

注射用高纯度蛋黄卵磷脂制备新工艺的研究

赵绘绘, 汤鲁宏*

江南大学药学院, 无锡 214122

摘要: 本文探索建立了一条以新鲜蛋黄为原料, 以乙醇为唯一提取溶剂, 制备高纯度注射用蛋黄卵磷脂的新工艺。首先, 用 4 倍重量的 96% (v/v) 乙醇作为沉淀剂将新鲜蛋黄中的蛋白质沉淀为滤饼, 得到初级提取液; 然后, 再用 4 倍重量的 96% (v/v) 乙醇对滤饼抽提 3 次, 提取残余卵磷脂, 得到次级提取液。合并提取液, 置 9 °C 下静置分层, 除去大部分蛋黄油。所得上清液上硅胶柱, 用 86% (v/v) 的乙醇作为洗脱剂, 纯化蛋黄卵磷脂, 经高效液相色谱检测纯度达 98%。并对提取过程进行了优化, 得到最佳工艺条件: 35 °C 的 96% 乙醇溶液, 添加量为 1:4 (w/w) 提取蛋黄液, 180 rpm 转速下搅拌 10 min。抽滤后, 用 60 °C 的 96% 乙醇提取滤饼 3 次, 料液比为 1:4, 静置 15 min。最佳工艺条件下, 蛋黄卵磷脂的提取率可达 93.38%。

关键词: 卵磷脂; 蛋黄; 提取; 纯化

中图分类号: R931.6

文献标识码: A

A New Method for the Preparation of High Purity Egg Yolk Lecithin Used for Injection

ZHAO Hui-hui, TANG Lu-hong*

School of Pharmaceutical Science, Jiangnan University, Jiangsu Wuxi 214122, China

Abstract: A new process was explored and established for the preparation of high purity egg yolk lecithin used for injection using fresh egg yolk as raw material, ethanol as the only extraction solvent. First of all, 4 parts 96% (v/v) ethanol was used to precipitate the protein from the fresh egg yolk. The egg yolk protein as filter cake and the primary extract as filtrate were collected separately; after that, the remaining lecithin in filter cake was extracted by 4 parts 96% (v/v) ethanol for 3 times as the secondary extract. Then the primary and secondary extract were combined and stored at 9 °C over night to remove most of the egg yolk oil. Finally, the resulting supernatant was separated via silica gel column with 86% (v/v) ethanol as eluent, and the purity of egg yolk lecithin fraction, detected by HPLC, reached to 98%. Meanwhile, the extraction process was optimized as follows: for precipitation, 35 °C, the ratio of 96% (v/v) ethanol to fresh egg yolk was 4:1 (w/w), with 180 rpm stirring speed for 10 min; for extraction, 60 °C, the ratio of 96% (v/v) ethanol to filter cake was 4:1, standing 15 min for 3 times. Under optimized conditions, the extraction yield of egg yolk lecithin reached to 93.38%.

Key words: lecithin; egg yolk; extraction; purify

卵磷脂 (lecithin) 又名蛋黄素等, 是一种含磷的极性脂质。广义的卵磷脂指各种磷脂的总称, 狭义的卵磷脂则专指磷脂酰胆碱 (Phosphatidyl choline, 简称 PC)。PC 是天然的表面活性剂和乳化剂, 近年来卵磷脂已被运用在药剂的传递和输送系统中, 如脂肪乳、脂质体等药物, 治疗肝脏脂肪代谢障碍、动脉硬化症等^[1]。PC 的来源广泛, 蛋黄磷脂中 PC 质量占 78%^[2]。据报道蛋黄 PC 可有效降低大鼠对胆固醇的吸收^[3]。因此蛋黄 PC 作为药用辅料用做注射剂日益受到人们的关注。但由于其生产工艺复

杂, 加工成本高, 蛋黄 PC 的发展较缓慢。目前, 国际上制备卵磷脂的方法主要有有机溶剂萃取法、柱层析法、制备薄层色谱法、高效液相色谱法^[4]等。但是对于蛋黄 PC 来说, 其提取纯化方法研究还比较有限。研究最多的是有机溶剂萃取法。2005 年, Luz E. Palacios 等^[5]用乙醇将蛋黄液脱水并提取部分磷脂, 然后用己烷提取全部的脂质。最后使用丙酮沉淀磷脂除去剩余中性脂质, 尤其是胆固醇。磷脂产品的纯度达 95%。此提取方法相对较简单, 使用提取溶剂安全无毒害。但得到的产品为粗磷脂, 纯度未能达到药用级。

本实验探索建立了一条以新鲜蛋黄为原料, 以

乙醇为唯一提取溶剂,制备高纯度注射用蛋黄 PC 的新工艺。并进行了蛋黄脱水脱脂和蛋黄滤饼脂肪抽提的正交试验,获得了较高的蛋黄粗磷脂的总回收率。然后经柱层析纯化,以乙醇水溶液为洗脱剂,得到纯度为 98% 的蛋黄 PC。本课题以期开发一种简单且低成本的蛋黄卵磷脂的生产工艺,并实现生产的规模化,批量化。

1 材料与方法

1.1 原料、试剂与仪器

原料:新鲜鸡蛋;试剂:乙醇为分析纯,购自国药集团化学试剂公司;98% 蛋黄 PC 标样,由上海艾伟特公司提供的日本进口产品;仪器:水浴锅,上海医疗器械五厂;德国 IKA RW20 顶置式电子搅拌器;旋转蒸发仪,上海申顺生物科技有限公司; $\phi 30\text{ cm} \times 0.8\text{ cm}$ 具活塞玻璃层析柱;美国 Agilent 1100 高相液相色谱仪。

1.2 试验方法

1.2.1 新鲜蛋黄液用乙醇进行脱水脱脂处理的研究

以 30 g 新鲜蛋黄为基准,选取乙醇浓度(A/%),乙醇添加量(B/g),提取温度(C/°C),提取时间(D/min)四因素,用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,考察各因素对蛋黄经乙醇提取一次的滤饼中脂肪含量的影响。各因素水平选取见表 1。

1.2.2 脱水脱脂处理残渣用乙醇进行脂肪抽提的研究

取 600 g 新鲜蛋黄液,在 1.2.1 项优化得出的最佳条件下进行脱脂脱水处理,所得滤液留作下一步实验的原料,所得湿滤饼用做本实验的原料。以 30 g 蛋黄湿滤饼为基准,选取料液比(A,v/w),提取次数(B),提取温度(C/°C),提取时间(D/min)四因素,用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,考察各因素对蛋黄滤饼中脂肪含量的影响。各因素水平选取见表 2。

1.2.3 蛋黄卵磷脂提取和纯化流程

取一只洁净的三口瓶,加入乙醇溶液,水浴加热。将搅拌均匀的新鲜蛋黄液,缓慢加入三口瓶中,边加边搅拌,加完后继续搅拌 10 min。抽滤,滤液旋蒸,回收部分溶剂,用作下一步提取。滤饼用乙醇浸泡提取,重复 2 次。再次抽滤,所得滤饼经自然晾干,为主要副产品蛋黄蛋白。上述步骤所得滤液合并,低温静置分层,除去下层蛋黄油。上层溶液置于

4 °C 冰箱保存,待用。

采用 $\phi 30\text{ cm} \times 0.8\text{ cm}$ 号具塞玻璃柱,以 100 ~ 200 目硅胶为固定相,湿法装柱。取一定量的上层溶液上柱,用 86% 的乙醇溶液洗脱,分别收集洗脱液,以薄层层析法检测洗脱液中卵磷脂的纯度。待洗脱液中只含有纯卵磷脂,减压蒸馏,回收溶剂。获得蛋黄 PC 的纯品。

1.2.4 柱层析单因素条件优化

1.2.4.1 最佳温度的测定

以 100 ~ 200 目硅胶为固定相,以径高比 1:23 作为柱层析条件,上样量为 2 mL 蛋黄卵磷脂乙醇溶液/7 g 硅胶。分别在 <10、15、25 °C 的温度下进行柱层析纯化实验。

1.2.4.2 最佳柱材料粒径的测定

在最佳温度下,分别选用 100 ~ 200 目、60 ~ 100 目的硅胶作为柱材料,选取径高比为 1:23,进行最佳粒径的测定实验。

1.2.4.3 最佳径高比的测定

在最佳温度下,选取最佳粒径的柱材料,上样量为 2 mL 蛋黄卵磷脂乙醇溶液/7 g 硅胶,选定径高比为 1:7.5、1:15、1:23 三个条件进行最佳径高比测定。

1.2.4.4 最佳上样量的测定

在最佳温度下,选取最佳粒径的柱材料,在最佳径高比的条件下,改变上样量测定最佳的上样量。作者选定了如下三个条件,上样量为 1 mL 蛋黄卵磷脂乙醇溶液/7 g 硅胶,上样量为 2 mL 蛋黄卵磷脂乙醇溶液/7 g 硅胶,上样量为 4 mL 蛋黄卵磷脂乙醇溶液/7 g 硅胶。

1.2.5 蛋黄卵磷脂的检测

1.2.5.1 薄层层析法定性检测

以薄层层析硅胶 G 为固定相,以 0.5% 的羧甲基纤维素钠溶液为粘合剂,以 1:2.5 的比例配制,制备层析用薄板,自然晾干后,105 °C 下活化 2 h,干燥器中冷却。以氯仿:甲醇:水(65:25:4,v/v)^[5]为展开剂,展开结束后,将溶剂吹干,碘熏显色。

1.2.5.2 消化定磷法检测卵磷脂含量^[6]

采用《中华人民共和国药典 2010 版》中蛋黄卵磷脂的磷含量的测定法。

1.2.5.3 高效液相色谱检测^[6]

采用《中华人民共和国药典 2010 版》中蛋黄卵磷脂的高效液相色谱条件检测。

2 结果与讨论

2.1 蛋黄卵磷脂的提取

2.1.1 新鲜蛋黄液用乙醇进行脱水脱脂处理的研究

以 30 g 新鲜蛋黄液为基准,选取乙醇浓度 [A/% (v/v)],乙醇添加量 (B/g),处理温度 (C/°C),处理时间 (T/min) 四因素的正交试验结果见表 1。

表 1 蛋黄液用乙醇进行脱水脱脂处理正交试验的结果

Table 1 Result of orthogonal experiment for the dehydration and degreasing of egg yolk liquid by ethanol

| 实验编号 No. | 乙醇浓度 A Concentration of ethanol(%, v/v) | 乙醇添加量 B Quantity of ethanol (g) | 提取温度 C Temperature (°C) | 提取时间 D Exaction duration (min) | 剩余脂肪含量 Content of fat residue(g) |
|----------------|---|---------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|--|
| 1 | 100% (A ₁) | 60(B ₁) | 10(C ₁) | 5(D ₁) | 7.9877 |
| 2 | A ₁ | 90(B ₂) | 35(C ₂) | 10(D ₂) | 3.8625 |
| 3 | A ₁ | 120(B ₃) | 60(C ₃) | 15(D ₃) | 7.5851 |
| 4 | 96% (A ₂) | B ₁ | C ₂ | D ₃ | 7.2860 |
| 5 | A ₂ | B ₂ | C ₃ | D ₁ | 7.2840 |
| 6 | A ₂ | B ₃ | C ₁ | D ₂ | 6.8253 |
| 7 | 86% (A ₃) | B ₁ | C ₃ | D ₂ | 8.3264 |
| 8 | A ₃ | B ₂ | C ₁ | D ₃ | 8.8121 |
| 9 | A ₃ | B ₃ | C ₂ | D ₁ | 5.4208 |
| K ₁ | 6.478 | 0.624 | 7.875 | 6.897 | |
| K ₂ | 7.126 | 0.549 | 5.517 | 6.338 | |
| K ₃ | 7.520 | 0.571 | 7.732 | 7.888 | |
| R | 1.042 | 1.251 | 2.358 | 1.550 | |

由表 1 可见,所考查的四个影响因素中,各因素的影响次序分别为 C > D > B > A。即处理温度影响最大,处理时间次之,而乙醇的浓度对提取影响最小。经正交直观分析的结果显示,A₁B₃C₂D₂ 的搭配组合的脂肪剩余量最小,提取得到的卵磷脂最多。其中提取剂温度以 35 °C 为最佳,时间以 10 min 为最佳,乙醇的添加量以 120 g 为最佳,乙醇的浓度以 100% 为最佳。

正交试验统一选定搅拌转速 180 rpm,保证溶液与蛋黄充分接触。而运用于实际生产则可根据生产投入原料的量来决定转速的大小,使蛋黄与乙醇溶

液最大面积接触,保证蛋黄不沉淀在反应釜底部,同时又不会因转速太大,导致能量损耗而增加生产成本。而在蛋黄残渣的提取过程中,考虑到工业生产中的生产设备及成本问题,放弃了搅拌,选用静置条件,只轻轻摇动,使蛋黄残渣呈蓬松状态即可。

2.1.2 脱水脱脂处理残渣用乙醇进行脂肪抽提的研究

以 30 g 蛋黄滤饼为基准,选取料液比 (A/g),抽提次数 (B),抽提温度 (C/°C),抽提时间 (D/min) 四因素的进行正交实验。分别以无水乙醇和 96% 的乙醇提取的正交结果见表 2 和表 3。

表 2 蛋黄滤饼用无水乙醇进行脂肪抽提正交试验的结果

Table 2 Result of orthogonal experiment for fat extraction from egg yolk residue with anhydrous ethanol

| 实验编号 No. | 料液比 A Ratio of solid to liquid | 提取次数 B Times of extraction | 提取温度 C Temperature (°C) | 提取时间 D Exaction duration (min) | 剩余脂肪含量 Content of fat residue(g) |
|-------------|--------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|--|
| 1 | 1:2 (A ₁) | 1 (B ₁) | 10 (C ₁) | 15 (D ₁) | 5.000 |
| 2 | A ₁ | 2 (B ₂) | 35 (C ₂) | 30 (D ₂) | 2.6428 |
| 3 | A ₁ | 3 (B ₃) | 60 (C ₃) | 60 (D ₃) | 0.2325 |
| 4 | 1:3 (A ₂) | B ₁ | C ₂ | D ₃ | 2.7382 |
| 5 | A ₂ | B ₂ | C ₃ | D ₁ | 0.5115 |

| | | | | | |
|----------------|----------------------|----------------|----------------|----------------|--------|
| 6 | A ₂ | B ₃ | C ₁ | D ₂ | 2.5917 |
| 7 | 1:4(A ₃) | B ₁ | C ₃ | D ₂ | 0.8729 |
| 8 | A ₃ | B ₂ | C ₁ | D ₃ | 3.3672 |
| 9 | A ₃ | B ₃ | C ₂ | D ₁ | 0.4596 |
| K ₁ | 2.625 | 2.870 | 3.653 | 1.990 | |
| K ₂ | 1.947 | 2.174 | 1.947 | 2.036 | |
| K ₃ | 1.567 | 1.095 | 0.539 | 2.113 | |
| R | 1.058 | 1.775 | 3.114 | 0.123 | |

由表2可见,所考查的四个影响因素中,各因素的影响次序分别为C>B>A>D。即处理温度影响最大,抽提次数次之,而抽提时间对提取影响最小。经正交直观分析的结果显示,A₃B₃C₃D₁的搭配组合

的脂肪剩余量最小,提取得到的卵磷脂最多。其中,提取剂温度以60℃为最佳,提取次数以3次为最佳,乙醇的添加量以120g为最佳,时间以15min为最佳。

表3 蛋黄滤饼用96%乙醇进行脂肪抽提的正交试验表

Table 3 Result of orthogonal experiment for fat extraction from egg yolk residue with 96% ethanol

| 实验编号 No. | 料液比 A Ratio of solid to liquid | 提取次数 B Times of extraction | 提取温度 C Temperature (℃) | 提取时间 D Exaction duration(min) | 剩余脂肪含量 Content of fat residue (g) |
|----------------|--------------------------------------|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|---|
| 1 | 1:2(A ₁) | 1(B ₁) | 10(C ₁) | 15(D ₁) | 5.2395 |
| 2 | A ₁ | 2(B ₂) | 35(C ₂) | 30(D ₂) | 3.4822 |
| 3 | A ₁ | 3(B ₃) | 60(C ₃) | 60(D ₃) | 0.7527 |
| 4 | 1:3(A ₂) | B ₁ | C ₂ | D ₃ | 2.1412 |
| 5 | A ₂ | B ₂ | C ₃ | D ₁ | 0.4916 |
| 6 | A ₂ | B ₃ | C ₁ | D ₂ | 4.5591 |
| 7 | 1:4(A ₃) | B ₁ | C ₃ | D ₂ | 1.6263 |
| 8 | A ₃ | B ₂ | C ₁ | D ₃ | 2.9982 |
| 9 | A ₃ | B ₃ | C ₂ | D ₁ | 1.7175 |
| K ₁ | 3.158 | 3.002 | 4.266 | 2.483 | |
| K ₂ | 2.397 | 2.324 | 2.447 | 3.223 | |
| K ₃ | 2.114 | 2.343 | 0.957 | 1.964 | |
| R | 1.044 | 0.678 | 3.309 | 1.259 | |

由表3可见,所考查的四个影响因素中,各因素的影响次序分别为C>D>A>B。即处理温度影响最大,处理时间次之,而提取次数对提取影响最小。经正交直观分析的结果显示,A₂B₂C₃D₁的搭配组合的脂肪剩余量最小,即提取得到的卵磷脂最多。其中,温度以60℃为最佳,提取次数以3次为最佳,乙醇的添加量以120g为最佳,时间以60min为最佳。

综上所述,不同浓度的乙醇提取蛋黄滤饼中的卵磷脂,其影响因素对提取率的主次也发生改变。粗蛋黄卵磷脂中包含磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、胆固醇等,各物质在无水乙醇和96%的乙醇中溶解度

不同,故导致最佳条件的差异。在实验过程中,回收的乙醇浓度为92%,可加入等体积的无水乙醇,配制成96%的乙醇。为了实现乙醇的回收再利用,减少乙醇的用量,在提取过程中选择96%的乙醇代替无水乙醇在最佳条件下提取蛋黄卵磷脂。

2.1.3 蛋黄卵磷脂最佳提取工艺验证

为了验证实验结论的可靠性,我们取300g新鲜蛋黄液,在最佳条件下,即35℃的96%乙醇溶液,添加量为1:4(w/w)提取蛋黄液,180rpm转速下搅拌10min。抽滤后,用60℃的96%乙醇提取滤饼,料液比为1:4,静置15min,对最佳工艺条件

进行了验证实验。得到结果如下表 4。

表 4 蛋黄提取后所得各产物的量

Table 4 Content of each product in egg yolk after extraction

| | 蛋黄蛋白 Egg yolk protein | 蛋黄油 Egg yolk oil | 粗磷脂 Crude lecithin |
|---|--------------------------|---------------------|-----------------------|
| 300 g 蛋黄液分离提取所得到的量 Quality for extract from 300 g of egg yolk liquid | 47.8 g | 32.6 g | 30.68 g |
| 实际得率 Actual yield | 16% | 10.9% | 10.2% |

蛋黄经提取后所得各物质,测其磷脂含量。其中,蛋黄蛋白经索氏抽提将残留其中的脂肪全部抽出,共 2.4 g。分别取残留在蛋白中的脂肪,蛋黄油

和粗磷脂适量,经消化定磷法测其消光值,计算得到磷脂在各组分中的分布结果见表 5。

表 5 磷脂在各产物中的分布

Table 5 Distribution of phospholipids in the components

| | 总量 Total mass (g) | 脂含量 Lipid content (%) | 脂中的磷脂含量 Content of l ecithin in lipid(%) | 所含磷脂量 Lecithin content (g) | 占总磷脂的 百分含量 Percentage of lecithin(%) |
|----------------------|-------------------------|-----------------------------|--|----------------------------------|--|
| 蛋白质 Egg yolk protein | 47.8 | 5 | 7.5 | 0.18 | 0.66 |
| 蛋黄油 Egg yolk oil | 32.6 | - | 5.0 | 1.63 | 5.96 |
| 粗磷脂 Crude lecithin | 30.7 | - | 83.2 | 25.54 | 93.38 |
| 合计 Total | 111.1 | | | 27.35 | |

2.2 蛋黄卵磷脂的纯化

蛋黄卵磷脂粗品经硅胶柱层析分离纯化,86%的乙醇溶液洗脱分离。首先被洗脱下来的是残余蛋黄油和胆固醇,然后是脑磷脂,最后是卵磷脂。卵磷脂会出现拖尾现象,故需要大量的 86% 乙醇洗脱。实验过程发现,温度对产品的洗脱有很大影响。

2.2.1 最佳温度的测定

在不同温度条件下,蛋黄卵磷脂在 86% 的乙醇中溶解度不同。在硅胶柱层析上的分离效果也不同。当温度为 15 ℃ 或低于此温度时,PE 洗脱完毕会有 5 个柱体积是空白,即无溶质。然后可洗脱出 PC,故可将 PE 完全分离下来。而当温度为 25 ℃ 时,第 16~19 柱体积内含 PE 和 PC 的混合物,分离效果不好。另外,温度越高洗脱的速度越快,综合考虑选定最佳温度 15 ℃。

2.2.2 最佳柱材料粒径的测定

选择粒径不同的硅胶柱分离蛋黄卵磷脂的结果为:在 60~100 目的硅胶填充的柱子上分离,第 15~20 柱体积内既含有 PE,又含有 PC。而以 100~200 目的硅胶作为柱材料的层析柱可完全将 PC 分离。因此最佳的柱材料为 100~200 目硅胶。

2.2.2 最佳径高比的测定

作者分别选定径高比为 1:7.5、1:15、1:23 三个

条件进行了最佳径高比测定。实验结果为:径高比为 1:7.5 时,第 5~8 柱体积收集的是 PE 和 PC 的混合物;径高比为 1:15 时,第 13 和 14 管收集到空白溶液;径高比为 1:23 时,第 17~21 为空白溶液,第 22 管开始收集 PC。由此可得,径高比越大,分离效果越好。因此实验选定径高比为 1:23。

2.2.3 最佳上样量的测定

不同上样量的柱层析实验结果:当上样量为 1 mL 时,由于卵磷脂的量太少,薄层层析检测时未能在相应位置找到斑点。上样量为 2 mL 时,可将 PC 完全分离。当增加上样量到 4 mL 时,第 22~26 柱体积收集到了 PE 和 PC 的混合物,第 33 柱体积开始收集到纯的 PC。继续增加上样量到 6 mL 时,第 22~32 柱体积收集到混合物,第 33 管开始收集到纯的 PC。故 7 g 硅胶装柱,上样量为 2 mL 时,含粗磷脂为 0.16 g 为最佳。

2.2.4 蛋黄卵磷脂纯化结果检测

提取得到的蛋黄卵磷脂,经低温静置分层,除去部分蛋黄油后。上柱层析分离纯化,收集到的洗脱液,经薄层色谱分析,最后收集到的洗脱液为单斑点,只含有纯的蛋黄卵磷脂。将最后但斑点组分收集起来,回收溶剂。严格按照国家药典方法检测,以

上海艾伟特公司提供的从日本进口的纯度为 98% 的卵磷脂作为标样,得到如下高效液相色谱图。

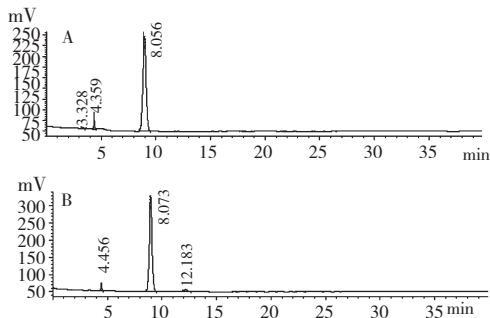


图 1 卵磷脂标准品 (A) 及蛋黄卵磷脂产品 (B) 的高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of lecithin standard (A) and purified egg yolk lecithin (B)

如图 1(A) 为 98% 卵磷脂标准品的高效液相图谱,卵磷脂的保留时间为 8.0 min。图 1(B) 中在 8.0 min 时为卵磷脂,鉴定结果分析得到纯化后蛋黄卵磷脂纯度达 98%。

3 结论

本课题从工业化生产注射级蛋黄 PC 的视角考虑,先采用溶剂提取法从蛋黄中提取得到卵磷脂粗品,然后经柱层析分离纯化,获得纯度较高可用作注射剂药物添加剂的蛋黄 PC。

在提取过程中,以鸡蛋作为原料,只使用单一溶剂乙醇搅拌浸提获得卵磷脂粗品。原料丰富易得,成本低廉。提取剂便宜无害,只使用乙醇而不动用氯仿乙醚等抑制溶剂。在提取过程中,回收的乙醇浓度达 92%,可加入等体积的无水乙醇配制成 96% 的乙醇,用于下一步提取,降低乙醇的用量,减少损

耗,降低成本。同时,提取过程简便易行,无污染绿色环保。通过对乙醇提取过程中的工艺条件优化的探究,发现影响整个提取过程最主要的因素为温度,确定了最佳反应条件。取四倍重量的 96% 乙醇,加热至 35 °C 提取蛋黄液,搅拌 10 min。抽滤后,用四倍重量的 96% 乙醇加热至 60 °C,提取滤饼。后滤液经低温静置分层后,得到粗磷脂。其纯度为 83.2%,提取率为 93.38%。粗磷脂经柱层析纯化后,得到纯蛋黄 PC,经高效液相色谱检测其纯度达 98%。

本课题完成了实验室生产高纯度蛋黄卵磷脂的工艺流程,为形成规模化的工业生产提供了依据,奠定了基础。

参考文献

- Anton M, Nau F, Nys Y. Bioactive egg components and their potential uses. *World Poultry Sci J*, 2006, 62: 429-438.
- Guo Z, Vikbjerg AF, Xu X. Enzymatic modification of phospholipids for functional applications and human nutrition. *Biotechnol Adv*, 2005, 23: 203-259.
- Jiang Y, Noh SK, Koo SI. Egg phosphatidylcholine decreases the lymphatic absorption of cholesterol in rats. *J Nutr*, 2001, 131: 2358-2363.
- He HB(何海波), Zhang WN(张维农), Da SL(达世禄), et al. Advance of separation and purification of nature phospholipids by chromatography. *J Anal Sci* (分析科学学报), 2004, 20: 97-101.
- Palacios LE, Wang T. Egg-yolk lipid fractionation and lecithin characterization. *J Am Oil Chem Soc*, 2005, 82: 571-578.
- Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*. Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol II, 1228.
- Kim KY, Nama KA, Kurihara H, et al. Potent α -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. *Phytochemistry*, 2008, 16: 2820-2825.
- Lee SS, Lin HC, Chen CK. Acylated flavonol monorhamnosides, α -glucosidase inhibitors, from *Machilus philippinensis*. *Phytochemistry*, 2008, 12: 2347-2353.
- Kang WY(康文艺), Zhang L(张丽), Song YL(宋艳丽). α -Glucosidase inhibitors from *Luculia pinciana*. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2009, 4: 406-409.

(上接第 552 页)

- Hiroyuki F, Tomohide Y, Kazunori O. Efficacy and safety of Touchi extract, an alfa-glucosidase inhibitor derived from fermented soybeans, in non-insulin-dependent diabetic mellitus. *Nutr Biochem*, 2001, 6: 351-356.
- Matsui T, Ueda T, Oki T, et al. α -Glucosidase inhibitory action of natural acylated anthocyanins. 1. Survey of natural pigments with potent inhibitory activity. *J Agric Food Chem*, 2001, 4: 1948.