

符号说明

u/mL 效价(含量)

Mpa 压力

mol/L 浓度

m³/h 流量

附件一:

原创性声明

本人郑重声明:所呈交的学位论文,是本人在导师的指导下,独立进行研究所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外,本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的科研成果。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体,均已在文中以明确方式标明。本声明的法律责任由本人承担。

论文作者签名: 王怀伟 日期: 2006.9.15

关于学位论文使用授权的声明

本人完全了解山东大学有关保留、使用学位论文的规定,同意学校保留或向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版,允许论文被查阅和借阅;本人授权山东大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索,可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文和汇编本学位论文。

(保密论文在解密后应遵守此规定)

论文作者签名: 王怀伟 导师签名: 王建武 日期: 2006.9.15

摘要

大观霉素 (spectinomycin) 又称奇放线菌素或壮观菌素 (actinospectacin), 是一种碱性水溶性抗生素。这是一族由氨基环醇为主体和氨基糖甙类以甙键结合而成的抗生素。

大观霉素是一种广谱抗生素, 对革兰氏阴性和革兰氏阳性菌均有抗菌作用。临床上它专门治疗奈瑟氏淋球菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) 引发的感染。目前大观霉素以代替青霉素作为治疗急性淋病的首选药物。此外, 大观霉素的抗菌谱广和低毒性也使它作为饲料添加剂, 以提高农作物产量或促进牲畜生长。

近年来, 由于性传播疾病在我国呈上升趋势, 其中以淋病的发病率最高, 相对于渠道复杂而且价格昂贵的同类药品, 大观霉素更具有安全和价格优势, 因而国内临床上的需求量不断增加。虽然大观霉素以实现了国产化, 但基础理论研究和生产水平与国外还存在差距。要开拓市场, 实现大观霉素走性国际化, 除了加快国外的 GMP 和 FDA 认证步伐外, 还需要提高产品自身的质量。

综上, 本文在提高大观霉素提取过程中的产品质量和收率方面作了以下三个方面的工作:

(一) 优化了大观霉素发酵液的酸化 pH 值, 使得发酵液中的蛋白杂质去除更加彻底, 而且有利于酸化液过滤, 滤饼中的残留效价进

一步降低，提高了过滤收率和滤液的质量，有利于下一步离子交换树脂的吸附。

（二）利用 LK-12 离子交换树脂代替 LK-11 树脂，提高了树脂的吸附容量，解析液效价升高，灰分降低，在提高解析液质量的同时，交换收率提高了 3.2%。

（三）3KD 超滤膜的试验，3KD 分子量陶瓷膜对大观霉素中间体中含有的大分子有机杂质去除效果良好，在应用于生产后可大副降低脱色加碳量，以减少大观霉素的损失，降低原辅料消耗。去除杂质的效果特别明显，降低脱色液或浓缩液中的热原和浊度的效果非常显著，可彻底解决原生产工艺难解决的浊度、热原及成品纯度等问题。

关键词： 大观霉素；提取；树脂；结晶

Abstract

Spectinomycin is a kind of antibiotics with alkalescence and water-solubility. It is also called actinospectacin. It is a family of antibiotics, which is made up of aminocyclitol (the main body) and amino-sugar- glycoside class (glycoside bond) .

Spectinomycin is a broad spectrum antibiotic, which has an effect of being against gram negative and gram positive bacterium. It specialized in treating inflammation caused by *Neisseria gonorrhoeae* in clinic. Right now Spectinomycin is the first choice of treating acute gonorrhea, taking place of penicillin. In addition, broad spectrum antibiotic effect and low-toxicity make Spectinomycin become a feed additive, to prompt the turnout of crop and the growth of livestock.

In the recent years, the sex- originated disease is roaring, in which the gonorrhea take the biggest part. Comparing with the similar but uncertain and expensive medicament, Spectinomycin has the advantage of safety and being cheap. So the requirement of Spectinomycin is rising. Now Spectinomycin can be produced domestically, but we still fall behind with foreign producers in basic theory researching and production level. In order to expend the market and realize the internationalization of production, besides of attaining the certificate of GMP and FDA in foreign countries, we need to prompt the quality of our products.

Above, this article focuses on three parts:

(1) To optimize the acidity of pH of Spectinomycin fermentation broth, in order to remove the protein impurity much more completely. It is also in favor of acidifying the fermentation broth and reducing the titer of leftover of filter cake so as to prompt the yield.

(2) To make LK-12 ionic exchanging resin take place of LK-11 resin, in order to enhance the volume of adsorption and the titer

of resolving solution and reduce the ash. When enhancing the quality of resolving solution, the exchanging yield prompts 3.2%.

(3) 3KD ultrafiltration film test: 3KD molecular weight ceramics film can reduce the macromolecule organic impurity of the intermediate of Spectinomycin effectively. When applied to production, it can reduce the amount of the carbon in decloring so as to reduce the loss of raw materials and supplementary materials. It has a distinctive effect of reducing impurity and lowering the pyrogen and turbidity of decloring solution and concentrating solution. Thereby, the problems of pyrogen, turbidity, purity of finished products in the originally crafts of production are solved completely.

Keyword: Spectinomycin; extraction; resin; crystal

第一章 前言

一、大观霉素简介

大观霉素 (spectinomycin) 又称奇放线菌素或壮观菌素 (actinospectacin), 是一种碱性水溶性抗生素。最初的文献报道将它归属为氨基环醇类抗生素 (aminocyclitol), 八十年代后重新划分为氨基糖甙类抗生素 (aminoglycoside)。这是一族由氨基环醇为主体和氨基糖甙类以甙键结合而成的抗生素。所以也有学者特别指出该类抗生素严格定义应为: 氨基环醇—氨基糖甙类抗生素。中国药典 2000 年版、美国药典 24 版均收录了该药物。

1960 年, 美国 Abbott 实验室和 Upjohn 公司的 Mason 等人第一次从大观链霉菌中提取出大观霉素。大观霉素肌肉注射吸收快, 易于肠道吸收, 一般制成无菌悬浮注射剂, 临床使用采用大观盐的形式。最初为硫酸盐, 分子式为 $C_{14}H_{24}N_2O_7 \cdot H_2SO_4 \cdot 4H_2O$, 七十年代初研制出更适于悬浮注射的溶解度更大的盐酸盐。盐酸大观霉素为米白色晶体, 分子式为 $C_{14}H_{24}N_2O_7 \cdot 2HCl \cdot 5H_2O$, 分子量为 495.35, 结构如图 1—1 所示。

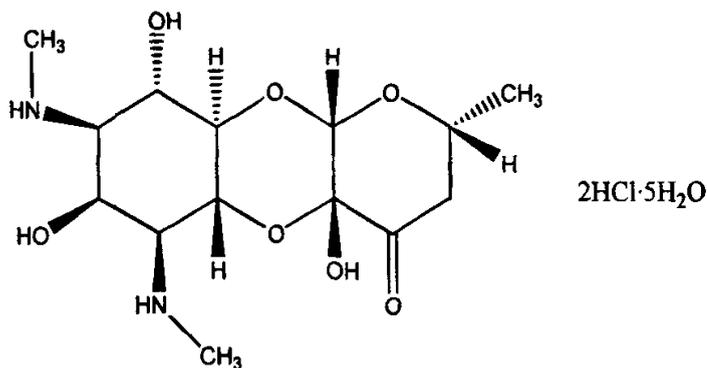


图 1-1 盐酸大观霉素结构式

Fig1-1 Structure of SDP

大观霉素是一种广谱抗生素，对革兰氏阴性和革兰氏阳性菌均有抗菌作用。临床上它专门治疗奈瑟氏淋球菌（*Neisseria gonorrhoeae*）引发的感染。近年来，由于抗淋病药物的非正规使用及淋球菌通过质粒和（或）染色体介导的耐药菌株的日益流行率日趋增高，以前首选的青霉素因国内流行的淋菌株对其耐药率已达 53.5—81%而被逐渐淘汰，目前大观霉素以代替青霉素作为治疗急性淋病的首选药物。此外，大观霉素的抗菌谱广和低毒性也使它作为饲料添加剂应用于农药或兽药学领域，以提高农作物产量或促进牲畜生长。

作为氨基糖甙类抗生素的一员，大观霉素具有这类物质的通性，结构中含有羟基和胺基亲水集团，游离碱及其盐类均易溶于水，难溶于有机溶媒；稳定性明显受水分、pH 值、温度和杂质的影响；

在空气中易潮解，含水量增加后稳定性显著下降；在不同程度的酸性或碱性条件下发生降解反应；分子中的许多不对称碳原子带来旋光性等。

目前大观霉素的生产采用微生物法。首先是长生菌的斜面制备，然后以淀粉、葡萄糖等为原料进行发酵，通过离子交换树脂提取发酵液中的大观霉素，树脂经酸洗脱，洗脱液浓缩后经溶媒结晶得到产品。

二、大观霉素的菌种选育

诱变育种、细胞融合育种和基因工程育种是菌种选育的二条主要途径。

1) 诱变育种 这是一种传统的、非常有效的育种手段。随着科学技术的发展，一些新的诱变手段不断出现，为这种传统的育种方法注入了新的活力。向砥^[20]等通过离子注入法选育高产大观链霉菌，获得了大观霉素效价较出发菌株提高 102.3% 的变异株，王宏斌^[19]等通过原生质体诱变技术使大观霉素产量提高了 17%。但是，由于诱变的随机性，要得到各方面性状都比较优良的菌株难度很大，大多数情况下得到的往往是某一个性状有缺陷的菌株，如大观霉素发酵效价高的菌株其生长速度可能较慢，而生长速度快的突变株发酵效价可能不很理想，在这种情况下，对这两类菌株进行原生质体融合将是一种有效的育种手段，有可能筛选到既有较高发酵效价，又生长迅速的融合菌株。马秀芬^[18]等人研究发现 1×10^{-6} 和 5×10^{-6} 的微量稀土元素能够

明显促进菌体生长，增加抑菌圈直径和摇瓶效价，促进抗生素的合成能力，而且孢子生活力强，4°C下保存五周和连续传至第六代时，生产能力保持不变。韩香玲^[1]等利用紫外线照射引起DNA变化后将其涂布在含有大观霉素的培养基上，使耐自身产物的突变株得以生产，选育出了具有耐自身产物的高产突变株。王雪荣^[2]等通过对大观霉素生产菌株自然分离，应用紫外线照射和离子束注入等诱变方法，经过抗自身产物积累筛选了高产菌株，发酵效价比对照提高了69.4%。

原生质体融合育种将两亲本菌株培养至对数生长期，在高渗溶液中用溶菌酶处理，制备成原生质体，然后用聚乙二醇(PEG)等化学融合剂或电刺激等物理手段使两原生质体融合，在再生培养基上筛选出符合要求的融合子。有资料显示，放线菌的原生质体融合频率可达 $10^{-2} \sim 10^{-1}$ ，因此，即使不对原生质体进行了标记，也可方便地筛选到所需融合子。因为生长迅速的菌株菌落往往较大，发酵效价高的菌株一般耐大观霉素能力强，因此可在大观霉素梯度平板上筛选得到。

2) 基因工程育种 基因工程育种是一种分子水平上的育种技术，它可通过定向地增加某些有用基因或敲除某些不利基因来提高抗生素的表达量。研究发现，合成大观霉素的一系列基因通常位于同一基因串(gene cluster)上。韩国学者利用cosmid质粒构建了大观霉素生物合成基因的基因文库(cosmid gene library)，发现其中有一个cosmid包含了21个完整的开放阅读框架(ORF)和2个不完整的开放阅读框

架，并推导出大观霉素生物合成所需的 16 个蛋白质 (SpcRNTABCDXEYFGHIJK)

Walker^[14]发现谷氨酰胺-氨基环醇氨基转移酶 (glutamine-aminocyclitolaminotransterase)和二氨基环醇氨基转移酶 (diamino-cyclitol aminolransfemse)在大观霉素合成中有重要作用。

Jo^[16]等发现 dTDP-葡萄糖合成酶、肌醇单磷酸酶和肌醇脱氢酶参与的反应是大观霉素生物合成的早期步骤；Hyun 等。和 Sohng 等还把编码 dTDP-葡萄糖合成酶和 dTDP-D-葡萄糖 4, 6-脱水酶的基因通过 cosmid 质粒转化到大肠杆菌中，使相关基因得到表达。因此，如果能用穿梭质粒作为载体，将大观霉素生物合成基因转化到大观链霉菌中，有可能使大观霉素产量大大提高。

3) 高效筛选 菌株的筛选氏菌种选育过程中最为关键的步骤。马秀芬等通过菌落形态变异来筛选高产菌株，研究发现梅花型菌落的抗菌活性最高，圆形菌落次之，光秃型菌落几乎没有抗菌活性；于广成^[17]等通过产色素变化和自身耐药浓度的变化来选育高产菌株。菌落形态和产色素突变虽是一些比较容易判断的形态指标，但这些指标与大观霉素产量之间缺乏科学的相关依据，用大观霉素梯度平板来筛选自身耐药菌株是一个不错的选择，因为大观霉素高产菌株首先必须要耐受高浓度的大观霉素。但是，能耐大观霉素的菌株却不一定是高产菌株，因为已经发现大脱霉素的抗性与大观霉素磷酸转移酶(spectinomycin

phosphoransferase)等某些大观霉素抗性酶有关, Lyutzkanova 等还从大观霉素产生菌 *S. flavopersicus* 中克隆了大观霉素的抗性决定子, 发现其含 4 个开放阅读框架, 其中的一个与氨基糖苷磷酸转移酶相似, 另一个与链霉素生物合成基因串中的调节蛋白相似。因此即使用梯度平板法, 大规模的筛选仍不可避免。研究者曾经开发过一个用于微生物菌种选育的高效筛选模型, 该模型利用多孔板进行液态培养, 一次可处理几万个突变株, 湿室培养后可从透光率判断菌体的生长情况。将多孔板浸至氯化钙溶液中, 使孔内液体固化后, 还可直接覆盖于涂有指示菌的培养基上, 进行抑菌能力的测定, 使筛选效率大大提高。

三、大观霉素的发酵和提取

1、 大观霉素的发酵

菌种和发酵培养基的质量是决定发酵水平的两个重要因素, 优良的菌种可以达到事半功倍的效果。发酵培养基组分成分复杂, 它包括碳源、氮源、无机盐、微量元素、前提和促进剂等。

发酵是生物合成大观霉素的关键步骤。在大观霉素研究初期, Mason 等人就强调了发酵过程中温度、pH 值、时间的重要性。美国 Abbott 实验室和 Upjohn 一直从事着它的生产研究工作。1972 年, Trobicin (大观霉素的商品名, 中文译为淋必治) 的生产商, 美国 Upjohn 公司在大观霉素产生菌的培养条件方面已取得显著成果, 确

定了培养基中碳源、氮源、无机盐和有机物的组成，探讨出了有利于提高产量的发酵温度和时间以及发酵分离方法。Gomes 和 Menawat 对大观霉素的发酵过程进行了系统研究，找出了蔗糖料液的最佳浓度并提出了“活化—反应—抑制”的合成模式。抗生素是微生物的次级代谢产物，由于微生物产生抗生素的生化代谢途径较复杂，通过遗传学研究，结合现代生理学研究技术，目前基本搞清了大观霉素的生物合成途径：大观霉素是由葡萄糖经一系列反应生成的放线胺 (actirlairline) 和大观糖 (spectinose) 经酶促缩合而成的。

见图 1-2。

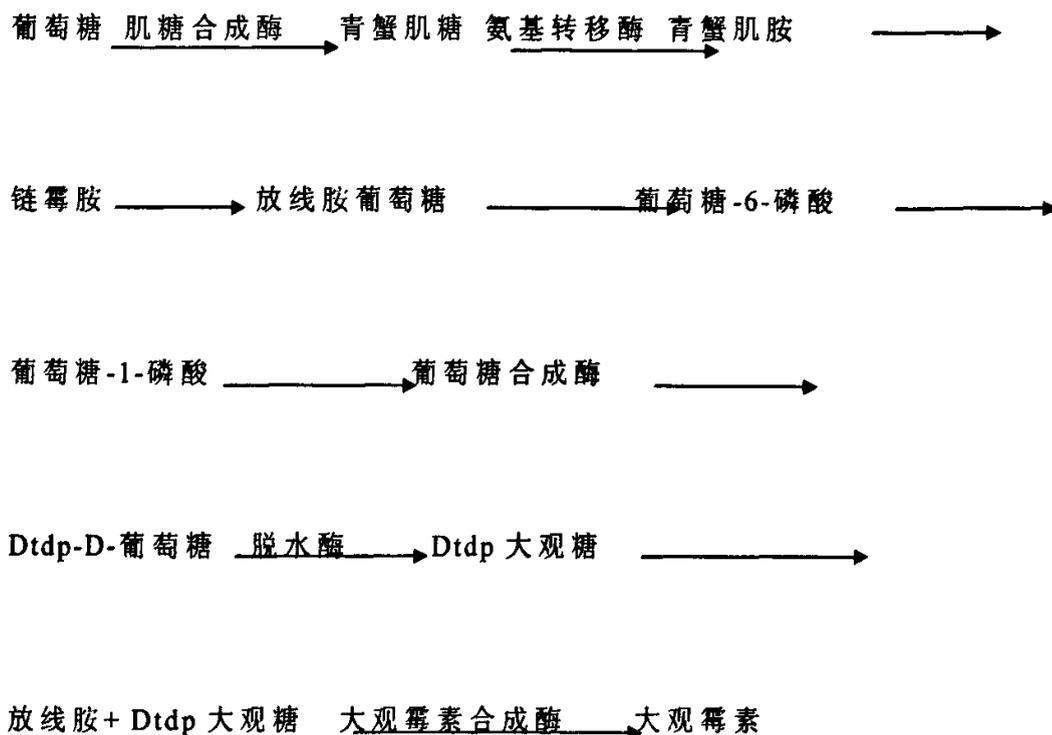


图 1-2 大观霉素生物合成途径

Fig1-2 the synthesis pathway of spectinomycin

对大观霉素这类次生代谢产物来说,其发酵效价除了与遗传特性有关外,还受到环境条件的影响。于广成等曾对大观霉素发酵培养基进行过优化,探讨了碳氮源的种类及配比对发酵的影响;马秀芬等就环境因子对大观链霉菌发酵的影响进行过实验,发现无机磷酸盐抑制大观霉素的合成,硝酸盐促进其合成。此外,他们还发现稀土元素不但可以促进大观链霉菌的生长,而且发酵效价也能提高 7%~8% 左右。但到同前为止,有关酶的诱导、分解代谢产物的解阻遏、能荷的调节,产物的反馈抑制、抗生素的分泌特性等研究尚没有得到很好地开展。国外在这方面的工作由于技术保密等原因而少见报道,只有 Gomes 等对分批培养下大观霉素的生物合成进行过研究,提出了氧传递速率是限制发酵效价的关键因素这一论断。

微生物在合成次级代谢产物时,一般都同时产生结构上类似的多
种副产物,大观链霉菌也不例外。在合成大观霉素的同时,也会合成二氢大观霉素和二羟大观霉素等结构类似物因此,如果能从生理上搞清大观霉素及其他副产物的合成途径,就可有的放矢地采取生理和遗传的手段抑制代谢旁路的进行,使大观霉素在发酵液中得到富集。

大观霉素的分泌特性对发酵收率也有较大的影响。通过生理或遗传学手段改变细胞壁和细胞膜的组分,可加速大观霉素的分泌,减少由于大观霉素积累而造成的反馈抑制,从而提高抗生素的产量。

2、大观霉素的分离提纯：

抗生素的分离纯化工序是从发酵液中提取制备符合国家药典要求的抗生素成品。大观霉素能够解离成阳离子，当它经弱酸性阳离子交换树脂时将进行选择交换，吸附于树脂，然后用洗脱剂把它洗脱下来。如此得到的大观霉素浓缩液带有许多杂质，主要是热原、无机盐和有机物。热原是发酵代谢产物，它是一种内毒素，注射后会使人感到恶寒高热。发酵时加入的钾、钙、钠、镁等无机盐和离子交换树脂中的某些不确定的有机杂质都将与大观霉素共存于洗脱液中。从浓缩液中提取大观霉素的工艺随具体情况不同而不同。一种是调 pH 值到碱性，去除无机物和有机杂质，最后回调 pH 值到酸性，结晶大观盐。另一种是控制结晶，一步直接得到大观盐。

1) 发酵液草酸酸化预处理的原理：

放罐后的大观霉素发酵液中，除了大观霉素外，还含有大量的菌丝体，未用完的培养基，各种蛋白质胶状物和色素，重金属离子及抗生素产生菌的其他代谢产物等。这些杂质有些是可溶的，有些是不可溶的，为了有效的分离和提取大观霉素，必须对发酵液也进行预处理，以便通过过滤除去大部分的杂质。

发酵液中的杂质很多，其中金属离子和蛋白质对提取的影响最大。金属离子和蛋白质的存在用离子交换法提取时，会影响离子交换树脂的吸附量。因此，发酵预处理的重点是去除金属离子和蛋白质以

及尽可能使抗生素转入便于以后处理的相中。

为了达到以上目的，采用调节 pH 值至酸性的方法达到。酸化剂采用草酸，因为草酸酸性温和，腐蚀性小，并能与发酵液中的钙镁离子结合，形成不溶性的盐沉淀析出，同时起释放抗生素的作用。

蛋白质的去除，生产中采用等电点法。用草酸做酸化剂，调节发酵液的 pH 值，使其达到蛋白质的等电点以沉淀蛋白质。蛋白质是一种两性化合物，在等电点时，由于没有相同电荷而互相排斥的影响，其颗粒极易相互碰撞凝聚而产生沉淀。因此，蛋白质在等电点时，其溶解度最小，最易形成沉淀。此时其他许多物理性质，如粘度、膨胀度、渗透压等都变小，而有利于发酵液的过滤。

大观霉素采用新菌种发酵后，发酵液过程中的代谢发生变化，发酵液中的蛋白质成分也相应变化，因此，优化草酸草酸 pH 值，寻找最合理的 pH 值，将发酵液中的蛋白质大部分除去，以减轻离子交换树脂的工作压力，提高料液质量。

2) 大孔离子交换树脂的吸附原理：

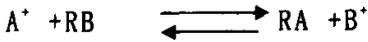
在抗生素的提取分离中，利用离子交换法将抗生素从滤液中有选择性的交换到离子交换树脂上，然后在适宜的条件下将其洗脱下来，这样能使体积缩小到几十分之一，从而使抗生素被分离提取。

离子交换树脂是一种具有网状立体结构的高分子多元酸或多元碱的聚合物。其结构优良部分组成，一部分是网状结构的高分子基团，

性质稳定，不溶于酸碱和有机溶剂，是树脂的骨架；另一部分是在网状结构骨架上的被溶液中阳离子（阴离子）交换的活性离子。

当交换树脂与溶液接触时，溶液中的阳离子（阴离子）即与交换生产的三个阶段，成功的将 LK-12 树脂用于大观霉素离子交换，提高了交换收率和解析液的质量。

离子交换过程的机理虽然复杂，但可通过以下五个阶段来进行：



- 1) A 离子自溶液中扩散到树脂颗粒表面
- 2) A 离子透过树脂表面进入树脂内部的活性中心。
- 3) A 离子与素质活性中心 RB 上的离子起交换反应。
- 4) 交换下来的 B 离子自活性中心扩散到树脂表面。
- 5) B 离子再从树脂表面扩散到溶液中。

现在大观霉素提取用的是 LK-11 树脂，是一种弱酸型阳离子大孔交换树脂，树脂柱采用固定式，每支树脂柱中装入 4.0—4.5 吨的树脂。采用正吸附的方式，

大观霉素离子交换树脂的优化选型，是为了寻找一种更适于大观霉素吸附，而且吸附容量大，树脂强度高的新型离子交换树脂。树脂分厂生产的 LK-12 树脂为我们提供了选择，LK-12 树脂的选型我们经历了小试、中试、上生产三个阶段。

四、大观霉素的检测方法

大观霉素极性很强，紫外最大吸收波长在 190nm 附近，属于末端吸收区，加之结构中 4' 位置的 α -酮-半缩酮非常不稳定，容易降解，使大观霉素的含量分析较为棘手。国内盐酸大观霉素的检测方法有以下几种：管碟法（生物效价法）、萃取光度法、旋光法、高效毛细管电泳法、高效液相法、高效液相色谱—蒸发光散射检测法，电化学法等。

管碟法（生物效价法），使用肺炎球菌（K-71）为试验菌，pH7.0 磷酸盐缓冲液为稀释液。但此菌种不稳定，使用时须转种 2—3 代的新鲜培养物，菌液保存时间不能超过 3 天，而且此菌的存活温度低，检测时加菌量多，不易掌握，检测周期长，含量检测误差较大。黄莉^[9]、王艳秋^[8]等，采用藤黄八叠球菌代替肺炎球菌，以 pH7.8 磷酸盐缓冲液为稀释液，得出的抑菌圈清晰，直径大小符合药典要求，效价结果准确。而且克服了肺炎球菌的菌种缺陷，但此方法也存在检测周期长的缺点。

车宝泉^[11]，包丽颖^[12]等采用高效毛细管电泳法（HPCE），毛细管柱：50 μm \times 54.6 cm（有效长度为 50 cm），可变波长紫外检测器，10 mmol/L 的硼砂（pH=9.3）溶峰，并以 0.45 μm 的微孔滤膜过滤，操作电压 18 KV，检测波长 192 nm。此法不需要有机溶剂，排除了试剂的干扰，出峰时间短（5 分钟）。该法的重现性和回收率较好，测

定结果可靠，而且检测的成本低。

萃取光度法^[7]是简单的一种含量测定方法，萃取溶剂：二硫化碳：吡啶：异丙醇=30：20：50，显色剂：水：吡啶=1.5：1，并加入 0.002 mol/L 氯化铜配制，在 721 分光光度计上于 470 nm 处测量盐酸大观霉素的吸光度。该法操作虽然快速、简便，但特异性不强，测定误差大，在实际工作中很少采用。

旋光法^[10]使用 WZZ-IS 数字式自动旋光仪，测定盐酸大观霉素含量较稳定，附加剂、温度、时间及酸度等因素对旋光度测定基本没有影响。操作简便、快速、重现性好，适用于医院、制药企业进行批量生产时质量控制和快速分析。

吴燕^[6, 13]等采用高效液相色谱—蒸发光散射检测法 (HPLC/ELSD)，引入蒸发光散射检测器作为检测手段，同时在流动相中添加了离子对试剂，选用三氟醋酸 (TFA) 水溶液与一定比例的乙腈作为流动相，乙腈作为改性剂的加入，由于其较强的溶剂化作用，在适当的比例条件下，可缩短药物的分析时间，而且不影响色谱的分离效果。该法操作简便、省时，克服了微生物检验周期长，结果波动性大的不足，可测定盐酸大观霉素的准确含量，结果重现性好，可有效的监控产品质量。

高效液相色谱 (HPLC) 法，是近年来大观霉素的一种理想的检测方法。结果准确，检测周期短，大约 9 分钟出峰，可用于大观霉素生

分大于 N 分时称为 A 行为，当 N 分大于 A 分时称为 N 行为，当 N 分等于 A 分时称为 M 行为。

5 家庭环境量表中文版 (FES-CV) [49]

该量表由 Moss 于 1981 年编制，引进我国后进行了三次修改，具有较好的效度和信度。

该量表广泛用于描述不同类型正常家庭的特征和危机状态下的家庭状况，评价家庭干预下的家庭环境变化，以及对家庭环境与家庭生活的其它方面进行比较。

该量表分为 10 个分量表，分别评价 10 个不同的家庭特征。所评价的家庭特征包括：(1) 亲密度，即家庭成员之间相互承诺，帮助、支持的程度；(2) 情感表达：鼓励家庭成员公开活动，直接表达其情感的程度；(3) 矛盾性：家庭成员之间公开表示愤怒、攻击和矛盾的程度；(4) 独立性：家庭成员的自尊、自信和自主的程度；(5) 成功性：指将一般的活动变成成就性或竞争性活动的程度；(6) 知识性：指对政治、社会、智力、文化活动的兴趣大小；(7) 娱乐性：即参加社交和娱乐活动的程度；(8) 道德宗教观：指对伦理、宗教和价值的重视程度；(9) 组织性：指安排家庭活动和责任时有明确的组织和结构的程度；(10) 控制性：使用固定家规和程序来安排家庭生活的程度。

该量表所有的项目按选择的答案进行评分，答“是”评“1”分，答“否”评“2”分，统计计分归纳为各量表得分以评价家庭特征。

三、 研究过程

调查时以班为单位，向家长说明此次调查的目地和意义及问卷的填写方法，所有问卷和量表采用统一的指导语，由班主任发给学生家长或直接抚养人填写，填好后当堂收回。确认每份问卷有效后，将问卷输入心理软件。

统计分析：将调查问卷统一整理、编码后，将 ODD 诊断筛查量表、Rutter、CBCL、FES-CV 量表数据输入社会科学统计软件 (SPSS13.0) 数据库，得出各个量表的数据，将所得的数据进行统计学处理。筛查出 ODD 儿童并将 ODD 儿童与正常儿童进行对照，以探寻对立违抗性障碍的心理行为特征及发生的危险因素。分析方法包括一般描述性分析、t 检验、 χ^2 检验。

以下是自制儿童基本情况调查表各项指标数量化的方法，见表 1。

表 1. 各指标数量化方法

项目	数量化方法
性别	男=1, 女=2
年龄	实际值
民族	汉=1, 其他=2
身高	实际值
体重	实际值
父亲收入	实际值
母亲收入	实际值
家庭人均收入	实际值
父亲文化程度	初中以下=1, 高中中专=2, 大专=3, 本科及以上=4
母亲文化程度	初中以下=1, 高中中专=2, 大专=3, 本科及以上=4
父亲健康	健康=1, 一般=2, 体弱多病=3
母亲健康	健康=1, 一般=2, 体弱多病=3
父亲性格	外向=1, 中间=2, 内向=3
母亲性格	外向=1, 中间=2, 内向=3
父亲嗜好	吸烟=1, 喝酒=2, 吸烟喝酒=3, 都不=4
母亲嗜好	吸烟=1, 喝酒=2, 吸烟喝酒=3, 都不=4
家庭经济状况	富裕=1, 中等=2, 差=3
对该花的时间金钱	少=1, 一般=2, 较多=3, 非常多=4
家族精神病史	有=1, 无=2
家庭结构	主干家庭=1, 核心家庭=2, 单亲家庭=3, 寄养家庭=4
家庭成员之间关系	融洽=1, 一般=2, 不融洽=3
父亲与孩子关系	亲切=1, 一般=2, 疏远=3
母亲与孩子关系	亲切=1, 一般=2, 疏远=3
其他家庭成员与孩子关系	亲切=1, 一般=2, 疏远=3
父亲对孩子未来期望	非常高=1, 高=2, 一般=3, 低=4
母亲对孩子未来期望	非常高=1, 高=2, 低=3
其他成员对孩子未来期望	非常高=1, 高=2, 一般=3, 低=4
父亲主要教养方式	尽量满足=1, 耐心开导=2, 严厉粗暴=3
母亲主要教养方式	尽量满足=1, 耐心开导=2, 严厉粗暴=3
其他成员主要教养方式	尽量满足=1, 耐心开导=2, 严厉粗暴=3
家庭成员教养态度	一致=1, 有时不一致=2, 经常不一致=3
孩对父亲态度	信任=1, 一般=2, 不信任=3
孩对母亲态度	信任=1, 一般=2, 不信任=3
孩对其他成员态度	信任=1, 一般=2, 不信任=3
孩入学年龄	实际值
班干部	是=1, 否=2
孩身体健康状况	健康=1, 一般=2, 体弱多病=3
个性特征	外向=1, 中间=2, 内向=3
生活自理能力	强=1, 较强=2, 一般=3, 较差=4, 很差=5
适应能力	强=1, 较强=2, 一般=3, 较差=4, 很差=5
自信心	强=1, 较强=2, 一般=3, 较差=4, 很差=5
自尊心	强=1, 较强=2, 一般=3, 较差=4, 很差=5

观霉素泡腾片的报道外，还没有其它剂型的相关报道。

其次，加快大观霉素工艺革新。在大观霉素的生产工艺中，还有许多可塑之处，需要科技人员去发现，优化工艺，降低成本，提高提取收率。

另外，由于大观霉素的微生物含量分析方法滞后生产，不能很好的指导生产，高效液相分析方法虽然较微生物法简单快捷，但由于其分析步骤繁多，作样价格偏高，生产过程中还不能普遍使用。

因此，加大大观霉素的提取工艺改进和分析方法的改进，是近一段时间大观霉素生产的关键。

第二章 优化发酵液预处理酸化 pH 值

一、优化发酵液酸化 pH 值的试验

2.1.1 试验仪器：

1000 mL 玻璃烧杯，搅拌棒，草酸，pH 试纸，酸度计，氢氧化钠溶液，秒表，滤纸，漏斗，100 mL 量桶

2.1.2 试验方案：

- 1) 准备好 4 个 1000 mL 的烧杯。
- 2) 各取发酵液 500 mL。
- 3) 边搅拌边加入草酸，并不断用 pH 试纸检测 pH 值。分别将发酵液酸化到 2.00、2.50、3.00、3.50，最终酸化 pH 值以酸度计检测为准。
- 4) 将滤纸折好，放在漏斗上面，漏斗下面接到 100 mL 的量桶。
- 5) 分别过滤 4 种酸化液，记录到达 20 mL 滤液所需的时间和 2 分钟时的滤液体积。滤液送化验室检测微生物效价。
- 6) 将滤液分别用氢氧化钠溶液将 pH 值调到 9.00 和 10.00，沉淀 2 小时，比较滤液中的沉淀数量。

2.1.3 实验数据：

批号	酸化 pH值	2分钟的 滤液 mL	20mL所 需的时 间 s	pH9.0 的沉淀	pH10. 0的沉 淀	微生物 效价 u/mL
035	2.06	17	2.25	5.6	6.4	3897
	2.53	21	1.50	4.2	5.3	4024
	3.01	19	2.10	4.5	5.2	3956
	3.58	18	2.45	5.0	6.1	3919
036	2.03	21.5	1.50	5.6	5.9	4046
	2.54	22	1.50	5.2	5.6	4128
	3.09	22.5	1.45	5.4	5.8	4195
	3.52	19	2.10	5.3	6.1	4062
037	2.09	17	2.30	5.1	5.9	3893
	2.52	19.5	1.55	4.9	5.4	4012
	3.03	18	1.50	4.8	5.5	3976
	3.57	17.5	2.15	5.2	5.7	3924
038	2.02	20	1.45	4.8	6.0	4210
	2.58	23.5	1.40	4.5	5.6	4294
	3.03	22	1.45	4.9	5.6	4235
	3.52	21	2.10	4.8	5.8	4178

表2-1 酸化试验数据表

Tab2-1 data of acid test

2.1.4 实验结果讨论：

从以上的酸化试验结果可以看出，酸化pH值在2.50时，酸化液过滤速度最快，酸化液的碱性蛋白沉淀量较少，而且酸化液的效价较高，说明在此酸化条件下，发酵液中的蛋白能有效去除，而且有利于发酵液的过滤。

二、生产中优化酸化pH值试验

优化酸化pH值试验完成以后，对实验结果分析发现，酸化pH值在2.5左右时，滤液质量情况较好，而且此pH值下的滤速较快，微生物效价较高，说明对大观霉素破坏较少。在生产中，将酸化pH值调到2.5左右，进行了大生产试验。

2.1生产程序：

- 1、发酵液放完罐后，与发酵放罐人员交接完体积后，打开酸化池搅拌，边搅拌边加入草酸，并用pH试纸检测，待接近3.0时，改用化验室酸度计检测，最终pH值控制在2.5左右
- 2、酸化液继续搅拌5—10分钟后即可通过转鼓过滤。

2.2生产数据如下：

日期	罐号-批号	无菌	放罐十亿	滤饼	顶水 m ³ /h	过滤 时间 h	滤饼所 含效价 u/ml	收率%
3.8	303/055	(—)	138.645	干	8.0	9	145	89.52
3.9	308/056	(—)	130.246	湿	6.0	8	109	80.60
3.10	304/057	(—)	139.413	干	5.0	9	121	88.25
3.11	301/058	(—)	136.944	干	6.0	8.5	116	90.05
3.12	306/059	(—)	129.587	干	6.0	8	123	92.13
3.13	302/060	(—)	135.455	湿、 粘	6.0	8	107	98.22
3.14	307/061	(—)	137.301	湿	6.0	8.5	138	90.81
3.15	305/062	(—)	136.889	干	6.0	9	124	80.13
3.16	303/063	(—)	140.267	干	6.0	8	130	92.59
3.17	304/064	(—)	133.586	湿、 粘	6.0	9	114	98.40
3.18	301/065	(—)	135.312	湿	6.0	8.5	115	96.20
3.19	302/066	(—)	139.418	湿、 粘	6.0	8	106	91.06
3.20	305/067	(—)	138.402	干	6.0	7	122	93.58
3.21	303/068	(—)	139.510	湿、 粘	6.0	8.5	120	90.31
3.22	304/069	(—)	133.752	湿、 粘	6.0	7.5	118	87.74
3.23	301/070	(—)	132.550	湿、 粘	5.0	12	128	92.41

表 2-2 酸化试验批次过滤数据表

Tab2-2 Filter data of acid test batches

2.3 结果分析：

调整酸化 pH 值生产，转鼓过滤情况良好，滤饼中所含效价比试验前降低了 3.1%，过滤收率提高了 2.4%。

第三章 离子交换树脂的选型

一、LK-12 树脂的选型的小试

实验共分二个阶段进行：

第一阶段：

鲁抗树脂分厂生产的新型 1#、2#树脂与生产中在用的 LK-11 树脂的吸附解析对照试验，比较 3 种树脂的质量指标，寻找更适合大观霉素生产的新型树脂。

3.1.1 实验仪器及试剂：

三支小型的试验树脂柱、胶皮管、塑料桶、烧杯、2 mol/L 的盐酸、氢氧化钠溶液、0.6 mol/L 的盐酸溶液、纯化水

3.1.2 试验过程：

- 1、 各取 100 mL 的三种树脂，分别装入树脂柱。
- 2、 分别用三倍树脂体积的 2 mol/L 的盐酸和氢氧化钠溶液处理 2 遍。
- 3、 吸附大约 40 倍树脂体积的滤液。
- 4、 用 0.6 mol/L 的盐酸做解析剂进行解析。

3.1.3 实验数据：

序号	树脂	解析液的效价 u/mL	解析液的体积 mL	解析液的灰分	解析液的色油		收率 %
					色	油	
1	1#	16249	275	2.94	<2	<1	97.97
	2#	14528	275	3.44	<2	1	87.59
	LK-11	17673	245	2.97	<2	2<	94.93
2	1#	20795	228	2.98	2	2	70.96
	2#	18078	252	3.17	2	2	68.18
	LK-11	16083	236	2.80	2	<3	56.81
3	1#	19838	245	3.21	2	2	67.91
	2#	18978	254	3.27	2	2	67.34
	LK-11	20040	219	3.08	2	3	61.32

表 3-1 三种树脂的实验数据

Tab3-1 data of three experimental resin

3.1.4 实验分析：

从试验过程和试验数据分析，1#树脂具有较好的质量，从解析液的方面来看，1#树脂的解析液收率最高，灰分与色油都比较接近于现在生产中在用的 LK-11 树脂，而 2#树脂的解析液灰分较高，收率一般，色油与在用的 LK-11 树脂接近。1#、2#树脂的粒度都要比在用的 LK-11 树脂均匀。

以上分析，1#树脂在各方面表现较好，具有较好的应用价值。

3 种树脂的收率对照图：

序号	树脂	解析液的效价 u/mL	解析液的体积 mL	解析液的灰分	解析液的颜色油		收率 %
					色	油	
1	1#	16249	275	2.94	<2	<1	97.97
	2#	14528	275	3.44	<2	1	87.59
	LK-11	17673	245	2.97	<2	2<	94.93
2	1#	20795	228	2.98	2	2	70.96
	2#	18078	252	3.17	2	2	68.18
	LK-11	16083	236	2.80	2	<3	56.81
3	1#	19838	245	3.21	2	2	67.91
	2#	18978	254	3.27	2	2	67.34
	LK-11	20040	219	3.08	2	3	61.32

表 3-1 三种树脂的实验数据

Tab3-1 data of three experimental resin

3.1.4 实验分析：

从试验过程和试验数据分析，1#树脂具有较好的质量，从解析液的方面来看，1#树脂的解析液收率最高，灰分与色油都比较接近于现在生产中在用的LK-11树脂，而2#树脂的解析液灰分较高，收率一般，色油与在用的LK-11树脂接近。1#、2#树脂的粒度都要比在用的LK-11树脂均匀。

以上分析，1#树脂在各方面表现较好，具有较好的应用价值。

3种树脂的收率对照图：

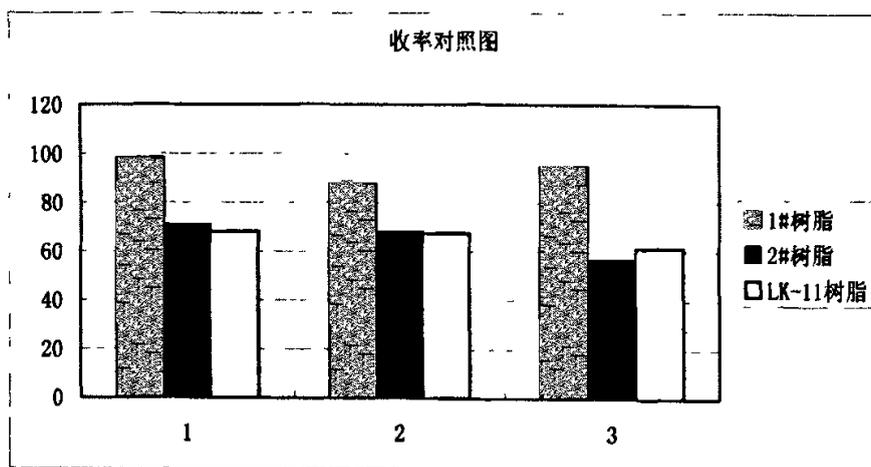


图 3-1 1#、2#、LK-11 树脂的收率对照图

Fig3-1 the yield of three experimental resin

第二阶段：

选定第一阶段实验结果比较理想的 1#LK-12 树脂与新的 LK-11 树脂做对照实验。1#为 LK-12 树脂,2#为 LK-11 树脂。

3.1.5 试验仪器及试剂：

三支小型的试验树脂柱、胶皮管、塑料桶、烧杯、2 mol/L 的盐酸、氢氧化钠溶液、0.6 mol/L 的盐酸溶液、纯化水、三支中型的试验树脂柱

3.1.6 试验过程：

- 1、各取 400 mL 的两种树脂，分别装入树脂柱。
- 2、分别用三倍树脂体积的 2 mol/L 的盐酸和氢氧化钠溶液处理 2 遍。
- 3、吸附大约 40 倍树脂体积的滤液。

4、用 0.6 mol/L 的盐酸做解析剂进行解析。

3.1.7 实验数据：

(一)、每个树脂柱装 400 mL 树脂：

序号	树脂	解析液的效价	解析液的体积 ml	解析液的灰分	收率 %
1	1#	19246	1010	3.35	80.54
	2#	20656	895	3.24	78.14
2	1#	19146	940	3.88	94.02
	2#	18056	890	3.54	90.33
3	1#	12918	1280	3.13	67.67
	2#	11654	1160	2.80	59.18

表 3-3 LK-11、LK-12 树脂试验数据

Tab3-3 the test data of LK-11、LK-12 resin

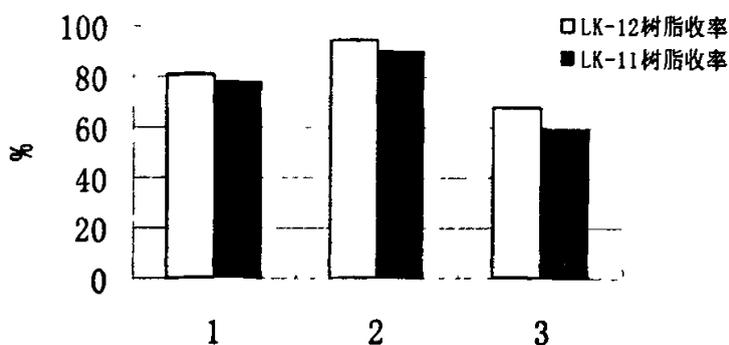


图 3-2 两种树脂的收率对照图

Fig3-2 the yield of two experimental resin

(二)、每支树脂柱装 100ml 树脂：

序号	树脂	解析液的效价 u/mL	解析液的体积 mL	解析液的灰分	收率 %
1	1#	26209	235	2.80	92.32
	2#	20564	225	3.06	74.00
2	1#	29977	245	2.63	81.08
	2#	24042	220	2.72	70.22

表 3-4 LK-11、LK-12 树脂试验数据

Tab3-4 the test data of LK-11 and LK-12 resin

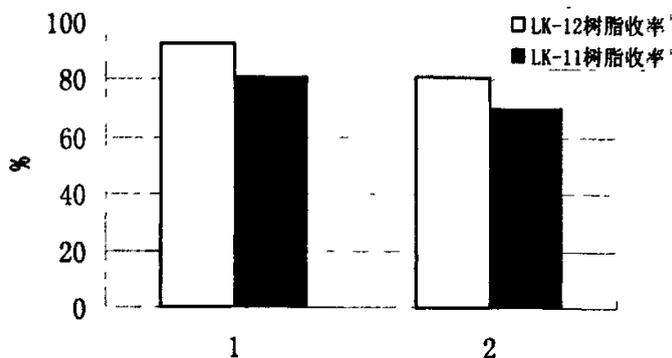


图 3-3 两种树脂的收率对照图

Fig3-3 the yield of LK-11 and LK-12 resin

3.1.8 实验分析：

1#LK-12 树脂与新的 LK-11 树脂对照试验可以看出，1#LK-12 树脂在收率和解析液的效价方面有着明显的优越性，但是解析液灰分较高。在 100 mL 的实验中，1#LK-12 树脂比新的 LK-11 树脂解析

液灰分较高，收率差别较大，主要是小树脂柱受影响的因素较多，实验过程的操作对其影响也较大，实验误差相应较大。另一面，由于化验检验误差大，对实验结果影响较大。在实验过程中，由于滤液效价检测用生测检测，效价误差大，对树脂饱和度的判断起伏大，也干扰了实验数据的准确性。

3.1.9 结论：

经过一段时间的比较试验，1#LK-12树脂有着较大的吸附容量，有效的提高了交换收率和物料平衡率，在生产中有着较高的应用价值。

二、LK-12树脂的中试试验

3.2.1 试验仪器及试剂：

两支 10 L 的中试试验树脂柱、胶皮管、塑料桶、烧杯、2 mol/L 的盐酸、氢氧化钠溶液、0.6 mol/L 的盐酸溶液、纯化水

3.2.2 试验过程：

1) 在容量为 10 L 的中试树脂柱内各装入 3.0 L 的树脂，按照 LK-11 树脂生产中的处理方法，用 2 mol/L 的酸碱处理两遍。各项工艺控制指标与大生产相同。

2) 通入大约 40 倍树脂体积的复滤液，根据吸附废液的 pH 值和吸附的复滤液的体积判断吸附终点。复滤液的效价和废液的效价用生测检测。

- 3) 树脂饱和后，用纯化水正洗、反洗，中间用虹吸法去掉吸附过程中产生的蛋白沉淀，将树脂洗到洗水清澈透明。
- 4) 用 0.6 mol/L 的解析剂解析，卡头卡尾按照统一标准。计量解析液的体积，送检解析液的效价（液相）、炽灼残渣、色浊。
- 5) 计算交换收率，比较两种树脂的综合质量。
- 6) 试验共进行 10 次。
- 7) 各项检测均按照大生产中的检测方法进行。

3.2.3 试验结果:

试验 序号	吸附 复滤 液 L	复滤液 效价 u/mL	废液效 价 u/mL	解析液 体积 mL	解析液 效价 u/mL	解析液 灼灼残 渣%	万单位 灼灼残 渣	解析液色浊		解析收 率%	
								色	浊		
1	LK-12	140	1852	411	9100	20551	2.67	1.30	1	<1	72.13
	LK-11	134		502	7400	17474	2.41	1.38	1	1	52.10
2	LK-12	130	2308	568	9300	23336	2.65	1.14	1	<1	72.33
	LK-11	122		568	7950	23241	2.46	1.06	1	<2	65.62
3	LK-12	124	2090	329	10100	20792	2.30	1.11	<2	<2	80.95
	LK-11	114		401	8500	21336	2.33	1.09	<2	<2	76.04
4	LK-12	130	1759	422	9950	19864	2.35	1.18	<2	1	86.43
	LK-11	122		263	8450	19378	2.25	1.16	稍<2	<2	76.30
5	LK-12	126	2117	396	9000	24209	2.18	0.90	<2	<1	81.68
	LK-11	115		496	7700	23197	2.23	0.96	<2	1	73.37
6	LK-12	136	1667	226	9000	17744	2.49	1.40	<2	<1	70.44
	LK-11	132		329	8000	19531	2.47	1.26	稍<2	1	71.01
7	LK-12	126	1922	313	9600	18891	2.18	1.15	<2	<1	74.89
	LK-11	124		478	8300	19750	2.17	1.10	稍<2	<1	68.78
8	LK-12	120	2277	305	8750	16873	2.70	1.60	<2	<1	54.03
	LK-11	120		454	8250	15897	2.65	1.67	<2	1	48.00
9	LK-12	120	1892	327	8500	22443	2.74	1.22	<2	<1	84.02
	LK-11	120		541	7300	21111	2.36	1.12	<3	<1	67.88
10	LK-12	137	1776	313	9000	21204	2.40	1.13	<2	<1	78.43
	LK-11	127		337	7800	21293	2.38	1.12	稍<2	稍<1	73.64

表 3-5 LK-11、LK-12 树脂的试验数据

Tab3-5 the test data of LK-11 and LK-12 resin

LK-12 树脂的平均收率：75.53%，LK-11 树脂的平均收率：67.27%。

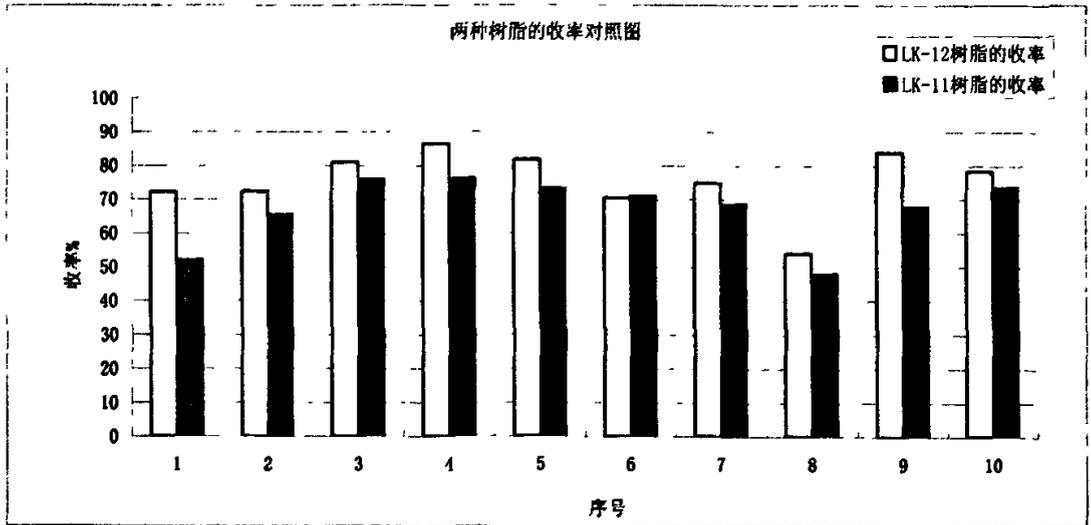


图 3-2 LK-11、LK-12 树脂生产的收率对照图

Fig3-2 the yield of two experimental resin

3.2.4 试验结果分析：

从试验结果和试验过程中可以看出，LK-12 树脂比 LK-11 树脂吸附容量大，吸附废液效价偏低，平均收率 LK-12 树脂比 LK-11 树脂高 8.26%，两种树脂的膨胀系数基本相同，均在 0.7 左右，解析液情况：LK-12 树脂比 LK-11 树脂的解析液效价平均高 369 u/mL；的解析液体积多 1265 mL，解析液的浊度稍好，万单位炽灼残渣 LK-12 解析液：1.21 g/万单位，LK-11 解析液：1.19 g/万单位，可以说明本次试验的 LK-12 树脂的优势比较明显。而且，十次试验以后，LK-12 树脂的解析收率依然比较高，树脂破碎情况不明显，说明本次试验的 LK-12 树脂有着较好的耐用性，解决了以前树脂耐用性不好的问题。

在吸附过程中，LK-12 树脂由于颗粒度比较均匀，仍存在容易起压的现象。而且 LK-12 树脂易和滤液中的蛋白结合，在反洗过程中不能和蛋白分离，造成树脂流失。

由于试验过程中存在的人为操作因素和检验误差的存在，另外此次中试试验与大生产的树脂装量差别较大，试验过程中，解析液的卡头、卡尾效价不能控制非常严格，卡头、卡尾误差也会对试验树脂收率结果产生一定的影响。

三、LK-12 树脂应用于生产

3.3.1 生产过程：

在 1#树脂柱中装入 4000kg 的 LK-12 树脂，按照 LK-11 树脂的酸、碱处理方法处理两遍。进行正常的吸附、解析。控制树脂的吸附十亿为 LK-11 树脂的 1.1 倍左右，同时检测废液 pH 值。

3.3.2 生产数据如下：

生产批号	吸附十亿	饱和废液效价 u/mL	解析液体积 m ³	解析液夜效价 u/mL	解析液十亿	收率 %	炽灼残渣 %
147	280.707	559	7.4	34021	251.755	89.69	2.68
152	309.788	217	7.0	38158	267.106	86.22	2.42
165	325.141	291	7.0	41649	291.543	89.67	2.15
178	318.524	314	7.2	39872	287.078	90.12	2.26
191	327.365	348	7.0	40296	282.072	86.16	2.22
204	324.734	294	7.3	39148	285.780	88.00	2.19
217	316.239	305	7.1	39275	278.852	88.18	2.28

表 3-6 LK-12 树脂的生产数据

Tab 3-6 the production data of LK-12 resin

3.3.3 生产数据分析

7 批 LK-12 树脂的生产收率平均为：38917 u/mL，比 LK-11 树脂的平均生产收率高：3.2%，而且解析液效价也有提高，解析液的整体质量提高，表现在后工序的超滤纳滤生产处理上较 LK-11 树脂的解析液容易。

第四章 3000 分子量超滤膜的试验

膜技术的应用是医药生产技术革新发展趋势之一，尤其是在抗生素提炼纯化工工艺革新中更是表现出了高效、节能、环保等优势。

超滤是通过膜表面的微孔结构对不同分子量的物质进行选择分离，即小分子物质透过膜，而大分子物质或微细粒子被截留，从而实现物质分离的过程。超滤是简单的筛分过程，在推动力的作用下，大于膜孔径的溶质或悬浮粒子被截留，而小于膜孔径的分子随溶剂一起透过膜，膜上微孔的尺寸与形状决定了膜的筛分性能，其分离机理主要是依据分子大小的差异。

本试验应用 3000 分子量无机陶瓷膜于大观霉素提炼工艺中，过滤大观霉素脱色液、浓缩液，去除脱色液、浓缩液中包括热原（绝大部分）在内的大分子有机杂质，以提高成品含量与收率。本试验分为两部分，其一为处理脱色液，其二为处理浓缩液。经处理的脱色液收率为 98.10%，热源去除率大于 90%；经处理的浓缩液收率为 99.82%，成品纯度较生产对照高 1.4%，从浓缩液到成品收率高 2.08%，同时本试验还对超滤过程的物料平衡、膜通量的衰减情况以及膜再生情况进行了考察。

4.1 试验材料与器材

1)、大观霉素脱色液

2)、大观霉素纳滤蒸发浓缩液

3)、北京迈胜普公司提供的 3000 分子量陶瓷膜超滤设备 (1.0m²)

4.2 试验过程:

(一) 脱色液超滤试验:

检测脱色液,超滤脱色液的效价、热源、色级、浊度、灰分等质量指标,以考察 3000 分子量膜对热源、色级、浊度、灰分等去除情况、膜通量变化情况及超滤过程的物料平衡情况、膜的再生情况。

(二) 浓缩液的超滤实验

1、试验的工艺流程:

浓缩液 → 超滤浓缩液 → 浓缩液脱色 → 结晶 → 成品

2、对照的工艺流程:

浓缩液 → 浓缩液脱色 → 结晶 → 成品

检测浓缩液、脱色浓缩液的效价、灰分、浊度、色级、热源及成品的效价、灰分、浊度、色级、热源、比旋度、PH、水分、含量等质量指标,以考察 3000 分子量膜去除大观霉素中间体杂质后对成品最终成品的含量提高情况,膜的应用对成品最终各项质量指标的影响,及超滤浓缩液过程中膜通量变化情况的考查。

4.3 试验结果及分析

(一) 超滤脱色液、浓缩液过程结果分析 (结果见表一、表二)

1、1.00 m²的膜比 0.35 m²的膜超滤速度慢 17 L/m²·h, 低 16%, 可能是脱色液质量或膜内压力降低造成的。

2、超滤膜在使用过程中其透出速度逐步降低, 脱色液中部分杂质的堵塞膜孔和超浓液中有机杂质的增加影响的。但堵塞膜孔可通过清洗处理得到再生。

3、每天处理 10 m³的脱色液, 超滤平均速度按 90 L/m²·h, 为满足现有生产工艺需要, 10 m³的脱色液需要在 5 小时超滤到位, 因此需要超滤面积为 22 m²超滤膜系统, 为了满足大观霉素生产能力的提高及膜长时间使用流速衰减的影响, 使用 30 m²的较合适。

4、超滤膜在使用过程中其透出速度逐步降低, 浓缩液中部分杂质的堵塞膜孔和超浓液中有机杂质的增加影响的。但堵塞膜孔可通过清洗处理得到再生。

(二) 脱色液过滤试验: (结果见表三)

此试验进行了 5 批, 试验数据附后。

从试验数据中可以得出结论:

1、超滤平均收率为 98.1%, 热源去除率大于 90%。

2、物料平衡率平均为 99.65%, 说明超滤过程中大观霉素损失量很少。

3、超滤对灰分没有去除作用，超滤对有机杂质去除效果明显。

(三) 浓缩液超滤试验：(结果见表四、表五)

此试验进行了4批，试验数据附后。

4.4 试验结论：

- 1) 浓缩液超滤收率平均为 99.82%，物料平衡率为 104.73%
- 2) 3000 分子量膜超滤对浓缩液的灰份没有去除作用，对引起浊度的物质有明显的去除作用。
- 3) 经膜超滤的浓缩液结晶得到的成品含量较生产对照提高了 1.44%，从浓缩液到成品的收率提高了 2.08%，超滤操作对成品、比旋度、PH、结晶性等理化性质无明显影响。
- 4) 3000 分子量陶瓷膜对大观霉素中间体中含有的大分子有机杂质去除效果良好，在应用于生产后可大幅降低脱色加碳量，以减少大观霉素的损失，降低原辅料消耗。
- 5) 去除杂质的效果特别明显，降低脱色液或浓缩液中的热原和浊度的效果非常显著，可彻底解决原生产工艺难解决的浊度、热原及成品纯度等问题。影响大观霉素成品含量与稳定性大分子有机杂质有较好的去除效果，达到了预期效果。
- 6) 超滤过程对大观霉素没有破坏作用，将超浓液套用于复滤液或解吸液中可以进一步提高提炼总收率。
- 7) 膜可再生性能好，通量稳，耐酸碱性较好。

4.5 试验数据

超滤时间		173 批	174 批	186 批	187 批	平均值	备注
膜面积 m ²		1.00				-----	
进膜压力		0.36 MPa				-----	
出膜压力		0.28 MPa				-----	
超滤 流速 L/m ² · h	开始	85	72	74	81	78	
	1 h	80	83	65		76	
	2 h	73	68	63	61	66	
	3 h	69	67	55	58	62	
	4 h	63	63	60	52	59	
	5 h	63		61	52	58	
平均值		72	70	63	60	66	

表 4-1 浓缩液液超滤试验流量数据

Tab4-1 the test data of condensed liquid flow which passed
ultrafilter membrane

超滤时间		056 批	057 批	152 批	153 批	平均值	备注
膜面积 m ²		0.35		1.00		-----	
进膜压力		0.4 MPa		0.38 MPa		-----	
出膜压力		0.3 MPa		0.3 MPa		-----	
超滤 流速 L/m ² · h	开始	131	130	126	110	124	
	1 h	124	120	108	106	114	
	2 h	133	113	97	102	111	
	3 h	133	110	90	94	108	
	4 h	120	110	84	86	100	
	5 h	102	106	58	-----	88	
	6 h	111	-----	-----	81	96	
	7 h	104	102	-----	-----	103	
8 h	103	-----	-----	75	89		

	9 h	-----	99	-----	-----	99
	10 h	101	-----	-----	-----	101
	11 h	-----	88	-----	-----	88
	12 h	93	-----	-----	-----	93
	13 h	-----	-----	-----	-----	-----
	14 h	89	-----	-----	-----	89
	15 h	-----	-----	-----	-----	-----
	16 h	75	-----	-----	-----	75
平均值		109	98	80	93	98

表 4-2 脱色液超滤试验流量数据

Tab4-2 the test data of decolorization fluid flow which passed ultrafilter membrane

批号	介质	体积 (m ³)	效价 (u/mL)	灼灼残渣 (%)	pH 值	色级	浊度	热源
056 批	脱色液	0.60	20689	2.54	5.53	< 1	< 1	挂壁 (300 倍)
	超滤液	0.60	20031	2.85	5.56	< 1	< 1	合格 (30 倍)
	超浓液	0.005	22722	2.93	5.47	1	> 4	不合格
超滤收率: 96.83%, 物料平衡率: 97.91%。								
057 批	脱色液	0.55	18591	2.54	5.53	< 1	< 1	不合格 30 倍
	超滤液	0.55	18000	2.46	5.47	< 1	< 1	合格 (30 倍)
	超浓液	0.005	17985	3.88	5.38	1	> 4	不合格
超滤收率: 96.82%, 物料平衡率: 98.58%。								
152 批	脱色液	0.58	20383	2.94	5.41	< 1	< 1	半凝 300 倍
	超滤液	0.57	20503	2.57	5.41	< 1	< 1	合格 (30 倍)
	超浓液	0.015	22257	3.17	—	1	> 4	不合格

超滤收率：98.87%，物料平衡率：99.15%。								
153 批	脱色液	0.84	21200	1.85	5.09	< 1	< 1	合格 3 0 0 倍
	超滤液	0.82	21711	2.37	5.04	< 1	< 1	合格 (30 倍)
	超浓液	0.025	15989	—	5.30	< 1) 4	合格
超滤收率：99.94%，物料平衡率：102.72%。								
154 批	脱色液	0.80	13692	1.41	5.03	< 1	< 1	稍挂壁 3 0 0 倍
	超滤液	0.79	13590	1.49	5.10	< 1	< 1	合格 (30 倍)
	超浓液	0.015	17558	2.21	5.24	1) 4	不合格
超滤收率：98.01%，物料平衡率：100.41%。								
平均 值	脱色液	0.674	18911	2.27	5.32	< 1	< 1	稍挂壁 3 0 0 倍
	超滤液	0.666	18767	2.35	5.32	< 1	< 1	合格 (30 倍)
	超浓液	13	19302	3.05	5.35	1) 4	不合格
		1.9%						
超滤收率：98.09%；物料平衡率：99.75%。								

表 4-3 脱色液超滤试验数据

Tab4-3 the test data of decolorization fluid which passed ultrafilter membrane

项目	收 率 (%)	水分 (%)	灼灼残渣 (%)	色 级	浊 度	PH 值	比旋度	折干含量 (u/mL)	
173 批	对照	70.75%	17.3	0.39	B9	< 1	3.86	+19.10	95.20
	试验	72.72%	17.60	0.33	B9	< 1	3.87	+18.35	96.72
174 批	对照	80.12%	17.8	0.26	B9	< 1	4.19	+19.12	95.39
	试验	81.79%	17.50	0.31	B9	< 1	4.28	+18.44	97.71
186 批	对照	78.06%	17.5	0.09	B9	< 1	4.07		97.6
	试验	80.71%	18.40	0.14	B9	< 1	4.15		98.16
187 批	对照	77.20%	17.80	0.10	B9	< 1	4.39		96.57
	试验	79.22%	17.90	0.11	B9	< 1	4.47		97.92

平均	对照	76.53	17.60	2.21	B9	< 1	4.13	19.11	96.19	
	试验	78.61	17.60	0.22	B9	< 1	4.19	18.40	97.63	
试验值减对照值		2.08	无差异						-0.71	1.44
<p>收率、比旋度、折干含量 (u/mL) 此三项指标差异较大, 收率收率提高了 2%, 主要原因是, 1) 结晶前的加碳量降低了 4 个百分点, 可提高收率 2-3%, 在超滤过程中大观霉素损失量非常少; 比旋度、折干含量的提高, 大观霉素的纯度得到了进一步提高。</p>										

表 4-4 3KD 分子量的超滤膜超滤浓缩液得到的大观霉素的质量情况

Tab4-4 the quality of spectinomycin

批号	介质	体积 (m ³)	效价 (u/mL)	炽灼残渣 (%)	pH 值	色级	浊度	热源
173 批	脱色液	0.60	20689	2.54	5.53	< 1	< 1	不合格
	超滤液	0.60	20031	2.85	5.56	< 1	< 1	合格
	超浓液	0.005	22722	2.93	5.47	< 1	> 4	——
174 批	脱色液	0.40	84009	1.74	5.72	< 1	< 1	不合格)
	超滤液	0.38	89919	1.76	5.60	< 1	< 1	合格 (
	超浓液	0.02	92412	2.22	5.81	< 1	> 4	——
186 批	脱色液	0.57	83870	1.41	5.17	< 1	< 1	不合格
	超滤液	0.55	90592	1.43	5.40	< 1	< 1	合格
	超浓液	0.02	95924	1.39	5.36	< 1	> 4	不合格
187 批	脱色液	0.62	80465	1.33	5.20	< 1	< 1	不合格
	超滤液	0.59	83454	1.30	5.27	< 1	< 1	合格
	超浓液	0.02	94503	1.31	5.23	< 1	> 4	不合格

平均值	脱色液	0.54				< 1	< 1	不合格
	超滤液	0.53				< 1	< 1	合格
	超浓液	0.016				< 1	> 4	不合格
评价		3%	无差异				效果显著	

表 4-5 浓缩液超滤液质量变化情况

Tab4-5 the quality changes in the ultra-filtration

第五章 结晶工艺改进

使溶质从过饱和溶液中成结晶状态析出的操作技术，成为结晶技术。它是制备纯物质的有效方法之一，因为只有同类分子或离子才能有规则地排列成晶体，结晶过程有很好的选择性。结晶可以使溶质从成分复杂的母液中析出，在通过固液分离、洗涤等操作，得到纯度较高的产品。

结晶作为一种分离提纯方法，在传统医药化工生产中一直占有相当重要的位置。与其他分离方法相比，结晶法具有产品纯度高、能量消耗少、操作温度低、对设备腐蚀程度小、操作简单、成本低等特点。

大观霉素结晶过程中使用丙酮进行提取，其单耗一直在 4.5 kg/十亿以上，占据车间原料总成本的 30% 左右。分析丙酮消耗的原因则主要是结晶过程中工艺不合理，挥发量较大。所以，降低丙酮消耗的方法则主要是降低丙酮的挥发量与使用量。

针对丙酮的消耗，车间做了以下工作：

1) 控制结晶工艺：

结晶过程中准确掌握养晶点并确保足够的养晶时间，提高浓溶液与粗品溶解液单位在保证结晶收率不降低的前提下，减少丙酮加入倍数。丙酮加入倍数，注射品由 4.1 倍降至 3.9 倍，工业盐和粗

品由 4.2 倍降至 4.1 倍，减少丙酮的使用量。

2) 控制洗涤过程丙酮用量：

加大力度，增加挖洗频次，减少每次挖洗丙酮的用量，每批洗涤用丙酮量由 1.2 m^3 降至 1.0 m^3 。

3) 回收污粉的丙酮洗涤改为用回收丙酮母液洗涤。

回收污粉效价较低，杂质含量较高，挖洗丙酮用量高大，经过分析确定，根据回收污粉的质量要求，使用回收丙酮母液洗涤同样能达到污粉的质量要求，减少成品丙酮的使用。

4) 改造真空管道：

对真空抽滤干燥系统进行改造，减少丙酮挥发，主要通过真空管道上增加切换阀门及丙酮缓冲罐，把放料过程和抽滤干燥过程分开，由原来的干燥过程废丙酮储罐始终保持真空改为放料后即为常压，减少丙酮在真空状态下的挥发量。

真空系统改造前

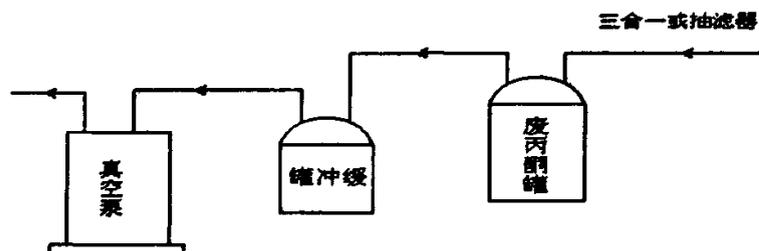


图 5-1 改造前的真空流向

Fig5-1 the vacuum flow before transforming

改造前的真空流向已在上图中表明，我们可以看出，在抽料过程中，真空始终从废丙酮储罐中经过。因此，在整个抽滤过程中，会始终有丙酮自废丙酮储罐中挥发出来，自真空泵排入大气。如果我们调整工艺，改变真空走向，就可以减少这一部分的丙酮挥发，具体改造如下图所示：

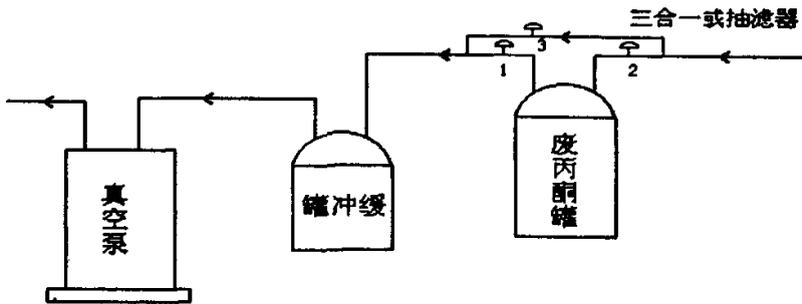


图 5-2 改造后的真空流向

Fig5-2 the vacuum flow after transforming

真空管道改造后，并及时对员工进行培训，保证洗涤结束后，10 分钟内切换管道，减少丙酮随真空挥发，增加废丙酮含量。

下面是废丙酮含量的检测数据：

检测批次		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
废丙酮含量%	5月	65.8	65.9	66.9	66.1	64.4	65.8	67.3	66.7	66.1	65.2
	6月	69.4	68.9	70.2	69.8	69.3	70.1	69.2	68.5	69.4	70.6

表 5-1 废丙酮含量对比

Tab5-1 the contrast of content in used acetone

在废丙酮储罐和缓冲罐之间增加冷凝器。这样，我们就可以将罐中挥发出来的丙酮气体经冷凝器冷却，使之冷凝成为液体。然后储存在缓冲罐中，达到回收，减少丙酮挥发的目的。经过实际操作、跟踪最后确认：增加冷凝器后，废丙酮可减少 2% 的损耗，也就是说：每生产一个十亿的大观霉素，可以少损失 2 千克的丙酮。

通过以上措施的采取，丙酮消耗明显降低，以下为 2005 年丙

酮单耗统计：

月份	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	平均
单耗 kg/十亿	4.00	3.20	3.27	2.94	3.05	2.94	2.80	2.80	2.76	2.74	2.68	3.02

表 5-2 丙酮单耗

Tab5-1 the intensity of acetone

2005 年与 2004 年的丙酮单耗对照：

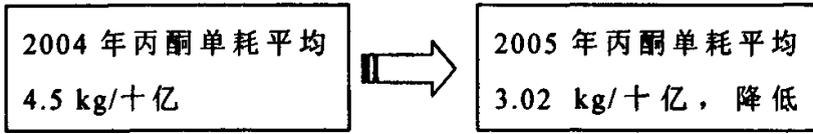


图 5-3 丙酮单耗降低图

Fig5-3 the reduce of the intensity of acetone

- Acad Child Adolesc psychiatry, 1999, 36(12):1715-1725
- 52 Fergusson DM, Horwood J, Lynskey MT. Structure of DSM-III-R Criteria for disruptive childhood behaviors: confirmatory factor models[J]. J Am Acad Child Adolesc psychiatry, 1994, 33:1145-1157
- 53 高雪屏, 于素维, 苏林雁. 儿童青少年多动冲动行为与父母养育方式的关系[J]. 中国临床心理杂志, 2003, 11(1): 37-39
- 54 耿耀国, 苏林雁, 苏巧荣. 单纯多动症与对立违抗患儿智力和行为比较研究[J]. 中国学校卫生, 2005, 8, 26(8): 639-641
- 55 静进. 注意缺陷多动障碍的预后[J]. 中国实用儿童杂志, 2005, 9, 20(9): 1005-2224
- 56 王婉奕 赵亚茹. 重度肥胖儿童视听整合持续操作测试的对照研究[J]. 中国实用儿童杂志, 2006, 8, 21(8): 105-110
- 57 王振先, 徐兰, 王育龙. 病毒性心肌炎对患儿心理行为的影响[J]. 中华儿科杂志, 2006, 2, 44(2): 323-327
- 58 Faraone SV, Biederman J, Jetton JG, Tsuang MT, et al. Attention deficit disorder and conduct disorder: longitudinal evidence for a familial subtype[J]. Psychol Med, 1997, 5, 27(2):291-300
- 59 Smalley SL, McGough JJ, Del'Homme M, et al. Familial clustering of symptoms and disruptive behaviors in multiplex families with attention-deficit/hyperactivity disorder[J]. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry, 2000, 2, 39(9):1135-1143
- 60 Volk HE, Neuman RJ, Todd RD. et al. A systematic evaluation of ADHD and comorbid psychopathology in a population-based twin sample[J]. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry, 2005, 8, 44(8):768-775
- 61 Burt SA, McGue M, Krueger RF, Iacono WG. et al. Sources of covariation among the child-externalizing disorders: informant effects and the shared environment[J]. Psychol Med, 2005, 8, 35(8):1133-1144
- 62 Langbehn DR, Cadoret RJ, Yates WR, et al. Distinct contributions of conduct and oppositional defiant symptoms to adult antisocial behavior:

evidence from an adoption study[J]. Arch Gen Psychiatry, 1998, 2, 55 (9): 821-9

- 63 王洪, 苏林雁, 黄广文. 注意缺陷多动障碍儿童合并破坏性行为的影响因素分析[J]. 中国实用儿科杂志, 2006, 3, 46 (3): 217-218
- 64 郑海燕, 王金良, 张姝. 师生关系对儿童影响的差异性[J]. 江苏教育学院学报, 2005, 5, 21, (3): 33-35
- 65 Bolger KE, Patterson CJ, Kupersmidt JB. Peer relationships and self-esteem among children who have been maltreated. Child Dev, 1999, 69:1171-1197.

- biosynthetic genes from *Streptomyces spectabilis* ATCC 27741[J]. J Microbiol Biotechn,2003.13(6):906-911
- [17]于广成、郭殿武、邵淑田, 大观霉素发酵培养基优化[J], 中国医药工业杂志; 1998.29 (12): 545-547
- [18]马秀芬、战素侠, 几种环境因素对壮观链霉菌生长的影响[J], 内蒙古大学学报 (自然科学版); 1997.28 (5): 674-677
- [19]王宏斌、邵素兰, 原生质体再生技术在大观霉素菌种选育中的作用[J]. 中国抗生素杂志, 2003.28 (11): 696-697
- [20]向砥、李炯, 姚建铭等, 离子注入选育高产壮观链霉素的研究[J]. 激光生物学报, 2002.11(4):276-279
- [21]欧阳平凯, 胡永红编著.生物分离原理及技术.北京: 化学工业出版社, 1999
- [22]朱素贞主编.微生物制药工艺.北京: 中国医药科技出版社, 2000
- [23]刘茉娥等编著.膜分离技术.北京: 化学工业出版社, 2000
- [24]张雪荣等编著.药物分离与纯化技术.北京: 化学工业出版社, 2005
- [25]严希康编著.生化分离技术.上海: 华东理工大学出版社, 1996
- [26]孙彦编著.生物分离工程.北京: 化学工业出版社, 1998
- [27]徐南平, 邢卫红, 赵宜江.无机膜分离技术与应用.北京: 化学工业出版社, 2003

- [28]刘茉娥等编.膜分离技术应用手册.北京:化学工业出版社,2003
- [29]钱庭宝.离子交换剂应用技术.天津:天津科技出版社,1984
- [30]叶振华.化工吸附分离过程.北京:中国石化出版社,1992
- [31]Ruthven D M.Principles of adsorption and adsorption processes.New York: Wiley & Sons, 1984
- [32]王方,凌达仁,黄文强.国际通用离子交换技术手册.北京:科学技术文献出版社,2000

致 谢

三年在职的研究生学习生活即将结束，在硕士论文完成之际，我要向所有支持、关心和帮助我的人们表示最真挚的感谢！

衷心感谢导师王建武教授在我论文撰写期间给予我的悉心指导，从论文的选题到论文撰写以及在生产中遇到的实际问题，王老师都以其扎实深厚的学识功底、敏锐的洞察力、开阔的视野，帮助我解决的很多的学习和生产中的难题，在此，谨向王建武教授致以最真诚的感谢和衷心的祝福。

衷心感谢鲁抗公司领导以及我车间领导和同事，是他们给了我这次学习深造的机会，在我撰写论文期间，车间领导和我的同事们给予了很多的建议和帮助，才使我论文顺利完成，在此，向鲁抗公司的领导和我车间的领导和同事们表示衷心的感谢！

感谢师弟李广斌在我论文整理期间提供的帮助。

衷心感谢所有的亲人在我这次求学过程中给予我的无微不至的鼓励和支持，浓浓的亲情始终伴随我突破自我，战胜困难，给予我前进的巨大动力，在此谨向他们致以深深的谢意和美好的祝福。

谨以此文献给所有关心和帮助我的人们！

王怀伟

2006年9月

发表论文

- 1: 王怀伟、李广斌、王建武、袁逸汛 盐酸大观霉素检测方法的研究进展 科学学报, 2005年5月第4期 70
- 2: 李广斌、王怀伟、王建武 头孢类抗生素的酶法合成进展 科学学报, 2005年9月第7期 27—28