

Małgorzata KOWALSKA¹

KWASY HALOGENOOCTOWE - USUWANIE Z WODY W BIOREAKTORZE Z ENZYMAMI NATYWNYMI*

THE HALOACETIC ACIDS - THE REMOVAL FROM WATER IN BIOREACTOR WITH NATIVE ENZYME

Abstrakt: W pracy przedstawiono wyniki badań prowadzonych nad usuwaniem mieszaniny kwasów halogenooctowych z wody w bioreaktorze z enzymami natywnymi. Badania prowadzono w szklanym, termostatowanym naczyniu o pojemności 1 dm³, zaopatrzonym w mieszadło magnetyczne. Wykorzystywano mieszaninę enzymów izolowanych metodą Hagemana ze szczepów bakterii wyodrębnionych z mieszanej populacji osadu czynnego, adaptowanego do rozkładu mieszaniny pięciu kwasów halogenooctowych. Dominującymi w populacji rodzajami bakterii były: *Acinetobacter*, *Arthobacter*, *Pseudomonas* oraz *Bacillus*. Jakościowo-ilościowe oznaczenie HAA w próbkach wody prowadzono metodą HPLC z wykorzystaniem ekstrakcji HAA w eterze tert-butylo-etylowym. Biodegradacji poddawano wodny roztwór mieszaniny pięciu HAA: monochlorooctowego (MCAA), dichlorooctowego (DCAA), trichlorooctowego (TCAA), monobromooctowego (MBAA) oraz dibromooctowego (DBAA) o stężeniu 1 mg/dm³ każdego z nich. Celem badań było określenie optymalnej temperatury i pH środowiska reakcyjnego, przy których proces biodegradacji HAA z wykorzystaniem enzymów natywnych zachodzi najefektywniej. Stwierdzono, że temperatura, przy której należy prowadzić biodegradację, powinna mieścić się w zakresie 25-28°C, a pH - w zakresie 2,44-4,50. Po 2 godzinach prowadzenia procesu w takich warunkach z wody modelowej usunięto całkowicie kwas monochlorooctowy i monobromooctowy, a po 3 godzinach pozostałe kwasy.

Słowa kluczowe: kwasy halogenooctowe, enzymy natywne, biodegradacja

Wprowadzenie

Woda stosowana na cele pitne musi spełniać rygorystyczne wymogi, m.in. nie może zawierać w swoim składzie mikroorganizmów chorobotwórczych. Procesem mającym ograniczyć lub całkowicie je usunąć jest dezynfekcja. Pomimo bardzo szerokiego zastosowania tego procesu oraz zalet, jakimi się charakteryzuje, niesie ze sobą również problem produktów ubocznych powstających podczas działania środków dezynfekcyjnych na substancje organiczne i nieorganiczne zawarte w uzdatnianej wodzie. Niebezpieczeństwo związane z obecnością ubocznych produktów dezynfekcji wynika z ich potencjalnego działania rakotwórczego, mutagennego oraz teratogennego. W związku z tym opracowano metody fizyczne, chemiczne oraz biologiczne mające na celu ograniczenie ilości powstających ubocznych produktów dezynfekcji lub usunięcie związków już powstałych. Na przydatność biokatalizatorów do tych celów wpływa m.in. ich duża specyficzność działania, pozwalająca na przeprowadzenie ściśle określonych reakcji, a także naturalne pochodzenie, dzięki czemu nie wpływają one toksycznie na uzdatnianą wodę. Do eliminacji kwasów halogenooctowych powstających podczas chlorowania wody wykorzystano właściwości enzymów występujących w organizmach żywych. Zaletą wykorzystania biokatalizatorów w procesie usuwania HAA z wody jest

¹ Zakład Chemii Sanitarnej i Procesów Membranowych, Instytut Inżynierii Wody i Ścieków, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Politechnika Śląska, ul. Konarskiego 18, 44-100 Gliwice, tel. 32 237 15 64, fax 32 237 10 47, email: małgorzata.kowalska@polsl.pl

*Praca była prezentowana podczas konferencji ECOpole' 12, Zakopane, 10-13.10.2012

możliwość regulacji ich aktywności oraz szybkości prowadzonych procesów m.in. poprzez kontrolę wpływu warunków środowiskowych, do których przede wszystkim należą temperatura oraz pH [1-4].

Kwasy halogenooctowe (HAA) powstają przede wszystkim podczas chlorowania wody zawierającej ich organiczne prekursory. Udział ilościowy HAA w TOX (suma halogenowanych związków organicznych) jest zwykle mniejszy niż trihalometanów, lecz większy niż pozostałych grup ubocznych produktów utleniania chlorem. Stężenia HAA są wprost proporcjonalne do dawki chloru i zawartości w wodzie prekursorów organicznych [4, 5]. W związku ze szkodliwością kwasów halogenooctowych, a przede wszystkim ich potencjalnym działaniem rakotwórczym, niezbędne okazało się określenie maksymalnych stężeń HAA w wodzie przeznaczonej na cele pitne. Według przepisów Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (US EPA) z 2008 roku, suma stężeń pięciu kwasów halogenooctowych (kwasu monochlorooctowego, dichlorooctowego, trichlorooctowego, monobromooctowego i dibromooctowego) nie może być większa niż 60 mg/m^3 . W przyszłości przewiduje się jednak obniżenie tej wartości do 30 mg/m^3 . Według wytycznych WHO, dotyczących jakości wody do picia dopuszczalne stężenie kwasu monochlorooctowego wynosi 20 mg/m^3 , dichlorooctowego 50 mg/m^3 , a kwasu trichlorooctowego 200 mg/m^3 [6]. W polskich wymaganiach stawianych wodzie przeznaczonej do spożycia przez ludzi kwasy halogenooctowe nie są uwzględnione, choć jeszcze w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. w sprawie warunków, jakim powinna odpowiadać woda do picia, ograniczono stężenie kwasu monochlorooctowego do 30 mg/m^3 [7].

Cel i metodyka badań

Celem badań przedstawionych w niniejszej pracy było określenie optymalnych warunków prowadzenia biodegradacji mieszaniny pięciu wybranych kwasów halogenooctowych z wody za pomocą enzymów natywnych. Zakres pracy obejmował wyznaczenie temperatury i pH środowiska, przy których aktywność mieszaniny stosowanych enzymów będzie najwyższa, dzięki czemu szybkość katalizowanej przez nie reakcji będzie maksymalna. Praktyczne wykorzystanie wyznaczonych doświadczalnie parametrów pozwala na całkowite usunięcie z wody wszystkich wybranych HAA w możliwie najkrótszym czasie.

Badania prowadzono w termostатовanym, szklanym naczyniu o pojemności 2 dm^3 , wyposażonym w mieszadło magnetyczne.

Wykorzystywano mieszaninę enzymów izolowanych metodą Hagemana ze szczepów mikroorganizmów wyodrębnionych z mieszanej populacji osadu czynnego, adaptowanego do rozkładu mieszaniny pięciu kwasów halogenooctowych o stężeniu 5 mg/dm^3 każdego z nich. Dominującymi w populacji rodzajami bakterii były: *Acinetobacter*, *Arthobacter*, *Pseudomonas* oraz *Bacillus* [8, 9].

Biodegradacji poddawano wodny roztwór mieszaniny pięciu HAA: monochlorooctowego (MCAA), dichlorooctowego (DCAA), trichlorooctowego (TCAA), monobromooctowego (MBAA) oraz dibromooctowego (DBAA) o stężeniu 1 mg/dm^3 każdego z nich.

Stężenie białka aktywnego oznaczano kolorymetryczną metodą Bradforda, polegającą na barwnej reakcji białka z odczynnikiem Bio-Rad-Protein-Assay. Korzystano ze spektrofotometru UV VIS Cary 50 (Varian).

Aktywność enzymów określano, poddając ich działaniu w temperaturze 298 K, w czasie 10 minut roztwór mieszaniny kwasów o stężeniu 1 g/m^3 . Następnie w roztworze oznaczano stężenie kwasów i na tej podstawie określano ilość rozłożonego w tym czasie każdego z nich.

Na podstawie obliczonego stężenia ksenobiotyków określano stopień biodegradacji HAA (B_d), zgodnie z zależnością:

$$B_d = 1 - (C_k \cdot V_k) / C_p \cdot V_p \cdot 100\%$$

gdzie: B_d - stopień biodegradacji [%], C_p - stężenie początkowe kwasu [mol/dm^3], C_k - stężenie końcowe (po określonym czasie) kwasu [mol/dm^3], V_p - objętość początkowa badanej wody [dm^3], V_k - objętość końcowa badanej wody ($V_p = V_k$).

Do oznaczeń kwasów halogenooctowych w prezentowanych badaniach zastosowano metodę US EPA 552.2 [10], a chromatografię GC-MS w analizie jakościowo-ilościowej ekstraktu. W celu wydzielenia kwasów halogenooctowych do próbki wody wprowadzano $1,5 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{SO}_4$, 12 g stałego Na_2SO_4 i 3 cm^3 eteru terbutylometylowego i intensywnie wytrząsano przez 5 minut w rozdzielaczu. Po rozdzieleniu frakcji organicznej pobierano $2,5 \text{ cm}^3$ ekstraktu do szklanej próbówki i dodawano 1 cm^3 10% H_2SO_4 w CH_3OH . Tak przygotowaną próbkę w celu upochodnienia inkubowano przez 30 minut w temperaturze 50°C . Po tym czasie do roztworu dodawano 4 cm^3 10% wodnego roztworu Na_2SO_4 i przenoszono ponownie do rozdzielacza. Po rozdzieleniu warstwę organiczną poddawano analizie GC-MS.

Do oznaczeń wykorzystano chromatograf gazowy sprzężony z detektorem masowym (GC-MS, pułapka jonowa) model Saturn 2100 T, firmy Varian. Analizę ilościową prowadzono zgodnie z metodą *FS (full scan)* w zakresie mas od 50 do 250 a.m.u. Opracowana procedura umożliwia rozdział 5-składnikowej mieszaniny kwasów halogenooctowych i ich oznaczenie ilościowe w wodach na poziomie stężeń od 15 do 30 mg/m^3 w zależności od związku.

W pierwszym etapie badań obserwowano wpływ temperatury na aktywność mieszaniny biokatalizatorów. Roztwory zawierające 99 cm^3 badanej wody oraz 1 cm^3 zawiesiny enzymów (po trzy serie dla każdej badanej temperatury) termostatowano w 18, 20, 25, 28 i 30°C przez jedną, dwie i trzy godziny. Po każdej godzinie do analizy pobierano jedną z serii próbek i oznaczano w niej stężenie każdego z kwasów. Drugi etap badań, mający określić wpływ pH środowiska na aktywność enzymów, polegał na termostatowaniu roztworów mieszaniny HAA o odczynie 2,44; 4,5; 5,5; 6,22; 7,6 (podobnie jak w przypadku badań nad wpływem temperatury - trzech serii dla każdego badanego pH) w stałej temperaturze 25°C (określonej wcześniej jako optymalna) przez 3 godziny. Ponownie, po każdej godzinie pobierano po jednej próbce z serii i oznaczano w niej stężenie HAA. Żądane odczyny mieszaniny HAA uzyskano poprzez rozpuszczenie kwasów w odpowiednich buforach.

Wyniki

Przed przystąpieniem do badań wstępnie określono aktywność enzymów wobec każdego z kwasów (w temperaturze 20°C i przy pH równym 2,48). W niniejszych badaniach pojęcie aktywność enzymatyczna kompleksu białkowego oznacza ilość rozłożonego kwasu w czasie jednej godziny. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 1. W optymalnych warunkach prowadzenia procesu biodegradacji aktywność enzymów osiąga swoją maksymalną wartość i utrzymuje się na tym poziomie aż do wyczerpania substratów.

Tabela 1
Ilość unieruchomionego białka oraz aktywność enzymów

Tabela 1

Table 1

The amount of enzyme and their activity

Ilość białka aktywnego [mg]	Aktywność kompleksu enzymów wobec kwasu									
	MCAA		DCAA		TCAA		MBAA		DBAA	
	[g/h]	[mmol/h]	[g/h]	[mmol/h]	[g/h]	[mmol/h]	[g/h]	[mmol/h]	[g/h]	[mmol/h]
26,7	0,0431	0,456	0,0423	0,448	0,0426	0,451	0,0435	0,461	0,0421	0,446

Na podstawie wyników uzyskanych w pierwszym etapie badań dokonano analizy wpływu temperatury na aktywność enzymów katalizujących biodegradację HAA, a tym samym efektywność procesu usuwania mieszaniny kwasów halogenooctowych z wody. Zebrane wyniki przedstawiono w tabeli 2, natomiast na rysunku 1 zobrazowano zmiany stężenia sumy usuwanych kwasów halogenooctowych, zachodzące podczas procesu biodegradacji w funkcji czasu dla badanych temperatur.

Tabela 2
Zależność stężenia poszczególnych kwasów halogenooctowych w badanej wodzie od temperatury prowadzenia procesu w funkcji czasu

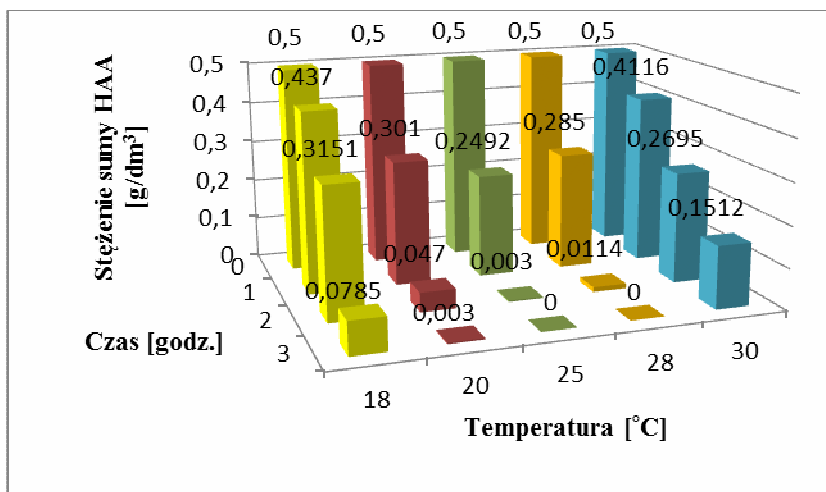
Tabela 2

Table 2

Dependence of the concentration of haloacetic acids on the temperature in the time function

Temperatura [°C]	Czas pobrania próbki [godz.]	Stężenie MCAA [g/dm ³]	Stężenie DCAA [g/dm ³]	Stężenie TCAA [g/dm ³]	Stężenie MBAA [g/dm ³]	Stężenie DBAA [g/dm ³]
18	1	0,0785	0,0871	0,0967	0,0776	0,0971
	2	0,0574	0,0631	0,0695	0,0552	0,0699
	3	0,0141	0,0156	0,0171	0,0143	0,0174
20	1	0,0542	0,0596	0,0662	0,0539	0,0671
	2	0,0087	0,0096	0,0107	0,0078	0,0102
	3	0	0	0,0014	0	0,0016
25	1	0,0450	0,0495	0,0549	0,0448	0,0550
	2	0	0,0012	0,0009	0	0,0009
	3	0	0	0	0	0
28	1	0,0513	0,0564	0,0634	0,0502	0,0637
	2	0,0024	0,0026	0,0032	0	0,0032
	3	0	0	0	0	0
30	1	0,0741	0,0815	0,0904	0,0746	0,0910
	2	0,0485	0,0534	0,0592	0,0496	0,0588
	3	0,0273	0,0301	0,0341	0,0258	0,0339

Z analizy otrzymanych danych wynika, że efektywność usuwania HAA z wody istotnie zależy od temperatury prowadzenia procesu. Po pierwszej godzinie procesu stopień usunięcia wszystkich pięciu kwasów był następujący: w 18°C - 12,6%; w 20°C - 39,8%; w 25°C - 50,16%; w 28°C - 43%; w 30°C - 17,68%. W drugiej godzinie trwania biodegradacji stężenie sumy kwasów również zmalało we wszystkich temperaturach. Redukcja wyniosła odpowiednio: 36,98% w 18°C; 90,6% w 20°C; 99,4% w 25°C; 97,72% w 28°C oraz 46,1% w 30°C. W trzeciej godzinie procesu uzyskano całkowite usunięcie sumy HAA w temperaturze 25 oraz 28°C. W temperaturze 18°C stopień usunięcia sumy kwasów wyniósł 84,3%, a w temperaturze 20°C - 99,4%. Najmniej efektywnie kwasy usunięte zostały w temperaturze 30°C, ich redukcja wyniosła 69,76%. Podsumowując otrzymane wyniki, stwierdzono, że temperatura, przy której należy prowadzić biodegradację, powinna mieścić się w zakresie 25-28°C, ponieważ wtedy biodegradacja zachodzi najefektywniej oraz aktywność enzymatyczna stosowanego kompleksu biokatalizatora jest największa.



Rys. 1. Zależność zmiany stężenia sumy usuwanych kwasów halogenooctowych od temperatury prowadzenia procesu w funkcji czasu

Fig. 1. The dependence of the acids concentration on time - the temperature effect

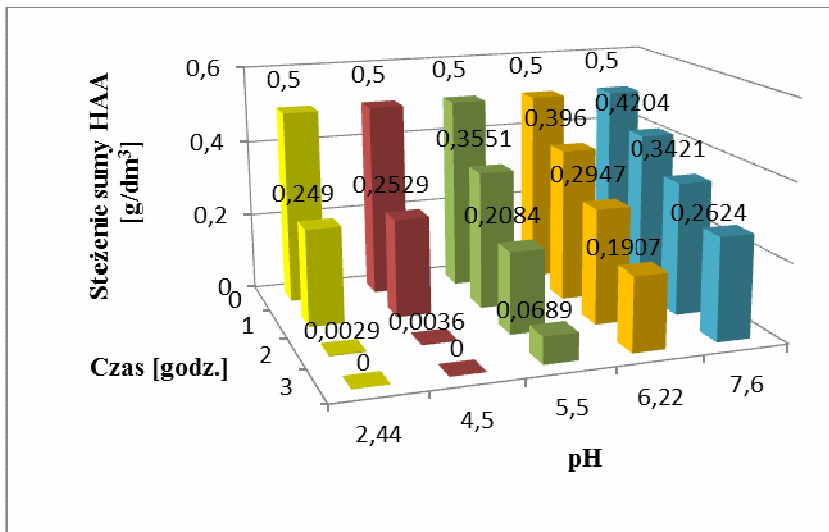
Drugi etap badań polegał na przeanalizowaniu wpływu wykładnika stężenia jonów wodorowych na aktywność enzymów natywnych rozkładających poszczególne kwasy halogenooctowe oraz ich sumę. Doświadczenie prowadzono w temperaturze 25°C - wyznaczonej wcześniej jako optymalna. Mieszaninę wody z kwasami oraz enzymami o pH równym: 2,44; 4,5; 5,5; 6,22 i 7,6 poddano termostatawaniu przez 1, 2 oraz 3 godziny. Stężenie wyjściowe kwasów MCAA, DCAA, TCAA, MBAA, DBAA wynosiło 1 mg/dm³. Uzyskane wyniki zebrano w tabeli 3, natomiast na rysunku 2 przedstawiono zmiany stężenia sumy usuwanych kwasów halogenooctowych, zachodzące podczas procesu biodegradacji w funkcji czasu dla badanych odczynów uzdatnianej wody.

Tabela 3
Zależność stężenia poszczególnych kwasów haloacetytowych od pH środowiska reakcyjnego w funkcji czasu prowadzenia procesu

Table 3

Dependence of the concentration of haloacetic acids from the pH in the time function

Odczyn próbki	Czas pobrania próbki [godz.]	Stężenie MCAA [g/dm ³]	Stężenie DCAA [g/dm ³]	Stężenie TCAA [g/dm ³]	Stężenie MBAA [g/dm ³]	Stężenie DBAA [g/dm ³]
2,44	1	0,0451	0,0493	0,0551	0,0446	0,0549
	2	0	0,0014	0,0007	0	0,0008
	3	0	0	0	0	0
4,5	1	0,0457	0,0501	0,0558	0,0452	0,0561
	2	0	0,0016	0,0011	0	0,0009
	3	0	0	0	0	0
5,5	1	0,0658	0,0715	0,0762	0,0658	0,0758
	2	0,0317	0,0422	0,0515	0,0309	0,0521
	3	0,0009	0,0124	0,0276	0,0003	0,0277
6,22	1	0,0762	0,0795	0,0818	0,0764	0,0821
	2	0,0531	0,0602	0,0641	0,0530	0,0643
	3	0,0294	0,0394	0,0462	0,0291	0,0466
7,6	1	0,0813	0,0834	0,0874	0,0804	0,0879
	2	0,0612	0,0692	0,0756	0,0596	0,0765
	3	0,0414	0,0535	0,0634	0,0395	0,0646



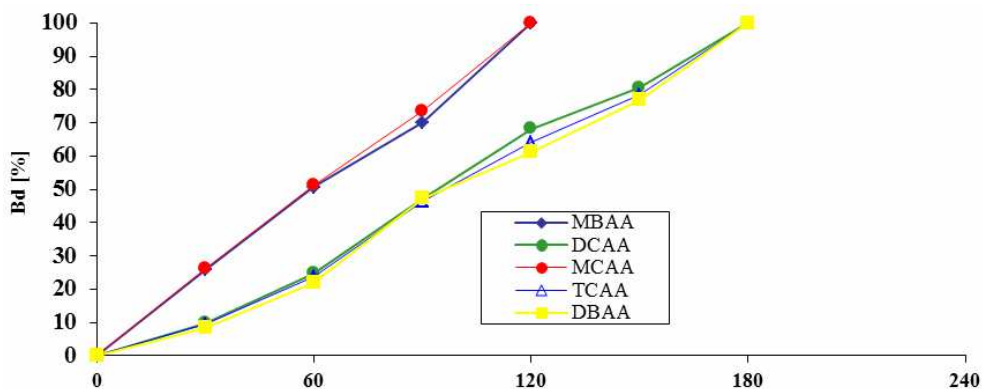
Rys. 2. Zależność zmiany stężenia sumy usuwanych kwasów haloacetytowych od pH środowiska reakcji w funkcji czasu

Fig. 2. The dependence of the acids concentration on time - the pH effect

Wyniki analiz po pierwszej godzinie prowadzenia procesu pozwalają na stwierdzenie, że wraz z obniżeniem pH wzrastał stopień usunięcia wszystkich kwasów i wyniósł

odpowiednio dla pH 2,44 - 49,8%; dla pH 4,5 - 49,42%; dla pH 5,5 - 28,98%; dla pH 6,22 - 20,8% oraz dla pH 7,6 - 15,92%. W drugiej godzinie biodegradacji również zaobserwowano obniżenie stężenia sumy HAA w czasie. Dla pH 2,44 redukcja sumy kwasów wyniosła 99,42%, dla pH 4,5 - 99,28%, dla pH 5,5 - 58,32%, dla pH 6,22 - 41,06% oraz dla pH 7,6 - 31,58%. W trzeciej godzinie procesu wszystkie kwasy usunięto przy najwyższym zakwaszeniu środowiska reakcji (pH = 2,44 oraz 4,5). W pozostałych przypadkach ich stopień usunięcia wynosił: 86,22; 61,86; 47,52% dla pH 5,5; 6,22 oraz 7,6. Z uzyskanych wyników badań wynika, że najwyższy stopień biodegradacji kwasów halogenooctowych z wody otrzymano dla najniższych przebadanych wartości pH środowiska reakcji, czyli że proces usuwania mieszaniny HAA z wody należy prowadzić w środowisku kwaśnym o pH zawartym w przedziale od 2,44 do 4,5. W tych warunkach osiąga się również najwyższą wartość aktywności enzymatycznej stosowanego w procesie kompleksu enzymów.

Ostatnim etapem prowadzonych badań było określenie skuteczności procesu biodegradacji mieszaniny pięciu kwasów halogenooctowych prowadzonego w optymalnych warunkach (temperatura = 25°C i pH = 3,2). Po dwóch godzinach prowadzenia procesu w takich warunkach z wody modelowej usunięto całkowicie kwasy monochlorooctowy i monobromooctowy, a po 3 godzinach pozostałe kwasy. Przebieg procesu przedstawiono na rysunku 3.



Rys. 3. Zależność stopnia biodegradacji kwasów halogenooctowych od czasu prowadzenia procesu (warunki prowadzenia procesu: temperatura - 25°C i pH - 3,2)

Fig. 3. Dependence of the biodegradation degree of haloacetic acids on duration of ultrafiltration biodegradation (process conditions: temperature - 25°C, pH - 3.2)

Podsumowanie

Biodegradacja mieszaniny kwasów halogenooctowych z zastosowaniem enzymów natywnych jest skuteczną metodą usuwania HAA z wody. Temperatura, przy której należy prowadzić ten proces, powinna się mieścić w zakresie 25-28°C. Wyniki uzyskane podczas prowadzonych badań świadczą o tym, że stopień usunięcia kwasów halogenooctowych rośnie wraz ze wzrostem zakwaszenia środowiska reakcyjnego. Optymalnym, wyznaczonym doświadczalnie pH, przy którym należałoby prowadzić proces usuwania

mieszaniny HAA z wody, jest pH zawarte w przedziale 2,44-4,5. Podczas biodegradacji mieszaniny pięciu wybranych kwasów halogenooctowych z wody zawierającej po 1 mg/dm³ każdego z nich, z zastosowaniem wyznaczonych doświadczalnie optymalnych parametrów procesowych, po dwóch godzinach nastąpiło całkowite usunięcie: kwasu monochlorooctowego i monobromooctowego. W trzeciej godzinie usunięto wszystkie pozostałe kwasy.

Podziękowania

Praca naukowa została sfinansowana ze środków przeznaczonych na naukę w latach 2009-2011 jako projekt badawczy nr N N523 4523 36 pt. „Biodegradacja kwasów halogenooctowych w reaktorze z enzymatycznymi membranami ultrafiltracyjnymi”.

Literatura

- [1] Dojlido JR, Zbieć E. Kwasy halogenooctowe w wodzie do picia. *Gaz, Woda i Technika Sanitarna*. 1998;5:221-225.
- [2] Zbieć E, Dojlido JR. Uboczne produkty dezynfekcji wody. *Ochr Środow*. 1999;3(74):37-44.
- [3] Kucharski M, Koprowicz D. Chloroacetic acids in drinking water as ozonation and disinfection chlorine by-products. *Polish J Environ Stud*. 2007;16(2A):150-157.
- [4] Symons JM. Treatment techniques for controlling trihalomethanes in drinking water. *J AWWA*. 1975;47(67):634-642.
- [5] Peters RIB, Erkelen S, Leer EWB, Glan L. The analysis of halogenated acetic acids in dutch drinking water. *Water Res*. 2008;25(4):473-477.
- [6] USEPA, Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization and gas chromatography with electron capture detection, Method 552.2, Rev. 1.0, 1995.
- [7] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 20 kwietnia 2010 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. *DzU Nr 72*, 466.
- [8] Kowalska M, Dudziak M, Bohdziewicz J. Usuwanie kwasów halogenooctowych w zintegrowanym procesie biodegradacja - ultrafiltracja z zastosowaniem enzymatycznych membran kapilarnych. *Ochr Środow*. 2011;33(4):49-51.
- [9] Chomczyńska M, Montusiewicz A, Malicki J, Łagód G. Application of saprobes for bioindication of wastewater quality. *Environ Eng Sci*. 2009;26:289-295. DOI: 10.1089/ees.2007.0311.
- [10] Ahmed S, Rasul MG, Wayde N, Brown R, Hashi MA. Desalination. 2010;261:3-18. DOI: 10.1016/j.desal.2010.04.062

THE HALOACETIC ACIDS - THE REMOVAL FROM WATER IN BIOREACTOR WITH NATIVE ENZYME

Division of Sanitary Chemistry and Membrane Processes, Institute of Water and Wastewater Engineering
Faculty of Energy and Environmental Engineering, Silesian University of Technology, Gliwice

Abstract: The results of the study on the removal of haloacetic acids mixture from water in the bioreactor with native enzymes are presented. The process is run at ambient temperature and its exploitation costs are relatively low. Haloacetic acids are one of the water disinfection byproducts. They are formed during the reaction of HAA precursors (mainly humic substances) with chlorine and its derivatives. It was found that the presence of HAA in drinking water is harmful for humans and animals. Some of haloacetic acids *ie* dichloroacetic acid and trichloroacetic acids have been proved to reveal a cancerogenic effect. Some study show that dichloroacetic acid causes neuropathy, body mass loss and lever cancer. Thus, in many countries the constant monitoring of HAA concentration in drinking water is introduced and the standards on their permissible levels in water are developed. According to US EPA recommendation from 2008, the total concentration of five haloacetic acids (*ie* monochloroacetic acid, dichloroacetic acid, trichloroacetic acid, monobromoacetic acid and dibromoacetic acid) in

drinking water should not exceed 60 mg/m^3 . However, this level is planned to be decreased to 30 mg/m^3 according to the cancerogenic effect of HAA revealed on humans and animals. In the regulation of WHO on drinking water quality the permissible concentrations of monochloroacetic, dichloroacetic and trichloroacetic acids are established at 20, 50 and 200 mg/m^3 , respectively. In the latest Polish standards on drinking water quality there are no permissible levels of HAA shown, however in The Regulation of Minister of Health on the quality of drinking water for human consumption from 29.03.2007 the maximum concentration monochloroacetic acid has been established at 30 mg/m^3 . The studies were carried out in glass, thermostated reactor of volume 1 dm^3 equipped with magnetic stirrer. The mixture of enzymes isolated using Hageman method from bacteria separated from the populations of activated sludge and adapted to the decomposition of five HAA was used. The dominant populations of microorganisms were: *Acinetobacter*, *Arthobacter*, *Pseudomonas* and *Bacillus*. The qualitative-quantitative analyses of HAA in water were made using HPLC method preceded by compounds extraction with tert-butyl ethyl ether. The aqueous solution of five HAA ie monochloroacetic acid (MCAA), dichloroacetic acid (DCAA), trichloroacetic acid (TCAA), monobromoacetic acid (MBAA) and dibromoacetic acid (DBAA) of the concentration of 1 mg/dm^3 each was treated. The aim of the study was to determine the optimum temperature and pH of reaction environment at which the enzymatic biodegradation of HAA would run the most effectively. It was found that the process temperature should have been in the range of $25\text{-}28^\circ\text{C}$, while pH 2.44-4.50. Such conditions enabled the total removal of MCAA and MBAA after 2 hours of the process, while for the rest of HAA its elongation to 3 hours was necessary.

Keywords: haloacetic acids, native enzymes, biodegradation

