

# 陶瓷膜在甘油发酵液除菌中的应用

郭善辉, 诸葛斌, 方慧英, 诸葛健

(江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡, 214036)

**摘 要** 将陶瓷膜应用于甘油发酵液的除菌操作中, 考察了操作参数和清洗方法对膜通量的影响。结果表明, 在压差 0.1 MPa、温度 30℃、pH 值 7.0 和错流速度 3.5 m/s 条件下操作, 有利于提高膜通量; 发酵液过滤后, 先以质量浓度为 1% 的 NaOH 和质量浓度为 0.2 % 的 NaClO 混合液清洗膜 40 min, 再以质量浓度为 0.5 % 的 HNO<sub>3</sub> 溶液清洗 5 min, 膜通量可迅速恢复。因此, 陶瓷膜在甘油发酵液的除菌中是高效可行的。

**关键词** 陶瓷膜, 甘油发酵液, 除菌, 操作参数, 膜清洗

甘油是重要的轻化工原料<sup>[1]</sup>, 用发酵法生产甘油已经成为国内外甘油生产的一个组成部分<sup>[2]</sup>。用发酵法生产甘油, 后处理一直是很难解决的关键问题<sup>[3]</sup>。甘油发酵液中除含有粒径细小的酵母细胞和细胞碎片外, 还含有蛋白质、多糖和其他胶状物, 这些杂质的存在会影响后续的甘油提取。用传统的过滤除菌法, 效率低、劳动强度大, 过滤所形成的黏胶状滤饼有时会堵死滤布, 使操作很难顺利进行。用离心法除菌, 尽管能够取得除菌效果, 但去除不完全。陶瓷膜是近年来在全球迅速崛起的一项新技术<sup>[4,5]</sup>, 已在食品工业、生物工程、环境工程、化学工业、石油化工、冶金工业等领域得到了广泛的应用, 成为苛刻条件下精密过滤分离的重要技术<sup>[6]</sup>。陶瓷膜的分离净化和浓缩方法与传统的分离操作相比, 具有能耗低、分离效率高、无二次污染、工艺简单等优点。文中采用工业化生产的陶瓷微滤膜对甘油发酵液进行澄清处理, 旨在研究开发甘油发酵液的陶瓷膜错流处理技术, 为陶瓷膜错流过滤甘油发酵液的工业化奠定基础。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 试验材料

Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 陶瓷膜: 由江苏久吾高科技股份有限公司提供, 孔径 0.2 μm, 9 通道, 管长 250 mm, 管外径 25 mm, 通道内径 5 mm, 膜面积 0.05 m<sup>2</sup>。

甘油发酵液: 由江南大学工业生物技术教育部重点实验室的 60 L 发酵罐发酵获得, 主要指标如表 1。

表 1 甘油发酵液主要指标

pH 值	甘油含量/%	OD	湿菌含量/%	RG/%
2.8~3.2	10.5~11.2	1.4	6.38	< 1

NaOH、NaClO、HNO<sub>3</sub> 均为分析纯试剂。

### 1.2 分析与测定方法

甘油的测定: 采用高碘酸钠-变色酸法<sup>[7]</sup>。

总糖的测定: 采用蒽酮比色法<sup>[8]</sup>。

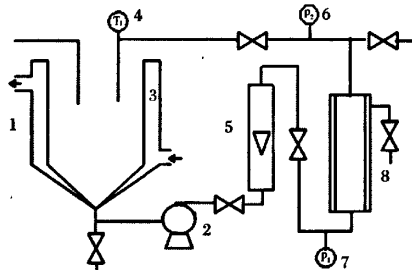
总氮的测定: 采用 FOSS 公司自动定氮仪。

湿菌体含量测定: 采用离心称重法测量<sup>[9]</sup>。

光密度(OD)测定: 采用直接测量法, 将发酵液摇匀后, 倒入厚度为 1 cm 的比色杯中, 用 UNIC-7200 型分光光度计, 在波长 610 nm 下, 以蒸馏水为对照, 测出光密度。

### 1.3 试验装置及方法

试验所采用的装置由江苏久吾高科技股份有限公司研制提供, 如图 1 所示。



1—储液罐; 2—离心泵; 3—换热夹套; 4—温度计;

5—流量计; 6、7—压力表; 8—膜组件

图 1 甘油发酵液的膜过滤装置示意图

将甘油发酵液加入储液罐中, 以陶瓷膜过滤, 膜面错流速度由流量计读数换算而得; 过滤压差由进口压力、出口压力及渗透侧压力计算得出, 渗透通量采用秒表、量筒测定一定时间内渗透液的体积并结合膜面积计算获得。在未做说明时, 发酵液 pH 值为 3.0, 膜面错流速度为 4.0 m/s, 温度为 30℃, 过滤压差为 0.1 MPa。

第一作者: 硕士研究生(诸葛健教授为通讯作者)。

收稿日期: 2007-01-25

## 2 结果与讨论

### 2.1 操作参数对膜通量的影响

在将膜技术应用到生产领域时,膜通量的大小决定了设备的投资规模和操作费用,相同的膜装置在优化的操作条件下工作,能提高膜的拟稳定通量(在膜过滤过程中,当通量不再衰减时,此时膜过滤处于拟稳态,该阶段对应的通量即为拟稳定通量),减少膜面积,降低能耗,节约工业生产成本。因此,确定一套合适的操作参数是决定膜过滤过程的一个重要方面<sup>[10]</sup>。

#### 2.1.1 压差对膜通量的影响

膜的错流过滤是以压力差为推动力的分离过程,操作压力是影响膜通量的主要因素<sup>[11]</sup>。为此,本试验考察了压差分别在 0.05、0.1、1.5、2.0 和 2.5 MPa 下膜通量的变化,结果如图 2 所示,而压差对膜拟稳定通量的影响见图 3。

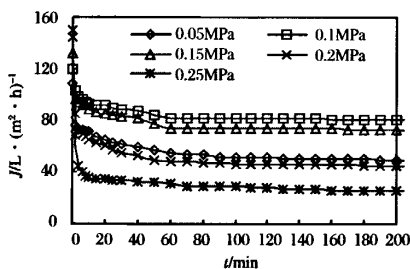


图2 压强对膜通量的影响

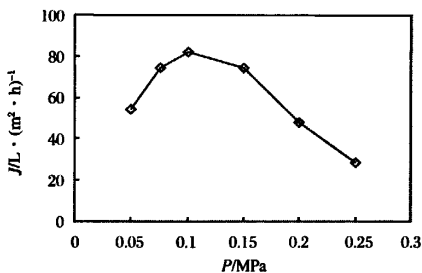


图3 操作压力对膜拟稳定通量的影响

由图 2 可知,虽然操作压力是影响膜通量的主要因素,但并不是压差越大膜通量就越大,而是存在一个适宜值。由图 3 可看出,随着操作压差的逐渐增大,膜的拟稳定通量存在一最大值。当压差低于 0.1 MPa 时,膜的拟稳定通量随压差的增大而增大,并达到一最大值。当压差超过 0.1 MPa 时,膜的拟稳定通量随压差的增大反而逐渐减小。这可能是双重因素作用的结果<sup>[12,13]</sup>,压差升高,一方面使料液过膜速

率加快,通量增大;另一方面,料液中小粒径的物质更易进入膜孔,堵塞过滤通道;另外,压差的升高,还能引起凝胶层的压实,使过滤阻力增大,从而引起通量下降。当操作压较低时,可能是前一因素起主要作用,压差升高促使拟稳定通量增大;当压差较高时,后一因素逐渐起主要作用,拟稳定通量随压差的升高而下降。因此,陶瓷膜过滤甘油发酵液采用压差为 0.1 MPa 时,有利于提高膜通量。

#### 2.1.2 温度对膜通量的影响

温度是影响膜通量的另一个重要因素<sup>[14]</sup>,通常提高温度有利于膜通量的提高:一方面温度升高,料液的黏度降低,流动性增强;另一方面温度升高,能改善膜的通透性<sup>[15]</sup>,从而使膜通量增大。但在该体系中,由于过高的温度会使可溶性蛋白凝聚和菌体絮凝<sup>[16-17]</sup>,引起膜污染的加剧,特别是当菌体浓度过高时,容易导致菌团阻塞通道。本研究选择在 20、25、30、35、40 和 45℃ 下,考察温度对膜通量的影响(如图 4 所示),以及拟稳定通量随温度的变化规律(见图 5)。

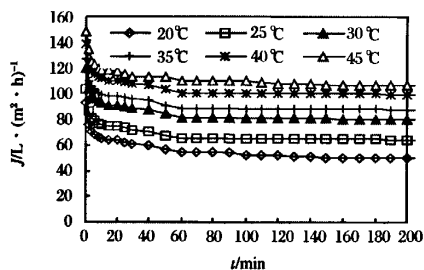


图4 温度对膜通量的影响

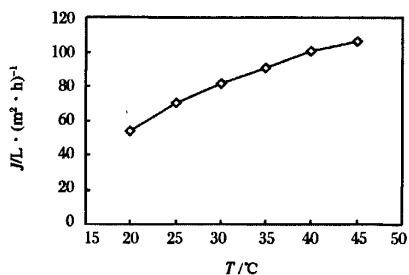


图5 温度对膜拟稳定通量的影响

由图 5 可知,膜的拟稳定通量随着温度升高而增加,这与发酵液的黏度随温度的上升而逐渐下降是一致的。如果只考虑膜的通量,操作温度高一点较好;但是,过高的温度容易导致能耗增大,发酵液中水分蒸发,离心泵工作不稳定,设备易损坏,以及维修费用高等诸多不良影响。由于本研究发酵液放罐温度为

30 ℃,考虑到工业上的运行成本,应选择在 30 ℃ 下操作较适宜。

### 2.1.3 料液 pH 对膜通量的影响

料液 pH 将影响蛋白质、酵母表面的电荷和膜表面的 Zeta 电位,从而影响到三者之间电荷的相互作用,影响滤饼形成的速度和厚度,对膜过滤过程产生影响<sup>[18]</sup>。本试验分别在 pH 值为 3.0、5.0、7.0、9.0 和 11.0 下,考察 pH 值对膜通量的影响,试验结果见图 6,拟稳定通量随 pH 值的变化曲线见图 7。

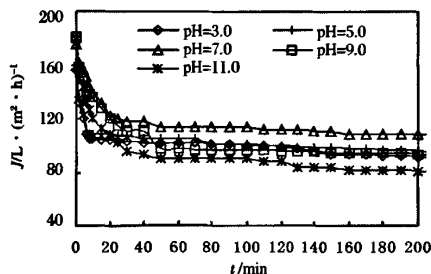


图 6 pH 值对膜通量的影响

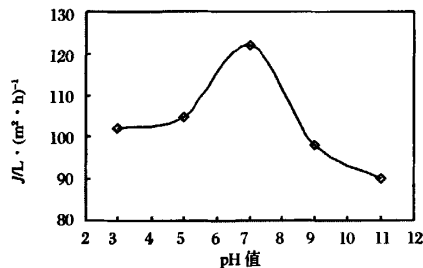


图 7 pH 值对膜拟稳定通量的影响

膜的拟稳定通量随 pH 值的改变变化较大,并有一明显最佳值,即料液 pH 值为 7.0 时,膜的拟稳定通量最大。这是因为在酸性或碱性条件下,发酵液中的带电组分的电荷与膜表面的电荷发生相互作用,使其吸附在膜外表面及膜孔内表面,加剧膜受污染程度。另外,当 pH 值为 11.0 时,溶液呈现碱性,此时的 pH 值接近大部分蛋白质的等电点,使得溶液中的蛋白大量析出,析出蛋白的尺寸可能与膜孔径尺寸相当,引起膜污染的加剧<sup>[10]</sup>。因此,从提高膜通量的角度出发,膜处理时发酵液的 pH 值应调为 7.0。

### 2.1.4 膜面错流速度对膜通量的影响

一般情况下,提高膜面流速可以增大膜的拟稳定通量,因为高的膜面错流速度可以增加膜面的剪切力,提高料液的湍流程度,减轻浓差极化,缓解膜的污染,有利于提高膜通量<sup>[19]</sup>。试验在错流速度分别为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 和 4.0 m/s 时,考察了膜

通量的变化,所得结果如图 8 所示,错流速度对膜拟稳定通量的影响见图 9。

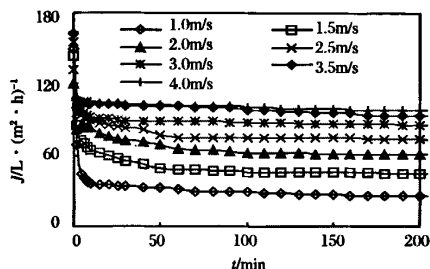


图 8 膜面流速对膜通量的影响

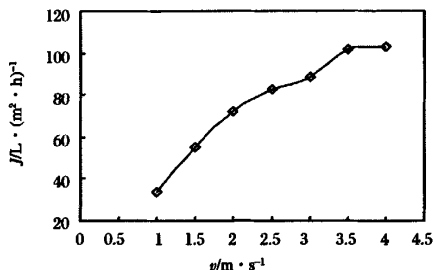


图 9 膜表面流速对膜通量的影响

由图 9 可知,随着膜面错流速度的增加,膜的拟稳定通量也逐渐增加,当流速达到一定程度后,拟稳定通量基本保持不变,当膜面流速达到 3.5 m/s 时,膜的拟稳定通量达到最大值,超过该流速时,拟稳定通量不再增加,只会增加设备能耗。从节能和通量 2 方面考虑,膜面流速应选 3.5 m/s 为宜。

### 2.1.5 膜过滤前后发酵液理化指标的分析

由表 2 可知,膜过滤对发酵液中的甘油无截留,甘油基本没损失,但除菌效果很好,菌体去除率达 100%。更值得注意的是,陶瓷膜还能截留部分的蛋白和多糖,有效降低了滤液中的蛋白、多糖含量,为后续甘油提取提供了有利条件。

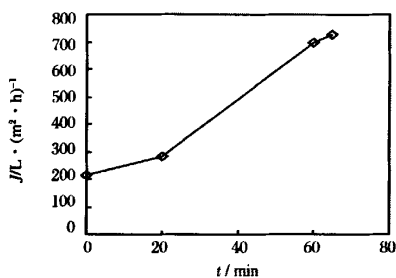
## 2.2 膜污染及清洗方法

在陶瓷膜的应用上,膜污染问题是一个必须解决的问题,有关膜污染机理及其模型已做了大量的研究工作<sup>[20~24]</sup>,污染模型主要分孔道堵塞和膜表面滤饼两种。膜阻力方面,膜本身阻力所占比例较小,由浓差极化和膜污染所引起的阻力起主要作用,是造成膜通量衰减的主要因素。膜通量的恢复需采用化学方法清洗,因此,选择合适的化学清洗剂和清洗方法来再生膜就显得非常重要。在该体系中,虽然料液的成分比较复杂,但是由于所用发酵培养基比较简单,故料液中可能造成膜污染的组分主要以多糖、蛋白质等

有机物为主。针对这些物质,可以考虑采用强酸、强碱和氧化剂来进行清洗。本研究分别用清洗剂对膜单独清洗和联合清洗进行了研究(在另文中讨论),结果发现,联合清洗效果最好,膜通量恢复率最高。其清洗方案为:先用水将系统内的残留发酵液洗净,测定此时水通量;再以质量分数 1 % NaOH 和 0.2 % NaClO 混合液清洗膜管 40 min,放出清洗剂,用自来水将系统洗至中性,测定水通量;最后以 0.5 % 的  $\text{HNO}_3$  溶液清洗 5 min,放出清洗剂,用自来水洗至中性,测定其最终水通量,得膜通量恢复率,所得清洗效果见图 10。

表 2 膜处理前后发酵液指标的对比

指标	甘油含量 /%	总氮 /mg · mL <sup>-1</sup>	湿菌含量 /%	残糖 /%	总糖 /mg · mL <sup>-1</sup>
过膜前	11.2	0.5874	6.38	0.8	15.989
过膜后	11.0	0.4936	0	0.7	11.759



0~20 min 水洗;20~60 min, 1 % NaOH+0.2 % NaClO 清洗;  
60~65 min 0.5 %  $\text{HNO}_3$  清洗

图 10 清洗剂对膜通量的恢复效果

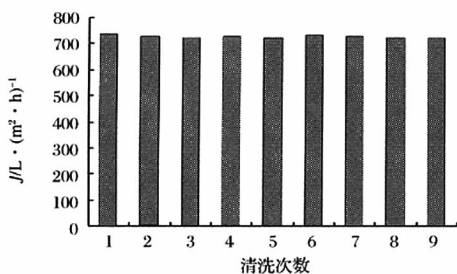


图 11 清洗次数对膜通量的影响

相同条件下,新膜管的水通量为 738 L/(m² · h)。由图 11 可知,经多次清洗后,膜的水通量基本维持在 715~726 L/(m² · h),通量恢复率在 96.8%~98.4 %,重复性较好,说明该清洗方案是有效可行的。

### 3 结 论

(1)陶瓷膜应用于甘油发酵液的除菌是高效可行

的,最佳拟稳定通量可达 122 L/(m² · h),不仅除菌率达 100 %,而且还能去除大量的多糖和蛋白质,减少了后续提取的不利因素。

(2)压差对膜通量的影响存在一最适值,当压差为 0.1 MPa 时,膜通量达到最大;考虑到运行成本和发酵液下罐温度,适宜的操作温度为 30℃;膜通量随体系的 pH 值变化而变化,当 pH 值为 7 时获得较高的膜通量;在一定范围内,膜通量随膜面错流速度的增大而提高,当流速在 3.5 m/s 时,通量达到最大,膜面流速再增加,通量保持不变。

(3)通过对污染膜的清洗研究可知,该体系膜污染适宜的清洗方案为:先用水冲洗 20 min,再用 1 % NaOH 和 0.2 % NaClO 混合液清洗 40 min,最后用 0.5 %  $\text{HNO}_3$  溶液清洗 5 min,膜通量可迅速恢复。

### 参 考 文 献

- 1 诸葛健,方慧英. 发酵法生产甘油的研究进展[J]. 食品与发酵工业,1994,(4):65~69
- 2 罗明典. 微生物发酵生产醇类产品[J]. 生物工程进展,2001,21(4):51~53
- 3 邹世能,刘德忠. 发酵法生产甘油[J]. 日用化学工业,1997,(1):41~43
- 4 Bhav R R. Inorganic membranes synthesis, characteristics and application[M]. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. 87~92
- 5 Hsieh H P. Inorganic membranes for separation and reaction[M]. New York: Elsevier, 1996. 59~65
- 6 徐南平. 无机膜的发展状况与展望[J]. 化工进展,2000,4: 5~9
- 7 Zhuge J, Fang H Y, Wang Z X. Glycerol production by a novel glycerol-producing yeast *Candida glycerinogenes*[J]. Applied Microbiology and biotechnology, 2001, 55: 686~692
- 8 沈力钧. 食品分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,2002. 177~180
- 9 王焕章,许赵辉,邢卫红,等. 对陶瓷膜在谷氨酸发酵液除菌过程中的应用进行了试验研究[J]. 食品与发酵工业,2000,27(5):42~46
- 10 曾贤贤,邢卫红,徐南平. 陶瓷膜处理肌苷发酵液的研究[J]. 膜科学与技术,2004,24(3):23~27
- 11 Mulder M. Basic Principles of Membrane technology [M]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1990. 127~128
- 12 Velasco C, Ouammou M, Calvo J L, et al. Protein fouling in microfiltration: deposition mechanism as a function of pressure for different Ph [J]. Journal of

- Colloid and Interface Science, 2003, 266: 148~152
- 13 Stephen M, He'lene C. Clarification of lactic acid fermentation broths[J]. Separation and Purification Technology, 2001, 22~23, 393~401
  - 14 Zhao Y J, Zhang Y, Xing W H, et al. Treatment of titanium white waste acid using ceramic microfiltration membrane[J]. Chemical Engineering Journal, 2005, 111: 31~38
  - 15 岳鹏翔, 谢舒平. 陶瓷膜过滤澄清绿茶提取液的研究[J]. 茶叶科学, 2001, 21(1): 35~37
  - 16 景文珩, 孙友勋, 邢卫红等. 陶瓷膜在谷氨酸等母液除菌过程中的应用[J]. 化工装备技术, 2002, 23(6): 10~14
  - 17 毕喜婧, 张建安, 刘德华. 甘油发酵液的絮凝除菌研究[J]. 精细化工, 2002, 19(7): 394~397
  - 18 Yun Y, Chen V K. Reversibility of heterogeneous deposits formed from yeast and proteins during microfiltration[J]. Journal of Membrane Science, 2005, 265: 20~28
  - 19 Zhao Y J, Zhong J, Xu N P, et al. Fouling and regeneration of ceramic microfiltration membranes in processing acid wastewater containing fine  $\text{TiO}_2$  particles[J]. Journal of Membrane Science, 2002, 208: 331~341
  - 20 Song L F. Flux decline in crossflow microfiltration and ultrafiltration: mechanisms and modeling of membrane fouling[J]. Journal of Membrane Science, 1998, 139: 183~200
  - 21 Lim A L, Bai B B. Membrane fouling and cleaning in microfiltration of activated sludge wastewater[J]. Journal of Membrane Science, 2003, 216: 279~290
  - 22 Herbert H P, Shi X L. Pore fouling of microfiltration membranes by activated sludge[J]. Journal of Membrane Science, 2005, 264: 161~166
  - 23 Piotr C, Francisco L, Carme G. Membrane fouling during microfiltration of fermented Beverages[J]. Journal of Membrane Science, 2000, 166: 199~212
  - 24 Huang L H, Michael T Morrisse. Fouling of membranes during micro(r)ltration of surimi wash water: Roles of pore blocking and surface cake formation[J]. 1998, 144: 113~123

## The Application of Removing Cell from Glycerol Fermentation Broth with Ceramic Membrane

Guo Shanhui, Zhuge Bin, Fang Huiying, Zhuge Jian

(The Key Lab of Industrial Biotechnology of Ministry of Education, Southern Yangtz University, Wuxi 214036, China)

**ABSTRACT** Removing cell from glycerol fermentation broth by ceramic microfiltration membrane and the effect of operation parameters on membrane filtrate flux was investigated. The conclusions were drawn that transmembrane pressure 0.1 MPa, temperature 30, pH 7.0 and cross-flow velocity 3.5 m/s were advantageous in enhancing the membrane filtrate flux. The action of membrane fouling was analyzed. The cleansing methods which can recover efficiently membrane filtrate flux were obtained. It took 40 minutes to clean the membranes by mixed solution composed of 1 % (w/v) NaOH and 0.2 % (w/v) NaClO. Thereafter, 0.5 % (w/w)  $\text{HNO}_3$  solution was used to clean the membranes for 5 minutes; the membrane filtrate flux can be recovered rapidly. The results indicate that removing cell from glycerol fermentation broth by ceramic microfiltration membrane was feasible.

**Key words** ceramic membrane, glycerol fermentation broth, removing cell, operating parameters, cleaning method of membrane

政策法规标准

### 加拿大修订食品药品和乳制品法规

2007年6月29日,加拿大修订食品药品和乳制品法规。加拿大食品检验局提议通过修订现行的乳酪特性和配方标准,修订食品药品法规和乳制品法规。本法规提案规定了乳酪的特殊配方要求,并阐明了源自制造特定品种干酪的牛乳的蛋白质最低百分比。

这些法规规定了乳酪的基本特性和特定品种干酪的制造工艺。配方标准将适用于国产的和进口的干酪。