

大蒜素纳滤纯化工艺研究*

熊 涛 吴刘健 熊 伟 曾哲灵

(南昌大学食品科学教育部重点实验室,南昌,330047)

摘 要 大蒜素纳滤纯化工艺可有效除去大蒜乙醇提取液中糖类杂质,获得的产品中大蒜素含量比单纯乙醇浸提浓缩工艺提高了8倍,达到13.4%,大蒜素得率为0.18%。适宜的纳滤纯化工艺条件为:150 u纳滤膜,压力0.6 MPa,温度30~35℃。

关键词 大蒜素,纳滤,纯化

大蒜(*Allium sativum* L)属百合科葱属植物,大蒜素(allicin)是新鲜大蒜破碎后、由大蒜组织中的蒜氨酸(alliin)在蒜酶(alliinase)的催化下转化而成的。近年来的药理研究表明,大蒜素具有抗菌、消炎、抗病毒、杀虫、降血压、降血脂、预防动脉粥样硬化、抗血小板凝聚、抗肿瘤、提高机体免疫功能及抗氧化等多种功效^[1~4]。大蒜素性质不稳定,在光、热的作用下进一步降解为烯丙基硫化物等含硫化合物,这些物质仍具有一定的活性^[5,6]。

大蒜素提取方法主要有水蒸气蒸馏、溶剂萃取、超临界流体萃取。采用水蒸气蒸馏提取大蒜素,由于蒸馏温度高(100℃),大蒜素受热分解,大蒜素含量极低^[7]。超临界流体萃取温度较低,大蒜素不易分解,萃取物中大蒜素含量高,但设备复杂、操作条件较为严格。溶剂萃取能有效防止大蒜素的降解,常用的溶剂有正己烷、乙醚或乙醇。乙醇价格便宜,但会溶解氨基酸、可溶性糖分、蛋白质和色素等成分,故还需进一步纯化。

纳滤是介于超滤和反渗透之间的膜分离技术,其截留分子质量在200~1 000 u范围,孔径为几纳米。操作压力远低于反渗透,能有效地分离小分子有机物,在制药、食品、生物化工、水处理等诸多领域应用广阔^[8]。本文利用纳滤技术研究了大蒜素提取液的纯化工艺,为大蒜深加工提供一定的理论基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料及主要试剂

白皮大蒜(产地山东,市售)。

第一作者:学士,副教授。

* 国家农业科技成果转化项目(No. 2003360080863)

收稿日期:2006-03-27, 改回日期:2006-06-07

体积分数95%乙醇(分析纯);5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB,生化试剂,Sigma);Hepes(生化试剂,Sigma);L-半胱氨酸(生化试剂,Sigma)。

1.2 主要仪器设备

纳滤膜分离设备(无锡赛普膜科技发展有限公司),HH-L型恒温水浴槽(国华电器有限公司),WFZ756PC型紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司),SHB-III型循环水真空泵(郑州长城科工贸有限公司),R6型旋转蒸发仪(上海申科仪器有限公司),TDL-5型低速离心机(上海安亭仪器有限公司),ALPHA 1-2型真空冷冻干燥机(德国 Martin Christ公司)。

1.3 工艺流程

新鲜大蒜去皮→清洗→捣碎成蒜泥→保温酶解→乙醇萃取→离心→减压浓缩→预处理→纳滤→滤液→真空冷冻干燥→大蒜素产品

1.4 提取液的制备

称取去皮鲜蒜500 g,组织捣碎机破碎成泥,38℃下保温酶转化反应20 min,按料液比(g:mL)1:4加入体积分数95%乙醇,30℃下浸提80 min后离心(3 500 r/min,15 min)得清液。为降低乙醇浓度,减少溶剂对膜的损伤,提取液在50℃、真空度0.09 MPa条件下浓缩至1/4体积。随着浓缩的进行,会有部分微粒析出而出现混浊,纳滤时易吸附在膜面,加快膜面污染,故本实验在纳滤前采用0.45 μm微滤膜过滤除去这些粒子杂质。

1.5 温度对大蒜素稳定性的影响

为了选择合适的纳滤温度,研究了大蒜素的耐热性能,将大蒜素液置于不同温度下,每隔1 h取样1次,置于-18℃冰箱中保存,待样品收集完,测定各样品中大蒜素的含量,绘制大蒜素浓度变化趋势图。

1.6 纳滤膜的选择

20℃条件下分别用不同孔径纳滤膜对提取液进行处理,考察杂质截留率、大蒜素透过率及透过液中大蒜素含量。圆形纳滤膜直径12 cm、有效过滤面积0.007 m²、孔径规格(MWCO)分别为1 000、300和150 u,材料为复合膜材料。

1.7 纳滤工艺条件

纳滤的一般工作压力范围为0.3~0.9 MPa,实验中恒定温度在30℃,研究在0.3~0.8 MPa压力下的膜通量变化规律。恒定温度为30℃,研究压力对膜通量的影响;在压力恒定条件下,研究温度对膜通量的影响。

1.8 真空冷冻干燥

浓缩液在-20℃、3.0×10⁻⁶ MPa条件下真空干燥12 h后得到产品。

1.9 大蒜素(allicin)测定^[9]

半胱氨酸溶于50 mmol/L Hepes缓冲液(pH 7.5)配成1.0 mmol/L溶液,现用现配。取0.5 mL上述半胱氨酸溶液,加2.0 mmol/L DTNB溶液(50 mmol/L Hepes作缓冲液)2.0 mL,用50 mmol/L Hepes缓冲液稀释至6.0 mL,26℃下保温30 min,412 nm波长下测定其初始吸光度(A₀)。

用50 mmol/L Hepes缓冲液稀释大蒜待测液至一定倍数,取1.0 mmol/L半胱氨酸溶液0.5 mL,加0.5 mL稀释液,26℃下保温15 min后加入2.0 mmol/L DTNB溶液2.0 mL,26℃下继续保温30 min,412 nm波长下测定其吸光度(A)。

$$C_{\text{Allicin}} = \Delta A_{412} \times d \times 162.26 / (2 \times 14 150)$$

$$\Delta A_{412} = A_0 - A$$

式中: C_{Allicin} 为allicin的浓度,mg/mL; d 为总稀释倍数;162.26为allicin分子质量;14 150为DTNB与allicin反应产物NTB(2-硝基-5-硫代苯甲酸)在412 nm、1 cm光径摩尔消光系数。

1.10 总固形物、总糖、还原糖、总酸的测定方法

总固形物含量采用重量法测定,总糖、还原糖采用莱因-埃农氏法测定,总酸采用酸碱滴定法,pH采用pHS-3C型酸度计测定。

2 结果与分析

2.1 浓缩和微滤前后大蒜液理化性质

大蒜乙醇提取液在减压浓缩过程中有5%~7%的大蒜素降解,有1%~2%大蒜素随乙醇蒸发。经0.45 μm微滤膜过滤,液体透光率由65%升到98%,颗粒杂质得到有效去除,且大蒜素损失不到3%,粘

度也有所下降,预处理效果明显。微滤透过液即为纳滤原液,浓缩和微滤前后主要理化指标见表1。

表1 浓缩和微滤前后主要理化指标

项 目	总固形物含量 /%	大蒜素含量 /mg·mL ⁻¹	透光率 (600 nm) /%	粘度 (20℃) ×10 ³ /Pa·s	pH
原 液	1.4	0.55	96	2.05	6.10
浓缩液	6.1	2.20	65	2.30	6.20
微滤透过液	5.5	2.14	98	2.10	6.14

2.2 温度对大蒜素稳定性影响

大蒜素提取液在不同温度下浓度变化趋势如图1所示,图1结果表明,20~35℃范围内大蒜素降解速度较缓慢,当温度超过45℃时降解速度明显加快,所以纳滤温度应控制在40℃以内。

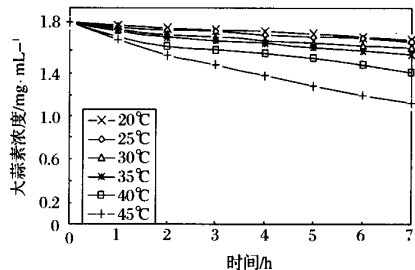


图1 大蒜素在不同温度下浓度变化趋势图

2.3 纳滤膜的选择

20℃条件下分别用不同孔径纳滤膜对提取液进行处理。杂质截留效果、大蒜素透过率及透过液中大蒜素含量如表2所示。由表2可以看出,各种纳滤膜对大蒜素的透过率都在90%以上,在除杂方面150 u纳滤膜明显优于1 000 u和300 u纳滤膜。

表2 各种型号规格纳滤膜的过滤效果

纳滤膜规格/u	1 000	300	150
操作压力/MPa	0.6	0.6	0.6
初始通量/L·(m ² ·h) ⁻¹	3.6	3.2	2.0
总固形物截留率/%	58.0	62.7	80.7
大蒜素透过率/%	95.1	93.6	91.1
透过液中大蒜素含量/mg·mL ⁻¹	2.09	2.06	2.00

2.4 不同压力下150 u纳滤膜的通量变化趋势

一般纳滤的工作压力为0.3~0.9 MPa,实验中当操作温度为30℃,采用压力0.3~0.8 MPa测试膜通量大小,根据实验过程中所测得的数据制成图2。

从图2上可以看出,当压力在0.3~0.8 MPa之间变化时,通量从1.2 L/(m²·h)上升到4.0 L/(m²·h)。而当压力超过0.7 MPa时,膜通量升高缓慢。根据流体动力学原理,当压力增大后,纳滤膜的表面

被压实,形成浓差极化和凝胶层,膜的污染加重,影响了膜的通量。因此操作压力选择 0.4~0.7 MPa 研究膜通量衰减曲线较为适宜。

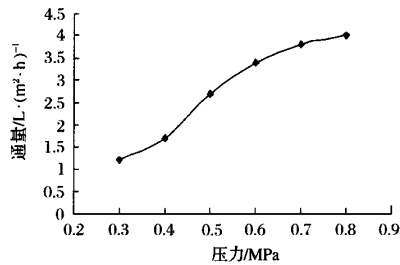


图2 不同压力下 150 Da 纳滤膜的通量变化趋势

2.5 压力对膜通量的影响

恒定温度为 30℃,分别考察压力为 0.4、0.5、0.6、0.7 MPa 时的膜通量随时间的变化趋势。

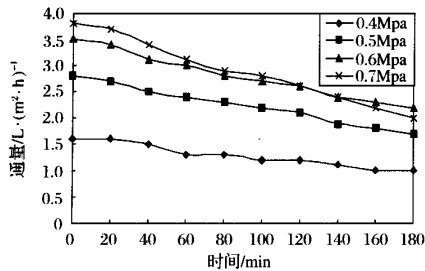


图3 不同操作压力下膜通量的衰减曲线

从图 3 可以看出,随着压力的提高,膜通量的衰减速度呈加快趋势,尤其当压力达到 0.7 MPa 且运行 3 h 时膜通量衰减了 47%。这可能因为操作压力增大到一定程度时,纳滤膜和料液之间的浓度差使膜面上凝胶层形成加快,增大了料液通透阻力。0.4、0.5、0.6、0.7 MPa 时的平均膜通量分别为 1.3、2.2、2.8、2.9 L/(m²·h),因此纳滤操作压力选择 0.6MPa。

2.6 温度对膜通量的影响

根据大蒜素的热不稳定性,恒定纳滤压力在 0.5 MPa,分别测试纳滤温度为 20、25、30、35、40℃ 时膜通量,考察其变化趋势,结果如图 4 所示。

图 4 显示,温度是影响膜通量稳定的显著因素,温度越高通量越大。但考虑到大蒜素热不稳定性,纳滤操作温度应控制在 30~35℃。

2.7 纳滤前后主要成分的变化

比较纳滤前后,提取液中大蒜素、还原糖、总糖、总酸及 pH 值的变化(见表 3),从表 3 中可以看出,透

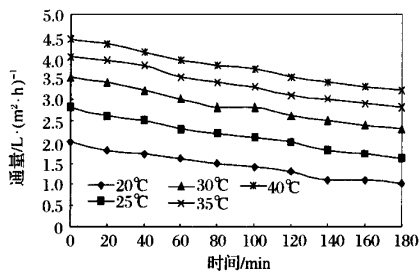


图4 不同操作温度下膜通量的衰减曲线

过液中总糖含量降低了近 80%,而还原糖、总酸变化不大,pH 值也没有大的变化,大蒜素透过率达 90%。

表 3 纳滤前后提取液中主要成分的变化

项 目	大蒜素 /mg·mL ⁻¹	还原糖 /%	总糖 /%	总酸 /%	pH 值
原 液	2.14	0.8	5.1	0.20	6.15
透过液	1.93	0.7	0.9	0.18	6.20

2.8 真空冷冻脱水

纳滤透过液在 -20℃、3.0×10⁻⁶ MPa 条件下脱水 12 h 后得到产品。产品中大蒜素含量为 13.4%,大蒜素得率为 0.18%,真空冷冻脱水过程中大蒜素挥发损失约 8%。

2.9 大蒜素含量及得率的比较

分别采用超滤纯化工艺、纳滤纯化工艺及未经纯化制得大蒜素产品的结果列于表 5。由表 5 可以看出,纳滤纯化工艺获得的产品中大蒜素含量是超滤纯化工艺的 4 倍,是未纯化的 8 倍,纳滤纯化效果明显,大蒜素得率较超滤纯化工艺和单纯乙醇提取工艺低。

表 5 纳滤与超滤及单纯乙醇浸提比较

工 艺	产品中大蒜素含量/%	大蒜素得率/%
纳滤纯化	13.4	0.180
超滤纯化	3.2	0.195
未纯化	1.5	0.205

3 结 论

(1)150 u 纳滤膜能截流 80% 固溶物杂质,大蒜素透过率达 90%,纯化效果显著。

(2)纳滤膜的最佳孔径为 150 u,适宜工艺条件为,压力 0.6 MPa、温度 30~35℃。此工艺条件下纳滤透过液经真空冷冻干燥后,产品中大蒜素含量为 13.4%,大蒜素得率 0.18%,真空冷冻干燥过程中大蒜素挥发约 8%。

参 考 文 献

- 1 于新蕊,丛月珠.大蒜的化学成分及其药理作用研究进展[J].中草药,1994,25(3):158~160
- 2 Arnault I, Haffner T, Siess M H, et al. Analytical method for appreciation of garlic therapeutic potential and for validation of a new formulation[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2005,37: 963~970
- 3 Aharon Rabinkov, Talia Miron, David Mirelman, et al. S-Allylmercaptogluthathione: the reaction product of allicin with glutathione possesses SH-modifying and antioxidant properties[J], Biochimica et Biophysica Acta, 2000(1499):144~153
- 4 蓝景生,黄耀光.大蒜素在心血管疾病中的研究进展[J].医学综述,2002,8(4):206~207
- 5 Lee N S, Kim N S, Lee D S. Comparative study of extraction techniques for determination of garlic flavor components by gas chromatography - mass spectrometry[J]. Anal Bioanal Chem 2003(377):749~756
- 6 Bocchini P, Andalò C, Pozzi R, et al. Determination of diallyl thiosulfinate (allicin) in garlic (*Allium sativum* L.) by high-performance liquid chromatography with a post-column photochemical reactor[J]. Analytica Chimica Acta, 2001(441):37~43
- 7 何荣海,马海乐.大蒜有效成分的提取研究进展[J].食品科技,2004(10):40~42
- 8 孙玲新,戚俊清,葛虹.纳滤技术及其应用进展[J].化工装备技术,2004,25(1):8~12
- 9 曾哲灵,吴刘健,熊涛,等.大蒜素超滤纯化工艺研究[J].食品与发酵工业,2006,32(3):109~111

Study on Allicin Purification by Nanofiltration Technique

Xiong Tao Wu Liujian Xiong Wei Zeng Zheling

(The Key Laboratory of Food Science of MOE, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

ABSTRACT Nanofiltration membrane technique in removing the impurities as glucides from ethanol-extracted liquid of garlic was studied. The purity of allicin in the final product was 13.4%, more than eight times higher than extracted by ethanol only. The extraction rate was 0.18%. The suitable nanofiltration conditions were: 150Da nanofiltration membrane, pressure 0.6MPa, temperature 30~35℃.

Key words nanofiltration, allicin, purification

行业动态

国内最大的大豆高新工业园建成投产

经过2年的紧张建设,中国最大的大豆高新工业园区——大庆日月星大豆高新工业园在黑龙江省大庆市落成竣工。

天圆营养集团旗下全资子公司大庆日月星有限公司充分利用国家实施的“三农”政策,在大庆市政府的支持下,于2004年在国家级开发区大庆高新技术产业开发区投资建设大庆日月星大豆高新工业园。工业园集“产业化、科技化、规模化、集约化、优势化”为一体,占地1.2km²,是目前中国已建成的最大的大豆工业园。工业园现建设项目有大豆分离蛋白2万t,大豆功能性蛋白1万t,卵磷脂500t,生化饲料10万t,豆油3万t等,其中大豆蛋白项目规模为3万t。公司即将开发生产的生物柴油产品,具有非常广阔的市场前景。大庆日月星大豆高新工业园建成投产,标志着中国大豆产业已进入规模化发展阶段,也必将带动当地产业结构的改善及其区域经济的全面发展,促进全国大豆蛋白行业和大豆精深加工行业的整体国际竞争力的迅速提高。

据联合国粮农组织报告,全球市场蛋白质需求量巨大。21世纪以来,日本、美国以及欧洲的许多国家都掀起了大豆食品热。世界各国都在开发研制和生产植物蛋白,以保证国民健康需要。国内外对大豆蛋白系列产品的需求也与日俱增,全球大豆蛋白热为工业园的发展提供了广阔的空间。

2004年我国企业在大豆国际贸易中遭受了重大损失,国务院与相关部委多次发文强调其根本原因是我国大豆精深加工企业规模小,分布零散,技术设备落后,在国际市场上缺乏竞争力,没有发言权所致。大庆日月星大豆高新工业园的建成是我国大豆产业发展的一个成功的模式,其经验值得借鉴。