

JERZY CHMIELEWSKI, ALINA SKOWRONEK

ZASTOSOWANIE AUTOTROFOWYCH OSADÓW CZYNNYCH
DO BIOCHEMICZNEGO UTLENIENIA ZWIĄZKÓW SIARKI
WYSTĘPUJĄCYCH W WODACH ZŁOŻOWYCH POKŁADÓW SIARKONOSNYCH

Rozwój kopalnictwa siarki stwarza zagrożenie środowiska przez siarkowodor i siarczki zawarte w wodach kopalnianych. Bezpośrednie odprowadzenie wód złożowych z pokładów siarkonosnych do odbiorników wodnych jest niewłaściwe ze względu na toksyczne działanie tych związków na biocenozę wodną, zasolenie odbiornika oraz naruszenie bilansu tlenowego układu.

Usuwanie siarkowodoru i siarczków z kopalnianych wód siarkowych metodami chemicznymi jest uciążliwe. Współczesny rozwój biochemicznych metod detoksykacji stwarza możliwości łatwego unieszkodliwienia tych związków przez utlenienie mikrobiologiczne.

Nieorganiczne związki siarki o różnym stopniu utlenienia oraz siarka elementarna mogą podlegać oksydacyjnym procesom drobnoustrojowym [1]. W transformacji siarki biorą udział bakterie chemoautotrofowe i fototrofowe [2]. Niektóre drobnoustroje heterotrofowe mogą również powodować biochemiczne przemiany siarki. Tworzą się dwa podstawowe produkty: siarczek jest produktem końcowym beztlenowych procesów mikrobiologicznych, zaś w warunkach tlenowych powstaje siarczan jako trwały produkt tych procesów.

Szczególnie ciekawe jest utlenianie siarki i jej prostych związków nieorganicznych przez autotrofowe bakterie siarkowe rodzaju Thiobacillus [3]. Drobnoustroje te zużywają siarkę i jej zredukowane połączenia jako pośrednie lub bezpośrednie donatory wodoru. Utlenieniu podlegają siarczki i siarkowodor, tiosiarczany, politioniany, siarczyny i siarka elementarna. Procesy dehydrogenacji i przenoszenia wodoru dostarczają energii dla rozwoju komórek tych autotrofów i są związane ze zmianami energii swobodnej związków siarkowych. Zużywają one dwutlenek węgla jako jedyne źródło węgla. Warunki tlenowe, kwasowość podłoża oraz dostarczenie prostych związków azotu - stwarzają dogodne warunki dla rozwoju autotrofowych bakterii siarkowych.

Praktyczne zastosowanie mikrobiologicznej transformacji siarki może mieć znaczenie ekonomiczne. Wiąże się ono z oksydacyjną aktywnością bakterii hodowanych w postaci osadu czyn-

nego w kontakcie ze złożowymi wodami siarkowymi. Od kilku lat pojawiają się w literaturze wzmianki o użyciu osadów czynnych do utlenienia związków siarki w środowisku bogatym w związki organiczne [4]. Przeprowadzono również próby zastosowania metody osadu czynnego do oczyszczania wód gruntowych ze złóż siarki [5, 6].

Obserwacje nad biochemicznym utlenieniem nieorganicznych związków siarki przez autotrofowe osady czynne są jednak ciągle niepełne. Wydawało się więc potrzebne przeprowadzenie cyklu badań zmierzających do opracowania łatwego sposobu formowania osadów czynnych w środowisku pozbawionym związków organicznych. Należało zbadać zdolność przystosowania otrzymanych autotrofowych osadów do biochemicznego utlenienia siarczku lub tiosiarczku, związków ułatwiających otrzymanie wzbogaconej populacji bakterii rodzaju Thiobacillus. Należało również zbadać biochemiczne własności tych osadów czynnych oraz ich technologiczną przydatność w unieszkodliwianiu związków zanieczyszczających wody złożowe z pokładów siarkonośnych.

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a

Metodyka badań

Badania procesu biochemicznego utlenienia siarczku i tiosiarczku przez aklimatyzowane osady czynne wymagały analitycznego oznaczenia tych substratów oraz produktów ich degradacji. Wśród tych produktów bloksydacji występowała siarka elementarna, tiosiarczany, politioniany, siarczyny i siarczany.

Oznaczanie siarczku, siarczyny i tiosiarczyny, które występowały jednocześnie w środowisku reakcyjnym prowadzono metodą jodometryczną opracowaną przez KURTENACKERA i WOLLAKA [7, 8]. W metodzie tej siarczek oddziela się przez wytrącanie solami cynku zaś siarczyny blokuje się aldehydem mrówkowym. Potrójne miareczkowanie jodometryczne umożliwia oznaczenie poszczególnych jonów [7].

Siarkę elementarną wydzieloną w procesie biochemicznego utlenienia związków siarki oznaczano manganometrycznie w środowisku alkalicznym metodą opracowaną przez MAURICEA [9]. Politioniany powstałe w wyniku utlenienia tiosiarczku oznaczano jako czterotionian metodą LANGA i KURTENACKERA [10]. Metoda ta polega na utlenieniu politionianów kwasem wanadowym w środowisku kwaśnym i manganometrycznym oznaczaniu wanadylu.

Siarczany oznaczano wagowo jako siarczan baru [8]. Stężenia badanych związków siarkowych wyrażano umownie w przeliczeniu na zawartą siarkę. Umożliwiało to śledzenie przemian różnych postaci jonowych siarki. Pomiar pH wykonywano potencjometrycznie przy pomocy elektrody szklanej.

Otrzymywanie autotrofowych osadów czynnych przystosowanych do utleniania siarczków i tiosiarczanów

Dla utworzenia osadów czynnych zawierających autotrofowe bakterie siarkowe należało uzyskać wzbogacone kultury bakterii siarkowych. W tym celu pobierano do zaszczepień drobnoustroje zawarte w mineralnych wodach siarkowych źródeł w Swoszowicach [11]. Hodowlę kultur bakterii siarkowych prowadzono stosując wybiórcze pożywki wzbogacające, które zawierały tiosiarczan jako główny substrat energetyczny. Okazało się, że szczególnie dogodnie do tego celu było podłoże wzbogacające dla bakterii siarkowych rodzaju *Tiobacillus* podane przez VISHNIACA [3]. Zawierało ono tiosiarczan jako substrat podstawowy, chlorek amonu jako źródło azotu i fosforany ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 10,0g; KH_2PO_4 - 4,0g; K_2HPO_4 - 4,0g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,8g; NH_4Cl - 0,4g - w 1000 ml wody) oraz liczne metale śladowe (EDTA - 50,0g; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 22,0g; CaCl_2 - 5,54g; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 5,06g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 4,99g; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ - 1,10g; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 1,57g; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 1,61g - w 1000 ml H_2O ; 10 ml tego roztworu dodaje się do 1 l roztworu substratów). Źródłem węgla był dwutlenek węgla czerpany z powietrza.

Pierwotną hodowlę wzbogaconych kultur bakterii siarkowych prowadzono w płaskich butelkach umieszczonych poziomo w termostacie o temperaturze $27^\circ\text{C} \pm 1^\circ$. Butelki te zawierały oienką warstwę utworzoną z 50 ml płynnej pożywki i 50 ml zaszczepiającej wody siarkowej wraz z osadem dennym ze źródeł mineralnych. W okresie około 5 dni hodowli stwierdzano silne zakwaszenie środowiska do pH około 3 oraz zmętnienie wywołane przez wzrost bakteryjny.

Zakwaszone hodowle stacjonarne służyły do zaszczepienia 5 l butli szklanych zawierających tiosiarczanową pożywkę VISHNIACA. Zaszczepione kultury napowietrzano silnym aeratorem, który równocześnie powodował mieszanie środowiska. W tych warunkach przeprowadzano kilkunastodniową hodowlę i przystosowanie wzbogacanej populacji bakterii siarkowych do utlenienia stężeń tiosiarczanu wyższych od 500 mg/l S (w przeliczeniu na siarkę). Stężenia substratu zwiększano skokowo, jeżeli w czasie dobowego napowietrzania koncentracja tiosiarczanu w podłożu spadała do wartości resztkowych. W ten sposób stężenie tiosiarczanu zwiększano do 2500 mg/l S w ciągu kilku dni hodowli.

Stwierdzono, że nawet długotrwałe napowietrzenie wzbogaconych kultur bakterii siarkowych w obecności tiosiarczuanu nie powodowało bioflokulacji masy bakteryjnej z utworzeniem układów zbliżonych do osadu czynnego. Wydzielała się natomiast obficie siarka w czasie tej aeracji. W celu przekształcenia rozproszonego wzrostu populacji bakteryjnej w kłaczkowate osady czynne zastosowano koagulację kultur wzbogaconych siarczanem glinu. Okazało się, że dawka tego koagulantu rzędu 1 g/l dawała obfite i trwałe kłaczkowanie oraz dogodnie, trwałe utrzymujące się własności sedymentacyjne osadu. Uzyskany tą drogą "autotrofowy osad czynny" wytwarzał się w ilości 8000 do 9000 mg/l i zawierał około 80% substancji lotnych przy prażeniu, na które składała się głównie wolna siarka i biomasa bakterii siarkowych.

Otrzymany "osad czynny" po godzinnej sedymentacji i zdekantowaniu przenoszono w ilości 0,5 l do laboratoryjnych komór napowietrzanych. Były to komory zbudowane z przezroczystego plastyku w kształcie graniastosłupów o wymiarach 100x50x380 mm. Pojemność takiej komory wynosiła 1,7 l i umożliwiała napowietrzanie 1,5 l cieczy. Objętość komór była wyskalowana w porcjach 0,5 litrowych. Umożliwiało to odprowadzanie 1,0 litrowych porcji cieczy przez tubus boczny i wymianę cieczy w sposób periodyczny.

Napowietrzanie komór odbywało się przy pomocy aeratorów akwaryjnych, które tłoczyły powietrze przez kapilarnie zakończoną rurkę szklaną, umieszczoną w dennej części komory. Napowietrzanie przebiegało w warunkach niekontrolowanego nadmiaru, które oprócz dostarczenia tlenu dla procesów biochemicznych zapewniało intensywne, pełne wymieszanie cieczy i osadu w komorze. Mieszaniu sprzyjało obłe uformowane dno komory likwidujące martwe przestrzzenie urządzenia.

Hodowlę i badania autotrofowego osadu czynnego przeprowadzono metodą periodyczną w cyklach 23-godzinnej napowietrzania i jednogodzinnej sedymentacji. Po tym osadzeniu odprowadzano przez dekantację 1 litr zużytej cieczy nadosadowej, którą zastępowano nową porcją substratu.

Przebieg doświadczeń i wyniki badań

Dynamika utlenienia siarczku i tiosiarczuanu przez osady czynne przystosowane do wykorzystywania substratów macierzystych

W Komorze A przystosowywano autotrofowy osad czynny do utlenienia siarczku w stężeniu 2500 mg/l S. Osad czynny w tej komorze zasilano podłożem V₂SHN₂Ca o zmodyfikowanym składzie, w którym tiosiarczan zastąpiono siarczkiem w równoważnej ilo-

ści siarki. Komorę B przeznaczono na przystosowanie osadu czynnego do utlenienia wyższych stężeń tiosiarczanu rzędu 2500 mg/l S. Komorę tę obciążono podłożem VISHNIACA o zwiększonym stężeniu tiosiarczanu.

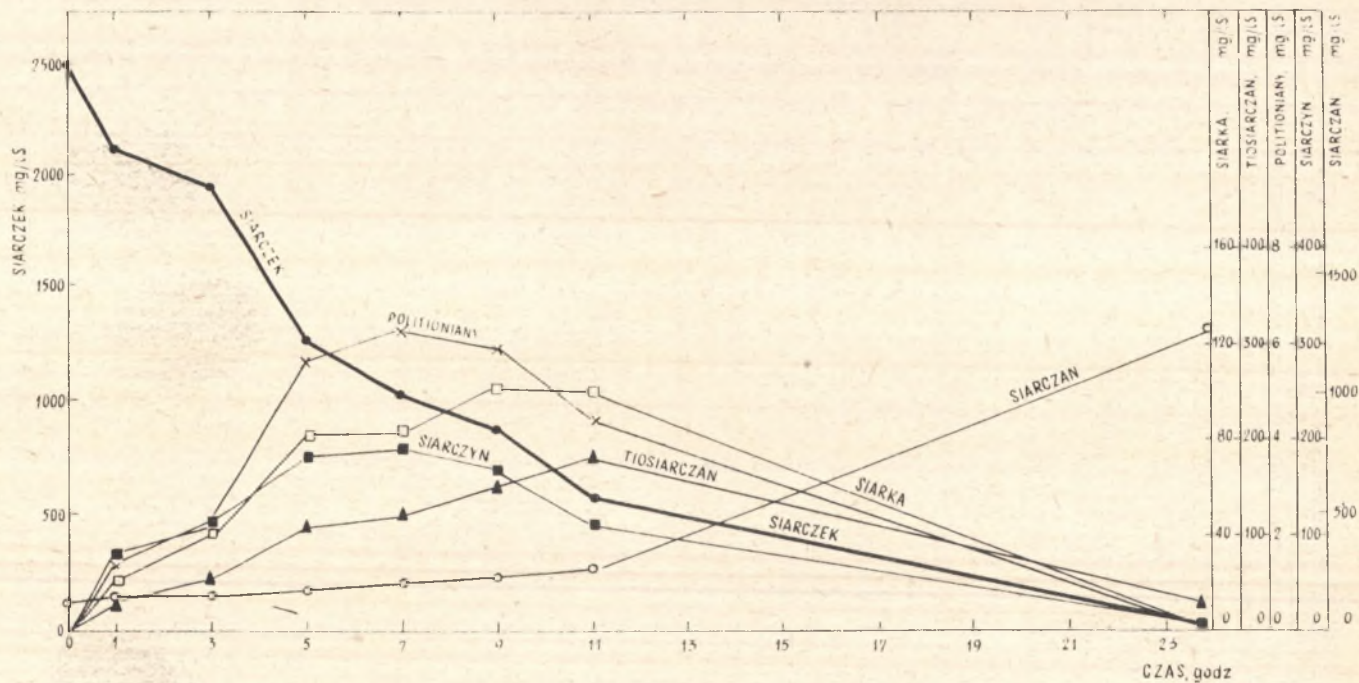
W okresie kilkunastu dni hodowli w warunkach periodycznych stabilizowała się zdolność utlenienia wyższych stężeń siarczku i tiosiarczanu przez autotrofowe osady czynne. Wynosiła ona w obu wypadkach 2500 mg/l S, która ulegała biochemicznemu utlenieniu w czasie cyklu napowietrzenia. Od chwili ustalenia się tych własności biochemicznych rozpoczynano serię badań nad utlenieniem siarczku lub tiosiarczanu przez osady czynne przystosowane do wykorzystywania substratów macierzystych.

W Komorze A badano dynamikę utlenienia siarczku w stężeniu 2500 mg/l S w czasie 24-godzinnego kontaktu z osadem czynnym przystosowanym do przyswajania siarczku. Badano stężenie siarczku oraz produktów utlenienia tego substratu w czasie napowietrzenia w 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 i 24 godzinie cyklu doświadczalnego. Obserwacje dynamiki tego procesu biooksydacyjnego powtórzono dziesięciokrotnie w celu wyłączenia przypadkowości w charakterystyce przebiegu przemian związków siarki. Typowe wyniki obserwacji charakteryzujące dynamikę procesu biochemicznego utlenienia siarczku w stężeniu 2500 mg/l S przez autotrofowy osad czynny podaje rysunek 1. Duża zbliżność wyników wielokrotnie powtarzanych cyklów badań wskazywała na ustalenie się własności biochemicznych i technologicznych badanego osadu czynnego.

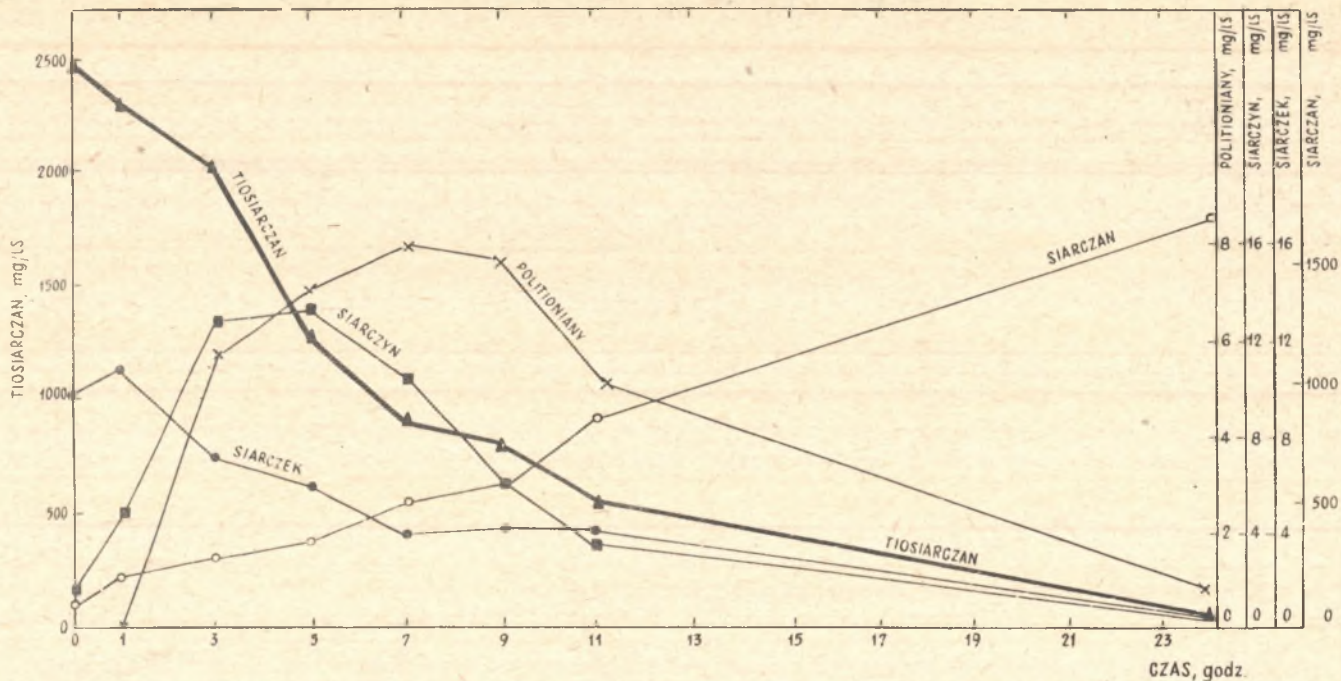
W analogiczny sposób przeprowadzono badanie dynamiki utlenienia tiosiarczanu w stężeniu 2500 mg/l S w czasie napowietrzenia z osadem czynnym w Komorze B. Był to autotrofowy osad czynny przystosowany do utlenienia wysokich stężeń tiosiarczanu. Badania analityczne charakteryzujące dynamikę utlenienia tiosiarczanu powtórzono dziesięciokrotnie. Wyniki uzyskane dla jednej z serii obserwacji przedstawia rysunek 2.

Izolowanie i ścisła charakterystyka mikrobiologiczna mieszanych populacji bakterii siarkowych występujących w autotrofowych osadach czynnych przekraczała zakres przeprowadzanych doświadczeń. Wydawała się jednak konieczna obserwacja mikroskopowa tych drobnoustrojów oraz orientacyjna charakterystyka mikrobiologiczna bakterii siarkowych dominujących w mieszanych populacjach osadów czynnych.

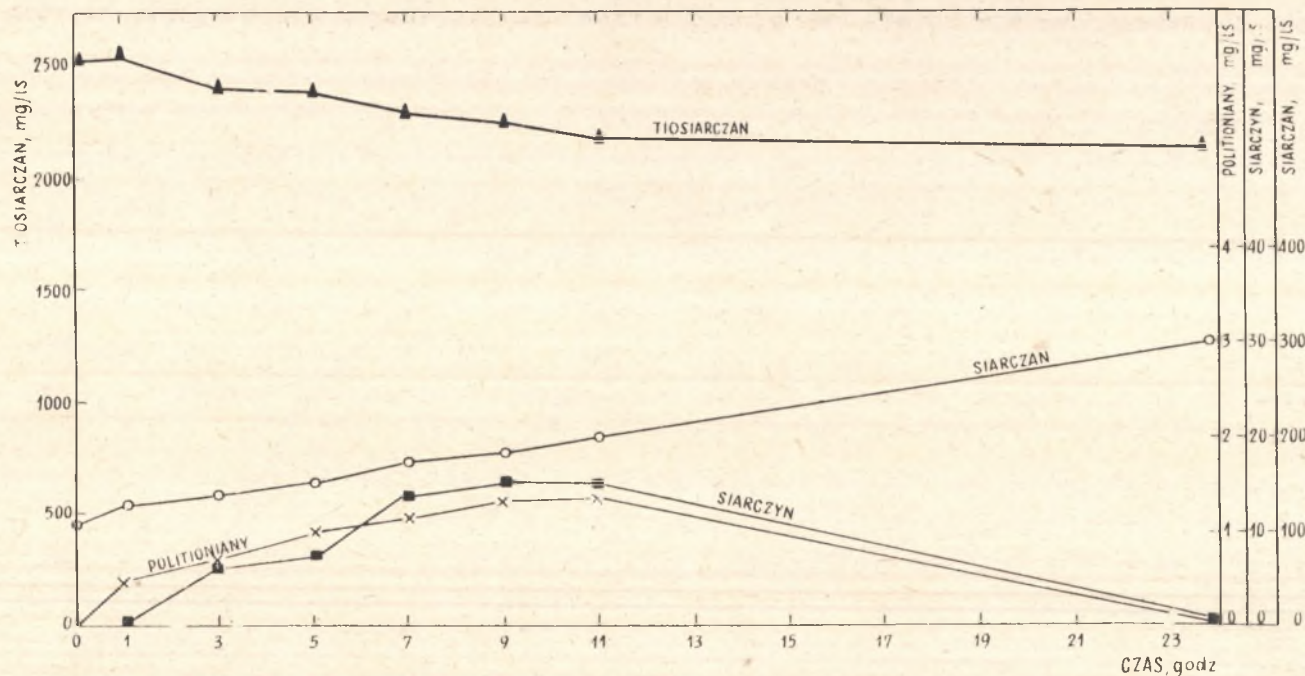
Charakterystyka morfologiczna oraz zdolność silnego zakwaszania autotrofowego podłoża, które zawierało tiosiarczan wskazywała, że bakterie dominujące w osadzie czynnym należały do rodzaju Thiobacillus. Można przypuszczać, że głównym reprezentantem dominującej populacji był Thiobacillus thioparus.



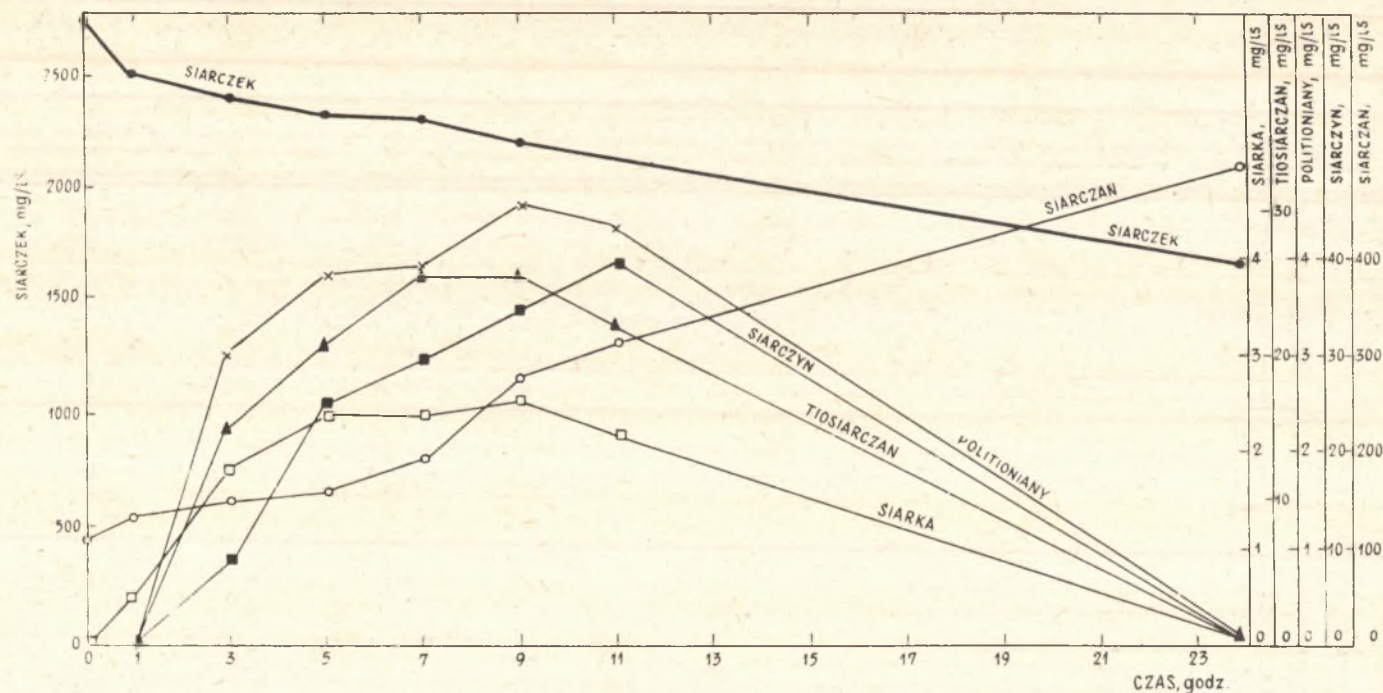
Rys. 1. Biochemiczne utlenienie siarczku w czasie napowietrzania z osadem czynnym przystosowanym do siarczku. Komora A



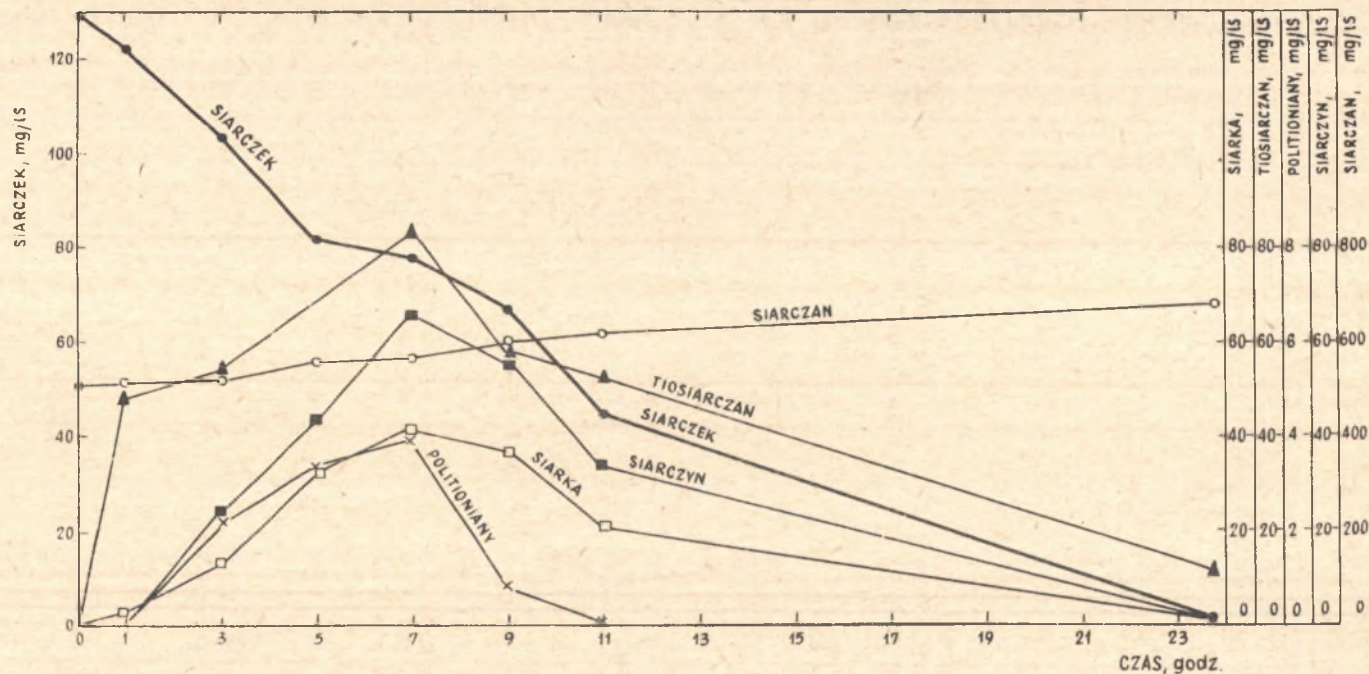
Rys. 2. Biochemiczne utlenienie tiosiarczanu w czasie napowietrzania z osadem czynnym przystosowanym do tiosiarczanu. Komora B.



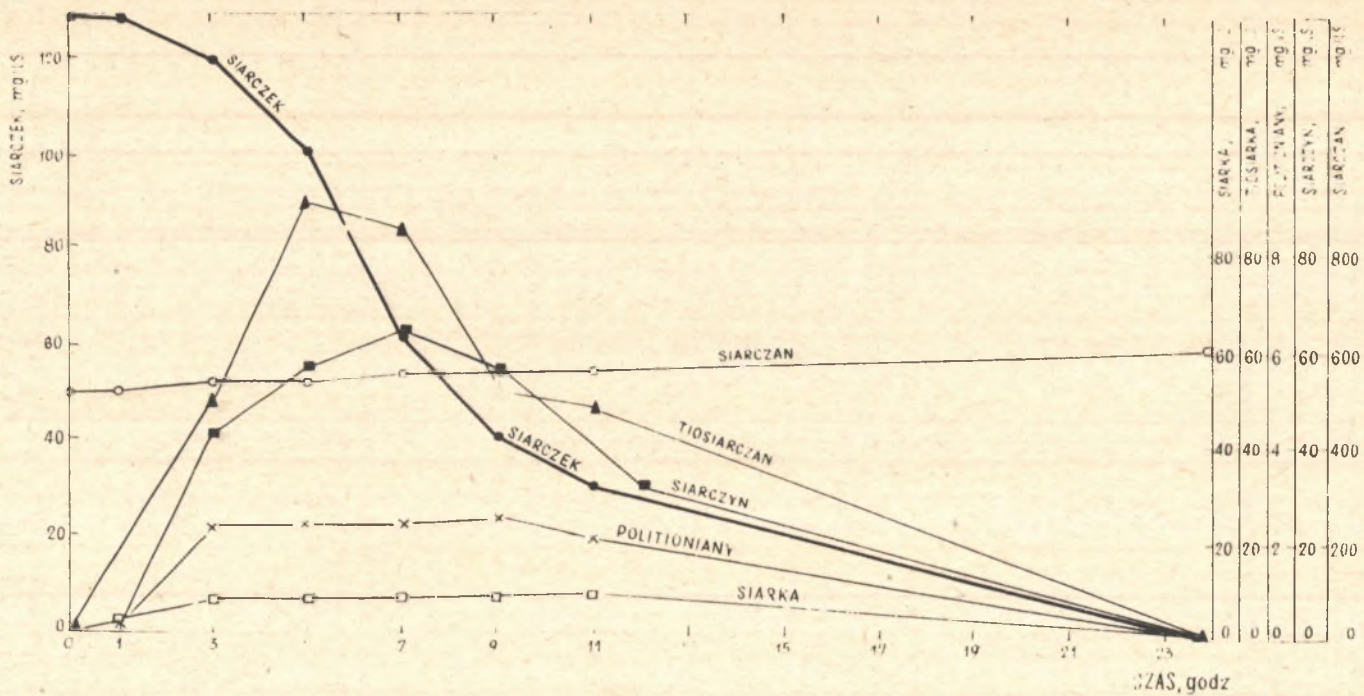
Rys. 3. Biochemiczne utlenienie tiosiarczuanu w czasie napowietrzenia z osadem czynnym przystosowanym do siarczku. Komora A



Rys. 4. Biochemiczne utlenienie siarczku w czasie napowietrzania z osadem czynnym przystosowanym do tiosiarczanu. Komora B



Rys. 5. Biochemiczne utlenienie związków siarki w syntetycznych wodach złożowych w czasie napowietrzania z osadem czynnym przystosowanym do siarczku. Komora I



Rys. 6. Biochemiczne utlenienie związków siarki w syntetycznych wodach złożowych w czasie napowietrzania z osadem czynnym przystosowanym do tiosiarczanu. Komora II

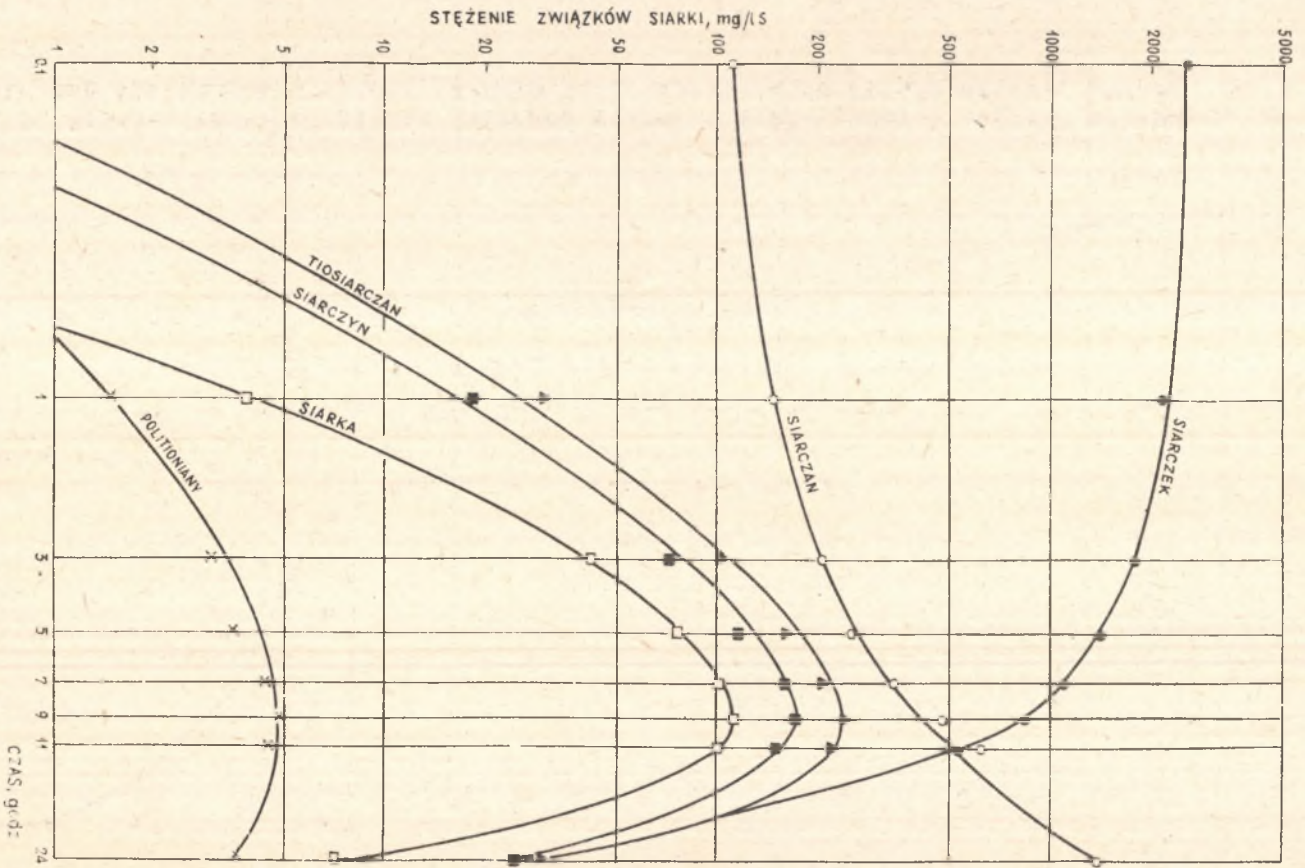
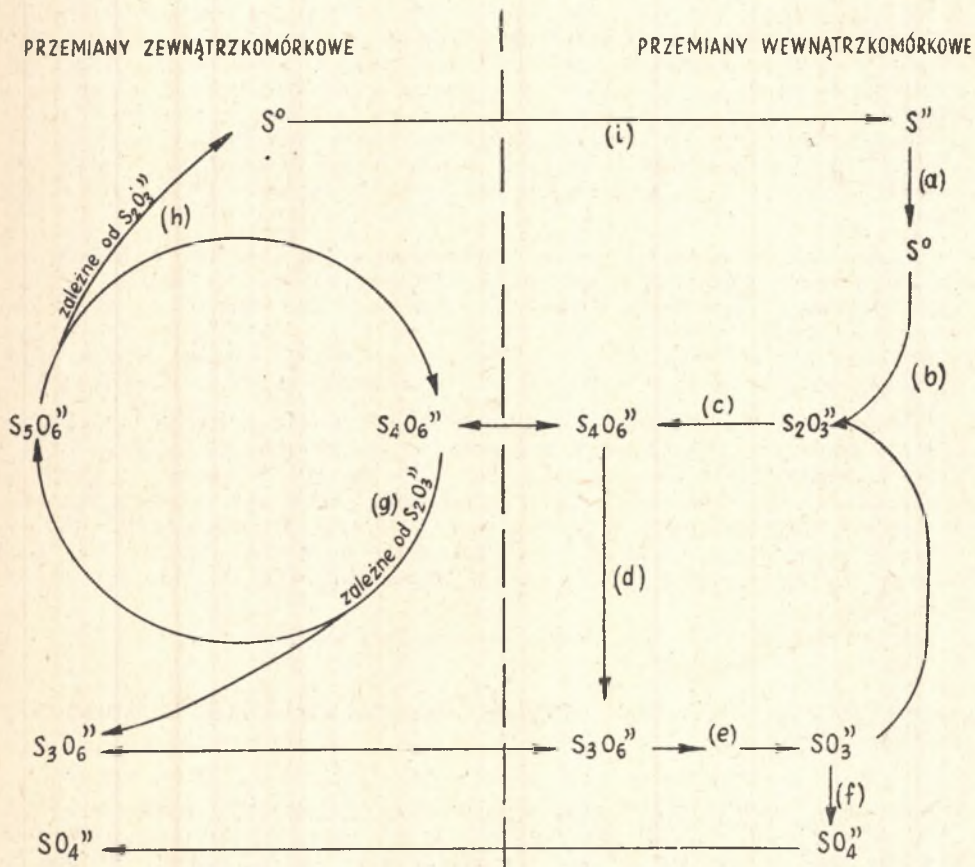


Fig. 7. Dynamika przemian związków siarki w procesie napowietrzania ścieczki z autotrofowym osadem czynnym



Rys. 8. Prawdopodobne drogi przemian w biochemicznym utlenieniu związków siarki według VISHNIACA i SANTERA [3]

Badanie jednoczesnej adaptacji osadów czynnych przystosowanych do utlenienia siarczków i tiosiarczanów

W celu zorientowania się w mechanizmie procesu utlenienia związków siarkowych przez autotrofowe osady czynne przeprowadzono badania oparte o zasadę jednoczesnej adaptacji [12]. Obserwowano rozkład tiosiarczanu przez osad czynny adaptowany do siarczku (Komora A) oraz utlenienie siarczku przez osad czynny przystosowany do rozkładu tiosiarczanu (Komora B). Doświadczenia przeprowadzono w sposób podobny do obserwacji utlenienia substratów macierzystych przez aklimatyzowane osady czynne.

Dla stwierdzenia dynamiki utlenienia substratów w badaniach jednoczesnej adaptacji Komorę A obciążano tiosiarczanem w ilości 2500 mg/l S, zaś do Komory B wprowadzano siarczek w stężeniu 2500 mg/l S. Próby pobierano w 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 i 24 godzinie cyklu badań i wykonywano oznaczenia analityczne stężenia substratów i produktów ich biochemicznego utlenienia.

Badania jednoczesnej adaptacji osadów czynnych do utlenienia pokrewnych substratów siarkowych powtarzano kilkakrotnie w celu stwierdzenia powtarzalności obserwacji. Typowy przebieg biochemicznego rozkładu tiosiarczanu w procesie napowietrzenia z osadem czynnym przystosowanym do utlenienia siarczku (Komora A) ilustruje rysunek 3. Utlenienie siarczku przez osad czynny aklimatyzowany do tiosiarczanu (Komora B) podaje rysunek 4.

Biochemiczne utlenienie związków siarki zawartych w siarkowych wodach złożowych

Druga część programu badań obejmowała przeprowadzenie w skali laboratoryjnej - prób technologicznego zastosowania autotrofowych osadów czynnych do biochemicznego utlenienia związków siarki zawartych w wodach złożowych. Badania te prowadzono dla roztworów syntetycznych, które imitowały skład wód gruntowych z pokładów siarkonośnych [13]. Roztwory te przyrządzono przez rozpuszczenie w wodzie wodociągowej: $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ - 991 mg/l; MgSO_4 - 149 mg/l; NaCl - 225 mg/l; Na_2SO_4 - 132 mg/l oraz Na_2S - 320 mg/l [5].

Osad czynny w Komorze I przystosowano do utlenienia 2500 mg/l S siarczku. Komorę II obciążano tiosiarczanem w stężeniu 2500 mg/l S. Po ustabilizowaniu się własności tych autotrofowych osadów czynnych użyto je do badań nad utlenieniem związków siarki zawartych w syntetycznych wodach złożowych.

Badania dynamiki utlenienia związków siarki w wodach złożonych prowadzono w czasie dobowego napowietrzania w kontakcie z osadem czynnym. Stężenie substratów i produktów biologicznego utlenienia oznaczano w 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11 i 24 godzinie cyklu badawczego. Badania takie powtarzano wielokrotnie w celu stwierdzenia trwałości cech biochemicznych i technologicznych badanych osadów czynnych oraz wyłączenie przypadkowości obserwacji.

Obserwacje biochemicznego utlenienia związków siarki zawartych w syntetycznych wodach złożonych przez osad czynny przystosowany do utlenienia siarczku reprezentuje rysunek 5 otrzymany dla jednej z serii badań. Zmiany, którym podlegały te związki w kontakcie z osadem czynnym przystosowanym do utlenienia tiosiarczanu ilustruje rysunek 6.

Przeprowadzono próbę interpretacji dynamiki i mechanizmu tlenowych przemian siarki powodowanych przez autotrofowe osady czynne. Rysunek 7 podaje uogólniony przebieg przemian siarczku oparty na średnich arytmetycznych wartościach stężeń tego substratu oraz produktów pośrednich i końcowych procesu biooksydacyjnego (Komora A). W interpretacji mechanizmu tych przemian siarki wykorzystano schemat proponowany przez VISHNIACA i SANTERA [3], który ilustruje rysunek 8.

O m ó w i e n i e w y n i k ó w

Przedmiotem pracy były badania zmierzające do otrzymania autotrofowych osadów czynnych, zdolnych do utlenienia siarczku i tiosiarczanu w roztworach wodnych. Osady te zastosowano do biochemicznego unieszkodliwienia nieorganicznych związków siarki występujących w wodach złąć siarkonośnych.

Prace hodowlane polegały na utworzeniu wzbogaconej kultury autotrofowych bakterii siarkowych. Zastosowano wybiórczo działające podłoże tiosiarczanowe VISHNIACA [3], które po zaszczerpieniu drobnoustrojami siarkowych wód swoszewickich powodowało bujny wzrost autotrofowych bakterii siarkowych. Badania mikrobiologiczne poparte obserwacjami mikroskopowymi wykazały, że bakterie rodzaju Thiobacillus dominowały w uzyskanych kulturach wzbogacanych. Prawdopodobnie wzbogaceniu ulegał Thiobacillus thioparus oraz pokrewne gatunki bakterii.

W obecności wysokiego stężenia substratu tiosiarczanowego (2500 mg/l S), zasolenia i intensywnego napowietrzenia obficie wydzielala się wolna siarka. W tych warunkach rozwijające się kultury wzbogacone nie miały zdolności flokulacyjnych; wykazywały wzrost rozproszony i samorzutnie nie tworzyły osadu czynnego. Okazało się jednak, że klączkowanie wymuszone przez koagulację solami glinu nadawało układowi trwały charakter klączkowy. Powstały "autotrofowy osad czynny" składał się głównie z chemosyntetyzujących bakterii rodzaju Thiobacil-

lus. Były one osadzone na skoagulowanym nośniku utworzonym z wodorotlenku glinu. Taki układ kłaczkujący w postaci łatwo sedymentujących makrozespołów nadawał się do badań jako osad czynny.

Doświadczalnie narzucono autotrofowy charakter badanemu osadowi czynnemu. Bakterie aktywne w tym osadzie były zdolne do wykorzystywania zredukowanych nieorganicznych związków siarki jako jedyne źródła energii. Węgiel do syntez komórkowych był przyswajany z atmosferycznego dwutlenku węgla [2]. Trudno jednak wykluczyć możliwość występowania szczególnych saprofitów w mieszanej populacji tworzących się osadów czynnych. Drobnoustroje te odporne na podwyższone stężenia soli siarkowych - mogły powodować rozkład obumierających komórek głównej populacji autotrofowej. Ich ewentualna obecność nie zmieniała jednak autotrofowego charakteru przemiany głównych substratów: siarczku lub tiosiarczanu.

Osad czynny otrzymany przez koagulację wzbogaconych kultur bakterii siarkowych z hodowli tiosiarczanowej ulegał łatwemu przystosowaniu do utlenienia siarczku lub tiosiarczanu. Po kilkunastodniowej aklimatyzacji substraty te w stężeniu 2500 mg/l S ulegały utlenieniu do siarczku w czasie 24 godzin napowietrzania.

Obserwacje biochemicznego utlenienia siarczku przez osad czynny przystosowany do tego substratu (Komora A) wykazały ciekawą dynamikę oksydacyjnych przemian tego jonu i produktów pośrednich jego utlenienia (rys.1).

Spadek stężenia siarczku intensywnie przebiegał od początku napowietrzania. Zanikowi siarczku towarzyszyło przejściowe nagromadzenie się pośrednich produktów utlenienia tego substratu. Pojawiała się wolna siarka, tiosiarczan i siarczyn w znacznych stężeniach oraz w małych ilościach politioniany. Stężenie produktów pośrednich osiągało wartość maksymalną około 9 godziny aeracji i było rzędu stukilkudziesięciu mg/l S dla siarczynu i wolnej siarki oraz rzędu dwustukilkudziesięciu mg/l S dla tiosiarczanu. Koncentracja politionianów odpowiadała kilku mg/l S czterotionianu. W czasie tego okresu napowietrzania początkowe stężenie siarczku 2500 mg/l S spadało do około 800 mg/l S, czyli o 2/3 ogólnej ilości substratu. W tym okresie siarczyn - końcowy produkt utlenienia, osiągał 1/3 stężenia końcowego (około 500 mg/l S). Dalsze napowietrzanie powodowało zanik substratu siarczku i produktów pośrednich do stężeń resztkowych po 24 godzinach napowietrzania. Koncentracja siarczku wzrastała proporcjonalnie do czasu napowietrzania i osiągała stężenie rzędu 1500 mg/l S. Odpowiadało to około 60% całkowitej ilości siarki wprowadzanej z substratem.

Wielokrotne powtarzanie cyklu biochemicznego utlenienia siarczku przez autotrofowy osad czynny dało wyniki bardzo zbliżone. Ta powtarzalność obserwacji może świadczyć o znacznej trwałości cech biochemicznych badanego układu.

Utlenienie tiosiarczanu w stężeniu 2500 mg/l S przez osad czynny przystosowany do wysokich stężeń tego substratu (Komo-

ra B - rys. 2) miało przebieg zbliżony do opisanego procesu utlenienia siarczku. Zanik tiosiarczczanu rozpoczynał się od początku napowietrzania i powodował występowanie śladowych ilości tego jonu po 24-godzinnej aeracji. Rozkładowi tiosiarczczanu towarzyszył stały wzrost stężenia siarczczanów, które osiągały końcowe stężenie rzędu 2000 mg/l S.

W procesie biochemicznego utlenienia tiosiarczczanu przejściowe nagromadzenie się pośrednich produktów oksydacyjnych przebiegało nieco odmiennie niż w utlenieniu siarczku. Stężenia niektórych półproduktów: siarczynu i politionianów były wyraźnie mniejsze, zaś wolna siarka koloidalna nie pojawiała się w wyraźnych ilościach w cieczy nadosadowej. Maksymalne stężenie siarczynu rzędu kilkunastu mg/l S występowało około 5 godziny napowietrzania, po czym zanikało do wielkości śladowych. Szczytowe nasilenie nagromadzania się politionianów przypadało około 7 godziny aeracji i było rzędu kilkunastu mg/l w przeliczeniu na siarkę czterotionanu.

W początkowej fazie procesu utlenienia tiosiarczczanu analitycznie stwierdzano obecność siarczku w stężeniu rzędu 10 mg/l S. Zanikało ono proporcjonalnie do czasu napowietrzania. Siarczek ten nie mógł być produktem przebiegających reakcji biochemicznego utlenienia tiosiarczczanu. Można spodziewać się, że siarczek pochodził z przypadkowych zanieczyszczeń użytego tiosiarczczanu sodu.

Obserwacje dynamiki tworzenia się siarczczanu wskazują, że ilości tego jonu rosnące proporcjonalnie do czasu aeracji, osiągały stężenie rzędu 1800 mg/l S. Odpowiadało to około 70% całkowitej ilości substratowej siarki tiosiarczczanu.

W celu bardziej wnikliwego poznania różnic biochemicznego zachowania się autotrofowych osadów czynnych przystosowanych do siarczku (Komora A) i tiosiarczczanu (Komora B) - osady te poddano próbie jednoczesnej adaptacji. Przeprowadzone obserwacje jednoczesnego przystosowania do rozkładu tiosiarczczanu przez osad czynny aklimatyzowany do siarczku (Komora A) oraz utlenienia siarczku przez układ biologiczny przystosowany do tiosiarczczanu (Komora B).

Drobnoustroje osadu czynnego przystosowane do siarczku w nieznanym stopniu rozkładały tiosiarczczan (rys. 3). W okresie 24 godzin aeracji utlenieniu ulegało zaledwie 10% substratu. Towarzyszyło temu okresowe pojawienie się małych stężeń siarczynu i politionianów, pośrednich produktów utlenienia oraz tworzenie się siarczczanu.

Stwierdzono natomiast, że osad czynny aklimatyzowany do tiosiarczczanu powodował dość znaczne biochemiczne utlenienie siarczku (rys. 4). W czasie 24 godzin kontaktu z tym osadem czynnym zanikało ponad 30% siarczku. Dynamika biochemicznego utlenienia siarczku przez ten osad była zbliżona do przebiegu oksydacyjnej przemiany siarczku przez osad czynny aklimatyzowany do tego jonu (Komora A - rys. 1). Maksymalne stężenia pośrednich produktów utlenienia siarczku wystąpiły około 9 go-

dziny aeracji, po czym zanikały do ilości śladowych. Siarczyn i tiosiarczan osiągał stężenie kilkudziesięciu mg/l S zaś wolna siarka i politioniany kilku mg/l S. Zanikowi substratowego siarczku towarzyszyło stałe zwiększanie się stężenia siarczanów. Ostateczna ilość powstałego jonu siarczanowego odpowiadała około 80% siarki substratu.

Łatwość z jaką osad czynny przystosowany do tiosiarczanu utleniał siarczek (Komora B - rys. 4) można łączyć z analitycznie stwierdzonym zjawiskiem występowania tiosiarczanu wśród produktów pośrednich utlenienia siarczku. Jednak przeprowadzone obserwacje wskazują, że prawdopodobnie nie występuje tu zjawisko jednoczesnej adaptacji. Należy się raczej spodziewać, że w autotrofowych osadach czynnych pojawia się dominacja poszczególnych grup bakterii siarkowych zależna od zasilającego substratu siarkowego. Z tego powodu w zasadzie potrzebny jest kilkunastodniowy okres wpracowania dla osadu czynnego otrzymanego w środowisku tiosiarczanowym - do utlenienia siarczku z pełną wydajnością procesu.

Zasadniczym celem badań było przeprowadzenie prób technologicznych w skali laboratoryjnej, w których użyto uzyskane autotrofowe osady czynne do biochemicznego utlenienia związków siarki zawartych w syntetycznych roztworach imitujących wody złożowe z podkładów siarkonośnych. Zastosowane roztwory syntetyczne były zbliżone do składu wód z "przejściowej strefy hydrochemicznej" złóż siarkonośnych [13]. Reprezentowały one układ o wysokim zasoleniu i średniej zawartości siarczków. Wydało się, że badanie takiego roztworu modelowego może być przydatne w opracowaniu technologicznych metod unieszkodliwienia siarkowych wód złożonych. Stosowanie roztworów syntetycznych było konieczne ze względu na trudności transportu rzeczywistych wód złożowych z odległych pokładów siarki.

Osady czynne otrzymane przez koagulację wzbogaconych kultur siarkowych wytworzonych na podłożu tiosiarczanowym podlegały aklimatyzacji do wysokich stężeń siarczku lub tiosiarczanu. Użycie stężenia 2500 mg/l siarki substratowej zapewniało wzrost masy osadu czynnego oraz przystosowanie rozwijających się drobnoustrojów do dużych stężeń soli nieorganicznych. Przystosowanie to mogło mieć charakter adaptacyjny lub być związane ze wzrostem drobnoustrojów przystosowanych do wybiórczo działających warunków środowiska. Tak utworzone autotrofowe osady czynne poddawano aeracji w kontakcie z syntetycznymi wodami złożowymi.

Utlenienie związków siarki zawartych w wodach złożowych spowodowane przez napowietrzanie z osadem czynnym przystosowanym do siarczku (Komora I - rys. 5) przebiegało w sposób zbliżony do dynamiki przemian siarczku ujawnionej w badaniach poprzednich (Komora A - rys. 1). Siarczek szybko zanikał w początkowej fazie napowietrzania; w 11 godzinie aeracji stwierdzano niewielkie stężenia tego jonu. Produkty pośrednie utlenienia siarczku osiągały stężenie maksymalne około 7 godziny

cyklu badawczego. Siarka wolna, siarczyny i tiosiarczany występowały w stężeniu rzędu kilkudziesięciu zaś politioniany kilku mg/l S. Żanikowi siarczku oraz przemianom produktów pośrednich utlenienia tego jonu towarzyszyło tworzenie się siarczanu proporcjonalne do czasu aeracji. Dobowe napowietrzanie powodowało, że praktycznie cała porcja siarczowego substratu (130 mg/l S) ulegała przemianie w siarczan, którego stężenie wzrastało z 500 do około 630 mg/l S (rys. 5).

W podoby sposób przebiegała przemiana siarki w syntetycznych wodach złożowych poddawanych napowietrzaniu w kontakcie z autotrofowym osadem czynnym przystosowanym do tiosiarczanu (Komora II - rys. 6). Również w tym przypadku siarczyny i tiosiarczany osiągały stężenia rzędu kilkudziesięciu zaś politioniany kilku mg/l S. Natomiast stężenie wolnej siarki, występującej okresowo wśród produktów przejściowych, było wielokrotnie niższe niż w przypadku "siarczowego" osadu czynnego (rys. 5). Ostatecznie jednak po długotrwałym napowietrzaniu około 80+90% ilości siarki substratowej ulegało przemianie w siarczan, którego stężenie wzrastało z 500 do około 620 mg/l S.

Kilkakrotne powtórzenie omawianych obserwacji umożliwiło stwierdzenie trwałości opisanych cech biochemicznych osadów czynnych. Trwałość ta okazała się wystarczająca dla celów technologicznego zastosowania procesu biochemicznego utlenienia siarczku w wodach złożowych. Obserwacje przeprowadzone w różnych warunkach wskazują, że do biochemicznego unieszkodliwienia tych wód najlepiej nadaje się autotrofowy osad czynny wstępnie aklimatyzowany do dużych stężeń siarczku. Taki autotrofowy osad czynny można uzyskać, jak wspomiano, przez koagulację wzbogaconych kultur bakterii siarkowych w roztworach tiosiarczanu i następną aklimatyzację do siarczku.

Usuwanie siarczku z siarkowych wód złożowych przy pomocy aklimatyzowanych osadów czynnych wydaje się procesem prostym, wymagającym niezbyt skomplikowanych urządzeń technologicznych - głównie komór aeracyjnych, typowych dla metody osadu czynnego. Oceniając jednak krytycznie biochemiczny sposób unieszkodliwienia siarkowych wód złożowych należy mieć na uwadze, że unieszkodliwienie to jest oparte na przemianie agresywnego siarczku lub siarkowodoru w siarczan - ostateczny produkt utlenienia siarki. Pełna ta przemiana nie zmniejsza jednak ogólnej zawartości związków mineralnych i ogólnego "zasolenia" wód poddawanych takiemu traktowaniu. W warunkach procesu ciągłego, jakie są konieczne ze względów technologicznych, można by jednak prowadzić metodę osadu czynnego w fazie maksymalnego wytwarzania wolnej siarki - pośredniego produktu utlenienia. Umożliwiłoby to usuwanie części siarki z napowietrzanego środowiska. Regeneracja taka nie miałaby prawdopodobnie znaczenia ekonomicznego w sensie odzyskiwania siarki, mogłoby natomiast powodować zmniejszenie zawartości siarczanów i ogólnego zasolenia oczyszczanych wód złożowych. Należałoby jednak tak prowadzoną metodę osadu czynnego poddać szczegółowym badaniom z uwzględnieniem mechanizmu wykorzystywanego procesu biochemicznego.

Mechanizm biochemicznego utlenienia nieorganicznych związków siarki był przedmiotem wielu badań. Mechanizm takich przemian wywołanych przez autotrofowe bakterie siarkowe rodzaju Thiobacillus opisał VISHNIAC i współpracownicy [3, 14]. Stwierdzili oni, że siarczek ulega utlenieniu do siarczanu z pośrednim tworzeniem siarki elementarnej. Siarka ta u niektórych bakterii siarkowych akumuluje się w komórkach w sposób widzialny pod mikroskopem, u innych natomiast jest odkładana na zewnątrz komórki w postaci wolnej siarki koloidalnej [3].

Interesująca jest, że Thiobacillus thio-parus utlenia siarczek do siarczanu, przyczym zwykle nie następuje akumulowanie siarki. Jedną z własności tej autotrofowej bakterii siarkowej jest utlenienie siarki elementarnej. Świadczą o tym prace JACOBSENA [15], STARKEYA [16] i PARKERA [17]. Stwierdzili oni, że utlenienie siarki wymaga bezpośredniego kontaktu z komórką bakteryjną. W czasie tego kontaktu siarka rozpuszcza się w ziarnach tłuszczu komórkowego i w ten sposób staje się ona dostępna dla enzymatycznych procesów wewnątrzkomórkowych. Takie utlenienie siarki prowadzi do pośredniego tworzenia się tiosiarczanu i politionianów. Z prac GLEENA i QUASTELA [18] oraz VISHNIACA [14] wynika, że czterotionian lub inne politioniany są również produktem pośrednim bakteryjnego utlenienia tiosiarczanu do siarczanu. Wykazano, że połączki te nagromadzają się w środowisku reakcji. Wyniki niniejszych obserwacji biochemicznego utlenienia siarczku przez autotrofowy osad czynny (rys. 1, 4, 5 i 6) potwierdzają prawdopodobieństwo tych przypuszczeń. Stwierdzoną dynamikę przemian siarki w czasie napowietrzania siarczku z autotrofowym osadem czynnym ilustruje rysunek 7.

Szlaki biochemicznych przemian siarki w warunkach tlenowych przewidywane przez VISHNIACA i SANTERA [3] przedstawia schematycznie rysunek 8. Zgodnie z tym schematem siarczek wnika ze środowiska do komórki bakterii siarkowej i ulega wewnątrzkomórkowemu utlenieniu do siarki wolnej (reakcja a). Siarka podlega w komórce enzymatycznej kondensacji z siarczynem (reakcja b) i tworzy się tiosiarczan, który następnie utlenia się do czterotionianu (reakcja c). Dalsza przemiana czterotionianu powoduje powstawanie trójtionianu (reakcja d) i prawdopodobnie siarczynu (reakcja e). Siarczyn podlega dalszemu wewnątrzkomórkowemu utlenieniu do siarczanu, który jest głównym i końcowym produktem tlenowego metabolizmu siarki. Siarczan zostaje wydalony do środowiska (reakcja f). Część siarczynu może jednak krążyć w układzie i bierze udział w tworzeniu tiosiarczanu - wewnątrzkomórkowego produktu pośredniego w metabolizmie siarki. Pozostała część nierozłożonego czterotionianu zostaje wydalona przez komórkę jako pośredni produkt przemiany materii.

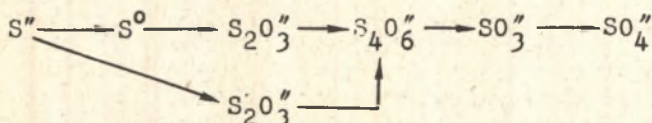
Jeżeli bakterie siarkowe wzrastają w środowisku zawierającym tiosiarczan, metabolizm bakteryjny powoduje równoczesną obecność tiosiarczanu i czterotionianu w środowisku. W warunkach tlenowych czterotionian ulega nieenzymatycznej, pozakomór-

kowej dysmutacji do trójtionianu i pięciotionianu (reakcja g). W innej reakcji katalizowanej przez tiosiarczan wytwarza się wolna siarka i odtwarza się czterotionian (reakcja h). Reakcja ta tłumaczy nagromadzenie się siarki elementarnej w środowisku. Jest ona pozakomórkowym, nie enzymatycznym produktem rozkładu politionianów.

Biochemiczne utlenienie związków siarki przez drobnoustroje wiąże się z zagadnieniem auto- i heterotrofii bakterii siarkowych. Autotrofowe drobnoustroje siarkowe są odbarzone zdolnością budowania masy komórkowej wyłącznie z substratów nieorganicznych. Pozbawione zaś są całkowicie lub w znacznym stopniu zdolności wykorzystywania związków organicznych dla uzyskiwania energii i wzrostu. Co więcej, znaczniejsze stężenia substancji organicznych są dla rozwoju tych bakterii szkodliwe.

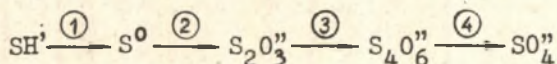
Biochemicznym utlenieniem związków siarkowych w warunkach heterotrofowych zajmował się AULENBACH i HEUKELEKIAN [4]. Badania te opierały się na wprowadzaniu określonych ilości związków siarki (rzędu 100 mg/l S) do środowiska bogatego w biogenne związki organiczne. Obserwacje określiły warunki aklimatyzacji zwykłego osadu czynnego do utlenienia siarczku, tiosiarczanu i siarczynu. Dostarczyły również informacji o mechanizmie przemian nieorganicznych związków siarki w czasie napowietrzania osadem czynnym. Wyniki badań ALENBACHA i HEULEKIANA [4] wskazywały, że siarczek przed całkowitym utlenieniem do siarczanu ulega przemianie w tiosiarczan, siarczyn oraz jakiś niezidentyfikowany produkt pośredni. Wyniki niniejszych badań uzupełniają wspomniane obserwacje przemian związków siarki przez aklimatyzowane osady czynne.

W przeprowadzonych badaniach biochemicznego utlenienia siarki stwierdzono występowanie politionianów oznaczonych jako czterotionian (rys. 1+7). Utlenienie siarczku przez autotrofowy osad czynny można przedstawić przez ciąg reakcji:



Trudno jednak wyjaśnić, czy cały tiosiarczan powstaje w wyniku utlenienia wolnej siarki, czy też pewna część tiosiarczanu tworzy się bezpośrednio z utlenienia siarczku.

Teoretycznie utlenienie siarczku w komórce "idealnej" bakterii siarkowej [2] można schematycznie przedstawić:



Jeżeli czynnikiem utleniającym jest tlen, ilości energii swobodnej uwalniane w każdym etapie utlenienia w przeliczeniu na atom siarki wynoszą w przybliżeniu: dla reakcji ① - 40 kcal, w reakcji ② - 15 kcal, w reakcji ③ - 5 kcal oraz w reakcji ④ - 100 kcal. Przemiana tiosiarczanu w czterotlionian (reakcja ③) nie może więc być wykorzystywana przez bakterie dla celów energetycznych, ponieważ w reakcji tej uwalnia się niewielka ilość energii swobodnej. Okazuje się jednak, że politioniany wskutek prostych chemicznych reakcji ulegają przemianom pozakomórkowym, które powodują nagromadzenie się wolnej siarki w środowisku [3].

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

Przeprowadzono badania nad biochemicznym utlenieniem siarczku i tiosiarczanu przez mieszane populacje bakterii siarkowych tworzących autotrofowe osady czynne. W takiej populacji mieszanej dominowały chemoautotrofowe bakterie siarkowe rodzaju Thiobacillus.

Autotrofowe osady czynne otrzymano przez koagulację wzbogaconych kultur bakterii siarkowych wytworzonych na podłożu tiosiarczanowym. Podlegały one aklimatyzacji do wysokich stężeń siarczku lub tiosiarczanu. Użycie stężenia 2500 mg/l siarki substratowej zapewniało wzrost masy osadu czynnego oraz przystosowanie rozwijających się drobnoustrojów do dużych stężeń soli nieorganicznych. Aklimatyzacja ta mogła mieć charakter adaptacyjny lub być związana ze wzrostem drobnoustrojów przystosowanych do wybiórczo działających warunków środowiska.

Obserwowano dynamikę biochemicznego utlenienia siarczku lub tiosiarczanu przez otrzymane osady czynne. Badano analitycznie zmiany stężenia substratów oraz produktów utlenienia tych substratów: siarki elementarnej, tiosiarczanu, politionianów, siarczynu i siarczanu. Przeprowadzono również obserwacje adaptacji autotrofowych osadów czynnych do utlenienia siarczku i tiosiarczanu.

Podano próby ustalenia mechanizmu biologicznego utlenienia siarczku i omówiono uproszczony schemat tego utlenienia. Potwierdziły one wcześniejsze przypuszczenia dotyczące występowania politionianów jako produktów pośrednich. Siarka elementarna tworząca się w tym procesie była prawdopodobnie produktem nieenzymatycznego utlenienia politionianów wywołanego przez napowietrzenie środowiska.

Przeprowadzono próby technologicznego zastosowania autotrofowych osadów czynnych do biochemicznego unieszkodliwienia wód złożowych z pokładów siarkonośnych. W badaniach przeprowadzonych w skali laboratoryjnej użyto roztworów syntetycznych imitujących siarkowe wody kopalniane. Roztwory te były zbliżone do składu wód przejściowej strefy hydrochemicznej złóż siarki.

Obserwacje te wykazały, że osad czynny przystosowany do utlenienia siarczku lepiej nadawał się do biochemicznego oczyszczenia siarkowych wód złożowych, niż osad czynny aklimatyzowany do rozkładu tiosiarcznanu. Dozowanie tiosiarcznanu okazało się natomiast korzystne w okresie formowania i hodowli osadu czynnego.

Stwierdzono, że usuwanie siarczku z siarkowych wód złożowych przy pomocy autotrofowych osadów czynnych, może okazać się skuteczne i ekonomiczne. Wykazano możliwość prowadzenia zamierzonego procesu bez potrzeby wzbogacania środowiska w substraty organiczne.

Politechnika Śląska
Katedra Technologii Wody i Ścieków

LITERATURA

- [1] STARKEY R.L.: "Transformation of Sulfur by Microorganism" *Ind. Eng. Chem.* 48, 1429, (1956).
- [2] LEES H.: "Biochemistry of Autotrophic Bacteria" - Londyn, 1955.
- [3] VISHNIAC W. i SANTER M.: "The Thiobacilli" - *Bact. Rev.* 21, 195, (1957).
- [4] AULENBACH D.B. i HEUKELEKIAN H.: "Transformation and Effects of Reduced Sulfur Compounds in Activated Sludge Treatment" - *Sew. Ind. Wastes* 27, 435, (1955).
- [5] ROGOWSKAJA C.I. i ŁAZAREWA M.F.: "K woprosu intensyfikacji processow biochimizjeskoj oczistki promyszlennych stocznych wod. Mikrobiologizoeskaja ocharakteristika aktiwnogo iła i bioplenki ocziszczajuszoczich gruntowyje wody siernych miestorożdenij - Sbornik Vysoke Skoly Chemiccko-Technologicke v Praze - Technologie Vody 6, 43, (1962).
- [6] KAŁABINA M.M., LEBIEDIEWA M.P. i STOLJAROWA Ł.I.: "Biologizoeskaja oczistka gruntowych wod ot sierowodoroda" - Wodgeo, Moskwa, 1960.
- [7] KURTENACKER H. i WOLLAK R.: "Zur jodometrischen Analyse eines Gemenges von Sulfid, Sulfit und Thiosulfat" - *Z. anorg. allg. Chem.* 161, 201, (1927).
- [8] ŁURIE J.J. i RYBNIKOWA A.I.: "Chimizjeskij analiz proizwodstwiennych stocznych wod" - *Goschimizdat*, Moskwa, (1963).

- [9] MAURICE M.J.: "A Comparison of Three Methods for the Determination of Colloidal Sulfur" - Anal. Chim. Acta 16, 578 (1957).
- [10] LANG R. i KURTENACKER H.: "Oxydimetrische Methoden zur Bestimmung von Thiosulfat, Sulfit und Polythionat" - Z. analyt. Chem. 123, 169, (1942).
- [11] SZCZEPKOWSKI T.W. i SKARŻYŃSKI B.: "Biochemia samożywnych bakterii siarkowych. I. Układ cytochromowy i hemoproteidy Thiobacillus thiooxygenans i Thiobacillus thiooxidans" - Acta Microb. Pol. 1, 93, (1952).
- [12] STANIER R.Y.: "Problems of Bacterial Oxidative Metabolism" - Bact. Rev. 14, 179, (1950).
- [13] KRAJEWSKI R.: "Wpływ kopalnictwa siarki na zasolenie wód" - Symposium poświęcone zasoleniu wód w Polsce, PAN, Warszawa, 1962.
- [14] VISHNIAC W.: "The Metabolism of Thiobacillus thiooxygenans. I. The Oxidation of Thiosulfate" - J. Bacteriol. 64, 363, (1952).
- [15] JACOBSEN H.C.: "Die Oxydation von Schwefelwasserstoff durch Bakterien" - Folia Microbiologica 3, 155, (1914).
- [16] STARKEY R.L.: "Concerning the Carbon and Nitrogen Nutrition of Thiobacillus thiooxygenans, an Autotrophic Bacterium Oxidizing Sulfur under Acid Conditions" - J. Bacteriol. 10, 165 (1925).
- [17] PARKER C.D. i PRISK J.: "The Oxidation of Inorganic Compounds of Sulphur by Various Sulphur Bacteria" - J. Gen. Microbiol. 8, 344, (1953).
- [18] GLEEN H. i QUASTEL J.H.: "Sulphur Metabolism in Soil" - Appl. Microbiol. 1, 70 (1953).

ПРИМЕНЕНИЕ АВТОТРОФНЫХ АКТИВНЫХ ИЛОВ
ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ НЕКОТОРЫХ СОЕДИНЕНИЙ СЕРЫ
ВЫСТУПАЮЩИХ В ГРУНТОВЫХ ВОДАХ СЕРНЫХ МЕСТОРОЖДЕНИЙ

Резюме

Проведено исследование по биохимическому окислению сульфида и тиосульфата посредством смешанных популяций серных бактерий, образующих автотрофные активные илы. В такой смешанной популяции преобладали хемоавтотрофные серные бактерии вида Thiobacillus.

Автотрофные активные илы получены путем коагуляции обогащенных культур серных бактерий, образовавшихся на тиосульфатной среде. Они подвергались акклиматизации к высоким концентрациям сульфида или тиосульфата. Применение концентрации 2500 мг/л субстратовой серы обеспечило рост массы активного ила, а также акклиматизацию развивающихся микроорганизмов к большим концентрациям неорганических солей. Эта акклиматизация могла иметь адаптационный характер или быть связана с ростом микроорганизмов, приспособленных к селективному действию среды.

Наблюдалась динамика биохимического окисления сульфида или тиосульфата посредством получаемых активных илов. Исследовались аналитические изменения концентрации субстратов, а также продуктов окисления этих субстратов: элементарной серы, тиосульфата, полиитионатов, сульфита и сульфата. Проведено также наблюдения одновременной адаптации автотрофных активных илов для окисления сульфида и тиосульфата.

Приведены попытки определения механизма биологического окисления сульфида и рассмотрена упрощенная схема этого окисления. Они подтвердили преддущие предположения относительно выступления полиитионатов в качестве промежуточных продуктов. Элементарная сера, образующаяся в этом процессе, была вероятно продуктом неэнзиматического окисления полиитионатов, вызванным путем аэрации среды.

Проведены испытания технологического применения автотрофных активных илов для биохимического обезвреживания грунтовых вод из серных месторождений. В исследованиях, проведенных в лабораторном масштабе, применены синтетические растворы имитирующие серные шахтные воды. Эти растворы были похожи на состав вод из переходной гидрохимической зоны серных месторождений.

Эти наблюдения показали, что активный ил, акклиматизированный к окислению сульфидов был более пригодным для биохимической очистки серных грунтовых вод, чем активный ил, акклиматизированный для разложения тиосульфата. Дозировка тиосульфата оказалась затем более полезной в период формирования и питания активного ила.

Констатируется, что удаление сульфида из серных грунтовых вод при помощи автотрофных активных илов, может оказаться надежным и экономным. Выявлено возможность проведения намеченного процесса без необходимого обогащения среды в органические субстраты.

Силезский Политехнический Институт
Кафедра Технологии Воды и Сточных вод

APPLICATION OF THE AUTOTROPHIC ACTIVATED SLUDGES TO THE BIOCHEMICAL OXIDATION OF SOME SULPHUR COMPOUNDS PRESENT IN SULPHUR GROUND WATERS

S u m m a r y

Investigations concerning the biochemical oxidation of sulphide and thiosulphate by mixed population of sulphur bacteria were performed. These bacteria formed the autotrophic activated sludges. The chemo-autotrophic sulphur bacteria of the

genus Thiobacillus were predominating in such a mixed population.

The autotrophic activated sludges were obtained by the coagulation of enrichment cultures of sulphur bacteria produced in thiosulphate medium. They were acclimated to high concentration of sulphide or thiosulphate. Use of the concentration of 2500 ppm of substrate sulphur ensured the growth of cell mass of the activated sludges and the adaptation of growing bacteria to high salts concentrations. This acclimation could be of an adaptative nature or related to the growth of bacteria under selective action of substrate.

The dynamics of biochemical oxidation of sulphide or thiosulphate by the activated sludges was observed. Changes in concentration of substrates and their oxidation products such as elemental sulphur, thiosulphate, polythionates, sulphite and sulphate were determined. Observation of simultaneous adaptation of autotrophic activated sludges to the oxidation of sulphide and thiosulphate were also performed.

Postulated path of the biochemical oxidation of sulphide and its simplified scheme were also discussed. Those trials confirmed previous suppositions of the presence of polythionates as intermediates in this oxidation mechanism. The elemental sulphur produced in this process is probably the product of non enzymatic oxidation of polythionates due to the medium aeration.

The technological application of autotrophic activated sludges to biochemical purification of ground waters from sulphur mines has been also investigated. Synthetic solutions simulating sulphur ground waters were used in laboratory scale research.

The results of the performed observations proved that the activated sludges acclimated to sulphide oxidation was more suitable to biochemical treatment of this mine waters than the activated sludge acclimated to thiosulphate degradation. Thus the dosage of thiosulphate proved to be advantageous only during the growth and production of the activated sludges.

It was found that the removal of hydrogen sulphide and sulphide from the sulphur mine ground waters by means of autotrophic activated sludge can be effective and economical treatment process.

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