

Artykuły przeglądowe



Zastosowanie technik membranowych w niektórych procesach biochemicznych

Michał Bodzek

Jolanta Bohdziewicz

Wydział Inżynierii Środowiska
Politechnika Śląska
Gliwice

1. Wprowadzenie

Obszerowany ostatnio intensywny rozwój biotechnologii wynika między innymi z unowocześniania procesów fermentacji prowadzonych z udziałem jedno- i wielokomórkowych mikroorganizmów, których cechy genetyczne mogą być celowo zmieniane. Biotechnologia skierowana będzie raczej na wytwarzanie małych ilości specyficznych produktów o dużej wartości oraz takich, których nie można otrzymać innymi sposobami.

W związku z tym poszukuje się efektywniejszych i uzasadnionych ekonomicznie sposobów hodowli mikroorganizmów, metod odzyskiwania i izolowania kosztownych i nietrwałych produktów oraz usuwania toksycznych odpadów. W tej sytuacji membrany oraz procesy membranowe stały się obiektem wzrastającego zainteresowania jako sposób pozwalający na rozwiązanie wielu problemów. Szczególną uwagę zwrócono na proces ultrafiltracji jako technikę separacyjną układu ciecz-ciało stałe, charakteryzującą się niską energochłonno-

ścią, niewielkimi kosztami eksploatacji, możliwością prowadzenia procesu w temperaturze otoczenia i bez przemian fazowych, brakiem konieczności wprowadzania do układu dodatkowych reagentów chemicznych, a także możliwością osiągnięcia w jednej operacji zarówno oczyszczania jak i zateżenia związków wielkocząsteczkowych i koloidów. Szereg procesów membranowych, które są lub mogą być w niedalekiej przyszłości stosowane w biotechnologii, porównano z procesami konwencjonalnymi i zestawiono w tab. 1 (1).

Obecnie w praktyce przemysłowej biotechnologii stosowane są jedynie ultrafiltracja i mikrofiltracja oraz częściowo odwrócona osmoza. Tymczasem w różnych dziedzinach szeroko pojętej biotechnologii zgłaszane są zapotrzebowania na nowe generacje membran zarówno otwartych do mikrofiltracji jak i bardziej zwartych do ultrafiltracji i odwróconej osmozy oraz zwartych nieporowatych do rozdziału gazów. Membrany te muszą odpowiadać wymaganiom jakie inżynierii materiałowej stawia biotechnologia.

W opracowaniu tym omówiono możliwości wykorzystania procesu ultrafiltracji do wydzielania, zateżenia i oczyszczania produktów fermentacji oraz udoskonalenia procesów fermentacyjnych przez łączenie ultrafiltracji z reaktora fermentacyjnymi i enzymatycznymi. Szereg informacji na temat procesów membranowych można znaleźć w literaturze (2 - 14).

TABELA 1
KONWENCJONALNE I MEMBRANOWE TECHNOLOGIE BIOSEPARACJI

Operacja jednostkowa	Proces konwencjonalny	Proces membranowy
hodowla komórek	filtracja na filtrach próżniowych i bębnowych odwirowanie	mikrofiltracja ultrafiltracja
klarowanie cieczy pofermentacyjnych	odwirowanie	mikrofiltracja ultrafiltracja
zateżanie i oczyszczanie białek	wysalanie elektrolityczne i rozpuszczalnikowe chromatografia kolumnowa ekstrakcja	ultrafiltracja diafiltracja ultrafiltracja chromatograficzna
odsalenie	chromatografia żelowa wymiana jonowa	ultrafiltracja elektrodializa
zateżanie cząsteczek o małych masach cząsteczkowych	odparowanie próżniowe	odwrócona osmoza perwaporacja destylacja membranowa
odzysk kwasu/zasady	wymiana jonowa zobojętnianie	elektrodializa dwubiegunowa

2. Usuwanie komórek i ich fragmentów z cieczy pofermentacyjnych

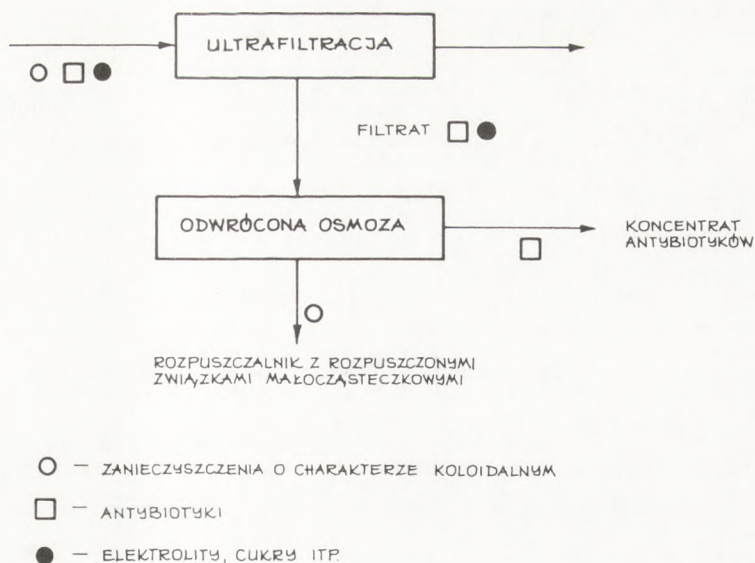
Większość procesów biotechnologicznych zachodzi w wyniku reakcji fermentacji, w której katalizatorami są enzymy, a nośnikami katalizatora materiał komórkowy. Otrzymany roztwór pofermentacyjny charakteryzuje się znacznym rozcieńczeniem zmieniającym się w szerokich granicach. Dlatego też koszty odzysku produktu fermentacji dominują w ekonomice wytwarzania wielu preparatów otrzymywanych tą metodą (1,15). Roztwór pofermentacyjny jest również złożoną mieszaniną pod względem chemicznym i fizykochemicznym. Występują w nim zarówno substancje typu koloidów fazowych (mikroorganizmy, resztki komórek) i cząsteczkowych (białka, polisacharydy, kwasy nukleinowe), jak i związki małowcząsteczkowe, organiczne (kwasy organiczne, antybiotyki) i niewykorzystane składniki preparatów odżywczych (sole, cukry). Dodatkowym problemem stwarzającym trudności w rozdzielaniu i oczyszczaniu produktów reakcji biochemicznych jest fakt, że niektóre składniki tych roztworów wykazują znaczną wrażliwość na temperaturę, pH, siłę jonową roztworu, rodzaj rozpuszczalnika oraz siły ścinające.

Otrzymany w wyniku procesu fermentacji roztwór poddaje się operacji rozdziału w celu oddzielenia bakterii i pożywki od produktów reakcji. Wiele spośród stosowanych obecnie do tego celu metod, jak: filtracja, odwirowanie, ekstrakcja, wymiana jonowa, destylacja i inne, są często niewystarczające lub kosztowne i jedynie wysoka wartość produktu końcowego uzasadnia ich stosowanie. Procesy membranowe stosuje się w tej dziedzinie najczęściej do (1,16): usuwania stałych produktów fermentacji i klarowania cieczy pofermentacyjnych (w literaturze anglosaskiej określa się je mianem *downstream processing*). W pierwszym przypadku używa się przede wszystkim ultrafiltracji (niekiedy nawet proces odwróconej osmozy), natomiast w drugim mikrofiltracji.

2.1. Klarowanie surowych cieczy pofermentacyjnych

Jednym z bardziej oczywistych zastosowań membran ultrafiltracyjnych w biotechnologii jest usuwanie stałych pozostałości po fermentacji, a zatem klarowanie roztworu pofermentacyjnego. Celem tej operacji jest otrzymanie mieszaniny poreakcyjnej wolnej od substancji rozproszonych i koloidalnych, a także komórek i ich fragmentów, w stopniu wymaganym dla dalszego przetworu i odzysku produktów reakcji biochemicznych. Ponieważ zewnątrzkomórkowe produkty fermentacji mają średnice cząsteczek większe niż średnice porów membran ultrafiltracyjnych, w procesie klarowania stosuje się membrany o rozdzielczości (*cut-off*) 10 000 – 30 000, co jest wartością wystarczającą do zatrzymania zawieszin, koloidów, a ponadto nieaktywnych białek, kwasów nukleinowych, polisacharydów itp.

Proces ultrafiltracji stosuje się najczęściej do klarowania roztworów fermentacyjnych, powstających przy produkcji kwasu cytrynowego i octowego, antybiotyków, aminokwasów, glukozy i polisacharydów (15 – 19). Dalsze wy-



Rys. 1. Schemat produkcji antybiotyków z zastosowaniem procesów ultrafiltracji i odwróconej osmozy.

dzielenie czystych produktów fermentacji przeprowadza się metodami klasycznymi (ekstrakcja, wymiana jonowa), ale również można do tego celu wykorzystać metody membranowe, w których stosuje się bardziej zwarte membrany, np. odwróconą osmozę. Schemat procesu produkcji antybiotyków realizowany metodami ultrafiltracji i odwróconej osmozy (20) przykładowo przedstawiono na rys. 1.

Tradycyjnym sposobem klarowania cieczy pofermentacyjnych jest filtracja na filtrach próżniowych, wirujących. Właściwości fizykochemiczne substancji powstających w procesie fermentacji stwarzają trudności w realizacji tego procesu jednostkowego. Stałe produkty fermentacji są galaretowate oraz podatne na zgniatanie, co sprzyja tworzeniu się placków filtracyjnych o wysokiej wytrzymałości i małej przepuszczalności. Duża zawartość wody w układach galaretowatych hamuje również inne naturalne procesy rozdzielania oparte na różnicy gęstości (sedymentacja, wirowanie). Częściową eliminację tych zjawisk umożliwia proces ultrafiltracji prowadzony w układzie krzyżowym (ang. *cross-flow filtration*).

Porównanie kosztów eksploatacyjnych i inwestycyjnych (dla warunków amerykańskich i zachodnioeuropejskich) procesu klarowania roztworu pofermentacyjnego przy produkcji antybiotyków metodami filtracji próżniowej oraz ultrafiltracji przedstawiono w tab. 2. W przypadku stosowania ultrafiltracji, koszty inwestycyjne są co prawda 4-krotnie wyższe niż filtracji próżniowej, ale koszty eksploatacyjne są niższe o ponad 40%, co pozwala na zniwelowanie tej różnicy w ciągu kilku lat.

TABELA 2
KOSZTY EKSPLOATACYJNE I INWESTYCYJNE PROCESU KLAROWANIA ROZTWORÓW POFERMENTACYJNYCH
METODAMI FILTRACJI PRÓŻNIOWEJ I ULTRAFILTRACJI

Koszty eksploatacyjne USD/m ³	Filtracja próżniowa		Ultrafiltracja	
	dane USA	dane wg (20)	dane USA	dane wg (20)
materiał filtracyjny	6,34	5,30	-	-
wymiana membran	-	-	2,22	1,50
energia	0,08	0,08	0,25	0,18
robocizna	0,32	0,26	0,08	0,37
konserwacja	0,14	0,06	0,04	0,11
chemikalia	-	-	0,43	0,18
amortyzacja	0,28	0,19	1,18	1,10
łącznie	7,16	5,89	4,20	3,40
koszty inwestycyjne:				
USD/m ³	4500	-	800	-
USD/m ³ · d	695	470	2940	2760

2.2. Zastosowanie mikrofiltracji do usuwania komórek mikroorganizmów lub ich fragmentów z cieczy pofermentacyjnych

Otrzymywanie wewnątrzkomórkowych produktów fermentacji, do których należy większość przemysłowych i mających zastosowanie w medycynie enzymów i hormonów, wymaga rozerwania błon komórkowych. Zastosowanie do ich odzysku membran ultrafiltracyjnych nawet o bardzo wysokim *cut-off* jest nieodpowiednie (21), ponieważ zawieszane fragmenty komórek zmniejszają w znacznym stopniu efektywne rozmiary porów membrany. Obecnie do tego celu proponuje się prawie wyłącznie proces mikrofiltracji prowadzony w układzie krzyżowym (21 – 26). Stosowanie metod konwencjonalnych (wirowanie lub filtracja) często kończy się niepowodzeniem lub jest nieekonomiczne.

W procesie oddzielania komórek po fermentacji przy produkcji enzymów wewnątrzkomórkowych nie jest konieczne uzyskanie mocno odwodnionej masy komórkowej. Zwykle zmniejszenie objętości do 40% jest wystarczające, by dalsze etapy zateżnienia i oczyszczania enzymów były efektywne (23). W trakcie zateżnienia roztworu pofermentacyjnego, zawierającego komórki mikroorganizmów lub ich fragmenty, następuje spadek strumienia permeatu na skutek wzrostu lepkości substancji spowodowany wzrostem stężenia oraz kompresją warstwy żelowej (wysoka ściśliwość). Końcowe stężenie komórek zależy od rodzaju mikroorganizmów.

Proces mikrofiltracji roztworów pofermentacyjnych wymaga przemywania powierzchni membrany. Proces regeneracji membran musi być ustalony indywidualnie z uwzględnieniem rodzaju membrany i modułu oraz rodzaju mikroorganizmów.

Innym problemem utrudniającym proces mikrofiltracji suspensji komórek jest wysoki współczynnik retencji enzymów wewnątrzkomórkowych spowodowany tworzącą się warstwą żelową. Współczynnik retencji jest różny dla różnych białek i zależy od masy cząsteczkowej, właściwości fizykochemicznych roztworu (pH, stężenie soli), rodzaju mikroorganizmu oraz właściwości hydrodynamicznego układu do mikrofiltracji. Dla enzymów komórkowych jak proteazy lub glukohydrolazy waha się on w granicach 0,05 – 0,8 przy zastosowaniu technicznych roztworów i membran o wielkości porów 0,1 – 0,45 μm (23). Wysoki współczynnik utrudnia lub wręcz uniemożliwia efektywne oddzielenie fragmentów komórek od produktów reakcji fermentacji za pomocą mikrofiltracji. Problem ten często nie jest uwzględniany w badaniach (23,27).

Ważnym czynnikiem wpływającym na prawidłowy przebieg procesu mikrofiltracji jest obecność środków antypieniących w suspensji (22,23). Środkami zapobiegającymi pienieniu się układów fermentacyjnych są najczęściej nierozpuszczalne w wodzie substancje hydrofobowe, jak np. poliglikol etylenowy o masie cząsteczkowej 2000. Środki antypieniące są najczęściej lepkiemi cieczami tworzącymi emulsje w wodzie i mają tendencję do hydrofobowej adsorpcji na powierzchni polimerowych membran, zmniejszając tym samym ich przepuszczalność.

Wyniki dotyczące odzysku wielu mikroorganizmów przy zastosowaniu różnych modułów ultrafiltracyjnych i membran zestawiono w tab. 3 (23). Strumień permeatu kształtował się na poziomie przekraczającym wartości 2,4 $\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{d}$, przy średniej wartości 1 – 1,2 $\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{d}$. Wartości te, jak się wydaje, są niskie w porównaniu z innymi metodami rozdzielania układów ciała stałe-ciecz. Z ekonomicznego punktu widzenia strumień permeatu powinien przekraczać wartość 2,4 $\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{d}$, a najlepiej osiągać 3,6 $\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{d}$. W tab. 4 przedstawiono wyniki porównawcze rozdzielania suspensji zawierającej *E. coli* różnymi metodami, uwzględniając efektywność procesu i zużycie energii (23). Na tle przedstawionych danych zastosowanie mikrofiltracji w obecnych warunkach, jak się wydaje, jest mniej ekonomiczne niż innych metod rozdzielania zarówno pod względem wydajności, jak i zużycia energii. Korzyścią zastosowania mikrofiltracji jest możliwość uzyskania całkowicie klarownego filtratu, co w wielu przypadkach ma decydujące znaczenie i rzutuje na dalsze etapy oczyszczania i zateżniania produktów fermentacji.

Odzyskiwanie i zateżnianie komórek oraz ich oczyszczanie są ważnymi procesami w biotechnologii. Często same mikroorganizmy stanowią produkt fermentacji (np. szczepionki lub mikroorganizmy do produkcji serów i jogurtów) i muszą być odzyskiwane w całości. Rozmiary mikroorganizmów wynoszą 0,2 – 4 μm dla bakterii i 4 – 10 μm dla drożdży. Wydaje się zatem, że mikrofiltracja jest idealnym procesem membranowym do ich zateżniania i oczyszczania.

TABELA 3
WYNIKI ZATĘŻANIA RÓŻNYCH CIECZY FERMENTACYJNYCH METODĄ ULTRAFILTRACJI

Mikroorganizm	Rodzaj modułu i membrany	Zakres zateżenia, % komórek wilgotnych	Średnia szybkość filtracji $m^3/m^2 \cdot d$	Ciśnienie MPa
<i>Bacillus cereus</i>	włókna kapilarne ¹ polipropylen ² 0,3 μm^3	10 - 30	2,98	0,1
<i>Bacillus cereus</i>	włókna kapilarne polisulfon 10 ⁵ daltonów	0,8 - 15	1,13	0,1
<i>Brevibacterium species</i>	plaski estry poliakrylowe 0,2 μm	3,5 - 32	0,768	0,11
<i>Escherichia coli</i>	włókna kapilarne polipropylen 0,3 μm	2,5 - 35	0,67 - 1,08	0,1
<i>Escherichia coli</i>	włókna kapilarne polisulfon 10 ⁵ daltonów	4 - 40	0,36 - 0,62	0,1
<i>Escherichia coli</i>	system kasetowy PVDF ⁴ 0,45 μm	4,2 - 48	0,38 - 0,50	0,1
<i>Escherichia coli</i>	plaski estry poliakrylowe 0,1 μm	10 - 38	0,792	0,09
<i>Candidia boidinii</i>	włókna kapilarne polipropylen 0,3 μm	10 - 40	1,34	0,08
<i>Lactobacillus casei</i>	włókna kapilarne polipropylen 0,3 μm	1,5 - 15	1,63	0,08
<i>Lactobacillus casei</i>	system kasetowy PVDF 0,45 μm	1,5 - 28	0,672	0,01
drożdże	włókna kapilarne 0,3 μm	4 - 21	0,98 - 13,4	-
<i>Trichoderma resei</i>	włókna kapilarne 0,3 μm	2,4 - 6,9	0,43 - 3,55	-
<i>Bordetella pertussis</i>	system kasetowy 0,2 μm (10 ⁶ daltonów)	18 - 19	0,58 - 0,79	-

¹ rodzaj modułu,

² materiał membranotwórczy,

³ średnica porów lub *cut-off*,

⁴ poli(flourek winylidenu).

TABELA 4
PORÓWNANIE RÓŻNYCH METOD ODDZIELANIA *E. COLI*

Metoda	Czystość cieczy %	Stopień zateżenia ¹	Wydajność procesu m ³ /m ² · d	Zużycie energii W · h/dm ³
filtr tarczowy	99,5	12,5	9,60	8
osadnik-flokulacja	> 99,5	12,0	13,2	1,8
prasa filtracyjna — flokulacja	> 99,5	21,6	6,38	8
mikrofiltracja — włókna kapilarne	100	14,0	1,08	11
mikrofiltracja — membrany płaskie	100	11,0	0,384	31

¹ stężenie początkowe komórek/stężenie komórek w koncentracji.

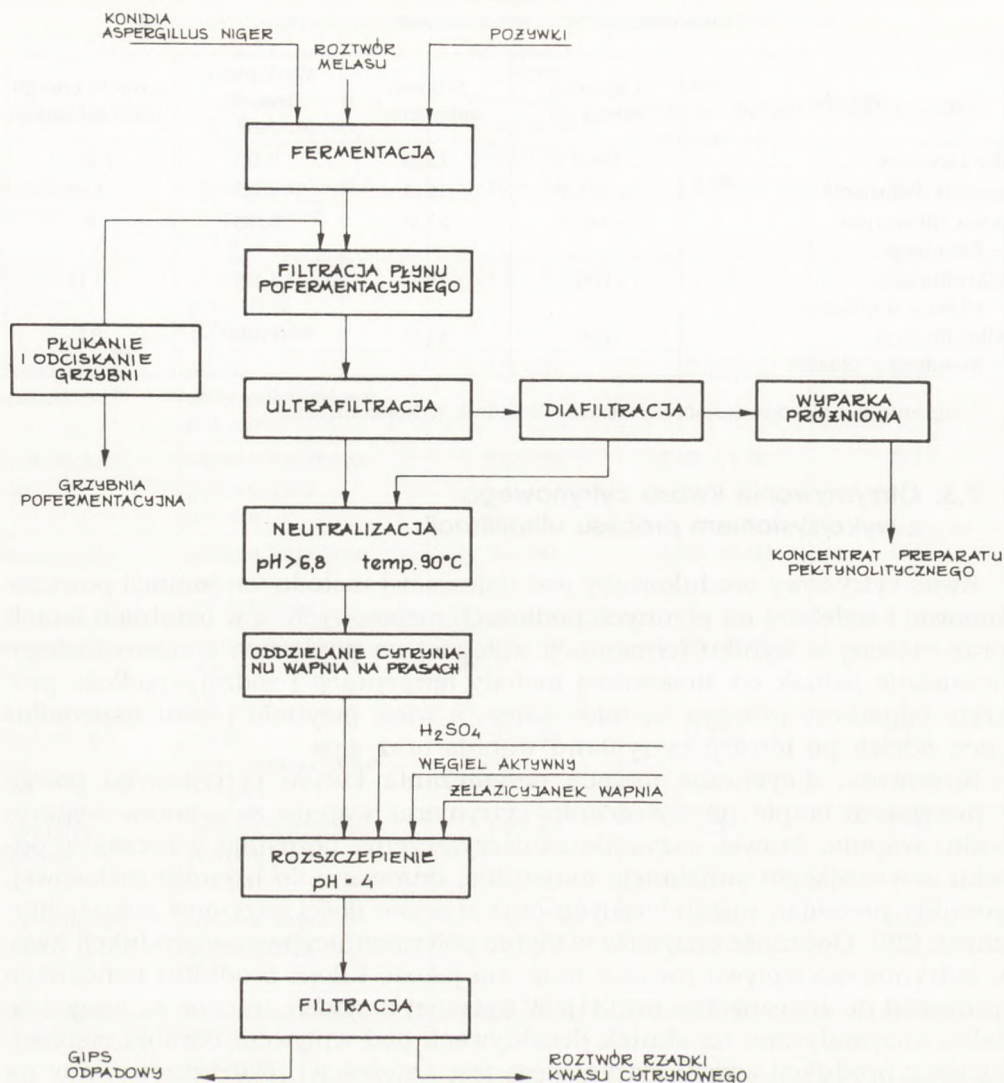
2.3. Otrzymywanie kwasu cytrynowego z wykorzystaniem procesu ultrafiltracji

Kwas cytrynowy produkowany jest najczęściej metodą fermentacji powierzchniowej i wglębnej na płynnych podłożach melasowych, a w ostatnich latach coraz częściej w wyniku fermentacji wglębnej na podłożach z cukru białego. Niezależnie jednak od stosowanej metody fermentacji i rodzaju podłoża produkty odpadowe procesu są takie same, a więc: grzybnia pleśni *Aspergillus niger*, odciek po filtracji cytrynianu wapnia oraz gips.

Stosowana dotychczas metoda oczyszczania kwasu cytrynowego polega w pierwszym etapie na wytrącaniu cytrynianu wapnia za pomocą wodorotlenku wapnia. Prawie wszystkie zanieczyszczenia pozostają wówczas w odcieku zawierającym substancje mineralne, dozowane do brzeczki melasowej, produkty przemian metabolicznych oraz znaczne ilości enzymów pektynolitycznych (28). Obecność enzymów w płynie pofermentacyjnym w produkcji kwasu cytrynowego wpływa również m.in. na jakość i ilość produktu końcowego i prowadzi do znacznych strat (31). W opisanej metodzie traczone są wszystkie białka enzymatyczne na skutek dezaktywacji pod wpływem obróbki cieplnej. Odciek z produkcji kwasu cytrynowego jest najczęściej rozdeszczowywany na polach lub odprowadzany do ścieków co z uwagi na jego wysokie BZT₅ wynoszące ponad 100 g O₂/dm³ oraz ChZT wahające się w granicach 120 – 200 g O₂/dm³ stanowi bardzo poważne zagrożenie dla środowiska.

Nowoczesne technologie produkcji kwasu cytrynowego idą w kierunku skojarzenia wytwarzania kwasu i preparatu enzymatycznego (30,31).

Wprowadzenie do dotychczasowego klasycznego schematu produkcyjnego kwasu cytrynowego ultrafiltracji pozwoli na skojarzenie dwóch cykli technologicznych, a mianowicie: odzysku z płynu pofermentacyjnych enzymatycznych białek pektynolitycznych, częściowo już zateżonych i oczyszczonych, oraz na znaczne zmniejszenie strat produkowanego kwasu cytrynowego. Schemat ideowy takiego rozwiązania (32 – 35) przedstawiono na rys. 2.



Rys. 2. Schemat równoczesnego otrzymywania kwasu cytrynowego i enzymatycznego preparatu pektynolitycznego.

3. Oczyszczanie i załączenie białek enzymatycznych metodą ultrafiltracji

Wzrastające zainteresowanie zastosowaniem wydzielonych i oczyszczonych białek enzymatycznych jako biokatalizatorów w skali laboratoryjnej i w przemyśle jest alternatywą w stosunku do podejść bardziej tradycyjnych, opartych

na typowych procesach fermentacji (20). Białka enzymatyczne mogą być produkowane zarówno na drodze ekstrakcji z roślin i z tkanek organicznych zwierząt, jak również w wyniku fermentacji bakteryjnej. Pomimo pojawiających się w literaturze (36) informacji o laboratoryjnej syntezie substancji białkopodobnych, wykazujących aktywność katalityczną, wydaje się, że chyba jeszcze długo wyłącznym producentem enzymów będzie żywa komórka.

Proces wydzielania enzymów z cieczy kultywacyjnej i ich oczyszczanie jest problemem bardzo złożonym. Rozcieńczony wodny roztwór preparatu surowego obciążony jest solami nieorganicznymi, niezbędnymi do hodowli mikroorganizmów, oraz małącząsteczkowymi produktami metabolicznymi. Zanieczyszczenia oraz niskie stężenie biologicznego składnika aktywnego, czułego zwłaszcza na pH środowiska i temperaturę, a także na obecność substancji nieorganicznych i organicznych, określają potrzebę zastosowania postępowania izolacyjnego, nie zawsze dającego się zrealizować za pomocą konwencjonalnych metod fizykochemicznych. Dotychczas w klasycznym schemacie technologicznym produkcji enzymów proces zateżania prowadzi się metodami wyparkowymi, a w przypadku dodatkowego ich oczyszczania stosuje się dializę, metody jonowymienne, wysalanie lub wytrącanie rozpuszczalnikami organicznymi. Należy jednak podkreślić, że tracą one częściowo swoją aktywność podczas przebiegu każdej z tych operacji oraz ulegają często procesowi denaturacji.

W tej sytuacji proces ultrafiltracji stał się obiektem wzrastającego zainteresowania jako sposób umożliwiający oczyszczanie i zateżanie białek enzymatycznych. Ponieważ masy cząsteczkowe enzymów wahają się w granicach 20 – 200 tys. (37,38), *cut-off* membran ultrafiltracyjnych wynosi ok. 10 tys. Ultrafiltracja pozwala na uzyskanie koncentratów o aktywności kilkakrotnie wyższej od początkowej aktywności roztworu przy równoczesnym usunięciu co najmniej połowy związków nieorganicznych. O efektywności procesu decydują przede wszystkim: właściwości transportowo-separacyjne membran, rodzaj modułu, zastosowanie optymalnego schematu realizacji procesu (eksploatacja w układzie ciągłym lub szarżowym) oraz właściwy dobór parametrów eksploatacyjnych układu membranowego.

Jeśli w trakcie ultrafiltracyjnego zateżania enzymów strumień permeatu znacznie zmaleje, a wymagany jest odzysk produktu końcowego o zwiększonym stopniu czystości, celowe jest włączenie do schematu technologicznego procesu diafiltracji, który w znacznym stopniu przyczyni się do podniesienia wartości odzyskiwanych składników. Wpływ zastosowania wielokrotnego procesu diafiltracji na jakość otrzymywanego koncentratu enzymatycznego przedstawiono w tab. 5 (18).

Stosowanie w procesie ultrafiltracji enzymów wysokich ciśnień wpływa wprawdzie korzystnie na strumień permeatu, jednak po przekroczeniu pewnej jego wartości (ciśnienie graniczne) wielkość strumienia permeatu nie jest od niego uzależniona. Wielkość ciśnienia granicznego i strumień permeatu powiązane są oporem stawianym przez membranę oraz oporem wywołanym zjawiskiem polaryzacji stężeniowej (37,39).

TABELA 5
WPLYW PROCESU DIAFILTRACJI NA JAKOŚĆ OTRZYMYWANEGO KONCENTRATU ENZYMATYCZNEGO

x ¹	Zawartość w koncentracie, % mas.		$\frac{S_K}{S_M}$ ²
	substancji przechodzących przez membranę	substancji rozpuszczonych	
0	3,00	18,0	0,83
1	1,10	16,1	0,93
2	0,41	15,4	0,97
3	0,14	15,1	0,99

¹ $x = \frac{\text{objętość wody zastosowanej do diafiltracji}}{\text{objętość koncentratu}}$

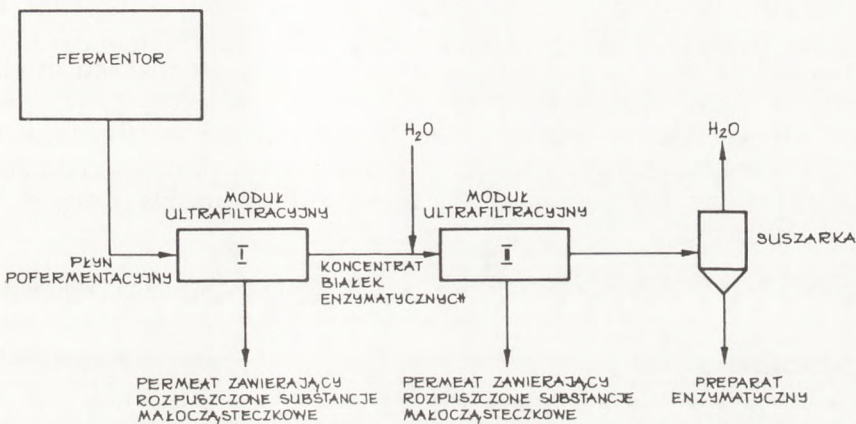
² S_K — aktywność właściwa enzymów w koncentracie,
 S_M — aktywność właściwa enzymów przechodzących przez membranę.

Parametrem wpływającym w zasadniczy sposób na wskaźniki efektywności ultrafiltracyjnej metody odzyskiwania enzymów jest także liniowa prędkość przepływu roztworu nad powierzchnią membrany, zwłaszcza jeżeli proces prowadzi się w rurowej konfiguracji membran w module. Zwiększając prędkość przepływu roztworu na obszarach przylegających do powierzchni membrany można częściowo zapobiec lub ograniczyć tworzenie się warstwy polaryzacyjnej. Enzymy poddane siłom ścinającym ulegają częściowej dezaktywacji spowodowanej prawdopodobnie niszczeniem ich trzeciorzędowej struktury. W warunkach przepływu laminarnego straty aktywności enzymów w roztworze przepływającym przez moduł nie zależą od szybkości przepływu, a jedynie od geometrii rury. W przypadku przepływu burzliwego zmiany aktywności białek enzymatycznych zależą zasadniczo od parametrów operacyjnych procesu, a więc ciśnienia oraz liniowej prędkości przepływu preparatu enzymatycznego nad powierzchnią membrany.

Temperatura jest także jednym z parametrów wpływających na efektywność procesu ultrafiltracji, a jej wzrost wywołuje zwiększenie przepuszczalności i selektywności membran. Zjawisko to tłumaczy się obniżeniem lepkości roztworu, a także zmniejszeniem intensywności występowania zjawiska polaryzacji stężeniowej. Możliwość stosowania w układzie ultrafiltracyjnym wyższych temperatur uzależniona jest jednak od rodzaju polimeru błonotwórczego, z którego wykonana jest membrana oraz rodzaju roztworu, bowiem niektóre enzymy mogą w zbyt wysokich temperaturach ulegać nieodwracalnej denaturacji. Temperatura prowadzenia procesu ultrafiltracji enzymów waha się w granicach 274 – 353°K, w zależności od rodzaju otrzymywanego produktu (najczęściej spotykaną temperaturą jest 293°K) (18). Efektywność ultrafiltracji zależy od kwasowości roztworu poddawanego zateżnieniu lub selektywnemu rozdzielaniu. Zarówno rozpuszczone substancje jak i membrany charakteryzuje pewien ładunek elektryczny, przyczyniający się niejednokrotnie do powstawania warstwy polaryzacyjnej na ich powierzchni wskutek wzajem-

mnego oddziaływania układu membrana-roztwór. W punkcie izoelektrycznym wiele właściwości białek charakteryzuje się najmniejszym lub największym nasileniem, jednak ich rozpuszczalność jest wówczas najmniejsza. Pasek i in. (41 – 43) badali wpływ kwasowości na szybkość i efektywność ultrafiltracji celulozycznej pożywki fermentacyjnej. Najniższy strumień permeatu osiągnięto w punkcie izoelektrycznym.

Proces ultrafiltracji stosuje się obecnie do oczyszczania płynu pochodowego, otrzymanego w wyniku bakteryjnej biosyntezy enzymów, zawierającego oprócz białek aktywnych liczne związki małowcząstkowe jak: sole nieorganiczne, barwniki, węglowodany i białka nieaktywne (1,18,21,42,44 – 47). Ogólny schemat ultrafiltracyjnego oczyszczania, zateżania i odzyskiwania enzymów z płynu pofermentacyjnego przedstawia rys. 3.



Rys. 3. Schemat ultrafiltracyjnego oczyszczania i zateżania białek enzymatycznych.

Badania nad ultrafiltracją enzymów: peniciliny, β -galaktozydazy i trypsyny na membranach amerykańskiej firmy Amicon przedstawiono w (18). Stopień zateżenia wahał się w granicach 4,6 – 30, a enzymy były całkowicie zatrzymywane przez membranę. Wang i in. (44) przeprowadzili próby oczyszczania surowego preparatu enzymatycznego trypsyny. Aktywność właściwa otrzymanego produktu świadczy o tym, że oprócz zateżenia białka enzymatycznego osiągnięto również pewien stopień jego oczyszczenia. Ortienberg i wsp. (46) przeprowadzili próby ultrafiltracyjnego odzyskiwania α -amylazy z amylosubtyliny. Oczyszczany i zateżany preparat enzymatyczny produkowany był przez mikroorganizmy *Bacillus subtilis* i zawierał tylko 10% białka aktywnego, charakteryzującego się aktywnością amylolityczną i proteolityczną. Badania z zakresu zastosowania ultrafiltracji do oczyszczania i zateżenia enzymów prowadzone były również w Polsce w Zakładach Pektowin w Jaśle na urządzeniu firmy angielskiej Patterson Candy Int. Ltd. z modułami rurowymi (48,49). W Instytucie Przemysłu Fermentacyjnego w Warszawie zbadano mo-

żliwość oczyszczania i zateżenia enzymów proteolitycznych pochodzenia pleśniowego i bakteryjnego oraz pektynolitycznych (49). Na Politechnice Śląskiej (50 – 53) przeprowadzono badania, których celem było określenie możliwości wykorzystania techniki ultrafiltracji do poprawienia jakości produkowanych w Zakładach Przemysłu Rolno-Spożywczego w Jasle handlowych preparatów enzymów spożywczych z grupy hydrolaz: Amylogalu CS, Proteopolu BP-S oraz Pektopolu PT. Wyznaczono najkorzystniejsze parametry operacyjne procesu ultrafiltracji mające wpływ na jego wydajność i efektywność. Dokonano oceny jakości otrzymanych retentatów białek enzymatycznych, porównując skuteczność ich działania z preparatami handlowymi w konkretnych procesach technologicznych.

Porównanie kosztów związanych z zateżaniem i oczyszczaniem enzymów metodą ultrafiltracji oraz metodą wyparkową (warunki amerykańskie) przedstawiono w tab. 6. Koszty eksploatacyjne wynoszą około 4 USD na 1 m³ filtratu, co stanowi jedynie 50% kosztów metody wyparkowej. Na korzyść stosowania ultrafiltracji przemawia jeszcze wyższy stopień odzysku produktu (90 – 98%) niż w metodzie wyparkowej połączonej z wysalaniem (70 – 90%). Dane liczbowe wyraźnie świadczą o tym, że w przypadku oczyszczania i zateżenia białek enzymatycznych proces ultrafiltracji pod względem energetycznym może zdecydowanie konkurować z innymi metodami klasycznymi.

TABELA 6

KOSZTY EKSPLOATACYJNE OCZYSZCZANIA I ZATEŻANIA ENZYMÓW METODĄ ULTRAFILTRACJI I WYPARKOWA

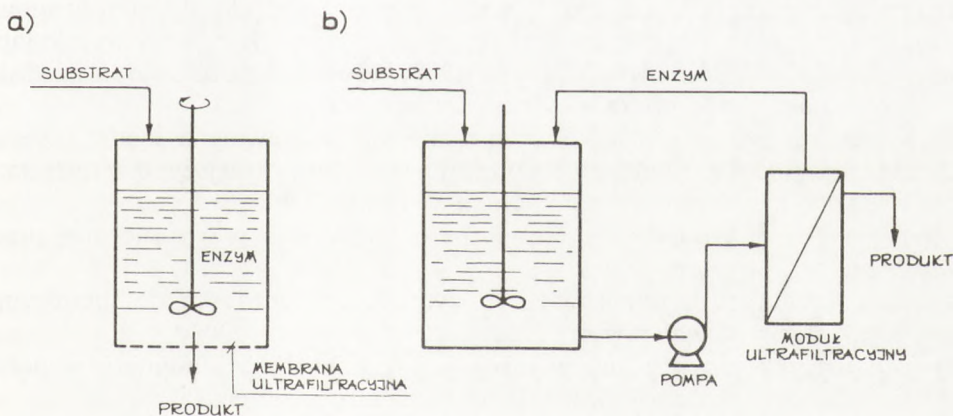
A. Koszty eksploatacyjne USD/m ³	Ultrafiltracja	Metoda wyparkowa
amortyzacja	1,00	1,00
wymiana membran	2,00	-
energia	0,20	0,07
konserwacja, robocizna	0,65	0,21
para	-	5,66
Ogółem	3,85	6,94
B. Założenia analizy ekonomicznej		
strumień permeatu	20 dm ³ /m ² · h	
żywność membran	12 miesięcy	
wymiana membran	USD 150/m ²	
zużycie energii	0,14 kWh/m ²	
koszt energii	USD 0,03 kWh	
czas eksploatacji	16 h/d; 250 d/rok	
koszt inwestycyjny	USD 800/m ²	
amortyzacja	10 lat	
koszt pary	USD 22/1000 kg	

4. Łączenie procesów fermentacji i biokonwersji enzymatycznej z procesami filtracji

Wprowadzenie urządzenia ultrafiltracyjnego jako integralnej części pewnych procesów biotechnologicznych pozwala na zapewnienie ciągłości układów reakcyjnych oraz przyczynia się do zwiększenia wydajności reakcji. Ultrafiltrację łączy się głównie z fermentorami lub reaktorami, w których procesy biochemiczne katalizowane są przez enzymy lub całe mikroorganizmy.

4.1. Membranowe reaktory enzymatyczne

Reaktory enzymatyczne z enzymem natywnym są to urządzenia, w których jednorodny roztwór enzymu umieszczony jest w określonym regionie przestrzeni ograniczonej membraną, odgrywającą rolę bariery dla cząsteczek białek enzymatycznych (11). Produkty reakcji są w sposób ciągły odprowadzane z permeatem, natomiast do reaktora z tą samą szybkością doprowadzany jest substrat. Ze względu na sposób wyprowadzania strumienia permeatu wyróżnia się dwa typy reaktorów enzymatycznych (54): z membraną umieszczoną we wnętrzu (rys 4a) oraz na zewnątrz reaktora (rys. 4b). Wydaje się, że to drugie rozwiązanie jest korzystniejsze ze względu na to, że reaktor jest bezciśnieniowy, łatwiejszy do sterylizacji oraz łatwiejszy jest dostęp do membran z możliwością wymiany podczas ruchu (22). Trudności występujące w tego rodzaju układach to: częściowa dezaktywacja enzymu oraz ujemne skutki zjawiska polaryzacji stężeniowej (54,55). Pierwszy problem można rozwiązać przez wprowadzenie świeżej porcji enzymu, natomiast drugi przez dobranie odpowiedniej membrany oraz właściwych warunków hydrodynamicznych przepływu mieszaniny nad powierzchnią membrany.



Rys. 4. Konstrukcja enzymatycznych reaktorów membranowych (a – z membraną wewnątrz reaktora, b – z urządzeniem ultrafiltracyjnym na zewnątrz reaktora).

Pierwsze badania nad membranowymi reaktorami enzymatycznymi zostały wykonane już na przełomie lat siedemdziesiątych przez Blatta i wsp. (56). Przewadzili oni proces proteolizy 1% serwatki, stosując jako biokatalizator α -chymotrypsynę. Enzym i substrat białkowy były zatrzymywane przez membranę, podczas gdy produkt przechodził przez nią. Ciągłe membranowe reaktory enzymatyczne znalazły zastosowanie również w reakcjach enzymatycznego scukrzania skrobi (15,44,47) oraz w procesie syntezy niektórych aminokwasów i ich rozdziału na izomery optyczne (57).

Można zatem stwierdzić, że zastosowanie membranowych reaktorów enzymatycznych pozwala na szybszą konwersję substratu do produktu, odzysk produktów o znacznie wyższym stopniu czystości, ponowne użycie białek enzymatycznych, dobrą kontrolę pH i temperatury, oraz na zwiększenie wydajności procesu biochemicznego. Ponadto układy enzym-substrat są łatwo wymienne, co umożliwia prowadzenie reakcji w układach wieloenzymowych (11).

4.2. Membranowe układy z unieruchomionym enzymem

Immobilizacja enzymów jest jedną z form ich modyfikacji. Polega ona na unieruchamianiu lub oddzielaniu cząsteczek enzymu w przestrzeni reaktora bez strat aktywności biokatalitycznej. Do tradycyjnych technik unieruchamiania enzymów zalicza się (11,54,58,59): przeprowadzenie w żel, adsorpcję na powierzchni nośnika polimerowego, kowalencyjne wiązanie z nośnikiem polimerowym, kopolimeryzację z nośnikiem białkowym, inkluzję w strukturze polimeru oraz zamykanie w określonej objętości bioreaktora.

Wydaje się, że adaptacja układów membranowych do unieruchamiania enzymów i całych komórek jest obiecującą propozycją dla rozwoju inżynierii reaktorów biochemicznych. Enzymy unieruchomione na membranach czy zamknięte w ograniczonej przestrzeni przez membrany pracują w warunkach zbliżonych do warunków *in vivo*. Ponadto membrany i układy membranowe są tanim nośnikiem do immobilizacji enzymów. Inną korzyścią wynikającą z zastosowania takiego rozwiązania jest możliwość ciągłego usuwania produktów reakcji, co wpływa na zwiększenie wydajności procesu.

W literaturze podaje się (11) kilka praktycznie stosowanych metod unieruchamiania enzymów w układach membranowych. Najważniejszymi z nich są:

- reaktory membranowe z enzymem w formie żelu,
- reaktory z enzymem zamkniętym przez membranę w ograniczonej przestrzeni reaktora biochemicznego,
- ciągłe reaktory przepływowe z enzymem przyłączonym do membrany za pomocą wiązań kowalencyjnych,
- reaktory zawierające enzym lub całe komórki unieruchomione w porowatej strukturze membrany (inkluzja w strukturę polimeru).

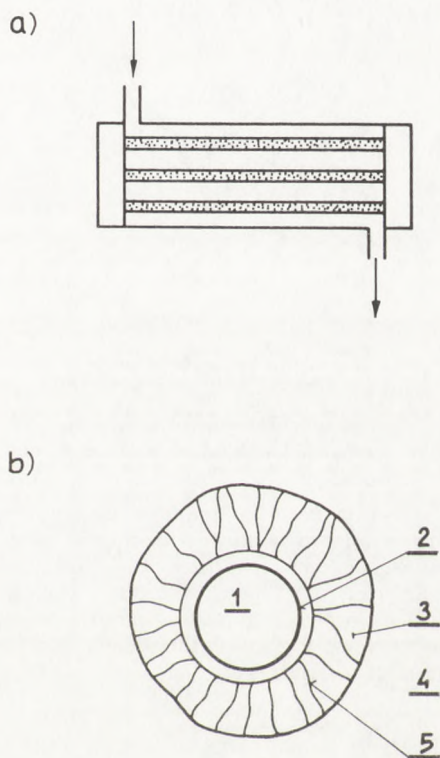
Interesującą techniką unieruchamiania enzymów na powierzchni membrany jest wykorzystanie zjawiska polaryzacji stężeniowej (11,15,20,60 – 63). Podczas ultrafiltracji roztworu enzymu z wykorzystaniem membrany, która

go całkowicie zatrzymuje, na powierzchni membrany tworzy się warstwa polaryzacyjna o stężeniu większym niż jego stężenie w roztworze. Jeżeli stężenie enzymu w warstwie polaryzacyjnej przekroczy stężenie tworzenia się żelu, na powierzchni membrany powstaje warstwa żelowa o stałym stężeniu (62,64). Membrana z warstwą enzymu w formie żelu może być wykorzystana w reaktorze enzymatycznym do prowadzenia reakcji biochemicznych. Substrat jest wprowadzany w sposób ciągły do układu i przechodząc przez membranę ulega reakcji katalizowanej na warstwie enzymu. Zaletą tego sposobu jest prosta technika przygotowania żelu, natomiast wadą — niewielka stabilność warstwy żelowej.

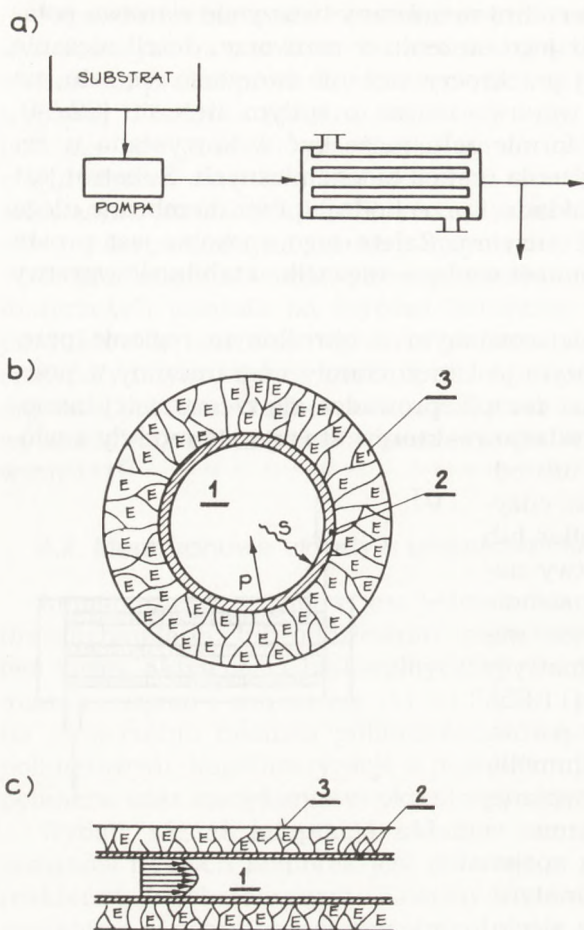
W reaktorach z enzymem umiejscowionym w określonym regionie przestrzeni układu membranowego enzym jest nieruchomy i ograniczony w przestrzeni przez membranę, natomiast nie przeprowadza się rzeczywistej immobilizacji. Do konstruowania tego rodzaju reaktorów stosuje się moduły z włókien kapilarnych do ultrafiltracji lub odwróconej osmozy. Unieruchomienie enzymu może nastąpić: wewnątrz kapilar lub pustych włókien po stronie warstwy naskórkowej (rys. 5), po zewnętrznej stronie wiązki włókien kapilarnych oraz wewnątrz porowatej struktury matrycy membrany asymetrycznej (rys. 6) (11,65). Ważną zaletą takich rozwiązań, w porównaniu do innych technik immobilizowania, jest eliminacja mechanicznej lub chemicznej dezaktywacji enzymu.

Jednym z często stosowanych sposobów unieruchamiania białek enzymatycznych jest ich międzycząsteczkowe sieciowanie za pomocą wiązań kowalencyjnych (11,58,59) z powierzchnią membran asymetrycznych. Najpierw przeprowadzona zostaje adsorpcja enzymu na substancji wielkocząsteczkowej (np. albuminie) w formie monowarstwy, a następnie układ taki jest unieruchamiany na powierzchni membrany przez międzycząsteczkowe sieciowanie — najczęściej aldehydem glutarowym. Jeżeli immobilizowany tym sposobem enzym nie traci aktywności, to membrana z nim związana może być stosowana w ciągłych reaktorach przepływowych.

Większość opisanych wcześniej bioreaktorów z unieruchomionymi enzymami



Rys. 5. Reaktor z enzymem unieruchomionym wewnątrz rdzenia membran kapilarnych (A — reaktor, B — przekrój poprzeczny włókna: 1 — rdzeń włókna, 2 — warstwa naskórkowa, 3 — matryca membrany, 4 — komora reaktora, 5 — enzym).



Rys. 6. Schemat reaktora membranowego z enzymem unieruchomionym wewnątrz porów membrany (A — schemat aparatury, B — przekrój poprzeczny membrany, C — przekrój wzdłuż włókna kapilarnego, 1 — wewnątrz włókna, 2 — warstwa naskórkowa, 3 — warstwa makroporowata nasycona enzymem, S — substrat, P — produkt).

da ta jest ograniczona przez warunki, jakie towarzyszą formowaniu membran, a zatem przez obecność niewodnych rozpuszczalników (dimetyloformamid, aceton i in.) oraz wysoką temperaturą występującą w trakcie modyfikacji termicznej membran do odwróconej osmozy. Wydaje się, że do immobilizacji biokatalizatorów opisaną metodą bardziej użyteczne będą komórki mikroorganizmów, które są źródłem wielu enzymów o znaczeniu przemysłowym. Ostatnio odkryto szereg mikroorganizmów (np. *Sulfolobus Solfataricus*) (20), które są odporne zarówno na wysoką temperaturę, jak i rozpuszczalniki organiczne.

charakteryzuje się pewnymi wadami, które ograniczają ich wydajność. Na przykład w reaktorach, w których enzym jest unieruchomiony wewnątrz gąbczastej struktury membrany kapilarnej, transport substratów i produktów jest procesem dyfuzyjnym, a więc bardzo wolnym. Występują ponadto straty enzymu na skutek przechodzenia przez warstwę naskórkową membrany. Sieciovanie enzymu może z kolei wyeliminować wymienione straty enzymu, z drugiej jednak strony już w trakcie procesu immobilizacji następuje spadek aktywności enzymu. Przedstawione techniki nie nadają się ponadto do unieruchamiania całych komórek mikroorganizmów.

W ostatnich latach powstała koncepcja immobilizowania biokatalizatorów przez wprowadzanie ich do struktury membran w trakcie formowania. Roztwór enzymu lub zawiesinę mikroorganizmów dodaje się do roztworu błonotwórczego i z tej mieszaniny formuje się membranę. Otrzymane w ten sposób membrany enzymatyczne spełniają podwójną funkcję: biokatalizatora i separatora reagentów. Meto-

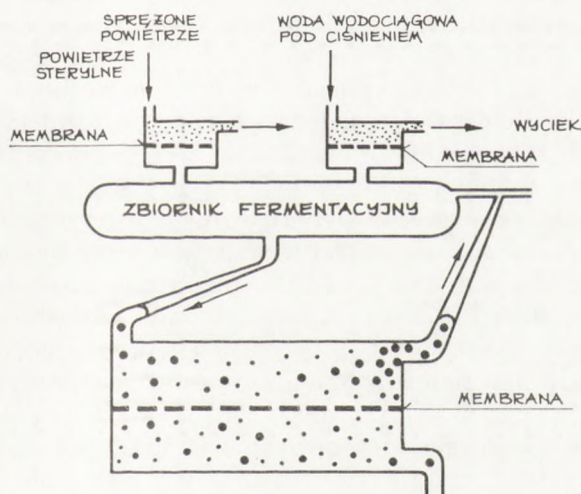
Enzymy w nich zawarte nie tracą aktywności biologicznej dzięki otoczce z błony komórkowej.

Drioli i wsp. (66) przedstawili wyniki badań immobilizacji odpornych pod względem chemicznym i termicznym termofilnych mikroorganizmów *Caldariella acidophila* na płaskich membranach z polisulfonu, octanu celulozy i poliuretanu. Mikroorganizm ten syntezuje enzym, β -galaktozydazę, który jest biokatalizatorem hydrolizy laktozy. Rucka (67) przeprowadziła próby inkluzji rybonukleozy wewnątrz struktury ultrafiltracyjnych membran z octanu celulozy i poli(chlorku winylu), które charakteryzowały się wysoką aktywnością biochemiczną. Membrany z poli(chlorku winylu), których struktura zawiera duże puste przestrzenie w kształcie wydłużonej kropli, wydają się szczególnie przydatne do immobilizowania enzymów przez inkluzję wewnątrz porowatej struktury (68). Bodzek i wsp. (69,70) przeprowadzili próby immobilizacji enzymów wyodrębnionych ze szczepu *Pseudomonas*. Enzymatyczne membrany z poliakrylonitrylu stosowano do oczyszczania ścieków przemysłowych zawierających fenole i cyjanki.

4.3. Fermentory membranowe

Połączenie fermentora z ultrafiltracyjnym modułem membranowym pozwala na ciągłą hodowlę kultur drobnoustrojów zastępując z powodzeniem fermentory okresowe i przyczyniając się równocześnie do zwiększenia wydajności układu (71 - 73).

Zasadę działania fermentora membranowego ilustruje rys. 7. Stały dopływ do fermentora świeżych składników odżywczych oraz możliwość usuwania toksycznych metabolitów zapewniają odpowiednie warunki ciągłej hodowli.



Rys. 7. Schemat fermentora membranowego.

W procesach fermentacji okresowej bardzo często wzrost komórek jest hamowany przez akumulację nadmiernej ilości bioproduktów (np. etanol, kwas mlekowy, antybiotyki) (15). W wyniku usuwania produktów reakcją fermentacji można realizować przy stosunkowo wysokich gęstościach biomasy w roztworze fermentacyjnym oraz zwiększać produktywność fermentora.

Przedstawione dane wyraźnie świadczą o tym, że w membranowym fermentorze ciągłym istnieją warunki do rozwoju komórek mikroorganizmów. Wydaje się, że podobne rozwiązania mogłyby znaleźć zastosowanie w wielu innych procesach fermentacji.

4.4. Biomembranowe oczyszczanie ścieków

Uzyskane w Japonii korzystne wyniki (74) w badaniach pilotowych małej instalacji oczyszczania ścieków bytowo-gospodarczych zblokowaną metodą osadu czynnego i ultrafiltracji przypomniały znaną z końca lat sześćdziesiątych koncepcję biomembranowego oczyszczania ścieków. Powrót do tej koncepcji, w wersji oczyszczalni o wydajności kilkunastu m³ na dobę, jest wynikiem poszukiwań zwartych systemów oczyszczania ścieków komunalnych, umożliwiających oczyszczanie u źródeł powstawania ścieków z odzyskiem jak największej ilości wody zdatnej do ponownego wykorzystania (75).

Na rys. 8 przedstawiono schemat konwencjonalnego układu do oczyszczania ścieków komunalnych metodą osadu czynnego oraz z wykorzystaniem ultrafiltracji. Reaktor biologiczny jest zblokowany z modułem ultrafiltracyjnym w taki sposób, że strumień odpływu z komory napowietrzania w całości przechodzi przez ultrafiltracyjny układ membranowy, z którego retentat ultrafiltracyjny powraca do komory napowietrzania, a jego część może cyrkulować w obiegu z pominięciem reaktora biologicznego. Do reaktora doprowadza się w sposób ciągły ścieki w ilości równej wydajności układu ultrafiltracyjnego. Z danych literaturowych wynika, że stężenie osadu w komorze napowietrzania można zwiększyć nawet do 50 kg sm/m³ (73,75,76), co umożliwia zmniejszenie pojemności komory. Obecność tak dużej ilości biomasy sprzyja adsorpcji składników ze ścieków; zmniejsza się więc niebezpieczeństwo szybkiego powlekania membran. Ponieważ membrana zatrzymuje w układzie składniki ścieków ulegające trudniej biodegradacji, wymagany normalnie czas zatrzymania może zostać skrócony. W wyniku pełnego zatrzymania w układzie cząstek zawieszonych, adsorpcji małych cząsteczek przez biomasę i dużych czasów zatrzymania dla substancji refrakcyjnych następuje wyraźne obniżenie BZT₅ i ChZT w wodach odprowadzanych z układu biomembranowego. Ogólne zmniejszenie BZT₅ wynosi 95% przy całkowitym usunięciu zawiesiny (76). Charakterystyczny dla metody biomembranowej jest brak lub znikome tworzenie się nadmiernego osadu czynnego (76,77). Układ biomembranowy może być stosowany dla procesów aerobowych i anaerobowych, z reaktorami biologicznymi otwartymi i zamkniętymi. Możliwe jest zatem nie tylko oczyszczanie ścieków komunalnych, lecz i przemysłowych, np. po rozbudowaniu układu o zestaw do odzysku substancji wartościowych.

Powszechnie podkreślaną zaletą połączenia metody osadu czynnego z ultrafiltracją jest zwartość układu i możliwość pełnej automatyzacji. W przypadku instalacji projektowanych dla małych jednostek (budynki mieszkalne, szpitale, biurowce czy fabryki) istnieje więc możliwość ich pomieszczenia wewnątrz budynku. Średnie wartości obciążenia ścieków i powstającego filtratu wg (74) podano w tab. 7.

TABELA 7
WYNIKI PRACY INSTALACJI BIOMEMBRANOWEJ

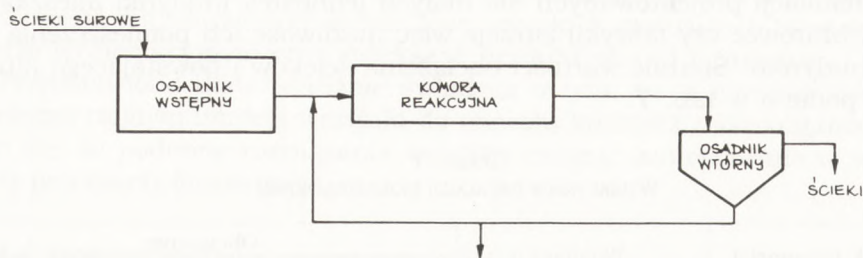
Składnik (parametr)	Wymiar	Obciążenie	
		ścieki	filtrat
zawiesina	g/m ³	236	0
BZT	g/m ³	134	1,2
utlenialność	g/m ³	96,5	6,1
węgiel organiczny	g/m ³	129	4,3
azot amonowy	g/m ³	19,8	4,2
chlorki	g/m ³	148	75,2
związki powierzchniowo czynne	g/m ³	11,1	0,17
ekstrakt eterowy	g/m ³	70,8	2,7
bakterie <i>Coli</i>	ilość/m ³	73 · 10 ⁴	0
zawiesina w komorze napowietrzania	g/m ³	4300 - 27 400	
temperatura	°C	6 - 26	
strumień permeatu	m ³ /m ² · d	0,57	

5. Zakończenie

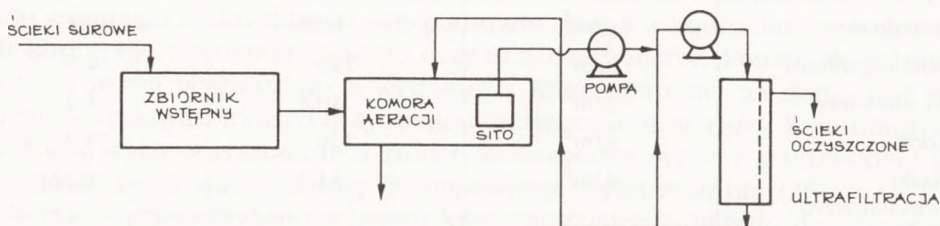
Z przedstawionych rozważań i przytoczonych przykładów wynika, że membrany i procesy membranowe, szczególnie ultrafiltracja, wywierają i będą wywierały wpływ na szybko rozwijające się technologie wykorzystujące przerób biochemiczny. Początkowo wysiłki były kierowane na operacje wspomagające procesy biochemiczne, takie jak usuwanie komórek hodowlanych w formie produktu reakcji, klarowanie cieczy pofermentacyjnych oraz odzysk i oczyszczanie produktów reakcji biochemicznych, powstających w postaci złożonych i rozcieńczonych mieszanin ciekłych.

W miarę wprowadzania do praktyki przemysłowej nowych procesów biotechnologicznych membrany stają się integralną częścią reaktorów i instalacji, ulepszając i zastępując technologie tradycyjne. Ostatnio inżynieria biochemi-

KONWENCJONALNY UKŁAD Z OSADEM CZYNNYM



UKŁAD OSAD CZYNNY - ULTRAFILTRACJA



Rys. 8. Klasyczny układ oczyszczania ścieków komunalnych oraz metoda z wykorzystaniem ultrafiltracji.

czna wprowadza membrany w celu zwiększenia wydajności konwencjonalnych procesów fermentacyjnych i enzymatycznych. Konstruowane są ciągłe fermentory, w których biokatalizator albo cyrkuluje między reaktorem a urządzeniem ultrafiltracyjnym albo jest immobilizowany w membranie lub na jej powierzchni. Układy takie pozwalają nie tylko na zwiększenie wydajności reakcji, ale na prowadzenie procesów w systemie ciągłym, jak również otrzymywanie produktu o odpowiedniej czystości i stężeniu. Cechą systemów membrana-immobilizowany biokatalizator jest możliwość połączenia reakcji biochemicznej z procesem separacji, w rezultacie czego następuje uproszczenie konstrukcji aparatury i obniżenie kosztów.

Oprócz znanego wpływu systemów membranowych na przemysłowe procesy biochemiczne, duże możliwości ich wykorzystania są związane z medycyną w konstrukcji sztucznych narządów oraz detoksyzacją krwi. Membrana w tym przypadku będzie nie tylko odgrywała rolę podłoża do immobilizowania komórek i organizmów, ale również zabezpieczała je przed atakiem macierzystego systemu immunologicznego. Nowe koncepcje i badania naukowe idą w kierunku tzw. „inteligentnych” membran aktywnych biologicznie, które są maksymalnie zbliżone pod względem funkcji i budowy do membran biologicznych. Prace prowadzone są też w kierunku poprawy mikrostruktury i funkcji chemicznych membran, szczególnie gdy mają być zastosowane w medycynie i biologii.

Literatura

1. Michaels A. S., Matson S. L., (1985), *Desalination*, 53, 231 – 237.
2. Lonsdale H. K., (1974), *Desalination*, 14, 394 – 403.
3. Meares P., (1976), *Membrane Separation Processes*, Elsevier Scientific Publishing, Amsterdam.
4. Sourirajan S., (1977), *Reverse Osmosis and Synthetic Membranes*, National Research Council, Canada, Ottawa.
5. Strathmann H., (1981), *J. Membr. Sci.*, 9, 121 – 132.
6. Lonsdale H. K., (1973), *Desalination*, 13, 317 – 325.
7. Lonsdale H. K., Podall H. E., (1972), *Reverse Osmosis Membrane Research*, Plenum Press, New York-London.
8. Sourirajan S., Matsuura T., (1985), *Reverse Osmosis and Ultrafiltration. Process Principles*, National Research Council, Canada, Ottawa.
9. Stannett V. T., Koros W. J., Paul D. R., Lonsdale H. K., Baker R. W., (1977), *Advances in Polymer Science*, 32, 92 – 104.
10. Winnicki T., (1978), *Polimery czynne w inżynierii ochrony środowiska*, Arkady, Warszawa.
11. Winnicki T., Mika A., (1986), *Membrane Phenomena and Processes*, Lectures of 1st International School on Artificial Membranes in Poland, Politechnika Wrocławska, Wrocław.
12. Woermann D., (1980), *J. Membr. Sci.*, 7, 127 – 140.
13. Fane A. G., Fell C. J. D., Wiley A., McDonogh R., (1986), Concentration polarization, mass transfer and fluid dynamics in membrane systems, Paper presented on Summer School on Engineering Aspects of Membrane Processes, Aarhus, Denmark (materiały powielone).
14. Sherwood R. K., Brian P. L. T., Fischer R. E., Dressler L., (1965), *Ind. Eng. Chem. Fundamentals*, 4, 113 – 118.
15. Cooney C. L., (1983), *Science*, 219, 728 – 735.
16. Trägårdh G., (1986), Use of membrane technology in biotechnology and food industry, Paper presented at Summer School on Engineering Aspects of Membrane Processes, Aarhus, Denmark (materiały powielone).
17. Bemberis J., Neely K., (1986), *Chem. Eng. Progress*, 82, 11, 29 – 37.
18. O'Sullivan T. J., Epstein A. C., Korchin S. R., Beaton N. C., (1984), *Chem. Eng. Progress*, 80, 1, 68 – 75.
19. Sasserod S., (1984), *Chem.-Anlagen-Vanfaren*, 4, 99 – 104.
20. Drioli E., (1984), *Estratto da L'Italia Agricola*, 121, 3, 71 – 86.
21. Lee M. S., Billigheimer P. J., (1985), *The Chemical Engineer*, 4, 48 – 51.
22. Bell D. J., Davies R. J., (1987), *Biotechnol. Bioeng.*, 29, 1176 – 1178.
23. Kroner K. H., Schütte H., Hustedt H., Kula M. R., (1984), *Process Biochem.*, 19, 4, 67 – 74.
24. Klein W., (1982), *Filtr. Separ.*, 19, 130 – 134.
25. Dunnill P., (1983), *Process Biochem.*, 18, 5, 9 – 13.
26. Strathmann H., (1982), *Chemie Technik*, 11, 813 – 819.
27. Quirk A. V., Woodrow J. R., (1983), *Biotechnol. Letters*, 5, 277 – 281.
28. Adamczyk E., Leśniak W., (1984), Materiały seminaryjne: Problemy i tendencje rozwojowe produkcji kwasu cytrynowego, Stowarzyszenie Techników Cukrowników, Ocytel, 19 – 27.
29. Torłop B., Rączko W., (1987), Postępy Inżynierii Bioreaktorowej, Materiały III Ogólnokrajowej Sesji Naukowej, Łódź, 208 – 215.
30. Bodzek M., (1983), *Polish J. Chem.*, 57, 919 – 930.
31. Grzesiak E., Pietkiewicz J., (1984), Materiały seminaryjne: Problemy i tendencje rozwojowe produkcji kwasu cytrynowego, Stowarzyszenie Techników Cukrowników, Ocytel, 30 – 35.
32. Bodzek M., Bohdziewicz J., (1989), Raport — Wydzielanie i oczyszczanie prepa-

- ratu pektynolitycznego z odcieku po fermentacji cytrynowej metodą ultrafiltracji, Instytut Inżynierii i Technologii Wody, Ścieków i Odpadów, Politechnika Śląska, Gliwice (materiały powielone).
33. Patent PRL 131813, (1986), Sposób jednoczesnego otrzymywania preparatu enzymatycznego oraz kwasu cytrynowego.
 34. Bohdziewicz J., Bodzek M., (1992), *Recents Progres en Genie de Procèdes „Membrane Preparation-Fouling-Emerging Processes”*, Eds. Aimar P., Aptel P., Lavoisier Press, 6, 22, Paris, 449 – 454.
 35. Bohdziewicz J., Bodzek M., (1994), *Process Biochemistry*, 29, 99 – 107.
 36. Galas E., (1984), *Wiadomości Chemiczne*, 39, 11 – 15.
 37. Kenz Z., Van't Riet K., (1986), *Proc. of the 5th Yugoslav-Austrian-Italian Chemical Engineering Conference*, Portoraz, Jugosławia, 194 – 198.
 38. Neogi P., (1983), *AIChE J.*, 29, 402 – 406.
 39. Suki A., Fane A. G., Fell C. J. D., (1984), *J. Membr. Sci.*, 21, 269 – 283.
 40. Charm S. E., Wong B. L., (1970), *Biotechnol. Bioeng.*, 12, 1103 – 1112.
 41. Dytnierskij J. I., (1986), *Baromembrannyye procesy*, Izd. Chimia, Moskwa.
 42. Hanus J., Pasek A., Skachora H., Kucera J., (1976), *Proc. of Section D, 2nd Congress APLICHEM'76*, Bratysława, Czechosłowacja, 237 – 243.
 43. Pasek A., (1981), *Chemicke listy*, 75, 856 – 869.
 44. Flinn J. E., (1970), *Membrane Science and Technology*, Plenum Press, New York.
 45. Michaels A. S., (1980), *Desalination*, 35, 329 – 338.
 46. Ortienberg E. S., Stołypin O. S., Timkowska A. F., Prokopowicz A. W., Dikowa U. F., (1985), *Chim.-Farm.-Żurnal*, 19, 78 – 91.
 47. Porter M. C., Michaels A. C., (1972), *Chemical Technology*, 1, 56 – 69.
 48. Kluszczyk H., (1972), Raport — Próby zastosowania ultrafiltracji do zagęszczania i oczyszczania enzymów pektynolitycznych przy zastosowaniu aparatury firmy PCI, Stacja Doświadczalna przy Zakładach „Pektowin”, Jasło (materiały powielone).
 49. Stachowicz K., Jędrychowska B., Krakowiak A., Kłosińska-Rycerska B., Sawicka R., Skiba J., Zakrzewski A., (1975), *Prace Instytutów i Laboratoriów Badawczych Przemysłu Spożywczego*, 25, 321 – 334.
 50. Bohdziewicz J., Bodzek M., Korus I., (1990), *Biotechnologia*, 2 – 3 (8 – 9), 23 – 35.
 51. Gierczycki A., Bohdziewicz J., (1991), *Biotechnologia*, 2, (12), 59 – 66.
 52. Bohdziewicz J., (1992), *Proc. of the East Europe-Japan Workshop on „Frontiers in Membrane Science and Technology”*, Toruń, 125 – 127.
 53. Bohdziewicz J., (1994), *Process Biochemistry*, 29, 109 – 118.
 54. Noworyta A., (1986), *Prace Naukowe Instytutu Inżynierii Chemicznej i Urządzeń Ciepłych Politechniki Wrocławskiej*, 46, 245 – 254.
 55. Noworyta A., (1987), *Materiały III Ogólnokrajowej Sesji Naukowej Postępy Inżynierii Bioreaktorowej*, Łódź, 54 – 58.
 56. Blatt W. F., Hudson B. G., Robinson S. M., (1968), *Anal. Biochem.*, 22, 1 – 8.
 57. Michaels A. S., Strathmann H., (1983), *J. Membr. Sci.*, 15, 118 – 129.
 58. Szewczuk A., (1973), *Wiad. Chem.*, 27, 289 – 296.
 59. Szewczuk A., Rapak A., (1985), *Wiad. Chem.*, 39, 31 – 35.
 60. Cabasso I., (1980), *Polym. Sci. Technol.*, 13, 57 – 78.
 61. Drioli E., Scardi V., (1976), *J. Membr. Sci.*, 1, 237 – 311.
 62. Greco G. Jr., Alfani F., Iorio G., Canatarella M., Formisano A., Granfreda L., Palescandlo R., Scardi V., (1979), *Biotechnol. Bioeng.*, 21, 1421 – 1433.
 63. Żuk J. S., Rucka M., Rak J., (1982), *EPE*, 8, 1 – 4, 95 – 103.
 64. Capobiagoni G., Drioli E., Ragosta G., (1977), *J. Solid-Phase Biochem.*, 2, 315 – 332.
 65. Waterland L. R., Michaels A. S., Robertson G. R., (1974), *AIChE J.*, 20, 50 – 53.
 66. Drioli E., Iorio G., Santoro R., De Rosa M., Gambacorta A., Nicolaus B., (1982), *J. Mol. Catalysis*, 14, 247 – 251.
 67. Rucka M., (1987), Raport — Opracowanie metody immobilizacji lipazy w membranie ultrafiltracyjnej, Instytut Chemii Organicznej i Fizycznej, Politechnika Wroclawska (materiały powielone).

68. Bodzek M., Bohdziewicz J., (1985), *Materiały II Ogólnopolskiej Sesji Naukowej: Postępy Inżynierii Bioreaktowej*, 1, 240 – 248.
69. Bodzek M., Bohdziewicz J., Kowalska M., Łabużek S., (1992), *Proc. of the East Europe-Japan Workshop on „Frontiers in Membrane Science and Technology”*, Toruń, 147 – 150.
70. Bodzek M., Bohdziewicz J., Kowalska M., (1993), *Biotechnologia*, 2(21), 121 – 133.
71. Anderson K. W., Grulke E., Gerhardt P., (1984), *Biotechnology*, 2, 891 – 899.
72. Hoffman H., Kuhlmann W., Meyer H. D., Schugerl K., (1985), *J. Membr. Sci.*, 22, 235 – 240.
73. Stavenger P. L., (1971), *Chem. Eng. Progress*, 67, 3, 30 – 36.
74. Arika M., Kobayashi H., Kihara H., (1987), *Desalination*, 23, 77 – 83.
75. Bodzek M., Kominek O., (1983), *Gaz, Woda i Technika Sanitarna*, 57, 248 – 257.
76. Porter M. C., (1973), *AIChE Symp. Ser.*, 69, 129, 100 – 122.
77. Lacey R. E., Loeb S., (1972), *Industrial Processing with Membranes*, Wiley Interscience, New York.

Application of membrane operations in some biochemical processes

Summary

In the nearest future biotechnology processes will tend towards the production of small quantities of valuable substances and products which can be obtained only using biological methods.

Therefore, more efficient ways of microorganism cultivation and better methods of isolation and purification of products have been looked for. In that situation, the membranes and membrane processes can solve many of these problems. Much attention has been paid to the ultrafiltration process characterized by low cost and energy-consumption, which may be conducted at room temperature without any phase changes, with no need of using additional chemicals and with the possibility of simultaneous concentration and purification of substances.

The paper deals with the possibility of applying ultrafiltration to separation, concentration and purification of fermentation products and modification of fermentation processes by means of combination of ultrafiltration with fermenters and enzymatic reactors. Also immobilization of enzymes and other biocatalysts onto or into membranes has been discussed.

Key words:

immobilization of biocatalysts, membranes in biotechnology, membrane operations, ultrafiltration membrane separation.

Adres dla korespondencji:

Michał Bodzek, Wydział Inżynierii Środowiska, Politechnika Śląska, ul. Kuźwieskiego 2, 44-101 Gliwice.