

Центрифугирование и сепарирование

- Скорость осаждения клеток увеличивают, помещая суспензию в поле центробежных сил.

- Чем больше скорость вращения центрифуги и её радиус и чем больше разность плотностей жидкости и частиц, тем быстрее происходит осаждение.
- Вязкость жидкости снижает скорость осаждения.

- Разные типы центрифуг оценивают по так называемому фактору разделения, показывающему, во сколько раз ускорение центробежного поля больше ускорения свободного падения g .

По фактору разделения промышленные центрифуги условно делят на:

- нормальные центрифуги с фактором разделения $\Phi_p < 3500$;
- скоростные или сверхцентрифуги с фактором разделения $\Phi_p > 3500$;
- ультрацентрифуги — прибор для разделения частиц размером менее 100 нм. Это достигается вращением ротора, создающего центробежное поле с ускорением, на много порядков превышающим ускорение силы тяжести.

Классификация центрифуг

По принципу действия:

- осадительные (отстойные);
- фильтрующие.

- Ротор осадительных центрифуг выполняется со сплошной обечайкой.
- При разделении в них суспензии клетки осаждаются на обечайке ротора в виде кольцевого слоя.
- Жидкая фаза, также в виде кольцевого слоя, располагается ближе к оси вращения.

- В фильтрующих центрифугах ротор выполняется в виде перфорированной обечайки, на внутренней поверхности которой закреплена фильтрующая перегородка (сито или ткань).
- При разделении суспензий жидкая фаза проходит через фильтрующую перегородку, твердая фаза осаждается на ней в виде кольцевого слоя.

По характеру процесса центрифуги бывают:

- Периодического действия;
 - Непрерывного действия.
-
- В центрифугах периодического действия различные операции (загрузка, разделение, выгрузка) происходят последовательно и периодически, в центрифугах непрерывного действия – одновременно и непрерывно.

По способу выгрузки осадка из ротора:

- с ручной выгрузкой,
- с гравитационной (саморазгружающиеся) выгрузкой,
- с инерционной выгрузкой;
- с выгрузкой ножом;
- пульсирующим поршнем;
- шнеком;
- вибрацией.

В центрифугах периодического действия осадок:

- выгружают вручную после остановки ротора (пригоден лишь для сыпучих осадков);
- срезают ножом при рабочем или пониженном числе оборотов ротора (для малоабразивных осадков и в тех случаях, когда допустимо измельчение частиц твердой фазы).

- Из шнековых центрифуг непрерывного действия осадок выгружается при вращении шнека относительно ротора и удаляется непрерывно без остановки ротора.

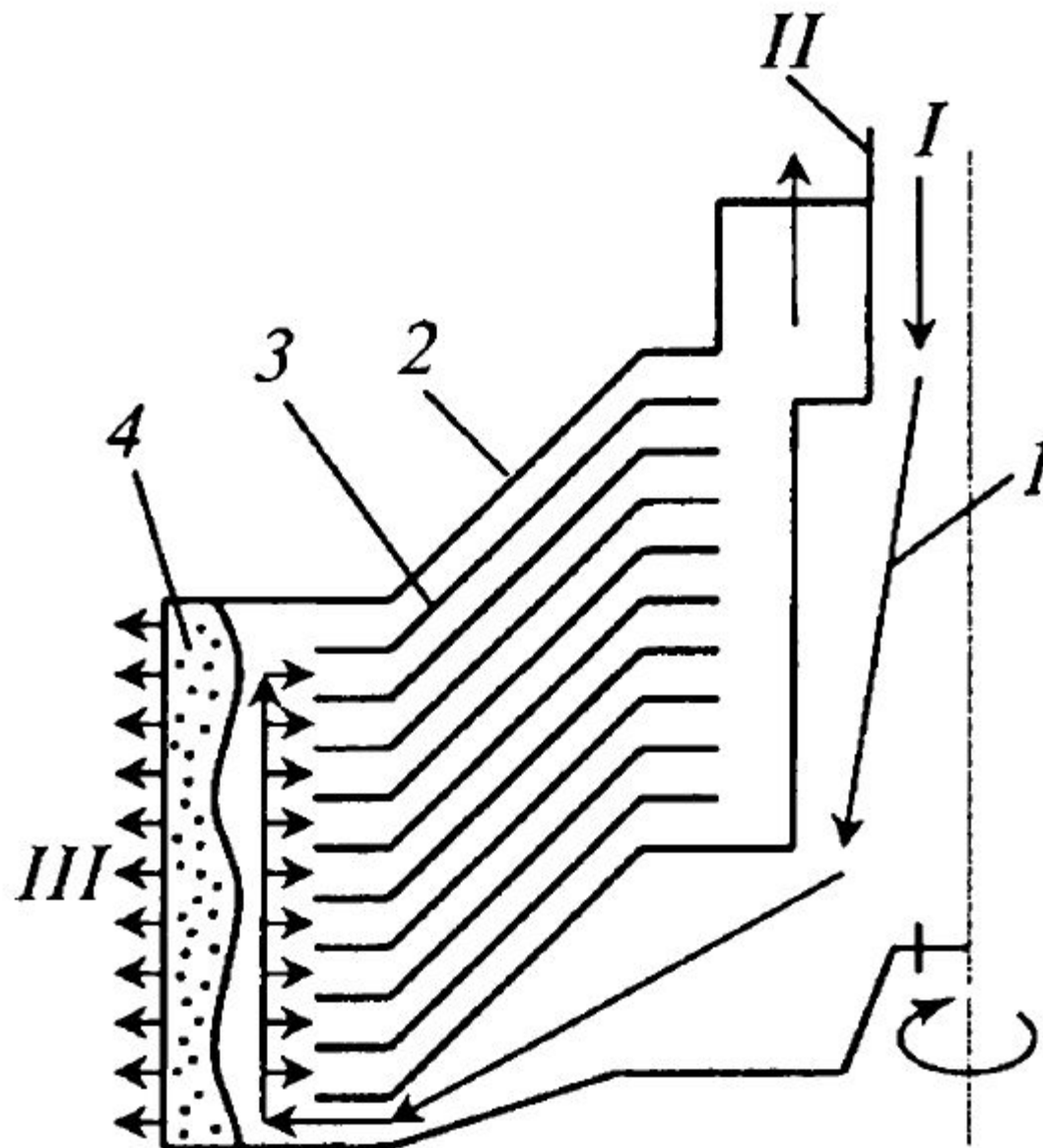
- Центрифуги непрерывного действия с вибрационной выгрузкой осадка разгружаются посредством колебаний конусного ротора в осевом направлении. Осадок выводится из ротора непрерывно при рабочей скорости вращения.

- В центрифугах непрерывного действия с инерционной выгрузкой осадок выходит из ротора под действием тангенциальных составляющих центробежных сил инерции, превосходящих по величине силы трения осадка о стенки ротора.

В зависимости от расположения оси вращения:

- вертикальные;
- горизонтальные.

- Рассмотрим конструкцию наиболее распространенной биотехнологии тарельчатого сепаратора.



I — полый вал; *2* — корпус; *3* — коническая тарелка; *4* — слой осадка; *I* — вход жидкости; *II* — выход жидкости; *III* — выход сгущенной биомассы

Тарельчатый сепаратор



Проточная центрифуга СЕРА Z81



Промышленная ультрацентрифуга AWST KII



Фильтраци я

- Фильтрация – это задержание взвешенных частиц сетчатой (тканевой) или пористой перегородкой.
- Движущей силой является разность давлений, вызывающая протекание жидкости.

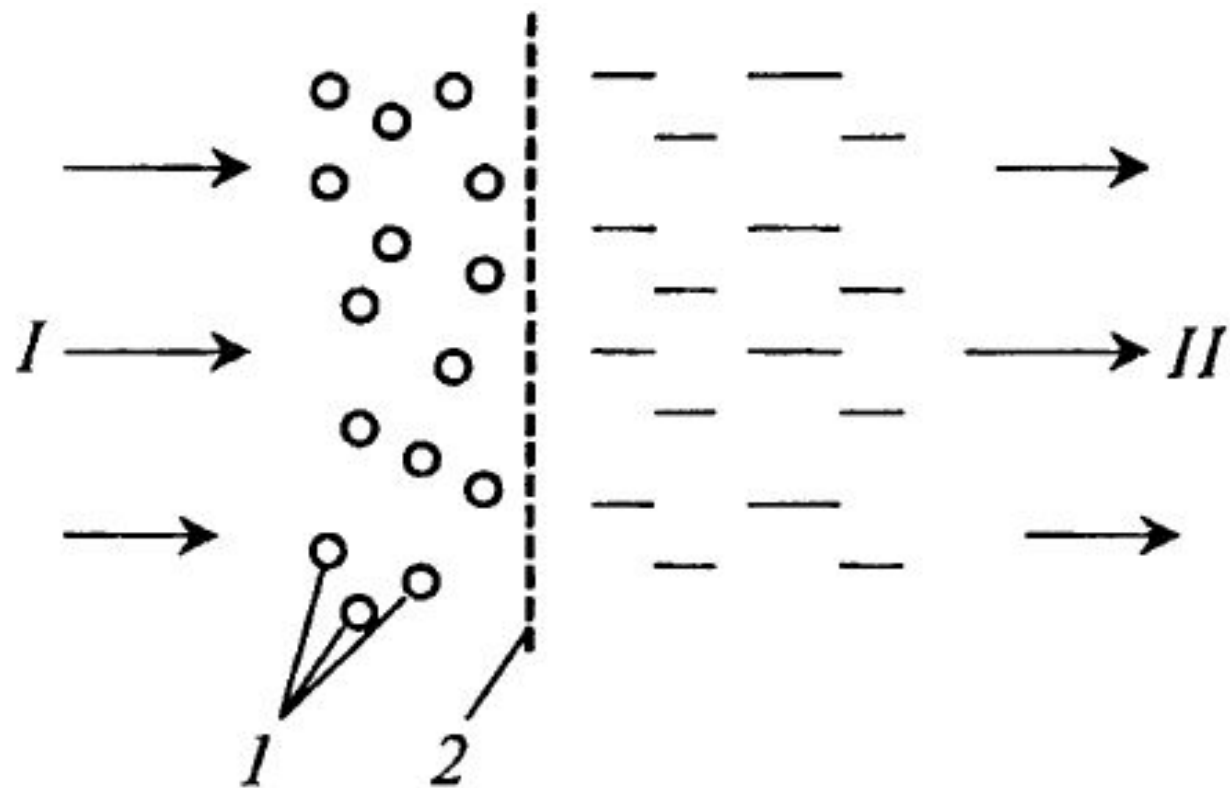
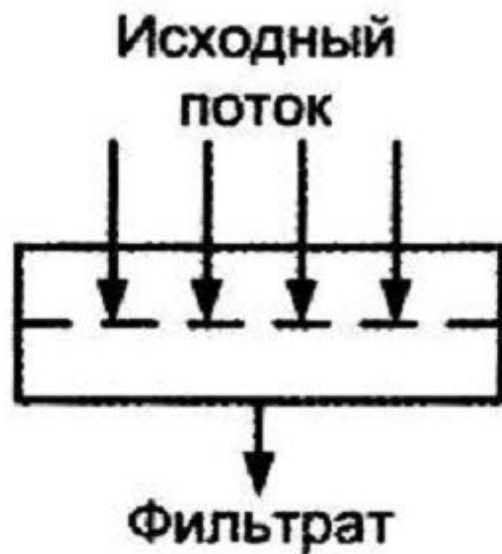


Схема фильтрации культуральной жидкости через ситовую перегородку:

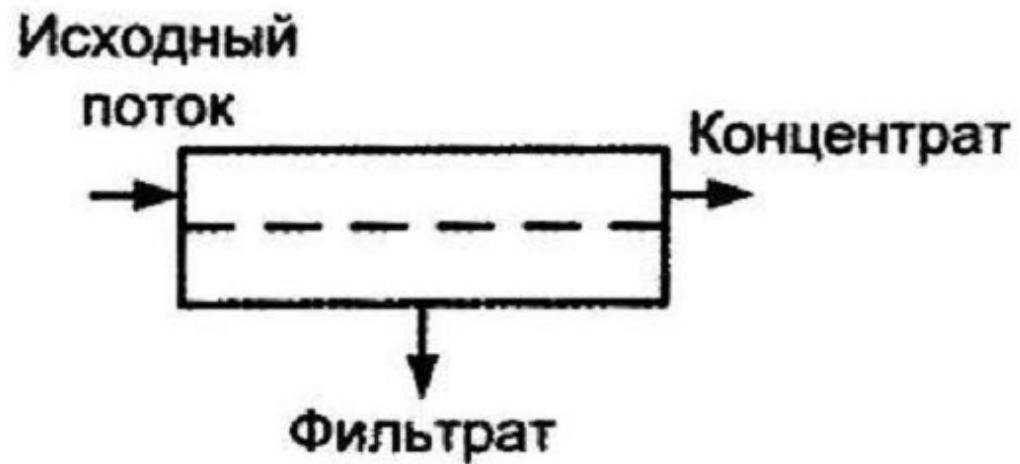
I — клетки и агломераты микроорганизмов;
2 — ситовая фильтрующая перегородка; *I* — культуральная жидкость; *II* — фильтрат

- Поток прошедший через мембрану - пермеат или фильтрат, реже элюат.
- Поток, прошедший над мембраной (остатки разделяемой смеси) – ретант, ретентат или концентрат.
- *Напорный канал* - канал, куда подается исходный поток.
- *Дренажный канал* - канал, куда проходит фильтрат.

- Существуют два типа организации потоков: **тупиковый (а)** и **тангенциальный (б)**



a



б

- В случае тангенциальной фильтрации скорость потока суспензии значительно больше скорости потока фильтрата.
- Технически это требует создания контура циркуляции суспензии.
- Такой прием позволяет повышать концентрацию микроорганизмов до 10 % и при этом продолжать фильтрацию.

- При обычной фильтрации задерживаются частицы, величина которых больше размера пор.
- Такая фильтрация называется «ситовой».
- Она используется при малом количестве взвешенных частиц, для осветления жидкости.
- Через какое-то время вся поверхность «сита» закрывается микроорганизмами, и фильтрация прекращается.

- Обычно же при фильтрации микроорганизмов используют фильтры, размер пор которых больше размера микроорганизмов.
- В этом случае фильтрация происходит *через слой осадка*.

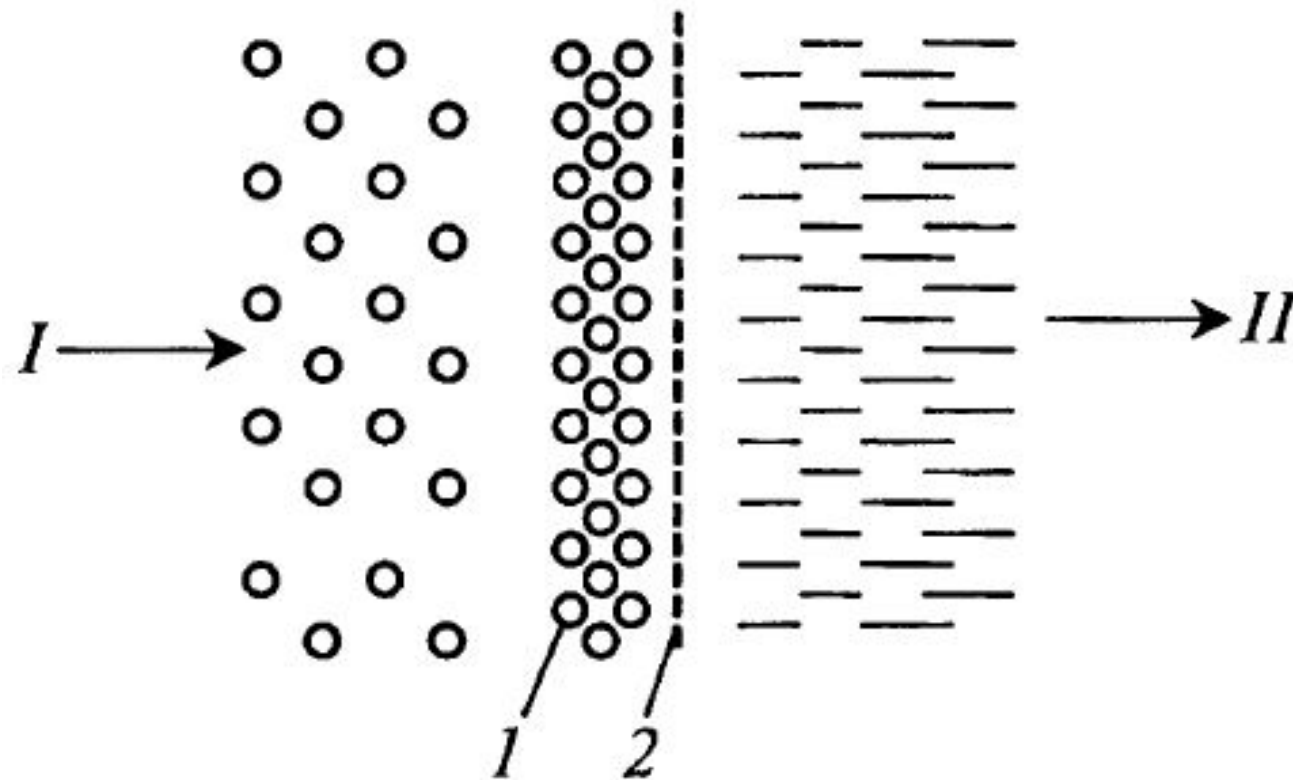


Схема фильтрации культуральной жидкости через слой осадка:

I — слой осадка; *2* — фильтрующая перегородка; *I* — культуральная жидкость; *II* — фильтрат

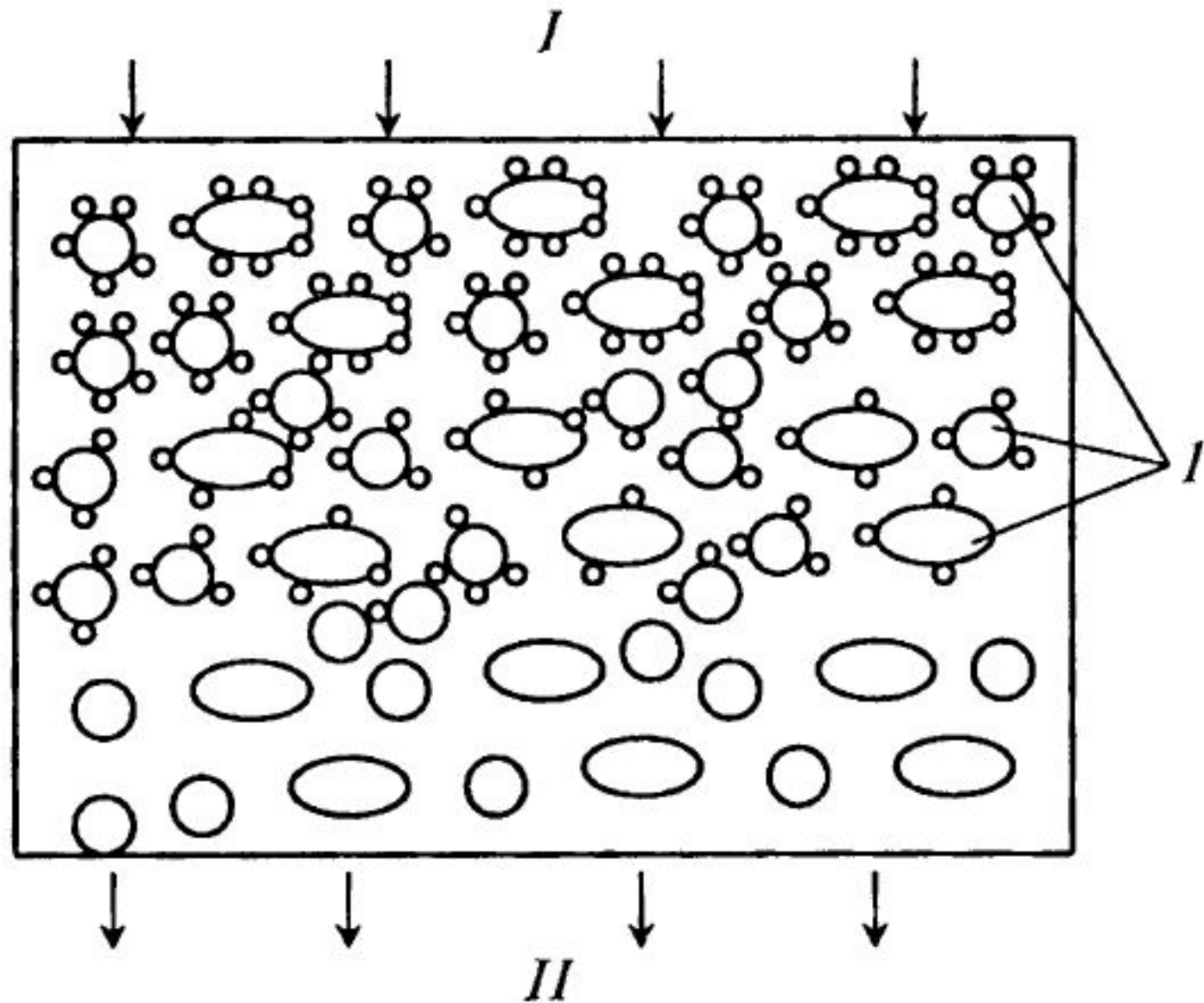
- Сначала клетки микроорганизмов могут «проскакивать» через поры. Затем на поверхности образуется слой осадка, и фактически фильтрование идет через него.
- По мере фильтрации все время возрастает толщина слоя осадка.

- Биологические жидкости называются системами со сжимаемым осадком.
- Рыхлая структура слоя осадка даже при незначительном превышении оптимального перепада давления нарушается и образуется плотная «лепешка», плохо пропускающая жидкость.

- Для улучшения скорости фильтрации в биотехнологии часто используют фильтровальные порошки для организации фильтрования через намывной слой порошка.

Схема фильтрации культуральной жидкости через намывной слой фильтровального порошка:

I — гранулы фильтровального порошка с осажденными на них клетками микроорганизмов;
I — культуральная жидкость;
II — фильтрат



- Частицы порошка (кизельгур, перлит, диатомит) имеют размеры больше клеток микроорганизмов, но после «намывки» создают объемный слой с системой пор.
- Суспензия, проходя через этот слой, оставляет биомассу микроорганизмов на частицах порошка.
- Коэффициент сопротивления осадка при этом снижается в десятки раз, что позволяет фильтровать труднофильтруемые жидкости.



Осветляющие фильтры

- Эта модификация служит для отделения твердой фазы (мути) от суспензий, содержащих малое количество твердых частиц. Но и это малое количество в готовом продукте иметь нежелательно.
- Для этих целей чаще всего применяют ситовые фильтры.

- Для промышленных целей наиболее привлекательны металлокерамические фильтры.
- Они регенерируются обратным потоком фильтрата (подачей давления в обратном направлении к перегородке) и позволяют проводить тепловую стерилизацию.

Мембранные методы

В процессах выделения и очистки продукта чаще используют мембранные методы:

- микрофилтрация (0,1 до 3 мкм),
- ультрафилтрация (10 нм— 10 мкм),
- обратный осмос, диализ (0,5 нм – 0,5 мкм).

МИКРОФИЛЬТРАЦИЯ

- Микрофльтрация является наиболее близкой к обычной фильтрации системой.
- Наиболее известно использование микрофльтрации как средства деконтаминации питательных сред, дозируемых подпиток, жидких пеногасителей и титрующих агентов (размер пор не более 0,2 мкм).

- В связи с этим важно, чтобы сами микрофилтры могли стерилизоваться паром перед началом операции и регенерироваться после длительной эксплуатации.
- Такими свойствами в наилучшей степени обладают металлокерамические трубчатые мембранные элементы, которые могут регенерироваться обратным током пара.

- Используется тангенциальная фильтрация.
- Обычно скорость движения циркулирующего потока составляет 1—2 м/с для полимерных мембран и 4 – 7 м/с для керамических.

ДИАЛИЗ

- В этом процессе раствор, содержащий высокомолекулярные соединения, отделен полупроницаемой мембраной от камеры, содержащей чистый растворитель (обычно воду или водные растворы солей).

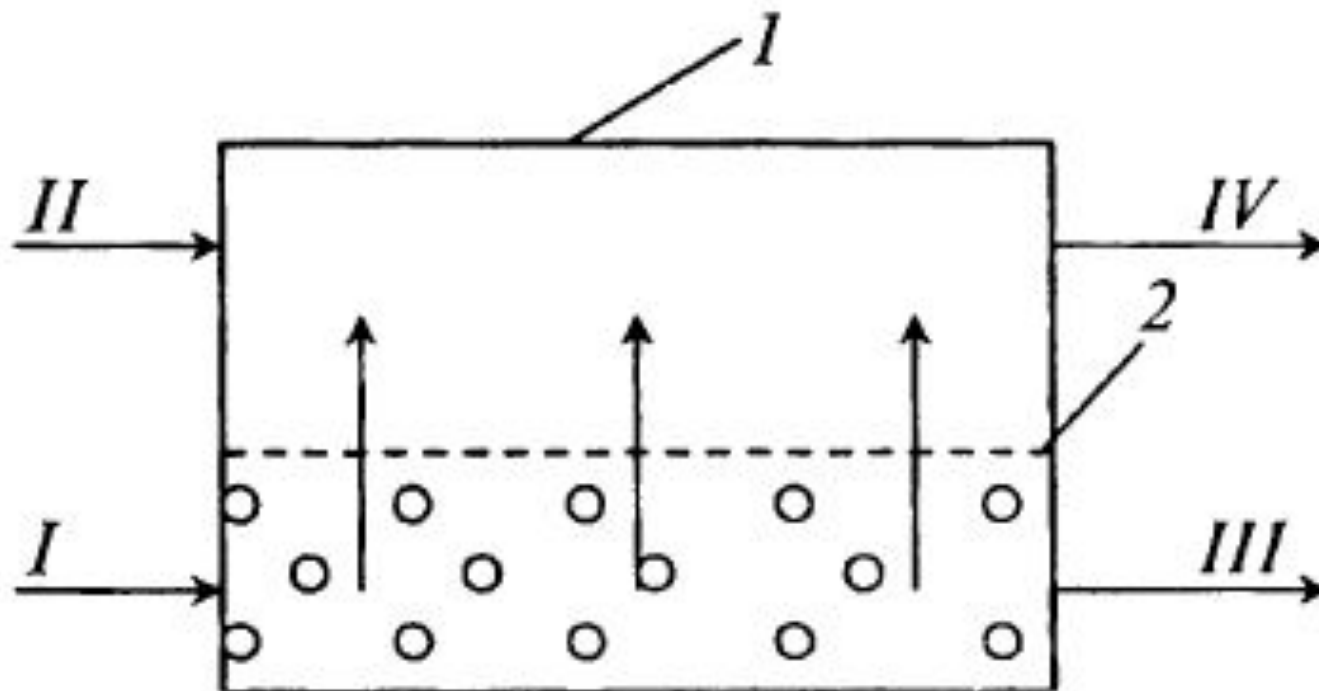


Схема диализной установки:

1 — корпус; *2* — полупроницаемая диализная мембрана;

I — раствор со взвешенными или растворенными высокомолекулярными соединениями или микроорганизмами; *II* — свежая вода; *III* — диализованный раствор; *IV* — отработанный пермеат

- Низкомолекулярные вещества за счет диффузии через поры мембраны проходят в камеру пермеата, через которую непрерывно протекает вода.
- Высокомолекулярные вещества остаются в растворе, и таким образом происходит их очистка от низкомолекулярных.

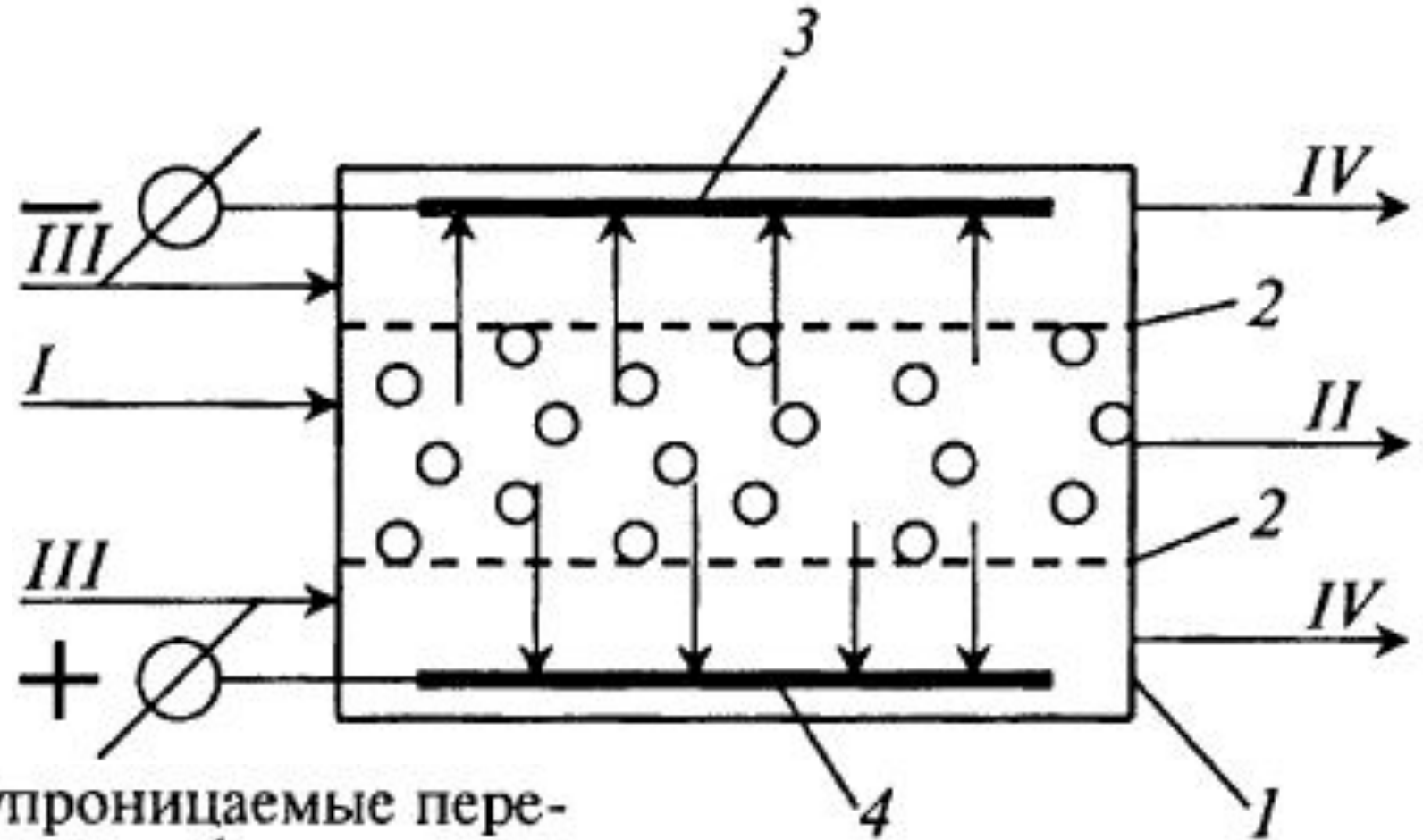
- Мембраны для диализа изготавливают из пергамента, целлофана и других материалов.
- Часто мембраны выполняют в виде трубок, а также кассеты из большого количества микротрубок, заделываемых в так называемый модуль с общим входом и общим выходом.

Электродиализ

- В этом случае, перпендикулярно мембранам и потоку диализуемого раствора накладывается электрическое поле, в результате чего анионы и катионы из раствора диффундируют через диализные мембраны к аноду и к катоду, а биополимеры остаются в растворе.

- В простейшем случае электродиализатор состоит из трех камер: для обрабатываемого раствора, для пермеата в зоне катода и для пермеата в зоне анода.
- Движущей силой в этом случае, как и в процессе диализа, является разность концентраций ионов. Электрический ток лишь ускоряет процесс диффузии.
- Мембраны при катоде и при аноде могут быть выполнены из разного материала, селективные для катионов и для анионов.

Схема электродиализа



I — корпус; *2* — полупроницаемые перегородки; *3* — катод; *4* — анод;
I — обрабатываемый раствор; *II* — диализованный раствор; *III* — свежая вода;
IV — диализованный пермеат

УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИЯ

- Движущей силой процесса ультраfiltrации является перепад давления на мембране.
- Применительно к ультраfiltrации высокомолекулярные соединения — это те соединения, у которых молекулярная масса растворенного вещества превосходит молекулярную массу растворителя более чем в 500 раз.

- Здесь используется ситовой эффект.
- Полимерные мембраны, используемые при ультрафильтрации, обычно являются двухслойными.
- Основной фильтрующий слой имеет толщину менее 1 нм.

- Он дублируется со вторым слоем (подложкой) толщиной от 20 мкм до 2 мм, который к тому же имеет и значительно больший размер пор.
- Давление должно быть приложено со стороны тонкого слоя, а не наоборот.

- Материал мембран — полиуретаны, сложные эфиры целлюлозы, полисульфон.
- Существуют также металлокерамические (наиболее прочные) мембраны.

Конструктивное оформление ультрафильтрационных систем реализуется в следующих вариантах:

- трубчатые;
- плоскораменные;
- рулонные;
- с полыми волокнами.

ОБРАТНЫЙ ОСМОС

- Процесс обратного осмоса представляет собой фильтрование раствора через мембраны с порами меньшего по сравнению с ультрафильтрацией диаметра.
- Со стороны раствора должно быть приложено давление более высокое, чем осмотическое давление, обычно до 7—10 МПа.
- Обратный осмос используют либо для концентрирования растворов биологически активных веществ, либо для получения чистого растворителя (например, для опреснения воды).

- Важна различная растворимость вещества и растворителя в мембране и различная диффузия, создающая концентрационный градиент растворителя.

Наночильтрация

- Наночильтрация – это процесс разделения жидкости на мембранной поверхности, имеющей менее плотный и более проницаемый селективный слой, чем для обратного осмоса.
- Наночильтрационные мембраны работают при меньшем рабочем давлении.