ZESZYTY
NAUKOWE
POLITECHNIKI
ŚLĄSKIEJ

JOLANTA BOHDZIEWICZ

ULTRAFILTRACYJNE OCZYSZCZANIE I ZATĘŻANIE ENZYMÓW Z GRUPY HYDROLAZ STOSOWANYCH W PRZEMYŚLE SPOŻYWCZYM

P. 3355/94

INŻYNIERIA ŚRODOWISKA
Z. 38

GLIWICE
1994

POLITECHNIKA ŚLĄSKA

ZESZYTY NAUKOWE

Nr 1235

P.3355/94

JOLANTA BOHDZIEWICZ

ULTRAFILTRACYJNE OCZYSZCZANIE I ZATĘŻANIE ENZYMÓW Z GRUPY HYDROLAZ STOSOWANYCH W PRZEMYŚLE SPOŻYWCZYM

GLIWICE 1994

OPINIODAWCY

Dr hab. inż. Marek Dziubiński

Doc. dr hab. inż. Ludgarda Buzek

KOLEGIUM REDAKCYJNE

REDAKTOR NACZELNY – Prof. dr hab. inż. Jan Bandrowski

REDAKTOR DZIAŁU – Dr inż. Helena Kościelniak

SEKRETARZ REDAKCJI – Mgr Elżbieta Leśko

REDAKCJA

Mgr Aleksandra Kłobuszowska

REDAKCJA TECHNICZNA

Alicja Nowacka

Wydano za zgodą

Rektora Politechniki Śląskiej

PL ISSN 0867–6038

Wydawnictwo Politechniki Śląskiej

ul. Kujawska 3, 44-100 Gliwice

Nakład 150+83 egz., Ark. wyd. 10,5. Ark. druk. 10. Papier offset. kl. III 70x100, 80g
Oddano do druku 29.03.1994 r. Podpisano do druku 29.03.1994 r. Druk ukończono w kwietniu 1994 r.
Zam. 28/94 - Cena zł 42.000,-

Fotokopie, druk i oprawę wykonano w UKiP sc, Gliwice, ul. Pszczyńska 44

SPIS TREŚCI STR.

1. Wprowadzenie 15
2. Cel i zakres pracy 19

CZĘŚĆ TEORETYCZNA

3. Izolowanie i zatężanie produktów fermentacji metodą ultrafiltracji 21
4. Warunki separacyjne i parametry procesowe intensyfikujące transport masy w procesie ultrafiltracji substancji biologicznie aktywnych 29
   4.1. Membrany, moduły membranowe i sposób prowadzenia procesu 29
   4.2. Parametry operacyjne procesu ultrafiltracji 32
5. Równania modułowe opisujące transport masy w procesie ultrafiltracji 44

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

6. Charakterystyka roztworów enzymów 47
7. Aparatura do prowadzenia ultrafiltracji roztworów enzymów 52
8. Metodyka badań i stosowane oznaczenia analityczne 54
9. Właściwości transportowo-separacyjne membran ultrafiltracyjnych pod kątem ich zastosowania do oczyszczania i zatężania białek aktywnych 57
   9.1. Charakterystyka polimeru do preparowania membran 57
   9.2. Sposób otrzymywania asymetrycznych membran rurowych 60
   9.3. Struktura wewnętrzna membran ultrafiltracyjnych 63
      9.3.1. Analiza zdjęć przekrojów poprzecznych membran wykonanych pod mikroskopem elektronowym 63
      9.3.2. Określenie porowatości warstwy powierzchniowej membrany metodą pęcherzykową 66
   9.4. Transport wody i związków wielkocząsteczkowych przez membrany ultrafiltracyjne 69

9.5. Wyznaczanie doświadczalnego współczynnika retencji białek aktywnych..... 72
10. Dobór parametrów procesowych ultrafiltracji roztworów enzymów..... 75
10.1. Ciśnienie transmembranowe..... 76
10.2. Liniowa prędkość przepływu..... 88
10.3. Temperatura..... 91
10.4. Stężenie nadawy..... 95
10.5. Podsumowanie..... 96
11. Ultrafiltracyjne zatężanie roztworów enzymów..... 99
11.1. Objętościowy strumień permeatu..... 99
11.2. Współczynnik retencji..... 101
12. Zagęszczanie próżniowe ultrafiltracyjnych retentatów enzymów..... 110
13. Ocena jakości ultrafiltracyjnych retentatów enzymów..... 113
13.1. Porównanie skuteczności działania preparatów enzymatycznych oczyszczonych metodą ultrafiltracji z preparatami handlowymi..... 113
13.1.1. Produkcja piwa - preparat enzymów proteolitycznych..... 113
13.1.2. Test wydajności alkoholu ze skrobi żytniej - preparat enzymów amylolitycznych..... 116
13.1.3. Badanie procesu depektynizacji soku jabłkowego - preparat enzymów pektynolitycznych.. 117
13.2. Określenie rozkładu mas cząsteczkowych składników preparatów enzymów przed i po ich ultrafiltracji... 121
14. Modelowanie przepływu w procesie ultrafiltracji roztworów enzymów..... 126
14.1. Wyznaczanie stężenia białka w warstwie żelowej
14.2. Wyznaczanie współczynnika wnikania masy..... 127
14.3. Wyznaczanie współczynnika dyfuzji białek..... 132
14.4. Wyznaczenie modułowych równań transportu masy pozwalających na obliczanie szybkości procesu ultrafiltracji roztworów enzymów..... 134
15. Podsumowanie i wnioski końcowe..... 139
Literatura..... 142
Streszczenia..... 155

CONTENTS PAGE

1. **Introduction**..... 15
2. **The aim and scope of the paper**..... 19

THEORETICAL PART

3. **Isolation and concentration of the fermentation product with ultrafiltration process**..... 21
4. **Separation conditions and processes parameters intensifing the mass transport in ultrafiltration of the biological active substances**..... 29
4.1. Membranes, membrane modules and mode process..... 29
4.2. Process parameters of ultrafiltration..... 32
5. **Module equations describing the mass transport in ultrafiltration process**..... 44

EXPERIMENTAL PART

6. **Characterization of the enzymic solutions**..... 47
7. **Apparatus for the ultrafiltration of the enzymis solutions**..... 52
8. **The methods of investigations and analitical determinations**..... 54
9. **The transport - separation properties of the ultrafiltration membranes to purification and concentration of the active proteins**..... 57
9.1. Characteristic of the polymer to membrane preparation..... 57
9.2. Mode of the tubular asymetric membrane preparation.. 60
9.3. Inner structure of the ultrafiltration membranes.... 63
9.3.1. Analysis of the electron micrographs of the membrane cross - sections..... 63
9.3.2. Determination of the membrane surface layer porosity by means of the bubble-point method 66

9.4. Transport of water and macromolecules through the ultrafiltration membranes..... 69
9.5. Determination of the experimental retention coefficient of the active proteins..... 72

10. Choice of the process parameters of enzymic solutions ultrafiltrations 75
10.1. Transmembrane pressure..... 76
10.2. Cross - flow velocity..... 88
10.3. Temperature..... 91
10.4. Concentration of the feed..... 95
10.5. Summary..... 96
11. Ultrafiltration concentration of the enzymiz solutions... 99
11.1. Volumetric permeate flux..... 99
11.2. Retention coefficient..... 101
12. Vacuum concentration of the ultrafiltration enzymic retentates..... 110
13. Quality assessment of the ultrafiltration enzymic retentates..... 113
13.1. Comparing of the enzymic preparation purified by ultrafiltration with the commercial preparations..... 113
13.1.1. Production of the beer - the proteolytic preparation..... 113
13.1.2. Yield test of the alcohol from the rye starch - the amylolytic preparation..... 116
13.1.3. Investigation of the depectinisation of an apple juice - the pectynolytic preparation.. 117
13.2. Determination of the molecular mass distribution of the enzymic preparation components..... 121
14. Modelling of the enzymic solutions flow in ultrafiltration process..... 126
14.1. Determination of the proteins concentration in gel layer..... 126
14.2. Determination of the mass transfer coefficient..... 127

14.3. Determination of the diffusion coefficient..... 132
14.4. Determination of the module equations of the mass transport to calculate the flux rate in the ultrafiltration of the enzymic preparations..... 134
15. Summing up and conclusion..... 139
References..... 142
Summaries..... 155

С О Д Е Р Ж А Н И Е

стр.

1. Введение 7
2. Цели и объём работы 9

Т Е О Р Е Т И Ч Е С К А Я Ч А С Т Ь

3. Изолирование и концентрирование продуктов брожения методом ультрафильтрации 10
4. Сепаративные условия и процессуальные параметры интенсифицирующие транспорт массы в процессе ультрафильтрации биологически активных субстанций 13
   4.1. Мембраны, мембранные модули и способ ведения процесса 13
   4.2. Оперативные параметры процесса ультрафильтрации 15
5. Модульные уравнения описывающие транспорт массы в процессе ультрафильтрации 24

О П Ы Т Н А Я Ч А С Т Ь

6. Характеристика растворов ферментов 26
7. Аппаратура для ведения ультрафильтрации растворов ферментов 28
8. Методика исследований и используемые аналитические обозначения 29
9. Транспортно-сепаративные свойства ультрафильтрационных мембран с точки зрения их применения для очистки и концентрирования активных белков 32
   9.1. Характеристика полимера для изготовления мембран 32
   9.2. Способ изготовления асимметрических трубообразных мембран 33
   9.3. Внутренняя структура ультрафильтрационных мембран.... 33
      9.3.1. Анализ снимков поперечных сечений мембран сделанных под электронным микроскопом..... 34
      9.3.2. Определение пористости поверхностного слоя мембраны с помощью везикулярного процесса..... 35
   9.4. Транспорт воды и макромолекулярных соединений по ультрафильтрационным мембранам 35
   9.5. Определение опытного коэффициента ретенции активных белков 35
10. Подбор процессуальных параметров ультрафильтрации растворов ферментов 38
   10.1. Трансмембранное давление 38
   10.2. Линейная скорость протекания 40
   10.3. Температура 41
   10.4. Концентрация седива 42
   10.5. Подведение итогов 43
11. Ультрафильтрационное концентрирование растворов ферментов 46
   11.1. Объёмная струя пермеата 46
   11.2. Коэффициент ретенции 47
12. Вакуумное концентрирование ультрафильтрационных ретентантов ферментов 50
13. Оценка качества ультрафильтрационных ретентантов ферментов 51
   13.1. Сравнение эффективности действия энзиматических препаратов очищенных методом ультрафильтрации и препаратов находящихся в торговле 51

13.1.1. Производство пива - препарат протеолитических ферментов 51

13.1.2. Тест производительности алкоголя из ржаного крахмала - препарат амилолитических ферментов 52

13.1.3. Исследование процесса депектинизации яблочного сока - препарат пектинолитических ферментов 53

13.2. Определение распределения молекулярных масс компонентов препаратов ферментов до и после их ультрафильтрации 54

14. Моделирование протекания в процессе ультрафильтрации растворов ферментов 56

14.1. Определение концентрации белка в гелевом слое..... 56

14.2. Определение коэффициента массоотдачи 56

14.3. Определение коэффициента диффузии белков 57

14.4. Определение модульных уравнений транспорта массы, позволяющих вычитать скорость процесса ультрафильтрации растворов ферментов 58

15. Подведение итогов и заключительные выводы 61

Литература 64

Резюме 76

OZNACZENIA

A, A_1.....stałe

a.....wykładnik potęgowy

a_1.....stała

B.....stała

b.....wykładnik potęgowy

b_1.....stała

C.....stężenie, kg/m^3

C_1.....stężenie substancji dyfundującej w komorze z roztworem dla t=0, kg/m^3

C_2.....stężenie substancji dyfundującej w komorze z wodą dejonizowaną dla t=0, kg/m^3

C_3.....stężenie substancji dyfundującej w komorze z roztworem po czasie t, kg/m^3

C_4.....stężenie substancji dyfundującej w komorze z wodą dejonizowaną po czasie t, kg/m^3

C_b.....stężenie w nadawie, kg/m^3

C_g.....stężenie w warstwie żelowej, kg/m^3

C_m.....stężenie przy powierzchni membrany, kg/m^3

C_p.....stężenie w permeacie, kg/m^3

$C_{s.m.}$.....stężenie suchej masy, kg/m^3

c.....wykładnik potęgowy

D.....współczynnik dyfuzji, m^2/s

d.....wykładnik potęgowy

d'.....średnica, m.

d_0, d_1.....stałe

d_h.....średnica hydrauliczna kanału przepływowego, m

E.....aktywność enzymatyczna

FY.....wydajność objętościowa permeatu

i.....numer pomiaru

J_v.....objętościowy strumień permeatu, m/s

$\bar{J}_v$.....średni objętościowy strumień permeatu, m/s

J_w.....objętościowy strumień wody, m/s

K.....stała

k.....współczynnik wnikania masy, m/s

L.....przepuszczalność roztworu, m/s.Pa

L_w.....przepuszczalność wody, m/s.Pa

l.....długość kanału przepływowego, m

l_1.....grubość membrany, m

l^*.....długość kanału potrzebna do osiągnięcia ustalonych warunków przepływu, m

M.....masa molowa, kg/kmol

$\bar{M}$.....średnia masa molowa wyznaczona metodą lepkościową, kg/kmol

N.....gęstość porów, m^{-2}

n.....ilość pomiarów

n'.....wielokrotność przepływu

P.....ciśnienie, Pa

P_{gr}.....ciśnienie graniczne, Pa

ΔP.....różnica ciśnień, Pa

Q.....natężenie przepływu, m^3/s

R.....doświadczalny współczynnik retencji

R_a.....opór wywołany adsorpcją, m^{-1}

R_{bl}.....całkowity opór hydrauliczny warstwy granicznej, m^{-1}

R_g.....opór warstwy żelowej, m^{-1}

R_k.....współczynnik korelacji liniowej

R_m.....opór hydrauliczny membrany, m^{-1}

R_m.....opór membrany zanieczyszczonej, m^{-1}

R_p.....opór hydrauliczny wywołany blokowaniem porów membrany

R_{sm}.....doświadczalny współczynnik retencji suchej masy

R^2.....współczynnik korelacji liniowej

r.....promień, m

r_w.....promień rury, m

T.....temperatura, K

t.....czas, s

t_r.....czas ścinania w rurze o promieniu "r", s

u.....liniowa prędkość przepływu, m/s

V.....objętość, m^3

VRF.....współczynnik redukcji objętości

x.....odległość, m

x_1.....wykładnik potęgowy

y.....wykładnik potęgowy

Re.....liczba Reynoldsa = $\frac{d_h \cdot u \cdot \rho}{\eta}$

Sc.....liczba Schmidta = $\frac{\eta}{\rho \cdot D}$

Sh.....liczba Sherwooda = $\frac{k \cdot d_h}{D}$

SYMBOLE GRECKIE

ε.....porowatość membrany

α.....wykładnik potęgowy

α^*.....wykładnik potęgowy

δ.....grubość warstwy granicznej, m

δ_o.....parametr rozpuszczalności, $(J/m^3)^{1/2}$

ϕ.....funkcja zmiennych wpływających na efektywność przenikania masy

γ.....szybkość ścinania, s^{-1}

γ_r.....szybkość ścinania na powierzchni rury o promieniu "r", s^{-1}

η.....współczynnik lepkości dynamicznej, Pa.s

$[\eta_1]$.....graniczna liczba lepkościowa, m^3/kg

τ.....naprężenia styczne, N/m^2

ρ.....gęstość, kg/m^3

β.....wykładnik potęgowy

β_n.....stała naczynka dyfuzyjnego, m^{-2}

ν.....współczynnik lepkości kinematycznej, m^2/s

1. WPROWADZENIE

Udane wprowadzenie do praktyki przemysłowej w ostatnich dziesięciu latach inżynierii genetycznej i biotechnologii przyczyniło się do udoskonalenia tradycyjnych i kreowania nowych technologii, charakteryzujących się wysoką wydajnością, niskim zużyciem energii i ograniczeniem zanieczyszczenia środowiska. Możliwe to było dzięki rozwojowi procesów rozdziału substancji biologicznie aktywnych o różnych i określonych właściwościach, jak również dzięki udoskonaleniu techniki immobilizacji enzymów i mikroorganizmów [105]. Spośród nowoczesnych metod rozdzielania techniki membranowe, z uwagi na swoje zalety (rozdział na poziomie molekularnym przebiega w temperaturze otoczenia i bez wprowadzania dodatkowych reagentów), są szczególnie predystynowane do odegrania poważnej roli we wszystkich dziedzinach biotechnologii, zgłaszającej coraz częściej zapotrzebowanie na nowe generacje membran, zarówno otwartych do mikrofiltracji, jak i bardziej zwartych do ultrafiltracji i odwróconej osmozy. Dotychczas jedynie ultrafiltracja i mikrofiltracja stosowane są w praktyce przemysłowej do rozwiązywania problemów w związanych z rozdzielaniem, zatężaniem i oczyszczaniem produktów reakcji biochemicznych, udoskonalaniem procesów fermentacji przez połączenie reaktorów fermentacyjnych i enzymatycznych z procesem ultrafiltracji [1,2,9,11,19, 20,22-24,26,27,44,57,75,77,78,90,92,104,119,121,133,146] oraz z membranowymi reaktorami biochemicznymi, w których zastosowano immobilizowane enzymy lub inne biokatalizatory [19,20,22,32,37, 39,43,49-52,65,66,77,124-126,132,137,153-155,159,165].

W opracowanym w 1990 r. przez Komitet Biotechnologii przy Prezydium Polskiej Akademii Nauk programie badań związanych z rozwojem biotechnologii dużo uwagi poświęca się zagadnieniom dotyczącym ulepszenia metod wydzielania produktów procesów biotechnologicznych, a opracowanie skutecznych i opłacalnych pod względem ekonomicznym metod izolowania enzymów jest jedną ze spraw

pierwszoplanowych. Białka aktywne mogą być otrzymywane zarówno na drodze ekstrakcji z roślin i z tkanek zwierząt, jak również w wyniku procesu fermentacji bakteryjnej. W ostatnich kilkudziesięciu latach preparaty enzymatyczne pochodzenia mikrobiologicznego zaczęły stopniowo wypierać w większości przemysłów preparaty pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. Fakt ten spowodowany jest przede wszystkim właściwościami systemów enzymowych drobnoustrojów, między innymi: bardzą dużą intensywnością ich procesów życiowych, możliwością wytwarzania biomasy w dowolnych ilościach, a w przypadku kultur bakterii, promieniowców i grzybów dużą szybkością reprodukcji. Sposób izolowania białek aktywnych w głównej mierze uzależniony jest od wymaganego stopnia czystości produktu

Tabela 1

Masy molowe i średnice cząsteczek związków chemicznych biorących udział w procesie fermentacji

Rodzaj cząsteczki Masa molowa (M)	Średnica cząsteczki [nm]
Substancje stałe zawieszone	10000-100000
Najmniejsze cząsteczki dostrzegalne gołym okiem	25000-50000
Drożdże, grzyby	1000-10000
Komórki bakterii	300-10000
Substancje koloidalne	100-1000
Emulsje	100-10000
Wirusy	30-300
Białka (polisacharydy) ($M = 10^4$-10^6)	2-10
Enzymy ($M = 10^4$-10^6)	2-5
Antybiotyki (M = 300-1000)	0.6-1.2
Mono- i disacharydy (M = 200-400)	0.8-1.0
Kwasy organiczne (M = 100-500)	0.4-0.8
Związki nieorganiczne (M = 10-100)	0.2-0.4
Woda (M = 18)	0.2

końcowego. W przypadku otrzymywania enzymów w formie krystalicznej o dokładnie ustalonej specyficzności i warunkach działania, istnieje konieczność dodatkowego ich oczyszczania klasycznymi metodami fizykochemicznymi. Podczas realizacji większości tych wieloetapowych zabiegów białka tracą swoją aktywność, co związane jest niejednokrotnie ze zmianą ich makrostruktury, a tym samym ze zmianą właściwości fizykochemicznych i biologicznych. W tej sytuacji proces ultrafiltracji będąc techniką "niedestrukcyjną" może stanowić połączenie procesów oczyszczania i zatężania białek aktywnych w wyniku separacji molekularnej. Roztwory pofermentacyjne są bowiem mieszaniną substancji o zróżnicowanych masach molowych i średnicach cząsteczek (tabl.1) [116], a także niskim stężeniu enzymów (tabl.2) [41]. Ponieważ produkowane na skalę

Tabela 2

Stężenie składników w typowej cieczy pohodowlanej

Produkt	Stężenie % masowy
Bakterie albo drożdże (pojed. kom. białka)	3-5
Grzyby (produkcja kwasu cytrynowego, penicyliny)	1.5-3
Komórki zwierzęce	0.05-0.2
Tkanki roślinne	0.1-5
Kwas cytrynowy	10
Kwas mlekowy	5
Enzymy pozakomórkowe	0.5-1.0
Witaminy	0.0005-0.1
Antybiotyki	1-5
Etanol	7-12

przemysłową membrany ultrafiltracyjne charakteryzują się szerokim zakresem przepuszczalności granicznej, istnieje możliwość otrzymywania w wyniku rozdziału membranowego koncentratów enzymów o aktywnościach właściwych zdecydowanie wyższych w porównaniu z aktywnościami właściwymi preparatów handlowych. Zważywszy dodatkowo na fakt, że proces ten cechują niskie koszty eksploatacyjne

i że przebiega on w temperaturze otoczenia, można przypuszczać, że w przyszłości znajdzie zastosowanie w produkcji preparatów enzymów, chociaż w obecnej chwili zastosowanie metod rozdzielania opartych na procesach membranowych nie jest w sposób dostateczny dostrzegane w naszym kraju.

2. CEL I ZAKRES PRACY

Celem podjętych badań była próba kompleksowego rozwiązania zagadnienia ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania enzymów z grupy hydrolaz stosowanych w przemyśle spożywczym. Dobór membran o odpowiedniej charakterystyce transportowo-rozdzielczej oraz wyznaczenie najkorzystniejszych parametrów operacyjnych i warunków prowadzenia procesu rozdziału membranowego pozwoli na otrzymywanie białek aktywnych o znacznie wyższych aktywnościach właściwych w porównaniu z preparatami enzymów dostępnych w chwili obecnej na rynku krajowym. Prowadzenie procesu ultrafiltracji w odpowiednich warunkach umożliwi w przyszłości otrzymywanie produktów lepszej jakości, a tym samym ekonomiczniejsze wykorzystywanie surowców.

Otrzymane wyniki badań oraz ich analiza matematyczna pozwolą na określenie wielkości objętościowego strumienia permeatu dla różnych warunków prowadzenia, procesu ultrafiltracji i różnych właściwości fizykochemicznych roztworów enzymów oraz będą pomocne w projektowaniu procesu ich zatężania i oczyszczania. Brak opracowań z zakresu membranowego oczyszczania tego rodzaju roztworów biologicznych skłonił mnie do realizacji wspomnianego kierunku studiów.

Przedstawione poniżej etapy pracy obejmują kilka zagadnień i określają równocześnie jej podstawowe cele:

- określenie charakterystyki fizykochemicznej ultrafiltracyjnych membran z poliakrylonitrylu na podstawie badań ich struktury i własności transportowo-separacyjnych pod kątem wykorzystania do oczyszczania i zatężania roztworów enzymów;
- wyznaczenie najkorzystniejszych parametrów procesowych limitujących wielkość strumienia permeatu i efektywność oczyszczania enzymów;
- porównanie skuteczności działania preparatów enzymatycznych oczyszczonych metodą ultrafiltracji z preparatami handlowymi;

- opracowanie równań kryterialnych opisujących wymianę masy w procesie ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania enzymów umożliwiających obliczanie objętościowego strumienia permeatu.

3. IZOLOWANIE I ZATĘŻANIE PRODUKTÓW FERMENTACJI METODĄ ULTRAFILTRACJI

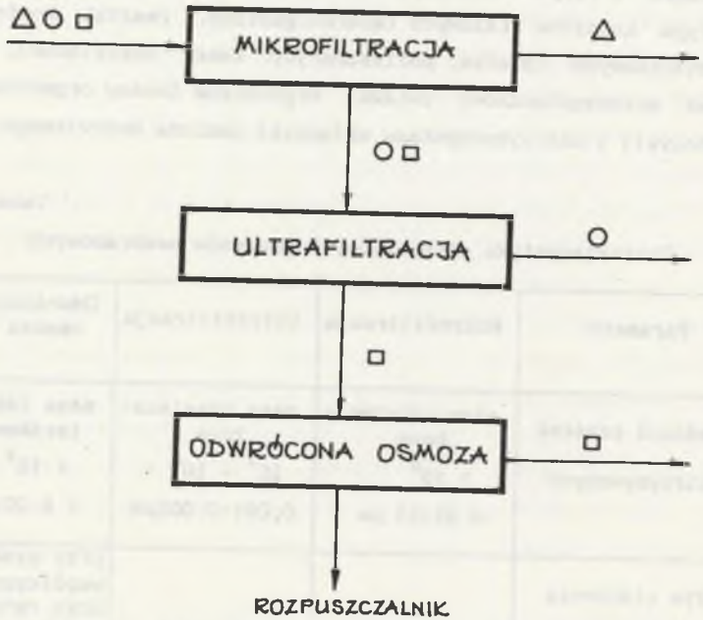
W wyniku zachodzenia procesów mikrobiologicznych powstają roztwory pofermentacyjne będące złożoną mieszaniną pod względem chemicznym i fizykochemicznym. Występują w nich zarówno substancje typu koloidów fazowych (mikroorganizmy, resztki komórek) i cząsteczkowych (białka, polisacharydy, kwasy nukleinowe), jak również małocząsteczkowe związki organiczne (kwasy organiczne, antybiotyki) i nie wykorzystane składniki podłoża hodowlanego.

Tabela 3

Charakterystyka ciśnieniowych procesów membranowych

Parametr	Mikrofiltracja	Ultrafiltracja	Odwrócona osmoza
Średnica cząstek zatrzymywanych	masa cząsteczkowa $> 10^6$ 0,01-10 μm	masa cząsteczkowa 10^3 - 10^6 0,001-0,002μm	masa cząsteczkowa $< 10^3$ < 0.001μm
Wpływ ciśnienia osmotycznego roztworu	nieistotny	nieistotny	przy wysokim współczynniku retencji soli osiąga wartość $7*10^6$ Pa
Ciśnienie transmembranowe (Pa)	$< 2*10^5$	$1*10^5$ -$15*10^5$	$> 2*10^6$
Mechanizm separacji	sitowy	sitowy	dyfuzyjny i częściowo sitowy

Problemem stwarzającym trudności w wyodrębnianiu i oczyszczaniu produktów reakcji biochemicznych jest niejednokrotnie ich wrażliwość na temperaturę, pH, siłę jonową roztworu, rodzaj rozpuszczalnika i mogące występować w układzie siły ścinające. Wiele spośród stosowanych obecnie do tego celu metod, jak: filtracja, odwirowanie, ekstrakcja, wymiana jonowa i inne są często niewystarczające lub zbyt kosztowne i jedynie wysoka wartość produktu końcowego uzasadnia celowość ich stosowania. Dodatkowo roztwory pofermentacyjne, obciążone substancjami rozproszo-



△ BIOMASA
○ SUBSTANCJE WIELKOCZĄSTECZKOWE I KOLOIDALNE
□ SUBSTANCJE MAŁOCZĄSTECZKOWE

Rys. 1. Zastosowanie ciśnieniowych procesów membranowych do rozdzielania roztworów pofermentacyjnych

Fig. 1. Application of the preassure membrane processes to separate the fermentation solutions

nymi i koloidalnymi, są roztworami metastabilnymi, wykazującymi tendencję do zarastania elementów aparatury samorzutnie koagulującymi składnikami. Wydaje się, że zastosowanie ciśnieniowych procesów membranowych (mikrofiltracja, ultrafiltracja, odwrócona osmoza) pozwoli na rozwiązanie wielu problemów. Ich charakterystykę przedstawiono w tabeli 3 [106].

W krajach wysoko rozwiniętych procesy te wykorzystywane są głównie w trzech kierunkach [21,22,44,105]: do klarowania surowych zawiesin pofermentacyjnych w wyniku oddzielenia biomasy, do odzyskiwania komórek mikroorganizmów lub ich fragmentów w celu izolowania endoenzymów oraz wydzielania z roztworu pofermentacyjnego enzymów pozakomórkowych, a także wyodrębniania związków małocząsteczkowych, np. antybiotyków czy kwasów organicznych. Na rys. 1 przedstawiono schemat wyodrębniania produktów bioprocesu metodami membranowymi.

Tradycyjnym sposobem klarowania cieczy pofermentacyjnych jest filtracja na obrotowych filtrach próżniowych. Właściwości fizykochemiczne wielkocząsteczkowych produktów fermentacji stwarzają trudności w realizacji tego procesu jednostkowego. Posiadają one strukturę galaretowatą i podatne są na ściskanie, co sprzyja tworzeniu się placków filtracyjnych o małej przepuszczalności. Uniknięcie tych problemów umożliwia proces mikrofiltracji prowadzony w przepływie krzyżowym, a więc w warunkach, gdy kierunek przepływu roztworu zasilającego jest równoległy do membrany, podczas gdy przepływ permeatu jest do niego prostopadły [96,97].

W tabeli 4 [96,109] zestawiono wyniki dotyczące odzysku różnych mikroorganizmów, przy zastosowaniu modułów mikrofiltracyjnych. Możliwość uzyskania całkowicie klarownego filtratu w wielu przypadkach ma decydujące znaczenie i rzutuje na dalszy etap oczyszczania i zatężania produktów fermentacji. W tabeli 5 [49] przedstawiono porównanie kosztów eksploatacyjnych i inwestycyjnych (dla cen amerykańskich i zachodnioeuropejskich) procesu klarowania roztworu pofermentacyjnego metodami filtracji próżniowej oraz ultrafiltracji. W przypadku stosowania tego procesu koszty inwestycyjne są, co prawda, 4-krotnie wyższe w porównaniu z filtracją próżniową, jednak niższe o ponad 40% koszty eksploatacyjne pozwalają na zniwelowanie tej różnicy w ciągu kilku lat.

Proces ultrafiltracji stosowany jest najczęściej do klarowania roztworów pofermentacyjnych powstających podczas produkcji

Tabela 4

Wyniki zatężania różnych cieczy fermentacyjnych metodą mikrofiltracji

Mikro-organizm	Rodzaj modułu i membrany	Stopień zatężania [% komórek wilgotnych][f]	Objętościowy strumień permeatu J_v*10^{-5}, m/s	Ciśnienie MPa
Bacillus cereus	włókna kapilarne,[a] polipropylen,[b] 0.3 µm[c], d = 1.8 mm[d],	10-30	0,828	0.1
Bacillus cereus	włókna kapilarne, polisulfon, 10^5 daltonów, d = 1.1 mm	0.8-15	0,314	0.1
Brevibacterium species	płaski, estry poliakrylowe, 0.2 µm	3.5-32	0,213	0.1
Escherichia coli	włókna kapilarne, polipropylen 0.3µm d = 1.8mm	2.5-35	0,187-0.300	0.1
Escherichia coli	włókna kapilarne polisulfon 10^5 daltonów d = 0.7 mm	4.0-40	0.100-0.173	0.1
Escherichia coli	system kasetowy PVDF[e] 0.45 µm	4.2-48	0.107-0.140	0.1
Escherichia coli	płaski estry poliakrylowe 0.1 µm	10-38	0.220	0.09

cd. tabeli 4

Mikro-organizm	Rodzaj modułu i membrany	Zakres zatężania [% komórek wilgotnych]	Objętościowy strumień permeatu J_v*10^{-5}, m/s	Ciśnienie MPa
Candida boidinii	włókna kapilarne polipropylen, 0.3 µm,	10-40	0.372	0.08
Klebsiella pneumoniae	włókna kapilarne poliwęglan, 2*10*10 daltonów d = 0.3 mm,	2-58	0.486	0.05
Lactobacillus casei	włókna kapilarne polipropylen, 0.3 µm, d = 1.8 mm,	1.5-15	0.453	0.08
Lactobacillus casei	system kasetowy, PVDF, 0.45 µm,	1.5-28	0.187	0.01
Sacchromyces cerevisiae	włókna kapilarne 0.3 µm,	4-21	0.273-0.370	-
Trichoderma resii	włókna kapilarne 0.3 µm,	2.4-6.9	0.120-0.986	-
Bordetella pertussis	system kasetowy, 0.2 µm, 10 daltonów,	18-19	0.160-0.220	-

a - rodzaj modułu

b - materiał membranotwórczy

c - średnica porów membrany lub "cut-off"

d - wewnętrzna średnica włókien kapilarnych

e - poli(fluorek winylidenu)

f - stopień zatężania = stężenie początkowe komórek/stężenie końcowe komórek

Tabela 5

Koszty eksploatacyjne i inwestycyjne procesu klarowania roztworów pofermentacyjnych metodami filtracjii próżniowej i ultrafiltracji

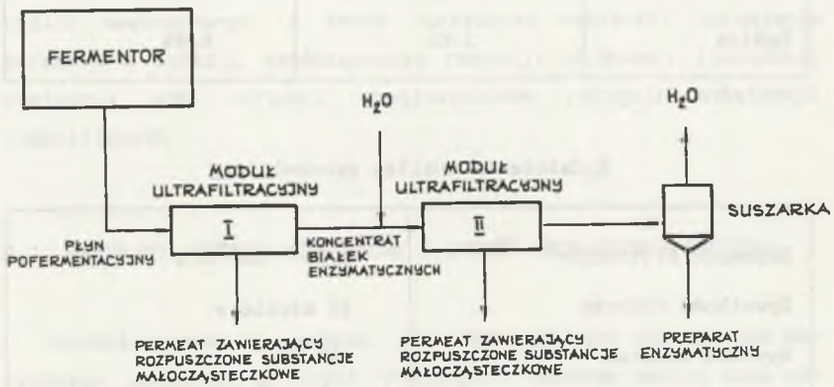
Koszty	Filtracja próżniowa		Ultrafiltracja	
eksploatacyjne dol. USA/m^3	dane USA	dane wg [36]	dane USA	dane wg [36]
Materiał filracyjny	6.34	5.30	-	-
Wymiana membran	-	-	2.22	1.50
Energia	0.08	0.08	0.25	0.18
Robocizna	0.32	0.26	0.08	0.37
Konserwacja	0.14	0.06	0.04	0.11
Chemikalia	-	-	0.43	0.18
Amortyzacja	0.28	0.19	1.18	1.10
Łącznie	7.16	5.89	4.20	3.40
Koszty inwestycyjne:				
dol. USA/m^2	4500	-	800	-
dol. USA/m^3 * s	0.193	0.131	0.817	0.767

kwasu cytrynowego i octowego, antybiotyków, aminokwasów, glukozy i polisacharydów [25,31,44,95,134]. Dalsze wydzielenie czystych produktów reakcji fermentacji przeprowadza się metodami klasycznymi (ekstrakcja, wymiana jonowa), jednak można również do tego celu wykorzystać proces odwróconej osmozy.

W ostatnich latach zarówno w laboratoriach, jak i na skalę przemysłową obserwuje się wzrastające zainteresowanie enzymami o jak najwyższym stopniu czystości. Otrzymywanie czystego aktywnego składnika z cieczy kultywacyjnej jest jednak, jak już wspomniano wcześniej, z różnych względów utrudnione, a niejednokrotnie niemożliwe do zrealizowania za pomocą konwencjonalnych metod fizykochemicznych. Dotychczas w klasycznym schemacie technologicznym produkcji enzymów proces zatężania prowadzi się metodami wyparnymi, a ich oczyszczanie przeprowadzà się przez wysalanie lub wytrącanie rozpuszczalnikami organicznymi. Coraz częściej w przy-

padku dodatkowego oczyszczania białek aktywnych stosuje się metodę diafiltracji [16,45,57,71,89,94,95,102,105,107,115-117,121 145]. Schemat tego procesu przedstawiono na rysunku 2.

W tabeli 6 [116] przedstawiono porównanie kosztów zatężania i oczyszczania białek enzymów metodą ultrafiltracji oraz metodą wyparną. Wynika z niej, że całkowity koszt ultrafiltracji jest około 50% niższy w porównaniu z kosztami zatężania wyparnego poprzedzonego dodatkowym strącaniem związków balastowych. Dane liczbowe wyraźnie świadczą o tym, że w przypadku oczyszczania i zatężania białek aktywnych proces ultrafiltracji może pod względem energetycznym konkurować z innymi dotychczas stosowanymi metodami klasycznymi.



Rys.2. Ultrafiltracyjne oczyszczanie i zatężanie enzymów

Fig.2. Ultrafiltration purification and concentration of enzymes

Tabela 6

Koszty eksploatacyjne oczyszczania i zatężania enzymów metodą ultrafiltracji i wyparną

A. Koszty eksploatacyjne ($/m^3)

	Ultrafiltracja	Metoda wyparna
Amortyzacja	1.00	1.00
Wymiana membran	2.00	-
Energia	0.20	0.07
Konserwacja	0.65	0.21
Para	-	5.66
Ogółem	3.85	6.94

B. Założenia analizy ekonomicznej

Szybkość filtracji	$0.56 * 10^{-5}$ m/s
Żywotność membran	12 miesięcy
Wymiana membran	150 $/m^2
Zużycie energii	0.14 kW/$m^2
Koszt energii	0.03 $/kWh
Czas eksploatacji	16h/d, 250 d/rok
Koszt inwestycyjny	800 $/$m^2$
Amortyzacja	10 lat
Koszt robocizny	22 $/1000kg

4. WARUNKI SEPARACYJNE I PARAMETRY PROCESOWE INTENSYFIKUJĄCE TRANSPORT MASY W PROCESIE ULTRAFILTRACJI SUBSTANCJI BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH

O wydajności i efektywności procesu ultrafiltracji decydują przede wszystkim: właściwości fizykochemiczne stosowanych membran, dobór modułu membranowego, zastosowanie optymalnego schematu realizacji procesu (technika separacji ciągłej, proces wsadowy - okresowy), właściwy dobór parametrów eksploatacyjnych układu membranowego, a także określenie wielkości strumienia permeatu w funkcji współczynnika redukcji objętości (zatężenie roztworu) oraz wartości współczynników retencji substancji rozdzielanych.

4.1. MEMBRANY, MODUŁY MEMBRANOWE I SPOSÓB PROWADZENIA PROCESU

Charakteryzowanie membran ultrafiltracyjnych nie ma, jak dotychczas, ustalonej metodyki. Producenci membran podają dane dotyczące ich wytrzymałości na pH, temperaturę i ciśnienie, dane przepuszczalności wody dejonizowanej dla membran nowych, jak również współczynnik retencji niektórych związków wielkocząsteczkowych w ściśle zdefiniowanych warunkach. Trudno jednak na tej podstawie przewidzieć charakterystykę membrany w odniesieniu do złożonych mieszanin reakcyjnych. Obecnie membrany do ultrafiltracji próbujesię charakteryzować dwiema metodami [14,15,18,46,63,80,123,156-158]:

1) określając wielkości porów i ich dystrybucję metodami fizycznymi;
2) określając wielkości strumienia wody przechodzącego przez membranę oraz współczynnik retencji w odniesieniu do wytypowanych substancji chemicznych (dekstrany, białka).

Ogólna zasada doboru membrany do danego procesu powinna uwzględniać powinowactwo chemiczne i zdolności adsorpcyjne materiału polimerowego w stosunku do filtrowanego medium, jej hydrofilowość, wytrzymałość mechaniczną oraz odporność na działanie czynników myjących i dezynfekujących [114].

Istotnym problemem w zastosowaniu membran do ultrafiltracji roztworów biologicznych jest znaczne ograniczenie spowodowane spadkiem objętościowego strumienia w czasie [6,53,54,64]. Może ono być wywołane przez [41]: zmiany własności membran (hydroliza materiału polimerowego, ciśnieniowa kompresja porów), powodujące wzrost lub spadek szybkości transportu wody, a także substancji rozpuszczonych i koloidalnych, zmiany właściwości fizykochemicznych nadawy, zjawisko polaryzacji stężeniowej, a także zanieczyszczenie (ang. fouling) membran substancjami występującymi w filtrowanym medium.

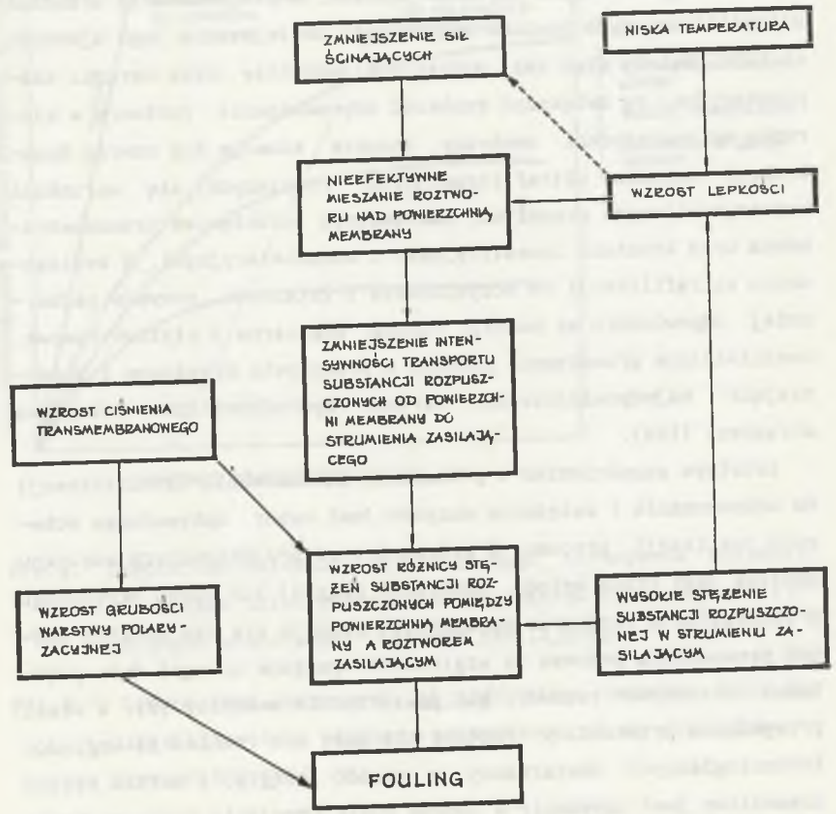
Ten ostatni proces należy bardzo często do nieodwracalnych i zachodzi w powierzchniowej warstwie membrany, w związku z czym jej mechaniczne, a nawet chemiczne oczyszczanie nie zawsze daje zadowalające wyniki. Najczęściej gwałtowny spadek strumienia permeatu obserwuje się w tym przypadku w pierwszym okresie eksploatacji membran, a następnie zmiany te są znacznie wolniejsze. Badania jednoznacznie potwierdziły założenie, że za powlekanie membran substancjami obecnymi w roztworach biologicznych odpowiedzialny jest proces adsorpcji białek na ich powierzchni. Adsorpcja zachodzi dzięki wzajemnemu oddziaływaniu elektrostatycznemu pomiędzy fragmentami białek a ścianami porów membrany [152]. Kluczem do polepszenia ich odporności na powlekanie jest wytworzenie membran hydrofilowych o minimalnym ładunku elektrostatycznym powierzchni. Rozwiązaniem problemu zwiększenia hydrofilowości membran otrzymywanych z surowców hydrofobowych może być wprowadzenie w ich strukturę hydrofilowych grup bocznych. Proponuje się dwie drogi urzeczywistniania tej metody [38]:

- wprowadzenie, metodą reakcji chemicznych, grup hydrofilowych do surowca polimerowego, a następnie preparowanie membran,
- szczepienie gotowych membran hydrofobowych substancjami zawierającymi grupy hydrofilowe.

Obecnie prowadzone są badania nad opracowaniem membran o właściwościach hydrofilowych. Nylon, kopolimery poli(tlenek etylenu) -poliuretan oraz kopolimery oparte na poliakrylonitrylu wymienia

się jako surowce, z których otrzymać można membrany odporne na powlekanie substancjami koloidalnymi [47]. Za przyszłościowe w bioseparacji uważa się membrany ceramiczne, z uwagi na dużą odporność chemiczną i własności hydrofilowe [44].

Wpływ na zanieczyszczanie się membran spowodowane osadzaniem i gromadzeniem się na ich powierzchni lub w porach submikronowych



Rys. 3. Wpływ parametrów procesowych ultrafiltracji na zjawisko foulingu

Fig. 3. Effect of the processes parameters on fouling

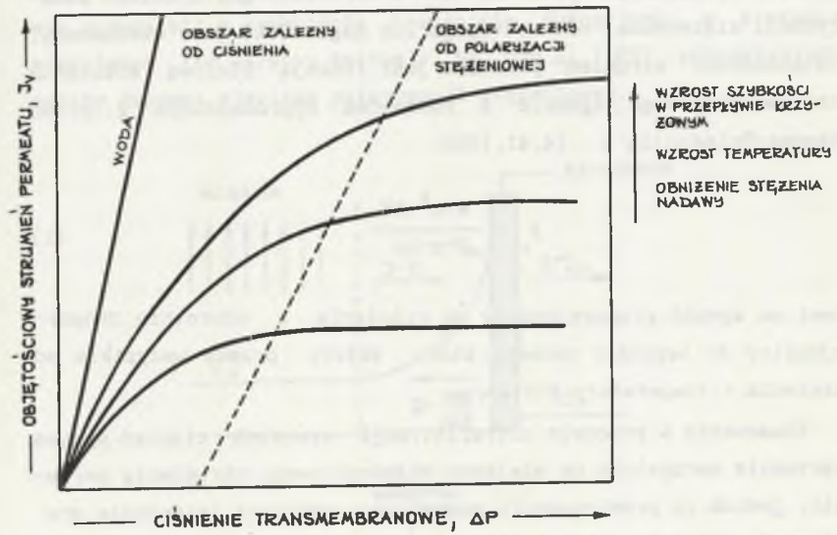
cząstek mają również parametry operacyjne procesowe. Intensywność tego zjawiska limitowana jest szybkością transportu substancji rozpuszczonych w kierunku od powierzchni membrany do rdzenia strumienia nadawy i stopnia zwartości osadzającej się warstwy żelowej. Zależność tę przedstawiono na rysunku 3.

W większości zastosowań ultrafiltracji do oczyszczania roztworów pofermentacyjnych, polaryzacja stężeniowa stanowi również zjawisko ograniczające szybkość procesu, a projektowanie urządzeń ultrafiltracyjnych powinno uwzględniać zmniejszenie jego ujemnych skutków. Należy więc tak dobrać ich geometrię oraz warunki eksploatacyjne, by zwiększyć szybkość odprowadzania roztworu w kierunku od powierzchni membrany. Obecnie stosuje się szereg konstrukcji modułów ultrafiltracyjnych różniących się warunkami hydrodynamicznymi przepływu, maksymalnym ciśnieniem transmembranowym oraz kosztami inwestycyjnymi i eksploatacyjnymi. W zastosowaniu ultrafiltracji do oczyszczania i zatężania enzymów najbardziej odpowiednie są moduły rurowe, kapilarne i płytowo-ramowe, umożliwiające prowadzenie procesu w przepływie krzyżowym i zapewniające najodpowiedniejsze warunki hydrodynamiczne przepływu strumieni [148].

Istotnym zagadnieniem w planowaniu zastosowania ultrafiltracji do oczyszczania i zatężania enzymów jest wybór optymalnego schematu realizacji procesu. W zależności od projektowanych warunków możliwa jest praca metodą separacji ciągłej lub wsadu okresowego z recyrkulacją roztworu. Najczęściej stosuje się ten ostatni sposób prowadzenia procesu ze względu na wymagane na ogół duże prędkości przepływu roztworu nad powierzchnią membrany [8]. W wielu przypadkach przerabiany roztwór nie może być również ze względów technologicznych dostarczany w sposób ciągły, a bardzo często niemożliwe jest uzyskanie w jednym cyklu przejścia roztworu przez moduł lub ich zestaw odpowiedniego zatężenia lub rozcieńczenia.

4.2. PARAMETRY OPERACYJNE PROCESU ULTRAFILTRACJI

Właściwa realizacja procesu ultrafiltracji uwarunkowana jest, jak już wspomniano wcześniej, doborem parametrów procesowych wpływających na wielkość strumienia permeatu i na efektywność procesu. Istnieje więc potrzeba doświadczalnego doboru takich parametrów, jak: ciśnienie transmembranowe, prędkość przepływu roztworu nad powierzchnią membrany, stężenie nadawy oraz temperatura. Ogólną zależność między objętościowym strumieniem permeatu a parametrami procesu ultrafiltracji przedstawiono na rys. 4 [14,41,56].



Rys. 4. Uogólniona zależność objętościowego strumienia permeatu w procesie ultrafiltracji od parametrów procesowych i fizycznych właściwości roztworu zasilającego

Fig. 4. Generalized dependence of the volume permeate flux on ultrafiltration process parameters and physical properties of the feed

Wielkość stosowanego w procesie ultrafiltracji ciśnienia, podobnie zresztą jak i w innych ciśnieniowych procesach membranowych, zależy od rodzaju membran, właściwości fizykochemicznych rozdzielanych składników roztworów, konstrukcji aparatów membranowych, a także od hydrodynamicznych właściwości układu membranowego [41]. Pod wpływem wysokiego ciśnienia membrany, zwłaszcza bardziej otwarte, ulegają w początkowym okresie pracy trwałej deformacji, polegającej na kompresji ich porowatej struktury. Efekt ten jest trwały i nawet po upływie dłuższego czasu od momentu obniżenia

ciśnienia, charakterystyka transportowo-rozdzielcza membran różni się wyraźnie od jej formy wyjściowej.

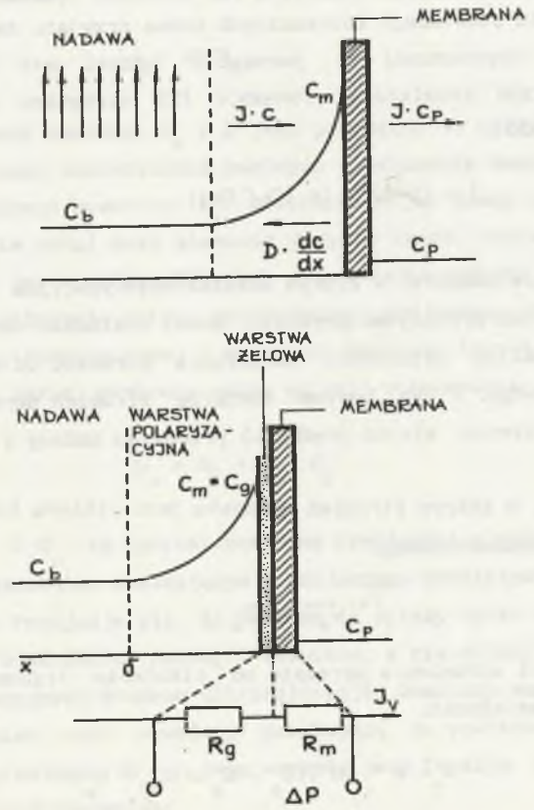
Efektywność procesu ultrafiltracji związków wielkocząsteczkowych i substancji koloidalnych związana jest z problemami wywołanymi zjawiskiem polaryzacji stężeniowej (teoria filmu powierzchniowego - ang. gel polarization model) [4,41,56,106,120]. Przy niskich ciśnieniach procesu, tzn. w warunkach gdy zjawisko polaryzacji stężeniowej nie występuje lub jego efekt jest nieznaczny, objętościowy strumień permeatu jest funkcją liniową ciśnienia transmembranowego zgodnie z równaniem wyprowadzonym z prawa Hagena-Poiseuille'a [4,41,108]:

$$J_v = \frac{\varepsilon \cdot r^2 \cdot \Delta P}{8 \cdot \eta \cdot \Delta x} \qquad (1)$$

Jest on wprost proporcjonalny do ciśnienia, a odwrotnie proporcjonalny do lepkości nadawy, która zależy przede wszystkim od stężenia i temperatury roztworu.

Stosowanie w procesie ultrafiltracji wysokich ciśnień wpływa wprawdzie korzystnie na wielkość objętościowego strumienia permeatu, jednak po przekroczeniu pewnej jego wartości (ciśnienie graniczne) wielkość strumienia nie jest od niego uzależniona (rys.4). Przyczyną tego zjawiska jest powstawanie na powierzchni membrany warstwy polaryzacyjnej o stężeniu większym niż stężenie roztworu. Często rozpuszczalność w tej warstwie zostaje przekroczona i ciecz przestaje spełniać warunki prostej cieczy niutonowskiej, tworzą się bowiem stałe lub tiksotropowe żele. Zakłada się [41,42], że ich stężenie ma wartość stałą (zależną tylko od chemicznych i morfologicznych właściwości substancji rozpuszczonych) i jest praktycznie niezależne od stężenia roztworu, ciśnienia procesu, charakteru przepływu i rodzaju membrany. Warstwa żelowa występująca między membraną a przyległym roztworem tworzy wtórną membranę, przepuszczalną dla rozpuszczalnika [33,131]. Hydrauliczna przepuszczalność takiego żelu jest mniejsza w porównaniu z przepuszczalnością samej membrany, co w konsekwencji prowadzi do znacznego zmniejszenia strumienia permeatu. W takich warunkach dalsze zatężanie cieczy poddawanej procesowi ultrafiltracji wymagać będzie znacznie wyższych ciśnień hydrostatycznych niż w normalnym układzie ultrafiltracyjnym.

Powyższe rozważania teoretyczne zostały potwierdzone przez dane doświadczalne między innymi dla roztworów zawierających białka [11]. Objętościowy strumień permeatu rośnie jedynie do pewnej wartości, przy której tworzy się warstwa żelowa, a następnie mimo dalszego zwiększenia ciśnienia, ma wartość stałą. Grubość powstającej warstwy żelowej zwiększa się do momentu, aż szybkość transportu konwekcyjnego substancji rozpuszczonej w kierunku membrany nie zrówna się z szybkością transportu dyfuzyjnego w kierunku przeciwnym (od warstwy żelowej). Na rys.5 [109] przedstawiono ogólny schemat zjawiska polaryzacji stężeniowej.



Rys.5. Schemat zjawiska polaryzacji stężeniowej (ang.gel-polarization model)

Fig.5. Scheme of the concentration polarization phenomenon

Układ równowagowy, w którym na powierzchni membrany może tworzyć się warstwa żelowa, opisuje równanie:

$$C_p \cdot J_v = J_v \cdot C_b - D \cdot (dC/dx) \qquad (2)$$

które po scałkowaniu dla następujących warunków brzegowych:

$C = C_g$ dla $x = 0$

$C = C_b$ dla $x = \delta$

prowadzi do zależności:

$$J_v = (D/\delta) \cdot \ln [(C_g - C_p)/(C_b - C_p)] \qquad (3)$$

W przypadku substancji koloidalnych można przyjąć, że stężenie substancji rozproszonej w permeacie wynosi zero ($C_p = 0$), w związku z czym rozwiązując równanie (2) otrzymamy zależność [41,101,106,120]:

$$J = (D/\delta) \cdot \ln (C_g / C_b) \qquad (4)$$

Występowanie obszaru, w którym warstwa polaryzacyjna "przejmuje kontrolę" nad przepływem permeatu, można dokładnie określić na podstawie analizy zależności strumienia permeatu od ciśnienia transmembranowego. W tym bowiem obszarze strumień permeatu nie zależy od ciśnienia, ale od prędkości przepływu nadawy i jej stężenia.

W obszarze, w którym strumień permeatu jest liniową funkcją ciśnienia transmembranowego:

$$J_v = \Delta P/R_m \qquad (5)$$

Brak zależności strumienia permeatu od ciśnienia transmembranowego opisuje zależność:

$$J_v = k * \ln [(C_g - C_p)/(C_b - C_p)] \qquad (6)$$

Zatem granicę między tymi obszarami można określić z porównania równań (5) i (6), otrzymując ostatecznie:

$$\Delta P_{gr} = R_m * k * \ln [(C_g - C_p)/(C_b - C_p)] \qquad (7)$$

Jednakże żaden z dwóch omawianych wyżej modeli nie ujmuje całościowo zależności $J_v = f(\Delta P)$ w procesie ultrafiltracji. Jedną z prób takiego ujęcia zagadnienia jest wprowadzenie oporów membrany na wzór procesu wymiany ciepła (teoria oporu - ang. resistance model). Dla idealnej membrany i roztworu doskonałego równanie (1) można przedstawić w postaci [41]:

$$J_v = L \cdot \Delta P/\eta \qquad (8)$$

Zależność L/η wyrazić można również jako $1/R$, gdzie R jest oporem własnym membrany, określonym przy użyciu wody zdejonizowanej jako nadawy. Równanie (8) przyjmuje wówczas postać:

$$J_v = \Delta P/R_m \qquad (9)$$

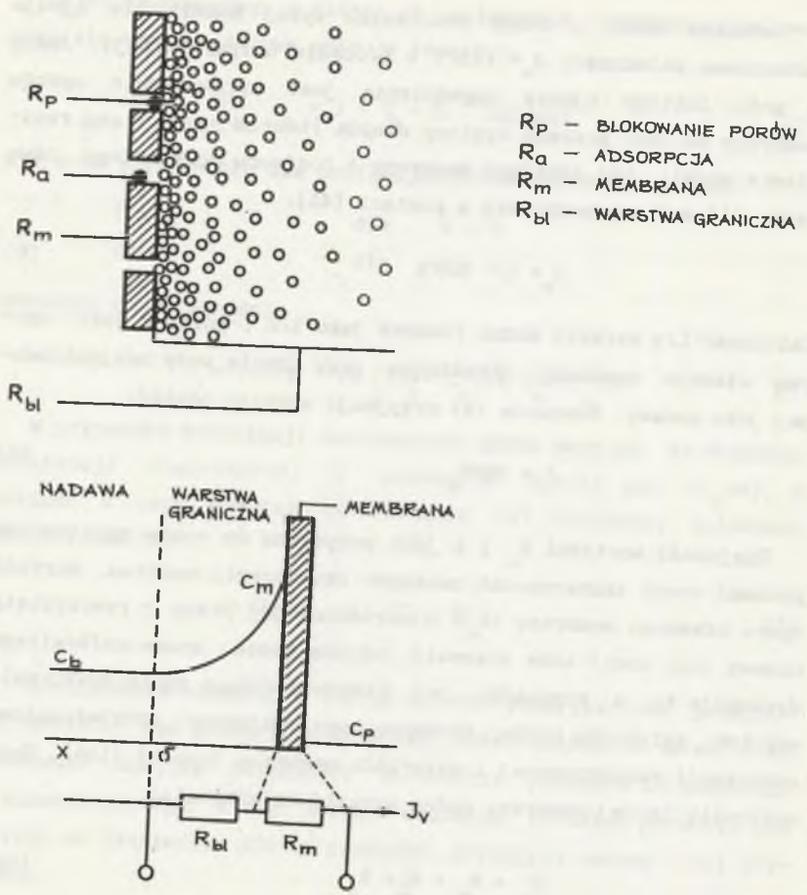
Znajomość wartości R_m i L jest przydatna do celów modelowania procesu oceny skuteczności zabiegów czyszczenia membran. Wartość oporu własnego membrany (R_m) w warunkach jej pracy z rzeczywistą nadawą (nie wodą) może stanowić jedynie część oporu całkowitego. Występuje to w przypadku jej nieodwracalnego zanieczyszczenia wskutek zatykania porów, spowodowanego wzajemnym oddziaływaniem substancji rozpuszczonej i materiału membrany (rys.6) [106]. Opór całkowity takiej membrany można wyrazić zależnością:

$$R_m' = R_m + R_a + R_p \qquad (10)$$

gdzie R_a i R_p są oporami membrany wywołanymi nieodwracalnym jej zanieczyszczeniem wynikającym z wzajemnego oddziaływania nadawa - membrana. Przyjmuje się, że wartość ta zależy tylko od fizykochemicznych właściwości nadawy i membrany, a nie zależy od parametrów operacyjnych procesu ultrafiltracji. Omawiany model uwzględnia również opór wywołany powstającą na powierzchni membrany warstwą graniczną (R_{bl}). Jego wartość jest funkcją ciśnienia, co można opisać równaniem:

$$R_{bl} = \phi \Delta P \qquad (11)$$

Wprowadzając do równania (9) za opór własny membrany sumę jej oporu całkowitego i opór wywołany powstającą warstwą graniczną, otrzymamy zależność strumienia permeatu od ciśnienia:



Rys.6. Rodzaje oporów występujących w procesie transportu masy przez membranę (ang. resistance model)

Fig.6. Resistance types in mass transport accross a membrane

$$J_v = \Delta P / (R_m' + \phi \Delta P) \qquad (12)$$

Koncepcyjnie model ten jest zgodny z danymi doświadczalnymi zależności strumienia permeatu od ciśnienia. Dla niskich ciśnień $R_m' < R_{bl}$ oraz przy założeniu, że R_p i R_a nie są zbyt duże, strumień permeatu staje się niezależny od ciśnienia, zbliżając się do wartości $1/\phi$, gdzie ϕ jest funkcją zmiennych wpływających na efektywność przenikania masy w układzie.

Parametrem, który również w znacznym stopniu limituje efektywność procesu ultrafiltracji roztworów zawierających substancje biologicznie aktywne, jest prędkość przepływu roztworu nad powierzchnią membrany, zwłaszcza jeżeli proces prowadzi się w rurowej konfiguracji membran w module oraz przede wszystkim w obszarze kontrolowanym polaryzacją stężeniową (brak prostoliniowej zależności J_v od ΔP). Zależność objętościowego strumienia permeatu od tego parametru podaje równanie [143]:

$$J_v \quad \frac{(u)^{x_1} \cdot (D)^{y_1}}{(\nu)^a} \cdot \log (C_b / C_g) \qquad (13)$$

Zwiększając prędkość przepływu roztworu w obszarach przylegających do powierzchni membrany można częściowo zapobiec tworzeniu się warstwy polaryzacyjnej lub ograniczyć je. Osiąga się to przez intensywniejsze mieszanie cieczy nad jej powierzchnią w statycznych układach ultrafiltracyjnych albo stosując duże prędkości przepływu w układach przepływowych. Najpowszechniej stosowanym sposobem zmniejszania efektów polaryzacji stężeniowej w module rurowym jest zapewnienie turbulentnego przepływu cieczy przez zwiększenie liniowej prędkości przepływu roztworu nad powierzchnią membrany [140].

Ogólnie można stwierdzić, że wpływ prędkości przepływu cieczy na współczynnik wnikania masy, a tym samym na wielkość strumienia permeatu, zależy od charakteru przepływu (turbulentny lub laminarny) oraz od reologicznych właściwości cieczy (ciecz o charakterze niutonowskim lub nieniutonowskim) [41].

Liniowa prędkość przepływu roztworu nad powierzchnią membrany może także wywierać wpływ na straty aktywności substancji biologicznie aktywnych. Zbyt duże wartości szybkości ścinania mogą doprowadzić do zniszczenia czwartorzędowej struktury enzymów, co wiąże się z ich dezaktywacją. Iloczyn średniej szybkości ścinania i czasu przebywania białek aktywnych w układzie można obliczyć z równania [42]:

$$(\gamma \cdot t)_{śr} = \frac{2\pi \int_0^{r_w} r \cdot u \cdot \gamma_r \cdot t_r \cdot dr}{Q} \qquad (14)$$

Zakładając, że:

$$\gamma_r = \left(\frac{P}{l}\right) \cdot \left(\frac{r}{2\eta}\right) \tag{15}$$

$$t_r = \frac{l}{u} \tag{16}$$

a następnie rozwiązując równanie (14) otrzymujemy zależność:

$$(\gamma \cdot t)_{śr} = \frac{2\Pi \cdot \Delta P \cdot r_w^3}{6\eta Q} \tag{17}$$

Oznaczenie natężenia przepływu (Q) sprowadza się do rozwiązania równania:

$$Q = \iint_{A'} u \cdot dA' \tag{18}$$

gdzie: $dA' = 2\Pi r dr$, $0 < r < r_w$

Profil prędkości płynu w rurze w zależności od charakteru przepływu opisują zależności:

dla przepływu laminarnego: $$u = u_{max} \cdot \frac{r_w^2 - r^2}{r_w^2} \tag{19}$$

dla przepływu turbulentnego: $$u = u_{max} \cdot \left(\frac{r_w - r}{r_w}\right)^{1/n} \tag{20}$$

gdzie: $7 < n < 10$

Korzystając z równania Darcy-Weisbacha natężenia przepływu w przepływie laminarnym i turbulentnym odpowiednio opisują następujące równania:

dla przepływu laminarnego: $$Q = \frac{\Pi \cdot r_w^4 \cdot \Delta P}{8\eta l} \tag{21}$$

dla przepływu turbulentnego: $$Q = \frac{49 \cdot \Pi r_w^2 \, u_{max}}{60} \tag{22}$$

Podstawiając równanie (21) do równania (17), dla przepływu laminarnego otrzymujemy zależność:

$$(\gamma \cdot t)_{śr} = \frac{16}{3} \cdot \frac{l}{d_h} \tag{23}$$

z której wynika, że strata aktywności enzymów w roztworze przepływającym przez moduł nie zależy od prędkości przepływu, a jedynie od geometrii rury. Zależy również od wielokrotności przepływu roztworu przez układ ultrafiltracyjny (n'):

$$(\gamma \cdot t)_{śr} = \frac{16}{3} \cdot \frac{l}{d_h} \cdot n' \tag{24}$$

Będzie ona w procesie ultrafiltracji zawsze duża, ponieważ liniowa prędkość przepływu roztworów biologicznych nad powierzchnią membrany powinna kształtować się na poziomie 3m/s-4m/s, limitując tym samym ilość tłoczonego przez układ roztworu.

Dla przepływu turbulentnego rozwiązanie równania (17) po podstawieniu do niego równania (20) prowadzi do zależności:

$$(\gamma \cdot t)_{śr} = \frac{\Delta P \cdot r_w}{3\eta \cdot \bar{u}} \tag{25}$$

w której brak jest możliwości wyeliminowania parametrów operacyjnych procesu (P, u). Opierając się na tej zależności można stwierdzić, że na spadek aktywności białek enzymatycznych w trakcie procesu ultrafiltracji w przepływie burzliwym (w przeciwieństwie do przepływu laminarnego) zasadniczy wpływ mają parametry operacyjne procesu, a więc ciśnienie transmembranowe oraz prędkość przepływu preparatu enzymatycznego nad powierzchnią membrany.

Temperatura jest również jednym z parametrów limitujących wielkość strumienia permeatu, zarówno w obszarze kontrolowanym przez membranę, jak i polaryzację stężeniową. Jej wzrost zmienia gęstość i lepkość nadawy, a tym samym wielkość strumienia permeatu. Aby podwoić jego wielkość, niezbędna jest zmiana temperatury w zakresie 30-45 stopni [41]. W obszarze kontrolowanym przez zjawisko

polaryzacji stężeniowej współczynnik wnikania masy k jest proporcjonalny do współczynnika dyfuzji zgodnie z zależnością $D^{0,67}$, a odwrotnie proporcjonalny do zależności $(\eta/\rho)^m$, m = 0,47 dla przepływu turbulentnego oraz przyjmuje wartości w zakresie 0 - 0,16 dla przepływu laminarnego. Ponieważ współczynnik dyfuzji wzrasta ze wzrostem temperatury zgodnie ze zmodyfikowanym równaniem Stocksa Einsteina [41]:

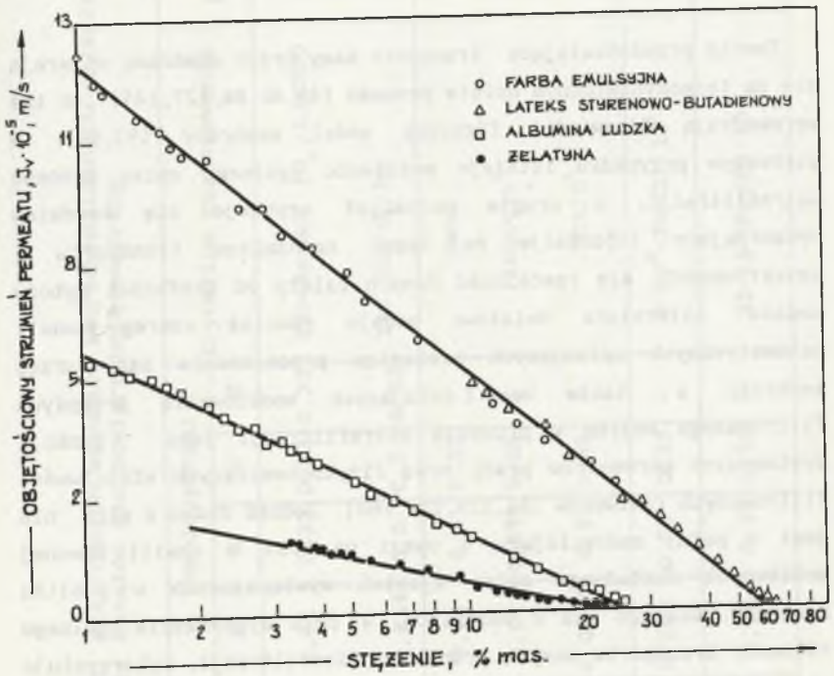
$$D_1 = (D_2 \cdot \eta_2 \cdot T_1)/(T_2 \cdot \eta_1) \qquad (26)$$

(indeksy 1 i 2 określają dwie odmienne temperatury), zatem temperatura będzie wywierała istotny wpływ na wielkość strumienia permeatu. Prowadzenie procesu w podwyższonej temperaturze uwarunkowane jest jednak właściwościami roztworu oraz temperaturą zeszklenia polimeru błonotwórczego.

Efektywność procesu ultrafiltracji uzależniona jest również od stężenia roztworu filtrowanego [83]. Z równania opisującego transport masy w warunkach równowagi (3) wynika, że objętościowy strumień parmeatu maleje wykładniczo ze wzrostem stężenia nadawy i to niezależnie od charakteru przepływu cieczy (turbulentny czy laminarny) oraz temperatury. Typowy przykład takiej zależności przedstawiono na rys.7 [41].

Z modelu filmu powierzchniowego wynika również, że w przypadku gdy $J_v = 0$, to $C_b = C_g$, tzn. krzywe przedstawiające zależność strumienia permeatu od stężenia nadawy przecinają oś rzędnych (stężenia) w jednym punkcie określającym stężenie warstwy żelowej (C_g) [2, 13, 82, 83]. Wartość C_g oznacza stężenie substancji w warstwie żelowej, która stanowi "gęsto upakowany" układ makrocząsteczek na powierzchni membrany. W przypadku gdy stężenie nadawy osiągnie wartość C_g, występuje brak gradientu stężenia w warstwie granicznej, a więc i dyfuzji wstecznej substancji rozpuszczonej, co powoduje spadek wartości strumienia permeatu do 0. W praktyce nie stosuje się tak dużych stężeń ze względu na znaczny wzrost lepkości nadawy, a tym samym filtrowanie nadawy o stężeniu C_g staje się praktycznie niemożliwe. Lepkość w zakresie 100 - 300 mPas jest lepkością graniczną możliwą do stosowania w procesie ultrafiltracji. Każda zmiana stężenia nadawy wpływa na jej lepkość i gęstość oraz współczynnik dyfuzji

substancji ulegającej retencji. Pominięcie zatem zmian właściwości fizykochemicznych nadawy wynikających ze zmian stężenia jest powodem błędów w stosowaniu modelu filmu powierzchniowego.



Rys.7. Zależność objętościowego strumienia permeatu od stężenia nadawy

Fig.7. Dependence of the volume permeate flux on the concentration of the feed

5. RÓWNANIA MODUŁOWE OPISUJĄCE TRANSPORT MASY W PROCESIE ULTRAFILTRACJI

Teorie przedstawiające transport masy przez membrany opierają się na termodynamicznym opisie procesu [48,68,84,127,144] lub też wprowadzają odpowiedni fizyczny model membrany [93,99]. W pierwszym przypadku istnieje możliwośc ogólnego opisu procesu ultrafiltracji, w drugim natomiast uzyskuje się bardziej wyczerpujące informacje na temat mechanizmu transportu i selektywności, ale rzetelność danych zależy od trafności wyboru modelu. Literatura światowa podaje również szereg modeli matematycznych opisujących mechanizm przenoszenia masy przez membrany, a także umożliwiających modelowanie przepływu filtrowanego medium w procesie ultrafiltracji jako funkcji systemowych parametrów pracy oraz fizykochemicznych właściwości filtrowanych roztworów [61,129,136,160]. Jednak żaden z nich nie jest w pełni zadowalający, z uwagi na brak w chwili obecnej możliwości dokładnego opisu zjawisk występujących w pobliżu membrany. Dlatego też w badaniach, w celu wyznaczenia ogólnego równania transportu masy w procesie ultrafiltracji, wykorzystuje się ogólne równanie modułowe wyprowadzone metodami podobieństwa i analizy wymiarowej.

Wiadomo, że całkowity, wypadkowy transport masy można opisać następującym równaniem modułowym [4,5,41,56,79]:

$$Sh = A \cdot Re^{b} \cdot Sc^{c} \cdot \left(\frac{d_h}{l}\right)^{d} \qquad (27)$$

W tabeli 7 przedstawiono warunki zastosowania równania (27) dla przepływów laminarnego i burzliwego oraz różnych profili geometrycznych kanałów nad powierzchnią membrany. Różne jego formy wyjaśniają ilościowy wpływ parametrów hydrodynamicznych przepływu i fizykochemicznych właściwości roztworów na proces ultrafiltracji roztworów substancji wielkocząsteczkowych.

Tabela 7

Zastosowanie równania (27) dla różnych warunków hydrodynamicznych przepływu i geometrii kanałów nad powierzchnią membrany

Charakter przepływu	Geometria kanału	Wartość d_h	Współczynniki				Kryterium zastosowania	Literatura
			A	b	c	d		
Laminarny	przekrój prostokątny nad powierzchnią membrany	2·wysokość kanału	1,62	0,33	0,33	0,33	$100<Re\cdot Sc\ (d_h/L)<500$	141
	moduł rurowy		0,644	0,5	0,5	0,33	$1\leq 0,029\cdot d_h\cdot Re$	67
Burzliwy	przekrój prostokątny	2·wysokość kanału	0,03	0,8	0,33	-	$Sc\leq 1$	141
	rurowy	średnica	0,023	0,875	0,25	-	$1\leq Sc<10^3$	141
			0,0096	0,91	0,35	-	$Sc>10^3$	72
Laminarny	cela z mieszaniem	średnica celi (r)	0,285	0,55	0,33	-	$8\cdot 10^3<Re<32\cdot 10^3$	101
Burzliwy	cela z mieszaniem	średnica celi (r)	0,044	0,75	0,33	-	$32\cdot 10^3<Re<82\cdot 10^3$	101

Dla przepływu laminarnego zastosowanie równania (27) zależy od długości kanału potrzebnego do osiągnięcia ustalonych warunków przepływu (l^*). Według Grobera i współpracowników długość ta wynosi [67]:

$$l^* = 0,029 \cdot d_h \cdot Re \qquad (28)$$

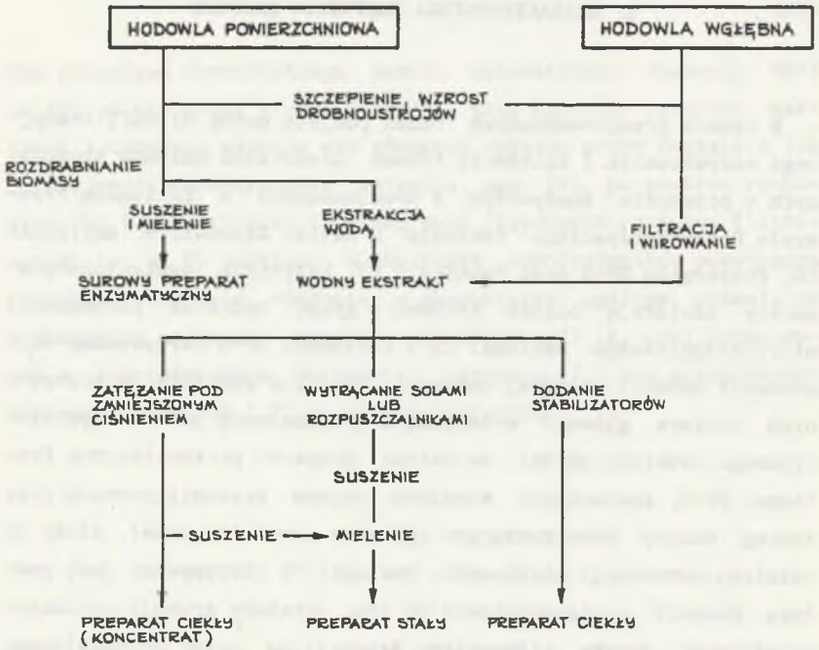
Dla przepływu turbulentnego postać matematyczna równania (27) zależy od wielkości liczby Schmidta, przy czym dla wysokich wartości liczbowych stosuje się równanie opisane przez Deisslera [56].

Znajomość współczynnika wnikania masy (k), parametrów ruchowych (u) i geometrycznych układu oraz fizycznych roztworu filtrowanego (ρ, η, D) umożliwi wyznaczenie współczynników powyższego równania. Otrzymane równania, o charakterze ogólnym, pozwolą na wyznaczenie szybkości procesu ultrafiltracji (k) oraz przewidywanie objętościowego strumienia permeatu (J_v) dla przebadanego zakresu parametrów i filtrowanych roztworów.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

6. CHARAKTERYSTYKA ROZTWORÓW ENZYMÓW

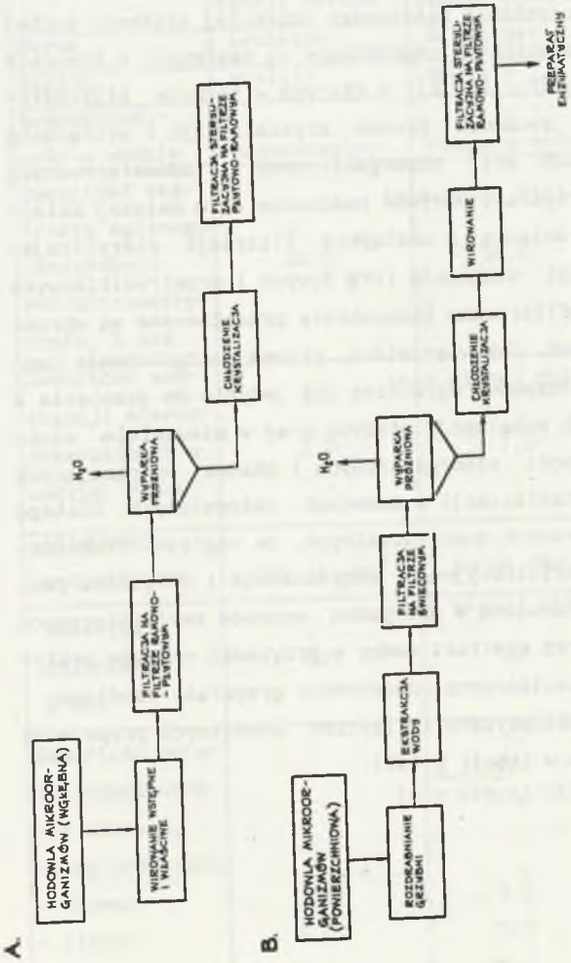
W ramach przeprowadzonych badań podjęto próbę ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania trzech preparatów enzymów stosowanych w przemyśle spożywczym, a produkowanych w Zakładach Przemysłu Rolno-Spożywczego "Pektowin" w Jaśle, mianowicie: Amylogalu CS, Proteopolu BP-S oraz Pektopolu PT. Wszystkie wymienione preparaty zawierają białka aktywne z grupy hydrolaz pochodzenia mikrobiologicznego. Amylogal CS i Proteopol BP-S otrzymywane są w procesie hodowli wgłębnej bakterii *Bacillus subtilis*. Pierwszy z nich zawiera głównie α-amylazę i przeznaczony jest do hydrolitycznego rozkładu skrobi, natomiast preparat proteolityczny Proteopol BP-S, zawierający kompleks ezymów proteolitycznych oraz szereg enzymy towarzyszących (głównie amylolityczne), służy do rozkładu substancji białkowych. Pektopol PT otrzymywany jest podczas hodowli powierzchniowej (w tzw. warstwie grubej) nietoksynotwórczego grzyba nitkowatego *Aspergillus niger* produkującego pozakomórkowo kompleks enzymatyczny, obejmujący różnorodne hydrolazy i liazy substancji pektynowych. Stosowany jest głównie do rozkładu związków pektynowych w miazgach i sokach owocowych, warzywnych oraz innych surowcach roślinnych. Ogólny schemat technologiczny produkcji białek aktywnych w formie stałej oraz ciekłej przedstawiono na rys.8, natomiast na rys.9 zilustrowano w formie schematów blokowych przemysłową produkcję omawianych preparatów enzymów. Przemysłowy cykl technologiczny ich otrzymywania składa się z trzech podstawowych etapów: fazy hodowlanej, oczyszczania i zatężania w urządzeniach wyparnych płynu pohodowlanego i wodnego ekstraktu grzybni oraz standaryzacji i filtracji sterylizującej produkt końcowy. Faza hodowlana obu rodzajów preparatów obejmuje: prowadzenie hodowli czystych kultur bakteryjnego szczepu produkującego dany enzym, przygotowanie inokulum do zaszczepienia podłoża



Rys. 8. Ogólny schemat technologiczny produkcji preparatów enzymów

Fig. 8. Generalized technological scheme of preparation of enzymes

produkcyjnego, przygotowanie podłoża wzrostowego stosowanego w hodowli, jego zaszczepienie oraz prowadzenie hodowli produkcyjnej enzymów amylolitycznych i proteolitycznych metodą wgłębną w fermentorze, natomiast enzymów pektynolitycznych metodą powierzchniową na tacach hodowlanych do momentu odpowiedniego namnożenia drobnoustrojów. W przypadku tych ostatnich po zakończeniu hodowli dokonuje się rozdrobnienia przerośniętego grzybnią podłoża na rozdrabniaczu udarowym, z którego ekstrahuje się wodą kompleksy



Rys. 9. Schemat technologiczny przemysłowej produkcji:
A - Amylogalu CS, Proteopolu BP-S,
B - Pektopolu PT

Fig. 9. Technological scheme of industrial production of:
A - Amylogal CS, Proteopol BP-S,
B - Pektopol PT

enzymów pektynolitycznych w systemie specjalnie skonstruowanych ekstraktorów. Drugi etap cyklu produkcji dla wszystkich białek enzymatycznych jest jednakowy. Ciecze pohodowlane i ekstrakty wodne poddawane są najpierw procesowi wirowania oraz filtracji, w celu usunięcia z nich składników stałych występujących w formie zawiesiny, a następnie zatężaniu w wyparkach próżniowych w temp. 313 - 323 K, aż do uzyskania założonego wcześniej stężenia suchej masy. Otrzymane koncentraty umieszczane są następnie w komorach chłodniczych (temp. 275 - 279 K), w których w trakcie kilkudniowego przechowywania zachodzi proces krystalizacji i wytrącania zawartych w roztworach soli nieorganicznych i zdenaturowanych białek. Otrzymane preparaty enzymów poddawane są w dalszej kolejności standaryzacji solanką, a następnie filtracji sterylizującej, której celem jest usunięcie form żywych i przetrwalnikowych drobnoustrojów. Przefiltrowane koncentraty przetłaczane są wprost do sterylnych opakowań. Jak więc widać, proces oczyszczania handlowych preparatów enzymów ogranicza się jedynie do usunięcia z roztworów hodowlanych substancji stałych oraz w niewielkim stopniu pewnych ilości soli nieorganicznych i białek wytrącających się w trakcie ich stabilizacji w komorach chłodniczych. Dlatego też w prowadzonych pracach doświadczalnych, ze względów technicznych, procesowi ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania poddawano nie ciecz pohodowlaną w przypadku enzymów amylolitycznych i proteolitycznych oraz ekstrakt wodny w przypadku enzymów pektynolitycznych, lecz rozcieńczone odpowiednio preparaty handlowe.

Właściwości organoleptyczne i fizyczne omawianych preparatów enzymów przedstawiono w tabeli 8 [98].

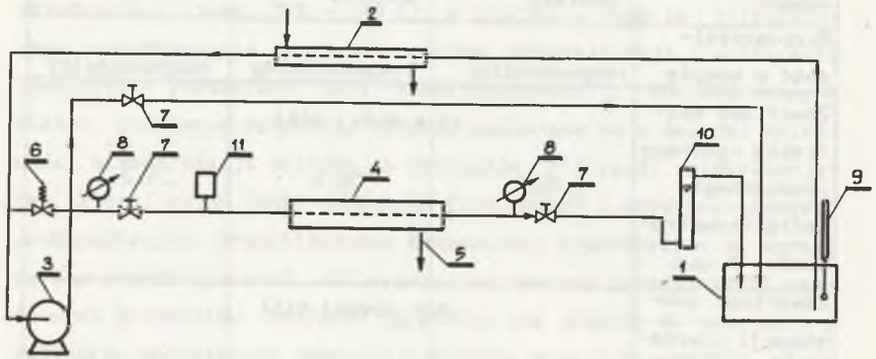
Tabela 8

Wymagania organoleptyczne i fizykochemiczne handlowych preparatów enzymów: Amylogal CS, Proteopol BP-S, Pektopol PT

Cechy	Amylogal CS	Proteopol BP-S	Pektopol PT
Wygląd ogólny	ciecz o konsystencji syropu	ciecz o konsystencji syropu	ciecz o konsystencji syropu
Barwa	brunatna	brunatna	brunatna
Zapach	swoisty	swoisty	swoisty
Rozpuszczalność w wodzie	rozpuszczalny	rozpuszczalny	rozpuszczalny
Zawartość ekstraktu ogólnego oznaczonego refraktrometrycznie, % mas.	35,0 (nie mniej niż)	30,0 (nie mniej niż)	35,0 (nie mniej niż)
Zawartość substancji nierozpuszczalnych w wodzie, % mas.	2,0 (nie więcej niż)	1,0 (nie więcej niż)	1,0 (nie więcej niż)
Aktywność enzymatyczna	280 jAs/cm^3	80000 JH/cm^3	35000 °PM/kg
Zawartość chlorków, % mas.	20 (nie więcej niż)	20 (nie więcej niż)	20 (nie więcej niż)
Zawartość metali szkodliwych dla zdrowia, mg/kg preparatu	(nie więcej niż)		
- arsenu	3,0	3,0	3,0
- ołowiu	5,0	5,0	5,0
- cynku	35,0	35,0	50,0
- miedzi	10,0	10,0	10,0
- rtęci	0,01	0,01	0,02

7. APARATURA DO PROWADZENIA ULTRAFILTRACJI ROZTWORÓW ENZYMÓW

Badania prowadzono stosując aparaturę, której schemat przedstawiono na rys. 10. Wyposażona ona była w moduł membranowy (4) z



Rys. 10 Schemat aparaturowego schematu badawczego z rurowym modułem membranowym:
1 - zbiornik, 2 - wymiennik ciepła, 3 - pompa, 4 - moduł ultrafiltracyjny, 5 - odprowadzenie permeatu, 6 - zawór bezpieczeństwa, 7 - zawór regulacyjny, 8 - manometr, 9 - termometr, 10 - rotametr, 11 - akumulator hydrauliczny

Fig. 10. Scheme of apparatus with tubular membrane module:
1 - tank, 2 - heater exchanger, 3 - pump, 4 - membrane module, 5 - permeate disposal, 6 - safe valve, 7 - throttle valve, 8 - pressure gauge, 9 - thermometer, 10- flow-meter, 11- hydraulic accumulor

membranami w kształcie rury. W układzie badawczym zastosowano pompę tłokową z regulowaną wydajnością (3), a w celu wyrównania pulsacji ciśnienia zainstalowano akumulator hydrauliczny (11). Aby utrzymać w układzie żądaną temperaturę, wyposażono go w wymiennik ciepła (2), natomiast do zapewnienia wymaganego natężenia przepływu roztworu nad powierzchnią membrany służyły zawory regu-

lacyjne (7). Wszystkie elementy konstrukcyjne zestawu wykonano z rur PCW oraz mosiądzu. W celu zabezpieczenia układu przed gwałtownym wzrostem ciśnienia zainstalowano zawór bezpieczeństwa [6]. Moduł membranowy (powierzchnia membran 0,15 m^2) zbudowany był z sześciu perforowanych rur nośnych (PCW) o długości 0,5 m, nawierconych na całej długości otworami o średnicy $1,5 * 10^{-3}$ m w odstępach $1,5 * 10^{-3}$m. Perforacja miała zapewnić równomierny odpływ permeatu. Wewnątrz rur na dystansującym materiale z tkaniny nylonowej osadzono membrany uszczelniając je uszczelkami gumowymi. Zbiornik znajdujący się w układzie miał objętość 0,06 m^3 (1).

8. METODYKA BADAŃ I STOSOWANE OZNACZENIA ANALITYCZNE

Przed właściwymi badaniami roztworów zawierających białka aktywne membrany poddawano kondycjonowaniu i testowaniu. Ostateczne uformowanie ich struktury miało nastąpić w wyniku filtrowania wody destylowanej kolejno pod ciśnieniem: $0,5*10^5$Pa, $1*10^5$Pa, $2*10^5$Pa, $3*10^5$Pa i $4*10^5$Pa w temperaturze 298 K i z prędkością liniową nad powierzchnią membrany 3 m/s. Łączny czas pracy każdego zestawu membranowego w trakcie testowania wynosił 36 godzin. Następnie określano zależność objętościowego strumienia wody przypadającego na jednostkę powierzchni membrany od ciśnienia, mierząc objętość wody przechodzącej przez membranę w czasie 3600 s kolejno dla poszczególnych wartości ciśnień.

Dla celów praktycznych jakość membran ocenia się często wyznaczając ich graniczną masę molową (ang. cut-off), charakteryzującą membrany poprzez wskazanie najmniejszej masy molowej składników zatrzymywanych, przy określonym współczynniku retencji - zazwyczaj 0,90 [110]. W związku z tym dla każdej z badanych membran oznaczano doświadczalny współczynnik retencji białek różniących się masami molowymi. Proces ultrafiltracji prowadzono pod ciśnieniem $2*10^5$Pa, przy liniowej prędkości przepływu 3 m/s i w temperaturze 295 K. Stężenie białka w nadawie było każdorazowo stałe, wynosiło 0,20 kg/m^3. Zmiany jego stężenia w filtracie określano wyznaczając całkowitą zawartość węgla organicznego za pomocą aparatury Total Organic Carbon Computational System (Beckman Industrial Model 915B TOCAMASTER TM).

Ultrafiltrację roztworów enzymów w przypadku doboru membrany i określania najkorzystniejszych parametrów procesu prowadzono w układzie zatężającym, zachowując każdorazowo stałą wartość współczynnika redukcji objętości równą 2. W przypadku procesu właściwego zatężania roztworów enzymów dla każdej serii pomiarowej

przygotowywano roztwory enzymów o założonym wcześniej stężeniu suchej masy (ok. 4% mas.). W tym celu preparaty handlowe rozcieńczano wodą destylowaną.

Po każdorazowym przepuszczeniu przez układ membranowy roztworu enzymów, membrany przemywano kolejno: wodą destylowaną, 0,5% roztworami wodorotlenku sodowego i kwasu azotowego oraz ponownie wodą destylowaną. Po umyciu układu testowano je wodą destylowaną w celu sprawdzenia ich przepuszczalności.

Wartości najkorzystniejszego ciśnienia transmembranowego prowadzenia procesu ultrafiltracji wyznaczano w zakresie od $0,5*10^5$Pa do $4*10^5$Pa, prędkości przepływu roztworu nad powierzchnią membrany w zakresie od 1 m/s do 4 m/s, a najkorzystniejszą temperaturę prowadzenia procesu w zakresie od 275 K - 323 K. Efektywność ultrafiltracji określano mierząc czas odbioru określonej objętości permeatu oraz wyznaczając analitycznie: stężenie suchej masy w retentacie i permeacie metodą wagową [73], stężenie białka ogólnego w permeacie metodą Folina [98] oraz aktywności enzymatyczne retentatu. Analizy na zawartość suchej masy i białka ogólnego pozwoliły wyznaczyć ich doświadczalny współczynnik retencji (R) opisany wzorem [110]:

$$R = 1 - C_p/C_b \qquad (29)$$

Aktywność amylolityczną preparatów wyznaczano metodą Klimowskiego i Rodzewicz [111]. Polegała ona na określeniu czasu hydrolizy skrobi do produktów, które nie ulegają reakcji barwnej z jodem. Jednostka aktywności α - amylazy (jAs) określa taką ilość enzymu, która hydrolizuje 1 gram skrobii do dekstryn w ciągu 1 godziny w temp. 30°C.

Oznaczenie aktywności proteolitycznej prowadzono zmodyfikowaną metodą Ansona przy zastosowaniu hemoglobiny jako substratu [113]. Zasada oznaczenia polegała na kolorymetrycznym określeniu stężenia tyrozyny i tryptofanu, przy użyciu odczynnika Folina-Ciocalteau, w produktach enzymatycznej hydrolizy zdenaturyzowanej hemoglobiny, rozpuszczalnych w kwasie trójchlorooctowym. Jednostka aktywności proteolitycznej (JH) określa ilość enzymu, która przy rozkładzie hemoglobiny w standardowych warunkach (2% roztwór hemoglobiny denaturowanej mocznikiem, temperatura 30 C, czas reak-

cji 60 min.) uwalnia taką ilość produktów rozpuszczalnych w kwasie trójchlorooctowym, która równoważy w reakcji z odczynnikiem Folina-Ciocalteau jeden milimol * 10^{-4} tyrozyny.

Aktywność pektynolityczną oznaczano zgodnie z metodą Webera i Deuela stosując wzór Kyzlinka w modyfikacji Strmiska [112]. Dokonywano wiskozymetrycznego pomiaru spadku lepkości standardowego roztworu substratu pektynowego pod wpływem działania preparatu pektynolitycznego. Jednostka aktywności pektynolitycznej (^{0}PM) określa,w ilu litrach 0,5% roztworu substratu pektynowego można osiągnąć spadek lepkości o 85% w czasie 5 godzin w temperaturze 20^{0}C pod wpływem działania 1 kg preparatu pektynolitycznego.

9. WŁAŚCIWOŚCI TRANSPORTOWO-SEPARACYJNE MEMBRAN ULTRAFILTRACYJNYCH POD KĄTEM ICH ZASTOSOWANIA DO OCZYSZCZANIA I ZATĘŻANIA BIAŁEK AKTYWNYCH

9.1. CHARAKTERYSTYKA POLIMERU DO PREPAROWANIA MEMBRAN

Membrany ultrafiltracyjne stosowane w technice laboratoryjnej oraz w przemyśle otrzymywane są na ogół z polimerów niecelulozowych [3,88,97,103]. W niniejszej pracy surowcem do wytwarzania membran był krajowej produkcji poliakrylonitryl (PAN) dostępny w postaci niematowanego włókna "anilana", produkowany w Zakładach Włókien Sztucznych Chemitex - Anilana w Łodzi. Membrany ultrafiltracyjne otrzymywane z tego polimeru charakteryzują się podwyższoną odpornością termiczną i chemiczną w stosunku do tradycyjnych membran otrzymywanych z octanu celulozy. PAN wykazuje odporność na działanie związków organicznych, kwasów i zasad (pH 1-10) na procesy utleniania i hydrolizy oraz działanie mikroorganizmów [12,87]. Silna polarna grupa nitrylowa decyduje o wysokiej warto-

Tabela 9

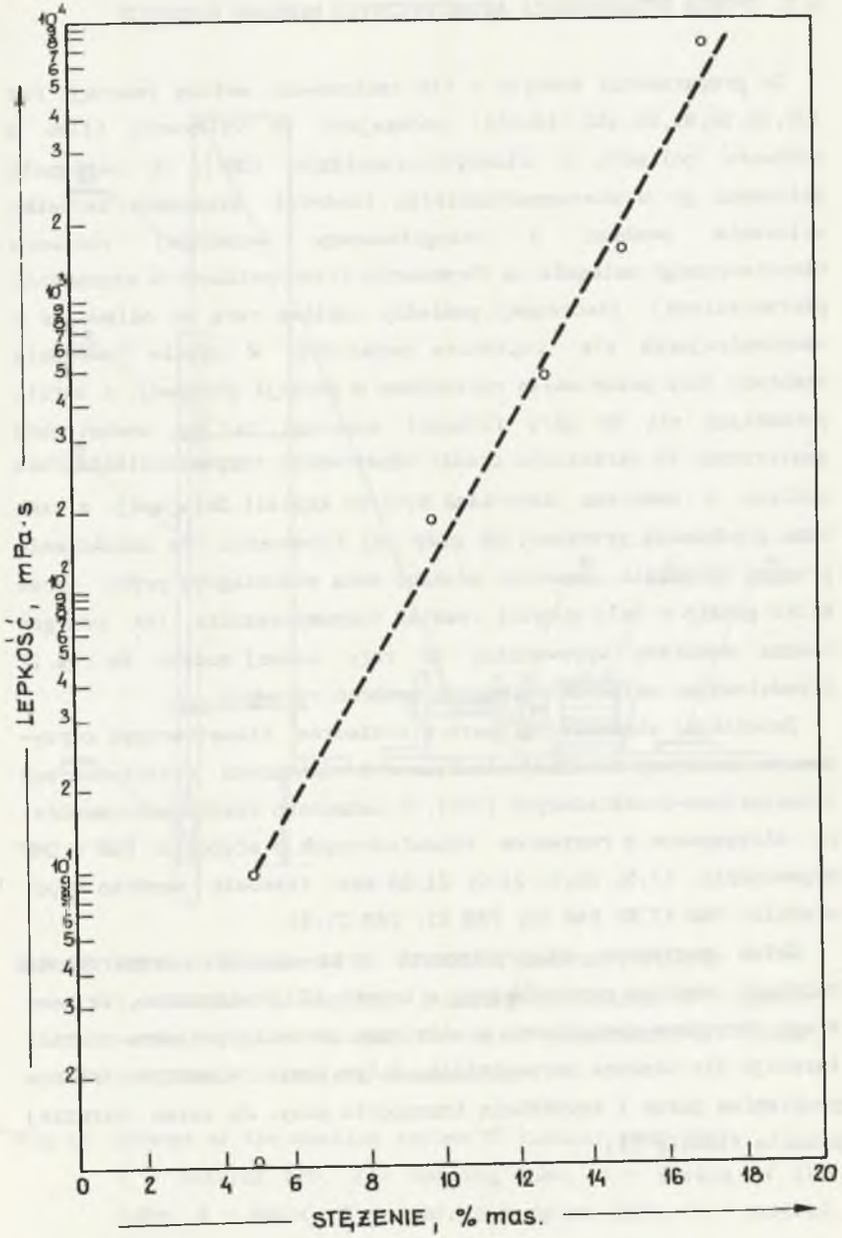
Charakterystyka fizykochemiczna włókna poliakrylonitrylowego stosowanego do wytwarzania membran

Stężenie polimeru kg/m	Lepkość względna	Lepkość właściwa	Lepkość zredukowana m^3/kg	Dane do wzoru Marka-Houwinka
2	1,44	0,44	0,220	α_1=0,81
4	1,94	0,94	0,231	η_1=0,21 m^3/kg
5	2,18	1,18	0,237	
6	2,45	1,45	0,242	K=3,92*10^{-5} m^3/kg
8	3,03	2,03	0,254	
Średnia masa molowa: 93800				

ści parametru rozpuszczalności (δ_0 = 12,3) [108]. Typowymi rozpuszczalnikami poliakrylonitrylu są dimetyloformamid (DMF) i 95% kwas azotowy. W celu scharakteryzowania polimeru oznaczono jego masę molową ($\bar{M}\eta$) metodą lepkościową z zależności Marka-Houwinka [87]:

$$[\eta_1] = K \cdot \bar{M}_\eta^{\ \alpha} \qquad (30)$$

Graniczną liczbę lepkościową $[\eta_1]$ oraz lepkości względną, właściwą i zredukowaną wyznaczono przy użyciu lepkościomierza Ubbelohde'a, mierząc czas wypływu samego rozpuszczalnika (DMF) i roztworów PAN o stężeniach 2-8 kg/m^3 w temperaturze 298 K. W tabeli 9 przedstawiono lepkości roztworów PAN, wartości stałych K i α_1 [87] oraz obliczone wartości granicznej liczby lepkościowej i średniej masy molowej ($\bar{M}\eta$) włókna PAN, a na rys. 11 zależność lepkości roztworów PAN w DMF od stężenia w zakresie 1-20%. Lepkości roztworów błonotwórczych oznaczano stosując wiskozymetr Hopplera.



Rys. 11. Logarytmiczna zależność lepkości PAN w DMF od stężenia polimeru (temp. 298 K)

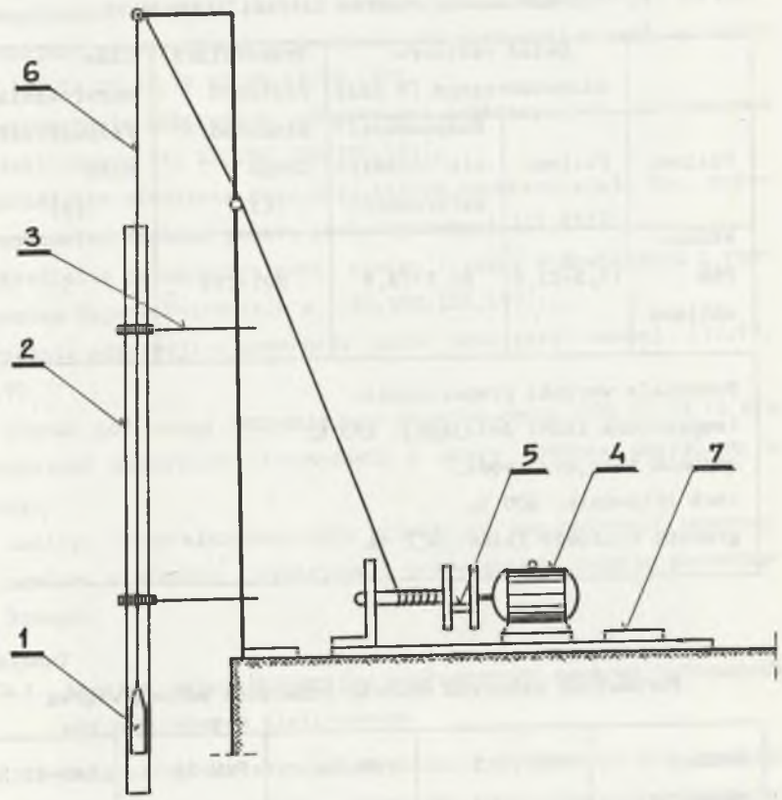
Fig. 11. Logarytmic dependence of PAN viscosity in DMF on the concentration of the polymer (temp. 298 K)

9.2. SPOSÓB OTRZYMYWANIA ASYMETRYCZNYCH MEMBRAN RUROWYCH

Do preparowania membran z PAN zastosowano metodę inwersji faz [35,36,58,81,86,142,149-151] polegającą na wylewaniu filmu z roztworu polimeru w dimetyloformamidzie (DMF), a następnie żelowaniu go w nierozpuszczalniku (wodzie). Stosowana technika wylewania membran z przygotowanego wcześniej roztworu błonotwórczego polegała na formowaniu filmu polimeru w szczelinie pierścieniowej utworzonej pomiędzy szklaną rurą do odlewania a samocentrującym się trzpieniem metalowym. W czasie tworzenia membrany rura pozostawała nieruchomo w pozycji pionowej, a nurnik poruszając się do góry formował membranę na jej wewnętrznej powierzchni. Po określonym czasie odparowania rozpuszczalnika rura szklana z membraną zanurzana była do kąpieli żelującej, z taką samą prędkością przesuwu, jak przy jej formowaniu. Po zakończeniu procesu żelowania, membrany płukano wodą wodociągową przez okres kilku godzin w celu wymycia resztek rozpuszczalnika. Tak przygotowaną membranę wprowadzano do rury nośnej modułu. Na rys. 12 przedstawiono układ do wylewania membran rurowych.

Zmieniając stężenie polimeru w roztworze błonotwórczym otrzymywano membrany o różnej strukturze i odmiennych właściwościach transportowo-rozdzielczych [139]. W badaniach zastosowano membrany otrzymywane z roztworów błonotwórczych o stężeniu PAN w DMF odpowiednio: 17,5; 20,0; 21,0; 21,5% mas. (symbole membran odpowiednio: PAN 17,5; PAN 20; PAN 21; PAN 21,5).

Skład roztworów błonotwórczych oraz warunki preparowania badanych membran przedstawiono w tabeli 10. Stwierdzono, że membrany otrzymane z roztworów o mniejszym stężeniu polimeru charakteryzują się większą porowatością, a tym samym większym średnim promieniem porów i szybkością transportu masy. Są zatem bardziej otwarte (tabela 11).



Rys. 12. Schemat urządzenia do odlewania membran rurowych
1 - trzpień odlewniczy, 2 - rura odlewnicza, 3 - zamocowanie rury, 4 - silnik, 5 - układ przekładni, 6 - linka nylonowa, 7 - pulpit sterowniczy

Fig. 12 Scheme of the casting system of tubular membrane:
1 - casting bob, 2 - casting tube, 3 - fixing of the tube, 4 - motor, 5 - gear, 6 - nylon line, 7 - control desk

Tabela 10

Skład roztworów błonotwórczych oraz warunki preparowania membran ultrafiltracyjnych

Polimer	Skład roztworu błonotwórczego, [% mas]		Temperatura roztworu błonotwórczego [K]	Czas odparowania rozpuszczalnika [s]
	Polimer	Rozpuszczalnik (Dimetyloformamid)		
Włókno PAN anilana	17,5-21,6	82,5-78,4	291-293	5
Pozostałe warunki preparowania: temperatura łaźni żelującej: 293 K; czynnik żelujący: woda; czas żelowania: 600 s; grubość wylanego filmu: 0,2 mm.				

Tabela 11

Porowatość badanych membran oznaczona metodą wagową

Rodzaj membrany	PAN-17,5	PAN-20	PAN-21	PAN-21,5
Porowatość %	77	72	68	60

9.3. STRUKTURA WEWNĘTRZNA MEMBRAN ULTRAFILTRACYJNYCH

Na własności transportowe i selektywność membran wpływają w szczególności: kształt porów, ich wielkość i dystrybucja. Za najważniejsze metody charakteryzowania ich porowatej struktury uważa się [10,14,55,69,70,82,86,87,91,157]:

- bezpośrednią obserwację powierzchni membrany pod mikroskopem elektronowym [41,55,100,128,130,157];
- określenie ciśnienia gazu, przy którym membrana staje się przepuszczalna (metoda punktu pęcherzykowego) [41,157];
- określenie przepuszczalności cieczy i gazów w powiązaniu z równaniem Hagena-Poiseuille'a [86,100,135,157];
- badanie adsorpcji i desorpcji gazów oraz pary wodnej [10,13,17].

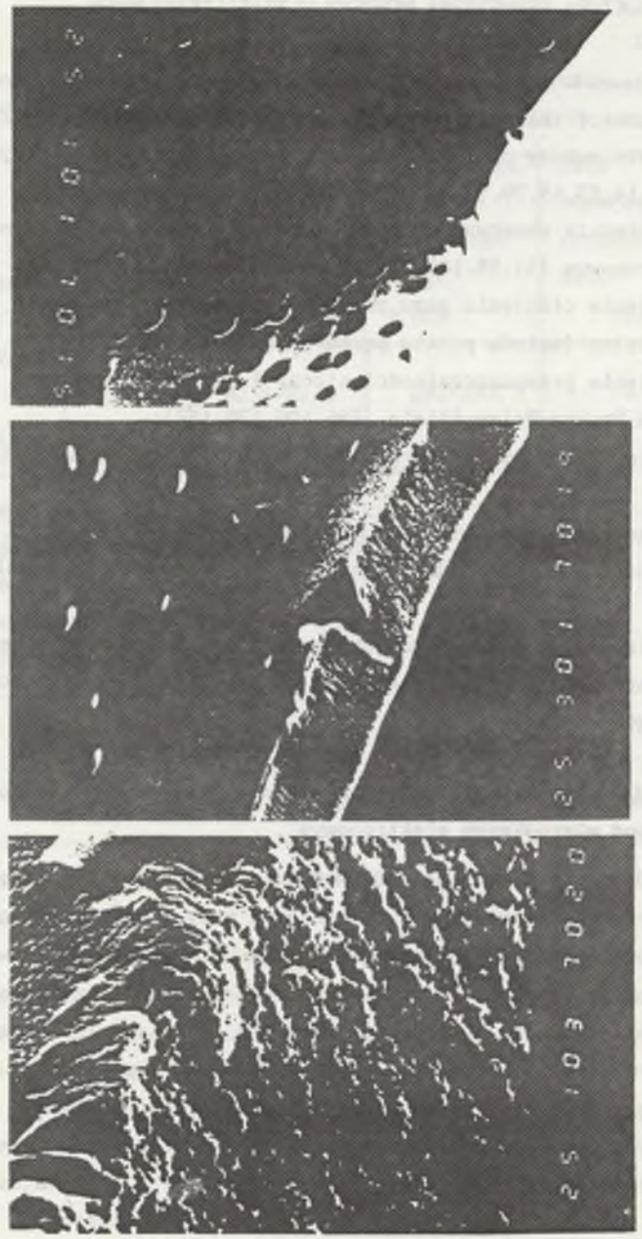
Biorąc pod uwagę wcześniejsze doświadczenia [10,12,13,15,17], porowatość struktury stosowanych w pracy membran określono w wyniku:

- analizy zdjęć mikroskopowych przekrojów poprzecznych membran;
- pomiaru wielkości i dystrybucji porów metodą punktu pęcherzykowego.

9.3.1. Analiza zdjęć przekrojów poprzecznych membran wykonanych pod mikroskopem elektronowym

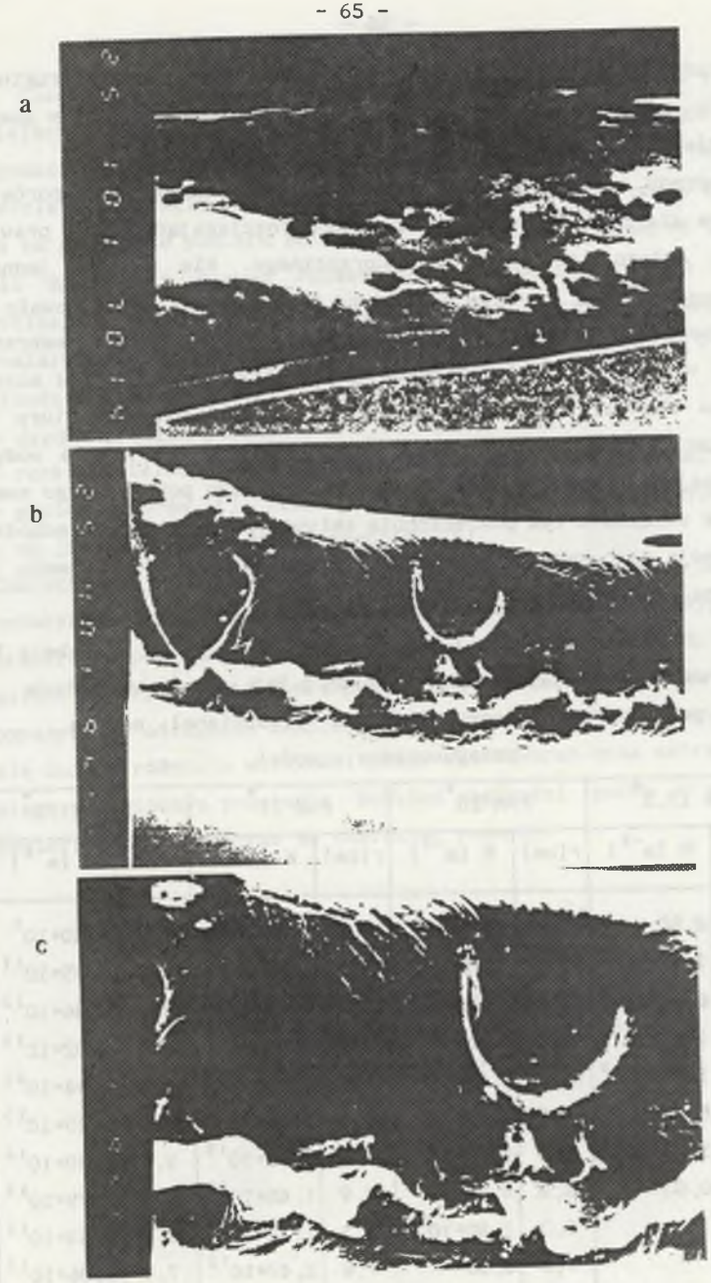
Fizyczną strukturę membran określono na podstawie analizy zdjęć ich przekrojów poprzecznych, wykonanych przy użyciu elektronowego mikroskopu skaningowego typu SM-35 (Ioel, Japonia). Po odwodnieniu membran kolejno w kąpielach: woda-etanol, czysty etanol, etanol-heksan oraz w czystym heksanie, wykonano ich przełomy w ciekłym azocie, a następnie w celu uzyskania odpowiedniego kontrastu przekroju pokrywano je pyłem metalicznego złota.

Na rys. 13 i 14 przedstawiono zdjęcia przekrojów membran o różnej zwartości, najbardziej otwartej PAN 17,5 oraz najbardziej zwartej PAN 21,5. Stwierdzono, że obie membrany posiadają strukturę gąbczastą, a wielkość i kształt powstających porów zależą od stężenia polimeru w roztworze błonotwórczym. Mechanizm tworzenia się tego rodzaju struktury związany jest z kinetyką procesu rozdziału fazowego w trakcie żelowania membrany. Zaobserwowano, że



Rys. 13. Mikrofotografie przekrojów poprzecznych membran z poliakrylonitrylu PAN 17,5 (powiększenie: a) 150x; b) 300x; c. 720x)

Fig. 13. Cross-section microphotographs of polyacrylonitrile membrane PAN 17,5 (blow up: a) 150x; b) 300x; c) 720x)



Rys. 14. Mikrofotografie przekrojów poprzecznych membran z poliakrylonitu PAN 21,5 (powiększenie: a) 150x; b) 300x; c) 10000x).
UWAGA: Przy powiększeniu: 150x 1cm=66,6µm, 300x 1cm=33,3µm, 720x 1cm=13,3µm, 10000x 1cm=1,0µm

Fig. 14. Cross-section microphotographs of polyacrylonitrile membrane PAN 21,5 (blow up: a) 150x; b) 300x; c) 10000x).
Note: At magnification: 150x 1cm=66,6µm, 300x 1cm=33,3µm, 720x 1cm=13,3µm, 10000x 1cm=1,0µm

struktura membran rurowych zdecydowanie różni się od struktury membran płaskich wylewanych z roztworu polimerowego o tym samym składzie [12].

Membrany rurowe PAN 17,5 posiadają dużą ilość makroporów o typowym dla nich kształcie ostrosłupów rozciągających się prawie wzdłuż całego ich przekroju poprzecznego. Nie są one jednak "zawieszone" pod warstwą naskórkową, tak jak to występowało w membranach płaskich, lecz uszkadzając powierzchnię membrany tworzą wyraźny lej skierowany do jej wnętrza. Natomiast w miarę wzrostu stężenia polimeru (PAN-21,5) tworzą się struktury o mniejszej ilości porów, kształtem przypominających krople wody, które zajmują znacznie mniejszą część przekroju poprzecznego membrany. W związku z tym powierzchnia aktywna, przez którą przechodzi substancja, rozpuszczona jest bardziej ograniczona w porównaniu z membraną otwartą.

Tabela 12

Chrakterystyka porowatości membran z PAN wyznaczona metodą pęcherzykową (ciecz zwilżająca - izobutanol; medium przepuszczane - woda)

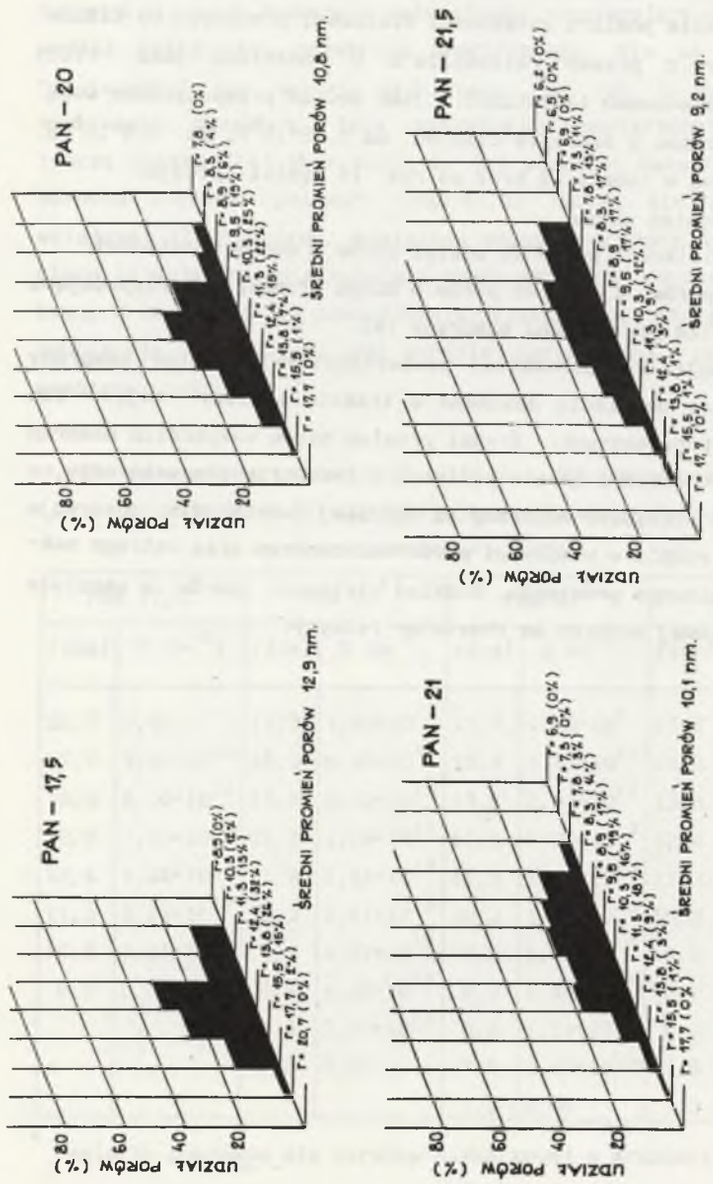
PAN 17,5*		PAN 20*		PAN 21*		PAN 21,5*	
r[nm]	N [m^{-2}]	r[nm]	N [m^{-2}]	r[nm]	N [m^{-2}]	r[nm]	N [m^{-2}]
20,7	8,80	17,7	$1,40*10^{1}$	17,7	$1,40*10^{1}$	17,7	$1,40*10^{1}$
17,7	$9,32*10^{11}$	15,5	$6,95*10^{11}$	15,5	$6,95*10^{11}$	15,5	$6,95*10^{11}$
15,5	$6,06*10^{12}$	13,8	$5,32*10^{12}$	13,8	$2,60*10^{12}$	13,8	$1,36*10^{12}$
13,8	$1,10*10^{13}$	12,4	$1,06*10^{13}$	12,4	$7,24*10^{12}$	12,4	$3,02*10^{12}$
12,4	$1,34*10^{13}$	11,3	$1,54*10^{13}$	11,3	$1,54*10^{13}$	11,3	$9,94*10^{12}$
11,3	$5,26*10^{12}$	10,3	$1,81*10^{13}$	10,3	$1,35*10^{13}$	10,3	$1,29*10^{13}$
10,3	$5,01*10^{12}$	9,5	$1,37*10^{13}$	9,5	$1,58*10^{13}$	9,5	$1,80*10^{13}$
8,9	0,00	8,9	$4,58*10^{12}$	8,9	$1,45*10^{13}$	8,9	$1,79*10^{13}$
		8,3	$2,90*10^{12}$	8,3	$1,19*10^{13}$	8,3	$1,83*10^{13}$
		7,8	0,00	7,8	$2,47*10^{12}$	7,8	$1,36*10^{13}$
				7,3	0,00	7,3	$1,21*10^{13}$

* Pomiarów dokonano dla warstwy naskórkowej o grubości $5*10^{-6}$m.

Charakterystykę struktury warstwy powierzchniowej oraz rozkład wielkości porów określono metodą pęcherzykową. Wielkość porów wyznaczono mierząc wartość ciśnienia gazu koniecznego do ich otwarcia w membranie, natomiast dystrybucję wielkości porów określono na podstawie pomiaru zależności wielkości przepływu od ciśnienia zgodnie z prawem Poiseuille'a. W badaniach jako ciecz zwilżającą stosowano izobutanol, a jako medium przepuszczane wodę. Pomiary wykonano w zakresie ciśnień od $0,15*10^{5}$Pa do $0,5*10^{5}$Pa. Przedstawione w tabeli 12 oraz na rys. 15 wyniki opisują:

- średni promień porów;
- rozkład wielkości porów (% udział porów o danym promieniu);
- gęstość porów, tj. ilość porów o danym promieniu przypadającą na jednostkę powierzchni membrany (N).

Charakteryzują one porowatość powierzchniowej warstwy membrany potwierdzając ustalenia dokonane w trakcie analizy zdjęć ich przekrojów poprzecznych. Średni promień porów wszystkich membran maleje ze wzrostem stężenia polimeru w roztworze bionotwórczym, co oznacza, że otrzymane membrany są bardziej zwarte. Nie obserwuje się dużych różnic w wielkości porów obu membran oraz ostrego maksimum o zbliżonym promieniu. Rozkład wielkości porów w warstwie powierzchniowej membran ma charakter rozmyty.



Rys. 15. Dystrybucja wielkości porów powierzchni membran z poliakrylonitrylu

Fig. 15. Pore - size distribution of polyacrylonitrile membrane skin layer

9.4. TRANSPORT WODY I ZWIĄZKÓW WIELKOCZĄSTECZKOWYCH PRZEZ MEMBRANY ULTRAFILTRACYJNE

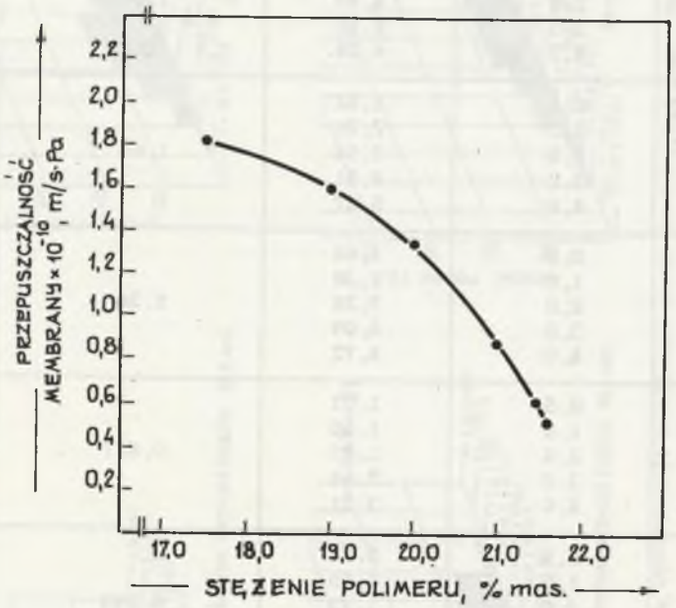
Tabela 13

Transport wody przez membrany ultrafiltracyjne PAN o różnej zwartości

Symbol membrany	Ciśnienie transmembranowe $\Delta P * 10^5$ [Pa]	Objętościowy strumień wody $Jw * 10^{-5}$ [m/s]	Przepuszczalność membrany na wodę $L_w * 10^{-10}$ [m/s.Pa]*
PAN-17,5	0,5 1,0 2,0 3,0 4,0	2,08 3,12 4,49 5,42 6,28	1,81
PAN-19	0,5 1,0 2,0 3,0 4,0	1,82 2,76 3,94 4,81 5,47	1,60
PAN-20	0,5 1,0 2,0 3,0 4,0	1,66 2,38 3,28 4,09 4,72	1,36
PAN-21	0,5 1,0 2,0 3,0 4,0	1,01 1,50 2,23 2,66 3,01	0,887
PAN-21,5	0,5 1,0 2,0 3,0 4,0	0,72 1,15 1,73 2,08 2,27	0.693
PAN-21,6	0,5 1,0 2,0 3,0 4,0	0,501 0,761 1,18 1,58 1,93	0,527

* Wartości obliczone dla $\Delta P = 3*10^5$Pa.

Przed przystąpieniem do określenia właściwości transportowo-separacyjnych membran pod kątem wykorzystania w ultrafiltracyjnym oczyszczaniu i zatężeniu preparatów enzymów zbadano wpływ ich zwartości oraz ciśnienia transmembranowego na transport wody. Badania prowadzono dla prędkości liniowej przepływu 3 m/s, mierząc objętość permeatu w jednostce czasu kolejno pod ciśnieniem: $0,5.10^5$Pa; 1.10^5Pa; 2.10^5Pa, 3.10^5Pa i 4.10^5Pa w temperaturze 295 K. Uzyskaną charakterystykę membran przedstawiono w tabeli 13 i na rys. 16. Ze wzrostem zwartości membran zaobserwowano spadek objętościowego strumienia wody i przepuszczalności membrany na wodę.



Rys. 16. Zależność przepuszczalności membrany na wodę od stężenia polimeru w roztworze błonotwórczym ($\Delta P = 3*10^5$Pa)

Fig. 16. Dependence of the membrane permeability in relation to water on the concentration of the polymer in the casting solution ($\Delta P = 3*10^5$Pa)

Wartość przepuszczalności granicznej (ang. cut-off) wyznaczono dla badanych membran poddając procesowi ultrafiltracji roztwory białek wzorcowych o różnej masie molowej (Lyzozym M = 14000,

Albumina z jaj kurzych M =42000, Albumina z krwi wołowej M=69000, γ-Globulina M = 160000). Warunki prowadzenia procesu i uzyskane wyniki zamieszczono w tabeli 14. Stwierdzono, że doświadczalny współczynnik retencji białek zależy od porowatości membrany, a jego wartość rośnie ze wzrostem ich masy molowej. Na podstawie otrzymanych wyników można wnioskować, że membrany z poliakrylonitrylu o przepuszczalności na wodę powyżej $0,887*10^{-10}$m/s.Pa zatrzymują w 90% białka o masie molowej 42000.

Tabela 14

Doświadczalny współczynnik retencji białek o różnej masie molowej dla membran z poliakrylonitylu o różnej zwartości (temperatura 298K, ciśnieninie transmembranowe $3*10^5$Pa, liniowa prędkość przepływu 4m/s, współczynnik redukcji objętości 2, stężenie białka 0,2 kg/m^3)

Białka	$L_w=1,81*10^{-10}$ [m/s•Pa]	$L_w=1,36*10^{-10}$ [m/s•Pa]	$L_w=0,89*10^{-10}$ [m/s•Pa]	$L_w=0.69*10^{-10}$ [m/s•Pa]
	R [%]	R [%]	R [%]	R [%]
Lyzozym M=14000	34,2	44,3	59,1	67,2
Albumina z jaj kurzych M=42000	61,0	75,8	90,3	93,9
Albumina z krwi wołowej M=69000	67,8	86,4	93,1	97,8
γ-Globulina M=160000	78,2	91,8	97,2	98,9

9.5. WYZNACZANIE DOŚWIADCZALNEGO WSPÓŁCZYNNIKA RETENCJI BIAŁEK AKTYWNYCH

O tym, na jakich membranach powinien być prowadzony proces ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężenia badanych roztworów białek aktywnych, miały zadecydować wyniki otrzymane z testowania membran odpowiednimi roztworami enzymów [23,24,26,27]. Powinny one dać pełną charakterystykę transportowo-separacyjną membran, na których w przypadku zadowalających rezultatów przeprowadzono by dobór najkorzystniejszych parametrów procesowych. W tym celu membrany o różnej zwartości testowano roztworami preparatów enzymów, wyznaczając dla każdej próby wielkość strumienia permeatu, a także aktywność enzymatyczną filtratu. W tabeli 15 przedstawiono

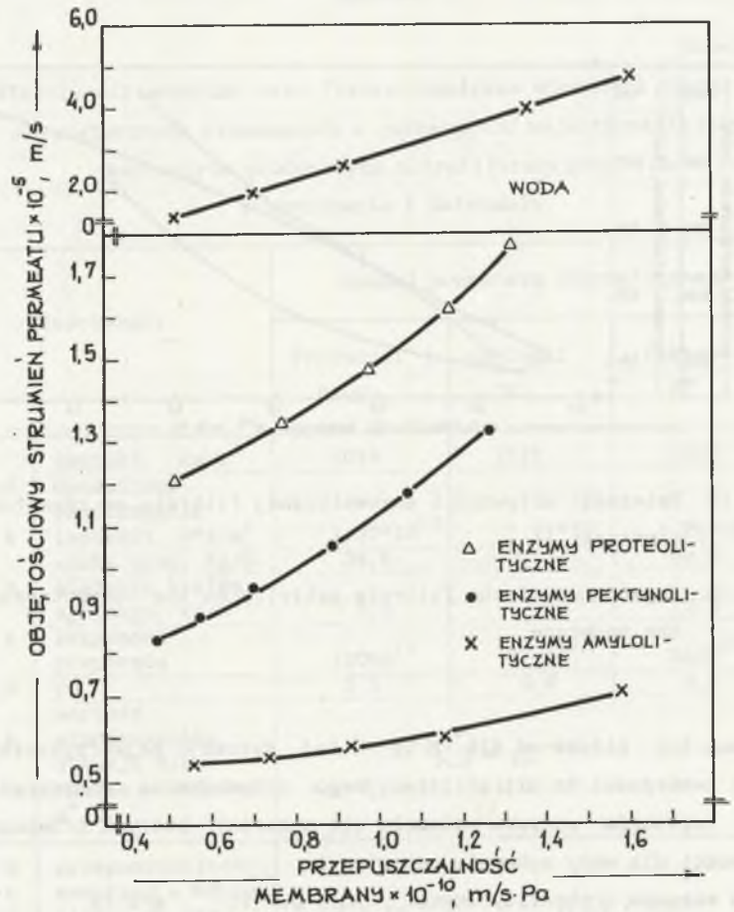
Tabela 15

Parametry procesowe ultrafiltracji roztworów enzymatycznych w procesie testacji mambran oraz charakterystyka roztworów testujących

	Parametry procesowe oraz oznaczenia analityczne	Amylogal CS	Proteopol BP-S	Pektopol PT
Parametry procesu ultrafiltracji	ciśnienie transmembranowe; Pa	$3*10^5$	$3*10^5$	$3*10^5$
	liniowa prędkość przepływu; m/s	3	4	4
	temperatura; K	295-297	295-297	295-297
	współczynnik redukcji objętości nadawy	2	2	2
Nadawa	sucha masa; kg/m^3	39,3	35,4	39,8
	aktywność enzymatyczna	39,5[1)]	11220[2)]	4159[3)]

1) Aktywność amylolityczną podano w jAs/cm^3,
2) Aktywność proteolityczną podano w JH/cm^3,
3) Aktywność pektynolityczną podano w $^oPM/kg$.

dane dotyczące warunków prowadzenia ultrafiltracji oraz charakterystykę roztworów testujących. Wyniki pomiarów ilustrują rys. 17 i 18. Widać wyraźnie, że z obniżeniem zwartości membrany w przypadku wszystkich trzech roztworów enzymów: amylolitycznego, proteoli-

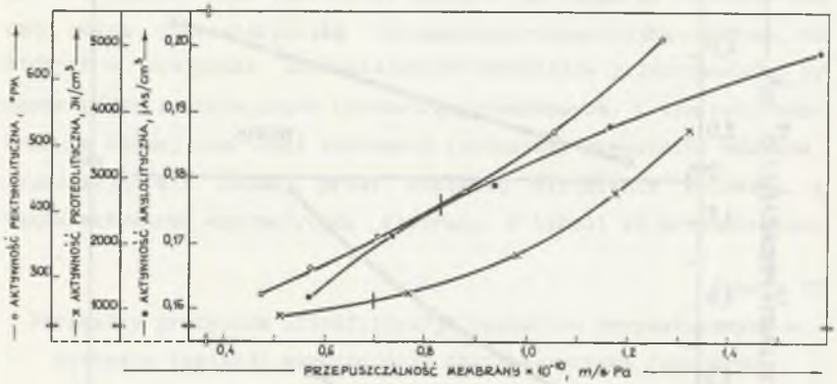


Rys. 17. Zależność objętościowego strumienia wody i permeatu od zwartości membrany z polakrylonitrylu

Fig. 17. Dependence of the volumetric water flux and volumetric permeate flux on the compactness of the polyacrylonitrile membrane

tycznego i pektynolitycznego rośnie aktywność enzymatyczna filtratu i objętościowy strumień permeatu. Z założenia, że straty aktywności preparatu zatężonego nie powinny być wyższe od 5% (wy-

magania postawione przez producenta preparatów enzymów) wynika, że aktywność permeatu w przypadku roztworu enzymów amylolitycznych nie może być wyższa od 3,95 jAs/cm^3, dla proteaz nie powinna przekroczyć wartości 1122 JH/cm^3, a dla enzymów pektynolitycznych



Rys. 18. Zależność aktywności enzymatycznej filtratu od zawartości membrany

Fig. 18. Dependence of the filtrate activity on the compactness of the membrane

powinna być niższa od 416 °PM/kg. W tej sytuacji najkorzystniejszymi membranami do ultrafiltracyjnego oczyszczania poszczególnych roztworów enzymów okazały się membrany, których przepuszczalności dla wody wynosiły odpowiednio:

- dla enzymów proteolitycznych: $L < 0,7*10^{-10}$ m/s·Pa
- dla enzymów pektynolitycznych i amylolitycznych: $L < 0,83*10^{-10}$ m/s.a

W wyniku przeprowadzonych prób ultrafiltracji enzymów amylolitycznych aktywność filtratu dla wszystkich rodzajów przebadanych membran zmieniała się w bardzo niewielkim stopniu. Wzrost przepuszczalności membran w zakresie od $0,568*10^{-10}$ m/s Pa do $1,581*10^{-10}$ m/s Pa spowodował wzrost aktywności filtratu o 16%, jednak jego aktywność dla membrany najbardziej otwartej L_w = $1,581*10^{-10}$ m/s Pa stanowiła zaledwie 0,2% aktywności nadawy.

10. DOBÓR PARAMETRÓW PROCESOWYCH ULTRAFILTRACJI ROZTWORÓW ENZYMÓW

Tabela 16

Właściwości membrany oraz fizyko-chemiczne własności preparatów enzymatycznych stosowanych w wyznaczaniu najkorzystniejszych parametrów procesowych ultrafiltracyjnego ich oczyszczania i zatężania

Właściwości		Rodzaj preparatu enzymatycznego		
		Proteopol BP-S	Amylogal CS	Pektopol PT
N A D A W A	gęstość, kg/m^3	1018	1011	1020
	dynamiczny współczynnik lepkości, N*s/m^2	$1,27*10^{-3}$	$1,41*10^{-3}$	$1,26*10^{-3}$
	sucha masa, kg/m^3	34,6	37,1	42,6
	stężenie białka ogólnego, kg/m^3	5,8	7,4	7,5
	Aktywność preparatu	11068[1]	37,5[2]	5690[3]
	pH	5,5	5,8	3,5
	wartość współczynnika dyfuzji dla białka w wodzie, m^2/s	$5,3 * 10^{-11}$		
M E M B R A N A	przepuszczalność membrany w odniesieniu do wody, m/s*Pa	$0,68 * 10^{-10}$	$0,83 * 10^{-10}$	
	grubość membrany, m	$0,2 * 10^{-3}$		
	średnica wewnętrzna suportu, m	$16,5 * 10^{-3}$		

[1] Aktywność proteolityczną podano w JH/cm^3.

[2] Aktywność amylolityczną podano w jAs/cm^3.

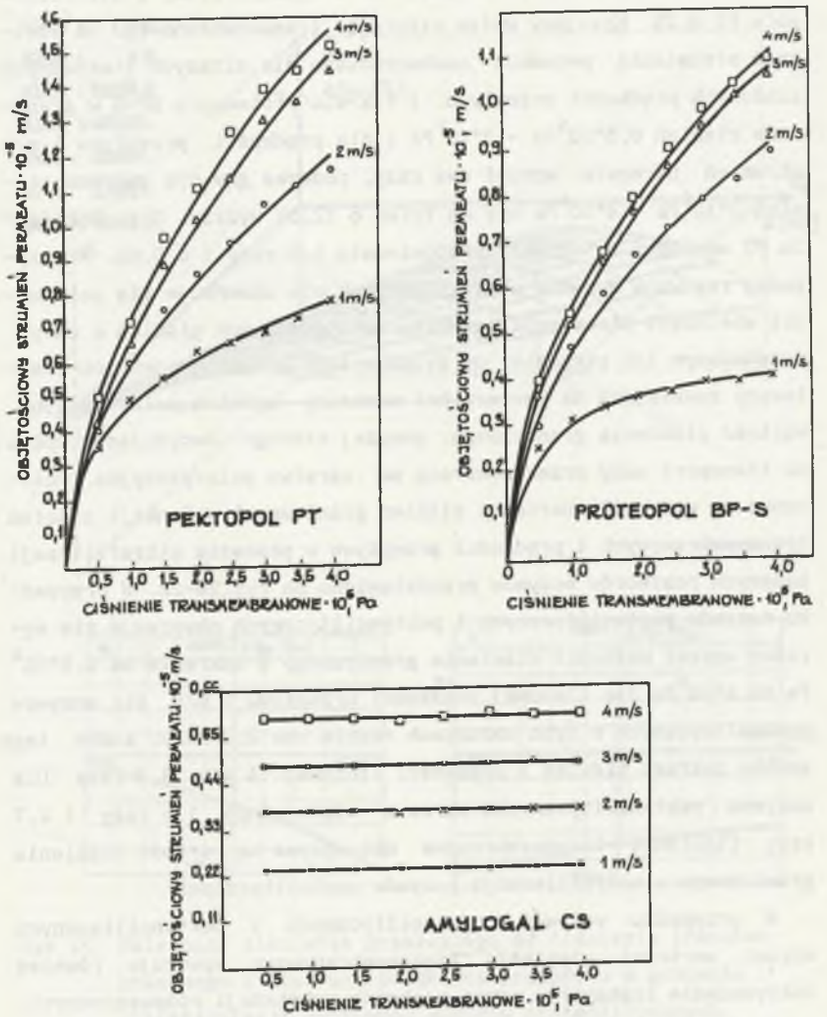
[3] Aktywność pektynolityczną podano w °PM/kg.

Jak już wspomniano wcześniej, jednym z podstawowych warunków, które powinny być spełnione w przypadku planowania przemysłowego zastosowania ultrafiltracji w procesie rozdzielania lub zatężania układów ciekłych, jest prawidłowe określenie parametrów operacyjnych procesu separacji membranowej, a więc: ciśnienia transmembranowego, liniowej prędkości przepływu, temperatury i stężenia nadawy.

Właściwości fizykochemiczne roztworów preparatów enzymatycznych, stosowanych do wyznaczenia najkorzystniejszych parametrów procesowych oraz charakterystykę membran ultrafiltracyjnych przedstawiono w tabeli 16. Wszystkie próby prowadzono w układzie zatężającym dla wartości współczynnika redukcji objętości równego 2.

10.1. CIŚNIENIE TRANSMEMBRANOWE

Przebadano wpływ ciśnienia transmembranowego na wielkość objętościowego strumienia permeatu w zakresie wartości od $0,5*10^5$Pa do $4*10^5$Pa. Otrzymane wyniki przedstawiono graficznie na rys. 19. W przypadku enzymów proteolitycznych i pektynolitycznych zaobserwowano wyraźną zależność zmiany wielkości strumienia permeatu od ciśnienia transmembranowego. Wraz ze wzrostem jego wartości rośnie znacznie objętościowy strumień permeatu, a odchylenia kształtu krzywych obrazujących tę zależność od lini prostej świadczą o występowaniu przy powierzchni membrany nasilającego się ze wzrostem tego parametru zjawiska polaryzacji stężeniowej. W związku z tym transport przez membrany białek aktywnych i innych substancji rozpuszczonych nie będzie limitowany wyłącznie ich właściwościami transportowo-separacyjnymi, ale również będzie kontrolowany powstającą na granicy faz roztwór - membrana stężeniową warstwą polaryzacyjną. W obu przypadkach najwyższe wartości strumienie permeatu osiągnęły dla ciśnienia transmembranowego $4*10^5$ Pa i liniowej prędkości przepływu równej 4 m/s. Dla Proteopolu BP-S przy stosowanej prędkości przepływu 4 m/s, wzrost ciśnienia transmembranowego w granicach od $0,5*10^5$ Pa do $3*10^5$ Pa wywołał trzykrotne zwiększenie strumienia permeatu, podczas gdy dla Pektopolu PT wartość ta wzrosła 2,5-krotnie. Dla zakresu ciśnień od $3*10^5$Pa do $4*10^5$Pa dla tej samej liniowej prędkości

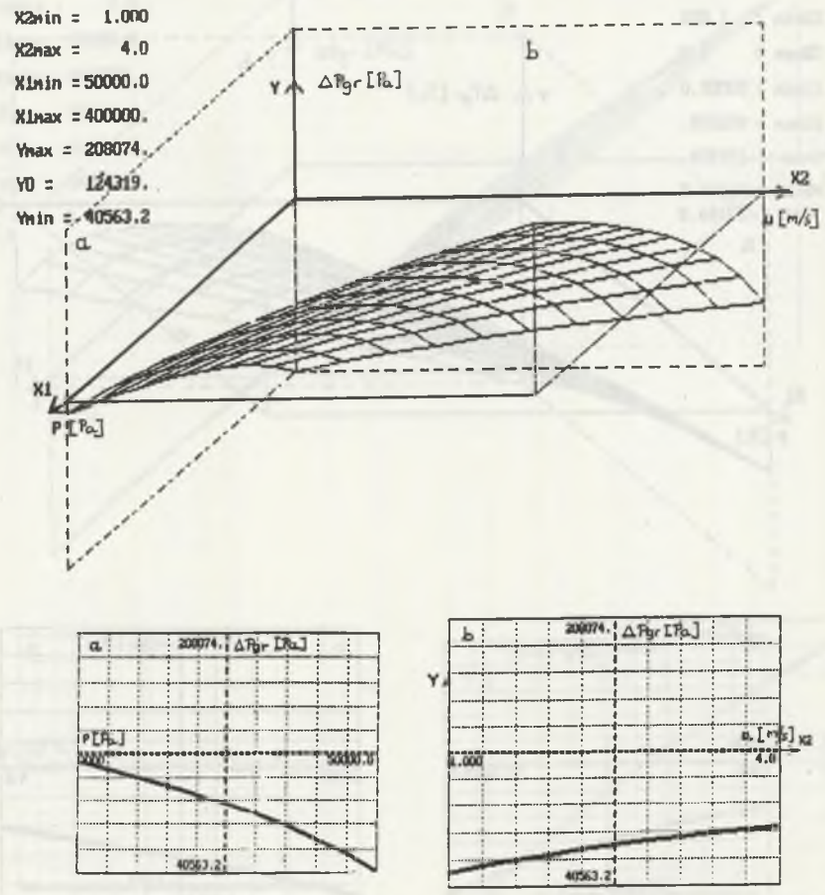


Rys. 19. Zależność objętościowego strumienia permeatu od ciśnienia transmembranowego dla różnych liniowych prędkości przepływu preparatów enzymów nad powierzchnią membrany

Fig. 19. Dependence of the volumetric permeate flux on the transmembrane pressure for various cross-flow velocities of the enzyme solutions over the membrane surface

przepływu wzrost objętościowego strumienia permeatu był już znacznie niższy i dla Proteopolu BP-S wynosił 6,5%, a dla Pektopolu PT 8,2%. Mniejszy wpływ ciśnienia transmembranowego na wielkość strumienia permeatu zaobserwowano dla niższych stosowanych liniowych prędkości przepływu. I tak dla Proteopolu BP-S w granicach ciśnień $0,5*10^5$Pa - $3*10^5$Pa i dla prędkości przepływu 1 m/s strumień permeatu wzrósł dwa razy, podczas gdy dla zakresu ciśnień $3*10^5$Pa - $4*10^5$Pa był on tylko o 12,6% wyższy. Dla Pektopolu PT wartości te wzrosły odpowiednio 1,5 razy i o 3,6%. W przypadku roztworu enzymów amylolitycznych nie obserwuje się zależności wielkości strumienia permeatu od stosowanych ciśnień w całym przebadanym ich zakresie, co świadczyłoby o tym, że jest on limitowany powstającą na powierzchni membrany warstwą polaryzacyjną. Wartość ciśnienia granicznego, powyżej którego decydujący wpływ na transport masy przez membranę ma warstwa polaryzacyjna, obliczono ze wzoru (7).Wartości ciśnień granicznych w funkcji ciśnień transmembranowych i prędkości przepływu w procesie ultrafiltracji badanych roztworów enzymów przedstawiono na rys.20-22. W przypadku enzymów proteolitycznych i pektynolitycznych obserwuje się wyraźny wzrost wartości ciśnienia granicznego w zakresie od $0,5*10^5$ Pa do $4*10^5$Pa dla liniowej prędkości przepływu 1 m/s. Dla enzymów proteolitycznych w tych warunkach rośnie ono 2,2 razy, a dla tego samego zakresu ciśnień i prędkości liniowej 4 m/s 3,3 razy. Dla enzymów pektynolitycznych wzrasta odpowiednio 1,6 razy i 2,7 razy. Ciśnienie transmembranowe nie wpływa na wartość ciśnienia granicznego w ultrafiltracji enzymów amylolitycznych.

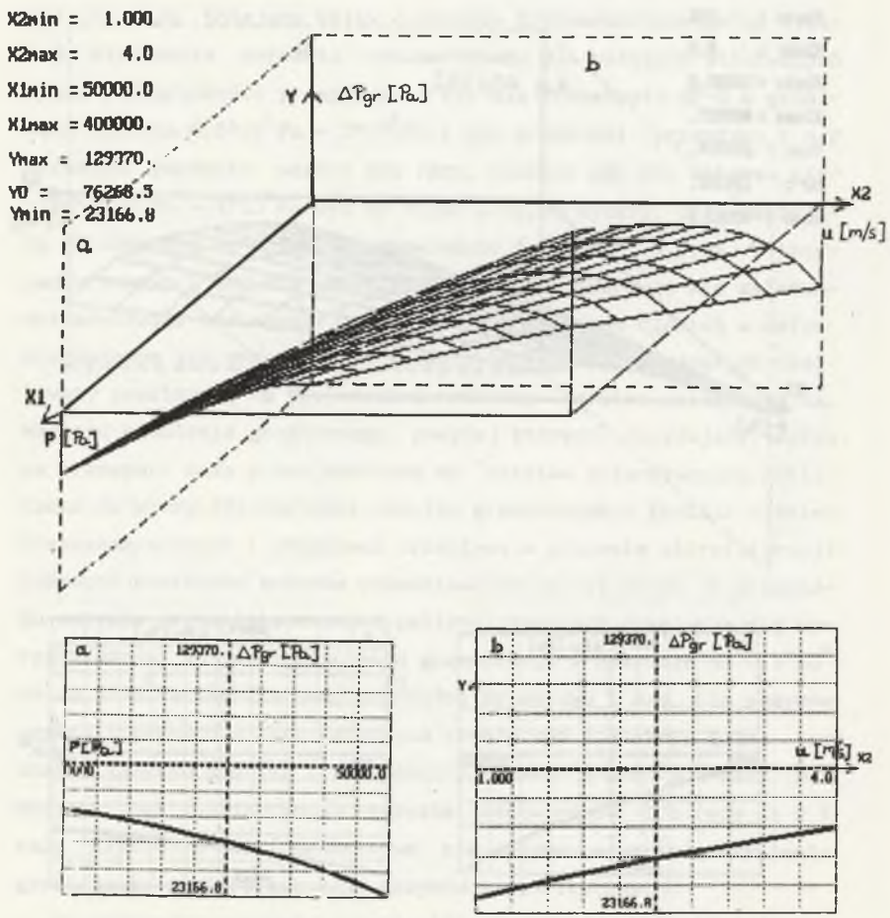
W przypadku enzymów proteolitycznych i pektynolitycznych wzrost wartości ciśnienia transmembranowego wywołuje również uaktywnienie transportu przez membranę substancji rozpuszczonych, o czym świadczy obniżanie się wartości współczynnika retencji suchej masy oraz wzrost stężenia białka ogólnego w filtracie (tabl.17,18). Dla proteaz w całym przebadanym zakresie ciśnień, przy stałych wartościach liniowych prędkości przepływu 1 m/s i 4 m/s oraz w temperaturze 295 K współczynnik retencji suchej masy maleje odpowiednio o 1% i 1.5%, natomiast stężenie białka ogólnego w filtracie rośnie o 19,7% i 16,2%. Dla roztworów enzymów pektynolitycznych wielkości te odpowiednio maleją o 4% i 3,6% oraz rosną o 19,3% i 11,2%. W przypadku roztworów enzymów amylolitycznych współczynniki retencji suchej masy i białka w filtra-



Rys.20. Zależność ciśnienia granicznego od ciśnienia transmembranowego i liniowej prędkości przepływu w procesie ultrafiltracji roztworów enzymów proteolitycznych

Fig.20. Dependence of the limit pressure of the ultrafiltration of the proteolytic enzyme solutions on the transmembrane pressure and cross - flow velocity

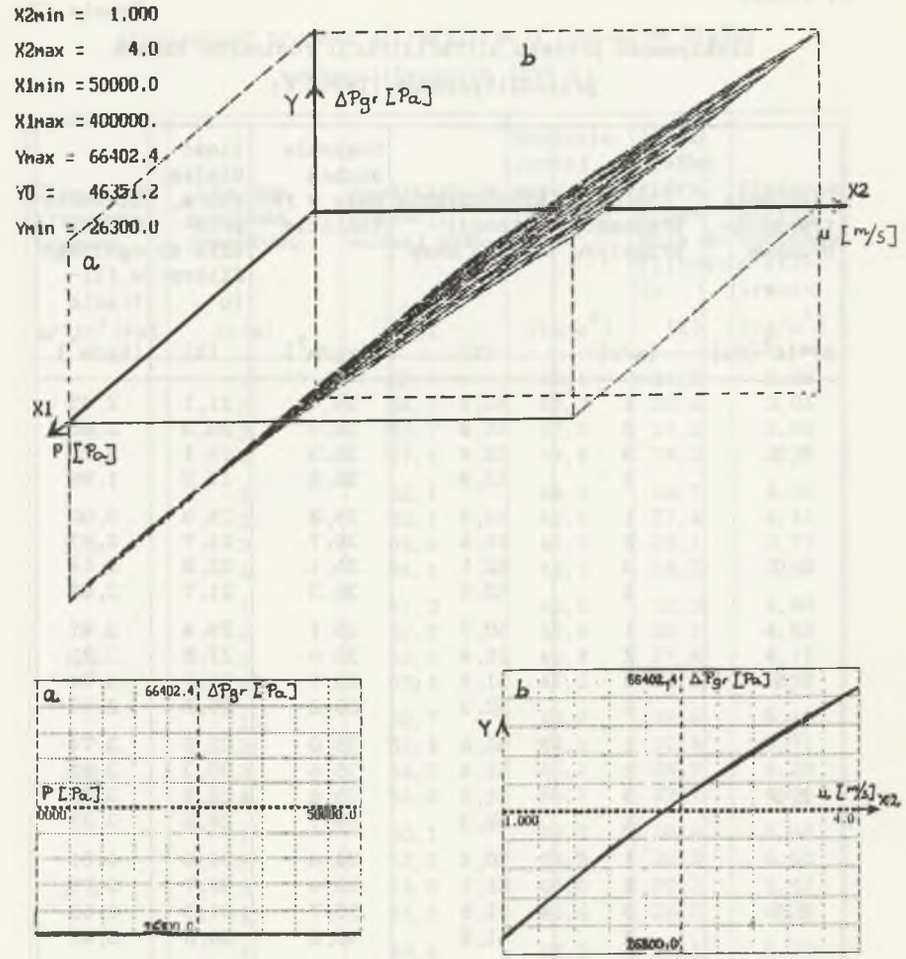
cie ze zmianą ciśnienia praktycznie nie ulegają zmianie (tabl.19). Wzrost ciśnień transmembranowych w zakresie $0,5 \cdot 10^5$ Pa - $4 \cdot 10^5$ Pa w procesie ultrafiltracji wszystkich roztworów białek aktywnych przy liniowej prędkości przepływu 4 m/s w niewielkim



Rys. 21. Zależność ciśnienia granicznego od ciśnienia transmembranowego i liniowej prędkości przepływu w procesie ultrafiltracji roztworów enzymów pektynolitycznych

Fig. 21. Dependence of the limit pressure of the ultrafiltration of the pektynolytic enzyme solutions on the transmembrane pressure and cross - flow velocity

stopniu wpływa na zmianę enzymatycznej aktywności ogólnej retentatów ultrafiltracyjnych wywołując jej straty poniżej 1,5% (rys. 23-25). Dla Proteopolu BP-S i liniowej prędkości przepływu 1 m/s wzrost ciśnienia w tych granicach powoduje straty aktywności proteolitycznej retentatu rzędu 1,8%, natomiast dla 4 m/s i tego



Rys. 22. Zależność ciśnienia granicznego od ciśnienia transmembranowego i liniowej prędkości przepływu w procesie ultrafiltracji roztworów enzymów amylolitycznych

Fig. 22. Dependence of the limit pressure of the ultrafiltration of the amylolytic enzyme solution on the transmembrane pressure and cross - flow velocity

samego zakresu ciśnień wynoszą one poniżej 0,6%. Dla preparatu Pektopol PT i tych samych parametrów procesowych ultrafiltracji straty aktywności enzymatycznej kształtują się odpowiednio na poziomie 11,8% i 1,3%, podczas gdy dla Amylogalu CS maleją odpowiednio o 4,1% i 0,2%.

Tabela 17

Efektywność procesu ultrafiltracji roztworów białek proteolitycznych (T=295 K)

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Współczynnik retencji suchej masy [%]	Stężenie suchej masy w retentacie [kg/m^3]	Ilość białka która, przeszła do filtratu [%]	Stężenie białka ogólnego w filtracie [kg/m^3]
	1	51,1	35,4	21,1	2,45
	2	51,8	35,8	20,3	2,35
0,5	3	52,4	36,3	19,1	2,22
	4	52,9	36,6	17,2	1,99
	1	50,9	35,2	25,9	3,00
	2	51,6	35,7	24,7	2,87
1,0	3	52,1	36,1	22,8	2,64
	4	52,5	36,3	21,7	2,52
	1	50,7	35,1	29,4	3,41
	2	51,4	35,6	27,8	3,22
1,5	3	51,9	35,9	26,2	3,04
	4	52,3	36,2	25,2	2,93
	1	50,6	35,0	32,2	3,74
	2	51,4	35,6	30,3	3,51
2,0	3	51,8	35,8	28,9	3,35
	4	52,3	36,1	28,2	3,27
	1	50,4	34,8	34,6	4,01
	2	51,1	35,4	32,7	3,79
2,5	3	51,6	35,7	31,3	3,63
	4	51,8	35,8	30,0	3,48
	1	50,4	34,9	37,0	4,29
	2	51,0	35,3	34,8	4,04
3,0	3	51,4	35,5	33,2	3,85
	4	51,6	35,7	31,3	3,61
	1	50,3	34,8	38,9	4,51
	2	50,9	35,2	36,9	4,28
3,5	3	51,3	35,5	34,8	4,04
	4	51,5	35,6	32,5	3,77
	1	50,1	34,7	40,8	4,73
	2	50,8	35,2	38,6	4,48
4,0	3	51,2	35,4	36,4	4,22
	4	51,4	35,6	33,4	3,87

Tabela 18

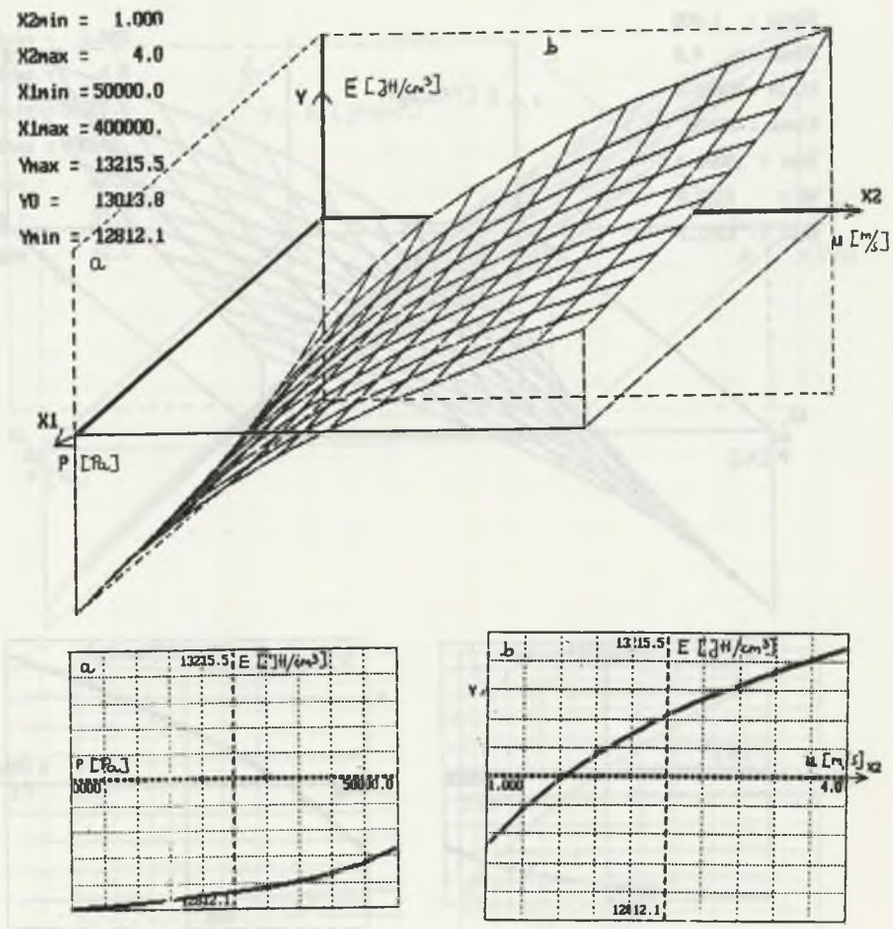
Efektywność procesu ultrafiltracji roztworów białek pektynolitycznych (295 K)

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Współczynnik retencji suchej masy [%]	Stężenie suchej masy w retentacie [kg/m^3]	Ilość białka która, przeszła do filtratu [%]	Stężenie białka ogólnego w filtracie [kg/m^3]
	1	52,9	45,1	21,3	3,20
	2	54,3	46,3	20,4	3,06
0,5	3	55,7	47,5	19,2	2,88
	4	57,4	48,9	18,3	2,75
	1	52,1	44,4	28,7	4,31
	2	53,4	45,5	27,4	4,11
1,0	3	54,8	46,7	25,1	3,77
	4	56,4	48,1	24,2	3,63
	1	51,3	43,0	32,3	4,85
	2	52,8	45,6	30,1	4,52
1,5	3	54,5	46,4	27,4	4,11
	4	55,4	47,2	26,5	3,98
	1	50,7	43,2	34,6	5,19
	2	52,4	44,6	31,4	4,71
2,0	3	54,2	46,2	28,5	4,28
	4	54,8	46,7	27,7	4,16
	1	50,1	42,7	36,4	5,46
	2	52,2	44,5	32,3	4,85
2,5	3	54,0	46,0	29,3	4,40
	4	54,5	46,4	28,5	4,28
	1	49,6	42,3	38,1	5,72
	2	52,1	44,4	32,6	4,89
3,0	3	53,8	45,8	29,6	4,44
	4	54,2	46,2	28,9	4,34
	1	49,2	41,9	39,4	5,91
	2	51,8	44,1	33,2	4,98
3,5	3	53,6	45,7	29,9	4,49
	4	54,0	46,0	29,4	4,41
	1	48,9	41,7	40,6	6,09
	2	51,7	44,0	33,5	5,03
4,0	3	53,5	45,6	30,0	4,50
	4	53,8	45,8	29,5	4,43

Tabela 19

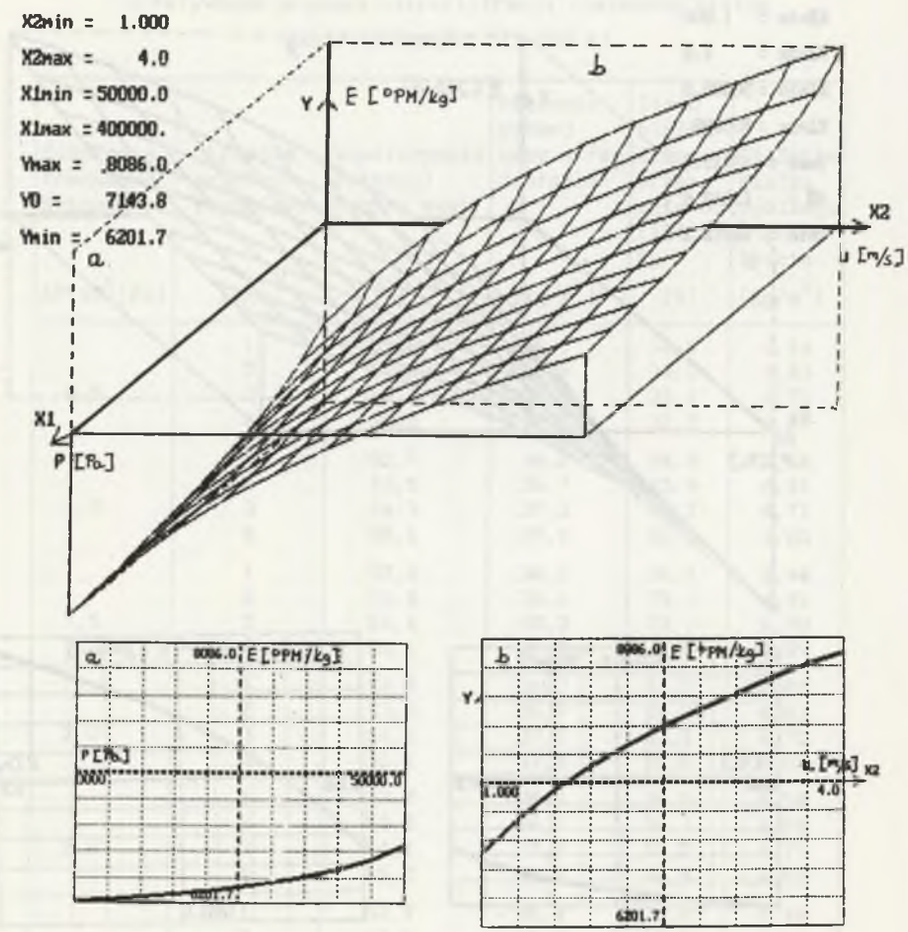
Efektywność procesu ultrafiltracji roztworów białek amylolitycznych (T=295 K)

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Współczynnik retencji suchej masy [%]	Stężenie suchej masy w retentacie [kg/m^3]	Ilość białka która, przeszła do filtratu [%]	Stężenie białka ogólnego w filtracie [kg/m^3]
	1	52,6	36,1	34,8	4,94
	2	53,4	36,6	34,0	4,83
0,5	3	54,2	37,2	33,1	4,70
	4	55,2	37,9	32,3	4,59
	1	52,7	36,2	34,8	4,94
	2	53,5	36,7	33,9	4,81
1,0	3	54,3	37,2	33,2	4,71
	4	55,1	37,8	32,4	4,60
	1	52,8	36,2	34,8	4,94
	2	53,4	36,6	33,9	4,81
1,5	3	54,4	37,3	33,1	4,70
	4	55,1	37,8	32,3	4,59
	1	52,9	36,3	34,7	4,93
	2	53,5	36,7	34,0	4,83
2,0	3	54,2	37,2	33,1	4,70
	4	55,1	37,8	32,5	4,62
	1	52,7	36,2	34,8	4,94
	2	53,5	36,7	34,1	4,84
2,5	3	54,2	37,2	33,2	4,71
	4	55,0	37,7	32,4	4,60
	1	52,7	36,2	34,8	4,94
	2	53,6	36,8	34,1	4,84
3,0	3	54,3	37,2	33,2	4,71
	4	55,2	37,9	32,3	4,59
	1	52,8	36,2	34,7	4,93
	2	53,5	36,7	34,0	4,83
3,5	3	54,4	37,3	33,1	4,70
	4	55,1	37,8	32,4	4,60
	1	52,8	36,2	34,7	4,93
	2	53,6	36,8	33,9	4,81
4,0	3	54,4	37,3	33,2	4,71
	4	55,0	37,7	32,3	4,59



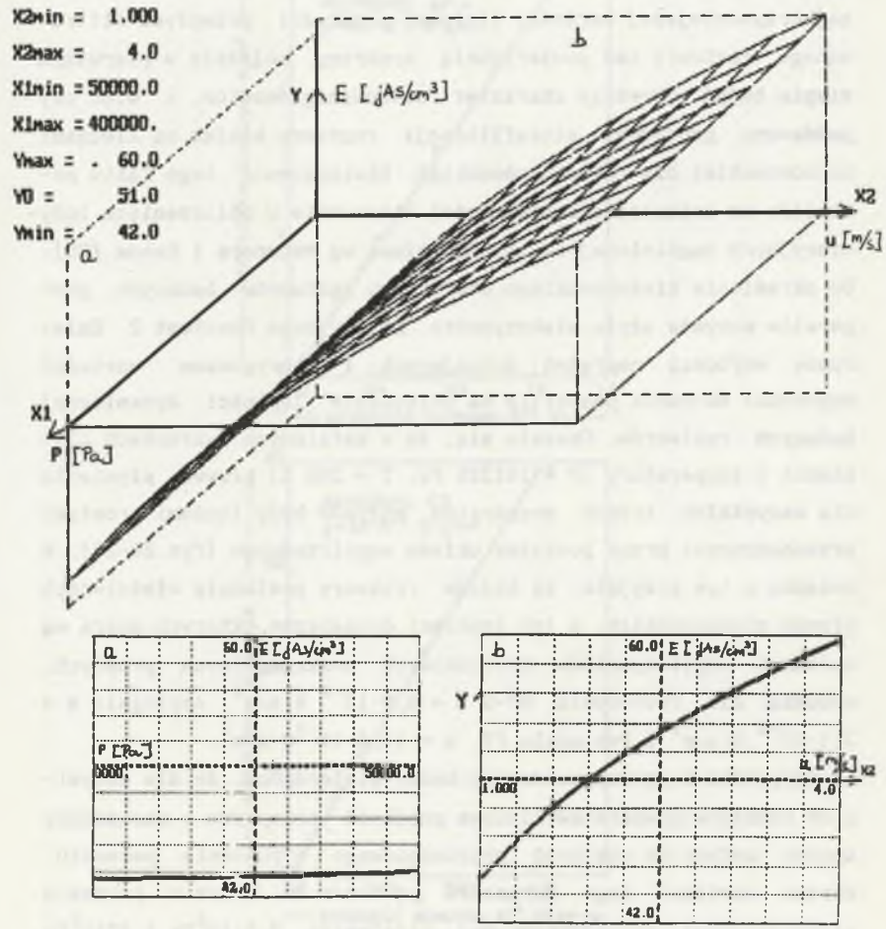
Rys. 23. Zależność aktywności proteolitycznej retentatu ultrafiltracyjnego od ciśnienia transmembranowego i liniowej prędkości przepływu

Fig. 23. Dependence of the proteolytic activity of the ultrafiltration retentate on the transmembrane pressure and cross - flow velocity



Rys. 24. Zależność aktywności pektynolitycznej retentatu ultrafiltracyjnego od ciśnienia transmembranowego i liniowej prędkości przepływu

Fig. 24. Dependence of the pectynolytic activity of the ultrafiltration retentate on the transmembrane pressure and cross - flow velocity



Rys. 25. Zależność aktywności amylolitycznej retentatu ultrafiltracyjnego od ciśnienia transmembranowego i liniowej prędkości przepływu

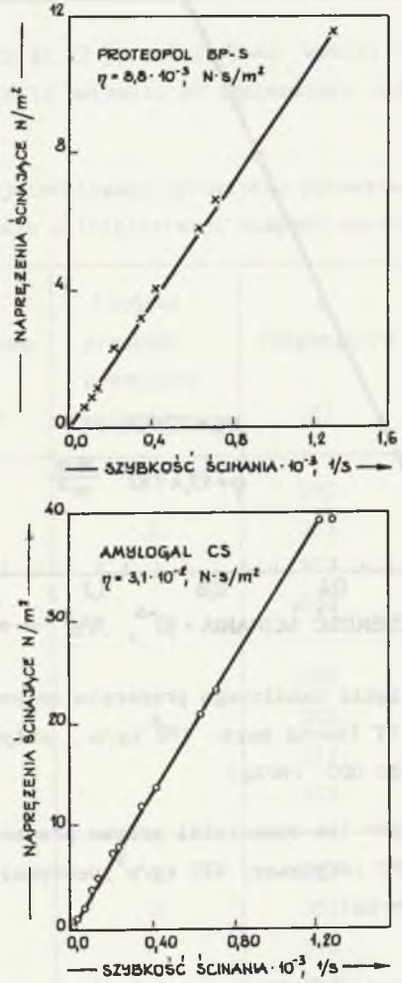
Fig. 25. Dependence of the amylolytic activity of the ultrafiltration retentate on the transmembrane pressure and cross - flow velocity

10.2. LINIOWA PRĘDKOŚĆ PRZEPŁYWU

Przed przystąpieniem do wyznaczania, dla omawianego procesu, najkorzystniejszej wartości liniowej prędkości przepływu filtrowanego roztworu nad powierzchnią membrany, należało w pierwszym etapie badań określić charakter filtrowanego medium, a więc czy poddawane procesowi ultrafiltracji roztwory białek są cieczami niutonowskimi czy nieniutonowskimi. Stwierdzenie tego faktu pozwoliło na uniknięcie konieczności stosowania w obliczeniach inżynieryjnych uogólnionej liczby Reynoldsa wg Metznera i Reeda [85]. Do określenia niutonowskiego charakteru roztworów badanych preparatów enzymów użyto wiskozymetru rotacyjnego Rheotest 2. Zmierzone wartości naprężeń ścinających i skorygowane wartości szybkości ścinania pozwoliły na obliczenie lepkości dynamicznej badanych roztworów. Okazało się, że w ustalonych warunkach ciśnienia i temperatury (P = 101325 Pa, T = 298 K) krzywe płynięcia dla wszystkich trzech preparatów enzymów były liniami prostymi przechodzącymi przez początek układu współrzędnych (rys.26-27). W związku z tym przyjęto, że badane roztwory posiadały właściwości płynów niutonowskich, a ich lepkości dynamiczne, których miarą są wartości współczynników kierunkowych poszczególnych prostych, wynoszą: dla Proteopolu BP-S $\eta = 8,8 \cdot 10^{-3}$ N·s/m^2, Amylogalu $\eta = 3,1 \cdot 10^{-2}$ N·s/m^2 i Pektopolu PT $\eta = 13,4 \cdot 10^{-3}$N·s/m^2.

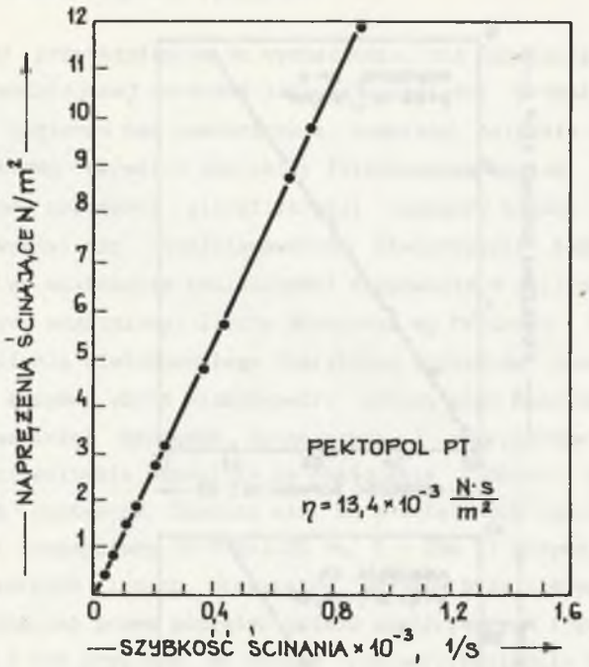
Na podstawie przeprowadzonch badań stwierdzono, że dla wszystkich rodzajów preparatów liniowa prędkość przepływu w zasadniczy sposób wpływa na wielkość objętościowego strumienia permeatu. Wzrost wartości tego parametru od 1 m/s do 4 m/s w procesie ultrafiltracji prowadzonym pod ciśnieniem $0,5 \cdot 10^5$Pa i $4 * 10^5$Pa przyczynił się do wzrostu strumienia permeatu odpowiednio: dla enzymów proteolitycznych 1,3 razy i 1,9 razy, dla enzymów pektynolitycznych 1,6 razy i 2,7 razy, a dla białek amylolitycznych 2,7 razy.

W przypadku ultrafiltracji enzymów proteolitycznych i pektynolitycznych dla liniowej prędkości przepływu 3 m/s i 4 m/s wielkości objętościowych strumieni permeatu w całym zakresie badanych ciśnień są do siebie zbliżone (rys.19) i różnią się między sobą poniżej 5%.



Rys.26. Krzywe płynięcia handlowych preparatów enzymów:
- Proteopol BP-S (sucha masa: 380 kg/m^3, aktywność proteolityczna: 120 000 JH/cm^3)
- Amylogal CS (sucha masa: 342,4 kg/m^3, aktywność amylolityczna: 240 jAs/cm^3).

Fig.26. Flow curves for the commercial enzyme preparations:
- Proteopol BP-S (dry mass: 380 kg/m^3, proteolytic activity: 120 000 JH/cm^3)
- Amylogal CS (dry mass: 342,4 kg/m^3, amylolytic activity: 240 jAS/cm^3).



Rys. 27 Krzywa płynięcia handlowego preparatu enzymów:
- Pektopol PT (sucha masa: 470 kg/m , aktywność pektynolityczna: 40 000 PM/kg).

Fig. 27. Flow curve for the commercial enzyme preparation:
- Pektopol PT (dry mass: 470 kg/m^3, pectynolytic activity: 40 000 ^{0}PM/kg)

Stwierdzono również, że liniowa prędkość przepływu wpływa na wielkość aktywności enzymatycznych otrzymywanych retentatów ultrafiltracyjnych (rys. 23-25). Przy ciśnieniu równego $0,5*10^5$Pa i zakresie liniowych prędkości przepływu od 1 m/s do 4 m/s, dla enzymów proteolitycznych aktywność proteolityczna rośnie o 1,4%, natomiast dla ciśnienia $4*10^5$Pa i tego samego przedziału liniowych prędkości przepływu o 2,6%. W przypadku enzymów pektynolitycznych, w tych samych warunkach, rośnie odpowiednio o 14,7% i 28,3%. W procesie ultrafiltracji enzymów amylolitycznych zależność ta jest najwyraźniejsza, ponieważ w tych samych warunkach prowadzenia procesu aktywność amylolityczna retentatu rośnie odpowiednio o 33,5% i 39,0%.

10.3. TEMPERATURA

W tabelach 20,21,22 przedstawiono wyniki zależności objętościowego strumienia permeatu od temperatury zmienianej w zakresie

Tabela 20

Zależność objętościowego strumienia permeatu od temperatury w procesie ultrafiltracji enzymów amylolitycznych

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Temperatura [K]	Objętościowy strumień permeatu J_v*10^{-5} [m/s]
2	2	295	0,372
		303	0,482
		313	0,687
		323	0,899
	4	295	0,595
		303	0,748
		313	1,12
		323	1,68
4	2	295	0,378
		303	0,504
		313	0,719
		323	0,948
	4	295	0,599
		303	0,835
		313	1,23
		323	1,74

od 293 K do 323 K, przy różnych wartościach ciśnień transmembranowych i liniowych prędkości przepływu. Tak jak się spodziewano, z podwyższaniem temperatury rósł objętościowy strumień permeatu. W procesie ultrafiltracji roztworów enzymów proteolitycznych w

Tabela 21

Zależność objętościowego strumienia permeatu od temperatury w procesie ultrafiltracji enzymów proteolitycznych

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Temperatura [K]	Objętościowy strumień permeatu J_v*10^{-5} [m/s]
2	2	295	0,860
		303	1,11
		313	1,31
	3	295	1,03
		303	1,21
		313	1,42
3	4	295	1,39
		303	1,62
		313	1,87
		323	2,12
4	2	295	1,14
		303	1,39
		313	1,68
	3	295	1,43
		303	1,80
		313	2,16

temperaturze 323 K, pod ciśnieniem $3*10^5$ Pa i przy liniowej prędkości przepływu 4 m/s, w porównaniu z temperaturą 295 K zaobserwowano 1,5-krotne zwiększenie wielkości strumienia permeatu. W procesie ultrafiltracji roztworu enzymów pektynolitycznych prowadzonym w tych samych warunkach wartość ta wzrosła 1,7-krotnie, natomiast w procesie filtracji enzymów amylolitycznych pod ciśnieniem $2*10^5$Pa, przy liniowej prędkości przepływu 4 m/s i w

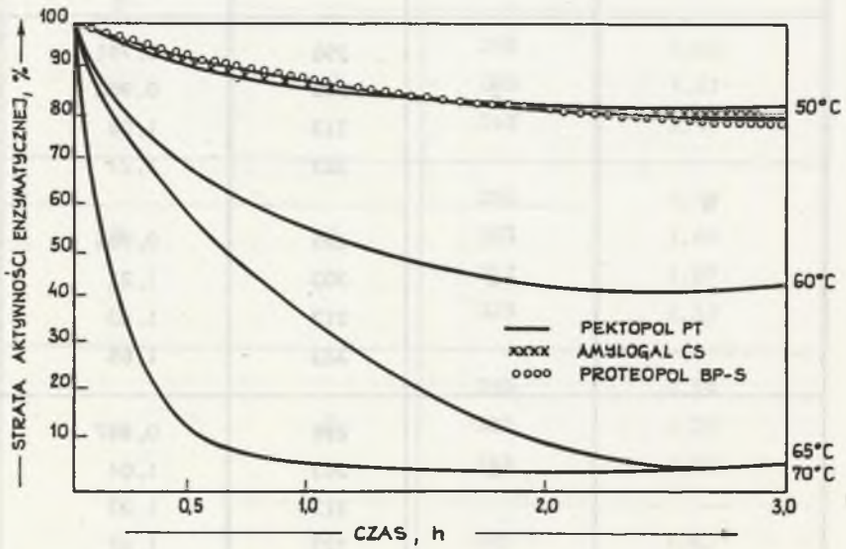
Tabela 22

Zależność objętościowego strumienia permeatu od temperatury w procesie ultrafiltracji enzymów pektynolitycznych

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Temperatura [K]	Objętościowy strumień permeatu J_v*10^{-5} [m/s]
2	4	295	0,792
		303	0,981
		313	1,16
		323	1,34
3	2	295	0,791
		303	0,952
		313	1,08
		323	1,27
	4	295	0,984
		303	1,21
		313	1,43
		323	1,65
4	2	295	0,887
		303	1,04
		313	1,23
		323	1,42
	4	295	1,07
		303	1,28
		313	1,59
		323	1,73

temeperaturze 323 K wzrosła w porównaniu z temperaturą 295 K 2,8 razy. Nasuwa się zatem przypuszczenie, że wskazane byłoby prowadzenie procesu ultrafiltracji roztworów białek aktywnych w wyż-

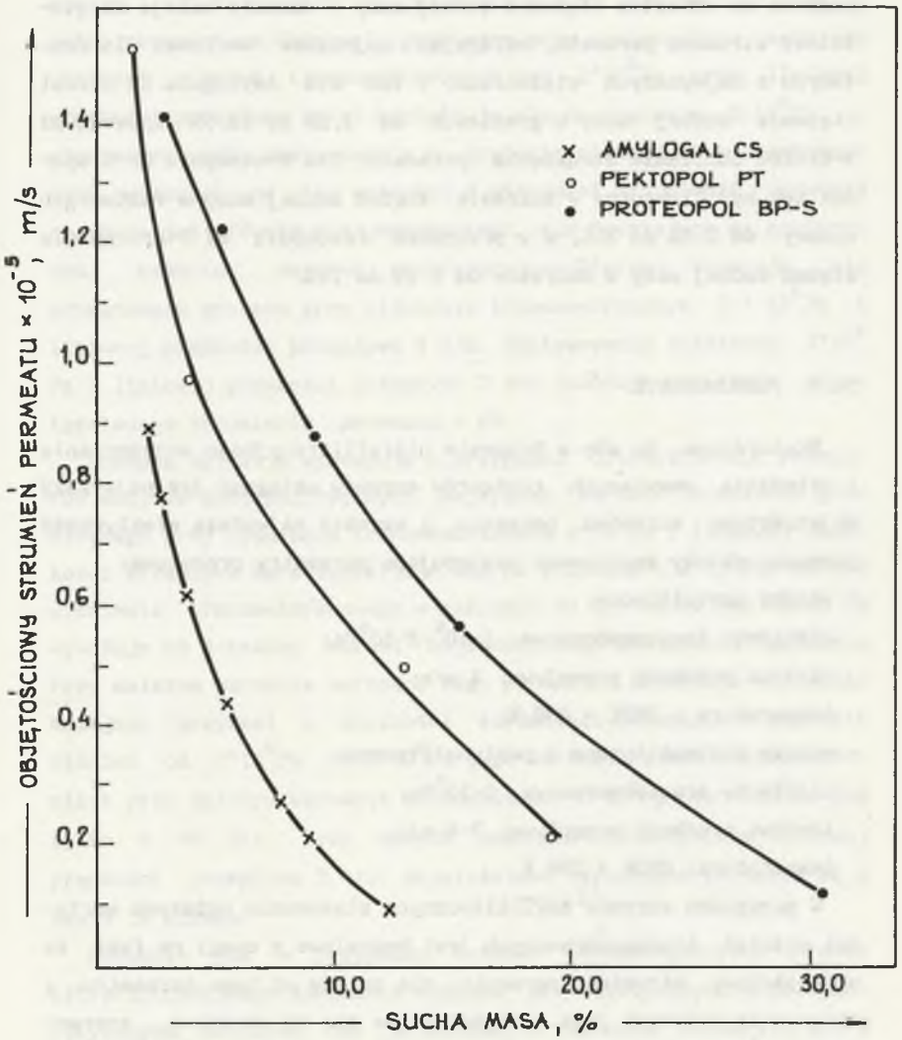
szych temperaturach. Jednak jak wynika z rys. 28, obserwuje się wyraźną zależność termostabilności enzymów od temperatury i czasu ogrzewania. W miarę wzrostu tych wielkości (po 3 h w temperaturze 323 K) maleją aktywności enzymatyczne wszystkich preparatów, przy czym ich spadek procentowy jest zbliżony i wynosi około 20% (Amylogal CS - 21%, Proteopol BP-S - 22% i Pektopol PT - 19%). W związku z tym sugeruje się prowadzenie procesu ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania omawianych roztworów enzymów w zakresie temperatur 293-298 K, ponieważ spadek aktywności enzymatycznej nawet po 3 h termostatowania był w tych warunkach niezauważalny.



Rys. 28. Zależność aktywności enzymów od temperatury i czasu ich ogrzewania

Fig. 28. Dependence of the enzyme activities on the time of heating and the temperature

10.4 STĘŻENIE NADAWY



Rys. 29. Wpływ stężenia suchej masy preparatów enzymów na objętościowy strumień permeatu

Fig. 29. Effect of the dry mass of the enzymic preparation on the volumetric permeate flux

W kolejnym etapie badań określono wpływ stężenia suchej masy poszczególnych roztworów enzymów poddawanych ultrafiltracji na wydajność procesu. Stwierdzono (rys. 29), że we wszystkich przypadkach ze wzrostem stężenia suchej masy w nadawie maleje objętościowy strumień permeatu, osiągając najniższe wartości dla roztworów o najwyższych stężeniach. I tak dla Amylogalu CS wzrost stężenia suchej masy w granicach od 2,2% do 12,5% spowodował 9-krotne obniżenie strumienia permeatu. Dla Proteopolu BP-S spadek ten był 11-krotny w zakresie stężeń suchej masy w roztworach nadawy od 2.8% do 31%, a w przypadku Pektopolu PT 7-krotny dla stężeń suchej masy w zakresie od 1.5% do 19%.

10.5. PODSUMOWANIE

Stwierdzono, że aby w procesie ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania omawianych roztworów enzymów osiągnąć jak najwyższy objętościowy strumień permeatu i uzyskać najwyższą efektywność procesu, należy zastosować następujące parametry procesowe:

- enzymy amylolityczne:
  ciśnienie transmembranowe: $1 \cdot 10^5$-$2 \cdot 10^5$Pa;
  liniowa prędkość przepływu: 4 m/s;
  temperatura : 293K - 298 K;
- enzymy proteolityczne i pektynolityczne:
  ciśnienie transmembranowe: $3 \cdot 10^5$Pa;
  liniowa prędkość przepływu: 3-4 m/s;
  temperatura: 293K - 298 K.

W przypadku enzymów amylolitycznych stosowanie wyższych wartości ciśnień transmembranowych jest bezcelowe z uwagi na fakt, że objętościowy strumień permeatu nie zależy od tego parametru, a stosowanie wyższych jego wartości wiąże się ze wzrostem energochłonności procesu. Z uwagi na niską termostabilność enzymów proponuje się prowadzenie procesu zatężania w zakresie temperatur 293-298 K.

Wzrost ciśnienia transmembranowego w przypadku enzymów proteolitycznych w zakresie ciśnień $0,5 \cdot 10^5$ Pa - $4 \cdot 10^5$ Pa, dla liniowej prędkości przepływu 4 m/s powoduje wprawdzie 3,3-krotny wzrost objętościowego strumienia permeatu, jednak najbardziej jego wartość wzrasta do $2*10^5$Pa (od $0,5*10^5$Pa do $2*10^5$Pa - 2,5 razy),

natomiast dalszy wzrost ciśnienia wywołuje już jego mniejsze zmiany. I tak dla ciśnienia w przedziale od $2 \cdot 10$ Pa do $3 \cdot 10$ Pa objętościowy strumień permeatu rośnie o 23%, podczas gdy w zakresie od $3 \cdot 10^5$ Pa do $4*10^5$ Pa już tylko o 6,5%. Zjawisko to jest w pełni uzasadnione. Ciśnienie graniczne przy zastosowaniu wyższych wartości ciśnień transmembranowych (od $2*10^5$Pa przy liniowej prędkości przepływu 4m/s) kształtuje się na poziomie $2 \cdot 10^5$Pa, a więc w przypadku zastosowania w procesie ciśnień transmembranowych wyższych od tej wartości o wielkości strumienia permeatu decyduje już głównie nie jego wartość, ale powstająca na powierzchni membrany warstwa polaryzacyjna. Dlatego sugeruje się prowadzenie procesu przy ciśnieniu transmembranowym $3 * 10^5$Pa i liniowej prędkości przepływu 4 m/s. Zastosowanie ciśnienia $3*10^5$ Pa i liniowej prędkości przepływu 3 m/s powoduje obniżenie objętościowego strumienia permeatu o 6%.

Podobna sytuacja występuje w przypadku ultrafiltracji roztworów enzymów pektynolitycznych. Najwyższa wartość ciśnienia granicznego przy ciśnieniu transmembranowym $4*10^5$Pa i liniowej prędkości przepływu 4m/s kształtuje się na poziomie $1,2 \cdot 10^5$Pa. Wzrost ciśnienia transmembranowego w zakresie od 0,5*10 Pa do 2*10 Pa wywołuje aż 2-krotny wzrost objętościowego strumienia permeatu. Przy dalszym wzroście wartości tego parametru obserwuje się coraz mniejszy przyrost w wielkości strumienia permeatu. W zakresie ciśnień od $2*10^5$Pa do $3*10^5$Pa jego wartość rośnie o 24%, natomiast przy dalszym wzroście ciśnienia od $3*10^5$Pa do $4*10^5$Pa już tylko o 9%. Dla tych samych zakresów ciśnień, przy liniowej prędkości przepływu 3 m/s, objętościowe strumienie permeatu są o około 1% niższe.

Podobnie jak w przypadku enzymów amylolitycznych, proces ultrafiltracyjnego zatężania enzymów proteolitycznych i pektynolitycznych powinien być prowadzony w zakresie temperatur 293 K -298 K ze względu na ich niską termostabilność.

Omawiane parametry procesowe wpływają również na aktywność enzymatyczną otrzymywanych retentatów ultrafiltracyjnych. Wzrost ciśnienia transmembranowego w zakresie od $0,5 \cdot 10^5$Pa do $4 \cdot 10^5$Pa w procesie ultrafiltracji wszystkich roztworów białek aktywnych, przy liniowej prędkości przepływu 4 m/s, w niewielkim stopniu wpływa na zmianę aktywności enzymatycznych retentatów wywołując ich straty poniżej 1,5%. Natomiast wzrost ciśnienia transmem-

branowego w tym samym zakresie wartości, jednak dla liniowej prędkości przepływu 1 m/s powoduje znacznie wyższe jej straty. O ile dla enzymów proteolitycznych aktywność enzymatyczna retentatu maleje wówczas o 1,8%, to już dla enzymów pektynolitycznych straty kształtują się na poziomie 11,8%, a dla ezymów amylolitycznych wynoszą 4,1%.

Zaobserwowano również znaczną zależność spadku aktywności enzymatycznej badanych preparatów od temepratury. Termostatowanie ich w ciągu 3 h w termperaturze 323 K powoduje straty aktywności wszystkich retentatów ultrafiltarcyjnych o około 20%.

11. ULTRAFILTRACYJNE ZATĘŻANIE ROZTWORÓW ENZYMÓW

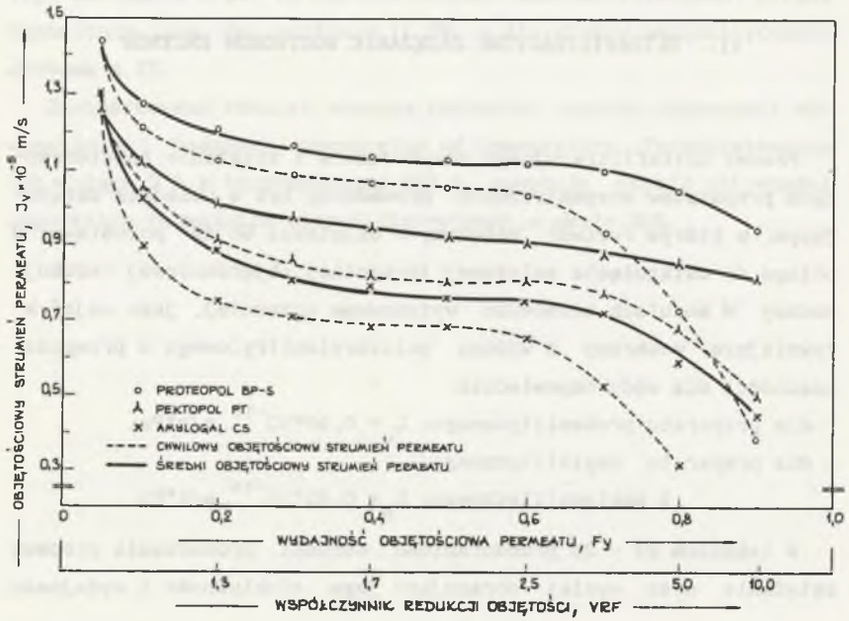
Proces ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania rozcieńczonych preparatów enzymatycznych prowadzony był w układzie zatężającym, w którym roztwór zatężany o objętości 60 dm^3 pozostawał w obiegu do osiągnięcia założonej 10-krotnej objętościowej redukcji nadawy. W modułach stosowano wytypowane wcześniej, jako najefektywniejsze, membrany z włókna poliakrylonitrylowego o przepuszczalności dla wody odpowiednio:

- dla preparatu proteolitycznego: $L_w = 0,69*10^{-10}$ m/s*Pa,
- dla preparatu amylolitycznego i pektynolitycznego: $L_w = 0.83*10^{-10}$ m/s*Pa.

W tabelach 23 - 25 przedstawiono warunki prowadzenia procesu zatężania oraz wyniki obrazujące jego efektywność i wydajność.

11.1. OBJĘTOŚCIOWY STRUMIEŃ PERMEATU

W przypadku wszystkich preparatów, w procesie ultrafiltracyjnego ich zatężania maleje strumień permeatu, przy czym w początkowym etapie filtracji dla Proteopolu BP-S i Pektopolu PT spadek ten nie jest znaczny (rys. 30). Dla preparatu Proteopol BP-S średni objętościowy strumień permeatu wynosił $1,34 \cdot 10^{-5}$ m/s i zmniejszył się o 5,6% w porównaniu z wartością początkową ($1,42 \cdot 10^{-5}$ m/s), przy 10-krotnym współczynniku redukcji objętości. Dla preparatu Pektopol PT spadek wartości średniego objętościowego strumienia permeatu, przy 10-krotnym współczynniku redukcji objętości, wynosił 39,1%, a jego średnia wartość wynosiła $0,799*10^5$ m/s. Największy spadek objętościowego strumienia permeatu zaobserwowano w procesie zatężania Amylogalu CS. Jego wartość przy 10-krotnym współczynniku redukcji objętości maleje 3,7 razy, a jego wartość średnia wynosiła $0,350 * 10^{-5}$ m/s. Szczególnie duży spadek J_v obserwuje się w początkowym i końcowym okresie fil-



Rys. 30. Zależność objętościowego strumienia permeatu od wydajności objętościowej permeatu (stosunek objętości permeatu do objętości roztworu zasilającego) i współczynnika redukcji objętości (stosunek początkowej objętości nadawy do wypadkowej objętości retentatu) w procesie ultrafiltracyjnego zatężania roztworów enzymów

Fig. 30. Dependence of the volumetric permeate flux on the flow yield (ratio between the volume of permeate to the volume of feed) and volume reduction factor (ratio between the initial feed volume and the volume of the resulting retentate) during the ultrafiltration concentration of the enzymic solutions

tracji. Dla współczynnika redukcji objętości (VRF) wynoszącego 1,1 strumień permeatu był o 23% niższy w porównaniu z jego wartością początkową, natomiast dalszy spadek wydajności procesu przedstawiał się następująco:

VRF = 1,1 - 2,0	spadek	J_v = 23,2%
VRF = 2,0 - 2,5	spadek	J_v = 4,5%
VRF = 2,5 - 3,3	spadek	J_v = 7,6%
VRF = 3,3 - 5,0	spadek	I_v = 17,0%
VRF = 5,0 -10,0	spadek	I_v = 36,7%

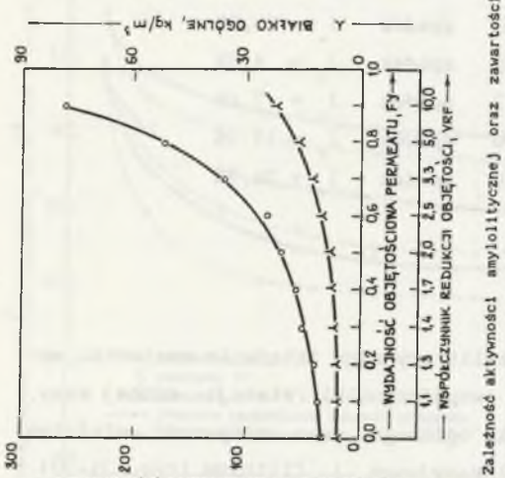
11.2. WSPÓŁCZYNNIK RETENCJI

Efektywność procesu ultrafiltracyjnego zatężania roztworów enzymów oceniano, wyznaczając współczynniki retencji: suchej masy, związków mineralnych i białka ogólnego oraz aktywność właściwą i ogólną retentatu ultrafiltracyjnego i filtratu (rys. 31-33). Dla produktu końcowego obliczono współczynnik wzrostu aktywności oraz ogólny wskaźnik oczyszczania enzymów (tabl. 23-25).

Dla wszystkich rodzajów roztworów białek aktywnych obserwuje się gwałtowny wzrost wartości współczynników retencji od momentu dwukrotnego zatężenia nadawy.

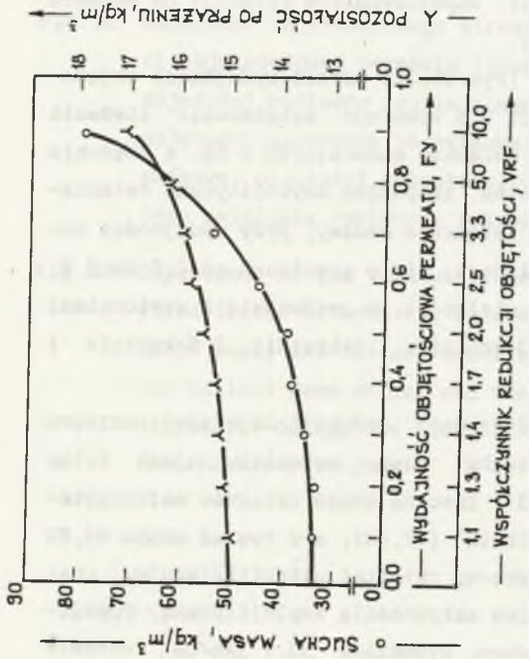
W przypadku Amylogalu CS (rys. 31,32) wzrost wydajności objętościowej permeatu do wartości 0,5 wywołuje zwiększenie stężenia suchej masy o 11%, stężenia związków mineralnych o 5%, a stężenia białka ogólnego o 23,6%. Ogólna aktywność amylolityczna retentatu wzrosła 1,8 razy. Dalsze zatężanie nadawy, przy wydajności objętościowej permeatu zmieniającej się w granicach od 0,5 do 0,9, powoduje dalszy wzrost tych wielkości, w porównaniu z wartościami początkowymi odpowiednio 2,3-krotnie, 1,1-krotnie, 2,5-krotnie i 3,7-krotnie.

Okazało się, że pomimo 10-krotnej redukcji objętości roztworu białek amylolitycznych, sucha masa retentatu jest tylko 2-krotnie większa (tabl. 23). Znaczna część związków małocząsteczkowych przeszła do filtratu (77,4%), a w tym aż około 88,5% związków mineralnych. Oczyszczony retentat ultrafiltracyjny charakteryzował się wysoką ogólną aktywnością amylolityczną. Początkowa ogólna aktywność nadawy, wynosząca 33,7 jAs/cm^3, wzrosła dla retentatu do 261 jAs/cm^3, a więc 7,7 razy, podczas gdy jej



Rys.32. Zależność aktywności amylolitycznej oraz zawartości białka ogólnego w retentacie ultrafiltracyjnym od wydajności objętościowej permeatu (stosunek objętości permeatu do objętości roztworu zasilającego) i współczynnika redukcji objętości (stosunek początkowej objętości nadawy do wypadkowej objętości retentatu)

Fig.32. Dependence of the amylolytic activity of total protein contents in ultrafiltration retentate on the flow yield (ratio between the volume of permeate to the volume of feed) and volume reduction factor (ratio between the initial feed volume and the volume of the resulting retentate)



Rys.31. Zależność zawartości suchej masy oraz pozostałości po prażeniu w retentacie ultrafiltracyjnym od wydajności objętościowej permeatu (stosunek objętości permeatu do objętości roztworu zasilającego) i współczynnika redukcji objętości (stosunek początkowej objętości nadawy do wypadkowej objętości retentatu)

Fig.31. Dependence of the dry mass and residue after iquition contents ultrafiltration retentate on the flow yield (ratio between the volume of permeate to the volume of feed) and volume reduction factor (ratio between the initial feed volume and the volume of the resulting retentate)

Tabela 23

Utrafiltracyjne zatężanie preparatu amylolitycznego Amylogal CS (przepuszczalność membrany na wodę: $0.83*10^{-10}$ m/s*Pa, ciśnienie transmembranowe: $2*10^{5}$ Pa, liniowa prędkość przepływu: 4m/s, temperatura 295 K, współczynnik redukcji objętości: 10[1)], średni objętościowy strumień permeatu: $0.35*10^{-5}$ m/s

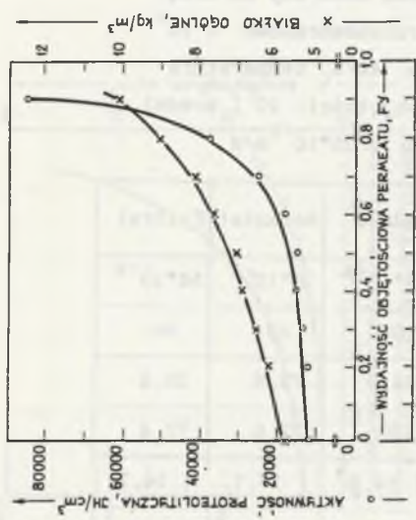
Oznaczenie		Nadawa	Retentat	Filtrat
Objętość frakcji	m^3	$60*10^{-3}$	$6*10^{-3}$	$54*10^{-3}$
	udział %	100	10	90
Sucha masa	kg/m^3	34,9	78,8	30,0
	udział %	100	22,6	77,4
Związki mineralne	kg/m^3	14,9	17,1	14,7
	udział %	100	11,5	88,5
Białko ogólne	kg/m^3	7,2	22,0	4.5
	udział %	100	30,6	56,3
Aktywność amylolityczna	jAs/cm^3	33,7	261	0,14
	udział %	100	77,4	0.37
Aktywność właściwa	jAs/mg białka	4,7	11,9	0,03
Współczynnik wzrostu aktywności[2)]		7,7		
Ogólny wskaźnik oczyszczania enzymów[3)]		2,5		

1.) Współczynnik redukcji objętości - stosunek początkowej objętości nadawy do wypadkowej objętości retentatu.

2) Współczynnik wzrostu aktywności - stosunek aktywności amylolitycznej retentatu do aktywności amylolitycznej nadawy.

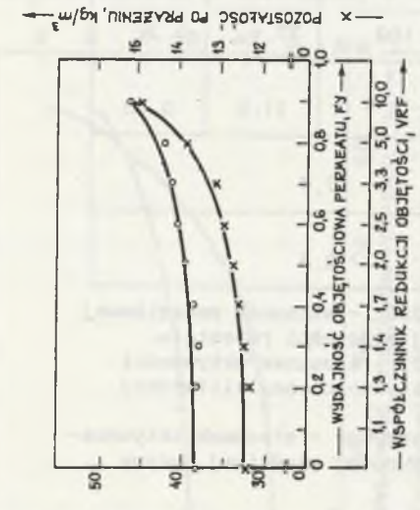
3) Ogólny wskaźnik oczyszczania enzymów - stosunek aktywności właściwej retentatu do aktywności właściwej nadawy.

straty wynosiły 22%. Aktywność właściwa retentatu wzrosła 2,5-krotnie, współczynnik wzrostu aktywności wynosił 7,7, a ogólny wskaźnik oczyszczania enzymów kształtował się na poziomie 2,5. Wzrost wydajności objętościowej permeatu do 0,5 , w przypadku



Rys. 34. Zależność aktywności proteolitycznej oraz zawartości białka ogólnego w retentacie ultrafiltracyjnym od wydajności objętościowej permeatu (stosunek objętości permeatu do objętości roztworu zasilającego) i współczynnika redukcji objętości (stosunek początkowej objętości nadawy do wypadkowej objętości retetatu)

Fig. 34. Dependence of the proteolytic activity of total protein in ultrafiltration retentate on the flow yield (ratio between the volume of permeate to the volume of feed) and volume reduction factor (ratio between the initial feed volume and the volume of the resulting retentate)



Rys. 33. Zależność zawartości suchej masy oraz pozostałości po prażeniu w retentacie ultrafiltracyjnym od wydajności objętościowej permeatu (stosunek objętości permeatu do objętości roztworu zasilającego) i współczynnika redukcji objętości (stosunek początkowej objętości nadawy do wypadkowej objętości retentatu)

Fig. 33. Dependence of the dry mass and residue after iquition contents ultrafiltration retentate on the flow yield (ratio between the volume of permeate to the volume of feed) and volume reduction factor (ratio between the initial feed volume and the volume of the resulting retentate)

zatężania preparatu enzymów proteolitycznych Proteopol BP-S (rys. 33,34), wywołuje zwiększenie stężenia suchej masy w retentacie ultrafiltracyjnym o 2,4%, stężenia związków mineralnych o 2,3%, stężenia białka ogólnego o 20,3% oraz ogólnej aktywności proteolitycznej o 5,6%. Dalsze zatężenie nadawy przy wydajności objętościowej permeatu zmieniającej się w granicach od 0,5 do 0,9 prowadzi do wzrostu tych wartości odpowiednio: stężenia suchej masy o 17,1%, stężenia związków mineralnych o 18%, stężenia białka ogólnego o 43,7%, a ogólnej aktywności proteolitycznej 5,7 razy. I w tym przypadku 10-krotna redukcja nadawy roztworu proteolitycznego powoduje tylko 1,2-krotny wzrost suchej masy retentatu (tabl. 24). Do filtratu przechodzi 88,0% substancji małocząsteczkowych, w tym 87,9% związków mineralnych. Otrzymany retentant ultrafiltracyjny cechuje się 7-krotnie wyższą ogólną aktywnością proteolityczną w porównaniu z roztworem wyjściowym, a jej straty wynoszą 23,4%. Aktywność właściwa retentatu wzrosła 4-krotnie, współczynnik wzrostu aktywności kształtował się na poziomie 6,9, a ogólny wskaźnik oczyszczania enzymów wynosił 4.

Natomiast 10-krotna redukcja objętości nadawy enzymów pektynolitycznych wywołuje również niewielki 1,8-krotny wzrost suchej masy retentatu (tabl. 25). W tym przypadku do filtratu przechodzi ponad 80% małocząsteczkowych substancji rozpuszczonych i związków mineralnych (81,9%; 87,3%). Otrzymany retentat posiada 7,1 razy wyższą ogólną aktywność pektynolityczną w porównaniu z aktywnością nadawy, a jej straty wynoszą 26,5%. Aktywność właściwa retentatu wzrasta 3,3-krotnie, współczynnik wzrostu aktywności wynosi 7,1, a ogólny wskaźnik oczyszczania enzymów 3,3. Tak jak w przypadku omówionych już wcześniej preparatów enzymatycznych w procesie zatężania Pektopolu PT, wzrost wydajności objętościowej permeatu do 0,5 wywołuje niewielki wzrost wartości wielkości określających efektywność procesu (rys. 35,36). Stężenie suchej masy w retentacie rośnie tylko o 13,2%, stężenie związków mineralnych o 1,8%, stężenie białka ogólnego o 31,4%, a ogólna aktywność pektynolityczna 1,9 razy. Dalsze zatężenia nadawy od 0,5 do 0,9 wydajności objętościowej permeatu prowadzi do wzrostu stężenia suchej masy o 60,3%, stężenia związków mineralnych o 24,8%, stężenia białka ogólnego o 58,7%, a ogólnej aktywności pektynolitycznej aż 5,8 razy. Reasumując omawianie przedstawionych wyników można stwierdzić, że

Tabela 24

Ultrafiltracyjne zatężanie preparatu proteolitycznego Proteopol BP-S (przepuszczalność membrany na wodę: $0.69*10^{-10}$ m/s*Pa, ciśnienie transmembranowe: $3*10^{5}$Pa, liniowa prędkość przepływu: 4 m/s, temperatura: 295 K, współczynnik redukcji objętości: 10[1], sredni objętościowy strumień permeatu: $1.34*10^{-5}$m/s

Oznaczenie		Nadawa	Retentat	Filtrat
Objętość frakcji	m^3	$60*10^{-3}$	$6*10^{-3}$	$54*10^{-3}$
	udział %	100	10	90
Sucha masa	kg/m^3	38,8	46,5	37,9
	udział %	100	12,0	88,0
Związki mineralne	kg/m^3	12,5	15,1	12,2
	udział %	100	12,1	87,9
Białko ogólne	kg/m^3	5,9	10,2	4,6
	udział %	100	17,3	70,2
Aktywność proteolityczna	JH/cm^3	12404	85959	1006
	udział %	100	69,3	7,3
Aktywność właściwa	JH/mg białka	2102	8427	368
Współczynnik wzrostu aktywności[2]		6,9		
Ogólny wskaźnik oczyszczania enzymów[3]		4,0		

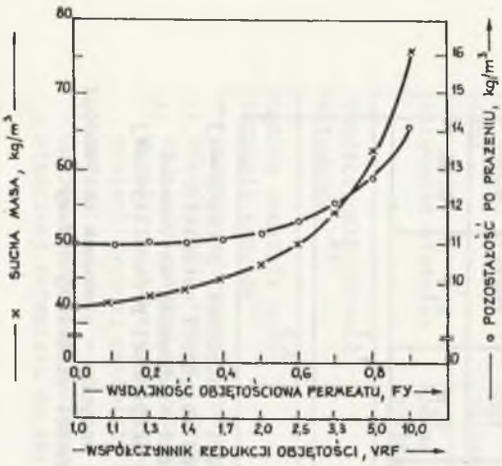
1) Współczynnik redukcji objętości - stosunek początkowej objętości nadawy do wypadkowej objętości retentatu.
2) Współczynnik wzrostu aktywności - stosunek aktywności proteolitycznej retentatu do aktywności proteolitycznej nadawy.
3) Ogólny wskaźnik oczyszczania enzymów - stosunek aktywności właściwej retentatu do aktywności właściwej nadawy.

Tabela 25

Ultrafiltracyjne zatężanie preparatu pektynolitycznego Pektopol PT (przepuszczalność membrany na wodę: $0.83*10^{-10}$ m/s*Pa, ciśnienie transmembranowe: $3*10^{5}$Pa, liniowa prędkość przepływu: 4 m/s, temperatura: 295 K, współczynnik redukcji objętości: 10[1], średni objętościowy strumień permeatu: $0,799*10^{-5}$m/s

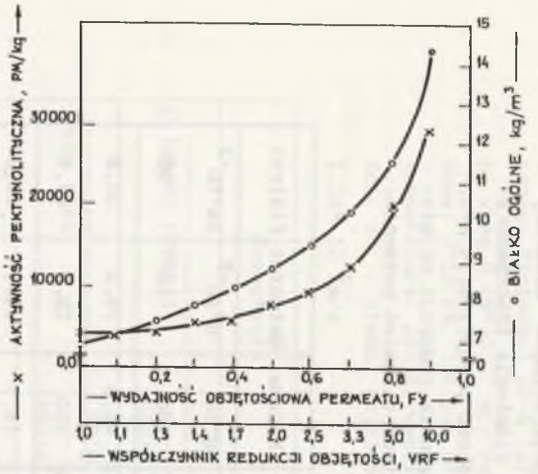
Oznaczenie		Nadawa	Retentat	Filtrat
Objętość frakcji	m^3	$60*10^{-3}$	$6*10^{-3}$	$54*10^{-3}$
	udział %	100	10	90
Sucha masa	kg/m^3	41,6	75,5	37,8
	udział %	100	18,0	81,9
Związki mineralne	kg/m^3	11,1	14,1	10,8
	udział %	100	12,7	87,3
Białko ogólne	kg/m^3	7,0	14,6	5,4
	udział %	100	20,9	83,6
Aktywność pektynolityczna	^{o}PM	4159	29574	108
	udział %	100	71,2	2,3
Aktywność właściwa	^{o}PM/mg białka	0,6	2,0	0,02
Współczynnik wzrostu aktywności[2]		7,1		
Ogólny wskaźnik oczyszczania enzymów[3]		3,3		

1) Współczynnik redukcji objętości - stosunek początkowej objętości nadawy do wypadkowej objętości retentatu.
2) Współczynnik wzrostu aktywności - stosunek aktywności proteolitycznej retentatu do aktywności proteolitycznej nadawy.
3) Ogólny wskaźnik oczyszczania enzymów - stosunek aktywności właściwej retentatu do aktywności właściwej nadawy.



Rys. 35. Zależność zawartości suchej masy oraz pozostałości po prażeniu w retentacie ultrafiltracyjnym od wydajności objętościowej permeatu (stosunek objętości permeatu do objętości roztworu zasilającego) i współczynnika redukcji objętości (stosunek początkowej objętości nadawy do wypadkowej objętości retentatu)

Fig. 35. Dependence of the dry mass and residue after iquition contents ultrafiltration retentate on the flow yield (ratio between the volume of permeate to the volume of feed) and volume reduction factor (ratio between the initial feed volume and the volume of the resulting retentate)



Rys. 36. Zależność aktywności pektynolitycznej oraz zawartości białka ogólnego w retentacie ultrafiltracyjnym od wydajności objętościowej permeatu (stosunek objętości permeatu do objętości roztworu zasilającego) i współczynnika redukcji objętości (stosunek początkowej objętości nadawy do wypadkowej objętości retentatu)

Fig. 36. Dependence of the pectynolytic activity of total protein in ultrafiltration retentate on the flow yield (ratio between the volume of permeate to the volume of feed) and volume reduction factor (ratio between the initial feed volume and the volume of the resulting retentate).

założony cel ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania roztworów białek aktywnych został w pełni osiągnięty. Otrzymane przy 10-krotnym współczyniku redukcji objętości retentaty ultrafiltracyjne charakteryzują się około 7-krotnie wyższą ogólną aktywnością enzymatyczną w porównaniu z roztworami nadawy. Około 80% substancji małocząsteczkowych przeszło do filtratu, a wśród nich również i białka nieaktywne, dzięki czemu kilkakrotnie wzrosły aktywności właściwe retentatów. Współczynniki wzrostu aktywności są wysokie i kształtują się na poziomie 7. Wprawdzie we wszystkich trzech przypadkach zatężania ultrafiltracyjnego białek aktywnych znacznie maleją chwilowe objętościowe strumienie permeatów, lecz ich średnie wielkości w omawianym procesie technologicznym można przyjąć.

12. ZAGĘSZCZANIE PRÓŻNIOWE ULTRAFILTRACYJNYCH RETENTATÓW ENZYMÓW

Niskie wartości suchych mas otrzymanych retentatów ultrafiltracyjnych o wysokich ogólnych aktywnościach enzymatycznych skłoniły mnie do wykonania prób dodatkowego ich zagęszczenia w wyparce próżniowej. Proces przeprowadzono w wyparce firmy Buchi (Szwajcaria) pod ciśnieniem 3300 Pa i w temperaturze 308 K. W wyniku kilkakrotnego zagęszczania retentatów ultrafiltracyjnych otrzymano

Tabela 26

Efektywność oczyszczania i zatężania preparatu enzymów amylolitycznych metodą ultrafiltracji i zatężania próżniowego

Nazwa preparatu	Sucha masa [kg/m^3]	Aktywność amylolityczna [jAs/cm^3]	Aktywność właściwa [jAs/mg białka]
Nadawa (preparat enzymów poddawany ultrafiltracyjnemu oczyszczaniu i zatężaniu)	34,9	33,7	4,7
Retentat ultrafiltracyjny	78,8	261	11,8
Retentat ultrafiltracyjny zatężony w wyparce próżniowej	365	1200	11,8
Preparat handlowy Amylogal CS	360	240	3,2

koncentarty enzymów charakteryzujące się suchymi masami zbliżonymi do suchych mas preparatów handlowych, co umożliwiło porównanie ich aktywności ogólnych i właściwych. Wzrost aktywności enzymatycznych preparatów zagęszczonych był proporcjonalny do wielokrotności zatężenia.

W przypadku enzymów amylolitycznych (tabl. 26) otrzymany koncentrat cechuje się 5-krotnie wyższą ogólną aktywnością amylolityczną i 3,7 razy wyższą aktywnością właściwą w porównaniu z preparatem handlowym. Dla preparatu preteolitycznego (tabl. 27) ogólna

Tabela 27

Efektywność oczyszczania i zatężania preparatu enzymów proteolitycznych metodą ultrafiltracji i zatężania próżniowego

Nazwa preparatu	Sucha masa [kg/m^3]	Aktywność proteolityczna, [JH/cm^3]	Aktywność właściwa [JH/mg białka]
Nadawa (preparat enzymów poddawany ultrafiltracyjnemu oczyszczaniu i zatężaniu)	38,8	12404	2102
Retentat ultrafiltracyjny	46,5	85959	8427
Retentat ultrafiltracyjny zatężony w wyparce próżniowej	367,9	680000	8426
Preparat handlowy Proteopol BP-S	380,4	122000	1906

aktywność proteolityczna w porównaniu z Proteopolem BP-S jest 5,6 razy wyższa, a aktywność właściwa 4,4 razy, natomiast dla preparatu pektynolitycznego (tabl. 28) odpowiednio wartości te są wyższe 3,3 razy i 2,6 razy.

Tabela 28

Efektywność oczyszczania i zatężania preparatu enzymów pektynolitycznych metodą ultrafiltracji i zatężania próżniowego

Nazwa preparatu	Sucha masa [kg/m^3]	Aktywność pektynolityczna, [°PM/kg]	Aktywność właściwa [°PM/mg białka]
Nadawa (preparat enzymów poddawany ultrafiltracyjnemu oczyszczaniu i zatężaniu)	41,6	4159	0,6
Retentat ultrafiltracyjny	75,5	29574	2,0
Retentat ultrafiltracyjny zatężony w wyparce próżniowej	460	180000	2,0
Preparat handlowy Pektopol PT	470	54000	0,78

13. OCENA JAKOŚCI ULTRAFILTRACYJNYCH RETENTATÓW ENZYMATYCZNYCH

13.1. PORÓWNANIE SKUTECZNOŚCI DZIAŁANIA PREPARATÓW ENZYMÓW OCZYSZCZONYCH METODĄ ULTRAFILTRACJI Z PREPARATAMI HANDLOWYMI

Pod pojęciem "jakości preparatu" należy rozumieć nie tylko jego wysoką aktywność enzymatyczną, ale także efektywność działania w konkretnych procesach technologicznych. Proces ultrafiltracji pozwala na usunięcie z cieczy pohodowlanych i z ekstratów z podłoża hodowlanego różnych związków małocząsteczkowych, obciążających preparat i dzięki zatężeniu przyczynia się do podniesienia jego aktywności ogólnej i właściwej. Jednakże bez przeprowadzenia prób doświadczalnych nad przydatnością produktu końcowego w w konkretnym procesie technologicznym trudno mówić o poprawie jego jakości. Znane są przypadki, że ultrafiltracja np. preparatów pektynolitycznych prowadzi do oddzielenia substancji wspomagających maceracją tkanek owoców, w tym części enzymów celulolitycznych, przyczyniając się do zdecydowanego ograniczenia możliwości ich wykorzystania.

13.1.1. Produkcja piwa - preparat enzymów proteolitycznych

Enzymy proteolityczne stanowią w chwili obecnej najważniejszą grupę enzymów przemysłowych. Ich produkcja w 1980 r. kształtowała się na poziomie 500 t rocznie, co stanowiło 38% ogólnego zużycia białek enzymatycznych [60]. W przemyśle spożywczym, zgłaszającym duże zapotrzebowanie na ten rodzaj białek aktywnych, jednym z głównych ich odbiorców jest przemysł piwowarski [59,74]. Stosowane w nim coraz częściej w praktyce surowce niesłodowane, czyli skrobiowe produkty roślinne zastępujące słód, charakteryzują się niską zawartością enzymów, w związku z czym należy je przerabiać z dodatkiem słodu bogatego w enzymy, których odpowiednia ilość wpływa na prawidłowy przebieg procesu zacierania.

Przeprowadzone badania laboratoryjne miały na celu określenie możliwości ewentualnego uzupełniania niedoborów enzymów w zacierze, podczas produkcji brzeczki piwnej otrzymywanej z 15% udziałem w zasypie surowców jęczmienia niesłodowanego, przez dodanie

Tabela 29

Wyniki analizy chemicznej brzeczek laboratoryjnych otrzymanych przy użyciu 15% udziału jęczmiennego surowca niesłodowanego z preparatami enzymatycznymi

Próba	Kontrolna I	Kontrolna II	Doświadczalna	Doświadczalna	Doświadczalna
Udział surowców	100% słodu	85% słodu 15% jęczmienia	85% słodu 15% jęczmienia 0,1% prep. handlowego	85% słodu 15% jęczmienia 0,1% prep. K_{50}	85% słodu 15% jęczmienia 0,1% prep. K_{90}
Oznaczenie					
Ekstrakt, ^{o}Blg [1]	8,20	8,10	8,35	8,44	8,54
pH	5,58	5,69	5,70	5,63	5,72
Barwa, ^{o}EBC [2]	6,5	9,5	11,0	11,5	12,0
Azot ogółem, mg/dm^3	910,5	849,0	914,0	1025,5	1025,0
Azot taninowy, mg/dm^3	515,1	465,7	440,5	508,7	528,4
Azot α-aminokwasowy, mg/dm^3	164,4	144,5	181,3	189,0	203,1
Azot koagulujący, mg/dm^3	3,4	6,0	20,3	24,3	27,3

[1] ^{o}Blg = 1g maltozy / 100 g roztworu w temp. 293 K.

[2] ^{o}EBC = 36 * $(\sqrt{1+J} - 1)$

J - jednostka skali jodowej odpowiadająca barwie roztworu powstałego przez dodanie 1cm^3 0,1n J^- do 100 cm^3 wody destylowanej.

Tabela 30

Wyniki analizy chemicznej piw otrzymanych z brzeczek wyprodukowanych z 15% surowca niesłodowego i proteolitycznego preparatu enzymatycznego (średnia arytmetyczna z dwóch serii)

Próba	Kontrolna	Doświadczalna	Doświadczalna	Doświadczalna
Udział surowców	85% słodu 15% jęczmienia	85% słodu 15% jęczmienia 0,1% prep. handlowego	85% słodu 15% jęczmienia 0,1% prep. K_{50}	85% słodu 15% jęczmienia 0,1% prep. K_{90}
Oznaczenie				
Moc brzeczki podstawowej, ^{o}Blg [1]	7,90	8,05	8,36	8,42
Ekstrakt:				
pozorny ^{o}Blg	2,14	1,69	1,05	1,82
rzeczywisty ^{o}Blg	3,14	2,09	3,02	3,08
Alkohol, % mas.	2,40	2,60	2,70	2,70
pH	4,60	4,67	4,79	4,73
Barwa, ^{o}EBC	8,0	8,5	8,5	9,0
Azot ogółem, mg/dm^3	532,0	560,0	638,4	626,4
Azot taninowy, mg/dm^3	248,5	262,5	311,7	329,7
Izozwiązki	22,1	21,4	20,8	18,7
Test Hartonga, cm^3 nas. $(NH_4)_2SO_4$	1,2	1,2	1,5	1,5

[1] 1^{o}Blg = 1g maltozy / 100 g roztworu w temp. 293 K.

do niego enzymatycznego preparatu handlowego Proteopol BP-S oraz retentatów ultrafiltracyjnych enzymów proteolitycznych K_{50} i K_{90}, a także porównanie skuteczności ich działania z uwagi na jakość otrzymywanego piwa [28]. Wyniki przedstawiono w tabelach: 29-30. Zarówno brzeczki doświadczalne, jak i otrzymane z nich piwa charak-

teryzują się wyższymi zawartościami ekstraktu nastawnego w porównaniu z brzeczką podstawową. W konsekwencji otrzymane piwa doświadczalne cechuje wyższa zawartość alkoholu o 0,2-0,3% mas. w porównaniu z próbką kontrolną. Piwa doświadczalne posiadają intensywniejszą barwę w porównaniu z próbką piwa kontrolnego, jednak nie jest ona tak intensywna, jak w przypadku brzeczek (1,5-2.5^0 EBC). Zawierają więcej o 4-17% białka ogółem, a w tym od 5% do 32% więcej białek taninowych. Nie jest to bez znaczenia dla jakości piwa w sytuacji, gdy uważa się [76,138,161], że małocząsteczkowe frakcje białek (aminokwasy i peptydy) wpływają na fermentację drożdżową i walory smakowe piwa, a frakcje średnie i wielkocząsteczkowe decydują o jego klarowności, trwałości piany i trwałości koloidalnej. Wszystkie otrzymane piwa wykazują podobne stężenie goryczek chmielowych (od ok 19-22 mg/dm^3). Piwa z brzeczek wyprodukowanych z zastosowaniem ultrafiltracyjnych retentatów K_{50} i K_{90} oraz preparatu handlowego Proteopol BP-S wykazują korzystne podwyższenie wskaźnika trwałości koloidalnej (test Hartonga) o 25% w porównaniu z próbką piwa kontrolnego. Jak wynika z analiz otrzymanych piw doświadczalnych, zastosowanie retentatów K_{50} i K_{90} daje korzystne wyniki, jednak "spłaszczenie" dysproporcji w zakresie składu podstawowego piw (zawartości białek powstałych w toku fermentacji i leżakowania) uniemożliwia jednoznaczną ocenę, który z zastosowanych preparatów enzymów jest lepszy.

13.1.2. Test wydajności alkoholu ze skrobii żytniej - preparat enzymów amylolitycznych

Preparat handlowy Amylogal CS, jak już wspomniano wcześniej, ma właściwości upłynniania skrobi i jako główny enzym zawiera alfa-amylazę. Dlatego też porównawczą ocenę skuteczności działania ultrafiltracyjnego retentatu enzymów amylolitycznych (po zatężeniu w wyparce próżniowej) z preparatem handlowym Amylogal CS przeprowadzono opierając się na wynikach testu wydajności alkoholu ze skrobi żytniej [163,164]. Metoda ta polegała na przetworzeniu skrobi w cukry fermentujące przy użyciu preparatów amylolitycznych i glukoamylazy, a następnie na przemianie przez drożdże gorzelnicze (*Saccharomyces cerevisiae*) cukrów fermentujących w alkohol, którego stężenie po oddestylowaniu oznaczono aerometrem. Badane preparaty amylolityczne stosowano w dawkach $80 \cdot 10^3$ jAs/t skrobi, a do scukrzenia skrobi stosowano glukoamylazę - Glukopol P w dawce $37 \cdot 10^6$ jAs/t skrobi.

Otrzymane wyniki (tabl. 31) upoważniają nas do stwierdzenia, że zastosowanie procesu ultrafiltracji do oczyszczania i częściowego zatężania preparatu Amylogal CS nie spowodowało istotnych zmian w jego właściwościach enzymatycznych. Działanie preparatów było proporcjonalne do aktywności głównego enzymu alfa-amylazy.

Tabela 31

Ocena enzymatycznych preparatów amylolitycznych na podstawie testu wydajności alkoholu ze skrobi żytniej

Oznaczenie	Amylogal CS	K_{50}	K_{90}
Zawartość suchej masy, g/dm^3	35,6	360,4	365,0
Aktywność α-amylazy, jAs/cm^3	240,0	641,0	1200,0
Wydajność alkoholu ze 100g skrobi żytniej, cm^3	64,2	64,2	64,2

K_{50} - retentat ultrafiltracyjny po zatężeniu w wyparce próżniowej (współczynnik redukcji objętości w procesie zatężania ultrafiltracyjnego wynosił 2).

K_{90} - retentat ultrafiltracyjny po zatężeniu w wyparce próżniowej (współczynnik redukcji objętości w procesie zatężania ultrafiltracyjnego wynosił 10).

13.1.3. Badanie procesu depektynizacji soku jabłkowego - preparat enzymów pektynolitycznych

Możliwość wykorzystania pektynolitycznego preparatu enzymatycznego w przemyśle winiarskim i owocowo-warzywnym jest przede wszystkim związana z obecnością w nim poligalakturonaz i liaz substancji pektynowych [34]. W przeprowadzonych badaniach zdolności depektynizujące i klarujące preparatów pektynolitycznych oczyszczonych i zatężonych w procesie ultrafiltracji porównano z z działaniem handlowego preparatu Pektopol PT wykorzystując jako substrat sok jabłkowy. Aktywności enzymatyczne zastosowanych preparatów przedstawiono w tabeli 32. W trakcie prowadzenia prób

Tabela 32

Wyniki oznaczeń aktywności Pektopolu PT oraz badanych retentatów ultrafiltracyjnych

Nazwa preparatu	Aktywność enzymatyczna			
	pektynolityczna °PM/g	celulolityczna jCMC/g	proteolityczna jH/g	pektynoesterazy jPE
Pektopol PT	44600	102	6250	110
Retentat K_{50}	76000	153	9790	220
Retentat K_{90}	123000	282	18300	355

K_{50} - retentat ultrafiltracyjny po zatężeniu w wyparce próżniowej (współczynnik redukcji objętości w procesie zatężania ultrafiltracyjnego wynosił 2).

K_{90} - retentat ultrafiltracyjny po zatężeniu w wyparce próżniowej (współczynnik redukcji objętości w procesie zatężania ultrafiltracyjnego wynosił 10).

depektynizacji, w sokach oznaczono następujące podstawowe wskaźniki fizykochemiczne: zawartość ekstratu ogólnego, pH, lepkość soku oraz wykonywano test alkoholowy na obecność pektyn [162]. Próby laboratoryjne depektynizacji soku jabłkowego wykonano wg następującego schematu [122, 162]: mycie jabłek, rozdrabnianie, tłoczenie, ogrzewanie soku do temperatury 85°C, schładzanie do temperatury 50°C i depektynizacja soku w tej temperaturze w czasie 2 h.

W tabeli 33 przedstawiono wielkości dawek preparatów enzymatycznych dozowanych do surowego soku jabłkowego. W czasie trwania procesu depektynizacji wykonywano w odstępach 0,5 h test alkoholowy na obecność pektyn w celu określenia tempa ich degradacji. Uzyskane wyniki zamieszczono w tabeli 34. Wyniki oznaczeń fizykochemicznych soku surowego oraz po procesie depektynizacji zestawiono w tabeli 35. Pozwalają one wnioskować, że oczyszczone i zatężone wstępnie w procesie ultrafiltracji preparaty enzymatyczne są równoważne pod względem jakości i siły depektynizacji w porównaniu z preparatem handlowym Pektopol PT.

Tabela 33

Wielkości dawek preparatów enzymatycznych stosowanych do depektynizacji soku jabłkowego

Dawka preparatu enzymatycznego, [kg/m^3]		
Pektopol PT	K_{50}	K_{90}
0,25	0,15	0,10
0,30	0,18	0,12
0,35	0,21	0,14
0,40	0,24	0,16

K_{50} - retentat ultrafiltracyjny po zatężeniu w wyparce próżniowej (współczynnik redukcji objętości w procesie zatężania ultrafiltracyjnego wynosił 2).

K_{90} - retentat ultrafiltracyjny po zatężeniu w wyparce próżniowej (współczynnik redukcji objętości w procesie zatężania ultrafiltracyjnego wynosił 10).

Tabela 34

Dynamika procesu depektynizacji soku jabłkowego

Nazwa preparatu enzymatycznego	Dawka preparatu [kg/m^3]	Wyniki testu alkoholowego na obecność pektyn w czasie trwania procesu			
		0,5 h	1 h	1,5 h	2 h
Pektopol PT	0,35	+	+	-	-
	0,40	-	-	-	-
Retentat ultrafiltracyjny K_{50}	0,21	+	+	-	-
	0,24	+	-	-	-
Retentat ultrafiltracyjny K_{90}	0,14	+	+	-	-
	0,16	-	-	-	-

Tabela 35

Fizykochemiczne właściwości surowego soku jabłkowego i po procesie depektynizacji

Preparat enzymatyczny	Aktywność pektynolityczna [°PM/kg]	Dawka preparatu enzymatycznego [kg/m^3]	Sok surowy			Sok po procesie depektynizacji	
			pH	ekstrakt [%]	$\eta^{3)}$ [mPa*s]	$\eta^{3)}$ [mPa*s]	wyniki testu alkoholowego
Pektopol PT	45000	0,25	3,5	12,8	3,3	1,6	+
		0,30				1,5	+/-
		0,35				1,5	+/-
		0,40				1,5	
K_{50} [1)]	76000	0,15	3,5	12,8	3,3	1,6	+
		0,18				1,5	+/-
		0,21				1,5	+/-
		0,24				1,4	-
K_{90} [2)]	123000	0,10	3,5	12,8	3,3	1,5	+/-
		0,12				1,5	+/-
		0,14				1,5	+/-
		0,16				1,5	-

1) K_{50} - retentat ultrafiltracyjny po zatężeniu w wyparce próżniowej (współczynnik redukcji objętości w procesie zatężania ultrafiltracyjnego wynosił 2).

2) K_{90} - retentat ultrafiltracyjny po zatężeniu w wyparce próżniowej (współczynnik redukcji objętości w procesie zatężania ultrafiltracyjnego wynosił 10).

3) η - lepkość dynamiczna

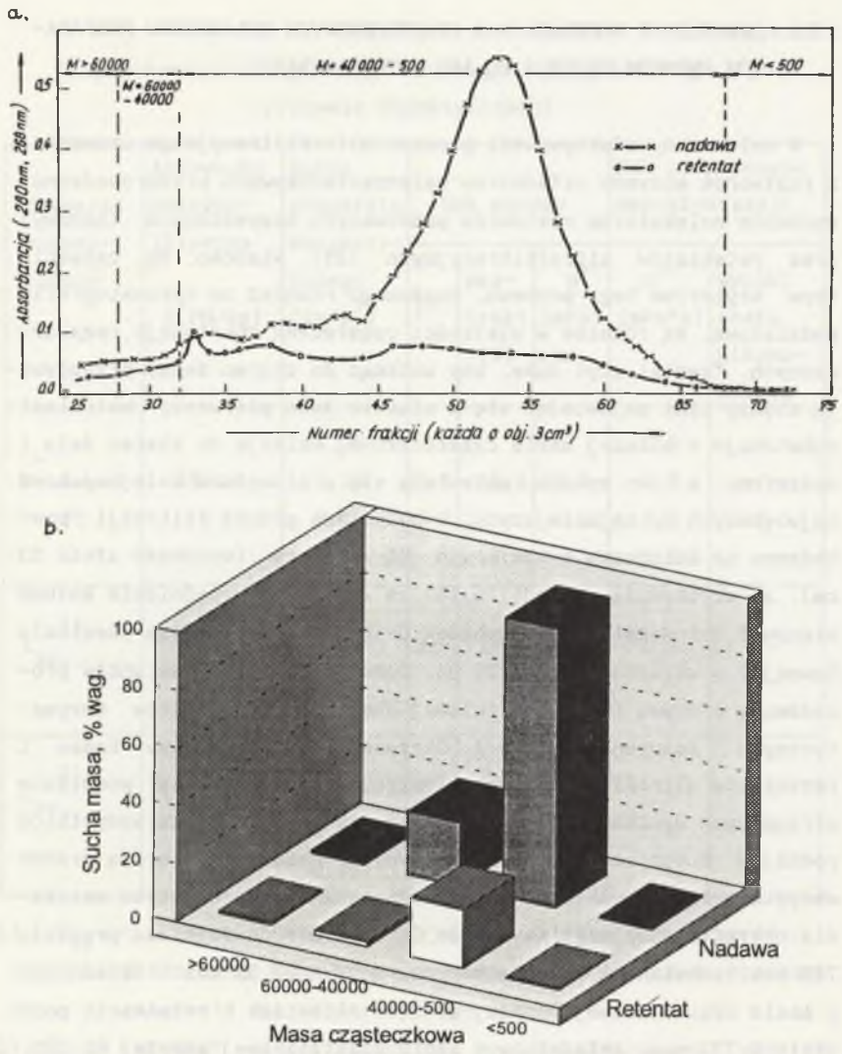
\+ - obecne pektyny

+/- - ślady pektyn

\- - brak pektyn

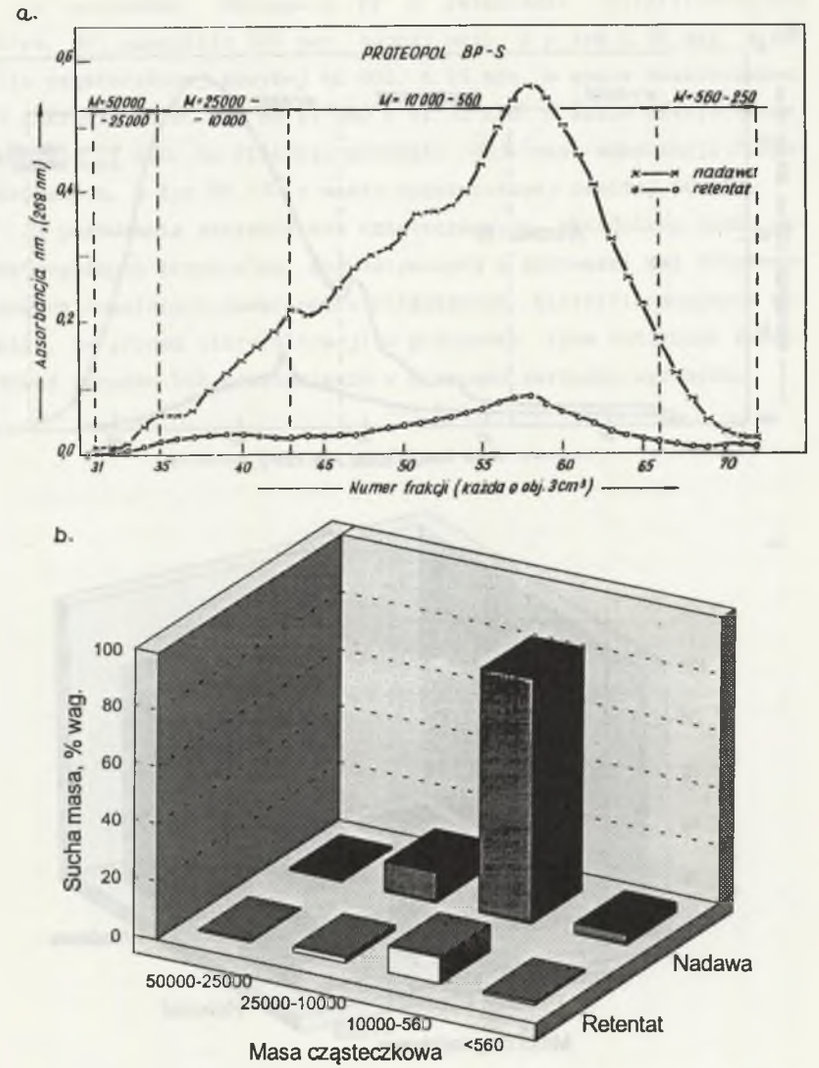
13.2. OKREŚLENIE ROZKŁADU MAS CZĄSTECZKOWYCH SKŁADNIKÓW PREPARATÓW ENZYMÓW PRZED I PO ICH ULTRAFILTRACJI

W celu oceny efektywności procesu ultrafiltracyjnego usuwania z roztworów enzymów składników małocząsteczkowych przeprowadzono sączenie molekularne roztworów poddawanych oczyszczaniu (nadawy) oraz retentatów ultrafiltracyjnych [29]. Wiadomo, że zasadniczym kryterium tego procesu, uważanego również za chromatografię podziałową, są różnice w wielkości cząsteczek substancji rozpuszczonych. Cząstki zbyt duże, aby wniknąć do ziaren żelu, przepływają między nimi pojawiając się w eluacie jako pierwsze, natomiast substancje o niższej masie cząsteczkowej wnikają do ziaren żelu i opóźnione w ten sposób, pojawiają się w eluacie w kolejności od największych do najmniejszych. W badaniach proces filtracji prowadzono na kolumnach o wymiarach 55 x 2,0 cm (wysokość złoża 53 cm), z szybkością elucji 0,104 cm^3/min, a wypełnienie kolumn stanowił żel dekstranowy Sephadex G-100 (Pharmacia Fine Chemicals Szwecja) o uziarnieniu 40-120 µm. Dobór optymalnych warunków prowadzenia procesu filtracji żelowej omawianych preparatów enzymatycznych omówiono w [29]. Otrzymane chromatogramy nadaw i retentatów ultrafiltracyjnych ilustrują rys. 37-39. Na podstawie otrzymanych wyników można wnioskować, że w przypadku wszystkich rodzajów preparatów białek aktywnych nadawy zawierają przede wszystkim frakcje składników małocząsteczkowych. W wyniku zatężania ultrafiltracyjnego Amylogalu CS (rys.37) do filtratu przeszło 78% mas. substancji rozpuszczonych, w tym 77.5% mas. składników o masie cząsteczkowej poniżej 40 000, natomiast w retentacie pozostało 0,73% mas. składników o masie cząsteczkowej powyżej 60 000, 1,6% składników o masach cząsteczkowych w zakresie od 60 000 do 40 000, 18,9% mas. składników o masach cząsteczkowych od 40 000 do 500 i 0,37% mas.-to substancje o masie cząsteczkowej poniżej 500. Retentat ultrafiltracyjny Proteopol BP-S (rys. 38) w swoim składzie zawierał: 0,2% mas. składników o masach cząsteczkowych w zakresie od 50 000 do 25 000, 1,7% mas. substancji o masach cząsteczkowych w zakresie od 25 000 do 10 000, 9,2% mas. w zakresie od 10 000 do 560 i 0,7% mas. składników o masie cząsteczkowej poniżej 560. Do filtratu przeszło 87,4% składników preparatu o masie cząsteczkowej poniżej 25 000.



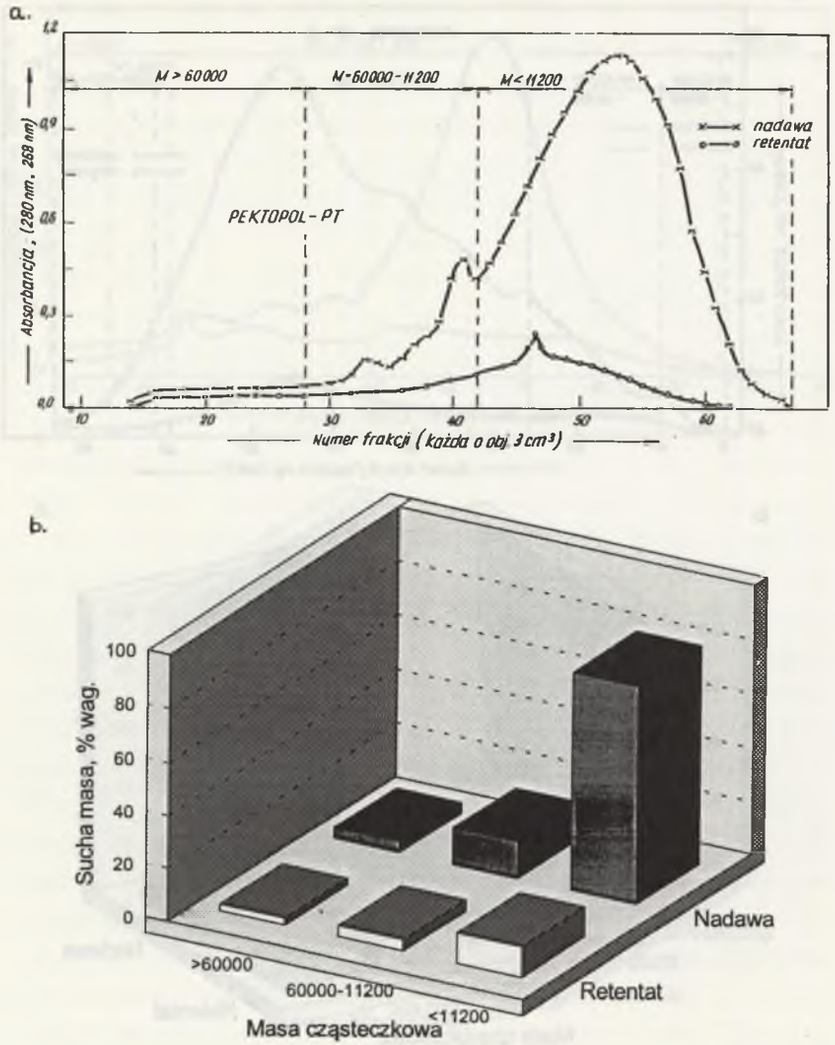
Rys. 37. Rozkład mas cząsteczkowych składników preparatu enzymów amylolitycznych:
a- zależność absorbancji od objętości elucji,
b- zawartość procentowa suchej masy w poszczególnych strumieniach ultrafiltracyjnych

Fig. 37. Molecular mass distribution of the components in amylolytic preparation:
a- Dependence of absorbance on the elution volume,
b- Contents of the dry mass (% mas.) in individual ultrafiltration streams



Rys. 38. Rozkład mas cząsteczkowych składników preparatu enzymów proteolitycznych:
a- zależność absorbancji od objętości elucji,
b- zależność procentowej zawartości suchej masy w poszczególnych strumieniach ultrafiltracyjnych

Fig. 38. Molecular mass distribution of the components in proteolytic preparation:
a- Dependence of absorbance on the elution volume,
b- Contents of the dry mass (% mas.) in individual ultrafiltration streams



Rys. 39. Rozkład mas cząsteczkowych składników preparatu enzymów pektynolitycznych:
a- zależność absorbancji od objętości elucji,
b- zależność procentowej zawartości suchej masy w poszczególnych strumieniach ultrafiltracyjnych

Fig. 39. Molecular mass distribution of the components in pectynolytic preparation:
a- Dependence of absorbance on the elution volume,
b- Contents of the dry mass (% mas.) in individual ultrfiltration streams

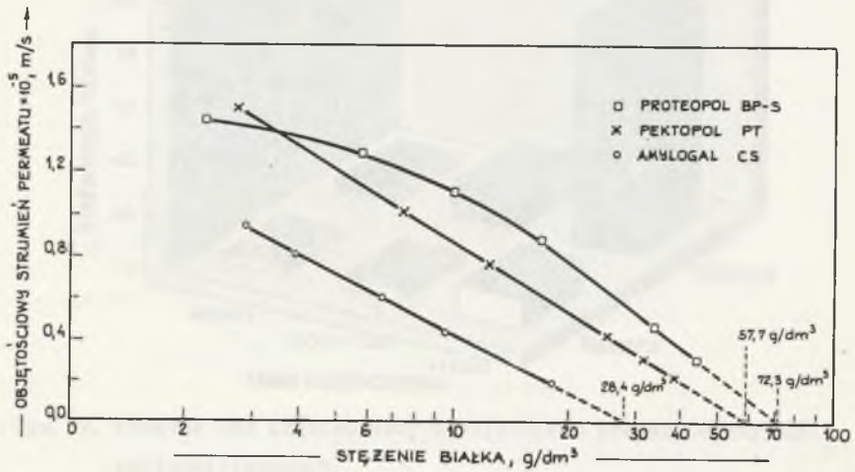
W przypadku Pektopolu PT w retentacie ultrafiltracyjnym (rys. 39) pozostało 18% mas. suchej masy, a w tym 2,5% mas. o masie cząsteczkowej powyżej 60 000, 4,2% mas. o masie cząsteczkowej w zakresie od 60 000 do 11 200 i 11,3% mas. o masie cząsteczkowej poniżej 11 200. Do filtratu przeszło 82% mas. substancji rozpuszczonych, w tym 80,5% o masie cząsteczkowej poniżej 60 000.

Z porównania zakresów mas cząsteczkowych składników nadaw poszczególnych preparatów enzymatycznych z zakresami mas cząsteczkowych substancji zawartych w retentatach ultrafiltracyjnych wynika, że proces ultrafiltracji w przypadku tych ostatnich spowodował wyraźne ich przesunięcie w kierunku wartości wyższych.

14. MODELOWANIE PRZEPŁYWU W PROCESIE ULTRAFILTRACJI ROZTWORÓW ENZYMÓW

14.1. WYZNACZANIE STĘŻENIA BIAŁKA W WARSTWIE ŻELOWEJ

Jak już zaznaczono wcześniej, z modelu filmu powierzchniowego wynika, że objętościowy strumień permeatu maleje wykładniczo ze wzrostem stężenia białka w nadawie i w przypadku gdy $J_v = 0$, jego średnie stężenie w roztworze zasilającym równa się stężeniu w warstwie żelowej. Stężenie białka w warstwie żelowej wyznaczano opierając się na zależność objętościowego strumienia permeatu (J_v) od stężenia nadawy (C_b) ekstrapolując funkcję $J_v = f(C_b)$ do wartości $J_v = 0$ (rys. 40). Roztwory Proteopolu BP-S i Pektopolu PT



Rys. 40. Zależność objętościowego strumienia permeatu od stężenia białka w nadawie

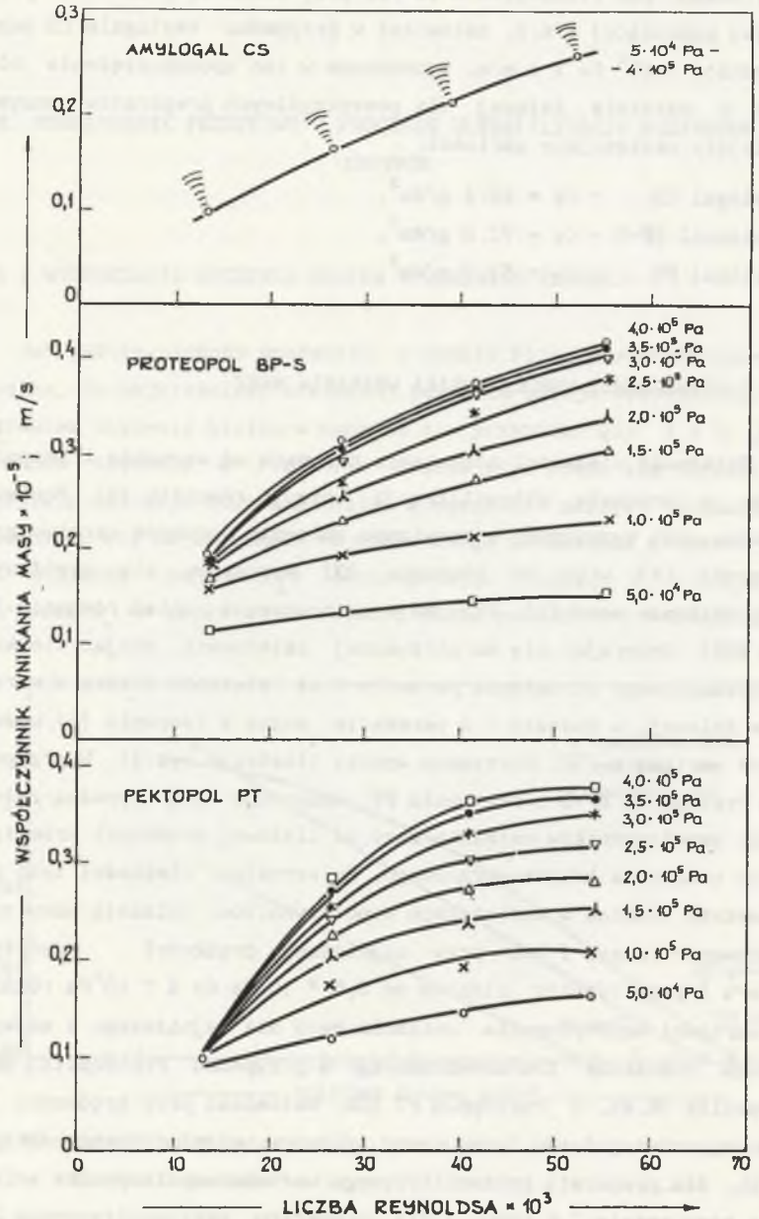
Fig. 40. Dependence of the volume permeate flux on protein concentration in the feed

filtrowano pod ciśnieniem $3 \cdot 10^5$Pa, przy liniowej prędkości przepływu wynoszącej 4 m/s, natomiast w przypadku Amylogalu CS odpowiednio: $2 \cdot 10^5$ Pa i 4 m/s. Wyznaczone w ten sposób stężenia białek w warstwie żelowej dla poszczególnych preparatów enzymów przyjęły następujące wartości:

Amylogal CS - $C_g = 28,4$ g/dm^3,
Proteopol BP-S - $C_g = 72,8$ g/dm^3,
Pektopol PT - $C_g = 57,7$ g/dm^3.

14.2. WYZNACZANIE WSPÓŁCZYNNIKA WNIKANIA MASY

Zależność wielkości strumienia permeatu od warunków transportu masy w procesie ultrafiltracji opisuje równanie (3). Ponieważ trudno jest wyznaczyć, w omawianym procesie, grubość warstwy granicznej (δ), więc do równania (3) wprowadza się współczynnik wnikania masy (k). Przyjmuje ono wówczas postać równania (6) [5,109]. Opierając się na otrzymanej zależności, znając wielkość objętościowego strumienia permeatu oraz stężenie białka w warstwie żelowej, w nadawie i w permeacie można z równania (6) wyznaczyć wartość k [7]. Otrzymane wyniki ilustruje rys. 41. W przypadku Proteopolu BP-S i Pektopolu PT obserwuje się wyraźną zależność współczynników wnikania masy od liniowej prędkości przepływu i od ciśnienia transmembranowego. Ze wzrostem wielkości tych parametrów różnice w wartościach współczynników wnikania masy zdecydowanie rosną. I tak przy najniższej prędkości przepływu 1 m/s i przy różnicy ciśnień od $0,5 * 10^5$Pa do $4 * 10^5$Pa różnica w wartości współczynnika wnikania masy dla najniższego i najwyższego ciśnienia transmembranowego w przypadku Proteopolu BP-S wynosiła 38,8%, a Pektopolu PT 10%. Natomiast przy prędkości liniowej równej 4 m/s i tej samej różnicy ciśnień transmembranowych, dla preparatu proteolitycznego wartość współczynnika wnikania masy rośnie 2,6 razy, a dla preparatu pektynolitycznego 2.3 razy.



Rys. 41. Zależność współczynnika wnikania masy od ciśnienia transmembranowego i liczby Reynoldsa

Fig. 41. Dependence of the mass transfer coefficient on the transmembrane pressure and Reynolds number

Stwierdzono, że współczynniki wnikania masy nie zależą od stosowanego ciśnienia transmembranowego w procesie ultrafiltracji roztworu enzymów amylolitycznych Amylogal CS, natomiast zmiana liniowej prędkości przepływu w zakresie od 1 m/s do 4 m/s powoduje wzrost ich wartości około 2,7 razy. Dla wszystkich preparatów enzymatycznych istnieje również wyraźna zależność współczynników wnikania masy od temperatury (tabl. 36-38).

Tabela 36

Zależność współczynników wnikania masy od temperatury dla preparatu enzymów amylolitycznych

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P \cdot 10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Temperatura [K]	Współczynnik wnikania masy $k \cdot 10^{-5}$ [m/s]
2	2	295	0,159
		303	0,201
		313	0,290
		323	0,381
	4	295	0,263
		303	0,327
		313	0,476
		323	0,590
4	2	295	0,162
		303	0,211
		313	0,291
		323	0,393
	4	295	0,266
		303	0,364
		313	0,525
		323	0,701

Tabela 37

Zależność współczynnika wnikania masy od temperatury dla preparatu enzymów proteolitycznych

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Temperatura [K]	Współczynnik wnikania masy $k*10^{-5}$ [m/s]
2	2	295	0,256
		303	0,309
		313	0,338
	3	295	0,309
		303	0,345
		313	0,383
3	4	295	0,403
		303	0,438
		313	0,466
		323	0,470
4	2	295	0,289
		303	0,330
		313	0,359
	3	295	0,380
		303	0,451
		313	0,497

Ze wzrostem temperatury od 295 K do 323 K w przypadku roztworu enzymów amylolitycznych ich wartość rośnie odpowiednio od 2 do 2,6 razy, a dla enzymów proteolitycznych od 1,2 do 1,3 razy. Wzrost temperatury prowadzenia procesu ultrafiltracji roztworu enzymów pektynolitycznych w zakresie od 295 K do 313 K wywołuje zwiększenie wartości współczynnika wnikania masy 1,5 raza.

Tabela 38

Zależność współczynnika wnikania masy od temperatury dla preparatu enzymów pektynolitycznych

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Temperatura [K]	Współczynnik wnikania masy $k*10^{-5}$ [m/s]
2	4	295	0,285
		303	0,345
		313	0,394
		323	0,441
3	2	295	0,263
		303	0,310
		313	0,342
		323	0,396
	4	295	0,348
		303	0,415
		313	0,498
		323	0,526
4	2	295	0,290
		303	0,332
		313	0,383
		323	0,434
	4	295	0,375
		303	0,433
		313	0,515
		323	0,546

14.3. WYZNACZANIE WSPÓŁCZYNNIKA DYFUZJI BIAŁEK

Zakładając, że współczynnik dyfuzji (D) substancji rozpuszczonej nie zależy od jej stężenia, a osmotyczne przenikanie wody zostaje pominięte, proces dyfuzji przez porowatą przegrodę można opisać równaniem wynikającym z I prawa Ficka [40,147]:

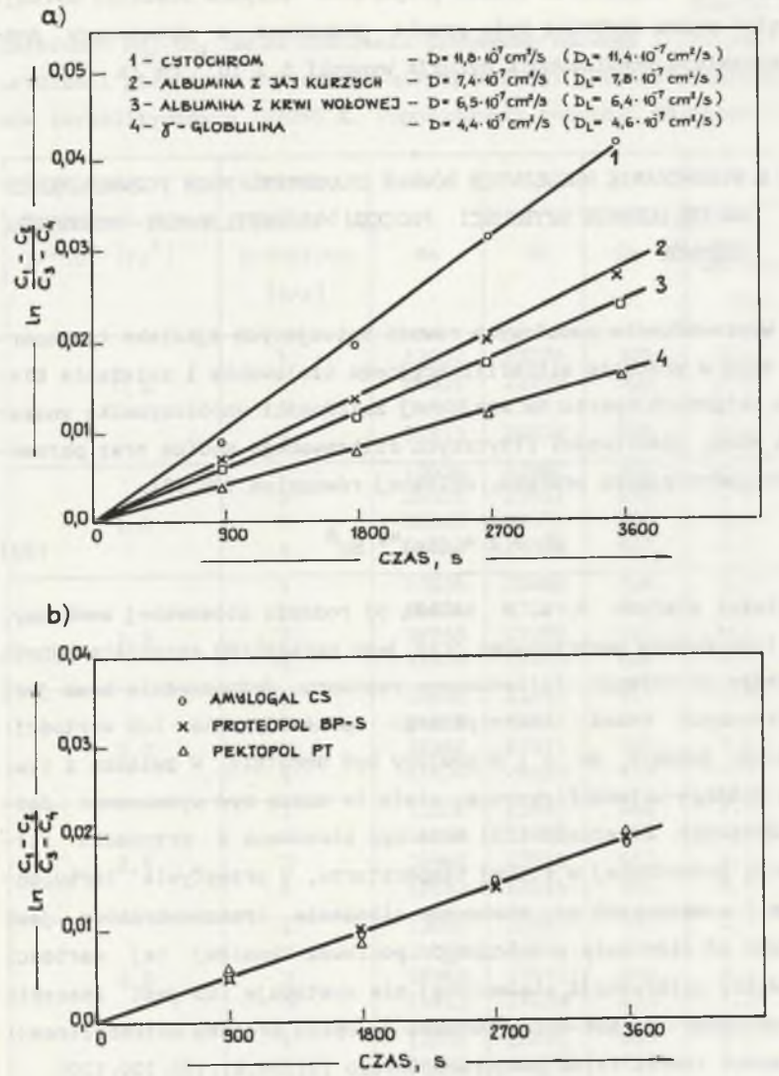
$$D = \frac{1}{\beta_n \cdot t} \ln [(C_1 - C_2)/(C_3 - C_4)] \qquad (31)$$

W przypadku kiedy objętości roztworów po obu stronach membrany są równe, stałą β_n można obliczyć z równania:

$$\beta_n = (S/V) \cdot (\varepsilon/l_1) \qquad (32)$$

Dokonując pomiaru szybkości przenoszenia substancji dyfundującej przez polimerową membranę oraz określając zmiany jej stężenia w czasie, z wykresu opisującego zależność $\ln [(C_1 - C_2)/(C_3 - C_4)]$ od t, będącego funkcją liniową, można wyznaczyć wartość współczynnika dyfuzji białek znajdujących się w badanych roztworach preparatów enzymatycznych. Proces dyfuzji prowadzony był w specjalnej komorze ze szkła organicznego, przedzielonej na połowę membraną z poliakrylonitrylu o powierzchni $12,4 \cdot 10^{-4}$ m^2, grubości $1 \cdot 10^{-4}$ m i porowatości 82%, która przed założeniem była przez okres 12 h kondycjonowana w badanym roztworze w celu ewentualnego uniknięcia adsorbcji białek na jej powierzchni w trakcie właściwego procesu dyfuzji. Aby potwierdzić przydatność membrany z poliakrylonitrylu do wyznaczenia wartości współczynników dyfuzji białek, podjęto próbę wyznaczenia tych wielkości dla wzorcowych roztworów białek różniących się masą molową, a mianowicie: cytochromu C (M = 12 500), albuminy z krwi wołowej (M = 67 000), albuminy z jaj kurzych (M = 44 000) i γ-globuliny (M = 160 000), a następnie porównano z wartościami literaturowymi. Stężenia wzorcowych roztworów białek dyfundujących wynosiły 0,5% mas., a proces dyfuzji prowadzono w temperaturze 298 K.

Przedstawione na rys. 42 wyniki wykazują, że wyznaczone wartości współczynników dyfuzji białek w roztworach wzorcowych w niewielkim stopniu różnią się od wartości cytowanych w literaturze [118]. Dlatego też przy wyznaczaniu współczynników dyfuzji białek aktywnych wykorzystano ten rodzaj membran. Stwierdzono, że w



Rys. 42. Wyznaczanie współczynników dyfuzji:
a- białek wzorcowych,
b- enzymów: amylolitycznych, proteolitycznych i pektynolitycznych

Fig. 42. Defination of the diffusion coefficients:
a- standard proteins,
b- the amylolytic, proteolytic and pectynolytic enzymes

przypadku wszystkich trzech preparatów enzymów szybkość dyfuzji białek przez membranę była prawie jednakowa, a wyznaczony doświadczalnie współczynnik dyfuzji wynosił $5,3 \cdot 10^{-7}$ cm^2/s.

14.4. WYZNACZANIE MODUŁOWYCH RÓWNAŃ TRANSPORTU MASY POZWALAJĄCYCH NA OBLICZANIE SZYBKOŚCI PROCESU ULTRAFILTRACJI ROZTWORÓW ENZYMÓW

Wyprowadzenie modułowych równań opisujących zjawisko transportu masy w procesie ultrafiltracyjnego izolowania i zatężania białek aktywnych oparto na wzajemnej zależności współczynnika wnikania masy, właściwości fizycznych filtrowanego medium oraz parametrów operacyjnych procesu, opisanej równaniem [30,62]:

$$Sh = A * (Re)^{\alpha} * Sc^{\beta} \qquad (33)$$

Wartości stałych A, α, β zależą od rodzaju stosowanej membrany, od typu modułu membranowego oraz jego parametrów ekspolatacyjnych, a także od rodzaju filtrowanego roztworu. Jednocześnie brak jest skutecznych metod teoretycznego przewidywania ich wartości. Wiadomo jedynie, że α i β powinny być dodatnie. W związku z tym, dla każdego układu fizycznego stałe te muszą być wyznaczone doświadczalnie. Zależność (33) może być stosowana w przypadku filtracji prowadzonej w stałej temperaturze, w przepływie turbulentnym i w warunkach gdy stosowane ciśnienie transmembranowe jest wyższe od ciśnienia granicznego, ponieważ poniżej tej wartości zjawisko polaryzacji stężeniowej nie występuje lub jest znacznie ograniczone i nie można wówczas do opisu procesu ultrafiltracji stosować teorii filmu powierzchniowego [41,56,61,106,109,120]. Stwierdzono, że podczas pomiarów prowadzonych w temp. 295 K - 298 K, w czakresie ciśnień transmembranowych zmieniających się od $0,5*10^5$Pa do $4*10^5$Pa, oraz przy liniowych prędkościach przepływu w zakresie od 1 m/s do 4 m/s gęstości i lepkości przepływających roztworów enzymów pozostawały praktycznie stałe, w związku z czym stałą wartość miały również wartości liczby Schmidta (tabl. 39-41). W tym przypadku równanie (33) redukuje się do postaci:

$$Sh = A_1 \cdot Re^{\alpha} \qquad (34)$$

Tabela 39

Zależność Re, Sc, Sh od ciśnienia transmembranowego i liniowej prędkości przepływu w procesie ultrafiltracji preparatu enzymów mów amylolitycznych (T=295 K, współczynnik redukcji objętości:2)

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10$ [Pa^5]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Re	Sc	Sh	$\frac{\lvert\Delta Sh\rvert}{Sh_{(exp)}}$ [%] [1)]
0,5	1	13039	23876	309	2,6
	2	26031	23919	504	2,9
	3	38962	23971	657	5,0
	4	51813	24034	825	2,4
1,0	1	13036	23882	309	2,6
	2	26022	23927	507	2,2
	3	38962	23971	660	4,5
	4	51834	24024	822	2,9
1,5	1	13036	23882	308	2,9
	2	26031	23919	501	3,6
	3	38948	23980	663	4,1
	4	51834	24024	825	2,5
2,0	1	13031	23892	311	1,9
	2	26022	23927	495	4,6
	3	38962	23971	657	5,0
	4	51834	24024	819	3,3
2,5	1	13036	23882	308	2,9
	2	26022	23927	498	4,0
	3	38962	23971	663	4,1
	4	51853	24016	825	2,5
3,0	1	13036	23882	307	3,3
	2	26013	23936	498	4,0
	3	38962	23971	663	4,1
	4	51813	24034	834	1,3
3,5	1	13036	23882	309	2,6
	2	26922	23927	498	4,0
	3	38946	23980	666	3,6
	4	51834	24024	822	2,9
4,0	1	13036	23882	310	2,3
	2	26013	23936	504	2,8
	3	38948	23980	637	5,0
	4	51853	24016	828	2,2

[1)] $\Delta Sh = Sh_{(exp)} - Sh_{(model)}$

$Sh_{(model)}$ - zgodne z równ. 34

Tabela 40

Zależność Re, Sc, Sh od ciśnienia transmembranowego i liniowej prędkości przepływu w procesie ultrafiltracji preparatu enzymów proteolitycznych (T=295 K, współczynnik redukcji objętości:2)

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Re	Sc	Sh	$\frac{\lvert\Delta Sh\rvert}{Sh_{(exp)}}$ [%] [1)]
0,5	1	13831	22508	358	-
	2	27653	22516	417	-
	3	41462	22525	448	-
	4	55270	22531	479	-
1,0	1	13829	22512	486	-
	2	27656	22514	595	-
	3	41469	22522	663	-
	4	35283	22525	716	-
1,5	1	13835	22503	517	-
	2	27658	22512	719	-
	3	41477	22518	865	-
	4	55288	22523	950	-
2,0	1	13836	22501	570	0,45
	2	27658	22512	797	5,1
	3	41480	22516	962	8,8
	4	55293	22522	1161	5,6
2,5	1	13839	22497	573	0,17
	2	27663	22508	841	0,36
	3	41478	22517	1087	3,7
	4	55306	22516	1186	3,4
3,0	1	13837	22498	567	0,88
	2	27665	22506	912	8,1
	3	41487	22512	1146	0,08
	4	55312	22514	1255	2,3
3,5	1	13839	22497	567	0,88
	2	27650	22512	918	8,7
	3	41491	22510	1155	9,4
	4	55316	22512	1283	4,4
4,0	1	13840	22495	503	2,2
	2	27668	22504	784	6,9
	3	41494	22508	1032	1,5
	4	55316	22512	1264	3,0

[1)] $\Delta Sh = Sh_{(exp)} - Sh_{(model)}$

$Sh_{(model)}$ - zgodne z równ. 34

Tabela 41

Zależność Re, Sc, Sh od ciśnienia transmembranowego i liniowej prędkości przepływu w procesie ultrafiltracji preparatu enzymów pektynolitycznych (T=295 K, współczynnik redukcji objętości: 2)

Ciśnienie transmembranowe $\Delta P*10^5$ [Pa]	Liniowa prędkość przepływu [m/s]	Re	Sc	Sh	$\frac{\lvert\Delta Sh\rvert}{Sh_{(exp)}}$ [%] [1)]
0,5	1	13688	22743	308	-
	2	27369	22750	529	-
	3	41024	22766	770	-
	4	54678	22775	910	-
1,0	1	13690	22742	346	-
	2	27374	22746	535	-
	3	41049	22752	764	-
	4	54689	22770	922	-
1,5	1	13693	22735	352	4,5
	2	27377	22743	638	1,7
	3	41052	22751	833	2,8
	4	54725	22755	1048	1,9
2,0	1	13695	22733	358	2,8
	2	27377	22744	622	0,80
	3	41054	22750	836	2,4
	4	54732	22752	1038	2,9
2,5	1	13697	22730	357	3,1
	2	27381	22740	615	2,0
	3	41055	22749	833	2,8
	4	54736	22751	1037	3,0
3,0	1	13696	22731	366	0,55
	2	27381	22740	606	3,4
	3	41058	22747	835	2,5
	4	54738	22750	1049	1,8
3,5	1	13700	22725	349	5,4
	2	27384	22738	613	2,3
	3	41059	22747	841	1,8
	4	54740	22749	1058	0,95
4,0	1	13700	22724	360	2,2
	2	27384	22737	604	3,8
	3	41060	22745	843	1,5
	4	54744	22747	1048	1,9

[1)] $\Delta Sh = Sh_{(exp)} - Sh_{(model)}$

$Sh_{(model)}$ - zgodne z równ. 34

gdzie: $A_1 = A \cdot Sc^{\beta} = const.$ (35)

Metodą najmniejszych kwadratów wyznaczono dla wszystkich trzech preparatów enzymów wartości stałych A_1 i α, otrzymując następujące równania modułowe transportu masy:

- dla preparatu enzymów amylolitycznych:

$$Sh = 0,38 * Re^{0,71} \qquad (R^* = 0,992) \qquad (36)$$

- dla preparatu enzymów proteolitycznych:

$$Sh = 3,02 * Re^{0,55} \qquad (R^* = 0,987) \qquad (37)$$

- dla preparatu enzymów pektynolitycznych:

$$Sh = 0,24 * Re^{0,77} \qquad (R^* = 0,987) \qquad (38)$$

Wysokie wartości współczynników korelacji wielokrotnej (R^*) oraz niskie wartości obliczonych błędów bezwzględnych (tabl. 39-41) świadczą o tym, że zaproponowane modele (równ. 34-36) transportu masy opisują poprawnie proces ultrafiltracyjnego izolowania i zatężania roztworów enzymów w przebadanym zakresie parametrów procesowych.

15. PODSUMOWANIE I WNIOSKI KOŃCOWE

W pracy przedyskutowano możliwość ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania roztworów enzymów, które otrzymywane w wyniku hodowli wgłębnej bakterii *Bacillus subtilis* (enzymy amylolityczne i proteolityczne) i hodowli powierzchniowej nietoksynotwórczego grzyba nitkowatego *Aspergillus niger* (enzymy pektynolityczne), odpowiednio w cieczach pohodowlanych i w ekstrakcie z podłoża pohodowlanego, stanowią niewielki procent masowy produktu końcowego. Z uwagi na fakt, że otrzymywane w wyniku biosyntezy białka aktywne posiadają zdecydowanie wyższą masę molową w porównaniu z pozostałymi substancjami stanowiącymi balast produktu końcowego, można było, w wyniku separacji molekularnej, w procesie ultrafiltracji otrzymać preparaty enzymów o znacznie wyższej jakości w porównaniu z dostępnymi na rynku krajowym preparatami handlowymi. Stwiedzono, że:

1. Najkorzystniejszą membraną z włókna poliakrylonitrylowego do ultrafiltracyjnego zatężania roztworów enzymów amylolitycznych i pektynolitycznych jest membrana, której przepuszczalność na wodę jest niższa od $0,83 \cdot 10^{-10}$ m/s·Pa. Natomiast w przypadku enzymów proteolitycznych membrana powinna posiadać bardziej zwartą strukturę i charakteryzować się przepuszczalnością na wodę poniżej $0,7 \cdot 10^{-10}$ m/s·Pa. Membrany takie zapewniają odpowiednio wysokie wartości współczynników retencji białek aktywnych (dla współczynnika redukcji objętości nadawy równego 2 powyżej 95%) oraz wysokie wartości objętościowych strumieni permeatów.
2. Najkorzystniejszymi parametrami procesowymi ultrafiltracyjnego zatężania roztworów enzymów są:

- dla roztworu białek proteolitycznych i pektynolitycznych:
  ciśnienie transmembranowe: $3 * 10^5$ Pa,
  liniowa prędkość przepływu: 3 m/s - 4 m/s,
  temperatura: 295 K - 298 K,

- dla roztworu białek amylolitycznych:
  ciśnienie transmembranowe: $2*10^5$ Pa,
  liniowa prędkość przepływu: 4 m/s,
  temperatura: 295 K - 298 K.

3. W wyniku procesu ultrafiltracji omawianych roztworów enzymów, prowadzonego z zastosowaniem najkorzystniejszych parametrów procesowych i przy współczynniku redukcji objętości nadawy równym 10, do filtratu przechodzi od 79% do 87% substancji rozpuszczonych, a w tym od 56% do84 % wszystkich białek i około 80% - 90% związków mineralnych. Współczynniki wzrostu aktywności ogólnej retentatów ultrafiltracyjnych kształtują się na poziomie 7, a ogólne wskaźniki oczyszczenia enzymów wahają się w granicach od 2,5 do 4.
4. Retentaty ultrafiltracyjne zatężone w wyparce próżniowej o suchych masach zbliżonych do suchych mas preparatów handlowych (Amylogal CS, Proteopol BP-S i Pektopol PT), cechują się w porównaniu z nimi kilkakrotnie wyższymi aktywnościami ogólnymi i właściwymi:
- koncentrat enzymów amylolitycznych: ogólna aktywność amylolityczna wzrosła 5-krotnie, aktywność właściwa wzrosła 3,7-krotnie;
- koncentrat enzymów proteolitycznych: ogólna aktywność proteolityczna wzrosła 5,6-krotnie, aktywność właściwa wzrosła 4,4-krotnie;
- koncentrat enzymów pektynolitycznych: ogólna aktywność pektynolityczna wzrosła 3,3-krotnie, aktywność właściwa wzrosła 2,6-krotnie.

5. Proces ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania roztworów preparatów enzymów handlowych nie powoduje zmian we właściwościach enzymatycznych otrzymywanych retentatów, a efektywność ich działania jest proporcjonalna do ogólnej aktywności enzymatycznej roztworów.
6. Procesy ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania enzymów amylolitycznych, proteolitycznych i pektynolitycznych mogą być opisane następującymi modułowymi równaniami transportu masy:

- dla roztworu białek amylolitycznych:

$$Sh = 0,38 * Re^{0,71}$$

($\Delta P = 0.5*10^5$ Pa - $4*10^5$ Pa, u = 1 m/s - 4m/s, T = 298 K)

- dla roztworu białek proteolitycznych:

$$Sh = 3,02 * Re^{0,55}$$

($\Delta P = 2*10^5$ Pa - $4*10^5$ Pa, u = 1 m/s - 4 m/s, T = 298 K)

- dla roztworu białek pektynolitycznych:

$$Sh = 0,24 * Re^{0,77}$$

($\Delta P = 1,2*10^5$ Pa - $4*10^5$ Pa, u = 1 m/s - 4 m/s, T = 298 K)

Znajomość współczynników wyznaczonych równań pozwala na przewidywanie objętościowego strumienia permeatu w procesie ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania roztworów enzymów amylolitycznych, proteolitycznych i pektynolitycznych, dla przebadanego zakresu parametrów procesowych oraz dla danego rodzaju modułu ultrafiltracyjnego.

LITERATURA

1. Anderson K.W., Grulke E., Gerhard P.: Variable - volume hollow fiber enzyme reactor with pulsative flow, Biotechnology, 2,891 (1984).
2. Arika M., Kobayashi H.: Pilot plant test of an activated sludge ultrafiltration combined process for domestic wastewater reclamation, Desalination, 23, 77 (1977).
3. Bailey P.A.: Ultrafiltration - The current state of the art, Filtr. Separ., 14, 3, 213 (1977).
4. Belfort G., Ed.: Synthetic Membrane Processes, Academic Press, Orlando, FL, (1984)
5. Van Der Berg G.B., Racz J.G., Smolders C.A.: Mass transfer coefficients in cross - flow ultrafiltration, J. Membr. Sci., 47, 25 (1989).
6. Van Der Berg G.B., Smolders C.A.: Flux decline in ultrafiltration processes, Desalination, 77, 101 (1990)
7. Van Der Berg G.B., Racz I.G., Smolders C.A.: Mass transfer coefficients in cross-flow ultrafiltration, J. Membr. Sci., 47 (1989) 25.
8. Bier M.: Membrane Processes in Industry and Biomedicine, Plenum Press, New York - London (1971).
9. Blatt W.F., Hudson B.G., Robinson S.M.: The application of selective ultrafiltration to protein chemistry, Anal. Biochem., 22, 1, (1968).
10. Bodzek M.: Physicochemical characterization of ultrafiltration membranes, Polish J. Chem., 57, 919 (1983).
11. Bodzek M., Kominek O.: Ultrafiltracja ścieków komunalnych, Gaz, Woda i Techn. Sanit., 57, 248 (1983).
12. Bodzek M.: Ultrafiltracyjne membrany z poliakrylonitrylu, cz.1 - Otrzymanie i struktura, Polimery, 29, 63 (1984)

13. Bodzek M.: Determination of pore characteristics of polymer ultrafiltration membranes by gas adsorption/desportion method, Chemia Analityczna, 30, 563 (1985).
14. Bodzek M.: Studia nad otrzymaniem, strukturą, własnościami transportowymi i zastosowaniem membran do ultrafiltracji, Zeszyty Naukowe Pol. Śl., ser. Inżynieria Środowiska, z.27 Gliwice (1985).
15. Bodzek M.: Ultrafiltracyjne membrany z poli (chlorku winylu), Polimery, 30, 391 (1985).
16. Bodzek M., Bohdziewicz J.: Raport z badań prowadzonych w ramach CPBP 02.11, Doskonalenie procesów biotechnologicznych, Gliwice (1987).
17. Bodzek M.: Określenie struktury porowatej polimerowych membran ultrafiltracyjnych metodą adsorpcji i desorpcji azotu, Polimery, 32, 67 (1987).
18. Bodzek M.:Metody charakteryzowania membran ultrafiltracyjnych, Chemia Analityczna, 36,637 (1991).
19. Bodzek M., Bohdziewicz J.: Możliwości wykorzystania procesu ultrafiltracji w biotechnologii, Materiały sesyjne: III Ogólnokrajowa Sesja Naukowa "Postęp Inżynierii Bioreaktorowej" Łódź'87, 1,127 (1987).
20. Bodzek M., Bohdziewicz J.: Membrany w biotechnologii, Zeszyty Naukowe Pol. Śl., ser. Inżynieria Środowiska, Monografia z.35, Gliwice (1993).
21. Bohdziewicz J., Bodzek M., Korus I.: Zatężanie i oczyszczanie białek enzymatycznych metodą ultrafiltracji, Wiadomości Chemiczne, 43, 11-12, 925 (1989).
22. Bohdziewicz J., Bodzek M.: Ultrafiltracja metodą wspomagającą procesy biochemiczne, Wiadomości Chemiczne, 44, 5-6, 63 (1990).
23. Bohdziewicz J., Bodzek M., Korus I.: Oczyszczanie i zatężanie enzymów pektynolitycznych metodą ultrafiltracji, Biotechnologia, (8-9), 2-3, 23 (1990).
24. Bohdziewicz J.: Influence of the ultrafiltration purification of technical enzyme preparation Pektopol PT on the improvement of its quality, Materiały konferencyjne : Proceedings ofthe East Europe - Japan Workshop on Frontiers in membrane science and technology, Toruń, 125 (1992).

25. Bohdziewicz J., Bodzek M.: ultrafiltration preparation of liquid pectinolytic enzyme solution from citric acid fermentation broth, Materiały konferencyjne : European Congress and Exhibition of Membranes and Membrane Technologies, Paryż (1992).
26. Bohdziewicz J.: Ultrafiltracja białek enzymów z grupy hydrolaz, Zeszyty Naukowe Pol. Śl., ser. Inżynieria Środowiska, artykuł w druku.
27. Bohdziewicz J.: Ultrafiltration of technical proteolytic enzymes, Process Biochemistry, 29, 109 (1994).
28. Bohdziewicz J.: Ultrafiltracyjne oczyszczanie i zatężanie enzymów proteolitycznych wykorzystywanych w przemyśle spożywczym, Biotechnologia, artykuł w druku.
29. Bohdziewicz J., Warzecha L.: Zastosowanie procesu filtracji żelowej do określenia dystrybucji mas cząsteczkowych składników ciekłych preparatów enzymatycznych po ich ultrafiltracyjnym oczyszczaniu i zatężaniu, Biotechnologia, artykuł w druku.
30. Bohdziewicz J.: Mass transfer in cross- flow ultrafiltration of protein enzyme technical preparation Proteopol BP-S ,Process Biochemistry, artykuł w druku.
31. Bohdziewicz J., Bodzek M.: Ultrafiltration preparation of pectinolytic enzymes from citric acid fermentation broth, Process Biochemistry, 29,' 99 (1994).
32. Bollmeier J.P, Middleman S.: Hydrolysis of urea by gelatin-immobilized urease: separation of kinetic and diffusion phenomenoa in a model immobilized-enzyme reactor system, Biotechnol.Bioeng., 21, 2303 (1979).
33. Boonthanon S., Hwan L.S., Vigneswaran S., Aim R.B., MoraJ.C.: Application of pulsationg cleaning technique in cross-flow microfiltration, Filtration & Separation, May/June, 199 (1991).
34. Borowiec S.: Racjonalne stosowanie enzymatycznego preparatu Pektopol PT w procesie depektynizacji soku jabłkowego, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 1, 26 (1988).
35. Broens L., Bargeman D., Smolders C.A.: On the mechanism of formation of PPO ultrafiltration membranes, Proc. 6th, Intern. Symp. on Fresh Water from the Sea, 3, 165 (1978).

36. Broens L., Koenhen D.M., Smolders C.A.: On the mechanism of formation of assymetric ultra- and hyperfiltration membranes, Desalination, 22, 205 (1977).
37. Buting P.S., Laidler K.J.: Studies on desalination by reverse osmosis, Biotechnol. Bioeng., 16, 119, (1974).
38. Cabasso I.: Development of a new alloy membranes for water desalination, Polym. Sci. Technol., 13, 57 (1980).
39. Capobiagoni G., Drioli E., Ragosta G.: Ultrafiltration process with enzyme - gel composite membranes, J. Solid. - Phase Biochem., 2, 315 (1977).
40. Cardman A.D., Fleming R., Guy R.H.: Diffusion coefficient determination using a filter-paper diaphram cell technique, J. Pharm. Pharmacol., 33, 121 (1981).
41. Cheryan M., Ultrafiltration Handbook, Technomic Publishing Co., Lancaster (1986).
42. Charm S.E., Wong B.L.: Enzyme inactivation with shearing, Biotechnol. Bioeng., 12, 1103 (1970).
43. Cho Y.K., Bailey J.E.: Immobilization of Enzymes on Activated Carbon: Selection and Preparatioin of the Carbon Support, Biotechnol.Bioeng. 21, 461 (1979).
44. Cooney C.L.: Prospects for chemical and fuels production by fermentation, Science, 219, 728 (1983).
45. Cooper A.R.: Ultrafiltration Membranes and Applications, Plenum Press, New York (1979).
46. Cuprrus F.P., Bargeman D., Smolders C.A.: Charakterization of anisotropic UF-membranes: top layer thickness and pore structure, J. Membr. Sci., 61, 73 (1991).
47. Dalven P.I., Hilderbrandt J.R., shamir A., Lacetti A.J., Hodgins L.T., Gregor H.P.: Preparation and structures of the poly (vinyl chloride) porous membranes, J. Appl. Polym. Sci., 30, 1113 (1985).
48. De Groot S.R., Mazur P.: Non-Equilibrium Thermodynamics, Nort - Holland, Amsterdam (1962).
49. Drioli E.: Membrane enzimatiche e processi di membrana nelle biotechnologie, Estratto da L'Italia Agricola, 121, 3, 71 (1984).
50. Drioli E., Iorio G., De Rosa M., Gambacorta A., Nicolaus B.: High - temperature immobilized cell ultrafiltration reactors, J. Membr. Sci., 11, 365 (1982).

51. Drioli E., Iorio G., Santoro R., De Rosa M., Gambacorta A., Nicolaus B.: Whole cell immobilization in polyurethane structural foam, J. Mol. Catalysis, 14, 247 (1982).
52. Drioli E., Scardi V.:Characteristics od porous cellulose acetate membranes for the seperation of some inorganic salts in aqueous solution, J. Membr. Sci., 1, 237 (1976).
53. Dytnierski J.I., Obratnyj osmoz i ultrafiltracja, Chemia, Moskwa (1978).
54. Dytnierski J.I., Baromembrannyje procesy, Chemia, Moskwa (1986).
55. Fane. A.G., Fell C.J.D., Waters A.G.: The relationship between membrane surface pore characteristics and flux for ultrafiltration membranes, J. Memr. Sci., 9, (3), 245 (1981).
56. Fane A.G., Fell C.J.D., Wiley D., Mc Donogh R.: Concentration polarization, mass transfer and fluid dynamics in membrane systems, Paper presented on Summer School on Engineering Aspects of Membrane Processes, Aarhus, Denmark (1986).
57. Flinn J.E.: Membrane Science and Technology, Plenum Press, New York, (1970).
58. Flory P.J.: Principles of Polymer Chemistry, Cornell Univ. Press., New York (1953).
59. Galas E.: Enzymy w przemyśle spożywczym, Wiadomości Chemiczne, 39, 11, 11 (1984).
60. Galas E., Otrzymanie i zastosowanie enzymów w przemyśle, Materiały konferencyjne: Biotechnologia w gospodarce żywnościowej, Olsztyn, 27.04. - 29.04.1989.
61. Gekas V., Olund K.: Mass transfer in the membrane concentration polarization layer under turbulent cross flow, J. Membr. Sci., 37, 145 (1988).
62. Gierczycki A., Bohdziewicz J.: Próby modelowania przepływu w procesie ultrafiltracji enzymów pektynolitycznych, Biotechnologia, 12, 2, 58 (1991).
63. Glaves C.L.,Smith D.M.: Membrane pore structure analysis via NMR spin-lattice relaxation expariments, J. Membr. Sci., 46, 167 (1989).
64. Gollman K.L.: Fouling of microporous membranes in biological applications, J.Membr.Sci., 40, 2, 231 (1989).

65. Greco G.Jr., Alfani F., Iorio G., Cantarella M., Formisano A. Granfreda L., Palescandlo R., Scardi V.: Dialyzer effects on convective solute transport, Biotechnol. Bioeng., 21, 1421 (1979).
66. Greco Jr.J., Alfani F., Iorio G.,Formisano C.A.,Gianfreda L., Palescandolo R., Scardi V.: Theoretical and experimental analysis of a soluble enzyme membrane reactor,Biotechnol.Bioeng. 21, 1421 (1979).
67. Grober H., Erk S., Grigull U.: Fundamentals of Heat Transfer, Mc Graw - Hill, New York (1961).
68. Habib K.: Predictibility of a membrane transport model. A general approa, Desalination 75, 41 (1990).
69. Hampl V.: Analytical methods for determination of aerosols by means of membrane ultrafilters IX. Estimation of the mean pore size at the ultrafilters surfaces by means of electron microscopy, Collection Czechoslov. Chem. Commun., 32, 1983 (1967).
70. Hampl V., Spurny K.: Analytical methods for determination of aerosols by means of membrane ultrafilters X. Comparison of method used for the determination of the mean radius and the pore distribution curve, Collection Czechoslov. Chem. Commun., 32, 4181 (1967).
71. Hanus J., Pasek A., Scachora H., Kocera J.: Semipermeable membranes, Proc. of Sec. D., 2nd Congress APLICHEM 76, Bratysława, CSRR, 237 (1976).
72. Harriot P., Hamilton R.M.: Description of mass at phase boundary surfaces, Chem. Eng. Sci., 20, 1073 (1965).
73. Hermanowicz W., Dożańska W., Dojlido J., Koziorowski B.: Fizyko-chemiczne badanie wody i ścieków, Arkady, Warszawa (1976).
74. Hlavacek F., Ihotsky A.: Piwowarstwo, Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1970.
75. Hoffman H., Kuhlmann W., Meyer H.D., Schugerl K.: Transport of organic acids through perfluorosulfonate polymeric membranes, J. Membr. Sci., 22, 235 (1985).
76. Hudson J.R.: Wort, the key to beer quality, Proc. EBC 14th Congress 1973, Elsevier - Amsterdam, 157 (1973).

77. Iorio G.: Membrane phenomena and processes, Membrane in Biotechnology, Prace Naukowe Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska Pol. Wrocławskiej, Seria: Studia i Materiały, 21, 183 (1986).
78. Jandel A.S., Hustedt H., Wandrey C.: Continuous production of - alnine from fumarate in two - stage reactor, European J. Appl. Microbiol., 15, 59 (1982).
79. Jonsson G.: Boundary layer phenomena during ultrafitration of dextran and whey protein solutions, Desalination, 51, 61 (1984).
80. Jonsson G., Johansen P.L.: Selectivity of ultrafiltration membranes. Influence of fouling and cleaning conditions, Filtration & Seperation, January/February 1991, 21.
81. Jonston C.J.: Mechanism of formation of asymetric membranes used in reverse osmosis, Polymer, 19, 228 (1978).
82. Kamide K., Manabe S., Characterization technique of straight -through porous membrane, Polym. Sci. Technol., 13, 173 (1980).
83. Kasperczik V.P., Bildjuczkiewicz A.V.: tytuł polski: Wpływ stężenia dekstranu na charakterystykę transportu membran, Chimia i Tiechnołogia Wody, 14, 53 (1992).
84. Katchalsky A., Curran P.F.: Non-Equilibrium Thermodynamisc in Biophysics, Harvard Univ. Press, Cambridge (1967).
85. Kembłowski Z., Reometria płynów nieniutonowskich, WNT, Warszawa (1972).
86. Kesting R.E.: Synthetic polymeric Membranes, Mc graw - Hill, New York (1971).
87. Kesting R.E.: Synthetic Polymeric Membranes - Structural Perspective, John Wiley and Sons, New York (1985).
88. Klinkowski P.R., Ultrafiltration: An emerging unit operation, Chem. Eng., 85, (8/V), 165 (1978).
89. Kluszczyk K., Buba K., Rzędowski W., Rzędowski E., Raport: Próby zastosowania ultrafiltracji do zagęszczania i oczyszczania enzymów pektynolitycznych przy zastosowaniu aparatury Peterson Candy International, Stacja Dośw. przy Zakładach Pektowin w Jaśle, IPF, Warszawa (1972).
90. Koenhen D.M., Mulder M.H., Smolders C.A.: New cation-exchange membranes for hyperfiltration processes, J. Appl.Polym. Sci., 21, 199 (1977).

91. Kujawski W., Adamczyk P., Narębska A.: A fully automated system for the determination of pore distribution in microfiltration and ultarfiltration membranes, Sep. Sci. Technol., 24, 495 (1989).
92. Lacey R.E., Loeb S.: Industrial Processing with Membranes, Wiley Interscience, New York (1972).
93. Lakahiminarayanaiah N.: Transport phenomena in artificial membranes, Chem. Revs., 65, 491 (1965).
94. Le M.S., Billigheiner N.: Membranes in downstream processing, The Chemical Engineering, 4, 48 (1985).
95. Lindman M., Webster D.W., Tornqvist A.: Ultrafiltration of microbiological products, Filtr. Separ., 21, 1, 17 (1984).
96. Mc Donogh R.M., Fell C.J.D., Fane A.G.: Surface charge and permeability in the ultrafiltration of non-flocculating colloids, J. Membr. Sci., 21, 285 (1984).
97. Meares P.: Membrane Separation Processes, Elsevier Scientific Publishing Sc., Amsterdam (1976).
98. Mejbaum Katzenellenbogen W., Mochnacka I.: Kurs praktyczny z biochemii, PWN, Warszawa (1966).
99. Merten U.: Desalination by Reverse Osmosis, The MIT Press, Cambridge (1966).
100. Merten U., Cheryan M.: A study of the mechanism of fouling of ultrafiltration membranes, J. Appl. Polym. Sci., 25, 2139 (1980).
101. Michaels A.S.: New separation technique for CPI, Chem. Eng. Progress, 64, (12), 31 (1968).
102. Michaels A.S.: Pracitical aspects in the development of polymer atrixs for ultrafiltration, Desalination, 35, 329 (1980).
103. Michaels A.S.: Ultrafiltration: an adolescent technology, Chem. Technology, 11, (1), 36 (1981).
104. Michaels A.S., Strathman H.: Microporous ion exchange membrane, J. Membr. Sci., 15, 118 (1983).
105. Michaels A.S., Hatson S.L., Use of isotropic porous-wal polymeric membrane hollow-fibers for culture of microbes and other living cells, Desalination, 53, 231, (1985).
106. Mulder M.: Basic Principles of Membranes Technology, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht-Boston-London (1991).

107. Nagata N., Herouvis K.J., Dziewulski D.M., Belfort G.: Crossflow membrane microfiltration od a bacterial fermentation broth, Biotech. Bioeng., 34, 447 (1989).

108. Nakao S., Kimura S.: Evaluation of mass transfer coefficient and pore model, in: Characterization of Ultrafiltration Membranes (Ed. Tragel layer formed on ultrafiltration tubular membrane, A.I.Ch.E.J., 25, 615 (1979).

109. Nakao S., Nomura T., Kimura S.: Characteristic of macromolecular gel layer formed on ultrafiltration tubular membrane, A.I.Ch.E.J., 25, 615 (1979).

110. Narębska A.: Membrany i techniki membranowe - nazewnictwo polskie, cz.1. Ciśnieniowe techniki seperacyjne, Polimery, 158 (1991).

111. Norma zakładowa ZN-83/MRGZ-5737, Enzymatyczny preparat amylolityczny Amylogal CS do celów spożywczych (1983).

112. Norma zakładowa ZN-83/MRGZ-57-39, Enzymatyczne preparaty pektynolityczne Pektopol P i "Pektopol PT" (1983).

113. Norma zakładowa ZN-83/MRGZ-C-20-651, Enzymatyczny preparat proteolityczny Proteopol BP-S do celów spożywczych (1983).

114. Noworyta A., Mielczarek M., Kołtuniewicz A., Stankiewicz Z.: Wpływ parametrów procesowych na membranowy rozdział produktów, Materiały III Ogólnokrajowej Sesji Naukowej "Postępy Inżynierii Bioreaktorowej Łódź '87", 135 (1987).

115. Oritenberg E.S., Stołypin O.S., Timkowska A.F., Prokonowicz A.W., Dikowa U.F.: Isliedowanie ultrafiltracionnowo metoda oczistki amylolityczeskich roztworow, Khim.-Farm. Zh. 19, 78 (1985).

116. O'Sullivan T.J., Epstein A.C., Korchin S.R., Beaton N.C., Apllications of ultrafiltration in biotechnology, Chem. Eng. Process, 10, 1, 68 (1984).

117. Pasek A.: Izolace technickych ezymu ultrafiltraci, Chemickie Listy, 75, 856 (1981).

118. Połocki A. E., Galenko W.S., Frienkiel S.A., Opriedielenie koeficientow dyfuzji w roztworie po pierienosu wieszczestwa czerez poristuju membranu, Prikł. Bioch. i Mikrob., 23, 1 (1987).

119. Porter M.C.: Membrane ultrafitration for pollution abatement and byproduct recovery, A.I.Ch.E. Symp. Ser., 69, 129, 100 (1973).

120. Porter M.C., Membrane ultrafiltration. Apllication in processing vegetal foods and beverages, Ind. Eng. Chem. Proc. Des. Dev., 11, 234 (1984).

121. Porter M.C., Micheals A.C.: Applications for membrane ultrafiltration to food processing, Chem. Technol., 1, 56 (1972).

122. Praca zbiorowa: Instrukcja technologiczna procesu depektynizacji soku jabłkowego przy zastosowaniu handlowego preparatu pektynolitycznego Pektopol PT, Instytut Przemysłu Fermentacyjnego, Warszawa (1986).

123. Pradanos P., Arribas J.I., Hernandez A.: Mass transfer and retention of PGE's in cross - flow through three assymmetric ultrafiltration membranes, Membrane Preparation, Fouling - Emerging Processes, Recents Progres En Genie Des Procedes, 6, 22, 167 (1992).

124. Prenosil I.E., Hediger T.: Scale-up of membrane fixed enzyme reactors: Modelling and experiments, Desalination, 53, 265 (1985).

125. Prenosil J.E., Hediger T., Performace of membrane fixed biocatalyst reactors:Membrane reactor systems and modelling, Biotechnol.ogy and bioengineering, 31 (1988) 913-921.

126. Pronk W., Kerkhof P.J.A., Van Helden C., Van't Rient K.: The hydrolysis of triglycerides by immobilized lipase in a hydrophilic membrane reactor, Biotechnol. Bioeng., 32, 512 (1988).

127. Pusch W.:Membrane potential of assymmetric cellulose acetate membranes, Ber. Bunsenges. Phys. Chem., 81, 269 (1977).

128. Pusch W., Walch A., Membrane structure and its correlation with membrane permeability, J. Membr. Sci., 10, 325 (1982).

129. Reybal R.E.T.: Mass Trnasfer Operations, Mc Graw-Hill, New York (1981).

130. Riley R.L., Merten U., Gardner J.O.: Replication electron microscopy of cellulose acetate osmotic membranes, Desalination, 1, 30 (1966).

131. Ross Eithier C., Lin D.C.: Refractometric measurement of polarized layer structure: studies of hyaluronic acid ultrafiltration, J. Membr. Sci., 68, 249 (1992).

132. Rucka M., Winnicki T., Żuk S.: Post. Biochem.,33, 81 (1987).

133. Sachs S.B., Zisner E.: Waste water renowation by sewage ultrafiltration, Desalination, 20, 203 (1977).

134. Sasserod S.: Membranfiltration in der Biotechnologie, Chem. - Anlagen-Verfahren, 4, 99 (1984).
135. Scheidegger A.E.: The physiscs of flow through porous media, Mac Millan Co., New York (1957).
136. Sherwood R.K., Pigford R.L., Wilke C.R.: Mass Transfer, Mc Graw-Hill, New York (1975).
137. Schmidt-Steffen A., Staude E.: Ultrafiltration membranes for chemical bonding of urease, Biotechnol.Bioeng., 39, 725 (1992).
138. Schur F., Ullmann F., Schlienger E., Halbtechnische Versuche zur Bierherstellung mit neuartiger Rohstoffen und unkonventionellen Verfahren, Brauwissenschaft, 11, 413 (1968).
139. Shwartz H.H, Hicke H.G.: Influence of casting solution concentration on structure and performance of cellulose acetate membranes, J. Memb. Sci., 45, 325 (1989).
140. Serwiński M.: Zasady inżynierii chemicznej i procesowej, WNT, Warszawa (1982).
141. Sherwood R.K., Brian P.L., Fischer R.E., Dressler L.: Polarization in reverse osmosis desalination with rariable flux and incomplete salt rejection, Ind. Eng. Chem. Fundamentals, 4, 113 (1965).
142. Smolders C.A: Morphology of skinned membranes, a rationale from phase seperation phenomena, Polym. Sci. Technol., 13, 161 (1980).
143. Sourirajan S.: Reverse Osmosis and Synthetic Membranes, National Research Council Canada, Ottawa (1977).
144. Spiegler K.S., Kedem O.: Principles of desalination, Desalination 1, 311 (1966).
145. Stachowicz K., Jędrychowska B., Krakowiak A., Kłosińska-Rycerska B., Sawicka R., Skiba J., Zakrzewski A.: Zastosowanie ultrafiltracji do zagęszczania i oczyszczania roztworów enzymatycznych, Prace Instytutów i Laboratoriów Badawczych Przemysłu Spożywczego, 25, 321 (1975).
146. Stavenger P.L.: Putting semipermeable membranes to work, Chem. Eng. Progress, 67, 3, 30 (1971).
147. Stokes R.H.: The diffusion coefficients of eight univalent electrolytes in aqueous solution at 25°C, J. Amer. Chem. Soc., 72, 5, 2243 (1950).

148. Strathmann H.:Membrane separation processes, J. Membr. Sci., 9, 121 (1981).
149. Strathmann H., Kock K., Amar P.: Asymetric polyimide membranes, Desalination, 16, 179 (1975).
150. Strathmann H., Kock K.,: The formation mechanism of phase inversion membranes, Desalination, 21, 241 (1977).
151. Strathmann H., Scheible P.: Material separation by pressure filtration with semipermeable membranes, Kolloid. Ż. Polymere, 246, 669 (1971).
152. Suki A., Fine A.G., Fell C.J.D.: Flux decline in protein ultrafitration, J. Membr. Sci., 21, 269 (1984).
153. Szewczuk A.: Methods for preparation of insoluble enzymes, Wiad. Chem., 27, 289 (1973).
154. Szewczuk A., Rapak A.: Enzyme immunassay of biologically active substances and its application, Wiad. Chem., 39, 31 (1985).
155. Szewczuk A., Rapak A.: Immobilizowane enzymy - otrzymywanie i zastosowanie, Wiad. Chem. 39, 31 (1985).
156. Tamm C.M., Tremblay A.Y.: Membrane pore characterization - - comparision between single and multicomponent solute probe techniques, J. Membr. Sci., 57, 271 (1991).
157. Tragardch D.: Characterization methods for ultrafiltration membranes, Desalination, 53, 25 (1985).
158. Vivier H., Pons M.P., Portala J.F: Study of microporous membrane structure by image analysis, J. Memb. Sci., 46, 81 (1989).
159. Waterland L.R., Michaels A.S., Robertson G.R.: Theoretical model for enzymic catalysis using asymetric fiber membranes, A.I.Ch.E.J., 20,50 (1974).
160. Wesselingh j.A., Krishna R.: Mass Transfer, Ellis Horwood Limited, New York (1990).
161. Wieg A.J.,: Technology of Barley Brewing, Process Biochemistry, 7, 46 (1970).
162. Zbiór instrukcji: Soki i koncentraty z owoców i warzyw, Instytut Przemysłu Fermentacyjnego, Warszawa (1970).
163. Zielińska K., Rycerska B., Optymalne warunki stosowania krajowych preparatów amylolitycznych cz.1, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 6,9 (1987).

164. Zielińska k., Rycerska B., Murawski Z., Optymalne warunki stosowania krajowych preparatów amylolitycznych cz.2, Przemysł Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny, 10, 13 (1987).
165. Żuk J.S., Rucka M., Rak J.: Ultrafiltration of cheese using enzyme membrane, E.P.E., 8, 1-4, 95 (1982).

ULTRAFILTRACYJNE OCZYSZCZANIE I ZATĘŻENIE BIAŁEK ENZYMÓW Z GRUPY HYDROLAZ STOSOWANYCH W PRZEMYŚLE SPOŻYWCZYM

Streszczenie

Przeprowadzono badania, których celem była próba kompleksowego rozwiązania zagadnienia ultrafiltracyjnego oczyszczania i zatężania enzymów z grupy hydrolaz stosowanych w przemyśle spożywczym. Amylogal CS, Proteopol BP-S oraz Pektopol PT są handlowymi preparatami enzymów produkowanymi w Zakładach Rolno-Przemysłowych "Pektowin" w Jaśle.

W pierwszym etapie badań określono charakterystykę fizykochemiczną ultrafiltracyjnych membran z poliakrylonitrylu na podstawie badań ich struktury i właściwości transportowo-separacyjnych pod kątem wykorzystania do oczyszczania i zatężania preparatów białek aktywnych. Następnie wyznaczono najkorzystniejsze parametry operacyjne procesu ultrafiltracji mające wpływ na jego wydajność i efektywność. Dokonano oceny jakości otrzymanych retentatów enzymów porównując skuteczność ich działania z preparatami handlowymi w konkretnych procesach technologicznych.

W celu dokładniejszej oceny efektywności procesu ultrafiltracyjnego usuwania z roztworów białek aktywnych składników małocząsteczkowych, procesowi sączenia molekularnego poddawano frakcje nadaw i retentatów ultrafiltracyjnych.

W końcowej fazie badań dokonano próby matematycznego opisu zjawiska transportu masy w omawianych procesach, bazując na właściwościach fizycznych filtrowanych mediów oraz wyznaczonych najkorzystniejszych parametrach operacyjnych. Znajomość wartości stężeń białek na granicy faz roztwór - membrana, ich współczynników dyfuzji oraz wartości współczynników wnikania masy pozwoliła na zaproponowanie równań o charakterze ogólnym, umożliwiających określanie wielkości objętościowego strumienia permeatu dla róż-

nych warunków prowadzenia procesu ultrafiltracji i różnych właściwości fizykochemicznych roztworów enzymów, co jest bardzo pomocne w projektowaniu procesu ich zatężania i oczyszczania.

ULTRAFILTRATION PURIFICATION AND CONCENTRATION OF THE ENZYME PROTEINS OF HYDROLASE GROUP, USED IN THE FOOD INDUSTRY

Summary

The studies were carried out, aim of which was attempt to complex solution the problem of ultrafiltration purification and concentration of the hydrolase group enzymes used in the food industry. Amylogal CS, Proteopol BP-S and Pektopol PT are commercial enzyme preparations produced in Food-Industrial Plant in Jaslo.

In the first stage of investigations the physicochemical characteristic of ultrafiltration membranes was determined, basing on the studies of their structure and transport-separation properties in respect to purification and concentration of active protein preparations. Next, the optimal values of the operational parameters of the ultrafiltration process, which influenced their efficiency and effectiveness, were determined. The quality evaluation of the obtained enzyme retentates has been made, by comparison of their effectiveness with commercial preparations in the actual technological processes.

In order to more accurate evaluation of the ultrafiltration removal of low-moleculat weight substances from solution of active proteins, the feed and retentates fractions were processed to molecular filtration.

In the final stage of investigastions the attempt of mathematical description of mass transfer phenomenon in the discussed processes, has been made, basing on the physical properties of the filtered medium and determined optimal process parameters. The knowledge of the data of the protein concentration at the interface membrane-solution, their diffusivity and mass transfer coefficients, permits to suggest the general equations to calculate the volume permeate flux values for various conditions of the process parameters and various physicochemical properties of the enzyme solution, which is very helpful in designing of their concentration and purification process.

УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИОННАЯ ОЧИСТКА И КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ БЕЛКОВ ИЗ ГРУППЫ ГИДРОЛАЗ ПРИМЕНЯЕМЫХ В ПИЩЕПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Резюме

Целью проведенных исследований была попытка комплексного решения вопроса ультрафильтрационной очистки и концентрации ферментов из группы гидролаз применяемых в пищеперерабатывающей промышленности. Амилгал CS, Протсопол BP-S и Пектопол PT, являются препаратами ферментов, находящимися в торговле, производимыми на заводе "Пектовин" в г.Ясло.

На первоначальном этапе исследований была определена физико-химическая характеристика ультрафильтрационных мембран из полиакрилонитрила, на основе исследования их структуры и транспортно-сепаративных свойств, с учётом их использования для очистки и концентрирования препаратов активных белков. Затем, были определены самые выгодные оперативные параметры процесса ультрафильтрации, оказывающие влияние на его производительность и эффективность. Была проведена тоже оценка качества полученных ретентантов ферментов, путём сравнения эффективности их действия и действия препаратов находящихся на рынке, в определенных технологических процессах. Для более точной оценки эффективности процесса ультрафильтрационного удаления из растворов активных белков низкомолекулярных компонентов, фракции садив и ультрафильтрационных ретентантов поддавались процессу молекулярной фильтрации.

На конечном этапе исследований была проведена попытка математического представления явления транспорта массы в рассматриваемых процессах, с учётом физических свойств фильтрованных рабочих тел, и определенных, самых выгодных оперативных параметров. Знание значений концентрации белков на границе фаз раствор - мембрана, их коэффициента диффузии, а также значений коэффициентов массоотдачи, позволило предложить уравнения общего вида, дающие возможность определить значения объёмной струи пермеата, для разных условий ведения процесса ультрафильтрации, и разных физикохимических свойств растворов ферментов, что является очень полезным при проектировании процесса их концентрирования и очистки.

BIBLIOTEKA GŁÓWNA
Politechniki Śląskiej
P. 3355/94/38