

Agnieszka Tabernacka, Ewa Zborowska, Maria Łebkowska

Usuwanie chlorowanych etenów (TCE i PCE) z powietrza w bioreaktorach zintegrowanych z unieruchomioną biomasą

Chlorowane nienasycone węglowodory, takie jak trichloroeten (TCE) i tetrachloroeten (PCE), stosowane są jako rozpuszczalniki w obróbce metali, przemyśle elektronicznym, papierniczym, tekstylnym, drukarstwie i w produkcji farb. W atmosferze związki te mogą ulegać przemianom fotochemicznym, w wyniku których powstają substancje o charakterze mutagennym i kancerogennym, takie jak fosgen, chlorek dichloroacetyl i chlorek formylu [1]. Z uwagi na ich trwałość, związki te mogą przenosić się na duże odległości od źródła zanieczyszczenia, stanowiąc zagrożenie zdrowia ludzi.

Biotechnologiczne metody usuwania zanieczyszczeń gazowych z powietrza i gazów odlotowych polegają na dwóch procesach – sorpcji zanieczyszczeń oraz ich biochemicznym rozkładzie przy udziale mikroorganizmów zasiedlających reaktory. Zanieczyszczenia z powietrza przenoszone są do fazy wodnej, a następnie ulegają przemianom biochemicznym, w wyniku których mikroorganizmy uzyskują energię oraz metabolity do syntez komórkowych. Doświadczenia wskazują, że metody biologiczne są skuteczniejsze i ekonomiczniejsze w usuwaniu składników gazów od metod fizyczno-chemicznych. W biotechnologicznych metodach usuwania zanieczyszczeń gazowych wykorzystywane są biofiltry i biopłuczki, ze względu na ich dużą sprawność oraz łatwość eksploatacji. Biologiczne oczyszczanie gazów ma szeroki zakres zastosowań, jest jednak ograniczone kilkoma warunkami. Zanieczyszczenia, aby mogły zostać usunięte z gazów, muszą być przynajmniej w niewielkim stopniu rozpuszczalne w wodzie lub w tłuszczach oraz podatne na biodegradację. Oczyszczane gazy odlotowe nie mogą zawierać pyłów ani składników toksycznych dla mikroorganizmów, takich jak metale ciężkie czy opary kwasów, a ich temperatura nie powinna wpływać na hamowanie aktywności metabolicznej mikroorganizmów.

Tri- i tetrachloroeten bardzo trudno poddają się biodegradacji, z uwagi na ich lotność, nierozpuszczalność w wodzie oraz strukturę chemiczną. Związki te nie mogą stanowić substratu wzrostowego dla mikroorganizmów, a ich rozkład jest możliwy tylko na drodze kometabolicznej lub dehalorespiracji. Enzymy związane z kometabolicznymi tlenowymi przemianami TCE i PCE (niespecyficzne oksygenazy) są indukowane w obecności takich substratów wzrostowych,

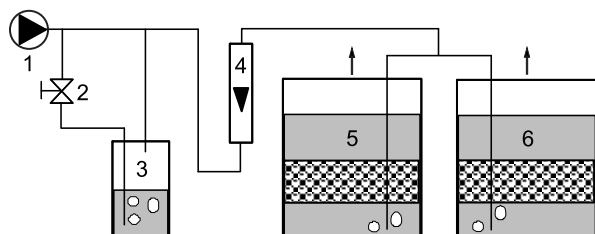
jak metan, butan, propan, propylen, fenol, toluen i amoniak. Każdy z tych substratów wzrostowych zastosowany w układzie technologicznym stanowi dodatkowe obciążenie systemu. Bakterie przeprowadzające w tych warunkach rozkład TCE i PCE należą do rodzajów *Methylomonas*, *Methylosinus*, *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Xanthobacter*, *Ralstonia* i *Nitrosomonas* [2]. Chlorowane węglowodory mogą być wykorzystywane przez bakterie jako końcowe akceptory elektronów w procesie oddychania beztlenowego. W efekcie dehalorespiracji atomy chloru są uwalniane z cząsteczek. Bakterie wykorzystujące ten proces należą do rodzajów *Dehalobacter*, *Dehalospirillum*, *Sulfurospirillum*, *Dehalococcoides*, *Desulfotobacterium* i *Geobacter* [3,4]. Należy jednak podkreślić, że większość z tych bakterii nie jest zdolnych do eliminacji wszystkich cząsteczek chloru z tri- i tetrachloroetenu. Wiąże się to z problemem pojawiania się w środowisku takich produktów przemian, jak toksyczne cis-dichloroeten i chlorek winylu. Udowodniono, że jedynie bakterie z rodzaju *Dehalococcoides* są zdolne do dalszej redukcji tych związków do etenu. W przypadku tych mikroorganizmów dehalorespiracja jest też jedyną drogą pozyskiwania energii w procesie oddychania [3–5]. Przemiany biochemiczne PCE i TCE w warunkach beztlenowych mogą zachodzić także przy udziale bakterii metanogennych, acetogennych, redukujących Fe(III) i Mn(IV) oraz redukujących siarczany [4].

Niewiele jest rozwiązań technologicznych biologicznego usuwania chlorowanych etenów z gazów odlotowych, stąd też badania naukowe i stosowanie nowych technologii w tym zakresie są wysoce uzasadnione. Celem przeprowadzonych badań było usuwanie TCE i PCE z powietrza w bioreaktorze zintegrowanym zawierającym mieszaną kulturę bakterii unieruchomionych na porowatych nośnikach. Zakres badań obejmował dobór parametrów technologicznych procesu oczyszczania oraz wybór właściwego nośnika biomasy na podstawie oznaczeń chemicznych, mikrobiologicznych i enzymatycznych. Po zakończeniu eksperymentu zidentyfikowano bakterie biorące udział w usuwaniu zanieczyszczeń.

Materiały i metodyka badań

W badaniach zastosowano układ dwóch bioreaktorów zintegrowanych, zawierających fazę ciekłą (podłoże hodowlane z zawiesinami mikroorganizmów) oraz fazę stałą – nośnik z unieruchomionymi bakteriami. Wprowadzenie nośnika o właściwościach sorpcyjnych umożliwiło

zatrzymanie w układzie szczególnie lotnych węglowodorów – tri- i tetrachloroetyleny, przez co związki te stały się dostępne dla mikroorganizmów. W badaniach zastosowano dwa porowate nośniki – piankę poliuretanową i perlit, celem określenia przydatności każdego z nich w procesie oczyszczania powietrza z chlorowanych etenów. Schemat układu doświadczalnego przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Schemat układu badawczego
Fig. 1. Experimental setup

Powietrze doprowadzono do układu za pomocą dmuchawy membranowej AIRPUMP Hi Blow HP-80 (1), która następnie rozdzielała się na dwa strumienie – jeden kierowany był przez zawór (2) do płuczki (3) zawierającej zanieczyszczenia (mieszanka TCE i PCE), natomiast drugi omijał płuczkę. Oba strumienie powietrza po połączeniu i przejściu przez rotametr (4) wprowadzane były do dwóch szklanych bioreaktorów (5) i (6) w kształcie walców, każdy o pojemności całkowitej 1 dm³ i roboczej 0,6 dm³. Powietrze było rozprowadzane w bioreaktorach przez filtry Schotta (napowietrzanie drobnopełcherzykowe) umieszczone na wysokości 1,5 cm od dna. Bioreaktory zawierały porowate nośniki z unieruchomioną biomasą – piankę poliuretanową i perlit o objętości nasypowej 0,6 dm³. Zastosowano piankę poliuretanową wężykową Lexy 20 Tytan Professional w postaci sześciennych kostek o wymiarach 5 mm oraz perlit, który jest materiałem nieorganicznym, otrzymywanym z glinokrzemianów wulkanicznych w procesie mielenia i wypalania w temperaturze 1000 °C. Około 70% jego masy stanowi SiO₂, zaś pozostałą część – tlenki glinu, żelaza, wapnia, magnezu, sodu i potasu. Produkt ten ma strukturę trwałą, mineralnej gąbki i rzeźbioną nieregularną powierzchnię. Jego gęstość, w zależności od rodzaju, wynosi 80–150 kg/m³. Jest ognioodporny, trwały i chemicznie pasywny.

Bezpośrednio przed rozpoczęciem badań pianka poliuretanowa i perlit zostały zasiedlone bakteriami. Mikroorganizmy obecne były zarówno na nośniku w postaci biofilmu, jak również w cieczy wypełniającej bioreaktor. Układ trzykrotnie w tygodniu zasilano roztworem soli biogennej o składzie: (NH₄)₂SO₄ – 0,50 g/dm³, KH₂PO₄ – 1,36 g/dm³, Na₂HPO₄ – 2,20 g/dm³, FeSO₄ – 0,01 g/dm³, MgSO₄ – 0,2 g/dm³, Ca(NO₃)₂ – 0,05 g/dm³ oraz 5% roztworem fenolu w ilości 2,1 cm³. Dwukrotnie w ciągu tygodnia dodawano wyciąg z próchnicy glebowej – po 5 cm³ do każdego reaktora. Układ trzykrotnie doszczepiono podczas badań – w 22., 48. i 75. dobie trwania eksperymentu. Badania prowadzono przez 116 d przy obciążeniu objętości bioreaktorów 100 m³/m³h. Średnie zawartości trichloroetenu i tetrachloroetenu w oczyszczanym powietrzu do 53. doby prowadzenia procesu wynosiły odpowiednio 25,7 mg/m³ i 10,4 mg/m³, co odpowiadało średnim obciążeniom bioreaktora ładunkiem zanieczyszczeń odpowiednio 2,57 g/m³h i 1,04 g/m³h. W 54. dobie badań zwiększono zawartości tetrachloroetenu w powietrzu do 27,3 mg/m³, co odpowiadało obciążeniu bioreaktora 2,73 g/m³h (tab. 1).

Tabela 1. Parametry operacyjne procesu
Table 1. Operating parameters of the process

Parametr, jednostka		Wartość
Pojemność robocza bioreaktora, dm ³		0,6
Objętość nośnika, dm ³		0,6
Obciążenie objętości bioreaktora, m ³ /m ³ h		100
Średnie obciążenie bioreaktora ładunkiem TCE (0+116 d), g/m ³ h		2,57
Średnie obciążenie bioreaktora ładunkiem PCE	(0+53 d), g/m ³ h	1,04
	(54+116 d), g/m ³ h	2,73

Bakterie zastosowane w badaniach pochodziły z gleby silnie zanieczyszczonej chlorowanymi etenami i były wcześniej wykorzystane w układzie technologicznym do usuwania TCE i PCE z powietrza w bioreaktorach zawierających wióry dębowe i zeolit z unieruchomioną biomasą. Mikroorganizmy przechowywano na stałym podłożu mineralnym zawierającym następujące składniki: (NH₄)₂SO₄ – 0,50 g/dm³, KH₂PO₄ – 1,36 g/dm³, Na₂HPO₄ – 2,20 g/dm³, FeSO₄ – 0,01 g/dm³, MgSO₄ – 0,2 g/dm³, Ca(NO₃)₂ – 0,05 g/dm³ oraz roztwór mikroelementów i witamin w ilości 1 cm³/dm³, a także TCE i PCE w ilości po 400 g/m³ jako jedyne źródło węgla organicznego. Węglowodory dodano do podłoża w postaci emulsji wodnej uzyskanej pod wpływem działania ultradźwięków o częstotliwości 35 kHz. Hodowle namnażające oraz stosowane do unieruchamiania bakterii zawierały dodatkowo pepton w stężeniu 0,1%.

Nośniki wypłukano kilkakrotnie w wodzie destylowanej, po czym wysuszono – perlit w suszarce w temperaturze 105 °C, natomiast piankę w powietrzu w temperaturze 20 °C do uzyskania stałej masy. Unieruchamianie mikroorganizmów na nośnikach przeprowadzono w szklanych naczyniach o pojemności 4 dm³. Mikroorganizmy namnożono na podłożu płynnym o wcześniej podanym składzie w warunkach mieszania w ciągu 24 h w temperaturze 20 °C, po czym do hodowli dodano odpowiedni nośnik w stosunku 2:1. Proces prowadzono przez 24 h w warunkach napowietrzania, po czym nośniki wraz z unieruchomionymi mikroorganizmami wprowadzono do odpowiednich bioreaktorów.

Poboru próbek powietrza dokonano do próbników z węglem aktywnym typu Anasorb CSC za pomocą aspiratora Pocket Pump model 210-1002TX firmy SKC. Desorpcję zanieczyszczeń przeprowadzono dwusiarczkiem węgla. Oznaczenia zawartości trichloroetenu i tetrachloroetenu w powietrzu dopływającym i odpływającym z bioreaktorów wykonano metodą chromatografii gazowej na aparacie Hewlett Packard 5890A z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID) z kolumną SPB-1. Rozdział chromatograficzny prowadzono w następujących warunkach: temperatura dawknika – 200 °C, temperatura detektora – 250 °C, temperatura kolumny – 40 °C przez 5 min, wzrost temperatury 5 °C/min do temp. 120 °C, czas końcowy 1 min. Strumienie gazów przepływających przez kolumnę: hel – 6 cm³/min, wodór – 49,5 cm³/min, powietrze – 380 cm³/min.

Badania mikrobiologiczne i enzymatyczne

Próbki biomasy pobrano po wymieszaniu całej zawartości bioreaktorów. 10 g pobranego materiału poddano wytrząsaniu w 90 cm³ 0,1% pirofosforanu sodu przez 30 min (120 obr./min). Uzyskane w ten sposób zawiesiny zastosowano do badań liczby bakterii oraz oznaczeń aktywności enzymatycznej biomasy.

Oznaczenia ogólnej liczby bakterii na nośnikach wypełniających bioreaktory wykonano metodą płytkową Kocha na podłożu R2A (Merck) metodą posiewu powierzchniowego zgodnie z normą PN-EN ISO 6222:2002 (ISO 6222:1999). Hodowle prowadzono przez 7 d w temperaturze 26 °C. Wyniki podano w jednostkach tworzących kolonie na gram suchej masy nośnika (jtk/g). Liczbę bakterii aktywnych w rozkładzie zanieczyszczeń oznaczono metodą płytkową Kocha na podłożu mineralnym z TCE i PCE w takich samych warunkach. Cechy morfologiczne bakterii oznaczono w preparatach przyżyciowych oraz barwionych metodą Grama, a cechy biochemiczne – przy użyciu standardowych testów firmy Bio-Mériéux API 20 NE.

Do oznaczenia aktywności enzymatycznej mikroorganizmów zasiedlających bioreaktory zastosowano dwa testy – TTC określający aktywność dehydrogenaz mikroorganizmów oraz test FDA określający aktywność hydrolityczną. Test TTC wykonano zgodnie z normą PN-C-04616-8:2008, oznaczając zawartość trifenyloformazanu (TF) powstałego w wyniku redukcji trifenylotetrazoliowego chlorku (TTC). Test obejmował dwa rodzaje próbek – zawierających dodatkową źródło węgla (glukozę) i bez egzogenego substratu. Inkubacja przebiegała w ciągu ok. 24 h w warunkach wytrząsania (120 obr./min) w temperaturze 26 °C. Wyniki testu TTC podano w mikromolach TF na sekundę i kilogram masy białka (μmol/s·kg). Test FDA wykonano według zmodyfikowanej metodyki Schürera i Roswalla [6]. Próbki do badań zawierające 3 cm³ zawiesin bakterii, 27 cm³ buforu fosforanowego (pH=7,6) oraz roztwór diocyanu fluoresceiny (FDA) w acetonie (20 μg/cm³) inkubowano w takich samych warunkach. Reakcję enzymatyczną

zatrzymano przez dodanie acetonu w stosunku objętościowym 1:1. Zawartość wytworzonej fluoresceiny oznaczono spektrofotometrycznie przy długości fali 490 nm. Wyniki testu FDA podano w miligramach fluoresceiny na sekundę i kilogram białka (mg/s·kg). Zawartość białka w próbkach oznaczono metodą Lowry'ego w ekstraktach bezkomórkowych uzyskanych po dezintegracji ultradźwiękowej.

Wyniki badań

Wyniki badań skuteczności usuwania chlorowanych etenów z powietrza w bioreaktorach przedstawiono w tabelach 2 i 3. Bioreaktor z biomasą unieruchomioną na perlite pracował stabilnie przez 25 d prowadzenia procesu z bardzo dużą skutecznością usuwania trichloroetenu (85÷91%) i tetrachloroetenu (61÷92%). Maksymalna wydajność procesu usuwania TCE i PCE wynosiła odpowiednio 2,33 g/m³h i 0,95 g/m³h. Skuteczność oczyszczania powietrza w bioreaktorze z pianką poliuretanową osiągnęła nawet 93% w przypadku TCE i 94% w przypadku PCE. Maksymalna wydajność procesu usuwania zanieczyszczeń wyniosła odpowiednio 2,36 g/m³h i 0,91 g/m³h. Jednak w 33. dobie procesu w obu bioreaktorach zaobserwowano gwałtowny spadek skuteczności procesu – do 24% (TCE) i 34% (PCE) w bioreaktorze z perlitem i do zera w bioreaktorze z pianką. W 39. dobie stwierdzono reemisję tetrachloroetenu do powietrza, jednakże bioreaktory odzyskały częściowo zdolność do zatrzymywania trichloroetenu. W dalszym czasie badań (do 53. doby) układ pracował ze zmienną skutecznością (11÷80%), jednak mniejszą niż na początku eksperymentu. W 60. dobie badań nastąpiło całkowite zahamowanie procesu, które w przypadku bioreaktora z perlitem okazało się nieodwracalne. W 81. dobie badań, ze względu na rozdrobnienie nośnika, skuteczność napowietrzania w bioreaktorze z perlitem uległa znacznemu zmniejszeniu, w wyniku czego konieczne było jego wyłączenie. Dalsze badania wykazały natomiast, że po prawie 2 miesiącach (w 116. dobie) bioreaktor z pianką poliuretanową odzyskał zdolność do zatrzymywania zanieczyszczeń.

Tabela 2. Skuteczność usuwania zanieczyszczeń z powietrza w bioreaktorze z perlitem
Table 2. Efficiency of pollutant removal in the bioreactor containing perlite

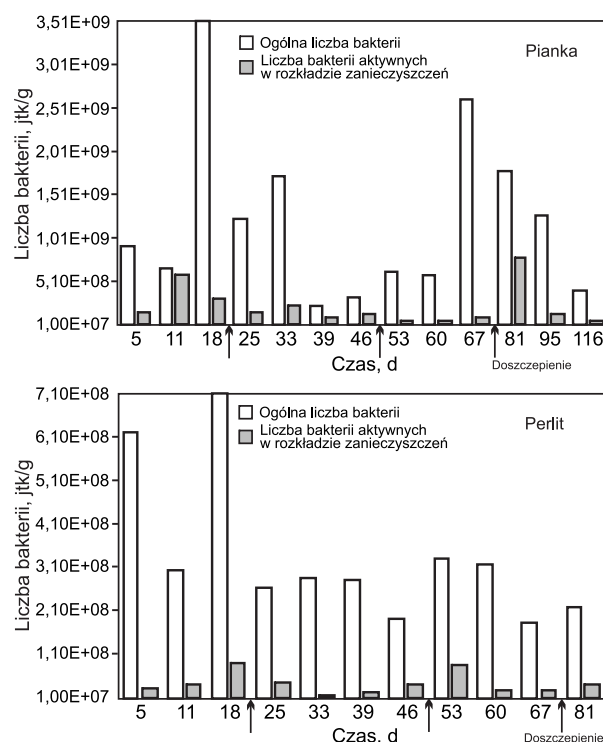
Czas, d	Zawartość w powietrzu, mg/m ³				Wydajność procesu g/m ³ h		Skuteczność usuwania %	
	przed reaktorem		po reaktorze		TCE	PCE	TCE	PCE
	TCE	PCE	TCE	PCE				
11	25,7	10,4	2,56	0,88	2,32	0,95	90	92
18			3,88	2,84	2,33	0,68	85	72
25			2,32	3,02	2,28	0,46	91	61
33			15,99	5,09	0,51	0,27	24	34
39			15,21	12,05	0,70	–	31	–
46			6,19	2,24	2,08	0,82	77	80
53			3,75	9,30	1,16	0,11	76	11
60	27,3	–	91,97	60,90	–	–	–	–
67			164,18	46,91	–	–	–	–
74			164,18	46,91	–	–	–	–
81			164,18	46,91	–	–	–	–
			164,18	46,91	–	–	–	–

Tabela 3. Skuteczność usuwania zanieczyszczeń z powietrza w bioreaktorze z pianką poliuretanową
Table 3. Efficiency of pollutant removal in the bioreactor containing polyurethane foam

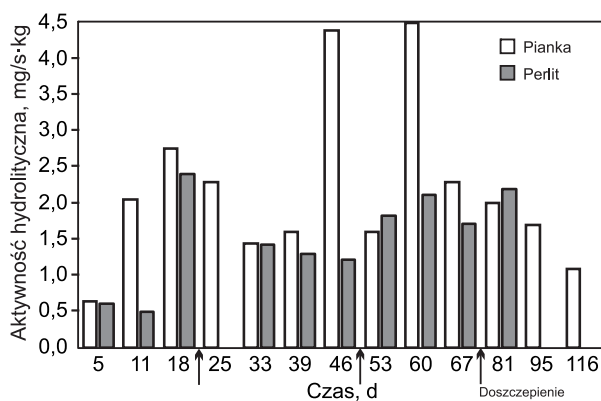
Czas, d	Zawartość w powietrzu, mg/m ³				Wydajność procesu g/m ³ h		Skuteczność usuwania %	
	przed reaktorem		po reaktorze		TCE	PCE	TCE	PCE
	TCE	PCE	TCE	PCE				
11	25,7	10,4	5,34	1,38	2,04	0,90	79	87
18			3,86	2,07	2,36	0,73	86	78
25			1,86	0,42	2,33	0,92	93	94
33			23,05	34,51	–	–	–	–
39			11,90	21,36	1,03	0	46	–
46			8,65	3,74	1,83	0,77	68	67
53			3,18	8,88	1,21	0,65	79	42
60		27,3	79,78	57,10	–	–	–	–
67			170,90	45,52	–	–	–	–
74			170,90	45,52	–	–	–	–
81			170,90	45,52	–	–	–	–
95			50,00	60,00	–	–	–	–
105			30,00	30,00	–	–	–	–
116			21,09	11,58	0,46	1,57	18	57

Wyniki analiz mikrobiologicznych przedstawiono na rysunku 2. Ogólna liczba bakterii w bioreaktorze z pianką poliuretanową (w przeliczeniu na suchą masę nośnika) wahała się w zakresie od $2,24 \cdot 10^8$ jtk/g do $3,88 \cdot 10^9$ jtk/g i była większa od liczby bakterii aktywnych w rozkładzie zanieczyszczeń, która wynosiła od $3,91 \cdot 10^7$ jtk/g do $7,65 \cdot 10^8$ jtk/g. Bakterie aktywne w rozkładzie zanieczyszczeń stanowiły 7,4÷87,5% ogólnej liczby bakterii. W bioreaktorze z perlitem ogólna liczba bakterii była nieco mniejsza niż w bioreaktorze z pianką – wahała się w zakresie od $1,83 \cdot 10^8$ jtk/g do $1,45 \cdot 10^9$ jtk/g, natomiast liczba bakterii aktywnych w rozkładzie zanieczyszczeń wynosiła od $1,14 \cdot 10^7$ jtk/g do $8,59 \cdot 10^7$ jtk/g i stanowiła 4,8÷26% ogólnej liczby bakterii.

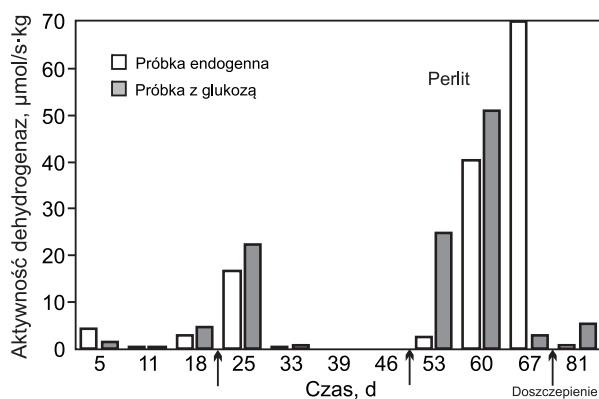
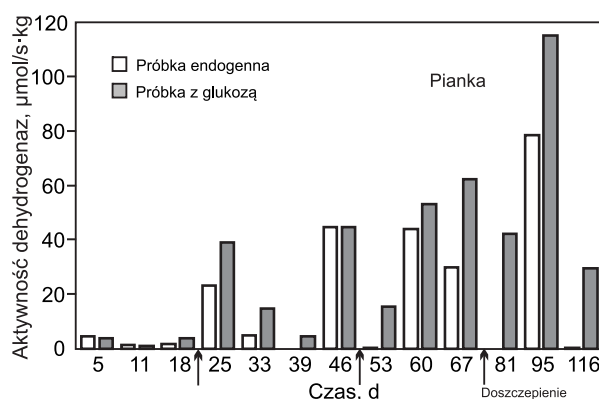
Stwierdzono znaczne wahania aktywności enzymatycznej biomasy (rys. 3 i 4). Aktywność hydrolityczna mikroorganizmów w bioreaktorze z pianką poliuretanową mieściła się w zakresie 0,65÷4,54 mg/s·kg, a w bioreaktorze z perlitem 0÷2,40 mg/s·kg. Aktywność dehydrogenaz mikroorganizmów różniła się znacząco w obu etapach badań i była większa w próbkach z glukozą niż z substratem endogennym. W pierwszym etapie badań w bioreaktorze z pianką poliuretanową w próbkach z substratem endogennym wahała się w zakresie 0÷44,9 μmol/s·kg, a w próbkach z glukozą 1,12÷44,98 μmol/s·kg. W bioreaktorze z perlitem aktywność dehydrogenaz próbek endogennych wynosiła 0÷16,6 μmol/s·kg, a próbek z glukozą 0÷22,3 μmol/s·kg. W drugim etapie badań aktywność dehydrogenaz mikroorganizmów znacząco się zwiększyła. W bioreaktorze



Rys. 2. Liczba bakterii w bioreaktorach z pianką poliuretanową i perlitem
Fig. 2. Number of bacteria in the bioreactors with polyurethane foam and perlite



Rys. 3. Aktywność hydrolityczna biomasy w bioreaktorach z pianką poliuretanową i perlitem
Fig. 3. Hydrolase activity of the biomass in the bioreactors with polyurethane foam and perlite



Rys. 4. Aktywność dehydrogenaz biomasy w bioreaktorach z pianką poliuretanową i perlitem
Fig. 4. Dehydrogenase activity of the biomass in the bioreactors with polyurethane foam and perlite

z pianką poliuretanową w próbkach z substratem endogennym wahała się w zakresie $0 \div 78,7 \mu\text{mol/s}\cdot\text{kg}$, a w próbkach z glukozą wynosiła $29,8 \div 115,4 \mu\text{mol/s}\cdot\text{kg}$. W bioreaktorze z perlitem w próbkach z substratem endogennym aktywność ta mieściła się w zakresie $0,6 \div 69,6 \mu\text{mol/s}\cdot\text{kg}$, a w próbkach z glukozą $2,72 \div 50,7 \mu\text{mol/s}\cdot\text{kg}$.

Identyfikacja bakterii biorących udział w procesie oczyszczania powietrza z chlorowanych etenów wykazała dominującą rolę Gram-ujemnych pałeczek. Szczepy zasiedlające piankę należały do gatunków *Stenotrophomonas maltophilia*, *Ochrobactrum anthropi* i *Comamonas testosteroni*. W perlitce dominującymi gatunkami były *Stenotrophomonas maltophilia*, *Comamonas testosteroni* i *Rhizobium radiobacter*.

Dyskusja wyników

Okresowe doszczepianie bioreaktorów bakteriami aktywnymi w rozkładzie zanieczyszczeń nie przyniosło spodziewanych efektów. W czasie trwania badań, zarówno ogólna liczba bakterii, jak i liczba bakterii aktywnych w rozkładzie zanieczyszczeń nie uległy znaczącym zmianom. Doszczepianie bioreaktorów w 22., 48. i 75. dobie eksperymentu nie wpłynęło także na skuteczność procesu usuwania TCE i PCE. Należy przypuszczać, że na wydajność usuwania tych związków miały wpływ zjawiska sorpcji i biodegradacji prowadzonej przez konsorcjum mikroorganizmów w układzie zrównoważonym w początkowym etapie badań. W dalszym czasie nastąpiła destabilizacja układu z przewagą usuwania TCE i PCE na drodze fizycznej nad ich biologicznym rozkładem, na tyle znaczna, że doszczepienie bioreaktorów nie zwiększyło skuteczności usuwania zanieczyszczeń. Materiały porowate zastosowane w niniejszej pracy jako nośniki biomasy umożliwiły zatrzymanie węglowodorów i początkowo ulegały regeneracji pod wpływem działania mikroorganizmów, zależnie od szybkości biodegradacji. Szybkość procesów biologicznych była jednak niewielka w stosunku do ilości dopływających zanieczyszczeń. W pracy [7] wykazano, że TCE ulegał adsorpcji na granulowanym węglu aktywnym. Sorbent ten podlegał następnie biologicznej regeneracji, jednak niewystarczającej do ponownej wydajnej sorpcji tego związku. Przy zastosowaniu bakterii zdolnych do rozkładu TCE na drodze kometabolicznej z fenolem uzyskano 82,5% usunięcie tego związku, przy jego początkowej zawartości 3,2 mg/g i czasie przetrzymania 15 min.

Zastosowane w niniejszej pracy parametry technologiczne – bardzo duże obciążenie ładunkiem zanieczyszczeń i krótki czas przetrzymania – nie sprzyjały także ustaleniu się równowagi pomiędzy sorpcją i biodegradacją i spowodowały, że część węglowodorów nie została zatrzymana w układzie (obciążenie bioreaktora ładunkiem trichloroetenu wynosiło $2,57 \text{ g/m}^3\text{h}$, a tetrachloroetenu $1,04 \div 2,73 \text{ g/m}^3\text{h}$, przy czasie przetrzymania równym 36 s). Z przeglądu danych z piśmiennictwa wynika, że w przypadku zastosowania biofiltrów zraszanych, obciążenie ładunkiem tylko trichloroetenu było znacznie mniejsze niż w niniejszej pracy – poniżej $0,35 \text{ g/m}^3\text{h}$ [8] oraz $1,05 \text{ g/m}^3\text{h}$ [9], a czas przetrzymania dłuższy – od 1 min do 35 min [10].

Zaobserwowano, że w 33. i 39. dobie eksperymentu, obok zmniejszenia skuteczności procesu oczyszczania powietrza, drastycznie spadła aktywność dehydrogenaz mikroorganizmów biomasy, szczególnie unieruchomionej na perlitce, a także aktywność hydrolityczna i liczba bakterii. Kolejne doszczepienie, przeprowadzone w 48. dobie badań, skutkowało znaczną poprawą aktywności dehydrogenaz mikroorganizmów w bioreaktorze z perlitem i zwiększeniem skuteczności oczyszczania powietrza, natomiast w bioreaktorze z pianką poliuretanową, w którym aktywność dehydrogenaz mikroorganizmów przed doszczepianiem była duża, zaobserwowano znaczny jej spadek. Podobne zjawisko wystąpiło w obu reaktorach po ostatnim doszczepieniu, przeprowadzonym w 75. dobie badań. Wydaje się, że wtedy, kiedy układ pracował stabilnie, z dużą skutecznością usuwania zanieczyszczeń, doszczepienie miało negatywny wpływ na przebieg procesu. Prawdopodobnie zaburzyło ono równowagę konsorcjum mikroorganizmów zasiedlających nośnik, biorących aktywny udział w usuwaniu zanieczyszczeń. Wtedy, gdy skuteczność układu i aktywność enzymatyczna biomasy była niewielka, doszczepianie wywołało natomiast skutek pozytywny.

Zwiększenie obciążenia bioreaktora ładunkiem tetra-chloroetenu po 53. dobie badań (z $1,04 \text{ g/m}^3\text{h}$ do $2,73 \text{ g/m}^3\text{h}$) spowodowało zwiększenie aktywności dehydrogenaz biomasy, szczególnie w próbkach endogennych. Duże wartości obserwowano szczególnie w bioreaktorze z perlitem do 67. doby badań, a w bioreaktorze z pianką do 95. doby. Nie było to zjawisko incydentalne – podczas badań prowadzonych w nieco innym układzie technologicznym (wypełnienie reaktorów stanowiły wióry drzewne i zeolit, a podłożem dla mikroorganizmów były syntetyczne ścieki miejskie) wystąpiło podobne zjawisko [11], które zaobserwowali także inni autorzy [12–14]. Zwiększenie aktywności enzymatycznej wskazywało na biologiczny rozkład TCE i PCE, przy czym możliwość rozkładu tych związków stwierdzono nawet przy braku dodatkowego substratu wzrostowego [15].

Badania przeprowadzone w ramach niniejszej pracy wykazały jednak, że duża aktywność enzymatyczna mikroorganizmów nie korelowała ze skutecznością oczyszczania powietrza. Było to związane z tym, że w biologicznych metodach usuwania zanieczyszczeń gazowych podstawowe znaczenie ma zjawisko sorpcji. Proces ten umożliwia zatrzymanie substancji w układzie technologicznym, przez co stają się one dostępne dla mikroorganizmów. Chlorowane węglowodory, takie jak TCE i PCE, charakteryzują się dużą lotnością i są prawie nierozpuszczalne w wodzie. Do usuwania tych zanieczyszczeń konieczne jest stosowanie reaktorów zawierających wypełnienia umożliwiające ich sorpcję, przeprowadzenie w stan emulsji lub też rozpuszczenie.

Materiały porowate zastosowane w niniejszej pracy jako nośniki biomasy umożliwiły zatrzymanie węglowodorów i ulegały samoregeneracji pod wpływem działania mikroorganizmów. Istotny wpływ na skuteczność oczyszczania powietrza miały jednak parametry technologiczne procesu – duże obciążenie ładunkiem zanieczyszczeń i niewielki czas przetrzymania. W tych warunkach znaczna część węglowodorów nie uległa sorpcji w układzie, a samoregeneracja nośnika, zależna od szybkości biodegradacji, przebiegała zbyt wolno w stosunku do ładunku dopływających zanieczyszczeń.

W niniejszej pracy jako związek zapewniający wzrost biomasy i umożliwiający kometaboliczną biodegradację chloroetenów zastosowano fenol, podobnie jak autorzy prac [16, 17]. W reaktorze koncentrycznym typu „airlift” uzyskali oni 94% usunięcie TCE z powietrza (przy jego początkowej zawartości 4 g/m^3 i czasie przetrzymania 35 min) [16]. Niestety skuteczność tego procesu z czasem uległa zmniejszeniu, a czas pracy układu wahał się od 24 h do 30 d, w zależności od obciążenia ładunkiem fenolu i TCE. W podobnym układzie doświadczalnym oraz w systemie typu „bubble column” uzyskano 50% usunięcie trichloroetenu, przy obciążeniu ładunkiem zanieczyszczeń wynoszącym $8 \text{ g/m}^3\text{h}$ (bubble column) oraz $15\text{--}19 \text{ g/m}^3\text{h}$ (airlift). Czas przetrzymania wynosił 1–3 min, a zawartość biomasy $1,65 \text{ g/dm}^3$ [17]. Wyniki te są porównywalne z rezultatami uzyskanymi w niniejszej pracy.

Niektórzy autorzy zwracają uwagę, że może zachodzić inhibicja kompetycyjna pomiędzy TCE a substratem wzrostowym, szczególnie przy użyciu pojedynczego prostego biofiltru. Stąd też autorzy pracy [8] zastosowali dwa równoległe pracujące biofiltry zraszane, wypełnione kształtkami ceramicznymi. Biofilm stanowiły bakterie *Burkholderia cepacia* G4 hodowane na podłożu z fenolem, jako jedynym źródłem węgla. Biofiltry pracowały naprzemiennie – gdy

jeden wykorzystywany był do oczyszczania powietrza, w drugim zachodziła regeneracja biomasy. Zastosowano czas przetrzymania $2,6\text{--}4,9 \text{ min}$ i obciążenie $5\text{--}35 \text{ g/m}^3\text{d}$. Maksymalna wydajność procesu wynosiła $17 \text{ g/m}^3\text{d}$. Ten sposób prowadzenia eksperymentu pokazał, że można uniknąć wprowadzania dodatkowego zanieczyszczenia w postaci węglowodoru niezbędnego do biodegradacji TCE do reaktora, w którym odbywa się proces oczyszczania gazów.

W pracy [9] zastosowano także dwustopniowy układ bioreaktora z biofiltrem zraszany do usuwania TCE z gazów odlotowych. Wypełnienie złoża stanowiły kształtki ceramiczne o wymiarach $50\text{--}100 \text{ mm}$. Kultura bakterii *Burkholderia cepacia* G4 była wprowadzana z reaktora na złożo biofiltru i następnie recyrkulowana. Hodowlę w reaktorze prowadzono z wykorzystaniem fenolu jako źródła węgla i energii. System pracował skutecznie przez 3 miesiące. Czas przetrzymania wynosił $3,8\text{--}9,8 \text{ min}$, obciążenie ładunkiem $11,8\text{--}41,0 \text{ g/m}^3\text{d}$, recyrkulacja $10\text{--}40 \text{ cm}^3/\text{min}$. Uzyskana wydajność procesu usuwania trichloroetenu wynosiła maksymalnie $28,0 \text{ g/m}^3\text{d}$. Wyniki uzyskane w przypadku biofiltrów zraszanych nie są porównywalne z wynikami otrzymanymi w niniejszej pracy, w której zastosowano bioreaktory zintegrowane. Skuteczność usuwania PCE i TCE w tym ostatnim układzie była znacznie większa, przy mniejszym czasie przetrzymania. Wydaje się, że skuteczne usuwanie z powietrza wysoko lotnych chlorowanych etenów jest możliwe w bioreaktorach zawierających fazę płynną, a nie w systemie biofiltrów.

Do oczyszczania powietrza z lotnych związków organicznych zastosowano reaktory dwufazowe zawierające kultury bakterii aktywnych w rozkładzie zanieczyszczeń oraz polimery stanowiące fazę stałą [18]. Frakcja polimerowa miała zdolność do sorpcji zanieczyszczeń, co spowodowało zmniejszenie ich zawartości do ilości niehamujących aktywność metaboliczną mikroorganizmów. Zanieczyszczenia ulegały desorpcji z frakcji polimerowej w miarę ich usuwania z fazy wodnej na skutek biodegradacji, zgodnie ze stałą równowagi. Cząstki polimeru nie ulegały biologicznemu rozkładowi i nie były zasiedlane przez mikroorganizmy, zapewniały natomiast działanie buforowe, chroniące komórki przed nadmiernym obciążeniem ładunkiem zanieczyszczeń. Taki dwufazowy reaktor, zawierający w fazie wodnej bakterie oraz frakcję polimerową w postaci granulek z gumy silikonowej, zastosowano do oczyszczania powietrza zawierającego toluen, benzen, etylobenzen oraz ksylen (BTEX). Podczas trwania procesu obciążenie ładunkiem zanieczyszczeń zmieniało się od $60 \text{ g/m}^3\text{h}$ do $600 \text{ g/m}^3\text{h}$, przy czym wartość $282 \text{ g/m}^3\text{h}$ zapewniła 95% usuwanie zanieczyszczeń.

W pracy [19] omówiono wyniki badań nad usuwaniem z powietrza lotnych związków organicznych, zarówno w warunkach laboratoryjnych, jak i na skalę techniczną. W eksperymentach laboratoryjnych zastosowano biofiltry, których wypełnienie stanowiła mieszanina kompostu, perlitu i muszli ostryg. Powietrze było zanieczyszczone dichlorometanem oraz TCE i PCE w ilościach (każdego ze składników) od $0,35 \text{ mg/m}^3$ do $0,7 \text{ mg/m}^3$. Uzyskana skuteczność usuwania wszystkich zanieczyszczeń wynosiła $11\text{--}49\%$, przy czasie przetrzymania $30\text{--}120 \text{ s}$. Znacznie bardziej skutecznie oczyszczono powietrze z TCE w biofiltrze o wypełnieniu zawierającym kompost z odpadów roślinnych z dodatkiem granulowanego węgla aktywnego (10%). Jako substraty do kometabolicznej biodegradacji stosowano metan i propan. Zawartość zanieczyszczeń

wynosiła $25 \div 250 \text{ mg/m}^3$. Skuteczność oczyszczania powietrza w tym wypadku wynosiła $>95\%$, przy obciążeniu $2,4 \text{ g/m}^3\text{h}$. Czas przetrzymania w biofiltrze był jednak długi – 336 s. Skuteczność oczyszczania powietrza uzyskana w niniejszej pracy była znacznie większa, przy średnim obciążeniu $2,7 \text{ g/m}^3\text{h}$ i czasie przetrzymania 36 s. Należy nadmienić, że wyniki te dotyczą etapu badań, gdy system pracował stabilnie (przez 53 d, z wyjątkiem 33. i 39. doby, gdy nastąpiły zakłócenia procesu na skutek doszczepiania). Badania nad usuwaniem chlorowanych węglowodorów z powietrza na skalę techniczną, opisane w pracy [19] wykazały, że oczyszczanie powietrza w biofiltrach pracujących na oczyszczalniach ścieków i kompostowniach było znacznie mniej skuteczne niż w warunkach laboratoryjnych. Gazy odlotowe zawierały związki odorotwórcze, łącznie z H_2S , a także toksyczne lotne substancje organiczne. Zawartość TCE i PCE w mieszaninie gazów wynosiła odpowiednio $0,01 \text{ mg/m}^3$ i $0,37 \text{ mg/m}^3$. Skuteczność usuwania tych zanieczyszczeń w biofiltrach o wypełnieniu złożonym z granulowanego węgla aktywnego i kompostu wynosiła $0 \div 82\%$ (TCE) i $0 \div 98\%$ (PCE), przy czasie przetrzymania w zakresie od 17 s do 70 s.

Wnioski

♦ Skuteczność usuwania chlorowanych etenów z powietrza w zastosowanych bioreaktorach zintegrowanych z unieruchomioną biomasą w ciągu 25 d prowadzenia procesu była bardzo duża. Przy średnim obciążeniu bioreaktora ładunkiem zanieczyszczeń (w przypadku trichloroetenu – $2,57 \text{ g/m}^3\text{h}$, a tetrachloroetenu – $1,04 \text{ g/m}^3\text{h}$), skuteczność oczyszczania gazów w bioreaktorze z perlitem wynosiła odpowiednio $85 \div 91\%$ (TCE) i $61 \div 92\%$ (PCE), a w bioreaktorze z pianką poliuretanową $79 \div 93\%$ (TCE) i $78 \div 94\%$ (PCE). Maksymalna wydajność usuwania zanieczyszczeń w bioreaktorze z perlitem wyniosła odpowiednio $2,33 \text{ g/m}^3\text{h}$ i $0,95 \text{ g/m}^3\text{h}$, a w bioreaktorze z pianką poliuretanową – $2,36 \text{ g/m}^3\text{h}$ i $0,92 \text{ g/m}^3\text{h}$.

♦ Zwiększenie obciążenia bioreaktorów ładunkiem PCE do $2,73 \text{ g/m}^3\text{h}$, przy jednoczesnym utrzymaniu obciążenia ładunkiem TCE równego $2,57 \text{ g/m}^3\text{h}$, spowodowało całkowite zahamowanie procesu oczyszczania powietrza, a następnie tzw. przebicie układu oraz desorpcję zanieczyszczeń do oczyszczonego powietrza.

♦ Okresowe doszczepianie układu bakteriami aktywnymi w rozkładzie zanieczyszczeń nie przyniosło oczekiwanych rezultatów. Nie uległa zwiększeniu liczba bakterii aktywnych w rozkładzie zanieczyszczeń, a aktywność enzymatyczna biomasy zmalała.

♦ Uzyskane wyniki badań technologicznych, mikrobiologicznych i enzymatycznych wykazały, że pianka poliuretanowa stanowiła lepszy nośnik niż perlit do prowadzenia procesu biologicznego usuwania trichloroetenu i tetrachloroetenu z powietrza. Liczba bakterii aktywnych w rozkładzie zanieczyszczeń unieruchomionych na piance poliuretanowej była $2 \div 20$ -krotnie większa niż na perlicie. Również aktywność hydrolityczna oraz aktywność dehydrogenaz mikroorganizmów biomasy była większa w przypadku reaktora z pianką poliuretanową.

Badania zrealizowano w ramach projektu badawczego nr NN 523 4156 35 pt. „Mikrobiologiczne oczyszczanie gazów odlotowych w reaktorach hybrydowych”, sfinansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

LITERATURA

1. K. KIRCHNER, D. HELF, P. OTT, S. VOGT: The reaction of OH radicals with 1,1-di-, tri- and tetrachloroethylene. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie* 1990, Vol. 94, No. 1, pp. 77–83.
2. D. ARP, C. YEAGER, M. HYMAN: Molecular and cellular fundamentals of aerobic cometabolism of trichloroethylene. *Biodegradation* 2001, Vol. 12, pp. 81–103.
3. T. FUTAGAMI, M. GOTO, K. FURUKAWA: Biochemical and genetic bases of dehalorespiration. *Chemical Record* 2008 Vol. 8, pp. 1–12.
4. T. MATTES, A. ALEXANDER, N. COLEMAN: Aerobic biodegradation of the chloroethenes: Pathways, enzymes, ecology and evolution. *FEMS Microbiology Reviews* 2010, Vol. 34, pp. 445–474.
5. A. GROSTERN, E. EDWARDS: Growth of *Dehalobacter* and *Dehalococcoides* spp. during degradation of chlorinated ethanes. *Applied and Environmental Microbiology* 2006, Vol. 72, pp. 428–436.
6. J. SCHNÜRER, J. ROSSWALL: Fluorescein diacetate as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied and Environmental Microbiology* 1982, Vol. 43, pp. 1256–1261.
7. Y. NAKANO, L. HUA, W. NISHIJIMA, E. SHOTO: Biodegradation of trichloroethylene (TCE) adsorbed on granular activated carbon (GAC). *Water Research* 2000, Vol. 34, pp. 4139–4142.
8. E.Y. LEE, B.D. YE, S. PARK: Development and operation of a trickling biofilter system for continuous treatment of gas-phase trichloroethylene. *Biotechnology Letters* 2003, Vol. 25, pp. 1757–1761.
9. E.Y. LEE: Continuous treatment of gas-phase trichloroethylene by *Burkholderia cepacia* G4 in a two-stage continuous stirred tank reactor/trickling biofilter system. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 2003, Vol. 96, pp. 572–574.
10. C. KENNES, M.C. VEIGA: Bioreactors for waste gas treatment. In: *Environmental Pollution*, Kluwer Academic Publishers 2001, Vol. 4.
11. A. TABERNACKA, E. ZBOROWSKA: Trichloroethylene and tetrachloroethylene elimination from the air by means of a hybrid bioreactor with immobilized biomass. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 2012 (in print).
12. D. LIU: Resazurin reduction method for activated sludge process control. *Environmental Science and Technology* 1983, Vol. 17, No. 7, pp. 407–411.
13. T.-H. KIM, J.-K. LEE, M.-J. LEE: Biodegradability enhancement of textile wastewater by electron beam irradiation. *Radiation Physics and Chemistry* 2007, Vol. 76, No. 6, pp. 1037–1041.
14. K. BERNAT, M. ZIELIŃSKA, J. WOJNOWSKA-BARYŁA, A. ŁATA: Zmiany aktywności dehydrogenaz osadu czynnego w reaktorze okresowym ze stałym napowietrzaniem. *Czasopismo Techniczne* 2007, z. 2-Ś, ss. 3–11.
15. L. MEZA, T. CUTRIGHT, B. EL-ZAHAB, P. WANG: Aerobic biodegradation of trichloroethylene using a consortium of five bacterial strains. *Biotechnology Letters* 2003, Vol. 25, pp. 1925–1932.
16. V. HECHT, D. BREBBERMANN, P. BREMER, W.-D. DECKWER: Cometabolic degradation of trichloroethylene in a bubble column bioscrubber. *Biotechnology and Bioengineering* 1995, Vol. 47, No. 4, pp. 461–469.
17. B.D. ESELY, P.R. KURSKO: A gas lift bioreactor for removal of contaminants from the vapour phase. *Applied and Environmental Microbiology* 1994, Vol. 60, pp. 285–290.
18. J. LITTLEJOHNS, A. DAUGULIS: Response of a solid-liquid two-phase partitioning bioreactor to transient BTEX loadings. *Chemosphere* 2008, Vol. 73, pp. 1453–1460.
19. R. IRANPOUR, H.H.J. COX, M.A. DESHUSSES, E.D. SCHROEDER: Literature review of air pollution control biofilters and biotrickling filters for odor and volatile organic compound removal. *Environmental Progress* 2005, Vol. 24, No. 3, pp. 254–267.

Tabernacka, A., Zborowska, E., Lebkowska, M. Removal of Chlorinated Ethenes (TCE and PCE) from the Air by Using Integrated Bioreactors with Immobilized Biomass. *Ochrona Srodowiska* 2012, Vol. 34, No. 3, pp. 11–18.

Abstract: Waste air polluted with chlorinated ethenes – trichloroethene and tetrachloroethene – was treated using integrated bioreactors which contained the following: a consortium of microorganisms with the ability to degrade pollutants, and porous sorbents, polyurethane foam and perlite, with immobilized biomass. Phenol in a biogenic salt medium was used as the carbon source for microbial growth. During the first 25 days of the process, when the pollution load of the bioreactors amounted to 2.57 g/m³h (TCE) and 1.04 g/m³h (PCE), removal efficiency was very high, ranging from 85 to 91% (TCE) and from 61 to 92% (PCE) in the reactor where biomass was immobilized on

perlite; in the reactor with biomass immobilized on polyurethane foam, removal efficiency varied from 79 to 93% (TCE) and from 78 to 94% (PCE). The rise in the PCE loading of the bioreactors to 2.73 g/m³h on the 54th day (while the TCE loading remained unchanged) produced significant inhibition of the air purification process. Re-inoculations of the sorbents with bacteria able to degrade pollutants failed to provide the treatment effect desired. Polyurethane foam was found to be a better sorbent for biological removal of trichloroethene and tetrachloroethene from the air, which should be attributed to a noticeably greater number of bacteria active in degrading pollutants, and also to the evidently higher enzymatic activity of the biomass, as compared with perlite.

Keywords: Bioreactor, air treatment, trichloroethene, tetrachloroethene, enzymatic activity.