1,3-丙二醇发酵液的絮凝预处理研究*

李凡锋 周玉杰 刘德华**

(清华大学化工系应用化学研究所 北京 100084)

摘要：研究了天然澄清剂Ⅱ型B组份对1,3-丙二醇发酵液的絮凝预处理效果。首先通过单因素实验和正交实验，确定了影响絮凝的主要因素及其最佳工艺条件：即在pH6.0、用量为0.01g/L、NaCl盐浓为0g/L时，絮凝率可以达到95.97%。然后考察了絮凝预处理对发酵液过滤以及电渗析脱盐的影响，实验结果表明：絮凝预处理能显著加快发酵液中固体微粒的沉降，提高过滤速度，其中絮凝样的滤饼湿基、干基重量分别比对照样增加41.13%、51.88%；絮凝预处理还能加快电渗析脱盐速度，与过滤相结合可以代替离心预处理。

关键词：1,3-丙二醇，絮凝，絮凝剂，电渗析

中图分类号：TQ028.5 **文献标识码**：A **文章编号**：0253-2654(2004)03-0030-06

Flocculation of Fermented Broth with 1,3-Propanediol

LI Fan-Feng ZHOU Yu-Jie LIU De-Hua

(*Institute of Applied Chemistry, Department of Chemical Engineering, Tsinghua University, Beijing* 100084)

Abstract: Flocculation of fermented broth with 1,3-propanediol using component B of natural clarifier-II was studied. Firstly, single factor tests and orthogonal tests were carried out. The results showed the main factors which influenced the flocculation and the optimal conditions were: pH6.0, flocculant B 0.01g/L, NaCl 0g/L, and the FR was 95.97%. The following results by filtration experiments, compared with the sample without pretreatment, indicated that the filtration speed of the flocculated sample was improved dramatically, and the weights of net and dry filter cakes were increased by 41.13% and 51.88%, respectively. Electrodialysis experiments showed that flocculation could accelerate desalting process, and could take the place of centrifugal pretreatment when it combined with the filtration.

Key words: 1, 3-Propanediol, Flocculation, Flocculant, Electrodialysis.

1,3-丙二醇（1,3-Propanediol，以下简称1,3-PDO）可以与对苯二甲酸聚合生成聚对苯二甲酸丙二醇酯（PTT），PTT是由美国壳牌公司首先研制出来的可纺制纤维的新一代聚酯，被认为是聚对苯二甲酸乙二醇酯（PET）的换代产品，具有广阔的应用前景[1,2]。

目前1,3-PDO的生产主要有化学合成法和微生物发酵法两种方式。其中化学合成法已经实现工业应用，而微生物发酵法则仍处于实验室阶段，后提取工艺研究报道尤其少。后提取工艺的第一个步骤是发酵液的预处理，目前工业上主要采用的有离心分离、直接过滤等。由于离心分离投资过大，直接过滤消耗人力、物力过大，所以投资少、效果好的絮凝预处理方法也正在一些菌体分离中得到应用[3-8]。

本文采用絮凝方法对1,3-PDO发酵液进行预处理研究，以从初步实验中筛选出来的天然澄清剂Ⅱ型B组份（以下简称絮凝剂B）为絮凝剂，考察了其对1,3-PDO发酵

* “十五”国家科技攻关计划项目（No.2001BA708B0104）

** 联系人 Tel：010-62782654，E-mail：dhliu@tsinghua.edu.cn

收稿日期：2003-06-02，**修回日期**：2003-10-31

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

液的絮凝效果，为中试以及以后的工业化放大生产提供可靠的参考依据。

1 材料与方法

1.1 药品与器材

1,3 -PDO 发酵液：黑龙江辰能生物工程有限公司中试基地提供。

絮凝剂 B：阳离子型高分子改性絮凝剂，工业级产品，市售，配置浓度为 10.0g/L。配置方法：称取 1.0g 絮凝剂 B，加入 100mL 浓度为 1% （体积百分比）醋酸，搅拌至溶解，溶胀 24h 后即可。

pHS-25 型 pH 计；722-S 型分光光度计；ED 膜分离试验机。

1.2 实验方法

预热一定体积的1,3 -PDO 发酵液（冷藏温度为 2℃）至所需温度，分别加入浓硫酸、固体 NaCl 调节 pH 值和盐浓后，将恒定体积、不同浓度的絮凝剂溶液倒入发酵液中，先在一定的搅拌速度下搅拌约 3min，静置约 30min 后，取上清液 5mL，稀释至 20mL，然后用分光光度计测定 650nm 下的吸光度值（*OD*）。

1.3 数据处理方法

本研究中使用絮凝率（*FR*）作为衡量絮凝效果的指标，计算公式如下：

$$FR = \frac{\text{絮凝前菌体浓度} - \text{絮凝后菌体浓度}}{\text{絮凝前菌体浓度}} \times 100\%$$

用 *OD* 值来表示即为：

$$FR = \frac{OD_{\text{絮前}} - OD_{\text{絮后}}}{OD_{\text{絮前}}} \times 100\%$$

2 结果与讨论

2.1 絮凝效果影响因素的考察

2.1.1 絮凝剂用量对絮凝效果的影响：絮凝剂 B 用量对絮凝效果的影响如图 1 所示。由图 1 可见，不同 pH 值条件下，絮凝剂都存在其较佳用量。按照高分子絮凝剂的絮凝理论，当加入的絮凝剂为较佳用量时，絮凝剂的一端首先吸附于微粒上，另一端随时可以通过碰撞接触吸附其他微粒，形成架桥作用，从而产生絮团。絮凝剂用量过大将导致每个微粒都吸附过量的高分子化合物，没有空余的表面实现架桥作用，因此使絮凝效果变差[9]。

2.1.2 pH 值对絮凝效果的影响：本研究已有的实验结果表明，絮凝剂 B 对 1，3-PDO 发酵液在碱性条件下絮凝效果不理想，而在酸性条件下絮凝效果比较好。图 2 是 pH 值为 3.0～7.0 时对絮凝效果的影响，絮凝剂用量为 0.01g/L。图 2 中看出，pH 值对絮凝效果的影响较为明显。按照 DLVO 理论[9]，微粒表面 Z 电位为零左右时絮凝会快速发生，此时溶液的 pH 值即为等电点。1,3 -PDO 发酵液的等电点为 3 左右（本研究的实验结果）。在 pH5.0～6.0 时，发酵液中固体微粒所带的电荷为负，此时少量的阳离子（氢离子）中和了微粒表面的负电荷，降低 Z 电位，使之趋于零，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 pH3.0～4.0 时，溶液中含有过量的正电荷（氢离子），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 小于 3 时，固体微粒所带的负电荷转变为正电荷，此时由

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

于 Z 电位值不为零，发酵液的微粒重新趋于分散，因此絮凝率较低。

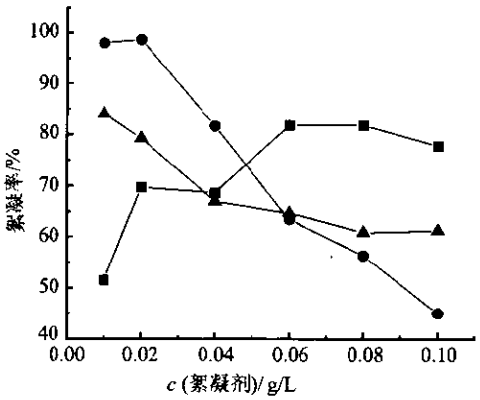

图 1 絮凝剂用量对絮凝效果的影响

■ pH 3.0, ● pH 5.0, ▲ pH 7.0

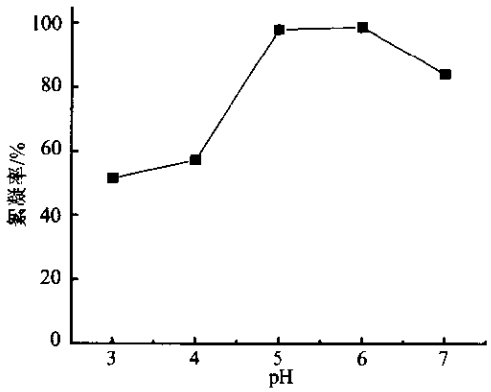

图 2 pH 值对絮凝效果的影响

■ 絮凝剂浓度为 0.01g/L

2.1.3 温度对絮凝效果的影响：图 3 是温度对絮凝效果的影响，絮凝剂用量分别为 0.010g/L 和 0.015g/L。从图 3 中可见，在 2℃ ~ 35℃范围内，两种絮凝剂用量的絮凝率均在 85%以上，温度高于 35℃时絮凝效果均明显变差。这是因为温度过高时，化学反应速度加快，形成的絮凝体细小，不易沉降，并使絮凝体的水合作用增加[10]，因此较佳的絮凝温度为 2℃ ~ 35℃。

2.1.4 搅拌速度对絮凝效果的影响：图 4 是搅拌速度对絮凝效果的影响，絮凝剂用量分别为 0.10g/L 和 0.01g/L。从图 4 可见，两种絮凝剂用量下随着搅拌速度的增大絮凝率变化不很明显，表明搅拌速度不是影响絮凝的主要因素，从降低能耗考虑，搅拌速度可选为 200r/min。

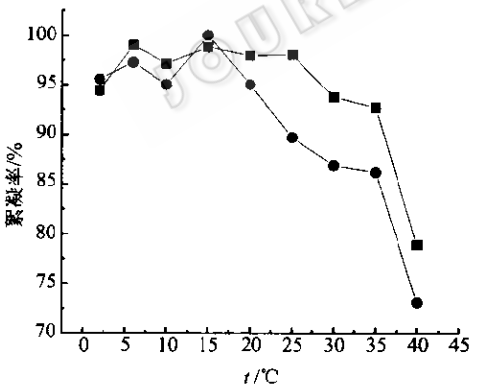

图 3 温度对絮凝效果的影响

絮凝剂浓度： ■ 0.010g/L, ● 0.015g/L

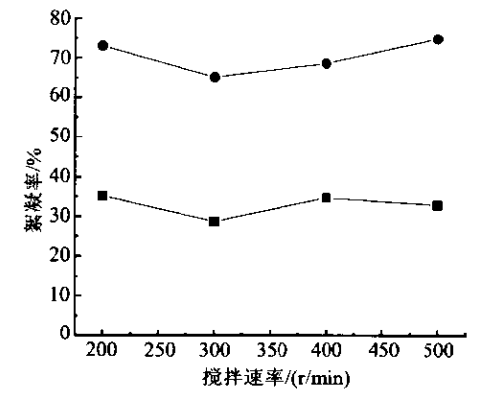

图 4 搅拌速度对絮凝效果的影响

絮凝剂浓度： ■ 0.10g/L, ● 0.01g/L

2.1.5 盐浓对絮凝效果的影响：这里“盐浓”实质是“添加的盐的浓度”，主要考察不同浓度的 NaCl 对絮凝效果的影响，絮凝剂用量为 0.01g/L，pH 值为 6.0。选择 NaCl 主要因为其在盐类中对絮凝效果的影响具有代表性：能完全电离出正离子和负离子，而且正、负离子水化离子半径均较大，都会对絮凝效果产生负效应。从图 5 可见，NaCl 盐浓为 0 ~ 3g/L 时，对絮凝率的影响不很显著，可以忽略其对絮凝效果的影响；大于

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

5g/L 时，其对絮凝率的负面影响较明显。盐浓过高时，盐电离出来的负离了可能抢先与絮凝剂结合，因此絮凝效果显著下降。

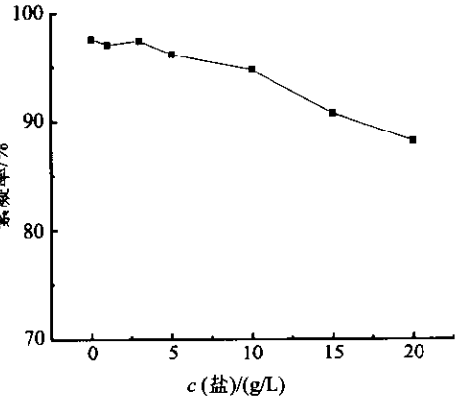

图 5　盐浓对絮凝效果的影响

2.2　正交实验

由以上实验结果，可以看出在一定温度范围内，pH 值（A）、絮凝剂用量（B）、盐浓（C）这 3 个因素对絮凝效果影响较大，而且 pH 值与絮凝剂用量之间存在交互作用；所以选定 A、B、C、A × B 为考察因素，拟进行 4 因素 3 水平的正交实验。

pH 值的 3 个水平值为：pH4.0、pH5.0、pH6.0；絮凝剂用量（g/L）的 3 个水平值为：0.01、0.015、0.05；NaCl 盐浓（g/L）的 3 个水平值为：0、10、20；实验结果为絮凝率值。正交实验安排及结果如表 1 所示。从表 1 可见，因素 A、B、C 影响显著；因素 A × B影响比较不显著。从极差分析可以得出最佳工艺参数为：$A_3B_1C_1$，即 pH6.0、絮凝剂用量为 0.01g/L、NaCl 盐浓为 0g/L。

表 1　絮凝剂 B 的正交实验结果及极差分析

	A	B	A × B	C	实验结果
	1	2	3	4	yi（%）
1	1	1	1	1	80.00
2	1	2	2	2	66.29
3	1	3	3	3	54.18
4	2	1	2	3	69.53
5	2	2	3	1	82.85
6	2	3	1	2	64.50
7	3	1	3	2	92.62
8	3	2	1	3	78.72
9	3	3	2	1	78.60
K_{1j}	200.47	242.15	223.22	241.45	
K_{2j}	216.88	227.00	86.00	214.42	223.41
K_{3j}	249.94	197.28	229.65	202.43	$\bar{y}=\frac{667.29}{9}$
ω_{1j}	-7.32	6.58	0.27	6.34	
ω_{2j}	-1.84	1.81	-2.67	0.33	-74.14
ω_{3j}	9.17	-8.38	2.41	-6.67	

按照正交实验结果得出的最佳工艺条件进行实验，得到的絮凝率为 95.97%，证明正交实验的分析是可靠的。

2.3　絮凝预处理对过滤的影响

取 400mL 发酵液两份，在相同温度及 pH 条件下，一份加入絮凝剂溶液，使其在最佳絮凝条件下进行絮凝处理；另一份则只加入等体积蒸馏水用于对照，搅拌、静置后

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn

分别进行过滤，并测定过滤 10 ~ 100min 后的滤液体积、过滤终了时滤饼的干基、湿基重量，实验结果如表 2 所示。

表 2 絮凝对过滤的影响

		对照样	絮凝样			对照样	絮凝样
		滤液体积（mL）				滤液体积（mL）	
过滤时间（min）	10	103	270	过滤时间（min）	30	175	375
	15	125	318		35	189	376
	20	145	353		40	200	376
	25	163	370		100	303	377
滤前上清液 *OD* 值		0.474	0.031	滤饼湿基重（g）		11.2936	15.9392
滤液 *OD* 值		0.191	0.023	滤饼干基重（g）		2.0650	3.1364

絮凝预处理后的发酵液（以下简称絮凝样）在过滤时能形成疏松的滤层，因此过滤速度较快，从表 2 可见，絮凝样过滤 25min 时基本到达终点；而未进行絮凝预处理的对照样在过滤时形成了较致密的滤层，过滤 100min 后仍未完全到达过滤终点，而且过滤已经几乎停止。过滤前絮凝样上清液的 *OD* 值是对照样上清液 *OD* 值的 6.54%；过滤后絮凝样的滤液 *OD* 值是对照样滤液 *OD* 值的 12.04%。从滤饼的重量来看，絮凝样的湿基比对照样湿基重 41.13%，滤饼干基比对照样干基重 51.88%。

实验结果表明：絮凝能显著加速发酵液中固体微粒的沉降、提高过滤速度，从而大幅度提高过滤质量。

2.4 絮凝预处理对电渗析脱盐的影响

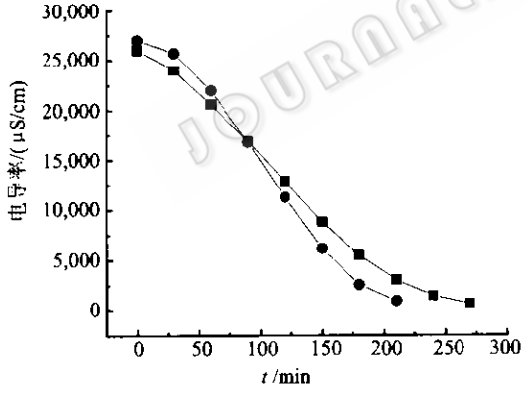

图 6 絮凝预顶处理对电渗析脱盐的影响

—■— 离心预处理，—●— 絮凝预处理

发酵法生产 1,3-PDO 的过程中由于需要调节 pH 值而产生了大量的盐，这些盐如果不能及时、有效去除，将会导致后续的蒸发工序中大量黑色类结焦物的产生以及 1,3-PDO 收率的降低。电渗析法能够有效去除发酵液中的盐，但脱盐之前必须对发酵液进行预处理，否则会发生严重堵膜现象。以淡室液体电导率到达 1,000 μS/cm 为实验终了指标，图 6 对比了絮凝预处理与离心处理对电渗析脱盐的影响。

由图 6 可见，絮凝样与离心样的电导率随时间变化曲线非常相似，这说明絮凝可以代替离心预处理而不会对脱盐工序造成不利影响。同时，絮凝样比离心样要提前一个小时到达实验终点，这可能是因为絮凝不但能有效除去发酵液中的固形微粒物质以及蛋白质，而且溶解状态的蛋白质等组份也可能在絮凝工序中得到部分除去，这是离心工序所无法达到的。

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 http://journals.im.ac.cn

3 结论

(1) 絮凝工艺的单因素实验结果表明 pH 值和絮凝剂用量对絮凝效果影响较大；温度在 2℃～35℃之间对絮凝效果影响较小；搅拌速度和较低的盐浓对絮凝效果影响较小。

(2) 正交实验结果表明：pH 值、絮凝剂用量、盐浓对絮凝效果影响显著；pH 值和絮凝剂用量的交互作用对絮凝效果的影响不显著。从极差分析可以得出最佳工艺参数为：pH6.0、絮凝剂用量为 0.01g/L、NaCl 盐浓为 0g/L，此时絮凝率可达 95.97%。

(3) 絮凝预处理能有效提高发酵液过滤速度，增加滤饼的干、湿基重量，与过滤相结合絮凝预处理比离心处理更适于后续的电渗析脱盐工艺。

参 考 文 献

[1] 周邦荣．石油化工动态，1998，**6** (5)：55～61.

[2] 薛丽梅，王　非，韩大维，等．化学与粘合，2000，**1**：38～40.

[3] 周荣清，郭祀远，李　琳．食品与发酵工业，2001，**27** (12)：16～19.

[4] Van Hamersveld E H, Van der Lans R G J M, Luyben K C A M. Biotechnology and Bioengineering, 1997, **56** (2): 191～199.

[5] Hong K N, Na Y P, Lee S H, *et al*. International Journal of Food Microbiology, 2002, **74**: 65～72.

[6] 王剑锋，李　慧，张业旺．中成药，2001，**23** (10)：707～710.

[7] Mohammed A, Weir S, Moody G. Filtration & Separation, 2000, **10**: 24～27.

[8] 赵彦修，张露茜．微生物学通报，1994，**21** (1)：3～5.

[9] 梁为民．凝聚与絮凝．北京：冶金工业出版社，1987．8～41.

[10] 马青山，贾　瑟，孙丽珉．絮凝化学和絮凝剂．北京：中国环境科学出版社，1988.132.

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部　http://journals.im.ac.cn