

Kataliza w reaktorach z membranami enzymatycznymi

Józef Ceynowa
Wydział Chemii
Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika
Toruń

1. Wstęp

Termin membrany enzymatyczne jest stosowany dla określania membran o selektywnych właściwościach transportowych, zawierających w swojej strukturze immobilizowane biokatalizatory. Membrany takie przejawiają zatem zarówno właściwości separacyjne, jak i aktywność katalityczną, uwarunkowaną przede wszystkim rodzajem, ilością i sposobem immobilizacji obecnego w nich katalizatora. Biokatalizatorem są najczęściej wyizolowane makrocząsteczki enzymów, względnie martwe pozostałości komórek mikroorganizmów, wykazujące aktywność katalityczną pozostającego w nich enzymu. Takie membrany stanowią najbardziej istotną część tzw. bioreaktora membranowego.

Pojęcie bioreaktora membranowego jest jednak szersze i obejmuje również reaktory pracujące w sposób ciągły, w których biokatalizator (mogą nim być również żywe komórki mikroorganizmów), jest zamknięty w przestrzeni reakcyjnej przez nieprzenikliwą dla niego membranę (1,2). Rolę taką, zarówno wobec enzymu, jak i koenzymu jeśli jest on związany np. z cząsteczką polimeru, spełniają asymetryczne membrany ultrafiltracyjne, albo np. membrany z grupami jonowymi. W tym ostatnim przypadku ujemnie naładowane grupy polimerowej matrycy membrany, odpychają ujemnie, w danym pH, zjonizowane enzymy oraz koenzymy (3).

Różne typy bioreaktorów, w tym bioreaktorów membranowych zostały wyczerpująco scharakteryzowane w publikacjach przeglądowych (4 - 7), również w literaturze polskiej (8 - 10). Wykazano tam zalety i wady poszczególnych rozwiązań oraz kryteria wyboru. Należy jedynie podkreślić, że te prace przeglądowe dotyczą stanu wiedzy z lat siedemdziesiątych i osiemdziesiątych.

Reaktory z membraną enzymatyczną różnią się w istotny sposób od zwykłych reaktorów membranowych. Proces katalityczny przebiega w nich w fazie membrany, stanowiącej granicę nieciągłości pomiędzy fazą zawierającą przede wszystkim substraty i fazą zawierającą głównie produkty. Proces zwykle nie przebiega ze stuprocentową wydajnością.

Najprostszą budowę może mieć reaktor przeznaczony do procesu, w którym ciągłą reakcją enzymatyczną wymusza się przez ciśnieniowy przepływ substratów przez membranę i odbiór produktów po przeciwnej stronie membrany.

Daleko bardziej złożone są układy, w których substrat, względnie substraty albo produkty nie tworzą jednorodnego roztworu z powodu ograniczonej rozpuszczalności. W takiej sytuacji możliwe jest zastosowanie odpowiedniego rozpuszczalnika, względnie prowadzenie procesu w typowym układzie dwufazowym, z dwiema fazami ciekłymi, rozdzielonymi membraną (6,11). Dobrym przykładem są najnowsze sposoby prowadzenia hydrolizy tłuszczów. Po pierwszych próbach opracowania wydajnych procesów, w których stosowano emulsje oleju w wodzie, względnie dobierano rozpuszczalniki oleju i kwasów tłuszczowych, najnowsze opracowania przedstawiają układy, w których obydwa substraty, tzn. olej i zbuforowana woda stanowią oddzielne fazy kontaktujące się ze sobą w membranie enzymatycznej (12 - 14).

Dwufazowa wersja realizacji procesu enzymatycznego wykazuje pewną analogię do dobrze już poznanych procesów katalizy z przejściem fazowym (15), szczególnie jednak — do tzw. katalizy trójfazowej (16,17); katalizator enzymatyczny jest bowiem umiejscowiony w membranie na granicy fazy wodnej zawierającej jeden z substratów i kontaktuje się jednocześnie z fazą organiczną stanowiącą lub zawierającą drugi substrat.

Celem obecnej pracy jest przedstawienie przynajmniej części najnowszych rozwiązań dotyczących procesów przeprowadzanych w reaktorach z membranami enzymatycznymi. Przedstawione zatem zostaną nowe sposoby preparowania membran enzymatycznych i ich zastosowania.

2. Membrany polimerowe stosowane do immobilizowania enzymów

Praktyczne zastosowania w procesach biokatalitycznych znalazły dotąd jedynie membrany otrzymane na bazie polimerów. Należy jednak wspomnieć również o pracach nad wykorzystaniem membran nieorganicznych, np. (18 - 21), jako szczególnie trwałych i aktywnych nośników do immobilizacji enzymów, głównie za pomocą wiązań kowalencyjnych. Można jednak stwierdzić, że stosowanie kosztownego sposobu immobilizacji nietrwałego przecież enzymu na wyjątkowo trwałej membranie jest raczej mało ekonomiczne.

Zastosowanie membran polimerowych rozwinęło się po opanowaniu sposobów formowania membran w oparciu o metodę tzw. inwersji faz w pierwotnym roztworze polimeru (22). Umożliwia on otrzymywanie asymetrycznych membran mikro- i ultrafiltracyjnych, przydatnych do procesów separacji. W zależności od parametrów procesu inwersji, z tego samego polimeru można otrzymywać membrany o wymaganej strukturze, o bardziej lub mniej zwartej warstwie mikroporowatego naskórka i makroporowatej warstwie nośnej, od typowo gąbczastej do palczastej (*sponge* oraz *finger like structure*).

Typowa struktura asymetrycznych membran polimerowych została przedstawiona na rys. 1.



Rys. 1. Struktura płaskiej i kapilarnej polimerowej membrany asymetrycznej.

Tak jak widać w obydwu membranach występuje warstewka mikroporowatego naskórka oraz znacznie większa objętościowo makroporowata warstwa nośna. Warstwa naskórka decyduje o odpowiednich właściwościach transportowych i separacyjnych (zależnych od średnicy porów i od chemicznego charakteru polimeru membranowego). Natomiast warstwa nośna stanowi wprost idealną przestrzeń dla umieszczenia w niej makrocząsteczek enzymu.

Membrany polimerowe stosowane do immobilizacji enzymów są wytwarzane w kilku zasadniczych postaciach jako:

- płaskie folie stosowane w reaktorach płaskich, względnie w postaci modułów zwijanych;
- membrany rurowe formowane na perforowanych rurach, o znacznych, nieraz kilkumetrowych długościach;
- membrany kapilarne stosowane w „wiązkach” tworzących tzw. moduły kapilarne.

Każda z wymienionych postaci wykazuje zalety i wady, więc wybór jednej z nich winien być oparty na dokładnej analizie przydatności i kosztów otrzymywania. Warto zwrócić uwagę na stosunek powierzchni, a zatem również miejsca reakcji, do objętości roztworów wypełniających objętość reaktora, jaki udaje się uzyskać w różnych typach reaktorów. W reaktorach rurowych osiąga on wartość 150, w płaskich 500 – 800, natomiast w reaktorach z membranami kapilarnymi do kilku tysięcy m^{-1} . Stąd, w większości procesów biokatalitycznych, które opracowano już w liczącej się skali technicznej stosowane są najczęściej membrany kapilarne (23), chociaż reaktory z membranami płaskimi są również stosowane, głównie z uwagi na prostą budowę i łatwość wymiany membran (14,24).

Schemat typowego reaktora z modułem „kapilarnym” przedstawiono na rys. 2.

Rodzaj membrany winien być dostosowany do wybranego procesu katalitycznego. Można jedynie wskazać, że o przydatności membrany do immobilizacji enzymu decyduje: sposób immobilizacji, fizyczna struktura membrany, oraz charakter oddziaływań pomiędzy polimerem membrany a składnikami

reagującego układu, przejawiający się w liofobowych albo liofilowych właściwościach membrany w danym środowisku. To zaś, w przypadku reakcji w układzie dwufazowym, decyduje o grubości strefy reakcyjnej w membranie oraz o szybkości procesu (wystąpią bowiem jedynie ograniczenia konwekcyjne, albo znacznie silniejsze — dyfuzyjne).

Polimery stosowane najczęściej do formowania membran zostały przedstawione w szeregu wskazującym jednocześnie na malejący charakter hydrofobowy:

poliolefiny > aromatyczne poliamidy > polisulfony > octan celulozy >
> poliakrylonitryl > alifatyczny poliamid-6.

Ostatnie trzy są już zaliczane do polimerów hydrofilowych.

Warto w tym miejscu zwrócić uwagę na silnie hydrofobowy charakter membran wykonanych z poliamidów organicznych, w przeciwieństwie do zdecydowanie hydrofilowego charakteru membran z alifatycznych poliamidów 6 oraz 6,6 (25).

3. Membrany enzymatyczne

Sposoby immobilizacji enzymu w membranach (1,4,5,26 – 28) polegają zwykle na:

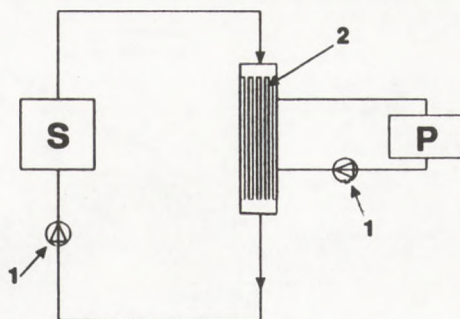
- 1) „uwięzieniu” enzymu w strukturze membrany,
- 2) adsorpcji, oraz
- 3) immobilizacji przez wiązania kowalencyjne.

W celu zapobieżenia porywania cząsteczek enzymu immobilizowanych wg pierwszego i drugiego sposobu należy doprowadzić stężenie enzymu do tak wysokiego poziomu by nastąpił samorzutny proces żelowania enzymu w rozbudowanej przestrzennie strukturze warstwy nośnej membrany.

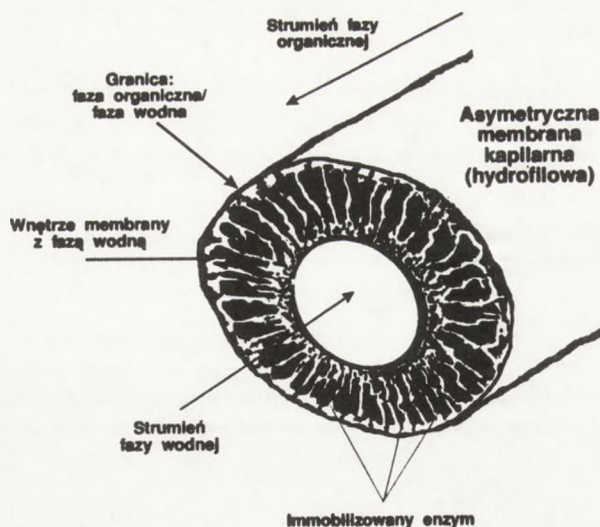
Szczegółowe informacje na temat podstawowych sposobów immobilizacji można znaleźć w cytowanych już pracach. Obecnie zostaną przedstawione jedynie niektóre utrwalone już oceny sposobów immobilizacji oraz najważniejsze doniesienia z najnowszej literatury.

3.1. Metoda „uwięzienia” w strukturze membrany

Początkowo immobilizację taką przeprowadzano przez formowanie membrany z roztworu polimeru zawierającego również wybrany enzym. Nie zna-



Rys. 2. Schemat prostego reaktora z modulem kapilarnych membran enzymatycznych: S — substrat; P — produkt; 1 — pompa; 2 — moduł kapilarny.



Rys. 3. Immobilizacja enzymu w membranie kapilarnej wg Lopeza i wsp. (33).

lazło to jednak szerszego zastosowania, głównie z uwagi na ograniczoną odporność enzymów na warunki formowania membran. Zasadnicze znaczenie ma tutaj, charakter zwykle niewodnego rozpuszczalnika polimeru, stężenie enzymu oraz temperatura prowadzenia procesu formowania membrany metodą inwersji faz. Znane są jednak przykłady otrzymania trwałych mem-

bran, wykazujących wysokie aktywności katalityczne w przypadku enzymów pochodzących ze szczególnie odpornych mikroorganizmów jak *Caldariella acidofila* (29,30) oraz *Sulfolobus solfataricus* (31).

Znacznie szersze zastosowanie i wyższe oceny uzyskała immobilizacja dokonywana w gotowej membranie asymetrycznej przez wypełnienie jej makroskopowej struktury cząsteczkami enzymu i utwalenie ich położenia przez usieciowanie, np. za pomocą aldehydu glutarowego (32).

Godny uwagi jest sposób „uwieżenia” enzymu bez wymuszania jakichkolwiek wiązań, przedstawiony w patencie J. L. Lopeza z 1989 r. (33). Dotyczy on otrzymywania kapilarnych membran enzymatycznych przeznaczonych do procesów przeprowadzanych w układach wielofazowych.

Istotę sposobu przedstawiono na rys. 3. Tak jak widać, enzym nie może opuścić membrany, gdyż z jednej strony jest wstrzymywany przez gęstą warstwę naskórka, a przy drugiej powierzchni kapilary rolę zapory spełnia nierozpuszczalna dla enzymu, organiczna faza ciekła. Na podkreślenie zasługuje możliwość bardzo łatwej wymiany zdezaktywowanego enzymu, względnie wymiana na inny enzym, potrzebny jako katalizator innego procesu. Obniża to znacznie koszty otrzymywania membrany.

Zastosowanie podobnej membrany do reakcji interstryfikacji z oddzieleniem produktu od nieprzereagowanych substratów zostało przedstawione przez Ricksa i wsp. (34).

3.2. Membrany enzymatyczne otrzymywane w wyniku adsorpcji enzymu

Adsorpcja enzymu na rozwiniętej powierzchni wewnętrznej membrany jest metodą bardzo prostą i mało kosztowną. Jednakże, często obserwuje się również, szybszy lub wolniejszy, proces desorpcji prowadzący do obniżenia aktyw-

ności membrany i zanieczyszczenia produktów przez zdesorbowane cząsteczki enzymu. Z tego względu korzystna jest adsorpcja wielomolekularna, kończąca się procesem żelowania (35,36). Warto zwrócić uwagę na membranę otrzymaną przez adsorpcję aminoacylazy na membranie z poliamidu alifatycznego, do którego wprowadzono słabo zasadowe grupy jonowe (35). Była ona zastosowana do procesu otrzymywania L - aminokwasów.

3.3. Membrany enzymatyczne otrzymywane metodą immobilizacji przez wiązania kowalencyjne

Metody chemicznego wiązania enzymu są zwykle bardziej kosztowne od innych. Prowadzą jednak do otrzymania membran o trwałej gęstości zaszczeplenia enzymu, często odporniejszego na pH środowiska oraz temperaturę (39 - 41).

Wiązanie chemiczne można przeprowadzić jedynie, wtedy gdy polimer membrany zawiera grupy aktywne w procesie szczepienia (42 - 44). W przeciwnym razie, należy wprowadzić takie grupy przez chemiczną modyfikację membrany (45 - 48), względnie uformować membranę dwufazową, z cząstkami innego materiału (np. krzemionki, poliakryloamidu), który będzie spełniał rolę nośnika enzymu w membranie (48 - 52). Inne rozwiązanie przedstawiono w patencie japońskiej firmy Nitto-Electric (52). Polega ono na otrzymywaniu membrany dwuskładnikowej, złożonej z polimeru membranowego oraz równomiernie rozłożonego innego polimeru zdolnego do związania enzymu. Polimer ten uzyskuje się po nasączeniu gotowej membrany polimerowej (np. z polisulfonu) odpowiednim monomerem i jego polimeryzacji.

Interesujący sposób immobilizowania enzymów w membranach, oparty na przeprowadzaniu szczepienia enzymu w procesie fotochemicznym, został przedstawiony przez Bellobono i wsp. (54). Proponują oni fotoszczepienie enzymu razem z monomerami, względnie prepolimerami akrylanowymi na mikroporowatym podłożu membranowym. Czynnikiem immobilizującym enzym (opisano przykład z zastosowaniem katalazy) był prepolimer epoksy-diakrylanowy. Proces był wywoływany pod wpływem naświetlania promieniowaniem wysokociśnieniowej lampy rtęciowej w obecności 1,2-difenylo-2,2-dimetoksy-metanonu jako inicjatora.

Proces przeprowadzano w trzech etapach: a) naniesienia roztworu enzymu na ultrafiltracyjną membranę z polichlorku winylu i odparowania rozpuszczalnika, b) naniesienia warstwy toluenowego roztworu prepolimeru z fotoinicjatorem i dodatkiem drobnoziarnistego zeolitu 3A i odparowania toluenu, c) naświetlenia lampą rtęciową (2 min). Warunki otrzymywania membrany są zatem bardzo łagodne, dzięki czemu aktywność związanego enzymu spadła jedynie o 5 - 6 %.

Warto również zwrócić uwagę na wcześniejszą pracę Imai i wsp. (55,56) nad immobilizacją enzymów w membranie z polialkoholu winylowego, chociaż występuje tam raczej żelowanie i fotosieciowanie.

Interesującą metodę immobilizacji opracowali również badacze taiwańscy (56). Polega ona na wiązaniu makrocząsteczek enzymu na polimerze w pro-

cesie aktywacji plazmowej. Roztwór enzymu (z czynnikiem sieciującym lub bez) nanosi się np. na ultrafiltracyjną membranę polimerową (z polietylenu, polipropylenu, octanu celulozy) i umieszcza w generatorze plazmowym. Stosowano typowy generator częstości radiowych 13,56 MHz, w atmosferze azotu, tlenu, względnie amoniaku. Następuje wtedy aktywacja grup funkcyjnych białka oraz polimeru prowadząca do powstania wolnych rodników, które w czasie powrotu do stanu niskoenergetycznego tworzą wiązania kowalencyjne. W wyniku tego powstaje membrana z częściowo zaszczipionymi i częściowo usieciowanymi cząsteczkami enzymu na polimerze membranowym o wysokiej aktywności katalitycznej i stabilności. Autorzy udokumentowali swoją opinię badaniami szeregu procesów, m.in. z immobilizowaną oksydazą glukozową, dekarboksylazą lizynową, inwertazą i mutarotazą.

Ilość imobilizowanego w ten sposób enzymu jest jednak niewielka i otrzymywane membrany są przeznaczane do budowy elektrod — biosensorów.

Na zakończenie warto jeszcze przedstawić kolejny, nieco starszy patent, z 1987 r. (58), wskazujący na tendencje do przygotowywania membran enzymatycznych w sposób przypominający formowanie membran laminatowych. Istotę patentu stanowi sposób budowy reaktora membranowego przeznaczonego do rozdzielania racematów estrów. Zgodnie z nim membrana enzymatyczna jest otrzymywana w procesie sieciowania, przebiegającym w odpowiednio zbuforowanej mieszaninie makrocząsteczek polimeru i odpowiedniego enzymu pod wpływem typowych środków sieciujących (stosowano różne polimery akrylamidowe i metakrylamidowe, z wystarczającą zawartością grup jonowych zapewniających dobrą hydrofilowość). Proces przebiega w warstwie roztworu naniesionej na podłożu z typowej polimerowej membrany ultrafiltracyjnej (stosowano membrany z polipropylenu, policzterofluoroetylenu, polichlorku winylu i in. Cała membrana jest więc złożona z enzymatycznie aktywnej warstewki polimeru osadzonej na porowatej membranie filtracyjnej.

Przedstawione sposoby immobilizacji enzymów w membranie stawiają przed projektantem procesu znacznie szersze możliwości wyboru optymalnego wariantu. Generalnie można stwierdzić, że bardziej złożone i kosztowne metody immobilizacji, zwłaszcza te, oparte na wiązaniach chemicznych, warto stosować dla enzymów trudno dostępnych i kosztownych, w celu zapewnienia ich wysokiej i długotrwałej aktywności (59).

4. Laminatowe membrany enzymatyczne

W prezentacji membran enzymatycznych osobne omówienie należy poświęcić tzw. membranom laminatowym. (W przypadku zwykłych membran przeznaczonych do rutynowych zastosowań, podobnie zbudowane, kilkuwarstwowe membrany są niekiedy nazywane membranami kompozytowymi (60)).

Do membran laminatowych można również zaliczyć tzw. membrany dynamiczne, w których warstwa żelu enzymu jest osadzana na podłożu z membrany ultrafiltracyjnej w czasie filtracji roztworu enzymu (61).

W artykule tym terminem „enzymatyczna membrana laminatowa” jest nazywana membrana złożona z warstwy typowej membrany enzymatycznej i nałożonej na nią innej warstwy, pełniącej funkcję dodatkowego, selektywnego separatora. Obydwie warstwy spełniają zatem aktywną rolę w całkowitym procesie katalitycznym. Dodatkową selektywną warstwą jest np. membrana ciekła, najczęściej w formie tzw. unieruchomionej membrany ciekłej. Utworzona jest ona z cieczy organicznej nasycającej makroporowate podłoże, nadające jej kształt i trwałość.

Zastosowanie enzymatycznej membrany laminatowej jest konieczne w przypadku, gdy selektywne właściwości membrany enzymatycznej są niewystarczające.

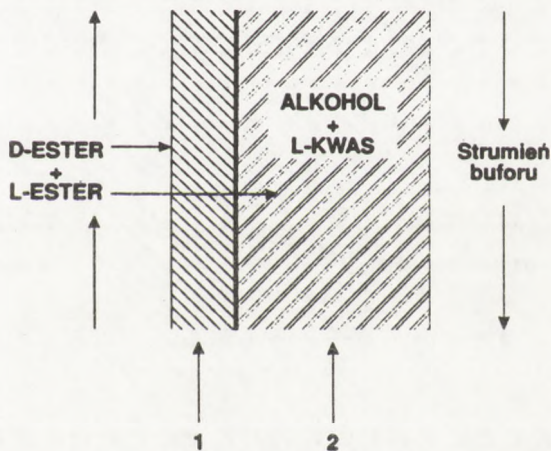
Przykład zastosowania takich membran dotyczy rozdzielania racematu estru etylowego N-acetylotyrozyny (62). Membrana jest złożona z warstwy unieruchomionej membrany ciekłej (ciecz organiczna wypełniająca pory membrany teflonowej), nałożonej na membranę enzymatyczną.

Schematyczny obraz membrany i całego procesu prowadzącego do uzyskania stężonego roztworu enancjomeru L-kwasu (93%) w strumieniu odbierającym reaktora i nieprzereagowanego estru pozostającego w roztworze zasilającym został przedstawiony na rys. 4.

Wysokie pH buforu powoduje całkowitą dysocjację powstałego kwasu, co uniemożliwia jego dyfuzję do roztworu zasilającego przez fazę organiczną ciekłej membrany.

Podobną enzymatyczną membranę laminatową zastosował Lopez i wsp. (63) do konwersji benzylopenicyliny w kwas 6-aminopenicylanowy. Katalizatorem była acylaza penicylanowa. W tym przypadku zastosowanie warstwy membrany ciekłej było podyktowane chęcią skutecznego rozdzielania produktu (kwasu) od substratu. W tym celu w roztworze odbierającym ustalono wysokie pH dla zjonizowania kwasu, gdyż w tej formie nie mógł on dyfundować do roztworu zasilającego i pozostawał w fazie odbierającej.

Warto zwrócić uwagę na rozwiązanie problemu przejścia substratu przez fazę membrany ciekłej. Substrat, tzn. benzylopenicylina jest w pH bliskim 7 zjonizowana i w tej postaci jej penetracja do fazy organicznej jest praktycznie niemożliwa. Z tego względu do roztworu substratu dodawano sól czterobutyloamoniową, której kationy tworzyły pary jonowe z ujemną benzylope-



Rys. 4. Laminatowa membrana enzymatyczna w procesie otrzymywania L-kwasu: 1 — warstwa unieruchomionej membrany ciekłej; 2 — warstwa membrany enzymatycznej.

nicyliną, a te z łatwością dyfundowały przez ciecz organiczną, dostarczając substrat do warstwy membrany, w której jest obecny enzym. Jony czterobutyloamoniowe spełniały zatem rolę typowego przenośnika w membranach ciekłych.

Podobną laminatową membranę enzymatyczną zastosowano do procesu interstryfikacji (kwas N-formylo-(β -metylo)-L-asparaginowy z izopropylowym estrem L-feniloalaniny wobec termolizyny), gdzie zadaniem warstwy unieruchomionej membrany ciekłej było selektywne przepuszczenie produktu do fazy odbierającej (34).

Poważnym mankamentem procesów prowadzonych w opisanych membranach jest ich mała szybkość. Są one bowiem ograniczone procesami dyfuzji reagentów, głównie w warstwie membrany ciekłej. Zaletą jest jednak bardzo dobry rozdział składników procesu i uzyskiwanie ich w stosunkowo wysokich stężeniach.

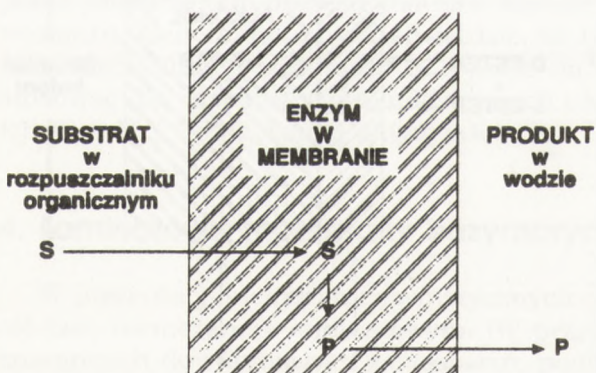
W wielu przypadkach zamiast umieszczać ciecz organiczną w utrzymującej ją porowatej strukturze pierwszej warstwy membrany laminatowej można przeprowadzić proces enzymatyczny w układzie, gdzie zwykła membrana enzymatyczna rozdziela produkty od substratów rozpuszczonych odpowiednio w rozpuszczalniku organicznym i roztworze wodnym. Schemat takiego układu został przedstawiony na rys. 5.

Układ ten znalazł zastosowania, m.in. do hydrolizy estrów do alkoholu i kwasu (64). Estry są bowiem często słabo rozpuszczalne w wodzie, w przeciwieństwie do alkoholi i kwasów. Rozwiązanie takie jest bardzo bliskie do wspomnianej już propozycji stosowania membrany z enzymem zamkniętym w membranie, z jednej strony przez mikroporowaty naskórek, a z drugiej przez nieprzenikliwą dla niego fazę organiczną (32).

Lopez i wsp. (63) opisują zastosowanie omawianego rozwiązania do rozdzielania estrów (D,L)-etylowych N-benzoilotyrozyny z zastosowaniem chymotrypsyny jako katalizatora, 1-octanolu jako fazy organicznej oraz buforu fosforanowego (pH 7,8) jako odbierającej fazy wodnej. W układzie takim uzyskiwali produkt o 98 % czystości enancjomerycznej.

Nieco odmienne, lecz również laminatowe membrany enzymatyczne zostały przedstawione przez Hofmanna i Wrasidlo w 1991 r. (65). Są to membrany przeznaczone do procesów, w których katalizatorem jest enzym wymagający obecności koenzymu.

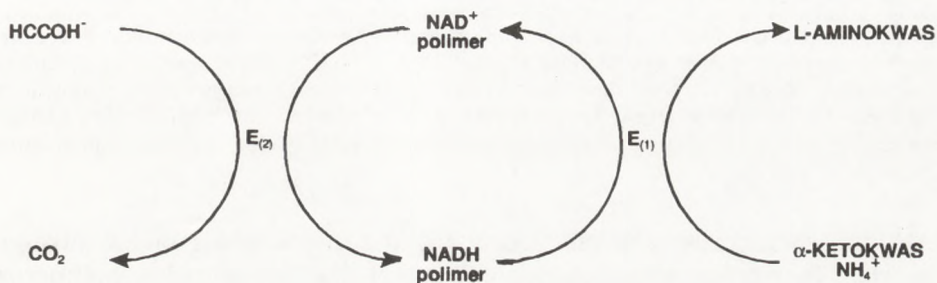
Konieczność utrzymywania stałego stężenia koenzymu w czasie biegu procesu była dotąd rozwiązywana za pomocą trzech metod:



Rys. 5. Proces biokatalityczny („dyfuzja — reakcja”) z substratem nierozpuszczalnym w fazie wodnej; S — substrat; P — produkt.

a. Koenzym (np. NAD^+/NADH) jest wiązany chemicznie z rozpuszczalnym w wodzie polimerem, co zwiększa rozmiary powstałego połączenia tak, że jest ono zatrzymywane przez mikroporowatą warstwę naskórka membrany (podobnie jak makrocząsteczki enzymu). Do układu należy jednak dodać drugi substrat i odpowiedni enzym regenerujący koenzym do poprzedniej postaci (66 – 68). Sytuację taką dla często stosowanych procesów otrzymywania L-aminokwasów z α -ketokwasów, (np. L-leucyny z α -ketoizo-kaproatu (69)) uwiadczenia schemat 1.

SCHEMAT 1
ENZYMATYCZNE PRZEKSZTAŁCANIE α -KETOKWASÓW DO L-AMINOKWASÓW



NAD^+ — dwunukleotyd nikotynamidoadeninowy (forma utleniona);

NADH — dwunukleotyd nikotynamidoadeninowy (forma zredukowana);

$E_{(1)}$ — enzym — katalizator procesu;

$E_{(2)}$ — enzym regenerujący;

polimer — makrocząsteczka polimeru; polilizyna (66); dekstran (67); glikol polietylenowy (68).

Podobne procesy zostały doprowadzone do skali technologicznej (69,73,74) i wiele enancjomerów aminokwasów jest produkowanych przez firmę Degussa AG w RFN (75).

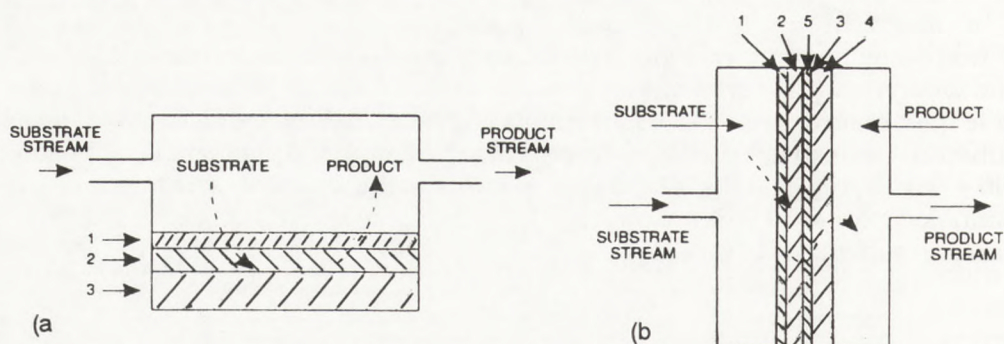
b. Enzym regenerujący i koenzym są „uwięzione” w membranie o porach mniejszych od ich wymiarów (70).

c. W reaktorze immobilizuje się jedynie enzym — katalizator procesu (i ewentualnie enzym regenerujący), a koenzym jest dodawany razem ze strumieniem substratów (71,72).

We wszystkich trzech wariantach enzymy znajdują się w roztworze (w module kapilarnym), a membrany spełniają rolę separatora utrzymującego obydwie enzymy w przestrzeni reakcyjnej.

Wspomniane już laminatowe membrany enzymatyczne (65) będą zatem w przyszłości stanowiły rozwiązanie alternatywne. Ich budowę w dwóch wersjach i jednocześnie dwa sposoby ich zastosowania w reaktorach przedstawiono na rys. 6.

Zasada budowy przedstawionych membran polega na „uwięzieniu” enzymu — katalizatora procesu, enzymu regenerującego oraz koenzymu w warstwie hydrożelu osadzonej na podłożu, przy czym zewnętrzna warstwa żelu (albo



Rys. 6. Membrany laminatowe zawierające: enzym — katalizator procesu, enzym regenerujący oraz koenzym w dwóch wersjach reaktorów: a) 1 — ultraporowata warstwa polimerowa, 2 — warstwa hydrożelu: enzym — katalizator (enzym regenerujący) koenzym, 3 — porowate podłoże; b) 1 i 5 — ultraporowate warstwy polimerowe, 2 — warstwa hydrożelu: enzym — katalizator (enzym regenerujący) koenzym, 3 — powierzchnia graniczna selektywna względem substratu, 4 — porowate podłoże.

obie jego powierzchnie) jest chroniona przed wmywaniem przez ultraporowatą, bardzo cienką (do tysięcznych części μm) warstewkę polimerową. W wersji przeznaczonej do transportu reagentów przez membranę, podłoże warstwy żelu jest fazą mikroporowatą nie przepuszczającą ani enzymów, ani koenzymu i substratu, a jedynie produkty. Wersja ta jest szczególnie korzystna, gdyż strumień odbierający zawiera tylko czysty produkt. Substrat właściwej reakcji i regenerującej koenzym jest dostarczany w cyrkulującym roztworze zasilającym.

W przypadku, gdy rozmiary koenzymu są mniejsze od rozmiarów substratu albo produktu, średnice porów w zewnętrznej warstwie polimerowej nie mogą być zbyt małe dla zachowania odpowiednio wysokich przepływów i wtedy zaleca się dostarczanie substratów w rozpuszczalniku organicznym, stanowiącym jednocześnie nieprzenikliwą zaporę dla dyfuzji koenzymu poza warstwę żelu.

Przydatność przedstawionych membran sprawdzono w reakcji konwersji alkoholu butylowego do aldehydu.

Na zakończenie wypada wspomnieć o złożonych układach membranowych, w których przeprowadza się dwa kolejne procesy, przy czym rolę selektywnego przenośnika pożądanego produktu pierwszego procesu enzymatycznego do miejsca, w którym „czeka” drugi enzym, spełnia warstwa unieruchomionej membrany ciekłej (76).

Układ taki został zastosowany do oddzielania kwasów od innych składników. Centralną część reaktora stanowi unieruchomiona membrana ciekła zawierająca w sobie odpowiedni enzym (esterazę). W roztworze zasilającym znajduje się mieszanina (w rozpuszczalniku organicznym) zawierająca m.in. pożądaną kwas (opisano proces z kwasem 2-fenoksypropionowym oraz 2-(4-chlorofenoksy)propionowym), do której dodano pierwszo- albo drugorzędowy alkohol. Na granicy membrany zachodzi więc proces estryfikacji i powstały

ester dyfunduje do drugiej powierzchni membrany, tzn. do granicy fazy organicznej z zewnętrzną fazą wodną. W tym miejscu istnieją zatem warunki, w których ten sam enzym katalizuje reakcję odwrotną, tzn. hydrolizę estru, a jego produkty są odprowadzane przez przepływającą fazę odbierającą. W efekcie cały reaktor działa jak selektywny filtr separujący pożądany kwas od innych składników.

Analogiczny proces można przeprowadzać w układzie, w którym organiczna faza membrany ciekłej znajduje się w postaci tzw. membrany emulsyjnej.

Problematyka enzymatycznych membran emulsyjnych jest zbyt obszerna by mogła zostać przedstawiona w tym opracowaniu. Można jedynie przytoczyć kilka prac opisujących zasady formowania membran emulsyjnych oraz liczne zastosowania w procesach biokatalitycznych (77 – 80). Szczególną uwagę zwraca praca przeglądowa Heno z 1988 r. (81), w której porównano m.in. proces oczyszczania aminokwasów prowadzony z zastosowaniem tej samej enzymatycznej membrany ciekłej w postaci unieruchomionej oraz emulsyjnej.

5. Procesy biokatalityczne przeprowadzane w reaktorach z membranami enzymatycznymi

Pierwsze publikacje prezentujące procesy katalityczne w reaktorach z membranami enzymatycznymi ukazały się na początku lat siedemdziesiątych (82 – 84). Dalszy szybki rozwój tego typu prac z lat siedemdziesiątych i osiemdziesiątych został podsumowany w kilku pracach przeglądowych (5,6,29 – 31). W tym miejscu wspomnimy jedynie, że dotyczył on głównie procesów, w których stosowano membrany z immobilizowaną: oksydazą glukozową, β -galaktozydazą, inwertazą, izomerazą glukozową, laktazą, ureazą, chymotrypsyną i maltazą.

Przedstawimy jedynie najnowsze i może liczniejsze prace w dziedzinie zastosowań membran enzymatycznych. Nadal najliczniejsze są prace nad procesami katalizowanymi przez enzymy nie wymagające obecności koenzymu. Pojawiają się ciągle jeszcze prace nad doskonaleniem i pełnym opisem kinetycznym procesów inwersji sacharozy (20,85,86), otrzymywania fruktozy (87), hydrolizy kazeiny (32), laktozy (51), pektyn (88,89) i mocznika (90).

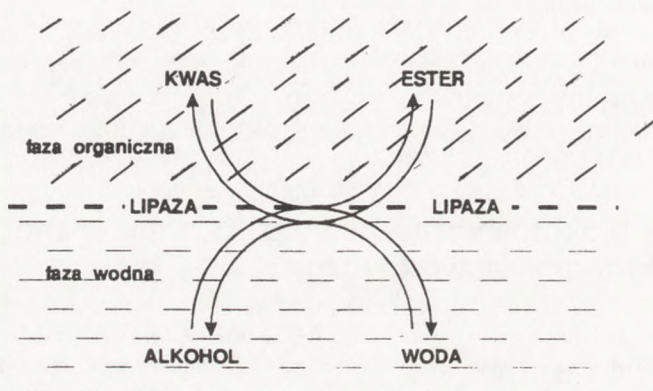
1. Szczególnie liczną grupę tworzą prace nt. hydrolizy tłuszczów (11,38,47,48,64,65,91 – 98). Można znaleźć opinie wskazujące, że hydroliza tłuszczu w reaktorze z membraną enzymatyczną nastawiona na otrzymywanie kwasów tłuszczowych, będzie niedługo procesem alternatywnym do obecnie stosowanej przemysłowej metody Colgate — Emery'ego (99). Najnowsze badania są ukierunkowane na poszukiwanie nowych, tańszych źródeł lipaz, zwłaszcza lipaz specyficznych, umożliwiających otrzymywanie specjalnie cennych kwasów z wybranych gatunków tłuszczu albo poprawienie jakości tłuszczu przez odszczepienie niepożądanych kwasów.

2. Kolejna grupa prac dotyczy procesów estryfikacji, tzn. procesów odwrotnych do hydrolizy, katalizowanych przez te same katalizatory z grupy lipaz

albo esteraz. Rozwój tych prac datuje się od połowy lat osiemdziesiątych, gdy stwierdzono, że enzymy wykazują również istotną aktywność katalityczną w środowiskach niemal bezwodnych cieczy organicznych (100 – 105). Lipazy mogą więc katalizować również procesy estryfikacji, jeśli tylko przez obniżenie stężenia wody uda się przesunąć równowagę procesu w stronę estryfikacji. Są zatem stosowane zarówno procesy proste — hydrolizy, jak i odwrotne, tzn. — estryfikacji. Sytuację tę obrazuje schemat 2.

SCHEMAT 2

PROCESY ESTRYFIKACJI I HYDROLIZY W UKŁADZIE DWUFAZOWYM Z MEMBRANĄ ENZYMATYCZNĄ



Prace w dziedzinie hydrolizy, estryfikacji oraz interestryfikacji dotyczą nie tylko trójglicerydów i glicerolu, lecz również innych alkoholi i estrów (106 – 108).

3. Poznanie struktury enzymów, zwłaszcza esteraz i lipaz (109,110) było podstawą do gwałtownego rozwoju badań nad wykorzystaniem stereospecyficzności katalizatorów enzymatycznych (34,111,112) do otrzymywania określonych enancjomerów optycznych.

Praktyczne realizacje takich procesów w reaktorach z membranami enzymatycznymi są jednak jeszcze bardzo nieliczne (64). Można tu np. wspomnieć o zastosowaniu zwykłej membrany poliamidowej z immobilizowaną lipazą do otrzymania enancjomerycznych estrów drugorzędowego butanolu (113).

4. Szczególną uwagę zwracają procesy stereospecyficzne z wykorzystaniem acylaz i aminoacylaz (35,36). Należy wymienić przede wszystkim otrzymywanie L-enancjomerów aminokwasów. Najczęściej jest przedstawiana synteza L-fenylalaniny oraz L-waliny (58,75,114) jako procesy typowe dla dużej rodziny aminokwasów. Membrana zastosowana do procesu konwersji N-acetylo-DL-waliny (36) była otrzymana przez chemiczną modyfikację ultrafiltracyjnej membrany nylonowej, w wyniku której powstały na niej grupy anionowymienne immobilizujące makrocząsteczki aminoacylaz. Charakteryzowała się ona wysoką aktywnością i stabilnością, a czas półreakcji wynosił 161 dni.

5. Godne uwagi są udane próby zastosowania membran enzymatycznych do syntezy kwasu 6-aminopenicylanowego (z amidazą penicylanową) oraz całej klasy podobnych związków (115). Zastosowano w nich enzymatyczne mem-

brany laminatowe, złożone z ultrafiltracyjnych membran polipropylenowych i polisulfonowych immobilizujących odpowiednie enzymy, a także z unieruchomionych membran ciekłych z dobrymi przenośnikami produktów procesu.

Znana jest również synteza kwasu 6-aminopenicylanowego z amidazą penicylanową zaadsorbowaną w membranach kapilarnych w typowym module stosowanym do dializy krwi (116). Cały szereg różnych membran polimerowych immobilizujących amidazę penicylanową siłami adsorpcyjnymi, został przetestowany w kolejnej pracy (117), prezentującej również kinetykę całego procesu w zastosowanym reaktorze.

6. Procesy prowadzone z zastosowaniem membran enzymatycznych, wymagają obecności koenzymu; nie można jeszcze mówić o wyraźnym rozwoju zastosowań membran enzymatycznych do tego rodzaju procesów. Od 1984 r. jest znany proces zastosowany do poprawienia wartości smakowych wina przez degradację kwasu malonowego do pirogronowego. Niezbędny enzym był immobilizowany przez żelowanie dynamiczne w membranie kapilarnej, natomiast koenzym (NADP⁺) był dodawany razem z pozostałymi substratami (30).

Układy z regeneracją koenzymu, wymagające obecności drugiego układu z enzymem regenerującym, są dotąd opanowane i stosowane na skalę przemysłową (75) jedynie w wersji, w której koenzymy są wiązane chemicznie z makrocząsteczkami polimerowymi i dzięki temu immobilizowane w przestrzeni reaktora przez nieprzepuszczalną dla nich membranę (podobnie jak enzymy stosowane w tych procesach).

Warto jednak przypomnieć opisany już patent Hofmanna i Wrasidło (65) opisujący membrany, w których jest immobilizowany zarówno enzym jak i jego koenzym oraz enzym regenerujący. Można zatem sądzić, że tego typu membrany mogą w przyszłości zastąpić wspomniane już rozwiązania ze zwykłymi reaktorami membranowymi.

Literatura

1. Zaborski O.R., (1973), *Immobilized Enzymes*, CRC Press, Cleveland, Ohio.
2. Staude E., Jorisch W., (1981), *Angew. Makromol. Chem.*, 96, 21.
3. Kulbe K. D., Howaldt M. W., Schmidt K., Roethig T. R., Chmiel H., (1990), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 613, 820.
4. Rosevear A., (1984), *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 34B, 127.
5. Gekas V. C., (1986), *Enzyme Microb. Technol.*, 8, 450.
6. Belfort G., (1988), *Biotechnol. Bioeng.*, 33, 1047.
7. Noworyta A., Stankiewicz Z., (1989), *DECHEMA - Biotechnol. Conf.*, 3, Pt. B, 727.
8. Galas E., Szewczuk A., Rapak A., (1985), *Wiad. Chem.*, 39, 11.
9. Rucka M., Żuk S., Winnicki T., (1987), 33, 93.
10. Ceynowa J., (1989), *Wiad. Chem.*, 43, 483.
11. Kloosterman IV J., van Wassenaar P. D., Bek W. J., (1988), *World Conf. Biotechnol. Fats + Oils - Ind.*, 219.
12. Malcata F. X., Reyes H. R., Garcia H. S., Hill C. G., Jr., (1990), *JAOCS*, 67, 890.
13. van der Padt A., van't Riet K., (1991), in: *Chromatographic and Membrane Processes in Biotechnology*, Eds. Costa C. A., Cabral J. S., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 443 - 448.
14. Taylor F., Craig J. C., Jr., (1991), *Enzyme Microb. Technol.*, 13, 956.

15. Dehmlow E. V., Dehmlow E. S., (1980), *Phase Transfer Catalysis*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.
16. Stanley T. J., Quinn J. A., (1987), *Chemical Engineering Sci.*, 42, 2313.
17. Regen S. L., (1979), *Anbgew. Chem.*, 91, 464.
18. Goldberg B. S., Hausser A. G., Gilman K. R., Chen R. Y., (1979), *ACS Symp. Ser.* 106, 173.
19. Firma Nippon Oil Seal, patent JP, J03007574, 14.01.91.
20. Nakajima M., Watanabe A., Nabetani H., Horikita H., Nakao S., (1988), *Agric. Biol. Chem.*, 52, 357.
21. Nakajima M., Jimbo N., Nishizawa K., Nabetani H., Watanabe A., (1988), *Process Biochem.*, April, 32.
22. Kesting R. E., (1985), *Synthetic polymeric membranes*, Sec. ed., John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.
23. Prenosil J. E., Hediger T., (1988), *Biotechnol. Bioengin.*, 31, 913.
24. Malcata F. X., Hill C. G., Jr., Amundson C. H., (1991), *Biotechnol. Bioengin.*, 38, 853.
25. Informacja producentów membran z poliamidu 6 oraz 6,6 firmy PALL oraz PO-RETICS.
26. Mosbach K., (1984), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 4341, 239.
27. Drioli E., Catapano G., (1984), *Chim. Oggi*, 11.
28. Krajewska B., Leszko M., Zaborska W., (1988), *Post. Fiz. Med.*, 23, 115.
29. Drioli E., Gaeta S., Carfagna C., De Rosa M., Gambacorta A., Nicolaus B., (1980), *J. Membrane Sci.*, 6, 345.
30. Iorio G., Catapano G., Drioli E., Rossi M., Rella R., (1985), *J. Membrane Sci.*, 22, 317.
31. Drioli E., Iorio G., Catapano G., De Rossa M., Gambacorta A., (1986), *J. Membrane Sci.*, 27, 253.
32. Bream A. J., Yoshisato R. A., Carmichael G. R., (1987), *Ann. Biochem. Eng. Symp.*, 17 Meet., 11.
33. Lopez J. L., patent WO 90/06996, 28.06.90.
34. Ricks E. E., McLean T. L., Estrada Valdes M. C., Sweeney J. G., (1991), *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.*, 201 Meet., Pt. 1, BIOT59.
35. Obon J. M., Manjon A., Canovas M., Iborra J. L., (1990), *Biotechnol. Tech.*, 4, 357.
36. Iborra J. L., Obon J. M., Manjon A., Canovas M., (1992), *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 15, 22.
37. Luther H., Hirsch S., Schuster E., Weber E., (1992), *Acta Biotechnol.*, 12, 133.
38. Malcata F. X., Hill C. G., Jr., Amundson C. H., (1992), *Biotechnol. Bioeng.*, 39, 1097.
39. Klibanov A. M., (1979), *Anal. Biochem.*, 93, 1.
40. Torchilin V. P., Maksimenko A. C., Smirnov V. N., (1978), *Biochim. Biophys. Acta*, 552, 277.
41. Mansfeld J., Schellenberger A., (1986), *Acta Biotechnol.*, 6, 89.
42. Osugi T., (1976), in: *Man — Made Fibers, Science and Technology*, Eds. Marks H.F., Atlas S. M., Cernia E., Interscience Publishers, New York, 3, 246 — 295.
43. Gregor H., Rauf P., (1976), *Biotechnol. Bioeng.*, 17, 445.
44. (1979), *Practical guide for use in affinity chromatography*, Urogel, Reactifs IBF — Pharmaindustrie.
45. Kennedy J., Cabral J., (1983), in: *Solid — Phase Biochemistry*, Ed. Scouten W.H., John Wiley & Sons, New York, 253 — 391.
46. Manecke G., Vogt H. G., (1980), *J. Membrane Sci.*, 6, 61.
47. Ceynowa J., Adamczak P., (1992), *J. Appl. Polym. Sci.*, 46, 749.
48. Ceynowa J., Sionkowska I., (1992), *Technol. Today*, 1, 24.
49. Goldberg B. S., Hauser A. G., Gilman K. R., Chen R. Y., (1979), *ACS Symp. Ser.*, 106, 173.

50. Lopez-Leiva M., Gekas V., (1986), *Process Biochem.*, 21, 27.
51. Bakken A. P., Hill C. G., Jr., Amundson C. H., (1992), *Biotechnol. Bioeng.*, 39, 408.
52. Ceynowa J., (1991), zgł. patent. P 290 – 226.
53. Firma Nitto — Electric, (1987), patent JP; J 62118888.
54. Bellobono I. R., Selli E., Polossi A., Muffato R., (1990), *Biotechnol. Bioeng.*, 35, 646.
55. Imai K., Shiomi T., Sato K., Fujushima A., (1983), *Biotechnol. Bioeng.*, 25, 613.
56. Imai K., Shiomi T., Uchida K., Miya M., (1986), *Biotechnol. Bioeng.*, 28, 198.
57. Hsu Tien – Tsai, Wang Mann – Tchao, (1988), patent EP 0 351 950 A2.
58. Chen S., (1987), patent EP 0 273 679 A2.
59. Gianfreda L., Scarfi M. R., (1991), *Mol. Cell. Biochem.*, 100, 97.
60. Narebska A., (1991), *Polimery Tw. Wielkocząst.*, 158.
61. Iorio G., Catapano G., Drioli E., Rossi M., Rella R., (1984), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 434, 123.
62. Matson S. L., Quinn J. A., (1986), in: *Biochemical Engineering IV*, NY Academy of Science, New York, 49, 152.
63. Lopez J. L., Matson S. L., Stanley T. S., Quinn J. A., (1988), in: *Extractive Bioconversions*, Eds. Mattiasson B., Holst O., Marcel Dekker, New York, 2.
64. Wu D., Cramer S. M., Belfort G., (1991), *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.*, 202 Meet., Pt. 1, BIOT 42.
65. Hofmann F. K., Wrasidlo W. J., (1991), patent US 5,057,421.
66. Yamazaki Y., Maeda H., Suzuki S., (1976), *Biotechnol. Bioeng.*, 18, 1761.
67. Morikawa Y., Karube I., Suzuki S., (1978), *Biochim. Biophys. Acta*, 523, 263.
68. Wichmann R., Wandrey C., Buckmann A. F., Kula M. R., (1981), *Biotechnol. Bioeng.*, 23, 2789.
69. Wandrey C., (1986), in: *Technische Membranen in der Biotechnologie*, Eds. Kula M.R., Schuegerl K., Wandrey Ch., GBF Monographien, B. 9, Braunschweig, 159.
70. Chambers R. P., Ford J. R., Allender J. W., Barocos W. H., Cohen W., (1981), in: *Enzyme Engineering*, Eds. Pye E. K., Wingard L. B., Plenum, New York, 2, 195.
71. Fink D. J., Rodwell V. W., (1975), *Biotechnol. Bioeng.*, 16, 1029.
72. Miyawaki O., Nakamura K., Yano T., (1982), *J. Chem. Eng. Jpn.*, 15, 224.
73. Leuchtenberger W., Ploecker U., (1986), in: *Technische Membranen in der Biotechnologie*, Eds. Kula M. R., Schuegerl K., Wandrey, GBF Monographien, B. 9, Braunschweig, 179.
74. Kulbe K. D., Schwab U., Howaldt M., Kimmerle K., (1986), *ibid.*, 189.
75. Leuchtenberger W., Ploecker U., (1988), *Chem. Ing. Tech.*, 60, 16.
76. Subramanian A., Rethwisch D. G., Dordick J. S., (1989), *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.*, 198 Meet., MBTD 105.
77. Scheper T., Likidis Z., Makryaleas K., Nowotny Ch., Schuegerl K., (1987), *Enzyme Microb. Technol.*, 9, 625.
78. Luethi P., Luisi P. L., Prenosil J. E., (1987), *Eur. Congr. Biotechnol.*, 1, 347.
79. Blanch H. W., Eggers D. L., Ramelmeier R. A., Creagh L., Clark D. S., Prausnitz J. M., (1988), 8th Int. Biotechnol. Symp.; Pt. 1, 577.
80. Meyer E. R., Schuegerl K., (1988), *Dechema Biotechnology Conferences 1*, VCH Verlagsgesellschaft, 193.
81. Heno T., (1988), *Chem. Eng. (Tokyo)*, 33, 870.
82. Rony P. R., (1972), *J. Am. Chem. Soc.*, 94, 8274.
83. Korus R. A., Olson A. C., (1977), *Biotechnol. Bioeng.*, 19, 1.
84. Lewis R. A., Middleman S., (1974), *AIChE. J.*, 20, 1012.
85. Oertzen G. A., Bauer W., (1991), *Biochem. Eng. Stuttgart*, 110.
86. Kotzelski J., Staude E., Ulbricht M., (1991), *J. Membrane Sci.*, 64, 173.
87. Firma Norrinsho, (1989), patent JP, J01005484.
88. Lozano P., Manjon A., Romojaró R., Canovas M., Iborra J. L., (1987), *Biotechnol. Lett.*, 9, 875.
89. Manjon A., Iborra J. L., Lozano P., Canovas M., (1990), *Biotec – 90*, 365.

90. Krajewska B., (1991), *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 52, 157.
91. Pronk W., Boswinkel G., van't Riet K., (1992), *Biocatalysis*, 5, 305.
92. Pronk W., Boswinkel G., van't Riet K., (1992), *Enzyme Microb. Technol.*, 14, 214.
93. ANON, (1989), *Seifen — Oele — Fette — Wachse*, 115, 457.
94. Taylor F., O'Brien D. J., (1990), *Dev. Ind. Microbiol.*, 31, 59.
95. Rucka M., Turkiewicz B., Tomaszewska M., Chlubek N., (1989), *Biotechnol. Lett.*, 31, 628.
96. Rucka M., Turkiewicz B., (1990), *Enzyme Microb. Technol.*, 12, 52.
97. Molinari R., Drioli E., Barbieri G., (1988), *J. Membrane Sci.*, 36, 525.
98. Pronk W., Kerkof P. J. A. M., van Helden C., van't Riet K., (1988), *Biotechnol. Bioeng.*, 32, 512.
99. Brady C., Metcalfe L., Slabosewski D., Frank D., (1988), *JAOCS*, 65, 917.
100. Cambou B., Klibanov A. M., (1984), *J. Am. Chem. Soc.*, 106, 2687.
101. Deetz J. S., Rozell J. D., (1988), *Trends Biotechnol.*, 6, 15.
102. Klibanov A. M., (1989), *Trends Biotechnol.*, 14, 141.
103. Yamane T., (1988), *Biocatalysis*, 2, 1.
104. Abramowicz D. A., Keese C. R., (1989), *Biotechnol. Bioeng.*, 33, 149.
105. Carta G., Gainer J. L., Benton A. H., (1991), *Biotechnol. Bioeng.*, 37, 1004.
106. Knez Z., Leitgeb M., Završnik D., Lavric B., (1990), *Fat Sci. Technol.*, 92, 169.
107. Hoq M. M., Yamane T., Shinizu S., Funada T., Ishida S., (1984), 61, 776.
108. Habulin M., Knez Z., (1991), *J. Membrane Sci.*, 61, 315.
109. Toone E. J., Werth M. J., Jones J. B., (1990), *J. Am. Chem. Soc.*, 112, 4946.
110. Burgess K., Jennings L. D., (1991), *J. Am. Chem. Soc.*, 113, 6129.
111. Wu D., Belfort G., Cramer S. M., (1990), *Ind. Eng. Chem. Res.*, 29, 1612.
112. Wu D., Belfort G., Cramer S. M., (1990), *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.*, 199 Meet., Pt 1, I & EC 124.
113. Ceynowa J., Sionkowska I., (1993), *Acta Biotechnol.*, 13, 177.
114. Schmidt E., Fiolitakis E., Wandrey C., (1987), *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 501, 434.
115. Tsikas D., Freimann — Kersebaum A., Busse M., Brunner G., (1991), *Biochem. Eng. Stuttgart*, 114.
116. Luther H., Hirsch S., Schuster E., Weber E., (1992), *Acta Biotechnol.*, 12, 133.
117. Bryjak J., Noworyta A., (1991), *Biochem. Eng. Stuttgart*, 122.

Catalysis in enzyme membrane reactors

Summary

The paper presents applications of the enzyme membranes in biocatalytic processes. Ultrafiltration membranes and the most often used methods of the enzyme immobilization are reviewed. Attention is paid to recent contributions to enzyme membrane reactors and the new kind of enzyme membrane systems.

The two-liquid phase membrane reactors with laminated enzyme membranes used for enantioselective processes, and especially those with membranes immobilizing enzyme — coenzyme systems are shown as the most interesting.

Key words:

biocatalysis, immobilized enzymes, enzyme membranes, membrane bioreactors.

Adres dla korespondencji:

Józef Ceynowa, Wydział Chemii, Uniwersytet im. M. Kopernika, ul. Gagarina 7, 87 – 100 Toruń.