氧化铝对鸭蛋中磷脂酰乙醇胺的吸附过程研究

杨　红，朱建航*，张　帆
（南昌大学　环境与化学工程学院，江西 南昌 330031）

摘要：磷脂在食品和医药行业应用广泛。在磷脂的分离纯化方法的研究中，吸附法是一种应用较普遍的方法。为了更好的分离和纯化磷脂单体，作者利用高效液相色谱法考察了吸附法中吸附剂氧化铝静态吸附磷脂酰乙醇胺的动力学规律和热力学规律。结果表明：氧化铝在鸭蛋黄磷脂/甲醇溶液中吸附磷脂酰乙醇胺的行为符合二级动力学模型，吸附速率主要由分子内部扩散控制，但它并不是唯一的控制因素。等温吸附过程更符合Langmuir方程，吸附过程为熵驱动的放热、熵增的自发过程。

关键词：磷脂酰乙醇胺；氧化铝；动力学；吸附热力学
中图分类号：Q545　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1673—1689(2015)04—0430—06

Studies on the Adsorption Process of Phosphatidylethanolamine in Egg Yolk Adsorbed onto Alumina

YANG Hong，*ZHU Jianhang**，*ZHANG Fang*
(School of Environmental and Chemical Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, China)

Abstract: Phospholipids have been widely used in the food and pharmaceutical industries. The adsorption is generally employed to separate and purify phospholipids. The static adsorption of phosphatidyl ethanolamine in egg yolk onto alumina was investigated and the kinetics and thermodynamics of the adsorption were studied using the high performance liquid chromatography. The fit model of the adsorption in phospholipids/methanol solution was the second-order kinetic model, where the internal diffusion was the key control of the adsorption but not the only one. The isothermal adsorption can be well explained using Langmuir Adsorption Isotherm. The adsorption process was a spontaneous exothermic process resulted from the increase in the systems entropy.

Key words: phosphatidyl ethanolamine, alumina, adsorption kinetic, thermodynamics

磷脂在食品和医药行业应用广泛，人们对它的研究主要集中在生理功能和分离纯化方面[1-4]。鸭蛋黄磷脂主要含有磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺[5-7]。目前，高纯度磷脂单体的制备受到了高度重视[8]，其精制的方法主要有溶剂萃取法、超临界萃取法、吸附法等[9,10]。吸附法中主要使用的吸附剂是氧化铝，因其在甲醇溶液中对磷脂酰乙醇胺的吸附性较强，能够很好的分离和纯化磷脂单体。作者研究了吸附法中氧化铝在常温条件下静态吸附磷脂酰乙醇胺的动力学规律，以及在不同的温度下的吸附热力

收稿日期：2014-07-16
*通讯作者：朱建航(1975-)，男，江西南昌人，教授，主要从事缓释药剂开发研究。E-mail:envzjh@ncu.edu.cn

学规律，为氧化铝吸附法制备高纯度磷脂单体的工业化提供相关动力学和热力学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

磷脂酰乙醇胺（质量分数≥97%）标准品：Sigma公司产品；鸭蛋黄磷脂：实验室自制；氧化铝：层析用（100～200目），国药集团化学试剂有限公司产品；甲醇：色谱纯，国药集团化学试剂有限公司产品；高效液相色谱仪：Agilent1100，美国Agilent公司产品。

1.2 试验方法

1.2.1 磷脂酰乙醇胺标准曲线的绘制 精密称取5.4 mg磷脂酰乙醇胺标准品置于10 mL容量瓶中，加入色谱纯甲醇溶解定容，摇匀，配成磷脂酰乙醇胺标准品溶液。用高效液相色谱法（HPLC）测定磷脂酰乙醇胺的峰面积，磷脂酰乙醇胺的进样量分别为20、15、10、5、1 μL，以峰面积对标品含量绘制标准曲线。

1.2.2 静态吸附动力学特性的测定 称量100 mg自制鸭蛋黄磷脂置于150 mL的具塞磨口三角瓶中，投入50 mL的甲醇溶液，再于超声中分散5 min。后称量1 g氧化铝与其混合置于恒温振荡器中，25℃振荡，在0~300 min的范围内间隔时间取样，测定氧化铝对磷脂酰乙醇胺的吸附量。

氧化铝单位吸附量

$$Q_t=\frac{(M-M_e)}{w} \quad (1.1)$$

式中：Q_t：每克氧化铝吸附磷脂酰乙醇胺的质量（mg/g）；M：吸附前溶液中磷脂酰乙醇胺的质量（mg）；M_e：吸附后溶液中磷脂酰乙醇胺的质量（mg）；W：吸附时使用的氧化铝的质量（g）。

1.2.3 静态吸附等温线的测定 配制100~240 mg不同质量的自制鸭蛋黄磷脂置于150 mL的具塞磨口三角瓶中，分别投入50 mL的甲醇溶液，再于超声中分散5 min。后称量1 g氧化铝与其混合置于恒温振荡器中，分别在15、25、35、45 ℃条件下振荡，达到平衡后，离心取上清液，测定达到平衡时磷脂酰乙醇胺的质量浓度（C_e），计算出平衡吸附量（Q_e）[11]，以平衡吸附量（Q_e）对平衡质量浓度（C_e）作图即为静态吸附等温线。

$$Qe=\frac{(Co-Ce)\times V}{w} \quad (1.2)$$

式中：Q_e为氧化铝的平衡吸附量（mg/g）；C_o为溶液的起始质量浓度（mg/mL）；C_e为溶液的平衡质量浓度（mg/mL）；V为溶液的体积（mL）；W为氧化铝的质量（g）。

1.2.4 磷脂酰乙醇胺定量检测方法 磷脂酰乙醇胺含量测定的高效液相色谱法（HPLC）色谱条件为：Sinochrom Si-60柱（D 4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相：V（乙腈）：V（甲醇）：V（体积分数85%磷酸）=10:1:0.13；流量：1.0 mL/min；柱温：30 ℃；紫外检测波长：206 nm；进样量：10 μL。

2 结果与分析

2.1 磷脂酰乙醇胺定量标准曲线

磷脂酰乙醇胺定量标准曲线如图1所示。

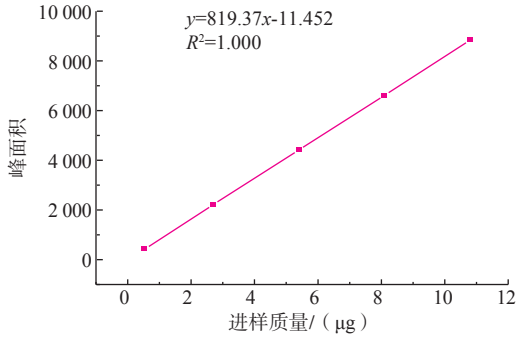


图1 磷脂酰乙醇胺定量标准曲线

Fig.1 the quantitative standard curve of phosphatidyl ethanolamine

2.2 氧化铝静态吸附磷脂酰乙醇胺的动力学研究

2.2.1 静态吸附动力学 氧化铝静态吸附磷脂酰乙醇胺的吸附量随时间的变化曲线见图2。

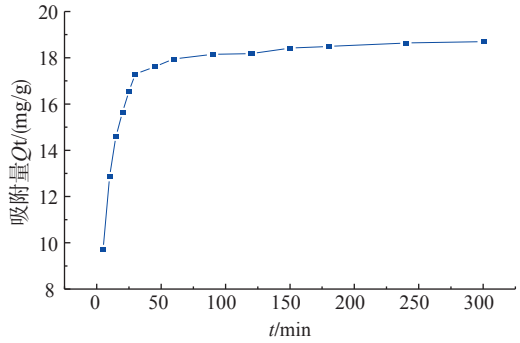


图2 吸附动力学曲线

Fig.2 the curve of adsorption kinetics

从图2中可以看出，增加吸附时间可以提高氧化铝对磷脂酰乙醇胺的吸附量，前25 min吸附量增加的非常快，25 min之后趋于平缓，氧化铝对磷脂酰

乙醇胺的吸附缓慢的趋于平衡。达到吸附平衡的时间较短(150 min),属于快速吸附型树脂。

为了研究氧化铝在鸭蛋黄磷脂/甲醇溶液中吸附磷脂酰乙醇胺的吸附机制,通过一、二级吸附动力学方程对吸附动力学进行曲线拟合。

一级动力学方程[12,13]:

$$Q_t = Q_e - Q_e e^{-K_1 t} \quad (1.3)$$

式中:Q_t、Q_e分别是时间为t以及平衡时的吸附量;

K_1是一级动力学方程吸附速率常数。

二级动力学方程[12-14]:

$$Q_t = \frac{K_2 Q_e^2 t}{(1 + K_2 Q_e t)} \quad (1.4)$$

式中:Q_t、Q_e分别是时间为t以及平衡时的吸附量;

K_2是二级动力学方程吸附速率常数。

其一、二级动力学方程的拟合结果如图3所示。

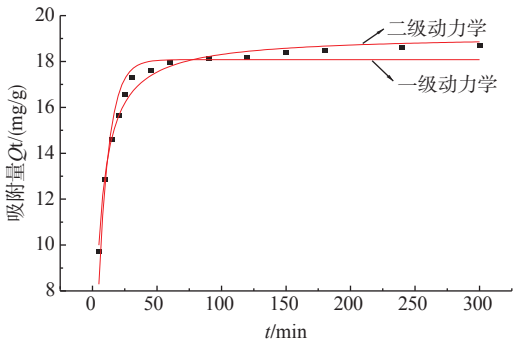


图3 一、二级动力学曲线拟合图

Fig.3 first, second kinetic curve fitting chart

一、二级动力学的拟合结果参数值如表1所示。

表1 一、二级动力学参数拟合表

Table1 first, second kinetic curve fitting table

一级动力学			二级动力学		
K_1	Q_e/(mg/g)	R^2	K_2	Q_e/(mg/g)	R^2
0.122 61	18.081 35	0.940 90	0.011 41	19.144 00	0.987 59

由表1的拟合结果可知,一级动力学拟合的相关系数R^2为0.940 90,二级动力学的相关系数R^2为0.987 59,说明氧化铝在鸭蛋黄磷脂/甲醇溶液中吸附磷脂酰乙醇胺的吸附动力学模型更符合二级动力学,所以其吸附行为为二级动力学吸附。

2.2.2 分子内部扩散模型拟合 为了研究吸附动力学内部分子扩散机制,采用分子传质内部扩散模型对吸附动力学的数据进行拟合。公式如下[15,16]:

$$Q_t = K_d t^{0.5} + c$$

式中:Q_t为时间t时氧化铝的吸附量;K_d为分子内部扩散速率常数。

当分子扩散的速率只有内部扩散时,Q_t对$t^{0.5}$作的直线通过原点,当液膜扩散也能影响扩散速率时,直线的截距为c,c可以理解为边界层的厚度。

分子内部扩散模型拟合结果如图4所示。

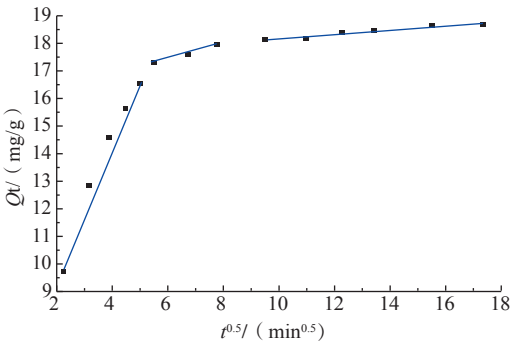


图4 氧化铝吸附磷脂酰乙醇胺的分子内部扩散模型

Fig.4 intra-molecular diffusion model that alumina adsorbed phosphatidyl ethanolamine

由图4可知,第一部分的直线斜率很大,说明此阶段吸附行为可能是磷脂酰乙醇胺由溶剂向氧化铝的外表面扩散或者是磷脂酰乙醇胺的边界层扩散。第二部分直线斜率稍小,为逐渐吸附过程,此阶段主要属于分子内部扩散控制吸附速率。第三部分的直线斜率几乎为零,说明吸附趋于平衡,主要是因为溶液中磷脂酰乙醇胺的浓度很低。值得注意的是第二阶段的直线并没有通过原点,说明吸附速率主要由分子内部扩散控制,但又不仅仅是由分子内部扩散控制。

2.3 氧化铝静态吸附磷脂酰乙醇胺的热力学研究

2.3.1 氧化铝对磷脂酰乙醇胺的等温吸附 15、25、35和45 ℃4个温度下,氧化铝吸附磷脂酰乙醇胺的等温吸附线如图5所示。

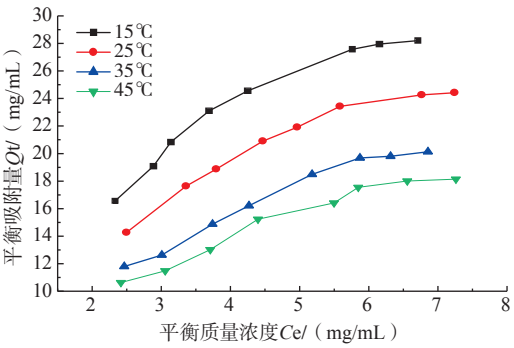


图5 氧化铝吸附磷脂酰乙醇胺的等温吸附线

Fig.5 the isotherms that alumina adsorbed phosphatidyl ethanolamine

图5为4个温度下，氧化铝吸附磷脂酰乙醇胺的等温吸附曲线，从图中可以看出，温度与平衡吸附量呈反比，这是由于吸附属于放热过程，同时磷脂酰乙醇胺的初始浓度的升高有利于提高吸附量，最终吸附达到饱和。

为了探究氧化铝在鸭蛋黄磷脂/甲醇溶液中吸附磷脂酰乙醇胺的吸附热力学过程，该试验使用Langmuir方程和Freundlich方程对4个温度的吸附等温曲线进行曲线拟合。

Langmuir方程：

$$Q_e = \frac{K_L Q_{max} C_e}{(1 + K_L C_e)} \quad (2.1)$$

式中：C_e表示的是平衡时磷脂酰乙醇胺浓度；Q_e、Q_{max}分别是平衡时吸附量和理论上最大的吸附量；K_L是与活性位点亲核性相关的Langmuir常数。

Freundlich方程：

$$Q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (2.2)$$

式中：C_e表示的是平衡时磷脂酰乙醇胺浓度；Q_e表示平衡时吸附量；K_F和n都是Freundlich平衡吸附常数。

4个温度下Langmuir方程和Freundlich方程的拟合结果如图6～7所示。

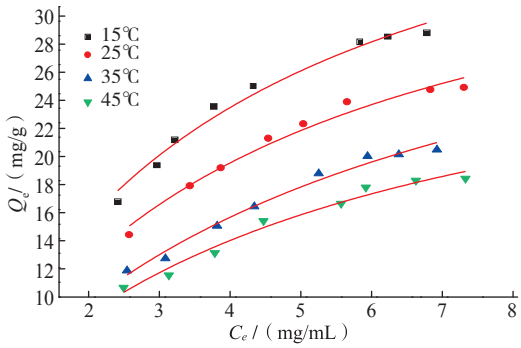


图6　Langmuir方程拟合曲线图

Fig.6　Langmuir equation fitting curves

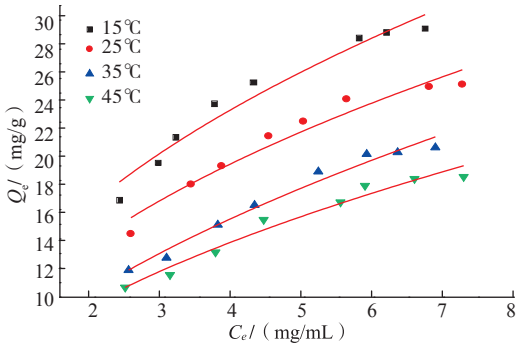


图7　Freundlich方程拟合曲线图

Fig.7　Freundlich equation fitting curves

4个温度下Langmuir方程和Freundlich方程的拟合结果参数值如表2所示。

表2　4个温度下等温吸附拟合曲线的参数值

Table 2　the adsorbed fitting curve parameters under four temperature

温度/K	Langmuir等温吸附方程			Freundlich等温吸附方程		
	Q_{max}/(mg/g)	k_L	R^2	n	k_F	R^2
288.15	44.809 62	26.981	0.977 85	2.136 20	11.966 08	0.952 79
298.15	39.346 66	24.347	0.976 96	2.115 24	9.967 59	0.946 42
308.15	37.221 37	22.136	0.983 91	1.795 91	7.141 26	0.975 98
318.15	31.277 80	20.318	0.975 15	1.710 29	6.694 50	0.965 39

通过Langmuir等温吸附方程和Freundlich等温吸附方程对磷脂酰乙醇胺的静态等温吸附曲线进行拟合，结果见表2。4种温度下，Langmuir等温吸附方程拟合度均高于Freundlich等温吸附方程，因此能更好的拟合氧化铝对磷脂酰乙醇胺的吸附行为。说明氧化铝在鸭蛋黄磷脂/甲醇溶液吸附磷脂酰乙醇胺的行为更符合单分子层吸附形式。根据Langmuir和Freundlich等温吸附理论，k_L和k_F是吸附平衡常数，也表示吸附剂的吸附能力，在相同温度下，其值越大，说明吸附剂的吸附能力越强；n表示吸附量随质量浓度增加的强度，$n>1$表明吸附过程为优惠吸附。对比氧化铝吸附磷脂酰乙醇胺/甲醇溶液的吸附平衡常数k_L和k_F可知，两者的吸附常数都随温度的升高而减小，这说明温度升高不利于吸附的进行。

2.3.2　氧化铝吸附磷脂酰乙醇胺的自由能、吸附焓、熵　为了了解氧化铝吸附磷脂酰乙醇胺过程中相关的热力学数据，我有必要计算出吸附过程中的

吸附焓、熵、自由能。吸附过程中的吉布斯自由能ΔG（kJ/mol）与平衡常数有关，根据Gibbs方程可以推导出如下ΔG的计算公式[17-20]：

$$\Delta G = -RT\int_0^x \frac{dX}{X} \qquad (2.3)$$

式中：R为气体常数，8.314 J/mol K；X为溶液中溶质的浓度；Q为吸附等温方程；

当式中的Q换成Freundlich吸附等温方程时，推导出$\triangle G$的计算公式：

$$\Delta G = -nRT \qquad (2.4)$$

式中：n为Freundlich吸附等温方程拟合得到的参数，见上表2；

T为绝对温度，K；

根据Van't Hoff方程也可以得到ΔG的计算公式：

$$\Delta G = -RT\ln(k_c) \qquad (2.5)$$

式中：k_c为Langmuir吸附等温方程拟合得到的平衡常数，见表2；

T为绝对温度，K

此外，ΔG与熵变ΔS（J/（mol·K））以及焓变ΔH/（kJ/（mol·K））之间的关系可由式2.6表示：

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \qquad (2.6)$$

由于Langmuir方程对氧化铝在鸭蛋黄磷脂/甲醇溶液中吸附磷脂酰乙醇胺的拟合效果更好，因此采用公式2.5计算其吸附ΔG。熵变ΔS及焓变ΔH则都可以通过公式2.6计算。计算结果见表3所示。

表3 氧化铝吸附磷脂酰乙醇胺的热力学参数

Table 3 the thermodynamic parameters that alumina adsorbed thermodynamic

吸附过程	T/K	ΔG/ (kJ/mol)	ΔS/ (J/mol·K)	ΔH/ (kJ/mol·K)
静态吸附	288.15	−7.890	1.9	−7.3428
	298.15	−7.909		
	308.15	−7.931		
	318.15	−7.962		

分析表3中各参数可知，ΔG均为负值，说明吸附是一个自发的过程，也是一个熵驱动过程，随着温度的增大，ΔG的绝对值变化很小，说明此吸附过程温度的影响并不大。静态吸附过程的ΔS值为正，说明吸附后体系的混乱度增大了。同时ΔH也为负值，说明吸附是一个放热的过程，因此吸附不宜在高温条件下进行。

3 结 语

1）通过氧化铝静态吸附磷脂酰乙醇胺的动力学研究表明：氧化铝在鸭蛋黄磷脂/甲醇溶液中的吸附动力学对二级动力学的拟合效果比较好，所以其吸附行为为二级动力学吸附。

2）分子内部扩散模型拟合结果表明：吸附过程分为3个阶段，吸附速率主要由分子内部扩散控制，但又不仅仅是由分子内部扩散控制。

3）氧化铝静态吸附磷脂酰乙醇胺的热力学研究结果表明：等温吸附过程更符合Langmuir方程，吸附过程为熵驱动的放热、熵增的自发过程。

参考文献：

[1] Cheah I K, Halliwell B. Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease[J]. **BBA-Mol Basis Dis**, 2012, 1822(5): 784-793.

[2] 赵绘绘, 汤鲁宏. 注射用高纯度蛋黄卵磷脂制备新工艺的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26: 564-569.
ZHAO Huihui, TANG Luhong. A new method for the preparation of high purity egg yolk lecithin used for injection[J]. **Natural Product Research and Development**, 2014, 26 564-569.（in Chinese）

[3] 周丽, 王兴国, 张康逸, 等. 甘油磷脂酰胆碱的分离纯化研究[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(1): 67-70.
ZHOU Li, WANG Xingguo, ZHANG Kangyi, et al. Separation and purification of glycerophosphocholine[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012, 31(1): 67-70.（in Chinese）

[4] 肖文婷, 张帆, 李燕等. 低温沉淀法提取高纯度蛋黄卵磷脂的工艺研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(15): 256-258.
XIAO Wenting, ZHANG Fan, LI Yan et al. Preparation of high purity egg yolk lecithin via low temperature precipitation method [J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2013, 34(15): 256-258.（in Chinese）

[5] 李颖畅, 郑凤娥, 孟宪军. 大孔树脂纯化蓝莓果中花色苷的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2009, 28(4): 496-500.
LI Yingchang, ZHENG Fenge, MENG Xianjun. Studies on purification of anthocyanins from blueberry fruits by macroporous

resins[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2009，28(4): 496-500. (in Chinese)

[6] 许海丹. 蛋黄磷脂的精制工艺及其稳定性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.

[7] 陈卫涛. 大豆卵磷脂的提纯及其稳定性研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2006.

[8] Weinong Zhang, Haibo He, Yuqi Feng, etal. Separation and purification of phosphatidyl choline and phosphatidyl ethanolamine from soybean degummed oil residues by using solvent extraction and column chromatography [J]. **Journal of Chromatography B**, 2003, 798: 323-331.

[9] 李金华. 注射用蛋黄卵磷脂的工艺研究[D]. 广州: 中山大学, 2005.

[10] 赵彬侠, 许晓慧, 张小里等. 用柱层析法分离纯化蛋黄卵磷脂[J]. 西北大学学报：自然科学版, 2003，33(2): 171−173.
ZHAO Bingxia, XU Xiaohui, ZHANG Xiao-li et al. Purification of egg yolk lecithin by dolumn chromatography[J]. **Journal of Northwest University**(**Natural Science Edition**), 2003，33(2): 171-173. (in Chinese)

[11] 刘元法, 汪燕, 王兴国. 离子交换树脂分离磷脂酰乙醇胺的吸附动力学与热力学研究[J]. 中国粮油学报, 2008，23(6): 157-160.
LIU Yuanfa, WANG Yan, WANG Xingguo. The adsorption kinetics and thermodynamics of ion exchange resin separated phosphatidylethanolamine[J]. **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, 2008，23(6): 157-160. (in Chinese)

[12] Y.S. Ho, G. Makay, Sorption of dye aqueous solution[J]. **Chem. Eng. J.** 1998, 70:115 – 124.

[13] S. Lagergren. Above the theory of so-called adsorption of soluble substances[J]. **Kungliga Suenska Vetens Kapsakademiens, Handlingar**, 1998, 24: 1 – 39.

[14] Y.S. Ho, G. Mckay, Pseudo-second order model for sorption processes[J]. **Process Biochem**, 34 (1999) 451 – 465.

[15] Jie-Ping Fan, Lie Li, Ze-You Tian, etl. Synthesis and evaluation of uniformly sized synephrine- imprinted microparticles prepared by precipitation polymerization [J]. **Separation Science and Technology**, 2014, 49: 258 – 266.

[16] Weishan Wanga, Baicun Zheng, etal. Kinetics and equilibriums for adsorption of poly (vinyl alcohol) from aqueous solution onto natural bentonite[J]. **Chemical Engineering Journal**, 2013, 214: 343-354.

[17] George Z. Kyzas, Nikolaos K. Lazaridis.Optimization of chitosan and β-cyclodextrinmolecularly imprinted polymer synthesis for dye adsorption[J]. **Carbohydrate Polymers**, 2013, 91:198-208.

[18] Jianhan Huanga,Ruijie Denga,et.Equilibria and kinetics of phenol adsorption on a toluene-modified hyr-cross-linked poly (styrene-co-divinylbenzene) resin[J]. **Chemical Engineering Journal**, 2011, 171:951 – 957.

[19] Ahmet Sari, Mustafa Tuzen, Demirhan Citak. Equilibrium, kinetics and thermodynamic studies of adsorption of Pb(II) from aqueous solution onto Turkis-hkaolinite clay[J], **Journal of Hazardous Materials**, 2007, 149 :283 – 291.

[20] Yu Liu.Is the free energy change of adsorption correctly calculated [J].**J. Chem. Eng. Data**, 2009, 54, 1981 – 1985.

科　技　信　息

韩国KFDA发布转基因食品安全(毒性领域)审查指南

3月5日，韩国KFDA发布了转基因食品安全(毒性领域)审查指南。该指南是为转基因食品开发公司申报审查提供科学评价基准而制定。

指南的主要内容包括转基因食品毒性审查原则、毒性审查项目、利用实验动物的毒性审查详细基准及毒性审查确认表样式等内容。

指南同时摘录了CODEX、EU、美国、加拿大、日本等国家的转基因食品毒性审查基准和OECD指南(单次投毒毒性试验)。

[信息来源]食品伙伴网. 韩国KFDA发布转基因食品安全(毒性领域)审查指南 [EB/OL]. (2015−3−6). http://news.foodmate.net/2015/03/298057.html.