ZESZYTY NAUKOWE POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ

Nr 118 Inżynieria Sanitarna z. 6 1964

JERZY CHMIELOWSKI, ANDRZEJ GROSSMAN, IRENA WĘGRZYNOWSKA

ROZKŁAD FENOLU W FERMENTACJI METANOWEJ

W przeciwieństwie do metabolizmu fenolu przez drobnoustroje w warunkach tlenowych, który był przedmiotem wielu badań [1, 2, 3, 4] literatura zawiera tylko nieliczne wzmianki o biochemicznym rozkładzie tego związku w środowisku beztlenowym. Na możliwość beztlenowego rozkładu fenolu zwrócił uwagę TARVIN i BUSWELL [5]. Zidentyfikowali oni fenol jako produkt pośredni rozkładu tyrozyny dodawanej do środowiska fermentacyjnego i stwierdzili rozkład 150 mg tak powstałego fenolu w ciągu kilkunastu dni fermentacji. Na tej podstawie wyrazili przypuszczenie, że fenol oraz inne związki aromatyczne mogą podlegać beztlenowemu rozkładowi do dwutlenku węgla i metanu.

Badania ETTINGERa i współpracowników [6] wykazały powolny rozkład fenolu i krezolu w stężeniach rzędu 50 mg/l w silnie zanieczyszczonych wodach powierzchniowych, w których występują warunki beztlenowe. MADERA [7] stwierdził, że niektóre inne związki aromatyczne typu trójnitroluenu ulegają beztlenowemu rozkładowi w stężeniach rzędu 30 mg/l.

Wiadomo z doświadczeń ruchowych, że uderzeniowe dawki fenolu hamują pracę wydzielonych komór fermentacji metanowej. Ostatnio NOACK i JENDREYKO [8] przeprowadzili badania nad wpływem fenolu na komory fermentacji metanowej w ruchu ciągłym o czasie fermentacji 20 dni. Stwierdzili, że stężenia fenolu do 50 mg/l nie powodowały widocznych zmian w przebiegu fermentacji. Zahamowanie tego procesu następowało w obecności fenolu w ilości 50 do 200 mg/l. Natomiast fenol w stężeniu powyżej 200 mg/l uniemożliwiał przebieg fermentacji metanowej.

Brak jednak w literaturze systematycznych badań nad wpływem fenolu na fermentację metanową. Należało więc rozpatrzyć możliwość przystosowania drobnoustrojów fermentacji metanowej do rozkładu fenolu. W tym celu należało adaptować drobnoustroje mezofilnej fermentacji osadów biogennych do rozkładu tego związku oraz określić dynamikę i wyznaczyć

szybkość procesu. Próba rozwiązania tych zagadnień w skali laboratoryjnej stanowi przedmiot niniejszej pracy.

Część doświadczalna

Metodyka badań

Substratem badań był osad technicznie przefermentowany pochodzący z wydzielonej komory dla mezofilnej fermentacji metanowej osadów ściekowych oraz chemicznie czysty fenol dozowany w roztworze wodnym o stężeniu 50 g/l.

Doświadczenia nad fermentacją prowadzono w szczelnie zamkniętych komorach laboratoryjnych. Były to butle szklane o dokładnie wyznaczonej pojemności. W obserwacjach dynamiki rozkładu stosowano komory szklane zaopatrzone w tubus dolny, który umożliwiał pobór prób masy fermentującej. Doświadczalne komory fermentacyjne znajdowały się w termostacie utrzymującym temperaturę 32° ± 1°C. Tempratura ta odpowiada optimum dla mezofilnej fermentacji metanowej.

Do zamknięcia komór używano zaworów gazowych zastosowanych przez jednego z autorów w pracach wcześniejszych [9, 10]. Zawory te były zaopatrzone w membrany z miesistej gumy, które nawet po kilkudziesięciu przekłuciach igłą iniekcyjną utrzymują szczelność dla ciśnień rzędu 1,0 atn. Zawory membranowe umieszczone w korkach zamykających komory umożliwiły pomiary ciśnienia wytwarzarzającego się gazu fermentacyjnego. Pozwalały również na wprowadzenie roztworów fenolu przy pomocy strzykawki iniekcyjnej.

Pomiary ilości wytwarzanego gazu fermentacyjnego prowadzono metodą manometryczną opracowaną przez jednego z autorów [9, 10]. Kontrolę analityczną fenolu dozowanego i pozostałego w środowisku fermentacyjnym wykonywano kolorymetrycznie przy użyciu p-nitroaniliny [11]. Chemiczną charakterystykę fermentujących osadów stanowiły oznaczenia kwasów lotnych, alkaliczności, suchej pozostałości ogólnej i straty przy prażeniu oraz pH. Analizy te przeprowadzono zgodnie z zaleceniami STANDARD METHODS [12], natomiast pH oznaczano potencjometrycznie przy pomocy elektrody szklanej.

Przebieg doświadczeń

Badania nad adaptacją środowiska fermentacji metanowej do rozkładu fenolu przeprowadzono w trzynastu 3-litrowych szklanych komorach laboratoryjnych, zawierających 1 litr technicznie przefermentowanego osadu. Osad ten przed rozlaniem do komór przecedzono przez sito o średnicy oczek 3 mm w celu usunięcia zanieczyszczeń mechanicznych i eliminowania przypadkowych błędów doświadczeń związanych z niejednorodnością substratu. Komory przepłukiwano gazowym dwutlenkiem węgla aby zapewnić warunki beztlenowe wymagane dla należytego przebiegu fermentacji metanowej.

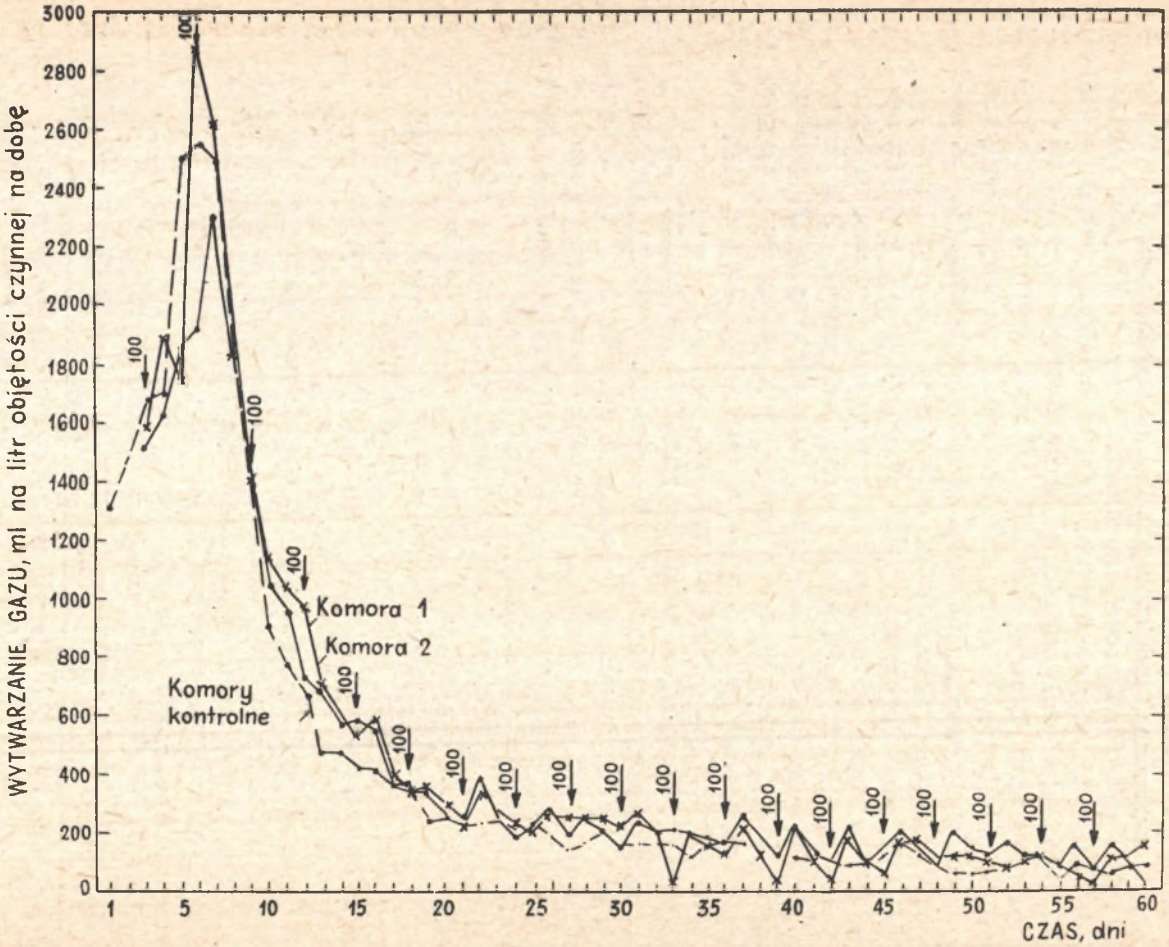
Pierwsza część programu badań składała się z sześciu serii adaptacyjnych, różniących się sposobem dawkowania fenolu. Każda seria (z wyjątkiem jednej) obejmowała dwie równo legle traktowane komory doświadczalne. Adaptację prowadzono w ciągu 60 dni, mierząc w odstępach 24 godzinnych dobową ilość wytwarzanego gazu. Osad mieszano raz dziennie podczas pomiarów ilości gazu fermentacyjnego.

Zdolność adaptacyjną osadu do rozkładu fenolu badano przez wprowadzanie różnych dawek tego substratu w różnych odstępach czasu. Komorę 1 i Komorę 2 obciążano co trzeci dzień porcją 100 mg/l fenolu. Przebieg wytwarzania gazu w tych warunkach w porównaniu z średnią objętością gazu powstającą w komorach kontrolnych podaje rysunek 1.

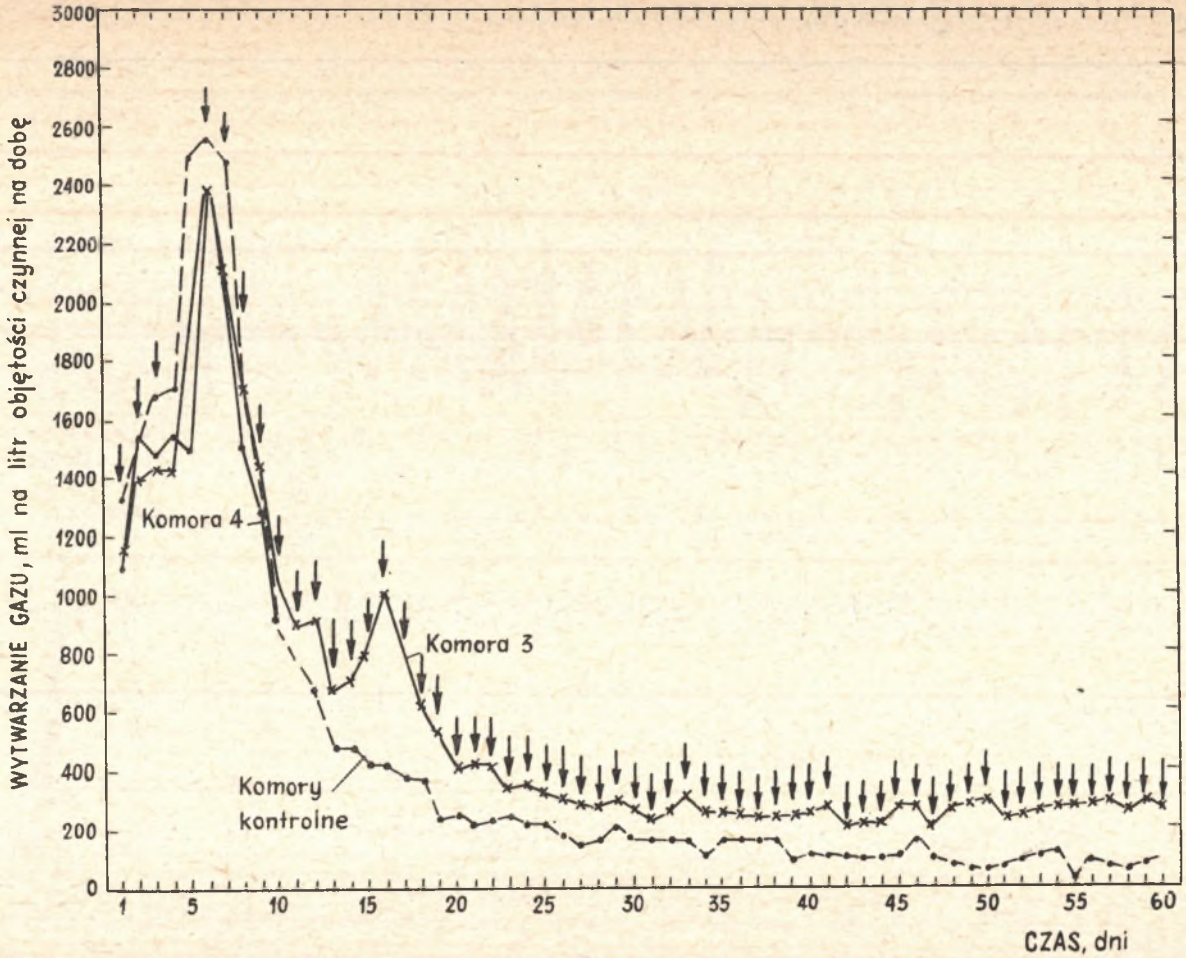
Do Komory 3 i Komory 4 wprowadzano codziennie 100 mg/l fenolu. Przebieg fermentacji metanowej w tych komorach w porównaniu z komorami kontrolnymi obrazuje rysunek 2. Wykres ten zawiera niekompletne wyniki badania Komory 4, która w 11 dniu doświadczenia uległa przypadkowemu zniszczeniu.

Dla Komory 5 i Komory 6 zastosowano dozowanie w odstępach 2÷3-dniowych zwiększających się dawek fenolu od 100 mg/l do 2000 mg/l. Osad z Komory 6 adaptowano jeszcze dodatkowo przez 34 dni, osiągając stężenie 2900 mg/l fenolu. Wytwarzanie gazu w tej serii adaptacyjnej w porównaniu z komorami nie obciążonymi przedstawia rysunek 3.

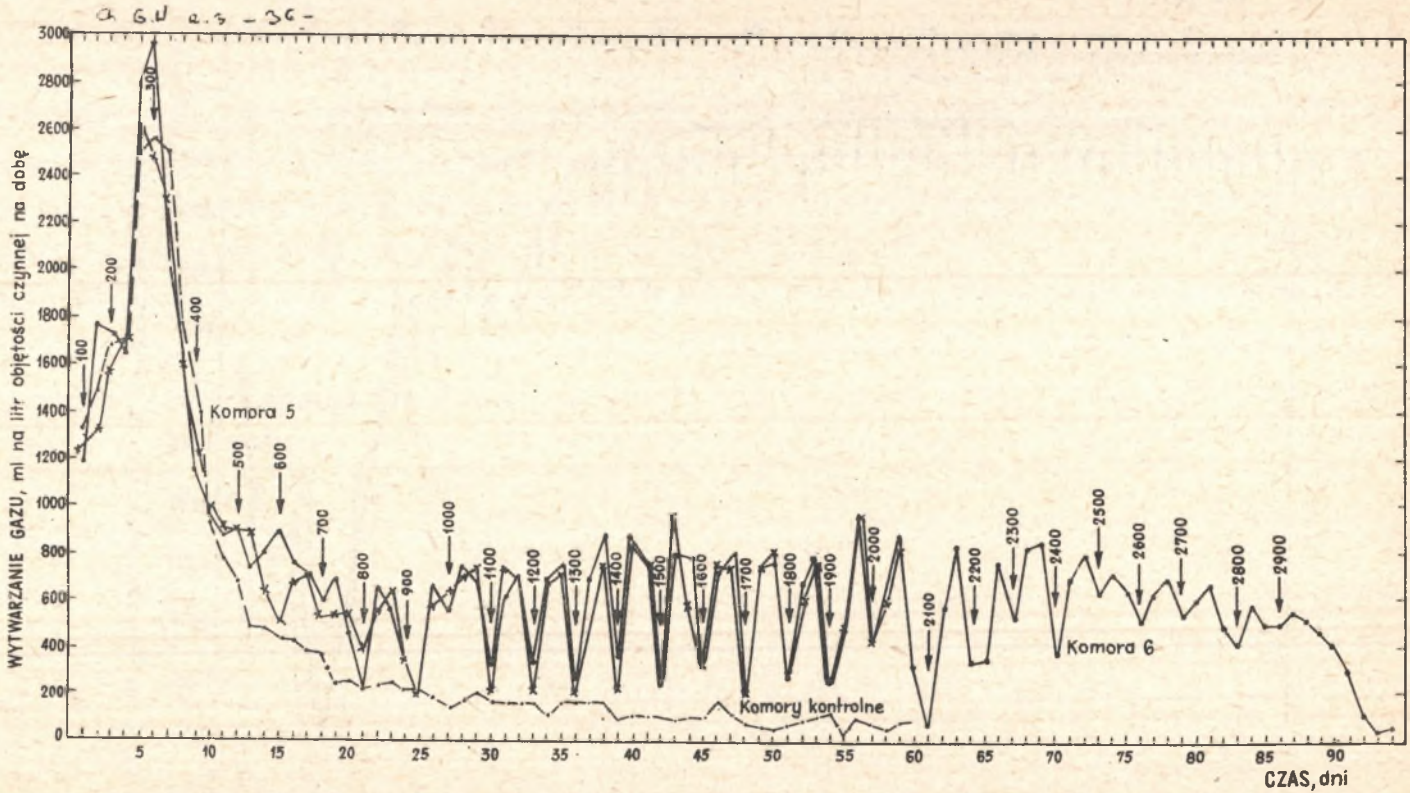
Codzienne dawkowanie rosnących ilości fenolu od 100 mg/l do 1000 mg/l przeprowadzono w Komorze 7 i Komorze 8. Dozowanie przerwano z powodu zahamowania fermentacji po dawce 1000 mg/l fenolu. Produkcję gazu fermentacyjnego w tej serii doświadczeń w porównaniu z komorami kontrolnymi podaje rysunek 4.



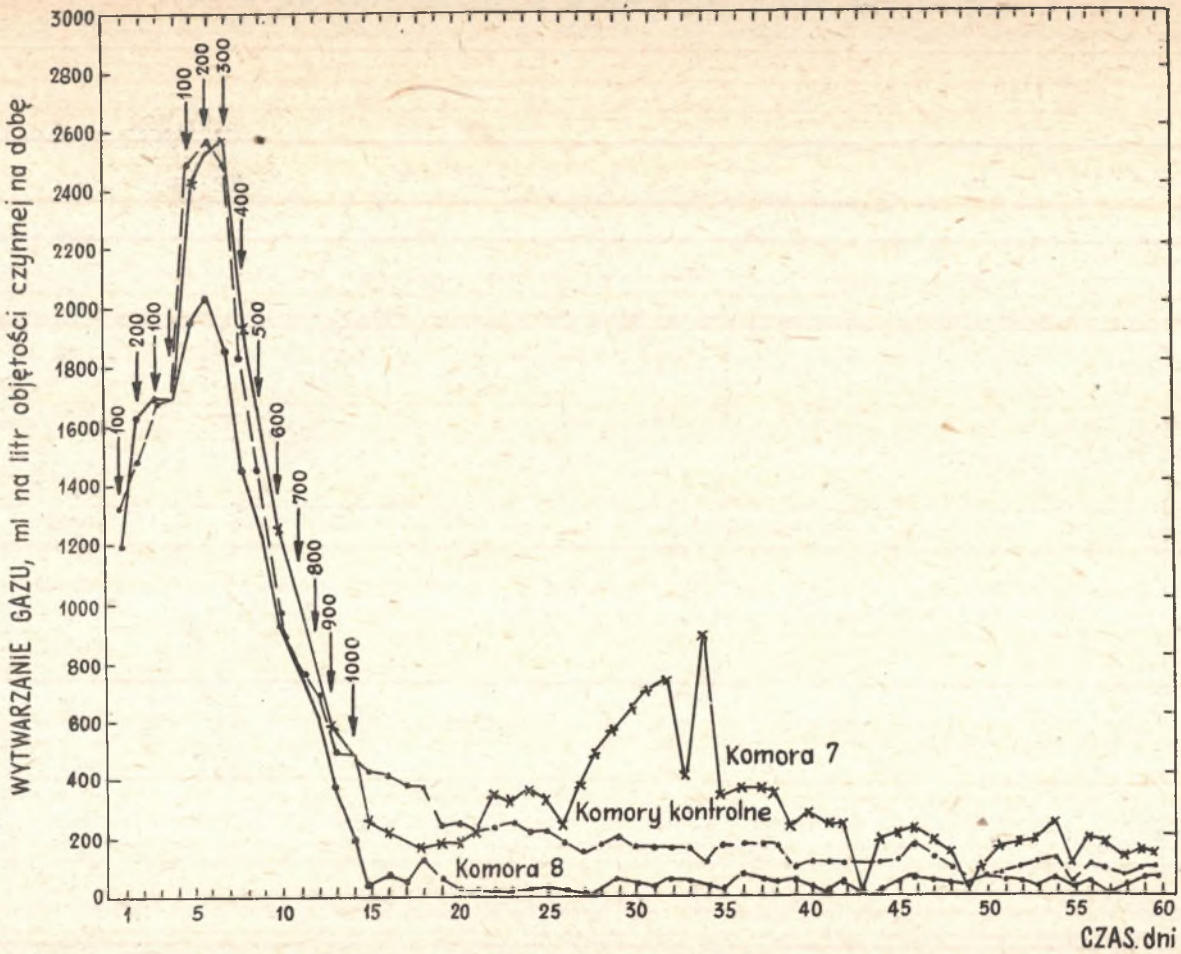
Rys. 1. Przystosowanie fermentacji metanowej do rozkładu fenolu. Dozowanie 100 mg/l fenolu w odstępach 3-dniowych



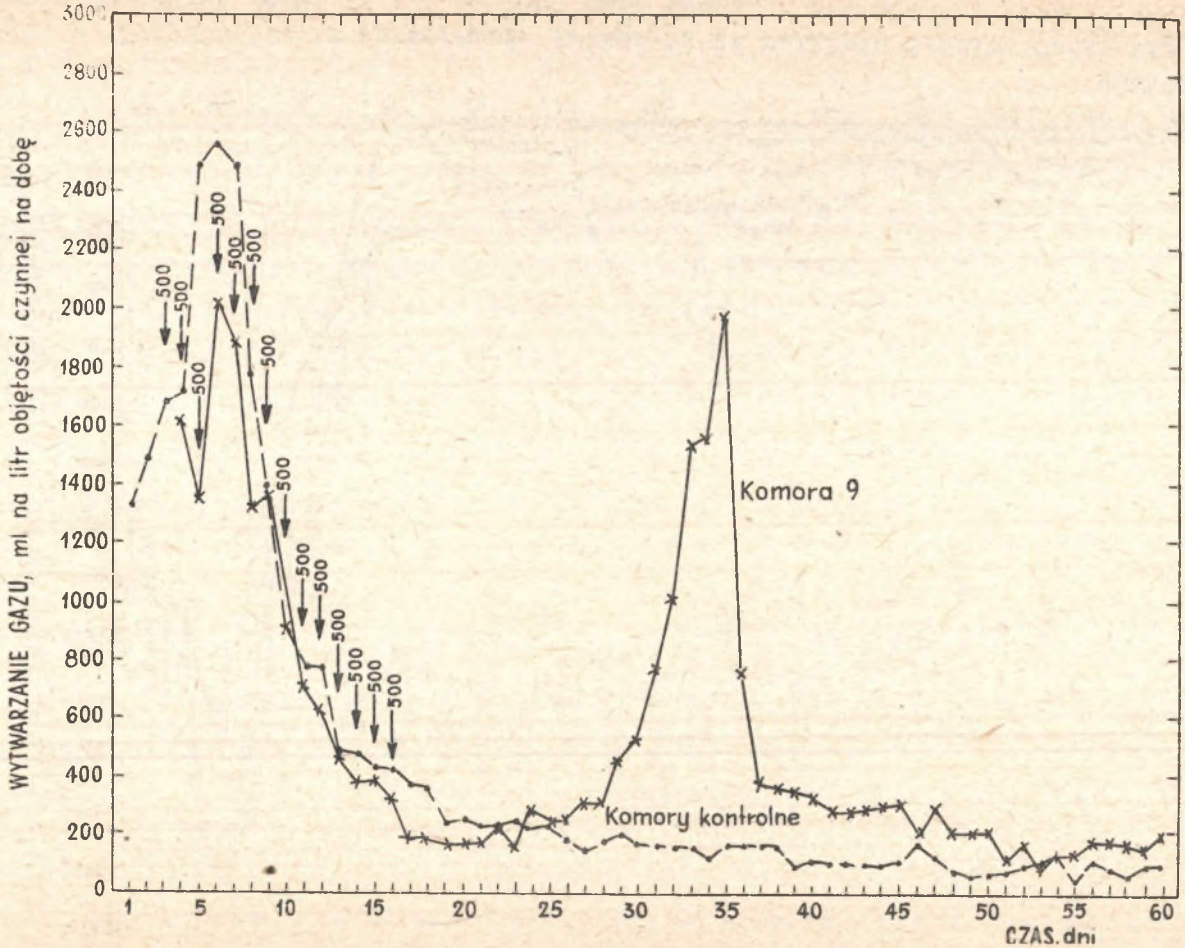
Rys. 2. Przystosowanie fermentacji metanowej do rozkładu fenolu. Codzienne dozowanie 100 mg/l fenolu



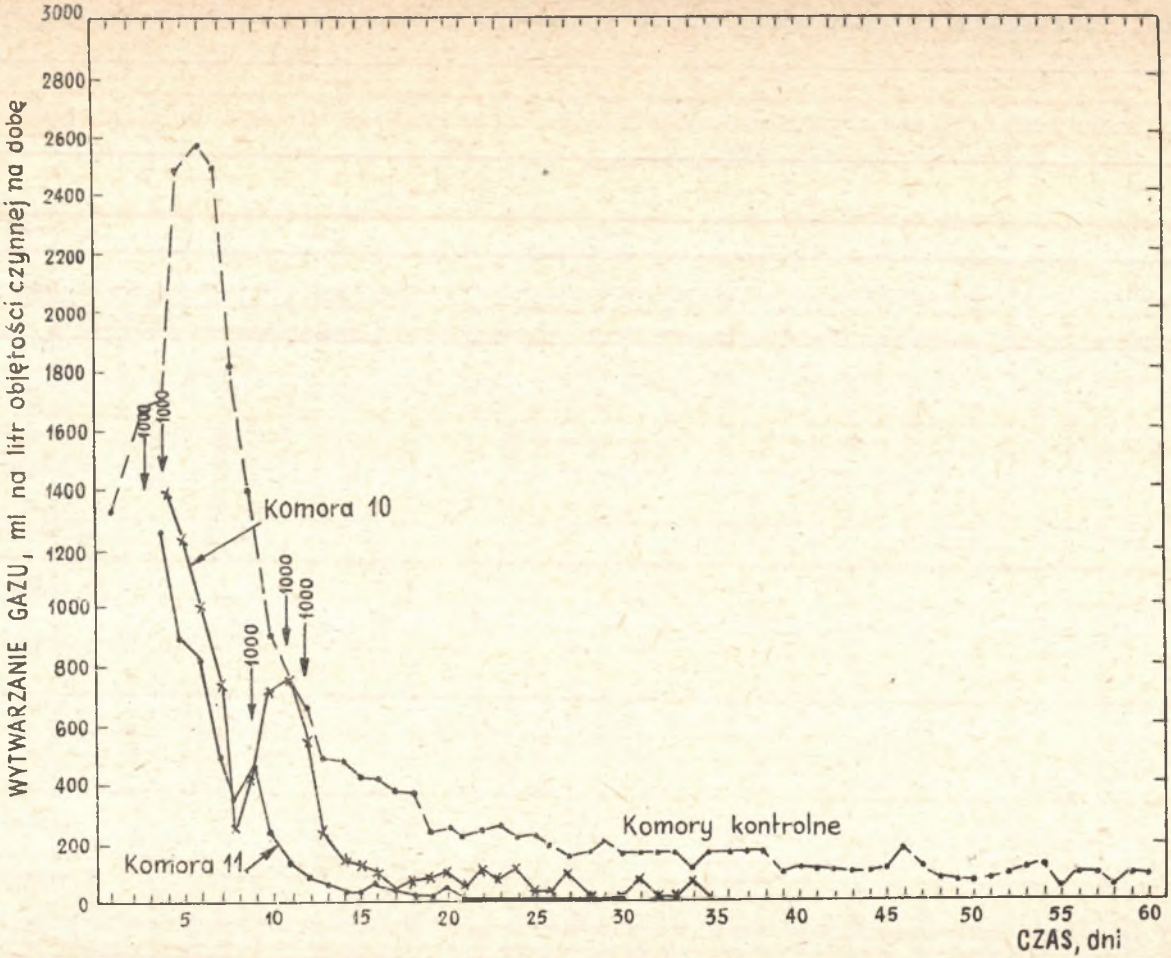
Rys. 3. Przystosowanie fermentacji metanowej do rozkładu fenolu. Dozowanie rosnących dawek od 100 do 2900 mg/l fenolu w odstępach 2- lub 3-dniowych



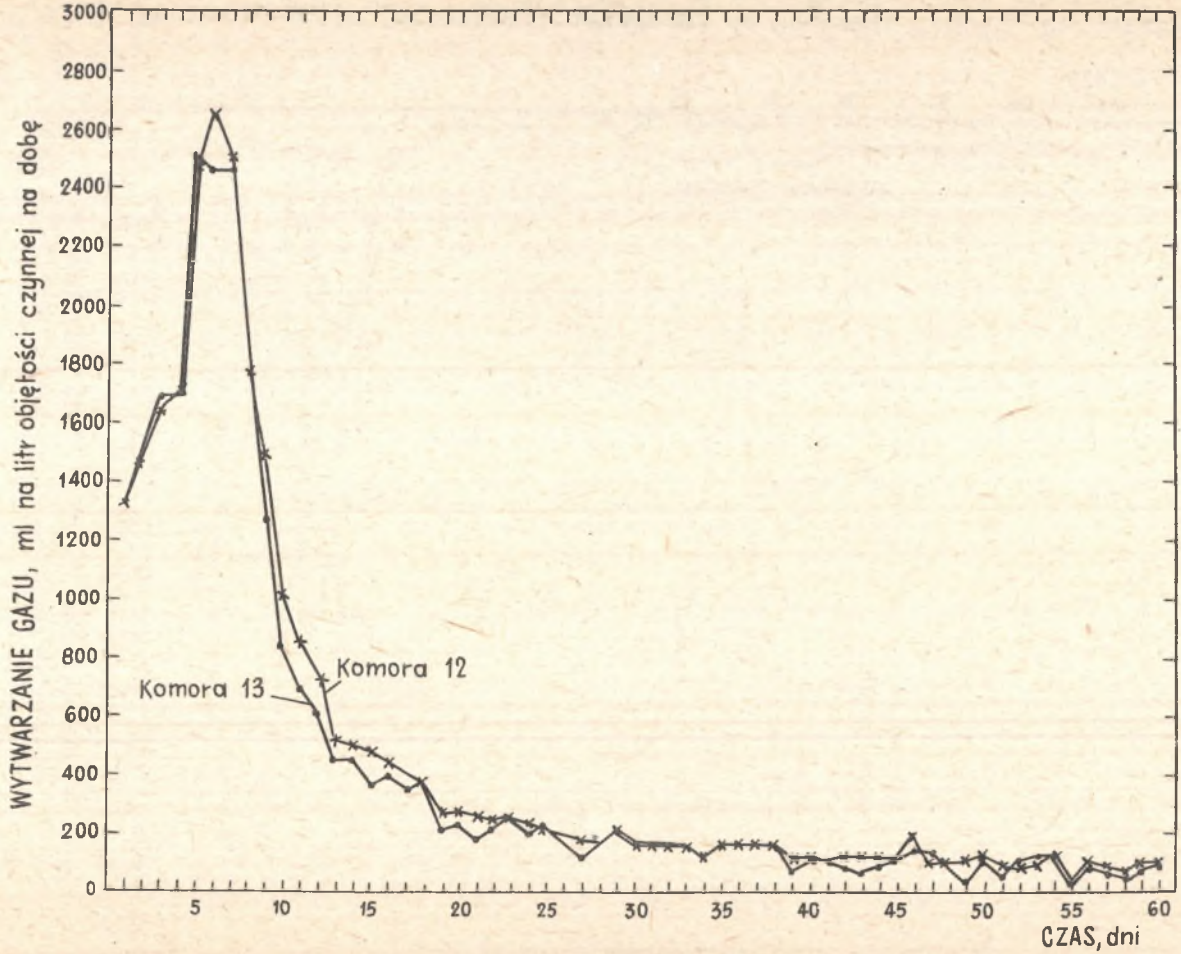
Rys. 4. Przystosowanie fermentacji metanowej do rozkładu fenolu. Codzienne dozowanie rosnących dawek od 100 do 1000 mg/l fenolu w początkowej fazie adaptacji



Rys. 5. Przystosowanie fermentacji metanowej do rozkładu fenolu. Codzienne dozowanie 500 mg/l fenolu w początkowej fazie adaptacji



Rys. 6. Przystosowanie fermentacji metanowej do rozkładu fenolu. Dozowanie 1000 mg/l fenolu w odstępach 1 do 5 dni w początkowej fazie adaptacji



Rys. 7. Przystosowanie fermentacji metanowej do rozkładu fenolu. Kontrolne komory nie obciążone fenolem

Codzienne zasilanie w początkowej fazie adaptacji dawką 500 mg/l fenolu, zastosowano dla Komory 9. Ilość wytwarzanego gazu w tej Komorze w porównaniu z komorami kontrolnymi obrazuje rysunek 5.

Ostatnią serię badania adaptacji stanowiło obciążanie w odstępach 1÷5-dniowych Komory 10 i Komory 11 dawkami "uderzeniowymi" 1000 mg/l fenolu. Po dwunastu dniach dozowanie przerwano wskutek spadku gazowania poniżej wielkości kontrolnych. Przebieg tej fermentacji w porównaniu z komorami nie zasilanymi fenolem, przedstawia rysunek 6.

Dla porównania wytwarzania gazu fermentacyjnego przez osady nie zasilane fenolem i osady obciążone przez ten substrat, posłużono się kontrolnymi Komorami 12 i 13. Na rysunku 7, podającym przebieg produkcji gazu w tych komorach, widać analogiczny przebieg fermentacji w obu komorach i wynikającą z tego możliwość przyjęcia wartości średnich produkowanego gazu fermentacyjnego w kontroli badań adaptacyjnych.

W celu stwierdzenia zmian, jakie zaszły w środowisku fermentacyjnym w czasie długotrwałej adaptacji do rozkładu fenolu, wykonano analizę próbek fermentujących osadów z poszczególnych komór. Tabela I podaje chemiczną charakterystykę osadów po 60-dniowej adaptacji w porównaniu z analizą wstępną technicznie przefermentowanego osadu przed dozowaniem fenolu oraz analizę osadu nie adaptowanego z komór kontrolnych.

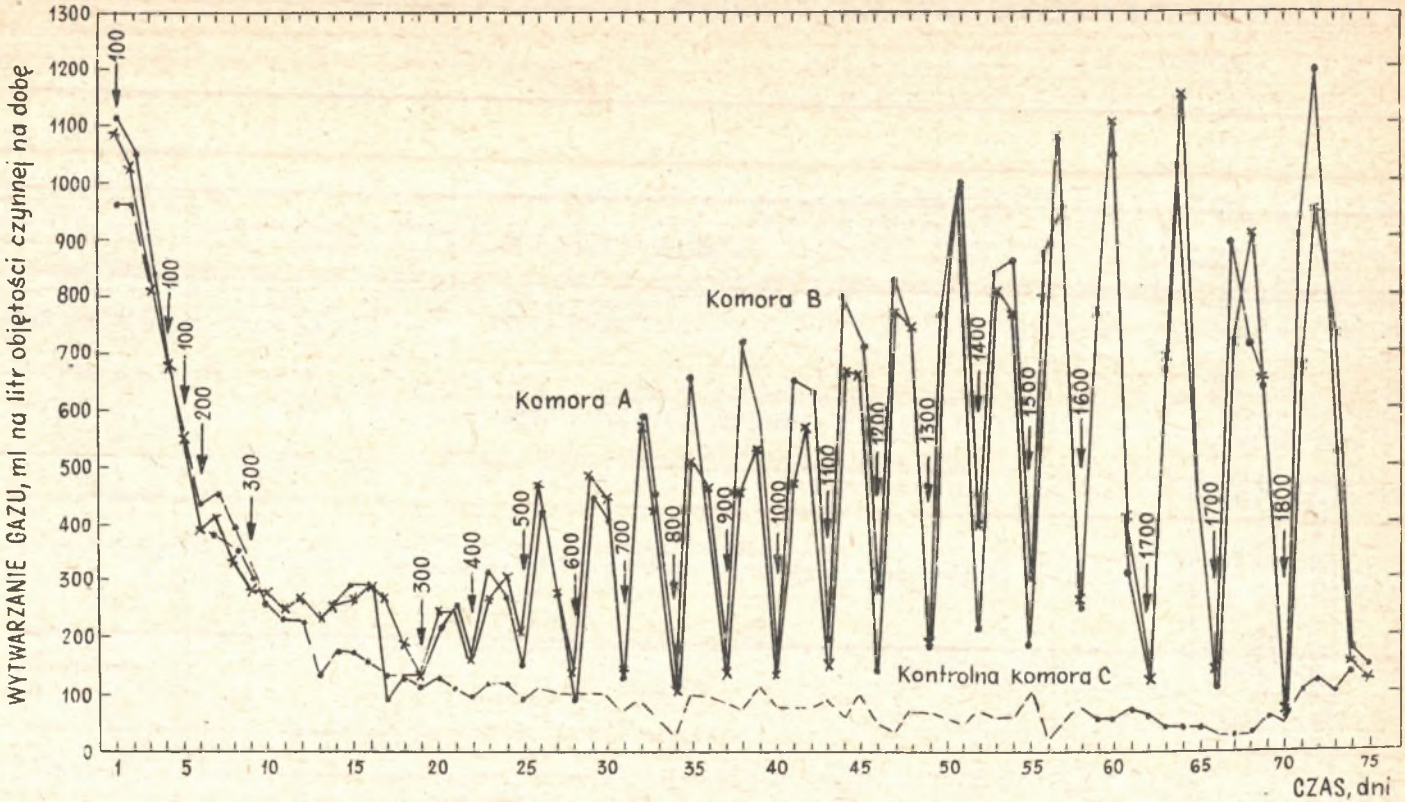
Druga część badań obejmowała przystosowanie fermentacji metanowej do rozkładu fenolu w oparciu o optymalne wyniki uzyskane z wstępnych serii adaptacyjnych. Śledzenie przebiegu fermentacji metanowej określonej dawki fenolu było innym zadaniem tych obserwacji.

Trzy komory doświadczalne o pojemności 10 l zaopatrzone w tubus dolny, zasilono technicznie przefermentowanym, przecedzonym przez sito osadem w ilości 3 litrów. Komory przepłukano dwutlenkiem węgla w celu stworzenia warunków beztlenowych. Środowisko fermentacyjne w Komorze A i Komorze B adaptowano do rozkładu fenolu, dozując w odstępach 3÷4-dniowych, a wyjątkowo codziennie, rosnące dawki od 100 mg/l do 1800 mg/l. Komora C nie obciążona fenolem umożliwiała kontrolę procesu. Przebieg wytwarzania gazu fermentacyjnego w Komorach A, B i C obrazuje rysunek 8. Po 70 dniach obserwacji przeprowadzono analizę chemiczną fermentujących osadów z Komory A, B i C. Porównanie wyników tych oznaczeń z analizą wstępną osadu przed adaptacją podaje tabela II.

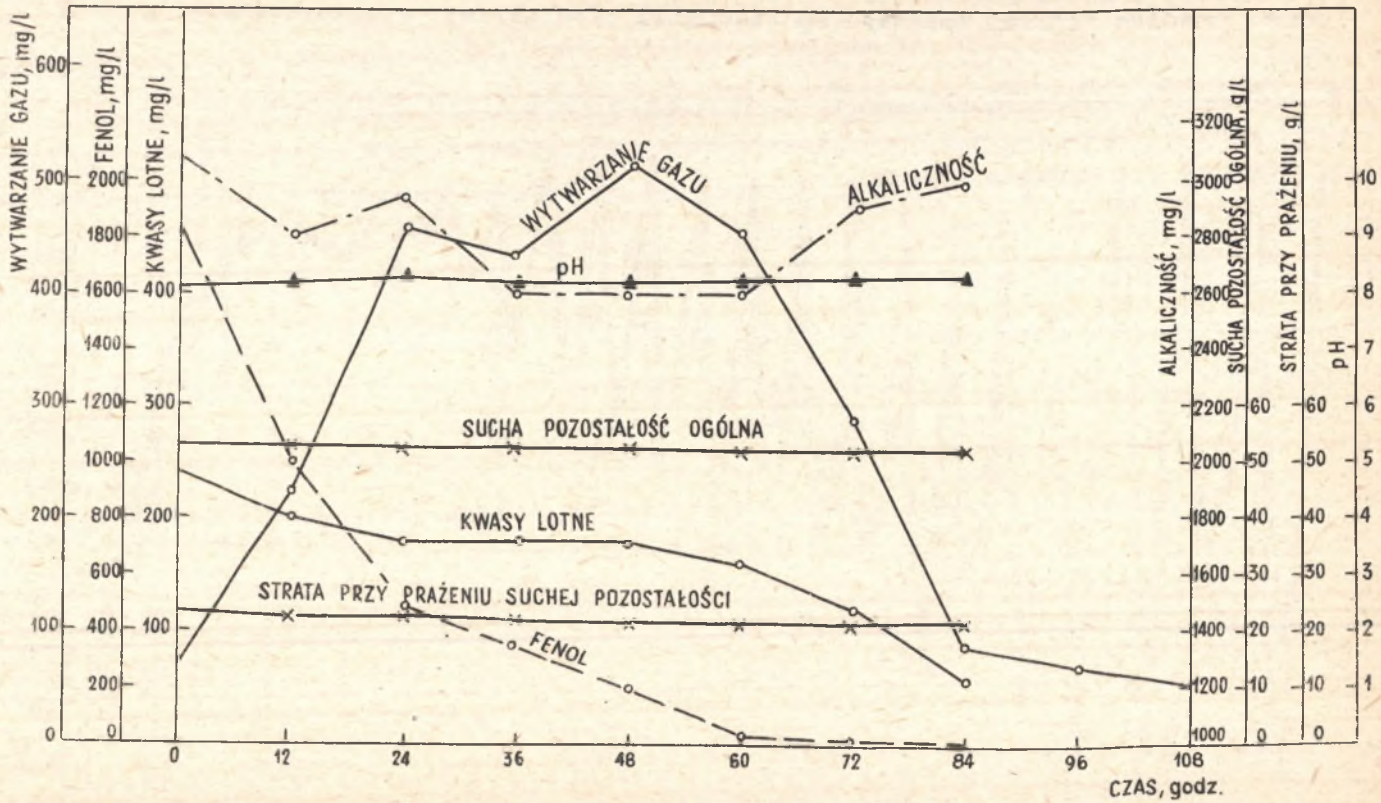
Tabela I

Charakterystyka przefermentowanych osadów przystosowanych do rozkładu fenolu w seriach adaptacyjnych

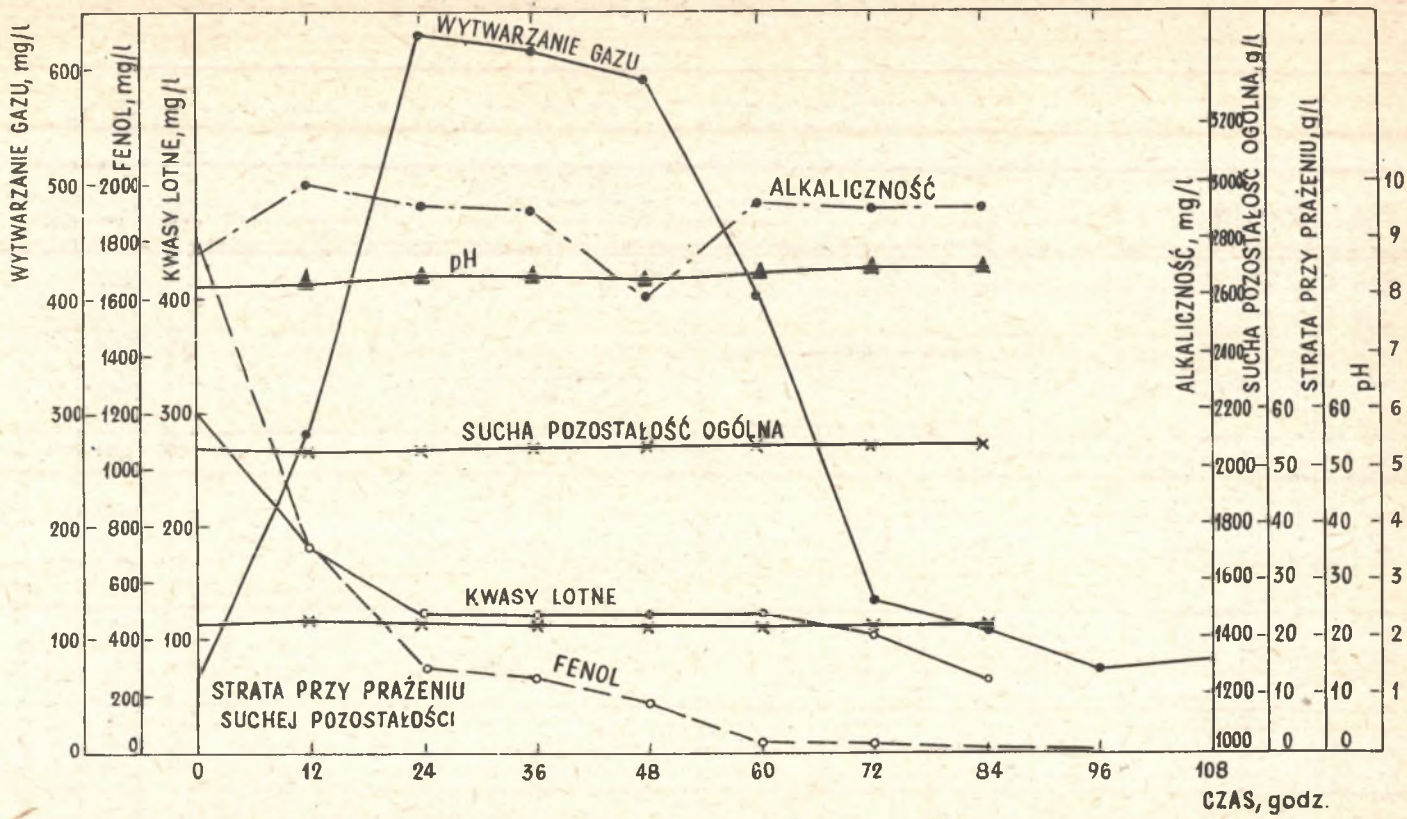
Oznaczenie	Analiza wstępna osadu przed adaptacją	Sposób dozowania fenolu w okresie adaptacyjnym												
		100 mg/l co 3 dni		100 mg/l codziennie		100-2000 mg/l co 2-3 dni		100-1000 mg/l codziennie		500 mg/l codzien.	100 mg/l co 1-3 dni		Komory kontrolne nie obciążone fenolem	
		Komora 1	Komora 2	Komora 3	Komora 4	Komora 5	Komora 6	Komora 7	Komora 8	Komora 9	Komora 10	Komora 11	Komora 12	Komora 13
Fenol mg/l	0	7	10	0	-	5	-	10	5000	15	5050	4950	0	0
Kwasy lotne mg/l CH_3COOH	430	130	130	120	-	130	-	140	1500	160	1600	2040	60	80
Alkaliczność mg/l $CaCO_3$	2950	3000	2900	3600	-	3200	-	2500	1700	2600	2090	1500	5600	5400
Sucha pozostałość ogólna %	7,72	5,93	5,72	6,03	-	5,14	-	5,86	6,72	6,23	7,12	6,94	5,54	5,40
Strata przy prażeniu suchej pozost. %	49,3	45,8	49,8	50,8	-	48,3	-	49,9	44,8	48,9	50,2	49,3	47,7	49,8
pH	7,3	8,3	8,3	8,3	-	8,4	-	8,7	8,2	8,4	8,6	8,5	8,4	8,3



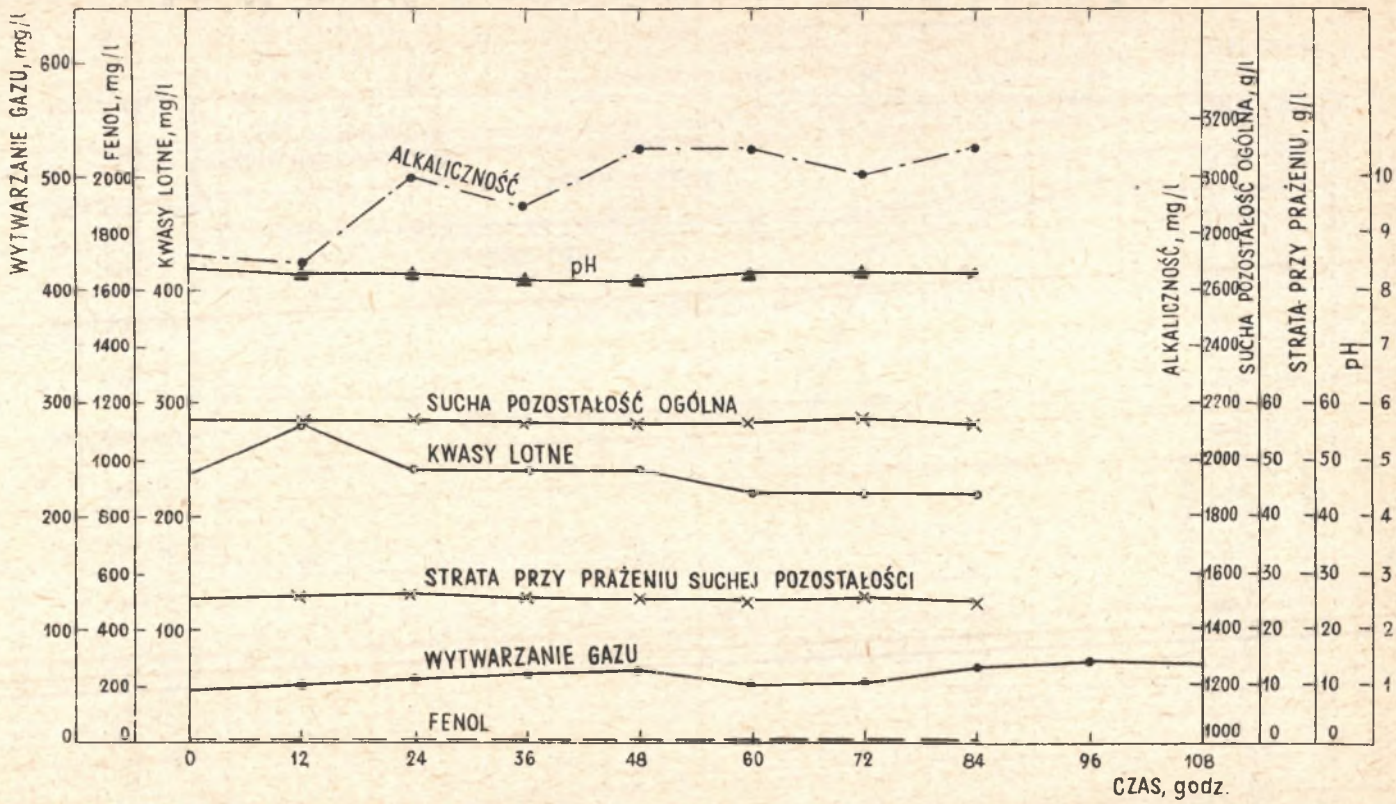
Rys. 8. Przystosowanie fermentacji metanowej do rozkładu fenolu. Dozowanie rosnących dawek od 100 do 1800 mg/l fenolu w odstępach 3-lub 4-dniowych



Rys. 9. Przebieg fermentacji metanowej 1800 mg/l fenolu w Komorze A



Rys. 10. Przebieg fermentacji metanowej 1800 mg/l fenolu w Komorze B



Rys. 11. Przebieg fermentacji metanowej w kontrolnej Komorze C

Tabela II

Charakterystyka przefermentowanych osadów adaptowanych do rozkładu fenolu w stężeniu 1800 mg/l

Oznaczenie	Analiza wstępna przed adaptacją	Dozowanie w odstępach 1-3-4-dniowych dawek od 100 do 1800 mg/l		Komora kontrolna nie obciążona fenolem
		Komora A	Komora B	Komora C
Fenol mg/l	0	8	9	0
Kwasy lotne mg/l CH_3COOH	530	60	100	40
Alkaliczność mg/l $CaCO_3$	1950	3000	2750	2725
Sucha pozostałość ogólna %	8,01	5,26	5,37	5,68
Strata przy prażeniu suchej pozostałości %	48,3	42,3	43,2	44,6
pH	7,3	8,4	8,6	8,4

Zbadano przebieg fermentacji metanowej jednorazowo wprowadzonej dawki fenolu w ilości 1800 mg/l w Komorze A i B. W odstępach 12-godzinnych pobierano próby 200 ml fermentującej masy w celu przeprowadzenia oznaczeń analitycznych. Mierzono również ilość wytwarzanego gazu fermentacyjnego. Zmiany chemiczne osadu powstałe w czasie adaptacji i towarzyszące rozkładowi fenolu, podaje dla Komory A rysunek 9. Przebieg fermentacji fenolu w Komorze B przedstawia rysunek 10. Resztkową fermentację w nieobciążonej fenolem kontrolnej Komorze C ilustruje rysunek 11.

Przeprowadzono porównanie ilości gazu fermentacyjnego wytworzonej w adaptowanym środowisku z jednostki masy fenolu,

Tabela III

Wytwarzanie gazu fermentacyjnego w czasie rozkładu fenolu stwierdzone doświadczalnie i obliczone stechiometrycznie z równania BUSWELLa

Komora fermentacyjna	Sumaryczna ilość fenolu wprowadzona podczas doświadczenia mg/l	Ilość gazu fermentacyjnego			Jednokrotna dawka fenolu wprowadzona po adaptacji mg/l	Ilość gazu fermentacyjnego		
		stechiometryczna ml/l	doświadczalna ml/l	% ilości stechiometrycznej		stechiometryczna ml/l	doświadczalna ml/l	% ilości stechiometrycznej
Komora 1	1900	2710	1952	72	100	143	136	95
Komora 2	1900	2710	925	34	100	143	137	95
Komora 3	5900	8450	6646	79	100	143	181	126
Komora 5	21000	30000	18002	60	1500	2140	1553	72
Komora 6	21000	30000	20487	67	1500	2140	1576	73
Komora 7	6200	8870	6317	71	500	715	314	44
Komora 8	6200	8870	x)	x)	500	715	x)	x)
Komora 9	7000	10000	6590	66	-	-	-	-
Komora 10	5000	7150	x)	x)	-	-	-	-
Komora 11	5000	7150	x)	x)	-	-	-	-
Komora A	19300	27600	23513	85	1600	2290	2083	91
Komora B	19300	27600	24103	87	1600	2290	2062	90

Znak x) oznacza, że w chwili pomiaru ilość wytworzonego gazu była niższa od wartości w komorach kontrolnych.

z wielkością teoretyczną, obliczoną przy pomocy stechiometrycznego równania BUSWELLa [13, 14]. Jeżeli skład elementarny jakiegoś związku organicznego określa wzór $C_n H_a O_b$, to ogólną reakcję fermentacji metanowej można wyrazić przez równanie:

$$C_n H_a O_b + (n - \frac{a}{4} - \frac{b}{2}) H_2O \longrightarrow (\frac{n}{2} - \frac{a}{8} + \frac{b}{4}) CO_2 + (\frac{n}{2} + \frac{a}{8} - \frac{b}{4}) CH_4$$

W przypadku fenolu o sumarycznym wzorze C_6H_6O odpowiednie współczynniki wynoszą: n = 6, a = 6, b = 1. Dla beztlenowego rozkładu fenolu równanie BUSWELLa przyjmuje postać szczegółową:

$$C_6H_6O + 4\ H_2O \longrightarrow 2{,}5\ CO_2 + 3{,}5\ CH_4$$

Oznacza to, że 1 mol fenolu daje 6 moli gazu fermentacyjnego zawierającego 58% CH_4 i 42% CO_2. W warunkach normalnych 1 mol gazu zajmuje objętość 22,4 l, stąd 94 g fenolu dają 134,4 l gazu, zaś z 100 mg fenolu tworzy się 143 ml gazu fermentacyjnego. Na przykład do Komory A (rysunek 9) wprowadzono 1600 mg/l fenolu. Z tej ilości substratu wytworzyło się 2341 ml/l gazu fermentacyjnego. W tym czasie komora kontrolna wyprodukowała 258 ml/l gazu. Doświadczalnie uzyskano więc 2083 ml/l z porcji 1600 mg/l fenolu. Zgodnie z równaniem stechiometrycznym objętość gazu wynosi 2290 ml/l czyli objętość rzeczywista stanowi 91% teoretycznej ilości gazu fermentacyjnego.

Doświadczalnie wyznaczone objętości gazu fermentacyjnego wytworzone z biochemicznej degradacji fenolu w badaniach adaptacyjnych i w czasie obserwacji dynamiki rozkładu fenolu porównano w tabeli III z wielkościami teoretycznymi z równania BUSWELLa [13, 14]. W tabeli tej podano ilości gazu wytworzone z sumarycznych ładunków fenolu oraz z niektórych dawek pojedynczych, wybranych w okresie ustalonej adaptacji środowiska do rozkładu fenolu.

Omówienie wyników

Wyniki przeprowadzonych badań potwierdziły doświadczalnie przypuszczenia TARVINa i BUSWELLa [5] oraz ETTINGERa i współpracowników [6], że intensywny rozkład biochemiczny fenolu następuje również w warunkach beztlenowych. Zaprzeczyły one natomiast poglądowi NOACKa i JENDREYKO [7], że niemożliwe jest prowadzenie fermentacji metanowej w obecności fenolu w stężeniach wyższych od 200 mg/l. Według tych autorów takie stężenie fenolu jest toksyczne dla bakterii metanowych, natomiast koncentracje fenolu rzędu 50 do 200 mg/l działają hamująco na przebieg fermentacji.

Z przeprowadzonych badań wynika, że fenol może być substratem fermentacji metanowej, podobnie jak inne związki organiczne. Po należytej adaptacji środowiska ładunki fenolu rzędu 2900 mg/l ulegały całkowitemu rozkładowi beztlenowemu i przemianie w gaz fermentacyjny w ciągu 8 dni, przy czym nie osiągano jeszcze maksymalnej zdolności adaptacyjnej fermentacji metanowej. Można przypuszczać, że również większe ilości fenolu mogą ulec przemianie w gaz w zbliżonym czasie. Wydaje się jednak, że fermentacja metanowa fenolu przebiega najbardziej wydajnie dla stężenia około 2000 mg/l, które zostaje całkowicie rozłożone w ciągu trzech dni fermentacji (rysunek 3 i 8). W doświadczeniach używano osadu technicznie przefermentowanego, zawierającego jeszcze znaczne ilości nie rozłożonych substancji organicznych. Powodowały one stały wzrost wytwarzania gazu fermentacyjnego w pierwszych sześciu dniach fermentacji. Po tym okresie gazowanie spadało do wielkości resztkowych, zaś układ nadawał się do dalszych prób adaptacyjnych (rysunek 1, 2, 3, 4, 5 i 7). Wyniki tych doświadczeń wskazywały sposób w jaki należy adaptować fermentujące osady do rozkładu dużych stężeń fenolu.

Najwłaściwszym sposobem adaptowania okazało się dostarczanie w odstępach około 3-dniowych rosnących porcji fenolu. Układ przystosowywał się do rozkładu fenolu już po 12 dniach po wprowadzeniu sumarycznej ilości 1500 mg/l fenolu.

Przebieg wytwarzania gazu fermentacyjnego w tych warunkach, które doprowadziły do przystosowania się fermentacji do stężeń rzędu 3000 mg/l podaje rysunek 3. W początkowym stadium adaptacji krzywa wytwarzania gazu przebiegała zgodnie z fermentacją kontrolną, natomiast po przystosowaniu się środowiska fermentacyjnego do zużycia fenolu, gazowanie wzrastało. Wprowadzanie rosnących dawek fenolu do stężeń rzędu 2000 mg/l, które osiągnęło się około 60 dnia doświadcze-

nia, powodowało maksymalny przyrost gazu w ciągu dwóch dni od chwili zasilania. W trzecim dniu gazowanie spadało do wartości kontrolnych, co świadczyło o całkowitym rozkładzie wprowadzonej porcji fenolu w tym czasie. Powtarzalność tych obserwacji potwierdzono w analogicznie przeprowadzonej adaptacji Komory A i B do rozkładu fenolu w stężeniu 1800 mg/l (rysunek 8).

Stwierdzono jednak w tych badaniach, że czas potrzebny na rozkład dawek fenolu większych od około 2200 mg/l (rysunek 3) przekracza trzy dni. Dlatego wprowadzanie dalszych wzrastających dawek tego związku w okresach trzydniowych powodowały nagromadzenie się nieprzereagowanego fenolu w środowisku i ozęściowe hamowanie fermentacji. Zjawisko takie zwykle następuje w przypadku przeciążenia komory fermentacyjnej substratem [10]. W tej serii adaptacyjnej doświadczenie w Komorze 6 (rysunek 3) prowadzono przez 94 dni. Układ adaptował się do stężenia 2900 mg/l fenolu i dawka ta ulegała rozkładowi w ciągu 8 dni. Całkowita ilość fenolu wprowadzona do Komory 6 wynosiła 43500 mg/l. Z masy tej powstało 60% teoretycznej ilości gazu fermentacyjnego (tabela III).

Z biochemicznego punktu widzenia można spodziewać się, że proces przystosowania się fermentacji metanowej do rozkładu fenolu polega na utworzeniu szczególnej populacji mieszanej drobnoustrojów. Pod wpływem wzrastających stężeń dozowanego fenolu tworzy się wzbogacona kultura bakterii saprofitycznych, zdolnych do rozszczepienia rdzenia aromatycznego fenolu. Powstaje również populacja bakterii metanowych odpornych na wysokie stężenia fenolu. Substratem metanogenezy są niższe kwasy organiczne, tworzące się jako pośrednie produkty rozkładu pierścienia aromatycznego fenolu.

Przebieg adaptacji środowiska fermentacyjnego wywołanej przez codzienne dozowanie 100 mg/l fenolu podaje rysunek 2. Pomimo wprowadzenia substancji pożywkowej, ilość gazu fermentacyjnego spadała, aż do chwili, kiedy nastąpiła adaptacja bakterii saprofitycznych oraz pojawiła się tolerancja bakterii metanowych na dostarczone ilości fenolu. Układ przystosował się do rozkładu fenolu po około 15 dniach doświadczenia o czym świadczy silny wzrost gazowania w tym czasie, związany ze zgazowywaniem fenolu nagromadzonego w początkowym stadium doświadczenia. Codzienne dawki fenolu równe 100 mg/l dawały współmierne ilości gazu fermentacyjnego. Na wykresie przebieg krzywej gazowania jest prawie

równoległy do kontrolnej fermentacji szczątkowej, ale wykazuje przebieg wyższy o 140 ml, co odpowiada przemianie 100 mg/l fenolu w gaz fermentacyjny (tabela III).

Dozowanie porcji 100 mg/l fenolu w odstępach 3-dniowych nie było właściwym sposobem prowadzenia adaptacji (rysunek 1). Okazało się że dawkowanie 100 mg/l fenolu co trzeci dzień dostarczało zbyt małej porcji substratu pożywkowego, aby następował wyraźny przyrost gazu w porównaniu z fermentacją kontrolną. W celu adaptacji wprowadzono sumarycznie 1900 mg/l fenolu. Ta ilość substancji nie wystarczała do wytworzenia dostatecznie dużej populacji bakterii saprofitycznych przystosowanych do rozkładu fenolu.

Niepewne skutki adaptacyjne uzyskano obciążając układ codziennie rosnącymi porcjami fenolu (rysunek 4). Po wprowadzeniu dawki 1000 mg/l fenolu czyli po wprowadzeniu do układu sumarycznej ilości 6200 mg/l fenolu, dozowanie przerwano wskutek spadku ilości gazu fermentacyjnego poniżej wartości wykazywanej przez komory kontrolne. Przez kilka następnych dni ilość gazu utrzymywała się na tym poziomie, a następnie w Komorze 7 gazowanie wzrosło ponad wartości kontrolne, podczas gdy w Komorze 8 (rysunek 4) fermentacja uległa prawie całkowitemu zahamowaniu.

Można to zjawisko tłumaczyć przez pierwotny brak organizmów przystosowanych do stosunkowo dużych stężeń fenolu. Po pewnym czasie, wskutek braku innej substancji organicznej, populacje saprofityczne wytworzyły adaptacyjnie układy enzymatyczne zdolne do przyswajania i rozkładu fenolu (Komora 7, rysunek 4). Wzrost tej adaptowanej populacji spowodował fermentację metanową fenolu, która rozpoczęła się około 20 dnia doświadczenia. Po wyczerpaniu się tej pożywki, ilość tworzącego się gazu spadła do wartości kontrolnych. Natomiast zespół drobnoustrojów w Komorze 8 nie zdołał adaptować się do rozkładu szybko rosnących stężeń fenolu. Można by również przypuszczać, że bakterie saprofityczne przystosowały się do rozszczepiania pierścienia aromatycznego fenolu, jednak bakterie metanowe nie wytworzyły układów tolerujących wysokich koncentracji fenolu szybko rosnących w czasie doświadczenia.

Codzienne wprowadzanie 500 mg/l fenolu w początkowym okresie badania zahamowało fermentację metanową. (Komora 9 - rysunek 5). Nastąpił spadek gazowania poniżej wartości wykazywanych przez nie obciążone komory kontrolne. Po wprowadzeniu sumarycznej ilości 7000 mg/l fenolu, dawkowanie przerwano. Po zubożeniu środowiska wskutek przemiany w gaz substancji organicznej zawartej w osadzie i braku innej pożywki, drobno

ustroje przystosowały się do przyswajania fenolu. Od 26 dnia doświadczenia obserwowano gwałtowny wzrost szybkości gazowania, która następnie po wyczerpaniu się substratu fenolowego spadła do wartości kontrolnych.

Ostatnią serię adaptacyjną stanowiło obciążanie w przedziałach 1÷5-dniowych jeszcze bardziej drastycznymi, "uderzeniowymi dawkami" fenolu po 1000 mg/l (rysunek 6). Już w pierwszym dniu zasilania gazowanie spadło poniżej wartości w komorach kontrolnych. Z tego względu po wprowadzeniu 5-krotnej dawki czyli 5000 mg/l fenolu, dozowanie przerwano. Ilość wytwarzanego gazu fermentacyjnego była stale niższa od wartości kontrolnych. W ciągu dalszych 35 dni obserwacji wytwarzanie gazu utrzymywało się w pobliżu wartości zerowych, co wskazywało na zatrucie środowiska fermentacyjnego fenolem. Dawki 1000 mg/l wprowadzone do środowiska nie adaptowanego do rozkładu fenolu okazały się więc toksyczne dla istniejących organizmów bakteryjnych.

Po adaptowaniu środowisk fermentacyjnych do rozkładu fenolu w 60 dniu doświadczenia przeprowadzono analizę chemiczną i porównano z analizą wstępną użytego osadu technicznie przefermentowanego (tabela I). W układach adaptowanych ilości fenolu były resztkowe, rzędu kilku do kilkunastu mg/l wskutek całkowitej przemiany tego substratu w gaz. (Komora 1, 2, 3, 5, 7, 9 - tabela I).Natomiast w osadach które uległy zatruciu i wskutek tego nie osiągnęły adaptacji (Komora 8, 10, 11 - tabela I), ilości pozostałego fenolu były równe wprowadzonej dawce tego związku. Stwierdzono wyraźnie spadek kwasów lotnych w osadach adaptowanych w porównaniu z analizą wstępną. W Komorach 8, 10, 11 (tabela I), w których nastąpiło zahamowanie fermentacji metanowej, stężenie kwasów lotnych było kilkakrotnie wyższe. W środowiskach w których przebiegała fermentacja metanowa fenolu, spadek suchej pozostałości ogólnej i straty przy prażeniu był znaczny. W układach zatrutych, w których nastąpiło zahamowanie fermentacji metanowej, sucha pozostałość zmniejszyła się nieznacznie w porównaniu z analizą wstępną osadu.W układach zarówno adaptowanych, jak i nieadaptowanych, wartości pH (8,2-8,7) pozostały prawie stałe, lecz w stosunku do osadu przed adaptacją, zaznaczył się wzrost wartości pH.

W celu zbadania dynamiki rozkładu dużej, jednokrotnie wprowadzonej dawki fenolu użyto adaptowanego środowiska fermentacyjnego. Porcja fenolu musiała być współmierna ze stosowaną w serii adaptacyjnej. Opierając się na najwłaściwszym sposobie adaptacji, wyznaczonym w doświadczeniach po-

czątkowych zastosowano dozowanie w Komorze A i B w odstępach 3÷4-dniowych rosnących ilości fenolu od 100 mg/l do 1800 mg/l (rysunek 8). Całkowita ilość wprowadzonego substratu wynosiła 19300 mg/l. Odpowiadało to wytworzeniu 24103 ml gazu fermentacyjnego, co stanowi 87% wartości teoretycznej (tabela III - Komora B). Przeprowadzona analiza chemiczna osadów (tabela II) w 70 dniu adaptacji wykazała ilości fenolu rzędu kilka mg/l, pochodzące z ostatniej dawki 1700 mg/l, wprowadzonej w 66 dniu doświadczenia (rysunek 8). Pozwoliło to stwierdzić, że cała ilość wprowadzonego fenolu ulegała w ciągu 4 dni całkowitej przemianie w gaz. Zmiany innych wielkości analitycznych zachodziły w sposób typowy dla fermentacji metanowej.

Dynamikę rozkładu fenolu w warunkach periodycznie przeprowadzonej fermentacji metanowej wyznaczono przez wprowadzenie porcji 1800 mg/l do adaptowanego środowiska. (Komora A i B - rysunek 9 i 10). Komora C nie obciążona fenolem służyła dla kontroli tego doświadczenia (rys. 11). Maksymalna ilość gazu fermentacyjnego tworzyła się po 24 godzinach od chwili wprowadzenia dawki 1800 mg/l fenolu do Komory A i B Gazowanie spadało po 96 godzinach do wartości w kontrolnej Komorze C. Po 12 godzinach fermentacji metanowej, zawartość fenolu zmniejszyła się o około 70%, a ilość kwasów lotnych o 85%, przy utrzymujących się jednocześnie na jednakowym poziomie wartościach suchej pozostałości ogólnej i lotnej oraz pH. W czasie 60 godzin fermentacji fenol zanikał do stężeń szczątkowych.

W czasie fermentacji fenol ulegał przemianie w gaz fermentacyjny w sposób na ogół zgodny ze stechiometrycznym równaniem BUSWELLa (tabela III). Doświadczalne ilości tworzącego się gazu były z reguły niższe od obliczonych wartości teoretycznych. Można by to tłumaczyć w ten sposób, że nie cała ilość fenolu ulegała przemianie w metan i dwutlenek węgla, stając się dla organizmów źródłem energii; część substratu służyła jako materiał budulcowy dla nowych komórek mieszanej populacji drobnoustrojowej. Zdarzało się również, że w okresie adaptacyjnym w czasie dawkowania fenolu, dobowa ilość tworzącego się gazu fermentacyjnego była znacznie mniejsza od przewidywanej stechiometrycznie. Natomiast sumaryczna objętość wytworzonego gazu w całym procesie fermentacyjnym była bliska ilości teoretycznej obliczonej z równania BUSWELLa (tabela III - Komora 7). Było to związane z zahamowaniem fermentacji w niektórych komorach w początkowym okresie adaptacyjnym. Następnie, po przystosowaniu się drobnoustrojów wprowadzony fenol został przemieniony w gaz.

Rozkład fenolu w fermentacji metanowej obserwowany w seriach adaptacyjnych oraz w czasie badania dynamiki tego procesu zachodził w sposób podobny. Świadczą o tym zbliżone wartości szybkości rozkładu fenolu. Można przypuszczać, że w środowisku adaptowanym do rozkładu fenolu istnieje zespół drobnoustrojów populacji mieszanej, składającej się z bakterii saprofitycznych, zdolnych do rozkładu pierścienia aromatycznego oraz bakterii metanowych tolerujących duże stężenia fenolu, które mogą metabolizować produkty przemiany materii saprofitów.

Wyniki przeprowadzonych badań pozwalają na przypuszczenie, że fermentacja metanowa może służyć jako metoda biochemicznego oczyszczania ścieków fenolowych po należytym wpracowaniu i adaptacji środowiska fermentacyjnego. Pożądane są jednak dalsze badania laboratoryjne i półtechniczne, w których zamiast czystego fenolu stosować się będzie ścieki fenolowe, zawierające fenol i jego homologi wraz z substancjami towarzyszącymi.

S t r e s z c z e n i e

W literaturze brak systematycznych badań nad rozkładem fenolu w beztlenowym środowisku fermentacji metanowej. Zagadnienie to jest ważne dla biochemicznego oczyszczania fenolowych wód poprodukcyjnych i określenia odporności komór fermentacyjnych na przypadkowe doprowadzenie fenolu.

Wyniki przeprowadzonych badań stwierdzają, że proces mezofilowej fermentacji ulega łatwemu przystosowaniu do rozkładu fenolu. Doświadczenia przeprowadzone w warunkach fermentacji periodycznej, w której fenol był jedynym substratem organicznym, wprowadzonym do środowiska fermentacyjnego. Substrat ten ulegał przemianie w gaz fermentacyjny w sposób na ogół zgodny ze stechiometrycznym równaniem BUSWELLa.

Stwierdzono, że szybką adaptację do rozkładu fenolu można wywołać przez wprowadzanie w odstępach 2÷3-dniowych rosnących dawek od 100 do 3000 mg/l fenolu, co nie przekracza jeszcze maksymalnej zdolności adaptacyjnej fermentacji. Wydaje się, że fermentacja metanowa fenolu jest najbardziej wydajna dla stężenia fenolu rzędu 2000 mg/l, które zostają całkowicie rozłożone w ciągu trzech dni fermentacji. Natomiast daw-

ki uderzeniowe rzędu 500 lub 1000 mg/l fenolu wprowadzane w ciągu kilku dni do nie adaptowanego środowiska fermentacyjnego, silnie hamują lub niszczą fermentację metanową.

Obserwacje dynamiki beztlenowego rozkładu fenolu stwierdzają że fenol może być substratem adaptowanej fermentacji metanowej. Przeprowadzone badania pozwalają przypuszczać, że fermentacja metanowa może służyć do biochemicznego oczyszczania ścieków fenolowych po należytym wpracowaniu i adaptacji środowiska fermentacyjnego.

Politechnika Śląska
Katedra Technologii Wody i Ścieków

LITERATURA

[1] STANIER R.Y.: "Problems of Bacterial Oxidative Metabolism", Bact. Rev. 14, 179 (1950).

[2] EVANS W.C., SMITH B.S., LINSTEAD R.P. i ELVIDGE J.A.: "Chemistry of the Oxidative Metabolism of Certain Aromatic Compounds by Micro-organisms", Nature 168, 772 (1951).

[3] ROGOFF M.H.: "Oxidation of Aromatic Compounds by Bacteria" - w "Advances in Applied Microbiology", t.III, Acad. Press, New York (1961).

[4] CHMIELOWSKI J.: "Mechanizm biochemicznego rozkładu fenoli przez drobnoustroje", Postępy Mikrobiologii (w druku)

[5] TARVIN D. i BUSWELL A.M.: "The Methane Fermentation of Organic Acids and Carbohydrates", J.Amer.Chem. Soc. 56, 1751 (1934).

[6] ETTINGER M.B., MOORE W.A. i LISHKA R.J.: "Anaerobic Persistence of Phenol and o-Cresol", Ind.Eng.Chem. 43, 1132 (1951).

[7] MADERA V.: "Application of Biochemical Reduction for Industrial Wastes", J.Inst.Sew.Pur., 397 (1957).

[8] NOACK W. i JENDREYKO H.: "Einfluss von Kaliumcyanid im Frischschlamm auf die Schlammfaulung" Technisch-Wissenschaftliche Mitteilungen. 2, 59 (1960).

[9] CHMIELOWSKI J., SIMPSON J.R. i ISAAC P.C.G.: "Use of Gas Chromatography in Sludge Digestion", Sew.Ind.Wastes 31, 1237 (1959).

[10] CHMIELOWSKI J.: "Kinetyka i mechanizm fermentacji metanowej" - Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej, Chemia Nr 17, Gliwice (1963).

[11] LURJE J.J. i RIBNIKOWA A.I.: Chimiczieskij analiz pro izwodstwiennych stocznych wod", Goschimizdat, Moskwa (1963).

[12] STANDARD METHODS for the Examination of Water, Sewage, and Industrial Wastes, wyd.10, Amer.Publ. Health Assn. New York (1955).

[13] BUSWELL A.M. i HATFIELD W.D.: "Anaerobic Fermentations" Illinois State Water Survey, Bul. No 32 (1939).

[14] BUSWELL A.M.: "Fermentations in Waste Treatments" w "Industrial Fermentations", t.II, Chemical Pub., New York (1954),

РАСПАД ФЕНОЛА В МЕТАНОВОМ БРОЖЕНИИ

Резюме

В литературе нет систематических исследований по распаду фенола в анаэробной среде метанового брожения. Этот вопрос важный для биохимической очистки фенольных сточных вод и для определения сопротивления метантенков на случайный подвод фенола. Результаты произведенных исследований убеждают в том, что процесс мезофилевого брожения подвергается свободной адаптации на распад фенола. Опыты проведенные в условиях периодического брожения, в котором фенол был единым органическим субстратом, введенным в среду брожения.

Этот субстрат превращался в ферментационный газ по способу, главным образом; согласному стехиометрическому уравнению Бюзуела.

Пришли к заключению, что быструю адаптацию на распад фенола можно вызвать путем введения в 2-3 дневных промежутках времени растущих прибавок от 100 до 3000 мг/л фенола, что не превосходит еще максимальной адаптационной способности брожения.

Кажется, что метановое брожение фенола наиболее эффективно для концентрации фенола ряда 2000 мг/л, который полностью распадается на протяжении трех дней брожения. Но ударные дозы ряда 500 или 1000 мг/л фенола, введенные на протяжении нескольких дней в неадаптированную среду брожения, очень задерживают или уничтожают метановое брожение.

Наблюдения анаэробного распада фенола показывают, что фенолы могут быть субстратом адаптированного метанового брожения.

Проведенные исследования дают возможность предполагать что метановое брожение может применяться для биохимической очистки фенольных сточных вод после надлежащей разработки и адаптации среды брожения.

Силезский Политехнический Институт
Кафедра Технологии Воды и Сточных Вод

THE ANAEROBIC DECOMPOSITON OF PHENOL DURING METHANE FERMENTATION

Summary

Detailed studies of the decomposition of phenol during the methane fermentation are lacking in the literature.This problem is of impotance for the biochemical purification of phenolic waste waters and for the determining the resistance of anaerobic digesters to the sudden, incidental phenol feed.

The results of the performed investigations show that the process of mesophilic methane fermentation can be readily adapted to anaerobic phenol degradation. These investigations were carried out in batch conditions, where phenol was only organic substrate fed to the fermentation environment. Under these conditions fenol was converted to fermentation gas accordingly to the stechiometric equation of BUSWELL.

It was found that the adaptation of this fermentation process to the decomposition of phenol can be achieved by feeding the increasing doses of 100 to 3000 p.p.m of phenol at 2 to 3 days intervals. It seems that the methane fermentation of phenol is most efficient for the phenol concentration of 2000 p.p.m, which is completely converted to fermentation gas during 3 days of process. On the contrary, the shock loadings of 500 or 1000 p.p.m. of phenol into unadapted fermentation environment during a few days strongly inhibit or destroy methane fermentation process.

The observations of the course of anaerobic phenol degradation show that phenol can be used as a subtrate for the adapted methane fementation. This process could be useful to the biochemical purification of phenolic waste waters.

Silesian Technical University at Gliwice
Laboratory of Water and Waste Waters Technology