

文章编号:1009-038X(2004)06-0073-04

酵母抽提物超滤制备海藻糖工艺条件的优化

韩少卿, 赵芹, 彭奇均

(江南大学 化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: 利用响应面分析法对影响酵母抽提液中总氮截留率和海藻糖透过率的主要因素进行分析, 优化超滤工艺, 得到最佳超滤条件: 料液质量浓度 10 g/dL, 料液温度 42 ℃, 操作压力 0.31 MPa, 在最佳超滤条件下得到酵母抽提物蛋白质截留率 96.5%, 海藻糖透过率 94.8%, 所得 RSA 图可直观地反映各因素与蛋白氮截留率和海藻糖透过率的关系。

关键词: 海藻糖; 酵母抽提液; 超滤; 响应面分析; 截留率; 透过率

中图分类号: TS 245.4

文献标识码: A

Optimization of Trehalose Extracting Process by Ultrafiltration from Yeast Extract

HAN Shao-qing, ZHAO Qin, PENG Qi-jun

(School of Chemical and Material Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Response surface methodology was used to analyze the main elements influencing yeast extract's ultrafiltration process. The optimum conditions were confirmed as follows: feed concentration 10 g/dL, temperature 42 ℃ and operation pressure 0.31 MPa. Under this condition, the total nitrogen cut-off rate and trehalose permeation rate were 96.5% and 94.8%, respectively. The relationship between various factors and cut-off or permeation rates was also studied using RSA charts.

Key words: trehalose; yeast extract; ultrafiltration; RSA; cut-off rate; permeation rate

海藻糖是广泛存在于酵母、海藻、霉菌、细菌、昆虫及生物体内的一种非还原性双糖^[1]。海藻糖是一种应激代谢物, 能赋予生物体抵抗干燥、干旱、寒冷等恶劣环境的能力, 现广泛用于食品、化妆品、药品、保健品领域以及酶和疫苗等多种生物活性物质的稳定剂和保存剂中^[2~4]。

酵母抽提物(Yeast Extract)亦称酵母味素或酵母精, 是将酵母细胞内蛋白质、核酸等进行生物降

解, 经加工精制而成的一种营养型天然调味料, 具有纯天然、营养丰富、味道鲜美、香味浓郁等特点, 符合食品行业“天然、营养、回归自然”之潮流^[5,6], 近来调查结果表明, 今后几年内我国酵母味素年需求量将达到 2 万 t 以上。酵母抽提物中海藻糖含量丰富, 质量分数高达 9.5% (折干), 照此推算, 我国每年可从酵母抽提物中提取海藻糖近 2000 t。同时, 抽提海藻糖后的酵母味素, 其产品质量得到提高,

收稿日期: 2003-12-04; 修回日期: 2004-01-23.

作者简介: 韩少卿(1976-), 男, 河南淮阳人, 化学与材料工程硕士研究生。

风味得到改善.因此,从酵母味素中提取海藻糖,具有重要的经济价值.

超滤是一种新型的膜分离技术,由于在分离过程中不发生相变,能耗少,可在室温和低温下进行,适于处理热敏性及生物活性物质,因此在食品、发酵和生物制剂等领域都得到广泛的应用^[7,8].

作者以酵母抽提物为原材料,用聚砜超滤膜(MWCO为10 000)对酵母抽提物进行处理,以截留蛋白质大分子物质,采用响应面分析法RSA(Response Surface Analysis),设计料液质量浓度、料液温度及操作压力对蛋白氮截留率和海藻糖透过率的回归方程,确定影响响应值各因素的最优组合.

1 材料与方 法

1.1 实验材料

酵母抽提液:其中蛋白氮质量分数约10.5%(折干),海藻糖质量分数约9.5%(折干),安琪酵母公司提供.

1.2 仪器设备

离心分离机:江苏金坛医疗仪器厂产品;超滤器、聚砜超滤膜(MWCO 10 000):上海医药工业研究院产品;电热恒温水浴锅:上海医疗器械五厂产品;光栅分光光度计:上海第三分析仪器厂产品.

1.3 提取工艺路线

酵母抽提液→离心过滤→超滤→浓缩→除盐→脱色→真空浓缩→成品

1.4 分析方法

1)总氮质量分数:凯氏定氮法(GB 6432—86),双缩脲法^[8].

2)海藻糖质量分数:蒽酮比色法^[9].

1.5 RSA 实验设计

在酵母抽提物超滤过程中,膜的种类、材质和料液质量浓度、温度、pH值及操作压力、操作时间等均对超滤过程产生影响.在确定了膜件及操作环境之后,在诸多影响因素中,以料液质量浓度、温度及操作压力对膜性能产生的影响较为显著.作者以上述3因素为自变量,以蛋白氮截留率和海藻糖透过率为响应值,设计三因素三水平共15个试验点的响应面分析实验.根据初步试验,选择三因素变化范围:料液质量浓度为4~12 g/dL,料液温度15~65℃,料液压力为0.1~0.7 MPa.其因素水平值及实验安排、实验结果分别见表1和表2.

表中: Y_1 为蛋白氮截留率,%; Y_2 为海藻糖透过率,%; Z_1 为料液质量浓度,g/dL; Z_2 为料液温度,℃; Z_3 为料液压力,MPa.

表1 酵母抽提物超滤工艺因素水平值

Tab.1 Factor levels of ultrafiltration processing for yeast extract

水平	因素		
	Z_1	Z_2	Z_3
1	4	15	0.1
2	8	40	0.4
3	12	65	0.7

作编码变换, $X_1=(Z_1-8)/4$, $X_2=(Z_2-40)/25$, $X_3=(Z_3-0.4)/0.3$

表2 酵母抽提液超滤工艺实验安排和实验结果

Tab.2 The experimental arranges and results of ultrafiltration processing for yeast extract

实验号	X_1	X_2	X_3	Y_1	Y_2
1	-1	-1	0	93.7	92.3
2	-1	1	0	90.3	93.9
3	1	-1	0	97.8	95.5
4	1	1	0	96.7	95.7
5	0	-1	-1	98.8	95.2
6	0	-1	1	93.9	95.0
7	0	1	-1	94.7	95.3
8	0	1	1	91.3	94.9
9	-1	0	-1	92.7	93.1
10	1	0	-1	98.7	96.1
11	-1	0	1	91.9	92.9
12	1	0	1	96.5	94.9
13	0	0	0	97.2	96.2
14	0	0	0	96.9	96.4
15	0	0	0	96.8	96.1

2 结果与讨论

运用SAS响应面回归REREG程序^[10,11],回归拟合方程可用下列两式表示:

$$Y_1 = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{11} X_1 X_1 + a_{22} X_2 X_2 + a_{33} X_3 X_3 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3$$

$$Y_2 = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{11} X_1 X_1 + b_{22} X_2 X_2 + b_{33} X_3 X_3 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3$$

方程 Y_1 各项回归系数具体数值和方差分析见表3、表4.

方程 Y_2 各项回归系数具体数值和方差分析

析见表5、表6。

表3 Y_1 回归系数表

Tab.3 Table of regression coefficient for Y_1

系数	取值	系数	取值
a_0	96.967	a_{22}	-1.308
a_1	2.638	a_{33}	-0.983
a_2	-1.400	a_{12}	0.575
a_3	-1.413	a_{13}	-0.350
a_{11}	-1.033	a_{23}	0.375

表4 Y_1 回归方程方差分析表

Tab.4 Square difference assay of regression equation for Y_1

方差来源	自由度	均方	F	显著性
总回归	9	11.301	13.440	* *
一次项	3	29.097	661.295	* *
二次项	3	4.611	104.795	* *
交互项	3	0.792	18	
失拟项	3	0.781	17.75	
误差项	2	0.044		

注: $F_{0.01}(9,5)=10.2$, $F_{0.05}(3,2)=19.16$, $F_{0.01}(3,2)=99.17$.

表5 Y_2 回归系数表

Tab.5 Table of regression coefficient for Y_2

系数	取值	系数	取值
b_0	96.233	b_{22}	-0.517
b_1	1.25	b_{33}	-0.617
b_2	0.225	b_{12}	-0.35
b_3	-0.25	b_{13}	-0.25
b_{11}	-1.367	b_{23}	-0.05

表6 Y_2 回归方程方差分析表

Tab.6 Square difference assay of regression equation for Y_2

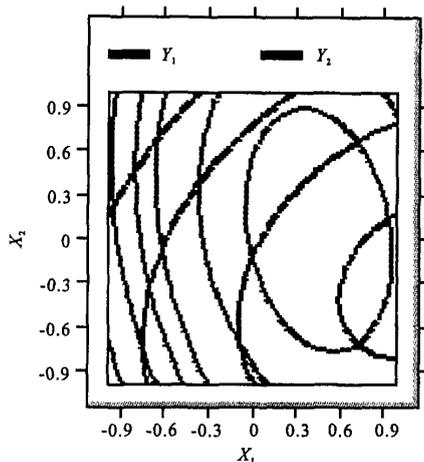
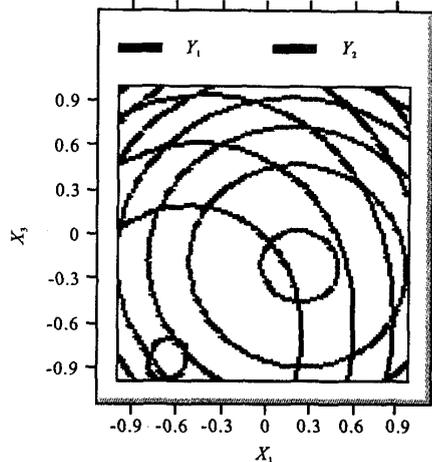
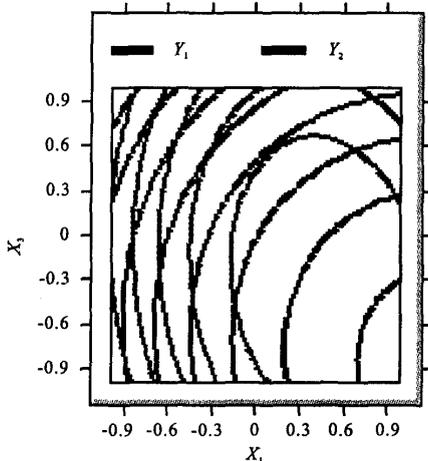
方差来源	自由度	均方	F	显著性
总回归	9	2.0505	23.561	* *
一次项	3	4.468	194.261	* *
二次项	3	3.095	134.565	* *
交互项	3	0.25	10.870	
失拟项	3	0.359	15.609	
误差项	2	0.023		

注: $F_{0.01}(9,5)=10.2$, $F_{0.05}(3,2)=19.16$, $F_{0.01}(3,2)=99.17$.

Y_1, Y_2 回归方程方差分析结果表明,用上述回归方程描述各因子与响应值之间的关系时,其因变量和全体自变量之间的线性关系高度显著($F > F_{0.01}(9,5)$);一次项和二次项都有较高的显著性,说明响应值的变化相当复杂,各实验因子对响应值的影响不是简单的线性关系;交互项均不显著,说明三因素之间的相互影响对响应值的影响可忽略不计;失拟项 F 均很小,表明该方程对实验拟合情况良好,实验误差小,可用该回归方程代替真实实验点对实验结果进行分析,根据上述回归方程做出响应面分析图,可看出三因素在超滤过程中对响应值的影响程度,以此确定最佳工艺条件。

用 Box 的 Complex Algorithm 法对回归方程 Y_2 取一阶偏导数并令其等于零,可得 X_1, X_2, X_3 的优化取值为 0.477, 0.072, -0.302, 经换算为原变量得料液质量浓度为 9.908 g/dL, 料液温度 41.8 °C, 操作压力为 0.309 MPa. 考虑到实际操作方便, 取料液质量浓度为 10 g/dL, 料液温度 42 °C, 操作压力为 0.31 MPa. 在此条件下进行超滤操作, 蛋白氮截留率 96.5%, 海藻糖透过率为 94.8%. 与理论值相比, 相对误差不到 2%, 因此该模型可对超滤工艺进行较好预测. 对 Y_1 进行优化求解得 $X_1 = 1.226, X_2 = -0.596, X_3 = -0.285$, 发现该值超出设定范围, 该解不合理, 说明以酵母截留率为响应值在此设定条件下求最优值是不合理的. 事实证明, 以蛋白氮截留率为指标, 在 $X_1 \in (-1, 1)$ 即设定的酵母质量浓度范围内不可能达到最优值, 海藻糖也不可能达到最大透过率.

由图 1 可见, 料液质量浓度和温度较低时, 蛋白氮截留率较高, 而海藻糖透过率却较低, 随着料液质量浓度增大, 截留率下降很快, 海藻糖透过率先迅速升高而后略减小; 随着料液温度升高, 截留率下降较快, 海藻糖透过率略有增加, 但增加一定程度后稍下降. 这可能因为温度升高使料液粘度下降, 扩散系数和传质系数增大, 同时由于温度升高, 膜相聚合物链节的微观布朗运动加快, 膜孔径增加, 导致截留率下降, 海藻糖透过率增加. 由图 2、图 3 可见, 随着操作压力的增大, 蛋白氮截留率先减小而后迅速增加, 海藻糖透过率则先增加而后趋于下降. 料液质量浓度同样影响截留率和海藻糖透过率, 图 3 可以看出, 在一定范围内, 截留率和海藻糖透过率均随料液质量浓度的增加而增加, 但达到一定程度后海藻糖透过率稍下降. 从响应面分析图 1 上还可看出 Y_1, Y_2 有一重叠区域, 可能是料液质量浓度一定条件下最优工艺条件的选取范围.

图1 $Y=f(X_1, X_2)$ 响应面分析图Fig. 1 Response surface assay for $Y=f(X_1, X_2)$ 图3 $Y=f(X_2, X_3)$ 响应面分析图Fig. 3 Response surface assay for $Y=f(X_2, X_3)$ 图2 $Y=f(X_1, X_3)$ 响应面分析图Fig. 2 Response surface assay for $Y=f(X_1, X_3)$

3 结论

酵母抽提液超滤提取工艺中,料液质量浓度、温度、操作压力对总氮截留率和海藻糖透过率的影响都是显著的,各因素之间的相互影响不显著;经回归分析,确定最佳超滤工艺条件:料液质量浓度 10 g/dL,料液温度 42 ℃,操作压力为 0.31 MPa。在此条件下进行超滤操作,蛋白氮截留率为 96.5%,海藻糖透过率为 94.8%,与理论值相比,相对误差小于 2%。

参考文献:

- [1] Elkein A. The metabolism of α, α trehalose[J]. *Adv Carbohydr Chem Biochem*, 1974, 30: 227-256.
- [2] Lillie S H, Pringle J R. Reserve carbohydrate metabolism in *saccharomyces cerevisiae*: responses to nutrient limitation[J]. *J Bacteriol*, 1980, 143: 1384-1394.
- [3] Attfield P V. Stress tolerance: the key to effective strains of industrial baker's yeast [J]. *Nat Biotechnol*, 1997, 15: 1351-1357.
- [4] Singer M A, Linquist S. Thermotolerance in *saccharomyces cerevisiae*: the yin and yang of trehalose[J]. *Trends Biotechnol*, 1998, 16: 460-468.
- [5] 左立, 邱龙辉, 周远明, 等. 酵母抽提物鲜味剂的工艺研究[J]. *化学工业与工程技术*, 2002, 23(1): 9-11.
- [6] Pepler H J. *Yeast Extracts*[M]. New York: Academic Press, 1982.
- [7] 时钧, 袁权, 高从楷. *膜技术手册*[M]. 北京: 化学工业出版社, 2001.
- [8] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. *生化实验方法和技术*[M]. 北京: 高等教育出版社, 1981.
- [9] 北京大学生物系. *生物化学实验指导*[M]. 北京: 高等教育出版社, 1979.
- [10] 吴有炜. *试验设计与数据处理*[M]. 苏州: 苏州大学出版社, 2002.
- [11] 高惠璇. *SAS/STAT 软件使用手册*[M]. 北京: 中国统计出版社, 1997.

(责任编辑:朱明)