

Denitryfikacja wody pitnej w bioreaktorze membranowym

Wojciech Burda

Anna Anioł

Włodzimierz Grajek

Paweł Cyplik

Tomasz Małyszka

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności

Akademia Rolnicza

Poznań

1. Wstęp

Obecność azotanów w wodach powierzchniowych i gruntowych przeznaczonych do picia jest jednym z powodów, dla których liczba dostępnych źródeł wody konsumpcyjnej stale maleje. Dopuszczalne stężenie azotu azotanowego w wodzie do picia określane jest w różnych krajach w granicach od 5 do 20 mg N-NO₃/l. Źródłem związków azotowych w wodach są ścieki przemysłowe i miejskie, spływy i podsiąki z wysypisk śmieci czy ferm zwierząt hodowlanych oraz spływy obszarowe i przecieki z pól uprawnych nawożonych nawozami sztucznymi i organicznymi. Obecność azotu azotanowego w wodach ujmowanych do celów konsumpcyjnych jest niewskazana ze względów zdrowotnych. Dlatego też jest konieczne rozwinięcie wysokowydajnych metod denitryfikacji wody pitnej.

Szybki rozwój technik membranowych spowodował ich szerokie zastosowanie w biotechnologii środowiskowej (1). Powstała realna możliwość prowadzenia skutecznej denitryfikacji wody w bioreaktorze membranowym, który składa się z tradycyjnego reaktora połączonego z mikrofiltrem membranowym (2). Sprzężenie takie jest niezwykle korzystne w procesach o działaniu ciągłym, w takich reakcjach, gdzie koszt separacji produktu jest wysoki, oraz w takich, gdzie produkt silnie inhibuje przemiany biochemiczne.

W mikrobiologicznym reaktorze membranowym katalizatorem reakcji są enzymy produkowane przez żywe komórki. Podstawową zaletą takiego reaktora w stosunku do konwencjonalnego jest możliwość pracy przy zwiększonym stężeniu biomasy, co pozwala na istotne skrócenie czasu reakcji dzięki zwielokrotnieniu produktywności objętościowej bioreaktora.

Procesy prowadzone przy wysokiej koncentracji komórek mają też swoje wady. Można do nich zaliczyć zwiększoną skłonność do pienienia się mieszaniny reakcyjnej, skomplikowaną obsługę aparatury, wysoki koszt inwestycyjny wynikający z konieczności instalowania co najmniej dwóch równoległych modułów filtracyjnych i zwiększone niebezpieczeństwo mechanicznego uszkodzenia komórek. Siły niszczące są generowane praktycznie w każdym elemencie układu, poczynając od sił ścinających i ściskających w pompie cyrkulacyjnej, poprzez siły ścinające związane z szybkim przepływem komórek przez układ oraz siły tarcia o powierzchnię membrany podczas stychnego do niej przepływu zawiesiny komórkowej, a kończąc na zagrożeniach inercyjnych i ścinających występujących we wszystkich przewężeniach i zaworach instalacji.

2. Materiały i metody

2.1. Mikroorganizm

Do denitryfikacji wody użyto bakterii *Paracoccus denitrificans* (ATCC 19367). Kulturę utrzymywano w warunkach beztlenowych skosach agarowych w temperaturze 30°C przez 48 godzin. Płynne podłoże zawierało 25 g agaru wzbogaconego i 10 g glukozy dm^{-3} . Odczyn podłoża skorygowano do $\text{pH} = 7,4 \pm 0,1$.

2.2. Inoculum

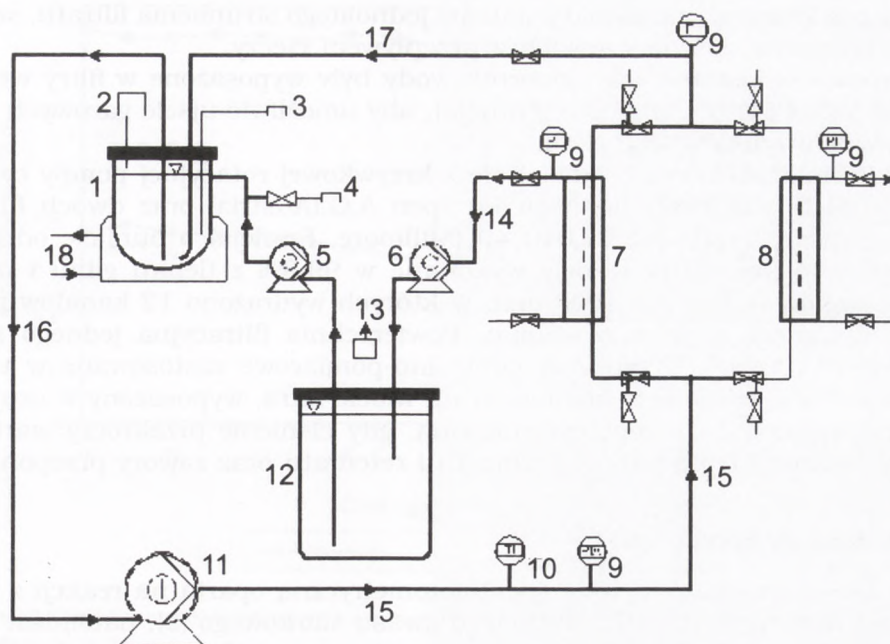
48-godzinna kultura zmywano ze skosu i przenoszono do pożywki płynnej zawierającej 15 g bulionu odżywczego i 10 g glukozy w dm^{-3} podłoża o $\text{pH} = 7,0 \pm 0,1$. Każda ze stożkowych kolb o pojemności 300 mL zawierających po 100 mL pożywki była zaszczepiana zmywem z trzech skosów agarowych. Tak przygotowaną hodowlę prowadzono przez 48 godzin w temperaturze 30°C. Po tym czasie hodowlę wirowano (4000 g, 10 min) przeznaczając uzyskaną biomasę na zaszczepienie hodowli doświadczalnej.

2.3. Warunki prowadzenia hodowli doświadczalnej

Doświadczenia prowadzono w bioreaktorze o pojemności roboczej 5 dm^{-3} , w warunkach beztlenowych. Reaktor był połączony z modułem mikrofiltra membranowego. Pożywkę zaszczepiono inoculum w ilości 10% objętości. W bioreaktorze nie stosowano mieszania mechanicznego; ruch cieczy, intensyfikujący wymianę masy, wywołany był hydraulicznie. W trakcie hodowli automatycznie kontrolowano temperaturę i pH (temp. $\approx 36^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 7,0$).

2.4. Roztwór azotanów

Wodę wodociagową do denitryfikacji przygotowywano w zbiorniku o pojemności 115 litrów. Roztwór zawierał azotan potasu i metanol w stężeniu



Rys. 1. Schemat instalacji doświadczalnej: 1) bioreaktor; 2) kontrola poziomu cieczy w bioreaktorze; 3) pobór prób masy; 4) pobór prób wody; 5) pompa perystaltyczna zasilająca bioreaktor; 6) pompa perystaltyczna odbierająca permeat; 7) filtr I — aktualnie pracujący; 8) filtr II — czyszczony; 9) manometr; 10) termometr; 11) krzywkowa pompa obiegu cieczy; 12) zbiornik wody zasilającej bioreaktor; 13) ujęcie gazowych produktów reakcji; 14) odciek permeatu; 15) zasilanie filtrów; 16) pobór zawiesiny z bioreaktora; 17) zwracanie retentatu; 18) chłodzenie bioreaktora.

odpowiednio $6 \text{ g NO}_3^- \text{ dm}^{-3}$ i $3,39 \text{ g dm}^{-3}$. Skład roztworu był modyfikowany stosownie do wymagań poszczególnych doświadczeń.

2.5. Aparatura doświadczalna

Układ aparaturowy został przedstawiony na rysunku 1. Denitryfikację prowadzono w bioreaktorze Bioflo III firmy New Brunswick Sci. (Edison, NJ, USA.), o pojemności 5 litrów, połączonym z modułem mikrofiltracyjnym. Bioreaktor wyposażono w elektrodę pH-metryczną Mettler Toledo 465-35-90-k9 podłączoną do mikroprocesora w układzie sterującym reaktora, który automatycznie korygował odczyn zawiesiny do poziomu $\text{pH} = 7,0$ dozując roztwór zakwaszający. Układ wyposażono także w czujnik poziomu cieczy w bioreaktorze, który był podłączony do przekaźnika elektrycznego załączającego pompę Watson-Marlow typ 501U. Pompa ta dozowała roztwór do bioreaktora pobierając go ze zbiornika o pojemności 115 litrów. Druga pompa odbierała permeat z modułu filtracyjnego i odprowadzała go z powrotem do zbiornika (doświadczenia z pełną recyrkulacją wody), bądź poza układ. Zastosowanie

pompy odbierającej umożliwiło ustalenie jednolitego strumienia filtratu, szczególnie istotne w doświadczeniach z przepływem cieczy.

Zarówno bioreaktor, jak i zbiornik wody były wyposażone w filtry wentylacyjne Millex FG-50 (Millipore, Francja), aby umożliwić ujście gazowych produktów denitryfikacji (N_2 , N_2O).

Moduł mikrofiltracyjny składał się z krzywkowej rotacyjnej pompy cyrkulacyjnej MET 228 firmy Johnson Pumpen A.G.(Austria) oraz dwóch filtrów ceramicznych Ceraflo MSFN 040 40 (Millipore, Francja) o punkcie odcięcia (*cut-off*) $0,45 \mu m$. Filtry te były wykonane w 99,3% z tlenku glinu i miały postać prętów o długości 1000 mm, w których wydrążono 12 kanałów przepływu stycznego o średnicy 4 mm. Powierzchnia filtracyjna jednego filtra wynosiła $0,130 m^2$. Urządzenia kontrolno-pomiarowe zastosowane w układzie stanowiły: termometr, manometr na wlocie filtra, wyposażony w czujniki skrajne wyłączające pompę cyrkulacyjną, gdy ciśnienie przekroczy wartości zadane, manometr po stronie permeatu i retentatu oraz zawory przeponowe.

2.6. Metody analityczne

Azotany oznaczano metodą spektrofotometryczną opartą na reakcji z salicylanem sodu w środowisku stężonego kwasu siarkowego (3), natomiast azot azotynowy metodą spektrofotometryczną z kwasem sulfanilowym i 1-naftyloaminą (4). Stężenie biomasy komórkowej określano metodą turbidometryczną poprzez pomiar transmitancji przy 660 nm.

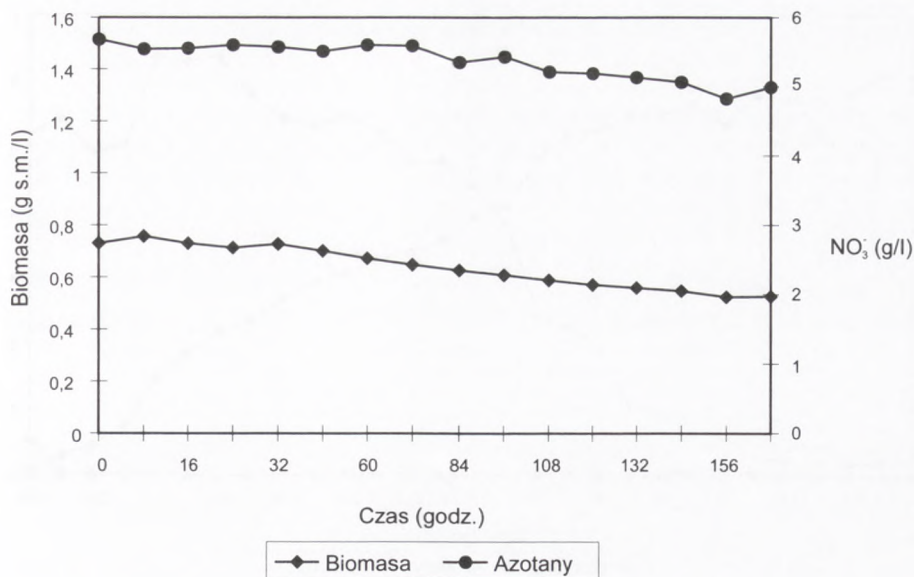
3. Wyniki i dyskusja

Do doświadczeń wybrano szczep *Paracoccus denitrificans* (ATCC 19367) ze względu na dużą szybkość reakcji denitryfikacji przy użyciu metanolu jako źródła węgla organicznego (5). Bakterie te są względnymi chemolitotrofami. Przy braku związków organicznych utleniają wodór przekazując elektron na tlen, a w warunkach beztlenowych na azotany. Przy obecności związków organicznych chemosynteza ustaje. W warunkach beztlenowych organizm ten uruchamia syntezę reduktaz tlenków azotu, które przenoszą elektrony podobnie jak łańcuch oddechowy, jednak ostatecznym akceptorem jest jon azotanowy. Końcowym produktem reakcji denitryfikacji prowadzonej przez *Paracoccus denitrificans* może być podtlenek azotu lub azot cząsteczkowy.

Proces denitryfikacji prowadzono dwoma metodami:

- okresową z recyrkulacją komórek w obrębie bioreaktora membranowego oraz recyrkulacją denitryfikowanego roztworu między bioreaktorem membranowym a zbiornikiem magazynowym;
- ciągłą z recyrkulacją komórek w obrębie bioreaktora membranowego i swobodnym przepływem roztworu azotanów przez bioreaktor i dalej do kanalizacji.

W procesie okresowym badano wpływ wzbogacania roztworu roboczego w źródło fosforu oraz w mikroelementy (Fe, Cu, Mg i Mo). W jednym z eks-



Rys. 2. Zmiany stężenia biomasy i azotanów w wodzie bez dodatkowych składników pokarmowych.

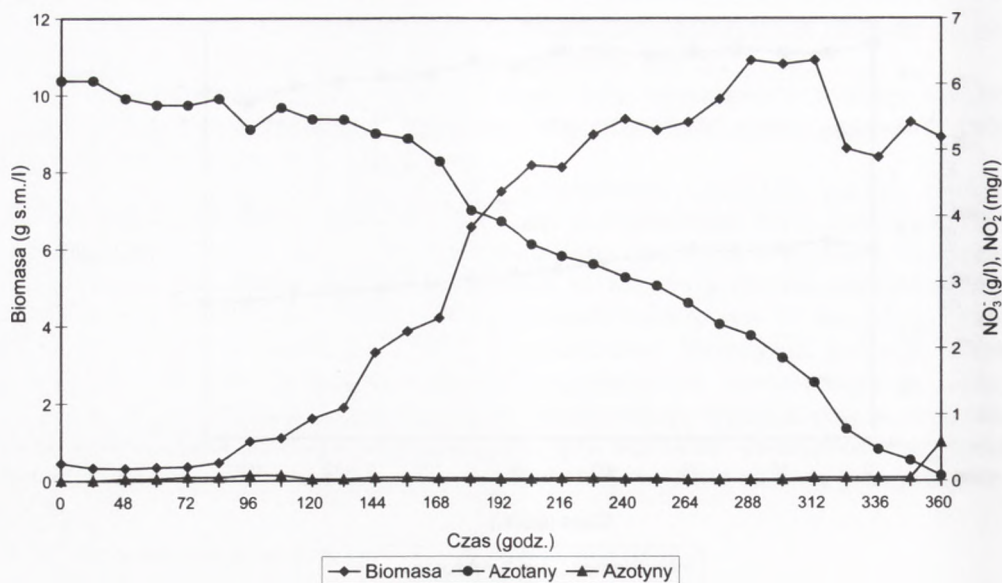
perymentów określano także wpływ początkowego stężenia bakterii na przebieg procesu redukcji azotanów. Wyniki tych badań przedstawiono poniżej.

3.1. Kinetyka denitryfikacji i wzrostu mikroorganizmów w procesie okresowym

3.1.1. Woda bez dodatków mineralnych

W pierwszym wariancie doświadczalnym badano kinetykę denitryfikacji mikrobiologicznej wody zawierającej $6 \text{ g NO}_3^- \text{ dm}^{-3}$ i $3,4 \text{ g metanolu dm}^{-3}$. Wielkość dawki metanolu została ustalona na podstawie stechiometrycznego równania reakcji, z uwzględnieniem 30% dodatku na przemiany biochemiczne i wzrost bakterii (6). Obserwacje dotyczące zmian stężenia azotanów i biomasy w czasie reakcji przedstawiono na rysunku 2.

W przeprowadzonych eksperymentach wykazano, że w przyjętych warunkach fermentacji nie uzyskano wydajnej denitryfikacji roztworu. W ciągu 10 dni stężenie jonów azotanowych zmniejszyło się zaledwie o $0,6 \text{ g dm}^{-3}$. Jednocześnie stwierdzono systematyczne, choć niewielkie bo sięgające niecałe $0,1 \text{ g dm}^{-3}$, zmniejszanie się koncentracji bakterii w miarę upływu czasu hodowli. Przyczyną takich wyników mogło być bądź niszczenie komórek wskutek stresu mechanicznego, bądź brak składników pokarmowych. Weryfikacji eksperymentalnej poddano najpierw hipotezę o braku niezbędnych składników pokarmowych w denitryfikowanej wodzie.

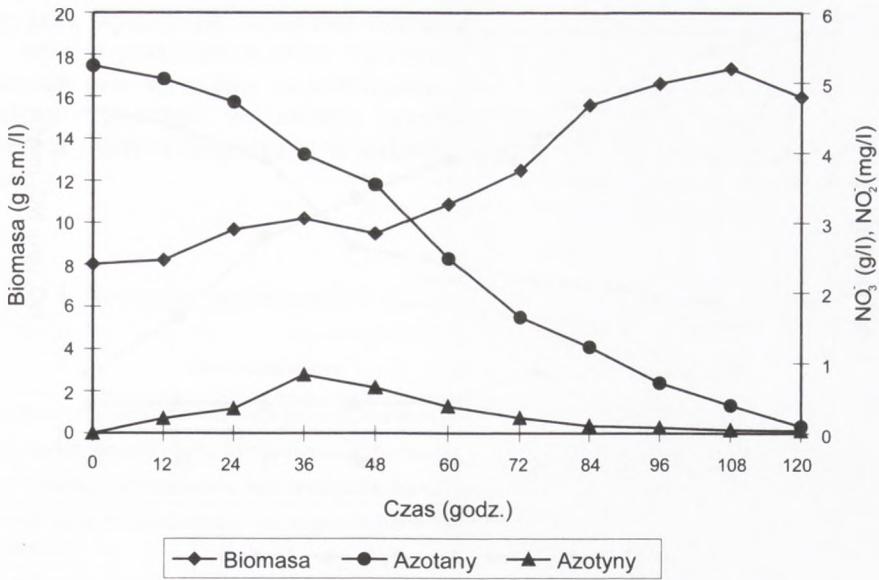


Rys. 3. Zmiany stężenia biomasy, azotanów i azotynów w czasie denitryfikacji wody wzbogaconej w fosforany. Początkowe stężenie azotanów wynosiło 6 g/l, a bakterii 0,45 g s.s./l.

3.1.2. Woda z dodatkiem fosforanów

W drugim etapie badań przeprowadzono denitryfikację roztworu azotanów wzbogaconego o dodatek $0,5 \text{ g PO}_4^{3-} \text{ dm}^{-3}$ w formie KH_2PO_4 . Dodatkowo wprowadzono drugą zmienną doświadczalną, tj. początkową koncentrację komórek bakteryjnych. W jednym eksperymencie wynosiła ona $0,45 \text{ g dm}^{-3}$ (rys. 3), a w drugim $8,0 \text{ g dm}^{-3}$ (rys. 4). W trakcie fermentacji obserwowano zmiany stężenia biomasy, azotanów i azotynów. Pozostałe warunki doświadczenia były takie same jak w opisanym doświadczeniu.

Hodowla z niskim początkowym stężeniem biomasy komórkowej wymagała aż 360 h do całkowitego usunięcia azotanów (rys. 3), podczas gdy ten sam efekt przy hodowli z dużą koncentracją biomasy został osiągnięty po 120 h (rys. 4), a zatem trzykrotnie szybciej. W obu przypadkach przebieg redukcji azotanów był prawie liniowy. Towarzyszyła jej obecność w roztworze niewielkiej ilości azotynów. Analizując dynamikę zmian koncentracji biomasy bakteryjnej należy odnotować, że w przypadku zastosowania małego inoculum przyrost biomasy był prawie 23-krotny, podczas gdy przy dużym inoculum tylko dwukrotny. Jednakże końcowa koncentracja biomasy była wyższa w przypadku użycia większego inoculum. Produktywność właściwa, to znaczy ilość zredukowanych jonów azotanowych w jednostce czasu przeliczona na jednostkę biomasy bakteryjnej w przypadku fermentacji prowadzonej przy małym inoculum wynosiła średnio $0,0016 \text{ g dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$, natomiast przy dużym inoculum była dwukrotnie wyższa i wynosiła $0,0030 \text{ g dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Przyczyną tej różnicy



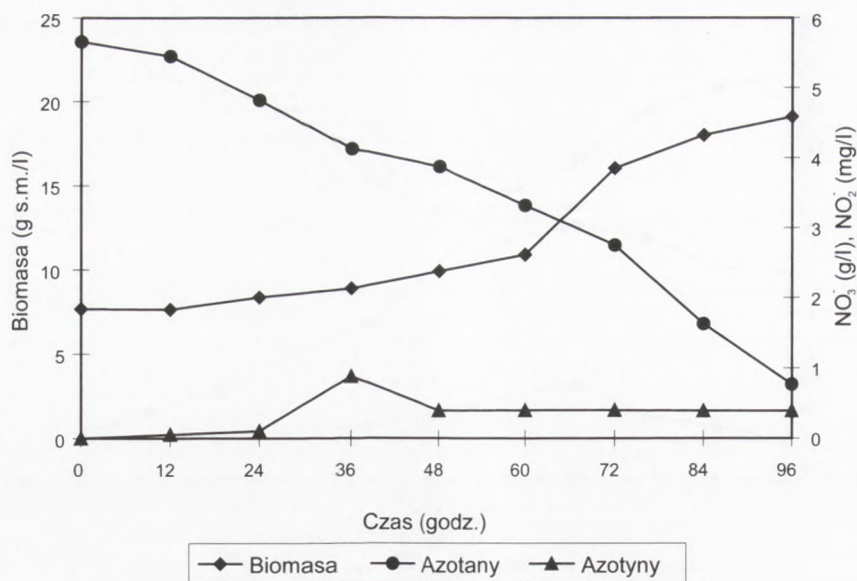
Rys. 4. Zmiany stężenia biomasy, azotanów i azotynów w czasie denitryfikacji wody wzbogaconej w fosfor. Początkowe stężenie azotanów wynosiło 5,3 g/l, a bakterii 8,0 g s.s./l.

jest obecność niewielkich ilości tlenu w układzie, który jest konkurencyjny w stosunku do azotanów. Wskazuje na to duży przyrost biomasy dla małych jej ilości początkowych. Przy dużych ilościach biomasy udział tlenu w jej przyroście staje się mniej istotny, podobnie jak i jego konkurencja w stosunku do azotanów. Stwierdzono także duży wpływ stężenia biomasy na objętościową wydajność procesu. Dla hodowli prowadzonej przy niskiej koncentracji bakterii wynosiła ona $0,0165 \text{ g NO}_3^- \text{ dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$, natomiast przy wysokiej koncentracji $0,0448 \text{ g NO}_3^- \text{ dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$. Oznacza to, że przy wyższej koncentracji biomasy uzyskano 2,7 razy większą wydajność usuwania azotanów i 2,6 razy wyższe średnie stężenie komórek bakterii. Jednocześnie analizując wyniki doświadczeń stwierdzono, że istotny i korzystny wpływ dodatku fosforanów zarówno na kinetykę denitryfikacji, jak i na tempo przyrostu biomasy. Potwierdziło to hipotezę o braku składników odżywczych w denitryfikowanym roztworze.

3.1.3. Woda z dodatkiem fosforanu i mikroelementów

W doświadczeniach z denitryfikacją roztworu wzbogaconego w fosfor wykazano, że dodatek składnika stanowiącego element budowy komórki w istotnym stopniu determinuje wydajność procesu denitryfikacji. Z tego względu zaplanowano wykonanie kolejnej serii doświadczeń, w której do wody zawierającej azotan i fosforan potasu wprowadzono zestaw mikroelementów.

W doświadczeniu denitryfikowano wodę zawierającą w dm^3 : 5,8 g NO_3^- w postaci KNO_3 , 3,4 g metanolu, 0,5 g PO_4^{3-} w postaci KH_2PO_4 oraz 0,5 g Mg^{2+}



Rys. 5. Zmiany stężenia biomasy, azotanów i azotynów w wodzie wzbogaconej w fosforany i mikroelementy.

w postaci $MgCl_2 \times 6 H_2O$, 70 mg Fe^{2+} w postaci $FeSO_4$, 1 mg Cu^{2+} w postaci $CuSO_4$ i 1 mg Mo^{6+} /l podany jako $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \times 4 H_2O$. Pozostałe warunki procesu były identyczne jak w doświadczeniach poprzednich. Z przedstawionych danych na rysunku 5 wynika, że w porównaniu z doświadczeniem, w którym denitryfikowano wodę wzbogaconą w fosforany (rys. 4), dodatek mikroelementów nie wywarł istotnego wpływu na proces redukcji azotanów. Jedyną istotną różnicą było wyraźne zmniejszenie stężenia azotynów w obrabianej wodzie. Dobowa wydajność właściwa hodowli w przeliczeniu na 1 g suchej biomasy komórkowej wynosiła 0,09144 g NO_3^- i była wyższa o ok. 10% od hodowli z dodatkiem samego fosforanu (tab. 1).

3.1.4. Wpływ stresu mechanicznego na przebieg procesu denitryfikacji

W celu określenia sił mechanicznych generowanych w bioreaktorze membranowym wykonano dwa równoległe doświadczenia, jedno metodą stacjonarną w szklanej kolbie, drugie w bioreaktorze membranowym, stosując tę samą pożywkę z dodatkiem fosforanu i mikroelementów oraz identyczną koncentrację komórek. Po 24 godzinach badano zawartość azotanów w obu hodowlach i porównywano wydajność dobową obu procesów. Wyniki tych doświadczeń przedstawiono na rysunku 6.

Porównanie wydajności denitryfikacji w bioreaktorze i hodowli stacjonarnej (rys. 6) wskazuje na istotny niekorzystny wpływ sił mechanicznych na wydajność denitryfikacji. W hodowli stacjonarnej uzyskano prawie dwukrot-

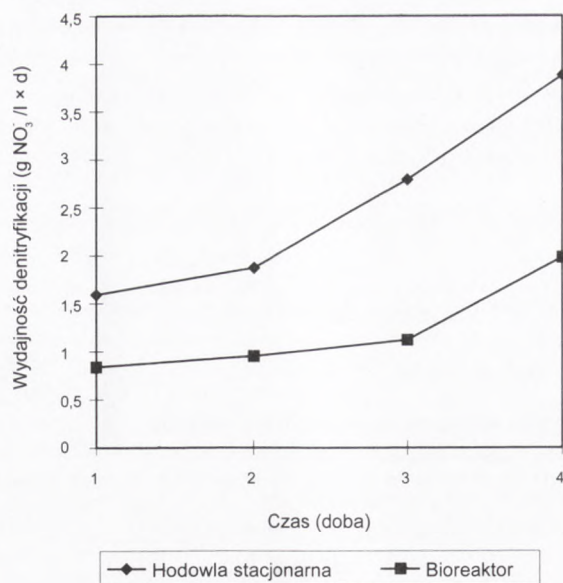
nie wyższą wydajność właściwą denitryfikacji niż w bioreaktorze membranowym. Biorąc pod uwagę silne ogrzewanie roztworu w pompie wydaje się, że to właśnie ona wywołuje najsilniejszy stres mechaniczny dla komórek. Mimo to należy stwierdzić, że reakcja prowadzona w bioreaktorze membranowym z użyciem wody wzbogaconej w substancje odżywcze przebiegała z dużą szybkością.

TABELA 1
WYDAJNOŚĆ DENITRYFIKACJI W ZALEŻNOŚCI OD WARUNKÓW HODOWLI BAKTERII

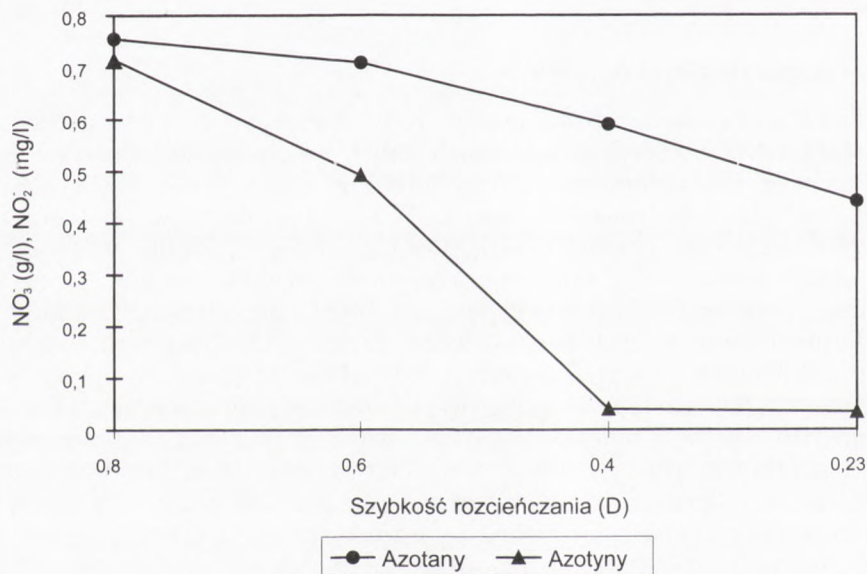
Doświadczenie	Wydajność właściwa $\text{g NO}_3^- \text{ dm}^{-3} \text{ d}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ s.m. bakterii}$
denitryfikacja w środowisku wzbogaconym o dodatek fosforanów	
• z niską początkową koncentracją biomasy	0,08136
• z wysoką początkową koncentracją biomasy	0,08472
denitryfikacja w środowisku wzbogaconym o fosforany i mikroelementy	0,09144
denitryfikacja w układzie przepływowym o różnych szybkościach rozcieńczania (D)	
D = 0,23	0,34728
D = 0,4	0,31944
D = 0,6	0,32184
D = 0,8	0,2592

3.2. Ciągła denitryfikacja wody

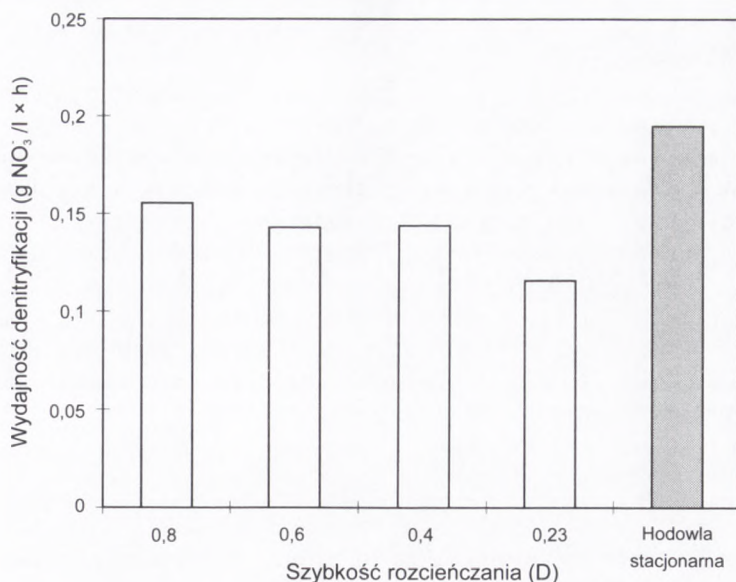
W doświadczeniu denitryfikowano wodę zawierającą: $0,948 \text{ g NO}_3^- \text{ dm}^{-3}$ (w postaci KNO_3), $0,566 \text{ g metanolu dm}^{-3}$, $0,1 \text{ g PO}_4^{3-} \text{ dm}^{-3}$ (w postaci KH_2PO_4) oraz mikroelementy: $0,5 \text{ g Mg}^{2+} \text{ dm}^{-3}$ (w postaci $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{ H}_2\text{O}$), $70 \text{ mg Fe}^{2+} \text{ dm}^{-3}$ (w postaci FeSO_4), $1 \text{ mg Cu}^{2+} \text{ dm}^{-3}$ (w postaci CuSO_4) $1 \text{ mg Mo}^{6+} \text{ dm}^{-3}$ (w postaci $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4 \text{ H}_2\text{O}$). Woda pobierana była ze zbiornika zasilającego, jak w poprzednich doświadczeniach, ale po przejściu przez reaktor membranowy permeat trafiał do odpływu. Badano szybkość denitryfikacji przy stałym stężeniu biomasy ($10,74 \text{ g s.m./l}$) przy różnych prędkościach przepływu wody przez układ wyrażonych jako szybkość rozcieńczania (D), czyli ilość pożywki dopływającej do bioreaktora w czasie 1 godziny do objętości bioreaktora. Obserwacje dotyczyły zmian stężenia azotanów i azotynów. Na rysunku 7 przedstawiono poziom stężenia azotanów i azotynów w odfermentowanej pożywce uzyskiwanej przy różnych szybkościach rozcieńczania. Stwierdzono, że zmniejszenie wartości D wpływało korzystnie na redukcję stężenia azotanów. Jednocześnie określono wydajność objętościową bioreaktora w procesie stacjonarnym i ciągłym prowadzonym przy różnych D. Wyniki doświadczenia przedstawiono na rysunku 8. Stwierdzono, że wraz ze wzrostem szybkości rozcieńczania rośnie wydajność obję-



Rys. 6. Porównanie wydajności denitryfikacji w bioreaktorze i w hodowli stacjonarnej.



Rys. 7. Porównanie stężenia azotanów i azotynów w wodzie wypływającej z bioreaktora przy różnych szybkościach rozcieńczenia.



Rys. 8. Porównanie wydajności denitryfikacji przy różnych szybkościach rozcieńczenia z wydajnością hodowli stacjonarnej.

tościowa bioreaktora, jednakże wydajności te były mniejsze niż wydajność uzyskana w okresowej hodowli stacjonarnej. Porównanie przebiegu reakcji denitryfikacji, prowadzonych w hodowli stacjonarnej i hodowli ciągłej wskazuje na wyraźnie niekorzystny wpływ sił mechanicznych na wydajność denitryfikacji (rys. 8).

Jeśli porównać wyniki uzyskane w doświadczeniach z danymi literaturowymi, trzeba stwierdzić, że wydajność denitryfikacji w doświadczeniach z recyrkulacją wody była wyższa (średnio $0,00345 \text{ g NO}_3^- \text{ dm}^{-3} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ s.m.}$), niż w bioreaktorze ze złożem fluidalnym bakterii uwięzionych w żelu ($0,0001 \text{ g NO}_3^- \text{ dm}^{-3} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ s.m.}$), ale dwukrotnie niższa od wydajności osiągniętej w wysoko obciążonym złożu fluidalnym bakterii zasiedlających nośnik stały ($0,0075 \text{ g NO}_3^- \text{ dm}^{-3} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ s.m.}$) (7). Jednak, gdy porównać wydajność w doświadczeniach przepływowych, należy jednoznacznie stwierdzić, że w bioreaktorze membranowym uzyskuje się większą szybkość reakcji (do $0,01474 \text{ g NO}_3^- \text{ dm}^{-3} \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ s.m.}$).

4. Wnioski

Przedstawione wyniki pozwalają na wyciągnięcie następujących wniosków:

1. W wodzie zawierającej tylko azotany i metanol obserwuje się bardzo niską szybkość denitryfikacji.
2. Stwierdzono, że szybkość reakcji denitryfikacji i ilość biomasy komór-

kowej zwiększają się w sposób istotny po wprowadzeniu do wody soli fosforowych i mikroelementów.

3. Wykazano, że zwiększenie stężenia komórek bakteryjnych w bioreaktorze istotnie przyspiesza proces denitryfikacji wody.

4. Szybkość wzrostu bakterii jest zależna od początkowej koncentracji komórek. Wykazano, że przy małym dodatku inoculum szybkość wzrostu bakterii była większa niż przy dużym dodatku.

5. Siły ścinające generowane w układzie doświadczalnym ujemnie wpływają na szybkość przyrostu biomasy i usuwania azotanów.

6. Wydajność właściwa denitryfikacji prowadzonej metodą ciągłą jest 3 – 4-krotnie wyższa niż w metodzie okresowej. Zwiększenie szybkości rozcieńczenia wpływa korzystnie na wydajność właściwą i wydajność okresową reaktora membranowego.

Literatura

1. Bodzek M., Bohdziewicz J., Konieczny K., (1997), *Techniki membranowe w ochronie środowiska*, Wyd. Poli. Śl., Gliwice.
2. Noworyta A., Bryjak J., (1993), *Biotechnologia*, 22, 5-15.
3. PN-82C-04576.08, Woda i ścieki. Badania zawartości związków azotu. Oznaczanie azotu azotanowego metodą kalorymetryczną z salicylanem sodu.
4. Marczenko Z., (1978), *Spektrofotometryczne oznaczanie pierwiastków*, PWN, Warszawa.
5. Błaszczak M., Gałka E., Sakowicz E., Mycielski R., (1985), *Acta Microbiol. Pol.*, 34, 195-206.
6. Matějů V., Čižinská S., Krajčů J., Janoch T., (1992), *Enzyme Microb. Technol.*, 14, 170-183.
7. Robertson L. A., Kuenen J. G., (1992), *Nitrogen removal from water and waste*, Cambridge University Press, Society for General Microbiology Ltd, 227-267.

Denitrification of drinking water in membrane bioreactor

Summary

The aim of this study was to define denitrification kinetics using bacteria *Paracoccus denitrificans* cultivated in membrane bioreactor equipped with microfilter module with ceramic cartridge with cut off 0.45 μm . Water used in experiments was loaded with very strong nitrate concentration reaching up to 6,0 g NO_3^-/L . Methanol was used as carbon source and was added in an amount 30% higher than the one calculated stoichiometrically. The pH value of water was automatically adjusted to 7,0. As experimental variables the following parameters were tested: i) supplementation of water with some nutrients, including monopotassium phosphate and microelements: molybdenum, copper, ferric and magnesium ions, variable initial cell biomass concentration, ii) different cultivation methods: stationary batch fermentation in glass flasks and continuous fermentation in membrane bioreactor with cell recycling, iii) procedure of water supply to bioreactor; in a closed system container/membrane bioreactor, and in an open system with continuous water flow through membrane bioreactor.

The results obtained in experimental fermentations showed that bacteria *Paracoccus denitrificans* efficiently removed nitrate ions from water. It was found that fermentation conditions significantly affected bacteria growth and denitrification rate. It was observed that addition of phosphate and microelements into drinking water significantly increased denitrification rate and

cell growth. An important factor influencing denitrification rate was the initial cell concentration. However, the effect of that factor lost its significance with the fermentation time.

Comparing the effect of fermentation conditions on the denitrification rate, an inhibiting effect of shear forces caused by lobar pump was observed.

Upon continuous biodenitrification in membrane bioreactor with open water flow, a maximum volumetric nitrate reduction yield reached $1,7 \text{ g NO}_3^- \text{ dm}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and specific denitrification rate amounted to $0,0145 \text{ g NO}_3^- \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$ of cell dry matter. After three days of fermentation, cell concentration reached the value of 20-35 g dry matter per liter. On the basis of obtained the results, the mathematical models of cell growth kinetics, denitrification kinetics as well as the model of denitrification rate as a function of cell concentration have been proposed.

Key words:

denitrification, nitrate, membrane reactor, *Paracoccus denitrificans*, drink water.

Adres do korespondencji:

Paweł Cyplik, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Akademia Rolnicza, ul. Mazowiecka 48, 60-623 Poznań.