

Teresa FARBISZEWSKA, Jadwiga FARBISZEWSKA-BAJER

Uniwersytet Opolski, Opole

## MIKROBIOLOGICZNE ZABEZPIECZANIE CIEKÓW WODNYCH PRZED ZANIECZYSZCZENIAMI WĘGLOWODOROWYMI

**Streszczenie.** W przedstawionych badaniach zastosowano, jako zabezpieczenie cieków wodnych przed zanieczyszczeniami węglowodorowymi, barierę mikrobiologiczną. Stanowiła ją hodowla mikroflory autochtonicznej, prowadzona „in situ”. Badania wykonano wspólnie ze spółką EKObAU z Opola.

## MICROBIOLOGICAL PROTECTION AREA OF WATERCOURSE IN FRONT OF HYDROCARBON POLLUTANTS

**Summary.** The main purpose of the presented paper to make use microbiological barrier. This barrier was protection area of watercourse in front of hydrocarbon pollutants. This barrier was make of autochtonous microflora culture that was carried „in sito”. Our investigation ware carried out together with EKObAU company.

### 1. Wstęp

Rozwój motoryzacji i przemysłu powoduje gwałtowny wzrost zużycia paliw, a w konsekwencji wzrost skażenia gruntów węglowodorami ropopochodnymi. Jedną z metod degradacji węglowodorów ropopochodnych jest ich biodegradacja [1, 2, 3]. Procesy biodegradacji, jak wykazały wcześniejsze nasze badania, najintensywniej przebiegają przy współdziałaniu mikroflory autochtonicznej, wstępnie zaadaptowanej do dużych stężeń substancji degradowanej [4, 5]. Węglowodory ropopochodne również ulegają intensywniej biodegradacji przy zastosowaniu mikroflory wyizolowanej ze skażonego gruntu i zaadaptowanej do dużych stężeń [3].

Prowadzenie biodegradacji skażonego gruntu w przyzmię, po jego wcześniejszym wydobyciu, jest możliwe tylko w tych przypadkach, kiedy skażenie terenu jest na niewielkim obszarze i niewielkiej głębokości. Metody tej nie można stosować w przypadku terenu zabudowanego, zalesionego oraz w przypadku głębokiego skażenia bardzo dużego obszaru.

W przedstawionych badaniach prowadzono oczyszczenie gruntu z węglowodorów ropopochodnych metodą „in situ”. Metoda ta stanowiła jednocześnie zabezpieczenie cieku wodnego przed skażeniem.

Oczyszczenie przeprowadzono w zalesionym terenie okolic Słostowic, gdzie 2 września 1993 r. nastąpiła awaria rurociągu. Skażenie węglowodorami ropopochodnymi po awarii dochodziło miejscami do 2700 mg/kg s.m. i przesuwało się w kierunku południowo-zachodnim, w piaszczystym gruncie, zagrażając skażeniem rzeki Widawki.

## 2. Izolowanie i adaptacja mikroflory autochtonicznej

Przed przystąpieniem do oczyszczania gruntu przeprowadzono wyizolowanie z niego mikroflory autochtonicznej, stosując pożywkę zawierającą jony  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  i  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ . Hodowlę prowadzono w sterylnych układach napowietrzanych, w temperaturze  $37^\circ\text{C}$ . Metodą kolejnych przesiewów doprowadzono do otrzymania hodowli, w której w 10 dniu wzrostu stwierdzono obecność  $10^9$  komórek bakterii w  $1\text{cm}^3$  hodowli. Hodowlę tę poddano badaniom taksonometrycznym, które wykazały występowanie w niej głównie bakterii *Bacillus subtilis* i *Aerobacter aerogenes*, równocześnie nie stwierdzono obecności bakterii chorobotwórczych. Po wyizolowaniu mikroflory autochtonicznej przeprowadzono jej adaptację do dużych stężeń węglowodorów, stanowiących zanieczyszczenie skażonego terenu. Równocześnie przeprowadzono identyczną adaptację muzealnych szczepów *Bacillus subtilis* i *Aerobacter aerogenes*. Kolejne składy pożywek adaptacyjnych różniły się zawartością węglowodorów skażających grunt, wynosiła ona od 0,1 - 5,0 % i były jedynym źródłem węgla w pożywkach. Aktywność życiową bakterii oceniano, kontrolując co dwa dni ilość mikrolitrów tlenu pobieraną przez  $1\text{cm}^3$  hodowli w czasie 1 godziny w aparacie Warburga. Procesy adaptacyjne zakończono w momencie, gdy  $1\text{cm}^3$  najaktywniejszej hodowli w 10 dniu jej trwania pobierał około 200 ml tlenu. Ilość ml tlenu pobieraną przez poszczególne hodowle przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Ilości  $\mu\text{l}$  tlenu pobierane przez  $1\text{ cm}^3$  poszczególnych hodowli  
w czasie 1h w kolejnych dniach ich trwania

dzień hodowli	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Aerobacter aerogenes</i>	mikroflora autochtoniczna
2	30	35	65
4	35	40	80
6	42	45	118
8	55	52	153
10	75	68	190

Ilości pobieranego tlenu przez poszczególne hodowle świadczą o największej intensywności wzrostu hodowli autochtonicznej, którą postanowiono wykorzystać w dalszej części eksperymentu.

### 3. Oczyszczanie gruntu metodą „in situ”

Ponieważ skażony grunt był zalesiony, nie było praktycznie możliwości wydobywania go i zastosowania biodegradacji w przyrodzie. Postanowiono więc zastosować barierę mikrobiologiczną, zabezpieczającą wody rzeki Widawki przed skażeniem. Do założenia bariery mikrobiologicznej wstrzymującej migrację węglowodorów w kierunku południowo-zachodnim, a więc w kierunku rzeki Widawki, przystąpiła firma EKOBAU w lipcu 1995 r.

Grunt w okolicach bariery został przekopany, wprowadzono do niego pożywki mineralne i uzbrojono go w system instalacji napowietrzających. W tak przygotowaną barierę 21 sierpnia 1995 r. wprowadzono 600 l aktywnej hodowli mikroorganizmów autochtonicznych, wcześniej wyizolowanych z tego terenu i zaadaptowanych do czynnika skażającego. Na terenie bariery ustawiono dwa stanowiska pomiarowe, w których grunt do badań pobierano z głębokości 1, 2 i 3 m. Stanowiska te nazwano barierą południową i barierą zachodnią. Ponieważ w ziemie

1995/96 grunt uległ całkowitemu zamarznięciu, nie pobierano w tym okresie próbek do badań i przzerwano napowietrzanie. W pierwszych dniach marca 1996 r. rozpoczęto napowietrzanie barier i wprowadzono dodatkowo 300 litrów aktywnej hodowli mikroflory autochtonicznej. 5 maja 1996 r. wykonano ostatnie pomiary zawartości ilości węglowodorów w badanym gruncie

#### 4. Omówienie pracy bariery mikrobiologicznej

Oceny pracy bariery mikrobiologicznej dokonano na podstawie analizy zmiany stężeń węglowodorów w gruncie na głębokościach: 1, 2 i 3 m. Oznaczanie zawartości węglowodorów w gruncie prowadzono metodą chromatografii gazowej, w ekstraktach heksanowych. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2

Zawartość węglowodorów w badanym gruncie w poszczególnych etapach  
oczyszczania w mg/kg s.m

głębokość	BARIERA ZACHODNIA				BARIERA POŁUDNIOWA			
	IX95	X95	XI95	V96	IX95	X95	XI95	V96
1m	351	350	265	0	534	500	300	0
2m	320	275	235	0	211	200	225	0
3m	1303	1300	745	0	264	250	240	0

Przedstawione wyniki dowodzą, że w okresie 9 miesięcy nastąpiło całkowite oczyszczenie terenu stanowiącego barierę biologiczną z węglowodorów, które spowodowały skażenie tego terenu. Równocześnie stwierdzono, że w pierwszych trzech miesiącach oczyszczania stężenia zmalały średnio: w barierze zachodniej o 37%, a w barierze południowej o 21%. Ten stosunkowo niewielki spadek zanieczyszczeń w tym okresie spowodowany był ciągłym dopływem węglowodorów z terenu skażonego, a nie oczyszczanego. Wynik z maja 1996 r. świadczy o zupełnym oczyszczeniu terenu bariery mikrobiologicznej z węglowodorów stanowiących skażenie.

## 5. Wnioski

1. Mikroflora autochtoniczna wykazuje o wiele większą aktywność biodegradacyjną w porównaniu ze szczepami muzealnymi.
2. Bariera mikrobiologiczna - będąca terenem uzbrojonym w system napowietrzający grunt i zawierająca hodowlę autochtonicznej mikroflory bakteryjnej, zaadaptowanej wstępnie do substancji skażającej stanowi pełną ochronę cieków wodnych.

## LITERATURA

1. Farbiszewska T., Farbiszewska-Bajer J.: Biodetoksykacja gruntów skażonych substancjami ropopochodnymi. *Fizykochemiczne Problemy Mineralurgii*, 27, 219-224 (1993).
2. Malicka M.: Biotechnologiczne metody oczyszczania gleb skażonych związkami ropopochodnymi i innymi toksycznymi związkami organicznymi. *Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej* (1992).
3. Farbiszewska T., Farbiszewska-Bajer., Steininger MJ.: Próby biooczyszczania gruntów z substancji ropopochodnych, *Biotechnologia*, 2 (25), 60-66 (1994).
4. Farbiszewska T., Cwalina B., Nowak A.: Izolowanie bakterii siarkowych z wód gruntowych i nadkładu Okręgu Turoszowskiego. *Rudy i Metale*, 33, 11, 422-424 (1988).
5. Farbiszewska T., Cwalina B., Nowak A.: Adaptacja szczepów bakterii siarkowych wyizolowanych z Okręgu Turoszowskiego do materiału ługowanego. *Rudy i Metale*, 34, 12, 421-424 (1989).

Recenzent: Mgr Elżbieta Konopka

Wpłynęło do Redakcji 24.09.1996 r.

## Abstract

Environmental contamination of local soil (near Widawka river - Poland) was caused by pipeline damage. Our investigation was carried out during nine months together with EKO-

BAU company. For pollutants removal we used „in situ” method with microbiological barrier. Experiments were carried out by using autochthonous microflora, adapted to the high concentration of hydrocarbons. The full (100 per cent) cleaning of soil was reached.