

1. Wprowadzenie

Tradycyjnie prowadzi się procesy biotechnologiczne w reaktorach (fermentorach) okresowych, które mają bardzo niską produktywność. Zastosowanie bioreaktorów z unieruchomionymi (immobilizowanymi) enzymami lub komórkami umożliwia wielokrotny wzrost produktywności. Dodatkową zaletą tego typu reaktorów jest łatwość przekształcenia procesu w ciągły.

Najczęściej materiał biologiczny jest unieruchamiany w nośnikach porowatych. W praktyce wykorzystuje się jako nośniki materiały nieorganiczne (szkło, krzemionka), polimery organiczne (poliakryloamid, polialkohol winylowy) oraz polimery pochodzenia naturalnego (alginiany, agar, karagenina, pektyna). Właściwości nośnika mają istotny wpływ na aktywność i stabilność biokatalizatora oraz muszą być uwzględniane przy projektowaniu bioreaktora.

Szybkość procesów przebiegających w granulach biokatalizatorów jest ograniczona na skutek oporów dyfuzji zewnętrznej i wewnętrznej. Wpływ oporów dyfuzji wewnętrznej na szybkość reakcji w granulce katalizatora można wyrazić przez współczynnik efektywności η , który w tradycyjnym ujęciu inżynierii bioprocessowej (1) definiuje się następująco:

$$\eta = \frac{\text{obserwowana szybkość reakcji}}{\text{szybkość reakcji bez oporu dyfuzyjnego}} \quad (1)$$

Stosując obliczenia numeryczne można wyznaczyć zależność współczynnika η od modułu Thielego ϕ , który dla reakcji enzymatycznej o kinetyce Michaelisa oblicza się ze wzoru (2):

$$\phi = L \sqrt{\frac{V_{\max}}{K_m D_e}} \quad (2)$$

gdzie: $L = R/3$ dla kuli, $L = R/2$ dla walca, $L = H/2$ dla membrany o grubości H , V_{\max} – maksymalna szybkość reakcji, K_m – stała Michaelisa, D_e – efektywny współczynnik dyfuzji w porach nośnika.

Z obliczeń wynika, że ze wzrostem modułu Thielego maleje współczynnik efektywności i unieruchomiony materiał biologiczny jest wykorzystywany w małym stopniu. Zwiększenie współczynnika efektywności można osiągnąć przez zmniejszenie rozmiarów granulek katalizatora lub dobór nośnika o wysokim współczynniku dyfuzji efektywnej.

Dyfuzyjność substratu w porach jest mniejsza niż dyfuzyjność D w roztworze i można te wielkości powiązać zależnością:

$$D_e = D \frac{\beta}{\tau} \quad (3)$$

gdzie: β – porowatość granulki, τ – współczynnik labiryntowości.

Współczynnik labiryntowości katalizatora określa się na podstawie pomiarów D_e i β .

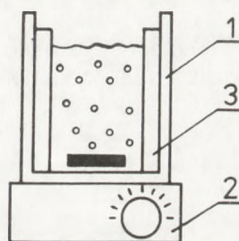
Istnieje kilka metod pozwalających na wyznaczenie efektywnego współczynnika dyfuzji w porach nośnika. W niniejszej pracy przedstawiono przegląd tych metod oraz omówiono zasady wykorzystania ich dla różnych materiałów stosowanych w biotechnologii.

W badaniach najczęściej używa się nośnika w postaci stosowanej przy unieruchamianiu materiału biologicznego. Są to z reguły granulki o średnicach mniejszych od 1 mm. Można również wykorzystać duże elementy (walec, kula, membrana), które wykonuje się z materiału stosowanego do produkcji nośnika. Wymaga to dodatkowych nakładów, ale znacznie poprawia dokładność pomiarów efektywnego współczynnika dyfuzji.

2. Pomiary D_e w granulkach nośnika

Pomiary wykonuje się w układzie zamkniętym lub otwartym. Ze względu na prostotę układu, najszerzej stosowany był układ zamknięty. Wykorzystywano go do wyznaczenia efektywnego współczynnika dyfuzji w alginianach (3,4,5,6,7), karageninie (8,9) i pektynie (10).

Rys.1. Aparatura do wyznaczenia efektywnego współczynnika dyfuzji w układzie zamkniętym: 1 – termostatowany zbiornik, 2 – mieszadło magnetyczne, 3 – przegrody (łamacze).



Typowy układ badawczy przedstawiono na rys. 1, który składa się z termostatowego zbiornika (1) z mieszadłem magnetycznym (2). Do ścianek zbiornika zamocowane są przegrody (3), tzw. łamacze, zwiększające efekt mieszania. Pomiary prowadzi się dla dyfuzji substancji z roztworu do granulek lub odwrotnie, a całkowitą ilość substancji, która przedyfundowała do chwili t można powiązać z ilością substancji po czasie nieskończonym. Dla granulek kulistych słuszną jest następująca zależność (11):

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6\alpha(\alpha+1)}{9+9\alpha+q_n^2\alpha^2} \exp\left(-\frac{D_e q_n^2 t}{R^2}\right), \quad (4)$$

gdzie: M_t – ilość substancji, która przedyfundowała do chwili t ,
 M_∞ – ilość substancji, która przedyfundowała po czasie równym nieskończoności,

$$\alpha = \frac{V}{\frac{4}{3}\pi R^3 n K} \quad (5)$$

V – objętość cieczy, R – promień badanych granulek, n – liczba granulek, K – współczynnik podziału, q_n – dodatnie pierwiastki równania

$$\operatorname{tg} q_n = \frac{3 q_n}{3 + \alpha q_n^2} \quad (6)$$

Ilość dyfundującej substancji można powiązać bezpośrednio ze stężeniem w roztworze. Dla dyfuzji z roztworu do granulek otrzymuje się:

$$C(t) = \frac{\alpha C_0}{1 + \alpha} \left[1 + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6(1 + \alpha)}{9 + 9\alpha + q_n^2 \alpha^2} \exp\left(-\frac{D_e q_n^2 t}{R^2}\right) \right] \quad (7)$$

gdzie: C_0 – stężenie początkowe w roztworze.

Jeżeli granulki nasyci się badaną substancją, a następnie umieści się w czystym rozpuszczalniku, wówczas stężenie dyfundującej substancji w roztworze opisuje zależność:

$$C(t) = \frac{C_0}{1 + \alpha} \left[1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6\alpha(1 + \alpha)}{9 + 9\alpha + q_n^2 \alpha^2} \exp\left(-\frac{D_e q_n^2 t}{R^2}\right) \right] \quad (8)$$

gdzie: C_0 – stężenie początkowe dyfundującej substancji w granulках.

Dysponując zmierzonymi stężeniami $C(t)$ wyznacza się D_e przez poszukiwanie rozwiązania równania (8), które spełnia warunek:

$$F = \sum [C(t)_{\text{dośw}} - C(t)_{\text{obl}}]^2 = \min \quad (9)$$

Tego typu obliczenia daje się łatwo zaprogramować na minikomputerze.

W przedstawionej metodzie zakłada się, że opory dyfuzji zewnętrznej są nieznaczące i można je pominąć. Oszacowanie wpływu oporów dyfuzji zewnętrznej na mierzoną szybkość dyfuzji wykonuje się, korzystając z teorii warstewki granicznej, która określa jej grubość:

$$\delta = \frac{D}{k} \quad (10)$$

gdzie: D – dyfuzyjność w roztworze, k – współczynnik wnikanía masy.

Współczynnik wnikanía masy oblicza się z korelacji doświadczalnych:

$$Sh = f(Re, Sc) \quad (11)$$

gdzie: Sh – liczba Sherwooda, Re – liczba Reynoldsa, Sc – liczba Schmidta. Dokładna procedura obliczeń podana jest w pracach (4,9,12).

Można zastosować również weryfikację doświadczalną, która polega na wyznaczeniu efektywnego współczynnika dyfuzji przy różnej intensywności mieszania. Ze wzrostem szybkości obrotowej mieszadła D_e maleje, aby następnie osiągnąć stałą wartość. Z badań Scotta i wsp. (8) wynika, że powinno się stosować minimum 400 obr/min przy mieszaniu mieszadłem magnetycznym.

Warto również zwrócić uwagę na to, że stosowany tutaj opis matematyczny (równania (7) i (8)) jest poprawny, gdy badany nośnik nie ma właściwości sorpcyjnych względem dyfundującej substancji. Założenie powyższe jest spełnione, gdy wyznaczone doświadczalnie wartości D_e dla dyfuzji z granulek do roztworu i odwrotnie są identyczne. Takie sprawdzenie można wykonać również dysponując pomiarami efektywnego współczynnika dyfuzji w dwóch temperaturach.

Energia aktywacji obliczona ze wzoru:

$$E_D = \frac{R T_1 T_2}{T_2 - T_1} \ln \frac{D_{e2}}{D_{e1}} \quad (12)$$

gdzie: R – stała gazowa, T_1 i T_2 – temperatury w stopniach Kelvina, powinna się mieścić w zakresie od 16 do 20 kJ/mol w temperaturze około 298°K.

Efektowny współczynnik dyfuzji w nośnikach biokatalizatorów wyznaczano także przy zastosowaniu układu otwartego. W tym przypadku najczęściej nasyca się granulki nośnika badaną substancją, a następnie przez złożę granulek przepuszcza się w sposób ciągły rozpuszczalnik i pobiera próbki na wylocie ze złoża. W obliczeniach wykorzystywana jest zależność między średnim stężeniem dyfundującej substancji w granulkach a stężeniem początkowym (11):

$$\frac{C_g(t)}{C_g(t=0)} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{D_e n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad (13)$$

Jeżeli stężenie $C_g(t)$ jest mniejsze od połowy stężenia początkowego, wtedy do opisu procesu wystarczy użycie tylko pierwszego wyrazu szeregu. Po zlogarytmowaniu otrzymuje się równanie linii prostej:

$$\ln \frac{C_g(t)}{C_g(t=0)} = \ln \frac{6}{\pi^2} - \frac{D_e \pi^2}{R^2} t \quad (14)$$

Z nachylenia linii prostej wyznacza się D_e znając R .

Opisana metoda była stosowana do wyznaczania efektywnego współczynnika dyfuzji w dekstranie (13), poliakryloamidzie (14) i alginianie (15,16).

Inny sposób wyznaczania D w układzie otwartym (17,18,19,20) polega na tym, że do strumienia płynu przepływającego przez złożę nośnika wprowadza się na wlocie zakłócenie, polegające na wstrzyknięciu znacznika (traseru). Na wylocie ze złoża mierzy się zmiany stężenia znacznika. Przy analizie wyników stosuje się metodę momentów. Wykorzystywany jest pierwszy moment absolutny:

$$\mu_1 = \frac{\int_0^{\infty} c(t) t dt}{\int_0^{\infty} c(t) dt} \quad (15)$$

gdzie: $c(t)$ – stężenie znacznika w czasie t , oraz drugi moment centralny:

$$\mu_2 = \frac{\int_0^{\infty} c(t) (t - \mu_1)^2 dt}{\int_0^{\infty} c(t) dt} \quad (16)$$

Pierwszy moment absolutny daje położenie wartości średniej, a drugi – centralny rozrzut wokół wartości średniej. W przypadku, gdy nie występuje adsorpcja na nośniku, otrzymuje się następujące zależności:

$$\mu_1 = \tau_p [\epsilon + (1 - \epsilon) \beta] \quad (17)$$

$$\mu_2 = 2 \tau_p \left\{ \frac{\beta^2 R^2 (1 - \epsilon)}{15 D_e} + \frac{\beta^2 R (1 - \epsilon)}{3k} + \frac{D_z A^2}{q^2} [\epsilon + (1 - \epsilon) \beta]^2 \right\} \quad (18)$$

gdzie: τ_p – średni czas przebywania, ϵ – porowatość złoza, β – porowatość granulek nośnika, D_z – współczynnik dyspersji osiowej, A – powierzchnia przekroju złoza, q – strumień objętości przepływającego płynu.

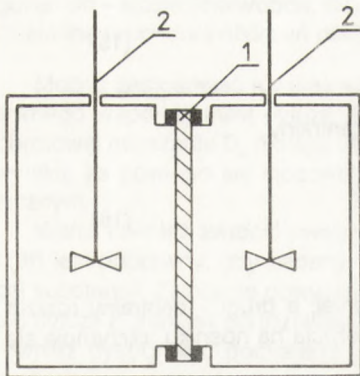
Na podstawie pomiarów doświadczalnych wyznacza się z równania (17) zależność $\mu_1 = f(\tau_p)$. Zmierzona niezależnie porowatość złoza ϵ pozwala na określenie porowatości granulek β . Następnie po wyznaczeniu drugich momentów centralnych oblicza się efektywny współczynnik dyfuzji D_e z równania (18). Potrzebne w obliczeniach wartości D_z i k określa się na podstawie korelacji doświadczalnych (21,22,23).

Metoda momentów była stosowana do wyznaczania D_e dla granulek poliakrylamidowych (18,24) i porowatych kulek szklanych (25).

3. Pomiary D_e w elementach wykonanych z materiału nośnika

Pomiary efektywnego współczynnika dyfuzji wykonywano najczęściej dla membran (26, 27,28,29). Stosowano również elementy, zbudowane z materiału nośnika, o kształcie kuli (30) i walca (31).

Układ badawczy w postaci komórki dyfuzyjnej przedstawiono na rys. 2, która składa się z dwóch zbiorników rozdzielonych membraną. Zazwyczaj zbiorniki znajdują się obok siebie, chociaż stosowano również rozwiązanie konstrukcyjne polegające na umieszczeniu zbiorników jeden na drugim (28). Ciecz w obydwu zbiornikach powinna być intensywnie mieszana, aby wyeliminować opory dyfuzji zewnętrznej. W przypadku nośników stosowanych w biotechnologii (np. alginiany i karagenina) występują trudności z otrzymaniem membran o odpowiedniej wytrzymałości mechanicznej. W takich przypadkach stosuje się dodatkowo siatkę (28,32), aby wzmocnić strukturę membrany. Badania Hannouna i Stephanopoulou (28) wykazały jednak, że dla niższych stężeń alginianu występowały zjawiska konwekcyjne, mimo wzmocnienia membrany.



Rys. 2. Komórka dyfuzyjna: 1 – membrana, 2 – mieszadła.

Wyniki badań dyfuzji w membranach analizuje się, przyjmując stan ustalony lub nieustalony. Analiza dla stanu nieustalonego jest bardzo prosta, gdy stężenie w zbiorniku do którego dyfunduje substancja jest na tyle małe, że można je przyjąć za równe zero. W takim przypadku można obliczyć ilość substancji dyfundującej przez membranę o powierzchni A i grubości l z następującej zależności:

$$Q = A D_e t \frac{c_A}{l} - \frac{A c_A l}{6} - \frac{2A l c_A}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} \exp\left(-\frac{n^2 \pi^2 D_e t}{l^2}\right) \quad (19)$$

gdzie: c_A – stężenie w zbiorniku, z którego dyfunduje substancja.

Dla odpowiednio długiego czasu otrzymuje się liniową zależność między ilością dyfundującej substancji a czasem:

$$Q = \frac{A D_e c_A}{l} \left(t - \frac{l^2}{6 D_e} \right) \quad (20)$$

Wykres Q od t przechodzi w linię prostą, która przecina oś czasu w punkcie:

$$t = \frac{l^2}{6 D_e}$$

Można wykorzystać również analizę dla stanu ustalonego. Po początkowym okresie t_0 osiąga się w membranie liniowy gradient stężenia i słuszna jest następująca zależność (32):

$$\ln \frac{c_A - c_B}{c_{A_0} - c_{B_0}} = -\frac{D_e}{l} A \left(\frac{1}{V_A} + \frac{1}{V_B} \right) (t - t_0) \quad (21)$$

gdzie: c_A , c_B – stężenia w zbiornikach A i B, c_{A_0} , c_{B_0} – stężenia w czasie t_0 , V_A , V_B – objętości zbiorników A i B.

Dysponując wyznaczonymi doświadczalnie stężeniami w obydwu zbiornikach komórki dyfuzyjnej można wyznaczyć D_e .

Furui i Yamashita (33) zaproponowali uproszczony sposób obliczeń przyjmując od chwili $t=0$ liniowy gradient stężenia w membranie. Przy takim założeniu uzyskali wzór:

$$\ln \frac{c_A - c_{A_k}}{c_{A_0} - c_{A_k}} = \frac{D_e}{l} A \left(\frac{1}{V_A} + \frac{1}{V_B} \right) t \quad (22)$$

gdzie: c_{A_0} – stężenie początkowe w zbiorniku A, c_{A_k} – stężenie końcowe w zbiorniku A.

Trudności techniczne z otrzymaniem membran o wystarczającej wytrzymałości mechanicznej powodują, że badacze stosują także elementy o innych kształtach.

Merchant i wsp. (30) wyznacznali efektywny współczynnik dyfuzji w pojedynczych kulach z alginianu o średnicy dochodzącej do 20 mm. Uzyskanie tak dużych granulek kulistych stało się

możliwe przez umieszczenie warstwy oleju z oliwek nad roztworem CaCl_2 , który był stosowany do żelowania alginianu. Pomiary dyfuzyjności prowadzili badacze (30) w specjalnie zbudowanej aparaturze, pracującej w układzie zamkniętym. Kula była zamocowana w uchwycie z drutu i obracała się z szybkością od 117 do 542 obr/min. Pomiary wykonywano dla dyfuzji glukozy z roztworu do kuli i odwrotnie, a przy analizie wykorzystywano równania (4), (5) i (6) podstawiając $n=1$.

Chresand i in. (34) wyznaczali D_e w walcu wykonanym z kolagenu. Objętość walca wynosiła 10 cm^3 przy stosunku wysokości do średnicy 2:1. Element wykonany z kolagenu znajdował się w rurze zaślepionej z jednego końca. Górna powierzchnia walca stykała się z roztworem, który zawierał dyfundującą substancję. Ze względu na to, że dyfuzja zachodziła tylko przez górną powierzchnię walca, stosowano opis matematyczny dla płyty. Wykonując badania w układzie zamkniętym otrzymuje się następującą zależność:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2\alpha(1+\alpha)}{1+\alpha+\alpha^2 q_n^2} \exp\left(-\frac{D_e q_n^2 t}{l^2}\right) \quad (23)$$

gdzie: q_n – dodatnie pierwiastki równania:

$$\text{tg } q_n = -\alpha q_n \quad (24)$$

α – stosunek objętości roztworu do objętości walca, l – wysokość walca.

Zaletą tej metody jest możliwość zmierzenia z dużą dokładnością wysokości l , która ma decydujący wpływ na dokładność oznaczenia D_e . Pewne wątpliwości budzi jednak założenie o braku dyfuzji przez powierzchnię boczną walca i dlatego powinno stosować się w badaniach materiały, które zwiększają swoją objętość w trakcie procesu żelowania i dokładnie przylegają do ścianek rury.

Toda i Shoda (31) wyznaczali D_e w walcu wykonanym z agaru, ale ich procedura była bardziej pracochłonna. Żelowanie przeprowadzili w cylindrze szklanym o średnicy 17 mm. Wysokość warstwy agaru wynosiła 100 mm. Przez górną powierzchnię walca zachodziła dyfuzja sacharozy z roztworu o stężeniu $0,117 \text{ mol/dm}^3$. Po 990 minutach doświadczenia agar wyjęto z rury i pocięto na 2 mm plastry, w których wyznaczono stężenie sacharozy. Wyniki analizowano wykorzystując równanie dyfuzji w ciele półnieskończonym.

4. Podsumowanie

Przedstawiony przegląd nie wyczerpuje wszystkich metod stosowanych do wyznaczania efektywnego współczynnika dyfuzji w nośnikach biokatalizatorów. Badania dyfuzji tlenu prowadzi się często za pomocą specjalnych układów z elektrodą tlenową (35).

W literaturze brak jest dotychczas jednoznacznej oceny, która z metod wyznaczania efektywnego współczynnika dyfuzji daje najbardziej wiarygodne wyniki. Każda z nich ma określone wady i zalety. Najszerszy materiał porównawczy istnieje dla pomiarów w układzie zamkniętym i z tego względu można tę procedurę zalecić w badaniach nowych i modyfikowanych nośników.

Literatura

1. Karel S. F., Libicki S. B., Robertson C. R., (1985), Chem. Eng. Sci., 40, 1321–1354.
2. Radovich J. M., (1985), Enzyme Microb. Technol., 7, 2–10.
3. Somers W., Van't Reit K., Rozie H., Rombouts F. M., Visser J., (1989), Chem. Eng. J., 40, B7–B19.
4. Pu H. T., Yang R. Y. K., (1988), Biotechnol. Bioeng., 32, 891–896.

5. Chevalier P., Cosentino G. P., de La Noue J., Rakhit S., (1987), *Biotechnol. Tech.*, 1, 201–206.
6. Wójcik M., (1987), *Materiały III Ogólnokrajowej Sesji Naukowej „Postępy Inżynierii Bioreaktorowej”, Łódź, 186–192.*
7. Tanaka H., Matsumura M., Veliky I. A., (1984), *Biotechnol. Bioeng.*, 26, 53–58.
8. Scott C. D., Woodward C. A., Thompson J. E., (1989), *Enzyme Microb. Technol.*, 11, 258–263.
9. Nguyen A. L., Luong J. H. T., (1986), *Biotechnol. Bioeng.*, 28, 1261–1267.
10. Pras N., Hesselink P. G. M., ten Tusscher J., Malingre T. M., (1989), *Biotechnol. Bioeng.*, 34, 214–222.
11. Crank J., (1975), *The Mathematics of Diffusion*, Oxford University Press, London.
12. Harriot P., (1962), *AIChE J.*, 8, 93–98.
13. Horowitz S. B., Fenichel I. R., (1964), *J. Phys. Chem.*, 68, 3378–3385.
14. Nakanishi K., et al., (1977), *Agric. Biol. Chem.*, 41, 2455–2462.
15. Furusaki S., Seki M., (1985), *J. Chem. Eng. Japan*, 18, 389–393.
16. Teo W. K., Ti H. C., Tan W. H., (1986), *Proc. III World Congress of Chemical Engineering, Tokyo*, 851–854.
17. Schneider P., Smith J. M., (1968), *AIChE J.*, 14, 762–771.
18. Mehta R. V., Merson R. L., McCoy B. J., (1973), *AIChE J.*, 19, 1068–1070.
19. Furusawa T., Suzuki M., Smith J. M., (1976), *Catal. Rev.*, 13, 43–76.
20. Marrazzo W. N., Merson R. L., McCoy B. J., (1975), *Biotechnol. Bioeng.*, 17, 1515–1528.
21. Rovito B. J., Kittrell J. R., (1973), *Biotechnol. Bioeng.*, 15, 143–161.
22. Dwivedi P. N., Upadhyay S. N., (1977), *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.*, 16, 157–165.
23. Chung S. F., Wen C. Y., (1968), *AIChE J.*, 14, 857–866.
24. Adachi S., et al., (1980), *Biotechnol. Bioeng.*, 22, 779–797.
25. Sirotti D. A., Emery A., (1983), *Biotechnol. Bioeng.*, 25, 1773–1779.
26. Ludolph R. A., Vieth W. R., Venkatasubramanian, Constandines C., (1979), *J. Mol. Catal.*, 5, 197–223.
27. Matsumaga T., Karube I., Suzuki S., (1980), *Biotechnol. Bioeng.*, 22, 2607–2615.
28. Hannoun B. J. M., Stephanopoulos G., (1986), *Biotechnol. Bioeng.*, 28, 829–835.
29. Bassi A. S., Rohani S., MacDonald D. G., (1987), *Biotechnol. Bioeng.*, 30, 794–797.
30. Merchant F. J. A., Margaritis A., Wallace J. B., Vardanis A., (1987), *Biotechnol. Bioeng.*, 30, 936–945.
31. Toda K., Shoda M., (1975), *Biotechnol. Bioeng.*, 17, 481–497.
32. Axelsson A., Persson B., (1988), *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 18, 231–250.
33. Furui M., Yamashita K., (1985), *J. Ferment. Technol.*, 63, 167–173.
34. Chresand T. J., Dale B. E., Hanson S. L., Gillies R. J., (1988), *Biotechnol. Bioeng.*, 32, 1029–1036.
35. Renneberg R., Sonomoto K., Katch S., Tanaka A., (1988), *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 28, 1–7.

Summary

Biocatalysts can be produced by the entrapment of microorganisms or enzymes into various carriers. In order to determine and predict the effectiveness of such biocatalysts, it is necessary to know the effective diffusivity of substrates and products within immobilization matrices. This paper reviews methods used for determination of effective diffusivity. Special attention has been paid to mathematical analysis of experimental data.

Adres dla korespondencji:

Marek Wójcik, Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Akademia Techniczno-Rolnicza, ul. Seminaryjna 3, 85–326 Bydgoszcz.