

# Analiza zastosowania naturalnych technologii biologicznych do usuwania zanieczyszczeń ropopochodnych z wód powierzchniowych

Mgr inż. Halina Deptuła, mgr inż. Monika Lipska, mgr inż. Anna Wiejak, Instytut Techniki Budowlanej

## 1. Wprowadzenie

Metody biologiczne wykorzystujące specjalnie wyselekcjonowane mikroorganizmy głównie bakterie i grzyby są wykorzystywane w ochronie środowiska do usuwania zanieczyszczeń z gleby, ścieków i wód. Technologię usuwania zanieczyszczeń ze środowiska z zastosowaniem mikroorganizmów określa się terminem „bioremediacja”. Bioremediacja może być prowadzona „ex situ” lub „in situ”. Wyróżnia się trzy podstawowe metody bioremediacji, w których wykorzystywane są mikroorganizmy: naturalna bioremediacja, biostymulacja oraz bioaugmentacja. Metoda naturalna polega na regularnym monitorowaniu tempa rozkładu mikrobiologicznego szkodliwych substancji bez ingerencji człowieka. Rozkład zanieczyszczeń odbywa się poprzez naturalnie przebiegające reakcje fizyczno-chemiczne oraz aktywność enzymatyczną mikroorganizmów w środowisku. Biostymulacja polega na dostarczeniu niezbędnych składników odżywczych i/lub tlenu w celu przyspieszenia wzrostu, aktywności drobnoustrojów. Natomiast bioaugmentacja jest techniką zwiększania zdolności oczyszczania zanieczyszczonych środowisk poprzez dodanie wybranych szczepów bądź konsorcjów bakteryjnych [1, 2].

Metody oczyszczania elementów środowiska z zastosowaniem mikroorganizmów są stosowane w odniesieniu do ścieków i gleb, natomiast niewiele jest rozwiązań, które dotyczą oczyszczania wód powierzchniowych (jeziora, stawy, zbiorniki). Do zalet stosowanych obecnie technologii biologicznych z wykorzystaniem mikroorganizmów zaliczyć można dużą skuteczność, stosunkowo niskie koszty i przede wszystkim brak negatywnego wpływu na środowisko.

## 2. Wyniki badania procesu biodegradacji substancji ropopochodnych w wodzie z zastosowaniem kompozycji mikroorganizmów

Badanie skuteczności usuwania frakcji ropopochodnych na powierzchni wody przy wykorzystaniu kompozycji zawierającej konsorcjum mikroorganizmów prowadzono w ramach PROJEKTU GEKON [3]. Pracę realizowano w dwóch głównych etapach:

- badania biodegradacji substancji ropopochodnej przez kompozycję mikroorganizmów w warunkach standardowych – wg PN-EN ISO 9888:2005 Jakość wody. Oznaczanie całkowitej biodegradacji tlenowej związków organicznych w środowisku wodnym. Test statyczny (metoda Zahna-Wellessa) i PN-EN ISO 10634:2001 Jakość wody. Wytyczne dotyczące przygotowania i obróbki słabo rozpuszczalnych związków organicznych w celu oceny ich biodegradacji w środowisku wodnym;

- badania biodegradacji substancji ropopochodnej przez kompozycję mikroorganizmów w wodzie jeziornej z kontrolowaną ilością zanieczyszczeń ropopochodnych.

Badania w warunkach standardowych prowadzono w pomieszczeniu o kontrolowanej temperaturze 20–22°C, w świetle rozproszonym. Stosowano naczynia testowe o pojemności 3 l, próbki w naczyniach były mieszane za pomocą mieszadeł magnetycznych. Próbki napowietrzane były za pomocą pompek akwaryjnych z wykorzystaniem kamieni napowietrzających. Jako zanieczyszczające substancje ropopochodne zastosowano:

- spirytus mineralny – frakcja zawierająca mieszaninę niepolarnych węglowodorów alifatycznych C<sub>10</sub>-C<sub>14</sub>,

- olej mineralny silnikowy – frakcja zawierająca mieszaninę niepolarnych węglowodorów alifatycznych C<sub>15</sub>-C<sub>22</sub>.

Substancje wprowadzano do wody w postaci emulsji o składzie: substancja ropopochodna–aceton–woda, w celu ułatwienia rozproszenia w wodzie. Przyjęto założenie, że aceton, jako bardzo lotny, odparuje z próbki w czasie pierwszych trzech godzin mieszania. Chemiczne zapotrzebowanie tlenu początkowe oznaczano po 24 godzinach mieszania.

Stosowano następujące kompozycje mikroorganizmów:

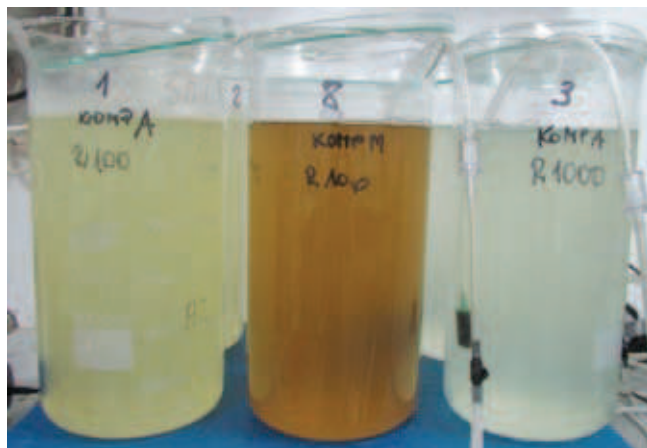
- kompozycja bakteryjna A zawierająca bakterie *Bacillus licheniformis* [4],

- kompozycja bakteryjna M.

W wyniku przeprowadzonych badań wstępnych ustalono następujące stężenia substancji ropopochodnych:

- spirytus mineralny – 0,3–0,6 g/l,

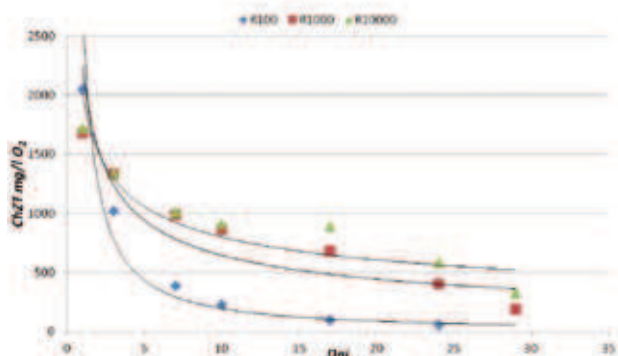
- mieszanina spirytusu mineralnego i oleju silnikowego w stosunku 1:1 (m/m) – 0,1–0,3 g/l.



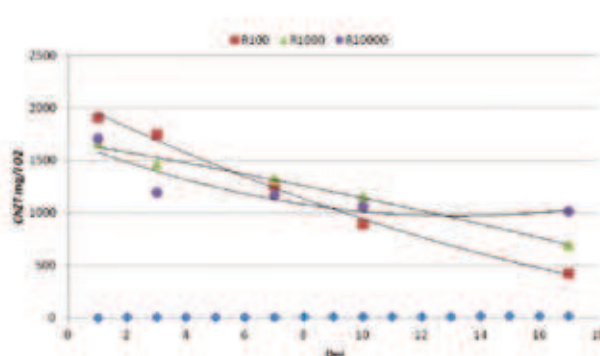
**Rys. 1.** Barwa wody z dodatkiem kompozycji mikroorganizmów (kompozycja A – R100 i R1000, kompozycja M – R100)



**Rys. 2.** Barwa wody z dodatkiem kompozycji mikroorganizmów (kompozycja A – R10000, kompozycja M – R1000 i R10000)



**Rys. 3.** Krzywa biodegradacji – kwas benzoesowy – kompozycja A



**Rys. 4.** Krzywa biodegradacji – kwas benzoesowy kompozycja M

W badaniach wstępnych w warunkach laboratoryjnych kompozycje mikroorganizmów stosowane były w rozcieńczeniach R100, R1000 i R10000. Oznaczono skuteczność kompozycji bakteryjnych A i M w rozkładaniu substancji organicznych, zgodnie z PN-EN ISO 9888:2005, stosując jako substancję wzorcową kwas benzoesowy. Wskaźnikiem stopnia biodegradacji było chemiczne zapotrzebowanie tlenu  $ChZT_{Cr}$  oznaczane metodą dwuchromianową [2].

W badaniach wstępnych stwierdzono ponadto, że stosowane w eksperymencie kompozycje mikroorganizmów A i M zmieniały cechy organoleptyczne wody.

Kompozycja M w rozcieńczeniach R100 i R1000 oraz kompozycja A w rozcieńczeniu R100 zmieniały barwę wody (rys. 1 i 2).

Krzywe biodegradacji przedstawiono na rysunkach 3 i 4.

Na krzywych biodegradacji kwasu benzoesowego zaobserwowano wyższą skuteczność kompozycji mikroorganizmów A oraz szybki rozkład w czasie pierwszych 4–5 dni.

W etapie drugim w badaniach usuwania zanieczyszczeń ropopochodnych w wodzie jeziornej stosowano kompozycję A w rozcieńczeniu R1000.

W badaniach z zastosowaniem wód jeziornych wykorzystano wodę z dwóch jezior o różnym stanie ekologicznym [5]. Były to:

- jezioro Białe – jezioro położone w województwie mazowieckim, w powiecie gostyńskim, w gminie Gostynin.

Jezioro o bardzo dobrym stanie ekologicznym. Powierzchnia jeziora wynosi 142 ha;

- jezioro Łąckie Duże – jezioro położone w województwie mazowieckim, w Łącku. Jezioro o złym stanie ekologicznym. Powierzchnia jeziora 55 ha.

Przeprowadzono trzy serie badań:

- seria 1 – biodegradacja spirytusu mineralnego w wodzie z jeziora Białego – kompozycja mikroorganizmów A,
- seria 2 – biodegradacja spirytusu mineralnego w wodzie z jeziora Łąckiego Dużego – kompozycja mikroorganizmów A,
- seria 3 – biodegradacja mieszaniny spirytus mineralny: olej mineralny (1:1) w wodzie z jeziora Łąckiego Dużego.

Wykaz próbek badanych w serii I i II przedstawiono w tabeli 1.

Wyniki badań w wodach z jeziora Białego przedstawiono na rysunkach 5 i 6 oraz w tabeli 2.

Wyniki przedstawione na rysunku 8 wskazują, że w próbie odniesienia składającej się z wody jeziornej i kompozycji A w okresie do 10 dni obserwowano spadek stężenia tlenu rozpuszczonego wskazujący na zachodzenie biodegradacji zawartych w wodzie zanieczyszczeń organicznych. W próbce tej uzyskano spadek wartości ChZT o około 40% (tabela 3).

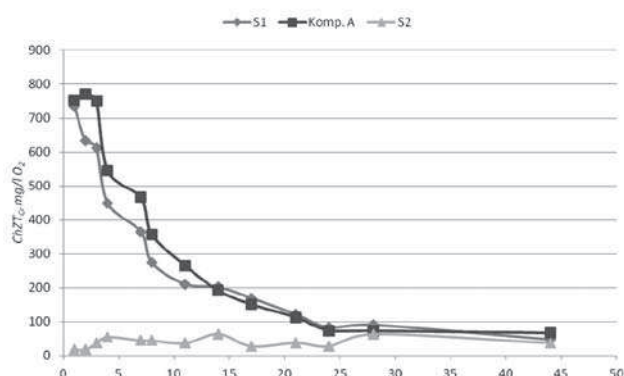
Badania prowadzone były z zastosowaniem napowietrzania. W przypadku braku napowietrzania obserwowano

**Tabela 1.** Wykaz próbek badanych w serii I i II. M-mieszanie; N- napowietrzanie

Oznaczenie próbki	Substancja	Objętość próbki [l]	Stężenie SM [g/l]	Kompozycja bakterii	M	N
S1	SM	100	0,3	brak	nie	tak
Komp. A	SM	100	0,3	R1000	nie	tak
S2	brak	50	0,3	R1000	nie	tak

**Tabela 2.** Wyniki badań jakości wody – jezioro Białe

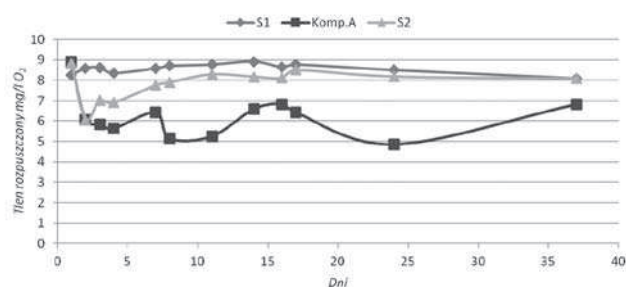
Oznaczenie	Jednostka	Woda surowa	S1	KompA	S2
Mętność	FNU	<0,1	0,185	0,246	0,187
Zapach	TON	<1	0	0	0
Odczyn	pH	7,5	8,5	8,2	8,5
Amoniak	mg/l	<0,095	0,491	1,11	<0,095
Azotyny	mg/l	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
Azotany	mg/l	<0,5	<0,5	<0,5	4,08
Chlorki	mg/l	16,5	18,4	20,2	20,4
Siarczany	mg/l	40,7	44,2	43,8	44,9
Fosforany	mg/l	0,013	0,017	0,034	0,045
Fosfor ogólny	mg/l	0,036	0,020	0,043	0,074
Substancje rozpuszczone	mg/l	189	193	241	221
Twardość ogólna	mg/l CaCO <sub>3</sub>	160	168	168	173
Ogólny węgiel organiczny (TOC)	mg/l	9,5	16,7	19,8	11,1
Substancje ekstrahujące się eterem naftowym	mg/l	<0,5	2,4	<0,5	1,6
Indeks nadmanganianowy	mg/l	3,6	6,5	7,6	5,0
ChZTcr	mg/l	18	48	67	38
Zawiesina ogólna	mg/l	2,5	2,8	10	15,6
Tlen rozpuszczony	mg/l	9,36	8,08	6,81	8,08
BZT5	mg/l	0,08	0,59	1,35	0,42

**Rys. 5.** Stężenie ChZT – woda z jeziora Białego

w początkowym okresie, do 5 dni, znaczący spadek stężenia tlenu wskazujący na zachodzenie procesów rozkładu substancji ropopochodnych.

### 3. Podsumowanie

- W badaniach przeprowadzonych w warunkach standardowych – PN-EN ISO 9888:2005 Jakość wody. Oznaczanie całkowitej biodegradacji tlenowej związków organicznych w środowisku wodnym. Test statyczny (metoda Zahna-Wellensa) – stwierdzono, że obserwowane procesy charakteryzują się niską powtarzalnością, na co wskazują różne wyniki równoległe badanych próbek o tym samym składzie. Ze względu na znaczący wpływ w warunkach eksperymentu procesów

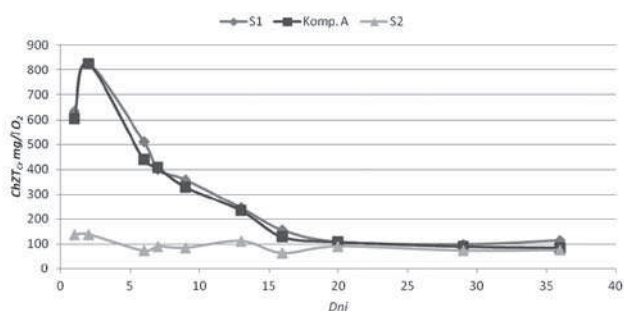
**Rys. 6.** Stężenie tlenu rozpuszczonego – woda z jeziora Białego

fizycznych, takich jak parowanie substancji ropopochodnych z wody, osadzanie się na powierzchniach i utlenianie tlenem z powietrza nie uzyskano jednoznacznego potwierdzenia skuteczności oczyszczania wody z substancji ropopochodnych przez badane kompozycje mikroorganizmów

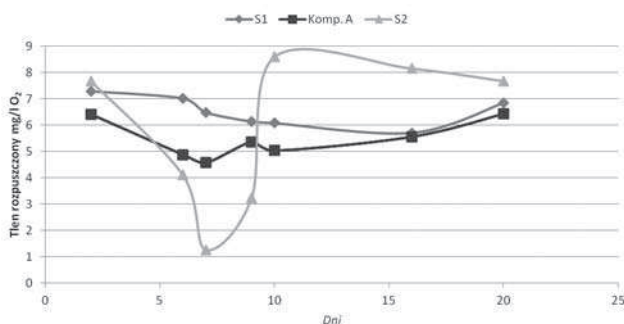
- Badania w warunkach standardowych próbek wykazały, że stosowana kompozycja bakterii *Bacillus ligeniformis* (kompozycja A) wykazuje większą skuteczność w rozkładzie substancji organicznych. Większy spadek wartości ChZT w próbkach zawierających kompozycję bakterii w porównaniu do próbek ślepych obserwowano w próbkach każdej serii w pierwszych dniach serii (2–5 dni), co wskazuje na zachodzące pod wpływem stosowanej kompozycji mikroorganizmów A procesy biodegradacji substancji ropopochodnych. Wraz z upływem czasu różnice te maleją i po około 5–10 dniach i powyżej, wartości ChZT są zbliżone w próbkach badanych i próbkach ślepych.

**Tabela 3.** Wyniki badań wody z jeziora Łąckiego Dużego

Oznaczenie	Jednostka	Woda surowa	S1	Komp.A	S2
Mętność	FNU	12,2	11,5	16,4	14,4
Zapach	TON	1	1	2	1
Odczyn	pH	8,3	8	7,9	8,1
Amoniak	mg/l	0,727	0,832	0,685	0,359
Azotyny	mg/l	<0,5	<0,5	1,67	<0,5
Azotany	mg/l	<0,5	<0,5	1,81	10,1
Chlorki	mg/l	73,1	70	71,3	72,5
Fosforany	mg/l	0,072	0,019	0,087	0,115
Fosfor ogólny	mg/l	0,073	0,058	0,093	0,141
Substancje rozpuszczone	mg/l	420	445	426	404
Twardość ogólna	mg/l CaCO <sub>3</sub>	193	209	203	208
Ogólny węgiel organiczny (toc)	mg/l	30,2	31,9	31,3	23,8
Substancje ekstrahujące się eterem naftowym	mg/l	5,1	<0,5	<0,5	<0,5
Indeks nadmanganianowy	mg/l	19,8	18,2	21,6	16,0
Zawiesina ogólna	mg/l	34,4	24,0	41,4	40,4
ChZTCr	mg/l	119	115	86	76
Odczyn	pH	8,7	7,5	7,4	7,6
Tlen rozpuszczony	mg/l	10,2	6,9	6,4	7,7
BZT5	mg/l	9	18	9	11

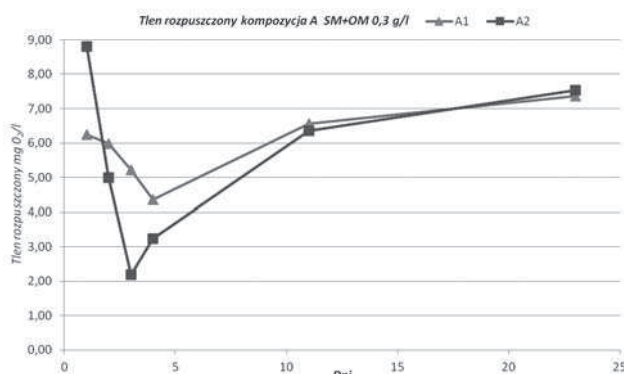


**Rys. 7.** Stężenie ChZT – woda z jeziora Łąckie Duże



**Rys. 8.** Stężenie tlenu rozpuszczonego – woda z jeziora Łąckie Duże

- W badaniach w wodach jeziornych prowadzonych w akwariach spadek wartości ChZT wskazujący na zachodzenie procesów biodegradacji w obecności kompozycji mikroorganizmów zaobserwowano w wodzie z jeziora Łąckiego Dużego (tabela 6). Ponadto obserwowano wzrost stężenia azotanów, fosforanów, fosforu ogólnego, niewielki wzrost mętności i stopniowy wzrost zawiesiny, osadzającej się na powierzchniach wewnątrz zbiorników testowych.
- W prowadzonych badaniach zaobserwowano duże wahania stężenia tlenu rozpuszczonego w badanych mieszaninach.



**Rys. 9.** Stężenie tlenu rozpuszczonego – jezioro Łąckie Duże – bez napowietrzania

W badaniach w warunkach standardowych obserwowano spadki stężenia tlenu do wartości z zakresu 1–3 mg/l w początkowym okresie do 5 dni, pomimo stosowania łagodnego napowietrzania próbek. Stosowanie napowietrzania miało również wpływ na usuwanie substancji ropopochodnych przez procesy fizyczne i niską powtarzalność procesu.

- We wszystkich badaniach z zastosowaniem substancji ropopochodnych wartość pH mieściła się w zakresie 6,9–7,8.

**BIBLIOGRAFIA**

- [1] Malucha P., Zastosowanie biopreparatów w procesie oczyszczania wód i ścieków, VI Konferencja Naukowo-Techniczna Woda i ścieki w przemyśle, Lublin, 26–27 września 2012
- [2] Waraczewska Z., Niewiadomska A., Grzyb A., Wybrane metody bioremediacji in situ z wykorzystaniem mikroorganizmów, Woda-Środowisko- Obszary Wiejskie, tom 18, zeszyt 3 (63) 2018, str. 65–78
- [3] PROJEKT GEKON – Generator Koncepcji Ekologicznych, 2016 (nr umowy: GEKON2/03/267948/21/2016). Tytuł projektu: Opracowanie i wdrożenie metody rekultywacji jezior i ochrony wód powierzchniowych w oparciu o naturalne technologie biologiczne wykorzystujące pożyteczne mikroorganizmy.
- [4] [https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus\\_licheniformis](https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Bacillus_licheniformis)
- [5] <https://wios.warszawa.pl/pl/monitoring-srodowiska/monitoring-wod/monitoring-jezior/1402,Monitoring-jezior-w-latach-2011-2016.html>