



Fermentacja etanolowa z ciągłym wydzielaniem metabolitów techniką destylacji membranowej

Marek Gryta, Antoni W. Morawski

Zakład Technologii Wody i Inżynierii Środowiska
Instytut Technologii Chemii Nieorganicznej i Inżynierii Środowiska
Politechnika Szczecińska, Szczecin

Ethanolic fermentation with continuous by-products separation using MD method

Summary

The continuous ethanol production in tubular bioreactor integrated with the membrane distillation system (MD) has been investigated. By-products formed during the ethanolic fermentation of sugar with *Saccharomyces cerevisiae* inhibited the process. These products were selectively removed from the fermenting broth by MD process. This allows to increase the efficiency and the rate of sugar conversion to ethanol. The fermentation process carried out continuously in the membrane bioreactor with the yeast concentration of 20 g/dm³ results in the productivity of 6 g EtOH/dm³h and the efficiency close to 96%, after 20 h. The productivity decreased to 1.1 g EtOH/dm³h with the efficiency below 30% for the fermentation under similar conditions, but without MD. The separation of alcohol by MD enables to achieve a higher content of ethanol in the permeate than in the broth. The enrichment coefficient amounting to 2-4 was dependent on the ethanol concentration in the feed. The positive influence of CO₂ on the ethanol transport through the membranes was found.

Key words:

membrane bioreactor; membrane distillation; ethanol fermentation.

1. Wprowadzenie

Alkohol wytwarzany z biomasy jest często wskazywany jako odnawialne źródło energii. Cena etanolu otrzymywanego przez destylację przefermentowanych roztworów cukrów jest jednak

Adres do korespondencji

Marek Gryta,
Instytut Technologii
Chemii Nieorganicznej
i Inżynierii Środowiska,
Politechnika Szczecińska,
ul. Pułaskiego 10,
70-322 Szczecin.

wyższa od cen paliw kopalnych (1-5). Znaczną jej część stanowią koszty energii zużywanej do destylacji etanolu (2-4).

Koszty destylacji można obniżyć zwiększając stężenie alkoholu w roztworze pofermentacyjnym, czyli fermentując bardziej stężone roztwory cukrów. Takie rozwiązanie ogranicza jednak fakt, że wysokie stężenia substratów oraz powstające produkty są inhibitorami procesu fermentacji. Negatywny wpływ podłoża na drożdże można w pewnym stopniu rekompensować przez zwiększenie stężenia komórek w brzeczce (2,5). Przypadek ten występuje w bioreaktorach przepływowych z zawracaniem biomasy. Do separacji komórek oprócz tradycyjnych metod rozdziału (wirowanie czy dekantacja) z powodzeniem można zastosować ciśnieniowe techniki membranowe, jak mikrofiltracja (MF) lub ultrafiltracja (UF) (6,7). Wpływ czynników inhibujących fermentację można również ograniczyć używając do procesu drożdże unieruchomione w porowatych nośnikach (1,8). W tym przypadku możliwe jest zachowanie wysokiej produktywności bioreaktora przy zwiększonym stężeniu etanolu.

W celu osiągnięcia maksymalnej produktywności bioreaktora w fermentacji ciągłej stosuje się brzeczki rozcieńczone do 10% s.m. (2,5,9). Połączenie bioreaktora z układem do selektywnego wydzielania powstającego etanolu pozwala zwiększyć efektywność jego pracy i uzyskać dobre wyniki ekonomiczne (1-7). Alkohol można oddestylować z fermentującego podłoża w temperaturze 35°C obniżając ciśnienie układu do około 50 hPa (2,5,10). Inną metodą stwarzającą dobre perspektywy jest wydzielanie etanolu przez ekstrakcję rozpuszczalnikiem (1,11). Problemy związane z toksycznym wpływem rozpuszczalnika na drożdże rozwiązuje się stosując drożdże immobilizowane w nośniku lub oddzielając brzeczka od rozpuszczalnika membraną (1,12). Wykorzystując selektywne właściwości membran w procesie perwaporacji (PV) etanol można wydzielać z brzeczki i jednocześnie kilkakrotnie go zateżać (13,14).

W układach z selektywnym wydzielaniem etanolu następuje w brzeczce koncentracja pozostałych metabolitów i nie zużytych substratów. Prowadzi to do powstania środowiska o niekorzystnym dla drożdży składzie i w efekcie po kilkudziesięciu godzinach obserwuje się gwałtowny spadek liczby komórek i produktywności bioreaktora. W celu obniżenia stężenia gromadzących się składników część brzeczki jest odprowadzana z układu (5,10,14).

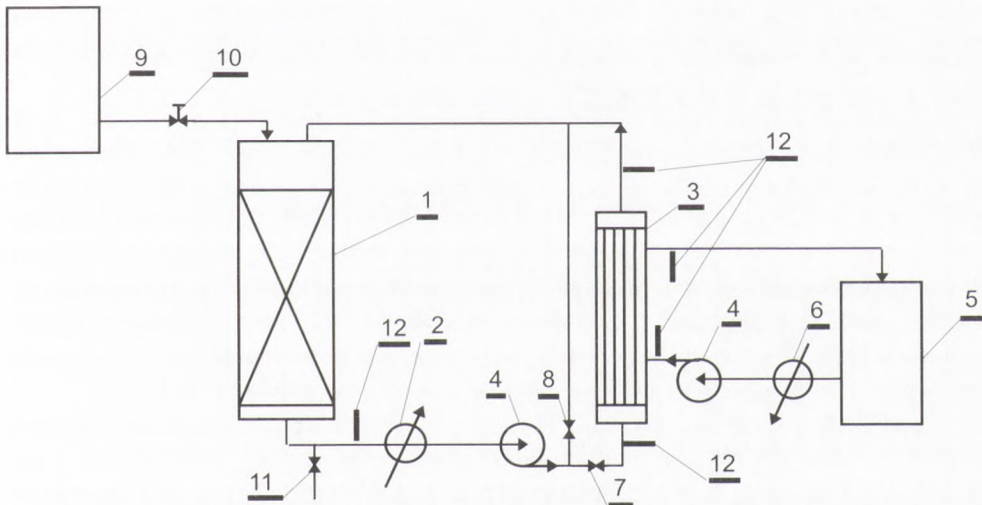
Lotne metabolity można wydzielać z brzeczki techniką destylacji membranowej (MD). W tym przypadku porowata i hydrofobowa membrana oddziela fermentujący roztwór od uzyskiwanego destylatu. Zastosowanie membran wykonanych z polipropylenu, politetrafluoroetyleny czy polifluorku winylidenu pozwala zachować warunki niezwilżalności membran również dla rozcieńczonych roztworów alkoholu (do 20-30%) (15,16). Brzeczka ma wyższą temperaturę (np. 35°C) od roztworu przepływającego po drugiej stronie membrany (destylatu), stąd prężność parcyjna lotnych składników układu jest wyższa po stronie brzeczki. W rezultacie następuje ich dyfuzja do destylatu, przez gaz wypełniający pory membrany. Dla rozcieńczonych

roztworów etanolu możliwe jest uzyskanie destylatu o zawartości alkoholu 3-4 razy większej niż w brzeczce (17). Fermentacja wspomagana okresowo (kilka godzin na dobę) procesem MD w porównaniu z klasyczną fermentacją przebiegała zdecydowanie szybciej i z większą wydajnością (18).

W artykule poszerzono wcześniejsze prace (17,18) i podjęto próbę zbadania przebiegu fermentacji prowadzonej w bioreaktorze rurowym z ciągłym wydzielaniem lotnych metabolitów techniką destylacji membranowej.

2. Materiały i metody

Do badań przebiegu fermentacji ciągłej zastosowano instalację przedstawioną schematycznie na rysunku 1. Bioreaktor zbudowano ze szklanej rury o średnicy wewnętrznej 42 mm i długości 1,2 m. Część serii pomiarowych wykonano prowadząc fermentację w bioreaktorze wypełnionym do wysokości 0,8 m pierścieniami ceramicznymi (10 × 10 mm). Do separacji lotnych metabolitów wykorzystano moduł kapilarny MD. W module zamontowano hydrofobowe polipropylenowe membrany uformowane w kształcie rurek o średnicy $d_z/d_w = 2,6/1,8$ mm. Porowatość całkowita membran wynosiła 73%, a średni rozmiar porów był równy 0,2 μm . Nadawa (wypływająca z bioreaktora fermentująca brzeczka) ogrzana w wymienniku ciepła do 40°C przepływała wewnątrz membran, gdzie była schładzana do 34°C. Sumaryczna



Rys.1. Schemat instalacji doświadczalnej do prowadzenia fermentacji ciągłej w bioreaktorze połączonym z układem MD. 1 – bioreaktor rurowy, 2 – wymiennik ciepła, 3 – moduł membranowy, 4 – pompa, 5 – zbiornik destylatu, 6 – chłodnica, 7,8 – zawory, 9 – zbiornik roztworu cukru, 10 – zawór dozujący, 11 – zawór do poboru próbek, 12 – termometr.

wewnętrzna (robocza) powierzchnia membran była równa $0,05 \text{ m}^2$. Przestrzenią międzyrurkową modułu MD płynął destylat, ochłodzony do 20°C . Prędkość objętościowa przepływu nadawy i destylatu przez moduł była podobna i wynosiła około $6,7 \text{ cm}^3/\text{s}$. Transportowany przez membranę strumień permeatu (etanol + woda) wyznaczano przez pomiar przyrostu objętości destylatu w jednostce czasu. Na podstawie pomiarów stężenia etanolu w destylacie i zmian jego objętości obliczano strumień etanolu (w przeliczeniu na 100% alkohol).

Roztwór fermentujący sporządzano rozpuszczając sacharozę we wrzącej wodzie wodociągowej ($100 \text{ g}/\text{dm}^3$). Do roztworu cukru zawierającego w 1 dm^3 $11,8 \text{ mg Mg}^{2+}$, 59 mg Ca^{2+} , 29 mg Na^+ , 6 mg K^+ , 50 mg Cl^- oraz 68 mg SO_4^{2-} dodano fosforanu(V) triamonu w ilości $0,2 \text{ g}/\text{dm}^3$. Następnie roztwór ochłodzono do temperatury 30°C i wprowadzono do niego liofilizowane handlowe drożdże gorzelnicze *Saccharomyces cerevisiae* Bc16a w ilości 5, 10 lub $20 \text{ g}/\text{dm}^3$. Rehydratację prowadzono przez 30 min, całość okresowo mieszając. Po okresie rehydratacji $1,25 \text{ dm}^3$ przygotowanej brzeczki wlewano do bioreaktora membranowego. Podczas fermentacji w bioreaktorze ustalała się temperatura 34°C , która znajduje się w zakresie temperatury pracy zalecanym dla użytych drożdży (19). W celu sterylizacji układ przed badaniami płukano 10% roztworem H_2SO_4 , a następnie wodą destylowaną.

Wypływająca z bioreaktora brzeczka podawana była do wymiennika ciepła, a następnie do modułu MD. Zubożoną w lotne składniki brzeczke (retentat) zwracano do bioreaktora. Próbkę (100 ml) brzeczki pobierano dwa-trzy razy na dobę. Objętość fermentującej brzeczki w bioreaktorze utrzymywano na stałym poziomie, uzupełniając powstające ubytki (próbki + strumień permeatu) przez ciągłe dozowanie roztworu zawierającego $100\text{-}200 \text{ g}$ cukru/ dm^3 . W wyniku tego w fermentujących brzeczce utrzymywało się względnie stałe stężenie cukru, około $100 \text{ g}/\text{dm}^3$ – z chwilowymi spadkami do $65 \text{ g}/\text{dm}^3$ (maksymalnie).

Analizę zawartości cukru w fermentującej brzeczce prowadzono za pomocą refraktometru Abbego, po uprzednim usunięciu z niej alkoholu (18). Stężenie etanolu w brzeczce i destylacie oznaczano za pomocą chromatografu gazowego GC-14A firmy Shimadzu z detektorem FID na kolumnie kapilarnej DB-WAX o średnicy $0,53 \text{ mm}$ i długości 30 m . Analizę jakościową związków powstających podczas fermentacji wykonano metodą GC/MS. Badania przeprowadzono za pomocą chromatografu TRACE 2000 GC połączonego z detektorem VOYAGER MS firmy FINNIGAN. Zawartość drożdży w brzeczce określano przez pomiar gęstości optycznej przy długości fali 600 nm oraz wyznaczając masę drożdży z odwirowanych próbek.

Każdą fermentację przeprowadzoną z selektywnym wydzielaniem metabolitów w procesie destylacji membranowej w celach porównawczych powtórzono z odłączonym układem MD (zawór 7 zamknięty, zawór 8 otwarty – rys. 1). W tym przypadku temperatura fermentującej brzeczki w instalacji nie przekraczała 34°C .

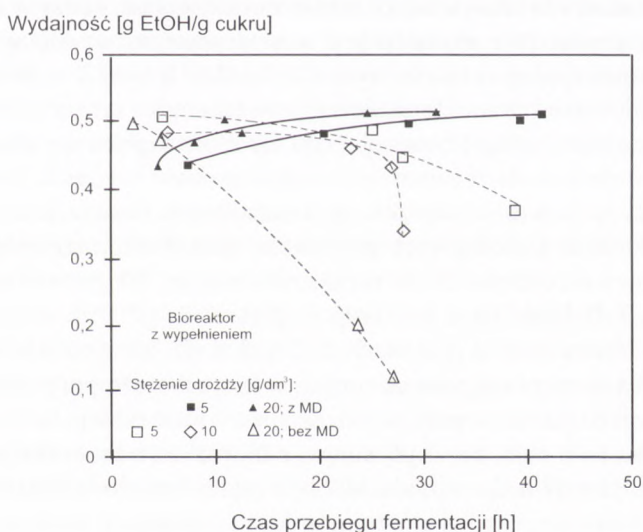
3. Wyniki i dyskusja

Rezultaty fermentacji prowadzonej w bioreaktorze bez wydzielenia metabolitów (odłączony układ MD) pogarszały się z każdą kolejną godziną jej prowadzenia. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań z udziałem MD potwierdzono zalety prowadzenia fermentacji z ciągłym wydzieleniem jej produktów w bioreaktorze membranowym.

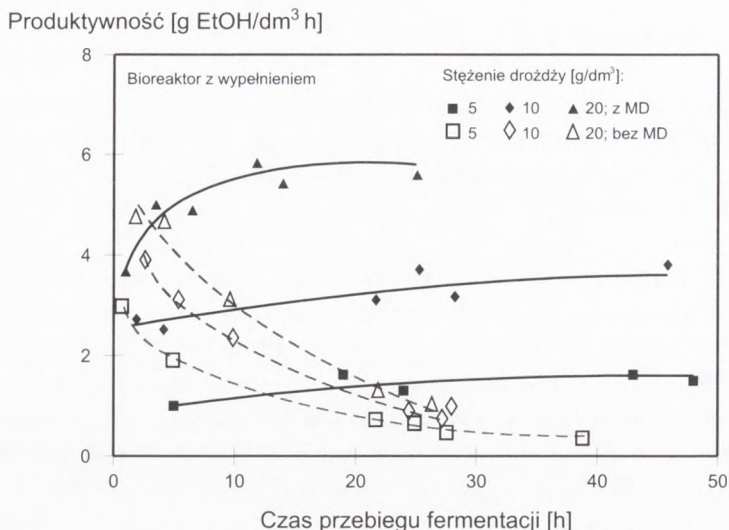
Do oceny przeprowadzonych fermentacji zastosowano dwa parametry: wydajność i produktywność. Wydajność wyraża stosunek ilości etanolu powstającego w trakcie fermentacji do ilości zużywanego w procesie cukru. Produktywność to ilość etanolu tworząca się w ciągu godziny w jednym litrze fermentującej brzożki.

W początkowym okresie fermentacja w bioreaktorze z wypełnieniem bez wspomagania procesem MD charakteryzowała się wysoką wydajnością, zbliżoną do wartości teoretycznej 0,53 g EtOH/1g cukru – rysunek 2 (linie przerywane). Po dziesięciu godzinach trwania procesu jego wydajność zaczęła się jednak szybko zmniejszać. Spadek ten był tym szybszy im większe było stężenie drożdży w brzożce, czyli im więcej powstawało metabolitów. Dla stężenia 20 g drożdży/dm³ po 27 godzinach fermentacji wydajność procesu wynosiła zaledwie 0,11 g EtOH/g cukru.

Odmienne wyniki uzyskano dla fermentacji prowadzonej w bioreaktorze z wypełnieniem połączonym z układem do destylacji membranowej. W ciągu pierwszych godzin wydajność wynosiła około 0,45 g EtOH/g cukru i systematycznie wzrastała w miarę przebiegu procesu (rys. 2 – linie ciągłe). Po dwudziestu pięciu godzinach



Rys. 2. Zależność wydajności fermentacji od czasu jej trwania i stężenia drożdży w brzożce w układzie z/bez MD.

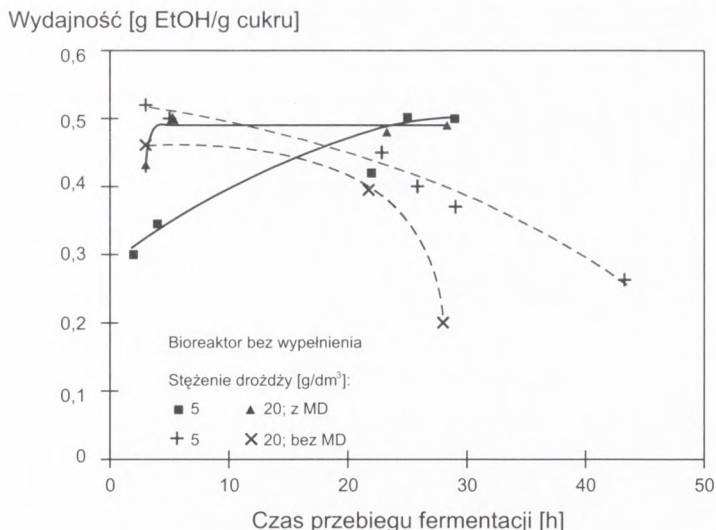


Rys. 3. Zmiany produktywności bioreaktora wypełnionego pierścieniami z/bez wspomaganie MD w zależności od czasu trwania fermentacji i stężenia drożdży w brzeczce.

trwania fermentacji wydajność stabilizowała się na poziomie 0,51 g EtOH/g cukru. Wartość ta praktycznie nie zależała od stężenia drożdży w brzeczce.

W obydwu badanych sposobach prowadzenia fermentacji (z lub bez MD) ilość wytwarzanego alkoholu rosła wraz ze wzrostem stężenia drożdży w brzeczce – rysunek 3. Dla stężenia 20 g drożdży/dm³ w bioreaktorze bez MD w początkowym okresie ilość powstającego etanolu wynosiła 5 g/dm³ h (rys. 3 – linia przerywana). W miarę upływu czasu trwania fermentacji i związanego z tym wzrostu stężenia powstających metabolitów ilość powstającego alkoholu szybko się obniżała. Po dwudziestu pięciu godzinach fermentacji produktywność wynosiła już tylko 1,1 g EtOH/dm³h. Dla bioreaktora połączonego z układem do destylacji membranowej selektywne wydzielanie powstających produktów umożliwiło utrzymać wysoką i stabilną produktywność układu. Dla brzeczki zawierającej 20 g drożdży/dm³ wynosiła ona około 6 g EtOH/dm³ (rys. 3 – linia ciągła).

Wyniki przedstawione na rysunkach 2 i 3 wskazują, że w trakcie kilku początkowych godzin dla fermentacji prowadzonych w bioreaktorze połączonym z układem MD uzyskano nieco gorsze wyniki w porównaniu z fermentacją bez usuwania metabolitów. Wynika to z stąd, że wypływająca z bioreaktora brzeczka o temperaturze 34°C przed wpływieniem do modułu MD była ogrzewana w wymienniku ciepła do 40°C. Temperatura ta stanowi górną granicę temperatury zalecanej dla użytych w badaniach drożdży (19). Powodowało to, że wydłużał się czas adaptacji drożdży w układzie. Podwyższenie temperatury brzeczki przeprowadzono w celu uzyskania

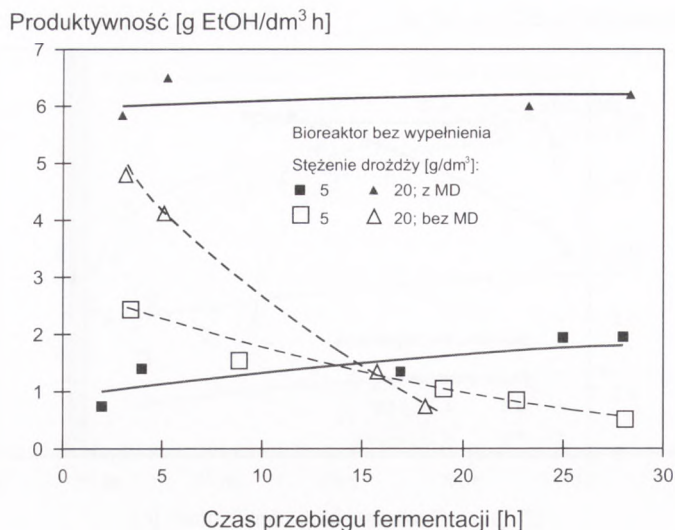


Rys. 4. Zależność wydajności fermentacji w układzie z/bez MD od czasu prowadzenia procesu oraz stężenia drożdży w brzeczce.

lepszych warunków rozdziału w procesie MD, gdyż współczynnik wzbogacenia rośnie wraz z temperaturą (17).

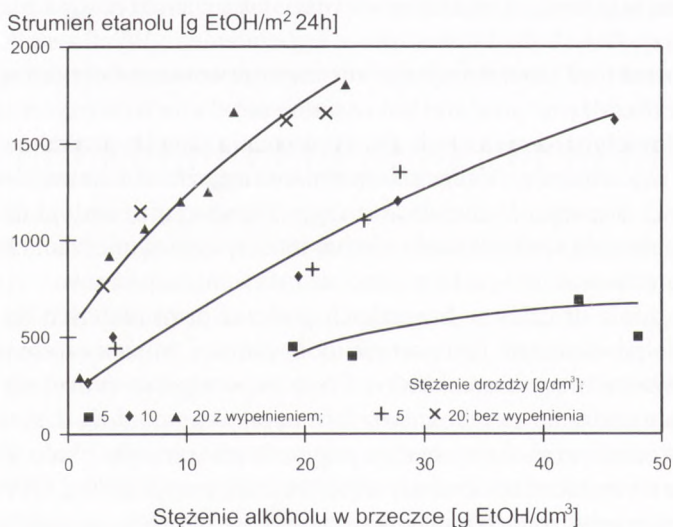
W drugiej części badań usunięto z bioreaktora wypełnienie i powtórzono fermentację. Uzyskane wyniki przedstawiono na rysunku 4 (wydajność) i rysunku 5 (produktywność). Wskazują one, że uzyskane wartości, jak i charakter ich zmian są zbliżone do wyników uzyskanych dla bioreaktora z wypełnieniem. Wynika stąd, że dla zastosowanego bioreaktora laboratoryjnego nie zaobserwowano korzyści wpływających z zatrzymania drożdży na powierzchni wypełnienia, które to korzyści są obserwowane w bioreaktorach przemysłowych (5). Porównanie danych przedstawionych na rysunkach 3 i 5 wskazuje, że usunięcie wypełnienia umożliwiło nawet niewielki wzrost produktywności bioreaktora membranowego. Wynika to prawdopodobnie stąd, że usunięcie wypełnienia spowodowało wzrost intensywności mieszania brzeczki przez unoszące się pęcherzyki CO₂ w bioreaktorze ustawionym pionowo.

Zmiany stężenia drożdży w brzeczce podczas prowadzonych fermentacji były niewielkie i nie przekraczały 10% wartości początkowej. Można zatem przyjąć, że obserwowane różnice pracy bioreaktora z i bez wspomaganie procesem MD wynikały głównie z odprowadzania metabolitów z fermentującego podłoża. Uzyskane podobne maksymalne stężenie etanolu w obydwu przypadkach wynosiło około 40 g EtOH/dm³. Istotny wpływ na metabolizm drożdży obserwuje się powyżej 70 g EtOH/dm³ (5). Wynika stąd, że w prowadzonych badaniach alkohol nie był głównym inhibitorem procesu, ale były nimi pozostałe uboczne metabolity. Do silnych inhibitorów fermentacji oprócz etanolu zalicza się (2,5,9,10): kwas mrówkowy i octowy, aldehyd octowy oraz



Rys. 5. Zmiany produktywności bioreaktora rurowego bez wypełnienia z/bez wspomagania MD w zależności od czasu prowadzenia procesu i stężenia drożdży w brzeczce.

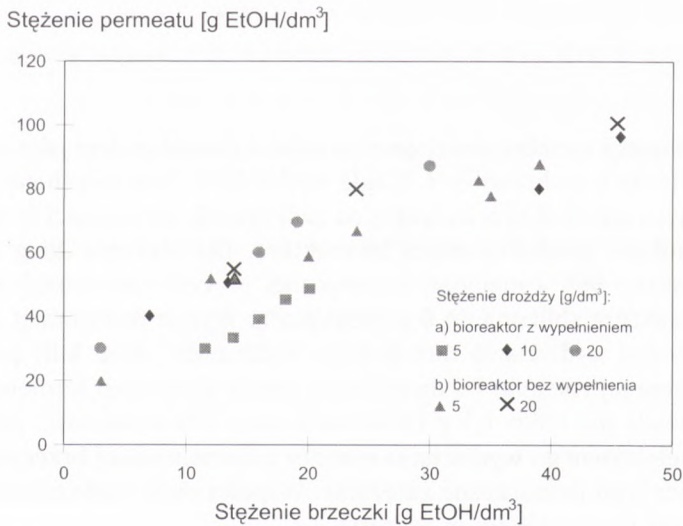
wyższe alkohole jak propan-1-ol, 2-metylobutan-1-ol oraz butan-2,3-diol. Obecność tych związków potwierdzono w destylacie uzyskanym w procesie MD. Oprócz nich znajdowały się w nim również inne związki: butan-2-ol, 2-metoksyetanol, 3-metylobutan-1-ol, izopropanol, octan etylu i kwas 2-metylopropionowy.



Rys. 6. Zmiany strumienia etanolu przenoszonego przez membranę w procesie MD w zależności od stężenia alkoholu i drożdży w fermentującej brzeczce pobieranej z bioreaktora z/bez wypełnienia.

Ilość etanolu przenieszonego przez membranę w procesie MD zależała nie tylko od jego stężenia w brzeczce, ale także od stężenia drożdży – rysunek 6. Nielotne związki rozpuszczone w wodzie, jak cukry czy sole, obniżają jej lotność i w efekcie strumień etanolu wydzielanego z roztworu wzrasta. Obecność drożdży może wzmacniać to zjawisko. Dla stężenia alkoholu w brzeczce równego 25 g EtOH/dm^3 strumień etanolu wynosił $500 \text{ g EtOH/m}^2\text{24h}$ (5 g drożdży/dm^3) i wzrósł do $1800 \text{ g EtOH/m}^2\text{24h}$ przy $20 \text{ g drożdży/dm}^3$. Jednak wpływ stężenia drożdży na wielkość strumienia etanolu był zbyt duży aby można go było uzasadnić jedynie efektem wysalania. Wy tłumaczenia należy raczej poszukiwać w zmianie warunków transportu masy przez membranę. Wraz ze wzrostem stężenia komórek wzrasta produktywność układu, czyli rośnie także ilość powstającego dwutlenku węgla. Wydzielające się z masy roztworu pęcherzyki CO_2 są nasycone parami etanolu i przenoszą duże ilości alkoholu z brzeczki do membrany. Takie wydzielanie gazu przez membranę powoduje również wzrost burzliwości w warstwie przymembranowej, co w znaczny sposób zwiększa wartość współczynników transportu masy i w efekcie rośnie ilości etanolu przenieszonego przez membranę.

W procesie destylacji membranowej oprócz selektywnego wydzielania z brzeczki lotnych metabolitów możliwe jest również ich jednoczesne zatężenie. Na rysunku 7 przedstawiono uzyskane stężenie etanolu w permeacie w zależności od jego stężenia w brzeczce. Uzyskany podczas badań destylat zawierał 2-4 razy więcej alkoholu niż fermentująca brzeczka. Wstępne zatężenie etanolu podczas jego separacji z brzeczki pozwala zmniejszyć koszty jego dalszego zatężania metodami klasycznymi.



Rys. 7. Zmiany stężenia etanolu w permeacie uzyskiwanym w procesie MD w zależności od stężenia alkoholu i drożdży w fermentującej brzeczce.

nymi. Nieco wyższe niż w MD wartości współczynnika wzbogacenia można uzyskać stosując do wydzielania etanolu proces perwaporacji (13,17). W tym przypadku po stronie destylatu wymagane jest wytworzenie próżni, co w znacznym stopniu komplikuje rozwiązanie konstrukcyjne układu. Dodatkowo, przy obniżeniu ciśnienia po stronie destylatu istnieje gradient ciśnienia przez membranę, co sprzyja niekorzystnemu odkładaniu się warstwy osadu (głównie drożdży) na jej powierzchni (12-14). W destylacji membranowej ciśnienie po obu stronach membrany jest podobne, zatem zjawisko to nie występuje. W trakcie badań prowadzonych z przerwami przez kilka miesięcy nie zaobserwowano negatywnego wpływu substancji obecnych w brzeczce na zamontowane w module MD polipropylenowe membrany kapilarne.

Selektywne wydzielanie metabolitów stwarza korzystne warunki rozwoju dla drożdży i możliwe jest wówczas uzyskanie ich wysokiego stężenia w fermentującej brzeczce. Ponieważ ilość powstającego etanolu jest proporcjonalna do stężenia drożdży, stąd bioreaktory z selektywnym wydzielaniem etanolu charakteryzują się wysoką produktywnością 80-100 g EtOH/dm³h, przy stężeniu 70-120 g drożdży/dm³ (2,5,11). W prezentowanych badaniach produktywność układu nie przekraczała 6 g EtOH/dm³h, co wynikało głównie z relatywnie niskiego stężenia komórek – maksymalnie 20 g drożdży/dm³. Zwiększenie ich stężenia znacznie przyspieszyło proces fermentacji, ale powstający w znacznych ilościach CO₂ spowodował silne pienienie brzeczki. Uniemożliwiło to prawidłową pracę użytego bioreaktora rurowego. Okazało się, że mała średnica bioreaktora (42 mm) utrudnia naturalny rozpad pęcherzyków piany. Prowadzenie fermentacji brzeczki o podobnym składzie, ale w zbiorniku o średnicy 20 cm ograniczało powstanie warstwy piany do wysokości nie przekraczającej 5 cm.

4. Wnioski

Proces destylacji membranowej zastosowano z powodzeniem jako węzeł separacji w bioreaktorze membranowym. Ciągłe wydzielanie tworzących się podczas fermentacji lotnych metabolitów wpłynęło na zwiększenie wydajności fermentacji i zapobiegło spadkowi produktywności bioreaktora. Dla stężenia 20 g drożdży/dm³ brzeczki uzyskano 96% wydajności teoretycznej procesu fermentacji oraz produktywność bioreaktora zbliżoną do 6 g EtOH/dm³h. Wyniki fermentacji prowadzonej bez selektywnego wydzielania metabolitów (odłączony układ MD) pogarszały się z każdą godziną jej trwania. Po dwudziestu pięciu godzinach fermentacji produktywność wynosiła już tylko 1,1 g EtOH/dm³h przy 21% wydajności procesu.

Podczas selektywnego wydzielania etanolu z fermentującej brzeczki w procesie MD ma miejsce jego jednoczesne zatężanie. Współczynnik wzbogacenia zależał od składu brzeczki i zmieniał się w zakresie 2-4.

Dwutlenek węgla powstający podczas fermentacji przenoszony jest przez membranę do destylatu. Wydzielanie CO₂, wzrastające wraz ze wzrostem stężenia dro-

żdży w brzeczce, wspomaga transport alkoholu w procesie MD. Dla stężenia 20 g drożdży/dm³ uzyskano strumień 1800 g EtOH/m² 24h (w przeliczeniu na 100% alkohol).

Literatura

1. Gyamerah M., Glover J., (1996), *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 66, 145-152.
2. Janiszyn Z., Dziuba E., Sobkowicz G., (1989), *Przem. Ferm. i Owoc.-Warz.*, 1, 8-12.
3. Qureshi N., Manderson G. J., (1995), *Energy Sources*, 17, 241-265.
4. Barnard G. W., Hall D. O., (1983), *Energy from Renewable Resources*, Ed. H. Dellweg, Biotechnology, Verlag Chemie GmbH, Weinheim, vol. 3, 593-625.
5. Maiorella B. L., Blanch H. W., Wilke C. R., (1984), *Biotechnol. Bioeng.*, 26, 1003-1025.
6. Bodzek M., Bohdziewicz J., (1994), *Biotechnologia*, 2(25), 114-137.
7. Noworyta A., Bryjak J., (1993), *Biotechnologia*, 3(22), 114-137.
8. Szczodrak J., Szczodrak Z., (1997), *Biotechnologia*, 4(39), 82-93.
9. Pęziński W., (1987), *Przem. Ferm. i Owoc.-Warz.*, 4, 11-14.
10. Maiorella B., Blanch H. W., Wilke C. R., (1983), *Biotechnol. Bioeng.*, 25, 103-121.
11. Daugulis A. J., Axford D. B., McLellan P. J., (1991), *Can. J. Chem. Eng.*, 69, 488-497.
12. Gostoli C., Bandini S., (1995), *J. Membr. Sci.*, 98, 1-12.
13. Gudernatsch W., Kimmerle K., Stroh N., Chmiel H., (1988), *J. Membr. Sci.*, 36, 331-342.
14. Nakao S., Saitoh F., Asakura T., Toda K., Kimura S., (1987), *J. Membr. Sci.*, 30, 273-257.
15. Lawson K. W., Lloyd D. R., (1997), *J. Membr. Sci.*, 124, 1-25.
16. Tomaszewska M., (1996), *Destylacja membranowa*, Prace Naukowe Politechniki Szczecińskiej, Nr 531, Wyd. PS, Szczecin.
17. Gryta M., (1997), XVI Ogólnopolska Konferencja Naukowa Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Kraków-Muszyna, Materiały Konferencyjne, Politechnika Krakowska, t. III, 126-131.
18. Gryta M., Morawski A.W., (1998), *Biotechnologia*, 3(42), 147-157.
19. Wolska M., (1985), *Przem. Ferm. i Owoc.-Warz.*, 7, 7-9.