

文章编号: 1009-038X(2004)04-0056-04

可溶性丝素蛋白溶液脱盐技术

苏 锋, 杨瑞金, 许时婴
(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 利用超滤和平衡渗析两种技术脱除溶丝液中的 CaCl_2 , 结果表明, 溶丝液经中空纤维超滤脱盐, 其脱盐率达 86.57%, 回收率达 74.20%, 氮溶解指数(NSI)达 3.40%, 而经平衡渗析脱盐, 其脱盐率达 98.5%, 回收率达 83.13%, 氮溶解指数(NSI)达 97.85%。因此, 平衡渗析是适合制备可溶性丝素蛋白技术。

关键词: 丝素; 超滤; 平衡渗析; 脱盐

中图分类号: Q 503

文献标识码: A

Preparation of Silk Fibroin Powder by Membrane Separation Technologies

SU Feng, YANG Rui-jin, XU Shi-ying

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: In this paper, effects of removing CaCl_2 from silk fibroin solution with two kinds of membrane separation technologies (ultrafiltration, dialysis) were investigated. The results showed that the desalting ratio, recovery ratio and the NSI of dialysis technology were 98.5%, 83.13% and 97.85%, respectively, which were higher than those of ultrafiltration.

Key words: silk fibroin; ultrafiltration; dialysis; desalt

丝素蛋白是应用前景很广的功能性材料, 广泛应用于食品、医药、化妆品等领域^[1]。除了可作为纺织原料外, 还可以制成薄膜状、凝胶状等丝素蛋白产品以及具有不同水解度和不同功能性质的丝素肽产品。

天然丝素不溶于水, 但可以溶于强酸、强碱和一些中性盐(如锂、锶、钡的氯化物、溴化物、碘化物以及硫氰酸盐和氯化锌)溶液中, 然而溶于强酸和强碱的丝素蛋白已较大程度被水解。中性盐如锂、锶、钡的氯化物、溴化物、碘化物以及硫氰酸盐对人体有危害, 因此不适宜用于丝素溶解。作者选用氯

化钙溶解丝素, 氯化钙类似于普通盐, 价格便宜, 且无毒无害。

由于采用高浓度盐溶液溶解丝素, 脱盐成为可溶性丝素粉末生产工艺过程中的重要环节。实验室规模采用透析袋脱盐^[2,3]处理量小, 耗时长且费用高。蛋白质是热敏物质, 采用常温无相变的膜分离技术可以防止蛋白质变性, 达到较高的回收率。作者采用中空纤维超滤和平衡渗析两种技术进行脱盐比较, 以选择一种高效的脱盐方法。

超滤技术在蛋白质的分离提纯领域已得到广泛的应用。如酶制剂的浓缩提纯, 与传统技术相比,

收稿日期: 2003-10-20; 修回日期: 2003-11-18。

作者简介: 苏锋(1973-)男, 广西玉林人, 食品科学与工程硕士研究生。

万方数据

采用超滤膜技术,提高了产品的质量、收率和纯度。在大豆蛋白和卵蛋白的浓缩精制以及牛乳浓缩工艺中应用,产品品质也有较大程度的提高。作者采用聚砜管式中空纤维膜处理溶丝液。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

废蚕丝(落绵):江苏海安茧丝绸集团股份有限公司提供;中空纤维膜:南京久吾高科有限公司提供;平衡渗析器:自制;其他试剂均为分析纯。

1.2 可溶性丝素粉末制备工艺

废蚕丝→精练→晾干→精练丝→溶解→溶丝液→过滤→脱盐→丝素溶液→干燥→丝素粉

1.3 脱盐

1.3.1 中空纤维膜超滤脱盐工艺条件 膜材料:聚砜,截留相对分子质量:6 000~10 000;进口压力 0.2 MPa;出口压力 0.15 MPa;操作温度 25~28℃;膜面积 2 m²。

1.3.2 平衡渗析器脱盐工艺条件 操作温度:17℃;操作压力:常压;膜面积 0.8 m²。

1.4 丝素蛋白相对分子质量测定

凝胶:Sephacryl S-200;色谱柱:1.6 cm×150 cm;洗脱液:0.1 mol/L 磷酸盐缓冲溶液,pH 7.0;体积流量:18 mL/h;检测波长:220 nm。

蛋白质质量测定:微量凯氏定氮法^[41]。

Ca²⁺质量测定:EDTA滴定法^[41]。

氮可溶解指数(NSI)的测定:根据 AACC 方法 46-23。

称取 1 g 可溶性丝素粉末于 50 mL 烧杯中,量取 40 mL 去离子水,于室温下搅拌 120 min,然后定容至 50 mL,静置几分钟,取上层液 1 500 r/min 离心 10 min,取离心后的上清液 10 mL,采用微量凯氏定氮法^[41]测定蛋白质的质量,另用微量凯氏定氮法测定脱盐前样品的总氮。

丝素蛋白回收率 = $\frac{\text{脱盐后料液中蛋白质的质量}}{\text{脱盐前料液中蛋白质的质量}} \times 100\%$

脱盐率 = $\frac{\text{脱盐后料液中盐质量}}{\text{脱盐前料液中盐质量}} \times 100\%$

氮可溶解指数(NSI) = $\frac{\text{水溶性氮}}{\text{总氮}}$

2 结果与讨论

2.1 溶丝液中丝素蛋白的相对分子质量分布

从凝胶过滤图谱(见图 1)中可以看出,煮沸时间为 2~5 min 的样品中可溶性丝素蛋白相对分

子质量在较宽范围内呈连续分布,它是由多组分构成的,主要部分的相对分子质量约为 7 000。因此,在进行膜分离除盐时宜选用截留相对分子质量为 10 000 的膜。

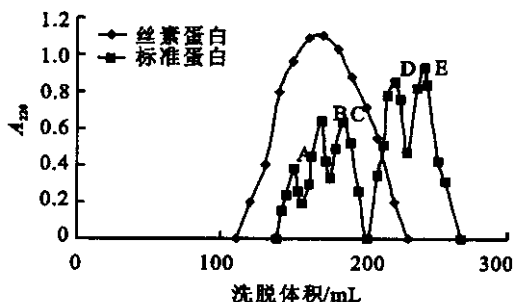


图 1 可溶性丝素蛋白的凝胶过滤洗脱色谱图

Fig. 1 Gel filtration chromatography of soluble silk fibroin protein

凝胶:Sephacryl S-200;色谱柱:1.6 cm×150 cm;洗脱液:0.1 mol/L 磷酸盐缓冲溶液,pH 7.0;体积流量:18 mL/h;检测波长:220 nm;相对分子质量标准蛋白质:A:二磷酸果糖酶(Aldolase)158 000;B:牛血清蛋白(albumin)68 000;C:鸡蛋白蛋白(albumin)45 000;D:胰凝乳蛋白酶原(Chymotrypsinogen A)25 000;E:细胞色素 C(Cytochrome)12 500

2.2 中空纤维膜超滤过程中膜体积流量的变化

2.2.1 温度对膜体积流量的影响 膜体积流量是表征膜的分离性能的主要参数之一^[6]。超滤过程的透水体积流量受到温度、压力、料液质量浓度等因素的影响。

超滤器中加入 2 L 浓溶丝液,加水稀释至 10 L 后进行超滤脱盐。温度对膜水体积流量的影响见图 2。从图 2 可以看出,温度对组件水体积流量的影响是比较明显。随着温度的升高,渗透体积流量增大。由于温度升高,料液蛋白质分子和水分子的运动加快,流动阻力下降,因而粘度下降,水体积流量增加。

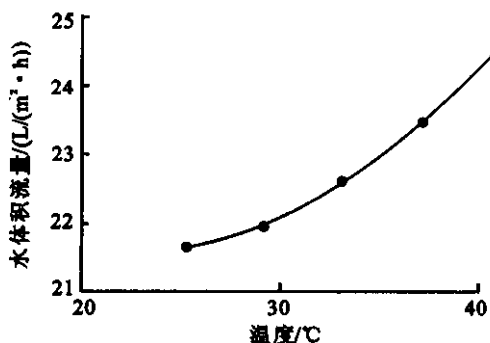


图 2 水体积流量随温度变化的曲线

Fig. 2 Effect of temperature on flux

2.2.2 压力对膜体积流量的影响 图 3 是膜体积流量与压力关系变化曲线。由图 3 可看出,体积流量随压力增加而增加,但是料液的起始体积流量小于清水,且体积流量增长与清水比较而言,也比较

平缓.这是因为膜开始工作后,大分子迅速进入膜孔,有可能阻塞通道,因而起始体积流量低于清水;随着超滤进行,膜受到大分子的污染,即使增加工作压力,体积流量也只是平缓增加.为了防止膜被压密的现象,同时也为控制压力降值,工作压力选定为 0.2 MPa.

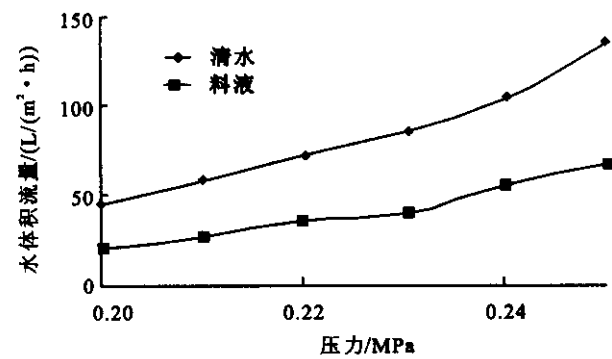


图 3 体积流量随压力变化曲线

Fig.3 Effect of pressure on flux

2.2.3 体积流量与时间关系 体积流量随时间变化见图4.超滤开始 3 min,体积流量急剧下降,此后,虽然体积流量仍在下降,但下降趋势趋于缓和,最后基本趋于稳定.在脱盐过程中,由于膜边界层的出现,因而最初体积流量急剧下降,随着脱盐时间增加,逐渐形成稳定的浓差极化边界层,使得体积流量下降趋缓,最后,体积流量趋于稳定.同时,在脱盐过程中,由于浓差极化产生,使膜面受到污染,也导致膜体积流量降低.

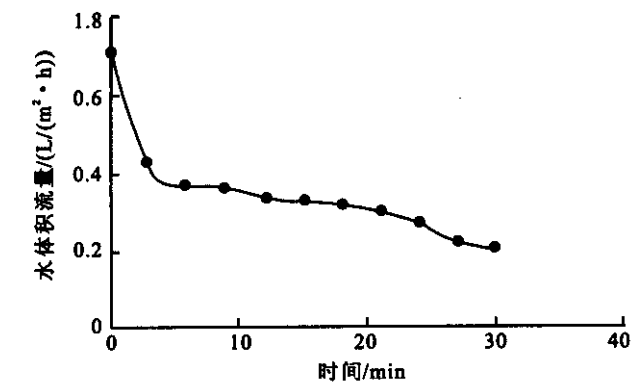


图 4 体积流量随时间变化曲线

Fig.4 The change of flux with time

2.3 平衡渗析器脱盐

平衡渗析器由若干格子构成的方框把膜夹在其间,构成若干小的传质分离室,其基本原理见图5.物料与清水呈逆向流动,这样可获得较大的平均推动力,有效提高渗析速率.由于实验中始终通入清水,而将渗透液排出,因而能够尽可能避免Donnan平衡,从而最大程度地脱除物料中的盐分.

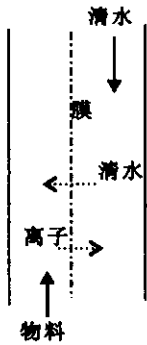


图 5 平衡渗析基本原理图

Fig.5 Theory of dialysis

2.3.1 进料液质量浓度的选择 从表1可看出,进料液质量浓度为 9 g/dL 脱盐率达到 98.5%.因为,当质量浓度大于 9 g/dL 时,溶丝液的粘度急剧上升(见图6)随着粘度升高,抑制了传质速率,从而延长了脱盐时间.若质量浓度小于 9 g/dL,粘度小,但单位时间处理量少,因而效率偏低.因此,脱盐实验选择 9 g/dL 的进料质量浓度.

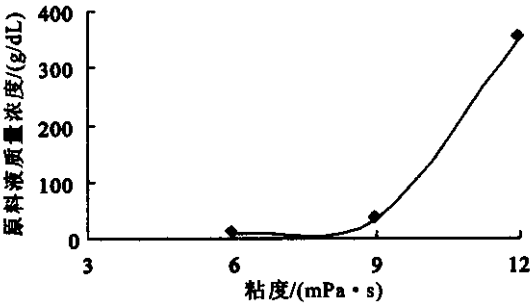


图 6 原料液质量浓度与粘度关系

Fig.6 Relationship between the concentration and the viscosity

表 1 不同原料液质量浓度脱盐实验结果

Tab.1 Results of different concentration of samples

原料液质量浓度/ g/dL	脱盐效率/ (L/(m ² · h))	脱盐 率/%	丝素蛋白 回收率/%
6	0.0086	98.2	85.22
9	0.018	98.5	83.13
12	0.014	99.1	80.33

2.3.2 体积流量的选择 当液体流过膜面时,由于其粘性的作用,在膜面附近形成流动边界层,该边界层可能是滞流边界层,也可能是湍流边界层,但即使是湍流边界层,在靠近膜面处,仍有一滞流内层,扩散传质阻力主要存在于滞流内层和膜上^[7].流速越快,滞流内层越薄,越有利于传质.但实验表明,脱盐率并非随体积流量增加而增加(见图7),当体积流量小于 40 L/h 时,脱盐率随流量增加而增加,而当体积流量大于 40 L/h 时,脱盐率反

而减小. 这可能是当流体流经分离室时,盐离子向膜另一侧扩散的时间大于流体过该分离室的时间. 另外,由于膜的机械强度的限制,膜两侧流体的体积流量需保持大致平衡,否则将会因为两侧压力差过大而导致膜破裂.

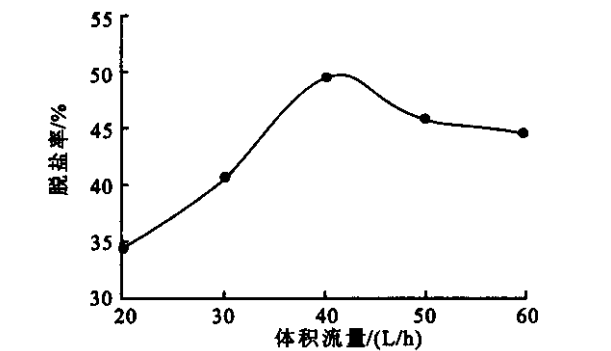


图 7 体积流量与脱盐率关系图

Fig. 7 Relationship between desalting ratio and flux

2.3.3 质量浓度差对脱盐效率的影响 于平衡渗析器中加入 4.17 L 质量浓度为 12 g/dL 的浓溶丝液,加水稀释成 5.5 L,脱盐. 溶丝液电导和渗出液电导随时间变化曲线见图 8. 在渗析开始前 5 h,电导急剧下降,5 h 后下降趋势趋于平缓. 由于质量浓度差是平衡渗析的惟一推动力,由图 8 可看出,膜两侧 Ca^{2+} 质量浓度差随时间增长而降低,因而,脱盐效率下降.

2.3.4 两种脱盐技术结果的比较 工业上,平衡渗析多应用于酸碱回收^[8],Moonen^[9]等则报道了渗析在酒精饮料脱醇中的应用. 不过,采用平衡渗析脱盐制备蛋白质则鲜有报导. 研究比较中空纤维膜超滤脱盐和平衡渗析器脱盐制备可溶性丝素蛋白,结果见表 2. 从表 2 可看出,采用平衡渗析器脱盐,蛋白质回收率、脱盐率和 NSI 都高于超滤. 尤其是 NSI 达到了 97.85%,这说明,在渗析过程中,丝蛋白没有发生明显的变性现象. 采用超滤技术对溶丝

参考文献：

[1] 倪莉,王璋,许时婴. 可溶性丝素粉末的制备[J]. 无锡轻工大学学报,2000,19(2):146-149.

[2] 平林洁,渡边诚,铃木诚. 絹のゲル化その应用(食品)[J]. 纤维学会志,1989,45(6):19-23.

[3] 安田腾年. 絹蛋白質の新利用技术に関する实验(第 I 报)[J]. 岐阜蚕丝研究要报,1996(6):46-56.

[4] 浙江大学分析化学教研组. 分析化学实验[M]. 北京:高等教育出版社,1992.

[5] 倪莉. 食品蛋白质新资源—废蚕丝蛋白的研究与开发[D]. 无锡:无锡轻工大学,1999.

[6] 时均,袁权,高从阶. 膜技术手册[M]. 北京:化学工业出版社,2001.

[7] 姚玉英. 化工原理[M]. 天津:天津科学技术出版社,1992.

[8] 清水博. 膜处理技术大系[M]. 东京:フツテクノシステム株式会社,1991.

[9] Moonen H, Niefind N. The use of dialysis in liquor[J]. *Desalination*, 1982, 41: 327-335.

液进行脱盐制备丝素蛋白过程发现,由于丝素蛋白在低浓度盐溶液中很不稳定,在脱盐过程中发生了变性现象,因此 NSI 很低(见表 2).

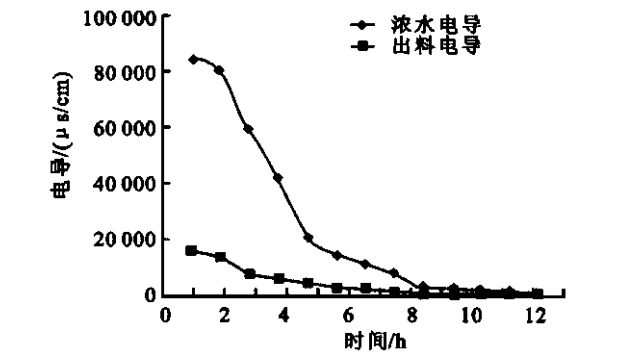


图 8 浓水电导与出料电导随时间的变化

Fig. 8 Changes of conductance with time

表 2 超滤和渗析脱盐制备可溶性丝蛋白结果比较

Tab. 2 Results of desalination by Ultrafiltration and Dialysis

脱盐技术	脱盐率/%	蛋白质回收率/%	CaCl ₂ 质量浓度/(g/dL)		NSI/%
			脱盐前	脱盐后	
中空纤维膜	86.57	74.20	11.54	1.55	3.4
平衡渗析器	98.5	83.13	17.50	0.272	97.85

3 结 论

通过比较超滤和平衡渗析两种脱盐技术制备可溶性丝素蛋白产品可知,平衡渗析是适合于制备可溶性丝素蛋白的最佳方法,其主要理由是制备得到的产品具有较高的氮可溶解指数(NSI). 研究还确定了渗析脱盐制备可溶性丝素蛋白参数(1)物料和清水的体积流量为 40 L/h 较合适,这样可获得较高的脱盐率,又可避免因两侧体积流量差别过大,导致膜破裂(2)脱盐效率最高时的原料液质量浓度为 9 g/dL.

(责任编辑 杨 萌)