

· 新技术 ·

用超滤新技术生产人胎盘血白蛋白

杭州第二中药厂 黄伟文 王安行 张国庄

人胎盘血白蛋白生产目前国内多采用盐析工艺。该工艺虽具有比低温乙醇法收率高,设备简单等优点,但生产周期长、难以控制热原、在制备较高浓度规格的制品时,还需采取其他相应方法,因此工艺复杂。据文献报道^{[1][2][3]},国外已采用超滤法生产白蛋白,但国内尚未见报道。84年开始,我们结合原白蛋白生产工艺,用超滤代替末次盐析、透析以及进一步浓缩,并增加一步超滤去热原,解决了盐析工艺存在的问题。该项新技术已由浙江省医药总公司组织专家通过评议,将正式应用于生产。

试验方法与结果

(一) 小 试

1. 浓缩 取1~2%白蛋白稀释液,选择O*膜,在一定压力下进行超滤浓缩,得浓缩液,蛋白浓度分别为21.4%、21.0%、25.7%和21.4%。滤液用30%磺基水杨酸检查,蛋白反应阴性。

2. 脱盐 取约含40%硫酸铵的白蛋白溶液,选择1*膜,在不断引入蒸馏水的条件下,作恒体积超滤脱盐。当引入蒸馏水为白蛋白溶液体积一定倍数时,溶液中硫酸铵含量低于0.05%,达到部颁标准。

3. 除热原 取二批人工污染热原质的白蛋白,分别用3*膜超滤,超滤前后的样品作热原质对照检查,结果分别为:处理前的实验兔平均升温1.6℃,1.1℃,处理后的实验兔平均升温0.32℃,0.43℃。初步认为通

过3*膜超滤,可除去热原质。

(二) 中 试

取分离过两种球蛋白的原液,按原工艺进行一次沉淀、二次沉淀、辛酸钠加温处理,滤液用3*膜超滤除去热原,超滤液再用1*膜浓缩到一定体积,引入注射用水进行恒体积超滤脱盐至残余硫酸铵含量小于0.05%,停止引入注射用水,再继续浓缩至蛋白浓度大于20%。

结果与讨论

经多批中试,产品均合格,表明该超滤工艺可用于批量生产。根据我们的实践有以下几点体会。

超滤膜截留分子量的合理选择十分重要。将辛酸钠加温处理后的滤液,先用3*膜超滤,可截留白蛋白大分子聚合物、球蛋白、其他杂质和热原质,而白蛋白能顺利通过,硫酸铵和水分子也可同时通过。然后用1*膜截留白蛋白分子,而小分子的硫酸铵和水能顺利通过以达到浓缩、脱盐和进一步浓缩的目的。

控制蛋白浓缩终点时,原来使用的是“双缩脲比色法”。蛋白显色易受温度、时间的影响,因而误差较大,难以控制。现改用紫外分光光度法,结果较为理想。即用该法测得蛋白结果和用凯氏定氮法测定结果一致,故在生产上用来控制浓缩终点是可行的,而且方便省时。

在保持恒体积的条件下进行脱盐。试验

中我们根据计算不断引入注射用水进行脱盐。如果操作中使待脱盐液和引入的注射用水搅拌均匀,加上有可靠的终点控制,完全可以保证残余硫酸铵含量合格。

原工艺生产白蛋白,没有有效的去除热原的措施。虽然国内有些单位采取氢氧化铝吸附和滴加氢氧化钠除去热原,但手续麻烦,不易掌握,不能保证热原质检查合格。采用3^{*}膜超滤,使大于白蛋白分子的一类结构复杂的高分子物质(包括热原质)^{[4][5]}截留,使白蛋白分子通过,保证了产品热原检查合格。

用超滤新技术生产人胎盘血白蛋白,据统计每只胎盘的白蛋白回收率超过了国内盐析工艺的先进水平并可节约原料和工时,还可减少冷冻干燥或真空浓缩设备的投资,是

一项能显著提高社会效益和经济效益的新技术。

参 考 文 献

- [1] Curling, J. M. et al: Albumin purification, Cassette System, Process Biochemistry(April), P.22—23, 1977
- [2] Nelsen, L. L, and Reti, A. R.: Albumin purification, UF membranes, Pharm Tech. (May), P.51—56, 1979
- [3] Schneider, W., et al.: Albumin purification, Cassette System, Blut 33, P.275—280, 1983
- [4] O. Sullivan T J, 国外药学(合成药、生化药、制剂分册)6, 页 1985
- [5] 王季午等: 酶试剂在医学上的应用, 39页 浙江科学出版社 1983