

DENITRIFICATION OF COAL-POWER-STATION WASTEWATERS USING LENTIKATS BIOTECHNOLOGY

DENITRIFIKACE ODPADNÍCH VOD Z TEPELNÉ ELETRÁRNY POMOCÍ BIOTECHNOLOGIE LENTIKATS

Josef Trögl 1), Olga Krhůtková 2), Věra Pilařová 1), Petra Dáňová 1), Radek Holíček 1), Jan Mrákota 2), Radek Stloukal 2), Josef Trčka 2)

1) Univerzita Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta životního prostředí, Králova Výchina 3132/7, 400 96 Ústí nad Labem, e-mail: josef.trogl@ujep.cz

2) LentiKat's a.s., Evropská 423/178, 160 00 Praha 6

Abstract:

Denitrifying bacteria encapsulated in porous polyvinyl alcohol lenses (so called Lentikats Biocatalyst) were applied for removal of N-NO_x⁻ (up to 250 mg.L⁻¹) from high salinity (up 35 g.L⁻¹ Cl⁻ and 17 g.L⁻¹ SO₄²⁻) wastewaters originating from desulphurization process within coal power stations. Laboratory batch tests revealed an inhibition of denitrification activity, which was suppressed by addition of P-PO₄³⁻. In follow-up continuous tests the denitrification activities were within the range 150-450 mg N.hr⁻¹.kg⁻¹ LB, acceptable for industrial scale applications. The higher activities were achieved under a lower salinity, higher N-NO₃⁻ influent concentration and a prolonged retention time. Effluent N-NO_x⁻ concentrations achieved in the experiment were below determination limit of 5 mg.L⁻¹. The overall results proved the applicability of Lentikats Biocatalysts for removal of nitrates from high-salinity desulphurization waters and other industrial wastewaters of similar character.

Keywords:

Lentikats Biotechnology; Polyvinylalcohol; Denitrification; Desulphurization wastewaters; High-salinity wastewaters; *Paracoccus pantotrophus*; *Pseudomonas fluorescens*

Úvod

Biokatalyzátorem lentikats (BL) je označován biologický materiál imobilizovaný v polyvinylalkoholové matrici technologií Lentikats [1-3] dle německého patentu DE 198 27 552 (v ČR patent č. 294179). Použití BL přináší četné výhody pro biotechnologické aplikace. PVA matrice nebrání rozmnožování mikroorganismů uvnitř matrice a umožňuje tak za vhodných podmínek dlouhodobé udržení aktivity BL. Díky hustotě podobné vodě je BL snadno udržován ve vznosu a v kombinaci s čočkovitým tvarem omezující difuzní limitaci tak umožňuje dosahování vysokých rychlostí biochemické konverze [1-3]. Snadná je i separace po skončení procesu pomocí mechanického separátoru, jímž odchází z reaktoru vyčištěná voda, zatímco biokatalyzátor zůstává v médiu/reaktoru. Výroba BL je zvládnuta v průmyslovém měřítku společností LentiKat's a.s. a je tak možné získat velké množství homogenního biokatalyzátoru. Biotechnologie Lentikats našla četné aplikace např. v lihovarnictví, farmacii a při čištění odpadních vod [4-7], v posledně jmenovaném oboru při odstraňování dusíkatého znečištění. Hlavními přednostmi jsou zde vysoké dosahované koncentrace nitrifikačních a denitrifikačních mikroorganismů v systému při současně silně redukováné produkci odpadního kalu, vysoká účinnost odbourávání dusíkatého znečištění s dosahovanými prakticky nulovými odtokovými koncentracemi, možnost čistit i vysoké koncentrace znečištění (řádově g/l NH₄⁺ resp. NO₃⁻) a vyšší odolnost imobilizovaných mikroorganismů umožňující odstraňovat dusíkaté polutanty i ze specificky znečištěné odpadní vody, např. toxické nebo zasolené. V této práci jsou prezentovány předběžné výsledky aplikace Biotechnologie lentikats pro odstraňování dusičnanů z odpadních vod z tepelných elektráren. Výsledky slouží k připravované provozní aplikaci Biotechnologie lentikats na ČOV nově budované elektrárny.

Experimentální část

Charakteristika odpadních vod. Testovány byly reálné odpadní vody dodávané průběžně z provozovaných tepelných elektráren. Tyto vody jsou charakteristické zejména vysokými a značně proměnlivými koncentracemi anorganických solí (chloridy až 35 g/l, sírany až 17 g/l, vápenaté ionty až 2 g/l, hořečnaté ionty 2 g/l), vysokým obsahem dusičnanů a dusitanů (až 200 mg/l N), vysokou

CHSK (až 1400 mg/l), a naopak nízkou koncentrací BSK₅ (max. 200 mg/l) a fosforu (<0,04 mg/l). Pro částečnou standardizaci pokusů byly vody upravovány na koncentraci chloridů 20 g/l a 35 g/l přidavkem CaCl₂ a NaCl a na koncentraci 200 mg/l N-NO₃ přidavkem KNO₃.

Biokatalyzátor lentikats. V pokusech byly použity dva různé BL s imobilizovanými denitrifikačními bakteriemi *Paracoccus pantotrophus* a *Pseudomonas fluorescens*. BL byly připraveny na velkokapacitní lince LentiKat's a.s a pro testování dodány nakultivované (aktivní).

Experimenty. Experimenty byly prováděny ve skleněných kádinkách s pracovním objemem 3 litry, plněné biokatalyzátorem na úrovni 7-10 obj.%, tj. 200-300 g vlhké hmotnosti BL. Reakční směs byla temperovaná na teplotu 30°C a promíchávaná magnetickým míchadlem tak, aby bylo dosaženo potřebné homogenity BL v celém objemu reaktoru. Pomocí měřicích elektrod byly sledovány a zaznamenávány hodnoty pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku a teploty. Průtočného uspořádání bylo dosaženo pomocí sady dávkovacích a odtahových peristaltických čerpadel, zadržetí BL v systému bylo dosaženo osazením konce odtokové hadice umístěné v reaktoru síťovým separátorem. Průtoky systémem byly průběžně kontrolovány a pohybovaly se okolo 500 ml/hod, doba zdržení v reakční cele tak dosahovala cca 6 hodin. U většiny experimentů byla použita automatická regulace pH na hodnotu 7,8. Jako externí zdroj uhlíku pro denitrifikaci byla dávkována komerční směs Brentaplus VP1 (1 g Brentaplus odpovídá 1 g CHSK) v mírném přebytku v poměru CHSK:N 5:1. U průtočných experimentů byl dávkován i fosfor v podobě kyseliny fosforečné v poměru P:N 0,07:1.

Konkrétní experimenty jsou detailně popsány v dalším textu. Experimenty byly zaměřeny nejdříve na vytipování vhodného BL, v dalších fázích na možnost výskytu inhibice denitrifikace v použitých vodách a zjištění ustálených aktivit BL při různých koncentracích chloridů.

Aktivita BL. Aktivita biokatalyzátoru je vyjadřována v miligramech odstraněného celkového dusíku kilogramem Biokatalyzátoru lentikats za jednu hodinu (mg N-NO_x/(kg BL·hod)). U vsádkových pokusů jsou uvedeny i aktivity vztahující se jen na odbourané dusičnany. U vsádkových experimentů byla aktivita počítána z času potřebného pro odstranění celkového dusíku, resp. dusitanů; u průtočných experimentů z rozdílu mezi přítokem a odtokem součtu oxidovaných forem dusíku v ustáleném stavu. Na počátku byly použité biokatalyzátory kultivované na počáteční výchozí aktivity cca 500 mg/(hod·kg) ve standardním živném denitrifikačním médiu (KM) o složení: KH₂PO₄ 2,3 g/l, Na₂HPO₄·2H₂O 2,9 g/l, NH₄Cl 1 g/l, MgSO₄·7H₂O 0,5 g/l, NaHCO₃ 0,5 g/l, CaCl₂·2H₂O 0,1 g/l, citrát amonoželeznatý 0,5 g/l, roztok stopových prvků 5 ml/l (ZnSO₄·7H₂O 0,1 g/l, MnCl₂·4H₂O 0,03 g/l, H₃BO₃ 0,3 g/l, CoCl₂·6H₂O 0,2 g/l, CuCl₂·2H₂O 0,01 g/l, NiCl₂·6H₂O 0,02 g/l, Na₂MoO₄·2H₂O 0,03 g/l) s přidavkem dusičnanu draselného (200 mg/l N) a Brentaplus (1 g/l).

Analytická stanovení. Ve všech případech byla pravidelně sledována koncentrace dusičnanů a dusitanů, fosforu (P-PO₄³⁻) a CHSK (po filtraci přes filtr o průměru pórů 0,45 μm), zákal (jako optická densita (OD) stanovená spektrofotometricky při 600 nm) a obsah nerozpuštěných látek (při 120°C) včetně ztráty žiháním při 550°C. Koncentrace dusičnanů byla stanovena iontovou chromatografií (DIONEX ICS 1000, kolona IonPac® AS14 4x250 mm, mobilní fáze 1,4 mM Na₂CO₃/4,5 mM NaHCO₃, průtok 1,2 ml/min). Dusitany, fosforečnany a CHSK byly stanoveny spektrofotometricky pomocí setů Spectroquant odpovídající příslušným normám. Stanovení CHSK a dusitanů byla validována zejména na vysoký obsah chloridů a síranů.

Výsledky a diskuze

Vsádkové pokusy a inhibice denitrifikace

Úvodní pokusy byly provedeny ve vsádkovém uspořádání. Provedeny byly vždy dva pokusy v denitrifikačním médiu, dva pokusy v odpadní vodě upravené na koncentraci chloridů 20 g/l a dva ověřovací pokusy v denitrifikačním médiu. Cílem bylo zjistit základní údaje o inhibici denitrifikace odpadní vodou, porovnat biokatalyzátory s *P. pantotrophus* a *P. fluorescens* a ověřit hypotézu o pozitivním vlivu přidavku fosforu (poměr P:N 0,07). Dosažené denitrifikační aktivity shrnuje Tabulka 1.

Tabulka 1 Souhrn dosažených denitrifikačních aktivit ve vsádkových pokusech - absolutní i relativní hodnoty denitrifikačních aktivit (průměr ze dvou hodnot) odstraňování $N-NO_x$ ($N-NO_3^-$ a $N-NO_2^-$) a $N-NO_3^-$

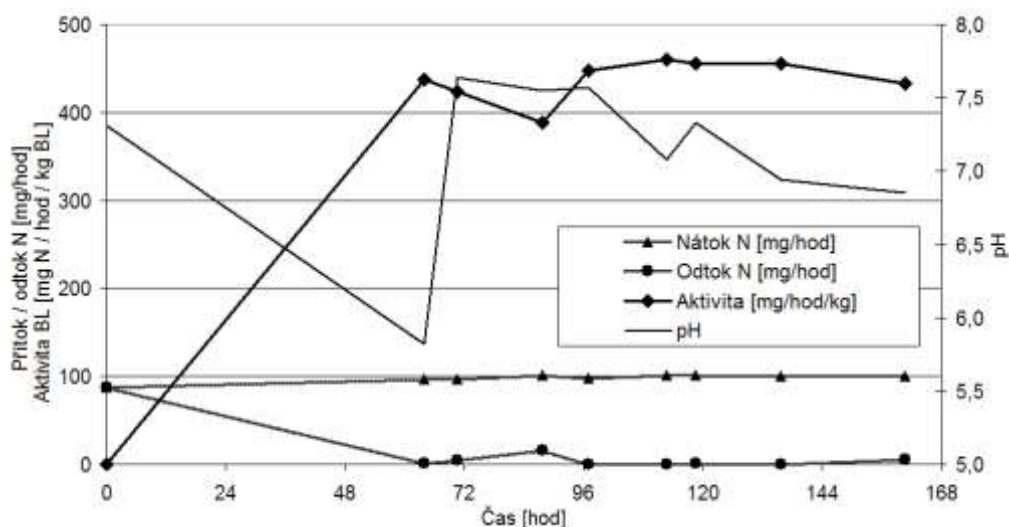
Biokatalyzátor	Aktivita odbourávání N_{tot} a $N-NO_3$ [$mg\ N-NO_x/(kg\ BL \cdot hod)$]		
	Počáteční aktivita v KM médiu	Aktivita v upravené odpadní vodě	Aktivita v KM po experimentu s OV
<i>P. pantotrophus</i>	467±16 (100 %) 805±209 (100 %)	79±8 (17 %) 192±15 (24 %)	293±8 (63 %) 363±92 (45 %)
<i>P. fluorescens</i>	322±50 (100 %) 420±149 (100 %)	55±6 (17 %) 202±74 (48 %)	236±82 (73 %) 229±63 (54 %)
<i>P. fluorescens</i> , OV obohacená o fosfor	310±104 (100 %) 365±28 (100 %)	201±62 (65 %) 384±119 (105 %)	386±60 (125 %) 409±60 (112 %)

Z výsledků plynou tyto závěry:

- V reálné odpadní vodě obohacené na koncentraci 20 g/l chloridů docházelo k významné inhibici denitrifikace přítomnými anorganickými solemi.
- Inhibice přetrvávala částečně i v následujících dvou pokusech v živném denitrifikačním médiu.
- Inhibována byla jak redukce dusičnanů, tak redukce dusitanů (naměřeny byly nižší rychlosti odstraňování dusičnanů za současné vyšší akumulace dusitanů).
- Přídavek fosforu měl pozitivní vliv na denitrifikační aktivitu (nižší pokles aktivity) i na životaschopnost imobilizovaných mikroorganismů (vyšší aktivita v živném denitrifikačním médiu v ověřovacích pokusech).
- Přídavek fosforu odstranil inhibici redukce dusičnanů, nicméně stále docházelo ke zvýšené kumulaci dusitanů.
- BL s imobilizovaným mikroorganismem *P. pantotrophus* dosahoval srovnatelné aktivity s imobilizovaným *P. fluorescens*.

Průtočné experimenty

Vzhledem k tomu, že v provozní aplikaci na ČOV tepelné elektrárny bude čištění vody probíhat kontinuálně, byly další experimenty prováděny v průtočném uspořádání. Pro další etapu byl použit BL s *P. pantotrophus*. Cílem bylo zejména zjistit reálné ustálené aktivity při různých koncentracích chloridů pro dosažení podlimitních odtokových koncentrací dusíku (dle zadání 30 mg/l $N-NO_x$) a ověřit dlouhodobou aplikovatelnost BL. Vzorový průběh experimentu ukazuje Graf 1, dosažené aktivity za různých podmínek jsou shrnuty v Tabulka 2.



Graf 1 Časový průběh denitrifikace v průtočném experimentu. Odpadní voda byla upravena na koncentraci 20 g/l chloridů, pokus probíhal bez automatické úpravy pH, pouze jednorázově (v čase 68 minut) bylo pH upraveno na 7,5. V grafu je znázorněn přítok a odtok $N-NO_x$, vypočítaná denitrifikační aktivita BL a pH.

Tabulka 2 Dosahované aktivity odbourávání celkového dusíku v průtočném uspořádání za různých podmínek

Cl ⁻ [g/l]	Přírok N-NO _x [mg / hod]	Odtokové koncentrace N-NO _x [mg / l]	Ustálená aktivita odbourávání [mg N-NO _x / hod / kg BL]	Poznámky
20	100	<20	450	Manuální jednorázová úprava pH, viz Graf 1
35	44	<20	80	Automatická úprava pH na 7,8
35	64	46	193	Automatická úprava pH na 7,8
35	43	<20	169	Automatická úprava pH na 7,8
35	57	20	221	Automatická úprava pH na 7,8 Pracovní objem zvýšen na 4 litry, prodloužená doba zdržení ze 6 na 8 hodin

Z dosažených výsledků vyplývá následující:

- Denitrifikační aktivita klesá významně s rostoucí koncentrací chloridů.
- Inhibována je opět zejména redukce dusitanů, zvýšené odtoky celkového dusíku zmíněné v tabulce 2 byly tvořeny převážně odtékajícími dusitany.
- Z posledního řádku tabulky 2 vyplývá, že alternativní možností zvýšení aktivity odbourávání dusitanů by bylo zvýšení doby zdržení v systému.
- V čase psaní tohoto příspěvku dosahoval použitý BL stabilní aktivity i po 3 měsících kontinuálního provozu.
- Bez úpravy pH docházelo při všech pokusech k nepředpokládanému poklesu pH, a to i přes spotřebu H⁺ vlastní denitrifikací (redukcí dusitanů). V předchozích projektech s podobně zasolenými vodami byl používán jako externí substrát ethanol a poklesy pH nebyly zaznamenány [5-7]. Příčinou je pravděpodobně vznik kyselých metabolitů z použitého organického substrátu Brentaplus (který je převážně složen z alkoholů, sacharidů a proteinů).

Stabilita nosiče

V úvodních experimentech bylo pozorováno shlukování a rolování čoček BL, bez zjevného negativního vlivu na denitrifikační aktivitu. Z několika experimentů zaměřených na objasnění příčin shlukování bylo zjištěno, že k němu nedochází v čistých roztocích chloridu sodného ani chloridu draselného (až do koncentrace 35 g/l chloridů) a že přídavek fosforu zpomaluje proces shlukování čoček v reálné odpadní vodě. V následujících experimentech už k tomuto jevu nedocházelo. Příčinou srážení byla pravděpodobně dosud neidentifikovaná složka v první testované reálné odpadní vodě.

Závěr

Prezentované výsledky ukazují, že Biotechnologie lentikats využívající denitrifikačních mikroorganismů imobilizovaných v PVA matici je použitelná pro odstraňování dusičnanů z odpadních vod tepelných elektráren s vysokým obsahem chloridů a síranů. Denitrifikace je inhibována v závislosti na rostoucí koncentraci solí, nicméně i při mezních koncentracích 35 g/l chloridů a 17 g/l síranů je dosahovaná aktivita dostatečně vysoká pro účinné odstranění dusičnanů i dusitanů. V dalším testování budou optimalizovány provozní parametry (dávkování CHSK a fosforu, optimální provozní pH) a bude i nadále ověřována dlouhodobá stabilita denitrifikačního Biokatalyzátoru lentikats v takto specifických odpadních vodách.

Poděkování

Výzkum byl spolufinancován firmou LentiKat's a.s. a výzkumným centrem „Pokročilé sanační technologie a procesy“ (projekt MŠMT 1M0554).

Použitá literatura

- [1] JAHNZ U., WITTLICH P., PRÜSSE U., VORLOP K.D. (2001): New matrices and bioencapsulation processes. In M. Hofman, P. Thonart (eds.), *Engineering and manufacturing for biotechnology*, 293-307. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands
- [2] JEKEL M., BUHR A., WILKE T., VORLOP K. D. (1998): Immobilization of biocatalysts in LentiKats. *Chem. Eng. Technol.* 21, 275
- [3] SCHLIEKER M., VORLOP K. D. (2006): A novel immobilization method for entrapment LentiKats®. In J. M. Guisan (ed.), *Immobilization of enzymes and cells*, Second edition, 333-343, Humana Press Inc., Totowa, New Jersey, USA
- [4] SIEVERS M., SCHÄFER S., JAHNZ U., SCHLIEKER M., VORLOP K. D. (2002): Significant reduction of energy consumption for sewage treatment by using LentiKat® encapsulated nitrifying bacteria. *Landbauforsch. Volk. SH 241*, 81-86
- [5] KRÍŽENECKÁ S., TRÖGL J., PILAŘOVÁ V., BUCHTOVÁ H., ČECHOVSKÁ L. (2009): Čištění specifických odpadních vod pomocí imobilizovaných mikroorganismů. *Studia Oecologica*. 1, 95-103
- [6] TRÖGL J., PILAŘOVÁ V., MĚCHUROVÁ J., KRUDENCOVÁ J., JANOŠ P., BOUŠKOVÁ A., MRÁKOTA J., STLOUKAL R. (2009): Denitrifikace zasolených vod po regeneraci iontoměničových kolon pomocí biotechnologie Lenticats. Sb. konf. Inovativní sanační technologie ve výzkumu a praxi II, Žďár n. S., 7.-9.10.2009, str. 64-69, ISBN 978-80-86832-45-6
- [7] BOUŠKOVÁ A., MRÁKOTA J., STLOUKAL R., TRÖGL J., LEDERER T. (2009): Application of Lenticats Biotechnology in industrial wastewater treatment. Proc. conf. Water & Industry 2009, Palmerston North, New Zealand, 30.11.–2.12.2009, Proceedings on CD, příspěvek No. 5