

# 采用超滤法纯化 $\epsilon$ -聚赖氨酸

袁国栋, 贾士儒, 谭之磊, 赵颖, 丛茂林, 赵娟

(天津科技大学天津市工业微生物重点实验室, 天津 300457)

**摘要:** 采用超滤技术从  $\epsilon$ -聚赖氨酸 ( $\epsilon$ -PL) 粗品溶液中纯化  $\epsilon$ -PL, 研究了超滤过程中的操作压力、操作温度、超滤液的体积和料液初始浓度等因素对膜通量和粗品溶液中蛋白截留率及  $\epsilon$ -PL 透过率的影响; 并确立了采用聚砜膜去除  $\epsilon$ -PL 粗品溶液中蛋白工艺的最佳参数, 在此条件下, 蛋白去除率达到 86.2%,  $\epsilon$ -PL 透过率达到 86.7%。

**关键词:**  $\epsilon$ -PL; 超滤; 膜通量; 蛋白截留率;  $\epsilon$ -PL 透过率

中图分类号: TS201.1; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)03-0241-04

## Purification of $\epsilon$ -Polylysine by Ultrafiltration

YUAN Guo-dong, JIA Shi-ru, TAN Zhi-lei, ZHAO Ying, CONG Mao-lin, ZHAO Juan

(Tianjin University of Science & Technology, Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** The purification of  $\epsilon$ -polylysine ( $\epsilon$ -PL) by Ultrafiltration was studied. The processing conditions, including effects of operation pressure, temperature, volume and initial concentration of crude product solution, were optimized. Under the optimal conditions, the protein removal rate and the transmittance rate reached 86.2% and 86.7%, respectively.

**Key words:**  $\epsilon$ -PL; ultrafiltration; membrane flux; retention rate of proteins; transmittance rate of  $\epsilon$ -PL

$\epsilon$ -聚赖氨酸 ( $\epsilon$ -PL) 是一种由赖氨酸通过  $\epsilon$ -氨基和  $\alpha$ -羧基构成的酰胺键连接而成的同聚物<sup>[1]</sup>。其抑菌谱广, 对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、真菌和一些耐热芽孢杆菌均有抑制作用<sup>[2,3]</sup>。由于它是赖氨酸组成的同聚物, 生物可降解、热稳定性好, 安全性高, FDA 早在 2003 年批准进入美国市场, 并广泛应用于食品和农牧产品保藏等方面<sup>[4-6]</sup>。因此,  $\epsilon$ -PL 作为生物防腐剂具有独特的优点。

目前  $\epsilon$ -PL 生产工艺中主要采用 sephadex G-25 凝胶纯化  $\epsilon$ -PL 粗产品去除产品溶液中的杂蛋白<sup>[7]</sup>。该工艺过程分离精度有限, 处理量极小, 周期长, 不利于  $\epsilon$ -PL 的分离精制。与传统工艺相比, 超滤膜法具有无相变、能耗低、工艺设备简单、操作方便可靠及分离效果好等优点, 目前广泛应用于食品工业中<sup>[8-10]</sup>。文章在考察超滤过程中操作压力、温度、进样量和料液初始浓度等因素对超滤去除蛋白效果影响的基础上, 确立了该工艺的最佳操作条件。

## 1 材料与方

收稿日期: 2007-11-10

基金项目: 国家 863 项目 (2006AA102347)

作者简介: 袁国栋 (1981-), 男, 天津人。硕士研究生, 主要研究方向为生物活性产品的提取及精制

通讯作者: 贾士儒

### 1.1 实验材料

$\epsilon$ -PL 样品, 浙江银象生物工程有限公司提供。(原料样品的  $\epsilon$ -PL 含量为 40.32 g/L 并且其平均分子量约为 5 KDa, 蛋白质含量为 2.84 g/L)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 超滤方法

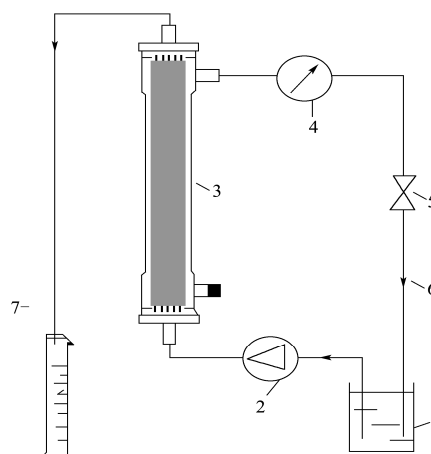


图 1 超滤装置示意图

Fig.1 Schematic diagram of the ultrafiltration unit

注: 1.粗品溶液; 2.蠕动泵; 3.超滤组件; 4.隔膜压力表; 5.调压阀; 6.流动方向; 7.透过液。

选用截留分子量 6000 Da 的 U 型外压式聚砜超滤膜 (型号: UEOS-503) 作为超滤材料, 工作方式为循环浓缩超滤, 即在超滤过程中, 浓缩液循环回到原料

液中，透过液作为目标溶液收集。工作示意图如图 1 所示，超滤膜主要性能见表 1。

表 1 实验用膜组件主要性能

Table 1 Main properties of membrane module

操作压力	操作温度	pH值	截流分子量	有效过滤面积
≤0.10 MPa	5~45 °C	2~13	6000	1.5 m <sup>2</sup>

1.2.2 测定方法

ε-PL 含量测定采用甲基橙比色法<sup>[11]</sup>；蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法<sup>[12]</sup>。

(1) 膜通量的测定

膜通量 ( $J$ ) 为一定操作压力下，通过超滤膜的透过液为一定体积 ( $V$ ) 时所需要的时间 ( $t$ )，用单位时间内通过面积 ( $S$ ) 的透过液量表示：

$$J = V / (S \times t) \quad \text{式 (1)}$$

式中， $J$  - 膜通量，L/(m<sup>2</sup>·h)； $V$  - 透过液体积，L； $S$  - 膜的有效面积，m<sup>2</sup>； $t$  - 超滤时间，h。

(2) 蛋白截留率的测定

截留率 ( $R$ ) 指溶液经超滤处理后，被膜截留的溶质量占溶液中该溶质总量的百分率。

$$R = (1 - C_1 / C_0) \times 100\% \quad \text{式 (2)}$$

式中， $C_0$  - 原溶液中溶质的量； $C_1$  - 超滤液中溶质的量

(3) ε-PL 透过率测定

透过率 ( $T$ ) 指溶液经超滤处理后，透过膜的溶质量占溶液中该溶质总量的百分率。

$$T = C_2 / C_0 \times 100\% \quad \text{式 (3)}$$

式中， $C_0$  - 原溶液中溶质的量； $C_2$  - 超滤液中溶质的量。

2 结果与讨论

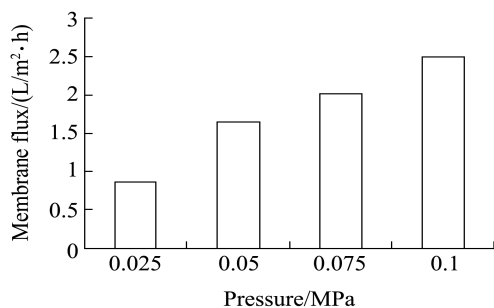


图 2 操作压力对膜通量的影响

Fig.2 Effect of pressure on UF membranes flux

固定超滤温度为 25 °C，进样量 500 mL，不改变粗品溶液的初始浓度，只改变操作压力，从而确定压力对膜通量和粗品溶液中杂蛋白的截留率及 ε-PL 透过率的变化关系，如图 2、图 3 所示。

超滤实验中膜通量的大小与压力的大小成正比关系，随着操作压力的增加，膜通量也随之增加。然而，

压力增大的同时也会加速滤膜的浓差极化现象提早出现，并且能耗较大。实验中还发现随着压力的增加，系统压力的变化幅度也随着增加，使系统的稳定性降低，影响膜的使用寿命。粗品溶液中杂蛋白的截留率和 ε-PL 的透过率因压力的增大呈下降趋势。因此，在确定超滤条件时，考虑到 ε-PL 的纯化及收率，应使操作压力在膜的合理工作范围 (≤0.1 MPa) 内尽可能小一些，选择操作压力的最佳条件为 0.025 MPa。

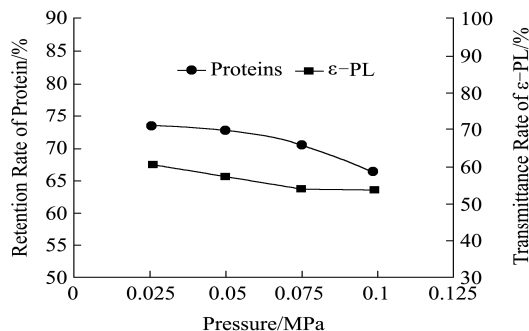


图 3 操作压力对蛋白截留率和 ε-PL 透过率的影响

Fig.3 Effect of pressure on retention rate of proteins and transmittance rate of ε-PL

固定操作压力 0.025 MPa，进样量 500 mL，不改变粗品溶液的初始浓度，仅改变操作温度，来考察温度的变化对超滤效果的影响，如图 4、图 5 所示。

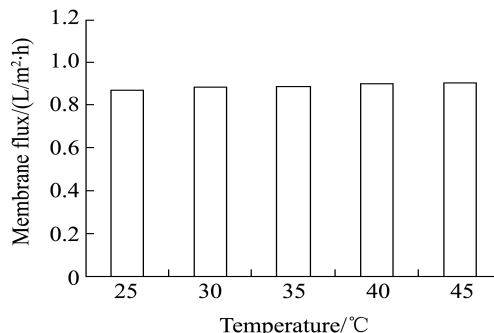


图 4 温度对膜通量的影响

Fig.4 Effect of temperature on UF membranes flux

膜通量随着操作温度的升高而变化不大，这主要是由于超滤溶液温度的升高，并没有显著影响粗品溶液的粘度，导致超滤速率变化不大；随着温度的升高，超滤膜对蛋白的截留率逐渐下降，而 ε-PL 的透过率随温度的升高而有所提高，但幅度不大。这可能因为随着操作温度的提高，膜的结构发生了轻微的改变，膜的通透性随之改变。因此，操作时必须注意膜的有效工作范围；当膜工作温度处于 5~45 °C 范围内时，温度对 ε-PL 的透过率没有显著影响，但蛋白的截留率随着温度的升高而降低。综合考虑，选定超滤时操作温度为 25~30 °C 比较适宜。

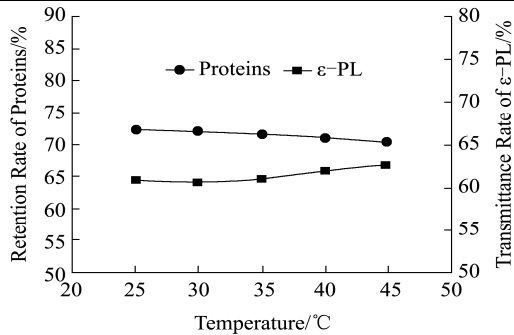


图5 温度对蛋白截留率和 ε-PL 透过率的影响

Fig.5 Effect of temperature on retention rate of proteins and transmittance rate of ε-PL

固定操作压力 0.025 MPa, 温度 25 °C, 不改变粗品溶液的初始浓度, 依据超滤设备的有效料液体积, 选择料液体积范围 0~1500 mL。得出进样量和超滤效率的关系, 如图 6、图 7 所示。

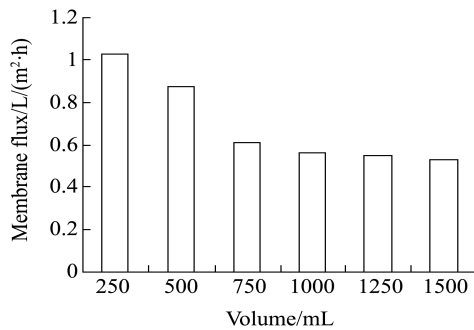


图6 进样量对膜通量的影响

Fig.6 Effect of volume on UF membranes flux

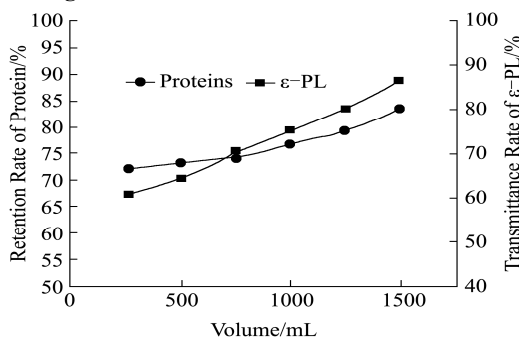


图7 进样量对蛋白截留率和 ε-PL 透过率的影响

Fig.7 Effect of volume on retention rate of proteins and transmittance rate of ε-PL

在膜的有效工作范围内, 随进样量的增加膜通量逐渐下降。当进样量增加 6 倍时, 膜通量下降为最初时的 1/2 (见图 6); ε-PL 的透过率随着进样量的增加而逐渐提高, 与此同时, 蛋白的截留率总体呈现缓慢上升的趋势。这主要由于进样量较低时, 超滤膜表面的浓差极化现象未形成, 对大分子蛋白的截留效果不显著, 而随着进样量的增加, 料液中的蛋白杂质截留较充分; 随着进样量的加大, 料液流速逐渐增加, 杂

蛋白截留效果总体呈上升趋势, 料液处理量为 1500 mL 时蛋白截留率增加较显著; 此时蛋白截留率为 83.4%, ε-PL 的透过率达到最高点 86.7% (见图 7), 因此选择进样量为 1500 mL 为宜。

固定操作压力 0.025 MPa, 进样量 1500 mL, 操作温度 25 °C, 将发酵液进行不同倍数稀释来改变超滤样的初始浓度, 考察不同料液浓度对超滤效果的影响, 结果如图 8、图 9 所示。

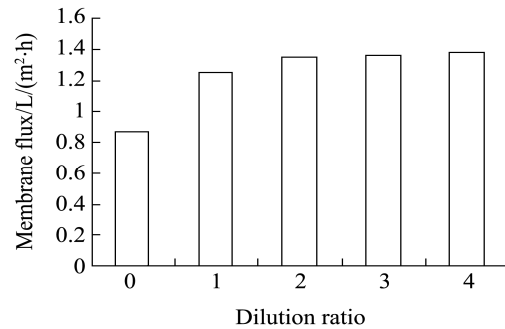


图8 料液浓度对膜通量的影响

Fig.8 Effect of concentration on UF membranes flux

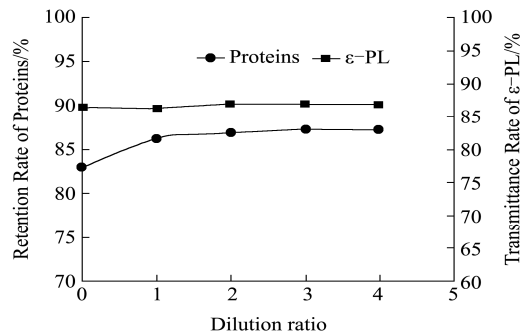


图9 料液浓度对蛋白截留率和 ε-PL 透过率的影响

Fig.9 Effect of concentration on retention rate of proteins and transmittance rate of ε-PL

将发酵液稀释一倍时, 膜通量由 0.87 L/(m²·h<sup>-1</sup>) 提高到 1.25 L/(m²·h<sup>-1</sup>), 蛋白的截留率由初始的 82.9% 提高到 86.2%。继续对发酵液进行稀释时, 膜的截留效果和膜通量受初始浓度大小的影响很小。而超滤液的初始浓度对 ε-PL 的透过影响程度不大, 透过率始终保持在 86.7% 左右。考虑到超滤周期及能耗, 选择稀释 1 倍为宜。

### 3 结论

采用截留分子量 6000 Da 聚砜超滤膜能够快速有效的对 ε-PL 粗品进行纯化。最佳操作条件为: 操作压力 0.025 MPa, 操作温度 25 °C, 进样量控制在 1500 mL, 将发酵液浓度稀释至一倍左右。在此条件下, 蛋白去除率达到 86.2%, ε-PL 透过率达到 86.7%。

(下转第 275 页)