

# تأثیر شرایط عملیاتی بر استخراج پنی سیلین به روش امولسیون غشاء مایع

رضا روستا آزاد

استادیار دانشکده مهندسی شیمی - دانشگاه صنعتی شریف

محمد تقی فرقدانی

کارشناس ارشد واحد علوم و تحقیقات - دانشگاه آزاد اسلامی

(تاریخ دریافت ۷۷/۲/۲۹، تاریخ تصویب ۷۸/۸/۲۲)

## چکیده

تأثیر عوامل مختلف در استخراج پنی سیلین از محیط کشت به روش امولسیون غشاء مایع با استفاده از حلال بوتیل استات بررسی شد. ترکیب فازهای داخلی، غشاء و خارجی در امولسیون به نسبت ۱، ۱ و ۲ انتخاب شد. استفاده از روغن پارافین به نسبت مساوی با حلال برای کنترل ویسکوزیته باعث بهبود راندمان استخراج گردید. از طرف دیگر استفاده از توئین ۴۰ به منظور افزایش ضریب تعادل آبدوست آبگریزی سورفکتانت اسپان ۸۰ تأثیر مثبتی بر راندمان استخراج نشان نداد. آمیزه ای به نسبت ۱ به ۹ از دای اکتیل آمین و آمبرلیت بهترین ترکیب را بعنوان حامل پنی سیلین در غشاء مایع حاصل نمود. ایجاد pH قلیایی ۸/۹ در فاز داخلی با استفاده از کربنات سدیم و تثبیت pH در فاز خارجی در حدود ۴/۵ بوسیله بافر سیترات هر دو در افزایش راندمان استخراج تأثیر مثبت داشتند. شدت هم زدن امولسیون در پایداری آن و نیز انتقال جرم و در نتیجه استخراج پنی سیلین مؤثر است و مقدار بهینه آن در این تحقیق بین ۴۰۰ و ۶۰۰ دور در دقیقه بدست آمد.

**واژه های کلیدی:** استخراج، پنی سیلین، غشاء مایع

## مقدمه

افزایش می یابد [۱]. اما در این تکنولوژی نیز لازم است یک استخراج ثانوی جهت انتقال پنی سیلین از فاز آلی به فاز آبی دیگر صورت پذیرد. به این ترتیب با توجه به ناپایداری پنی سیلین و افزایش زمان استخراج بخش دیگری از محصول از دست رفته و بر هزینه عملیات افزوده می شود.

تکنولوژی استخراج بوسیله امولسیون غشاء مایع روشی نو در زمینه استخراج آنتی بیوتیکها بطور اعم و پنی سیلین بطور اخص است و می تواند مشکلات موجود در روشهای دیگر را مرتفع سازد. در این روش یک فاز آبی بعنوان فاز داخلی بصورت قطرات ریز معلق در یک فاز آلی (حلال + سورفکتانت + حامل) به صورت امولسیون در آمده، آنگاه این امولسیون (آب/روغن) حاصله بصورت قطرات بزرگتر در فاز آبی خارجی که همان محیط کشت حاوی محصول مورد نظر است پخش میگردد (امولسیون آب/روغن/آب). بنابراین یک غشاء مایع آلی بین فاز آبی خارجی و فاز آبی داخلی قرار می گیرد. به این ترتیب محصول از فاز آبی خارجی به داخل غشاء مایع آلی نفوذ کرده و پس از عبور از عرض آن به درون فاز آبی کشیده می شود [۲، ۳]. پس از پایان عملیات می توان امولسیون آلی در آبی

در فرایند تولید پنی سیلین استخراج این محصول از محیط کشت پس از پایان عملیات تخمیر نقشی عمده در راندمان تولید و در نتیجه قیمت تمام شده محصول دارد. طی سالیان متمادی روش معمول در این فرآیند شامل دو مرحله استخراج مایع-مایع بوده است. در ابتدا محیط کشت را تا حدود ۵-۵ درجه سانتیگراد سرد نموده و سپس پنی سیلین از فاز آبی محیط کشت به فاز آلی همچون بوتیل استات و متعاقب آن از فاز آلی به فاز آبی بعدی جهت انجام مرحله بازیابی منتقل شده است. انجام این مراحل، ضمن اینکه زمان زیادی طول میکشد، باعث از بین رفتن بخش قابل توجهی از محصول نیز میگردد.

از حدود ۱۰ سال پیش تکنولوژی جدیدی در این رابطه معرفی شده است. این تکنولوژی تحت عنوان دکانتور سانتریفوژی توسط شرکت وستفالیای عرضه شده است. اساس عمل در این تکنولوژی انتقال جرم از فاز آبی به فاز سبکتر آلی می باشد که در یک جریان غیر همسو در داخل یک سانتریفوژ دیسکی بادور بالا با شتابی در حدود ۴۰۰۰-۶۰۰۰ برابر شتاب جاذبه صورت میگیرد. در این نوع واحدها، نه تنها زمان استخراج کاهش می یابد، بلکه راندمان آن نیز

همگن کننده به مدت ۱۰ دقیقه اختلاط صورت گرفت. دستگاه مجهز به الکتروود پلاتین بود و با توجه به تجهیز آن به سیستم خنک کن در درجه حرارت پائین شدت بالایی از ارتعاش صوتی را در فرکانس ۲۰ کیلو هرتز ایجاد نمود. پس از ایجاد امولسیون آبی در آلی، محیط دو فاز وی همگن بدست آمده در محیط آبی خارجی توزیع گردید. نسبت حجمی بین فازهای آبی داخلی و خارجی ا به ۱۲ انتخاب شد تا نیازی به تغلیظ فاز داخلی پس از استخراج نباشد [۳]. در صنایع تخمیری فعلی، اگرچه غلظتهای تا حدود ۸۰-۹۰ g/L نیز گزارش شده، متوسط غلظت پنی سیلین در محیط کشت در حدود ۵۰ g/L می باشد. با فرض راندمان استخراج ۸۰٪ و نسبت فازهای ۱۲:۱، غلظت پنی سیلین در فاز آبی داخلی در حدود ۵۰۰ g/L خواهد بود که محلولی ۵۰٪ از پنی سیلین بوده و جهت عملیات بعدی یعنی کریستالیزاسیون مناسب می باشد. بنابراین ۷۰ cc از امولسیون بدست آمده را در ۴۲۰ cc از محیط کشت حاوی پنی سیلین وارد کرده به کمک یک همزن فاز آبی در فاز آبی پراکنده گردید.

جهت اندازه گیری پنی سیلین در فاز آبی از کروماتوگرافی مایع (۵) با کارایی بالا مجهز به سنجش گر طیف نوری (۶) در ناحیه طول موج ۲۵۴ نانومتر استفاده شد. فاز ثابت یکی از ترکیبات سیلیکاتی الکیل بنام S5 ODS1 به طول ۲۵ سانتیمتر و فاز متحرک مخلوط ۷۰:۳۰ متانول و آب در فشار 1000psi بود. به منظور تهیه نمونه جهت HPLC حجمی از سیستم سه فاز وی اخذ شده و در کیف دکانتور فاز آبی خارجی از قطرات فاز آبی جدا شده و توسط کاغذ صافی فیلتر گردید [۵]. ۲ میکرولیتر از این محلول صاف شده جهت تزریق به دستگاه HPLC مورد استفاده قرار گرفت. تغییر غلظت پنی سیلین در فاز خارجی نسبت به غلظت اولیه بعنوان شاخصی از روند استخراج مورد مطالعه قرار گرفت.

## نتایج و بحث

### تأثیر رقیق کننده

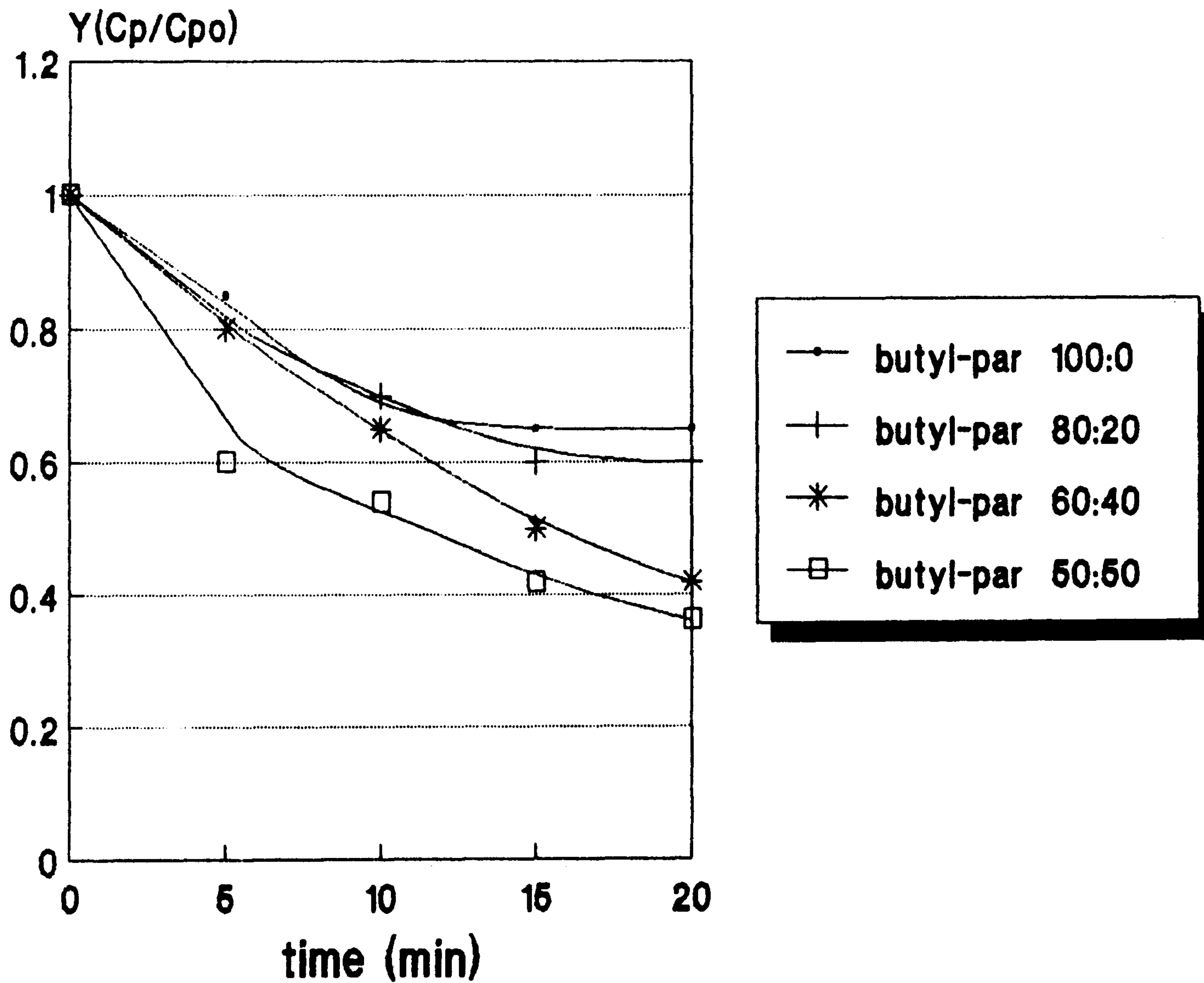
ویسکوزیته بوتیل استات در حدود ۰/۷۳ میلی پواز است. بنابر این علیرغم افزایش انتقال جرم و پتانسیل بالای استخراج، بهنگام استفاده از این حلال در سیستم غشاء مایع، قطرات امولسیون برون ناپایدار بوده به هم می پیوندند. اگر این حلال با ترکیبی آلی با ویسکوزیته بالا رقیق شود، نتایج بهتری در پایداری امولسیون می تواند حاصل شود. در این رابطه از روغن پارافین با ویسکوزیته ۱/۶۵ میلی پواز استفاده شد. به منظور بدست آوردن مقدار بهینه رقیق کننده چندین آزمایش با استفاده از نسبتهای مختلف بوتیل

و سپس امولسیون آبی در آلی را در هم شکست و در نهایت محصول استخراج شده را بازیابی کرد. با توجه به ماهیت روش استخراج بوسیله غشاء مایع، هر دو مرحله استخراج در آن واحد صورت می گیرند. علاوه بر آن به علت استفاده از قطرات ریز معلق سطح تماس فازها زیاد بوده سرعت انتقال جرم بالایی حاصل خواهد شد. با توجه به توضیحات ارائه شده عواملی چند در موفقیت روش غشاء مایع در حصول حداکثر بازده استخراج می توانند مؤثر باشند. از جمله این عوامل می توان به پایداری قابل کنترل امولسیون آبی در آلی و نیز آلی در آبی اشاره کرد. بدیهی است بهنگام انجام فرآیند جداسازی ثبات امولسیون مطلوب می باشد و شکست آن به منزله از دست رفتن آنتی بیوتیک استخراج شده است. این در حالی است که پس از خاتمه عملیات، جداسازی فازهای آلی و آبی بیرونی در واحد دکانتور و متعاقب آن جدا شدن فاز آبی درونی از فاز آلی غشاء در کمترین زمان ممکن در مد نظر می باشد. این مطلب اهمیت استفاده صحیح از مواد فعال سطحی از نوع، مقدار و ترکیب مناسب را نمایان می سازد. علاوه بر این، ویسکوزیته حلال و نیز حضور یک عامل حامل در آن می تواند نقش عمده ای در انتقال جرم یعنی عبور آنتی بیوتیک از فاز آبی بیرونی به فاز آبی درونی داشته باشد. از آنجائیکه این انتقال جرم تحت تأثیر مکانیزم جابجائی (۱) و نیز نفوذ (۲) می باشد، ویسکوزیته حلال می تواند با تأثیر بر نوسانات فاز غشاء مکانیزم جابجائی را تقویت نماید در حالیکه وجود یک حامل مناسب می تواند از طریق پدیده انتقال تسهیل یافته (۳)، مکانیزم نفوذ را توسعه دهد. علاوه بر ویسکوزیته حلال، عامل دیگری که می تواند فاز غشاء را به نوسان آورد و نفوذ گردابه ها را از فاز آبی خارجی به فاز غشاء زیاد کند، شدت هم زدن امولسیون است و می تواند مورد مطالعه قرار گیرد.

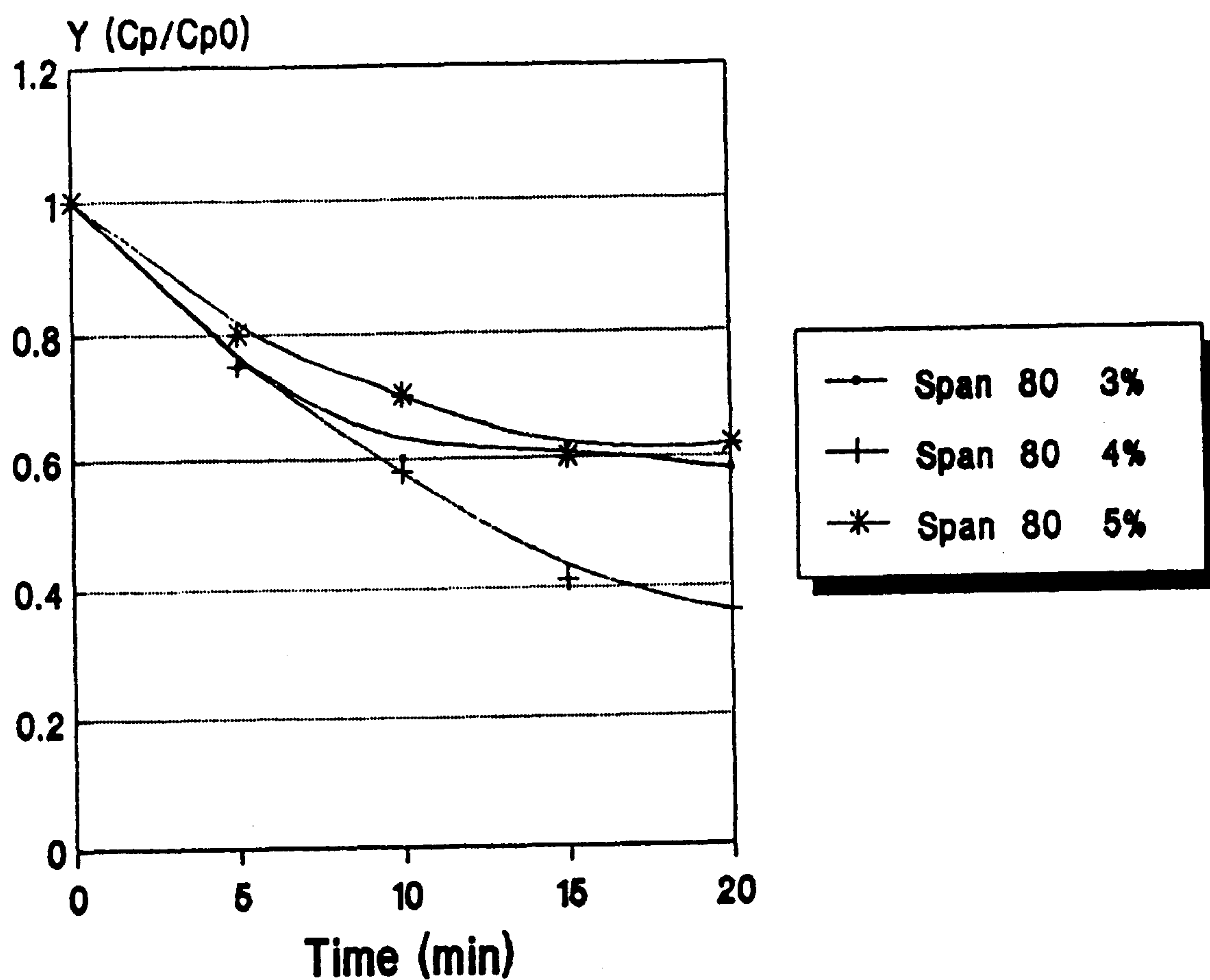
باتوجه به این پتانسیلها، این روش در حال حاضر مورد توجه محققان بوده و تکنولوژی آن در حال تکوین است. در این تحقیق تأثیر عوامل مختلف عملیاتی بر پایداری امولسیونها، سرعت انتقال جرم و بالاخره بازدهی کلی فرآیند بررسی شده و شرایطی بهینه جهت ایجاد سیستم غشاء مایع و استخراج پنی سیلین ارائه شده است.

## مواد و روشها

فاز آلی (حلال) مورد استفاده در این تحقیق بوتیل استات نرمال بود. این حلال ضریب توزیع (۴) خوبی جهت استخراج پنی سیلین از فاز آبی دارد. جهت برقراری امولسیون اولیه ۳۵ cc از فاز آبی را وارد ۳۵ cc از فاز آلی نموده توسط دستگاه اولتراسونیک



شکل ۱: تأثیر رقیق سازی فاز آلی ( بوتیل استات و روغن پارافین) بر روی استخراج (سایر شرایط : عدم حضور حامل، pH داخلی ۸/۹ با استفاده از بافر کربنات، pH خارجی ۴/۵ با استفاده از بافر سیترات، ۴٪ حجمی اسپان ۸۰ بعنوان سورفکتانت، سرعت همزن ۴۰۰ rpm).



شکل ۲: تأثیر مقدار سورفکتانت (span 80) بر راندمان استخراج پنی سیلین در سیستم غشاء مایع (سایر شرایط: ۳٪ حجمی از Amberlite LA2 بعنوان حامل، pH داخلی ۸/۹ با استفاده از بافر کربنات، pH خارجی ۴/۵ با استفاده از بافر سیترات، نسبت مساوی از بوتیل استات و روغن پارافین، سرعت همزن rpm).

بدست آمده است. از طرف دیگر، شکل (۳) نشان میدهد که در نسبت ۴۰:۶۰، ۵۰:۵۰ و ۶۰:۴۰ از توئین ۴۰: اسپان ۸۰ روند استخراج با کاهش توئین ۴۰ افزایش می‌یابد، به نحوی که بهترین نتیجه استخراج در نسبت ۶۰:۴۰ با راندمانی در حدود ۶۰٪ از استخراج پنی سیلین بدست آمده است که این البته هنوز کمتر از حالتی است که از اسپان ۸۰ به تنهایی استفاده شده است. بنابراین به نظر میرسد علی‌رغم تاثیر مثبتی که توئین ۴۰ در افزایش HLB مخلوط سورفکتانت دارد، بواسطه تاثیرات منفی در رابطه با ویسکوزیته و عوامل واسط دیگر در مجموع تاثیر مثبتی بر راندمان استخراج ندارد.

### تأثیر حامل

موادی از خانواده آمینها می‌توانند طبق واکنش زیر



با آنیون پنی سیلین و یون  $H^+$  کمپلکسی غیر یونی از پنی سیلین تولید کنند. این کمپلکس می‌تواند براحتی در غشاء آلی نفوذ کرده پنی سیلین را تا مرز فاز آبی داخلی هدایت کند و باعث انتقال به آن فاز شود. دو نمونه از این مواد دای اکتیل امین<sup>(۴)</sup> و آمبرلایت<sup>(۵)</sup> می‌باشند [۳]. در این مطالعه تأثیر این دو حامل در استخراج پنی سیلین به روش غشاء مایع بررسی شد. شکل ۴ اطلاعات مربوط به این آزمایش را ارائه می‌کند.

ملاحظه می‌شود که نرخ استخراج پنی سیلین در حضور DOA در ابتدایش از آمبرلایت می‌باشد ولی در ادامه عمل نتیجه معکوس شده و در نهایت سیستم حاوی DOA راندمان استخراج خیلی پایینی از خود نشان می‌دهد. این مطلب به خاطر اثر منفی این حامل بر پایداری امولسیون است. اصولاً استفاده از مقدار زیادی از حامل باعث ناپایداری سیستم امولسیون می‌گردد و گزارش شده است که بخصوص در مقادیر بیش از ۱۰٪ از حامل امولسیون کاملاً ناپایدار است. به نظر میرسد این پدیده در رابطه با DOA جدی تر است و مصرف این حامل در حدود ۳٪ نیز باعث ناپایداری امولسیون و در نهایت کاهش راندمان استخراج می‌شود. در عین حال میل ترکیبی DOA با آنیون پنی سیلین و تشکیل کمپلکس جفت یونی بیش از آمبرلایت است ( $K = 5/26 \times 10^{-3}$  برای آمبرلایت و  $K = 1/85 \times 10^{-3}$  برای DOA است) [۴]. بنابراین به منظور پرهیز از اثر منفی DOA بر پایداری امولسیون و در عین حال استفاده از اثر مثبت آن در تشکیل کمپلکس غیر یونی (AHP) ممکن است بتوان از مخلوطی از این دو حامل بهره جست. در این راستا مخلوطی به نسبت ۹۰:۱۰ از Amberlite : DOA مورد تحقیق قرار گرفت و

استات و روغن پارافین انجام شد. شکل ۱ نتایج حاصل از این آزمون را ارائه می‌کند.

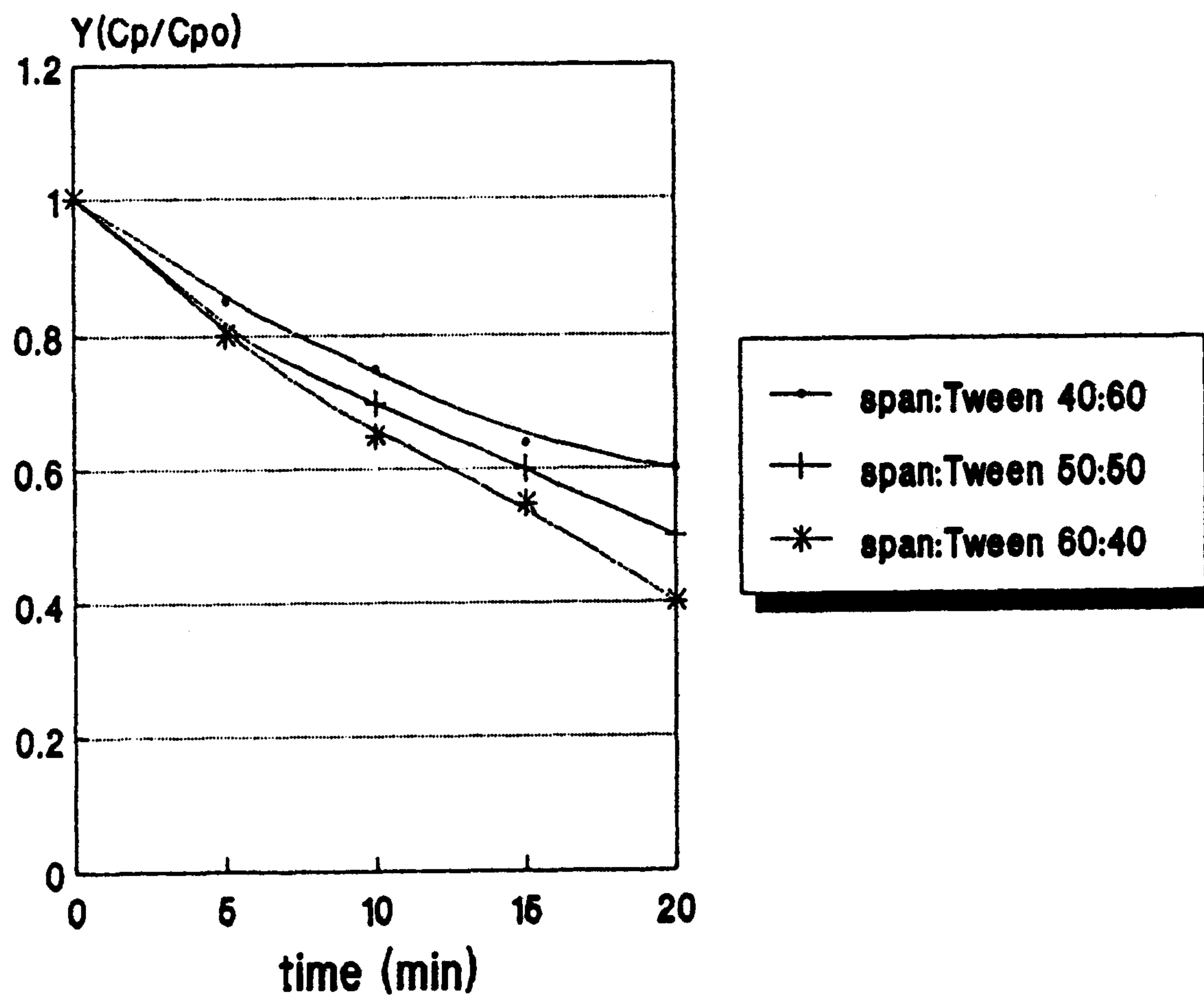
همانطور که در شکل (۱) ملاحظه می‌شود، در حوزه نسبتهای مورد استفاده در این آزمایش، نسبت ۱:۱ از بوتیل استات و روغن پارافین بهترین نتیجه را داده است. در این آزمایشات هر چه مقدار رقیق کننده یعنی روغن پارافین کاهش یافته، راندمان استخراج بهبود یافته و در نسبت مساوی در طول مدت ۲۰ دقیقه در حدود ۶۰ درصد پنی سیلین استخراج شده است. در این مورد می‌توان با کاهش مقدار رقیق کننده رفتار سیستم را در فاصله صفر تا نسبت مساوی نیز تحقیق نمود.

### تأثیر مواد فعال سطحی

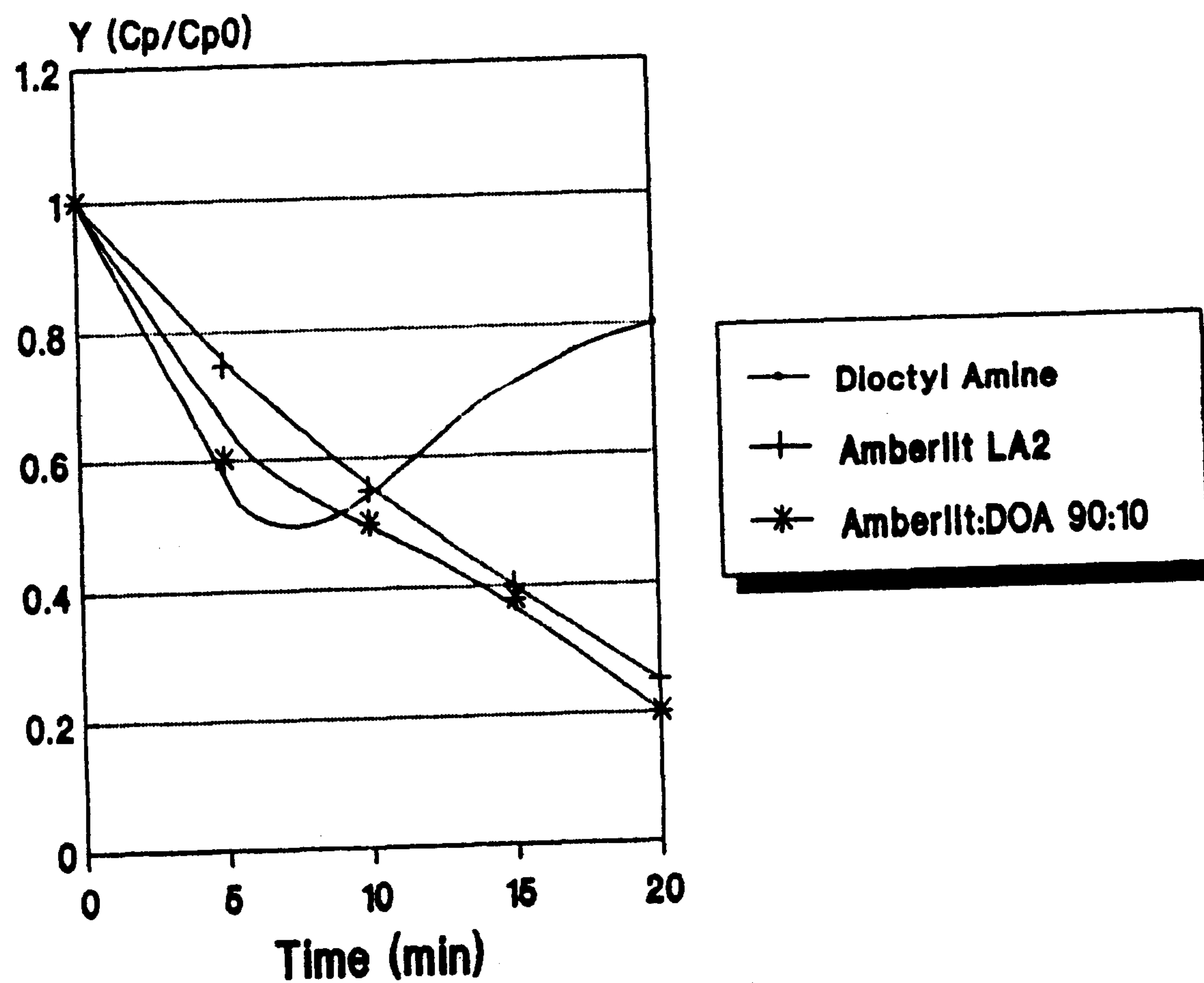
استفاده از مواد فعال سطحی باعث کاهش کشش سطحی بین غشاء مایع آلی و فاز آبی شده و در نتیجه پایداری امولسیون را افزایش می‌دهد. وجود این مواد در سیستم غشاء مایع می‌تواند اثرات مثبت دیگری داشته باشد. بطور مثال این مواد می‌توانند بعنوان جفت یونی عمل کرده و نقش حامل پنی سیلین در عبور از غشاء مایع را نیز بعهده بگیرند. سورفکتانت‌های آمینی اغلب از این دسته‌اند. علاوه بر این حضور مواد فعال سطحی تنها بر نیروی کشش سطحی موثر نیست بلکه بر ویسکوزیته غشاء مایع نیز تاثیر دارد و از این جهت نیز می‌تواند بر پایداری امولسیون، انتقال جرم و در نهایت بازدهی استخراج اثر بگذارد.

با توجه به این اثرات مثبت، مواد فعال سطحی متعددی جهت استفاده در سیستم غشاء مایع مورد بررسی قرار گرفته که در میان آنها می‌توان به دو ترکیب بانامهای تجاری توئین ۴۰<sup>(۱)</sup> و اسپان ۸۰<sup>(۲)</sup> اشاره نمود.

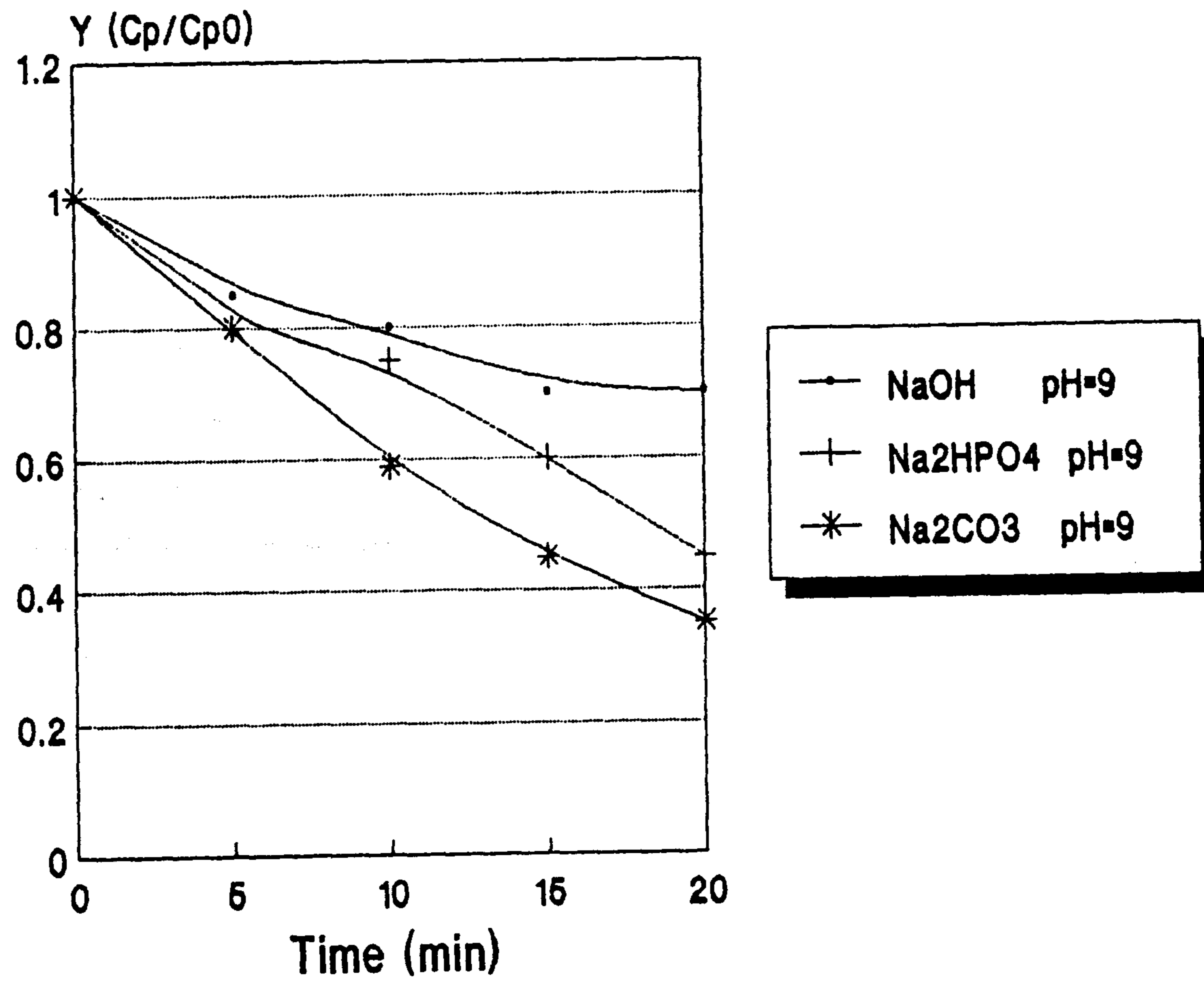
ضریب تعادل آبدوست آگریزی<sup>(۳)</sup> اسپان ۸۰ در حدود ۴ و از آن توئین ۴۰ در حدود ۱۱/۵ می‌باشد. این در صورتی است که ضریب HLB مناسب جهت استخراج موفق در سیستم غشاء مایع در حدود ۶-۴/۵ ذکر شده است [۴]. بنابراین به نظر میرسد یک راه جهت حصول سورفکتانت با HLB مناسب استفاده از مخلوط دو ترکیب باشد. جهت تحقیق تجربی این ملاحظات، سورفکتانت‌های توئین ۴۰ و اسپان ۸۰ به صورت مستقل و نیز مخلوط آنها به نسبت‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج حاصل از این آزمون در شکل‌های (۲) و (۳) عرضه شده است. همانطور که در شکل (۲) ملاحظه می‌شود، در استفاده از سورفکتانت اسپان ۸۰ به صورت مستقل، بهترین نتیجه در غلظت ۴٪ از این ماده در فاز غشاء با راندمان استخراج بیش از ۶۰٪ در مدت زمان ۲۰ دقیقه



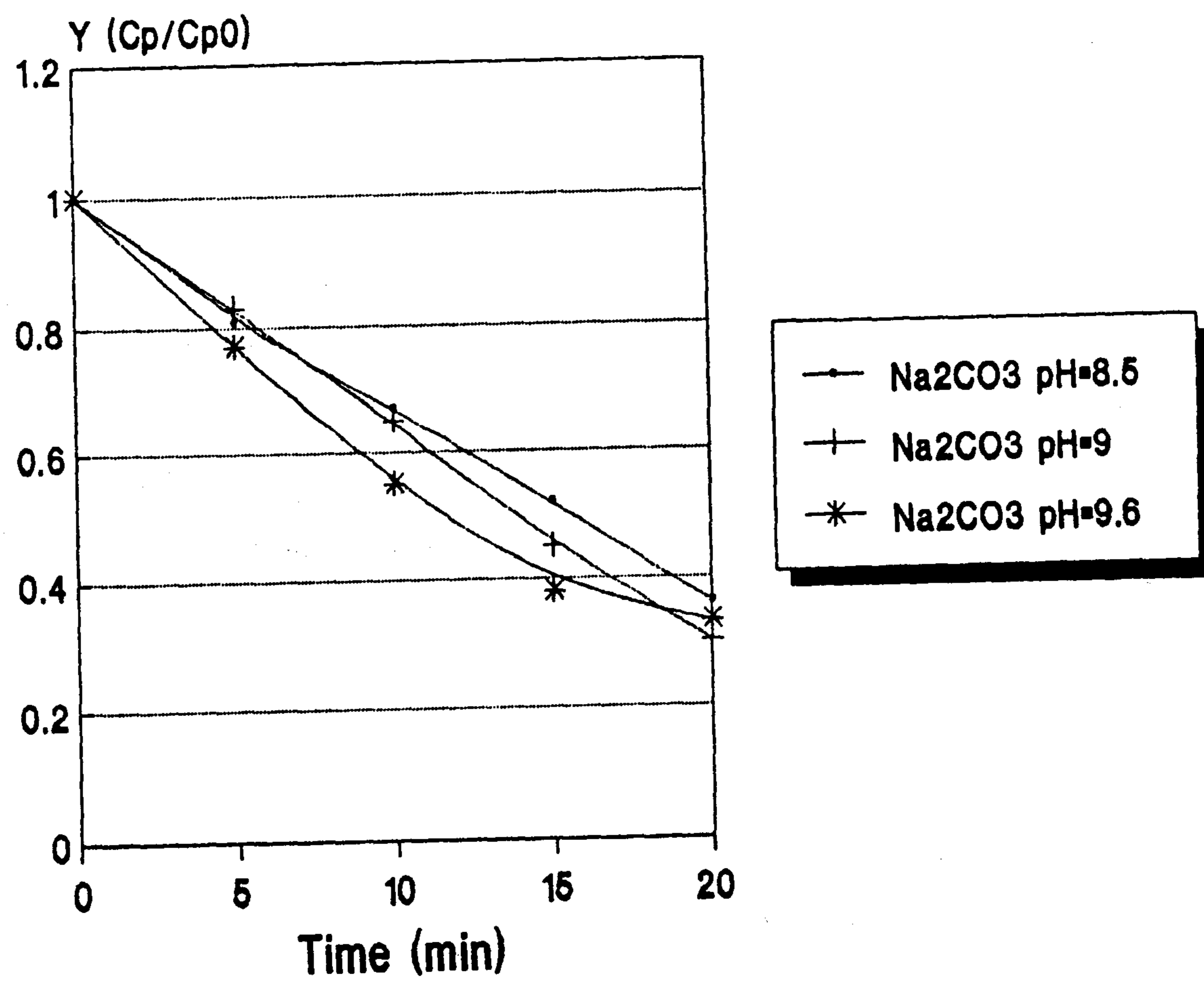
شکل ۳: تأثیر افزایش توئین ۴۰ به سورفکتانت اسپان ۸۰ بر راندمان استخراج داخلی (سایر شرایط: ۳٪ حجمی از خارجی ۴/۵ Amberlit LA2 به عنوان حامل، pH ۸/۹ با استفاده از rpm کربنات سدیم، pH ۴۰۰ با استفاده از بافر سیترات، نسبت مساوی از بوتیل استات و روغن پارفین سرعت همزن).



شکل ۴: تأثیر استفاده از ۳٪ حجمی حامل بر راندمان استخراج پنی سیلین (سایر شرایط: ۴٪ از اسپان بعنوان سورفکتانت، pH داخلی ۸/۹ با استفاده از کربنات سدیم pH خارجی ۴/۵ با استفاده از بافر سیترات، نسبت مساوی از بوتیل استات و روغن پارفین، سرعت همزن ۴۰۰ rpm).



شکل ۵: تأثیر استفاده از بافرهای مختلف در فاز داخلی در pH معادل ۹ بر راندمان استخراج (سایر شرایط: ۴٪ حجمی اسپان ۸۰ بعنوان سورفکتانت، ۳٪ حجمی آمبرلیت بعنوان حامل، pH خارجی با استفاده از بافر سیترات، نسبت مساوی از بوتیل استات و روغن پارافین، سرعت همزن ۴۰۰ rpm).



شکل ۶: تأثیر تنظیم pH در فاز داخلی با استفاده از کربنات سدیم بر استخراج پنی سیلین (سایر شرایط: ۳٪ حجمی آمبرلیت بعنوان حامل، ۴٪ حجمی اسپان ۸۰ بعنوان سورفکتانت، pH خارجی ۴/۵ با استفاده از بافر سیترات، نسبت مساوی از بوتیل استات و روغن پارافین، سرعت همزن ۴۰۰ rpm).

ید بهینه شود.

### تأثیر PH در فاز خارجی

همانطور که قبلاً ذکر شد اختلاف غلظت  $H^+$  بین دو فاز داخلی و خارجی باعث ایجاد نیروی رانش در جهت انتقال پنی سیلین از فاز خارجی به سمت فاز داخلی می شود. در عین حال این PH در فاز داخلی و خارجی نمی تواند خیلی بالا و یا پایین باشد زیرا در عمل باعث تجزیه پنی سیلین می گردد. بنابراین لازم است که از یک محلول بافر با ظرفیت بالا که نسبت به تغییرات PH مقاوم بوده و در عین حال باعث تجزیه پنی سیلین نگردد استفاده شود.

در این تحقیق با استفاده از بافر سیترات در فاز خارجی تأثیر PH بر راندمان و سرعت استخراج بررسی شد. شکل (۷) اطلاعات تجربی حاصل از این مطالعه را نشان می دهد که در افزایش pH از ۴ به ۴/۵ و سپس به ۵ در ابتدا استخراج بهبود مییابد و سپس دوباره کاهش می یابد. بدیهی است که گرادیان غلظت  $H^+$  در pH مساوی با ۴ بهتر از pH مساوی ۴/۵ می باشد ولی در عین حال پایداری پنی سیلین در pH مساوی ۴/۵ بهتر از pH مساوی ۴ است و بنابراین کاهش راندمان استخراج در pH مساوی ۴ ممکن است پدیده‌ای ظاهری بوده و ناشی از تجزیه پنی سیلین در این pH باشد [۹]. البته در استخراج تجاری پنی سیلین در صنعت امروز، pH محیط حتی تا حدود ۲ کاهش می یابد ولی همزمان با آن درجه حرارت نیز به حدود  $50^{\circ}C$  رسانده می شود و این امر از سرعت تجزیه پنی سیلین می کاهد. در این حالی است که آزمایشات صورت گرفته در این تحقیق همگی در دمای محیط صورت گرفته اند. بنابراین به نظر می رسد اگر از درجه حرارت سیستم کاسته شود، بتوان pH در فاز خارجی را بیش از این کاهش داد و بدون مواجه شدن یا تجزیه پنی سیلین، افزایش گرادیان یون  $H^+$  بین فاز خارجی و داخلی راندمان و نرخ استخراج را بهبود داد. در هر صورت در دمای محیط مقدار بهینه pH در فاز خارجی در حدود ۴/۵ باشد.

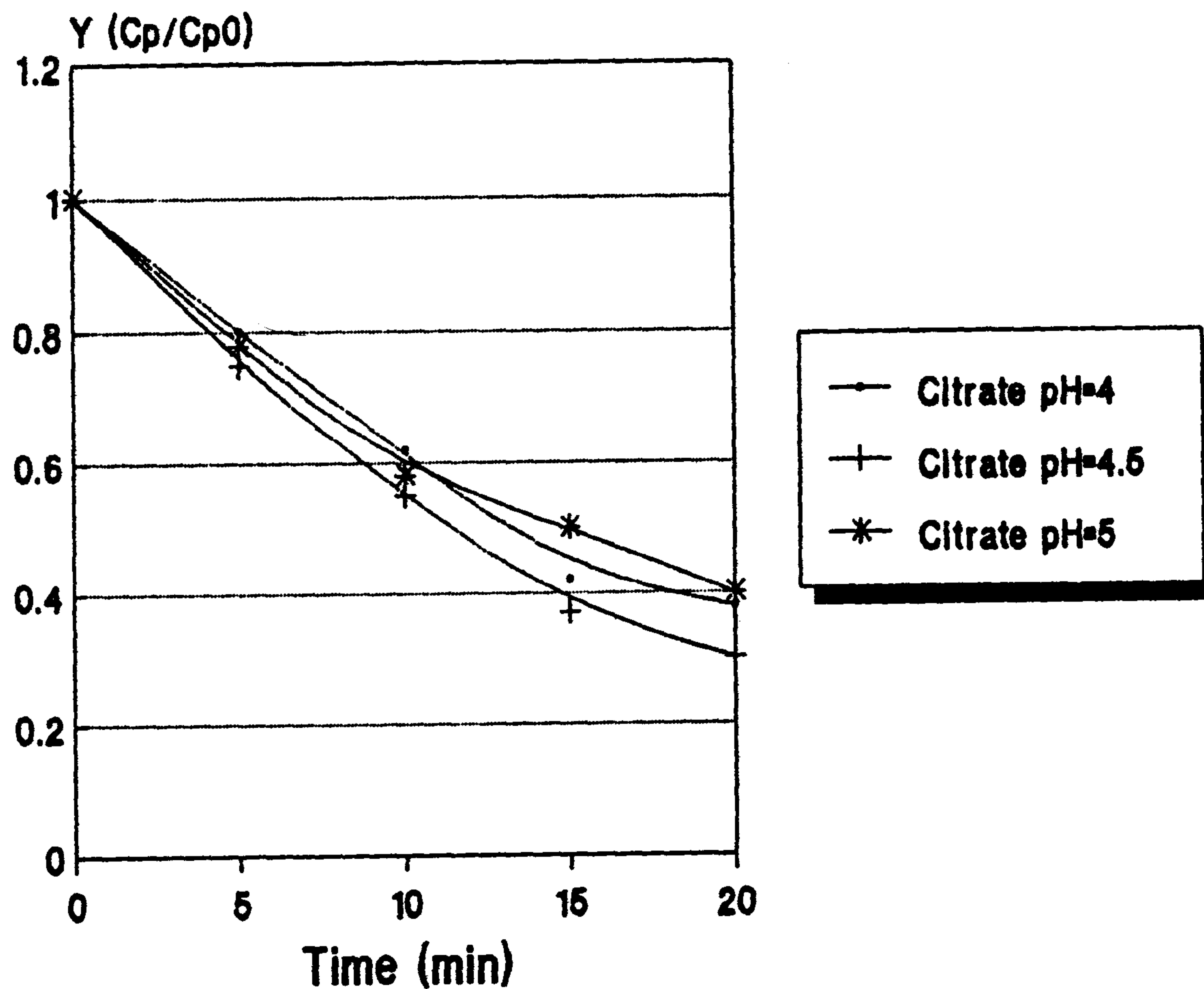
### تأثیر شدت هم زدن

از جمله عوامل مؤثر در اندازه قطرات امولسیون شدت هم زدن است. با افزایش سرعت هم زدن این قطرات ریزتر شده و ضمن افزایش سطح تماس بین دو فاز، انتقال جرم افزایش می یابد. به منظور تحقیق عملی تأثیر هم زدن بر راندمان استخراج پنی سیلین، کیفیت استخراج در دو دور مختلف مورد بررسی قرار گرفته و نتایج حاصل در شکل (۸) رسم شده است.

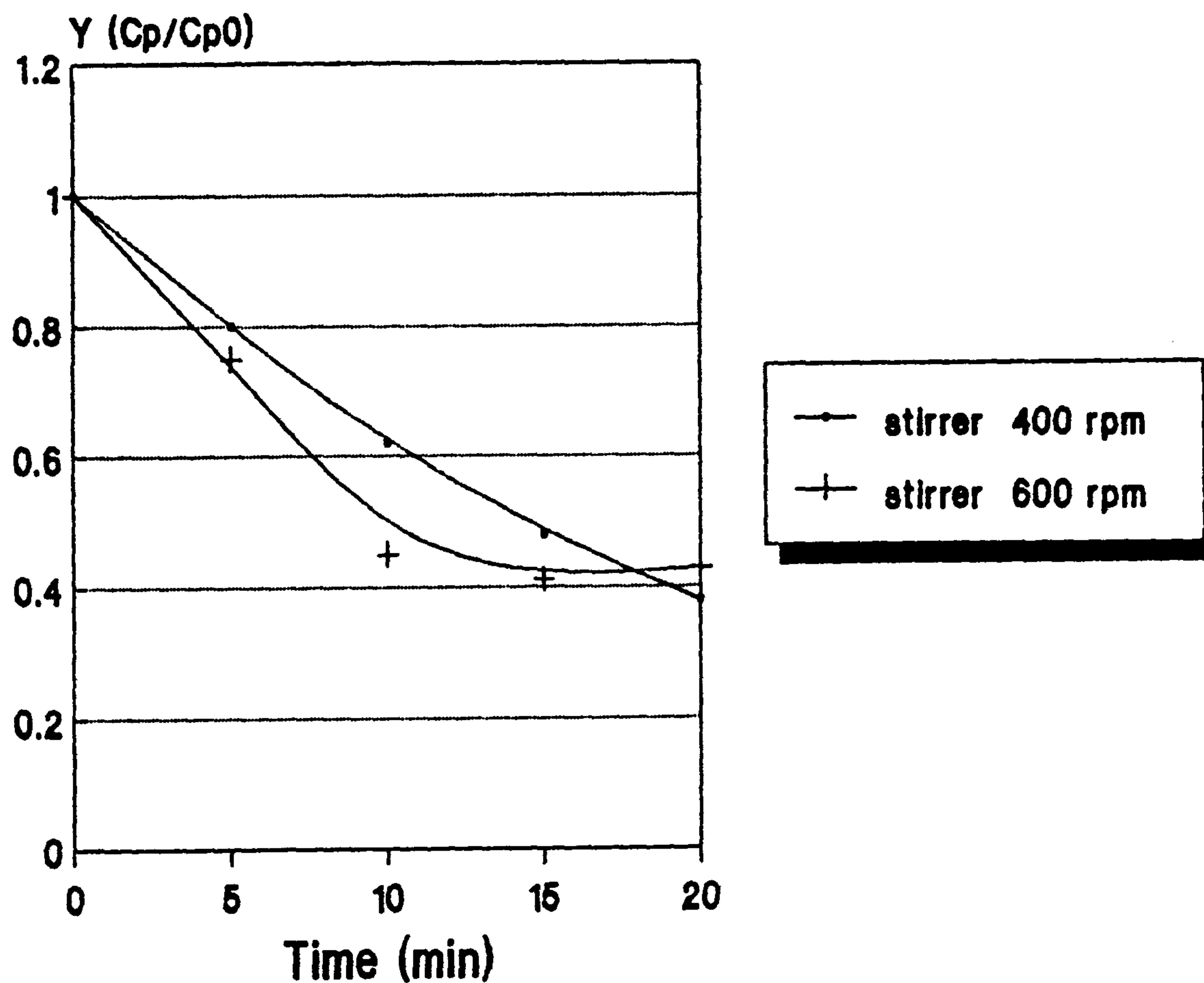
همانطوریکه که در شکل میتوان ملاحظه نمود، راندمان استخراج در این حالت بهتر از حالت استفاده از آمبرلیت به تنهایی و در حدود ۸۰٪ می باشد. این مشاهده میتواند شاهدهی بر صحت نظریه فوق تلقی گردد. در این رابطه می توان نسبتهای دیگری از این دو حامل رانیز تهیه و نسبت بهینه ترکیب را بصورت تجربی تعیین نمود.

### تأثیر PH در فاز داخلی

اختلاف غلظت  $H^+$  بین فاز داخلی و خارجی باعث ایجاد نیروی رانش برای پنی سیلین شده راندمان استخراج را بالا می برد [۳]. به این دلیل در فاز داخلی از بازهائی چون سود و کربنات سدیم و دی سدیم هیدروژن فسفات می توان استفاده کرد. البته مقدار زیاد از این بازها در فاز داخلی میتواند باعث شکست غشاء شود و بنابراین مقدار استفاده از آنها باید بهینه شود. داده های تجربی در رابطه با نحوه تأثیر این سه باز در pH معادل ۹ بر استخراج غشاء مایع که در این تحقیق گرد آوری شده اند، در شکل های (۵) و (۶) ارائه شده اند. همانطور که در شکل (۵) ملاحظه می شود، کربنات سدیم بهتر از سود و دی هیدروژن فسفات در افزایش استخراج پنی سیلین مؤثر است. البته راندمان نهائی استخراج به کمک کربنات سدیم و دی سدیم هیدروژن فسفات تقریباً برابر است ولی نرخ استخراج در رابطه با مورد اولی در طول مدت ۲۰ دقیقه بهتر می باشد. بهترین میزان استخراج طی مدت ۲۰ دقیقه مربوط به این باز به میزان تقریبی ۶۰ درصد میباشد و این مطلب می تواند بعلت تشکیل سیستم بافری نسبتاً خوب با حضور این باز در سیستم باشد درحالیکه مثلاً در رابطه با سود چنین حالت بافری دایر نمی گردد. اطلاعات مربوط به تأثیر pH در فاز داخلی با استفاده کربنات سدیم در استخراج پنی سیلین در شکل (۶) منعکس است. در افزایش غلظت کربنات سدیم از ۸/۵ به ۹ و سپس به ۹/۵ نرخ و راندمان نهائی استخراج پنی سیلین طی مدت ۲۰ دقیقه افزایش می یابد. بنابراین افزایش pH با افزایش غلظت باز در فاز داخلی در این مورد عاملی مثبت است. این مطلب می تواند با توجه به تحولات صورت گرفته در مرز بین غشاء و فاز داخلی توجیه شود. هنگامیکه AHP به مرز بین غشاء و فاز داخلی می رسد، جهت ورود پنی سیلین به این فاز باید کمپلکس شکسته شود. غلظت بالای یون  $OH^-$  در فاز داخلی می تواند در این رابطه مؤثر باشد بنحویکه با جذب یون  $H^+$  در این کمپلکس، موجبات شکست آن و در نهایت نفوذ  $P^-$  به فاز داخلی گردد. البته افزایش غلظت باز در فاز داخلی می تواند باعث ناپایداری پنی سیلین و تجزیه آن در فاز داخلی گردد و لذا غلظت کربنات و در نتیجه pH، در فاز داخلی با



شکل ۷: تأثیر تنظیم pH در فاز خارجی توسط بافر سیترات بر استخراج (سایر شرایط: ۳٪ حجمی آمبرلیت بعنوان حامل، ۴٪ حجمی اسپان ۸۰ بعنوان سورفکتانت داخلی، pH ۸/۶ با استفاده از کربنات سدیم، نسبت مساوی از بوتیل استات و روغن پارافین، سرعت همزن ۴۰۰ rpm).



شکل ۸: تأثیر سرعت همزن در سرعت و راندمان استخراج (سایر شرایط: ۳٪ حجمی آمبرلیت بعنوان حامل، ۴٪ حجمی اسپان ۸۰ بعنوان سورفکتانت داخلی، pH ۸/۹ با استفاده از کربنات سدیم، pH خارجی ۴/۵ با استفاده از بافر سیترات، نسبت مساوی از بوتیل استات و روغن پارافین).



شرایط بهینه خود عمل می‌نمایند. علاوه بر این هزینه ساخت و نگهداری این استخراج کننده‌ها زیاد می‌باشد.

در کنار این بحث کلی، با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان به نکات زیر در رابطه با بهبود عملکرد این سیستم اشاره نمود:

۱) استفاده از رقیق کننده‌هایی چون روغن پارافین به نسبت مساوی با حلال بوتیل استات باعث پایداری امولسیون و بهبود راندمان استخراج می‌شود.

۲) با استفاده از سورفکتانت اسپان ۸۰، بهترین نتیجه در غلظت ۴٪ حجمی از این ترکیب با استخراجی بیش از ۶۰٪ حاصل شد. استفاده از مخلوط دو سورفکتانت اسپان ۸۰ و توئین ۴۰ حتی در بهترین حالت یعنی، مخلوطی به نسبت ۴۰ به ۶۰ از توئین ۴۰ و اسپان ۸۰ بهبودی در عملکرد سیستم غشاء مایع دیده نشد.

۳) آمیزه‌ای به نسبت ۱ به ۹ از دای اکتیل آمین و آمبرلیت بعنوان حامل پنی سیلین در غشاء آلی عملکردی بهتر از هر یک از دو حامل ارائه نمود. نسبت بهینه استفاده از این دو حامل باید بصورت تجربی تحقیق شود.

۴) تأمین محیطی قلیائی در فاز داخلی و محیطی اسیدی در فاز خارجی و در نتیجه ایجاد گرادیان غلظت  $H^+$  از فاز خارجی به داخلی بر استخراج پنی سیلین مؤثر است. در فاز داخلی کربنات سدیم بهتر از سود و دی سدیم هیدروژن فسفات عمل نمود و در pH حدود ۸/۶ بهترین نتیجه در استخراج پنی سیلین ملاحظه شد. در همین حال، pH بهینه در فاز خارجی با استفاده از بافر سیترات در حدود ۴/۵ تعیین گردید.

۵) شدت همزن در کاهش قطر قطرات امولسیون و انتقال جرم و در نتیجه افزایش بازده استخراج مؤثر است ولی در عین حال می‌تواند با شکست قطرات باعث ناپایداری امولسیون گردد. در این تحقیق سرعت مناسب هم زدن بین ۴۰۰ و ۶۰۰ دور در دقیقه بدست آمد.

در ابتدا سرعتی در حدود ۴۰۰ دور در دقیقه تجربه شد. مشاهده می‌شود که در طول مدت ۲۰ دقیقه در حدود ۶۰ درصد پنی سیلین با نرخی ثابت و در حدود ۳ درصد در دقیقه استخراج می‌شود. با افزایش دور همزن به حدود ۶۰۰ دور در دقیقه، سرعت استخراج در ابتدا زیاد می‌شود ولی پس از حدود ۱۰ دقیقه به تدریج ثابت می‌شود و سپس بعلت شکستن امولسیون منفی می‌گردد. البته ممکن است منفی شدن نرخ استخراج خطای آزمایش به نظر آید ولی با تکرار این تجربه، نتیجه بدست آمده مجدداً تکرار شد. منفی شدن استخراج پس از حدود ۱۵ دقیقه می‌تواند به علت شکستن غشاء باشد. در واقع نرخ منفی تغییر غلظت پنی سیلین در فاز خارجی حاصل فرایند دینامیک انتقال پنی سیلین به فاز داخلی توسط پدیده نفوذ و عبور از غشاء گلبولهای سالم و انتقال پنی سیلین از فاز داخلی به خارجی در گلبولهای شکسته شده میباشد. بنابراین بهترین نتیجه زمانی حاصل میشود که بدون شکست قطرات امولسیون، قطر آنها تا حد امکان کاهش یابد. نتایج حاصل از این تجربه نشان می‌دهد که سرعت بهینه همزن باید بین ۴۰۰-۶۰۰ دور در دقیقه باشد.

## نتیجه گیری

سیستم غشاء مایع می‌تواند روشی قابل قبول در استخراج پنی سیلین از محیط کشت باشد. البته این روش هنوز مراحل اولیه تحقیقاتی خود را می‌گذراند و تا حصول نتایج بهینه جهت استفاده صنعتی و تجاری از آن به مطالعات بیشتری نیاز می‌باشد. بهترین بازده استخراج پنی سیلین بدست آمده از این تحقیق در حال حاضر در حدود ۶۰٪ می‌باشد که در حدود سیستم استخراج مایع - مایع سنتی دو مرحله‌ای می‌باشد. از طرف دیگر، بازده استخراج پنی سیلین توسط استخراج کننده سانتریفوژی در حدود ۷۰٪ می‌باشد ولی باید توجه داشت که این استخراج کننده‌ها مراحل تحقیقاتی خود را سالها پیش سپری کرده و در حال حاضر در

## مراجع

- 1 - Likidis, Z. and Schlichting, A. (1989). "Reactive extraction of penicillin in pilot scale." *Appl. Microb. and Biotech.*, Vol. 33, PP. 1385-1392.
- 2 - Hano, T., Ohtake, T. and Matsumoto, M. (1990). "Extraction of penicillin with LSM." *J. Chem. Engi. of Japan.* Vol. 23, No. 6, PP. 772-5.
- 3 - Lee, K. and Lee, S. (1992). "Extraction of penicillin by ELM." *J. Chem. Tech. Biotech.* Vol. 53, PP. 251-9.
- 4 - Marchese, J. (1989). "Facilitated transport of penicilin through immobilized liquide memberane."

- J.Chem. Tech .Biotec.* Vol. 46, PP. 146-159.
- 5 - Menon, V. and Wasan, B.(1985). "Demulsification in encyclopoedia of emulsion technology." Vol. 2, *Application, Marcel Dekker Inc., NewYork*, PP. 1-75.
- 6 - Nakashio, F. (1988). "Role of surfactants in the behavior of emulsion liquid membranes development of new surfactant." *J. Memb. Scien.* Vol. 38, PP. 249-60.
- 7 - Tadashi, H. and Takaaki, O. (1988). "Extraction of pencillin with liquid surfactant membrane." *J. Chem. Eng. J.* Vol. 21, PP. 227-235.
- 8 - Reschke, M. and Schugrl, K. (1984). "Reactive extraction of pencillin III." *Chem. Eng. J.* Vol. 28, PP. B25-B29.
- 9 - Soleimani, M., Kazemi, A. and Roostaazad, R. "Effect of environmental parameters on growth and penicillin production of *P. chrysogenum* 202." *Scientia Iranica*, accepted for publication.

### واژه نامه :

- |                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| 1 - Convective                       | مکانیزم جابجائی                                       |
| 2 - Diffusive                        | مکانیزم نفوذ  |
| 3 - Facilitated Transport            | پدیده انتقال تسهیل یافته                              |
| 4 - Partition Coefficient            | ضریب توزیع  |
| 5 - HPLC                             | اندازه گیری پنی سیلین در فاز آبی از کروماتوگرافی مایع |
| 6 - Photo Array Detector             | سنجش گر طیف نوری                                      |
| 7 - Hydrophile Lipophile Balance,HLB | ضریب تعادل آبدوست آبگریزی                             |