



超滤对大蒜粗多糖中蛋白质的脱除效果

毕 华, 张 民, 王 婵, 张丽丽
(天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘 要: 研究了超滤对大蒜粗多糖中蛋白质的脱除效果. 选择截留相对分子质量为 10 000 的超滤膜(MWCO), 并研究了超滤次数、操作压力、样品浓度和膜的清洗方式对超滤效果的影响. 结果表明: 利用该超滤膜来脱除大蒜粗多糖中蛋白质的最佳条件为: 大蒜多糖的质量浓度 20 mg/mL, 压力 27.58 kPa, 超滤 3 次. 该条件下大蒜多糖通过率达到 92.1%, 蛋白质含量由 0.5%降低到了 0.05%. 超滤膜使用后, 不经清洗, 再次使用, 大蒜多糖的通过率为 74.7%, 为原通过率的 78.1%; 经蒸馏水—NaOH 溶液—蒸馏水混合清洗后, 大蒜多糖的通过率为 93.2%, 恢复到原通过率的 97.5%. 结论: 采用超滤法可以脱除大蒜粗多糖中的蛋白质.

关键词: 大蒜; 多糖; 超滤; 脱蛋白

中图分类号: TS202.1 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2013)01-0014-03

Ultrafiltration and the Removal of Garlic Polysaccharide Protein

BI Hua, ZHANG Min, WANG Chan, ZHANG Lili

(College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Removal of the protein in the garlic polysaccharide by using ultrafiltration was studied. The ultrafiltration membrane with 10 000 MWCO (molecular weight cut off) was selected and the influence of ultrafiltrating times, operating pressure, concentration of the sample and the cleaning method of the filter were explored. The results showed that the optimum parameters for protein removal using ultrafiltration membrane were as follows: 20 mg/mL of garlic polysaccharide, 27.58 kPa and 3 times of ultrafiltration. With these parameters, the passing rate of garlic polysaccharide was 92.1% and protein decreased from 0.5% to 0.05%. Without cleaning the ultrafiltration membrane and using it again, the passing rate of garlic polysaccharide was 74.7%, 78.1% of its original passing rate. After the contaminated ultrafiltration membrane was cleaned with distilled water and sodium hydroxide, the passing rate of garlic polysaccharide was 93.2%, 97.5% of the original passing rate. The conclusion is that the protein in the garlic polysaccharide can be removed with ultrafiltration.

Key words: garlic; polysaccharide; ultrafiltration; protein removal

大蒜多糖属菊糖类的果聚糖, 是蒜中的主要活性成分之一, 具有抗肿瘤、降血糖、保肝和益生元等作用^[1]. 大蒜多糖的提取多采用水提法, 其中蛋白质也会一同被提取出来, 因此需要对提取物进行脱蛋白处理^[2]. 常用的脱蛋白的方法有 Sevag 法、三氯乙酸法和酶法等. 前两种方法不适于工业化生产, 酶法脱蛋白会造成蛋白酶的残留. 超滤是利用膜的筛分性质, 以压差为传质推动力, 将高分子溶质与小分子溶质依据其相对分子质量的差别进行分离的方法^[3], 该法具有能耗低、分离效率高、设备简单、可连续生产、无污

染等优点^[4]. 本文将研究超滤法脱除大蒜粗多糖中蛋白质的工艺条件, 探寻一种适合工业化生产的蛋白质脱除方法.

1 材料与方 法

1.1 实验原料和试剂

大蒜, 市售; 乙醇、苯酚、硫酸、氢氧化钠, 分析纯, 天津市江天化工技术有限公司; 考马斯亮蓝, 分析纯, 天津市联星生物技术有限公司.

1.2 主要仪器

RE-52A 旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; 超滤机, 美国 Cole-Parmer 仪器公司; USIC1 中空纤维膜组件, 天津爱生膜过滤技术有限公司; IGJ 0.5 冷冻干燥机, 北京四环科学仪器厂; 752 型紫外-可见分光光度计, 上海青华科技仪器有限公司; LC-20AT 高效液相色谱系统 (配有 RID-10A 示差折光检测器和 OHPak SB-803 HQ 高效液相色谱柱), 日本岛津公司。

1.3 实验方法

1.3.1 大蒜粗多糖提取工艺流程

采用本实验室前期建立的提取方法^[5]: 大蒜→热水浸提→打浆→离心→上清液→乙醇沉淀→冷冻干燥→大蒜粗多糖。

1.3.2 超滤膜的选择

采用高效液相色谱法^[5]检测大蒜粗多糖的相对分子质量分布, 根据检测结果选用截留相对分子质量为 4 000 和 10 000 的超滤膜进行超滤, 收集滤出液和截留液, 苯酚-硫酸法^[6]测定总糖含量, 考马斯亮蓝法^[7]测定蛋白质含量, 并根据检测结果确定超滤膜。

高效液相色谱条件为: GPC 色谱柱为 OHPak SB-803HQ, 柱温 30 °C, 柱压为 2.7 MPa, 以三蒸水为流动相, 流量 0.8 mL/min, 采用示差折光检测器检测。

1.3.3 超滤次数对超滤效果的影响

取 500 mL 质量浓度为 2 mg/mL 大蒜粗多糖溶液, 在 68.95 kPa 条件下超滤。当溶液全部通过超滤膜时, 停止超滤, 收集滤出液, 记为超滤 1 次; 截留液中加 250 mL 蒸馏水继续超滤, 当截留液体积几乎为零时, 停止超滤, 收集滤出液, 记为超滤 2 次; 重复上述操作, 最终得到超滤 1~7 次的滤出液, 测定各滤出液中总糖含量和蛋白质含量。

1.3.4 操作压力对超滤效果的影响

取 500 mL 质量浓度为 2 mg/mL 大蒜粗多糖溶液, 分别采用 13.79、27.58、41.37、55.16、68.95 kPa 的压力超滤; 当溶液全部通过超滤膜后, 补加 250 mL 蒸馏水继续超滤, 重复 2 次; 测定滤出液中总糖含量和蛋白质含量。

1.3.5 大蒜粗多糖浓度对超滤效果的影响

在 27.58 kPa 下对 500 mL 质量浓度分别为 5、10、15、20、25、30 mg/mL 的大蒜粗多糖溶液进行超滤, 当溶液全部通过超滤膜后, 补加 250 mL 蒸馏水继续超滤, 重复 2 次; 测定滤出液中总糖含量和蛋白质含量。

1.3.6 膜的清洗方式对超滤效果的影响

蒸馏水清洗效果研究: 采用蒸馏水对超滤操作后

的超滤膜组件进行正向和反向冲洗后, 取 500 mL 大蒜粗多糖溶液按上述方法操作, 测定大蒜多糖和蛋白质的通过率。

蒸馏水—NaOH 溶液—蒸馏水混合清洗效果研究: 先用蒸馏水对膜组件进行冲洗, 至内外流出液澄清为止, 再用 pH 为 11 的 NaOH 溶液冲洗膜组件, 直到内外流出液的 pH 与清洗液的 pH 一致时继续清洗 10 min, 改用蒸馏水清洗, 至膜内外流出液的 pH 为中性时停止^[8]。取 20 mg/mL 大蒜粗多糖溶液 500 mL, 27.58 kPa 下超滤, 测定大蒜多糖和蛋白质的通过率。

2 结果与分析

2.1 超滤膜的选择

采用高效液相色谱法测定大蒜粗多糖的相对分子质量分布结果见表 1。由表 1 可知, 大蒜粗多糖中数均相对分子质量为 3 518 的组分比例为 70.93%。

表 1 HPLC 法测定大蒜粗多糖相对分子质量分布结果
Tab. 1 Molecular weight distribution of garlic polysaccharides by HPLC

保留时间/min	数均相对分子质量 (M_n)	重均相对分子质量 (M_w)	M_w/M_n	峰面积所占比例/%
6.100	1.0×10^{13}	1.0×10^{13}	1.00	5.25
6.200	9.5×10^{12}	9.7×10^{12}	1.02	2.00
7.149	6 701 752	5.6×10^{10}	8 370.89	13.09
7.434	196 872	343 163	1.74	6.28
10.036	3 518	7 389	2.10	70.93
11.841	496	501	1.01	0.80
11.984	356	362	1.02	0.66

不同超滤膜对大蒜多糖和蛋白质的通过率见表 2。选用截留相对分子质量为 4 000 的超滤膜进行超滤, 经苯酚-硫酸法测得大蒜多糖的通过率仅为 $6.2\% \pm 0.3\%$ 。虽然糖的相对分子质量小于超滤膜的截留相对分子质量, 但可能由于分子构型的原因, 使其不能通过该超滤膜。选用截留相对分子质量为 10 000 的超滤膜进行超滤, 大蒜多糖的通过率高达 $90.3\% \pm 3.7\%$ 。根据大蒜粗多糖分子质量分布结果 (表 1), 相对分子质量大于 10 000 的粗多糖占 26.62%, 但是经过超滤, 大蒜多糖的通过率达到 90% 以上, 其可能的原因: 一是相对分子质量大于 10 000 粗多糖可能是线型构型, 超滤时可以通过该超滤膜; 二是这部分粗多糖中可能含有蛋白质。

表2 不同超滤膜对超滤效果的影响

Tab. 2 Effect of different ultrafiltration membranes on ultrafiltration

截留相对分子质量	大蒜多糖通过率/%	蛋白质通过率/%
4 000	6.2 ± 0.3	0.6 ± 0.2
10 000	90.3 ± 3.7	5.2 ± 1.3

2.2 超滤次数对超滤效果的影响

超滤次数对超滤效果的影响结果如图1所示. 图1表明, 随着超滤次数的增加, 糖通过率先增大后趋于平缓, 蛋白质脱除率呈现缓慢下降的趋势. 其原因是增加超滤次数, 附着在膜上的多糖及蛋白质不断被水洗出, 减缓了浓化极差现象, 降低了膜的污染. 当超滤次数为3次时, 糖通过率为88.7%, 蛋白脱除率为93.5%. 为减少后续实验的负担, 选定超滤次数为3次.

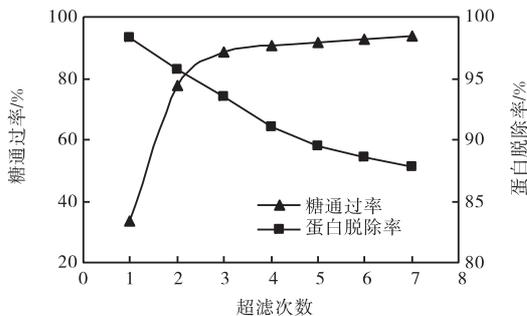


图1 超滤次数对超滤效果的影响

Fig. 1 Effect of times on ultrafiltration

2.3 压力对超滤效果的影响

图2是压力对超滤效果的影响实验结果. 由图2可知, 随着操作压力的增大, 糖的通过率先增大后减小. 其可能原因是随着压力的增大, 浓差极化现象相应增加, 使有效的传质推动力下降^[9]. 压力为27.58 kPa时, 糖的通过率达到最大为91.2%, 蛋白质的脱除率为96.8%. 综合考虑, 操作压力选为27.58 kPa.

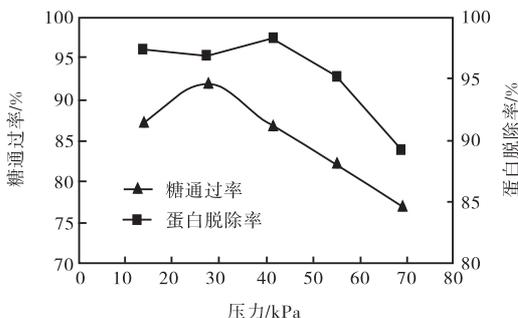


图2 压力对超滤效果的影响

Fig. 2 Effect of pressure on ultrafiltration

2.4 大蒜粗多糖质量浓度对超滤效果的影响

大蒜粗多糖质量浓度对超滤效果的影响实验结果如图3所示.

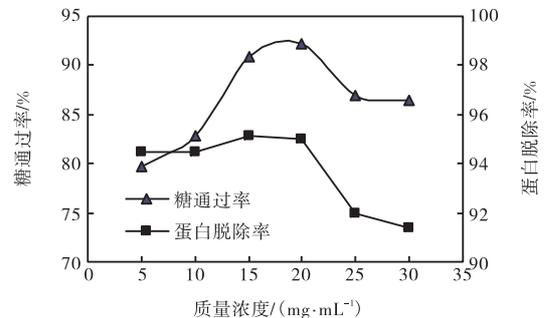


图3 大蒜多糖质量浓度对超滤效果的影响

Fig. 3 Effect of concentration on ultrafiltration

从图3可以看出, 随糖液质量浓度的增加, 糖通过率先增大后减小, 这是因为糖液质量浓度大黏度也大, 导致滤出液通过膜界面时受到的阻力大, 糖通过率变小; 同时, 质量浓度增大, 溶质沉积在膜表面, 阻塞膜孔, 增加扩散阻力, 造成糖通过率下降^[9]. 因而选择合适的大蒜粗多糖质量浓度为20 mg/mL.

采用最佳超滤条件即大蒜粗多糖的质量浓度为20 mg/mL, 在27.58 kPa的压力下超滤3次, 经苯酚-硫酸法测得大蒜多糖通过率达到92.1%, 经考马斯亮蓝法测得蛋白质含量由0.5%降低到了0.05%.

2.5 清洗方式对超滤效果的影响

表3是不同的清洗方式对超滤效果的影响. 当使用超滤膜后, 若不进行任何清洗, 再次使用时, 大蒜多糖的通过率为74.7%, 仅为原通过率的78.1%. 这是因为溶液中的少量多糖及蛋白质将膜堵塞, 使大蒜多糖的通过率减少. 经蒸馏水清洗后, 大蒜多糖的通过率提高到83.2%, 恢复到原通过率的87.0%, 说明蒸馏水可以洗掉附着在膜上的部分糖和蛋白质. 经蒸馏水—NaOH溶液—蒸馏水混合清洗后, 大蒜多糖的通过率为93.2%, 恢复到原通过率的97.5%, 说明该清洗方法效果较好.

表3 清洗方式对超滤效果的影响

Tab. 3 Effect of cleaning method on ultrafiltration

清洗方式	多糖通过率/(原通过率的百分比)/%	蛋白通过率/(原通过率的百分比)/%
不清洗	74.7(78.1)	4.2(78.0)
蒸馏水清洗法	83.2(87.0)	5.1(94.1)
混合清洗法	93.2(97.5)	5.2(96.2)

(下转第37页)