

酶解反应与超滤膜分离一体化的必要条件(二)^{*}

李 雁 郭祀远 李 琳 蔡妙颜
(华南理工大学轻化工研究所, 广州 510641)

摘要 以 α -淀粉酶水解淀粉反应与超滤膜分离一体化为研究体系, 进行了超滤膜的分离特性实验及其膜通量衰减程度的测试, 从中选出透过通量高、截留率高、不易污染、易于清洗且满足该酶膜反应要求的超滤膜, 如 PS/PDC, 6000; PS/PES, 6000; PES, 10000 和 PS, 20000 等。研究表明, 只有通过选膜实验, 方能找到符合分离要求的膜, 这是除所用的酶必须有一定的酶活力和稳定性外, 酶解反应与膜分离一体化得以实现的另一个必要条件。

关键词 酶膜反应器; 酶解; 超滤; α -淀粉酶; 膜透过通量; 截留率

中图分类号 TS231

0 前言

将酶解反应与超滤膜分离结合在一起的酶膜反应器, 是通过超滤膜“筛分”作用, 将大分子的底物(反应物)和酶催化剂截留住, 而让小分子的产物通过。因此, 酶催化剂可以反复作用于底物, 只需不断补充新的底物, 就可以不断有产物通过膜被分离出来。即减少了运行成本, 又可以避免产物对反应的抑制作用。然而, 要使该过程连续不断地进行, 应该满足以下条件: (1) 被超滤膜截留住的酶催化剂必须在相当长的时间内保持其催化活力; (2) 起分离作用的超滤膜必须将大分子的反应物和酶催化剂截留住, 而只允许小分子的产物通过, 并且膜易于清洗、不易污染。

由此可知, 任何一个酶解反应能否与膜分离结合, 首先要通过研究, 找出酶活保持稳定的反应条件——主要是 pH 值和温度^[1], 其次是找出符合酶膜反应分离要求的超滤膜。通过以上两方面的研究即可初步判断能否实现酶解反应与膜分离的一体化。前文^[2]已讨论了酶的活性及其稳定性的问题, 本文主要针对后者, 开展研究, 仍以 α -淀粉酶水解淀粉与超滤膜的结合为例。

收稿日期 1997-08-24

李 雁: 女, 34 岁, 博士

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

* 国家教委博士学科点专项科研基金资助项目

1 原理分析

1.1 酶水解反应的机理



在一定条件下,可溶性淀粉[S]受到 α -淀粉酶[E]的催化作用,进行催化反应。首先生成酶与底物的络合物[ES],酶再进一步催化底物生成产物还原糖P。同时酶被释放出来。

1.2 超滤膜分离的机理

超滤膜分离是膜分离过程的一种,由于超滤膜的表面具有无数微孔,这些实际存在的不同孔径的孔眼像筛子一样,对溶液中的物质起筛分作用。在推动力(一定的压力差0.1~0.5 MPa)的作用下,小于孔径的小分子溶质和溶剂能透过膜上的微孔被滤出;而大于孔径的大粒度溶质和颗粒则被截留住,从而实现溶液中不同粒度之分子的分离或提纯。

膜的孔径大小和膜表面的化学特性起着不同的截留作用,决定了膜的分离性能。通过选择不同孔径、材料的超滤膜,可以截留住小到分子量为500的分子,大到直径为0.2 μm 的胶粒。

1.3 商品膜的不均匀性

关于膜的性能,商家和厂家一般只向用户提供:纯水透过通量和截留分子量。根据这些数据实际上不可能预测一种膜的实际分离效能,也就不可能选出完全符合用户要求的膜,原因如下:

(1) 超滤膜的孔结构是非对称性的、不均匀的,且有支撑层,对透水造成阻力的是表层和支撑层,以透水通量计算出的孔径可能是表层孔径与支撑层孔径的平均值,反映不出膜的截留特性,仅反映出膜的阻力大小以及膜的材料和水之间的亲和作用。

(2) 正由于超滤膜表层的孔不规则和不均一,很难准确确定孔径,通常用它能截留的物质的分子量来定义超滤膜孔的大小,一般定义能截留90%物质的分子量为膜的截留分子量。所用的标定物质为各种球形的不同分子量的物质,如葡萄糖($M = 180$)、蔗糖($M = 342$)、棉子糖($M = 594$)、杆菌肽($M = 1400$)、细胞色素($M = 13000$)、肌红蛋白($M = 17800$)、胃蛋白酶($M = 35000$)、血清白蛋白($M = 65000$)、 γ -球蛋白($M = 156000$)。

由此可见,商家和厂家提供的超过滤膜的截留分子量是用球形分子作标准测试而得,忽略了各种溶质分子形状、可变形性、溶质-膜相互作用的差异。另外,国内外各实验室和公司膜分离特性的测试方法和采用的仪器不同,所得的数据很不一致,彼此较难比较,因此,商家和厂方所提供的膜之纯水透水通量和截留分子量只能作为初步选膜的依据。对于各种具体的应用对象,要选择最可靠且适用的膜,就必须实际测定膜的透过通量、截留率,以及膜通量的衰减程度。

1.4 膜的选择

由于超滤过程中存在膜与溶质、溶剂之间的相互作用,膜材质不同,会表现出不同的分离特性,膜材料的化学结构、亲水或亲油性、荷电性、极性或非极性、表面能等的差异都会影响膜的分离特性,并且这些作用极为复杂,对不同的分离物有不同的作用。倘若膜材料对被分离的物系有强烈的吸附作用的话,更易被污染和堵孔。而且膜污染的机理较为复杂,难以预料,只有通过选膜实验,测出通量的衰减程度,才能找出合适的膜供使用。

其次,膜孔径的大小直接影响膜的分离效果,同时对膜的污染和清洗也有很大影响。而商家、厂客所提供的膜纯水通量和截留分子量是对标准物系而言,对具体分离物系,只有通过膜分离特性实验,才可选出具有较大透液通量、较为理想截留效果的超滤膜。

对于 α -淀粉酶水解淀粉反应和超滤膜分离一体化过程,选择超滤膜的目的,就是找出能截住反应物淀粉、催化剂 α -淀粉酶,而让产物还原糖通过并分离出去的超滤膜,而且该膜还要易于清洗、不易被污染。

一般选膜的步骤如下:(1) 分析、确定被分离物系的分子量构成,对酶膜反应分离,还需确定反应的条件——pH 值和温度;(2) 根据被截留物的分子量、反应系统的 pH 值和温度,初步确定超滤膜的截留分子量范围和膜的材料;(3) 通过实验,测定以上各种膜的分离特性和比较膜通量的衰减程度,从中选出符合要求的膜。

对于本研究体系,反应的最佳 pH 值为 5.5 左右,温度为 50~60 $^{\circ}\text{C}$,反应物淀粉的分子量在 160 000~700 000 之间,酶催化剂 α -淀粉酶的分子量一般为 50 000,而产物还原糖的分子量为 180~342,由于淀粉的分子量远远大于 α -淀粉酶的分子量,能截留住 α -淀粉酶的超滤膜定能截留住淀粉,故可先选定截留分子量小于 50 000,且能耐温 50~60 $^{\circ}\text{C}$ 并适于 pH5.5 左右环境的超滤膜,再通过以下选膜实验,找出较为适宜的膜。

2 材料与方法

2.1 试剂

α -淀粉酶液(深圳协力生化有限公司),葡萄糖(北京化学试剂厂),其它见前文^[2]。

2.2 超滤膜

聚丙烯腈膜(PAM),截留分子量 10 000,30 000;聚砜膜(PS),截留分子量 20 000;聚醚砜膜(PES),截留分子量 3 000,10 000;聚砜、聚芳醚砜共混膜(PS/PDC),截留分子量 6 000;聚砜、聚醚砜共混膜(PS/PES),截留分子量 6 000。以上膜除了 PS,20 000 构自杭州水处理中心外,全部购自北京中科院膜技术开发中心。

2.3 设备与仪器

搅拌式超滤杯(450 mL,北京中科膜技术开发中心),磁力搅拌器(上海南汇电讯器材厂),氮气瓶(广州),其余见前文^[2]。

2.4 测定 α -淀粉酶活力的方法

参照 Bernfeld 方法^[3],其余见前文^[2]。

2.5 测定还原糖的方法

3,5-二硝基水杨酸比色法^[4]。在氢氧化钠和丙三醇存在下,还原糖能与 3,5-DNS 反应,生成桔红色的氨基化合物,其在 540 nm 波长处的吸光度与还原糖含量有线性关系。用葡萄糖标准溶液作标准曲线,即可以此为依据,由被测液在 540 nm 时的吸光度求出其还原糖含量。

2.6 膜的分离特性测定方法

膜的分离特性是指膜的透过通量(包括纯水透过通量和溶液透过通量)和截留性能。

2.6.1 透过通量的测定^[5]

测定不同操作压力下,纯水或溶液通过某一超滤膜的透过液为一定体积 $V(\text{mL})$ 时,所需

的时间 t (s), 则可由下式计算出膜在该压力下的透过通量 F ($\text{mL}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$),

$$F = 3\,600 V / S \cdot t$$

式中 S —— 有效膜面积, cm^2 。

2.6.2 截留性能的测定^[5,6]

不同操作压力下, 溶液透过某一超滤膜透过液的体积为一定值时, 分别测定截留液和透过液以及过滤前溶液的浓度(或活性), 则可由下式计算出膜在该压力下的截留率 R ,

$$R/\% = \left[1 - \frac{\text{透过液浓度或活性}}{(\text{滤前溶液浓度或活性} + \text{截留液浓度或活性})/2} \right] \times 100$$

2.7 膜通量衰减程度的测定^[7]

分别测定溶液膜处理前、后的纯水透过通量 J_0 、 J_t , 则可由下式计算出通量衰减率:

$$\text{通量衰减比率}/\% =$$

$$\left[\frac{(J_0 - J_t)}{J_0} \right] \times 100$$

2.8 膜清洗效果的测定^[8]

分别测定溶液膜处理前、后及清洗后的纯水透过通量 J_0 、 J_t 及 J_0' , 则可由下式计算出膜的通量恢复率,

$$\text{恢复率}/\% = J_0 / J_0'$$

$$\times 100$$

3 结果与讨论

3.1 不同膜材料分离特性的比较

图 1(a)、(b) 为不同膜的纯水透过通量随压力差的变化中。该图的结果表明, 纯水超滤情况下, 所有膜的透过通量均与压力差成正比, 并因膜材质、截留分子量不同而异。对于不同截留分子量但同种材质的超滤膜而言, 在同一压力差作用下, 超滤膜的截留分子量越大, 其

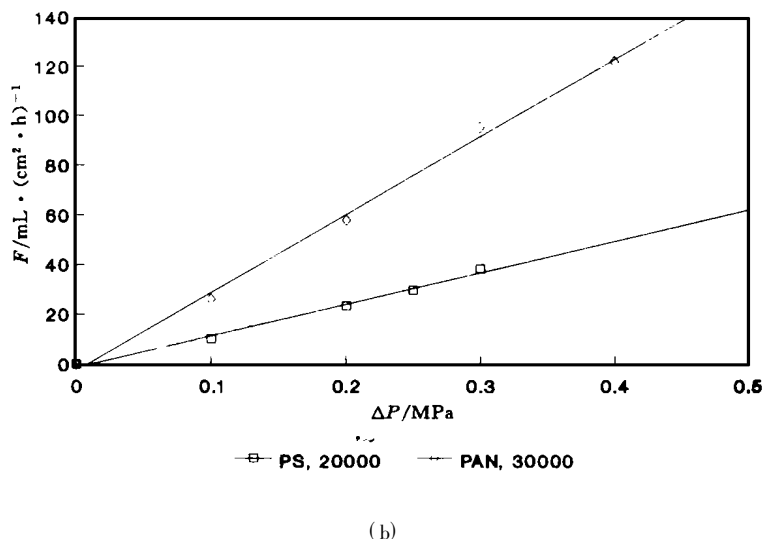
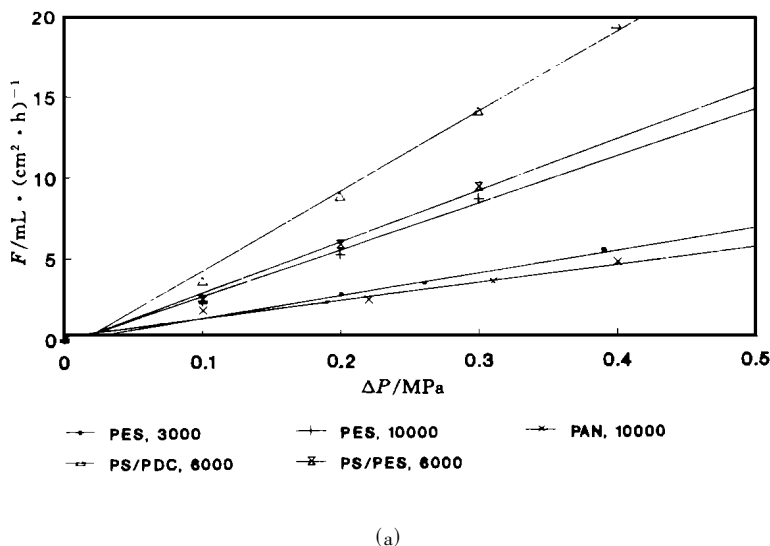


图 1 不同膜的纯水透过通量随压力差的变化

不同截留分子量但同种材质的超滤膜而言, 在同一压力差作用下, 超滤膜的截留分子量越大, 其

纯水透过通量越大,这就明截留分子量越大,膜的孔径越大,水透过膜时受到的阻力越小,故而水透过通量越大。但对于不同的膜材质,即使截留分子量相同,其纯水透过通量也大不相同,这主要是膜和水的亲和作用不同所致。

图 2 和图 3 分别为不同膜对 1% 葡萄糖溶液和 2 mL/L 稀酶液的超滤情况。

从图 2 可以看出,各种膜的葡萄糖液的透过通量曲线与纯水透过通量曲线类似,溶液透过通量与压力差几乎成正比关系,这主要是因为葡萄糖的浓度很低,因而,膜和水之间的亲和作用起主要作用。各种膜的透过通量的大小顺序为: PAN, 30 000 > PS, 20 000 > PS/PDC, 6 000 > PS/PES, 6 000 > PES, 10 000 > PES, 3 000 > PAN, 10 000。与纯水透过通量的大小顺序相同,但相对应的通量有所下降。

由图 3 可知稀酶液的超滤情况,各种膜的透过通量仍随压力差的增大而增大,但与相同条件下的纯水透过通量相比,明显下降,下降的程度因膜材质不同而大不相同,这主要是由于膜污染所致。相同压差下通量的大小顺序为: PAN, 30 000 > PS/PDC, 6 000 > PS, 20 000 > PS/PES, 6 000 > PES, 10 000 > PES, 3 000 > PAN, 10 000。超滤膜 PES, 3 000 与 PAN, 10 000 的透过通量太低,不适合酶膜反应分离。

由以上结果分析可知,超滤膜的截留分子量,其对溶液的透过量并不一定就大,截留分子量为 6 000 的 PS/PDC 膜对酶液的透过通量大于截留分子量为 20 000 的 PS 膜,还大于截留分子量为 10 000 的 PES 膜和 PAN 膜,这主要是不同材质的膜,膜与溶质、溶剂之间的相互作用大不相同。这说明选膜实验的重要性,只有通过实验,才能找到透过通量较大的膜。

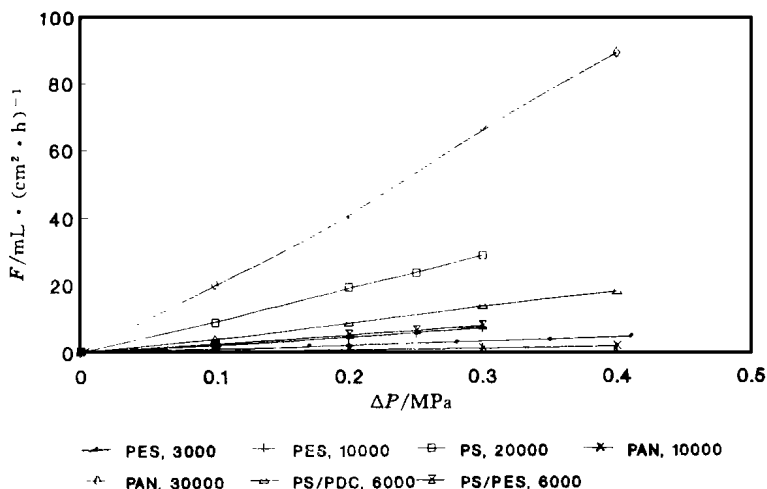


图 2 葡萄糖液透过各种超滤膜的通量

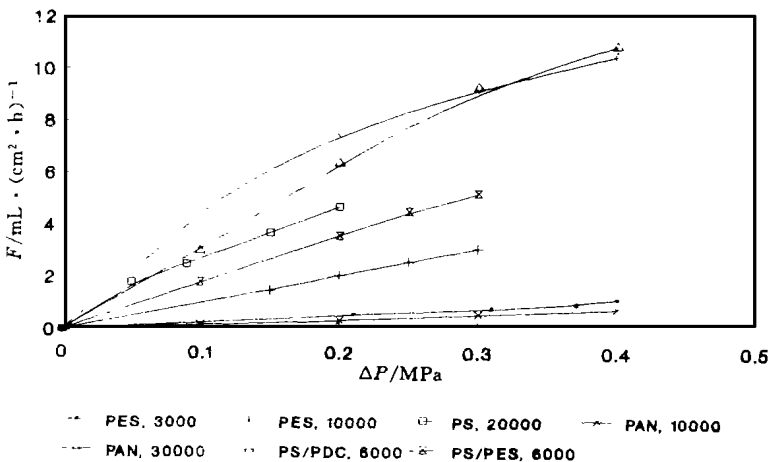


图 3 酶液透过各种超滤膜的通量

图 4 为不同压力差下,各种膜对葡萄糖的截留率。结果表明,截留率均小于 5%,且无规律可循,可以认为本研究中所有膜均对葡萄糖无截留作用,之所以会有小于 5%的截留率,可能是由以下两个原因造成:一是测量误差,二是膜吸附了葡萄糖分子。

图 5 为不同压力差下,各种膜对 α -淀粉酶的截留率。结果表明,PES,3 000、PES,10 000、PAN,10 000 对酶的截留率大于 90%;PS/PES,6 000、PS/PDC,6 000、PS,20 000 等膜,当压力差小于 0.15 MPa,对酶的截留率可达 90%,但压力增大到 0.3 MPa 时,截留率只有 80%左右;PAN,30 000 膜对酶的截留率小于 60%,明显达不到分离要求。

3.2 各种膜的透水通量衰减比率

分别测定各种膜处理 5 批葡萄糖液前、后的纯水透过通量,结果见表 1。处理 5 批酶液前、后各种膜的纯水透过通量的变化情况见表 2。

表 1 葡萄糖液超滤前后的纯水透过通量变化比较

超滤膜	J_0	J_t	通量衰减比率/%
PES,3 000	4.2	3.6	14
PES,10 000	8.0	7.7	4
PS,20 000	38.2	28.9	24
PAN,10 000	3.5	2.5	29
PAN,30 000	95.0	66.8	30
PS/PDC,6 000	13.6	13.3	2
PS/PES,6 000	9.3	8.6	8

表 2 酶液超滤前后的纯水透过通量变化比较

超滤膜	J_0	J_t	通量衰减比率/%
PES,3 000	2.9	1.5	48
PES,10 000	5.9	3.4	42
PS,20 000	26.1	10.5	60
PAN,10 000	2.1	1.2	43
PAN,30 000	57.6	24.1	58
PS/PDC,6 000	12.2	10.1	17
PS/PES,6 000	7.5	5.6	25

从表 1 和表 2 各种膜的通量衰减比率可看出,膜污染与膜材质有很大的关系,这主要是由

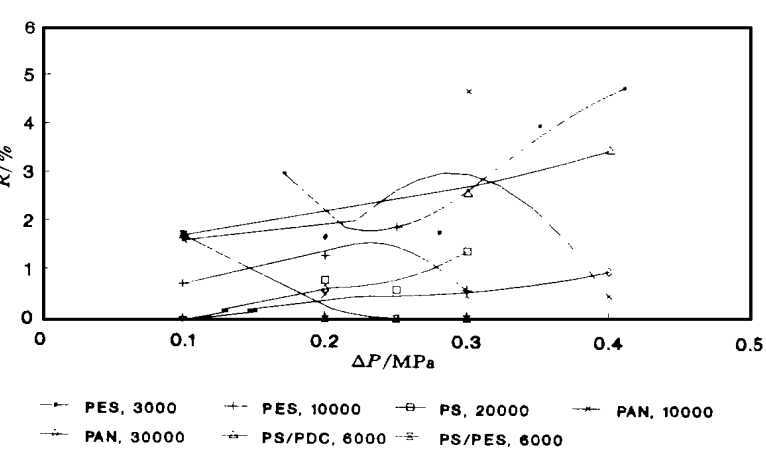


图 4 各种超滤膜对葡萄糖液的截留

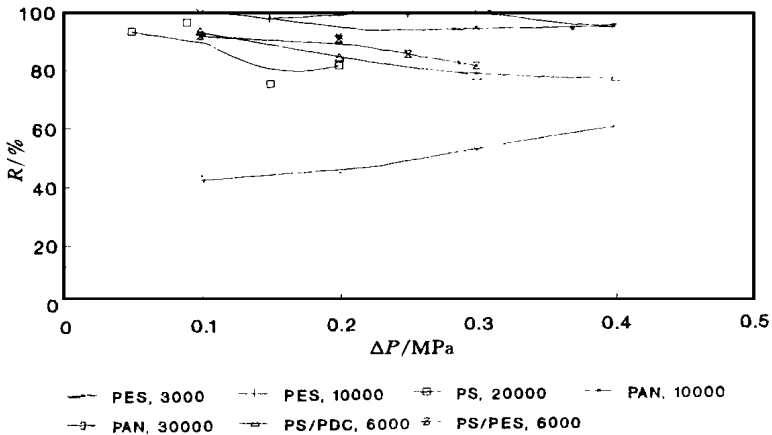


图 5 各种超滤膜对酶液的截留

膜与超滤物料之间的相互作用造成,而对于同种材质的超滤膜,截留分子量越小,则膜污染越厉害。

本研究系统中最易受到污染的超滤膜是 PAN 膜,抗污染能力最好的是共混膜 PS/ PDC 与 PS/ PES。

3.3 膜的清洗

用白猫加酶洗衣粉(上海白猫有限公司)浸泡膜 3、4 h 后,用清水冲净,并测膜的纯水透过通量见表 3。

表 3 膜超滤后用 加酶洗衣粉清洗的效果

超滤膜	纯水透过通量/ $\text{mL} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$			恢复率/ %
	用前	清洗前	清洗后	
PES, 3 000	4. 2	1. 5	3. 1	74
PES, 10 000	8. 0	3. 4	6. 5	81
PS, 20 000	38. 2	10. 5	31. 3	82
PS/ PDC, 6 000	13. 6	10. 1	11. 4	84
PS/ PES, 6 000	9. 3	5. 6	8. 2	88

由以上结果可以看出,加酶洗衣粉对提高膜的通量是有效的,这也说明表 3 几种膜易于清洗。

4 结 论

(1) 商家和厂方所提供的膜分离性能数据(纯水透过通量和截留分子量),只能作选膜的参考,要选出符合要求的膜,必须通过选膜实验研究确定。

(2) 酶反应和膜分离一体化的另一必要条件是找到具有较好分离特性(透过通量、截留率高)、不易受污染、易于清洗(通量衰减率低、清洗恢复率高)的超滤膜。

(3) 本实验表明,PS/ PDC, 6 000; PS/ PES, 6 000; PES, 10 000 和 PS, 20 000 等超滤膜符合 α -淀粉酶水解淀粉反应与超滤膜分离一体化的要求

参 考 文 献

1 张力田. 淀粉糖. 北京: 轻工业出版社, 1981. 121 ~130

2 李雁, 郭祀远, 李琳. 酶解反应与超滤膜分离一体化的必要条件(一). 郑州粮食学院学报, 1997(3): 13 ~17

3 [德]B·施特尔夫马赫. 酶的测定方法. 北京: 轻工业出版社, 1992

4 大连轻工业学院, 华南理工大学等. 食品分析. 北京: 轻工业出版社, 1995

5 朱彬华. 超滤法浓缩 α -淀粉酶的研究. 膜科学与技术, 1988, 8(3): 15 ~20

6 朱彬华. 如何计算截留率. 水处理技术, 1991, 17(3): 152

7 吴惠珍. 阴离子表面活性剂对降低超滤膜污染的影响. 水处理技术, 1994, 20(2): 85 ~88

8 赵力军. 胰、糜蛋白酶的超滤探索. 水处理技术, 1994, 20(1): 10 ~15

(下转第 56 页)

- 5 李倦生. 小麦粉中 ICP—多元素同时测定. 分析测试通报, 1990, 24(3): 163 ~164
- 6 林添明, 叶晓云, 谢国勋等. 电感耦合等离子体发射光谱粉末进样法测定粮食及菜叶中微量元素的研究. 分析化学, 1991, 19(10): 1137 ~1146

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF SIX KINDS OF TRACE ELEMENTS IN GRAIN

Ji Cuirong¹ Bai Li² Li Jianjun¹

(Chemistry Department¹, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052;
The Academy of Sciences of Henan Province², Zhengzhou 450003)

Abstract Six kinds of trace elements in grain were determined simultaneously by means of inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy method. The experimental results showed that the recovered rate of six kinds of elements including calcium, magnesium, iron, zinc, copper and manganese is at the range of 96% ~109.2%, and the relative standard error of the experiment was 1.7% ~5.1%. The method is applied to the simultaneous determination of six kinds of trace elements in wheat, green gram, maize and barley.

Key Words trace element; grain; inductively coupled plasma

(上接第 36 页)

PREREQUISITE FOR INTEGRATION OF ENZYMOLYSIS AND MEMBRANE SEPARATION()

Li Yan Guo Siyuan Li Lin Cai Miaoyan

(Light Industry and Chemical Engineering Research Institute,
South China University of Technology, Guangzhou 510641)

Abstract Based on the prerequisite for integration of starch hydrolysis by α -amylase and ultrafiltration separation, some experiments about separation efficiency of various ultrafiltration membranes were done, from which high permeate flux, high rejection effect, not easy fouling and easy washing membranes such as PS/PDC, 6 000; PS/PES, 6 000; PES, 10 000 and PS, 20 000 were selected. It is found that experimental selection of membrane is necessary for obtaining a suitable ultrafiltration membrane, which is another prerequisite for integration of enzymolysis and membrane separation else than enzyme having certain activity and stability.

Key Words enzyme membrane reactor; enzymolysis; ultrafiltration; α -amylase; membrane permeate flux; retentivity