

文章编号:1673-1689(2005)02-0093-04

膜分离技术提取海藻糖的工艺

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: 采用超滤、纳滤操作对酵母抽提物进行处理, 结果表明: 操作压力、操作时间及料液体积流量对超滤有很大影响, 所选 MWCO 为 5 000 的膜件可去除 96% 以上的大分子蛋白质, 起到纳滤预处理作用. 采用 MWCO 为 300 的纳滤膜对超滤液进行浓缩纯化, 海藻糖总提取率高达 85.6%, 大大高于传统方法. 操作条件如进料压力、浓缩倍数及操作方式对纳滤过程均有很大影响.

关键词: 超滤; 纳滤; 海藻糖; 酵母抽提物; 膜分离

中图分类号: TQ 028.8; TS 264

文献标识码: A

Trehalose Extraction by the Technology of Membrane Separation

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

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

Abstract: The extraction of yeast extract by ultrafiltration and nanofiltration were studied with an attempt to develop a possible separation and purification process. The results indicated that 96% of proteins was blocked by the membrane of MWCO 5000. The operation pressure, time, and flow velocity had great influences on the ultrafiltration operation process. On the other side, fluid was concentrated and purified through nanofiltration membranes of MWCO 300, operation conditions such as pressure, concentration time and different operation process were studied in the paper. Under the determined conditions, the total trehalose extraction rate was 85.6% and much higher than that of the traditional methods.

Key words: ultrafiltration; nanofiltration; trehalose; yeast extraction; membrane separation

海藻糖是一类广泛存在于酵母、海藻、霉菌、细菌、昆虫及生物体内的非还原性双糖^[1], 它是一种应激代谢物, 赋予生物体抵抗干燥、干旱、寒冷等恶劣环境的能力, 现已广泛用于食品、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和保存^[2~4].

酵母抽提物(Yeast Extract)亦称酵母味素、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,

符合食品业“天然、营养、回归自然”的潮流. 资料表明: 我国酵母味素年需求量将达到 2 万 t 以上, 而酵母抽提物中海藻糖质量分数高达 9.5% (折干), 照此计算, 我国每年可从酵母抽提物中提取海藻糖近 2 000 t. 同时, 抽提海藻糖后的酵母味素, 其产品质量得到提高, 风味得到改善^[5,6]. 因此, 从酵母味素中提取海藻糖, 具有重要的经济价值.

膜分离技术是一门新兴的多学科交叉的分离纯化技术, 由于其在分离过程不发生相变, 能耗小, 可在室温或低温下进行, 适于处理热敏性和生物活

收稿日期: 2004-04-08; 修回日期: 2004-06-08.

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

性物质,且膜分离装置简单,操作方便,易于实现自动控制等优点,近年来发展尤为迅猛^[7].将膜分离技术应用于生物产品提取的研究十分活跃,是膜分离技术重点推广的领域之一.作者以酵母抽提物为原料,采用先超滤后纳滤的纯化工序分离提纯海藻糖,并对工艺过程进行优化.

1 材料和方法

1.1 材料和设备

酵母抽提物:湖北安琪酵母有限公司提供;微滤膜:无锡市超滤设备厂提供;超滤膜:切割相对分子质量 5 000 (Molecular Weight of Cut-Off, 简称 MWCO 5 000);纳滤膜:MWCO 300;上海亚东核级树脂有限公司产品;721 分光光度计:上海精密仪器有限公司产品.

1.2 分析方法

1.2.1 蛋白氮含量 凯氏定氮法(GB 6432—86),双缩脲法^[8].

1.2.2 海藻糖含量 蒽酮比色法^[9].

2 结果与讨论

2.1 超滤特性

与一般超滤过程相似,超滤操作条件对酵母液渗透通量有很大影响,作者主要考察操作压力、操作时间及料液流速对超滤过程的影响.为防止大颗粒悬浮杂质污染超滤膜,超滤前须经过 0.8 μm 的微滤膜预处理.

2.1.1 操作压力对超滤特性的影响 操作压力对超滤特性的影响主要基于超滤过程是近似于一定操作条件下的机械筛分过程,膜两侧的操作压力作为过程推动力,对物料传质有较大影响.作者用 MWCO 5 000 的卷式芳香聚酰胺超滤膜进行超滤实验,在料液质量分数和操作时间相同的条件下(料液质量分数 8%,操作时间 60 min),测得的不同操作压力下的膜通量,结果见图 1.

由图 1 看出,低压操作时,膜通量与操作压力近似呈线性变化,操作压力进一步增大时,通量则增加趋缓,当压力增大到 0.30 MPa 以上时,超滤通量稳定在 1.58 mL/(cm²·min),这一趋势符合以压力为驱动力的膜分离过程的一般变化规律.低压区为压力控制区,膜通量随压力增加而近似线性增加.当压力升高到一定数值后,浓差极化使膜表面溶质浓度达到凝胶浓度,膜面形成“凝胶层”,传质为凝胶层控制,此时膜通量与压力不再呈线性变化.膜的压实效应也使得渗透通量有所下降,而整

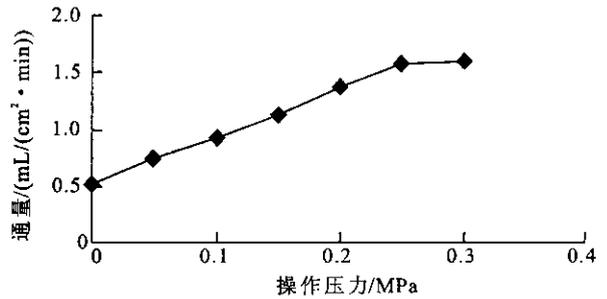


图 1 操作压力对超滤特性的影响

Fig. 1 Effect of the operating pressure on ultrafiltration performance

个超滤过程蛋白质截留率均在 96% 以上.为保证膜件持续、稳定工作,取 0.25 MPa 为工作压力.高压操作虽可同时提高膜通量,但过高的操作压力,使得浓差极化效应和膜的压实效应变得显著,通量难以继续提高.

2.1.2 操作时间对渗透通量的影响 超滤特性随时间的关系如图 2 所示(料液质量分数为 8%,操作压力为 0.25 MPa).超滤透过速率随时间的衰减速率是不同的,在一定的压力和料液质量分数下,超滤运行的最初几分钟内,水通量衰减很快,随着时间的推移,其水通量下降趋缓,此时是超滤过程的主要工作阶段.在超滤进行的最初阶段,化学吸附导致凝胶层的形成,使膜面污染程度加重,导致通量下降较快;随着超滤过程的进行,膜面吸附趋于饱和,凝胶层厚度相对稳定,料液通透阻力不再增大,故渗透通量也趋于平稳,浓差极化起主要作用,此时是超滤膜工作的主要阶段.

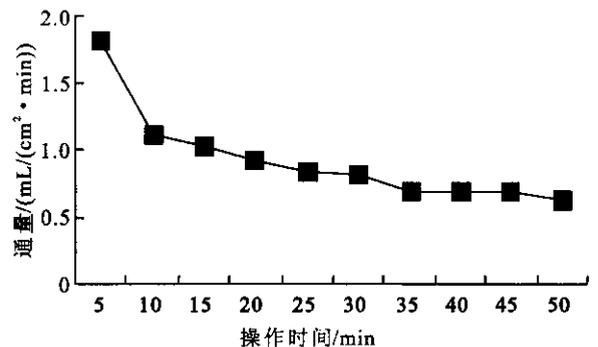


图 2 操作时间对超滤特性的影响

Fig. 2 Effect of the operating time on ultrafiltration performance

2.1.3 料液体积流量对超滤的影响 料液体积流量对渗透通量的影响主要基于体积流量增大,改变了料液流动状态而影响膜通量.结果如图 3 所示(料液质量分数为 8%,操作压力为 0.25 MPa).随着料液体积流量增加,增大了流体主体湍流程度,减弱了膜面凝胶层和流动边界层厚度,使浓差极化

现象减弱,使得渗透通量增加并趋于稳定。

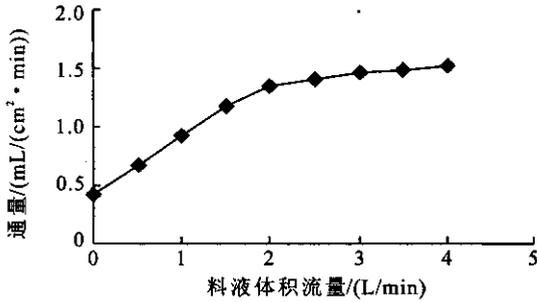


图 3 料液体积流量对超滤特性的影响

Fig. 3 Effect of feed velocity on ultrafiltration performance

2.2 纳滤特性

纳滤介于超滤和反渗透之间,孔径为纳米级,可对相对分子质量低于 1 000 的物质进行分离和浓缩.海藻糖相对分子质量为 324,且酵母抽提物经超滤后仍具有较高的盐分和较多的氨基酸等小分子物质,可用纳滤膜进行分离和浓缩.作者选用 MWCO 为 300 的卷式芳香聚酰胺纳滤膜件,对料液进行纳滤浓缩.

2.2.1 进料压力对纳滤膜分离性能的影响 图 4 给出了不同压力下纳滤通量和海藻糖抽提率的关系曲线.从图中可知,随着操作压力增加,渗透通量基本上呈线性增加,整个过程海藻糖抽提率则变化不大,这可能因为超滤过程中大分子蛋白质去除较彻底,没有形成大分子凝胶层,此条件下渗透通量主要取决于操作压力,故渗透通量随操作压力的增加基本上呈线性变化;而海藻糖抽提率主要取决于纳滤膜截留孔径的大小,根据筛分机理可知抽提率变化不大.

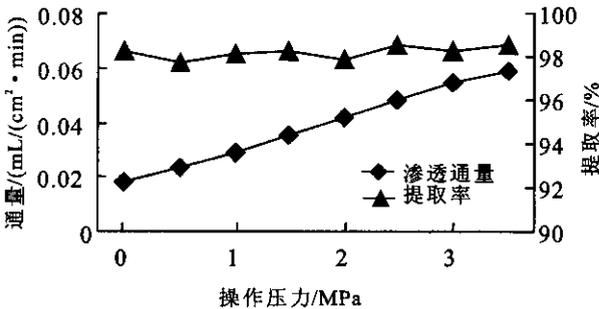


图 4 操作压力对纳滤膜分离性能的影响(料液质量分数 2%,料液 pH 8.5)

Fig. 4 Effect of the operating pressure on separation performance of nanofiltration

2.2.2 浓缩倍数对纳滤膜性能的影响 由图 5 可知,随着浓缩倍数的增加,其渗透通量迅速下降,而海藻糖提取率变化不大.一方面随浓缩倍数的增加,料液质量分数增大,膜面处的凝胶层形成加快,

加厚了膜面上的传质层以及由此产生的浓差极化现象,使得膜面污染情况加重;另一方面,料液质量分数增加引起渗透压增加,此两者均导致渗透通量迅速下降.

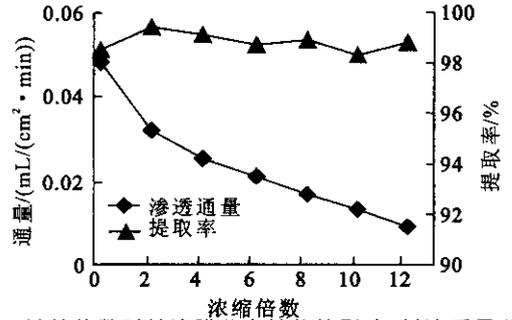


图 5 浓缩倍数对纳滤膜分离性能的影响(料液质量分数 2%,料液压力 1.5 MPa)

Fig. 5 Effect of the concentration time on separation performance of nanofiltration

2.2.3 操作方式对膜分离性能的影响 实验采用一级一段工艺流程,对间歇式、连续式两种不同操作方式下海藻糖质量分数进行测定,研究在相同浓缩倍数下所需操作时间和海藻糖提取率的关系,确定最佳操作参数:操作压力 1.5 MPa,室温操作,料液质量分数 2%.

由表 1 可知,达到相同浓缩倍数所需的时间,循环式大于间歇式,即在相同时间内,循环式浓缩倍数高于间歇式,因此采用循环式操作,可以提高浓缩效率,节省操作时间.以上两种方式中,海藻糖提取率均高于 95%.

表 1 不同操作方式对膜分离性能比较

Tab. 1 The comparison of separation performance of different operating process

浓缩倍数	循环式		间歇式	
	时间/ min	海藻糖 提取率/%	时间/ min	海藻糖 提取率/%
原液	0	63.1	0	59.3
4	28	86.5	33	76.5
8	76	89.2	99	82.9
12	163	92.7	175	88.8
16	230	97.1	264	95.2

2.3 实验结果

采用 MWCO 为 5 000 的超滤膜超滤后,纳滤过程没有发生严重的通量衰减,说明超滤对去除杂质蛋白是有效的,纳滤过程没有受到污染.应用纳滤方法对料液同时进行脱盐和浓缩,提高了产品纯度,同时有效地控制产品中间损失.经过纳滤后的浓缩液在 45 ℃、体积分数 50%乙醇溶液条件下结

晶,干燥后得成品,海藻糖总提取率达 85.6%,大大高于传统提取方法。目前海藻糖生产中采用膜分离技术的优点在于用纳滤可将产品浓缩到一定浓度和纯度,再结合传统提取工艺进行适当处理,可减少产品中间损失,提高产率和纯度,同时也提高了利用率。

3 结 论

1) 酵母抽提物超滤操作,可看作纳滤过程的预

处理过程,操作压力和操作时间及料液流速对超滤通量均有很大影响。

2) 纳滤操作起到浓缩和纯化作用,操作压力对纳滤通量产生较大影响,浓缩倍数、操作方式同样影响纳滤膜分离性能,采用循环式较间歇式省时节能。

3) 经过超滤、纳滤操作,再经结晶、干燥处理,得到海藻糖成品,提取率达 85.6%,高于传统提取方法。

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] Peppler 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教研室. *生物化学实验指导*[M]. 北京: 高等教育出版社, 1979.

(责任编辑: 朱 明)

(上接第 88 页)

4 结 论

通过以上的单因素和正交试验, 结果表明: 当大米蛋白的质量分数 5%, 甘油的添加量为质量分数 3%, 谷氨酰胺转胺酶的添加量为质量分数

0.2%, 酶反应时间 90 min, 膜液在 80 °C 处理 40 min, 能得到性能较好的膜。在这个条件得到的可食用膜的性能比较理想, 膜的延伸率为: $E = 108.11\%$; 抗拉强度为: $T = 3.35 \text{ MPa}$; 透水率为: $22.4 \text{ g} \cdot \text{mm}/\text{kPa} \cdot \text{d} \cdot \text{m}^2$ 。

参考文献:

- [1] 王文高. 早籼稻及碎米转化为低过敏性蛋白和缓释淀粉的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2001. 12.
- [2] Aristippos Gennadios. Edible films and coatings from wheat and corn proteins[J]. **Food Technol**, 1990, (44): 63-69.
- [3] Aristippos Gennadios. *Protein-based Films and Coatings*[M]. New York: CRC Press, 2002. 1-41.
- [4] M B Perez-gago. Denaturation time and temperation effects on solubility, tensile properties and oxygen permeability of whey protein edible films [J]. **Food sci**, 2001, 66, (5): 705-710.
- [5] 周楠迪. 谷氨酰胺转胺酶的功能性质及其在食品中的应用方法 [J]. **中国食品添加剂**, 2000, (1): 54-59.
- [6] 李红. 利用谷氨酰胺转胺酶生产大豆蛋白食用保鲜膜的研究 [J]. **食品科学**, 2001, 22, (1): 73-75.

(责任编辑: 杨 萌)