

• 药剂与工艺 •

一种适用于制药行业中快速评价超滤膜孔径的方法

李存玉^{1,2}, 马 赟¹, 陈 涛¹, 支兴蕾^{1,2}, 李红阳¹, 郑云枫^{1,2}, 彭国平^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 解决制药行业中膜技术应用存在的技术瓶颈, 建立快速可行的超滤膜孔径评价方法。 **方法** 在前期研究的基础上, 筛选出三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 和 R_d 为指标成分, 累积各成分在截留相对分子质量 (MWCO) $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ 超滤膜中的分离数据, 分析系列截留率 (R) 与膜 MWCO 数据之间的相关性。 **结果** 三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 和 R_d 的 R 与超滤膜 MWCO 之间可以拟合成分段方程, 回归系数均大于 0.98, 通过多种超滤膜进行检测验证。 **结论** 建立了以成分累计 R 进行初步评判, 进而采用方程计算的膜孔径评价方法, 该方法对实验条件要求低, 成本低, 且结果准确, 将有效提升膜分离技术在制药行业中的推广应用。

关键词: 超滤膜; 孔径评价; 制药; 三七皂苷 R_1 ; 人参皂苷 R_{g_1} ; 人参皂苷 R_{b_1} ; 人参皂苷 R_d

中图分类号: R283.3 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)11-1603-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.11.007

Establishment of a rapid method to evaluate ultrafiltration membrane aperture for pharmaceutical industryLI Cun-yu^{1,2}, MA Yun¹, CHEN Tao¹, ZHI Xing-lei^{1,2}, LI Hong-yang¹, ZHENG Yun-feng^{1,2}, PENG Guo-ping^{1,2}

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To solve the technical bottleneck in the application of membrane technology in pharmaceutical industry and to establish a fast and feasible method for evaluating molecular weight cut-off (MWCO) of ultrafiltration membrane. **Methods** Based on works, *Panax notoginseng* saponins (PNS), R_1 , R_{g_1} , R_{b_1} , and R_d , were selected as indexes for filtering with series ultrafiltration membranes, the retention rate of PNS was accumulated and analyzed with different MWCOs ($1 \times 10^3 - 1 \times 10^5$). **Results** The relevant equations were fitted by linear and exponential function, the regression coefficients of equations between the retention rates of PNS and MWCOs were bigger than 0.98. Then, the equations were applied for calculating the different MWCOs of being-measured ultrafiltration membranes. **Conclusion** Preliminary judgment is obtained by comparison analysis of cumulative retention rate, and then the optimal MWCO under tested membranes is calculated by subsection equations. This research results have provided a simple and rapid method of evaluating the membrane MWCOs for pharmaceutical industries.

Key words: ultrafiltration; molecular weight cut-off evaluation; pharmaceutical industry; notoginsenoside R_1 ; ginsenoside R_{g_1} ; ginsenoside R_{b_1} ; ginsenoside R_d

在药物开发及生产中膜分离技术的应用日趋成熟, 如色谱检测、蛋白分离、除热原等, 具有无加 热反应、无二次污染等优势^[1-3]。但在实际应用中, 随着膜组件使用周期增加或膜组件更换, 往往出现

收稿日期: 2014-12-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81373980); 江苏省高校自然科学基金项目 (12KJB360009); 南京中医药大学青年自然科学基金资助项目 (13XZR24); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 李存玉 (1985—), 男, 博士, 讲师, 研究方向为中药制药。Tel/Fax: (025)86798186 E-mail: licunyuok@163.com

*通信作者 彭国平 (1963—), 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事中药制剂精制及新药研究。

Tel/Fax: (025)86798186 E-mail: guopingpeng@126.com

膜分离性能变化的现象,需要重新评估膜分离性能,但目前尚无简便可行的实验评估方法。从而导致延误研发与生产,限制膜分离技术应用。究其原因,随着膜使用时间的增长或者膜组件的更换,影响其分离性能的膜截留相对分子质量(MWCO)及膜孔径分布范围发生改变^[4]。现有膜孔径评价方法多由制膜企业掌控,而公开的方法中存在检测膜孔径的标准物价格昂贵、标准误规格不一、检测结果偏差大^[5-7]等问题,在制药企业中无法推广应用。为了解决制药过程中膜技术存在的上述问题,在前期积累的大量中药成分超滤数据的基础上^[8-10],筛选出成分稳定且容易获得的三七总皂苷作为实验对象,以其中含有的三七皂苷 R₁ 及人参皂苷 Rg₁、Rb₁ 和 Rd 为标准物质,选择孔径相对标准的系列超滤膜进行分离数据积累,进而分析拟合运算,并对不同类型的超滤膜进行 MWCO 计算及孔径分布分析,建立并完善适用于制药行业中膜孔径评价方法。

1 仪器与材料

XX8200230 型蠕动泵,德国 Merck Millipore 公司;KQ-250E 型超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司;Millipore 超滤膜,MWCO 分别为 1×10³、5×10³、1×10⁴、3×10⁴、5×10⁴、1×10⁵,材质为改良纤维素,德国 Merck Millipore 公司;待测超滤膜见表 1。Agilent 1100 高效液相色谱仪,四元泵溶剂系统,在线脱气机,自动进样器 VWD 检测器,Agilent 色谱工作站,美国安捷伦公司。

三七皂苷 R₁ (质量分数≥98%,批号 110745-200312)、人参皂苷 Rg₁ (质量分数≥98%,批号 110703-200424)、人参皂苷 Rb₁ (质量分数≥98%,批号 110704-200318) 对照品,均购自原中国药品生物制品检定所;人参皂苷 Rd 对照品,质量分数≥98%,批号 070319,上海融禾医药科技发展有限公司。三七总皂苷,批号 20100701,云南玉溪万方天然药物有限公司;乙腈为色谱纯;水为超纯水。

表 1 待测超滤膜参数

Table 1 Parameters of being-measured ultrafiltration membranes

超滤膜	标示 MWCO	使用周期/h	材质	型号	生产厂家
I	1×10 ⁴	0	聚醚砜	ST	美国 Synder Filtration 公司
II	5×10 ³	>500	改良纤维素	Pellicon 2	德国 Merck Millipore 公司
III	3×10 ⁴	0	聚醚砜	MK	美国 Synder Filtration 公司
IV	5×10 ⁴	0	聚醚砜	NUF	无锡耀天超滤设备有限公司
V	5×10 ⁴	0	聚偏氟乙烯	TZ50	南京拓鈺医药科技有限公司
VI	5×10 ⁴	0	聚醚砜	MQ	美国 Synder Filtration 公司

2 方法

2.1 溶液的制备

2.1.1 三七总皂苷溶液 精密称取三七总皂苷适量,超纯水溶解,0.45 μm 微孔滤膜滤过,质量浓度为 10 mg/mL,得三七总皂苷溶液。其中,三七皂苷 R₁ 质量浓度为 0.78 mg/mL,人参皂苷 Rg₁ 质量浓度为 2.72 mg/mL,人参皂苷 Rb₁ 质量浓度为 3.44 mg/mL,人参皂苷 Rd 质量浓度为 0.76 mg/mL。

2.1.2 混合对照品溶液 分别精密称取干燥至恒定质量的对照品三七皂苷 R₁ 4.81 mg、人参皂苷 Rg₁ 15.12 mg,人参皂苷 Rb₁ 20.07 mg,人参皂苷 Rd 5.02 mg 置于 5 mL 量瓶中,加甲醇稀释至刻度,得含 4 种成分质量浓度分别为 0.962、3.024、4.014、1.004 mg/mL 的混合对照品溶液。

2.2 超滤操作规范

取 2~3 L 三七总皂苷溶液置于超滤系统(图 1)

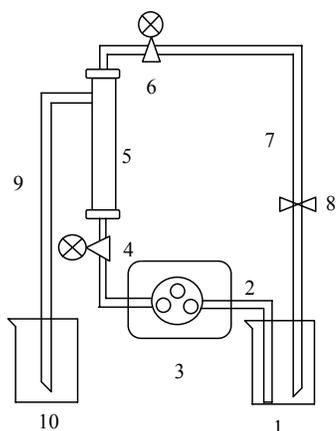
中,为了排除膜组件中残留水及膜材质吸附等因素的影响,超滤操作温度 22~25 °C,操作压力<0.1 MPa,待超滤膜与三七总皂苷溶液之间吸附-解吸附平衡后,从储液罐中取样为平衡液,进而进行超滤,待超滤完成后,从超滤液罐中取样为超滤液,分别进液相检测,并按下式计算三七总皂苷截留率(R)。

$$R = C_{\text{滤}} / C_{\text{平}}$$

C_滤为超滤液中三七总皂苷中主要成分的质量浓度,C_平为平衡液中三七总皂苷中主要成分的质量浓度

2.3 超滤数据积累

取系列 MWCO 的 Millipore 超滤膜置于超滤系统(图 1)中,按照超滤操作规范方法,数据重复累计(n=3),计算三七总皂苷溶液中三七皂苷 R₁ 及人参皂苷 Rg₁、Rb₁ 和 Rd 在不同 MWCO 超滤膜中的平均 R,并对 R 与相应的超滤膜 MWCO 进行回归计算,形成供待测超滤 MWCO 拟合的回归方程。



1-储液罐 2-进液管 3-蠕动泵 4-进液压力表 5-超滤膜 6-截留液压力表 7-截留液 8-调速阀 9-超滤液 10-超滤液罐
1-stock solution tank 2-inlet pipe 3-peristaltic pump 4-pressure gage 5-ultrafiltration membrane 6-pressure gage 7-rejected solution 8-speed regulator valve 9-ultrafiltrate 10-ultrafiltrate tank

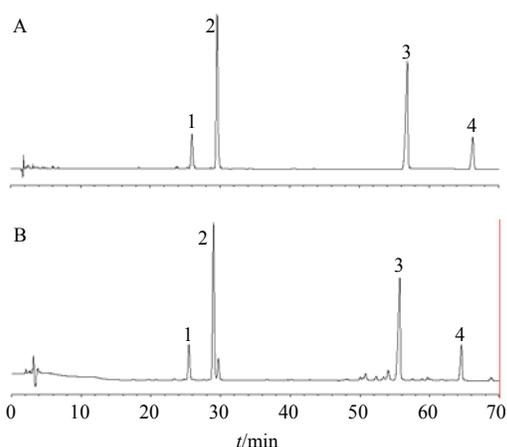
图1 超滤过程示意图

Fig. 1 Ultrafiltration process diagram

2.4 定量测定

2.4.1 色谱条件^[11] Kromasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-水, 梯度洗脱: 0~20 min, 20%乙腈; 20~45 min, 20%~46%乙腈; 45~55 min, 46%~55%乙腈; 55~60 min, 55%乙腈; 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 25 °C, 检测波长为 203 nm。色谱图见图 2。

2.4.2 线性关系考察 分别取混合对照品溶液 20、10、5、2、1 μL, Agilent 1100 高效液相色谱仪检测,



1-三七皂苷 R₁ 2-人参皂苷 R_{g1} 3-人参皂苷 R_{b1} 4-人参皂苷 R_d
1-notoginsenoside R₁ 2-ginsenoside R_{g1} 3-ginsenoside R_{b1}
4-ginsenoside R_d

图2 混合对照品 (A) 与样品 (B) 的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC of mixed reference substances (A) and sample (B)

以峰面积为纵坐标 (Y), 对照品溶液进样量为横坐标 (X), 得线性回归方程: 三七皂苷 R₁ 为 $Y=155X-131.8$, $R^2=0.9981$; 人参皂苷 R_{g1} 为 $Y=261.9X-57.96$, $R^2=0.9993$; 人参皂苷 R_{b1} 为 $Y=297.4X+11.44$, $R^2=0.9990$; 人参皂苷 R_d 为 $Y=103.6X-75.94$, $R^2=0.9972$; 表明三七皂苷 R₁ 在 0.962~19.240 μg、人参皂苷 R_{g1} 在 3.024~60.480 μg、人参皂苷 R_{b1} 在 4.014~80.280 μg、人参皂苷 R_d 在 1.004~20.080 μg 各成分峰面积与进样量之间线性关系良好。

2.4.3 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 按“2.4.1”项下色谱条件检测, 色谱峰峰面积积分值的 RSD 分别为三七皂苷 R₁ 0.48%, 人参皂苷 R_{g1} 0.85%, 人参皂苷 R_{b1} 1.41%, 人参皂苷 R_d 1.24%。

2.4.4 稳定性试验 精密吸取按“2.1.1”项下方法处理的三七总皂苷溶液 10 μL, 分别于 0、1、2、4、8、12、24 h 进样, 按“2.4.1”项下色谱条件检测, 色谱峰峰面积积分值的 RSD 分别为三七皂苷 R₁ 0.91%, 人参皂苷 R_{g1} 1.02%, 人参皂苷 R_{b1} 0.84%, 人参皂苷 R_d 1.36%, 结果表明三七总皂苷溶液在 24 h 内稳定。

2.4.5 重复性试验 按“2.1.1”项下方法平行制备 5 份三七总皂苷溶液, 按“2.4.1”项下色谱条件检测, 各成分质量浓度的 RSD 分别为三七皂苷 R₁ 1.57%, 人参皂苷 R_{g1} 1.51%, 人参皂苷 R_{b1} 2.03%, 人参皂苷 R_d 1.75%。

2.4.6 加样回收率试验 精密吸取质量浓度为 10 mg/mL 的三七总皂苷溶液 6 份, 分别精密加入混合对照品适量, 按“2.4.1”项下色谱条件进行定量测定, 计算得平均回收率分别为三七皂苷 R₁ 101.15%、人参皂苷 R_{g1} 98.85%、人参皂苷 R_{b1} 96.80%、人参皂苷 R_d 102.03%, 其 RSD 分别为 1.43%、1.96%、2.05%、2.21%。

2.5 数据拟合、计算方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析, 成分的 R 平均值与超滤膜 MWCO 分别采用线性、指数等方程进行拟合运算, 回归系数大于 0.98, 拟合方程成立。

2.6 待测超滤膜 MWCO 检测

取待测超滤膜置于超滤系统中的超滤膜部位 (图 1), 按照超滤操作规范方法进行超滤取样, 重复 3 次, HPLC 检测并计算三七总皂苷中主要成分

的平均 R 。通过与超滤积累数据对比, 并采用拟合方程计算, 分析待测超滤膜的 MWCO 及膜孔径分布范围。

3 结果

3.1 成分的超滤 R

三七总皂苷中含有的 4 个主要成分三七皂苷 R_1 及人参皂苷 R_{g_1} 、 R_{b_1} 和 R_d 的 R 累计数据见图 3, 各成分在 MWCO $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ 的超滤膜中呈现出不同的分离效果, 随着超滤 MWCO 的增大或减小, 三七皂苷 R_1 、人参皂苷 R_{g_1} 与人参皂苷 R_{b_1} 、 R_d R 差异表现出逐步增加进而逐步减小的趋势。

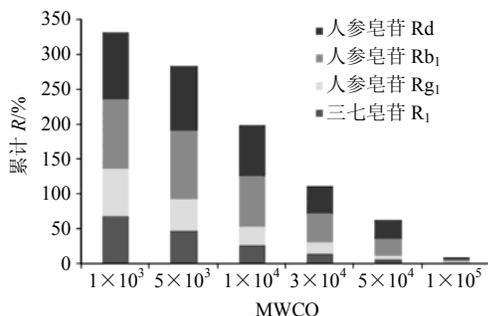


图 3 三七总皂苷的超滤累计 R
Fig. 3 Ultrafiltration cumulative R of PNS

3.2 成分 R 与膜孔径的相关性分析

根据三七总皂苷中主要成分的 R 与超滤膜 MWCO (M) 数据之间的关联性, 进行回归运算, 发现 MWCO 在 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ 及 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$ 内, MWCO 与成分 R 之间呈现较好的线性或者指数方程关系, 且各方程的回归系数 (r) 均大于 0.98 (表 2)。

3.3 滤膜孔径评价方法的建立

① 待测滤膜按照超滤规范操作, 在规定的操作压力和温度下, 排除膜材质对三七总皂苷中成分的影响, 进而取样检测、分析, 计算成分的 R ; ② 将待测超滤膜呈现出的三七总皂苷中成分的截留结果与图 3 中的累计 R 对比, 初步确定 MWCO 范围; ③ 根据超滤膜孔径落在 $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ 或 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$, 分别采用方程中适宜的区间进行计算, 确定膜 MWCO 分布范围。

3.4 待测超滤膜的检测结果

根据图 4 中的三七总皂苷的超滤累计 R 与图 3 对比, 初步确定待测超滤膜的 MWCO 分别为超滤膜 I 1×10^4 左右、超滤膜 II $5 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ 、超滤膜 III 3×10^4 左右、超滤膜 IV~VI 均在 5×10^4 左右。

表 2 MWCO 与成分 R 之间的相关性

Table 2 Correlation between MWCO and R

成分	MWCO 范围	关系方程	r
三七皂苷 R_1	$1 \times 10^3 \leq M \leq 1 \times 10^4$	$R = -6.19 M + 78.21$	0.991
	$1 \times 10^4 < M \leq 1 \times 10^5$	$R = -6.50 \ln M + 31.6$	0.985
人参皂苷 R_{g_1}	$1 \times 10^3 \leq M \leq 1 \times 10^4$	$R = -5.483 M + 71.34$	0.993
	$1 \times 10^4 < M \leq 1 \times 10^5$	$R = -6.35 \ln M + 31.12$	0.981
人参皂苷 R_{b_1}	$1 \times 10^3 \leq M \leq 1 \times 10^4$	$R = -0.359 M^2 + 1.678 M + 96.76$	0.985
	$1 \times 10^4 < M \leq 1 \times 10^5$	$R = 109.2 e^{-0.03 M}$	0.997
人参皂苷 R_d	$1 \times 10^3 \leq M \leq 1 \times 10^4$	$R = -0.283 M^2 + 1.465 M + 97.85$	0.990
	$1 \times 10^4 < M \leq 1 \times 10^5$	$R = 123.7 e^{-0.03 M}$	0.991

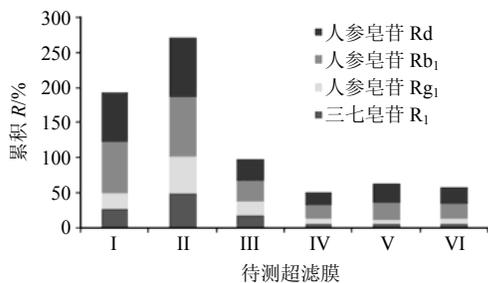


图 4 待测超滤膜的三七总皂苷的超滤累计 R
Fig. 4 Ultrafiltration cumulative R of being-measured ultrafiltration membranes of PNS

进而选择相应方程进行计算, 结果见表 3。

待测超滤膜生产企业采用聚乙二醇为标准物质检测其 MWCO, 但是作为标准物质使用的聚乙二醇检测成本高, 且检测方法不被制药企业所掌握。选用三七总皂苷作为标准物质检测的结果见表 3, 分析数据发现, 聚醚砜材质的超滤膜 I 拟合 MWCO 范围与其标示 MWCO 基本一致, 说明三七总皂苷在亲水性材质的聚酰胺与改良纤维素具有相似的超滤行为; 长期使用的超滤膜 MWCO 呈现出增大的现象, 从而也改变了其分离性能; MWCO 为 3×10^4

表3 待测超滤膜拟合 MWCO
Table 3 Fitting MWCO of being-measured ultrafiltration membranes

待测超滤膜 (标示 MWCO)	拟合 MWCO				拟合 MWCO 分布范围
	三七皂苷 R ₁	人参皂苷 R _{g1}	人参皂苷 R _{b1}	人参皂苷 R _d	
I (1×10 ⁴)	9 800	9 900	10 100	10 000	9 800~10 100
II (5×10 ³)	7 000	6 500	6 800	6 700	6 500~ 7 000
III (3×10 ⁴)	27 600	26 800	36 500	35 100	26 800~36 500
IV (5×10 ⁴)	47 500	46 800	58 300	60 700	47 500~60 700
V (5×10 ⁴)	52 100	51 400	50 500	50 700	50 500~52 100
VI (5×10 ⁴)	48 300	49 100	53 400	56 100	48 300~56 100

美国 Synder Filtration 超滤膜 (III) 的拟合结果为 26 800~36 500, 说明其孔径分布相较于 3×10⁴ Millipore 超滤膜更为宽泛。针对具有相同 MWCO、不同生产厂家的超滤膜进行检测计算, 发现三者之间存在差异, 其中超滤膜 IV MWCO 分布范围较宽, 超滤膜 V MWCO 相对准确, 而引起拟合 MWCO 差异的原因可能是制膜厂家的制膜工艺不同或采用的标准物质聚乙二醇相对分子质量分布范围偏大。

4 讨论

超滤膜 MWCO 是衡量膜分离性能的重要参数, 其检测和标定均是由膜生产厂家完成, 而真正的膜使用单位尚没有方法评价新采购或已使用超滤膜的分离性能, 这是影响膜使用单位生产效率及其产品质量稳定性的主要原因。本实验提供了一种简便、可行且成本较低的超滤膜 MWCO 检测方法, 适用于 MWCO 在 1×10³~1×10⁵ 的亲水性超滤膜。

同时, 为了保证方法结果的准确性, 本实验前期对相关影响因素进行了摸索优化, 首先需要排除膜材质与成分之间吸附-解吸附的影响, 采用不同超滤平衡时间的条件下, 检测计算膜组件对成分的动力学吸附率从而确定平衡时间。进而为了排除浓差极化, 经过试验摸索, 发现在操作压力小于 0.1 MPa 的前提下, 浓差极化对结果的影响较小。此外, 三七总皂苷质量浓度对其 R 有影响, R 与质量浓度在一定程度上呈正相关, 如果降低或升高质量浓度会导致 R 偏高的人参皂苷 R_{b1} 和 R_d 检测结果不稳定, 因此最终确定三七总皂苷的质量浓度在 10 mg/mL 左右, 结果准确, 可重复。

新型膜材质的开发是膜分离行业的发展方向之一^[12-14], 相同孔径但材质不同的超滤膜其分离特征存在明显的差别, 针对目前超滤膜多为亲水性材质, 本实验仅对亲水性材质改良纤维素进行了三七总皂

苷的超滤分离规律研究, 对亲水性材质的超滤膜孔径评价相对适用, 疏水性材质超滤膜的孔径评价方法尚需进一步完善。

目前, 生产上超滤膜的 MWCO 范围为 1×10³~1×10⁶, 本实验提供的方法仅适用于 MWCO 在 1×10³~1×10⁵ 的超滤膜, 因此存在一定的局限性。但是, 中药中成分的多样性决定了尚有未发现的且适用于超滤膜 MWCO 检测的中药成分, 因此需要逐步的积累中药成分的超滤分离数据, 总结规律, 筛选适用于超滤 MWCO 计算的中药成分, 进一步完善适用于超滤膜 MWCO 简便、快速、可行的检测方法, 从而从根本上提升超滤技术在制药行业中的适用性。

参考文献

- [1] Qiao X L, Zhang Z J, Ping Z H. Hydrophilic modification of ultrafiltration membranes and their application in *Salvia miltiorrhiza* decoction [J]. *Sep Purif Technol*, 2007, 56(3): 265-269.
- [2] 王永香, 刘涛, 王振中, 等. 活血通络注射液超滤工艺的膜污染及清洗研究 [J]. *中草药*, 2011, 42(5): 913-915.
- [3] Mahendra K, Jenny L. Preparation and characterization of negatively charged organic-inorganic hybrid ultrafiltration membranes for protein separation [J]. *Sep Purif Technol*, 2014, 130(6): 112-123.
- [4] Hwang K J, Liao C Y, Tung K L. Effect of membrane pore size on the particle fouling in membrane filtration [J]. *Desalination*, 2008, 234(1/3): 16-23.
- [5] Ren J Z, Li Z S, Wong F S. A new method for the prediction of pore size distribution and MWCO of ultrafiltration membranes [J]. *J Membr Sci*, 2006, 279(1/2): 558-569.
- [6] Chakrabarty B, Ghoshal A K, Purkait M K. Effect of molecular weight of PEG on membrane morphology and

- transport properties [J]. *J Membr Sci*, 2008, 309(1/2): 209-221.
- [7] Wickramasinghe S R, Bower S E, Chen Z, *et al.* Relating the pore size distribution of ultrafiltration membranes to dextran rejection [J]. *J Membr Sci*, 2009, 340(1/2): 1-8.
- [8] 李存玉, 郑云枫, 段金殿, 等. 羟丙基- β -环糊精及其荆芥挥发油和丹皮酚包合物的超滤适用性研究 [J]. *中药新药与临床杂志*, 2009, 28(2): 151-154.
- [9] 李贺敏, 彭国平, 郑云枫, 等. 不同材质及不同截留分子量超滤膜对三七总皂苷热原去除及成分的影响 [J]. *中药材*, 2011, 34(12): 1943-1946.
- [10] Li C Y, Huang X F, Xiao W, *et al.* Removal of bacterial endotoxin micelle from *Salvia* injection by composite materials ultrafiltration membrane [J]. *Asian J Chem*, 2013, 25(12): 6978-6982.
- [11] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [12] Kochan J, Wintgens T, Wong J E, *et al.* Properties of polyethersulfone ultrafiltration membranes modified by polyelectrolytes [J]. *Desalination*, 2010, 250(3): 1008-1010.
- [13] Zhao Z G, Zheng J F, Wang M J, *et al.* High performance ultrafiltration membrane based on modified chitosan coating and electrospun nanofibrous PVDF scaffolds [J]. *J Membr Sci*, 2012, 394/395: 209-217.
- [14] Yang J X, Shi W X, Yu S L, *et al.* Influence of DOC on fouling of a PVDF ultrafiltration membrane modified by nano-sized alumina [J]. *Desalination*, 2010, 239(1/3): 29-37.