

В. Э. ЩЕРБАК

Рижский технический университет

А. Ф. ИСКЕНДЕРОВ

Институт микробиологии им. Августа Кирхенштейна АН Латвии

## МЕСТО МИКРОФИЛЬТРАЦИИ И УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ В БИОТЕХНОЛОГИИ

Исторически сложилось так, что именно биотехнология была той областью, в которой впервые практически применены микрофльтрация (МФ) и ультрафльтрация (УФ) в основном для очистки, выделения и концентрирования белков и ферментов [1—5]. В современной биоиндустрии области рассматриваемых методов значительно шире и могут быть классифицированы следующим образом:

- выделение и очистка продуктов микробного синтеза, в том числе и (или) фракционирование, разделение;
- подготовка и стерилизация питательной среды или ее компонентов;
- совмещение процесса культивирования и выделения, т. е. создание мембранных биореакторов;
- обработка сточных вод с целью извлечения ценных компонентов или нейтрализации.

В данной работе представлены результаты исследований по применению МФ и УФ в технологических линиях по производству различных биопрепаратов.

По регламенту производства *l*-лизина в качестве источника азота используется раствор аммиака. С целью стерилизации этого раствора были проведены исследования по подбору типа мембран и определения режима микрофльтрации. Исследования показали, что для изучаемой системы «раствор аммиака-мембрана» наиболее пригодным типом мембран являются блочные трубчатые ультрафилтраты марки БТУ-0,5/2 с материалом мембраны из фторопласта (НПО «ТАСМА», г. Казань). Мембраны данного типа легко комплектуются в отдельный модуль, стойки в сильнощелочной среде, что не свойственно серийно выпускаемым мембранам плоского типа.

Испытания различных химически стойких плоских микрофильтрационных мембран показали их неэффективность из-за резкого снижения производительности, т. е. перехода в режим УФ.

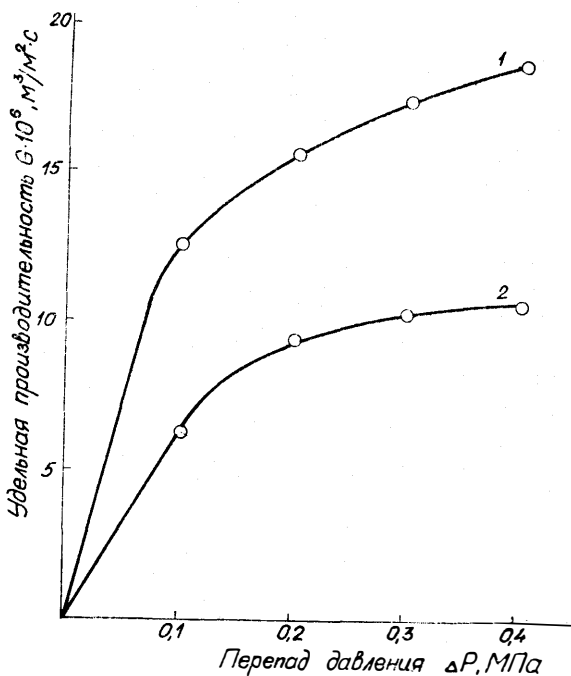


Рис. 1. Зависимость удельной производительности от перепада давления:  
1 — дистиллированная вода; 2 — 25%-й раствор аммиака.

На рис. 1 представлена зависимость удельной водопроизводительности и производительности по раствору аммиака от рабочего давления. Согласно полученным результатам увеличение рабочего давления свыше 0,3 МПа экономически неоправданно, т. к. дает незначительный прирост удельной производительности. Это явление описано многими авторами и объясняется уплотнением пористой структуры самой мембраны. Оптимальное значение рабочего давления лежит в

пределах 0,15—0,25 МПа. Пробы на стерильность (традиционным для микробиологии методом посева) показали высокую надежность и работоспособность предложенного метода по обеспечению стерильности исследованной термолабильной питательной среды при длительной непрерывной работе установки.

Целевой продукт в культуральной жидкости, как правило, содержится при низкой концентрации. Традиционные методы, такие как хроматография, экстракция, сорбционное выделение конечных продуктов, нашли широкое применение для получения целевых компонентов, получаемых микробным синтезом. Часто они позволяют выделить их в особо чистом виде. Однако возможности применения этих методов в промышленных масштабах в большинстве случаев весьма ограничены и по данным некоторых авторов могут составлять до 80% затрат энергии и времени на его производство [6]. Кроме того, термическая или химическая обработка продукта приводит к частичному разрушению активной формы и потери активности препарата. С этой точки зрения МФ и УФ имеют явные пре-

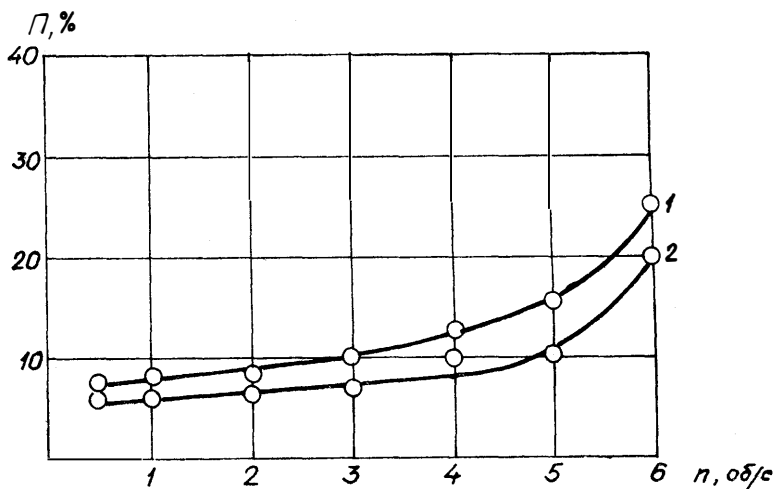


Рис. 2. Зависимость потери активности ферментов от частоты вращения мешалки:  
 1 — грибная липаза с ММ=40 КДа; 2 — дрожжевая липаза с ММ=240 КДа.

имущества, т. к. процесс проводится при допустимой температуре, без применения химреактивов, что определено сущностью процесса, с частичным удалением низкомолекулярных примесей.

Концентрирование грибной (продукт *Penicillium cyclospium*) и дрожжевой (продукт *Candida parapolytica* 739) липазы проводились на ячейке непрерывного действия. Методом планирования эксперимента определены оптимальные технологические параметры процесса, с учетом ограничений по селективности ( $r \geq 0,95$ ) и безразмерной проницаемости ( $g/g \text{ H}_2\text{O} \geq 0,28$ ), см. табл. Выбор значений для выделения и концентрирования различных биопрепаратов зависит в основном от исследуемой системы и, с точки зрения методики, проведение подобных исследований подробно описано многими авторами. Значительный интерес представляют зависимости потери липолитической активности ферментов от частоты вра-

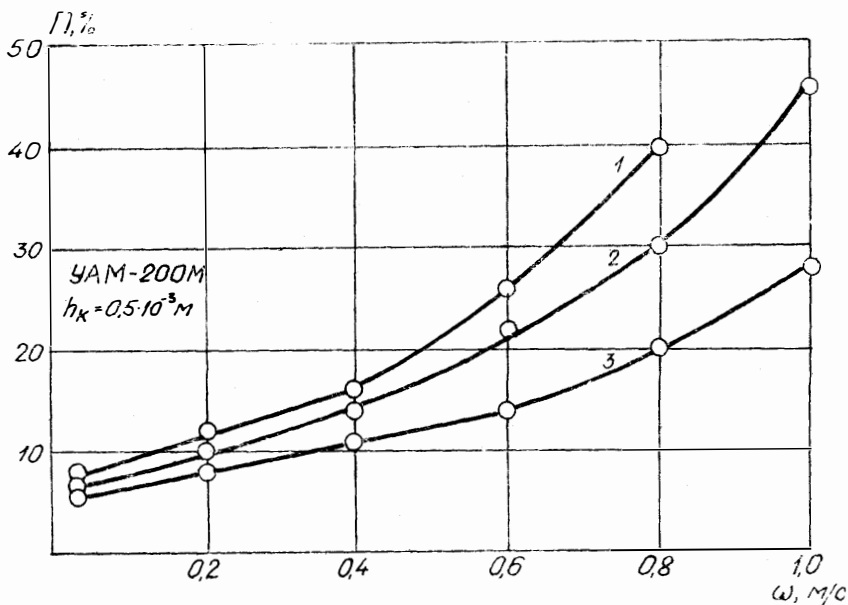


Рис. 3. Зависимость потери активности ферментов от скорости потока раствора над мембраной:

1 — грибная липаза с  $\text{MM} = 40$  КДа; 2 — дрожжевая липаза с  $\text{MM} = 240$  КДа; 3 —  $\beta$ -галактолизида с  $\text{MM} = 540$  КДа.

щения мешалки (рис. 2) и скорости потока раствора над мембраной (рис. 3).

Т а б л и ц а

Параметры	Размерность	Грибная липаза	Дрожжевая липаза
Перепад давления	МПа	$0,282 \pm 0,002$	$0,287 \pm 0,004$
Скорость потока	м/с	$0,169 \pm 0,003$	$0,178 \pm 0,002$
Высота канала	мм	$1,65 \pm 0,05$	$2,00 \pm 0,03$

Потеря активности ферментов липазы в ячейке периодического действия наблюдается при  $n > 0,5 \text{ с}^{-1}$  и заметно возрастает при  $n > (3-4) \text{ с}^{-1}$  (рис. 2). При концентрировании липазы на ячейке непрерывного действия с плоскопараллельным каналом значения  $\Pi$  возрастают незначительно ( $\Pi < 10\%$ ) при  $W < (0,15-0,20) \text{ м/с}$  (рис. 3). Однако дальнейшее увеличение скорости приводит к существенным потерям активности. Для фермента  $\beta$ -галактозидазы повышение скорости до  $0,8 \text{ м/с}$  вызывает лишь  $20\%$  потери активности, в то время как значение  $\Pi$  для фермента грибной липазы составляет  $45\%$ .

По всей видимости, на величину потери активности, кроме возрастания температуры в процессе ультрафильтрации [7], оказывает влияние и эффект «сдвига» [8].

Потеря активности возрастает с уменьшением молекулярной массы (ММ) ферментов, а следовательно, и со снижением значения селективности используемой мембраны. Увеличение скорости раствора над мембраной вызывает разрушение белка (отклонение белковой формы от нативной) в момент входа макромолекулы в пору. Это явление более вероятно при соизмеримости размеров пор и макромолекул белка.

При ультрафильтрационном разделении двухспиральной РНК (см. статью в этом же сборнике) важное значение имеет распределение молекул по ММ. Эксперименты проводились на мембранах типа «полное волокно» марки ВПУ-100. Опре-

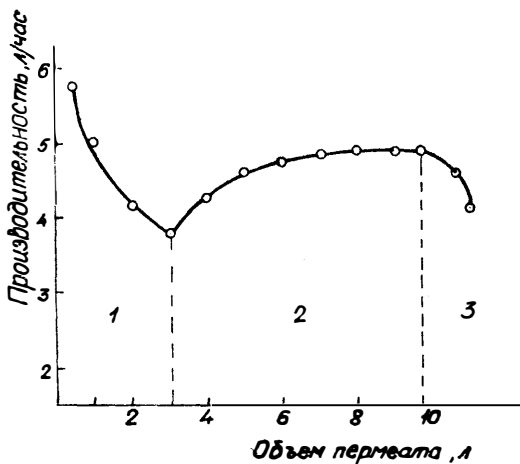


Рис. 4. Зависимость производительности от объема пермеата:

- 1 — зона концентрирования исходного раствора;  
 2 — зона диафильтрации раствора; 3 — зона концентрирования целевого продукта.

делено, что удельная производительность мембран обусловлена содержанием в растворе низкомолекулярных фракций дсРНК. Это подтверждается характером зависимости производительности от объема пермеата. При диафильтрации водой (рис. 4, зона 2) наблюдается возрастание производительности за счет снижения концентрации низкомолекулярных фракций дсРНК (ММ до 200 КДа) в растворе над мембраной. В зонах 1 и 3 проводится процесс УФ с целью снижения начального объема перед УФ и концентрирования целевого высокомолекулярного продукта после диафильтрации, соответственно. Таким образом, можно получить продукт с требуемым фракционным составом и, следовательно, с высокой активностью. Предложенная технология нашла свое отражение в производственном регламенте и действующей установке.

Авторы представленной статьи не имеют своих технологических и конструктивных решений в области создания мембранных биореактивов. Интересующимся в этой области рекомендуем ознакомиться с обзором [9], в котором рассмот-

рен современный уровень проблемы и перспективы развития в СССР и за рубежом.

В области очистки сточных вод проведены исследования по извлечению пищевых дрожжей из стоков после стадии фильтрования. Решение данной проблемы осложняется значительным разбросом содержания дрожжей в стоке, снижением производительности микрофильтрационных мембран в течение первых 10—15 мин на 65—84%. Для регенерации мембран требуется значительное количество воды, также нуждающейся в последующей очистке. Наиболее перспективным, по нашему мнению, является использование УФ. Выбор типа УФ мембран ограничен конструктивно, т. к. для экономической эффективности процесса необходимо обеспечить гидродинамику процесса, предотвращающую образование плотного осадка на поверхности раздела. Блочные ультрафильтры марки БТУ-0,5/2 обеспечивают производительность по реальным стокам в пределах 0,25—0,38 от водопроизводительности. Содержание дрожжей допустимо для сброса в городскую канализацию. Однако нами проводятся дальнейшие исследования с целью рационального использования как концентрата дрожжей из стоков, так и воды.

## ВЫВОДЫ

Показаны основные области применения МФ и УФ в технологических линиях получения продуктов на основе микробного синтеза. Определено преимущество УФ по сравнению с МФ.

Представлены данные по стерилизации раствора аммиака на блочных трубчатых ультрафильтрах, приведены результаты анализа потерь липолитической активности фермента липазы в зависимости от режима УФ.

Показана перспектива внедрения мембранных процессов на стадии очистки сточных вод дрожжевого производства.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Технологические процессы с применением мембран Под ред. Ю. А. Мазитова. — М.: Мир, 1976. — 372 с.
2. Хванг С.-Т., Каммермейер К. Мембранные процессы разделения. — М.: Химия, 1981. — 464 с.
3. Ермолаев Е. Д. Исследование и разработка ультрафильтрации в технологии биохимических препаратов: Автореф. дис. канд. техн. наук. — Рига, 1979. — 24 с.

4. Davies A. Some factors affecting lactase formation and in *S. fragillis* // J. Gen. Microbiol. — 1965. — N 14. — P. 425—429.
5. Kozinski A. A., Lightfoot E. N. Ultrafiltration of protein in stagnation flow // AIChE J. — 1971. — Vol. 17, N 1. — P. 81—85.
6. Аре Р. Ю., Виестур У. Э. Получение микробных метаболитов: Обзор. — М.: ОНТИТЭИмикробиопром, 1979. — 72 с.
7. Алексеева В. В., Калунянц К. А. Применение ультрафильтрации для концентрирования ферментативного комплекса *Bac. subtilis* 103 // Фермент и спиртовая пром-сть. — 1977. — № 4. — С. 28—30.
8. Хаханова Т. С., Белов Н. И. Исследование инактивации ферментов при ультрафильтрации // Мембранная технология — новое направление в науке и технике: Тез. докл. II Всесоюз. конф. по мембр. методам разделения смесей. Владимир, 1977. — С. 424—426.
9. Свитцов А. А., Марквичев Н. С., Кураков В. В. Мембранные реакторы в биотехнологии: Обзор. — М.: 1986. — 54 с.