

文章编号:1673-1689(2006)04-0005-05

纳滤技术用于氨基酸溶液的提纯

冯彪*, 王文

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: 为进一步分离提纯已用超滤处理的 γ -氨基酸(GABA)发酵液, 用两款纳滤膜先后处理超滤的滤液。MWCO 为 800 的 SR2 膜对氨基酸和盐均无明显的截留作用, 可以截留较大的分子。MWCO 为 200 的 SR3 膜能将氨基酸很好地截留, 对盐也有一定的截留作用。两款纳滤膜分离与离心分离和超滤一起, 可以脱除 GABA 发酵液中的大部分杂质, 使 GABA 的纯度达到 31.63%, 取得了较好的分离效果。

关键词: γ -氨基酸; 纳滤; 提纯

中图分类号: TS 201.1

文献标识码: A

Application of Nanofiltration in Purification of Amino Acid Solutions

FENG Biao*, WANG Wen

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

Abstract: For the purpose of further purification of the GABA fermentation broth, two nanofiltration membranes were used to treat the ultrafiltration permeate. The SR2 membrane with MWCO value of 800 had no retention effect on the amino acid and the salt. It could be used to separate the large molecules. The SR3 membrane with MWCO value of 200 had a good retention on amino acid and a partial retention on the salt. It could be used in the concentration of the solution. The two nanofiltration combined with the centrifugation and ultrafiltration could separate the large portions of impurities in the fermentation broth, then bright the purity of GABA up to 31.63%. As a result, good purification effect was achieved.

Key words: GABA; nanofiltration; purification

氨基酸在生物体系中起着核心的作用, 它是构成蛋白质的基本单元, 本身又参与各种生物反应。例如, γ -氨基丁酸(GABA)在动物的神经活动中起着非常重要的作用, 其研究开发日益受到人们的重视^[1]。工业上得到氨基酸的方法大致有 3 类: 一是从天然资源中提取; 二是将蛋白质水解, 得到混合氨基酸, 然后再设法分离; 三是用生物合成法即发

酵法生产特定的氨基酸。由于天然存在的 GABA 含量均很低, 用发酵法生产 GABA 是获得高浓度和高纯度 GABA 的重要途径。发酵产物是成分较为复杂的混合物, 必须进行分离提纯。分离提纯过程需要选择过程简单、能耗低、条件温和、易于放大的单元操作, 膜分离因能大体满足这些要求而日益受到青睐。

收稿日期: 2006-03-27; 修回日期: 2006-04-25.

基金项目: 教育部科学技术重点项目(104091).

作者简介: 冯彪(1953-), 男, 江苏无锡人, 教授, 法国博士; * 通讯作者。

发酵液的组成较为复杂,其中的悬浮颗粒、油乳滴和胶状颗粒等一般用沉降、过滤或离心分离法去除,而对各种大小不同的分子如蛋白质、糖类、氨基酸和无机离子等,可供选择的工业分离操作并不多,膜分离技术因操作条件温和、能耗又低,被认为是分离此类体系的理想方法。

将发酵液先作预处理,以去除其中的悬浮颗粒、油乳滴和胶状颗粒等物质,再进入超滤单元。实验发现,GABA在膜上有相当的吸附,为提高其回收率,需要用稀释过滤(又称重过滤或渗滤)的方法,其作用与洗涤类似。但是,稀释过滤也使溶液的浓度大大降低。超滤后的滤液可以进一步用纳滤提纯分离,在分离的同时也必须兼顾到浓缩问题。就分离而言,可供选择的操作有纳滤、吸附和离子交换等;而对于浓缩,纳滤和反渗透都可以达到浓缩的效果。比较而言,纳滤的能耗低,过程简单,污染少,通量高,是比较理想的选择。

一般认为纳滤(Nanofiltration)的MWCO(截留相对分子质量)为100~1 000,是介于超滤和反渗透之间的一种膜分离技术。已试验过的应用包括果汁的浓缩、多肽和氨基酸的分离、料液的脱色与净化等。纳滤除了具有一般膜分离的优点外,最重要的是可以用于料液的选择性脱盐、脱色以及对低分子有机物的去除等,对发酵液这样的复杂体系是比较好的分离方法^[2-9]。

作者用纳滤处理超滤滤液,以提高GABA的纯度。先用与GABA相似的蛋氨酸和NaCl配成模拟溶液进行试验,再用实际的GABA溶液进行试验。

1 材料和方法

1.1 主要材料和仪器

纳滤装置:南京凯米科技有限公司制造;纳滤膜:美国KOCH公司螺旋卷式聚酰胺复合膜,其中SR2组件的有效膜面积为6.5 m²,MWCO值为600~800;SR3组件的有效膜面积为4.8 m²,MWCO值200~300。膜的常规工作压差范围为1.38~3.45 MPa,操作温度范围为5~50℃,pH适用范围为2.5~10.5。

pH计:PHS-25数显pH计;电导仪:DDS-11A数显电导率仪。

1.2 分析测定方法

1.2.1 蛋白质 微量凯氏定氮法。

1.2.2 灰分 550℃灰化法。

1.2.3 总糖 斐林试剂比色法。

1.2.4 色素 分光光度计法。在390 nm下测定溶液的色值波长,脱色率的计算方法如下:

$$\text{脱色率}(\%) = ((A_1 - A_2)/A_1) \times 100\%$$

式中: A_1 为脱色前吸光度, A_2 为脱色后吸光度。

1.3 实验方法

1.3.1 纳滤的模拟试验 用1.2 g/L的蛋氨酸溶液和1 g/L的NaCl溶液配成模拟料液,对纳滤操作的可行性进行考察。蛋氨酸的相对分子质量与GABA接近,模拟溶液的质量浓度也与实际溶液中的GABA质量浓度和盐质量浓度大体相当。

首先使模拟溶液在装置内循环足够长的时间,使蛋氨酸在膜表面上的吸附饱和,然后测定蛋氨酸和盐的截留率。操作压差分别为0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 MPa,温度分别为25、30、35、40℃,pH在3~9区间内。在以上操作条件下,测定和考察纳滤的通量、截留率、脱盐率等指标。

根据分离前后溶液的浓度计算截留率,蛋氨酸的截留率定义为:

$$R_m = (1 - \rho_p / \rho_F) \times 100\%$$

式中, ρ_p 为透过液中蛋氨酸的质量浓度, ρ_F 为进料液中蛋白质的质量浓度。盐的截留率定义相似。

1.3.2 GABA发酵液的纳滤分离 将GABA发酵液用高速离心分离,然后用MWCO值为50 000的超滤膜过滤,并用稀释过滤回收浓缩液中的GABA,将滤液混合,作为纳滤的料液。

纳滤的条件与模拟试验所用的条件相同,脱色率、蛋白质、总糖和灰分的截留率的计算方法与蛋氨酸类似。GABA的回收率则定义为:

$$\eta_G = V_p \rho_p / (V_F \rho_F)$$

式中 V_p 和 V_F 分别为滤液和料液的体积。

2 结果与讨论

2.1 两款NF膜的分离性能

图1为两款膜在不同压差下对蛋氨酸和盐的截留率。从图中可以看出,SR2膜因MWCO值较高,几乎不截留蛋氨酸和盐;而SR3膜的MWCO值较低,虽然仍高于蛋氨酸的相对分子质量,但对蛋氨酸有很高的。这样的截留性能并不能简单地用MWCO值解释,而更像反渗透膜。实际上也有人将纳滤膜称为低压反渗透膜。从图2中还可以看到,随着压差的增大,盐的截留率不断升高,这是NF膜的特点,其机理尚不很清楚,有人认为是膜在高压差下的压密效应所致。

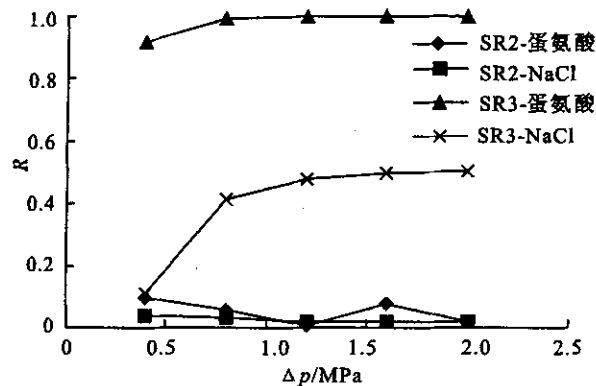


图 1 不同压差下两款纳滤膜的截留性能

Fig. 1 Retention of the two nanofiltration membranes at different pressure differences

这两款膜在不同压差下的纳滤通量如图 2。与常规的膜过滤相比,通量比较高,且随压差的增加而增加,特别是 SR3 膜,基本成线性增加,可见浓差极化的影响还比较小,这主要是料液的固形物含量较低之故。

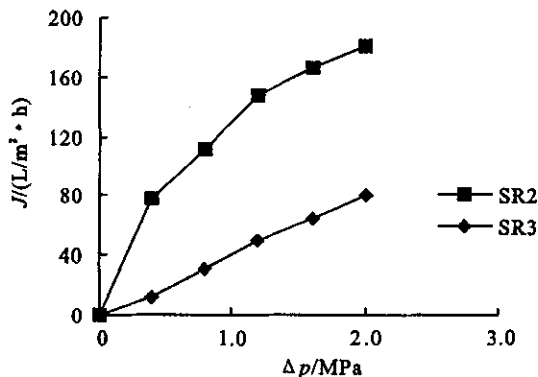


图 2 操作压差对纳滤通量的影响

Fig. 2 Influence of pressure difference on the flux of nanofiltration

2.2 温度对两种膜分离性能的影响

图 3 和图 4 是不同温度下 NF 膜对模拟溶液的分离性能。通量随温度的上升主要由于黏度的下降和扩散系数的上升,而截留率在实验温度范围内大体维持不变。

2.3 pH 值对纳滤膜分离性能的影响

氨基酸具有碱性基团 ($-\text{NH}_2$) 和酸性基团 ($-\text{COOH}$), 改变溶液的 pH 值可以使氨基酸带上正电荷或负电荷, 也可以使它处于电荷相等即净电荷为零的偶极离子状态。只要已知氨基酸的 $\text{p}K_1$ 和 $\text{p}K_2$, 就可以根据 Handerson-Hasselbalch 公式来计算任何 pH 条件下各种离子浓度的比例。

图 5 为 pH 值对两种 NF 膜分离性能的影响, 可以看出通量随着 pH 值的变化很小, 可以认为无影响。图 6 为不同 pH 值下两种膜对蛋氨酸和盐的截留性能, SR2 膜的 MWCO 值较大, 对氨基酸和盐

几乎没有截留, pH 值也没有影响。SR3 膜的 MWCO 值较小, 可以将蛋氨酸截留; 在低 pH 值下对盐的截留率较低, 但在较高 pH 值下却能将盐截留。

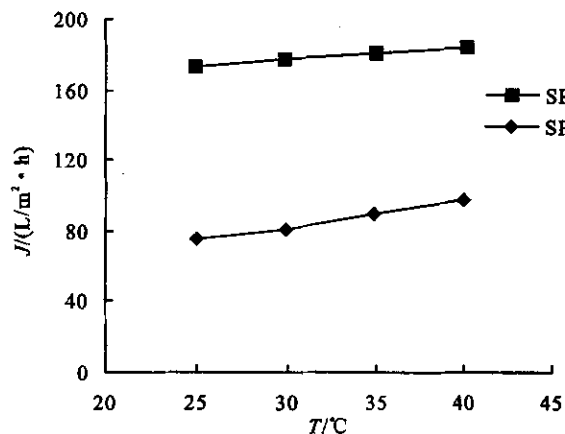


图 3 温度对纳滤通量的影响

Fig. 3 Influence of temperature on the flux of nanofiltration

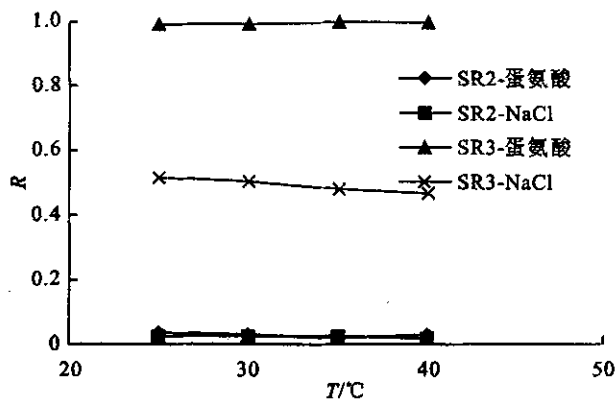


图 4 温度对纳滤膜截留率的影响

Fig. 4 Influence of temperature on the retention of nanofiltration

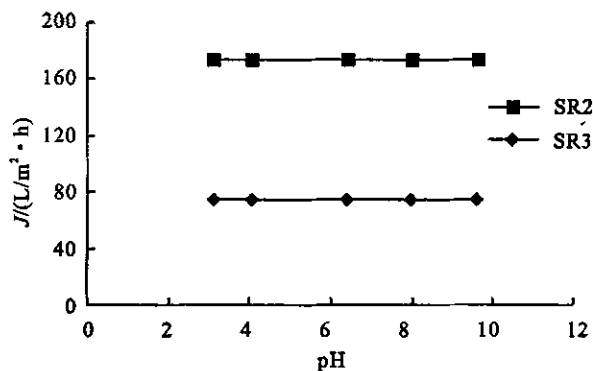


图 5 pH 值对纳滤膜通量的影响

Fig. 5 Influence of pH on the flux of nanofiltration membranes

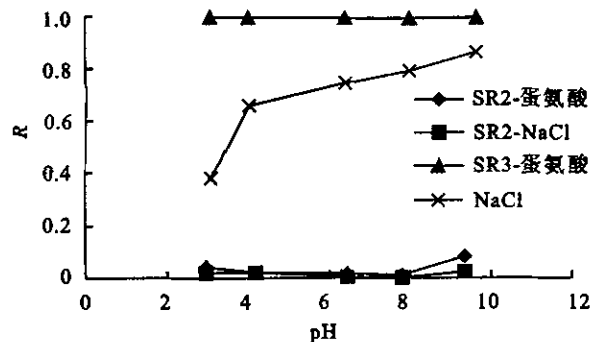


图6 pH值对纳滤膜截留率的影响

Fig. 6 Influence of pH on the retention of nanofiltration membranes

综上所述,对于模拟溶液,蛋氨酸的截留率基本上不受压差、温度和 pH 值的影响。而且,用 SR2 膜处理此溶液时,截留率 $R \leq 10\%$,最低接近 0,可以认为 SR2 膜对蛋氨酸不起截留作用。而用 SR3 膜时, $R \approx 1$,也就是蛋氨酸基本上不透过 SR3 膜。将两款膜组合起来可以对超滤后的发酵液进行提纯:先用 SR2 膜将较大的分子(例如相对分子质量大于 800 的分子)截留,GABA 不被截留;然后用 SR3 膜将滤液浓缩。这样的工艺一方面提高了氨基酸的纯度,另一方面达到了浓缩的目的(其通量远高于一般反渗透的通量),还可以起到部分脱盐的作用,是比较理想的流程。

2.4 用 SR2 纳滤膜分离 GABA 滤液的效果

GABA 发酵液的 pH 值为 5,在操作过程中变化不是很大。根据上述实验,在纳滤操作中可不必考虑 pH 的影响。

图 7 为纳滤通量随压差的变化关系。从图可以看出,通量与压差之间关系与人工配制的蛋氨酸盐溶液不同,可能是实际溶液中其他固形物的影响所致。

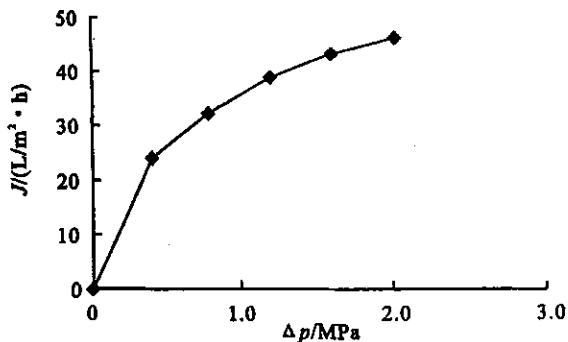


图7 SR2 纳滤通量和压差之间的关系

Fig. 7 Relationship between the pressure difference and the nanofiltration flux for SR2 membrane

曲线相似,也可以区分为压差控制区和传质控制区,浓差极化的影响集中表现在传质控制区。另一方面,GABA 滤液纳滤的通量比模拟溶液小得多,也反映出大分子杂质的影响。不过,纳滤的通量仍能维持在 $40 \text{ L}/(\text{m}^2 \cdot \text{h})$ 的水平,与文献中有关纳滤的应用报道相比还是比较高的。因此,从技术上看纳滤在这一场合的应用还是可行的。

图 8 为通量与温度的关系,随着温度的升高通量还是略有增加,大体上也呈线性关系。此趋势与模拟溶液相似,但因通量小得多,故温度的影响并不显著。

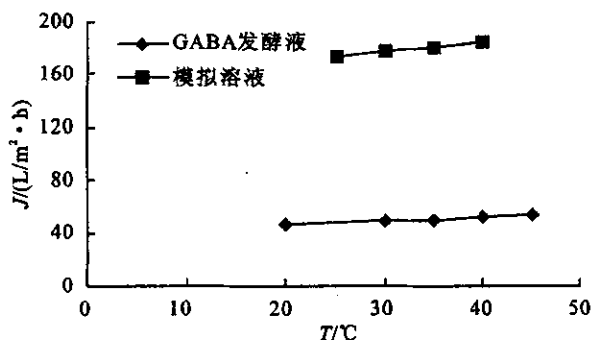


图8 SR2 通量和温度之间的关系

Fig. 8 Relationship between the temperature and the nanofiltration flux for SR2 membrane

纳滤的料液是 GABA 发酵液经超滤膜处理后的滤液,超滤已经将大的蛋白质分离。溶液中剩余的杂质主要是相对分子质量较大的糖类、小分子蛋白质或多肽、色素物质等,其中色素占较大的比例。GABA 是由乳酸菌发酵大豆粕、玉米浆等转化得到,由于玉米浆含有色素,所以发酵液呈棕黄色。对于溶液的脱色,目前主要是利用活性炭和树脂进行吸附,采用纳滤进行脱色的报道较少。

在不同压差和温度下测得 SR2 膜对色素的截留以及脱盐结果见表 1 和表 2。从表 1 中可以看出,随着压差的升高,脱色率上升,同时透过液的电导也略有下降,说明 SR2 对色素和盐的截留率都是上升的。从表 2 中可以看出,随着温度的升高,色素的截留率下降,透过液电导仍略微降低。这可能是温度升高时,一方面造成膜的溶胀,一方面由于传质系数的增大,造成组分的渗透性增加所致。所以,利用 SR2 膜对料液进行处理,尽量保持在高压低温下操作(压差控制在 2.0 MPa ,温度控制在 40°C 以下)比较有利。

从纳滤的总物料衡算发现,GABA 在膜上有相当的吸附,需要用稀释过滤进行回收。采用一次间歇稀释过滤,其结果如表 3。可以看出,经过 SR2 膜

又可以截留部分的蛋白质。同时,SR2 膜还可以截留将近 90% 的多糖和 30% 的灰分。GABA 的回收率达到 95.6%,纯度达到 21.3%,GABA 的质量浓度则下降到 0.84 g/L,必须浓缩。

表 1 压差对脱色率以及透过液电导的影响
Tab. 1 Influence of pressure difference on the color removal ratio and the electrical conductivity of permeate

压差/MPa	脱色率/%	透过液电导/(μ S/cm)
0.4	90.3	4 220
0.8	91.7	4 130
1.2	92.5	4 080
1.6	93.3	4 030
2.0	94.2	3 920

表 2 温度对脱色率和透过液电导的影响
Tab. 2 Influence of temperature on the color removal ratio and the electrical conductivity of permeate

温度/ $^{\circ}$ C	脱色率/%	透过液电导/(μ S/cm)
20	94.2	3 920
30	93.4	3 840
35	92.6	3 820
40	92.1	3 820
45	91.5	3 810

2.5 用 SR3 纳滤膜浓缩的效果

溶液的浓缩有蒸发、反渗透和纳滤等,其中纳滤的能耗最低,而且由模拟溶液实验已知,纳滤的
通量较高,因此是比较理想的浓缩方法。

表 3 SR2 膜对超滤后的发酵液的影响
Tab. 3 Discontinuous diafiltration of ultrafiltration permeate using SR2 membrane

样品	固形物 质量分数/%	GABA 质量 浓度/(g/L)	纯度/ %	GABA 回收 率/%	蛋白质 截留率/%	总糖 截留率/%	灰分 截留率/%
纳滤料液	1.10	1.40	12.89	-	-	-	-
SR2 透过液	0.66	0.94	14.24	53.9	62.73	91.04	50.64
稀释过滤后	0.39	0.84	21.28	95.6	43.93	88.69	30.05

图 9 和图 10 分别为 SR3 膜的操作压差和温度对膜通量和透过液电导的影响。从图中可以看出,透过液的电导同压差和温度的关系与 SR2 膜的相似,其原理可能是压差升高时膜发生压密现象。压密是聚合物膜基体的机械变形,多发生在压力驱动膜过程中,由于在实验中采用较高的压差,孔结构致密化造成对欲分离组分的截留;温度升高的时候,主要是由于粘度的下降以及传质系数的增大的缘故,导致对组分的渗滤性提高。所以,操作条件也同 SR2 膜相似。

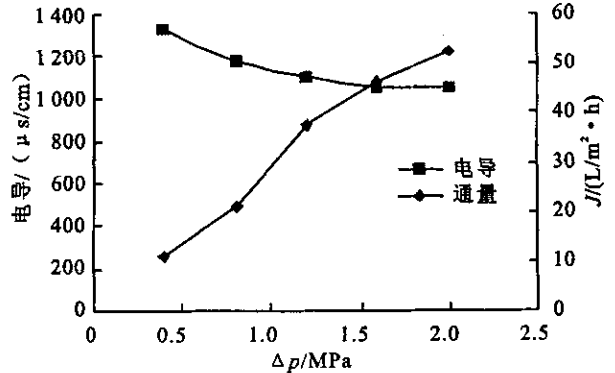


图 9 SR3 膜通量和透过液电导随压差的变化
Fig. 9 Effect of pressure difference on the flux and the electrical conductivity of permeate for SR3 membrane
万方数据

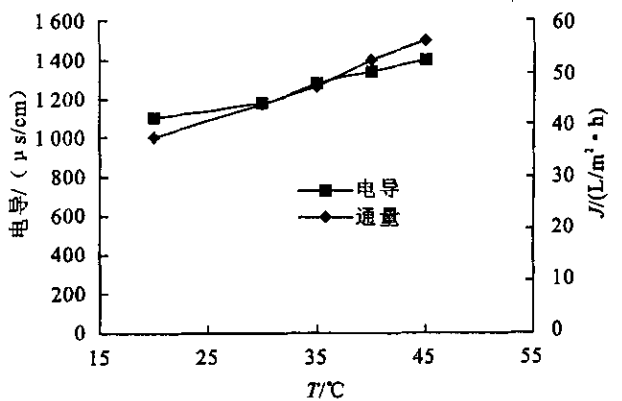


图 10 SR3 膜通量和透过液电导随温度的变化
Fig. 10 Effect of temperature on the flux and the electrical conductivity of permeate for SR3 membrane

经过 SR3 膜的浓缩后,GABA 的回收率为 83%,其损失主要是由于 GABA 在膜上的吸附造成的,由于实验的过滤时间较短,未到需停止过滤清洗的程度,所以在工业应用时还可以提高回收率。总的结果是,发酵液经高速离心、超滤和纳滤后,脱除了质量分数 71.81% 的蛋白质、97.47% 的总糖和 71.34% 的盐,GABA 的纯度由高速离心后的 8.87% 提高到 31.63%,达到了较理想的分离效果。

3 结 论

虽然纳滤膜的 MWCO 值较小,用蛋氨酸和盐配成的模拟溶液在纳滤时还是有很高的通量。蛋氨酸基本上不被 SR2 膜截留率,而却被 SR3 膜截留,利用这一特性可以将氨基酸溶液分离提纯。

当用这两款膜处理 GABA 超滤液的时候,随着压差的升高,透过液电导下降,产生了脱盐的效果;随着温度的升高,透过液的电导上升,可能是由于膜的溶胀效应,使组分的渗透性增强。SR2 膜可以脱色 90% 以上,并且脱色率同压差和温度之间的关系同透过液电导相似。

从工程应用的目的出发,针对两款膜的分离特点,用 SR2 膜纳滤后结合稀释过滤回收 GABA,再用 SR3 膜对滤液进行浓缩。从 GABA 发酵液出发,经过离心分离、超滤和纳滤分离,可以脱除 71.81% 的蛋白质、97.47% 的总糖和 71.34% 的灰分,GABA 的纯度从高速离心后的 8.87% 上升到 31.63%,达到了较好的分离效果。从总物料衡算知,GABA 的损失将近 25%,这主要是 SR3 膜上的吸附造成的,因为超滤结合稀释过滤已达到 95% 左右的回收率,SR2 膜的纳滤也已与稀释过滤结合,回收率较高。在连续工业生产中,由于吸附会达饱和,故 GABA 的回收率还可以进一步提高。

参考文献:

- [1] 万选才,杨天祝,徐承焘. 现代神经生物学[M]. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1999.
- [2] 营爱玲. 纳滤膜分离氨基酸过程模拟计算[J]. 化工时刊,2003,(12):47—50.
- [3] 李炜怡. 纳滤提纯蔗糖低聚糖实验研究和渗滤模型[J]. 膜科学与技术,2004,(5):6—10.
- [4] 王晓琳,营爱玲. 苯丙氨酸和天冬氨酸水溶液的纳滤分离及其过程模拟[J]. 膜科学与技术,2001,(2):6—9.
- [5] B V der Bruggen. Influence of molecular size,polarity and charge on the retention of organic molecules by nanofiltration[J]. *J of Membr Sci*,1999,156:29—41.
- [6] Martin-Orue C. Nanofiltration of amino acid and peptide solutions;mechanisms of separation[J]. *J Membr Sci*,1998,142:225—233.
- [7] B V der Bruggen. Flux decline in nanofiltration due to adsorption of organic compounds[J]. *Separation and Purification Technol*,2002,29:23—31.
- [8] Timmer J M K. Separation of amino acids by nanofiltration and ultrafiltration membranes[J]. *Separation and Purification Technol*,1998,14:133—144.
- [9] Li S L. Separation of L-glutamine from fermentation broth by NF[J]. *J of Membr Sci*,2003,222:191—201.

(责任编辑:朱 明)

《冷饮与速冻食品工业》征稿启事

《冷饮与速冻食品工业》杂志 是经国家新闻出版总署批准出版,教育部主管,江南大学(原无锡轻工大学)等单位主办,面向国内外公开发行的国家级专业性技术指导类刊物,是冷饮与速冻食品行业广大基层决策者、科研人员、生产者、经营者,研究开发新品、寻求商业机会、开拓产品市场的良师益友。

《冷饮与速冻食品工业》杂志 通过国家邮政在全国各地发行,影响广泛,及时报道国内外冷饮与速冻食品领域及其相关行业的科研成果、生产技术及市场动态,竭诚为我国冷饮与速冻食品行业的广大企业提供广告服务。广告内容涉及冷饮与速冻食品行业的新产品,各种速冻、冷藏机械设备,食品添加剂及原辅料等。

地 址:江苏无锡市蠡湖大道 1800 号,江南大学蠡湖校区 32 信箱

部 门:《冷饮与速冻食品工业》杂志编辑部

电 话:0510—85913521,85913529;传真:0510—85913521

邮 编:214122;电子邮件地址:csbf@sytu.edu.cn