

Małgorzata KOWALSKA, Mariusz DUDZIAK, Jolanta BOHDZIEWICZ

Politechnika Śląska, Instytut Inżynierii Wody i Ścieków
ul. Akademicka 2A, 44-100 Gliwice

Biodegradacja kwasów halogenoocetowych w bioreaktorze z poliamidową, enzymatyczną membraną ultrafiltracyjną

Przedstawiono uzyskane wyniki badań nad usuwaniem mieszaniny kwasów halogenoocetowych z wody w procesie ultrafiltracyjnej biodegradacji. Proces ultrafiltracyjnej biodegradacji, oparty na membranach z unieruchomionymi białkami aktywnymi, przebiega w temperaturze otoczenia, charakteryzuje się niską energochłonnością i niewielkimi kosztami eksploatacyjnymi. Pozwala na obniżenie stężenia substancji toksycznych w miejscu ich powstawania do wartości dopuszczalnych i umożliwia doczyszczanie uzdatnianej wody w procesie ultrafiltracji. Badania prowadzono w reaktorze z membraną ultrafiltracyjną, na powierzchni której unieruchomiono enzymy rozkładające HAA. Jako nośników do immobilizacji używano poliamidowych membran płaskich, modyfikowanych aldehydem glutarowym w celu otrzymania trwałych, kowalencyjnych wiązań pomiędzy materiałem membrany a enzymem. Nadawę w procesie biodegradacji stanowił wodny roztwór mieszaniny pięciu HAA (MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, DBAA) o stężeniu 1 mg/dm^3 każdego z nich.

Unieruchamiane na powierzchni membran enzymy były izolowane metodą Hagemana ze szczepów bakterii wyodrębnionych z mieszanej populacji osadu czynnego, adaptowanego do rozkładu HAA. Dominującymi w populacji rodzajami bakterii były: *Acinetobacter*, *Arthobacter*, *Pseudomonas* oraz *Bacillus*. Celem badań było wyznaczenie optymalnych warunków prowadzenia procesu ultrafiltracyjnej biodegradacji kwasów halogenoocetowych (ciśnienie transmembranowe, intensywność mieszania, czas prowadzenia procesu) oraz opracowanie metodyki oznaczania stężenia usuwanych ksenobiotyków metodą HPLC z wykorzystaniem ekstrakcji HAA w eterze tert-butyloetylowym.

Podczas filtracji roztworu kwasów przez membrany enzymatyczne wyznaczano również zależności objętościowego strumienia permeatu od ciśnienia transmembranowego, a w oparciu o obliczone stężenia ksenobiotyków w poszczególnych strumieniach ultrafiltracyjnych określano stopień biodegradacji HAA. Otrzymane wyniki pozwoliły na wyznaczenie najkorzystniejszych parametrów operacyjnych procesu ultrafiltracyjnej biodegradacji kwasów halogenoocetowych. Przy ich zastosowaniu wydajność procesu membranowego i efektywność usuwania HAA były najwyższe. Po 3,5-godzinnym prowadzeniu procesu w takich warunkach z wody modelowej usunięto całkowicie kwas monochloroocetowy i monobromoocetowy, a po 5 godzinach pozostałe kwasy. Monitorowano również wydajność procesu - objętościowy strumień permeatu nie zmieniał się w czasie.

Słowa kluczowe: kwasy halogenoocetowe, immobilizacja, biodegradacja, enzymatyczne membrany ultrafiltracyjne

Wstęp

Kwasy halogenoocetowe (HAA) są grupą ubocznych produktów dezynfekcji wody, istotną z punktu widzenia zdrowotnych walorów wody do picia. Powstają w wyniku reakcji prekursorów HAA (głównie substancji humusowych), zachodzących z chlorem lub jego pochodnymi. Wśród powstających w procesie dezynfekcji

wody kwasów halogenooctowych wyróżniamy następujące kwasy: chlorooctowy CH_2ClCOOH (MCAA), bromooctowy CH_2BrCOOH (MBAA), dichlorooctowy CHCl_2COOH (DCAA), trichlorooctowy (CCl_3COOH - TCAA), dibromooctowy (CHBr_2COOH - DBAA) i inne [1-3].

Obecnie Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska (US EPA) ustanowiła dopuszczalną wartość stężenia sumy pięciu kwasów HAA, tj. kwasów MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, DBAA, na 60 mg/m^3 . Przewiduje się jednak obniżenie tej wartości do 30 mg/m^3 ze względu na zagrożenie zdrowia ludzi i zwierząt substancjami rakotwórczymi, za które uznano kwasy halogenooctowe [4].

Opublikowane wytyczne WHO dotyczące jakości wody do picia określają zalecane, dopuszczalne stężenia kwasu dichlorooctowego do 50 mg/m^3 i kwasu trichlorooctowego do 100 mg/m^3 . Polskie Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 20 kwietnia 2010 r. regulujące warunki, jakim powinna odpowiadać woda do picia i na potrzeby gospodarcze, odnosi się tylko do jednego kwasu - monochlorooctowego. Najwyższe dopuszczalne jego stężenie może wynosić 30 mg/m^3 [5]. Na podstawie wyników badań zawartości HAA: w wodzie Jeziora Zegrzyńskiego, w procesie oczyszczania w Wodociągu Północnym oraz w wodzie pitnej w Warszawie dowiedziono, że zmiany procesu oczyszczania mogą spowodować zmniejszenie ilości powstających HAA. Stwierdzono, że faktem jest zależność powstawania kwasów halogenooctowych od stężeń organicznych prekursorów HAA. Ponadto, zaobserwowano dużą korelację między ilością powstających kwasów a temperaturą wody. W miesiącach zimowych stężenia kwasów halogenooctowych były bardzo małe, natomiast w lecie, kiedy temperatura powietrza przekraczała 24°C , ich stężenie w badanych wodach było wysokie. Po podsumowaniu otrzymanych wyników okazało się również, że istnieje duża zgodność między stężeniami kwasów halogenooctowych a stężeniami trihalometanów występujących w badanych wodach. Świadczy to o istnieniu tych samych powodów powstawania THM i HAA. Stwierdzono też, że gotowanie wody, które pozwala na usuwanie z wody trihalometanów w dość wysokim stopniu, nie powoduje obniżenia stężenia kwasów halogenooctowych [6-9].

Badania opisane w niniejszej pracy miały na celu określenie możliwości usuwania kwasów halogenooctowych z uzdatnianej wody w reaktorze z enzymatyczną membraną ultrafiltracyjną. Proces ultrafiltracyjnej biodegradacji, oparty na membranach z unieruchomionymi białkami aktywnymi, przebiega bowiem w temperaturze otoczenia, charakteryzuje się niską energochłonnością i niewielkimi kosztami eksploatacyjnymi. Pozwala na obniżenie stężenia substancji toksycznych w miejscu ich powstawania do wartości dopuszczalnych i umożliwia doczyszczanie uzdatnianej wody w procesie ultrafiltracji [10, 11].

1. Materiały i metody

Badania prowadzono w reaktorze typu S-76-400 produkcji firmy Nuclepore, o pojemności 500 cm^3 , zaopatrzonym w mieszadło magnetyczne, który pozwalał na wykorzystanie membrany płaskiej o powierzchni $38,5 \text{ cm}^2$.

Zakres pracy obejmował:

- wytworzenie z poliamidu metodą inwersji faz płaskich membran ultrafiltracyjnych, które stosowano jako nośniki (suporty) w procesie immobilizacji enzymów;
- określenie własności transportowo-separacyjnych otrzymanych membran obojętnych;
- modyfikację chemiczną membran obojętnych aldehydem glutarowym;
- unieruchomienie enzymów na powierzchni zmodyfikowanych membran za pomocą wiązania kowalencyjnego;
- określenie własności transportowo-separacyjnych membran enzymatycznych;
- ocenę przydatności wytworzonych membran aktywnych w procesie ultrafiltracyjnej biodegradacji roztworu kwasów halogenooctowych.

Do izolacji frakcji enzymów rozkładających kwasy halogenooctowe użyto szczepów bakterii wyodrębnionych z mieszanej populacji drobnoustrojów osadu czynnego. Adaptację drobnoustrojów prowadzono przez okres 30 dni, zasilając hodowlę wzrastającymi dawkami HAA. Dominującymi w populacji rodzajami bakterii były: *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas* oraz *Bacillus*. Wszystkie szczepy użyte w badaniach adaptowano do degradacji 0,005 g/dm³ każdego z kwasów. Frakcje enzymatyczne izolowane były metodą Hagemanna [12].

Membrany obojętne, będące nośnikami (suportami) w procesie immobilizacji, powinny pozwalać na trwałe związanie biokatalizatora, dając w efekcie membrany enzymatyczne, charakteryzujące się zarówno korzystnymi właściwościami separacyjnymi, jak i aktywnością katalityczną, maksymalnie zbliżoną do aktywności enzymów w stanie natywnym. Ponadto, proces immobilizacji nie powinien pogarszać własności transportowych i wytrzymałościowych obojętnych suportów.

W celu trwałego związania komórek z powierzchnią membrany obojętne suporty poddano procesowi modyfikacji chemicznej. W tym celu przez membranę obojętną filtrowano 250 cm³ 10% roztworu aldehydu glutarowego (CHO(CH₂)₃CHO), po czym membrany przemywano wodą dejonizowaną (3 x po 100 cm³). Immobilizację białek aktywnych na zmodyfikowanych chemicznie membranach obojętnych prowadzono, filtrując przez nie (dwukrotnie) 250 cm³ wodnego roztworu białka aktywnego przy ciśnieniu 0,05 MPa oraz intensywności mieszania 50 obr/min.

Własności transportowe membran obojętnych i enzymatycznych określano, wyznaczając zależność objętościowego strumienia permeatu od ciśnienia transmembranowego. W tym celu filtrowano przez nie wodę dejonizowaną, stosując ciśnienie transmembranowe zmieniane w zakresie od 0,05 do 0,25 MPa. Objętościowy strumień permeatu (J_v) obliczano ze wzoru:

$$J_v = \frac{V_v}{s \cdot t}$$

gdzie:

J_v - objętościowy strumień permeatu, m³/m² · s,

V_v - objętość permeatu, m³,

s - powierzchnia membrany, m²,

t - czas, s.

Własności separacyjne membran (obojętnych i enzymatycznych) zostały wyznaczone na podstawie wyników otrzymanych podczas ich testowania roztworem dekstranu oraz wodnym roztworem mieszaniny pięciu kwasów halogenooctowych, a mianowicie: monochlorooctowego (MCAA), dichlorooctowego (DCAA), trichlorooctowego (TCAA), monobromooctowego (MBAA) i dibromooctowego (DBAA). Stężenie każdego z nich wynosiło 1 mg/dm^3 . Podobnie jak w przypadku testacji wodą dejonizowaną, stosowano zmienne ciśnienie transmembranowe (od 0,05 do 0,25 MPa) i obliczano objętościowy strumień permeatu. Stwierdzono, że membrany obojętne nie zatrzymywały żadnego z kwasów, czyli ich współczynniki retencji wynosiły zero.

Pięcioprocentowy (5%), wodny roztwór dekstranu o nominalnej masie cząsteczkowej 200 000 (produkcji Zakładów Farmaceutycznych „Polfa” w Kutnie) filtrowano przez membrany przy ciśnieniu 0,15 MPa oraz prędkości mieszania 100 obr/min. Odbierano 10% nadawy, w permeacie i retentacie, oznaczając udziały poszczególnych mas cząsteczkowych dekstranu za pomocą chromatografu żelowego. Na podstawie zarejestrowanych chromatogramów obliczano zawartość dekstranu w poszczególnych przedziałach mas cząsteczkowych, na które podzielony został cały strumień nadawy i permeatu. Współczynniki retencji dekstranu obliczano z zależności:

$$R = \left(1 - \frac{C_p}{C_n} \right) \cdot 100\%$$

gdzie:

C_p - stężenie składnika w permeacie,

C_n - stężenie składnika w nadawie.

Obliczone wartości współczynników retencji pozwoliły na wyznaczenie przepuszczalności granicznej (cut-off) badanych membran. Charakteryzuje ona membranę poprzez wskazanie najmniejszej masy molowej wybranej substancji (w opisywanym przypadku dekstranu), ulegającej retencji w 90% [8].

Własności transportowo-separacyjne membran enzymatycznych określano w taki sam sposób jak w przypadku membran obojętnych, wyznaczając zależności objętościowego strumienia permeatu (dla wody dejonizowanej i roztworu kwasów) od ciśnienia transmembranowego. Dodatkowo, w oparciu o otrzymane stężenia poszczególnych kwasów w strumieniach ultrafiltracyjnych, obliczano stopień ich biodegradacji (B_d) zgodnie z równaniem:

$$B_d = \frac{1 - (C_p \cdot V_p + C_r \cdot V_r)}{C_n \cdot V_n} \cdot 100\%$$

gdzie:

B_d - stopień biodegradacji ksenobiotyku, %,

C_p - stężenie ksenobiotyku w permeacie, mol/dm^3 ,

C_n - stężenie ksenobiotyku w nadawie, mol/dm^3 ,

C_r - stężenie ksenobiotyku w retentacie, mol/dm³,

V_p - objętość permeatu, dm³,

V_n - objętość nadawy, dm³,

V_r - objętość retentatu, dm³.

Ponieważ ciśnienie transmembranowe oraz szybkość obrotów mieszadła mają wpływ na czas kontaktu ksenobiotyków z biokatalizatorem, określono również najkorzystniejsze wartości tych parametrów operacyjnych procesu ultrafiltracyjnej biodegradacji HAA. Przy ich zastosowaniu wydajność procesu membranowego i efektywność usuwania HAA były najwyższe.

Stężenie białka aktywnego oznaczano kolorymetryczną metodą Bradforda, polegającą na barwnej reakcji białka z odczynnikiem Bio-Rad-Protein-Assay. Korzystano ze spektrofotometru UV-VIS Cary 50 (Varian).

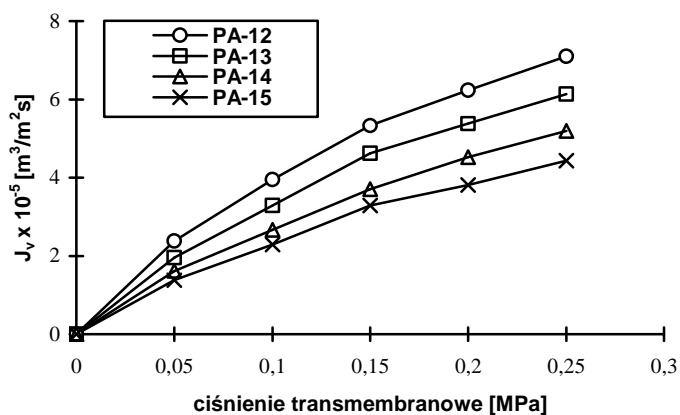
Aktywność membran enzymatycznych określano, filtrując przez nie w temperaturze 298 K w czasie 10 minut roztwór mieszaniny kwasów o stężeniu 0,1 mg/dm³. Ciśnienie transmembranowe wynosiło 0,1 MPa, a intensywność mieszania - 50 obr/min. Następnie w nadawie, permeacie i retentacie oznaczano stężenie kwasów i na tej podstawie określano ilość rozłożonego w tym czasie każdego z nich.

Analizę jakościowo-ilościową kwasów halogenooctowych przeprowadzano za pomocą chromatografu GC-MS (model Saturn 2100 T produkcji firmy Varian). Chromatograf wyposażony był w kolumnę SLBTM - 5 ms firmy Supleco. Podczas analizy temperaturę pieca chromatograficznego programowano w zakresie od 40 do 210°C. Pozostałe parametry temperaturowe były następujące: dozownik typu split/splitless - 210°C, pułapka jonowa i źródło jonów - 200°C. Analizę ilościową prowadzono w oparciu o metodę FS (full scan) w zakresie mas od 50 do 250 a.m.u. Procedura przygotowania próbek wodnych była adaptacją metody US EPA 552.2. Metoda ta obejmowała dwa zasadnicze etapy: ekstrakcję związków z użyciem eteru tert-butylo-metylowego (MTBE) oraz ich upochodnienie do estrów metyloowych [13, 14].

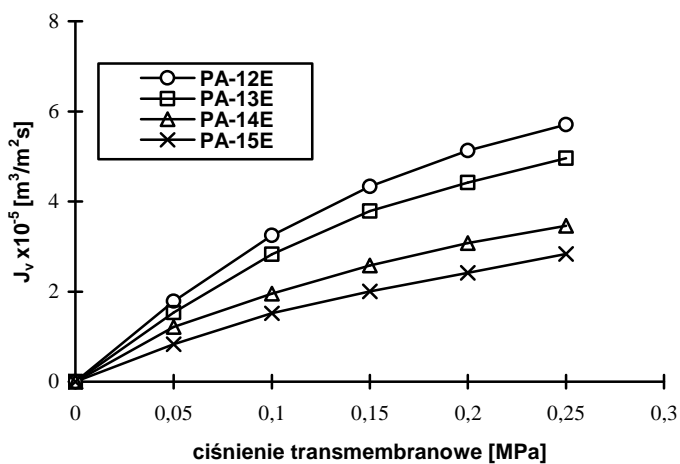
2. Wyniki

Na rysunku 1 przedstawiono krzywe obrazujące zależność objętościowego strumienia permeatu od ciśnienia transmembranowego wyznaczone dla membran obojętnych. Wraz ze wzrostem ciśnienia rosła wartość objętościowego strumienia permeatu (mieszaniny kwasów halogenooctowych) dla wszystkich membran.

Na rysunku 2 pokazano zależności objętościowych strumieni permeatu od ciśnienia transmembranowego uzyskane podczas testowania roztworem mieszaniny kwasów membran aktywnych. I w tym przypadku wartość J_v rosła wraz ze wzrostem ciśnienia transmembranowego, ale w porównaniu z podobną zależnością otrzymaną podczas testacji membran obojętnych nastąpiło nieznaczne obniżenie wartości objętościowych strumieni permeatu. W przypadku membrany PA-15E wynosiło ono ok. 4,4%, PA-14E - 4,8%, PA-13 - 4,3% oraz 4,2% - dla membrany PA-12E.



Rys. 1. Zależność objętościowego strumienia permeatu od ciśnienia transmbranowego dla membran obojętnych; nadawa: roztwór mieszaniny kwasów



Rys. 2. Zależność objętościowego strumienia permeatu od ciśnienia transmbranowego dla membran enzymatycznych; nadawa: roztwór kwasów halogenooctowych

Uzyskane wyniki obrazujące ilość unieruchomionego białka oraz aktywność otrzymanych membran enzymatycznych przedstawiono w tabeli 1.

Najwięcej białka (20,7 mg) udało się związać z membraną PA-14E, i ta też membrana charakteryzowała się najwyższą aktywnością enzymatyczną. Na podstawie uzyskanych wyników zdecydowano, że badania mające na celu wyznaczenie najbardziej efektywnych parametrów procesu ultrafiltracyjnej biodegradacji zostaną przeprowadzone z wykorzystaniem tej właśnie membrany. Charakteryzowała się bowiem ona najwyższą aktywnością enzymatyczną oraz zadowalającymi własnościami transportowo-separacyjnymi.

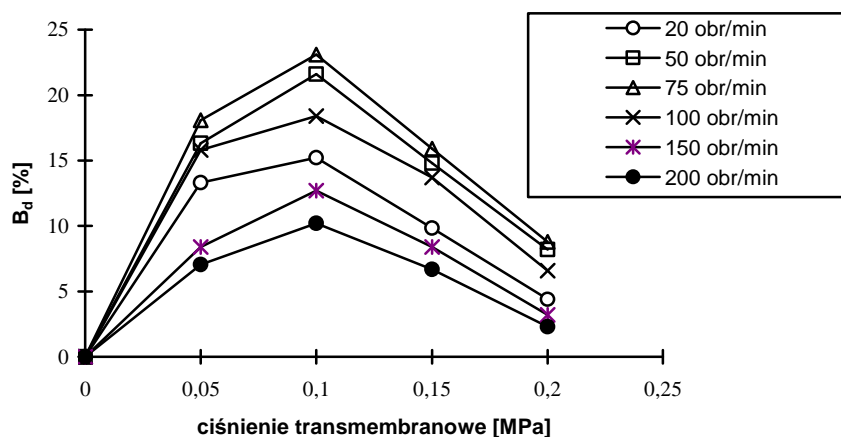
Tabela 1

Ilość unieruchomionego na membranach białka oraz aktywność membran enzymatycznych

Membrana	Ilość unieruchomionego białka, mg	Aktywność mmol kwasu /10 min/1 cm ² pow. membrany				
		MCAA	DCAA	TCAA	MBAA	DBAA
PA-12E	18,4	0,0312	0,0314	0,0312	0,0317	0,0313
PA-13E	19,1	0,0337	0,0342	0,0339	0,0343	0,0337
PA-14E	20,7	0,0357	0,0356	0,0354	0,0359	0,0352
PA-15E	19,8	0,0341	0,0344	0,0345	0,0348	0,0341

Dzięki wynikom uzyskanym podczas filtracji roztworu dekstranu przez membrany PA-14E i PA-14 (na podstawie zależności współczynnika retencji od masy cząsteczkowej dekstranu) wyznaczono ich cut-off. Dla PA-14E wyniósł on 11,2 kDa, natomiast dla membrany obojętnej PA-14 - 121 kDa.

W celu wyznaczenia najkorzystniejszych parametrów prowadzenia procesu ultrafiltracyjnej biodegradacji HAA (ciśnienia transmembranowego oraz intensywności mieszania nadawy) przez membranę PA-14E filtrowano roztwór mieszaniny kwasów, zmieniając ciśnienie transmembranowe w zakresie od 0,05 do 0,2 MPa dla różnych szybkości obrotów mieszadła (od 20 do 200 obr/min). Otrzymane zależności (na przykładzie kwasu dichlorooctowego) przedstawiono na rysunku 3. Wynika z niego, że ciśnienie, przy którym nastąpił najwyższy stopień usunięcia kwasów, to 0,1 MPa, a intensywność mieszania - 75 obr/min. Podobne zależności uzyskano dla pozostałych kwasów znajdujących się w mieszaninie.



Rys. 3. Zależność stopnia biodegradacji HAA (na przykładzie DCAA) na membranie PA-14E od ciśnienia transmembranowego i intensywności mieszania

Wyznaczone parametry pozwoliły na uzyskanie najwyższego stopnia biodegradacji HAA, kształtującego się na poziomie 23,1%. Niewiele mniejszy stopień usu-

nięcia uzyskano dla tego samego ciśnienia, lecz dla intensywności mieszania równej 50 obr/min; wynosił on 21,4%. W przypadku stosowania intensywności mieszania 100 obr/min stopień ten był już o 5,1% niższy od poprzedniego, a B_d wynoszący tylko 10,2% uzyskano dla największej intensywności mieszania równej 200 obr/min. Tak niska wartość B_d może być wynikiem zbyt krótkiego kontaktu cząstek ksenobiotyków z biokatalizatorem oraz częściowym uszkodzeniem struktury cząsteczek białka aktywnego unieruchomionego na powierzchni membrany, i, co za tym idzie, niższą aktywnością enzymatyczną stosowanej membrany.

Z rysunku 3 wynika również, że najwyższy stopień biodegradacji kwasu dichlorooctowego uzyskano przy szybkości mieszania wynoszącej 75 obr/min dla każdego ze stosowanych ciśnień transmembranowych. Najwyższy stopień biodegradacji ksenobiotyków, przy stosowaniu tej intensywności mieszania, uzyskano dla ciśnienia 0,1 MPa - wynosił on 23,17%. Przy ciśnieniu 0,05 MPa stopień usunięcia kwasu był niewiele niższy i wynosił 18,3%. W przypadku ciśnień transmembranowych wyższych niż 0,1 MPa (0,15 i 0,2 MPa) wartości uzyskanych B_d były wyraźnie niższe. Dla 0,15 MPa stopień biodegradacji wynosił 16,2%, a dla ciśnienia 0,2 MPa - tylko 10,28%.

Na stopień usunięcia kwasów ma przede wszystkim wpływ czas kontaktu ksenobiotyków z enzymem, czyli czas prowadzenia procesu filtracji. Filtrację wodnego roztworu mieszaniny HAA przez membranę PA-14E prowadzono w czasie 6 godz., przy zastosowaniu wyznaczonych wcześniej najkorzystniejszych parametrów procesowych, oznaczając stopień biodegradacji poszczególnych kwasów w półgodzinnych odstępach czasu. Po 3,5-godzinnym prowadzeniu procesu w takich warunkach z wody modelowej usunięto całkowicie kwas monochlorooctowy i monobromooctowy, a po 5 godzinach pozostałe kwasy. Monitorowano również wydajność procesu (oznaczając wartość J_v) - objętościowy strumień permeatu nie zmieniał się w czasie i kształtował się na poziomie $1,64 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3/\text{m}^2\text{s}$.

3. Podsumowanie

Opisane badania były prowadzone w ramach projektu badawczego finansowanego przez KBN i są kontynuacją prowadzonych w poprzednich latach prac. Wcześniej procesowi ultrafiltracyjnej biodegradacji poddawano roztwory pojedynczych kwasów halogenooctowych [3, 4] i w procesach tych uzyskiwano zbliżone do siebie wyniki dla wszystkich pięciu kwasów: podobna aktywność membran enzymatycznych i czas całkowitego usunięcia ksenobiotyku. W badaniach kolejnych, ultrafiltracyjnej biodegradacji z wykorzystaniem enzymatycznej membrany poliakrylonitrylowej, poddawano wodę zawierającą mieszaninę HAA o stężeniu $1 \text{ mg}/\text{dm}^3$ każdego z nich. W tym przypadku nastąpiły znaczące rozbieżności w czasie usuwania poszczególnych kwasów. Opisane w niniejszej pracy badania miały również na celu sprawdzenie, czy w przypadku zastosowania innej membrany (poliamidowej), o podobnej aktywności enzymatycznej, również takie rozbieżności wystąpią. Okazało się, że niezależnie od rodzaju stosowanej membrany najszybciej

biodegradacji ulegają kwasy monobromoocetowy i monochloroocetowy, w dalszej kolejności: dichloroocetowy, trichloroocetowy i najwolniej - dibromoocetowy. Wyjaśnienia faktu, dlaczego tak się dzieje, mimo zbliżonych aktywności enzymatycznych membrany wobec wszystkich kwasów oraz adaptacji mikroorganizmów, z których izolowano enzymy do biodegradacji jednakowych stężeń kwasów, będziemy szukać w następnym doświadczeniu. Ponieważ w literaturze nie ma opisu podobnych badań, autorzy nie mogą skonfrontować uzyskanych wyników.

Wnioski

1. Istnieje możliwość prowadzenia procesu ultrafiltracyjnej biodegradacji roztworu mieszaniny CH_2ClCOOH , CHCl_2COOH , CCl_3COOH , CH_2BrCOOH i CHBr_2COOH w bioreaktorze z enzymatyczną membraną poliamidową.
2. Najkorzystniejszymi, wyznaczonymi doświadczalnie parametrami operacyjnymi procesu ultrafiltracyjnej biodegradacji roztworu wybranych pięciu HAA były:
 - ciśnienie transmembranowe - 0,1 MPa,
 - intensywność mieszania - 75 obr/min.
3. Prowadzenie ultrafiltracyjnej biodegradacji z zastosowaniem optymalnych parametrów operacyjnych procesu pozwoliło po 5 godzinach na całkowite usunięcie wszystkich kwasów.

Literatura

- [1] Kucharski M., Koprowicz D., Chloroacetic acids in drinking water as ozonation and disinfection chlorine by-products, *Polish Journal of Environmental Studies* 2007, 16, 2A, 150-157.
- [2] Dojlido E. (red.), *Uboczne produkty dezynfekcji wody*, WN PWN, Warszawa 2002.
- [3] Batterman S., Zhang L., Wang S., Quenching of chlorination disinfection by products formation in drinking water by hydrogen peroxide, *Water Research* 2009, 34, 5, 1652-1658.
- [4] Morris J.C., *Formation of halogenated organics by chlorination of water supplies (a review)*, US EPA, Washington 1975.
- [5] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 20 kwietnia 2010 r. w sprawie warunków, jakim powinna odpowiadać woda do picia i na potrzeby gospodarcze, DzU 72, poz. 466.
- [6] Dojlido J.R., Zbieć E., Kwasy halogenooctowe w wodzie do picia, *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 1998, 5, 221-225.
- [7] Zbieć E., Dojlido J.R., Uboczne produkty dezynfekcji wody, *Ochrona Środowiska* 1999, 3, 74, 37-44.
- [8] Nawrocki J., Uboczne produkty utleniania i dezynfekcji wody, *Ochrona Środowiska* 2005, 27, 4, 3-12.
- [9] Symons J.M., Treatment techniques for controlling trihalomethanes in drinking water, *Journal AWWA*, 1975, 47, 67, 634-642.
- [10] Drioli E., Giorno L., *Biocatalytic Membrane Reactors*, Taylor & Francis Ltd., London 1999.
- [11] Wang Y., Zhang J., Yin J., Progress of enzyme immobilization and its potential application, *Desalination and Water Treatment* 2009, 1, 157-171.

- [12] Pawlikowska C., Chmielowski J., Sikora M., Bakterie rodzaju *Pseudomonas* rozkładające cyjanek wyodrębnione z osadów organicznych, *Acta Biol.* 1985, 18, 24-32.
- [13] US EPA, Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization and gas chromatography with electron capture detection, Method 552.2, Rev. 1.0, 1995
- [14] Peters R.I.B., Erkelens C., Leer E.W.B., Glan L., The analysis of halogenated acetic acids in dutch drinking water, *Water Research* 2008, 25, 4, 473-477.

Biodegradation of Halogenated Acetic Acids by Means of Bioreactor with Polyamide Ultrafiltration Membrane

The results of the study focused on the removal of halogenated acetic acids (HAA) from water by means of the hybrid process ultrafiltration-biodegradation are presented in the article. The hybrid system based on membranes with immobilized active enzymes is run at room temperature and characterizes with low energy consumption and exploitation costs. It allows to decrease the concentration of toxic substances in place of their formation as well to polish the treated water via ultrafiltration. The study was carried out in the reactor equipped with the ultrafiltration membrane, on the surface of which enzymes responsible for degradation of HAA were immobilized. Polyamide flat membranes modified with glutaric aldehyde in order to obtain stable, covalent bonds between membrane and enzymes were used as the immobilization support. The feed solution introduced to the process comprised of the mixture of five HAA (MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, DBAA) of concentration 1 mg/dm³ each. Halogenated acetic acids are byproduct of water disinfection. They are formed during the reaction of HAA precursors (mainly humic substances) with chlorine and its derivatives. The presence of HAA in drinking water is already proved to be harmful for animals and humans. Some HAA were recognized as carcinogens e.g. dichloroacetic acid and trichloroacetic acid. It was also found that dichloroacetic acid caused neuropathy, liver cancer and weight reduction. According to their toxic properties, the systematic control of HAA concentration in drinking water during the treatment process is performed in many countries. Besides, standards concerning the permissible concentration of HAA in drinking water are developed.

Enzymes immobilized on the support were isolated according to Hageman method from bacteria separated from activated sludge adapted for HAA degradation. *Acinetobacter*, *Arthobacter*, *Pseudomonas* and *Bacillus* were dominant types of microorganisms. The study were carried out in S-76-400 reactor (by Nuclepore) of volume 500 cm³ equipped with magnetic stirrer and the flat membrane of area 38.5 cm². The aim of the experiment was to determine the optimal conditions for the hybrid process ultrafiltration-biodegradation of HAA (transmembrane pressure, intensity of stirring, length of the process). Additionally, the method of analysis of degraded xenobiotics concentration using HPLC and HAA extraction with ETBE was developed.

The dependence of volumetric permeate flux on the transmembrane pressure was determined during the filtration of HAA solution. The degree of biodegradation of xenobiotics was evaluated basing on the concentration of HAA in particular process streams. Obtained results allowed to assign the optimal operating conditions of the hybrid ultrafiltration-biodegradation system i.e. transmembrane pressure 0.1 MPa and stirring speed 75 rpm. The highest membrane process capacity and HAA removal effectiveness were obtained under those conditions. The total removal of monochloroacetic acid and monobromoacetic acid lasted 3.5 and 5 h for the remaining investigated acids applying optimal operation parameters. The capacity of the process determined by the measurement of volumetric permeate flux did not change in time.

Keywords: halogenacetic acids, immobilization, biodegradation, ultrafiltration enzymatic membranes