

内部资料
注意保存

国内生物化学药品工艺 汇编资料

(初 稿)

第四集 蛋白质及氨基酸

上海医药工业研究院技术情报站

1973年

* 毛主席语录 *

中国共产党是全中国人民的领导核心。没有这样一个核心，社会主义事业就不能胜利。

人的正确思想，只能从社会实践中来，只能从社会的生产斗争、阶级斗争和科学实验这三项实践中来。

我们作计划、办事、想问题，都要从我国有六亿人口这一点出发，千万不要忘记这一点。

我们必须打破常规，尽量采用先进技术，在一个不太长的历史时期内，把我国建设成为一个社会主义的现代化的强国。

前　　言



为了进一步贯彻毛主席教导我们“人类总得不断地总结经验，有所发现，有所发明，有所创造，有所前进。”和“中国人民有志气、有能力，一定要在不远的将来，赶上和超过世界先进水平”，我站根据迄今已收集到国内有关生物化学药品的生产工艺资料，加以分类、整理和汇总，编写成“本资料初稿”，供从事生化药品生产和科研的同志作参考。由于我们学习马列和毛主席著作不够，缺乏实践经验，编写时间仓促，一定会有不少错误和遗漏之处，希望广大工农兵、革命干部和革命科技人员提出宝贵意见，并提供有关材料，使在本资料初稿的基础上，继续补充和修改，以臻完善，更好地为社会主义革命和社会主义建设作出一点贡献。

上海医药工业研究院技术情报站

1972.11

项 目



(1) 注射用水解蛋白	Proteinum Hydrolysatum Pro Injectione	1
(2) 盐酸半胱氨酸	Cysteinum Hydrochloridum	16
(3) 乙酰半胱氨酸	Acetylcysteum	23
(4) 盐酸组氨酸	Histidinium Monohydrochloridum	25
(5) 明胶	Gelatinum	32
(6) 强蛋白银	Argento Proteinum Forte	35
(7) 弱蛋白银	Argento Proteinum Mite	37
(8) 盐酸精氨酸	Argininum Hydrochloridum	38
(9) 氧化聚明胶	Polyoxygolatinum	42
(10) 吸收性明胶海绵	Spongia Gelatin Absorbensda	44
(11) 噬酸蛋白	Albuminum Tannas	47
(12) 胃膜素	Gastricum Mucinum	49
(13) 胎盘球蛋白	Globulinum Placentae	52
(14) 丙种球蛋白	r - Globulinum	55
(15) 胎盘水解液	Placentae Hydrolysatum	57
(16) 鱼精蛋白硫酸盐	Prctaminium Sulfas	59
(17) 医用外科肠线	Medica Sutura Chirurgica	61
(18) 牛肉浸交	Extractum Carnis	55
(19) 蛋白胨	Peptonium	64

注射用水解蛋白

Proteinum Hydrolysatum Pro Injectione

异 名 Amigen, Amparon, Aminosol, Casy drol,
Fibrin Hydrolysate,

用 途 氨基酸类药；用于营养不良蛋白质缺乏症，严重肠胃炎、烫伤及外科手术后蛋白质补充。

用法与用量 静脉滴注，同时可混入等渗或高渗葡萄糖作为非蛋白质热量的补充。注射速度：在最初十分钟注入速度，成人应每分钟不超过30~45滴，婴儿应每分钟不超过10~15滴。然后根据病人的耐受性，逐渐增加注入速度，但成人每分钟不得超过75~100滴，婴儿每分钟不得超过25~40滴。用量：根据病情由医生具体决定；通常，婴儿每次250毫升，成人每次500~1000毫升。

注 意 (1)注射液中出现少量经振荡后易于消失的沉淀，并不影响本品的使用。(2)注射液混浊，为细菌感染所致，不可使用。(3)注射液应一次用完，如未用完，余液弃去，不可贮藏冰箱中俟以后再用，以免细菌感染的危险。(4)使用水解蛋白注射液，不能用曾输过血浆之用具，因水解蛋白中之微量钙离子会与血浆中之抗凝剂发生作用。(5)磺胺类药物不能混入水解蛋白注射液，因二者相混即产生不溶性游离磺胺酸。

贮 藏 储于阴凉处，忌冷藏或冰冻保存。

技术路线

(I) 血纤维蛋白水解法：

[原料采集]

新鲜猪血 —————— 自来水 —————— 血纤维蛋白末

[酶水解]

蒸馏水，NaOH，猪胰浆，甲苯，Ca(OH)₂ ——————
PH7.3~7.5, 48°~50°

〔中和〕
水解液 $\xrightarrow[\text{PH}5.6\sim6.0, \text{先}100^\circ\text{后}64^\circ\sim66^\circ]{\text{H}_3\text{PO}_4}$

〔过滤、浓缩〕
中和液 $\xrightarrow[\text{PH}6.4, \text{先}100^\circ\text{后}0^\circ\sim5^\circ]{\text{NaOH}}$ 浓缩液

〔精制〕 $\xrightarrow[\text{95}^\circ]{\text{HCl, 活性炭, 白陶土}}$ 精制液 $\xrightarrow[\text{pH上升至}5.5]{\text{701型树脂}}$ 〔交换〕

〔浓缩、干燥〕
滤液 $\xrightarrow[80^\circ, 740\sim750 \text{毫米汞柱}]{}$

〔配料分装〕
水解蛋白干粉 $\xrightarrow[\text{PH}5.5]{\text{NaOH, 活性炭, 葡萄糖, NaHSO}_3}$

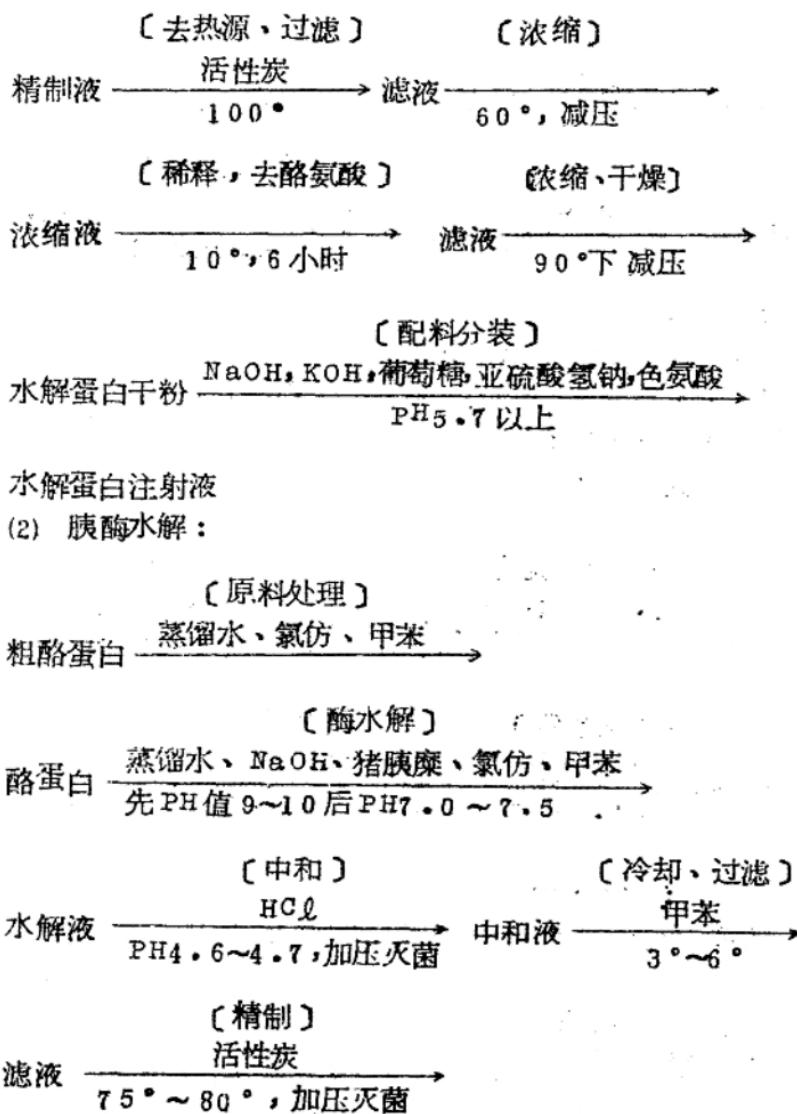
〔过滤〕 $\xrightarrow{}$ 水解蛋白注射液
冷却，蒸汽消毒

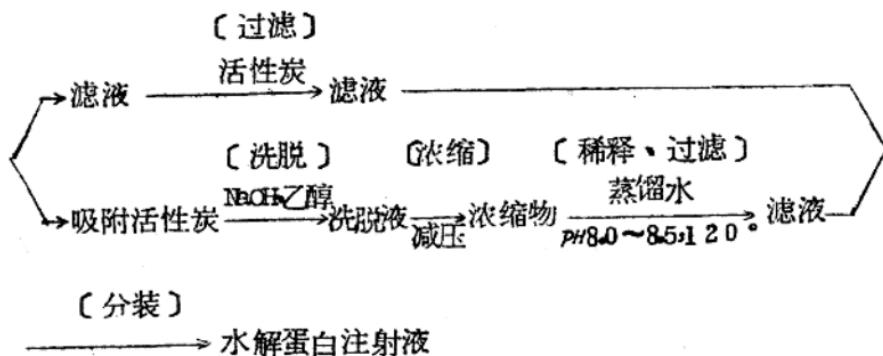
(II) 酪蛋白水解法：

(1) 盐酸水解：

〔酸水解〕
酪蛋白(国产精一级) $\xrightarrow[125^\circ\sim130^\circ, \text{蒸汽加压}]{\text{盐酸, 蒸馏水}}$

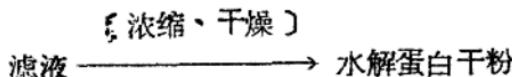
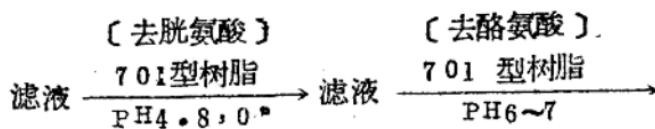
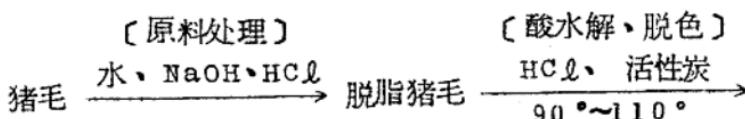
〔脱色脱酸〕
水解液 $\xrightarrow[\text{PH}8.0\sim6.4]{\text{活性炭, 701型树脂}}$





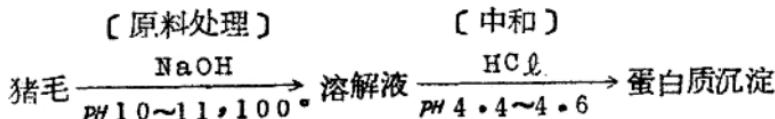
(三) 猪毛水解法：

(1) 盐酸水解：



水解蛋白注射液

(2) 胰酶水解



[酶水解]

NH_4OH , 猪胰浆、甲苯、3942酶 $\xrightarrow{\text{水解液}}$
 $\text{pH } 7.5 \sim 8.0$, 先 90° 后 45°

[浓缩、干燥]

盐酸、活性炭

$\text{pH } 4.4 \sim 4.6$, 80° , 减压 $\xrightarrow{\text{浓缩液}}$

[稀释、去酪氨酸]

0°

$\xrightarrow{\text{滤液}}$

[浓缩、干燥]

[配料]

$\xrightarrow{\text{水解蛋白干粉}}$ 蒸馏水, 葡萄糖
 减压 $\xrightarrow{\text{水解蛋白干粉}}$

[脱色、去降压物质] [去热源]

水解蛋白水溶液 $\xrightarrow{\text{活性炭、活性白土}}$ 滤液 $\xrightarrow[80^\circ]{\text{活性炭}}$ 精制液

[交换]

[过滤、分装]

701 树脂 $\xrightarrow{\text{交换液}}$ $\text{pH } 5.8 \sim 6.2$

NaHSO_3 , 滑石粉

$\xrightarrow{\text{水解蛋白注射液}}$

工艺过程

(I) 血纤维蛋白水解液法：

1. 原料的采集：健康性猪宰杀时，立即收集鲜血，不断迅速搅拌，使血纤维蛋白凝聚分离，接着用竹筛滤出，用自来水反复冲洗，并用脚踩压或机械踩压，在踩压时仍不断用水漂洗，直至血纤维蛋白无明显血色，呈白色为止，若不马上投料，送低温冷库，冻结贮存备用。如无冷库设备，可将新鲜血纤维蛋白绞碎，用蒸馏水洗三次，在 $60^\circ \sim 80^\circ$ 晾干备用。

2. 酶水解：

(1) 从冷库取出冰冻血纤维蛋白，用自来水冲洗解冻，洗净，再用绞肉机绞碎，继之将血纤维蛋白碎末用无热源蒸馏水洗涤，每次最好用离心机把水甩干（如用干粉，不需如此处理）。称取后的血纤维

蛋白粉末 25 公斤，放入水解锅内，加入 120 公升蒸馏水，煮沸 30 分钟后，用虹吸法去水；又加入事先用 2N NaOH 溶液调节 pH 值 9.0 的蒸馏水 120 公升，煮沸 30 分钟，又吸出水，再加入 pH 值 9.0 的蒸馏水 120 公升，煮沸 30 分钟，并封罐降温。

(2) 胰浆的制备：

宰杀牲猪时，选取优质的新鲜胰脏，剥去脂肪，及时送冷库，冻结。投料前取出放室温解冻，再剥去剩余的脂肪，用绞肉机绞碎，加入等量蒸馏水，搅匀，每 25 公斤新鲜血纤维蛋白，加 10 公斤胰脏。

(3) 氢氧化钙混悬液的制备：称取氢氧化钙 230~50 克，放玻璃三角瓶内，加适量蒸馏水，使呈混悬液，供调整 pH 值用，因氢氧化钙易于下沉，必要时可补加蒸馏水。

(4) 投料：待水解锅内温降至 55° 时，加适量甲苯，开动搅拌，缓缓加入胰浆，随即不断间隔地加氢氧化钙混悬液调整 pH 值，自始至终保持 pH 值 7.2~7.5 之间。同时，用 55° 左右热水在水解锅夹层内循环，使锅内温度保持在 48°~50° 之间，按具体条件，可加适量甲苯防腐，在不断搅拌下水解 5 小时。用氢氧化钙校正 pH 值至 7.3~7.5，并加适量甲苯，将水解锅完全密闭，停止搅拌，温度仍保持在 48°~50° 进行水解，此时 pH 值变化不大，不必测量校正 pH 值，水解 20 小时后，可取小样，测定水解率，如氨基氮占总氮 4.4% 以上，则 24 小时可出料，不然，应酌情延长水解时间。

3. 中和、过滤、浓缩：

水解终时，pH 值一般在 6.0~7.2，然后用磷酸约 250~280 毫升校正 pH 值至 5.6~6.0，加热煮沸 60 分钟，再往夹层内送冷水，使水解液冷却至 64°~66°，出料。将水解液用 7 号帆布自然过滤，得澄清滤液，用 10N NaOH 溶液校正 pH 值至 6.4，温度 60° 以下，真空度 600 毫米汞柱以上，进行减压浓缩（加入适量十八醇作去沫剂），浓缩至原体积的 $\frac{1}{3}$ ，出料后，用流动蒸汽煮沸 30 分钟，先在室温冷却，再移入冷库（0°~5°），放置 24 小时以上，以利于酪氨酸与磷酸氢钙充分析出。

4. 精制：

将冷却之浓缩液在10°以下冷库中，用布氏滤斗过滤，去掉沉淀物，得暗红色澄明液，用少量蒸馏水洗涤滤渣，洗出液并入滤液。另取滤液体积，用新鲜蒸馏水补充至60公升（新鲜蒸馏水稀释到每公斤血纤维蛋白干粉至6公升，一般每次投料为10公斤血纤维蛋白干粉或3.0公斤血纤维蛋白湿品），加入盐酸调整pH值至4.5，加入活性炭500克，用蒸汽加热30分钟，此时液温在95°以上，倾入热处理锅内，再加入活性白土5公斤，保温80°，不断搅拌30分钟，用布氏滤斗（双层滤纸）过滤，滤液按上法反复处理一次。

5. 交换、浓缩、干燥：

将上述精制液，用701型弱碱性（环氧型）阴离子交换树脂交换，使pH值上升至5.5，滤去树脂；将滤液放入浓缩锅内浓缩至糖浆状。接着，在真空干燥器内干燥，干燥的温度最好是在80°以下，真空度740~750毫米汞柱，即得水解蛋白干粉（收率：15~20%，按血纤维蛋白干粉重量计算）。

6. 配料分装：先配成水解蛋白注射液小样，供全面检定，待检定合格后，再整批配料；为解决澄明度问题，先浓配，再稀释，一般在冷库进行（冬天可在室内）。将水解蛋白干粉用0°~8°冷却的无热原蒸馏水配成3.0%（重量/体积）溶液，用玻棒进行搅拌，待干粉溶解后，用布氏滤斗抽滤，滤液再按6%的浓度稀释，用2N NaOH溶液，调节pH值至5.4~5.6，加入0.5%（重量/体积），活性炭用流动蒸汽煮45分钟，趁热再加入5%（重量/体积）注射用葡萄糖及0.03%（重量/体积）亚硫酸氢钠，搅匀后密闭，放水库或冰降温冷却过夜，使不溶物沉淀，再用纸浆过滤后，又用4号垂熔玻璃滤斗过滤至澄明度合格，可分装，分装用500毫升或250毫升输液瓶中，经流通蒸汽消毒灭菌60分钟，立即降温，以防色泽加深。送检，待热源试验，总氮量合格后，即得水解蛋白注射液（总氮量：>0.6克/100毫升；氨基氮/总氮：>50%；色氨酸>30毫克/100毫升；pH值：5~7）。

〔附〕：

1. 活性炭的处理：

将药用或化学纯活性炭用蒸馏水反复煮沸，洗涤，用砂滤棒抽干，直至洗出的水中用硝酸银检查无明显的氯离子存在，在烘箱中 160° 烘干2小时去热源，备用。

2 活性白土（即白陶土）的处理：

1公斤工业用活性白土加自来水1.4公斤，化学纯盐酸80毫升，加热煮沸，搅拌2小时，静置沉淀倾去酸水，用自来水反复洗至 pH 值至5.0，再用蒸馏水洗三次以上（可用离心机用干水份，加蒸馏水后有混悬现象，是一种颗粒比较细的白土，应将此种细白土去掉，以便于热处理时过滤）。洗好的白土在烘箱内烘干，并研碎之，然后在 180° 烘干2小时，以破坏热源。

3. 701型弱碱性离子交换树脂的处理：

新树脂（是环氧型环氧氯丙烷—多乙烯多胺）弱碱性阴离子交换树脂为金黄至琥珀色球状颗粒，（交换当量 ≥ 9.0 ，交换速度15分钟，粒度10~15目）先在 $50^{\circ}\sim 70^{\circ}$ 用蒸馏水漂洗2~3次，用丙酮或乙醇浸泡数次，每次4~6小时，浸至丙酮液无色为止；再加2N HCl，边加边搅，调节 pH 值至2~3，稳定后浸泡4~6小时，使成Cl⁻型；用蒸馏水洗至 pH 值4~5，接着又加2N NaOH，使 pH 值至9~10左右，稳定后浸泡4~6小时，碱化成OH⁻型；再用蒸馏水洗至 pH 值7.0，重复用酸碱处理一次，最后成为钠盐，为保证树脂无热原，在使用前，再用无热源蒸馏水洗至中性，洗后立即使用，使用后再生树脂可免去丙酮浸泡这一步，其他操作同上。

4 分装瓶、橡皮塞、用具等的处理：

先用自来水洗刷瓶内外，再用硫酸、重铬酸钾清洁液浸泡，自来水冲洗后，还用洗瓶机洗，再用蒸馏水冲洗三次，其他玻璃器皿都按此法洗净，橡皮塞和绵纶纸要用碘水洗刷干净，再用蒸馏水洗多次，蒸煮备用。

5 无热源原新鲜蒸馏水：

一般使用蒸馏水都是用时随时制备，蒸馏水存放时间不超过4小时为宜。

(II) 酪蛋白水解法：

(1) 盐酸水解：

1. 酸水解：将蒸馏水 300 公斤及化学纯盐酸 56 公斤投入 500 立升搪玻璃反应锅中，将酪蛋白（俗称奶酪素，国产精一级）90 公斤倒入，开动搅拌机，密封好投料孔；缓缓开启蒸汽阀，使反应锅夹层气压逐渐上升，蒸汽压力维持在 2—3 公斤/厘米²；锅内温度升至 125° 后，保持在 125°~130° 之间，并不断搅拌水解 1.5 小时；关闭夹层进气阀，压力下降至常温，温度降至 100° 以下时，使锅内热气逸出；将水解液虹吸引出，平均放入 4 只耐酸缸（四担）中，再平均注入前一批树脂交换洗液 400~500 公斤作为稀释剂。

2 脱色、脱酸

在上述稀释的水解液中，加入化学纯活性炭 1.5 公斤，搅拌均匀，用预先洗净并外加布套及宣纸的砂棒接上真空泵，趁热吸滤已加炭的水解液至四只 200 公升罐内，要求滤液内无活性炭混入；开放罐下面考克，使已放冷的稀释水解液缓缓流入已准备好之树脂交换柱内（每柱内约置 #701 型树脂 40 公斤，是已经再生处理并用蒸馏水清洗），流入适量时，使加液入柱的流速降低，交换液出柱的流速为 1 小时流出 10 公斤；最初流出液的 pH 值应为 8.0 以上，其后 pH 值逐渐下降，收集幅度为 pH 值 8.0~6.4 的流出交换液，集中盛放于一只 300 公升搪玻璃反应锅中，保温 60°~70°，以免变质，流出液之平均 pH 值应为 7.0 以上，每一批水解液约需 8 柱交换完毕。当柱内流出交换液达 pH 值 6.4 时截止交换，然后每柱内加入蒸馏水 50 公升进行洗涤，洗涤液于 8 小时左右流完，将洗液收集作下批稀释水解液用。

3. 去热原、浓缩：

立即将上述 pH 7.0~7.5 交换液加热（因中性之水解液极易染菌），每 300 公斤水解液加 1 公斤活性炭，搅拌煮沸 5 分钟，用预先洗净并用布袋宣纸包好的砂棒，将交换液吸滤至浓缩锅内（注意勿使活性炭带入浓缩锅内），加热，于 60° 减压浓缩（如有泡沫，滴入少量十八醇—乙醇饱和溶液去除泡沫）待浓缩液成胶状体后，停止加热。

4. 稀释、去酪氨酸：

将浓缩液自锅内放出，加入3~4倍蒸馏水，移入冷库，冷却至10°。约六小时后，酪氨酸析出，过滤一次，滤液每以三号垂熔玻璃滤斗过滤一次，然后于50°左右进行第二次真空浓缩，过滤所得之滤饼则以蒸馏水洗之，洗液供下一批生产析出酪氨酸时使用。

5. 浓缩、干燥：

浓缩至胶状，将浓缩液放出，分盛于搪瓷盘内，放入干燥箱内，减压干燥之，控制箱内温度不超过90°，8小时后干燥完成，用不锈钢刀铲下，装入塑料袋内，避免受潮，抽样化验合格后，送交制剂车间，即得水解蛋白干粉（收得率66%左右，以酪蛋白重量计算之）。

6. 配料分装：

将蒸馏水42公升置于50公升的耐酸搪瓷桶或不锈钢桶中，加入水解蛋白针粉3公斤及50%葡萄糖溶液约5公升，再加入活性白土2公斤，在水浴中，液温在15°以下搅拌1小时，加入活性炭1公斤，然后降温至5°以下搅拌1小时，用布氏滤斗抽滤，以去除活性白土、活性炭等不溶物，滤液中加入色氨酸溶液（量取蒸馏水1公升、10N NaOH溶液15毫升、色氨酸25克，加热使色氨酸全部溶解，冷却备用）。搅拌后再加入10N NaOH约17毫升和10N KOH约20毫升，使液体pH值至5.8至6.2之间，取上述溶液放在煤气炉上加热煮沸，维持沸腾半小时，移至冰盐浴中冷却至液温5°以下，加入化学纯亚硫酸氢钠溶液（取亚硫酸氢钠12.5克，加入蒸馏水100毫升使溶），冷却液用内铺有滑石粉的布氏滤斗减压过滤，除去析出物，量取滤液的总体积，如不足50公升则用3号垂熔玻璃滤斗滤过之蒸馏水加足之搅拌均匀，测pH值在5.7以上即可；用3号或4号垂熔玻璃滤斗过滤，滤液分装于500毫升大输液瓶中，每瓶约装510毫升，塞上衬有涤纶薄膜的橡皮塞，轧上铝盖放入高压柜内以0.5公斤/厘米²压力灭菌30分钟，放冷后检查色泽和澄明度是否符合标准，即得水解蛋白注射液（总氮量：0.6~0.8克/100毫升；氨基氮/总氮：>50%以上；色氨酸：>30毫克/100毫升；pH值：5~7）。

[附]：

1. 葡萄糖热原处理：取葡萄糖27.5公斤，加蒸馏水28公升，配成50%溶液50公升，加活性炭1公斤，置于50立升不锈钢桶中，加热煮沸15分钟，然后冷却至80°以下，趁热过滤，滤液分装于500毫升大输液瓶（白色高硼料）中用1公斤/公分²压力，温度121°，加热1½小时，高压后取出，室温贮藏备用。

2. 活性白土（白陶土）的处理：将工业用活性白土25公斤置于容积60立升的耐酸缸中，缸中加入蒸馏水4.0公升，化学纯盐酸2公升，然后用蒸汽煮沸半小时，待活性白土沉降后，将上层酸液抽出，加入新鲜蒸馏水至原体积，如此反复处理，第一天5~6次，以后逐渐减少，待洗涤的蒸馏水pH值4.8~5.1为止，然后取出倒入布袋中挂滤，滤干的白土置蒸汽烘箱中，以温度80°~90°烘干，时间为24小时，用研钵研碎，在经过40~60目过筛，然后装入广口瓶中盖紧备用，在每次投料前一天再置煤气烘箱中，在250°~320°烘2.5小时以上去除热源，然后冷至室温再投料，时间不超过48小时。

3. 701型弱碱性离子交换树脂的处理：

将新的或交换力衰退701型树脂4.5放置大缸（四担）中，注入自来水，以刚浸没树脂为度，然后注入工业用盐酸2.5公斤，每4小时搅拌一次，24小时后通入自来水，时加搅拌，冲除盐酸，至pH值达3.0以上为止。将已冲除盐酸的树脂装入交换柱内，加入1.5%碳酸钠溶液使再生，使流出液的pH值达1.0为止，碱液流速控制6小时达pH值1.0每柱约需固体碳酸钠8公斤。将已达pH值1.0的树脂以自来水洗去碱液，使pH值达7.0，然后每柱以4.0公升蒸馏水洗清待用。

(2) 胰酶水解：

1. 原料的处理：

将粗酪蛋白1.2公斤置于搪瓷桶中，以5倍体积的温水(40°~50°)洗涤1次，继以冷水洗涤6~8次，至洗液清澈为止。将酪蛋白移出，沉于底层的泥沙除尽，最后以5倍体积的新鲜蒸馏水在冷室

4°~6° 浸一夜，加入总体积 0.1% 氯仿与甲苯等体积混合液，次日倾去蒸馏水，再以新鲜蒸馏水洗涤 2 次。

2 酶水解：

将清洗过的酪蛋白置于已经清洗过并已用 70% (体积/体积) 乙醇淋洗过的 1.0 公升玻璃瓶中，加新鲜灭菌蒸馏水至 8 公升处，再加 3.0% NaOH 150 毫升，使其大部溶解，并加摇动，至 pH 值 9~10 时，加入胰糜（新鲜的猪胰先以冷水冲洗干净，摘去脂肪后，再以新鲜蒸馏水冲洗 3 次，用绞肉机绞碎或胰糜即可应用）7.00 克，摇匀并加氯仿及甲苯各 1.00 毫升，最后加灭菌蒸馏水至 1.0 公升。扎口（以 2 层灭菌纱布上盖牛皮纸）以免防腐剂挥发，（以上操作可在无菌室进行），于 37°~39° 保温消化，第 2 及第 3 日以 3.0% 氢氧化钠调节 pH 值 7.0~7.5，自第 4~6 日每日摇动一次，消化至第 8 日取样分析总氮、氨基氮与色氨酸，第 10 日移至冷室使酪氨酸析出，胰糜的结缔组织及未消化的酪蛋白沉于瓶底，油脂浮于液面。

3 中和、冷却、过滤：

将消化完毕而在冷室置放 3 夜的消化液，用 2 层清洁灭菌纱布过滤，以除去胰脏的结缔组织，滤液以 2.0% 盐酸调节 pH 值达 4.6~4.7，分装于 5 公升烧瓶中，每瓶盛 4.5 公升，以 1 公斤/厘米² 蒸汽压力灭菌 2.0 分钟，取出于室温冷却，再移入 3°~6° 冷室冷却。3 日后用塞氏滤器装 K₅ 石棉滤板抽或压滤，滤液收集于 0.05% (按滤液之比) 甲苯的容器中，取样分析总氮、氨基氮与色氨酸，并计算其体积，以新鲜蒸馏水稀释至总氮为 1%。

4 精制：

将上总氮 1% 的滤液 (滤液①) 中，加总体积 2% (重量/体积) 活性炭，加热至 75°~80°，并充分搅匀，用 4 号垂熔玻璃滤斗或布氏滤斗垫两层滤纸过滤，滤器均用新鲜蒸馏水冲洗 3 次，过滤时液体温度同上。所得滤液 (滤液②) 中再依同法同量的活性炭，加热并充分搅匀，用已冲洗过的第二个滤器过滤，过滤温度同上，滤液 (滤液④) 盛于烧瓶中灭菌 (气压与时间同上)，并计算其体积，留样测定色氨酸的含量。

(乙) 将两次吸附用的活性炭合併，用9.0%（体积／体积）以上乙醇洗涤3次，每次乙醇用量为总氮1%滤液体积的 $\frac{1}{2}$ ，并加3.0%NaOH，使pH值为7.5~8.5，充分搅动后吸滤。过滤时乙醇温度为65°~70°，炭渣弃去，逐次合併乙醇滤液，用减压蒸馏法将乙醇滤液浓缩至稠厚状，再以新鲜蒸馏水溶解（水的用量根据滤液中的总氮而定，目的使与滤液合併后总氮为0.7~0.75克／100毫升），pH值应为8.0~8.5，加水后分盛于烧瓶中，以1公斤／厘米²蒸汽压力灭菌2~3小时，取出室温冷却，再移至冷室，（如需快速冷却，可先以温水冷却后再用冷水冷至室温，移入冷室）。次日用塞氏滤器装K₅滤板过滤，滤液宜清，否则重滤，再用同上蒸汽压力加热1~2小时（前后共四小时）以破坏热源。

(丙) 冷却后与滤液合併，混合液的pH值为5.5~6.5，并留样分析总氮、氨基氮与色氨酸，灭菌（同上蒸汽压力20分钟），移至冷室放置3夜。

5. 分装：

于无菌室中将混合液用塞氏过滤器（填以K₅滤板）和3号垂熔玻璃滤斗或4号垂熔玻璃滤斗或4号垂熔玻璃滤斗过滤装瓶，加轧铝盖，以1公斤／厘米²蒸汽压力灭菌20分钟，即得水解蛋白注射液（总氮量：>0.6/100毫升；氨基氮／总氮：>50%；色氨酸：>3.0毫克／100毫升，pH值：5~7）。

(三) 猪毛水解法：

1. 原料的采集处理：

取猪毛、进行挑选去掉杂质后，用水冲洗，加4~6%氢氧化钠洗涤后用水冲洗至中性，再用1N盐酸洗涤，然后用水再冲洗至中性，至脂肪和杂质去净，晒干备用。

2. 酸水解、脱色：

取洗净的猪毛1公斤，投入到2公斤的10.5~11.0N HCl溶液中，当温度上升至90°时开始记温，继续升温，保持110°，水解12小时，即得水解液。将水解液用水稀释3倍（加2倍水）后，过