

· 工业药学 ·

胰酶生产工艺的研究

何新霞 冯高德 张旭 (浙江师范大学生物系, 金华 321004)

徐丽珊 (浙江金华生化药厂, 金华 321000)

胰酶是从动物胰脏中提取制备的消化酶混合物, 其中主要是胰蛋白酶、胰脂肪酶和胰淀粉酶。药用胰酶是否具有胰脏中天然比例的酶特性, 应视生产工艺而定。一九八三年以前, 我国生产工艺均偏重胰蛋白酶活力, 对胰脂肪酶、胰淀粉酶的活力未作规定。卫生部药典委员会一九八五年颁布了胰酶新标准, 修订了胰蛋白酶测定方法, 并增补了胰脂肪酶和胰淀粉酶活力测定方法, 原有的老工艺已不能适用。为使产品符合现行版药典标准, 我们在以往生产经验的基础上, 用正交试验对胰酶生产中的影响因素进行选择, 以找出最佳水平组合, 使产品收率、三酶活力、三酶比均达到较为理想的结果。

1 材料与方法

材料猪胰, 冷冻。95%乙醇, 药用。无水乙醚, 化学纯。盐酸、化学纯。

方法根据生产经验, 分析工艺中影响收率、酶活力、三酶比的因素, 选出提取醇度、pH值、提取时间、提取温度、激活时间、激活温度、沉淀醇度等七个因素, 各因素设二个水平, 选用 $L_8(2^7)$ 正交表(见表1)进行试验。酶活力按中国药典1990年版二部胰酶项下的方法测定。

2 结果与讨论

2.1 正交试验结果。见表2。

表1 正交试验因素水平表

水平	因素	A 提取醇度 (%)	B pH	C 提取时间 (h)	D 提取温度 (℃)	E 激活时间 (h)	F 激活温度 (℃)	G 沉淀醇度 (%)
1		0	4	6	10	6	10	65
2		25	5.5	8	15	10	15	70

表2 正交试验结果

试验号	列号							收率 (%)	试验结果 三酶活力 (u/g)		
	A	B	C	D	E	F	G		蛋白酶	脂肪酶	淀粉酶
	1	2	3	4	5	6	7				
1	1	1	1	2	2	1	2	3.83	2447	8000	39504
2	2	1	2	2	1	1	1	7.25	1695	6000	60115
3	1	2	2	2	2	2	1	3.25	3973	21000	60118
4	2	2	1	2	1	2	2	7.00	2413	5000	70134
5	1	1	2	1	1	2	2	8.57	1775	8000	58397
6	2	1	1	1	2	2	1	5.50	1456	7000	93202
7	1	2	1	1	1	1	1	7.65	2081	15000	>10万
8	2	2	2	1	2	1	2	7.58	3711	26700	>10万

本试验各批胰酶收率按一次提取计算,胰渣提取所得未计入内。

表2说明,第8号试验结果最佳,三酶活力均达药典标准(胰蛋白酶600 u/g,胰脂肪酶4000 u/g

胰淀粉酶7000 u/g)六倍以上。

2.2 极差分析结果

根据实验结果,对各因素进行极差分析,从而确定影响各项指标的主次因素。结果见表3。

表3 正交试验结果分析

指 标	影 响 因 素 主 次 顺 序	因 素 水 平 最 佳 组 合
胰 酶 收 率	E>D>A>G>C>F>B	A ₂ B ₂ C ₂ D ₁ E ₁ F ₁ G ₂
蛋 白 酶 活 力	B>E>C>D>G>A>F	A ₁ B ₂ C ₂ D ₂ E ₂ F ₁ G ₂
脂 肪 酶 活 力	B>E>C>D>A>F>G	A ₁ B ₂ C ₂ D ₁ E ₂ F ₁ G ₁
淀 粉 酶 活 力	D>B>F>A>E>G>C	A ₂ B ₂ C ₂ D ₁ E ₂ F ₁ G ₁

3 综合分析结果

表3说明,因素B、C、F对各项指标的影响是一致的,均以B₂C₂F₁为最佳水平。因素A、D、E、G对各项指标的影响不一致,对有些指标以水平1为好,有些指标以水平2为好,按这几个因素对各项指标影响的主次情况及影响程度考虑,选择A₂、D₁、E₂、G₂为最佳水平。

根据上述分析,确定各因素最佳水平组合为A₂B₂C₂D₁E₂F₁G₂。这一分析结果刚好与第8号试验的条件一致。本实验得出的最佳工艺条件为:胰浆加1.5倍量预冷的25%乙醇于pH 5.5, 10℃搅拌提取8h,扯浆分离胰渣,胰乳于10℃放置激活10h,再用预冷的95%乙醇沉淀,使最后醇度达70%,收集沉淀压干后制粒,乙醚脱脂,40℃以下真空干燥,即得。按此工艺生产,三酶活力可达药典标准六倍以上。

大生产时,胰渣提取后并入下批投料用,本实验因各批试验条件不同,渣子提取所得未计,如果计入,可增加收率30%左右。

胰脏中胰蛋白酶以酶原形式存在,酶原的激活可用钙离子、肠激酶或胰酶自身激活,胆盐可激活脂肪酶、氯化钠可激活淀粉酶,我们考虑先就自身工艺条件选择,尽量不添加其他辅料,采用自溶激活,选择pH<6,以免胰蛋白酶原激活同时发生

分枝反应转化成无活性蛋白,实验结果提示,pH是影响三酶活力的主要因素,在pH 5.5自溶激活,胰酶收率和三酶活力却比较高。

激活时间对胰酶收率、胰蛋白酶、胰脂肪酶活力都很重要,激活时间长,收率低,激活时间短,酶活力不高。关键是选择最佳激活时间,既能使酶充分激活,又要避免活化的胰蛋白酶将自身及其他酶降解。本实验对激活时间只作二个水平选择,时间间隔较长,如果用L₁₈(6⁴×3⁹)正交表试验,将激活时间作六位级因素试验,水平间隔缩小,可能会找出更确切的最佳激活时间。

本实验不增加辅助材料,不增添设备,工艺简单,结果已具备实际使用价值。

金华生化药厂马绍对、童艳芳同志协助复核第8号试验结果,特此致谢

参 考 文 献

- 1 商业部脏器生化制药情报站. 动物生化制药学. 北京:人民卫生出版社,1986:125~128
- 2 管宁法. 胰酶药物. 生化药物杂志,1990:(1):15~17
- 3 何执中等. 新标准胰酶生产工艺的探讨. 中国生化药物杂志,1992:(1):11~13
- 4 中华人民共和国药典1990年版二部,583~585

收稿日期:1993-10-29