

Teresa FARBISZEWSKA*, Jadwiga FARBISZEWSKA-BAJER**

BIODETOKSYKACJA GRUNTÓW SKAŻONYMI SUBSTANCJAMI ROPOPOCHODNYMI

Przedstawiono proces biodegradacji substancji ropopochodnych w gruncie, prowadzony w dużej skali laboratoryjnej. Proces prowadzono przy współudziale mieszaniny aerobowych szczepów bakterii, wyizolowanych z badanego gruntu. W 3-miesięcznym procesie uzyskano 84,75% spadek zawartości substancji ropopochodnych w badanym gruncie.

1. WPROWADZENIE

Równolegle z rozwojem wielu gałęzi przemysłu wzrasta ilość substancji ksenobiotycznych szkodliwych dla środowiska. Do najbardziej toksycznych ksenobiotyków należą substancje organiczne, w tym węglowodory alifatyczne i aromatyczne oraz ich pochodne, powstające w procesach przeróbki węgla i ropy naftowej, w przemyśle farmaceutycznym i chemicznym (Alexander, 1981; Fewson, 1988; Meinck i in., 1975). Prowadzone są badania nad możliwością usuwania tych związków ze środowiska przy współudziale drobnoustrojów (Cerniglia, 1984; Gibson i Subramanian, 1984). Wykorzystują one degradowane substancje jako źródło energii i węgla, przekształcając je w produkty nieszkodliwe dla środowiska. Wiele mikroorganizmów występujących w przyrodzie posiada systemy enzymatyczne umożliwiające im biodegradację naturalnych związków organicznych. Mikroorganizmy te, w większości przypadków, nie powodują degradacji ksenobiotyków syntetycznych. Drobnoustroje o pożądanych zdolnościach degradacyjnych można uzyskać dopiero po ich adaptacji.

W ostatnich latach skażenie gruntu substancjami ropopochodnymi stało się ważnym problemem ekologicznym. Pojawił się on na terenach likwidowanych lotnisk wojskowych, a także w pobliżu stacji paliw, które to najczęściej znajdują się przy skupiskach ludzkich. Przyczyną skażenia są zdewastowane lub uszkodzone zbiorniki paliw. W zależności od

* Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Instytut Chemii, Opole

** Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Instytut Techniki, Opole

uksztaltowania terenu, materiały ropopochodne wraz z wodami gruntowymi przedostają się do cieków wodnych, stając się bezpośrednim zagrożeniem dla ujęć wody pitnej. Często dochodzi do skażenia gruntów przekraczającego znacznie dopuszczalne normy (Hac, 1992). Biodegradacja substancji ropopochodnych ze skażonych gruntów może w przyszłości stać się jedną z bardziej skutecznych i ekonomicznie opłacalnych metod ich detoksykacji.

Celem przedstawionych badań było określenie możliwości prowadzenia biodegradacji gruntów skażonych substancjami ropopochodnymi w dużej skali laboratoryjnej przy współudziale autochtonicznej mikroflory. Z dotychczasowych badań wynika, że właśnie mikroflora autochtoniczna jest najbardziej przydatna w procesach biodegradacji, ponieważ jest wstępnie zaadaptowana do substancji toksycznych zawartych w badanym materiale (Fewson, 1988; Rustemov i in., 1992; Selifonov i in., 1991).

2. MATERIAŁY I METODY

2.1. Wyizolowanie autochtonicznej mikroflory z gruntu

Izolację autochtonicznej mikroflory z gruntu prowadzono, stosując jako pierwszą pożywkę wysterylizowany ekstrakt glebowy uzyskany z przeznaczonego do badania gruntu, pochodzącego z okolic stacji benzynowej (Belayev i in., 1990). Ekstrakt ten zaszczerpiono zanieczyszczonym gruntem i napowietrzając, inkubowano przez 10 dni w cieplarni laboratoryjnej w temperaturze 30°C. Następnie uzyskana hodowlę kilkakrotnie pasażowano do zmodyfikowanej pożywki Kojima (Kojima i in., 1961). Modyfikacja pożywki polegała na eliminacji ekstraktu drożdżowego, w miejsce którego dodano 5% substancji ropopochodnych, uzyskanych z badanego gruntu. Każdorazowo hodowlę inkubowano przez okres 10 dni w temperaturze 30°C. Przed każdorazowym pasażowaniem oznaczano w aparacie Warburga aktywność biologiczną mikroflory wyizolowanej z gruntu i określano liczbę mikroorganizmów w 1 cm³. Hodowla uzyskana po 7 pasażowaniu zawierała około 10⁹ komórek bakterii w 1 cm³ i uznano ją za wystarczająco aktywną do prowadzenia procesu.

2.2. Biodegradacja gruntu

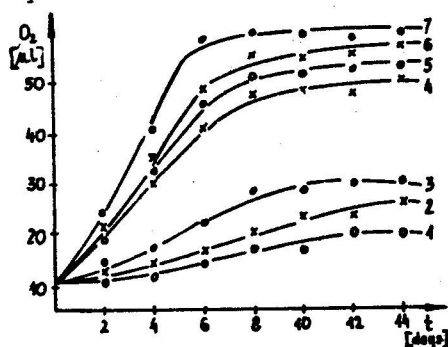
Proces prowadzono w zbiorniku szklanym, poj. 0,1 m³, do którego wprowadzono 0,05 m³ gruntu, zawierającego 3,587 g substancji ropopochodnych na 1 kg suchej masy gruntu. Następnie dodano 0,025 m³ rozdrobnionej kory drzewnej, 0,1 kg nawozu NPK i 0,1 kg saletrzaku. Tak przygotowaną przyłmę zroszono 0,005 m³ uzyskanej wcześniej hodowli bakterii, zawierającej około 10⁹ komórek w 1 cm³ i przysypano 0,02 m³

rozdrobnionej kory, pełniacej rolę biofiltru powietrza. Układ doświadczalny napowietrzano od dołu pompką akwaryjną, z góry przykryto go folią polietylenową w celu zmniejszenia parowania. Doświadczenie prowadzono przez 3 miesiące w temperaturze pokojowej. Co 2 tygodnie pobierano próbkę ziemi do oznaczeń analitycznych. Oznaczano ilościowo substancje ropopochodne, wykorzystując chromatografię gazową. W dniach poboru próbek kontrolowano w aparacie Warburga aktywność biologiczną mikroflory zawartej w badanym gruncie.

3. WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Aktywność biologiczna mikroflory wyizolowanej z badanego gruntu po kolejnych pasażach przedstawiono na rys. 1.

Rys. 1. Aktywność biologiczna bakterii w hodowlach po kolejnych pasażach
Fig. 1. Biological bacteria activity in the succession culture

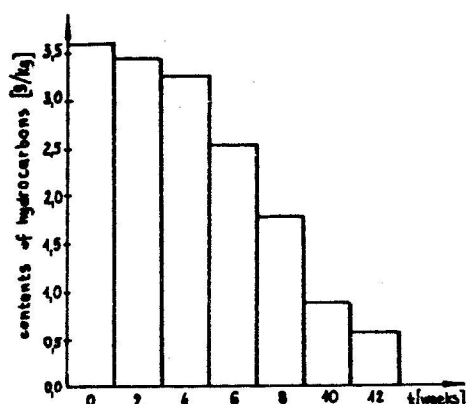


Aktywność biologiczna w omawianym procesie określano jako ilość μl tlenu pobrana w ciągu 1 godziny przez 1 cm^3 hodowli. Z przebiegu krzywych wynika, iż wyizolowana z gruntu flora bakteryjna po 4 pasażowaniu miała już wysoką aktywność, która wzrastała tylko nieznacznie w czasie 3 następnych pasażowań. Aktywność biologiczna wyizolowanej mikroflory po 7 pasażowaniu osiągnęła maksimum w 6 dniu inkubowania, hodowla zawierała wtedy w 1 cm^3 około 10^9 komórek bakterii. Hodowli tej użyto do zaszczepienia przygotowanej przyzmy.

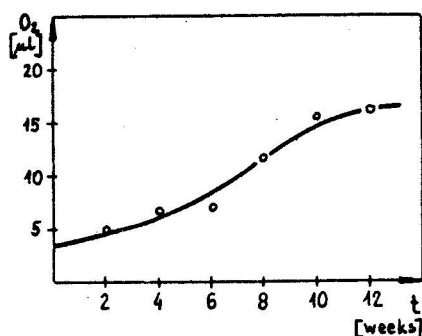
Na rys. 2 przedstawiono zmiany zawartości substancji ropopochodnych, w przeliczeniu na suchą masę gruntu, w kolejnych tygodniach prowadzenia procesu.

Analizując przedstawiony wykres stwierdzono, że w 8 tygodniu trwania procesu biodegradacji uległo 50% substancji ropopochodnych zawartych w gruncie, a w 12 tygodniu 84,75%. Skażony grunt po 12-tygodniowym procesie biodegradacji zawierał więc 15,25% substancji ropopochodnych.

Równocześnie prowadzoną analizę aktywności biologicznej mikroflory zawartej w badanym gruncie zobrazowano na rys. 3.



Rys. 2. Zawartość substancji ropopochodnych w gruncie w poszczególnych tygodniach trwania procesu
Fig. 2. Change of contents of hydrocarbons in the soil during the biodegradation process



Rys. 3. Aktywność biologiczna mikroflory w gruncie podczas procesu biodegradacji
Fig. 3. Biological soil activity during the biodegradation process

Z przedstawionej krzywej wynika, że od 6 tygodnia trwania procesu następuje wzrost aktywności biologicznej mikroflory w gruncie. Równoczesny wzrost efektywności procesu biodegradacji dowodzi uaktywnienia się mikroflory bakteryjnej zawartej w badanym gruncie. Po 3 miesiącach proces przerwano, uważając grunt zawierający 0,547 g substancji ropopochodnych na 1 kg suchej masy gruntu za wystarczająco oczyszczony na tym etapie badań. Przebieg krzywej na rys. 3 sugeruje, że przedłużenie procesu może doprowadzić do jeszcze większego spadku stopnia skażenia gruntu.

Wyniki przedstawionych badań dowodzą możliwości prowadzenia procesu biodegradacji substancji ropopochodnych z gruntu przy współudziale mikroflory autochtonicznej. Badania prowadzone ostatnio na świecie dowodzą, że mikroorganizmy wyizolowane z gleby doprowadzają do biodegradacji wielu połączeń organicznych, takich jak kwas 3-chlorobenzoowy (Zaitzev, 1885), dibenzofuran (Selifonov i in., 1991), styren (Rustemov, i in., 1992), fenol (Łabużek, 1991). Do usuwania wymienionych związków ze środowiska preferowane jest stosowanie szczepów bakterii wyizolowanych z tego środowiska (Nazina, 1992). Szczepy te są wstępnie zaadaptowane do wysokich skażeń degradowanymi substancjami. Stosowanie szczepów muzealnych wymaga ich wstępnej adaptacji, co znacznie wydłuża proces (Farbiszewska in., 1989). W przedstawionych badaniach stosowano mikroflorę niezidentyfikowaną, która stanowi mieszaninę kilku szczepów. Mikroflora ta służyła w doświadczeniu jedynie do doprowadzenia do identyfikacji wzrostu mikroflory zawartej w skażonym

gruncie. Podobną rolę spełniało doprowadzane powietrze. Sam proces biodegradacji przebiegał pod wpływem rozwoju mikroflory zawartej w skażonym gruncie. Przedstawione w niniejszej pracy badania traktowano jako próbę pilotową. W dalszym toku badań należy doprowadzić do szczegółowej identyfikacji stosowanej mikroflory. Należy również doprowadzić do maksymalnego ograniczenia napowietrzania układu, gdyż doprowadzanie powietrza do gruntu jest bardzo niekorzystne z ekonomicznego punktu widzenia. Bakterie prowadzące biodegradację substancji ropopochodnych należą do organizmów aerobowych. Należy więc zoptymalizować warunki prowadzenia procesu oraz ukierunkować badania tak, by prowadzić proces biodegradacji substancji ropopochodnych bezpośrednio w skażonym gruncie bez konieczności jego przemieszczania.

4. WNIOSKI

1. Doprowadzanie mikroflory autochtonicznej i napowietrzanie gruntu skażonego substancjami ropopochodnymi powoduje wzrost aktywności biologicznej zawartej w nim mikroflory.

2. Mikroflora bakteryjna wyizolowana z gruntu skażonego substancjami ropopochodnymi powoduje biodegradację węglowodorów zawartych w tym gruncie.

3. W 3-miesięcznym procesie biodetoksykacji usunięto 84,75% substancji ropopochodnych zawartych w gruncie.

LITERATURA

- Alexander M., (1981), *Science*, 211, 132-138.
- Belayev S.S., Borzenov I.A., Milehina E.I., Tsarahtsion J.A., Ivanov M.W., (1990), *Mikrobiologia*, 59, 6, 1118.
- Cerniglia C.E., (1984), *Petroleum Microbiology*, Atlas R.M. (ed.) New York, 99-128.
- Farbiszevska T., Cwalina B., Nowak A., (1988), *Rudy Metale*, 33, 11, 422.
- Farbiszevska T., Cwalina B., Nowak A., (1989), *Rudy Metale*, 34, 1, 8.
- Fewson C.A., (1988), *Tibtech.*, 6, 148-153.
- Gibson D.T., Subramanian V., (1984), *Microbiology degradation of organic compounds*, Gibson D.T. (ed.), New York, Dekker Inc, 181-252.
- Hac B., (1992), *Warunki geologiczne i stopień zanieczyszczenia lotniska w Brzegu. Sympozjum Urzędu Rejonowego w Brzegu.*
- Kojima Y., Itada N., Hayaishi O., (1961), *Journal Biological Chemistry*, 193, 265-276.
- Labużek S., (1991), *Biotechnologia*, 3-4, (13-14), 90-101.

- Meinck F., Stoff M., Kohschutter H., (1975), *Ścieki przemysłowe*, Warszawa, Arkady.
- Nazina T.N., Ivanov A.E., Błagov A.V., (1992), *Mikrobiologia*, 61, 2, 316.
- Rustemov S.A., Gołowlewa L.A., Alieva R.M., Baskunov B.P., (1992), *Mikrobiologia*, 61, 1, 5.
- Selifonov S.A., Slepenskin A.V., Adanin V.M., Nefedova M.Y., Starovoitov I.J., (1991), *Mikrobiologia*, 60, 6, 67.
- Zaitzev G.M., Baskunov B.P., (1985), *Mikrobiologia*, 54, 2, 203.

Farbiszewska T., Farbiszewska-Bajer J., (1993) Biodegradation of hydrocarbons poisoning ground, *Physicochemical Problems of Mineral Processing*, 27, 219-224. (Polish text)

In the paper the authors present a preliminary report on the biodegradation of hydrocarbons present in the soil. The experiment was carried out on a large laboratory scale with the use of a mixture of aerobic strains of bacteria singled out from the tested soil. The main result concerns 84.75% removal of hydrocarbons from the ground samples during 3 months.