

THE ELECTRIC ACTIVE STARCH FLOCCULATION OF PROTEIN AND ITS DEGRADATION PRODUCTS IN LEATHER EFFLUENTS

FLOCULAREA PROTEINEI CU AMIDON ACTIV ÎN CÂMP ELECTRIC ȘI PRODUSELE DE DEGRADARE ALE ACESTEIA ÎN EFLUENȚII REZULTAȚI LA PRELUCRAREA PIEILOR

Rui Li^{1,2}, Yuzeng WANG^{1,2}, Rui DAI^{1,2}, Zhihua SHAN^{1,2*}

¹The Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu, 610065, China

²College of Light Industry, Textile and Food Engineering, Chengdu, 610065, China

THE ELECTRIC ACTIVE STARCH FLOCCULATION OF PROTEIN AND ITS DEGRADATION PRODUCTS IN LEATHER EFFLUENTS

ABSTRACT. There is a large amount of protein or its degradation products in leather effluents, which are difficult to deal with, such as NH₃-N and SS (suspended solids), etc., so it is significant to remove all the protein residues in effluents and reduce the content of pollutants. This experiment simulates the main effluent compositions which contained protein and its degradation products, and then handled with electrochemical assisted starch flocculate to reduce the content of protein residues in effluents, whilst decreasing the value of COD and BOD. Based on experiment results and the DPS statistical software analysis, the optimal conditions to remove the protein residues would be obtained, among 2.5 g/L protein degradation products, 5 g/L starch content, 5 g/L chloride ion concentration and 20 min electrolysis time, respectively, under which the best removal rate is 36.17%. The flocculation was analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), nanoparticle size potential analyzer (Zeta analyzer) and atomic force microscopy (AFM), and then presumed the removal mechanism of the protein residues in effluents.

KEY WORDS: electrochemistry; starch; flocculation; protein residue removal rate; removal mechanism

FLOCULAREA PROTEINEI CU AMIDON ACTIV ÎN CÂMP ELECTRIC ȘI PRODUSELE DE DEGRADARE ALE ACESTEIA ÎN EFLUENȚII REZULTAȚI LA PRELUCRAREA PIEILOR

REZUMAT. Există o mare cantitate de proteine sau produse de degradare ale acestora în efluenții rezultați la prelucrarea pielii, care sunt dificil de eliminat, cum ar fi NH₃-N și SS (solide în suspensie) etc.; prin urmare, eliminarea tuturor reziduurilor proteice din efluent și reducerea conținutului de substanțe poluante sunt importante. Acest experiment simulează compozițiile principalelor efluenti care conțin proteine și produse de degradare ale acestora, care sunt apoi tratate prin floculare electrochimică cu ajutorul amidonului pentru a reduce conținutul de reziduri proteice din efluent, ducând, în același timp, la scăderea valorilor CCO și CBO. Pe baza rezultatelor experimentului și analizei cu software-ul statistic DPS, s-au obținut condițiile optime pentru îndepărțarea reziduurilor proteice, pentru 2,5 g/l produse de degradare ale proteinelor, 5 g/l conținut de amidon, 5 g/l concentrație de ioni de clorură și timp de electroliză 20 min, iar cel mai bun grad de eliminare este de 36,17%. Rezultatele floculației au fost analizate prin spectroscopie în infraroșu cu transformată Fourier (FTIR), analiza dimensiunii nanoparticulelor (analizor Zeta) și microscopie de forță atomică (AFM), și apoi s-a dedus mecanismul de îndepărțare a reziduurilor proteice din efluent.

CUVINTE CHEIE: electrochimie, amidon, floculare, gradul de eliminare a reziduurilor proteice, mecanism de eliminare

LA FLOCULATION DE LA PROTÉINE PAR L'AMIDON ACTIVE EN CHAMP ÉLECTRIQUE ET SES PRODUITS DE DÉGRADATION DANS LES EFLUENTS ISSUS DU TRAITEMENT DU CUIR

RÉSUMÉ. Il y a une grande quantité de protéines ou de leurs produits de dégradation dans l'eluent issu du traitement de la peau qui sont difficiles à éliminer, tels que NH₃-N et MES (matières en suspension), etc.; donc il est très important d'éliminer tous les résidus protéiques des efluentes et de réduire les polluants. Cette expérience simule les compositions des efluentes principaux contenant des protéines et leurs produits de dégradation, qui sont ensuite traitées par la floculation électrochimique en utilisant l'amidon pour réduire les déchets protéiques des efluentes, ce qui entraîne, en même temps, l'abaissement des valeurs de DCO et DBO. À base des résultats de l'expérience et de l'analyse en utilisant le logiciel statistique DPS, on a arrivé aux conditions optimales pour l'élimination des déchets protéiques à 2,5 g/l produits de dégradation de protéines, 5 g/l teneur en amidon, 5 g/l concentration en ions chlorure et le temps d'électrolyse de 20 min, et le meilleur degré d'élimination est de 36,17%. Les résultats de la floculation ont été analysés par la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la taille des nanoparticules (l'analyseur Zeta) et la microscopie à force atomique (AFM), puis on a peut déduire le mécanisme d'élimination des résidus protéiques des efluentes.

MOTS-CLÉS: électrochimie, amidon, floculation, degré d'élimination des déchets protéiques, mécanisme d'élimination

INTRODUCTION

There is a large amount of Proteins and their Degradation Products (PDPs) in industrial effluents from restaurants, brewing, leather, food processing,

INTRODUCERE

Există o cantitate mare de proteine și de produse de degradare (PDPs) ale acestora în efluenții industriali rezultați la restaurante, fabricarea berii, prelucrarea

* Correspondence to: Zhihua SHAN, The Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610065, China, Tel:+086-2885407289; fax:+086-2885407289, Email address: 549671254@qq.com

etc. These proteins and their residues are mainly vegetable proteins, animal proteins or many other proteins, which all have better hydrophilicity and are difficult to deal with in effluents. The PDPs in effluents are the main source of NH₃-N and SS (suspended solids) [1]; if these effluents are not treated by effective ways or are directly discharged, it would very likely break the water ecological balance and affect human health [2-4].

Biochemical treatment methods can easily remove PDPs, but also release NH₃-N and many other pollutants into effluents, causing further processing problems. If we adopt the flocculate method to separate PDPs from the effluents before biochemical treatment, it would greatly improve the efficiency of effluent treatment. Due to the strong hydrophilicity of PDPs, treatment by chemical flocculation is difficult. In this paper the electrochemical oxidation method can be contributed to oxidized starch combined with PDPs and appeared flocculations in effluents. So this experiment investigates the effect factors of electrochemical flocculation to remove PDPs, including the content of starch and protein hydrolytic products, chloride ion concentration, electric processing time. In addition, the versatile regressive rotary compound design was used to set experiments and combined with the experimental results to obtain the optimal composition condition, and also the response surface analysis was used to discuss the relationship between these various factors. At last a hypothesis was formulated for the mechanism of reaction to support the principle of flocculation.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Copper sulfate, soluble starch, sodium potassium tartrate tetrahydrate, sodium hydroxide, potassium iodide, disodium hydrogen phosphate and sodium dihydrogen phosphate are all analytical reagents (AR) from Chengdu Kelon chemical company. The 5 g/L protein degradation solution was achieved by combining 5 g/L protein and 3 g/L sodium hydroxide at 90°C in 2~3 hours until the viscosity turned steadily.

pielii, prelucrarea produselor alimentare etc. Aceste proteine și reziduurile lor sunt, în principal, proteine vegetale, proteine animale și multe alte tipuri de proteine, care au o mai bună hidrofilie și sunt dificil de eliminat din efluenți. PDPs din efluenți reprezintă principala sursă de NH₃-N și SS (solide în suspensie) [1]; dacă acești efluenți nu sunt tratați prin metode eficiente sau sunt evacuate în mod direct, ar putea distrage echilibrul ecologic al apei și ar putea afecta sănătatea oamenilor [2-4].

Metodele de tratament biochimic pot elimina cu ușurință PDPs, însă duc la prezența NH₃-N și a altor poluanți în efluenți, cauzând probleme de prelucrare ulterioare. Adoptarea metodei floculației pentru a separa PDPs din efluenți înainte de a începe tratamentul biochimic ar îmbunătăți considerabil eficiența tratării efluenților. Din cauza hidrofiliei puternice a PDPs, tratarea prin metoda floculației chimice reprezintă o dificultate. În această lucrare se utilizează metoda oxidării electrochimice pentru a combina amidonul oxidat cu PDPs în vederea aplicării procesului de floculare la efluenți. Așadar, prin acest experiment se investighează efectul factorilor floculației electrochimice asupra eliminării PDPs, și anume, conținutul de amidon și produse hidrolitice ale proteinelor, concentrația de ioni de clorură, timpul de prelucrare electrică. În plus, s-a utilizat designul experimental versatil cu rotație prin regresie pătratică în combinație cu rezultatele experimentale pentru obținerea compozиiei optime, și, de asemenea, prin intermediul analizei suprafeței de răspuns s-a discutat relația dintre acești diversi factori. În cele din urmă, s-a dedus mecanismul de reacție pentru a sprijini principiul floculației.

MATERIALE ȘI METODE

Materiale

Reactivii de calitate analitică - sulfat de cupru, amidon solubil, tartrat de sodiu și potasiu tetrahidrat, hidroxid de sodiu, iodură de potasiu, fosfat acid disodic și fosfat diacid de sodiu provin de la firma Kelong Chengdu. Soluția de degradare a proteinei de 5 g/l a fost obținută prin combinarea a 5 g/l proteină cu 3 g/l hidroxid de sodiu, la 90°C timp de 2~3 ore până când viscozitatea a ajuns la nivel constant.

Equipment

The equipment of electrolytic tank and graphite electrode is designed by myself, with the size of $20 \times 4 \times 4$ m, UV-2000 spectrophotometer and AFM are both from Shimadzu; Nano particle and zeta potential analyzer are from UK, FTIR Spectrometer is from American Nicolet company; viscometer is from Shanghai jing co., LTD.

EXPERIMENTAL

Optimizing the Flocculation Conditions

The graphite plates were taken as positive and negative poles, and then inserted into the wastewater electrolytic cell in which the distance between plates was 4 m, the voltage between two poles was 8~12 V, electric current density was 5~7 mA/cm², the initial electrolyte pH value was 6.5 and temperature was 25°C. The operating sequence was the following, as Figure 1 shows: 1) mixed the soluble starch with sodium chloride in a vessel, then mixed uniformly and mutually adsorbed [5]; 2) the mixture composites were pumped into wastewater electrolytic cell by peristaltic pump; 3) mixture solution flowed and passed through the electrolytic cell under the electric field; 4) then used a reservoir to store the effluents and keep static for 4 h; 5) picked the supernatant solution to analyze and then calculated the removal rate of protein hydrolysate products.

Aparatură

Rezervorul electrolitic și electrodul de grafit au fost proiectate de echipa noastră, cu dimensiunea de $20 \times 4 \times 4$ m, spectrofotometrele UV-2000 și AFM au fost achiziționate de la Shimadzu; analizorul de nanoparticule și potențial Zeta provine din Marea Britanie, spectrometrul FTIR a fost achiziționat de la firma americană Nicolet; viscozimetru provine de la Shanghai Jing co., LTD.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Optimizarea condițiilor de floculare

S-au luat plăcile de grafit ca poli pozitivi și negativi și s-au introdus în celula electrolitică ce conținea apă uzată, unde distanța dintre plăci a fost de 4 m, tensiunea între cei doi poli a fost de 8~12 V, densitatea curentului electric a fost de 5~7 mA/cm², valoarea inițială a pH-ului soluției de electroliti a fost de 6,5, iar temperatura a fost de 25°C. Secvența de operare, prezentată în Figura 1, a fost următoarea: 1) s-a amestecat amidon solubil cu clorură de sodiu într-un vas până la omogenizare și adsorbție reciprocă [5]; 2) amestecul s-a turnat în ape uzate din celula electrolitică folosind o pompă peristaltică; 3) soluția obținută a trecut prin celula electrolitică sub câmp electric; 4) s-a folosit un rezervor pentru stocarea efluenților, menținându-se timp de 4 ore; 5) s-a preluat soluția de supernatant pentru analiză și apoi s-a calculat gradul de eliminare a produselor hidrolizate ale proteinelor.

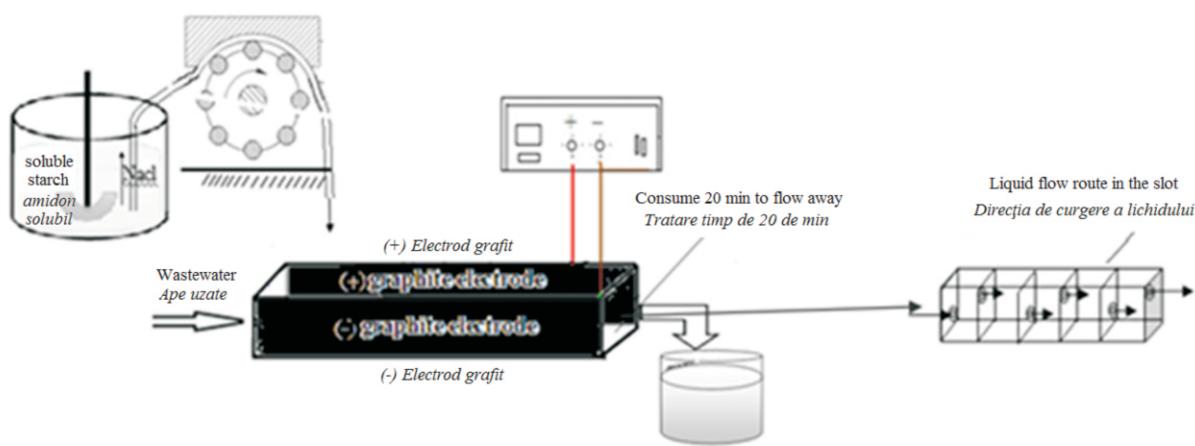


Figure 1. The processing of treatment of effluents

Figura 1. Procesul de tratare a efluentilor

For the experiment, the protein degradation product content (x_1 g/L), soluble starch content (x_2 g/L), chloride ion concentration (x_3 g/L) and electrolytic time (x_4 /min) were selected as the four effect factors. The secondary general rotation experimental design was used to obtain optimal conditions which have a high removal rate of protein degradation products. The secondary general rotation experimental design is shown in Table 1.

Pentru experiment s-au selectat ca parametri conținutul de produse de degradare ale proteinelor (x_1 g/l), conținutul de amidon solubil (x_2 g/l), concentrația de ioni de clorură (x_3 g/l) și timpul de electroliză (x_4 /min). S-a utilizat designul experimental rotabil cu patru variabile pentru a obține condițiile optime pentru un grad ridicat de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor. Designul experimental rotabil este prezentat în Tabelul 1.

Table 1: Result of quadratic general rotary unitized designed experiments

Tabelul 1: Rezultatele experimentelor rotabile cu patru variabile

Experiment Experiment	x_1 /(g/L)	x_2 /(g/L)	x_3 /(g/L)	x_4 /min	Removal rate /percent Grad de eliminare/procent
1	1	2	2	10	2.560
2	1	2	2	30	3.060
3	1	2	4	10	5.700
4	1	2	4	30	6.300
5	1	4	2	10	3.540
6	1	4	2	30	4.940
7	1	4	4	10	6.220
8	1	4	4	30	8.780
9	2	2	2	10	21.00
10	2	2	2	30	23.10
11	2	2	4	10	24.50
12	2	2	4	30	26.80
13	2	4	2	10	24.00
14	2	4	2	30	25.40
15	2	4	4	10	23.00
16	2	4	4	30	28.50
17	0.5	3	3	20	6.570
18	2.5	3	3	20	33.12
19	1.5	1	3	20	10.12
20	1.5	5	3	20	17.66
21	1.5	3	1	20	13.34
22	1.5	3	5	20	16.74
23	1.5	3	3	5	15.20
24	1.5	3	3	40	17.23
25	1.5	3	3	20	16.22
26	1.5	3	3	20	16.43
27	1.5	3	3	20	15.87
28	1.5	3	3	20	15.46
29	1.5	3	3	20	16.43
30	1.5	3	3	20	16.50
31	1.5	3	3	20	16.04

According to the following quadratic polynomial regression model equation (1), the DPS statistical software was used to analyze experiment data as Table 1 showed.

$$\hat{y} = b_0 + \sum_{i=1}^4 b_i x_i + \sum_{i=1}^{i < j} b_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^4 b_i x_i^2 \quad (1)$$

The protein removal rate (y) was calculated as the regression equation (2) showed, among the project $P>0.05$ was eliminated, respectively.

$$y = -24.08979 + 8.77452 x_1 + 6.10726 x_2 + 5.07143 x_3 + 2.83627 x_1^2 - 0.77968 x_2^2 - 0.49218 x_3^2 - 0.00433 x_4^2 + 0.07800 x_1 x_4 \quad (2)$$

The equation can predict the protein degradation products removal rates under these setting conditions, whether the single factor test or interactive effects of factors to protein removal rates. Using the DPS statistical software the optimal conditions could be obtained, namely 2.5 g/L protein degradation products, 5 g/L starch content, 5 g/L chlorine ion and the electrolysis time was 20 min. Under these conditions the best removal rate of protein degradation products achieved was 36.17%.

Single Factor Analysis

According to the regression equation, one of the factors was selected (x) and its level value was changed while values of other factors were set to zero, to get a graph that shows the effect of a single factor on the removal rate of protein degradation products.

Figure 2 showed the removal rate curves of single factors. Respectively, as for the relationship of protein degradation products removal rate and electrolysis time, when electrolysis time (x_4) ranged from 5~20 min, the protein degradation products removal rate (y) was increased with the time increasing. Once the time exceeded 20 min, the removal rates gradually decreased. Maybe the reason is that with the increased number of activated starch, the efficiency of flocculation reaction where composites combined with protein degradation products was also increased, but with the prolonged time, lots of small molecule

Pe baza ecuației polinomiale de ordinul 2 (1) de mai jos, s-a utilizat software-ul statistic DPS pentru a analiza datele experimentale ilustrate în Tabelul 1.

Gradul de eliminare a proteinei (y) a fost calculat cu ajutorul ecuației de regresie (2) de mai jos, eliminându-se între timp factorul $P>0,05$.

Ecuția poate prezice gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor în aceste condiții, utilizând fie testul unifactorial, fie analiza efectelor interactive ale factorilor care influențează gradul de eliminare ale proteinelor. Utilizând softul statistic DPS, s-au obținut condițiile optime, și anume: conținut de 2,5 g/l produse de degradare ale proteinelor, 5 g/l conținut de amidon, 5 g/l ioni de clorură și timpul de electroliză de 20 de minute. În aceste condiții, s-a obținut cel mai bun grad de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor, de 36,17%.

Analiza unifactorială

Conform ecuației de regresie, s-a ales un factor (x), și s-a modificat valoarea acestuia în timp ce valorile celorlalți factori s-au stabilit la zero, ceea ce a permis obținerea unui grafic care arată modul în care un singur factor poate influența gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor.

Figura 2 arată curbele gradului de eliminare pentru un factor unic. În ceea ce privește relația dintre gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor și timpul de electroliză, când timpul de electroliză (x_4) a variat între 5~20 min, gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor (y) a crescut odată cu prelungirea timpului. Odată ce timpul a depășit 20 min, gradul de eliminare a scăzut treptat. Motivul probabil este că, odată cu creșterea cantității de amidon activ, eficiența reacției de floculare în care componențele s-au combinat cu produsele de degradare ale proteinelor a crescut, dar la prelungirea timpului, au apărut multe

oxidative degradation products appeared and then led to the decentralization of flocculation mixture products and eventually to gradual solubilisation.

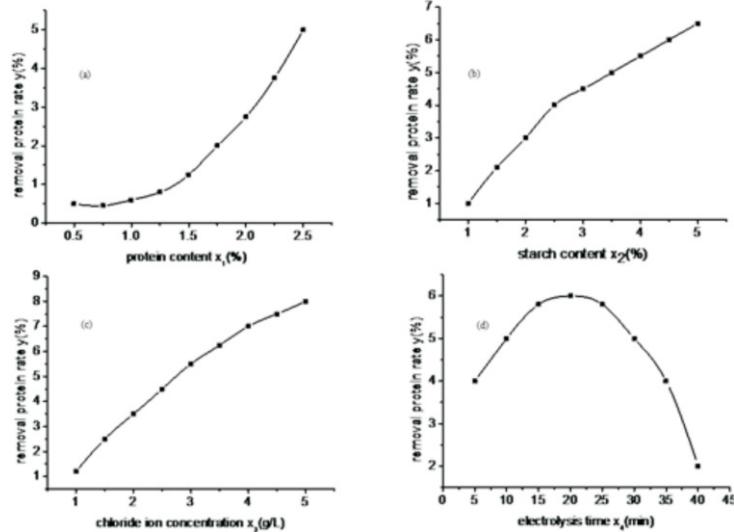


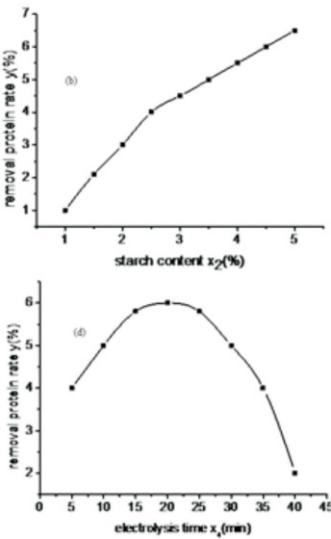
Figure 2. Single factor analysis to removal rate
 Figura 2. Analiza unifactorială a gradului de eliminare

Interaction Effect Analysis

The $x_i y_j$ factor reflected the interactive effects in regression equation (1). Figure 3 shows the surface plots calculated with DPS software in which the level values of two factors were changed and the values of the other two factors were set to zero level.

Figure 3a showed that the content of starch had a big influence on the removal rate of protein degradation products. When the content of starch and protein degradation products concentration increased, the removal rate of protein degradation products also increased, indicating that the starch content was a prominent influence factor for the removal rate of protein degradation products. Figure 3b showed that when the chloride ion concentration increased, the removal rate also increased. Figure 3c showed that the removal rate of protein degradation products was increased with the electrochemical oxidation time increasing, which ranged from zero to twenty minutes, and then decreased with the time exceeding 20 min. This means that the best balance time that turned point between the flocculation reaction and electro-dissociation was 20 minutes. Figure 3d showed that the proper chloride ion concentration and high starch

produse de degradare oxidativă cu molecule mici, iar produsele amestecului rezultat prin floculare s-au dezintegrat și în cele din urmă s-au dizolvat treptat.



Analiza efectelor interactive

Factorul $x_i y_j$ reflectă efectele interactive în ecuația de regresie (1). Figura 3 prezintă graficele calculate cu software-ul DPS la care s-au modificat valorile a doi factori, iar valorile celorlalți doi factori au fost setate la zero.

Din Figura 3a reiese influența mare a conținutului de amidon asupra gradului de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor. Odată cu creșterea conținutului de amidon și a concentrației produselor de degradare ale proteinelor, a crescut și gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor, ceea ce a indicat influența semnificativă a conținutului de amidon asupra eliminării produselor de degradare ale proteinelor. Figura 3b arată creșterea gradului de eliminare odată cu creșterea concentrației de ioni de clorură. Figura 3c arată că gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor a crescut odată cu creșterea timpului de oxidare electrochimică, care variază de la zero la douăzeci de minute, iar apoi a scăzut la prelungirea timpului peste 20 de minute. Aceasta înseamnă că cel mai bun timp de echilibru, la limita dintre reacția de floculare și electro-disociere a fost de 20 de minute. Figura 3d arată că o concentrație

concentration would result in a higher removal rate. For this reason the electrochemical oxidation could promote the starch flocculating activity; Figure 3e, 3f showed that there were some normal balances between electrochemical reaction time and chloride ion concentration along with the protein degradation products concentration changed.

adecvată de ioni de clorură și o concentrație ridicată de amidon conduce la un grad de eliminare mai mare. Din acest motiv, oxidarea electrochimică facilitează activitatea de floculare a amidonului; Figura 3e și f arată că a existat un echilibru normal între timpul de reacție electrochimică și concentrația de ioni de clorură, odată cu modificarea concentrației de produse de degradare ale proteinelor.

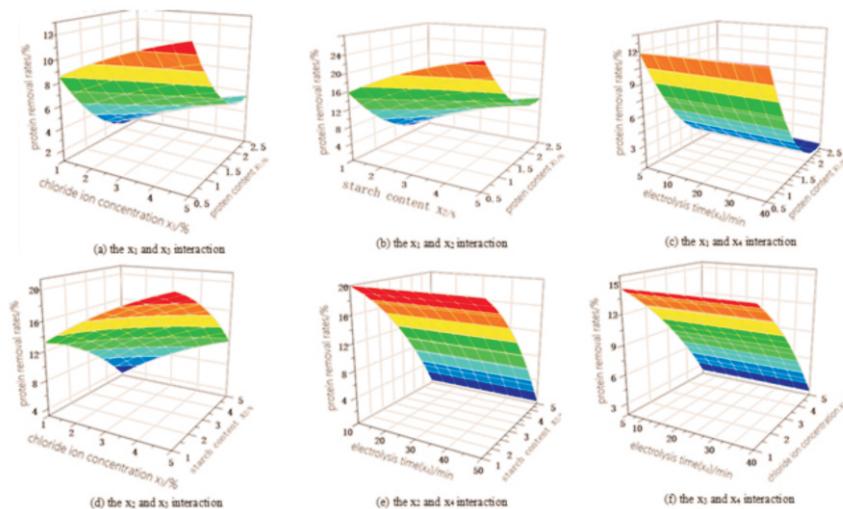


Figure 3. Analysis on interactions of factors in protein removal
Figura 3. Analiza inter-reacțiilor factorilor pentru eliminarea proteinelor

The DPS software was used to process the regression equation to get the optimal conditions of the higher protein degradation products removal rate where the protein degradation products concentration was 2.5 g/L, starch content was 5.0 g/L, chloride ion concentration was 5.0 g/L and electrochemical oxidation time was 20 min. And under this condition, the removal rate achieved was 36.17%. In addition, through the experiment we can find that the higher the starch concentration, the higher the removal rates we can get.

RESULTS AND DISCUSSION

Analysis of Electrochemical Processing Starch

The soluble starch content was 5.0 g/L, chloride ion concentration was 5.0 g/L and electrochemical oxidation time was 20 min. The $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ method was used to measure the carbonyl content of oxidation starch and via the modified calcium acetate

Ecuația de regresie s-a calculat cu ajutorul software-ului DPS în vederea obținerii condițiilor optime pentru un grad mai mare de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor, în care concentrația produselor de degradare ale proteinelor a fost de 2,5 g/l, conținutul de amidon a fost de 5,0 g/l, concentrația ionilor de clorură a fost de 5,0 g/l și timpul de oxidare electrochimică a fost de 20 de minute. În aceste condiții, s-a obținut un grad de eliminare de 36,17%. În plus, prin experimentare, s-a constatat că gradul de eliminare este direct proporțional cu concentrația de amidon.

RESULTATE ȘI DISCUȚII

Analiza amidonului prelucrat pe cale electrochimică

Conținutul de amidon solubil a fost de 5,0 g/l, concentrația ionilor de clorură a fost de 5,0 g/l și timpul de oxidare electrochimică a fost de 20 de minute. S-a utilizat formula $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ pentru a măsura numărul de grupări carbonil din amidonul oxidat și metoda cu

method of standard USP (1995) to measure carboxyl content. These results were compared to original starch, showed in Table 2. From Table 2 we can find that the content of aldehyde and carboxyl groups were increased after electrochemical oxidation reaction.

Table 2: The content of aldehyde and carboxyl group
Tabelul 2: Numărul de grupări aldehidice și carboxil

Character of starch Tip de amidon	w(HC=O)/%	w(COO)%
Original starch Amidon inițial	0.80	1.40
Electrolytic starch Amidon electrolitic	3.67	26.2

Analysis of FTIR

Compared to original starch, the —C=O stretch vibration absorption spectra between 1748 cm^{-1} and 1750 cm^{-1} were obviously reinforced after electrochemical oxidation, which indicated that the electrochemical oxidation activated the starch and many carbonyl and carboxyl groups appeared [6-8]. Compared to pure protein, the flocculates of electrochemical oxidation starch and protein degradation products in which its absorption peak changed little at 3446 cm^{-1} , while the absorption peaks of —NH , —OH , —CN changed less and no new peaks appeared, as Figure 4 shows. So the main result of the flocculate reaction was the adsorption reaction between active starch and protein degradation products.

acetat de calciu modificat din standardul USP (1995), pentru a măsura numărul de grupări carboxil. Aceste rezultate au fost comparate cu amidonul inițial, după cum arată Tabelul 2. Din Tabelul 2 se poate constata că numărul de grupări aldehidice și carboxil a crescut după reacția de oxidare electrochimică.

Analiza FTIR

În comparație cu amidonul inițial, spectrele de absorbție ale vibrației de întindere —C=O din regiunea $1748\text{--}1750 \text{ cm}^{-1}$ au fost în mod evident consolidate după oxidarea electrochimică, ceea ce a indicat faptul că oxidarea electrochimică a activat amidonul și au apărut mai multe grupări carbonil și carboxil [6-8]. În comparație cu proteina pură, picul de absorbție al amidonului oxidat electrochimic și al produselor de degradare ale proteinelor s-a deplasat ușor la 3446 cm^{-1} , în timp ce picurile de absorbție ale —NH , —OH , —CN s-au modificat mai puțin și nu au apărut alte picuri noi, după cum arată Figura 4. Așadar, reacția de floculare a avut ca rezultat principal adsorbția dintre amidonul activ și produsele de degradare ale proteinelor.

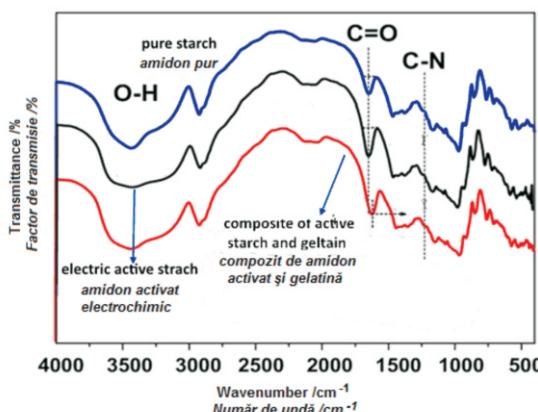
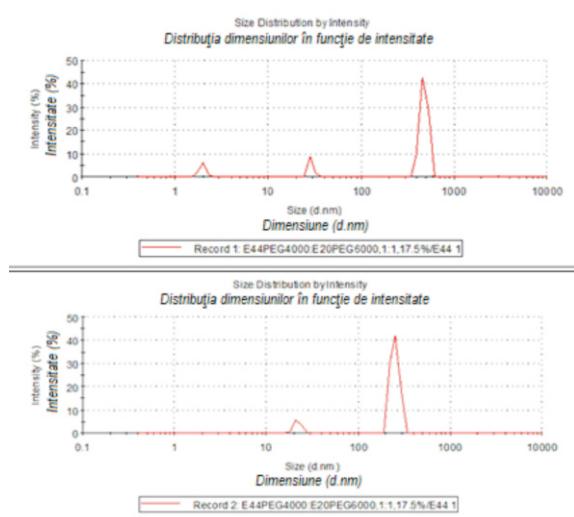


Figure 4. FTIR spectra of pure starch, electronic-activated starch and composite of electronic-activated starch and gelatin

Figura 4. Spectrele FTIR ale amidonului pur, amidonului activat electrochimic și al compozitului de amidon activat electrochimic și gelatină

Analysis of Nano Size and Potential

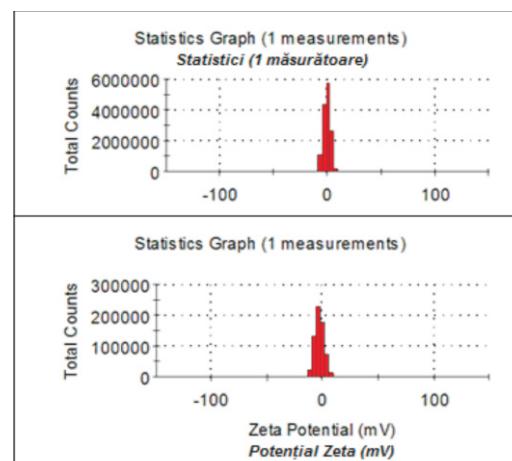
Figure 5a showed that the sizes of electrochemical oxidation starch particles were all beyond 10 nm, especially the sizes all ranged from 10 to 100 nm and changed less when the sizes exceeded 100 nm, compared to the original starch. Maybe the starch outer sphere was stripped by electrochemical treatment, whilst the Zeta potential of oxidation starch particles increased with the increasing content of carbonyl and carboxyl groups, as the Figure 5b showed.



(a)

Analiza dimensiunii nanoparticulelor și a potențialului Zeta

Figura 5a arată că dimensiunea particulelor de amidon oxidat electrochimic a depășit 10 nm, dimensiunile tuturor particulelor s-au situat în intervalul 10-100 nm și s-au modificat mai puțin atunci când dimensiunile au depășit 100 nm, comparativ cu amidonul inițial. Este posibil ca sfera exterioară a amidonului să fi fost îndepărtată prin tratamentul electrochimic, în timp ce potențialul Zeta al particulelor de amidon oxidat a crescut odată cu creșterea numărului de grupări carbonil și carboxil, după cum arată Figura 5b.



(b)

Figure 5. Particle size distribution (a) and Zeta distribution (b)

of pure starch (U) and electronic activated starch (D)

Figura 5. Distribuția dimensiunilor particulelor (a) și a potențialului Zeta (b) ale amidonului pur (U) și ale amidonului activat electrochimic (D)

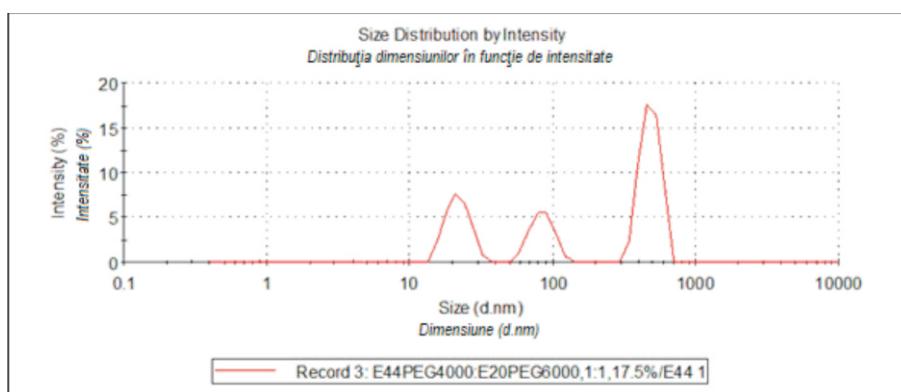


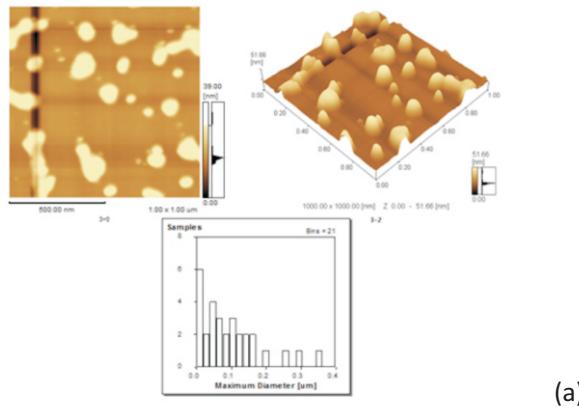
Figure 6. Size distribution of composite of electronic-activated starch and gelatin solution

Figura 6. Distribuția dimensiunilor particulelor compozitului de amidon activat electrochimic și soluție de gelatină

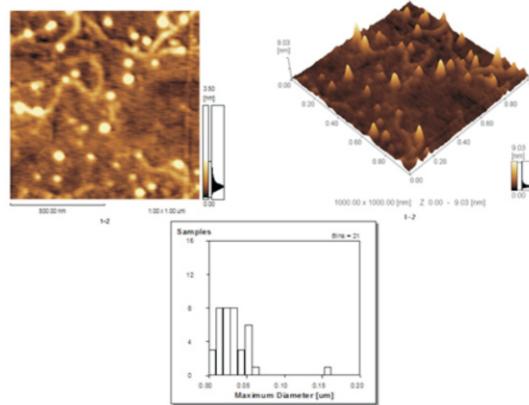
The size of composite particles changed obviously after the flocculate reaction, they were all between 10~100 nm, especially there were two main wider distributions and one new wider distribution in 100 nm, they all have a wider distribution than that of original starch, respectively, as shown in Figure 6.

Analysis of AFM

Figure 7a showed the micro-structure of original starch, which included plane figure (left), three-dimensional topography simulation diagram (right) and particle size distribution (down). There were two kinds of starch particles, one of the starch was chain starch whose diameter was approximately 50 nm and length was 200 nm [9]; another one was micro starch granules whose sizes were all below 50 nm. According to the distribution of sizes, the main domains were all around 50 nm following the same trends as the nanoparticle size or Zeta potential showed.



(a)



(c)

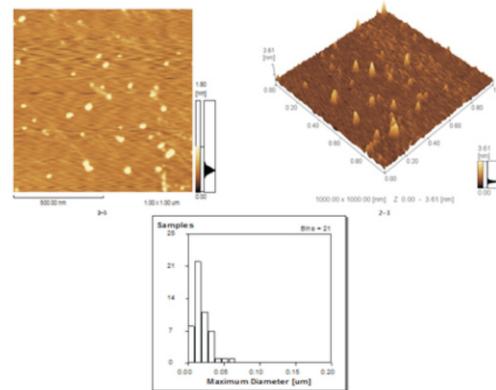
Figure 7. Schematic diagram of mechanism of AFM

Figura 7. Diagramă schematică a mecanismului AFM

Dimensiunea particulelor compozitului s-a modificat în mod evident după reacția de floculare, toate acestea situându-se în gama 10~100 nm. Există două distribuții principale mai largi și o nouă distribuție mai largă, la 100 nm, toate având o distribuție mai largă decât cea a amidonului inițial, aşa cum arată Figura 6.

Analiza AFM

Figura 7a ilustrează micro-structura amidonului inițial, care cuprinde diagrama plană (stânga), diagrama tridimensională a simulării topografice (dreapta) și distribuția dimensiunii particulelor (jos). Au existat două tipuri de particule de amidon, unul dintre acestea a fost amidonul de tip lanț, cu diametrul de aproximativ 50 nm și lungimea de 200 nm [9], iar celălalt a fost amidon sub formă de micro granule cu dimensiuni sub 50 nm. În funcție de distribuția dimensiunilor, principalele domenii au fost în jur de 50 nm, urmând aceleași tendințe prezentate de mărimea nanoparticulelor sau potențialul Zeta.



(b)

Similarly, Figure 7b is the micro-structure of electrochemical oxidation starch, including the plane figure (left), three-dimensional topography simulation diagram (right) and particle size distribution (down). The AFM graph showed the obvious decrease of component sizes of the starch particles, all of which were below 100 nm. Under the same concentration, the distance between the electrochemical oxidation starch nanoparticles was further than that of pure starch, which means the dispersion of nanoparticles was more uniform. The AFM analysis results are also similar to the nano size analysis showed above.

Figure 7c is the micro-structure of the flocculation particles including electrochemical oxidation starch and protein degradation products. There were two kinds of morphology of structures, one was rounded starch nanoparticles and another was unsharp aggregate composites which included oxidation starch and protein degradation products. It can be considered that the structure of flocculation particles was composed of starch on the inside and surrounded by protein degradation products on the outside. It also showed the composite features of the flocculation particles in aqueous solution as described above.

A Model for the Electrochemical Flocculate

The mixtures contain soluble starch and sodium chloride which in the electric field turned into oxidation starch leading to many active nanoparticles, especially the increased contents of hydroxyl and carboxyl groups in starch molecules, respectively. According to the hydrogen bond between carboxyl or aldehyde group in the oxidation starch and protein compounds, it would lead to flocculate or aggregate reaction and formed the matters where the interior is starch micro-sphere particles and the external is the protein degradation products, as Figure 8 showed. Starch nanoparticles do not dissolve or appear to retrograde in water and make the flocculation exist steady in water.

În mod similar, Figura 7b reprezintă micro-structura amidonului oxidat electrochimic, care cuprinde diagrama plană (stânga), diagrama tridimensională a simulării topografice (dreapta) și distribuția dimensiunii particulelor (jos). Graficul AFM arată scăderea evidentă, sub 100 nm, a dimensiunilor particulelor de amidon. În aceeași concentrație, distanța dintre nanoparticulele de amidon oxidat electrochimic a fost mai îndepărtată în comparație cu amidonul pur, ceea ce înseamnă că dispersia nanoparticulelor a fost mai uniformă. Rezultatele analizei AFM sunt asemănătoare cu rezultatele analizei dimensiunilor nano prezentate mai sus.

Figura 7c ilustrează micro-structura particulelor de floculare compuse din amidon oxidat electrochimic și produse de degradare ale proteinelor. Au existat două tipuri de morfologie a structurilor, nanoparticule rotunjite de amidon și componzite agregație cu contururi nedefinite, compuse din amidon oxidat și produse de degradare ale proteinelor. Se poate considera că structura particulelor de floculare a fost compusă din amidon la interior, înconjurat de produse de degradare ale proteinelor la exterior. De asemenea, arată trăsăturile compuse ale particulelor de floculare în soluție apoasă, așa cum este descris mai sus.

Model de floculare electrochimică

Amestecurile conțin amidon solubil și clorură de sodiu, care în câmpul electric s-au transformat în amidon oxidat, ducând la apariția multor nanoparticule active, în special datorită conținutului ridicat de grupări hidroxil și carboxil din moleculele de amidon. Pe baza legăturii de hidrogen dintre gruparea carboxil sau aldehidică din amidonul oxidat și componzitele de proteine, are loc reacția de floculare sau agregare și se formează materiile care au la interior micro-sfere din amidon și produse de degradare ale proteinelor la exterior, după cum arată Figura 8. Nanoparticulele de amidon nu se dizolvă sau par să retrogradeze în apă, stabilizând flocularea.

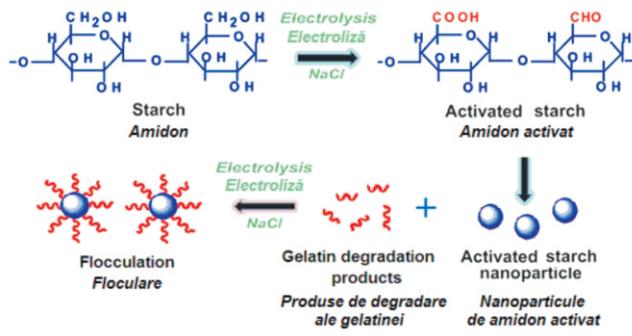


Figure 8. Schematic diagram of mechanism of electronic activated starch based treatment of protein solution

Figura 8. Diagramă schematică a mecanismului de tratare a soluției de proteine pe baza activării electrochimice a amidonului

Electric Flocculation Energy Consumption

The energy consumption of electric flocculation is a necessary factor to consider. In order to evaluate the method of electric energy consumption, we can use the following equation to calculate:

$$W = \frac{60 \times UIt}{3600000} \quad (3)$$

where W (kW·h) is energy consumption, U (V) is the voltage between the plates, I (A) is current intensity and t (min) is electrolysis time. The relation between the protein degradation products removal rate and energy consumption was showed in Figure 9.

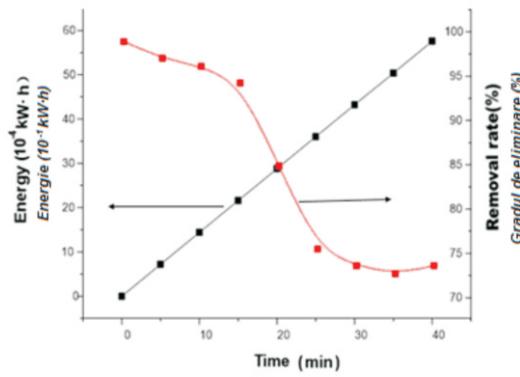


Figure 9. Time dependent energy cost of water treatment and protein content in water

Figura 9. Consumul de energie al tratamentului apei în funcție de timp și conținutul de proteine în apă

According to the equation (3), when the content of protein degradation products was removed from 0.879 mg/mL to 0.682 mg/mL, the

Consumul de energie la flocularea în câmp electric

Consumul de energie la flocularea în câmp electric este un factor demn de luat în considerare. Pentru a evalua metoda consumului de energie electrică, putem efectua calculele utilizând următoarea ecuație:

unde W (kW·h) este consumul de energie, U (V) este tensiunea dintre plăci, I (A) este intensitatea curentului și t (min) este timpul de electroliză. Relația dintre gradul de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor și consumul de energie este prezentată în Figura 9.

Conform ecuației (3), atunci când s-a eliminat un conținut de produse de degradare ale proteinelor de la 0,879 mg/ml până la 0,682 mg/ml, consumul de

energy consumption was 1.6×10^{-4} kW·h. Figure 9 showed that the energy consumption is linear increasing with the electric treatment time going. The less energy consumption and the biggest removal rate need to be considered.

CONCLUSIONS

The phenomenon of sodium chloride adsorbed soluble starch characteristic of the flocculation reaction was used, where oxidized actively starch was combined with proteins and their degradation products in electrolytic cell, which have higher efficiency to remove protein components in industry effluents. Based on the experiment results and using the DPS statistical software the optimal conditions can be obtained, namely 2.5 g/L protein degradation products, 5 g/L starch content, 5 g/L chlorine ion concentration and 20 min electrolysis time; the best removal rate of protein degradation products achieved was 36.17%, respectively. Spectra and morphological analysis showed that the electrical flocculation substances were mainly composed of oxidation starch and protein degradation products composite. In addition to the increased composite particles size, the reaction was confirmed by Nano particle, zeta potential and AFM analyses.

Acknowledgements

The authors are grateful for the experiment equipment provided by the Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, and are also grateful to our laboratory staff.

REFERENCES

- He, Q., Yao, K., Sun, D. et al., Biodegradability of tannin-containing effluents from leather industry, *Biodegradation*, 2007, 18, 465-472.
- Wang, K., Li, W., Gong, X., Biological pretreatment of tannery effluents using a full-scale hydrolysis acidification system, *Int Biodeter Biodegr*, 2014, 95, 41-45.
- Gomes, C.S., Piccin, J.S., Gutterres, M., Optimizing adsorption parameters in tannery-dye-containing effluent treatment with leather shaving waste, *Process Saf Environ Prot*, 2016, 99, 98-106.

energie a fost de 1.6×10^{-4} kW·h. Figura 9 ilustrează liniaritatea consumului de energie, crescând odată cu prelungirea timpului de tratament electric. Trebuie să se ia în considerare cel mai mare grad de eliminare cu cel mai mic consum de energie.

CONCLUZII

S-a utilizat fenomenul adsorbției clorurii de sodiu și amidonului solubil caracteristic reacției de floculare, în care s-a combinat amidonul activat prin oxidare cu proteinele și produsele de degradare ale acestora în celulă electrolitică, cu o eficiență mai mare în eliminarea componentelor proteice din efluenții industriali. Pe baza rezultatelor experimentale și utilizării programului statistic DPS s-au obținut condițiile optime, și anume 2,5 g/l produse de degradare ale proteinelor, 5 g/l conținut de amidon, 5 g/l concentrația de ioni de clorură și 20 min timp de electroliză, iar cel mai bun grad de eliminare a produselor de degradare ale proteinelor obținut a fost de 36,17%. Analiza morfologică și spectrală a arătat că substanțele rezultate în urma floculării în câmp electric au fost compuse în principal din amidon oxidat și produse de degradare ale proteinelor. Pe lângă dimensiunea mare a particulelor componzitului, reacția a fost confirmată prin analiza nanoparticulelor, determinarea potențialului Zeta și analiza AFM.

Mulțumiri

Autorii mulțumesc Laboratorului de Chimie și Inginerie a Pielii din cadrul Ministerului Educației pentru furnizarea echipamentelor de experimentare, precum și personalului de laborator.

4. Karthikeyan, S., Boopathy, R., Sekaran, G., *In situ* generation of hydroxyl radical by cobalt oxide supported porous carbon enhance removal of refractory organics in tannery dyeing effluents, *J Colloid Interf Sci*, **2015**, 448, 163-174.
 5. Baker, L.A., Rayas-Duarte, P., Freeze-Thaw Stability of Amaranth Starch and the Effects of Salt and Sugars, *Cereal Chem*, **1998**, 75, 301-307.
 6. Hernandez-Jaimes, C., Lobato-Calleros, C., Sosa, E. et al., Electrochemical characterization of gelatinized starch dispersions: Voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy on platinum surface, *Carbohydr Polym*, **2015**, 124, 8-16.
 7. Shaarawy, H.H., El-Rafie, S.M., El-Ghaffar, A.M.A. et al., Electrocatalytic oxidation of rice starch using mixed oxidant generated via titanium/rhodium thermally activated modified electrode: Part (I), *Carbohydr Polym*, **2009**, 75, 208-213.
 8. Kumar, M., Tiwari, T., Srivastava, N., Electrical transport behaviour of bio-polymer electrolyte system: Potato starch + ammonium iodide, *Carbohydr Polym*, **2012**, 88, 54-60.
 9. McIntire, T.M., Brant, D.A., Imaging of carrageenan macrocycles and amylose using noncontact atomic force microscopy, *Int J Biol Macromol*, **1999**, 26, 303-310.
-

Article received/Data primirii articolului: 27.03.2016

Accepted/Acceptat la data: 27.06.2016