

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

精密製程中微過濾與高速離心分離機構之研究(2/2)

計畫類別：整合型計畫

計畫編號：NSC93-2214-E-032-002-

執行期間：93年08月01日至94年10月31日

執行單位：淡江大學化學工程與材料工程學系

計畫主持人：黃國楨

報告類型：完整報告

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 94 年 8 月 31 日

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

精密製程中微過濾與高速離心分離機構之研究(2/2)

Studies on the Mechanisms of Microfiltration and Centrifugal Separation in Fine Chemical Processes (2/2)

計劃編號：NSC 93-2214-E-032-002

執行期限：93年8月1日至94年7月31日

主持人：黃國楨 教授

執行機構：淡江大學 化學工程與材料工程學系

一、中文摘要：

本研究以酵母菌來模擬生物發酵槽中之培養菌，再加入牛血清蛋白配置成雙成份之懸浮液，以探討牛血清蛋白的純化效率。在微過濾方面，藉由過濾基本公式、膜面上菌體之力平衡方程式、以及濃度極化模式、深層過濾之粒子標準捕獲方程式，推導出擬穩定濾速、蛋白質阻擋率與操作條件之間的關係式。藉由這些理論式可以準確估計穩定濾速與蛋白質之阻擋率。選擇懸浮液 pH 3.0，操作在高掃流速度、低過濾壓差下，則單位時間單位面積可以收集到最多的 BSA。此外，在離心過濾中，較高 pH 值的雙成份懸浮液，其離心轉速愈高則濾餅愈緊密，故比阻較高導致濾速反而會降低，牛血清蛋白的分離效率也會隨著降低。而較低的 pH 值會造成酵母菌的凝聚，使濾餅量、過濾比阻及孔隙度在極短的時間內趨近定值，故離心轉速對濾速的影響並不顯著。

關鍵詞：微過濾、離心分離、阻擋率、分離技術

ABSTRACT

Bio-suspensions which contain yeast and BSA are separated using cross-flow microfiltration and centrifugal filtration in this study. In cross-flow microfiltration, the relationships among pseudo-steady flux, BSA rejection coefficient and operating conditions are derived by the basic filtration equation, the force balance on the yeast cells on the membrane surface, the concentration polarization model and the standard captured equation in deep-bed filtration. The

calculated results agree fairly well with experimental data. The optimum operating condition is selected as high cross-flow velocity, low filtration pressure and pH 3.0. On the other hand, in centrifugal filtration, the more compact cake formed at higher pH values results in lower filtration flux and separation efficiency. However, no obvious effect of rotating speed (centrifugal effect) on the filtration rate can be observed due to the quick formation of filter cake.

Keywords: cross-flow microfiltration, centrifugal separation, protein rejection, separation technology

二、緣由與目的

在精密製程中，所遭遇的生物微胞或微細粒子經常是可變形或高彈性的膠體或巨分子等難過濾的物質。這些物質在過濾的過程中，即使僅形成甚薄的濾餅層，亦會導致嚴重的濾速衰減。故若分離裝置或操作條件的選擇不正確，極容易導致效率不彰、浪費能源、增加生產成本。一般生物發酵槽產品的初步分離方法不外乎微過濾或高速離心，但是其過濾機構的研究迄今仍不完整，兩者之優劣與適用時機仍不明確。所以本研究擬針對含生物微胞與蛋白質之雙成份懸浮液進行其微過濾與離心分離機構解析，以建立其適用之過濾理論模式，並提供裝置選擇或程序最適化之參考。

三、研究方法

生化發酵槽的產品中，通常同時含有

培養菌、蛋白質、酵素及其他雜質等。如何將這些物質做有效的分離與純化，便成為現今生化科技一個重要的研究方向。本研究以酵母菌加上牛血清蛋白配製成雙成分的懸浮液，分別以掃流微過濾及高速離心過濾來探討其分離特性。

1. 實驗物料

本研究所用之物料分別為酵母菌，其密度為 1140 kg/m^3 ；以及牛血清蛋白 (BSA)，其分子量為 $67,000$ 。並使用 Na_2HPO_4 及 NaH_2PO_4 配置緩衝溶液，以 HCl 及 NOH 調整懸浮液之 pH 值。濾膜則使用材質為 Mixed cellulose ester，平均孔徑為 $0.1\mu\text{m}$ 之薄膜。

2. 實驗裝置

本研究使用兩平行板式之掃流過濾裝置，總過濾面積為 $1.1 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ 。而所採用之懸臂式批式離心機之最高轉速為 4000 rpm ，過濾所用的濾室過濾面積為 9.67 cm^2 。實驗中，調整適當的操作條件，記錄不同時間時所產生的濾液量。再以 UV/Visible Spectrometer 量測濾液中 BSA 的濃度。再秤取實驗後的濾餅重量。

3. 理論模式

擬穩態濾速與濾餅厚度的關係

依粒子在濾膜表面的力平衡模式，可推導穩定濾速, q_s , 與剪應力, γ_w , 的關係式：

$$q_s = C_1 \frac{d_p \cdot \gamma_w}{f_f} \quad (1)$$

或與濾餅厚度, L_c , 的關係：

$$q_s = C_2 \frac{u_{so} H}{(H - L_c)^2} \quad (2)$$

其中為 H 為濾室上下兩平板間的距離。

蛋白質之阻擋率

當濾餅可被視為深床過濾器，則蛋白質的濃度可經由標準捕獲方程式而獲得。故蛋白質之阻擋率可以下式估計：

$$R_{rej} = 1 - \frac{C_i'}{C_b} \exp[-\gamma(L_c + L_m)] \quad (3)$$

其中 C_i' 為到達濾餅表面的蛋白質濃度, L_m 為濾膜之相當厚度, γ 為一篩析係數。若引入蛋白質在濾餅表面的掃曳係數, ϕ , 則

$$C_i' = C_i \cdot (1 - \phi) \quad (4)$$

再配合穩定濾速的分析，可得：

$$\ln \left[\exp\left(\frac{q_s}{k}\right) \cdot \left(\frac{R_{rej,s}}{1 - R_{rej,s}}\right) + 1 \right] = \gamma L_c + C_3 \quad (5)$$

四、結果與討論

圖 1 顯示在不同 pH 值下，各個過濾阻力的來源。由圖中可知，濾材阻力不因為懸浮液的性質而改變，大致維持定值。在 pH 5.0 和 pH 7.0 的條件下，過濾阻力都是由濾餅阻力所主導，遠大於其它阻力來源。而在 pH 3.0 時，雖然濾餅阻力仍較大，但是僅為其它阻力的 2-3 倍。從膜內部阻塞所造成的阻力來看，可以發現在 pH 5.0 時，有比較大的阻力，這是由於 BSA 在此 pH 值下，會發生凝聚現象，使得 BSA 凝聚團的尺寸恰好容易阻塞在膜孔內，因此造成 pH 5.0 時有大的膜內部阻塞的阻力。另外，對於濃度極化層的阻力而言，在 pH 3.0 時，濃度極化層阻力接近零值，可以說在此 pH 值下，並不會受到濃度極化層的影響。

將操作條件代入本研究推導的理論式中 (Eq.(2))，即可求得擬穩態濾速，如圖 2 所示。由圖中可以發現，在不同的 pH 值下，擬穩態濾速的實驗值與理論值皆相當符合，且趨勢也相當一致，當增加掃流速度時，則擬穩定濾速也會隨之上升。

當擬穩態濾速獲得之後，蛋白質之阻擋率可由 (5) 式來估計。圖 3 顯示 BSA 阻擋率的實驗值和估計值的比較。由此圖可以發現：實驗值和估計值相當符合。當掃流速度增加時，則阻擋率也隨之增加。這是因為當掃流速度增加時，BSA 能進入濾餅的機率減小，大部分的 BSA 被平行拖曳力掃走的緣故。此外，因為濾餅厚度的增加，使得 BSA 阻擋率隨著過濾壓差的增加而增加。

圖 4 顯示操作條件對 BSA 回收量的影響。此回收量是指當過濾 6000 秒後，所收

集到的濾液中之 BSA 與原懸浮液中之 BSA 的比值。圖中顯示：在固定掃流速度下，pH 3.0 會有較高的 BSA 回收量，且高出其它 pH 值約二、三倍。而 pH 7.0 又比 pH 5.0 高一點，這是由於 pH 3.0 時，有非常高的濾速和非常低的阻擋率，而 pH 5.0 的阻擋率比 pH 7.0 稍高，且濾速比 pH 7.0 稍低，故能得到較高的 BSA 回收量。

圖 5 顯示在不同的操作條件下，擬穩態下之 BSA 純化通量。可以發現無論 pH 值為何，隨著掃流速度的增加，BSA 之純化通量也跟著增加；但是在 pH 5.0 和 pH 7.0 時，增加並不明顯，這是由於在高掃流速度下，pH 5.0 和 pH 7.0 會有較高的 BSA 阻擋率的緣故。而 pH 3.0 時，阻擋率相當低，因此濾速增加使得 BSA 純化通量較高。

圖 6 為 pH 7.0 下離心過濾過程中之濾餅量及平均過濾比阻。圖中顯示：即使在不同的離心轉速下，濾餅在短時間內大都已形成完全，以圖中之趨勢來看，在 300 秒之前約為濾餅的成長期，濾餅會於此階段內完全形成，平均過濾比阻會有些微的升高；在 300 秒以後濾餅的形成已經趨向平緩，平均過濾比阻亦會接近某一定值。

因為離心過濾中濾餅成長快速，故若將濾餅阻力、濾餅量、濾餅平均過濾比阻在過濾過程中視為定值，僅會隨離心轉速而改變，則可據以估計過濾速度。圖 7 表示在懸浮液 pH 值為 7 時的濾速與時間的關係圖。其中符號為實驗值，曲線則是藉由上述方法所做的模擬結果，由兩者相符合的程度可知離心過濾時可用此方法來推測濾速及時間的變化。

當離心過濾開始操作時，懸浮液中的酵母菌及牛血清蛋白會先同時因離心轉速沈降至濾材表面，粒徑較大的酵母菌會被濾材擋下來，而牛血清蛋白則會隨著濾液一起被帶到下濾室中。圖 8 為不同 pH 值下，牛血清蛋白被分離出的重量和濾液量的關係圖，由圖中可以看出牛血清蛋白隨時間通過的量和濾液量有很大的關係，在相同時間下，當濾速較快時，牛血清蛋白的通過量會越多。在 pH 值為 5 及 7 時的蛋

白質分離效率幾乎是百分之百，故可由圖中的濾液量判斷牛血清蛋白的分離量。但在 pH 3.0 時，由於酵母菌和牛血清蛋白所帶之電性不同，會造成部份牛血清蛋白吸附在酵母菌上，使得分離效率會較另兩個 pH 值差。故以離心過濾來分離酵母菌及牛血清蛋白懸浮液，可藉由濾餅重、平均過濾比阻、濾紙阻力及流體黏度來模擬出濾速及壓差變化，並藉由不同 pH 值下牛血清蛋白的分離量和濾液量來得知濾液中牛血清蛋白的含量。

五、結論

在掃流微過濾中，增加掃流速度或過濾壓差會提升穩定濾速。而在懸浮液性質為 pH 3.0 時，濾速都比 pH 5.0 和 pH 7.0 還要高，這是由於在 pH 3.0 時，酵母菌會產生凝聚，使得濾速提高許多。若選擇 pH 3.0 的懸浮液，操作在高掃流速度、低過濾壓差下，則單位時間單位面積可以收集到較高的 BSA 量，分離效果最好。藉由過濾基本公式、膜面上菌體之力平衡方程式、以及濃度極化模式、深層過濾之粒子標準捕獲方程式，推導出擬穩定濾速、蛋白質阻擋率與操作條件之間的關係式。藉由這些理論式可以準確估計穩定濾速與蛋白質之阻擋率。

在離心過濾中，因為具有較大的過濾壓差，故濾餅的形成相當迅速，濾餅的平均過濾比阻亦會在短時間內趨近定值。若將濾餅的過濾比阻在過濾過程中視為定值，再將流體黏度及濾紙阻力帶入過濾基本公式中，可以模擬濾速和時間的關係。此外，在過濾的過程中，酵母菌會被濾材所阻擋，而牛血清蛋白則幾乎被濾液帶至下濾室中。故牛血清蛋白的分離效率和濾速有極大的關係，考慮酵母菌和牛血清蛋白在不同 pH 值下所帶電性及濾液量，可估計牛血清蛋白的分離效率。

圖表

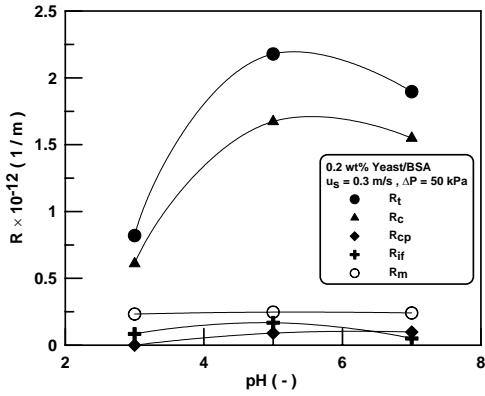


Fig.1 Filtration resistances in cross-flow microfiltration of suspensions with different pH values.

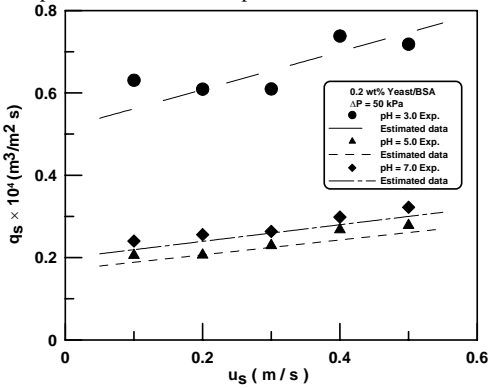


Fig.2 Comparisons of pseudo-steady filtration rates between calculated results and experimental data under various operating conditions.

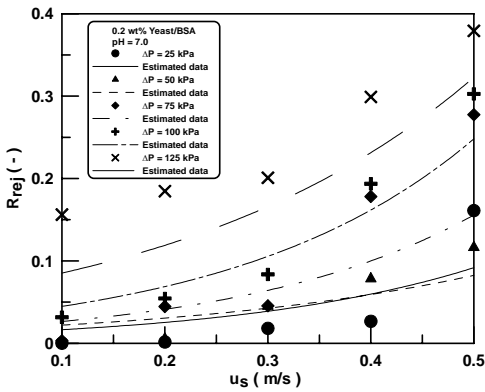


Fig.3 Comparison of calculated results and experimental data of the pseudo-steady rejections under various conditions.

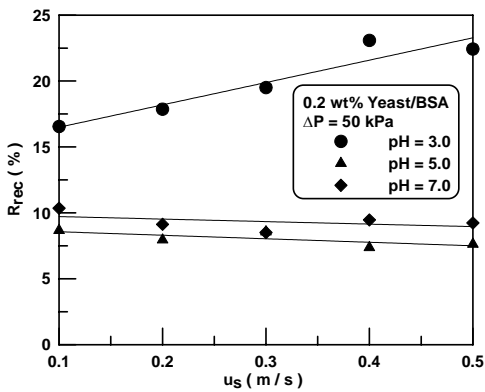


Fig.4 Effects of operating conditions on the BSA recovery.

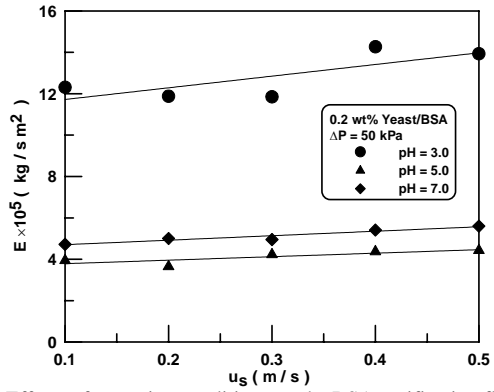


Fig.5 Effects of operating conditions on the BSA purification flux.

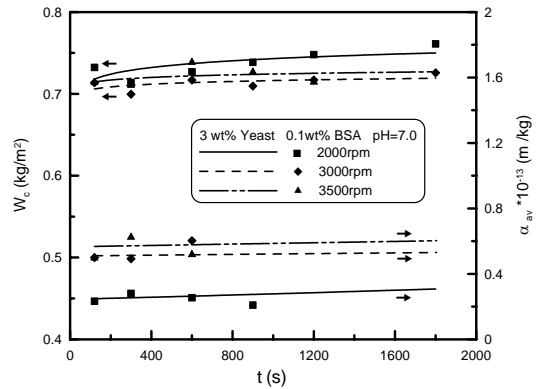


Fig.6 The time courses of cake mass and average specific cake resistance during centrifugal filtration under various rotational speeds.

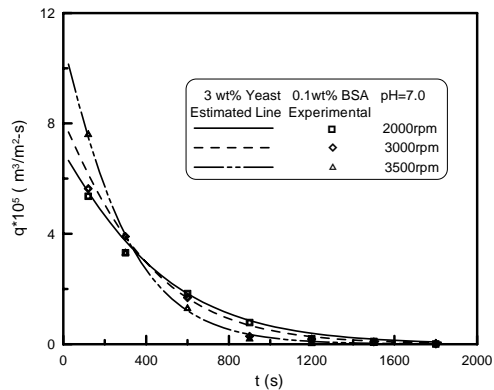


Fig.7 A comparison of filtrate rates between the predicted values and experimental data

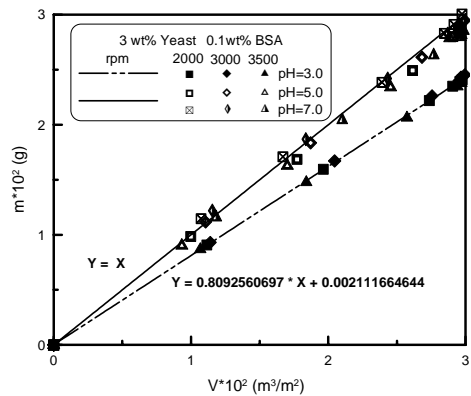


Fig.8 The filtrate weight of BSA versus the filtrate volumes under various rotational speeds and pH.