

Robert GRZYWACZ

e-mail: robekk@gmail.com

Instytut Inżynierii Chemicznej i Procesowej, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska, Kraków

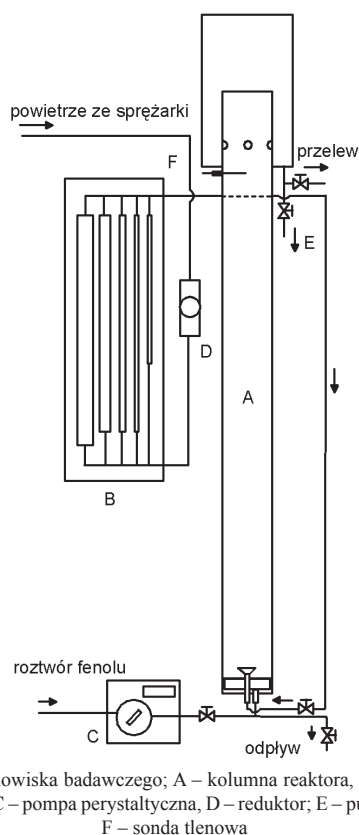
Badania aerobowej biodegradacji fenolu w kolumnowym bioreaktorze barbotażowym

Wstęp

Jednym z typów reaktorów stosowanych w aerobowych procesach mikrobiologicznych z aktywnym osadem mikroorganizmów są kolumnowe reaktory barbotażowe. Prowadzenie procesu biodegradacji aerobowej wiąże się z odpowiednim natlenieniem środowiska reakcji. Poza tym barbotaż zapewnia także odpowiednie przemieszanie cieczy wewnątrz reaktora. Jest to ważne z powodu konieczności prowadzenia procesu dla odpowiednio niskich liczb *Pecketa* dla cieczy [1]. Przeprowadzone badania symulacyjne [1, 2] wykazały teoretyczną możliwość doboru odpowiednich warunków przepływu mediów. Celem przeprowadzonych doświadczeń było potwierdzenie możliwości prowadzenia biodegradacji w reaktorze tego typu. Jako wzorcowy, wybrany został proces biodegradacji fenolu bakteriami *Pseudomonas Putida*.

Stanowisko laboratoryjne i metodyka pomiarów

W celu przeprowadzenia badań doświadczalnych biodegradacji fenolu zaprojektowano i wybudowano stanowisko laboratoryjne kolumnowego bioreaktora barbotażowego. Schemat stanowiska przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Schemat stanowiska badawczego; A – kolumna reaktora, B – bateria rotametrów powietrznych, C – pompa perystaltyczna, D – reduktor; E – punkt poboru próbek, F – sonda tlenowa

Stanowisko laboratoryjne składało się z kolumnowego reaktora barbotażowego o średnicy wewnętrznej 0,08 [m] i wysokości roboczej 1,74 [m] wykonanego z rury akrylowej. W dolnej części reaktora znajdowała się głowica doprowadzająca ciecz przez dno sitowe oraz powietrze przez dystrybuter. Powietrze ze sprężarki laboratoryjnej podawano przez reduktor i baterię rotametrów gazowych. Roztwór fenolu dostar-

czano przez laboratoryjną pompę perystaltyczną. Reaktor w górnej części wyposażony był w punkt poboru próbek oraz w punkt mocowania sondy tlenowej.

Procesowi biodegradacji poddawano ścieki wzorcowe składające się ze środowiska mineralnego którego skład podano w tabeli 1 oraz z roztworu fenolu o stężeniu z zakresu 0,03–0,15 [kg/m³]

Tab. 1. Skład środowiska mineralnego

Substancja	Stężenie [g/dm ³]
KH ₂ PO ₄	0,420
K ₂ HPO ₄	0,375
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,244
NaCl	0,015
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,015
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,050
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0,0054

Proces biodegradacji prowadzony był za pomocą bakterii *Pseudomonas Putida* szczepu PCM 2153. Proces prowadzono w stałej temperaturze 25±0,5°C.

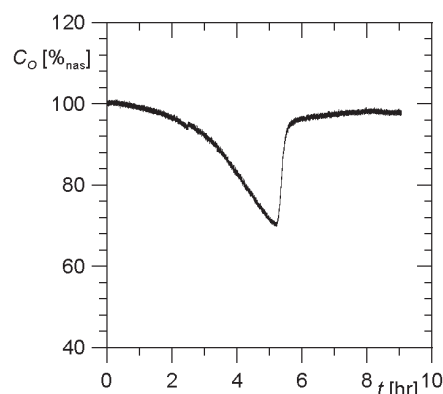
Ścieki wzorcowe doprowadzano z takim natężeniem przepływu aby uzyskać jeden z trzech średnich czasów przebywania cieczy w reaktorze $\tau_c = 4, 6, 10$ [h]. Parametry przepływu powietrza dobrano tak aby zapewnić niskie wartości liczb *Pecketa* dla cieczy oraz aby sprawdzić graniczne wartości natlenienia środowiska reakcji. Badania prowadzono dla prędkości gazu mierzonej na pustym przekroju aparatu $u_{og} = 0,001–0,01$ [m/s].

Podczas przebiegu procesu dokonywano pomiaru stężenia tlenu rozpuszczonego oraz stężenia fenolu.

Stężenie tlenu rozpuszczonego mierzono metodą spektrofotometryczną za pomocą sondy tlenowej zamocowanej w górnej części reaktora w środowisku reakcyjnym i podłączonej do tlenomierza za pomocą światłowodu. Pomiar stężenia tlenu rozpuszczonego dokonywano w sposób ciągły. Wybrany przebieg zmian stężenia tlenu w czasie przedstawiono na rys. 2.

Stężenie tlenu na tym wykresie przedstawione jest w procentach nasycenia gdzie za 100% przyjęto wstępne natlenienie środowiska reakcji.

Fenol mierzono metodą spektrofotometrii UV-VIS po przeprowadzeniu fenolu w postać fenolanową. W tym celu podczas trwania procesu pobierano próbkę cieczy o objętości 4 cm³ i alkalizowano ją 1 cm³ 1-molowego roztworu wodorotlenku sodu. Następnie dokonywano pomiaru adsorbancji dla długości fali równej 285 [nm]. Podczas trwania



Rys. 2. Wybrany wykres zmiany stężenia tlenu podczas trwania procesu

procesu dokonywano średnio 4–6 pomiarów stężenia fenolu. Adsorbancje na stężenia przeliczano za pomocą przygotowanej krzywej wzorcowej dla kilku znanych stężeń fenolu.

Metodyka przeprowadzonych doświadczeń była następująca:

Bakterie *Pseudomonas Putida* namnażano na skosach agarowych co 5 dni. Ścieki wzorcowe przygotowywano w wodzie destylowanej według przedstawionego powyżej przepisu w ilości zapewniającej możliwość prowadzenia procesu przez okres 4–5 średnich czasów przebywania cieczy w reaktorze. Reaktor przed procesem i po jego zakończeniu był dokładnie myty i płukany.

Po napełnieniu reaktora ściekami wzorcowymi i wykonaniu pomiaru początkowego stężenia fenolu, przeprowadzano 30-minutowe natlenianie środowiska. Następnie przyłączano tlenomierz i dokonywano wzorcowania w celu ustalenia maksymalnego początkowego natlenienia. Kolejnym etapem było zaszczepienie reaktora bakteriami spłukanymi z jednego skosu agarowego. Następnie uruchamiano proces na okres 4 godzin bez przepływu cieczy. W tym okresie następowało namnożenie bakterii wewnątrz reaktora. Uruchomienie procesu w warunkach przepływu cieczy przy niskim stężeniu bakterii spowodowało by wymycie mikroorganizmów. Po zakończeniu fazy namnażania, pobierano próbkę i badano stężenie fenolu. Jeżeli było ono niższe od początkowego uruchamiano przepływ cieczy i prowadzono proces aż do ustalenia się stężenia fenolu na wylocie z reaktora. Zwykle trwało to 2–3 średnich czasów przebywania cieczy.

Po ustaleniu się stężenia fenolu dokonywano sprawdzenia aktywności bakterii metodą płytkową. W tym celu pobierano próbkę o objętości 10 cm³ i uzupełniano sterylnym roztworem fizjologicznym do objętości 100 cm³. Po czym dokładnie mieszano. Następnie pobierano 1 cm³, przenoszono go na szalkę *Petriego* i zalewano agarem. Kolejny centymetr rozcieńczano 10-krotnie solą fizjologiczną. Cykl nanoszenia próbki na szalkę i rozcieńczania powtarzano 5-krotnie. Szalki przenoszono do ciepłarki gdzie pozostawiano je na 24 godziny. Po tym czasie, zliczano liczbę powstałych kolonii.

Według przedstawionej powyżej metodologii wykonano około 32 doświadczeń z czego 24 zakończone sukcesem.

Wyniki doświadczeń przedstawiono w tabeli 2.

Tab. 2. Zbiorcze wyniki badań doświadczalnych

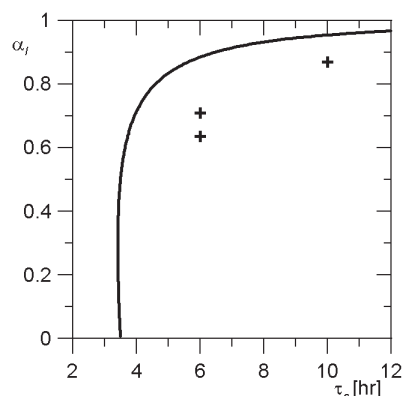
τ_c [h]	u_{0g} [m/s]	c_{0f} [kg/m ³]	c_o [%]/100	licz.bakt./dm ³	α_1
4	0,0050	0,060	1,00	28814	0,003
4	0,0015	0,060	1,00	28814	0,080
4	0,0015	0,150	0,84	576283	0,556
6	0,0015	0,030	0,99	259327	0,861
6	0,0050	0,045	1,00	5071292	0,781
6	0,0100	0,060	1,00	2881416	0,711
6	0,0100	0,060	1,00	6944213	0,636
6	0,0050	0,060	1,00	4120425	0,778
6	0,0015	0,060	0,98	5762832	0,814
6	0,0050	0,120	1,00	1555964	0,811
6	0,0050	0,120	0,96	1613593	0,673
10	0,0050	0,045	1,00	288141	0,696
10	0,0100	0,045	0,98	749168	0,770
10	0,0015	0,045	0,63	5762832	0,715
10	0,0100	0,060	1,00	1527150	0,871
10	0,0010	0,090	0,92	2449203	0,809
10	0,0025	0,090	0,97	1123752	0,761
10	0,0015	0,090	0,77	1181380	0,845
10	0,0012	0,090	0,55	979681	0,679
10	0,0100	0,090	1,00	5013664	0,821
10	0,0100	0,120	1,00	7117098	0,881
10	0,0050	0,120	1,00	864424	0,983
10	0,0015	0,120	0,90	576283	0,709

Porównanie wyników badań doświadczalnych z obliczeniami symulacyjnymi

Obliczenia symulacyjne wykonano dla modeli reaktora barbotazowego zamieszczonych w pracy [1] oraz wg zaproponowanych tam metod numerycznych. Do obliczeń przyjęto dwusubstratową kinetykę biodegradacji fenolu zaproponowaną przez *Sekera* [3]. Parametry hydrodynamiczne takie jak współczynnik zatrzymania gazu, objętościowy współczynnik przenoszenia masy oraz liczbę *Pecketa* dla cieczy wyznaczono wg publikacji [4].

Obliczenia symulacyjne polegały na wyznaczeniu pętli histerez stanów stacjonarnych dla parametrów procesowych przyjętych tak jak dla odpowiednich doświadczeń.

Przykładowe porównanie wyników badań z obliczeniami symulacyjnymi zamieszczono na rys. 3.



Rys. 3. Przykładowe porównanie wyników badań doświadczalnych i symulacyjnych; stężenie początkowe fenolu 0,06 [kg/m³], u_{0g} = 0,01 [m/s]

Analizując wykres można stwierdzić, iż uzyskane wyniki obarczone są około 30% rozrzutem. Różnica ta spowodowana jest prawdopodobnie przyjęciem do obliczeń symulacyjnych parametrów kinetycznych z pracy [3] różniących się od kinetyki biodegradacji dla szczepu bakterii użytego w badaniach doświadczalnych.

Pozostałe porównania wyników doświadczalnych i symulacyjnych dla innych wartości parametrów procesowych charakteryzują się podobnym rozrzutem.

Więszym rozrzutem obarczone są porównania stężeń tlenu rozpuszczonego. W przypadku badań doświadczalnych stwierdzono większe o około 40–50% nasycenie środowiska reakcji tlenem w porównaniu do badań symulacyjnych.

Wnioski

Zaproponowana metodyka badań doświadczalnych okazała się skuteczną. Uzyskane wyniki obarczone są około 30% rozrzutem dla fenolu oraz 40–50% rozrzutem dla stężenia tlenu w porównaniu z wynikami symulacji numerycznych. Zaobserwowana różnica wartości wyników pomiędzy badaniami doświadczalnymi a symulacją komputerową wynika prawdopodobnie z przyjęcia niewłaściwych wartości stałych kinetycznych. W przyszłości konieczne jest przeprowadzenie badań kinetycznych dla zastosowanego szczepu bakterii w celu wyznaczenia prawidłowych stałych kinetycznych. Większość przedstawionych doświadczeń zakończyło się sukcesem czyli proces biodegradacji można prowadzić w reaktorach kolumnowych.

LITERATURA

- [1] *B. Tabiś, R. Grzywacz*: Comp. Chem. Eng. (po recenzji) 2010.
- [2] *B. Tabiś, R. Grzywacz*: Inż. Ap. Chem. (wysłany do redakcji).
- [3] *S. Seker, H. Beyenal, B. Salih, A. Tanyolac*: Applied Microbiology Biotechnology, **47**, (1997).
- [4] *Y.T. Shah, B.G. Kelkar, S.P. Godbole*: AIChE Journal, **28**, (1982).

Praca wykonana w ramach grantu KBN Nr N207 001 31/007.