

Przemysław Wiśniewski, Jacek Nawrocki, Włodzimierz Grajek, Bożena Misztak

Mikrobiologiczna metoda otrzymywania koagulantu żelazowego

Koagulacja jest jednym z podstawowych procesów uzdatniania wody, a koagulantem najbardziej popularnym i rozpowszechnionym w technologii uzdatniania wody jest siarczan glinu. W ostatnich latach, z uwagi na mniej lub bardziej uzasadnione podejrzenia o szkodliwy wpływ jonów glinu [1] na organizm człowieka, a także ze względów ekonomicznych, coraz większym uznaniem cieszą się – znane zresztą od dawna – koagulanty żelazowe. Reagenty te można otrzymywać przez utlenienie Fe(II) do Fe(III) metodami chemicznymi lub metodą mikrobiologiczną. Na polskim rynku obecny jest koagulant żelazowy otrzymywany metodą chemiczną, znany pod nazwą handlową PIX.

Prezentowane badania miały na celu opracowanie mikrobiologicznej metody otrzymywania koagulantu żelazowego, wykorzystującej do utlenienia Fe(II) do Fe(III) bakterie *Thiobacillus ferrooxidans*. Jest to metoda bezodpadowa, w związku z czym nie oddziałuje w negatywny sposób na środowisko. Ponadto jest technologicznie nieskomplikowana i możliwe będzie jej zastosowanie nawet w małych stacjach uzdatniania wody, gdzie występować może niedobór fachowej kadry technicznej. Dodatkowym i bardzo ważnym atutem tej metody jest fakt, że – według szacunku autorów – koagulant żelazowy otrzymany metodą mikrobiologiczną będzie kilka lub kilkanaście razy tańszy, niż otrzymany metodą chemiczną.

Proces mikrobiologicznego utleniania Fe(II) do Fe(III) za pomocą bakterii *Thiobacillus ferrooxidans* jest znany i w literaturze spotyka się szereg doniesień na ten temat [2-7]. Najliczniej przedstawiane są systemy pracujące ze złożem nieruchomym [2,3], a także bioreaktory rotacyjne [4]. W skali przemysłowej zdolność utleniania żelaza przez bakterie *Thiobacillus ferrooxidans* jest wykorzystywana do oczyszczania gazu ziemnego z siarkowodoru oraz przy wymywaniu jonów żelaza i innych metali z rud [2,3]. Prowadzone są również badania nad wykorzystaniem tych bakterii w procesie odsiarczania węgla kamiennego [8].

Bakterie utleniające żelazo zostały zakwalifikowane do szesnastu rodzajów, a jednym z nich jest *Thiobacillus ferrooxidans*. Są to krótkie pałeczki o wymiarach 0,5+1,0 μm . Występują pojedynczo, w parach, a rzadko w krótkich łańcuchach. *T. ferrooxidans* jest bezwzględny autotrofem. Utlenia siarkę i częściowo zredukowane związki siarki. Wzrost tego gatunku na substratach utleniających siarkę nie powoduje utraty zdolności do wykorzystywania związków żelazowych (i odwrotnie). *T. ferro-*

oxidans jest bezwzględnym tlenowcem. Istotne jest, że reakcja utleniania jonów Fe^{2+} z udziałem bakterii *Thiobacillus ferrooxidans* jest 10^6 razy szybsza, niż analogiczny proces utleniania żelaza metodami chemicznymi. *T. ferrooxidans* wykazuje uniikatowe cechy metaboliczne, które można scharakteryzować następującymi właściwościami:

- chemolitotroficzna, tzn. taką, że jony żelazowe lub zredukowane nieorganiczne siarczany wykorzystywane są do wzrostu i służą jako źródło energii,

- autotroficzna, dla której CO_2 jest komórkowym źródłem węgla i wraz z azotem i fosforem wymagany jest jako pożywka do wzrostu i syntez bakteryjnych; innymi ważnymi składnikami odżywczymi dla tych organizmów są potas, magnez, sód i kobalt,

- aerobowa, w której absorbowany jest dostarczany tlen,

- mezofilna, gdzie istotną rolę odgrywa temperatura w granicach 20+40 $^{\circ}\text{C}$,

- kwasofilność bakterii oznacza, że organizmy te posiadają dużą zdolność przystosowawczą w zakresie pH od 1,0 do 4,5. Wartości pH powyżej 6,0 i poniżej 1,0 wykazują działanie hamujące.

Thiobacillus ferrooxidans wykazuje też szeroką tolerancję na miedź i cynk w stężeniach odpowiednio do 98 g/dm^3 i 130 g/dm^3 oraz na uran w stężeniach do 12 $\text{gU}_3\text{O}_8/\text{dm}^3$. Zaobserwowano natomiast niską tolerancję tych bakterii na srebro i rtęć, maksymalnie do 10^{-2} g/m^3 [9,10].

Metodyka badań

W badaniach stosowano kulturę mieszaną bakterii żelazowych wyizolowanych z hałdy odpadowego siarczanu żelazowego [11,12]. Bakterie w probówkach zamkniętych korkami z waty inkubowano w cieplarni w temperaturze 30 $^{\circ}\text{C}$ przez 4 doby. Następnie po repasażu na świeżą pożywkę, kulturę bakterii przeniesiono do kolbek Erlenmeyera i umieszczono w termostatawanej wytrząsarce, gdzie były wytrząsane z intensywnością 150 obr./min. Dla dobrego natlenienia objętość pożywki nie przekraczała 20% objętości kolby. Właściwe utrzymywanie kultury wymagało pasażowania co 3+4 doby, w zależności od koloru podłoża, który zmieniał się od turkusowego do brunatnego, w miarę zużywania składników pokarmowych. W trakcie hodowli kontrolowano pH i utrzymywano je w przedziale 1,8+2,0.

Proces utleniania żelaza prowadzono w trzech jednakowych bioreaktorach zasilanych jedną pompą perystaltyczną. Bioreaktory o średnicy wewnętrznej 3 cm i wysokości 60 cm wypełnione były warstwą granulowanego węgla aktywnego typu AG-2u o objętości 200 cm^3 , którego właściwości fizyczno-chemiczne podano w pracy [11]. Bioreaktory napowietrzano z intensywnością 5 dm^3/h , a współprądowo z powietrzem podawano roztwór siar-

Mgr P. Wiśniewski, dr hab. J. Nawrocki, prof. nadzw.: Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Zakład Technologii Uzdatniania Wody, ul. M. Drzymały 24, 60-613 Poznań

Prof. dr hab. W. Grajek: Akademia Rolnicza, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, ul. Mazowiecka 36, 60-623 Poznań

Mgr B. Misztak: Miejskie Przedsiębiorstwo Wodociągów i Kanalizacji w m.st. Warszawie, Zakład Wodociągu Północnego, ul. 600-Lecia 20, 05-130 Wieliszew

Tabela 1. Charakterystyka roztworów siarczanu żelazawego stosowanego w badaniach

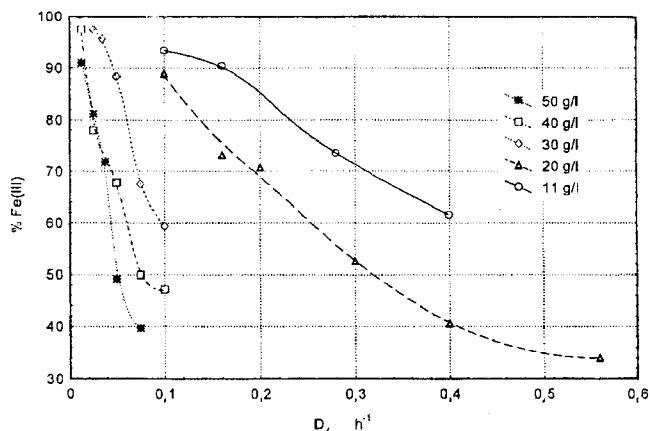
Stężenie $\text{gFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{dm}^3$	Prędkość rozcieńczania, h^{-1}				
11	0,10	0,16	0,28	0,40	0,90
20	0,10	0,16	0,20	0,30	0,40 0,56
30	0,025	0,035	0,05	0,075	0,10
40	0,013	0,025	0,05	0,075	0,10
50	0,013	0,025	0,05	0,075	–

czanu żelazawego. Bioreaktory utrzymywano początkowo dla stężenia $11 \text{ gFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{dm}^3$ w temperaturze 30°C . Ponieważ uznano, że przy zastosowaniu tej metody w skali technicznej utrzymywanie tak wysokiej temperatury byłoby kłopotliwe, następne doświadczenia prowadzono w temperaturze pokojowej równej 23°C . Stężenia siarczanu żelazawego poddawanego utlenieniu wynosiły kolejno 11, 20, 30, 40 i $50 \text{ gFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{dm}^3$. Dla każdego z badanych stężeń przeprowadzono serię doświadczeń przy różnych prędkościach rozcieńczania. Doświadczenia prowadzono bez zachowania warunków sterylnych.

Stosowano nadmanganiometryczną metodę oznaczania żelaza opartą na reakcji utleniania jonów żelazawych do żelazowych [11,13]. Aby oznaczyć tą metodą żelazo, musi ono znajdować się w roztworze w postaci dwuwartościowej. Stężenie Fe(III) obliczono z różnicy zawartości Fe(II) w roztworze przed jego wejściem do bioreaktora i po jego opuszczeniu. Ilość utlenionego żelaza wyrażono w procentach w odniesieniu do początkowego stężenia jonów Fe(II).

Dyskusja wyników

Podczas utleniania Fe(II) do Fe(III) na złożu węglowym wytrąca się osad mineralny zwany jarozytem [11,14]. Ilość i prędkość jego narastania są ściśle związane z wartością pH roztworu siarczanu żelazawego poddawanego utlenianiu. Pojawienie się osadu wpływa niekorzystnie zarówno na intensywność procesu utleniania, jak i na warunki hydrauliczne przepływu siarczanu i powietrza przez bioreaktor. Optymalną wartość pH roztworu siarczanu żelazawego określono na 1,3 [11]. Równoległe z badaniami nad utlenianiem żelaza prowadzone są prace nad sposobem oczyszczania złoża zakolmatowanego jarozytem [15].



Rys. 1. Zawartość Fe(III) w koagulancie w zależności od prędkości rozcieńczania

Wiele doniesień literaturowych mówi o stosowaniu do rozpuszczania siarczanu żelazawego wody destylowanej wzbogaconej w pożywkę 9K [2-4,6], jak również o wykorzystaniu w tym celu wody podziemnej nie wzbogaconej [2,5]. Oryginalna pożywka 9K, tzw. pożywka Silvermana i Lungrena, składa się z dwóch części:

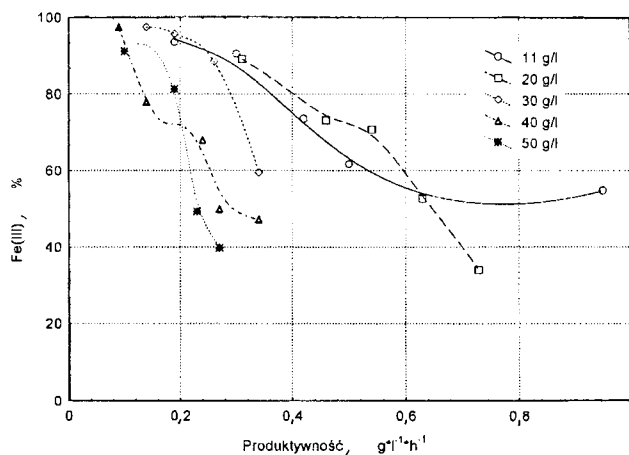
– roztworu A, który stanowią następujące substancje rozpuszczone w 700 cm^3 wody destylowanej: $3,0 \text{ g}(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; $0,5 \text{ gMgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $0,1 \text{ gKCl}$; $0,01 \text{ gCa}(\text{NO}_3)_2$; $0,5 \text{ gK}_2\text{HPO}_4$,

– roztworu B, który stanowią dwie substancje rozpuszczone w 300 cm^3 wody destylowanej: $44,2 \text{ gFeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ oraz $1,0 \text{ cm}^3$ $5\text{M H}_2\text{SO}_4$.

W badaniach wykazano, że zastosowanie wody wodociągowej do rozpuszczenia $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, zamiast pożywki 9K, nie pogorszyło wyników utleniania Fe(II) do Fe(III) i nie wpłynęło negatywnie na aktywność bakterii. Pozwoliło to na zrezygnowanie w dalszych badaniach z pożywki 9K i stosowanie wody wodociągowej, co stanowiło istotny postęp, ponieważ konieczność stosowania pożywki 9K stawiałaby pod znakiem zapytania możliwość wykorzystania badanego procesu w warunkach technicznych.

Aby określić efektywność reakcji utleniania Fe(II), a także stężenie Fe(III) w otrzymanym reagenście, zastosowano różne stężenia siarczanu żelazawego oraz różne prędkości rozcieńczania (tab.1). Uzyskane wyniki przedstawiono na rysunkach 1 i 2.

Stwierdzono, że im mniejsza była prędkość rozcieńczania, a więc im dłuższy czas retencji, tym uzyskano wyższe stężenie utlenionego żelaza. Jednocześnie stwierdzono wzrost produktywności reakcji wraz ze wzrostem prędkości rozcieńczania.



Rys. 2. Zawartość Fe(III) w koagulancie w zależności od produktywności reakcji utleniania

Tabela 2. Charakterystyka fizyczno-chemiczna koagulantów

Parametr, jednostka	Koagulant żelazowy	
	metoda biologiczna	PIX
Fe _{og} , gFe/dm ³	4,05	188,3
Fe ²⁺ , gFe/dm ³	0,084	0,22
Mn, gMn/m ³	8,0	300
E _{redox} , mV	515	581
pH, –	1,4	0
d, g/cm ³	1,014	1,553

Wnioski

♦ Optymalną wartość pH roztworu siarczanu żelazowego podawanego utlenianiu określono na 1,3.

♦ Wykazano, że zastąpienie przy sporządzaniu roztworu siarczanu żelazowego wzbogaconej w pożywkę 9K wody destylowanej zwyczajną wodą wodociągową nie wpłynęło w negatywny sposób na wydajność procesu utleniania żelaza.

♦ Stwierdzono, że wraz ze wzrostem prędkości rozcieńczania produktywność reakcji utleniania żelaza rośnie, a procentowa zawartość Fe(III) w otrzymanym reagentcie maleje.

Tabela 3. Porównanie efektów koagulacji

Parametr, jednostka	Woda surowa	Koagulant żelazowy	PIX	Siarczan glinu
Metność, g/m ³	10	6	4	3,5
Barwa (ns/s), gPt/m ³	54/22	41/15	44/16	13/11
Zasadowość, val/m ³	3,7	2,8	2,9	3,0
pH, –	8,0	6,65	6,8	6,95
Utlenialność, gO ₂ /m ³	13,0	5,7	6,4	6,4
Fe _{og} (ns/s), gFe/m ³	–/–	1,25/0,16	1,28/0,12	–/–
Fe ²⁺ , gFe/m ³	–	0,03	0,03	–
Absorbancja UV 254 nm (w 1 cm)	0,29	0,12	0,13	0,29

ns – próbka niesączona

s – próbka sączona

Rysunek 2 obrazuje zależność ilości wyrażonego w procentach Fe(III) od produktywności reakcji utleniania dla badanych stężeń siarczanu żelazowego. Wyniki te można zinterpretować następująco: dla stałego stężenia Fe(III) w otrzymanym reagentcie produktywność reakcji maleje wraz ze wzrostem stężenia siarczanu żelazowego w roztworze wyjściowym, a więc wraz ze wzrostem stężenia Fe(II) poddawanego utlenianiu.

Obserwowane na rysunku 2 częściowe odstępstwo od tej reguły dla stężenia 11 gFeSO₄·7H₂O/dm³ należy tłumaczyć tym, że dla tego stężenia proces utleniania przebiegał w temperaturze 30 °C, podczas gdy dla pozostałych stężeń temperatura reakcji wynosiła 23 °C. Podobne, choć w mniejszej skali zjawisko zaobserwowano dla stężeń 40 i 50 gFeSO₄·7H₂O/dm³, co można wytłumaczyć tylko błędem analitycznym.

Właściwości otrzymanego koagulantu

Próbkę otrzymanego koagulantu żelazowego przekazano do przebadania i zaopiniowania do laboratorium Zakładu Wodociągów Północnego w Warszawie. Dokonano tam porównania skuteczności działania koagulantu otrzymanego metodą biologiczną z koagulantem żelazowym PIX, a także z siarczanem glinu. Badane koagulanty charakteryzowały się składem podanym w tabeli 2.

Wykonano sześć testów naczyniowych porównujących skuteczność działania reagentów dla wody wstępnie ozonowanej z Zalewu Zegrzyńskiego. Rezultaty poszczególnych prób nie różniły się istotnie między sobą (tab.3).

Jak łatwo zauważyć, skuteczność otrzymanego metodą mikrobiologiczną koagulantu żelazowego nie ustępuje PIX-owi, ani też koagulantowi glinowemu, a nawet dla niektórych parametrów jest wyższa (utlenialność).

Uzyskane wyniki w pełni potwierdziły przydatność otrzymanego koagulantu w procesie uzdatniania wody.

♦ Zaobserwowano, że dla stałego poziomu Fe(III), wraz ze wzrostem stężenia Fe(II) w roztworze poddawany utlenianiu, maleje produktywność reakcji.

♦ W badaniach testowych wykazano pełną przydatność otrzymanego reagenta jako koagulantu do uzdatniania wody.

♦ Przedstawione wyniki ilustrują przebieg badań, które są w toku i do których zakończenia jest jeszcze daleko. Autorzy zdają sobie sprawę z wielu problemów, które należy rozwiązać przed wdrożeniem tej metody w skali technicznej. Należą do nich przede wszystkim niskie stężenie Fe(III) w otrzymanym koagulancie oraz zbyt wysoka temperatura reakcji. Dalsze badania będą miały na celu rozwiązanie tych kwestii.

LITERATURA

1. WHO Consultation on removal of Organic and Inorganic Micropollutants from Drinking-Water Sources. Siofok 1987.
2. S.I. GRISHIN, O.H. TUOVINEN: Fast kinetics of Fe⁺² oxidation in packed-bed reactors. Appl. Environ. Microbiol., 1988, No. 54, pp. 3092-3100.
3. H. ARMENITA, C. WEBB: Ferrous sulphate oxidation ion using *Thiobacillus ferrooxidans* cells immobilised in polyurethane foam support particles. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1992, No. 36, pp. 697-700.
4. K. NAKAMURA, T. NOIKE, J. MATSUMOTO: Effect of operation conditions on biological Fe⁺² oxidation with rotating biological contactors. Wat. Res., 1986, Vol. 20, No. 1, pp. 73-77.
5. L. AHONEN, O.H. TUOVINEN: Microbiological oxidation of ferrous iron at low temperatures. Appl. Environ. Microbiol., 1989, No. 55, pp. 312-316.
6. S. KANG, R.D. SPROULL: Iron oxidation by *Thiobacillus ferrooxidans*. Appl. Biochem. Biotechnol., 1991, No. 28/29, pp. 907-915.

7. L. AHONEN, O.H. TUOVINEN: Temperature effects on bacterial leaching of sulfide minerals in shake flask experiments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1991, No. 57, pp. 138-145.
8. A. JUSZCZAK, F. DOMKA, M. KOZŁOWSKI, H. WACHOWSKA: Microbiol desulphurization of coal with *Thiobacillus ferrooxidans* bacteria. *Fuel*, 1995 (in press).
9. A. BRUYNESTEYN, D.W. DUNCAN: Microbiological leaching of sulphide concentrates. *Cann. Metal. Quart.*, 1971, No. 57, p. 8.
10. P.R. NORRIS, D.P. KELLY: Toxic metals in leaching systems. In: *Metallurgical Appl. of Bacterial Leaching and Related Microbiological Phenomena*. Academic Press, New York 1978.
11. J. NAWROCKI, P. WIŚNIEWSKI, W. GRAJEK, M. ASTRIAB: Kinetyka biologicznego utleniania żelaza przy użyciu immobilizowanych bakterii. *Biotechnologia*, 1995 (w druku).
12. P. WIŚNIEWSKI, J. NAWROCKI, W. GRAJEK: Otrzymywanie koagulantu żelazowego metodą biologiczną z wykorzystaniem bakterii *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnologia*, 1995 (w druku).
13. T. LIPIEC, Z. SZMAŁ: *Chemia analityczna z elementami analizy instrumentalnej*. PZWL, Warszawa 1972.
14. S.I. GRISHIN, J.M. BIGHAM, O.H. TUOVINEN: Characterization of jarosite formed upon bacterial oxidation of ferrous sulfate in a packed-bed reactor. *App. Environ. Microbiol.*, 1988, No. 54, pp. 3101-3106.
15. J. NAWROCKI, P. WIŚNIEWSKI, W. GRAJEK: Sposób oczyszczania złoży stałego stosowanego w procesie otrzymywania koagulantu żelazowego na drodze biologicznej. *Zgł. pat. nr P-305463*, 1994.
16. J. NAWROCKI, P. WIŚNIEWSKI, W. GRAJEK: Sposób otrzymywania koagulantu żelazowego. *Zgł. pat. nr P-305464*, 1994.

Microbiological Method of Producing Iron Coagulant

The method proposed consists in producing a ferric coagulant by oxidation of Fe(II) to Fe(III) via utilization of Thiobacillus ferrooxidans. The oxidation reaction involved iron concentrations varying from 11 to 50 gFe-SO₄7H₂O/dm³, and was carried out in three bioreactors, each packed with a 200 cm³ volume of GAC. Air was supplied from the bottom through a ceramal layer. The bioreactors had been placed in a thermostat at 23 °C. The experiments were run in a non-sterile environment. The strain utilized for the purpose of the study was a composition of acidophilic iron-oxidizing

bacteria isolated from a heap of ferrous sulphate wastes. The optimum pH of the ferrous sulphate solution was found to be 1.3. The degree of conversion, as well as the efficiency of the oxidation process, was related to the rate of dilution and to the concentration of the ferrous sulphate solution applied. Determined was the minimum conversion of iron required for the coagulant which is to be used in the water treatment process. Jar tests have substantiated the utility of the ferric flocculant obtained via the above route in the coagulation of surface water.