

*denitryfikacja autotroficzna, wodór,
węgiel nieorganiczny, biomasa zawieszona,
NPL bakterii denitryfikacyjnych*

Izabella KŁODOWSKA, Joanna RODZIEWICZ, Anna HAJDUK,
Andrzej BRUDNIAK*

WPLYW ŹRÓDŁA WĘGLA NIEORGANICZNEGO NA EFEKTYWNOŚĆ USUWANIA AZOTU AZOTANOWEGO (V) W PROCESIE HYDROGENOTROFICZNEJ DENITRYFIKACJI

W pracy przedstawiono wpływ stosunku C/N węgla nieorganicznego (KHCO_3), na efektywność hydrogenotroficznej denitryfikacji, stężenie biomasy zawieszonej oraz na liczebność bakterii denitryfikacyjnych (NPL) w unieruchomionej biomacie. Badania prowadzono w warunkach anaerobowych, przy gęstości prądu elektrycznego $53 \text{ mA} \cdot \text{m}^{-2}$ i stosunku C/N = 0,75; 1,0 i 1,5. Przeprowadzone badania pokazały, iż wzrost dawki wodorowęglanu potasu (KHCO_3), istotnie wpłynął na zmniejszenie stężenia azotu azotanowego (V). Najniższe jego stężenie zanotowano przy C/N równym 1,5–23,60 ($\pm 2,95$) $\text{mg N}_{\text{NO}_3} \cdot \text{L}^{-1}$. Koncentracja azotu azotanowego (III) stanowiła 0,38 ($\pm 0,10$) $\text{mg N}_{\text{NO}_2} \cdot \text{L}^{-1}$, a azotu amonowego – 0,54 ($\pm 0,63$) $\text{mg N}_{\text{NH}_4} \cdot \text{L}^{-1}$. Zwiększanie dawki węgla nieorganicznego, nie wpłynęło na wzrost biomasy w formie zawieszonej i wzrost liczebności bakterii denitryfikacyjnych w błonie biologicznej.

1. WPROWADZENIE

Wysoka koncentracja azotu azotanowego (V) w wodach powierzchniowych wpływa niekorzystnie na ich funkcjonowanie. W głównej mierze sprzyja eutrofizacji ekosystemów wodnych. Stosowanie nawozów azotowych w rolnictwie oraz nielegalne zrzuty ścieków komunalnych i przemysłowych, powodują nieustany wzrost stężenia azotu azotanowego (V) w wodach podziemnych [1]. Związek ten nie jest szkodliwy, ale jest prekursorem azotu azotanowego (III). Reagując z hemoglobina w krwi,

* Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, ul. Oczapowskiego 2, 10-719 Olsztyn, izabella.klodowska@uwm.edu.pl.

wywołuje methemoglobinemię hamującą transport tlenu w komórkach oraz przechodząc w nitrozo-aminy sprzyja nadciśnieniu [2, 3].

Konieczne staje się poszukiwanie wciąż nowych rozwiązań technologicznych pozwalających na wysoko efektywne ich usuwanie. W ostatnich latach uwagę badaczy zwróciła możliwość połączenia procesów biologicznych z fizyko-chemicznymi w warunkach oddziaływania prądu elektrycznego [6, 7, 11, 12, 13]. Wykorzystanie wodoru przez mikroorganizmy denitryfikacyjne do redukcji azotu azotanowego (V) okazało się korzystne ze względu na niski koszt źródła elektronów, nieszkodliwość, niską rozpuszczalność w wodzie ($1,6 \text{ mg} \cdot \text{L} \cdot \text{bar}^{-1}$ w $20 \text{ }^\circ\text{C}$) oraz brak konieczności usuwania jego nadmiaru i produktów ubocznych [10]. Proces denitryfikacji hydrogenotroficznej w porównaniu z denitryfikacją heterotroficzną wspomaganą dodatkowym źródłem węgla (np. kwas octowy, etanol lub metanol), charakteryzuje się 50% mniejszą produkcją biomasy i nie wymaga wtórnego oczyszczania w celu usunięcia nadmiaru substratu [9].

Denitryfikację autotroficzną z wodorowym donorem elektronów można wspomagać dodatkowym substratem w postaci węglanów czy wodorowęglanów, stanowiącym źródło węgla nieorganicznego dla mikroorganizmów. Dysocjacja wodorowęglanu potasu i następnie hydroliza jonów wodorowęglanowych, zwiększa przewodnictwo ścieków i zmniejsza zużycie prądu elektrycznego w procesie hydrogenotroficznej denitryfikacji [5].

We wcześniejszych badaniach, proces hydrogenotroficznej denitryfikacji wspomagano dwutlenkiem węgla wydzielanym w procesie utleniania anody węglowej oraz z dodatkiem wodorowęglanu potasu (KHCO_3). Uzyskano sprawność usuwania azotu azotanowego (V) na poziomie $83,97 \pm 1,7\%$ (średnie stężenie w odpływie $8,05 \pm 0,8 \text{ mg NNO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$), przy gęstości prądu elektrycznego $79 \text{ mA} \cdot \text{m}^{-2}$ i C/N równym $0,75$ [5].

W niniejszych badaniach, autorzy zbadali w jakim stopniu dawka wodorowęglanu potasu (KHCO_3) wpłynie na stężenie mineralnych i utlenionych form azotu, w ściekach oczyszczonych w procesie hydrogenotroficznej denitryfikacji. Określono także wpływ źródła węgla nieorganicznego na liczebność bakterii denitryfikacyjnych (NPL) w błonie biologicznej i stężenie biomasy zawieszanej.

2. METODYKA BADAŃ

Badania przeprowadzono na ściekach syntetycznych charakteryzujących się niskim stężeniem związków organicznych i wysoką koncentracją utlenionych form azotu. W celu ich przygotowania w $2,0 \text{ L}$ wody wodociągowej rozpuszczono: bulion wzbogacony ($0,08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), NaNO_3 ($30,36 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), KCl ($21,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($307,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) i CaCl_2 ($21,0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$).

Średnie wartości wskaźników fizyko-chemicznych ścieków surowych były następujące:

- * stężenie azotu azotanowego (V) – 49,65 (\pm 1,87) [$\text{mgN}_{\text{NO}_3} \cdot \text{L}^{-1}$],
- * stężenie związków organicznych (ChZT_{Cr}) – 69,04 (\pm 1,45) [$\text{mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$],
- * stężenie ogólnego węgla organicznego (TOC) dla C/N (0,75; 1,0; 1,5) – 24,83 (\pm 0,67), 28,14 (\pm 0,84), 32,78 (\pm 0,34) [$\text{mgC} \cdot \text{L}^{-1}$],
- * stężenie węgla nieorganicznego (IC) dla C/N (0,75; 1,0; 1,5) – 70,73 (\pm 0,64), 78,71 (\pm 0,83), 85,87 (\pm 0,50) [$\text{mgC} \cdot \text{L}^{-1}$],
- * odczyn – 7,5 [-],
- * potencjał redox – 185,80 [mV],
- * przewodnictwo elektrolityczne – 1,90 [$\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$].

2.1. UKŁAD BADAWCZY

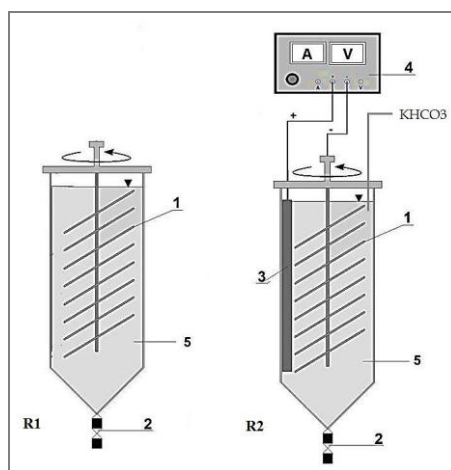
Eksperyment prowadzono równolegle w 2 wsadowych cylindrycznie pionowych bioreaktorach (SBBR) o objętości 3,0 L każdy, w warunkach anaerobowych (rys. 1). W każdym reaktorze znajdował się pakiet 12 katod (tarcz) z unieruchomioną błoną biologiczną wykonanych ze stali nierdzewnej o średnicy 0,10 m każda i powierzchni sumarycznej 0,19 m². Tarcze zamocowane współosiowo na pionowym wale obracały się z prędkością 10 obr./min, a ich zanurzenie wynosiło 100%. Reaktor 1 (R1) stanowił układ kontrolny bez oddziaływania prądu elektrycznego. Natomiast reaktor 2 (R2) pracował w warunkach przepływu prądu elektrycznego. Zamontowano w nim anodę ze stali aluminiowej o powierzchni całkowitej 0,033 m². Do reaktora 2 (R2) dozowano wodorowęglan potasu (KHCO_3) przy stosunku C/N = 0,75; 1,0; 1,5. Katoda i anoda były podłączone do zasilacza laboratoryjnego w celu utrzymania wymaganego natężenia prądu elektrycznego, tj. 10 mA, 3,0 V (gęstość prądu elektrycznego – 53 mA·m⁻²). Przed rozpoczęciem właściwych badań, reaktory wpracowywano do momentu uzyskania odpowiedniej struktury błony biologicznej i stabilnego stężenia azotu azotanowego (V) w odpływie (3 miesiące). Próby do analiz pobierano raz na dobę (1,0 L). Po czym reaktory opróżniano (1,0 L) i napełniano ściekami (2,0 L).

2.2. METODY ANALITYCZNE

W ściekach surowych i oczyszczonych wykonywano następujące analizy fizyko-chemiczne:

- * stężenie azotu azotanowego (V) metodą kolorymetryczną [ISO 7890-3:1988],
- * stężenie azotu azotanowego (III) metodą kolorymetryczną [ISO 6777:1984],
- * stężenie azotu amonowego metodą kolorymetryczną [PN – 73/C-04576/01],

- * ogólny węgiel organiczny, węgiel nieorganiczny za pomocą analizatora firmy Hach IL 550 TOC-TN,
- * stężenie biomasy w formie zawieszonej metodą wagową, sucha masa [PN-EN 12880:2004], sucha masa mineralna i organiczna [PN-EN 12879:2004],
- * odczyn miernikiem pH HI 123 Hanna Instruments,
- * potencjał redox miernikiem pH 211 Hanna Instruments,
- * przewodnictwo elektrolityczne konduktometrem HI 99301.



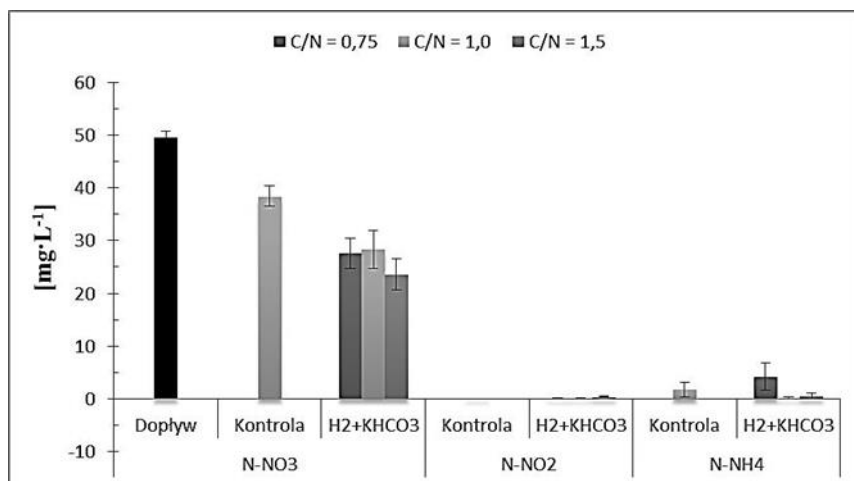
Rys. 1. Schemat stanowiska badawczego: (1) katoda – tarcze z unieruchomioną błoną biologiczną, (2) spust, (3) anoda (aluminium), (4) źródło prądu elektrycznego, (5) reaktor: R1 – reaktor kontrolny 1, R2 – reaktor 2 ($H_2 + KHCO_3$)

3. WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

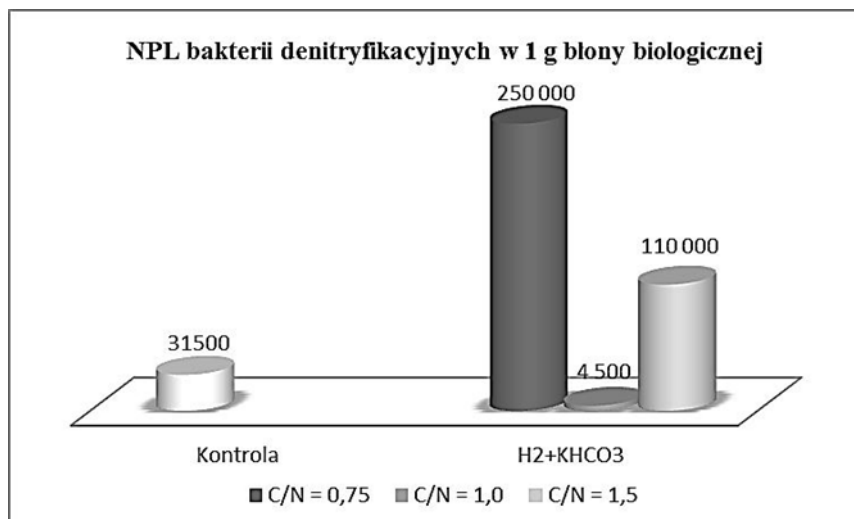
W niniejszej pracy przedstawiono wpływ dawki wodorowęglanu potasu ($KHCO_3$) na efektywność hydrogenotroficznej denitryfikacji, stężenie biomasy zawieszonej oraz na liczebność bakterii denitryfikacyjnych (NPL) unieruchomionych w biomacie.

W porównaniu z reaktorem kontrolnym (R1), proces denitryfikacji autotroficznej istotnie wpłynął na zmniejszenie stężenia azotu w ściekach oczyszczonych (rys. 2). Koncentracja mineralnych i utlenionych form azotu w odpływie zależała od dawki węgla nieorganicznego ($KHCO_3$). Proces przebiegał dwuetapowo do azotu amonowego w szlaku asymilacyjnym oraz do azotu cząsteczkowego w wyniku redukcji dysymilacyjnej. Według Klimiuk i in. [4] szlak asymilacyjny jest katalizo-

wany reduktazą azotanową typu B (enzym konstytutywny), zaś szlak dysymilacyjny reduktazą azotanową typu A (enzym indukcyjny). Szewczyk i in. [14] uważają, iż jony amonowe są wykorzystane przez drobnoustroje do budowy materiału komórkowego. Zatem w procesie denitryfikacji brały udział „prawdziwe” bakterie denitryfikacyjne, które wykorzystywały azot azotanowy (III) jako akceptor elektronów w przemianie azotu azotanowego (V) do azotu gazowego. Jak również bakterie „oddychające azotanowo”, które nie brały udziału w przemianie do azotu atmosferycznego. Mikroorganizmy te cechuje szybszy przyrost, niż w przypadku „prawdziwych” bakterii denitryfikacyjnych. Najniższe stężenie azotu azotanowego (V) zanotowano przy C/N równym 1,5–23,60 ($\pm 2,95$) $\text{mg N}_{\text{NO}_3}\cdot\text{L}^{-1}$. Koncentracja azotu azotanowego (III) stanowiła 0,38 ($\pm 0,10$) $\text{mg N}_{\text{NO}_2}\cdot\text{L}^{-1}$, a azotu amonowego na poziomie 0,54 ($\pm 0,63$) $\text{mg N}_{\text{NH}_4}\cdot\text{L}^{-1}$. Niewiele większe stężenie azotu azotanowego (V), uzyskano przy stosunku C/N = 0,75–27,63 ($\pm 2,86$) $\text{mg N}_{\text{NO}_3}\cdot\text{L}^{-1}$ (rys. 2). Tak wysoki stopień usunięcia wspomnianej formy azotu wynikał między innymi z większego udziału bakterii denitryfikacyjnych w błonie biologicznej – 250000 NPL (rys. 3). Przy najwyższej dawce wodorowęglanu potasu (C/N = 1,5), liczebność kształtowała się na niższym poziomie – 110000 NPL (rys. 3). W odniesieniu do reaktora kontrolnego (R1), najbardziej prawdopodobna liczba bakterii (NPL) wyniosła 31500 (rys. 3), co wpłynęło na niższy stopień usuwania utlenionej formy azotu.



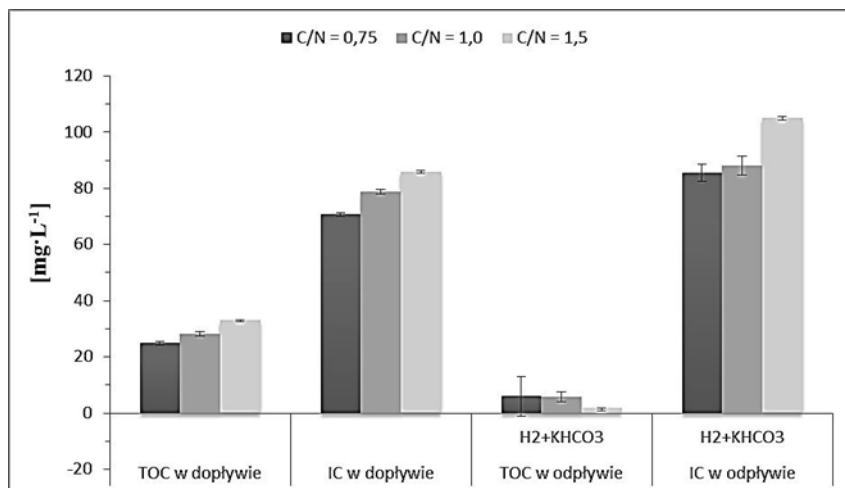
Rys. 2. Wpływ stosunku C/N węgla nieorganicznego (KHCO_3) na stężenie mineralnych i utlenionych form azotu



Rys. 3. Wpływ stosunku C/N węgla nieorganicznego na liczebność bakterii denitryfikacyjnych (NPL)

W odpływie z reaktora kontrolnego, stężenie azotu azotanowego (V) stanowiło $38,41 (\pm 1,96) \text{ mg N}_{\text{NO}_3} \cdot \text{L}^{-1}$, azotu azotanowego (III) – $0,03 (\pm 0,01) \text{ mg N}_{\text{NO}_2} \cdot \text{L}^{-1}$ oraz azotu amonowego – $1,74 (\pm 1,35) \text{ mg N}_{\text{NH}_4} \cdot \text{L}^{-1}$. Dla C/N równego 1,0 uzyskano w odpływie, w porównaniu z innymi stosunkami, wyższą koncentrację azotu azotanowego (V), na poziomie $28,38 (\pm 3,62) \text{ mg N}_{\text{NO}_3} \cdot \text{L}^{-1}$ i poniżej $0,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ azotu azotanowego (III) oraz azotu amonowego (rys. 2). Wynika to między innymi z mniejszego udziału bakterii na powierzchni katody, stanowiącej 4500 NPL (rys. 3). Porównując liczebność bakterii dla stosunków C/N = 0,75 i C/N = 1,5, liczba bakterii w biomacie dla C/N = 1,0 była niewielka, ale bardzo wydajna. Zwiększenie gęstości prądu elektrycznego wpłynęłoby zapewne na uzyskanie jeszcze większej efektywności procesu denitryfikacji autotroficznej.

Analiza węgla nieorganicznego, w reaktorze 2 (R2) nie określiła dokładnie, jaka ilość została wykorzystana przez mikroorganizmy (rys. 4). Ze względu na wzrost stężenia, wraz ze zwiększeniem jego dawki, w stosunku do wartości początkowej od $20,82\% (\pm 4,30)$ (C/N = 0,75) do $22,16\% (\pm 1,67)$ (C/N = 1,5). Odnotowano natomiast, wzrost zużycia węgla organicznego z $76,47\% (\pm 6,19)$ (C/N = 0,75) do $95,73\% (\pm 1,09)$ (C/N = 1,5). Zmniejszenie w odpływie ogólnego węgla organicznego dostępnego w ściekach surowych świadczy, iż część organicznej formy węgla przeszła do formy nieorganicznej oraz o prawdopodobnym współudziale bakterii autotroficznych i heterotroficznych w procesie oczyszczania.

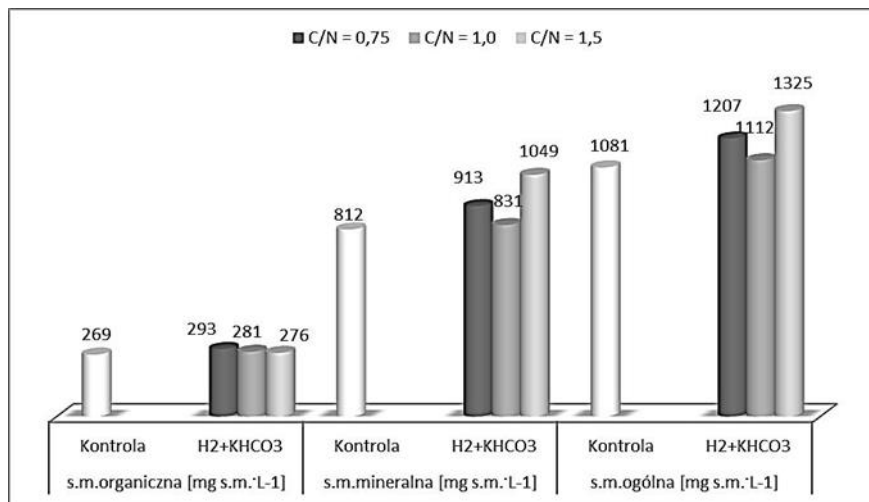


Rys. 4. Stężenie w ściekach ogólnego węgla organicznego (TOC) i węgla nieorganicznego (IC)

Układy autotroficzne charakteryzują się niewielkim przyrostem biomasy w odróżnieniu od układów heterotroficznych. Wynika to z większego nakładu energii włożonej przez mikroorganizmy na wykorzystywanie związków, w których stopień utlenienia węgla jest wyższy niż w biomase lub związków zawierających mniejszą liczbę C [4]. Wpływa to na ograniczenie problemów technologicznych związanych z zagospodarowaniem osadów. Stwierdzono, iż przyrost biomasy autotroficznej wykorzystującej wodór może wynieść ok. $0,24 \text{ g} \cdot \text{gN-NO}_3^{-1}$. W procesie denitryfikacji heterotroficznej, opartej na źródle węgla organicznego, jest znacznie wyższy i wynosi od $0,6$ do $0,9 \text{ g} \cdot \text{gN-NO}_3^{-1}$ [8].

Zwiększanie dawki węgla nieorganicznego, nie wpłynęło na wzrost koncentracji biomasy zawieszonyj (R2) (rys. 5), stanowiła ona średnio $293,0 \text{ mg}_{\text{s.m.o.}} \cdot \text{L}^{-1}$ dla $\text{C/N} = 0,75$, $281,0 \text{ mg}_{\text{s.m.o.}} \cdot \text{L}^{-1}$ dla $\text{C/N} = 1,0$ i $276,0 \text{ mg}_{\text{s.m.o.}} \cdot \text{L}^{-1}$ dla $\text{C/N} = 1,5$. W reaktorze kontrolnym (R1), odnotowano niższe stężenie biomasy zawieszonyj, na poziomie $269,0 \text{ mg}_{\text{s.m.o.}} \cdot \text{L}^{-1}$.

Brak wzrostu stężenia biomasy zawieszonyj, wraz ze wzrostem dawki węgla nieorganicznego, w postaci wodorowęglanu potasu (KHCO_3), jest bardzo dobrym sygnałem dla gospodarki osadowej. Tego typu rozwiązanie technologiczne nie będzie miało wpływu na wzrost osadów nadmiernych, co jest istotne z ekonomicznego i ekologicznego punktu widzenia.



Rys. 5. Stężenie biomasy w formie zawieszonyj w poszczególnyjs reaktorach

4. WNIOSKI

W wyniku zwiększania dawki węgla nieorganicznyjs (KHCO₃) w procesie hydrogenotroficznyjs denitryfikacji, uzyskano:

1. istotną zależność pomiędzy dawką wodorowęglanu potasu a koncentracją mineralnyjs i utlenionýjs form azotu w odpływie. Najniższe stężenie azotu azotanowego (V) zanotowano przy C/N równym 1,5–23,60 (± 2,95) mg N_{NO₃}·L⁻¹. Stężenie azotu azotanowego (III) stanowiło 0,38 (± 0,10) mg N_{NO₃}·L⁻¹, a azotu amonowego – 0,54 (± 0,63) mg N_{NH₄}·L⁻¹,
2. brak wpływu na wzrost stężenia biomasy w formie zawieszonyj i wzrost liczebności bakterii denitryfikacyjnyjs (NPL) w błonie biologicznej.

Niniejsza praca powstała w ramach projektu badawczyjs pt.: „Wpływ źródła węgla na efektywność i parametry symultanicznie zachodzącyjs procesów hydrogenotroficznyjs denitryfikacji i elektrokoagulacji” realizowanyjs ze środków Narodowyjs Centrum Nauki (2013/09/N/ST8/04163).

LITERATURA

- [1] ANDREOTTOLA G., FOLADORI P., RAGAZZI M., TATANDO F., *Experimental comparison between MBBR and activated sludge system for the treatment of municipal wastewater*, Water Science Technology, 2000, Vol. 41, No. 4–5, 375–382.
- [2] CANTER L.W., *Nitrate in Groundwater*. CRC Press, Boca Raton USA 1997.
- [3] GUO Z., ZHENG Z., GU C., ZHENG Y., *Gamma irradiation-induced removal of low-concentration nitrite in aqueous solution*, Radiation Physics and Chemistry, 2008, Vol. 77, 702–707.
- [4] KLIMIUK E., ŁEBKOWSKA M., *Biotechnologia w ochronie środowiska*, PWN, Warszawa 2008.
- [5] KŁODOWSKA I., RODZIEWICZ J., JANCZUKOWICZ W., *Wpływ źródeł węgla nieorganicznego (CO₂, KHCO₃) na przebieg procesu denitryfikacji hydrogenotroficznej w reaktorze bio-elektrochemicznym*, Technologia Wody, 2014, Vol. 38, No. 6, 111–114.
- [6] KŁODOWSKA I., RODZIEWICZ J., JANCZUKOWICZ W., FILIPKOWSKA U., *Effect of electrochemical process on the concentration of total nitrogen and orthophosphates in the outflow from the reactor with immobilized biofilm*, Annual Environmental Protection, 2013, Vol. 15, 1952–1964.
- [7] KRZEMIENIEWSKI M., RODZIEWICZ J., *Nitrogen compounds removal in a rotating electro-biological contactor*, Environmental Engineering Science, 2005, Vol. 22, No. 6, 816–822.
- [8] KULIKOWSKA D., BERNAT K., CYDZIK-KWIATKOWSKA A., *Przemiany i usuwanie związków azotowych w systemach biologicznego oczyszczania ścieków*, [w]: Trendy w biotechnologii środowiskowej, pod red. I. WOJNOWSKA-BARYŁA, Wydawnictwo UWM, Olsztyn 2008.
- [9] PROSNANSKY M., SAKAKIBARA Y., KURODA M., *High-rate denitrification and SS rejection by biofilm–electrode reactor (BER) combined with microfiltration*, Water Research, 2002, Vol. 36, 4801–4810.
- [10] RITTMANN B.E., NERENBERG R., LEE K.C., NAJM I., GILLOGLY T.E., LEHMAN G.E., ADHAM S.S., *The hydrogen-based hollow-fiber membrane biofilm reactor (HFMBfR) for reducing oxidized contaminants*, Water Science Technology, Water Supply, 2004, No. 4, 127–133.
- [11] RODZIEWICZ J., FILIPKOWSKA U., DZIADKIEWICZ E., *Electrolytically-aided denitrification on a rotating biological contactor*, Environmental Technology, 2011a, Vol. 32, No. 1, 93–102.
- [12] RODZIEWICZ J., FILIPKOWSKA U., JANCZUKOWICZ W., *Application of rotating biological contactor for treatment of wastewaters from fish breeding*, Annual Environmental Protection, 2011b, Vol. 13, No. 1, 1173–1183.
- [13] RODZIEWICZ J., FILIPKOWSKA U., SOMINKA K., *Research on the electrolytically-aided denitrification on the four-stage rotating biological contactor*, Annual Environmental Protection, 2011c, Vol. 12, No. 1, 835–846.
- [14] SZEWCZYK W.K., *Biologiczne metody usuwania związków azotu ze ścieków*, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 2005.

INFLUENCE OF INORGANIC CARBON SOURCE ON NITRATE REMOVAL IN THE HYDROGENOTROPHIC DENITRIFICATION PROCESS

The paper discusses the impact of the C/N ratio of inorganic carbon (KHCO_3) on efficiency of hydrogenotrophic denitrification, the concentration of suspended biomass and the number of denitrifying bacteria (MPN) in immobilized biomass. The experiment was conducted under anaerobic conditions, at the electric current density of $53 \text{ mA}\cdot\text{m}^2$ and the C/N ratios of 0.75, 1.0 and 1.5.

The results showed that a higher dose of potassium bicarbonate significantly decreased the concentration of nitrate. The lowest concentration was observed at C/N ratio of 1.5 to $23.60 (\pm 2.95) \text{ mg N}_{\text{NO}_3}\cdot\text{L}^{-1}$. The concentration of nitrite was $0.38 (\pm 0.10) \text{ mg N}_{\text{NO}_2}\cdot\text{L}^{-1}$, and ammonium was $0.54 (\pm 0.63) \text{ mg N}_{\text{NH}_4}\cdot\text{L}^{-1}$. Increase in doses of inorganic carbon (KHCO_3), did not impact on the suspended biomass growth and the number of denitrifying bacteria (MPN) in the biofilm.