

生物工程中的膜技术新进展

毛建卫¹,崔艳丽²,万长春²

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学系, 浙江 杭州 310012;2. 浙江大学 化学系,浙江 杭州 310027)

摘 要: 介绍了超滤、纳滤、反渗透、离子交换膜分离、渗透汽化、气体分离、膜蒸馏、亲合膜分离、膜生物反应器等膜技术在生物工程中应用研究的新进展。

关键词: 生物工程; 膜; 应用

中图分类号: TQ028.8;Q503 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-8798(2003)03-0162-05

现代生物技术是新兴高科技领域最重要的三大技术之一,是由基因工程、细胞工程、酶工程和发酵工程四大先进技术所组成的新技术群。生物技术产业将成为 21 世纪的主导产业之一,在生物技术走向产业化过程中包括上游和下游两部分技术,上游是指菌种、细胞培养和发酵工艺,下游是指生物反应器及其放大问题、工艺条件和在线控制、产物分离提纯设备和技术等。上游是基础,下游是支撑,要坚持上下游结合,优先发展支撑技术。国外在生物反应器、生物传感器、分离提纯等方面已大量采用了膜技术。

膜产业将是 21 世纪新型的高科技产业之一,其应用必将极大地推动相关行业的技术进步。在国际上明确指出“在 21 世纪的多数工业中,膜过程将扮演着战略的角色”。

在生物工程中,发酵液是含有生物体、可溶性大分子和电解质等的复杂混合物。膜分离技术由于具有设备易于放大、操作方便、常温无相变、无化学变化、处理效率高、省能、三废少等优点,从而使其能在生物产品分离、提纯和纯化过程中发挥重大作用。在生物工程过程中的几种主要膜过程应用见表 1^[1]。

表 1 在生物工程过程中的几种主要膜过程应用

名称	膜类型	推动力	应用实例
微滤 MF	多孔膜	压力差	溶液除菌、果汁澄清、细胞收集
超滤 UF	非对称膜	压力差	溶液除菌、除水中热原、酶及蛋白质分离、浓缩、纯化
纳滤 NF	非对称膜、复合膜	压力差	分子量为 100~1 000 左右有机物、糖、氨基酸浓缩分离
反渗透 RO	非对称膜、复合膜	压力差	酒精、糖、氨基酸浓缩
电渗析 ED	离子交换膜	电位差	氨基酸、有机酸脱盐、分离
渗透蒸发 PVAP	均质膜、非对称膜、复合膜	浓度差、分压差	有机溶剂脱水、有机液体分离
气体分离 GS	均质膜、非对称膜、复合膜	分压差、浓度差	酸性气、O ₂ 、N ₂ 等分离
渗析 DA	对称或不对称膜	浓度差	除盐、除水分子等
乳化液膜 ELM	液膜	浓度差、pH 差	氨基酸分离等

1 MF、UF、RO、NF 等膜技术^[2,3]

MF、UF、RO、NF 均以压力差为动力进行液体分离、浓缩,在生物工程中的应用如图 1 所示。

收稿日期: 2003-04-08

基金项目: 国家教育部重点科学研究项目(2002-2003)

作者简介: 毛建卫(1964—),男,浙江宁波人,高级工程师,化工硕士,主要从事药物、食品添加剂合成和生物工程、膜分离技术的研究。万长春系浙江大学化学系 01 级研究生。

用 RO 或 UF 净化水中有害离子或胶体、大分子物质,用 MF 过滤空气、除去微生物,用 GS 制备富氧气体供应,用 MF 或 UF 收集细胞,用 UF 或 MF 过滤介质与培养基,除去微生物与大颗粒物,用 UF 浓缩产品与脱盐或小分子有机物,用 DA 进行产品脱盐或小分子有机物。

1.1 大豆低聚糖的提取^[4]

大豆低聚糖对人体有特殊的保健作用,它可促进肠道双歧杆菌增殖,提高免疫力。利用膜分离技术可将大豆低聚糖从乳清废水中提取出来并使排放水得到净化。我国已有工业化技术突破,膜法提取大豆低聚糖工艺流程如图 2。

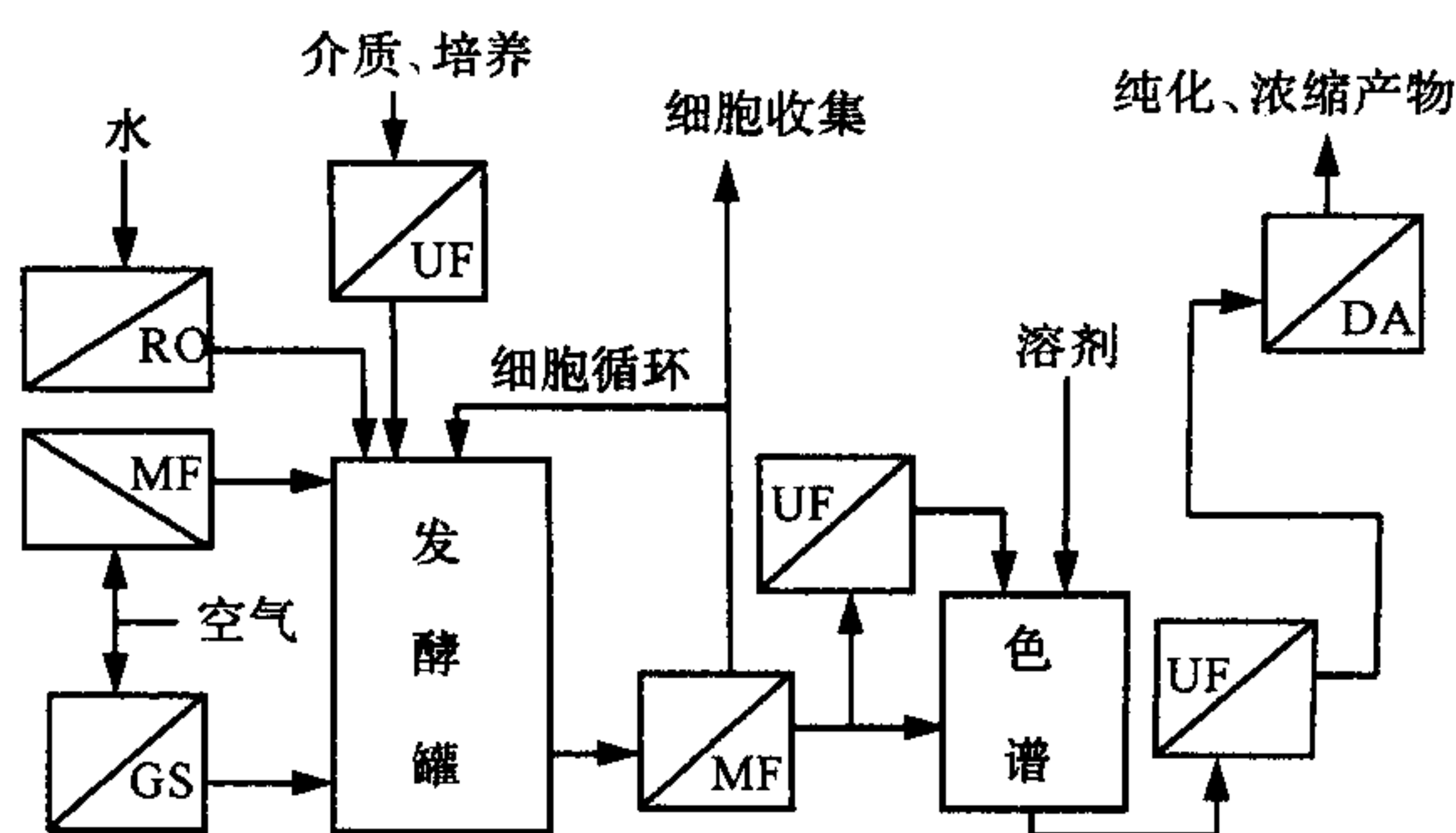


图 1 生物工程中膜分离技术应用示意图

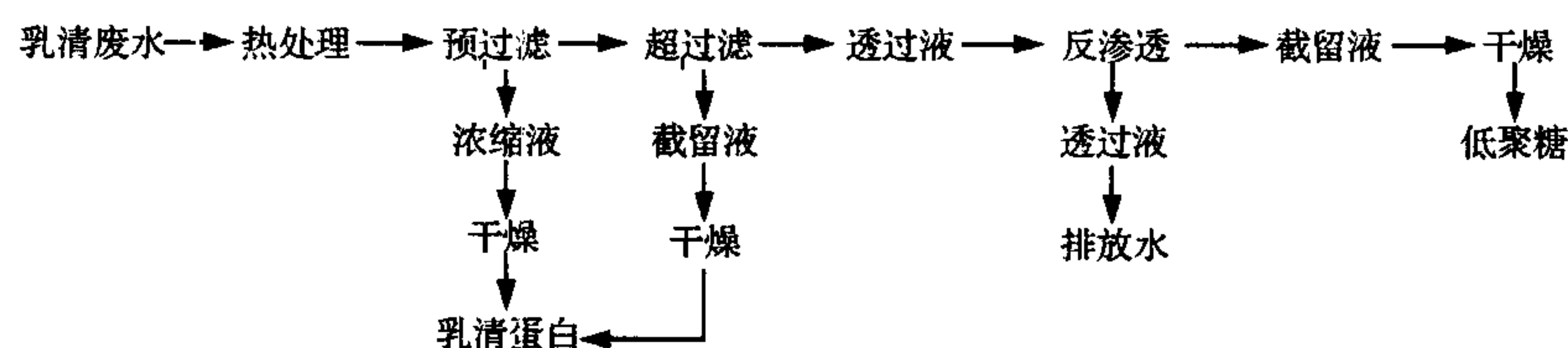


图 2 膜法提取大豆低聚糖工艺流程

目前,我国大豆分离蛋白生产能力已近 7 万 t,如果将这一技术在产业中尽快推广应用,并在提取低聚糖的同时提取黄酮、回收淀粉等,同时开发膜技术在植物蛋白和各种奶制品中的应用,将对我国这两个产业的科技进步、产业发展起到十分积极的推动作用。

1.2 膜分离法制备腺苷蛋氨酸(SAM)^[5]

SAM 是一种天然、安全、高效的生物医药和保健品,用于护肝、保肝,促进睡眠,促进皮肤再生,治疗神经性失调等,由于其技术难度大而使产量受限,每吨售价达千万元以上。因其具有特殊的保健和治疗功能,故发展前景十分广阔。于是,采用膜分离工艺制备 SAM 将有十分显著的优势,其工艺如下:

- (1) 培养酵母:加入酵母、蛋氨酸等,通空气发酵,使 SAM 含量达 12 ~ 20 g/kg。
- (2) 对酵母菌进行溶菌处理,并加入硫酸成盐。
- (3) 对(2)步得到混合液进行 UF 膜分离,再经弱酸离子交换树脂处理。
- (4) 将洗脱液进行 RO 膜处理,使 SAM 浓度上升到 100 ~ 200 g/L 再喷雾干燥。

UF 过程的目的是除去蛋白质,以避免黏附在树脂上,使活性不断降低。采用 RO 过程,使大量的水和硫酸均被除去,RO 过程可在 20℃ 进行,对十分不稳定的热敏性 SAM 极重要。并且,游离的多余硫酸也能被膜分离脱除,避免了采用落后的 Ba(OH)₂ 沉淀法。

2 离子交换膜分离技术

2.1 反馈式离子交换膜分离技术^[6,7]

反馈式离子交换膜分离技术是笔者研究开发的新型离子膜分离技术,已工业应用于氨基酸等数项生物化工分离脱盐工艺中。由于氨基酸在非等电点时发生电离,在 ED 法氨基酸脱盐分离中,氨基酸会被迁移失去,需采用等电聚焦技术,而等电聚焦在产业化中实施极难,故一直难以工业化。采用反馈式离子交换膜分离技术,由于部分迁移过去的氨基酸在反馈系统中能返回,故不需等电聚焦,使产业化成为可行。

氨基酸在食品、医药等行业具有广泛用途,需求量很大。该技术开发难度较大,我国从“六五”一直到“十五”已投入大量经费进行的研究开发。氨基酸生产中一般含较高浓度的电解质,分离十分麻烦;然而,采用离子交换树脂法,需大量酸碱再生,三废量大,分离液浓度低,工艺繁杂,成本高,浓缩量大。采用新型反馈式离子交换膜分离技术进行氨基酸反应液分离脱盐,效率高,基本无三废,不用外加酸碱等原料,分离液浓度高,浓缩量小,操作方便,成本低,因此膜分离法具有很大的优势。

2.2 双极性膜电渗析技术^[8,9]

双极性膜电渗析是利用双极性膜在直流电场作用下使水解离成 H^+ 和 OH^- , 将盐转化成相应的酸和碱, 效率高, 废物排放少, 原料可回用, 是电渗析技术重点发展方向之一。可应用于生物发酵法生产葡萄糖、古龙酸、乳酸、柠檬酸等酸化过程中。开发性能优良的双极性膜是该技术产业化的关键, 国外已部分商品化。

该技术应用于生物发酵法生产维生素 C 中, 可取代传统的硫酸酸化法和离子交换树脂法。将水解离成 H^+ 和 OH^- , H^+ 和 VcNa 中的酸根结合得 Vc, 过程简化, 能耗低, 操作方便, 无污染, 回收副产物 NaOH, 投资大幅度降低。按新建年产万吨计, 可节省投资 1 亿元, 降低成本达 20% ~ 25%。

3 渗透汽化膜分离技术^[10~12]

渗透汽化技术是指被分离物通过膜时, 在膜两侧组分的蒸汽分压差作用下, 液体混合物部分汽化, 从而达到分离目的的膜分离技术, 是膜技术研究开发的重点。在国外已工业应用于生物发酵制取无水乙醇中。由于醇水存在共沸, 传统工艺需发酵后两级精馏分离, 周期长, 能耗大。渗透汽化法分离效率高, 能耗小。国内近期也已有中试突破。

乳酸酯可从玉米发酵制造, 是极好的溶剂, 无毒, 沸点高, 不易挥发, 特别是可以生物降解, 被称为“绿色溶剂”。它可以取代世界上 80% 以上的卤代烃等有毒溶剂, 市场极大。美国每年单卤代烃溶剂就有 8 万 t 排放到空气中。乳酸酯还大量用于食品工业等。但传统的生产工艺, 成本高。Argonne National Lab (ohio) 新开发采用渗透汽化膜分离法可一步法生产乳酸酯。工艺如图 3 所示。

该工艺技术近期可达到部分产业化, 将能够成功地代替目前世界上数以亿磅计的有毒石油基化学品。

4 气体分离膜技术^[10,12]

气体分离膜技术产业化应用是近十年的事。已工业应用于富氧、浓氮、脱酸性气等。用膜法富氧, 与深冷法或 PSA 法相比具有设备简单, 操作方便、安全, 不污染环境, 成本低, 投资少等优点。对生化反应来讲, 用膜法富氧代替空气, 气体处理费用低, 环境污染少, 反应速度快, 处理量或产量高。如用 28% 的富氧空气代替空气用于生化反应, 产量和收率均提高 10% 左右。

虽然我国果蔬保鲜和运输技术已有所进步, 但每年大量的果蔬在从田间进入市场的过程中仍有 30% 左右出现腐烂变质。而膜分离制氮的气

调保鲜运输车的推广将有利于提高我国上市果蔬的新鲜度及新鲜水果的出口创汇, 并可大大减少果蔬在储运过程中的损失与浪费。采用膜分离制氮技术制造气调冷藏保鲜车, 解决了燃烧丙烷制氮和利用分子筛吸附的变压吸附制氮机体积庞大的难题, 改变了常规的果蔬采收后进入冷库储存的繁琐方法, 使果蔬在采摘后经预冷、灭菌防腐等预处理立即进入气调保鲜车直接送往市场。其车内恒温、恒湿的特定环境可使果蔬在运输过程中减缓新陈代谢作用, 保持水分及良好的外观和营养成分, 开封时与新摘时别无两样。

可生物降解材料是国内外清除白色污染而大力发展的产品, 但大规模产业化产品尚未实现。聚酯 3 是一种可生物降解的膜, 是取代聚乙烯的理想材料。聚酯 3 原采用聚交酯法制备, 已证明不能工业化, 而采用 $CH_2=CH_2 + CO \rightarrow$ 聚酯 3 的路线, 其技术关键问题是 CO 的膜法分离技术。国外正在大力攻关, 该法可望发展成 200 亿美元的产业。

5 膜蒸馏技术^[13]

膜蒸馏技术是疏水性的微孔通过温差分离挥发性物质的一种膜过程, 与其他膜分离过程相比, 具有操作简便, 设备简单, 可在常压、低温下进行的优点, 可以利用太阳能、地热、温泉等廉价的天然低温能源的能量, 只有水蒸气能通过膜孔, 膜蒸馏过程十分纯净, 并具有以高效率的小型组件构成大规模生产体系的灵活性。

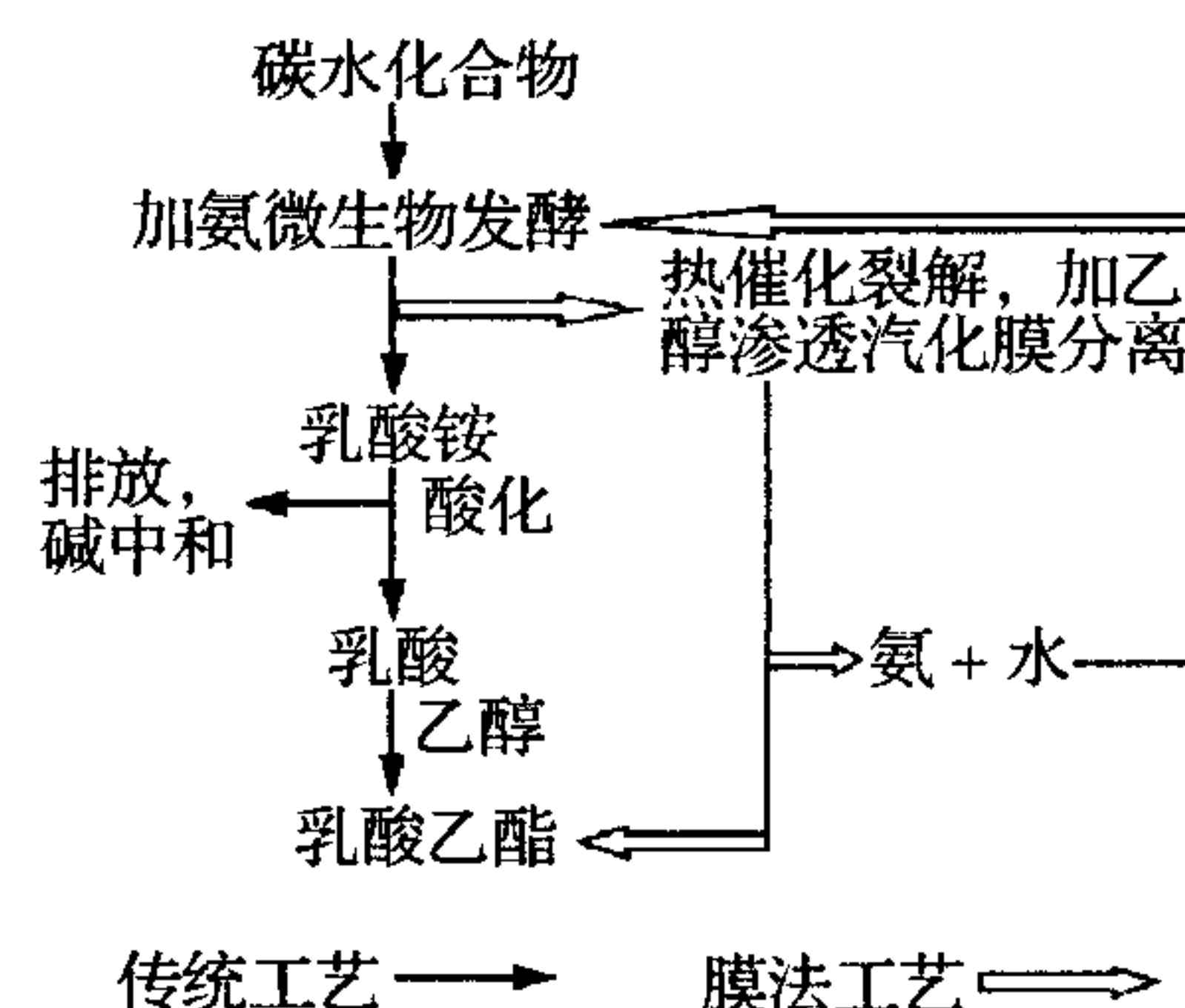


图 3 乳酸乙酯的两种生产工艺图

透明质酸是一种重要的医药、食品及精细化工原料,可用于白内障手术,对保护角膜,减轻手术创伤,促进伤口愈合有重要作用。透明质酸也是制备隐形眼镜、眼球移植的主要原料之一,还可用于治疗关节炎及诊断肝硬化等。

透明质酸在国际市场上极为畅销,药用透明质酸价格已达 20 万美元/t。国内年产量很低,产品出口供不应求。国内透明质酸主要从牛眼、鸡冠中提取,由于原料所限,无法形成规模。采用发酵法生产透明质酸可形成生产规模。透明质酸属于热敏性的物质,在温度大于 40℃时会自然分解,发酵液的分离浓缩不能采用一般蒸发加热方法,目前主要采用冷冻干燥的方法。该方法的缺陷是设备投资大,能耗高及产品收率低。膜蒸馏技术为分离浓缩热敏性物质带来了可能,常温下就能实现。

应用气隙式膜蒸馏分离技术及孔径为 0.2 μm 的聚四氟乙烯微孔疏水平板膜组件浓缩分离透明质酸热敏性水溶液,可使原料液浓度提高 1.6 倍以上,透明质酸截留率为 80%。显示了常温下分离浓缩的优越性。

6 亲和膜分离技术^[14,15]

随着基因生物工程的发展,具有高分离效率的大规模初分离手段需求日益迫切。虽然超滤分级已显示其特点,但其纯化效率尚较低。亲和色谱是纯化基因工程产品关键手段,它具有极高纯化效率,但它致命弱点是处理量小、工业化困难、载体制备昂贵。超滤亲和分离技术是把超滤技术优点与亲和技术优点结合起来的一种分离技术,它具有分离纯化效率高和易于大规模工业化的优点,其工艺包括四个步骤。

亲和结合阶段:把去除颗粒物后的粗料液与大分子亲和基混合,大分子亲和基与欲分离的生物产品分子有选择地发生亲和结合,形成高分子量的复合物。

洗涤阶段:用选择合适截留分子量的超滤膜进行透滤,由于复合物分子量远大于溶液中其他成分,所以仅复合物被截留而得到纯化。

解离阶段:采用加入低分子亲和基或改变溶液条件如 pH、离子强度等方法使复合物解离,并进行超滤。于是解离下的产品分子透过膜,进一步采取浓缩、纯化便得到产品。

再生阶段:解离后的大分子亲和基溶液用超滤法除去低分子亲和基或使溶液条件恢复原始状态,以备再用。

亲和膜利用配基与被分离物的亲和作用,在不同条件下进行亲和和分离,故可以广泛用于干扰素、内毒素、酶、蛋白、抗体和抗原等的分离。

有生理活性的手性异构体药物等其生产步骤多,总收率低,其中还有一半是无效的,如采用亲和膜等膜法回收再用,则现生产的每一种手性药物都可有 4~8 亿美元效益。据预测,随着该膜法技术的产业化发展,2020 年前美国制药行业可新增 50~100 亿美元效益。

7 膜生物反应器技术^[14]

膜反应分离技术将成为膜技术的一个新领域。膜催化、膜反应技术与传统的反应技术相比,反应转化率不受化学平衡转化率的限制,能提高复杂反应的选择性。反应、分离设施一体化,减少了设备投资和能耗。

膜生物反应器可用于酶催化转化、微生物发酵和动植物细胞的培养,对解决产物抑制、底物的选择供给、生物催化剂的重复使用、提高细胞的生长表面和高密度负载等都很有利。况且生化过程条件温和,高分子膜也可适用。德国的 Degussa 公司研究了一种可使辅酶 NAD(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸)与聚乙二醇结合而高分子化,然后同脱氢酶一起包埋在超滤膜中,从而实现了由 α -丙酮酸与氨制取相应的 L-丙氨酸。NAD 是一种在生物体内进行氧化还原反应中担当授受作用的辅酶,NADH 为其还原型,此外,辅酶是被另一酶系统循环作用的。由于这种反应是在均一条件下进行的,所以,从膜的透过侧可高效获取 L-氨基酸。该公司利用此技术已建成每年 200 t L-丙氨酸的生产厂,并已运行了五年多。据称这种酶膜反应器也可用于由不同的酮酸生产亮氨酸、异亮氨酸和苯丙氨酸。

日本用陶瓷膜反应器发酵生产氨基酸也已达中试规模。

8 其他膜技术

社会的需求使膜技术应运而生、迅速发展,并不断创新,产生新的膜材料、膜过程和膜技术。

手性膜技术依靠膜对异构体之一的特有作用,达到异构体的拆分,在生物医药中有广阔的市场潜力。

膜生物传感器是模仿生物膜对化学物质的识别能力制成的,它由生物催化剂酶或微生物与合成膜及电极转换装置组成为酶膜传感器或微生物传感器。这些传感器具有很高的识别专一性,已用于发酵过程中葡萄糖、乙醇等成分的在线检测。目前膜生物传感器已作为商品进入市场。

膜电解技术也已应用于生物制品的氧化还原,国内已工业应用于胱氨酸膜电解还原制 L-半胱氨酸。

无机膜技术成为在苛刻条件下精密过滤分离的重要技术,无机陶瓷膜具有优异的抗微生物侵蚀能力,在生物工程中的应用是近期的热点之一,涉及细胞脱除、无机膜生物反应等等。

膜萃取、膜吸附、控制释放、乳化液膜分离等膜分离技术在生物工程中的应用也有了进一步发展。

9 结 语

膜分离技术作为一种高科技,在生物工程中得到了极快应用,已取得显著成果,并日益受到各界的关注,展现了广阔的前景。相信它在 21 世纪将进入全面发展阶段,并将对生物工程的发展和变革产生深远的影响。

参考文献:

- [1] Ho W S W, Sirkar K K. Overview in Membrane Handbook[Z]. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992.
- [2] Cheryan M. Ultrafiltration Handbook[Z]. Basel: Technomic Publishing Company, Inc., 1986.
- [3] Fane A G. Separation Processes in Biotechnology[M]. New York and Basel: Juan A. Asenjo(ed) Marcel Dekker Inc., 1990.
- [4] 王 薇. 食品工业中膜技术的应用[R]. 北京:第三届全国膜和膜过程学术报告会,1999.
- [5] Gennari. Stable sulpho-adendoyl-L-methionine (SAME) salts, particularly suitable for parenteral use[P]. 美国专利:US 5102791, 1992-04-07.
- [6] 崔艳丽,毛建卫. DL- α -丙氨酸合成工艺的新进展及其应用[J]. 科技通报, 2002, 18(2): 93-95.
- [7] 毛建卫,崔艳丽. 离子膜法技术在氨基酸制备中的应用探讨[J]. 氨基酸与生物资源, 2000, (3): 37-41.
- [8] Mani K N, Decatur I L. Process for the recovery of organic acids and ammonia from their salts[P]. 美国专利:US5814498, 1998-09-29.
- [9] 毛建卫,崔艳丽. 离子交换膜技术在医药工业中的应用工艺[J]. 中国医药工业杂志, 2000, 31(10): 521-523.
- [10] XU Ji-ping. Recent advances in new materials for membrane process[R]. 北京:第三届全国膜和膜过程学术报告会,1999.
- [11] Fleming H L. Membrane Handbook[M]. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992.
- [12] Sulpizio. Oxygen enrichment-markets and process economics[R]. Cambridge: membrane technology/planning conference, 1985.
- [13] 孙宏伟. 气隙式膜蒸馏法分离浓缩透明质酸水溶液的研究[J]. 北京化工大学学报, 1999, 26(2): 1-3.
- [14] 刘荣娥. 膜分离技术[M]. 北京:化学工业出版社, 1998.
- [15] Ruckenstein E, Zeng X F. Macroporous chitin affinity membranes for lysozyme separation[J]. Biotech. and Bioeng, 1977, 56(6): 77-79.

Recent advances in membrane technology in bioengineering

MAO Jian-wei¹, CUI Yan-li², WAN Chang-chun²

(1. Dept. of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310012, China;

2. Dept. of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

Abstract: Recent advances in application of membrane technology of UF, NF, RO, ED, PV, GS, MD, AM and MBR in bioengineering are introduced.

Key words: bioengineering; membrane; application