

文章编号 1009-038X(2004)05-0038-04

戊聚糖提取工艺中分离蛋白质方法的比较

任大鹏, 马晓军, 姚惠源
(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要:作者通过综合考虑除蛋白质方法对戊聚糖得率, 戊聚糖中阿魏酸质量分数等 4 项指标的影响, 对提取戊聚糖工艺中常用的 5 种分离蛋白质方法进行比较, 确定了除蛋白质的最优方法。

关键词:小麦淀粉废水; 戊聚糖; 阿魏酸

中图分类号:TS 239

文献标识码:A

The Performance Comparison of Processes for Extracting the Pentosans

REN Da-peng, MA Xiao-jun, YAO Hui-yuan
(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: There is no feasible process to extract the pentosans from waste water of wheat starch. For the study of pentosans in waste water of wheat starch, this paper compared five common protein separating in the polysaccharide extraction, process by investigating 4 indexes including the affection on ferulic acid and protrin, the extractive rate, the purity of pentosans in waste water of wheat starch, etc. The best method was determined.

Key words: waste water of wheat starch; pentosans; ferulic acid

近年来,我国小麦淀粉加工业发展十分迅速,年产量已达 530 万 t,但总体而言,加工水平还很低,表现在品种不多,应用面不广,原料利用很不充分等方面.传统的小麦淀粉加工是将小麦粉经过水提和分离等工序得到淀粉,而将富集了小麦戊聚糖并含有蛋白质的洗脱水废弃,不但未对其中的高附加值物质进行有效利用,还造成了严重的环境污染.在小麦戊聚糖的提纯、分离过程中,蛋白质的去除方法相当重要.传统观念认为,蛋白质的去除率越高越有利,作者通过对除蛋白质前后戊聚糖的得率、蛋白质的去除率、除蛋白后戊聚糖的纯度以及戊聚糖中的重要基团阿魏酸质量分

数等 4 项指标进行考察,综合评价了 Sevage 法、三氯乙酸法、等电点沉淀法等分离蛋白质的方法在小麦戊聚糖提取过程中的优劣.

1 材料与方法

1.1 主要材料

浓缩小麦淀粉废水:河南莲花味精有限公司提供;工业中温 α -淀粉酶:无锡杰能科生物工程有限公司提供;化学试剂均为分析纯.

1.2 主要设备

722 型光栅分光光度计:上海第三分析仪器厂产品;LXJ-II 沉淀离心机:上海医用分析仪器厂产

收稿日期 2003-10-10; 修回日期 2003-12-08.

作者简介:任大鹏(1979-),男,福建马尾人,工学硕士.

万方数据

品 ;B50-D 型增力电动搅拌机 :上海标本模型厂产品 ;HHS-4S 型电热恒温水浴锅 :上海天平仪器厂产品 ;FA1004 型电子天平 :上海天平仪器厂产品 ;PHS-4S 精密 pH 计 :上海雷磁仪器厂产品.

1.3 实验方法

1.3.1 小麦淀粉废水除淀粉预处理 将小麦淀粉废水样液中加入工业中温 α -淀粉酶,pH 6.4,55 $^{\circ}\text{C}$,反应 90 min,反应后在溶液中加入无水乙醇,配成乙醇体积分数为 85% 的溶液,5 ~ 10 $^{\circ}\text{C}$ 静置 10 h,3 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀,复水配成 0.15 g/mL 的溶液.组成成分分析结果见表 1.

1.3.2 小麦淀粉废水组成成分的分析

- 1) 水分 直接干燥法,GB 5009.3 – 85^[1].
- 2) 灰分 550 $^{\circ}\text{C}$ 灼烧法,GB/T 5505 – 85^[1].
- 3) 蛋白质 :微量凯氏定氮法,GB 5009.5 – 85^[1].
- 4) 淀粉 :淀粉酶法,GB 5009.9 – 85^[1].
- 5) 戊聚糖 :间苯三酚法^[2].

1.3.3 小麦淀粉废水分离蛋白质的方法

- 1) Sevage 法 按 $V(\text{氯仿}):V(\text{正丁醇})=4:1$ 比例混合配成溶剂,加入样品中直至不再形成凝胶,4 000 r/min 离心 15 min,上清液中为戊聚糖.
- 2) 三氯乙酸法 在样品中滴加质量分数 30% 三氯乙酸直至不连续产生混浊为止,5 ~ 10 $^{\circ}\text{C}$ 静置 10 h 3 000 r/min 离心 15 min 去除沉淀,除去沉淀,上清液中为戊聚糖.
- 3) 等电点沉淀法 :用饱和 NaOH 溶液调节样液 pH 值至 8.0,3 000 r/min 离心 15 min,上层水相用 1 mol/L HCl 溶液调节 pH 值至 4.4,再以 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液.
- 4) 加热法 样品溶液在 85 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热 10 min,在沸水浴中加热 15 min,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液.
- 5) 苯酚法 取样液中加入苯酚,配成质量分数为 90% 的酚水溶液,5 ~ 10 $^{\circ}\text{C}$ 静置 10 h,上层白色乳状液为水相,下层为酚相,戊聚糖在酚相中.

2 结果与讨论

2.1 小麦淀粉废水经预处理后的组成成分分析

小麦淀粉废水在未经任何处理时,仍含有一定的淀粉、葡萄糖等杂质,在用工业用中温 α -淀粉酶处理后,再经体积分数为 85% 的乙醇沉淀,其样品组成成分见表 1.

表 1 小麦淀粉废水经预处理后的组成成分(干基)
Tab. 1 The component of waste water of wheat starch pretreated

成分	质量分数/%
蛋白质	39.25
总糖	51.66
戊聚糖	46.75
灰分	1.33
阿魏酸/(mg/g)	5.14

2.2 小麦淀粉废水中蛋白质分离方法评价指标的选择

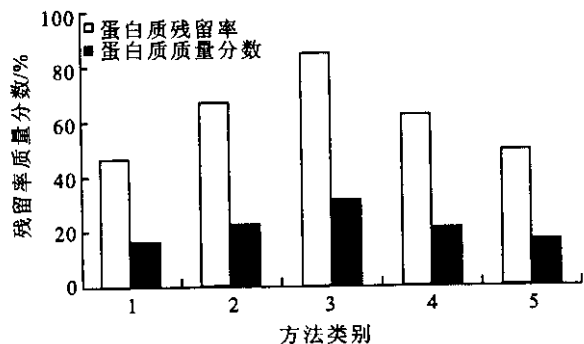
研究发现,小麦淀粉废水经不同分离蛋白质方法处理后,其戊聚糖得率、纯度的差异较大,同时小麦淀粉废水主要利用成分戊聚糖的特殊生化性质,如粘性、氧化胶联等性质依赖于在阿拉伯糖基的 C(O)-5 位上存在着以酯键相连的阿魏酸^[3,4].阿魏酸的质量分数和排列顺序能影响戊聚糖的表观相对分子质量以及与其它多糖的连接等.因而作者通过对分离蛋白质前后戊聚糖的得率,蛋白质的去除率,阿魏酸的保留率以及除蛋白质后戊聚糖的纯度各方面对蛋白质的分离方法进行比较.

2.3 蛋白质分离方法对样品中蛋白质去除率的影响

小麦淀粉废水体系中蛋白质的存在状态较复杂,有处于游离态的蛋白质,有通过阿魏酸与戊聚糖相连接的肽链等.当使用不同的分离蛋白质手段对体系进行处理时,由于其作用机理的不同,其除蛋白的效果有显著的差异,结果见图 1.

2.4 蛋白质分离方法对戊聚糖得率及纯度的影响

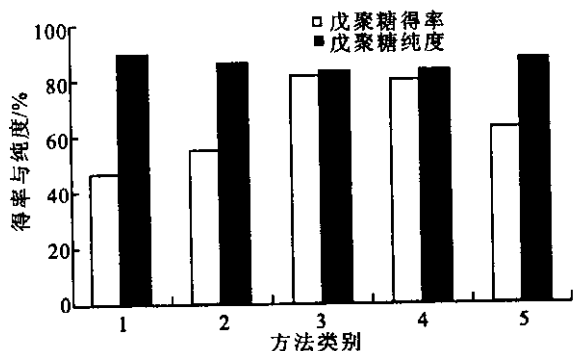
作者采用的 5 种分离蛋白质的方法均不同程度地造成戊聚糖得率的损失,可能是由于除苯酚法外,其余 4 种方法均利用了蛋白质的变性、沉淀等性质后再进行固液分离,而这些过程会造成部分戊聚糖的物理吸附.此外,戊聚糖分子间的物理缠绕、戊聚糖与其它组分的相互作用、糖醛酸的羧基和戊聚糖中羟基间的共价酯键以及相邻戊聚糖间阿魏酸桥联的形成等均有可能影响到戊聚糖在蛋白质分离前后的得率^[5~7].另外,不同分离蛋白质的方法其对蛋白质变性的作用机理不同,Sevage 法利用蛋白质表面变性性质的差异,而三氯乙酸则可能影响到蛋白质的氢键、静电力和疏水键而使其变性,在戊聚糖的纯度上也会有相应的差异.结果见图 2.



注 蛋白质残留率: 处理后蛋白质总质量/处理前蛋白质总质量; 产品中蛋白质质量分数: 处理后蛋白质总质量/处理后固型物总质量; 1: Seville 法; 2: 三氯乙酸法; 3: 等电点沉淀法; 4: 加热法; 5: 苯酚法。

图 1 5 种不同除蛋白方法的效果比较

Fig. 1 The comparison of five protein removing methods



1: Seville 法; 2: 三氯乙酸法; 3: 等电点沉淀法; 4: 加热法; 5: 苯酚法。

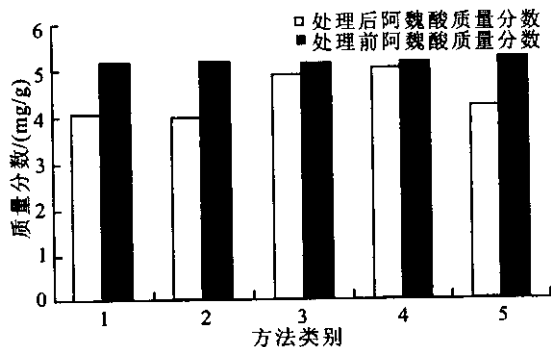
图 2 5 种除蛋白质方法对戊聚糖得率及纯度的影响

Fig. 2 The influence of five protein removing methods on the pentosans parity

2.5 蛋白质分离方法对戊聚糖中阿魏酸的影响

阿魏酸对戊聚糖的特性具有重要作用^[3,5,7], 有报道指出, 相邻戊聚糖链间阿魏酸基团的初始接触易于形成交联; 通过相邻阿魏酸残基的偶合有利于戊聚糖的表现相对分子质量的增大; 有蛋白质存在

时, 阿魏酸可以连在氨基的 N-末端或酪氨酸残基上^[8], 是戊聚糖与其它多糖及蛋白质连接的基础^[4], 同时也是对戊聚糖经生化处理后其特性的保持具有重要作用。如图 3 所示, 不同分离蛋白质方法对戊聚糖中阿魏酸的影响也具有显著差异, 可能由于热变性及等电点沉淀对游离蛋白质的影响更加显著, 从而保证了与戊聚糖相连接的肽的相对稳定。



1: Seville 法; 2: 三氯乙酸法; 3: 等电点沉淀法; 4: 加热法; 5: 苯酚法。

图 3 5 种除蛋白方法对阿魏酸的影响

Fig. 3 The influence of five protein removing methods on ferulic acid

3 结 论

1) 任何分离蛋白质的手段都不可能只作用于戊聚糖体系中的游离蛋白质, 而对与戊聚糖结合的蛋白质不产生影响, 在使蛋白质沉淀, 变性的同时戊聚糖也会相应地吸附或沉淀, 进而影响戊聚糖的得率。

2) 通过对除蛋白质前后戊聚糖的得率, 蛋白质的去除率以及除蛋白后戊聚糖的纯度和戊聚糖中的重要基团阿魏酸质量分数 4 项指标进行考察, 发现等电点沉淀及热变性的方法分离蛋白质能使戊聚糖具有较高得率, 以及较高的阿魏酸质量分数并能充分保持戊聚糖原有生化特性, 这两种分离蛋白质的方法应用于提取戊聚糖工艺中优于其它 3 种方法。

参考文献:

- [1] 王肇慈. 粮油食品品质分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994.
- [2] Douglas S G. A rapid method for the determination of pentosans in wheat flour[J]. Food Chemistry, 1981, (7): 139 - 145.
- [3] Izydorczyk M S, Biliaderis C G. Cereal arabinoxylans: advances in structure and physicochemical properties[J]. Carbohydrate Polymers, 1995, 28: 33 - 48.
- [4] Saulnier L, Eneau N, Thibault J F. Variability in grain extract viscosity and water-soluble arabinoxylan content in wheat[J].

J Cereal Sci,1995,22 259 – 264.

[5] Izydorczyk M, Biliaderis C G, bushuk W. Studies on the structure of wheat-endosperm arabinoxylans [J]. Carbohydr Polymer,1994,24 61 – 71.

[6] Cleemput G, Dort M V. Variation in the degree of D-xylose substitution in arabinoxylan extracted from a european wheat flour [J]. J Cereal Sci, 1995, 22 73 – 84.

[7] Andrewartha K A, Phillips D R, Stone B A. Soluble properties of wheat-flour arabinoxylans and enzymically modified arabinoxylans[J]. Carbohydr Res, 1979,77 191 – 195.

[8] Neukom H, Markwalder H V. Oxidative Gelation of Wheat Flour Pentosans :A new way of crosslinking polymers [J]. Cereal Foods World,1978,23 374 – 378.

(责任编辑 朱 明)

(上接第 37 页)

3) 研究了滤嘴中壳聚糖添加量对主流烟气中烟碱含量和烟气 pH 值变化的影响,当滤嘴截留烟碱的效率提高了近 40% 时,pH 值的变化幅度并不是很大。

参考文献：

[1] 黄嘉仍. 烟草工业手册[M]. 广州 :广东经济出版社,1999. 767 – 771.

[2] 钟科军. 卷烟降焦综合技术方法与实践[J]. 常德师范学院学报(自然科学版),2000,12(4) 82 – 86.

[3] 冯群芝. 滤嘴通风稀释技术的降焦效果实验分析[J]. 烟草科技,2000,(7) 10 – 11.

[4] 吴宏伟,李丛民,田卫群. 某些盐类添加剂对降低卷烟焦油量的机理研究[J]. 烟草科技,2000,(11) 8 – 9.

[5] Kuo Dai-Ming. Poison-reduced cigarette[P]. 美国专利 :6 334 448, 2002-01-01.

[6] 堵劲松. 提高卷烟滤嘴过滤效率的途径[J]. 烟草科技,1998,(2) 9 – 10.

[7] 蒋挺大. 甲壳素[M]. 北京 :化学工业出版社,2003.

[8] 王鸿博,高卫东. 甲壳素及壳聚糖在纺织工业中的应用[J]. 纺织导报,2003,(1) 26 – 28.

[9] 袁彦超,王培秋,陈炳稔. 壳聚糖及其衍生物的吸附特性研究进展[J]. 江苏化工,2002,30(4) 23 – 26.

[10] 王小红,马建标,何炳林. 甲壳素、壳聚糖及其衍生物的应用[J]. 功能高分子学报,1999,12(2) 197 – 202.

[11] 郭立民. 壳聚糖在卷烟滤嘴中的应用研究[J]. 延安大学学报,2000,(3) 60 – 62.

[12] 李八方,于广利,梁平方. 甲壳质及其衍生物降低香烟焦油和烟碱含量研究[J]. 中国海洋药物杂志,1996,(1) 48 – 50.

[13] 宋献周,沈月新. 不同平均分子量的 α -壳聚糖的抑菌作用[J]. 上海水产大学学报,2000,9(2) 138 – 139.

[14] 卢斌斌,刘惠民,谢剑平. 卷烟烟气 pH 的测定及其与烟碱存在状态的关系综述[J]. 烟草科技,2002,(5) 19 – 21.

(责任编辑 朱 明)