Chemiczna i bakteriologiczna ocena skażenia gruntów stacji przeładunku paliw produktami ropopochodnymi

Krystyna Olańczuk-Neyman
Jerzy Prejzner
Michał Topolnicki
Wydział Hydrotechniki
Politechnika Gdańska

1. Wstęp

Produkty ropopochodne zanieczyszczające środowisko gruntowe rozpraszają się w nim w postaci: substancji pływających na powierzchni wody, węglowodorów rozpuszczonych w wodzie, resztkowych zanieczyszczeń zaadsorbowanych w matrycy gruntu oraz gazów.

Ciekłe substancje ropopochodne rozprzestrzeniają się w gruncie pod wpływem siły grawitacji oraz przeciwdziałających im sił kapilarnych i sorpcyjnych (zależnych od rodzaju gruntu). W gruncie uwarstwionym, o zmiennej przepuszczalności dla wody i zanieczyszczeń, produkty ropopochodne przemieszczają się zarówno w pionie jak i poziomie.

W nawodnionym obszarze gruntu, o rozprzestrzenianiu się ciekłych zanieczyszczeń, decydują ich cechy fizyczne, jak np. gęstość i rozpuszczalność w wodzie, a ponadto wahania poziomu wody gruntowej oraz kierunek i prędkość jej przepływu. Zanieczyszczenia ropopochodne cięższe od wody opadają do spągu warstwy wodonośnej, natomiast lżejsze utrzymują się na powierzchni zwierciadła wody podziemnej tworząc grubszą lub cieńszą warstwę. Rozprzestrzenia się ona zgodnie ze spadkiem zwierciadła wody, a rozpuszczalne w niej składniki w wyniku dyfuzji przemieszczają się w głąb i w kierunku spadku warstwy wodonośnej. Istnieje także możliwość przenikania określonych węglowodorów przez warstwy półprzepuszczalne (gliny) i nieprzepuszczalne (iły) co stanowi zagrożenie dla izolowanych poziomów wodonośnych. W strefie częściowo nawodnionej (aeracji), prędkość infiltracji zanieczyszczeń stopniowo maleje i po pewnym czasie powstaje stan równowagi. Zanieczyszczenia zatrzymane w tej strefie nazywane są zawartością lub koncentracją resztkową. Występują one w trzech formach: w postaci kropli zawieszonych w porach gruntu, jako warstwa przyklejona do wody błonkowatej otaczającej cząstkę gruntu oraz jako warstwa bezpośrednio przyklejona do cząstki gruntu.

W USA określono, że w skali roku, spośród zanieczyszczeń wprowadzanych do gruntu — 20% ulatnia się do atmosfery, 2% rozpuszcza się w wodzie, 30% ulega biodegradacji, a 3% ulega fotolizie. Pozostałe w gruncie zanieczyszczenie stanowi tzw. koncentrację resztkową (1). Należy dodać, że jest ono stopniowo wypłukiwane przez wody opadowe oraz rozkładane przy udziale mikroorganizmów występujących w gruncie.

Wynika stąd, że znaczna część rozlewów i przecieków produktów ropopochodnych przedostających się do gruntu pozostaje w nim w postaci zanieczyszczenia resztkowego. Grunty drobniejsze zatrzymują większe ilości zanieczyszczeń, niż grunty gruboziarniste. Tak na przykład koncentracja resztkowa zanieczyszczeń ropopochodnych w żwirach wynosi ok. 3000 mg na kg suchego gruntu, a w drobnym i pylastym piasku jest do 10 razy wyższa (2).

Zanieczyszczenie gleb oraz gruntów produktami ropopochodnymi wpływa niekorzystnie na produkcję roślinną, zagraża jakości wód powierzchniowych i wód podziemnych, a także stanowi potencjalne niebezpieczeństwo dla zdrowia ludzi i zwierząt.

Wyraźny spadek produkcji roślinnej zaobserwowano na glebach, w których zawartość (koncentracja) resztkowa produktów ropopochodnych przekraczała 5% (3). Znany jest także fakt, że niektóre węglowodory aromatyczne, jak np. benzen, a także benzo(a)piren, już w bardzo niskich stężeniach, wykazują działanie karcinogenne. Liczne wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne działają toksycznie, niektóre ponadto rakotwórczo i mutagennie (4). Przyjmuje się, że w 60 do 90% przyczyną zachorowań ludzi na raka jest kontakt ze składnikami środowiska zawierającymi wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (5).

Fleischer i wsp. (6) wytypowali listę 13 specyficznych składników produktów ropopochodnych, które cechuje tendencja do rozprzestrzeniania się w środowisku gruntowym, a także potencjalna toksyczność (tab.1).

Wymienione w tab. 1 związki charakteryzują się różnymi możliwościami rozprzestrzeniania się i na tej podstawie można podzielić je na cztery grupy.

1. Związki zaadsorbowane do cząstek gruntu: benzo(a)piren, fenantren, benzo(a)antracen.

2. Związki łatwo ulatniające się z gruntu: n-heksen, n-heptan, n-pentan, 1-penten.

3. Związki rozpuszczalne w wodzie gruntowej: fenol.

4. Związki o różnych sposobach migracji: benzen, etylobenzen, naftalen, toluen, o-ksylen.

Naturalny proces rozkładu zanieczyszczeń resztkowych zatrzymanych w gruntach zachodzi stosunkowo powoli, przy czym zasadniczy wpływ ma zawartość tlenu oraz stężenie biogenów.

Ustalono (7), że szybkość rozkładu różnorodnych produktów ropopochodnych w powierzchniowych warstwach gruntów zachodzi z prędkością od 0,02 do ponad 0,4 g/kg gruntu/dobę, średnio 0,09 do 0,14 g/kg gruntu/dobę. W głębszych warstwach gruntu szybkość procesu maleje głównie ze względu na niższe stężenie tlenu, jak również mniejszą liczbę mikroorganizmów.

TABELA 1
POWSZECHNE SKŁADNIKI PRODUKTÓW ROPOPOCHODNYCH WG FLEISCHER ET AL., (1986)

Benzyna i oleje napędowe	Paliwa ciężkie
benzen	benzo(a)antracen
etylobenzen	benzo(a)piren
n-heptan	naftalen
n-pentan	fenantren
n-heksan	
1-penten	
o-ksylen	
toluen	
fenol	

2. Występowanie w gruntach mikroorganizmów rozkładających produkty ropopochodne

Decydującym etapem przemian biochemicznych towarzyszących rozkładowi węglowodorów wchodzących w skład produktów ropopochodnych jest utlenianie (prostych lub rozgałęzionych) alkanów oraz rozrywanie pierścieni aromatycznych. Procesy te są katalizowane przez specyficzne enzymy — oksygenazy. Tylko niektóre mikroorganizmy, w odróżnieniu od roślin i wyższych zwierząt, są wyposażone w tego typu systemy enzymatyczne i wykazują zdolność rozkładu węglowodorów.

Bakterie rozkładające produkty ropopochodne stanowią naturalną mikroflorę gruntów. Na przykład w powierzchniowych warstwach gruntów, zawierających odpowiednie stężenia związków węgla, tlenu i azotu występuje od 10 milionów do jednego miliarda bakterii na gram gruntu (od 10^7 do 10^9/g), z tego, od 0,1 do 1,0% stanowią organizmy zdolne do rozkładu substancji ropopochodnych. W gruntach zanieczyszczonych produktami ropopochodnymi liczba bakterii może zwiększyć się od 100 do 1000 razy (8).

Ying i wsp. (9), na podstawie zawartości zanieczyszczeń węglowodorowych podzielili grunty na trzy kategorie. Grunty silnie skażone o zawartości 30 do 40 g/kg (3 – 4% zanieczyszczeń), grunty średnio skażone o zawartości 10 do 20 g/kg (1 – 2%) oraz grunty nisko skażone zawierające poniżej 10g/kg (< 1%). Eliminacja węglowodorów z gruntów, na drodze biologicznej, jest możliwa w przypadkach, gdy stężenie tych zanieczyszczeń nie przekracza 5 – – 10%. Przy niższych stężeniach węglowodorów, tj. w zakresie od 0,5 do 1%, szybkość rozkładu nie zależy od stężenia węglowodorów (1).

W metodzie bioregeneracji *in situ* gruntów skażonych produktami ropopochodnymi wykorzystuje się zazwyczaj aktywność naturalnej flory bakteryjnej. Jednocześnie należy podkreślić, że wyniki chemicznych badań gruntów

określające jedynie stopień skażenia gruntu produktami ropopochodnymi nie pozwalają na jednoznaczne określenie potencjalnych możliwości wykorzystania naturalnej mikroflory do ich regeneracji. Często badania te nie uwzględniają struktury zanieczyszczeń węglowodorowych, a zatem ich zróżnicowanej podatności na rozkład biologiczny. Łatwiej przyswajalne przez mikroorganizmy są substancje rozpuszczalne w wodzie, niż zaadsorbowane na cząstkach stałych gruntu, lub występujące w fazie niewodnej. Do szczególnie opornych na biodegradację należą wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), chociaż dowiedziono, że bakterie naturalnie występujące w środowisku mogą rozkładać WWA zawierające cztery, a nawet więcej pierścieni aromatycznych (10).

Dodatkową okolicznością utrudniającą przebieg procesów rozkładu węglowodorów jest ich nierównomierne rozmieszczenie w gruncie, jak również bardzo zróżnicowany skład, a zatem i różne oddziaływanie na mikroflorę gruntu. Ponadto do ważnych czynników decydujących o biodegradacji tego typu zanieczyszczeń należą: pH, temperatura, zawartość tlenu i nieorganicznych biogenów (11).

W związku z tym, przy rozważaniu możliwości zastosowania metody bioregeneracji gruntu *in situ* należy zbadać:

— czy w zanieczyszczonych warstwach gruntów występują żywe mikroorganizmy,

— czy wśród nich są organizmy zdolne do rozkładania produktów ropopochodnych.

Celem tej pracy było zbadanie stopnia zanieczyszczenia gruntów produktami ropopochodnymi oraz ocena ilościowego zasiedlenia ich przez mikroorganizmy rozkładające te zanieczyszczenia.

Dla realizacji tego zadania niezbędne było przeprowadzenie badań nad stopniem skażenia gruntów produktami ropopochodnymi oraz wykonanie badań bakteriologicznych w celu oznaczania liczby bakterii rozkładających zanieczyszczenia ropopochodne. Należy dodać, że w tym przypadku brak jednak znormalizowanej metodyki. Pożywki stosowane przez poszczególnych badaczy różnią się zarówno składem mineralnym jak i typem substratów organicznych. Do często stosowanych substratów należą pojedyncze węglowodory, np. heksadekan (9), naftalen (12,13), fenantren (10,14,15), piren (10), względnie mieszaniny do których należą m.in. Mihagol S (89% tetradekanu i 9% pentadekanu) (16), nafta (17), ropa naftowa, (12,16), paliwo ciężkie (9, 12).

3. Materiały i metody badań

3.1. Lokalizacja punktów poboru próbek gruntu

Próbki gruntu pochodziły z obiektów przeładunku olejów napędowych i smarowych w Gdańsku. Zanieczyszczenie gruntu na tych obiektach jest następstwem rozlewów występujących podczas przeładunku olejów z cystern

kolejowych do zbiorników, względnie wycieków z zaworów odpowietrzających te zbiorniki.

Badaniom poddano próbki gruntu pochodzące z pięciu obiektów przeładunku olejów oraz próbki kontrolne, nie zawierające zanieczyszczeń ropopochodnych. Prowadzono je od końca 1990 r. do połowy 1992 r. Próbki do badań pobierano z głębokości ok. 0,3 m, w środku skażonej strefy gruntu. Wykonano od 2 do 4 badań gruntów na każdym z obiektów.

3.2. Przygotowanie i metodyka badań fizyczno-chemicznych próbek gruntów (18)

Pobrane próbki gruntów, o objętości około 1 dm^3 umieszczano w szczelnie zamkniętych słojach i po przewiezieniu do laboratorium przed poddaniem badaniom chemicznym uśredniano przez dokładne wymieszanie. Następnie z 1 kg uśrednionej próbki gruntu oddzielano frakcję żwirową o średnicy powyżej 2 mm. Z pozostałości odważano próbkę 50 g, którą dwukrotnie poddawano ekstrakcji czterochlorkiem węgla (cz.d.a.) odpowiednio przez 30 i 15 min. Ekstrakty filtrowano przez tygle Schotta G3, umieszczano w kolbach miarowych i uzupełniano rozpuszczalnikiem do objętości 100 cm^3. Równolegle w przesianych próbkach gruntu oznaczano zawartość wilgoci ogólnej (w temperaturze 105°C).

Oznaczanie zawartości węglowodorów polarnych i niepolarnych w próbkach ekstraktu wykonywano metodą pomiaru spektrofotometrycznego w podczerwieni, w zakresie liczb falowych 3200 – 2700 cm^{-1}. Jako miarę zawartości badanych związków przyjęto zawartość najliczniej w nich występujących grup CH_2 z maksimum absorpcji przy liczbie falowej 2926 cm^{-1}.

Widma w podczerwieni zarejestrowano na spektrofotometrze SP 1000 firmy Pye-Unicam, stosując kuwety kwarcowe o długości drogi optycznej 5 cm. Jako wzorzec stosowano mieszaninę węglowodorów o składzie: 37,5% obj. n-heksadekanu, 37,5% obj. izooktanu i 25% obj. benzenu. Najmniejsza wykrywalność oznaczenia wynosi 0,1 mg w próbce, a błąd metodyczny wyrażony odchyleniem standardowym 7%.

3.3. Przygotowanie próbek i metodyka badań bakteriologicznych (18)

Próbki gruntu do badań bakteriologicznych pobierano do jałowych słoików. Każdą próbkę po dokładnym wymieszaniu przesiewano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Z frakcji poniżej 2 mm odważano 10 g próbki, z których następnie wykonywano dziesięciokrotne rozcieńczenia w jałowej wodzie buforowanej i wytrząsano przez 10 min. Po ok. 1 min dekantacji wykonywano z zawiesiny kolejne rozcieńczenia w zakresie 10^{-2} do 10^{-7}.

Analiza bakteriologiczna próbek gruntu obejmowała oznaczanie najbardziej prawdopodobnej liczby (NPL) bakterii rozkładających węglowodory. Wykonano dwie serie badań bakteriologicznych.

W pierwszej serii przeprowadzono porównawcze posiewy próbek gruntu na cztery płynne pożywki różniące się źródłem i stężeniem azotu. W zastosowanych pożywkach źródłem azotu nieorganicznego były jony azotanowe i/lub amonowe. Pożywka nr 1 wg Tausona zawierała w składzie azotany (0,017%N); pożywka nr 2 wg Tausona zawierała azot amonowy (0,021%), pożywka wg Woroszyłowej i Dianowej azot amonowy i azot azotanowy (łącznie 0,033%N) (17). Pożywka „angielska" zawierała także dwie formy azotu nieorganicznego (0,083%N) (19). We wszystkich wymienionych pożywkach źródłem węgla organicznego była nafta.

Pożywki po rozlaniu do jałowych kolb Erlenmeyera (po 50 cm^3 do kolb o pojemności 250 cm^3) posiewano odpowiednimi rozcieńczeniami próbek gruntu, w dwóch powtórzeniach równoległych. Do każdej kolbki wprowadzano 1 cm^3 nafty (po wyjałowieniu na filtrze membranowym o średnicy porów 0,2 μm).

Tak przygotowane próby inkubowano w temperaturze pokojowej. Obserwacje wzrostu bakterii prowadzono w okresie od 4 do 8 tygodni w odstępach tygodniowych. Pierwszymi symptomami wzrostu bakterii wskazujacymi na rozkład węglowodorów było zmętnienie pożywki oraz zmiana jej barwy na żółtawą, następnymi zaś pojawianie się błonki bakteryjnej na granicy pomiędzy pożywką mineralną, a naftą oraz wystąpienie zmętnienia i tworzenie się tzw. „oczek" w cienkiej warstwie nafty.

W drugiej serii badań, wykonano posiewy gruntu na stałą pożywkę „angielską" przygotowaną w trzech wersjach: z naftą, naftalenen oraz z paliwem ciężkim.

Paliwo ciężkie rozpuszczano w eterze etylowym (10g/30 cm^3) i mieszano z 10g żelu krzemionkowego. Proszek, utworzony po odparowaniu eteru, w ilości 10g wprowadzano do 1 dm^3 pożywki i jałowiono w autoklawie (12).

Naftalen rozpuszczano w alkoholu etylowym i jałowiono na filtrach membranowych o średnicy porów 0,2 μm. Eterowy roztwór naftalenu rozprowadzano cienką warstwą na powierzchni zasianego powierzchniowo (odpowiednim rozcieńczeniem gruntu) podłoża stałego.

Naftę po wyjałowieniu na filtrze membranowym rozprowadzano cienką warstwą po powierzchni pożywki.

Posiewy inkubowano 6 tygodni w temperaturze pokojowej.

4. Wyniki badań

Ogólna zawartość produktów ropopochodnych w skażonych gruntach na stacjach przeładunkowych paliw mieściła się w granicach od 180 do 1420 mg/100 g s.m. (tzn. od ok. 2 g/kg s.m. do ok.14 g/kg s.m) (tab. 2). Zgodnie z klasyfikacją Ying i wsp. (9) były to grunty nisko- i średnioskażone (18,20).

Wykonane badania bakteriologiczne dotyczą oceny zawartości bakterii rozkładających węglowodory w gruntach występujących w warunkach naturalnych (18,20).

TABELA 2

ZESTAWIENIE WYNIKÓW ZAWARTOŚCI WĘGLOWODORÓW (mg/100g s.m.) W PRÓBKACH GRUNTÓW POBRANYCH Z OBIEKTÓW PRZEŁADUNKU PRODUKTÓW ROPOPOCHODNYCH

Badany obiekt	Rodzaj próbki	Zawartość węglowodorów (mg/100g s.m.)			
		Data poboru			
		29.11.90	19.03.92	22.04.92	22.06.92
ZGPN Kiełpinek	piasek drobny	1153,2	1085,8	950,0	*
Gdańsk-Zaspa	piasek drobny	836,9	328,7	196,2	180,1
ZGPN nr 2	żwir z żużlem	445,4	451,6	504,0	750,0
ZGPN nr 4/1	piasek brunatny	1027,4	759,7	768,9	1270,4
ZGPN nr 4/2	namuł piaszczysty	*	1180,2	1420,3	*
Teren PG	piasek drobny	0,4	8,0	5,6	*

TABELA 3

ZESTAWIENIE WYNIKÓW BADAŃ LICZBY (NPL/100g) BAKTERII UTLENIAJĄCYCH NAFTĘ W PRÓBKACH GRUNTU POCHODZĄCYCH Z OBIEKTÓW PRZEŁADUNKU PRODUKTÓW ROPOPOCHODNYCH

Badany obiekt	Rodzaj próbki	Liczba bakterii (NPL/100g)			
		Data poboru			
		29.11.90	19.03.92	22.04.92	22.06.92
ZGPN Kiełpinek	piasek drobny	$1,3 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$	$9,6 \times 10^5$	*
Gdańsk-Zaspa	piasek drobny	$6,2 \times 10^4$	$1,9 \times 10^4$	$< 5 \times 10^3$	$< 5 \times 10^4$
ZGPN nr 2	żwir z żużlem	$6,0 \times 10^2$	$7,0 \times 10^2$	$2,4 \times 10^3$	$2,3 \times 10^4$
ZGPN nr 4/1	piasek brunatny	$2,4 \times 10^4$	$2,4 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$2,4 \times 10^5$
ZGPN nr 4/2	namuł piaszczysty	*	$1,3 \times 10^3$	$7,0 \times 10^3$	$3,7 \times 10^4$
Teren PG	piasek drobny	< 5	< 5	< 5	*

ZGPN — Zakład Gospodarki Produktami Naftowymi;
PG — Politechnika Gdańska;
* — brak wyniku.

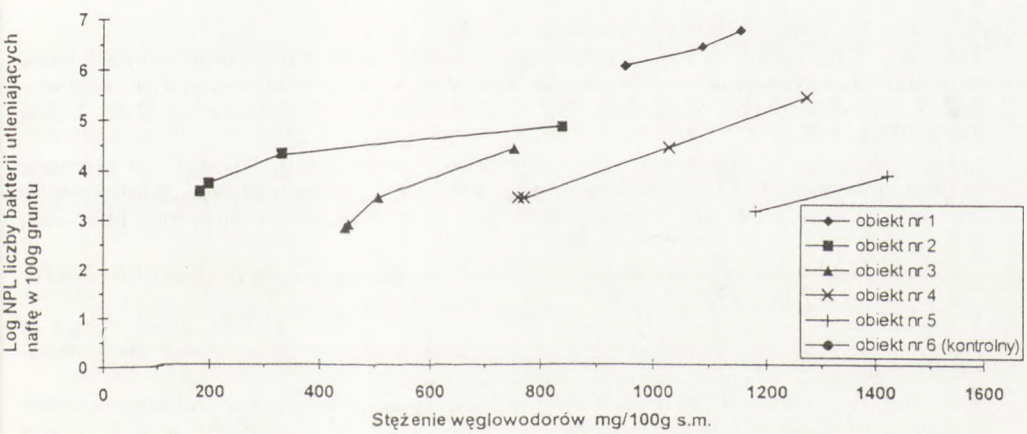
Pierwsza wstępna seria badań była poświęcona wyborowi optymalnej pożywki mineralnej do oznaczania liczby bakterii rozkładających węglowodory. Stwierdzono, że najszybszy wzrost bakterii zachodził na pożywkach zawierających dwa mineralne źródła azotu (jony amonowe i jony azotanowe) oraz

naftę jako jedyne źródło węgla. Była to pożywka „angielska" oraz pożywka Woroszyłowej i Dianowej, na których wyraźne zmiany wystąpiły już po 7 do 14 dniach inkubacji. W hodowlach na pożywce Tausona (z jednym źródłem azotu) wzrost bakterii ujawnił się około 2 tygodnie później.

Stwierdzono, że liczba bakterii rozkładających naftę w gruntach o zawartości od 180 do 1420 mg węglowodorów w 100 g s.m. gruntu (tj. od 0,18 do 1,4%) wahała się w granicach od 6×10^2 do $2,4 \times 10^6$ w 100 g gruntu (tab. 3). Ujawniła się wyraźna zależność pomiędzy stężeniem zanieczyszczeń węglowodorowych, a liczbą bakterii rozkładających naftę w próbkach gruntu pochodzących z tych samych punktów w obiektach przeładunku paliw. Wyniki badań wykazały, że liczba bakterii rosła wraz ze stopniem skażenia gruntu węglowodorami (rys. 1).

W gruntach nieznacznie tylko zanieczyszczonych (o stężeniu węglowodorów od 0,43 do 8,03 mg/100 g s.m.) liczba bakterii utleniających naftę była niska i wynosiła poniżej 5 w 100 g gruntu.

Druga seria badań dotyczyła oceny wpływu rodzaju substratu na liczbę wykrywanych w gruncie bakterii utleniających węglowodory. Zastosowano w nich pożywkę „angielską". Oznaczono liczbę bakterii rozkładających ropę naftową, naftalen oraz paliwo ciężkie. Największą liczbę jednostek tworzących kolonie uzyskano na pożywce, w której jedynym źródłem węgla był naftalen. Była ona od 4 do 10 razy większa, niż na pożywce z naftą. Najtrudniej przyswajalnym przez mikroorganizmy substratem, spośród badanych, było paliwo ciężkie. Liczba bakterii rozkładających węglowodory wchodzące w skład paliwa ciężkiego była od 50 do 100 razy niższa, niż w badaniach z naftą.



Rys. 1. Liczba bakterii utleniających naftę w gruntach o różnym stężeniu produktów ropopochodnych.

5. Wnioski

1. W powierzchniowych warstwach gruntów, pochodzących ze stacji przeładunku paliw, zanieczyszczonych produktami ropopochodnymi w stężeniach od ok. 2 g/kg s.m. do 14 g/kg s.m. gruntu, występują bakterie zdolne do rozkładu tego typu substancji. Liczba bakterii rozkładających węglowodory (oznaczana na pożywce z naftą) w gruncie z określonego obiektu rośnie wraz ze stężeniem produktów ropopochodnych. Zawartość bakterii w badanych gruntach zmienia się w granicach od 6×10^2 do $2{,}4 \times 10^6$ w 100 g gruntu.

2. Do badań bakteriologicznych gruntów nad oznaczaniem liczby bakterii rozkładających węglowodory zaleca się stosowanie pożywek zawierających dwa, wymienione w pracy, źródła azotu nieorganicznego.

3. Wyniki badań bakteriologicznych w dużym stopniu zależą od rodzaju wprowadzonego do pożywki źródła węgla organicznego. Jeden tylko węglowodór, jak np. naftalen, powszechnie stosowany w tego typu badaniach, nie może być reprezentatywnym składnikiem pożywki przy określaniu liczby bakterii zdolnych do rozkładu złożonych mieszanin węglowodorów, do których należą, np. paliwo ciężkie, olej napędowy lub olej silnikowy.

4. Rodzaj substratu(-ów), wprowadzanego do pożywki powinien być dostosowany do charakteru zanieczyszczeń gruntu.

Literatura

1. Eastcott L., Shiu W.Y., Mackay D., (1989), *Petroleum contaminated soils: remediation techniques, environmental fate, and risk assessment*, 1, Eds. Kostecki P.T., Calabrese E.J., Lewis Publishers, INC.
2. Schwille K., (1966), Deusch. Gewässerk. Mittl.10.
3. Bulman, T.L., Jank, B.E., Scoggins R.P., (1990), *Petroleum contaminated soils: remediation techniques, environmental fate, risk assessment, analytical methodologies, regulatory considerations*, 3, Eds. Kostecki P.T., Calabrese E.J., Lewis Publishers, INC.
4. IARC (International Agency for Research on Cancer), (1983), *Polynuklear aromatic compounds*, Part 1, *Chemical, environmental and experimental data*. Monographs of the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Lyon 32, 31 – 39.
5. Miller, R.M., Singer, G.M., Rosen, J.D., Bartha, R. (1988), Appl. Environ. Microbiol., 54, 7, 1724 – 1730.
6. Fleischer E.J., Noss, P.R., Kostecki P.T., Calabrese E.J., (1986), *Proceedings of the Third Eastern Regional Groundwater Conference*, National Water Well Association, Springfield, MA, 29 – 31 July 1986.
7. Bauman B., (1989), *Petroleum contaminated soils: remediation techniques, environmental fate, and risk assessment*, 1, Eds. Kostecki P.T., Calabrese E.J., Lewis Publishers, INC.
8. Dineen D. et al., (1990), *Petroleum contaminated soils: remediation techniques, environmental fate, risk assessment, analytical methodologies, regulatory considerations*, 3, Eds. Kostecki P.T., Calabrese E.J., Lewis Publishers, INC.
9. Ying A. et al., (1990), *Petroleum contaminated soils: remediation techniques, environmental fate, risk assessment, analytical methodologies, regulatory considerations*, 3, Eds. Kostecki P.T., Calabrese E.J., Lewis Publishers INC.

10. Heitkamp, M.A., Cerniglia C.E., (1988), Appl. Env. Microbiol., 54, 6, 1612 – 1614.
11. Sims J.L. et al., (1993), United States Environmental Protection Agency, EPA/540/S–93/501.
12. Colwell R.R., Walker J.D., Nelson J.D., (1973), Center for Wetland Resources, LSU–SG–73–01.
13. Stieber M., Bockle, K., Werner P., Frimmel F.H., (1990), Contaminated Soil '90. Third International KfK/TNO Conference on Contaminated Soil, 10 – 14 December 1990, Karlsruhe, I, Kluwer Academic Publishers.
14. Kiyohara H., Nagao K., Yana K.,(1982), Appl. Env. Microbiol., 43, 2, 454 – 457.
15. West P.A. et al., (1984), Appl. Env. Microbiol., 48, 5, 988 – 993.
16. Vosjan J.H., Gunkel W., Tijsen S.B., Pauptit E., Klings K.W., Bruns K., Poremba K.W., Hagmeier E., (1992), Neth. J. Sea Res., 29 (4), 333 – 341.
17. Rodina A.,(1967), *Mikrobiologiczne metody badania wód*, PWRiL, Warszawa.
18. Topolnicki M., Olańczuk-Neyman K., Prejzner J., Oleszkiewicz-Goździelewska A., Bray R., Czerwionka K., (1990), Biologiczne oczyszczanie gruntu (in situ) z zawartością substancji ropopochodnych. Praca nie publikowana, Politechnika Gdańska, Wydział Hydrotechniki, 72.
19. Corrosion Control Engineering Joint Venture, (1987), *Review of Current Practices for Monitoring Bacterial Growth in Oilfield Systems.* Document No 001/87, Issue No 1, Birmingham.
20. Czaplewska A., (1993), Biologiczna metoda usuwania z gruntów produktów ropopochodnych, praca dyplomowa, Politechnika Gdańska, Wydział Hydrotechniki.

Praca finansowana przez Komitet Badań Naukowych z funduszy przyznanych na realizację tematu badawczego nr S 401 086 04.

Chemical and bacteriological evaluation of petroleum contaminated soils from reloading stations

Summary

The results of preliminary studies concerning chemical and bacteriological investigations of petroleum contaminated unsaturated soils are presented. The investigated soils sampled from five reloading stations of liquid fuels represented conditions of medium and low contamination. The concentration of total petroleum hydrocarbons ranged from 2 g/kg of dry matter to 14 g/kg of dry matter of soil and the number of viable petroleum degrading bacteria was at the range of 6×10^2 to $2{,}4 \times 10^6$ per 100 g of soil. It was assumed that the number of bacteria capable of degrading petroleum hydrocarbons at the soil from selected station increased with the oil concentration. The type of hydrocarbons applied in the mineral medium greatly influenced the results of bacteriological examinations.

Key words:
bacteriological media, bioremediation, petroleum contaminated soils, petroleum degrading bacteria.

Adres dla korespondencji:
Krystyna Olańczuk-Neyman, Jerzy Prejzner, Michał Topolnicki. Wydział Hydrotechniki, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80–952 Gdańsk.