

- son & Simson) [J]. *Indian J Chem*, 2002, 41B: 1093-1096.
- [31] Epifanio Rosangela de A, Maia L F, Pinto Angelo C, et al. Natural products from the gorgonian *Lophogorgia punicea*: isolation and structure elucidation of an unusual 17-hydroxy sterol [J]. *J Braz Chem Soc*, 1998, 9(2): 187-192.
- [32] Anjaneyulu V, Nageswara Rao K (24S)-24-methylcholest-4-en-3,6-diol from a gorgonian (*Rumphella aggregata*) of the andaman and nicobar islands [J]. *Indian J Chem*, 1995, 34B: 78-80.
- [33] Mellado G G, Zubá E, Ortega M J, et al. New polyoxygenated steroids from the Antarctic octocoral *Dasystenella acanthine* [J]. *Steroids*, 2004, 69: 291-299.
- [34] Cimino G, De Rosa S, De Stefano S, et al. C-18 Hydroxy sterols from the Mediterranean gorgonian *Leptogorgia sarmentosa* [J]. *Experientia*, 1984, 40: 246-248.
- [35] Garrido L, Zubá E, Ortega M J, et al. Isolation and structure elucidation of new cytotoxic steroids from the gorgonian *Leptogorgia sarmentosa* [J]. *Steroids*, 2000, 65: 85-88.
- [36] Kobayashi M, Kanda F. Marine sterols 18. Isolation and structure of four novel oxygenated sterols from a gorgonian coral *Melithaea ocracea* [J]. *J Chem Soc Perkin Trans 1*, 1991, 5: 1177-1179.
- [37] Fusetani N, Nagata H, Hirota H, et al. Bioactive marine metabolites, Part 30. Astrogorgiadiol and astrogorgin, inhibitors of cell division in fertilized starfish eggs, from a gorgonian *Astrogorgia sp.* [J]. *Tetrahedron Lett*, 1989, 30: 7079-7082.
- [38] Ochi M, Yamada K, Kotsuki H, et al. Calicoferols A and B, two novel secosterols possessing brine shrimp lethality from the gorgonian *Calicogorgia sp.* [J]. *Chem Lett*, 1991, (3): 427-430.
- [39] Seo Y, Shin J, Song J L. New secosteroids from an undescribed gorgonian of the genus *Muricella* [J]. *J Nat Prod*, 1995, 58(8): 1291-1295.
- [40] Slo Y W, Shin J. New secosteroids from an undescribed gorgonian of the genus *Muricella* [J]. *J Nat Prod*, 1995, 58(8): 1291-1296.
- [41] Seo Y W, Cho K W, Chung H S, et al. New secosteroids from a gorgonian of the genus *Muricella* [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61: 1441-1443.
- [42] He H, Kulanthaivel P, Baker B J, et al. New antiproliferative and antiinflammatory 9, 11-secosterols from the gorgonian *Pseudopterogorgia sp.* [J]. *Tetrahedron*, 1995, 51: 51-58.
- [43] Miller S L, Tinto W F, Yang J P, et al. 9, 11-Seco-24-hydroxydinosterol from *Pseudopterogorgia americana* [J]. *Tetrahedron Lett*, 1995, 36(8): 1227-1228.
- [44] Wayne Schultz L, Clardy J. 9, 11-Secogorgost-5-en-9-one-3, 11-diol, a marine steroid from the sea whip *Pseudopterogorgia hummelinkii* [J]. *Acta Cryst*, 1995, C51: 415-419.
- [45] Rodriguez Brasco M F, Genzano G N, Palermo J A. New C-secosteroids from the gorgonian *Tripalea clavaria* [J]. *Steroids*, 2007, 72: 908-913.
- [46] Cimino G, Desiderio B, De Stefano S, et al. Chemistry of Mediterranean gorgonians. A novel steroids from the gorgonian *Eunicella cavolini* [J]. *Cell Mol Life Sci*, 1979, 35: 298-299.
- [47] Wu S L, Wang G H, Dai C F, et al. Pregnane-Based Steroids from a formosan gorgonian *Subergorgia mollis* [J]. *J Chin Chem Soc*, 2004, 51: 205-208.
- [48] Dawe R D, Wright J L C. An improved route to pregna-5, 20-dien-3-ol (muricin aglycone): Carbon and proton nuclear magnetic resonance assignment for the aglycone and a number of related pregnene derivatives [J]. *Can J Chem*, 1987, 65: 666-669.
- [49] Ortega M J, Zubá E, Rodríguez S, et al. Muricenones A and B—new degraded pregnanes from a gorgonian of the genus *Muricea* [J]. *Eur J Org Chem*, 2002, 19: 3250-3253.
- [50] Fusetani N, Yasukawa K, Matsunaga S, et al. Dimorphosides A and B, novel steroids glycosides from the gorgonian *Anthoplexanura dimorpha* [J]. *Tetrahedron Lett*, 1987, 28: 1187-1190.
- [51] Qi S H, Zhang S, Huang J S, et al. Complete ¹H and ¹³C-NMR assignments of four new steroidal glycosides from agor-gonian coral *Junceella juncea* [J]. *Magn Reson Chem*, 2005, 43: 266-268.
- [52] Wasylk J M, Martin G E, Weinheimer A J, et al. Isolation and identification of a new pregene glycoside from the gorgonian *Pseudoplexa wagenari* [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52: 391-394.
- [53] Murillo-Alvarez Jesus I, Encarnacion-Dimayuga R. New bioactive pregnadienederived glycosides from the gulf of California gorgonian *Muricea cf. austere* [J]. *Pharm Biol*, 2003, 41: 531-535.

膜技术在多糖分离应用中存在问题探讨

陈彦佐,冯怡*,徐德生,郑琴*

(上海中医药大学 中药现代制剂技术教育部工程研究中心,上海 201203)

摘要:膜技术已应用于中药多糖组分的分离,但膜污染等问题阻碍膜技术的广泛应用。结合在应用膜技术分离麦冬多糖时发现的问题,对膜技术应用于中药多糖分离中的存在问题及解决方法进行综述和讨论,阐明了膜技术在多糖分离应用中分离效果的影响因素,为从事该方面研究的药学工作者提供参考。

关键词:膜技术;多糖;分离

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)06-0991-03

Problem on membrane technology applying to separation of polysaccharides

CHEN Yan-zuo, FENG Yi, XU De-sheng, ZHENG Qin

(Engineering Research Center of Modern Preparation Technology of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Key words: membrane technology; polysaccharides; separation

* 收稿日期:2008-12-26

基金项目:上海市重点学科资助(J50302)

作者简介:陈彦佐(1982—),女,辽宁辽阳人,上海中医药大学硕士,主要从事中药新制剂的研究。

*通讯作者 冯怡 Tel: (021)51322493 Fax: (021)51322491 E-mail: fyi@vip.sina.com E-mail: barbara0928@163.com

膜分离技术是近年来发展迅速的一项新兴的物质分离浓缩技术,其无需加入任何试剂,属于物理过程,无相变,可保持滤液 pH 值,生产能耗低,工艺流程短,可在常温低压下连续操作,尤其适宜于热不稳定物质,在食品、医药、生化领域应用广泛,适用于多糖、蛋白质等大分子物质的分离浓缩^[1]。多糖是中药组分中相对分子质量大的物质,且其活性也被越来越多的药学工作者证实。可应用相对分子质量分级的原理,采用膜技术将不同相对分子质量的多糖组分进行分离并浓缩,从而为多糖的工业化生产提供一种有效分离手段。

目前虽然膜技术有其独特的优点,但在中药多糖分离中的应用远远未达到应有程度。究其原因,尚存在以下问题:膜材料的品种少;膜的污染问题;膜组件的选择方法尚未建立等。笔者就目前膜技术在多糖分离中的应用概况,结合本实验室多年来将膜技术应用于麦冬多糖分离中发现的一些问题及解决方法进行综述和讨论,以便为从事该方面研究的药学工作者提供一些参考。

1 膜技术在中药多糖分离中的应用

从天然产物中分离制备多糖的传统工艺,如水提醇沉法、改良明胶法等,工艺复杂、生产周期长、成本高,使工业化生产和临床应用受到限制。20 世纪 80 年代中后期至 90 年代初,一些新型分离技术如凝胶分离、柱色谱、超滤等陆续被尝试用于多糖的分离,为多糖的应用带来新的发展前景。膜技术根据膜的孔径大小不同可分为超滤、纳滤、微滤等。膜分离过程是建立在膜的选择透过性的基础上,利用膜的这种特性,就可以对混合物进行分离。超滤膜、纳滤膜的选择透过性主要取决于膜孔径的大小与溶质分子的直径。它是一种在压差推动力作用下进行的筛孔分离过程,在一定压差的作用下,当含有高分子溶质和低分子溶质的混合溶液流过膜表面时,溶剂和小于膜孔的低分子溶质透过膜,成为透过液被收集;大于膜孔的高分子溶质及胶体微粒则被膜截留而作为浓缩液被收集,这样便达到了分离浓缩的效果。超滤的截留相对分子质量在 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$,允许粒度范围 $0.001 \sim 0.1 \mu\text{m}$,而大多数多糖的分子径在 $0.002 \sim 0.01 \mu\text{m}$,可以满足超滤截留的要求。

灵芝发酵液的水溶性多糖相对分子质量 2.9×10^4 ^[2],陈灵等^[3]采用截留相对分子质量为 2×10^4 的中空纤维超滤膜,可将灵芝发酵液中多糖浓缩近 10 倍。李树珍等^[4]采用截留相对分子质量 6×10^4 的聚砜中空纤维超滤膜超滤黄芪水煮液,结果超滤法比水提醇沉法所得多糖的量高 20% 左右。韩鲁佳等^[5]将超滤法与树脂吸附法相结合,同时得到量较高的多糖和皂苷产品。祝新德等^[6]采用截留相对分子质量为 1×10^4 的中空纤维超滤膜从已提取皂苷的人参残渣中分离、浓缩人参多糖。苏彦珍等^[7]采用截留相对分子质量为 $6 \times 10^4 \sim 7 \times 10^4$ 的醋酸纤维素超滤膜对生脉饮方进行了提取工艺探索,发现超滤法对人参总皂苷和总多糖相对分子质量较大的部分有截留和吸附,效果比传统的水煎醇沉法好。六味地黄汤中具有免疫促进作用的主要有效成分是相对分子质量为 3×10^4 左右的多糖^[8]。王厚迁等^[9]利用两支相对

分子质量截留值分别为 2×10^4 、 4×10^4 的中空纤维超滤柱,得到相对分子质量 $2 \times 10^4 \sim 4 \times 10^4$ 的活性多糖成分。

此外,在紫芝多糖^[10]、香菇多糖^[11]、银耳多糖^[12]、枸杞多糖^[13]、芦荟多糖^[14]、虫草粗多糖^[15]、姬松茸子实体多糖^[16]等的制备中都采用了膜技术,其成品在澄明度、稳定性、有效成分的量等方面均优于传统方法。

2 膜技术在多糖分离应用中的膜污染问题

膜污染问题是阻碍膜技术由实验室研究走向工业应用阶段的最大障碍。在中药制剂的超滤过程中,若药液预处理效果不佳时,膜面易污染,膜孔堵塞,使渗透通量即生产率下降,甚至不能正常工作,导致膜的使用寿命缩短^[17-20]。

麦冬多糖是本实验室首次发现具有抗心肌缺血的植物多糖^[21]。经研究发现:约占麦冬多糖 60% 的均一相对分子质量 5×10^3 的多糖(-D 果聚糖,以下简称 MDG1),为抗心肌缺血的物质基础。在应用超滤技术分离麦冬多糖时发现,流出液中 MDG1 量随收集液体积的增加呈现不规则趋势。

分析其原因有以下几方面:超滤过程中 MDG1 不断透过超滤膜,料液液剩余 MDG1 呈减少趋势,并且料液不断被稀释,MDG1 浓度减小,滤过液中 MDG1 浓度也减小;在操作一定时间后,卷式膜管的堵塞以及凝结层过厚,使料液浓度升高,黏度增加,即使不断稀释料液,也会引起膜通量呈下降趋势,单位体积滤过液中 MDG1 的量减少;稀释时水与药液未混匀。

研究还发现,由于膜孔堵塞,随超滤时间增加,滤速降低,压力增大,温度也升高。超滤设备的压力范围一般较窄,而由于超滤过程中的膜污染会导致工作压力比初始压力升高 0.06 MPa 左右,影响生产的连续性。因此,对于膜通量,超滤压力的考察、优选尤为重要。另外,料液的洁净程度也与膜污染有很大关系,离心法、抽滤法、陶瓷膜过滤法均可除去料液中较大粒子,从源头上降低膜污染,也利于延长膜寿命。

3 膜技术在多糖分离应用中分离效果的影响因素

3.1 膜分离方式:本实验室采用超滤与纳滤结合的方法分离浓缩麦冬多糖提取液,以超滤法除热原,以纳滤法除小分子杂质并浓缩。在研究中发现,采用相对分子质量 1×10^4 的膜超滤后,仍有 MDG1 残留膜上,这与截留液浓度不断增大,膜通量下降及多糖的空间构象有关。为探明不同类型超滤膜对分离的影响,考察了采用卷式超滤膜和板框膜超滤的滤过液和截留液中 MDG1 的量。结果显示,卷式膜的损失低于板框膜,可能因为板框膜截留液体积比卷式膜截留液的小,MDG1 浓度较高,但二者截留液体积都较大,说明损失较多,不利于 MDG1 的富集。研究中试图通过对超滤中膜通量、压力、温度、药液浓度等参数优化,来提高其分离效果,结果损失有所降低,但需提高膜自身质量来进一步提高分离效果。

采用纳滤麦冬多糖溶液进行浓缩时,纳滤透过液中只含有 0.54% MDG1,MDG1 几乎无损失,因此用该方法浓缩麦冬多糖效果较好。

3.2 膜质量:膜材料在我国的研究和开发中尚存在以下问

题,膜孔径大小不一,均一性较差,平均孔径切割相对分子质量大致为 $2 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$,对不同相对分子质量的物质,其截留率最长达 95%。而一个合格理想的超滤膜,应有严格的孔径尺寸、狭小的孔径分布以及合适的孔隙率,所以采用单一膜分离效果是有限的,且目前在膜的生产上无统一的标准。确定一种超滤膜切割分子质量,必须有一系列已知的不同相对分子质量的物质作截留试验,求得截留率随相对分子质量变化的曲线,方可正确判断其切割相对分子质量的范围。如果仅以对某种物质截留率达 90% 为依据很容易产生偏差。另外,膜在使用过程中具有时变性,即水解作用、膜的压缩^[22~25]。

目前膜分离技术在多糖纯化中的应用较多,但多数尚处于实验阶段。要实现多糖提取纯化的规模化应用,还要取决于相关方面的发展,如膜截留性能的改善、提高膜对低聚糖的截留率及加大不同相对分子质量物质之间的截留差距;膜污染机制研究和性能优良、抗污染膜材料的研究。

3.3 料液预处理:超滤膜为一种不对称膜,表面是致密层,下层是支持层,孔径较大,呈海绵状。膜的孔径由致密层决定。中药材成分复杂,含杂质多,如不预先处理除防磁,则会阻塞膜孔,影响滤速。预处理得好,会降低膜的污染,提高系统的生产能力,减少系统的冲洗次数,并能延长膜寿命^[26]。

3.4 技术参数:同样条件下,料液温度高则通量也大。因为在一定范围内,温度升高使溶液黏度下降,溶质在溶液中的扩散系数增大,从而提高传质效率,且溶解度增大相应会减少浓差极化,故膜通量在温度升高时较大。因此,对于超滤温度的选择应综合考虑膜性能、料液的性质等因素。

在一定的压力范围内,随着压力增加,平均膜通量增加较快;当压力进一步增大时,膜通量则增加趋缓。在相同压力条件下,膜通量受时间的影响较小。超滤时如压力过大,会影响超滤膜的使用寿命^[27]。

4 展望

多糖产品由实验室研究转变为工业生产的关键在于采用规模化分离技术。随着多糖新产品不断涌现,纯度要求越来越高,发展高效的分离技术成为大规模生产多糖的一个重要课题。为了提高产品质量,降低生产成本,缩短生产周期,今后的研究趋势是分离技术的高效集成化。以超滤、微滤、纳滤及电渗析等多种性能的膜技术进一步联用,取代能耗大、费用高、周期长、处理不彻底的传统工艺操作,将是多糖分离浓缩的发展新趋势。

参考文献:

[1] 何江川,韩永萍. 超滤膜分离法在多糖分离提取中的应用[J]. 食用菌, 2005(1): 5.
 [2] 黄为群,吴其威,黄瑞珊,等. 灵芝发酵产物中多糖组分的分离与性质研究[J]. 上海交通大学学报, 1994, 28(2): 83.

[3] 陈灵,罗九浦. 利用中空纤维超滤分离和浓缩灵芝多糖[J]. 上海交通大学学报, 1996, 30(11): 11.
 [4] 李树珍,赵红霞,白卫国. 黄芪不同提取工艺多糖含量的比较[J]. 中草药, 1995, 26(8): 408.
 [5] 韩鲁佳,阎巧娟,江正强,等. 黄芪多糖及皂苷提取工艺研究[J]. 农业工程学报, 2000, 16(5): 118.
 [6] 祝新德,陈灵. 中空纤维超滤技术在提纯人参多糖中的应用[J]. 实验研究与探索, 1997, 2: 46.
 [7] 苏彦珍,孙红月,胡奇芬. 不同工艺路线制备生脉口服液的比较[J]. 中国药学杂志, 1999, 24(2): 9.
 [8] 乔善义. 六味地黄汤活性成分的研究[C]. 沈阳药科大学博士论文集, 1997.
 [9] 王厚迁,乔善义,杨明,等. 超滤法提取六味地黄汤活性多糖的工艺研究[J]. 解放军药学报, 2001, 17(2): 69.
 [10] 叶姜瑜,谈锋. 紫芝多糖的纯化及组分分析[J]. 西南师范大学学报:自然科学版, 2002, 27(6): 94.
 [11] 念保义,陈铭,王铮敏. 超滤膜分离香菇多糖的研究[J]. 化学工业与工程技术, 2003, 24(4): 27.
 [12] 左勇,罗惠波,吴华昌. 超滤浓缩银耳多糖的研究[J]. 中国医药工业杂志, 2004, 35(12): 718.
 [13] 潘泰安,毛忠英,张建成,等. 枸杞多糖生产工艺及产品的开发研究[J]. 中国食品添加剂, 2002, 4: 21.
 [14] 彭银仙,蔡国兴,顾香玉,等. 膜分离浓缩芦荟原汁[J]. 生物技术, 2003, 13(5): 35.
 [15] 韩永萍,林强. 无机陶瓷微滤膜纯化虫草粗多糖的研究[J]. 中草药, 2008, 39(10): 1490-1493.
 [16] 韩永萍,刘扬平. 膜法分级纯化姬松茸子实体多糖的研究[J]. 中草药, 2006, 37(3): 365-368.
 [17] 冯惠勇. 在生物产品分离中膜污染的影响因素及其控制[J]. 河北科技大学学报, 1999, 20(2): 39.
 [18] 贺立中. 药液超滤过程中的膜污染及其防治[J]. 膜科学与技术, 2000, 20(5): 49.
 [19] Jonsson A S. Concentration polarization and fouling during ultrafiltration of colloidal suspensions and hydrophobic solutes[J]. *Sep Sci Technol*, 1995, 30(2): 301.
 [20] Baker R W Cussler E, Eykamp W. *Membrane Separation Systems, Recent Developments and Future Directions* [M]. Park Ridge: Noyes Data Corporation, 1991.
 [21] 徐德生,冯怡,林晓,等. 麦冬多糖 MDG-1 的分离纯化和结构分析[J]. 药学学报, 2005, 40(7): 636.
 [22] 余三佳,陈小良,潘小明,等. 多糖纳滤浓缩初步研究[J]. 水处理技术, 2001, 27(1): 9.
 [23] 胡亚芹,曹杨. 超滤膜技术在多糖提取方面的应用[J]. 生物技术通讯, 2005, 16(2): 228.
 [24] 陆晓峰,陈仕意,刘光全,等. 超滤膜的吸附污染研究[J]. 膜科学与技术, 1997, 17(1): 37.
 [25] 罗敏,王占生,侯立安. 纳滤膜污染的分析与机理研究[J]. 水处理技术, 1998, 24(6): 319.
 [26] 韩宁. 麦冬多糖注射剂抗心肌缺血新药开发研究[C]. 上海中医药大学硕士论文, 2003.
 [27] 左勇,罗惠波,吴华昌. 超滤浓缩银耳多糖的研究[J]. 中国医药工业杂志, 2004, 35(12): 718.