



Immobilizowane enzymy w procesie biodegradacji fenoli i cyjanków zawartych w ściekach przemysłowych

Michał Bodzek

Jolanta Bohdziewicz

Małgorzata Kowalska

Instytut Inżynierii i Technologii

Wody, Ścieków i Odpadów

Politechnika Śląska

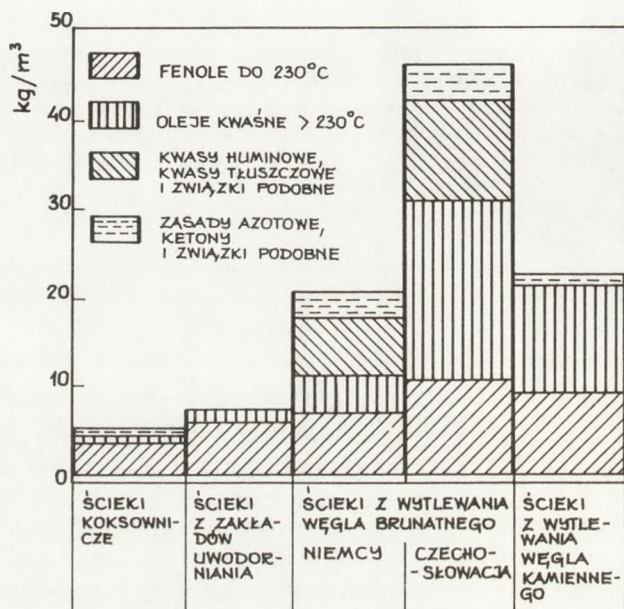
Gliwice

1. Wstęp

Ścieki powstające w regionach silnie uprzemysłowionych wymagają niejednokrotnie — wzajemnie się uzupełniających — specjalnych technik oczyszczania. W przypadku ścieków niezwykle uciążliwych dla środowiska naturalnego istnieje konieczność oczyszczania w miejscu ich powstawania, tj. przed odprowadzeniem do sieci kanalizacyjnej, ponieważ mogą one wywoływać zakłócenia w pracy biologicznych oczyszczalni ścieków.

Do tej grupy wód odpadowych należą ścieki fenolowe zawierające w swoim składzie jedne z najbardziej toksycznych ksenobiotyków. Oprócz fenoli i jego pochodnych zawierają one także pochodne azotu (amoniak, cyjanki, rodanki), które sprawiają, nie mniejsze od fenoli trudności przy ich unieszkodliwianiu. Powstają one głównie w procesie koksowania węgla i jego upłynniania, w przemy-

śle farmaceutycznym, chemicznym, petrochemicznym itp. Znajomość składu ścieków ma często decydujące znaczenie dla wyboru metod ich oczyszczania (rys. 1) (1, 2). Można je podzielić na dwie zasadnicze grupy (1). Celem pierwszej, jest odzysk fenoli w ilościach ekonomicznie uzasadnionych, a następnie dalsza ich utylizacja. Grupę drugą stanowią natomiast procesy sprowadzające się do degradacji fenoli. Pamiętać należy jednak o tym, że fenol jest w pewnym stopniu rozpuszczalny w wodzie i nie możliwe jest zatem całkowite usunięcie i rozkład. O wyborze metody decydują względy ekonomiczne i praktyczne. W przypadku dużej ilości ścieków znacznie obciążonych fenolami ich odzysk okazać się może bardzo korzystny.



Rys. 1. Typowy skład ścieków fenolowych.

Metody oczyszczania ścieków z odzyskiem fenoli oparte są przede wszystkim na procesach ekstrakcji, adsorpcji i destylacji. Oczyszczanie bez odzysku fenoli sprowadza się do chemicznego ich rozkładu na skutek utlenienia za pomocą chloru, ozonu i dwutlenku chloru. Wysokie zużycie środków utleniających praktycznie wyklucza ekonomiczność tej metody. Nie znalazły praktycznego zastosowania metody oparte na anodowym utlenieniu fenoli oraz chemicznym ich strącaniu (1, 2).

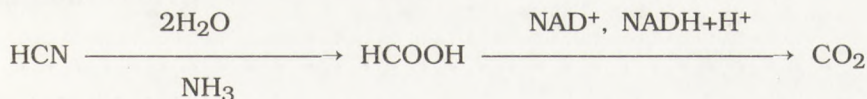
2. Biotechnologiczna metoda oczyszczania ścieków fenolowych i cyjankowych

Obecnie proces detoksykacji ścieków fenolowych i cyjankowych prowadzi się sposobem wieloetapowym. W pierwszym etapie ma miejsce mechaniczne oczyszczanie ścieków, następnie chemiczne (wstępne odfenolowanie i usunięcie amoniaku), a w końcowym etapie — biologiczne. Po częściowym usunięciu fenoli ze ścieków przemysłowych miesza się je ze ściekami komunalnymi i kieruje do miejskich oczyszczalni biologicznych. Oczyszczanie przebiega na ogół bez zakłóceń, gdy zawartość fenoli zostanie obniżona do około 40–50 mg/dm³. W przeciwnym bowiem przypadku wpływają one hamująco na rozwój rozkładających je mikroorganizmów.

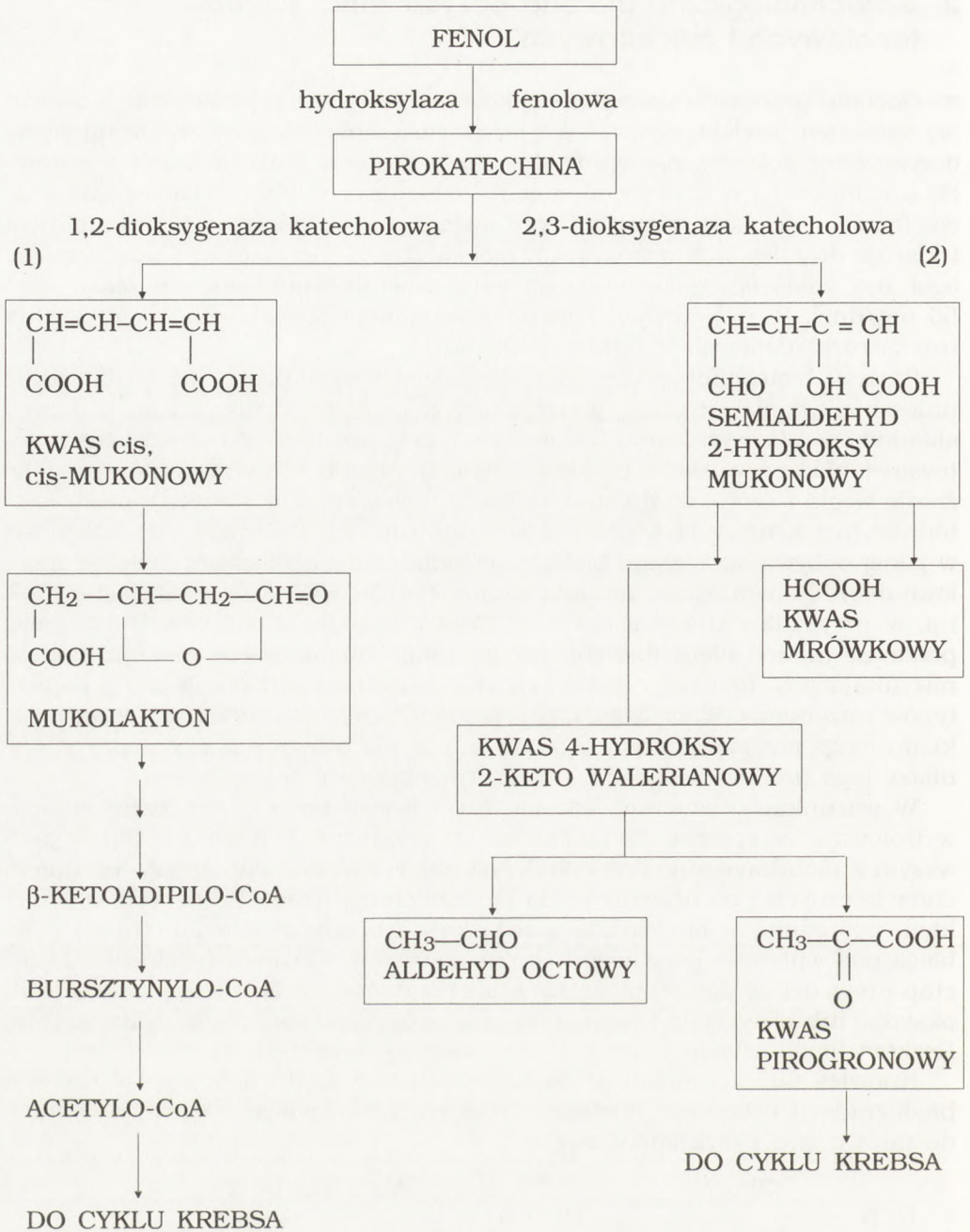
Procesy biotechnologiczne odgrywają dzisiaj zasadniczą rolę w dziedzinie unieszkodliwiania ścieków przemysłowych poprzez detoksykację trujących składników. W oczyszczaniu biologicznym, przeważnie z wykorzystaniem adaptowanej biocenozy osadu czynnego, fenol i cyjanki wykorzystywane są jako źródło węgla i azotu, a zdolność rozkładu tych związków wynika z możliwości indukcyjnej syntezy enzymów, które katalizują ich przemiany. O kolejności w jakiej odbywa się rozkład biologiczny składników obciążających ścieki fenolowe decyduje wrażliwość drobnoustrojów na różnego rodzaju zakłócenia. Tak np. w przypadku kondensatów z gazowni (1) najpierw rozkładają się fenole, ponieważ już ich niewielkie stężenie wywołuje zahamowanie rozwoju bakterii nitryfikujących. Również cyjanki i rodanki utrudniają utlenianie azotu do azotynów i azotanów. W związku z tym pomimo założenia, że wszystkie fazy rozkładu mogą przebiegać równolegle, to jednak dla osiągnięcia optymalnych wyników tego procesu pożądane jest ich trójstopniowe oczyszczanie.

W warunkach tlenowych rozkład fenoli i jego pochodnych przez enzymy wyizolowane ze szczepu *Pseudomonas sp.* przebiega dwuetapowo (3). W pierwszym z nich następuje przekształcenie pierścieni aromatycznych lub łańcuchów bocznych i podstawników do pirokatechiny, będącej czołowym metabolitem pośrednim w biodegradacji związków aromatycznych. Proces ten przebiega pod wpływem enzymów do monooksygenaz z grupy hydroksylaz. Drugi etap prowadzi do dalszej przemiany biochemicznej pirokatechiny przy udziale oksydaz lub oksygenaz i powstania produktów włączonych do cyklu Krebsa. Rozkład fenoli szlakiem meta- i orto- ilustruje rys. 2 (3, 4).

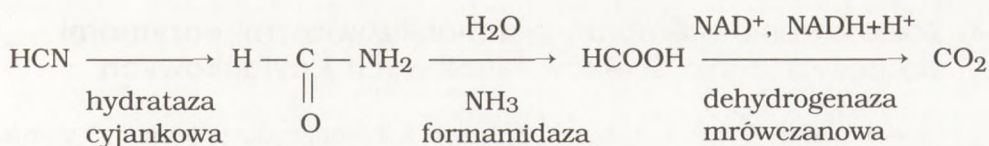
Knowles (5) zaproponował dwa alternatywne szlaki przemian w procesie biodegradacji cyjanków. Pierwsza droga to dwuetapowa degradacja cyjanku do mrówczanu i dwutlenku węgla:



Reakcja ta jest katalizowana przez nitrylazę oraz dehydrogenazę mrówczanową. Drugi szlak biegnie trój etapowo, z których każdy katalizowany jest przez inny enzym:



Rys. 2. Szlaki orto- (1) i meta- (2) rozkładu fenolu przy udziale dioksygenaz.



W pierwszym etapie, w powstaniu formamidu, enzymem katalizującym reakcję jest hydrataza cyjankowa. Drugi etap zachodzi przy udziale formamidazy, działającej na wiązanie C — N. W reakcji tej formamid przechodzi w kwas mrówkowy z wytworzeniem amoniaku. W etapie trzecim z udziałem dehydrogenazy mrówczanowej następuje utlenienie kwasu mrówkowego do dwutlenku węgla. Szlak ten został potwierdzony również u niektórych szczepów *Pseudomonas sp.* (6).

3. Immobilizacja enzymów na membranach

Tak jak już zaznaczono dla osiągnięcia zadowalających wyników proces biochemicznego oczyszczania ścieków fenolowych i cyjankowych należy prowadzić kilkustopniowo. Dlatego bardzo celowe wydaje się wprowadzenie jako pierwszego stopnia w oczyszczaniu biologicznym, ultrafiltracji z wykorzystaniem membran z immobilizowanymi grupami enzymów. Proces ten pozwoliłby na usunięcie ze ścieków fenolu i jego pochodnych oraz cyjanków wskutek ich degradacji biochemicznej. Z uwagi na podstawowe zalety tego procesu, a zatem możliwości jego realizacji bez przemian fazowych i w temperaturze otoczenia oraz bez doprowadzania chemikaliów (7, 8), a w efekcie końcowym otrzymania produktów zdecydowanie łatwiej ulegających dalszej biodegradacji, predystynują go do skuteczniejszego rywalizowania z metodami klasycznymi.

Immobilizacja enzymów jest jedną z form ich modyfikacji. Polega ona na unieruchomieniu lub oddzieleniu cząsteczek enzymu w przestrzeni reaktora bez utraty ich aktywności biologicznej. Jedną z metod immobilizacji enzymów jest użycie do tego celu układów membranowych. Enzymy unieruchomione na membranach lub zamknięte w ograniczonej przez membrany przestrzeni pracują w warunkach zbliżonych do warunków *in vivo*. Ponadto membrany i układy membranowe są tanim suportem do immobilizacji enzymów (9, 10). Inną korzyścią wynikającą z takiego rozwiązania jest możliwość ciągłego usuwania produktów reakcji, co wpływa na zwiększenie wydajności procesu. Kilka praktycznie stosowanych metod immobilizacji enzymów w układach membranowych zawartych jest w literaturze (9 – 12). Najważniejsze z nich są następujące:

- immobilizacja przez żelowanie enzymu na powierzchni membrany,
- zamknięcie enzymu przez membranę w ograniczonej przestrzeni reaktora biochemicznego,
- immobilizacja poprzez tworzenie między enzymem i membraną wiązań kowalencyjnych,
- inkluzja enzymu wewnątrz porowatej struktury membrany.

4. Zastosowanie membran z immobilizowanymi enzymami do oczyszczania ścieków fenolowych i cyjankowych

Celem badań było określenie możliwości biodegradacji fenoli i cyjanków przez białka enzymatyczne immobilizowane na membranach ultrafiltracyjnych z poliakrylonitrylu. Ponieważ oba ksenobiotyki są rozkładane przez enzymy wyodrębnione z bakterii z rodzaju *Pseudomonas* (13), wyizolowaną w odpowiedni sposób frakcję enzymatyczną unieruchamiano na membranach.

4.1. Otrzymywanie enzymów do immobilizacji*

Szczepy bakterii *Pseudomonas* uzyskiwano z mieszaniny populacji drobnoustrojów adaptowanej drogą indukcji enzymatycznej do degradacji fenolu i cyjanku potasu o stężeniu 6 mM. Izolację enzymów prowadzono metodą opisaną przez Pawlikowską i wsp. (6). Do dalszego postępowania wybierano szczep, który najszybciej adaptował się do degradacji 6 mM roztworu fenolu w cyklu dobowym. Szczep ten poddawano identyfikacji w oparciu o test API 20 NE, obserwacje morfologiczne, biochemiczne i fizjologiczne (14 – 16). Właściwości szczepu porównywano z właściwościami bakterii rodzaju *Pseudomonas*, opisanymi w kluczu Bergeya (17) i na tej podstawie dokonywano identyfikacji.

Otrzymaną w wyniku hodowli zawiesinę bakterii poddano działaniu ultradźwięków i po odwirowaniu w otrzymanym supernatancie zawierającym surową frakcję rozpuszczonego białka oznaczano aktywność dioksygenaz katecholowych. Pozwoliło to na stwierdzenie jakim szlakiem enzymatycznym degradowany jest fenol (18). Stwierdzono obecność 2,3-dioksygenazy katecholowej w wyizolowanej frakcji enzymatycznej, co świadczy o tym, że szczep rozkłada fenol szlakiem meta. W wyizolowanej frakcji enzymatycznej oznaczano również stężenie białka metodą Bradforda (19).

4.2. Preparowanie membrany ultrafiltracyjnej do immobilizacji

Membrany ultrafiltracyjne preparowano z włókna poliakrylonitrylowego (Chemitex-Anilana, Łódź). Zastosowano metodę inwersji fazowej (20), polegającą na zanurzeniu błony (wylanej z roztworu poliakrylonitrylu o stężeniu 15% w dimetyloformamidzie) w strącalniku polimeru (w tym wypadku w wodzie). Płaską membranę formowano na płycie szklanej w temperaturze 298°K za pomocą aplikatora ze szczeliną wysokości 0,2 mm. Formowanie membrany przebiegało w temperaturze 298°K, a czas między wylaniem błony i jej zanurzeniem w łaźni wodnej wynosił 5 sek. Po upływie 15 min żelowania, mem-

* Izolację enzymów wykonano w Katedrze Biochemii Uniwersytetu Śląskiego pod kierunkiem prof. S. Łabuźek.

branę przemywano w ciągu 12 h wodą w celu usunięcia resztek rozpuszczalnika. Tak przygotowana membrana charakteryzowała się objętościowym strumieniem wody wynoszącym $2,2 \cdot 10^{-5} \text{ m/s}$ pod ciśnieniem $1 \cdot 10^5 \text{ Pa}$.

W tab. 1 przedstawiono niektóre charakterystyczne właściwości membrany stosowanej do immobilizowania (8, 21).

TABELA 1

CHARAKTERYSTYKA MEMBRANY Z POLIAKRYLONITRYLU STOSOWANEJ DO IMMOBILIZOWANIA ENZYMÓW

Wskaźnik charakterystyki	Wielkość
stężenie polimeru w r-rze błonotwórczym, %	15
porowatość, % ¹⁾	78
grubość, μm ²⁾	62
średni promień porów, nm ³⁾	8,0
stała membrany dla wody, $\text{m/s} \cdot \text{Pa}$	$2,2 \cdot 10^{-10}$

¹⁾ oznaczano metodą wagową;

²⁾ oznaczano ze zdjęć przekrojów poprzecznych membran;

³⁾ obliczono z równania Hagena-Poiseuilla.

4.3. Metodyka immobilizowania enzymów wyizolowanych ze szczepu *Pseudomonas* na powierzchni membrany

Większość metod immobilizowania enzymów jest stosunkowo prosta, a trudności w osiągnięciu założonego celu polegają na tym, że należy starannie dobrać warunki unieruchamiania ze względu na dużą wrażliwość białek enzymatycznych na właściwości otaczającego środowiska. Dotyczy to przede wszystkim aktywności enzymu, szybkości reakcji biochemicznej, specyficzności wobec substratu, wpływu inhibitorów i aktywatorów, pH, odporności na dezaktywację itp. (9 – 11). Optimum procedury powinno być dobrane eksperymentalnie, przy czym wytypowana metoda może być kombinacją kilku sposobów.

Do immobilizacji zespołu białek enzymatycznych do biodegradacji fenoli i cyjanków wybrano metodę opartą na adsorpcji enzymu na powierzchni membrany, przy czym zastosowano dwa sposoby.

W pierwszym z nich ultrafiltracyjne membrany z poliakrylonitrylu zanurzano w roztworze białek enzymatycznych na odpowiedni okres. Po wyjęciu membrany z roztworu, płukano ją wodą destylowaną i oznaczano w nim i popłuczynach stężenie białka. Zmieniając czas kontaktu membrany z enzymami określano stopień ich adsorpcji (tab. 2). Ogólną aktywność enzymatyczną (AK) roztworu enzymów, w którym prowadzono proces immobilizacji obliczano ze wzoru:

$$AK = V_r \cdot \frac{\Delta A_{260}}{t} \quad [\text{cm}^3/\text{min}]$$

gdzie: V_r — objętość roztworu białek enzymatycznych, cm^3
 ΔA_{260} — maksimum absorpcji tworzącego się kwasu cis,
 cis-mukonowego przy długości fali 260 nm
 t — czas, w którym absorpcja osiąga maksimum, min

TABELA 2

IMMOBILIZACJA ENZYMÓW NA ULTRAFILTRACYJNEJ MEMBRANIE Z POLIAKRYLONITRYLU
 METODĄ ZANURZENIA W ROZTWORZE BIAŁEK

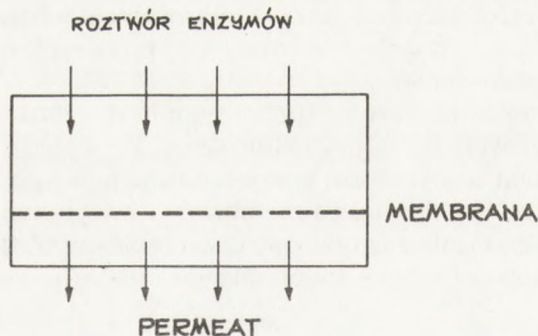
Czas immobilizacji godz	Strata aktywności ogólnej roztworu enzymów, %		Strata ilości białka w roztworze enzymów, %	
	a	b	a	b
1	76,7	69,7	11,2	8,2
2	60,2	56,8	18,6	11,7
3	54,2	52,4	19,1	12,9

(powierzchnia membrany immobilizowanej: $38,5 \text{ cm}^2$, początkowe stężenie białka ogólnego w roztworze: a — $48,0 \mu\text{g}/\text{dm}^3$; b — $27,1 \mu\text{g}/\text{dm}^3$;
 aktywność ogólna roztworu: a — $82,8 \text{ cm}^3/\text{min}$,
 b — $21,8 \text{ cm}^3/\text{min}$).

Z danych zawartych w tab. 2 wynika, że najkorzystniejszym czasem immobilizacji jest czas dwóch godzin, ponieważ adsorpcji ulega 18,6% ogólnej ilości białek. Przedłużenie czasu immobilizacji do trzech godzin powoduje wzrost stopnia adsorpcji jedynie o dalsze 0,5%. Stężenie białka enzymatycznego w roztworze do immobilizacji wywiera również wpływ na ilość zaadsorbowanych enzymów. Opisana metoda immobilizacji charakteryzuje się dużymi stratami enzymu (ok. 80%) oraz długim czasem jego kontaktu z membraną.

Drugim sposobem immobilizacji była metoda polegająca na ultrafiltracji roztworu enzymu przez membranę, która praktycznie całkowicie zatrzymuje

białko (rys. 3). Na powierzchni membrany tworzy się wówczas warstwa żelowa ściśle do niej przylegająca. Membrana z warstwą żelową enzymu może być wykorzystana w reaktorze enzymatycznym do prowadzenia reakcji biochemi-



Rys. 3. Schemat immobilizacji enzymu na powierzchni membrany w procesie ultrafiltracji.

czynnych. Do immobilizacji stosowano urządzenie do ultrafiltracji firmy NUCLEPORE typu S-76-400 o objętości 400 cm³ i średnicy membrany 76 mm (powierzchnia membrany 38,5 cm²) (rys. 4). Immobilizację prowadzono pod ciśnieniem $1 \cdot 10^5$ Pa, uzyskanym z butli ze sprężonym azotem połączonej z aparatem poprzez odpowiedni zawór. Do immobilizacji stosowano roztwór wodny białek o stężeniu 0,75 µg/cm³. Przepuszczano 100 cm³ roztworu białek odbierając 90 cm³ permeatu, przy czym operację tę powtarzano 12-krotnie. W końcowym permeacie, retentacie i popłuczynach oznaczano stężenie białka ogólnego. W tab. 3 przedstawiono bilans białka dla trzech wytworzonych membran enzymatycznych. Każdorazowo na powierzchni membrany immobilizacji ulegało ok. 92 – 93% ogólnej ilości białka, co należy uznać za wynik zadowalający. Immobilizowane białko charakteryzowało się dużą stabilnością, ponieważ wytworzone membrany enzymatyczne nie wykazały spadku aktywności w trakcie kilkukrotnego użycia w procesie ultrafiltracji. Dokładne określenie stabilności membran wymaga dalszych długotrwałych badań.

TABELA 3
BILANS BIAŁKA OGÓLNEGO W PROCESIE IMMOBILIZACJI ENZYMÓW
METODĄ ULTRAFILTRACJI NA MEMBRANACH Z POLIAKRYLONITRYLU

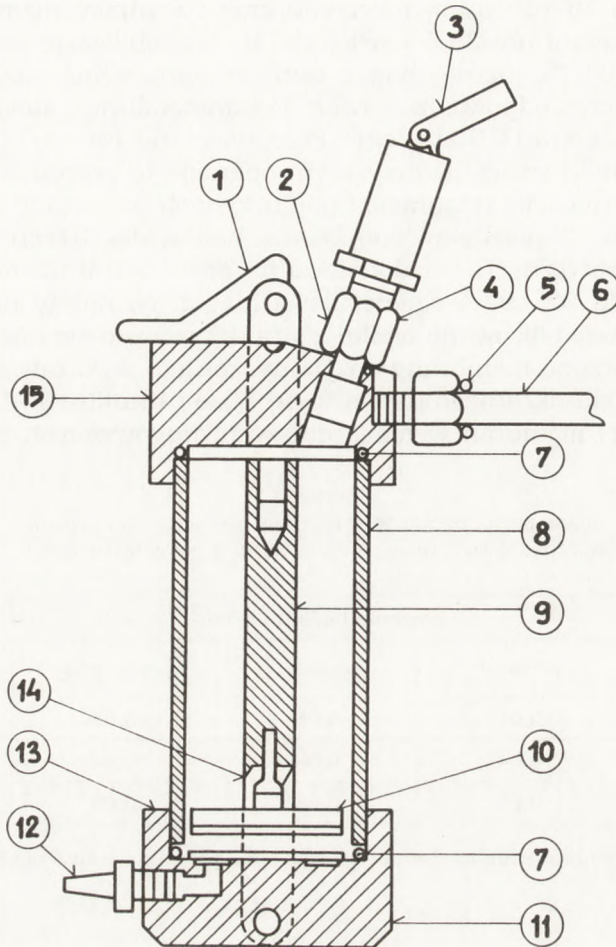
Nr membrany	Stężenie białka, µg/cm ³			Ilość białka unieruchomionego na membranie, %
	permeat	retentat	popłuczyny	
I	0,04	0,06	0,08	93,3
II	0,04	0,08	0,06	93,3
III	0,05	0,06	0,08	92,1

(powierzchnia membrany immobilizowanej: 38,5 cm², początkowe stężenie białka w roztworze: 0,75 mg/cm³).

4.4. Ultrafiltracja symulowanych ścieków na membranach z immobilizowaną frakcją enzymów

Próby oczyszczania symulowanych ścieków fenolowych i cyjankowych z zastosowaniem membran z immobilizowanymi enzymami prowadzono w reaktorze, który stanowiło urządzenie do ultrafiltracji pracujące w układzie statycznym (rys. 4).

W tym celu ultrafiltracji poddawano kolejno 500 cm³ roztworu fenolu o stężeniu 376 mg/dm³ i 500 cm³ roztworu cyjanku potasu o stężeniu 10 mg/dm³ oraz mieszaninę obu roztworów w stosunku objętościowym 1 : 1. Proces prowadzono pod ciśnieniem $1 \cdot 10^5$ Pa, a stopień redukcji nadawy wynosił każdorazowo 2, czyli odbierano 50% nadawy w formie permeatu. W poszczególnych strumieniach procesu ultrafiltracji oznaczano stężenie fenolu i cyjanków metodą kolorymetryczną (22 – 24). Z bilansu masy obliczano stopień biodegradacji (Bd) poszczególnych ksenobiotyków ze wzoru:



Rys. 4. Schemat urządzenia do immobilizowania enzymów na membranach oraz do testowania membran enzymatycznych (1 — mechanizm zamykający, 2 — napełnianie celi, 3 — zawór bezpieczeństwa, 4 — nakrętka, 5, 6 — doprowadzenie gazu, 7 — uszczelnienie celi, 8 — korpus celi ultrafiltracyjnej, 9, 10 — mieszadło magnetyczne, 11 — podstawa, 12 — odprowadzenie permeatu, 13 — suport pod membranę, 14 — umocowanie mieszadła magnetycznego, 15 — górna część celi).

$$Bd = 1 - \frac{C_p \cdot V_p + C_r \cdot V_r}{C_n \cdot V_n}$$

gdzie: C_p — stężenie w permeacie
 C_n — stężenie w nadawie
 V_r — objętość retentatu

C_r — stężenie w retentacie
 V_p — objętość permeatu
 V_n — objętość nadawy

oraz ultrafiltracyjny współczynnik retencji (R) definiowany równaniem:

$$R = 1 - \frac{C_p}{C_n}$$

Obliczano również objętościowy strumień permeatu (Jv) z pomiaru czasu procesu ultrafiltracji.

TABELA 4
ROZKŁAD FENOLU I CYJANKU POTASU PRZEZ MEMBRANĘ ENZYMATYCZNA
OTRZYMANĄ METODĄ ULTRAFILTRACJI ROZTWORU BIAŁEK

Roztwór poddawany UF	Objętościowy strumień permeatu $J_v \cdot 10^5$ m/s	Stężenie mg/dm ³			Stopień biodegradacji %	Współczynnik retencji %
		nadawa	permeat	retentat		
Membrana I						
fenol	1,05	376	0	216	71,3	100
	0,846	376	0	291	61,3	100
cyjanek potasu	0,949	10,0	0,80	2,40	84,0	92,0
	0,808	10,0	0,94	3,10	79,8	90,6
mieszanka: fenol KCN	1,115	188	60,2	88,4	60,5	68,0
		5,0	0,80	4,10	51,0	84,0
Membrana II						
fenol	0,835	376	0	226	67,5	100
cyjanek potasu	1,01	10,0	0,86	2,60	82,7	91,4
mieszanka: fenol KCN	1,13	188	55,5	87,4	62,0	70,5
		5,0	0,67	4,00	53,3	86,6
Membrana III						
fenol	1,04	376	0	254	66,2	100
cyjanek potasu	0,993	10,0	0,74	2,51	83,7	92,6
mieszanka: fenol KCN	1,06	188	58,3	88,4	61,0	69,0
		5,0	0,72	4,70	48,8	85,6

(ciśnienie procesu: $1 \cdot 10^5$ Pa, temperatura 298°K, stopień redukcji nadawy: 2).

Dla membrany enzymatycznej otrzymanej metodą zanurzeniową badano efektywność procesu ultrafiltracji roztworów fenolu i cyjanek potasu, natomiast dla membran enzymatycznych otrzymanych metodą ultrafiltracji pro-

wadzono pełny cykl badań roztworów fenolu i cyjanku potasu oraz ich mieszaniny.

Membrany enzymatyczne otrzymane metodą zanurzeniową charakteryzowały się niską efektywnością. Stopień biodegradacji fenolu wynosił jedynie około 8%, a cyjanku potasu — około 40%. Dlatego membrany enzymatyczne otrzymane tą metodą uznano za mało przydatne do osiągnięcia założonego celu.

W tab. 4 przedstawiono wyniki efektywności procesu oczyszczania symulowanych ścieków zawierających fenol i cyjanek potasu dla trzech membran otrzymanych metodą ultrafiltracji roztworu enzymów. Objętościowy strumień permeatu w trakcie tego procesu z zastosowaniem membran enzymatycznych był tylko niewiele niższy niż objętościowy strumień wody otrzymany dla membran przed immobilizacją. Mimo jednokrotnego przepuszczania ścieków symulowanych przez membranę enzymatyczną otrzymywano wysoki stopień biodegradacji oraz współczynniki retencji fenolu i cyjanku potasu. Wyniki te można uznać za zadowalające. Wyjaśnienia wymagają: niższy stopień biodegradacji i stopień retencji poszczególnych ksenobiotyków uzyskane w mieszaninie w porównaniu z pozyskanymi oddzielnie.

5. Wnioski

1. Biodegradacja fenoli i cyjaneków może być prowadzona przy użyciu enzymów wyizolowanych ze szczepu *Pseudomonas sp.*

2. Ponieważ biochemiczne oczyszczanie ścieków zawierających fenole i cyjanki powinno być prowadzone wieloetapowo, dlatego celowe wydaje się wprowadzenie etapu ultrafiltracji z wykorzystaniem membran z immobilizowanymi grupami enzymów.

3. Skuteczną metodą immobilizacji grup enzymów ze szczepu *Pseudomonas* jest metoda oparta na ultrafiltracji roztworu białek przez membranę z poliakrylonitrylu. Wytworzona membrana charakteryzuje się stosunkowo wysoką trwałością.

4. Membrany enzymatyczne rozkładają fenol w ok. 70% i cyjanek potasu w ok. 80%, przy jednokrotnej ultrafiltracji prowadzonej pod ciśnieniem $1 \cdot 10^5$ Pa z dwukrotnym zmniejszeniem początkowej objętości ścieków. Współczynnik retencji procesu ultrafiltracji przekracza na ogół 90% dla cyjaneków i dochodzi do 100% w przypadku fenolu.

Badania zrealizowano w ramach projektu nr 60271 91 01/p4 finansowanego w latach 1991-1994 przez Komitet Badań Naukowych.

Literatura

1. Meinck F., Stooff H., (1975), Ścieki przemysłowe, Arkady, Warszawa.
2. Chojnacki A., (1966), Technologia ścieków przemysłowych, PWN, Warszawa.
3. Łabużek S., (1991), Biotechnologia, 3 - 4 (13 - 14), 90.

4. Bodzek M., Bohdziewicz J., Kowalska M., Łabużek S., (1992), Proceedings of the East Europe-Japan Workshop: Frontiers in Membrane Science and Technology, 158.
5. Knowles C. J., (1976), Bact. Rev., 40, 652.
6. Pawlikowska Cz., Chmielowski J., Sikora M., (1985), Acta Biol., 18, 79.
7. Cheryan M., (1986), Ultrafiltration Handbook, Technomic Publishing Co., Lancaster.
8. Bodzek M., (1985), Studia nad otrzymywaniem, strukturą, własnościami transportowymi i zastosowaniem membran do ultrafiltracji, Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej, Seria: Inżynieria Środowiska, z. 27.
9. Bodzek M., Bohdziewicz J., (1992), Membrany w biotechnologii, Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej, Seria: Inżynieria Środowiska (w druku).
10. Rucka M., Winnicki T., Żuk J., (1987), Postępy Biochemii, 33, 81.
11. Rucka M., Żuk J., Winnicki T., (1987), Postępy Biochemii, 33, 93.
12. Winnicki T., Mika A., (1986), Membrane Phenomena and Processes, Wyd. Politechniki Wrocławskiej, Wrocław.
13. Łabużek S., (1991), Izolacja zespołu białek enzymatycznych z komórek wybranych szczepów *Pseudomonas* rozkładających fenole i cyjaniki, Raport z pracy naukowo-badawczej, Uniwersytet Śląski, Katowice.
14. Bieszkiewicz E., (1971), Ćwiczenia z mikrobiologii, PWN, Warszawa.
15. Burbianka M., (1971), Mikrobiologia żywności, PZWL, Warszawa.
16. Jabłoński L., (1971), Podstawy mikrobiologii lekarskiej, PZWL, Warszawa.
17. Breed E. S., Murrey E. G. O., Smith N. R., (1985), Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Williams and Wilkins Comp., Baltimore.
18. Łabużek S., (1988), Indukcja dioksygenaz katecholowych w biodegradacji fenoli występujących w koksowniczych wodach fenolowych, Wyd. Uniwersytetu Śląskiego, 938, 1.
19. Bradford M., (1976), Anal. Biochem., 72, 248.
20. Loeb S., Sourirajan S., (1961), Advan. Chem. Ser., 38, 117.
21. Bodzek M., (1987), w: Synthetic Polymeric Membranes, de Gruyter, Berlin.
22. Lurie J., Rybnikowa A., (1968), Chemiczeskij analiz proiwodstwiennych stocznych wod, Goschimizat, Moskwa.
23. Asus E., Garshagen H., (1953), Z. Anal. Chem., 138, 414.
24. Hermanowicz W., (1976), Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków, Arkady, Warszawa.

Immobilized enzymes in the biodegradation process of phenols and cyanides contained in industrial waste waters

Summary

The paper deals with removing phenols and cyanides from industrial waste waters, as a result of their biological degradation by means of ultrafiltration membranes with immobilized enzymes coming from bacterial strain *Pseudomonas sp.* The enzymatic membranes were obtained by ultrafiltration of protein solution through a membrane made of polyacrylonitrile. In this way, above 90% of the enzymes were adsorbed onto the membrane surface. Such enzymatic membranes were decomposed phenol and potassium cyanide in 70% and 80% respectively, during single ultrafiltration at the pressure of $1 \cdot 10^5$ Pa and at two fold reduction of initial volume of waste waters. The retention coefficient of ultrafiltration process amounted to 100% for phenol and was above 90% for potassium cyanide.

key words:

biodegradation, cyanides, immobilized enzymes, phenols, ultrafiltration, waste water

Adres dla korespondencji:

Michał Bodzek, Instytut Inżynierii i Technologii Wody, Ścieków i Odpadów, Politechnika Śląska, ul. Kuczewskiego 2, 44-101 Gliwice.