

糖化酶发酵液超滤条件的研究

林文奎 黄辉莉

(化工与生化工程系)

摘要 本文以浓差极化—凝胶层理论为基础,研究了影响糖化酶超滤的各种工艺因素,并测定滤饼比阻力,得到滤饼比阻力与压差的函数关系.结果表明在浓差极化现象存在下,透过液通量随操作时间、透过液总体积以及主体溶液浓度的增加而减少,随搅拌速度的增加而增加;当操作压差达一定值后,透过液通量与压差无关.粗酶液经超滤后,可得到高活性浓缩酶.

关键词 糖化酶,超滤,浓差极化,透过液通量

超滤技术在生物大分子物质浓缩和纯化方面的应用已得到迅速发展,用超滤和微滤进行全发酵液的提纯及从稀发酵液中分离细胞和酶,在国内外均有大量报道^[1].本文采用超滤将粗糖化酶液进行处理,低分子和盐类及水一起从膜孔渗除,酶被浓缩和精制.在超滤过程中着重探索操作条件的优化,同时测定和比较在一般过滤中,滤饼比阻 γ_0 与压差 Δp 的关系式以及压缩性指数.

1 材料与实验方法

1.1 材料 糖化酶发酵液(泉州达强酶制剂厂),平板超滤器(上海瑞丽分析仪器厂),CA膜、截留分子量一万.

1.2 超滤实验方法 每次取一定量经预处理过的粗酶液放入超滤器中,调节超滤压力和搅拌转速,在室温(20~25℃)下进行超滤试验,记录时间,透过液体积并测定酶活和总蛋白质浓度,每次实验之后以洗涤剂洗涤膜,再用蒸馏水洗,至使水通量恢复到原来水平,再做下一次重复实验.

2 超滤原理的迁移方程

超滤过程是以压力为推动力,对溶液中不同渗透性物质进行筛滤分离.在溶液透过膜时,

• 本文1991-08-26收到.

低分子溶质及溶剂透过膜面,大于膜孔直径的溶质分子被截留在膜面形成膜面浓度 C_m 。高于主体溶液的浓度 C ,这种现象称浓差极化。膜面浓度随着超滤的进行而不断增加,最后达到一极限值 C_m 时形成凝胶层。此时超滤阻力增大,透过液通量急剧下降,在稳定态下推导出如下迁移方程^[2]

$$J_s = K \ln \frac{C_m}{C} \quad (1)$$

式中, K 为传质系数, J_s 为透过液通量(单位时间、单位膜面积的透过液体积)。超滤过程压力差 Δp 是个重要参数,它与 J_s 的关系可写成

$$J_s = \frac{\Delta p}{R_m + R_g} \quad (2)$$

式中, R_m 为膜的阻力, R_g 为凝胶层阻力。许多研究者都指出 R_g 是一个变量,它与 Δp 、 C 以及透过液累计体积 V 有关。在压力一定的情况下, R_g 正比于透过液总体积 V ,因此式(2)可写成

$$J_s = \frac{\Delta p}{R_m + \beta V} \quad (3)$$

当操作压力增大时,一定时间内引起透过液通量增加,但同时也加速溶质在膜面的沉积,凝胶层厚度增大, R_g 就增大,因此就 R_g 与 Δp 的关系,可将(2)式写成

$$J_s = \frac{\Delta p}{R_m + \alpha \Delta p} \quad (4)$$

式(3)与(4)中的 α 、 β 为常数。

由上可知, $R_g = \beta V$ 或 $R_g = \alpha \Delta p$ 。可见方程(4)与不可压缩性滤饼过滤公式相似。如果凝胶层为可压缩滤饼,那么滤饼比阻力 γ_0 与 Δp 的函数关系应有压缩性指数 S 的关系。

3 试验结果与讨论

3.1 透过液通量(即滤速)与压力差的关系

利用平板超滤器对含蛋白质为1.012%的糖化酶进行超滤实验,在进料量与搅拌转速相同的条件下,改变操作压差,在相同时间内测定每一压力时的透过液体积求出 J_s 。 J_s - Δp 的关系见图1。

由图1可见,在压差较低的情况下,滤速随 Δp 增加,当 $\Delta p > 6.0 \times 10^4 \text{ Pa}$ 时,滤速趋于不变。这是由于凝胶层已形成, Δp 增加凝胶层厚度增加, R_g 增大,增加的 Δp 值被相应增加的凝胶层阻力 R_g 值所抵销,故在生产上单纯提高操作压力不可能达到提高滤速的目的。

3.2 透出液通量与透出液体积的关系

分别取一定体积经絮凝及未经絮凝的糖化酶液,总蛋白浓度分别为1.012%和1.502% (g/ml),在一定搅拌转速和压力下进

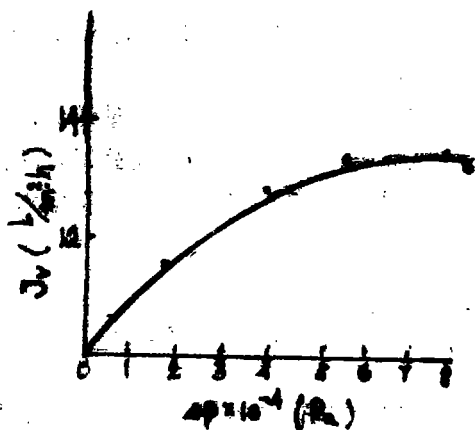


图1 J_s - Δp 图

行超滤,每隔一定时间测量透出液体积,并计算 J_v 值,实验结果如图2和图3所示.

由图2可见,在超滤过程中开始 J_v 下降,随后变得平缓,再后 J_v 下降很快,这表明随着溶剂和小分子溶质透过膜,而大分子溶质不断积累在膜表面,产生浓差极化并逐渐形成凝胶层, R_f 增加 J_v 下降.将图3的直线部分用最小二乘法进行线性回归,可得到 $1/J_v-V$ 的关联式为

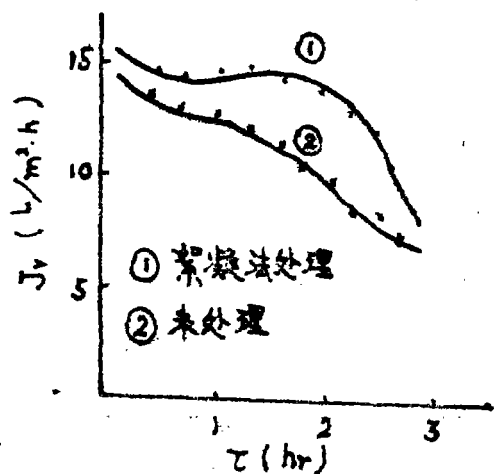


图2 $J_v-\tau$ 图

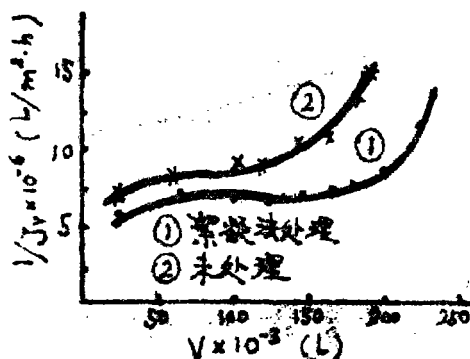


图3 $1/J_v-V$ 图

$$1/J_v = 5.13 \times 10^{-2} + 0.22V \text{ (图3曲线①)}, \quad (5)$$

$$1/J_v = 5.21 \times 10^{-2} + 0.4V \text{ (图3曲线②)}. \quad (6)$$

当透出液体积大约为原液浓缩4倍时, $1/J_v$ 迅速增大,并偏离原来线性关系,滤速迅速下降,可见实际超滤过程中,浓缩倍数不宜过大.

3.3 超滤前发酵液预处理对透过液通量的影响

发酵液的澄清程度对透过液通量 J_v 影响很大.如图2和图3的曲线①、②所示,经絮凝预处理后的 J_v 大于未絮凝的 J_v ,以关联式(5)和(6)可求得 $R_{f1} = 1.3 \times 10^4 V$ (经絮凝处理凝胶层阻力), $R_{f2} = 2.4 \times 10^4 V$ (未絮凝处理凝胶层阻力).当透出液体积相同时, $R_{f1} < R_{f2}$,说明后者超滤的浓差极化程度比前者大,且膜受污染程度严重,影响膜的使用寿命.因此,提高发酵原液的质量是使超滤过程能顺利进行的有力保证.

3.4 透过液通量与溶液主体浓度 C_s 的关系

根据方程(1) $J_v = K \ln C_s / C_s$,可见透过液通量 J_v 与主体溶液浓度 C_s 的对数呈线性关系.取一定量酶液,其蛋白质含量为1.12% (g/ml)在 6.0×10^4 (Pa)和一定转速下,每隔一定时间测定透出液体积和蛋白浓度,计算 J_v 和 C_s .结果见图4,由图4可见,随着 C_s 的增大 J_v 减少,这是因为 C_s 越大形成凝胶层的速度越快,过滤阻力增加也快,因此 J_v 减少.通过 J_v 的实验值与 $\ln C_s$ 关联 $J_v \sim \ln C_s$ 关系如图5所示.其结果符合线性关系.

3.5 透过液通量与搅拌速度的关系

在压差为 6×10^4 (Pa)下,改变搅拌转速,测定相同时间内的平均滤速 J_v ,结果见图6.

由图6可知,超滤速度随着搅拌速度的增加而增大,这是由于在搅拌剧烈湍动下,扩散速度

加快,延缓了凝胶层的形成,从而提高滤速,因此,采用提高转速 N ,增大膜面的湍动以减轻浓差极化程度,对提高滤速是有效的.但过大的转速,会产生过大剪切力而引起酶失活,故转速的确定以不破坏酶活为限度.

3.6 滤饼比阻力 γ_0 与压差 Δp 的关系

在一般常规过滤中,滤饼比阻力可表征料液过滤最重要的综合特征^[3].从以上过滤速度与

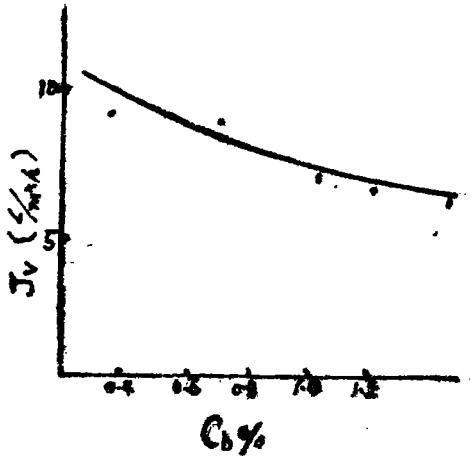


图4 J_v-C_b 图

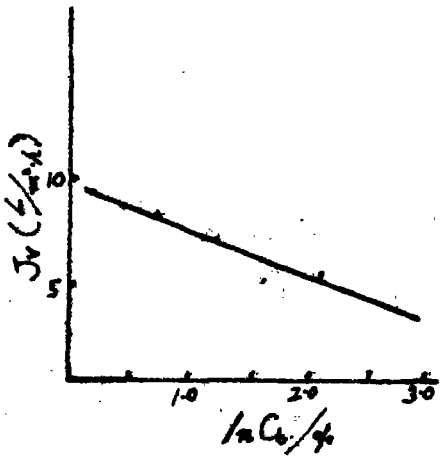


图5 J_v-1/C_b 图

各因素的关系看出,当原液浓缩4倍左右,形成凝胶层,滤速下降.在一般过滤中,滤饼如不可压缩的则其比阻 γ_0 与 Δp 成线性关系,如方程(4).但凝胶层应视为可压缩滤饼,那么其 γ_0 与 Δp 是怎样的关系呢?根据过滤的基本方程

$$\tau/q = \frac{\mu\gamma_0x_0}{2\Delta p}q + \frac{\mu R}{\Delta p}, \tag{7}$$

以 $\tau/q-q$ 作图(图7)得一直线.直线斜率为

$$M = \frac{\mu\gamma_0x_0}{2\Delta p}, \tag{8}$$

其中, μ 为滤液的粘度 ($\text{Pa}\cdot\text{S}$), x_0 为滤渣体积与所得滤液体积之比.在不同压力下,可得不同 M 和 γ_0 值见表1.

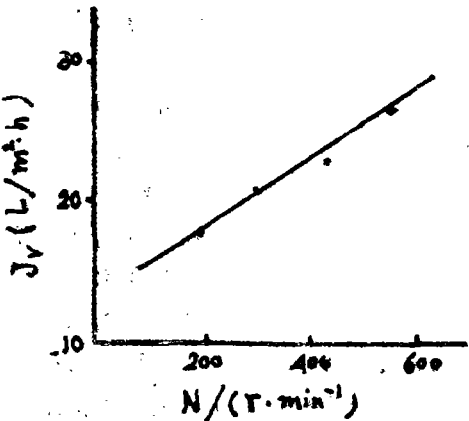


图6 J_v-N 图

表1 不同压差下的 M 及 γ_0 值

$\Delta p \times 10^{-4} (\text{Pa})$	4.0	6.0	8.0
$M \times 10^{-3} (\text{s}\cdot\text{m}^{-2})$	2.85	1.4	0.96
$\gamma_{0\pi} (\text{m}^{-2})$	4.985	16.1	14.8
$\gamma_{0\text{tt}} (\text{m}^{-2})$	8.395	15.8	14.5

对可压缩滤饼比阻 γ_0 与 Δp 的关系应符合 $\gamma_0 = \gamma' \Delta p^s$ 方程^[3], s 为压缩性指数, 不可压缩滤饼 s 为零, 可压缩滤饼 $s = 0.1 \sim 0.95$. 为此, 我们以实验实测的 γ_0 值与 Δp 值作 $\log \gamma_0 - \log \Delta p$ 关系图(图8), 并从图中求得 $s = 0.789$. 当 $\log \Delta p = 0$ 时, 求得 $\gamma'_0 = 1.995 \times 10^{13}$, 从而得出滤饼比阻力与操作压差的函数关系式为

$$\gamma_0 = 1.995 \times 10^{13} \Delta p^{0.789} (m^{-2}). \tag{9}$$

随着过滤的进行, 当原液浓缩至4倍左右, 此时 γ_0 值突然升高, 见图7. 这种 γ_0 的突变正好与上述超滤浓缩4倍时, 滤速下降相吻合. 此时表示滤速太慢以致过滤不能再进行下去. 由此可见, 对糖化酶经超滤形成的凝胶层可视为可压缩滤饼, 在恒压下超滤的迁移方程和一般过滤的基本方程是相一致的. 但对不可压缩滤饼就不同了.

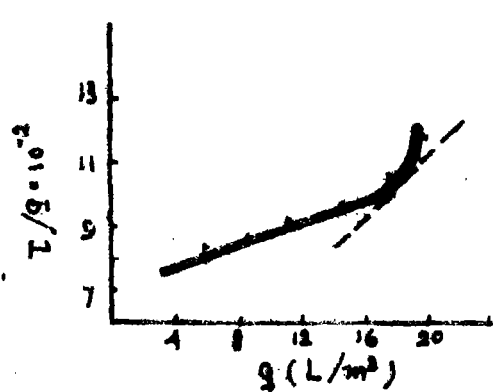


图7 $\gamma_0/q - q$ 图

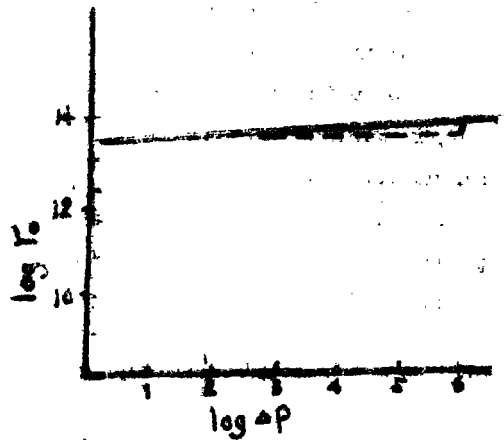


图8 $\log \gamma_0 - \log \Delta p$ 图

4 结论

- (1) 酶制剂采用超滤处理具有工艺简单, 没有相变过程, 防止酶失活, 提高酶收率, 并减少杂菌污染.
- (2) 糖化酶液进行超滤, 滤速随操作时间、透过液总体积以及主体溶液浓度的增加而减少; 当操作压力达一定值后, 滤速与压差无关. 提高滤速最有效的因素是增加膜面的湍动程度和提高原液的质量.
- (3) 在浓差极化存在下, 凝胶层可视为一般过滤中的可压缩滤饼. 其 γ_0 与 Δp 成指数关系即 $\gamma_0 = \gamma' \Delta p^s$. 对糖化酶而言, $s = 0.789$. 正好在可压缩滤饼 $s = 0.1 \sim 0.95$ 之间, 符合可压缩滤饼比阻 γ_0 与 Δp 之间的函数关系, 即 $\gamma_0 = 1.995 \times 10^{13} \Delta p^{0.789}$

参 考 文 献

- [1] 江成璋, 化工进展, 3(1991).
- [2] 高以恒等, 膜分离技术基础, 科学出版社, (1989).
- [3] 华南工学院等, 发酵工程与设备, 轻工出版社, (1985).

A Study on the Conditions Affecting the Ultrafiltration of Diastase Fermentation Liquor

Lin Wenluan Huang Huili

(Department of Chemical Engineering)

Abstract Based on the theory of concentration polarization-gelating layer, various technological factors affecting the ultrafiltration of diastase, i. e. saccharogenic amylase are reviewed; the specific resistance of filter cake is determined; and a functional relation between specific resistance of filter cake and pressure drop is clarified. The results can be briefly summarized as follows; In the presence of concentration polarization, the percolate flux decreases with the increase of operating time, percolate volume, and bulk concentration; and it increases with the increase of stirring rate; and it has nothing to do with pressure drop after the operating pressure drop reach a certain limit. A concentrated diastase of high activity can be obtained from crude diastase liquor after ultrafiltration.

Key word diastase or saccharogenic amylase, ultrafiltration, concentration polarization, percolate flux