

Produkty mikrobiologicznej transformacji fosfogipsów w beztlenowych hodowlach bakterii termofilnych

Magdalena Przytocka-Jusiak

*Włodzimierz Kowalski**

Marzena Rzeczycka

Mieczysław Błaszczyk

Roman Mycielski

Instytut Mikrobiologii UW

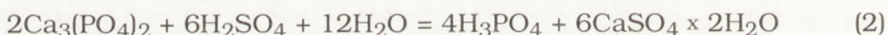
Warszawa

Instytut Geochemii, Mineralogii i Petrografii UW*

Warszawa

1. Wprowadzenie

WZPCH „Wizów” k. Bolesławca w technologicznej przeróbce koncentratów apatytowych na kwas fosforowy („apatyt Kola” z masywu chibińskiego na Półwyspie Kolskim) powstają duże ilości fosfogipsów, produktów odpadowych uciążliwych ze względów ekologicznych. Przy produkcji 1 tony P_2O_5 (kwasu fosforowego) powstają 4 tony fosfogipsu (1). Proces technologiczny przebiega zgodnie ze schematem:



Na podstawie badań rentgenowskich i mikroskopowych (3) stwierdzono, że głównym składnikiem fosfogipsów jest gips ($CaSO_4 \times 2H_2O$), podrzędnym bassanit ($CaSO_4 \times 0,5 H_2O$) i w niewielkich ilościach (około 3%) celestyn ($SrSO_4$). Od 1 do 3% stanowią zanieczyszczenia typu: nieprzereagowane części rudy, reszta kwasu siarkowego i przypadkowe. Z przeliczeń oznaczeń chemicznych wynika, że gips stanowi około 90% masy fosfogipsów, pozostałe składniki wchodzi albo we własne fazy mineralne albo w strukturę gipsu, co zwiększa jego udział fazowy.

Siarczany w warunkach beztlenowych mogą być wykorzystane jako akceptor elektronów przez bakterie redukujące siarczany, co prowadzi do powstania H_2S . Bakterie te są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie i występują w środowiskach o pH od 4,2 do 10,4, Eh od -500 do +350 mV, ciśnieniu od

0,1 do 100 MPa, temperaturze od 0 do 104°C i zasoleniu do nasycenia włącznie, pod warunkiem obecności siarczanów i węgla organicznego (4). Za optymalne środowisko bytowania tych mikroorganizmów uznaje się górne partie osadów (do 15 cm) wód powierzchniowych (5). Wszystkie znane gatunki bakterii redukujących siarczany mogą korzystać z mleczanu jako źródła węgla (6).

Celem pracy było zbadanie produktów powstających w wyniku mikrobiologicznej transformacji fosfogipsu w beztlenowych hodowlach bakterii termofilnych izolowanych z różnych środowisk.

2. Materiał i metodyka

Mikroorganizmy: Osiem zespołów bakterii wyizolowanych z różnych środowisk oraz hodowle mieszane — szczepione wszystkimi zespołami bakterii w równych proporcjach objętościowych „M” (tab 1).

TABELA 1
ZESPOŁY BAKTERII UŻYTE DO DOŚWIADCZEŃ

| Nr zespołu | Środowisko | Data izolacji | |
|------------|---------------------------------------------|---------------|------|
| I | osad przybrzeżny z Wisły | listopad | 1987 |
| II | gnojowica świńska | kwiecień | 1988 |
| III | osad denny z ciepłego źródła w Swoszowicach | maj | 1988 |
| IV | osad przybrzeżny z Wisły | kwiecień | 1988 |
| V | osad denny z Bałtyku (50 m) | maj | 1988 |
| VI | osad denny z Bałtyku (236 m) | maj | 1988 |
| VII | osad denny zbiornika wodoru | styczeń | 1989 |
| VIII | rdza z dzwonu wodorowego | styczeń | 1989 |
| „M” | mieszanka zespołu I-VIII | | |

Podłoże: W badaniach stosowano podłoże Postgate o składzie (w 1000 ml wody destylowanej): 0,5 g KH_2PO_4 ; 1,0 g NH_4Cl ; 4,5 g Na_2SO_4 ; 0,03 g CaCl_2 ; 0,06 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1,0 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 6 g mleczanu sodu lub 8,5 g mleczanu wapnia, 1 g ekstraktu drożdżowego, 0,3 g cytrynianu sodowego (dwuwodnego). Zamiast Na_2SO_4 do podłoża wprowadzono fosfogips w równoważnej ilości w przeliczeniu na siarczany.

Do podłoża dla hodowli zespołu V i VI dodawano 9,0 g/l NaCl. pH podłoża w momencie rozpoczęcia hodowli nastawiano do wartości 7,2 za pomocą 0,1 N NaOH.

Fosfogips: Badana próbka fosfogipsu pochodziła z hałdy zlokalizowanej w Wizowie k. Bolesławca.

Warunki hodowli: Hodowle prowadzono w 500 ml butelkach zakrytych gumowymi korkami z metalową nakrętką. Podłoże przed zaszczepieniem ogrzewano w celu pozbawienia tlenu. Bakterie wprowadzano strzykawką bez otwierania butelek. Materiał do inokulacji pobierano z hodowli, w których stężenie siarkowodoru wynosiło co najmniej $300 \text{ mg} \times \text{l}^{-1}$. Inoculum stanowiło 10% całej objętości hodowli. Hodowle inkubowano przez 14 dni w temp. 55°C .

Oznaczenia: Siarkowodór oznaczano za pomocą metody jodometrycznej przy użyciu płynu Lugola (0,05 M) i tiosiarczanu sodu (0,05 M) wobec skrobi (0,5%) jako wskaźnika. Wyniki obliczano według wzoru:

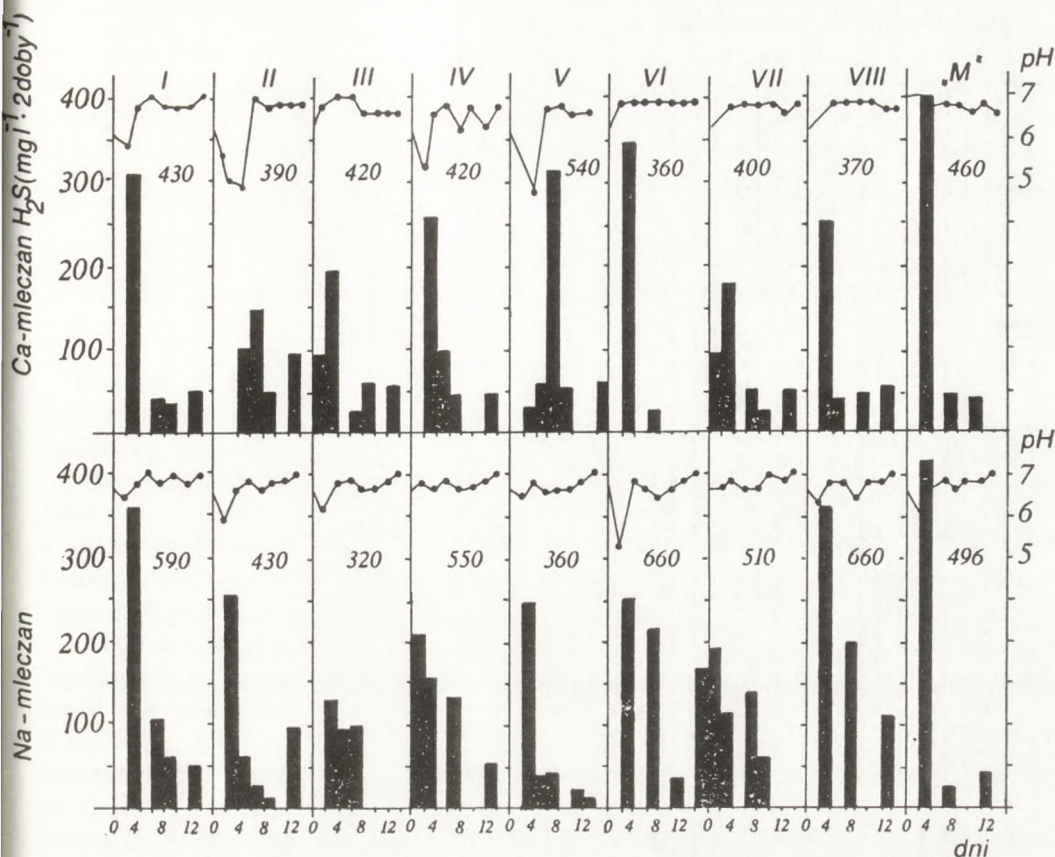
$$x = (a - b) \times 0,85 \times 1000/V,$$

gdzie: a = objętość płynu Lugola, b = objętość zmiareczkowanego tiosiarczanu, V — objętość próby.

pH podłoża oznaczano za pomocą wskaźnika uniwersalnego z błękitem brotomolowym. Po zakończeniu hodowli osady odsączano i suszono do stałej wagi w temp. 30°C . Badania rentgenowskie osadów prowadzono przy użyciu dyfraktometru DRON-1, stosując filtrowane promienie $\text{CuK}\alpha$ i rejestrując widma w zakresie kątowym 2θ 4 — 64° . Skład pierwiastkowy osadów i płynów pohodowlanych oznaczano za pomocą metody spektrometrii emisyjnej ICP przy użyciu aparatu PV 8060 — oraz absorpcji atomowej stosując aparat AAS-30. Metale ziem rzadkich oznaczano metodą szczawianową (Marczenko, 1979).

3. Omówienie wyników

Termofilne bakterie wyizolowane z różnych środowisk oraz ich mieszanki „M” hodowano w podłożu Postgate (z mleczanem sodu lub wapnia), do którego zamiast Na_2SO_4 wprowadzono fosfogips. Zmiany odczynu podłoża w tych hodowlach oraz wydzielanie H_2S w czasie kolejnych (dwudniowych) odcinków czasowych przedstawiono na rys. 1. Na osiemnaście prowadzonych hodowli w dwunastu wydzielanie H_2S (świadczące o redukcji siarczanów fosfogipsu) było poprzedzone zakwaszeniem podłoża, trwającym na ogół dwa dni. Tylko w hodowli II na podłożu z mleczanem wapnia zakwaszenie trwało 4 doby i wydzielanie się siarkowodoru stwierdzono dopiero po tym okresie. W pozostałych hodowlach podłoże ulegało lekkiej alkalizacji, a H_2S wydzielał się albo już pomiędzy 0 – 2 dniem (hodowla IV na podłożu z mleczanem sodu, III na mleczanie wapnia i VII na obu podłożach), albo dopiero między 2 a 4 dniem, czyli podobnie jak w hodowlach, które uległy zakwaszeniu. Nieznaczne zakwaszenie podłoża towarzyszyło często także wydzielaniu następnych partii H_2S . W większości hodowli proces redukcji siarczanów, mierzony produkcją H_2S , przebiegał intensywnie tylko przez 2 – 4 doby, po czym ulegał silnemu hamowaniu. Tylko w pięciu hodowlach proces ten zachodził przez dłuższy okres (2 – 8 dni) z podobną, ale znacznie mniejszą intensywnością. Maksymalna ilość siarkowodoru wydzielana w ciągu dwóch dni wahała się od około 130 (hodowla II na mlecznie sodu) do ponad $430 \text{ mg} \times \text{l}^{-1}$ („M” na tym samym

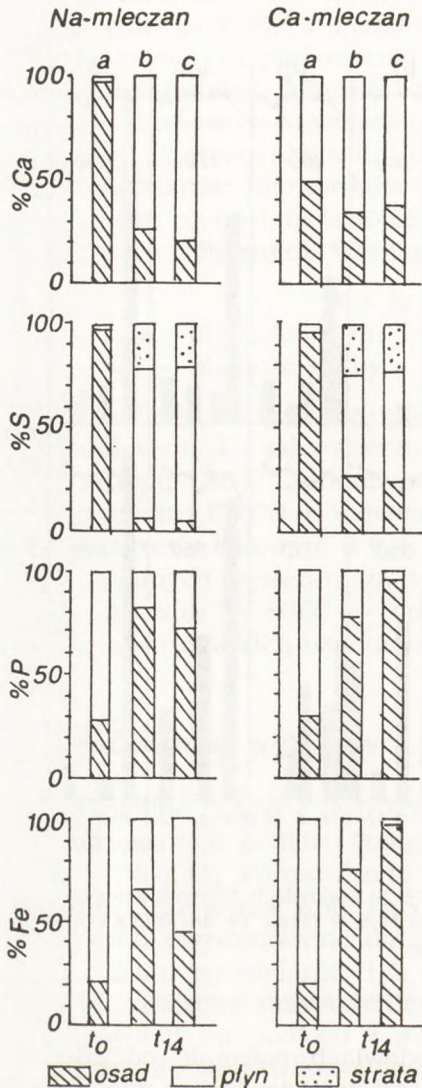


Rys. 1. Bezwzględne przyrosty H₂S (mg x l⁻¹ x 2 doby⁻¹) w hodowlach różnych zespołów bakterii. Cyfry na rysunkach oznaczają sumę wytworzonego H₂S w ciągu 14 dni (mg x l⁻¹); I-VIII — nr zespołu bakterii; „M” — zespoły I-VIII (mieszanka).

podłożu). Sumarycznie w poszczególnych hodowlach powstało od 360 do 660 mg H₂S x l⁻¹ w ciągu 14 dni. Z reguły więcej w hodowlach z mleczanem sodu niż wapnia, odwrotnie było tylko w hodowlach III i V.

Z ogólnej puli siarki (860 mg x l⁻¹), wapnia (1065 mg x l⁻¹), fosforu (162 mg x l⁻¹) i żelaza (25 mg x l⁻¹), wprowadzonych do hodowli, w osadzie pierwotnym (fosfogips) znajdowało się ponad 95% siarki i wapnia oraz około 30% fosforu i 25% żelaza.

W hodowlach na podłożu z mleczanem wapnia ogólna ilość Ca była wyższa (2138 mg x l⁻¹) i na fosfogips przypadła około 50%. W wykonanych po czterech dniach analizach chemicznych w płynach i osadach pochodzących (rys. 2) stwierdzono, że w osadach hodowli z mleczanem sodu pozostało średnio około 5% siarki. Więcej siarki, około 20% stwierdzono w osadach hodowli



Rys. 2. Rozmieszczenie wapnia, siarki, fosforu i żelaza w hodowlach na podłożu z mleczanem sodu i mleczanem wapnia.

a — fosfogips, b — średnia z hodowli I-VIII, c — hodowla „M”.

na mleczanie wapnia. Reszta siarki przeszła do roztworu lub ulotniła się w postaci H_2S w czasie przygotowywania prób do analiz. W osadach hodowli, prowadzonych na obu typach podłożu, procentowa zawartość wapnia była większa niż siarki i wynosiła od około 20% w hodowlach na mleczanie sodu do około 35% na mleczanie wapnia. Stosunek Ca/S wahał się od 4,1 do 9,3, podczas gdy w fosfogipsie był równy 1,2 (tab. 2). Osady wzbogaciły się natomiast w fosfor (wytrącony z płynu hodowlanego) co mogło świadczyć o powstaniu wtórnego osadu w postaci fosforanu wapnia. Do osadu przeszło też żelazo.

TABELA 2
UDZIAŁ WAPNIA I SIARKI W FOSFOGIPSIE I OSADACH POHODOWLANYCH

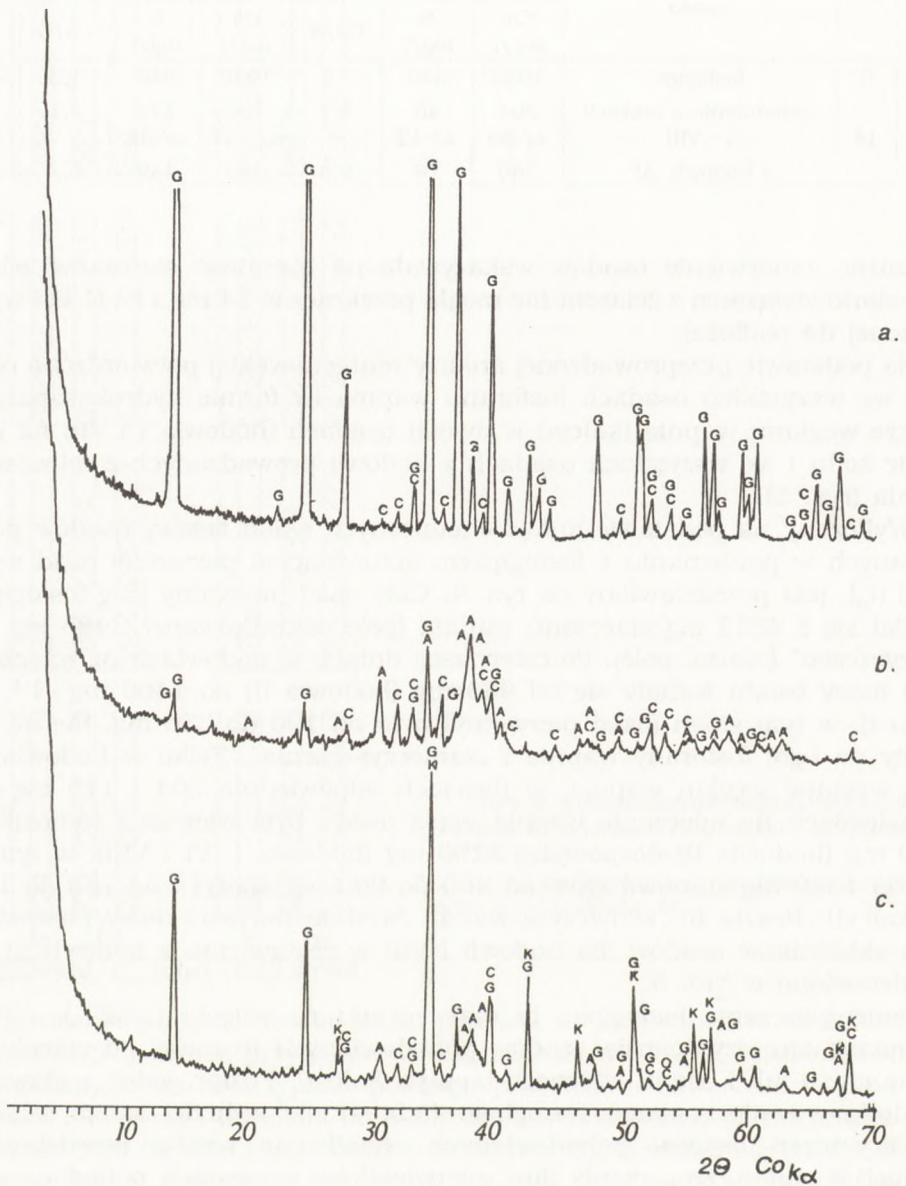
| Dni | Rodzaj osadu | Źródło węgla | | | | | |
|-----|--------------------------------|--------------|--------|------|--------------|--------|------|
| | | Na - mleczan | | | Ca - mleczan | | |
| | | Ca mg/l | S mg/l | Ca/S | Ca mg/l | S mg/l | Ca/S |
| 0 | fosfogips | 1045 | 840 | 1,2 | 1045 | 840 | 1,2 |
| | uśrednienie z hodowli I - VIII | 304 | 45 | 8,7 | 706 | 171 | 4,1 |
| 14 | z hodowli „M” | +/-53 | +/-12 | | +/-217 | +/-48 | |
| | | 260 | 28 | 9,3 | 845 | 149 | 5,7 |

Czarne zabarwienie osadów wskazywało na obecność siarczków żelaza. Ilość siarki związanej z żelazem nie mogła przekraczać $14 \text{ mg} \times \text{l}^{-1}$ (1,6% wprowadzonej do podłoża).

Na podstawie przeprowadzonej analizy rentgenowskiej potwierdzono obecność we wszystkich osadach fosforanu wapnia (w formie hydroksyapatytu), a także węglanu wapnia (kalcyt) w dwóch osadach (hodowla I i VII) na mleczenie sodu i we wszystkich osadach z hodowli prowadzonych z mleczeniem wapnia (rys. 3).

Wyliczony na podstawie analiz chemicznych skład fazowy osadów pohodowlanych w porównaniu z fosfogipsem stanowiącym pierwotny osad w hodowli (t_0), jest przedstawiony na rys. 4. Cały osad pierwotny (5 g fosfogipsu) składał się z 4515 mg siarczanu wapnia (pole zakratkowane) i 485 mg „zanieczyszczeń” (czarne pole). Po czternastu dniach w hodowlach na mleczenie sodu masy osadu wahały się od 960 mg (hodowla II) do $1460 \text{ mg} \times \text{l}^{-1}$ (hodowla I), w tym gipsu (osad pierwotny) było od 190 do 350 mg. Resztę stanowiły na ogół fosforany wapnia i „zanieczyszczenia”. Tylko w hodowlach I i VII wystąpił węglan wapnia, w ilościach odpowiednio 304 i $115 \text{ mg} \times \text{l}^{-1}$. W hodowlach na mleczenie wapnia masa osadu była większa i wynosiła od 1800 mg (hodowla II) do powyżej 3250 mg (hodowla I, VI i VIII), w tym od 800 do 1330 mg stanowił gips, od 360 do 980 mg apatyt i od 180 do 1350 mg kalcyt). Reszta to „zanieczyszczenia”. Średnie wartości masy poszczególnych składników osadów dla hodowli I-VIII w zestawieniu z hodowlami „M” przedstawiono w tab. 3.

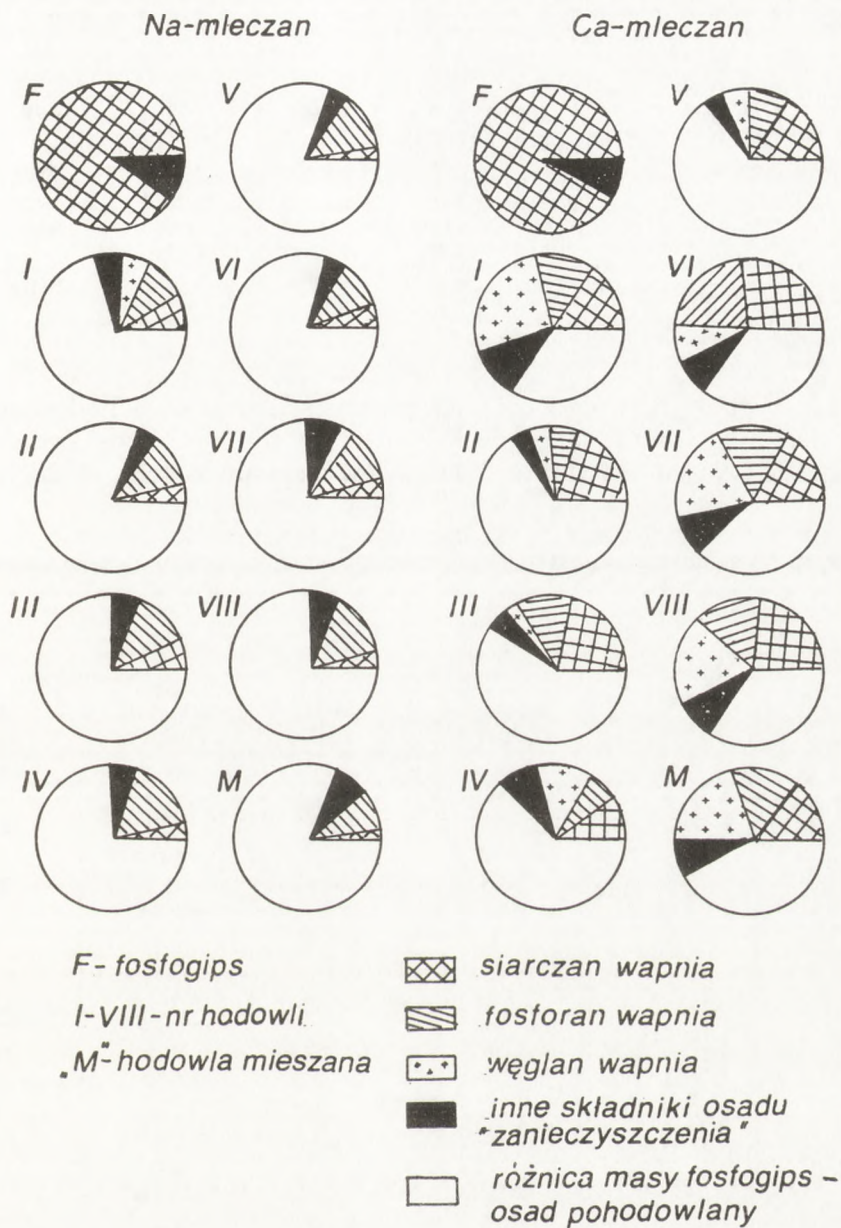
Zanieczyszczenia fosfogipsu to masa osadu po odjęciu $\text{Ca}(\text{SO}_4)_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, natomiast zanieczyszczenia osadów pohodowlanych to masa po odjęciu zarówno gipsu jak i osadu wtórnego (apatyt, kalcyt). Fosfor, jeden z głównych składników zanieczyszczeń fosfogipsu (tab. 4) nie wchodzi zatem w skład zanieczyszczeń osadów pohodowlanych. Analizując wyniki przedstawione w tabeli 4 widać, że z reguły ilość pierwiastków w osadach pohodowlanych jest mniejsza niż była wprowadzona do hodowli z 5g fosfogipsu l^{-1} , co świadczy o przejściu ich do płynu hodowlanego. Nie licząc fosforu, jedynie udział żelaza jest większy w osadach niż w fosfogipsie (wypadanie z roztworu). Analizy płynów pohodowlanych pozwoliły na zbilansowanie pierwiastków w pły-



Rys. 3. Dyfraktogramy fosfogipsu i osadów pochodzących.

A — apatyt, C — celestyn, G — gips, K — kalcyt;

a — fosfogips 7/2, b — osad hodowli „M” na mleczanie sodu, c — osad hodowli „M” na mleczanie wapnia.



Rys. 4. Skład fazowy osadów pochodzących i fosfogipsu.

TABELA 3
SKŁAD FAZOWY FOSFOGIPSU I OSADÓW POHODOWLANYCH (mg s.m./l hodowli)

| Dni | 0 | 14 | | | | |
|------------------------------|------|--------------------------|-------------------|--------------------------|--------------|--|
| | | fosfogips mg/l | Osady pohodowlane | | | |
| | | | Na - mleczan | | Ca - mleczan | |
| Składniki osadu | | \bar{x} I-VIII mg/l | „M” mg/l | \bar{x} I-VIII mg/l | „M” mg/l | |
| gips (osad I) | 4515 | 240 +/-60 | 150 | 920 +/-240 | 800 | |
| apatyt + kalcyt (osad II) | - | 665 +/-102 | 560 | 1232 +/-489 | 1650 | |
| „zanieczyszczenia” | 485 | 275 +/-39 | 210 | 438 +/-26 | 460 | |
| łącna masa | 5000 | 1180 +/-163 | 920 | 2590 +/-656 | 2910 | |

nach pohodowlanych świadcząca o ich przemieszczaniu się w hodowlach podczas biologicznej transformacji fosfogipsu może stanowić podstawę do optymalizacji podłoża, co jest ważne ze względów ekonomicznych i ekologicznych.

TABELA 4
GŁÓWNE ZANIECZYSZCZENIA CHEMICZNE FOSFOGIPSU I OSADÓW POHODOWLANYCH (mg/l hodowli)

| Dni | 0 | 14 | | | | |
|------------------------------------|------|--------------------|-------------------|--------------------|--------------|--|
| | | Fosfogips mg/l | Osady pohodowlane | | | |
| | | | Na - mleczan | | Ca - mleczan | |
| Składniki „zanieczysz- czeń” | | x I - VIII mg/l | „M” mg/l | x I - VIII mg/l | „M” mg/l | |
| P | 48,0 | 112,5 +/-18,1 | 104,0 | 108,0 +/-38,9 | 124,0 | |
| Sr | 65,0 | 28,5 +/-4,9 | 25,4 | 29,1 +/-8,8 | 27,5 | |
| LnO | 30,5 | 20,3 +/-3,3 | 20,6 | 25,1 +/-3,9 | 30,0 | |
| Na | 11,0 | 7,4 +/-1,3 | 8,9 | 5,1 +/-1,8 | 5,7 | |
| Al | 5,4 | 4,3 +/-0,6 | 3,4 | 4,9 +/-1,7 | 5,4 | |
| Fe | 4,8 | 11,5 +/-2,3 | 7,9 | 15,3 +/-5,3 | 16,9 | |
| K | 4,0 | 1,3 +/-0,2 | 1,2 | 1,7 +/-0,6 | 1,7 | |
| Ba | 2,0 | 1,4 +/-0,3 | 1,3 | 2,0 +/-0,6 | 1,8 | |
| Ti | 2,0 | 1,3 +/-0,2 | 1,3 | 1,3 +/-0,3 | 1,5 | |
| Mg | 1,5 | 1,1 +/-0,2 | 1,0 | 1,2 +/-0,3 | 1,2 | |

Innym ważnym problemem jest skład chemiczny osadów pochodowlanych, wyrażony w $\text{mg} \times \text{gram}^{-1}$ osadu (tab. 5) wskazujący na możliwości ich utylizacji. Zmniejszenie się w stosunku do fosfogipsu masy osadów pochodowlanych oraz wypadanie z roztworu fosforu i siarki spowodowało, że wszystkie pierwiastki biogenne (z wyjątkiem siarki) uległy zateżeniu. Stosunek Ca:S:P:Fe:Mg w osadach pochodowlanych wskazuje na ich dobrą wartość nawozową. Jednocześnie zateżeniu uległy także pierwiastki niebiogenne jak Sr czy Ba (nie badano fluoru), może się zatem okazać, że z tego względu osady nie będą przydatne w rolnictwie. Wytrącając z płynów hodowlanych (zwłaszcza w hodowlach na Ca-mleczanie) wapń z płynów pochodowlanych można by zwiększyć masę osadu, a jednocześnie zmniejszyć udział niekorzystnych składników. W osadach pochodowlanych zwiększa się także udział lantanowców (Ln_2O_3) z 0,6% w fosfogipsie do 1,7% w osadach pochodowlanych z Na-mleczanu. Wskazuje to na inną możliwość zagospodarowania tych osadów, a mianowicie potraktowania ich jako rudy metali ziem rzadkich. Do tego celu lepsze są osady powstające w hodowlach z Na-mleczanem.

TABELA 5
GŁÓWNE PIERWIASTKI WCHODZĄCE W SKŁAD FOSFOGIPSU I OSADÓW POHODOWLANYCH
(ŚREDNIA Z DZIEWIĘCIU HODOWLI)

| Osady | Pierwiastki biogenne mg/g suchej masy | | | | | |
|--------------|------------------------------------------|-------------------------|------|-----|-----|-----|
| | Ca | S | P | Fe | K | Mg |
| fosfogips | 209 | 168 | 9,6 | 1,0 | 0,8 | 0,3 |
| Na - mleczan | 259 | 43 | 96,7 | 9,6 | 1,1 | 0,9 |
| Ca - mleczan | 274 | 64 | 41,8 | 5,9 | 0,6 | 0,5 |
| | Pierwiastki niebiogenne mg/g suchej masy | | | | | |
| | Sr | Ln_2O_3 | Na | Al | Ba | Ti |
| fosfogips | 13 | 6,1 | 2,2 | 1,0 | 0,4 | 0,4 |
| Na - mleczan | 24 | 17,6 | 6,5 | 3,6 | 1,2 | 1,1 |
| Ca - mleczan | 11 | 9,8 | 2,0 | 1,9 | 0,7 | 0,5 |

4. Podsumowanie

We wszystkich badanych zespołach bakterii występowały bakterie redukujące siarczany z fosfogipsu do H_2S . Redukcja siarczanów była większa w hodowlach na mleczanie sodu niż wapnia (z wyjątkiem zespołu III i V). Wiąże się to najprawdopodobniej z hamowaniem rozpuszczalności fosfogipsu przez nadmiar jonów wapnia w tym podłożu. Maksymalna aktywność bakterii redukujących siarczany, notowana bezpośrednio po lag fazie przebiegającej z zakwaszeniem podłoża wskazywała na redukcję od 40 do 74% siarczanów fosfogipsu. Zawartość siarki ogólnej w osadach pochodowlanych wskazywała

na rozpuszczenie się fosfogipsu w ilości od 70 do 96%. Masa osadów pochodowlanych stanowiła średnio około 25% masy fosfogipsu w hodowlach z Namleczanem i 50% z Ca-mleczanem. Osady pochodowlane zawierały odpowiednio około 5 i 20% $\text{CaSO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (przeliczenie z siarki w osadach) stanowiącego osad pierwotny (I). Resztę stanowiły wytrącone do osadu fosforany i węglany wapnia (osad II) oraz „zanieczyszczenia” (zanieczyszczenia to wszystkie składniki nie wchodzące w skład osadu I i II). Zaobserwowano przemieszczanie się pierwiastków między osadami i podłożem hodowlanym: do podłoża przeszła znaczna część siarki i wapnia oraz w mniejszych ilościach pozostałe składniki zanieczyszczeń (Sr, Ba, Ln_2O_3). Z podłoża do osadu wytrącone zostały fosfor i żelazo. Zawartość pierwiastków w osadach pochodowlanych wskazuje na możliwość wykorzystania ich jako nawozu lub „rudy” lananowców.

Literatura

1. Kijowska R., Kowalczyk J., Mazanek C., Pawłowska-Kozińska D., (1988), *Fosfogips apatytowy — surowiec do otrzymywania ziem rzadkich i gipsu*. Wyd. Geol., Warszawa.
2. Meyer B., (1977), *Sulfur, energy, and environment*, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, Oxford, New York.
3. Kowalski W., Parafiniuk J., Stępisiewicz M., (1990), *Archiwum Mineral.*, 45, 115-132.
4. Trudinger P.A., Swaine D.J., (1979), *Biogeochemical cycling of mineral-forming elements*, Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, Oxford, New York.
5. Jorgensen B.B., (1982), *Nature*, 296, 643-645.
6. Postgate J.R., (1984), *The sulfate reducing bacteria*. 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge.

The microbial transformation of phosphogypsum in thermophilic anaerobic bacterial cultures

Summary

In thermophilic anaerobic bacterial cultures phosphogypsum is microbiologically transformed to H_2S , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , phosphate and calcium carbonate. The maximal received process efficiency amount to approximately 97%. The postcultivation sediments contain similar amounts of calcium, more phosphorus, more ferrum and magnesium, and smaller amounts of sulfur (mg/g of deposit) than phosphogypsum. The sediments may be applied as an agricultural fertilizer or a source of rare earths ores.

Key words:

phosphogypsum, microbial transformation, sulphate reducing bacteria, hydrogen sulfide.

Adres dla korespondencji:

Magdalena Przytocka-Jusiak, Instytut Mikrobiologii UW,
ul. Karowa 18, 00-324 Warszawa.