

Joanna KARPIŃSKA-SMULIKOWSKA, Grażyna SOKALSKA

Politechnika Wrocławska, Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska
50-370 Wrocław, Wybrzeże Wyspiańskiego 27

MIKROBIOLOGICZNE ŁUGOWANIE METALI CIĘŻKICH Z NADMIERNEGO OSADU CZYNNEGO PRZEZ AUTOCHTONICZNE ACIDOFILNE DROBNOUSTROJE UTLENIAJĄCE SIARKĘ

Streszczenie. Badano możliwość mikrobiologicznego ługowania metali ciężkich (Cu, Ni, Cd, Zn, Cr, Pb) z nadmiernego osadu czynnego przez adaptowane autochtoniczne acidofilne drobnoustroje siarkowe. Stwierdzono, że drobnoustroje te zdolne były do uwalniania metali ciężkich z osadu nadmiernego. Metale ługowane były z różną wydajnością. Największy procent stwierdzono dla cynku - 100%. Miedź uwalniana była w około 91%, nikiel w 56%, chrom w 63%, kadm w 55%, a ołów tylko w około 9%.

MICROBIOLOGICAL LEACHING OF HEAVY METALS FROM EXCESS ACTIVE SLUDGE THROUGH AUTOCHTONIC SULFUR-OXIDIZING MICROORGANISMS

Summary. The possibility of microbiological leaching of heavy metals (Cu, Ni, Cd, Zn, Cr, Pb) from excess active sludge through adapted autochtonic sulfur-oxidizing microorganisms was investigated. Conclusion: the microorganisms were capable of the heavy metals releasing from excess active sludge. The leaching metals were freed with different efficiency. Highest procent was observed for zinc-100%. Copper was freed at about 91%, nickel at 56%, chromium at 63%, cadmium at 55% and lead only at about 9%.

WSTĘP

Zagadnienie zagospodarowania osadów ściekowych staje się coraz bardziej palącym problemem. Jednym ze sposobów zastosowania jest ich wykorzystanie w rolnictwie do celów nawozowych. Głównymi czynnikami ograniczającymi możliwość ich rolniczego wykorzystania (zwłaszcza osadów ściekowych pochodzących z dużych i średniej wielkości oczyszczalni) jest nadmierna zawartość w tych osadach metali ciężkich oraz nadmierne skażenie biologiczne.

Znaczny procent metali ciężkich i organicznych substancji toksycznych pochodzących ze ścieków kumuluje się w osadach [2].

Metale w osadach ściekowych występują w różnych formach:

- w tkankach organizmów żywych i obumarłych,
- zaadsorbowane przez substancję organiczną,
- w połączeniach kompleksowych ze związkami organicznymi,
- w postaci siarczków lub tlenków.

Korzystne właściwości nawozowe osadów ściekowych są przyczyną poszukiwania metod pozwalających na obniżenie stężenia zawartych w nich substancji toksycznych, takich jak między innymi metale ciężkie. Ze względu na to, że metale ciężkie w osadach ściekowych występują głównie w formie trudno rozpuszczalnych związków, przeprowadzenie ich w postać rozpuszczalnych siarczanów jest metodą na zmniejszenie ich koncentracji w osadach. Uwolnione z części stałych metale przechodzą do cieczy nadosadowej.

Od pewnego czasu pojawiło się zainteresowanie mikrobiologicznymi metodami ługowania metali ciężkich z osadów ściekowych. Od szeregu lat metody takie są stosowane na skalę przemysłową do ługowania metali ciężkich z ubogich, naturalnych złóż, szczególnie złóż miedzi i uranu.

Do prowadzenia procesów mikrobiologicznego uwalniania metali z ich siarczkowych połączeń zdolne są w praktyce mikroorganizmy zakwaszające środowisko. Szczególnie ważną i licznie reprezentowaną grupą drobnoustrojów zdolnych do znacznego zakwaszania środowiska są chemoautotroficzne bakterie siarkowe wykorzystujące zredukowane związki siarki jako źródło energii. Występują one zarówno w glebie, wodzie i osadach dennych. Odgrywają główną rolę w procesie krążenia siarki w ekosystemach, a także mają ogromny wpływ na zjawisko uruchamiania metali znajdujących się w środowisku [14].

Autotroficzne drobnoustroje silnie zakwaszające środowisko są szczególnie aktywne metabolicznie, ponieważ muszą wydatkować znaczne ilości energii w celu asymilacji dwutlenku węgla do związków organicznych i do usunięcia z komórki kwasu siarkowego powstającego w wyniku procesu utleniania mineralnych połączeń siarki [11]. Wynikiem dużego zapotrzebowania energetycznego autotroficznych bakterii tlenowych jest więc intensywne produkowanie kwasu siarkowego będącego końcowym produktem utleniania siarki. Skutkiem tego jest wzrost reaktywności roztworów wodnych, które pomagają w rozpuszczaniu pierwiastków metalicznych.

Szczególnie aktywne w procesie utleniania nieorganicznych związków siarki są bakterie z rodzaju *Thiobacillus*. Są one rozpowszechnione w przyrodzie i występują w bardzo zróżnicowanych środowiskach. Mogą żyć w warunkach ekstremalnych temperatur (gorące źródła) w odczynie alkalicznym (pH 8) i w skrajnie kwaśnym środowisku (pH około 1) [14]. Mogą również utleniać siarkę w związkach nieorganicznych na różnym stopniu utlenienia. Zdolność wykorzystywania przez gatunki bakterii tlenowych kilku różnych związków mineralnych siarki, jak również możliwość zasiedlania środowisk o różnym odczynie stwarza tym bakteriom warunki do sukcesji ekologicznej w ramach tej grupy fizjologicznej. W środowisku alkalicznym uaktywniają się bakterie zdolne do wzrostu przy pH8 i zakwaszają je do stężenia jonów wodorowych odpowiadających odczynowi lekko kwaśnemu (6-4 pH). Tę grupę określa się mianem drobnoustrojów słabo acidofilnych.

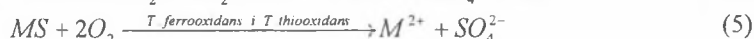
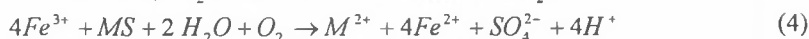
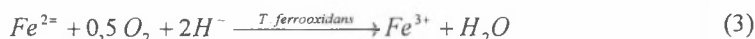
Obniżenie kwasowości środowiska stwarza możliwości rozwoju drugiej grupie bakterii siarkowych określanymi mianem silnie acidofilnych. Niektóre gatunki bakterii mają zdolność zakwaszania podłoża aż do pH 1,1 (*Thiobacillus thiooxidans*).

Drobnoustroje biorące udział w procesach utleniania nieorganicznych związków siarki ze względu na swe optymalne wymagania dotyczące odczynu środowiska, niezależnie od swojej przynależności systematycznej, dzieli się na dwie grupy: na drobnoustroje słabo acidofilne o optimum pH=4 i silnie acidofilne o optimum pH = 2 [16].

Bakterie utleniają siarkę elementarną zgodnie z przedstawionymi poniżej reakcjami [9]:



Silnie acidofilne bakterie z rodzaju *Thiobacillus thiooxidans* i *ferrooxidans* przeprowadzają trudno rozpuszczalne siarczki metali (S^{2-}) do łatwo rozpuszczalnych siarczanów (S^{+6}) [5]. Zachodzi to według podanego niżej schematu:



Bakterie z rodzaju *Thiobacillus ferrooxidans*, zdolne do utleniania jonu żelazawego i nieorganicznych związków siarki, jak wykazały badania [15], uwalniają znacznie większe ilości metali ciężkich z osadów ściekowych, gdy mają do swej dyspozycji jako substrat oddechowy siarkę elementarną, a nie jon żelazawy (Fe^{+2}).

Celem pracy było przeprowadzenie mikrobiologicznego ługowania metali ciężkich z nadmiernego osadu czynnego w oparciu o acidofilne, autochtoniczne drobnoustroje utleniające siarkę.

MATERIAŁY I METODY

Materiały

Stosowany w badaniach osad nadmierny, pochodził z biologicznej oczyszczalni ścieków bytowo-gospodarczych miasta Świdnicy i był zagęszczany metodą sedymentacyjną.

Inokulant drobnoustrojów zdolnych do utleniania siarki uzyskano stosując metodykę opisaną przez Shoener i Tyagi [15] oraz Blaisa i innych [4]. Hodowlę zaszczepu o objętości 100 ml prowadzono w 0,5 l kolbach Erlenmayera w temperaturze pokojowej, która w tym czasie wahała się w granicach od 22°C do 26°C. Próby w czasie badań mieszano na wytrząsarce o ruchach horyzontalno-orbitalnych, poruszającej się z częstotliwością 120 obr./min. W pracy zastosowano dziesięciodniową hodowlę drobnoustrojów siarkowych o pH 1,2.

Metody

Badania prowadzono zgodnie z metodą opisaną przez Shoener i Tyagi [15] w kolbach Erlenmayera o objętości 0,5 l, w temperaturze pokojowej, na wytrząsarce. Próby badane (8 powtórzeń) zawierały 90 ml osadu 10 ml inokulantu i 0,5 g sterylnej siarki pierwiastkowej,

natomiast próby kontrolne zawierały wyłącznie osad nadmierny. Codziennie pobierano sterylnie po 3 ml osadu z każdej próby badanej i kontrolnej. Próby jednostkowe łączono i przygotowywano uśrednioną próbę badaną i kontrolną.

Badania prowadzono w pełnej próbie osadu lub w cieczy nadosadowej (tzw. supernatant). Supernatant otrzymywano postępując zgodnie z metodyką podaną przez Blaisa [3]. Próbę badanego osadu, natychmiast po pobraniu, wirowano przez 15 min w temperaturze 4°C przy sile odśrodkowej 20414 g (15300 obr/min).

W pełnej próbie nadmiernego osadu czynnego na początku i na końcu badań oznaczano wilgotność [8] oraz metale ciężkie (po uprzedniej kwaśnej mineralizacji osadu nadmiernego) metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej na spektrofotometrze GBC - Avanta. Codziennie oznaczano pH, potencjał oksydacyjno-redukcyjny z zastosowaniem żelowej elektrody zespolonej. Potencjał mierzono po 5 min od chwili wprowadzenia elektrody do badanej próby, a wyniki podawano jako wartość potencjału względem nasyconej elektrody Ag/AgCl-KCl.

W supernatancie w pierwszym i w ostatnim dniu badań oznaczano wg [8]: suchą pozostałość (sucha masa), pozostałość po prażeniu (substancje mineralne), straty przy prażeniu (substancje organiczne), ChZT - metodą dwuchromianową, azot ogólny - metodą Kjeldahla, fosforany metodą fotokolorymetryczną [12]. Codziennie oznaczano: stężenie siarczanów i metali ciężkich. Siarczany oznaczano metodą turbidymetryczną [13]. Metale ciężkie, występujące w formie rozpuszczalnej, oznaczano bezpośrednio (bez mineralizacji).

W celu określenia liczebności silnie acidofilnych drobnoustrojów w osadzie nadmiernym próby homogenizowano zgodnie z metodą Dudleya [7]. Liczebność bakterii silnie acidofilnych zdolnych do utleniania tiosiarczanów określano na podłożu stałym, metodą płytkową Kocha i podłożu płynnym metodą miana. Na zestalone agarem podłoże [1] o pH 4,5 z dodatkiem tiosiarczanu i błękitu bromofenolowego jako wskaźnika posiewano odpowiednio rozcieńczone homogenizowane próby. Drobnoustroje inkubowano w temp. 28°C przez 14 dni. Po inkubacji liczono ilość kolonii wokół których stwierdzono zmianę barwy z fioletowej na żółtą (pH poniżej 2,5).

Oznaczenie liczebności bakterii metodą miana prowadzono również na podłożu Bartona i Shively [1], z tiosiarczanem jako źródłem siarki, o pH 4,5 z dodatkiem błękitu bromofenolowego. W celu namnożenia bakterii próby inkubowano przez 10 dni w temperaturze 28°C. Po tym czasie notowano zmiany barwy podłoża. Pojawienie się barwy żółtej w próbach (pH około 2,5) dowodzi występowania drobnoustrojów silnie acidofilnych.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

Zestawienie wybranych parametrów fizyczno-chemicznych nadmiernego osadu czynnego w chwili rozpoczęcia badań i po 11 dobach mikrobiologicznego ługowania przedstawiono w tabeli 1.

Jak widać z danych, przedstawionych w tabeli, użyty w badaniach osad nadmierny charakteryzował się przeciętną zawartością suchej masy (18,45 g/l) i przeciętnym stopniem uwodnienia (98,13%).

Zawartości poszczególnych metali ciężkich w osadzie nadmiernym, stanowiącym materiał wyjściowy do badań nad mikrobiologicznym ługowaniem, były znaczne i zróżnicowane, lecz mieściły się w wartościach wykrywanych w osadach ściekowych innych oczyszczalni mechaniczno-biologicznych [2].

Tabela 1

Badane parametry fizyczno-chemiczne osadu nadmiernego przed i po 11 dobach mikrobiologicznego ługowania

Czas (doby)		t0	t11
Sucha masa osadu (105 ⁰ C)	g/l	18,44	23,31
Wilgotność osadu	%	98,13	97,32
Metale:			
Miedź	mg Cu/kg s.m.	476	424
Nikiel	mg Ni/kg s.m.	119	99
Kadm	mg Cd./kg s.m.	5,6	2,96
Cynk	mg Zn/kg s.m.	2060	1720
Chrom	mg Cr/kg s.m.	338	374
Ołów	mg Pb/kg s.m.	111	110
Rtęć	mg Hg/kg s.m.	śląd	śląd
Suma metali ciężkich	mg/kg s.m.	3109,6	2730

Badane metale stanowiły 0,31% suchej masy osadu(18,45g/l - 100%). W największych ilościach występował Zn i stanowił około 11,2%, Cu stanowiła około 2,6%, a Cr około 1,8% suchej masy. Udział Ni i Pb był na poziomie około 0,6%, natomiast Cd stwierdzono w ilości 0,03%. Hg występowała w ilościach śladowych.

Analogicznie przeprowadzone oznaczenia po 11 dobach mikrobiologicznego ługowania wykazały wyraźny wzrost suchej masy osadu oraz wzrost jego uwodnienia. Taka sytuacja jest z jednej strony spowodowana wprowadzeniem do próby osadu nadmiernego 0,5% siarki (co daje 5 g S⁰/l - będącej źródłem energii dla acidofilnych drobnoustrojów siarkowych). Stężenie siarki obniża się w czasie trwania procesu, ponieważ jest ona przekształcana w siarczany. Obecność siarczanów i chlorków zawsze jest przyczyną zawyżenia wyników suchej masy, ponieważ w ich obecności powstają związki wapnia i magnezu, które w temperaturze 105°C nie tracą wody krystalizacyjnej. W czasie trwania procesu mikrobiologicznego ługowania wiążącego się ze znacznym spadkiem odczynu następuje prawdopodobnie obniżenie ogólnej ilości biomasy drobnoustrojów pomimo rozwoju acidofilnych mikroorganizmów. Ocena zmian ilościowych biomasy osadu czynnego w czasie mikrobiologicznego ługowania metali ciężkich przez drobnoustroje siarkowe w oparciu o oznaczenie suchej masy okazała się niemożliwa.

W związku ze wzrostem suchej masy osadu oznaczonej po procesie mikrobiologicznego ługowania (wzrost od 18,45 g/l do 23,3 g/l) stwierdzono obniżenie procentowej zawartości poszczególnych metali w próbce w przeliczeniu na kg suchej masy. Obniżył się udział procentowy poszczególnych metali w suchej masie, a sumaryczna ilość metali po 11 dobach wynosiła 2730 mg/kg s.m.

Uzyskany po odwirowaniu supernatant, otrzymany bezpośrednio po pobraniu próby osadu nadmiernego oraz po 11 dobach mikrobiologicznego ługowania, charakteryzował się parametrami zamieszczonymi w tabeli 2.

Tabela 2

Badane parametry fizyczno-chemiczne supernatantu uzyskanego z osadu nadmiernego przed i po 11 dobach mikrobiologicznego ługowania

Czas (doby)		t0	t11
Sucha pozostałość (105 ⁰ C)	g/l	1237	13610
Pozostałość po prażeniu (550 ⁰ C)	mg/l	905	3888
Substancje lotne	mg/l	332	9722
ChZT	mgO ₂ /l	386,4	1088
Odczyn	pH	6,5	1,4
Siarczany	mgSO ₄ ⁻² /l	15,84	5508
Azot	mgN/l	56	518
Fosfor po mineralizacji	mgP/l	167,2	415
Metale:			
Miedź	mg Cu/l	0,009	7,96
Nikiel	mg Ni/l.	0,057	0,709
Kadm	mgCd./l.	<0,005	0,057
Cynk	mg Zn/l.	<0,005	40
Chrom	mg Cr/l.	0,01	3,93
Ołów	mg Pb/l.	0,039	0,177
Rtęć	mg Hg/l.	0	nie badano
Suma metali ciężkich	mg/l.	<0,125	52,833

Przeprowadzone badania fizyczno-chemiczne cieczy nadosadowej w próbie osadu nadmiernego służącego jako materiał wyjściowy, jak i po mikrobiologicznym ługowaniu pozwoliły stwierdzić znaczne zmiany w jego składzie.

Zaobserwowano znaczny wzrost wszystkich badanych parametrów. Świadczy to o uwalnianiu znacznych ilości substancji z osadu do supernatantu.

Dziesięciokrotny wzrost ilości suchej pozostałości, czterokrotny - pozostałości po prażeniu, trzydziestokrotny - ilości substancji lotnych i trzykrotny wzrost ChZT świadczy o wyraźnym wzroście ilości substancji rozpuszczalnych w cieczy nadosadowej. Znaczący wzrost ilościowy pozostałości po prażeniu wskazuje na to, że do roztworu uwalniane są znaczne ilości związków organicznych, których głównym źródłem jest prawdopodobnie biomasa osadu.

Zaobserwowano również wyraźny wzrost stężenia azotu ogólnego i fosforu (substancji biogennych) w cieczy nadosadowej. Świadczy to jednoznacznie o zubożeniu osadu w substancje nawozowe.

Omówionym powyżej zjawiskom towarzyszyło zwiększenie poziomu badanych metali ciężkich. Całkowita ilość badanych metali (Cu, Ni, Cd, Zn, Cr, i Pb) w supernatancie w chwili wprowadzenia acidofilnych drobnoustrojów siarkowych wynosiła 0,125 mg/l natomiast po 11 dniach badań wzrosła do 56,8 mg/l. Obserwowanemu przyrostowi stężenia metali ciężkich

w supernatancie towarzyszyło obniżenie odczynu próby osadu nadmiernego z 6,5 pH do 1,4 pH. Również w wyniku 11-dobowej inkubacji prób zanotowano znaczną zmianę potencjału oksydacyjno-redukcyjnego i stężenia siarczanów. Stwierdzono wzrost potencjału od 71 mV do 750 mV. Stężenie siarczanów w osadzie nadmiernym w chwili rozpoczęcia badań wynosiło 15,8 mg $\text{SO}_4^{-2}/\text{l}$, a po 11 dniach od momentu wprowadzenia do próby osadu nadmiernego siarki i inokulanta acidofilnych drobnoustrojów stężenie siarczanów wzrosło aż do 5508 mg $\text{SO}_4^{-2}/\text{l}$.

Określono ilość mikroorganizmów acidofilnych w świeżym osadzie nadmiernym. Liczebność silnie acidofilnych drobnoustrojów - oznaczona metodą płytkową - wynosiła 40 komórek w 1 ml osadu nadmiernego. Po wprowadzeniu inokulanta do osadu nadmiernego liczba drobnoustrojów silnie acidofilnych wzrosła do 13 milionów komórek w 1 ml osadu. Po 11 dobach prowadzenia procesu mikrobiologicznego ługowania liczebność drobnoustrojów silnie acidofilnych wzrosła do 300 milionów komórek w 1 ml osadu nadmiernego.

Wyniki, jakie otrzymano dla pierwszego i ostatniego dnia, świadczą o rozwoju silnie acidofilnej mikroflory w badanym okresie.

Tabela 3

Zmiany odczynu próby badanej i kontrolnej, potencjału ox-red, siarczanów oraz miana drobnoustrojów silnie acidofilnych w czasie mikrobiologicznego ługowania.

Czas [doby]	Odczyn pH próba kontrolna	Odczyn pH próba badana	Potencjał ox-red próba badana	Siarczany mg/l próba badana	Miano silnych acidofili próba badana
0	6,5	6	71	278,5	0,000001
1	7,3	6,1	65	375,7	0,000001
2	7,1	7,1	-43,2	354,6	0,000001
3	7,4	6,8	-29	468	0,000001
4	7,2	5,7	91,1	822,6	0,0000001
5	7	5,1	85,7	997,2	0,0000001
6	6,8	4	266	1872	0,0000001
7	6,9	3,4	267	1926	0,0000001
8	7	2,3	208,6	3195	0,00000001
9	7	2	726	3726	0,000000001
10	7,1	1,7	643	5526	0,000000001
11	7	1,4	750	5508	0,000000001

W tabeli 3 przedstawiono dane, jakie uzyskano z codziennego oznaczania: pH w próbie badanej i kontrolnej, potencjału oksydacyjno-redukcyjnego, siarczanów oraz miana silnie acidofilnych drobnoustrojów, a na rysunkach od 1 do 6 przedstawiono stężenia badanych metali w supernatancie oznaczane w czasie 11-dobowego mikrobiologicznego ługowania metali.

W trakcie prowadzenia procesu ługowania próby badanej stwierdzono znaczną zmianę odczynu. W czasie pierwszych dni zaobserwowano wzrost pH w stosunku do próby wyjściowej. Dopiero po 4 dobach nastąpił spadek odczynu próby poniżej wartości wyjściowej. W okresie od czwartej do jedenastej doby odczyn spadł o 4,3 pH osiągając w ostatnim dniu badań wartość 1,4 pH.

Równocześnie mierzono odczyn próby kontrolnej, do której nie wprowadzono siarki elementarnej i nie dodano acidofilnych drobnoustrojów. Odczyn próby kontrolnej w czasie 11 dni badań ulegał niewielkim wahaniom w granicach od 6,5 w chwili rozpoczęcia badań do 7,4 po trzeciej dobie. W 11. dniu odczyn próby wynosił 7 pH.

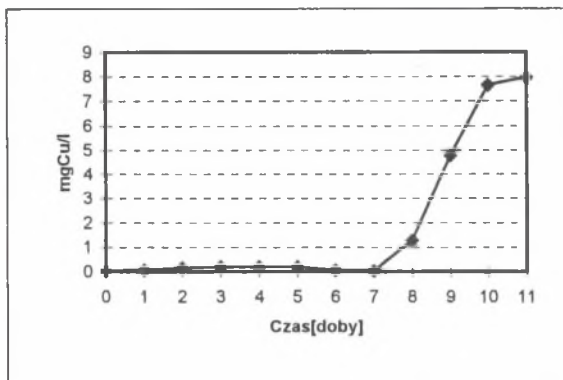
Jak widać z zestawienia wyników uzyskanych dla prób badanych i kontrolnych, odczyny w obu tych rodzajach prób różniły się zasadniczo, co wskazuje na to, że zachodzą w nich odmienne procesy.

Zaobserwowany kierunek zmian potencjału oksydacyjno-redukcyjnego w próbce badanej był odwrotny do zmian odczynu. W czasie znacznego spadku stężenia jonów wodorowych obserwowano wyraźny wzrost potencjału oraz zwiększanie poziomu siarczanów powstających w wyniku procesu utleniania siarki pierwiastkowej będącej źródłem energii dla acidofilnych drobnoustrojów odpowiedzialnych za proces mikrobiologicznego ługowania metali ciężkich z osadu nadmiernego. W czasie 11 dni badań odczyn próby obniżył się od 6 pH do 1,4 pH, a potencjał od 71 mV do 750 mV, natomiast stężenie siarczanów stopniowo wzrosło bezpośrednio po wprowadzeniu inokulanta od 278 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$ do około 820 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$ w czwartej dobie aż do 5508 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$ w ostatnim dniu badań. Wyniki te świadczą o wysokiej aktywności acidofilnych drobnoustrojów, a tym samym o korzystnych warunkach do przebiegu procesu ługowania metali ciężkich.

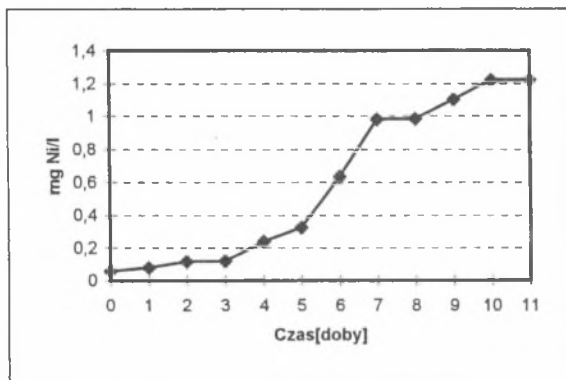
W czasie trwania procesu oznaczano liczebność acidofilnej mikroflory metodą miana. Uzyskane wyniki pozwoliły stwierdzić wzrost liczebności drobnoustrojów silnie acidofilnych odpowiedzialnych w głównej mierze za procesy mikrobiologicznego ługowania. Bezpośrednio po wprowadzeniu zaszczepu do badanego osadu obecność drobnoustrojów silnie acidofilnych stwierdzono w próbce o rozcieńczeniu 10^{-6} , czyli miano wynosiło 0,000001.

W pierwszej fazie doświadczenia nie stwierdzono wzrostu liczebności silnie acidofilnych drobnoustrojów. Dopiero w czwartej dobie eksperymentu zaobserwowano wzrost ich liczebności, gdy prawdopodobnie dzięki aktywności słabo acidofilnych mikroorganizmów spadł odczyn próby umożliwiając namnażanie się drobnoustrojom silnie acidofilnym. W ostatnim dniu prowadzenia procesu mikrobiologicznego ługowania miano silnie acidofilnych drobnoustrojów wynosiło 0,00000001. Zaobserwowano więc 1000-krotny wzrost liczebności tej grupy mikroorganizmów. Odpowiedzią na wzrost liczebności silnie acidofilnych mikroorganizmów był spadek odczynu próby do 1,4 pH w jedenastym dniu badań.

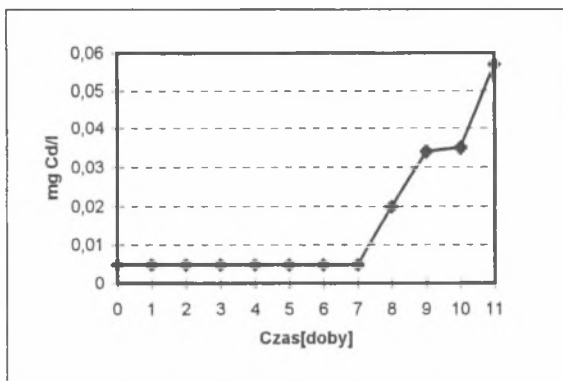
O wysokiej aktywności autochtonicznej mikroflory zastosowanej w pracy świadczy, oprócz stopnia zakwaszenia próby, podwyższenie potencjału oksydacyjno-redukcyjnego oraz ilość wytwarzanych siarczanów będących produktem ich oddychania.



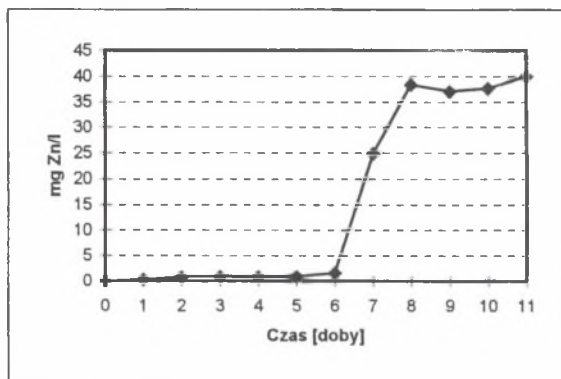
Rys. 1. Stężenie miedzi w supernatancie
 Fig. 1. Copper concentrations in supernatants



Rys. 2. Stężenie niklu w supernatancie
 Fig. 2. Nickel concentrations in supernatants

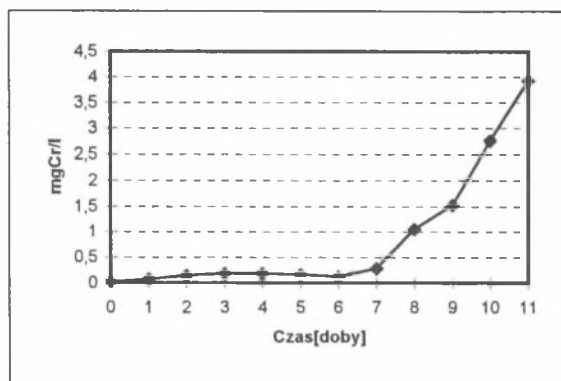


Rys. 3. Stężenie kadmu w supernatancie
 Fig. 3. Cadmium concentrations in supernatants



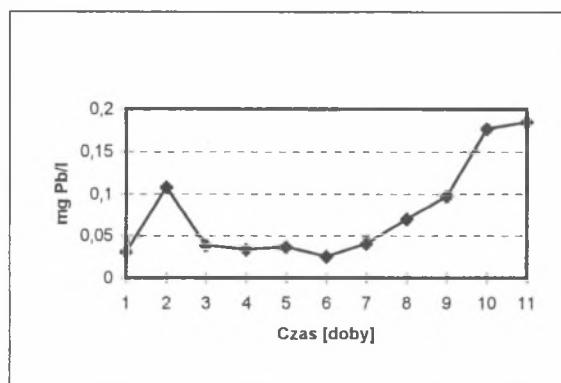
Rys. 4. Stężenie cynku w supernatancie

Fig. 4. Zinc concentrations in supernatants



Rys. 5. Stężenie chromu w supernatancie

Fig. 5. Chromium concentrations in supernatants



Rys. 6. Stężenie ołowiu w supernatancie

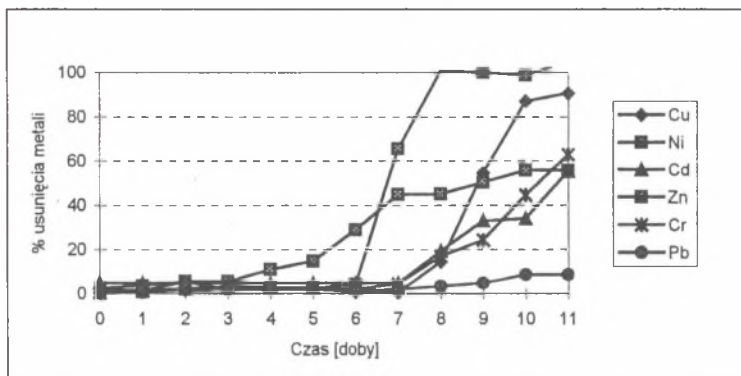
Fig. 6. Lead concentrations in supernatants

Na podstawie krzywych obrazujących zmiany ilości metali ciężkich w supernatancie w czasie trwania badań (rys. 1 - 6) można stwierdzić, że proces uwalniania metali ciężkich zachodzi z różną intensywnością. Dla wszystkich badanych metali stwierdzono wzrost uwalniania metali do roztworu między 7 - 8 dobą prowadzenia procesu, gdy odczyn próby spadł od poziomu 3,4 pH do 2,3 pH. W tym właśnie czasie stężenie siarczanów uległo prawie podwojeniu (wzrosło od 1926 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$ do 3195 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$). Wskazuje to na wyraźny związek między ilością uwolnionych metali a aktywnością utleniania siarki i przekształcania jej w jon siarczanowy.

Dla wszystkich badanych metali stwierdzono wzrost uwalniania metali do roztworu między 7 a 8 dobą prowadzenia procesu, gdy odczyn próby spadł od poziomu 3,4 pH do 2,3 pH. W tym właśnie czasie stężenie siarczanów uległo prawie podwojeniu (wzrosło od 1926 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$ do 3195 mg $\text{SO}_4^{2-}/\text{l}$). Wskazuje to na wyraźny związek między ilością uwolnionych metali a aktywnością utleniania siarki i przekształcania jej w jon siarczanowy.

Ilość uwolnionych metali z części stałych osadu nadmiernego oznaczono pośrednio, czyli przez określenie stężenia uwolnionych metali do supernatantu.

Ze względu na to, że ilość uwolnionych metali uzależniona jest w znacznym stopniu od ich zawartości w wyjściowym materiale, obliczono ilość poszczególnych metali w poddawanej ługowaniu masie osadu nadmiernego. (Przeliczenia te przeprowadzono w oparciu o znajomość suchej masy osadu nadmiernego - wynoszącej 18,45 g/l - i zawartości w niej poszczególnych metali w mg/kg suchej masy). Obliczona całkowita zawartość miedzi w ługowanej próbce wynosiła 8,78 mg Cu/l, niklu - 2,9 mg Ni/l, kadmu - 0,103 mg Cd/l, cynku - 37,999 mg/l, chromu - 6,235 mg Cr/l oraz ołowiu - 2,047 mg Pb/l. Wartości te przyjęto jako 100%. Poszczególne ilości metali, oznaczone w supernatancie w czasie prowadzenia procesu mikrobiologicznego ługowania, podano w postaci procentowego ubytku poszczególnych metali w czasie. Uzyskane, na podstawie obliczeń, dane przedstawiono na rysunku 7.



Rys. 7. Procent uwolnienia poszczególnych metali ciężkich z części stałych osadu nadmiernego do supernatantu

Fig. 7. The percentage of heavy metals releasing from undissolvable fractal of excess active sludge to the supernatant

Jak widać, różnie się kształtował procent ubytku poszczególnych metali w czasie prowadzenia procesu. Dla pięciu z sześciu badanych metali stwierdzono wysoki procent ługowania mieszczący się w granicach od około 55% aż do 100% - w przypadku cynku.

Ilość uwolnionych metali ciężkich malała wg następującej kolejności: Zn - 100%, Cu - 91%, Cr - 63%, Ni - 56%, Cd - 55%. Dla ołowiu znajdującego się na końcu podanego szeregu uzyskano niewielki % ługowania w stosunku do pozostałych metali. Wynosił on tylko około 9%.

Aktualnie prowadzone są badania nad usuwaniem metali ciężkich z cieczy nadosadowej, do której zostały uwolnione z osadu nadmiernego w wyniku mikrobiologicznego ługowania.

Reasumując, można stwierdzić, iż możliwe jest efektywne ługowanie metali ciężkich na drodze mikrobiologicznej. Zaobserwowano wyraźny wzrost intensywności mikrobiologicznego ługowania wszystkich metali po upływie ósmej doby, gdy nastąpiło obniżenie odczynu próby do pH 2,3. W tym czasie stwierdzono wzrost potencjału oksydacyjno-redukcyjnego, stężenia siarczanów oraz zwiększenie liczebności silnie acidofilnych drobnoustrojów odpowiedzialnych bezpośrednio za procesy mikrobiologicznego ługowania.

WNIOSKI

1. Zaadaptowane autochtoniczne acidofilne drobnoustroje siarkowe były zdolne do uwalniania skumulowanych metali ciężkich z osadu nadmiernego zmieszanego z osadem wstępnym pochodzącym z oczyszczalni ścieków miasta Świdnicy.
2. Metale ciężkie uwalniane były z różną wydajnością. Największy procent ługowania stwierdzono dla cynku - 100% i miedzi około 91%. Nikiel ługowany był w 56%, chrom - 63%, kadm - 55%, a ołów tylko w około 9%.
3. Stwierdzono wyraźny wzrost ilości uwalnianych metali między siódmym i ósmym dniem badań, gdy odczyn próby obniżył się z 3,4 pH do 2,3 pH.
4. Przyrostowi ilości ługowanych metali ciężkich towarzyszył wzrost liczebności silnie acidofilnych drobnoustrojów, spadek odczynu próby, wzrost potencjału oksydacyjno-redukcyjnego oraz przyrost ilości siarczanów.
5. W wyniku mikrobiologicznego ługowania metali zaobserwowano znaczny wzrost stężenia substancji rozpuszczalnych w supernatancie. Wiąże się to z ubytkiem ilości substancji nawozowych w nierozpuszczalnej frakcji osadu.
6. Sucha masa osadów ściekowych nie może być kryterium oceny zmian masy osadów w badaniach nad mikrobiologicznym ługowaniem prowadzonym przez acidofilne bakterie siarkowe. W wyniku procesów metabolicznych prowadzonych przez te drobnoustroje dochodzi do wytwarzania znacznych ilości siarczanów, które wraz z chlorkami magnezu w temperaturze 105°C nie oddają wody powodując zawyżenie wyników masy osadów.

LITERATURA

1. Barton L., Shively J.M.: *Phospholipids of Thiobacillus thiooxidans*. J.Bacteriol. 95, 720, 1968.
2. Bernacka J., Pawłowska L.: Przeróbka i zagospodarowanie osadów z miejskich oczyszczalni ścieków. Ocena sposobów oraz kierunki rozwiązań. IOŚ, Warszawa 1996.
3. Blais J.F., Auclair J.C., Tyagi R.D.: Cooperation between two *Thiobacillus* strains for heavy - metal removal from municipal sludge. Can J Microbiol 38, 181-187, 1992.
4. Blais J.F., Tyagi R.D., Auclair J.C.: Bioleaching of trace metals from sewage sludge by indigenous sulfur-oxidizing bacteria. J. enviro.Engng Div.,Am. Soc.civ.Engrs. 118, 690-707, 1993.

5. Couilliard D., Mercier G.: Water Environmental Research, An economic evaluation of biological removal of heavy metals from wastewater sludge, 66, 1, 32 -39, 1994.
6. Chmiel A.: Biotechnologia. PWN, Warszawa 1991.
7. Dudley D.J., Guentzel M.N. i inni: Enumeration of potentially pathogenic bacteria from sewage sludges. Appl. Envir. Microbiol. 39, 118-126, 1980.
8. Hermanowicz i inni: Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków. Arkady, Warszawa 1976.
9. Hutchins S.R., Davidson M.S., Briejy J.A., Briely C.L.: Microorganisms in reclamation of metals. Annu. Rev. Microbiol. 40, 311-336, 1986.
10. Kelly D.P., Harrison A.P.: Genus Thiobacillus. In Bergey's Manual of determinative Bacteriology (edited by Holt J.G. i nni) 3, 1842-1858. Williams & Wilkins, Baltimore, Md. 1988.
11. Kunicki-Goldfinger W., Frejolak S.: Podstawy mikrobiologii i immunologii. PWN, Warszawa 1977.
12. Polska Norma PN-88 C- 04537.
13. Polska Norma PN-79/C04566.
14. Schlegel H.G.: Mikrobiologia ogólna. PWN, Warszawa 1996.
15. Shoener F., Tyagi R. D.: Thermophilic microbial leaching of heavy metals from municipal sludge using indigenous sulphur-oxidizing microbiota. Appl. Microbiol. Biotechnol. 45, 440-446, 1996.
16. Sreekrishnan T.R., Tyagi R.D., Blais J.F., Meunier N., Campbell P.G.C.: Effect of sulfur concentration on sludge acidification during the SSDML process. Wat. Res. 30, 11, 2728-2738, 1996.

Abstract

Experiments concluded that the adapted autochthonic acidophilic sulfur oxidizing microorganisms were capable of freeing heavy metals from excess active sludge originating from the biological purification plant of the city of Świdnica. The heavy metals were freed with different efficiency. Zinc had the highest percentage of leaching-100%, copper: approximality 91, nickel at 56%, chromium at 63%, cadmium at 55% and lead only at 9%. Between the seventh and eighth day of studies were observed obvious increases in freeing metals - when the acidic level of experiments decreased from 3,4 pH to 2,3 pH. The increase of freeing metals was accompanied by the increase of strong acidophilic microorganisms, decrease of acidic levels, increase of oxidation/reduction potential and increased numbers of sulfate. Through results from microbiological leaching of metals was observed an obvious increase in the concentration of disolvable substance in supernatant. This is tied to the decrease in the amount of fertilizer substance in undissolvable fractal sludge.

Pracę wykonano na zlecenie Poltegor-Instytut w ramach kontraktu No ERBIC15 CT98 z Unią Europejską

Recenzent: Prof. dr hab. Stanisław Kalembasa