

膜分离技术在海洋生物活性物质分离纯化中的应用

沈江南¹, 陈万里¹, 吴礼光²

(1. 浙江工业大学 化学工程与材料学院, 浙江 杭州 310032; 2. 国家海洋局杭州水处理中心, 浙江 杭州 310027)

摘要: 海洋生物活性物质的研究过程中, 分离提取是关键步骤之一。海洋生物种类繁多, 但其含量低微, 提取技术有很多, 如沉淀、结晶、吸附、萃取、膜法和离子交换等。膜分离技术具有设备简单, 常温操作, 无相变及化学变化, 选择性高及能耗低等优点, 作为一门新型分离技术日益受到人们的重视。选择适当分离膜、操作参数和操作模式, 即可实现活性物质的浓缩、分离与纯化。特别适用于热敏性物质和生物活性物质的处理, 因而在海洋天然产物有效成份分离提取中有着极为广阔的应用前景。笔者将近年来国内膜分离技术在分离纯化海洋生物活性物质中应用的最新研究进展作较为详细的介绍。

关键词: 膜分离技术; 海洋生物活性物质; 浓缩; 纯化

中图分类号: TQ028; R283

文献标识码: A

文章编号: 1006-4303(2007)06-0595-05

Application of membrane separation technology in separation and purification of marine biomaterials

SHEN Jiang-nan¹, CHEN Wan-li¹, WU Li-guang²

(1. College of Chemical Engineering and Materials Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China;

2. The Dev. Center Water Treat. Tech. State Ocean Administration, Hangzhou 310027, China)

Abstract: Separation and abstracting process is one of the key steps during investigation of marine biomaterials. The kinds of the marine biomaterials are various, but their contents are very low. There are a lot of separation and abstracting technologies, such as precipitation, crystallization, adsorption, extraction, membrane separation ion-exchange and so on. Membrane separation technology has attracted great attention due to its advantages such as simple equipment, room temperature operation, non-phase change, high selectivity and low energy cost. The concentration, separation and purification of biomaterials could be achieved by using this technology through choosing proper membrane, process parameters and mode. As membrane separation technology is especially suitable for the treatment of both thermosensitive materials and biomaterials, it has a very capacious application perspective for the separation and abstracting of effective contents in marine biomaterials. The recent application advancement of membrane separation technology in separation and purification of the marine biomaterials is introduced in detail in this paper.

Key words: membrane separation technology; marine biomaterial; concentration; purification

收稿日期: 2007-03-15

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973 计划)资助项目(2003CB15706); 浙江省博士后基金择优资助项目(20060803)

作者简介: 沈江南(1976—), 男, 浙江上虞人, 博士, 主要从事膜分离技术及生物活性物质的分离。

0 前言

膜技术是利用膜对混合物中各组分的选择渗透性能的差异, 来实现分离、提纯和浓缩的新型分离技术, 是一门崭新的跨学科实用化技术^[1]. 40 多年来, 电渗析、反渗透、微滤、超滤、纳滤、渗透汽化、膜接触和膜反应等过程相继发展起来, 在能源、资源、电子、石化、医药卫生、重工、轻工、食品、饮料行业和人民生活及环保等领域均获得广泛的应用, 产生了显著的经济和社会效益. 社会的需求使膜技术应允而生, 也是社会需求促使膜技术迅速发展, 使膜技术不断创新、进步、完善, 成为单元操作, 成为集成过程中的关键, 膜分离技术得到世界各国普遍重视, 并已发展成为重要的产业, 被认为是 20 世纪末到 21 世纪中期最有发展前途的高新技术之一^[2].

1 膜分离技术简介

微滤以压力为推动力, 以滤膜截留作为基础的高精密过滤筛分机理, 孔径约为 $0.01 \sim 10 \mu\text{m}$, 主要应用于澄清技术, 将悬浮的粒子和溶解的溶质分离. 超滤膜为非对称多孔膜, 以低压力为推动力, 使小于膜孔径的物质透过膜而使大于膜孔径物质被截留, 从而实现料液的分离和提纯. 超滤膜截留分子量范围为 $1\,000 \sim 100$ 万左右, 主要应用于净化、浓缩、分级大分子或细小胶体物. 反渗透也以压力为推动力, 利用致密半透膜的选择透过性, 使不同组份(主要是水和离子)得以分离. 反渗透截留所有的非溶剂组分, 其实质是脱水技术. 纳滤是介于反渗透和超滤之间的一种膜分离过程, 其孔径范围在纳米级, 其相对分子质量截留范围约为 $150 \sim 2\,000$. 纳滤膜多为荷电膜, 对不同电荷和不同价态的离子具有相对不同的 Donnan 电位, 除可截留糖和小分子外, 还可通过膜电荷与溶质间的作用排斥二价盐和解离的有机酸. 图 1 示出了各种膜分离过程的分离机理.

海洋天然活性物质主要包括: 多糖、多肽、脂肪酸、生物碱、皂甙、萜类、大环聚酯、聚醚类等化合物, 具有化学结构的复杂多样性及高的生物活性等突出特点, 是筛选新药最丰富的资源. 在海洋生物活性物质的研究过程中, 分离纯化是关键步骤之一^[3,4]. 海洋生物种类繁多, 但活性物质含量甚低, 其提取技术有很多, 如沉淀、结晶、吸附、萃取、离子交换和膜分

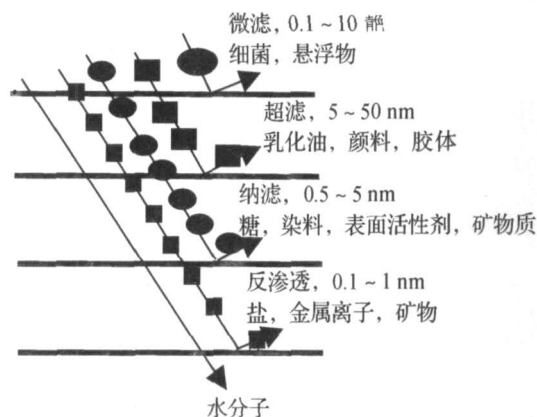


图 1 各种膜过程的分离机理

Fig. 1 The separation mechanism of various membrane separation technology

离等. 天然产物有效成分分离纯化的难点在于: 天然产物有效成分含量低, 难于富集; 体系复杂, 大分子和小分子, 生命和非生命物质共存, 特别是存在结构相近的异构体, 分离纯化难度大; 许多天然产物热敏, 易水解等. 膜分离技术具有设备简单, 常温操作, 无相变及化学变化, 选择性高及能耗低等优点. 笔者将近年来国内膜分离技术在分离纯化海洋生物活性物质中应用的最新研究进展作较为详细的介绍.

2 膜分离技术在海洋生物活性物质分离纯化中的应用

2.1 海藻糖的提取

海藻糖是由两个葡萄糖分子结合成的非还原性双糖, 广泛存在于酵母、霉菌、昆虫和植物体内, 尤其在酵母中含量丰富, 干基含量可达 16% 以上^[5].

传统的海藻糖提取工艺采用乙醇溶剂从酵母中提取, 然后经重金属盐除蛋白, 再经离子交换、真空浓缩、乙醇结晶、干燥制得, 但存在有机溶媒消耗量大, 溶剂回收困难, 生产成本低且产生大量无机废水污染环境等缺点. 与常规提取方法相比, 膜分离技术具有分离效率高, 条件温和, 流程简单, 能耗小, 清洁无污染等优点, 因此近年来发展尤为迅猛. 将膜分离技术应用于活性物质的分离纯化研究也十分活跃, 是膜分离技术重点推广的应用领域之一. 海洋生物多糖的分离提取工艺包括微生物发酵、超滤除去微生物、酶液与底物溶液一起在反应器中反应, 然后再以超滤除去高分子物质, 如酶、糖; 浓缩低分子组分, 分级得到不同分子量的海藻生物多糖^[6].

韩少卿等^[7]采用超滤-纳滤膜集成技术对活性

干酵母溶液中的海藻糖进行提取研究,其提取工艺如图2所示.结果表明:截留分子量(MWCO)为5000的卷式芳香聚酰胺超滤膜可截留约98%以上的蛋白质,起到纳滤预处理的作用.MWCO为300的卷式芳香聚酰胺纳滤膜对超滤液进行纳滤预浓缩和渗滤操作,发现浓缩过程通量随压力的增加而增加,随浓缩时间的延长而迅速下降,海藻糖截留率变化不大;而且渗滤过程表明渗透通量随渗滤时间的延长略有增加,海藻糖截留率变化不大.经过超滤—纳滤处理,海藻糖提取率达85%以上,纯度为99.4%,产品质量和收率优于传统乙醇提取方法.

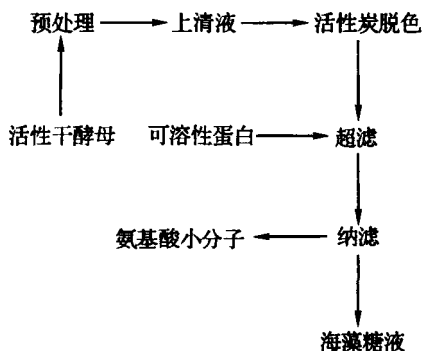


图2 超滤—纳滤集成膜过程提取海藻糖的工艺流程图

Fig. 2 The technological process of abstracting sodium acetylide using ultrafiltration & nanofiltration mechanism integration technology

在超滤—纳滤膜集成提取工艺中,采用超滤膜分离技术除蛋白,与传统的除蛋白工艺相比,不仅避免消耗酸碱和重金属,不会对用作食品、生物试剂的海藻糖产生二次污染,经过超滤,海藻糖透过率高达93%,蛋白质截留在98%以上,且截留得到的蛋白和多肽混合物与离心分离的废酵母经酶法自溶,再经离心过滤,将所得的上清液进行真空浓缩得到膏状产品,或经喷雾干燥得粉状产品,即为酵母味素.酵母味素是一种天然调味料,具有营养丰富、味道醇厚、香气浓郁等特点,为酵母的综合利用提供一个值得借鉴的好方法.纳滤浓缩、脱盐替代常规的离子交换除盐、蒸发浓缩两个单元操作,改善了酸碱再生树脂所带来的大量无机废水污染环境的缺点,同时大大节约溶剂回收的费用,实现清洁无污染生产.同时,他们分析了纳滤预浓缩过程渗透通量衰减较快的原因,发现膜表面的氨基酸、无机盐形成的污垢层是主要原因,渗滤过程起到了较好的纯化作用,和预浓缩过程比较,膜分离特性差别较大.

2.2 甘露醇的分离纯化及海带制水提取甘露醇

甘露醇(mannitol)学名己六醇,又称D-甘露醇.

木蜜醇,是一种重要的精细化工原料,在医药、食品、纺织、化工等方面有广泛应用.

天然甘露醇是海藻工业的主要产品之一,其传统精制工艺流程如图3所示^[8].

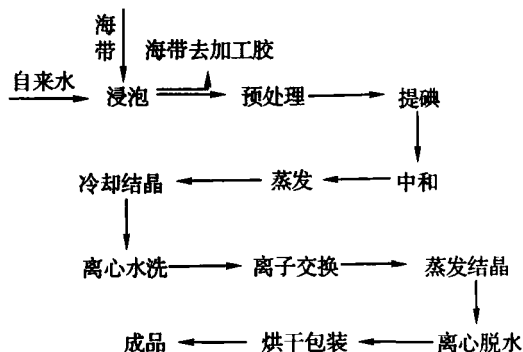


图3 海带提取甘露醇的传统工艺流程

Fig. 3 The traditional technological process of abstracting mannitol from sea-tangle

我国从海带中提取甘露醇的传统工艺是离心水洗重结晶法.由于海带浸泡水中除了含甘露醇外,尚含有大量泥沙、悬浮物、无机盐、褐藻糖胶、有机物、色素等杂质.仅靠离心水洗和活性炭吸附很难将其去除干净.而且在用海带提取甘露醇的传统工艺中,海带浸泡液中的甘露醇浓度必须由约1%蒸发浓缩到15%以上,才能使甘露醇结晶析出,不但能耗大,而且浸泡、浓缩、提纯等工序繁琐.另一方面,传统工艺的得率和纯度也较低.为此,国家海洋局杭州水处理中心的薛德明等^[9-11]利用膜分离技术取代传统工艺的提纯、浓缩等繁琐步骤,克服了传统工艺的诸多弊端.

同时,海藻加工企业是一类用水量很大的企业.每生产1t褐藻胶需耗自来水近100t.同时又是一类废水排放量很大的企业.在我国有不少企业将提碘后的海带浸泡水作为工业废水直接排放.这不仅严重污染生态环境,而且使宝贵的药用原料甘露醇白白地浪费.据统计,目前全国海藻加工企业约有30多家.其中2/3以上的企业,天天排放这种废水,年排放量达上百万吨,造成了水和甘露醇资源的大大浪费.对该种废水进行资源化处理,从中提取甘露醇的传统方法是离心水洗重结晶法,既耗能高又费力,而且生产成本低,得率低.海带浸泡水中的甘露醇含量仅在1%左右,制备1t甘露醇大约需耗蒸汽60t.由于传统工艺生产成本低,企业经济效益低,甚至还要亏损.因此,改革落后的传统生产工艺势在必行.国家海洋局杭州水处理中心历时多年开发成

功了膜法集成技术制取甘露醇的新工艺, 对传统工艺进行了突破性改造, 取得了很好的社会效益和经济效益. 该项膜集成工艺制取甘露醇新技术采用了多项国家发明专利技术, 例如对海带浸泡水进行絮凝和固液分离方法的预处理技术, 采用超滤净化、电渗析脱盐和反渗透预浓缩的膜集成工艺制取甘露醇技术, 电渗析电极技术等^[12]. 在经过小试、中试研究、工业化工艺参数试验研究取得成功的基础上, 2001 年 12 月在青岛胶南明月海藻工业有限责任公司建造了世界上第 1 条年产 1 000 t 甘露醇的示范工程, 其工艺流程如图 4 所示.

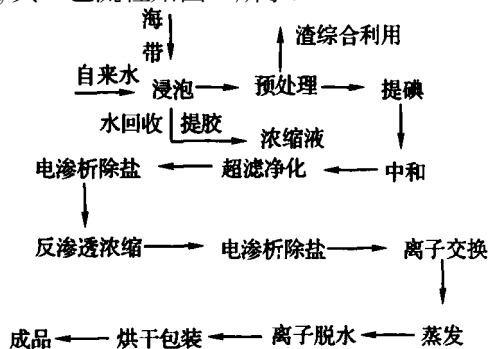


图 4 膜集成技术提取甘露醇的工艺流程图

Fig. 4 The technological process of abstracting mannitol

using mechanism integration technology

2.3 海藻酸钠的提取

海藻酸钠是由海带、马尾藻等可食用的海洋藻类植物提取出来的高附加值海洋生物产品, 其中含有海洋所特有的天然绿色成分^[13]. 由于海藻酸钠具有增稠、悬浮、乳化、稳定、形成凝胶和成膜的特性, 因此被广泛应用于食品、医药、燃料、橡胶、造纸、电焊等工业领域. 目前世界范围内提取海藻酸钠的工艺可分为四种, 分别为酸凝酸化法、钙凝酸化法、钙凝离子交换法、酶解提取法^[14]. 但是目前工业提取海藻酸钠的现行工艺复杂、生产成本低、降解非常严重, 从而使粘度和平均收率普遍较低. 优化生产工艺, 提高产品质量势在必行.

袁秋萍等^[15]采用膜集成技术对海藻酸钠的提取新工艺进行了探索研究, 得出了较理想的海藻酸钠的提取新工艺. 先用 4% 的甲醛溶液浸泡海带 6 h, 用 2% 的 Na_2CO_3 溶液常温消化, 5% 的 NaClO 溶液脱色 6 h, 然后用 10% HCl 溶液沉淀出海藻酸, 再用 1% 的 NaCO_3 溶液中和海藻酸胶块, 接着采用膜分离技术超滤后加入无水乙醇析出絮凝状海藻酸钠, 最后烘干至恒重, 粉碎得海藻酸钠成品. 将膜处

理技术合理应用到海藻酸钠提取工艺中, 可以降低生产过程中的能耗, 降低对海藻酸钠纯度和没有粘度贡献的杂质含量, 提高海藻酸钠产品质量. 其工艺流程如图 5 所示.

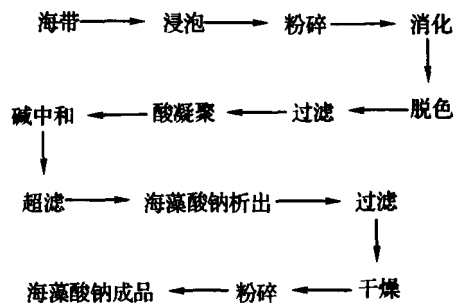


图 5 海藻酸钠提取工艺

Fig. 5 The abstracting technology of sodium acetylide

3 膜分离技术在其他海洋生物活性物质的提取

海洋生物体内存在着一些肽类和蛋白质, 它们具有很高的抗肿瘤、抗菌、抗病毒以及抗凝血等活性, 如从鲨鱼肝脏中分离到的一种肝刺激物质, 可以明显抑制乙肝病毒模型鸭血清中 HBV 的 DNA 水平, 并可以显著抑制 CCl_4 致肝损伤模型小鼠血清中 ALT 和 AST 活性, 具有明显的保肝护肝功能. 吴梧桐等^[16]采用均浆-热提-超滤-凝胶过滤层析-离子交换层析的技术路线, 从 1 kg 鲨鱼幼肝中分离得到 30~50 mg 左右的肝刺激物质(sHSS), 其纯度达 90% 以上, 可以满足后续临床药学研究对样品的要求.

贻贝粉酶解液的分离处理至关重要, 直接影响到最终产品的质量、特性及使用价值. 采用传统的筛网过滤法制得的汁类调味料, 除腥苦味重、色泽不佳外, 在放置过程中常易出现沉淀分层现象, 用这种滤液制得的粉末状制品, 则粉体粗糙, 外观、色泽不佳, 有腥苦味, 易吸潮、结块. 采用离心法处理, 可有效去除颗粒性杂质、某些大分子不溶性物质、有机胶体等, 但酶解液仍较混浊, 且色泽、风味没有太大改观, 还需进一步用大量活性炭处理. 而采用活性炭脱色, 除氨基酸、小分子肽有一定损失外, 某些风味成分也有损失, 从而影响成品的营养价值. 超滤分离作为一种无污染、低能耗的高新技术, 日益受到国内外研究者的关注. 汪涛等^[17]以聚砜中空纤维为膜材料的超滤装置对扇贝边酶解液进行分离, 分析了酶解液超

滤分离过程中的影响因素,并在超滤过程中采用间断循环清洗的方法,可提高膜分离效率.经超滤的酶解透液在色泽、风味、澄清度等方面均理想,营养成分保持较好,氨基酸态氮保存率较高,可达92.9%.叶眉等^[18,19]以脱酯贻贝粉为原料,采用超滤对酶解液进行了脱色处理,同时去除酶解液中未水解的蛋白质等大分子物质,所得复合产品中有效氨基酸含量为90.9%,灰份为0.38%,得率为20%.

海洋中的鱼经蒸煮、粉碎、过滤、离心、烤干等工序制成鱼粉,离心出的废水其固形物达17%~18%,其中含盐量为3%~4%,除了鱼粉和盐外,还有很多氨基酸.采用电渗析除去盐,然后蒸发、浓缩,制成鱼粉蛋白.这样既可以回收废水中的有价值产品,又解决了废水排放污染问题.曲敬绪等^[20]采用离子交换膜电渗析处理鱼粉废水的脱盐,在技术上是可行的,采用盐酸调其等电点和利用国产均相膜,可使鱼粉废水的脱盐率达90%以上,其有机物的损失率可控制在2%以下.

4 结束语

开发海洋,充分利用海洋资源是当今科技发展的重要方向.膜分离技术(包括微滤、超滤、纳滤、膜分离技术集成、膜分离与其他技术集成)是21世纪现代分离技术中重点研究、开发和应用的技術之一,因其在常温下操作、无相变、能耗低等优点,特别适用于热敏性物质和生物活性物质的处理,因而在海洋天然产物有效成份分离提取中有着极为广阔的应用前景.当然在膜分离技术应用过程中也存在着一些问题,如膜通量衰减、膜污染等.但可以相信,随着膜材料和膜分离技术不断系统、深入的研究,适合于不同天然产物为对象的新的膜材料、新的膜分离过程及膜集成技术、膜与其他分离集成技术一定会不断开发出来,膜科学技术必将在海洋天然产物分离现代化进程中发挥更重要的作用.

参考文献:

- [1] 时钧,袁权,高从堦.膜技术手册[M].北京:化学工业出版社,2001.
- [2] 朱长乐,刘茉娥.膜科学与技术[M].杭州:浙江大学出版社,1992.
- [3] 司玫,展翔天.海洋生物活性物质研究进展[J].中国海洋药物杂志,2003,(6):46-50.
- [4] 白兰莉,蒋柏泉,肖正强,等.膜分离技术在天然产物有效成份分离中的应用[J].江西化工,2004,(4):6-8.
- [5] 赵美法.我国甘露醇生产、市场分析及发展建议[J].化工科技市场,2004,(1):2-7.
- [6] 韩少卿,慈龙剑,陈贵锐,等.膜法酵母提取海藻糖应用初探[J].中国调味品,2004,(9):21-25.
- [7] 葛文光,余晓雨,唐传核.海藻糖提取工艺研究[J].食品科学,1998,19(2):21-24.
- [8] 薛德明,王炳南,刘洪武,等.采用超滤技术纯化甘露醇[J].水处理技术,2002,28(5):284-287.
- [9] 薛德明.膜集成工艺处理海带废水制取甘露醇技术[J].化工技术经济,2002,(11):49.
- [10] 薛德明,王炳南,陈益棠,等.膜集成技术提取甘露醇的工业化运转报告[J].水处理技术,2004,30(6):348-351.
- [11] 薛德明,王炳南,周萍,等.从海带浸泡液中提取甘露醇的方法:中国,ZL941093522[P].1995-11-29.
- [12] 周萍,薛德明,王炳南.一种改进的海带浸泡液的净化方法:中国,ZL941068935[P].1995-03-01.
- [13] 郭少青,宋凌皓.海带联产碘、甘露醇、海藻酸钠的生产与市场前景[J].精细与专用化学品,1997,(1):1-3.
- [14] 王孝华,聂明,王虹.海藻酸钠提取的新研究[J].食品工业科学,2005,(11):146-148.
- [15] 袁秋萍,朱小兰.海藻酸钠提取新工艺研究[J].食品研究与开发,2005,26(5):98-100.
- [16] 吴梧桐,郭昱,王友同.防止肝病的鲨鱼肝刺激物质及其制备方法:中国,ZL991144635[P].2000-09-28.
- [17] 汪涛,曾庆祝,叶于明.采用超滤技术分离扇贝边酶解液[J].中国水产科学,2002,9(3):255-259.
- [18] 叶眉.贻贝粉酶解液中系统提取分离氨基酸[J].中国水产科学,1996,3(1):72-78.
- [19] 叶眉,高昕.贻贝粉酶解液提取复合氨基酸[J].海洋科学,1996,(1):56-60.
- [20] 曲敬绪,张国亮,吴国锋.电渗析回收鱼粉蛋白的实验[J].水处理技术,2001,27(1):37-38.

(责任编辑:刘 岩)