

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

WPLYW CHLOROWANIA NA WZROST MIKROORGANIZMÓW DEGRADUJĄCYCH SUBSTANCJE ROPOPOCHODNE W GRUNCIE

Zbadano wpływ podchlorynu sodu i preparatu SAVO-super, substancji używanych powszechnie do chlorowania wody, na wzrost flory bakteryjnej, stosowanej do degradacji substancji ropopochodnych. Stwierdzono, że obydwa preparaty, przy stężeniu 0,4 mg w 1 dm³, hamują wzrost testowanej flory bakteryjnej. Flora ta nie stanowi więc zagrożenia dla ujęć wodnych, gdyż ginie przy chlorowaniu wody w stacjach jej uzdatniania.

WPROWADZENIE

W ostatnich latach są prowadzone badania nad możliwością usuwania odpadów przemysłowych szkodliwych dla środowiska przy współudziale mikroorganizmów (Alexander 1981). Biodegradacja tych odpadów polega na wykorzystaniu systemu enzymatycznego wybranych mikroorganizmów, zdolnego do przekształcania związków organicznych w proste substancje nieszkodliwe dla środowiska, z równoczesnym wykorzystaniem zawartego w nich węgla jako źródła energii (Łabużek 1991).

Opuszczające Polskę jednostki Armii Radzieckiej pozostawiły po sobie tereny lotnisk z gruntami skażonymi substancjami ropopochodnymi. Skażenia te przekraczają kilka, a nawet kilkadziesiąt razy wszelkie dopuszczalne normy (Hac 1992). Substancje te zanieczyszczają nie tylko grunt i wody gruntowe, ale stanowią również silne zagrożenie dla ujęć wodnych. Podobnego typu skażenia występują w okolicach przepompowni, bocznic kolejowych i stacji benzynowych.

Ze względu na olbrzymie skażenie gruntów substancjami ropopochodnymi, których toksyczność zarówno dla flory, jak i organizmów ludzkich jest bardzo duża i powszechnie znana, wydaje się celowe prowadzenie ich biodetoksykacji.

Zaletami biodetoksykacji gruntów są:

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

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

** Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Instytut Techniki, 45-365 Opole, ul. Dmowskiego 7.

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

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

Wadą procesów biodegradacji zanieczyszczeń jest czas ich trwania, niskie nakłady inwestycyjne wydają się ją jednak w pełni rekompensować (Farbiszevska et al. 1993).

Podczas badań nad biodetoksykacją gruntów spotkano się z zarzutem, że stosowanie tej metody przyczynia się do skażenia ujęć wodnych materiałem biologicznym. Wobec tego, że mikroorganizmy wykorzystywane w procesie są zawsze autochtoniczne i nieszkodliwe dla organizmów żywych (niechorobotwórcze) (Murray 1989), postanowiono sprawdzić, jak działają na stosowaną w badaniach florę bakteryjną substancje używane do rutynowego chlorowania wody. W substancjach tych źródłem chloru jest podchloryn sodu. Zgodnie z rozporządzeniem Ministerstwa Zdrowia i Opieki Społecznej, zawartym w D.U. 35 poz. 205 z dnia 4.05.1990 r., stężenie wolnego chloru w wodzie nie może przekraczać $0,5 \text{ mg/dm}^3$. Do chlorowania wody pitnej stosuje się między innymi techniczny podchloryn sodu i preparat SAVO-super produkcji czeskiej.

Postanowiono zbadać wpływ podchlorynu sodu i preparatu SAVO-super na zahamowanie wzrostu flory bakteryjnej w hodowli mikroorganizmów, stosowanych w procesie biodegradacji substancji ropopochodnych w gruncie. Stężenie chloru w badanych hodowlach nie przekraczało $0,5 \text{ mg/dm}^3$, gdyż jest to maksymalna jego zawartość w wodzie pitnej dopuszczona przepisami MZ i OS. Wzrost mikroorganizmów określano:

- zmianami liczby mikrolitrów tlenu pobranego przez 1 ml hodowli w czasie 1 h w aparacie Warburga,
- liczbą mikroorganizmów w 1 cm^3 hodowli,
- ilość biomasy określoną w hodowli przez stężenie białka, wyrażone w mg/dm^3 .

MATERIAŁY I METODY

Badaniom poddano autochtoniczną florę bakteryjną, wyizolowaną z gruntu skażonego substancjami ropopochodnymi. Hodowlę bakterii prowadzono na pożywce o składzie:

NH_4Cl	1 g
K_2HPO_4	1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g
substancje ropopochodne	3 g
H_2O	do 1000 ml,

do której dodano w jednej serii badań preparat SAVO-super, w drugiej techniczny podchloryn sodu, aby osiągnąć stężenie wolnego chloru w wodzie odpowiednio: $0,1 \text{ mg/cm}^3$, $0,2 \text{ mg/cm}^3$, $0,3 \text{ mg/cm}^3$, $0,4 \text{ mg/cm}^3$ i $0,5 \text{ mg/cm}^3$.

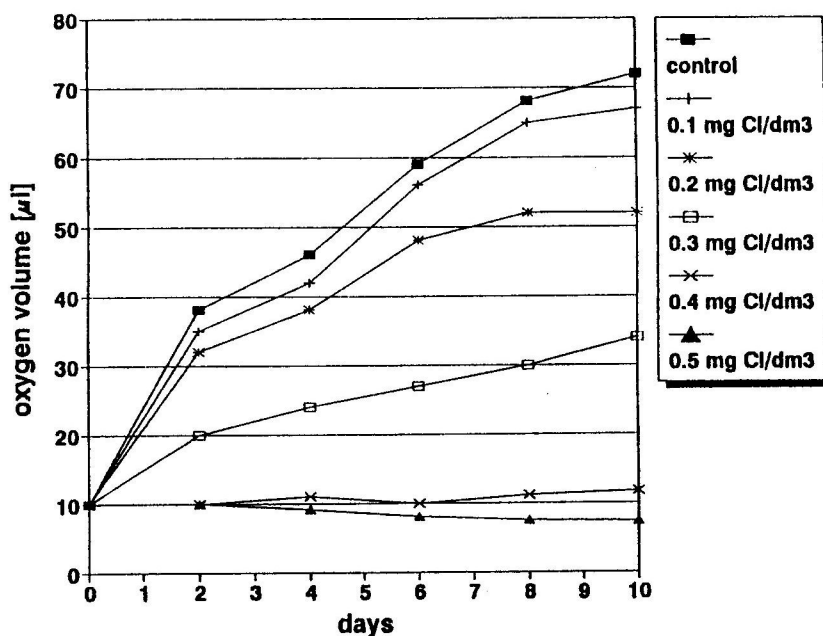
Równocześnie hodowano bakterie w układzie kontrolnym, w którym rosły one na pożywce o identycznym składzie lecz bez dodatku wolnego chloru. Wszystkie badania

przewodzone w układach potrójnych, w temperaturze 27 °C, przez 10 dni, na wstrząsarce laboratoryjnej. W czasie trwania badań, co dwa dni kontrolowano:

- zmiany liczby mikrolitrów tlenu pobranego przez 1 ml hodowli w czasie 1 h w aparacie Warburga,
- liczbę mikroorganizmów w 1 cm³ hodowli,
- ilość biomasy określoną w hodowli przez stężenie białka, wyrażone w mg/dm³.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

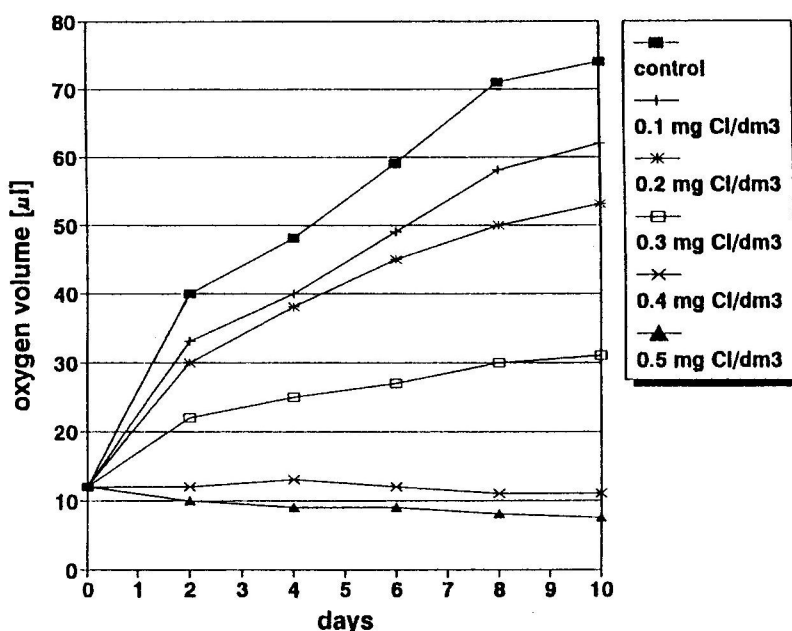
Aby ocenić wpływ chlorowania na rozwój mikroorganizmów, powodujących biodegradację substancji ropopochodnych, badano wzrost tych mikroorganizmów w zależności od zawartości wolnego chloru w hodowlach. Wzrost testowanych mikroorganizmów określano na podstawie oceny zarówno poboru tlenu przez hodowle w kolejnych dniach ich trwania, jak i ilości biomasy. Jej zmiana powinna potwierdzić wcześniejsze wyniki. Liczbę mikrolitrów tlenu pobieraną w czasie jednej godziny przez mikroorganizmy w kolejnych dniach trwania hodowli z dodatkiem podchlorynu sodu przedstawiono na rys. 1., a z dodatkiem preparatu SAVO-super na rys. 2. Przebieg krzywych na



Rys. 1. Liczba mikrolitrów tlenu pobranego przez bakterie zawarte w 1 cm³ hodowli w kolejnych dniach jej wzrostu, w zależności od stężenia w pożywce wolnego chloru dostarczonego w postaci podchlorynu sodu (NaClO)

Fig. 1. Volume of oxygen uptaken by 1 cm³ bacterial culture in successive days for different concentration of available chlorine from hypochlorite of sodium

obydwu rysunkach dowodzi, że chlorowanie wody hamuje rozwój mikroorganizmów, powodujących biodegradację substancji ropopochodnych. Obydwa stosowane źródła chloru charakteryzują się silnymi właściwościami bakteriobójczymi. Z przebiegu krzywych na rysunkach 1. i 2. wynika, że stężenie chloru w pożywce równe $0,4 \text{ mg/dm}^3$ niszczy badaną mikroflorę, a stężenie $0,3 \text{ mg/dm}^3$ jest już stężeniem silnie toksycznym dla tych mikroorganizmów.

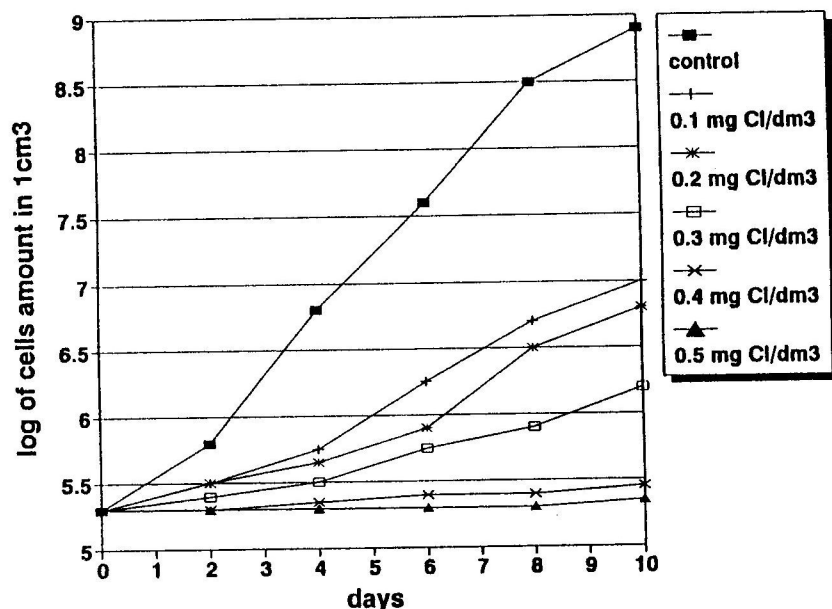


Rys. 2. Liczba mikrolitrów tlenu pobranego przez bakterie zawarte w 1 cm^3 hodowli w kolejnych dniach jej wzrostu, w zależności od stężenia w pożywce wolnego chloru dostarczonego w postaci preparatu SAVO-super

Fig. 2. Volume of oxygen uptaken by 1 cm^3 bacterial culture in successive days for different concentration of available chlorine from preparation SAVO-super

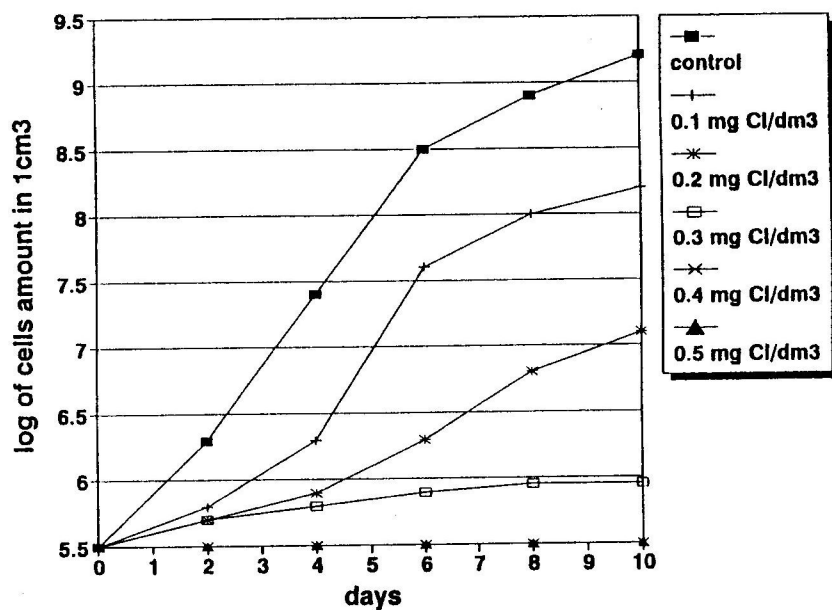
Analizę krzywych wzrostu bakterii w testowanych hodowlach przedstawiono na rys. 3. i 4. Krzywe te świadczą o tym, że gdy zawartość chloru wynosi $0,4 \text{ mg/dm}^3$, nie następuje rozwój bakterii. Ich liczba w hodowli nie wzrasta. Na podstawie porównania rys. 3. i 4. z rys. 1. i 2. można stwierdzić, że bakterie wstępnie wprowadzone są martwe, gdyż nie pobierają tlenu. Zawartość chloru $0,3 \text{ mg/dm}^3$ jest silnie bakteriobójcza dla badanych mikroorganizmów, ich przyrost po 10 dniach trwania hodowli z preparatem SAVO-super był o 75% mniejszy od przyrostu w układzie kontrolnym (rys. 3.), a w hodowli z podchlorynem sodu aż o 88% mniejszy (rys. 4.).

Pełnym potwierdzeniem powyższych wyników było oznaczenie ilości biomasy w testowanych hodowlach po 10 dniach ich trwania, którą przedstawiono na rys. 5. Wyjściowe stężenia chloru w hodowli, zarówno $0,4 \text{ mg/dm}^3$ jak i $0,5 \text{ mg/dm}^3$, są w pełni



Rys. 3. Krzywa wzrostu bakterii w testowanej hodowli w zależności od stężenia w niej wolnego chloru pochodzącego z preparatu SAVO-super

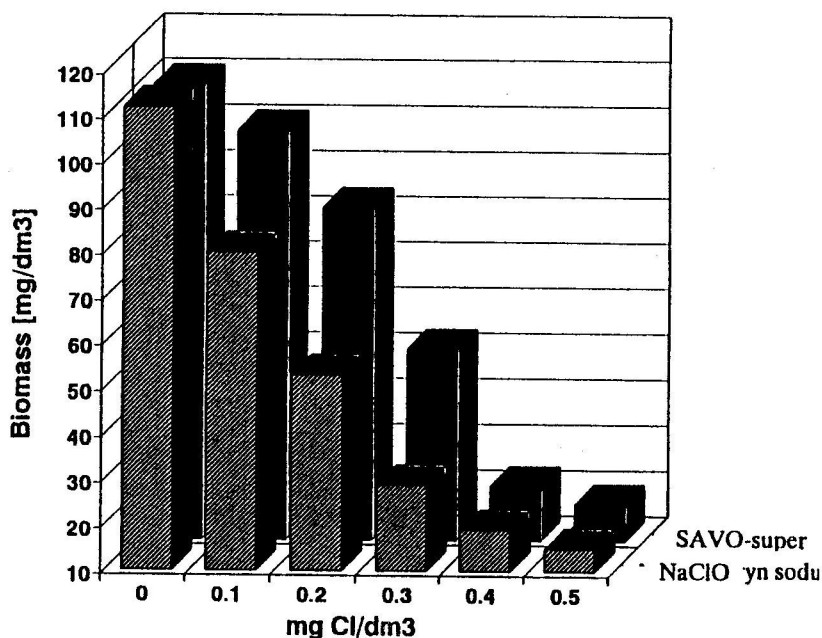
Fig. 3. Bacteria amount in test culture as function of concentration of available chlorine from SAVO-super preparation



Rys. 4. Krzywa wzrostu bakterii w testowanej hodowli w zależności od stężenia w niej wolnego chloru pochodzącego z podchlorynu sodu

Fig. 4. Bacteria amount in test culture as function of concentration of available chlorine from hypochlorite of sodium

toksyczne dla testowanych mikroorganizmów. Dodatek chloru o stężeniu $0,4 \text{ mg/dm}^3$, niezależnie od jego źródła, wstrzymuje rozwój mikroorganizmów biodegradowujących substancje ropopochodne, a więc uniemożliwia dostanie się tych mikroorganizmów do ujęć wodnych. Równocześnie stężenie to jest niższe od stężenia chloru dopuszczalnego przez Ministerstwo Zdrowia i Opieki Społecznej.



Rys. 5. Ilość biomasy w 10-dniowej hodowli testowanych mikroorganizmów w zależności od stężenia wolnego chloru w pożywce

Fig. 5. Amount of biomass in test bacterial culture (after 10 days) as function of available chloride concentration in culture medium

WNIOSKI

1. Zarówno techniczny podchloryn sodu, jak i preparat SAVO-super powodują zahamowanie wzrostu flory bakteryjnej w testowanych hodowlach.
2. Dawka obydwu preparatów pozwalająca osiągnąć $0,4 \text{ mg/dm}^3$ wolnego chloru w hodowli była wystarczająca do zahamowania wzrostu flory bakteryjnej.
3. Autochtoniczna flora bakteryjna stosowana do biodegradacji substancji ropopochodnych nie stanowi zagrożenia dla ujęć wodnych, gdyż rutynowo stosowany przez stacje uzdatniania wody proces chlorowania wody powoduje niszczenie tej flory.

LITERATURA

- ALEXANDER M. (1981), *Advance in Microbial Ecocogy*, Science, New York, s. 132–138.
- FARBISZEWSKA T., FARBISZEWSKA-BAJER J. (1993), *Biodetoksykacja gruntów skażonych substancjami ropopochodnymi*, *Fiykochemiczne Problemy Mineralurgii* 27, s. 219–224.
- HAC B. (1992), *Warunki geologiczne i stopień zanieczyszczenia lotniska w Brzegu*, *Symposium Urzędu Rejonowego w Brzegu*.
- ŁABUŹEK S. (1991), *Biodegradacja struktury aromatycznej fenoli przez drobnoustroje*, *Biotechnologia* 3–4 (13–14), s. 90–101.
- MURRAY K. (1989), *Aquaculture engineering technologies for future*: Inst.Chem.Eng. U.K., Symp. Ser. No. 111, s. 329.

Farbiszevska T., Farbiszevska-Bajer J., Cwalina B., (1994), The influence of chlorination on increase of amount of microorganisms degradating hydrocarbons in the soil, *Physico-chemical Problems of Mineral Processing*, 28, 137–143 (Polish text)

The influence of different substances used for water chlorination on the growth of bacterial flora applied to hydrocarbons degradating was investigated. It was found that concentration 0,4 mg chlorine in 1 dm³ water is bacteriostatic.