 運動性

檢其有無運動性，應注意液內有無微小物質，如有機物或無機物之存否，因如有此等物質存在時，往往呈布朗氏分子運動，但與細菌之運動不同，細菌之運動，在改變位置，不僅轉動而已，前已述及，如區別困難時，可加入少許 5 % 石炭酸液或 0.1 % 昇汞水，則細菌死滅，如仍有運動者，卽爲布朗氏之分子運動。

細菌之運動性因培養基之性質亦有不同，在溫度激變，如驟熱或驟冷時亦異，如恢復至適當溫度，則其運動性亦卽恢復，又細菌之運動概由鞭毛所作用，故可用染色法以認別之。

第四項 大小

細菌因生理狀態之不同，其大小亦異，在測其大小時，應注意其長徑及幅徑，至其測法則已詳前(第十一章第一節)，茲不復贅。

以上所述各種狀態，均因細菌之生活現象而異，故同時應記錄培養基之性質，培養之溫度與時日等。

第八節　細菌之生理試驗

細菌之生理作用因其菌種而異，雖現象甚多，約不外爲物理及化學之二種作用，如細菌之運動，發熱及發光等現象，屬於物理之作用，至如色素、毒素、酵素、酸類以及其他諸種物質之生產，則屬於化學之作用，今將檢查上述各種作用之主要試驗方法，概述如次：

第一項　運動

細菌之運動可用懸滴檢查法，以檢查之，前已述及，茲不多贅。

第二項　發熱

細菌在生活時，因營養分解養料而生勁力，因動力作用而能生高度之溫熱，然在實驗室內培養細菌時，其發熱往往微弱，故亟難測定，已知腐敗物，如枯草濕棉等堆積過久後，當其腐敗之時，往往發生高熱，但關於此方面之學術研究，尙未充分，故尙無確當試驗法，以證明之。

第三項　發光

細菌有發燐光之特性，特以海水中者爲尤然，此發光作用之細菌，能因酵素之缺乏，溫度之激變，營養物不足等而易消滅。

細菌發光作用之檢查，當用適當之培養基始可，以海水(1 % 食

鹽溶液，即能代替海水）煮魚類所得之煮出液，加入1%消化蛋白質，1%甘油，0.5%天冬精，及白膠等，如法製出斜面固體培養基，以畫線培養法，培養細菌，置於暗處，即可檢出有否燐光，

第四項 色素之生產

關於細菌色素之生產，因其化學之研究，尚未有充分之發展，故其性質，迄今仍未明了，現代所知者，僅下列數種而已。

(1) Carotin 屬之色素　為黃色，橙黃色，以及薔薇色之脂油，卵黃等色素，其質類似 lipochrom 屬，不溶解於水內，能溶於酒精、醚、二硫化碳、苯與氯仿等內，與強硫酸作用，能生紫綠色，與氫氧化鉀或鈉作用，呈橙黃色乃至紅色，此等色素非單純物質，乃多種化合物相混合而成，

(2) Prodigiosen　為 Bacterium prodigiosus 及其類似細菌所產生之色素，其性質與 Carotin 屬之色素頗相類似，亦不溶於水內，能溶於酒精、醚、二硫化碳、苯及氯仿中，遇鹼呈黃色，遇酸呈紫色，濃硫酸呈赤褐色，此色素為鋅及鹽酸處理後，則還原，生無色產物(leuco-products)。

(3) 藍紫色素　為 Bacterium Violacous 所產生之色素，在水、醚、苯及氯仿等內，均能溶解，在酒精內亦易溶解，此色素之酒精溶液，如與酸類及氨相作用，則呈綠色，乃至紫綠色，以鋅及硫酸作用之，則退色，又此色素之粉末，與濃硫酸相作用，則生黃色，與氫氧化鉀相作用，則呈忽綠色 (guignets green)。

(4) 藍色素　Bacterium Indigonaceus 能產生一種美麗之藍色色素，普通溶劑均能溶解之，此色素在鹽酸中，最初為紫色，後變黃

褐色之溶液，如與氫氧化鉀相作用，則生紫綠色。

(5)紫色素　為 Bacterium Cyanogenus 所產生之色素，在濃鹽酸及濃硫酸中，仍呈紫色與氫氧化鉀作用之，則變紅黃色。

(6)紫綠色素　為 Bacterium Pyocyaneus 所產生之色素，特稱為 Pyocyanin ($C_{14}H_4N_2O$)，為能溶於氯仿中之結晶體，

(7)細菌螢光 (Bacterio fluoresain)　多種細菌能生產此種螢光，在水及稀鹼液內，能溶解之，濃酒精、二硫化碳與氯仿等內，亦能溶之，其濃厚之水溶液，呈橙黃色，稀薄時、呈淡黃色，中性時，呈紫色，在鹹性液內，能生綠色螢光。

(8)其他　此外尚有能生產褐色及黑色等色素之細菌，概為陳乾酪酸及其類似物所分解而成，

前述各種色素為細菌之色素生產中之最重要者，先於酒精、醚、苯、石油醚、氯仿、二硫化碳與戊醇等內，試其能否溶解，如能溶解時，再將其溶解液，以三氯化鉑，三氯化金，二氯化汞，碘化汞鉀($KHgI_3$)，磷鉬酸等加入之，檢其色素能否生沉澱，並將色素與酸鹼等相作用，檢其有何色變，如能製出結晶體或其化合物，更應研究其化學之性質。

在研究色素生產時，應注意下列各事：

a 細菌行畫線培養後，其色素之生產與氧之供給，有無關係。

b 細菌在諸種人工培養液內培養後，檢查其中之營養物，如磷酸鎂等之供給關係，

c 細菌培養時，種種溫度對於色素生產之影響：

第五項　毒素

病原菌所生產之毒素有種種,其重要者,如下:

(1)細菌蛋白質 (bacterium protein) 如Tuberkulin, Mallein等,因熱易生變化.

(2)外毒素 (ecto-toxin) 如 Tetranusgift, choleragift, Diphthergift 等,熱、光及試藥等,均易使之變化

(3)內毒素(endo-toxin) 此種毒素之研究,在病理學上頗爲重要,與發酵生理學上,亦有相當關係,

第六項　營養

細菌各種營養物之供給,依其菌種之攝取能力而稍有不同,例如 Bac. proteos 非由消化蛋白質之化合物供給氮素,則其發育不能旺盛,Bac. Typhimurium 則能由氨之化合物攝取氮素,其他如 Bac. Pyocyaneus 能由硝酸鹽類攝取之, Nitratbacterium 能由亞硝酸鹽類攝取之,以及 Clostridium pasteurianum 之能由空氣中攝取氮素等,故檢查細菌之氮素及碳素營養等研究,頗爲重要,其方法已詳本章第二節第7項下,故毋容再述,

第七項　孢子生芽之試驗

孢子能在細菌體內生芽者,僅於一種螺旋菌,名爲 Spirillum endo paragogium,體內見之,其他諸種之細菌,其孢子之生芽,概於體外行之,

孢子在發芽前,其菌體光澤消失,稍膨漲,同時延長,被膜破裂後,幼菌始出,其發芽狀態因菌種而有不同,有由孢子之極端裂口者,有由孢子之側面裂口者;有直接將孢子膜完全破壞者,此種現象,復

因培養之情形而稍有變異，故在鑑別菌種時，宜特別注意及之；[illegible]細菌之孢子，移種於附有肉汁、白膠或瓊脂之蓋玻片上，或竟以肉汁一滴，行懸滴培養試驗，於加溫顯微鏡下，檢查其發芽之經過。

第八項　抵抗力之測定

(1) 物理方面

(1)熱度抵抗力　以滅菌之毛細管吸入新培養之細菌，與無菌水之混合液少許，兩端以火焰融熔固封之，置於坩堝或蒸汽釜內加熱，熱度之高低，可分 60°C，80°C，90°C，100°C 等，時間可經 10 分鐘，20 分鐘，30 分鐘，1 小時，2 小時，3 小時等，加熱既達規定之熱度與時間，即可將此管取出，外以昇汞、酒精及醚等，依次洗滌，投於培養液內，以滅菌之玻璃棒壓碎之，於適宜溫度下，培養六七日，檢其是否發育，以判斷其抗熱力之大小。

(2)乾燥抵抗力　將新育細菌，混入食鹽水中，後以此混合液，塗抹於蓋玻片上，使成一薄層，置於滅菌之二重皿中，經過一定時間之乾燥，或數日、數十日、數月、數年等，均可斟酌行之，既乾燥後，取出再投入培養液內，以滅菌之玻璃棒壓碎之，再培養於適溫下，觀其發育現象之有無，若經一星期後，仍不見發育者，即此細菌已因乾燥而死，反之，則其抵抗乾燥力頗大。

(1) 化學方面

(1)葡萄糖濃度抵抗力　用試管若干支，另配製濃度5%，10%，20%，30%，40%之葡萄糖溶液，各預先添加釀母水（酸度10c.c.$=\frac{1}{10}$N NaOH 1 c.c.）5%，酒精 30%，分盛入各試管中，每管盛 10 c.c.，舉行

滅菌，用滅菌白金絲拈取菌種少許，移植入內，後於 28-30°C 之恆温箱中，培養十日，取出全液，以$\frac{1}{10}$N NaOH溶液滴定之，試驗其生酸與否。

(2)純鹽抵抗力　取試管若干支，各試管中分盛濃度 10° Ball，酸度 pH 6 之麥芽汁 10 c.c.，麥芽汁預添加純鹽 0.5 %，0.8 %，1%，1.5 %，2 %，依常法滅菌後，加酒精 3 %，然後以滅菌白金絲拈取菌種少許，移植入內，於 28-30°C之恆温箱中，培養十日，取出以$\frac{1}{10}$N 氫氧化鈉溶液滴定之，計算中和此培養液 10 c.c. 所需要之鹼液量。

(3)酒精抵抗力　取試管若干支，各管分盛濃度 10° Ball，酸度 pH 6 之麥芽汁 10 c.c. 滅菌後，各管分別順次加入 4 %，5 %，6 %，……15 %之純酒精，後以滅菌白金絲拈取菌種少許，移植入內，於 28-30° C 之恆温箱中，培養十日，取其一定量之培養液，以$\frac{1}{10}$N 氫氧化鈉溶液滴定之，試驗其能否生酸。

(4)醋酸抵抗力　取試管若干支，各管分盛濃度 10° Ball，酸度 pH 6 之麥芽汁 10 c.c.，滅菌後，各試管均加入酒精 3 %，並分別順次加入 1 %，2 %，3 %，……7%之醋酸，後以滅菌白金絲拈取菌種少許，移植入內，於 28-30°C下，培養十日，取其一定量，以$\frac{1}{10}$N 氫氧化鈉溶液滴定之，計算中和 10 c.c. 發酵液所需要之鹼液量。

(5)各種化學消毒劑抵抗力　先取數種消毒劑，——用水溶解之，作爲消毒液，液之濃度有大中小等等，如昇汞可做100，200，300，500，800，1000，1500，2000倍等等，最稀薄者，爲 5000-10000 倍，石炭酸可做1% 2% 3%-10 %等，其他諸化學消毒劑之溶液濃度，可參依其作用平和與劇烈，而予以適宜之配合，消毒液既經配妥，與稱

培養之細菌，如法移植入于此等濃度大小各異之消毒液 5 c.c. 中，置于適溫下，浸置之，經 3 分鐘，5 分鐘，10 分鐘 20 分鐘，30 分鐘，1 小時，2 小時，直至 24 小時，然後再將投入各種類不同，濃度不同，經過時間亦不同之消毒液中之全分細菌，逐分取出，如法培養于新培養液內，觀其能否發育，由是可知細菌對于各種化學消毒劑抵抗力之強弱。

第九項　氧及溫度需要試驗

細菌對氧之需要各不相同，好氣性細菌需之，而嫌氣性細菌則否。此可以柱狀固體白膠培養基，用穿刺培養法以培養試驗之，如其需要氧者，則必繁殖于培養基之表面，反之必在底部，蓋表面富有氧而底部則反是。又細菌發育時，所需要溫度之高低，亦各不同，其試驗法，係用一種細菌種于數個試管中，後分別置于溫度高低互異之處，查其發育最良之溫度，以推知其發育所需要之溫度。

第十項　氣體發生試驗

細菌在培養基內發育時，有產生氣體者，如二氧化碳，氫，沼氣以及硫化氫，或氮等，最簡單之檢查方法，係用瓊脂培養基，行穿刺培養法培養之，如其發育時能發生氣體，則其培養基發生裂縫，又或用葡萄糖肉汁裝于斯密斯氏發酵管內，後如法培養細菌，經十二小時，如能發生氣體，則其刻度管內之肉汁漸漸下降，即可測知，又或用含糖培養液使之發酵後，將發酵液過濾，測其濾液中有無酸分存在，亦可。

第九節　細菌培養之特徵

細菌之種類及培養基之性質不同，其生長狀態亦各異，前章已略述及，故檢查細菌培養之特徵，為研究細菌，尤以在鑑別菌種時，為必要之方法，而于使各種人工培養基以檢查其發育狀態之際，尤須注意。其自然之狀態，例如生存于酒類中之細菌，須于含酒類之培養基上培養之，而檢查其生活之特徵，尤為重要，

檢查細菌培養之特徵，其所用之培養法，如平面培養、畫線培養、穿刺培養，與液體培養等，前已述及，茲不贅，唯須注意下列各項:

(1)將二重皿蓋掀開後，有無臭氣發生，由此種揮發性物質之生產，可約略認識細菌之種類，

(2)檢其白膠是否液化，並其液化之程度，如 a、平面外觀呈混濁狀，b、聚落在發育部分之白膠液化而沉下，c、白膠液化聚落沉下後，有呈漏斗狀者，有呈皿狀者等，

(3 聚落之周圍培養基中，有結晶物分離否，細菌所生產之色素能使培養基着色否。

第一項 平面培養

(1) 肉眼之檢查

肉眼所觀察培養基面上，細菌聚落之形狀、色澤、及實質等，均須詳細記載之，唯此際所用之術語，往往由研究者任意命定，頗不一致，今為便利讀者起見，特將平面培養時細菌發育之狀態，其所用之術語，分別列下，以資參考。

(1)形狀 正圓形，稍圓形，橢圓形，砥石形，(橄欖形)，捲捻形，扁平形，波形(表面呈波紋形)，稍形，層形，突起形，釘頭形，滴形，角

形。

(2)光澤　反光(光澤極強)，脂肪光，潤暗光，(雖無光澤而呈美麗狀)，暗光(即無光澤)，粗糙光(在外觀上如穀粉散布狀)，玻璃光(透明而無光)，寶石光，錦光(如白堊光澤)。

(3)實質　皮膜質，革皮質，粘液質，軟骨質，脆弱質，牛脂質，粘糊質(有粘着性，且富絲狀延伸者)。

(2) 擴大鏡之檢查

于二重皿內以30-100倍擴大鏡檢查之，能見細菌聚落及其邊緣之諸狀態顏色，及其聚落內部之組織等，各種菌類之此等現象，均不相同。

(1)聚落及其邊緣之狀態　粗糙狀，平滑狀，齒狀，樹裂狀，渦狀，裂隙狀，短毛髮狀，長毛髮狀，捲髮狀，亂毛狀，晶石狀(周圍完正面呈凹凸狀)。

(2)聚落內部之組織　勻一者，周邊有平行之環帶狀者，中心與周邊呈車輪狀，並有多條直線由中心至邊緣者，由中心至邊緣有數條[illegible]狀者，呈小點狀者，呈大點狀者，呈顆粒狀者，呈桑實狀者，魚鱗狀者，呈不規則之[illegible]狀者，火焰之斑紋狀者，捲髮狀者，碎片狀者，亂毛狀者。

第二項　穿刺培養

穿刺培養時，須詳記接種月．日，細菌之種類，培養基之性質等，並置于紫色玻璃杯內，杯外裹以黑色紙，復靜置于暗處。

細菌對于白膠之液化，有種種狀態，因菌種而不同，且其發育有

僅在接種口部者，有沿穿刺溝者，其在接種口發育者，特稱為表面發育。

(1) 細菌白膠液化力小者

(1)表面發育 應注意之事項，亦如平面培養者：

a 形狀，

b 色澤，

c 實質，

d 周邊之性質，及其內部之組織。

(2)穿刺溝 穿刺溝呈線狀，其邊緣平滑者，其邊緣呈粗糙者，呈若干節狀相連者，呈分枝狀，其枝有平行者，有呈彎曲者，有呈紛亂狀態者，呈毛髮狀者，呈串球狀者，呈細絲狀者。

(2) 細菌白膠液化力大者

液化勻一而遲慢，區域狹小，呈管狀者，液化勻一而迅速，往往達于管壁而呈囊狀或靴狀者，液化勻一，其區域雖擴大而淺，呈皿狀者，液化勻一，其區域恰如漏斗狀者，液化勻一，恰呈分液漏斗狀者。液化區域呈圓筒狀者。

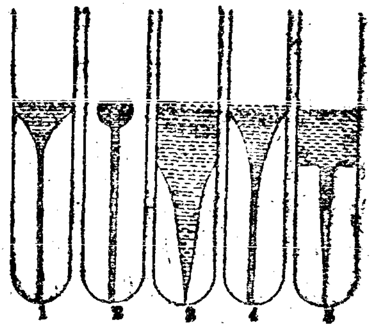


圖 35 白膠穿刺培養之液化狀態

1 火山口狀

2 分液漏斗狀

3 漏斗狀

4 囊狀

5 層狀

第三項　畫線培養

畫線培養所生之形狀，亦因菌種而異，有沿畫線左右呈帶狀繁殖者，有沿畫線呈局部繁殖者，且其色澤、實質、邊緣之形狀等，均各相異；其所見之現象，可參用平面培養之術語，惟在瓊脂培養基行畫線培養時，往往於培養基之下底所有之凝結水中，亦有細菌之繁殖，亦應同時記下，如凝結水透明無沉澱，或透明有沉澱，或凝結水呈混濁，或有皮膜等，其他如使用馬鈴薯培養基，所發生之特異現象，亦應特別注意之。

第四項　液體培養

細菌在培養液中發育之狀態，依其種類而大異，例如培養液之混濁或透明，沉澱之發生或培養液面皮膜之產生等，其皮膜之表面又有平滑皺紋、厚薄、脆弱、堅實等之別、液下之沉澱又有粘着性、脆弱性、鬆疎性之分，如振盪之，其沉澱有分佈均勻，呈雲霧狀者，有呈線狀或團狀者，甚或有時固着于器底，振盪時呈粉末狀者，均須注意及之。

第十節　酵素之檢定

各種菌類發酵時，所逸出之氣體係由發酵作用分解養料中糖分而來，發酵作用之勢力，因酵素之生產而增大，酵素種類不一，各菌所含之種類及分量，均不相同。酵素復分外泌酵素(ecto enzyme)，與內附酵素(endo enzyme)，為研究便利起見，凡細菌所分泌之酵素均稱外泌酵素，凡含于菌體內者，稱為內附酵素，外泌酵素可用簡單方法分離得之，卽將細菌之培養液，以陶磁濾器或矽藻土濾器濾過後，其濾

液置于眞空蒸發器內，蒸發至濃，加酒精或丙酮使酵素沉澱，更以酒精及醚順依洗滌即可。至內附酵素之分離，須用菌類繁殖于瓊脂固體培養基面上者，以滅菌食鹽水洗後，以離心分離器除去其水分，後與石英砂及藻矽土混合磨碎而強壓之，使細胞破壞，其壓榨汁液，即爲酵素液。

酵素雖如上述分如此二種，但事實上，使其完全分別研究，頗感困難，因細菌在繁殖時，往往因病或死滅等變化，致內附酵素流出體外，而與外泌酵素相混，故在檢查酵素時，多綜合此二種酵素而同用之，實無分別檢定之必要。

第一項　蛋白質水解酵素

細菌之有白膠液化性者，即爲此種酵素作用之結果，此酵素之鹼性反應甚強，其所作用之物質概爲單蛋白質䏡，(protalbumunose)復蛋白質䏡，(deutero albumunose)及消化蛋白質等，

細菌中之蛋白質水解酵素，則名爲 Bacterio·trypsin，其檢定以斐麥(Ferme)氏法爲最便利。

(1)斐麥氏法　其法係于白膠養料中，加入百里香酚或結晶石炭酸小塊，二三片，約重 0.2 克，使溶解于白膠中，更冷卻之，使白膠凝成柱狀體，次移種菌種，用穿刺培養法，于 18°C 下培養三日，以試其白膠液化與否，若能液化，即其發育時，生膠液素，若不液化即不生，

(2)取除脂牛乳一分，加入瓊脂 3–6 分，混合後，如法滅菌，待冷後接種，行平面培養法，如此菌種能分泌膠液素時，則其聚落之周圍透明。

(3)用3%之消化蛋白質溶液(pH7)以菌體作用之，後檢其縮二脲(Biuret)氏之反應消失與否，以定其是否已生產膠液素。

第二項 糖化酵素

(1)用釀母水或卡派克氏培養液(KCl 0.5g, K_2HPO_4 1g, $FeSO_4$ 0.01g, $MgSO_4$ 0.5g, $NaNO_3$ 2g)，加可溶性澱粉1%，依常法分注於試管中，施行滅菌，最後調節酸度，(對於細菌釀母水之pH值為7.7，卡派克氏液為7.5，對於黴菌為4-6)，移植菌體，保溫於35°C下，經17-24小時，然後用斐林氏溶液試驗有無還原性，及碘溶液試驗呈色反應。

(2)以1%百里香酚，與1-2%之可溶性澱粉，相混合後，如法滅菌，移植菌種培養6-12小時，後以斐林氏溶液試驗其糖分之有無。

(3)愛克曼(Eikman)氏法　將澱粉煮沸成糊狀，以瓊脂營養料，製成固體培養基，行平面培養法，移植菌種，經數日，察其菌聚落，生糖化酵素之菌類，其聚落所在之處，周圍透明，如以稀薄碘液注入聚落之周圍，則呈赤色，反之，周圍發暗，且呈藍色。

第三項 轉化酵素

用1-2%之甘蔗糖溶液，加入同量之1%石炭酸溶液，後如法移植菌種，靜置數小時後，以斐林氏溶液，驗其有無轉化糖之生成。

第四項 凝固酵素

細菌生產酸類，有使乳汁凝固之性，然亦有不產生酸類，而亦能使牛乳凝固者，即此可證明其含有凝固酵素，取被試之菌液，加入百

里香酚，以殺死細菌後，如呈酸性，則於中和後，注入牛乳中，靜置於常溫箱中，經2-3日，檢其凝固與否。

第五項 解脂酵素

菌類能分解脂肪及甘油等爲脂肪酸，卽爲含有解脂酵素之證。

(1)將牛脂溶融於二重皿中，移植菌種 若此菌種，能分泌解脂酵素時，則其聚落周圍之脂肪酸化後，依然爲白色，不透明。

(2)用釀母水加入蓖麻油1%，滅菌後，移種菌種，於35°C下保温15小時，後以石蕊或溴百里香酚藍作指示劑，而檢查是否有脂肪酸之生成，或用大豆油代替蓖麻油亦可。

第六項 氧化酵素

於肉汁或卡派克氏液中，加0,05-%陳乾酪酸，或Chinon，依常法滅菌後，移植菌種，於35°C下，培養2-3日，觀其培養基變褐赤以及黑色否。

第七項 過氧化酵素

細菌中含有此種酵素者甚多，檢查時，以生活之細菌與過氧化氫溶液相混後，觀其有否氧氣發生。

第八項 溶血酵素

細菌有能溶解血球者，卽因有溶血酵素（hamolysine）之存在，其檢查法，甚爲簡單，法用瓊脂固體培養基，溶後冷至55°C時，滴入無菌血液數滴，混合後，傾入已滅菌之二重皿中，後取菌種行畫線培養，若所試驗之菌種含有溶血酵素時，則接種處周圍之血球呈溶解現象，極易辨識。

第九項　麥芽糖分解酵素

與試驗糖化酵素時同，惟用麥芽糖代替澱粉，試驗反應時，須用苯肼（phenyl hydrazine）檢查其有無苯葡萄糖脎（lhenyl glycosacone）之生成。

第十項　還原酵素

於培養基中，加入0.3％之硝酸鈉，滅菌後，如法移植菌種，於30°C下培養24小時，用內斯勒（Nessler）氏試藥，檢查其有無氨氣之生成，或用氨基苯磺酸(sulphomilic acid)—α萘胺法(α-naphthylamine)，以檢查其有無赤色反應。

第十一項　接觸酵素

將菌種稀釋液，置於愛恩厚恩氏發酵管中，加過氧化氫液少許，於室溫內保持一小時，觀其有無氣體發生。

第十二項　醇酵素

(1)林得雷氏法　取凹玻片，於其凹處滿貯無菌水，復混以少量各種糖類，後如法移植菌種少許，用蓋玻片輕輕蓋密，務使凹處不生任何小氣泡；復以石臘固封之，靜置於保溫箱中，歷三日後，察其有無二氧化碳發生。

(2)克勒克爾（Klöcker）氏法　用含糖液體培養基，種入菌種後，培養一星期，去其棉塞，改用一孔木塞，孔中通以80厘米長之玻璃管，後將管之周圍以臘封之，將此培養瓶，用火焰徐徐加熱至沸騰，如有酒精，則見玻璃管中壁上有油狀滴凝結。

第十一節　發酵生產物之檢定

用中性之麴汁(對於細菌之濃度爲 5°Ball，黴菌或酵母時爲 10° Ball)依常法滅菌，移植菌種，於適温下培養 10 日後，蒸餾之。

第一項　中性蒸餾液之檢定法

先將發酵液傾出，以濾紙或棉紗過濾，次用離心機除去菌體，取澄清液 500 c.c. 用 $\frac{1}{10}$N 氫氧化鈉精細中和後，置於蒸餾瓶中徐徐蒸餾至餾出液達 300 c.c. 時，乃於餾液中，檢查下列諸物質：

(1)　酒精

(1)三碘甲烷試驗　法取溶液少許，置於試管中，加碘化鉀濃碘液數滴，温熱之，加足量之氫氧化鈉溶液，至碘將近去色爲止，靜置片刻，如有乙醇存在時，即生黃色沉澱，若有多量存在時，其黃色沉澱，並可立即析出，即或沉澱甚微，不甚顯著，而三碘甲烷之特殊氣味亦可嗅出，在顯微鏡下，示星形羣體 (starshaped group)，或六角平板 (hexagonal table)，但應注意者，除酒精外，如乳酸丙酮及各種醛類與酮類，亦均有如是之反應(純粹之甲醇，戊醇與醋酸等，則無此反應)。

(2)苯甲酸乙酯試驗　于試樣中，加氯化苯甲醯 (benzoyl chloride) 數滴，及 10 % 氫氧化鈉數c.c.振盪之，並緩緩加熱，若有酒精存在時，則可依下列之反應，生成苯甲酸乙酯：(ethyl benzoate)

$$C_2H_5OH + C_6H_5COCl \longrightarrow C_6H_5COOC_2H_5 + HCl$$

並可由其特殊之氣味辨識之。

(3)醋酸酯反應　于試料中，加少許冰醋酸，後加濃硫酸，如有醇類存在，則有醋酸酯之香氣。

(4)得維(Davy)氏反應　于試料中加鉬酸之硫酸溶液，能變青色。

(5)阿古爾際(Agulhon)氏反應　于試料中加過鉻酸鉀之硫酸溶液，能還原而生綠色。

(2) 甲醇

(1)樹脂酚反應　于試料中加入1%樹脂酚(resocin)之稀溶液一二滴，然後漸漸沿管壁徐徐傾入5-10 c.c.濃硫酸，靜置三分鐘，輕輕振盪一分鐘，使兩層液面稍稍混合，如有甲醇存在，則于兩液面之連接處，生玫瑰紅色圈，如含量較多，則生玫瑰紅色之毛狀物。

(2)亥諾(Hehner)氏法　于試料中，加入少許無水酪酸，氧化之後，加適量鮮牛乳，混合後，沿試管壁徐徐傾入濃硫酸5 c.c.，使兩液面不相混合，五分鐘後，在兩液面之連接處，如呈紫色或藍色，即爲甲醇被氧化生甲醛之證。

(3)利赤(Leach)氏法　于試料中加入少許無水酪酸及鮮牛奶後，置于蒸發皿中，加少許氯化鐵鹽酸溶液，加熱至80-90°C用小玻棒時時攪動之，以免凝結，如有甲醇，即被氧化而生甲醛，因呈紫色。

(3) 醛類

黃碘反應，氨性硝酸銀之還原，及喜夫(Schiff)氏試藥(亞硫酸化甲基玫瑰色精試劑(fuchsin-sulphite reagent)之赤變等，均可證明之。

(4) 糠醛(furfural)

于試料中加入無色苯胺少許，再加數滴鹽酸，則生紅色或將試料滴于醋酸苯胺之紙片上，亦現紅色，

(5) 丙酮

(1)三碘甲烷反應 見前。

(2)于試料中，加入新鮮亞硝基亞鐵氰化鈉(na-nitroprusside)，再加氫氧化鈉，使呈鹼性而生赤色。

(6) 雜醇油

(1)取新鮮蘭香精(vanillin)硫酸溶液(蘭香精一克，溶于200c.c之濃硫酸內)2c.c.，傾入試管中，加入試料 1 c.c.，然後一滴一滴的加入蒸餾水，時時振盪，約至二十滴，檢查有無顏色之發現，若有雜醇油之存在，應顯赤紫色。

(2)革培爾(Goebel)氏法 于試料 30 c.c. 中，加入 2-3 c.c. 氫氧化鉀溶液，蒸發至 2-3 c.c. 時，冷却，于此殘餘液中，加 5-6 c.c. 濃硫酸，倘雜醇油存在，則有纈草酸(valerianic acid)酪酸(butyric acid)之特臭發生。

(7) 乙醯甲基原醇(acetyl methyl carbinol)之檢出

取試料 3-5 c.c.，加氨水 20 滴後，加羥氨基氨 (hydroxylamine) 之鹽酸水溶液(20:1000)5滴，及氯化鎳溶液 (10:1000) 少許，熱之，則呈青紫赤等色，

(8) 氨

用Nessner氏試劑試之。

第二項　酸性蒸餾液之檢定

(1) 揮發性酸類之試驗

將前項中性蒸餾所剩餘之殘液，加硫酸使呈酸性（以剛果紅爲指示劑），通入水蒸汽而蒸餾之，至蒸出液約 500 c.c. 時，乃于餾出液中，檢查其揮發性酸類。

(1)分離法　取出餾出液，以氫氧化鈉使呈中性，加硫酸銅，使呈各種銅鹽後，以苯或甲苯溶解之，過濾，其溶解之部分，爲戊酸(valeric acid)，及次羊脂酸 (caproic acid)，其不溶解之部分，加氯仿處理後，過濾之，其濾液中含酪酸其不溶之沉澱，再用醋酸醚溶解之，過濾其濾液中含有丙酸（propionic acid)，其不溶之沉澱含有甲酸及醋酸，此法分離後，再行各別反應試驗。

(2)各別反應試驗

(a)戊酸　與硫酸及戊醇共蒸餾時，生蘋果味，與醋酸鋅之水溶液相作用時，不生沉澱。

(b)次羊脂酸　與醋酸鋅之水溶液相作用時，生白色結晶體。

(c)酪酸　其鹽類易溶于水，酪酸鉛爲一種較重之液體，在冷時，能固化，其銅鹽爲藍綠色，單斜結晶，稍溶于水。

(2) 無揮發性酸類之試驗

(1)分離法　將除去揮發性酸類之殘液，用氫氧化鈉中和之，蒸發至濃，仍用硫酸使呈酸性，以醚浸漬數日，蒸去浸出液中之醚，其殘留物中，如見有琥珀酸等結晶體，即分取小部作定性試驗，大部殘留物，以少量水溶解後，用氫氧化鋇中和，至 pH8-9 時，加純酒精約四倍，靜置之，如有沉澱析出，過濾，以之檢查琥珀酸、蘋果酸以

及丁烯二酸(tumaric acid)等，于其濾液中檢查乳酸。

(2)各別反應試驗

(a)琥珀酸　爲無色長柄狀結晶，于其中性液中，加氯化鐵時，生褐赤色沉澱。

取試料少許，加樹脂酚少量，復加濃硫酸而熱之，呈黃色，冷卻後，加水煮沸之，加氨水，則其溶液有綠色螢光。

又取試料少許，與水楊酸鈣共熱之，則生玫瑰紅色，能經久不變

(b)蘋果酸　其鈣鹽難溶于溫水，可溶于鹽酸中，加弱金雞納鹼(cinchonin)，則生蘋果酸金雞納(cinchonin malate)，不溶于丙酮中，其熔點爲197–8°C，

又其濃溶液與水楊酸鈣共熱，生玫瑰紅色，約十五至二十分鐘，煮之，則呈暗色，放置之，卻呈無色而殘留黃色，

(c)檸檬酸　其鈣鹽難溶于溫水中，易溶于氯化銨或稀醋酸中又與氫氧化銨共熱，則生黃色，且有小結晶體形成，冷後靜置之，則生藍色或綠色，熱之復現黃色。

(d)丁烯二酸　呈β萘酚硫酸(β-naphthal)反應，及樹脂酚硫酸反應。

(e)葡萄糖酸(gluconic acid)　以β萘酚及硫酸作用，呈青色。

(f)草酸　鈣鹽爲正方體結晶，不溶于氨水及稀醋酸中，而可溶于鹽酸中，自其中性鹽溶液析出之草酸銀，可溶于氨水中。

(g)乳酸　其鋅鹽爲斜方系結晶。可用下列方法以檢驗：

(i)屋費爾曼(Uffelmann)氏反應　取少量試料加入石炭酸及氯化鐵之混合液，則呈黃色，

(ii)荷普金斯(Hopkins)氏反應　于試料中加入5 c.c.之濃硫酸，加數滴濃硫酸銅溶液，煮沸之，冷後添少量之一硫二烯五圜(thiophene)，復熱之，呈櫻紅色。

(iii)于試料中加少量 β 萘酚之結晶，復加濃硫酸，則呈青色。

第十二節　菌類作用之化學檢查法

第一項　還原作用

多數細菌均有還原作用，其檢查法，有種種：

(1) 硫化氫生產之檢出

細菌因種類之不同，有能自蛋白質，硫黃，一硫硫酸鹽，亞硫酸鹽，以及硫酸鹽等，因其還原作用而產生硫化氫之氣體者，其檢查法如下：

(1)鉛糖法　用棉塞浸于滅菌之鉛糖液(鹼性醋酸鉛溶液)內，後以之塞培養管或瓶口上，查其有無色變，如生暗色或黑色，即為發生硫化氫氣之證。又以濕鉛糖紙條，懸于瓶口，亦可。唯須注意使呈鹼性，且此色變易被氧化而退色。

(2)納恩斯德(Nerst)氏法　取瓊脂培養基加入3%之酒石酸鐵溶液，後行平面培養法，如有硫化氫發生，則其聚落之周圍，生褐色或黑色，故極易辨識之。

此試驗中，所用之酒石酸鐵之製法，如下：

於氯化鐵溶液內，加入氫氧化鉀，則生氫氧化鐵沉澱，以水充分洗滌後，溶于酒石酸內，即成，後混于瓊脂培養基內，而應用之。

(2) 呈色試驗

將培養基內，混入靛藍四甲基藍及石蕊等色素，後移種菌種，培養數日，則因還原作用而生無色產物。

(3) 硝化作用

能使硝酸鹽還原而生亞硝酸鹽，再經還原作用，則生氨。

於培養基(如肉汁)內，混入少量硝酸鹽，後接種細菌，待其繁殖，後以硫化苯胺酸(thioanilin acid)，及萘胺(naphthylamine)之混合液試之，如有亞硝酸存在，則呈紅色。

至氨則用Nessler試藥試之。

(4) 氮素游離

細菌尚有能使硝酸或亞硝酸分解而游離氮素者，其檢查法，係用肉汁加入0.25%之硝酸鈉或亞硝酸鈉，置于發酵管中，後接種菌種，檢其有否氣體發生，如有時，以氫氧化鉀及焦性沒食子酸等混合液吸收後，再辨認其殘留氣體。

第二項　芳香族物質之檢定

細菌在生育時，往往有芳香族物質產生，就中以吲哚(indol)甲基吲哚(skatol)酚，及諫乾酪酸等為最多，此等物質之檢定，以吲哚及酚為較容易。

(1) 吲哚之檢定

(1) 將菌種培養于肉汁或消化蛋白質水等培養液內，加入稀硫酸(濃硫酸一分，水三分，混合而成) 1 c.c.，靜置之，若五分鐘內有紅色或紫色呈現時，即為有吲哚及亞硝酸存在之證。此稱為硝基吲哚反應(nitroindol reaction)。如培養液中僅有吲哚時，則可先施0.01%之亞硝酸液，後再加硫酸試驗之。

(2)用10 c.c.培養液，加5 c.c.之對二甲氨基苯甲醛(p-dimethylamino benzaldehyde)之鹽酸溶液，(對二甲氨基苯甲醛四克，加96%酒精380 c.c.，再加濃鹽酸80 c.c.)乃加高硫酸鉀($K_2S_2O_8$)之飽和水溶液5 c.c.，如有吲哚存在，則于五分鐘內，呈紅色。

(3)于培養後之培養液內，加入0.05%之亞硝基亞鐵氰化鈉溶液5-10滴，次加氫氧化鈉少量，混合後，呈褐色，乃至紫褐色，再加冰醋酸5-10滴，如有吲哚存在時，則呈綠色

(2) 酚之檢定

用肉汁或消化蛋白質水培養後，其培養液內加入約五分之一鹽酸，蒸餾之，其餾出液，加入臭水，如有酚存在時，則生沉澱，或先加碳酸鈣于其餾出液內以中和之，後再滴入氯化鐵溶液，如有酚存在時，則呈藍紫色。

第三項 鹼性生產物之檢定

細菌中有能分解蛋白質而生種種鹼性物質者，其中以氨爲最普遍。而構造較複雜者，如膽汁鹼，(choline)屍鹼，(cadaverine)毒菌鹼，(muscarine)神經鹼，(neurine)腐肉鹼(putrescine)等，即所謂屍毒鹼(ptomaines)或腐敗體鹼，(putridness alkaloid)欲分離檢定此種屍毒鹼之詳細方法，可參閱Breiger氏所著之(Uber ptomain I,II,III)書，此處僅述其大略如下：

先將試料(如爲固體時，須加水)中，加入鹽酸，使呈微酸性，煮沸濾過，蒸發濾液至濃，加96%酒精，以溶解之，加入硝酸鉛之酒精溶液，如生沉澱，則濾去之，後通硫化氫，除去濾液中之鉛分，再蒸發

濾液至濃，乃加入昇汞之酒精溶液，使屍毒鹼類沉澱，然後以之製成金或白金等鹽，並試驗其各種特性。

第四項 酸及醇之生產

細菌能分解糖分而生酸或醇者甚多，在所生之酸類中，其最普通者爲乳酸、醋酸、琥珀酸及酪酸等、以及微量之甲酸及丙酸等，至于醇類，則多爲乙醇與丁醇，此外尚有醛酮等。

檢查是等物質時，用含有適當氮素及礦物質等營養之培養液500~1000 c.c.，滅菌後，如呈酸性，則加入碳酸鈣10~20克以中和之，後如法移植菌種，待其發育後，過濾，其濾液仍使呈中性，蒸餾之，如前法檢查其有無醇、醛、酮等存在。

次于蒸餾殘液內，加入磷酸使呈酸性，用水蒸汽蒸餾之，由此餾出液中，檢定其各種酸，如甲酸、醋酸、酪酸、丙酸等之存否。又以醚與此蒸餾殘液相振盪，提取數次，後蒸去醚，于此殘渣中，檢定乳酸琥珀酸等。

此外細菌生酸之簡單試法，即以石蕊培養之，查其培養基有否色變，又可于瓊脂培養基內，行平面培養時，滴下碳酸鈣，則呈乳狀，俟其發育後，如能生酸，則于其聚落之周圍，因碳酸鈣之溶解，而生透明之環狀。

于無糖之中性釀母水中，加入純糖類，或2%酒精，于30℃下培養一星期，後用石蕊或溴百里香酚藍作指示劑，以試驗有無酸之產生，所加之糖類或酒精，可于釀母水滅菌後加入之。

欲測定酸度，可培養菌種于100 c.c.培養液中，于30℃下經一星

期後，用$\frac{1}{10}$N氫氧化鈉溶液，以滴定之，其滴定時所用之 c.c. 數卽表示酸度。

第十三節　菌類數量測定法

菌類繁殖力之測定，以及各種菌種之比較試驗等，常應用菌類細胞數目之測定，故甚重要。對于液體以 1 c.c. 中數量表之，對於固體以一克中數量表之，其測定法有多種，簡述如下：

第一項　培養法

(1)寇哈 (Koch) 氏平面培養法　此法之手續與純粹培養法所用者略同，法秤取定量之菌種，以無菌水稀釋至一定稀度，而取其定容量之稀釋液，注入二重皿中，然後加滅菌復熔之瓊脂固體培養基與稀釋液相混合，後水平式搖動之，使凝成薄層，培養于恆溫箱中，待其繁殖後，用武爾夫許格爾(Wolfhügel)氏聚落計算器，計算全皿中之聚落數，以之算出試料一定量中之菌數。

(2)夫羅斯特 (Frost) 氏平面培養法　用一刻等分網格之載玻片，以毛細管吸取試液 0.05 c.c. 平均分佈于網格中，乃注加溶解之固體培養基，而混合之，置此玻片於二重皿中，於恆溫箱中培養約 14–16 小時，後於顯微鏡下檢查其聚落數，而計算之。

第二項　直接計算法

(1)本色計算法　此係直接計算菌液中之細胞數，活細胞與死細胞俱計算在內，是以所得菌數，常較培養法爲大。

採取新培養之菌液，充分振盪後，於菌體未沉着之前，速以小型滴管吸取 3 c.c.，與 1 c.c. 稀硫酸（濃硫酸一分中加水十分）相混合，

後由此混合液中，吸取一滴，滴於托馬斯氏血球計算器上之凹處（此凹處上之面積，爲一平方毫米，其分二十五大方格，每一大方格，含十六小方格，共計400小方格，每一小方格之邊長0.05毫米，深0.1毫米，故每一小方格之容積爲0.00025立方毫米），蓋以玻片，微振之，使液中不生任何小氣泡，靜置二三分鐘，後菌體已沉於液體，乃於低倍（約三百倍）顯微鏡下檢查之，於是計算五個小方格中之菌細胞數，後再於其他五個小方格內，亦同樣計算之，共計算十個小方格，細胞在格線上者，僅計算其二邊上之細胞數，其他二邊則不計入，出芽而尚附着於母細胞上者，作一個計算，如斯計算十次而取其平均數，並同樣作數次試驗，再取其平均值，而計算1c.c.中所含之細胞數，例如：

五個小方格內所含之細胞數	第一試驗	第二試驗	第三試驗	第四試驗
第一次	23	10	28	13
第二次	23	20	20	24
第三次	19	26	19	21
第四次	19	19	28	14
第五次	14	24	32	18
第六次	27	26	25	20
第七次	20	14	21	19
第八次	18	25	18	34
第九次	23	20	17	23
第十次	27	28	20	16
平均	19.3	20.0	23.7	20.2

以上四次試驗之平均數爲：

$$\frac{19.2+20.0+21.7+20.3}{4}=\frac{81.1}{4}=20.275,$$

然所用之試液 3 c.c. 加入稀硫酸 1 c.c. 故在單位空間內細胞所占之實數為:

$$4\times\frac{20.275}{3}=27.$$

此平均數為細胞在五個小方格中者，故每一小方格中所含之細胞數為:

$$\frac{27}{5}=5.4.$$

此計算器上共有 400 個小方格，而此全部之容積為 0.1 立方毫米，故 1c.c. 中之細胞數，為:

$$5.4\times400\times10000=21600000\text{個}.$$

(2)染色計算法　用毛細管吸取菌液 0.01c.c.，注於蓋玻片上，平均分佈，成一平方厘米(或用刻等分度數之載玻片，或用畫有度數之白色紙片均可)，徐徐加溫，使片上菌液乾燥，以95%酒精固定之，用樂夫諸氏染色液染色，以 95 % 酒精洗滌，後於顯微鏡下觀查之，此時須用接眼網格測微計，此測微計預先須用接物測微計，算出一平方厘米之方格相當此測微計上之方格數，於是可由此測微計上算出其一平方厘米內之菌數，乘以 100（蓋原來所用之菌液為 0.01 c.c.)，即得每 c.c. 中之菌數.

第四章　研究室之設備

第一節　實驗室之設備

第一項　試驗室

(1)　試驗室

關於發酵菌類試驗室之設置，應注意之事項，有下列四種：

(1)須與易起塵埃處所遠離，務使室內空氣少所動搖，並力求潔淨，以避免雜菌之侵入。

(2)注意光線平勻，直接日光之進入室內，殊非必要，試驗室之窗戶，以北向爲佳。

(3)室內所置各種用具，力求清潔，密置於貯藏庫內，非至從事研究時，不排置桌上。

(4)此室之門，窗，牆壁，地板等，務求緻密。

(2)　無菌室

移植菌種，或行扁平等純粹培養之時，爲避免空氣中雜菌之侵入起見，可於試驗室之一隅，設置一小室，廣 90×90，至 120×120 厘米，高約 2-3 米，自離地面上 90 厘米之高處起，俱裝以玻窗，直達室頂，室內可以置入小實驗桌以及煤氣壁等設備，室內常用噴霧法，以滅菌，或燃硫磺亦可，周圍之玻窗，常以昇汞水拭之。

(3)　培養室

此爲純粹培養時，所用之室，此室內置一個溫箱並培養器，故此室之溫度，以不易起變化爲佳。

(4) 殺菌室

此爲配製培養基及放置各種滅菌器之室，須通風良好，並須裝以消火器，以防火災。

(5) 暗室

此暗室中裝置紫外光線發生器，偏光計，以及顯微鏡照像器等。

第二項　試驗室之裝置

各室內均須裝入自來水及煤氣燈等，並酌置試驗桌一、二張，所用各種木器，以力求平滑爲主。

(1) 試驗桌

試驗桌以高約90厘米者爲便利，長240厘米，寬60厘米，桌面厚3.5厘米，桌面須使之水平，且能抵抗強酸或強鹼等之腐蝕，可塗布苯胺黑(aniline black)於桌面上，其法如下。

(1)克羅克爾(Klocker)氏法：

第一液	氯化銅	86 克
	氯酸鉀	67 克
	氯化銨	53 克
	水	1000 c.c.
第二液	鹽酸苯胺	600 克
	水	4000 克

取一容量之第一液與四容量之第二液相混合後，塗于桌面上四至五次。

(2)沃特曼(Wortmann)氏法：

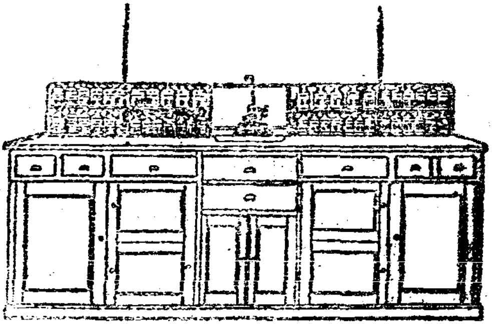
第一液	硫酸銅	100 克
	氯酸鉀	50 克

	水	600 克
第二液	鹽酸苯胺	100 克
	氯化鐵	40 克
	水	600 克

先塗布第一液於桌面，放置一夜，次日乃塗第二液，待桌面乾燥，然後交互塗布，反復施行三五回。

如上述方法塗布後，用溫水洗之，待乾燥後，塗以煮沸之胡麻油，放置少時，乃用砂紙摩擦，再用肥皂水充分洗滌之。

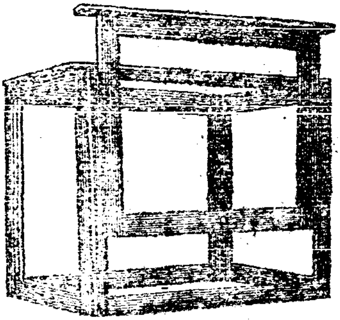
圖36 試驗桌



(2) 無菌箱

在較小之試驗內，無法另置一無菌室者，可以此箱代之，此箱為漢松氏所首創，故又名漢松氏無菌箱(Hanse's anses sterilebox)，此係一種玻璃箱，寬約63厘米，深約50米，高約50厘米，箱面塗以亞

圖37 漢松氏無菌箱



麻仁油之假漆。

(3) 培養櫥

係木製之複壁，櫥內分三槅，櫥底有一冷卻室。

第二節 儀器

第一項 滅菌用之儀器

(1)乾熱滅菌箱 (hot air sterilizer) 此爲鐵板製四方形箱，熱氣通過二重壁之間，外面有石棉板包之，上面有熱氣出口及溫度插入口，內部有數層之有孔鐵板，用電或煤氣加熱之。

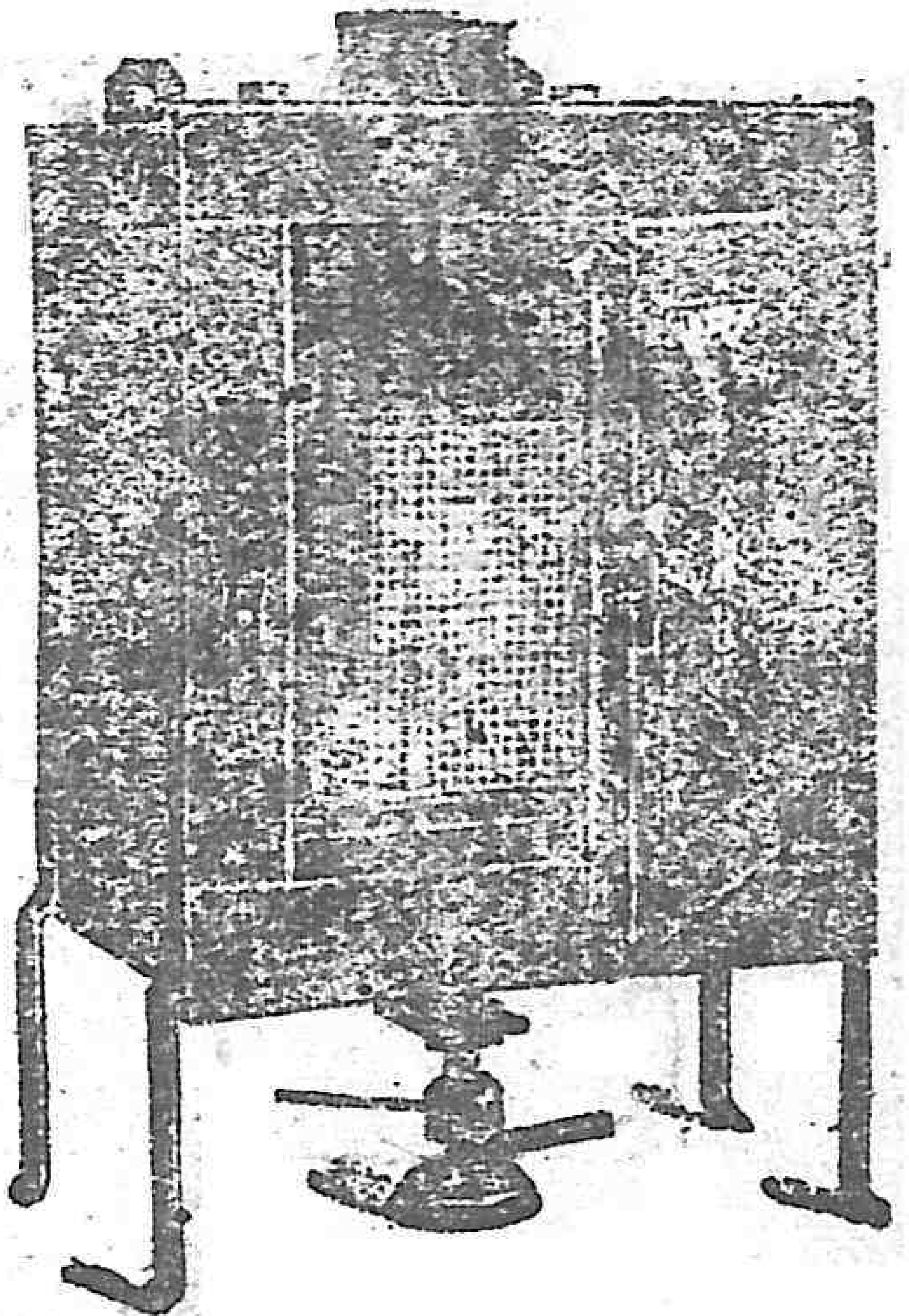


圖38 乾熱滅菌箱

(2)蒸汽滅菌器 (steam sterizer) 普通常用者爲寇克氏蒸汽滅菌器，爲銅或鐵製圓筒形，外包以毛氈，以煤氣加熱。

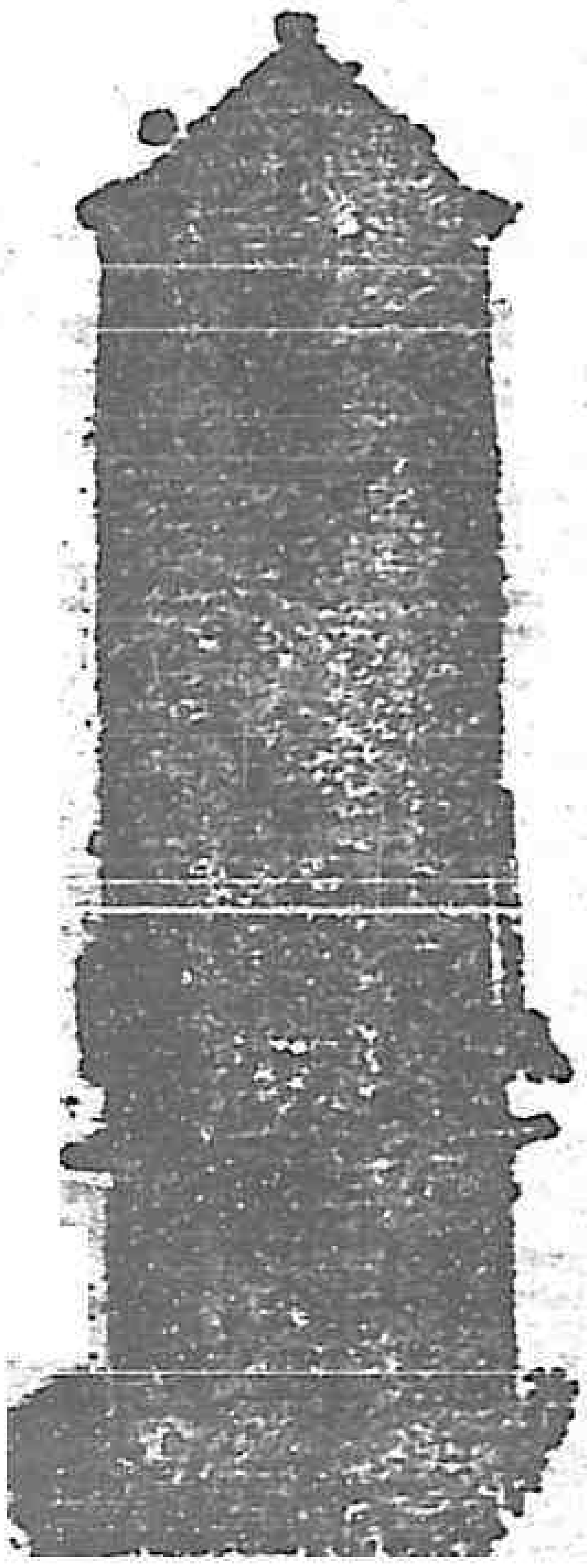


圖39 [illegible]蒸汽滅菌器

(3)高壓滅菌器(autoclave)。 此爲鐵製或黃銅製者，有安全瓣，蒸汽噴出口，壓力計等，其溫度可由壓力計所示之蒸汽壓計算之。

第二項 培養用之儀器

(1)培養箱(incubator) 此爲二重壁之四方形箱，中貯以水或油等，使箱中溫度不變化，箱上附有溫度調節器，其熱之來源不同，有用

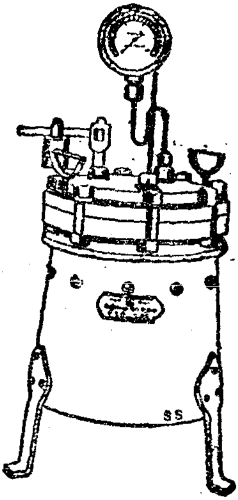


圖40 高壓滅菌箱

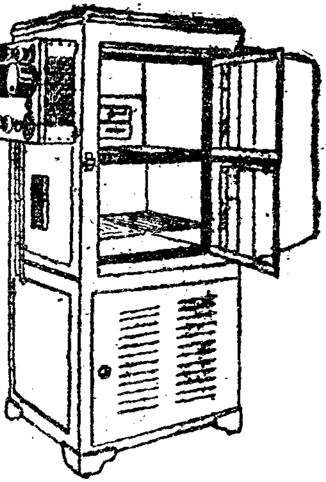


圖41 低溫培養箱

電、煤氣及煤油燈者，能在某一定溫度下，培養菌類。

(2)乾燥箱(oven) 有火力、蒸汽及電氣三種乾燥箱，

(3)乾燥器 為玻璃製者，內部之下層裝二氯化鈣或濃硫酸。

(4)冷藏箱 於長日保存生活材料，或行低溫實驗時常用之，用冰或氨氣冷卻之電氣冷藏箱，有種種型式，概用氨及亞氧化硫之凝冷與氣化而行冷卻。

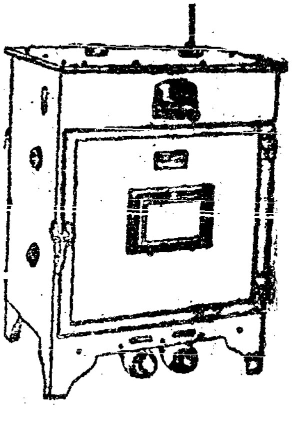


圖42 乾燥箱

第三項 檢查用之儀器

(1)顯微鏡 (2)測微器
(3)顯微鏡加溫器 (4)顯微鏡描畫器
(5)顯微鏡照像器 (6)暗視野集光器
(7)紫外光線發生器

第四項 實驗用之儀器

(1) 培養用

(1)試管 (2)二重皿(petri dish)
(3)量杯 (4)燒瓶
(5)各式培養瓶 (6)發酵管
(7)濾漏斗 (8)雲母濾過器
(9)碎肉機 (10)壓榨器
(11)移液管 (12)量瓶
(13)燒杯 (14)試管籠
(15)酒精燈 (16)伊爾瓶
(17)方形瓶

(2) 檢查用

(1)載玻片 (2)蓋玻片
(3)凹玻片 (4)玻璃皿
(5)色素瓶 (6)滴瓶
(7)洗瓶 (8)[illegible]
(9)樹膠瓶 (10)[illegible]器

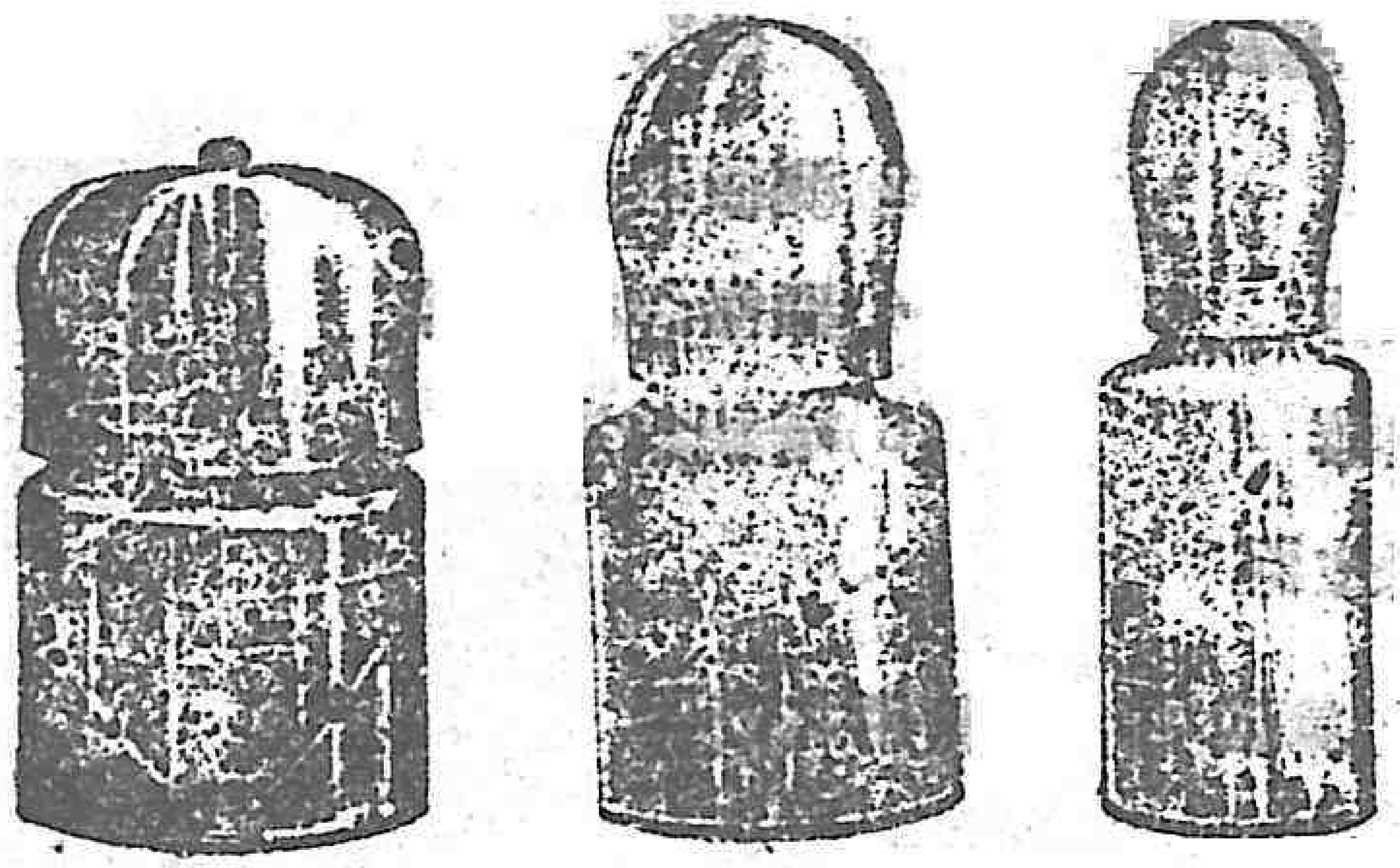


圖 43 各 式 色 素 瓶

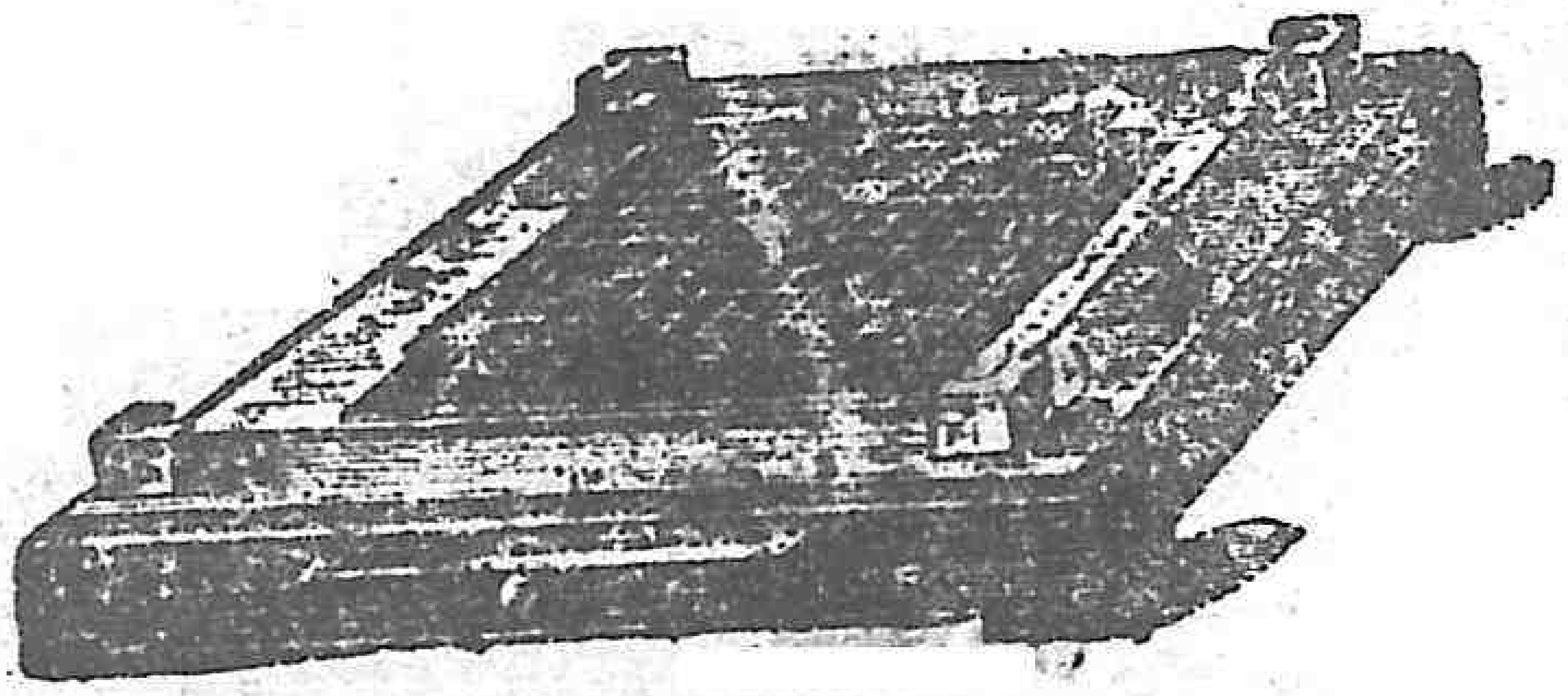


圖 44 聚 落 計 算 器

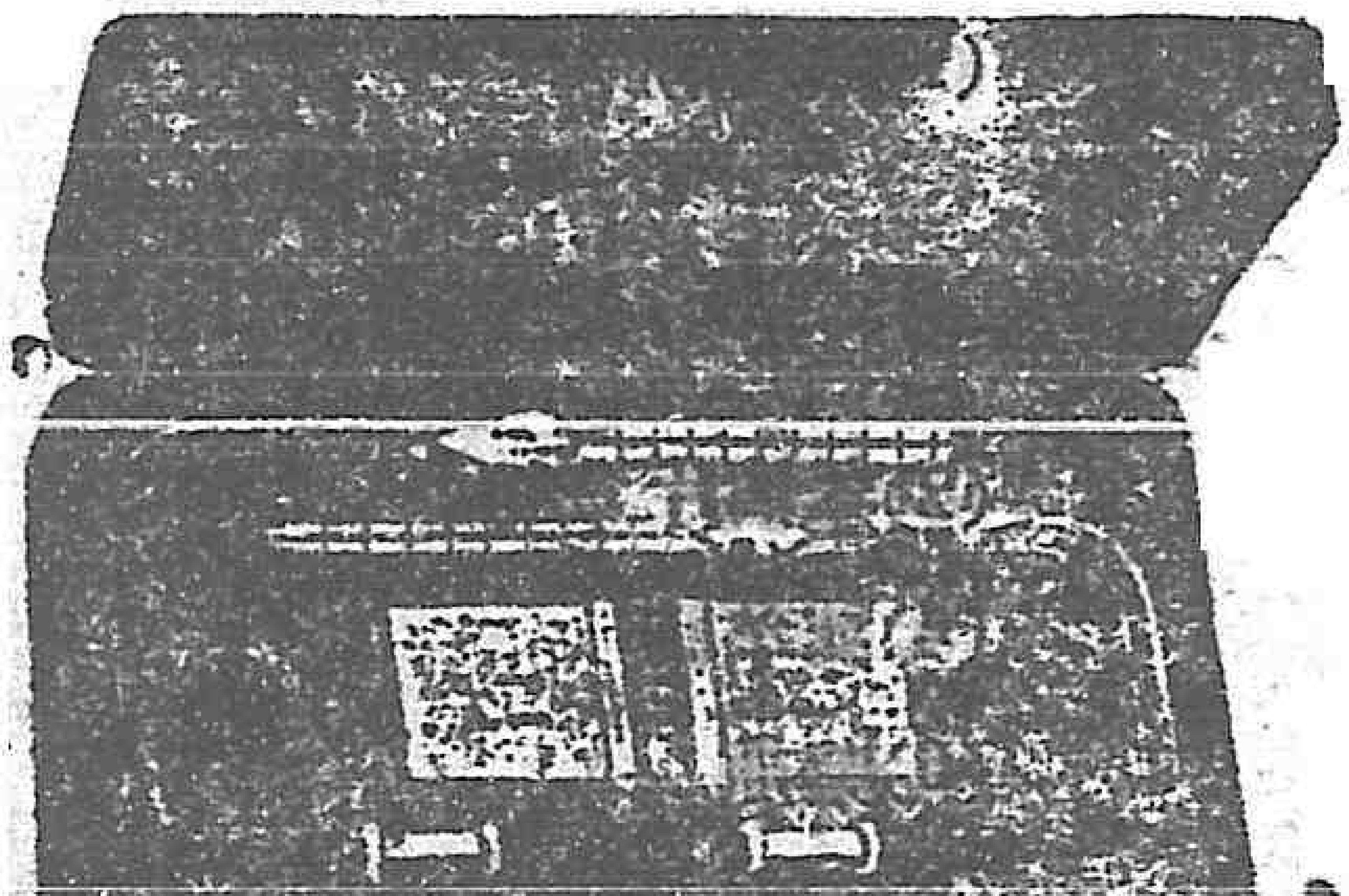


圖 45 托 馬 松 氏 血 球 計

11)聚落計算器

(12)血球計

(3) 分析法

(1)天平

(2)離心分離器

(3)[illegible]

(4)溫度計

(5)水鍋

(6)毛細管

(7)氣體量管

(8)坩堝

(9)蒸餾瓶

(10)凝結器

(11)分液漏斗

(12)酒精蒸餾器

(13)蔗糖汁

(14)偏光計

(15)酒精比重瓶

(16)秤瓶

(17)酒精測定計

(18)糖酵測定量器

(19)最高最低溫度計

(20)pH值測定器

(21)過濾瓶

(22)二氧化碳驅出器

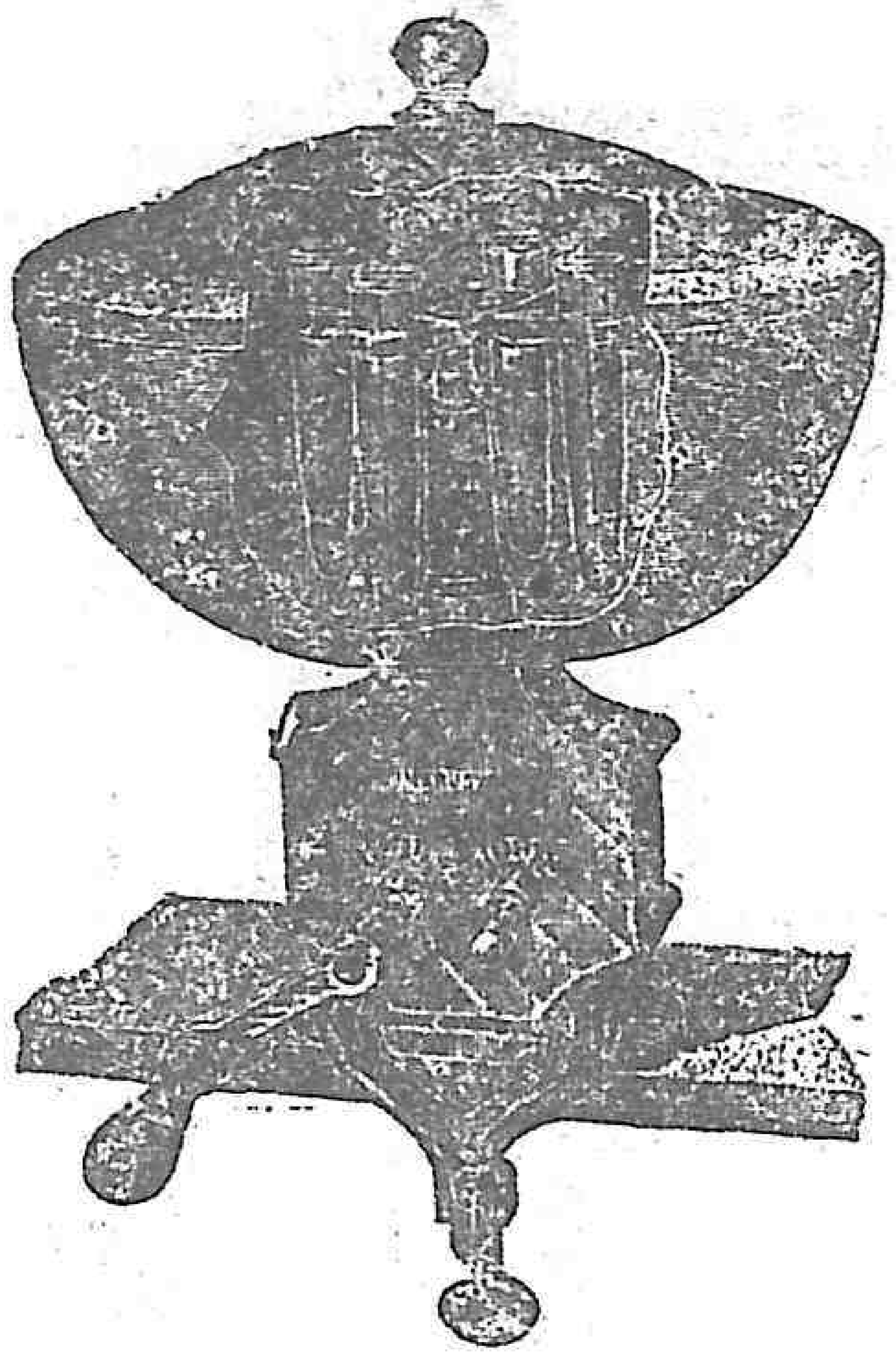


圖 46 離心分離器

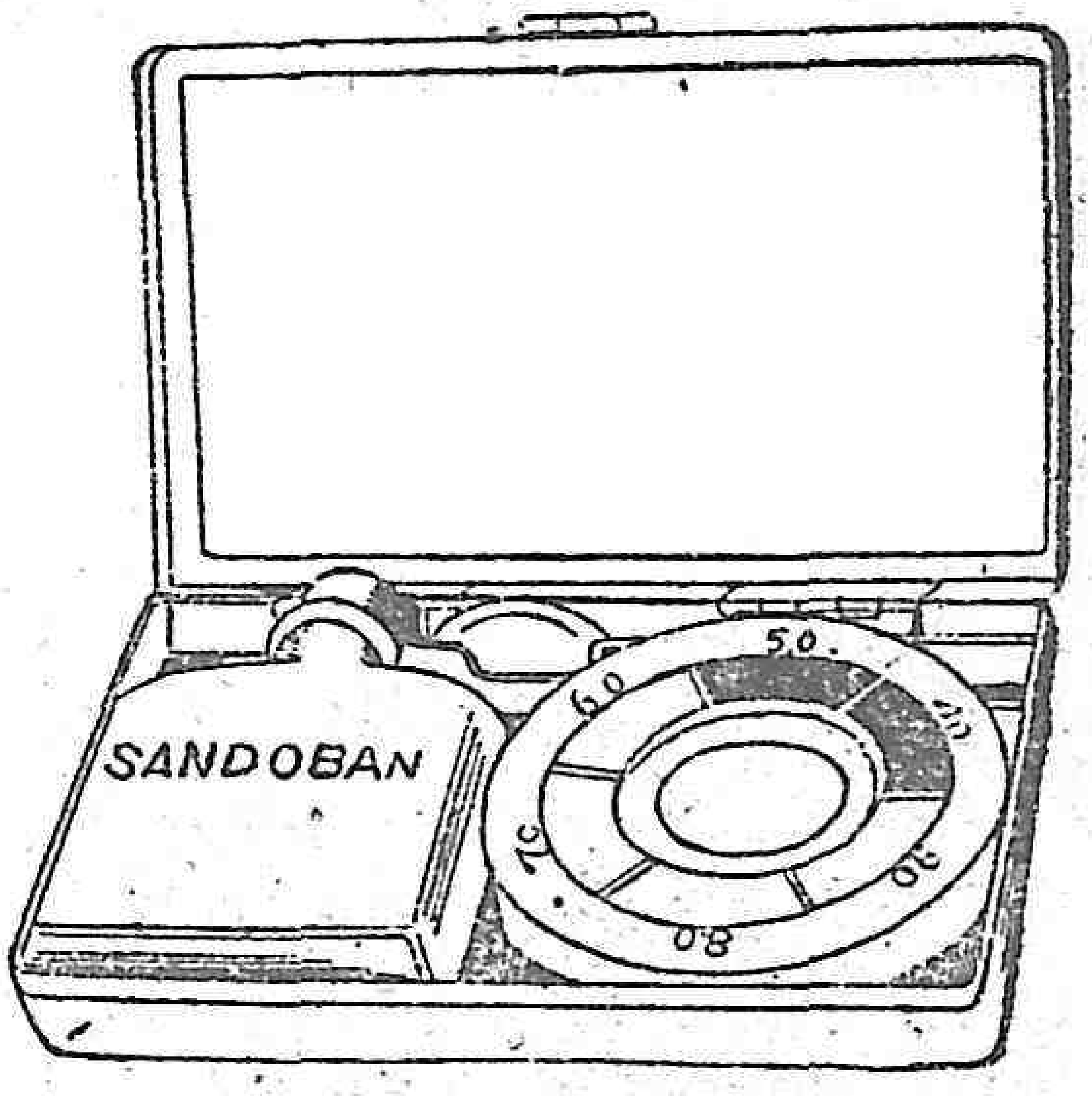


圖 48 pH值測定器

(23)氣體發生器

(24)乳鉢

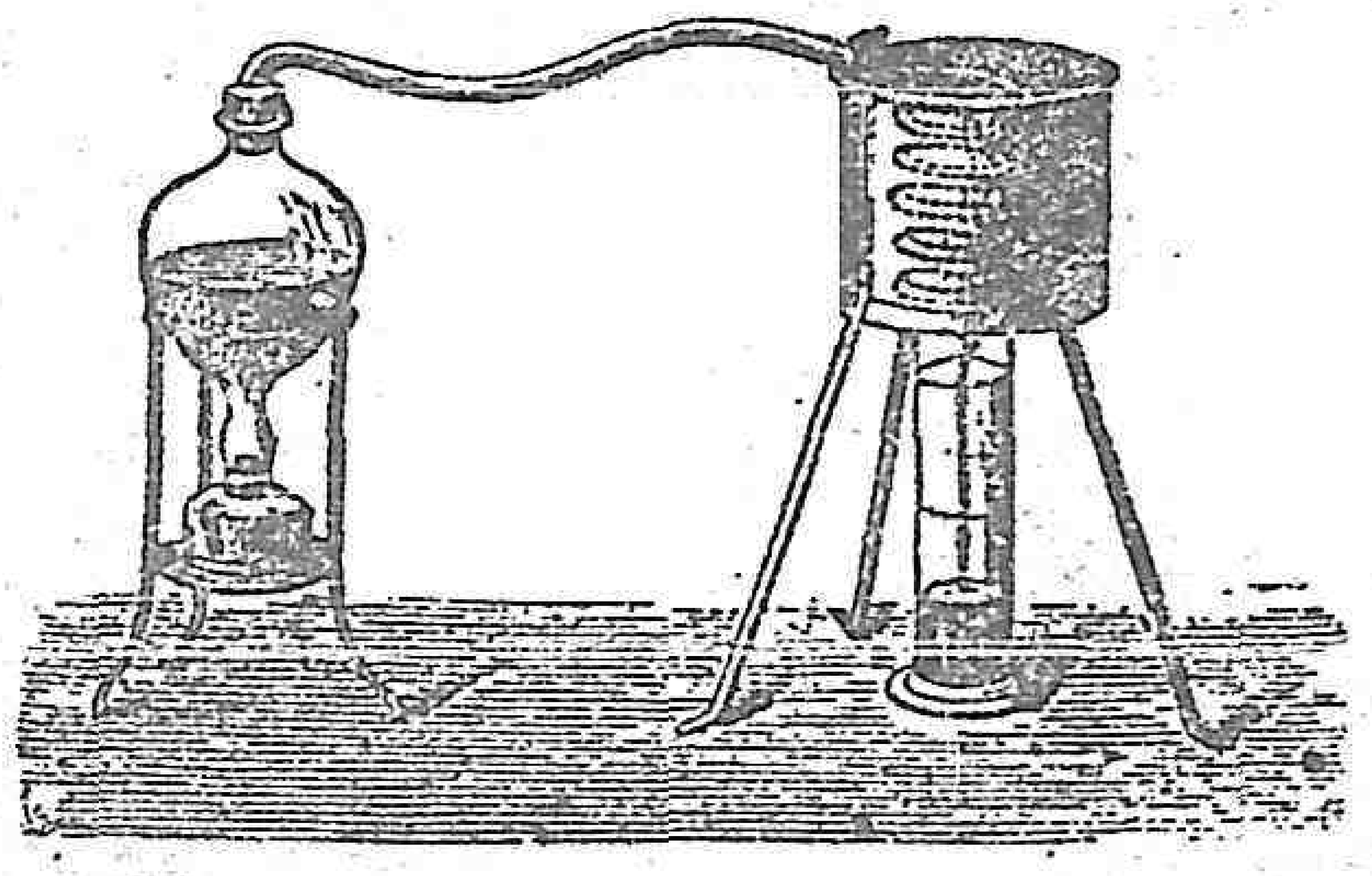


圖 47 酒精蒸溜裝置

(4) 零件

(1)毛刷

(2)試管架

(3)鑷子

(4)匙子

(5)打孔器

(6)試管夾

(7)白金絲

(8)玻璃絲

(9)鐵絲網

(10)三角架

版權所有
翻印必究

中華民國三十二年二月初版

發酵學

全一册 機造紙本定價國幣四元二角

(外埠酌加運費匯費)

編著者 郭質良

發行人 吳秉常

印刷所 正中書局

發行所 正中書局

(1387)

鈕克家校對

(2.10)金·本 2/1—0.15

[illegible]