

MONIKA FABIAŃSKA, LUCYNA LEWIŃSKA – PREIS, JOLANTA BIEDROŃ
Wydział Nauk o Ziemi, Uniwersytet Śląski, Sosnowiec

DEGRADACYJNY WPŁYW PROCESU MIKROBIOLOGICZNEGO ODSIARCZANIA NA MATERIEŃ ORGANICZNĄ WĘGLI KAMIENNYCH

Streszczenie. Przeprowadzono badania nad wpływem procesu bioodsiarczania na skład bitumicznej frakcji węgla z KWK Janina badając metodami chromatograficznymi (tlc, gc-ms) ekstrakty frakcji gęstościowych wydzielonych z węgla surowego i poddanego procesowi bioodsiarczania. Stwierdzono występowanie znacznych zmian w składzie grupowym ekstraktów oraz w dystrybucji węglowodorów alifatycznych spowodowanych biodegradacyjnym wpływem procesu, a w tym: częściowy, a nawet w niektórych frakcjach całkowity zanik *n*-alkanów, izoprenoidów liniowych, alkilocykloheksanów i steranów oraz zauważalne zmiany w dystrybucji triterpanów penta- i tryklicyjnych. Frakcje węglowodorów aromatycznych uległy rozkładowi w mniejszym stopniu tracąc głównie związki lżejsze (alkilonaftaleny oraz w mniejszym zakresie alkilofenantreny).

Stwierdzono, że zakres efektów biodegradacji ekstraktów zależy od zawartości substancji mineralnej we frakcjach gęstościowych, tj. im wyższa zawartość substancji mineralnej, tym silniejsza biodegradacja. Materia organiczna frakcji gęstościowych może być klasyfikowana jako będąca na 4-5 stopniu biodegradacji (w skrajnym wypadku frakcji najsilniej zbiodegradowanej), a dla pozostałych na 2-3.

DEGRADATION INFLUENCE OF MICROBIAL DESULFURISATION PROCESS ON ORGANIC MATTER OF BLACK COALS

Summary. Influence of coal biodesulphurisation process on composition of bituminous fractions of the Janina coal was assessed by chromatographic methods (tlc, gc-ms). Extracts of density fractions of both crude and biodesulphurised coals were analysed. It was found that large changes occur due to biodegradation of biodesulphurised coal in group composition of the extracts and distribution of aliphatic hydrocarbons, among them: decrease in content or even in some fractions total loss of *n*-alkanes, acyclic isoprenoids, alkylcyclohexanes and steranes, and decrease in concentrations of penta- and tricyclic triterpanes. Fractions of aromatic hydrocarbons were biodegraded less than aliphatic hydrocarbons and only lighter compounds show alteration of distribution (alkylnaphthalenes and in the lower extend alkylphenanthrenes).

It was found that the extent of biodegradation effects depends on contents of mineral substances in the density fractions, e.i. the higher mineral concentration the stronger biodegradation. Organic matter of the density fractions is assessed to be at 4-5 biodegradation stage in the case of the strongest biodegraded fraction and 2-3 in the case of others.

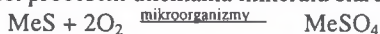
Wstęp

Szereg procesów technologicznych, stosowanych dla poprawienia jakości węgla jako paliwa energetycznego oraz surowca dla przemysłu chemicznego, wpływając dodatnio na jedne cechy, jak zawartość siarki niebezpiecznej dla środowiska, zmienia ich charakterystykę w odniesieniu do innych własności. Oszacowanie stopnia tych ubocznych zmian w obrębie materii organicznej węgla może pomóc w głębszym zrozumieniu ich mechanizmów, a stąd pozwolić na udoskonalenie samego procesu.

Dystrybucja acyklicznych, cyklicznych i aromatycznych biomarkerów, obecnych w bitumicznej frakcji osadowej materii organicznej stanowi istotne źródło informacji geochemicznej o warunkach depozycji pierwotnego materiału biologicznego, stopniu przeobrażenia i ewentualnych zmianach postdepozycyjnych, jak biodegradacja, wymywanie wodą i wpływy hydrotermalne. Związki te, dzięki strukturze odziedziczonej po ich biochemicznych prekursorach z jedynie z pewnymi zmianami chemicznymi zachodzącymi podczas depozycji, pozwalają na identyfikację zespołów organizmów, których szczątki uczestniczyły w powstawaniu osadowej materii organicznej [1-3]. Ponieważ biomarkery występują w niskich stężeniach w stosunku do całości materii organicznej, ich analiza jest możliwa dzięki wykorzystaniu chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Kilkadziesiąt grup związków, w tym: n-alkany, acykliczne izoprenoidy, diterpenoidy, triterpenoidy i steroidy, alkilonaftaleny i alkilofenentreny, triaromatyczne steroidy, a spośród związków funkcyjnych pochodne fenolu, karbazolu i tiofenu, jest wykorzystywanych w tych badaniach [3-5]. Stosunkowo mniej liczne, choć wartościowe są przykłady zastosowania analizy z wykorzystaniem biomarkerów do badań związanych z ochroną środowiska, w tym identyfikacja źródeł zanieczyszczeń wód materiałem ropopochodnym oraz powietrza produktami spalania [6,7].

1. Proces biologicznego odsiarczania węgla

Biologiczne odsiarczanie jest procesem utleniania minerału siarczkowego [8]:



W procesie tym stosuje się głównie bakterie: *Thiobacillus ferrooxidans* i *T. thiooxidans* [9] – chemoautotrofy o unikalnej zdolności do czerpania energii z nieorganicznych związków siarki, a węgla (C) potrzebnego do budowy komórek z dwutlenku węgla. Schemat reakcji bioodsiarczania ukazuje, że zmiany zachodzące w węglu w wyniku tego procesu dotyczą głównie jego substancji mineralnej. Wydaje się jednak, że nie pozostaje on bez wpływu na substancję organiczną, stąd celem poniższych badań było oszacowanie zmian zachodzących w składzie ekstrahowalnej frakcji węgla w czasie procesu bioodsiarczania.

2. Część eksperymentalna

2.1. Opis próbek węgla i ich charakterystyka

Materiałem badawczym był węgiel płomienny z KWK Janina (Nadwiślańskie Zagłębie Węglowe) i produkt jego bioodsiarczania. Węgiel surowy (tj. nie poddany temu procesowi) i bioodsiarczany rozseparowano na dziewięć frakcji gęstościowych, z których do analizy

Tabela 1

Skład elementarny i maceralny badanych frakcji gęstościowych oraz skład grupowy ich ekstraktów

Próbka	W [%]	A [%]	S _{tot} ^d [%]	C ^{daf} [%]	H ^{daf} [%]	N ^{daf} [%]	O ^{daf} [%]	Grupa Witry- nitu [%]	Grupa Egzy- nitu [%]	Grupa Inerty- nitu [%]	Substan- cja mineralna [%]	Ro [%]	Frakcja Alifaty- czna [%]	Frakcja Aroma- tyczna [%]	Frakcja polarna (całość) [%]	Frakcja polarna (zaadsor- bowana- straty) [%]
1/4	9.4	7.8	0.59	75.79	5.29	1.13	17.21	92	3	4	1	0.54	7.7	11.7	80.6	10.4
1/5	7.4	19.9	0.68	75.43	5.00	0.93	17.87	76	2	20	2		7.9	12.3	77.8	29.5
1/7	4.3	51.6	-	-	-	-	-	46	1	31	22		8.2	11.3	80.5	22.2
2/4	10.0	6.6	1.20	77.64	4.34	1.25	15.58	80	4	14	2	0.55	4.1	9.7	86.2	26.6
2/5	7.0	11.5	1.04	76.75	3.7	1.24	17.2	45	7	46	2		2.1	8.7	89.2	42.9
2/7	4.1	43.2	10.9	-	-	-	-	53	3	21	23		3.0	7.7	89.3	51.0

wybrano: 4) 1.34-1.42g/cm³, 5) 1.42-1.60g/cm³ i 7) 1.80-2.30g/cm³. Frakcje węgla surowego (1) oznaczono jako 1/4, 1/5 i 1/7, a analogiczne frakcje węgla bioodsiarczonego (2) jako 2/4, 2/5 i 2/7. Frakcja 1/4 posiadała najwyższy udział wityrnytu (92%), frakcje 1/5 i 1/7 - inertynitu (20 i 31%). Frakcja 1/7 cechowała się wysoką zawartością części mineralnej.

Badania petrograficzne obejmujące analizę zawartości macerałów i substancji mineralnej w próbkach węgla i ich frakcji gęstościowych przeprowadzono na zglądach ziarnowych przygotowanych wg PN-92/G-04563, a pomiary współczynnika refleksyjności wityrnytu (R_o) na zglądach ziarnowych zgodnie z PN-92/G4524. Analizę techniczną i elementarną przeprowadzono wg norm: wilgoć i popiół: PN-92/G-04560, siarkę całkowitą (S_{tot}^a) - PN-90/G-04514/16, węgiel (C^a), wodór (H^a), azot (N^a) przy użyciu analizatora LECO-CHN-600. Zawartość tlenu obliczono z różnicy w stanie suchym i bezpopiołowym.

Węgiel surowy i bioodsiarczony oraz ich wybrane frakcje gęstościowe ekstrahowano mieszaniną rozpuszczalników: CH₂Cl₂:MeOH=9:1 (v:v, 48h). Skład grupowy ekstraktów badano metodą chromatografii cienkowarstwowej na gotowych płytkach preparatywnych pokrytych żelazem krzemionkowym (Kiesegel 60, Merck; temp. aktywacji: 105°C, 30 min; ok. 50 mg próbki) rozwijanych w n-heksanie. Frakcje wydzielano na podstawie fluorescencji pasm w świetle UV: węglowodorów alifatycznych (brak), aromatycznych (niebieska) i związków polarnych (NSO+asfalteny) (brązowa) oraz porównując wartości R_f związków wzorcowych (n-eikozan, fenantren i chinolina) rozwijanych na tej samej płytce. Skład grupowy ekstraktów i jego zmiany będące efektem bioodsiarczenia przedstawia tabela 1.

2.2. Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas

Do analizy frakcji węglowodorów alifatycznych i aromatycznych zastosowano chromatograf gazowy HEWLETT-PACKARD HP5890 II wyposażony w kolumnę HP-5 (1 – 25 m, ϕ_{wew} - 0.20 mm, gr. filmu fazy stacj. - 0.25 m). Gaz nośny - He. Program temp.: 50°C (0 min), narost do 110°C (10°C/min), do 290°C (3°C/min), izotermiczne utrzymanie temp. w 290 °C (30 min). Chromatograf był połączony z detektorem mas HP 5971A (EI, 70eV). Badano zmiany dystrybucji: n-alkanów, izoprenoidów liniowych, alkilocykloheksanów, triterpanów tri- i pentacyklicznych i steranów, a spośród węglowodorów aromatycznych wybranych grup alkilonaftalenów i alkilofenantrenów oraz aromatycznych steroidów.

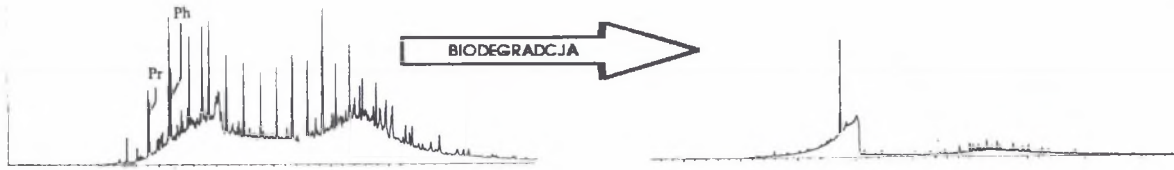
3. Wyniki i ich dyskusja

3.1. Zmiany w składzie grupowym spowodowane przez biodegradację

Zmiany ekstrahowalności, składu grupowego ekstraktów, dystrybucji biomakerów i wartości parametrów geochemicznych występujące wraz z różnicami składu maceralnego frakcji gęstościowych są stosunkowo niewielkie. Dominują nad nimi zmiany wywołane przez proces bioodsiarczenia, uwidaczniające się jako degradacja fazy bitumicznej węgla spowodowane przez bakterie. Zmiany te można podsumować w następujących punktach:

1) Zawartość związków alifatycznych w ekstraktach próbek bioodsiarczanych spada prawie dwukrotnie w stosunku do próbek surowych na skutek ich dużej podatności na

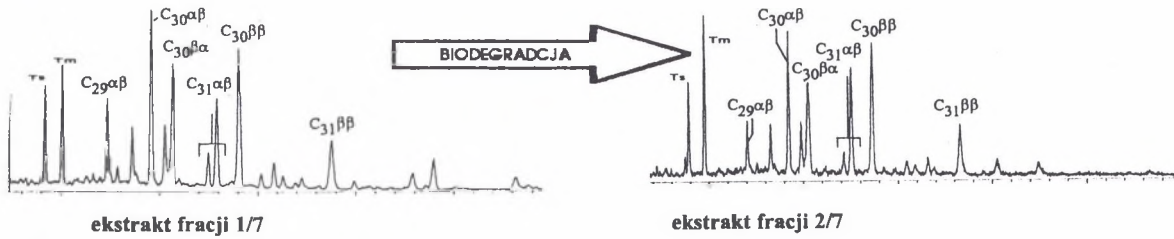
a. całkowity chromatogram jonowy frakcji (TIC)



b. dystrybucja steranów ($m/z=217$)

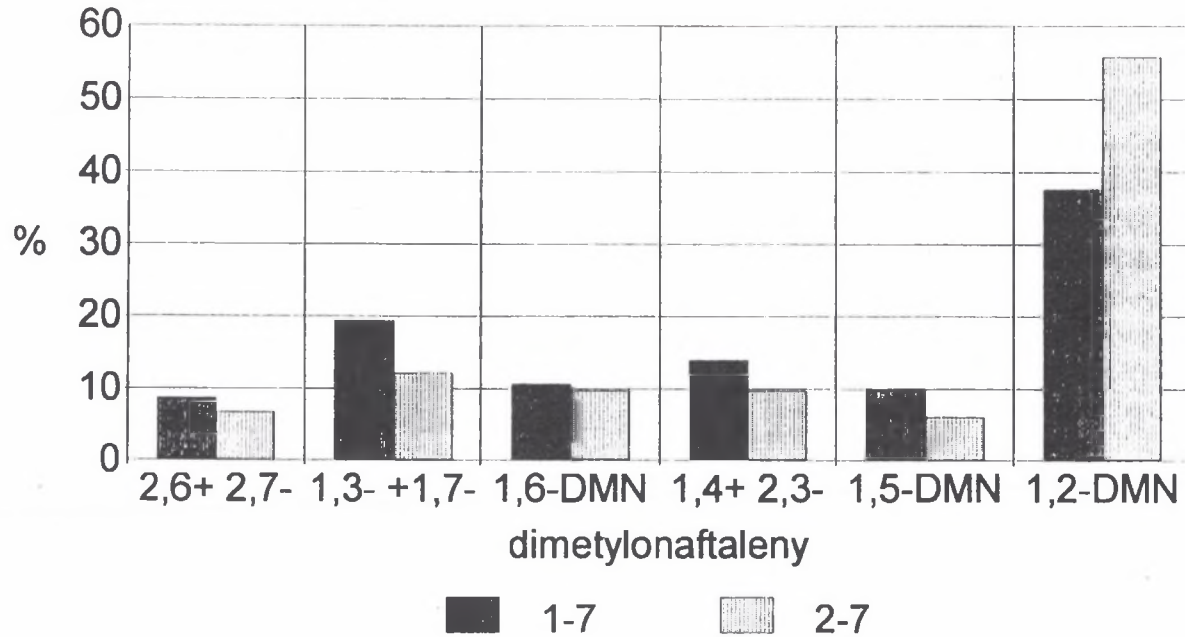


c. dystrybucja hopenów i moretanów ($m/z=191$)



Rys.1. Niektóre zmiany w dystrybucji węglowodorów alifatycznych (ekstrakty frakcji gęstościowej 1/7 i 2/7)
 Fig.1. Some of alterations in the aliphatic hydrocarbon distribution (the extracts of the 1/7 and 2/7 density fractions):

- a. Total Ion Chromatogram (TIC) of the fraction
- b. Sterane distribution ($m/z=217$)
- c. Distribution of hopanes and moretanes ($m/z=191$)



Rys.2. Zmiany procentowej zawartości dimetylnaftalenów w ekstraktach frakcji gęstościowych 1/7 i 2/7

Fig.2. Changes in the percentage content of dimethylnaphthalenes in the extracts of the 1/7 and 2/7 density fractions

Tabela 2

Parametry obrazujące zmiany w składzie chemicznym ekstraktów frakcji gęstościowych spowodowane biodegradacją

Próbka	Pr/Ph ¹⁾	(Pr+Ph)/ (n-C ₁₇ +n-C ₁₈)	S1/S2 ²⁾	CPI ³⁾	Tm/ C ₃₀ αβ ⁴⁾	Ts/ (Tm+Ts) ⁵⁾	C ₃₀ ββ/ C ₃₀ αβ ⁶⁾	C ₂₇ ααα/ C ₂₉ ααα ⁷⁾	1,2-DMN/ Σ DMN ⁸⁾	Fen/ ΣMFen ⁹⁾	(1,7-+2,7-DMFen) /ΣDMFen ¹⁰⁾
1/4	1.50	0.45	1.42	1.50	0.72	0.44	0.60	0.59	0.48	1.07	0.44
1/5	1.57	0.43	2.10	1.46	0.78	0.42	0.74	0.55	0.45	1.17	0.44
1/7	1.40	0.47	2.63	1.50	0.68	0.45	0.78	0.56	0.38	1.08	0.43
2/4	2.48	0.96	1.77	1.40	0.73	0.41	0.68	0.49	0.60	1.07	0.38
2/5	1.25	0.82	0.88	1.21	0.88	0.40	0.79	0.45	0.56	1.00	0.40
2/7	-	4.42	0.47	1.05	1.13	0.36	0.93	-	0.62	2.25	0.40

1) Pr/Ph- pristan/fitan

2) S1/S2²⁾ - iloraz sum stężeń n-alkanów (n-C₁₂-n-C₂₂)/(n-C₂₃-n-C₃₅)3) CPI³⁾ - Carbon Preference Index, iloraz wyrażający przewagę n-alkanów o nieparzystej ilości atomów węgla w cząsteczce4) Tm/C₃₀αβ - stosunek 17α(H)-22,29,30-trisnorhopanu do 17α(H), 21β(H)-hopanu

5) Ts/(Tm+Ts) - stosunek 18α(H)-22,29,30-trisnorneohopanu do sumy 17α(H)-22,29,30-trisnorhopanu i 18α(H)-22,29,30-trisnorneohopanu

6) C₃₀ββ/ C₃₀αβ - stosunek 17β(H), 21β(H)-hopanu do 17α(H), 21β(H)-hopanu7) C₂₇ααα/ C₂₉ααα - stosunek sumy diastereomerów 20S i 20R steranu C₂₇ 5α(H),14α(H),17α(H) do sumy diastereomerów 20S i 20R steranu C₂₉ 5α(H),14α(H),17α(H)

8) 1,2-DMN/Σ DMN - stosunek stężenia 1,2-dimetylnaftalenu do sumy pozostałych dimetylnaftalenów

9) Fen/ΣMFen - stosunek stężenia fenentrenu do sumy stężeń metylofenantrenów

10) (1,7-+2,7-DMFen)/ΣDMFen - stosunek sumy stężeń 1,7- i 2,7-dimetylofenantrenów do sumy pozostałych dimetylofenantrenów

biodegradację [10]. Biodegradacja związków aromatycznych jest ograniczona ich wyższą odpornością, ale także obniżaniem się ich stężeń (tab. 1).

2) Zawartość związków o wysokiej polarności nieodwracalnie zaadsorbowanych na żelu krzemionkowym znacznie wzrasta w próbkach bioodsączonych.

3) Stopień biodegradacji ekstraktów frakcji gęstościowych wykazuje ścisłą zależność od udziału w niej substancji mineralnych, zarówno w odniesieniu do ekstrahowalności, składu grupowego, jak i zmian w dystrybucji węglowodorów aromatycznych i alifatycznych. Stąd najsłabszy wpływ wykazuje frakcja gęstościowa 2/4, a najsilniejszy 2/7.

3.2. Zmiany w dystrybucji związków alifatycznych

Analiza poszczególnych frakcji związków alifatycznych wykazała:

1) Znaczne usunięcie n-alkanów. We frakcji gęstościowej o niskiej zawartości składników mineralnych (2/4) wpływ ten jest słaby i dotyczy n-alkanów o krótszych łańcuchach, co odzwierciedlają: wzrost wartości stosunku pristanu i fitanu do n-alkanów, relatywne podwyższenie pików innych izoprenoidów i zmiany stosunku wartości sumy stężeń n-alkanów krótkołańcuchowych do długołańcuchowych (tab. 2). W większym zakresie efekty te wystąpiły we frakcji 2/5, natomiast ekstrakt frakcji 2/7 utracił niemal całkowicie n-alkany i częściowo pristan i fitan. Jej materię organiczną można klasyfikować jako będącą na czwartym stopniu biodegradacji [11], a w pozostałych odpowiednio: 2/4 - na drugim, a 2/5 - na trzecim.

2) Dystrybucja alkilocykloheksanów zmieniła się w mniejszym stopniu pod wpływem biodegradacji niż n-alkanów, z wyjątkiem wysoko zbiodegradowanej frakcji 2/7.

3) Sterany były usuwane jako pierwsze przed hopenami, poczynając od cholestanów (C_{27}), aż do całkowitego zaniku we frakcji 2/7, co wskazuje na drugi typ biodegradacji [3]. Niezależnie od stopnia biodegradacji w żadnym ekstrakcie nie znaleziono norhopenów - biomarkerów występujących w wielu zbiodegradowanych ropach naftowych [12]. Dystrybucja hopenów zmieniła się w niewielkim stopniu. Zaobserwowano preferencyjny rozkład diastereomerów $\alpha\beta$ i $\beta\alpha$ w stosunku do $\beta\beta$ i wysoką odporność $17\alpha(H)-22,29,30$ -trisorhopanu.

3.3. Zmiany w dystrybucji związków aromatycznych

Generalnie dystrybucja związków aromatycznych zmieniła się w mniejszym stopniu niż alifatycznych, przy czym zmiany te głównie dotyczą alkilonaftalenów:

1) Metylonaftaleny zostały silnie zbiodegradowane, przy czym bardziej podatny jest 2-metylonaftalen. Stężenia wszystkich dimetylonaftalenów obniżyły się, przy czym 1,2-DMN jest usuwany najsłabiej (rys.2). Dystrybucja trimetylonaftalenów zmieniła się znacznie mniej, a obniżenia stężeń wykazały: 1,2,5-, 1,2,6- i pik 1,4,6-+1,3,5-TMN.

2) W porównaniu z alkilonaftalanami alkilofenantreny prawie nie uległy biodegradacji. Wszystkie metylofenantreny obniżyły swoje stężenia w stosunku do fenantrenu, podobnie 1,7 i 2,7-DMP, a wśród trimetylofenantrenów: 1,7,9-+1,3,8-, 1,3,9-+1,3,6-TMP.

3) Triaromatyczne steroidy uważane za jedną z najbardziej odpornych na biodegradację grupę związków i znajdujące nawet w silnie zdegradowanych ropach naftowych, wykazały pewne obniżenie stężeń steroidów C_{20} - C_{22} .

Podsumowując, stwierdzono występowanie biodegradacji węgla w wyniku procesu bioodsiarczania i zależność jej intensywności od zawartości substancji mineralnej. Proces tak intensywnej biodegradacji jedynie częściowo zachodzi według mechanizmów opisanych dla biodegradacji naturalnej, gdzie związki są usuwane w określonej kolejności. Przyczyną tego jest większa szybkość rozkładu wymuszająca mniejszą selektywność procesu.

Literatura

1. Killops S.D. i Killops V.J. *An Introduction to Organic Geochemistry*, 1993.
2. Waples D.W. i Mahihara T. *Biomarkers for Geologists*, AAPG, 1991.
3. Peters K.E. i Moldowan J.M., *The Biomarker Guide*, 1993.
4. van Krevelen D. W. *Coal*, 1994.
5. Tissot B.P. i Welte D.H., *Petroleum Formation and Occurrence*, Elsevier, 1984.
6. Standley L.J. i Simoneit B.R.T., *J. Atm. Chem.* **18**, 1-15, 1994.
7. Volkman J.K i in., *Sci. Tot Environm.*, **112**, 203-219. 1992.
8. Dugan P.R., *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **16**, 185-203, 1986.
9. Lungren D.G. i Silver M., *Am. Rev Microbial.* **34**, 263-283, 1980.
10. Connan J., *Adv. in Org. Geochem.*, **1**, 299-335, 1984.
11. Volkman J.K., *Org. Geochem.* **6**, 619-632, 1984.
12. Williams J.A. i in., *Org. Geochem.* **10**.

Recenzent: Prof.dr.hab.inż. Wiesław Gabzdyl