

Andrzej SZANIAWSKI¹, Daniela SZANIAWSKA²

ZASTOSOWANIE IMMOBILIZOWANEJ PEKTYNAZY DO POPRAWY WŁASNOŚCI TRANSPORTOWYCH MEMBRAN Z TiO₂ W PROCESACH MIKROFILTRACJI ROZTWORÓW PEKTYNY

Streszczenie. Przedstawiono wyniki badań doświadczalnych nad możliwością zastosowania membran z warstwą TiO₂ w procesach mikrofiltracji roztworów zawierających pektyny. Wykazano, że opór transportu masy spowodowany foulingiem pektyny może być znacznie zredukowany w wyniku zastosowania membrany z fizycznie zaadsorbowaną pektyną w ilości 5 g·m⁻².

ENHANCEMENT OF TRANSPORT PROPERTIES OF TiO₂ MEMBRANE IN MICROFILTRATION OF PECTIN SOLUTIONS USING IMMOBILIZED PECTINASE

Summary. The effect of physically immobilized pectinase on the microfiltration of dilute apple pectin solutions by microporous TiO₂ membranes were investigated to examine the potential of these membranes in applications involving solutions containing pectin. The permeability of the titania membrane with 5 g·m⁻² adsorbed pectinase was about 15% larger than the permeability of the membrane without immobilized pectinase.

1. Wprowadzenie

Trudności występujące w praktycznym stosowaniu procesów membranowych do zateżenia soków owocowych wiążą się z obecnością w nich pektyn. Substancje te uważane są za główny czynnik powodujący spadek szybkości filtracji, spowodowany zjawiskami polaryza-

¹Politechnika Szczecińska, Katedra Inżynierii Środowiska Wodnego, Al. Piastów 50, 70-311 Szczecin, e-mail: andrzej.szaniawski@ps.pl

²Politechnika Szczecińska, Instytut Inżynierii Chemicznej i Procesów Ochrony Środowiska, Al. Piastów 42, 71-065 Szczecin, e-mail: dszan@carbon.tuniv.szczecin.pl

cji stężeniowej i foulingu oraz utrudniający czyszczenie używanych membran. W celu minimalizacji tych zjawisk, stosowana jest wstępna obróbka soków owocowych z zastosowaniem enzymów, która ma na celu degradację pektyn oraz zwiększenie przepuszczalności membran. W publikacji przedstawiono wybrane wyniki badań procesu mikrofiltracji roztworów zawierających pektyny z zastosowaniem membran z warstwą TiO_2 w układach bez i z immobilizowaną fizycznie pektyną.

2. Immobilizacja mikroorganizmów

Immobilizacja definiowana jest jako technika, dzięki której aktywny katalitycznie enzym lub komórka zamykane są w układzie reaktora lub module membranowym w taki sposób, że nie mogą uwolnić się do fazy, w której znajdują się substraty i produkty reakcji. Immobilizację mikroorganizmów stosuje się w celu wyeliminowania wad konwencjonalnych metod wykorzystywania biokatalizatorów w swobodnej zawieszynie. Do głównych zalet immobilizacji należą: możliwość ponownego użycia i łatwość utrzymania stabilnej aktywności biologicznej biokatalizatorów oraz poprawa efektywności procesów w wyniku zwiększenia szybkości reakcji, odzysku produktów i wydajności procesu.

Stosowane metody immobilizacji biokatalizatorów klasyfikowane są w różny sposób, w zależności od rodzajów przyjętych kryteriów. Ze względu na sposób immobilizacji można podzielić je na dwie główne grupy: 1) immobilizowanie przez unieruchomienie we wnętrzu porowatej struktury lub 2) przytwierdzenie do powierzchni ciała stałego, w wyniku adsorpcji lub wiązania kowalencyjnego.

Adsorpcja fizyczna jest prostą i taną metodą immobilizacji mikroorganizmów [1]. W metodzie tej mogą być stosowane nośniki o bardzo różnorodnej strukturze, zarówno nieorganiczne, jak i organiczne, od bardzo prostych i tanich produktów naturalnych (piasek, ścinki drewna) do bardziej skomplikowanych strukturalnie (szkła lub tlenki metali o regulowanej wielkości porów). Prosty technicznie jest też sposób immobilizacji mikroorganizmów, wstępnie przygotowane nośniki mieszane są z zawiesiną komórek, które ulegają adhezji na ich powierzchni, w sposób bardziej lub mniej kompletny. Nośnik jest materiałem inertnym, a w procesie adsorpcji nie stosuje się żadnych dodatkowych substancji chemicznych, więc immobilizacja prowadzona jest w warunkach łagodnych fizjologicznie sprzyjających mikroorganizmom.

Czynnikami limitującymi ten sposób immobilizacji mikroorganizmów są: zdolność do adhezji i siła adhezji. W celu uzyskania jak największej ilości zaadsorbowanych komórek, zarówno wewnętrzna, jak i zewnętrzna powierzchnia porowatego nośnika musi być łatwo dostępna w procesie sorpcji. W związku z tym rozmiary porów muszą być takie, aby jednocześnie zapewnić dużą powierzchnię dostępną dla sorpcji oraz umożliwić penetrację komórek. Przy wyborze nośnika należy więc określić optymalny rozmiar porów, biorąc pod uwagę dwa podstawowe czyn-

niki wpływające na proces adsorpcji: dostępność dla penetracji i powierzchnię właściwą nośnika. Drugim czynnikiem limitującym proces immobilizacji przez adsorpcję są siły wzajemnego oddziaływania między mikroorganizmami i nośnikiem. Dostępne dane doświadczalne nie pozwalają na identyfikację udokumentowanych mechanizmów adsorpcji, odpowiedzialnych za odpowiedni poziom sił adhezji, umożliwiających skuteczną immobilizację mikroorganizmów. W rozważaniach ogólnych bierze się pod uwagę nie tylko siły Van der Waalsa, ale także oddziaływania elektrostatyczne, szczególnie w przypadkach, gdy adsorpcji ulegają mikroorganizmy z ładunkiem na naładowanych nośnikach. Wśród czynników, które mają znaczący wpływ na siły adhezji, wymienia się pH i siłę jonową roztworów oraz budowę chemiczną nośnika [1].

Ze względu na wymienione ograniczenia stosowanie tej techniki immobilizacji nie będzie skuteczne w układach, w których występują duże siły ścinające, związane z bardzo dużymi prędkościami przepływu cieczy lub bardzo intensywnym mieszaniem. Takie układy są niekorzystne nie tylko dlatego, że istnieje możliwość wymywania mikroorganizmów, ale także z punktu widzenia ich biologicznej aktywności. W układach z biokatalizatorami z reguły stosowane są łagodne warunki prowadzenia procesów.

3. Przepływ cieczy przez membrany półprzepuszczalne

Przepływ cieczy przez membrany mikro- i ultrafiltracyjne związany jest nieodłącznie z charakterystycznymi zjawiskami, do których należą: polaryzacja stężeniowa i fouling. Zjawiska te wywołują niekorzystny wpływ na własności membran (objętościowy strumień permeatu i stopień zatrzymywania substancji) oraz kłopoty z ich czyszczeniem.

Istnieje wiele modeli opisujących zależność objętościowego strumienia permeatu od parametrów procesowych i właściwości fizykochemicznych filtrowanego roztworu, żaden nie jest w pełni satysfakcjonujący [2]. Wśród podstawowych modeli opisujących zależność objętościowego strumienia permeatu od ciśnienia transmembranowego stosunkowo często, głównie ze względu na prostotę i łatwość modyfikacji, stosowany jest model oporów szeregowych (ang. *resistance-in-series model*). Koncepcja tego modelu jest podobna do koncepcji opisującej transport ciepła i opiera się na założeniu, że strumień masy (ciepła) jest wprost proporcjonalny do siły napędowej (różnicy ciśnień, różnicy temperatur) i odwrotnie proporcjonalny do oporu.

Zgodnie z tą koncepcją, strumień permeatu w układach membranowych można opisać za pomocą zależności: $J_v = \Delta p/R_c$; gdzie R_c – opór całkowity, równy sumie oporów, tj.: opór czystej membrany, R_m , charakteryzujący filtrację czystej wody, opór spowodowany foulingiem R_f , z podziałem na opór odwracalny, R_{fo} i nieodwracalny, R_{fno} .

4. Metodyka badań doświadczalnych

W badaniach doświadczalnych stosowano mikrofiltracyjne membrany nieorganiczne, firmy Du Pont, w postaci rur ze stali kwasoodpornej z nałożoną, w sposób trwały, warstwą dwutlenku tytanu. Powierzchnia membrany wynosiła $0,029 \text{ m}^2$, a średnica wewnętrzna nośnika 16 mm. Średni rozmiar porów w warstwie dwutlenku tytanu zawarty jest w przedziale $0,05 - 0,1 \text{ }\mu\text{m}$.

Badana membrana stosowana była w następujących rodzajach eksperymentów: 1) mikrofiltracja wody dejonizowanej w celu określenia zależności objętościowego strumienia permeatu od ciśnienia w zakresie $0,2-1,38 \text{ MPa}$; 2) mikrofiltracja roztworów pektyny jabłkowej w celu określenia jej wpływu na obniżenie wydajności membrany; 3) mikrofiltracja wody dejonizowanej przez membranę po procesie filtracji roztworów pektyny (po mechanicznym myciu przy użyciu wody dejonizowanej) w celu określenia foulingu spowodowanego filtracją roztworów pektyn; 4) mikrofiltracja roztworów pektynazy (adsorpcja pektynazy); 5) mikrofiltracja roztworów pektyny przez membranę z immobilizowaną pektynazą.

Temperatura pomiarów utrzymywana była na stałym poziomie 45°C . Zmieniano ciśnienie i prędkość liniową nadawy nad powierzchnią membrany. Roztwory pektyny filtrowano w warunkach stałego $\text{pH} = 3,5$.

Testy mikrofiltracyjne prowadzone były w ten sposób, że zarówno permeat, jak i retentat zawracane były do zbiornika nadawy. Metody analityczne stosowane w badaniach zostały opisane w publikacji [3].

5. Wyniki badań doświadczalnych

5.1. Mikrofiltracja wody dejonizowanej oraz roztworów pektyn przez membranę bez immobilizowanej pektynazy

W tabeli 1 zestawione zostały wyniki badań dla procesu mikrofiltracji $0,1\%$ roztworu pektyny jabłkowej w zależności od ciśnienia i prędkości liniowej nadawy.

Jak wynika z tabeli 1, współczynnik retencji pektyny dla badanej membrany z dwutlenku tytanu jest wysoki ($R = 0,95 - 0,97$) i praktycznie niezależny od ciśnienia oraz prędkości liniowej nadawy.

Tabela 1

Wyniki badań procesu mikrofiltracji 0,1% roztworu pektyny jabłkowej

Prędkość liniowa nadawy, u [$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$]	Ciśnienie, Δp [MPa]	Objęściowy strumień permeatu, $J_{v,\text{sr}}$ [$\text{m}^3\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$]	Współczynnik retencji pektyny, R
1,5	0,21	$0,027 \times 10^{-3}$	0,96
	0,35	$0,030 \times 10^{-3}$	0,95
	0,48	$0,030 \times 10^{-3}$	0,97
	0,69	$0,034 \times 10^{-3}$	0,96
	1,04	$0,033 \times 10^{-3}$	0,96
0,8	0,21	$0,015 \times 10^{-3}$	0,95
	0,35	$0,016 \times 10^{-3}$	0,95
	0,48	$0,016 \times 10^{-3}$	0,96
	0,69	$0,017 \times 10^{-3}$	0,97
	1,04	$0,016 \times 10^{-3}$	0,97

 $J_{v,\text{sr}}$ – średnia arytmetyczna z 7 – 10 pomiarów

Na rys. 1 przedstawiono graficznie zależność objęściowego strumienia permeatu od ciśnienia dla 3 rodzajów testów: 1) mikrofiltracji wody dejonizowanej przez czystą membranę mikrofiltracyjną (prosta 1); 2) mikrofiltracji 0,1% roztworu pektyny jabłkowej (prosta 2) oraz 3) mikrofiltracji wody dejonizowanej przez membranę, która uległa procesowi nieodwracalnego foulingu (fouling odwracalny usunięty w procesie mycia membrany za pomocą wody dejonizowanej) dla $u = 1,5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ (prosta 3) i $u = 0,8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ (prosta 4).

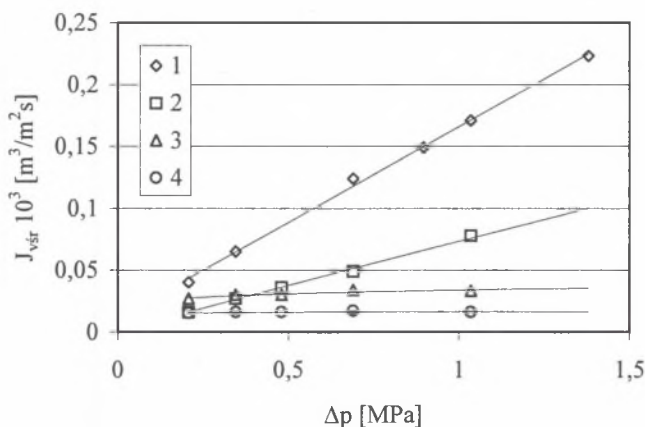
Uzyskane dane doświadczalne posłużyły do wyznaczenia, opartych na modelu oporów szeregowych, oporów charakteryzujących badane układy, które zestawione zostały w tabeli 2.

Tabela 2

Oszacowane wartości oporów, $\text{MPa}\cdot\text{m}^{-1}$

R_m	R_{c1}	R_{f01}	R_{f01}	R_{c2}	R_{f02}	R_{f02}
$0,63 \times 10^4$	$12,74 \times 10^4$	$11,4 \times 10^4$	$0,69 \times 10^4$	$55,3 \times 10^4$	$54,01 \times 10^4$	$0,61 \times 10^4$

1 – $u = 1,5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$; 2 – $u = 0,8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$



Rys. 1. Zależność J_v od ciśnienia dla: 1 – MF wody dejonizowanej przez czystą membranę; 2 – MF wody dejonizowanej przez membranę, która uległa procesowi nieodwracalnego foulingu; 3 – MF 0,1% roztworu pektyny jabłkowej; $u = 1,5 \text{ ms}^{-1}$; 4 – MF 0,1% roztworu pektyny jabłkowej; $u = 0,8 \text{ ms}^{-1}$;

Fig. 1. Effect of pressure on J_v for: 1 - MF of deionized water through clean membrane; 2 - MF of deionized water through washed membrane; 3 - MF of 0,1% apple pectine solutions; $u = 1,5 \text{ ms}^{-1}$; 4 – MF of 0,1% apple pectine solution; $u = 0,8 \text{ ms}^{-1}$;

5.2. Mikrofiltracja roztworów pektyny przez membranę z immobilizowaną pektynazą

Enzym był adsorbowany na powierzchni membrany w procesie cyrkulowania rozcieńczonego roztworu pektynazy (ok. $55 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) w warunkach stałego pH = 3,5, ciśnienia $p = 0,21 \text{ MPa}$ i prędkości liniowej $u = 0,8 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ w czasie ok. 1 h. Ilość zaadsorbowanej na powierzchni membrany pektynazy wyliczano z różnicy między wartościami uzyskanymi dla instalacji pracującej z modułem i bez modułu membranowego. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3

Adsorpcja pektynazy na powierzchni membrany z warstwą TiO_2

Czas, τ [min]	5	10	20	30	40	50	60
Ilość zaadsorbowanej pektynazy, [gm^{-2}]	4,5	4,8	5,0	5,0	5,1	5,2	5,2

W tabeli 4 przedstawiono wyniki uzyskane dla procesu mikrofiltracji 0,1% roztworu pektyny jabłkowej przez membranę z zaadsorbowaną pektynazą w ilości $5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$.

Tabela 4

Porównanie objętościowego strumienia permeatu dla procesu mikrofiltracji 0,1% roztworów pektyny jabłkowej przez membranę z (1) i bez (2) zaadsorbowanej pektynazy

Ciśnienie, Δp [MPa]	0,21	0,35	0,48	0,69	1,04
$J_{v,śr(1)}$, [$m^3 m^{-2} s^{-1}$]	$0,032 \times 10^{-3}$	$0,036 \times 10^{-3}$	$0,037 \times 10^{-3}$	$0,041 \times 10^{-3}$	$0,04 \times 10^{-3}$
$J_{v,śr(2)}$, [$m^3 m^{-2} s^{-1}$]	$0,027 \times 10^{-3}$	$0,030 \times 10^{-3}$	$0,030 \times 10^{-3}$	$0,034 \times 10^{-3}$	$0,03 \times 10^{-3}$

$J_{v,śr}$ – średnia arytmetyczna z 7 -10 pomiarów

6. Podsumowanie

Przedstawione wyniki badań upoważniają do stwierdzenia, że membrany nieorganiczne z warstwą TiO_2 mogą być wykorzystane do udoskonalenia konwencjonalnych metod klarowania soków, w których enzymy stosowane są w postaci zawieszonyj w roztworze. Unieruchomienie pektynazy na powierzchni membrany w procesie fizycznej adsorpcji ma dwie zalety, umożliwia redukcję ilości potrzebnego do procesu drogiego enzymu, i jednocześnie zmniejszenie oporów transportu spowodowanych foulingiem pektyny zawartej w sokach.

Oszacowane wartości oporów (tab.2) pozwalają stwierdzić, że w procesie mikrofiltracji rozcieńczonych roztworów pektyny jabłkowej głównym oporem transportu masy jest opór spowodowany foulingiem odwracalnym. Charakterystyczne jest również, że wraz ze wzrostem prędkości liniowej maleje opór całkowity, ale rośnie udział oporu spowodowanego foulingiem nieodwracalnym, z ok. 1% dla $u = 0,8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ do ok. 5% dla $u = 1,5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$.

W dynamicznym procesie immobilizacji pektynazy adsorpcji ulega ok. 5 g pektynazy na 1 m^2 powierzchni membrany, przy czym 85% tej ilości adsorbuje się w bardzo krótkim czasie, po upływie 5 min (tab.3).

Objętościowy strumień permeatu (tab. 4) w procesach mikrofiltracji 0,1% roztworów pektyny jabłkowej przez membranę z zaadsorbowaną pektynazą był o ok. 15% wyższy w porównaniu ze strumieniem permeatu uzyskanym w procesie mikrofiltracji tych samych roztworów przez membranę bez immobilizowanej pektynazy.

Literatura

1. Moo-Young M.: *Comprehensive Biotechnology*, vol.2. *The Principle of Biotechnology: Engineering Considerations*, PERGAMON PRESS, Oxford – New York – Toronto – Sydney – Frankfurt, 1985.
2. Cheryan M.: *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*, TECHNOMIC publication, Urbana, Illinois, USA, 1998.
3. Szaniawski A., Spencer H.G.; Effects of immobilized pectinase on the microfiltration of dilute pectin solutions by macroporous titania membranes, *J. Membr. Sci.*, 127, 1997, s. 69-79.

Abstract

Pretreatment of fruit juices and other liquid foods containing pectin with enzymes to increase flux in microfiltration and ultrafiltration processing has been investigated since pectin appears to be a major contributor to the flux decline and to difficulties in cleaning the membrane in these applications. The problem could be solved by treatment of the fluid with pectinase in selected juice clarification and concentration applications. However, the concentrate produced from enzyme-treated juice exhibit unacceptable settling of suspended components, which was attributed to the degradation of the pectin by the enzyme. The use of pectinase immobilized on the membranes is expected to hydrolyze the pectin to lower molecular weight species only at the membrane – feed solution interface and result in a concentrate that is affected less than by pretreatment of the bulk solution.

The purpose of this paper is to examine the potential of titania microfiltration membrane with pectinase physically immobilized on it by a dynamic formation method in applications involving solutions containing pectin.