

文章编号: 1009-038X(2002)01-0067-04

## 预分离初乳中乳铁蛋白的超滤工艺

卢蓉蓉<sup>1</sup>, 许时婴<sup>1</sup>, 王璋<sup>1</sup>, 方民<sup>2</sup>

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036; 2. 无锡市日用化工应用研究所, 江苏 无锡 214045)

**摘 要:** 采用超滤法从初乳中初步分离乳铁蛋白. 研究了错流方式的板式膜组件的切向流速、时间、压力、温度等对渗透通量的影响. 采用切向流速为 4 L/min, 膜透压为 0.15 MPa, 温度为 40~42 °C 的操作条件, 可获得质量分数为 26%, 纯度为 29.8% 的乳铁蛋白粗品。

**关键词:** 超滤 渗透通量 乳铁蛋白 初乳

中图分类号: Q 513.2

文献标识码: A

## Preliminary Isolation of Lactoferrin from Colostrum by Ultrafiltration

LU Rong-rong<sup>1</sup>, XU Shi-ying<sup>1</sup>, WANG Zhang<sup>1</sup>, FANG Min<sup>2</sup>

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Application & Research Institution of Wuxi Daily Chemical Industry, Wuxi 214045, China)

**Abstract:** The method for preliminary isolation of lactoferrin from colostrum by ultrafiltration was illuminated. A kind of plate module with cross-flow was chosen. The effects on flux of tangential flow rate, time, pressure and temperature were investigated. The results showed that the optimum conditions were tangential flow rate 4 L/min; pressure 0.15 MPa; temperature 40~42 °C. The content and purity of the crude lactoferrin products were 26% and 29.8%, respectively.

**Key words:** ultrafiltration; flux; Lactoferrin; colostrum

初乳是母体分娩后一周内分泌的乳汁, 是大自然赋予幼体的最佳食物. 初乳中富含多种功能因子, 如免疫球蛋白、乳铁蛋白、乳过氧化物酶、溶菌酶、核苷酸和各种生长因子<sup>[1]</sup>. 其中, 乳铁蛋白正成为国内外研究的热点<sup>[2]</sup>.

乳铁蛋白(Lactoferrin, 以下简称为 LF) 是一种相对分子质量约为 80 000 的铁结合性糖蛋白, 具有许多独特的生理调节代谢功能: 增强铁的传递和吸收; 广谱的抗菌性; 免疫作用; 天然的抗氧化剂; 促进肠道菌群的平衡; 作为生长因子; 抗炎症; 抗病毒

作用等. 在哺乳动物的初乳中, 它的含量最为丰富, 如牛初乳中的乳铁蛋白质量浓度为 1 g/L<sup>[3]</sup>.

自 1960 年以来, 人们就试着采用各种方法来制备 LF, 如色谱法、超滤法、盐析法以及酸沉淀法等, 从人乳或牛乳中分离纯化 LF. 岛崎敬一选用 7 种不同孔径的膜, 用超滤法分离乳铁蛋白, 但纯度较低<sup>[4]</sup>. Dubols 采用超滤法, 得到 5 倍浓缩倍数的乳铁蛋白和免疫球蛋白的截留物<sup>[5]</sup>. 目前普遍认为, 超滤法是生产食品级 LF 最具工业化前景的方法之一<sup>[6]</sup>.

收稿日期: 2001-09-08; 修订日期: 2001-12-15.

作者简介: 卢蓉蓉(1970-), 女, 江苏盐城人, 食品科学博士研究生, 讲师.

万方数据

浓差极化和膜污染对以压差为推动力的超滤过程的分离效果有极大影响. 它们会使膜渗透通量下降, 导致无法进行较长时间的稳定操作. 作者着重研究了超滤组件、材料以及工艺参数对渗透通量的影响, 寻求减小浓差极化和降低膜污染的途径.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

小牛皱胃(第四胃)、牛初乳: 无锡市日用化工应用研究所生化厂提供; Pellicon-xx42 型板式超滤系统(美国 Millipore 公司制造)膜组件(截留相对分子质量(MWCO)分别为 10 000, 50 000, 100 000); 膜面积: 0.5 m<sup>2</sup>/膜块; 膜材料: Pellicon 系列改良醋酸纤维素(CA); GL-1013 型高速冷冻离心机: 上海安亭科学仪器厂制; LGJ-III 型医用冷冻干燥机: 上海医用分析仪器厂制; 微滤器: 孔径为 0.2 μm, 美国 Pore 公司生产.

### 1.2 方法

1.2.1 LF 的分离方法 牛初乳经冷冻离心机脱脂, 35 ℃下加入适当稀释的皱胃酶液, 分离去除酪蛋白. 微滤后即用于超滤研究的物料(简称物料). 用 MWCO 为 100 000 的超滤膜进行首次超滤, 透过液再用 MWCO 为 50 000 的超滤膜进行第二次超滤, 然后用 MWCO 为 10 000 的超滤膜进行浓缩, 冷冻干燥, 即得到 LF 的粗品.

### 1.2.2 膜组件的选择

任何膜分离装置的核心部分都是膜组件. 膜组件是将一定面积的膜以某种形式组装成的器件. 常用的膜组件主要有 5 种: 管式、毛细管式、板式、卷式、中空纤维式.

中空纤维和卷式组件膜填充密度高, 造价低, 组件内流动力学条件好. 但这两种组件的制造技术要求高, 密封困难, 使用中抗污染能力差, 膜清洗困难, 对料液预处理要求高. 而板式及管式组件则相反, 虽然膜填充密度低, 造价高, 但组件清洗方便, 耐污染, 膜易于更换, 更换成本低廉.

膜组件的选择必须综合考虑各种因素<sup>[7~9]</sup>. 首先膜组件的造价对其能否进入工业化生产有较大的影响; 第二个重要因素是抗污染能力, 特别要注意组件的流体力学条件. 此外, 组件的结构是否适合于高压操作, 料液和透过液侧压降是否符合膜过程要求等, 都对组件形式的选择和结构的设计有很大影响.

本研究中待处理的料液——初乳清, 蛋白质含量较高, 是易污染物料. 综合考虑各种膜组件

的特点, 用管式或板式组件较为合适. 相比而言, 管式膜组件在投资和操作费用上均高于板式膜组件, 因此作者选用板式组件.

### 1.2.3 膜材料的选择

醋酸纤维素(CA)类膜材料是应用最早, 也是目前应用最多的膜材料. 聚酰胺是近年开发应用的耐高温、抗化学试剂的优良膜材料, 目前已用于超滤、反渗透等. 聚砜是超滤、微滤膜的重要材料, 为典型的疏水性膜, 由于性能稳定、机械强度好, 是许多复合膜的支撑材料. 聚丙烯腈也是超滤、微滤膜的常用材料, 由于亲水性较好, 其膜的水通量比聚砜大<sup>[9~11]</sup>.

考虑 CA 膜应用广泛, 制膜技术成熟, 价格较其他膜便宜, 并有较大的耐污染性. 作者采用改良的 CA 膜, 是由 2-醋酸纤维素和 3-醋酸纤维素的铸膜液及二者混合物浇铸而成.

### 1.2.4 超滤操作方式的选择

板式膜组件的超滤方式通常有垂直超滤和错流超滤两大类.

在垂直超滤中, 所有的流体直接通过超滤膜, 被截留的物质堆积在膜表面. 随着时间的增长, 浓差极化和膜污染严重, 被截留颗粒在膜表面形成污染层, 使过滤阻力增大, 在操作压力不变的情况下, 膜渗透通量将迅速下降直至完全停止, 因此必须周期性地清除膜表面的污染层或更换膜.

错流操作时原料液以切线方向流过膜表面, 在压力作用下通过膜, 料液中的颗粒则被膜截留而停留在表面形成一层污染层. 料液流经膜表面时产生的高剪切力可使沉积在膜表面的颗粒扩散回主流体, 从而被带出膜组件, 使污染层不再无限增厚, 而保持在一个较薄的稳定水平. 因此一旦污染层达到稳定, 膜渗透通量就将在较长一段时间内保持在相对高的水平<sup>[12]</sup>, 故作者采用错流操作方式.

### 1.2.5 超滤膜透压的测定

测定方法见文献<sup>[13]</sup>.

超滤压力(或称膜透压)的计算可用下式:

$$\text{TMP} = \frac{P_{\text{in}} + P_{\text{out}}}{2} - P_{\text{p}}$$

式中: TMP 为膜透压,  $P_{\text{in}}$  为物料进口压力,  $P_{\text{out}}$  为回流液出口压力,  $P_{\text{p}}$  为透过液出口压力.

在本研究中, 透过液未用阀门控制, 因此  $P_{\text{p}} = 0$ , 故

$$\text{TMP} = \frac{P_{\text{in}} + P_{\text{out}}}{2}$$

### 1.2.6 超滤渗透通量(J)的测定

渗透通量通常用单位时间内通过单位膜面积

的透过液量来表示<sup>[14]</sup>。

设备稳定运行后,控制操作参数,如超滤时物料的超滤压力、物料流速、温度等,采用全循环模式,见图 1。待运行稳定后,取样,记录一定时间内的透过液体积,由下式计算超滤通量  $J$  :

$$J=\frac{V}{T\times A}$$

式中  $J$  为超滤通量 ( $\text{L}/(\text{m}^2\cdot\text{h})$ ),  $V$  为取样体积 ( $\text{L}$ ),  $T$  为取样时间 ( $\text{h}$ ),  $A$  为膜面积 ( $\text{m}^2$ )。

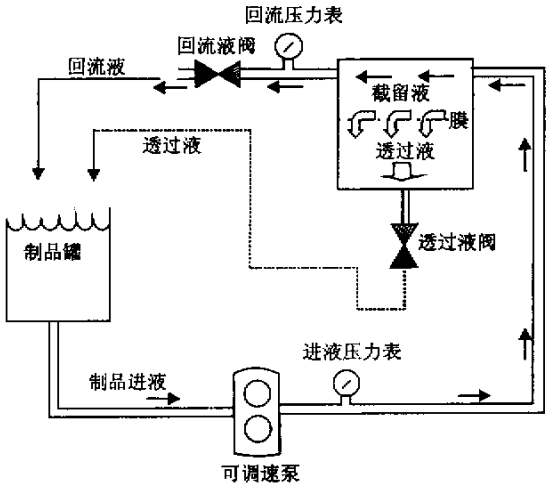


图 1 超滤全循环模式

Fig.1 Total recycle mode of ultrafiltration

1.2.7 LF 测定方法

酶联免疫吸附 (ELISA) 测定法参见文献<sup>[15,16]</sup>,标准曲线见图 2。

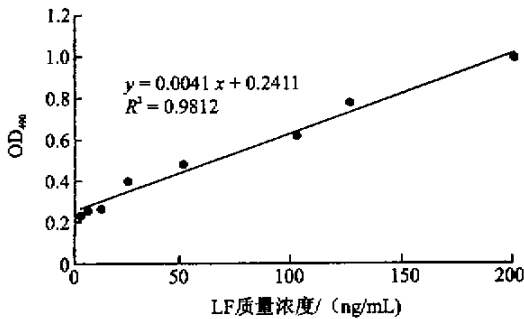


图 2 ELISA 法测定 LF 含量的工作曲线

Fig.2 Standard curve of LF determination with ELISA

1.2.8 LF 的纯度

LF 的纯度可用 LF 与蛋白质总量的质量浓度之比来计算,计算公式为:

$$\text{LF 的纯度}=\frac{\text{LF 的质量浓度}}{\text{蛋白质的质量浓度}}$$

2 结果与讨论

2.1 切向流速对渗透通量的影响

在超滤过程中,被截留下来的溶质粒子在膜前

积累,形成了高浓度区,于是这些溶质以浓度差为推动力,向料液主体扩散,呈现出溶质的浓度分布,这就是超滤过程的浓差极化。由于浓差极化,膜表面处溶质的质量浓度高,可以导致溶质截留率的下降和渗透通量的降低。

膜污染是指料液中的某些组分在膜表面或膜孔中沉积导致膜渗透通量下降的现象。组分在膜表面沉积形成的污染层将产生额外的阻力,该阻力可能远大于膜本身的阻力,因而使渗透通量与膜本身的渗透性无关。组分在膜孔中沉积,将造成膜孔减小甚至堵塞,实际上减小了膜的有效面积<sup>[17,18]</sup>。

料液的切向流速影响接近膜表面的层流底层的厚度和边界层的厚度。作者采用的是平板错流超滤装置,料液与膜面平行流动。流速高时,边界层厚度小,传质系数大,浓差极化减轻,使膜表面的溶液质量浓度较低,有利于渗透通量的提高。但流速增加时,料液流过膜组件的压降增高,能耗也随之增大。因此作者采用泵送系统和物料管压力承受能力许可下的最大流速  $v=4\text{ L}/\text{min}$ 。

2.2 操作时间对渗透通量的影响

随着超滤过程的进行,由于浓差极化,凝胶层的形成以及膜孔堵塞等原因,超滤通量将随时间衰减,见图 3。

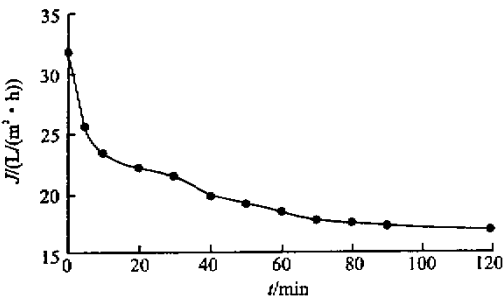


图 3 超滤时间与渗透通量的关系

Fig.3 The effect of time on flux

由图 3 可见,通量衰减过程可分为 3 个阶段。

第一阶段:快速阶段。在超滤开始的 10 min 内,物料的通量下降了约 27%。这说明,浓差极化、膜孔堵塞在超滤初期就快速形成了,造成超滤时透液阻力剧增,通量骤减。

第二阶段:缓慢阶段。此时膜表面的沉积层逐渐增厚,浓差极化加强,阻力也随之增加。

第三阶段:稳定阶段。当浓度边界层的厚度保持一定的动态稳定以后,通量较为稳定,在 1 h 后趋于稳定值  $17\text{ L}/(\text{m}^2\cdot\text{h})$ 。进入此阶段后,可持续 8~10 h (依处理量而变),继而渗透通量下降,因此可根据实际情况,确定膜的清洗频率。

2.3 超滤膜透压对渗透通量的影响

压力是超滤过程的推动力,对渗透通量产生决定性的影响.理想情况,即膜上分布着大小均匀的孔,没有膜污染,浓差极化可忽略时,一般认为超滤和微滤过程中描述流体通过膜流动的最好模型是 Hagen-Poiseuille 定律,其应用形式之一是:

$$J = \epsilon R^2 \Delta p / (8 \eta \Delta x)$$

按此模型,膜渗透流量与压力呈直线关系.但这种情况一般只在低压、低料液浓度和高流速下存在<sup>[14]</sup>.

图 4 表示了膜的渗透通量与 TMP 的关系.当超滤纯水时,渗透通量与 TMP 几乎成正比.当超滤物料时,在较小的 TMP 范围内,渗透通量与 TMP 仍保持正比关系.当 TMP 升高,由于浓差极化以及膜面污染、膜孔堵塞等原因,渗透通量的增长逐渐减慢.当膜面形成凝胶层时,渗透通量趋于定值,此后通量不再随 TMP 变化,此时的通量即为临界渗透通量,此时的 TMP 即为临界压力. TMP 过高,会对膜造成不可逆污染和不可逆压缩等损伤.

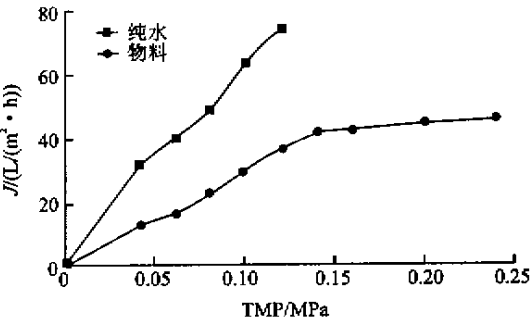


图 4 压差与渗透通量的关系

Fig.4 The effect of pressure on flux

从上述分析可知,实际超滤操作压力应控制在临界压力,即应在凝胶层刚开始形成、接近临界渗透通量时操作.研究结果表明,在采用 MWCO 为 10 000 的膜进行超滤时,0.15 MPa 为临界压力,在此压力下操作应是最合适的.

2.4 温度对渗透通量的影响

一般来说,温度高,料液粘度小,扩散系数大,传质系数高.因而尽可能采用高的温度有利于减轻浓差极化,提高渗透通量.但是,操作温度受到两方面因素的制约,一方面是膜的耐受温度,另一方面

是物料的物化稳定性.

图 5 反映了温度对渗透通量的影响,其中  $\Delta P = 0.08 \text{ MPa}$ ,  $v = 4 \text{ L/min}$ . 从图 5 可以看出,随着温度的升高,渗透通量几乎呈线性增长,温度每提高  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ,通量增加  $8 \sim 10 \text{ L/(m}^2\cdot\text{h)}$ .

作者采用的是改良 CA 膜,耐受温度为  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ . 试验物料是一种生物活性蛋白,随着温度的升高,会造成变性程度的加剧.此外温度上升至  $30 \sim 35 \text{ }^\circ\text{C}$  时,正是微生物生长的适宜温度.综合考虑,选择  $40 \sim 42 \text{ }^\circ\text{C}$  为操作温度.

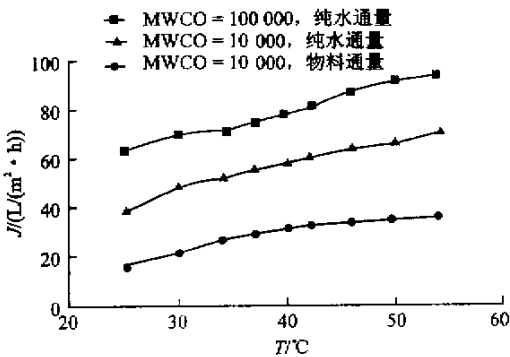


图 5 温度与渗透通量的关系

Fig.5 The effect of temperature on flux

2.5 乳铁蛋白的纯度

采用以上优化的超滤操作参数,对超滤获得的浓缩液和 LF 冻干粗品进行分析,结果见表 1.

表 1 超滤后浓缩液及 LF 粗品分析

Tab.1 Analysis for retentate and LF

| 样品    | 质量/g  | 蛋白质质量<br>分数/% | LF 质量<br>分数/% | LF 纯度/% |
|-------|-------|---------------|---------------|---------|
| 浓缩液   | 2 200 | 2.47          | 0.765         | 30.9    |
| LF 粗品 | 43    | 87.08         | 26.00         | 29.8    |

3 结 论

采用板式膜组件,以改良的 CA 膜为膜材料,选择错流的超滤方式,可以降低浓差极化.切向流速选用试验条件允许的最大体积流量  $4 \text{ L/min}$ . TMP 为  $0.15 \text{ MPa}$ ,温度  $t$  为  $40 \sim 42 \text{ }^\circ\text{C}$  为适宜的操作参数. LF 粗品中乳铁蛋白质量分数为  $26\%$ ,纯度为  $29.8\%$ .

参考文献:

[1] 曹劲松. 初乳功能性食品[M]. 北京 中国轻工业出版社,2000.  
[2] 唐传核,曹劲松,潘彬全,等. 乳铁蛋白最新研究进展[J]. 中国乳品工业,2000, 28(3):14-17.  
[3] 岛崎敬一. ラクトフェリンの分離と利用[J]. 酪农科学・食品の研究, 1989,38(6):277-283.

Chem,1994,50 29 – 32.

[11] BAO B,CHANG K C. Carrot pulp chemical composition,color,and water-holding capacity as affected by blanching[J]. **J Food Sci**, 1994,59 1159-1161.

[12] ANOCHA K T, GWYN P J, MARK L W, *et al.* Evaluation of extraction method for the analysis of carotenoids in fruits and vegetables [J]. **Food Chem**,1998,63 577 – 584.

[13] MICHAELA M, ANDREAS S, REINHOLD C. Quantitative determination of carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplemented(ATBC) drinks[J]. **Food Chem**,2000,70 403 – 408.

[14] ANASTASAKIS M, LINDAMOOD J B, CHISM G W, *et al.* Enzymatic hydrolysis of carrot for extraction of a cloud-stable juice[J]. **Food Hydrocolloids**, 1987,1 247 – 261.

[15] 相泽孝亮著. 酶应用手册[M]. 黄文涛,胡学智译. 上海 :上海科学技术出版社,1989.

[16] 余东游,冯杰. 纤维素酶在动物营养上的研究进展[EB/OL]. <http://www.agri.ac.cn/afri>.

[17] 蔡敬民,张洁. 芽孢杆菌木聚糖酶的发酵条件研究[J]. **工业微生物**, 1996,2 26 – 30.

[18] O. R. 菲尼马著. 食品化学[M]. 王璋译. 北京 :中国轻工业出版社,1991.

[19] GOLDMAN M, HOREV B, SAGUY I. Decolorization of  $\beta$ -carotene in model systems simulating dehydrated foods. Mechanism and Kinetic Principles[J]. **J Food Sci**,1989,48 751 – 754.

(责任编辑 杨 萌,朱 明)

(上接第 70 页)

[4] 岛崎敬一,黒田清隆. 限外濾过膜によるチズホエ中のタンパク质成分の分画について[J]. **酪农科学・食品の研究**,1989, 38(6) 95 – 102.

[5] DUBOLS E. Process for separate from whey or from milk proteins of high molecular mass such as immunoglobulins or lactoferrin[P]. 法国 专利:FRP 2605322,1988.

[6] 郭本恒,程玉倩,骆承庠. 乳铁蛋白[J]. **中国乳品工业**,1995,23(3) 117 – 120.

[7] 吴俊生,邓修. 化工分离工程[M]. 北京 :科学出版社,2000.

[8] 刘莱娥,陈欢林. 新型分离技术基础[M]. 杭州 :浙江大学出版社,1993.

[9] 刘莱娥. 膜分离技术[M]. 北京 :化学工业出版社,1998.

[10] RAUTENBACH R, ALBRECHT R. 膜分离方法——超滤和反渗透[M]. 黄怡华、董汝秀译. 北京 :化学工业出版社,1991.

[11] ZAHID AMJAD. 反渗透——膜技术·水化学和工业应用[M]. 殷琦、华耀祖译. 北京 :化学工业出版社,1999.

[12] 蒋维钧. 新型传质分离技术[M]. 北京 :化学工业出版社,1992.

[13] WAKEMAN R J. Progress in filtration and separation [M]. London :Elsevier Science Publisher, 1986.

[14] 陈洪钊,刘家祺. 化工分离过程[M]. 北京 :化学工业出版社,1995.

[15] REJAMN J J, HURLEY W L, BAHR J M. Enzyme-linked immunosorbent assays of bovine lactoferrin and a 39-kilodalton protein found in mammary secretions during involution[J]. **J Dairy Sci**, 1989, 72(2) :555-560.

[16] 诸葛健,王正祥. 工业微生物实验技术手册[M]. 北京 :中国轻工业出版社,1997.

[17] RAUTENBACH R, ALBRECHT R. Membrane Processes[M]. German :John Wiley & Sons Publisher, 1989.

[18] ROUSSEAU R W. Handbook of separation process technology[M]. German :Wiley Publisher, 1987.

(责任编辑 李春丽,朱 明)