



Mikrobiologiczna metoda usuwania rtęci ze ścieków

Stanisław Ledakowicz¹, Irene Wagner-Doebler²,
Wolf-Dieter Deckwer²

¹Katedra Inżynierii Bioprocessowej, Politechnika Łódzka, Łódź

²GBF – German Research Centre for Biotechnology Braunschweig,
Niemcy

Microbial method of mercury removal from wastewater

Summary

The technology of microbial removal of ionic mercury from wastewater of chloralkali electrolysis amalgam process has been presented in this paper. The development of this biotechnology, starting from laboratory investigations of the bioreduction of ionic mercury to insoluble metallic mercury, through the screening of mercury resistant microorganisms (with expression of mercuric reductase) and kinetic studies of the process, employment of bioreactors with fixed-bed and fluidized-bed of immobilized microorganisms, up to the industrial implementation have been described. The results of laboratory experiments, as well as from pilot and industrial plant in Spolchemie in Czech Republic, have been demonstrated in order to depict the advantages of this technology. This robust bioremediation method allows to reduce ionic mercury concentration from 10 mg/l to the level of 50 µg/l which is the solubility level of metallic mercury in water. The technology is applicable not only to wastewater from chloralkali electrolysis plants, but also to other types of mercury polluted water e.g. gold mining wastes, leachates and off-gases wash water.

Adres do korespondencji

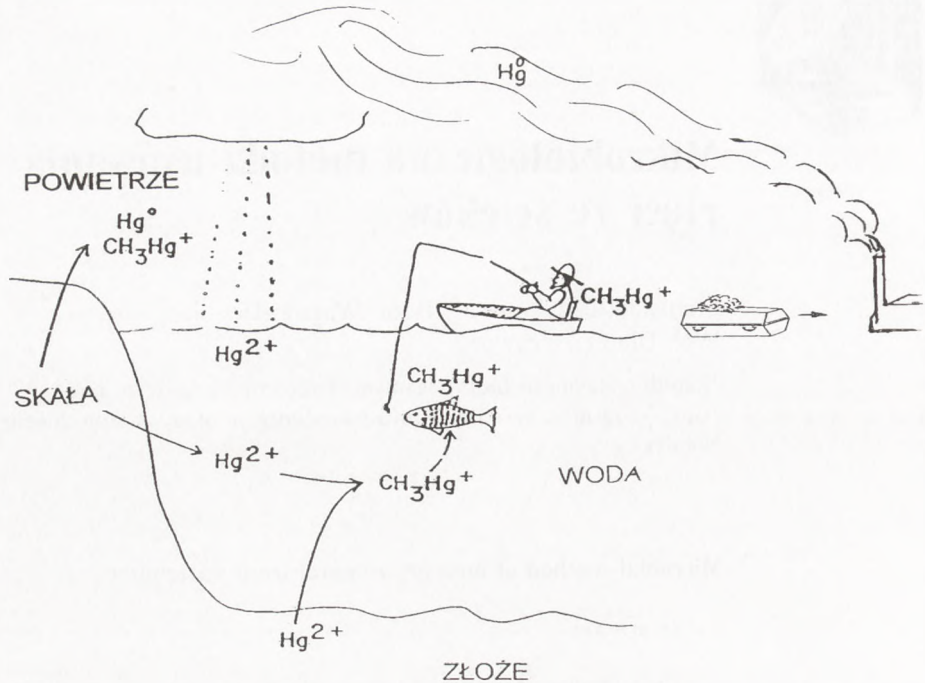
Stanisław Ledakowicz,
Katedra Inżynierii
Bioprocessowej,
Politechnika Łódzka,
ul. Wólczańska 213,
93-005 Łódź,
e-mail:
stanleda@p.lodz.pl

Key words:

mercury, bioreduction, biotransformation, mercuric reductase, bioreactors.

1. Wstęp

Rtęć jest jednym z najbardziej toksycznych pierwiastków, zwłaszcza w formie jonowej (Hg^{2+}) i w niektórych połączeniach organicznych, np. metylo-, czy fenilo-rtęć [1]. Mimo tego jest powszechnie stosowana do wyrobu: katalizatorów, pigmentów



Rys. 1. Geochemiczny obieg rtęci w przyrodzie.

i farb, inicjatorów w spłonkach (amunicja), fungicydów (zaprawa ziarna, dezynfekcja), wypełnień dentystycznych (amalgamaty) oraz w takich procesach jak odzysk złota i produkcja Cl_2 i NaOH metodą elektrolizy solanki z udziałem katody rtęciowej. Najbardziej narażone na zanieczyszczenia rtęcią są ekosystemy wodne, zwłaszcza osady delt rzecznych. Rtęć wprowadzona do zbiorników wodnych pomimo intensywnego jej wiązania przez osady dennie, stanowi bezpośrednie lub potencjalne ryzyko skażenia organizmów żywych, a przede wszystkim ryb. Szczególne niebezpieczeństwo stanowi bioakumulacja rtęci na kolejnych poziomach troficznych.

Obieg geochemiczny rtęci przedstawiono schematycznie na rysunku 1. Podczas tej wymiany pomiędzy wodą, atmosferą i lądem rtęć podlega złożonym reakcjom biochemicznym i przemianom fizycznym. Utlenianie rtęci metalicznej, redukcja jonowej rtęci, strącanie siarczków, metylacja i demetylacja to najczęściej występujące procesy. Chociaż w wodzie występuje rtęć w postaci jonowej (Hg^{2+}) to dominującą formą w rybach jest metylortęć. Szacuje się, że naturalna emisja rtęci jest rzędu od 100 do 9000 Mg/rok, podczas gdy antropogeniczna emisja dochodzi do 6200 Mg/rok [2].

Słynne jest masowe zatrucie rtęcią w latach 50. i 60. w Japonii. U ludzi spożywających ryby z zatoki Minamata, do której odprowadzano ścieki z fabryki produkującej chlorek winylu i używającej HgCl_2 jako katalizatora, stwierdzono liczne za-

burzenia neurologiczne i problemy sercowo-naczyniowe zwłaszcza u dzieci [3]. U około 3000 osób stwierdzono objawy „choroby Minamata”. W 1971 r. w Iraku wystąpiło masowe (6500 osób zarejestrowano w szpitalach, z czego 459 osób zmarło) zatrucie metylortęcią w wyniku spożycia ziarna zaprawionego metylortęciowymi fungicydami [4]. Aktualnie największe zagrożenie rtęcią występuje w Amazonii, gdzie tysiące ludzi stosuje rtęć metaliczną do ekstrakcji złota metodą amalgamatową [5].

Największe źródło zanieczyszczenia środowiska rtęcią stanowi energetyka i przemysł, w tym wytwórnie chloru i wodorotlenku sodowego stosujące elektrolizę solanki (NaCl) metodą amalgamatową [6]. W Europie Zachodniej spośród 93 wytwórni NaOH i Cl₂ pracuje wciąż 56 instalacji według tej technologii. Biorąc pod uwagę, że straty rtęci w tej metodzie wynoszą 2,6-10,9 g Hg/t Cl₂, a produkcja Cl₂ w 2000 r. wyniosła 6,2 mln t, można obliczyć, że roczne straty rtęci wyniosły w 2000 roku 42 t Hg. Ścieki z tych instalacji zawierają głównie jony Cl⁻ i Hg⁺² w stężeniach nawet do 50 ppm. Istnieje wiele metod usuwania rtęci ze ścieków. Najpopularniejsze jest strącanie do siarczku rtęci (HgS), który ma wyjątkowo niską rozpuszczalność (10⁻⁵⁴) i jest uważany za nietoksyczny, ale w warunkach aerobowych może być transformowany do metylortęci [7] co podważa sens tego sposobu składowania odpadów zawierających rtęć.

Celem prezentowanej pracy jest przedstawienie nowej technologii mikrobiologicznego usuwania jonów rtęci ze ścieków, pochodzących z instalacji elektrolizy solanki metodą amalgamatową. Od ponad dziesięciu lat w Centrum Badawczym Biotechnologii (GBF) w Braunschweig, w Niemczech prowadzone są prace badawcze i rozwojowe dotyczące tej technologii pod kierunkiem profesora Deckwera, przy współudziale pracowników Katedry Inżynierii Bioprocessowej Politechniki Łódzkiej [8-10].

2. Mechanizm biotransformacji rtęci

Niektóre mikroorganizmy wytworzyły naturalny system obronny przed toksycznymi dawkami metali ciężkich występującymi w ich środowisku. W przypadku zagrożenia rtęcią jest on realizowany poprzez zmniejszoną przepuszczalność Hg²⁺ błon komórkowych, demetylację CH₃Hg⁺, strącanie HgS, metylację nietlotnych jonów rtęci (II) do lotnej metylortęci, a przede wszystkim poprzez redukcję Hg²⁺ do Hg⁰ [11]. Ten ostatni mechanizm obronny bakterii pochodzi z czasów, gdy naturalny poziom rtęci był znacznie podwyższony na skutek silnej aktywności wulkanicznej Ziemi, i jest wciąż wszechobecny zarówno wśród bakterii gramodatnich jak i gramujemnych. W badaniach przesiewowych wyizolowano w GBF szczepy bakterii odporne na jony rtęci. W tabeli 1 przedstawiono wybrane gatunki bakterii wykazujące podwyższoną odporność na jony Hg²⁺.

Tabela 1

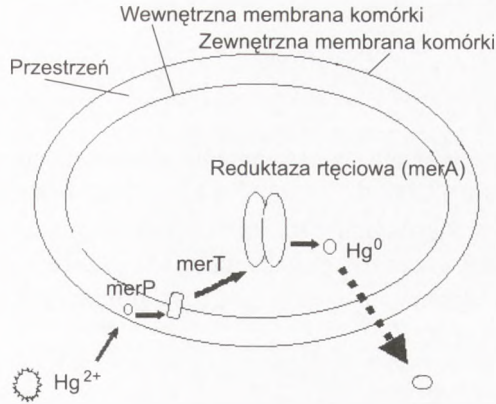
Skrining mikroorganizmów z ekspresją reduktazy rtęciowej

<i>Alcaligenes eutrophus</i> (DSM 531)	<1 ppm
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<2,5 ppm
<i>Bacillus</i> sp. (HGS12)	<5 ppm
<i>Microbacterium</i> sp. (HGS7)	<7,5 ppm
<i>Pseudomonas paucimobilis</i> (DSM 1098)	<10 ppm
<i>Xanthomonas maltophila</i> (DSM 50173)	<25 ppm
<i>Aeromonas hydrophila</i> (HGS2)	<50 ppm
<i>Xanthomonas maltophila</i> (HGS1)	<50 ppm
<i>Pseudomonas putida</i>	<50 ppm

Za ten system redukcji Hg^{2+} do Hg^0 jest odpowiedzialny układ reduktazy rtęciowej (mer – *mercuric reductase*). Reduktaza rtęciowa (mer) została wyizolowana z cytoplazmy kilku bakterii bytujących w ekosystemach o dużej zawartości jonów Hg^{2+} . Należy do grupy flawoprotein. Jako źródło elektronów wykorzystywany jest zredukowany NADPH oraz NADH. Struktura bakteryjnej reduktazy rtęci jest zbliżona do występującej w komórkach ssaków reduktazy glutationowej. Enzymy te mają podobnie zbudowane centra aktywne, rejony wiążące NADPH oraz rejony wiążące FAD. Gen mer jest typowym genem plazmidowym występującym u wielu gatunków z rodzaju *Thiobacillus* oraz *Pseudomonas*. Układ mer składa się z genów merR, merT, merP i merA i merD [12]. Geny merR i merD pełnią rolę regulatora transkrypcji mer operonu i są indukowane przez $Hg(II)$. Jeżeli rtęć jest nieobecna w układzie merR jest przyłączony do promotora mer operonu, hamując przez to jego transkrypcję. W momencie pojawienia się rtęci w układzie przyłącza się ona do białka merR, co powoduje jego odłączenie od promotora mer operonu i rozpoczęcie transkrypcji. Geny merP i merT kodują białka tworzące kompleks transportujący jony rtęci. MerP jest polipeptydem przytwierdzonym do zewnętrznej warstwy błony komórkowej. Jego rolą jest wiązanie jonów Hg^{2+} z otoczenia i przekazywanie ich śródbłonowemu białku merT. Białko to transportuje jony Hg^{2+} do cytoplazmy udostępniając je reduktazie rtęciowej merA, do której jest włączona cząsteczka FAD. MerA katalizuje reakcję przyłączenia dwóch elektronów z NADPH do Hg^{2+} w wyniku czego powstaje metaliczna rtęć Hg^0 :



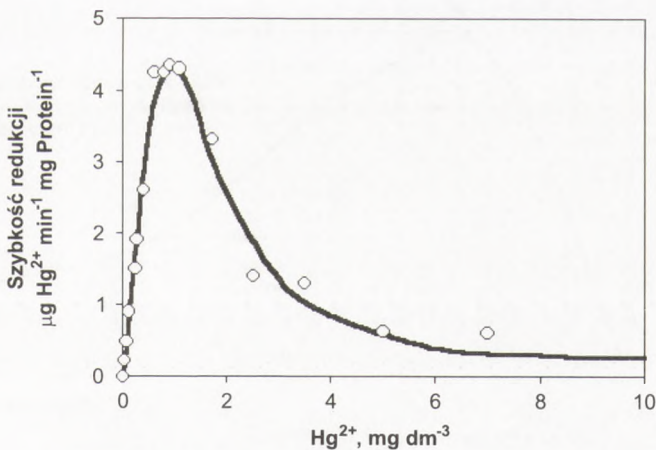
Centrum aktywne merA zawiera liczne cząsteczki cysteiny, których grupy –SH są odpowiedzialne za aktywność enzymatyczną białka. Metaliczna rtęć (Hg^0), będąca produktem reakcji tworzy zazwyczaj mikroskopowe kropelki na zewnętrznej powierzchni drobnoustrojów bądź jako lotny metal może odparować z fazy ciekłej

Rys. 2. Mechanizm biochemicznej redukcji Hg²⁺.

w przypadku intensywnego napowietrzania. Schematycznie mechanizm biotransformacji rtęci przedstawiony jest na rysunku 2.

3. Kinetyka bio redukcji rtęci (II)

Szybkość reakcji biochemicznej zachodzącej według równania (1) była badana w specjalnie zaprojektowanym układzie reakcyjnym zapewniającym idealne wymieszanie i bezpośredni (*on-line*) pomiar stężenia rtęci metodą (ASA) absorpcyjnej spektrometrii atomowej [13]. W warunkach nadmiaru NADPH, dla stężeń Hg²⁺ powyżej 1 mg/dm³ zaobserwowano wyraźną inhibicję substratową – rys. 3. Zależność szybkości reakcji od stężenia substratu, jakimi są jony Hg²⁺, opisano równaniem Yano-Koga [14]:



Rys. 3. Krzywa kinetyczna biotransformacji rtęci.

$$r = \frac{r_{\max}}{1 + K_s / c + (c / K_i)^2} \quad (2)$$

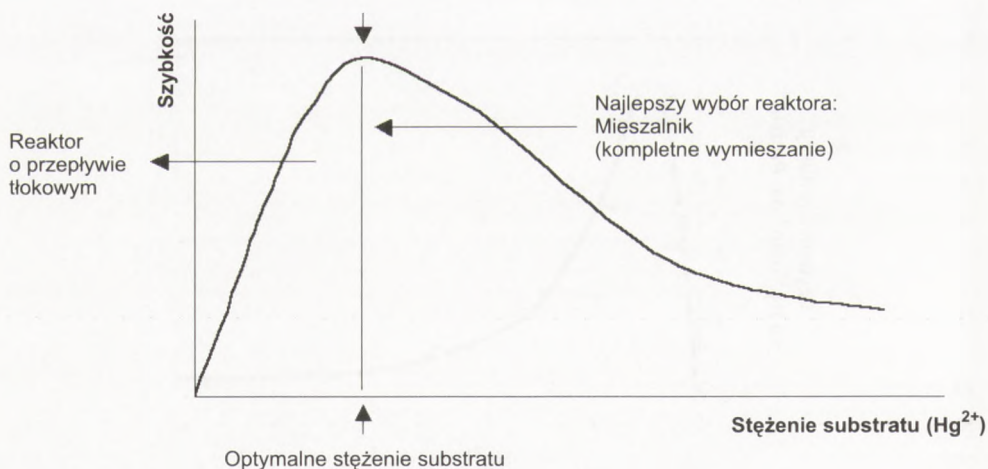
gdzie wartości zidentyfikowanych parametrów kinetycznych wynoszą:

$$r_{\max} = 38,6 \mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}, K_s = 4,5 \text{ mg}/\text{dm}^3 \text{ i } K_i = 0,62 \text{ mg}/\text{dm}^3.$$

Z rysunku 3 wynika, że równanie to dobrze opisuje punkty doświadczalne, szybkość reakcji przechodzi przez ostre maksimum wynoszące $r = 4,4 \mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}$ przy stężeniu Hg^{2+} $c = 1 \text{ mg}/\text{dm}^3$, malejąc do wartości poniżej $0,5 \mu\text{g}/\text{min}/\text{mg}$ dla stężeń substratu powyżej $5 \text{ mg}/\text{dm}^3$.

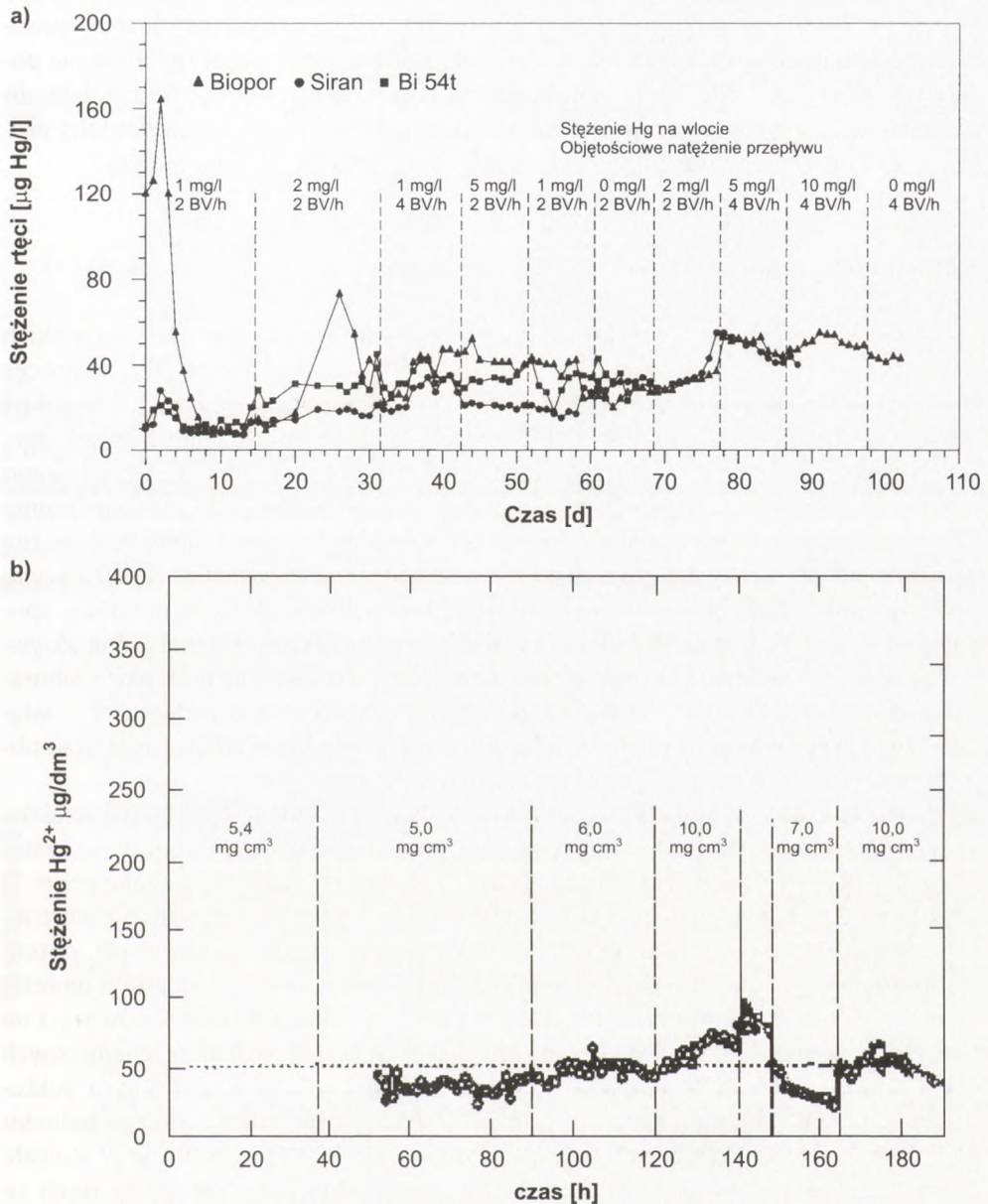
4. Dobór bioreaktora

Analizując kinetykę biotransformacji rtęci (rys. 4) z punktu widzenia inżynierii bioreaktorowej można dojść do wniosku, że w zakresie niskich stężeń Hg^{2+} , gdy nie występuje jeszcze inhibicja substratowa, najlepszym rozwiązaniem jest zastosowanie reaktora z przepływem tłokowym, podczas gdy w obszarze wysokich stężeń powinno się użyć reaktora z idealnym wymieszaniem. Wiadomo, że wydajność rzeczywistych bioreaktorów leży pomiędzy wartościami wydajności tych reaktorów idealnych, ale działanie bioreaktora ze stałym złożem jest zbliżone do reaktora rurowego z przepływem tłokowym, natomiast w bioreaktorze fluidalnym stopień wymieszania jest bliższy idealnemu wymieszaniu. W pracach laboratoryjnych nad zastosowaniem zarówno bioreaktora ze stałym złożem unieruchomionych [8] bakterii jak i złożem fluidalnym [15] potwierdzono skuteczność obu typów bioreaktorów



Rys. 4. Dobór typu bioreaktora w przypadku inhibicji substratowej.

działających w sposób ciągły. Porównując zmiany stężenia jonów Hg^{2+} na wylocie z obydwu reaktorów (rys. 5) można zauważyć, że w obu przypadkach stężenie Hg^{2+} oscyluje wokół wartości $50\text{-}60\ \mu\text{g}/\text{dm}^3$, która odpowiada rozpuszczalności metalicz-



Rys. 5. Zmiany stężenia Hg^{2+} w czasie na wyjściu z bioreaktorów laboratoryjnych: a) bioreaktor ze złożem stałym, b) bioreaktor ze złożem fluidalnym.

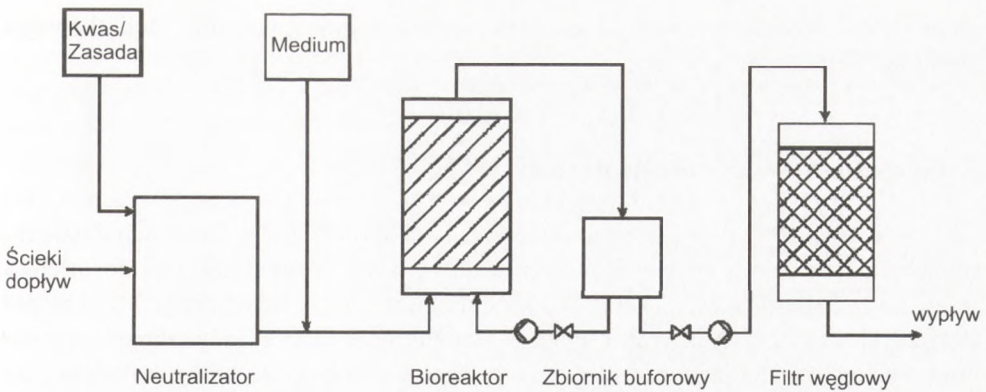
nej rtęci Hg^0 w wodzie [16]. Zatem takiego minimalnego stężenia należy się spodziewać na wyjściu z każdego typu bioreaktora, w którym produktem biotransformacji jest metaliczna rtęć.

Każdy z porównywalnych typów bioreaktora do biotransformacji rtęci ma swoje wady i zalety. Mimo że stopień konwersji w bioreaktorze fluidalnym jest nieco większy (99%) niż w reaktorze ze złożem stałym (98%), co związane jest z usuwaniem produktu ze środowiska reakcji wskutek odparowania lotnej Hg^0 i nie ma potrzeby regeneracji złoża, która jest nieunikniona w reaktorze ze złożem stałym, do dalszych prac rozwojowych, powiększania skali i wdrożenia wybrano bardziej prosty w konstrukcji i w obsłudze oraz tańszy bioreaktor ze złożem stałym.

5. Instalacja pilotowa

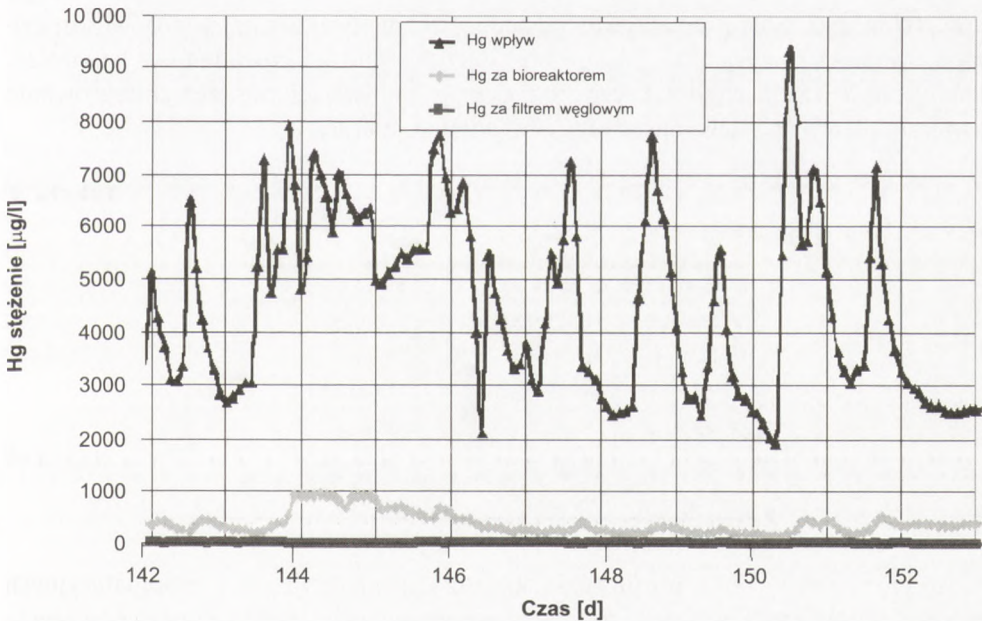
Powiększając skalę bioreaktora nie sposób utrzymać wartości wszystkich modułów podobieństwa na tym samym poziomie. Biorąc pod uwagę fakt, że proces biotransformacji jest stosunkowo szybką reakcją, aby zapewnić utrzymanie wysokiej wydajności bioprocesu postanowiono zachować podobne obciążenie hydrauliczne, tj. 1-4 wymiany objętości reaktora w ciągu 1 godziny. W skali pilotowej zbudowano reaktor o objętości reakcyjnej 1 m^3 (średnica 1 m i wysokość 1,27 m) wypełnionej cząstkami pumeksu o wymiarach 4-6 mm, na których wytworzono błonę biologiczną zaszczipiając to porowate złożo bakteriami z rodzaju *Pseudomonas*, wykazującymi nadekspresję reduktazy rtęciowej. Bakterie te immobilizowały się w naturalny sposób poprzez adsorpcję na nośniku pumeksowym i bioreaktor osiągnął pełną aktywność już po 12 godzinach od zakończenia inokulacji. Porównując bioreaktor laboratoryjny i techniczny należy zauważyć, że nastąpił znaczący wzrost objętości – więcej niż o 4 rzędy wielkości (z 80 do 10^6 cm^3), a w konsekwencji 20-krotny wzrost objętościowego natężenia przepływu w reaktorze pilotowym.

Schemat instalacji pilotowej, która pozwalała na bioremediację 100 m^3 ścieków w ciągu doby przedstawiono na rysunku 6. Oprócz bioreaktora, z dodatkowo zainstalowanym *bypass*em, w skład instalacji wchodził neutralizator (wymagane $\text{pH} = 7$) oraz filtr z węglem aktywnym, o objętości $0,8\text{ m}^3$ umieszczony na wyjściu z bioreaktora. Instalacja ta, monitorowana *on-line* (temperatura, przewodnictwo, pH , potencjał redox, pO_2), z możliwością zdalnej regulacji pomp i zaworów, została umieszczona w mobilnym kontenerze. Przykładowy wykres zmian stężenia jonów rtęci na wlocie i wylocie z instalacji pilotowej pracującej w Zakładach Elektrochemicznych w Ibbenbueren w Niemczech przedstawiono na rysunku 7. Mimo znacznych fluktuacji stężenia na wlocie do instalacji pomiędzy $2\text{--}10\text{ mg Hg}^{2+}/\text{dm}^3$, dużego ładunku soli ($50\text{ g Cl}^-/\text{dm}^3$) i chwilowych skoków temperatury do 47°C , instalacja pracowała przez 8 miesięcy, usuwając 98% ładunku dopływającej rtęci (tj. ok. 29 kg rtęci) ze ścieków, o całkowitej objętości ponad $7,5\text{ tys. m}^3$ i o średnim stężeniu $4,8\text{ mg Hg}^{2+}/\text{dm}^3$.



Rys. 6. Schemat ideowy instalacji pilotowej.

Należy zaznaczyć, że proces mikrobiologicznej redukcji rtęci (II) wymaga energii, którą trzeba dostarczyć bakteriom w postaci źródła węgla i tlenu. Do redukcji $50 \mu\text{M Hg}^{2+}$ (co odpowiada $10 \text{ mgHg}^{2+}/\text{dm}^3$) potrzeba $5 \mu\text{M}$ glukozy (tj. ok. $1 \text{ mg}/\text{dm}^3$) i $30 \mu\text{M}$ tlenu (tj. ok. $0,1 \text{ mg}/\text{dm}^3$). Można, zatem, oszacować, niezbędne zapotrzebowanie energetyczne drobnoustrojów do redukcji $10 \text{ mgHg}^{2+}/\text{dm}^3$, które wyniesie w warunkach technicznych 83 mg sacharozy/ dm^3 i około 6 mg tlenu/ dm^3 . Obniżenie pO_2 do poziomu 10% pozwala wciąż na 90% redukcję ładunku rtęci, co wskazuje na faktycznie niższe zapotrzebowanie energetyczne procesu bioredukcji



Rys. 7. Wyniki eksperymentalne – stężenie rtęci na wlocie i wylocie z instalacji pilotowej.

jonów rtęci. Ciągłe dozowanie pożywki wymaga zainstalowania dodatkowego zbiornika zapasowego.

6. Charakterystyka procesu przemysłowego

Od sierpnia 2000 r. w Zakładach Chemicznych Spolchemie w Czechach działa instalacja oczyszczająca z rtęci ścieki wypływające z wytwórni chloru i wodorotlenku sodu. Aby zapewnić oczyszczenie ścieków również z rtęci metalicznej, która w postaci zdyspergowanych mikrokropelek w wodzie może opuszczać elektrolizer z katodą rtęciową zastosowano dodatkowo wstępną obróbkę utleniającą. Podczas tej operacji ścieki są utleniane za pomocą NaOCl, dalej traktowane NaHSO₃ i neutralizowane z pH = 3 do pH = 7. Aby zapewnić stały dopływ ścieków z rtęcią zamontowano dodatkowy zbiornik buforowy, który ponadto gromadzi nadmiar ścieków z elektrolizy.

Dane procesowe tej instalacji zestawione są w tabeli 2. Spośród 130 kg rtęci odzyskanej w ciągu roku około 85% znajdowało się w bioreaktorze, a pozostała część w filtrze z węglem aktywnym. Roczna emisja rtęci z oczyszczonymi ściekami wynosi poniżej 1,3 kg. Można przypuszczać, że w filtrze z węglem aktywnym mogą znajdować się także unieruchomione bakterie z ekspresją reduktazy rtęciowej. To przypuszczenie nasunęło pomysł immobilizacji bakterii wykazujących odporność na rtęć na węglu aktywnym i zbadania działania takiego bioreaktora-adsorbera ze złożem węgla aktywnego, co jest tematem aktualnie prowadzonego projektu badawczego KBN 4T09C 01325. Węgiel aktywny posiada znacznie większą pojemność adsorpcyjną niż pumeks i odzysk zaadsorbowanej rtęci metalicznej powinien być łatwiejszy. Planuje się modyfikację dotychczas funkcjonującej instalacji poprzez zintegrowanie procesu adsorpcji z biotransformacją w jednym aparacie.

Tabela 2

Dane procesowe instalacji biomeR

Średnie stężenie Hg na wlocie	5 mg/l
Średnie stężenie Hg na wylocie	< 50 µg/l
Średnie obj. natężenie przepływu	3 m ³ /h
Strumień oczyszczonych ścieków	25 000 m ³ /r
Odzysk rtęci	130 kg/r
Wypływ rtęci z instalacji	< 1,3 kg/r
Zmniejszenie stężenia rtęci	> 10 ⁴

Interesująco wypada porównanie kosztów inwestycyjnych i eksploatacyjnych omawianej instalacji ze stacją kolumn jonowymiennych, które są dosyć powszechnie stosowane w zakładach elektrochemicznych. W tabeli 3 przedstawiono wyniki

takiego porównania dla objętościowego natężenia przepływu ścieków 70 000 m³/rok, o średnim stężeniu 4 mg Hg²⁺/dm³, przy uwzględnieniu wstępnej obróbki utleniającej ścieków. Z tabeli 3 wynika, że w obu kategoriach koszty mikrobiologicznej redukcji rtęci stanowią mniej niż połowę kosztów instalacji wymiany jonowej, a koszt usunięcia 1 kg rtęci wynosi 760 € w porównaniu z 1600 €/kg rtęci dla wymiany jonowej.

Tabela 3

Porównanie ekonomiczne procesów usuwania rtęci

Proces	Koszt całkowity (€)	Amortyzacja (€/rok)	Koszt eksploatacji (€/rok)	Koszt 1 kg Hg usuniętej (€)
wymiana jonowa	1,4 Mio	238,000	216,000	1,600
biomeR	0,5 Mio	93,000	120,000	760

7. Podsumowanie

Można wymienić następujące zalety omawianej technologii:

- niskie koszty inwestycyjne,
- niewielkie zużycie chemikaliów,
- brak stosowania toksycznych związków,
- niskie zużycie energii,
- wysoka jednostkowa wydajność,
- odporność na fluktuacje stężeń wlotowych rtęci, soli i temperatury,
- możliwość odzysku rtęci metalicznej.

Generalnie można stwierdzić, że opracowana i wdrożona do przemysłu technologia mikrobiologicznego usuwania rtęci ze ścieków jest procesem przyjaznym dla środowiska i ma szansę dalszego rozpowszechnienia. Aktualnie zgłoszony został w ramach tzw. akcji wspierających (*specific support action*) projekt finansowany przez Unię Europejską pod akronimem Biomercury, którego zadaniem jest m.in. rozpowszechnianie zastosowania biotechnologii do bioremediacji terenów skażonych rtęcią i transfer wiedzy i technologii do tych krajów, gdzie występują skażone rtęcią środowiska.

Podziękowanie

Część badań wykonano w ramach projektu badawczego 4 T09 C 01325.

Autorzy dziękują pani mgr inż. K. Zakrzewskiej za pomoc w wykonaniu rysunków.

Literatura

1. Nies D. H., (1999), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 51, 730-750.
2. Nriagu J. C., Pacyna J. M., (1988), *Nature*, 333, 134-139.
3. Environmental Health Department J., (1997), posting date. Our intensive efforts to overcome the tragic history of Minamata disease. www.eic.or.jp/eanet/en/topic/minamata/infex.htm.
4. Amin-Zaki L., Elhassani S., Majeed M. A., Clarkson R. W., Doherty R., Greenwood M. R., Giovanoli-Jakubczak R., (1976), *Am. J. Dis. Child.*, 130, 1070-1076.
5. Dolbec J., Mergler C. J., Sousa Passos S., Sousa de Morais, Lebel J., (2000), *Int. Arch. Occup. Environ. Health.*, 73, 195-203.
6. EuroChlor, (1998), Mercury processing for making chlorine, www.eurochlor.org/chlorine/issues/mercury.htm.
7. Fagerstoem T., Jerneloef A., (1971), *Water Res.*, 5, 121-122.
8. Ledakowicz S., Deckwer W.-D., (1993), *Biotechnologia*, 3(22), 99-107.
9. Ledakowicz S., Becker U., Deckwer W.-D., (1995), *Global effectiveness factor of biocatalysts in biotransformation of mercury*, *Mat. Konf. XV Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej Inżynierii Chemicznej i Procesowej*, Gdańsk (12-15.09), IV, 147-153.
10. Ledakowicz S., Becker U., Deckwer W.-D., (1995), *Catalysis Today*, 24, 65-71.
11. Osborn A. M., Bruce K. D., Strike P., Richtie D. A., (1997), *FEMS Microbiol. Rev.*, 19, 239-262.
12. Silver S., Phung L. T., (1996), *Ann. Rev. Microbiol.*, 50, 753-789.
13. Ledakowicz S., Danhamer H., Becker U., Deckwer W.-D., (1996), *Kinetics of mercury biotransformation by Pseudomonas putida*, *Materiały VI Ogólnopolskiej Konferencji Naukowej Postepy Inżynierii Bioreaktorowej*, Łódź (24-26.09).
14. Yano T., Koga S., (1969), *Biotechnol. Bioeng.*, 11, 139-153.
15. Becker U., Ledakowicz S., Deckwer W.-D., (2003), *Mass transfer and biotransformation of mercury by immobilized microorganisms in a bubble column reactor*, *Proceedings of 6th German-Japanese Bubble Column Symposium*, Nara, Japan.
16. Barkay T., (2000), *Mercury cycle*, *Encyclopedia of microbiology*, 3, 318-181.