

文章编号 :1009 - 038X(2002)03 - 0302 - 03

乙醇对柱层析分离大豆磷脂中磷脂酰胆碱的影响

曹 栋, 裘爱泳, 王兴国, 刘 悦
(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要 :研究了不同体积分数的乙醇溶液对柱层析分离大豆磷脂中磷脂酰胆碱的影响,为工业化色谱法生产磷脂酰胆碱提供了一定的依据.不同体积分数乙醇在不同洗脱体积下得到的样品,其磷脂酰胆碱的质量分数为 60% ~ 100% .

关键词 :色谱 ; 卵磷脂 ; 磷脂 ; 磷脂酰胆碱

中图分类号 :Q 545

文献标识码 :A

The Effect of Different Concentration of Ethanol on the Isolation of Phosphatidyl Choline from Soybean Phospholipid by Column Chromatography

CAO Dong, QIU Ai-yong, WAN Xin-guo, LIU Yue
(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract : The soybean phosphatidylcholine was isolated from soybean phospholipids by column chromatography. The eluting agents were alcohols. The enrichment of phosphatidylcholine was about 60% ~ 100% , which indicated that industrial processing of phosphatidylcholine by the Al_2O_3 column chromatography could be performed.

Key words : chromatography ; lecithin ; phospholipid ; phosphatidylcholine

磷脂主要来源于大豆和卵黄,是一类含磷的系列化合物.不同的磷脂具有不同的食品加工性能和生物学功能.磷脂酰胆碱相比于其它磷脂具有更为重要的生物学功能.从磷脂中分离磷脂酰胆碱一直是磷脂研究的重要课题.主要方法包括低碳醇法、超滤法、沉淀法、色谱法和超临界流体法等.作者研究了乙醇体积分数对三氧化二铝柱层析法分离大豆磷脂酰胆碱的影响.

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

薄层扫描仪 :CS-910 型,日本岛津公司产品 ;

大豆粉末磷脂 :黑龙江建三前进油厂提供 ;三氧化二铝 :100-200 目,上海化学试剂厂产品.

1.2 实验方法

1.2.1 柱的制备 三氧化二铝柱的制备采用湿法装填^[1].

1.2.2 样品处理与洗脱 取 10 g 大豆磷脂样品于 250 mL 的三颈烧瓶中,加入 100 mL 95% (体积分数)的乙醇,通氮条件下于 40 ℃ 搅拌 1 h,室温下过滤.取滤液 10 mL,用 95% 乙醇稀释到 50 mL 作为上柱样品.用不同体积分数的乙醇对柱进行洗脱,每 25 mL 洗脱液收集一次,收集的洗脱液用于分析.

收稿日期 :2001 - 11 - 23 ; 修订日期 :2002 - 01 - 27.

作者简介 :曹栋(1960 -),男,江苏海安人,粮食、油脂与植物蛋白工程博士研究生,副教授.

万方数据

2 结果与讨论

2.1 不同体积分数乙醇对磷脂流出曲线的影响
不同体积分数乙醇对磷脂洗脱的流出曲线见图 1~3.

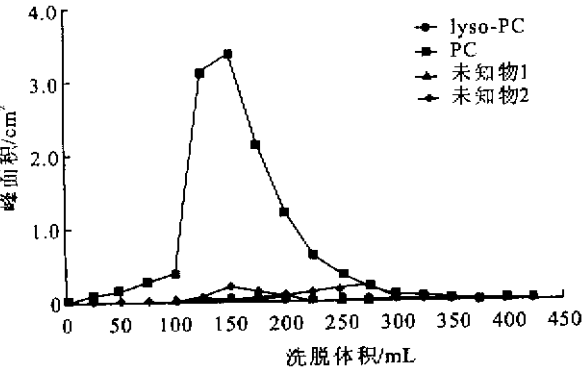


图 1 95%乙醇为洗脱液的流出曲线
Fig.1 95% ethanol eluting curves

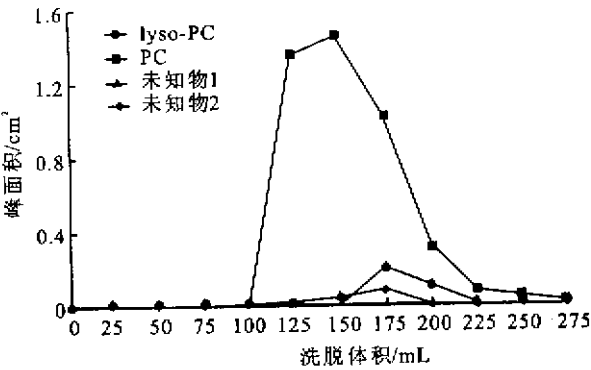


图 2 85%乙醇为洗脱液的流出曲线
Fig.2 85% ethanol eluting curves

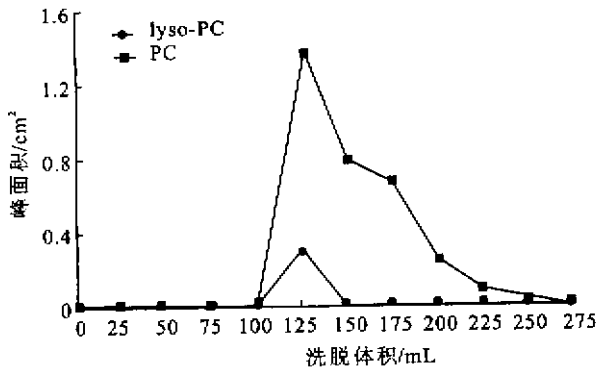


图 3 75%乙醇为洗脱液的流出曲线
Fig.3 75% ethanol eluting curves

由图 1~3 可见,磷脂酰胆碱流出曲线,其磷脂酰胆碱含量在洗脱体积 90% 以上的区间随着乙醇体积分数的增加而降低,95%乙醇为 100~225 mL; 85%乙醇为 100~200 mL; 75%乙醇为 100~175 mL,洗脱组分数 ≤ 4 (大豆磷脂在同样条件下的组分数为 8,见参考文献[4]),在洗脱的组分中不含有磷

脂酰乙醇胺.磷脂酰乙醇胺与磷脂酰胆碱得到完全分离.且减小乙醇体积分数,有利于磷脂酰胆碱质量分数的提高,特别是 75%乙醇的洗脱液,只含有少量的溶血磷脂酰胆碱.由流出曲线的峰形还可以看出,随着乙醇体积分数的降低,其峰的拖尾现象变得更加严重,这是由于乙醇体积分数降低,使得磷脂酰胆碱的溶解度降低.据报道,在乙醇纯化磷脂酰胆碱时,乙醇体积分数不能低于 85%,低于 85%时,磷脂会在溶液中形成胶体,并把它定义为乙醇极限体积分数^[3].作者研究发现:在层析法纯化磷脂酰胆碱时,在本样品质量分数条件下,这一极限体积分数可达 75%,这更有利于磷脂酰胆碱的纯化,乙醇体积分数低于 75%,磷脂酰胆碱的洗脱变得困难(这已被实验所证实,用 65%乙醇洗脱时,很难将磷脂酰胆碱洗出).从图 1~3 还可以看出,用乙醇洗脱,磷脂酰胆碱的开始流出体积与乙醇体积分数有关.乙醇体积分数高,磷脂酰胆碱的开始流出体积小,95%的乙醇时为 25 mL,而在 85%和 75%的乙醇时为 100 mL.证明用 95%乙醇作洗脱剂时,磷脂酰胆碱在柱内基本没有吸附,这对去除杂质有不利的一面.因此,在用此方法纯化磷脂酰胆碱时,乙醇体积分数宜在 85%~75%之间.

2.2 不同体积分数乙醇洗脱液得到的样品纯度
95%乙醇洗脱液得到的样品纯度作者已进行了报道^[4].这里就 85%和 75%乙醇洗脱液得到的样品纯度进行讨论.其实验结果见图 4~5.

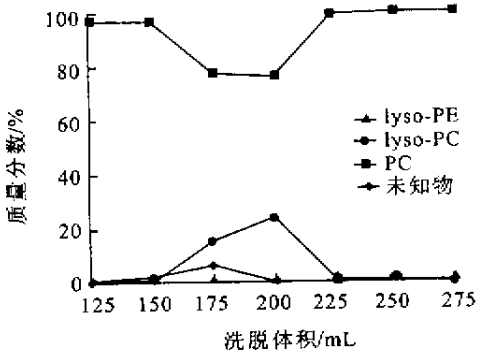


图 4 85%乙醇为洗脱液相应于不同洗脱体积各组分的
质量分数
Fig.4 The content of different compound eluted by
85% ethanol

由图可见:以 85%乙醇为洗脱液时,洗脱体积在 125~150 mL 间,PC 纯度为 97.8%~97.3%;洗脱体积在 175~200 mL 间,PC 纯度为 77.9%~76.2%,这主要是由于未知物含量的升高造成的;洗脱体积在 225~275 mL 间,PC 纯度为 100%.而以 75%乙醇为洗脱液时,在洗脱体积 150 mL 以后,

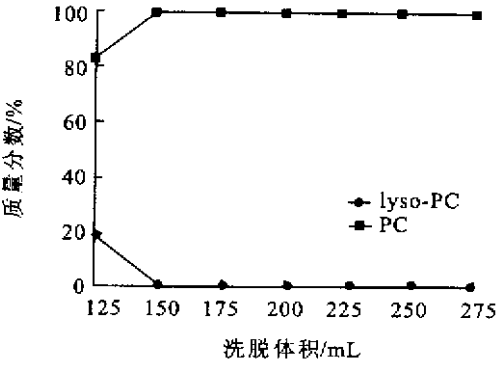


图 5 75%乙醇为洗脱液相应于不同洗脱体积各组分的质量分数

Fig. 5 The content of different compound eluted by 75% ethanol

PC 纯度为 100%。因此在用层析法纯化磷脂酰胆碱时,可根据所要求产品纯度的不同选用不同体积分数乙醇作为洗脱液,同时在不同的洗脱体积进行收集.图 6 和图 7 为洗脱总体积对应的磷脂酰胆碱的纯度和得率.

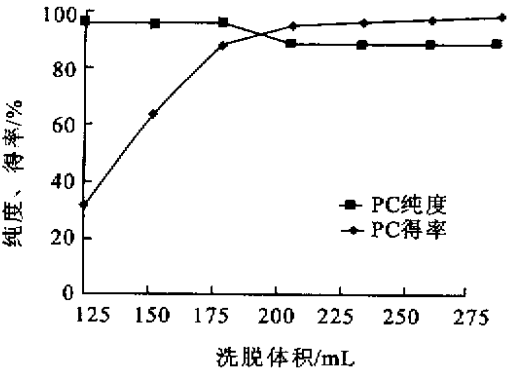


图 6 85%乙醇为洗脱液其总洗脱体积与 PC 纯度和得率的关系

Fig. 6 The relation of eluting volumn, purity and yield when eluted with 85% ethanol

由图 6、图 7 可见,如果一次性从开始收集洗脱

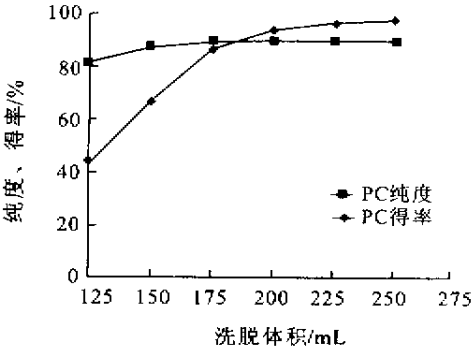


图 7 75%乙醇为洗脱液其总洗脱体积与 PC 得率和纯度的关系

Fig. 7 The relation of eluting volumn, purity and yield from elution of 75% ethanol

液,在不同的洗脱液体积所得到的磷脂酰胆碱的纯度和得率是不同的.用 85%乙醇洗脱时,前 175 mL 洗脱液的 PC 纯度为 97% 左右,得率为 90% 左右.而洗脱到 275 mL 时,PC 的纯度为 90%,得率可达 100%.用 75%乙醇洗脱时,前 150 mL 洗脱液中 PC 的纯度为 87.9%,得率为 67.1%,而洗脱到 250 mL 时,PC 的纯度为 91.6%,得率可达 100%.综上所述,要使得 PC 纯度达 100%,可以采用分段收集的办法,但此时 PC 的得率较低(见图 4,5).

需要说明的是,尽管有时产品中 PC 的纯度接近,但由于所含其它磷脂的成分及组成不同,这直接影响到产品的应用,特别是在药物定向脂质体上的应用.

3 结 语

通过研究,用单一溶剂乙醇对柱层析进行洗脱,可以得到高纯度的磷脂酰胆碱,克服了以前用 CH_3Cl_3 和 CH_3OH 混合剂洗脱的诸多问题,为工业生产中用色谱法制取 PC 提供了一定的依据.

参考文献:

[1] LARY. Chromatographically homogeneous lecithin from egg phospholipids[J]. *JAACS*,1965,42 56-60.
[2] KWAN L. The purification of phospholipids[J]. *J Food Sci*,1991,156(6) :1537-1541.
[3] WEBER E J. Corn and soybean lecithin[J]. *JAACS*,1981,47 26-31.
[4] 曹栋. 柱层析分离大豆砵脂中砵脂酰胆碱的研究[J]. *中国油脂*. 2001(6) :1.
[5] MARIAN SOSADE. Optimal conditions for fractionation of rapeseed lecithin with alcohols[J]. *JAACS*,1993,70(4) 405-410.
[6] KWAN L. Fractionation of water-soluble and -insoluble components from egg yolk with minimum use of organic solvents[J]. *J of Food Science*,1991,56(6) :1537-1541.
[7] RAHE J A. New colorimetric method for the quantitative estimation of phospholipids without acid digestion[J]. *Lipid Res*, 1973,14 695-699.
[8] SZUKAJ B F. Lecithin production and utilization[J]. *JAACS*,1983,60 306-310.