ZESZYTY NAUKOWE POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ 2000
Seria: INŻYNIERIA ŚRODOWISKA z. 45 Nr kol. 1487

Hanka BOSZCZYK-MALESZAK, Ewa BIESZKIEWICZ, Agnieszka LELAS, Anna DUKIELSKA, Jerzy KACIESZCZENKO

Uniwersytet Warszawski, Instytut Mikrobiologii, Zakład Mikrobiologii Środowiska
00-324 Warszawa, ul. Karowa 18

# WPŁYW WYBRANYCH CZYNNIKÓW BIOTYCZNYCH I ABIOTYCZNYCH NA PRZEBIEG BIODEGRADACJI PRODUKTÓW NAFTOWYCH W GLEBIE

**Streszczenie**. Przedstawione w pracy badania prowadzone w warunkach laboratoryjnych dotyczyły określenia możliwości usuwania produktów naftowych z gleby celowo skażonej olejem pochodzącym z oczyszczalni ścieków rafineryjno – petrochemicznych. Badano wpływ na przebieg procesu bioremediacji stężenia oleju w glebie (1, 3, 5%), ilości wprowadzanej do gleby szczepionki bakteryjnej (20 i 40 ml/ 100 g gleby), dodatkowego napowietrzania oraz temperatury (10, 20 i 30$^0$C). W wyniku przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że usuwanie oleju przebiega lepiej przy niższych jego stężeniach w glebie - najlepsze wyniki uzyskano przy stężeniu 1 i 3% oleju. Poprawę redukcji produktów naftowych uzyskano również przy wprowadzeniu do gleby dodatkowego napowietrzania oraz przy zastosowaniu temperatury 20 i 30$^0$C. Wprowadzenie szczepionki bakteryjnej do gleby poddawanej oczyszczaniu przyspieszało tempo redukcji oleju średnio o około 20%, zaś podwojenie inokulum podnosiło redukcję produktów naftowych dodatkowo o około 10%.

# EFFECT OF SELECTED BIOTIC AND ABIOTIC FACTORS ON THE COURSE OF BIODEGRADATION OF PETROLEUM PRODUCTS IN THE SOIL

**Summary**. The studies presented here dealt with the possibilities of the removal, under laboratory conditions, of petroleum products from soil purposefully contaminated with oil from purification of petroleum plant of refining wastewaters. The effect of the concentration of oil in the soil (1, 3, 5%), volume of inoculum (20 and 40 ml), additional aeration and temperature (10, 20 and 3O$^O$C) was studied. The experiments carried out concluded that removal of oil is the most efficient with lower concentrations of the substrate; the best results were obtained with 1 and 3% oil. Enhanced reduction of petroleum products was also obtained when additional aeration of the soil was employed at temperature 20 or 30$^O$C. The introduction of a bacterial inoculum into the treated soil increased the rate of oil reduction by an average of 20%, whereas doubling the amount of inoculum caused an additional 10 % reduction of the petroleum products.

## WSTĘP

Jednym z bardziej uciążliwych i trudnych do usunięcia zanieczyszczeń gleby są produkty naftowe dostające się do gruntu podczas wycieków paliwa wokół dystrybutorów na stacjach benzynowych, a także z uszkodzonych rurociągów czy cystern [1]. Związki ropopochodne działają destrukcyjnie na strukturę gleby – destabilizują roztwory koloidowe, ograniczają wymianę powietrza i filtrację wody, w wyniku czego zmieniają się właściwości fizyko-chemiczne i stosunki powietrzno-wodne w glebie.

Bakterie zdolne do rozkładu węglowodorów są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie i stanowią około 20% wszystkich grup mikroorganizmów [2]. Główny udział w biodegradacji biorą bakterie z rodzaju *Pseudomonas, Arthrobacter, Acinetobacter, Alcaligenes, Bacillus, Mycobacterium, Nocardia* [3].

Na rozkład związków ropopochodnych wpływają zarówno czynniki abiotyczne, jak i biotyczne. Należą do nich: temperatura, obecność tlenu, wilgotność i pH gleby, zawartość pierwiastków biogennych, rodzaj i stan skażonej gleby, liczebność i skład gatunkowy mikroorganizmów.

Właściwości fizyczne węglowodorów zależą od temperatury – w wyższej następuje wzrost parowania alkanów krótkołańcuchowych i węglowodorów aromatycznych o małej masie cząsteczkowej oraz zwiększa się rozpuszczalność węglowodorów w wodzie, dzięki czemu stają się one bardziej dostępne dla bakterii. Skład gatunkowy mikroorganizmów oraz ich metabolizm również zależą od temperatury. Z jej wzrostem zwiększa się aktywność enzymów także tych, które biorą udział w biodegradacji węglowodorów. Niska temperatura zmniejsza rozpuszczalność węglowodorów, wydłuża okres aklimatyzacji bakterii i obniża szybkość działania enzymów. Optymalna temperatura biodegradacji produktów ropopochodnych waha się w granicach 20-30$^0$C [4].

Dobre napowietrzanie gleby przyspiesza biodegradację n-alkanów i węglowodorów aromatycznych. Przy niedostatku tlenu stwierdzano niską efektywność biodegradacji tych związków [5].

Ważnym czynnikiem wpływającym na proces biodegradacji jest odpowiednia wilgotność gleby – przyjmuje się, że właściwy przebieg procesu biodegradacji warunkuje wilgotność gleby 30-90% [6]. Woda jest niezbędna do rozwoju i metabolizmu mikroorganizmów; zbyt duża ilość wody może jednak ograniczać swobodny dostęp tlenu i zaburzać przebieg biodegradacji.

Rozkład węglowodorów uzależniony jest także od pH środowiska. Optymalne pH dla bakterii glebowych wynosi 5-7,8. Niski odczyn pH gleby przyczynia się do rozwoju grzybów prowadzących biodegradację zazwyczaj z wytworzeniem toksycznych związków pośrednich. Obecność wystarczającej ilości pierwiastków biogennych w glebie (głównie azotu i fosforu) poprawia efektywność mikrobiologicznego rozkładu produktów naftowych. Stwierdzono, że niedobór azotu i fosforu hamuje biodegradację [7]. W badaniach Sztompki [8] najwyższą redukcję węglowodorów obserwowano przy stosunku C:N i C:P odpowiednio 10:1 i 414:1. Na szybkość rozkładu węglowodorów w glebie wpływają bardzo wyraźnie liczba i skład gatunkowy mikroorganizmów. Aby proces bioremediacji przebiegał pomyślnie, liczba bakterii w glebie powinna wynosić $10^7$ –$10^9$ kom./g s.m. gleby [9]. Stwierdzono, że spośród bakterii glebowych tylko około 0,1-1% zdolnych jest do rozkładu związków ropopochodnych [10]. Po skażeniu gleby produktami naftowymi ilość ta wzrasta 100 – 1000 razy [11].

Efektywność i tempo biodegradacji można zwiększyć poprzez adaptację mikroorganizmów do związków ropopochodnych znajdujących się w glebie. Pojawienie się zanieczyszczeń wywołuje szereg mechanizmów obronnych (wzrost liczby mikroorganizmów,

zwiększenie aktywności metabolicznej), których zadaniem jest utrzymanie równowagi biologicznej i regeneracja gleby. Związki ropopochodne mogą być biodegradowane, jeśli ilość ich nie przekracza 5-10% [12].

Przy występującym znacznym zanieczyszczeniu gleby można próbować wprowadzać do niej wyselekcjonowane szczepy bakteryjne zdolne do metabolizowania produktów naftowych, w celu wspomagania autochtonicznej mikroflory gleby. Użyte do bioremediacji szczepy powinny zachowywać swoją aktywność pomimo niesprzyjających warunków panujących w glebie: wysokiego stężenia substancji toksycznych, obecności metali ciężkich, nieodpowiedniej temperatury i pH [13].

Celem pracy było zbadanie wpływu wybranych czynników biotycznych i abiotycznych (ilości produktów naftowych w glebie, wielkości inokulum bakteryjnego, dodatkowego napowietrzania oraz temperatury) na przebieg procesu biodegradacji produktów naftowych w glebie.

## MATERIAŁY I METODY

**Gleba**. Do badań użyto gleby ogrodowej o pH 5-6 wzbogaconej w makro- i mikroelementy tzw. ziemi uniwersalnej stosowanej do hodowli roślin doniczkowych i rozsad warzyw.
**Frakcja olejowa**. Glebę celowo skażano olejem pochodzącym ze ścieków rafineryjno-petrochemicznych, pobranym z mechanicznej oczyszczalni ścieków.
**Podłoża**. Stosowano

a) podłoże mineralne o składzie $KH_2PO_4$ bezw. – 2g, $K_2HPO_4$ bezw.- 7 g, $MgSO_4$ x 7 $H_2O$ – 0,1 g, $(NH_4)_2SO_4$ x 10 $H_2O$ – 1 g, woda destylowana -1000 ml.

Do podłoża dodawano jako jedyne źródło węgla olej w ilości 100, 300 i 500 mg na 1000 ml podłoża,

b) agar odżywczy z dodatkiem wyciągu glebowego.

**Izolacja bakterii**. Bakterie izolowano z gleby zawierającej 3% oleju na agarze odżywczym wzbogaconym w wyciąg glebowy metodą posiewu powierzchniowego.
**Sposób prowadzenia hodowli**. W celu zbadania zdolności mieszanki szczepów bakteryjnych do rozkładu frakcji olejowej w glebie założono hodowle w krystalizatorach, do których wprowadzano po 100 g gleby oraz zależnie od wariantu doświadczenia olej w stężeniu 1, 3 i 5% (wag.) i szczepionkę bakteryjną w ilości 20 lub 40 ml zawiesiny bakteryjnej. Część hodowli dodatkowo napowietrzano strumieniem powietrza doprowadzanego do krystalizatorów z glebą w sposób ciągły.
W ostatnim wariancie doświadczenia hodowle glebowe prowadzono w różnych temperaturach: $10^0$C (w lodówce), $20^0$C (w temperaturze pokojowej) oraz $30^0$C (w termostacie).
**Oznaczenia**. Oznaczano: ilość produktów naftowych metodą wagową (po ekstrakcji eterem naftowym) oraz liczbę bakterii w glebie metodą płytkową.

# WYNIKI I DYSKUSJA

## Izolacja i identyfikacja szczepów bakteryjnych

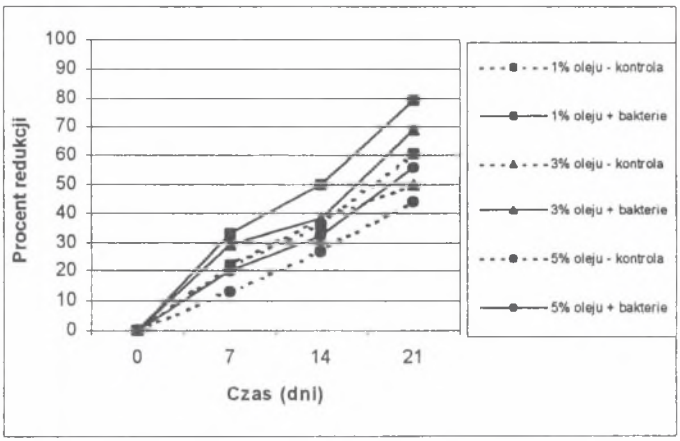
Z gleby zanieczyszczonej celowo olejem w ilości 30g /1000 g gleby wyizolowano 7 szczepów bakterii. Do badań użyto także 5 szczepów pochodzących z kolekcji szczepów Zakładu Mikrobiologii Środowisk Instytutu Mikrobiologii UW. Wszystkie szczepy wysiano na podłoże mineralne z olejem (1000 mg/ l podłoża). Inkubację prowadzono w temperaturze $24^0$C przez 48 godz. Obserwowano wzrost bakterii, a następnie przeprowadzano testy diagnostyczne i posługując się schematem Bonde'a dokonano identyfikacji bakterii.

Wszystkie szczepy użyte do badań charakteryzowały się dobrym lub bardzo dobrym wzrostem na podłożu mineralnym z olejem, co świadczy o zdolności do wykorzystywania węglowodorów jako jedynego źródła węgla i energii. W wielu doniesieniach literaturowych stwierdzono, że najlepszym sposobem na uzyskanie szczepu rozkładającego dany substrat jest wyizolowanie go ze środowiska, w którym substrat ten się znajduje [5], [14].

W wyniku przeprowadzonej identyfikacji stwierdzono, że szczepy użyte do badań należały do następujących rodzajów: *Arthrobacter* (5 szczepów), *Micrococcus* (3 szczepy), *Pseudomonas* (3 szczepy) i *Aeromonas* (1 szczep). Zdolność wymienionych rodzajów do rozkładu węglowodorów potwierdzają liczne badania [3], [15].

## Wpływ stężenia produktów naftowych w glebie na ich biodegradację

Do pojemników z glebą wprowadzono olej w stężeniu 1, 3 i 5% oraz 20 ml zawiesiny bakteryjnej. Dla każdego wariantu doświadczenia prowadzono hodowlę kontrolną, którą była gleba niezaszczepiona. Hodowle inkubowano w temperaturze pokojowej przez 21 dni. W czasie trwania doświadczenia oznaczano liczbę bakterii oraz ilość produktów naftowych w glebie. Wyniki przedstawiono na rysunku 1.




Rys. 1. Redukcja zawartości oleju w glebie zaszczepionej bakteriami (inokulum – 20 ml)
Fig. 1. Reduction of oil content in soil inoculated with bacteria (inoculum – 20 ml)

Stwierdzono, że spadek zawartości oleju w hodowli kontrolnej w glebie skażonej olejem w stężeniu 1, 3, 5% ostatniego dnia hodowli wyniosła odpowiednio 61, 50 i 44%. W glebie z dodatkiem inokulum najwyższą redukcję oleju (80%) stwierdzono przy najniższym stopniu zanieczyszczenia olejem (stężenie 1%). Niższą redukcję oleju obserwowano w glebie zawierającej 3% oleju, gdzie ubytek produktów naftowych wyniósł 69%. Najsłabszy ubytek oleju (56%) stwierdzono w najsilniej zanieczyszczonej glebie (stężenie oleju - 5 %).

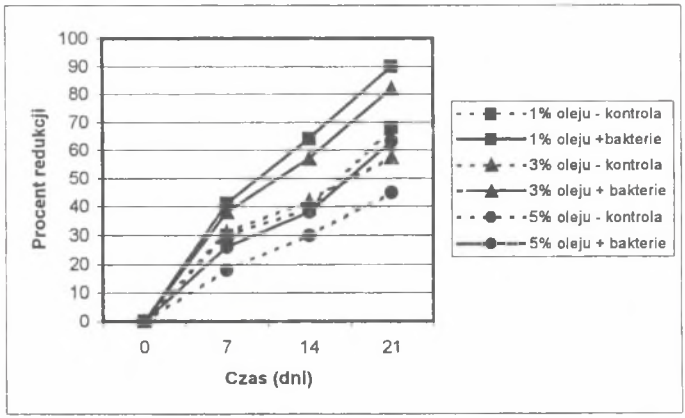
Na podstawie uzyskanych wyników można zatem stwierdzić, że wprowadzenie do gleby szczepionki bakteryjnej zwiększyło efektywność usuwania produktów naftowych średnio o około 17% w stosunku do gleby bez dodatkowo wprowadzonych bakterii.

Przy stężeniu oleju 1 i 3% liczba bakterii wzrosła o jeden rząd wielkości z $10^7$ do $10^8$ kom./gsm gleby, natomiast przy najwyższym stosowanym stężeniu (5%) stwierdzono spadek liczby bakterii z $10^7$ do $10^6$ kom./gsm w czasie 21 dni. Wysokie stężenia produktów naftowych często działają toksycznie na mikroorganizmy występujące w glebie i hamują ich rozwój. Zbyt duża ilość produktów naftowych w glebie jest jednym z czynników ograniczających wzrost bakterii oraz biodegradację oleju i [5], [16].

## Wpływ inokulum bakteryjnego na przebieg biodegradacji oleju

W celu określenia wpływu inokulum na tempo biodegradacji oleju do gleby skażonej olejem w stężeniu 1, 3 i 5% wprowadzono podwójną ilość zawiesiny bakteryjnej (40 ml). Hodowle inkubowano przez 21 dni w temperaturze pokojowej.

W czasie trwania doświadczenia oznaczano w glebie ilość produktów naftowych oraz liczbę bakterii. Wyniki przedstawiono na rysunku 2.

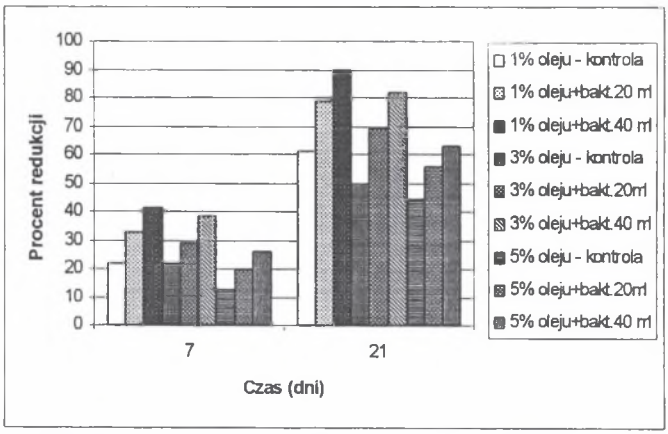



Rys. 2. Redukcja zawartości oleju w glebie zaszczepionej bakteriami (inokulum – 40 ml)
Fig. 2. Reduction of oil content in soil inoculated with bacteria (inoculum – 40 ml)

Stwierdzono, że w hodowlach kontrolnych w glebie zawierającej 1, 3 i 5% oleju redukcja produktów naftowych wyniosła odpowiednio 62, 58 i 45%. Po zaszczepieniu gleby podwójnym inokulum ubytek oleju wzrósł do 90, 83 i 62%.

W glebie zawierającej 1 i 3 % oleju liczba bakterii wzrosła o około rząd wielkości z $10^7$ do $10^8$ kom./ gsm, natomiast w glebie z 5% oleju spadła z $10^7$ do $10^6$ kom./gsm

Zastosowanie podwójnej wielkości inokulum spowodowało wzrost redukcji oleju w stosunku do mniejszego inokulum o około 10% (rys. 3).

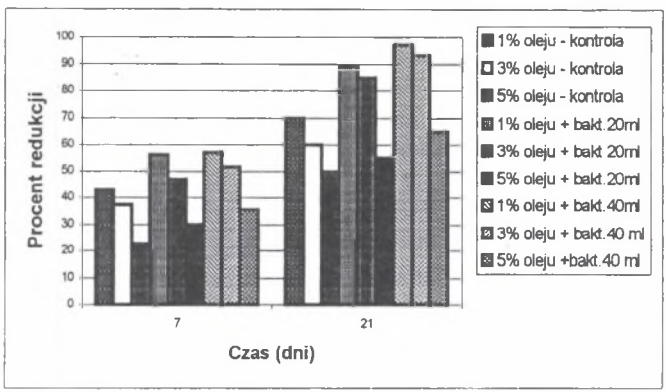



Rys. 3. Porównanie redukcji oleju w glebie przy zastosowaniu różnego inokulum
Fig. 3. Comparison of removal oil with the use of different inoculum

Po dodaniu do gleby 20 ml zawiesiny bakteryjnej liczba bakterii wyniosła 8,5 x $10^7$, a po wprowadzeniu 40 ml szczepionki – wzrosła do 9,8 x $10^7$ kom./gsm Liczba bakterii w glebie po wprowadzeniu zwiększonej ilości szczepionki nie wzrosła zatem istotnie.

## Wpływ napowietrzania gleby na przebieg procesu biodegradacji oleju

W celu sprawdzenia, w jakim stopniu napowietrzanie gleby wpływa na szybkość usuwania oleju, do pojemników z glebą skażoną olejem w stężeniu 1, 3 i 5% zaszczepioną różną wielkością inokulum wprowadzono strumień sprężonego powietrza. Hodowle inkubowano przez 21 dni w temperaturze pokojowej. Oznaczano w glebie liczbę bakterii i ilość produktów naftowych. Uzyskane wyniki przedstawiono na rysunku 4.

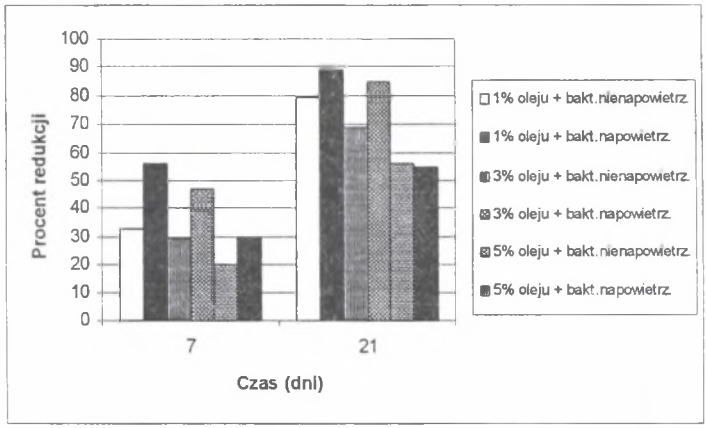



Rys. 4. Redukcja zawartości oleju w glebie napowietrzanej zaszczepionej bakteriami (inokulum 20 i 40 ml)
Fig. 4. Reduction of oil content in aerated soil inoculated with bacteria (inoculum 20 and 40 ml)

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że ubytek oleju w hodowlach kontrolnych wyniósł średnio 70, 59 i 51%. Po dodaniu szczepionki bakteryjnej procent

redukcji oleju wzrósł do 90, 78 i 58%, zaś w przypadku zastosowania podwójnego inokulum redukcja oleju wyniosła 97, 93 oraz 64%. Zarówno przy zastosowaniu mniejszego, jak i większego inokulum liczba bakterii przy stężeniu oleju 1 i 3% (podobnie jak w poprzednich doświadczeniach) wzrosła z $10^7$ do $10^8$ kom/ gsm gleby. W przypadku stężenia oleju 5% utrzymywała się natomiast podczas trwania doświadczenia na poziomie $10^7$ kom/ gsm

Porównując redukcję oleju stosowanego w stężeniu 1, 3 i 5 % w glebie dodatkowo napowietrzanej i nienapowietrzanej można stwierdzić, że napowietrzanie gleby zwiększa usuwanie oleju o około 10% (rys.5).




Rys. 5. Porównanie usuwania oleju z gleby nienapowietrzanej i napowietrzanej
Fig. 5. Comparison of removal oil from aerated and non-aerated soil

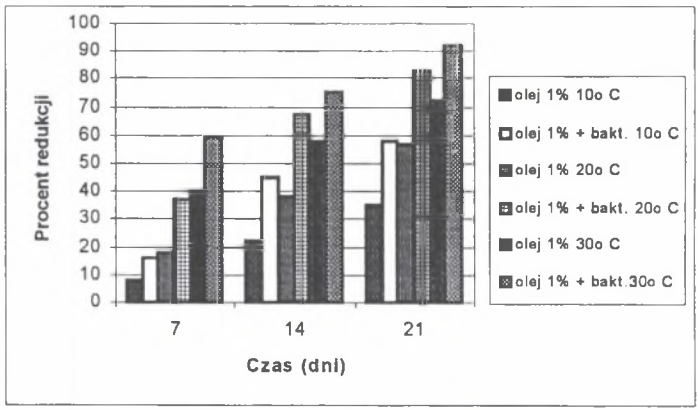
Dane literaturowe potwierdzają, że biodegradacja oleju w warunkach tlenowych stymulowana jest przez zwiększony dostęp powietrza do gleby [17].

**Wpływ temperatury na tempo redukcji oleju w glebie**

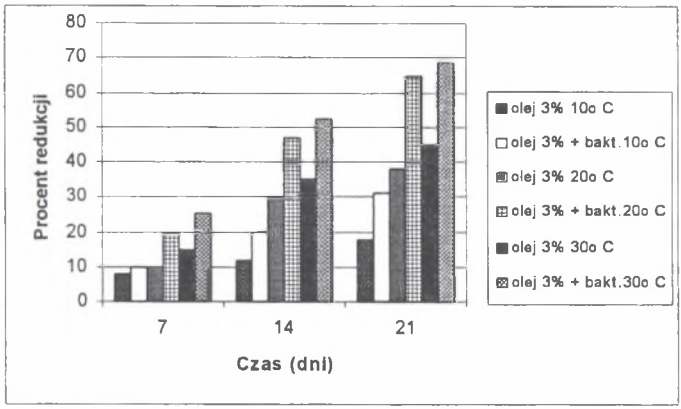
W tej części doświadczenia pojemniki z glebą skażoną 1 i 3% oleju zaszczepioną zawiesiną bakteryjną przez 21 dni inkubowano w temperaturach: 10, 20 i $30^0$. Jako próbę kontrolną przygotowano pojemniki z glebą skażoną olejem, do której nie dodano szczepionki. W czasie trwania doświadczenia oznaczano ilość produktów naftowych w glebie oraz liczbę bakterii. Uzyskane wyniki przedstawiono na rysunku 6 i 7.

Najniższe tempo usuwania oleju obserwowano w hodowlach kontrolnych inkubowanych w temperaturze $10^0$C – wynosiło ono około 35%. Ze wzrostem temperatury inkubacji zwiększał się ubytek węglowodorów w glebie. W temperaturze $20^0$C stwierdzono 58% degradację produktów ropopochodnych, a w temperaturze $30^0$C spadek ilości oleju wyniósł 72%. W hodowlach zawierających szczepionkę bakteryjną najwyższy ubytek oleju – około 90% obserwowano w temperaturze $30^0$C, w temperaturze $20^0$C wynosił on 73%, zaś w temperaturze $10^0$C redukcja oleju wyniosła tylko 58%.

Liczba bakterii w hodowlach kontrolnych we wszystkich badanych temperaturach wynosiła 1,2- 5,4 x $10^7$ kom/gsm gleby. W hodowlach z dodatkiem szczepionki liczba bakterii była nieco wyższa niż w kontrolnych i wynosiła w temperaturze $10^0$C - 6,4 x $10^7$, w temperaturze $20^0$C - 4,0 x $10^8$, zaś w $30^0$C - 1,0 x $10^9$ kom/gsm.




Rys. 6. Wpływ temperatury na usuwanie z gleby oleju (stężenie oleju - 1%)
Fig. 6. Effect of temperature on removal of oil from the soil (concentration of oil - 1%)




Rys. 7. Wpływ temperatury na usuwanie z gleby oleju (stężenie oleju - 3%)
Fig. 7. Effect of temperature on removal of oil from the soil (concentration of oil - 3%)

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że wraz ze wzrostem temperatury zwiększa się efektywność usuwania oleju z gleby. Niska temperatura jest przyczyną zmniejszenia aktywności mikroorganizmów, a tym samym spadku efektywności degradacji związków ropopochodnych. Wyższa temperatura działa zarówno na zwiększenie się lotności węglowodorów, jak i na wzrost aktywności enzymatycznej bakterii znajdujących się w glebie i dodatkowo do niej wprowadzanych [4], [18].

Przedstawione wyniki badań pozwalają na stwierdzenie, że zastosowanie wyizolowanych ze skażonej gleby i zaadaptowanych do wysokich stężeń węglowodorów szczepów bakteryjnych oraz optymalizacja warunków (określonych każdorazowo dla gleby, która ma być poddana remediacji) mogą zwiększyć znacząco efektywność rekultywacji zanieczyszczonej produktami naftowymi gleby.

## LITERATURA


1. Kyle G., Banks K., Reddi L.: *Transport and biodegradation of petroleum hydrocarbons at subsurface sand/clay interfaces.* J.Environ. Sci. Health. 34 (1), 1-29, 1999.
2. Fritsche W.: *The potential of microorganisms for bioremediation.* ECB6. Proceedings of the 6-th European Congress on Biotechnology. 145-167, 1994.
3. Weissenfells W.D., Beyer M., Klein J., Rehm H.J.: *Microbial metabolism of fluoranthene: isolation and identification of ring fission products.* Appl.Microbiol. Biotechnol. 24, 528-535, 1991.
4. Zhou E., Crawford R.L.: *Effects of oxygen, nitrogen and temperature on gasoline biodegradation in soil.* Biodegradation, 6, 127-140, 1995.
5. Leahy J.G., Colwell R.R.: *Microbial degradation of hydrocarbons in the environment.* Microbial Rev. 54, 305-315, 1990.
6. Dibble J.T., Bartha R.: *Effect environmental parameters on the biodegradation of oil sludge.* Appl. Environ.Microbiol. 37, 729-739, 1979.
7. Morgan P., Watkinson R.J.: *Hydrocarbon degradation in soils and methods for soil biotreatment.* Critical Rev. Biotechnol. 8, 34-78, 1989.
8. Sztompka E.: *Biodegradacja paliwa Diesla w glebie.* Mat. III Symp. Naukowo-Techn."Biotechnologia środowiskowa", Ustroń-Jaszowiec, 147-155, 1995.
9. Kołwzan B., Traczewska T., Piekarska K., Juchniewicz M.: *Mikrobiologiczna ocena możliwości bioremediacji gruntów skażonych produktami naftowymi.* Mat.V Symp. Naukowo-Technicznego „Biotechnologia środowiskowa", Ustroń-Jaszowiec, 11-16, 1997.
10. Łebkowska M., Karwowska E., Miaśkiewicz E.: *Isolation and identification of bacteria from petroleum derivatives contaminated soil.* Acta Microbiol.Pol. 44, 279-303, 1995.
11. Olańczuk-Neyman K., Prejzner J., Topolnicki M.: *Chemiczna i bakteriologiczna ocena skażenia gruntów stacji przeładunku paliw produktami ropopochodnymi.* Biotechnologia, 25, 50-59, 1994.
12. Turek-Szytow J., Popławska M., Miksch K.: *Wpływ oleju antracenowego na właściwości fizyczno-chemiczne gleby.* Mat. Symp. Naukowo-Technicznego „Bioremediacja gruntów", Wisła- Bukowa,107-111, 1998.
13. Galas E., Kwapisz E., Majchrzak W.,Polak J.: *Skrining drobnoustrojów degradujących cięższe frakcje ropy naftowej.* Mat. Symp. Naukowo-Technicznego „Bioremediacja gruntów", Wisła-Bukowa, 75-81, 1998.
14. Łebkowska M., Sztompka E., Muszyński A., Lisik R., Wójtowicz J.: *Mikrobiologiczne oczyszczanie gruntów z produktów naftowych w terenie.* Mat.Symp.Naukowo-Technicznego „Bioremediacja gruntów", Wisła-Bukowa, 117-121, 1998.
15. Austin B., Calomiris J.J., Walker J.D., Colwell R.R.: *Numerical taxonomy and ecology of petroleum – degrading bacteria.* Appl. Environ. Microbiol. 34, 60-68, 1977.
16. Li G.,Zhang X., Huang W.: *Enhanced bidegradation of petroleum hydrocarbons in polluted soil.* J.Environ. Sci. Health. 35(1), 177-188, 2000.
17. Cooney J.J., Silver S.A., Beck E.A.: *Factors influencing hydrocarbon degradation in three freshwater lakes.* Microb.Ecol.11, 127-137, 1985.
18. Maliszewska-Kordybach B.: *Mikrobiologiczne przemiany wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w środowisku glebowym.* Post.Mikrobiol.26, 233-247, 1987.

**Abstract**

Studies on the removal of petroleum products from soil were conducted in small glass vessels containing 100 g of garden soil contaminated with oil from petroleum refining wastewaters. Different concentrations of oil: 1, 3, and 5% were employed. The contaminated soil was inoculated with a suspension of bacteria containing strains isolated earlier from oil-contaminated oil. Non-inoculated soil was taken as the control. Air was continuously fed into some of the containers and some of the cultures were maintained at one of the following temperatures: 10, 20 and 30$^0$C. The duration of the experiment was 21 days.
The results obtained indicate that the removal of the oil was the most effective at the two lower oil concentrations (1 and 3%) when the double inoculum was used. The amount of petroleum products removed amounted to 80-90%, that is about 20% more than for the control cultures. The additional use of air also enhanced the removal of oil from the soil to about 92-97 %, that is close to 20% more than for the control. The effect of temperature on reduction of the soil was strongly visible. The best results, as expected, were at 20 and 30$^0$C. After 21 days of cultivation the reduction of oil at 10, 20 and 30$^0$C was 58%, 82% and over 90%, respectively. The higher temperature affected both the volatility of the hydrocarbons and enzymatic activity of the soil bacteria and those introduced into it.

The results presented in the paper allow the conclusion that the use of optimal conditions (determined separately for each soil to be subject to bioremediation) may significantly increase the effectiveness of recultivation of soil contaminated with petroleum products.

Recenzent: Prof. dr hab. Barbara Maliszewska-Kordybach