



Doctoral Thesis

Enzymatic degradation of cyanide and development of a membrane reactor for treatment of cyanide-containing food industry effluents

Author(s):

Basheer, Sobhi Awad

Publication Date:

1992

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000644089> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 9714

**ENZYMATIC DEGRADATION OF CYANIDE AND DEVELOPMENT
OF A MEMBRANE REACTOR FOR TREATMENT OF CYANIDE-
CONTAINING FOOD INDUSTRY EFFLUENTS**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY
ZÜRICH
for the degree of Doctor of Technical Sciences

Presented by
SOBHI AWAD BASHEER
Master of Science, the Hebrew University, Jerusalem
born June 11, 1964
Citizen of Israel

Accepted on the recommendation of
Prof. Dr. J. R. Bourne, referee
Prof. Dr. P. L. Luisi, co-referee
Dr. J. E. Prenosil, co-referee

Zürich, 1992

ABSTRACT

The intensive utilization of cyanide in a variety of chemical processes produces large volumes of cyanide-containing effluents. Due to the well-known high toxicity of cyanide to organisms, such waste waters must be detoxified prior to their discharge into aquatic environments. Presently, cyanide in waste waters is degraded by chemical methods using potent oxidants like alkaline chlorination or ozonation. These methods are seriously considered to be hazardous to aquatic life because of their potential of creating toxic byproducts. A special treatment is usually required.

Only in the last 10 years, increased attention was focused on biodegradation of cyanide. A few strains of microorganisms were found to be resistant to cyanide and possess different cyanide-converting enzymes. Recently, a new immobilized cyanide-degrading enzyme was developed by Novo Nordisk A/S. This enzyme, so-called CYANIDASE®, isolated from *Alcaligenes xylosoxidans* subsp. *denitrificans*, is capable of hydrolyzing cyanide in an apparently one-step reaction to ammonia and formate down to very low levels of cyanide (< 0.01 ppm CN^-).

Due to its both strong affinity towards cyanide and high stability, CYANIDASE® was chosen in this study to develop an enzymatic cyanide removal process from waste waters. In preliminary experiments, a granular form of the biocatalyst was used in a recirculation fixed-bed reactor to characterize the immobilized enzyme with respect to pH, ionic strength, interactions with common ions normally present in waste waters, mass transfer effects, temperature and long-term stability.

The kinetics of the enzymatic cyanide degradation were studied in a laboratory stirred tank reactor using biocatalyst powder to exclude mass transfer limitations. It was found that the degradation kinetics can be modelled by a simple Michaelis - Menten equation and its parameters could accurately be determined. This was possible after finding out the source of interference which occurs in the spectrophotometric method for ammonia analysis, which apparently complicated the interpretation of the kinetics data in previous reports.

To avoid clogging of biocatalyst fixed-beds, attrition of biocatalysts in flow reactors and to protect the enzyme from interference of different particles in the treated real waste waters, a model system of an enzyme membrane reactor of diffusional type was developed

VII

for the processing of cyanide-containing effluents, especially from food industry.

For the monitoring of the continuous reactor operation, a new unsegmented ammonia measurement system was developed and applied.

Cyanide-containing apricot seed extract from the food industry was chosen as a real waste water to degrade its cyanide content by cyanidase. This system was intensively studied in a batch reactor and the enzymatic hydrolysis of pure amygdalin, the main cyanogenic component in the extract, was investigated as a model system.

Once the enzyme membrane reactor model system was developed, it was successfully applied to treatment of colloidal cyanide-containing seed extract from food industry. This reactor type proved its superiority against the fixed-bed and the stirred tank reactors for the treatment of such cyanide-containing waste water.

ZUSAMMENFASSUNG

In verschiedenen Bereichen der chemischen Industrie werden grosse Mengen von Cyaniden eingesetzt, welche teilweise in Prozessabwässer gelangen. Wegen der hohen Toxizität von Cyanid für Lebewesen müssen solche Abwässer vor der Kläranlage speziell entgiftet werden. Zur Zeit werden Cyanid-Abwässer chemisch durch alkalische Chlorierung oder Ozonisierung oxidativ vorbehandelt. Solche Methoden, insbesondere die Chlorierung, können ihrerseits umweltschädigende Produkte liefern, die eine zusätzliche Nachbehandlung nötig machen.

In den letzten Jahren wurde der biologische Abbau von Cyanid als Alternative untersucht. Es wurden einige cyanid-resistente Mikroorganismen gefunden, welche verschiedenartige Enzyme zur Zersetzung von Cyanid produzieren können. Vor kurzem wurde von Novo Nordisk A/S ein neues immobilisiertes Enzympräparat, CYANIDASE®, entwickelt, welches Cyanid bis zu sehr kleinen Restkonzentrationen (< 0.01 ppm CN) zu Ammoniak und Formiat abbauen kann. Das Enzym wird aus *Alcaligenes xylosoxidans* subsp. *denitrificans* isoliert.

Für die Entwicklung eines enzymatischen Prozesses zur Entfernung von Cyanid aus Abwässern wurde als Biokatalysator diese CYANIDASE® ausgewählt, dessen hohe Stabilität und grosse Affinität gegenüber Cyanid in Vorversuchen bestätigt wurde. In diesen Vorversuchen wurde der Biokatalysator in Granulatform in einem Festbettreaktor mit interner Rezirkulation eingesetzt. Das immobilisierte Enzym konnte bezüglich pH-Wert, Ionenstärke, Temperatur, interne bzw. externe Stofftransporteffekte, Langzeitstabilität sowie Wechselwirkungen mit Fremdionen, die in Cyanidabwässern üblicherweise vorhanden sind, charakterisiert werden.

Die Kinetik des enzymatischen Cyanidabbaus wurde in einem Rührkessel untersucht. Hierbei wurde der Biokatalysator in Pulverform eingesetzt, um Stofftransportlimitierungen auszuschliessen. Die Abbaukinetik konnte mit einer einfachen Michaelis-Menten-Gleichung modelliert und genau beschrieben werden. Für die genaue Ermittlung der Modellparameter musste die spektrophotometrische Ammoniakanalyse verbessert werden, da festgestellt wurde, dass Cyanidionen die Resultate verfälschen. Nach der Verbesserung wurden einwandfreie Resultate erzielt.

Um negative Effekte auf den Biokatalysator durch suspendierte Teilchen in realen Abwässern zu minimieren und die

IX

Katalysatorpartikel vor mechanischem Abrieb durch einen Rührer zu schützen, wurde ein Enzymmembranreaktor entwickelt. Für die kontinuierliche Überwachung dieses Reaktors wurde ein neues On-line-Messsystem für Ammoniak entwickelt.

Als Testlösung für ein Industrieabwasser wurde das stark cyanidhaltige Extrakt von Aprikosenkernen benutzt. Hierbei wurde zuerst als Modell die reine Amygdalinlösung, die Cyanidhauptkomponente im Extrakt, eingehend untersucht. Nachfolgend wurde der Enzymmembranreaktor für die Entgiftung des Aprikosenkerneextrakts erfolgreich eingesetzt. Im Langzeitverhalten war der neu entwickelte Enzymmembranreaktor sowohl einem Rührkessel als auch einem Festbettbioreaktor überlegen.