



Pannon Egyetem
Vegyésmérnöki- és Anyagtudományok Doktori Iskola

**Itakonsav előállítás. Elektrodialízis alkalmazása itakonsav
kinyerésére**

DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

Készítette:

dr. Komáromy Péter
Okleveles vegyésmérnök

Témavezetők:

Bélafiné Dr. Bakó Katalin
Egyetemi tanár
és
Dr. Nemestóthy Nándor
Egyetemi docens

DOI:10.18136/PE.2022.828

Pannon Egyetem, Mérnöki Kar
Bio-, Környezet- és Vegyésmérnöki Kutató-Fejlesztő Központ
Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutatócsoport

Veszprém
2022

Itakonsav előállítás. Elektrodialízis alkalmazása itakonsav kinyerésére

Az értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében készült a Pannon Egyetem
Vegyésszmérnöki- és Anyagtudományok Doktori Iskolája keretében

Bio-, Környezet- és Vegyésszmérnöki Tudományok tudományágban

Írta:
dr. Komáromy Péter

Témavezetők:
Bélafiné Dr. Bakó Katalin és Dr. Nemestóthy Nándor

Elfogadásra javaslom (igen / nem):

.....
Bélafiné Dr. Bakó Katalin

Elfogadásra javaslom (igen / nem):

.....
Dr. Nemestóthy Nándor

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom:

Bíráló neve: igen/nem
(aláírás)

Bíráló neve: igen /nem
(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el.

Veszprém,
(a Bíráló Bizottság elnöke)

A doktori (PhD) oklevél minősítése:

Veszprém,
(az EDHT elnöke)

Eredetiségi nyilatkozat

Alulírott dr. Komáromy Péter doktorjelölt büntetőjogi felelősségem tudatában nyilatkozom és aláírással igazolom, hogy a jelen nyilatkozat keletkezését megelőző két éven belül sikertelenül lezárt doktori eljárásom nem volt.

A doktori dolgozatom – melynek címe: *Itakonsav előállítás. Elektrodialízis alkalmazása itakonsav kinyerésére* – saját önálló munkám; az abban hivatkozott szakirodalom felhasználása a forráskezelés szabályai szerint történt. Tudomásul veszem, hogy plágiumnak számít szó szerinti idézet közlése idézőjel és hivatkozás megjelölése nélkül, tartalmi idézet közlése hivatkozás megjelölése nélkül, más kiadott gondolatainak saját szellemi terméként való feltüntetése.

Alulírott kijelentem, hogy a plágium fogalmát megismertem, és tudomásul veszem, hogy plágium esetén doktori dolgozatom visszautasításra kerül. Kijelentem továbbá, hogy doktori dolgozatom nyomtatott és elektronikus példányai szövegükben, tartalmukban megegyeznek.

Veszprém, 2022. november 10.

.....
dr. Komáromy Péter

Tartalomjegyzék

Kivonat.....	6
Abstract	7
Auszug.....	8
Bevezetés.....	9
1. Irodalmi áttekintés	10
1.1 Itakonsav	10
1.1.1 Itakonsav képződés bioszintézise.....	11
1.1.2 Itakonsav fermentáció	13
1.1.3 Itakonsav tartalmú fermentlé feldolgozása. Downstream.....	16
<i>1.1.3.1 Kristályosítás</i>	<i>16</i>
<i>1.1.3.2 Adszorpció.....</i>	<i>17</i>
<i>1.1.3.3 Extraktív termékkinyerés.....</i>	<i>18</i>
<i>1.1.3.4 Kicsapás, csapadék-képzés</i>	<i>18</i>
1.2 Membrán műveletek	19
1.2.1 Membrántechnikai eljárások.....	19
1.2.2 Membrántechnikai műveletek jellemzése.....	22
1.2.3 Membrán műveletek során fellépő anyagátadási problémák.....	23
1.2.4 Membrán szerkezete, membrán modul	25
1.2.5 Elektrodialízis	26
<i>1.2.5.1 Ioncserélő membránok.....</i>	<i>26</i>
<i>1.2.5.2 Monopoláris elektrodialízis</i>	<i>29</i>
<i>1.2.5.3 Bipoláris elektrodialízis</i>	<i>33</i>
1.3 Integrált membrán-bioreaktor	35
2. Anyagok, módszerek	39
2.1 Felhasznált vegyszerek.....	39
2.2 Analitikai mérések.....	40

2.2.1	HPLC-s elemzés.....	40
2.2.2	Redukáló cukortartalom meghatározása DNS módszerrel	40
2.3	Kísérlet tervezés, ANOVA statisztikai módszer	41
2.4	Az EDBM elektrodialízis berendezés fő elemei	42
2.5	Online mérések	43
3.	Eredmények	45
3.1	Bipoláris elektrodialízis berendezés működése.....	45
3.2	Az elektrodialízis kísérletek paraméterei.....	48
3.3	Kísérletek során mért értékek és az adatok feldolgozása	49
3.4	Modell oldatokkal végzett kísérletek eredményei.....	52
3.4.1	Kísérlet tervezés, variancia-analízis eredményei	52
3.4.2	Optimalizálás eredményei.....	57
3.4.3	Glükóz és tápsó tartalmú itakonsav modell oldattal végzett elektrodialízis kísérletek eredményei.....	60
3.5	Valós fermentlével végzett elektrodialízis kísérletek eredményei.....	63
3.5.1	Elektrodialízis valós fermentlével, pH állítás nélkül	63
3.5.2	Elektrodialízis valós fermentlével, kezdeti pH állítás mellett.....	65
3.5.3	Valós fermentlé elektrodialízise, csökkentett számú membrán triplettel ...	68
3.6	Az elektrodialízissel történő itakonsav kinyerés összehasonlítása más, hagyományos technológiákkal.....	70
3.7	Savas koncentrátum itakonsav tartalmának növelése diluátum cserével	72
3.8	Itakonsav kinyerése a Savas koncentrátumból kristályosítással.....	75
4.	Összefoglalás	78
	Tézisek	81
	Theses.....	83
	Irodalomjegyzék	85
	Publikációs jegyzék.....	93
	Köszönetnyilvánítás	95

Kivonat

A doktori munkám során olyan elektrodialízis rendszert vizsgáltam, mely a szelektív anion- és kation-cserélő membránon kívül bipolaris membránt is tartalmazott. Ezen eljárással az itakonsavat vegyszer hozzáadása nélkül tudtam elválasztani a modell oldatból, illetve a fermentléből. A bipolaris membrános elektrodializátor kialakításából adódóan az itakonsavon kívül szelektíven elválasztottam a lúg oldatot, mely a fermentációhoz felhasználható pH szabályzásra, illetve a harmadik cellatérben visszamaradt itakonsav-szegény cukor oldatot, mely a fermentációba visszakeverhető tápoldatként.

A kutatómunka középpontjában az itakonsav elektrodialízisének vizsgálata állt. A célom az volt, hogy a bemeneti paraméterek változtatásával meghatározzam az elektrodialízis optimális körülményeit. A munkám során kísérlet tervezést használtam és statisztikai elemzéssel meghatároztam azokat a paramétereket, melyek szignifikánsan hatnak az itakonsav áramhatásfokra. A végső cél, az elektrodialízis és az itakonsav fermentáció integrálása. Az integrált fermentor/membrán rendszer előnye, hogy javul a fermentáció, mivel időről időre kivonjuk a fermentléből a termékátlást jelentő itakonsavat.

A kutatómunkát úgy építettem fel, hogy kezdetben egyszerű modell oldatot használtam, majd fokozatosan jutottam el a valós fermentlé elektrodialíziséhez. A különböző összetételű oldatoknál kapott áramhatásfok értékeket összevetve meghatároztam az egyes komponensek hatását és az optimális paramétereket. Az elektrodialízisek vizsgálatakor figyelembe vettem, hogy a bemeneti és kimeneti paraméterek mindkét folyamat számára megfelelőek legyenek.

A kutató munka utolsó lépéseként a Savas koncentrátumból kikristályosítottam az itakonsavat, teljessé téve ezzel az itakonsav előállítás folyamatát.

Abstract

In the PhD work an electro dialysis system was studied which contained cation selective, anion selective and bipolar membranes. It was possible to separate itaconic acid from model solutions and fermentation broths without any additives, chemicals by this membrane process. During the bipolar membrane separation – beyond itaconic acid – an alkali solution was obtained, which can be applied in the fermentation for pH control. Moreover, in the third cell a sugar solution having low itaconic acid concentration was left behind, which can be mixed back into the fermentation as a nutrient solution.

In the research work electro dialytic separation of itaconic acid was in the focus. The aim was to determine the optimal conditions of the electro dialysis by varying the input parameters. Experimental design method was used in the work and the parameters affecting significantly the current efficiency of itaconic acid were analysed statistically. The final purpose was the integration of electro dialysis and itaconic acid fermentation. The main benefit of the integration is that the fermentation productivity can be enhanced, since itaconic acid – causing product inhibition – is separated regularly from the fermentation broth.

In the experiments firstly simple model solution (containing only itaconic acid) was used, then more complex solutions were applied, finally real fermentation broths were the feed in the electro dialysis process. The current efficiencies obtained in solutions with various compositions were compared and the effects of the compounds and factors were analysed and examined. In the end the optimal parameters were determined. Investigating the electro dialysis measurements the input and output parameters were adjusted in a way that they should be appropriate for both processes.

In the last step of the work itaconic acid was crystallized from the acidic concentrate stream, thus manufacture of itaconic acid became complete.

Auszug

In der Doktorarbeit wurde ein Elektrodialysesystem untersucht, das kationenselektive, anionenselektive und bipolare Membranen enthält. Mit diesem Membranverfahren war es möglich, Itaconsäure aus Modelllösungen und Fermentationsbrühen ohne Zusätze und Chemikalien abzutrennen. Bei der bipolaren Membrantrennung wurde - neben Itaconsäure - eine Alkalilösung gewonnen, die in der Fermentation zur pH-Kontrolle eingesetzt werden kann. Außerdem blieb in der dritten Zelle eine Zuckerlösung mit geringer Itaconsäurekonzentration zurück, die als Nährlösung in die Fermentation zurückgemischt werden kann.

In der Forschungsarbeit stand die elektrodialytische Abtrennung von Itaconsäure im Mittelpunkt. Ziel war es, durch Variation der Eingangsparameter die optimalen Bedingungen für die Elektrodialyse zu ermitteln. In der Arbeit wurde experimentelles Design angewandt und die Parameter, die sich signifikant auf die Stromeffizienz der Itaconsäure auswirken, wurden statistisch analysiert. Das endgültige Ziel war die Integration von Elektrodialyse und Itaconsäure-Fermentation. Der Vorteil des integrierten Fermenter-/Membransystems liegt darin, dass die Produktivität der Fermentation gesteigert werden kann, da die produkthemmende Itaconsäure regelmäßig aus der Fermentationsbrühe abgetrennt wird.

In den Experimenten wurde zunächst eine einfache Modelllösung (die nur Itaconsäure enthält) verwendet, dann wurden komplexere Lösungen eingesetzt, und schließlich wurden echte Fermentationsbrühen in den Elektrodialyseprozess eingespeist. Die in Lösungen mit verschiedenen Zusammensetzungen erzielten Stromausbeuten wurden verglichen und die Auswirkungen der Verbindungen und Faktoren analysiert und untersucht. Am Ende wurden die optimalen Parameter bestimmt. Bei der Untersuchung der Elektrodialysmessungen wurden die Eingangs- und Ausgangsparameter so eingestellt, dass sie für beide Verfahren geeignet sind.

Im letzten Schritt der Arbeit wurde die Itaconsäure aus dem sauren Konzentratstrom kristallisiert, womit die Herstellung von Itaconsäure abgeschlossen wurde.

Bevezetés

Az itakonsav egy kettős kötést is tartalmazó di-karbonsav. Szerkezetéből szembetűnik, hogy a műanyag iparban kiválóan alkalmazható alapvegyületként, számos molekula szintézisének kiindulójaként. További előnye, hogy felhasználásával kiválthatók olyan vegyületek, melyeket jelenleg ásványolaj alapon, petrokémiai úton állítanak elő.

Az itakonsavat kezdetben szintetikus úton állították elő, ám az utóbbi időben a fermentáció került előtérbe [1]. A fejlődés elsősorban az egyre nagyobb produktivitású törzsek alkalmazásában, illetve a fermentlé feldolgozásában jelentkezik. Jellemzően a fermentlé a kívánt terméken kívül számos egyéb anyagot is tartalmaz, például kiindulási komponensek maradékát, különböző melléktermékeket, kisebb koncentrációban különböző szennyezőket. A termék kinyeréséhez az itakonsavat ezektől a kísérő anyagoktól kell elválasztani hatékonyan és lehetőleg gazdaságosan, nagy tisztaságban.

Jelenleg a biotechnológiai iparban az itakonsav kinyerésére és tisztítására több lépcsős aktív szén szűrést és kristályosítást alkalmaznak. Ezek viszonylag egyszerű és jól kézben tartható folyamatok, ám hátrányuk, hogy meglehetősen sok hulladék-képződéssel járnak.

A membrántechnika egy modern, mai elvárásoknak megfelelő eljárás család. Segítségével az elválasztás hatékony és minimális hulladékkal jár. Megfelelően összeállított rendszer esetén az elválasztás után a terméken kívül a kinyert melléktermékek, kísérő anyagok is felhasználhatók, újra hasznosíthatók.

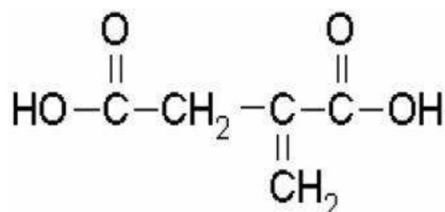
Az elektrodialízis olyan membrán-eljárás, ahol az ionos komponensek elválaszthatók az ellentétes töltésű ionoktól, illetve a semleges molekuláktól. Az itakonsav pH-tól függően diszociálódni képes szerves sav. A doktori munkám során az itakonsav elektrodialízisét vizsgáltam. A különböző paraméterek változtatásával meghatároztam az itakonsav elektrodialízises elválasztásának optimumát. A kutató munka során az elektrodialízis értékelésekor szem előtt tartottam az itakonsav fermentáció optimális paramétereit is. Ennek megfelelően az egyre összetettebb modell oldatokon keresztül fokozatosan jutottam el végül a valós fermentlével történt elektrodialízis kísérletekhez.

1. Irodalmi áttekintés

1.1 Itakonsav

Az itakonsav (2-metilén-butándisav, metilén-borostyánkősav, CAS No. 97-65-4) kettős kötést is tartalmazó di-karbonsav. Az itakonsav képes a molekulavégi karboxil-csoportokon keresztül vízkilépéssel észter kötésen át polimerizálódni (poli-itakonsav), vagy más vegyületekhez kapcsolódva, az itakonsav, mint kopolimer vehet részt a polimerizációban. A különböző polimerizációs reakciókon kívül, mint platform vegyület, számos nagyobb szénatomszámú molekula szintézisében lehet szerepe. Ennek megfelelően az itakonsav alkalmazási lehetősége nagyon széles. A hagyományos polimeriparban, mint speciális műanyagok, rugalmas ragasztók, bevonatok [2] készítésénél használható. De ezen kívül az utóbbi időben egyre többet használják bio-alapú zöld oldószerként [3]. Hidrogél kompozitként gyógyászati alkalmazása is ismert, például a szemészet, fogászat és egyes retard hatású gyógyszerkészítményekben [2], [3], [4]. Ezek alapján nem véletlen, hogy 2004-ben az US-Department of Energy beválasztotta a 12 legígéretesebb, biológiai úton előállítható alap vegyületek közé [5]. Enyhén mérgező jellege miatt élelmiszeripari alkalmazása nincs.

Az itakonsav szerkezeti sémája az **1.1. ábrán** látható.



1.1. ábra Itakonsav szerkezeti rajza

Az itakonsav fehér, kristályos anyag, jól oldódik vízben (20 °C-n 80,1 g/l), illetve ugyancsak jól oldódik például metanolban és etanolban is. A vízdoldhatósága a hőmérséklettől jelentős mértékben függ [6]. Összegképlete C₅H₆O₄, molekula súlya 130,1g/mol, olvadáspontja 162-164 °C [7].

Az itakonsav kétértékű szerves sav, a pH függvényében két lépésben disszociál. Alacsonyabb pH-n teljesen disszociálatlan formában, míg pH = 8 feletti értéken a kétszer disszociált itakonát ion van jelen [8].

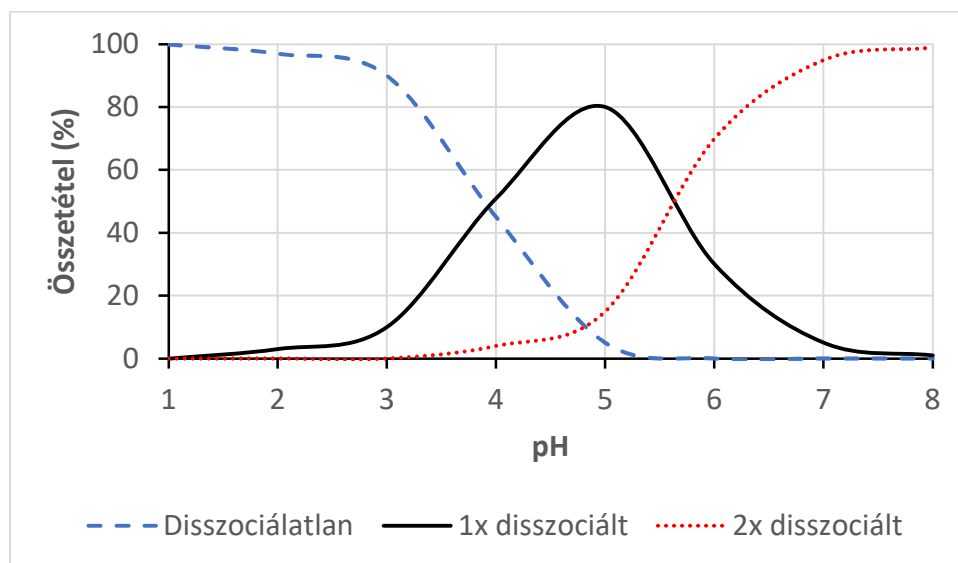
Az itakonsav egyszeres és kétszeres disszociációját a K_{A1} és K_{A2} együtthatókkal lehet jellemezni az alábbiak szerint:



$$K_{A1} = \frac{[\text{HIta}^-][\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{Ita}]}, \text{ illetve } K_{A2} = \frac{[\text{Ita}^{2-}][\text{H}^+]}{[\text{HIta}^-]},$$

ahol a [] zárójelben lévő értékek a megfelelő ion/molekula egyensúlyi koncentrációját jelenti. A disszociációs együtthatókat kis érték esetén szokás a negatív logaritmusukkal kifejezni. Az itakonsav esetében, 25 °C-n a $\text{p}K_{A1} = 3,84$, míg a $\text{p}K_{A2} = 5,55$ [9].

Az itakonsav pH-függő disszociációját az **1.2. ábra** szemlélteti. Látható, hogy $\text{pH} = 2$ alatt az itakonsav a disszociálatlan formában (H_2Ita) van az oldatban, míg $\text{pH} = 8$ felett gyakorlatilag a teljesen disszociált, kétértékű anion (Ita^{2-}) van jelen. A két pH érték között pedig folyamatos átmenet van. A disszociált állapot ismeretére az elektrodialízis optimalizálásánál van szükség.



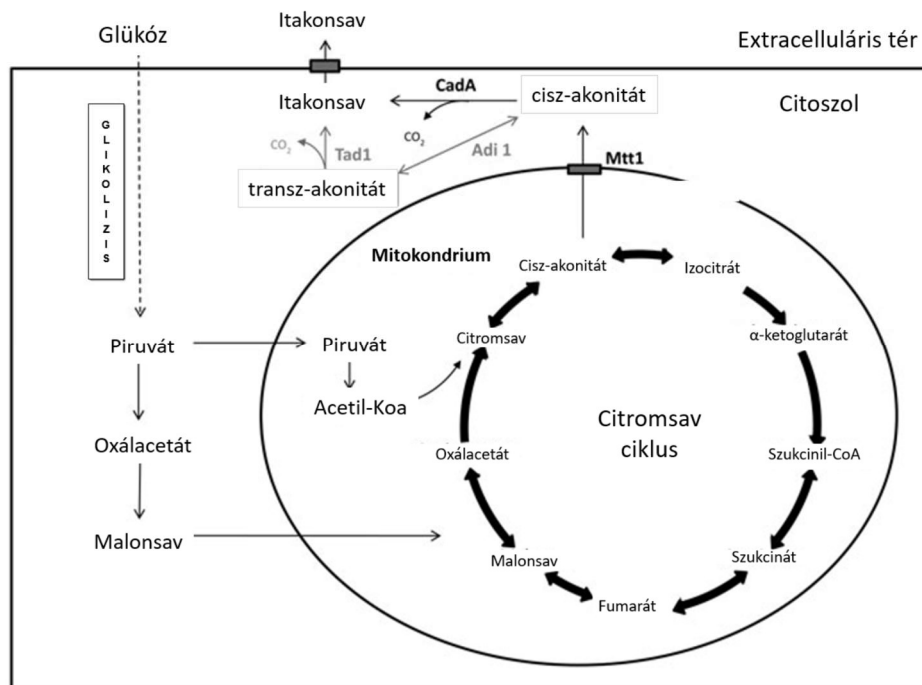
1.2. ábra Itakonsav disszociációja a pH függvényében [8]

1.1.1 Itakonsav képződés bioszintézise

Az itakonsav a szerves savak nagy családjába tartozik. Elsőként Baup írta le 1836-ban, aki a citromsav termolízisével fedezte fel [10]. Az itakonsav szintetikus előállításának egyik lehetséges módja a mezitil-oxid oxidációján keresztül történt. Hosszú évtizedekig a szintetikus

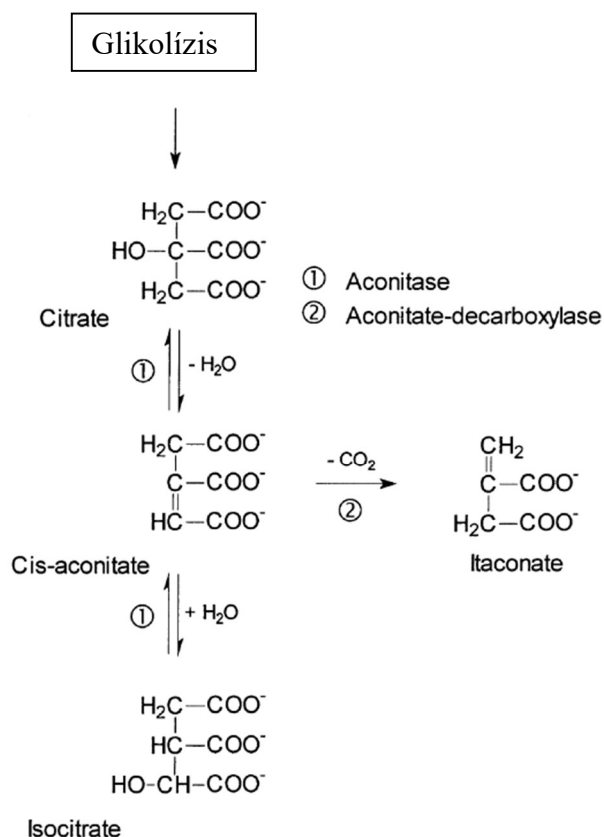
előállításban gondolkodtak, mígnem Kinoshita 1932-ben felfedezte, hogy a fonalas gombák képesek az itakonsav szintézisre [11]. A szintézisek és a termolízis magas költségei jóval a fermentáció költségei felett voltak, ezért egy idő után ezek a kezdeti módszerek nem voltak versenyképesek. Az első ipari méretű fermentációs technológiát Charles Pfizer Co. szabadalmaztatta 1945-ben [12].

Kinoshita felfedezése után a bioszintézis lépései sokáig tisztázatlanok voltak. A napjainkban elfogadott útvonalat Bentley és Thiessen [13] javasolta 1957-ben, mely szerint valamilyen egyszerű cukor szubsztrátból kiindulva a glikolízisben piruvát keletkezik. Itt az útvonal kettéválk és a szén egy része acetyl-KoA-vá metabolizálódik és szén-dioxid szabadul fel. A másik része pedig oxálacetáttá alakul át és az előzőleg felszabadult szén-dioxiddal egyesül. Az itakonsav szintézisének nagy része nagyon hasonló a citromsavéhoz. Első lépésben a szubsztrát molekula belép a glikolízisbe, melynek eredményeként a citoszolban oxálcetsav, majd malát keletkezik. A citromsav ciklus első lépésében a citrát és a cisz-akonitát alakul ki, az utolsó lépésben pedig az egyetlen itakonsav út: a cisz-akonitát dekarboxiláz (CadA) képezi az itakonsavat [1]. A gombasejtből végül egy itakonsav-transzporter exportálja az itakonátot a fermentlébe.



1.3. ábra Itakonsav bioszintézise [14]

Az előző, 1.3. ábrán látható, hogy az itakonsav képződése szorosan kapcsolódik a citromsavhoz. Az 1.4. ábra a citromsav → itakonát átalakulást mutatja szerkezeti képletek segítségével.



1.4. ábra Citromsav-itakonsav átalakulás [15]

1.1.2 Itakonsav fermentáció

Az itakonsav a szerkezetéből adódóan potenciálisan egy platform vegyület. Ezért intenzív kutatás folyik annak érdekében, hogy a polimer iparban kiváltsák a jelenleg túlsúlyban lévő petrokémiai alapanyagok, - első sorban az akrilsav származékok - felhasználását itakonsavval. Ezt a törekvést egyrészt a készletek folyamatos kimerülése, de sokkal inkább a környezetvédelem és a fenntartható fejlődés indokolja. Bizonyos számítások szerint az itakonsav előállítás akkor versenyképes a petrokémiai úttal, ha az előállítási költségeket 0,5 USD/kg alá lehet csökkenteni [14]. 2017-ben az itakonsav előállítási költsége 1,5-2,0 USD/kg. Ez az összeg nagyságrendileg, sok esetben a fermentáció alapanyagainak ára, ezért a költségek csökkentése érdekében további vizsgálat szükséges a fermentáció és az azt követő downstream hatékonyságának, gazdaságosságának növelésére.

A fermentációs oldalról első sorban szükséges egy termelékeny és stabil törzs kiválasztása, mely lehetőleg olcsó alapanyag felhasználásával termeli az itakonsavat. De ugyanilyen fontos paraméter az oxigénbevitel, a pH és a fermentlé mangán tartalma. Mivel termékátolt fermentációval van dolgunk, ezért a folyamatos/félfolyamatos termékeltétel tovább növeli a fermentáció hatékonyságát. A fermentlé összetétele nagymértékben befolyásolja a szóba jöhető downstream típusát és paramétereit, illetve ebből adódóan a költségeket.

Az itakonsav fermentatív előállítására a szakirodalomban jó néhány példát találunk. Ezek az eljárások az alkalmazott törzsek és technikák függvényében nagyon különböző termelékenységet mutatnak. Az *1.1. táblázatban* felsoroltak közül a legmagasabb itakonsav koncentrációt: 160 g/L értéken *Aspergillus terreus* törzsszel érték el.

1.1. táblázat Itakonsav termelés különböző törzsekkel [16]

Mikroorganizmus	Szubsztrát	Itakonsav (g/L)	Hozam (g/g)	Produktivitás (g/L/h)	Referencia
<i>Aspergillus terreus</i> DSM 23081	glükóz	129	0,58	1,15	Hevekerl [17]
<i>Aspergillus terreus</i> NRRL 1960	glükóz	130	-	-	Karaffa [18]
<i>Aspergillus terreus</i> DSM 23081	glükóz	160	0,46	1	Krull [19]
<i>Aspergillus terreus</i> SKR 10 N45	hidrolizált keményítő	50	0,42	0,35	Reddy [20]
<i>Aspergillus terreus</i> R104	glükóz	52,7	0,72	0,55	Shin [21]
<i>Aspergillus terreus</i> IFO-6365 TN-484	glükóz	82,3	0,54	0,57	Yahiro [22]
<i>Candida sp. Strain B-1</i>	glükóz	35	-	0,29	Tabuchi [23]
<i>Pseudosyma antarctica</i> NRRLY-7808	glükóz	30	0,38	-	Levinson [24]
<i>Pseudozyma tsukubaensis</i> H488	glükóz	74,7	0,49	0,36	Specht [25]
<i>Ustilago maydis</i> DSM 17144	glükóz	44,5	0,24	0,31	Maassen [26]
<i>Ustilago rabenhorstina</i> IFO8995	glükóz	15,7	-	-	Guevara [27]

A fenti összefoglalóból is látható, jelenleg a legjobb értékeket glükóz alapú fermentációval érték el. A költségek csökkentésének egyértelmű útja az olcsóbb alapanyagokon történő előállítás kidolgozása lenne.

Az itakonsav fermentációja *Aspergillus terreus*-szal, glükóz alapon, erőteljesen oxigénigényes folyamat [28]. Alacsony oldott oxigén szint a NADH növekedését és az ATP kiürülést eredményezi, mely károsítja a biomasszát és befolyásolja a gomba anyagcseréjét. Továbbá a NADH gátolhatja mind a citrát szintetáz, mind a foszfo-fruktokináz enzimeket. Ebből adódóan a NAD kofaktor regenerálódása rendkívül fontos [14].

A fermentlé pH-jának szerepe nem teljesen tisztázott. Hevekerl és munkatársai [19] azt tapasztalták, hogy az itakonsav produktivitás hasonló volt pH = 3,1-nél, mint magasabb értéknél, továbbá, hogy a fermentáció során a pH értékét pH = 5-re emelve jelentősen nőtt a végső itakonsav koncentráció. Ők azt feltételezték, hogy az itakonsav koncentrációjának emelkedését pH emelése okozta azáltal, hogy elősegítette az itakonsav disszociációját és növelte az oldhatóságát. Egy korábbi tanulmányunkban [V] a kísérleteink alapján arról számoltunk be, hogy a kezdeti pH-nak és a megfelelő pH szabályzásnak nagyon fontos szerepe van a fermentáció hatékonyságában. Tapasztalataink szerint a kezdeti pH = 3 értéken való beállítása, majd 2 nap múlva pH = 2,5 -re csökkentése volt a legígéretesebb alternatíva.

Karaffa és munkatársai [18] azt vizsgálták, hogy bár a citromsav és az itakonsav bioszintézise nagyon hasonló, általában itakonsavra jóval kisebb hozamot érnek el. Vizsgálataik alapján a fermentlé mangán tartalma tűnt kritikusnak. Azt tapasztalták, hogy ha fermentlé mangán tartalma 5 µg/L alatti és a kezdeti glükóz koncentráció 100 g/L, vagy magasabb, akkor *Aspergillus terreus* törzzsel hasonló itakonsav hozamot értek el, mint citromsavra. Ez a mangán tartalom annyira alacsony, hogy magasabb glükóz tartalmú tápoldat esetén, akár mint szennyező is bekerülhet a rendszerbe. Ezért a vizsgálatok alatt a glükóz tartalmú tápoldatot kationcserélővel tisztították.

Mivel az itakonsav fermentáció *Aspergillus terreus* esetén termékgátolt folyamat, ebből következik, hogy a termelékenység növelésének egyik lehetséges módja a termék folyamatos elvétele. Bafana és munkatársai [14] szerint már 20-25 g/L itakonsav tartalom felett drasztikusan csökken a produktivitás. Ezért előnyösnek tűnik valamilyen elválasztás integrálása a fermentációhoz. Tekintettel arra, hogy az itakonsav pH-tól függően ionos vegyület, az elektrodialízis, mint membrános eljárás alkalmazása egy lehetséges megoldás erre a problémára.

1.1.3 Itakonsav tartalmú fermentlé feldolgozása. Downstream

A fermentációt követő folyamat a termék kinyerése, a Downstream. Ezen lépés fejlesztése és vizsgálata a termék hatékony és gazdaságos előállítása szempontjából rendkívül fontos. Általánosságban elmondható, hogy egy fermentációs úton előállított termék árában a termék kinyerése és tisztítása a költségek 30-40 %-t teszik ki [29].

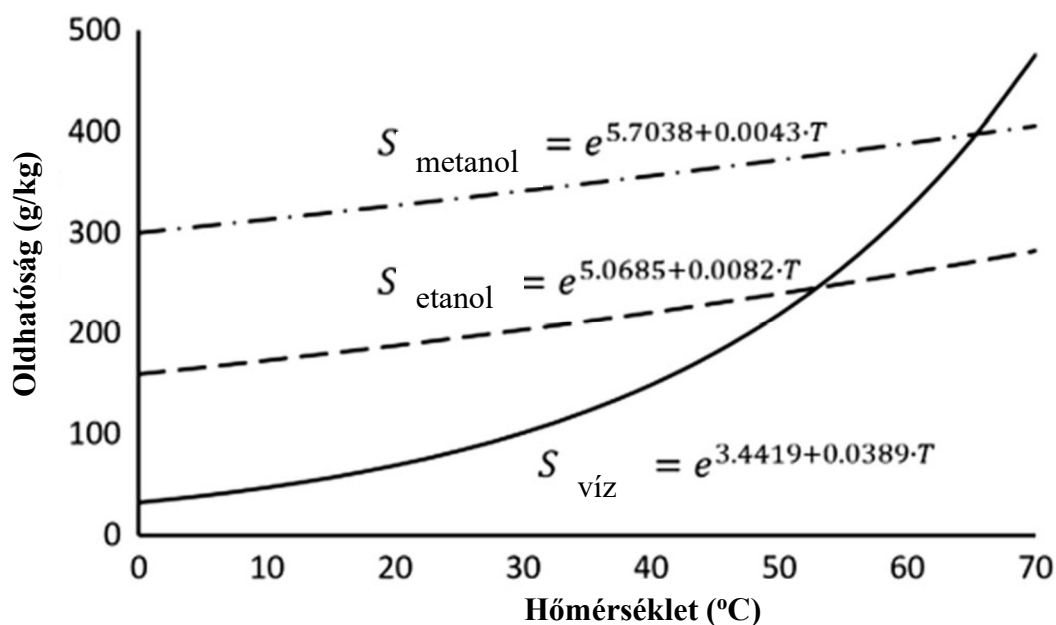
A termékkinyerés lehet a fermentációtól időben és térben elkülönítve, illetve a fermentációval egyidőben, akár a fermentorhoz integrálva. Az itakonsav elválasztására leginkább a

- kristályosítást,
- adszorpciót,
- extrakciót,
- kicsapást, csapadék képződést és
- membrán műveletet alkalmaznak.

Tekintettel arra, hogy az elválasztás típusától függően, a folyamat során a termékkel együtt haladhatnak egyes hasonló komponensek, ezért az elválasztást és a tisztítást minden esetben több módszer kombinációjaként, ismételten kell elvégezni.

1.1.3.1 Kristályosítás

A kristályosítás az itakonsav előállítás során régóta alkalmazott elválasztási lépés. Az itakonsav oldatósága vízben nagy mértékben függ a hőmérséklettől (lásd **1.5. ábra**). Ezt a tulajdonságot használják ki a termék kinyerésekor. Először alacsony pH-n, magas hőmérsékleten telítik az oldatot, majd hűtés után a kikristályosodott terméket elválasztják. Sajnos az itakonsavval együtt kristályosodnak a szerkezetileg hasonló fermentációs melléktermékek, mint pl. borostyánkősav, almasav, α -ketoglutársav, illetve a színyanyagot okozó egyéb szennyezések. Ezek szétválasztása csak többszöri, ismételt átkristályosítással és adszorpcióval lehetséges. Az első kristályosítási lépések viszonylag magas hozamban, de szennyezetten adják az itakonsavat, ezért a nagy tisztaság eléréséhez többször meg kell ismételni. Dwiarti és munkatársai [30] itakonsavat kristályosítottak glükóz, illetve keményítő alapú fermentléből. A termék tisztasága 97-99 %-os volt, azonban a tiszta termékre számolt össz hozam csak 51 % volt. Okabe és munkatársai [2] 80 %-os itakonsav kihozatalt értek el ipari méretű kristályosítással.



1.5. ábra Itakonsav oldhatósága vízben és alkoholban [31], [32]

1.1.3.2 Adszorpció

Az aktívszenes adszorpcióról általában elmondható, hogy a nagy fajlagos felületű szén szemcséken másodlagos, molekuláris kötőerővel kötődnek meg az anyagok. Ebből adódóan az aktívszenes kezelés kis szelektivitású. A szelektivitás növelése érdekében az aktív szenet előzőleg vegyszeresen kezelik. Így funkciós csoportokat kialakítva már lényegesen nő a szelektivitása. Jelenleg az itakonsav ipari előállításánál a termék kinyerésére és tisztítására több lépéses, ismételt adszorpciót és kristályosítást használnak [1]. Az adszorpció során leginkább a fermentáció nagyobb molekula súlyú komponenseit választják el a terméktől, valamint a kis koncentrációban lévő, színyanyagot jelentő szennyezőket, melyek rontják a termék minőségét.

A fermentlevek tisztításánál szóba jövő másik adszorpció eljárás az ioncserélő gyanta alkalmazása. Itt a termék és a fermentlé komponenseinek eltérő ionos karakterét használják ki. Davison és munkatársai [33] XUS 40285 típusú gyantát használtak borostyánkősav tartalmú fermentlé tisztítására. Ezen eljárás nagy előnye, hogy a gyantát egyszerűen, forró vizes mosással lehet regenerálni. Beschkov [34] oldószer extrakciót, illetve a hagyományos folyadék/szilárd ioncserés eljárást vizsgált L-tejsav és L-lizin fermentléből történő elválasztására.

1.1.3.3 Extraktív termékinyerés

Az extrakció megoszláson alapuló elválasztás, amikor a termék két, egymással nem elegyedő fázis között oszlik meg az oldhatósága függvényében. Abban az esetben, ha kicsi a megoszlási hányados, az extrakció fokozható, ha a fizikai oldódáson felül az extraháló szer reakcióba lép, vagy komplexet képez a termékkel. Ezáltal nő a hajtóerő, gyorsul a termékinyerés. Itakonsav kinyerésre több szerző [35], [36] is azt találta, ha a vízzel nem elegyedő szerves oldószerbe (pl alkánok, nagy szénatomszámú alkoholok) amint tesz, akkor a megoszlási hányados lényegesen nagyobb lesz, mint a tisztán fizikai oldódáskor.

Kaur és munkatársa [37] összehasonlították az itakonsav fizikai oldódását és a reaktív extrakció hatékonyságát. A szerves oldószer nagy-szénatomszámú alkohol, illetve paraffin volt, míg a reaktív komponens különböző amin. Mintegy 136 féle kombinációt vizsgálva, szerencsés esetben a reaktív extrakció 1-2 nagyságrenddel is nagyobb volt, mint a tisztán fizikai oldódás során. A folyamat végén a szerves fázisból egy másik vizes fázissal ki kell extrahálni az itakonsavat és a szerves fázist vissza kell vinni a folyamat elejére. Ha az extrahálószer biokompatibilis az itakonsav fermentációval, akkor a termék kinyerése után közvetlenül akár a fermentációba is visszavezethető. Így megvalósítható az *in situ* termék-elválasztásos fermentáció.

1.1.3.4 Kicsapás, csapadék-képzés

A kicsapásos módszernek az a lényege, hogy az oldathoz olyan anyagot adunk, mely az itakonsavval rosszul oldódó csapadékot képez. A szilárd csapadék ezután szűréssel elválasztható a fermentlétől. Ipari méretben két eljárást találtam: az ólom karbonátos és a kalcium-hidroxidos kicsapást.

Az ólom karbonátos eljárást Kobayashi és Nakamura [38] szabadalmaztatta 1971-ben. Eszerint az itakonátot az ólomtól alkáli-, vagy ammónium-karbonáttal választják el. Az ólom-karbonátot vissza lehet vezetni a következő itakonsav elválasztáshoz. Az elválasztott alkáli- vagy ammónium-itakonátot többszöri kationcserés lépéssel kell tisztítani. Tekintettel arra, hogy az ólom vegyület rendkívül toxikus, ezért alkalmazása meglehetősen körülményes.

A kalcium-hidroxidot elterjedten alkalmazzák ipari méretben szerves savak lecsapásához [39]. A kalcium-itakonát oldhatósága alacsonyabb, mint a szabad sav, ezért a csapadékképződés után elválasztható a fermentlétől. A kalcium sóból kénsav hozzáadásával szabadítják fel az

itakonsavat. Ezt követően aktív szénen tisztítják és több lépésben kristályosítják. A kalcium-itakonátos lecsapás mellékterméke a nagy mennyiségű kalcium-szulfát iszap.

1.2 Membrán műveletek

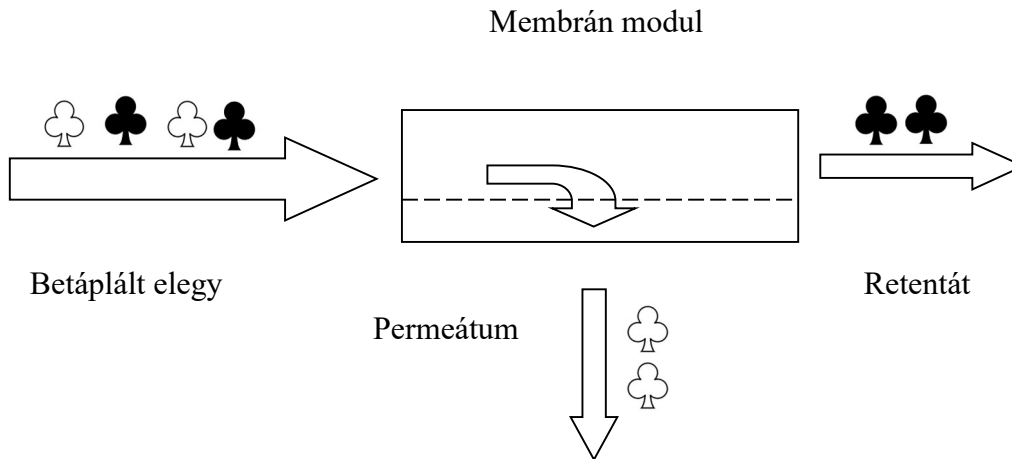
Az előző fejezetben ismertetett hagyományos termékkinyerési módszerek hátránya, hogy nagyon sok hulladék oldat keletkezik az elválasztás során. Továbbá, ezek az eljárások egyáltalán nem, vagy nagyon nehezen integrálhatók az itakonsav fermentációba. Márpedig egy termékátolt fermentáció esetén, folyamatos termékeltávolítással jelentősen nő a fermentáció produktivitása. Ezért az utóbbi időben egyre nagyobb figyelem jut a különböző membrántechnikai eljárásokra.

1.2.1 Membrántechnikai eljárások

A membrán eljárások kezdetben külön műveleti egységet képeztek, de ma már több olyan alkalmazást is ismerünk, ahol a membrán, mint elválasztó egység egy másik berendezésbe integrálódott (pl. membrán bioreaktorok). Funkció, készülék kialakítás, membrán anyaga, működési paraméterek stb. szerint nagyon sokféle membrán egység létezik, azonban mindegyikben közös, hogy tartalmaz egy *permszelektív membránt*, mely a készüléket két térrészre osztja. Az Európai Membrántudományi és Technológiai Társaság meghatározása szerint a membrán egy közbenső fázisként szolgál két fázis elválasztásakor. A *Permszelektivitás* kifejezés magában foglalja a membrán két legfontosabb jellemzőjét: a *permeabilitást* (áteresztő képesség) és a *szelektivitást* [40].

A membránseparációs műveletek általános elve a következő [41]: A szétválasztandó elegyet a membrán egyik, ún. betáplálási oldalára vezetjük és kémiai potenciálkülönbséget hozunk létre a membránon keresztül. A kémiai potenciálkülönbség, mint hajtóerő hatására a betáplált elegy térfogatárama két részre oszlik: a membránon áthaladó *permeátumra* és a visszamaradó *retentátra* (maradék) (lásd **1.6. ábra**). A műveleti egységtől és a betáplált elegy összetételétől függ, hogy mi a céltermék, melyik folyadék áram tartalmazza a számunkra értékes anyagot. Ha az elegy komponenseinek permeabilitása az adott membránra különböző, a permeátum összetétele eltérő a betáplálási összetételtől. Az általános hajtóerő a komponensek kémiai potenciálkülönbsége a membránon keresztül, de attól függően, hogy melyik változó játsza a meghatározó szerepet a kémiai potenciálkülönbség létrehozásában, beszélhetünk

nyomás-, koncentráció-, elektrokémiai potenciál- és hőmérséklet-különbség által létrehozott membrán-szeparációs műveletről.



1.6. ábra Membránszeperáció elvi sémája

A modern membránszeperációs műveletek során a hagyományos szűrési (*dead-end*) eljárással ellentétben a betáplált fluidumot (folyadékot vagy gázt) a membránfelülettel párhuzamosan áramoltatják, miközben az elegy komponenseinek egy része a hajtóerő hatására keresztülhalad a membránon és a permeátum oldalon távozik (*cross flow*). A membrán által visszatartott komponensek a betáplálási oldalt elhagyó anyagáramban (retentát) feldúsulnak.

A membránokat sokféle szempont szerinti lehet csoportosítani. Az **1.2. táblázat** a nyomás-különbségen alapuló szűrések felosztását tartalmazza a membrán pórusmérete alapján:

1.2. táblázat A szűrés fajtái a membrán pórusmérete szerint [41]

Szűrés fajtája	Membrán pórusmérete	Alkalmazott nyomás
Mikroszűrés (MF)	0,1 – 10 μm	10 – 500 kPa
Ultraszűrés (UF)	5 – 500 nm	0,1 – 1 MPa
Nanoszűrés (NF)	1 – 10 nm	0,6 – 4 MPa
Fordított ozmózis (RO)	0,5 nm	2 – 10 MPa

A legegyszerűbb kialakítású membránok az egyrétegű membránok. Anyaga lehet természetes, vagy szintetikus úton előállított. Az élő szervezetben számos helyen találkozunk különböző funkciójú, pórusú membránokkal, mint pl. máj, vese, tüdő, mely szervek feladata a

szervezetben keletkező anyagcsere termékek elválasztása, illetve a sejtek működéséhez szükséges oxigén/széndioxid gázcsere biztosítása. De a testfelületet beborító bőr is tulajdonképpen egy membrán, mely szabályozza a szervezet és a környezet közötti anyagcserét. Ezáltal egyrészt védi a szervezetet a káros anyagok bejutásától, illetve a pórusokon keresztül távozó folyadék párolgása segíti a szervezet vízháztartásának és hőmérsékletének szabályozását. Kezdeti alkalmazásokban a membránt az élő környezetből preparálták. Ezek élettartama ezért meglehetősen korlátozott volt. Később egyre inkább a szintetikus membránok kerültek előtérbe, melyek tulajdonságai, paraméterei a gyártási technológiával az igényeknek megfelelően beállíthatóak.

A membránszeparációt az ipar szinte minden területén lehet alkalmazni. A **1.2. táblázat** is mutatja, hogy a különböző szűrési technikákkal a teljes mérettartomány lefedhető. Összevetve más eljárásokkal, a membrán-eljárás előnyeit és hátrányait az alábbi felsorolás tartalmazza [40]:

Előnyök:

- Folyamatos működésű,
- Általában szobahőmérsékletű, így alkalmas a hőérzékeny anyagok elválasztására,
- Általában kis fajlagos energiaszükségletű,
- Könnyen illeszthető egy technológiai sorba,
- Moderált működési körülmények,
- Könnyen méretnövelhető,
- Több membrán-eljárás kombinálható,
- Környezetbarát, nem termel hulladékot és nem igényel plusz vegyszer hozzáadását,
- A termék elválasztása után a maradék, ha szükséges visszavezethető a technológiába.

Hátrányok:

- Eltömődés (fouling),
- Koncentráció-polarizáció,
- A membránok általában sérülékeny szerkezetűek, ezért rövidebb élettartamúak.

1.2.2 Membrántechnikai műveletek jellemzése

Bármely elválasztás hatékonyságát és használhatóságát leginkább két paraméterrel lehet jellemezni: a szelektivitással és az áteresztő képességgel. A membrán szelektivitását egy adott komponensre legegyszerűbben az R retencióval (visszatartás) tudjuk kifejezni, mely híg vizes oldatokban az alábbi egyszerű képlettel adható meg:

$$R = \frac{C_{be} - C_p}{C_{be}} = 1 - \frac{C_p}{C_{be}} \quad (1)$$

ahol C_{be} (mol/L) az adott komponens belépő oldali, míg C_p (mol/L) a membrán túloldalán (permeátumban) kialakult koncentrációja. Az R értéke 0 és 1 között változik, annak megfelelően, hogy az adott anyagot milyen mértékben tartja vissza a membrán. $R = 1$ esetén teljes mértékű a visszatartás, míg $R = 0$ -nál teljes az adott anyag áteresztése. Az oldószer szabadon áramlik a membránon keresztül.

Kettő, vagy több komponensű rendszer esetén az elválasztást jellemezhetjük két komponens egymáshoz viszonyított koncentrációjával. Az elválasztási faktor $\alpha_{A/B}$ megadja az A és B komponens permeátum, illetve betáplálási oldatbeli móltörtjeinek arányát:

$$\alpha_{A/B} = \frac{y_A/y_B}{x_A/x_B} \quad (2)$$

ahol y_A és y_B a permeátum oldali, míg x_A és x_B a betáp oldali móltörtek. Számításkor az A és B komponenseket úgy választják ki a gyakorlatban, hogy az α értéke egynél nagyobb legyen. $\alpha=1$ esetén permeátumban ugyanolyan koncentráció alakul ki, mint a betápláló oldatban, ez esetben nem beszélhetünk szeparációról.

Az áteresztőképesség, permeáció, vagy fluxus (J), az egységnyi membránon keresztül, a hajtóerő hatására áthaladt áram. Általánosságban

$$J = -K \frac{dH}{dx} \quad (3)$$

ahol K az elválasztásra jellemző állandó (konstans), dH/dx pedig a folyamat hajtóereje.

Az **1.3. táblázatban** a (3) egyenletre látunk konkrét membrán műveleteket [40]:

1.3. táblázat Membrán műveletek csoportosítása a hajtóerő szerint

Jelenség	Fluxus	<i>K</i> konstans	Intenzív mennyiség	Törvény	Alkalmazási példa
Anyagáram	$J = -D dc/dx$	Diffúziós	Koncentráció	Fick	Dialízis
Térfogatáram	$J = -L_p dp/dx$	Permeabilitás	Nyomás	Darcy	Szűrés
Elektromos áram	$J = -1/R dU/dx$	Vezetőképesség	Potenciál	Ohm	Elektrodialízis
Hőáram	$J = -\lambda dT/dx$	Hődiffuzivitás	Hőmérséklet	Fourier	Membrán desztilláció

Jelenleg legelterjedtebbek a dialízises, illetve a különböző nyomáskülönbségen alapuló szűrési (ultra-, mikro-, nano-szűrés, fordított ozmózis) elválasztások, de egyre nagyobb teret kap az elektrodialízis is.

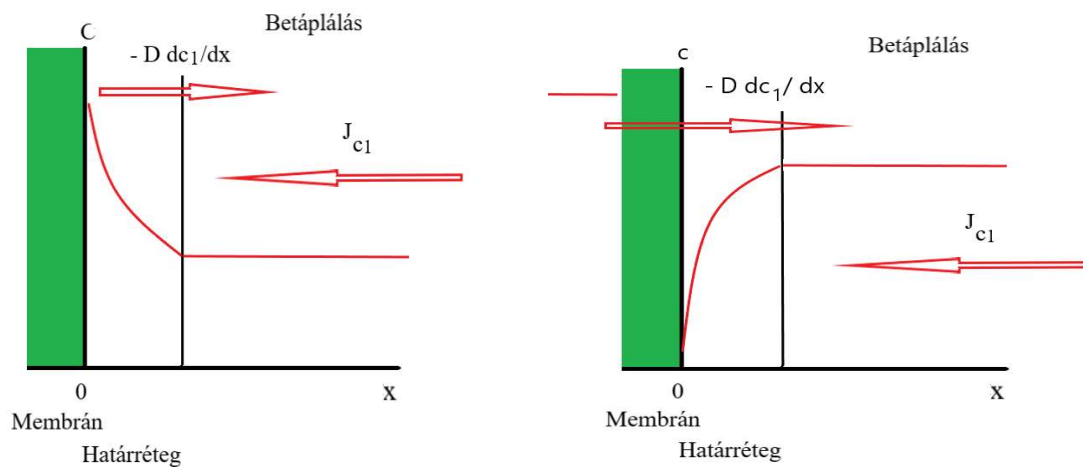
1.2.3 Membrán műveletek során fellépő anyagátadási problémák

A membránszeparációs eljárások során idővel csökken a fluxus, romlik a membrán áteresztő képessége. Ez a csökkenés alapvetően két okra vezethető vissza: az eltömődésre (fouling) és a koncentráció polarizációra [40].

Az eltömődés alapvetően kétféleképp történhet: a membrán pórusához közeli méretű molekulák beszorulhatnak a pórusok belsejébe. Ezáltal időlegesen, vagy véglegesen lezárják a pórust, csökkentve ezáltal a hasznos átáramlási keresztmetszetet. Az eltömődés másik oka, amikor a nagyobb méretű molekulák a membrán felületére rakódnak és egy vékony réteget képezve akadályozzák a kisebb méretű molekulák membránon történő átáramlását. Az eltömődés mindkét fajtáját kísérheti adszorpció, amikor nemcsak méretbeli okokból történik a pórusok elzáródása, hanem a membrán anyaga és a molekula között kialakult másodlagos kötőerő miatt. Amennyiben az eltömődés elér egy meghatározott mértéket, úgy a berendezést le kell állítani és a membránt ki kell tisztítani. Szerencsés esetben ez egy ellenáramú visszamosás, vagy vegyszeres tisztítás. Rosszabb esetben a membrán modul cseréje szükséges.

A koncentráció polarizáció oka a membrán felületén kialakult koncentráció növekedés vagy csökkenés. E két állapotot szemlélteti az **1.7. ábra**. Amennyiben az anyagtranszportot a konvekció határozza meg (pl. nyomás különbségen alapuló elválasztások), úgy a membrán

betáp felőli oldalán koncentráció emelkedés következik be, mely diffúzív visszaáramlást eredményez az oldat fő tömege irányába. A szeparációs idő előrehaladásával az egyensúlyit megközelítő (*steady-state*) állapot alakul ki: az oldott részecskék konvekciós árama a membrán felé egyenlővé válik a részecskék membránon keresztüli fluxusának és diffúziós visszafelé áramlásának az összegével. A másik lehetőség, amikor a határretegben lecsökken az adott anyag koncentrációja. Ez akkor következik be, amikor az anyagtranszportnál a diffúzió a meghatározó (pl. dialízis, pervaporáció). Abban az esetben, ha a membrán pórusaiban a diffúzió nagyobb, mint a membrán betáp oldali határretegében, úgy a határreteg kiürül, a koncentráció



1.7. ábra Koncentráció-profil alakulása a határretegben különböző típusú membrán-eljárásoknál

közel nullára csökken, míg a membrán permeátum felőli oldalán megnő. Ezáltal a magasabb koncentráció felől az alacsonyabb irányába a membránon keresztül egy ellenirányú áramlás indul meg. Ezzel a jelenséggel leginkább az elektrodialízisnél kell számolni, ahol az elektromos tér hatására az ionok membránon keresztüli diffúziója jóval nagyobb, mint a határretegbeli diffúzió.

Mind az eltömődés, mind a koncentráció polarizáció okozta negatív hatás csökkenthető megfelelő áramlási kialakításokkal: terelőlemezek beépítése, intenzív keverés stb. Mindkét esetben a határreteg vastagságának csökkenése a diffúziós gátak csökkenését eredményezi.

1.2.4 Membrán szerkezete, membrán modul

A legelső szintetikus membránok jellemzője, hogy a membrán teljes vastagságában azonos a pórusméret. Ezek az ún. *szimmetrikus* membránok. Idővel a membránok vastagsága a gyártási technológia fejlődésével, a jobb helykihasználás érdekében egyre csökkent. A membrán betáp oldali fele meghatározott pórusméretű és rendkívül vékony hártya, mely biztosítja a szelektivitást. A bőrszerű réteg alatt egyre növekvő pórusú támasztóréteg található, mely a membrán szilárdságát adja. Ezzel az *aszimmetrikus* pórus-szerkezettel csökken az eltömődés veszélye.

A membránokat szerelhető egységekbe, modulokba építik össze. Az ipari gyakorlatban négy fő típus terjedt el: Lapmembrán, Spirál tekercs, Csőmembrán és Kapilláris modul. Kiválasztásukat, alkalmazásukat a technológiai igények határozzák meg.

A Lapmembrán a legegyszerűbb kialakítású membrán modul. A membrán a támasztó réteggel egy hordozó keretre van erősítve és a lapok áramlástanilag egymással párhuzamosan vannak szerelve. A Lapmembrán modul előnye a tetszőleges méretnövelés és a könnyű tisztítás. A membrán lapok sérülés, esetleg teljes eltömődés esetén egyenként cserélhetők. Hátránya, hogy kicsi a készüléktérfogatra vonatkoztatott fajlagos szűrőfelület.

A spirál tekercs modul úgy tekinthető, mint egy feltekert lapmembrán modul. A membrán lapokat azonos felületükkel (bőr-bőr, támasztó-támasztó) egymással szembe fordítják és zsák-szerűen összehegesztik. A betáp folyadékot eloszlatják és a zsákok bőr felőli oldalára vezetik. Az át nem szűrődött folyadékáramokat összegyűjtik és retentátként távozik a modulból. A membránokon átjutott folyadékáramokat a zsákok permeátum oldaláról egy központi, perforált cső gyűjti össze. Mivel a keresztirányú folyadék áramlási sebesség magas, ezért ez a típus eltömődésre kevésbé hajlamos, mint a Lapmembrán.

A Csőmembrán modulban a membránt egy nagy pórusú támasztó csőre erősítik és az egészet egy 5-20 mm átmérőjű hordozó csőbe helyezik. A modul kialakítása rendszerint olyan, hogy a betáp oldali folyadék szabadkeresztmetszet kicsi, így a folyadék áramlás turbulens, a membrán felülete folyamatosan, intenzíven mosva van. Ezért a Csőmembrán modul előnyösen alkalmazható magas szóranyag tartalmú folyadékok szűrésére, ahol fennáll az eltömődés veszélye.

A Kapilláris, vagy Hollow fiber modul tulajdonképpen számos csőmembrán egybeépítése egy egységbe. A membrán szerkezete és a kapilláris belső átmérője (kb. 1 mm) olyan, hogy nem igényel külön támasztó csövet, így egy modulba akár 1000 szál is beépíthető. Ez a

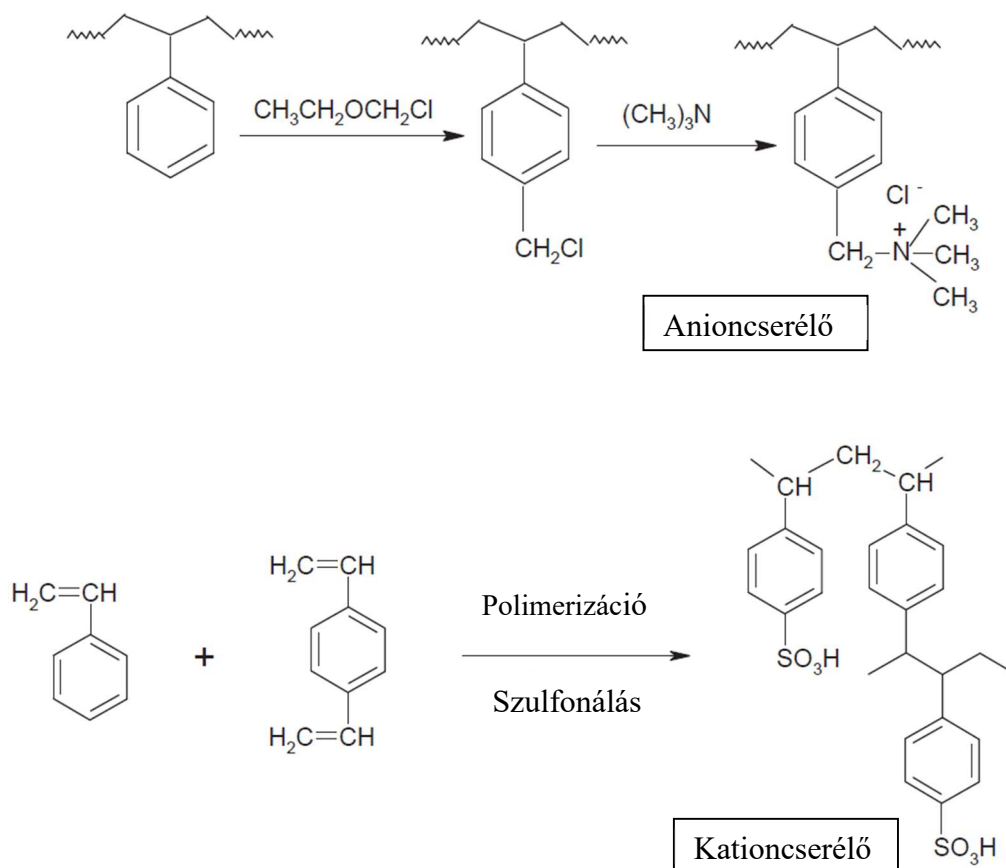
membrán típus a legjobb térkihasználású, itt lehet kihozni a legnagyobb fajlagos felületet. A kapacitás a membrán szálak hosszával és az egy modulba épített kapillárisok számával növelhető.

1.2.5 Elektrodialízis

Az elektrodialízis olyan membránszeparációs eljárás, melynél a hajtóerő az elektromos potenciálkülönbség. Ha ionokat tartalmazó oldatba két elektródot helyezünk és az elektródokat egyenáramú áramkörbe kötjük, akkor az oldat ionjai az elektródok között kialakult elektromos térerő hatására vándorolnak a nekik megfelelő elektród irányába: az anionokat az Anód (pozitív) elektród vonzza, míg a kationok a Katód (negatív) elektród felé vándorolnak. A semleges molekulák helyzete lényegében nem változik. Ha az áramlás irányába szelektív membránokat helyezünk, akkor irányítani tudjuk az ionok vándorlását. Megfelelő készülékelrendezéssel a különböző polaritású ionok elkülönült térrészben dúsulnak.

1.2.5.1 Ioncserélő membránok

Az elektrodialízisnél ioncserélő membránokat építenek be az ionok vándorlásának szabályozására. Az ioncserélő membránok szerkezetüket tekintve hasonlóak az ioncserélő gyantákhoz: a szilárd vázhoz kémiaiilag kötve van a töltéssel rendelkező molekula, amihez mobilis ellenion kapcsolódik. Az ioncserélő membránok szilárd vázát polimerizációval alakítják ki. Egyik lehetséges megoldás a sztírol polimerizálásával kialakított polisztirol váz, melynek szilárdságát divinil-benzol co-polimer keresztkötésekkel stabilizálják. A váz aromás csoportjának klórmetilézésével, majd aminálásával pozitív töltésű quaterner-amino-csoportot kialakítva kapjuk az anioncserélő membránt. Ha a polisztirol vázát szulfonálják, akkor kialakul a kationcserélő membrán [42]. Az **1.8. ábra** ezt az ioncserélő membránszerkezetet mutatja.



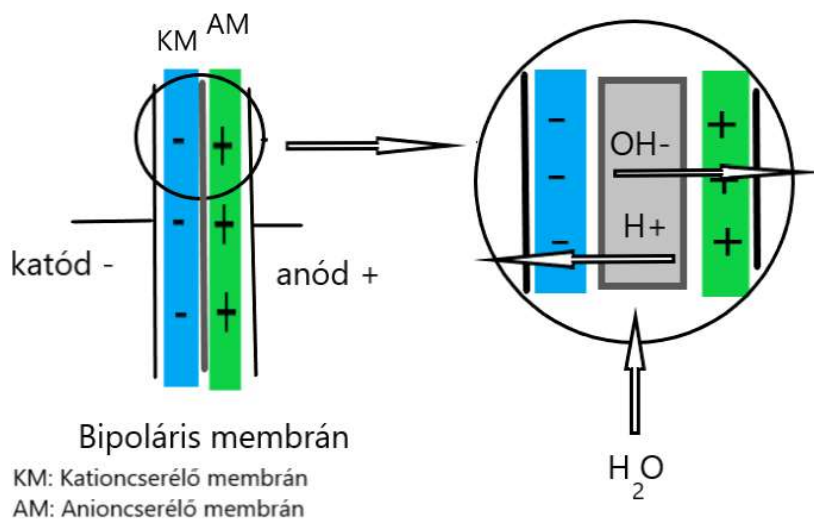
1.8. ábra Ioncserélő membránok kémiai szerkezete [40]

A membránokkal szembeni elvárás a:

- Nagyfokú permszelektivitás: könnyen átjárható az ellenion (counter-ion) számára és gyakorlatilag átjárhatatlan a membrán töltésével azonos ionnak (co-ion),
- Kis elektromos ellenállás az elektromos tér hatására vándorló ellenionnal szemben,
- Nagyfokú mechanikai stabilitás (duzzadás nem megengedett),
- Kémiai stabilitás a teljes pH = 1-14 tartományban és ellenálló a redox körülmények között is.

A kationcserélő membránban a proton vezetése úgy képzelhető el, mintha a proton az elektromos erőter hatására az egyik szulfo-csoportról a másikra ugrálna át [43]. Ebből adódik, hogy a membrán a proton számára vezető, míg az elektron számára szigetelő tulajdonságú. Az anioncserélő membrán hasonló mechanizmussal működik és kizárólag az anionok számára átjárható.

Az elektrodialízisnél gyakran alkalmazott harmadik membrán típus a bipoláris membrán, mely egy kationcserélő- és egy anioncserélő membrán összeépítésével jön létre, ezért egyik ion számára sem átjárható. Funkciója ebből adódóan lényegesen eltér az egy-pólusú membránoktól. Fordított potenciálú előfeszítéssel a kétpólusú membránok képesek megvalósítani az oldószer disszociációját. Jelenleg csak kétféle oldószerről számoltak be, amelyek bipoláris membránokban disszociálnak: a víz és a metanol [44]. A víz H^+ -ra és OH^- -ra, a metanol H^+ -ra és CH_3O^- -re bomlik. Figyelemreméltó, hogy a bipoláris membránokban az oldószerbontásnak van túlsúlya az oldószer-elektrolízissel szemben: például nem keletkezik gáz, vagy melléktermék, kisebb a feszültségesés, maximális az energiafelhasználás, helytakarékos, egyszerűbb telepítés és üzemeltetés és kisebb a kezdeti beruházás igény [45]. A víz-bontás a két membrán közti térbe diffundált vízből történik, és a keletkezett ionok a számukra vonzó (ellentétes) polaritású elektród irányába távoznak. Az **1.9. ábra** egy bipoláris membrán vízbontását szemlélteti.



1.9. ábra Bipoláris membrán működése

Az ioncserélő membránokat különbözőképp kombinálva, az adott célnak optimális készülék-konstrukció állítható össze. Néhány lehetséges megoldást tartalmaz az alábbi felsorolás, az angol elnevezés kezdőbetűivel [45]:

- CED: hagyományos elektrodialízis,
- EMT: Elektro-metatézis (cserebomlás),

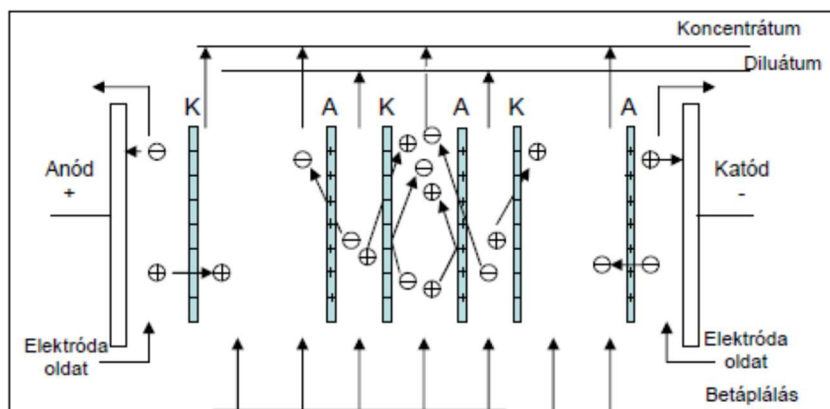
- EIS: Elektro-ionszubsztitúció,
- EIIS: Ion-extrakció,
- EED: Elektrodialízis és ion-szubsztitúció,
- EDBM: Elektrodialízis bipoláris membránnal,
- EDI: Elektro-deionizáció,
- TPED: Kétfázisú elektrodialízis.

Az ioncserélő membránok egy másik alkalmazási területe az üzemanyag cellák, ahol a cél a kémiai energia átalakítása elektromos energiává. Ezek az felhasználások nagyon széleskörűek: kezdve az energiaforrásoktól [46], egészen a mikrobiológiai alkalmazásig, ahol pl. szennyvízkezelés során nyerhető elektromos áram [47].

1.2.5.2 Monopoláris elektrodialízis

A legegyszerűbb elektrodializáló berendezés anioncserélő- és kationcserélő-membránokból, elektródokból és egyenáramú tápegységből áll, valamint az oldatok áramoltatásához szükséges szivattyúból. Az ioncserélő membránokat felváltva építik be a készülékbe. Az elektródokat külön elektrolit folyadék tér veszi körül, ami inert az elektródokra az adott körülmények között (nincs kémiai, elektrokémiai reakció), így az elektród nem kerül kontaktusba a szétválasztandó (esetenként korrozív) oldattal.

A szétválasztandó oldatot egyenletesen elosztva, a membránok közti térbe vezetik. Az oldat ionja az elektromos tér hatására az ellentétes polaritású elektród irányába mozdul el. Ha a vándorlás irányában az ion számára áteresztő membrán van, akkor az ion átjut a szomszédos membrán térbe. Amennyiben egyik irányban sem tud mozdulni, úgy a két membrán között áramlik tovább. Ezáltal minden második membrántér ionokban dúsul (koncentrátum), míg a közti terek ionokban elszegényednek (diluátum). A készülék kilépő oldalán, az azonos folyadéktérreket egybegyűjtik. A berendezés tehát a homogén oldatból két különböző oldatot állít elő: egy ionszegény (diluátum) és egy ionokban dúsított (koncentrátum) oldatot. A folyadék betáplálás sebességével és a cellapárok számával (tartózkodási idő), valamint az alkalmazott cellafeszültséggel a koncentrációát/elszegényedést a kívánt mértékre be lehet állítani. A **1.10. ábrán** egy elektrodializátor sematikus rajza látható.



1.10. ábra Elektrodialízis elvi sémája [48]

Az i -dik ion vándorlását a membránban és az oldatban a kiterjesztett Nernst-Planck egyenlettel lehet jó közelítéssel leírni [49], [42]:

$$J_i = -D_i \frac{dC_i}{dx} - D_i \frac{F \cdot z_i \cdot C_i}{R \cdot T} \frac{d\varphi}{dx} + v \cdot C_i \quad (4)$$

ahol J_i az i -dik ion fluxusa [$\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$], D_i a diffúziós együttható (m^2/s), C_i a koncentráció (mol/m^3), x a membránra merőleges koordináta, F Faraday állandó ($96\,500 \text{ C/ekv}$), z_i az i -dik komponens töltése (ekv/mol), R egyetemes gázállandó [$8,31 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$], T hőmérséklet (K), φ potenciál (V), v a lineáris konvektív sebesség az x irányba (m/s).

A (4) egyenletből is látható, hogy az ion vándorlása alapvetően három mechanizmussal történhet: koncentráció különbség hatására történő diffúzióval, potenciál különbség hatására, vagy a nyomáskülönbség miatti konvektív árammal. Az ionok transzportjánál is érvényesül az elektroneutralitás, ami azt jelenti, hogy makroszkopikusan a pozitív és negatív töltések kiegyenlítik egymást. A diffúzió miatt az anionok és a kationok egy irányba, a kisebb koncentráció irányába vándorolnak, míg a feszültség hatására az anion és kation egymással ellentétes irányba. Így az említett hatások bizonyos esetben ellentétes irányú vándorlást eredményeznek. Az adott ion fluxusát ezen hatások eredője határozza meg. A t_i transzportszámot használják annak jellemzésére, hogy az i -dik ion milyen arányban vesz részt

a membránon keresztüli áramban:

$$t_i = \frac{z_i J_i}{\sum_i z_i J_i} \quad (5)$$

ahol J_i az i -dik ion fluxusa [$\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$], z_i az ion töltése (ekv/mol).

Gyakorlati megközelítésben a cellapáron átfolyó áram nagysága és az átvándorolt ionok mennyisége között lineáris összefüggés van, hiszen az áramot az ionok mozgása jelenti. A z töltésű ion koncentráció változása az alábbi egyenlettel számolható:

$$\Delta c = \frac{I \cdot N}{F \cdot z \cdot Q_d} \eta \quad (6)$$

ahol Δc a z töltésű ion koncentrációjának változása (mol/L), I a készüléken átfolyt áram ($A=C/s$), N a cellapárok száma, F a Faraday állandó (96 500 C/ekv), z az ion töltése (ekv/mol) Q_d a diluátum áramlási sebessége (L/s) és η az áramhatásfok.

Az η áramhatásfok azt mutatja meg, hogy az elektrodialízis cellán áthaladt töltés (Q_{eff}) hányad része fordítódott a vizsgált ion elméletileg szükséges vándoroltatásához ($Q_{elméleti}$).

$$\eta (\%) = 100 \cdot \frac{Q_{elméleti}}{Q_{eff}} \quad (7)$$

A (6) egyenlet átrendezése után a $E = U \cdot I \cdot t$ összefüggés felhasználásával megadható a cella energiaigénye E :

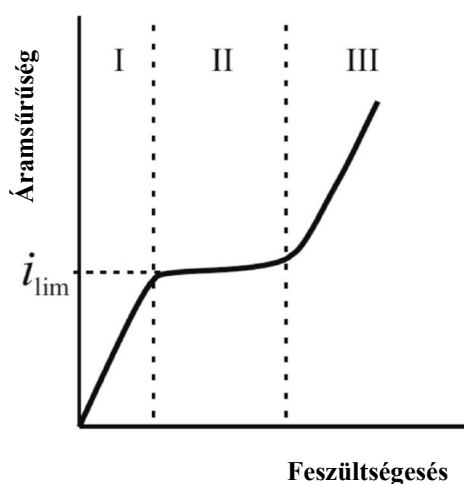
$$E = \frac{\Delta c \cdot F \cdot z \cdot Q_d}{N \cdot \eta} \cdot U \cdot t \quad (8)$$

ahol Δc a z töltésű kation koncentrációjának változása (mol/L), N a cellapárok száma, F a Faraday állandó (96 485 C/ekv), z az ion töltése (ekv/mol) Q_d a diluátum áramlási sebessége

(L/s) és η az áramhatásfok, U a cella potenciál (V), t az elektrodialízis időtartama (s) az E energiaigény (J) szempontjából.

A gyakorlatban több anion- és kation-cserélő membránpárt építenek össze egy elektrodializáló berendezésbe. Így magát az elektrodialízis berendezés celláit elektromos szempontból sorba-kapcsolt ellenállásoknak tekinthetjük. Ez azt jelenti, hogy az áramerősség minden cellapárban azonos, az ellenállások (folyadék terek, membránok ellenállásai) összeadódnak. Így az egyes membránpáron eső feszültségek összege adja a teljes berendezésre kapcsolt feszültséget.

Ha egy membránpárból álló cellát vizsgálunk és ábrázoljuk az i áramsűrűség (egységnyi felületre eső áram, A/m²) változását a cellafeszültség függvényében, akkor egy lépcsős függvényt kapunk. Egy ilyen tipikus U - i függvény látható a **1.11. ábrán**.



1.11. ábra Áramsűrűség változása a cellapotenciál függvényében [42]

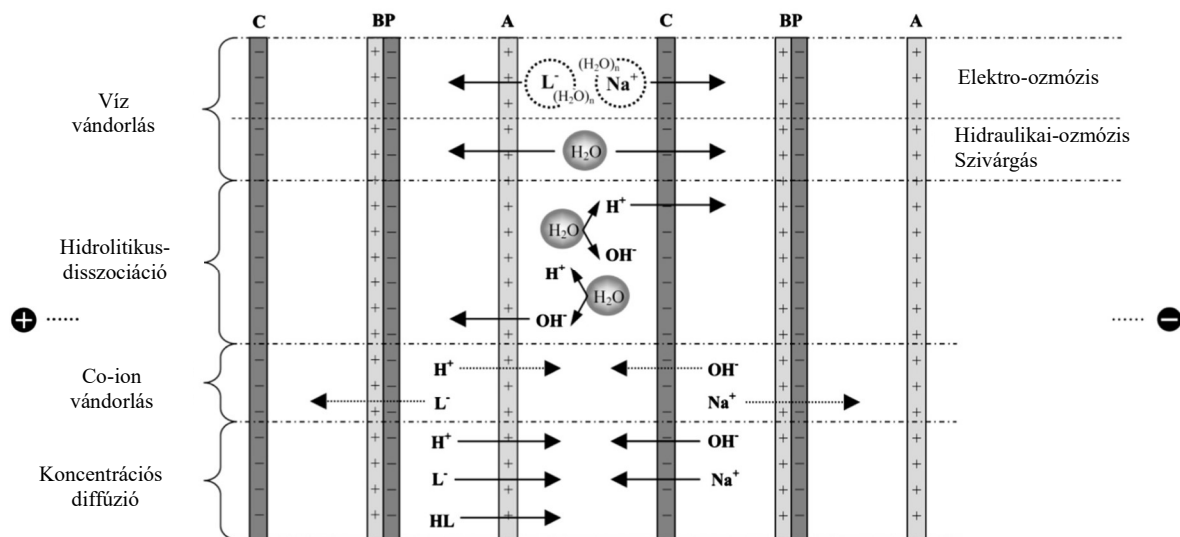
A görbén három szakaszt tudunk megkülönböztetni. Az I. (Ohmikus) szakaszban az Ohm törvénye érvényesül. Itt az áramsűrűség i a feszültséggel lineárisan nő, a meredeksége $1/R$, ahol R a cella össz ellenállása (a folyadékterek és a membránok ellenállásának összege). A határ-áramsűrűség i_{lim} felett az áram igen kis mértékben nő a potenciál növelésével együtt. A II. szakaszban a meghatározó jelenség a koncentráció polarizáció. Ebben a tartományban a membránok Diluátum felőli határrétege ionokban elszegényedik, nincs vezető ion (a membránon keresztüli iontranszport nagyobb, mint az oldat főtömegéből történő ion diffúziója). A membrán Koncentrátum felőli oldalán a határrétegben pedig megnő az ion

koncentrációja. A II. szakaszban (Plató) a potenciált tovább növelve, az áramsűrűség egy ideig gyakorlatilag nem változik, majd egy adott érték felett hirtelen megnő (III. szakasz, Túláram tartomány). Itt az áramhoz szükséges vezető ion az egyre fokozódó víz disszociációból és a lehetséges elektrokonvekcióból származik [42]. Az elektrodialízis szempontjából a túláramnál nagyobb áram(sűrűség) (Túláram tartomány) alkalmazását kerülni kell. Ebben a tartományban csökken az áramhatásfok, mivel az áram egyre nagyobb része nem a számunkra kedvező ionvándorlásból származik (hanem OH^- , H^+ ion). A víz disszociáció következtében változik a membrán környezetében a pH: Diluát oldalon pH csökkenés, míg a Koncentrátumban pH növekedés [42]. A pH változása szélsőséges esetben a membrán felületén sókiváláshoz, illetve a membrán károsodásához vezet. Ezért az elektrodialízis optimális működési tartománya az első két szakasz. A működési tartomány szélesíthető különböző paraméterek helyes megválasztásával, pl. a membrán fal melletti folyadékáramlás növelésével csökken a határréteg vastagsága, ezáltal csökken a koncentráció polarizáció. Az oldat sókoncentrációjának növelésével nő a túláram értéke is [40], így az elektrodialízis számára használható áram tartomány is.

1.2.5.3 Bipoláris elektrodialízis

A monopoláris elektrodialízisnél, ahol csak anion- és kation-cserélő membránok vannak beépítve, a készülékben lényegében a bemenő oldat koncentrációja történik. Attól függően, hogy mi a cél, melyik az értékes anyag számunkra, a *Diluátumot* (pl. tengervíz sótalanítás), vagy a *Koncentrátumot* (pl. termékkinyerés) használjuk később. A bipoláris membrán alkalmazásával lehetőség van sóoldatból a tiszta sav és a tiszta lúg kinyerése is. Ezekon felül a sótalanított oldat is hasznosítható, pl. visszavezethető a fermentációba.

A bipoláris elektrodialízis során a számunkra hasznos ionvándorlásokon túl olyan jelenségek is zajlanak a berendezésben, mely az elválasztás hatékonyságát csökkentik (pl. koncentráció és térfogat változás). Az **1.12. ábrán** a leggyakoribb mellékfolyamatok láthatók [50]:



1.12. ábra Az elválasztás hatékonyságát csökkentő mellékfolyamatok a bipoláris elektrodialízis során

a) A vízvándorlás hatására változik az egyes cellák térfogata és ezáltal, önmagában ettől is a benne lévő oldat koncentrációja. A víz vándorlása alapvetően három mechanizmussal történik:

- *Elektro-ozmózissal,*
- *Hidraulikai-ozmózissal és*
- *Nyomás hatására Tömítetlenségből adódó szivárgással.*

Az elektro-ozmózis lényege, hogy az elektrodialízis hatására bekövetkező ionvándorlásakor az ionnal együtt mozog a (semleges töltésű) vízburok, mely az iont körül veszi. Ozmotikus vízvándorlás akkor következik be, ha a membrán két oldalán jelentős koncentrációkülönbség van. A víz a töményebb oldat irányába megy. Általánosságban elmondható, hogy elektro-ozmózis a nagyobb áramsűrűségnél, míg a hidraulikus-ozmózis a kisebb áramsűrűségnél jellemző ozmotikus jelenség. A nyomás hatására történő vízvándorlás oka lehet a membrán mátrix mikropórusai, illetve az egyes szegmensek közötti tömítések szivárgásai.

b) A *Hidrolitikus-disszociáció* (víz bomlása) során H^+ és OH^- ionok keletkeznek, melyek részt vesznek az elektromos áramban az elektrodialízis során. Ez a folyamat szorosan összefügg a koncentráció polarizációval, amikor a membránon keresztüli áramsűrűség meghaladja a

membrán/folyadék határrétegbeli anyagtranszport sebességét. Ennek következtében a határréteg gyakorlatilag ionban elszegényedik. Ez esetben az ionáram jelentős része nem a só kationja, illetve anionja, hanem a víz bomlásából származó H^+ és OH^- ion [51].

- c) A *co-ion vándorlás* azt jelenti, hogy az ioncserélő membránon nem csak az ellenion tud áthaladni, hanem igen kis mennyiségben a membrán szerkezetével azonos töltésű ion is. Ez abból adódik, hogy a gyakorlatban nem létezik 100 %-s hatásfokú membrán, mely csak a megfelelő töltésű iont engedi át.
- d) A *Koncentrációs diffúzió* hajtóereje a membrán két oldala közötti koncentráció különbség. Ha a két szomszédos szegmens között bármely ionra, molekulára koncentráció gradiens lép fel, akkor az ion, vagy molekula diffúzióval történő vándorlása következik be.

A felsorolt mellékfolyamatok mindegyikére igaz, hogy csökkenti az elválasztás hatékonyságát, azonban megfelelően összeállított elektrodialízis rendszer esetén ez jóval kisebb ellenáramot eredményez, mint az elektrodialízis fő folyamata.

1.3 Integrált membrán-bioreaktor

Az integrált rendszerek alkalmazásakor cél a különböző egységek összeépítése az egyes részegységek előnyeinek felhasználásával. A szelektív elválasztással csökkenteni lehet a különböző káros hatásokat, mint pl. a termékgátlást, a keletkezett anyagok nemkívánatos irányú bomlását, átalakulását. Az integrációval nagyobb sejtkoncentráció alakulhat ki a bioreaktorban. A terméklevétel és a sejt-visszatartás megfelelő kombinálásával magasabb produktivitás és hozam érhető el folyamatos működés mellett. Az utóbbi évtizedekben számos publikáció született a bioreaktor és valamilyen másik eljárás összeépítéséről, a bioreaktor hatékonyságának növelése érdekében. Freeman és munkatársai [52] több, mint 100 hivatkozást említettek az ISPR (in situ product recovery) témájában. Schügerl és munkatársai [53], [54] a folyadék extrakciót és az adszorpciót vizsgálták, mint *in situ* termék kinyerési módot. Castilho és Medronho [55] az állati sejtes fermentáció során a sejt-visszatartás érdekében a szűrésre, centrifugálásra és az üleptetésre fókuszáltak.

A membrán/bioreaktor egységek összekapcsolásának előnyeit leginkább a termékátolt bio-folyamatoknál lehet kihasználni, ahol a keletkező termék felhalmozódása a bioreaktorban egy bizonyos koncentráció felett gátolja a termék képződését [52]. Ezért a termék folyamatos elvétele javítja a biokonverziót.

A membrán és a bioreaktor térbeli elrendezése alapvetően kétféle lehet: a membrán a bioreaktor belsejében helyezkedik el, vagy attól elkülönítve, de folyamatos folyadékárammal van összekötve. Mindkét elrendezésnek vannak előnyei és hátrányai [56]. A belső membrános elrendezés előnyei leginkább a fermentáció oldaláról mutatkoznak meg:

- kisebb a befertőződés veszélye,
- egyszerűbb a sterilizálás,
- a sejtek számára állandóak a reakció-körülmények,
- jobb a sejtek oxigén ellátása,
- kisebb a sejtekre ható nyíróerő (ami a külső membrános rendszerben a szivattyús elvétől-visszatáplálásból adódhat).

Míg a külső membrános elrendezésnél a membrán egység könnyebben kezelhető:

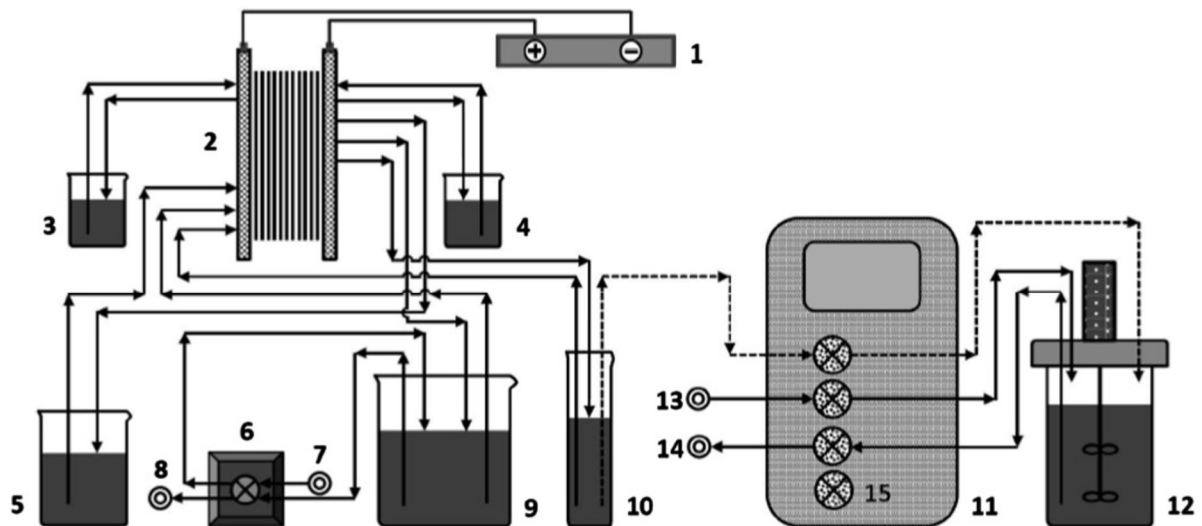
- egyszerűbb membráncsere,
- kisebb az eltömődés veszélye,
- kisebb átlagos tartózkodási idő.

Az elrendezés kiválasztását az adott fermentáció és a technikai lehetőségek határozzák meg.

Általában a membrán/bioreaktor rendszereknél a legnagyobb problémát a membrán eltömődése (fouling) okozza. Ennek csökkentésére többféle lehetőség van. Egyik leggyakrabban alkalmazott módszer, amikor a belső membránt a reaktor keverője, vagy aerob folyamatoknál a levegőbevezetés közelében helyezik el. Így kihasználják a lokálisan megnövekedett folyadéksebességet a membrán felületének folyamatos öblítésére. Egy másik lehetőség az időszakonkénti visszamosás, amikor a membrán egységben a folyadék áramot megfordítják és a permeátummal visszamosják a membránt. Carstensen és munkatársai [57] ilyen membrán/bioreaktor rendszert vizsgáltak itakonsav fermentációnál. A permeátum veszteség csökkentésére egy lehetséges megoldás, amikor a permeátum oldalra gázt vezetnek és a pórusokon áthaladó gáz lelöki a betáp oldalon keletkezett lerakódásokat, eltömődéseket.

A sima membrán/bioreaktor rendszert Wang és társai [58] tovább fejlesztették kétrészes membrán/bioreaktor kaszkáddá. A kaszkádban két különböző méretű membránt alkalmaztak és a jelenlévő anyagok (ImmunoglobulinG, pepszin, valamint $F(ab')_2$) méretbeli különbségeit felhasználva optimalizálták a folyamatot. A kétlépcsős elválasztás eredményeként az első egységben állandóan magas volt a pepszin koncentrációja, míg a második egységben sikerült elválasztani a terméket ($F(ab')_2$ kétértékű antitest) a pepszintől.

A membrán/bioreaktor integráció még magasabb foka, amikor a fermentáció két fő lépését kötik össze: egy rendszert alkot az upstream (lényegében a biokatalitikus folyamat) és a downstream (termék kinyerés). Wang és munkatársai [50] a tejsav fermentációját vizsgálták. Az integrált rendszer fő elemei a fermentor és az elektrodializátor. A két egység folyamatos, kapcsolatban volt. A kezdeti felszaporodási fázis után a fermentorba folyamatosan táplálták be a cukor oldatot és ennek megfelelően folyamatos volt a fermentlé elvétele. A fermentlevet egy membránszűrőn keresztül vezették az elektrodializátorra, hogy elkerüljék az elektrodializátor gyors kontaminációját és eltömődését. Az elektrodializátor bipoláris membránokat is tartalmazott, így a folyamat végén a tiszta tejsavat és a NaOH oldatot is egyaránt kinyerték. Az elválasztott lúg oldatot fel lehetett használni a fermentor pH-szabályzására. Az elektrodialízis/fermentor rendszer sematikus rajza látható az **1.13. ábrán**.



1.13. ábra Elektrodialízis-fermentor integrált rendszer tejsav előállításra [50]

(1) DC tápegység; (2) EDBM membrán egység bipoláris membránnal; (3) Katód oldat tartály; (4) Anód oldat tartály; (5) Tejsav tartály; (6) Perisztaltikus szivattyú; (7) Előkezelt fermentlé betáp csatlakozás; (8) EDBM kezelés utáni fermentlé elvétel; (9) EDBM betáp tartálya; (10) Lúg oldat tartály; (11) Fermentor szabályzó egység; (12) Fermentor; (13) Friss sejtkultúra/táppoldat rátáplálás; (14) Fermentlé elvétel; (15) Vezérelt perisztaltikus szivattyú.

A doktori munkám során itakonsav elektrodialízisét vizsgáltam. A végső cél az, hogy az optimalizált elektrodialízist összekössük a fermentációval. Mivel a bipoláris membrán elektrodialízissel három komponenst kapunk: itakonsav oldatot, NaOH oldatot és sómentes cukor táppoldatot, ezért az integrációval – terveink szerint – egyrészt kinyerjük a terméket, másrészt a keletkező lúgoldatot visszavezetjük pH-szabályzásra és harmadrészt a maradék cukrot tartalmazó oldat, mely már a terméktől mentes (nincs termékgtátlás) a nyomnyi tápsók hozzáadása után visszavezethető a fermentációba. Ilyen mértékű komplex, integrált rendszer megvalósítására a szakirodalomban eddig nem találtam hivatkozást.

2. Anyagok, módszerek

2.1 Felhasznált vegyszerek

A mérések során használt vegyszereket a **2.1. táblázatban** foglaltam össze:

2.1. táblázat Felhasznált vegyszerek

Vegyszer neve	Gyártó	Tisztaság	Felhasználás
Ammónium-nitrát	Reanal	>99 %	Fermentáció/Modell oldat
Cink-szulfát x 7H ₂ O	Scharlau	>99 %	Fermentáció
Glükóz	Sigma-Aldrich	>99,5 %	HPLC/DSM standard
Glükóz x H ₂ O	Hungrana	>99 %	Fermentáció/Modell oldat
Itakonsav	Sigma-Aldrich	99,9 %	HPLC standard
Itakonsav	Acros Organics	>99 %	Fermentáció/Modell oldat
Ioncserélt víz	helyi előállítás	<1,5 µS/cm	
Kalcium-klorid x 2H ₂ O	Lach-Ner	>99 %	Fermentáció/Modell oldat
Kálium-dihidrogén-foszfát	Bio-Lab	>99 %	Fermentáció
Kénsav	AnalaR Normapur	>99,9 %	HPLC eluens
Magnézium-szulfát x 7H ₂ O	Merck	>99 %	Fermentáció/Modell oldat
Metanol	AnalaR Normapur	>99 %	HPLC eluens
Nátrium-hidroxid	AnalaR Normapur	>99 %	pH-beállítás
Nátrium-szulfát	Sigma-Aldrich	>99 %	Elektrodialízis elektród-oldat
Réz-szulfát x 7H ₂ O	Reanal	>99 %	Fermentáció
Vas-klorid x 6H ₂ O	Reanal	>99 %	Fermentáció

Az elektrodialízis kísérleteknél alapvetően itakonsav modell oldatokat használtam 5, 33 és 60 g/L koncentrációban. A pH-t NaOH oldattal állítottam be a kívánt értékre. A fermentlé modell oldattal végzett méréseknél az oldat összetétele a főbb komponensek tekintetében megegyezett egy általános itakonsav fermentlé összetételével:

2.2. táblázat Modell fermentlé összetétele

Vegyszer neve	Koncentráció (g/l)
Ammónium-nitrát	2,25 g/L
Glükóz	100 g/L
Itakonsav	33 g/L
Kalcium-klorid x 2H ₂ O	5 g/L
Magnézium-szulfát x 7H ₂ O	1 g/L

2.2 Analitikai mérések

Az elektrodialízis minták elemzésénél a folyadék minták itakonsav tartalmát HPLC-vel, míg a glükóz tartalmát DNS-módszerrel határoztam meg.

2.2.1 HPLC-s elemzés

A HPLC-s mérésekhez Young Lin Instrument Co., Ltd. nagynyomású folyadék-kromatográfot használtam, mely YL9109 típusú vákuum gáztalanítóból, YL9110 típusú quaterner szivattyúból és YL9150 automata mintatartóból/adagolóból állt. Az itakonsav tartalmú mintaoldat szétválasztása egy Hamilton PRP-X300 típusú kolonnán történt. A kolonna hossza 15 cm, belső átmérője 4,1 mm és az állófázis szemcsemérete 7 µm. A HPLC kolonna kifejezetten szerves savak és alkoholok elválasztására alkalmas. Az oszlop aktív része a szulfonált polisztirol-divinil-benzol csoport, mely kationcserélő tulajdonságú. A szétválasztott komponensek meghatározása YL9120 UV/VIS detektorral történt, 210 nm-en.

Az eluens 1 mmól/L koncentrációjú kénsav oldat - metanol elegy, melyet a HPLC oszlopra gradiens elúcióval vittem fel. A mintákat és a standard oldatot a mérés előtt 0,05-0,5mmól/L tartományba kellett hígítani 1 mmól/L koncentrációjú kénsav oldattal. A HPLC oszlop savas tartományban működik, ezért a Lúgos koncentrátumból vett mintákat a meghatározás előtt cc. kénsav oldattal savanyítani kellett. A kromatogramok kiértékeléséhez YL-Clarity programot használtam.

2.2.2 Redukáló cukortartalom meghatározása DNS módszerrel

Az elektrodialízis során a glükóztartalmat DNS módszerrel határoztam meg [59]. A módszer lényege, hogy a redukáló cukrok a 3,5-dinitro-szalicilsavat lúgos közegben redukálni

képesek 3 amino-5 nitro-szalicilsavvá. A 0-1 g/L tartományba hígított cukor tartalmú mintát a DNS reagenssel 90 °C-n reagáltatva, a keletkező színes oldatot fotométerrel mértem. A minták redukáló cukor tartalmát kalibrálás alapján DR3900 Laboratory VIS Spektrofotométerrel határoztam meg, 575 nm hullámhosszon.

2.3 Kísérlet tervezés, ANOVA statisztikai módszer

Az elektrodialízist optimalizáló kísérletek során három paraméter (kapocsfeszültség, Diluátum kezdeti pH-ja és itakonsav koncentrációja) hatását vizsgáltam és a kísérleteket az itakonsav áramhatásfok nagysága alapján értékeltem ki. Első körben az volt a célom, hogy ezek közül meghatározzam azokat a paramétereket, melyek szignifikánsan befolyásolják az áramhatásfokot, továbbá azokat a beállításokat, amelyek mellett a legnagyobb áramhatásfok érhető el. A vizsgálatok eredményei alapján később finomabb felosztással, egy szűkített paraméter (kapocsfeszültség, kezdeti itakonsav koncentráció) tartományban folytattam az optimalizálást.

Ha mindegyik független paraméternél a tartományon belül három-három értéket választok, egy időben csak egy paramétert változtatok (One factor at a time design [60]) és az összes lehetséges beállítás mellett elvégezném az elektrodialízis kísérleteket, akkor ez $3^3 = 27$ különböző kísérletet jelentene. A kísérletek számának csökkentése érdekében a tervezésnél a Statistica 8 software-t használtam, mely varianciaanalízist (ANOVA: **A**nalyzis **O**f **V**ariance) alkalmaz [61]. A módszer segítségével történő kiértékelés megmutatja, hogy a bemeneti paraméterek (feszültség, pH, koncentráció) milyen hatással vannak a kimeneti értékre, az áramhatásfokra. A varianciaanalízis lehetővé teszi a faktorszintek (bemeneti paraméterek beállított értékei) módosításának hatására a kimenetben bekövetkezett változás értékelését a szignifikancia szempontjából. Így egyszerű hatásszámítással kimutatható, hogy az egyes paraméterek és azok kombinációi valóban hatással vannak-e az eredményre, vagy a bekövetkezett változások csak a véletlen következményei. A varianciaanalízis számszerűsíti azt is, hogy az egyes paraméternek van-e, illetve mennyire erős hatása van a kimenetre a vizsgált tartományon belül. A módszer alkalmazásakor célszerű a kísérleteket véletlenszerű sorrendben elvégezni. [62].

A kísérlet tervezéskor három faktoros, kétszintű módszert alkalmaztam. A három faktor a már említett bemeneti paraméterek (feszültség, pH, itakonsav koncentráció). A kísérlet tervezésnél mindhárom paraméter esetén a két szélső értéket és a centrum pontot (mindhárom

paraméter középső értéke) vettem. A paraméter tartományokat a valós itakonsav fermentáció és az elektrodialízis határozta meg. A program 7 beállítást jelölt ki: három párhuzamos mérést a paraméterek centrális értékeivel, illetve négy beállítást a paraméterek szélső értékeinél.

A centrum pontban végzett párhuzamos mérések alapján számolható a szórás, mely a mérési módszer reprodukálhatóságát mutatja. Továbbá információt kapunk arról, hogy az adott paraméter mennyire szignifikáns (hatásos) a kimenetre (áramhatásfokra), valamint az un. görbeség vizsgálat alapján meghatározható, hogy mennyire helyes a lineáris közelítés, vagy magasabb fokú polinom írja-e le jobban a hatás jellegét.

2.4 Az EDBM elektrodialízis berendezés fő elemei

Az elektrodialízis kísérleteket a MemBrain® (P EDR-Z/4x) típusú, bipoláris membránt is tartalmazó elektrodialízis (EDBM) berendezéssel végeztem. A készülék legfontosabb eleme a 10 membrán tripletből álló membrán egység. Minden membrán tripletet kationcserélő-, bipoláris- és anioncserélő-membrán alkot, ebben a sorrendben, anódtól katód felé haladva. A membránok közé a folyadékáramlás és a megfelelő turbulencia biztosítására távtartó hálókat építettek be. A 10 db membrán tripletet egy-egy platinázott titán elektród, az anód és a katód zárja. Az elektród tereket egy-egy kationcserélő membrán határolja el a szétválasztandó folyadékterektől. Az elektród térben 0,5 mól/L koncentrációjú Na₂SO₄ elektrolit oldat kering. Ez biztosítja az elektromos kontaktust, ugyanakkor a vizsgált folyadék nem okozhat korróziót az elektród felületén.

A membrán egységben négy folyadéktér különül el. Minden egyes folyadéktér egy-egy puffertartállyal van összekötve. A folyadékot a puffertartály és a membrántér között centrifugál szivattyú keringteti. A puffertartályok szükség szerint termosztálhatók.

Az elektrodialízis berendezés tartalmaz egy egyenáramú tápegységet, mely az anóddal, illetve a katóddal van összekötve.

A **2.3. táblázatban** az elektrodialízis berendezés legfontosabb működési paramétereit foglaltam össze, míg a **2.4. táblázat** az ioncserélő membránok fő membrántechnikai jellemzőit tartalmazza.

2.3. táblázat Az EDBM-Z/4x10-0.8 CAB jelű elektrodialízis berendezés főbb paraméterei

Paraméter	Érték
Membrán modul össz. hasznos felülete	1.984 cm ²
Egy membrán felülete	5,6 x 20,6 = 115,4 cm ²
Egy membrán hasznos felülete	4 x 16 = 64 cm ²
Membrán tripletok száma	10 triplet
RALEX® anioncserélő membrán	10 db
RALEX® kationcserélő membrán	11 db
RALEX® bipoláris membrán PP	10 db
Távtartó vastagsága	0,8 mm
Elektród (Platinával bevont titán)	2 db (anód + katód)
EDBM modul mérete	13,5 x 9,0 x 20,5 cm
Keringtetett folyadékok térfogati sebessége	25 – 60 L/h
Működési hőmérséklet	10 – 35 °C
Működési feszültség	max. 3 V / triplet
Tápegység működési tartománya	max. 35 V / 3 A

2.4. táblázat Az ioncserélő membránok legfontosabb jellemzői

Jellemző	Anioncserélő membrán RALEX®AMH-PES	Kationcserélő membrán RALEX®CMH-PES
Ioncserélő funkciós csoport	R-(CH ₃) ₃ -N ⁺ quaterner amino-	R-SO ₃ ⁻ szulfo-
Membrán anyaga	polietilén / poliészter	polietilén / poliészter
Permszelektivitás (0,5 / 0,1 mol/L KCl)	> 90 %	> 90 %
Egyenáramú ellenállás (0,5 mol/L NaCl)	< 7,5 Ωcm ²	< 8,0 Ωcm ²
Hőstabilitás	max. 50 °C	max. 50 °C
Duzzadt membrán vastagsága	< 0,75 mm	< 0,70 mm
Transzportszám (0,5 / 0,1 mol/L KCl)	> 95 %	> 95 %

2.5 Online mérések

Az elektrodialízis kísérletek során az alábbi paramétereket rögzítettem folyamatosan:

- A pH méréshez Mettler Toledo, Seven Easy pH-mérőt használtam, manuális leolvasással. A kezdeti kísérletek során a pH mérők egy adatgyűjtőn keresztül online rögzítették az aktuális pH értékeket. Az adatok kiértékelésekor azonban azt tapasztaltam, hogy első sorban a magasabb elektrodialízis-áram tartományban, a mért pH értékek irreálisak voltak (negatív, illetve 14 felett). A pH-mérő jele elektromosan eltolódott. Online pH-mérést, adatgyűjtést akkor tudtam volna végezni, ha a pH-

mérőkör bementi ellenállása kellően nagy lett volna, vagy a mérőkör galvanikusan le lett volna választva.

- Az elektrodialízis alatt az áramot Metrix MTX328I Digital Multiméterrel mértem és az adatokat SX-DMM v 2.3 software segítségével rögzítettem a PC-n.
- Az egyes folyadékterek elektromos vezetőképességét átfolyós cellában, RADELKIS OK-102/1 típusú vezetőképesség mérővel mértem. A műszerhez RADELKIS OK-9023 típusú elektród volt csatlakoztatva, melynek cellaállandója 0.97 cm^{-1} volt.
- A folyadékterek pontos itakonsav tartalmát offline HPLC elemzéssel határoztam meg. A kísérletek alatt az itakonsav koncentráció kvalitatív nyomon követésére a vizsgált folyadékot a Hitachi L-7400 típusú UV fotométer átfolyós küvettáján vezettem át. A mérést 256 nm -n végeztem. A fotométert a mérés előtt desztillált vízzel kinulláztam. Mivel a fotométer csak 10 g/L alatti itakonsavat tudott mérni, ezért, általában nem lehetett a teljes kísérlet alatt egy cellatér itakonsav tartalmát mérni. Az elektrodialízis kísérlet elején a Savas koncentrátumot, míg a kísérlet végén a Diluátumot vezettem át a fotométeren. Így folyamatosan gyomon követhető volt az itakonsav vándorlás. Amikor a Diluátumban lecsökkent az itakonsav tartalom, a fotométer jele állandósult egy minimum értéken. Ez jelentette a kísérlet végét. Ezt az utólagos HPLC méréssel is alátámasztottam.
- A vezetőképesség mérők és a fotométer potenciál jeleit National Instruments USB-6009 14-bites, sokcsatornás adatgyűjtőn keresztül, LabVIEW 8.5 software segítségével gyűjtöttem és dolgoztam fel a PC-n.

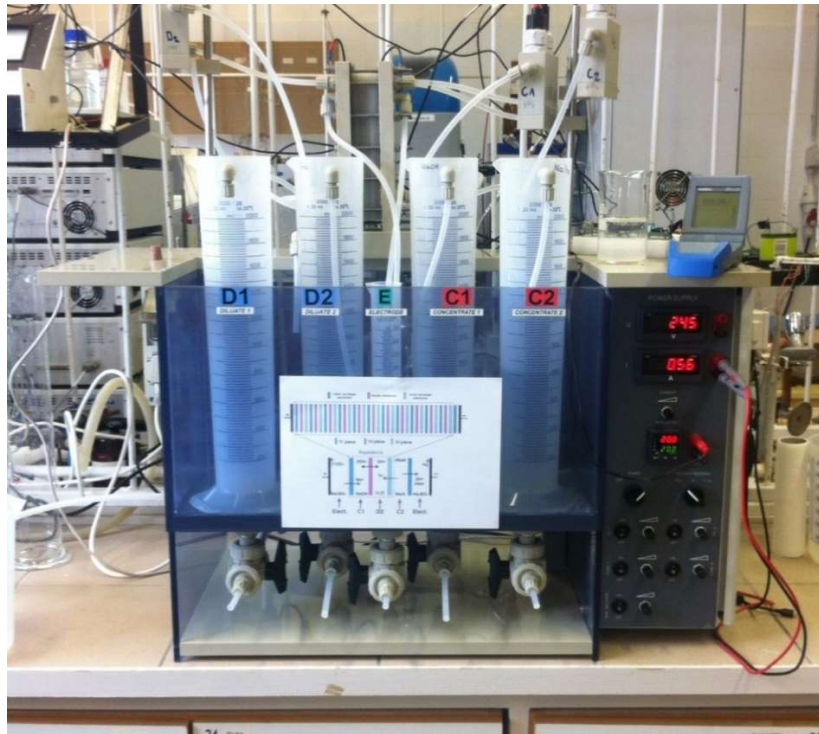
3. Eredmények

A kutató munkám középpontjában az itakonsav elektrodialízisének vizsgálata volt. A kísérleteket itakonsav tartalmú modell oldatokkal kezdtem és meghatároztam az elektrodialízis optimális paramétereit. Későbbi kísérleteknél a modell oldat az itakonsavon kívül olyan komponenseket is tartalmazott, melyek megtalálhatók a fermentlében. Végül valós itakonsav fermentációból származó oldattal végeztem az elektrodialízist. Így a csak itakonsavat tartalmazó modell oldatból fokozatosan jutottam el a valós fermentlé elektrodialíziséhez. A különböző paraméterek mellett végzett elektrodialízis kísérleteknél kiszámítottam az itakonsavra vonatkozó áramhatásfokot és ez alapján minősítettem az elválasztást. Az értékelésnél figyelembe vettem az itakonsav fermentáció optimális paramétereit is, hiszen, a kutatás végső célja a fermentor/elektrodializátor integrált rendszer összeállítása és vizsgálata. A kezdeti lehetséges modellkísérletek nagy számának csökkentésére statisztikai módszereken alapuló kísérlet tervezést használtam. Az itakonsav előállítás gazdaságosságának növelése érdekében többciklusú elektrodialízist vizsgáltam, melynek során a Savas koncentrátum itakonsav tartalma jelentősen nőtt. A magasabb itakonsav koncentráció javította a kristályosítási lépés hatékonyságát.

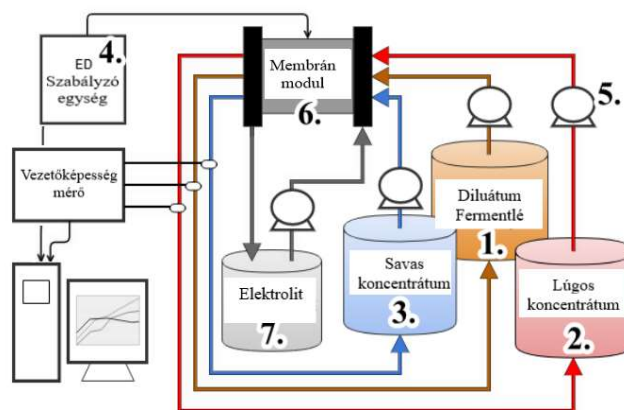
3.1 Bipoláris elektrodialízis berendezés működése

Az elektrodialízis kísérletekhez használt MemBrain® (P EDR-Z/4x) típusú elektrodializátor tíz membrán tripletet tartalmaz. A berendezésről készült fénykép a **3.1. ábrán** látható. A **3.2. ábra** a készülék elemek kapcsolódását mutatja, sematikusán. A membrán triplet egy anioncserélő-, egy kationcserélő- és egy bipoláris membránból áll. A membránok között távtartó háló biztosítja a folyadék áramlást és a megfelelő turbulenciát. A tíz membrán tripletből álló egység két végén található az anód, illetve a katód.

A membrán egységben a tömítések és a membránok által határolva, négy folyadéktér különül el: a Diluátum, a Savas koncentrátum, a Lúgos koncentrátum és az Elektrolit oldat. Mindegyik folyadéktérhez egy-egy puffer tartály csatlakozik. Az oldatokat változtatható szállítású centrifugál szivattyú keringteti a membrán egység és a puffertartály között. Az aktuálisan beállított folyadékáramlást rotaméter mutatja.



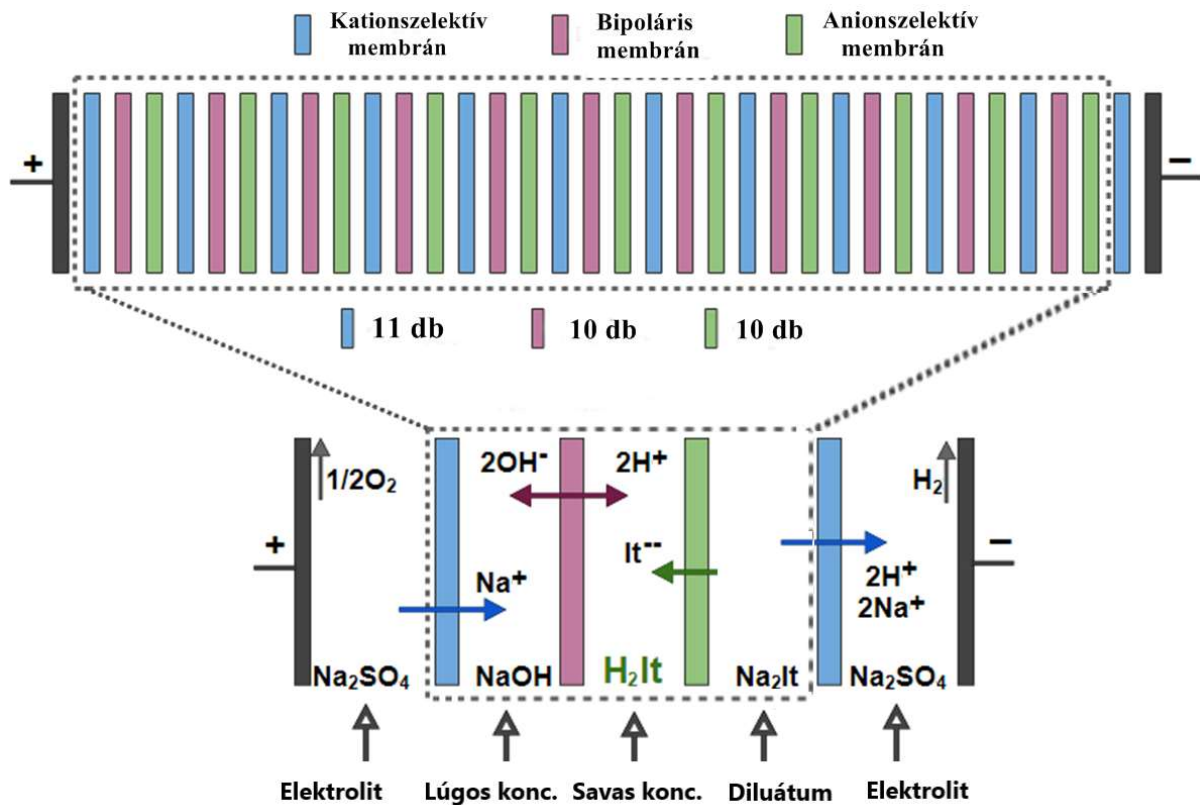
3.1. ábra EDBM elektrodialízis berendezés



3.2. ábra EDBM berendezés elemeinek technológiai kapcsolódása [III]

A berendezés indulásakor a Savas - és a Lúgos koncentrátum tartály egyaránt ioncserélt vízzel van feltöltve, míg a Diluátum tartály a vizsgált, szétválasztandó, itakonsavas oldatot tartalmazza. A berendezés egyenáramú tápegységét az elektródokhoz csatlakoztatva, az egyes folyadékterek ionjai az elektromos tér hatására a megfelelő elektród irányába vándorolnak. A tápegység kimeneti árama, illetve potenciálja egyaránt állítható. Az ionok vándorlását az

ioncserélő membránok és a bipoláris membrán szabályozza. A folyamat végére a Diluátum kezdeti anion tartalma a Savas koncentrátumban dúsul, egyesülve a bipoláris elektródból keletkező H^+ ionnal. A kation tartalom a Lúgos koncentrátumban dúsul, egyesülve a bipoláris elektród másik oldalán kilépő OH^- ionnal. A nem vezető komponensek a Diluátumban maradnak. A membránok elrendezését szemlélteti a 3.3. ábra.



3.3. ábra EDBM berendezés membrán elrendezése

Az elektrodializáló berendezés membrán egysége a benne lévő ioncserélő membránokkal és a közti folyadékterekkel elektromosan sorba-kapcsolt ellenállások rendszerének tekinthető, ahol az eredő ellenállás az egyedi ellenállások összege. Az ioncserélő membránok ellenállása a mobilis ellenionoknak köszönhetően jóval kisebb, mint a folyadékterek ellenállása. Induláskor a Savas koncentrátumban és a Lúgos koncentrátumban lévő ioncserélt víz ellenállása nagyon nagy, ezért a kezdeti áram nagyon kicsi. Az elektromos erőter hatására a Diluátumból megindult ionok, valamint a bipoláris membránban bekövetkező víz-disszociációból keletkező OH^- és H^+ eljutnak a Lúgos-, illetve a Savas koncentrátumba, ezért az eredő ellenállás fokozatosan

csökken, az áram egyre nő. Kezdetben a mozgékonyabb Na^+ , OH^- , és H^+ ionok, valamint a szerves tápsók ionjai a meghatározók az elektromos áram vezetésénél, majd később, egyre nagyobb részben az itakonát ionok.

Az elektrodialízis árama jellemzően egy haranggörbe, kezdetben fokozatosan nő, majd egy maximum után folyamatosan lecsökken a kezdeti érték közelébe. Ennek az a magyarázata, hogy az elektromos erőtér hatására a Diluátumból elvándorolnak a vezető komponensek és végül csak a semleges töltésű molekulák (leginkább cukor oldat) maradnak, melyek nem vesznek részt az áram vezetésben. Ezáltal a membrán egység Diluátum szegmenseinek elektromos ellenállása megnő, növekszik az össz ellenállás, ami állandó kapocsfeszültség mellett az áram fokozatos csökkenéséhez vezet. Az áram csökkenésével egyidőben csökken a bipoláris elektródoknál a víz disszociációja, így a keletkező OH^- és H^+ ion is. Amikor az áram a minimális értékre lecsökken, ez az elektrodialízis befejezését jelenti. A folyamat nyomon követhető online módon az itakonsav fotométeres követésével, illetve offline HPLC-s elemzéssel. Az áram értékek és az elektrodialízis időtartama adott membránösszeállításnál a dializálandó oldat összetételétől és az elektrodialízis berendezésen beállított kapocsfeszültségtől függ. Adott kísérleti beállítások mellett kialakult értékek (áram, vezetőképesség, pH stb.) az elektrodialízis fő folyamatainak és a hatásfokot csökkentő mellékfolyamatoknak az eredője [50].

3.2 Az elektrodialízis kísérletek paraméterei

A kísérletek paramétereinek kiválasztásánál és a paraméter tartományok meghatározásánál az itakonsav tulajdonságait, valamint a fermentáció optimális paramétereit, továbbá az elektrodializátor műszaki jellemzőit vettem figyelembe. Ezek alapján három paraméter változtattam és vizsgáltam a paraméterek hatását az elektrodialízisre:

- Az oldat kezdeti összetétele;
- Az oldat kezdeti pH-ja;
- Az alkalmazott kapocsfeszültség.

Az első kísérlet sorozatot különböző itakonsav tartalmú oldatokkal végeztem. Az itakonsav tartalom 5-60 g/L között változott. Az oldhatóságot és egy átlagos itakonsav fermentációt egyaránt figyelembe véve, a 60 g/L tekinthető a maximumnak. Tekintettel arra, hogy az itakonsav fermentáció termékgátlása 20-25 g/L környékén jelentkezik, ezért gyakorlati

szempontból érdemes volt megvizsgálni az alacsonyabb itakonsav tartalomnál is az elektrodialízist.

Az első sorozatot követően több sorozatban végeztem méréseket: az itakonsav tartalmú oldathoz először hozzáadtam a glükózt, mint fő komponenst, majd a későbbi sorozatban a fermentáció jellemző tápsóit, a szükséges koncentrációban, és ilyen összetétellel végeztem kísérleteket. Végezetül valós fermentációból származó oldattal mértem. A fermentlevet a membrán egység gyors eltömődésének elkerülésére visszasterilezve és centrifugálás után használtam.

A vizsgált oldat kezdeti pH tartományát 2-8 között határoztam meg. A fermentáció alapvetően pH = 2-3 -nál ideális. Ezen az alacsony pH-n viszont az itakonsav igen kis mértékben disszociálódik, ami az elektrodialízis szempontjából nem kedvez az itakonsav vándorlásnak. Az elválasztás szempontjából várhatóan a pH = 8 a legjobb, mivel itt teljes mértékű az itakonsav disszociációja (lásd **1.2. ábra**). A pH = 8 érték előre láthatólag csak a fermentlé végső feldolgozásakor jöhet szóba. Ha az integrált fermentor/elektrodialízis rendszerben gondolkozunk, ez a lehetőség a rendszeres pH oda-vissza állítás miatt nem célszerű.

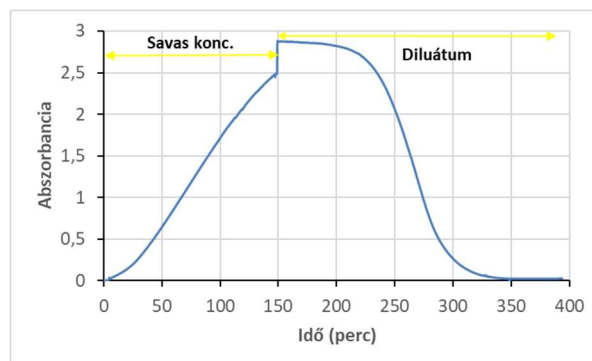
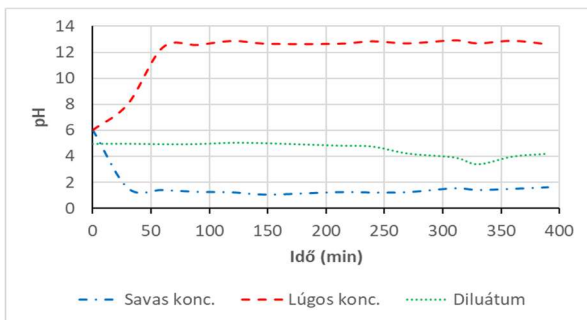
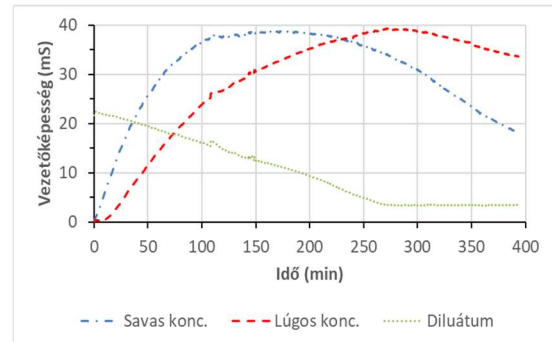
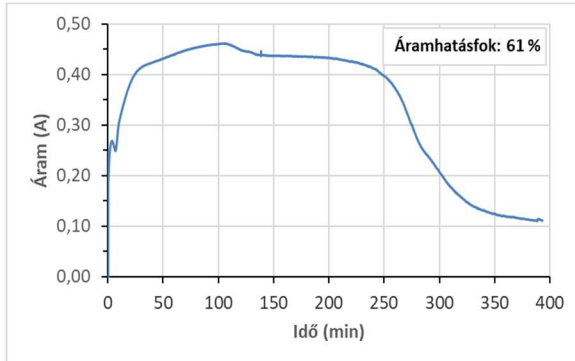
Az elektrodialízis kísérleteknél vizsgált harmadik paraméter a membrán egység anódjára-katódjára adott kapocsfeszültség (potenciál). Ez a készülék műszaki paraméterei alapján maximum 30 V. Első közelítésben elmondható, hogy a nagyobb potenciálnál a térerő is nagyobb, ami az ionok gyorsabb vándorlását segíti elő. A potenciált azonban nem lehet bármennyig növelni. A felső határ a kialakuló áramsűrűségtől függ. Az ún. Túláram tartományban az áramsűrűség kis potenciál változásra is jelentősen megugrik. A határáramsűrűség felett a vízbontás válik dominánssá és az elektrodialízis meghatározó folyamata a keletkező OH^- és H^+ ionok vándorlása. Ez két szempontból is előnytelen: Egyrészt csökken az itakonsav vándorlásra fordított áramhatásfok, másrészt a membrán két oldalán lokálisan megváltozik a pH (Dilute oldalon pH csökkenés, míg a Koncentrátumban pH növekedés). Ez szélsőséges esetben sókiváláshoz, vagy a membrán károsodásához vezetne.

3.3 Kísérletek során mért értékek és az adatok feldolgozása

Az elektrodialízis kísérletek során folyamatosan rögzítettem a cellaáramot és az elektromos vezetőképességet. A pH-t manuálisan mértem és az időközönként vett folyadék minták itakonsav tartalmát HPLC-vel határoztam meg. Az itakonsav tartalom folyamatos,

kvalitatív követésére fotométert használtam. A 3.4. ábrán egy tipikus elektrodiálízis során rögzített adatok ábrázolása látható.

Az elektrodiálízis kísérleteknél a görbék lefutása, a tendenciák nagyon hasonlóak a 3.4. ábrán bemutatottakhoz. A különbség leginkább a maximum értékekben és az időtartamban van. A legfontosabb paraméterek görbéi egy tipikus fermentlé modell oldat elektrodiálízisét mutatja.



3.4. ábra Elektrodiálízis során mért adatok ábrázolása

- Az áram minden esetben maximumon átmenő görbe szerint változik (lásd **3.1.** fejezet). Magasabb kezdeti Diluátum pH-nál az áram maximum nagyobb, hiszen a pH emelésével többlet ionokat adtunk a rendszerhez (Na^+ és OH^- , amik ráadásul mozgékonyabbak az itakonát ionnál) és magasabb pH-n az itakonsav is jobban disszociál. A nagyobb kapocsfeszültség szintén növeli a kialakult áramot. A nagyobb áramú elektrodialízisnél gyors áramfelfutás után viszonylag rövid lecsengést tapasztaltam, míg egy alacsonyabb áram-maximumnál elhúzódóbb a folyamat. Ha csak a pH-t növeltem (minden más paraméter változatlan maradt), az itakonsavra számolt áramhatásfok minden esetben kisebb volt, mint azonos beállítás mellett alacsonyabb pH-n. Ennek egyértelmű magyarázata, hogy az áramvezetésben az itakonát ionon kívül más ion is részt vesz.
- A Savas- és a Lúgos koncentrátum elektromos vezetőképességi görbéje párhuzamosan halad az áram görbével. A Diluátum vezetőképessége pedig folyamatosan csökken, ahogy egyre jobban fogynak az ionos komponensek. Végül a Diluátum gyakorlatilag ioncserélt víz, vagy cukor oldat, melynek vezetése minimális.
- A pH görbéket vizsgálva azt tapasztaltam, hogy a Savas koncentrátum pH-ja, amint az áram megindul, nagyon gyorsan lecsökken, a bipoláris membránban létrejött víz-disszociációnak köszönhetően. A Lúgos koncentrátum pH-ja hasonló gyorsan emelkedett a bipoláris membránból származó OH^- miatt. A Diluátum pH-ja (kezdeti pH állítás nélkül) gyakorlatilag végig változatlan. Az itakonsav teljes elvándorlásakor, a folyamat végén mindhárom tartály pH-ja enyhén tart a semleges érték felé. A folyamat végén a pH változása a vezetőképességi görbékhez képest kis mértékű késést mutat, feltehetően a cellaterekben lévő oldatok pufferkapacitása miatt.
- Az itakonsav a Savas koncentrátumban dúsul. A minták HPLC-s elemzése minden esetben S alakú görbét mutat, mely idővel fokozatosan telítésbe megy. Az itakonsav kis mértékben, - kb. egy nagyságrenddel kisebb koncentrációban, - a Lúgos koncentrátumban is megjelenik a membránok közötti tömítési hibák következményeként, valamint amiatt, hogy az ioncserélő membránok szelektivitása nem 100 %-s [63]. Az ionok vándorlásával egyidőben szembetűnő volt az egyes szegmensek puffertartályaiban a folyamatos térfogat változás. A Lúgos koncentrátum térfogata nőtt, míg a Savas koncentrátumé, illetve a Diluátum térfogata csökkent. A két

tartály térfogat csökkenése kiadta a Lúgos koncentrátumban megfigyelt növekedést. A térfogat változás legnagyobb részben az Elektro-ozmózis és a Hidraulikai-ozmózis következménye [50], de a membrán egység szétszedésekor felfedezhető volt az egyes membrán szegmensek közötti átszivárgás nyoma is. Ezért a koncentráció számításnál mindig az induló térfogatokra számoltam vissza.

- Az itakonsav tartalom fotométeres nyomon követésénél figyelembe vettem a fotométer itakonsavra vonatkozó kb. 10 g/L-s felső méréshatárát. Ezért először a Savas koncentrátumot vezettem át a fotométeren, majd, amikor már a görbe telítésbe ment (az átvándorolt itakonsav koncentráció elérte a 10 g/L-t) a fotométeren a Diluátumot vezettem át. Látható, hogy az elektrodialízis végére a Diluátum kiürült, a fotométer abszorbancia jele lecsökkent.

3.4 Modell oldatokkal végzett kísérletek eredményei

3.4.1 Kísérlet tervezés, variancia-analízis eredményei

A kísérletek első részében itakonsav tartalmú oldatokat használtam és a három paraméter (Diluátum kezdeti pH-ja és kezdeti itakonsav koncentrációja, illetve a kapcsolófeszültség) változtatásával kerestem az elektrodialízis optimumát. A szükséges kísérletek számának csökkentése, az eredmények statisztikai értékelése és a szignifikánsan ható tényezők azonosítása érdekében variancia-analízisen (ANOVA) alapuló kísérlettervezést (Statistica 8 programban) használtam. A kísérlet-tervező programban egy két szintes (2^f -típusú, ahol f a vizsgált független változók száma) részfaktor terv került összeállításra. A két szint a faktorok szélső (alacsony és magas) értékei, ami kiegészül a terv centrum pontjában végzett ismétlésekkel. A paraméter kombinációk a kísérleti terv szélsőértékeinek figyelembevételével 4 különböző beállítást eredményezett, plusz három párhuzamost a centrum pontban. Így adódott az összesen hét kísérleti körülmény, ahol a vizsgálatokat végeztem. A kísérletek paraméter beállításait a **3.1. táblázat** tartalmazza.

3.1. táblázat Statistica 8 által meghatározott paraméter-beállítások („(C)” jelöli a centrum pontot)

Standard Run	Design: 2**(3-1) design (Spreadsheet1)			
	CenterPt	pH	U(V)	Conc. (g/L)
1	1	2.0	10	60
3	1	2.0	30	5
4	1	8.0	30	60
5 (C)	0	5.0	20	33
6 (C)	0	5.0	20	33
7 (C)	0	5.0	20	33
2	1	8.0	10	5

Az elektrodialízis kísérleteket a 3.3 fejezetben leírt módon értékeltem ki és ábrázoltam az adatokat. A 3.2. táblázat tartalmazza a bemeneti paramétereket és kísérletek során meghatározott itakonsav áramhatásfok értékeket. Az áramhatásfok értékeket az áramgörbe integráljából, valamint a (9) - (11) egyenletek felhasználásával számoltam.

$$\eta (\%) = 100 \cdot \frac{Q_{elméleti}}{Q_{eff}} \quad (9)$$

$$Q_{elméleti} = B_m \cdot z \cdot F \quad (10)$$

$$Q_{eff} = \int I dt \cdot N \quad (11)$$

ahol B_m (mol) a t (s) idő alatt átvándorolt anyag mennyisége, z az ion töltése (ekv/mol), F a Faraday állandó (96 485 C/ekv), I a cellaáram (A), N a cellapárok száma.

3.2. táblázat Beállított paraméterek és áramhatásfok értékek

pH	Bementi paraméterek		Áramhatásfok (%)
	Kapocsfeszültség (V)	Koncentráció (g/L)	
2.0	10	60	88,40
2.0	30	5	69,00
8.0	30	60	66,10
5.0	20	33	96,60
5.0	20	33	99,20
5.0	20	33	91,90
8.0	10	5	80,40

Az első mérés sorozatból két, gyakorlati szempontból fontos következtetés vonható le:

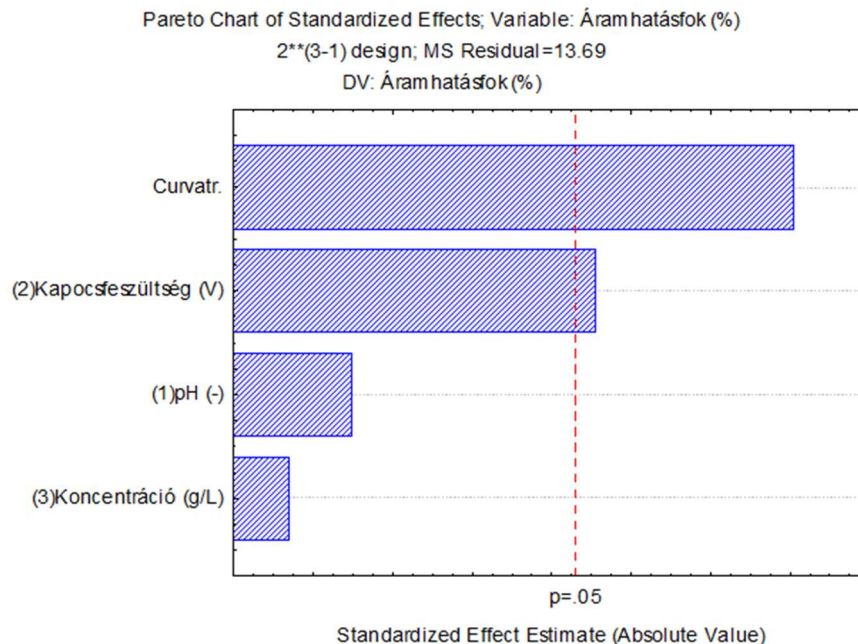
- A vizsgált MemBrain® (P EDR-Z/4x) típusú elektrodialízis berendezés ebben az összeállításban alkalmas a Na-itakonát oldat szelektív szétválasztására. A Diluátum kezdeti itakonsav tartalma a Savas koncentrátumban dúsult, míg a Diluátumból gyakorlatilag teljesen elvándorolt és a Lúgos koncentrátumban is lényegesen kisebb mennyiségű itakonsav került. A **3.3. táblázat** Na-itakonát oldat itakonsav tartalmának vándorlását mutatja az elektrodialízis végére.
- A legnagyobb áramhatásfokot közepes beállítások mellett értem el, de az áramhatásfok a teljes vizsgált tartományban elfogadható. Ezt támasztja alá Beyer Éva és munkatársai [64] által összeállított cikk adatai is. A review-ban részletesen vizsgálták a legfontosabb, fermentációval előállított szerves savak elektrodialízisét. A cikkben szereplő összefoglaló táblázatban az áramhatásfok értékek 52 % és 100 % között változnak. Moresi és munkatársai [65], [66] különböző szerves savak elektrodialízisét vizsgálták normál ED berendezésben (bipoláris membrán nélküli). Itakonsavra, különböző beállítások mellett 61-97 % közötti áramhatásfokot értek el. Shee és munkatársa [67] kitozán elektrodialízisét vizsgálták. Ők 80,4 %-s áramhatásfokot értek. Tapasztalatuk szerint egy normál elektrodialízis cella esetén az áramhatásfok 50% körüli, míg laborcélra fejlesztett készülék esetén 80-90 % az elfogadható. Paleologou és munkatársai [63] az áramhatásfok időbeli csökkenését a másodlagos folyamatok [50] (pl. ionok szivárgása stb.) felerősödésével magyarázta.

3.3. táblázat Itakonsav tartalom az egyes cellatérben az elektrodialízis végén

Cellatér	Itakonsav koncentráció (g/L)
Lúgos koncentrátum	0,31
Diluátum	0,12
Savas koncentrátum	4,86

A Variancia analízissel azt szeretnénk volna meghatározni, melyek azok a paraméterek, melyek az áramhatásfokra szignifikáns mértékben hatnak és a vizsgált paramétertartományon belül mely irányba érdemes haladni az optimum eléréséhez. A **3.2. táblázatban** megadott bemeneti paraméterek és az áramhatásfok értékek alapján elvégeztük a szignifikancia ($p < 0,05$)

feltétel melletti) vizsgálatot. A vizsgálat eredményét a **3.5. ábrán** látható un. **Pareto diagram** mutatja.

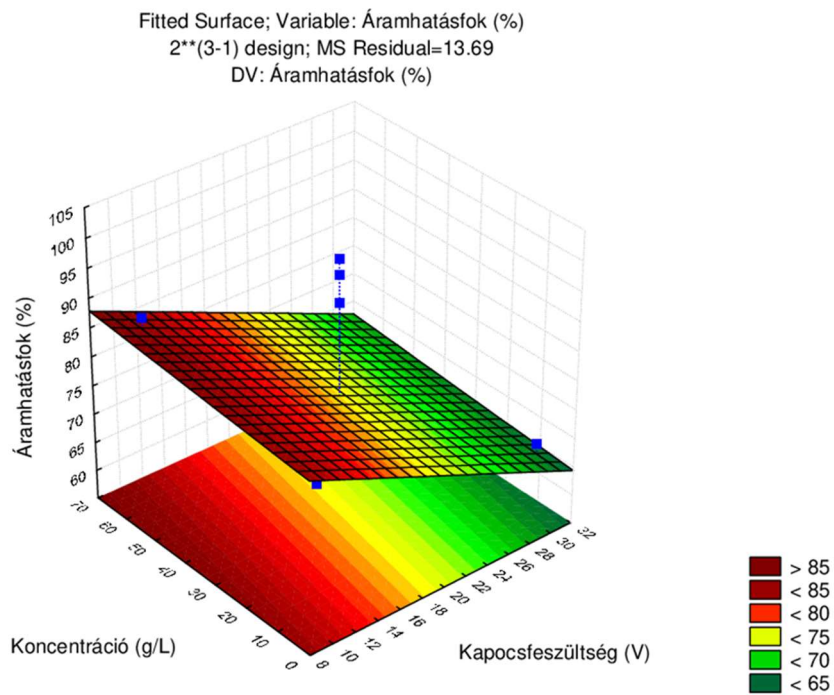


3.5. ábra Szignifikancia vizsgálat

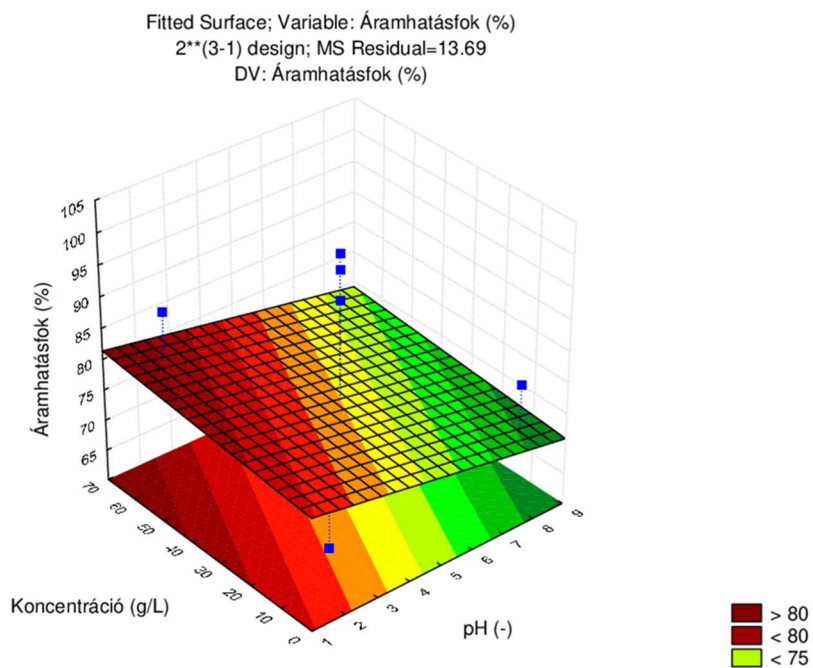
A Pareto diagram alapján két fontos következtetés vonható le:

- A Pareto diagramon szembejövő, hogy a Curvature (görbeség) értéke, jóval $p=0,05$ alatti. Ez egyértelműen a görbeség szignifikanciáját mutatja, vagyis az áramhatásfok függése a vizsgált bemeneti paraméterektől **nem írható le lineáris modellel.**
- A három faktornak (paraméternek) az áramhatásfokra **lineáris közelítés** mellett gyakorolt hatását (szignifikanciáját) értelmetlen vizsgálni, mivel a görbeség szignifikáns. Ezért a Pareto diagramról a **Kapocsfeszültség, a pH és a Kezdeti itakonsav koncentráció szignifikanciájára nem vontam le semmilyen következtetést.**

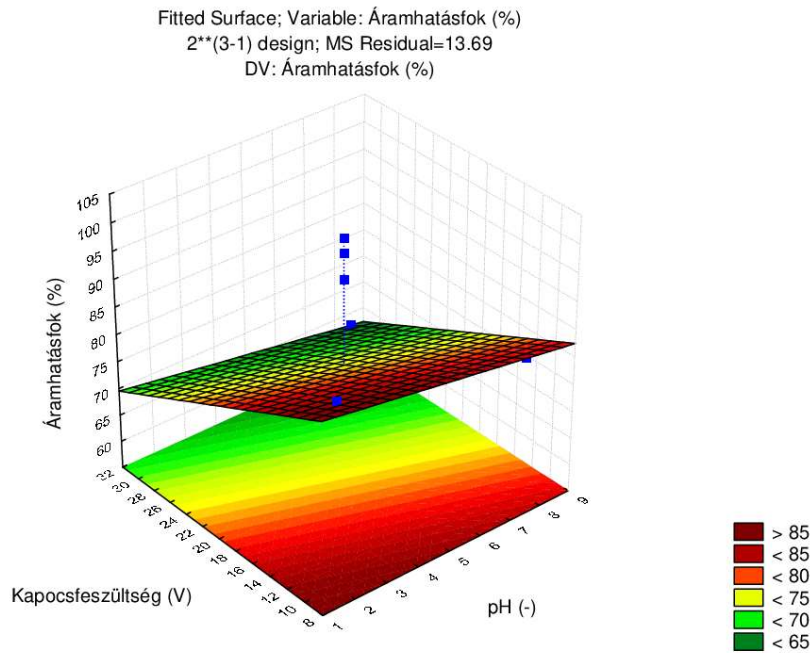
A **3.6. – 3.8. ábrákon** páronként ábrázoltam az áramhatásfok alakulását a bemeneti paraméterek függvényében. Itt is jól látható, hogy a mérési pontokra (kék pont) nem illeszthető síkfelület és várhatóan az optimum a paraméterek középső értéke környezetében van.



3.6. ábra Áramhatásfok a kapocsfeszültség és a kezdeti itakonsav koncentráció függvényében



3.7. ábra Áramhatásfok a pH és a kezdeti itakonsav koncentráció függvényében



3.8. ábra Áramhatásfok a kapocsfeszültség és a pH függvényében

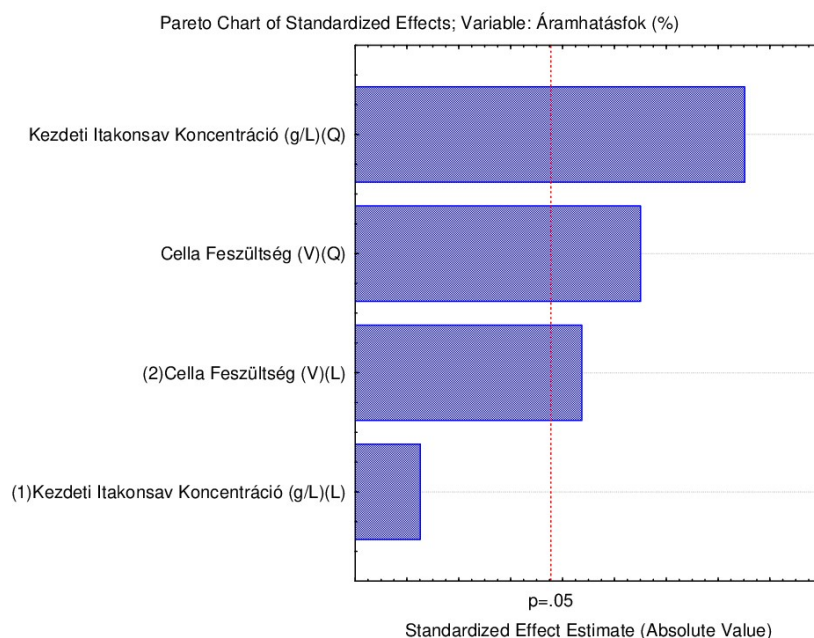
3.4.2 Optimalizálás eredményei

A három-faktoros kísérlet tervezés keretében végzett mérések azt mutatták, hogy az elektrodialízis jó áramhatásfokkal végezhető a vizsgált tartományban, azonban az optimális paraméterekre vonatkozóan nem kaptam megbízható eredmény. Ezért az optimum-keresés érdekében kettőre csökkentettem a paraméterek (faktorok) számát, s hatásukat 3 szinten vizsgáltam (3^f -típusú teljes faktoriális terv). A továbbiakban a Diluátum kezdeti pH-ját nem állítottam. A különböző itakonsav tartalmú modell oldatok bekeverése után a pH = 2 körülnek adódott. Ez azonos az itakonsav fermentáció optimális pH-jával [V]. Ezzel lényegében közelítettem a tervezett integrált folyamat körülményeihez is. A szűkített kísérleti tervet és a kapott itakonsav áramhatásfokot a **3.4. táblázat** tartalmazza:

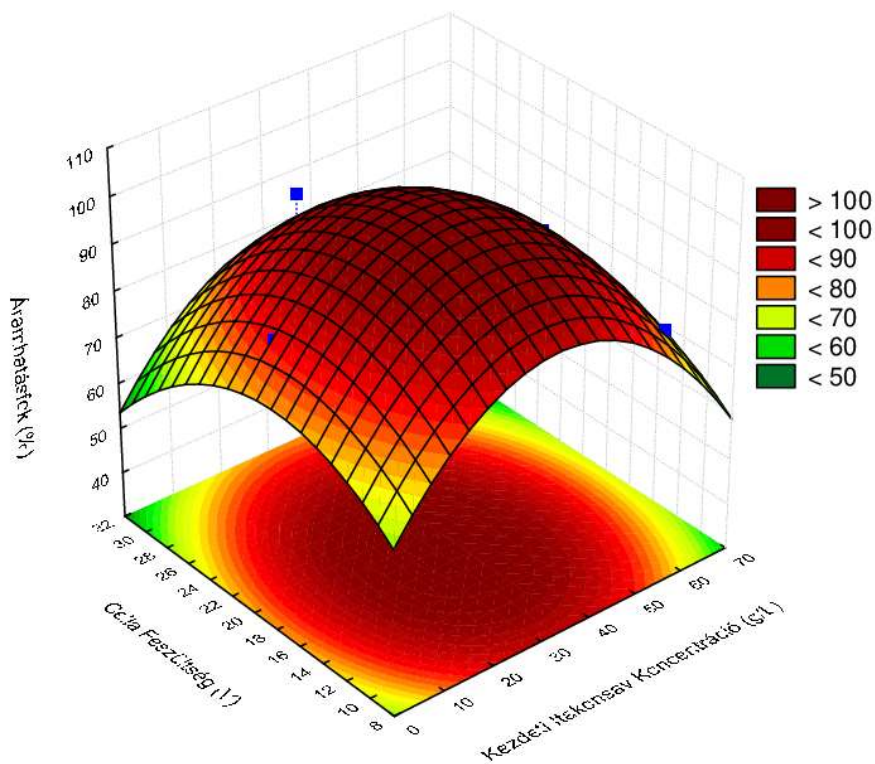
3.4. táblázat Itakonsav áramhatásfok a két paraméteres beállításkor

Bementi paraméterek		Áramhatásfok (%)
Kapocsfeszültség (V)	Koncentráció (g/L)	
10	5	77.9
	33	93.0
	60	79.5
20	5	86.7
	33	99.3
	60	85
30	5	63.6
	33	89.5
	60	66

Az előző sorozat görbeség vizsgálat (Curvature) eredményét figyelembe véve, ez esetben másodfokú görbe illesztést használtunk. A négyzetes tagokat is tartalmazó modell illesztés eredményei láthatók a 3.9. és 3.10. ábrákon, valamint a 3.5. táblázatban. A Pareto diagramból az látszik, hogy mind a Diluátum kezdeti itakonsav tartalma (Q), mind pedig az alkalmazott cella feszültség (Q) statisztikailag szignifikáns ($p < 0,05$) mértékben hat az áramhatásfokra, másodfokú közelítés mellett. A (Q) diagramok a négyzetes illesztés, míg az (L) diagrammok a lineáris illesztés szignifikancia értékei.



3.9. ábra Kétfaktoros, 3-szintes kísérleti terv Pareto diagramja



3.10. ábra Áramhatásfok a Cella feszültség és a Kezdeti itakonsav koncentráció függvényében

3.5. táblázat A modell számított értékei

Critical values; Variable: Áramhatásfok (%) (Spreadsheet4)			
Solution: maximum			
Predicted value at solution: 102.5681			
Factor	Observed Minimum	Critical Values	Observed Maximum
Kezdeti Itakonsav Koncentráció (g/L)	5.00000	32.81429	60.00000
Cella Feszültség (V)	10.00000	17.83747	30.00000

Az illesztett felület egyenlete:

$$z = 39,15 + 1,51 \cdot x - 0,023 \cdot x^2 + 4,31 \cdot y - 0,121 \cdot y^2 \quad 5 \leq x \leq 60, 10 \leq y \leq 30, \quad (12)$$

$$R^2 = 0,95, \quad 0 \leq z \leq 100$$

ahol x: a kezdeti itakonsav koncentráció (mol/L), y: a kapcsolófeszültség (V),

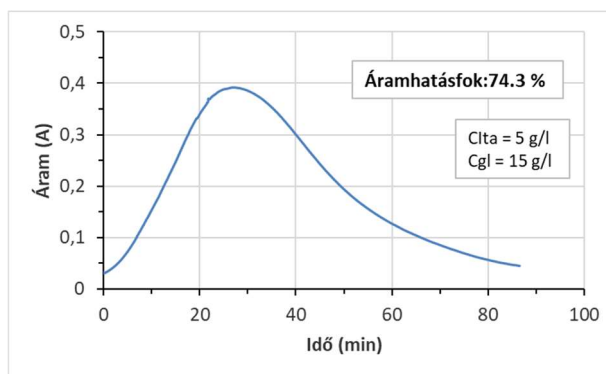
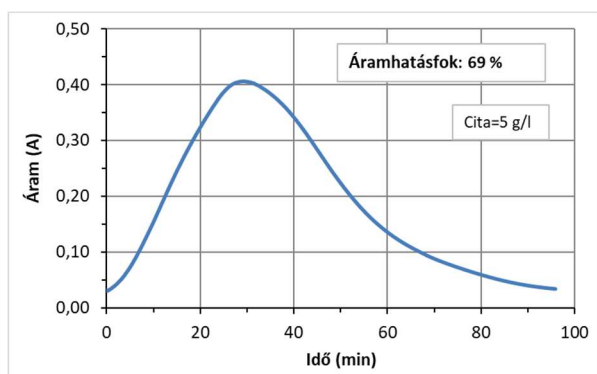
z: az áramhatásfok (%),

R²: az illesztés szórásnégyzete.

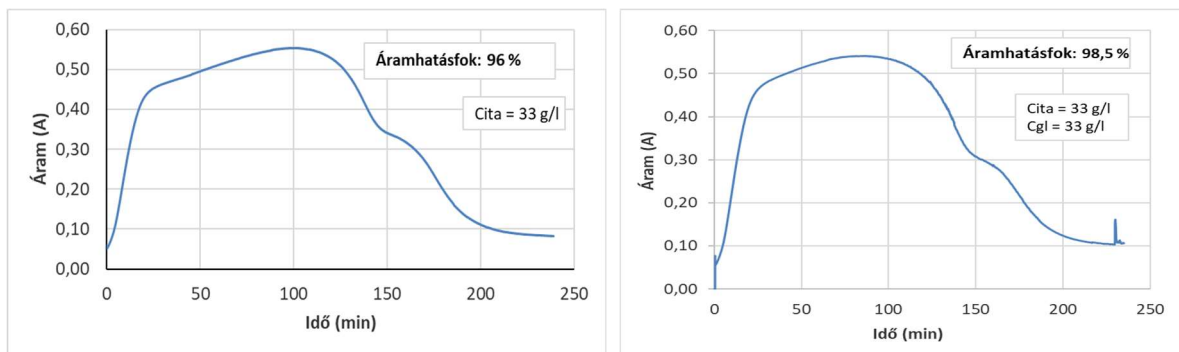
A mérési pontokra illesztett négyzetes modell nagyon jó illeszkedést mutat ($R^2 = 0,95$). Ezáltal a meghatározott optimum kísérleti adatokkal kellően alátámasztott. A modell érvényessége csak a vizsgált tartományon belül van. Ezen kívül semmit nem tudunk mondani az áramhatásfok értékére. A számított értékek igazolják a korábbi feltételezést, miszerint az elektrodialízis optimuma a **3.1. táblázat** középső értékeinek környezetében van. A négyzetes modellel becsült áramhatásfok optimuma 32,8 g/L Diluátumbeli kezdeti itakonsav koncentráció és 17,8 V kapocsfeszültség mellett adódik.

3.4.3 Glükóz és tápsó tartalmú itakonsav modell oldattal végzett elektrodialízis kísérletek eredményei

Az elektrodialízis optimumát eddig tisztán itakonsav oldatban kerestem. A valós fermentlé elektrodialízisének jobb modellezése érdekében fokozatosan változtattam a modell oldat összetételét. Első körben az itakonsavhoz glükózt adtam és összehasonlítottam az elektrodialízis lefutását glükózzal és glükóz nélküli itakonsav oldat esetén. Mivel az eddigi méréseket is az itakonsav áramhatásfoka alapján minősítettem, ezért ezúttal is az áramgörbéket és a belőlük meghatározott itakonsav áramhatásfokokat vettem össze. A **3.11. ábrán** 5 g/L kezdeti itakonsav tartalmú oldatot használtam, míg a **3.12. ábrán** 33 g/L itakonsav tartalmú modell oldat elektrodialízisét vizsgáltam.



3.11. ábra Elektrodialízis árama glükóz nélküli és glükózt is tartalmazó 5 g/L-s itakonsav oldatnál



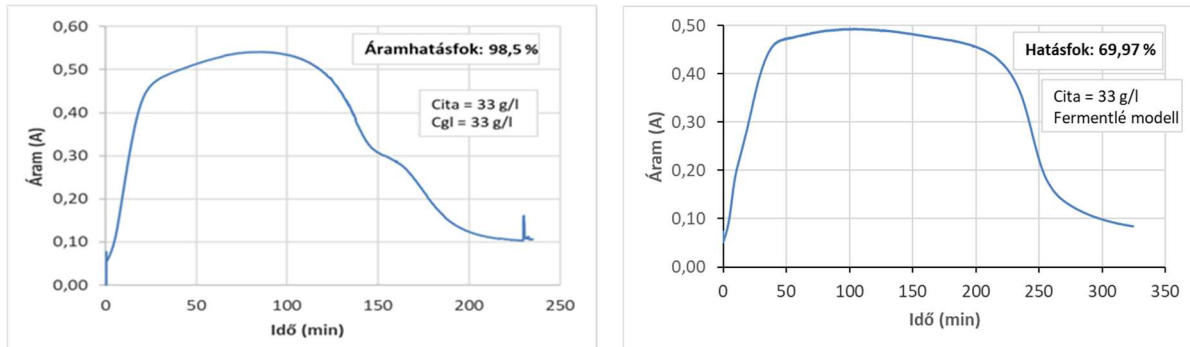
3.12. ábra Elektrodialízis árama glükóz nélküli és glükózt is tartalmazó 33 g/L-s itakonsav oldatnál

Az áramgörbék alapján szinte teljesen azonos a glükóz tartalmú és a glükóz mentes itakonsav modell oldat elektrodialízise. A példaként bemutatott mindkét kezdeti itakonsav koncentrációnál azonosak voltak a két – két párhuzamos (azonos kezdeti itakonsav, glükózzal - glükóz nélkül) kísérletnél az áram maximumok és az időbeli lefutások. A számított itakonsav áramhatásfok értékek csupán csak néhány százalékbán tértek el egymástól. Ez alapján egyértelműen kijelenthető, hogy a glükóz tartalom nem befolyásolja az elektrodialízist. Ez a végeredmény egyébként megfelel az előzetes várakozásnak, hiszen a glükóz egy semleges molekula, így nem vesz részt a potenciál különbség által létrejött vándorlásban. A mérések eredményei megerősítettek abban, hogy a glükóz ottmarad a Diluátumban. Így lehetőség lesz a későbbi fermentleves kísérleteknél arra, hogy a fermentáció közben elvett oldatot az itakonsav eltávolítása után vissza lehessen vezetni a fermentációba. Hiszen a fő tápkomponens (glükóz) az oldatban marad, csupán az itakonsavat távolítanám el, megszüntetve ezzel a termékátlást.

A valós fermentlé összetételéhez még jobban közelítve, az itakonsav modell oldathoz a glükózon kívül hozzáadtam a legfontosabb tápsókat is. A vizsgált fermentlé modell oldat összetétele:

- 33 g/L Itakonsav,
- 100 g/L glükóz x 1 víz,
- 2,25 g/L Ammónium-nitrát,
- 5 g/L Kálcium-klorid x 2 víz,
- 1 g/L Magnézium-szulfát x 7 víz.

Az így kapott modell oldattal elektrodialízis méréseket végeztem és az eredményeket összehasonlítottam a csak glükózt és itakonsavat tartalmazó modell oldat értékeivel. A **3.13. ábrán** a két kísérlet áramgörbéi láthatók.



3.13. ábra Elektrodialízis árama glükózt tartalmazó itakonsav oldatnál és fermentlé modell tápoldatnál

Az ionos tápsók hozzáadásával jelentősen lecsökkent az itakonsav áramhatásfoka. Ez egyértelműen annak a következménye, hogy többlet ionok kerültek a rendszerbe, melyek vándorlásukkal részt vesznek az elektromos áramban. Így a kialakult áramnak csak egy része köthető az itakonát vándorláshoz. A rendszeren átment áram-maximum a két esetben közel azonos volt. Mivel megnőtt a vándorló ionok száma, - ráadásul ezek a szervesetlen ionok mozgékonyabbak, mint az itakonát ion, ezáltal adott áramnál csökkent az itakonát részaránya, azonos mennyiségű itakonát hosszabb idő alatt jutott át, tehát megnőtt az elektrodialízis időtartama. Strathmann [68], valamint Bazinet és munkatársai [69] kb. 20 %-os áramhatásfok csökkenést tapasztaltak hasonló esetben.

Összefoglalva, a modell oldatokkal végzett kísérletek célja az volt, hogy kiderítsem az itakonsav elektrodialízisének legfontosabb összefüggéseit. Ehhez először a legegyszerűbb rendszerben vizsgáltam, hogy lehetőleg kizárjak minden egyéb hatást, majd fokozatosan jutottam el a valós fermentlé elektrodialíziséhez.

3.5 Valós fermentlével végzett elektrodialízis kísérletek eredményei

A valós fermentlével végzett elektrodialízis kísérletek során megvizsgáltam, milyen mértékben alkalmazhatók a modell oldatokkal kapott eredmények, mennyire volt jó a fermentlé modellezése. Másrészről a gyakorlati alkalmazást is szem előtt tartva, az elektrodialízis paramétereinek hatását elemeztem abból a szempontból, hogy az elektrodialízis mennyel jobban illeszkedjen az itakonsav fermentációhoz. Az itakonsav tartalmú fermentleveket a laboratóriumunkban állítottuk elő a munkatársaim segítségével.

3.5.1 Elektrodialízis valós fermentlével, pH állítás nélkül

Első körben egy itakonsav fermentáció után a fermentlevet pH állítás nélkül dolgoztam fel az elektrodialízissel. A membrán egység eltömődését és a befertőződést elkerülendő a fermentlevet visszasterileztük, 2x centrifugáltuk, majd a felülúszót redős szűrőn szűrtük. Az elektrodialízis legfontosabb kezdeti paramétere:

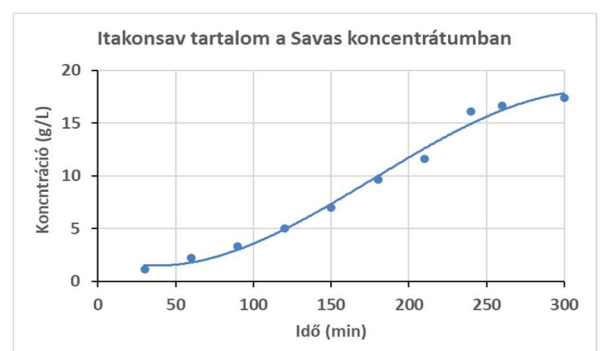
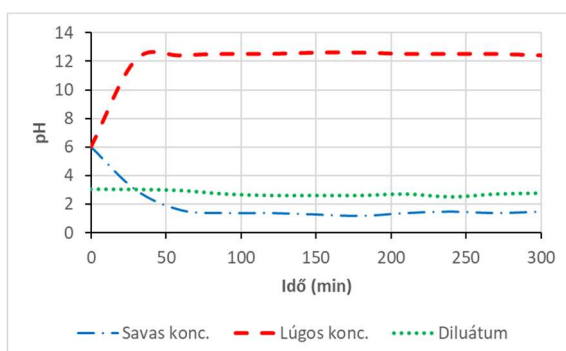
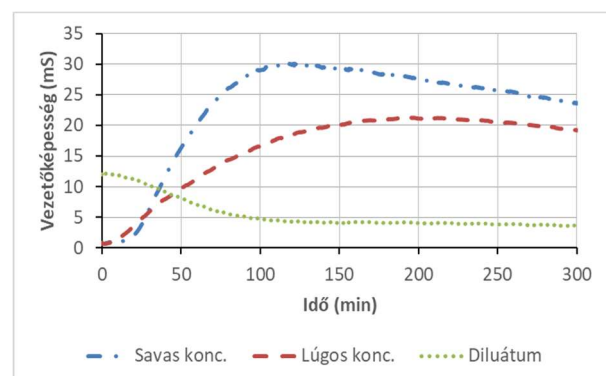
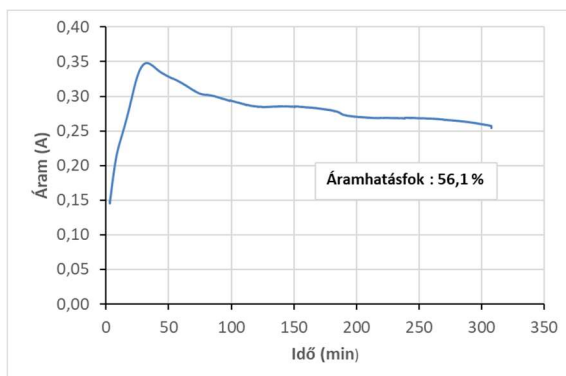
- Diluátum kezdeti itakonsav tartalma: 24,78 g/L;
- Diluátum kezdeti glükóz tartalma: 27,0 g/L;
- Diluátum kezdeti pH = 3,04,
- A három szegmens össz kezdeti térfogata: 3 x 1 L;
- Elektrolit oldat Na₂SO₄ tartalma: 0,5 mól/L;
- Az elektrolit kezdeti térfogata: 0,250 L;
- Kapocsfeszültség: 20 V;
- Membrán triplet: 10 db.

A kísérlet során folyamatosan mértem és rögzítettem a membrán egységen áthaladó áramot, a különböző cellaterek elektromos vezetőképességét és a pH változásokat, valamint a mintavételekből HPLC-s méréssel nyomon követtem az itakonsav koncentrációt. A koncentráció meghatározásánál most is figyelembe vettem a víz vándorlást. A kísérlet végén mintát vettem mindhárom szegmensből. Így információt szereztem arról, hogy egyrészt mennyire ment végbe az itakonsav elvándorlása a Diluátumból, illetve milyen mértékűek voltak az elektrodialízis hatását rontó tényezők (membrán szelektivitás, szivárgások).

Az egyes szegmensek itakonsav tartalma a mérés végén:

- Diluátumban: 5,17 g/L;
- Savas koncentrátumban: 16,69 g/L;
- Lúgos koncentrátumban: 3,36 g/L.

A végső koncentráció adatokból látható, hogy a szivárgásból és a nem teljes mértékű membrán szelektivitásból adódóan a Lúgos koncentrátumban megjelent az itakonsav, kb. egy nagyságrenddel kisebb koncentrációban. A kísérlet végén még maradt a Diluátumban itakonsav. A **3.14. ábrák** a kísérlet során mért paraméterek változását mutatja összefoglalóan.



3.14. ábra Itakonsav tartalmú valós fermentlé elektrodialízisének legfőbb paramétereit pH állítás nélküli mérés során

A **3.14. ábrából** levont következtetések nagyon jól egybeesnek a modell oldattal végzett kísérletek során tapasztaltakkal (lásd **3.3.** fejezet, **3.4. ábra**).

- Az áramgörbe alacsony áram mellett, elhúzódó elektrodialízist mutat. Az itakonsav áramhatásfoka közel azonos, mint a tápsókat is tartalmazó fermentlé modell oldat esetén. A néhány százalékos csökkenés azzal magyarázható, hogy a fermentlé tartalmazott kis mennyiségű, rövid szénláncú karbonsavakat (borostyánkősav, almasav, α -ketoglutársav stb.) is, melyek az itakonsav fermentáció szokásos melléktermékei és az itakonsavhoz hasonló mértékben ionos karakterűek. Mivel nem volt pH állítás, a kialakult áramban meghatározó volt az itakonát ion, viszont az itakonsav ezen a pH-n csak kis mértékben disszociál. Az áram értéke a kísérlet végén sem csökkent le a kiinduló értékre. Ez azt mutatja, hogy az elektrodialízis nem zajlott le teljes egészében. A Diluátum tartalmazott még el nem vándorolt itakonsavat.
- Az elektromos vezetőképesség görbék közül a Diluátumnál monoton lassú csökkenés látható (még van benne vezetőképes komponens, ami lassan vándorol). A Lúgos- és a Savas koncentrátum már túl van a maximumon, de szintén nem mutatja az elektrodialízis végét jelentő letörést.
- A pH görbék is egy stacioner elektrodialízist mutatnak.
- A Savas koncentrátumban az itakonsav tartalom változásának sebessége egyre kisebb, de még minimális emelkedést mutat. A kísérlet végén a Diluátumból vett minta itakonsav tartalma a fentieket egyértelműen alátámasztja.

Az első kísérlet igazolta, hogy valós fermentléből elválasztható az itakonsav, a modell kísérletek jól leírták a valós fermentlé elektrodialízisét, azonban ezzel a beállítással egy elhúzódó elektrodialízist kaptam.

3.5.2 Elektrodialízis valós fermentlével, kezdeti pH állítás mellett

A folyamat gyorsítása érdekében megvizsgáltam a kezdeti pH emelésének hatását. A következő valós fermentlé feldolgozásakor, a fermentáció után a fermentlevet ezúttal is

sterileztük és centrifugáltuk. A felülúszó pH-ját pH = 7.4-re állítottam NaOH oldattal, majd a Diluátum tartályába töltöttem. Az elektrodialízis legfontosabb kezdeti paramétereit az alábbiak voltak:

- Diluátum kezdeti itakonsav tartalma: 21,5 g/L;
- Diluátum kezdeti glükóz tartalma: 100,0 g/L;
- Diluátum kezdeti pH = 7,4,
- A három szegmens össz kezdeti térfogata: 3 x 1 L;
- Elektrolit oldat Na₂SO₄ tartalma: 0,5 mól/L;
- Az elektrolit kezdeti térfogata: 0,250 L;
- Kapocsfeszültség: 20 V;
- Membrán triplet: 10 db.

A kísérlet során ezúttal is mértem a legfontosabb paramétereket (áram, elektromos vezetőképesség, pH). A HPLC-s méréssel meghatároztam a minták aktuális itakonsav tartalmát és figyelembe vettem a víz vándorlásából adódó hígulást/töményedést. A kísérlet végén megmértem az egyes szegmensek térfogatát, valamint itakonsav tartalmát és anyagmérleget is számoltam az itakonsavra:

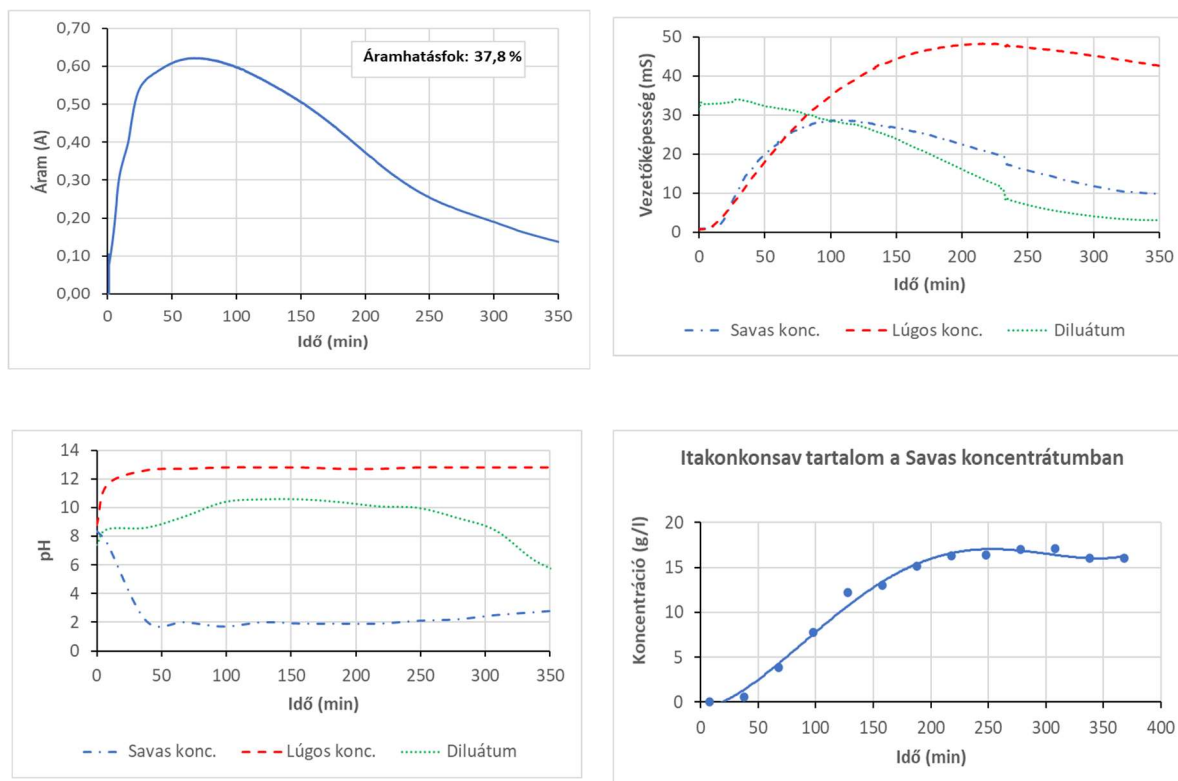
- Diluátum itakonsav tartalma: > 5 mg/L, térfogata: 0,850 L;
- Savas koncentrátum itakonsav tartalma: 18,89 g/L, térfogata: 0,790 L;
- Lúgos koncentrátum itakonsav tartalma: 5,01 g/L, térfogata: 1,330 L.

Ez alapján az össz folyadék térfogat: 2,97 L, a mintavételeket is figyelembe véve, megegyezik a kiindulási térfogattal. Az itakonsav anyagmérlege a fenti adatok alapján szintén nagyon jó egyezést mutat, tehát megbízható a mérési rendszer:

$$\text{Induláskor: } 21,5 \text{ g/L} \times 1,0 \text{ L} = 21,5 \text{ g};$$

$$\text{Leálláskor: } 18,89 \text{ g/L} \times 0,79 \text{ L} + 5,01 \text{ g/L} \times 1,33 \text{ L} = 21,59 \text{ g}.$$

A mérések eredményeit a **3.15. ábra** grafikonjain foglaltam össze:



3.15. ábra Itakonsav tartalmú valós fermentlével végzett elektrodialízisének legfőbb paraméterei kezdeti pH állítás mellett mérés során

Ha összehasonlítjuk a valós fermentlével végzett elektrodialízisek méréseit, akkor egyértelműen megállapítható, hogy a Diluátum kezdeti pH állításával gyorsabb lett az elektrodialízis, a mérés alatt a Diluátum teljes itakonsav tartalma átvándorolt, szemben a pH állítás nélküli esettel, ahol az utóbbival azonos idő alatt, közel azonos kezdeti itakonsav koncentráció mellett a kísérlet végén maradt itakonsav a Diluátumban. A teljes átvándorlást mutatja az áramgörbe kezdeti értékre való csökkenése, az elektromos vezetőképességi görbék lefutása (Diluátumé minimum értéken, Savas- és Lúgos koncentrátum lecsökkent). A Diluátum pH görbéje a végére semleges közeli csökkent. A Savas koncentrátum itakonsav koncentrációja is az állandósult állapotot mutatja, illetve a Diluátumból a végén vett minta itakonsav tartalma a HPLC-s mérés alsó kalibrációs értéke alatt volt.

Ha a Diluátum kezdeti pH emelését technológiai szempontból elemezzük, akkor egyértelmű előnyként jelentkezik, hogy gyorsult az elektrodialízis, csökkent a szeparálandó oldat tartózkodási ideje. Hátrány viszont, hogy a pH emelés plusz technológia lépést jelent. Ez első sorban akkor kritikus, ha a dializált fermentlevet vissza akarjuk vezetni a fermentációba,

hiszen ekkor egy újabb pH állítás szükséges, hogy a tápoldat pH-ját a fermentáció optimális, pH = 2-3 értékére csökkentsük. A pH emelés másik szembevetendő hátránya, hogy az extra ionok (Na^+ és OH^-) bevitelével tovább csökkent az itakonsav amúgy is alacsony áramhatásfoka.

3.5.3 Valós fermentlé elektrodialízise, csökkentett számú membrán triplettel

A harmadik fermentleves kísérletnél az volt a célom, hogy növeljem az elektrodialízis áramát, és ezáltal tovább gyorsuljon a folyamat. Ezt azonban olyan módon kívántam elérni, hogy az áram növekedést ne az oldat vezetőképességének növelésével érjem el, ami az itakonsav áramhatásfokának csökkenését eredményezné. A megoldást a membrán tripletek számának csökkentése jelentette. Ez esetben felére csökkentettem, 5 tripletet alkalmaztam. Ez esetben kisebb lett a membrán-egység össz ellenállása, ami azonos kapocsfeszültség mellett logikusan az áram növekedést eredményezte.

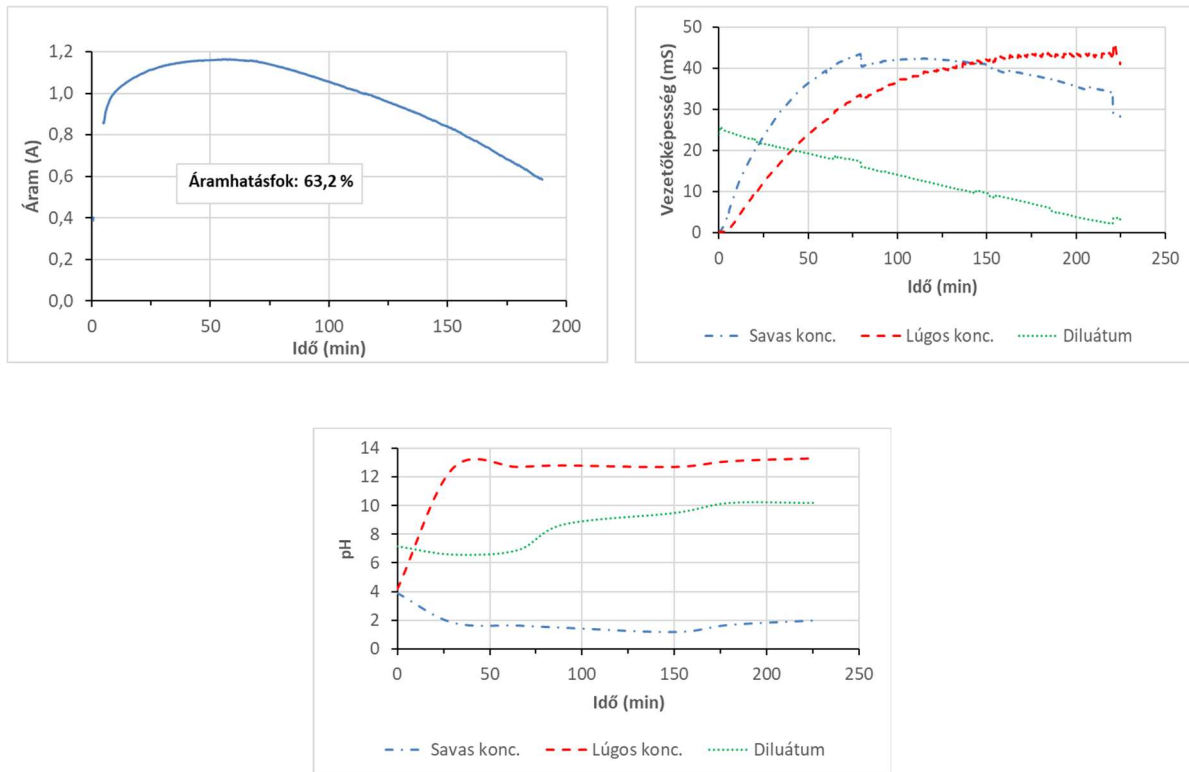
A fermentlé előkezelése az elektrodialízis előtt megegyezett a korábbi kísérletekével. Ezúttal kevesebb itakonsav tartalmú fermentlé állt rendelkezésemre, ezért a szegmensek térfogatát is csökkentettem. A kísérlet legfontosabb induló paraméterei az alábbiak:

- Diluátum kezdeti itakonsav tartalma: 27,8 g/L;
- Diluátum kezdeti térfogata: 0,92 L;
- Diluátum kezdeti pH = 7,18,
- Savas koncentrátum kezdeti térfogat: 0,66 L;
- Lúgos koncentrátum kezdeti térfogat: 0,92 L;
- Elektrolit oldat Na_2SO_4 tartalma: 0,5 mól/L;
- Az elektrolit kezdeti térfogata: 0,250 L;
- Kapocsfeszültség: 20 V;
- Membrán triplet: 5 db.

Ezúttal csak a kísérlet végén vettem mintákat. A HPLC-s mérés alapján a minták itakonsav tartalma:

- Diluátumban: 3,0 g/L;
- Savas koncentrátumban: 31,5 g/L;
- Lúgos koncentrátumban: 3,6 g/L.

Az elektrodialízis legfontosabb paramétereinek változása látható a **3.16. ábrán**.

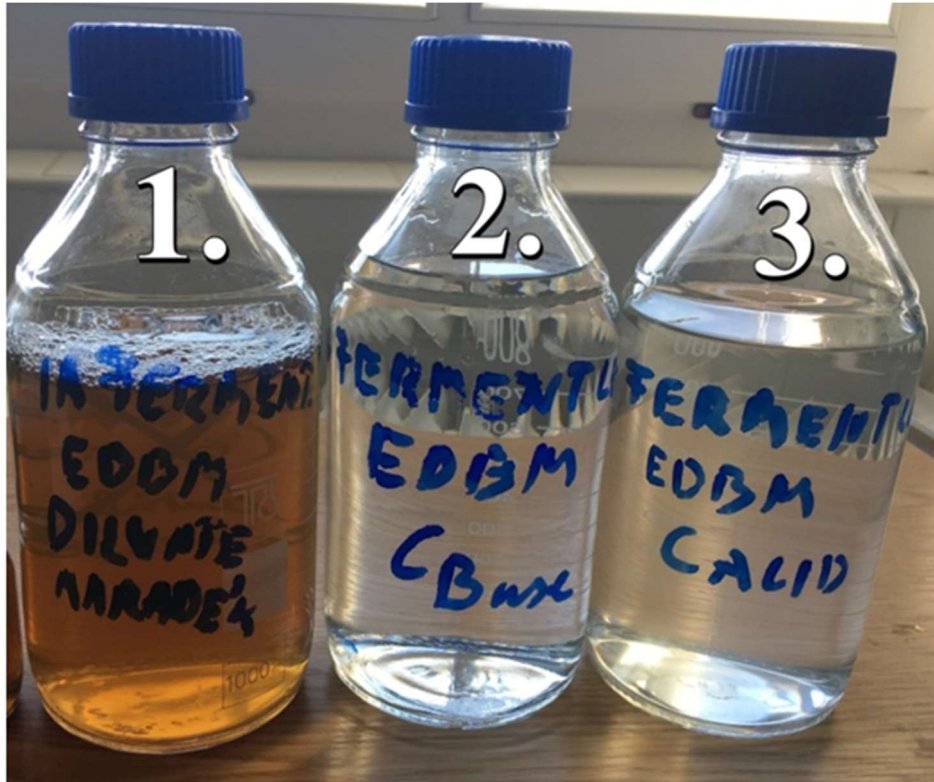


3.16. ábra Itakonsav tartalmú valós fermentlé elektrodialízisének legfőbb paramétereinek 5 membrán-triplet alkalmazása mellett

A mérés eredményei igazolták a várakozást: az elektrodialízis árama kb. kétszeresére nőtt (mivel fele annyi volt a cella össz ellenállása), úgy, hogy közben az oldatok kezdeti vezetőképessége nem változott (hiszen az előzővel azonos oldatok voltak). A három, valós fermentlével végzett mérés alapján összességében elmondható, hogy a legnagyobb itakonsav áramhatásfokot a csökkentett membrán triplet mellett végzett elektrodialízissel értem el [IV].

A valós fermentlével végzett bipoláris membrános elektrodialízis szemmel látható eredménye, hogy az elektrodialízises elválasztás után a Savas koncentrátumba nem ment át a Diluátumban lévő fermentlé barna elszíneződése [IV]. Ez azt jelenti, hogy az elektrodialízises elválasztással nem csak a termék itakonsavat választottam el a fermentlé fő komponenseitől, hanem a kis mennyiségben jelen lévő, színyanyagot jelentő melléktermékektől is. A hagyományos itakonsavas fermentlé feldolgozásnál a színyanyagot több lépéses kristályosítással és aktív szén szűréssel távolítják el. Ez esetben erre a technológiai lépésre nincs szükség.

A 3.17. ábrán a valós fermentlé elektrodialízise után az egyes cellaterekben maradó oldatok láthatók:



3.17. ábra A különböző cellaterekben kapott oldat színe a valós fermentlé bipoláris membrános elektrodialízise után

1. Diluátum 2. Lúgos koncentrátum 3. Savas koncentrátum

3.6 Az elektrodialízissel történő itakonsav kinyerés összehasonlítása más, hagyományos technológiákkal

A 3.6. táblázatban röviden összefoglaltam a modell oldattal és a valós fermentlével végzett kísérlet legfontosabb paramétereit és a kapott eredményeket. A 3.7. táblázat az általam végzett, bipoláris membrán elektrodialízist hasonlítja össze termékkinyerés alapján, más hagyományos elválasztási technológiákkal.

3.6. táblázat A modell oldattal és a valós fermentlével végzett kísérletek legfontosabb eredményei

	Diluátum kezdeti itakonsav koncentrációja (g/L)	Diluátum kezdeti pH-ja	Termékkinyerés (%)	Itakonsav áramhatásfok (%)
Itakonsav tartalmú modell oldat, Kísérleti terv	5;33;60	2-8	68-97	66-99
Itakonsav tartalmú modell oldat, Optimalizálás	5;33;60	2-3	90-97	63-99
Fermentlé modell oldat	33	5	75-85	70-98
Valós fermentlé, Kezdeti pH állítás nélkül	24,8	3,0	67,3	56,1
Valós fermentlé, Kezdeti pH-állítás	21,5	7.4	74,7	37,8
Valós fermentlé, Kezdeti pH-állítás, Csökkentett membrán triplet	33	7,2	71,3	63,24

3.7. táblázat Itakonsav kinyerés összehasonlítása különböző termékkinyerési technológiáknál

Termékkinyerés	Itakonsav tartalmú oldat	Termékkinyerés (%)	Hivatkozás
Kettős szűrés	Fermentlé	60	[57]
Rögzített ágyas adszorpció/deszorpció	Vizes oldat	100	[70]
Reaktív extrakció	Vizes oldat	87-98	[71]
Reaktív extrakció	Vizes oldat	80	[72]
Elektrodialízis	Vizes oldat	98	[66]
Bipoláris membrán elektrodialízis	Vizes oldat	59-70	[50]
Bipoláris membrán elektrodialízis	Vizes oldat	68-97	[I]
Bipoláris membrán elektrodialízis	Vizes oldat	90-97	[II]
Bipoláris membrán elektrodialízis	Fermentlé	67	[III]
Bipoláris membrán elektrodialízis	Fermentlé, pH állítás	75	[III]

Az összefoglaló táblázatból az derül ki, hogy a tisztán itakonsav tartalmú modell oldattal végzett elektrodialízis termékkinyerési hatásfoka azonos vagy jobb, mint a hagyományos elválasztási módszerek hatásfoka. A valós fermentlével végzett, bipoláris membrános

elektrodialízis termékkinyerési hatásfoka valamivel alatta van a hagyományos módszerrel végzett termékkinyerésnek. Érdekes azonban felhívni a figyelmet, hogy a bipoláris membrános elektrodialízis legfőbb előnye a hagyományos elválasztással szemben az, hogy az elválasztás gyakorlatilag plusz segédanyag felhasználása nélkül történik, tehát a termék kinyerésekor nem keletkezik hulladék anyag.

3.7 Savas koncentrátum itakonsav tartalmának növelése diluátum cserével

Az eddig ismertetett elektrodialízises mérések során minden esetben a Savas- és a Lúgos koncentrátum tartályban kezdetben ioncserélt víz volt, míg a Diluátum tartályban itakonsav modell oldat, vagy valós fermentációból származó oldat, melynek itakonsav tartalma jellemzően 30 g/L körüli volt és a tartályok kezdeti térfogata azonos. Ez esetben, ha eltekintünk az elektrooszmózis okozta térfogat változástól, a Savas koncentrátum itakonsav tartalma is legfeljebb 30 g/L körüli az elektrodialízis végén. Ez a koncentráció jóval alatta van az itakonsav szobahőfokú oldhatóságának. Ha ezt az oldatot viszem tovább a kristályosításra, akkor feleslegesen sok vizet kell elpárologtatni ahhoz, hogy elegendő itakonsav kristályt tudjak kinyerni.

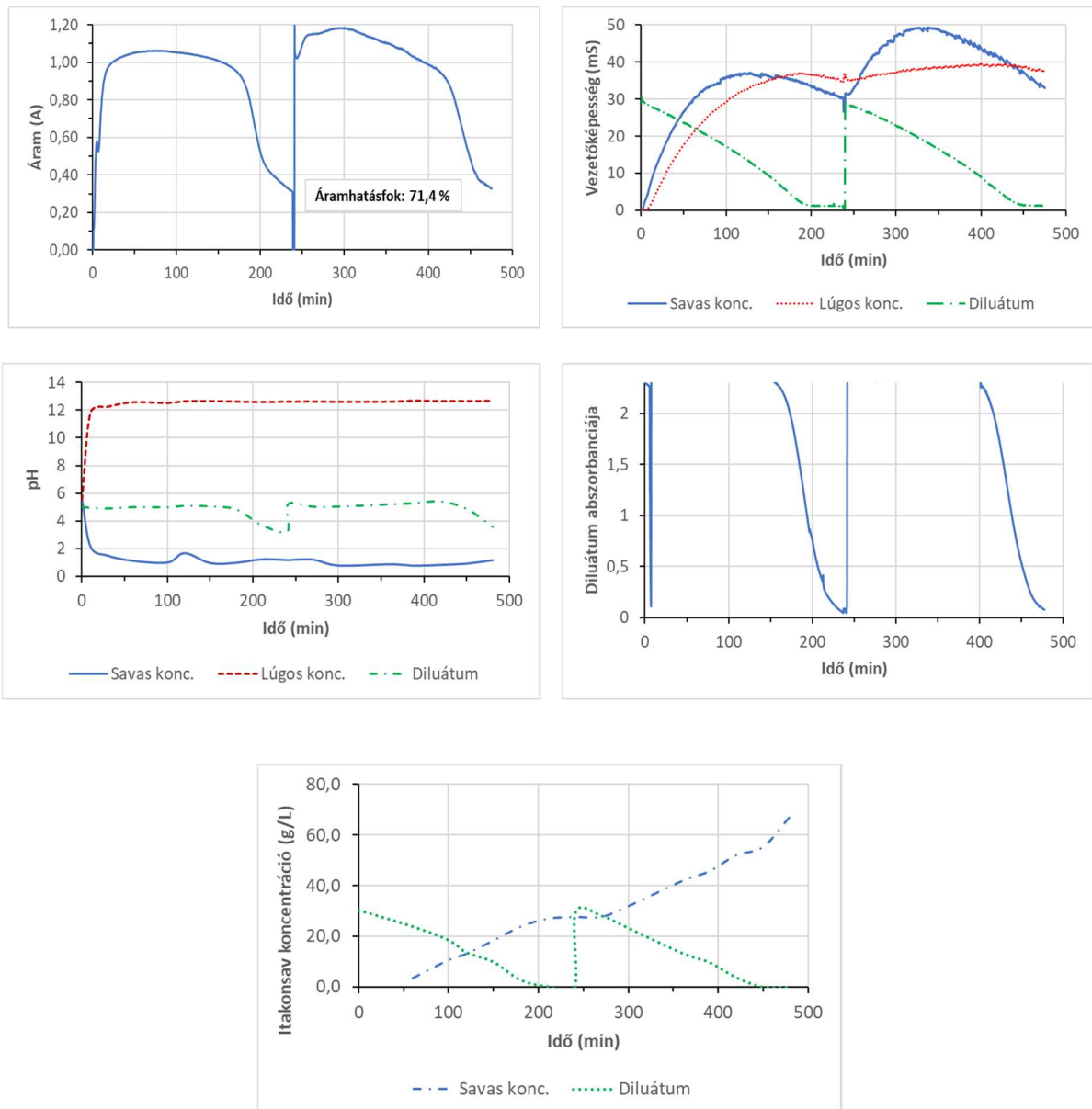
Ezért olyan kísérleteket végeztem, melynek során a Savas koncentrátum itakonsav tartalmát az elektrodialízis végére az oldhatóság határára vittem fel. Ehhez a Savas- és Lúgos koncentrátum tartályt kezdetben ioncserélt oldattal töltöttem fel, míg a Diluátum tartályba fermentlé modell oldatot. Az elektrodialízis előre haladtával a Diluátumból az itakonsav a Savas koncentrátumba vándorolt. A Diluátum itakonsav tartalmát fotométerrel online követtem. Amikor a fotométer abszorbancia jele alapján az itakonsav kiürült a Diluátumból, akkor nagyon rövid időre leállítottam az elektrodialízist és csak a Diluátum tartály tartalmát engedtem le, majd friss, itakonsav tartalmú fermentlé modell oldattal töltöttem fel és folytattam az elektrodialízist addig, amíg a fotométer abszorbancia jele alapján a Diluátum ismét elszegényedett az itakonsavban. Így az elektrodialízis végére a korábbiakhoz képest jóval magasabb itakonsav tartalmú oldatot kaptam Savas koncentrátumként, míg a másik két tartály tartalma megegyezett a korábbiakkal: a Diluátum itakonsav mentes oldat, a Lúgos koncentrátum pedig NaOH oldat volt.

A méréseknél ezúttal is rögzítettem az oldatok pH-ját, vezetőképességét, a cellán átfolyt áramot, melyből az itakonsavra vonatkozó áramhatásfokot számoltam. Az itakonsav tartalmat

fotométerrel online követtem a Diluátumban, illetve ismételt mintavételekkel offline HPLC-n meghatároztam. A kísérlet legfontosabb induló paraméterei az alábbiak voltak:

- Diluátum kezdeti összetétele:
 - 33 g/L Itakonsav,
 - 100 g/L glükóz x 1 víz,
 - 2,25 g/L Ammónium-nitrát,
 - 5 g/L Kálcium-klorid x 2 víz,
 - 1 g/L Magnézium-szulfát x 7 víz.
- Diluátum kezdeti térfogata: 2 x 1 L;
- Diluátum kezdeti pH-ja = 5,04,
- Savas koncentrátum kezdeti térfogata: 1 L;
- Lúgos koncentrátum kezdeti térfogata: 1 L;
- Elektrolit oldat Na_2SO_4 tartalma: 0,5 mól/L;
- Az elektrolit kezdeti térfogata: 0,250 L;
- Kapocsfeszültség: 20 V;
- Membrán triplet: 5 db
- Fotométer hullámhossza: 256 nm.

Az elektrodialízis során rögzített legfontosabb paramétereket a **3.18. ábra** tartalmazza.



3.18. ábra Diluátum cserével végzett elektrodialízis legfontosabb paramétere

A görbékől az alábbi következtetéseket vontam le:

- Ahogy a Diluátum fokozatosan elszegényedik itakonsavban és más ionos komponensben (a vezetés közel nulla), úgy a cella össz ellenállása egyre nő, az áram ezzel együtt csökken;

- A cellaáram csökkenésével együtt csökken a Savas- és a Lúgos koncentrátum vezetése is, mivel csökken a bipoláris membránon a víz disszociációja;
- A fotométer abszorbancia jelei összhangban vannak a HPLC mérés során meghatározott itakonsav tartalommal. Mivel a fotométer méréstartománya 10 g/L alatti, ezért az ennél magasabb értékeket nem mutatja. Viszont az alacsony tartományban jól használható az itakonsav tartalom csökkenésének online követésére;
- Az elektrodialízis szempontjából leglényegesebb eredmény, hogy az itakonsav vándorlásának sebessége nem csökken, annak ellenére, hogy a membrán két oldalán egyre nagyobb az itakonsav koncentráció különbség. Ez a tény azért is kedvező, mert azt mutatja, hogy akár a maximális itakonsav tartalomig (oldhatóság) is fel lehet menni, anélkül, hogy növekedne az elektrodialízist rontó, diffúziós ellenáram. A Savas koncentrátum itakonsav tartalom görbájéből látható, hogy az itakonsav tartalom a második szakaszban ugyanolyan sebességgel nő, mint az elsőben és a dialízis végére az itakonsav tartalma 67,4 g/L, ami a szobahőfokú oldhatóság körül van.
- Az itakonsavra számolt áramhatásfok érték 71,4 %, ami a legmagasabb érték a fermentlé összetételű oldatokkal végzett elektrodialízisek közül.

3.8 Itakonsav kinyerése a Savas koncentrátumból kristályosítással

A kutató munkát az itakonsav elektrodialízisére összpontosítottam, de úgy éreztem, a folyamat akkor teljes, ha a fermentáció és az elválasztás után sikerül az itakonsavat kristályos formában, nagy tisztaságban előállítani. Ennek érdekében néhány elektrodialízis Savas koncentrátumából kikristályosítottam az itakonsavat. A vizsgált Savas koncentrátum oldatok valós fermentlevek elektrodialíziséből származtak.

Az itakonsav oldhatósága a hőmérséklettel exponenciálisan nő (lásd **1.5. ábra**). Ezért a Savas koncentrátumot két lépcsőben bepároltam és a kellő töménységű forró oldatot hagytam kihűlni. A bepárlás első lépcsőjét vákuumban, rotadeszttel végeztem, 75-80 °C-n. A bepárlást addig folytattam, amíg a gömblombik falán, ezen a hőfokon is megjelentek az apró kristályok. Ezt követően tovább pároltam az oldatot főzőpohárban, 100 °C körül. A folyadéktér

csökkentését addig végeztem, amíg az oldat számított itakonsav tartalma 300 g/L körüli nem lett.

Ekkor hagytam az oldatot kihűlni és a kristályokat kiválni. Ezt követően az anyalúgot szűrőn leszívattam, a kristályokat 105 °C-n súlyállandóságig szárítottam és meghatároztam az itakonsav tartalmát. Majd tisztításként a kristályokat átkristályosítottam [IV].

A kristályosítási próbák során a következőket tapasztaltam:

- Ha a nyugvó folyadékból (anyalúgból) hagytam az itakonsavat kikristályosodni, akkor a 105 °C-s szárítás után a kristályok halvány barna színűek lettek. Az anyalúg elemzése alapján egyértelműen kiderült, hogy a Savas koncentrátumba az elektrodialízis során került kis mennyiségű glükóz, ami a bepárlás következtében betöményedett, bekerült a makrokristályok zárvényaiba, valamint a kristályok felületére és a hosszabb szárítás során karamellizálódott. Az átkristályosított anyalúg glükóz tartalma nagyságrendekkel kisebb volt és ennek megfelelően a kristály is szép fehér.
- A glükóz zárvényok elkerülésére a forró, tömény anyalúgot állandó, intenzív keverés mellett hagytam kihűlni. Így apró, por szerű, fehér kristályt kaptam. Átkristályosításkor az anyalúg glükóz tartalma kimutatási határ alatt volt, a kristályok fehérek.
- Önmagában a hosszú, 105 °C-s szárítás és a minimális glükóz tartalom is okozza a kristályok elszíneződését. Ez elsősorban nem tisztasági, hanem inkább esztétikai probléma, mivel ezen kristályok itakonsav tartalma is 99 % feletti volt. Az esztétikai problémák elkerülésére több lépcsőben végeztem a szárítást. Először, legtovább 60 °C-n, majd rövid ideig 80 °C-n és 105 °C-n. Ez esetben szép fehér kristályokat kaptam. A különböző módon kapott kristályok fényképei láthatók a **3.19. ábrán**.
- A kristályosítási előkísérletek során az itakonsav kristályok tisztasága az első kristályosítás után 95 % volt, míg az átkristályosítás után 99,5 %, a teljes kristályosításra vetített kihozatal 78 – 80 %-os. Ez megfelel a szakirodalomban található ipari itakonsav kristályosítási adatoknak [30], [2].



3.19. ábra A különböző kristályosítási módszerek után kapott itakonsav kristályok

1. Kristályosítás kevertetés nélkül, 2. Kristályosítás kevertetés mellett,
3. Többlépcsős, emelkedő hőmérsékletű kristályosítás

4. Összefoglalás

A PhD munkám témája az itakonsav elektrodialízisének vizsgálata, mely több ponton is illeszkedik a Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutató Csoport munkájába. Egyrészt az elektrodialízis egy speciális membrántechnikai eljárás, másrészt a Csoportban jelenleg intenzív kutatás folyik az itakonsav fermentatív előállítására. A kutatásom végső célja az itakonsav hatékony elválasztása valós fermentléből.

Az elektrodialízis lényege, hogy az alkalmazott elektromos erőter hatására az ionos vegyületek a nekik megfelelő pólus felé vándorolnak, míg a semleges molekulák helyben maradnak. A bipoláris membránnal ellátott elektrodializátor anioncserélő-, kationcserélő- és bipoláris membránt is tartalmaz. Kialakításából adódóan a diluátumba betáplált fermentlevet három részre választja szét. Az elválasztás során az anionos komponensek a Savas koncentrátumban, míg a kationosak a Lúgos koncentrátumban dúsulnak, illetve a semleges komponensek a diluátumban maradnak.

A kísérletek során három fő paramétert: a diluátum kezdeti pH-ját és kezdeti itakonsav tartalmát, valamint az elektrodialízis berendezés kapocsfeszültségét változtattam és vizsgáltam ezen bemeneti paraméterek hatását az itakonsavra vonatkozó áramhatásfokra. A pH-t, a cella áramot és a vezetőképességet folyamatosan mértem és számítógépen rögzítettem. A cellaterek aktuális itakonsav tartalmát HPLC-s elemzéssel határoztam meg. A diluátum itakonsav tartalmának folyamatos csökkenését fotométerrel követtem.

Kutató munkám során fokozatosan jutottam el a tisztán itakonsav tartalmú modelltől a valós fermentlé elektrodialízises vizsgálatáig. Az itakonsav tartalmú oldatokkal végzett kísérletek eredményeit összefoglalva:

- A kísérletek egyértelműen igazolták, hogy a bipoláris membránnal ellátott elektrodialízis berendezés alkalmas a tervezett folyamat vizsgálatára. A Diluátum kezdeti nátrium-itakonát tartalmát a mérések végére elválasztottam: a Savas koncentrátumban az itakonsav dúsult, míg a nátrium-hidroxid a Lúgos koncentrátumban. A modell oldat glükóz tartalma a Diluátumban maradt.

- Az elektrodialízis végén vett minták HPLC mérése alapján igazoltam a berendezés nagyfokú szelektivitását: A kezdetben bemért itakonát több mint 95 %-a a mérés végén a Savas koncentrátum tartályban volt. A másik két tartályban kevesebb, mint 5 % itakonsavat mértem. Ez a kismértékű keresztvándorlás egyrészt a cellák nem teljes tömítettségével,

valamint az elektrodialízis, mint fő folyamat mellett fellépő egyéb kísérő jelenségekkel (pl. koncentrációs diffúzió, co-ion vándorlás) magyarázható.

- A kísérletek bemenő paramétereinek (kezdeti itakonsav koncentráció, pH, cellafeszültség) függvényében vizsgáltam az áramhatásfok alakulását. A kísérletekhez variancia-analízisen alapuló statisztikai módszert használtam és meghatároztam az áramhatásfok szempontjából szignifikáns bemeneti paramétereket. Ez alapján a Diluátum kezdeti pH-ját állandó értéken tartva a diluátum kezdeti itakonsav tartalmának és a berendezés kapocsfeszültségének egyaránt szignifikáns hatása van az áramhatásfokra. A szignifikáns paraméterek függvényében meghatározott áramhatásfok értékekre másodfokú felületet illesztettem. A felület maximum értéke kijelölte az optimális bemeneti paramétereket.

- A tápoldat tápsó komponensei az elektrodialízis alatt a töltésüknek megfelelő elektród irányába vándoroltak. Ez érthetően csökkentette az itakonsavra számolt áramhatásfok értéket. A semleges töltésű glükóz a Diluátumban maradt, nem befolyásolta az itakonsav vándorlást.

- A valós fermentlével végzett elektrodialízis paramétereit a modell oldattal kapott optimum alapján állítottam be, de egyúttal figyelembe vettem az itakonsav fermentáció technológiai körülményeit is. A valós fermentlé bipoláris membrános elektrodialízisével a fermentlevet három folyadéktérre választottam szét:

- A Savas koncentrátumban dúsult az itakonsav, mint termék.
- A NaOH a Lúgos koncentrátumban dúsult. Ez az oldat felhasználható a fermentáció pH-szabályzására.
- A Diluátumban maradt a glükóz, mint fő tápoldat komponens. Ez is visszavezethető a fermentációba. A tápoldatból az itakonsavat rendszeresen eltávolítva csökken a termékgátlás, ezáltal nő a fermentáció hatékonysága.

- A valós fermentlé elektrodialízisekor technológiai szempontból a legfontosabb paraméter a Diluátum kezdeti pH-ja volt. Ha az elektrodialízist a fermentáció pH-ján végeztem, akkor az elválasztás elhúzódó volt, viszont, ha egy integrált fermentor/elektrodializátor rendszerben gondolkodunk, akkor nem kell a pH-t oda-vissza állítani az elektrodialízis előtt és után. Ha az elektrodialízis előtt a fermentlé pH-ját pH = 7 körülire emeltem, akkor az elválasztás gyorsabb és teljesebb volt, a termékkinyerés 8 %-kal nőtt, ugyanakkor az itakonsavra számolt áramhatásfok közel 20 %-kal csökkent. Az emelt

pH-jú fermentlével végzett elektrodialízis áramhatásfoka közel 26 %-kal nőtt, ha az elektrodialízist kevesebb számú membrán triplettel végeztem, azonos kapocsfeszültség mellett. Azáltal, hogy a membrán tripletek számát a felére csökkentettem, az össz ellenállás a felére csökkent, így a cellaáram kétszeresére nőtt. Ez esetben az itakonsavra vonatkoztatott áramhatásfok azért lett nagyobb, mert a cellaáram nem azáltal nőtt, hogy idegen ionok hozzáadásával növekedett az oldat vezetőképessége.

- A Savas koncentrátum végső itakonsav tartalmának növelése érdekében ismételt elektrodialízist végeztem, melynek során csak az itakonsavban elszegényedett Diluátumot friss itakonsav tartalmú oldatra cseréltem. Ezáltal a Savas koncentrátum végső itakonsav tartalmát a szobahőfokon elérhető maximumra sikerült emelni. Ezzel növelhető volt az elektrodialízist követő kristályosítási lépés hatékonysága. Mindezt a kedvező helyzetet úgy sikerült elérni, hogy az itakonsav vándorlásának sebessége nem csökken, annak ellenére, hogy a membrán két oldalán egyre nagyobb volt az itakonsav koncentráció különbség. A Diluátum csere előtti és utáni lineáris szakaszok meredeksége megegyezett. Az itakonsavra vonatkoztatott áramhatásfok érték 71,4 %, ami a legjobb a fermentlé összetételű oldatokkal végzett kísérletek közül.

- A valós fermentlé elektrodialízisekor kapott Savas koncentrátum oldattal kristályosítási kísérleteket végeztem. Az itakonsav kristályok tisztasága HPLC-s mérés alapján 99,5 %-s volt, a teljes folyamatra vetített kihozatal 78 – 80 %. Ez megfelel a vonatkozó szakirodalomban fellelhető értékeknek.

Tézisek

1. Itakonsavat tartalmazó modell oldatok bipolaris elektrodialízisét vizsgálva megállapítottam, hogy
 - a vizsgált három paraméternek – a diluátum kezdeti itakonsav tartalma, a diluátum kezdeti pH-ja és az elektrodializáló berendezés cellafeszültsége – az itakonsav áramhatásfokára gyakorolt hatása nem írható le lineáris modellel;
 - a legmagasabb áramhatásfok értékeket - 91,9 - 99,2 % - mindhárom vizsgált paraméterre a tartomány középső értékénél - 33 g/L kezdeti itakonsav tartalom, pH = 5 kezdeti pH, 20 V kapcsolófeszültség - értem el.

A diluátum kezdeti pH-ját állandó értéken tartva a diluátum kezdeti itakonsav tartalmát és az elektrodializátor kapcsolófeszültségét változtatva meghatároztam az adott paraméterek mellett végzett elektrodialízis itakonsavra vonatkoztatott áramhatásfokát. Variancia analízissel megállapítottam, hogy a vizsgált tartományban, másodfokú polinommal közelítve, a kezdeti itakonsav tartalomnak és a kapcsolófeszültségnek van szignifikáns hatása az áramhatásfokra. A kezdeti itakonsav tartalom és a kapcsolófeszültség függvényében ábrázolt áramhatásfokra illesztett felület maximumából meghatároztam az optimális bemeneti paramétereket. A diluátum kezdeti itakonsav tartalomra 32,81 g/L, míg az elektrodializátor kapcsolófeszültségére 17,84 V adódott. A kísérleti adatokra két paraméteres, másodfokú felületet illesztettem, melynek szórásnégyzete $R^2 = 0,95$ volt. Az illesztett felület csak a vizsgált tartományon belüli pontokra érvényes [I].

2. A kibővített modell oldattal végzett bipolaris membrános elektrodialízis kísérletek eredményei alapján megállapítottam, hogy
 - a fermentlé összetételének megfelelő koncentrációjú tápsó komponensek több, mint 25 %-kal csökkentették az itakonsavra számolt áramhatásfok értéket, mivel ionos vegyületként az elektromos térerő hatására együtt haladtak az itakonát ionnal;
 - a glükóz tartalom nem befolyásolta az áramhatásfokot, mivel semleges molekula lévén nem vándorolt az elektromos tér hatására;

- a diluátum kezdeti itakonsav tartalma befolyásolta az áramhatásfokot és az elválasztás idejét. A kezdeti itakonsavat 5 g/L-ről 15 g/L-re növelve az áramhatásfok értéke 78,3 %-ról 98,5 %-ra nőtt, miközben az elválasztás ideje 5 órától 9 órára nőtt [II].
3. Valós fermentlével végzett bipoláris membrános elektrodialízis kísérletek eredményei alapján megállapítottam, hogy
- a pH emelésének hatására az elválasztás teljesebb és gyorsabb lett, viszont az áramhatásfok csökkent: a diluátum kezdeti pH-ját 3,04-ről 7,4-re emelve az itakonsavra számolt áramhatásfok 56,1 %-ról 37,8 %-ra csökkent, míg a termékkinyerés 67,3 %-ról 74,7 %-ra nőtt [III].
 - a bipoláris membrános elektrodializátor membrán tripletjeinek számának felére történő csökkentésével, azonos készülék kapocsfeszültség mellett, az egy tripletre jutó feszültség megduplázódott és így a membrán egységen áthaladó áram is kétszeres lett. Emellett az áramhatásfok értéke 37,8 %-ról 63,2 %-ra nőtt [IV].
4. Az itakonsav kinyerés és kristályosítás hatékonyságának növelésére a Savas koncentrátumban az itakonsav koncentrációját az oldhatóság felső határára emeltem úgy, hogy az itakonsavban elszegényedett Diluátumot friss itakonsav tartalmúra cseréltem.
- a művelet alatt az itakonsav vándorlás sebessége nem csökkent, annak ellenére sem, hogy a membrán két oldalán jelentősen nőtt az itakonsav koncentráció különbség;
 - az elektrodialízis áramhatásfoka – fermentlé összetételű elektrodialízises mérések közül – itt érte el a legmagasabb értéket, 71,4 % -t;
 - a kristályosítási előkísérletek során 99,5 %-os tisztaságú itakonsavat állítottam elő. A teljes kristályosításra vonatkozó termékkinyerés 78 – 80 % -s volt [IV].

Theses

1. Studying bipolar electrodialysis of model solutions containing itaconic acid it was found, that

- the effect of three parameters investigated – initial itaconic acid content of the diluate, initial pH of diluate and the cell voltage of the electrodialysis device – on the current efficiency of the itaconic acid could not be described by a linear model.
- a highest current efficiency value – 91.9-99.2 % - was reached in the middle range of the parameters investigated: 33 g/L initial itaconic acid content, pH = 5 initial value, 20 V cell voltage.

In the experiments where the initial pH of the diluate was kept constant and varying the cell voltage of the ED device and the initial itaconic acid content of the diluate, the current efficiency related to the itaconic acid ED was determined under the circumstances and parameters applied. Using variance analysis, it was found that in the range studied the initial itaconic acid content and the cell voltage has significant effect on the current efficiency, using quadratic model. The optimal input parameters were determined from the surface maximum adjusted to the figure of current efficiency as functions of initial diluate itaconic acid concentration and cell voltage. The optimal values of the initial diluate itaconic acid concentration and the cell voltage of the ED were found as 32.81g/L and 17.84 V, respectively. A two-parameters, quadratic equation was adjusted on the experimental data, its standard deviation was $R^2 = 0.95$. The fitted surface is valid only for the points within the range under consideration [I].

2. Based on the results of the bipolar electrodialysis experiments with the complex model solutions it was found, that

- the salt components of the model solutions decreased the current efficiency (related to the itaconic acid) with more than 25 %, since as ionic constituents they passed together with the itaconic acid due to the electric driving force.
- glucose content did not influence the current efficiency, because it is a neutral molecule, thus it does not migrate due to the electric force.
- the initial itaconic acid content of the diluate had strong effect on the current efficiency and the time necessary for the separation. Increasing the initial itaconic acid content from 5 g/L to 15 g/L, the value of the current efficiency has grown from

78.3 % to 98.5 %, while the time of the separation has risen from 5 hours to 9 hours [II].

3. Based on the results of electro dialysis measurements with real fermentation broths it was found, that

- as an effect of higher pH, the separation became more complete and faster, however the current efficiency obtained was lower: increasing the initial pH of the diluate from 3.04 to 7.4, the current efficiency related to the itaconic acid has reduced from 56.1 % to 37.8 %, while the product recovery has increased from 67.3 % to 74.7 % [III].
- reducing the number of membrane triplets of the bipolar membrane electro dialyser, at same voltage switched on the device, the voltage of one triplet unit has doubled, thus the current passing through one unit has doubled, too. In addition, the current efficiency increased from 37.8 % to 63.2% [IV].

4. Electro dialysis was carried out in a way where the low itaconic acid content diluate was changed to fresh itaconic acid content at the end of the ED process. Thus, the level of the acidic concentrate was increased up to the saturation limit.

- During the ED, it was achieved such a way that the rate of itaconic acid transport has not decreased using this technique in spite of the fact that the difference of itaconic acid concentration was higher between the two sides of the membrane.
- The current efficiency was 71.4 %, which was the highest among the electro dialysis experiments of real fermentation broths.
- During the crystallization measurements itaconic acid with 99.5 % purity was produced. The product yield regarding the whole crystallization process was 78 – 80 % [IV].

Irodalomjegyzék

1. Fekete, E., & Karaffa, L. (2013). *Ipari Biotechnológia, Egyetemi jegyzet*. Debreceni Egyetem.
2. Okabe, M., Lies, D., Kanamasa, S., & Park, E. Y. (2009). Biotechnological production of itaconic acid and its biosynthesis in *Aspergillus terreus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *84*(4), 597–606. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2132-3>
3. Moity, L., Molinier, V., Benazzouz, A., Barone, R., Marion, P., & Aubry, J. M. (2014). In silico design of bio-based commodity chemicals: Application to itaconic acid based solvents. *Green Chemistry*, *16*(1), 146–160. <https://doi.org/10.1039/c3gc41442f>
4. Tomić, S. L., Mičić, M. M., Dobić, S. N., Filipović, J. M., & Suljovrujić, E. H. (2010). Smart poly(2-hydroxyethyl methacrylate/itaconic acid) hydrogels for biomedical application. *Radiation Physics and Chemistry*, *79*(5), 643–649. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2009.11.015>
5. Werpy, T., & Petersen, G. (2004). Top Value Added Chemicals from Biomass Volume I. *Us Nrel*. <https://doi.org/10.2172/15008859>
6. Magalhães, A. I., de Carvalho, J. C., Medina, J. D. C., & Soccol, C. R. (2017). Downstream process development in biotechnological itaconic acid manufacturing. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *101*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7972-z>
7. https://en.wikipedia.org/wiki/Itaconic_acid. (n.d.). Itaconic acid, 2021.5.15.
8. Stodollick, J., Femmer, R., Gloede, M., Melin, T., & Wessling, M. (2014). Electrodialysis of itaconic acid: A short-cut model quantifying the electrical resistance in the overlimiting current density region. *Journal of Membrane Science*, *453*, 275–281. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2013.11.008>
9. <https://www.zirchrom.com/organic.htm>. (n.d.). Dissociation Constants of Organic Acids and Bases, 2021.5.15.
10. Baup, S. (1836). Ueber eine neue Pyrogen-Citronensäure, und über Benennung der Pyrogen-Säuren überhaupt. *Annalen der Pharmacie*, *19*(1), 29–38. <https://doi.org/10.1002/jlac.18360190107>
11. Steiger, M. G., Blumhoff, M. L., Mattanovich, D., & Sauer, M. (2013). Biochemistry of

- microbial itaconic acid production. *Frontiers in Microbiology*, 4(FEB), 1–5. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00023>
12. Cordes, T., Michelucci, A., & Hiller, K. (2015). Itaconic Acid: The Surprising Role of an Industrial Compound as a Mammalian Antimicrobial Metabolite. *Annual Review of Nutrition*, 35(1), 451–473. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071714-034243>
 13. Bentley, R., Thiessen, & P., C. (1957). Biosynthesis of itaconic acid in *Aspergillus terreus*. I. Tracer studies with C¹⁴-labeled substrates. *The Journal of biological chemistry*, 226(2), 673–687.
 14. Bafana, R., & Pandey, R. A. (2018). New approaches for itaconic acid production: bottlenecks and possible remedies. *Critical Reviews in Biotechnology*, 38(1), 68–82. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1312268>
 15. Willke, T., & Vorlop, K. D. (2001). Biotechnological production of itaconic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(3–4), 289–295. <https://doi.org/10.1007/s002530100685>
 16. Kuenz, A., & Krull, S. (2018). Biotechnological production of itaconic acid—things you have to know. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(9), 3901–3914. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8895-7>
 17. Hevekerl, A., Kuenz, A., & Vorlop, K. D. (2014). Influence of the pH on the itaconic acid production with *Aspergillus terreus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(24), 10005–10012. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6047-2>
 18. Karaffa, L., Díaz, R., Papp, B., Fekete, E., Sándor, E., & Kubicek, C. P. (2015). A deficiency of manganese ions in the presence of high sugar concentrations is the critical parameter for achieving high yields of itaconic acid by *Aspergillus terreus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(19), 7937–7944. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6735-6>
 19. Krull, S., Hevekerl, A., Kuenz, A., & Prüße, U. (2017). Process development of itaconic acid production by a natural wild type strain of *Aspergillus terreus* to reach industrially relevant final titers. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(10), 4063–4072. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8192-x>
 20. Reddy, C. S. K., & Singh, R. P. (2002). Enhanced production of itaconic acid from corn starch and market refuse fruits by genetically manipulated *Aspergillus terreus* SKR10.

- Bioresource Technology*, 85(1), 69–71. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00075-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00075-5)
21. Shin, W. S., Lee, D., Kim, S., Jeong, Y. S., & Chun, G. T. (2013). Application of scale-up criterion of constant oxygen mass transfer coefficient (K_{la}) for production of itaconic acid in a 50 l pilot-scale fermentor by fungal cells of *Aspergillus terreus*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(10), 1445–1453. <https://doi.org/10.4014/jmb.1307.07084>
 22. Yahiro, K., Takahama, T., Park, Y. S., & Okabe, M. (1995). Breeding of *Aspergillus terreus* mutant TN-484 for itaconic acid production with high yield. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 79(5), 506–508. [https://doi.org/10.1016/0922-338X\(95\)91272-7](https://doi.org/10.1016/0922-338X(95)91272-7)
 23. Tabuchi, T., Sugisawa, T., Ishidori, T., Nakahara, T., & Sugiyama, J. (1981). Itaconic acid fermentation by a yeast belonging to the genus candida. *Agricultural and Biological Chemistry*, 45(2), 475–479. <https://doi.org/10.1080/00021369.1981.10864534>
 24. Levinson, W. E., Kurtzman, C. P., & Kuo, T. M. (2006). Production of itaconic acid by *Pseudozyma antarctica* NRRL Y-7808 under nitrogen-limited growth conditions. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(4), 824–827. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.01.005>
 25. Wessjohann, L. A., Bauer, A.-K., Ley, J., & Geißler, T. (2014). Verfahren zur biotechnologischen Herstellung von Flavonoiden.
 26. Maassen, N., Panakova, M., Wierckx, N., Geiser, E., Zimmermann, M., Böcker, M., ... Blank, L. M. (2014). Influence of carbon and nitrogen concentration on itaconic acid production by the smut fungus *Ustilago maydis*. *Engineering in Life Sciences*, 14(2), 129–134. <https://doi.org/10.1002/elsc.201300043>
 27. Guevarra, E. D., & Tabuchi, T. (1990). Accumulation of itaconic, 2-hydroxyparaconic, itatartaric, and malic acids by strains of the Genus *ustilago*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(9), 2353–2358. <https://doi.org/10.1271/bbb1961.54.2353>
 28. Klement, T., & Büchs, J. (2013). Itaconic acid - A biotechnological process in change. *Bioresource Technology*, 135, 422–431. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.11.141>
 29. Straathof, A. J. J. (2011). The Proportion of Downstream Costs in Fermentative Production Processes. In *Comprehensive Biotechnology, Second Edition* (Vol. 2, pp.

- 811–814). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00492-X>
30. Dwiarti, L., Otsuka, M., Miura, S., Yaguchi, M., & Okabe, M. (2007). Itaconic acid production using sago starch hydrolysate by *Aspergillus terreus* TN484-M1. *Bioresource Technology*, 98(17), 3329–3337. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.03.016>
 31. Křilvanková, I., Söhnel, O., & Marčišínová, M. (1992). Solubility of Itaconic and Kojic Acids. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 37(1), 23–24. <https://doi.org/10.1021/je00005a008>
 32. Yang, W., Hu, Y., Chen, Z., Jiang, X., Wang, J., & Wang, R. (2012). Solubility of itaconic acid in different organic solvents: Experimental measurement and thermodynamic modeling. *Fluid Phase Equilibria*, 314, 180–184. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2011.09.027>
 33. Davison, B. H., Nghiem, N. P., & Richardson, G. L. (2004). Succinic acid adsorption from fermentation broth and regeneration. In *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology* (Vol. 114, pp. 653–669). <https://doi.org/10.1385/ABAB:114:1-3:653>
 34. Beschkov, V. N. (2020). Ion exchange in downstream processing in biotechnology. *Physical Sciences Reviews*, 5(7), 1–11. <https://doi.org/10.1515/psr-2018-0066>
 35. Kreyenschulte, D., Heyman, B., Eggert, A., Maßmann, T., Kalvelage, C., Kossack, R., ... Büchs, J. (2018). In situ reactive extraction of itaconic acid during fermentation of *Aspergillus terreus*. *Biochemical Engineering Journal*, 135, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.04.014>
 36. Eggert, A., Maßmann, T., Kreyenschulte, D., Becker, M., Heyman, B., Büchs, J., & Jupke, A. (2019). Integrated in-situ product removal process concept for itaconic acid by reactive extraction, pH-shift back extraction and purification by pH-shift crystallization. *Separation and Purification Technology*, 215, 463–472. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.01.011>
 37. Kaur, G., & Elst, K. (2014). Development of reactive extraction systems for itaconic acid: A step towards in situ product recovery for itaconic acid fermentation. *RSC Advances*, 4(85), 45029–45039. <https://doi.org/10.1039/c4ra06612j>
 38. Kobayashi, T., & Nakamura, I. (1971). Process for recovering itaconic acid and salts

- thereof from fermentation broth. Japan.
39. Heding, L. G., & Gupta, J. K. (1975). Improvement of conditions for precipitation of citric acid from fermentation mash. *Biotechnology and Bioengineering*, 17(9), 1363–1364. <https://doi.org/10.1002/bit.260170910>
 40. Bélafi-Bakó, K., & Nemestóthy, N. (2020). *Membrános műveletek. Egyetemi jegyzet.* Pannon Egyetem.
 41. Fonyó, Z., & Fábry, G. (2011). Vegyipari művelettani alapismeretek. In https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_519_44580_Vegyipari_Muvelettan/ch04s10.html. Nemzeti Tankönyvkiadó Rt. Retrieved from https://regi.tankonyvtar.hu/hu/tartalom/tamop425/2011_0001_519_44580_Vegyipari_Muvelettan/ch04s10.html
 42. Strathmann, H., Grabowski, A., & Eigenberger, G. (2013). Ion-exchange membranes in the chemical process industry. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 52(31), 10364–10379. <https://doi.org/10.1021/ie4002102>
 43. Mauritz, K. A., & Moore, R. B. (2004). State of understanding of Nafion. *Chemical Reviews*, 104(10), 4535–4585. <https://doi.org/10.1021/cr0207123>
 44. Sridhar, S. (1996). Electrodialysis in a non-aqueous medium: Production of sodium methoxide. *Journal of Membrane Science*, 113(1), 73–79. [https://doi.org/10.1016/0376-7388\(95\)00217-0](https://doi.org/10.1016/0376-7388(95)00217-0)
 45. Huang, C., Xu, T., Zhang, Y., Xue, Y., & Chen, G. (2007). Application of electrodialysis to the production of organic acids: State-of-the-art and recent developments. *Journal of Membrane Science*, 288(1–2), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2006.11.026>
 46. Wee, J. H. (2007). Applications of proton exchange membrane fuel cell systems. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 11(8), 1720–1738. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2006.01.005>
 47. Belafi-Bako, K., Vajda, B., Bakonyi, P., & Nemestóthy, N. (2014). Removal of COD by Two-Chamber Microbial Fuel Cells. In *Technology and Application of Microbial Fuel Cells* (p. Chapter 5). <https://doi.org/10.5772/58373>
 48. Molnár, E. (2013). *Galakturonsav szeparációja elektrodialízissel.* Doktori (PhD) értekezés, Pannon Egyetem, Veszprém.

49. Spiegler, K. S. (1958). Transport processes in ionic membranes. *Transactions of the Faraday Society*, *54*, 1408–1428. <https://doi.org/10.1039/tf9585401408>
50. Wang, X., Wang, Y., Zhang, X., Feng, H., & Xu, T. (2013). In-situ combination of fermentation and electrodialysis with bipolar membranes for the production of lactic acid: Continuous operation. *Bioresource Technology*, *147*, 442–448. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.045>
51. Simons, R. (1984). Electric field effects on proton transfer between ionizable groups and water in ion exchange membranes. *Electrochimica Acta*, *29*(2), 151–158. [https://doi.org/10.1016/0013-4686\(84\)87040-1](https://doi.org/10.1016/0013-4686(84)87040-1)
52. Freeman, A., Woodley, J. M., & Lilly, M. D. (1993). In situ product removal as a tool for bioprocessing. *Bio/Technology*, *11*(9), 1007–1012. <https://doi.org/10.1038/nbt0993-1007>
53. Schügerl, K. (2000). Integrated processing of biotechnology products. *Biotechnology Advances*, *18*(7), 581–599. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(00\)00051-3](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(00)00051-3)
54. Schügerl, K., & Hubbuch, J. (2005). Integrated bioprocesses. *Current Opinion in Microbiology*, *8*(3), 294–300. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.01.002>
55. Castilho, L. R., & Medronho, R. A. (2002). Cell retention devices for suspended-cell perfusion cultures. In *Advances in biochemical engineering/biotechnology* (Vol. 74, pp. 129–169). https://doi.org/10.1007/3-540-45736-4_7
56. Carstensen, F., Apel, A., & Wessling, M. (2012). In situ product recovery: Submerged membranes vs. external loop membranes. *Journal of Membrane Science*, *394–395*, 1–36. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2011.11.029>
57. Carstensen, F., Klement, T., Büchs, J., Melin, T., & Wessling, M. (2013). Continuous production and recovery of itaconic acid in a membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, *137*, 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.044>
58. Wang, L., Khan, T., Mohanty, K., & Ghosh, R. (2010). Cascade ultrafiltration bioreactor-separator system for continuous production of F(ab')₂ fragment from immunoglobulin G. *Journal of Membrane Science*, *351*(1–2), 96–103. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2010.01.032>
59. Gail Lorenz Miller. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, *31*(III), 426–428.

60. Wang, J., & Wan, W. (2009). Experimental design methods for fermentative hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(1), 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2008.10.008>
61. Bakonyi, P. (2012). *A biohidrogén Escherichia coli-val megvalósított előállításának és membrános szeparálásának vizsgálata*. Doktori (PhD) értekezés, Pannon Egyetem, Veszprém.
62. Johanyák, Z. (2002). *Bevezetés a kísérlet módszertanba*. Kecskeméti Főiskola.
63. Paleologou, M., Thibault, A., Wong, P. Y., Thompson, R., & Berry, R. M. (1997). Enhancement of the current efficiency for sodium hydroxide production from sodium sulphate in a two-compartment bipolar membrane electro dialysis system. *Separation and Purification Technology*, 11(3), 159–171. [https://doi.org/10.1016/S1383-5866\(97\)00018-X](https://doi.org/10.1016/S1383-5866(97)00018-X)
64. Hülber-Beyer, É., Bélafi-Bakó, K., & Nemestóthy, N. (2021). Low-waste fermentation-derived organic acid production by bipolar membrane electro dialysis—an overview. *Chemical Papers*, 75(10), 5223–5234. <https://doi.org/10.1007/s11696-021-01720-w>
65. Moresi, M., & Sappino, F. (2000). Electro dialytic recovery of some fermentation products from model solutions: Techno-economic feasibility study. *Journal of Membrane Science*, 164(1–2), 129–140. [https://doi.org/10.1016/S0376-7388\(99\)00186-6](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(99)00186-6)
66. Fidaleo, M., & Moresi, M. (2010). Application of the Nernst-Planck approach to model the electro dialytic recovery of disodium itaconate. *Journal of Membrane Science*, 349(1–2), 393–404. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2009.12.002>
67. Lin Teng Shee, F., & Bazinet, L. (2009). Cationic balance and current efficiency of a three-compartment bipolar membrane electro dialysis system during the preparation of chitosan oligomers. *Journal of Membrane Science*, 341(1–2), 46–50. <https://doi.org/10.1016/j.memsci.2009.05.028>
68. Strathmann, H. (2004). *Ion-Exchange Membrane Separation Processes*. *Membrane Science and Technology Series*, 9.
69. Bazinet, L., Ippersiel, D., Gendron, C., Beaudry, J., Mahdavi, B., Amiot, J., & Lamarche, F. (2000). Cationic balance in skim milk during bipolar membrane electro acidification. *Journal of Membrane Science*, 173(2), 201–209. <https://doi.org/10.1016/S0376->

7388(00)00373-2

70. Schute, K., Detoni, C., Kann, A., Jung, O., Palkovits, R., & Rose, M. (2016). Separation in biorefineries by liquid phase adsorption: Itaconic acid as case study. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 4(11), 5921–5928. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b00096>
71. Kaur, G., & Elst, K. (2014). Correction: Development of reactive extraction systems for itaconic acid: A step towards in situ product recovery for itaconic acid fermentation (RSC Advances (2014) 4 (45029-45039) DOI: 10.1039/C4RA06612J). *RSC Advances*, 4(96), 53854. <https://doi.org/10.1039/c4ra90037e>
72. Keshav, A., & Wasewar, K. L. (2010). Back extraction of propionic acid from loaded organic phase. *Chemical Engineering Science*, 65(9), 2751–2757. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2010.01.010>

Publikációs jegyzék

- I. **Péter Komáromy**, Tamás Rózsenberszki, Péter Bakonyi, Nándor Nemestóthy, Katalin Bélafi-Bakó: Statistical analysis on the variables affecting itaconic acid separation by bipolar membrane electro dialysis. *Desalination and Water Treatment* (2020), **192**, 408-414. DOI 10.5004/dwt.2020.25899. Impact factor: **1,254**.
- II. Tamás Rózsenberszki, **Péter Komáromy**, Enikő Körösi, Péter Bakonyi, Nándor Nemestóthy, Katalin Bélafi-Bakó: Investigation of Itaconic Acid separation by Operating a Commercialized Electro dialysis Unit with Bipolar Membranes. *Processes* (2020), **8**, 1031. doi:10.3390/pr8091031. Impact factor: **2,847**.
- III. Tamás Rózsenberszki, **Péter Komáromy**, Éva Hülber-Beyer, Péter Bakonyi, Nándor Nemestóthy, Katalin Bélafi-Bakó: Demonstration of bipolar membrane electro dialysis technique for itaconic acid recovery from real fermentation effluent of *Aspergillus terreus*. *Chemical Engineering Research and Design* (2021), 175, pp. 348-357. doi:10.1016/j.cherd.2021.09.022. Impact factor (2020): **3,739**.
- IV. Tamás Rózsenberszki, **Péter Komáromy**, Éva Hülber-Beyer, Andrea Pesti, László Koók, Péter Bakonyi, Katalin Bélafi-Bakó, Nándor Nemestóthy: Bipolar membrane electro dialysis integration into the biological production of itaconic acid: A proof-of-concept (elfogadás alatt).
- V. **Péter Komáromy**, Péter Bakonyi, Adrienn Kucska, Gábor Tóth, László Gubicza, Katalin Bélafi-Bakó, Nándor Nemestóthy: Optimized pH and Its Control Strategy Lead to Enhanced Itaconic Acid Fermentation by *Aspergillus terreus* on Glucose Substrate. *Fermentation* (2019), **5**, 31; doi:10.3390/fermentation5020031. Impact factor: **2,964**.
- VI. Nándor Nemestóthy, **Péter Komáromy**, Péter Bakonyi, András Levente Tóth, Gábor Tóth, László Gubicza, Katalin Bélafi-Bakó: Carbohydrate to itaconic acid conversion by *Aspergillus terreus* and the evaluation of process monitoring based on the measurement of CO₂. *Waste and Biomass Valorization* (2020), 11, 1069-1075. doi.org/10.1007/s12649-019-00729-3. Impact factor: **3,703**.
- VII. Nándor Nemestóthy, Péter Bakonyi, **Péter Komáromy**, Katalin Bélafi-Bakó: Evaluating aeration and stirring effects to improve itaconic acid production from glucose using *Aspergillus terreus*. *Biotechnol Lett* (2019), **41**, 1383-1389. doi: 10.1007/s10529-019-02742-x. Impact factor: **1,977**.

- VIII. **Péter Komáromy**, Katalin Bélafi-Bakó, Éva Hülber-Beyer, Nándor Nemestóthy: Enhancement of oxygen transfer through membranes in bioprocesses. *Hungarian Journal of Industry and Chemistry* (2020), **48(2)**, pp.5-8. doi:10.33927/hjic-2020-21
- IX. Rózsenberszki Tamás, **Komáromy Péter**, Hülber-Beyer Éva, Koók László, Bakonyi Péter, Bélafi-Bakó Katalin, Nemestóthy Nándor: Biológiai hulladékkezelés támogatása fermentáció-elektrodialízis integrált rendszer fejlesztésével. *Membrántechnika és ipari biotechnológia* (2021), XII (4) pp 38-42.
- X. **Komáromy Péter**, Nemestóthy Nándor, Bélafi-Bakó Katalin: Ionos folyadék tartalmú szennyvizek kezelése. *Membrántechnika és ipari biotechnológia* (2022), XIII (3) pp 26-31.

Előadás:

- Tamás Rózsenberszki, Enikő Kőrösi, **Péter Komáromy**, Nándor Nemestóthy: Itaconic acid separation by bipolar membrane. PERMEA 2019. Membrane Conference of Visegrád Countries. 26-29 August 2019 Budapest.
- **Komáromy Péter**, Rózsenberszki Tamás, Bakonyi Péter, Nemestóthy Nándor, Bélafiné Bakó Katalin: Itakonsav kinyerése valós fermentléből, elektrodialízissel és kristályosítással. 50. Műszaki Kémiai Napok, Veszprém, 2022. április 26-28.
- Rózsenberszki, Tamás; Komáromy, Péter; Hülberné-Beyer, Éva, Anna; Nemestóthy, Nándor: Bipolar electrodialysis as a promising approach for the manufacturing of itaconic acid. PERMEA 2022. Membrane Conference, SOREA HUTNIK I, Tatranské Matliare, High Tatras, Slovakia, 23-26 May 2022.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném megköszönni a Biomérnöki, Membrántechnológiai és Energetikai Kutatócsoport minden dolgozójának a dolgozat elkészítésében nyújtott segítségét.

Külön köszönöm témavezetőimnek Bélafiné Dr. Bakó Katalinnak és Dr. Nemestóthy Nándornak a folyamatos szakmai és emberi támogatásukat és iránymutatásukat, valamint a megfelelő időpontban adott impulzusokat, melyek nélkül aligha készült volna el időben a dolgozat.

Köszönöm Hülberné Beyer Évának, Dr. Rózsenberszki Tamásnak és Dr. Bakonyi Péternek a kísérletek elvégzéséhez és az eredmények értékelésekor nyújtott segítséget, a lényegre törő szakmai konzultációkat.

Köszönet illeti Dr. Gubicza Lászlót, aki szakmai precizitásával a legapróbb hibákra is felhívta a figyelmemet, valamint tökéletes német tudása nélkülözhetetlen volt számomra.

Szeretném megköszönni Lövitusz Évának, régi munkatársamnak az analitikai munkában nyújtott segítségét.

És végül nagyon hálás vagyok a családomnak és a barátaimnak, akik mindvégig kitartottak mellettem és támogattak ebben a kicsit későn jött tervem megvalósításában.