

Sulfidoxidation in kommunalem Abwasser

M. Friedrich*, M. Schmidt*, J. Küver**, H.H. Schulz***

* Ingenieurbüro Friedrich, August-Bebel-Straße 14, 19055 Schwerin,
e-mail: michael.friedrich@p4all.de

** Amtliche Materialprüfungsanstalt Bremen, Abt. Mikrobiologie, Paul - Feller - Str. 1,
28199 Bremen,
e-mail: kuever@mpa-bremen.de

***Eurawasser Mecklenburg GmbH, Heideweg 43, 18273 Güstrow,
e-mail: h.schulz@eurawasser.de

Zusammenfassung

Innerhalb des biologischen Schwefelkreislaufes spielen die Sulfatreduktion und die Sulfidoxidation bei der Abwasserveränderung während des Transportes eine entscheidende Rolle. Die Ursachen und der Verlauf der Sulfatreduktion in Abwasserableitungssystemen sind intensiv erforscht worden. Die Sulfidoxidation hingegen wurde vorwiegend im Zusammenhang mit der biogenen Schwefelsäurekorrosion betrachtet. In diesem Beitrag wird insbesondere auf die biologische Sulfidoxidation in kommunalem Abwasser eingegangen. Dazu werden Untersuchungen zur Anzahl, Art und Verhaltensweise von schwefeloxidierenden Bakterien (SOB) im Abwasser und in angereicherten Kulturen vorgestellt. In diesem Zusammenhang wurde ein Verfahren entwickelt, bei dem SOB im Biofilm einer Abwasserdruckrohrleitung angereichert und im besonderen Maße gezielt zur Sulfidoxidation im Abwasser genutzt werden können.

1. Einführung

1.1 Biologischer Schwefelkreislauf

Schwefel kommt in allen Organismen in organischen Komponenten wie Aminosäuren, Polypeptiden, Koenzymen, Antibiotika, Fetten und Kohlenhydraten vor. Dabei hat Schwefel eine katalytische, strukturelle oder regulatorische Funktion. Anorganische Schwefelkomponenten sind in ihrer Funktion beschränkt [1]. Einerseits

dienen sie dem Zellaufbau und werden in die o.g. organischen Komponenten integriert oder sie fungieren als Elektronendonator oder Elektronenakzeptor für die Energiegewinnung (z.B. Sulfatatmung).

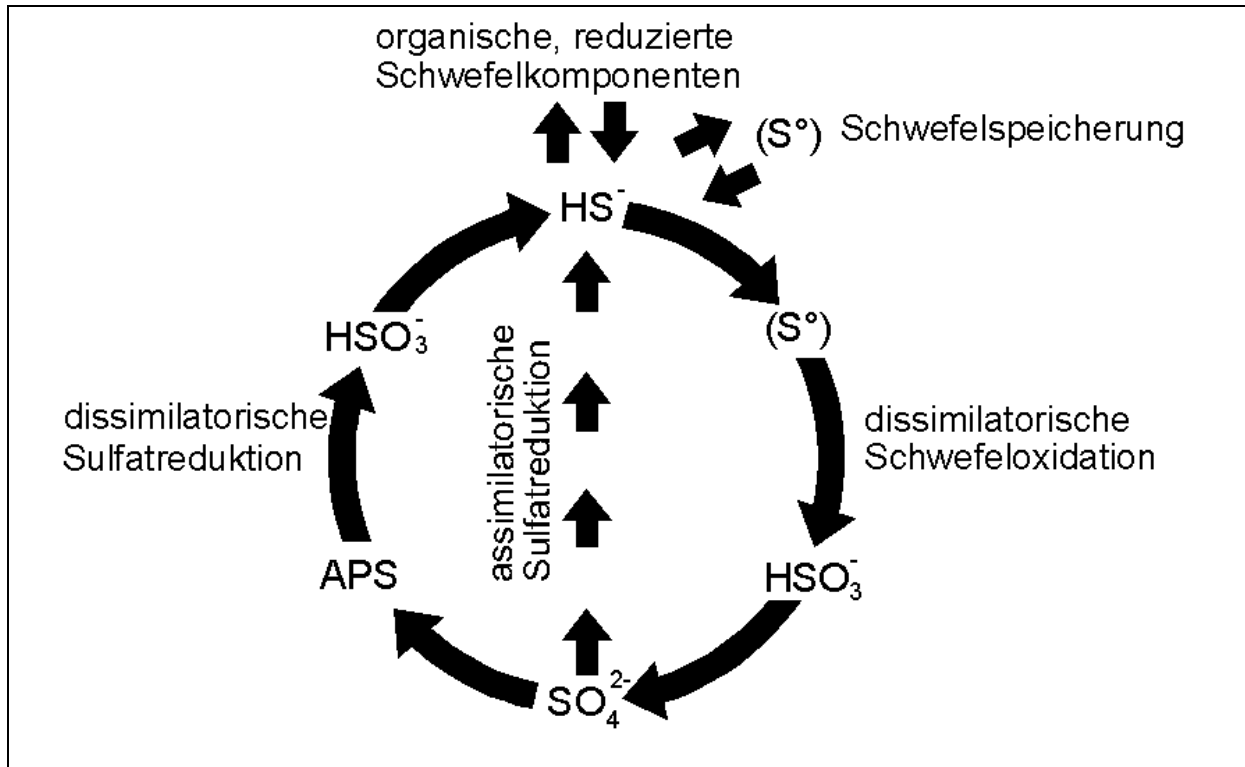


Abb. 1: Biologischer Schwefelkreislauf [1]

In natürlichen Habitaten sind die Stoffwechselwege verknüpft. Schwefeloxidierer und Schwefelreduzierer bilden ein sogenanntes „Sulfuretum“ [2]. In Sulfureta mit hohen Schwefelumsatzraten wird der gesamte Schwefelkreislauf zwischen Sulfid und Sulfat durchlaufen (Abb.1). Dort, wo ein geringer Schwefelumsatz erfolgt, wird ein kleiner Schwefelkreislauf zwischen elementarem Schwefel und Sulfid zu beobachten sein. In jedem Fall spielt hier das Vorhandensein eines Oxidationsmittels eine wesentliche Rolle.

Ein Beispiel für ein Sulfuretum ist der Biofilm einer Abwasserleitung (Abb. 2). Die obere, dünne Schicht ist aerob und durch die mikrobielle Oxidation von Sulfid zu Sulfat gekennzeichnet. Hingegen ist die untere, viel dickere Schicht des Biofilms durch anoxische Milieubedingungen und die mikrobielle Reduktion von Sulfat zu

Sulfid charakterisiert. Zwischen beiden Biofilmschichten findet ein Austausch der Reaktionsprodukte statt.

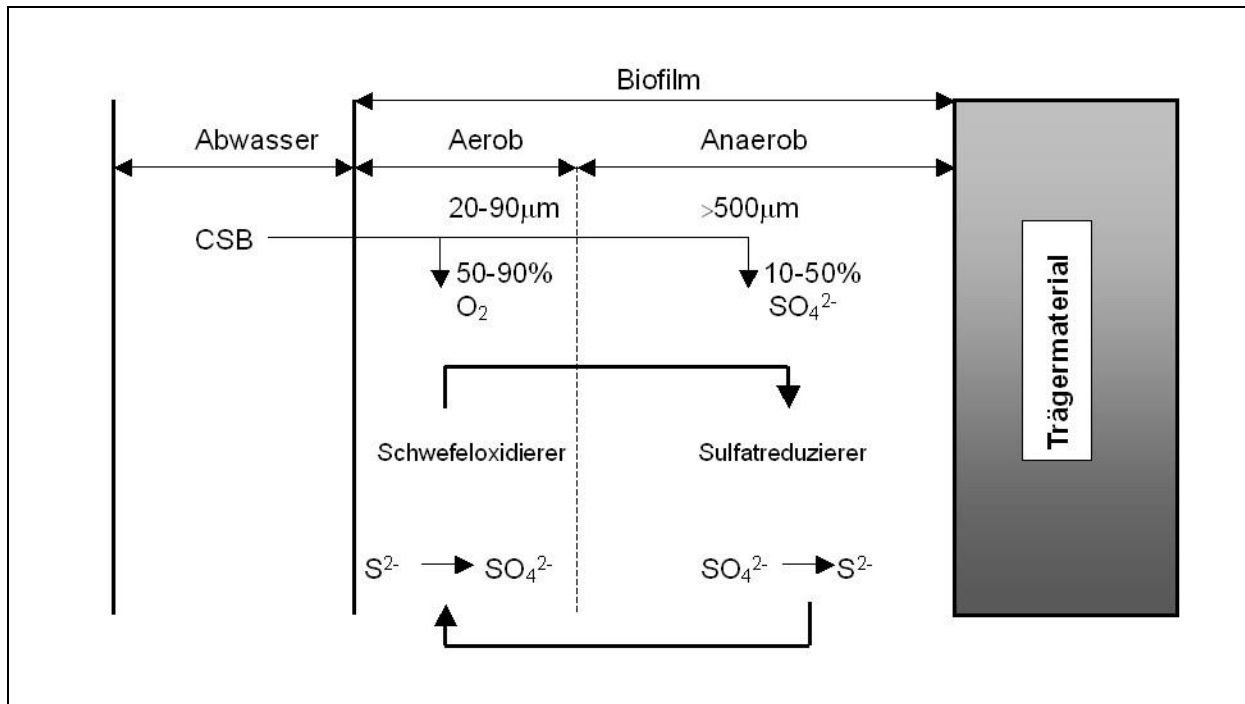


Abb. 2: Der Biofilm einer Abwasserleitung als Sulfuretum [3]

1.2 Sulfidoxidation

Viele Bakterien und sogar Cyanobakterien und Archaea sind in der Lage, reduzierte Schwefelverbindungen zu oxidieren. Bei vielen schwefeloxidierenden Bakterien (SOB) handelt es sich um chemoautotrophe Bakterien. Manche von ihnen sind jedoch auch fakultativ autotroph und andere können die Energie des Sonnenlichtes nutzen (photoautotroph).

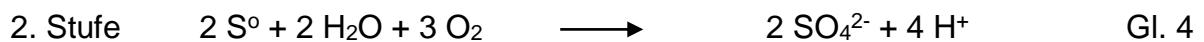
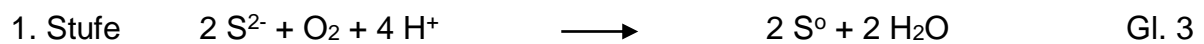
Die meisten SOB werden auch als „Farblose Schwefelbakterien“ bezeichnet, da diese Organismen über keinerlei Pigmente verfügen [5]. Es ist charakteristisch für SOB, dass sie reduzierte Schwefelverbindungen als Substrate nutzen können. Die meisten SOB oxidieren Sulfid bis zu Sulfat. Als Zwischenprodukt tritt in der Regel immer Schwefel auf, der dann weiter zu Sulfat oxidiert wird. Wenige SOB können Sulfid nur bis zu elementarem Schwefel oxidieren.

Die chemischen Autooxidation von Sulfid ist für das Wachstum von SOB eine Konkurrenzreaktion, gegen die sie sich durch eine besonders schnelle Oxidation von Sulfid zum elementarem Schwefel schützen können. Dieser elementare Schwefel wird vorrangig auf der Zellmembran der SOB immobilisiert und dann in einem zweiten langsameren Oxidationsschritt zu Sulfat oxidiert. Folgende chemische Gleichungen beschreiben diese Reaktion [5]:

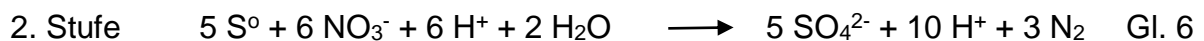


Diese oxidativen Reaktionen sind mit der Reduktion von O_2 oder NO_3^- verbunden. Die Gesamtreaktionen ergeben sich dann zu:

Sauerstoff als Oxidationsmittel



Nitrat als Oxidationsmittel



Stöchiometrisch ergibt sich aus diesen Gleichungen folgender Oxidationsmittelverbrauch:

	mg O_2 /mg S	mg NO_3^- /mg S
$\text{S}^{2-} \longrightarrow \text{S}^0$	0,5	0,8
$\text{S}^0 \longrightarrow \text{SO}_4^{2-}$	1,5	2,3
$\text{S}^{2-} \longrightarrow \text{SO}_4^{2-}$	2,0	3,1

Tab. 1: Oxidationsmittelverbrauch bei der Schwefeloxidation

Von Bedeutung ist darüber hinaus, dass bei dem ersten Oxidationsschritt der pH-Wert ansteigt und beim zweiten Oxidationsschritt um so mehr abfällt. Der pH-Wert-Abfall wird bei der biogenen Schwefelsäurekorrosion beobachtet, wo pH-Werte < 2 im Biofilm von Betonbauwerken beobachtet wurden [6].

2. Angereicherte Kulturen

2.1 Allgemeines

Um das Potential an SOB im Abwasser zu bestimmen, wurden Abwasserproben am Auslauf einer kommunalen Abwasserdruckrohrleitung entnommen und in einem Batch-Reaktor belüftet bzw. mit einer Nitratlösung kultiviert.

Nach der Oxidation der organischen Inhaltsstoffe konnten durch die Zugabe von Sulfid Verhältnisse geschaffen werden, in denen SOB wachsen. Die mikrobielle Aktivität wurde über die Bestimmung der Sauerstoff- bzw. Nitratzehrungsrate verfolgt. Außerdem wurden von den Abwasserproben und den angereicherten Kulturen die dominierenden SOB isoliert und phylogenetisch zugeordnet.

2.2 Sauerstoff als Oxidationsmittel

Zur Oxidation der organischen Abwasserinhaltsstoffe wurde das Abwasser zwei Tage belüftet. Die Sauerstoffzehrungsrate (OUR) wurde bestimmt, indem der Batch-Reaktor über eine Min-Max-Steuerung zwischen 3 und 4 mg O_2/l belüftet und die Zeit gemessen wurde, die zum Verbrauch des eingetragenen Sauerstoffs notwendig war. Am Ende der ersten Phase betrug die Sauerstoffzehrungsrate 10 mg $O_2/(l \cdot h)$.

Im Folgenden wurde die Sulfidkonzentration durch Zugabe von Na_2S auf 20 mg S/l aufgestockt. Daraufhin stieg die Sauerstoffzehrungsrate an und fiel nach der Oxidation des Sulfides wieder ab. Nach beendetem Sulfidabbau wurde die Na_2S -Zugabe wiederholt und der Zehrungsverlauf beobachtet. Die Sauerstoffzehrungsrate nach der Sulfidzugabe hängt von der Anzahl der SOB ab, die sich im Batch-Reaktor

befinden. Je höher diese initiale Zehrungsrate ist, desto mehr SOB konnten angereichert werden.

Wie in der Abbildung 3 zu sehen ist, wurde zum Ende des ersten Tages der Versuchsphase eine Sauerstoffzehrungsrate von 60 mg/(l*h) erreicht, wobei entsprechend für die Oxidation von 20 mg S/l ca. 22 min benötigt wurde. Das entspricht einer Sulfidoxidationsrate von 54 mg S/(l*h). Am Ende des zweiten Tages wurde eine Sauerstoffzehrungsrate von 110 mg/(l*h) erreicht und eine Sulfidoxidationsrate von 133 mg/(l*h) gemessen.

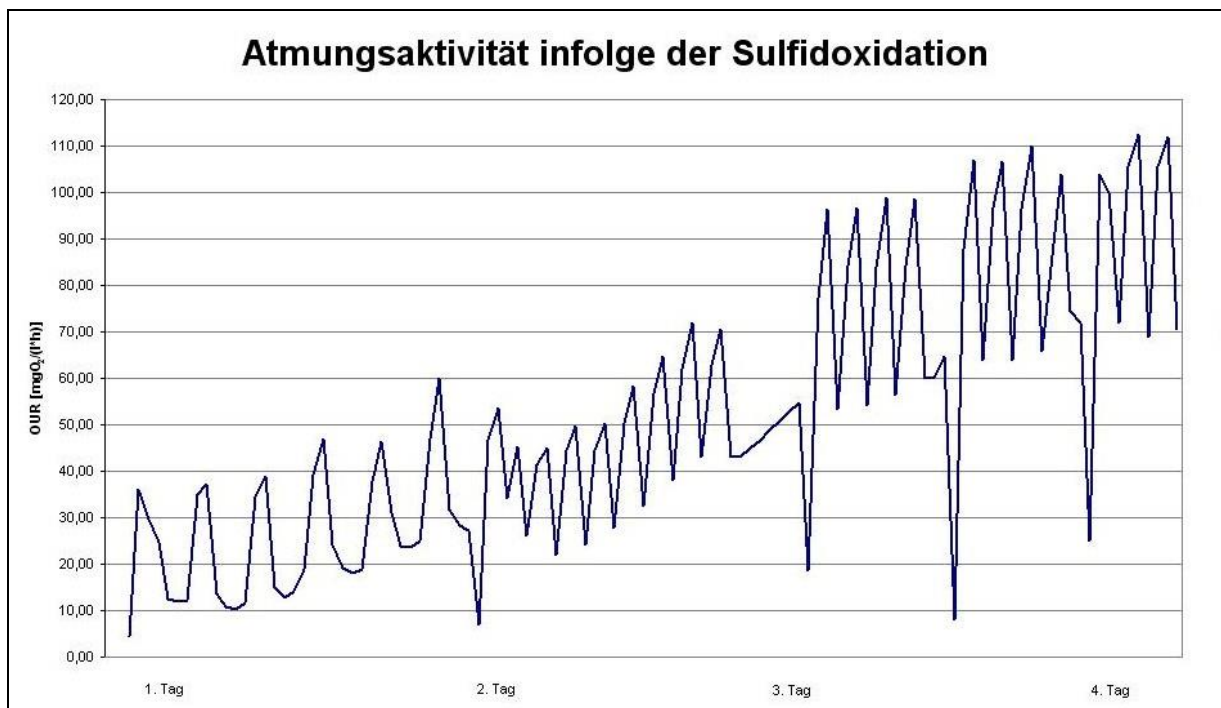


Abb. 3: Zunahme von SOB im Pilot-Fermenter (Anreicherungskulturen)

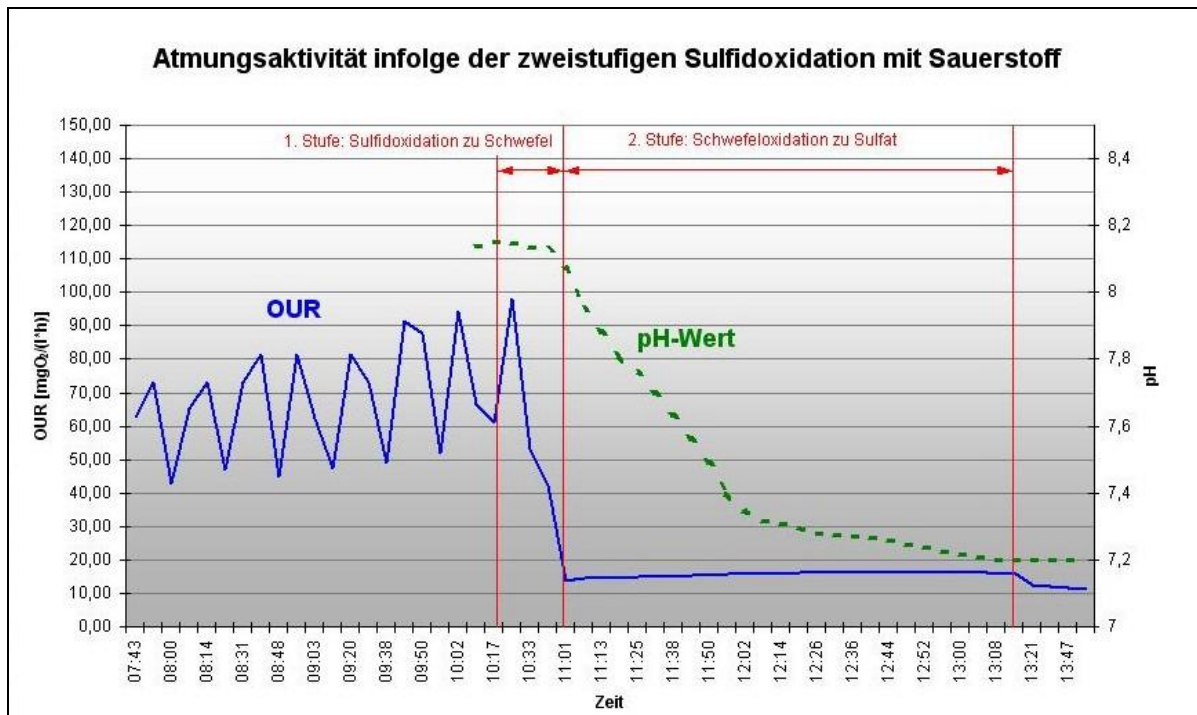


Abb. 4: Zweistufigkeit der Schwefeloxidation in Abwasser mit Sauerstoff

Deutlich sichtbar ist in der Abbildung 4 die Zweistufigkeit der Oxidation des zugeführten Sulfides. Nach einer anfänglich hohen Sauerstoffzehrung, die vermutlich für die Oxidation von Sulfid zu Schwefel steht, fällt die Sauerstoffzehrung auf ein unteres Plateau.

Hier bleibt die Sauerstoffzehrungsrate über einen langen Zeitraum relativ konstant und fällt dann noch weiter ab. Während dieser Plateauphase läuft vermutlich vorrangig die zweite Oxidationsstufe von Schwefel zu Sulfat ab. Zur Stützung dieser Vermutung wurde der pH-Wert gemessen, da die Bestimmung der Sulfatkonzentration mit der gewünschten Probendichte und Zuverlässigkeit nicht möglich war. Der pH-Wert blieb in der ersten Oxidationsphase konstant und fällt erst während der zweiten Oxidationsphase ab.

Zur späteren Bestimmung des Oxidationsmittelverbrauches wurden Versuche mit weiter auseinanderliegenden Min-Max-Grenzen und geringeren Sulfidkonzentrationen gemacht, so dass keine Belüftungsphase während der Oxidation notwendig wurde.

Der spezifische Sauerstoffverbrauch betrug im Mittel für die erste Oxidationsstufe 0,68 mg O₂/mg S und für die zweite Oxidationsstufe 1,88 mg O₂/mg S. Der Sauerstoffverbrauch der ersten Oxidationsstufe liegt über dem stöchiometrischen Wert von 0,5 mg O₂/mg S.

Wahrscheinlich läuft die zweite Oxidationsstufe bereits parallel zur ersten ab. Insgesamt wurde für beide Oxidationsschritte ein spezifischer Sauerstoffverbrauch von 2,56 mg O₂/mg S ermittelt, was sich gut mit dem stöchiometrischen bestimmten Verhältnis von 2,50 mg O₂/mg S (Tab. 1) deckt.

2.3 Nitrat als Oxidationsmittel

Für die Messungen mit Nitrat als Oxidationsmittel wurde der gleiche Versuchsaufbau genutzt. Da es sich um einen offenen Batch-Reaktor handelt, wurde die Oberfläche der Flüssigkeit mit Styroporwürfeln bedeckt, so dass der Sauerstoffeintrag durch das Rühren minimiert wurde. Die Nitratmessung wurde mit einem Nitratmessgerät der Fa. Dr. Lange (Nitratax) durchgeführt.

Die Abwasserprobe wurde analog der Anreicherung mit Sauerstoff entnommen und behandelt, ehe die Sulfiddosierung erfolgte. Der Nitratmesswert wurde jedoch durch die Zugabe von Na₂S so sehr gestört, dass eine Nutzung des Messwertes für Massenbilanzen nicht möglich war. Er gab lediglich einen Anhaltspunkt für die Nitrat- und Sulfid-Dosierung.

Ein Hinweis auf die Zweistufendynamik der Oxidation konnte hier über die Sulfidabnahme und den pH-Wert (Abb. 5) ermittelt werden. In der ersten Oxidationsphase stieg der pH-Wert an, da stöchiometrisch 12 H⁺-Ionen in der ersten Oxidationsstufe verbraucht werden (Gl. 5). Während der zweiten Oxidationsstufe fiel der pH-Wert ab, da hier mehr H⁺-Ionen gebildet als verbraucht wurden (Gl.6).

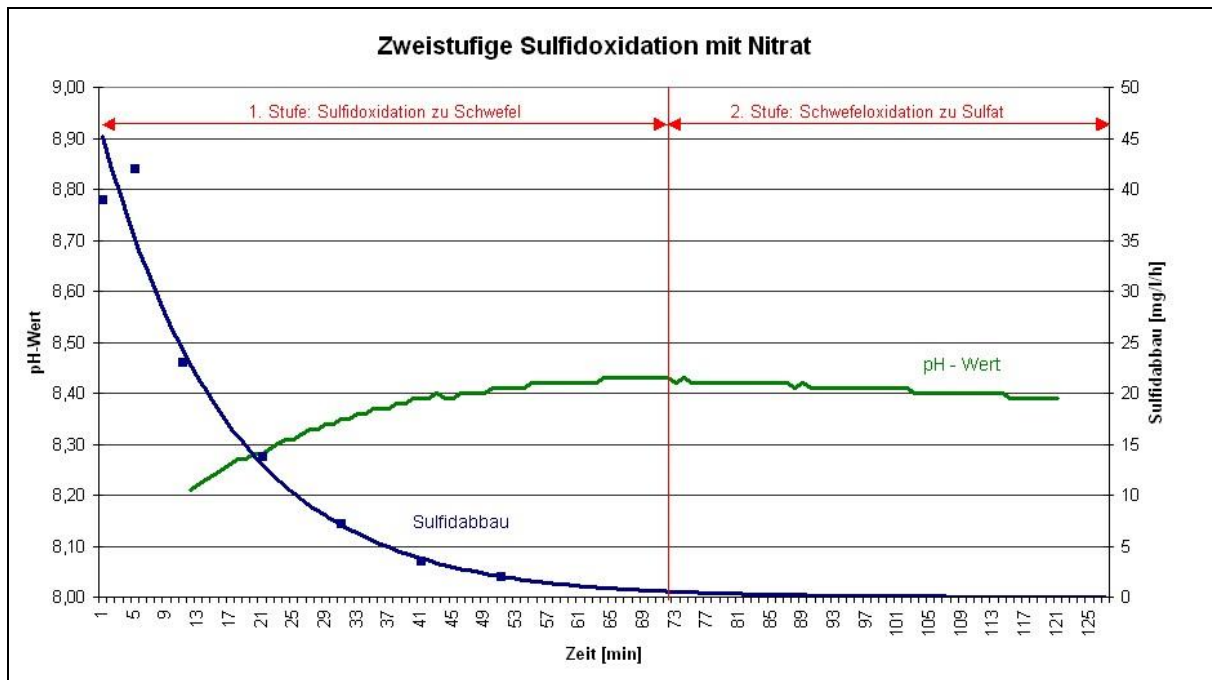


Abb. 5: Zweistufigkeit der Schwefeloxidation in Abwasser mit Nitrat als Oxidationsmittel

3. Mikrobiologische Untersuchungen

Zur Quantifizierung und Isolierung der SOB wurden Proben aus (a) dem Rohabwasser, (b) den angereicherten Kulturen mit Sauerstoff und (c) den angereicherten Kulturen mit Nitrat als Oxidationsmittel entnommen. Diese wurden zehnfach verdünnt in Dreierserien angesetzt. Die Inkubation erfolgte für sechs Wochen bei Raumtemperatur.

Für aerobe SOB liegen die Zellzahlen in der gleichen Größenordnung, lediglich für Nitrat liegen sie niedriger. In beiden Fällen sind aber kaum Unterschiede zwischen dem Abwasser und den Pilot-Fermentern zu sehen, obwohl die Zahl der bakterienfressenden Cilliaten in den Batch-Reaktoren (vermutlich durch die Temperaturerhöhung) deutlich höher war. Eine Übertragung der Laborergebnisse auf das Abwasser sollte also möglich sein.

Probe	Zellzahl aerober autotropher Schwefeloxidierer pro ml Flüssigkeit	Zellzahl aerober auto/heterotropher Schwefeloxidierer pro ml Flüssigkeit	Zellzahl anaerober autotropher Schwefeloxidierer pro ml Flüssigkeit
Rohabwasser	$1.1 \cdot 10^7$	$1.1 \cdot 10^7$	$2.1 \cdot 10^5$
Oxischer Fermenter mit Sulfid als Substrat	$2.0 \cdot 10^7$	$5.0 \cdot 10^5$	Nicht bestimmt
Anoxischer Fermenter mit Sulfid und Nitrat als Elektronenakzeptor	Nicht bestimmt	Nicht bestimmt	$1.1 \cdot 10^6$
Mit Nitrat behandeltes Rohabwasser	Nicht bestimmt	Nicht bestimmt	$1.1 \cdot 10^6$

Tab. 2: Quantifizierung schwefeloxidierender Bakterien im Abwasser und den Pilot-Fermentern

Von den Verdünnungsreihen konnten nach mehrmaligem Transfer Reinkulturen isoliert werden. Nachdem die Sequenz des 16S RNA Gens bestimmt wurde, konnte eine phylogenetische (stammbäumliche) Zuordnung der Isolate erfolgen.

	SOB mit Sauerstoff	SOB mit Nitrat
Abwasser	neuer Genus	<i>Thiomicrospira denitrificans</i>
Angereicherte Kulturen	<i>Halothiobacillus</i> sp. W5 <i>Halothiobacillus neapolitanus</i>	<i>Thiomicrospira denitrificans</i>

Tab. 3: Phylogenetische Zuordnung der dominanten SOB

SOB mit Sauerstoff als Oxidationsmittel

Aus den niedrigen Verdünnungsstufen wurde ein Stamm isoliert, der in die Gruppe von *Halothiobacillus neapolitanus* und *Halothiobacillus* sp. W5 [9] fällt, die beide früher als *Thiobacillen* bezeichnet wurden.

Aus den höheren Verdünnungsstufen des Abwassers konnte ein völlig neues Bakterium isoliert werden. Dieses kann sowohl autotroph mit Thiosulfat als auch heterotroph mit organischen Verbindungen wachsen. Die phylogenetische Untersuchung zeigte, dass es keinen verwandten Organismus in Kultur gibt und es sich um einen neuen Genus innerhalb der *gamma*-Proteobakterien handelt. Es sind lediglich verwandte Klonsequenzen von Bakterien, die an einer terrestrischen Schwefelquelle vorkommen, bekannt.

SOB mit Nitrat als Oxidationsmittel

Mit Nitrat als Elektronenakzeptor wurden aus dem oxischen Abwasser, dem anoxischen Fermenter und dem mit Nitrat behandelten Abwasser immer nur ein Organismus isoliert, der nahezu identisch zu dem zu der *epsilon*-Gruppe der Proteobakterien gehörenden *Thiomicrospira denitrificans* ist. Das ausschließliche Auftreten von *Thiomicrospira denitrificans* ist ungewöhnlich, da es sich bei *Thiomicrospira denitrificans* um einen Organismus handelt, der bisher nur aus dem Meer isoliert wurde.

Es wird jedoch sehr deutlich, dass reduzierte Schwefelverbindungen mit Nitrat als Elektronenakzeptor ausschließlich durch *Thiomicrospira denitrificans* und nicht durch *Thiobacillus denitrificans* oder *Paracoccus denitrificans* oxidiert werden, wie es die gängige Lehrbuchmeinung ist.

4. Pilotversuch

4.1 Allgemeines

Zur Nutzung des schwefeloxidierenden Potentials im Abwasser wurde ein Pilotversuch an einer Abwasserdruckrohrleitung DN 100 mit einem max. Volumen-

strom von 22 m³/h und ca. 300 m³/d durchgeführt. Die Dosierstelle wurde so gewählt, dass noch eine restliche Aufenthaltszeit von der Dosierstelle bis zum Auslauf von stets kleiner 90 min erhalten blieb. Die Dosierung erfolgt volumen-proportional direkt in die Druckrohrleitung mit einer Dosierlanze. Außerdem wurde eine Probenahme-stelle eingerichtet. Das Oxidationsmittel wurde erst in Form von Natronsalpeter (NaNO₃) als 39%-ige Lösung und später als Reinsauerstoff (O₂) bereitgestellt.

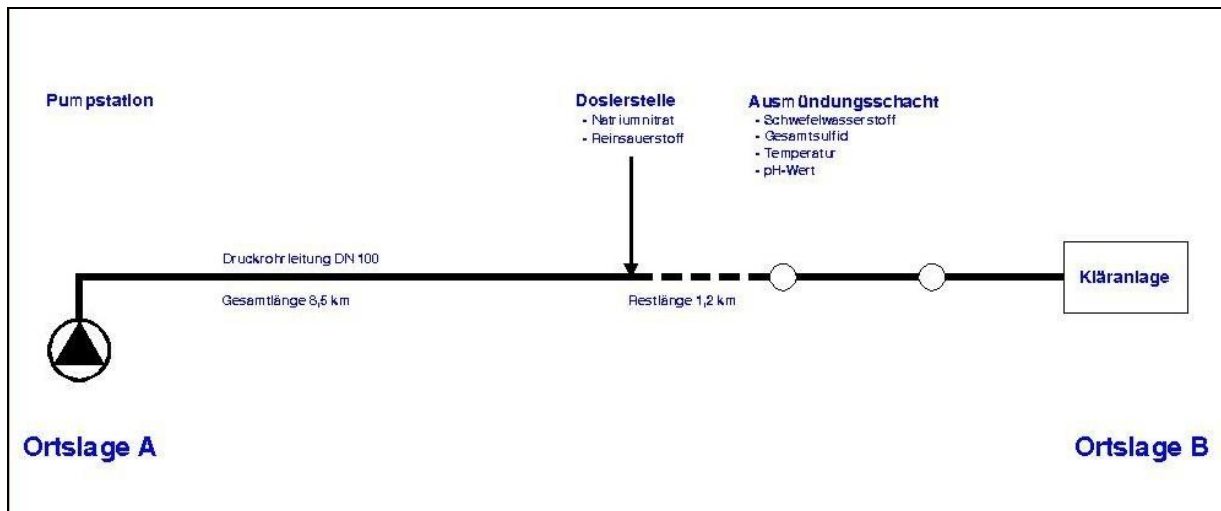


Abb. 6: Schema Pilotversuch

Die Sulfidkonzentration im Ablauf der Druckrohrleitung schwankte im Sommer über den Tag zwischen 25 mg S/l am frühen Vormittag und 10 mg S/l am Nachmittag. Die Schwefelwasserstoffkonzentration in der Kanalluft des Ausmündungsschachtes war mit Werten zwischen 50 und 150 ppm relativ gering. Jedoch konnten diese Werte an der ca. 200 m entfernt liegenden Verfallung stromabwärts auch übertroffen werden.

Im Winter (bei 4 °C Abwassertemperatur) schwankt die Sulfidkonzentration immer noch zwischen 7 mg S/l am Vormittag und 4 mg S/l am Nachmittag. Davon desorbieren lediglich 35 ppm am Vormittag und 10 ppm am Nachmittag.

4.2 Einfahrphase

Nach Beginn der Dosierung wurde die Veränderung der Schwefelwasserstoffkonzentration in der Kanalatmosphäre gemessen, da dieser Parameter ein relativ guter Indikator für die Veränderung der Sulfidkonzentration im Abwasser ist. Die Reduktion

der Schwefelwasserstoffkonzentration begann nach dem 5. Tag der Dosierung sowohl mit Nitrat als auch mit Reinsauerstoff und nahm dann stetig ab. Die Sulfidkonzentration schwankte zwischen Werten unter der Nachweisgrenze und 2 mg S/l. Schwefelwasserstoff desorbierte jedoch nicht, da der pH-Wert von ursprünglich < 7,5 auf 7,8 – 8,3 angestiegen war. Die Anreicherungsphase dauerte ca. eine Woche, wobei das Abwasser eine Temperatur von 15 °C hatte. Nach dieser ersten Anreicherungsphase wurde die Dosierung für einen Monat eingestellt und danach wieder aufgenommen. Dabei verringerte sich die Anreicherungsphase bereits auf ca. 4 Tage (Abb. 7).

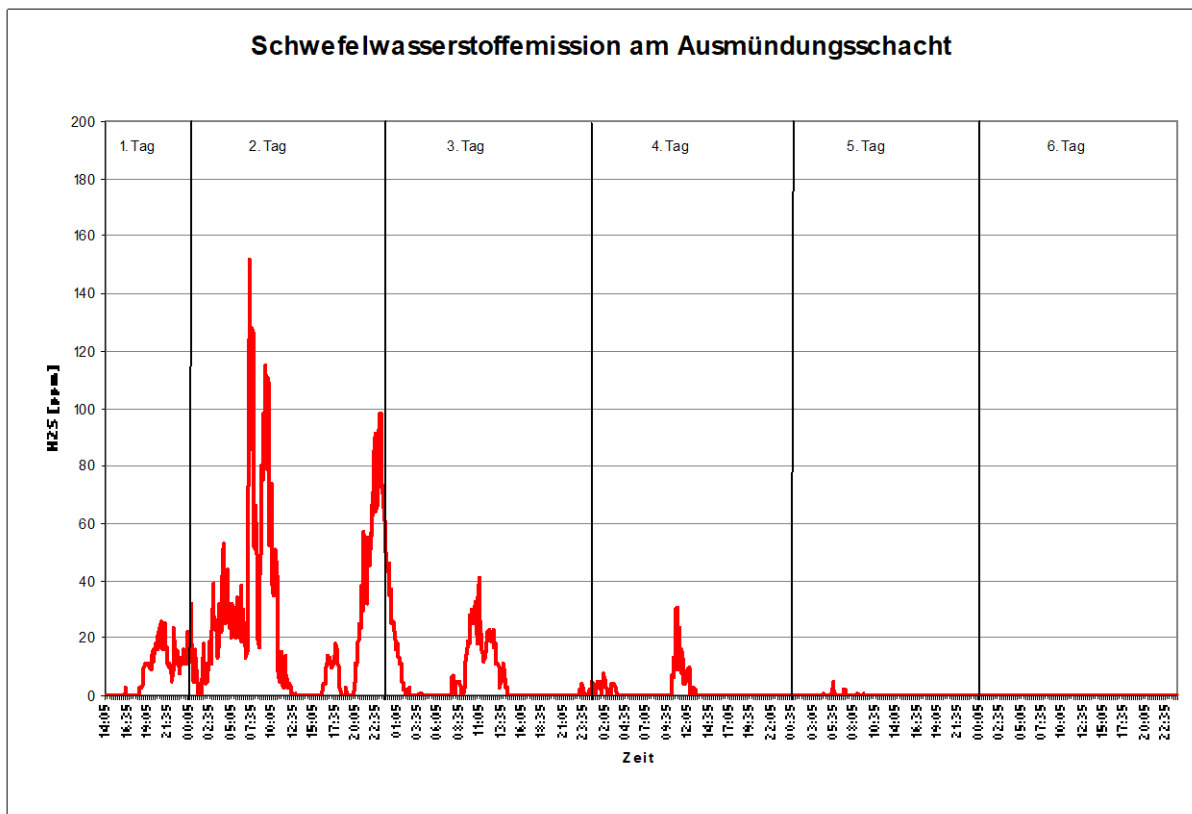


Abb. 7: Verminderung der H₂S-Konzentration an einem Ausmündungsschacht während der Anreicherungsphase von SOB im Biofilm einer Druckrohrleitung

4.3 Betriebskosten

Aufgrund der Art des Chemikalieneinsatzes als Oxidationsmittel lassen sich die Betriebskosten für die gezielte Sulfidoxidation am ehesten mit dem „Frischhalten“ von Abwasser innerhalb der gesamten Druckrohrleitung vergleichen.

Verfahren	Oxidationsmittel	Kosten pro kg	Einsatz pro m ³	Kosten pro m ³	Gesamtkosten
Frischhalten	Nitratlösung	0,25 €	580 g	14 ct	15.660 €/a
Sulfidoxidation	Nitratlösung	0,35 €	100 g	3 ct	3.754 €/a
Sulfidoxidation	Reinsauerstoff	0,96 €	24 g	2 ct	2.041 €/a

Tab. 4: Betriebskosten Oxidationsmittel

Aufgrund des selektiven Einsatzes der Chemikalie als Oxidationsmittel zur Oxidation von Sulfid zu Schwefel wird eine erhebliche Reduzierung des Chemikalieneinsatzes und der Betriebskosten erreicht.

4.4 Thiox-Verfahren

Das verfahrenstechnische Ziel ist es, an einer Dosierstelle in einer Abwasserdruckrohrleitung gerade soviel Oxidationsmittel zur Verfügung zu stellen, dass dieses nur für den ersten Schritt der Schwefeloxidation ausreicht und darüber hinaus nur das „normale Zehrungspotential“ der Oxidation von organischem Material (BSB₅) in diesem letzten Teilabschnitt der Druckrohrleitung bedient wird. Darüber hinaus wird die Dosierstelle so gewählt, dass lediglich eine durchschnittliche Restverweildauer des Abwassers in der Druckrohrleitung von weniger als 90 min gewährleistet ist. Die Dosierung eines Oxidationsmittels in eine Abwasserdruckrohrleitung mit dem Ziel der Oxidation von Sulfid zu elementarem Schwefel wird Thiox-Verfahren genannt.

5. Ausblick

Das schwefeloxidierende Potential in kommunalem Abwasser ist erheblich. Eine Nutzung dieses Potentials ist durch Anreicherung von SOB im Biofilm einer Ab-

wasserdruckrohrleitung durch die Dosierung eines Oxidationsmittels nach dem Thiox-Verfahren grundsätzlich möglich. Das Einsparungspotential im Chemikalienverbrauch gegenüber dem „Frischhalten“ von Abwasser (Dosieren eines Oxidationsmittels am Anfang einer Druckrohrleitung) liegt zwischen 70 % und 90 %.

Die Isolierung neuer Gattungen von SOB aus kommunalem Abwasser zeigt, dass es durchaus sinnvoll ist, mehr mikrobiologische Untersuchungen in diesem Bereich anzustreben. Der Einsatz moderner Kultivierungsmethoden in Kombination mit molekularbiologischen Techniken führt zu einer raschen und eindeutigen Identifizierung der Mikroorganismen und deren Stoffwechselverhalten.

6. Literaturverzeichnis

- [1] Brüser et al. (2000) The biological sulfur cycle. Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution. IWA Publishing, London

- [2] Baas-Becking, L.G.M. (1925) Studies on sulphur bacteria. Annaly of Botany 39, 613 – 650

- [3] Lens, P.L.N. et al. (2000) Biological treatment of organic sulfate rich wastewaters. Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution. IWA Publishing, London

- [5] Chazal, P.M. and P.N.L. Lens (2000) Interactions of the sulfur and nitrogen cycles: microbiology and process technology. Environmental Technologies to Treat Sulfur Pollution. IWA Publishing, London

- [6] Bielecki, R., Schremmer, H. (1987) Biogene Schwefelsäure-Korrosion in teilgefüllten Abwasserkanälen. Sonderdruck Heft 94 der Mitteilungen des Leichtweiß-Institutes für Wasserbau der TU Braunschweig, Block, E. Schlussbericht – Mikrobiologie