

**Teresa Steliga\*, Piotr Kapusta\*\*, Piotr Jakubowicz\*,  
Anna Turkiewicz\*\***

## **MODELOWANIE PROCESU BIODEGRADACJI WĘGLOWODORÓW ROPOPOCHODNYCH W ZASTARZAŁYCH ODPADACH WIERTNICZYCH Z DOŁÓW UROBKOWYCH**

### **1. WPROWADZENIE**

Obecnie polityka rozwoju gospodarczego w większym stopniu niż dotychczas preferuje zagadnienia z zakresu ekologii, skłaniając się do stosowania technologii bezpiecznych z punktu widzenia ochrony środowiska i kładzie nacisk na zagrożenia ekosystemów.

Pracom prowadzonym w górnictwie nafty i gazu towarzyszy nieuchronna konieczność gromadzenia i zagospodarowania dużych ilości materiałów odpadowych, które w latach 1920–1950 były składowane w dołach urobkowych. Głównym zanieczyszczeniem powodującym wstrzymanie rozwoju i wzrostu flory na tych terenach są węglowodory ropopochodne, których stężenie na obszarze dołów urobkowych jest mocno zróżnicowane i zmienia się w szerokich granicach [12, 13].

Warunkiem wyboru optymalnej metody oczyszczania dołów urobkowych z zanieczyszczeń ropopochodnych jest odpowiednia, interdyscyplinarna analiza wyników badań laboratoryjnych i terenowych środowiska gruntowo-wodnego. Prawidłowo wykonane badania pozwalają na określenie najodpowiedniejszych metod likwidacji zanieczyszczeń ropopochodnych.

W artykule przedstawiono wyniki prac optymalizacyjnych podczas oczyszczania wytypowanych zastarzałych dołów urobkowych (G-10, G-13, G-40, G-67, G-95), wykorzystując, opracowaną etapową technologię oczyszczania odpadu/gleby z zanieczyszczeń ropopochodnych obejmującą: rekultywację wstępną, modyfikację struktury odpadu, bioremediację podstawową, bioaugmentację biopreparatem sporządzonym na bazie mikroorganizmów autochtonicznych, który zmodyfikowano w końcowym etapie oczyszczania o wyizolowane z terenu dołów urobkowych grzyby [5, 11, 13].

---

\* Instytut Nafty i Gazu O/Krosno

\*\* Instytut Nafty i Gazu Kraków

Istotnym elementem umożliwiającym uzyskanie zadowalających efektów prowadzonych procesów bioremediacyjnych jest wykorzystanie opracowanych metod chromatograficznego oznaczania zanieczyszczeń ropopochodnych, które pozwalają na określenie ich sumarycznej zawartości (TPH) oraz zidentyfikowanie poszczególnych n-alkanów i węglowodorów z grupy izoprenoidów wchodzących w skład zanieczyszczeń ropopochodnych. Prowadzony monitoring w trakcie przebiegu procesu oczyszczania pozwala na ocenę biodegradacji poszczególnych zanieczyszczeń ropopochodnych, czyli określenie efektywności procesu.

W celu opracowania uproszczonego modelu matematycznego biodegradacji **TPH** podczas prowadzenia badań w skali półtechnicznej (metodą *ex situ*) do normalizacji stężeń analitu z zastosowano biomarker; C<sub>30</sub>-17 $\alpha$ (H)21 $\beta$ (H) – hopan, który umożliwia pełną ocenę stopnia biodegradacji węglowodorów ropopochodnych [13,15,19].

Obliczone stałe biodegradacji pierwszego rzędu (**k**) pozwoliły prześledzić i porównać ze sobą kinetykę przebiegu biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych w kolejnych etapach procesu oczyszczania na poszczególnych badanych obiektach (dołach urobkowych). Ponadto na podstawie porównania stałych biodegradacji pierwszego rzędu (**k**) można określić efektywność opracowanego biopreparatu na bazie mikroorganizmów autochtonicznych oraz zmodyfikowanego o wyizolowane z oczyszczanych terenów grzyby.

Przeniesienie wyników badań laboratoryjnych (*ex situ*) na warunki przemysłowe stwarza duże trudności, jednakże przeprowadzone badania mające na celu modelowanie przebiegu procesu biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych pozwalają na prognozowanie efektów oczyszczania w warunkach terenowych metodą *in situ*. Dowodzą tego uzyskane wyniki potwierdzające słuszność i prawidłowość przyjętej koncepcji badań na wyżej wymienionych dołach urobkowych, które obecnie zostały oczyszczone do standardów glebowych i zgodnie z decyzją o zakończeniu rekultywacji przekazane jako teren leśny.

## 2. CHARAKTERYSTYKA MATERIAŁU BADAWCZEGO

Przedmiotem badań przedstawionych w niniejszym artykule były zastarzałe odpady (gleba) z wytypowanych dołów urobkowych po wstępnej rekultywacji, którą należało przeprowadzić ze względu na wysoki poziom skażenia substancjami ropopochodnymi, gdyż ograniczeniem metod biologicznych jest krytyczne stężenie węglowodorów ropopochodnych wynoszące 8÷10% [1, 6, 11].

Rekultywacja wstępna polegała na przeprowadzeniu drenażu melioracyjno-odciekowego poprzez wykonanie rowu odciekowego głębokości 1,5 m i drenażu terenu dołów urobkowych z wykorzystaniem rur melioracyjnych umieszczonych na różnych głębokościach (0,3; 0,8; 1,0; 1,2; 1,8 m p.p.t.). Zabieg ten pozwolił na obniżenie zanieczyszczeń ropopochodnych do poziomu umożliwiającego prowadzenie kolejnych etapów procesu oczyszczania na wytypowanych do badań dołach urobkowych, a mianowicie (rys. 1):

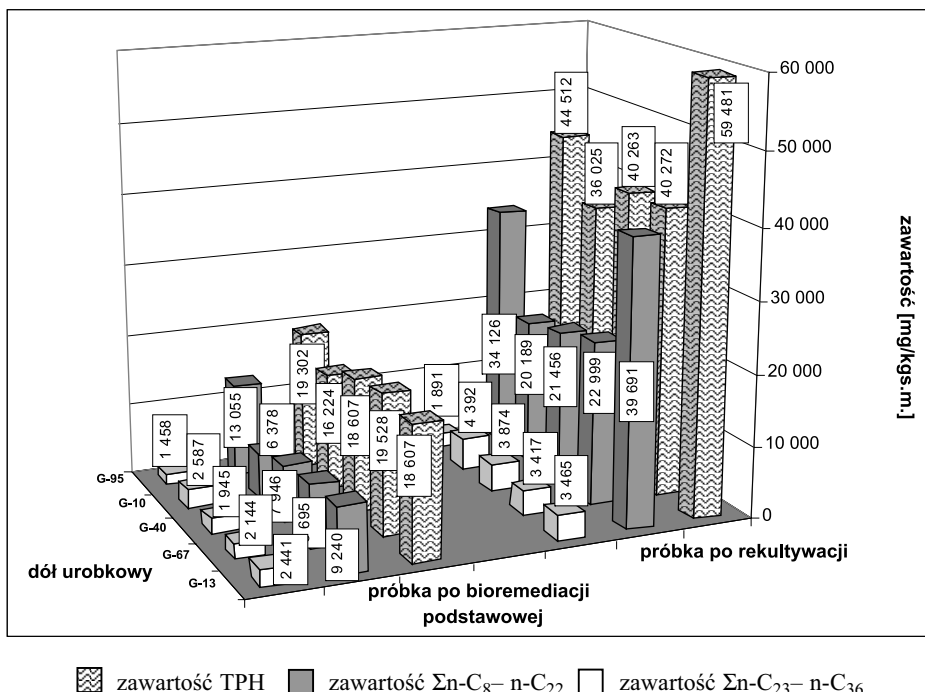
G-13 – obniżenie zanieczyszczeń (TPH) ze 132 472 do 59 481 g/kg s.m.

G-67 – obniżenie zanieczyszczeń (TPH) z 102 487 do 40 272 g/kg s.m.

G-40 – obniżenie zanieczyszczeń (TPH) z 116 725 do 40 263 g/kg s.m.

G-10 – obniżenie zanieczyszczeń (TPH) ze 102 471 do 36 025 g/kg s.m.

G-95 – obniżenie zanieczyszczeń (TPH) ze 109 963 do 44 512 g/kg s.m.



**Rys. 1.** Porównanie zawartości TPH,  $\Sigma n-C_8-n-C_{22}$ ,  $\Sigma n-C_{23}-n-C_{36}$  po zabiegu rekultywacji wstępnej i bioremediacji podstawowej

Analizy chromatograficzne zanieczyszczeń ropopochodnych wykazały, że obniżenie zawartości poszczególnych węglowodorów (n-alkanów) wchodzących w skład zanieczyszczeń ropopochodnych dla wytypowanych do badań dołów urobkowych jest szczególnie widoczne dla węglowodorów o długości łańcucha  $n-C_6 - n-C_{12}$  w zakresie:  $74,5 \pm 61,2\%$ , nieznacznie niższe zanotowano dla  $n-C_{13} - n-C_{22}$  na poziomie:  $58,4 \pm 33,5\%$ . Natomiast dla cięższych węglowodorów o długości łańcucha węglowego z zakresu  $n-C_{23} - n-C_{36}$  kształtowało się ono w granicach:  $27,4 \pm 10,8\%$ .

Analiza chemiczna ujednoczonych próbek z poszczególnych dołów urobkowych wykazała, że odczyn kształtuje się na poziomie:  $pH = 6,02 \pm 6,21$ , ponadto obliczone proporcje substancji biogennej azotu do fosforu odbiegają od optymalnych, co dowodzi, że procesy mikrobiologiczne są zahamowane i bez korekty ilości tych składników autochtoniczna flora bakteryjna nie zostanie uaktywniona [2, 6, 9, 16].

Wyniki analiz chemicznych wykazały, że zawartości metali ciężkich i fenoli nie przekraczają dopuszczalnych wartości standardów glebowych.

### 3. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ LABORATORYJNYCH (METODA *EX SITU*) OCZYSZCZONYCH ODPADÓW Z TERENÓW DOŁÓW UROBKOWYCH

Analiza mineralogiczna analizowanych odpadów z wytypowanych dołów urobkowych (G-13, G-67, G-40, G-10, G-95) wykazała wysoką zawartość materiałów ilastych

o strukturze pęczniającej (smektytu i minerału mieszanopakietowego – smektyt/illit), dlatego wskazana była modyfikacja (rozluźnienie) struktury odpadu poprzez zmieszanie go z „czystym gruntem” w odpowiednich proporcjach wyznaczonych indywidualnie dla każdego dołu urobkowego. Dobór optymalnych proporcji odpadu z dołu urobkowego i „czystego gruntu” ustalano na podstawie dyfraktogramów rentgenowskich frakcji ilastej i badania aktywności dehydrogenazowej. Zwiększenie biodostępności dla mikroorganizmów i substancji biogennych do zanieczyszczeń ropopochodnych przyczynia się do wzrostu efektywności ich biodegradacji [1, 3, 6].

Proces bioremediacji podstawowej (**I etap oczyszczania**) prowadzony w warunkach laboratoryjnych (metodą *ex situ*) stymulowano poprzez wzbogacenie zastarzałego odpadu z testowych dołów urobkowych substancjami odżywczymi uaktywniającymi florę bakteryjną. Substancje biogenne dozowano w postaci wapna nawozowego i nawozu mineralnego „Azofoski” bogatego w azot i fosfor oraz mikroelementy w ilościach ustalonych na podstawie badań laboratoryjnych. Dobór substancji biogennych jest ważnym elementem procesu bioremediacji. Na podstawie wykonanych badań stwierdzono zależność pomiędzy aktywnością dehydrogenazową a stosunkiem zawartości substancji biogennych (N:P), przy którym zachodzą procesy biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych. Postęp biodegradacji jest większy w glebach ciężkich (jakimi są testowane zastarzałe odpady z dołów urobkowych) przy niższym stosunku N:P, gdyż gleby ciężkie nie wymagają uzupełnienia azotu i fosforu do poziomu uznanego za optymalny [7, 12, 13]. Stymulację biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych dla poszczególnych oczyszczanych dołów urobkowych odnotowaną przy różnych stosunkach C:N:P w zakresie (100:7:1 – 100:5:1). Uważa się, że właściwy stosunek C:N:P w glebie powinien kształtować się na poziomie ich zawartości w komórkach drobnoustrojowych [7, 8].

Temperaturę wewnątrz przyzmy utrzymywano na poziomie  $17 \div 20^{\circ}\text{C}$ , a wilgotność w granicach  $20 \div 25\%$  stosując zraszanie wodą.

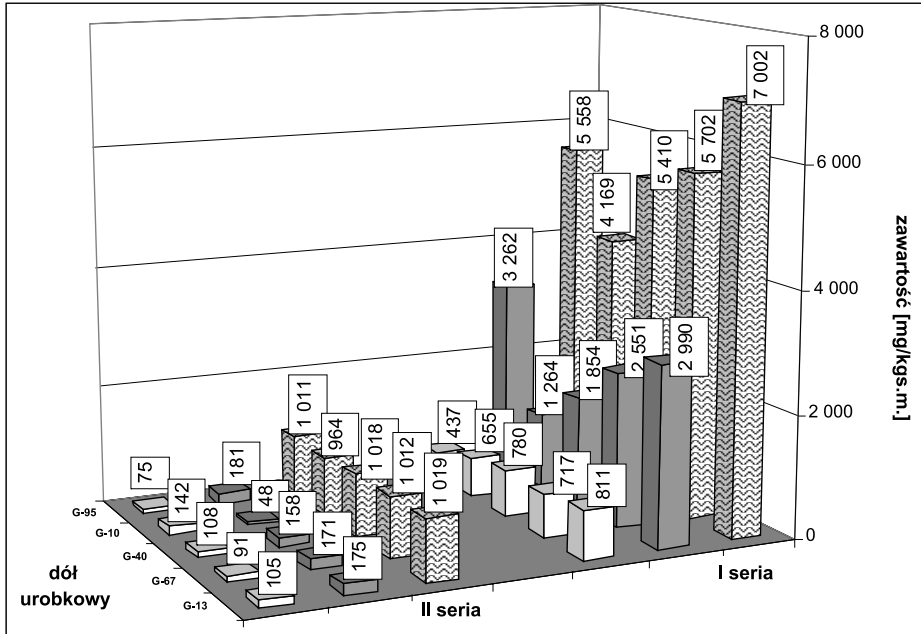
W wyniku przeprowadzonego procesu bioremediacji podstawowej w warunkach laboratoryjnych w okresie 130 dni, uzyskano znaczne obniżenie zawartości zanieczyszczeń ropopochodnych (TPH) dla testowanych zastarzałych odpadów z wytypowanych dołów urobkowych w granicach;  $53,2 \div 41,5\%$  (rys. 1). Analiza chromatograficzna wykazała, że biodegradacja n-alkanów z zakresu n-C<sub>8</sub> – n-C<sub>22</sub> kształtowała się na poziomie;  $72,5 \div 52,3\%$ , zaś węglowodorów cięższych n-C<sub>23</sub> – n-C<sub>36</sub> biodegradacja zachodziła na niższym poziomie w przedziale;  $38,1 \div 15,1\%$ . Stopień biodegradacji węglowodorów niezidentyfikowanych zawierał się w granicach;  $29,1 \div 31,7\%$ .

W celu głębszego doczyszczenia terenów testowanych dołów urobkowych do standardów glebowych przeprowadzono **II etap oczyszczania** oparty na inokulacji biopreparatami sporządzonymi na bazie mikroorganizmów autochtonicznych (G-1).

Biopreparaty sporządzono indywidualnie dla każdego dołu urobkowego na podstawie przeprowadzonych badań mikrobiologicznych w połączeniu z analizami chromatograficznymi zanieczyszczeń ropopochodnych. Uzyskano dzięki temu biopreparaty na bazie mikroorganizmów autochtonicznych o profilu ściśle dopasowanym do charakteru zanieczyszczeń ropopochodnych występujących na terenie danego dołu urobkowego. Biopreparaty na bazie mikroorganizmów autochtonicznych zastosowano w **I serii** inokulacji.

W końcowej fazie procesu inokulacji (**II seria**) biopreparaty (G-1) poddano modyfikacji poprzez wzbogacenie o wyizolowane i namnożone grzyby z oczyszczanych terenów

dołów urobkowych. Przyczyniło się to do biodegradacji węglowodorów o dłuższych łańcuchach węglowych oraz węglowodorów niezidentyfikowanych, dzięki czemu oczyszczono testowane odpady z terenów dołów urobkowych do poziomu standardów glebowych (rys. 2).



▨ zawartość TPH    ■ zawartość Σn-C<sub>8</sub> – n-C<sub>22</sub>    □ zawartość Σn-C<sub>23</sub> – n-C<sub>36</sub>

**Rys. 2.** Porównanie zawartości TPH, Σn-C<sub>8</sub> – n-C<sub>22</sub>, Σn-C<sub>23</sub> – n-C<sub>36</sub> po zabiegach inokulacji biopreparatem (G-1) na bazie mikroorganizmów autochtonicznych (I seria) i biopreparatem (G-2) na bazie mikroorganizmów autochtonicznych i grzybów (II seria) na wytypowanych do badań dołach urobkowych

Opracowane biopreparaty dla oczyszczanych dołów urobkowych różniły się liczbą kultur bakteryjnych i ilością rodzajów grzybów. Mikroorganizmy wyizolowane i wyselekcjonowane z odpadów pochodzących z terenach oczyszczanych dołów urobkowych należały do najbardziej aktywnych kultur bakteryjnych: *Acinetobacter sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Bacillus sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Nocardia sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Sphingomonas sp.* [2–6, 8] oraz rodzajów grzybów: *Chrysosporium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Phanerochaete*, *Pleurotus ostreatus* i *Irpex lacteus* [10, 16, 17] zdolnych do biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych.

Wykonane analizy chromatograficzne wskazują, że podczas inokulacji (**II etap oczyszczania**) biodegradacja węglowodorów alifatycznych o długości łańcucha n-C<sub>8</sub> – n-C<sub>22</sub> zachodziła w granicach; 91,2–95,1%, natomiast węglowodory cięższe ulegały biodegradacji w zakresie; 78,6–89,9%. Świadczy to o wysokiej efektywności i szerokim spektrum działania biopreparatów sporządzonych na bazie mikroorganizmów autochtonicznych i grzybów.

#### 4. PIERWSZORZĘDOWY MODEL BIODEGRADACJI ZANIECZYSZCZEŃ ROPOPOCHODNYCH W ODPADACH/GLEBIE Z TERENÓW WYTYPOWANYCH DOŁÓW UROBKOWYCH

W celu opracowania matematycznego modelu przebiegu procesu biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych podczas oczyszczania zastarzałych odpadów z testowanych dołów urobkowych w badaniach laboratoryjnych zastosowano biomarker  $C_{30}\text{-}\alpha(\text{H})$ ,  $21\beta(\text{H})\text{-hopan}$ , względem którego przeprowadzono normalizację koncentracji TPH,  $\Sigma n\text{-C}_8 - n\text{-C}_{22}$  oraz  $\Sigma n\text{-C}_{23} - n\text{-C}_{36}$ , oznaczonych w trakcie przebiegu poszczególnych etapów biodegradacji. Zastosowanie biomarkera – hohanu pozwoliło na wyeliminowanie błędów analitycznych w oznaczeniach ilościowych.

Przebieg procesu biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych (obejmującego bioremediację podstawową i inokulację biopreparatami na bazie mikroorganizmów autochtonicznych i grzybów) opisano równaniem (1):

$$C/C_H = (C/C_H)_0 \exp(-kt) \quad (1)$$

gdzie:

- $C$  – koncentracja analitu,
- $C_H$  – koncentracja hohanu,
- $(C/C_H)_0$  – początkowe znormalizowane stężenie analitu,
- $C/C_H$  – znormalizowane stężenie analitu w czasie,
- $t$  – czas trwania procesu [dni],
- $k$  – stała biodegradacji pierwszego rzędu [ $\text{d}^{-1}$ ].

Analiza regresji nieliniowej z zastosowaniem przedstawionego powyżej równania umożliwiła wyznaczenie stałej biodegradacji pierwszego rzędu ( $k$ ) oraz współczynnika korelacji ( $r^2$ ) określającego dopasowanie punktów pomiarowych do krzywych teoretycznych procesu biodegradacji; TPH,  $\Sigma n\text{-C}_8 - n\text{-C}_{22}$  oraz  $\Sigma n\text{-C}_{23} - n\text{-C}_{36}$ .

Przeprowadzenie nieliniowej analizy wariacji (ANOWA) metodą Tukeya na poziomie ufności  $p < 0,05$  umożliwi eliminację danych analitycznych (chemicznych i biologicznych) statystycznie nieistotnych. Do statystycznego przetworzenia otrzymanych danych analitycznych zastosowano program „Statistica” wersja 7.1.

Poszczególne współczynniki równania (1) ( $k$ ,  $(C/C_H)_0$ ) oraz współczynniki korelacji dla kolejnych etapów oczyszczania zestawiono w tabeli 1. Natomiast porównanie przebiegu procesu biodegradacji w kolejnych etapach oczyszczania odpadów z testowanych dołów urobkowych przedstawiono w formie graficznej dla: TPH (rys. 3),  $\Sigma n\text{-C}_8 - n\text{-C}_{22}$  (rys. 4) oraz  $\Sigma n\text{-C}_{23} - n\text{-C}_{36}$  (rys. 5).

Stale biodegradacji pierwszego rzędu ( $k$ ) zanieczyszczeń ropopochodnych (TPH) dla I etapu oczyszczania odpadów z testowanych dołów urobkowych (G-13, G-67, G-40, G-10, G-95) – bioremediacji podstawowej, kształtowały się na zbliżonym poziomie;  $0,0055 \div 0,0068$  [ $\text{d}^{-1}$ ], przy współczynniku korelacji  $0,9617 \div 0,9816$ .

Podczas przebiegu (II etapie oczyszczania) obejmującego inokulację poszczególnych dołów urobkowych indywidualnie opracowanym dla każdego dołu urobkowego biopreparatem na bazie mikroorganizmów autochtonicznych G-1 (I seria) i biopreparatem wzbogaco-

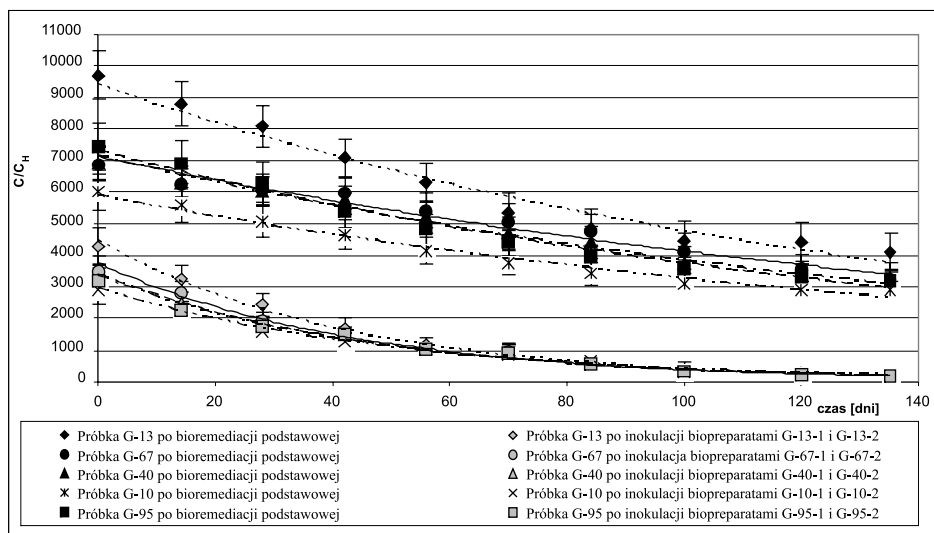
nym o wyizolowane grzyby G-2 (II seria), stałe biodegradacji pierwszego rzędu ( $k$ ) dla wytypowanych do oczyszczania dołów urobkowych zawierały się w granicach; 0,0198–0,0240 [ $d^{-1}$ ], przy współczynniku korelacji  $r^2 = 0,9867$ – $0,9980$ , co świadczy o wysokiej dynamice przebiegu procesu inokulacji z zastosowaniem opracowanych biopreparatów (tab. 1, rys. 3).

Porównując stałe biodegradacji pierwszego rzędu ( $k_1$ ) zanieczyszczeń ropopochodnych dla zabiegu inokulacji biopreparatem (G-1) na bazie mikroorganizmów autochtonicznych (I seria) i ( $k_2$ ) dla zabiegu inokulacji biopreparatem (G-2) wzbogaconym o rodzaje grzybów (II seria), można stwierdzić, że stopień biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych (TPH) jest w II serii inokulacji znacznie wyższy. Przykładowo podczas procesu biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych (TPH) zawartych w odpadzie z dołu urobkowego G-13, stałe biodegradacji pierwszego rzędu wynoszą odpowiednio:  $k_1 = 0,0167$  [ $d^{-1}$ ] i  $k_2 = 0,0240$  [ $d^{-1}$ ], zaś dla biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych w odpadzie z dołu urobkowego G-67 odnotowano:  $k_1 = 0,0150$  [ $d^{-1}$ ] i  $k_2 = 0,0228$  [ $d^{-1}$ ]. Potwierdza to słuszność przeprowadzonej modyfikacji biopreparatu (G-1) wzbogacając go o grzyby wyizolowane z oczyszczanego terenu dołu urobkowego.

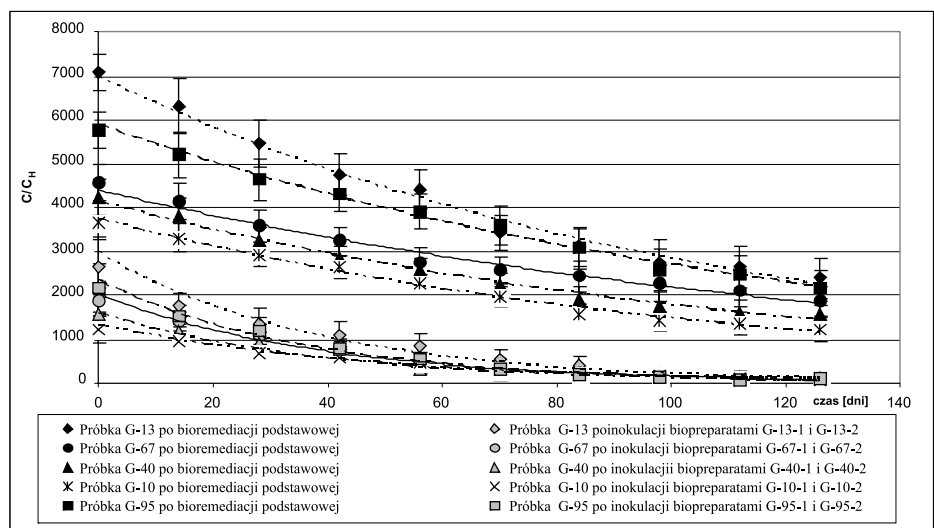
**Tabela 1**

Zestawienie współczynników równania modelu matematycznego biodegradacji TPH oraz  $\Sigma n-C_8 - n-C_{22}$  i  $\Sigma n-C_{23} - n-C_{36}$  w kolejnych etapach procesu oczyszczania odpadów z terenów wytypowanych dołów urobkowych (warunki laboratoryjne – metoda *ex situ*)

Dół urobkowy	Etap oczyszcz.	TPH			$\Sigma n-C_8 - n-C_{22}$			$\Sigma n-C_{23} - n-C_{36}$		
		$k$ [ $d^{-1}$ ]	$(C/C_H)_0$	$r^2$	$k$ [ $d^{-1}$ ]	$(C/C_H)_0$	$r^2$	$k$ [ $d^{-1}$ ]	$(C/C_H)_0$	$r^2$
G-13	Etap I	0,0068 ± 0,003	9379 ± 49	0,9617	0,0090 ± 0,005	6917 ± 88	0,9847	0,0027 ± 0,001	594 ± 13	0,9832
	Etap II	0,0240 ± 0,010	4463 ± 49	0,9924	0,0264 ± 0,014	2974 ± 31	0,9791	0,0199 ± 0,008	384 ± 8	0,9679
G-67	Etap I	0,0055 ± 0,002	7127 ± 89	0,9711	0,0070 ± 0,003	4393 ± 39	0,9829	0,0036 ± 0,002	519 ± 12	0,9829
	Etap II	0,0228 ± 0,004	3725 ± 31	0,9851	0,0259 ± 0,012	2033 ± 18	0,9878	0,0217 ± 0,009	387 ± 9	0,9878
G-40	Etap I	0,0062 ± 0,002	7141 ± 74	0,9816	0,0083 ± 0,003	4097 ± 38	0,9806	0,0039 ± 0,002	648 ± 10	0,9929
	Etap II	0,0219 ± 0,013	3345 ± 29	0,9821	0,0262 ± 0,014	1602 ± 13	0,9759	0,0173 ± 0,011	471 ± 4	0,9711
G-10	Etap I	0,0059 ± 0,002	5980 ± 85	0,9751	0,0093 ± 0,004	3745 ± 35	0,9870	0,0042 ± 0,003	713 ± 11	0,9646
	Etap II	0,0198 ± 0,008	2960 ± 28	0,9982	0,0182 ± 0,007	1360 ± 14	0,9905	0,0179 ± 0,012	421 ± 8	0,9844
G-95	Etap I	0,0067 ± 0,002	7299 ± 94	0,9763	0,0078 ± 0,002	5881 ± 48	0,9915	0,0036 ± 0,002	320 ± 9	0,9694
	Etap II	0,0221 ± 0,009	3405 ± 32	0,9867	0,0181 ± 0,007	2341 ± 21	0,9778	0,0181 ± 0,008	210 ± 6	0,9582



**Rys. 3.** Porównanie obniżenia zawartości TPH ( $C/C_H$ ) po normalizacji hopenem po kolejnych etapach biodegradacji odpadu z wytypowanych dołów urobkowych (liczba powtórzeń pomiarów  $n = 8\div 9$ ,  $p < 0,05$ )



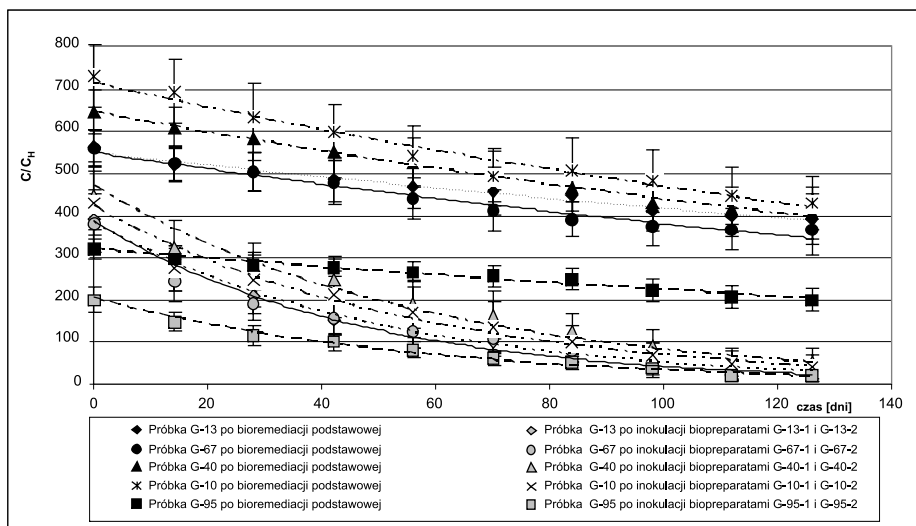
**Rys. 4.** Porównanie obniżenia zawartości  $\Sigma n-C_8 - \Sigma n-C_{22}$  ( $C/C_H$ ) po normalizacji hopenem po kolejnych etapach biodegradacji odpadu z wytypowanych dołów urobkowych (liczba powtórzeń pomiarów  $n = 8\div 9$ ,  $p < 0,05$ )

Stałe biodegradacji pierwszego rzędu ( $k$ ) dla węglowodorów ( $\Sigma n-C_8 - n-C_{22}$ ) są najwyższe, co jest szczególnie widoczne dla II etapu oczyszczania (inokulacja biopreparatami na bazie mikroorganizmów autochtonicznych i grzybów), gdyż kształtują się na poziomie;



0,0181±0,0264 [d<sup>-1</sup>] przy  $r^2 = 0,9778 \pm 0,9905$ , zaś podczas I etapu oczyszczania (bioremediacji podstawowej) są znacznie niższe, gdyż zawierają się w zakresie; 0,0070±0,0093 [d<sup>-1</sup>] przy  $r^2 = 0,9847 \pm 0,9915$  (tab. 1, rys. 4). Przedstawione wyniki dowodzą, że węglowodory z tego zakresu długości łańcucha węglowego ulegają łatwo biodegradacji.

Natomiast stałe biodegradacji pierwszego rzędu ( $k$ ) dla węglowodorów ciężkich o długości łańcucha węglowego z zakresu ( $\Sigma n-C_{23} - n-C_{36}$ ) podczas I etapu oczyszczania (bioremediacji podstawowej) kształtują się na niskim poziomie w granicach; 0,0027±0,0042 [d<sup>-1</sup>] przy  $r^2 = 0,9646 \pm 0,9929$ , co świadczy o niskim stopniu biodegradacji. Podczas II etapu oczyszczania (inokulacja biopreparatami G-1, G-2) stałe biodegradacji pierwszego rzędu ( $k$ ) są znacznie wyższe, gdyż zawierają się w zakresie; 0,0173±0,0217 [d<sup>-1</sup>] przy  $r^2 = 0,9582 \pm 0,9878$ , co dowodzi, że opracowany biopreparat na bazie mikroorganizmów autochtonicznych i grzybów cechuje się szerokim spektrum działania, gdyż biodegradacji ulegają, również węglowodory o długich łańcuchach węglowych z zakresu  $n-C_{23} - n-C_{36}$  (tab. 1, rys. 5).



Rys. 5. Porównanie obniżenia zawartości  $\Sigma n-C_{23} - \Sigma n-C_{36}$  ( $C/C_H$ ) po normalizacji hopanem po kolejnych etapach biodegradacji odpadu z wytypowanych dołów urobkowych (liczba powtórzeń pomiarów  $n = 8 \div 9$ ,  $p < 0,05$ )

Obliczone wartości stałych biodegradacji pierwszego rzędu ( $k$ ) zanieczyszczeń ropopochodnych w poszczególnych etapach oczyszczania zastarzałych odpadów z dołów urobkowych są zbliżone do doniesień literaturowych [15, 16, 19], co świadczy prawidłowym doborze opisu matematycznego procesu biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych.

## 5. PODSUMOWANIE

- 1) Przedstawiony model matematyczny biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych w zastarzałych odpadach z terenów oczyszczanych dołów urobkowych pozwala okre-

ślić kinetykę biodegradacji w poszczególnych etapach oczyszczania. Umożliwia ponadto porównanie efektywności działania opracowanych biopreparatów na bazie mikroorganizmów autochtonicznych i grzybów.

- 2) Zbliżone wartości stałych biodegradacji pierwszego rzędu ( $k$ ) zanieczyszczeń ropopochodnych dla wytypowanych do oczyszczania zastarzałych odpadów z dołów urobkowych świadczą o prawidłowo podjętych decyzjach o zastosowaniu etapowej technologii oczyszczania tych odpadów.
- 3) Przedstawione badania mogą stanowić podstawę do opracowania wytycznych prowadzenia procesu oczyszczania metodą *insitu* w warunkach przemysłowych i pozwalają na prognozowanie wyników procesu oczyszczania terenów zastarzałych dołów urobkowych.

## LITERATURA

- [1] Hamamura N., Olson S.H., Ward D.M., Inskep W. P.: *Microbial population dynamics associated with crude-oil biodegradation in diverse soils*. Appl. Environ. Microbiol., 72, 2006, 6316–6324
- [2] Harmsen J., Rulkens W.H, Sims, R.C., Rijtema P.E., Zwiers A.J: *Theory and application of landfarming to remediate polycyclic aromatic hydrocarbons and mineral oil-contaminated sediments; beneficial reuse*. J. Environ Qual., 36, 2007, 1112–1122
- [3] Huesemann H.M., Hausmann T.S., Fortman J.F.: *Assesment of bioavailability limitations during slurry biodegradation of petroleum hydrocarbons in aged soils*. Environ, Toxicology and Chemistry, 12, 2003, 2853–2860
- [4] Kaplan C.W., Kitts C.L.: *Bacterial succession in a petroleum land treatment unit*. Appl. Environ. Microbiol., 70, 2004, 1777–1786
- [5] Kapusta P., Steliga T.: *Biologiczne podstawy remediacji gruntów skażonych substancjami ropopochodnymi*. Prace INiG, 130, 2004, 904–908
- [6] Katsivela E., Moore E.R., Dand, Kalogerakis N.: *Biodegradation of aliphatic and aromatic hydrocarbons: Specieficity among bacteria isolated from refinery waste sludge*. Water, Air, and Soil Pollut., 3, 2003, 103–115
- [7] Kołwzan B.: *Bioremediacja gleb skażonych produktami naftowymi wraz z oceną ekotoksykologiczną*. Prace Naukowe Instytutu Inżynierii Ochrony Politechniki Wrocławskiej, 44, 2005, 1–186
- [8] Popp N., Schlomann M., Mau M.: *Bacterial diversity in the active stage of a bioremediation system for mineral oil hydrocarbon-contaminated soils*. Microbiology, 152, 2006, 3291–3304
- [9] Röling W.F.M., Milner M.G., Jones D.M., Fratapietro F., Swannell R.P.J., Daniel F., Head I.M.: *Bacterial community dynamics and hydrocarbon degradation during a field-scale evaluation of bioremediation on a mudflat beach contaminated with Buried oil*. Appl. Environ. Microbiol., 70, 2004, 2603–2613
- [10] Sašek W., Cajthaml T., Bhatt M.: *Use of fungal technology in soil remediation: A case study*. Water, Air, and Soil Pollution, 3, 2003, 5–14
- [11] Steliga T.: *Technologia oczyszczania gruntów z zanieczyszczeń ropopochodnych metodą insitu*. Prace INiG, 133, 2006, 1–78

- [12] Steliga T., Kluk D.: *Analiza efektywności procesów bioremediacyjnych na terenie dołu urobkowego*. Przegląd Górniczy, 12, 2007, 46–53
- [13] Steliga T., Jakubowicz P.: *Likwidacja zanieczyszczeń ropopochodnych na terenach starych dołów urobkowych*. Bezpieczeństwo pracy i ochrona środowiska w Górnictwie. Miesięcznik WUG, 8, 2007, 15–21
- [14] Uyttebroek M., Spoden A., Ortega-Calvo J.-J., Wouters K., Wattiau P., Bastiaens L.D.: *Differential responses of eubacterial, Mycobacterium, and Sphingomonas communities in polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil to Artificially induced changes in PAH profile*. J. Environ. Qual., 36, 2007, 1403–1411
- [15] Venosa A.D., Suidan M.T., King D., Wrenn B.A.: *Use of hopane as a conservative biomarker for monitoring the bioremediation effectiveness of crude oil contaminating a sandy beach*. J. Ind. Microbiol. Biot., 18, 1997, 131–139
- [16] Vinas M., Sabate J., Espuny M.J., Solanas A.M.: *Bacterial community dynamics and polycyclic aromatic hydrocarbon degradation during bioremediation of heavily creosote-contaminated soil*. Appl. Environ. Microbiol., 71, 2005, 7008–7018
- [17] Wiesche C., Martens R., Zadrazil F.: *The effect of interaction between white- root fungi and indigenous microorganisms on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil*. Water, Air, and Soil Pollut., 3, 2003, 73–79
- [18] Wirght A.L., Weaverand R.W.: *Fertilization and bioaugmentation for oil biodegradation in salt march Mesocosms*. Water, Air, and Soil Pollut., 156, 2004, 229–240
- [19] Xu R., Lau N.L.A., Ng K.L. and Obbard J.P.: *Application of a Slow-Release Fertilizer for Oil Bioremediation in Beach Sediment*. J. Environ. Qual., 33, 2004, 1210–1216