

Próby biologicznego oczyszczania odpadów pobranych ze składowiska pokoksowniczego z użyciem preparatów biologicznych — skala laboratoryjna

Sylvia Łabużek

Jolanta Składzień

Katedra Biochemii

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

Uniwersytet Śląski

Katowice

1. Wprowadzenie

W każdym procesie produkcyjnym powstają uboczne, nie wykorzystywane produkty pośrednie — odpady. W zależności od typu produkcji różnią się one strukturą, składem chemicznym i stopniem toksyczności. Najczęściej stosowanym sposobem traktowania odpadów jest ich składowanie. Odpady takie oddziałują na środowisko poprzez emisję pyłów (wtórne pylenie) oraz migrację rozpuszczalnych składników do wody i gleby (1-6).

W województwie katowickim istnieje ponad sześćdziesiąt składowisk silnie toksycznych (7). Do jednych z najbardziej uciążliwych należą poprodukcyjne odpady po przetwórstwie węgla i ropy naftowej (8,9). Zawierają one najbardziej toksyczne ksenobiotyki — węglowodory aromatyczne, w tym wiele pochodnych fenoli oraz cyjanki (10).

Proces rozkładu związków aromatycznych przez drobnoustroje występuje dość powszechnie w środowisku wodnym i glebowym (11-15). Związane jest to z detoksykacją ksenobiotyków syntetycznych, nierozpuszczalnych związków organicznych, również z degradacją przez drobnoustroje związków zawierających grupę CN^- . Wśród mikroorganizmów znajdują się drobnoustroje degradujące związki fenolowe (16,13,17) oraz gatunki rozkładające cyjanki (18,19). Można zatem przypuszczać, że drobnoustroje takie mogłyby być zastosowane do przetworzenia odpadów pokoksowniczych w sposób biologiczny.

Celem pracy było określenie składu chemicznego składowiska poprodukcyjnego zakładów koksowniczych oraz zbadanie możliwości biologicznego oczyszczenia tego składowiska z zastosowaniem wyselekcjonowanej mieszannej populacji bakterii, uzyskanej w wyniku zabiegów adaptacyjnych, o zwiększonej aktywności degradacji fenoli i cyjanków (20).

2. Część doświadczalna

2.1. Metodyka badań

2.1.1. Metody analityczne

Badania nad ustaleniem składu chemicznego składowiska pokoksowniczego prowadzono metodą wyciągów wodnych (21). Otrzymane przesącze badano metodą analizy chemicznej. W badaniach nad składem chemicznym odpadów oraz śledzeniem biodegradacji substancji występujących w tych odpadach, oznaczano zawartość: fenoli ogólnych (22), fenoli lotnych (10), ChZT (23), cyjanków (24), rodanków (22), amoniaku (22), azotynów (22), azotanów (22), azotu organicznego (22), chlorków (22) i siarczanów (22).

Identyfikację i oznaczenie związków organicznych prowadzono metodą GC-MS [25] przy użyciu chromatografu VARIAN 33 GAS CHROMATOGRAPH, posiadającego pułapkę jonową ITD, wyposażonego w kolumnę kapilarną DB 1701. Stosowano zakres temperatur 60-270°C. Do badań używano ekstraktów eterowych badanych prób. Układ kierowano komputerowo do spektrometru masowego, który umożliwiał odczytywanie chromatogramów (program ITD widm masowych). Związki zidentyfikowano za pomocą biblioteki związków zawierającej 40 000 pozycji.

2.1.1. Szczepy bakteryjne i pożywki mikrobiologiczne

Do badań użyto 7 szczepów. Szczepy te izolowano ze środowisk, które miały kontakt ze związkami aromatycznymi i cyjankami. Szczepy *Corynebacterium* sp., *Pseudomonas vesicularis*, *Pseudomonas putida*, *Micrococcus sedentarium* i *Streptococcus* sp. izolowano z osadu czynnego, który degradował ścieki koksownicze. *Staphylococcus sciuri* izolowano z osadu czynnego adaptowanego do równoczesnego rozkładu 7 mM fenolu i 6 mM cyjanku. *Bacillus firmus* wyizolowano ze stawu przylegającego do składowiska pokoksowniczego.

Szczepy użyte w badaniach hodowano w pożywce Kojima-Itada-Hayaishi (26) i wzbogacano związkiem fenolowym lub cyjankiem. Do przechowywania szczepów stosowano skosy z agarem odżywcym.

2.2. Przebieg i wyniki badań

2.2.1 Chemiczna charakterystyka składowiska

Do badań nad możliwością biologicznego oczyszczania odpadów poprodukcyjnych wybrano składowisko odpadów pokoksowniczych. Składowisko powstało w 1900 r. i było eksploatowane 90 lat. Składa się ono z części starszej zrehabilitowanej, porośniętej roślinnością oraz nowszej, nieporośniętej roślinnością. Na składowisku tym zgromadzono 919 800 t odpadów. Znaczna ilość odpadów tworzących hałdę to żużel paleniskowy, szlam wapienny, kwa-

sy porafinacyjne, odpady z czyszczenia aparatury oraz z oczyszczalni ścieków i kanalizacji. Składowisko nie posiada zabezpieczenia od dołu (ekranizacji), a nowsza część również zabezpieczenia warstwy górnej. Z tego powodu substancje toksyczne w składowanym materiale były wypłukiwane z wodą deszczową do pobliskiego stawu, gleby i wód gruntowych.

Do badań pobrano próby z nowszej i starszej części składowiska z kilku warstw głębokości, by stwierdzić czy kolejne warstwy składowiska różnią się składem zanieczyszczeń. Próby A i A' pobrano ze starszej części, odpowiednio z głębokości 15 i 21 m. Próby B i B' pochodziły z nowszej części składowiska z głębokości 5,6 i 13,8 m.

Badania nad ustaleniem składu chemicznego odpadów prowadzono metodą wyciągów wodnych (21). Polegała ona na ekstrakcji odpadów wodą destylowaną w warunkach wytrząsania oraz analizowaniu przesączów według metod przyjętych dla wód (20). Ponadto przeprowadzono analizę chromatograficzną, metodą chromatografii gazowej ekstraktów eterowych prób stałych A, A', B, B' oraz ekstraktów eterowych wyciągów wodnych tych prób poddanych ługowaniu wodą destylowaną. Ługowanie odpadów prowadzono przez 30 dni. W odstępach kilkudniowych pobierano próby cieczy, które sączono i analizowano. Oznaczano zawartość fenoli ogólnych (22) i lotnych (10), ChZT (23), cyjanków (24) oraz rodanków, amoniaku, azotynów, azotanów, azotu organicznego, chlorków i siarczanów (22).

Wyniki ługowania prób A i B zestawiono w tabelach 1 i 2, natomiast zawartość substancji w odpadach A' i B' w tabeli 3.

Ekstrakty eterowe prób stałych A i B oraz ich wyciągów wodnych po trzydziestu dniach ługowania analizowano metodą GC-MS. Wyniki badań prób stałych zestawiono w tabeli 4, natomiast prób poddanych ługowaniu w tabeli 5.

2.2.2. Próby biologicznego oczyszczania składowiska odpadów pokoksoowniczych

Podjęto próbę wykazania możliwości biodegradacji związków zawartych w składowisku pokoksoowniczym, aby wykazać jak będą zachowywały się drobnoustroje o wzmożonej zdolności do degradacji związków aromatycznych. Badaniom tym poddano starszą (próba A) i nowszą (próba B) część składowiska.

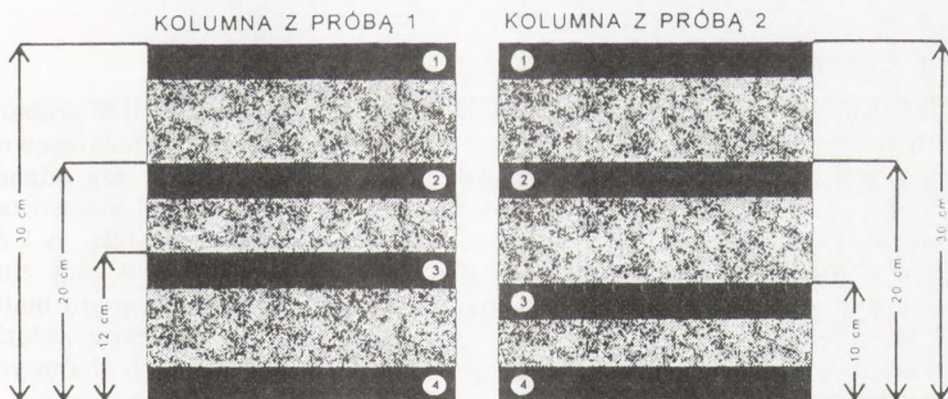
Obserwacje prowadzono stosując cztery kolumny filtracyjne o długości 40 cm i średnicy 5,5 cm. Badane odpady nanoszono do wysokości 30 cm. Do dwóch kolumn wprowadzano po 500 g próby A, do dwóch pozostałych po 700 g próby B. Różnice w ilości materiału wypełniającego kolumny z próbą A i B wynikały z odmiennej struktury tych odpadów. Materiał próby A był mniej rozdrobniony co powodowało, że przy tej samej wysokości napełnienia w kolumnach, próby A było wagowo mniej niż próby B. Po jednej kolumnie z próbami A i B inokulowano hodowlami bakteryjnymi mieszaniny siedmiu szczepów: *Corynebacterium* sp., *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas vesicularis*, *Micrococcus sedentarius*, *Staphylococcus sciuri*, *Staphylococcus* sp.

i *Bacillus firmus*. Szczepy namnażano w pożywce Kojima-Itada-Hayaishi (26) wzbogaconej fenolem lub fenolem i cyjankiem potasu jako źródłem węgla. Pozostałe dwie kolumny, stanowiące kontrolę procesu biodegradacyjnego, zalewano samą pożywką bez bakterii.

Kolumnę z próbą A inokulowano czterokrotnie hodowlami bakteryjnymi użytych szczepów, codziennie przez pierwsze cztery dni, po jednej porcji pożywki z namnożonymi szczepami. Na kolumnę wprowadzono łącznie 1,2 l hodowli bakteryjnej o łącznej biomase 500 mg/l i pozostawiono na 12 dni. Równoległe kolumnę, która była kontrolną dla próby A, zalewano taką samą ilością pożywki bez bakterii i w tych samych interwałach czasowych. Zbierano wycieki z obu kolumn. Po dwunastu dniach rozebrano na frakcje zawartość kolumn zawierających próbę A.

Kolumnę napełnioną odpadami nowszej części składowiska (próba B) traktowano analogicznie jak kolumny napełnione próbą A. Łącznie wprowadzono na kolumnę 500 mg/l biomasy bakteryjnej. Również dla próby B prowadzono kolumnę kontrolną. Kolumny zawierające odpady próby B pozostawiono na 20 dni zbierając wycieki z obu kolumn, inokulowanej bakteriami i kontrolnej. Różnice w czasie prowadzenia kolumn zawierających odpady próby A i kolumn zawierających próbę B wynikały z tego, że przez kolumny napełnione drobnoziarnistą próbą B ciecz przesączała się wolniej.

Zawartość badanych kolumn rozdzielano na kilkucentymetrowe frakcje. Pobierano po 50 mg wypełnienia kolumn z warstwy powierzchniowej, dwa razy po 50 mg ze środka wypełnienia i 50 mg z dołu kolumn, jak to schematycznie pokazano na rycinie 1. Pobrane próbki zalewano 0,5 l wody destylowanej i wytrząsano przez 3 doby. Po tym czasie próby sączone przez bibułę filtracyjną. Przesącze i wycieki z kolumn, w których odpady poddano działaniu bakterii oraz z kolumn kontrolnych, analizowano. Porównano zawartość oznaczanych związków w czterech warstwach poddanych biodegradacji z ilością tych substancji w odpowiednich warstwach kolumn kontrolnych. Ponadto porównano ilości wyjściowe substancji zawartych w podda-



Ryc. 1. Sposób pobrania prób do analiz chemicznych z kolumn filtracyjnych.

nych badaniom odpadach z tą częścią, która uległa rozkładowi na kolumnach i tą, która z nich wyciekła. Pozwoliło to na stwierdzenie, czy związki, które występowały w badanych odpadach pokoksowniczych uległy biodegradacji. Wyniki tej analizy dla próby A pokazano na rycinie 2, dla próby B na rycinie 3. Ujawniły one znaczny udział procesów biodegradacyjnych w usunięciu fenoli, cyjanków, ChZT. Największy ubytek oznaczanych związków obserwowano w warstwie powierzchniowej. W związku z tym analizie chromatograficznej poddano odpady warstw powierzchniowych pobranych z kolumn filtracyjnych. Wyniki tej analizy zestawiono w tabeli 6.

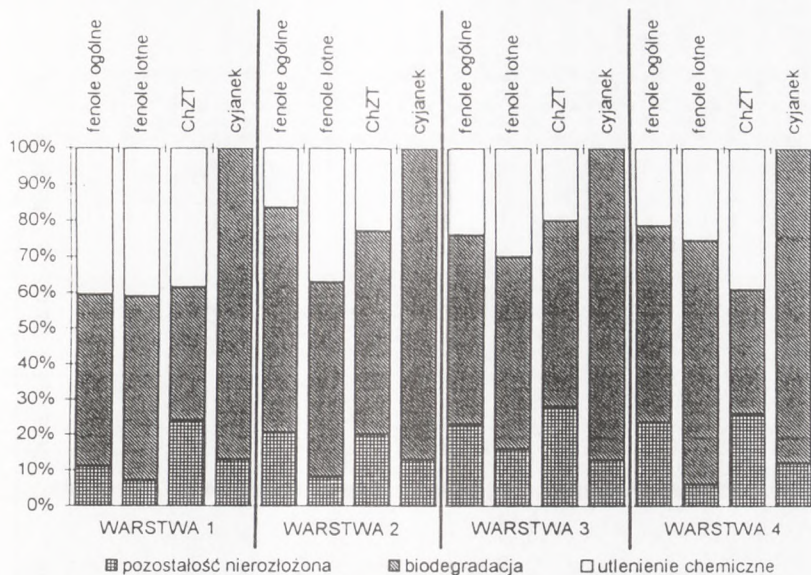
Dodatkową kontrolę procesu biodegradacyjnego przeprowadzono poddając badane odpady działaniu powietrza atmosferycznego. W tym celu odważano po 440 mg prób A i B, umieszczano w krystalizatorach o średnicy 14 cm na wysokość około 1,5 cm. Po 0,5, 10. i 20. dniach ekspozycji na działanie powietrza atmosferycznego pobierano po 20 g prób, które zalewano wodą destylowaną i ługowano przez 30 dni. Po tym czasie ciecz analizowano. Stwierdzono, że wystawienie odpadów pokoksowniczych na działanie powietrza atmosferycznego, powodowało rozłożenie około 50% substancji organicznych.

3. Dyskusja

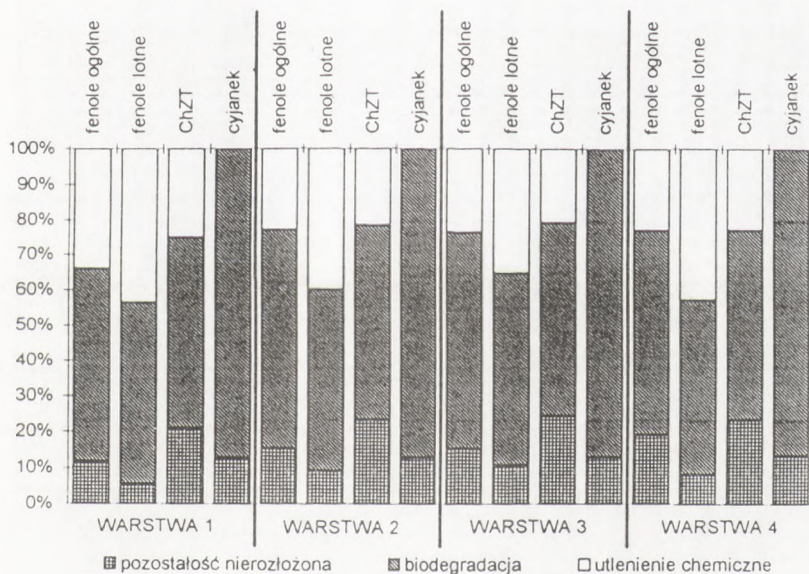
Odpady przemysłu koksowniczego są jednymi z najbardziej uciążliwych dla środowiska. Wysoka toksyczność oraz znaczna ilość powstających odpadów stanowi poważne zagrożenie. Węglowodory aromatyczne, organiczne i mineralne związki azotowe, związki siarki, cyjanki są produktami odpadowymi tej gałęzi przemysłu (9,20). W badaniach podjęto próbę oszacowania składu jednego ze składowisk przemysłu koksowniczego zlokalizowanego w województwie katowickim, a następnie podjęto próbę, w skali laboratoryjnej, degradacji zanieczyszczeń, zawartych w odpadach pochodzących z tego składowiska, z udziałem wyselekcjonowanych drobnoustrojów zdolnych do rozkładu substancji aromatycznych i cyjanków (20).

3.1. Charakterystyka chemiczna składowiska

Określono zawartość substancji toksycznych i niebezpiecznych w próbach pobranych ze starszej i nowszej części składowiska odpadów pokoksowniczych. Próby te pobrano z różnych głębokości, aby stwierdzić, czy odpady pochodzące z różnego okresu składowania były jakościowo i ilościowo odmienne, czy podobne. Badania składu chemicznego starszej (próby A i A') i nowszej (próby B i B') części składowiska pokoksowniczego wykazały znaczny udział węglowodorów aromatycznych i pirydyny w składowanym materiale. W mniejszych ilościach występowały cyjanki, chlorki, siarczany, związki azotowe takie jak amoniak, azotany, azot organiczny. W ilościach śladowych wykrywano rodanki (tab. 1-5).



Ryc. 2. Rozkład substancji występujących w materiale odpadowym starszej części (próba A) składowiska pokossowniczego po 12. dniach inokulowania bakteriami.



Ryc. 3. Rozkład substancji występujących w materiale odpadowym nowszej części (próba B) składowiska pokossowniczego po 20. dniach inokulowania bakteriami.

TABELA 1
ANALIZA WODNYCH EKSTRAKTÓW PRÓBEK
Z DYNAMICZNEGO LUGOWANIA (Z WYTRZĄSIANIEM)
ODPADÓW STARSZEJ CZĘŚCI SKŁADOWISKA POKOŚCOWNICZEGO
(PRÓBA A Z GŁĘBOKOŚCI 15 m)

Oznaczenie	Jednostki	Stężenie substancji zawartych w przesączu										
		czas wytrzasania, doby										
		3	4	7	10	14	17	20	25	30		
fenole ogólne	mg/l	645,6	689,5	690,5	690,7	695,2	696,0	705,1	705,4	705,4	705,4	
fenole lotne	mg/l	382,0	384,0	390,0	400,0	400,0	470,0	480,0	480,0	480,0	480,0	
ChZT	mg/l O ₂	2200,0	2500,0	2500,0	2800,0	2800,0	3500,0	4000,0	4000,0	4000,0	4000,0	
cyjanki	mg/l CN ⁻	6,3	7,5	8,6	7,0	9,5	10,1	10,5	10,6	10,6	10,6	
rodanki	mg/l CNS ⁻	0,10	0,40	0,40	0,60	0,62	0,65	0,80	0,82	0,82	0,84	
azot amonowy	mg/l NH ₄ ⁺	3,8	3,8	4,1	4,2	4,4	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	
azot azotynowy	mg/l NO ₂ ⁻	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
azot azotanowy	mg/l NO ₃ ⁻	2,5	2,6	2,6	2,7	2,9	3,5	5,0	5,0	5,0	5,2	
azot organiczny	mg/l N _{org}	105,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
chlorki	mg/l Cl ⁻	20,0	22,0	26,0	26,5	26,7	26,7	27,0	27,5	27,5	27,5	
siarczany	mg/l SO ₄ ²⁻	18,0	18,0	19,0	20,0	20,0	21,0	21,5	21,5	21,5	21,5	

TABELA 2
ANALIZA WODNYCH EKSTRAKTÓW PRÓBEK
Z DYNAMICZNEGO ŁUGOWANIA (Z WYTRZĄSIANIEM)
ODPADÓW NOWSZEJ CZĘŚCI SKŁADOWISKA POKOKSOWNICZEGO
(PRÓBA B Z GŁĘBOKOŚCI 5,6 m)

Oznaczenie	Jednostki	Stężenie substancji zawartych w przesączu										
		czas wytrąsania, doby										
		3	4	7	10	14	17	20	25	30		
fenole ogólne	mg/l	1260,0	1280,0	1385,0	1387,0	1388,0	1390,0	1392,0	1395,0	1396,0		
fenole lotne	mg/l	490,0	495,0	500,0	510,0	540,0	550,0	650,0	660,0	660,0		
ChZT	mg/l O ₂	4600,0	4600,0	5000,0	5100,0	5500,0	5850,0	6000,0	6050,0	6050,0		
cyjanki	mg/l CN ⁻	2,8	2,8	2,9	2,9	3,2	3,5	4,5	4,5	4,5		
rodanki	mg/l CNS ⁻	0,30	0,35	0,38	0,40	0,45	0,50	0,60	0,62	0,64		
azot amonowy	mg/l NH ₄ ⁺	5,1	5,3	5,5	5,7	6,1	6,2	6,5	6,5	6,5		
azot azotynowy	mg/l NO ₂ ⁻	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		
azot azotanowy	mg/l NO ₃ ⁻	4,2	4,3	4,8	4,9	5,0	6,0	6,5	6,7	6,7		
azot organiczny	mg/l N _{org}	50,0	-	-	-	-	-	-	84,0	85,0		
chlorki	mg/l Cl ⁻	22,0	22,5	23,0	23,4	25,0	27,0	28,0	28,0	28,0		
siarczany	mg/l SO ₄ ²⁻	16,0	16,5	17,0	17,5	18,0	18,5	18,5	18,5	18,5		

TABELA 3
ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW CHEMICZNYCH W ODPADACH SKŁADOWISKA POKOKSOWNICZEGO
PO 3 DNIACH DYNAMICZNEGO LUGOWANIA

Oznaczenie	Jednostki	Stężenie substancji zawartych w odpadach	
		Próba A' (głębokość 21 m)	Próba B' (głębokość 13,8)
fenole ogólne	mg/l	1645,3	2115,5
fenole lotne	mg/l	391,8	628,5
ChZT	mg/l O ₂	3000,0	4500,0
cyjanki	mg/l CN ⁻	15,6	7,2
rodanki	mg/l CNS ⁻	0,3	0,3
azot amonowy	mg/l NH ₄ ⁺	26,0	14,4
azot azotynowy	mg/l NO ₂ ⁻	0,0	0,0
azot azotanowy	mg/l NO ₃ ⁻	5,4	5,7
azot organiczny	mg/l N _{org}	70,0	175,0
chlorki	mg/l Cl ⁻	0,0	0,0
siarczany	mg/l SO ₂ ²⁻	3,6	2,0

TABELA 4
ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH W EKSTRAKTACH ETEROWYCH PRÓB STAŁYCH
STARSZEJ (PRÓBA A) I NOWSZEJ (PRÓBA B)
CZĘŚCI SKŁADOWISKA POKOKSOWNICZEGO OZNACZONA METODĄ GC-MS

Nazwa związku	Nr skanu	% całkowitego pola	
		próba A	próba B
pirydyna 2-metyl-	647	1,656	5,021
benzen 1,2-dimetyl-	686	0,520	0,607
pirydyna 2,6-dimetyl-	717	6,256	5,160
pirydyna 3-metyl-	728	-	2,641
pirydyna 4-metyl-	632	3,085	2,208
pirydyna 2,5-dimetyl	798	10,098	2,081
pirydyna 2,3,6-trimetyl-	853	1,098	3,120
fenol	986	12,299	11,800
fenol 2-metyl-	1038	2,135	2,200
fenol 4-metyl-	1070	2,150	5,130
naftalen	1092	55,170	50,170
alkilonaftalen	1181	6,914	2,479
alkilonaftalen	1203	3,217	0,901
?	1633	4,369	-
?	1635	3,559	-

TABELA 5
ZAWARTOŚĆ ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH W EKSTRAKTACH WODNYCH PRÓB
STARSZEJ (PRÓBA A) I NOWSZEJ (PRÓBA B) CZĘŚCI SKŁADOWISKA POKOKSOWNICZEGO
OZNACZONA METODĄ GC-MS

Nazwa związku	Nr skanu	% całkowitego pola	
		próba A	próba B
pirydyna 2-metyl-	647	1,002	5,000
benzen 1,2-dimetyl-	686	0,320	0,602
pirydyna 2,6-dimetyl-	717	6,230	5,160
pirydyna 3-metyl-	728	-	2,650
pirydyna 4-metyl-	632	3,150	2,230
pirydyna 2,5-dimetyl	798	16,080	2,903
pirydyna 2,3,6-trimetyl-	853	1,152	3,210
fenol	986	19,300	12,007
fenol 2-metyl-	1038	2,030	2,004
fenol 4-metyl-	1070	2,170	5,140
naftalen	1092	56,186	53,154
alkilonaftalen	1181	4,814	2,510
alkilonaftalen	1203	2,220	1,001
?	1633	3,320	-
?	1635	1,140	-

Ługowanie starszej (próba A) części składowiska pokoksowniczego prowadzono przez 30 dni. W tym czasie obserwowano sposób przechodzenia związków zawartych w odpadach do roztworu (tab. 1). Zawartość danego związku po trzydziestu dniach ługowania przyjęto za 100%. Po 3 dobach ługowania do roztworu przeszło 90% fenoli ogólnych oraz 80% fenoli lotnych. Chemiczne zapotrzebowanie tlenu po trzech dobach wytrząsania wynosił 4000 mg/l O₂. Dalsze wytrząsanie nie powodowało wyraźnego jego wzrostu. Również cyjanki i rodanki łatwo wypłukiwały się do roztworu. Z oznaczanych związków azotowych do roztworu po trzech dobach przeszło 60% azotu organicznego, 85% amoniaku i 50% azotanów. Ponad połowa chlorków i siarczanów także przeszła do roztworu po 3 dobach wytrząsania. W trakcie ługowania obserwowano dalsze wolniejsze przechodzenie związków zawartych w próbce A do roztworu w ciągu 20 dni. Od 20. do 30. dnia ługowania nie zmienił się już skład związków wypłukiwanych z odpadów do roztworów (tab. 1).

W celu określenia składu substancji organicznych zawartych w próbach pobranych ze składowiska przeprowadzono ich analizę metodą GC-MS w ekstraktach eterowych prób stałych oraz w ekstraktach eterowych wyciągów wodnych po trzydziestu dniach ługowania. Analiza ta wykazała, że w starszej części składowiska najliczniej występowały takie związki jak: naftalen (55%), fenol i jego pochodne (17%), pochodnepirydyny (22%). W mniejszych ilościach występował alkilonaftalen (10%) oraz śladowe ilości pochodnych benzenu (tab. 4). Związki te występowały w ekstraktach eterowych prób stałych odpadów, jak i ekstraktach eterowych wyciągów wodnych w podobnych ilościach (tab. 4 i 5).

Zestawiając wyniki badań składu chemicznego wyciągów wodnych starszej części składowiska pokoksowniczego (próba A) uzyskane metodą chromatografii gazowej i analizy chemicznej stwierdzono, że głównymi jej składnikami bo aż 82% były związki aromatyczne. Przeszło 12% związków próby A stanowiła pirydyna i jej pochodne. Pozostałe 6% było udziałem takich związków jak: chlorki, siarczany, cyjanki, nieorganiczne związki azotu oraz rodanki.

Również nowszą część składowiska pokoksowniczego (próba B) poddano 30-dniowemu ługowaniu. Szybkość ługowania związków występujących w próbie B była podobna jak dla próby A (tab. 1 i 2). W próbie B węglowodory aromatyczne stanowiły ponad 90% wszystkich związków zawartych w tym odpadzie. W tym fenole lotne stanowiły 33,7%. Natomiast fenole nietlotne: naftalen i alkilonaftalen, około 57% wszystkich substancji próby B. Oprócz związków fenolowych w próbie B występowały cyjanki, pochodne pirydyny, amoniak, azotany, chlorki i siarczany (tab. 2, 4 i 5).

Zawartość związków organicznych oznaczanych jako fenole ogólne i lotne oraz ChZT była większa w nowszej (próba B) niż w starszej (próba A) części składowiska pokoksowniczego (tab. 1 i 2). Różnice w składzie ilościowym obu części składowiska były spowodowane wypłukaniem tych substancji z odpadów przez deszcze. W trakcie 90-letniego istnienia starszej części hałdy duża ilość substancji prawdopodobnie została wypłukana i w postaci wycieków dostała się do otaczającej gleby i wód. Fakt ten potwierdziły badania składu chemicznego wód stawu przylegającego do składowiska pokoksowniczego (20).

Analiza procesu ługowania prób A i B przez 30 dni udowodniła, że już po 3 dniach ponad 70% substancji zawartych w odpadach przechodziło do roztworu (tab. 1, 2). Z tego względu w dalszych badaniach proces ługowania ograniczono do 3 dni.

Dla wykazania, czy składowisko było jednorodne, pobrano próby odpadów z różnych głębokości składowiska. Umożliwiło to sprawdzenie, jakie materiały składowano w trakcie wieloletniego użytkowania hałdy. Przeprowadzono analizy próby A' z głębokości 21 m starszej części składowiska oraz próby B' z głębokości 13,8 m nowszej części składowiska. Na podstawie analiz chemicznych oraz GC-MS tych prób wykazano podobny skład jakościowy prób pobranych z różnych głębokości zarówno w starszej części (tab. 1, 3-5) jak i w nowszej (tab. 2-5). Obserwowano jedynie różnice ilościowe w składzie badanych prób. Na tej podstawie uznano składowisko pokoksownicze za względnie jednorodne, a do badań możliwości jego biologicznego oczyszczenia użyto po jednej próbie z nowszej i starszej części składowiska.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że składowisko pokoksownicze zawierało odpady należące do substancji I, II i III klasy szkodliwości (21). Uważa się, że substancje I i II klasy szkodliwości wprowadzone do środowiska naturalnego powodują jego degradację, a nawet ustanie życia biologicznego. Podjęto zatem próbę wykazania, że przy zastosowaniu drobnoustrojów wyselekcjonowanych i adaptowanych do wykorzystania związków aromatycznych i cyjanków jako substratów odżywczych (20), będzie można unieszkodliwiać odpady składowiska pokoksowniczego.

3.2. Próba biologicznego oczyszczania składowiska odpadów pokoksowniczych

Na podstawie analizy odpadów pochodzących ze starszej i nowszej części składowiska wykazano, że w nowszej części było około dwukrotnie więcej substancji organicznych i mineralnych niż w części starszej. Z tego powodu oddzielnie poddano próbie biologicznego oczyszczania starszą (próba A) i nowszą (próba B) część składowiska pokoksowniczego.

Efekty inokulowania odpadów pokoksowniczych hodowlami bakteryjnymi obserwowano w czterech frakcjach pochodzących z różnych warstw napełnienia kolumn filtracyjnych (ryc.1) i porównano z analogicznymi warstwami pobranymi z kolumn kontrolnych. Analizowane warstwy różniły się ilością dostępnego powietrza w trakcie prowadzenia doświadczeń. W górnej warstwie panowały warunki tlenowe. W warstwie dolnej były warunki względnie tlenowe. Natomiast dwie warstwy środkowe pobrane do analizy, miały utrudniony dostęp powietrza atmosferycznego. Najlepiej proces biodegradacji przebiegał w warstwach powierzchniowych, w których dostęp powietrza był najlepszy.

Rozkład substancji zawartych w odpadach starszej części składowiska (próba A) był zależny od położenia warstwy w kolumnie (ryc.1, 2). Proces biodegradacji fenoli ogólnych, fenoli lotnych i pozostałych substancji oznaczanych jako ChZT najlepiej przebiegał w górnej części kolumny. Po dwunastu dniach kontaktu warstwy górnej (1) próby A z kulturami bakteryjnymi nie stwierdzono w niej obecności węglowodorów aromatycznych. Z 705,6 g fenoli ogólnych wyciekło z kolumny 81,1 g, a pozostałe fenole uległy rozkładowi, z czego 40% zostało utlenione chemicznie, a 50% zostało zdegradowane biologicznie. W górnej warstwie kolumny nie było również fenoli lotnych. Bakterie zdegradowały około 50%, 42% utleniło się chemicznie zaś reszta została wypłukana. Chemiczne zapotrzebowanie tlenu w próbie A przed zaszczepieniem bakteriami wynosiło 4000 mg/l O₂. Pod wpływem drobnoustrojów i utlenienia chemicznego w warstwie górnej zmniejszyło się do 480 mg/l O₂ (ryc. 2).

W warstwach środkowych kolumny (warstwa 2 i 3) procesy biodegradacji i utlenienia chemicznego zachodziły podobnie i były niepełne. W obu tych warstwach po dwunastu dniach inokulacji z bakteriami pozostało około 20% fenoli ogólnych, 9% fenoli lotnych. Pozostałe fenole uległy biodegradacji (około 60%), utlenieniu chemicznemu (około 20%) i wypłukaniu z kolumny (około 11%). W warstwach 2 i 3 ChZT zmniejszyło się o 78%.

W dolnej warstwie kolumny pozostało 10% fenoli ogólnych oraz 4% fenoli lotnych z tego 55% fenoli ogólnych i 60% fenoli lotnych zostało rozłożonych przez bakterie. ChZT zmniejszyło się o 73%.

We wszystkich analizowanych warstwach kolumny z próbą A nie stwierdzono obecności cyjanków. Z każdej warstwy uległo wypłukaniu 14% zawartej w próbie A cyjanków, a 76% (9,1 mg/l CN⁻) zostało rozłożone przez mieszane populacje bakterii. Nie stwierdzono, by cyjanki w tych warunkach były utlenione chemicznie. W odpadach kolumny kontrolnej dla próby A pozostało około 20% cyjanków, a reszta została wypłukana z kolumny. Stwierdzono również, że we wszystkich warstwach próby A wzrosło stężenie chlorków i amo-

niaku. Natomiast 93% azotu organicznego (pochodne pirydyny) zostało rozłożone, w tym 85% tych związków zdegradowały bakterie. Siarczany zawarte w odpadach nie uległy rozkładowi.

Zawartość związków chemicznych w nowszej części składowiska pokosowniczego (próba B) poddanej działaniu mieszanej populacji bakterii zmieniła się podobnie jak w starszej części (próba A). Najwięcej związków ubyło w górnej warstwie (1) kolumny. Nie stwierdzono w tej warstwie obecności węglowodorów aromatycznych i cyjanków. Wyplukaniu uległo 11,7% fenoli ogólnych i 5,7% fenoli lotnych. Przez utlenienie chemiczne ubyło 37% fenoli ogólnych, a 52% przez biodegradację. Fenoli lotnych zostało zbiodegradowane 50%, a 44% uległo utlenieniu chemicznemu. Związki chemiczne oznaczane jako ChZT zmniejszyły się o 80% z tego 55% uległo biodegradacji, 26% utlenieniu chemicznemu, a 10% pozostało nie rozłożone (ryc. 3).

Nieco gorzej zachodził rozkład substancji odpadowych w dolnej warstwie kolumny (warstwa 4). Niecała ilość związków aromatycznych i oznaczanych jako ChZT została usunięta. Najwolniej proces biodegradacji i utlenienia chemicznego zachodził w warstwach środkowych (warstwa 2 i 3), w których był najtrudniejszy dostęp do tlenu atmosferycznego (ryc. 3).

Rozkład węglowodorów aromatycznych, ChZT i cyjanków zachodził w próbie A i B podobnie. Nie zaobserwowano różnic w przebiegu biodegradacji w zależności od stężenia substancji w odpadach. Procentowy udział rozłożonych związków aromatycznych, ChZT i cyjanków w obu próbach był podobny (ryc. 2, 3), mimo że w nowszej części składowiska (próba B) stężenie tych związków było prawie dwukrotnie wyższe niż w części starszej (próba A). Obserwowano różny rozkład procentowy oznaczanych związków w zależności od warstwy kolumn. W warstwach powierzchniowych, gdzie panowały warunki tlenowe zarówno biodegradacja jak i chemiczne utlenienie były najwyższe (ryc. 2, 3).

Równocześnie wykonana analiza metodą GC-MS górnych warstw kolumn potwierdziła znaczny ubytek substancji organicznych w badanym materiale (tab. 6) w porównaniu z obecnością tych związków przed inokulacją bakteriami (tab. 4-6).

TABELA 6

ZWIĄZKI ORGANICZNE W POWIERZCHNIOWYCH WARSTWACH KOLUMN FILTRACYJNYCH PRZED I PO TRAKTOWANIU BAKTERIAMI, OZNACZONE METODĄ GC-MS

Oznaczony związek	Nr skanu	Kolumna z próbą A			Kolumna z próbą B		
		a	b	c	a	b	c
ksylen	681	+	+	-	+	+	-
benzen	899	+	+	-	+	+	-
fenol	985	+	+	-	+	+	-
naftalen	1091	+	+	-	+	+	-
alkilonaftalen	1185	+	+	-	-	-	-
antracen	1633	+	+	-	-	-	-

a — w odpadach starych przed inokulacją, b — wyciągach wodnych odpadów starych przed inokulacją, c — po inokulacji bakteriami.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że wysokoaktywna, wyselekcjonowana mieszana populacja bakterii, zaadaptowana do degradacji związków aromatycznych i cyjanków, jest w stanie w dużym stopniu oczyścić składowisko pokoksownicze z toksycznych i niebezpiecznych substancji. Wykazano, że proces biodegradacji zachodził szybciej w warstwach odpadów, do których dostęp tlenu atmosferycznego był dobry. Należy uwzględnić te obserwacje przy opracowywaniu technologii oczyszczania hałd z zastosowaniem mikroorganizmów, które mogą te związki wykorzystać jako źródło węgla i energii.

Przeprowadzone badania były wstępną próbą, wykonaną na niezbyt dużym materiale. Wymagają one dalszych badań, zakrojonych na większą skalę. Badania te pozwoliły jednak wykazać, że przy zastosowaniu wysokoaktywnej mieszaniny drobnoustrojów, udział procesu biodegradacyjnego w oczyszczaniu składowiska jest znaczny i daje możliwość zmniejszenia, względnie wyeliminowania toksycznego wpływu składowiska pokoksowniczego na środowisko naturalne.

4. Podsumowanie

Określono skład chemiczny składowiska poprodukcyjnego zakładów koksowniczych, a następnie podjęto próbę wykazania możliwości biologicznego oczyszczania tego składowiska z zastosowaniem wyselekcjonowanej mieszannej populacji bakterii, zdolnej do degradacji związków aromatycznych i cyjanków.

Wykazano, że w odpadach składowiska pokoksowniczego występowały głównie związki aromatyczne w tym fenole, pochodne benzenu oraz pirydyna i jej pochodne (94% zanieczyszczeń). Pozostałe 6% to chlorki, siarczany, nieorganiczne związki azotowe.

Próbę biologicznego oczyszczania składowiska pokoksowniczego przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych w kolumnach filtracyjnych. Materiał pochodzący ze składowiska pokoksowniczego inokulowano mieszaną populacją bakterii o wysokiej aktywności degradacji związków aromatycznych. Ilość związków biodegradowanych w odpadach uzależniona była od dostępu tlenu. W górnych warstwach kolumn, gdzie panowały warunki tlenowe, rozkładowi ulegało 90% związków organicznych oznaczanych jako fenole ogólne, fenole lotne i ChZT.

We wszystkich warstwach kolumn filtracyjnych degradacji ulegało ponad 70% węglowodorów aromatycznych, cyjanków i ChZT. Zmniejszyła się zawartość azotu organicznego, azotynów i rodanków. Związki te były rozkładane na drodze utlenienia chemicznego i biodegradacji. W przeprowadzonych badaniach wykazano znaczny udział procesu biodegradacyjnego w rozłożeniu substancji występujących w odpadach pokoksowniczych.

Literatura

1. Adamek E., Kobus A., (1984), *Energetyka*, 2, 84.
2. Biernacka E., (1987), *Gosp. Wodn.*, 10, 241.
3. Chomicki B., Sadurska A., (1979), *Gaz, Woda i Tech. Sanit.*, 10, 18.
4. Cossu R., Ranien G., (1990), *Cont. Soil*, 2, 10.
5. Roman J., (1980), *Gosp. Wod.*, 8-9, 234.
6. Szymański K., Thomas O., (1985), *Gosp. Wod.*, 8, 177.
7. Mieczkowska E., informacja prywatna.
8. Chmielowski J., Kłapcińska B., Łabużek S., (1975), *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 22, 327.
9. Łabużek S., (1988), *Indukcja dioksygenaz katecholowych w biodegradacji fenoli występujących w koksowniczych wodach odpadowych*, Uniwersytet Śląski, Katowice.
10. Hulbert M. H., Krawiec S., (1977), *J. Theor. Biol.*, 69, 287.
11. Alexander M., (1981), *Science*, 211, 414.
12. Badura L., (1985), *Post. Mikrobiol.*, 24, 153.
13. Dagley S., (1972), *Advan. Microbiol. Physiol.*, 6, 1.
14. Jacobson S. N., O'Hara N. L., Alexander M., (1980), *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 652.
15. Skryabin G. K., Golovieva L. A., Goloviev E. L., (1978), *Izw. Akad. Nauk SSSR ser. Biol.*, 9, 1.
16. Boyd S. A., Shelton D. R., Berry D., Tiedje J. M., (1983), *Appl. Environ. Microbiol.*, 46, 50.
17. Kosinkiewicz B., (1984), *Post. Mikrobiol.*, 23, 109.
18. Knowles C. J., (1976), *Bact. Rev.*, 40, 652.
19. Pawlikowska Cz., (1985), *Enzymatyczny rozkład cyjanku potasu przez szczep *Pseudomonas* sp.*, rozprawa doktorska, Uniwersytet Śląski.
20. Łabużek S., Kłapcińska B., Mroziak A., Radecka I., Woźnica A., (1995), *Archiw. Ochrony Środowiska*, w druku.
21. *Tymczasowe wytyczne w sprawie klasyfikowania odpadów*, (1980), Wyd. Min. Administr., *Gosp. Ter. i Ochrony Środowiska*, Warszawa.
22. Hermanowicz W., Dożańska W., (1976), *Fizykochemiczne metody badania wody i ścieków*, Arkady, Warszawa.
23. Eckenfelder W. W., (1986), *Industrial Water Pollution Control*, Ed. McGraw-Hill, New York.
24. Asmus E., Garshagen H., (1953), *Z. Anal. Chem.*, 138, 414.
25. Arsenault G. P., (1974), *Mass spectrometry of biomolecules*, in: *Experimental methods in biophysical chemistry*, Ed. C. Nicolau, John Wiley, London, 3.
26. Kojima Y., Itada N., Hayashi O., (1961), *J. Biol. Chem.*, 236, 2223.

Praca finansowana z grantu KBN nr 4 S401 060 05.

Attempt at biological purification of coke plant wastes piles using biological preparations — laboratory scale

Summary

Coke plant wastes piles were tested. The testing revealed high concentration of aromatic compounds, mainly naphthalene and phenol as well as some derivatives of benzene and pyridine (94% of wastes). The remaining 6% were inorganic nitrogen compounds, chlorides, sulfates, cyanides and thiocyanates.

An attempt was made to purify these after-coke industry piles using a highly active population of bacteria adapted to biodegradation of aromatic compounds and cyanides. It was found that a decrease of aromatic compounds and COD was carried out by biological and chemical oxidation. Cyanides and thiocyanates were removed by biodegradation.

Key words:

coke plant waste, biopurification, biodegradation, aromatic compounds.

Adres do korespondencji:

Sylwia Łabużek, Katedra Biochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski, ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice.