

Próby biooczyszczania gruntów z substancji ropopochodnych

Teresa Farbiszewska¹
Jadwiga Farbiszewska-Bajer¹
Mieczysław Steininger²

1. Wprowadzenie

W ostatnich latach prowadzone są badania nad możliwością usuwania odpadów przemysłowych szkodliwych dla środowiska przy współudziale mikroorganizmów (1,2). Do nich należą między innymi odpady przemysłu farmaceutycznego, chemicznego, petrochemicznego, przemysłu barwników i nawozów sztucznych (3,4,5). Degradacja tych odpadów polega na wykorzystywaniu systemu enzymatycznego wybranych mikroorganizmów, zdolnego do przekształcania naturalnych związków organicznych w proste substancje, nieszkodliwe dla środowiska. Mikroorganizmy wykorzystywane do biodegradacji organicznych substancji odpadowych, uzyskują najczęściej zdolności degradacyjne dopiero po ich wstępnej adaptacji (6).

W Polsce w ostatnich latach olbrzymie zainteresowanie wzbudzają mikroorganizmy prowadzące biodegradację węglowodorów ropopochodnych. Zanieczyszczenie gruntów i zbiorników wodnych substancjami ropopochodnymi stało się palącym problemem po opuszczeniu terenów Polski przez wojska radzieckie. Skażenia terenów lotnisk, opuszczonych przez jednostki Armii Radzieckiej, przekraczają znacznie normy. Substancje ropopochodne zanieczyszczają nie tylko grunt, ale również ujęcia wodne, do których dostały się poprzez wody gruntowe (7). Podobne zanieczyszczenia występują na terenach otaczających stacje benzynowe, bocznicę kolejową, przepompownię, itp. Biorąc pod uwagę tak olbrzymie rozprzestrzenienie się tego skażenia wydaje się celowe, prowadzenie jego usuwania, przy współudziale mikroorganizmów.

Zasadniczymi zaletami metody biologicznego usuwania zanieczyszczeń z gruntów są:

- stosunkowo niskie nakłady inwestycyjne,
- przekształcanie substancji szkodliwych w substancje obojętne dla środowiska,

¹ Instytut Chemii, WSP, Opole.

² Politechnika Wrocławska.

- możliwość prowadzenia procesu w warunkach naturalnych,
- bezpośrednio po przeprowadzeniu procesu, grunt nadaje się do ponownego użytku.

Wadą procesów biodegradacji zanieczyszczeń jest czas ich trwania, ale biorąc pod uwagę niskie nakłady inwestycyjne, wada ta, jak się wydaje, jest w pełni zrekompenrowana.

Z uwagi na indywidualną specyfikę skażeń i gruntów, w których one występują, przeprowadzanie mikrobiologicznej detoksykacji, wymaga każdorazowo wstępnych badań laboratoryjnych, połączonych z wyizolowaniem i uaktywnieniem mikroflory ze skażonego gruntu. Bedzie ona bowiem wykazywała najwyższe zdolności detoksykacyjne i wzrost jej spowoduje pobudzenie flory autochtonicznej w gruncie (8).

W pracy tej przedstawiono próby detoksykacji gruntu z okolic bocznicy kolejowej w województwie zielonogórskim, gdzie wskutek awarii uległo rozlaniu około 100 l ropy naftowej.

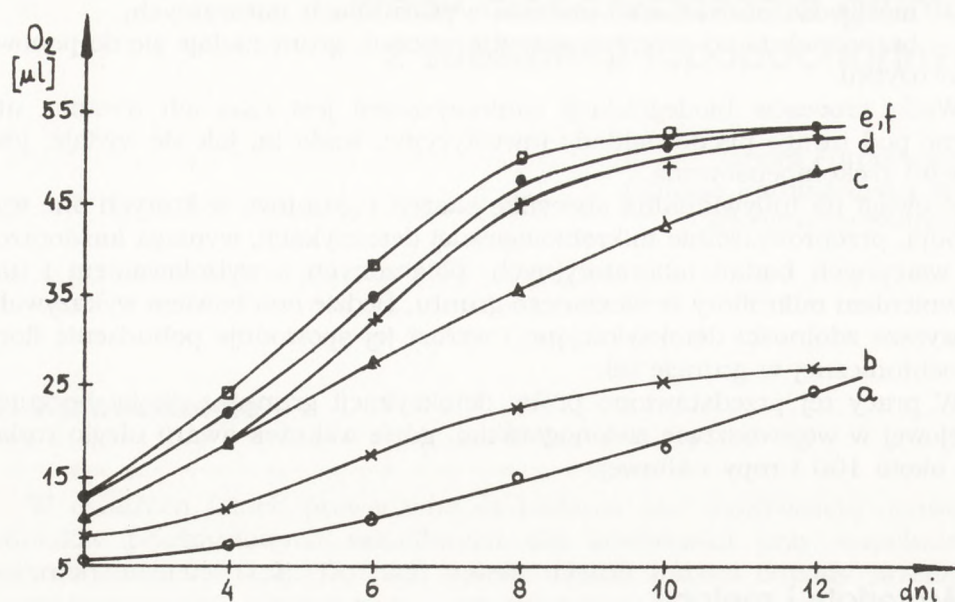
2. Materiały i metody

2.1. Wyizolowanie autochtonicznej mikroflory z gruntu

Prowadząc izolację autochtonicznej flory bakteryjnej ze skażonego gruntu, pierwsze posiewy prowadzono do pożywki, którą stanowił sterylny, napowietrzany ekstrakt glebowy, uzyskany z badanego gruntu (9), inkubując hodowlę przez 10 dni w temperaturze 30°C. Następnie, uzyskaną hodowlę, pasażowano kilkakrotnie do pożywki o składzie (10):

NH ₄ Cl	1g
K ₂ HPO ₄	1g
MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,5g
CH ₃ COONa	1,3g
H ₂ O	do 1000g

W pierwszych przeszczepach do pożywki dodawano 1g ekstraktu drożdżowego, a potem stopniowo od 0,1% do 5% ropy naftowej, która spowodowała skażenie. Następnie, hodowlę z 5% dodatkiem ropy przesiewano kilkakrotnie, w celu osiągnięcia wzrostu aktywności życiowej. Hodowle każdorazowo inkubowano w 30°C i oznaczano ich aktywność biologiczną, oznaczając zużycie tlenu w aparacie Warburga. Hodowla po 6 pasażach zawierała około 10⁸ komórek/cm³ w 8 dniu hodowli (rys. 1) i uznano ją za wystarczająco aktywną do prowadzenia badań.



Rys. 1. Ilość μl O_2 pobrana przez 1 cm^3 hodowli po kolejnych przesiewach.

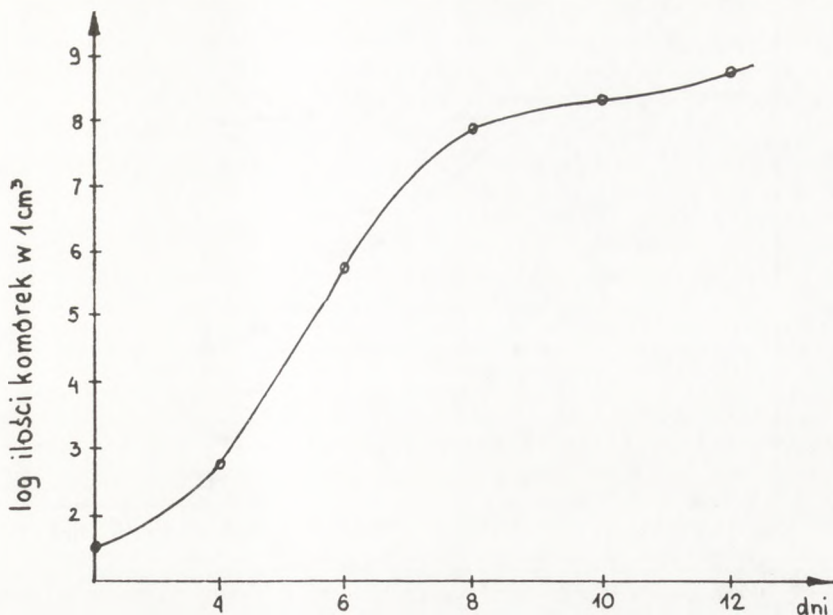
a — 1 przesiew, b — x — 2 przesiewy, c — Δ — 3 przesiewy, d — + — 4 przesiewy, e — \bullet — 5 przesiewów, f — \square — 6 przesiewów.

2.2. Biodegradacja gruntu

Proces prowadzono w kolbach Erlenmeyera poj. $0,5 \text{ dm}^3$, do których wprowadzono po 250 g badanego gruntu i odpowiednio 50 cm^3 pożywki zawierającej 10^7 komórek/ cm^3 , 10 cm^3 tej pożywki lub 50 cm^3 pożywki zawierającej 10^2 komórek/ cm^3 . Doświadczenia ustawiono w układach potrójnych. Równolegle ustawiono potrójne układy kontrolne, do których wprowadzono wysterylizowany grunt, sterylną pożywkę i dodano tymol, jako substancję bakteriostatyczną. Wszystkie układy napowietrzano. Proces prowadzono 20 dni w temperaturze pokojowej, co 5 dni oznaczano zawartość substancji ropopochodnych, metodą chromatografii gazowej, oraz aktywność biologiczną bakterii w aparacie Warburga.

3. Wyniki i ich omówienie

Isolując mikroorganizmy ze skażonego gruntu, oceniano ich aktywność życiową po kolejnych przesiewach. Ilości mikrolitrów tlenu pobierane przez 1 cm^3 hodowli w kolejnych dniach wzrostu przedstawiono na rys. 1. Z przebiegu krzywych wynika, że hodowla uzyskana po szóstym przesiewie wykazuje aktywność życiową na tyle wysoką, że preferuje ją ona do stosowania w procesie biodegradacji skażeń.

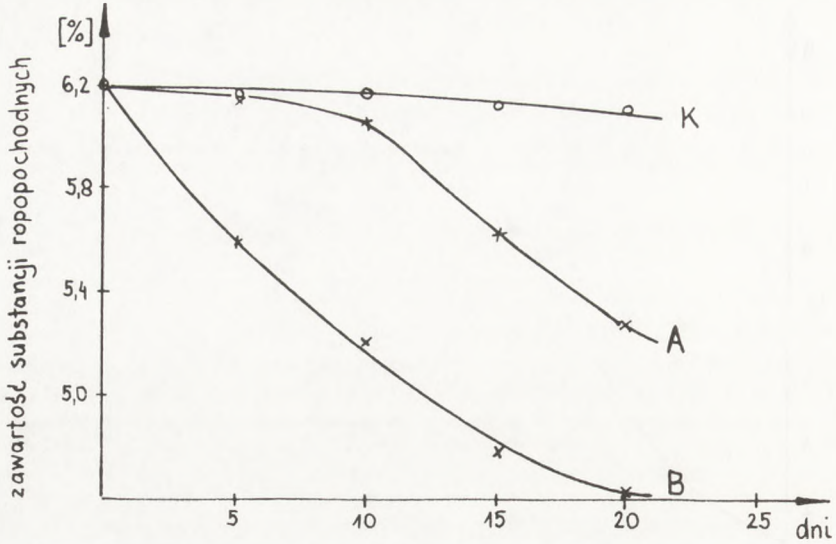


Rys. 2. Ilość komórek w 1 cm³ hodowli wyizolowanych mikroorganizmów po 6 przesiewach w kolejnych dniach wzrostu.

Ilość komórek zawartą w 1 cm³ hodowli po szóstym przesiewie, w kolejnych dniach wzrostu przedstawiono na rys. 2. Wyniki potwierdzają możliwość stosowania tej hodowli w prowadzonych procesach biodegradacji. Najbardziej odpowiednia do zaszczepu pożywki, jak się wydaje, jest hodowla między 8 a 10 dniem wzrostu. Hodowli tej użyto w dalszych badaniach.

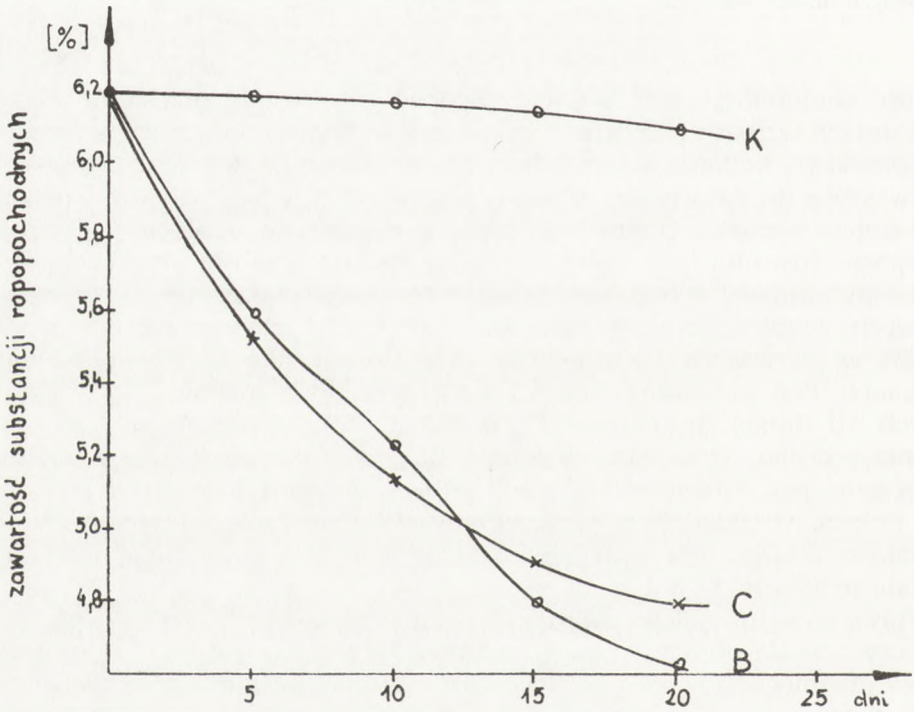
Wpływ stosunku fazy stałej do ciekłej (s:c) na przebieg procesu biodegradacji ropy naftowej w badanym gruncie przedstawiono na rys. 3. Z przebiegu krzywych wynika, że przy stosunku s:c = 25:1 zanieczyszczenie spadało o 2,6% w pierwszych 10 dniach trwania procesu i o 13,3% w następnych 10 dniach. Przy stosunku s:c = 5:1 zanieczyszczenie spadało o 15,4% w pierwszych 10 dniach jego trwania i o dalsze 12% w następnych 10 dniach trwania procesu. Wprawdzie w drugiej połowie doświadczenia spadek zanieczyszczenia jest w obydwu układach prawie taki sam, lecz biorąc pod uwagę cały proces, w układzie o większej zawartości fazy ciekłej zanieczyszczenie zmalało o 25,5%, a w układzie zawierającym pięć razy mniej fazy ciekłej zmalało jedynie o 14,8%.

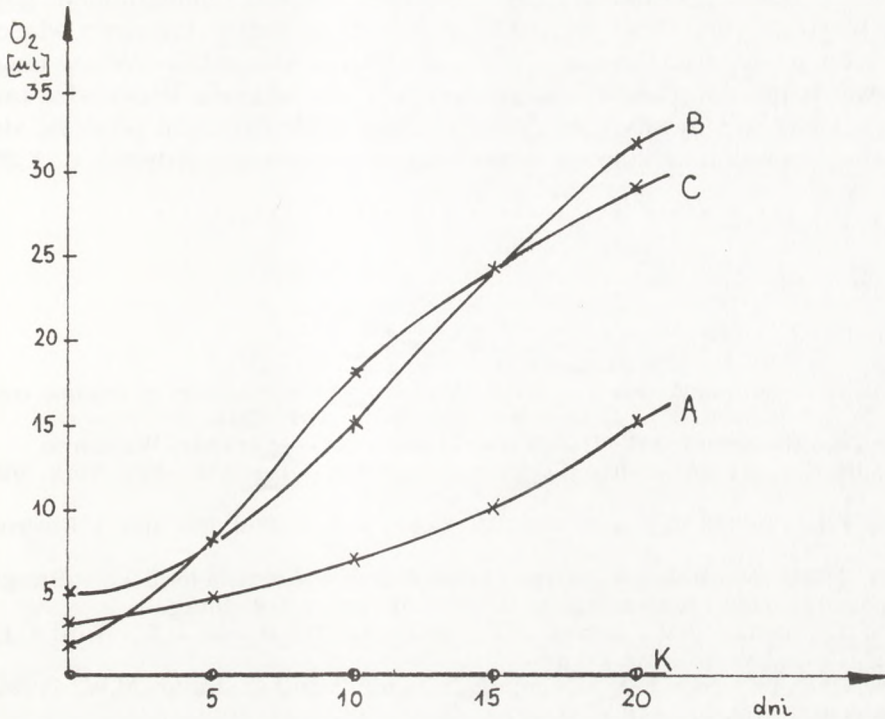
Wpływ wyjściowej ilości mikroorganizmów, w badanym procesie, na spadek zanieczyszczenia obrazuje rys. 4. Przebieg krzywych na rysunku dowodzi, że proces przebiega głównie pod wpływem mikroorganizmów zawartych w skażonej glebie i pobudzonych do życia wskutek napowietrzania i dostarczania



Rys. 3. Procentowa zawartość substancji ropopochodnych w badanym gruncie w poszczególnych dniach trwania procesu w zależności od stosunku fazy stałej do ciekłej.

A — s:c = 25:1. B — s:c = 5:1. K — kontrola s:c = 5:1.





Rys. 5. Ilość μl O_2 pobrana przez mikroorganizmy zawarte w 1 cm^3 badanej gleby w poszczególnych dniach trwania procesu. A — 10^7 komórek/ cm^3 . B — 10^7 komórek/ cm^3 . C — 10^2 komórek/ cm^3 . K — kontrola bezbakteryjna.

A — s:c = 25:1. B — s:c = 5:1. C — s:c = 5:1. K — s:c = 5:1.

pożywki. W układzie, w którym wyjściowe stężenie mikroorganizmów w pożywce wynosiło 10^7 komórek/ cm^3 zanieczyszczenie spadło o 25,4%, a w układzie o stężeniu wyjściowym 10^2 komórek/ cm^3 o 22,6%.

Wyniki te potwierdziła aktywność życiowa bakterii w obydwu procesach, przedstawiona na rys. 5. Jest ona w układzie o mniejszej ilości fazy ciekłej znacznie niższa w pierwszych 10 dniach.

Analizując uzyskane wyniki, należy stwierdzić, że proces biodegradacji badanych materiałów przebiega głównie przy współdziałaniu mikroorganizmów zawartych w skażonym gruncie, których aktywność, a tym samym zdolności degradujące substancje ropopochodne, wzrasta głównie pod wpływem napowietrzania i zwilżania. Uzyskane wyniki dowodzą jednak znacznej toksyczności ropy, którą skażony był badany grunt, dla stosowanych bakterii. Prowa-

Rys. 4. Procentowa zawartość substancji ropopochodnych w badanym gruncie w poszczególnych dniach trwania procesu w zależności od wyjściowej ilości mikroorganizmów. B — 10^7 komórek/ cm^3 . C — 10^2 komórek/ cm^3 . K — kontrola bezbakteryjna.

dzone badania potwierdzają konieczność prowadzenia wstępnych badań laboratoryjnych przed każdorazowym prowadzeniem procesu biodegradacji, gdyż czas przebiegu procesu detoksykacji ściśle zależy od indywidualnych właściwości skażonego gruntu. Równoczesne zmniejszenie skażenia o 25% w ciągu 20 dni trwania procesu dowodzi słuszności jego prowadzenia. Potwierdza także czynny udział w nim mikroorganizmów, gdyż w identycznym procesie sterlnym, bez mikroorganizmów, zanieczyszczenie zmalało jedynie o 1,3% (rys. 4).

Literatura

1. Alexander M., (1981), *Science*, 211, 132 - 138.
2. Łabużek S., (1991), *Biotechnologia* 3 - 4 (13 - 14), 90 - 101.
3. Gibson D.T., Subramanian V., (1984), *Microbiology degradation of organic compounds*, Ed. Gibson D.T., Dekker Inc., New York, 181 - 252.
4. Meinck F., Kohschutter H., (1975), *Ścieki przemysłowe*, Arkady, Warszawa.
5. Cerniglia C.E., (1984), *Petroleum Microbiology*, Ed. Atlas R.M., New York, 99 - 128.
6. Haung Y.T., Horsfall III F.L., Wong L.M., Coker D.R., (1986), *Internat. J. Environ. Studies*, 28, 41.
7. Hac B., (1992), Warunki geologiczne i stopień zanieczyszczenia lotniska w Brzegu, Sympozjum Urzędu Rejonowego w Brzegu. Archiwum UR, Brzeg.
8. Lee M.D., Thomas J.M., Borden R.C., Beolient P.B., Wilson J.T., Ward C.H., (1988), *Crit. Rev. Environ. Control.*, 18, 29.
9. Belayev S.S., Borzenov I.A., Milehina E.I., Tsarahtsion I.A., Ivanov M.W., (1990), *Mikrobiologia*, 59, 6, 1118.
10. Murray K., (1989), *Aquaculture engineering technologies for future*, Inst. Chem. Eng. U.K., Symp. Ser. 111, 329.

Biodegradation of petroleum pollution from the ground

Summary

Trials of biodegradation of hydrocarbons from the ground were carried out with the help of microbial consortium isolated from soil. Microbial consortium of the highest biological activity, which was first adapted to high concentration of hydrocarbons, existed in polluted ground. Biodegradational process was carried out on a laboratory scale. Concentration of hydrocarbons in researched ground was estimated by gas chromatography method. During the twenty day long process 25% of hydrocarbons contained in the examined soil was removed.

Key words:

biodegradation of hydrocarbons, microbial consortium, petroleum pollution.

Adres dla korespondencji:

Teresa Farbiszewska, Instytut Chemii, Wyższa Szkoła Pedagogiczna,
ul. Oleska 48, 45 - 951 Opole.