

# 中空纤维超滤膜浓缩胞外多糖 PS-9415 发酵液的研究

(暨南大学食品科学与工程系, 广州 510632)

张 宁

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广州 510640)

彭志英

**摘 要** 采用了截留分子量为 50,000 的内压式中空纤维超滤器对微生物胞外多糖 PS-9415 发酵液进行浓缩分离的研究。研究表明,膜的透过通量受温度、料液浓度、操作压力等操作参数的影响,其中高温、低浓度的料液在较高的操作压力下具有较高的透过通量。经过稀释、离心除菌的发酵液比不经过处理的发酵液透过通量高,衰减慢。0.05MPa 下对 3%的料液 3L 超滤浓缩,可得到 5.8%的浓缩液,多糖回收率为 82.7%。0.1MPa 下 0.5%的料液可浓缩至 2.95%,浓度提高了 4.9 倍。

**关键词** 中空纤维超滤 胞外多糖 PS-9415 浓缩

**Abstract** The concentration of PS-9415 solution by hollow fiber membrane ultrafiltration (membrane molecular weight cutoff of 50,000) was carried out. Higher permeation flux was obtained with higher operating temperature, pressure and lower initial concentration. Pretreatment of raw material to remove the cells by centrifugation improved the efficiency of concentration. Solution of 3% could be concentrated to 5.8% under the condition of 0.05MPa and 60°C with the recovery rate of 82.7%. Under 0.1MPa and 60°C, 4.9 fold increase of concentration can be achieved on 0.5% initial solution.

**Key words** hollow fiber membrane ultrafiltration; exopolysaccharides PS-9415; concentration

中图分类号: TS201.2 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2003)02-0024-04

微生物胞外多糖发酵液经过浓缩分离可获得液剂或固体粉剂的产品。这些产品必须具有性能稳定,易于处理、运输、储存和应用方便,溶解快的特点。含有菌体的多糖在食品和许多工业领域中的应用受到限制。经过过滤除菌或酶法除菌的多糖都进行了适当的稀释,稀释的产品不方便运输和储存。此外,残余的培养基成分会使储存的多糖无论液剂还是粉剂均产生异味。采用膜分离技术对多糖的发酵液进行预处理,不仅可以浓缩澄清的多糖,还可分离发酵液

中残余的培养基组分,包括糖、含氮物质、无机盐等等。中空纤维超滤法与其他形式的平面膜超滤系统相比较,由于膜孔径小,增加了液体流动的剪切力,过滤时不容易产生浓差极化,提高了过滤效果,并具有同时进行脱盐与浓缩、操作方便、能耗低、效率高、条件温和等许多优点,故已应用于食品与医药工业中高分子的浓缩、纯化和分离<sup>[1-3]</sup>。

本文对采用中空纤维超滤器对放射形土壤杆菌 Q9415 发酵生产的微生物胞外多糖 PS-9415 进行了浓缩的研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

放射形土壤杆菌 Q9415 为华南理工大学生物科学与工程中心从自然界筛选得到<sup>[4,5]</sup>;其他试剂均为市售生化试剂。

内压管式中空纤维膜组件 截留分子量 50,000,海南立升超滤设备厂;紫外可见分光光度计 UV754,上海分析仪器设备总厂。

### 1.2 膜通量(J)的测定

一定操作压力下,水或溶液通过超滤膜的透过液为一定体积(V)时所需要的时间(t),用单位时间内通过单位面积(S)的透过液量表示:

$$J=V/(S \times t)$$

式中 J—[L/(m<sup>2</sup>·h)]或[ml/cm<sup>2</sup>·h];

V—透过液体积, L 或 ml;

S—膜的有效面积, m<sup>2</sup> 或 cm<sup>2</sup>;

t—超滤时间, h 或 min。

### 1.3 聚合物收率的测定

$$Y(\%) = \frac{\text{浓缩后聚合物浓度} \times \text{浓缩液体积}}{\text{浓缩前聚合物浓度} \times \text{浓缩前溶液体积}} \times 100\%$$

## 2 结果与讨论

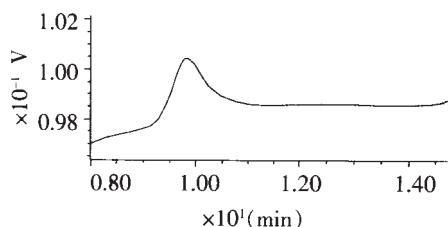
### 2.1 分子量分布

钟颜麟等对 PS-9415 典型产品的 GPC 分析结

收稿日期: 2002-08-07

作者简介: 张宁, 博士, 研究方向: 食品生物技术。

基金项目: 广东省科技攻关资助项目[粤财工 08 278 号]。

图1 PS-9415的GPC分析结果<sup>[4]</sup>

果(图1)表明,其重均分子量  $M_w=2.07 \times 10^5$ ,数均分子量  $M_n=1.82 \times 10^5$ ,分子量分布宽度(聚合分散度)  $DI=M_w/M_n=1.14$ 。发酵培养的条件会影响PS-9415的分子量,因此发酵条件不同的发酵批次,所得多糖的分子量和性能会有一些的差别<sup>[4]</sup>。

## 2.2 料液浓度的影响

在  $\Delta P$  为 0.05 MPa, 20℃ 下,分别对浓度为 2.5、5、10、20、30 g/L 的料液的超滤浓缩进行了研究。超滤开始运行稳定后,短时间内测定透过液的通量,分别比较了不同浓度下的透过液通量,如图2所示。

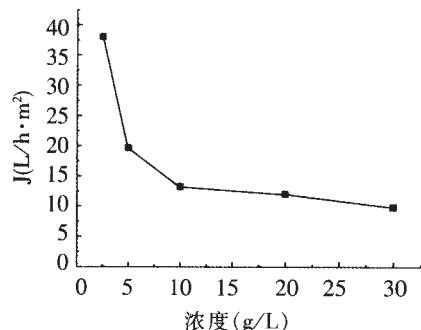


图2 浓度对膜透过通量的影响

从图2中可看出,膜的通量与料液的浓度相关,随多糖的浓度增高而下降。这是由于进料浓度越高,以膜为界面所产生的渗透压力越大,压力方向与透过推动力方向相反,因而会有较低的膜通量。PS-9415是假塑型流体,流体的粘度随剪切速率的增大而降低。研究报道,在超滤前让黄原胶在高温、高搅拌速率下处理一段时间,对超滤浓缩有明显的促进作用。此外,提高进料的速度和湍动程度,增加溶质的反扩散,降低溶质积累也可减轻浓差极化。定时的反向进料由于改变进口位置而降低多糖在进口区域的累积<sup>[6-9]</sup>。

## 2.3 操作压力的影响<sup>[7]</sup>

60℃, 2 g/L 的多糖溶液分别测定在 0.05、0.1、0.15、0.2、0.25 MPa 下超滤开始时的通量,结果如图3所示。

从图3中可看出,超滤压差增大可提高超滤的通量。然而压差增大同时也会加速膜的压实,使通量下降,并且能耗大,故操作压力差也不是越大越好。图4是60℃下,5 g/L 的多糖分别在 0.05 MPa 和 0.1 MPa 压差下超滤浓缩的。结果也表明,增大压差可

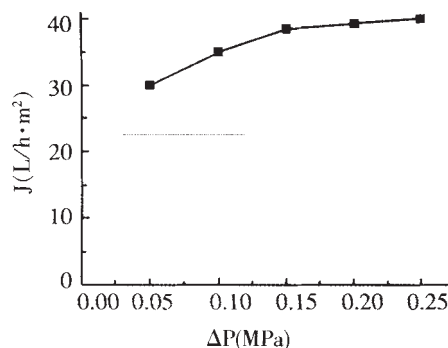


图3 压力差对通量的影响

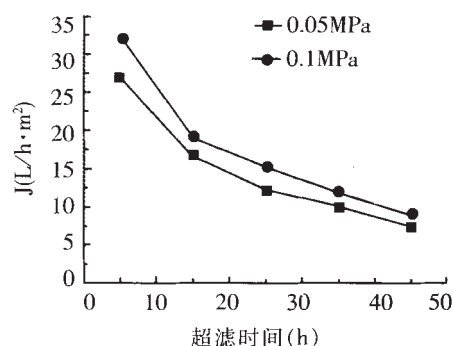


图4 压力差对超滤通量的影响

以提高膜的透过通量。此外,超滤膜组件越长,压力损失越大,故在超滤器放大时,必须考虑压力损失,长度不宜过长,进口压力需要调高一些,以保证出口处有一定压力。

## 2.4 操作温度的影响

压差为 0.05 MPa, 浓度 5 g/L, 不同的温度 (20、40、60℃) 下,研究温度对超滤通量的影响,结果如图5所示。从图中可看出,通量随料液温度的升高而增加。

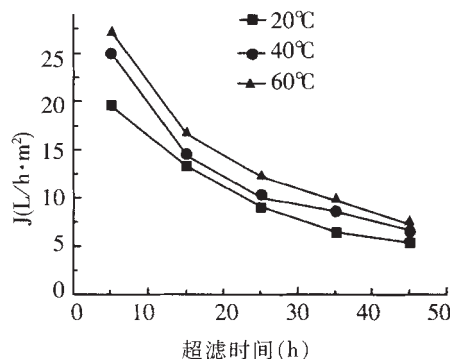


图5 温度对超滤通量的影响

温度升高,料液的粘度下降,有利于溶液组分的扩散和料液在膜组件中的流动,减缓浓差极化。但提高料液的温度也必须考虑能耗、膜组件的性能,并且应限制在不使产品变性的范围内。在黄原胶的产品回收中,有报道发酵液超滤处理的最适温度在 60~150℃。本实验使用的膜组件要求处理温度小于 65℃,因此研究中采用的最高温度为 60℃,从研究的

结果可看出,温度进一步的提高将更有利于浓缩。PS-9415 是热敏性多糖。<sup>[4]</sup>

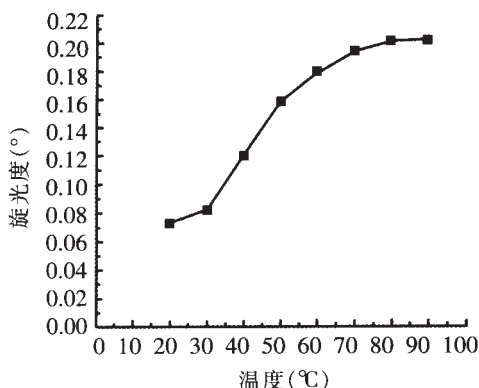


图6 0.1% PS-9415 旋光度-温度关系曲线

图6是0.1% PS-9415 旋光分析结果,PS-9415 的旋光度随温度升高而升高,在40~70℃范围有明显的转变过程,多糖分子发生了构象转变。PS-9415 多糖分子在常温下为有序的螺旋结构,随体系温度上升,螺旋结构被逐渐打开,多糖分子成为随机线团,在水相中呈无序态。0.5%的多糖90℃以上加热形成凝胶。

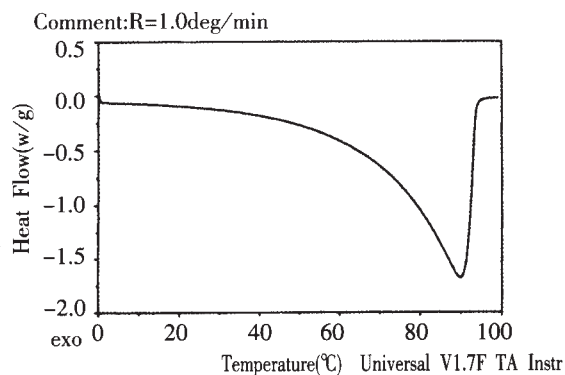


图7 PS-9415 的 DSC 分析结果<sup>[4]</sup>

图7是PS-9415 凝胶的 DSC 分析结果,PS-9415 凝胶的最大吸热峰温度  $\theta_p$  在90℃,起始吸热温度  $\theta_i$  在45℃左右。

## 2.5 料液预处理的影响

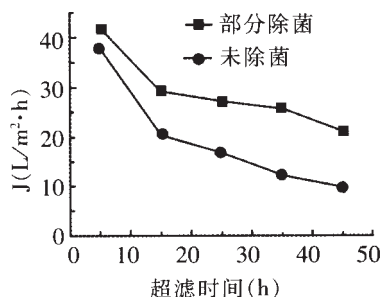


图8 PS-9415 发酵液去除菌体对超滤通量的影响

超滤浓缩的料液必须是均一的溶液,如果含有不溶性的组分,则会造成膜孔的堵塞,降低超滤浓缩

的效率。细菌菌体细胞直径在1~10μm 容易堵塞膜孔。研究显示,经过压力过滤的发酵液可浓缩至80~150g/L,比不除菌的情况提高1.18~2.21倍,粘度达10~20Pa·s。<sup>[13]</sup>将发酵液稀释到2~3g/L,粘度为0.4~0.5Pa·s时,离心可部分去除菌体,上清液的透光率比离心前增加了约30%左右,粘度差别不大。在60℃,0.05MPa下,比较2g/L部分除菌和未除菌的发酵液的超滤浓缩发现(图8),部分除菌的料液透过液通量大于不除菌的。未除菌的料液超滤过程中通量的衰减也明显快于对比料液。这表明,料液中的菌体造成了膜的污染,阻碍了分离的进行。发酵培养基如果使用了不溶性的培养基成分,超滤前的粗滤就显得更为重要。

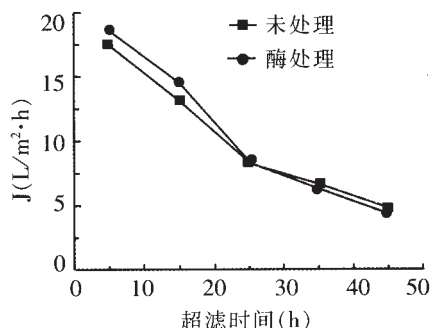


图9 发酵液的酶处理对超滤通量的影响

微生物胞外多糖发酵产品的纯化还可采用酶法或二次发酵法来去除残留的菌体。<sup>[10-14]</sup>图9比较了经过酶处理的发酵液与未处理的发酵液,在20℃,0.05MPa下超滤浓缩的情况。结果表明,对比的样品没有明显的差别。从图中可看出,在超滤初期处理的样品通量大于对比样品,但很快这种差别就不显著了,并且有小于对比样品的趋势。这可能是因为经过酶处理的样品,菌体细胞降解不完全,形成了更小的不溶性碎片堵塞膜孔,降低了膜通量。

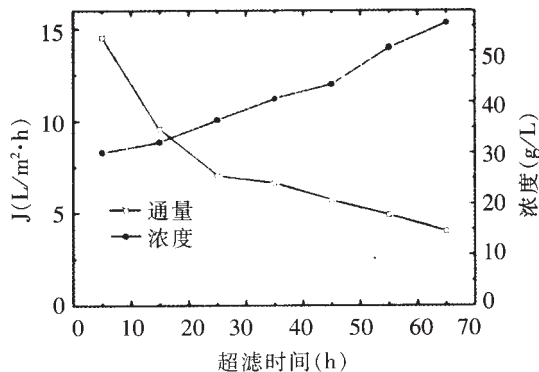


图10 超滤过程中浓度和通量的变化

图10是料液经过60℃高速搅拌,0.05MPa下,30g/L的发酵液3L在超滤过程中通量和浓度的变化情况。从图中可以看出,随着超滤的进行,膜的透过通量不断降低,同时透过液体积增大,料液得到浓

缩。

表 1 是 0.05MPa, 60℃, 高速搅拌下超滤浓缩多糖的结果。实验结果表明, 30g/L 的多糖溶液经过 65min 的超滤分离可浓缩至 58g/L。其中, 0.1MPa 下, 5g/L 的发酵液可使浓度提高至 29.5g/L, 比超滤前提高了 4.9 倍。

表 1 PS-9415 超滤浓缩的效果

|   | 样品量<br>(L) | 样品浓度<br>(g/L) | 超滤时间<br>(min) | 浓缩后浓度<br>(g/L) | 回收率<br>(%) |
|---|------------|---------------|---------------|----------------|------------|
| 1 | 3          | 5.6           | 40            | 12.03          | 90.2       |
| 2 | 3          | 5.0           | 41            | 29.5           | 89.0       |
| 3 | 2          | 10.0          | 28            | 30.8           | 85.5       |
| 3 | 3          | 30.0          | 65            | 58.0           | 82.7       |

### 3 结论

采用截留分子量为 50,000 的内压式中空纤维超滤器对 PS-9415 溶液进行了浓缩分离的研究表明, 对 3% 的料液 3L 超滤浓缩可得到浓度为 5.8% 的浓缩液, 多糖回收率为 82.7%。0.1MPa 下 0.5% 的料液可浓缩至 2.95%, 浓度提高了 4.9 倍。采用内压式中空纤维超滤器可以将发酵液适当地浓缩, 培养基中残余的蔗糖、少量氮源和无机离子其分子量均小于膜的截留量, 可在超滤过程中分离, 可应用于该多糖的进一步扩大生产。

### 参考文献

- 1 李景伟主编. 微生物多聚糖黄原胶的生产与应用. 北京: 中国

农业科技出版社, 1995

- 2 高孔荣, 黄惠华, 梁照为编著. 食品分离技术. 广州: 华南理工大学出版社
- 3 郑宗坤. 膜分离技术提取生物物质的研究. 华南理工大学学位论文, 1994
- 4 钟颜麟. 华南理工大学博士学位论文, 2000
- 5 Peng zhi-ying, zhang ning, Zhong Yan-Lin. Scut, 2002, 20(3): 78~83
- 6 肖凯军. 鲨鳍软骨粘多糖的提取和超滤分离及其特性研究. 华南理工大学工学博士学位论文, 1999
- 7 李雁. 电场强化淀粉酶解反应膜分离过程的研究. 华南理工大学学位论文, 1997
- 8 王景, 王晓昌, 石成. 膜的污染及其控制方法. 给水排水, 2000 (9): 78~81
- 9 王竞, 等. 超滤浓缩担子菌发酵液聚合物的研究. 大连理工大学学报, 1999, 30: 415~418
- 10 R. Triveni et al. Clarification of xanthan gum with extracellular enzymes secreted by *Trichoderma koningii*. Process Biochemistry, 1999, 34: 49~53
- 11 洪厚胜. 黄原胶发酵液纯化精制研究. 工业微生物, 2000, 30: 34~37
- 12 梁凤来. 黄原胶产品的回收. 工业微生物, 1988, 18(3): 30~33
- 13 Ho-Lun Lee. Concentrated xanthan gum solutions. US Patent 3, 299, 825, Nov. 10, 1981
- 14 John J. Cannon. European Patent Application. No. 0, 266, 163, 1988, 5~4

(上接第 23 页)

表 2 姜辣素的实时测定结果

| 反应时间<br>(min) | 溶出峰电流平均值 *<br>$i_p$ ( $\mu A$ ) | 姜辣素含量<br>(mol/L) |
|---------------|---------------------------------|------------------|
| 10            | 0.4462                          | 0.1253           |
| 20            | 1.132                           | 0.2993           |
| 30            | 1.676                           | 0.4374           |
| 40            | 2.154                           | 0.5588           |
| 50            | 2.682                           | 0.6927           |
| 60            | 3.028                           | 0.7806           |
| 80            | 3.349                           | 0.8620           |
| 100           | 3.746                           | 0.9627           |
| 120           | 3.760                           | 0.9663           |
| 150           | 3.454                           | 0.8886           |

\* 平行测定三次。

间受热发生了聚合反应, 形成不溶于乙醇的树脂型固体物。

该体系反应的最佳时间为 100~120min。在其它的反应体系中, 可根据实际监测结果确定最佳反应时间。

### 3 结论

由于该工艺所需设备简单, 对原料的预处理要求不高, 且操作简单, 反应体系的反应条件容易控

制, 能分别制得不同用途的姜精油和姜辣素系列物质, 对本地生姜的深加工有积极指导意义。伏安法测定姜辣素结果准确, 重复性好, 比传统的比色法和高效液相色谱法 (HPLC) 优点明显: 所测样品即为体系溶液, 无需预处理, 能进行生产过程中的实时动态监测, 测定条件易于控制, 测定结果重复性好。

实验证明, 来凤“凤头姜”作为一种经济作物, 质量优良, 姜精油和姜辣素含量高, 是进行生姜深加工的最佳原料之一。

### 参考文献

- 1 陈燕, 等. 生姜提取物-精油与油树脂的研究进展. 食品科学, 2000, 21(8)
- 2 J.W Purseglove, Spice Volume I
- 3 李素明, 等. 干姜和生姜药理研究进展. 中草药, 1997, 30(6): 471~473
- 4 黄雪松, 等. 姜辣素的测定方法. 中国调味品, 1996(8): 30~31
- 5 F. ANSON. 电化学和电分析化学. 北京大学出版社
- 6 陈燕, 等. 用改进的高效液相色谱法测定姜中姜辣素. 食品科学, 2001, 22(4): 60~63