

医药工業生产技术参考資料 (一)

**金霉素、四环素、土霉素、
畜用金霉素、畜用土霉素、
維生素 B₁₂**

化学工業部医药工業司編

(内部資料 注意保密)

化学工业出版社

这本小册子介绍金霉素、四环素、土霉素、畜用金霉素、畜用土霉素和维生素 B₁₂ 的生产方法。这几种东西都是促进牲畜生长的优良物质，在饲料中加入微量即有显著效果。

本资料可供从事医药的生产工作者和教学工作者学习与参考用。

这本小册子是收集医药工业设计院、上海医药工业研究所、华北药厂和东北制药总厂的技术资料编写而成的。

医药工业生产技术参考资料 (一)

金霉素、四环素、土霉素、畜用金霉素、
畜用土霉素、维生素 B₁₂

化学工业部医药工业司编

化学工业出版社(北京安定门外和平北路)出版

北京市书刊出版业登记证出字第092号

化工出版社印刷厂印刷 内部发行

开本: 787×1092 1/32

印张: 1 1/4

字数: 23 千字

定价: (10) 0.18 元

1958 年 4 月第 1 版

1959 年 5 月第 2 次印刷

印数: 2001—6000

书号: 15 963·0203

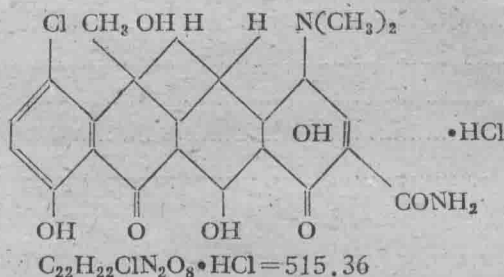
目 录

金霉素	2
四环素	10
土霉素	13
畜用金霉素	21
畜用土霉素	26
维生素 B ₁₂	29

目 录

金霉素	2
四环素	10
土霉素	13
畜用金霉素	21
畜用土霉素	26
维生素 B ₁₂	29

金 霉 素 Aureomycin



金霉素是一种广谱抗生素，它对于葡萄球菌，鏈球菌，肺炎球菌，百日咳桿菌，赤痢（原虫），伤寒桿菌都有抑制作用，为治疗斑疹伤寒，痧眼，百日咳的特效药，对于赤痢肺炎，亞急性心膜炎，髓膜炎，腹膜炎，猩紅热，恙虫病，尿道疾患，膿皮病，坏疽膿皮症等都有效。

一、成品規格

金霉素与酸或碱均能结合成鹽类；但临床上应用者是它的鹽酸鹽，是金黄色的結晶性粉末，無臭，味苦，在空气中稳定，但在陽光下則漸变質；本品 1 克，相当于 100 万單位，在 $20^{\circ}C$ 时溶于水 75 毫升，95% 乙醇 560 毫升中，不溶于氯仿、乙醚及丙酮，但能溶于氫氧化碱及碳酸碱的溶液中。于 $216^{\circ}C$ 熔融分解。如系供注射用的，必須符合規定注射用标准。杯碟法測定效价，每毫克应含 900 單位以上，

1. 1% 水溶液之 pH 应为 2.3~3.3；

2. 用卡氏法測定水份含量应在 2.0% 以下；

3. 0.5% 水溶液之比旋度 $[\alpha]_{25D}$ 应为 $-220^{\circ} \sim -245^{\circ}$ ；

4. 以每毫升生理食鹽水內含有本品 2000 單位之溶液 0.5 毫升，注射于小白鼠之尾靜脈內，每次試驗小白鼠 5 只，在注

射后 48 小时內，并無死亡及其他不良反应者，認為檢驗無毒；

5. 以每毫升無热原質的蒸餾水內含有本品 5,000 單位之溶液，加温至 37°C ，注射于三只家兔的耳背靜脈，每公斤体重注射一毫升，注射后每隔 1 小时量体温一次，共量三次不得有一只或一次体温上升超过 0.6°C ，或三只上升体温总和不超过 1.4°C 者，認為無热原質；

6. 以每毫升含有本品 20,000 單位之溶液 1 毫升，加鹽酸脗胺 10 毫升，混勻后放置 1 小时，分別加于葡萄糖碎肉与葡萄糖肉湯培养基各四管，每管 1 毫升，加于沙氏斜面培养基各 2 管。每管 0.5 毫升，取其中葡萄糖肉湯一管量入葡萄球菌液 1 毫升，以上接种后之各种培养基置恒温箱內，沙氏斜面保温 24°C ，其余保温 37°C ，一律觀察 7 天，除其中曾經投有葡萄球菌液的一管外，其余 9 管均無細菌生長者，認為本品試驗無菌。

7. 以每毫升含有本品 5,000 單位之水溶液供作貓的組胺試驗，注射 0.6 毫升所致血压降落不大于 0.1 微克标准組胺之效应及恢复正常血压在 1.5 分鐘之內者，認為合格；

非供注射用的金霉素，可免做上述 5, 6, 7 三項試驗，即不必檢查热原質、無菌及組胺。

8. 用杯碟法測定效价，每毫克应含 900 單位以上。

二、原材料規格

- | | |
|---------|---|
| 1. 葡萄糖 | 含無水葡萄糖量不少于 80 %; |
| 2. 酵母粉 | 食用; |
| 3. 碳酸鈣 | 含 CaCO_3 不少于 98 %; |
| 4. 氯化鈉 | 化学純，含 NaCl 不少于 98 %; |
| 5. 磷酸二氫 | 鉀化学純，含 KH_2PO_4 不少于 99.5 %; |
| 6. 硫酸銨 | 含 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 98 %; |
| 7. 米糖油 | 工業用，精煉; |
| 8. 淀粉 | 含水分不超过 13 %; |

9. 蛋白糠 总氮量在 12% 以上; 水分不超过 5%;
灰分不超过 8 %;
10. 花生餅粉 含蛋白質量不少于 40 %; 含油量不少于
6 %; 含水分不超过 6 %;
11. 活性炭 大米米粒大小, 坚实不易成粉末;
12. 草酸 工業用;
13. 溴化棕櫚酸吡啶; 含 P.P.B. 50 %;
14. 碳酸鈉 含 Na_2CO_3 95 % 以上;
15. 鹽酸 含 HCl 36 %;
16. 丁醇 工業用;
17. 醋酸丁酯 工業用;
18. 乙醇 含量在 95 % 以上。

三、生产方法(按年产量 30 吨規模):

(甲) 醱酵

醱酵过程分为三个阶段; 即: 种子在 500 立升的种子罐中培养, 在 5,000 立升的接种罐中繁殖, 在 50,000 立升的醱酵罐中进行生物合成。

培养基的配比如下:

罐 別 每 批 用 量 物 料 名 称	种 子 罐		接 种 罐		醱 酵 罐	
	重 量 (公斤)	組成比 (%)	重 量 (公斤)	組成比 (%)	重 量 (公斤)	組成比 (%)
葡萄糖	9.00	3.00	93.00	3.00		
酵母粉	3.00	1.00	31.00	1.00		
碳酸鈣	0.39	0.13	4.03	0.13	128.00	0.40
氯化鈉	0.76	0.25	7.75	0.25	128.00	0.40
磷酸二氫鉀	0.06	0.02	0.62	0.02	6.40	0.02
硫酸銨	0.90	0.30	9.30	0.03		
米糖油	0.26	0.087	0.70	0.023	5.00	.016

續表

每批用 物料名稱	罐別	種子罐		接種罐		發酵罐	
		重量 (公斤)	組成比 (%)	重量 (公斤)	組成比 (%)	重量 (公斤)	組成比 (%)
淀粉						1440.00	4.50
蛋白脲						256.00	0.80
花生粉						960.00	3.00
水		285.64	95.213	2953.60	95.277	29,076.60	90.864
合 計		300.00	100.00	3100.00	100.00	32,000.00	100.00

培養液的配比如下：

罐 別	物料名稱及每批用量 (公斤)					
種子罐	懸浮液 1.85	培養基 300.00	米糠油 2.10	合 計 303.95	耗 損 5%	淨 得 288.75
接種罐	種子液 288.75	培養基 3,100.00	米糠油 21.70	合 計 3,410.45	耗 損 5%	淨 得 3,240.00
發酵罐	接種液 3,240.00	培養基 32,000.00	米糠油 224.00	合 計 35,464.00	耗 損 6.9%	淨 得 33,000.00

各个阶段的工艺叙述于下：

1. 在種子罐中培養：種子罐用水沖洗干淨，加入培養基，調節 pH 值，密閉加料口，夾層通蒸汽，加熱至 120~124°C，消毒 45 分鐘，（罐內壓力為 1.2~1.4 大氣壓）同時管道及活性炭空氣過濾器也進行消毒；然後通入無菌空氣，壓力保持 0.5~0.7 表壓，同時夾層改通冷水冷卻至 23~24°C；再在無菌操作下加入孢子懸浮液，並在連續攪拌下，按每公升培養液每分鐘通入無菌壓縮空氣 0.8 立升的流量，使罐內壓力保持 0.3~0.4，溫度保持 28°C，培養 24~32 小時。

2. 在接種罐中繁殖:

接種罐用水沖洗干淨，密閉，通入直接及間接蒸汽進行空罐消毒 45~60 分鐘(120~124°C)後，罐內通入無菌空氣，保持 0.5 表壓，夾層通入冷水冷卻。同時消沫劑貯罐、活性炭空氣過濾器及管道等也要消毒。另外，培養基在消毒罐消毒後，通過冷卻器送入接種罐中，取樣測定其滅菌程度、糖分含量及 pH 值。將已培養好的種子液自種子罐壓入接種罐，連續攪拌，按每立升培養液每分鐘通入無菌空氣 0.6 立升的流量，保溫 28°C，繁殖 24~32 小時，當接種液之 pH 降到 4.5 時為止。在繁殖過程中如產生大量泡沫，可由加油罐加入無菌米糠油。

3. 在醱酵罐中生物合成：醱酵罐消沫劑罐活性炭空氣過濾器及管道等附件的沖洗、消毒和冷卻條件與接種罐相同。培養基在消毒罐內消毒後，通過冷卻器及無菌管道送入，醱酵罐也要取樣測定其滅菌程度糖分含量及 pH 值，將培養好的接種液自接種罐送入，用自動控制儀表，控制冷卻水使罐內溫度保持 28°C，按每立升培養液，每分鐘通入無菌空氣 0.45 立升，用自動記錄儀表記錄空氣流量。醱酵 68~70 小時，至測定金霉素含量已達高峰，（設計數據為 1500 單位/毫升）。即可用離心泵將醱酵液打入酸化罐內，慢慢地加入草酸約 264 公斤至 pH 達 1.5~2.0 為度，用離心泵打至板框壓濾器過濾。共有醱酵罐 8 只，平均大約每 10 小時放出一罐。菌絲在濾渣處理罐內用水洗中和後，用離心泵打至菌絲干燥廠房進行干燥。按照設計數據，醱酵液過濾後約損失液量 11.5%，損失單位 3%；濾液流入貯罐，由 P. P. B. 配制罐內將溴代棕櫚酸吡啶 119 公斤與水 378 公斤混和加熱配成濃度為 30% 的溶液，在攪拌情況下加入濾液貯罐。

(乙)提煉

將加好溴代棕櫚酸吡啶的醱酵濾液用離心泵連續打入抽提

塔，用轉子流量計控制濾液的流量；另將丁醇與醋酸丁酯由貯罐分別用泵打入溶媒配制罐配成丁醇 80% 與醋酸丁酯 20% (體積比) 的混合溶媒用輸送泵也通過轉子流量計打入抽提塔，總用量約為酸酵濾液的 15% (體積比)；又將固体碳酸鈉 420 公斤在配料罐中加水加熱配成 25% 溶液，用輸送泵打入抽提塔內調節濾液 pH 值至 8.9；濾液與碳酸鈉溶液在管路上混合後從抽提塔頂部流入，經抽提後由底部流出，以轉子流量計控制液體進出之流量。混合溶媒由抽提塔底部流入，經抽提後由頂部流出，自抽提塔流出之濾液及混合溶媒進入碟式离心机中進行分離；所得溶媒提取液在貯罐內靜置半小時使雜質沉淀後，將上清液打至結晶罐內結晶。分離所得之廢液在承接罐貯存，備回收其中的溶媒。

(丙) 結晶

結晶罐用水沖洗干淨，並從夾套通入蒸汽烘乾後，將溶媒提取液由貯罐打入，每罐每次裝入 700 立升，在攪拌情況下，加藥用食鹽 8.87 公斤與蒸餾水配成的 15% 的鹽水，再緩緩加含量為 36% 的化學純鹽酸 (1 克分子金霉素用 4 克分子鹽酸)，同時夾套內通入蒸汽使罐內溶液溫度達到 45~55°C，繼續攪拌 1/2 小時後，再靜置 1 小時，同時夾套內改通冷水使液溫降至 25°C，使金霉素結晶，約可得濕晶 44.3 公斤。對酸化濾液算收率應在 75% 以上。在結晶過程中應嚴格防止污物混入，防止攪拌太快，晶体過小，過濾困難，防止溫度太高，成品被破壞而降低收得率；或溫度太低，雜質析出，影響成品質量。

結晶用陶瓷過濾器過濾。母液抽入真空吸濾罐內，從貯罐打 25% 碳酸鈉溶液來中和後，先存於貯罐中，再打至蒸發罐以蒸餾器進行蒸餾，回收溶媒。晶体用含量在 95% 以上的酒精洗滌，洗液抽入真空吸濾罐中，也用碳酸鈉溶液中和後，以蒸發罐加熱至 78~81°C，回收酒精。

洗滌后的晶体，自过滤器內取出，用不銹鋼盤裝入真空烘箱 720~740mm/Hg, 60°C、干燥 8~10 小时，約可得金霉素成品 35.5 公斤。

四、技术经济指标

1. 产量：500立升种子罐及5000立升接种罐各 5 个，50,000 立升发酵罐 8 个；

发酵周期每批 80 小时，每日生产 2.4 批；

每批产发酵液 33,000 立升，1500 單位/毫升；

可得滤液 29,200 立升，1450 單位/毫升；

能制金霉素鹽酸鹽成品 35.5 公斤；

全年 350 个工作日，能产成品 30 吨。

2. 收率：

提煉 78~83%

結晶 73~75%

3. 原材料消耗定額：

名 称	規 格	每公斤成 品 用 量 (公斤)	每批用量 (公斤)	全年用量 (吨)	来 源	單 价 (元)
葡萄糖	食用	2.88	102.00	85.70	华北药厂一分厂	2.65
酵母粉	食用	0.96	34.00	28.60	上海酵母厂	5.70
硫酸銨	98%以上	0.52	18.30	15.40	化工原料公司	0.33
磷酸二氢钾	99.5%以上	0.20	7.10	5.96	化工原料公司	17.71
氯化鈉	98%以上	3.84	135.50	114.80	化工原料公司	0.31
碳酸鈣	98%以上	3.74	132.50	111.30	化工原料公司	0.20
米糠油	精煉	6.98	247.80	207.50	油脂公司	0.82
花生粉	蛋白質40% 以上不霉坏	27.00	960.00	806.00	农业生产合作社	1.00
蛋白胨	氮12%以上	7.20	256.00	215.00	上海环球制药厂	77.10
淀粉	工業用	40.60	1440.00	1210.00	华北药厂一分厂	0.45
草酸	工業用	7.44	264.00	222.00	中和特甘草膏 厂	1.75

續表

名 称	規 格	每公斤成 品 用 量 (公斤)	每批用量 (公斤)	全年用量 (吨)	来 源	單 价 (元)
P.P.B.	50%	3.35	119.00	100.00	上海泰山化工	11.00
碳酸钠	95%以上	11.40	405.00	340.00	化工原料公司	0.40
食鹽	药用	0.25	8.87	7.45	化工原料公司	2.20
鹽酸	36%以上	0.85	30.00	25.20	化工原料公司	2.30
丁醇	工業用	1.60	56.70	47.60	化工原料公司	7.10
醋酸丁酯	工業用	6.96	247.00	207.00	上海試剂厂	4.50
乙醇	95%	2.46	87.50	74.40	統配	1.88

4. 动力消耗定額:

类 别	計量單位	每 批 产 品 耗 用 量	最高負荷量 (每时)	备 考
一級用水	立方公尺	1,873.30	234.00	主要供冷却用, 水温15℃
二級用水	立方公尺	60.00	36.00	水温20℃
电	度时	3,771.80	507.00	
蒸汽	吨	28.16	6.60	
压缩空气	立方公尺	71,250.00	9,600.00	主要供發酵用
冷冻	仟卡	3,000.00	2,000.00	冷疑器用

5. 工成成本(每公斤成品)

項 目	金 額 (元)
原材料及輔助材料費	243.40
工艺过程动力消耗	31.13
其中: 水	2.05
电	26.50
汽	2.58
工資及附加工資	5.70
車間經費	9.70
合 計	289.93

四 环 素

四环素系四环类抗生素之一，是广制菌谱抗生素，功用与金霉素及土霉素相同，但其优点有：服用后副作用最少，組織吸收較快，因此血內濃度較高。

四环素生产方法有二：（1）化学途径——將金霉素有鈣存在时氫化而得。

（2）生物合成方法——利用产生金霉素之菌种，用同样培养基，在有溴化物及抑制剂存在时發酵而得。

目前我国条件下以采取生物合成法較适宜，本文所叙述者为四环素的生物合成方法。四环素成品为鹽酸鹽，系黃色結晶体，效价在 900r/mg 以上，其中四环素含量在 90% 以上（藥典尚未規定）四环素熔点：170~175°C，（分解）， $[\alpha]_{25} = -239^\circ$ （1% 甲醇溶液）

四环素發酵

（一）芽胞培养：將砂土保存之 *Streptomyces aureofaciens* 8~253 孢子接种到斜面培养基上在 37°C 培养 5~6 天即可应用。

斜面培养基成份：

小麦麩皮（新小麦洗渣晒干后磨碎篩去面粉得到麩皮，晒干后裝瓶备用）5 克

洋菜 2 克

自来水 100 毫升

PH 自然

15 磅蒸气灭菌 30 分鐘

（二）种子培养：

1. 一級种子培养：

培养基成份：

酵母粉	1% 或玉米漿 (內含固形物 50%) 1%
葡萄糖	3%
硫酸鎂	0.3%
溴化鈉	0.25%
碳酸鈣	0.13%

培养基經 15 磅 120°C 蒸汽消毒 30 分鐘

培养条件:

取生長良好的芽胞斜面，在無菌条件下制成孢子悬浮液，再將此孢子悬浮液在無菌条件下接种至一級种子罐中。

培养温度为 28°C，空气量为 0.8，罐压为 8 磅，在攪拌下培养 24 小时

2. 二級种子培养

培养基成份与一級培养基同

培养条件：將生長良好的一級种子，在無菌狀況下接种至二級种子罐中，接种量为 10%，培养条件与一級同，培养時間为 24 小时左右。

(三)發酵

1. 培养基成份:

淀粉	4.5%	溴化鈉	0.4%
花生餅粉	3%	磷酸二氫鈉	0.02%
蛋白陈	0.8%	2-硫醇基苯駢噻唑	0.0015%
碳酸鈉	0.4%	(橡膠工業用促进剂 M)	

培养基經 15 磅蒸汽 120°C 消毒 30 分鐘

2. 發酵条件: 將生長良好之二級种子在無菌条件下种入發酵罐內，接种量为 5~10%

發酵温度为 28°C，空气量 0.4，罐內压力为 8 磅。

發酵時間为 72 小时

發酵过程中产生泡沫，可用灭菌之米糠油为消沫剂，

油用量約為培養基量的0.5~1%

四环素提煉工艺

I、操作过程:

1. 混合溶媒方法

一、酸化過濾: 發酵液(含有大量菌絲體及發酵殘渣)在攪拌下加草酸(固体或用開水溶解)1.0~1.2% (重量/體積)左右酸化, 使PH到達2.0~2.5 攪一刻鐘, PH 不變後用板框過濾。得澄清濾液, 取出濾渣, 用濾渣體積2~3 倍的自來水洗滌, 補加少量草酸, 使PH 仍在2.0~2.5 左右, 過濾得的濾液及洗液, 二者可分別或合併提煉結晶。

二、提取分離: 將澄清濾液, 每公升加帶着劑, 溴代十五烷吡啶(Pentadecylpyridinium bromide 簡稱PPB)三克, (預先用少量熱水融解, 在攪拌情況下加入避免結塊。濾液效價1500 微克/毫升以上時每公升濾液加PPB 四克(純度為60% 左右), 然後加體積比為1:4 的正丁醇與醋酸戊酯混合溶媒15%(體積/體積)或體積比為1:3 的丁醇與醋酸戊酯混合溶媒10%(體積/體積), 最後用碳酸鈉(固体或飽和溶液)調節PH 到9.5 以上。此時四环素即提入有機溶媒中, 攪拌一刻鐘, 用高速离心机分離, 得澄清提取液檢定效價, 計量體積並計算回收率, 一般達80~90%, 水廢液亦檢定效價計算損失率。

三、結晶: 採用抽提液中加酸直接結晶法結晶。按提取液的總效價計算, 直接按1:5 克當量(四环素與硫酸克當量比)加入3N 硫酸, 再加按加入硫酸的體積20% (重量/體積)化學純固体氯化鈉, 或用6N 硫酸和飽和鹽水代替, 使酸的最後濃度為3N 鹽水, 最後濃度組成20% 亦可。在水浴中(50~55°C)攪拌約15 分鐘, 即析出金黃色四环素鹽酸鹽結晶, 攪15 分鐘, 使結晶完全冷到室溫過濾, 廢抽提液, 檢定效價, 算損失率。結晶用2~3 倍體積的丙酮洗滌二次。在紅外線或一

般烘箱中干燥 ($60\sim 70^{\circ}\text{C}$)，檢定效价得 900 微克/毫克以上的成品总回收率达 $65\sim 70\%$ 。

濾渣洗液，提取結晶操作全部同上。

2. 丁醇方法：

一、發酵液酸化過濾：操作与混合溶媒法完全相同。

二、提取分离：濾液加正丁醇 20% (体积/体积)，搅拌下加碳酸鈉 (固体或液体使 PH 达 9.5 以上，此时四环素由濾液提入丁醇液，續攪二十分鐘，使四环素在丁醇相与水相中的分配稳定平衡，然后以高速离心机分离得丁醇提取液，檢定效价，收率达 90% 。

三、濃縮結晶：(甲)濃縮：丁醇提取液在油浴上 (或蒸气夾層) 直接蒸餾濃縮 (油浴温度在 $140\sim 160^{\circ}\text{C}$) 蒸出丁醇到五分之三左右时，有大量黄色四环素結晶析出，續蒸到近乎干 (看不到溶媒層，蒸出丁醇約 95%) 取出 冷却。(乙)結晶：

(1) 制成四环素鹽酸鹽：采用濃縮液加酸直接結晶法結晶。濃縮液按濃縮前抽提液总效价加入 $6N$ 濃縮的鹽酸 $1:3.5$ 克分子 (四环素/鹽酸) 按加入酸的体积加 40% (体积/体积) 的飽和鹽水，加温到 50°C (水浴) 攪拌，黄色沉淀溶解后又析出金黄色四环素鹽酸鹽結晶。續攪 20 分鐘，使結晶完全冷到室温過濾，結晶用 $2\sim 3$ 倍的丙酮洗滌二次。烘干 ($60\sim 70^{\circ}\text{C}$)。檢定效价 900 微克/毫克左右，总回收率达 68% 左右。(2) 制成四环素：濃縮液加水按濃縮前抽提液总效价計一克四环素用 10 一升水，分成三次，第一次用 5 毫升，第二次用 3 毫升。第三毫用 2 毫升抽提以 $12N$ 濃度的硫酸調节 PH 到 1.0 左右，第一次抽提时必须使黄色結晶全部溶解，第二第三次抽提时調节 PH。只要加入少量酸即可到达。此时四环素由有机溶媒插入水中，分离，合併水抽提液在室温下用氫氧化鈉 (濃度为 10% 重量/体积) 調节 PH 到 4.0 左右，有棕色膠狀沉淀析出，濾

去杂质残渣，用少量水洗，洗液并入滤液，在水浴上加热到 60°C ，慢慢滴加氢氧化钠(10%)使 PH 达 6 左右。水液中有大量淡黄色四环素析出。最后在清液中滴加一滴氢氧化钠，不再有黄色沉淀析出时为止。此时 PH 大约在 6.0 左右。放至室温过滤。

结晶用 2~3 倍水洗滌二次，烘干 ($60\sim70^{\circ}\text{C}$)。檢定效价 800 微克 1 毫克左右。总收率达 80%。

II、工艺流程:

1. 混合溶媒法:

