



**ХИМИКОТЕХНОЛОГИЧЕН И МЕТАЛУРГИЧЕН
УНИВЕРСИТЕТ
ФАКУЛТЕТ ПО ХИМИЧНО И СИСТЕМНО ИНЖЕНЕРСТВО
КАТЕДРА „ИНЖЕНЕРНА ХИМИЯ”**

маг. Светлана Георгиева Браткова

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

на дисертация

**ПРЕЧИСТВАНЕ НА ВОДИ ОТ ТЕЖКИ МЕТАЛИ ЧРЕЗ
МИКРОБНО ГЕНЕРИРАН СЕРОВОДОРОД**

за придобиване на образователната и научна степен „доктор”
по научна специалност 5.13. Общо инженерство
(Технология за пречистване на водите)

Научни ръководители: проф. д-р инж. Богдана Куманова
проф. д-р Венко Бешков – БАН

Научно жури: 1. доц. д-р инж. Стилиан Чаушев- председател
2. проф. д-р Райчо Димков - рецензент
3. проф. д-р Драгомир Янков - рецензент
4. проф. д-р Венко Бешков
5. доц. д-р инж. Ирен Цибранска

София, 2013

Дисертационният труд е написан на 144 стр. и съдържа 54 фигури и 44 таблици. Цитирани са 270 източника.

Представеният Дисертационният труд е обсъден и приет на защита на заседание на разширен научен съвет на научното звено в катедра „Инженерна химия”, състояло се на 25.04.2013 г .

Публичната защита на Дисертационният труд ще се проведе на 22.07. 2013 г. от 14.00 часа в зала 424, етаж 4, сграда „А” на ХТМУ.

Материалите са на разположение на интересувашите се на интернет страницата на ХТМУ и в отдел „Научни дейности”, стая 406, етаж 4, сграда „А” на ХТМУ.

СЪДЪРЖАНИЕ

1. УВОД	2
2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	2
3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	3
3.1. Материали	3
3.1.1. Получаване на обогатена и чисти култури сулфат-редуциращи бактерии от анаеробна камера за микробна сулфат-редукция	3
3.1.2. Избор на инертен носител за пълнеж на анаеробния биореактор за микробна сулфат-редукция	4
3.1.3. Лабораторна инсталация за пречистване на води от тежки метали чрез микробно генериран сероводород	4
3.1.4. Изследвания върху процеса сулфат-редукция и пречистването на води от тежки метали чрез сулфидогенен анаеробен биореактор с фиксирана биомаса, проведени при използване на лактат като донор на електрони	7
3.1.5. Изследвания върху пречистването на води от тежки метали чрез лабораторна инсталация – I-ва модификация, проведени при използване на лактат като донор на електрони	9
3.1.6. Изследвания върху пречистването на води от тежки метали чрез лабораторна инсталация – II-ра модификация, проведени при използване на органичен концентрат на основата на етанол като донор на електрони	9
3.1.7. Селективно утаяване на йони на мед от полиметални разтвори чрез микробно генериран H_2S	12
4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ	12
4.1. Характеристика на смесената култура сулфат-редуциращи бактерии, използвана за получаване на имобилизиран биофилм в анаеробния биореактор на инсталацията	12
4.2. Устойчивост на смесената култура сулфат-редуциращи бактерии към йони на тежки метали, токсични и радиоактивни елементи	15
4.3. Избор на инертен носител за пълнеж на анаеробния биореактор за микробна сулфат-редукция	16
4.4. Изследвания върху процеса сулфат-редукция и пречистването на води от тежки метали чрез лабораторна инсталация с анаеробен биореактор за микробна-сулфат-редукция, захранван с лактат като единствен донор на електрони	18
4.4.1. Основни технологични параметри на сулфидогенния биореактор с фиксирана биомаса	18
4.4.2. Изследване на ефективността на отстраняване на замърсители от водите посредством микробно генериран сероводород от имобилизирани сулфат-редуциращи бактерии	23
4.5. Изследвания върху пречистването на води от тежки метали чрез лабораторна инсталация – I-ва модификация	29
4.5.1. Утаяване на тежки метали при третиране на води чрез лабораторна инсталация – I-ва модификация	29
4.5.2. Понижаване на ХПК и отстраняване на азот и фосфор при третиране на води в лабораторна инсталация – I-ва модификация	30
4.6. Изследвания върху пречистването на води от тежки метали чрез лабораторна инсталация – II-ра модификация	32
4.7. Изследване на възможностите за селективно утаяване на мед от полиметални разтвори чрез смесването им с води, съдържащи микробно генериран сероводород	41
5. ИЗВОДИ	43
6. НАУЧНИ И НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ	45

1. УВОД

Замърсяването на околната среда с кисели руднични води, съдържащи тежки метали, токсични елементи и радионуклеиди при миннодобивната и миннопреработвателната индустрия е сериозен екологичен проблем. Предотвратяване на формирането и/или разпространяването на замърсените води от техния първоизточник е една от предпочитаните опции за решаването на проблема, но в болшинството от случаите е необходимо допълнителното третиране на замърсените води.

Съществуват различни химични и биологични методи за неутрализиране на водите, и утаяване на разтворените метални йони. Те могат да бъдат подразделени на активни (изискващи непрекъсната поддръжка) и пасивни системи (изискващи сравнително малко средства при конструирането им). Значителни преимущества в пречистването на води от тежки метали имат активните системи, базирани на утаяване на замърсителите под формата на неразтворими метални сулфиди. Интерес представлява приложението на технологични схеми с анаеробни биореактори за продуциране на микробно генериран сероводород – един от крайните продукти на процеса дисимилативна микробна сулфат-редукция.

Оптимизирането на процеса микробна сулфат-редукция, познаването му в детайли и правилната инженерна реализация в анаеробни биореактори са важни условия за достигане на висока ефективност и икономическа рентабилност при пречистването на замърсените води и опазването на околната среда. Чрез микробно генериран сероводород се постига ефикасно утаяване на йони на тежки метали, токсични и радиоактивни елементи до стойности под ПДК за води, използвани за селскостопански и/или индустриални нужди. От голямо значение е възможността за селективно утаяване на йони при третиране на отпадъчни води с полиметален състав и получаване на оползотворима утайка.

В настоящата дисертация процесът микробна сулфат-редукция е реализиран в анаеробен биореактор с носител зеолит, като е установено влиянието различни параметри (рН, температура, концентрации и съотношения на източници на енергия и сулфати) върху скоростта на процеса. Проведени са изследвания върху влиянието на технологични параметри върху пречистването на синтетични кисели руднични води от йони на тежки метали. Чрез модификации на лабораторната инсталация е постигнато също така и ефективно допречистване на изходящите води от сулфидогенния биореактор по отношение на остатъчни концентрации сероводород, органични съединения, азот и фосфор.

2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Основната цел на настоящата дисертация е да се изследва процеса на пречистване на води от тежки метали в лабораторна инсталация за микробно продуциран сероводород от имобилизирани сулфат-редуциращи бактерии и чрез втори стадий на третиране на водите да се постигне пълното им пречистване по отношение на ХПК, и биогенни елементи.

За постигане на тази цел е необходимо да се решат следните основни задачи:

1. Да се получи обогатена култура на сулфат-редуциращи бактерии, използващи лактат от анаеробна камера за микробна сулфат-редукция. Да се изолират чисти култури СРБ с цел таксономично определяне по морфологични и биохимични характеристики. Да се проучат възможностите на сулфат-редуциращите бактерии да използват различни източници на въглерод и енергия. Да се установи устойчивостта на сулфат-редуциращите бактерии към йони на тежки метали, токсични и радиоактивни елементи.
2. Да се избере подходящ носител за имобилизиране на сулфат-редуциращи бактерии за формиране на високо активен биофилм. Да се конструира анаеробен биореактор с фиксирана биомаса и се изследва влиянието на съотношението $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$, и концентрацията на сулфати върху скоростта на микробната сулфат-редукция при използването на хранителна среда, съдържаща лактат като донор на електрони. Да се изследва влиянието на контактното време върху основни технологични параметри.
3. Да се конструира лабораторна инсталация със съоръжения за пречистване на води от тежки метали посредством утаяването им чрез микробно генериран сероводород. Да се третира вода с различен химически състав и се установят оптималните условия за отстраняването на тежките метали от водите. Да се установи формата на тежките метали в получената сулфидната утайка.
4. Да се модифицира лабораторната инсталация с възможност за последващо третиране на водите, изходящи от сулфидогенния биореактор. Да се приложат подходящи методи за пречистване на водите от остатъчни концентрации на органични съединения, сероводород и биогенни елементи, и се постигнат стойности на ХПК, концентрация на амониев и нитратен азот, и фосфор под ПДК за води II категория.
5. Да се приложи като източник на въглерод и енергия концентрирана хранителна среда не изискваща предварителна стерилизация и се изследва влиянието на контактното време, рН и температурата върху скоростта на процеса сулфат-редукция. Да се третират води, замърсени с тежки метали чрез прилагането на новата концентрирана среда и се проучат възможностите са ефективно отстраняване на замърсителите при високо органично натоварване. Да се модифицира лабораторната инсталация с цел пречистване на изходящите от сулфидогенния биореактор води чрез три-секционен биореактор, в който са комбинирани процесите на окисление на остатъчни органични съединения, сероводород, нитрификация и денитрификация.
6. Да се проучат възможностите за селективно утаяване на йоните на медта от полиметални разтвори. Да се установят минералите на медта във формираната сулфидна утайка.

3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

3.1. Материали

3.1.1. Получаване на обогатена и чисти култури сулфат-редуциращи бактерии от анаеробна камера за микробна сулфат-редукция

За получаването на обогатена култура на СРБ, използващи лактат като донор на електрони, е приложена селективната течна хранителна среда на Постгейт В.

Хранителната среда на Постгейт В за сулфат-редуциращи бактерии, окисляващи органичните вещества до ацетат има следния състав: K_2HPO_4 - 0.5 g/l, NH_4Cl - 1.0 g/l, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ - 0.1 g/l, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 2.0 g/l, Na-лактат - 3.5 g/l, Дрождев екстракт - 1.0 g/l, $Na_2S \cdot 9H_2O$ - 0.1 g/l, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0.5 g/l.

Култивирането на обогатените смесени култури сулфат-редуциращи бактерии е осъществено статично при температура 30 °C.

Чистите култури СРБ са изолирани на агаризирана хранителна среда на Постгейт В при спазване на условия за анаеробност и температура 30 °C.

3.1.1.1. Таксономично определяне на изолираните чисти култури

Таксономичното определяне е направено съгласно схеми, разработени по определителя на Berdgy, като тестовете са по описания, дадени в класическите ръководства за тази цел.

Морфологични признаци

Морфологичните характеристики на изолираните щамове включват: определяне на формата и размерите на клетката; отношение по Грам; подвижност; образуване на спори.

Физиологични и биохимични тестове

Като основни физиологични и биохимични свойства, съществени и задължителни за идентификацията на сулфат-редуциращите бактерии са определяни: използвани източници на въглерод и донора на електрони; използвани крайни акцептори на електрони; отношение към температурата.

3.1.1.2. Проучване на устойчивостта на смесената култура сулфат-редуциращи бактерии към йони на тежки метали, токсични и радиоактивни елементи

С цел изследване на устойчивостта на сулфат-редуциращите бактерии към различни замърсители, към хранителна среда на Постгейт В са добавяни поотделно в концентрации 0.01; 0.02; 0.04; 0.06; 0.08, 0.1; 0.2; 0.6; 0.8; 1.0; 1.5 и 2.0 g/l елементите: Fe ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), Cu ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), Zn ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$), Ni ($NiSO_4 \cdot 7H_2O$), Co ($CoCl_2$), Cd ($CdCl_2 \cdot 5H_2O$), Cr ($K_2Cr_2O_7$), Mn ($MnSO_4 \cdot H_2O$), As (K_2HAsO_4) и U (UO_2CH_3COO) $_2 \cdot 2H_2O$.

Хранителните среди с добавените елементи са разляти в 24 ямкови плаки с обем на ямката 3 ml в две повторения и са инокулирани с 0.05 ml култура сулфат-редуциращи бактерии. Добавен е 0.5 ml стерилен течен парафин за ограничаване на достъпа на кислорода. Култивирането е осъществено при температура 30 °C. За растежа се съди по формиране на утайка от сулфиди.

3.1.2. Избор на инертен носител за пълнеж на анаеробния биореактор за микробна сулфат-редукция

С цел определяне на оптималния носител за имобилизиране на биомаса от сулфат-редуциращи бактерии са проведени серия лабораторни изследвания в периодичен режим на култивиране. Избрани са три вида носители (таблица 1) – стъклени перли с диаметър 3 mm, натрошен варовик (5 – 9.5 mm) и зеолит (3 – 6 mm). Използваният варовик е от находище “Козяк”, гр. Сливница и има следния състав в %: $CaCO_3$ - 91.2, $MgCO_3$ - 1.9, SiO_2 - 3.9, Al_2O_3 - 2.2, Fe_2O_3 - 0.3, MnO - 0.05, Na_2O - 0.05, P_2O_5 - 3.01, TiO_2 - 0.06. Природният зеолит е от находище Бели пласт, Източни Родопи, и има следния състав в %: SiO_2 - 67.96, Al_2O_3 - 11.23, Fe_2O_3 - 0.83, K_2O - 2.85, Na_2O - 0.74, CaO - 3.01, MgO - 0.06, TiO_2 - 0.90.

Таблица 1. Количество и характеристика на различните варианти носители

Носител	Количество, g	Плътност, g/dm ³	Специфична повърхност, m ² /g	Работен обем, cm ³	Геометричен обем, cm ³
стъклени перли	341.5	1605	0.001+	100	213
варовик	210	1300	0.022-0.031	100	161
зеолит	162	940	0.085-0.105	100	172

Експериментът е проведен в стъклени банки от 300 ml, като към 100 ml модифицирана хранителна среда на Постгейт В е внесено съответното количество от различните материали до пълното им покриване с течната фаза. За контрола е ползван вариант без носител, съдържащ 100 ml модифицирана хранителна среда на Постгейт В.

Концентрацията на сулфати в хранителната среда е 2.5 g/l, а на лактат - 4 g/l. Началната стойност на pH на средата е 6.5. Всички варианти са инокулирани с 5 ml смесена култура на сулфат-редуциращи бактерии. Микроорганизмите са култивирани статично при температура 30⁰C. След всеки десетдневен период, течната фаза от вариантите е изтегляна с помощта на спринцовка с много ниска скорост и е подменяна със свежа хранителна среда със същия състав и инокулат 5 ml. Процедурата е изпълнена шесткратно.

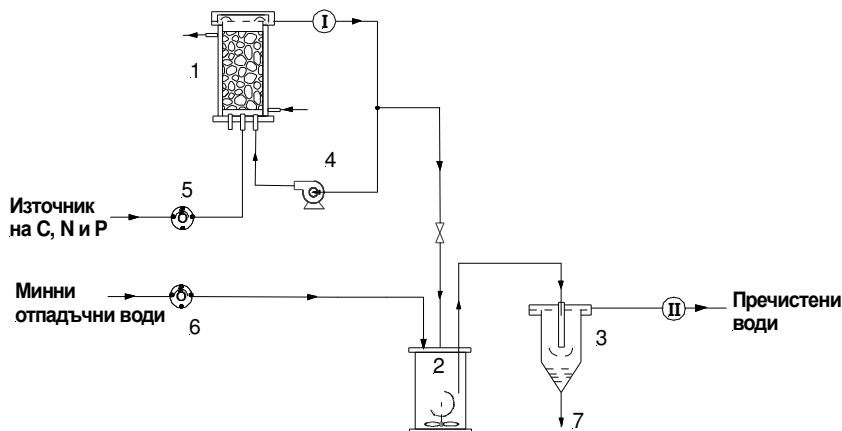
3.1.3. Лабораторна инсталация за пречистване на води от тежки метали чрез микробно генериран сероводород

3.1.3.1. Описание на основната схема на лабораторната инсталация за пречистване на кисели руднични води

Лабораторната инсталация за пречистване на води от тежки метали е представена на фигура 1. Въз основа на резултатите от предходната задача като носител на микробната биомаса е избран минералът зеолит. Сулфидогенният биореактор с фиксирана биомаса (СБФБ) (1) има геометричен обем 1.2 dm³ и е запълнен с 1.13 kg природен зеолит от находище Бели пласт. Модифицирана хранителна среда на Постгейт В с обем 0.7 dm³ е добавена до пълно покриване на повърхността на зеолита. Инокулацията на сулфидогенния анаеробен реактор е осъществена с 40 ml смесена култура на сулфат-редуциращи бактерии. След формиране на активен биофилм от СРБ започна подаване на хранителна среда в режим на непрекъснато култивиране на бактериите. Хранителната среда постъпва в биореактора с регулиран дебит посредством перисталтична помпа (5). Хомогенизирането в биореактора е реализирано посредством рециркуляционна помпа (4) при възходящ ход на водния поток в реактора.

Контактът между H₂S, генериран в процеса на ДМСР и разтворът на тежките метали се осъществява в химичен реактор (2). Реакторът е с геометричен обем 0.5 dm³. Разтворът на тежките метали се подава към химичния реактор чрез перисталтична помпа (6). Посредством регулируемия дебит на перисталтичните помпи 5 и 6 е обезпечено желаното обемно натоварване със сулфати в биореактора и подаването на разтвора на тежки метали към химичния реактор с различен дебит.

Формираните неразтворими сулфиди на тежките метали се утаяват във вертикален утаител (3) с обем 0.85 dm^3 .



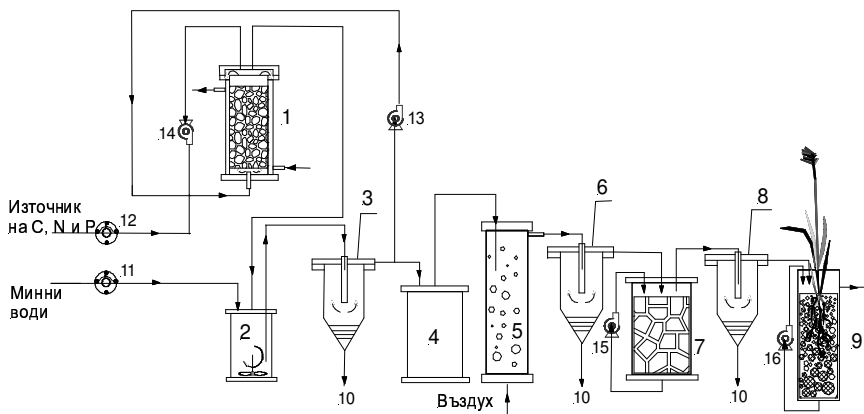
Фигура 1. Схема на лабораторна инсталация за третиране на води, замърсени с тежки метали

1 – Биореактор с фиксирана биомаса за ДМСР, 2 – Химичен реактор, 3 – Утаител, 4 – Рециркуляционна помпа, 5 и 6 - Дозиращи перисталтични помпи, 7 – Утайка от сулфиди на тежките метали; I и II – точки за вземане на проби.

3.1.3.2. Описание на I-ва модификация на схемата на лабораторната инсталация

Първата модификация на лабораторната инсталация (Фигура 2) се състои в две промени:

- С цел редукция на сулфатите, съдържащи се в минните отпадъчни води е осъществена рецикулация на потока, изходящ от утаителя към сулфидогенния анаеробен биореактор чрез рециркуляционна помпа (13);
- С цел понижаване на стойностите на ХПК и отстраняване на остатъчни концентрации сероводород, азот и фосфор, изходящите от анаеробния биореактор води се събират в колекторен резервоар (4) с обем 6 dm^3 и се подлагат на допълнително пречистване в серия лабораторни биореактори, работещи в полу-периодичен режим. Първоначално водите се третираат в аеробен биореактор с активна утайка (АБАУ)(5). Активната утайка е предоставена от Софийската градска станция за пречистване на отпадъчни води. Геометричният обем на този аеробен реактор е 20.0 dm^3 . Водите се аерират в продължение на 5 денонощия посредством три дифузора, разположени на дъното на реактора. След утаяването на активната утайка във втори вертикален утаител (6) водите постъпват в анаеробен биофилтър (АБФ) с обем 5.65 dm^3 за осъществяване на процеса денитрификация. Анаеробният биофилтър е запълнен с 4.1 kg чакъл.



Фигура 2. I-ва модификация на лабораторна инсталация за активно третиране на води, замърсени с тежки метали

1 – Биореактор с фиксирана биомаса за ДМСР, 2 – Химичен реактор, 3 – Утайтел за сулфиди на тежки метали, 4 – осреднителен съд; 5 – Аеробен биореактор с активна утайка; 7 – анаеробен филтър; 9 – реактор тип влажна зона с вертикален ход на потока; 11 и 12 – Дозиращи перисталтични помпи, 13, 14, 15 и 16 – Рециркуляционни помпи, 10 – Утайки.

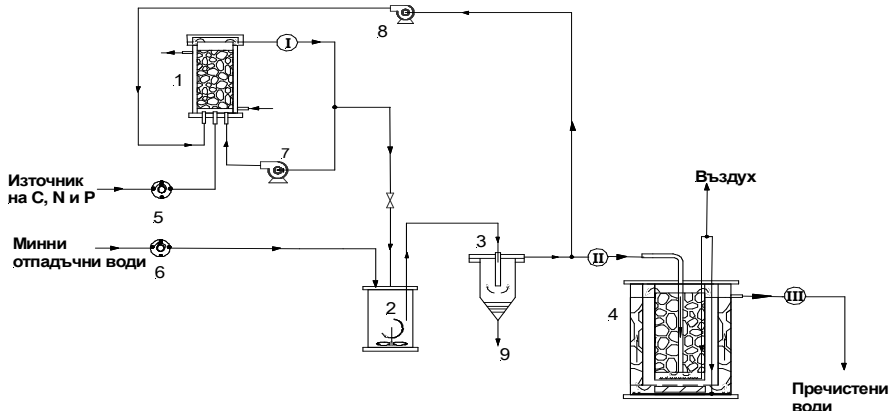
Хомогенизирането на този биореактор е реализирано чрез рециркуляционна помпа (15). След третиране за период 5 денонощия водите преминават в трети утайтел (8). Последната фаза на пречистване на водите е полирането им в реактор тип влажна зона с вертикален поток (РУВП)(9). Този реактор представлява колона с височина 900 mm и диаметър 123 mm. Колоната е запълнена с чакъл с размери 35-55 mm, като размера на чакъла нараства в дълбочина. В този субстрат е засадена тръстика (*Phragmites australis*). Рециркуляцията на водите и в този реактор е реализирана чрез рециркуляционна помпа (16), като престоят на водите във влажната зона е отново 5 денонощия

3.1.3.3. Описание на II-ра модификация на схемата на лабораторната инсталация

При тези експерименти е използвана същата конструкция на сулфидогенния биореактор, но като носител е използван наситен зеолит с биогенни елементи. Приложена същата методика за формиране на биофилм от сулфат-редуциращи бактерии (т.3.1.3.1). Втората модификация на схемата на лабораторната инсталация (фигура 3) е свързана отново с третиране на изходящите от анаеробния биореактор води с цел отстраняване на остатъчни концентрации сероводород, азот и фосфор, и понижаване на стойностите на ХПК. В схемата на лабораторната инсталация е предвиден втори три-секционен биореактор (ТСБ). Дизайнът на биореактора (две аеробни зони и една аноксична зона) позволява както биологичното окисление на органични вещества и остатъчен сероводород, така и протичането на процесите нитрификация и денитрификация. Обемът на реактора е 2,8 dm³. Конструкцията на този биореактор представлява три цилиндъра, поместени един в друг с нарастващ

диаметър. Обемът на най-вътрешния цилиндър и най-външната секция са запълнени с чакъл с едрина 5 – 9 mm. В тези зони е осигурено подаване на въздух при режим 3 l/l.min. Средната зона на трисекционния биореактор е анокси зона.

Водите постъпват в долната част на вътрешната аеробна зона и се движат във възходящ поток, преливат през стените на цилиндъра и постъпват в средната анаеробна зона на ТСБ. През перфорации на дъното на втория по размер цилиндър водите преминават в най-външната аеробна секция, където се движат във възходящ поток. Биореакторът е инокуиран с 80 ml активна утайка от ПСОВ – гр. София.



Фигура 3. II-ра модификация на лабораторна инсталация за активно третиране на води, замърсени с тежки метали

1 – Биореактор с фиксирана биомаса за ДМСР, 2 – Химичен реактор, 3 – Утайтел, 4 – Три-секционен биореактор; 5 и 6 - Дозиращи перисталтични помпи, 7 и 8 - Рециркуляционни помпи, 9 – Утайка от сулфиди на тежките метали; I, II и III – точки за вземане на проби.

3.1.4. Изследвания върху процеса сулфат-редукция и пречистването на води от тежки метали чрез сулфидогенен анаеробен биореактор с фиксирана биомаса, проведени при използване на лактат като донор на електрони

3.1.4.1. Оптимизиране на състава на хранителната среда за култивиране на СРБ в сулфидогенния анаеробен биореактор с носител зеолит - избор на съотношение органичен въглерод:сулфати

Изследванията върху влиянието на състава на хранителната среда са проведени след формиране на активен биофилм от сулфат-редуциращи бактерии върху природния зеолит. Посредством подаването на модифицирана хранителна среда на Постгейт В с различен химически състав (таблица 2) е изследвано влиянието на съотношението между органичния въглерод и сулфатите върху скоростта на процеса микробна сулфат-редукция. Концентрацията на сулфатите и при трите използвани хранителни среди е 3 g/l. Органичният въглерод в средите е внесен главно под формата на Na-лактат. Съотношението между органичния въглерод и сулфатите в хранителните среди - варианти 1, 2 и 3 е съответно 0.46, 0.56 и 0.67. pH на трите хранителните среди е коригирано до стойност 6.5. Култивирането на сулфат-редуциращите бактерии в биореактора е осъществено при температура 20 – 22 °C.

Таблица 2. Състав на използваните хранителни среди за осъществяване на дисимилативната микробна-сулфат редукция в анаеробен биореактор

Компонент	g/l		
	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3
K₂HPO₄	0.5	0.5	0.5
NH₄Cl	1.0	1.0	1.0
Безв. Na₂SO₄	2.0	2.0	2.0
CaCl₂	0.1	0.1	0.1
MgSO₄·7H₂O	4.0	4.0	4.0
Na-лактат	4.0	5.0	6.0
Дрождев екстракт	0.25	0.25	0.25
Разтвор на витамини	1 ml	1 ml	1 ml
Разтвор на микроелементи	1 ml	1 ml	1 ml

Разтворът на витамини съдържа: биотин - 10 mg/l, Са-пантотенат - 25 mg/l, Тиамин - 50 mg/l, р-аминобензоена к-на - 50 mg/l, Никотинова киселина - 100 mg/l, Пиридоксамин - 250 mg/l

Разтворът на микро-елементи съдържа: FeSO₄·7H₂O - 500 mg/l, NaMoO₄·2H₂O - 10 mg/l, MnCl₂·4H₂O - 20 mg/l, CuSO₄·5H₂O - 2 mg/l, ZnSO₄·7H₂O - 170 mg/l, Na-ЕДТА - 1.03 g/l

3.1.4.2 Влияние на контактното време върху основни технологични параметри при осъществяване на процеса микробна сулфат-редукция в сулфидогенния биореактор с фиксирана биомаса

Влиянието на контактното време върху скоростта на микробната сулфат-редукция е изследвано в диапазона 5.3 – 194 h. За целта посредством перисталтична помпа е подавана модифицирана хранителна среда на Постгейт В № 3, при което обемното натоварване на анаеробния биореактор със сулфати се мени в интервала 0.015 – 0.566 g/l.h.

Експериментът е проведен при температура 20 - 22 °С. Определяни са параметрите: pH, Eh, концентрация на сулфати и концентрация на сероводород.

3.1.4.3 Влияние на концентрацията на сулфати в хранителната среда, захранваща сулфидогенния биореактор с фиксирана биомаса СРБ върху скоростта и ефективността на процеса на микробна сулфат-редукция

Изследвано е влиянието на високи концентрации сулфати - 6 g/l в хранителната среда върху скоростта на процеса микробна сулфат-редукция. За целта е използвана модифицирана хранителна среда на Постгейт В за култивиране на сулфат-редуциращите бактерии със следния състав, в g/l: K₂HPO₄ - 0.5, NH₄Cl - 1.0, безв. Na₂SO₄ - 4.0, CaCl₂ - 0.1, MgSO₄·7H₂O - 8.0, Na-лактат - 12.0, Дрождев екстракт - 0.25. Хранителната среда има pH 6.5 и съотношение TOC/SO₄²⁻ - 0.67. Проучено е и влиянието на контактното време в диапазона 108.1 – 14.5 h върху основни технологични параметри на инсталацията. Експериментът е проведен при 20 – 22 °С.

3.1.4.4 Изследване на ефективността на отстраняване на замърсителите от водите в химичен реактор посредством микробно генериран сероводород от имобилизирани сулфат-редуциращи бактерии

3.1.4.4.1. Отстраняване на медни йони от води, посредством микробно генериран сероводород

Медните йони са добавени под формата на $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ до крайни концентрации 4 g/l, като разтворът е подкиселен със сярна киселина до стойности на pH в диапазона 1.8 – 1.9. Изследвани са три технологични режима, при които обемното натоварване на химичния реактор с Cu е съответно 0.214, 0.180 и 0.146 g/l.h.

За култивиране на сулфат-редуциращите бактерии е използвана модифицирана хранителна среда на Постгейт В със следния състав, в g/l: K_2HPO_4 - 0.5, NH_4Cl - 1.0, безв. Na_2SO_4 - 2.0, CaCl_2 - 0.1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 4.0, Na-лактат - 6.0, Дрождев екстракт - 0.25. pH на хранителната среда е 6.5, а съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ - 0.67. Концентрацията на сулфатите в хранителната среда е 3 g/l, като обемното натоварване на анаеробния реактор със сулфати е 0.144 – 0.145 g/l.h. Експериментът е проведен при температура 20 – 22 °C.

3.1.4.4.2. Отстраняване на йони на Cu, Fe, Ni и Zn от води посредством микробно продуциран сероводород

Тежките метали в моделния разтвор са добавени в еквимоларни количества (15 mM) съответно под формата на $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ до обща крайна концентрация 60 mM. Разтворът е подкиселен до pH в интервала 1.8 – 1.9 посредством 1 N H_2SO_4 . Изследвани са следните четири режима на обемно натоварване на химичния реактор с тежки метали: 3.23, 1.97, 1.67 и 1 mM/l.h.

Използваната модифицирана хранителна среда на Постгейт за култивиране на сулфат-редуциращите бактерии има следния състав, в g/l: K_2HPO_4 - 0.5, NH_4Cl - 1.0, безв. Na_2SO_4 - 4.0, CaCl_2 - 0.1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 8.0, Na-лактат - 12.0, дрождев екстракт - 0.25. pH на хранителната среда е 6.5, а съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ - 0.67. Концентрацията на сулфатите в хранителната среда е 6 g/l, като обемното натоварване на анаеробния реактор със сулфати е 0.144 – 0.145 g/l.h. Експериментът е проведен при 20 – 22 °C.

3.1.4.4.3. Отстраняване на йони на Cu, Fe, Ni, Zn, Cd и Co от води посредством микробно продуциран сероводород

Тежките метали в моделния разтвор са добавени в еквимоларни количества (10 mM) съответно под формата на $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ и $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ и CoCl_2 до обща крайна концентрация 60 mM. Разтворът е подкиселен до pH в интервала 1.8 – 1.9 посредством 1 N H_2SO_4 . Изследвани са следните четири режима на обемно натоварване на химичния реактор с тежки метали: 3.25, 2, 1.65 и 1 mM/l.h.

Използваната модифицирана хранителна среда на Постгейт В за култивиране на сулфат-редуциращите бактерии има състав, в g/l: K_2HPO_4 - 0.5, NH_4Cl - 1.0, безв. Na_2SO_4 - 4.0, CaCl_2 - 0.1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 8.0, Na-лактат - 12.0, дрождев екстракт - 0.25. Хранителната среда има pH 6.5 и съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ - 0.67. Концентрацията на сулфатите в хранителната среда е 6 g/l, като обемното натоварване на анаеробния реактор със сулфати е 0.144 – 0.145 g/l.h. Експериментът е проведен при температура 20 – 22 °C. При проведените изследвания върху пречиштането на тежки метали от различни моделни разтвори са измервани параметрите pH,

концентрация на тежки метали, сероводород, сулфати и ХПК на водите в точките за вземане на проби, разположени след съоръженията сулфидогенен анаеробен биореактор, химически реактор и утайтел.

3.1.5. Изследвания върху пречистването на води от тежки метали чрез лабораторна инсталация – I-ва модификация, проведени при използване на лактат като донор на електрони

При тези изследвания сулфидогенният анаеробен биореактор за микробна-сулфат-редукция е захранван с концентрирана модифицирана хранителна среда, съдържаща лактат като донор на електрони. Средата има следния състав: натриев лактат- 32.0 g, K_2HPO_4 - 1.0 g, NH_4Cl - 2.0 g, $CaCl_2$ - 0.5 g, дрождев екстракт - 1.0 g. Стойността на pH на хранителната среда е коригирана до 7.0. Тежките метали Cu – 200 mg/l, Fe – 20 mg/l, Zn – 20 mg/l, Ni – 10 mg/l, Cd – 10 mg/l и Co – 10 mg/l са включени в синтетичен разтвор под формата на $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $NiSO_4 \cdot 7H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $CdCl_2 \cdot 2.5H_2O$ and $CoCl_2$. Към този разтвор е добавен $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ в концентрация 5.2 g/l и сярна киселина с цел понижаване на pH на разтвора в интервала 2.8 – 2.9. Експериментът е проведен при температура 20 – 22 °C.

При тези експерименти в основни точки за вземане на проби в лабораторната инсталация (изход утайтел за сулфидни утайки, изход утайтел след аеробен биореактор с активна утайка, изход утайтел след анаеробен биофилтър и изход реактор тип влажна зона с вертикален поток) са измервани параметрите pH, Eh и са определени концентрациите на тежки метали, сероводород, сулфати, амониев азот, нитрати, фосфати, ХПК и БПК₅. Утайката от сулфиди на тежките метали е изследвана за количествено съдържание на тежки метали и сяра. Чрез рентгено-структурен анализ са определени минералите, в състава на които влизат утаените замърсители.

3.1.6. Изследвания върху пречистването на води от тежки метали чрез лабораторна инсталация – II-ра модификация, проведени при използване на органичен концентрат на основата на етанол като донор на електрони

3.1.6.1. Проучване на възможностите на смесената култура сулфат-редуциращи бактерии да използва различни източници на въглерод и енергия

Проучването на възможностите на смесената култура за използване на различни източници като донори на електрони за процеса сулфат-редукция е изследвано чрез използване на модифицирани хранителни среди на Постгейт В, в които млечната киселина е заменяна с различни нискомолекулни органични съединения. Осъществено е периодично култивиране на бактериите върху среди с обем 20ml, съдържащи като единствен въглероден източник етанол, изопропанол, метанол, глицерол, цитрат, сукцинат, бензоат, ацетат и холин. Изследваните органични съединения са добавени в крайни концентрации 3 g/l. Хранителните среди са инокулирани с 0,2 ml смесена култура СРБ и са култивирани при стриктни анаеробни условия и температура 30 °C.

3.1.6.2. Формиране на имобилизиран биофилм от сулфат-редуциращи бактерии върху зеолит, наситен с биогенни елементи

При втората модификация на лабораторната инсталация е подменен пълнителя на сулфидогенния анаеробен биореактор за микробна сулфат-редукция. Използван е наситен с биогенни елементи природен зеолит със същия произход (Бели пласт, Източни Родопи). За целта 1.20 kg зеолит с размер на частиците 2.5 - 5.0 mm е обработен общо с 6 l разтвор, съдържащ NH_4Cl – 10 g/l, K_2HPO_4 – 5 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 4 g/l. Анаеробният биореактор е запълнен с 1.10 kg наситен зеолит и модифицирана хранителна среда на Постгейт В, съдържаща като донор на електрони лактат и съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1. Реакторът е инокуиран със 70 ml смесена култура сулфат-редуциращи бактерии.

3.1.6.3 Влияние на обемното натоварване със сулфати на анаеробния биореактор на микробна сулфат-редукция върху основни технологични параметри при използване на органичен концентрат и съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1

След формиране на биофилм от СРБ в сулфидогенния анаеробен биореактор започва подаване на хранителна среда с нов състав в режим на непрекъснато култивиране на бактериите. Новата хранителна среда представлява смес от два разтвора, единия от които съдържа донори на електрони, а другия – крайния акцептор на електрони – сулфат. Първият разтвор представлява силно концентриран разтвор на органични съединения (органичен въглерод 200 g/l) с основен компонент етанол – 32%, в който са включени млечна киселина, лимонена киселина и глицерол. Необходимите растежни фактори и витамини са доставени чрез добавянето на дрождев екстракт към този концентриран разтвор. Посредством неутрализация с натриева основа се постига коригиране на рН в диапазона 7.0 – 7.5 (Таблица 3).

Таблица 3. Състав на разтвора на органични съединения – общ органичен въглерод 200 g/l при изследване влиянието на рН и температурата върху микробната сулфат-редукция

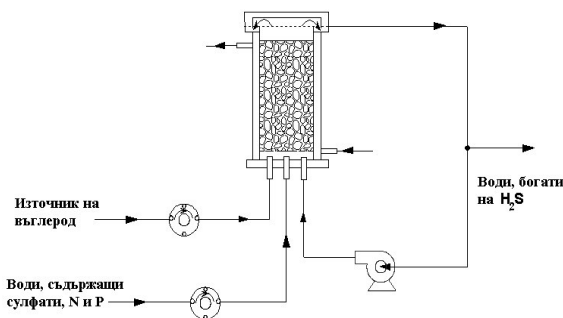
Съединение	Количество за 1000 ml
Етанол, 96 %	333 ml
Млечна киселина, 80 %	36 ml
Лимонена киселина	20 g
Глицерол	23.4 g
Дрождев екстракт	5.0 g
NaOH, 30 %	19 ml
Дестилирана вода	До 1000 ml

Съставът на втория разтвор, съдържащ крайния акцептор на електрони-сулфати е представен в таблица 4. Сулфатите са внесени под формата на натриева и магнезиева соли. Към разтвора са добавени източници на азот и фосфор. Количеството на двата биогенни елемента е половината от това в стандартната хранителна среда за култивиране на сулфат-редуциращи бактерии. Разтворът е подкислен със сярна киселина до рН 3.0

Таблица 4. Състав на разтвора, съдържащ сулфати и източници на азот и фосфор при изследване влиянието на рН и температурата върху микробната сулфат-редукция

Съединение	Концентрация
Na_2SO_4	2 g/l
$\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4 g/l
K_2HPO_4	0.25 g/l
NH_4Cl	0.5 g/l
к. H_2SO_4	0.1 ml/l

Чрез фино-дозиращи перисталтични помпи се осигурява прецизно подаване на двата разтвора в анаеробния биореактор и поддържане на съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1 (фигура 4). Хомогенизирането в биореактора е реализирано посредством рециркуляционна помпа при възходящ ход на водния поток в реактора.



Фигура 4. Схема на захранване на анаеробния биореактор с донор и акцептор на електрони при изследване на влиянието на обемното натоварване със сулфати върху основни технологични параметри на процеса микробна сулфат-редукция

Влиянието на контактното време върху скоростта на микробната сулфат-редукция е изследвано в диапазона 14 – 86 h. За целта двукомпонентната модифицирана хранителна среда е подавана с дебити, осигуряващи обемно натоварване на анаеробния биореактор със сулфати в интервала 0.035 – 0.214 g/l.h. Експериментът е проведен при температура 19 – 21 °C.

3.1.6.5 Влияние на рН и температурата върху скоростта на процеса сулфат-редукция, осъществяван в анаеробния биореактор при съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1

Влиянието на рН върху процеса е изследвано чрез подкисляване на разтвора, съдържащ крайния акцептор на електрони сулфат със сярна киселина, вследствие на което рН на изходящите води от сулфидогенния биореактор се мени в диапазона 5.45 – 7.25. Чрез прецизно дозиране на компонентите на хранителната среда през целия експеримент е поддържано обемно натоварване на биореактора със сулфати 0.174 – 0.176 g/l.h. Изследванията са проведени при температура в интервала 19 – 21 °C. Влиянието на температурата върху скоростта на процеса е изследвано в диапазона 21 – 37 °C отново при натоварване на биореактора със сулфати 0.174 – 0.176 g/l.h

3.1.6.6. Пречистване на води от йони на тежки метали в лабораторна инсталация (II-ра модификация) при захранване на анаеробния биореактор с органичен концентрат на основата на етанол и съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1

Чрез лабораторната инсталация, от воден разтвор са утаявани тежките метали Cu (100 mg/l) и Fe (1000 mg/l). Третирият синтетичен разтвор има следния състав: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 4.98 g/l, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0.393 g/l, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 2.57 g/l, к. H_2SO_4 - 0.1 ml. Концентрацията на сулфатите е 3 g/l, а посредством добавената сярна киселина стойността на pH е коригирана под 3. Чрез дозиращата перисталтична помпа към анаеробния биореактор за микробна сулфат-редукция е добавян концентриран разтвор на донори на електрони и източници на азот и фосфор. Съставът на разтвора е посочен в таблица 5. Разтворът на биогенни елементи е добавян с дебит, обезпечаващ съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1.

Таблица 5. Състав на разтвора на биогенни елементи за сулфат-редуциращите бактерии при пречистване на води от тежки метали чрез лабораторна инсталация – II-ра модификация

Съединение	Количество за 1000 ml
Етанол, 96 %	333 ml
Млечна киселина, 80 %	36 ml
Лимонена киселина	20 g
Глицерол	23.4 g
Дрождев екстракт	5.0 g
K_2HPO_4	5 g
NH_4Cl	10 g
NaOH , 30 %	19 ml
Дестилирана вода	До 1000 ml

Третирането на водите е осъществено при температура 20 – 21 °C. На водни проби от точки на вземане на проби, разположени съответно след сулфидогенния анаеробен биореактор, след утайтеля и на изхода от три-секционния биореактор са изследвани следните параметри: pH, Eh, концентрации на сулфати, сероводород, Cu, Fe, NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-} , ХПК и съдържание на алкохоли, и органични киселини. Определени са също така и параметрите: катионообменен капацитет, обменни йони Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ и съдържание на органичен въглерод в природния зеолит, наситения с биогенни елементи зеолит и на зеолита с формиран активен биофилм от сулфат-редуциращи бактерии.

3.1.7 Селективно утаяване на йони на мед от полиметални разтвори чрез микробно генериран сероводород

Проведените изследвания целят проучване на възможностите за селективно утаяване на мед от полиметални разтвори при използването на изходящи от сулфидогенния биореактор води, съдържащи сероводород. Смесвани са 100 ml моделен разтвор, съдържащ тежките метали с разтвори, съдържащи микробно продуциран сероводород с нарастващ обем от 5 до 140 ml.

Разтворът на тежки метали има следния състав: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 4.98 g/l; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0.393 g/l; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 2.57 g/l; к. H_2SO_4 - 0.1 ml. Разтворът на микробно продуциран сероводород е получен от анаеробния реактор за сулфат-редукция при обемно натоварване със сулфати 214 mg/l.h и контактно време 14h. При този технологичен режим, изходящите от биореактора води съдържат сероводород в концентрация 480 - 495 mg/l.

След утаяване на формираните метални сулфиди са проследени параметрите pH, Eh, концентрация на мед и желязо. Направен е и рентгено-структурен анализ на сулфидна утайка във варианта със селективно утаени медни йони.

4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

4.1. Характеристика на смесената култура сулфат-редуциращи бактерии, използвана за получаване на имобилизиран биофилм в анаеробния биореактор на инсталацията

4.1.1. Получаване на обогатена култура сулфат-редуциращи бактерии от лабораторен модел на анаеробна камера

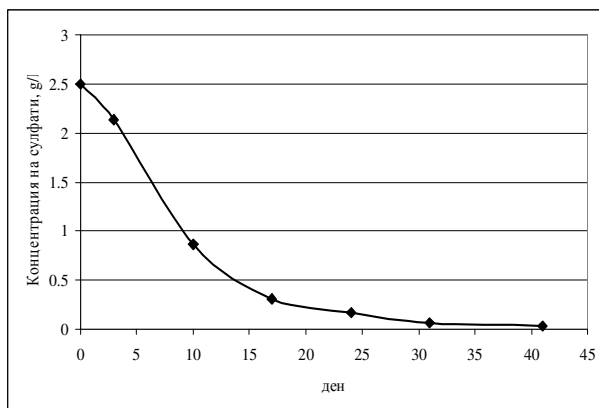
За получаването на обогатена смесена култура СРБ е използвана течна проба от лабораторна анаеробна камера за микробна сулфат-редукция в периодичен режим. Анаеробната камера е запълнена с твърд отпадъчен органичен материал – смес от отработен гъбен компост, слама, говежда и конска тор, и разтвор, съдържащ сулфати 2 g/l. След едномесечно култивиране е направен анализ на числеността на основни физиологични групи микроорганизми в течната фаза на камерата и е получена обогатена култура сулфат-редуциращи бактерии, използващи лактат като източник на въглерод и енергия. Данните от микробиологичния анализ (Таблица 6) показват наличието на богата микрофлора, като най-многочислени са популациите на СРБ, окисляващи непълно органичните вещества до ацетат и въглероден диоксид.

Таблица 6. Микробиологичен анализ на течни проби от лабораторна анаеробна камера за сулфат-редукция

Физиологична група микроорганизми	cells/ml
Общ брой аероби хетеротрофи	$5,2 \cdot 10^5$
Общ брой анаероби хетеротрофи	$6,5 \cdot 10^5$
Ферментиращи ВХ бактерии с отделяне на газ	$2,5 \cdot 10^4$
Целулозоразграждащи бактерии	$6,0 \cdot 10^2$
Денитрифициращи бактерии	$1,3 \cdot 10^4$
Fe^{3+} - редуциращи бактерии	$2,5 \cdot 10^3$
СРБ, използващи лактат	$5,0 \cdot 10^6$
СРБ, използващи ацетат	$6,5 \cdot 10^4$

За получаването на обогатена култура СРБ, използващи лактат като донор на електрони е приложена елективна хранителна среда на Постгейт В. След три пассажа на получената обогатена култура СРБ е определена скоростта на микробната сулфат-

редукция при периодичен режим на култивиране, като за целта е проследено изменението на концентрацията на сулфатите във времето (фигура 5).



Фигура 5.
Изменение на концентрацията на сулфатите при протичане на процеса микробна сулфат-редукция в периодичен режим на култивиране

Началната концентрация на сулфати в средата на Постгейт В е 2.5 g/l. Установи се, че при статично култивиране на бактериите при температура 30°C процесът микробна сулфат-редукция протича с максимална скорост - 182 mg SO₄²⁻/l.d между 3 и 10 ден.

4.1.2. Таксономично определяне на сулфат-редуциращите бактерии.

4.1.2.1. Получаване на единични колонии

С цел идентификация на сулфат-редуциращите бактерии в обогатената култура, посредством използването на агаризирана хранителна среда на Постгейт В са получени единични колонии. Въз основа на морфологичната характеристика на прорасналите единични колонии от смесената култура са изолирани 5 чисти култури СРБ (таблица 7).

Таблица 7. Морфологични особености на колонииите на изолираните щамове

Щам	Морфология
SRL1	Черни, плоски колонии с неравни краища, със слаб блясък, d = 4 – 5 mm
SRL2	Черни изпъкнали колонии, d = 2 – 3 mm
SRL3	Черно-кафяви колонии със светлокафяв ръб, с блясък, d = 3 – 4 mm
SRL4	Кафяво-черни колонии, леко изпъкнали, d = 2 – 3 mm
SRL5	Черни точковидни колонии, с блясък, d около 1 mm

Проверката за растеж върху аеробен агар и характера на растежа върху анаеробен агар показва отсъствието на контаминанти в изолираните чисти култури.

4.1.2.2. Таксономично определяне на изолираните чисти култури

Морфологични признаци - Морфологичните особености на изолираните чисти култури СРБ са представени в таблица 8.

Таблица 8. Морфологична характеристика на изолираните щамове СРБ

Признак	SRL1	SRL2	SRL3	SRL4	SRL5
Форма на клетките	Къси прави пръчици	Извити пръчици вибриони	Дребни фини къси пръчици	Леко огънати пръчици	Извити пръчици
Дължина	2.9 – 3.2 μ	1.8 – 2.5 μ	0.9 – 1.3 μ	1.5 – 1.8 μ	2.5 – 3.1 μ
Ширина	0.7 – 1.1 μ	0.6 – 0.8 μ	0.5 – 0.7 μ	0.7 – 1.0 μ	1.0 – 1.3 μ
Подвижност	+	+	-	+	+
Оцв.по Грам	Гр (+)	Гр (-)	Гр (-)	Гр (-)	Гр (-)
Спори	+	-	-	-	-

Анализът на данните позволява още посредством някои типични морфологични характеристики щамът SRL1 да бъде определен като представител на *p. Desulfotomaculum*. Бактериите от този род имат формата на прави или закривени пръчки, със закръглени или остри краища. Размерът при различните представители варира в диапазона 0.3-1.5 на 3-9 μ . Особеност на рода е образуването на устойчиви към нагряване и изсушаване ендоспори, които могат да бъдат централно, субтерминално и терминално разположени в клетката. Образуването на спори при щам SRL1 се доказва и чрез осъществяване на пастьоризация (нагряване при температура 80 °C за 10 минути).

Физиологични и биохимични тестове

От проведените физиологични и биохимични тестове (таблица 9) също може да се направи извода, че изолираният щам **SRL1** принадлежи към мезофилните представители на *p. Desulfotomaculum*.

Таблица 9. Физиологична и биохимична характеристика на изолираните щамове сулфат-редуциращи бактерии

Признак	SRL1	SRL2	SRL3	SRL4	SRL5
Растеж на среди с:					
Лактат + SO ₄ ²⁻	+	+	+	+	+
Лактат без SO ₄ ²⁻	-	-	+	+	-
пропионат	-	-	+	+	-
ацетат	-	-	-	+	-
малонат	-	+	-	-	-
сукцинат	-	+	+	+	-
стеаринова к-на	-	-	-	-	-
бензоат	-	-	-	+	-
етанол	+	+	+	+	+
глицерол	+	-	+	-	+
изо-пропанол	+	+	+	+	-
холинхлорид	-	+	-	-	-
Краен акцептор S ⁰	+	+	+	-	+
Краен акцептор S ₂ O ₃ ²⁻	+	-	+	+	++
Краен акцептор NO ₃ ⁻	-	-	-	-	+
Краен акцептор As ³⁺	-	-	-	-	+
Растеж при температура:					
25 – 40 °C	+	+	+	+	+
50 – 60 °C	-	-	-	-	-

Много, но не всички видове от рода могат да използват като донор на електрони лактат, етанол, глицерол, монокарбонови киселини от C₁ до C₁₈, молекулен H₂. *P. Desulfotomaculum* има оптимален растеж при pH в диапазона 6.6 – 7.4.

Морфологичните и биохимичните характеристики на изолираните щамове **SRL2** и **SRL5** предполагат тяхното класифициране към *p. Desulfovibrio*. Бактериите от този род имат огънати, рядко прави пръчки, понякога сигмоидни или спираловидни. Размерът на клетките е 0.5-1.5 на 2.5-10 µ. Не образуват ендоспори и са Грам (-). Подвижността на представителите на *p. Desulfovibrio* е интензивна и прогресираща за разлика от “треперещата” подвижност, характерна за *p. Desulfotomaculum*. Органичните субстрати се окисляват непълно до ацетат. Крайни акцептори на електрони са сулфат, сулфит, тиосулфат и елементарна сяра. pH оптимума е в диапазона 6.6 – 7.5. Биохимична особеност на изолираният шам **SRL5** е широкият кръг крайни акцептори на електрони, които използва за осъществяване на анаеробно дишане. Освен редуцирани серни съединения (сулфат, тиосулфат и елементарна сяра), изолатът е способен за редуцира As⁵⁺ до As³⁺ и да редуцира нитрати. Видовото му определяне изисква по-детайлни биохимични анализи.

Анализът на морфологичните и физиолого-биохимичните характеристики на шам **SRL3** предполага изолатът да бъде класифициран към *p. Desulfomicrobium*. Клетките на видовете, принадлежащи към този род, се характеризират с малки размери 0.6 – 1.3 µ. Могат да бъдат неподвижни или подвижни благодарение на едно полярно разположено камшиче. Крайни акцептори на електрони на сулфат, сулфит, тиосулфат и елементарна сяра. В качеството на донори на електрони използват H₂, лактат, малат, етанол и др., като ги окисляват непълно до ацетат. Способни са да растат на прости синтетични среди, като дрождевият екстракт стимулира растежа. pH оптимумът е в интервала 6.6 – 7.5.

От представените в таблица 9 данни се вижда, че изолираният шам **SRL4** притежава широки биохимични възможности и може да използва като донор на електрони разнообразни органични съединения. Крайни акцептори на електрони обаче са само сулфат и тиосулфат. Морфологичните и биохимичните особености на шам **SL4** позволяват изолатът да бъде класифициран в *p. Desulfobacterium*. Характерно за рода е, че клетките могат да бъдат от овални до пръчковидни, или от леко огънати до виброидни. Размерът е от 0.7-2.3 на 1.5-2.8 µ. Грам отрицателни, подвижни за сметка на полярно разположено камшиче или неподвижни.

Сулфат-редуциращи бактерии, принадлежащи към *p. Desulfovibrio*, *p. Desulfotomaculum* и *p. Desulfomicrobium* са изолирани и в други изследвания от анаеробни камери за пасивно третиране на кисели руднични води. Получените данни от изследванията за таксономичния статус на 5-те щамове изолирани сулфат-редуциращи бактерии показват, че получената смесена култура представлява консорциум от сулфат-редуктори, притежаващи допълващи се качества и е подходяща за използване като инокулум на сулфидогенен анаеробен биореактор за активно третиране на води, замърсени с тежки метали.

4.2 Устойчивост на смесената култура сулфат-редуциращи бактерии към йони на тежки метали, токсични и радиоактивни елементи

Минните отпадъчни води в зависимост от минерализацията на находището се характеризират с различни концентрации тежки метали, токсични и/или радиоактивни елементи (Fe, Al, Mn, As, Cu, Zn, Ni, U, Ra и др.). Данни за растежа на

смесената култура сулфат-редуциращи бактерии при добавени елементи: Fe ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Cu ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), Zn ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Ni ($\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Co (CoCl_2), Cd ($\text{CdCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), Cr ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), Mn ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), As (K_2HAsO_4) и U ($\text{UO}_2\text{CH}_3\text{COO}$) $_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) в концентрации в диапазона 0.01 – 2.0 g/l са представени на фигура 6.

Концентрация, g/l	0.01	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.2	0.6	0.8	1.0	1.5	2.0
Fe												
Cu												
Zn												
Ni												
Co												
Cd												
Cr												
Mn												
As												
U												

Фигура 6. Установен растеж на сулфат-редуциращи бактерии при различни концентрации тежки метали, арсен и уран

От получените данни се вижда, че смесените култури сулфат-редуциращи бактерии проявяват толерантност към високи концентрации на едни от най-често срещаните замърсители в киселите руднични води – желязо и манган.

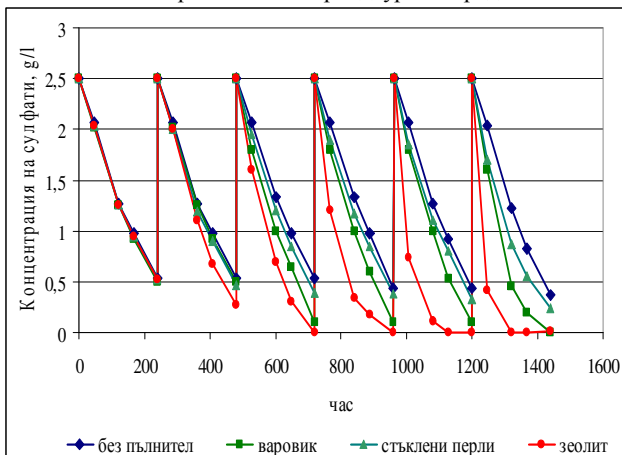
Установи се, че най-токсично действие върху сулфат-редуциращите бактерии оказват йоните на Cd и Cr, като растеж е установен само в най-ниските концентрации - 10 и 20 mg/l. Cu и Ni са също токсични за СРБ. Микробна сулфат-редукция протича при максимална концентрация на мед - 60 mg/l и никел - съответно 40 mg/l. Йоните на арсена и цинка оказват по-слаб негативен ефект върху растежа на изолираната смесена култура сулфат-редуциращи бактерии. Формиране на метални сулфиди се наблюдава при концентрации на арсена до 100 mg/l и цинка до 200 mg/l. Уранът и кобалтът са токсични за развитието на изследваните микробни популации СРБ при значително високи концентрации – над 800 mg/l. Установи се растеж при всички изследвани концентрации манган и желязо.

Интерес представлява и фактът, че някои сулфат-редуциращи бактерии освен сулфат и други съединения на сярата използват и йони на тежки метали, и металоиди (Cr(VI), U(VI), Mn(IV), As(V) и Fe(III)) като крайни акцептори на електрони и добиват по този начин енергия. В изолираната смесена култура също присъстват СРБ – щам **SRL5**, способен да осъществява анаеробно дишане на база редукцията на As(V). Вероятно поради тази причина някои изолати СРБ могат да осъществяват растеж при значителни концентрации на горепосочените токсични елементи в средата.

4.3. Избор на инертен носител за пълнеж на анаеробния биореактор за микробна сулфат-редукция

С цел определяне на оптималния носител за имобилизиране на биомаса от сулфат-редуциращи бактерии в серия лабораторни изследвания са тествани три вида носители – стъклени перли с диаметър 3 mm, натрошен варовик (5 – 9.5 mm) и зеолит (3 – 6 mm). Обемът на хранителната среда - Постгейт В за всички варианти е 100 ml, като началната концентрация на сулфати в средата е 2.5 g/l, а на лактат - 4 g/l. На всеки 10 дни течната фаза от всеки вариант е подменяна със свежа хранителна среда със същия състав и инокулат 5 ml.

Данни за динамиката на концентрацията на сулфатите при шесткратно изпълнение на гореописаната процедура са представени на Фигура 7.

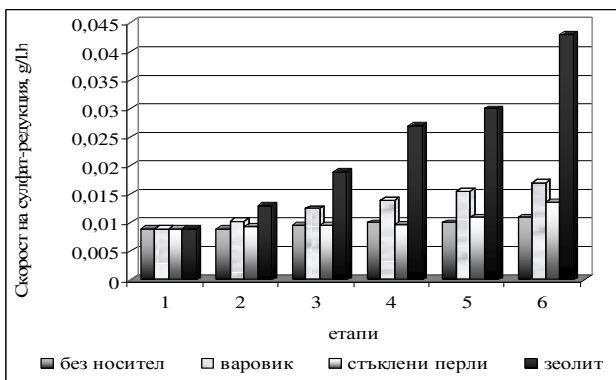


Фигура 7.

Динамика на концентрацията на сулфати при протичане на ДМСР без и с различни носители
От данните се вижда, че при използването на носители скоростта на редукция на сулфати при всеки следващ етап на подмяна на хранителната среда нараства.

Това е свързано с формирането на биофилм от сулфат-редуциращи бактерии върху повърхността на твърдите материали. За разлика от контролата, в която се установява незначително увеличаване на скоростта на процеса, при някои от вариантите с носители, за различен период от време се наблюдава пълна редукция на сулфатите. Най-добри резултати са получени при използването на зеолит като носител. Това е свързано с предоставянето на по-голяма специфична повърхност в сравнение с останалите два тествани материала. В резултат на формирането на биофилм от СРБ след шест кратната подмяна на хранителната среда скоростта на микробната сулфат-редукция (фигури 7 и 8) нараства близо пет пъти - от 0.009 до 0.043 g SO₄²⁻/l.h (т.е. над 4.7 пъти). При използване на стъклени перли и варовик като инертни носители скоростта на процеса за същия период време нараства само съответно с 1.5 и 1.9 пъти. Трябва да се отбележи, че при изпълнението на тази процедура контактът на СРБ с кислорода от въздуха оказва негативно влияние върху тяхната активност. При непрекъснат режим на култивиране, какъвто е режимът при лабораторната инсталация за ДМСР, проблемът с нарушаване на анаеробните условия на средата ще бъде избегнат поради непрекъснатото дозиране на хранителна среда и отвеждане на съответното количество от обема на реактора.

Потвърждение на получените резултати имат и данните за рН на течната фаза след всеки десетдневен период от култивирането на сулфат-редуциращите бактерии (Таблица 10). Един от крайните продукти на ДМСР са бикарбонатните йони, които водят до повишаване на рН на средата.



Фигура 8. Скорост на сулфат-редукция без и с различни носители при шест-етапно осъществяване на процеса

Проведените изследвания, свързани с избор на носител за сулфат-редуциращите бактерии е една от важните задачи, свързани с конструирането на анаеробния сулфидогенен биореактор. Процесът сулфат-редукция протича ефективно в биореактори с имобилизирана биомаса, поради бавната скорост на растеж на сулфат-редуциращите бактерии.

Таблица 10. Стойност на рН в края на всеки десетдневен етап при осъществяване на микробната сулфат-редукция без и с различни инертни носители

Етап	1	2	3	4	5	6
Без носител	7.01	6.98	7.03	7.1	7.08	7.12
Стъклени перли	7.07	7.15	7.20	7.26	7.31	7.40
Варовик	7.05	7.23	7.38	7.52	7.65	7.81
Зеолит	7.09	7.53	7.86	8.21	8.48	8.52

Публикувани са множество изследвания, при които като носители в биореакторите се използват различни естествени и изкуствени материали – чакъл, пясък, стъклени перли, полипропиленови пръстени, поресто стъкло, полиуретанова пяна, въглища, овъглени кости на животни, диатомови пелети, пемза, алкални материали.

Един от минералите, притежаващ забележителни свойства е зеолитът. От една страна този минерал предоставя значителна повърхност за прикрепване на микроорганизмите. Високият катионообменен капацитет е второто важно свойство на зеолитите. Има различни изследвания за приложение на зеолитите при третиране на отпадъчни води. Основната част от изследванията са свързани с пречистване на води от амониеви йони. Установявано е, че при прилагането на зеолит като материал за имобилизация се създават благоприятни условия за нитрифициращите бактерии. Стабилни микробни съобщества са установени и в аериран биофилтър с клиноптилолит за пречистване на синтетични разтвори, съдържащи глюкоза. Зеолит като носител е прилаган в анаеробни реактори с флуидизиран слой като са третирани отпадъчни води от спиртопроизводството и е постигнато 90% понижаване на ХПК при обемно натоварване на реакторите 20g COD/l.d. Чрез използване на генетични методи като доминантни популации в микробното съобщество са установени метаногенни бактерии от род *Methanosaeta* и *Methanosarcina*. Няма обаче

систематични данни относно възможностите за използването на зеолит като носител в анаеробни биореактори - тип биофилтри за имобилизация на сулфат-редуциращи бактерии.

4.4. Изследвания върху процеса сулфат-редукция и пречистването на води от тежки метали в лабораторна инсталация с анаеробен биореактор за микробна-сулфат-редукция, захранван с лактат като единствен донор на електрони

4.4.1. Основни технологични параметри на сулфидогенния биореактор с фиксирана биомаса

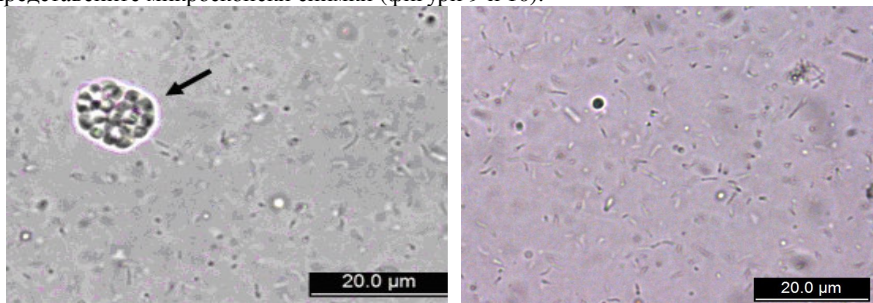
4.4.1.1.Формиране на активен биофилм от имобилизирани сулфат-редуциращи и други анаеробни хетеротрофни бактерии

Формирането на активен биофилм от сулфат-редуциращи бактерии върху природния зеолит, използван като носител в анаеробния биореактор се осъществи за период от три месеца и половина. За целта реакторът бе запълнен с хранителна среда на Постгейт В, инокулирана с 40 ml обогатена култура на СРБ, получена от анаеробната камера. Съставът на микрофлората в използвания инокулум е представен в таблица 11, от която се вижда, че СРБ, използващи лактат, са доминантни популации в смесената култура.

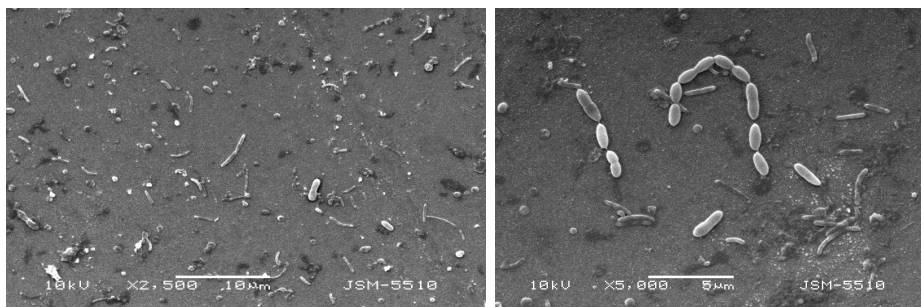
Таблица 11. Численост на основни физиологични групи микроорганизми в инокулума на анаеробния биореактор са микробна-сулфат-редукция

Микроорганизми	cells/ml
Факултативни аеробни хетеротрофни бактерии	$6,0 \cdot 10^5$
Бактерии, ферментиращи въглехидрати с отделяне на газ	$2,5 \cdot 10^4$
Сулфат-редуциращи бактерии, използващи лактат	$1,3 \cdot 10^6$

Формирането на активен биофилм се осъществи чрез многократна подмяна на 50% от течната фаза в анаеробния биореактор със свежа хранителна среда. Подмяната се осъществяваше след намаляване на концентрацията на сулфатите под 0.2 g/l. След три месеца и половина започна непрекъснато култивиране на микроорганизмите чрез захранване на анаеробния биореактор с хранителна среда посредством перисталтична помпа. За наличието на свободни клетки СРБ и други хетеротрофни бактерии и в течната фаза на анаеробния биореактор свидетелствуват представените микроскопски снимки (фигури 9 и 10).



Фигура 9. Свободни клетки в течната фаза на анаеробния биореактор - фазовоконтрастна микроскопия



Фигура 10. Свободни клетки в течната фаза - сканиращ електронен микроскоп

4.4.1.2. Оптимизация на състава на хранителната среда за осъществяване на процеса на дисимилативна микробна сулфат-редукция в биореактора с имобилизирана микробна биомаса

Влиянието на съотношението между органичния въглерод и сулфатите върху скоростта на процеса микробна сулфат-редукция е изследвано посредством захранване на СБФБ с различни хранителни среди. Концентрацията на сулфатите и при трите използвани хранителни среди е 3 g/l. Съотношението между общия органичен въглерод и сулфатите ($\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$) в хранителните среди е съответно 0.46, 0.56 и 0.67. С цел получаване на достатъчно информация за скоростта на процеса, за всяка хранителна среда бе изследвано влиянието на обемното натоварване на биореактора със сулфати в диапазона 0.046 – 0.285 g/l.h.

Таблица 12. Основни технологични параметри при работа на лабораторната инсталация с използването на хранителни среди, съдържащи различно съотношения $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ и донор на електрони

$\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$	Контактно време, h	Обемно натоварване, g/l.h	Концентрация на сулфати, g/l	Ефективност на сулфат-редукция, %	Скорост на редукция mg/l.h
0.46	65	0.046	0.190	91.99	43,5
	21	0.143	0.208	93.06	133
	10.5	0.285	0.227	92.42	264
0.56	65	0.046	0.154	94.86	43,9
	21	0.143	0.186	93.79	134
	10.5	0.285	0.201	93.29	266
0.67	65	0.046	0.088	97.06	44,9
	21	0.143	0.105	96.49	138
	10.5	0.285	0.124	95.86	274

От получените резултати (Таблица 12) се вижда, че съотношението между донора на електрони – лактат и крайния акцептор на електрони – сулфат оказва влияние върху процеса. Част от лактата се използва освен като източник на енергия и като единствен източник на въглерод както за сулфат-редуциращите бактерии, така и за останалите физиологични групи микроорганизми, влизащи в състава на

биоценозата. С нарастване на съотношението $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ от стойност 0.46 до 0.67 скоростта на процеса се увеличава. Най-висока ефективност на редукция на сулфат - 95.86 – 97.06 % е установена при използване на хранителна среда вариант 3, в която съотношението $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ е 0.67.

Таблица 13. Стойности на pH, Eh, концентрация на сулфати и сероводород при захранване на анаеробния биореактор с използването на хранителни среди, съдържащи различно съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ и донор на електрони

Орг.C/ SO_4^{2-}	Контактно време, h	pH	Eh, mV	Концентрация на сулфати, g/l	Концентрация на H_2S , g/l	Скорост на редукция на сулфат, mg/l.h
0.46	65	7.33	-421	0.19	0.73	43,5
	21	7.38	-402	0.208	0.74	134
	10.5	7.41	-344	0.227	0.71	263
0.56	65	7.35	-436	0.154	0.74	43,9
	21	7.39	-412	0.186	0.74	135
	10.5	7.42	-363	0.201	0.72	265
0.67	65	7.43	-467	0.088	0.78	44,9
	21	7.53	-433	0.105	0.75	138
	10.5	7.57	-375	0.124	0.74	273

По-съществен фактор върху ефективността на редукцията на сулфати е осигуреното контактно време на хранителната среда в биореактора. При контактно време 65 h скоростта на процеса за трите хранителни среди е ниска и е в диапазона 43.5 – 44.9 mg/l.h. С нарастване на контактното време се повишава скоростта на процеса, като най-висока скорост 264 – 274 mg/l.h е достигната при контактно време 10.5 h. Концентрацията на сулфатите в изходящите от биореактора разтвори спада от 3.00 до 0.088 – 0.227 g/l при всички изследвани варианти.

Вследствие на микробно генерираните бикарбонатни йони pH в биореактора се повишава от 6.5 до стойности в интервала 7.33 – 7.57 при всички изследвани хранителни среди и режими на работа на инсталацията (таблица 13). Окислително-редукционния потенциал се поддържа в диапазона от – 375 до – 467 mV, като тези силно редукционни условия се дължат на високите концентрации сероводород в средата, получен вследствие микробната сулфат-редукция. Концентрацията на сероводород и при трите използвани хранителни среди е 0.7 - 0.78 g/l, тъй като се осъществява почти пълна редукция на сулфатите в средата. Част от сулфатите се асимилират и като източник на сярата от бактериите. Малка част от микробно генерирания сероводород се губи в атмосферата независимо от херметизирането на инсталацията. В следствие на получените резултати за следващите изследвания като най-перспективно бе избрано съотношението $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ - 0.67.

Проблемът с избора на съотношение донор на електрони/краен акцептор на електрони е изследван от редица автори. Това съотношение е един удачен параметър, който може да бъде използван за контрол на продукцията на сероводород и от там, съответно на преципитацията на тежките метали в условията на третиране на минни отпадъчни води чрез сулфидогенни биореактори. Поради различната структура на микробните съобщества и различните условия на култивиране на микроорганизмите, в световната литература са цитирани различни резултати по отношение ефективност

на процеса сулфат-редукция и оптимално отношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$. Dag и колектив (2008) установяват, че при лимитиране на микроорганизмите с донор на електрони в окислението на лактата участват главно сулфат-редуциращите бактерии, достигащи до 80-85% от микробното съобщество и окисляващи непълно органичните вещества до ацетат. Обратно, при отсъствие на сулфати, т.е. при много високо съотношение лактат/ SO_4^{2-} доминират метаногенните архебактерии и ацетогените. В настоящите изследвания с така конструирания сулфидогенен анаеробен биореактор с фиксирана биомаса не се наблюдава формиране на газова фаза, поради което може да бъде направен извода, че в микробната ценоза отсъстват метаногенни бактерии или ако присъстват, те са в незначително количество.

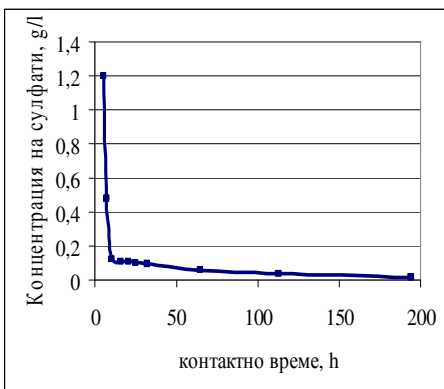
4.4.1.3. Влияние на контактното време върху основни технологични параметри при осъществяване на процеса микробна сулфат-редукция при храняване на анаеробния биореактор с лактат

Влиянието на контактното време върху скоростта на процеса бе изследвано при използването на хранителна среда със съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 0.67. Посредством подаване на средата с различен дебит бе осигурено понижаване на контактното време от 194 на 5.3 h. Данни за основни технологични параметри са представени в таблица 14 и на фигури 11 и 12.

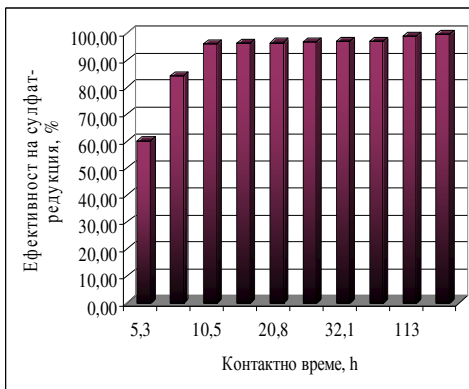
Таблица 14. Влияние на контактното време върху осъществяването на процеса сулфат-редукция при използване на хранителна среда, съдържаща донор на електрони – Na-лактат 6.0 g/l и краен акцептор на електрони – сулфат – 3 g/l

Дебит, ml/h	Контактно време, h	Обемно натоварване, g/l.h	Концентрация на сулфати - изход, g/l	Скорост на редукция на SO_4^{2-} , mg/l.h	Ефективност на сулфат-редукция, %
3.6	194	0.015	0.015	15	99.49
6.2	113	0.027	0.036	26	98.79
10.8	64.8	0.046	0.088	45	97.06
21.8	32.1	0.093	0.092	92	96.92
27.9	25.1	0.120	0.098	115	96.72
33.6	20.8	0.144	0.105	138	96.49
44.4	15.8	0.190	0.109	183	96.36
66.5	10.5	0.285	0.124	273	95.86
101.3	6.9	0.434	0.48	365	83.99
131	5.3	0.566	1.2	336	59.99

При осигуряване на контактното време в интервал 10.5 - 194 h концентрацията на сулфатите в изходящия разтвор е ниска, в диапазона 0.015 – 0.124 g/l (фигура 11). По-нататъшното намаляване на контактното време на 6.9 и 5.3 h води до рязко повишаване на концентрацията на сулфати. Тези данни са съществени за определяне на капацитета на така конструирания анаеробен биореактор за микробна редукция на сулфати при дадените условия.



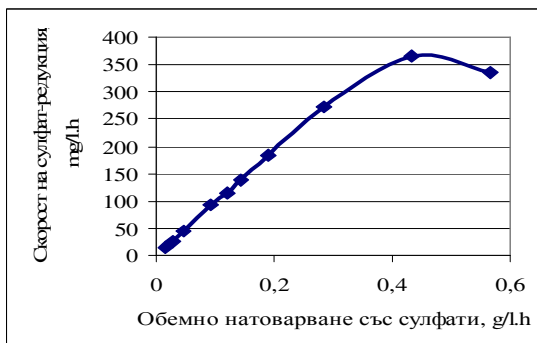
Фигура 11. Влияние на контактното време върху остатъчната концентрация на сулфати при хранване със среда, съдържаща лактат при $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 0.67



Фигура 12. Влияние на контактното време върху ефективността на процеса сулфат-редукция при $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 0.67

Влиянието на контактното време върху ефективността на процеса е представено на фигура 12. Висока ефективност на редукция – над 95 % е постигната при осигуряване на контактното време над 10.5 h. Понижаването на този технологичен параметър има за резултат намаляване на ефективността на микробната сулфат-редукция. Максимална скорост на процеса сулфат-редукция – $365 \text{ mg SO}_4^{2-}/\text{l.h}$ е установена при поддържане на контактното време 6.9 h. Подаването на хранителната среда с по-висок дебит (контактно време 5.3 h) води до понижаване на скоростта на процеса. На фигура 13 е представено влиянието на обемното натоварване на биореактора със сулфати върху скоростта на микробната сулфат-редукция. От графиката се вижда, че при повишаване на обемното натоварване на биореактора се достига до максимум в скоростта на процеса - $365 \text{ mg SO}_4^{2-}/\text{l.h}$, след което се наблюдава спад. При обемно натоварване със сулфати в диапазона 0.015 - 0.190 $\text{g SO}_4^{2-}/\text{l.h}$ зависимостта е линейна и се описва с уравнение на права:

(скорост на сулфат-редукция) = $0.7751 + 958.38 \times (\text{обемно натоварване със сулфати})$
като $R^2 = 0.9997$.



Фигура 13. Влияние на обемното натоварване на биореактора със сулфати при хранване с лактат и $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 0.67 върху скоростта на микробната сулфат-редукция

Данните, представени в таблица 15 показват влиянието на обемното натоварване на сулфидогенния биореактор върху числеността на основни физиологични групи микроорганизми. Най-висок брой сулфат-редуциращи бактерии, използващи лактат, са установени при обемно натоварване в диапазона 0.144 – 0.285 g/l.h.

Таблица 15. Численост на основни физиологични групи микроорганизми в изходящия разтвор в зависимост от обемното натоварване на биореактора със сулфати и донор на електрони - лактат

Физиологична група микроорганизми	Обемно натоварване, g/l.h				
	0.027	0.093	0.144	0.285	0.566
	cells/ml				
Общ брой факултативни аеробни хетеротрофи	1.9.10 ⁶	9.5.10 ⁶	6.2.10 ⁶	4.7.10 ⁵	2.5.10 ³
Общ брой анаеробни хетеротрофи	5.0.10 ⁶	2.5.10 ⁶	1.3.10 ⁶	2.5.10 ⁶	6.0.10 ⁴
Ферментращи въглехидрати с отделяне на газ	2.5.10 ⁶	6.0.10 ⁶	6.0.10 ⁷	2.5.10 ⁷	1.3.10 ⁴
СРБ, използващи лактат като донор на електрони	5.0.10 ⁷	6.0.10 ⁷	1.3.10 ⁸	2.5.10 ⁸	6.0.10 ⁵
СРБ, използващи ацетат като донор на електрони	2.0.10 ⁴	2.5.10 ⁴	5.0.10 ⁴	1.5.10 ⁵	5.0.10 ²

От представените резултати се вижда, че контактното време и съответно обемното натоварване на биореактора със сулфати са изключително важни параметри, определящи скоростта на процеса и числеността на микрофлората.

В световен мащаб са проведени значителен брой изследвания, свързани с осъществяването на процеса микробна-сулфат-редукция в биореактори от различен тип при използването на млечна киселина като източник на въглерод и енергия. Това съединение присъства и в класическите среди за култивиране на сулфат-редукторите, тъй като лактатът е един от най-предпочитаните донори на електрони за тази физиологична група микроорганизми. В редица литературни източници е посочена максималната скорост на микробната сулфат-редукция, достигната при изследване на влиянието различни фактори върху процеса, като например тип биореактор, вид пълнител, съотношение COD/SO₄²⁻, концентрация на сулфати, контактното време и др. Видът и размерът на носителите в анаеробните биореактори с имобилизирана биомаса също оказва съществено значение върху скоростта на редукция на сулфати. В настоящите изследвания е постигната максимална скорост на процеса - 365 mg SO₄²⁻/l.h при поддържане на контактното време 6.9 h. Тази скорост, изразена на база геометричния обем на биореактора, е съответно 213.6 mg SO₄²⁻/l.h. Този резултат показва, че зеолитът е изключително подходящ носител за реализиране на микробната сулфат-редукция в биореактори за активно пречистване на води, замърсени с тежки метали.

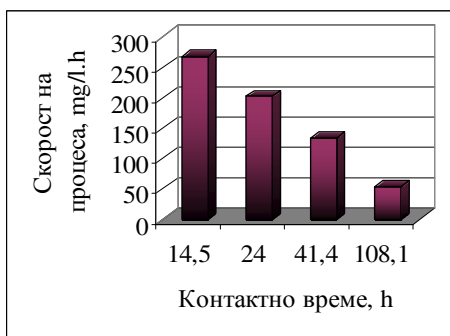
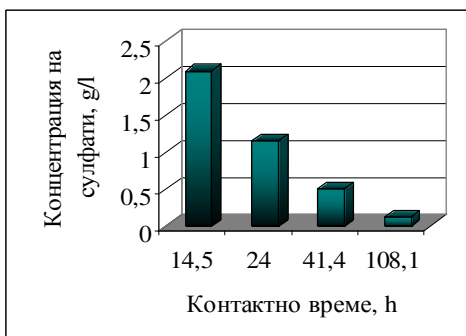
4.4.1.4. Влияние на концентрацията на сулфати върху скоростта на процеса на микробна сулфат-редукция в биореактор с имобилизирана микробна биомаса

С цел установяване влиянието на концентрацията на сулфатите върху скоростта на процеса анаеробният реактор е захранван с модифицирана хранителна среда, в която концентрацията на сулфатите е повишена на 6 g/l, като е запазено съотношението органичен въглерод/сулфати 0.67. Влиянието на обемното

натоварване на анаеробния биореактор със сулфати е изследвано при контактно време в диапазона 108.1 - 14.5 h. Установи се, че с увеличаване на обемното натоварване на сулфидогенния анаеробен реактор със сулфати нараства скоростта на сулфат-редукция, но ефективността на процеса намалява (таблица 16 и фигура 14).

Таблица 16. Влияние на контактното време върху осъществяването на процеса сулфат-редукция при използване на хранителна среда, съдържаща донор на електрони – Na-лактат 12.0 g/l и краен акцептор на електрони – сулфат – 6 g/l

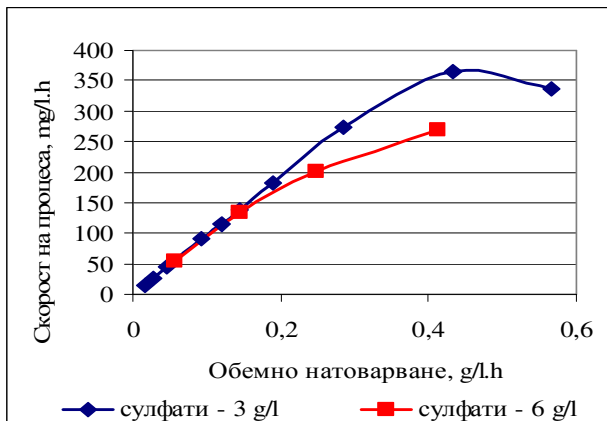
Контактно време, h	Обемно натоварване, g/l.h	Концентрация на сулфати - изход, g/l	Скорост на редукция на SO_4^{2-} , mg/l.h	Ефективност на сулфат-редукция, %
108.1	0.056	0.12	54	98.0
41.4	0.145	0.49	133	91.8
24.0	0.249	1.15	202	80.8
14.5	0.413	2.10	268	65.0



Фигура 14. Влияние на контактното време върху концентрацията на сулфати на изхода от анаеробния реактор и върху скоростта на микробната сулфат-редукция при захранване с лактат и TOC / SO_4^{2-} 0.67

Най-висока скорост на процеса – 268 mg SO_4^{2-} /l.h бе постигната при поддържане на контактно време 14.5 денонощия. При този работен режим обаче, се редуцират около 2/3 от постъпващите сулфати, и тяхната концентрация на изхода от анаеробния биореактор е много висока – 2.1 g/l. Концентрацията на сероводорода в изходящите води се поддържа в интервала 1.34 - 1.67 g / l. От представените резултати на фигура 15 се вижда, че микробната-сулфат редукция протича с по-висока скорост при захранване на анаеробния биореактор с хранителна среда, съдържаща сулфати 3 g/l. При това съдържание на сулфати в средата се постигна максимална скорост на процеса 365 mg SO_4^{2-} /l.h при контактно време 6.9 h. При обемно натоварване със сулфати до 0.145 g/l.h (контактно време 41.4 h) скоростта на процеса е еднаква, независимо от концентрацията на сулфатите в хранителната среда. От получените резултати може да се направи извода, че с повишаване на концентрацията на сулфатите в хранителната среда нарастват генерираните по-високи концентрации сероводород, които инхибират самите сулфат-редуциращи бактерии. Това води до

понижаване на скоростта на процеса. Особено чувствителни са представителите на р. *Desulfotomaculum*, който влиза в състава на биоценозата в анаеробния биореактор.



Фигура 15.
Влияние на обемното натоварване със сулфати върху скоростта на процеса при хранване на анаеробния биореактор със хранителна среда, съдържаща лактат и сулфати 3 и 6 g/l

Подобен ефект на повишени концентрации сулфати върху скоростта на процеса реализиран в биореактори, е установен и от други изследователи.

4.4.2. Изследване на ефективността на отстраняване на замърсители от водите посредством микробно генериран сероводород от имобилизирани сулфат-редуциращи бактерии (основна схема на лабораторната инсталация)

4.4.2.1. Отстраняване на Cu^{2+} йони, в концентрации 4 g/l

С цел установяване влиянието на обемното натоварване на химичния реактор с медни йони върху степента на пречистване на водите от тежкия метал са проведени изследвания при три технологични режима, при които е променян дебита на хранване на химичния реактор с разтвор на купри йони и са поддържани константни концентрации постъпващ H_2S . За осъществяването на експеримента е използвана хранителна среда, съдържаща сулфати 3 g/l, със съотношение между органичния въглерод и крайния акцептор на електрони 0.67. През целият експеримент дебитът на хранване на анаеробния биореактор е 33.6 ml/h, което осигурява обемно натоварване на биореактора със сулфати - 0.145 g/l.h. При този режим на работа скоростта на микробната сулфат-редукция се поддържа в диапазона 137 - 139 mg/l.h, ефективността на процеса е около 96.5 %, а концентрацията на сероводорода във водите, напускащи анаеробния биореактор е в интервала 0.72 – 0.81 g/l.

От представените данни в таблица 17 се вижда, че при най-високото изследвано обемно натоварване на химичния реактор с купри-йони – 0.214 g/l.h се постига едва 77.00 - 78.25 % пречистване на водите. Медта реагира със сероводорода в химичния реактор и се утаява в утайтеля в лабораторната инсталация под формата на силно неразтворимия CuS . Изходящите от лабораторната инсталация води имат pH в интервала 4.45 – 4.65, тъй като подавания разтвор на купри-йони е кисел и има pH в диапазона 1.8 – 1.9. Съдържанието на сулфати в изходящите води е високо - 3.14 – 3.35 g/l, тъй като медните йони са внесени в синтетичния разтвор под формата на

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и е използвана сярна киселина са корекция на pH до стойности под 1.9. Концентрацията на сулфати в разтвора на купри-йони е в интервала 6.9 – 7.1 g/l.

Таблица 17. Стойности на основни параметри след основни съоръжения на лабораторната инсталация при обемно натоварване на химичния реактор с Cu(II) 0.214 g/l.h

Параметър	След анаеробен биореактор	След химически реактор	След утайтел
pH	7.21- 7.54	4.54 – 4.76	4.45 – 4.65
Eh, mV	- 386 - -435	+231 - +246	+157 - +185
SO_4^{2-} , g/l	0.01 – 0.180	3.27 – 3.43	3.14 – 3.35
H_2S , g/l	0.72 – 0.81	0	0
Cu, g/l	-	0.87 – 0.92	0.87 – 0.92
Степен на пречистване на Cu, %	-	77.00 - 78.25	77.00 - 78.25

Таблица 18. Стойности на основни параметри след основни съоръжения на лабораторната инсталация при обемно натоварване на химичния реактор с Cu(II) 0.180 g/l.h

Параметър	След анаеробен биореактор	След химически реактор	След утайтел
pH	7.21- 7.54	6.38 – 6.46	5.12 – 5.43
Eh, mV	- 386 - -435	+145 - +176	-96 - +15
SO_4^{2-} , g/l	0.01 – 0.180	2.76 – 2.99	2.64 – 2.86
H_2S , g/l	0.72 – 0.81	0	0
Cu, g/l	-	0.065 – 0.074	0.008 – 0.012
Степен на пречистване на Cu, %	-	98.15 - 98.38	99.70 - 99.80

Таблица 19. Стойности на основни параметри след основни съоръжения на лабораторната инсталация при обемно натоварване на химичния реактор с Cu(II) 0.146 g/l.h

Параметър	След анаеробен биореактор	След химически реактор	След утайтел
pH	7.21- 7.54	6.55 – 6.79	6.25 – 6.47
Eh, mV	- 386 - -435	-136 - -159	-157 - -185
SO_4^{2-} , g/l	0.01 – 0.180	2.27 – 2.46	2.17 – 2.41
H_2S , g/l	0.72 – 0.81	0.032 - 0.107	0.097 – 0.224
Cu, mg/l	-	<0.005	<0.005
Степен на пречистване на Cu, %	-	99.99 - 100	99.99 - 100

При намаляване на обемното натоварване на химичния реактор с куприйони на 0.180 g/l.h степента на пречистване нараства на 98 – 99.8 % (таблица 18). Въпреки това, изходящите от инсталацията води съдържат мед в концентрация 8 – 12 mg/l, която е значително над ПДК за води, използвани в промишлеността и селското стопанство.

При обемно натоварване на химичния реактор с мед 0.146 g/l.h се постига пълно отстраняване на замърсителя от водите (99.99 %) (таблица 19). След химическия реактор и след утаителя обаче, се установява излишък от сероводород, в някои случаи надвишаващ 200 mg/l. Този резултат показва, че е необходимо да се извършва прецизно дозиране на потоците към химичния реактор и поддържане на оптимално съотношение между концентрацията на тежките метали и тази на сероводорода, или след утаителя в инсталацията да се предвиди окислително стъпало, целящо отстраняване на излишния сероводород чрез окислението му до елементарна сяра.

4.4.2.2. Отстраняване на тежките метали Cu, Fe, Ni и Zn в концентрация общо 60 mM (всеки по 15 mM) посредством микробно генериран сероводород (основна схема на лабораторната инсталация)

Влиянието на обемното натоварване на химичния реактор с йони на тежките метали Cu, Fe, Ni и Zn върху степента на отстраняване на замърсителите е установено чрез работа на инсталацията при четири технологични режима. С цел двукратно намаляване на дебита на захранване на анаеробния биореактор с хранителна среда концентрациите на сулфатите и лактата са двойно повишени, съответно на 6 и 12 g/l, като е запазено съотношението общ органичен въглерод/сулфати 0.67. При този режим на работа обемното натоварване на биореактора със сулфати отново е 0.144 – 0.145 g/l.h. Към химическия реактор са поддържани константни концентрации постъпващ H_2S и е променен дебита на разтвора на метали. При създадените условия ефективността на сулфат-редукция е около 90 %, а концентрацията на сероводорода във водите, напускащи анаеробния биореактор са в диапазона 1.14 – 1.27 g/l.

Обобщените данни в таблица 20 показват, че при най-високото изследвано обемно натоварване на химичния реактор с тежки метали - 3.23 mM/l.h се постига едва 65.0 – 65.5 % отстраняване на замърсителите от водата. Тежките метали реагират с микробно продуцирания сероводород и преципитират в утаителя на лабораторната инсталация под формата на съответните неразтворими сулфиди. В най-голяма степен (около 99 %) се отстраняват медните йони, съгласно химичните свойства на сулфидите на тежките метали. Изходящите от инсталацията води имат pH в диапазона 4.25 - 4.65, тъй като третирият разтвор, съдържащ Cu, Fe, Ni и Zn има екстремално ниски стойности на pH - от 1.8 до 1.9. Концентрацията на сулфати на изхода също е висока - 4.04 - 4.15 g/l, тъй като йоните на металите са внесени в синтетичния разтвор под формата на $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $NiSO_4 \cdot 7H_2O$ и $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ и посредством сярна киселина pH е коригирано до стойности под 1.9. Концентрацията на сулфати в разтвора на тежките метали е в диапазона 5.97 - 6.18 g/l.

Намаляването на обемното натоварване на химичния реактор с тежки метали на 1.97 mM/l.h (таблица 21) води до 71 – 72.8 % отстраняване на замърсителите от разтвора. Напускащите инсталацията води имат pH в диапазона 5.36 – 5.95 и съдържат високи концентрации йони на тежки метали.

При третият технологичен режим – обемно натоварване на химичния реактор 1.67 mM/L.h (таблица 22) се установи 92.1 - 93.4% утаяване на йоните на тежките метали от третираните води. Независимо, че в утайителя на инсталацията окислително-редукционните условия (-81 - -147 mV) благоприятстват протичането на микробна сулфат-редукция и във водите има огромен брой сулфат-редуциращи бактерии, вероятно поради сравнително високите концентрации йони на тежки метали (главно никел) процесът не се осъществява или протича с много ниска скорост.

Таблица 20. Стойности на някои параметри след основни съоръжения на лабораторната инсталация при обемно натоварване на химичния реактор с тежки метали 3.23 mM/L.h

Параметър	Разтвор на тежки метали	След анаеробен биореактор	След химически реактор	След утайител
pH	1.80 – 1.90	7.56- 8.30	4.37 – 4.86	4.25 – 4.65
Eh, mV	-	- 407 - -439	+31 - +46	+57 - +85
SO ₄ ²⁻ ,g/l	6.35 – 6.53	0.49 – 0.65	3.95 – 4.02	4.04 – 4.15
H ₂ S, g/l	-	1.14 – 1.27	0	0
Cu, mg/l	954.8 – 967.3	-	9.67 – 10.59	9.61 – 10.21
Fe, mg/l	847.9 – 850.1	-	380 – 391	376 – 365
Ni, mg/l	887.8 – 896.2	-	524 – 529	520 – 530
Zn, mg/l	975.7 – 982.3	-	311 – 323	307 – 317
Степен на пречистване, %				65.0 – 65.5

При най-ниското изследвано обемно натоварване на химичния реактор от 1.0 mM/L.h се постига пълно отстраняване на йоните на тежките метали и концентрациите им в напускащите инсталацията води са под ПДК за води, използвани за селскостопански и/или индустриални нужди (таблица 23), т.е. постига се 99,99 % утаяване на замърсителите под формата на неразтворими метални сулфиди.

Таблица 21. Стойности на някои параметри след основни съоръжения на лабораторната инсталация при обемно натоварване на химичния реактор с тежки метали 1.97 mM/L.h

Параметър	Разтвор на тежки метали	След анаеробен биореактор	След химически реактор	След утайител
pH	1.80 – 1.90	7.56- 8.30	5.47 – 6.16	5.36 – 5.95
Eh, mV	-	- 407 - -439	+1 - +35	+8 - +15
SO ₄ ²⁻ ,g/l	6.35 – 6.53	0.49 – 0.65	3.07 – 3.13	2.96 – 3.15
H ₂ S, g/l	-	1.14 – 1.27	0	0
Cu, mg/l	954.8 – 967.3	-	5.12 – 6.65	5.08 – 6.13
Fe, mg/l	847.9 – 850.1	-	264 – 275	260 – 274
Ni, mg/l	887.8 – 896.2	-	452 – 460	447 – 453
Zn, mg/l	975.7 – 982.3	-	270 – 276	258 – 270
Степен на пречистване, %				71.0 – 72.8

Таблица 22. Стойности на някои параметри след основни съоръжения на лабораторната инсталация при обемно натоварване на химичния реактор с тежки метали 1.67 mM/l.h

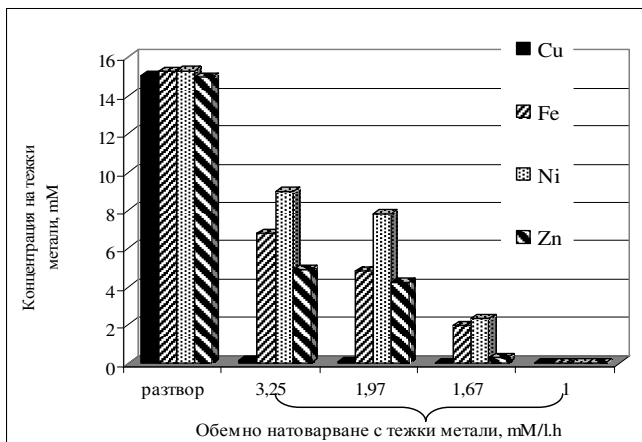
Параметър	Разтвор на тежки метали	След анаеробен биореактор	След химически реактор	След утаител
pH	1.85 – 1.99	7.56- 8.30	6.87 – 6.96	6.45 – 6.75
Eh, mV	-	- 407 - -439	-60 - 126	-81 - -147
SO ₄ ²⁻ , g/l	6.35 – 6.53	0.49 – 0.65	2.86 – 3.03	2.78 – 3.05
H ₂ S, g/l	-	1.14 – 1.27	0	0
Cu, mg/l	954.8 – 967.3	-	0.71 – 0.62	0.51 – 0.43
Fe, mg/l	847.9 – 850.1	-	112 - 121	105 - 110
Ni, mg/l	887.8 – 896.2	-	141- 153	135 - 138
Zn, mg/l	975.7 – 982.3	-	26 - 29	21 - 27
Степен на пречистване, %				92.1 -93.4

При този режим обаче, концентрацията на микробно продуцираният сероводород в химичния реактор надвишава необходимото еквимоларно количество за утаяването на тежки метали с общо съдържание 60 mM. Излишък от H₂S се установява в точките за вземане на проби след химичния реактор и утаителя. Повисоките количества сероводород, измерени след преминаване на водите през утаителя са следствие на протичане на процеса микробна сулфат-редукция. Този резултат отново показва, че е необходимо точно дозиране на реагента в химичния реактор или предвиждане на етап за окисляване на излишния сероводород до елементарна сяр.

Таблица 23. Стойности на някои параметри след основни съоръжения на лабораторната инсталация при обемно натоварване на химичния реактор с тежки метали 1.0 mM/l.h

Параметър	Разтвор на тежки метали	След анаеробен биореактор	След химически реактор	След утаител
pH	1.85 – 1.99	7.56- 8.30	7.37 – 7.74	7.21 – 7.53
Eh, mV	-	- 407 - -439	-133 - -196	-257 - -305
SO ₄ ²⁻ , g/l	6.35 – 6.53	0.49 – 0.65	2.27 – 2.43	2.14 – 2.35
H ₂ S, g/l	-	1.14 – 1.27	0.140 – 0.214	0.168 – 0.234
Cu, mg/l	954.8 – 967.3	-	<0.005	<0.005
Fe, mg/l	847.9 – 850.1	-	0.041 – 0.062	0.03 – 0.06
Ni, mg/l	887.8 – 896.2	-	0.21 – 0.27	0.21 – 0.27
Zn, mg/l	975.7 – 982.3	-	0.06 – 0.16	0.06 – 0.16
Степен на пречистване, %				99.99

Обобщени данни за отстраняването на замърсителите при четирите изследвани работни режима на инсталацията са представени на фигура 16.



Фигура 16.
Влияние на обемното натоварване на химичния реактор върху отстраняването на тежките метали Cu, Fe, Ni и Zn в концентрация общо 60 mM

4.4.2.3. Отстраняване на тежките метали Cu, Fe, Ni, Zn, Cd и Co в концентрация общо 60 mM (всеки по 10 mM) посредством микробно генериран сероводород

Отстраняването на замърсителите Cu, Fe, Ni, Zn, Cd и Co от води при различно обемно натоварване на химичния реактор е установено чрез работа на инсталацията отново при четири технологични режима. Анаеробният биореактор е захранван с хранителна среда, съдържаща сулфати 6 g/l и със съотношение общ органичен въглерод:сулфати 0.67. При този режим на работа обемното натоварване на биореактора със сулфати отново е 0.145 g/l.h. Към химическия реактор са поддържани константни концентрации постъпващ H_2S и е променян дебита на разтвора на метали.

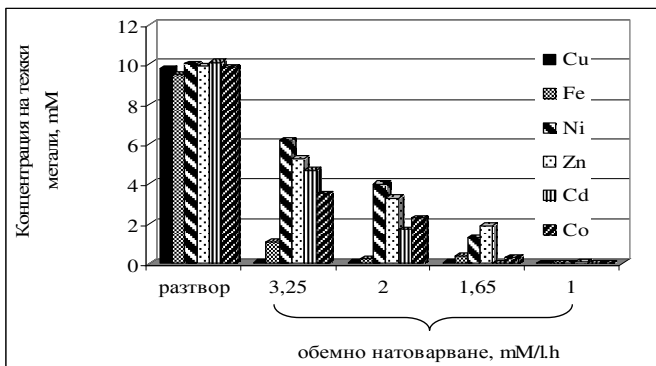
Обобщените данни в таблица 24 и фигура 17 показват, че при този състав на разтвора на тежки метали при най-високото изследвано обемно натоварване на химичния реактор с тежки метали - 3.25 mmol/l.h се постига отново 65.2 – 65.4 % отстраняване на замърсителите от водите. В най-голяма степен (около 99 %) се отстраняват отново медните йони. При този режим на работа на инсталацията се наблюдава и около 87 % отстраняване на йоните на желязото. Изходящите от инсталацията води са кисели и имат pH в диапазона 4.56 - 4.75. Концентрацията на сулфати на изхода също е висока - 2.53 - 2.68 g/l, тъй като част от йоните на металите са внесени в синтетичния разтвор под формата на съответните сулфати и pH е коригирано до стойности под 1.9 посредством сярна киселина. Концентрацията на сулфати в разтвора на тежките метали е около 4 g/l.

Намаляването на обемното натоварване на химичния реактор с тежки метали на 2 mmol/l.h (таблица 24) води до 80.2 – 81.1 % отстраняване на замърсителите от разтвора. По-високата степен на утаяване на замърсителите от този разтвор при дадения работен режим на инсталацията вероятно се дължи както на утаяване на йоните на тежките метали като метални сулфиди, така и на ко-преципитирането на йоните на желязото, никела, медта, цинка и кадмия с други метални сулфиди.

Намаляването на обемно натоварване на химичния реактор на 2 mM/l.h има за резултат 92.7 – 93.9 % отстраняване на йоните на тежките метали от третираните води. При най-ниското изследвано обемно натоварване на химичния реактор от 1.0 mM/l.h се постига пълно отстраняване на йоните на тежките метали и концентрациите им в напускащите инсталацията води са под ПДК за води, използвани за селскостопански и/или индустриални нужди. Пълното отстраняване на замърсителите от водите бе осъществено при излишък на постъпващия сероводород от анаеробния биореактор.

Таблица 24. Стойности на основни параметри на изхода лабораторната инсталация при различно обемно натоварване на химичния реактор с тежки метали (Cu, Fe, Ni, Zn, Cd и Co общо 60 mM

Параметър	Разтвор на тежки метали	Изход на лабораторната инсталация			
		3.25 mM/l.h	2 mM/l.h	1.65 mM/l.h	1 mM/l.h
pH	1.80 – 1.90	4.56 – 4.75	5.26- 5.90	6.37 – 6.86	7.05 – 7.65
Eh, mV	-	+ 64 - + 83	+3 - + 28	-51 - -116	-237 - -285
SO ₄ ²⁻ , g/l	3.92 – 4.07	2.53 – 2.68	2.19 – 2.23	1.98 – 2.09	1.52 – 1.69
H ₂ S, g/l	-	0	0	0	0.15 – 0.19
XПК, mgO ₂ /l	-	4055	6080	6932	8074
Cu, mg/l	614.8 – 637.3	2.11 – 2.83	1.68 – 1.76	0.08 – 1.07	<0.005
Fe, mg/l	527.9 – 530.1	61.3 – 66.2	13.7 – 15.5	15.64 – 22.12	1.08 – 1.50
Ni, mg/l	567.8 – 576.2	354.3 – 363.5	224.1 – 236.9	65.7 – 74.87	0.17 – 0.19
Zn, mg/l	625.7 – 632.3	332.2 – 346.2	209.1 – 216.3	114.9 – 123.6	0.42 – 2.49
Cd, mg/l	1118 – 1127	187.6 – 192.7	90.8 – 99.3	1.54 – 1.70	0.007 – 0.01
Co, mg/l	573.1 – 586.9	199.5 – 205.1	119.3 – 134.9	17.86 – 18.89	0.03 – 0.07
Степен на пречистване, %		65.2 – 65.4	80.2 – 81.1	92.7 – 93.9	99.99



Фигура 17. Влияние на обемното натоварване на химичния реактор върху отстраняването на тежките метали Cu, Fe, Ni, Zn, Cd и Co в концентрация общо 60 mM

Независимо, че се постига ефикасно отстраняване на тежките метали посредством така конструираната инсталация, изходящите води съдържат високи концентрации органични съединения, сероводород и сулфати. ХПК на изхода на инсталацията е в диапазона 4055 – 8074 mgO₂/l. Тези високи стойности са следствие на няколко фактора: съставът на използваната хранителна среда за култивиране на сулфат-редуциращите бактерии съдържа Na-лактат в концентрации 12 g/l и дрождев екстракт – 0.25 g/l и има ХПК 16480 mgO₂/l; биофилмът, имобилизиран върху зеолит, съдържа като доминиращи популации сулфат-редуциращи бактерии, осъществяващи непълно окисление на лактата до ацетат. Независимо, че в състава на биоценозата са установени и СРБ, използващи ацетат, те се характеризират с ниска численост и не могат да окислят големите количества ацетат в средата напълно до СО₂. Поради високите концентрации ацетат и сероводород, изходящите води от биореактора при храняване с тази хранителна среда и обемно натоварване със сулфати 0.145 g/l.h имат ХПК 13510 mgO₂/l. Основният процес, свързан с намаляването на ХПК на водите, е реакцията на сероводорода с тежките метали и утаяването на формираните метални сулфиди в утаителя на инсталацията. Поради тази причина, е необходимо да се включи като крайно съоръжение на лабораторната инсталация аеробен биореактор, в който да бъдат окислени съдържащите се във водите органични вещества до СО₂ и нереагиращият Н₂S до елементарна сяра. Значително подобряване на работата на инсталацията по отношение на концентрацията на сулфати ще има реализирането на рециркуляционен поток от изхода на утаителя към анаеробния биореактор. Това е единственият начин за редукция на съдържащите се сулфати в третираните води.

4.5. Изследвания върху пречистването на води от тежки метали чрез лабораторна инсталация – I-ва модификация

Модификацията на лабораторната инсталация (Фигура 2) цели решаването на проблемите с високите концентрации сулфати и високите стойности на ХПК на изхода от утаителя за метални сулфиди. Чрез рециркуляционна помпа (13) е осъществена рецикулация на потока, изходящ от утаителя към анаеробния биореактор, което обезпечава пълната редукция на сулфатите, съдържащи се в минните отпадъчни води. Пречистването на третираните води от остатъчни концентрации органични съединения, сероводород, азот и фосфор е реализирано чрез допълнително пречистване на водите в серия лабораторни биореактори, работещи в полу-периодичен режим. Първият биореактор от тази серия представлява аеробен биореактор с активна утайка (АБАУ). След аериране в продължение на 5 денонощия водите преминават през анаеробен биофилтър (АБФ) за осъществяване на процеса денитрификация. Крайната фаза на пречистване е полиране на водите в реактор тип влажна зона с вертикален поток (РУВП), в който е засадена тръстика (*Phragmites australis*) (9). Престоят на водите в анаеробния биофилтър и влажната зона е отново 5 денонощия.

4.5.1. Утаяване на тежки метали при третиране на води чрез лабораторна инсталация – I-ва модификация

Чрез лабораторната инсталация са пречиствани води, съдържащи Cu – 200 mg/l, Fe – 20 mg/l, Zn – 20 mg/l, Ni – 10 mg/L, Cd – 10 mg/l и Co – 10 mg/l. При провеждането на тези изследвания отново е използван лактат като донор на електрони. Концентрацията на сулфатите в разтвора на тежки метали е в диапазона 2.15 - 2.20 g/L. Посредством регулируемите перисталтични помпи е поддържано

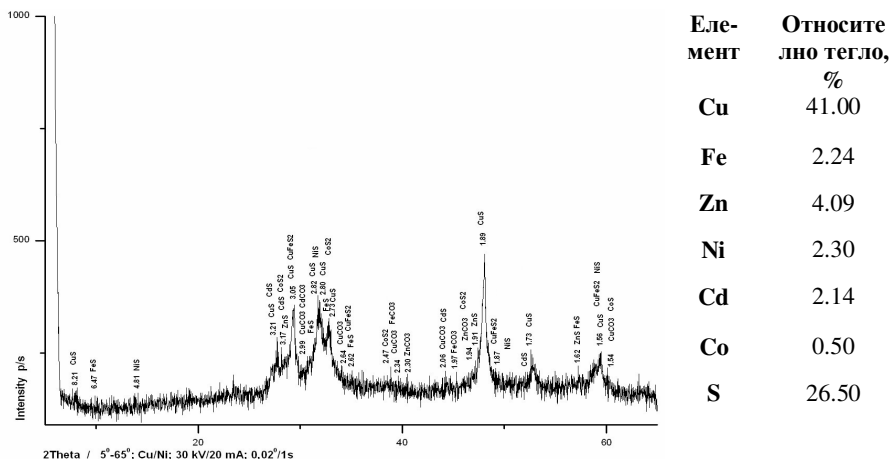
съотношение TOC/SO_4 0.67 и обемно натоварване на анаеробния биореактор със сулфати 80 - 82 mg/l.h. При тези условия ефективността на микробната сулфат-редукция е 96 %, а скоростта на процеса е в диапазона of 115 - 125 mg/l.h. Данни за работата на отделните съоръжения в инсталацията са представени в таблица 25.

Таблица 25. Стойности на параметри на изхода от основни съоръжения на лабораторната инсталация (I-ва модификация) при пречистване на води от тежки метали

Параметър	Разтвор на тежки метали	Изход от анаеробен сулфидогенен биореактор	Изход от аеробен реактор с акт. утайка	Изход от анаеробен биофилтър	Изход от реактор тип влажна зона
pH	2.81 – 2.92	7.11- 7.25	7.38 – 7.58	7.48 – 8.02	7.89 – 8.23
SO_4^{2-} , g/l	2.15 – 2.2	0.075 – 0.080	0.232 – 0.275	0.110 – 0.125	0.078 – 0.104
H_2S , mg/l	-	149 – 257	-	-	-
NH_4^+ , mg/l	-	55.9 – 65.4	5.0 – 5.5	2.6 – 3.7	0.5 – 0.6
NO_3^- , mg/l	-	0.01– 0.03	15 - 34	2.54 – 4.47	0.3 – 1.5
PO_4^{3-} , mg/l	-	23.4 – 34.6	5.5 – 9.8	4.3 – 6.7	0.7 – 0.9
XПК, mg/l	-	5100 - 4804	728 - 1008	132 - 214	43 - 54
БПК ₅ , mg/l	-	2405 - 2505	460 - 563	70 - 94	2.4 - 4
Cu, mg/l	195.4 – 205.9	0.005 – 0.009	-	-	<0.005
Fe, mg/l	19.9 – 20.36	0.29 – 2.15	-	-	0.23 – 1.37
Zn, mg/l	18.3 – 20.44	0.17 – 1.98	-	-	0.07 – 1.53
Ni, mg/l	8.96 – 9.87	0.14 - 0.19	-	-	0.04 - 0.11
Cd, mg/l	9.55 – 10.37	0.007 – 0.01	-	-	0.005 – 0.01
Co, mg/l	10.06 – 10.87	0.014 – 0.04	-	-	0.007 – 0.03

Установи се, че при третирането на водите посредством модифицираната лабораторна инсталация при избрания режим се постига 98.9 - 99.9% отстраняване на тежките метали. Утаяването на тежките метали от разтвори зависи от наличието на HS^- . Формите, под които сулфидната сярa може да присъства в средата (като газ H_2S , HS^- и S^{2-}) са отново pH зависими. Поради генерирането на бикарбонатни йони от СРБ, pH на третираните води се повишава до стойности 7.11 - 7.25. При тези условия се благоприятства утаяването на металните йони под формата на сулфиди. Данни за състава на утайката при третиране на води с полиметален състав чрез лабораторна инсталация – I-ва модификация са представени във фигура 18.

Въз основа на теоретичната стехиометрия на реакциите между тежките метали и сероводорода и получените данни за състава на сулфидната утайка може да бъде направен извода, че изследваните замърсители са утаени основно под формата на съответните неразтворими метални сулфиди. Данните от рентгеноструктурния анализ на сулфидната утайка (фигура 18) потвърждават наличието на сулфидните минерали ковелин (CuS), макинавит (FeS), вюрцит (ZnS), милерит (NiS), катерит (CoS_2), гринокит (CdS) и халкопирит (CuFeS_2). Условията в първия утайтел на лабораторната инсталация (pH 7.11 - 7.25) позволяват утаяването на малка част от тежките метали и под формата на карбонати.



Фигура 18. XRD дифрактограма и химичен състав на сулфидна утайка, получена при пречистване на води от Cu, Fe, Ni, Zn, Cd и Co чрез лабораторна инсталация – I-ва модификация

4.5.2. Понижаване на ХПК и отстраняване на азот и фосфор при третиране на води чрез лабораторна инсталация – I-ва модификация

Изходящите води от утайтеля след анаеробния сулфидогенен биореактор съдържат сулфати и тежки метали в концентрации под ПДК за води II категория. Те обаче се характеризират с наличие на сероводород, високи стойности на ХПК и БПК₅, както и с високи концентрации амониев азот. Това налага допълнителното им пречистване чрез последователно свързани биореактори (фигура 2).

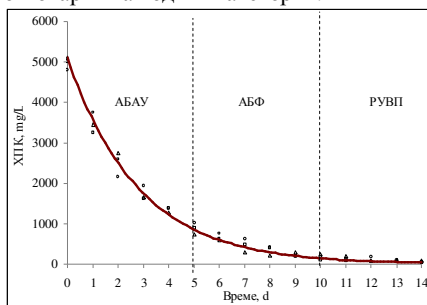
Първото съоръжение, в което се осъществява аеробно третиране на водите с цел окисление на органичните съединения и сероводорода е аеробен биореактор с активна утайка. Вследствие наличието на богата хетеротрофна микрофлора (Таблица 26) за период от 5 денонощия ХПК на водите се понижава от стойности 5100 – 4804 mg/l до 728 - 1008 mg/l. Съответно БПК₅ също спада от стойности 2405 – 2505 до 460 – 563 mg/l. При тези окислителни условия се сероводородът се окислява до елементарна сяра. Измерените по-високи стойности на сулфати на изхода от АБАУ са свързани с окисление на част от H₂S до най-висшето валентно състояние на сярата - S(VI). Голямото контактно време (5 денонощия) позволява осъществяване и на процеса нитрификация. Независимо от интензивното аериране и микробната активност на нитрифициращите бактерии от р. *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrobacter* и др. не се постига пълна нитрификацията. На изхода от аеробния биореактор концентрацията на амониевия азот е 5.0 – 5.5 mg/l. Измерваните концентрации на нитратите в диапазона от 15 до 34 mg/l (Таблица 25) са по-ниски в сравнение с очакваните. Въз основа на тези резултати може да бъде направен изводът, че в биореактора съществуват аноксични зони, в които протича процесът денитрификация.

Таблица 26. Численост на основни физиологични групи микроорганизми в аеробния биореактор с активна утайка

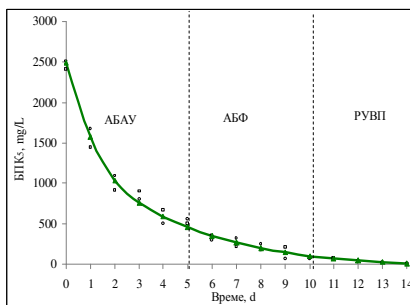
Микроорганизми	cells/ml
Аеробни хетеротрофни бактерии	$6,0 \cdot 10^8$
Анаеробни хетеротрофни бактерии	$2,5 \cdot 10^8$
Амонифициращи бактерии	$5,5 \cdot 10^7$
Денитрифициращи бактерии	$1,3 \cdot 10^7$
Нитрифициращи бактерии	$5,0 \cdot 10^4$
Тионові бактерии, окисляващи $S_2O_3^{2-}$, при pH 7.0	$2,5 \cdot 10^4$

Отстраняване на нитратите от водите чрез лабораторна инсталация – I-ва модификация се постига в анаеробния филтър. Част от хетеротрофните бактерии във формирания биофилм са факултативни анаероби и могат да използват нитрати като краен акцептор на електрони. Процесът денитрификация е свързан както с намаляването на концентрацията на нитратите на изхода от анаеробния филтър до 2.54 – 4.47 mg/l, така и с по-нататъшното понижаване на ХПК и БПК₅ (Фигури 19 и 20).

Последната стъпка в третирането на водите е тяхното полиране в реактор тип влажна зона с вертикален поток, в който се развива тръстика - *Phragmites australis*. Lavrova и Koumanova (2010) са установили, че чрез такъв тип конструкция на влажна зона ефективно се понижава ХПК и се отстраняват амониевите, и фосфатни йони от водите при скорост на потока 40, 60 и 82 ml/min, и при различни рециркуляционни отношения (1:1; 1:2; 1:3). В настоящото изследване експериментите са осъществени при скорост на потока 60 ml/min. Остатъчните концентрации амониеві йони, нитрати и фосфати са отстранени чрез трансформации от различни хемолитотрофни и хетеротрофни бактерии, както и чрез асимилацията на биогенните елементи от растенията и ризосферната микрофлора. Данните, представени в таблица 25 показват, че изходящите от конструираната влажна зона води по качество отговарят на води II категории.



Фигура 19. Динамика на ХПК при пречистването на водите чрез аеробен биореактор с активна утайка, анаеробен биофилтър и реактор тип влажна зона с възходящ поток



Фигура 20. Динамика на БПК₅ при пречистването на водите чрез аеробен биореактор с активна утайка, анаеробен биофилтър и реактор тип влажна зона с възходящ поток

Забележка: АБАУ - аеробен биореактор с активна утайка; АБФ - анаеробен биофилтър; РУВП - реактор тип влажна зона с вертикален поток

Пречиштането на отпадъчни води от биогенни елементи чрез влажни зони намира все по-голямо приложение в световен мащаб. Понастоящем няколко типа влажни зони могат да се използват за пречистване на отпадъчни води. При влажните зони със свободна водна повърхност движението на потока е хоризонтално. Условието на средата позволяват развитието на разнообразни растителни видове (свободно плаващи, потопени и др.). Най-често в този тип влажни зони се развива тръстика (*Phragmites australis*), широколистен папур (*Typha latifolia*), теснолистен папур (*Typha angustifolia*), острица (*Carex*), торфен мъх (*Sphagnum*) и др. В някои от влажните зони растителността е представена от свободно плаващи макрофити, като например воден хиацинт (*Eichhornia crassipes*), писция (*Pistia stratiotes*) и др. Във влажните зони със свободна водна повърхност се отстраняват суспендирани вещества (посредством физичните процеси агрегиране, утаяване, адхезия) и се окисляват органични съединения с участието на аеробна и анаеробна микрофлора. Влажните зони с вертикален поток позволяват навлизането на кислород в дълбочина и създаването на благоприятни условия за процеса нитрификация. Този тип конструкция позволява също ефективно понижаване на ХПК. Друго преимущество на влажните зони с вертикален поток е тяхната компактност и изискване на по-малки площи за третиране на отпадъчни води в сравнение на тези с хоризонтален поток.

Влажните зони намират приложение и при отстраняване на тежки метали от водите. Присъствието на неутрофилните желязо-окисляващи бактерии като например *Gallionella ferruginea* и *Leptothrix spp.* правят възможно биологичното окисление на Fe^{2+} до Fe^{3+} по прекисен механизъм с последващо утаяване на ферихидроксид. При тези условия с участието на *Thiomonas – like* бактерии протича и окислението на As(III) до As(V), който под формата на арсенатен йон (AsO_4^{3-}) се адсорбира от положително заредената повърхност на колоидно тривалентно желязо. Във влажните зони арсенът се утаява и под формата на минерала скородит ($FeAsO_4$).

4.6. Изследвания върху пречиштането на води от тежки метали чрез лабораторна инсталация – II-ра модификация

При реализирането на втората модификация на лабораторната инсталация е подменен носителя на анаеробния биореактор за сулфат-редукция с наситен с биогенни елементи зеолит и отново е осъществена инокулация със СРБ. След формиране на активен биофилм започна третиране на води, замърсени с йони на тежки метали, като е запазена рецикулацията на потока, изходящ от утайателя към сулфидогенния биореактор (фигура 3). Това изследване цели и установяване на възможностите на осъществяване на процеса сулфат-редукция при високо органично натоварване TOC/SO_4^{2-} 1.1. Пречиштането на водите от остатъчни концентрации органични съединения, сероводород, азот и фосфор при тази модификация на инсталацията е реализирано чрез три-секционен биореактор.

Значителни промени са направени по отношение състава на хранителната среда. Смесената култура сулфат-редуциращи бактерии, използвана за формиране на биофилм съдържа представители от родовете *Desulfotomaculum*, *Desulfovibrio*, *Desulfomicrobium* и *Desulfobacterium*. Тези сулфат-редуциращи бактерии могат да използват като източник на въглерод и енергия и етанол. Замяната на лактата с етанол има значително предимство от гледна точка на експлоатацията на лабораторната

инсталация. Главното преимущество е използване на малък обем концентрирана хранителна среда, чието подаване към анаеробния биореактор се дозира в зависимост от съдържанието на сулфати в рециркуляционния поток от утайката към анаеробния биореактор.

4.6.1 Възможности за използване на различни органични съединения, като източник на въглерод и енергия от смесената култура сулфат-редуциращите бактерии

Промените в състава на хранителната среда трябва да отговарят на следните изисквания: да се избегне необходимостта от стерилизация на хранителната среда; да се използва среда, съдържаща във високи концентрации донори на електрони с цел добавяне на много малки обеми към потокът минни отпадъчни води, съдържащи сулфати; да се намали до необходимия минимум концентрацията на биогенните елементи азот и фосфор; да се постига пълно пречистване на третираните води както по отношение на тежки метали, така и на останалите параметри до стойности на ПДК за води, използвани за селскостопански и/или индустриални нужди.

Тези изисквания налагат провеждане на изследвания върху възможностите за използване на различни донори на електрони от смесената култура сулфат-редуциращи бактерии. От особено значение са нискомолекулните съединения, които присъстват в отпадъчните води от различни производства (биоетанол, биодизел, хранително-вкусова промишленост). Известно е, че сулфат-редукторите използват като източник на въглерод и енергия разнообразни прости органични съединения, най-често продукти на ферментации и молекулен водород. С цел избор на подходящи донори на електрони са осъществени изследвания, при които смесената култура сулфат-редуциращи бактерии е култивирана в периодичен режим върху среди, съдържащи като единствен въглероден източник етанол, изопропанол, метанол, глицерол, лактат, цитрат, сукцинат, бензоат, ацетат и холин. Органичните съединения са добавени в концентрации 3 g/l.

След едноседмичен период на статично култивиране при температура 30 °C се установи, че смесената култура сулфат-редуциращи бактерии притежава значителен биохимичен потенциал. С изключение на сукцината и бензоата бактериите могат да използват всички останали тествани донори на електрони.

4.6.2. Формиране на имобилизирани биофилми бактерии в биореакторите на лабораторната инсталация – II модификация за пречистване на води от тежки метали

Формирането на активен биофилм от сулфат-редуциращи бактерии върху зеолит, наситен с разтвор на NH_4Cl , K_2HPO_4 и MgSO_4 се осъществи за период от два месеца и половина. Съставът на микрофлората в използвания инокулум е представен в таблица 27, от която се вижда, че доминантни популации в смесената култура са отново СРБ окисляващи непълно органичните вещества до ацетат. Първоначално бе използвана модифицирана хранителна среда на Постгейт В, съдържаща лактат, който е предпочитания донор на електрони от СРБ в съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1. Формирането на активен биофилм се осъществи чрез многократна подмяна на 50% от течната фаза в анаеробния биореактор със свежа хранителна среда. Подмяната се осъществяваше след намаляване на концентрацията на сулфатите под 0.2 g/l. След период от два месеца и половина започна непрекъснато култивиране на

микроорганизмите чрез храняване на анаеробния биореактор с хранителна среда посредством перисталтична помпа.

Таблица 27. Численост на основни физиологични групи микроорганизми в използвания инокулум за биореактора за микробна сулфат-редукция с носител наситен зеолит

Микроорганизми	cells/ml
Факултативни аеробни хетеротрофни бактерии	$6,0 \cdot 10^5$
Бактерии, ферментиращи въглехидрати с отделяне на газ	$2,5 \cdot 10^4$
Сулфат-редуциращи бактерии, използващи лактат	$5,0 \cdot 10^6$
Сулфат-редуциращи бактерии, използващи ацетат	$2,5 \cdot 10^2$

Вторият биореактор е инокулиран с активна утайка на ПСОВ – гр. София, със състав, представен в таблица 28. Конструктивните особености на биореактора (наличието на натрошен чакъл и на две аеробни, и средна-анокси зона) позволяват формиране на имобилизиран биофилм от хетеротрофни и хемолитотрофни бактерии, окисляващи съответно остатъчни количества органични съединения и сероводород, както и протичането на процесите нитрификация и денитрификация. Формирането на имобилизирания върху чакъл биофилм се осъществи за период от месец, като ежедневно в три-секционния биореактор с нарастващ обем от 20 до 200 ml се подаваше разтвор, изходящ от анаеробния биореактор за сулфат-редукция.

Таблица 28. Численост на основни физиологични групи микроорганизми в използвания инокулум за инокулиране на трисекционния биореактор

Микроорганизми	cells/ml
Аеробни хетеротрофни бактерии	$2,5 \cdot 10^7$
Анаеробни хетеротрофни бактерии	$1,3 \cdot 10^7$
Амонифициращи бактерии	$6,0 \cdot 10^6$
Денитрифициращи бактерии	$5,0 \cdot 10^6$
Нитрифициращи бактерии	$2,5 \cdot 10^4$
Тионові бактерии, окисляващи $S_2O_3^{2-}$ при pH 7.0	$2,5 \cdot 10^2$

4.6.3. Основни технологични параметри на анаеробния биореактор с имобилизирани сулфат-редуциращи бактерии върху наситен зеолит при храняване с органичен концентрат при съотношение TOC/SO_4^{2-} - 1.1

След получаване на активен биофилм от сулфат-редуциращи бактерии започна храняване на анаеробния биореактор с новата, двукомпонентна хранителна среда. Проведените експерименти, свързани с дозиране на силно концентриран разтвор на смес от органични съединения (органичен въглерод 200 g/l) към кисел разтвор на сулфати целяха натрупване на база данни относно работата на реактора за сулфат-редукция преди включването му към инсталацията за утаяване на тежки метали от водни разтвори. При всички работни режими чрез фино-регулируемите перисталтични помпи се поддържаше съотношение TOC/SO_4^{2-} - 1.1. Влиянието на обемното натоварване на биореактора със сулфати върху скоростта на микробната сулфат-редукция бе изследвано при седем работни режими и контактно време в диапазона от 14 до 86 h при температура 20-22 °C.

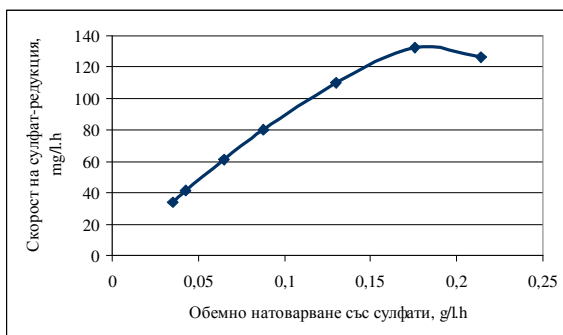
Таблица 29. Влияние на контактното време върху осъществяването на процеса сулфат-редукция при използване на двукомпонентната хранителна среда и съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ - 1.1

Дебит, ml/h	Контактно време, h	Обемно натоварване, g/l.h	Концентрация на сулфати - изход, g/l	Скорост на редукция на SO_4^{2-} , mg/l.h	Ефективност на сулфат-редукция, %
8.1	86.4	0.035	0.065	34.0	99.9
10.1	69.3	0.043	0.137	41.3	95.4
15.2	46.1	0.065	0.182	61.1	93.9
20.3	34.5	0.088	0.269	79.2	91.0
30.4	23.0	0.130	0.466	110.2	84.5
40.5	17.3	0.176	0.745	130.3	75.2
50.7	13.8	0.214	1.23	128.3	59.0

От получените резултати (таблица 29) се вижда, че съществен фактор за скоростта на процеса сулфат-редукция в биореактора е обемното натоварване. С увеличаване на обемното натоварване скоростта на сулфат-редукция нараства линейно до достигане на максимум при 0.176 g/l.h (фигура 21). Има следната линейна връзка между скоростта на процеса и обемното натоварване със сулфати при контактното време в диапазона 23.0 – 86.4 h:

$$(\text{скорост на сулфат-редукция}) = 4,5153 + 855,15 \times (\text{обемно натоварване със } \text{SO}_4^{2-}) \text{ като } R^2=0.9988.$$

Наблюдаваната зависимост е свързана с капацитета на формирания активен биофилм от сулфат-редуциращи бактерии да редуцира крайния акцептор на електрони - сулфат до сероводород при условията на провеждане на експеримента – конкретния състав на хранителната среда и температура 21 – 22 °C.



Фигура 21. Влияние на обемното натоварване със сулфати върху скоростта на процеса микробна сулфат-редукция при хранене на анаеробния биореактор с хранителна среда, съдържаща сулфати – 3 g/l и $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ - 1.1

Двойно по-висока скорост – 0.365 g/l.h бе достигната чрез същата конструкция на анаеробния биореактор, но при хранене с хранителна среда съдържаща единствено лактат като донор на електрони и съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 0.67. Тези разлики в скоростта на процеса се дължат главно на две причини. Лактатът е предпочитания източник на въглерод и енергия за СРБ от родовете *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfomicrobium* и *Desulfobacterium*. Редица автори също

установяват значително по-бавен растеж и по-ниски кинетични параметри при култивиране на бактериите на етанол в сравнение с култивирането им върху лактат. Втори неблагоприятен фактор е високото органично натоварване на биореактора – съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1.

При тези експерименти се установи, че с нарастване на скоростта на сулфат-редукция значително намалява ефективността на процеса, а в изходящите от биореактора води се установяват високи концентрации сулфати (фигури 22 и 23). Висока ефективност на редукция – над 94 % се постига при осигуряване на контактно време над 46 h. При най-високото изследвано обемно натоварване - 0.214 g/l.h ефективността спада до 59%. От фигура 23 се вижда, че концентрацията на сулфатите намалява до концентрации под ПДК за води II категория само при осигуряване на контактно време над 30 h.



Фигура 22. Влияние на контактното време върху ефективността на процеса при захранване на анаеробния биореактор с хранителна среда, съдържаща сулфати – 3 g/l и $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ - 1.1



Фигура 23. Влияние на контактното време върху остатъчната концентрация на сулфати при захранване на анаеробния биореактор с хранителна среда, съдържаща сулфати – 3 g/l и $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ - 1.1

Направеният микробиологичен анализ, представен в таблица 30 показва, че при тези условия на осъществяване на процеса отново доминираща група в микробната ценоза са СРБ, осъществяващи непълно окисление на сулфатите, като техния брой в изходящите от биореактора води е $6,0 \cdot 10^7$ cells/ml. В микробната ценоза в големи количества - над 10^7 cells/ml присъстват и разнообразни облигатни и факултативни анаеробни бактерии, които осъществяват ферментации. В условията на сулфидогенните реактори най-често, това са представители на р. *Clostridium*.

Таблица 30. Численост на основни групи микроорганизми в изходящи от анаеробния биореактор води при обемно натоварване със сулфати 0.130 g/l.h и $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1

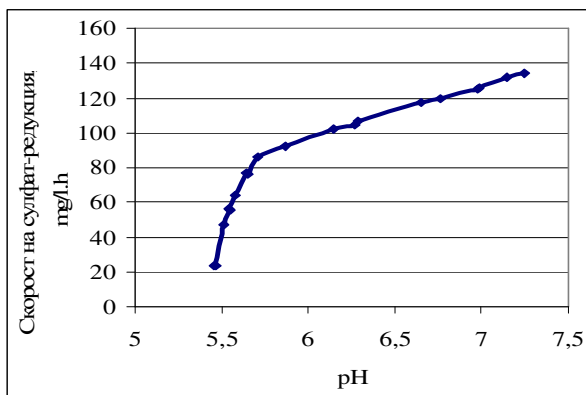
Физиологична група микроорганизми	cells/ml
Общ брой анаеробни хетеротрофи	$2,5 \cdot 10^7$
Ферментиращи въглехидрати с отделяне на газ	$1,3 \cdot 10^7$
СРБ, използващи лактат като донор на електрони	$6,0 \cdot 10^7$
СРБ, използващи ацетат като донор на електрони	$2,5 \cdot 10^2$

В много изследвания върху пречистване на води от тежки метали процесът микробна сулфат-редукция е реализиран при използване на смеси от етанол и лактат. Етанолът е подходящ субстрат за процеса поради сравнително изгодната си цена и наличност. Процесът сулфат-редукция е реализиран и при пречистване на отпадъчни води производство на биоетанол, съдържащи глицерол. Минни води са пречиствани и чрез семи-пасивен биореактор чрез смесването им с отпадъчни води, съдържащи цитрат. Цитратът не е директен субстрат за СРБ, но в анаеробни условия ферментира до ацетат и формиат, които се използват като донори на електрони от разнообразни сулфат-редуктори. От проведените изследвания може да бъде направен извода, че комбинацията от използвани донори на електрони е удачна за реализация на процеса в анаеробен биореактор с имобилизирани СРБ.

4.6.4. Влияние на рН и температурата върху скоростта на процеса сулфат-редукция, осъществяван в сулфидогенен биореактор, захранван с хранителна среда, съдържаща сулфати – 3 g/l и концентрат от органични съединения – 6 g/l.

4.6.4.1. Влияние на рН върху скоростта на микробната сулфат-редукция при захранване на биореактора с органичен концентрат и съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1.

рН е един от важните фактори на средата, оказващи въздействие върху протичането на микробната сулфат-редукция. Процесът протича обикновено при стойности на рН в диапазона 6 – 9. Оценка на ефекта на рН върху скоростта на процеса микробна сулфат-редукция в условията на анаеробния биореактор с имобилизирана биомаса е извършена при обемно натоварване на биореактора със сулфати 176 mg/l.h и високо органично натоварване - $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1. Експериментите са провеждани при температура 21-22 °C. На фигура 24 е представена скоростта на процеса в зависимост от рН на средата в сулфидогенния биореактор.



Фигура 24. Влияние на рН върху скоростта на микробната сулфат-редукция при захранване на биореактора с органичен концентрат и съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1

От резултатите, представени на фигура 25 се вижда, че с нарастване на рН от 5.9 до 7.25 скоростта на редукция на сулфати нараства линейно:

$$\text{скорост на сулфат-редукция (mg/l.h)} = 30.3677 \times \text{pH} - 86.1711$$

като $R^2 = 99.84\%$.

Максимална скорост на сулфат-редукция - 134 mg SO_4^{2-} /l.h е достигната при рН 7.25.

Промяната на рН оказва влияние върху дисоциационните отношения $\text{NH}_3\text{-NH}_4^+$, $\text{H}_2\text{S-HS}^- \text{-S}^{2-}$, $\text{CO}_2\text{-HCO}_3^-$, което води до промяна на разтворимостта на някои соли и освобождаването на някои газове, например CO_2 , H_2S , NH_3 . С понижаване на рН се увеличава концентрацията на свободния сероводород. Намаляването на скоростта на процеса при рН под 5.7 е свързано с токсичното действие на разтворения H_2S върху самите сулфат-редуциращи бактерии. Установено е, че в недисоциирано състояние H_2S е най-токсичен за микроорганизмите, тъй като незаредената молекула лесно преминава през клетъчната мембрана и реагира с различни клетъчни структури. В сравнение с останалите микроорганизми обаче, при СРБ се наблюдава обратимо инхибиране от сероводорода. Независимо от това при високи концентрации на H_2S се наблюдава инхибиращ ефект и върху самите тях.

Данни, представящи влиянието на стойностите на рН в биореактора върху ефективността на процеса сулфат-редукция са представени в таблица 31 и фигура 24. Трябва да се отбележи, че измерените стойности на рН в течната фаза на биореактора се явяват комплексна величина на входящите в анаеробния биореактор кисели синтетични разтвори (рН под 3.0) и неутрализирането вследствие микробно генерираните бикарбонатни йони. Независимо, че сулфат-редуциращите бактерии са неутрофили е доказано и съществуването на популации, способни да редуктират сулфати при стойности на рН 3.8. Най-често обаче, протичането на микробната сулфат-редукция се реализира в биореактори, при които рН на входящите води е в интервала 4-6 .

Таблица 31. Влияние на рН върху скоростта на микробната сулфат-редукция при хранване на анаеробния биореактор с органичен концентрат, съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1 и обемно натоварване със сулфати - 0.176 g/l.h.

рН	Концентрация на сулфати - изход, g/l	Скорост на редукция на SO_4^{2-} , mg/l.h	Ефективност на сулфат-редукция, %
5.4	2.39 - 2.75	25.3 ± 10	13.7
5.5	1.96 - 2.13	56 ± 5	31.7
5.6	1.61 - 1.84	75 ± 7	42.3
5.8	1.35 - 1.53	92 ± 5	52.0
6.1	1.15 - 1.45	100 ± 9	56.7
7.1	0.71 - 0.82	132 ± 4	74.6
7.2	0.67 - 0.75	134 ± 3	76.0

4.6.4.2 Влияние на температурата върху скоростта на микробната сулфат-редукция при хранване на биореактора с органичен концентрат и $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1

Влиянието на фактора температура върху скоростта на процеса е изследвано при поддържане на съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ - 1.1 и обемно натоварване на анаеробния биореактор със сулфати - 0.176 g/l.h (таблица 32). В диапазона 21 – 37 °C скоростта на процеса нараства линейно, като температурният коефициент Q_{10} при тези условия на култивиране е 1.14:

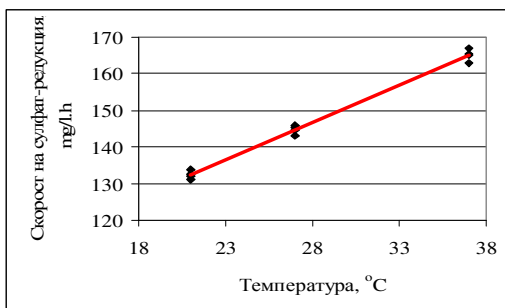
$$\text{скорост на сулфат-редукция (mg/l.h)} = 89.5434 + 2.04847 \times \text{температура}(^{\circ}\text{C})$$

Максимална скорост на сулфат-редукция - 165 mg/l.h бе установена при температура 37 °C (фигура 25). При тези условия рН на средата бе в диапазона 7.28 – 7.37. В изследванията си върху мезофилни СРБ Nevatalo (2010) установява, че

сулфат-редукция протича и при по-ниска температура (15 °C), но активността на бактериите е снижена с 10 - 40%. Според същия автор активността на сулфат-редуциращите бактерии е лимитирана от транспорта и скоростта на окисление на електронния донор, т.е. при ниски температури намалява електронния поток за редукцията на сулфатите, а от там и специфичната сулфидогенна активност.

Таблица 32. Влияние на температурата върху скоростта на процеса микробна сулфат-редукция при хранване на биореактора с органичен концентрат и съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 1.1

Температура, °C	Контактно време, h	Обемно натоварване, g/l.h	Концентрация на сулфати - изход, g/l	Скорост на редукция на SO_4^{2-} , mg/l.h	Ефективност на сулфат-редукция, %
21	17	0.176	0.64 - 0.76	135 ± 4	75.2
27	17	0.176	0.53 - 0.72	140 ± 4	82.0
37	17	0.176	0.14 - 0.20	166 ± 2	93,7



Фигура 25.
Влияние на температурата в анаеробния биореактор за микробна сулфат-редукция върху ефективността на процеса

4.6.5. Пречистване на води, съдържащи тежки метали чрез лабораторната инсталация – II-ра модификация

4.6.5.1. Отстраняване на йони на тежки метали от кисели синтетични разтвори при различно обемно натоварване на анаеробния биореактор със сулфати

Чрез лабораторната инсталация – II-ра модификация са пречиствани кисели синтетични разтвори, съдържащи Cu^{2+} и Fe^{2+} , внесени под формата на сулфати в концентрации съответно 100 и 1000 mg/l. Освен солите на тежки метали в развора са добавени MgSO_4 и сярна киселина, посредством което крайната концентрацията на сулфатите е 3 g/l, а стойността на pH е под pH 3. При всички експерименти анаеробният биореактор за сулфат-редукция е хранван с донор на електрони – органичен концентрат, съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ - 1.1. Изследванията са извършени при температура 21 °C.

Първоначално разтворът на тежки метали е подаван с дебит, осигуряващ обемно натоварване на анаеробния биореактор със сулфати 0.176 g/l.h. Поддържането на високо рецикулационно съотношение ($n=25$) на изходящите от утиителя води позволява тяхното разреждане и неутрализиране на киселинността. Въпреки, че при

тези условия е достигната най-висока скорост на сулфат-редукция и количествата сероводород би трябвало да са достатъчни за утаяването на тежките метали се установи, че изходящите от утайтеля води съдържат високи концентрации Fe (145.1 – 187.9 mg/l). Концентрацията на медни йони в изходящите води е в диапазона 0.10 - 0.13 mg/l (Таблица 33). Изходящите от утайтеля води се характеризират с pH в интервала 5.98 – 6.25. При тези стойности на pH условията за протичането на процеса стават неблагоприятни, и вероятно поради това скоростта на редукцията на сулфати намалява. Йоните на тежките метали в разтвора също имат токсичен ефект върху сулфат-редуциращите бактерии поради способността си да деактивират ензими чрез свързване с техните функционални групи или да денатурират протеини.

Таблица 33. Стойности на някои параметри след основни съоръжения на лабораторната инсталация – II-ра модификация при обемно натоварване на анаеробния биореактор със сулфати 0.176 g/l.h

Параметър	Разтвор на тежки метали	Изход анаеробен биореактор	Изход от утайтел
pH	2.80 - 2.95	6.02- 6.25	5.98 - 6.14
Eh, mV	+358 - +369	- 132 - -231	- 106 - -212
SO ₄ ²⁻ , g/l	2.35 - 3.05	1.35 - 1.55	1.68 - 1.73
H ₂ S, mg/l	-	0	0
Cu, mg/l	91.8 - 96.3	0.12 - 0.15	0.10 - 0.13
Fe, mg/l	947.9 - 970.1	131.7 - 156.4	145.1 - 187.9
NH ₄ ⁺ , mg/l	0	45.8 - 54.3	42.9 - 52.1
NO ₃ ⁻ , mg/l	0	-	-
PO ₄ ³⁻ , mg/l	0	22.9 - 34.5	20.4 - 31.6
XПК, mg/l	-	8720 - 9440	8620 - 9580

Таблица 34. Стойности на някои параметри след основни съоръжения на лабораторната инсталация – II-ра модификация при обемно натоварване на анаеробния биореактор със сулфати 0.088 g/l.h

Параметър	Разтвор на тежки метали	Изход анаеробен биореактор	Изход от утайтел	Изход от три-секционния биореактор
pH	2.80 - 2.95	7.26- 7.30	7.27 - 7.35	7.89 - 8.59
Eh, mV	+358 - +369	- 227 - -269	- 203 - -252	+ 179 - +215
SO ₄ ²⁻ , g/l	2.35 - 3.05	0.14- 0.17	0.19- 0.26	0.13 - 0.15
H ₂ S, mg/l	-	33 – 38	29 - 35	0
Cu, mg/l	91.8 - 96.3	<0.004	<0.004	<0.004
Fe, mg/l	947.9 - 970.1	2.7 - 7.6	3.1 - 6.8	0.6 - 1.8
NH ₄ ⁺ , mg/l	0	16.8 - 19.9	16.9 - 18.6	0.3 - 1.9
NO ₃ ⁻ , mg/l	0	-	-	4.5 - 8.6
PO ₄ ³⁻ , mg/l	0	21.5 - 26.7	22.2 - 25.9	1.35 - 1.59
XПК, mg/l	-	8410 - 9240	8490 - 9250	24 - 35

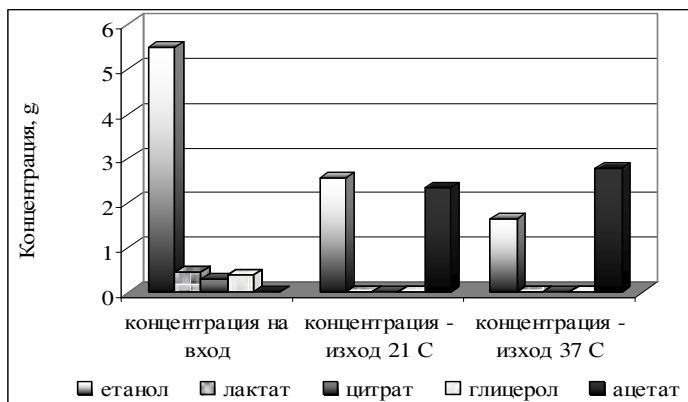
При подаването на разтвора на тежки метали с дебит, осигуряващ обемно натоварване на анаеробния биореактор със сулфати 0.088 g/l.h се постигна ефективно утаяване на Fe и Cu, и в изходящите от инсталацията води тяхната концентрация е значително под ПДК за води II категория (Таблица 34). Ефективността на процеса сулфат-редукция е в интервала 91-93%, а вследствие адекватното буфериране на киселинността pH на водите се повишава до стойности в диапазона 7.25 - 7.35. При тези условия сероводородът е основно във вид на HS^- йон и концентрацията му е достатъчна за утаяване на тежките метали под формата на съответните сулфиди. Сао и колектив (2009) също установяват, че стойностите на pH оказват голямо влияние върху сулфидното утаяване на тежките метали, тъй като скоростта на разтваряне на сероводорода е по-висока при по-високи стойности на pH.

4.6.5.2. Понижаване на ХПК и отстраняване на азота и фосфора чрез лабораторна инсталация – II-ра модификация

Изходящите от утаителя води се характеризират с високи стойности на ХПК (8490 – 9250 mg/l), сероводород (29 – 35 mg/l), амониев азот (16.9 – 18.6 mg/l) и фосфати (22.2 – 25.9 mg/l). Стойностите на ХПК след изхода от утаителя са едва 12 – 19 % по-ниски в сравнение с теоретичното количество ХПК, което постъпва в сулфидогенния биореактор поради непълното окисление на органичните съединения. Според Velasco и колектив (2008) при захранване на биореактора с етанол като единствен донор на електрони, при съотношение $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$ 2.5 почти цялото количество сулфати се редуцират до сероводород. Wang и колектив (2008) изучават процеса сулфат-редукция в ацидогенен биореактор, захранван с отпадъчни води, съдържащи меласа като източник на въглерод при различни отношения $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$. Същите автори установяват, че при съотношение $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$ 3.6 се редуцират над 97% от сулфатите. Според Choi и Rim (1991) при съотношение на $\text{ХПК}/\text{SO}_4^{2-}$ над 2.7 се наблюдава негативен ефект върху активността на сулфат-редуциращите бактерии поради конкуренция с метаногенните архебактерии по отношение на ацетат и водород. В настоящото изследване експерименталното съотношение $\text{ХПК}/\text{SO}_4^{2-}$ е в интервала 3.4 – 3.5, но не се наблюдава получаване на газ, от което може да бъде направен извода, че в смесената култура, използвана за инокулум на биореактора не присъстват метаногени.

С цел определяне на химичния състав на изходящите от анаеробния биореактор води са направени допълнителни изследвания. Данните от HPLC анализите показват, че високите стойности на ХПК са свързани с непълното окисление на органичните вещества (етанол, глицерол, лактат и цитрат) до ацетат, и наличието на остатъчни концентрации етанол. При температура 21 °C и обемно натоварване на биореактора със сулфати 0.176 g/l.h се установи етанол и ацетат в концентрации съответно 2.57 и 2.35 g/l. Във водите не се установиха остатъчни концентрации лактат, цитрат и глицерол, както и междинни продукти от микробни трансформации като 1,3-пропандиол и пропионат. Измерените концентрации на ацетата и етанола показват 37.7% намаляване на концентрацията на общия органичен въглерод при тези условия (Фигура 26). При температура 37 °C и при същото обемно натоварване със сулфати в изходящите от утаителя води бяха измерени 1.64 g/l етанол и 2.79 g/l ацетат, което съответства на 43.4% понижаване на ТОС.

Наличието на органични киселини в изходящите от анаеробния биореактор води е свързано с протичането на различни ферментации при високото обемно органично натоварване на реактора. Етанолът може да се използва като източник на въглерод и енергия от разнообразни сулфат-редуциращи и ферментиращи бактерии. Установено е, че при периодично култивиране при високи концентрации на органичните съединения ферментиращите бактерии изместват СРБ поради по-високата си максимална скорост на растеж. Някои ферментиращи бактерии, например *Clostridium propionicum* трансформират лактата до пропионат. Тази органична киселина се получава също така и при разграждането на по-сложни субстрати, както и при ферментиране на C_2 съединения, съвместно с редукция на CO_2 . Вероятно е също така, част от лактата и етанола да ферментират до пропионова киселина. HPLC анализите обаче показват, че пропионат отсъства в изходящите от сулфидогенния биореактор води.



Фигура 26.
Концентрация на органични киселини и алкохоли на вход и на изход от анаеробния биореактор при натоварване със сулфат 0.176 g/L.h и TOC/SO_4^{2-} 1.1

Данните от микробиологичния анализ показват, че при високо органично натоварване в микробната ценоза в приблизително еднакви количества - 10^7 cells/ml присъстват както сулфат-редуциращи, така и ферментиращи бактерии. СРБ, използващи ацетат като донор на електрони, т.е. тези, които осъществяват пълно окисление на органичните съединения до CO_2 са в много ниска численост - $2.5 \cdot 10^2$ cells/ml, и поради тази причина изходящите води от сулфидогенния реактор се характеризират с високи стойности на ХПК.

Поради наличието на сероводород и органични вещества в изходящите от утайката води е предприето аеробно третиране на водите в три-секционен биореактор, целящо понижаване на ХПК и окисление на H_2S до елементарна S^0 . Сероводородът се окислява от неутрофилни хемолитотрофни тионовни бактерии, присъстващи в аеробните секции на втория биореактор. Малка част от него се губи в атмосферата независимо от херметизирането на инсталацията. Заедно с окислението на разтворения H_2S , се наблюдава и ефикасно пречистване на водите от органични вещества. ХПК на изходящите води от лабораторната инсталация – II-ра модификация е в диапазона 24 – 35 mg/l (таблица 34). Отстаналите в ниски концентрации Fe^{2+} йони (3.1 – 6.8 mg/l) се окисляват в трисекционния биореактор до ферийони, които се утаяват под формата на ферихидроксид.

В изходящите води концентрацията на сулфатите е 130 – 150 mg/l вследствие на почти пълната им редукция. Част от постъпващите амониеви йони (компонент на концентрираната хранителна среда) се използват като източник на азот на микроорганизмите в анаеробния биореактор. Изходящите от него води обаче, съдържат високи концентрации NH_4^+ (16.8 – 19.9 mg/l). При преминаването на водите в аеробния биореактор се осъществява окисление на амониевия азот до нитрати в резултат на жизнената дейност на нитрифициращи бактерии. Във втория биореактор поради наличието на средна-анокси зона се осигурява и редукцията на получените нитрати до молекулен азот чрез денитрифициращи бактерии. На изхода от инсталацията се измерват нитрати в концентрации 4.5 – 8.6 mg/l. Тяхното наличие се дължи на окисление на остатъчни количества NH_4^+ във втората аеробна зона на биореактора. Концентрацията и на двете форми на азота е под ПДК за води II категория. Чрез втория биореактор се осигурява и отстраняване на фосфора от водите, главно чрез процесите утаяване и асимилация от микробната биомаса (таблица 34).

4.6.5.3. Промени в зеолита при пречистване на води, съдържащи тежки метали чрез лабораторната инсталация – II-ра модификация

Като носител в конструирания сулфидогенен анаеробен биореактор е използван отново минералът зеолит – клиноптилолитов тип, добит от находище Бели пласт, Източни Родопи. Тъй като природните зеолити се характеризират с висок капацитет да адсорбират NH_4^+ йони от хранителната среда, при II-рата модификация на лабораторната инсталация бе осъществена обработка на зеолита с разтвор, съдържащ биогенни елементи, внесени под формата на NH_4Cl , K_2HPO_4 и $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. В резултат от насищането на зеолита с тези йони се промениха както концентрациите на обменните йони, така и неговия катионообменен капацитет (Таблица 35).

Таблица 35. Катионообменен капацитет, обменни катиони и органичен въглерод в използвания в изследванията зеолит

Вид зеолит	Ca^{2+}	Mg^{2+}	K^+	Na^+	Σ катиони	Чрез сорбирани NH_4^+	Органичен въглерод, mg /100g
	meq /100g						
Природен	43.20	1.60	23.02	15.22	83.04	70.55	199.91
Наситен	15.70	4.40	28.77	3.81	52.68	104.20	198.31
След формиране на биофилм	11.40	7.0	21.74	50.02	90.14	106.9	255.42

Промените в обменните катиони благоприятстват развитието на микроорганизмите поради насищането на зеолита с биогенни елементи. Не се наблюдава изменение на концентрацията на органичния въглерод при насищането на зеолита с разтвора на неорганичните съединения. Значителни промени в обменните йони и концентрацията на органичния въглерод се установиха след формиране на микробния биофилм. Поради химичния състав на разтворите на тежки метали и хранителната среда се повиши концентрацията на обменния натрий. Формираната

микробна биомаса доведе до повишаване на концентрацията на органичния въглерод от 198.31 на 255.42 mg/100g.

Проведени са редица изследвания за различни приложения на зеолитите при третиране на отпадъчни води. Установено е, че йонообменните свойства на зеолитите благоприятстват протичането на процеса нитрификация при третиране на води, замърсени с амониев азот. Стабилни микробни популации се формират и при пречистване на води, съдържащи глюкоза и прилагане на ктлинотилолит като носител на микробната биомаса. Природни зеолити се използват за отстраняване на тежки метали от отпадъчни води .

4.7. Изследване на възможностите за селективно утаяване на мед от полиметални разтвори чрез смесването им с води, съдържащи микробно генериран сероводород

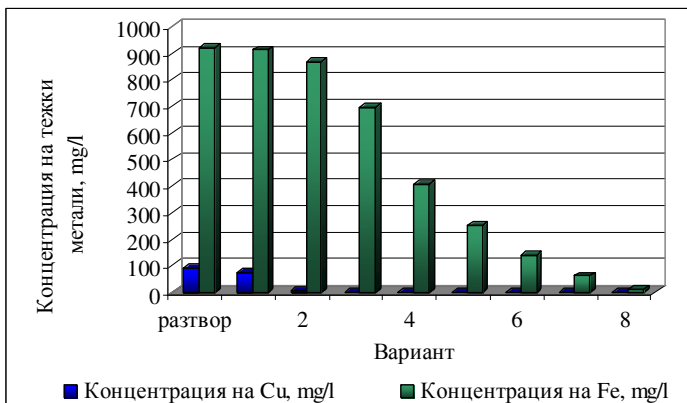
Проведените изследвания целят проучване на възможностите за селективно утаяване на мед от разтвори на тежки метали, чрез смесване на минни отпадъчни води с разтвори, изходящи от сулфидогенния биореактор с имобилизирани сулфат-редуциращи бактерии. Селективното утаяване на медта е възможно поради различните химични свойства на металните сулфиди и факта, че CuS се характеризира с най-ниска разтворимост в кисели условия. В изследванията са смесвани моделен разтвор, съдържащ тежките метали мед и желязо в концентрации съответно 100 и 1000 mg/l с разтвор, съдържащ сероводород с нарастващ обем от 5 до 140 ml. Богатият на сероводород разтвор, изходящ от анаеробния биореактор е получен при обемно натоварване на биореактора със сулфати 214 mg/l.h и контактно време 14h. При този технологичен режим, изходящите от анаеробния реактор води съдържат сероводород в концентрация от 480 до 495 mg/l и са богати на сулфати (1.24 – 1.28 g/l).

Тъй като йоните на медта образуват сулфид с най-ниска разтворимост е възможно селективно утаяване на елемента от поли-метални разтвори. С цел количествено отчитане на утаените метали при различните условия е направен химически анализ на течната фаза след формиране на утайките (таблица 36).

Таблица 36. Концентрация на тежките метали мед и желязо в разтвора 30 min след смесване с разтвори, богати на сероводород

Вариант	Количество разтвор на тежки метали, ml	Количество разтвор, богат на H ₂ S, ml	pH	Eh, mV	Cu, mg/l	Fe, mg/l
Разтвор			2.93	+365	91.3	950
1	100	5	4.55	+ 189	76.6	912
2	100	10.5	4.90	+ 168	6.1	866
3	100	25	6.60	-57	0	696
4	100	55	7.05	-134	0	408
5	100	70	7.07	-162	0	252
6	100	85	7.08	-179	0	137
7	100	120	7.04	-203	0	61
8	100	140	7.10	-205	0	12

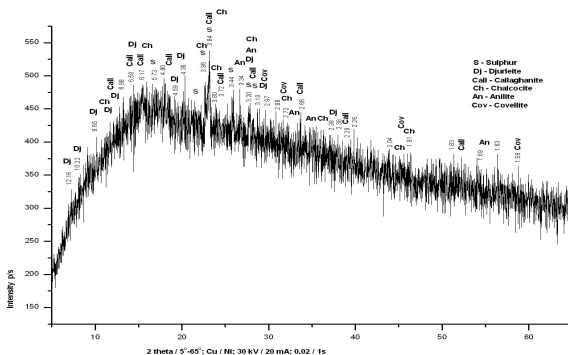
От представените в таблица 36 и фигура 27 резултати се вижда, че при контакта на киселите разтвори на тежки метали с различни обеми води, изходящи от анаеробния биореактор, ефективно утаяване на медните йони протича при крайна концентрация на сероводорода около 46 – 47 mg/l (вариант 2). Селективното утаяване на Cu от полиметални разтвори е възможно при прилагане на технологична схема, при която в два последователно свързани химични реактора, снабдени с утайтели се дозират газове или води, богати на H₂S.



Фигура 27.
Концентрация на тежките метали мед и желязо в разтвора 30 min след смесване с разтвори, богати на сероводород

От огромно значение за ефективността на процеса е и поддържането на ниски стойности на pH (под 3) за селективното утаяване на медта. При по-високи стойности се наблюдава и частично утаяване на феройоните, присъстващи във водите.

Допълнително е проведен рентгеноструктурен анализ на утайка (вариант2), промита с разредена сярна киселина, получена при смесването на 100 ml разтвор на тежки метали с 10.5 ml разтвор, богат на сероводород (Фигура 28). Идентифицирано е наличието на следните сулфидни минерали на медта: ковелин (CuS), халкозин (Cu₂S), анилит (Cu₇S₄), дюрлеит (Cu₃₁S₁₆). В утайката също присъства минерала калагханит (Cu₂Mg₂(CO₃)(OH)₆·H₂O). Поради наличието на кислород част от сероводорода е окислен до елементарна сяра.



Фигура 28. XRD дифрактограма на утайка, получена при селективно утаяване мед от разтвор, съдържащ Cu – 100 mg/l и Fe - 1000 mg/l чрез микробно генериран сероводород

5. ИЗВОДИ

1. Получена е обогатена култура на сулфат-редуциращи бактерии от анаеробна камера за сулфат-редукция. Морфологичните и биохимични характеристики на изолираните чисти култури позволяват тяхното класифициране към мезофилните представители на четири рода: *p. Desulfotomaculum*, *p. Desulfovibrio*, *p. Desulfomicrobium* и *p. Desulfobacterium*. Смесената култура може да използва широк набор от донори на електрони и притежава висока устойчивост (растеж при над 100 mg/l) към йоните на Fe, Mn, Co, U, Zn и As. СРБ са активни и при Cu – 60 mg/l и Ni – 40 mg/l. Най-токсични за изолираната култура СРБ са йоните на Cd и Cr.
2. Установи се, че от изследваните материали (стъклени перли, варовик и зеолит) най-перспективен за имобилизиране на сулфат-редуциращи бактерии е зеолитът. Това е свързано с предоставянето на по-голяма специфична повърхност в сравнение с останалите два тествани материала. Формирането на биофилм се благоприятства при насищане на зеолита с огенни елементи, което се постига чрез третирането му с разтвори, съдържащи NH_4Cl – 10 g/l, K_2HPO_4 – 5 g/l и $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 4 g/l. Конструирани са анаеробни биореактори за микробна сулфат-редукция с носители съответно природен и наситен зеолит. Биореакторът с природен зеолит е захранван с хранителна среда, съдържаща лактат като донор на електрони и сулфати 3 g/l. От изследваните различни съотношения общ органичен въглерод/сулфати - 0.46, 0.56 и 0.67 се установи, че с най-висока скорост процесът протича при съотношение $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 0.67. Друг важен фактор, определящ скоростта на сулфат-редукцията в сулфидогенния биореактор е контактното време и свързаното с него обемно натоварване на реактора със сулфати. При съдържание на сулфати в хранителната среда 3 g/l и $\text{TOC}/\text{SO}_4^{2-}$ 0.67 с намаляване на контактното време от 194 на 6.9 h скоростта на процеса нараства. Максимална скорост на сулфат-редукция 365 mg SO_4^{2-} /l.h е установена при използване на лактат като донор на електрони и при поддържане на контактното време 6.9 h. Намаляването на контактното време под тази стойност води до понижаване на скоростта на редукцията на сулфати. При повишаване на концентрацията на сулфати в средата също се отчита намаляване на скоростта на процеса. Този ефект се дължи на инхибиране на сулфат-редуциращите бактерии от високите концентрации сероводород (над 1 g/l) в средата.
3. Посредством така конструираната инсталация са пречиствани кисели синтетични разтвори на тежки метали с разнообразен състав. При третиране на разтвори, съдържащи замърсители в концентрация 60 mM се постига пълно пречистване на водите от тежки метали само при излишък от сероводород. Това условие се реализира при поддържане на обемно натоварване на сулфидогенния биореактор със сулфати 1.5 mM/l.h и обемно натоварване на химичния реактор с тежки метали 1 mM/l.h. Данните от химичния и рентгеноструктурния анализ на сулфидната утайката показват наличието главно на сулфидни минерали. Установени са: ковелин (CuS),

макинавит (FeS), вюрцит (ZnS), милерит (NiS), катерит (CoS₂), гринокит (CdS) и халкопирит (CuFeS₂). В утайката в незначителни количества присъстват и тежки метали в карбонатна фаза (CuCO₃, FeCO₃, ZnCO₃ и CdCO₃).

4. Изходящите води от утаителя за сулфидна утайка се характеризират с високи концентрации на органични съединения, сероводород и биогенни елементи. Чрез модификация на лабораторната инсталация е постигнато понижаване на ХПК, както и пълно отстраняване на сулфатите, азота и фосфора от третираните води, като са достигнати стойности под ПДК за води II-ра категория. Пречистване на водите от биогенни елементи е осъществено посредством третирането им чрез аеробен биореактор с активна утайка, анаеробен биофилтър и реактор тип влажна зона с вертикален поток. При работата на съоръженията в полупериодичен режим (контактно време 5 денонощия) е постигнато понижаване на ХПК от над 5000 mg/l до стойности в диапазона 43 – 54 mg/l. При тази технологична схема азота се отстранява от водите чрез процесите нитрификация и денитрификация. Полирането на водите се извършва в реактора тип влажна зона посредством асимилация на остатъчни биогенни елементи от водното растение тръстика (*Phragmites australis*) и ризосферната микрофлора.
5. На основата на етанол е разработена нова концентрирана хранителна среда, съдържаща комбинация от донори на електрони (етанол, лактат, глицерол и цитрат) и биогенни елементи. Основното предимство на силно концентрирания разтвор (органичен въглерод – 200g/l) е значителното намаляване на обема на средата и отпадане на нуждата от стерилизация. При проведените изследвания с използването на новата концентрирана хранителна среда е захранван биореактор за сулфат-редукция с носител зеолит, наситен с биогенни елементи. Пречиствани са води от мед и желязо в концентрации, съответно 100 и 1000 mg/l, при високо органично натоварване (TOC/SO₄²⁻ 1.1) и е постигнато ефективно утаяване на замърсителите. Изследванията чрез HPLC на изходящите води от сулфидогенния анаеробен биореактор показват наличие на високи остатъчни количества етанол и ацетат като единствен продукт от трансформацията на използваните донори на електрони. Този резултат доказва формирането на имобилизиран биофилм, в който доминиращи са популациите на СРБ, осъществяващи непълно окисление на органичните съединения до ацетат. В биофилма отсъстват бактерии, ферментиращи използваните донори на електрони до пропионат и метаногенни бактерии, типични за микрофлората на анаеробните биореактори, работещи при високо органично натоварване. Установени са също така значителни промени в обменните йони и концентрацията на органичния въглерод в зеолита след 8 месеца работа на анаеробния биореактор. При пречистването на води от тежки метали чрез II-ра модификация на лабораторната инсталация отново са достигнати стойности на концентрацията на тежки метали, азот, фосфор и ХПК под ПДК за води II-ра категория. Пречистването на водите от остатъчни органични съединения, сероводород и биогенни елементи се постига чрез три-секционен биореактор, дизайнът на който позволява ефективно

окисляване на органичните вещества и протичане на процесите нитрификация и денитрификация.

6. При изследванията върху възможността за селективно утаяване на мед от полиметални разтвори се установи, че медта присъства в сулфидната утайка под формата на минералите ковелин (CuS), халкозин (Cu_2S), анилит (Cu_7S_4), дюрлеит ($\text{Cu}_{31}\text{S}_{16}$) и калагханит ($\text{Cu}_2\text{Mg}_2(\text{CO}_3)(\text{OH})_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Поради наличието на кислород при проведените лабораторни експерименти част от сероводорода се окислява до елементарна сяра. Смесването на разтвора на тежки метали с разтвора на сероводород има като резултат и повишаване на рН на средата до стойност 4.9, което доведе и до утаяване на част от желязото. Ефективно селективно утаяване на мед от реални минни дренажни води ще е възможно при третирането им с газ N_2 , съдържащ биогенен сероводород.

6. НАУЧНИ И НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ

1. Разработени са технологични схеми за ефективно пречистване на води от тежки метали чрез микробно генериран сероводород и на остатъчни концентрации на органични съединения, сероводород и биогенни елементи. Включените в технологичните схеми съоръжения позволяват пречистените води да се характеризират със стойности на концентрация на тежки метали, амониеви йони, нитрати, фосфати, ХПК и БПК под ПДК за води II-ра категория.
2. Доказана е възможността за използване на минерала зеолит като носител в анаеробни биореактори за микробна сулфат-редукция. Чрез формиран върху природен зеолит биофилм от сулфат-редуциращи бактерии и при използване на донор на електрони лактат е постигната редукция на сулфати до сероводород със скорост, съпоставима с най-високите стойности, цитирани в научната литература.
3. Разработен е метод за насищане на природен зеолит с биогенни елементи (третиране с разтвори, съдържащи NH_4Cl , K_2HPO_4 и $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), което благоприятства формирането на биофилми от сулфат-редуциращи бактерии.
4. Получени са нови данни за промени в обменните катиони, катионообменния капацитет и концентрацията на органичния въглерод след насищане на природен зеолит с биогенни елементи и след формиране на имобилизиран биофилм от сулфат-редуциращи бактерии.
5. Установена е формата на металите и тяхното количество в сулфидна утайка, получена при пречистване на полиметални разтвори чрез микробно продуциран сероводород.
6. Разработена е концентрирана хранителна среда за култивиране на сулфат-редуциращи бактерии, съдържаща комбинация от донори на електрони и източници на азот и фосфор. Химичният състав на хранителната среда позволява отпадане на нуждата от стерилизация, значително облекчава експлоатацията на анаеробните биореактори за микробна сулфат-редукция и позволява прилагането на процеса в полу-промишлени и промишлени мащаби.

Научни публикации на маг. Светлана Браткова, свързани с Дисертационния труд

1. **Bratkova S.**, Angelov A., Nikolova K. and Babanova E., Removal of Cu(II) ions from waters using biogenic hydrogen sulphide, Proceedings of the XI-th National conference with international participation of the open and underwater mining of minerals, Varna, Bulgaria, 19–23 June **2011**
2. **Bratkova S.**, Angelov A., Nikolova K., Loukanov A. and Plochev S., Removal of Cu, Fe, Ni and Zn ions from waters with microbial produced hydrogen sulfide, Annual of the University of Mining and Geology, vol. 54, part II, **2011**.
3. **Bratkova S.**, Angelov A., Nikolova K., Loukanov A., Treatment of waters polluted with heavy metals with biogenic hydrogen sulphide, Annals of the "Constantin Brancusi" University of Targu Jiu, Engineering Series, No 3, 288-299, **2011**.
4. **Bratkova S.**, Koumanova B., Beschkov V., Biological treatment of mining wastewaters by fixed-bed bioreactors at high organic loading. Bioresource Technology, Bioresource Technology, 137, 409-413, **2013**. Impact factor 5.352

Научни форуми, на които са докладвани резултати от Дисертационния труд

1. Международна научна сесия на МГУ "Св. Иван Рилски" 17-18 Октомври 2011 София, България
2. National scientific conference with international participation "CONFERENG 2011", November 11th-12th 2011, Targu-Jiu, Romania

