

Teresa Steliga, Piotr Jakubowicz, Piotr Kapusta, Katarzyna Wojtowicz

Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy

Efektywność biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych w zestarzałym odpadzie z dołu urobkowego

W artykule przedstawiono ocenę efektywności biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych w trakcie etapowego oczyszczania zestarzałego odpadu, który zdeponowano w dole urobkowym G-70. Odpad z dołu urobkowego G-70 był silnie zanieczyszczony substancjami ropopochodnymi (TPH) (14 258÷120 380 mg/kg s.m.) i BTEX (68,9÷92,7 mg/kg s.m.). Etapowa technologia oczyszczania odpadów wiertniczych metodą *in situ* obejmuje: wstępną remediację, modyfikację struktury odpadu, bioremediację podstawową stymulowaną przez wapnowanie i nawożenie (wzbogacanie środowiska odpadu w składniki biogenne) oraz inokulację biopreparatami opracowanymi na bazie autochtonicznych niepatogennych gatunków bakterii, grzybów i drożdży. Rozbudowany monitoring procesów bioremediacyjnych oparty na chromatograficznych analizach zanieczyszczeń ropopochodnych i badaniach parametrów fizyczno-chemicznych oraz mikrobiologicznych (całkowita liczba mikroorganizmów, liczba mikroorganizmów rozkładających węglowodory ropopochodne, liczba grzybów, identyfikacja rodzajowa i gatunkowa bakterii i grzybów oraz aktywność dehydrogenazowa) w pełni pozwala na optymalizację ich przebiegu oraz ocenę efektywności opracowanych biopreparatów. Po przeprowadzeniu w roku dwóch serii inokulacji biopreparatem na bazie autochtonicznych niepatogennych gatunków bakterii (G-70-1) najszybciej zachodziła biodegradacja węglowodorów alifatycznych o długości łańcucha nC_9 – nC_{20} w zakresie: 47,8÷69,6%, zaś w przypadku węglowodorów o długości łańcucha nC_{21} – nC_{36} w zakresie: 25,7÷51,4%. Uzyskano także obniżenie zawartości BTEX o 53,9%. Wzbogacenie biopreparatu (G-70-1) o autochtoniczne niepatogenne gatunki grzybów i drożdży (G-70-2) oraz przeprowadzenie w II roku oczyszczania trzech serii inokulacji przyczyniły się do wzrostu stopnia biodegradacji węglowodorów z zakresu nC_9 – nC_{22} o 51,3÷79,5%, węglowodorów cięższych nC_{23} – nC_{36} o 39,6÷54,4% oraz BTEX o 79,8%. Po zakończeniu oczyszczania sumaryczna zawartość węglowodorów ropopochodnych w odpadzie wynosiła poniżej 1000 mg TPH/kg s.m., co pozwoliło na przywrócenie aktywności biologicznej na tym terenie.

Słowa kluczowe: odpady wiertnicze, doły urobkowe, węglowodory ropopochodne, bioremediacja, biodegradacja, inokulacja.

Effectiveness of biodegradation of petroleum pollutants in weathered drill waste

The article presents an assessment of the biodegradation efficiency of petroleum hydrocarbons during the treatment of weathered drilling waste, which was deposited in the G-70 waste pit. The waste was strongly contaminated with hydrocarbons – TPH (14 258÷120 380 mg/kg dry mass) and BTEX (68.9÷92.7 mg/kg dry mass). Stage technology of drilling waste treatment with an in-situ method includes: initial remediation, modification of waste structure, basic bioremediation stimulated by liming and fertilization (enrichment of waste with biogenic components), and inoculation with biopreparation based on autochthonous non-pathogenic bacteria, fungi and yeast. Extended monitoring of the bioremediation, based on chromatographic analyses of petroleum hydrocarbons, physicochemical tests and microbiological research (total number of microorganisms, number of microorganisms decomposed of hydrocarbons, number of fungi, genus and species identification of bacteria as well as fungi and dehydrogenases activity), enables optimization of their course and assessment of developed biopreparations effectiveness. During two series of inoculation with G-70-1 biopreparation done in the first year of treatment, biodegradation was the most effective in the case of aliphatic hydrocarbons of nC_9 – nC_{20} chain (47.8÷69.6%) whereas it was slightly lower for those of nC_{21} – nC_{36} (25.7÷51.4%). Aromatic compounds (BTEX) were degraded by 53.9%. Application of biopreparation, enhanced with fungi and yeast (G-70-2) during the second year of treatment (3 series of inoculation), resulted in TPH decrease for hydrocarbons: nC_9 – nC_{22} by 51.3÷79.5%, for nC_{23} – nC_{36} by 39.6÷54.4% and BTEX by 79.8%. After the treatment, TPH level was reduced below 1000 mg/kg dry mass and conditions were created for the restoration of biological activity.

Key words: drilling waste, drilling pit, petroleum hydrocarbons, bioremediation, biodegradation, inoculation.

Wprowadzenie

Odpady wiertnicze powstałe przy wierceniu płytkich otworów (poniżej 1000 m p.p.t.) w kopalniach z terenu Podkarpacia, które były składowane w dołach urobkowych, zawierają urobek skalny (ziemię) reprezentujący cały przewiercony profil geologiczny w postaci utworów czwartorzędowych i trzeciorzędowych, a także ropę z nawierconych warstw ropo-nych w postaci zmieszanej i rozpuszczonej oraz zaadsorbowanej na powierzchni ziaren ziemi. Zanieczyszczenia ropopochodne w miarę upływu czasu ulegały przemianom na skutek procesów rozpuszczania, odparowywania czy biodegradacji, co miało wpływ na ich terażniejszy skład [1, 15].

Opracowana koncepcja technologiczna oczyszczania zestarych odpadów wiertniczych z dołów urobkowych, obejmująca: drenaż melioracyjno-odciekowy, modyfikację struktury odpadu, bioremediację podstawową stymulowaną przez wapnowanie oraz wzbogacanie środowiska odpadu w składniki biogenne, inokulację biopreparatem opracowanym na bazie autochtonicznych niepatogennych bakterii, grzybów i drożdży, pozwala na stopniowe obniżanie poziomu zanieczyszczeń ropopochodnych w silnie skażonych odpadach, co z kolei umożliwia wprowadzanie kolejnych etapów oczyszczania opartych

na metodach biologicznych. Wytyczne prowadzenia procesów oczyszczania w warunkach przemysłowych metodą *in situ* zostały opracowane na podstawie przeprowadzonych badań w skali półtechnicznej metodą pryzmowania *ex situ* [1, 4, 7, 9, 15, 17].

Zanieczyszczenia ropopochodne stanowią skomplikowany, wieloskładnikowy układ i z tego względu do ich rozkładu wskazane jest zastosowanie mieszaniny kultur bakteryjnych o rozbudowanym aparacie enzymatycznym. W celu uniknięcia antagonistycznego oddziaływania mikroflory autochtonicznej zasiedlającej odpad na wprowadzane obce kultury drobnoustrojów, nieprzystosowane do danego środowiska, preferuje się sporządzenie konsorcjów bakteryjnych na bazie uprzednio wyizolowanych z gleby mikroorganizmów autochtonicznych [1, 3, 6, 7, 11, 12, 14].

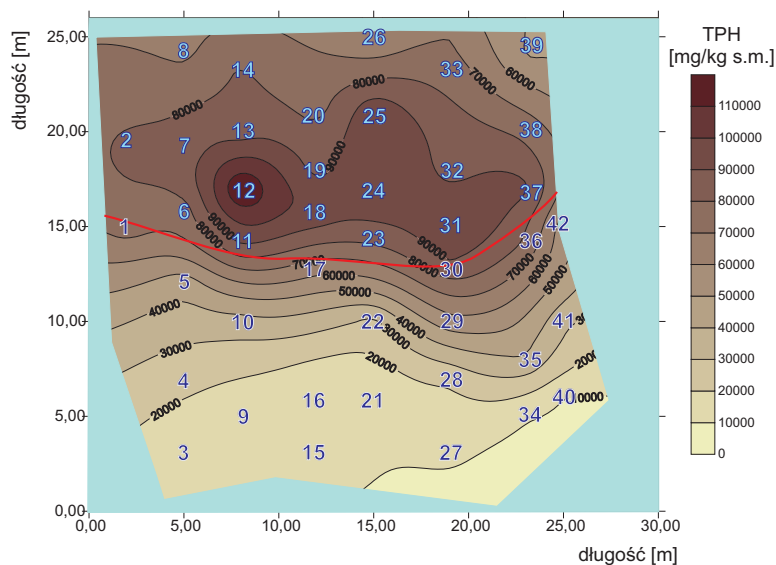
Proces oczyszczania w warunkach przemysłowych (metoda *in situ*) odpadów wiertniczych zdeponowanych w starych dołach urobkowych z zanieczyszczeń ropopochodnych poddano rozszerzonemu monitoringowi, obejmującemu: analizy parametrów fizyczno-chemicznych i mikrobiologicznych oraz oznaczenia chromatograficzne składu zanieczyszczeń ropopochodnych, co pozwoliło na pełną optymalizację przebiegu procesów biodegradacji.

Charakterystyka materiału badawczego

Doł urobkowy G-70, pochodzący z lat 1944–1953, zawierał 1100 m³ odpadu, który charakteryzował się zróżnicowaną zawartością substancji ropopochodnych (TPH – *total petroleum hydrocarbons*) w warstwie powierzchniowej (14 258÷120 380 g TPH/kg s.m.) (rysunek 1). Na głębokości 80 cm p.p.t. odnotowano nadal wysoką zawartość zanieczyszczeń ropopochodnych: 8360÷60 410 mg TPH/kg s.m. Dopiero na głębokości 140 cm p.p.t. zawartość zanieczyszczeń ropopochodnych znacznie się obniża, gdyż zawiera się w przedziale 2017÷5147 mg TPH/kg s.m.

Analiza chromatograficzna zanieczyszczeń ropopochodnych z odpadu wykazała obecność węglowodorów monoaromatycznych (BTEX) w zakresie 68,9÷92,7 mg/kg s.m. oraz wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) [5] w nieznacznych ilościach: 1,601÷2,048 mg/kg s.m. Ponadto odpad charakteryzował się wysoką zawartością minerałów ilastych (27÷52%), zawartością metali ciężkich na poziomie nieprzekraczającym dopuszczalnej normy, stosunkiem substancji biogennej (azotu i fosforu) w zakresie (N:P = 1,4:1÷1,2:1), przewodnością elektryczną ekstraktu wodnego w przedziale 254÷369 $\mu\text{S}/\text{cm}$, chemicznym zapotrzebowaniem tlenu ekstraktu wodnego odpadu w zakresie $\text{ChZT}_{(\text{C}_1)} = 398\div488 \text{ mg O}_2/\text{dm}^3$ oraz odczynem ekstraktu wodnego

na poziomie 6,62÷6,91. Na podstawie przeprowadzonych analiz oraz przeglądu danych archiwalnych można stwierdzić, że odpad z dołu urobkowego G-70 można zakwalifikować do grupy odpadów o kodzie ex 17 05 03* *gleba i ziemia zanieczyszczona substancjami ropopochodnymi* i zgodnie z obowiązującymi przepisami można go przeznaczyć do oczyszczania metodą *in situ*.



Rys. 1. Rozkład zanieczyszczeń ropopochodnych na terenie dołu urobkowego G-70 w warstwie powierzchniowej 0÷80 m p.p.t.

Charakterystyka biopreparatów

W badaniach mikrobiologicznych, mających za zadanie opracowanie profesjonalnego biopreparatu na bazie mikroorganizmów pochodzących z terenu oczyszczanego dołu urobkowego G-70, stwierdzono, że zakres mikrobiologicznych badań klasycznych należy rozszerzyć o badania opierające się na nowoczesnych technikach molekularnych, wykorzystywanych do określania różnorodności populacji mikroorganizmów w procesach bioremediacyjnych [3, 5, 8–10, 12, 17, 19, 20, 21].

W wyniku przeprowadzonych badań mikrobiologicznych próbek zanieczyszczonego odpadu z dołu urobkowego G-70 wyizolowano 16 szczepów bakterii, trzy szczepy grzybów, należące do rodzajów *Trichoderma*, *Fusarium* oraz *Cryptococcus*, a także dwa aktywne szczepy drożdży należące do rodzajów *Pichia* i *Candida*. Wśród wszystkich wyizolowanych mikroorganizmów dominowały bakterie z rzędu *Actinomycetales* (typ *Actinobacteria*). Szczególnie licznie reprezentowany był rodzaj *Rhodococcus*. Cechę charakterystyczną wyizolowanych szczepów stanowiła zdolność wykorzystywania nie tylko węglowodorów alifatycznych, ale też aromatycznych. W celu dokładniejszej identyfikacji mikroorganizmów wchodzących w skład opracowanych biopreparatów przeprowadzona została reakcja łańcuchowej polimerazy PCR i analiza sekwencji kodujących genu 16S rRNA u bakterii i 18S rRNA u grzybów. Otrzymane dane porównano z danymi dostępnymi w GenBanku za pomocą programu BLAST. Dla oczyszczanego dołu urobkowego G-70 opracowano dwa biopreparaty, tj.:

- biopreparat na bazie bakterii autochtonicznych (G-70-1), który zawierał następujące gatunki bakterii: *Arthrobacter sulfonivorans*, *Burkholderia phenazinium*, *Gordonia rubripertincta*, *Dietzia aerolata*, *Mycobacterium vanbaalenii*, *Microbacterium oleivorans*, *Pseudomonas oryzaehabitans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus ruber*, *Rhodococcus wratislaviensis*, *Staphylococcus warneri*, *Stenotrophomonas rhizophila*, *Streptomyces aureus*;
- biopreparat G-70-2, który powstał w wyniku zmodyfikowania biopreparatu G-70-1 poprzez wzbogacenie go o wyizolowane gatunki grzybów i drożdży: *Trichoderma asperellum*, *Cryptococcus terreus*, *Candida keroseneae*, *Pichia galeiformis*.

Przy opracowaniu profesjonalnego biopreparatu szczególną uwagę zwrócono na bezpieczeństwo jego stosowania. Badania molekularne pozwalały na określenie przynależności gatunkowej wyizolowanych mikroorganizmów, co umożliwiło, opierając się na liście klasyfikacji stosowanej przez American Type Culture Collection (ATCC) (Biosafety Level-1 – nie są znane przypadki wywołania chorób u zdrowych dorosłych ludzi), wyeliminowanie z opracowanego biopreparatu mikroorganizmów należących do gatunków patogennych. Opracowane biopreparaty zostały przetestowane w badaniach laboratoryjnych (metoda pryzmowania *ex situ*), które potwierdziły zasadność ich stosowania w warunkach przemysłowych (metoda *in situ*).

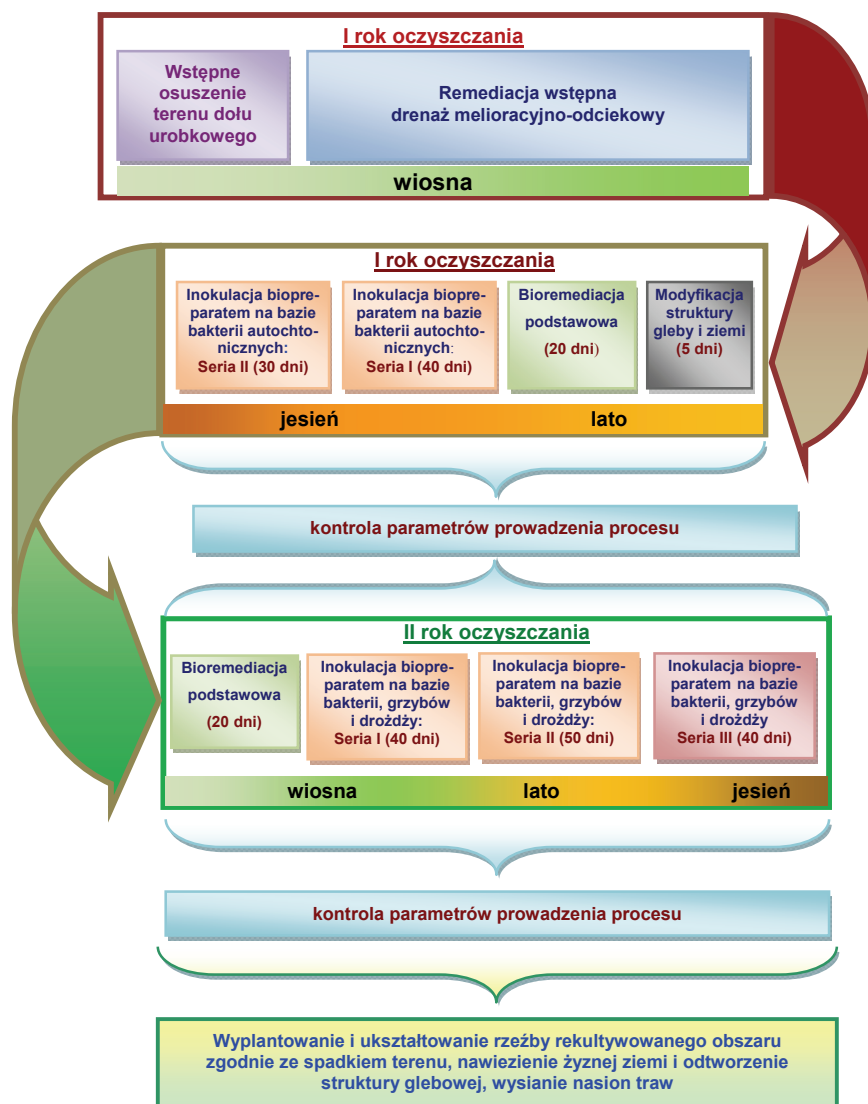
Omówienie prac bioremediacyjnych na terenie dołu urobkowego G-70 metodą *in situ*

Przebieg procesów bioremediacyjnych zilustrowano na rysunku 2, zaś zestawienie analiz chemicznych i badań monitoringowych, obejmujących kolejne etapy procesu oczyszczania na terenie dołu urobkowego G-70, przedstawiono w tablicy 1.

Proces wstępnej remediacji, polegający na drenażu melioracyjno-odciekowym, przeprowadzony w pierwszym roku oczyszczania terenu dołu urobkowego G-70, przyczynił się do obniżenia zawartości zanieczyszczeń ropopochodnych do poziomu 39 776 mg TPH/kg s.m. Pomimo znacznego obniżenia TPH na terenie dołu urobkowego G-70 nadal stwierdzono wysoki poziom zanieczyszczeń, który na głębokości 0,80 m p.p.t. wynosił 15 589÷10 567 mg TPH/kg s.m. W warstwie na głębokości 1,8 m p.p.t. wartość TPH zbliżała się do standardów glebowych. Obniżenie zawartości zanieczyszczeń ropopochodnych było szczególnie widoczne w przypadku węglowodorów z zakresu nC₆–nC₁₇ i wynosiło 68,0÷76,8%. Nieznacznie niższe zanotowano dla nC₁₈–nC₂₄ – na poziomie 42,6÷61,3%, natomiast dla cięższych węglowodorów nC₂₅–nC₃₆ kształtowało się ono w zakresie 24,1÷34,8%.

Proces bioremediacji stymulowanej substancjami biogennymi, których proporcje ustalono w trakcie przeprowadzonych badań laboratoryjnych (C:N:P = 100:1:4), przyczynił się do obniżenia poziomu zanieczyszczeń ropopochodnych w ciągu 20 dni do 28 641 mg/kg s.m., co stanowi 27,9% redukcji. Odnotowano także nieznaczne obniżenie zawartości BTEX, WWA oraz fenoli. Proces prowadzono stopniowo, dozując substancje biogenne w postaci nawozu mineralnego Azofoska w taki sposób, aby w końcowej fazie prac osiągnąć zakładane proporcje ilości azotu do fosforu. W celu uzyskania pożądaných wyników konieczne było skorygowanie odczynu gleby poprzez dawkowanie wapna nawozowego, także w ustalonych laboratoryjnie dawkach, oraz utrzymywanie zbliżonych do optymalnych warunków środowiskowych (wilgotność) [2, 4].

Analiza chromatograficzna prowadzona podczas procesu umożliwiła określenie podatności na biodegradację poszczególnych grup węglowodorów, a mianowicie: zawartość węglowodorów alifatycznych o długości łańcucha węglowego od nC₉ do nC₁₉ uległa obniżeniu w granicach 30,5÷38,4%, a w przypadku



Rys. 2. Schemat przebiegu procesów bioremediacyjnych na terenie dołu urobkowego G-70

węglowodorów ciężkich (nC_{20} – nC_{36}) w zakresie 10,5÷23,1% (rysunek 3). Analiza parametrów mikrobiologicznych wskazywała na wzrost liczebności bakterii skorelowany ze wzrostem aktywności dehydrogenazowej, co dowodzi wzrostu aktywności biologicznej gleby (odpadu) z dołu urobkowego G-70 (tablica 1).

Najszybciej biodegradacji, przy równoczesnym zastosowaniu powierzchniowego zraszania i iniekcji głębszej biopreparatem G-70-1, uległy zanieczyszczenia ropopochodne w postaci węglowodorów alifatycznych o długości łańcucha nC_9 – nC_{20} – w zakresie 47,8÷69,3%, a dla węglowodorów cięższych z przedziału nC_{21} – nC_{36} stopień redukcji zawierał się w granicach 25,7÷51,4% (rysunek 3).

W okresie letnim przeprowadzono inokulację w dwóch seriach (po 40 i 30 dni) biopreparatem G-70-1, sporządzonym na bazie bakterii autochtonicznych wyizolowanych z terenu dołu urobkowego G-70. Wykonany zabieg inokulacji biopreparatem G-70-1 pozwolił na znaczne obniżenie zanieczyszczeń ropopochodnych: z 28 641 do 10 046 mg/kg s.m. (tablica 1).

W wyniku przeprowadzonego procesu oczyszczania osiągnięto obniżenie zawartości fenoli z 8,4 mg/kg s.m. do 4,8 mg/kg s.m. Zawartość węglowodorów BTEX w procesie bioremediacji podstawowej uległa nieznacznemu obniżeniu – o 12,4%. Znacznie wyższe obniżenie zawartości BTEX (o 45,5%) odnotowano podczas inokulacji biopreparatem G-70-1. W trakcie prowadzenia bioremediacji podstawowej zawartość wielopierścieniowych związków aromatycznych (WWA) uległa obniżeniu o 9,7%. Inokulacja biopreparatem G-70-1 przyczyniła się do redukcji zawartości WWA o kolejne 34,3% (tablica 1). Odnotowane obniżenie zawartości węglowodorów aromatycznych (BTEX, WWA) dowodzi, że w skład biopreparatu G-70-1 wchodzi bakterie posiadające również zdolności do biodegradacji tych związków, co potwierdzają przeprowadzone badania laboratoryjne. Do bakterii wchodzących w skład biopreparatu G-70-1, które cechują się zdolnościami biodegradacyjnymi węglowodorów aromatycznych, należą: *Gordonia rubripertincta*, *Mycobacterium vanbaalenii*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhodococcus erythropolis* [8–10, 13, 17, 18].

Realizację procesu oczyszczania w drugim roku rozpoczęto od bioremediacji podstawowej, stymulowanej przez stopniowe dozowanie substancji biogennej w proporcjach wyznaczonych na podstawie badań laboratoryjnych (C:N:P = 100:1:6). Proces bioremediacji podstawowej przyczynił się do obniżenia zawartości zanieczyszczeń ropopochodnych do poziomu 6931 mg TPH/kg s.m., co stanowi 29,4% redukcji ich zawartości. W trakcie prowadzonego procesu odnotowano zwiększenie liczebności bakterii degradujących węglowodory ropopochodne do poziomu $7,8 \cdot 10^5$ jtk/g s.m. (tablica 1).

Wykonanie w okresie letnim trzech zabiegów inokulacji biopreparatem G-70-2, sporządzonym na bazie bakterii autochtonicznych, a następnie biopreparatem wzbogaconym o wyizolowane niepatogenne gatunki grzybów i drożdży umożliwiło obniżenie zawartości TPH na obszarze dołu urobkowego G-70 do poziomu 999 mg TPH/kg s.m. Ponadto odnotowano wzrost liczebności bakterii i grzybów degradujących węglowodory ropopochodne oraz zwiększenie aktywności dehydrogenazowej i celulazowej (tablica 1).

Po przeprowadzonej inokulacji w drugim roku oczyszczania biopreparatem G-70-2 na obszarze dołu urobkowego

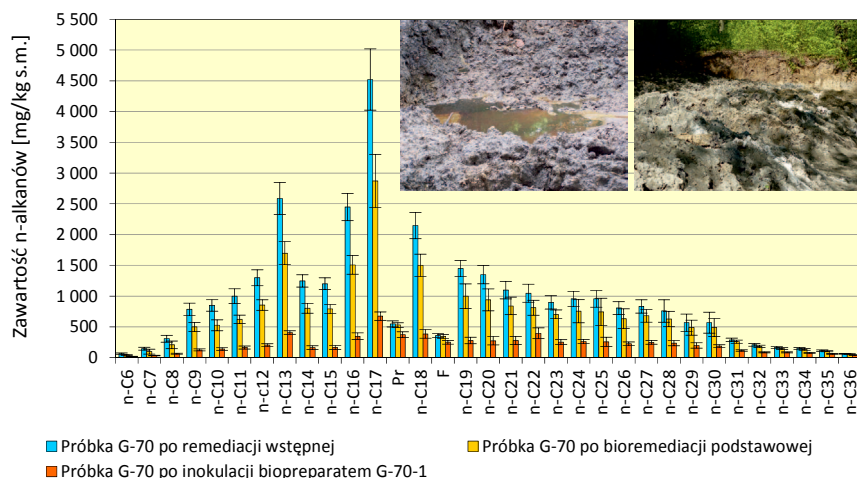
Tablica 1. Zestawienie analiz chemicznych i mikrobiologicznych podczas etapowego procesu oczyszczania gleby i ziemi z terenu dołu urobkowego G-70 z interwału 0÷50 cm p.p.t. (liczba próbek ujednoczonych $n = 10 \div 15$)

Czas trwania procesu [dni]	Odczyn	TPH [mg/kg s.m.]	BTEX [mg/kg s.m.]	WWA [mg/kg s.m.]	Fenole [mg/kg s.m.]	Aktywność dehydrogenazowa [$\mu\text{g TF/g. s.m./24 h}$]	Aktywność celulazowa [$\mu\text{g Gcl/g. s.m./24 h}$]	Liczba mikroorganizmów degradujących węglowodory ropopochodne [jtk/g s.m.]	Grzyby [jtk/g s.m.]
Remediacja wstępna – I rok procesu oczyszczania									
	6,94	39 776	29,4	1,184	8,4	9,1	6,9	$1,7 \cdot 10^4$	$2,2 \cdot 10^2$
Bioremediacja podstawowa – I rok procesu oczyszczania									
7	7,23	34 841	27,1	1,135	7,9	12,8	7,2	$2,8 \cdot 10^4$	$2,8 \cdot 10^2$
14	7,42	30 012	25,4	1,101	7,5	19,5	7,8	$3,4 \cdot 10^4$	$3,7 \cdot 10^2$
20	7,72	28 641	23,7	1,047	7,1	25,7	8,1	$3,7 \cdot 10^4$	$4,3 \cdot 10^2$
Inokulacja biopreparatem G-70-1 (I seria, I rok procesu oczyszczania)									
30	7,65	25 144	21,5	0,947	6,9	30,1	8,4	$9,1 \cdot 10^4$	$5,8 \cdot 10^2$
40	7,59	21 587	19,5	0,899	6,4	35,2	8,9	$7,8 \cdot 10^4$	$7,41 \cdot 10^2$
50	7,54	18 124	17,1	0,812	6,2	39,1	9,3	$1,4 \cdot 10^5$	$9,1 \cdot 10^2$
60	7,51	16 048	16,7	0,791	6,0	43,1	9,9	$1,3 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^3$
Inokulacja biopreparatem G-70-1 (II seria, I rok procesu oczyszczania)									
70	7,42	14 598	15,4	0,752	5,6	49,9	10,5	$1,9 \cdot 10^5$	$1,8 \cdot 10^3$
80	7,38	12 387	14,1	0,712	5,2	52,1	11,2	$1,7 \cdot 10^5$	$2,5 \cdot 10^3$
85	7,31	11 587	13,2	0,697	5,0	56,8	12,7	$2,7 \cdot 10^5$	$3,1 \cdot 10^3$
90	7,25	10 046	12,9	0,673	4,8	62,8	13,5	$2,6 \cdot 10^5$	$3,5 \cdot 10^3$
Bioremediacja podstawowa – II rok procesu oczyszczania									
235	7,59	8 924	12,3	0,690	4,6	66,3	16,9	$3,9 \cdot 10^5$	$3,8 \cdot 10^3$
245	7,72	7 824	11,9	0,643	4,3	69,4	19,8	$6,5 \cdot 10^5$	$4,3 \cdot 10^3$
255	7,81	6 931	11,6	0,637	4,1	73,1	21,5	$7,8 \cdot 10^5$	$4,4 \cdot 10^3$
Inokulacja biopreparatem G-70-1 (I seria, II rok procesu oczyszczania)									
270	7,76	5 747	10,6	0,609	3,8	77,9	26,1	$1,8 \cdot 10^6$	$6,2 \cdot 10^3$
295	7,65	4 214	9,9	0,578	3,4	78,0	31,5	$1,7 \cdot 10^6$	$9,8 \cdot 10^3$
310	7,60	3 845	8,5	0,538	3,1	85,6	36,7	$3,2 \cdot 10^6$	$1,7 \cdot 10^4$
315	7,57	3 452	7,9	0,514	2,9	90,1	40,3	$3,6 \cdot 10^6$	$2,2 \cdot 10^4$
Inokulacja biopreparatem G-70-2 (II seria, II rok procesu oczyszczania)									
325	7,51	3 124	7,1	0,624	2,6	96,7	49,3	$5,1 \cdot 10^6$	$4,8 \cdot 10^4$
340	7,45	2 616	6,3	0,582	2,2	101,1	53,1	$4,9 \cdot 10^6$	$6,0 \cdot 10^4$
355	7,39	2 098	5,4	0,549	1,8	107,3	60,3	$6,2 \cdot 10^6$	$6,6 \cdot 10^4$
375	7,35	1 844	5,2	0,398	1,6	111,2	66,1	$6,1 \cdot 10^6$	$6,8 \cdot 10^4$
Inokulacja biopreparatem G-70-2 (III seria, II rok procesu oczyszczania)									
385	7,3	1 604	4,8	0,371	1,3	119,8	72,3	$8,5 \cdot 10^6$	$8,1 \cdot 10^4$
395	7,25	1 309	4,2	0,354	1,1	125,7	76,9	$8,4 \cdot 10^6$	$8,7 \cdot 10^4$
405	7,2	1 095	3,8	0,330	0,8	132,4	81,3	$9,7 \cdot 10^6$	$9,5 \cdot 10^4$
415	7,1	999	3,5	0,316	0,6	138,2	85,9	$9,6 \cdot 10^6$	$9,8 \cdot 10^4$

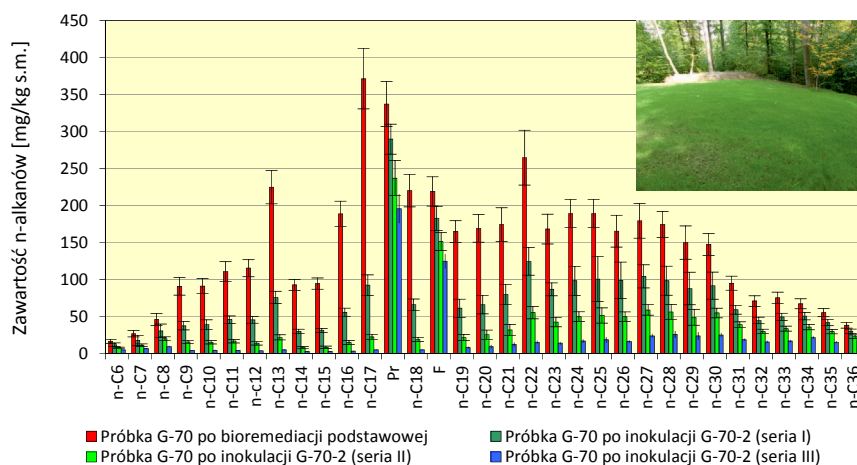
G-70 stopień obniżenia zawartości węglowodorów nC_9 – nC_{22} kształtował się na poziomie 51,3÷79,5%, a dla węglowodorów nC_{23} – nC_{36} wynosił 39,6÷54,4% (rysunek 4). Zawartość BTEX uległa obniżeniu do 3,5 mg/kg s.m. (redukcja

o 69,9%), natomiast zawartość WWA zmniejszyła się do niskiego pułapu wynoszącego 0,316 mg/kg s.m. Potwierdza to wcześniejszą hipotezę, że biopreparat G-70-1 należy zmodyfikować o wyizolowane z terenu dołu G-70 niepatogenne

gatunki grzybów (*Trichoderma asperellum*, *Cryptococcus terreus*) i drożdży (*Candida keroseneae*, *Pichia galeiformis*) zdolne do biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych [3, 6, 11, 16].



Rys. 3. Porównanie zawartości zidentyfikowanych n-alkanów w próbach odpadu z dołu urobkowego G-70 po kolejnych etapach oczyszczania metodą *in situ* (pierwszy rok bioremediacji)



Rys. 4. Porównanie zawartości zidentyfikowanych n-alkanów w próbach odpadu z dołu urobkowego G-70 po kolejnych etapach oczyszczania metodą *in situ* (drugi rok bioremediacji)

Podsumowanie

Rekultywacja zestarzałych odpadów pochodzących z dołów urobkowych należy do kluczowych problemów ekologicznych, jakie stają przed branżą górnictwa nafty i gazu. Odpady te stwarzają duże zagrożenie dla ludzi i zwierząt, dlatego też należy dążyć do jak najszybszego podjęcia prac zmierzających do ich likwidacji.

Do najważniejszych oryginalnych osiągnięć opracowanej technologii oczyszczania dołów urobkowych należy zaliczyć:

- przedstawienie nowego podejścia do oceny skuteczności biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych w trakcie realizowanego procesu oczyszczania odpadów wiertniczych, polegającego na zastosowaniu metod chromatograficznego oznaczania zanieczyszczeń ropopochodnych

w połączeniu z badaniami mikrobiologicznymi,

- opracowanie profesjonalnych niepatogennych biopreparatów zawierających wyselekcjonowany zespół mikroorganizmów autochtonicznych, charakteryzujących się zdolnością do szybkiej adaptacji w skażonym środowisku, wysoką aktywnością biochemiczną w biodegradacji węglowodorów pochodzących z ropy naftowej oraz szerokim spektrum działania,
- wprowadzenie grzybów i drożdży do składu biopreparatu, co pozwoliło na zwiększenie efektywności biodegradacji węglowodorów o dłuższych łańcuchach węglowych, a przede wszystkim węglowodorów aromatycznych BTEX i PAH.

Prosimy cytować jako: Nafta-Gaz 2018, nr 10, s. 752–758, DOI: 10.18668/NG.2018.10.07

Artykuł nadesłano do Redakcji 4.07.2018 r. Zatwierdzono do druku 18.10.2018 r.

Artykuł został opracowany na podstawie referatu wygłoszonego na Międzynarodowej Konferencji Naukowo-Technicznej GEOPE-TROL 2018 pt.: *Rozwój technik poszukiwania i eksploatacji złóż węglowodorów*. Zakopane-Kościelisko, 17–20.09.2018 r.

Literatura

- [1] Abou-Shanab R.A., Eraky M., Haddad A.M., Abdel-Gaffar A.B., Salem A.M.: *Characterization of crude oil degrading bacteria isolated from contaminated soils surrounding gas stations*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2016, vol. 97, nr 5, s. 684–688.
- [2] Brzeszcz J., Kapusta P., Turkiewicz A.: *Zastosowanie metod molekularnych w badaniach bioremediacji substancji ropopochodnych*. Nafta-Gaz 2013, nr 11, s. 829–842.
- [3] Guarino C., Spada V., Sciarrillo R.: *Assessment of three approaches of bioremediation (Natural Attenuation, Landfarming and Bioaugmentation – Assisted Landfarming) for a petroleum hydrocarbons contaminated soil*. Chemosphere 2017, vol. 170, s. 10–16.
- [4] Jiang Y., Brassington K.J., Prpich G., Paton G.I., Semple K.T., Pollard S.T., Coulon F.: *Insights into the biodegradation of weathered hydrocarbons in contaminated soils by bioaugmentation and nutrient stimulation*. Chemosphere 2016, vol. 161, s. 300–307.
- [5] Kluk D., Steliga T.: *Efektywna metoda identyfikacji zanieczyszczeń ropopochodnych (TPH) i wielopierścieniowych węglodorów aromatycznych (WWA) w glebach*. Nafta-Gaz 2017, nr 7, s. 488–495, DOI: 10.18668/NG.2017.07.06.
- [6] Liado S., Gracia G., Solanas A.M., Vinas M.: *Fungal and bacterial microbial community assessment during bioremediation assays in an aged creosote-polluted soil*. Soil. Biol. Biochem. 2013, vol. 67, s. 114–123.
- [7] Polyaka Y.M., Bakina L.G., Chugunova M.V., Mayachkina N.V., Gerasimov A.O., Bure V.M.: *Effect of remediation strategies on biological activity of oil-contaminated soil – A field study*. Int. Biodeterior. Biodegrad. 2018, vol. 1265, s. 57–48.
- [8] Pugazhendi A., Qari H., Al-Badry Basahi J.M., Godon J.J., Dhavamani J.: *Role of a halothermophilic bacterial consortium for the biodegradation of PAHs and the treatment of petroleum wastewater at extreme conditions*. Int. Biodeterior. Biodegr. 2017, vol. 112, s. 44–54.
- [9] Roy A., Dutta A., Pal S., Gupta A., Sarkar J., Chatterjee A., Sah A., Sarkar P., Sar P., Kazy S.K.: *Biostimulation and bioaugmentation of native microbial community accelerated bioremediation of oil refinery sludge*. Bioresource Technology 2018, vol. 253, s. 22–32.
- [10] Safdari M.S., Kariminia H.R., Nejad Z.G., Fletcher T.H.: *Study potential of indigenous pseudomonas aeruginosa and bacillus subtilis in bioremediation of diesel-contaminated water*. Water, Air, & Soil Poll. 2017, vol. 228, nr 1, s. 37.
- [11] Safdari M.S., Kariminia H.R., Rahmati M., Fazlollahi F., Polaskod A., Mahendra S., Wilding V., Fletcher T.H.: *Development of bioreactors for comparative study of natural attenuation, biostimulation, and bioaugmentation of petroleum-hydrocarbon contaminated soil*. Journal of Hazardous Materials 2018, vol. 342, s. 270–278.
- [12] Sarkar J., Kazy S.K., Gupta A., Dutta A., Mohapatra B., Roy A., Bera P., Mitra A., Sar P.: *Biostimulation of indigenous microbial community for bioremediation of petroleum refinery sludge*. Front. Microbiol. 2016, vol. 7, s. 1–20.
- [13] Sarkar P., Roy A., Mohapatra B., Pal S., Kazy S.K., Maiti M.K., Sar P.: *Enrichment and characterization of hydrocarbon-degrading bacteria from petroleum refinery waste as potent bioaugmentation agent for in situ bioremediation*. Bioresource Technology 2017, vol. 242, s. 11–27.
- [14] Silva-Castro G.A., Rodriguez-Calvo A., Laguna J., Gonzalez-Lopez J., Calvo C.: *Autochthonous microbial responses and hydrocarbons degradation in polluted soil during biostimulating treatments under different soil moisture*. Assay in pilot plant. Int. Biodeterior. Biodegrad. 2016, vol. 108, s. 91–98.
- [15] Steliga T.: *Bioremediacja odpadów wiertniczych zanieczyszczonych substancjami ropopochodnymi ze starych dolów urobkowych*. Prace Instytutu Nafty i Gazu 2009, nr 163, s. 1–331.
- [16] Steliga T.: *Role of Fungi in Bioremediation of Petroleum Hydrocarbons in Drill Waste*. Pol. J. Environ. Stud. 2012, vol. 21, nr 2, s. 471–479.
- [17] Steliga T., Jakubowicz P., Kapusta P.: *Changes in toxicity during in situ bioremediation of weathered drill wastes contaminated with petroleum hydrocarbons*. Bioresour. Technol. 2012, vol. 125, s. 1–10.
- [18] Varjani S.J.: *Microbial degradation of petroleum hydrocarbons*. Bioresource Technology 2017, vol. 223, s. 277–286.
- [19] Wu M., Dick W.A., Li W., Wang X., Yang Q., Wang T., Xu L., Zhang M., Chen L.: *Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil*. Int. Biodeter. Biodegr. 2016, vol. 107, s. 158–164.
- [20] Wu M., Li W., Dick W.A., Ye X., Chen K., Kost D., Chen L.: *Bioremediation of hydrocarbon degradation in a petroleum-contaminated soil and microbial population and activity determination*. Chemosphere 2017, vol. 169, s. 124–130.
- [21] Xia M., Liu Y., Taylor A.A., Fu D., Khan A.R., Terry N.: *Crude oil depletion by bacterial strains isolated from a petroleum hydrocarbon impacted solid waste management site in California*. Int. Biodeterior. Biodegr. 2017, vol. 123, s. 70–77.



Prof. nzw. dr hab. inż. Teresa STELIGA
Kierownik Zakładu Technologii Eksploatacji
Płynów Złożowych.
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy
ul. Lubicz 25 A
31-503 Kraków
E-mail: teresa.steliga@inig.pl



Mgr Piotr JAKUBOWICZ
Starszy specjalista badawczo-techniczny w Zakładzie
Technologii Eksploatacji Płynów Złożowych.
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy
ul. Lubicz 25 A
31-503 Kraków
E-mail: piotr.jakubowicz@inig.pl



Dr Piotr KAPUSTA
Adiunkt; kierownik Zakładu Mikrobiologii.
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy
ul. Lubicz 25 A
31-503 Kraków
E-mail: piotr.kapusta@inig.pl



Mgr Katarzyna WOJTOWICZ
Specjalista inżynierjno-techniczny w Zakładzie
Technologii Eksploatacji Płynów Złożowych
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy
ul. Lubicz 25 A
31-503 Kraków
E-mail: katarzyna.wojtowicz@inig.pl