

Ewelina GUTKOWSKA, Andrzej JODŁOWSKI*

ANALIZA FRAKTALNA I MORFOLOGICZNA AGLOMERATÓW KOMÓREK GLONÓW

W pracy określono wpływ dawki chlorku żelaza (III) na morfologię powstających aglomeratów komórek zielenicy *Monoraphidium contortum*. Wykorzystując technikę analizy obrazu określono wartości podstawowych parametrów morfologicznych aglomeratów oraz wyznaczono ich wymiary fraktalne. Analiza wymiarów fraktalnych D_1 i D_2 oraz parametrów morfologicznych aglomeratów potwierdziła, że powstałe w wyniku koagulacji aglomeraty komórek glonów nie były obiektami idealnie sferycznymi, jak przewidują założenia teoretyczne wykorzystywane podczas projektowania procesów separacyjnych.

1. WSTĘP

Rozważania teoretyczne dotyczące procesów separacyjnych stosowanych w uzdatnianiu wód dotyczą głównie zawiesin o kształcie kulistym. W praktyce mamy jednak do czynienia z zawiesinami pokoagulacyjnymi charakteryzującymi się niejednorodną, rozbudowaną strukturą przestrzenną. Koagulacja umożliwia łączenie drobnych cząstek koloidalnych lub zawiesin o wysokim stopniu dyspersji w większe aglomeraty, co prowadzi do zmiany liczebności rozproszonych cząstek oraz powstawania aglomeratów charakteryzujących się odmienną strukturą przestrzenną niż pojedyncze cząstki. Morfologia tych aglomeratów zależy od warunków prowadzenia procesu koagulacji, w tym rodzaju i dawki zastosowanego koagulantu, pH środowiska wodnego, intensywności mieszania, temperatury oraz czasu przebiegu procesu [1]. Wielkość i kształt cząstek wpływają na skuteczność procesów separacji fazy stałej, w tym komórek organizmów fitoplanktonowych. Znajomość dokładnej wielkości i morfologii aglomeratów pozwala również lepiej zrozumieć proces formowania aglomeratów i daje możliwość dalszej optymalizacji procesu oczyszczania [2].

* Instytut Inżynierii Środowiska i Instalacji Budowlanych, Politechnika Łódzka, Al. Politechniki 6, 90-924 Łódź, gutkowska@p.lodz.pl

Poznanie złożonej struktury aglomeratów powstających w procesie flokulacji jest możliwe dzięki nowoczesnym technikom analizy obrazu pozwalającym na precyzyjne określenie parametrów morfologicznych. Cechy utworzonych aglomeratów, jak wielkość i gęstość oraz stopień rozbudowania struktury przestrzennej, wpływają bezpośrednio na operacje separacyjne w postaci sedymentacji, flotacji lub filtracji. Zróżnicowany, nieregularny kształt aglomeratów powstających w procesie koagulacji powoduje znaczne trudności w matematycznej interpretacji tych zjawisk. Podstawy geometrii euklidesowej, w której powierzchnia i objętość cząstki jest proporcjonalna odpowiednio do kwadratu lub sześcienu jej długości, nie są wystarczające. Charakterystykę złożonych struktur cząstek fazy stałej umożliwia geometria fraktalna, której podstawową wielkością jest wymiar fraktalny opisujący stopień rozbudowania struktury przestrzennej. Porównanie wymiarów fraktalnych pozwala ocenić stopień zmian morfologii aglomeratów w zależności od warunków prowadzenia procesu koagulacji.

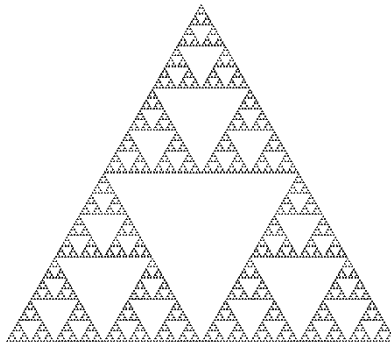
Jako cel pracy przyjęto określenie wpływu zmiennej dawki koagulantu w postaci FeCl_3 na morfologię powstających aglomeratów komórek zielenicy *Monoraphidium contortum*. Glony hodowano w warunkach laboratoryjnych. Wykorzystując analizę obrazu określono wartości podstawowych właściwości fizycznych aglomeratów takich jak długość, powierzchnia cząstek i na ich podstawie wyznaczono wymiar fraktalny. Uzyskane wartości wymiarów fraktalnych zestawiono i porównano z wartościami oznaczonych parametrów morfologicznych, takich jak średnica równoważna, kolistość, wydłużenie, zwartość i wypukłość.

2. WYMIAR FRAKTALNY

Fraktal (łac. *fractus* – złamany, cząstkowy, ułamkowy) to zbiór samo-podobny zbudowany z elementów o takiej samej budowie albo ukazujących niewielkie zmiany przy wielokrotnym powiększeniu. Przykład struktury fraktalnej przedstawiono na Rys. 1. Fraktalami nazywamy obiekty o skomplikowanej i nieregularnej formie. Istnieje wiele przykładów fraktalopodobnych obiektów występujących w przyrodzie. W literaturze dostępne są wyniki badań dotyczące wartości wymiarów fraktalnych komórek bakterii *E. coli* [3], płatków śniegu [4], chmur [5], ale również komórek glonów [6].

Chociaż aglomeraty powstające w procesie koagulacji i flokulacji w wyniku łączenia drobnych cząstek w coraz większe skupiska nie są w pełni samopodobne, to jednak ze względu na ich wysoce nieregularny i nieuporządkowany charakter są opisywane za pomocą geometrii fraktalnej. Podstawowym pojęciem geometrii fraktalnej opisującym budowę przestrzenną cząstek jest wymiar fraktalny. Wymiar ten wyrażony wykładnikiem funkcji potęgowej przyjmującym niecałkowite wartości umożliwia zapisanie struktury przestrzennej całego zbioru cząstek. Odpowiednia interpretacja wyznaczonych wartości wymiarów fraktalnych pozwala na ocenę nieregularności obwodu cząstek, równomierne-

go rozłożenia ich masy od środka układu oraz stopnia upakowania cząstek w danej objętości. W zależności od jedno-, dwu- lub trójwymiarowej przestrzeni posługiwać się można trzema wymiarami fraktalnymi D_1 , D_2 i D_3 [2, 7].



Rys. 1. Trójkąt Sierpińskiego jako przykład struktury fraktalopodobnej

Jednowymiarowy wymiar fraktalny (D_1) określa stopień nieregularności obwodu cząstki i wyznaczany jest z zależności obwodu cząstki P od jej maksymalnej długości l :

$$P \propto l^{D_1} \quad (1)$$

Drugi wymiar fraktalny (D_2) określa związek odległości l wyznaczonej od środka cząstki do jej granicy z przyrostem masy na powierzchni określonej przez odległość l . W przypadku cząstek o promieniowym rozkładzie masy odległość l równa jest promieniowi cząstki r . Wymiar D_2 wyznaczany jest z zależności:

$$A \propto l^{D_2} = A \propto r^{D_2} \quad (2)$$

w której:

A – pole powierzchni cząstki

Drugi wymiar fraktalny (D_2) może charakteryzować również zależność pomiędzy powierzchnią badanej cząstki A , a jej obwodem P :

$$A \propto P^{2/D_2} \quad (3)$$

Geometria fraktalna umożliwia przedstawienie morfologii cząstek również w trzecim wymiarze (D_3). Wartość D_3 wyznaczana jest z zależności objętości cząstki V od jej maksymalnej długości l :

$$V \propto l^{D_3} \quad (4)$$

W celu wyznaczenia wartości D_1 , D_2 i D_3 wykonuje się podwójne logarytmowanie zależności (1-4), w wyniku którego uzyskuje się liniową zależność obwodu P , pola powierzchni A i objętości V aglomeratu od jego długości l (5). Kąt nachylenia prostej otrzymanej z zależności (5) określa wymiar fraktalny.

$$\log P(A, V) \propto D_1(D_2 D_3) \cdot \log l \quad (5)$$

Wartości wymiarów fraktalnych są bardzo zróżnicowane i zależą od rodzaju koagulowanego materiału oraz mechanizmu przebiegu procesu koagulacji [2]. Dolna granica wymiaru D_1 równa 1 wskazuje na cząstki o regularnym obwodzie. Wartości dwóch pozostałych wymiarów fraktalnych nie przekraczają wartości 2 i 3 odpowiednich dla drugiego D_2 i trzeciego D_3 wymiaru fraktalnego cząstek idealnie sferycznych. Według Oliveira i in. [7] cząstki, których D_2 dąży do 0 wyróżnia otwarta, silnie rozgałęziona i luźna struktura, natomiast wartość D_2 bliska 2 może sugerować bardziej zwartą, gęsto upakowaną strukturę. Podobną interpretację zaprezentowano w pracy [2] podając, że cząstki o wymiarach $D_2 < 2$ i $D_3 < 3$ charakteryzują się bardziej porowatą strukturą.

Wśród najczęściej stosowanych metod wyznaczenia wymiarów fraktalnych należy zwrócić uwagę na komputerową analizę obrazu pozwalającą na dokładne wyznaczenie pola i obwodu cząstek, a tym samym jedno- i dwuwymiarowego wymiaru fraktalnego. Pewnym ograniczeniem tej metody jest mało dokładne wyznaczenie objętości cząstek, która wyliczana jest ze średnicy równoważnej cząstek. Wyznaczenie trzeciego wymiaru fraktalnego można przeprowadzić określając objętość cząstek z wykorzystaniem np. dyfraktometrii laserowej. Istotną zaletą metody analizy obrazu jest możliwość dodatkowego pozyskania szeregu informacji dotyczących morfologii cząstek. Mikroskopowy analizator obrazu pozwala określić kształt i strukturę przestrzenną cząstek za pomocą parametrów morfologicznych, w tym m.in.: średnicy równoważnej, kolistości, wydłużenia, zwartości i wypukłości.

3. METODYKA BADAŃ

3.1. PRZEDMIOT BADAŃ

W badaniach zastosowano monokulturową zawiesinę komórek zielenicy *M. conortum* powszechnie występujących w eutroficznym wodach powierzchniowych. Zawiesinę glonową przygotowano w warunkach laboratoryjnych wykorzystując szczep

nr BA-0005 pozyskany z kolekcji kultur glonów bałtyckich (CCBA) Uniwersytetu Gdańskiego.

Koagulację komórek glonów prowadzono w naczyniach reakcyjnych w postaci zlewek polietylenowych o wysokości czynnej 130 mm i średnicy 100 mm. Zastosowany w badaniach chlorek żelaza (III) wprowadzano w dawkach od 1 do 40 mg $\text{Fe}^{+3}/\text{dm}^3$ do zlewek zawierających 1 dm^3 rozcieńczonej zawiesiny glonowej. Odczyn korygowano do stałej wartości pH $6\pm 0,1$ przy użyciu roztworów HCl i NaOH.

W badaniach wykorzystano wielomiejscowe mieszadło JLT-6 firmy Velp Scientifica z mieszadłami łopatkowymi o wymiarach 75×25 mm. Przyjęto stały czas mieszania i stałą prędkość obrotową mieszadła (szybkie mieszanie: 100 obr./min. przez 1 minutę, wolne mieszanie: 10 obr./min. przez 10 minut). Badania prowadzono w temperaturze $20\pm 0,1^\circ\text{C}$.

3.2. OKREŚLENIE PARAMETRÓW MORFOLOGICZNYCH

W badaniach morfologii zawiesin glonowych wykorzystano mikroskopowy analizator obrazu Morphologi G3 firmy Malvern wyposażony w kasetę *wet cell* (100×80 mm). Próbkę wody pobierano w końcowej fazie wolnego mieszania zwracając uwagę na ostrożne przenoszenie badanego materiału z naczynia reakcyjnego do kasety.

W skład układu pomiarowego analizatora Morphologi G3 wchodziły mikroskop automatyczny oraz komputer z oprogramowaniem umożliwiającym kierowanie pomiarami i prowadzeniem analizy uzyskanych wyników. Pomiary prowadzono z użyciem standardowych procedur operacyjnych – SOP (ang. *Standard Operating Procedure*). Procedura wymagała, aby przed przystąpieniem do pomiarów opracować zestaw ustawień, według których można było prowadzić analizy w sposób powtarzalny. Za pomocą mikroskopowego analizatora obrazu Morphologi G3 wyznaczono podstawowe właściwości fizyczne cząstek takie jak długość, pole, obwód, powierzchnia cząstki oraz ich parametry kształtu. W pracy wykorzystano parametry morfologiczne oparte na relacjach pomiędzy cechami geometrycznymi rzutu analizowanych cząstek. W skład tych cech wchodziły: pole powierzchni rzutu cząstki (A), obwód rzutu cząstki (P), pole określone przez nić oplatającą rzut cząstki (A_t), obwód określony przez napiętą nić oplatającą cząstkę (P_t), szerokość (w) i długość cząstki (l).

Średnica równoważna (d_r) została wyrażona jako średnica koła o takiej samej powierzchni, jaką miał obraz analizowanej cząstki. Wartość d_r była określana w oparciu o wyrażenie:

$$d_r = 2\sqrt{\frac{A}{\pi}} \quad (6)$$

Tego rodzaju interpretację wyników badań stosuje się pomimo, że cząstki i aglomeraty nie są idealnie sferyczne [8,9].

Współczynnik kształtu, kolistość (ang. *Shape Factor, circularity*) oznacza stosunek obwodu koła o takiej samej powierzchni jak powierzchnia cząstki do obwodu rzeczywistego analizowanej cząstki zgodnie z zależnością (7). Współczynnik *SF* przyjmuje wartości od 0 do 1 w przypadku cząstek sferycznych o rzucie idealnie kolistym.

$$SF = \frac{2\sqrt{\pi A}}{P} \quad (7)$$

Zwartość określano jako stosunek powierzchni rzeczywistej cząstki do powierzchni figury wyznaczonej przez napiętą nić oplatającą cząstkę. Wartości *zwartości* mogą zmieniać się w przedziale od 0 do 1 (cząstki koliste).

$$\text{Zwartość} = \frac{A}{A_t} \quad (8)$$

Wydłużenie wyznaczono na podstawie stosunku szerokości do długości analizowanej cząstki. Wartości *wydłużenia* występują w granicach od 0 (cząstki koliste) do 1.

$$\text{Wydłużenie} = 1 - \frac{w}{l} \quad (9)$$

Wypukłość została opisana jako stosunek obwodu napiętej nici oplatającej cząstkę do obwodu rzeczywistego cząstki.

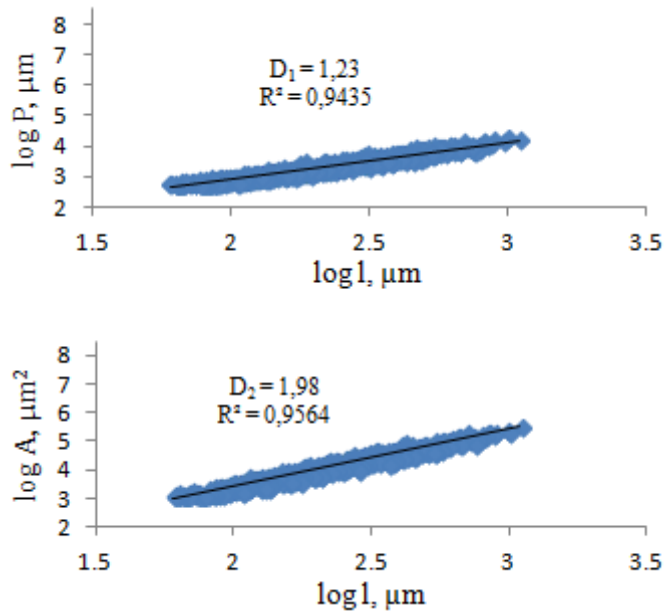
$$\text{Wypukłość: } \frac{P_t}{P} \quad (10)$$

Wypukłość przyjmuje wartości od 0 do 1. Wartość 1 oznacza, że cząstki przyjmują formę o idealnie gładkiej powierzchni.

4. OMÓWIENIE I DYSKUSJA WYNIKÓW

Wpływ dawki koagulantu na morfologię aglomeratów komórek glonów powstałych w procesach koagulacji i flokulacji określono dla czterech dawek koagulantu 8, 10, 20 i 40 mg Fe⁺³/dm³. Analizę przeprowadzono dla 937 aglomeratów po zastosowaniu najmniejszej dawki (8 mg Fe⁺³/dm³) oraz 1038, 908 i 712 aglomeratów po zastosowaniu kolejnych dawek chlorku żelaza (III). Morfologię aglomeratów porównano z parametrami kształtu otrzymanymi dla 600 pojedynczych komórek *M. contortum*.

Wyznaczenie podstawowych parametrów fizycznych pojedynczych komórek *M. contortum* i ich aglomeratów w postaci obwodu i pola powierzchni pozwoliło określić dwa wymiary fraktalne analizowanych cząstek w zależności od dawki koagulantu. Na Rys. 2 przedstawiono przykład wyznaczenia wymiarów fraktalnych uzyskanych dla aglomeratów utworzonych po koagulacji dawką $40 \text{ mg Fe}^{3+}/\text{dm}^3$. Porównując wartości wymiarów fraktalnych otrzymanych dla pojedynczych komórek glonów oraz aglomeratów po koagulacji zauważono znaczne różnice.



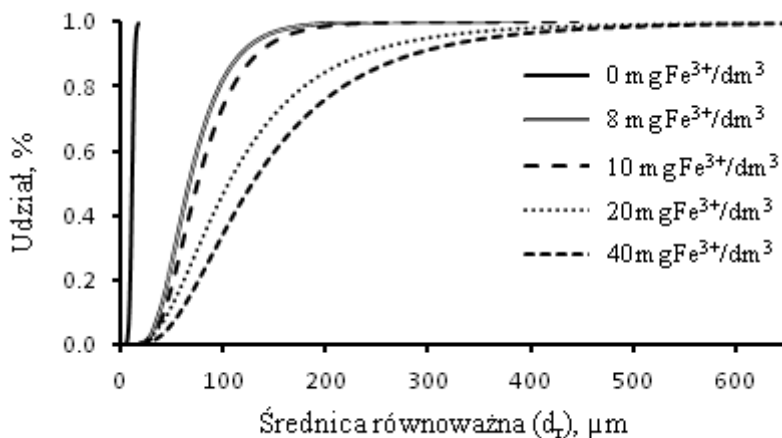
Rys. 2. Wymiary fraktalne aglomeratów utworzonych po koagulacji chlorkiem żelaza(III) (dawka $40 \text{ mg Fe}^{3+}/\text{dm}^3$)

Pierwszy wymiar fraktalny D_1 pojedynczych komórek *M. contortum* wynosił 1,04, natomiast po zastosowaniu dawki koagulantu $8 \text{ mg Fe}^{3+}/\text{dm}^3$ wzrósł do wartości 1,33. Zastosowanie wyższych dawek chlorku żelaza(III) nieznacznie wpłynęło na zmianę wartości D_1 , która przyjęła wartości z przedziału 1,31-1,23 (Tabela 1). W przypadku drugiego wymiaru fraktalnego D_2 zaobserwowano wzrost jego wartości w zależności od zwiększającej się dawki koagulantu. Drugi wymiar fraktalny D_2 pojedynczych komórek glonów wynosił 1,51, natomiast po aglomeracji osiągnął wartość 1,99 (dawka $20 \text{ mg Fe}^{3+}/\text{dm}^3$).

Tabela 1. Wpływ dawki koagulantu na wartości wymiarów fraktalnych D_1 i D_2

Wymiar fraktalny D_1, D_2	Dawka koagulantu, mg $\text{Fe}^{3+}/\text{dm}^3$				
	0	8	10	20	40
D_1	1,04	1,33	1,31	1,25	1,23
R^2	0,692	0,895	0,922	0,938	0,944
D_2	1,51	1,82	1,81	1,99	1,98
R^2	0,721	0,894	0,912	0,946	0,956

Uzyskane wartości wymiarów fraktalnych wskazywały na zmiany w strukturze cząstek, dlatego w celu dokładniejszej analizy morfologicznej wyznaczono następujące parametry: średnica równoważna, kolistość, wydłużenie, zwartość i wypukłość. Analiza średnicy równoważnej pojedynczych komórek *M. contortum* oraz ich aglomeratów po koagulacji wskazywała na wzrost wielkości cząstek wraz ze wzrostem dawki koagulantu. Wzrastające dawki chlorku żelaza(III) powodowały zmniejszenie liczności najmniejszych cząstek oraz jednoczesny wzrost udziału największych aglomeratów (Rys. 3).

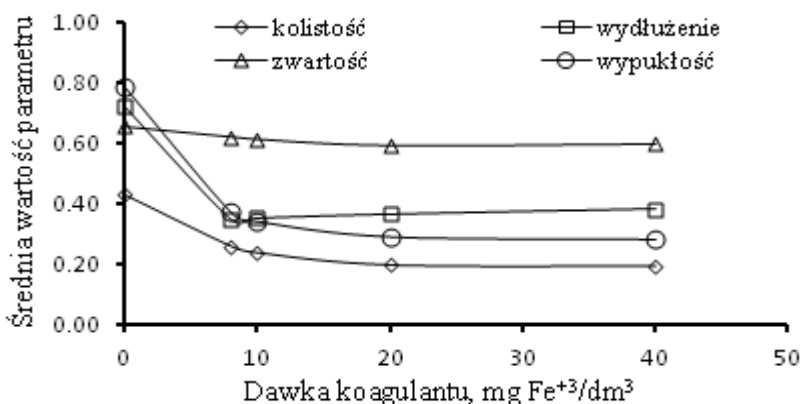


Rys. 3. Dystrybuanta rozkładów wartości średnic równoważnych pojedynczych komórek *M. contortum* oraz ich aglomeratów utworzonych po zastosowaniu wzrastających dawek FeCl_3

W przypadku najmniejszej dawki koagulantu udział aglomeratów o średnicy równoważnej $\leq 100 \mu\text{m}$ wynosił 81% i wraz ze wzrostem ilości dodanego chlorku żelaza(III) systematycznie zmniejszał się osiągając 37% przy dawce $40 \text{ mg Fe}^{3+}/\text{dm}^3$.

Powstające w procesie koagulacji aglomeraty charakteryzowały się coraz bardziej rozbudowaną strukturą przestrzenną wyrażoną wzrostem średnicy równoważnej oraz

nieregularnym kształtem, na który wskazywała wartość D_1 powyżej 1. Nieregularność obwodu potwierdziły również uzyskane wyniki odnoszące się do parametru kolistości rozumianej jako stosunek obwodu okręgu o takim samym polu jak rzut cząstki do obwodu rzeczywistego tej cząstki. Wskaźnik SF w przypadku komórek *M. contortum* wynosił 0,43, a po zastosowaniu koagulacji uległ zmniejszeniu do 0,26 przy 8 mg Fe^{+3}/dm^3 i 0,19 przy 40 mg Fe^{+3}/dm^3 (Rys. 4). Na nieregularność obwodu aglomeratów oraz ich „poszarpany” kształt wskazywała również wypukłość. Wartość tej cechy morfologicznej aglomeratów utworzonych po zastosowaniu najmniejszej dawki koagulantu wynosiła 0,37 i uległa zmniejszeniu w stosunku do wypukłości pojedynczych komórek *M. contortum* (0,79). Zaobserwowano, że wypukłość malała w niewielkim stopniu wraz ze zwiększeniem dawki $FeCl_3$. Znaczna różnica między obwodem rzeczywistym cząstek pokoagulacyjnych (P), a długością napiętej nici ich oplatającej (P_1) decydowała o niewielkiej wypukłości. Na nierównomierny kształt aglomeratów wskazywała również zwartość przyjmująca wartości z przedziału 0,62-0,59, zależnie od dawki koagulantu. Pomimo nieregularności kształtu, powstające aglomeraty rozbudowywały się w sposób dość równomierny. Drugi wymiar fraktalny (D_2) pojedynczych komórek glonów wynosił 1,51, natomiast aglomeraty pokoagulacyjne charakteryzowały się wartością D_2 równą 1,99 (dawka 20 mg Fe^{+3}/dm^3), co wskazywało na równomierny przyrost masy względem środka cząstek. Fakt ten potwierdza również parametr wydłużenia. Widoczne na Rys. 4 zmniejszenie wartości parametru morfologicznego w postaci wydłużenia aglomeratów powstałych po zastosowaniu najmniejszej dawki koagulantu w porównaniu do średniej wartości wydłużenia pojedynczych komórek glonów świadczyło o znacznym przyroście szerokości aglomeratów powstających w wyniku koagulacji względem ich długości.



Rys. 4. Zmiany wartości parametrów morfologicznych cząstek pojedynczych komórek *M. contortum* i ich aglomeratów powstałych w wyniku koagulacji

Wraz ze wzrostem dawki chlorku żelaza(III) masa aglomeratów przyrastała równomiernie w płaszczyźnie dwuwymiarowej, na co wskazywały średnie wartości parametru wydłużenia (0,35-0,38).

Analiza wymiarów fraktalnych D_1 i D_2 oraz parametrów morfologicznych aglomeratów powstałych po koagulacji komórek *M. contortum* chlorkiem żelaza (III) wskazała na to, że powstające aglomeraty nie były cząstkami o idealnie sferycznym kształcie. Traktowanie aglomeratów pokoagulacyjnych jako cząstek kulistych podczas projektowania urządzeń do prowadzenia procesów separacyjnych może być zbyt dużym uproszczeniem i prowadzić do znacznych różnic pomiędzy założeniami teoretycznym, a wynikami doświadczalnymi.

5. WNIOSKI

1. Analiza obrazu pozwala na dokładne określenie dwóch wymiarów fraktalnych D_1 i D_2 .
2. Wymiar fraktalny umożliwia ogólne scharakteryzowanie struktury zbioru cząstek. Określenie dokładnego kształtu aglomeratów wymaga określenia parametrów morfologicznych.
3. Utworzone w procesie koagulacji aglomeraty charakteryzowały się odmienną strukturą przestrzenną niż pojedyncze komórki glonów
4. Analiza wymiarów fraktalnych D_1 i D_2 oraz parametrów morfologicznych aglomeratów wykazała, że powstałe cząstki nie były obiektami idealnie sferycznymi, jak zakładają założenia teoretyczne dotyczące procesów separacyjnych.

LITERATURA

- [1] XIAO F., HUANG J., ZHANG B., CUI C., *Effects of low temperature on coagulation kinetics and floc surface morphology using alum*, Desalination 237, 2009, 201-213.
- [2] JIANG Q., LOGAN B.E., *Fractal dimensions of aggregates from shear devices*, Journal AWWA, 1996, 100-113.
- [3] TANG S., MA Y., SEBASTINE I. M., *The fractal nature of Escherichia coli biological flocs*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 20, 2001, 211-218.
- [4] NITTMAN J.H., STANLEY H.E., *Non-deterministic approach to anisotropic growth patterns with continuously tunable morphology: the fractal properties of some real snowflakes*. Journal of Physics, 1987;A 20:L1185.
- [5] LOVEJOY S. *Area-perimeter relation for rain and cloud areas*. Science 1982, 216-185.
- [6] AMBROZIAK R., SEKULSKA-NALEWAJKO J., MATULSKI M., *Analiza wymiaru fraktalnego okrzemek*, Automatyka, tom 9, zeszyt 3, 2005, 513-524.

- [7] OLIVEIRA C., RODRIGUES R.T., RUBIO J., *A new technique for characterizing aerated flocs in a flocculation-microbubble flotation system*. International Journal of Mineral Processing, 2010:96:36-44.
- [8] CHAKRABORTI R. K., ATKINSON J. F., VAN BENSCHOTEN J. E., *Characterization of alum floc by image analysis*. Environ. Sci. Technol. 2000, Vol. 34, 3969-3976.
- [9] AOUABED A., HADJ BOUSSAAD, D.E., BEN AIM, R., *Morphological characteristics and fractal approach of the flocs obtained from natural organic matter extract of water of the Keddara dam (Algeria)*. Desalination 231, 2008, 314-322.

FRACTAL AND MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF ALGAE CELLS AGGLOMERATES

The effect of ferric chloride (III) dosage on the morphology of the resulting agglomerates cells of green algae *Monoraphidium contortum* is discussed. Image analysis technique enabled determination of the basic morphological parameters of agglomerates, and determination of their fractal dimensions. Analysis of fractal dimensions D_1 and D_2 , as well as morphological parameters of agglomerates, confirmed that algal agglomerates were not perfect spherical objects, and provided evidence that the theoretical assumptions used in the design of separation processes are not entirely correct.