

磁性壳聚糖微球吸附马铃薯淀粉废水中蛋白的应用研究

张 轶¹, 杨大林¹, 韩 杰¹, 朱向玲¹, 赵 坤², 赵 萍¹

(1. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730050;

2. 兰州理工大学石油化工学院, 甘肃兰州 730050)

摘 要: 利用高分子絮凝结合磁分离技术对从马铃薯淀粉废水中回收蛋白进行初步研究。采用反向悬浮交联法制备得到磁性壳聚糖微球, 用扫描电镜对其进行形貌观察, 并研究了该微球对马铃薯淀粉废水中蛋白的吸附效果。结果表明: 合成的磁性微球外表呈球形, 粒径为 20~50 μm ; 当马铃薯淀粉废水中磁性壳聚糖用量为 2mg/mL (磁性壳聚糖微球: 马铃薯蛋白 = 4:1), 吸附时间为 30min, 温度为 45 $^{\circ}\text{C}$, pH 为 7.0 时, 吸附率最高, 达到 80%。该研究为马铃薯淀粉废水的综合处理开辟了新的途径。

关键词: 磁性壳聚糖微球, 马铃薯淀粉废水, 蛋白质, 吸附

Study on application of absorbing protein in potato starch waste water by magnetic chitosan microspheres

ZHANG Yi¹, YANG Da-lin¹, HAN Jie¹, ZHU Xiang-ling¹, ZHAO Kun², ZHAO Ping¹

(1. College of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China;

2. College of Petrochemical Technology, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China)

Abstract: Polymeric flocculation and magnetic separation technology were used absorbing potato protein from potato starch waste water. The magnetic chitosan microspheres (M-CS) were prepared by reverse-phase suspension polymerization, its morphology were observed by using SEM, and adsorption effects of magnetic chitosan microspheres on protein of potato starch waste water were studied. The results showed that the shape of the microspheres was spherical, and their sizes were at 20~50 μm , absorb rate of protein can reached 80%. The effective treatment conditions were: addition amount of magnetic chitosan microspheres 2mg/mL (magnetic chitosan microspheres: potato protein = 4:1), absorbing time 30min, temperature 45 $^{\circ}\text{C}$, and pH 7.0. The research opened up a new way for comprehensive treatment of potato starch waste water.

Key words: magnetic chitosan microspheres; potato starch waste water; protein; absorb

中图分类号: X703.5

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2010)09-0251-03

马铃薯系我国北方地区的特色农产品之一, 以马铃薯淀粉为主的加工产业有利于带动地区经济发展。马铃薯淀粉在生产过程中排放大量废水, 马铃薯蛋白是其中的主要成分。国内外研究表明, 马铃薯蛋白是一种全价蛋白, 氨基酸组成均衡, 必需氨基酸含量较高, 特别是赖氨酸极其丰富, 适合研究开发马铃薯蛋白产品^[1-3]。但国内的淀粉生产, 对马铃薯蛋白往往不加回收, 直接随废水排放, 不仅造成资源浪费, 还将导致环境水体污染, 因此, 淀粉废水中马铃薯蛋白的回收及开发利用研究对于增加产品附加值、提高环保性能、发展可循环经济具有十分重要的作用。壳聚糖是一种碱性氨基多糖, 可与废水中绝大部分成胶体状并带负电荷的蛋白质等物质, 快速

絮凝形成沉淀, 因具优良的生物亲和性、无毒和易于化学改性, 成为国内外在食品工业废水处理中常用的优良天然高分子絮凝剂^[4]。但壳聚糖直接使用后回收困难, 而利用磁性壳聚糖微球采用新颖的磁分离技术可以弥补这一不足^[5]。磁性壳聚糖微球是指内部含有磁性金属或金属氧化物(铁、钴、镍及其氧化物)的超细粉末且具有磁响应性的壳聚糖微球, 它不仅具有壳聚糖的特点, 而且具有磁响应性, 可在外加磁场的作用下方便分离^[6]。本文利用反向悬浮交联法制备了粒径范围为 40~100 μm 的磁性壳聚糖微球, 用扫描电镜进行形态观察, 对磁性壳聚糖微球吸附分离马铃薯蛋白的条件进行了初步研究, 以期能为马铃薯淀粉废水的处理开辟一种新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

壳聚糖 脱乙酰度 > 85%, 浙江玉环生物化学有限公司; 马铃薯淀粉废水 实验室模拟自制, 蛋白

收稿日期: 2009-10-09

作者简介: 张轶(1976-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 农产品贮藏与加工。

含量为 0.4971mg/mL;氢氧化钠、盐酸、液体石蜡、石油醚、戊二醛、三氧化二铁、丙酮、N,N-二甲基甲酰胺、硫酸铜、酪蛋白、Span-80 以上均为分析纯。

JSM-5600LV 型扫描电镜 日本电子光学公司; Mark500sR 电子分析天平 BEL; DZF6020MBE 真空干燥箱 上海博迅; TDL-5-A 低速离心机 上海安亭科学仪器总厂; pHs-3D 型 pH 计 上海雷磁仪器厂; UV-9200 紫外分光光度计 北京瑞利分析仪器公司; HH-4 数显恒温水浴锅 郑州长城科工贸有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 磁性壳聚糖微球的制备与表征 采用反向悬浮交联法。准确称取 1g 壳聚糖分散在 30mL 1% 的醋酸溶液中,搅拌均匀。精确称取 Fe_2O_3 磁粉 5mg, 搅拌下将其溶解在壳聚糖-醋酸溶液中,在搅拌下慢慢加入 8mL Span-80 和 160mL 液体石蜡的混合液,充分搅拌均匀后,超声 1min。在搅拌下再向体系中缓慢加入 7% 的戊二醛 20mL,搅拌 10min,得到微乳液,置于 40℃ 的恒温水浴中,陈化 40min。将产物依次用石油醚、丙酮、水洗涤三次后抽滤,所得产物置于 60℃ 干燥箱中干燥 24h,即制得磁性壳聚糖微球。对合成的磁性微球用扫描电镜观察表面形态。

1.2.2 废水中蛋白质含量的测定 采用双缩脲法。

1.2.2.1 双缩脲试剂的配制 准确称取硫酸铜 1.50g 和酒石酸钾钠 6.0g,溶解于 500mL 蒸馏水中,在搅拌下加入 10% 氢氧化钠溶液 300mL,用蒸馏水稀释到 1L,贮存于塑料瓶中。

1.2.2.2 标准蛋白质溶液的配制 精确称取酪蛋白 0.5g,溶于 0.05mol/L 氢氧化钠溶液中,并定容至 50mL,得到 10mg/mL 标准酪蛋白溶液。

1.2.2.3 标准曲线的绘制 取 6 支比色管,分别加入 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0mL 的标准蛋白质溶液,用蒸馏水补足到 2mL,之后加入 8mL 双缩脲试剂,振荡 15min,室温下放置 30min,在 540nm 下进行比色测定。重复实验取平均值,绘制标准曲线。

1.2.3 磁性壳聚糖微球对马铃薯淀粉废水中蛋白质吸附条件的研究 吸取 10mL 马铃薯淀粉废水置于 50mL 比色管中,分别考察磁性壳聚糖微球的不同用量、吸附 pH、吸附温度和吸附时间对马铃薯淀粉废水中蛋白质吸附的影响。按下式计算吸附率^[5]:

$$T(\%) = [(C_0 - C_1) / C_0] \times 100\%$$

式中:T 为蛋白质吸附率; C_0 为未处理前废水中蛋白质浓度(mg/mL); C_1 为处理后废水中的蛋白质浓度(mg/mL)。

1.2.4 磁性壳聚糖微球的再生 选取 0.5、1、1.5mol/L 的 NaCl、NaOH 溶液,分别与吸附后回收并烘干至恒重(m_1)的磁性壳聚糖微球在常温、pH 为 7.0 的条件下搅拌反应 30min,静置 10min 后回收磁性壳聚糖微球并烘干至恒重(m_2),按下式计算蛋白质脱附率,以确定适宜的脱附溶剂:

$$\text{脱附率}(\%) = [(m_1 - m_2) / m_1] \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 磁性壳聚糖微球的形态观察

在本实验条件下制备的磁性壳聚糖微球外表呈

细粉状,具有较好的分散性。扫描电镜表征如图 1 所示,微球基本呈圆球形、表面比较光滑,粒径约在 20~50μm 之间。

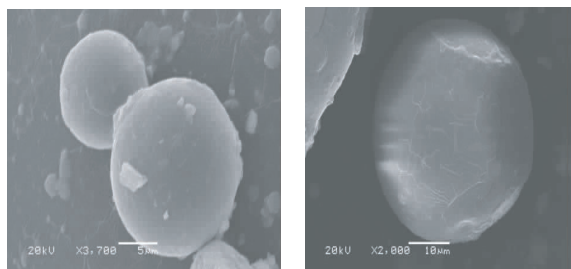


图1 磁性壳聚糖微球的扫描电镜照片

2.2 酪蛋白标准曲线

见图 2。

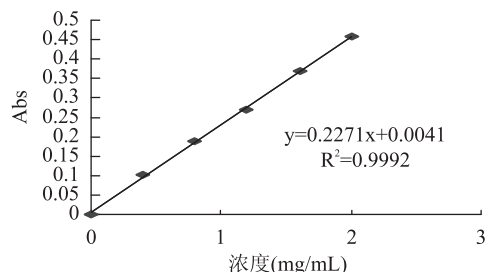


图2 酪蛋白标准曲线

2.3 磁性壳聚糖微球对马铃薯淀粉废水中蛋白质吸附条件的确定

2.3.1 磁性壳聚糖微球用量对蛋白质吸附率的影响 分别吸取 10mL 马铃薯淀粉废水于 5 支 50mL 比色管中,依次加入 10、20、30、40、50mg 的磁性壳聚糖微球,混匀后在 pH7.0、40℃ 条件下搅拌吸附 30min,低速离心,取上清液测定蛋白质吸附率。结果如图 3 所示。

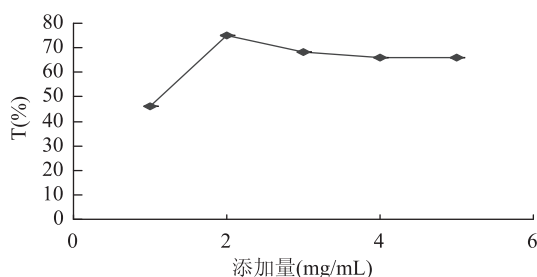


图3 磁性壳聚糖微球用量对蛋白质吸附率的影响

由图 3 可知,当磁性壳聚糖微球用量低于 2mg/mL 时,蛋白吸附量随微球用量的增加而增加;在磁性壳聚糖微球用量为 2mg/mL 时,达到蛋白质的最大吸附率,为 80% 左右;再增加用量时,蛋白质吸附率呈平缓下降趋势,可见吸附已达到饱和。

2.3.2 pH 对蛋白质吸附率的影响 分别吸取 10mL 马铃薯淀粉废水于 4 支 50mL 比色管中,磁性壳聚糖微球添加量均为 2mg/mL,40℃ 下,分别在 pH 为 3、5、7、9 的条件下搅拌吸附 30min,低速离心,取上清液测定蛋白质吸附率。结果如图 4 所示。

由图 4 可知,在 pH4~7 范围内,由于壳聚糖胺基形成四级胺正离子,极易吸附带负电荷的蛋白,随着溶液中 pH 逐渐增大,蛋白质偏离等电点越远,所带负电荷越大,因此吸附率呈上升趋势,在 pH 为 7 左

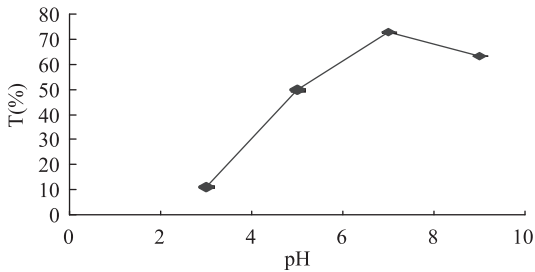


图4 pH对蛋白质吸附率的影响

右时,吸附率最高。

2.3.3 吸附温度对蛋白质吸附率的影响 分别吸取10mL 马铃薯淀粉废水于5支50mL比色管中,磁性壳聚糖微球添加量均为2mg/mL, pH7.0, 分别在25、30、45、55、65℃下搅拌吸附30min, 低速离心, 取上清液测定蛋白质吸附率。结果如图5所示。

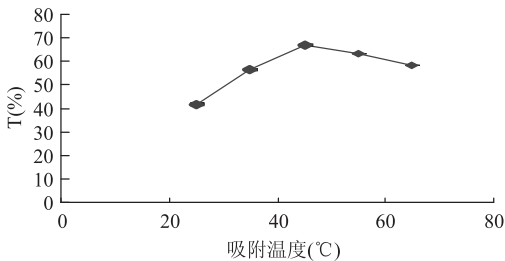


图5 吸附温度对蛋白质吸附率的影响

由图5可知,在45℃以下,温度上升有利于微球对蛋白的吸附,但温度超过45℃时,分子热运动加强,蛋白质亦逐渐变性从而导致吸附率下降。

2.3.4 吸附时间对蛋白质吸附率的影响 分别吸取10mL 马铃薯淀粉废水于5支50mL比色管中,磁性壳聚糖微球添加量均为2mg/mL, 在40℃、pH7.0下, 分别搅拌吸附10、20、30、40、50min, 低速离心, 取上清液测定蛋白质吸附率。结果如图6所示。

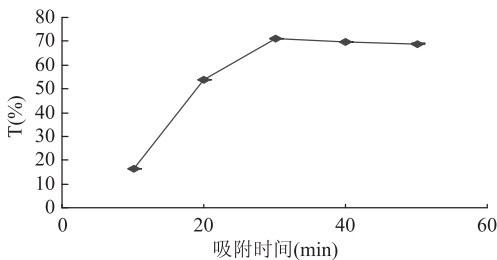


图6 吸附时间对蛋白质吸附率的影响

由图6可知,吸附时间达到30min时,吸附达到平衡,吸附率最高,再延长吸附时间,蛋白质吸附率变化不大。

2.4 磁性壳聚糖微球的再生

吸附蛋白后的磁性壳聚糖微球在不同溶剂中洗

脱附效果见表1。

表1 不同洗脱剂洗脱后的脱附率(%)

溶液	浓度(mol/L)		
	0.5	1.0	1.5
NaCl	40.6	53.8	42.4
NaOH	78.7	81.2	79.1

由表1可知,1.0mol/L NaOH的洗脱效果最好。这种现象可能是由于强碱改变了壳聚糖和蛋白分子的带电性,使得静电相互作用减弱,同时离子强度的增加也会影响蛋白分子的构象,使蛋白分子的疏水作用减弱,从而促进蛋白的脱附^[5]。

再生后,吸附剂的吸附量可以基本恢复,证明此磁性微球的重复使用性能良好。

3 结论与讨论

3.1 采用反向悬浮交联法制备得到了磁性壳聚糖微球,呈细粉状,具有较好的分散性,微球基本呈圆球形,表面比较光滑,粒径约在20~50μm之间。

3.2 利用磁性壳聚糖微球吸附回收马铃薯废水中的蛋白质。在磁性壳聚糖微球的用量为2mg/mL(磁性壳聚糖微球:马铃薯蛋白=4:1),接触时间为30min,温度为45℃,pH7.0的条件下,能有效吸附马铃薯废水中蛋白质,吸附马铃薯废水中蛋白质的吸附率最高达80%。该法为马铃薯淀粉废水的综合处理开辟了新的途径。

3.3 本实验针对磁性壳聚糖微球吸附回收马铃薯废水中蛋白质的研究仅仅是初步的,虽然结果显示吸附效果较好,吸附后磁球分离容易,且磁性微球的重复使用性能良好,但如何通过化学物理手段进一步改进磁性壳聚糖微球的结构,使其吸附效率更高以及回收蛋白的理化性质、产品开发等问题有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 张泽生,刘素稳,郭宝芹,等.马铃薯蛋白质的营养评价[J].食品科技,2007,33(11):219-221.
- [2] F MEUSER, H D SMOLNIK. Potato Protein for Human Food Use[J]. J AM OIL CHEMISTS' SOC, 1979, 56: 449-450.
- [3] Thomas S Seibles. Studies on Potato Proteins[J]. American Potato Journal, 1979, 56: 415-420.
- [4] 陶冶, 张晓茹, 张书圣. 壳聚糖在工业废水处理中的应用[J]. 菏泽学院学报, 2005, 27(5): 36-40.
- [5] 董海丽, 任晓燕. 磁性壳聚糖微球对大豆乳清废水中蛋白质的吸附作用[J]. 食品科学, 2007, 28(7): 205-207.
- [6] 罗志敏, 马秀玲, 陈盛, 等. 磁性壳聚糖-聚丙烯酸微球的制备及表征[J]. 化学通报, 2005(7): 551-553.
- [8] 范铮, 孙培龙, 赵培城, 等. 荞麦苕仁绿豆营养保健粥的研制[J]. 农产品加工, 2005(2): 37-39.
- [9] 张敏, 贺家亮. 超高压技术及其在食品工业中的应用[J]. 食品研究与开发, 2007(9): 175-177.
- [10] H Katopo, Y song, J Jane. Effect and mechanism of ultrahigh hydrostatic pressure on the structure and properties of straches[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 69: 329-334.

(上接第250页)

of Rice[J]. High Pressure Bioscience and Biotechnology, 2007, 1(1): 308-314.

[5] 孔令会, 袁霖. 营养方便粥的研制[J]. 食品科技, 2003(6): 14-19.

[6] 李占林, 郑洪元, 卫天业, 等. 小米方便粥加工工艺研究[J]. 食品科技, 2004(11): 62-64.

[7] 时忠烈. 速食粥的研制[J]. 食品与机械, 1997(1): 26-27.