

超滤技术在酶的浓缩中的应用

李占生

(天津纺织工学院科研处 天津 300160)

摘要:从超滤技术浓缩酶中,获得**浓缩倍数、酶的收率、RF 值及超滤速率**等数据,运用这些数据对超滤膜进行评价,并对运行中的参数进行探讨,从而确定超滤技术在酶的浓缩中的应用。

关键词:超滤膜,碱性蛋白酶, α -淀粉酶

0 前言

目前国内生产的淀粉酶和蛋白酶的产品大多数是**发酵液不加提纯即经喷雾干燥后作为粗品出售**的第一代酶。近期开发的新一代酶,其提纯过程是发酵液中加入絮凝剂絮凝,经板框压液机除渣,同时除去部分菌体,所得酶清液再经超滤器浓缩,直接以浓缩液出售。这种采用膜技术的优点是可在常温下操作,比传统的浓缩方法节省能源,对热敏性物质的分离更为适宜,而且操作简单,操作中不产生相的变化。

膜超滤技术,以**压力**驱动力,使溶液透过膜并按**溶质分子量、形状、大小**的差异,把大溶质分子阻留在膜的一侧,而小溶质分子则随溶剂透过膜到另一侧,这样,可使溶液中的酶获得浓缩,并除去低分子的杂质,使酶获得提纯。

超滤技术是在**溶液动态过程**中完成,溶质在膜表面仅为有限的积累,因而膜的表面不致由于形成滤饼层而被堵塞。过滤过程可连续进行,这是超滤与一般过滤的主要区别之一。

1 材料与方法

所用膜是**中空纤维外压式组件**,规格如表 1。

表 1

型号	膜材料	直径(mm)	长度(mm)	外管材料	超滤速率 L/hr	工作压力 Mpa	PH 值	操作温度℃
05 型	PS	$\Phi 90$	1000	ABS	500	≤ 0.2	2—13	5—45
03 型	PS	$\Phi 90$	500	ABS	300	≤ 0.2	2—13	5—45

采用 05 型和 03 型各一台,截留分子量为 20000。05 型的膜面积为 $14\text{m}^2 \times 10$ 。

03 型的膜面积为 $8\text{m}^2 \times 2$ 。

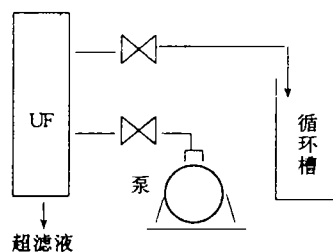


图1 浓缩示意图

收稿日期: 1995-11-18; 李占生,男,50岁,工程师。

2 超滤方法

中空纤维超滤浓缩采用连续循环的工艺,即将稀酶液置于循环槽内,使料液呈. 循环状态随着超滤液的不 断流出,循环槽内料液不断浓缩,直至所需倍数为 止. 图 1 为浓缩示意图.

浓缩完毕,进行膜清洗. 以超滤水等压冲洗 2—3 遍,然后以 NaOH(200PPM)冲洗 0. 5~1 小时(亦可用 0. 1NNaOH)溶液冲洗,最后再以超滤水进行反复冲洗(压力≤0. 1MPa),以使膜恢复至原来的能力.

结果分别列于表 2—表 5

表 2 05 型超滤膜浓缩碱性蛋白酶液

批号	稀 酶 液			浓 缩 酶 液			收率 %
	活力 u/ml	体积 l	总活力 u	活力 u/ml	体积 l	总活力 u	
1	3896	900	$3. 5064 \times 10^9$	13685	230	$3. 1413 \times 10^9$	89. 77
2	5068	900	$4. 5612 \times 10^9$	23488	170	$3. 9930 \times 10^9$	89. 54
3	9100	900	$8. 19 \times 10^9$	40804	180	$7. 3447 \times 10^9$	89. 70
4	5620	900	$5. 058 \times 10^9$	30685	150	$4. 6028 \times 10^9$	91. 00
5	7144	900	$6. 4296 \times 10^9$	43648	130	$5. 6742 \times 10^9$	88. 25
6	5999	950	$5. 6990 \times 10^9$	38400	140	$5. 3760 \times 10^9$	94. 33
7	4700	950	$4. 465 \times 10^9$	34140	120	$4. 0968 \times 10^9$	91. 75
8	7714	900	$6. 9426 \times 10^9$	39849	160	$6. 3816 \times 10^9$	91. 92
9	4720	940	$4. 4368 \times 10^9$	31588	130	$4. 1064 \times 10^9$	92. 55
10	6174	950	$5. 8653 \times 10^9$	36191	145	$5. 2477 \times 10^9$	92. 83
平均	6013. 5	919					90. 96

稀酶液的温度为 15~18℃

共进行 10 次试验,稀酶液总体积 9190 升得浓缩酶液总体积 1550 升,酶的浓缩倍数,按体积计平均为 5. 91,按活力计平均为 5. 53 酶经浓缩后,平均收率为 91. 0%.

表 3 03 型超滤膜浓缩 α-淀粉酶液

批号	稀 酶 液			浓 缩 酶 液			收率 %
	活力 u/ml	体积 l	总活力 u	活力 u/ml	体积 l	总活力 u	
1	273	185	$5. 0505 \times 10^7$	1500	30. 3	$4. 5450 \times 10^7$	90. 0
2	262	180	$4. 7160 \times 10^7$	1000	42. 9	$4. 2900 \times 10^7$	91. 0
3	222	170	$3. 7740 \times 10^7$	1100	31. 0	$3. 4100 \times 10^7$	90. 40
4	270	180	$4. 8600 \times 10^7$	1200	36. 9	$4. 4280 \times 10^7$	91. 1
5	220	175	$3. 8500 \times 10^7$	178	29. 9	$3. 5222 \times 10^7$	91. 5
平均	249. 4	178		1195. 6	34. 2		90. 8

稀酶液的温度为 20~30℃.

进行 5 次试验,稀酶液总体积 890 升,得浓缩酶液总体积 171 升,酶的浓缩倍数,按体积计平均 5. 2,按酶活力计平均为 4. 79,酶经浓缩后,平均收率为 90. 8%.

表 4 05 型超滤膜浓缩碱性蛋白酶液 RF 值与超滤速率

批次	浓缩酶液 l	浓缩酶液活力 u/ml	超滤液 l	超滤酶活力 u/ml	RF %	超滤速率 l/hrm ²
1	230	13685	670	283	94	5. 84
2	170	23488	730	519	91	5. 21
3	180	40804	720	559	95	4. 9
4	150	30685	750	1614	79	3. 69
5	130	43648	770	594	93	4. 06
6	140	38400	810	522	93	3. 51
7	120	34140	830	649	88	4. 03
8	160	39849	740	558	94	3. 62
9	130	31588	810	379	93	3. 97
10	145	36191	805	373	95	4. 02
平均	155. 5	33248	763. 5	605	92	4. 29

RF 值为截率,即膜对酶的截留情况.通过截留率可以考察膜及该装置的质量水平.尽管截留率与酶的收率不是同一概念,但是通常情况下,截留率大,有助于提高酶的收率.

计算方法为
$$RF = \frac{\text{浓缩酶液活力}}{\text{浓缩酶液活力} + \text{超滤液酶活力}} \times 100\%$$

共 10 次试验,RF 值平均为 92%

超滤速率,在超滤膜的规格中,其超滤速率以纯水透过膜的速率表示.如 05 型中空纤维超滤膜 1 支每小时超滤速率为 500 升,(35.7 升/平米·小时).用于酶的浓缩时,由于酶液速率将发生变化,经 10 次试验,超速率平均为 4.29 升/平米·小时

表 5 03 型超滤膜浓缩 α -淀粉酶液 RF 值超滤速率

批次	浓缩酶液 l	浓缩酶液活力 u/ml	超滤液 l	超滤酶活力 u/ml	RF %	超滤速率 l/hrm ²
1	30.3	1500	154.7	14	95	3.6
2	42.9	1000	137.1	13	96	3.5
3	31.0	1100	139.0	13	95	4.0
4	36.9	1200	143.1	14	96	4.3
5	29.9	1178	145.1	12	95	4.1
平均	34.2	1195.6	143.8	13.2	95	3.9

经 5 次试验 RF 值平均为 95%.超滤速率平均为 3.9 升/平米·小时.

注:本试验使用蛋白酶为 2709 碱性蛋白酶;使用 α -淀粉酶为 7658 α -淀粉酶.

3 讨论及建议

1. 中空纤维超滤膜在酶浓缩中,浓缩倍数 5 倍左右(可接需要控制),酶的收率大于 90%,膜的截面率 92%以上,膜超滤速率为 4.01/hrm²,这表明膜的应用效果较好.

2. 影响速率的除了膜渗透性外还有压力.压力增大速率相应增加,但二者并不成比例,速率达到一稳定的水平后,压力增加速率并不增大.采用外压式中空纤维膜超滤,压力不宜超过 0.18MPa.

3. 由于热的直接作用,使溶质分子的活性、运动性、溶解度有所增加以致溶液的粘度下降,故当温度增加,可增大流量.采用外压式中空纤维膜超滤,温度控制在 15℃~30℃为宜,鉴于较低温度下超滤,酶活损失较小,故操作温度不宜偏高.

4. 膜的清洗,当超滤器正式使用前,必须充分冲洗,当使用一段时间(比如连续运转一至二班),应冲洗;当使用中发现透过量减少,压力升高较大时,应冲洗.清洗液组成,可针对污染原因选择,或采用纯水;或采用次氯酸钠溶液(100~200PPM);或采用 NaOH 溶液(0.1N).

5. 为了改善浓差极化和膜污染,发酸酶液必须经过妥善的予处理后才能进行超滤.

6. 浓缩酶制剂如选用亲水性和物理与化学稳定性好的膜为更有利.

参 考 文 献

- 1 张树政主编.酶制剂工业.北京:科学出版社,1984
- 2 宗润宽.第一届全国膜及膜过程学术报告会文集.1991,505~508