

陶瓷膜在林可霉素碱化液分离中的应用

李 丽 (南京翊翌陶瓷纳滤膜有限公司, 江苏 南京 211800)

摘要: 林可霉素 (Lincomycin) 是由林肯链霉菌产生的一种林可酰胺类抗生素, 由于其生物活性良好、副作用较小, 目前已被广泛用于临床治疗上。林可霉素主要是采用发酵的方式生产, 如何从发酵液中提取林可霉素成为目前研究的重要问题。本文将陶瓷膜分离技术引入到林可霉素的提取工艺中, 考察了不同孔径及构型的陶瓷膜对林可霉素碱化液处理的效果。结果表明, 采用 5Nm 陶瓷膜对林可霉素碱化液过滤, 在过膜压差 0.5MPa, 膜面流速 5m/s 的条件下, 浓缩 14 倍后加入 3 倍浓缩液体积的水洗, 膜平均通量达 $120\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$, 林可霉素收率达 98% 以上。采用 0.5% HNO_3 清洗 0.5h 后, 陶瓷膜通量可恢复。

关键词: 林可霉素提取; 碱化液; 陶瓷膜; 清洗

0 引言

林可霉素 (Lincomycin) 又称林肯霉素、洁霉素, 是由林肯链霉菌产生的一种林可酰胺类抗生素。1962 年 Mason 等发现并确定其是由林肯链霉菌在好氧状态下发酵得到的次级代谢物。林可霉素属于广谱型抗生素, 对大部分革兰氏阳性菌以及一些革兰氏阴性菌有抗性, 是一种生物活性良好、副作用较小的广谱抗生素, 作为一种在人和兽用药中有重要作用的抗生素, 目前已被广泛用于临床治疗上。

由于林可霉素属于有机大分子, 全合成反应步骤多, 所以目前工业生产中主要采取发酵生产。因此, 如何从发酵液中提取林可霉素是生产过程中至关重要的工艺, 而且提取工艺的优劣决定着产品的质量和生产成本的高低。目前报道的提取工艺有: 萃取工艺、活性炭吸附工艺、树脂吸附工艺、结晶工艺等。上述工艺各有优缺点, 但经过长期的优化, 现在工业上常用的方法是萃取工艺, 即有机溶媒萃取法。该工艺的工艺流程为: 发酵液使用草酸调 pH 至 3~3.5, 得到的酸化液经板框过滤后使用氢氧化钠调节 pH 至 10~11, 得到的碱化液经辛醇十级萃取后再进行反萃取, 而后经浓缩结晶干燥得到林可霉素成品。该工艺的缺点是收率低、有机溶剂消耗量大、需升温、溶媒异味大、作业环境差、环保“三废”处理困难等。

膜分离技术与传统的分离技术相比具有过程简单、无化学变化和相变、选择性好、无需加热及对环境友好等优点, 被广泛应用于各类流体精密分离过程中。刘路在林可霉素的提取工艺中引入超滤和纳滤膜分离技术, 简化了工艺, 降低了能耗, 提高质量的同时提高收率约 8 个百分点以上。和有机膜相比, 陶瓷膜具有耐酸碱、耐高温、化学稳定性好、机械强度高、抗微生物能力强、抗污染等优点。

因此, 本文将陶瓷膜分离技术引入到林可霉素的提取工艺中, 通过陶瓷膜对林可霉素碱化液进行处理, 去除蛋白和一部分杂质, 提高料液质量, 为后续的提取工艺提供较好的物料。文中考察了不同孔径及构型的陶瓷膜对碱化液处理的效果, 同时对陶瓷膜操作参数进行详

细考察, 以期选择合适的陶瓷膜和最优操作参数。

1 实验

1.1 膜材料与装置

实验所用陶瓷膜是公司自制的平均孔径为 50Nm、20Nm、5Nm 的陶瓷膜, 通道数为 19, 通道直径为 3.8mm, 长度为 1016mm, 过滤面积为 0.23m^2 。陶瓷膜过滤装置使用公司自制的管式膜错流过滤装置, 膜面流速为 3~5m/s, 操作压力为 3~8bar。

1.2 试剂与仪器

林可霉素发酵液经处理后的碱化液, 河南某公司, 外观呈现深酒红色, 调碱后比较浑浊, 固含量较低, pH 值为 10~11, 组分为蛋白、色素及有效物, 其中有效物林可霉素效价约 4000U/mL, 密度 $\sim 1\text{g/mL}$, 温度 $\sim 30^\circ\text{C}$; 其他试剂药品均为国产分析纯。

1.3 工艺流程

本文利用陶瓷膜过滤和树脂吸附取代传统的萃取工艺, 以期开发出绿色高效的林可霉素生产工艺。通过陶瓷膜对林可霉素碱化液进行处理, 去除蛋白和一部分杂质, 提高料液质量, 为后续树脂吸附过程提供较好的物料。实验内容如下: 调节林可霉素碱化液的 pH 值达到 10~11 之间, 把碱化液加入到陶瓷膜设备中, 在泵提供动力下, 调节合适的操作压力和膜面流速, 林可霉素发酵液连续循环, 滤液连续滤出。随着滤液的连续排出, 原料罐中浓缩液浓度逐渐增大, 浓缩到预计浓缩倍数后, 取样检测效价。在一定浓缩倍数下开始加水透析, 将原料罐中残留的林可霉素洗出来, 提高林可霉素的收率。

文中首先研究了不同孔径陶瓷膜过滤林可霉素发酵液的效果, 根据厂方需求, 选定合适孔径的陶瓷膜; 而后考察了陶瓷膜的分离工艺条件, 试图找到膜通量和收率的最优操作参数组合, 最后考查了陶瓷膜的清洗方法。

2 结果与讨论

2.1 陶瓷膜孔径对膜通量和收率的影响

在相同条件下, 以同批、同体积林可霉素发酵液为原液, 采用 50Nm、20Nm 及 5Nm 陶瓷膜进行过滤, 记录滤液膜通量随时间的变化, 并对过滤前后的发酵液进行效价测定, 计算林可霉素的收率, 结果如图 1 所示。

从图中可以看出,随着孔径的降低,陶瓷膜初始通量呈现降低的趋势,50Nm、20Nm 和 5Nm 陶瓷膜对应的初始滤液通量分别为 $225\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 、 $200\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 $130\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$,这是因为陶瓷膜孔径越大,料液透过膜孔的阻力越小。

随着过滤时间的延长,三种孔径的陶瓷膜滤液通量均呈现下降趋势,且孔径越大,下降越快。100min 时,50Nm、20Nm 及 5Nm 的陶瓷膜滤液通量下降幅度分别对应 45%、30%、15%,这是由于随着过滤进行,陶瓷膜中的大孔径被迅速堵塞,5Nm 的膜管中存在的大孔径较少,所以通量下降最慢,基本呈现出稳定的趋势。有研究表明,菌体、生物大分子及悬浮固体等杂质随着过滤进行,浓度升高到一定程度后会在陶瓷膜表面上形成凝胶层,凝胶层会增大滤液通过陶瓷膜的阻力,此时膜通量也跟着下降,下降到一定程度后,陶瓷膜表面会形成一层稳定的凝胶层,此时膜通量也会趋于稳定。

图 1 中的照片是三种孔径的陶瓷膜过滤后的滤液和原液对比照片,从左到右依次为 50Nm、5Nm、20Nm 陶瓷膜滤液和原液。从照片中可以看出,经过陶瓷膜过滤后,发酵液颜色明显变浅,50Nm 和 20Nm 陶瓷膜滤液颜色接近且较深,5Nm 陶瓷膜滤液颜色最浅,这是因为孔径越小,对滤液中色素的截留率越高。50Nm、20Nm 和 5Nm 陶瓷膜过滤后林可霉素的滤液收率分别为 84.4%、87.0% 和 86.8%。虽然 5Nm 孔径的陶瓷膜滤液收率与 20Nm 接近,且平均通量低于 20Nm 陶瓷膜,但其对色素截留较好,会减轻后段树脂工艺的压力,因此选择 5Nm 孔径的陶瓷膜过滤林可霉素碱化液。

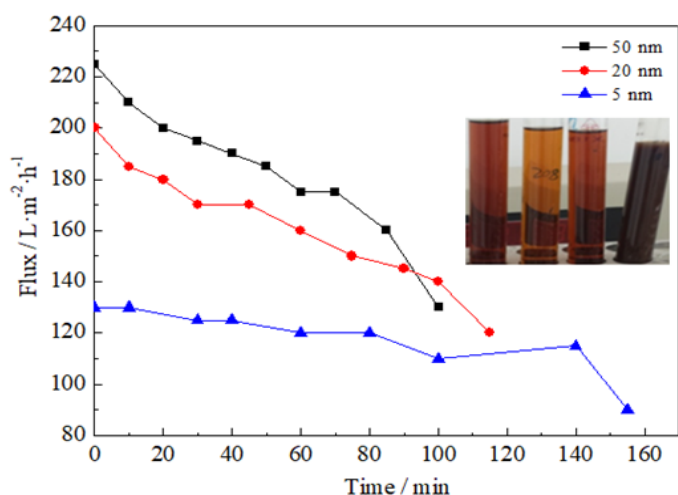


图 1 陶瓷膜孔径对通量及过滤效果的影响

2.2 过膜压差对膜管通量和收率的影响

在相同条件下,以同批次的林可霉素发酵液为原液,将过膜压差分别设定为 0.35MPa、0.5MPa 和 0.8MPa,采用 5Nm 孔径的陶瓷膜,控制不同过膜压差进行过滤实验,记录滤液膜通量随时间的变化,并对过滤前后的发酵液进行效价测定,计算林可霉素的收率,结果如图 2 所示。由图 2 可见,过膜压差越大,林可霉素滤液的初

始通量越大,0.35MPa、0.5MPa 和 0.8MPa 压差下的滤液通量分别为 $156\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 、 $178\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 $264\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

随着过滤的进行,三种压差的滤液通量均呈现出下降的趋势,且过膜压差越大,通量下降的趋势越明显,但 0.5MPa 压差下的滤液通量在整个过滤过程中始终高于 0.35MPa 压差下的通量。这是因为在一定的压力范围内膜通量与压差是成正比的,但超过一定的压力后,在初始阶段膜通量会较大,而后随着过滤的进行,菌体和生物大分子等杂质在膜表面形成的沉积层逐渐增加,压力越大其沉积层厚度增加越快,且沉积层被压得更加紧密,导致膜孔内污染加剧,滤液透过陶瓷膜的阻力变大,造成通量迅速衰减。0.35MPa、0.5MPa 和 0.8MPa 过膜压差下,林可霉素的收率分别为 87.1%、87.0% 和 87.2%。过膜压差对收率影响不大,但过膜压差越大的,膜污染越严重,且清洗陶瓷膜时也发现,压差越大陶瓷膜元件清洗越困难。另外,过膜压差越大,膜设备能耗越高。因此,结合膜通量、清洗情况和能耗,选择 0.5MPa 的过膜压差。

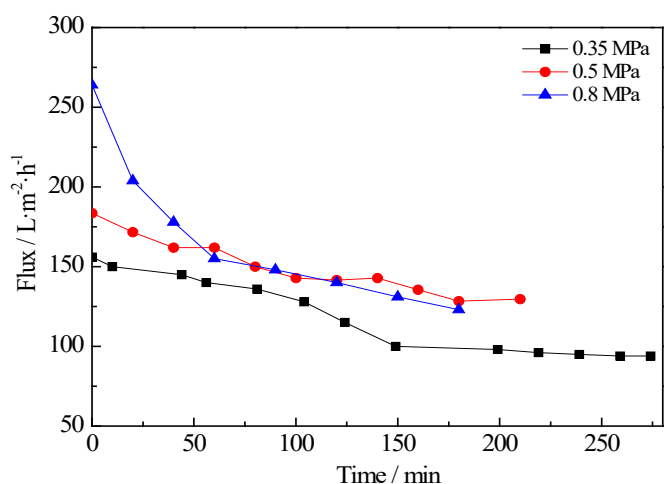


图 2 压力对膜通量的影响

2.3 膜面流速对膜管通量和收率的影响

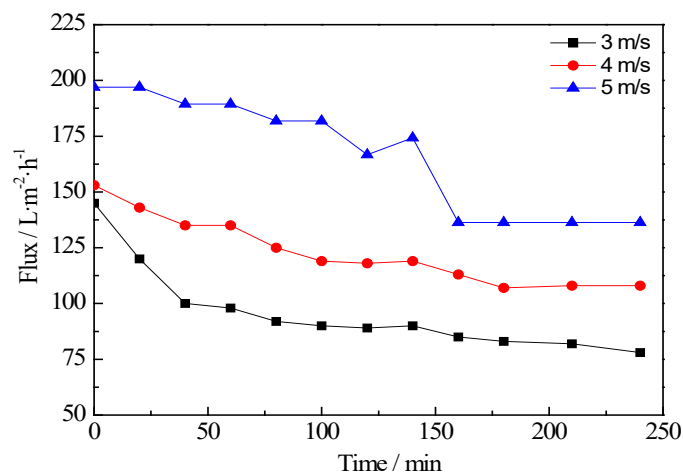


图 3 膜面流速对通量的影响

采用 5Nm 孔径陶瓷膜,过膜压差设定 0.5MPa,对

同批次林可霉素发酵液进行过滤,将膜面流速分别控制在 3m/s、4m/s 和 5m/s,考察膜面流速对陶瓷膜滤液通量和林可霉素收率的影响,结果如图 3 所示。由图 3 可见,林可霉素滤液通量随膜面流速的增加而增大,3m/s 时膜滤液通量最小,5m/s 时膜滤液通量最大。这是因为在使用陶瓷膜过滤林可霉素发酵液时,采用的过滤方式是错流过滤,滤液流经的方向和陶瓷膜的孔道方向垂直。因此,料液过滤时,膜面流速越大,流体对膜表面的沉积层冲刷越激烈,带走的膜表面上的沉积物越多,进而能减轻浓差极化,延缓料液对膜的污染。3、4 和 5m/s 膜面流速下,林可霉素的收率分别为 86.8%、87.1% 和 87.5%。综上所述,最大平均膜通量和收率均为 5m/s,因此,选择膜面流速为 5m/s。

2.4 浓缩倍数对膜通量和收率的影响

采用孔径 5Nm 的陶瓷膜、过膜压差 0.5MPa、膜面流速 5m/s 对同批发酵液进行过滤,考察在不同浓缩倍数下,林可霉素滤液的膜通量变化和林可霉素收率情况,结果如图 4 所示。由图中可见,在林可霉素料液过滤浓缩过程中,膜通量随着发酵液的浓缩倍数增加而不断下降。在初始浓缩阶段,通量下降较明显,浓缩到 6 倍时膜通量为 $116\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$,较初始通量下降幅度为 36.6%,随后膜通量下降呈现缓慢趋势。当浓缩到 11 倍时,膜通量为 $105\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$,13 倍和 14 倍浓缩倍数的膜通量均为 $103\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。这是因为在陶瓷膜过滤过程中,随着过滤的进行,膜层表面形成稳定的滤饼层,可以减缓膜污染情况,进而膜通量呈现出一个平台区。缩倍数在 6 倍、9 倍、11 倍、13 倍和 14 倍时,林可霉素收率分别为 71.2%、76.8%、80.1%、85.2% 和 87.3%,因此料液浓缩倍数控制在 14 倍比较合适。

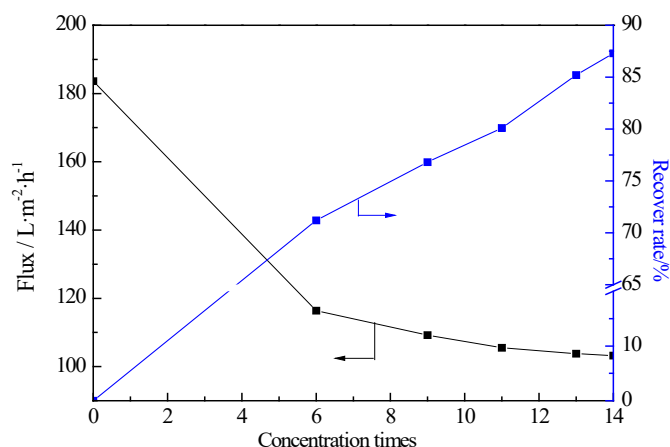


图 4 浓缩倍数对膜通量的影响

2.5 加水量对膜通量和收率的影响

采用 5Nm 陶瓷膜,选择过膜压差 0.5MPa、膜面速度 5m/s、浓缩到 14 倍的条件,分别加浓缩液体积的 2 倍、3 倍、4 倍水进行洗滤,考察膜通量和林可霉素收率情况。结果表明,三种加水量对通量影响不明显,平均通量均在 $120\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 左右,但随着加水量的增加,清液中

林可霉素的收率明显增大,2 倍、3 倍和 4 倍加水量下,收率分别为 96.8%、98.3% 和 98.5%。加水量越多,处理时间越长,而且会增加后续工序工作量。因此,选择 3 倍浓缩液加水量。

2.6 膜清洗结果与分析

经实验,发现采用浓度为 0.5% 的 HNO_3 水溶液循环冲洗 0.5h 后,通量基本全部恢复。这表明林可霉素发酵液末对陶瓷膜造成不可逆转的污染,仅采用酸洗的清洗方式通量即可迅速恢复,有利于实际生产中的废水处理及生产线的长期稳定运行。

3 结论

本文采用陶瓷膜过滤林可霉素碱化液,着重考察了膜孔径、过膜压差、膜面流速、浓缩倍数及加水量对陶瓷膜过滤通量和收率的影响,而且研究了陶瓷膜清洗方法,得出以下结论。

采用陶瓷膜和树脂结合的工艺可代替萃取及反萃取工艺用于林可霉素碱化液分离纯化。采用 5Nm 陶瓷膜,控制过膜压差 0.5MPa、膜面流速 5m/s,浓缩 14 倍后,加入 3 倍浓缩液体积的水洗,膜平均通量达 $120\text{L} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$,林可霉素收率达 98% 以上;采用 0.5% HNO_3 清洗 0.5h 后,陶瓷膜通量可恢复。

参考文献:

- [1] Mason D J, Dietz A, DeBoer C. Lincomycin, a new antibiotic. Discovery and biological properties[J]. Antimicrob Agents Chemother, 1964(115):554-559.
- [2] 谢婷,武培,韩德全,等.林可霉素工业生产发酵工艺优化[J].中国酿造,2017,36(9):60-63.
- [3] 庄智慧.林可霉素发酵工艺优化及代谢分析[D].上海:华东理工大学,2018.
- [4] 张锐,刘虹,刘俭国,等.林可霉素发酵中后期代谢的调控[J].广东化工,2016,43(5):67-68.
- [5] 高灿,常宏委,陆莹莹,等.复合萃取剂提取林可霉素机理及填料萃取塔中试研究[J].化工进展,2014,33(1):247-252.
- [6] 李杰妹,周培艳,王亚卿,等.应用膜分离技术改进林可霉素提炼工艺[J].化工学报,2005,56(4):738-743.
- [7] 刘路,刘玉荣.膜分离技术在林可霉素发酵液分离浓缩中的应用[J].水处理技术,2000,26(3):169-171.
- [8] 郭善辉,刘春风,蒋蕴珍,等.陶瓷微滤膜及其在食品与发酵行业中的应用[J].食品与发酵工业,2008,34(3):96-100.
- [9] 胡彪群,王蓓兰,王贝贝,等.陶瓷膜过滤林可霉素发酵液的研究[J].中国抗生素杂志,2014,39(10):729-733.
- [10] 廖文超,李元高,严滨,等.陶瓷膜复滤古龙酸超滤液中试研究[J].食品工业科技,2013(21):227-230.

作者简介:

李丽(1987-),女,汉族,江苏沛县人,硕士,中级工程师,研究方向:陶瓷膜材料的研发以及膜在精密分离领域中的应用。