

**GRZYBY PLEŚNIOWE
ORAZ DROŹDŻE I GRZYBY DROŹDŻOIDALNE
W POWIETRZU ATMOSFERYCZNYM
NA TERENIE I W OTOCZENIU OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW
Z SYSTEMEM STAWÓW NAPOWIETRZANYCH
I STABILIZACYJNYCH**

**Zofia FILIPKOWSKA, Anna GOTKOWSKA-PLACHTA,
Ewa KORZENIEWSKA**

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej

Słowa kluczowe: drożdże, grzyby, oczyszczalnie hydrofitowe, pleśnie, powietrze

S t r e s z c z e n i e

Badania powietrza atmosferycznego pod kątem obecności pleśni (identyfikowanych do rodzaju) oraz drożdży i grzybów drożdżoidalnych (identyfikowanych za pomocą testów API 20 C AUX) przeprowadzono na terenie i w otoczeniu hydrofitowej (z systemem stawów napowietrzanych i stabilizacyjnych) oczyszczalni ścieków bytowo-gospodarczych o przepustowości ok. $170 \text{ m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$. Próbkę powietrza pobierano w sezonach letnim, jesiennym, zimowym i wiosennym (równoległe metodą sedimentacyjną i zderzeniową) na 6 stanowiskach na terenie oczyszczalni oraz na 4 stanowiskach w jej otoczeniu. Stanowisko kontrolne (tło badań) wyznaczano zawsze po stronie nawietrznej oczyszczalni. Grzyby, stwierdzone w powietrzu jesienią, zimą i wiosną na terenie oczyszczalni ścieków, zgodnie z Polską Normą – PN-89 Z-04111/03 (poza próbkami powietrza pobranymi jesienią przy ogrodzeniu obiektu), występowały w ilościach niezagrażających środowisku naturalnemu człowiekowi. W okresie letnim natomiast liczebność badanych grzybów w próbkach powietrza przekraczała często $5,0 \cdot 10^3 \text{ jtk} \cdot \text{m}^{-3}$ (mogły więc one negatywnie oddziaływać na środowisko). Dominującymi drobnoustrojami były pleśnie z rodzajów: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Diplosporium*, *Mucor*, *Scopulariopsis*. Na terenie oczyszczalni dodatkowo często stwierdzano pleśnie z rodzajów: *Absidia*, *Actinomucor*, *Botrytis*, *Chrysosporium*, *Trichoderma*; w otoczeniu obiektu natomiast: *Botrytis*, *Peni-*

Adres do korespondencji: dr hab. Z. Filipkowska, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Katedra Mikrobiologii Środowiskowej, ul. Prawocheńskiego 1, 10-957 Olsztyn; tel. + 48 (89) 523-45-57, e-mail: zofiaf@uwm.edu.pl

cillium, *Trichoderma* i *Trichothecium*. Drożdże i grzyby drożdżoidalne zazwyczaj stanowiły niewielki procent ogólnej liczby grzybów. W próbkach powietrza pobranych na terenie oczyszczalni drożdże należały do gatunków: *Candida* sp., *Cryptococcus laurentii*, *Hansenula* sp., *Pichia* sp. oraz *Rhodotula* sp., *Saccharomyces cerevisiae*: w otoczeniu oczyszczalni zaś do: *Candida* sp., *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus* sp., oraz *Trichosporon mucoides*.

WSTĘP

Oczyszczalnie hydrofitowe stanowią alternatywę dla oczyszczalni konwencjonalnych w niewielkich miejscowościach, gdy ilość ścieków kształtuje się do kilkudziesięciu m³ na dobę. Wymagają one małych nakładów energii i są proste w obsłudze, zajmują natomiast stosunkowo dużą powierzchnię. Hydrofitowa metoda oczyszczania ścieków wywodzi się z obserwacji i badań naturalnych ekosystemów bagiennych i polega na przepuszczaniu ścieków przez stawy, rowy lub filtry gruntowe porośnięte makrofitami [BRIX, 1994]. Bogactwo procesów i zjawisk biologicznych oraz fizykochemicznych, wykorzystywanych w systemach hydrofitowych, czyni je atrakcyjnym i dość uniwersalnym narzędziem rozwiązywania problemów gospodarki wodno-ściekowej. Dane literaturowe, dotyczące tych obiektów [OBARSKA-PEMPKOWIAK, 2002] oraz wyniki badań własnych [FILIPKOWSKA, 2006], wskazują na dużą efektywność oczyszczania ścieków w obiektach hydrofitowych.

Najmniej poznanym aspektem oczyszczania ścieków w tego typu oczyszczalniach jest emisja bioaerozoli (dotyczy to zwłaszcza systemów hydrofitowych ze stawami napowietrzanymi), które zawierają przeważnie nieszkodliwe saprofity, ale także patogenne bakterie i grzyby. Doniesienia naukowe sygnalizują, że grzyby mikroskopowe mogą być przyczyną wielu poważnych chorób [BARABASZ, ALBIŃSKA, BARABASZ, 2005; FASSATIOVA, 1983; GRAJEWSKI, TWARUŻEK, 2004; SMYK, 1996]. Zarodniki grzybów o wielkości 10 µm osadzają się w górnych drogach oddechowych, zaś spory mniejsze od 5 µm wnikają do pęcherzyków płucnych. Może to prowadzić do mniej lub bardziej wyraźnych zmian chorobowych [FANG i in., 2005; GRAJEWSKI, 2006]. W dostępnej literaturze brak wyników badań, dotyczących występowania grzybów na terenie i w otoczeniu hydrofitowych oczyszczalni ścieków.

Celem niniejszej pracy było ilościowe i jakościowe określenie występowania grzybów pleśniowych oraz drożdży i grzybów drożdżoidalnych w próbkach powietrza pobranych na terenie i w otoczeniu oczyszczalni ścieków z systemem stawów napowietrzanych i stabilizacyjnych oraz ustalenie rzeczywistego zasięgu oddziaływania oczyszczalni na otoczenie.

METODY BADAŃ

Teren badań i lokalizacja stanowisk badawczych. Oczyszczalnia została zaprojektowana na 1000 stałych mieszkańców, średni przepływ ścieków wynosi ok. 170 m³·d⁻¹. Ścieki dopływające siecią kanalizacyjną są poddawane procesowi chemicznej koagulacji za pomocą wapna. Następnie ścieki trafiają do osadnika pionowego, w którym zachodzi sedymentacja. Podczyszczony mechanicznie ścieki dopływają (systemem wgłębnym) do pięciostopniowego stawu napowietrzanego o 20-dobowym czasie retencji. Głębokość czynna zbiornika wynosi 4 m. Jako źródło powietrza wykorzystana została dmuchawa typu

HV TURBO RS 80. Powietrze jest wprowadzane do stawu za pomocą dyfuzorów membranowych. Odpływające ze stawu napowietrzanego ścieki są poddawane dalszemu oczyszczaniu w stawie stabilizacyjnym. Końcowe doczyszczanie odbywa się na dwukwaterowym filtrze roślinnym o przepływie poziomym.

Osady powstające w procesie dawkowania wapna, a wydzielające się w osadniku pionowym, są okresowo przepompowywane do zbiornika magazynowego o 120-dobowym czasie zatrzymania. Po tym czasie osad jest usuwany na trzcinowe poletko osadowe. Odbiornikiem oczyszczonych ścieków jest rów melioracyjny długości kilkuset metrów, wpadający do Pasłęki.

Stanowiska poboru próbek powietrza usytuowano przy podzespołach technologicznych, które mogły być źródłem emisji aerozoli. Wzięto również pod uwagę kierunki wiatrów, wiejących w danym dniu, jak również odległość od granicy badanego obiektu. Na terenie oczyszczalni ścieków było zlokalizowanych 6 stanowisk badawczych: przy osadniku pionowym, przy stawie napowietrzonym, przy stawie stabilizacyjnym, przy filtrze gruntowo-roślinnym (FGR) o poziomym podpowierzchniowym przepływie ścieków, przy komorze magazynowania osadu oraz przy poletku trzcinowym. W otoczeniu oczyszczalni ścieków zlokalizowano 4 stanowiska badawcze: przy ogrodzeniu oczyszczalni ścieków oraz w odległości 0–25 m, 26–50 m i 51–100 m od ogrodzenia oczyszczalni. Stanowisko kontrolne (tło) było zawsze zlokalizowane po stronie nawietrznej, w zależności od kierunku wiatru.

Badania mikrobiologiczne. Badania grzybów występujących w powietrzu atmosferycznym na terenie i w otoczeniu oczyszczalni ścieków prowadzono w próbkach powietrza pobranych metodą sedymentacyjną i zderzeniową (za pomocą próbnika powietrza MAS 100 Eco™. Próbki do badań pobierano w okresie lata i jesieni 2006 r. oraz zimy i wiosny 2007 r. Równoległe z badaniami mykologicznymi prowadzono badania meteorologiczne (pomiar temperatury, wilgotności, siły i kierunku wiatru).

Ogólną liczbę grzybów pleśniowych oraz drożdży i grzybów drożdżoidalnych, określaną jednostkami tworzącymi kolonie (jtk), badano na podłożu RBC (ang. „Rose Bengal Chloramphenicol Agar”). Wyniki odnoszono do objętości 1 m³ powietrza. Oznaczenia jakościowe grzybów strzępkowych prowadzono na podstawie obserwacji morfologicznych w różnych stadiach rozwoju grzybni. Drożdże i grzyby drożdżoidalne identyfikowano, stosując kryterium morfologiczne (morfologia komórek, tworzenie pseudostrzępek lub strzępek) i biochemiczne, obejmujące zdolność do fermentacji na podstawie testów API 20 C AUX.

Oceny stopnia zanieczyszczenia powietrza atmosferycznego dokonano zgodnie z Polską Normą [PN-89/Z-04111/03].

Badania meteorologiczne. Badania na terenie i w otoczeniu wytypowanej oczyszczalni ścieków prowadzono w godzinach 9:30–14:30. Temperaturę i wilgotność powietrza mierzono specjalnym aparatem. Dni, w których prowadzono badania, były słoneczne. Prędkość wiatru (m·s⁻¹) latem wynosiła od 0 do 7,4; jesienią od 0 do 2,5; zimą od 0 do 10,2; wiosną od 0 do 5,0. Temperatura (°C) latem wahała się od 26,9 do 40,0; jesienią od 20,3 do 24,0; zimą od 11,5 do 17,2, a wiosną od 16,8 do 21,6. Wilgotność (%) latem mieściła się w granicach 40–61; jesienią 57–65; zimą 42–52; wiosną 26–36.

Opracowanie statystyczne wyników. W celu ustalenia, czy liczebność poszczególnych grup grzybów w powietrzu pobieranym różnymi metodami, w różnym czasie oraz na

różnych stanowiskach badawczych różni się między sobą, posłużono się jednoczynnikową oraz dwuczynnikową analizą wariancji (jednoczynnikowa ANOVA i ANOVA dla układów czynnikowych), weryfikując hipotezę o równości średnich ($H_0 : x_1 = x_2 = \dots = x_5$) na poziomie istotności $p = 0,05$, zakładając że wariancje dla liczebności badanych grup grzybów są jednorodnie [STANISZ, 2006].

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki badań mykologicznych próbek powietrza atmosferycznego wykazały, że dominującymi drobnoustrojami zarówno na terenie, jak i w otoczeniu badanej oczyszczalni hydrofitowej, były grzyby pleśniowe.

Potencjalnym źródłem bioaerozoli zawierających grzyby na terenie oczyszczalni wydawały się być ścieki oczyszczane w stawie napowietrzonym i stabilizacyjnym, w związku z czym przebadano je pod kątem obecności tych drobnoustrojów. W oczyszczanych ściekach dominowały drożdże i grzyby drożdżoidalne.

Liczba ($\text{jtk}\cdot\text{m}^{-3}$) drożdży i grzybów drożdżoidalnych w ściekach oczyszczanych w pięciostopniowym stawie napowietrzonym i w stawie stabilizacyjnym wynosiła odpowiednio od $1,2\cdot 10^2$ do $1,0\cdot 10^3$ i od $1,0\cdot 10$ do $1,0\cdot 10^3$, pleśni natomiast od 0 do $1,0\cdot 10^3$ w stawie napowietrzonym i od 0 do $1,5\cdot 10^3$ w stawie stabilizacyjnym. Wśród drożdży wyizolowanych ze ścieków oczyszczanych w stawie napowietrzonym za pomocą testów API 20 C AUX zidentyfikowano: *Candida* sp., *Cryptococcus humicolus*, *Cryptococcus laurentii*, *Rhodotorula mucilaginosa*; natomiast w stawie stabilizacyjnym tylko *Candida* sp. oraz *Saccharomyces cerevisiae*. Pleśnie wyizolowane ze ścieków oczyszczanych w stawach napowietrzanych należały do rodzajów: *Aspergillus*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Oidium*, *Penicillium*, *Trichoderma*; w stawie stabilizacyjnym zaś do rodzajów: *Absidia*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cunninghamella*, *Cladosporium*, *Oidium*, *Saprolegnia* i *Zygorynhus* (tab. 1).

Tabela 1. Grzyby zidentyfikowane w ściekach oczyszczanych w stawie napowietrzonym i stabilizacyjnym

Table 1. Fungi identified in wastewaters treated in aerated and stabilization ponds

Stanowisko Site	Drożdże i grzyby drożdżoidalne Yeast and yeast-like fungi		Pleśnie Moulds	
	liczebność number	gatunek species	liczebność number	rodzaj genus
Staw napowietrzany Aerated pond	$1,2\cdot 10^2 - 1,0\cdot 10^3$	<i>Candida</i> sp., <i>Cryptococcus humicolus</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	$0 - 1,0\cdot 10^3$	<i>Aspergillus</i> , <i>Chrysosporium</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Oidium</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Trichoderma</i>
Staw stabilizacyjny Stabilization pond	$1,0\cdot 10 - 1,0\cdot 10^3$	<i>Candida</i> sp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$0 - 1,5\cdot 10^3$	<i>Absidia</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Chaetomium</i> , <i>Cunninghamella</i> , <i>Cladosporium</i> <i>Oidium</i> , <i>Saprolegnia</i> , <i>Zygorynhus</i>

Ogólna liczba grzybów ($\text{jtk}\cdot\text{m}^{-3}$) w próbkach powietrza pobieranego na terenie oczyszczalni wynosiła od 0 (latem przy stawie stabilizacyjnym oraz zimą przy poletku trzcinyowym) do $8,8\cdot 10^3$ (latem przy zbiorniku magazynowania osadu), w otoczeniu oczyszczalni ścieków natomiast od 0 (latem na stanowisku w odległości 51–100 m od ogrodzenia oczyszczalni) do ponad $1,0\cdot 10^4$ (latem przy ogrodzeniu oczyszczalni) – tabela 2.

Na terenie i w otoczeniu oczyszczalni nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w liczebności badanych grup drobnoustrojów w powietrzu pobieranym na poszczególnych stanowiskach badawczych. Większą ich liczebność stwierdzano jednak zazwyczaj w powietrzu pobieranym na stanowiskach usytuowanych na terenie obiektu, szczególnie przy osadniku pionowym.

Analizy statystyczne uzyskanych wyników wykazały istotne różnice liczebności grzybów pleśniowych w próbkach powietrza analizowanego w różnych sezonach badawczych, a nieistotne w przypadku drożdży i grzybów drożdżoidalnych. Najmniejszą średnią liczebność pleśni stwierdzano zazwyczaj w próbkach powietrza, pobieranego w okresie zimowym, największą zaś latem i jesienią.

Liczebność grzybów, stwierdzana w powietrzu jesienią, zimą i wiosną na terenie oczyszczalni ścieków, zgodnie z Polską Normą [PN-89/Z-04111/03] nie zagrażała środowisku naturalnemu człowieka (poza próbkami powietrza pobranymi jesienią przy ogrodzeniu obiektu). W okresie letnim natomiast liczba grzybów w próbkach powietrza często przekraczała $5,0\cdot 10^3 \text{ jtk}\cdot\text{m}^{-3}$ (mogła więc negatywnie oddziaływać na środowisko naturalne człowieka). Zbliżoną liczebność stwierdzano w próbkach powietrza pobranych latem przy wielu podzespołach na terenie oczyszczalni (przy osadniku pionowym, poletku trzcinyowym, zbiorniku magazynowania osadu), przy ogrodzeniu oczyszczalni (także jesienią) oraz w odległości 0–25 m od ogrodzenia (tab. 1). Latem panują optymalne warunki do rozwoju grzybów, dlatego też w tym okresie stwierdza się maksymalną ich liczebność [GRAJEWSKI, 2006].

Współczynnik określający stosunek liczby grzybów w próbkach badanego powietrza na danym stanowisku i liczby na stanowisku kontrolnym na terenie oczyszczalni osiągał wartości większe od 5 najczęściej przy poletku trzcinyowym oraz osadniku pionowym, sporadycznie natomiast przy stawie napowietrzonym, filtrze gruntowo-roślinnym oraz zbiorniku magazynowania osadu, wskazując na ewentualne źródła emisji tych mikroorganizmów (tab. 3).

W otoczeniu oczyszczalni wartości współczynnika przekraczające 5,0 stwierdzano latem – przy ogrodzeniu oczyszczalni oraz w odległości 25 m; jesienią – przy ogrodzeniu; zimą w odległości 26–50 m i 51–100 m; wiosną na wszystkich badanych stanowiskach poza linią ogrodzenia (tab. 3).

Średnia liczebność badanych grup drobnoustrojów była większa w powietrzu pobieranym metodą sedymentacyjną niż metodą zderzeniową. Różnice te były statystycznie istotne w przypadku drożdży i grzybów drożdżoidalnych, nieistotne zaś w przypadku grzybów pleśniowych. W próbkach powietrza pobranych metodą sedymentacyjną stwierdzano również większą różnorodność gatunkową badanych grzybów (zarówno pleśni, jak i drożdży). Zapewne wynika to ze znacznie dłuższego czasu ekspozycji w metodzie sedymentacyjnej (10 min.) w porównaniu z czasem (ok. 2 min.) ekspozycji w metodzie zderzeniowej.

W badanych próbkach powietrza zarówno na terenie, jak i w otoczeniu oczyszczalni dominującymi drobnoustrojami były pleśnie, natomiast drożdże i grzyby drożdżoidalne

Tabela 2. Liczba ($\text{jtk}\cdot\text{m}^{-3}$) grzybów pleśniowych oraz drożdży i grzybów drożdżoidalnych w próbkach powietrza atmosferycznego na terenie i w otoczeniu hydrofitowej oczyszczalni ścieków w różnych porach roku

Table 2. The number (cfu m^{-3}) of moulds, yeast and yeast-like fungi in studied samples of atmospheric air in the constructed wetland area and in the surrounding in different seasons

Stanowisko Site	Metoda Method	Lato Summer		Jesień Autumn		Zima Winter		Wiosna Spring	
		p	d	p	d	p	d	p	d
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Kontrola Control site	S	2 045	314	2 489	498	131	0	79	0
	Z	708	0	1 500	300	50	13	50	0
Teren oczyszczalni Constructed wetland area									
– osadnik pionowy vertical sedimentation tank	S	5 605	262	1 100	26	131	0	603	26
	Z	800	0	850	0	100	38	1 000	25
– staw napowietrzany aerated pond	S	354	0	681	26	26	0	210	26
	Z	50	0	850	0	25	0	100	0
– staw stabilizacyjny stabilization pond	S	996	0	2 489	79	26	26	157	0
	Z	0	0	1 550	0	13	0	100	0
– FGR z przepływem poziomym reed bed with horizontal flow	S	79	0	2 279	0	131	52	157	26
	Z	100	0	1 550	0	775	0	150	0
– poletko trzcinowe reed field	S	2 988	0	445	52	0	0	236	26
	Z	9 400	0	500	0	25	0	225	0
– zbiornik magazynowania osadu tank for sludge storage	S	3 696	105	288	79	210	0	26	0
	Z	8 800	0	300	0	250	0	450	25
Otoczenie oczyszczalni Constructed wetland surrounding									
– ogrodzenie oczyszczalni fence of constructed wetland	S	10 170 ¹	105	4 218	157	105	26	288	79
	Z	8 500	0	9 850	50	75	0	150	0

cd. tab. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
– odległość od ogrodzenia, m distance from the fence, m									
0–25	S	1 075	0	1 834	26	210	26	524	79
	Z	6 850	50	1 650	50	13	0	300	0
26–50	S	26	0	1 048	26	550	52	79	0
	Z	50	0	2 250	350	175	0	325	0
51–100	S	52	0	681	0	786	28	996	79
	Z	0	0	1 300	0	63	0	75	0

Objaśnienia: p – pleśnie, d – drożdże i grzyby drożdżoidalne, S – metoda sedymentacyjna, Z – metoda zderzeniowa, FGR – filtr gruntowo-roślinny.

¹⁾ Powietrze silnie zanieczyszczone wg PN –89/Z–04111/03.

Explanations: p – moulds, d – yeast and yeast-like fungi, S – sedimentation method, Z – impact method, FGR – reed bed.

¹⁾ Heavily polluted air according Polish Norm – 89/Z–04111/03.

Tabela 3. Współczynnik określający ilości grzybów w próbkach powietrza na terenie i w otoczeniu hydrofitowej oczyszczalni ścieków w stosunku do stanowiska kontrolnego w różnych porach roku

Table 3. The ratio of the number of fungi in air samples in the constructed wetland area and its surroundings to that in the control site in different seasons

Stanowisko Site	Lato Summer		Jesień Autumn		Zima Winter		Wiosna Spring	
	S	Z	S	Z	S	Z	S	Z
Teren oczyszczalni								
Constructed wetland area								
– osadnik pionowy vertical sedimentation tank	2,5	1,1	0,4	0,5	1,0	2,8	7,9	20,5
– staw napowietrzany aerated pond	0,2	7,1	0,3	0,5	0,2	0,5	2,9	2,0
– staw stabilizacyjny stabilization pond	0,4		3,6	0,9	0,4	0,3	1,9	2,0
– FGR z przepływem poziomym reed bed with horizontal flow	0,1	0,1	0,8	0,9	1,4	15,5	2,3	3,0
– poletko trzcinowe reed field	1,6	12,4	0,1	0,2	1,6	5,0	0,3	9,5
– zbiornik magazynowania osadu tank for sludge storage	1,3	13,2	1,2	0,3	3,8	0,5	3,3	4,5
Otoczenie oczyszczalni								
Constructed wetland surrounding								
– ogrodzenie oczyszczalni fence of constructed wetland	4,3	12,0	1,7	5,5	1,0	1,5	4,6	3,0
– odległość od ogrodzenia, m distance from the fence, m								
0–25	0,4	9,7	0,7	0,3	1,8	0,3	7,6	6,0
26–50	0,1	0,1	1,8	0,3	7,6	3,5	1,0	6,5
51–100	0,1		0,3	0,7	6,2	1,3	13,6	1,5

Objaśnienia: S, Z, FGR, jak pod tabelą 2.

Explanations: S, Z, FGR as in Tab. 2.

zazwyczaj stanowiły niewielki procent ogólnej liczby grzybów. Zarodniki pleśni stanowiły: od 86,7 do 100% latem; od 78,5 do 100% jesienią; od 50,0 do 100% zimą i od 78,5 do 100% wiosną (tab. 4).

Dużą liczebność pleśni stwierdzano również na stanowisku kontrolnym, przewyższała ona często liczebność zarodników pleśni stwierdzaną w próbkach powietrza na stanowiskach usytuowanych na terenie i w otoczeniu oczyszczalni ścieków (tab. 1). Wynika z tego, że uwzględnianie grzybów strzępkowych do określania zasięgu oddziaływania oczyszczalni ścieków wydaje się być dyskusyjne. Potwierdzają to badania FILIPKOWSKIEJ i in. [2007] oraz KAŻMIERCZUKA, KALISZ i SALBUT [2004].

Tabela 4. Udział (%) pleśni, drożdży i grzybów drożdżoidalnych wśród grzybów stwierdzonych w różnych porach roku w próbkach powietrza na terenie i w otoczeniu hydrofitowej oczyszczalni ścieków

Table 4. Percentage share of moulds, yeast and yeast-like fungi in studied samples of air from the constructed wetland area and its surrounding

Stanowisko Site	Metoda Method	Lato Summer		Jesień Autumn		Zima Winter		Wiosna Spring	
		p	d	p	d	p	d	p	d
Kontrola Control site	S	86,7	13,3	83,3	16,7	100	0	100	0
	Z	100	0	83,3	16,7	100	0	100	0
Teren oczyszczalni Constructed wetland area									
– osadnik pionowy vertical sedimentation tank	S	95,5	4,5	97,7	2,4	100	0	95,9	4,1
	Z	100	0	100	0	72,5	27,5	97,6	2,4
– staw napowietrzany aerated pond	S	100	0	96,3	3,7	100	0	89,0	11,0
	Z	100	0	100	0	100	0	100	0
– staw stabilizacyjny stabilization pond	S	100	0	96,9	3,1	50,0	50,0	100	0
	Z	100	0	100	0	100	0	100	0
– FGR z przepływem poziomym reed bed with horizontal flow	S	100	0	100	0	71,6	28,4	85,8	14,2
	Z	100	0	100	0	100	0	100	0
– poletko trzcinowe reed field	S	97,2	2,8	78,5	21,5	100	0	100	0
	Z	100	0	100	0	100	0	94,7	5,3
– zbiornik magazynowania osadu tank for sludge storage	S	100	0	89,5	10,5	0	0	90,1	9,9
	Z	100	0	100	0	100	0	100	0
Otoczenie oczyszczalni Constructed wetland surrounding									
– ogrodzenie oczyszczalni fence of constructed wetland	S	98,9	1,1	96,4	3,6	80,1	19,9	78,5	21,5
	Z	100	0	99,5	0,5	100	0	100	0
– odległość od ogrodzenia distance from the fence									
0–25 m	S	100	0	98,6	1,4	89,0	11,0	86,9	13,1
	Z	99,3	0,7	97,1	2,9	100	0	100	0
26–50 m	S	100	0	97,6	2,4	91,4	8,6	100	0
	Z	100	0	86,5	13,5	100	0	100	0
51–100 m	S	100	0	100	0	96,8	3,2	92,6	7,4
	Z	100	0	100	0	100	0	100	0

Objaśnienia, jak pod tabelą 2. Explanations as in Tab. 2.

Zarówno na stanowisku kontrolnym, jak i na terenie oczyszczalni, stwierdzano występowanie pleśni z rodzajów: *Absidia*, *Actinomucor*, *Alternaria*, *Arthrotrrys*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Diplosporium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*. W otoczeniu obiektu dominowały pleśnie z rodzajów: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Diplosporium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Trichoderma* i *Trichothecium* (tab. 5).

Tabela 5. Występowanie pleśni w badanych próbkach powietrza atmosferycznego na terenie i w otoczeniu hydrofitowej oczyszczalni ścieków

Table 5. The occurrence of moulds in studied samples of air in the constructed wetland area and its surrounding

Rodzaj Genus	Teren oczyszczalni (6 stanowisk) ¹⁾ Constructed wetland area (6 sites) ¹⁾	Otoczenie oczyszczalni (4 stanowiska) ¹⁾ Constructed wetland surroundings (4 sites) ¹⁾
<i>Absidia</i>	k + + + +	
<i>Actinomucor</i>	k + + + + +	+
<i>Alternaria</i>	k + + + + + +	+ + + +
<i>Arthrotrrys</i>	k + + +	-
<i>Aspergillus</i>	+ + + + +	+ + +
<i>Botrytis</i>	+ + + +	+ + + +
<i>Chaetomium</i>	+ + +	+
<i>Chrysosporium</i>	k + + + +	+ +
<i>Cladosporium</i>	k + + + + + +	+ + + +
<i>Curvularia</i>	k	
<i>Cunninghamella</i>	+	+
<i>Diplosporium</i>	k + + + + +	+ + + +
<i>Fusarium</i>	+ + +	
<i>Geomyces</i>	+	+
<i>Geotrichum</i>	k + +	+
<i>Gliocadium</i>	+ +	
<i>Mucor</i>	k + + + + + +	+ + + +
<i>Nigrospora</i>	+	
<i>Oidiodendron</i>	+	
<i>Penicillium</i>	k + + +	+ + + +
<i>Phitomyces</i>	+	
<i>Phoma</i>	k	
<i>Pullularia</i>	+ +	
<i>Rhizopus</i>		+
<i>Scopulariopsis</i>	k + + + + +	+ +
<i>Talaromyces</i>		+
<i>Trichoderma</i>	k + + + +	+ + +
<i>Trichophyton</i>	+	
<i>Trichothecium</i>	+ +	+ + +
<i>Verticillium</i>		+
<i>Zygorynchus</i>	+	+

Objaśnienia: k – stanowisko kontrolne; „+” – stanowiska na terenie i w otoczeniu oczyszczalni.

¹⁾ Rozmieszczenie stanowisk badawczych, jak w tabeli 2.

Explanations: k – control site; “+” – sites in the constructed wetland and in its surroundings.

¹⁾ Location of study sites as in Table 2.

Potencjalnych producentów mykotoksyn z rodzaju *Fusarium* i *Trichothecium* wyizolowano tylko na terenie oczyszczalni, natomiast z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium* zarówno z próbek powietrza pobieranego na stanowisku kontrolnym na terenie, jak i w otoczeniu oczyszczalni. Ich głównym źródłem wydaje się być jednak otaczające oczyszczalnię środowisko.

Drożdże i grzyby drożdżoidalne zidentyfikowane w próbkach powietrza pobranych na terenie oczyszczalni ścieków należały do: *Candida* sp., *Cryptococcus laurenti*, *Cryptococcus* sp., *Hansenula* sp., *Pichia* sp., *Rhodotorula* sp. i *Saccharomyces cerevisiae*; w otoczeniu zaś do *Candida* sp., *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus* sp. oraz *Trichosporon mucoides* (tab. 6).

Tabela 6. Drożdże i grzyby drożdżoidalne zidentyfikowane w próbkach powietrza na terenie i w otoczeniu oczyszczalni ścieków

Table 6. Yeast and yeast-like fungi identified in air samples in the constructed wetland area and in its surrounding

Stanowisko Site	Zidentyfikowane gatunki Identified species
Kontrolne Control site	<i>Candida</i> sp., <i>Cryptococcus</i> sp., <i>Cryptococcus humicolus</i> , <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Rhodotorula minuta</i> , <i>Rhodotorula</i> sp.
Teren oczyszczalni Constructed wetland area	
– osadnik pionowy vertical sedimentation tank	<i>Candida</i> sp., <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Pichia</i> sp.
– staw napowietrzany aerated pond	<i>Candida</i> sp., <i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
– staw stabilizacyjny stabilization pond	<i>Cryptococcus laurentii</i>
– FGR z przepływem poziomym reed bed with horizontal flow	<i>Rhodotorula</i> sp.
– poletko trzcinowe reed field	<i>Candida</i> sp.
– zbiornik magazynowania osadu tank for sludge storage	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Hansenula</i> sp.
Otoczenie oczyszczalni Constructed wetland surrounding	
– ogrodzenie oczyszczalni fence of constructed wetland	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Cryptococcus</i> sp., <i>Trichosporon mucoides</i>
– odległość od ogrodzenia, m distance from the fence, m	
0–25	<i>Candida</i> sp., <i>Cryptococcus laurentii</i>
26–50	<i>Candida</i> sp., <i>Cryptococcus laurentii</i>
51–100	<i>Cryptococcus laurentii</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>

Na stanowisku kontrolnym zidentyfikowano natomiast: *Candida* sp., *Cryptococcus humicolus*, *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus* sp., *Rhodotorula minuta*, *Rhodotorula* sp. (tab. 6). Duża różnorodność gatunkowa drożdży na stanowisku kontrolnym mogła wynikać z usytuowania go wśród łąk pod lasem, a więc zapewne na terenie zamieszkałym przez liczne dzikie zwierzęta, będące źródłem grzybów drożdżowych.

Do oceny oddziaływania oczyszczalni na stan mykologiczny powietrza atmosferycznego bardziej przydatne wydają się być drożdże i grzyby drożdżoidalne – typowe drobnoustroje ściekowe, pleśnie natomiast należałoby traktować jako typowe drobnoustroje środowiskowe.

WNIOSKI

1. Na terenie i w otoczeniu badanej oczyszczalni ścieków (poza próbkami powietrza pobranymi jesienią przy ogrodzeniu obiektu) na ogół nie stwierdzano zanieczyszczenia powietrza mikroflorą grzybiczą w ilości, mogącej zgodnie z Polską Normą zagrazać środowisku naturalnemu człowieka.

2. Na terenie oczyszczalni większą liczebność grzybów (przede wszystkim zarodników pleśni) stwierdzano w próbkach powietrza pobieranego przy osadniku pionowym, poletku trzcinowym oraz zbiorniku magazynowania osadu; w otoczeniu obiektu natomiast przy ogrodzeniu oczyszczalni (głównie latem i jesienią) i w odległości 0–25 m od ogrodzenia.

3. Współczynnik określający stosunek liczby grzybów w próbkach badanego powietrza na terenie oczyszczalni i na stanowisku kontrolnym osiągał wartości przekraczające 5 najczęściej przy poletku trzcinowym oraz osadniku pionowym, sporadycznie natomiast przy stawie napowietrzonym, filtrze gruntowo-roślinnym oraz zbiorniku magazynowania osadu, wskazując na ewentualne źródła emisji tych mikroorganizmów.

4. Większą średnią liczebność oraz różnorodność badanych drobnoustrojów stwierdzano w powietrzu pobieranym metodą sedymentacyjną. Różnice średnich liczebności były statystycznie istotne w przypadku drożdży i grzybów drożdżoidalnych, nieistotne zaś – w przypadku grzybów pleśniowych.

5. Do oceny oddziaływania oczyszczalni na stan mykologiczny powietrza atmosferycznego bardziej przydatne wydają się być drożdże i grzyby drożdżoidalne jako typowe drobnoustroje ściekowe. Pleśnie natomiast należy traktować jako mikroflorę środowiskową.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych MNiI na naukę w latach 2005–2007 jako projekt badawczy nr 3 T09D 079 28.

LITERATURA

- BARABASZ W., ALBIŃSKA D., BARABASZ J., 2005. Obiekty komunalne jako źródła bioaerozolu i mikroorganizmów szkodliwych dla zdrowia. Środowisko a zdrowie e-biuletyn 8.
- BRIX H., 1994. Use of constructed wetlands in water pollution control: Historical development, present status and future perspectives. Water. Sci. Tech. 30 s. 209–223.
- FANG Z., OUANG Z., LIFENG H., WANG X., ZHENG H., LIN X., 2005. Cultivable airborne fungi in outdoor environments in Beijing, China. Sci. Total Env. 350 s. 47–58.

- FASSATIOVÁ O., 1983. Grzyby mikroskopowe w mikrobiologii technicznej. Warszawa: Wydaw. Nauk. Tech. ss. 256.
- FILIPKOWSKA Z., 2006. Sanitarно-bakteriologiczne aspekty oczyszczania ścieków bytowo-gospodarczych na filtrach gruntowo-roślinnych. Rozpr. Habil. Olsztyn: Wydaw. UWM. ss. 109.
- FILIPKOWSKA Z., KORZENIEWSKA E., GOTKOWSKA-PLACHTA A., PAWLUKIEWICZ A., 2007. Grzyby drożdżoidalne i pleśniowe w powietrzu atmosferycznym na terenie i w otoczeniu miejskiej oczyszczalni ścieków. Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych. Warszawa: Wydaw. Nauk. G. Borowski, IOŚ 32 s. 234–239.
- GRAJEWSKI J., 2006. Mikotoksyny i grzyby pleśniowe. Bydgoszcz: Wydaw. UKW ss. 201.
- GRAJEWSKI J., TWARUŻEK M., 2004. Zdrowotne aspekty oddziaływania grzybów pleśniowych i mikotoksyn. *Alergia* 3 s. 45–49.
- KAŹMIERCZUK M., KALISZ L., SALBUT J., 2004. Mikrobiologiczne zanieczyszczenia powietrza w otoczeniu obiektów gospodarki komunalnej. Warszawa: Wydaw. Nauk. G. Borowski, IOŚ ss. 66.
- OBARSKA-PEMPKOWIAK H., 2002. Oczyszczalnie hydrofitowe. Gdańsk: Wydaw. P. Gdań. ss. 214.
- PN-89/Z-04111/03. Ochrona czystości powietrza. Badania mikrobiologiczne. Oznaczanie liczby grzybów mikroskopowych w powietrzu atmosferycznym (imisja) przy pobieraniu próbek metodą aspiracyjną i sedimentacyjną. Warszawa: Pol. Kom. Norm. Miar Jakości.
- SMYK B., 1996. Grzyby toksynotwórcze a zagrożenia ekotoksykologiczne środowisk przyrodniczych Krakowa. St. Ośr. Dokument. Fizjogr. t. 24 s. 113–143.
- STANISZ A., 2006. Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem Statistica PL na przykładach z medycyny. T. 1. Statystyki podstawowe. Kraków: StatSoft Polska ss. 532.

Zofia FILIPKOWSKA, Anna GOTKOWSKA-PLACHTA, Ewa KORZENIEWSKA

**MOULDS, YEASTS AND YEAST-LIKE FUNGI IN THE ATMOSPHERIC AIR
AT CONSTRUCTED WETLAND SYSTEMS
(WITH AERATED AND STABILIZATION PONDS)
AND IN THE SURROUNDING AREA**

Key words: air, constructed wetland, fungi, moulds, yeasts

S u m m a r y

This paper characterizes the influence of constructed wetland system (with aerated and stabilizations ponds) on the mycological (moulds and yeast) pollution of atmospheric air at wastewater treatment plant (WTP) and in the surroundings. Air samples were collected in variable weather conditions, using sedimentation and impact methods, in 4 measurement series, i.e. in the summer and autumn 2006 and in the winter and spring 2007, in 11 sampling sites. The air-sampling locations were selected with respect to the highest expected emissions of the bioaerosol and wind velocity and direction on sampling days. Fungi were isolated on RBC (Rose Bengal Chloramphenicol Agar) medium. Moulds were the dominant fungal group in the WTP and surrounding area. According to the Polish Norm PN-89 Z-04 111/03, the number of fungi in air at WTP in autumn, winter and spring (except for the samples collected in autumn in a site near fence) were not harmful to human environment. However, the number of fungi exceeding $5.0 \cdot 10^3$ jtk·m⁻³ in summer could have negative influence on the environment. Such large numbers of fungi occurred in air samples collected in summer in WTP area near several facilities (vertical sedimentation tank, reed field, tank for sludge storage); near the fence

(also in autumn) and at a distance from 0 to 25 m from the fence. The prevailing microorganisms were moulds of the genus *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Diplosporium*, *Mucor*, *Scopulariopsis*. Other moulds found in the air on the WTP premises belonged to the genus: *Absidia*, *Actinomucor*, *Botrytis*, *Chrysosporium*, *Trichoderma*; in the surroundings of the treatment plant there were also *Penicillium*, and *Trichothecium*.

Yeast and yeast-like fungi constituted a small percentage of the total number of fungi. In the air samples collected at the constructed wetland area, the following taxa were identified (with the API 20 C AUX test): *Candida* sp., *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus* sp., *Hansenula* sp., *Pichia* sp., *Rhodotorula* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*; in the air of the surrounding area *Candida* sp., *Cryptococcus laurentii*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptococcus* sp. and *Trichosporon mucoides* were determined.

Recenzenci:

dr inż. Agnieszka Galus-Barchan

prof. dr hab. Stefan Russel

Praca wpłynęła do Redakcji 16.10.2007 r.