

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

子計畫五：薄膜過濾應用於奈米分子溶液分離操作之探討

計畫類別：整合型計畫

計畫編號：NSC91-2214-E-032-004-

執行期間：91年08月01日至92年07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：鄭東文

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 92 年 11 月 3 日

精密固液分離在高科技產業之應用—子計畫五：薄膜過濾應用於奈米分子溶液分離操作之探討

Separations of Amino Acid and Peptide from Macromolecules by Nanofiltration

計劃編號：NSC 91-2214-E-032-004

執行期限：91年8月1日至92年7月31日

主持人：鄭東文 淡江大學化學工程學系

E-mail：twcheng@mail.tku.edu.tw

計劃參與人員：邱東林 淡江大學化學工程學系

潘帥宇 淡江化學化學工程學系

一、中文摘要

本研究是以dead-end恆壓攪拌過濾進行奈米過濾，選用之薄膜包括有親水性及疏水性其MWCO有100、500及1000 Da，測試之溶液為胺基酸(Glu, Gly, Lys)、胜肽(Gly-Gly)、 β -cyclodextrin等水溶液及其混合溶液，探討在不同操作壓差、pH值、溶液組成及攪拌速率下，溶液濾速與溶質阻隔率的變化。實驗結果顯示胺基酸、胜肽及 β -cyclodextrin水溶液之濾速隨攪拌速率及透膜壓差之增加而增加，且薄膜對胺基酸、胜肽及 β -cyclodextrin之阻隔率隨攪拌速率之增加亦增加。但胺基酸或胜肽之阻隔率在高攪拌速率下沒有 β -cyclodextrin之增加明顯。因此，胺基酸或胜肽與 β -cyclodextrin之混合溶液可以攪拌式之奈米過濾操作進行分離純化。

關鍵詞： 奈米過濾、濃度極化、阻隔率、胺基酸、胜肽

Abstract

In this study, the NF membranes (hydrophilic or hydrophobic) with various MWCOs (100, 500 and 1000 Da) were employed in a dead-end stirred filtration device. The tested solutions included amino acids (Glu, Gly, Lys), peptide (Gly-Gly) and β -cyclodextrin solutions and their mixtures. The permeate flux and solute rejection were measured under various operating parameters such as membrane MWCO, transmembrane pressure, pH value, feed composition and stirred rate. Experimental result indicates that the permeate

flux of amino acid, peptide or β -cyclodextrin solution increases with the increase in stirred rate or transmembrane pressure, and the solute rejection by the membrane also increases as the stirred rate increases. However, the increase of rejection of the amino acid or peptide is less significant than that of β -cyclodextrin at the condition of high stirred rate. Therefore, a dead-end nanofiltration under stirring can be applied in the separation and purification of amino acids (Glu, Gly or Lys) or Gly-Gly from β -cyclodextrin.

Keywords: Nanofiltration, Concentration polarization, Rejection, Amino acid, Peptide

二、計劃緣由與目的

近年來生化工程上的發展已邁向一個新世紀，應用的範圍相當廣泛，伴隨著生物技術的發展，生化產品在質與量上都有相當大的改善，所遭遇到的最大難題就是產物分離、提取、濃縮及回收再利用，因此發展生化分離技術是生物科技開發中不可或缺的一環。

奈米級過濾之操作需同時要考慮到篩選效應(sieving effect)效益與帶電效應(Donnan effect)之影響，現今，奈米過濾應用的範圍已相當廣泛，如食品工業，製藥工業、污染防治、生物技術及生醫工程等。近年來，有學者(Tsuru *et al.*, 1994; Van der Hors *et al.*, 1998; Garem *et al.*, 1998)針對胺基酸、胜肽溶液之奈米過濾系統加以探討。

本研究將討論薄膜親疏水性及MWCO對胺基酸及胜肽阻隔率之影響，也將就操作參數

如溶液組成, pH值及攪拌速率對混合溶液系統分離純化之影響進行探討。

三、研究方法

實驗裝置

圖1為可攪拌之dead-end過濾裝置, 其流程如所示。測試溶液置於濾室中利用氮氣加壓, 經由壓力閥來調節進口壓力的大小, 而壓力的偵測是利用壓力傳送器(E713, Bourden Sedme Co.)測量, 而濾液的累積量是由電子天秤(AV-130, OHAUS Co.)監視, 轉速是利用電磁攪拌機(Magnetic stirrer)控制並利用轉速器(DT-2236 Photo/Contant Tachometer)測量槽內轉速, 溶液pH值利用pH meter(EX-20, Horbia)來量測, 過濾裝置之溫度則由恆溫水槽監控。此dead-end型式之操作, 可針對單一操作變數之改變進行實驗分析。

使用之薄膜為平面型高分子薄膜, 材質有 Cellulose Ester (100、500、1000 Da MWCO, SPECTRUM) 及 Polyethersulfone (1000 Da MWCO, OMEGA)。測試之溶質有胺基酸, 如 Glutamic acid (MW = 147, IP = 3.22, ICN), Glycine (MW = 75, IP = 5.97, ICN), 及 Lysine (MW = 183, IP = 9.75, ICN), 胜肽, 如 Glycylglycine (Gly-Gly) (MW = 132, ICN) 及 β -cyclodextrin (MW = 1135, MERCK)。配製溶液之溶劑為蒸餾水。

濾液定量分析, 胺基酸是以衍生物法配合高效率液相層析儀, 胜肽是以紫外/可見光譜儀, β -cyclodextrin 則以比色法定量。溶質阻隔係數 R 之定義為 $1 - C_p/C_f$, C_p 及 C_f 分別為濾液及進料溶液之濃度。當濾液量為進料溶液總體積十分之一時之溶質阻隔係數稱為 $R_{1/10}$ 。

操作條件

實驗操作參數包括有(1)胺基酸或胜肽水溶液, 及與 β -cyclodextrin 之混合溶液, (2)pH值, 以各溶質等電點(IP)為基準上下取捨, 及(3)攪拌速度等。

四、討論與結論

薄膜的阻隔分子量之影響

圖2為在長時間操作不攪拌下所做的濾速與時間的變化圖, 使用薄膜為100 MWCO (SPECTRUM)。圖中可以發現各胺基酸和胜肽的溶液濾速都比純水濾速低, Glu、Gly、Lys、及 Gly-Gly 之阻隔係數分別為0.49、0.53、0.55、

及0.57, 此阻擋係數是以操作240分鐘總收集濾液之平均濃度計算之。

500 MWCO 薄膜 (SPECTRUM) 對 Glu、Gly、Lys、及 Gly-Gly 之阻隔係數分別為分別為0.44、0.33、0.35、及0.46, 如圖3所示。以500 MWCO 薄膜進行操作, 不論純水或是溶液濾速都比以100 MWCO 薄膜來的大, 而阻隔係數也因為薄膜有較大之阻隔分子量(MWCO)也顯得較小。Lys與Glu之分子粒徑相近, 在100 MWCO 薄膜中(圖2), Lys之阻隔係數高於Glu; 而在500 MWCO 薄膜中(圖3), Lys之阻隔係數明顯低於Glu。在pH值6左右時, Lys帶正電; pH值3-4時, Glu接近中性。因此可以判定薄膜的阻隔分子量大於溶質分子量時, 電荷效應不可忽略; 而薄膜的阻隔分子量比溶質分子小時, 對溶質阻隔係數之影響以空間阻隔效應為主, 電荷效應較不明顯。

圖4為無攪拌下, Gly溶液於不同阻隔分子量的SPECTRUM濾膜中濾速對時間的變化在, 此時Gly溶液pH值約6.3, 接近中性。100 MWCO膜之濾速明顯低於500及1000 MWCO膜, 也可看出, 在此操作壓力(3.0 kg/cm²)下, 濾速隨時間遞減之情況不明顯。另外, 100、500及1000 MWCO膜對Gly之阻隔係數 $R_{1/10}$ 分別為0.55、0.45及0.40, 即MWCO愈大阻隔係數愈小。

圖5為 β -cyclodextrin 分別與 Gly、Glu 及 Gly-Gly 之混合溶液在 1000 MWCO 膜中濾速值隨時間之變化。此混合溶液系統的濾速比單一溶質(Gly、Glu 或 Gly-Gly)溶液的濾速為低, 且隨時間有明顯的下降, 這是因為 β -cyclodextrin 幾乎被薄膜完成阻擋而有明顯的濃度極化現象; 同時, Gly、Glu 及 Gly-Gly 之阻隔係數也增高, 分別為 0.45、0.62 及 0.53。這是因為當一溶液中有兩種溶質時, 較大溶質被薄膜阻擋而堆積在薄膜表面, 此動態膜層會阻礙較小溶質的穿透而增高其阻隔係數; 小分子堆積在大分子之間的孔隙, 也使動態膜層的孔隙度減低, 進而使濾速下降。

溶液 pH 值之影響

圖6為 Gly-Gly 與 β -cyclodextrin 之混合溶液在不同pH值下之實驗結果。在pH值分別為3.00、5.72及8.66下, Gly-Gly分別具正電、中性及負電, 其阻隔係數分別為0.50、0.53及0.64, 當Gly-Gly具負電時, 阻隔係數較大, 顯示此SPECTRUM濾膜帶負電荷; 同時, Gly-Gly

分子堆積在大分子 β -cyclodextrin 間孔隙的數量也較多，增加動態膜層的過濾阻力，因此濾速也較低。

圖7為為 Gly-Gly 與 β -cyclodextrin 之混合溶液在較疏水濾膜(OMEGA)中，pH 值改變下之實驗結果。當 pH 值分別為 3.00、5.72 及 8.50 時，Gly-Gly 之阻隔係數分別為 0.42、0.24 及 0.29，即 Gly-Gly 具正電時(pH = 3)，阻隔係數較大，推斷此 OMEGA 濾膜帶正電荷；同時，也因 Gly-Gly 阻隔係數之增大，使過濾阻力增加，濾速值較低。在 pH 值為 5.72 時，即是原本不加緩衝液之混合溶液之 pH 值，濾速值最高，且 Gly-Gly 阻隔係數也最小，此為分離 Gly-Gly 與 β -cyclodextrin 之適當 pH 值條件。

攪拌速度之影響

圖8為 Gly-Gly 與 β -cyclodextrin 混合溶液系統在不同攪拌速率下阻隔係數與濾速之表現。當攪拌速度分別為 0、100 及 200 rpm 下，大分子 β -cyclodextrin 之阻隔係數分別為 0.90、0.94 及 0.99，而 Gly-Gly 之阻隔係數分別為 0.19、0.26 及 0.28。因此攪拌速度分別為 0、100 及 200 rpm 下，選擇係數 ψ ， $(1-R_{1/10})_s / (1-R_{1/10})_L$ ，值分別為 8、11 及 57。

圖9為 Glu 與 β -cyclodextrin 混合溶液系統在不同攪拌速率下的實驗結果，此時攪拌速度分別為 0、100 及 200 rpm 下，Glu 相對於大分子 β -cyclodextrin 之選擇係數 ψ 值分別為 8、12 及 72。

綜合圖8及圖9，得知增加轉速，大、小分子的阻隔係數都增加，但大分子的阻隔係數增加明顯，因此小分子相對於大分子之選擇係數 ψ 隨攪拌速率之增加而增大。以 OMEGA 濾膜系統為例，攪拌速率 200 rpm 為適當之操作條件。

五、參考文獻

Garem, A., C. Martin-Orue, S. Bouhallab, "Nanofiltration of amino acid and peptide solutions: mechanisms of separation," *J. Membrane Sci.*, **142**, 225-233 (1998)

Tsuru, T., S. Takatoshi, S. I. Nakao, S. Kimura, "Peptide and amino acid separation with nanofiltration membranes," *Sep. Sci. Technol.*, **29**, 971-984 (1994)

Van der Horst, H. C., J. M. K. Timmer, M. P.

J. Speelmans, "Separation of amino acids by nanofiltration and ultrafiltration membranes," *Sep. Purif. Tech.*, **14**, 133-144 (1998)

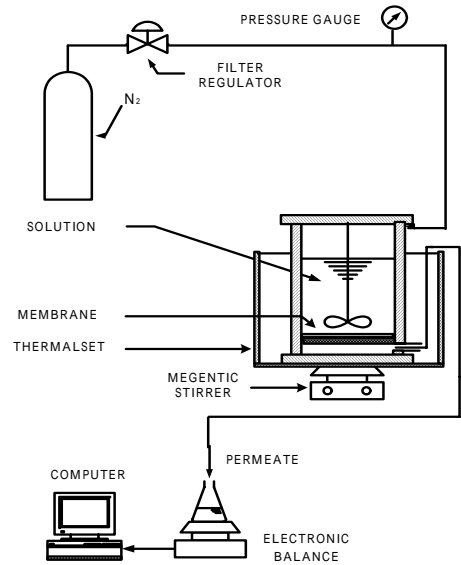


圖1 實驗裝置圖

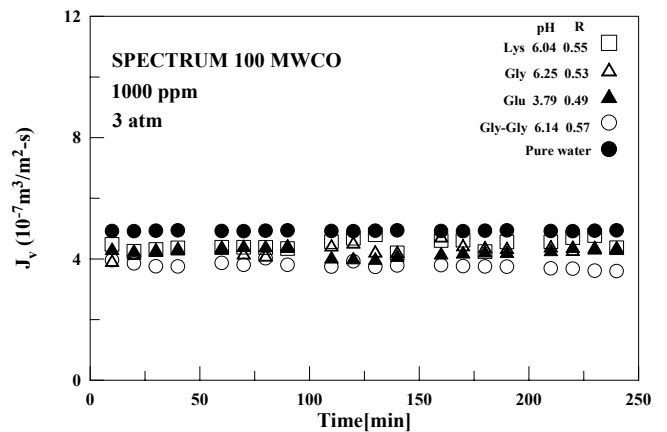


圖2 單一溶質溶液之濾速與阻隔係數 (SPECTRUM 100 MWCO)

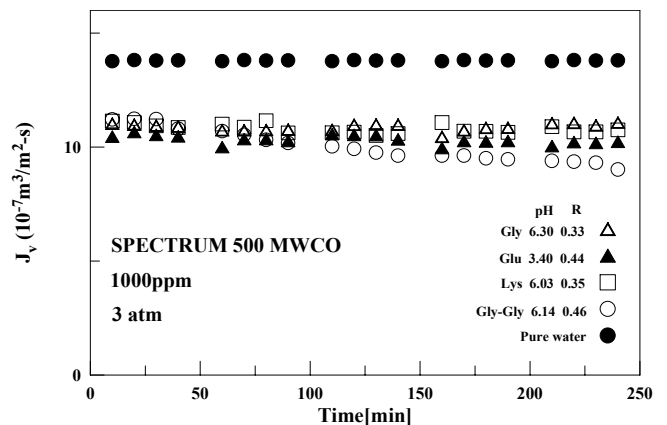


圖3 單一溶質溶液之濾速與阻隔係數 (SPECTRUM 500 MWCO)

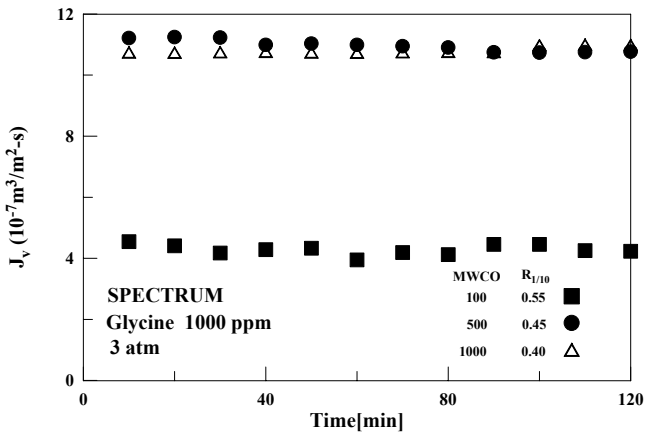


圖4 Gly溶液於不同MWCO薄膜之滲速與阻隔係數

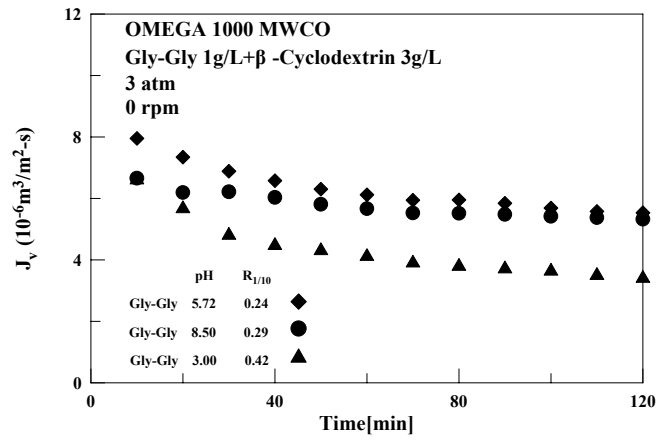


圖7 Gly-Gly與 β -cyclodextrin混合溶液在不同pH值下滲速與阻隔係數 (OMEGA 1000 MWCO)

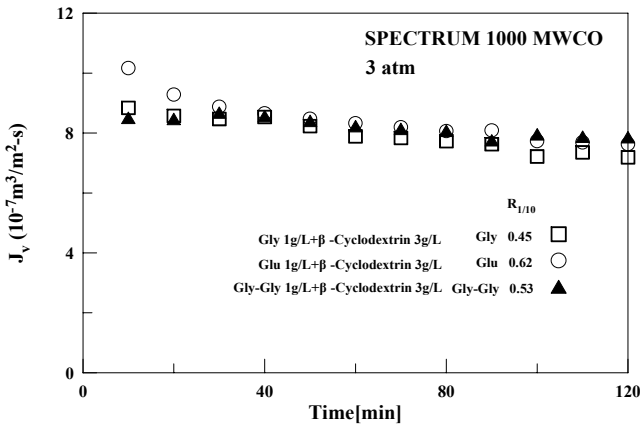


圖5 各小分子溶質與 β -cyclodextrin混合溶液之滲速與阻隔係數

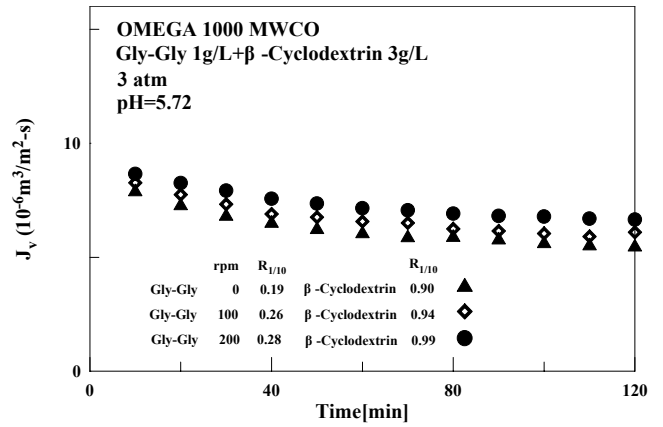


圖8 Gly-Gly與 β -cyclodextrin混合溶液在不同轉速下滲速與阻隔係數 (OMEGA 1000 MWCO)

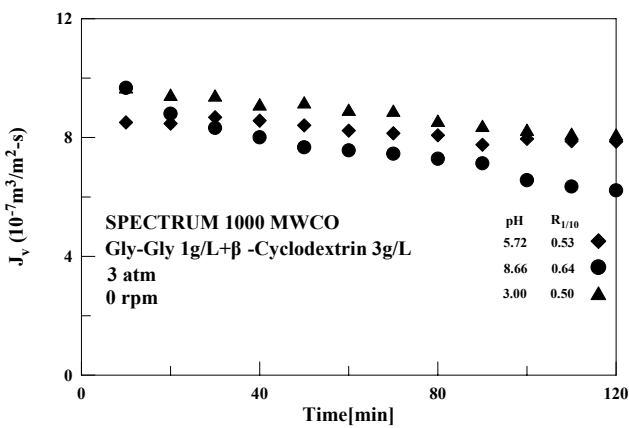


圖6 Gly-Gly與 β -cyclodextrin混合溶液在不同pH值下滲速與阻隔係數 (SPECTRUM 1000 MWCO)

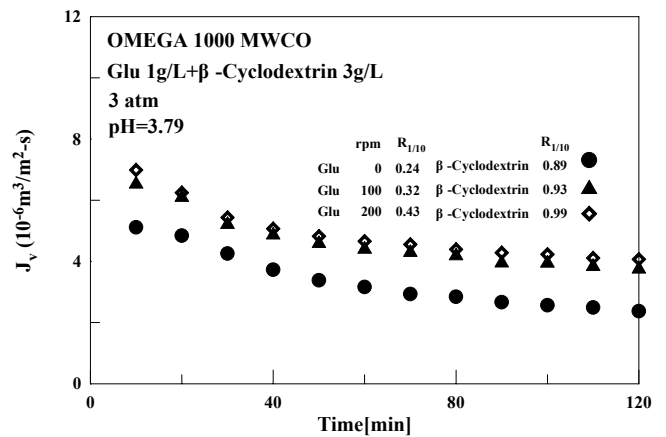


圖9 Glu與 β -cyclodextrin混合溶液在不同轉速下滲速與阻隔係數 (OMEGA 1000 MWCO)