

ФЕДОРЕНКО
БОРИС ЧЕКАЛОВИЧ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБОРУДОВАНИЕ ОТРАСЛИ
доктор технических наук, профессор
Московского государственного
(биотехнологические производства)
университета пищевых производств

Лекция 6.
ОБОРУДОВАНИЕ МЕМБРАННОЙ
БИОТЕХНОЛОГИИ
(теоретические основы мембранных процессов)



РАЗДЕЛЕНИЕ СМЕСЕЙ – ОДНИ ИЗ ОСНОВНЫХ ИНЖЕНЕРНЫХ ЗАДАЧ В БИОТЕХНОЛОГИИ

В биотехнологических производствах приходится решать множество инженерных задач, связанных с разделением жидких смесей, в частности, с целью выделения, очистки и концентрирования продуктов биосинтеза.

В настоящее время эти задачи решают, в основном, с помощью традиционных методов, таких, например, как **фильтрование, сепарирование, вакуум-выпаривание, осаждение белков нейтральными солями или органическими растворителями, криоконцентрирование и др.**

Однако реализация этих процессов связана с рядом технических трудностей, например:

- применением расходных материалов;
- повышенными энерго- и трудозатратами;
- жесткими условиями проведения процессов;
- применением химических реагентов, сорбентов, растворителей;
- многостадийностью;
- сложностью автоматизации;
- повышенными потерями целевого продукта и пр.



БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ – ОДНО ИЗ УСЛОВИЙ СУЩЕСТВОВАНИЯ ЖИВОЙ ПРИРОДЫ

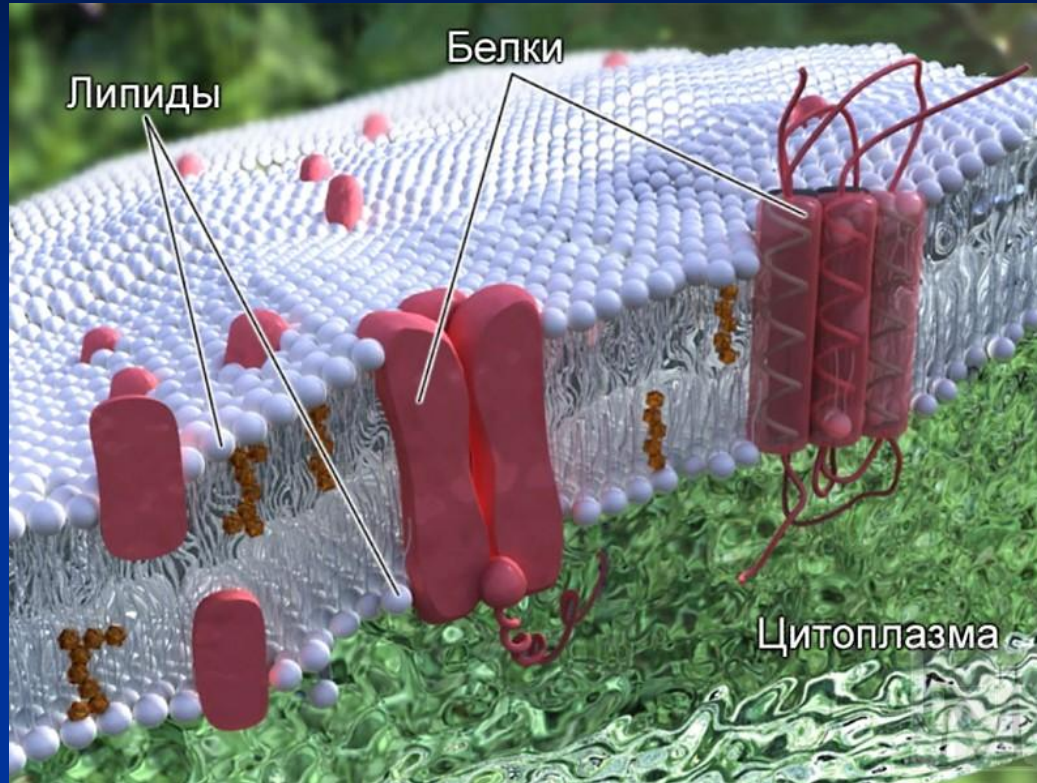
Между тем, за миллионы лет эволюции живых организмов природой выработан уникальный способ разделения смесей с помощью полупроницаемых мембран.

Так, все жизненно важные процессы (обмен веществ, дыхание, синтез белка и пр.) в живой природе протекают благодаря наличию в животных и растительных клетках естественных полупроницаемых барьеров, называемых биологическими мембранами.

Термин **“мембрана”** латинского происхождения и переводится буквально как кожица или перепонка.



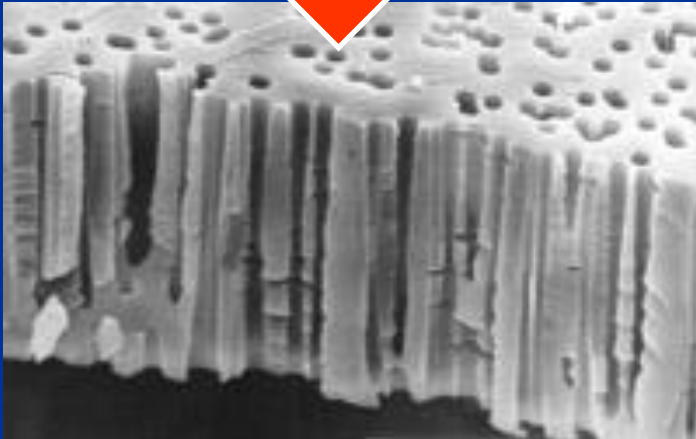
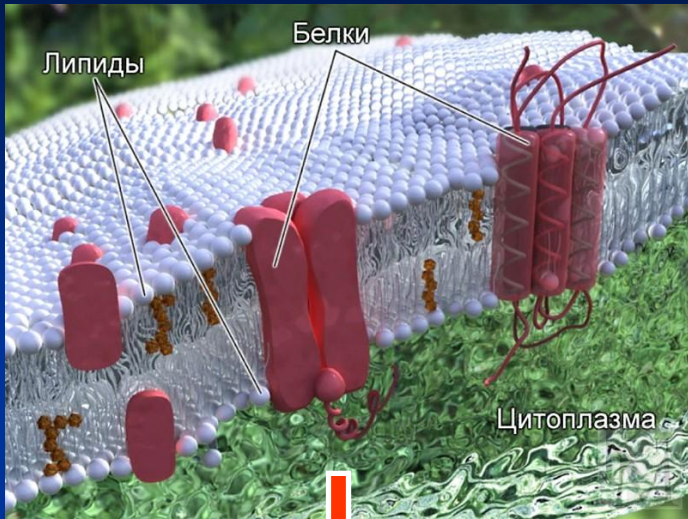
БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕМБРАНЫ



Биологические мембраны, ограничивающие внутренние структуры клеток от окружающей среды, представляют собой тончайший двойной слой липидов с вкрапленными в него белковыми ансамблями.



МЕМБРАНЫ: ОТ БИОЛОГИЧЕСКИХ К ИСКУССТВЕННЫМ



Высочайшая избирательность и эффективность трансмембранного массопереноса в биологических мембранах на протяжении многих десятилетий привлекали внимание ученых и направляли их к поиску путей практического использования феноменальных возможностей полупроницаемых мембран в технологических целях.

Однако это стало практически осуществимо лишь во второй половине XX столетия, когда в результате бурного развития химии полимеров впервые были получены искусственные полупроницаемые мембраны с заданными технологическими свойствами, пригодные для промышленного использования.



КЛАССИФИКАЦИЯ МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ



Проф. Дытнерский Ю.И.
(1925-2001)

Полупроницаемые мембраны используют для разделения как жидких, так и газообразных смесей, поэтому мембранные процессы разделяют на:

- жидкофазные,
- газофазные.

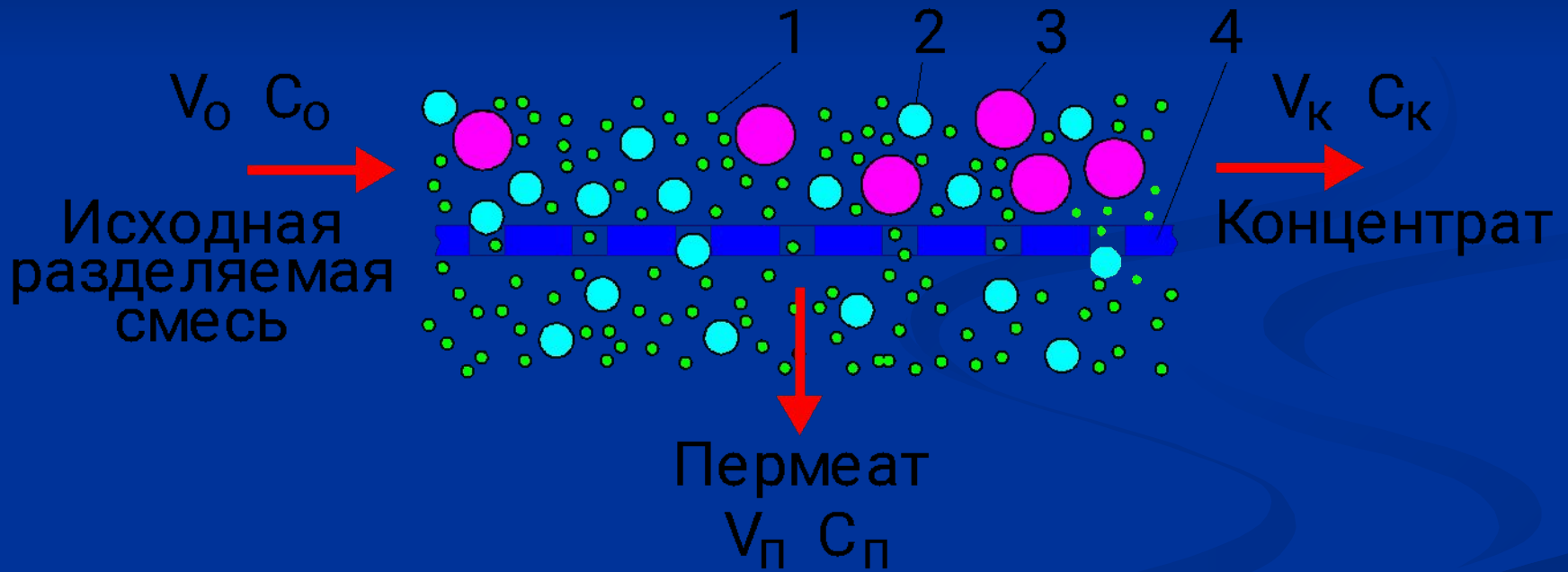
К основным жидкофазным процессам относят:

- микрофльтрацию,
- ультрафльтрацию,
- нанофльтрацию,
- обратный осмос,
- диализ;
- электродиализ.



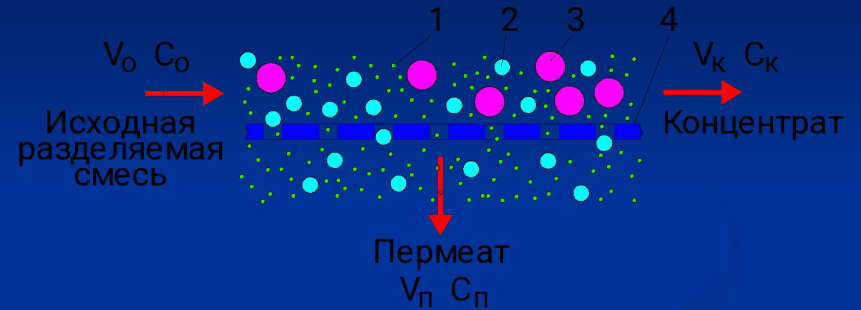
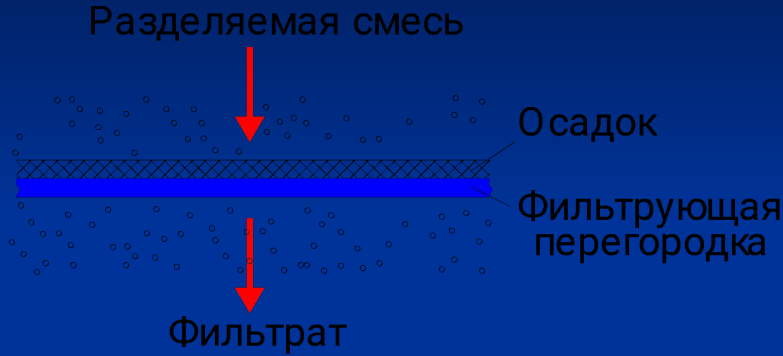
ПРИНЦИП МЕМБРАННОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ЖИДКИХ СМЕСЕЙ

(на примере ультрафильтрации)





ПРОЦЕССЫ МЕМБРАННОГО РАЗДЕЛЕНИЯ – САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ ГРУППА ПРОЦЕССОВ



Фильтрование	Процессы мембранного разделения
Фронтальный поток	Тангенциальный поток
Один поток входит – один выходит	Разделение входящего потока на два
Процесс протекает на макроуровне	Процессы протекают на микроуровне
Отделение твердой фазы от жидкой	Отделение крупных молекул от мелких
Образование отложений	Самоочищающийся фильтр (принцип!)
Движущая сила - ΔP	Движущая сила - ΔP, ΔC, $\Delta \phi$ и пр.



МИКРОФИЛЬТРАЦИЯ

Микрофилтрация с физической точки зрения является обычным процессом фильтрования и подчиняется тем же кинетическим закономерностям. Поэтому часто в литературе микрофилтрацию называют также мембранной филтрацией.

По своей физической сути и технологическим возможностям микрофилтрация занимает промежуточное положение между традиционным фильтрованием и ультрафилтрацией.

При микрофилтрации используют мембраны с размером пор более 100 нм, при этом ими могут задерживаться частицы размерами от 0,1 до 10 мкм, в том числе дрожжевые клетки, бактерии, вирусы, коллоидные частицы, твердые микровзвеси.

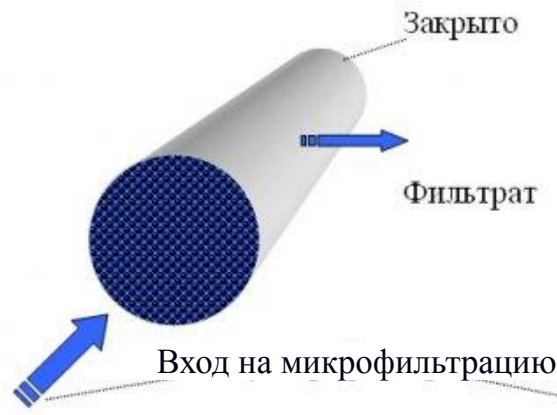
Частицы с более крупными размерами будут, естественно, также задерживаться мембраной, однако для их отделения наиболее эффективно обычное фильтрование.

Рабочее давление в процессе микрофилтрации обычно не превышает 0,2 МПа.

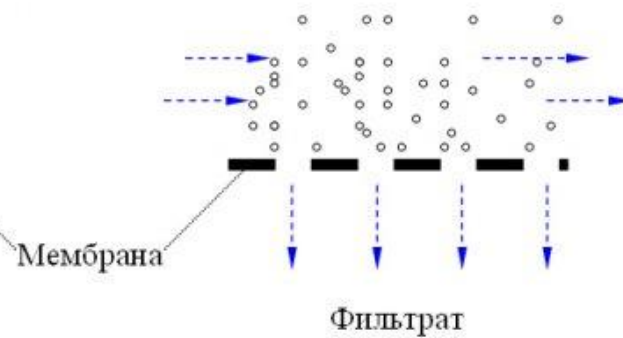
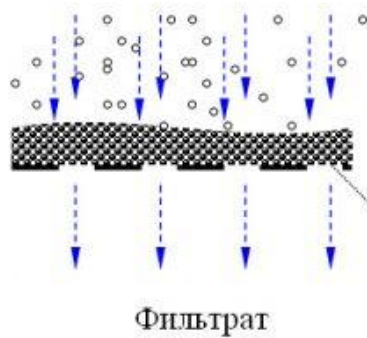
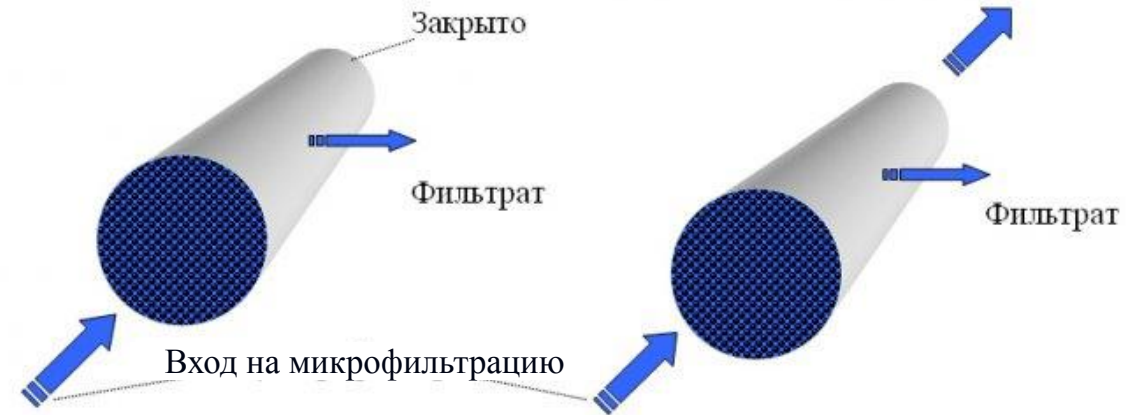


ОРГАНИЗАЦИЯ РЕЖИМА МЕМБРАННОГО РАЗДЕЛЕНИЯ ПРИ МИКРОФИЛЬТРАЦИИ

Тупиковая микрофльтрация



Проточная микрофльтрация





УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИЯ

Ультрафильтрация - процесс мембранного разделения жидких смесей под действием давления, основанный на различии молекулярных масс или молекулярных размеров компонентов разделяемой смеси.

Ультрафильтрацией разделяют микромолекулы от макромолекул.

Ультрафильтрацию применяют для выделения высокомолекулярных соединений с молекулярной массой более 500 дальтон, к которым относятся полисахариды, белки, ферменты, пирогены и т.п.

Линейные размеры таких веществ, задерживаемых мембраной, не менее, чем на порядок превышают размеры молекул растворителя и составляют обычно более 5×10^{-3} мкм.

Величина рабочего давления при ультрафильтрации не превышает, как правило, 1 МПа, так как осмотические давления растворов высокомолекулярных соединений при концентрации сухих веществ до ~40% незначительны и существенного влияния на движущую силу процесса не оказывают.



ОБРАТНЫЙ ОСМОС

Обратный осмос - процесс мембранного разделения, в котором осуществляется преимущественное проникновение через полупроницаемую мембрану растворителя и некоторых низкомолекулярных компонентов под действием давления, превышающего осмотическое давление раствора.

Обратный осмос используют для выделения из раствора микромолекул и ионов, размеры которых имеют тот же порядок, что и молекулы растворителя.

Обратным осмосом могут быть сконцентрированы частицы размером более 5×10^{-4} мкм и вещества с молекулярной массой до 500 дальтон, к которым относятся гидратированные неорганические ионы, моно- и дисахара, соли, аминокислоты, антибиотики и т.п.

При обратноосмотическом концентрировании растворов в концентратах может быть сохранено соотношение между растворенными компонентами.

Рабочее давление в процессе обратного осмоса может достигать 10 МПа.



НАНОФИЛЬТРАЦИЯ

Наночильтрация – процесс мембранного разделения с применением промышленных ультрафильтрационных мембран, поверхностный слой которых химически модифицирован.

Благодаря этому они обладают высокой селективностью по отношению к низкомолекулярным электролитам, сохранив, к тому же, высокую удельную производительность при относительно низких (до 1,5 МПа) рабочих давлениях, что выгодно отличает наночильтрацию от традиционного обратного осмоса.

Поэтому наночильтрацию так же называют низконапорным обратным осмосом.



ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ БАРОМЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ

Процесс	Типичное рабочее давление, МПа	Средний диаметр пор мембран, нм	Размер задерживаемых частиц, мкм	Молекулярная масса задерживаемых частиц
Микро-фильтрация	0,1...0,2	более 100	0,05...10,0	-
Ультра-фильтрация	0,2...1,0	5...50	0,005...0,05	более 10000
Нано-фильтрация	0,5...1,5	5...50	0,001...0,005	300...3000
Обратный осмос	0,1...10,0	до 5	0,0001...0,003	менее 500



ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ БАРОМЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ





ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ БАРОМЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ



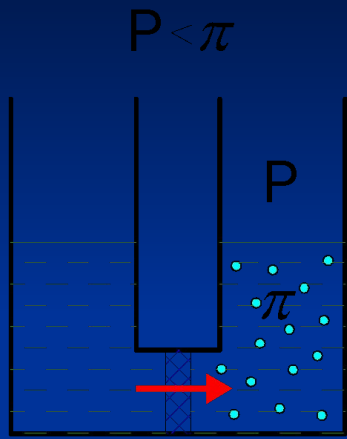


ЛИНЕЙНЫЕ И МАССОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ НЕКОТОРЫХ ВЕЩЕСТВ И ЧАСТИЦ

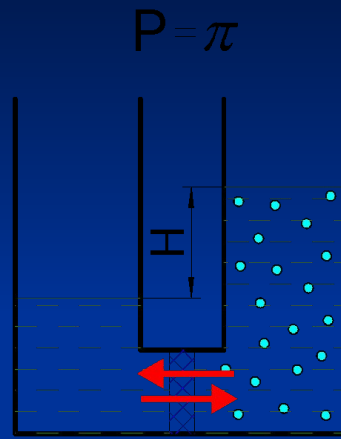
Наименование веществ, частиц	Средний диаметр частиц, молекул, ионов, нм	Молекулярная масса
Дрожжи и микроскопические грибы	$10^3 \dots 10^4$	-
Бактерии	$300 \dots 10^3$	-
Коллоидные частицы	$100 \dots 1000$	-
Макромолекулы (полисахариды, белки)	$2 \dots 10$	$10^4 \dots 10^6$
Антибиотики	$0,6 \dots 1,2$	$300 \dots 10^3$
Моно-, дисахариды	$0,8 \dots 1,0$	$200 \dots 400$
Органические кислоты	$0,4 \dots 0,8$	$100 \dots 500$
Неорганические ионы	$0,2 \dots 0,4$	$10 \dots 100$
Вода	$0,2$	18



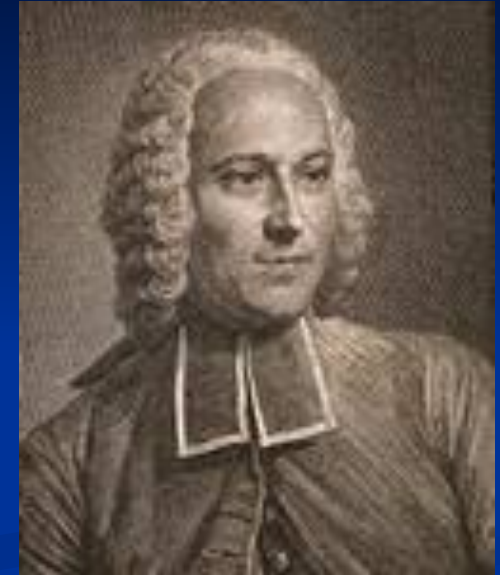
ОСМОС – АНОМАЛЬНАЯ ДИФФУЗИЯ



Осмоз



Равновесие



Жан Антуан Нолле
(1700-1770)

Осмоз (от греческого «осмос» - толчок) – самопроизвольная односторонняя диффузия растворителя через полупроницаемую перегородку в раствор. Давление π , при котором наступает равновесие, называют осмотическим.

Осмотическое давление (Па) – избыточное гидростатическое давление раствора, препятствующее диффузии растворителя через полупроницаемую перегородку.

$$\pi = \rho g H$$

где: ρ - плотность раствора, кг/м^3 ; g – ускорение силы тяжести, м/с^2 ; H – высота столба раствора над уровнем растворителя, м.



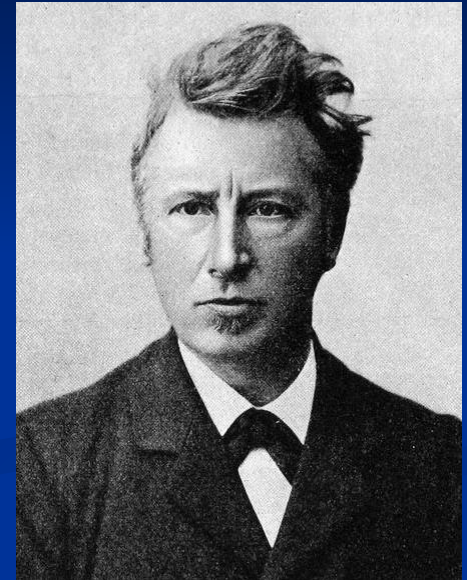
ОСМОТИЧЕСКОЕ ДАВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ

Закон Вант-Гоффа: осмотические давления растворов прямо пропорциональны концентрации растворенного вещества и абсолютной температуре раствора:

$$\pi = RCT$$

где: R – коэффициент пропорциональности – газовая постоянная, Дж/моль×К, $R = 6,312$ Дж/моль×К; C – концентрация растворенного вещества, моль/м³; T – абсолютная температура раствора, К.

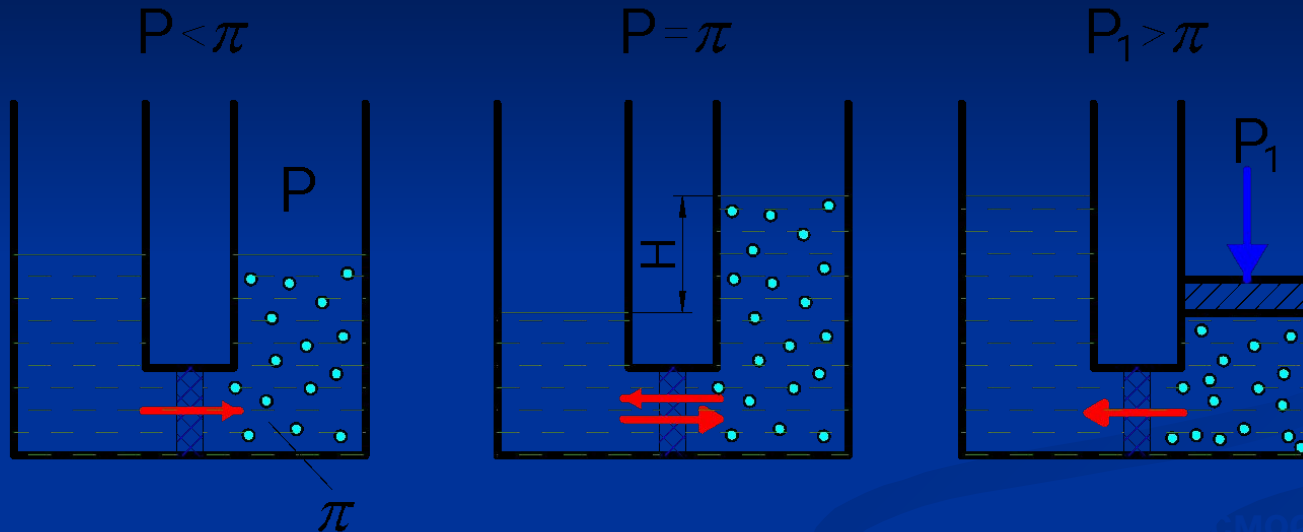
Таким образом, осмотическое давление раствора, подобно давлению газа, при неизменном объеме и постоянной температуре зависит от числа молекул растворенного вещества и не зависит ни от природы растворенного вещества, ни от природы растворителя.



Якоб Хендрик
Вант-Гофф
(1852-1911)



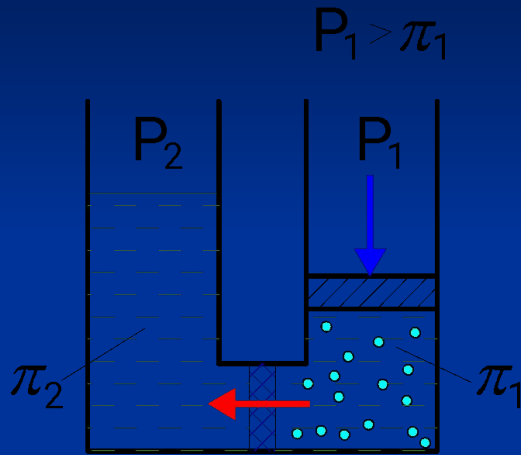
К ОБЪЯСНЕНИЮ ПРИНЦИПА ОБРАТНОГО ОСМОСА



Обратный осмос - принудительный процесс, противоположный по направлению естественному процессу осмоса и протекающий с затратой энергии, приложенной извне.



ДВИЖУЩАЯ СИЛА ОБРАТНОГО ОСМОСА



Обратный осмос

$$\Delta P = P_1 - P_2 - \Delta \pi$$

где
$$\Delta \pi = \pi_1 - \pi_2$$

Поскольку в соответствии с законом Вант-Гоффа

$$\pi = RCT,$$

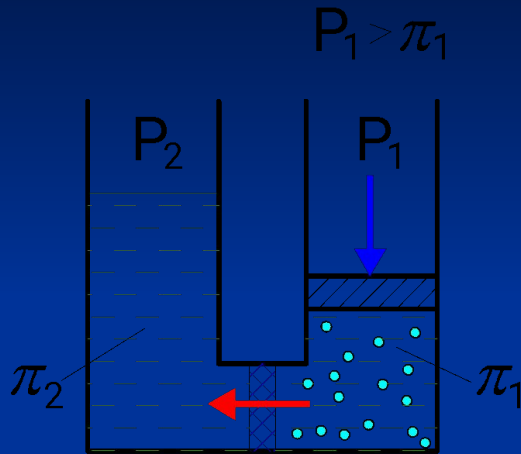
а $C_p \gg C_n$, то $\pi_1 \gg \pi_2$.

Тогда:

$$\Delta P = P_1 - P_2 - \pi_1$$



ДВИЖУЩАЯ СИЛА ОБРАТНОГО ОСМОСА



Обратный осмос

$$\Delta P = P_1 - P_2 - \pi_1$$

Если за мембраной избыточное давление отсутствует, т.е. $P_2 = 0$, то:

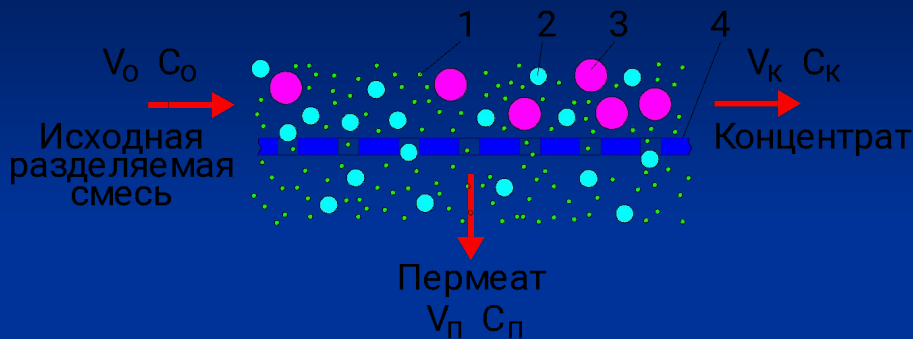
$$\Delta P = P_1 - \pi_1$$

Отсюда становится понятным, почему для осуществления процесса обратного осмоса необходимо применять столь высокие значения рабочего давления (до 8...10 МПа). Это необходимо для преодоления относительно высоких осмотических давлений растворов низкомолекулярных веществ, которые к тому же по мере концентрирования в соответствии с законом Вант-Гоффа, возрастают.

Например, осмотическое давление 20%-ного раствора глюкозы при 20°C составляет около 4 МПа.



ОСНОВНЫЕ СЕПАРАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ РАЗДЕЛЕНИЯ



$$\phi = 1 - C_p / C_o$$

где C_o и C_p - концентрация целевого компонента соответственно в исходном растворе и пермеате, кг/м³.

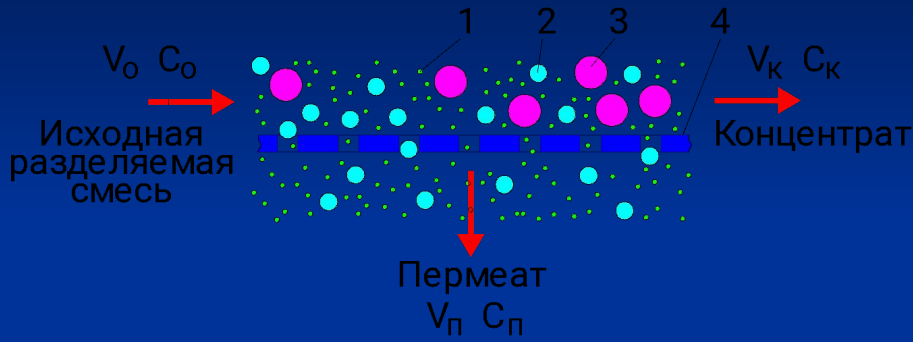
Селективность – способность мембраны иметь различную проницаемость по отдельным компонентам разделяемой смеси.

Селективность является качественным показателем функционирования мембраны и численно выражается величиной, характеризующей изменение соотношения компонентов в исходной смеси и в пермеате.

Селективность мембраны зависит от диаметра пор и разброса их по размеру.



ОСНОВНЫЕ СЕПАРАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ РАЗДЕЛЕНИЯ



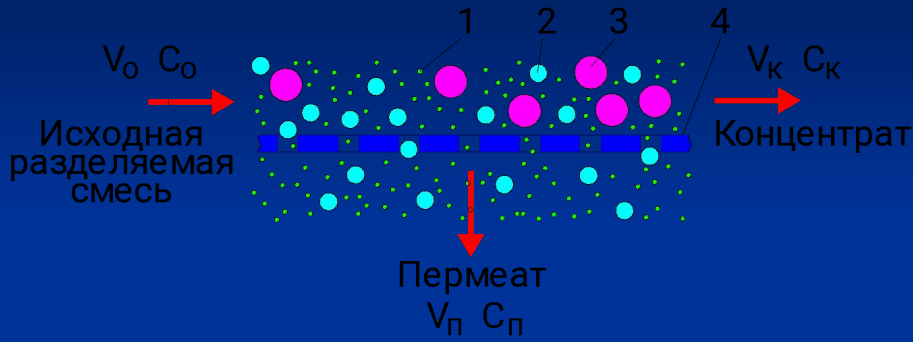
Удельная производительность $[м^3/(м^2 \times ч)]$ мембраны является количественной оценкой проницаемости мембраны и характеризуется количеством пермеата, проходящего через единицу площади поверхности мембраны за единицу времени.

$$G = \frac{V_p}{F \tau}$$

где V_p - объем пермеата, $м^3$; F - площадь рабочей поверхности мембраны, $м^2$; τ - продолжительность процесса разделения, ч.



ОСНОВНЫЕ СЕПАРАЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ РАЗДЕЛЕНИЯ



Коэффициент концентрирования по объему – характеризует степень концентрирования исходной смеси.

$$K_v = V_0 / V_k$$

где V_0 ; V_k - соответственно объем исходной смеси и концентрата, м³.



ОСОБЕННОСТИ И ПРЕИМУЩЕСТВА МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ РАЗДЕЛЕНИЯ



- Возможность одновременной очистки и концентрирования целевого продукта;
- Осуществление процесса разделения без фазовых изменений и межфазных переносов, как правило, при оптимальной температуре, определяемой технологическими требованиями производства;
- Безреагентность;
- Возможность разделения вязких смесей (до 4 Па·с);
- Возможность осуществления процесса в герметичных условиях;
- Экономичность;
- Простота и компактность аппаратного оформления.



СОЧЕТАНИЕ СВОЙСТВ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ С ОСОБЕННОСТЯМИ И ВОЗМОЖНОСТЯМИ МЕМБРАННЫХ СИСТЕМ

Специфические свойства биологических продуктов	Особенности и возможности мембранных систем
Малая концентрация целевых продуктов в КЖ	Возможность глубокого концентрирования (в 10...20 раз)
Наличие балластных примесей и побочных продуктов в КЖ	Возможность полной очистки целевого продукта
Повышенная термолабильность	Возможность разделения при пониженных температурах
Чувствительность к изменению агрегатного состояния	Отсутствие фазовых переходов и межфазных переносов
Стабильность в узком диапазоне pH	Неизменность pH
Нестабильность в присутствии химических соединений	Безреагентность
Нестабильность в присутствии посторонней микрофлоры	Возможность бактериальной очистки и работы в асептических условиях
Чувствительность к окислению функциональных групп белков	Возможность осуществления процессов в герметичных условиях



КОНЦЕНТРАЦИОННАЯ ПОЛЯРИЗАЦИЯ – ОСНОВНАЯ ПРОБЛЕМА ЖИДКОФАЗНЫХ МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ

Трансмембранный массоперенос при разделении жидких сред через пористые мембраны сопровождается специфическим явлением, называемым **концентрационной поляризацией**, которая характеризуется повышенной концентрацией задерживаемого компонента у поверхности мембраны.

В газофазных мембранных процессах с применением диффузионных мембран явление концентрационной поляризации не возникает.

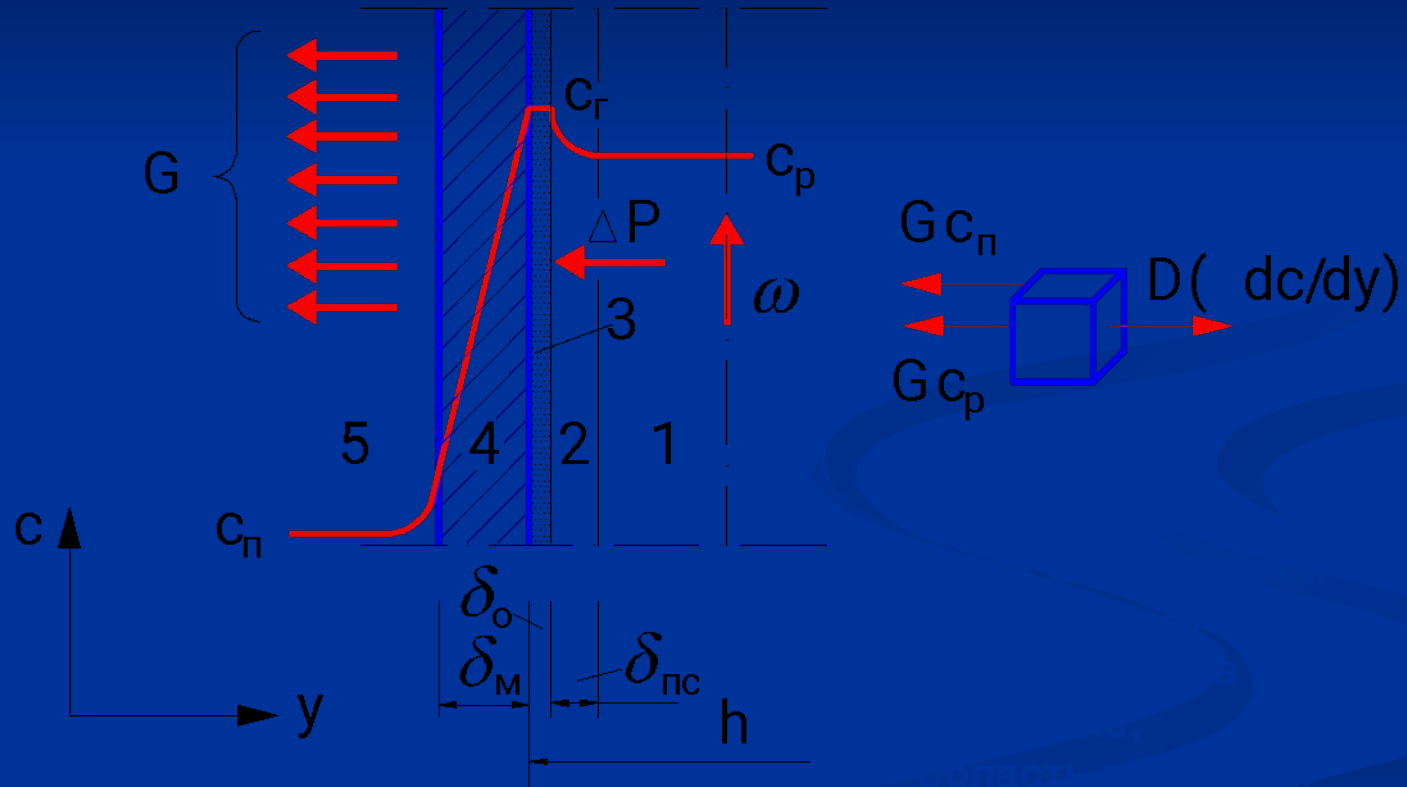


НЕГАТИВНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ КОНЦЕНТРАЦИОННОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ

- Увеличение потока растворенного вещества через мембрану, т.е. снижение селективности;
- Повышение осмотического давления раствора в примембранном слое, что приводит к уменьшению движущей силы процесса и, следовательно, снижению удельной производительности мембран;
- Образование осадков или гелей, что также способствует снижению удельной производительности мембран;
- Сокращение продолжительности эксплуатации (ресурса) мембран.

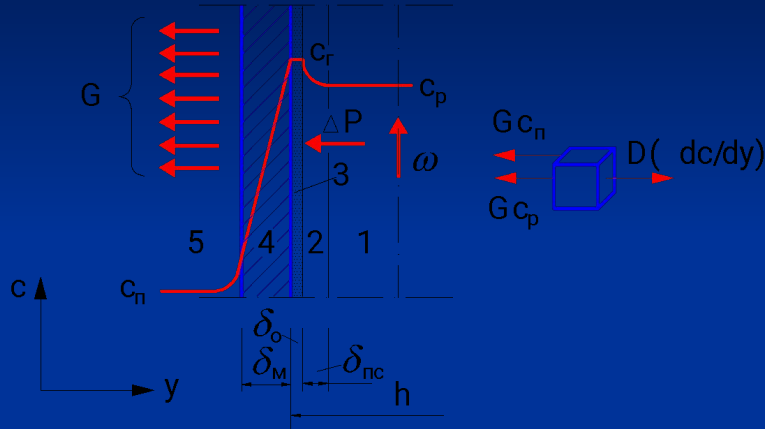


К ОБЪЯСНЕНИЮ ВОЗНИКНОВЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИОННОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ





МОДУЛЬ ПОЛЯРИЗАЦИИ



Количественно величину концентрации поляризации выражают через соотношение, называемое также **модулем поляризации**:

$$КП = C_G / C_P$$

где C_G и C_P – соответственно концентрация целевого компонента у поверхности мембраны (на границе «мембрана-раствор» и в ядре разделяемого потока, кг/м^3).

$$\varphi_{И} = 1 - C_{П} / C_G$$

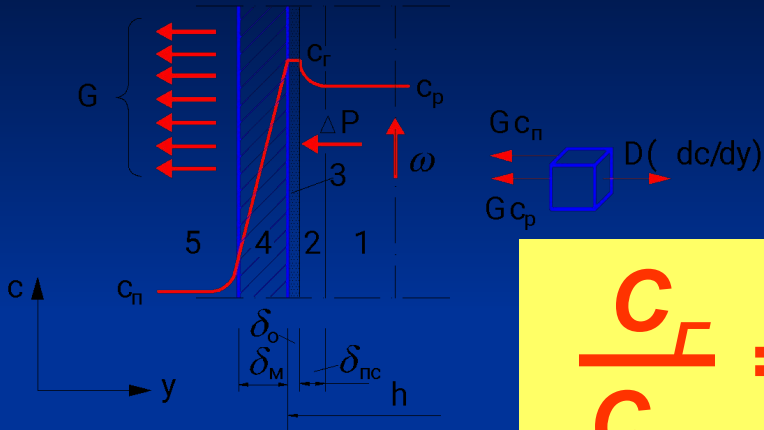
где $C_{П}$ - концентрация целевого компонента в пермеате, кг/м^3 .

При разделении белковых растворов модуль поляризации может достигать 10-ти.

Поэтому, помимо наблюдаемой, следует различать истинную селективность мембраны:



АНАЛИТИЧЕСКОЕ ВЫРАЖЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИОННОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ



$$\frac{C_r}{C_p} = \frac{\exp G \delta_{pc} / D}{\varphi_{II} + (1 - \varphi_{II}) \exp G \delta_{pc} / D}$$

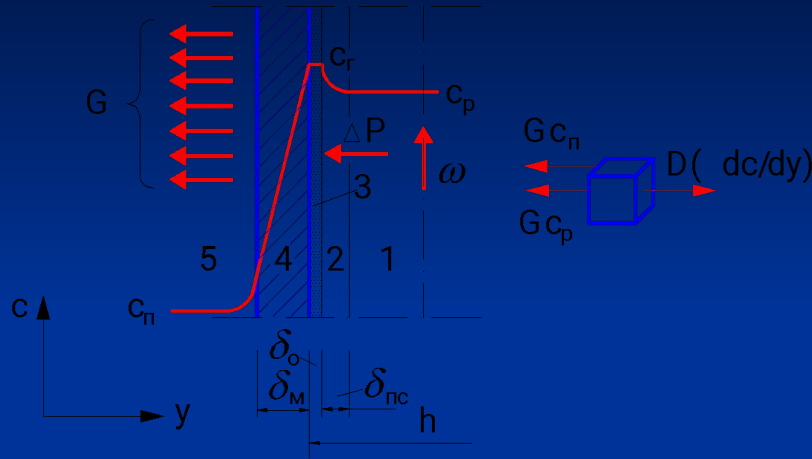
где G – удельная производительность мембраны, $\text{м}^3/(\text{м}^2 \times \text{ч})$; δ_{pc} – толщина пограничного слоя у поверхности мембраны со стороны разделяемого раствора, м ; D – коэффициент диффузии, $\text{м}^2/\text{с}$.

Для высокоселективных мембран, для которых $\varphi_{II} \approx 1$, выражение упрощается до вида:

$$\frac{C_r}{C_p} = \frac{\exp G \delta_{pc}}{D}$$



ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА КОНЦЕНТРАЦИОННУЮ ПОЛЯРИЗАЦИЮ



$$\frac{C_r}{C_p} = \frac{\exp G \delta_{pc}}{D}$$

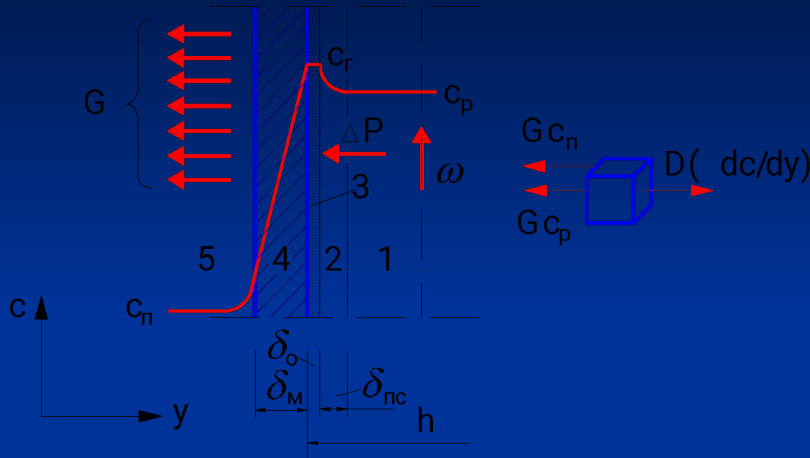
Модуль поляризации экспоненциально возрастает с увеличением потока растворителя через мембрану G и толщины пограничного слоя δ_{pc} , и, соответственно, уменьшается с увеличением коэффициента диффузии D .

Следовательно, влияние концентрационной поляризации более существенно при использовании мембраны с более высокой удельной производительностью, при большей толщине пограничного слоя, а также при разделении растворов с относительно высокими (более 500) молекулярными массами, коэффициенты диффузии которых очень малы.

Например, для водных растворов белков коэффициенты диффузии составляют $10^{-10} \dots 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}$.



МЕРЫ ПО СНИЖЕНИЮ ВЛИЯНИЯ КОНЦЕНТРАЦИОННОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ



$$\frac{C_r}{C_p} = \frac{\exp G \delta_{pc}}{D}$$

- Применение мембран с невысокой удельной производительностью G , однако, очевидно, что это технологически не выгодно;

- Осуществление процесса при повышенной температуре, с целью увеличения коэффициентов диффузии D , однако это не всегда технологически допустимо, в частности при работе с термолабильными биотехнологическими средами;
- Уменьшение толщины межмембранного канала h , с целью снижения градиента концентраций;
- Интенсификация гидродинамических условий у поверхности мембраны за счет увеличения скорости потока разделяемой смеси или применения различных турбулизирующих эффектов.



МЕХАНИЗМЫ ТРАНСМЕМБРАННОГО МАССОПЕРЕНОСА



- Пористая модель (уравнение Пуазейля)

$$G = \frac{m\pi r^4 \Delta P}{8\mu \Delta y}$$

m – число пор; r – радиус пор, м; ΔP – перепад давления на мембране, Па; Δy – толщина мембраны, м; μ - динамический коэффициент вязкости жидкости, Па·с.

Жан Луи Пуазейль
(1799-1869)

- Диффузионная модель (закон Фика);

$$G_p = -D_p dC_p / dy$$

$$G_v = -D_v dC_v / dy$$

D_p , D_v – коэффициент диффузии соответственно растворителя и растворенного вещества в материале мембраны, м²/с; C_p ; C_v – концентрация соответственно растворителя и растворенного вещества, кг/м³; y – эффективная толщина мембраны, м.

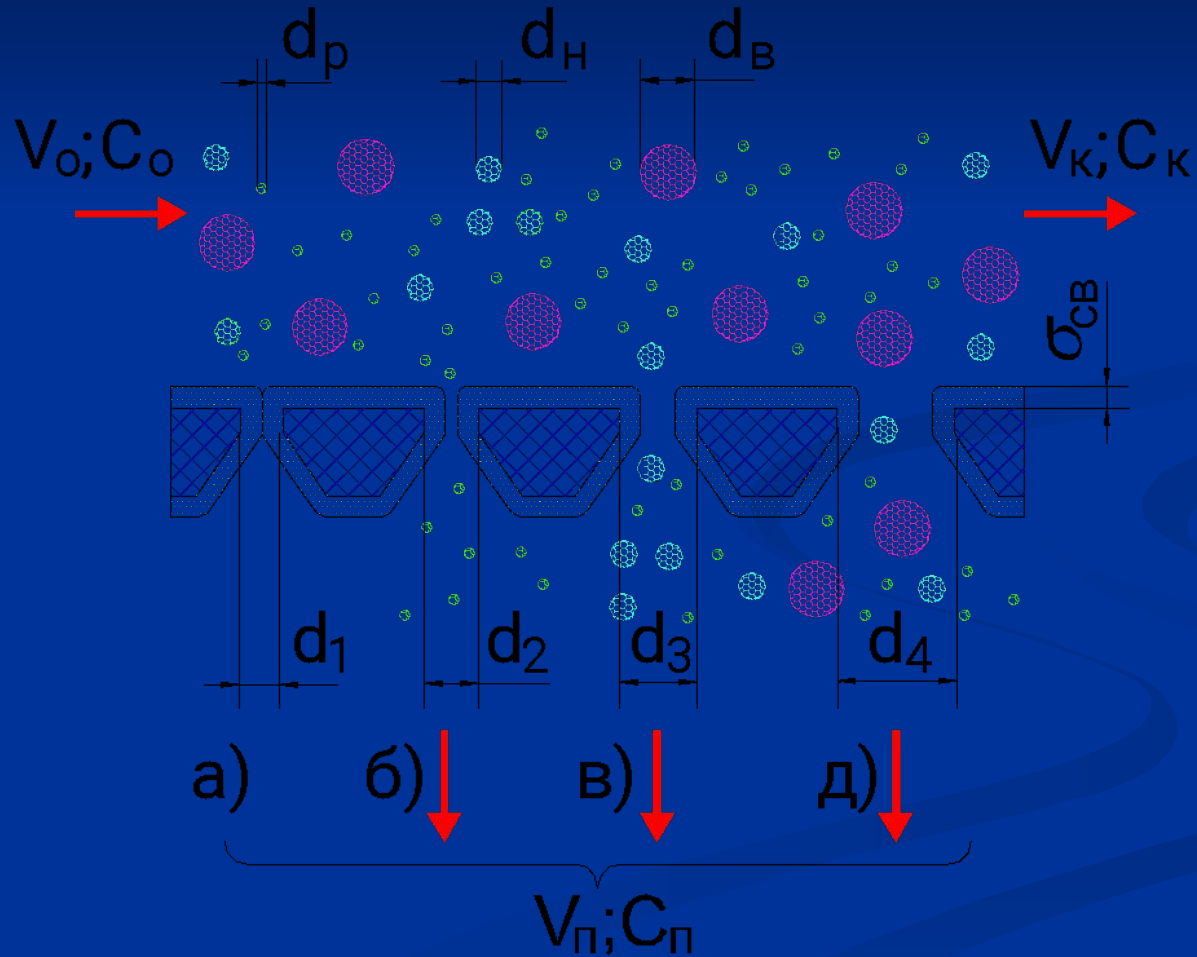


Адольф Фик
(1829-1901)



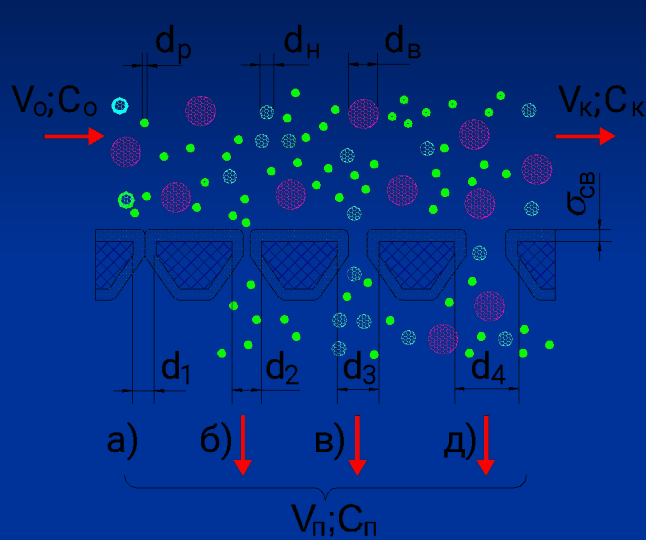
МЕХАНИЗМЫ ТРАНСМЕМБРАННОГО МАССОПЕРЕНОСА

- Капиллярно-фильтрационная модель





КАПИЛЛЯРНО-ФИЛЬТРАЦИОННАЯ МОДЕЛЬ ТРАНСМЕМБРАННОГО МАССОПЕРЕНОСА



- Примембранные слои жидкости могут существенно отличаться структурой и свойствами (вязкостью, растворяющей способностью и пр.) от жидкости в объеме. А поскольку «связанная» с мембраной вода является плохим растворителем, то ее примембранные слои могут быть не проницаемы для тех веществ, которые в ней не растворяются.

Этим, в частности, может быть объяснен тот факт, что некоторые вещества задерживаются мембранами даже в случае, когда размеры их молекул меньше диаметра пор.



КИНЕТИКА ТРАНСМЕМБРАННОГО МАССОПЕРЕНОСА

Основное уравнение массопередачи:

$$dM = k F \Delta P dt$$

k - коэффициент массопередачи - количество массы вещества, которая передается в единицу времени через единицу поверхности при разности давлений в 1 МПа.



КОЭФФИЦИЕНТ МАССОПЕРЕДАЧИ

$$k = \frac{1}{\frac{1}{\alpha_{\text{смеси}}} + \frac{s}{\lambda_{\text{мембр}}} + \frac{1}{\alpha_{\text{пермеата}}}}$$

Сопротивление
массопереносу со
стороны
разделяемой смеси

Сопротивление
массопереносу в
мембране

Сопротивление
массопереносу со стороны
пермеата

⇒ **Скорость процесса обратно пропорциональна сопротивлению!**

α = коэффициенты массоотдачи

λ = коэффициент массопроводности мембраны

s = толщина мембраны



РАЗЛИЧИЕ В СОПРОТИВЛЕНИИ ТРАНСПЕМБРАННОМУ МАССОПЕРЕНОСУ ОБУСЛОВЛЕНО РЯДОМ ПРИЧИН:

- различием в размере и форме разделяемых частиц;
- различием в скорости диффузии;
- различием в растворимости;
- различием в электрических зарядах;
- различием в молекулярных массах и др.



ДИАФИЛЬТРАЦИЯ

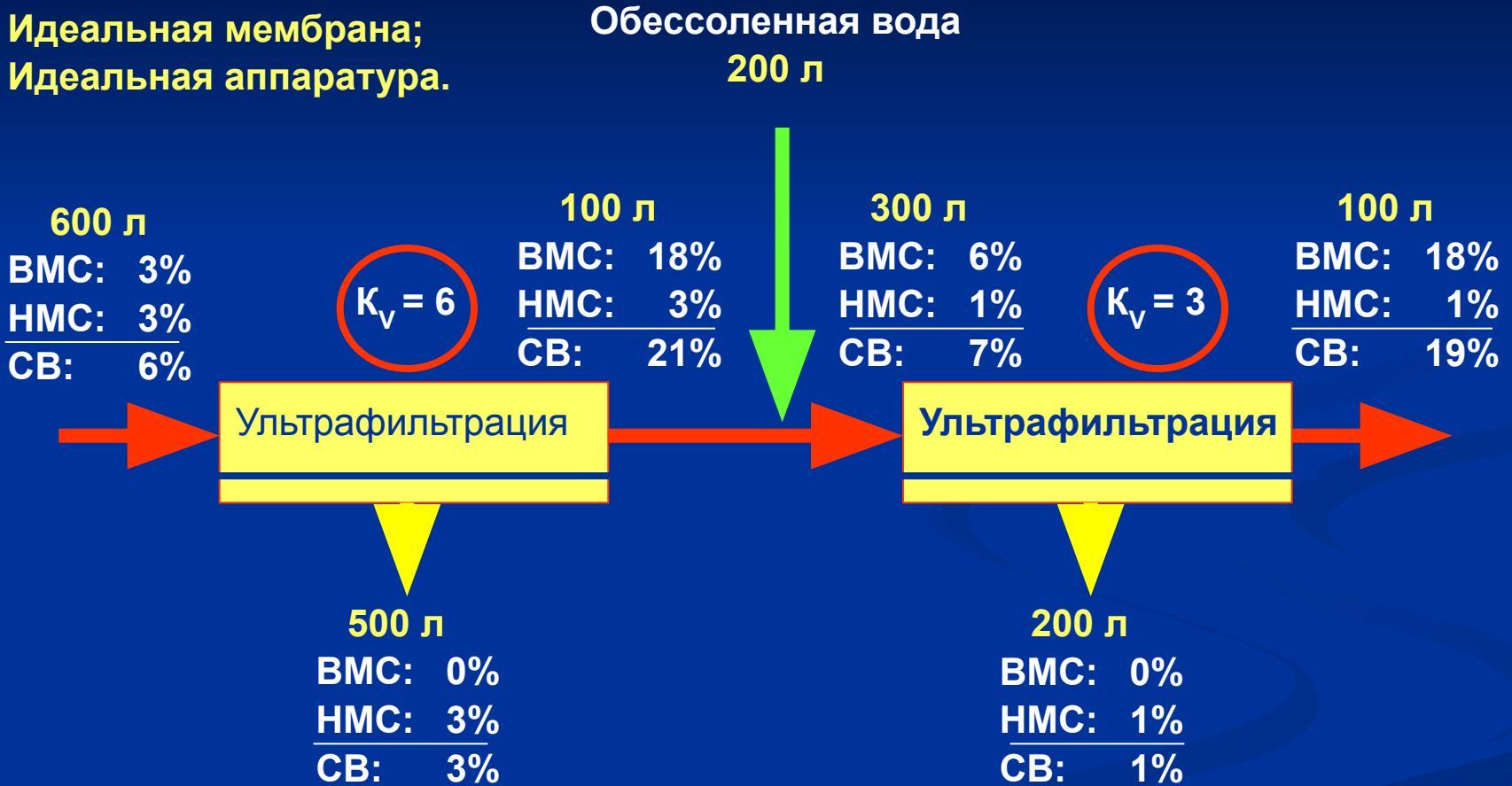
Диафильтрация – два и более одинаковых мембранных процесса, осуществляемых последовательно, между которыми полученный промежуточный концентрат высокомолекулярных целевых продуктов разбавляют растворителем.

Технологическая цель диафильтрации – более полная очистка высокомолекулярных целевых продуктов от низкомолекулярных балластных примесей с помощью полупроницаемых мембран.



ПРИМЕР ДИАФИЛЬТРАЦИИ (идеальная модель)

Идеальная смесь;
Идеальная мембрана;
Идеальная аппаратура.





ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДИАФИЛЬТРАЦИИ

- Возможность очистки высокомолекулярных соединений только лишь от низкомолекулярных примесей, молекулярная масса которых существенно (примерно на порядок) отличается от молекулярной массы целевого продукта.
- Балластные примеси с молекулярными массами того же порядка и более при диафильтрации так же концентрируются, то есть очистка от них не производится.



АФФИННАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ

Для очистки биологически активных веществ наиболее эффективны хроматографические методы, среди которых - **аффинная хроматография**.

Специфические возможности аффинной хроматографии позволяют очистить целевой продукт белковой природы не только от низкомолекулярных, но и от всех прочих, в том числе, высокомолекулярных примесей.

На лабораторном уровне хроматографические методы очистки белков, пожалуй, не имеют себе равных. Однако при реализации аффинной хроматографии в промышленном масштабе приходится сталкиваться с рядом существенных технических трудностей, в частности:

- относительно высокой стоимостью хроматографических носителей;
- низкой стабильностью хроматографических носителей;
- невозможностью реализации в традиционной колонне непрерывного режима, который, с точки зрения организации процесса, является более прогрессивным.



АФФИННАЯ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИЯ

- В основе аффинной ультрафильтрации лежит совмещение методов аффинной хроматографии и мембранного разделения, в частности микрофильтрации.
- Благодаря этому в рассматриваемой комплексной технологической операции органично сочетаются преимущества аффинной хроматографии (очень высокая избирательность) и мембранного разделения (непрерывность и высокая эффективность разделения веществ с различными молекулярными массами).



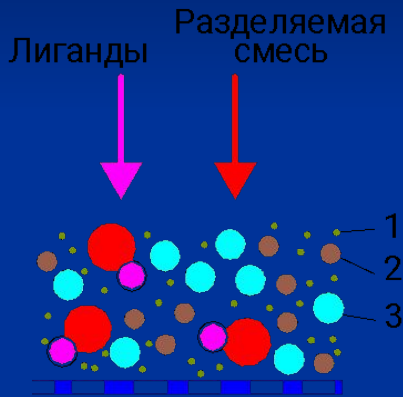
АФФИННАЯ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИЯ

- **Аффинно-мембранное разделение основано на способности многих биологически активных соединений, в том числе ферментов, избирательно и обратимо связываться с некоторыми другими веществами, которые принято называть лигандами или аффинными лигандами.**
- **В качестве лигандов могут выступать высокомолекулярные водорастворимые полимеры или твердые частицы небольшого размера, (крахмальные гранулы, инактивированные дрожжевые клетки и пр.), которые легко могут быть отделены от несвязанных белков ультра- или микрофильтрацией.**



ПРИНЦИП АФФИННОЙ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ

а) – введение лигандов в разделяемую смесь и образование комплексов целевых белков с лигандами;



а)

Сущность аффинной ультраfiltrации заключается в том, что перед мембранным разделением в ферментную систему вводят лиганды, образующие избирательно и обратимо комплексы с целевыми белковыми продуктами, а затем полученную смесь разделяют на мембранах с размером пор существенно бóльшим, чем размер молекул целевых белков и прочих высокомолекулярных соединений, но меньшим, чем размер лигандов. (Как правило для этого применяют микроfiltrационные мембраны).

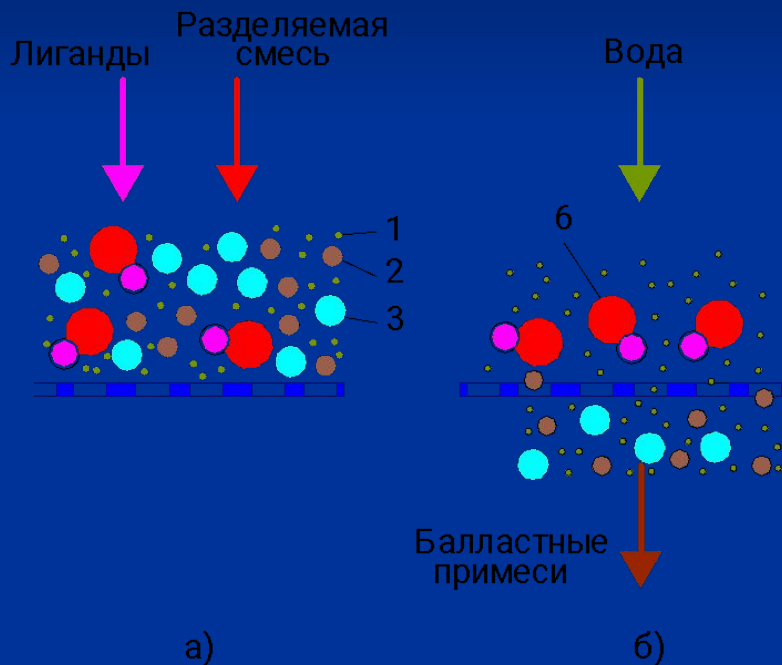
Таким образом комплексы задерживаются на мембране, а все прочие балластные вещества удаляются через мембрану с пермеатом.

1 – растворитель (вода); 2 - низкомолекулярные примеси; 3 – высокомолекулярные примеси;
4 – целевые белки; 5 – лиганды; 6 – комплекс целевых белковых продуктов с лигандами.



ПРИНЦИП АФФИННОЙ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ

б) – отделение комплексов от балластных примесей (для полноты очистки возможна диафильтрация);

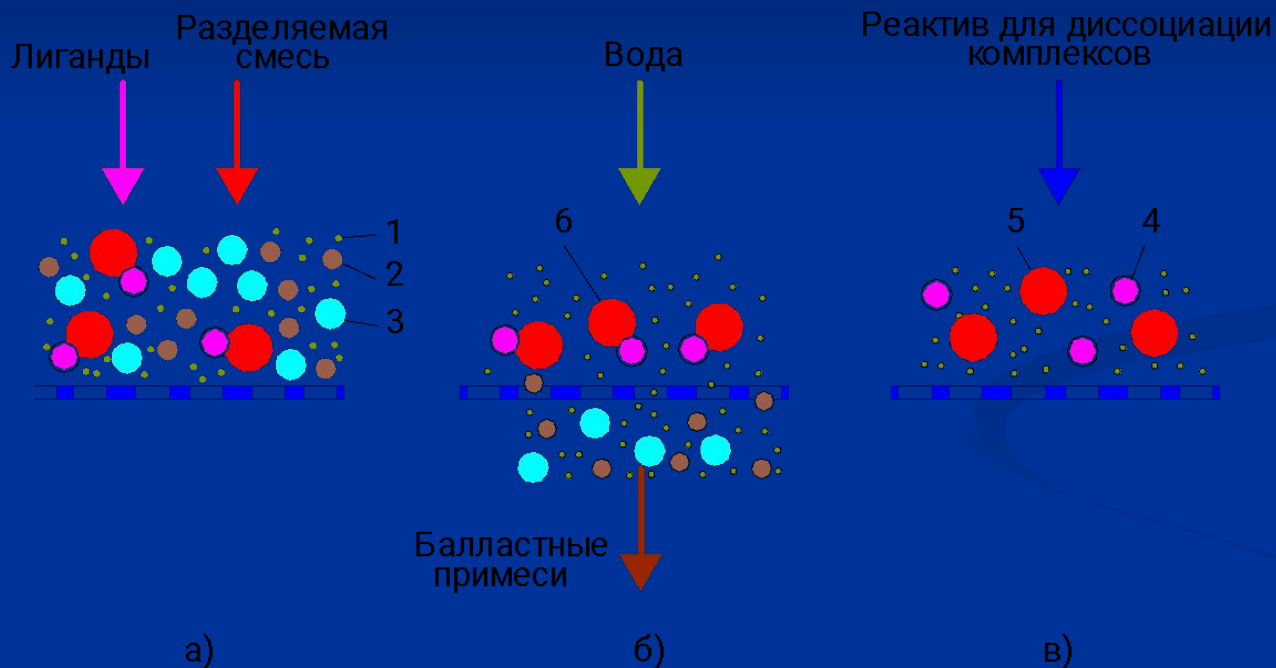


1 – растворитель (вода); 2 - низкомолекулярные примеси; 3 – высокомолекулярные примеси;
4 – целевые белки; 5 – лиганды; 6 – комплекс целевых белковых продуктов с лигандами.



ПРИНЦИП АФФИННОЙ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ

в) – диссоциация комплексов;

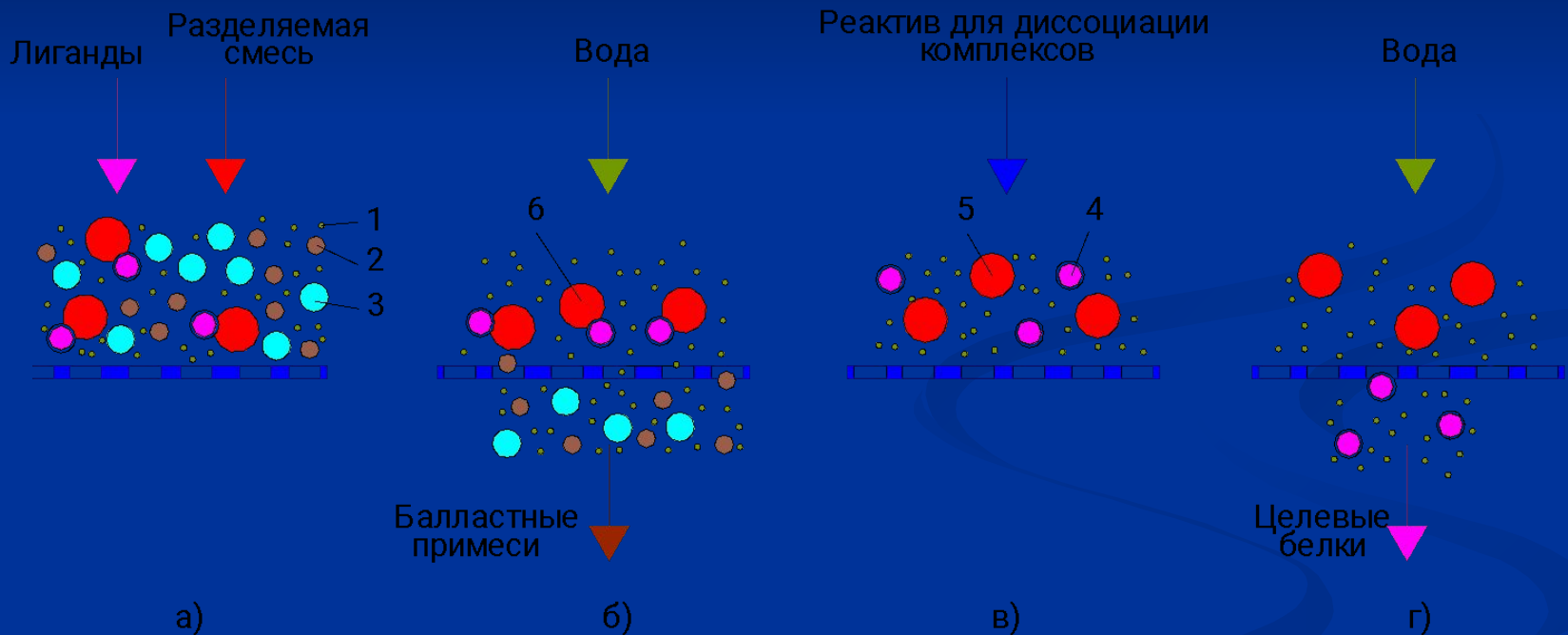


1 – растворитель (вода); 2 - низкомолекулярные примеси; 3 – высокомолекулярные примеси;
4 – целевые белки; 5 – лиганды; 6 – комплекс целевых белковых продуктов с лигандами.



ПРИНЦИП АФФИННОЙ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ

г) – отделение целевых белковых продуктов от лигандов.



1 – растворитель (вода); 2 - низкомолекулярные примеси; 3 – высокомолекулярные примеси; 4 – целевые белки; 5 – лиганды; 6 – комплекс целевых белковых продуктов с лигандами.



ПРЕИМУЩЕСТВА АФФИННОЙ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ

- возможность очистки целевых белковых продуктов от всех без исключения балластных примесей;
- интенсификация процесса выделения и очистки белковых продуктов;
- возможность высокоэффективной очистки белковых продуктов в непрерывном режиме в промышленном масштабе;
- сокращение технологических стадий;
- снижение расхода химических реагентов;
- повышение выхода белковых целевых продуктов.



ПРИМЕРЫ АФФИННОЙ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ

- Очистка трипсина из поджелудочной железы свиней:

Трипсин селективно связывают с водорастворимым полимером – **акриламидом** (ММ более 100 000), и этот комплекс задерживают мембраной. Выделение трипсина из комплекса осуществляют добавлением **аргинина** или **бензамидина**.

Выход трипсина составляет около 77%.

- Очистка лизина:

Лизин селективно связывают с водорастворимым полимером – **производным целлюлозы** (ММ 10 000...100 000), и далее смесь разделяют на мембране из полисульфон-амида с размером пор 0,45 мкм. Выделение лизина из комплекса осуществляют добавлением **кислоты**.

Выход лизина составляет около 82...85%.



ПРОБЛЕМА АФФИННОЙ УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ

- Пожалуй, единственной трудностью при реализации аффинной ультрафильтрации является необходимость индивидуального подбора лиганда для конкретного продукта белковой природы и определение условий комплексообразования и диссоциации комплексов.



МИКРОФИЛЬТРАЦИЯ - ЭФФЕКТИВНЫЙ МЕТОД БАКТЕРИАЛЬНОЙ ОЧИСТКИ ЖИДКИХ СРЕД

Применение мембран со средним диаметром пор $0,2 \text{ мкм}$ обеспечивает гарантированное получение стерильных растворов.



Фронтальный поток



Тангенциальный поток



ПРЕИМУЩЕСТВА МИКРОФИЛЬТРАЦИИ

(по сравнению с другими методами стерилизации жидкостей)

- возможность осуществления при пониженной температуре (т. е. метод «холодной» стерилизации), что позволяет сохранить термолабильные биологические продукты;
- в стерильной среде не остается не только жизнеспособных, но и нежизнеспособных микроорганизмов, а также их фрагментов, что очень важно для производства биопрепаратов медицинского назначения (в частности растворов для внутривенного введения).

ФЕДОРЕНКО

Борис Николаевич

доктор технических наук, профессор

Кафедра “Технологические машины и
оборудование”

Московского

государственного университета пищевых
производств

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

тел. 8 (499) 158-72-11

