

DAN HONG SU GAN SU SHENG CHAN JI SHU

胆红素 肝素生产技术

张洪昌等 编著



915

2

胆红素 肝素 生产技术

张洪昌 赵丽 编著
王秀云 杨旭

科学技术文献出版社

内 容 简 介

本文详尽介绍了胆红素及肝素的生产工艺及操作方法,同时阐述了胆红素、肝素生产中应注意的事项和生产实际经验。内容具体,资料新颖,具有较大的实用价值。

本书可供广大胆红素、肝素生产者参考,也可作培训教材用。

胆红素~~经~~技术 肝 素 生产

张洪昌等 编著

科学技术文献出版社出版

北京京辉印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

787×1092毫米 32开本 3.875印张 85千字

1989年10月北京第一版第一次印刷

印数: 1-4 100册

科技新书目:208-121

ISBN 7-5023-0945-4/TQ·6

定 价: 2.60元

前 言

近年来，社会上日渐形成“胆红素热”，各种生产胆红素的技术转让或培训班如雨后春笋，技术队伍不断壮大。当然，造成这种现象的原因不仅仅在于市场上胆红素供不应求、收购价不断上涨，更在于它是人工不能合成的制造人工牛黄的重要原料。

目前，胆红素多从猪胆汁中提取。过去，由于统一收购、宰杀生猪，猪胆相对集中，有利于生化制药厂生产；生猪市场放开后，胆源分散，使药厂原料缺乏，产量锐减，因而供需矛盾突出，价格暴涨。从市场需求来看，胆红素在相当长的时期内的销路是畅通的。

一种热潮的出现，必将有众多人转入竞争角逐之中，而竞争归根结蒂是生产技术的竞争。为此，我们为广大胆红素生产者编写了这本书，它集国内胆红素生产技术之精华，详尽介绍了胆红素的生产方法，极富指导作用。写作上，我们融科学性、通俗性、具体性于一体，以满足不同文化层次读者的要求。

另外，我们还介绍了作为优良药剂的肝素的生产技术。肝素为优良的抗凝血剂，能防治多种疾病，尤其对心肌梗塞、肠梗阻及脑血栓疗效明显。

编写仓促，错误难免，敬请读者批评、指正。

作者

1989.2.

目 录

第一部分 胆红素、胆酸、胆固醇及人工牛黄的生产技术	(1)
一、概述	(1)
二、胆红素的来源和性质	(2)
(一) 胆红素的来源	(2)
(二) 胆红素的性质	(2)
三、生产胆红素的主要原料及辅料	(5)
(一) 胆汁来源及其组成成分	(5)
(二) 辅料(药品)	(6)
四、胆红素的生产方法	(7)
(一) 快速法提取胆红素技术	(7)
(二) 钠盐醋酸法生产胆红素技术	(12)
(三) 色层法(离子交换法)生产胆红素技术	(14)
(四) 钙盐法生产胆红素技术	(18)
(五) 钙盐醋酸法生产胆红素技术	(24)
附录 与胆钙盐制取过程有关的问题	(25)
(六) 钙盐法生产胆红素的改进工艺	(27)
(七) 中型钙盐法提取胆红素新工艺	(28)
(八) 高纯度胆红素的制备技术	(29)
(九) 使胆绿素转变为胆红素的生产工艺	(31)
(十) 胆红素生产技术要点	(32)

(十一) 钙盐法制备胆红素的工艺路线·····	(34)
五、生产胆红素的主要设备、器具及用品·····	(35)
六、结合型猪胆汁酸的回收及 α -猪去氧胆酸的 生产技术·····	(37)
(一) 粗结合型胆汁酸的回收方法·····	(37)
(二) 粗 α -猪去氧胆酸的生产技术·····	(37)
(三) 精制 α -猪去氧胆酸的生产技术·····	(37)
附录 α -猪去氧胆酸的来源、性质、用途及 制备技术·····	(38)
七、胆红素制备装置参考图·····	(52)
八、胆红素的测定方法·····	(59)
(一) 常规测定法·····	(59)
(二) 简易测定法·····	(61)
附 胆红素生产中应注意的事项和生产经验集 锦·····	(65)
九、胆酸的生产技术·····	(73)
(一) 简介和性质·····	(73)
(二) 生产工艺·····	(74)
(三) 含量测定·····	(76)
十、胆固醇的生产技术·····	(77)
(一) 简介和性质·····	(77)
(二) 生产方法·····	(78)
(三) 检验方法·····	(79)
(四) 用途·····	(80)
十一、人工牛黄的生产技术·····	(80)
(一) 简介·····	(80)
(二) 生产配方及工艺·····	(81)

(三) 作用与用途	(81)
第二部分 肝素的生产技术	(82)
一、肝素的结构与生物活性	(82)
二、肝素的物理化学性质	(85)
(一) 物理性质	(85)
(二) 化学性质	(85)
三、生产工艺	(87)
(一) 工艺原理	(87)
(二) 酶解-离子交换 工 艺	(88)
(三) 盐解-离子交换 工 艺	(90)
(四) 腌渍肠衣卤水提取肝素的方法	(96)
四、树脂的处理	(97)
五、影响肝素提取的因素	(98)
六、乙醇回收及加醇量计算	(101)
七、主要原料性能	(103)
八、生产注意事项	(105)
九、常用度量衡制及肝素效价计算	(108)
(一) 常用度量衡制	(108)
(二) 肝素效价的计算	(108)
十、生产肝素所需设备及原料消耗	(109)
十一、常用溶液浓度比重表	(110)
十二、百分浓度、当量浓度、克分子浓度对照 表	(113)
十三、肝素的检验方法	(114)
十四、肝素的生产前景	(115)

第 一 部 分

胆红素、胆酸、胆固醇及 人工牛黄的生产技术

一、概 述

胆红素具备多种药理作用，是制造人工牛黄的主要原料。目前，国内外市场极为短缺。据药理实验证明：它对W 256瘤有较好的抑制作用，对乙型脑炎病毒的灭活率、抑制指数比去氧胆酸和胆酸高1—1.5倍；它还是一种有效的肝脏疾病的治疗药物，在不破坏肝脏组织的情况下，有增殖新细胞的作用，可治疗血清肝炎、肝硬化；此外，胆红素具有镇静、镇惊、解热、降压、促进红血球新生等作用。

1955年，郭巩从牛胆汁中提取胆红素，开始了我国在这方面的研究工作，他的方法是：先用乙醚、乙醇净化胆汁，然后将胆汁剩余物按常法用氯仿提取。1960年，武汉肉联厂研制成功“先制得胆红素钙盐、后用盐酸酸化、氯仿提取”的生产方法。1956—1957年，美国、英国和捷克斯洛伐克等国家的胆红素研究者几乎同时发现：胆汁中的胆红素是以一种极性的和易溶于水的胆红素结合物存在的。这种结合物除了葡萄糖醛酸外，还存在另一种结合物。1959年，国外

科学家用放射性同位素追踪的方法鉴定出该种结合物是硫酸盐。因此，用氯仿直接提取胆汁中的胆红素是不经济的，其收率只有0.0164—0.0168%，而用钙盐法、色层法或钠盐快速提取法，则能提高收率1—2倍。

二、胆红素的来源和性质

（一）胆红素的来源

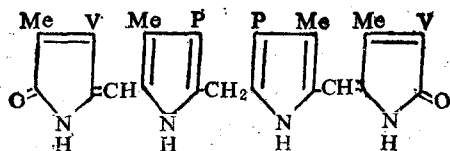
胆红素是从胆汁中提取的。

动物体内衰老的血红细胞崩解后，血红蛋白中的血红素在分解代谢过程中产生一系列的还原产物，胆红素即来源于此，也有一小部分胆红素来源于血红蛋白以外的其它含血红素的化合物。

胆红素是胆汁中的主要色素，是胆结石的主要组成部分，属于胆色素中的二次甲胆色素（胆色素包括胆红素、胆绿素、胆紫素、胆黄褐素等，一般分为四类：胆色烷、次甲胆色素、二次甲胆色素、三次甲胆色素，它们分别含有0、1、2或3个次甲桥。胆色烷是无色的，其它皆有颜色，胆绿素为三次甲胆色素）。胆汁中的各种胆色素都是血红蛋白的分解产物。

（二）胆红素的性质

胆红素分子是由四个吡咯环通过碳桥($-\text{CH}=\text{}$ 或 $-\text{CH}_2-$)连接而成的复杂的脂溶性有机化合物，分子式为 $\text{C}_{58}\text{H}_{72}\text{N}_4\text{O}_6$ ，分子量为584.65，结构式为

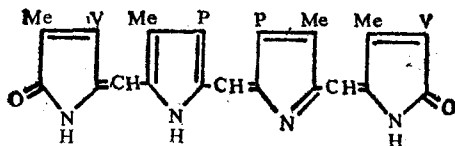


Me: 甲基 ($-\text{CH}_3$)

P: 丙酸基 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$)

V: 乙烯基 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$)

胆绿素的分子式为 $\text{C}_{55}\text{H}_{84}\text{N}_4\text{O}_6$, 分子量为 582.65, 结构式为



1. 胆红素的物理性质

① 溶解性: 胆红素的骨架结构具有亲脂性, 可溶于氯仿等有机溶剂中, 微溶于乙醇, 不溶于水。乙醇与氯仿的混合液在温度较高时, 胆红素在其中的溶解度较大。

胆红素的钠盐易溶于水, 但钙盐、镁盐、钡盐则不溶于水。

② 熔点: 胆红素加热变黑, 结构被破坏, 其二甲酯的熔点为 $198-200^\circ\text{C}$ 。

③ 状态、颜色变化和味道: 胆红素呈单斜片状、棱状或精细的叶状体 (氯仿中)。

黄至红棕色。

无嗅无味。

④ 胆红素能被某些树脂吸附。树脂是一种高分子聚合物，吸附性较强，专属性较高，可在若干种不同物质中有选择地吸附某种物质。如使用某一种树脂，使它只吸附胆汁中的胆红素，而不吸附胆汁中的胆汁酸、胆固醇及胆汁中的其它化学物质，这样就可再选用一种洗脱液将吸附在树脂上的胆红素洗脱下来，回收溶剂后，即可得到胆红素成品。用树脂法提取胆红素就是基于这一性质。

⑤ 稳定性。胆红素是一种不稳定的物质。干燥固体在暗处较稳定，在氯仿液中置暗处也较稳定。

维生素C和EDTA可使胆红素稳定。

胆红素中可能含有的杂质：胆绿素、胆褐素等。

2. 胆红素的化学性质

① 胆红素易氧化分解，具有不稳定性。

当 $\text{pH} < 1$ ，将胆红素置于空气中，可加快其氧化速度， $\text{pH} > 12$ 时，也容易氧化。

胆红素在碱液、强酸、空气中或遇三氯化铁很易被氧化。

胆红素结构中的四个分子内氢键在非极性溶剂（如氯仿）中较稳定，而在极性溶剂（如乙醇）中氢键易被破坏，从而失去稳定性。

② 胆红素见光易分解变质。光线可破坏双键，久置强光下可致变质，特别是成品应避光干燥保存。

③ 胆红素具有显色性。胆红素化学结构中的中心碳原子，与显色剂反应可生产有色产物。

④ 胆红素与氢氧化钠反应生成溶于水的胆红素钠盐，后者与盐酸反应，又生成溶于氯仿的胆红素。

⑤ 胆红素分子中有两个丙酸基侧链，呈弱酸性，与碱

土金属离子如 Ca^{2+} 反应，可生成不溶于水的胆红素钙盐（习惯上又称胆钙盐），这种不溶性盐与强酸（如盐酸）反应，又可生成胆红素。

三、生产胆红素的主要原料及辅料

目前，生产胆红素的主要原料是胆汁。

（一）胆汁来源及其组成成分

胆汁是由肝脏分泌的清澈而略带粘性的金黄色液体，贮存在胆皮器官内。胆汁的主要组成成分是：胆汁酸、胆红素、胆绿素、胆固醇，少量的磷脂、粘蛋白等，其中无机物占四分之一，有机物占四分之三。

动物种类不同，其胆汁组成也不同，如：

A.猪胆汁组成：胆汁酸盐、胆色素（包括胆红素、胆绿素）、粘蛋白、脂肪及无机物，其中胆汁酸包括鹅脱氧胆酸、石胆酸、猪胆酸及猪去氧胆酸等。

B.牛胆汁组成：胆酸钠盐、胆红素、胆绿素、粘蛋白及少量脂肪、胆甾醇、卵磷酸、胆碱、尿素及氯化钠、磷酸钠、磷酸铁等。

胆汁的新鲜度是决定胆红素收率和质量的至关重要的因

用新鲜及变质的胆汁试验结果

类 别	胆 汁 数 量 (kg)	得 钙 盐 数 (kg)	含 水 量 (%)	颜 色
新鲜胆汁	3	0.14	81	棕黄色
微带臭味胆汁	3	0.056	79	浅黄绿色
变质胆汁	3	0.015	80	黄绿色

素。在胆红素的提取过程中，这是值得重视的。实践证明，由新鲜的胆汁生产的钙盐含胆红素可达0.7—0.8%，而陈旧的一般只有0.1—0.3%。

(二) 辅料 (药品)

1. 氯仿

又名三氯甲烷，无色透明液体。分子式为 CHCl_3 ，分子量为120.4，比重为1.84，沸点为61.2℃。易挥发，不易燃烧，微溶于水，易溶于有机溶剂（如乙醇、乙醚等）。对人体有毒性，置暗处保存。生产用cp级试剂为宜。

2. 乙醇

又名酒精，无色透明液体。分子式为 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ 或 $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$ ，沸点78℃。易燃烧，溶于水，能与许多有机溶剂混合。生产用cp级试剂和少量的无水乙醇。

3. 氢氧化钠

白色固体。分子式为 NaOH ，分子量为40。易溶于水，属强碱，具有强腐蚀性。生产用cp级试剂。

4. 盐酸

分子式为 HCl ，分子量为36.5。浓 HCl 比重为1.19（重量百分比为37%）、当量浓度为12N。在空气中发烟，有强烈的刺激性、腐蚀性。生产用cp级试剂（回收结合型猪胆汁酸，使用工业品即可）。

5. 亚硫酸氢钠

白色晶体，粉末状，溶于水。分子式 NaHSO_3 ，分子量为104。生产用cp级试剂。

6. 维生素C

药物片剂或针剂（针剂最好）。

7. 冰醋酸

分子式为 CH_3COOH ，分子量为60.05。有强烈的刺激性气味。

四、胆红素的生产方法

(一) 快速法提取胆红素技术

过去，胆红素的生产沿用的是古老的钙盐法，继而发展到技术较先进的树脂法，这两种生产方法生产周期长，溶剂使用和消耗量大，成本高。而使用快速法提取胆红素，实践证明具有投资少、规模大小不论、成本低、周期短、工艺简单等优点。

1. 工艺流程

胆汁过滤 $\xrightarrow[\text{加热至 } 65^\circ\text{C}]{\text{加 } 0.5\% \text{ 氯仿、} 0.2\% \text{ 抗氧剂}}$ $\xrightarrow[\text{pH}=10-11.5]{\text{调 pH } 1\text{N NaOH (约胆汁量的 } 6-10\%)}$ $\xrightarrow[\text{测 pH 值, 应为 } 8-9]{\text{用水冷却至 } 20^\circ\text{C}}$ $\xrightarrow{\text{加热至沸, 并保持 } 2-3 \text{ 分钟}}$ $\xrightarrow[\text{调 pH}=5.5]{\text{酸化 } 1:5 \text{ 稀盐酸}}$ $\xrightarrow{\text{加 } 30\% \text{ 氯仿} \rightarrow \text{加 } 0.3\% \text{ 抗氧剂} \rightarrow}$ 在分液漏斗中分液并用氯仿提取 3—4 次 $\rightarrow$

$\rightarrow$ $\left\{ \begin{array}{l} \text{氯仿溶液经蒸馏回收氯仿, 收取胆红素进行精制} \\ \text{废液酸化, 提取粗结合型胆汁酸} \end{array} \right.$

2. 操作步骤

(1) 胆或胆汁处理

把胆洗净，用不锈钢剪从上往下剪开，取出胆汁，用双层纱布过滤，以除去油脂类等杂质。

胆皮蒸煮回收油脂后，晾干粉碎，作为饲料添加剂出售。

(2) 加保护剂

过滤后的胆汁，按其体积加入0.5%的氯仿，搅匀，以溶解胆汁中游离的胆红素，并起防腐作用。

按胆汁体积（设其比重为1）称取0.2%的亚硫酸氢钠，用少量蒸馏水溶解后加到胆汁中，搅匀。

(3) 碱性水解

将加入保护剂的胆汁加温至65℃时，移去热源（在加热过程中，如有泡沫，可除去）。然后，边搅拌边慢慢滴加1N NaOH溶液，至pH为10—11.5（用1N NaOH约为胆汁体积的6—10%）时止。调好pH值后，加热至沸腾（98℃左右），保持2—3分钟，使水解充分（在升温过程中应注意火力，有泡沫产生时宜用冷风吹，以防溢出）。

水解结束后，检测溶液pH，按要求pH应为8—9。

检验合格后，迅速用冷水将水解物冷却至20℃以下，接着用双层纱布进行过滤（纱布要洁净、干燥），以减少脂类杂质。

胆汁经NaOH水解后，胆汁中的胆红素络合物或化合物生成溶于水的胆红素钠盐，称之为胆汁的水解液。

(4) 酸化、提取

① 加抗氧化剂：称取占胆汁量0.3%的亚硫酸氢钠，用蒸馏水溶解后加入到胆汁水解液中。如水溶后的抗氧化剂底部有杂质时，应除掉，不可把杂质也加到胆汁水解液中。加入抗氧化剂后，充分搅拌均匀。

抗氧化剂溶液要随配随用。

② 加氯仿：在水解液中，加入相当于胆汁体积30%的氯仿，然后充分搅拌均匀。

③ 用1:5的稀盐酸酸化：边搅拌已加氯仿的水解液，边

慢慢滴加或雾状喷入1:5的稀盐酸，调pH为5.5左右（利用pH为1—14的广泛试纸检测，如用精密pH试纸，则其值为3.7—3.8）。稀盐酸的用量约为胆汁的5—9%，酸化温度控制在20℃以下。

在酸化过程中，起初加酸可略快，当pH=6.5时变慢，并注意观察酸化液中不容许有块状粘物出现。

④ 酸化液的处理：将酸化液倒入分液漏斗中，静置观察3—5分钟后，按出现的不同分层情况分别进行处理。

A. 如工艺条件掌握适当，酸碱度调得较准，分液漏斗中的溶液应呈现的状态是：上部水溶液为较淡的黄色，下部氯仿溶液为棕红色，且上下分层，中间没有夹层。待下部氯仿溶液清亮后即可放出，然后蒸馏，回收氯仿，收取胆红素。

上部水溶液可再加20%温热氯仿，振荡摇匀，再次提取，直至氯仿液无色。

分出氯仿液后的水溶液，倒入容器，待回收结合胆汁酸时用。

B. 酸化工序中如酸化程度不够，分液漏斗呈现以下情况：上部水溶液为浅红色，下部氯仿液色淡。在这种情况下，即便上下分层，胆红素的收率也低。

处理方法：

适当补加1:5稀盐酸，直至上层水溶液变成淡黄色，下层氯仿液为红棕色或桔红色。

C. 如加酸过多，分液漏斗中的溶液将不分层或分层困难。

处理方法：

加适量的氯仿和蒸馏水，用1N NaOH调pH为7—6，如仍不分层，再用1:5稀盐酸调pH为5.5左右，这样反复用酸

碱调试，直至分层。分层后，上层溶液色淡，下层溶液较红。

D. 加酸过快时形成的现象：当pH正常时，即便是溶液形成的颗粒较大，也能分层，但收率较低。

处理方法：

调pH为7—8，再用1:5稀盐酸调pH为5—6。加酸时，速度宜小，同时充分搅拌。

E. 加酸后如出现粘稠状，可加适量温水（30℃左右），再用1N NaOH调pH为6—7，如此时仍不分层，可再用酸调pH为6—5，使溶液分层。

F. 溶液不分层或下层氯仿液中的杂质迟迟不上升，或上升缓慢，可加少量温热氯仿冲一下，即可分层。用热毛巾热敷，可促使分层，加快杂质上升。

如氯仿液中有一层细微杂质上升太慢，除采用热敷法外，还可分次放出下部已分层的氯仿液，分一点放一点，以加速杂质上升。

残液进行第一次、第二次提取时，如最后剩少量氯仿液，在杂质层迟迟不分时，可再加少量氯仿进行下次提取。如最后一次提取仍有一部分氯仿不分出，可向漏斗中加少量温水，即可分层；也可倒出漏斗中的水溶液，再加少量温水，使氯仿全部分出。

在第二、三次提取时，如加入氯仿后不振荡，使氯仿自然沉降，然后放出下沉的氯仿，再加入漏斗中，如此反复几次，便可分离出残液中的胆红素。

如几次分出的氯仿液不够清亮，可再次放入分液漏斗中分液，以充分除掉杂质和水分。

在胆红素的提取过程中，酸化提取是技术的关键所在。