

反胶团提取脂肪酶动力学研究^{*}

() 反 萃 取 过 程

陈少欣 林文奎

(华侨大学化工学院, 泉州 362011)

摘要 研究以 AOT/ 异辛烷反胶团溶液的反萃取脂肪酶动力学. 通过改变水相 pH 值、离子强度、搅拌速度和反胶团中脂肪酶浓度来测定总质量传质系数. 结果表明, 传质系数与水相的 pH 值、离子强度有关, 而与搅拌速度、反胶团中脂肪酶浓度无关. 说明该反萃取过程属于界面控制, 进而提出反萃取过程机理.

关键词 反胶团, 反萃取, 动力学, 脂肪酶

分类号 TQ 925.6; TQ 021.4

实际生产中, 为获得最终产物, 必须利用反萃取把蛋白质从有机相分离出来. 一般反萃取过程可以通过调节水相的 pH 值和离子强度来达到目的^[1]. 但是实验中发现, 反萃取率总是比较低^[1], 说明反萃取与萃取过程有较大的差异. 目前, 国内外对反胶团萃取蛋白质过程的研究较多, 对反萃取操作和动力学的研究报道不多. 反萃取是获得最终产物的关键, 因此, 我们在文献 [1~2] 研究的基础上, 进一步探索了反胶团反萃取过程的动力学.

1 实验材料与方法

1.1 材料

AOT(二-(2-乙基己烷)丁二酸磺酸钠, 纯度大于 98%, 上海试剂二厂)、异辛烷(分析纯)、脂肪酶(分子量 50 000、等电点 PI 为 9.4, 无锡酶制剂厂), 其他药品均为化学纯试剂, 水溶液均用去离子水配制.

1.2 仪器

HZ-24 型回转振荡器(上海跃进医疗器械厂)、离心机(上海手术器械厂).

1.3 反萃取实验测定方法

先进行萃取操作, 分离出含有脂肪酶的有机相, 将其和相同体积的水相置于三角瓶中, 在回转振荡机上振荡混合, 隔一定时间取样. 离心 15 min, 将混合物分成两相, 用移液管小心将两相分开, 分别测定水相和有机相的脂肪酶浓度.

1. 4 脂肪酶浓度的测定

水相中的脂肪酶含量测定采用考马斯亮蓝(Coomassie Brilliant Blue G-250) 染色分析法^[6], 并用 751 紫外分光光度计校对. 然后, 通过物料衡算求出有机相脂肪酶浓度.

2 反萃取动力学方程的推导

反萃取动力学方程的推导与萃取动力学类似, 不过这时的分配系数 m 定义为

$$m = \frac{\text{平衡时有机相脂肪酶浓度 } C_2(t)}{\text{平衡时水相脂肪酶的浓度 } C_1(t)}.$$

(1)

有关方程的推导及其动力学参数的求取与文献 [2] 的萃取动力学相似, 因此可得反萃取动力学方程为

$$E = \beta + (1 - \beta) e^{-\alpha},$$

(2)

式中 $\alpha = \frac{K_{LA}}{V_2} \cdot (1 + m V_r)$, $\beta = \frac{m V_r}{1 + m V_r}$, 反萃取率 $E = \frac{C_2(t)}{C_1(t)}$. 其中, K_{LA} 为反萃取总传质系数 ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), V_r 为有机相与水相体积之比, V_2 为有机相体积 (m^3).

3 实验结果与讨论

3. 1 pH 值和离子强度对反萃取传质系数的影响

不同的转速(N), 反萃取传质系数与水相 pH 和离子强度的关系如图 1, 2 所示, 由图 1, 2 可知, 随着离子强度和水相 pH 的增大, 传质系数越大. 水相 pH 值和离子强度(C_{KCl})主要影

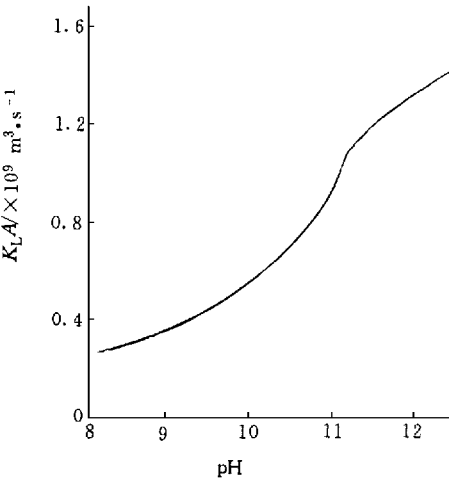


图 1 不同水相 pH 值对反萃取传质系数的影响

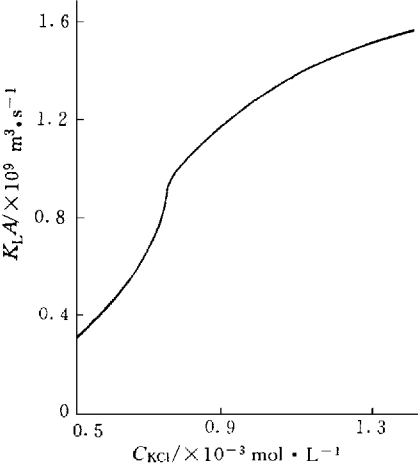


图 2 不同水相离子强度对反萃取传质系数的影响

响表面活性剂和蛋白质的静电作用力, 对于阴离子反胶团体系, 增大水相的 pH 值和离子强度, 会降低它们之间的静电作用力. 使得脂肪酶易于从反胶团内部转移到水相中, 从而引起传质速率的增大. 但是, 与萃取传质系数相比, 反萃取的传质系数约小一个数量级, 说明反萃取的速率比萃取慢. 这意味着这两个过程的传递机制可能不同.

3. 2 转速对反萃取传质系数的影响

图 3 是不同转速(N)对反萃取传质系数的影响. 由图可知, 随着 N 的增大, 传质系数会有微弱的增大. 与萃取过程不同, 反萃取传质系数随 N 的变化很缓慢, 在低速区的传质系数与在高速区基本相当, 不会出现像萃取的“双斜率”现象. 这说明在反萃取过程中, 水相和有机相的扩散对传质系数的影响不是很明显.

3.3 脂肪酶浓度对反萃取传质系数的影响

有机相中的 3 种不同脂肪酶浓度($C_{\text{脂肪酶}}$)对反萃取传质系数的影响示于图 4. 由图 4 可知, 在一定范围内, 脂肪酶的浓度并不影响反萃取的传质系数. 如果反萃取过程存在较大的有机相阻力, 那么增加有机相的脂肪酶浓度就可以增大有机相的扩散推动力, 加快传质速率. 但从实验结果看, 增加脂肪酶浓度并不能增大传质系数, 因此可以初步判断有机相的阻力对传质系数影响较小.

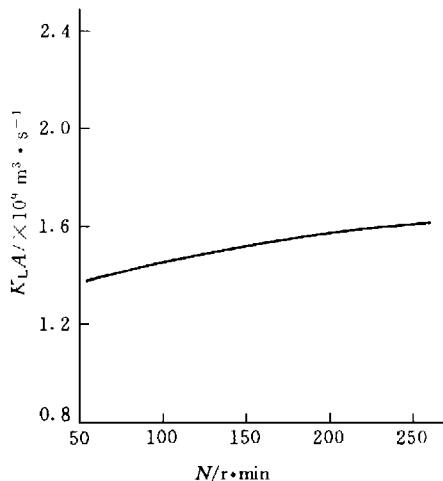


图 3 不同转速 N 对反萃取传质系数的影响

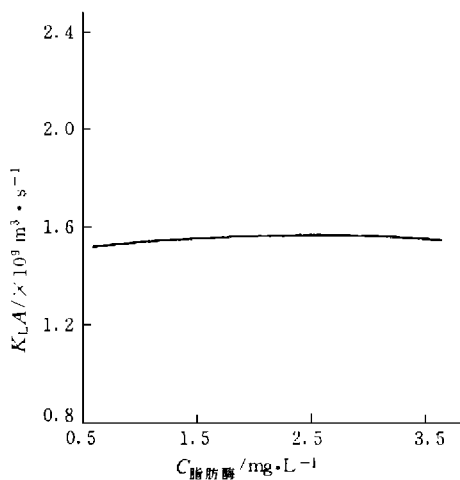


图 4 有机相脂肪酶浓度对传质速率的影响

3.4 反胶团反萃取传质控制类型判断

反胶团反萃取分为 3 个步骤^[1]: (1) 含有蛋白质的反胶团从有机相扩散到界面处; (2) 反胶团在界面处释放蛋白质; (3) 蛋白质从界面处扩散到水相. 因此, 反萃取存在有机相扩散阻力、界面阻力、水相的扩散阻力. 对于反萃取过程的界面阻力是不能忽略的, 但我们无法求得. 因此, 不能利用与萃取相同的方法来求得水相和有机相的阻力, 只能定性地对反萃取过程的控制进行判断. 分析反萃取动力学数据, 可以知道反萃取的速率与有机相的脂肪酶浓度无关, 而转速对反萃取速率的影响也很微小. 只有水相 pH 值和离子强度对反萃取的速率影响较大, 水相 pH 值和离子强度一般与界面处的静电力有关. 可以认为, 反萃取过程是一个界面控制过程, 与萃取过程是扩散的控制过程不一样.

3.5 反萃取传质机理的推断

对振荡时反胶团反萃取脂肪酶的过程做如下推断: 首先, 在振荡过程中形成“空胶团”; 这些空胶团与原来有机相中存在反胶团不一样. 这些“空胶团”的水池 pH 值和离子强度都比较高, 与水相的一样. 当“空胶团”与包容脂肪酶的反胶团相互碰撞时, 会互相交换内含物, 脂肪酶进入这些“空胶团”内. 这种交换将改变脂肪酶所处“水池”的条件, 使得脂肪酶表面电荷及

脂肪酶与表面活性剂间的静电作用力变小。当这些反胶团进入水相与有机相界面层时, 脂肪酶就会从带电的界面离开, 进入水相, 从而完成反萃取的过程。由于反胶团交换内含物需要一定时间, 带电的脂肪酶离开界面层需要较大的能量, 因而反萃取过程比起萃取过程慢, 而且反萃取率低。

4 结束语

反胶团的反萃取过程与萃取过程不同, 它主要受控于界面阻力。由于界面阻力与表面活性剂和蛋白质之间的静电作用力有关, 要破坏静电作用力较困难。因此, 反萃取的得率小且速度较慢, 如果要获得高的反萃取率, 必须寻求能有效破坏静电作用的方法。

参 考 文 献

- 1 陈少欣. 反胶团提取蛋白质研究:[硕士学位论文]. 泉州: 华侨大学化工学院, 1998. 11 ~ 26
- 2 陈少欣, 林文奎. 反胶团提取脂肪酶动力学研究(1) 萃取过程. 华侨大学学报(自然科学版), 1999, 20(1): 89 ~ 94
- 3 Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248 ~ 254
- 4 陆强, 施亚钧. 反胶束液-液萃取牛血清白蛋白的动力学研究. 华东理工大学学报, 1994, 20(12): 726 ~ 727

Kinetics of Extracting Lipase by Applying Reversed Micelles () Process of Back-Extraction

Chen Saoxin Lin Wenluan

(College of Chem. Eng. Huaqiao Univ., 362011, Quanzhou)

Abstract A study is devoted to the kinetics of back extracting lipase by applying AOT/isooctane solution. The total mass transfer coefficient can be measured by changing pH value of aqueous phase, ionic strength, mixing speed, and concentration of lipase in reversed micelles. The results indicate that the mass transfer coefficient has a bearing on pH value of aqueous phase and ionic strength while it has nothing to do with mixing speed and concentration of lipase in reversed micelles. This accounts for that the process of back-extraction belongs to interface control. The mechanism of reversed extraction is discussed.

Keywords reversed micelles, back-extraction, kinetics, lipase