

OCENA WPŁYWU ACETONOCYJANOHYDRYNY NA ROZWÓJ MIKROORGANIZMÓW W OSADZIE CZYNNYM

Acetonocyjanohydryna jest ciekłą, niebezpieczną substancją chemiczną przewożoną luzem statkami przez polskie obszary morskie. Należy do kategorii MARPOL Y – oznacza to, że jej zrzucenie do morza ze zbiorników (w wyniku ich mycia lub usuwania balastu) stanowi zagrożenie dla zasobów morskich. Celem pracy była ocena wpływu acetonocyjanohydryny na rozwój mikroorganizmów w osadzie czynnym. Badania wykonano z wykorzystaniem osadu czynnego pochodzącego z biologicznej oczyszczalni ścieków. Ocenę przeprowadzono za pomocą testów respirometrycznych. Wyniki testu wykazały, że substancja zawierająca łatwo przyswajalne źródła węgla, benzoesan sodu o stężeniu $2,5 \text{ mg/dm}^3$, powoduje 53-procentowy wzrost aktywności oddechowej mikroorganizmów osadu czynnego. Natomiast acetonocyjanohydryna w stężeniu $2,5 \text{ mg/dm}^3$ wykazuje 29,5-procentową inhibicję wzrostu mikroorganizmów. Tym samym test wykazał, że acetonocyjanohydryna nie stanowi przyswajalnego źródła węgla dla mikroorganizmów osadu czynnego.

Słowa kluczowe: acetonocyjanohydryna, biodegradacja, osad czynny, test respirometryczny.

WSTĘP

Dynamiczny rozwój przemysłu chemicznego w świecie powoduje wzrost zapotrzebowania na substancje chemiczne, które niejednokrotnie posiadają niebezpieczne i szkodliwe właściwości. Transport wielu z nich odbywa się drogą morską. Zarówno w wypadku rozlewu powstałego w wyniku katastrofy czy awarii, jak i w czasie normalnej eksploatacji terminali portowych ładunki te stanowią poważne zagrożenie dla środowiska morskiego. Szczególne zagrożenia ze strony toksycznych środków chemicznych występują dla obszaru Morza Bałtyckiego, będącego obszarem wyjątkowo chronionym. Podczas oceny szkodliwości skutków rozlewu substancji chemicznej w akwenu morskim istotna jest znajomość czasu jej biodegradacji pod wpływem mikroorganizmów zawartych w tym środowisku.

Bardzo przydatny element oceny podatności substancji na biodegradację, bądź oceny ich toksyczności, w stosunku do wybranych grup mikroorganizmów, stanowi test respirometryczny. Wzrost komórek mikroorganizmów charakteryzuje się zużyciem przez nie tlenu. W przypadku toksycznego wpływu badanej substancji zużycie tlenu maleje, a wzrost biomasy jest ograniczony. Natomiast gdy obserwuje się wzrost zużycia tlenu, można spodziewać się podatności badanej substancji na biodegradację. Wynik testu respiracyjnego nie jest jednak jednoznaczny z biorozkładem substancji. W przypadku, gdy badana substancja nie jest jedyną pożywką dla

mikroorganizmów, może ona stanowić czynnik ułatwiający mikroorganizmom dostęp do pozostałych substratów w pożywce, a nie ulegać pod ich wpływem degradacji.

Organizacja Współpracy Gospodarczej i Rozwoju (OECD) opracowała test OECD TG 209 określający metodę oceny wpływu badanej substancji na mikroorganizmy osadu czynnego [1]. Osad czynny to żywa, gęsta, kłaczkowata zawiesina mikroorganizmów, złożona głównie z bakterii heterotroficznych (ich funkcja polega na enzymatycznym rozkładzie związków organicznych i syntezie własnych składników komórek) oraz pierwotniaków [2]. Ze względu na znaczne zróżnicowanie mikroorganizmów, jak również ich duże stężenie osad czynny ma szerokie możliwości enzymatyczne, pozwalające na rozkład substratów o różnorodnej budowie chemicznej. Test OECD TG 209 jest szybkim przesiewowym testem i dobrym wskaźnikiem toksyczności. Przy stosowaniu go dla szerokiego zakresu stężeń badanej substancji jego wyniki mogą również służyć wyznaczaniu stężenia nieinhibującego, co przydatne jest przy doborze zakresu stężeń w badaniach jej podatności na biodegradację.

1. METODYKA BADAŃ

1.1. Test respirometryczny

Osad czynny pobrano bezpośrednio z reaktora biologicznej oczyszczalni ścieków, po fazie tlenowej mineralizacji ścieków. Tak pobrany osad napowietrzano przez 3 godziny, aby zminimalizować poziom ewentualnych zanieczyszczeń. W celu utrzymania prawidłowej kondycji osadu czynnego zasilono go ściekami syntetycznymi, zawierającymi źródło pierwiastków niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania mikroorganizmów. W skład 1 dm³ ścieków syntetycznych wchodziły: 150 mg ekstraktu wołowego, 50 mg szarego mydła, 50 mg glicyny, 10 mg octanu sodu, 20 mg mocznika, 7 mg MgSO₄·7H₂O, 30 mg NaCl, 7 mg KCl oraz 7 mg CaCl₂.

Do 4 dm³ osadu, o zawartości suchej masy osadu ok. 4 g/dm³, dodano 1 dm³ ścieków syntetycznych. Próbę kontrolną („tło”) stanowiły ścieki syntetyczne niezawierające żadnego dodatkowego źródła węgla. W pozostałych próbach, jako źródło węgla, do ścieków dodano badaną substancję w stężeniu 2,5 mg/dm³. Osad zasilony ściekami napowietrzano przez godzinę, utrzymując stężenie tlenu 3 mg/dm³.

Następnie wykonano pomiary respirometryczne. W tym celu pobrano 1 dm³ osadu czynnego, natleniono do poziomu 7 mg O₂/dm³, wyłączono napowietrzanie i mierzono stężenie tlenu aż do jego wyczerpania. W celu określenia szybkości zużycia tlenu przez osad czynny (OUR) posłużono się tlenomierzem CPO-401 polskiej firmy Elmetron. Odczytywane na nim dane były przekazywane do komputera. Na ich podstawie wykreślono respirogram, przedstawiający zależność zmian stężenia tlenu w czasie. Szybkość zużycia tlenu (OUR) obliczono z zależności [3]:

$$OUR = \frac{c_p - c_k}{\Delta t}, \quad (1)$$

gdzie:

OUR – prędkość poboru tlenu [$\text{mg O}_2/\text{dm}^3 \cdot \text{h}$],

c_p – stężenie tlenu początkowe [$\text{mg O}_2/\text{dm}^3$],

c_k – stężenie tlenu końcowe [$\text{mg O}_2/\text{dm}^3$],

Δt – czas zmiany stężenia tlenu z wartości c_p do c_k [h].

Inhibicję aktywności oddechowej wyrażono jako procent obniżenia wartości OUR w stosunku do próby kontrolnej ze wzoru [3]:

$$I = \frac{OUR_0 - OUR_x}{OUR_0} \cdot 100\%, \quad (2)$$

gdzie:

I – procent inhibicji,

OUR_0 – szybkość zużycia tlenu przez osad czynny w próbie kontrolnej [$\text{mgO}_2/\text{dm}^3 \cdot \text{h}$],

OUR_x – szybkość zużycia tlenu przez osad czynny w obecności badanej próby [$\text{mgO}_2/\text{dm}^3 \cdot \text{h}$].

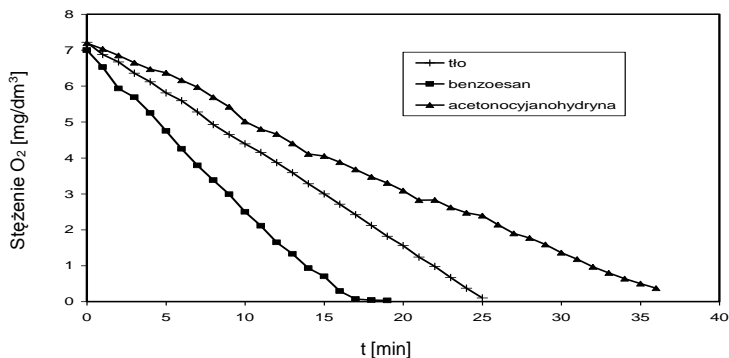
2. MATERIAŁ BADAWCZY

Materiał badawczy do sprawdzenia podatności na biodegradację stanowiły:

- **benzoesan sodu** – jako substancja referencyjna, podatna na rozkład w procesie biodegradacji;
- **acetonocyjanohydryna** – $(\text{CH}_3)_2\text{C}(\text{OH})\text{CN}$ – wybrana z wykazu niebezpiecznych substancji chemicznych przewożonych luzem przez polskie obszary morskie – substancja o kategorii MARPOL Y (szkodliwe substancje ciekłe, które zrzucone do morza ze zbiorników w wyniku ich mycia lub usuwania balastu stanowią zagrożenie dla zasobów morskich lub zdrowia ludzkiego, lub uniemożliwiają inne zgodne z prawem wykorzystanie zasobów morza i dlatego ich zrzut do morza jest ograniczony).

3. WYNIKI

Na rysunku 1 przedstawiono pobór tlenu przez mikroorganizmy osadu czynnego w obecności odpowiednio: benzoesanu sodu, acetonocyjanohydryny oraz w próbie kontrolnej („tło”). Miarą szybkości reakcji poboru tlenu przez mikroorganizmy jest współczynnik kierunkowy stycznych do prostoliniowej części krzywych respirometrycznych. W przypadku inhibicji szybkość ta maleje. Im wolniejsza reakcja, tym mniejsze nachylenie krzywych. Obserwowane zmniejszenie nachylenia krzywej dla acetonocyjanohydryny stanowi konsekwencję spadku aktywności oddechowej osadu czynnego.



Rys. 1. Pobór tlenu przez mikroorganizmy osadu czynnego w obecności benzooesanu sodu, acetonocyjanohydryny oraz w próbie kontrolnej („tlo”)

Fig. 1. Oxygen consumption by activated sludge microorganisms in the presence of acetone cyanohydrin sodium benzoate and control sample

Stopień zużycia tlenu (OUR) przez 1 g osadu czynnego (w przeliczeniu na suchą masę) w ciągu godziny dla badanych prób wynosił odpowiednio 5,97 mg O₂/g s.m. · h, 2,75 mg O₂/g s.m. · h oraz 3,9 mg O₂/g s.m. · h.

Wyniki testu wykazały, że benzoosan sodu o stężeniu 2,5 mg/dm³, stanowiący łatwo przyswajalne źródła węgla, powoduje 53-procentowy wzrost aktywności oddechowej mikroorganizmów osadu czynnego. Natomiast acetonocyjanohydryna w stężeniu 2,5 mg/dm³ wykazuje 29,5-procentową inhibicję wzrostu mikroorganizmów.

PODSUMOWANIE

Przeprowadzone badania wykazały, że acetonocyjanohydryna wpływa hamująco na aktywność oddechową mikroorganizmów osadu czynnego. Obecność tego związku w środowisku, nawet przy niskim stężeniu (2,5 mg/dm³), wykazuje znaczną (29,5-procentową) inhibicję wzrostu mikroorganizmów w stosunku do próby kontrolnej. Aktywność oddechowa mikroorganizmów w osadzie czynnym w obecności benzooesanu sodu (o stężeniu 2,5 mg/dm³), stanowiącego łatwo przyswajalne źródło węgla, wzrosła o 53% w stosunku do próby kontrolnej.

LITERATURA

1. OECD 209 Guideline for the testing of chemicals 209. Activated sludge respiration inhibition, OECD, 1993.
2. Pawlaczyk-Szpilowa M., *Mikrobiologia wody i ścieków*, PWN, Warszawa 1980.
3. Pruss A., *Przydatność metod turbidymetrycznej i respiracyjnej do oceny toksycznego wpływu wybranych fenoli na osad czynny*, „Ochrona Środowiska”, 1997, nr 2(65), s. 41–44.

THE INFLUENCE OF ACETONE CYANOHYDRIN ON THE GROWTH OF MICROORGANISMS IN THE ACTIVATED SLUDGE

Summary

Acetone cyanohydrin is a noxious liquid substance carried in bulk by Polish marine areas. This is the substance of MARPOL category Y which, if discharged into the sea from tank cleaning or deballasting operations, is deemed to present a hazard to either marine resources or human health. The aim of the work was to assess the influence of acetone cyanohydrin on the growth of microorganisms in activated sludge. Activated sludge was taken from biological wastewater treatment plant. Evaluation was carried out using respirometric assays. Test results showed that the addition of sodium benzoate (at a concentration of 2,5 mg/dm³) into activated sludge shows causes a 53% increase in respiratory activity of activated sludge. Acetone cyanohydrin at the same concentration causes 29,5% inhibition of growth of microorganisms as compared to the control sample. Thus, the test showed that the acetone cyanohydrin does not constitute a assimilable carbon source for the microorganisms of the activated sludge.

Keywords: *acetone cyanohydrin, biodegradation, activated sludge, respirometry test.*