

# 胆红素的直接提取法

蒋立科

(徽州师范专科学校)

**摘要** 采用直接法提取胆红素并除去醇溶性杂质,同时回收提取过程中使用的氯仿、乙醇,成本低,效果好。全操作过程只需2小时,胆红素纯度可达92%。

胆红素在药学上有解热降压作用,并能促进红血球新生,是配制人工牛黄的重要原料。提取胆红素的资源丰富,而市场对胆红素的需求量也较大。提取胆红素方法有钙盐和离子交换等,但成本高,流程长,纯度不高,操作麻烦。根据我们对胆红素的研究和生产实践,采用直接提取法,时间短,操作简便,投资小,效果好。现将该法报道如下:

(一) 原理 胆红素是胆色素的一种,是血红素的代谢产物,产生于肝、脾及骨髓的网状内皮细胞<sup>[1]</sup>,在氯仿中分子内部形成氢键,呈特定的卷曲状构象,亲水基团包裹在分子内部,而疏水基团暴露分子表面。胆红素精品涂深红色,在显微镜下呈单斜晶体,分子式为  $C_{33}H_{36}N_4O_6$ 。生物体内胆红素有游离和结合态两类,前者分子量为584.65,但量少;后者分子量为937,是胆红素存在的主要方式。其结构式(见图1)。

胆红素在干燥避光或氯仿溶液暗处保存,在高温、强光或氧化剂的作用下,尤其在碱性环境中或者遇到三价铁离子则极易氧化生成胆绿素<sup>[2]</sup>,但在酸性条件下较稳定。

因此,采取加亚硫酸氢钠,在碱性条件下,保护胆红素不被氧化,酸中和后进行氯仿萃取,再蒸馏精提并回收氯仿,最后用乙醇洗涤脱水,消除醇溶性杂质,得到高纯品胆红素。

(二) 材料方法 家畜、家禽等动物的胆汁 2mol/L NaOH 2mol/L HCl 95% 乙醇 亚硫酸氢钠 氯仿(或二氯甲烷、四氯化碳)。

剪破苦胆,挤出胆汁,用四层纱布过滤并量取体积,按每100ml加入0.2g亚硫酸氢钠粉剂,充分搅拌后再加入0.5%氯仿搅匀,于60℃水浴抽提5—10分钟,以流水冷至室温,用2mol/L NaOH 调节 pH10—11,再按每100ml提取液加0.2g亚硫酸氢钠,于80—90℃水浴搅拌保温3—5分钟,用流水(或冷水)冷却至室温,按体积每100ml加入30ml氯仿,强烈搅拌8—10分钟,用2mol/L HCl 调 pH5—6。转移至分液漏斗中,静置5—10分钟,待自然分层后,放出底部氯仿层,转入放有石英砂(或碎玻璃片)的圆底烧瓶中,烧瓶上装有冷凝装置,于60—70℃水浴上蒸馏(见图2)。氯仿蒸汽在流水的自然冷却下重生成液体进入收集瓶,胆红素留在圆底烧瓶中。取下烧瓶并加入95%乙醇,摇动烧瓶,将瓶内桔红色胆红素悬浮液转移至抽滤瓶上的布氏漏斗里进行抽滤。烧瓶重复用95%乙醇洗涤2—3次,洗涤液合并转入漏

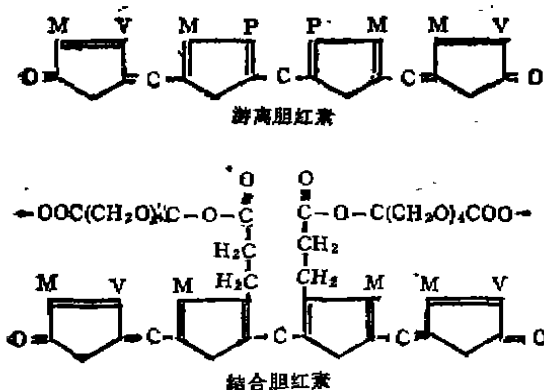


图1 胆红素的分子式, 8×9.6cm。

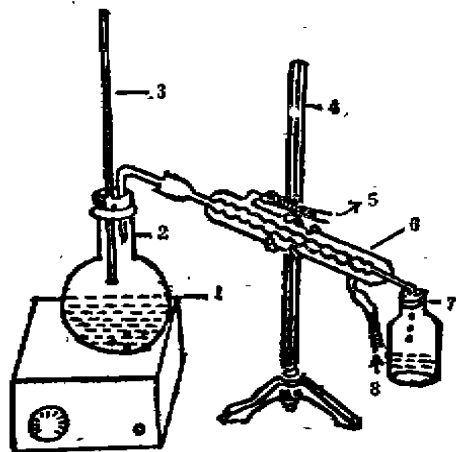


图2 蒸馏装置图, 8×7.3cm

1. 恒温水浴锅; 2. 烧瓶; 3. 温度计; 4. 固定架;  
5. 冷却水出口; 6. 冷凝管; 7. 回收瓶;  
8. 冷水入口

斗中, 抽干后, 用热蒸馏水 (50—60℃) 洗涤 2—3 次, 再用无水乙醇洗一次抽干, 将胆红素刮至表面皿上, 于 40—50℃ 烘干称重, 储存于棕色瓶中。吸滤瓶内乙醇洗涤液转入圆底烧瓶, 向烧瓶内加入生石灰, 然后煮沸, 使水和生石灰结合, 取回“无水乙醇”, 乙醇的蒸出同样需用冷凝装置。蒸出的乙醇是否含水用无水硫酸铜检测, 若无蓝色即无水乙醇。

### (三) 结果与讨论

1. 提取 1.0 克胆红素需 2400—2600ml 胆汁。与苦胆个数无关, 因不同种动物或同一种动物在不同生长发育期, 苦胆大小及胆汁量不同。

2. 按本法提取胆红素的获得率与控制的温

度及 pH 值密切相关, 必须严格控制, 因此, pH 需在 10—11 之间, 在搅拌下保温 3—5 分钟, 温度为 85℃。若体积为 500ml 以下, 只需 3 分钟; 若是 500ml 以上, 因量多升温慢则需 5 分钟。

3. 为了提高胆红素获得率, 必须注意防止胆红素在碱性条件下被破坏, 采用亚硫酸氢钠保护。水解前加亚硫酸氢钠是保护胆汁中游离胆红素, 提取后立即进行第二次加亚硫酸氢钠, 借以保护结合态胆红素水解后释放的胆红素。除亚硫酸氢钠外, 还可用半胱氨酸代替。

4. 按照本法提取出来的胆红素品位 (即百分含量) 为  $90 \pm 2.0\%$ 。品位高低与是否用乙醇和水洗涤有关。乙醇和水洗涤可清除胆红素中的醇溶和水溶性杂质。

5. 胆汁中胆红素提取体积较大, 采用 2mol/L NaOH 和 HCl 调节 pH, 以防止增加提取液体积, 减少氯仿消耗, 降低生产成本, 缩短操作时间。

该方法制备胆红素不经脱盐, 适合肉类联合加工厂及实验室使用, 对充分利用资源, 增加国家药材收购量, 发展中药生产有着积极的意义。

### 参 考 文 献

- [1] Granick S. and Beale S. 1978 Hemes, chlorophylls, and related compounds: Biosynthesis and metabolic regulation. *Advan Enzymol* 40: 33—203.  
[2] Portor R. and Fittsimos D. (eds.) 1976 Iron Metabolism. *Ciba Foundation Symposium*. 51: 1215—1221.