

磁聚复配物对 *L*-乳酸发酵液的预处理研究*

李文, 柳丹, 杨英歌, 王冬梅, 樊永红, 姚建铭, 郑之明, 余增亮

(中国科学院等离子体物理研究所离子束生物工程学重点实验室, 安徽合肥, 230031)

摘要 对用磁聚复配物预处理 *L*-乳酸发酵液进行了研究, 讨论了 pH 值、复配物用量、搅拌速度与时间、温度、磁场强度对絮凝效果的影响。实验结果显示, 在 pH 5~6, 40 mg/L 壳聚糖与 100 mg/L Fe_3O_4 复配, 200r/min 下搅拌 5 min, 35~55℃, 外加磁场(0.5T)作用 1 min 的情况下, 发酵液的絮凝率达到了 98.5%, 表明磁聚复配物对 *L*-乳酸发酵液中的蛋白质具有优良的絮凝能力, 且更大的优势在于显著提高了固液分离的速度。

关键词 *L*-乳酸, 发酵液, 壳聚糖, 磁, 复配, 絮凝

乳酸是一种多用途的精细化学品, 可广泛用于食品、制药、制革、纺织、环保和农业中。其产品主要表现为酸味剂、调味剂、防腐剂、鞣制剂、植物生长调节剂、生物可降解材料和手性药物等^[1]。乳酸有 *L*-、*D*-、*DL*- 三种旋光异构体, 由于人体只能代谢 *L*-乳酸, 于是 *L*-乳酸的研究和开发引起了人们广泛的兴趣^[2]。*L*-乳酸可由乳酸细菌或根霉(如米根霉)发酵法生产, 发酵液中除含 *L*-乳酸钙外, 还含有菌体碎片、蛋白质、色素、残糖等杂质^[3]。这些杂质以微粒的形式存在, 影响了 *L*-乳酸钙的提取率, 同时也为后续工序增加了困难。因此, 必须通过预处理除去这些杂质。

传统过滤法, 效率低、劳动强度大, 有时甚至出现过滤分离形成的粘胶状滤饼堵塞滤布, 使过滤操作无法顺利进行; 高速离心法固然可以得到澄清的上清液, 但并不能除去可溶性杂质, 且大大增加设备投资和操作费用, 导致生产成本过高^[4]; 絮凝技术由于具有促使固形颗粒结合成团, 容易沉降、过滤、离心、提高固液分离速度和液体澄清度等一系列特点而成为研究的热点^[5]。目前, 人们已经在很多微生物体系中研究了絮凝现象, 如用絮凝法处理甘油发酵液、絮凝分离酒精酵母、谷氨酸发酵液、十五碳二元酸发酵液、抗生素发酵液、*L*-异亮氨酸中的菌体^[6]。曾有专利报道以镁盐对乳酸发酵液预处理, 达到了絮凝的效果^[7]; 淮海工学院以壳聚糖为絮凝剂对乳酸发酵液进行预处理, 絮凝率达到 80% 以上^[8]。然而, 目前采用的絮凝剂对发酵液的絮凝率仍不够理想, 且固液分离的速度远未达到令人满意的效果, 这直接影响了 *L*-

乳酸的生产效率和经济效益。

文中采用一种新型磁聚复配物——高分子材料(壳聚糖)与磁性材料(Fe_3O_4)复配对 *L*-乳酸发酵液进行絮凝预处理, 使发酵液的絮凝率得到显著改善, 且大大加快了固液分离的速度, 为中试及以后的工业化放大生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

L-乳酸发酵液: 实验室自制, 菌种为离子束注入改良后的米根霉; 壳聚糖: 大连鑫蝶科技发展有限公司生产, 食品级, 脱乙酰度为 86.69%; Fe_3O_4 : 国药集团化学试剂有限公司生产, 化学纯; 其他试剂: 分析纯。

1.2 实验仪器

Delta 320-S pH 计: 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司生产; 78HW-1 恒温磁力搅拌器: 江苏金坛市金城国胜实验仪器厂生产; CT2 型高斯计: 上海震华电器厂生产; TU-1901 双光束紫外可见分光光度计: 北京普析通用仪器有限责任公司生产; SBA-40C 型生物传感分析仪: 山东省科学院生物研究所生产。

1.3 实验方法

在 800mL 烧杯中加入 500mL 的乳酸发酵液(稀释 3 倍), 预热至一定温度并调节 pH 值后, 在一定的搅拌速度下加入磁聚复配物, 搅拌保温一定时间后, 立即将磁铁(0.5T)置于烧杯底部作用 1 min 后, 取上清液, 测定其 OD 值, 由下式换算为 FR(絮凝率)值:

$$FR/\% = \frac{OD_{\text{絮凝前}} - OD_{\text{絮凝后}}}{OD_{\text{絮凝前}}} \times 100$$

FR 值越大, 说明絮凝效果越好。

1.4 分析方法

第一作者: 硕士研究生(郑之明为通讯作者)。

* 国家十一五, 重点 863 项目(2006AA020101)

收稿日期: 2006-10-16, 改回日期: 2006-12-15

OD值的测定采用分光光度法^[9]；L-乳酸含量的测定采用生物传感分析仪测量。

2 结果与讨论

2.1 复配物用量对絮凝效果的影响

图1和图2中看出,体系中复配物浓度对絮凝效果的影响很大。这是因为絮凝作用的原理是絮凝剂上的功能基团和不同蛋白质等胶粒表面通过架桥连接结合,从而产生粗大的絮体。料液中絮凝剂浓度的增加有助于架桥充分,但过多的加入反而会引起吸附饱和,在每个胶粒上形成覆盖层,从而使胶粒产生再次稳定现象^[10,11]。所以,体系中絮凝剂浓度过高和过低都达不到好的处理效果。实验结果显示,壳聚糖的最佳用量为40 mg/L (pH 6, 200r/min 下搅拌 5 min, 50℃);另一方面,复配物中 Fe_3O_4 的含量越高,形成的絮体在外磁场下的磁响应性越强,故沉降速度越快,从成本和固液分离速度综合考虑, Fe_3O_4 的理想用量为100 mg/L。

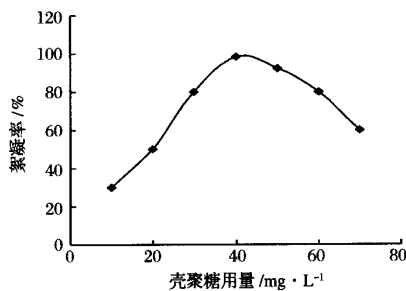


图1 不同用量壳聚糖与100mg/L Fe_3O_4 复配对絮凝效果的影响

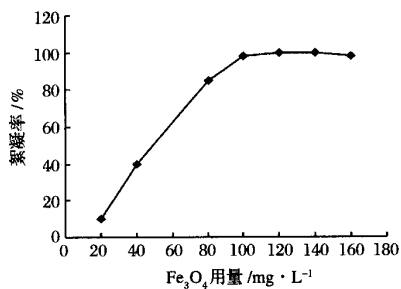


图2 不同用量 Fe_3O_4 与400mg/L 壳聚糖复配对絮凝效果的影响

2.2 pH 值对絮凝效果的影响

图3中看出,体系的pH值对絮凝效果有明显影响。这是由于溶液pH的改变,影响菌体胶粒及絮凝剂的电离度,从而影响分子链的伸展程度、溶解度以及基团的结合能力。实验结果显示,絮凝的最佳pH

为5~6 (40 mg/L 壳聚糖与100 mg/L Fe_3O_4 复配, 200r/min 下搅拌 5 min, 50℃)。按照 DLVO 理论^[10,11],微粒表面Z电位为0左右时絮凝会快速发生,此时溶液的pH值即为等电点。乳酸发酵液的等电点为3左右,在pH 5~6时,发酵液中固体微粒所带的电荷为负,此时少量的阳离子(H^+)中和了微粒表面的负电荷,降低Z电位,使之趋于0,小微粒开始聚集成较大微粒,而已经增大的微粒促使加入的絮凝剂更容易形成架桥连接作用,所以絮凝更加容易进行;在pH 3~4时,溶液中含有过量的正电荷(H^+),与同样带正电荷的絮凝剂发生排斥反应,抑制了絮凝的进行;pH<3时,固体微粒所带的负电荷转变为正电荷,此时由于Z电位值不为0,发酵液的微粒重新趋于分散,因此絮凝率较低。

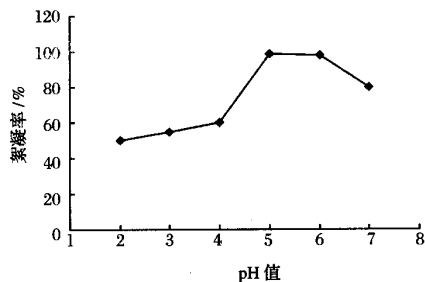


图3 pH 值对絮凝效果的影响

2.3 搅拌速度与时间对絮凝效果的影响

从图4中看出,随着搅拌速度的增大,絮凝率变化得不很明显,表明搅拌速度不是影响絮凝效果的主要因素,从降低能耗考虑,搅拌速度可选为200r/min (pH 6, 40 mg/L 壳聚糖与100 mg/L Fe_3O_4 复配,搅拌 5 min, 50℃)。

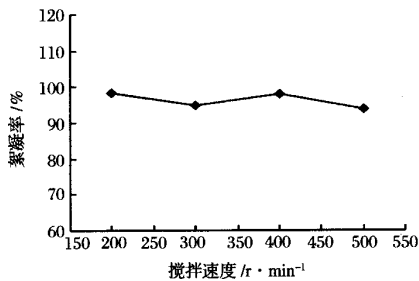


图4 搅拌速度对絮凝效果的影响

从图5中看出,搅拌时间对絮凝效果有影响。絮凝是一个复杂的化学动力学过程,如果搅拌不充分,则絮凝剂和蛋白胶粒不能充分混合,从而影响絮凝效果;如果在絮凝团形成以后继续剧烈搅拌,则会使已形成的絮凝团破碎,使体系重新达到平衡,影响絮凝

效果^[10,11]。实验结果显示,最佳搅拌时间为 5 min (pH 6, 40 mg/L 壳聚糖与 100 mg/L Fe_3O_4 复配, 搅拌速度为 200r/min, 50℃)。

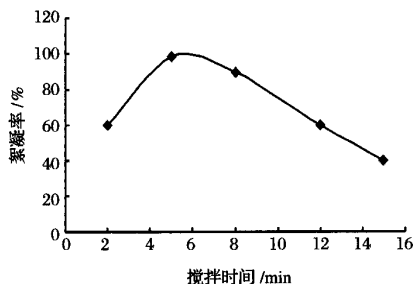


图5 搅拌时间对絮凝效果的影响

2.4 温度对絮凝效果的影响

从图6中看出,温度影响絮凝效果。这是由以下几方面引起的:首先,温度升高使得体系中的蛋白质的变性作用加快,促进了絮凝团的生成和沉淀;其次,温度升高,料液粘度变小,使絮凝团容易沉淀;最后,温度升高能增加胶体粒子的动能与碰撞的机会,加速了絮凝团形成速度^[10,11]。但温度过高会使壳聚糖分解。从成本和絮凝效果综合考虑,温度应控制在 35~55℃ (pH 6, 40 mg/L 壳聚糖与 100 mg/L Fe_3O_4 复配, 200r/min 下搅拌 5 min)。

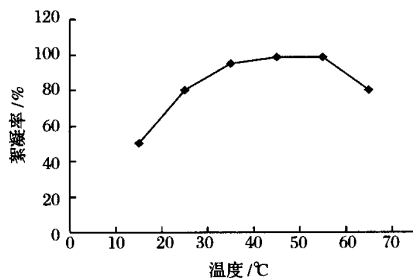


图6 温度对絮凝效果的影响

2.5 磁场强度对絮凝效果的影响

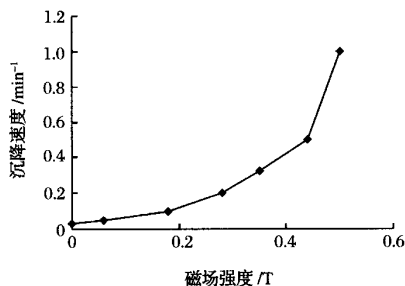


图7 外加磁场强度与沉降速度的关系

图7中看出,外加磁场强度越大,絮体的沉降速度越快,絮凝率越高。因此外加磁场的选择应综合考

虑成本和絮凝效果等因素。

2.6 复配物的加入对L-乳酸含量的影响

L-乳酸是本体体系的目标产物,任何处理、操作都应尽量减少其损失。从图8中看出,复配物的加入对目标产物——L-乳酸几乎没有影响(pH 6, 40 mg/L 壳聚糖与 100 mg/L Fe_3O_4 复配, 200r/min 下搅拌 5 min, 50℃)。

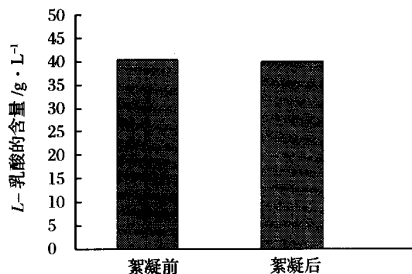


图8 絮凝对L-乳酸的影响

3 结论

磁聚复配物絮凝预处理L-乳酸发酵液的实验结果表明,pH值和复配物用量对絮凝效果的影响较大;温度和搅拌方式对絮凝效果的影响较小;在适宜絮凝条件下:pH 5~6, 40 mg/L 壳聚糖与 100 mg/L Fe_3O_4 复配, 200r/min 下搅拌 5 min, 35~55℃, 外加磁场(0.5T)作用 1 min, 发酵液的絮凝率达到了 98.5%。下一步面临的问题是如何实现絮凝残渣中磁聚复配物的有效分离、回收和再利用,以减少处理成本,目前这部分工作正在进行中。

磁聚复配物对L-乳酸发酵液中的蛋白质表现出优良的絮凝能力,且更大的优势在于显著提高了固液分离的速度,这一点对于L-乳酸生产过程的下游处理是极其有利的。此方法为中试及放大化生产提供了一定的理论依据,实际生产中,加大磁场强度,固液分离的速度势必加快,但相应的成本也会增加,如何处理好三者之间的关系,是关键所在。

参考文献

- 钱志良,胡军,雷肇祖. 乳酸的工业化生产、应用和市场[J]. 工业微生物, 2001, 31(2): 49~53
- 林建平. 生物转盘反应器固定化米根霉耦合发酵分离乳酸[D]. 杭州: 浙江大学博士论文, 1997
- 金其荣,张继民,徐勤. 有机酸发酵工艺学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1989. 339~406
- 毕喜娟,刘德华. 7种絮凝剂对甘油发酵液的絮凝效果比较[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(9): 15~18

- 5 郭晨, 刘春朝, 刘德华等. 酵母细胞的絮凝[J]. 化工冶金, 1997, 18(3): 245~249
- 6 刘清华, 钱和, 张伟国. 絮凝法处理 *L*- 异亮氨酸发酵液[J]. 无锡轻工大学学报, 2004, 23(5): 82~85
- 7 王然明 张鹏 师先峰等. 发酵-絮凝沉降分离法乳酸生产工艺[P]. CN 1036603A, 1989
- 8 江龙法, 张所信. *L*- 乳酸发酵液絮凝研究[J]. 食品科技, 1999, 5: 42~43
- 9 GB 13200-91, 水质-浊度的测定—分光光度法[S]
- 10 梁为民. 凝聚与絮凝[M]. 北京: 冶金工业出版社, 1987
- 11 马青山. 絮凝化学与絮凝剂[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1988

Pretreatment of *L*-Lactic Acid Fermentation Broth by Magnetic Polymer

Li Wen, Liu Dan, Yang Yingge, Wang Dongmei, Fan Yonghong,

Yao Jianming, Zheng Zhiming, Yu Zengliang

(Key Laboratory of Ion Beam Bioengineering, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China)

ABSTRACT This paper studies the pretreatment of *L*- lactic acid fermentation broth using magnetic polymer. Experimental results showed that optimum flocculation conditions were: the concentration of magnetic polymer was 40 mg/L chitosan with 100 mg/L ferroferric oxide, pH 5~6, stirring at the rate of 200r/min for 5 min, 35~55℃. Under such conditions, *FR* was 98.5% by virtue of magnetic field (0.5T) for 1 min, indicating that magnetic polymer have excellent ability to flocculate proteins from the *L*-lactic acid fermentation broth. Furthermore, this magnetic polymer dramatically accelerate the pretreatment process.

Key words *L*- lactic acid, fermentation broth, chitosan, magnet, compound, flocculation

红外指纹技术监控食品安全葡萄酒备案

北京市食品安全监控中心正与清华大学开展红外指纹图谱等前沿技术在食品安全监控中的应用研究。“红外指纹”图谱技术 2007 年年内将正式应用到食品安全监控中, 食品安全监控中心正在建立信息库。目前已经完成了奶粉、葡萄酒等多项食品的“红外指纹”备案, 2007 年年内也将应用到食品安全监控中。

目前北京市食品办统一协调 19 个成员单位, 分工把守生产、流通等环节, 这种体制已经探索了 5 年左右, 食品监管中存在的问题将通过立法来完善, 《北京市食品安全管理条例》2007 年 7 月份将提交人大一审, 2007 年年底出台。

未来几年我国休闲食品年均增长 15% 左右

休闲食品, 更多的中国人喜欢把其称之为零食。我国休闲食品业起步于 1970 年代, 在当时老百姓的心目中, 休闲食品只是难登大雅之堂的配角食品。随着时代的发展, 人们经济收入的提高, 消费观念的转变, 休闲类食品种类越来越多。如今, 休闲食品已不再只是小孩子的专利, 而是受到了越来越多的不同年龄人群喜爱, 成为老百姓生活中的一种消费“新时尚”。目前我国休闲食品共有谷物膨化类、油炸果仁类、油炸薯类、油炸谷物类、糖食类、肉禽鱼类、干制水果类、干制蔬菜类等八大类。

2006 年我国休闲食品继续保持良好发展态势, 目前我国休闲食品的年销售量在 200~300 亿元。据市场调查, 休闲食品在主要超市、重点商场食品经营比重中已占到 10% 以上, 名列第一。从休闲食品的产品门类看, 膨化食品及饼干类食品增长较快, 口香糖和干果类食品紧随其后, 果脯蜜饯类则由于人们对食品卫生的要求越来越高而发展缓慢。

总体看, 我国休闲食品市场尚处在发展阶段, 产品品种单一、技术力量相对薄弱, 一些适龄产品开发还是空白。在未来的发展过程中, 健康、时尚和功能将是休闲食品市场的主流。在西方发达国家, 低油马铃薯食品和以水果蔬菜为原料的休闲食品越来越受到消费者的青睐, 销售势头越来越好, 值得我国休闲食品生产企业借鉴。