

Ewa ŁOBOS-MOYSA, Mariusz DUDZIAK

Politechnika Śląska, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki
ul. Akademicka 2A, 44-100 Gliwice

Biodegradacja kwasów tłuszczowych (C8:0 - C22:1) zawartych w ściekach komunalnych metodą osadu czynnego

Obecność wyższych kwasów tłuszczowych (WKT) w ściekach może być związana z doprowadzeniem zarówno ścieków przemysłowych, jak i komunalnych. W pierwszym przypadku głównym źródłem tych kwasów są ścieki z przemysłu spożywczego (tłuszczowego, mięsnego). W przypadku ścieków komunalnych źródłem są gospodarstwa domowe oraz zakłady gastronomiczne.

W badaniach nad usuwaniem wyższych kwasów tłuszczowych (WKT) ze ścieków metodą biologiczną zastosowano modelowe ścieki składające się z pożywki organiczno-mineralnej oraz zanieczyszczenia dodatkowego - spożywczego oleju rzepakowego. Emulsję olejową przygotowywano w płuczce ultradźwiękowej InterSonic IS 5.5. Oznaczane w tak przygotowanych ściekach kwasy pochodziły z bulionu wzbogaconego, który jest wyciągiem mięsnym, oraz oleju roślinnego. Wstępna enzymatyczna hydroliza, prowadzona pozakomórkowo, umożliwia rozłożenie cząsteczki tłuszczu do glicerolu i wyższych kwasów tłuszczowych (WKT). Końcowym produktem w beztlenowym procesie jest dwutlenek węgla i metan, a tlenowym - dwutlenek węgla i woda.

Proces biodegradacji prowadzono w 3 dm³ bioreaktorach sekwencyjnych w zakresie niskich obciążeń osadu czynnego ładunkiem zanieczyszczeń (od 0,13 do 17 gBZT₃/g s.m.o.d). Efektywność procesu określono na podstawie ubytku kwasów nasyconych C8:0 - C22:0 oraz nienasyconych C16:1 - C18:2.

Największe zmiany w zawartości poszczególnych kwasów w pierwszych godzinach procesu stwierdzono dla kwasu mirystynowego, palmitynowego i stearynowego, a całkowite usunięcie dla oktanowego, dekanowego, behenowego oraz palmitoleinowego i linoleowego. Zawartość kwasu oleinowego natomiast ulegała ciągłym wahaniom.

Słowa kluczowe: oleje jadalne, kwasy tłuszczowe, ścieki, osad czynny, tlenowa biodegradacja

Wstęp

Oleje i tłuszcze są obok cukrów i białek jedną z trzech podstawowych grup produktów spożywczych. Będąc składnikiem diety człowieka, będą pojawiać się też w ściekach komunalnych, stanowiąc jedną z głównych grup organicznej materii w ściekach, a pod względem zawartości nawet do 25% zanieczyszczeń oznaczanych jako ChZT [1, 2]. Ścieki zawierające tego rodzaju zanieczyszczenia mogą negatywnie wpływać na sieć kanalizacyjną, komunalną i przemysłową mechaniczno-biologiczną oczyszczalnię ścieków, a w przypadku awarii i przedostania się do środowiska naturalnego również negatywnie oddziałują na nie.

Oleje i tłuszcze ulegają biodegradacji w warunkach beztlenowych, tlenowych i beztlenowo-tlenowych. Wstępna enzymatyczna hydroliza, prowadzona poza-komórkowo, umożliwia rozłożenie cząsteczki tłuszczu do glicerolu i wyższych kwasów tłuszczowych (WKT). Końcowym produktem w beztlenowym procesie jest dwutlenek węgla i metan, a tlenowym - dwutlenek węgla i woda.

Zawarte w ściekach komunalnych kwasy tłuszczowe mogą pochodzić nie tylko z zanieczyszczeń olejowych i tłuszczowych, ale także z innych powszechnie używanych produktów, np. kosmetyków. Najczęściej oraz w największych stężeniach oznaczanymi długołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi są: palmitynowy i oleinowy [3-5].

W literaturze spotyka się opisy wpływu tych związków na proces biodegradacji [6-8]. W warunkach beztlenowych najczęściej podaje się dwa powody: zahamowanie procesu metanogenezy pod wpływem WKT oraz flotację i wynoszenie biomasy [1, 6]. Jednak te doniesienia są sprzeczne zarówno pod kątem szkodliwości wpływu, jak i jego mechanizmu. Niektórzy autorzy widzą duży wpływ WKT na procesy metanogenezy i acetogenezy [6]. WKT, znikając z roztworu ścieków, akumulują się w biomacie w ciągu 24 godzin, a następnie adsorbują na ścianie komórkowej, uszkadzając jej właściwości transportowe i ochronne. Zawartości kwasów tłuszczowych, przy których było to obserwowane, są różne i wynoszą np.: $> 300 \text{ mg/dm}^3$ (stearynowy), 593 mg/dm^3 (mirystynowy) oraz 614 mg/dm^3 (oleinowy). Inni autorzy uważają, że tłuszcze, adsorbując się na biomacie na drodze fizycznej, powodują jej flotację i wymywanie, a tym samym zmniejszenie dostępności WKT.

W przypadku prowadzenia biodegradacji w warunkach tlenowych problemem może być odpowiednie napowietrzanie, gdyż zanieczyszczone oleje tworzą warstwę lipidową wokół kłaczków osadu czynnego [7, 8]. Podobnie jak w warunkach beztlenowych, warstewka ta jest odpowiedzialna również za flotację i wymywanie biomasy z osadnika wtórnego.

Celem badań było określenie efektywności usuwania na drodze biologicznej ze ścieków dziewięciu kwasów tłuszczowych nasyconych i nienasyconych.

1. Część doświadczalna

1.1. Modelowe ścieki

W badaniach nad usuwaniem kwasów tłuszczowych ze ścieków metodą biologiczną zastosowano syntetyczne ścieki wg PN-87/C-04616.10 Woda i ścieki - Badania specjalne osadów - Hodowla standardowego osadu czynnego, składające się z bulionu wzbogaconego, pożywki organiczno-mineralnej oraz zanieczyszczenia dodatkowego - spożywczego oleju rzepakowego (0,02% wagowo). Emulsję olejową przygotowano w płuczce ultradźwiękowej firmy InterSonic IS 5,5. Jej trwałość zbadana na podstawie zmiany OWO wynosiła do 24 godzin. Ścieki modelowe pod względem składu odpowiadały ściekom komunalnym.

1.2. Kwasy tłuszczowe

Przebieg proces biodegradacji ścieków obserwowano na przykładzie nasyconych kwasów tłuszczowych: oktanowy (C8:0), dekanowy (C10:0), mirystynowy (C14:0), palmitynowy (C16:0), stearynowy (C18:0) i behenowy (C22:0) oraz nienasyconych: palmitoleinowy (C16:1), oleinowy (C18:1), linolowy (C18:2). Badane kwasy tłuszczowe pochodziły z bulionu wzbogaconego, który jest wyciągiem mięsnym, oraz oleju roślinnego.

Kwasy palmitynowy i oleinowy wybrano do badań ze względu na to, iż są kwasami tłuszczowymi najczęściej oznaczanymi w ściekach komunalnych [3, 5, 9]. Wszystkie badane kwasy powszechnie występują w olejach roślinnych.

1.3. Metodyka badań

Proces biodegradacji prowadzono w 3 dm³ bioreaktorach sekwencyjnych w zakresie niskich obciążeń osadu czynnego ładunkiem zanieczyszczeń (od 0,13 do 0,17 gBZT₅/g s.m.o.d). Do bioreaktorów jednorazowo wprowadzano ścieki surowe i osad czynny (aby uzyskać różne wartości obciążenia substratowego, wprowadzano różne objętości ścieków i osadu czynnego, przy czym sumaryczna objętość wynosiła zawsze 3 dm³), a następnie doprowadzano napowietrzanie przy użyciu pomp akwariowych. Pełne wymieszanie zawartości bioreaktorów, a tym samym dobry kontakt mikroorganizmów ze ściekami uzyskano, stosując mieszadła magnetyczne. W trakcie badań proces kilkakrotnie przerywano (po 2 i 6 godzinie oraz po 24 i 72 godzinach), następowała sedimentacja osadu czynnego, a z komór pobierano próbki do analiz chemicznych. Następnie włączano ponownie napowietrzanie i mieszanie. Efektywność procesu określono na podstawie ubytku 9 kwasów tłuszczowych.

1.4. Stosowane oznaczenia

Kwasy tłuszczowe w środowisku wodnym oznaczono metodą własną, stosując do ich wydzielenia proces ekstrakcji, natomiast do analizy jakościowo-ilościowej ekstraktu analizę GC-MS [10]. W badaniach wykorzystano system analityczny Saturn 2100 T firmy Varian, w skład którego wchodził kapilarny chromatograf gazowy GC sprzężony *on-line* ze spektrometrem mas typu ion trap. Opracowana procedura analityczna umożliwiła rozdział i identyfikację 9 kwasów tłuszczowych oraz ich ilościowe oznaczenie w próbce wodnej w zakresie stężeń od 9,5 do 176 µg/dm³ w zależności od badanego związku.

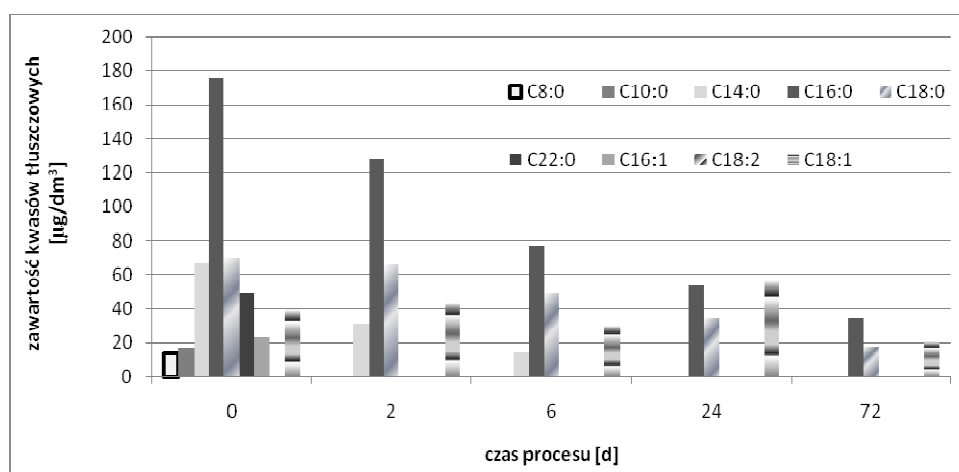
Kontroli parametrów fizycznych (temperatura, pH i stężenie tlenu rozpuszczonego) dokonywano przy użyciu zestawu firmy Elmetron z elektrodami pomiarowymi. Suchą masę osadu czynnego oznaczano metodą wagową w temperaturze 105°C [11].

2. Wyniki badań i dyskusja

Analiza ścieków surowych wykazała największe zawartości kwasów nasyconych: palmitynowego (C16:0) od 158 do 176 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$, stearynowego (C18:0), średnio 70 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$, a z nienasyconych kwasu oleinowego (C18:1) od 39 do 75 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ (rys. 1, tab. 1). Jest to zgodne z danymi literaturowymi dotyczącymi zawartości tych kwasów w produktach spożywczych, jak tłuszcze zwierzęce czy roślinne np. w oleju rzepakowym [12, 13].

Badając stopień usuwania kwasów tłuszczowych podczas biodegradacji modelowych ścieków z domieszką oleju metodą osadu czynnego w warunkach tlenowych, stwierdzono różną efektywność tego procesu. Największe zmiany w zawartości poszczególnych kwasów w pierwszych godzinach procesu stwierdzono dla kwasów: mirystynowego (C14:0), palmitynowego (C16:0) i stearynowego (C18:0), a całkowite usunięcie dla oktanowego (C8:0), dekanowego (C10:0), behenowego (C22:0) oraz palmitoleinowego (C16:1) i linolowego (C18:2) (rys. 1, tab. 1). Przy czym kwasy całkowicie usunięte już w drugiej godzinie procesu w ściekach surowych występowały też w niskich stężeniach (od 10 do 50 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$). Natomiast zawartość kwasu oleinowego w pierwszej dobie procesu ulegała ciągłym wahaniom. Obserwowano wzrost zawartości tego kwasu z 39,3 do 43,6 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$, następnie spadek do wartości 29,8 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ i ponowny wzrost do 56,8 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ w pierwszych 24 godzinach (rys. 1).

W trzeciej dobie procesu biodegradacji oznaczono już tylko kwasy: C16:0, C18:0 i C18:1 w stężeniach od 17,9 do 34,4 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$.



Rys. 1. Stężenie kwasów tłuszczowych [$\mu\text{g}/\text{dm}^3$] w ściekach surowych, oczyszczonych w kolejnych godzinach procesu biodegradacji (0,17 gBZT₅/g s.m.o.·d)

Stożenie usunięcia badanych związków w poszczególnych godzinach procesu podano w tabeli 2. Większość kwasów już w pierwszej dobie została usunięta z dużą efektywnością, tj. powyżej 50% oraz w 100%.

Tabela 1

Stężenie wyższych kwasów tłuszczowych [$\mu\text{g}/\text{dm}^3$] w ściekach surowych i oczyszczonych

Czas procesu		Ścieki surowe	po 2 h	po 6 h	po 24 h	po 72 h
nasycone	C8:0	0÷14	0	0	0	0
	C10:0	0÷17	0	0	0	0
	C14:0	32÷67	0÷31	0÷15	0	0
	C16:0	158÷176	53÷128	50÷77	42,5÷54	34*
	C18:0	70*	24,5÷66	27÷49	13÷34	18*
	C22:0	27÷50	0	0	0	0
nienasycone	C16:1	10÷23	0	0	0	0
	C18:1	39÷75	20÷44	26÷30	27÷57	21*
	C18:2	0÷14	0	0	0	0

* - wartość średnia

Według literatury, rodzaj WKT oraz jego charakter limitują proces biodegradacji poszczególnych tłuszczów [14]. Biodegradowalność długołańcuchowych kwasów tłuszczowych rośnie wraz ze zmniejszeniem ilości węgla w łańcuchu oraz zwiększeniem ilości wiązań nienasyconych. Zależność tę obserwowano również podczas badań, najszybciej i w 100% zostały usunięte kwasy nasycone C8:0 i C10:0 oraz nienasycone C16:1 i C18:2 (tab. 2).

Tabela 2

Stopień usunięcia [%] wyższych kwasów tłuszczowych ze ścieków w poszczególnych godzinach procesu

Czas procesu		po 2 h	po 6 h	po 24 h	po 72 h
nasycone	C8:0	100	100	100	100
	C10:0	100	100	100	100
	C14:0	53,4÷100	77,7÷100	100	100
	C16:0	27,1÷66,6	56,1÷68,3	69,5÷73,1	80,4*
	C18:0	4,9÷65	29,6÷61,6	50,8÷81,9	74,3*
	C22:0	100	100	100	100
nienasycone	C16:1	100	100	100	100
	C18:1	-10,9÷74,1	24,1÷65,3	-44,5÷64,1	47,3*
	C18:2	100	100	100	100

* - wartość średnia

Maksymalny stopień usunięcia kwasów nasyconych C16:0 i C18:0 jest mniejszy niż nienasyconych z tą samą długością łańcucha [14]. Po 2 h procesu biodegradacji stwierdzono całkowite usunięcie kwasów nienasyconych C16:1 i C18:2, przy jednoczesnym zmniejszeniu zawartości kwasów nasyconych maksymalnie o 66,6% (C16:0) i 65% (C18:0) (tab. 2). Równocześnie ich całkowite usunięcie oznaczone po 72 h wynosiło odpowiednio: 80,4 i 74,3%. Wyjątek stanowił kwas C18:1, dla którego obserwowano podczas całego procesu maksymalny przyrost 44,5% oraz maksymalny ubytek 74,1%.

Różnica w stopniu biodegradacji poszczególnych długołańcuchowych kwasów tłuszczowych może być związana również z ich rozpuszczalnością, np. kwas mirystynowy (C14:0) jest bardziej rozpuszczalny niż stearynowy (C18:0) [14]. Stąd obserwowane różnice w usunięciu tych kwasów już w drugiej godzinie procesu, odpowiednio od 53,4 do 100% oraz od 4,9 do 65% (tab. 2).

Wnioski

Badania nad usuwaniem kwasów tłuszczowych w procesie biologicznym oczyszczania ścieków wykazały już w pierwszych godzinach procesu szybki ubytek wszystkich kwasów nasyconych (C8:0 - C22:0) oraz nienasyconych C16:1 i C18:2. Jedynie zawartość kwasu C18:1 ulegała wahaniom. Podczas biodegradacji olejów i tłuszczów kwas oleinowy może być zarówno substratem, jak i półproduktem.

Podziękowanie

Praca naukowa została sfinansowana ze środków przeznaczonych na naukę w latach 2010-2012 jako projekt badawczy nr N N523 5535 38.

Literatura

- [1] Saatci Y., Arslan E.L., Konar V., Removal of total lipids and fatty acids from sunflower oil factory effluent by UASB reactor, *Bioresource Technology* 2003, 87, 269-272.
- [2] Lefebvre X., Paul E., Mauret M., Baptiste P., Capdeville B., Kinetic characterization of saponified domestic lipid residues aerobic biodegradation, *Wastewater Research* 1998, 32, 3031-3038.
- [3] Fernandez M.P., Ikonomou M.G., Buchanan I., An assessment of estrogenic organic contaminants in Canadian wastewaters, *Science of the Total Environment* 2007, 373, 250-269.
- [4] Gonzalez Casado A., Alonso Hernandez E.J., Vilchez J.L., Determination of fatty acids (C8-C22) in urban wastewater by GC-MS, *Wastewater Research* 1998, 32, 10, 3168-3172.
- [5] Man-hong Huang, Yong-mei Li, Guo-wei Gu, Chemical composition of organic matters in domestic wastewater, *Desalination* 2010, 262, 36-42.
- [6] Jeganathan J., Nakhla G., Bassi A., Long-term performance of high-rate anaerobic reactors for the treatment of oily wastewater, *Environ. Sci. Technol.* 2006, 40, 6466-6472.
- [7] Cammarota M.C., Freire D.M.G., A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content, *Bioresource Technology* 2006, 97, 2195-2210.
- [8] Jeganathan J., Bassi A., Nakhla G., Pretreatment on high oil and grease pet food industrial wastewaters using immobilized lipase hydrolyzation, *J. of Hazardous Materials* 2006, 137, 121-128.
- [9] Gonzalez Casado A., Alonso Hernandez E.J., Vilchez J.L., Determination of fatty acids (C8-C22) in urban wastewater by GC-MS, *Wastewater Research* 1998, 32, 10, 3168-3172.
- [10] Łobos-Moysa E., Dudziak M., Zastosowanie metody GC-MS do oznaczania zawartości kwasów tłuszczowych w ściekach zanieczyszczonych olejami jadalnymi, *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2011 (w druku).

- [11] Hermanowicz W., Dojlido J., Dożańska W., Koziarowski B., Zerbe J., Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków, Arkady, Warszawa 1999.
- [12] Wroniak M., Ramotowska J., Matuszewska M., Obiedziński M., Możliwość zastosowania oznaczenia izomerów trans kwasów tłuszczowych i 3,5-stigmastadienu do badania autentyczności olejów tłoczonych na zimno, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2006, 47, 2, 365-373.
- [13] Malarz W., Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, nr 52, Wrocław 2008.
- [14] Chipasa K.B., Mędrzycka K., Behavior of lipids in biological wastewater treatment processes, J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 2006, 33, 635-645.

Biodegradation Fatty Acids (C8:0 - C22:1) Contain in the Municipal Wastewater by Activated Sludge Method

The presence of High Fatty Acids (HFA) in wastewater can be connected with the supply of both, industrial and municipal wastewater. In the first case, the main source of those acids are wastewater coming from grocery industry (fatty and meat industry). In the case of municipal wastewater, the source of HFA are households and gastronomic facilities.

Simulated wastewater composed from organic-mineral broth and rape oil were used in the study in order to remove of HFA from wastewater via biological treatment. Oil emulsion was prepared in an InterSonic IS 5.5 ultrasonic washer and lasted for 24 h (based TOC change). The source of HFA was the enriched bullion, which comprised of the meat extract and plant oil. Fats biodegradation may be limited by their physical and chemical properties e.g. insolubility in water. The process starts with the enzymatic hydrolysis which removes fatty acids from the glycerol molecules of triglycerides. The final products in the aerobic process are carbon and water, while in the anaerobic one - carbon and methane.

The biodegradation process was carried out in 31 sequential bioreactors under low activated sludge load condition (0,13÷0,17 gBOD₅/g_{TS}·d). The process was stopped after 2, 6, 24 and 72 h followed by activated sludge sedimentation and samples were taken for chemical analysis. The effectiveness of the treatment was established by the decrease of concentration of following saturated acids: octanoic (C8:0), decanoic (C10:0), myristic (C14:0), palmitic (C16:0), stearic (C18:0), behenic (C22:0) and unsaturated acids: palmitoleic (C16:1), oleic (C18:1), linoleic (C18:2).

The highest changes in the concentration of investigated acids in the first several hours of the process were observed for myristic, palmitic and stearic acids whereas the total removal of octanoic, decanoic, behenic, palmitoleic and linoleic acid occurred. The concentration of oleic acid was constantly fluctuating.

Keywords: edible oil, fatty acids, wastewaters, activated sludge, aerobic condition