

Jadwiga FARBISZEWSKA-BAJER**, Teresa FARBISZEWSKA*, Beata CWALINA***

BIODEGRADACJA SUBSTANCJI TŁUSZCZOWYCH Z GRUNTÓW – ADAPTACJA WYIZOLOWANEJ MIKROFLORY

Przedstawiono proces biodegradacji substancji tłuszczowych w gruncie. Proces prowadzono przy współdziale mikroflory autochtonicznej. W 10-dniowym procesie uzyskano 18% spadek zawartości substancji tłuszczowych w badanym gruncie.

1. WPROWADZENIE

Kontynuując badania nad biodegradacją substancji tłuszczowych z gruntów, prowadzono adaptację mikroflory wyizolowanej z odpadowych dołów osadowych Nadodrzańskich Zakładów Tłuszczowych w Brzegu (Farbiszevska T. i in. 1995) do dużych stężeń oleju roślinnego, pochodzącego z tego zakładu. Po uzyskaniu mieszaniny szczepów wstępnie zaadaptowanych do substancji tłuszczowych przeprowadzono próby biodegradacji tych substancji z badanego gruntu.

2. ADAPTACJA MIKROFLORY DO DUŻYCH STĘŻEŃ OLEJU ROŚLINNEGO

Prowadząc izolację mikroflory z dołów osadowych stosowano pożywkę zawierającą 0,2% oleju roślinnego. W celu adaptacji wyizolowanej mikroflory do większych stężeń oleju, jakie występują w odpadach poprodukcyjnych, prowadzono hodowlę mikroflory w pożywce o składzie:

NH_4Cl	– 0,1%
K_2HPO_4	– 0,1%
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	– 0,05%
$\text{CH}_3\text{COOH} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	– 0,1%

w której zmieniano zawartość oleju roślinnego od 0,1 do 5%.

*Uniwersytet Opolski, Instytut Chemii, 45-291 Opole, ul. Oleska 48.

**Uniwersytet Opolski, Instytut Techniki, 45-365 Opole, ul. Dmowskiego 7–9.

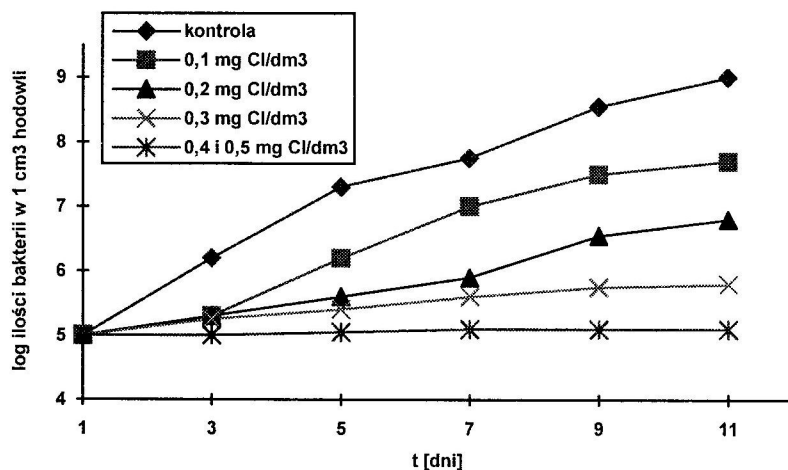
***Śląska Akademia Medyczna, Katedra Biofizyki i Biochemii, 41-200 Sosnowiec, ul. Narcyzów 1.

Hodowle mikroorganizmów w tych pożywkach prowadzono każdorazowo przez 15 dni, w temperaturze 20 °C, w układach napowietrzanych. Mikroorganizmy w 15 dniu hodowli przesiewano do świeżej pożywki o identycznej zawartości oleju. Hodowlę, która w 15. dniu zawierała 10^9 komórek w 1 cm³ uważano za zaadaptowaną do tego stężenia oleju i przesiewano do pożywki o stężeniu wyższym. W kolejnych procesach adaptacyjnych stężenie oleju wynosiło kolejno: 0,1; 0,2; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 i 5,0%. Hodowlę zaadaptowaną do 5% stężenia oleju roślinnego w pożywce uznano za odpowiednią do prowadzenia procesów biodegradacji gruntów.

3. WPŁYW CHLOROWANIA NA WZROST WYIZOLOWANYCH SZCZEPÓW

Aby na wstępie wykluczyć ewentualny zarzut o rozwoju niepożądaną mikroflory w wodach gruntowych, postanowiono zbadać wpływ chlorowania na badaną mikroflorę (Farbiszevska T. i in. 1994). W tym celu prowadzono hodowle bakterii, do których wprowadzono podchloryn sodu – związek używany przez stacje uzdatniania wody, w ilości odpowiadającej zawartości wolnego chloru w hodowli odpowiednio: 0,1 mg Cl/dm³, 0,2 mg Cl/dm³, 0,3 mg Cl/dm³, 0,4 mg Cl/dm³ i 0,5 mg Cl/dm³. Nie przekroczono stężenia 0,5 mg Cl/dm³, gdyż jest to maksymalne stężenie dopuszczalne przez Ministerstwo Zdrowia i Opieki Społecznej (Dz.U. 1990).

Hodowlę prowadzono przez 10 dni, w temperaturze 25 °C, co dwa dni oznaczano liczbę bakterii w 1 cm³ hodowli. Uzyskane wyniki przedstawiono na rys. 1.



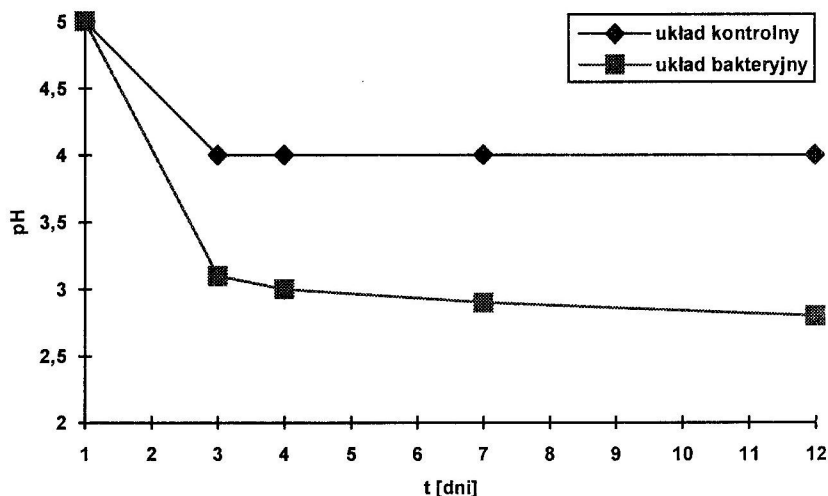
Rys. 1. Krzywe wzrostu bakterii w testowanej hodowli w zależności od stężenia chloru

Z przebiegu krzywych na rysunku wynika, że już stężenie chloru $0,3 \text{ mg/dm}^3$ praktycznie hamuje wzrost wprowadzonej mikroflory, a stężenie $0,4$ i $0,5 \text{ mg/dm}^3$ w pełni hamuje rozwój mikroorganizmów. W obrazie mikroskopowym obserwowano jedynie martwe komórki mikroorganizmów. Stosowanie więc wyizolowanej autochtonicznej mikroflory nie stanowi zagrożenia dla wód gruntowych.

4. WSTĘPNA PRÓBA BIODEGRADACJI GRUNTU

Po wyizolowaniu mikroflory z badanego gruntu i jej wstępnej adaptacji do dużych stężeń oleju, przystąpiono do prób biodegradacji tłuszczów z badanego gruntu. W tym celu ustawiono doświadczenie, w którym do trzech kolb poj. 1 dm^3 wprowadzono po 250 g ziemi, zawierającej $6,18\%$ oleju roślinnego, 250 cm^3 pożywki o składzie: $\text{NH}_4\text{Cl} - 0,1\%$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,1\%$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,05\%$ i 20 cm^3 hodowli bakteryjnej, zawierającej w 1 cm^3 10^9 komórek. Równocześnie ustawiono potrójny układ kontrolny, do którego dodano tymol jako substancję bakteriostatyczną. Obydwa układy napowietrzano, a proces prowadzono w temperaturze pokojowej przez 12 dni. Co 2–3 dni kontrolowano pH układów. Wyniki przedstawiono na rys. 2.

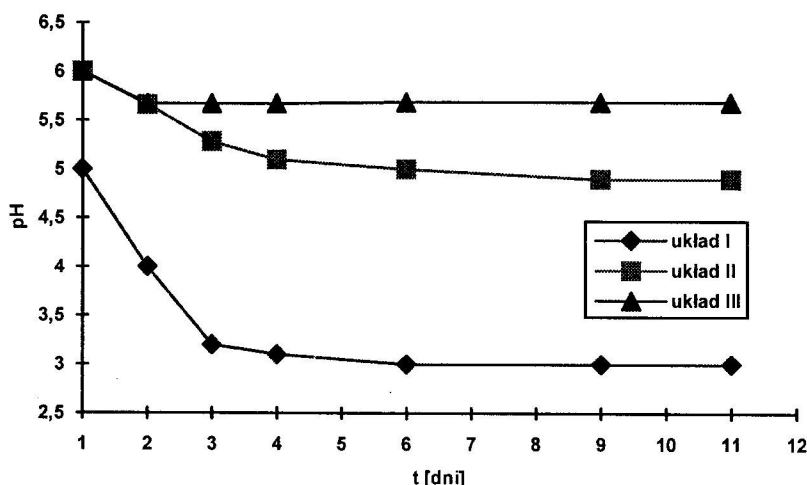
Z przebiegu krzywych wynika, że grunt powoduje silne zakwaszenie układów. W pierwszych trzech dniach trwania procesu, w układzie bakteryjnym następuje silniejszy spadek pH ($\text{pH} = 3$) niż w układzie bezbakteryjnym ($\text{pH} = 4$). Świadczy to o rozwoju mikroflory w tym układzie. Spadek pH poniżej 3 hamuje proces rozwoju mikroorganizmów (Farbiszewska T. i in. 1995). Analiza chromatogra-



Rys. 2. Zmiana pH układów w czasie biodegradacji tłuszczów z badanych gruntów

ficzna gruntu po procesie wykazała, że w układzie bezbakteryjnym nie nastąpiła zmiana zawartości oleju w gruncie, a w układzie bakteryjnym wynosiła 6,01%, czyli biodegradacji uległo 2,8% oleju zawartego w gruncie.

Ponieważ w pierwszych trzech dniach trwania procesu nastąpił znaczny wzrost kwasowości układu (pH poniżej 3,0), który hamuje rozwój mikroorganizmów, przeprowadzono kolejne doświadczenie. Ustawiono trzy podobne do poprzednich układy pomiarowe. Pierwszy identyczny, w drugim zobojętniono środowisko do pH = 7 roztworem NaOH, w trzecim w celu zobojętnienia dodano 25g CaCO_3 . Biodegradację prowadzono przez 11 dni, w temperaturze pokojowej, w układach napowietrzanych. Zmianę pH układów w czasie trwania procesu przedstawiono na rys. 3.



Rys. 3. Zmiana pH układów w 11-dniowym procesie biodegradacji

Z przebiegu krzywych wynika, że zarówno dodatek zasady sodowej, jak i węglanu wapnia powoduje zahamowanie wzrostu kwasowości układów. Dodatek węglanu wapnia jest w opisywanym przypadku bardziej korzystny, gdyż ze względu na znikomą jego rozpuszczalność powoduje stabilizację układu. Po zakończeniu procesu wykonano analizę chromatograficzną gruntów, która wykazała:

- w układzie I 6,01% oleju, co stanowi 2% spadek zawartości oleju,
- w układzie II 5,23% oleju, co stanowi 16% spadek zawartości oleju,
- w układzie III 5,13% oleju, co stanowi 18% spadek zawartości oleju.

5. PODSUMOWANIE

Wyniki badań dowodzą istnienia możliwości prowadzenia procesów biodegradacji substancji tłuszczowych z gruntów. Należy zaznaczyć, że w procesie po-

winni uczestniczyć mikroorganizmy wstępnie wyizolowane z degradowanego gruntu, co jest potwierdzeniem danych literaturowych, dotyczących biodegradacji innych substancji (Farbiszewska T. i in. 1988, Farbiszewska T. i in. 1989, Karavaiko G.J. i in. 1972, Karavaiko G.J. i in. 1985). Ponieważ oleje roślinne ulegają rozkładowi na kwasy tłuszczowe, które powodują wzrost kwasowości środowiska, dlatego konieczna jest w czasie trwania procesu biodegradacji jego neutralizacja, by nie został zahamowany wzrost mikroorganizmów. W przedstawionej pracy odpowiednim neutralizatorem okazał się węglan wapnia.

LITERATURA

Dziennik Ustaw 35, poz. 205 z dnia 04.05.1990.

FARBISZEWSKA T., CWALINA B., NOWAK A. (1988), *Izolowanie bakterii siarkowych z wód gruntowych i nadkładu Okręgu Turoszowskiego*, Rudy i Metale, 33, 11, 422–424.

FARBISZEWSKA T., CWALINA B., NOWAK A. (1989), *Adaptacja szczepów bakterii siarkowych wyizolowanych z Okr. Turoszowskiego do materiału ługowanego*, Rudy i Metale, 34, 12, 421–424.

FARBISZEWSKA T., FARBISZEWSKA-BAJER J., SUDOŁ T. (1995), *Biodegradacja substancji tłuszczowych z gruntów – izolowanie mikroorganizmów biodegradowujących substancje tłuszczowe*, artykuł w druku.

KARAVAIKO G.J., KUZNECOV S.J., GOLOMZIK A.I. (1972), *Rol mikroorganizmow v vychelachivanii metallov iz rud*, Moskva, Izd. Nauka.

KARAVAIKO G.J., GROUDEV S.N. (1985), *Biogeotechnology of metals*, UNEP, Moskva.

Farbiszewska-Bajer J., Farbiszewska T., Cwalina B., (1995), Biodegradation of aliphatic compounds present in soils. Adaptation of isolated microflora, *Physicochemical Problems of Mineral Processing*, 29, 145–149 (Polish text)

A process of biodegradation of aliphatic compounds present in soils was described. Experiments were carried out with the use of an autochthonous microflora. The main result is the removal of 18% of the aliphatic compounds from the samples during a 10-day process.