

Katarzyna Piekarska, Joanna Pawlak

Ocena skuteczności osadu czynnego w oczyszczaniu ścieków zaolejonych

Intensywny rozwój przemysłu petrochemicznego jest źródłem zanieczyszczenia środowiska naturalnego produktami ropopochodnymi, a wszędzie tam, gdzie stosuje się produkty naftowe, mogą powstawać zaolejone ścieki [1]. Głównymi składnikami produktów naftowych są węglowodory (alifatyczne, cykliczne i aromatyczne) [2]. Związki o budowie aromatycznej oraz niektóre alkany mają nie tylko właściwości toksyczne, ale mogą być także mutagenne i rakotwórcze [3,4]. Unieszkodliwianie tych związków polega głównie na ich enzymatycznym rozkładzie przez drobnoustroje. Do tej pory w biologicznym oczyszczaniu ścieków stosowane są metody oparte na naturalnym doborze mikroflory, ukształtowanej losowo. Jednakże te metody nie zawsze pozwalają na szybką i skuteczną biodegradację trudno rozkładalnych związków chemicznych. Dlatego też prowadzone są badania zmierzające w kierunku stosowania aktywnych, czystych kultur bakterii w celu zwiększenia efektywności procesu oczyszczania ścieków. Kultury takie rozkładają wysokie stężenia związków chemicznych w krótkim czasie, przyspieszając przebieg procesów biochemicznych w osadzie czynnym [5]. Metoda ta wymaga poszukiwania takich szczepów bakterii, które byłyby zdolne do wykorzystywania ropy naftowej i jej pochodnych jako źródła energii, a z drugiej strony aby produkty ich przemian metabolicznych były nieszkodliwe dla środowiska naturalnego [6].

Niniejsza praca dotyczy próby zwiększenia efektywności procesu biologicznego oczyszczania ścieków z zawartością oleju napędowego. Efektywność tę starano się zwiększyć dwiema metodami:

- doszczepiając osad czynny szczepami bakterii aktywnie rozkładającymi składniki oleju napędowego,
- wprowadzając dodatkowe, łatwo przyswajalne źródła węgla i azotu polepszające warunki egzystencji bakterii osadu czynnego.

Materiał i metody

Mikroorganizmy rozkładające składniki oleju napędowego wyizolowano z gleby pobranej z okolic wrocławskich stacji benzynowych. Wyizolowane szczepy oceniono pod kątem ich cech fizjologicznych i biochemicznych. Oceniono także intensywność wzrostu poszczególnych bakterii na podłożu z olejem napędowym, pochodzącym z Mazowieckich Zakładów Petrochemicznych, jako jedynym źródłem węgla [7]. Następnie metodą płytkową wykonano badania sprawdzające występowanie reakcji antagonistycznych pomiędzy szczepami aktywnymi wobec oleju

napędowego a mikroorganizmami osadu czynnego. Do dalszych badań wybrano szczepy bakterii z rodzaju *Bacillus* A1, A7 i *Alcaligenes* A5. Ścieki syntetyczne umieszczono w komorze napowietrzania i zaszczerpiono osadem czynnym. Codziennie z komory napowietrzania, po półgodzinnej sedymentacji osadu czynnego, odprowadzano ciecz nadosadową zawierającą produkty przemiany materii mikroorganizmów. Na to miejsce wprowadzano ścieki syntetyczne zawierające sole mineralne oraz bulion i pepton jako źródło węgla. Po wyhodowaniu odpowiedniej ilości osadu czynnego przystąpiono do właściwego eksperymentu.

Badania przeprowadzono w pięciu modelowych komorach napowietrzania o pojemności 3 dm³, natlenianych powietrzem atmosferycznym, w temperaturze pokojowej przez 21 dob. Skład komór napowietrzania z hodowlą osadu czynnego był następujący:

- ♦ komora 1 – osad czynny + ścieki syntetyczne z bulionem i peptonem,
- ♦ komora 2 – zaszczerp bakteryjny + osad czynny + ścieki syntetyczne z bulionem i peptonem,
- ♦ komora 3 – osad czynny + ścieki syntetyczne z olejem napędowym,
- ♦ komora 4 – zaszczerp bakteryjny + osad czynny + ścieki syntetyczne z olejem napędowym,
- ♦ komora 5 – osad czynny + ścieki syntetyczne z bulionem i peptonem oraz z olejem napędowym.

Pracę osadu czynnego oceniano raz na dobę w oparciu o wartości następujących parametrów:

- indeks objętościowy osadu czynnego [9],
- obraz mikroskopowy i makroskopowy osadu czynnego [10],
- ogólna liczba wolno pływających bakterii w ściekach oczyszczonych [11],
- aktywność dehydrogenazowa osadu czynnego [12],
- stężenie kwasów tłuszczowych w ściekach oczyszczonych [13],
- obciążenie osadu czynnego ładunkiem BZT₅ [9],
- zmiany BZT₅ ścieków podczas biodegradacji [14].

Bardziej szczegółowej analizy przebiegu procesu biodegradacji dokonano na podstawie chromatografii gazowej w połączeniu ze spektroskopią masową (GC/MS). Olej napędowy użyty do badań w ilości 867 g/m³ zawierał ponad 75 różnych węglowodorów. Analiza ubytku każdego związku lub powstających metabolitów była utrudniona, wobec czego całkowitą analizę stężenia oleju w próbach przeprowadzono sumując powierzchnię pod pikami, które jako masowe piki podstawowe posiadały pik A(57) charakterystyczny dla węglowodorów. W tym celu z komór napowietrzania

pobierano po 100 cm³ ścieków surowych i oczyszczonych, i poddawano ekstrakcji 100 cm³ chloroformu. Tak przygotowane ekstrakty, po uprzednim odwodnieniu bezwodnym siarczanem sodu, poddawano następnie analizie GC/MS. W celu oceny stopnia chemooksydacji oleju napędowego analizę GC/MS wykonano także dla ekstraktów z komory napowietrzania zawierającej jedynie wodny roztwór oleju napędowego w stężeniu stosowanym w innych komorach.

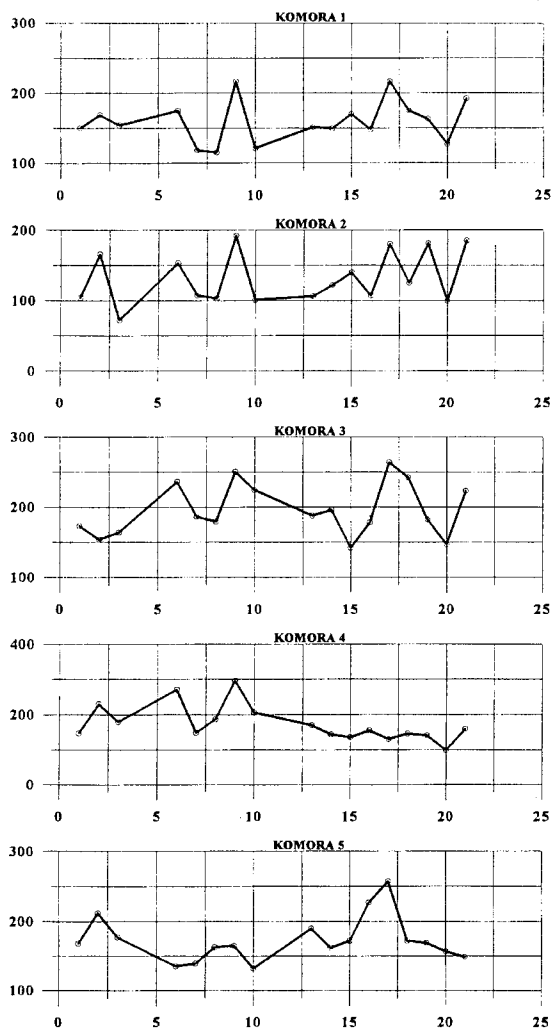
Niektóre składniki ropy naftowej, a tym samym produktów ropopochodnych, mają właściwości rakotwórcze. Również w procesie biodegradacji tych związków mogą powstawać mutagenne metabolity. Z tych przyczyn dokonano oceny potencjalnych właściwości mutagennych i rakotwórczych oleju napędowego oraz ścieków oczyszczonych. Badania te przeprowadzono przy pomocy testu Ames [15]. Test wykonano z dodatkiem i bez dodatku aktywatora metabolicznego, czyli frakcji S-9, oraz przy zastosowaniu szczepów testowych *Salmonella typhimurium* TA98 i TA100. W tym celu ekstrakty chloroformowe sporządzone ze 100 cm³ ścieków oczyszczonych odparowano do sucha w cieplarni w temperaturze 37 °C. Następnie suchą pozostałość rozpuszczono w 2 cm³ DMSO. Tak przygotowane próby wprowadzono do testu w ilości 0,1 cm³ na płytkę w pięciu powtórzeniach (5·10⁻³ cm³ oleju napędowego na płytkę). W teście przebadano również

surowy olej napędowy wprowadzając na płytkę następujące jego objętości: 20·10⁻³; 10·10⁻³; 5·10⁻³; 2,5·10⁻³; 1,25·10⁻³ cm³.

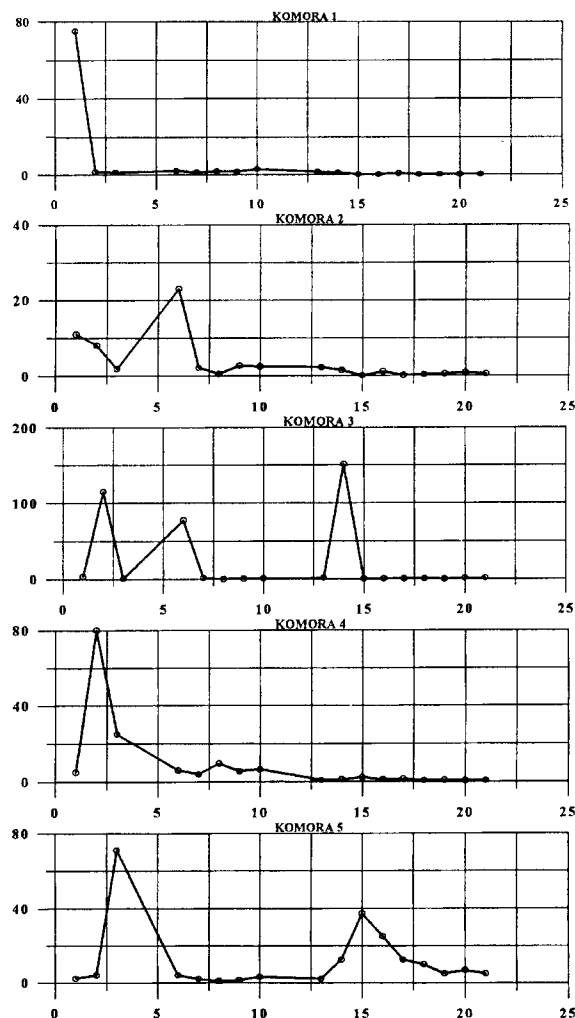
Wyniki badań

Efekty pracy osadu czynnego oceniano pod względem technologicznym, biologicznym oraz biochemicznym. Wartości indeksów objętościowych osadu czynnego we wszystkich komorach podlegały znacznym wahaniom. Z biegiem czasu indeks osadu z komory 4 wykazywał tendencję spadkową, podczas gdy wartości indeksów osadu w komorze 3 utrzymywały się na wysokim poziomie (rys.1).

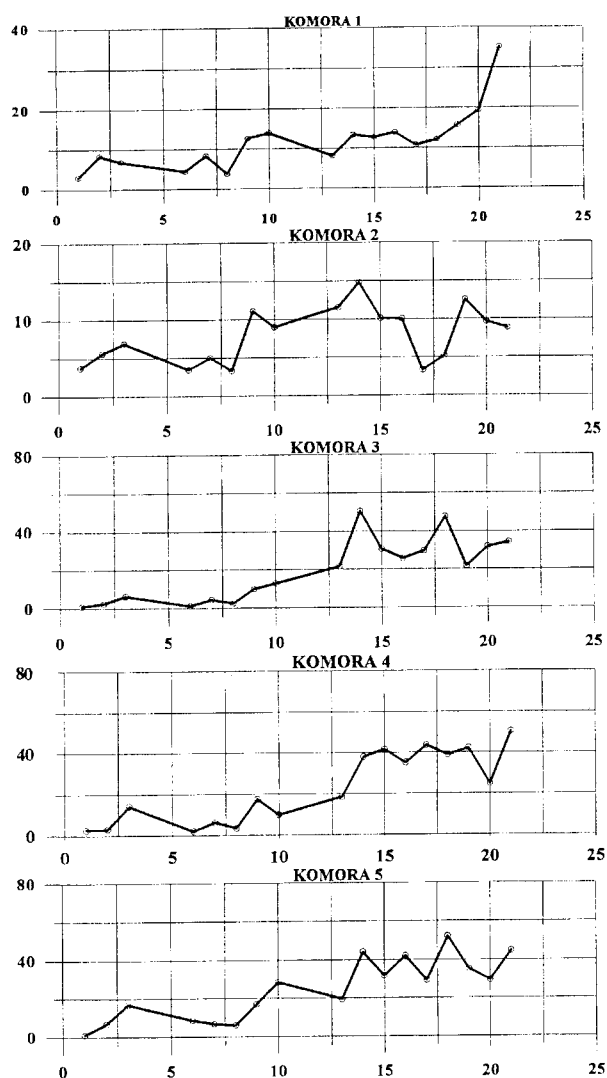
Osad czynny użyty do badań charakteryzował się obecnością licznych zoogłęalnych skupisk bakterii. Spośród pierwotniaków nielicznie występowały rodzaje *Arcella*, *Vorticella* i *Euplotes*, a spośród wrotków rodzaje *Rotatoria*, *Rotifer* i *Monostyla*. Osad czynny miał ciemnobrunatną barwę i dobrze sedimentował. Na początku eksperymentu, w komorach z dodatkiem oleju napędowego (komory 3, 4 i 5), pojawiła się niewielka liczba form nitkowatych bakterii oraz zmniejszyła się liczba orzęsków wolno pływających i osiadłych oraz wrotków. Pogorszyły się też właściwości sedimentacyjne osadu. Około trzynastej doby badań zaobserwowano w komorach 4 i 5 wzrost liczby skupisk zoogłęalnych



Rys.1. Zmiany indeksu osadu czynnego (cm³/g)



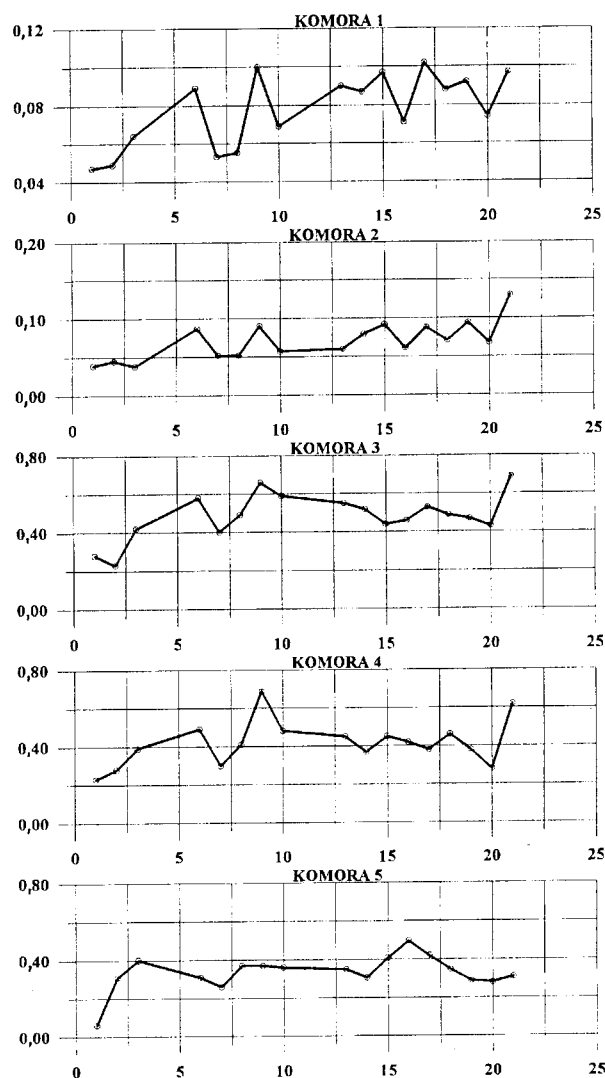
Rys.2. Zmiany ogólnej liczby bakterii w 1 cm³ ścieków oczyszczonych (·10⁶)



Rys.3. Zmiany aktywności dehydrogenazowej osadu czynnego (gTF/gsm)

oraz liczby orzęsków wolno pływających (*Aspidisca costata*, *Paramecium caudatum*) i osiadłych (*Vorticella* i *Opercularia*). Pojawiły się też jaja wrotków, a pod koniec procesu pojedyncze wrotki z rodzaju *Rotatoria*. Jedynie w komorze 3 utrzymywała się nadal niewielka liczba form nitkowatych bakterii oraz mała liczba orzęsków wolno pływających i osiadłych. Wzrosła natomiast liczba wiciowców (*Flagellata*) i korzenionózek (*Arcella*). W komorach kontrolnych przez cały czas występowały liczne organizmy z rodzaju *Euplotes*, *Aspidisca*, *Vorticella*, *Rotatoria* i *Monostyla*. Ścieki odprowadzane z komór napowietrzania były przejrzyste przez cały czas trwania eksperymentu. Ścieki odprowadzane z komór, do których był dozowany olej napędowy miały barwę lekko żółtą. Ścieki z komór kontrolnych były bezbarwne, czasem lekko opalizujące, zwłaszcza w komorze drugiej z dodatkiem mieszanej populacji bakterii. Nie zauważono zmętnienia bądź pienia się ścieków odprowadzanych z komór 2 i 4 zawierających zaszczerp bakteryjny.

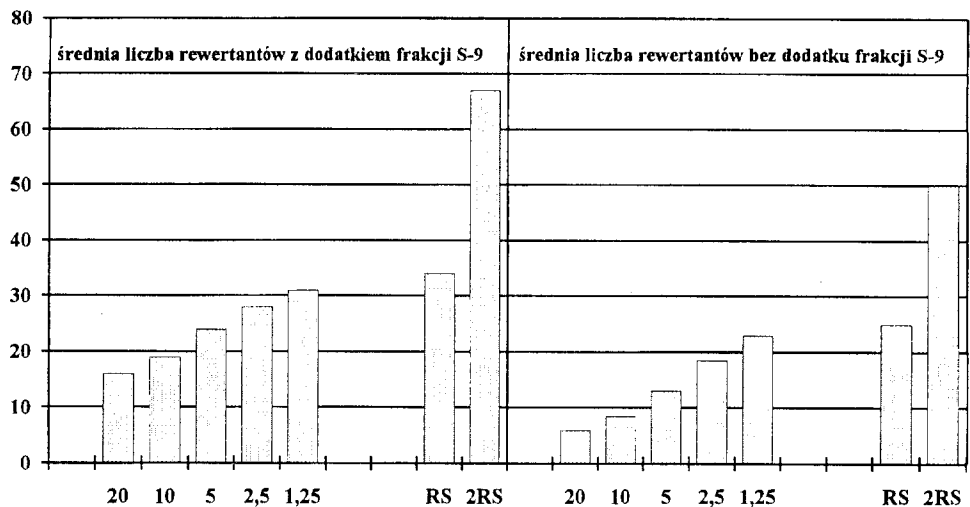
W pierwszych siedmiu dobach trwania procesu oczyszczania ścieków ogólna liczba bakterii w odplywach z komór napowietrzania podlegała dużym wahaniom (rys.2). W komorze 1 liczba ta ustaliła się najszybciej, bo w drugiej dobie procesu, na pozio-

Rys.4. Zmiany obciążenia osadu czynnego ładunkiem BZT₅ (gO₂/gsmd)

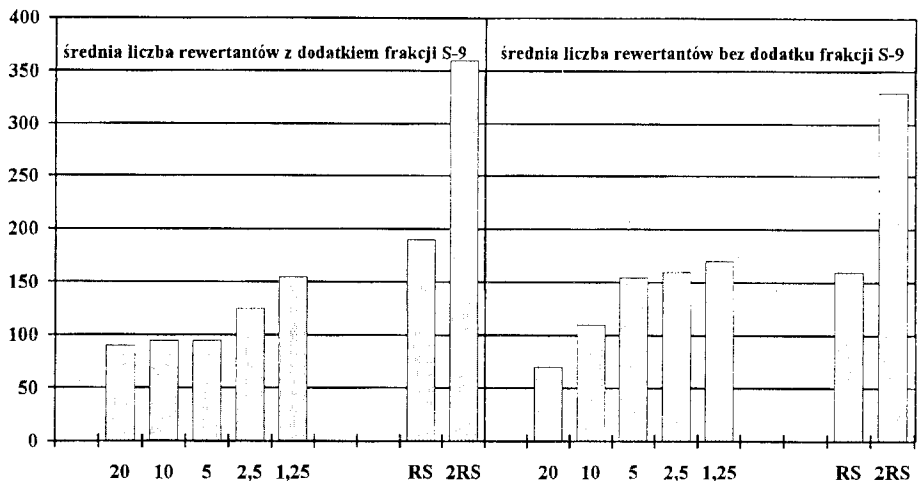
mie około $2 \cdot 10^6$ bakterii w 1 cm^3 . W pozostałych komorach liczba bakterii w odplywie ustaliła się około siódmej doby trwania procesu oczyszczania na średnim poziomie około $3 \cdot 10^6$ bakterii w 1 cm^3 ścieków. Stała i niewysoka liczba bakterii w odplywach świadczyła o dobrym stanie osadu czynnego i prawidłowej sedymentacji komórek bakterii wraz z biomasą osadu, zwłaszcza w przypadku komór 2 i 4, gdzie osad czynny został doszczepiony aktywnymi szczepami bakteryjnymi.

W komorach z olejem napędowym zaobserwowano duże zmiany aktywności dehydrogenazowej (rys.3). Charakterystyczny dla komór zawierających olej napędowy był wyraźny wzrost aktywności enzymatycznej po ośmiu dobach eksperymentu, utrzymujący się do końca na wyższym poziomie, w przeciwieństwie do niższej aktywności dehydrogenazowej w komorach 1 i 2. Świadczy to o pełnym zaadaptowaniu się osadu czynnego po ośmiu dobach do oczyszczania ścieków zaolejonych.

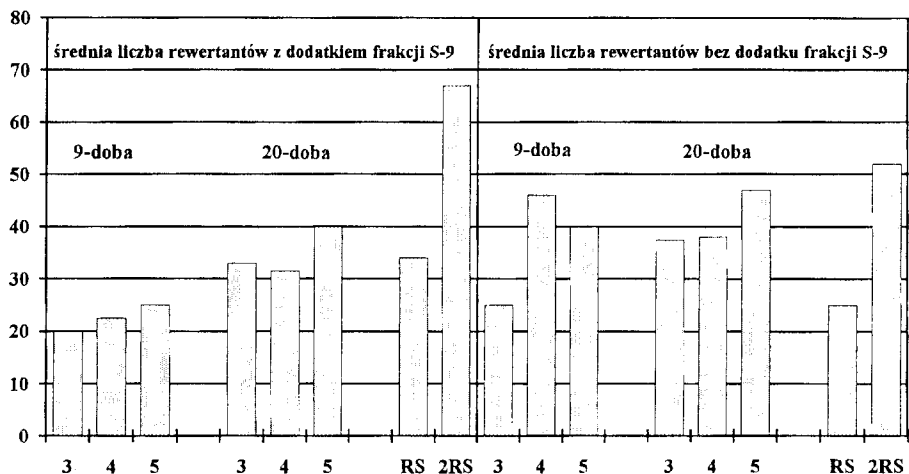
Wiadomo, że rozkład węglowodorów alifatycznych i aromatycznych zachodzi w warunkach tlenowych z wytworzeniem odpowiedniego alkoholu, aldehydu i kwasu tłuszczowego, który potem ulega procesowi β -oksydacji. Dlatego też podjęto próbę analizy ilościowej kwasów tłuszczowych w odplywach ze wszy-



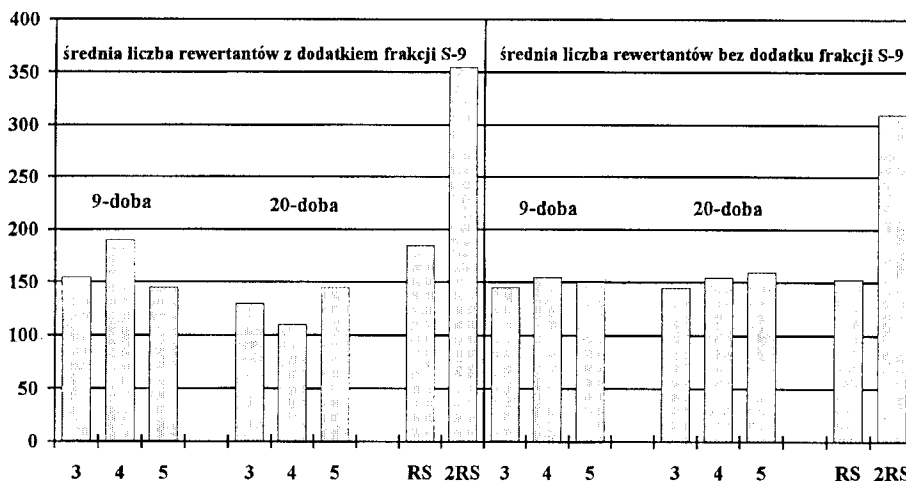
Rys.5. Wyniki badań bioindykacyjnych oleju napędowego metodą testu Ames, szczep *S.typhimurium* TA98 (objętość próbek w $\text{cm}^3 10^{-3}$)
RS-rewersja spontaniczna, 2RS-dwukrotna liczba rewertantów



Rys.6. Wyniki badań bioindykacyjnych oleju napędowego metodą testu Ames, szczep *S.typhimurium* TA100 (objętość próbek w $\text{cm}^3 10^{-3}$)
RS-rewersja spontaniczna, 2RS-dwukrotna liczba rewertantów



Rys.7. Wyniki badań bioindykacyjnych ścieków oczyszczonych (komory 3,4,5) metodą testu Ames, szczep *S.typhimurium* TA98
RS-rewersja spontaniczna, 2RS-dwukrotna liczba rewertantów



Rys.8. Wyniki badań bioindykacyjnych ścieków oczyszczonych (komory 3,4,5) metodą testu Ames, szczep *S.typhimurium* TA100
RS-rewersja spontaniczna, 2RS-dwukrotna liczba rewertantów

stkich komór. Stężenie kwasów tłuszczowych w odpływach wahało się w granicach $0,6 \div 1,0 \text{ mol/m}^3$. Zarówno stałe stężenie kwasów tłuszczowych jak i stała wartość pH w granicach $7,0 \div 7,6$ świadczy o ustaleniu się równowagi pomiędzy powstawaniem a dalszą biodegradacją kwasów tłuszczowych powstałych z węglowodorów oleju napędowego.

Do komór napowietrzania dawkowano ścieki o ustalonym składzie, stąd też obciążenia biomasy osadu czynnego ładunkiem BZT₅ powinny się zmieniać w niewielkim zakresie. W komorach 1 i 2, nie zawierających ścieków zaolejonych, osad obciążony był najmniejszym ładunkiem BZT₅. Jego wartości utrzymywały się na stałym, niskim poziomie przez 21 dób. Komory 3 i 4 charakteryzowały się większymi obciążeniami biomasy osadu czynnego, których wartości ulegały znacznym wahaniom, zwłaszcza w komorze 3. Do komory 5 dozowane były ścieki o największym ładunku BZT₅, ale ze względu na znacznie szybszy, w porównaniu z komorami 3 i 4, przyrost biomasy, obciążenie osadu czynnego było stosunkowo niskie i utrzymywało się od trzeciej doby na mniej więcej stałym poziomie (rys.4).

Po trzeciej, dziewiątej i dwudziestej dobie wykonano także pomiary BZT₅ ścieków surowych i oczyszczonych w celu określenia wartości usuniętego BZT₅. W trzeciej dobie badań wartości usuniętego BZT₅ w komorach z olejem napędowym były dość znaczne, zwłaszcza dla komór 4 i 5 (ok. 70 %). Najlepsze rezultaty uzyskano w dziewiątej dobie, kiedy to BZT₅ zostało obniżone o $70 \div 80$ %. Około dwudziestej doby badań nastąpiło pogorszenie efektywności oczyszczania ścieków w komorach 3 (34,4 %) i 4 (43 %), natomiast w komorze 5 obniżka BZT₅ utrzymywała się nadal na wysokim poziomie (79,3 %).

Postęp biodegradacji oleju napędowego w ściekach, oceniany na podstawie analizy GC/MS, był największy w komorze 5. W dwudziestej dobie badań spadek stężenia oleju napędowego dla tej komory wyniósł 88,4 %. W komorze 4 ubytek oleju był również znaczny i wyniósł 70,9 %. Jedynie w komorze 3 sprawność osadu czynnego pogorszyła się, gdyż jeszcze w dziewiątej dobie trwania procesu oczyszczania usuwanie oleju napędowego wynosiło 66,2 %, lecz w dwudziestej dobie już tylko 41,9 %. Niebiologiczny ubytek oleju napędowego w wyniku chemooksydacji wyniósł 9 %.

Wyniki testu Ames, określające potencjalne właściwości mutagenne i rakotwórcze składników ścieków oraz surowego oleju

napędowego, przedstawiono na rysunkach 5÷8. Surowy olej napędowy, w stężeniu wprowadzonym do testu, nie posiadał właściwości mutagennych (rys. 5 i 6). Podobny wynik otrzymano w przypadku ścieków oczyszczonych (rys.7 i 8) z czego wynika, iż metabolity powstałe na drodze biologicznego utleniania składników oleju napędowego nie mają właściwości mutagennych.

Wnioski

1. Ścieki zaolejone powinny być poddawane procesowi mikrobiologicznego oczyszczania, gdyż niektóre węglowodory wchodzące w ich skład są toksyczne dla środowiska.

2. Szczepy mikroorganizmów stosowane do mikrobiologicznej stymulacji muszą być wstępnie przebadane pod kątem ich zdolności do enzymatycznego rozkładu składników oleju napędowego oraz pod kątem ich zdolności do adaptacji w osadzie czynnym, aby mogły stać się stałym elementem jego biocenozy.

3. Osad czynny doszczepiany bakteriami aktywnie rozkładającymi składniki oleju napędowego biodegradował ścieki zaolejone. Spadek zawartości oleju napędowego w odpływie wyniósł 70,9 % i był o około 30 % większy w porównaniu do osadu czynnego niedoszczepionego bakteriami.

4. Dobre efekty oczyszczania ścieków olejowych dało wprowadzenie do osadu czynnego dodatkowych, łatwo przyswajalnych źródeł węgla i azotu. Dzięki temu w komorze 5 panowały najlepsze warunki egzystencji bakterii osadu czynnego, a skuteczność rozkładu składników oleju napędowego była tu o ponad 40 % większa niż w osadzie nie wzbogaconym dodatkowymi związkami pokarmowymi.

5. Pełna adaptacja osadu czynnego do oczyszczania ścieków zawierających węglowodory nastąpiła po ośmiu dobach procesu, kiedy to obserwowano stopniowe polepszenie parametrów technologicznych oraz stanu mikroflory osadu czynnego.

6. Nie stwierdzono obecności związków o działaniu mutagennym w ściekach oczyszczonych w ciągu dwudziestu jeden dób trwania eksperymentu.

LITERATURA

1. E. GOMÓŁKA: Usuwanie i unieszkodliwianie zanieczyszczeń olejowych zawartych w ściekach. Prace Naukowe Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska PWr., Monografie nr 19, Wrocław 1987.
2. W. KUCZYŃSKI: Technologia chemiczna gazu ziemnego i ropy naftowej z elementami petrochemii cz. I. Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu, Poznań 1972.
3. J. DOJLIDO, A. DRASZKIEWICZ, B. SŁOMCZYŃSKA: Acute toxicity of petrochemical wastes from mazovian refining and petrochemical plant on aquatic organisms. *Archiwum Ochrony Środowiska*, 1978, nr 1, ss. 39-56.
4. T. DUTKIEWICZ i in.: Wielopierścieniowe węglowodory w środowisku przyrodniczym. Instytut Kształtowania Środowiska, PWN, Warszawa 1988.
5. R. KOCWA-HALUCH: Korzystny wpływ szczepionki z *Rhodotorula glutinis* na pracę osadu czynnego oczyszczającego ścieki koksownicze. Politechnika Krakowska, Monografia nr 110, Kraków 1991.
6. J. PIWOWARCZYK, M. DEMCZAK, E. BIBER: Zagrożenie rozlewami naftowymi i sposoby ich likwidacji. *Aura*, 1993, nr 1.
7. B. KOŁWZAN: Biodegradacja zanieczyszczeń o charakterze toksycznym i mutagennym. Raporty Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej, nr SPR-5, Wrocław 1993.
8. A. ZAJĄCZKOWSKA-STEMPŁOWSKA: Wpływ wybranych związków toksycznych miedzi, niklu i kadmu na przebieg procesu oczyszczania ścieków za pomocą osadu czynnego w warunkach konwencjonalnych. Praca doktorska, Politechnika Warszawska, Warszawa 1969.
9. W. HERMANOWICZ i in.: Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków. Arkady, Warszawa 1976.
10. H. KLIMOWICZ: Znaczenie mikrofauny przy oczyszczaniu ścieków osadem czynnym. Instytut Kształtowania Środowiska, Warszawa 1983.
11. M. PAWLACZYK-SZPIŁOWA: Ćwiczenia z mikrobiologii wody i ścieków, PWN, Warszawa 1980.
12. A. KŁAPWIJK, J. DRENT, J. H. A. STEENVOORDEN: A modified procedure for the TTC-dehydrogenasa test in activated sludge. *Water Research*, 1974, No. 8, pp. 121-125.
13. PN-54/C-04074: Oleje emulgujące. Oznaczanie liczby kwasowej.
14. J. GAŃCZARCZYK: Oczyszczanie ścieków metodą osadu czynnego. Arkady, Warszawa 1969.
15. B. N. AMES, J. McCANN, E. YAMASAKI: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella/mammalian-microsome* mutagenicity test. *Mutation Research*, 1975, No. 31, pp. 347-364.

ASSESSING THE EFFICIENCY OF ACTIVATED SLUDGE IN THE TREATMENT OF OIL-SPILLED WASTEWATER

The objective of the study was to increase the efficiency of biological treatment, when the wastewater to be treated was spilled with diesel oil. The experiments involved three types of sludge samples – conventional activated sludge, activated sludge inoculated with bacterial strains utilizing oil as the only energy source, and nutrient-enriched activated sludge. The biodegradation effect was analyzed for each oil component on the basis of technological, biological and biochemical investigations. Oil concentrations in treated and untreated wastewater samples were determined

by gas chromatography and mass spectroscopy (GC/MS). The Ames test was used for detecting the presence of mutagenic and cancerogenic substances in the same samples. It was found that inoculation and nutrient-enrichment of the activated sludges had a favourable effect on the biodegradation of the diesel oil components, increasing the treatment efficiency by 30 % and 40 %, respectively. No mutagenic and cancerogenic substances were detected either in treated or untreated wastewater samples.