

Anna TRUSEK-HOŁOWNIA, Andrzej NOWORYTA

e-mail: anna.trusek-holownia@pwr.wroc.pl

Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska, Wrocław

Kontaktor membranowy do kontrolowanego dozowania zanieczyszczeń do strefy biodegradacji

Wprowadzenie

Lotne związki organiczne to substancje pochodzenia antropogenicznego, które powodują znaczne skażenia środowiska. Należą do nich m.in. związki alkaliczne, chlorowcopochodne oraz związki aromatyczne. Choć są to związki toksyczne, istnieją mikroorganizmy zdolne do wzrostu przy ich wykorzystaniu. Mikroorganizmy te żyją na ogół w wodzie, natomiast lotne związki organiczne znajdują się pierwotnie głównie w gazowym strumieniu wylotowym, stąd konieczne jest przeniesienie masy degradowanych związków organicznych do fazy wodnej. w tym celu prowadzi się m.in. ich absorpcję do cieczy organicznych. Następnie za pomocą reekstrakcji substancje te są przenoszone z fazy organicznej do wodnej, gdzie przebiega proces biodegradacji.

Wybór kontaktora membranowego do przeprowadzenia procesu ekstrakcji wynika z faktu, że umożliwia on zastosowanie niemal dowolnego stosunku faz [Kang, 1990], co w tym przypadku ma istotne znaczenie. w praktyce występować będzie mały strumień cieczy organicznej a stosunkowo duży fazy wodnej (bioreaktorowej) z uwagi na wysoką wartość stałej równowagi ekstrakcji i niską szybkość procesu biodegradacji.

Celem pracy było wyznaczenie krzywych równowagowych dla lotnych związków organicznych, aby rozpoznać możliwości prowadzenia proponowanego procesu zintegrowanego: reekstrakcji z biodegradacją. Określono również szybkość transportu masy wybranych substancji w kontaktorze membranowym.

Materiały i metody

Wyznaczenie równowagi ekstrakcyjnej

11 ml oleju silikonowego 5cSt (*Sigma Aldrich*, USA) wraz z rozpuszczonym lotnym związkiem organicznym (benzenem, toluenem, trichloroetylenem, chlorobenzenem, etylobenzenem, *p*-kyslenem – *POCh Gliwice*) mieszano z 11 ml fazy wodnej (0,1 M buforem fosforanowym) w zamkniętych kolbach, w stałych warunkach temperatury (24°C) i mieszania (300 rpm). Z powodu wysokiej prężności par lotnych związków organicznych mieszanie obu faz odbywało się przy szczelnie zamkniętych, niemal w pełni wypełnionych kolbach. Stan ustalenia się równowagi uzyskano po około dwóch dobach intensywnego mieszania. Dla zbadania wpływu temperatury ekstraktory były umieszczane w termostatowanych łaźniach wodnych: 24, 29 i 37°C. W celu wyznaczenia zależności od pH fazy wodnej sporządzono bufor fosforanowy o *pH* 5,8; 7,0 i 8,4.

Analiza stężenia substancji organicznych

Do pomiaru stężeń związków w fazie wodnej i w oleju silikonowym zastosowano chromatograf *SHIMADZU GC-2014* z kolumną kapilarną *ZB-WAX Plus* firmy *ZEBRON* o długości 30 m i średnicy 0,24 mm, z detektorem jonizacyjno-płomieniowym *FID*. Próbkę wodną były analizowane w temperaturze kolumny 40 lub 55°C (w zależności od związku). Próbkę fazy organicznej 20-krotnie rozcieńczano w heksanie i analizie przeprowadzano w gradiencie temperaturowym od 40 do 200°C. Stężenie danego związku wyznaczono na podstawie przygotowanych krzywych standardowych.

Wyznaczenie szybkości transportu masy w kontaktorze faz

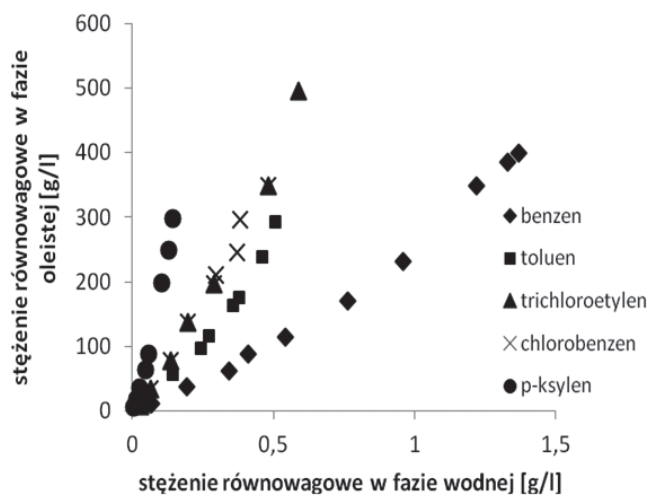
W badaniach zastosowano moduł dostarczony przez IBIB-PAN, Warszawa, zawierający 10 kapilar polipropylenowych w szklanej obudowie, hydrofilizowanych przez 1 h 90% roztworem etanolu. Ich średnica wewnętrzna wynosiła 1,5 mm, zaś porowatość (ϵ) 0,5. Przeciwwątkowo na moduł podawano roztwory: od strony wewnętrznej kapilar – wodę o objętości 325 ml, zaś od strony zewnętrznej 250 ml oleju silikonowego z danym związkiem organicznym. w czasie oznaczano stężenia związku w obu fazach, aż do momentu uzyskania stanu równowagi. Doświadczenie prowadzono dla różnej burzliwości przepływu faz.

Wyniki i ich omówienie

Jako fazę organiczną wybrano olej silikonowy. Pomimo wysokich kosztów jest on stosowany jako tzw. ciecz chłonna dla substancji poddawanych następnie biodegradacji, z uwagi na brak toksyczności i brak biodegradowalności przez mikroorganizmy [Daugulis, 2001]. Olej silikonowy nie zużywa się w trakcie procesu, stąd może być wielokrotnie wykorzystany, co rekompensuje jego wysoką cenę.

Równowaga procesu ekstrakcji

Na rys. 1 przedstawiono krzywe równowagowe uzyskane dla benzenu, toluenu, trichloroetyleny, chlorobenzenu, *p*-kysleny, przy $T = 24^\circ\text{C}$, $\text{pH} 7,0$.



Rys. 1 Stężenia równowagowe w układzie olej silikonowy-woda ($T = 24^\circ\text{C}$, $\text{pH} 7,0$)

Jak widać na rys. 1 współczynnik podziału dla danej substancji nie jest wartością stałą; rośnie silnie wraz ze wzrostem stężenia substancji w układzie. Zgodnie z oczekiwaniami wartość współczynnika podziału związków maleje wraz ze wzrostem granicznej wartości rozpuszczalności w wodzie. Benzen jest najlepiej rozpuszczalny w wodzie (czyli najmniej hydrofobowy) i jego współczynnik podziału jest najniższy (w zależności od stężenia $P = 166 \div 291$). Kyslen o najwyższym współczynniku podziału ($P = 858 \div 2057$) jest najgorzej rozpuszczalny w wodzie. Dla etylobenzenu (substancji o znikomej rozpuszczalności w wodzie równej 0,028 g/l, nieprzedstawionej na rys. 1), współczynnik podziału wynosi kilka tysięcy, stąd też jego biodegradacja może być prowadzona jedynie

w układzie heterogenicznym ze zemulgowaną fazą substratową a nie w tzw. układach ekstrakcyjnych.

Temperatura mediów w procesie ekstrakcji i pH fazy wodnej może wpływać na wyznaczone wartości współczynników podziału [Finizio, 2001]. Jednak w badanym zakresie temperatur i pH (dobranym do warunków stosowanych w biodegradacji) 24÷37°C i pH 5,8÷8,4 wykazano pomijalny wpływ tych parametrów na stan równowagi ekstrakcyjnej.

Zbadano również wpływ obecności innych związków organicznych w układzie ekstrakcyjnym na wartość współczynników podziału danego związku. w przypadku obecności w układzie benzenu i toluenu niezależnie od ich stężenia nie zaobserwowano ich wzajemnego wpływu na stężenia równowagowe. Odmienne wyniki uzyskano, gdy do układu zawierającego benzen i toluen dodano substancje o wyższej hydrofobowości: p-ksylen, trichloroetylen, chlorobenzen, czy etylobenzen. Pomimo, że związki te wykazują bardzo wysokie wartości współczynników podziału, czyli zdecydowanie preferują przebywanie w fazie organicznej (w oleju silikonowym), w ich obecności wzrasta wartość współczynnika podziału benzenu i toluenu. Uzyskane wartości pomiarowe przedstawiono w tab. 1.

Tab. 1. Wartości współczynników podziału dla benzenu ($c = 40,48 \text{ g l}^{-1}$) i toluenu ($c = 40,02 \text{ g l}^{-1}$) w obecności innych związków organicznych (podane stężenia dotyczą wartości początkowych w fazie organicznej, stosunek faz 1:1)

Związek organiczny	$c_{org,0} [\text{g l}^{-1}]$	P_{Benzen}	P_{Toluen}
	0	175	264
chlorobenzen	39,6	179	392
	79,2	202	404
	159,5	244	513
etylobenzen	39,88	184	290
	79,76	204	326
	160,4	252	399
p-ksylen	39,56	184	290
	79,98	204	356
	160,0	252	399
trichloroetylen	39,4	180,5	406
	80,3	185,5	419
	106,6	210	469

Szybkość transportu masy w kontaktorze membranowym

Zgodność korelacji literaturowych do opisu szybkości transportu masy w stosowanym kontaktorze sprawdzono na podstawie ekstrakcji benzenu.

Przy przepływie fazy wodnej wewnątrz kapilar wielkość współczynnika przenikania opisana jest relacją [Trusek-Holownia, 2003]:

$$\frac{1}{K_{w,i}} = \frac{1}{\beta_{w,i}} + \frac{1}{\beta_{mem,i} \frac{d_{mem,sr.}}{d_{mem,wew.}}} + \frac{1}{\beta_{o,i} P_i \frac{d_{mem,zew.}}{d_{m,wew.}}} \quad (1)$$

Na podstawie dostępnych w literaturze korelacji [Prasad, 1990] obliczono współczynniki wnikania benzenu po stronie fazy wodnej β_w i po stronie fazy organicznej β_o . Dla fazy wodnej, która przepływa po stronie wewnętrznej kapilar:

– dla $Sh = 8,40$

$$Sh = \frac{\beta_{w,i} d_{mem,wew.}}{D_{i,w}} = 1,5 \left(\frac{d_{mem,wew.}}{h_{mem}} Re_w Sc_{i,w} \right)^{0,33} \quad (2)$$

Dla fazy organicznej, która przepływa po stronie zewnętrznej kapilar:

– dla $Re < 1000$

$$Sh = \frac{\beta_{o,i} d_{hydr.}}{D_{i,o}} = 1,25 \left(\frac{d_{hydr.}}{h_m} Re_o \right)^{0,93} Sc_{i,o}^{0,33} \quad (3)$$

Współczynniki wnikania w membranę obliczono ze wzoru [Trusek-Holownia, 2003]:

$$\beta_{mem,i} = \frac{D_{i,w}}{\epsilon l_{mem}} \quad (4)$$

Wartość współczynnika podziału dla benzenu, stosowana w korelacji (1) została obliczona na podstawie otrzymanej funkcji (Rys.1)

$$c_o^* [\text{g l}^{-1}] = 102,23 (c_w^*)^2 [\text{g l}^{-1}] + 153,01 c_w^* [\text{g l}^{-1}]$$

Uzyskane z obliczeń na podstawie równań (1÷4) wartości współczynnika przenikania zestawiono z wartościami doświadczalnymi obliczonymi na podstawie zmian stężenia benzenu, przy wykorzystaniu równania [Trusek-Holownia, 2003]:

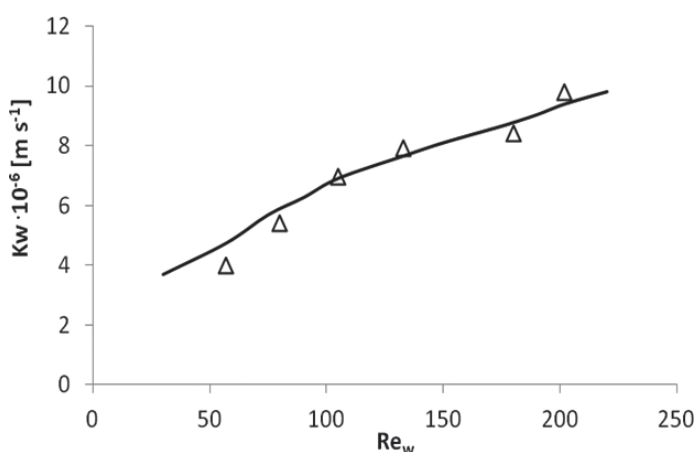
$$K_{w,i} = P_i \left(\frac{1}{1 + \frac{P_i V_o}{V_w}} \frac{V_o}{A_{mem} \epsilon t} \ln \frac{c_{o,t=0}}{c_{o,t} \left(1 + \frac{P_i V_o}{V_w} \right) - c_{o,t=0} \frac{P_i V_o}{V_w}} \right) \quad (5)$$

Eksperymenty prowadzono w szerokim zakresie burzliwości przepływu fazy wodnej, bo to właśnie w tej fazie występuje najwyższy opór w transporcie hydrofobowych substancji (Tab. 2).

Tab. 2. Rozkład procentowy oporów w transporcie masy benzenu w kontaktorze membranowym obliczony na podstawie korelacji (1-4)

Re_w	Re_o	$K_{w,i} [\text{m s}^{-1}]$	Opór w wodzie	Opór w oleju	Opór w porach
30	0,5	3,676E-06	62,59%	0,79%	36,62%
57	0,7	4,730E-06	67,35%	0,69%	31,96%
75	1	5,678E-06	69,36%	0,65%	29,99%
90	1,2	6,254E-06	70,62%	0,62%	28,76%
105	1,5	6,902E-06	71,66%	0,60%	27,74%
133	1,80	7,652E-06	73,21%	0,57%	26,23%
150	2	8,089E-06	73,99%	0,55%	25,46%
175	2,3	8,654E-06	74,96%	0,53%	24,51%
190	2,5	9,027E-06	75,47%	0,52%	24,01%
202	2,8	9,393E-06	75,85%	0,51%	23,64%
220	3,1	9,797E-06	76,35%	0,50%	23,15%

Po analizie otrzymanych wartości doświadczalnych K_w i ich zestawieniu z wartościami otrzymanymi przy zastosowaniu korelacji literaturowych stwierdzono, iż współczynniki otrzymane w doświadczeniach (Rys. 2) wykazują zbliżony trend w porównaniu do wartości z korelacji.



Rys. 2 Porównanie wartości współczynnika przenikania uzyskanych z korelacji (1-4) – linia ciągła i wartości doświadczalnych ($Re_o = 2,3$) obliczonych ze wzoru (5) – punkty

Wnioski

Rozpoznanie równowagi ekstrakcyjnej w układzie olej silikonowy- lotny związek organiczny-woda pozwoliło na stwierdzenie, że proces ekstrakcji tychże związków z uwagi na małą siłę napędową będzie zachodził powoli.

W celu intensyfikacji strumienia masy, poprzez rozbudowę powierzchni transportu i możliwość doboru odpowiedniego stosunku faz, do przeprowadzenia tego procesu zaproponowano kontaktor membranowy. Transport w kontaktorze relatywnie dobrze (błąd względny mniejszy niż 10%) opisują znane w literaturze korelacje. Analiza oporów wskazuje, że należy szczególnie mocno intensyfikować wnikanie w fazie wodnej.

Oznaczenia

- A – powierzchnia, [m²]
 c – stężenie [g·l⁻¹]
 c^* – stężenie równowagowe, [g·l⁻¹]
 D – współczynnik dyfuzji, [m²·s⁻¹]
 d – średnica, [m]
 h – wysokość, [m]
 K – współczynnik przenikania, [m·s⁻¹]
 l – grubość, [m]
 P – współczynnik podziału, $P = c_o^*/c_w^*$
 t – czas, [s]
 V – objętość, [m³]
 β – współczynnik wnikania, [m·s⁻¹]
 ε – porowatość

Indeksy dolne

- i – składnik
 $hydr$ – hydrauliczna
 m – moduł membranowy
 mem – membrana
 o – faza organiczna

- $\acute{s}r$ – średnia
 w – faza wodna
 wew – wewnętrzna
 zew – zewnętrzna

Liczby bezwymiarowe

- Re – liczba Reynoldsa
 Sc – liczba Schmidta
 Sh – liczba Sherwooda

LITERATURA

- Daugulis A.J., 2001. Two-phase partitioning bioreactors: a new technology platform for destroying xenobiotics. *Trends Biotechnol.* 19, 457-462. DOI: 10.1016/S0167-7799(01)01789-9
- Finizio A., Guardo A., 2001. Estimating temperature dependence of solubility and octanol-water partition coefficient for organic compounds using RP-HPLC. *Chemosphere* 45, 1063-1070. DOI: 10.1016/S0045-6535(01)00105-9
- Kang W., Shukla R., Sirkar K., 1990. Ethanol production in a microporous hollow-fiber-based extractive fermentor with immobilized yeast. *Biotechnol. Bioeng.* 36, 826-833. DOI: 10.1002/bit.260360812
- Prasad R., Sirkar K., 1990. Hollow fiber solvent extraction: performance and design. *J.Membrane Sci.* 50,153-175. DOI: 10.1016/S0376-7388(00)80313-0
- Trusek-Holownia A., 2003. A membrane phase contactor for enzymatic synthesis of ZAlaPheOMe, the precursor of bitter dipeptide. *Bioch. Eng. J.* 16, 69-77. DOI: 10.1016/S1369-703X(03)00143-8

Pracę wykonano w ramach działalności statutowej finansowanej z funduszy przyznanych dla Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego 310040/Z0311/W3.

Lucyna WĘGRZYNOWSKA, Anna TRUSEK-HOŁOWNIA

e-mail: lucyna.wegrzynowska@pwr.wroc.pl

Wydział Chemiczny, Politechnika Wrocławska, Wrocław

Charakterystyka immobilizowanej katalazy stosowanej w zimnej pasteryzacji mleka

Wprowadzenie

Enzym katalaza jest używana między innymi do hydrolizy nadtlenu wodoru, podanego jako środek zapobiegający rozwojowi mikroorganizmów w mleku w drodze do centrum przetwarzania. Nadtlenek wodoru jest skutecznym środkiem stosowanym w tzw. zimnej pasteryzacji, który spełnia dodatkowe warunki narzucane tego typu środkom tj. brak reakcji z którymkolwiek składnikiem pożywienia, łatwość usunięcia przed dopuszczeniem do spożycia przez ludzi lub celów przemysłowych [Tarhan, 1995].

The World Food and Agriculture Organization oraz United Nations Agriculture Organization zezwalają na dodanie nadtlenu wodoru w stężeniu 0,05–0,25% w/v w zależności od takich czynników jak temperatura przetrzymywania mleka, liczba i typ mikroorganizmów, ich oporność na nadtlenek wodoru.

Samoistna hydroliza nadtlenu wodoru zachodzi powoli, stąd przed dostarczeniem mleka do spożycia jest on poddawany rozkładowi do wody i tlenu w reakcji katalizowanej przez katalazę. Zostało wykazane, iż technika ta nie ma większego wpływu na smak mleka oraz zawartość składników odżywczych [Akerterk, 1995].

Celem niniejszej pracy było opracowanie procedury otrzymania preparatu immobilizowanego katalazy do stosowania w zimnej pasteryzacji mleka. Wymagania jakie winien on spełniać są następujące:

- łatwość separacji;
- wysoka aktywność enzymu w mleku;

- wysoka stabilność katalityczna w warunkach przetrzymywania mleka i w warunkach reakcji;
- wysoka stabilność mechaniczna nośnika enzymu.

Materiały i metody

Materiały: Katalaza z wątroby cielęcej (*Sigma*, aktywność 2000 – 5000 U mg⁻¹ białka), alginian sodu z brązowych alg (*Sigma*), HEPES (*Sigma*), nadtlenek wodoru 30%, chlorek wapnia, wodorotlenek sodu (POCh).

Procedura immobilizacji: W celu wytworzenia kapsułek alginiano-wych zawierających katalazę przygotowano dwa roztwory. Roztwór 1. składał się z 0,6 g alginianu sodu rozpuszczonego w 30 ml buforu HEPES (50 mM, pH 6,4). Stężenie roztworu alginianu wyniosło 2% w/v. Roztwór 2. przygotowano poprzez rozpuszczenie odpowiedniej ilości preparatu katalazy w 30 ml buforu HEPES (50 mM, pH 6,4). Następnie oba roztwory dokładnie zmieszano i otrzymano 60 ml 1% w/v roztworu alginianu sodu o odpowiednim stężeniu katalazy. Kapsułki tworzone poprzez wkraplanie tak przygotowanego roztworu do 50 ml buforu HEPES (50 mM, pH 6,4) zawierającego określoną ilość enzymu oraz 0,5 g chlorku wapnia. Stężenie enzymu w łaźni sieciującej było takie samo jak w roztworze alginianu sodu by zapobiec ewentualnemu wyciekowi enzymu przed uformowaniem się kapsułek. Kapsułki sieciowano w 4°C przez godzinę w 50 mM, pH 6,4.

Określenie aktywności enzymu: Aktywność natywnej jak i immobilizowanej katalazy mierzono spektrofotometrycznie (UV-1800 Shimadzu)