

马尾藻多糖的膜分离纯化

叶 红¹, 周春宏², 曾晓雄¹, 孙 怡¹, 黄晨聪¹

(1. 南京农业大学食品科技学院, 南京 210095; 2. 江苏省环境监测中心, 南京 210036)

摘要:对膜分离技术分级分离马尾藻多糖提取液进行了研究, 比较了不同料液比及操作压力对多糖分级分离的影响, 结果表明, 多糖主要包含在分子量大于 50kD 的截流液中; 随着料液比的减小, 膜分离后的多糖损失减少, 确定最佳料液比为 1:150 (W/V, g:mL); 操作压力对多糖损失无显著影响, 在设备允许压力范围内, 0.1~0.5MPa 都适合。

关键词:马尾藻; 多糖; 膜分离

中图分类号: S985.4+9; R284.2

文献标识码: A

文章编号: 0439-8114(2011)02-0375-03

Separation of Polysaccharides from *Sargassum pallidum* by Membrane Technology

YE Hong¹, ZHOU Chun-hong², ZENG Xiao-xiong¹, SUN Yi¹, HUANG Chen-cong¹

(1. College of Food Science and Technology, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, China;

2. Jiangsu Environmental Monitoring Center, Nanjing 210036, China)

Abstract: Fractionation of polysaccharides extracted from *Sargassum pallidum* by membrane technology has been studied. The effects of solid-liquid ratio and operating pressure on fractionation of polysaccharides were investigated. The results showed that *S. pallidum* polysaccharides were mainly included in the fractions whose molecular weight was bigger than 50 kD. A higher solid-liquid ratio would lead to less loss of polysaccharides in membrane separation. It was considered suitable to dilute the solution at the ratio of 1:150 (W/V, g:mL) before membrane separation. The operating pressure had no significant effect on polysaccharides loss. So the pressure of 0.1~0.5MPa was suitable as long as it was in the allowable scope of membrane separation equipment.

Key words: *Sargassum pallidum*; polysaccharides; membrane separation

收稿日期: 2010-05-29

基金项目: 南京农业大学青年科技创新基金项目 (Y200415)

作者简介: 叶 红 (1975-), 女, 南京人, 副教授, 博士, 主要从事生物物质分离及分析的研究工作, (电话) 13645170320 (电子信箱)

yehong@njau.edu.cn; 通讯作者: 周春宏, (电子信箱) zch402@yahoo.com.cn。

表 3 茭实冷冻干燥试验收率

试验号	半成品质量/kg	干燥时间/h	冻干质量/kg	收率/%	含水量/%
1	1.050	12	0.363	34.57	3.18
2	1.056	12	0.369	34.94	3.21
3	1.062	12	0.374	35.22	3.46
4	1.055	12	0.366	34.69	3.35

-35℃, 速冻时间为 1 h, 升华干燥时仓压 90~110Pa; 解析干燥时仓压为 40~50 Pa, 物料温度为 50℃, 干燥时间为 12 h; 脱壳后的鲜茭米应及时采用护色和热烫处理, 并快速冷冻, 尽量避免茭米的褐变; 冻干茭米含水量为 3.3% 左右, 能较好地保持茭米原有的色、香、味, 且质地疏松, 表面无硬化, 复水性好, 无变形变色现象; 冻干茭实为高附加值产品, 原料增

值达 1.35 倍; 产品经真空充氮包装后, 可在常温下长期贮存、运输和销售。

参考文献:

- [1] 高福成, 刘志胜, 李修渠. 冻干食品 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [2] 李美红, 方云山, 陈景超, 等. 茭实和冬葵子挥发性成分的 GC-MS 分析 [J]. 云南化工, 2007(1): 47-49.
- [3] 丁利君, 任乃林, 张木生, 等. 火焰原子吸收法测定潮州茭实中的矿质元素 [J]. 微量元素与健康研究, 2004(6): 28-29.
- [4] 程远霞, 陈素芝, 朱文学, 等. 土豆冷冻干燥工艺的试验研究 [J]. 食品科学, 2005(3): 113-116.
- [5] 张会坡, 张子德, 陈志周, 等. 板栗真空冷冻干燥工艺研究 [J]. 食品与机械, 2005(2): 27-28.
- [6] 张水华, 孙君社, 薛 毅. 食品感官鉴评 [M]. 第二版. 广州: 华南理工大学出版社, 2005.

(责任编辑 温 亮)

海洋生物多糖具有多种药用功效,可能成为人类战胜疾病,尤其是肿瘤、心脑血管疾病、艾滋病三大疑难病症的重要物质^[1]。马尾藻盛产于我国黄海、渤海沿岸各地,是一种常见的藻类,产量很大,从马尾藻中提取有价值的多糖,对海洋生物制药具有重大意义。海藻多糖的分离纯化是海藻多糖研究的重要步骤,海藻多糖是一类组成相当复杂的生物大分子,使用膜分离技术对海藻多糖进行分级可达到初步纯化的目的。膜分离具有无相变及化学变化、可常温操作、选择性高与能耗低等优点^[2-4]。对膜分离技术分级分离马尾藻多糖提取液进行了研究,比较了不同料液比及操作压力对多糖分级分离的影响,以改善提取过程,提高多糖得率。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 马尾藻 试验用马尾藻取自山东,经超临界CO₂萃取预处理。

1.1.2 试剂 三氯乙酸、葡萄糖、苯酚、浓硫酸、无水乙醇等,均为国产分析纯。

1.1.3 仪器 电子天平 BS210S,北京塞多利斯仪器有限公司;超声波细胞粉碎机 JY98-1,上海新芝生物技术研究;脂肪测定仪,上海新嘉电子有限公司;数显恒温水浴锅 HH-6,国华电器有限公司;旋转蒸发仪,Heidolph 公司;台式离心机 Anke TDL-5,上海安亭科学仪器厂;可见分光光度计 722S,上海精密科学仪器有限公司;超滤设备,Millipore;冷冻干燥机 Alpha 1-2,Martin。

1.2 方法

1.2.1 试验流程 称取马尾藻,加适量去离子水,超声波细胞破碎,热水浸提^[5-8],离心取上清液,加三氯乙酸沉淀蛋白质,离心取上清液,用膜过滤,将各分子量范围的溶液分别浓缩,加无水乙醇至体积分数为 75%,离心取沉淀,冷冻干燥得各粗多糖组分。

1.2.2 多糖测定 多糖测定采用苯酚-硫酸法^[9]。准确称取 105℃干燥至恒重的葡萄糖标准品 500 mg,用去离子水定容至 100 mL,再取出 1 mL 用去离子水定容至 100 mL,摇匀,得 50 μg/mL 葡萄糖标准溶液。准确吸取 0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL 上述溶液,加入具塞试管,补水至 2.0 mL,准确加入 6%重蒸苯酚溶液 1.0 mL,迅速加入浓硫酸 5.0 mL,盖塞,摇匀,静置 15 min 后,置沸水浴中 15 min,于 490 nm 处测定吸光度,以同样处理的去离子水为空白。以葡萄糖浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得标准曲线为 $y=0.0123x+0.0031$, $r=0.9996$ 。将样品稀释至适当浓度,按上述步骤操作,测其吸

光度,以标准曲线回归方程计算多糖含量。

1.2.3 膜的选用 在压力 0.5 MPa,温度 20℃条件下,将脱蛋白之后的提取液稀释至 1 L,先用孔径 0.1 μm 的微滤膜过滤,分成浓缩液和透过液,将透过液依次用截留分子量为 100、50、10、3 kD 的超滤膜进行超滤,分别收集浓缩液和透过液,并测定其多糖含量。计算并比较各多糖组分占分级前的百分比,选出其中合适的超滤膜。

1.2.4 马尾藻料液比对膜分离的影响 配制不同浓度马尾藻溶液,料液比分别为 1:20 (W/V, g:mL,下同)、1:30、1:100、1:150,溶液体积为 300 mL。按上述提取流程经超声波细胞破碎,热水浸提,脱蛋白质。将脱蛋白质后的提取液进行膜分离,压力 0.5 MPa,温度 20℃,采用经上一步试验选出的滤膜进行膜分离,分别收集浓缩液和透过液,测定其多糖含量,计算并比较膜分离后的多糖损失,确定合适的料液比。

1.2.5 膜分离时操作压力对试验结果的影响 在温度 20℃下,采用经试验确定的滤膜和料液比,分别在 0.1、0.3、0.5 MPa 压力下进行膜分离,分别收集浓缩液和透过液,测定其多糖含量,计算并比较膜分离后的多糖损失,确定适宜的操作压力。

2 结果与分析

2.1 马尾藻多糖的分子量分布

将多糖提取液脱蛋白,稀释至 1 L,进行膜分离。分别收集浓缩液和透过液,测其多糖含量,并计算各多糖组分占分级前的百分比,结果见表 1。比较不同分子量范围的多糖含量,发现多糖主要包含在分子量大于 50 kD 的截流液中,而分子量小于 50 kD 的溶液中所含多糖量较少,由于后面将对多糖进行进一步分析,需要的多糖量较多,故将分子量小于 50 kD 的多糖溶液合并。在分子量大于 50 kD 的截流溶液中,大于孔径 0.1 μm 的截流溶液中所含多糖量较多,成分也较复杂,因此将大于孔径 0.1 μm 的多糖溶液单独收集进行分析。

在以后的试验中采用孔径 0.1 μm 和截流分子量 50 kD 的两种滤膜对多糖提取液进行分级过滤,

表 1 不同孔径滤膜对多糖提取液的分级过滤

孔径	多糖浓度/μg/mL	多糖占分级前的百分比/%
0.1 μm	86.60	23.05
100 kD	62.49	19.41
50 kD	64.82	18.27
10 kD	26.36	7.01
3 kD	18.20	4.76
-	15.01	4.70

将马尾藻多糖提取液分成三部分 SPP-1($>0.1\ \mu\text{m}$)、SPP-2($\leq 0.1\ \mu\text{m}$ 且 $\geq 50\ \text{kD}$)和 SPP-3($<50\ \text{kD}$)。

2.2 马尾藻多糖提取液浓度对膜分离的影响

在不同料液比下对马尾藻多糖提取液进行膜分离,分别测定 SPP-1、SPP-2、SPP-3 多糖含量,并计算各占分级过滤前多糖含量的百分比,从而得出膜分离后的多糖损失,结果见表 2。比较 4 种料液比下提取液经膜分离后的多糖损失,结果表明,随着料液比的减小,即提取液浓度越小,膜分离后的多糖损失越少。在料液比为 1:150 时多糖损失最小。通常在膜分离过程中,由于浓差极化现象,随着分离时间的延长,膜通量会下降,并且膜表面对处理的溶液有一定吸附。此外膜分离完毕后管道内不可避免会残留一些多糖溶液,从而导致膜分离后的多糖损失。而多糖溶液浓度越小,在同样的膜分离条件下损失的多糖越少。理论上在分离前应将待处理的溶液尽量稀释,但考虑到膜分离后还要将各部分溶液浓缩冻干,如果溶液体积过大,不仅消耗能量而且浪费时间,所以综合考虑,在膜分离前将待处理的溶液按 1:150 稀释。

表 2 不同料液比对多糖提取液的分级过滤

料液比//g:mL	多糖组分	多糖含量// $\mu\text{g/mL}$	占分级前的百分比//%
1:20	SPP-1	637.54	26.09
	SPP-2	397.06	13.29
	SPP-3	150.67	7.01
1:30	SPP-1	267.85	35.50
	SPP-2	145.77	10.83
	SPP-3	73.77	10.52
1:100	SPP-1	184.93	32.74
	SPP-2	130.94	27.75
	SPP-3	31.26	7.26
1:150	SPP-1	146.90	39.26
	SPP-2	146.90	23.78
	SPP-3	70.59	16.30

2.3 操作压力对膜分离的影响

在温度 20°C 下,选用孔径 $0.1\ \mu\text{m}$ 和截流分子量 $50\ \text{kD}$ 的两种滤膜,分别在 0.1 、 0.3 、 $0.5\ \text{MPa}$ 压力下对多糖提取液进行膜分离,分别收集浓缩液和透过液。测定 3 种压力下 SPP-1、SPP-2 和 SPP-3 中的多糖含量,计算各占分级过滤前多糖含量的百分比,从而得出膜分离后的多糖损失,确定适宜的操作压力。结果见表 3。由表 3 可见,操作压力对多糖损失并无显著影响。随着操作压力升高,膜分离时间变短,即膜通量增大,然而在实验室规模下膜分

表 3 不同操作压力对多糖提取液的分级过滤

压力//MPa	多糖组分	多糖含量// $\mu\text{g/mL}$	占分级前的百分比//%
0.1	SPP-1	73.84	39.63
	SPP-2	67.95	28.07
	SPP-3	34.70	9.16
0.3	SPP-1	85.99	37.65
	SPP-2	78.44	30.29
	SPP-3	45.19	10.47
0.5	SPP-1	83.60	42.41
	SPP-2	56.05	28.69
	SPP-3	32.73	7.86

离时间差别并不十分显著,故而在设备允许压力范围内, $0.1\sim 0.5\ \text{MPa}$ 都是适合的。

3 结论

滤膜对马尾藻多糖溶液分级的结果表明,多糖主要包含在分子量大于 $50\ \text{kD}$ 的截流液中,而分子量小于 $50\ \text{kD}$ 的溶液中所含多糖量较少;马尾藻料液比对膜分离的影响表明,随着料液比的减小,膜分离后的多糖损失减少。但膜分离后还要将各部分溶液浓缩冻干,如果溶液体积过大,不仅消耗能量而且浪费时间,综合考虑,在膜分离前将待处理的溶液按 1:150 稀释;膜分离时不同操作压力对试验结果的影响表明,操作压力对多糖损失并无显著影响。但随着操作压力升高,膜分离时间变短,然而在实验室规模下膜分离时间差别并不十分显著,故而在设备允许压力范围内, $0.1\sim 0.5\ \text{MPa}$ 都是适合的。

参考文献:

- [1] 谭周进,谢达平. 多糖的研究进展[J]. 食品科技, 2002(3):10-12.
- [2] 何江川,韩永萍. 超滤膜分离法在多糖分离提取中的应用[J]. 食用菌, 2005(1):5-7.
- [3] 张 宁,彭志英. 中空纤维超滤膜浓缩胞外多糖 PS-9415 发酵液的研究[J]. 食品工业科技, 2003, 24(2):24-27.
- [4] 刘茉娥. 膜分离技术[M]. 北京:化学工业出版社, 1998.
- [5] 盛家荣,曾令辉,翟 春,等. 多糖的提取、分离及结构分析[J]. 广西师范学院学报(自然科学版), 1999, 16(4):49-54.
- [6] 刘 莉,王志鹏,梅其炳,等. 大黄多糖提取工艺对糖含量和糖醛酸含量的影响[J]. 中国药杂志, 2003, 10:748-749.
- [7] 冀颂之,杜连祥. 深层培养裂褶菌胞外多糖的提取及结构研究[J]. 微生物学通报, 2003, 30(5):15-20.
- [8] 高居易,卓建亭,黄一红. 紫胶侧耳多糖的提取、纯化及性质的研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 1999, 15(2):83-87.
- [9] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28:350-356.

(责任编辑 温 亮)