

# 超滤血红蛋白过程中膜通量的传质特性均呈现阶段性特性\*\*\*\*\*◆

肖科, 刘峰, 高玮, 王翔, 王莹

## Mass transfer characteristics of hemoglobin solution in ultrafiltration process

Xiao Ke, Liu Feng, Gao Wei, Wang Xiang, Wang Ying

Key Laboratory of  
Biorheological  
Science and  
Technology, Ministry  
of Education, College  
of Bioengineering,  
Chongqing  
University,  
Chongqing 400030,  
China

Xiao Ke★, Master,  
Key Laboratory of  
Biorheological  
Science and  
Technology, Ministry  
of Education, College  
of Bioengineering,  
Chongqing  
University,  
Chongqing 400030,  
China  
Xiaoke83@yahoo.cn

Correspondence to:  
Wang Xiang,  
Professor, Doctoral  
supervisor, Key  
Laboratory of  
Biorheological  
Science and  
Technology, Ministry  
of Education, College  
of Bioengineering,  
Chongqing  
University,  
Chongqing 400030,  
China  
xwangchn@vip.sina.  
com

Supported by:  
National Natural  
Science Foundation  
of China, No.  
10572159\*; the  
Science and  
Technology Planning  
Projects of  
Chongqing Science  
and Technology  
Committee, No.  
2006ba5010\*;  
Innovation and  
Indraught Program of  
Higher Education,  
No. B06023\*; Open  
Foundation of Large  
Instruments and  
Equipment of  
Chongqing  
University, No.  
2074920060080\*

Received: 2010-11-28  
Accepted: 2011-01-17

### Abstract

**BACKGROUND:** Ultrafiltration membrane has the characteristics of little destruction of the natural conformation of the protein and high recovery, which has been used in the isolation and purification of protein.

**OBJECTIVE:** To optimize ultrafiltration of hemoglobin by using of the mass transfer model in order to isolate highly purified hemoglobin.

**METHODS:** Penetration flux, concentration of solution and the relationship between pressure and flux of enrichment hemoglobin solution in the process of ultrafiltration were studied by membrane ultrafiltration isolation and purification methods. Membrane resistance and concentration polarization resistance were quantitatively described and the mass transfer model was established.

**RESULTS AND CONCLUSION:** ①For the solution concentration of 1.69, 2.07, 2.66, 3.66 g/L, the ultrafiltration flux was 1.927 5, 1.875 0, 1.812 5, 1.750 0 L/(m<sup>2</sup>·h) respectively at the pressure of 0.04 MPa, 12 °C; ②For the different pressure: 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06 MPa, the ultrafiltration flux was 0.165, 0.245, 0.325, 0.400, 0.475 L/(m<sup>2</sup>·h) respectively with the same time; ③The membrane resistance was 0.118 2, and the pressure coefficient was 0.128. However, the gel layer was gradually formed with the increase of protein concentration; it was hard to concentrate the hemoglobin when the concentration was equal to the gel concentration. The gel concentration C<sub>g</sub> was 18.82 g/L, and the ultrafiltration mass transfer coefficient k was 0.700 8.

Xiao K, Liu F, Gao W, Wang X, Wang Y. Mass transfer characteristics of hemoglobin solution in ultrafiltration process. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(25): 4572-4574. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

### 摘要

**背景:** 膜超滤具有对蛋白质天然构象破坏较小以及回收率较高的特性, 被应用于蛋白质的分离及纯化上。

**目的:** 利用所建立的传质模型优化血红蛋白超滤操作条件以分离出高纯度的血红蛋白。

**方法:** 利用膜超滤分离纯化的方法, 研究浓缩血红蛋白溶液在超滤过程中溶液水分的渗透通量, 溶液浓度和滤膜内外压力差之间的相互关系, 对膜阻力和浓差极化阻力进行了定量描述, 建立传质模型。

**结果与结论:** ①在压力为 0.04 MPa, 温度为 12 °C 条件下, 溶液浓度分别为 1.69, 2.07, 2.66, 3.66 g/L 时, 溶液的超滤渗透通量分别为 1.927 5, 1.875 0, 1.812 5, 1.750 0 L/(m<sup>2</sup>·h)。②在相同单位时间条件下, 压力为 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06 MPa 时, 溶液的超滤渗透通量为 0.165, 0.245, 0.325, 0.400, 0.475 L/(m<sup>2</sup>·h)。③试验的膜阻力 R<sub>m</sub> 为 0.118 2, 压力系数 a 等于 0.128。随着蛋白浓度逐步升高, 凝胶层逐渐形成, 当达到凝胶浓度后再浓缩较困难。在试验条件下血红蛋白溶液凝胶浓度 C<sub>g</sub> 为 18.82 g/L, 超滤传质系数 k 为 0.700 8。

**关键词:** 血红蛋白; 超滤; 传质模型; 膜通量; 凝胶

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.25.004

肖科, 刘峰, 高玮, 王翔, 王莹. 超滤血红蛋白过程中膜通量的传质特性均呈现阶段性特性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(25):4572-4574. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

## 0 引言

血液代用品是一种能够替代人体血液履行职能的人工制剂<sup>[1]</sup>, 而血红蛋白是实现红细胞可逆结合携氧并给机体组织运送氧功能的主要蛋白质<sup>[2]</sup>, 目前, 血液代用品的研究主要基于血红蛋白及其衍生物<sup>[3-4]</sup>。因此, 开展血红蛋白溶液浓缩及提纯的理论研究对于以血红蛋白为基质的血液代用品研究具有很重要的意义。

超滤作为膜分离技术的一种, 其过滤压力为 0.01~0.5 MPa<sup>[5]</sup>, 并且具有使用空间小、能量消耗低、对泵和管材要求不高等优点和操作压力小、设备简单等特点<sup>[6]</sup>。近年来, 随着超滤技术在国内的广泛普及, 膜超滤已广泛应用

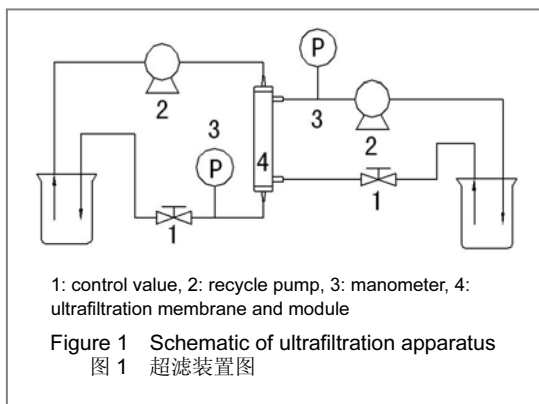
于生物医药和生物化工领域<sup>[7-12]</sup>。因其对蛋白质天然构象破坏较小以及回收率较高的特性<sup>[13]</sup>, 尤其应用于蛋白质的分离及纯化上, 如周勃等<sup>[14]</sup>已用超滤法分离纯化猪血红蛋白。在应用超滤法同时, 超滤传质模型的研究也相应展开, 如果胶超滤纯化过程传质模型和动力学分析<sup>[15]</sup>, 大豆蛋白溶液超滤过程传质特性的研究等等<sup>[16]</sup>。因此, 了解血红蛋白在超滤过程中的传质机制对于以超滤法浓缩血红蛋白技术就尤为重要。

本文采用超滤法提纯血红蛋白溶液, 对血红蛋白溶液在超滤过程中的传质特点进行研究, 分析操作压力对膜通量的影响, 探讨血红蛋白溶液的传质机制, 拟为此项技术的工艺化生产提供一定指导依据。

## 1 实验部分

**1.1 原料及仪器** 采集新鲜猪血, 离心后去上清液, 将生理盐水洗涤后的红细胞4 °C低渗破容4 h, 胀破的红细胞经高速离心得血红蛋白溶液待用; 超滤膜及组件为江苏郎生医疗器械工程有限公司L6产品, 膜材料均为聚芳砜, 膜面积为1.2 m<sup>2</sup>, 最大使用压力66.5 kPa; 压力表为重庆布莱迪仪器仪表有限公司Y-60, 测量范围0~0.1 MPa。

**1.2 试验装置** 试验采用连续循环模式, 超滤装置见图1。



**1.3 试验工艺流程** 调节控制阀, 使溶液在泵送条件下正压循环, 如上图左。右侧为水项, 调节控制阀形成负压循环流动, 正负压使膜内外形成压力差, 从而达到进行驱动过滤的目的。

**1.4 超滤膜的试验前处理** 先将控制阀门打开, 用蒸馏水洗涤, 将管道中残留液洗出, 气泡排出, 待至中性后可用泵将样品打入膜内进行超滤, 使用后的超滤膜经同样步骤清洗, 打入0.1 mol/L NaOH 溶液浸泡放置。

## 2 结果与分析

**2.1 超滤原理** 超滤是通过筛孔分离, 主要利用压力差为推动力使溶液中的大分子截留, 溶液中溶剂和小分子从高压侧透过到低压侧的分离过程<sup>[17]</sup>。由于溶液在超滤过程中, 通常是大分子被膜所截流, 因为他们在溶液中的扩散系数很小, 累积以后膜表面的浓度会逐步增高, 当此浓度 C<sub>m</sub> 增至溶质在溶液中的溶解度时就会形成凝胶层, 此时的浓度定义为凝胶浓度 C<sub>g</sub>。当膜表面形成凝胶层后, 跨膜压就与渗透速率无关, 也就是说即使提高跨膜, 压渗透通量也保持不变<sup>[18]</sup>。按此理论, 传质方程为:

$$J = k \ln(C_g / C_b) = k \ln C_g - k \ln C_b \quad (1)$$

式中: J 为渗透通量, L/(m<sup>2</sup> · h); k 为传质系数; C<sub>g</sub> 为凝胶浓度, g/L; C<sub>b</sub> 为进料液浓度, g/L;

其中其通量公式为:

$$J = V / (S \cdot t) \quad (2)$$

式中: V 为体积, L; S 为膜面积, m<sup>2</sup>; t 为时间, s。

同时由于压力对于超滤传质过程的重要影响, 有必要了解压力与渗透通量之间的关系。考虑在凝胶层尚未形成前除了膜阻力 R<sub>m</sub> 还有极化层阻力 R<sub>p</sub>, 根据此原理, 渗透通量表示为:

$$J = \frac{\Delta p}{R_m + R_p} \quad (3)$$

假定极化层阻力与压力差成正比,

$$J = \frac{\Delta p}{R_m + \alpha \Delta p} \quad (4)$$

式中: J 为渗透通量[L/(m<sup>2</sup> · h)]; R<sub>m</sub> 为膜阻力; R<sub>p</sub> 为极化层阻力; Δp 为压力差(MPa)。

**2.2 凝胶浓度 C<sub>g</sub> 与超滤传质系数 k** 设置压力为 0.04 MPa, 温度为 12 °C, 膜面积 1.2 m<sup>2</sup>。通过超滤试验得到血红蛋白溶液与渗透通量关系的试验数据, 见表 1。

表 1 浓度与膜通量的关系  
Table 1 Relationship of concentration (C) and membrane flux (J)

C (g/L)	Ln C	J[L/(m <sup>2</sup> · h)]
1.41	0.343 590	1.973 4
1.69	0.524 729	1.937 5
2.07	0.727 549	1.875 0
2.66	0.978 326	1.812 5
3.66	1.297 463	1.750 0

对 Ln C<sub>b</sub> 和 J 作线形回归计算, 得到

$$Y = -0.240 8X + 2.056 1 \quad (5)$$

即

$$J = -0.240 8C_b + 2.056 1 \quad (6)$$

将式(6)与式(1)进行逐项比较, 其中超滤传质系数 k 为 0.700 8, 凝胶浓度 C<sub>g</sub> 为 18.82 g/L。

教育部生物流变科学与技术重点实验室, 重庆大学生物工程学院, 重庆市 400030

肖科★, 男, 1983年生, 重庆市人, 汉族, 2010年重庆大学毕业, 硕士, 主要从事生物医学工程专业研究。Xiaoke83@yahoo.cn

通讯作者: 王翔, 教授, 博士生导师, 重庆大学生物工程学院, 重庆市 400030 xwangchn@vip.sina.com

中图分类号: R318  
文献标识码: B  
文章编号: 1673-8225 (2011)25-04572-03

收稿日期: 2010-11-28  
修回日期: 2011-01-17  
(20100428007/W · L)

实验中, 随着蛋白浓度的升高,膜通量在开始的阶段下降比较快, 随后逐步趋于缓和, 当蛋白浓度达到 18.82 g/L时, 溶液黏度增大, 实验效果就不明显了。 $C_g$  是评价水溶性化合物凝胶过程的重要参考指标, 不同物质, 不同条件下的 $C_g$ 是不同的。凝胶浓度 $C_g$ 的确定有很重要的意义, 根据此值可以确定在本试验条件下血红蛋白溶液浓缩的极限量。

**2.3 操作压力与渗透通量** 改变操作压力, 温度为 12 °C, 单位时间为 10 min。通过超滤试验得到操作压力与渗透通量关系的试验数据, 见表2。

表2 操作压力与膜通量的关系  
Table 2 Relationship of operating pressure ( p) and membrane flux (J)

$\Delta p$ (MPa)	$J$ [L/(m <sup>2</sup> · h)]	$\Delta p/J$
0.02	0.165	0.1212
0.03	0.245	0.1224
0.04	0.325	0.1231
0.05	0.400	0.1250
0.06	0.475	0.1263

对  $p$   $\Delta$ 和 $\Delta p/J$ 作线性回归计算, 得到

$$\Delta p / J = 0.128 \Delta p + 0.118 5 \quad (7)$$

即

$$J = \frac{\Delta p}{0.1185 + 0.128 \Delta p} \quad (8)$$

试验开始阶段, 被膜截留的物质质量较小, 所以膜的污染比较小, 随着试验的推进, 膜污染加大, 凝胶层逐步形成, 因此各级压力下的膜通量均呈现先大后小的变化。虽然膜通量的变化大小有一定阶段性, 但从表2可以看出, 当试验中的膜通量趋于稳定以后, 其对于压力变化的就不在如此敏感, 表现为相同的时间后, 各级压力条件下的膜通量的增幅比较平均, 由此可以在膜材料允许的最大压力条件下, 尽量使用较大压力试验, 缩短操作时间, 提高浓缩效果。

### 3 结论

通过试验得知, 在超滤血红蛋白过程中, 膜通量均呈现阶段性特性, 开始阶段膜通量相对较大, 在一定时间以后膜通量才会趋于稳定。同时对表2数据的回归计算求得操作压力于膜通量的关系如式(8)所示, 与式(4)类比得到膜阻力 $R_m$ 为0.118 5, 压力系数 $a$ 等于0.128。另外, 随着实验的进行, 蛋白浓度逐步升高, 凝胶层逐渐形成, 当达到凝胶浓度后再浓缩就比较困难了, 因此根据表1数据, 本试验的条件下血红蛋白溶液凝胶浓度 $C_g$ 为18.82 g/L, 超滤传质系数 $k$ 为0.700 8。

### 4 参考文献

- [1] Wang HM, Wang BL, Yao P, et al. Linchuang Shuxue yu Jianyan. 2005;7(4):314. 王红梅,王保龙,姚萍,等.血液代用品的研究进展[J].临床输血与检验, 2005,7(4):314.
- [2] Maton, A. J. H.Charles William McLaughlin, Susan Johnson, et al. Human Biology and Health. Englewood Cliffs, New Jersey, USA: Prentice Hall. 1993.
- [3] Chang TM. Blood substitutes based on nanobiotechnology. Trends in Biotechnology.2006;24(8):372-377.
- [4] Hill SE. Oxygen therapeutics-current concepts. Can J Anesth. 2001;48(4):S32.
- [5] Bmgen BV,Vandecasteele C,Gestel TV, et al. A review of pressure-driven membrane processes in wastewater treatment and drinking water production.Environmental Progress.2003;23(1):46-55.
- [6] Wang Z,Zhou C.Beijing: Chemical Industry Press. 2006:193-195. 王洪,周翀.膜分离技术基础[M].2版.北京:化学工业出版社,2006: 193-195.
- [7] Kaur J,Agarwal GP.Protein transmission studies using UF. Membrane Science.2002;196(1):1-11.
- [8] Dellacherie E,Bonneaux F,Labrude P,et al.Modification of human hemoglobin by covalent association with soluble dextran.Biochim Biophys Acta.1983;749(1):106-114.
- [9] Winslow R M,Blood substitutes.Adv Drug Deliv Rev.2000;40(3): 131-142.
- [10] Zheng LY,Xia XS.Beijing: Chemical Industry Press. 2001. 郑领英, 下学松.膜技术[M].北京:化学工业出版社,2001
- [11] Hwang ST,Kammermeyer K.Membrance in Sepatation. New York: Wiley.1975.
- [12] Liu ME. Beijing:Chemical Industry Press. 2002;210-216. 刘茉娥.膜分离技术应用手册[M].北京:化学工业出版社,2002. 210-216.
- [13] Wen T,Liu YZ,Fang JH,et al.Mokexue yu Jishu. 2000;20(3):59-60. 温涛,刘玉振,方建华,等.超滤技术在人血白蛋白浓缩中的应用[J].膜科学与技术,2000,20(3):59-60.
- [14] Zhou B,Bian LJ.Sepu. 2008;26(3):384-387. 周勃,边六交.从猪血中分离纯化高纯度的猪血红蛋白[J].色谱,2008, 26(3):384-387.
- [15] Liu H,Guo SD,Xu XM.Mokexue yu Jishu.Mokexue yu Jishu. 2007; 27(3): 48-51. 刘贺,过世东,徐学明.果胶超滤纯化过程传质模型和动力学分析[J].膜科学与技术,2007,27(3):48-51.
- [16] Meng YC,Tian SJ,Zhou Y,et al.Zhongguo Liangyou Xuebao. 2005,20(5):82. 孟永成,田少君,周怡,等.大豆蛋白溶液超滤过程传质特性的研究[J].中国粮油学报,2005,20(5):82.
- [17] Xu ZL,Li XR,Zhou Y.Mokexue yu Jishu. 2008;28(4):2-7. 许振良,李鲜日,周颖.超滤-微滤膜过滤传质理论的研究进展[J].膜科学与技术,2008,28(4):2-7.
- [18] Zhu CL.Beijing: HIGHER EDUCATION PRESS. 2004:241-253. 朱永乐.膜科学技术[M].2版.北京:高等教育出版社,2004: 241-253.

#### 来自本文课题的更多信息一

**基金资助:** 国家自然科学基金(10572159), 重庆市科委科技计划项目攻关项目(2006ba5010), 高等学校学科创新引智计划(B06023), 重庆大学大型仪器设备开放基金(2074920060080)。

**作者贡献:** 设计、实施、评估者为本文作者。

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**伦理批准:** 没有与相关伦理道德冲突的内容。

**本文创新性:** 本方法创新之处主要有两点: 一是将超滤浓缩技术与动物血红蛋白包相结合, 用以提高其单位效率, 二是重点研究传质机制对于红细胞中血红蛋白的流变学重要意义的基础上, 创新性的将超滤加入其中, 可以提高产品的浓缩效果、提高最后产品的质量。

实验利用超滤这一特殊浓缩提纯方式建立一种传质模型, 由于操作简便, 设备简单且费用较低, 可以进行长时间、持续性的工作, 减小了外界环境因素对试验效果的影响。超滤模型的建立更是对课题继续深入工作提供了更加合理和有效的理论依据以及更直观更准确的评价体系。