

• 制剂与质量 •

泡沫分离法用于蜚螂蛋白质分离的研究

马家骅^{1,2}, 谭承佳³, 韩丽², 张艳艳², 李文丽², 杨明^{2*}

(1 西南科技大学, 四川 绵阳 621010; 2 成都中医药大学, 四川 成都 611137; 3 绵阳师范学院, 四川 绵阳 621000)

摘要:目的 优选蜚螂提取液中蛋白质类成分泡沫分离的最佳工艺条件。方法 采用单因素试验法,以富集比、回收率、泡沫液中蛋白的质量分数为评价指标,对影响泡沫分离的几个关键因素进行考察。结果 泡沫分离蜚螂提取液蛋白类成分的较佳工艺为:气流速度 600 mL/min,进料液质量浓度为含药材 0.050 g/mL, pH 4,进料体积 1 000 mL,室温;在此条件下,富集比为 1.56,回收率为 85.6%,泡沫液质量分数为 20.37%。结论 采用泡沫分离法浓缩和分离蜚螂蛋白质类成分回收率较高,能提高产品中蛋白质的质量分数,浓缩和分离蜚螂提取液中蛋白类物质有一定的可行性。

关键词: 蜚螂; 蛋白质; 泡沫分离

中图分类号: R284.2; R286.06

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)08-1223-03

Foam separation for protein of *Catharsius molossus*MA Jia-hua^{1,2}, TAN Cheng-jia³, HAN Li², ZHANG Yan-yan², LI Wen-li², YANG Ming²

(1. Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China; 2. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; 3. Mianyang Normal University, Mianyang 621000, China)

Abstract: Objective To optimize the technique of foam separation from extract of *Catharsius molossus*. **Methods** Single factor test was used to examine the key operational parameters by using enrichment ratio, recovery rate, and protein content as the evaluation indexes. **Results** The best conditions were as follow: airflow velocity, feed concentration, pH value, feed volume, and temperature were 600 mL/min, 0.050 g/mL, pH 4, 1 000 mL, and room temperature, respectively. Under the condition, the enrichment ratio was 1.56, recovery rate was 85.6%, and protein content was 20.37%. **Conclusion** Foam separation could be used to concentrate and separate protein from extract of *C. molossus* with higher recovery rate and protein content.

Key words: *Catharsius molossus* L.; protein; foam separation

蜚螂为鞘翅目金龟子科昆虫屎壳螂 *Catharsius molossus* L. 的干燥体,又名屎壳郎、推屎爬、推车客,具有定惊、破瘀、通便、攻毒等功效。蜚螂所含蛋白质类成分具有抗癌、抗病毒、抗菌、抗凝血、抑制家兔肠管及子宫痉挛等活性^[1-3]。本课题组前期研究发现,蜚螂中所含蛋白质、多肽可能为其治疗良性前列腺增生的主要物质基础。目前该类成分分离方法主要有等电点沉淀法、盐析法、有机溶剂沉淀法和透析法等。近年来一种新型分离技术泡沫分离技术逐步开始应用于蛋白质类成分的分离^[4,5],其具有设备简单,操作方便,仅需要一些动力消耗,无污染,特别适用于低浓度情况下的分离等优点,且对于中

药皂苷、蛋白质等天然表面活性物质的浓缩分离有一种特殊的优势:无需额外添加表面活性剂。因此,本实验根据蛋白质类成分的表面活性,运用自制泡沫分离装置,对泡沫分离技术浓缩和分离蜚螂提取液中的蛋白质类物质进行了探索。

1 仪器与试剂

气体转子流量计(苏州化工仪表有限公司); LZB 型液体转子流量计(杭州鹤山仪表厂); ACO-007 型空气压缩机(浙江森森实业有限公司); FA1104 型电子天秤(上海精科天平厂); 气水分离器(四川峨眉化工机械厂)。

自制泡沫分离塔(直径 80 mm,高 1 200 mm),主要

* 收稿日期: 2008-10-12

作者简介: 马家骅(1979—),男,甘肃靖远县人,讲师,博士,主要从事中药新制剂、新剂型、物理药剂学的研究工作。

Tel: (0816) 2202073 E-mail: jiahua@163.com

* 通讯作者 杨明

由分离柱、空气压缩机、气水分离器、流量计、泡沫分离塔等组成,其中分离柱内径为 60 mm,高 1 200 mm。

蜚螂为鞘翅目金龟子科昆虫屎壳螂 *C. molossus* L. 的干燥体,购于成都五块石药材市场,经本校杨明教授鉴定,符合部颁药材标准。

2 方法与结果

2.1 泡沫分离用提取液的制备:将药材粉碎为粗粉,石油醚脱脂,将蜚螂水提取液离心,取上清液,即得。

2.2 泡沫分离试验方法:本研究以蜚螂提取液为分离对象,采用间歇式泡沫分离法。取适量蜚螂提取液,滤过,离心,调整质量浓度至规定量,倒入分离塔中,经塔底引入气体,富集得到的泡沫由塔顶排入贮槽,残留液则由塔底排出。实验以回收率、富集比和质量分数为评价指标,检测原料液、泡沫液、残留液中指标成分的变化。

2.3 蛋白质的测定:照《中国药典》2005 年版三部附录 v B 蛋白质测定法之凯氏定氮法测定。取提取液适量,分别测定总氮与非蛋白氮的量,计算蛋白氮的量,进而计算出蛋白质的量。

2.4 评价指标的表示:采用富集比、回收率和质量分数为评价指标。

富集比 = 泡沫液中蛋白质质量浓度 / 原料液中蛋白质质量浓度

回收率 = 泡沫液中蛋白质总量 / 原料液中蛋白质总量 × 100%

质量分数 = 溶液中蛋白质总量 / 溶液中固形物总量 × 100%

2.5 泡沫分离工艺条件的考察:参考相关文献报道,采用单因素试验法,重点考察影响间歇式泡沫分离操作的几个重要因素:气流速度、原料液质量浓度、原料液 pH 值、进料体积和温度,以筛选出蜚螂提取液的最佳泡沫分离工艺条件。

2.5.1 气流速度的考察:在同一台设备上,其他因素均相同的条件下,采用不同气流速度(200、400、600、800、1 000 mL/min),考察气流速度对泡沫分离效果的影响,见图 1。

结果在气流速度很低时,不能在液面上方形成稳定的泡沫,当然也就不能成功地进行泡沫分离操作。实验表明,当气流速度低于 200 mL/min 时,形成的泡沫不能到达溢出口就破裂,无法正常操作,结果也有很大偏差,故弃去 200 mL/min 这个点。虽增加气流速度可以提高回收率,但是高气流速度使泡沫排水时间减少,液体夹带量增多导致富集比下降,故选用综合指标较好的 600 mL/min。

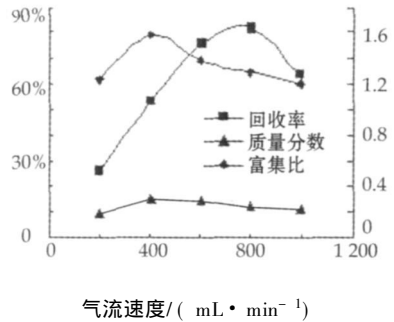


图 1 气流速度对各指标的影响

Fig 1 Effect of gas velocity on separation indexes

2.5.2 进料质量浓度的考察:在同一台设备上,在相同气流速度(600 mL/min),相同进料体积(500 mL),且不考虑 pH 值对原料液的影响的条件下,对不同起始质量浓度的原料液(0.050、0.065、0.080、0.095、0.110 g/mL)进行考察,结果见图 2。

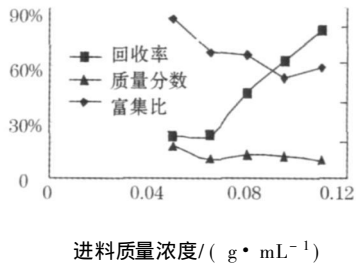


图 2 进料质量浓度对各指标的影响

Fig 2 Effect of feed concentration on separation indexes

结果随着进料质量浓度的增加,蛋白质的富集比呈下降的趋势,回收率却逐渐增加,0.065 g/mL 处是个拐点,所有的指标在 0.065 g/mL 前后有不同的规律。0.050~0.065 g/mL 时,富集比和质量分数会急剧下降,而回收率在这一阶段变化不大,但从 0.065~0.110 g/mL,回收率急剧上升,而富集比与质量分数基本不变。综合分析,原料液质量浓度选择在 0.065 g/mL 之前效果好,且以 0.050 g/mL 分离效果和效率为佳。

2.5.3 pH 值的考察:在同一台设备上,在相同药液质量浓度(0.050 g/mL)、气流速度(600 mL/min)、进料体积(500 mL)条件下,采用不同 pH 值(3.5、4.0、5.0、6.0、7.0、9.0),考察其对泡沫分离效果的影响,结果见图 3。结果 pH 值为 4.0 时,分离效果好。

2.5.4 进料体积的考察:在同一台设备上,在相同气流速度(600 mL/min),相同 pH 值(pH 4.0)、原料液起始质量浓度(0.050 g/mL),对不同进料体积(300、500、1 000 mL)泡沫分离效果进行考察,结果见图 4。

可见随着进料体积的增加,富集比、回收率、泡沫液中有效成分的质量分数均增加,由于该设备是

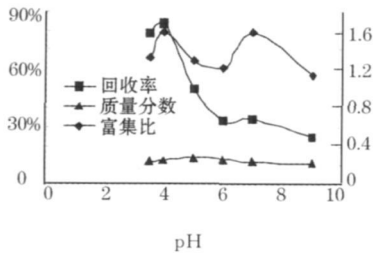


图 3 pH 值对各指标的影响

Fig. 3 Effect of pH value on separation indexes

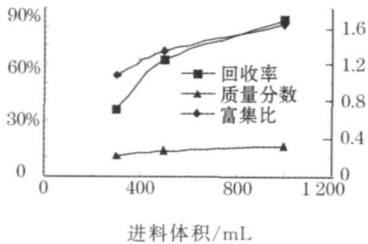


图 4 进料体积对各指标的影响

Fig. 4 Effect of feed volume on separation indexes

按一次性处理量为 500~ 1 000 mL 设计的, 因此, 没有考虑 1 000 mL 以上体积, 如果进料体积进一步增加, 在提高液面高度的同时, 会降低泡沫段高度, 这样, 不利于泡沫的充分排液, 会降低富集比和质量分数。因此, 认为进料体积为 1 000 mL 分离效果较佳。

2.5.5 温度的考察: 温度也是影响泡沫分离效果的一个重要参数, 温度变化会影响溶液表面张力和表面黏度, 表面张力的变化直接影响表面活性差异, 而表面黏度的变化对泡沫稳定性等有直接影响。温度超过 50 ℃时泡沫基本不稳定, 无法得到稳定可排的泡沫, 而温度在室温左右, 约 30 ℃效果最佳, 所得泡沫稳定性好, 且蜚螂中的蛋白质类组分在气液界面的吸附性能良好。

2.6 验证试验: 根据前面单因素试验考察结果, 选取最佳工艺即气流速度 600 mL/min, 进料质量浓度为 0.050 g/mL (原料液中蛋白质的质量浓度为 1.15 mg/mL), pH 4, 进料体积 1 000 mL (原料液中蛋白质总量为 1.15 g), 室温进行鼓泡, 结果中泡沫液中蛋白质的质量浓度为 1.79 mg/mL, 泡沫液中蛋白质总量为 0.98 g, 泡沫液中固形物总量为 4.81 g, 富集比为 1.56, 回收率为 85.6%, 泡沫液中

蛋白质质量分数为 20.37%。结果与通过前面单因素试验考察所得结果基本一致, 表明该工艺稳定可行。可知采用泡沫分离法浓缩和分离蜚螂中的蛋白类物质回收率较高, 富集比也较高, 泡沫液中蛋白类物质质量分数较原料液提高近 1 倍。

3 讨论

蜚螂提取液中所含的蛋白质类成分是一种具有表面活性的中药有效成分, 可通过泡沫分离使其得到一定的分离与浓缩, 分离效果与提取液中蛋白质浓度、pH 值、气流速度、进料体积等有关。实验表明随着气流速度的增加, 回收率也增加, 但富集比和泡沫液质量分数都下降; 随着进料体积的增大, 富集比、回收率、泡沫液质量分数均呈增加的趋势; 富集比随 pH 变化不大, 但 pH 的具体影响过程尚不清楚, 有待进一步研究; 随着进料质量浓度的增大, 富集比和质量分数呈下降趋势, 而回收率却逐渐增加。实验过程中还发现温度对泡沫分离也有较大影响, 随着温度升高, 泡沫数量增加, 但同时泡沫的稳定性降低。

因本实验尚处于实验室探索阶段, 主要考虑的是分离效果, 故未评价这些因素对分离所需时间和效率的影响, 而一种新型分离技术的推广应用, 除了具备良好的分离效果外, 决定其能否被应用到工业生产中, 主要取决于其生产效率和处理量, 故在今后的研究中将对泡沫分离的分离效果、生产效率、处理量等进行综合评价。

参考文献:

- [1] 王梦月, 贾敏如. 我国药用昆虫的药理及临床研究进展[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(10): 937-938
- [2] Ahn M Y, Hahn B S, Ryu K S, et al. Purification and characterization of a serine protease with fibrinolytic activity from the dung beetles, *Catharsius molossus* [J]. *Thromb Res*, 2003, 112(5-6): 339-347.
- [3] 陈仕江, 金仕勇. 昆虫类药物的研究进展[J]. 四川中医, 1992, 10(6): 50-51.
- [4] Bhattacharya P, Ghosal S K, Sen K. Effect of physicochemical parameters on the separation of proteins [J]. *Sep Sci Tech*, 1991, 26(8): 1279-1284
- [5] 谭相伟, 吴兆亮, 贾永生, 等. 泡沫分离技术在蛋白质多元体系分离中的应用[J]. 化工进展, 2005, 24(5): 510-513.