A vertical, rectangular microscopic image showing a long, thin chain of purple-stained bacteria. The bacteria are arranged in a regular, repeating pattern along a central axis. The background is a light, slightly textured purple. The image is positioned on the left side of the cover, partially overlapping the title text.

**PODSTAWY  
MIKROBIOLOGII  
W  
OCHRONIE  
ŚRODOWISKA**

BARBARA KOŁWZAN  
WALDEMAR ADAMIAK  
KAZIMIERZ GRABAS  
ADAM PAWEŁCZYK

**Recenzenci**

Andrzej Noworyta  
Zdzisław Szulc

Publikacja przygotowana na podstawie dostarczonych materiałów

© Copyright by Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2006

**ISBN 83-7085-992-5**

Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej  
Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 53-370 Wrocław  
<http://www.oficyna.pwr.wroc.pl>  
[oficwyd@pwr.wroc.pl](mailto:oficwyd@pwr.wroc.pl)

# **PODSTAWY MIKROBIOLOGII W OCHRONIE ŚRODOWISKA**

Wydanie II poprawione

**Książka PODSTAWY MIKROBIOLOGII W OCHRONIE ŚRODOWISKA została napisana przez naukowców z Politechniki Wrocławskiej uczestniczących wraz z partnerami z Belgii, Irlandii, Bułgarii, Portugalii i Holandii w międzynarodowym projekcie Socrates Minerva CELL TALK-88091-CP-BE-2000-Minerva-ODL. Koordynatorem projektu był prof. Chris van Keer z Katholieke Hogeschool Sint Lieven w Gandawie. Książka jest adresowana do studentów inżynierii środowiska, biologii, biotechnologii, biochemii oraz do studentów innych specjalizacji zainteresowanych uzupełnieniem swojej wiedzy na temat mikroorganizmów występujących w środowisku naturalnym oraz mikroorganizmów zdolnych do degradacji ksenobiotyków.**

## **Autorzy**

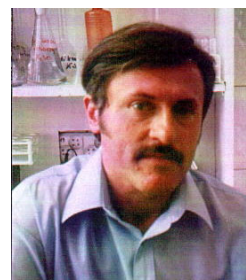
**Barbara Kołwzan** absolwentka wydziału towaroznawstwa Akademii Ekonomicznej w Poznaniu. Tytuł doktora nauk technicznych uzyskała na Politechnice Wrocławskiej. Pracowała w laboratorium toksykologicznym jako asystent naukowy a obecnie jest kierownikiem Zakładu Biologii i Ekologii Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej. Zajmuje się bioindykacją i biodegradacją zanieczyszczeń środowiskowych oraz bioremediacją gruntów skażonych ksenobiotykami.

[barbara.kolwzan@pwr.wroc.pl](mailto:barbara.kolwzan@pwr.wroc.pl)



**Waldemar Adamiak** Ukończył biologię na Wydziale Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Wrocławskiego (1984). Obecnie jest wykładowcą na Wydziale Inżynierii Środowiska Politechniki Wrocławskiej. Zajmuje się biologicznym oczyszczaniem gazów, mikrobiologią powietrza i badaniem mutagenności zanieczyszczeń pyłowych.

[waldemar.adamiak@pwr.wroc.pl](mailto:waldemar.adamiak@pwr.wroc.pl)



**Kazimierz Grabas** doktor nauk technicznych – absolwent Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Aktualnie jest zatrudniony na etacie adiunkta w Instytucie Chemii i Technologii Nafty i Węgla. Jego działalność naukowa obejmuje: inżynierię i ochronę środowiska oraz technologię chemiczną. Brał udział i kierował projektami naukowo-badawczymi finansowanymi przez KBN, podmioty gospodarcze i samorządowe oraz w ramach programu Tempus i Socrates.

[kazimierz.grabas@pwr.wroc.pl](mailto:kazimierz.grabas@pwr.wroc.pl)



**Adam Pawełczyk** uzyskał stopień magistra inżyniera na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej i tytuł doktora nauk technicznych na tej samej uczelni. Pracuje na stanowisku adiunkta. Jego główne zainteresowania zawodowe to chemiczne i biochemiczne metody utylizacji odpadów organicznych i nieorganicznych, szczególnie biochemiczne przetwarzanie odpadów organicznych na nawozy mineralno-organiczne i inne użyteczne produkty. W ostatnim okresie realizuje projekty dotyczące zagrożeń środowiska i remediacji gruntów skażonych chemicznie.

[adam.pawelczyk@pwr.wroc.pl](mailto:adam.pawelczyk@pwr.wroc.pl)



## Podziękowania

Autorzy wyrażają wdzięczność Pani mgr Marii Pawlik, mgr Agnieszce Trusz, Barbarze Umińskiej, mgr Henrykowi Małysi, dr Aleksandrze Obarze oraz dr Marcie Chyli za pomoc techniczną i współpracę naukową.



# Spis treści

## **1. Mikrobiologia gleby**

- 1.1. Gleba
- 1.2. Edafon
- 1.3. Czynniki edaficzne
- 1.4. Aktywność mikroorganizmów w glebie
- 1.5. Formy współżycia
- 1.6. Bioremediacja

## **2. Mikrobiologia wody**

- 2.1. Woda
- 2.2. Grupy organizmów wodnych
- 2.3. Czynniki limitujące rozwój mikroorganizmów w wodzie
- 2.4. Charakterystyka mikroorganizmów wodnych
- 2.5. Wody zanieczyszczone
- 2.6. Kryteria jakości zdrowotnej wody
- 2.7. Ścieki. Biologiczne metody oczyszczania ścieków

## **3. Mikrobiologia powietrza**

- 3.1. Powietrze jako środowisko bytowania mikroorganizmów
- 3.2. Przystosowanie mikroorganizmów do przebywania w powietrzu
- 3.3. Aerosol biologiczny
- 3.4. Mechanizmy chroniące przed wnikaniem aerozoli do płuc
- 3.5. Przeżywalność i rozprzestrzenianie mikroorganizmów w powietrzu
- 3.6. Aerosol biologiczny jako źródło zagrożeń dla człowieka
- 3.7. Główne źródła emisji bioaerozolu
- 3.8. Badanie zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza

## 1. Mikrobiologia gleby

### Spis treści

- 1.1. Gleba
- 1.2. Edafon
- 1.3. Czynniki edaficzne
- 1.4. Aktywność mikroorganizmów w glebie
- 1.5. Formy współżycia
- 1.6. Bioremediacja

### Cele

Rozdział ten został przygotowany w celu zapoznania studenta z różnorodnością organizmów żyjących w glebie oraz z czynnikami fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi limitującymi ich rozwój. Omówiono także formy współżycia występujące w obrębie biocenozy glebowej. Zawarte w nim informacje pozwolą zrozumieć rolę mikroorganizmów w środowisku glebowym. Podano także podstawowe informacje dotyczące możliwości remediacji skażonych gleb metodami biologicznymi.

### Ukierunkowanie

W rozdziale tym na wstępie scharakteryzowano środowisko glebowe, mikroorganizmy je zamieszkujące oraz czynniki wpływające na ich aktywność i rozwój. Zwrócono także uwagę na relacje występujące między organizmami glebowymi.

### Wymagana wiedza

Co wiesz o wirusach, bakteriach, grzybach, glonach i pierwotniakach? Jaka jest ich morfologia? Jeśli posiadane informacje nie są wystarczające, zapoznaj się z poprzednimi rozdziałami. Konieczne jest także posiadanie wiedzy na temat metabolizmu mikroorganizmów. Dla przykładu: co wiesz na temat reakcji katabolicznych przeprowadzanych przez mikroorganizmy?

### Wskazówki i porady

Na wstępie przeczytaj cały rozdział. Zajrzyj do słowniczka by wyjaśnić znaczenie nieznanych pojęć. Jeśli w dalszym ciągu masz kłopoty ze zrozumieniem tekstu, przeczytaj ponownie rozdziały omawiające budowę komórek mikroorganizmów oraz ich metabolizm.

## 1.1. Gleba

*Co to jest gleba?*

Gleba to powierzchniowa warstwa litosfery ziemskiej, utworzona z wietrzejącej skały, przekształconej w specyficzny sposób przez organizmy żywe.

### Czynniki glebotwórcze

Proces powstawania gleby począwszy od skały macierzystej, czyli jej podstawowego tworzywa, może mieć różny przebieg w zależności od panującego układu czynników glebotwórczych, takich jak:

- klimat,
- woda,
- organizmy żywe,
- ukształtowanie powierzchni,
- działalność człowieka i
- czas (wiek gleby).

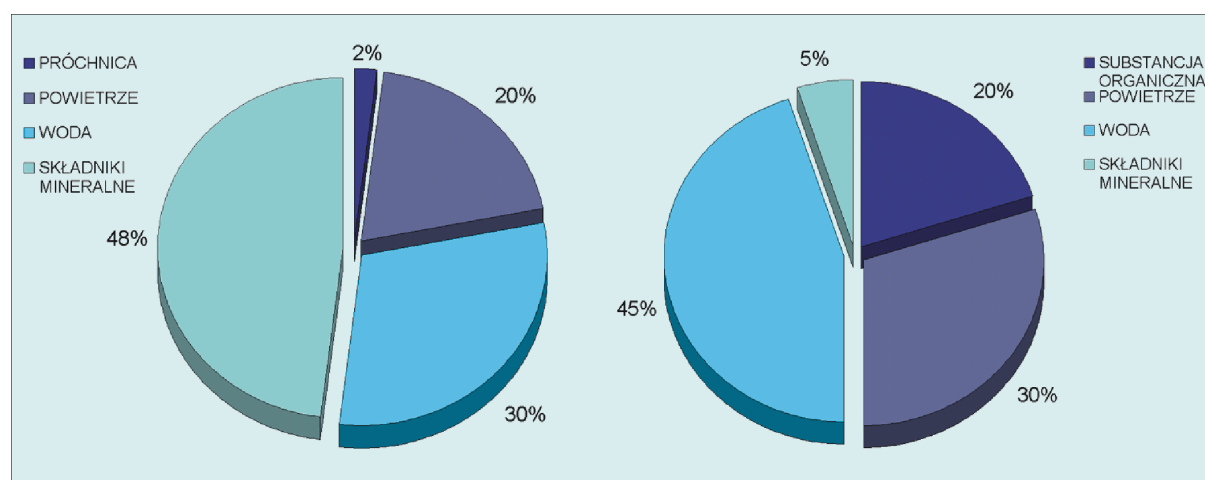
### Funkcje gleby

Gleba jest złożonym utworem umożliwiającym funkcjonowanie ekosystemów glebowych.

- Uczestniczy częściowo w produkcji pierwotnej biomasy oraz umożliwia zakotwiczenie roślin, dostarczając im wody oraz niezbędnych składników mineralnych.
- W glebie zachodzą procesy rozkładu materii organicznej i magazynowana jest próchnica.
- Ze względu na swój skład chemiczny oraz właściwości fizyczne gleba jest siedliskiem olbrzymiej ilości drobnoustrojów i innych żywych organizmów.
- Gleba spełnia w środowisku przyrodniczym różne funkcje filtrujące i buforujące, chroniące ekosystemy przed nadmiernym przepływem substancji niepożądanych dla innych elementów biosfery.

### Skład gleby

W skład gleby wchodzi cząstki stałe mineralne i organiczne, powietrze i roztwór glebowy oraz bytujące w niej organizmy żywe - edafon. Proporcje poszczególnych składników w glebie utrzymują się mniej więcej na tym samym poziomie właściwym dla danej gleby (rys. 1.1).



Rys. 1.1. Przeciętny skład poszczególnych frakcji gleby: mineralnej (na lewo) i organicznej (na prawo)



### Związki mineralne

- Występują w glebie w postaci cząstek różnej wielkości.
- Najdrobniejszą frakcję stanowią koloidy mineralne zbudowane z glinokrzemianów, uwodnionej krzemionki, wodorotlenków glinu i żelaza.
- Koloidy glebowe sorbuje silnie tlen, wodę oraz ważne składniki pokarmowe i w związku z tym są także siedliskiem dla drobnoustrojów. Stanowią one składnik gleby decydujący o stosunkach wodno-powietrznych.

### Substancje organiczne

- Substancję organiczną gleby tworzą resztki obumarłych roślin, zwierząt i mikroorganizmów, rozkładane przez zamieszkujące glebę mikroorganizmy.
- Rozkład substancji organicznej polega na szeregu procesach mikrobiologicznych i fizyczno-chemicznych zwanych humifikacją, a jego produktem są substancje humusowe (próchnica) będące częściowo w stanie koloidalnym.
- Koloidy organiczne są źródłem pokarmu dla drobnoustrojów. Ponadto w połączeniu z cząstkami ilastymi nadają glebie odpowiednią strukturę. Próchnica sprzyja wzrostowi roślin wyższych dzięki zdolności pochłaniania wody oraz adsorpcji i wymiany związków mineralnych.

### Roztwór glebowy

Roztwór glebowy to woda wraz z rozpuszczonymi substancjami organicznymi i mineralnymi oraz gazami, zatrzymana dzięki siłom kapilarnym pomiędzy agregatami i grudkami gleby.

Skład chemiczny roztworów glebowych stale zmienia się, co m.in. zależy od wahań temperatury i ilości wody, która powoduje albo rozrzedzenie albo zagęszczenie roztworów w glebie, niemniej drobnoustroje mają w nich stale dostępne sole amonowe, fosforanowe, potasowe i azotany.

W roztworach glebowych znajdują się także łatwo przyswajalne związki organiczne np. cukry i aminokwasy.

Woda glebowa stwarza warunki sprzyjające życiu i rozwojowi organizmów (nie tylko mikroorganizmów, ale i roślin):

- jest przenośnikiem składników pokarmowych dla drobnoustrojów,
- transportuje substancje energetyczne i budulcowe wzdłuż kapilar,
- ma też wpływ na stan napowietrzenia, ilość i jakość składników pokarmowych, ciśnienie osmotyczne i pH roztworu glebowego.

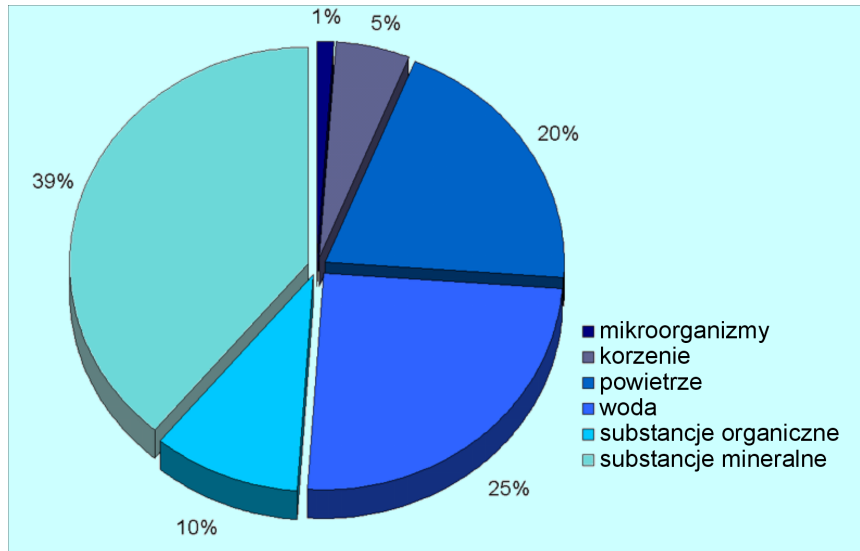
### Atmosfera gleby

- Atmosfera gleby, czyli powietrze glebowe wypełnia nie zajęte przez wodę przestrzenie gleby między stałymi cząstkami. Powietrze wysyca również koloidy glebowe.
- Ilość powietrza w glebach waha się od 8-35% objętości gleby. Występują w nim gazy:  $N_2$ ,  $O_2$  i  $CO_2$ ; a przejściowo:  $NH_3$ ,  $H_2$ ,  $CO$ , formy  $NO_x$ ,  $SO_2$ ,  $H_2S$ ,  $CH_4$  i  $C_2H_6$  oraz inne lotne substancje organiczne (kwas masłowy, alkohole, estry).
- Powietrze glebowe jest zwykle wysycone parą wodną i zawiera 10 razy więcej  $CO_2$  niż powietrze atmosferyczne.
- Zmiana metabolizmu z tlenowego na beztlenowy (redukcja siarczanów, denitryfikacja) zachodzi w glebie wtedy, gdy stężenie  $O_2$  spadnie poniżej 1%. Rozwijają się wtedy mikroorganizmy beztlenowe, które mają zdolność wytwarzania energii i wzrostu w warunkach braku tlenu.

### Edafon (rys. 1.2)

- Organizmy zasiedlające glebę tworzą złożony zespół o bardzo dużej liczebności zwany edafonem. Są to wirusy, bakterie, grzyby, glony, pierwotniaki, rośliny naczyniowe oraz bezkręgowce bytujące w przypowierzchniowej warstwie gleby.

- Mikroorganizmy glebowe dzięki swym różnorodnym właściwościom biochemicznym są niezbędnym gwarantem ciągłości przemiany materii w przyrodzie. Wynikiem ich działalności jest nie tylko mineralizacja związków organicznych, ale i przemiany związków mineralnych, mające duże znaczenie dla rozwoju roślin zielonych.
- Edafon może stanowić od 1 do 10% suchej masy substancji organicznej gleby.



Rys. 1.2. Procent objętościowy składników gleby

## 1.2. Edafon

Ze względu na rozmiar organizmy żyjące w glebie można zaliczyć do trzech grup:

### **Mikrobiota (niedostrzegalne gołym okiem)**

Wirusy, bakterie, grzyby, pierwotniaki, glony.

### **Mezobiota (0,2-2 mm)**

Wazonkowce, nicienie, ślimaki, owady bezskrzydłe, wiję, roztocza i inne, małe rośliny.

### **Makrobiota (>2 mm)**

Dżdżownice, krety, gryzonie np. myszy polne, większe owady, korzenie dużych roślin i drzew.

### 1.2.1. Charakterystyka mikroorganizmów glebowych.

#### **Wirusy**

- Wirusy prowadzą wyłącznie pasożytniczy tryb życia – reprodukują się w komórkach bakterii, roślin, zwierząt i człowieka.
- W środowisku glebowym najważniejszą rolę odgrywają wirusy bakterii – bakteriofagi (fagi).
- Fagi są jednym z czynników ekologicznych ograniczających nadmierny rozwój bakterii.
- Rola fagów w środowisku glebowym polega na niszczeniu niektórych populacji bakterii i przez to prowadzeniu ich selekcji. Selekcja ta może mieć pozytywne lub negatywne skutki z punktu widzenia interesu człowieka. Przykładem działania negatywnego imoże być niszczenie populacji bakterii brodawkowych z rodzaju *Rhizobium*, co prowadzi do spadku plonów roślin motylkowych żyjących w symbiozie z tymi bakteriami.

#### **Bakterie**

- Bakterie stanowią podstawową masę mikroorganizmów glebowych. Charakteryzują się one wysoką aktywnością metaboliczną.
- Większość bakterii glebowych odznacza się właściwością do przylegania (adhezji) do powierzchni cząstek mineralnych i koloidów glebowych.
- Szczególnie duże ilości bakterii gromadzą się w pobliżu resztek tkanek roślinnych i zwierzęcych oraz w odchodach zwierząt dostających się do gleby. Środowiskiem specjalnie sprzyjającym rozwojowi bakterii są korzenie roślin i ich inne podziemne części.
- Bakterie glebowe można podzielić na dwie grupy: takie, które występują w glebie zawsze, niezależnie od jej rodzaju i żyzności (bakterie autochtoniczne) oraz takie, które rozwijają się w niej masowo po wprowadzeniu do gleby dużej ilości materii organicznej (bakterie zymogeniczne).
- Wśród licznych bakterii glebowych ilościowo dominują promieniowce oraz maczugowce z rodzaju *Arthrobacter*.

#### Promieniowce

Promieniowce są bakteriami (chemo)organotroficznymi. Tworzą one wydłużone, rozgałęziające się wielokomórkowe nitki przypominające grzybnię (tzw. pseudogrzybnię). Szerokość nitki od 1-5  $\mu\text{m}$ .

Żyją głównie w glebie lub na rozkładającej się masie roślinnej. Większość z nich prowadzi saprofityczny tryb życia, niektóre są chorobotwórcze dla roślin (np. *Streptomyces scabies* wywołuje parch ziemniaka) i zwierząt.

Ich zdolność wzrostu w temp. 45-50°C daje im duże możliwości rozkładu rozmaitych substancji. Degradują sterydy, ligninę, chityny, węglowodory, długołańcuchowe kwasy tłuszczowe, kwasy huminowe, a więc związki z trudem rozkładane przez inne bakterie. W trakcie rozkładu tych substancji wytwarzają związki zapachowe. Charakterystyczny zapach świeżo zaoranej gleby szczególnie wiosną, pochodzi właśnie od promieniowców. Wywołuje go substancja zwana geosminą (1,10-dimetylo-9-dekalol), którą wytwarza *Streptomyces griseus*.

Są tlenowcami, nieliczne gatunki mogą przeprowadzać procesy metaboliczne w warunkach beztlenowych (*Actinomyces*, *Micromonospora*).  
Wiele gatunków promieniowców produkuje antybiotyki np. erytromycynę, neomycynę, streptomycynę, tetracyklinę i inne - jako uboczny produkt przemiany materii.  
Ok. 90% wszystkich promieniowców izolowanych z gleby należy do rodzaju *Streptomyces*.

### Bakterie maczugowate

Bakterie maczugowate z rodzaju *Arthrobacter* są przeważającym pod względem ilościowym przedstawicielem autochtonicznej mikroflory glebowej, stanowiąc 2–60% całej populacji. Charakteryzują się tendencją do tworzenia rozgałęzień i form ziarenkowatych. Są pleomorficzne (wielopostaciowe). W młodych hodowlach wyrastają w postaci nieregularnych długich pałeczek, a w starych w postaci ziarniaków. Charakteryzują się wytrzymałością na działanie czynników środowiskowych w stadium wegetatywnym. Są w stanie przetrwać w suchej glebie kilka miesięcy, podczas gdy większość bakterii niewytwarzających przetrwalników zamiera. Posiadają zdolność wykorzystywania szerokiego spektrum związków organicznych, w charakterze substratów pokarmowych. Prowadzą biodegradację związków trudnodostępnych, mogą korzystać z wielu metabolitów innych drobnoustrojów, w tym różnego rodzaju polimerów, czynników wzrostowych i aminokwasów produkowanych przez mikroorganizmy. Do bakterii maczugowatych należą także wykorzystujące celulozę gatunki z rodzaju *Cellulomonas*.

### Grzyby

- Grzyby należą do organizmów eukariotycznych. Są bezwzględnie chemoorganotrofami, większość z nich to tlenowce lub grzyby fermentacyjne. Energię i węgiel do budowy własnych komórek czerpią z rozkładu substancji organicznej. Nie posiadają chlorofilu. W przeciwieństwie do bakterii, których ściana komórkowa zbudowana jest z mureiny, ściana komórkowa grzybów zawiera chitynę, glukan i inne polisacharydy.
- Bytują one zwykle w powierzchniowych warstwach gleby; można je także spotkać na głębokości do ok. 1 m.
- Wchodzą w symbiotyczne zależności z glonami, owadami, i roślinami wyższymi. Wiele gatunków grzybów jest patogennych dla człowieka, roślin i zwierząt.
- Ich formy wegetatywne tworzą nitkowate strzępki, mniej lub bardziej rozgałęzione, zwykle wielokomórkowe, których gęste sploty formują grzybnię lub plechę. Poszczególne komórki mają wielkość ok. 10  $\mu\text{m}$ .
- Do najpospolitszych grzybów glebowych należą rodzaje: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Zygorhynchus*, *Chaetomium*.
- Grzyby rozwijają się silnie w glebach kwaśnych i wpływają istotnie na zmiany odczynu gleby.

### Rola bakterii i grzybów

- Współtworzą strukturę gleby tworząc próchnicę – najważniejszy koloid glebowy. Próchnica wpływa w zasadniczy sposób na strukturę gleby, jej właściwości sorpcyjne i zasobność w składniki organiczne.
- Wpływają w decydujący sposób na powstawanie gruzełkowatej, gąbczastej struktury gleby przez wytwarzanie śluzów otoczkowych oraz, w przypadku bakterii nitkowatych i grzybów, przez formę swego wzrostu.

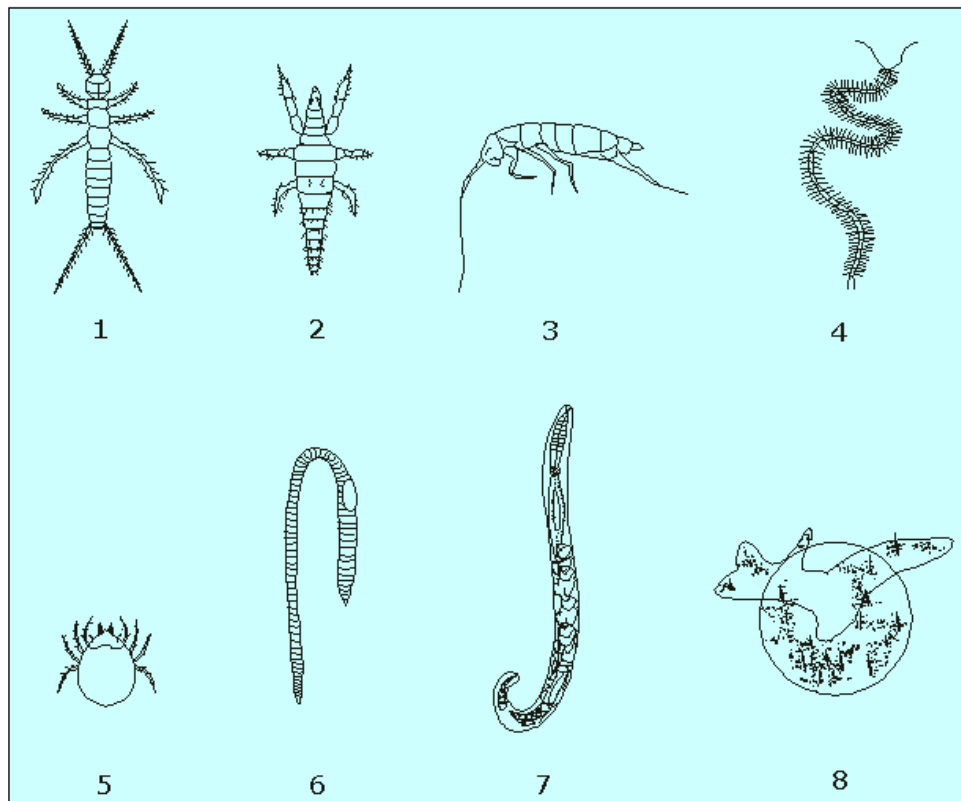
### Flora glebowa (fitoedafon)

Fitoedafon stanowią głównie glony, oraz w mniejszym stopniu rośliny wyższe. Glony najliczniej występują na powierzchni gleby; do głębszych warstw dostają się na skutek jej uprawy, przesiąkania wody, działalności zwierząt i zdolności migracji. Wyróżniamy zbiorowiska glonów żyjących na powierzchni gleby – epifitoedafon oraz w głębszych jej warstwach - endofitoedafon

- Glony glebowe są obligatoryjnymi fotoautotrofami, jednakże żyjąc w głębszych warstwach odżywiają się prawdopodobnie heterotroficznie.
- Odgrywają ważną rolę w ekosystemie gleby, wpływają na jej właściwości i stabilność. Poprzez wydzieliny pozakomórkowe użyźniają glebę i biorą udział w uwalnianiu składników pokarmowych do środowiska.
- Niektóre sinice zdolne są do wiązania azotu atmosferycznego (*Nostoc*, *Anabaena*, *Scytonema*, *Tolypothrix*); gleba zasiedlona przez sinice zawiera 26-400 razy więcej azotu. Dzięki zdolności do asymilacji azotu ( $N_2$ ) i dwutlenku węgla, ( $CO_2$ ) mogą one jako pierwsze kolonizować podłoża pozbawione azotu i węgla organicznego.
- W glebie występuje ok. 2 tys. gatunków glonów. Są to głównie:
  - zielenice – *Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Chlorococcum*, *Chlamydomonas*, *Characium*, *Klebsormidium*,
  - sinice - *Nostoc*, *Anabaena*, *Scytonema*, *Tolypothrix*, *Microcoleus*, *Schizothrix*,
  - okrzemki – *Achnanthes*, *Cymbella*, *Eunotia*, *Fragilaria*, *Hantzschia*, *Navicula*, *Nitzschia*, *Pinnularia*,
  - różnowiciowce – *Botrydiopsis*, *Heterothrix*, *Heterococcus*, *Pleurochloris*,
  - eugleniny – *Euglena*, *Peranema*,
  - krasnorosty – *Porphyridium*.
- Wśród makrobiotycznych organizmów roślinnych zasiedlających środowiska glebowe dominują rośliny wyższe, stanowiące podstawowy składnik biocenozy wszystkich ekosystemów lądowych.

### Fauna glebowa (rys. 1.3–4)

Mikrofauna glebowa reprezentowana jest przez pierwotniaki (*Protozoa*), odżywiają się one głównie bakteriami, ich rola polega na selekcji i odmładzaniu populacji bakterii glebowych. Dominują wśród nich korzenionózki (ameby) i wiciowce.



Rys. 1.3. Przedstawiciele głównych typów fauny glebowej  
 1 – widłogonek, 2 – pierwoogonek, 3 – skoczogonek, 4 – wij, 5 – roztocze, 6 – dżdżownica,  
 7 – nicień, 8 – korzenionózka

Mezofaunę reprezentują nicienie, wazonkowce, ślimaki, owady, wiję, roztocza i inne. Odżywiają się one martwą materią organiczną przyczyniając się do tworzenia próchnicy.

Spośród makrofauny pewne znaczenie mają dżdżownice, krety, gryzonie, które rozdrabniają materiał glebowy i przenoszą go na znaczną głębokość. Najważniejszą rolę wśród bezkręgowców odgrywają w glebie dżdżownice, które odżywiają się martwą materią organiczną, pobierając ją wraz z mineralną częścią gleby; niestrawione resztki zmieszane z glebą i metabolitami wydalają w postaci grudek (koprolitów), przyczyniając się w ten sposób do tworzenia korzystnej gruzełkowatej struktury gleby i do jej spulchniania. W ciągu roku, dżdżownice żyjące na powierzchni hektara mogą przepuścić przez swój przewód pokarmowy ok. 7 tys. kg gleby.



Rys. 1.4. Dżdżownica (*Lumbricus*)

Dzięki ruchliwości zwierząt gleba ulega ciągłemu mechanicznemu mieszaniu, co powoduje lepsze jej napowietrzenie, natlenienie i przepływ wody.

### **1.2.2 Liczebność organizmów glebowych.**

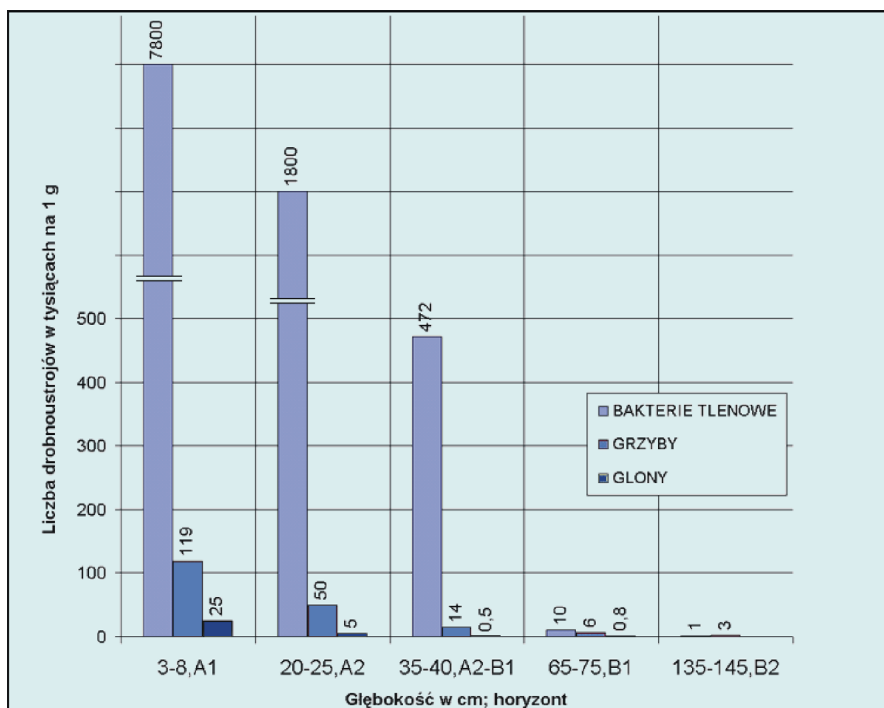
Liczebność i skład gatunkowy organizmów glebowych zależy od typu gleby, jej struktury i wilgotności oraz od zawartości materii organicznej (rys. 1.5–7).

#### **Wirusy**

Dokładnie nie jest znana liczebność wirusów w glebie. Szacuje się, że ich masa jest mniejsza niż 0,01 t/ha.

#### **Bakterie**

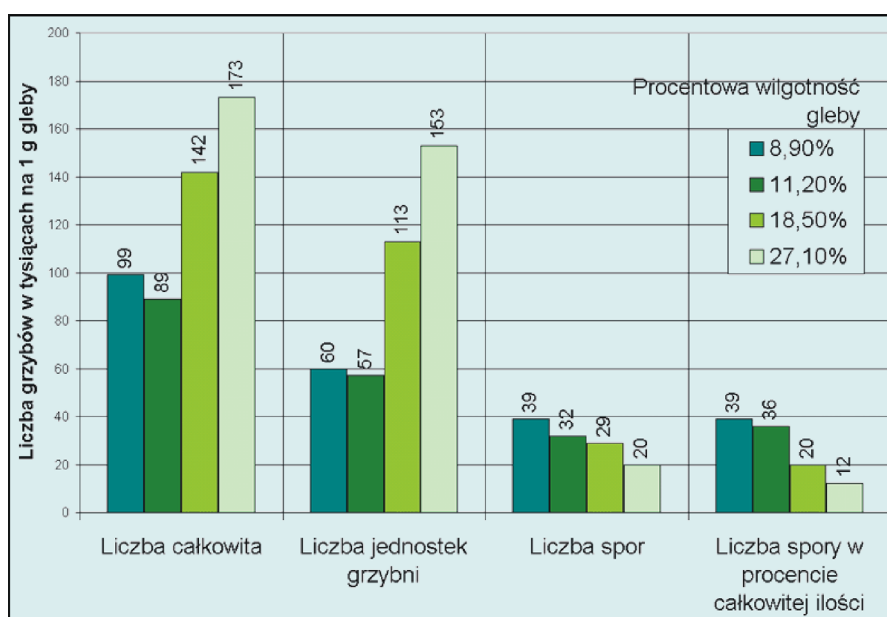
- Liczebność bakterii waha się od kilku milionów do kilku miliardów komórek na 1 g gleby. Najwięcej bakterii znajduje się w warstwie gleby uprawnej do głębokości ok. 30 cm. W głębszych warstwach ilość ich szybko spada. W warstwie uprawnej grubości ok. 30 cm może być na powierzchni 1 hektara od kilkuset kilogramów do kilku ton masy bakterii.
- W pobliżu korzeni i na ich powierzchni bakterie znajdują zwiększone ilości związków organicznych, wydalanych przez rośliny, takich jak kwasy organiczne, aminokwasy, witaminy. Zatem w warstwie wokół korzeni, nazywanej ryzosferą, liczba bakterii jest wielokrotnie większa niż w glebie z dala od korzeni.
- W glebach bogatszych w substancje organiczne żyje ich więcej, przeciętnie w 1 g gleby uprawianej występuje 0,5–5,0 mld bakterii (1,5–15 t/ha)
- Gleby kwaśne zawierają stosunkowo małą liczbę bakterii, gleby leśne – dużą liczbę grzybów.



Rys. 1.5. Liczebność mikroorganizmów glebowych w zależności od głębokości

## Grzyby

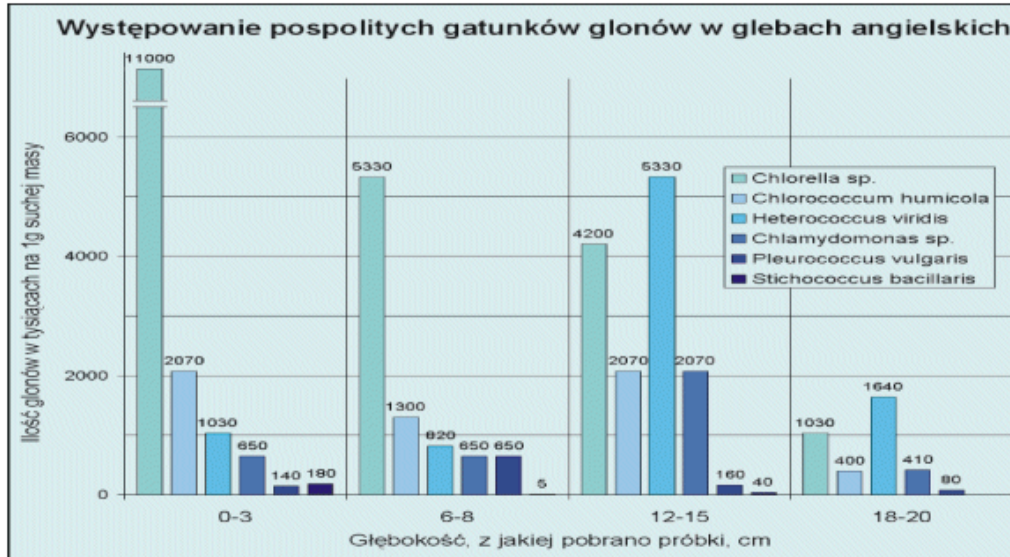
- Grzyby, poza drożdżami, występują w postaci fragmentów grzybni lub jako spory. Liczba takich jednostek na 1 gram gleby sięgać może stu kilkudziesięciu tysięcy, w tym spory stanowią kilkanaście do kilkudziesięciu procent, zależnie od wilgotności gleby i jej zasobności w substancje organiczne.
- Grzyby są najobficiej reprezentowane w kwaśnych glebach torfowych i glebach leśnych. Mogą tam mieć przewagę nad bakteriami.
- Główna masa grzybów przypada na górną, 20-30 centymetrową warstwę gleby, łączna masa grzybów w wierzchnich warstwach gleby jest prawie taka sama jak bakterii, a w glebach leśnych nawet większa, średnio mieści się w granicach 0,001-1,0 mld grzybów (ok. 1,5 t/ha).



Rys. 1.6. Zależność między wilgotność gleby a liczebnością grzybów

## Głony

Głony żyją głównie w wierzchnich warstwach gleby 0–10 cm tam, gdzie dociera światło (rzadko poniżej 50 cm), a liczba ich sięgać może od 100 tys. do 3 milionów na 1 g gleby (ok. 0,2 t/ha). W specjalnie sprzyjających warunkach np. w silnie nawodnionych glebach tropikalnych liczby te mogą wzrastać.



Rys. 1.7. Głony w glebach Anglii (w tys./g s.m.)

## Fauna glebowa

Pierwotniaki, mogą rozwijać się w glebie obficie przy jej odpowiednim nawilgoceniu. Ich liczba sięga od kilkuset do kilku milionów w 1 g suchej gleby. Masa pierwotniaków w glebie mieści się w granicach od 0,1-0,5 t/ha, natomiast masa nicieni waha się w granicach 0-0,2 t/ha, dżdżownic 0-2,5 t/ha, innych zwierząt glebowych 0-0,5 t/ha.



### 1.3. Czynniki edaficzne

Gleba jest naturalnym środowiskiem życia różnych mikroorganizmów, a także makroorganizmów glebowych. Ich rozwój w glebie warunkują tzw. czynniki edaficzne. Jest to ogół czynników charakteryzujących glebę takich jak: wilgotność, żyzność (dostępność pierwiastków odżywczych w przyswajalnych formach), odczyn (pH) i inne właściwości fizyczne warunkujące rozwój organizmów żywych w ekosystemach.

#### Woda

- Wszystkie drobnoustroje wymagają dla prawidłowego rozwoju środowiska zawierającego wodę.
- Woda umożliwia migracje mikroorganizmów w gruncie, dyfuzję substratu i związków odżywczych do wnętrza komórki oraz usunięcie z niej produktów metabolizmu. Wpływa jednocześnie na utrzymanie w komórce odpowiedniego ciśnienia osmotycznego i odczynu.
- Zarówno zbyt duże zagęszczenie składników odżywczych, jak i nadmierne uwodnienie hamuje lub w ogóle uniemożliwia wzrost mikroorganizmów.
- Nadmiar wody w glebie obniża dyfuzję tlenu i azotu oraz sprzyja rozwojowi drapieżników żywiących się bakteriami. Zbyt mała ilość wody może uniemożliwić drapieżnym pierwotniakom przemieszczanie się, a przez to sprzyjać rozwojowi populacji bakterii.
- Woda silnie związana z częściami stałymi gleby może być niedostępna dla mikroorganizmów.
- Generalnie pleśnie i drożdże wykazują znacznie większą tolerancję na odwodnienie środowiska aniżeli bakterie.
- Tlenowa degradacja związków organicznych w gruncie przebiega najskuteczniej przy wilgotności wynoszącej 50-70% maksymalnej pojemności wodnej WHC. Niższe wartości powodują obniżenie aktywności wodnej, natomiast wyższe wpływają ograniczająco na stopień natlenienia gruntu.

#### Ciśnienie osmotyczne

- Na rozwój drobnoustrojów duży wpływ wywiera ciśnienie osmotyczne roztworu glebowego związane ściśle z nawilgoceniem gleby, zwiększające się w miarę jej przesuszania.
- W glebach średnio wilgotnych niezasobnych ciśnienie roztworu waha się w granicach 0,5 -5 atm. W glebach zasolonych może dochodzić do 100 atm. W komórkach drobnoustrojów wynosi ono 3-6 atm.
- Ciśnienie osmotyczne wyższe w roztworze glebowym niż w komórkach, zakłóca proces wchłaniania wody przez komórki drobnoustrojów, co wpływa na zahamowanie ich wzrostu.

#### Potencjał oksydacyjno-redukcyjny

- Potencjał oksydacyjno-redukcyjny odzwierciedla tendencję substancji do pozyskiwania lub utraty elektronów. Ma on istotne znaczenie dla przebiegu zjawisk chemicznych i biologicznych w glebie.
- W roztworach glebowych rozpuszczają się sole pierwiastków o zmiennej wartościowości np. Fe, Mn, S. Od stosunku utlenionych i zredukowanych związków tych pierwiastków ( $Fe^{3+}/Fe^{2+}$ ,  $MnO_2/Mn^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}/S^{2-}$ ), a także od zaopatrzenia gleby w tlen, zależą procesy tlenowe i beztlenowe w glebie.
- Pierwiastki w formie utlenionej lub zredukowanej tworzą układy red-ox, od których z kolei zależy kierunek i charakter przemian metabolicznych.
- Na skutek procesów dysocjacji, woda gleby ma wpływ na wartość potencjału red-ox, co z kolei oddziałuje wybiórczo na rozwój i skład drobnoustrojów glebowych.
- Przesuszenie gleby i związane z tym lepsze napowietrzenie, wzmaga procesy utleniania i mineralizacji.

- Przeciwnie, nadmierne jej nawilgocenie powoduje brak tlenu, przez co środowisko opanowują mikroaerofile i beztlenowce; obniżają one potencjał re-dox gleby, co stymuluje procesy redukcji i fermentacji.

### pH gleby

- Przebieg procesów mikrobiologicznych w glebie zależy w dużej mierze od jej odczynu, warunkuje on, bowiem aktywność enzymów oraz procesy transportu.
- Roztwór glebowy odznacza się właściwościami buforowymi, czyli zdolnością przeciwstawiania się zmianom odczynu; jednakże w ograniczonym zakresie.
- Odczyn gleby wpływa na rozpuszczalność i przyswajalność składników pokarmowych. Żelazo i mangan są dostępne tylko w warunkach niskiego odczynu, natomiast molibden w wysokim pH.
- Wartość pH gleby zależy od jej składu chemicznego, ale w czasie procesu biologicznego rozkładu materii organicznej mogą zachodzić zmiany pH wynikające z charakteru metabolizmu i fizjologii drobnoustrojów.
- Kwasowość gleby może się zwiększać pod wpływem np. kwaśnych deszczów, nawożenia, zasiedlania bakteriami utleniającymi siarkę itp., a to wpływa na przebieg szeregu transformacji metabolicznych.
- Jedną z najbardziej wrażliwych na pH reakcji w glebie jest nitryfikacja, czyli przemiana  $\text{NH}_4^+$  do  $\text{NO}_3^-$ . Jony te istotnie też wpływają na pH gleby. Pobieranie przez drobnoustroje jonów amonowych ( $\text{NH}_4^+$ ) ze środowiska przyczynia się do zakwaszenia gleby, natomiast przyswajanie azotanów ( $\text{NO}_3^-$ ) - do jej alkalizacji. Te z kolei zmiany wpływają na rozpuszczalność innych soli i ich przyswajalność - przez mikroorganizmy.
- Wiele spośród znanych gatunków bakterii może rozwijać się w zakresie pH od 4 do 9. Optymalne dla bakterii warunki wzrostu istnieją przy pH 6,5 do 8,0.
- Drobnoustroje kwasolubne mogą rosnąć w zakresie pH od 1 do 6, ekstremalne acidofile rosną chętnie przy wartościach od 1 do 3. Wśród nich są niektóre gatunki *Thiobacillus*, *Thermophilus* i *Sulfolobus*, utleniające siarczki mineralne do kwasu siarkowego.
- Większość grzybów preferuje kwaśny odczyn środowiska. Grzyby jako grupa są umiarkowanymi acidofilami (optymalne dla wzrostu pH wynosi od 4 do 6).
- Do umiarkowanych drobnoustrojów zasadolubnych (alkalofilów) należą bakterie z rodzaju *Nitrosomonas* - optymalne pH ich aktywności waha się od 7,3 do 9,6.

### Temperatura

Mikroorganizmy glebowe różnią się termotolerancją; różne są optymalne temperatury rozwoju. Uwzględniając wrażliwość drobnoustrojów na temperaturę można wśród nich wyróżnić:

- psychrofile
- mezofile
- termofile

- Dla psychrofilii temperatury wzrostu obejmują zakres od minus 5 do +25°C, dla mezofili 15–45°C, dla termofili 40–70°C.
- Mimo, że pojedyncze gatunki mogą mieć szerszy lub węższy zakres tolerancji na temperaturę, to jednak większość gatunków należy do mezofili i toleruje temperaturę około 30°C.
- Organizmy rosnące w niskich temperaturach w pobliżu 0°C zawierają w błonie komórkowej specyficzne lipidy utrzymujące jej półpłynność. Termofile zaś zawierają lipidy, których punkt topnienia jest wysoki.
- Nadmierny wzrost temperatury powoduje poważne obniżenie efektywności procesu biosyntezy na skutek zwiększonego zużycia źródła energii na oddychanie, spadku wydajności produkcji, powstawania skutków ubocznych. Poniżej 6°C drobnoustroje ograniczają procesy życiowe przechodząc w stan życia utajonego (anabiozy) bądź w formy przetrwalne.

- W glebie temperatura na powierzchni może osiągać w południe nawet 70°C i wykazywać dobową fluktuację ok. 50°C. Zmiany temperatury na powierzchni w ciągu doby nie mają wpływu na temperaturę w głębszych poziomach profilu glebowego.

### **Natlenienie**

- Tlen należy do kluczowych czynników kształtujących warunki rozwoju drobnoustrojów, decyduje o możliwości występowania lub braku ich wzrostu, wpływa na szybkość wzrostu i przyrost biomasy oraz na fizjologię komórek, a więc na rodzaj, wydajność i szybkość produkcji określonych metabolitów.
- Zapotrzebowanie na tlen drobnoustrojów zależy od charakteru ich metabolizmu, rodzaju i stężenia źródła węgla i energii, fazy rozwoju populacji i stanu fizjologicznego komórek. Tylko bakterie mogą przeżywać dłuższy okres czasu w warunkach beztlenowych.
- Pory występujące w typowych glebach wypełnione są w 50% powietrzem i wodą.
- Proces biodegradacji zachodzi najszybciej przy zawartości tlenu w powietrzu glebowym wyższej niż 0,2 mg O<sub>2</sub>/l.
- Tlen zawarty w glebie zużywany jest w 70% przez drobnoustroje, a w 30% przez korzenie roślin, natomiast procesy chemiczne wykorzystują tylko śladowe ilości tlenu.
- Warunki beztlenowe występują w glebach, w których zawartość tlenu w powietrzu glebowym jest niższa od 1%.
- Jeżeli niemożliwe jest dostarczenie do gleby tlenu, proces biologicznego rozkładu materii organicznej prowadzony jest przez bakterie beztlenowe, wykorzystujące do procesów utleniania komórkowego tlen pochodzący z takich związków, jak siarczany lub azotany. W warunkach beztlenowych procesy dekompozycji materii organicznej zachodzą wolniej i są mniej wydajne energetycznie.

### **Zawartość składników pokarmowych**

- Do budowy biomasy mikroorganizmów obok związków węgla niezbędne są także inne składniki pokarmowe takie jak: azot, fosfor, siarka, wapń, magnez czy potas. Do szczególnie ważnych pierwiastków należą azot i fosfor będące pierwiastkami niezbędnymi do produkcji białek i kwasów nukleinowych.
- Żyzne gleby zawierają wszystkie niezbędne składniki w odpowiednich ilościach natomiast w glebach zanieczyszczonych proporcje między poszczególnymi pierwiastkami są zakłócone. Powszechnie uważa się, że stosunek wagowy węgla do azotu i fosforu w glebie powinien kształtować się na poziomie 10:1:0,1
- Wapń poprawia właściwości fizyczne i chemiczne gleby oraz jej strukturę.

### **Związki toksyczne**

- Obecność związków toksycznych jest czynnikiem opóźniającym bądź całkowicie hamującym procesy mikrobiologiczne w glebie.
- Do szczególnie toksycznych związków należą pestycydy, węglowodory alifatyczne i aromatyczne, formaldehyd, związki chloroorganiczne, metale ciężkie oraz sole występujące w dużych stężeniach.

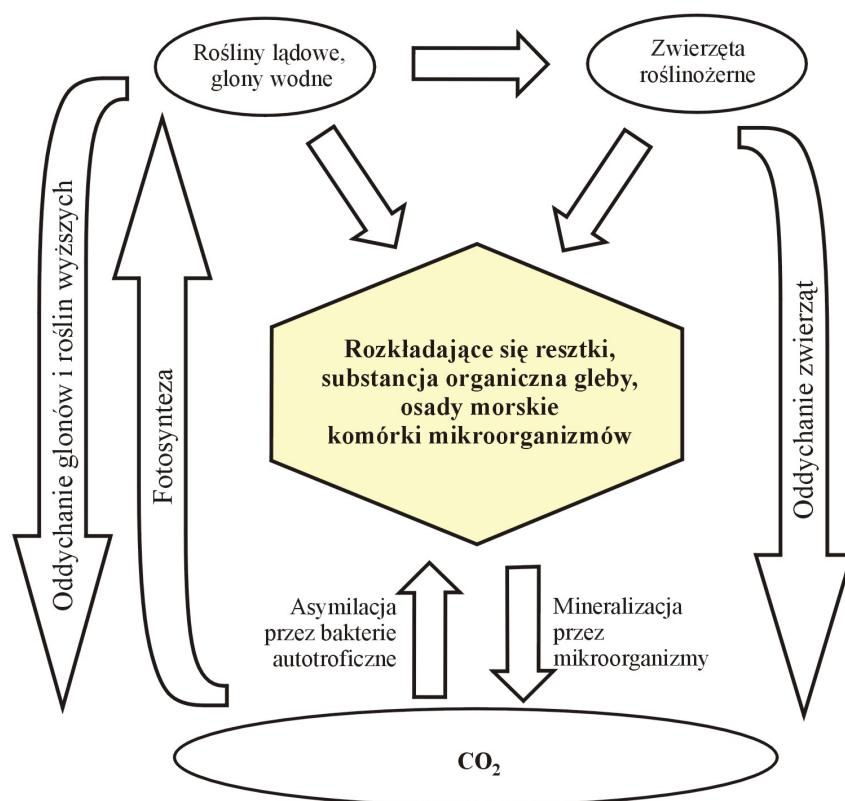
### **Światło**

- Światło penetruje zaledwie kilka cm w głąb ziemi.
- Intensywność naświetlenia powierzchni gleby zależy od rodzaju i zagęszczenia rosnących na niej roślin.
- Światło jest niezbędne jedynie dla przeprowadzających proces fotosyntezy glonów zasiedlających glebę.
- Naświetlenie ma wpływ na aktywność dżdżownic – przemieszczają się one na powierzchnię gleby w nocy w poszukiwaniu żywności i w celach rozrodczych.

## 1.4. Działalność mikroorganizmów w glebie

Drobnoustroje rozmnażają się i przetwarzają materię organiczną, tworząc biomasę własnych komórek oraz nagromadzają substraty niezbędne do uzupełniania zasobów próchnicy a także rozkładają i mineralizują związki organiczne, przez co włączają w ponowny obieg pierwiastki nieodzwonne w produkcji roślinnej, opartej na asymilacji CO<sub>2</sub> z atmosfery.

### 1.4.1. Udział mikroorganizmów w przemianach materii organicznej - obieg węgla (rys. 1.8)



Rys. 1.8. Schemat obiegu węgla

- Węgiel stanowi 50% masy materii organicznej dostającej się do gleby w postaci resztek roślinnych i zwierzęcych (opady liści, pozostałości na polach łąkach i w lasach, obumarłe ciała zwierząt, korzenie i pędy obumarłych roślin)
- Wśród związków wchodzących w skład świeżej materii organicznej są: cukry proste (heksozy, pentozy), wielocukry (skrobia, celuloza, hemicelulozy, chityna), kwasy organiczne, związki aromatyczne (lignina, fenole, taniny), związki hydrofobowe (woski, kutyna, tłuszcze i inne).
- Węgiel odzyskiwany jest w drodze rozkładu i mineralizacji związków organicznych, dokonywanych przez mikroorganizmy gleby.
- Zależnie od swej natury chemicznej poszczególne składniki masy roślinnej są rozkładane i mineralizowane z różną szybkością.
  - a. Substancje rozpuszczalne takie jak cukry, aminokwasy, kwasy organiczne są łatwo wmywane wodą z resztek roślinnych i zwierzęcych i szybko metabolizowane przez mikroorganizmy glebowe; szczególnie regulują one aktywność mikrobiologiczną w ryzosferze.
  - b. Z wielką trudnością, ze względu na ich hydrofobowość, rozkładane są woski, tłuszcze, gумы, garbniki. Najbardziej odpornym na rozkład materiałem roślinnym są ligniny.

## Rozkład celulozy

- Celuloza (błonnik) występuje w ścianach komórkowych roślin, zasocjonana z hemicelulozami (np. ksylanem, mannanem, kwasem uronowym) i ligniną. W suchej masie roślin zielonych zawartość błonnika wynosi 15-30%, a w zdrewniałych częściach i słomie może dochodzić do 50%.
- Celuloza jest wielocukrem, składa się z długiego łańcucha cząsteczek glukozy połączonych wiązaniami glikozydowymi. Liczba cząsteczek glukozy wchodzących w skład włókna może dochodzić do kilku tysięcy (np. w trawach ok. 14 tys., w drewnie ok. 5 tys.).
- Drobnoustrojami celulolitycznymi (rozkładającymi celulozę) jest większość bakterii śluzowych z rodzaju *Cytophaga*, oraz bakterie właściwe *Cellfalcicula*, *Cellulomonas* i *Cellvibrio*.
- Najlepiej został poznany system celulolityczny u grzybów. Rodzaj *Trichoderma* wydziela ogromną ilość celulaz do środowiska; atak enzymatyczny może następować z dala od komórek. Z innych grzybów: *Chaetomium*, *Mycogone*, *Fusarium* i inne biorą też aktywny udział w tym procesie.
- Rozkład może zachodzić też w warunkach beztlenowych - dokonują go bakterie z rodzaju *Acetovibrio*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Ruminococcus*. Powstaje w tym wypadku m.in. duża ilość produktów gazowych:  $CO_2$ ,  $H_2$ ,  $CH_4$ .
- Rozkład błonnika zachodzi szybciej w glebach o odczynie obojętnym lub lekko kwaśnym, gorzej przebiega w glebach mocno zakwaszonych.
- Drobnoustroje rozkładające błonnik przerabiają go na prostsze związki i w ten sposób powiększają bazę pokarmową dla wszystkich glebowych heterotrofów.

## Rozkład ligniny

Ligniny należą do licznej grupy związków aromatycznych, stanowią one od kilku do 30% suchej masy roślin.

- Lignina jest zbudowana z jednostek-polimerów fenylopropanoidu, które zawierają pierścień aromatyczny i grupy metoksyłowe  $-OCH_3$ .
- W degradacji ligniny najbardziej aktywne są grzyby wywołujące tzw. białą zgniliznę. Rozkładają one drewno, do  $CO_2$  i  $H_2O$ . Należą do klas podstawczaków i workowców, jest ich kilkaset gatunków. Spośród podstawczaków najlepiej poznane są: wrośniak różnobarwny (*Trametes versicolor*), korownica (*Phanerochaete chrysosporium*, bocznik ostrygowaty *Pleurotus ostreatus* - grzyb jadalny i *Lintinula edodes*. Z workowców zaangażowane są: *Xylaria*, *Libertella* i *Hypoxylon*. Wśród grzybów pleśniowych zdolnością do rozkładu ligniny odznacza się pospolita w glebie pleśń *Trichoderma lignorum*.
- W skład kompleksu enzymatycznego rozkładającego ligninę wchodzi oksydoreduktazy wymagające tlenu lub nadtlenu wodoru  $H_2O_2$  do oksydacyjnego rozrywania wiązań łączących między sobą fenylopropanowe podjednostki ligniny. W bezpośrednim rozkładzie ligniny bierze udział enzym lakaza (może utleniać monofenole), peroksydaza ligninowa i inne oksydazy nie do końca poznane.
- Aktywność mikroorganizmów rozkładających ligninę w glebie przyczynia się do produkcji próchnicy.

## Synteza i rozkład próchnicy

Próchnica, czyli humus to bezpostaciowa substancja organiczna, zwykle ciemna, stanowiąca układ koloidalny o bardzo dużej powierzchni zdolnej do adsorpcji jonów wody i gazów.

- Zawiera ona frakcje substancji organicznych o niskim stosunku C:N (od 10 do 15), podczas gdy stosunek tych pierwiastków w szczątkach roślin kształtuje się na poziomie C:N=4 0:1.
- W skład próchnicy wchodzi kwasy fulwowe, huminowe i huminy. Są to konglomeraty związków mniej lub bardziej skarbonizowane, które charakteryzuje obecność grup karboksylowych, fenolowych, metoksyłowych zawierających C, O, N, P i S., oraz szkieletu aromatycznego z licznymi bocznymi łańcuchami.

- Głównym czynnikiem próchnicotwórczym jest aktywność drobnoustrojów glebowych: bakterii, w tym promieniowców oraz grzybów.

### Synteza próchnicy

- Proces tworzenia się próchnicy w glebie nazywa się humifikacją.
- Głównymi substratami, z których tworzone są związki humusowe są lignina, węglowodany i związki azotowe, przy czym o rodzaju powstającej próchnicy decyduje typ gleby i warunki klimatyczne.
- Drobnoustroje przeprowadzają następujące procesy związane z powstawaniem próchnicy:
  - rozkładają świeżą materię organiczną i produkują metabolity - prekursorzy związków humusowych,
  - tworzą biomasę, która po obumarciu i autolizie stanowi dodatkowe substraty wyjściowe do tworzenia próchnicy,
  - katalizują procesy syntezy humusu.
- Podstawową drogą powstawania związków humusowych w glebie jest ich synteza z fragmentów o charakterze polifenoli, przy udziale składników azotowych pochodzenia białkowego.
- Źródłem polifenoli mogą być procesy rozkładu lignin, przemiany węglowodanów i rozmaite mikrobiologiczne procesy syntezy. Wiele polifenoli powstaje jako metabolity różnych drobnoustrojów.
- Kolejny etap humifikacji to utlenianie polifenoli, prowadzące do powstania związków chinoidowych. Te przemiany katalizowane są przez oksydazy fenolowe różnych drobnoustrojów m.in. przez grzyby *Serpula lacrymans*.
- Końcowa faza procesu to polimeryzacja utlenionych fenoli.
- Przemiany materii organicznej w warunkach dostępu tlenu prowadzą do wytworzenia próchnicy - humusu; przy braku dostępu tlenu - powstają złoża torfu.

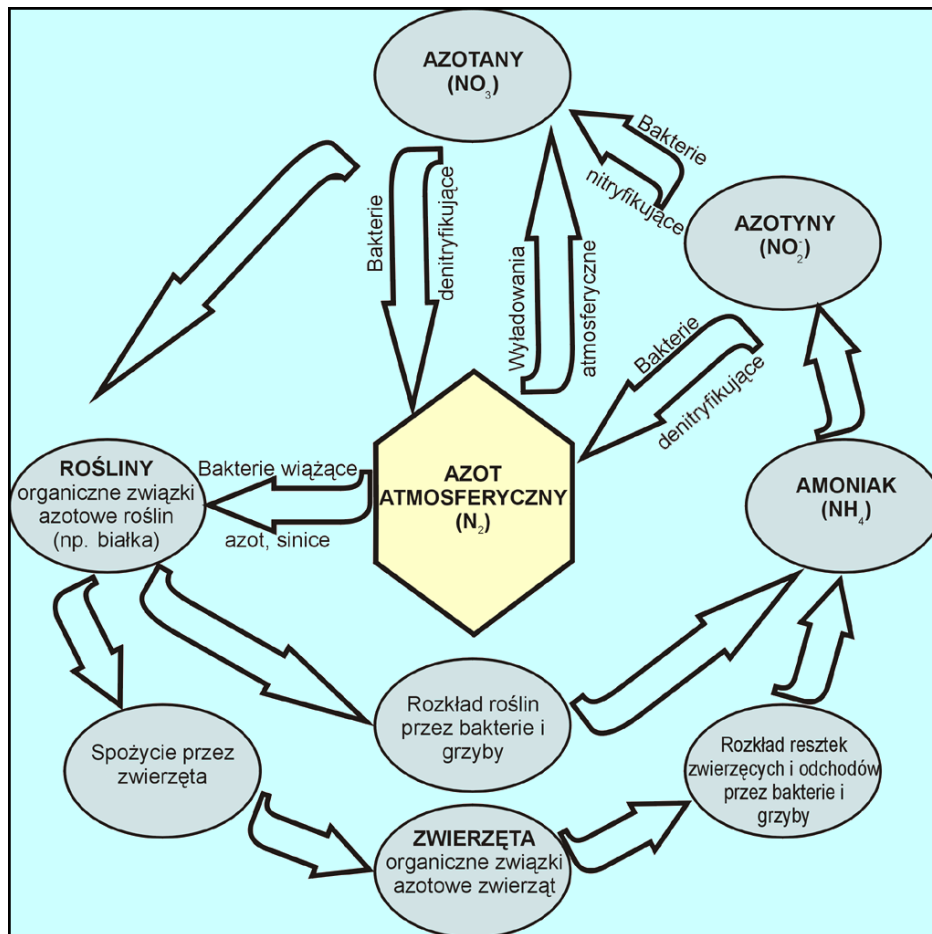
### Rozkład próchnicy

- Degradacja próchnicy następuje przy braku dostępu świeżej materii organicznej oraz przy niedostatecznym zaopatrzeniu gleby w azot.
- Przyjmuje się, że rozkład powodują bakterie autochtoniczne przystosowane do niedoborów przyswajalnych substancji organicznych i korzystające w tej sytuacji z energii i składników pokarmowych zawartych w kompleksach humusowych. Szczególną aktywność przy rozkładzie wykazują promieniowce oraz niektóre bakterie, np. z rodzaju *Micrococcus* i *Corynebacterium* i grzyby z rodzaju *Polysticus* (rozkładające również ligninę).
- Można przypuszczać, że tak jak przy tworzeniu próchnicy, tak i przy jej rozkładzie bierze kompleksowy udział cały zespół glebowej mikroflory i mikrofauny.

### 1.4.2. Udział mikroorganizmów w przemianach azotu w glebie – obieg azotu (rys. 1.9)

- Dzięki procesom mikrobiologicznym azot z atmosfery zostaje włączony do związków organicznych komórek.
- Związki organiczne zawarte w szczątkach roślin i zwierząt przy współdziałaniu drobnoustrojów są mineralizowane, co umożliwia ponowne włączenie do obiegu tego pierwiastka i utrzymanie stałego jego poziomu w atmosferze (78%).
- Cykl krążenia azotu w przyrodzie składa się z kilku ogniw, obejmujących:
  - symbiotyczne i niesymbiotyczne wiązanie  $N_2$  atmosferycznego przez drobnoustroje,
  - rozkład przez drobnoustroje organicznych połączeń azotu, amonifikację - uwalnianie  $NH_3$  i jonu  $NH_4^+$ ,
  - wykorzystanie jonu  $NH_4^+$  do resyntezy białka przez drobnoustroje,
  - wykorzystanie jonu  $NH_4^+$  w postaci soli amonowych przez rośliny,
  - nityfikację amoniaku (utlenianie kationów amonowych do azotynów i azotanów),

- wykorzystanie azotanów przez rośliny wyższe, a także przez niektóre drobnoustroje (zbiłczanie azotu, redukcja asymilacyjna),
- redukcję azotanów tj. denitryfikację.

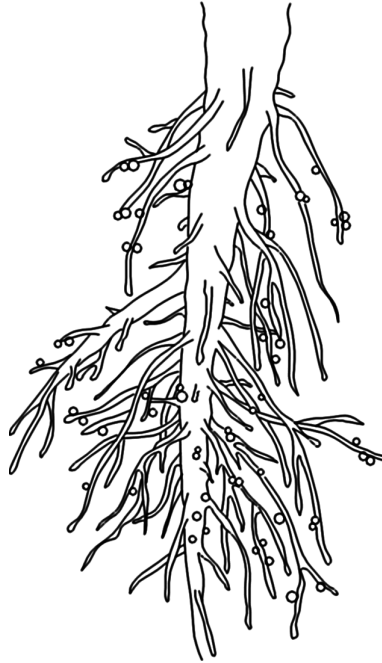


Rys. 1.9. Obieg azotu w glebie

## Wiązanie azotu atmosferycznego

### Asymilatory zdolne do wiązania azotu tylko we współżyciu z roślinami

- Bakterie brodawkowate (*Rhizobium*) współżyjące z roślinami motylkowymi przysparzają glebie najwięcej azotu. Dostają się one do systemu korzeniowego rośliny, tam mnożą się, tworząc długą nić komórek, wnioskującą do tkanki korowej. Przerastanie tkanki roślinnej pobudzonej przez bakterie powoduje powstanie brodawek, formujących na korzeniach specyficzne ugrupowania. W brodawkach część infekujących roślinę bakterii przekształca się w bakteroidy, które nie rozmnażają się, ale są wciąż aktywne (rys. 1.10).
- Uważa się, iż bakteroidy czynnie uczestniczą w wiązaniu azotu atmosferycznego. Występuje w nich czerwony barwnik nazywany leghemoglobina, z powodu podobieństwa do cząsteczki hemoglobiny. Zawarte w tym barwniku żelazo  $Fe^{3+}$  jest redukowane do  $Fe^{2+}$ , sądzi się, więc, że leghemoglobina pośredniczy w przekazywaniu elektronów wolnemu azotowi, powodując jego redukcję.
- W korzeniach drzew np. olchy czarnej w brodawkach korzeniowych współżyją promieniowce (*Streptomyces alnii*).
- Wiązanie azotu przez wolno lub symbiotycznie żyjące bakterie jest podobne. Jest to redukcja  $N_2$  do  $NH_3$ , proces enzymatyczny przeprowadzany przez dehydrogenazę pirogronianową i nitrogenazę.



Rys. 1.10. System korzeniowy koniczyny czerwonej z brodawkami zawierającymi bakterie *Rhizobium*, wiążące azot atmosferyczny

### **Asymilatory N<sub>2</sub> wolno żyjące w glebie (niesymbiotyczne wiązanie azotu)**

Zdolność wiązania azotu z powietrza i wzbogacania gleby w azot mają następujące bakterie heterotroficzne:

- tlenowce - *Azotobacter*, *Azotomonas*, *Derxia*, *Achromobacter*, *Beijerinckia*,
- mikroaerofile – *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Arthrobacter* i *Aerobacter*,
- beztlenowce - niektóre gatunki *Clostridium* np.: *Cl. butyricum*, *Cl. pectinovorum*.

W grupie autotrofów zdolność tę wykazują bakterie fotosyntetyzujące: *Chlorobium*, *Chromatium* i sinice np. *Anabaena*, *Nostoc*.

### **Amonifikacja**

Amonifikacja to proces powstania jonu amonowego NH<sub>4</sub><sup>+</sup> lub wolnego amoniaku.

W pierwszym etapie następuje rozkład białek i uwolnienie z nich aminokwasów, czyli proteoliza, w etapie drugim dezaminacja aminokwasów.

Rozkład proteolityczny białek zachodzi przy udziale enzymów zewnątrzkomórkowych. Powstałe aminokwasy są transportowane do komórek drobnoustrojów, gdzie zachodzi proces dezaminacji.

Amoniak jako gaz szybko rozprzestrzenia się w glebach głównie suchych, w glebach wilgotnych rozpuszcza się w wodzie, przy czym uwalnia się NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Powstałe jony amonowe wykorzystywane są przez bakterie i rośliny do syntezy aminokwasów oraz podlegają procesowi nitrifikacji.

### **Nitryfikacja**

Nitryfikacja to proces biologicznego utleniania amoniaku do azotanów zachodzący przy udziale bakterii nitryfikacyjnych. Nitryfikacja to przekształcenie NH<sub>4</sub><sup>+</sup> i NO<sub>2</sub><sup>-</sup> do NO<sub>3</sub><sup>-</sup> prowadzone głównie przez chemolitotrofy.

Uwolniona w tym procesie energia jest wykorzystywana do syntezy związków organicznych.

Nitryfikacja przebiega dwuetapowo:

- Najpierw amoniak jest utleniany do azotynu, bakterie utleniające NH<sub>4</sub> do NO<sub>2</sub> określane są przedrostkiem „nitroso-”. Należą tu m.in.: *Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosocystis*, *Nitrosoglea*. Są to bakterie właściwe, mają kształt drobnych pałeczek.



- Następnie powstały azotyn jest utleniany do azotanu, azotyny do azotanów utlenia grupa „nitro”: np. rodzaj *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrococcus*.
- Obie grupy bakterii nitryfikacyjnych są wrażliwe na zakwaszenie środowiska; zahamowanie ich wzrostu następuje przy pH 5.0.

Proces nitryfikacji może być prowadzony także przez mikroorganizmy heterotroficzne. Największą grupą mikroorganizmów przeprowadzających heterotroficzną nitryfikację są grzyby: *Aspergillus flavus*, *Penicillium*, *Cephalosporium*. Nitryfikacja prowadzona przez grzyby jest mniej wrażliwa na zakwaszenie i bardziej odporna na suszę. Wytworzone w glebie azotany mogą być przyswajane przez rośliny, wypłukiwane przez wodę lub rozkładane w procesie denitryfikacji.

### **Denitryfikacja**

Denitryfikacja to proces redukcji azotanów do azotu cząsteczkowego.

Proces ten prowadzony jest głównie w warunkach beztlenowych, wtedy to azotany wykorzystywane są w oddychaniu (azotanowym) w charakterze terminalnych akceptorów elektronów. W proces denitryfikacji zaangażowane są liczne bakterie heterotroficzne z rodzajów: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*.

Redukcja azotanów przebiega w kilku etapach. Faza pierwsza polega na redukcji azotanów do azotynów ( $\text{NO}_2^-$ ), następnie azotyny redukowane są do tlenków azotu ( $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ) i azotu cząsteczkowego.

Proces denitryfikacji przeprowadzają również niektóre chemoautotrofy np. *Thiobacillus denitrificans*. Bakteria ta uzyskuje energię z utleniania związków siarki kosztem równoczesnej redukcji azotanów.

Denitryfikacja uważana jest za proces niekorzystny, ponieważ prowadzi do zubożenia środowiska w cenne dla roślin związki azotowe. Straty azotu z gleby na skutek denitryfikacji rosną wraz z nadmiernym nawilgoceniem gleby, powstaniem warunków beztlenowych, nagromadzeniem azotanów i podwyższeniem temperatury.

## 1.5. Formy współżycia

### 1.5.1. Wzajemne oddziaływania między drobnoustrojami

#### Symbioza

Jest to stałe lub czasowe współżycie organizmów dwóch różnych gatunków, korzystne, a często nieodzowne dla jednego lub nawet dwóch partnerów.

Symbioza w glebie polega najczęściej na wzajemnym wykorzystywaniu produktów metabolizmu - jedne drobnoustroje mogą korzystać z produktów przygotowanych w nadmiarze przez drugie.

- Można tu przytoczyć jako przykład współdziałanie bakterii nitryfikacyjnych. *Nitrosomonas* utlenia amoniak do azotynów, ale duże ich nagromadzenie w środowisku glebowym byłoby toksyczne dla tej grupy. Azotyny są, więc utleniane do nietoksycznych azotanów przez grupę *Nitrobacter*. W przyrodzie obie te bakterie występują zawsze razem.
- Innym przykładem symbiozy mogą być porosty, będące formą współżycia między glonami (zielenice lub sinice) i grzybów (zwykle workowce).

#### Pasożytnictwo

Jest to swoisty rodzaj współżycia mikroorganizmów, w którym przedstawiciele jednego gatunku – pasożyty wykorzystują przez czas dłuższy lub stale osobniki drugiego gatunku – żywicieli jako środowisko życia i źródło pokarmu.

Pasożyty mogą powodować niszczenie całych populacji drobnoustrojów. Przykładem może być atak fagów na bakterie brodawkowe z rodzaju *Rhizobium*.

#### Drapieżnictwo

Stanowi sposób odżywiania polegający na wykorzystywaniu w charakterze pokarmu innych żywych organizmów.

Najlepszym przykładem tej formy oddziaływań może być odżywianie się bakteriami pierwotniaków i niektórych gatunków śluzowców *Myxomycetes*.

#### Antagonizm

Jest to wzajemne nietolerowanie się różnych organizmów w tym samym biotopie.

- Może przejawiać się w różny sposób, przy czym najczęściej dotyczy konkurencji o substancje pokarmowe. Mikroorganizmy mające znaczne wymagania pokarmowe są konkurencją dla drobnoustrojów zadowolających się małymi wymaganiami. W tej sytuacji pozbawiają „słabszych” niezbędnych składników pokarmowych i opanowują środowisko.
- Populacja „mniej wymagających” uruchamia różne strategie obronne. Jednym ze sposobów zwalczania konkurentów może być nagromadzenie CO<sub>2</sub>, zakwaszenie środowiska czy wytwarzanie toksyn hamujących ich wzrost. W glebie zabójczo na wszystkie drobnoustroje działa amoniak, azotyny, siarkowodór, oczywiście w ilościach odpowiednio dużych.
- Szczególną odmianą antagonizmu jest **antybioza**, czyli wydzielanie przez drobnoustroje antybiotyków jako produktów ubocznych procesów dysymilacyjnych. Antybiotyki są produkowane głównie przez promieniowce, rzadziej przez grzyby.
- Inną jeszcze odmianą antagonizmu jest **mikoliza**, czyli lityczne oddziaływanie promieniowców i innych bakterii na grzyby przy pomocy enzymów np. celulazy, proteaz (produkowanych np. przez *Pseudomonas* i *Bacillus*).

#### Komensalizm

Komensalizm to rodzaj stosunków wśród mikroorganizmów, w którym jeden organizm czerpie korzyści, nie przynosząc korzyści ani szkody drugiemu. Może się on przejawiać w różny sposób. Bardzo często jedna grupa bakterii przerabia substrat na produkt przyswajalny przez drugą grupę, niezbędny do jej rozwoju. Np. rozkład błonnika

(celulozy) przez bakterie celulolityczne umożliwia rozbięcie tego wielkiego polimeru na drobniejsze cząstki wykorzystywane przez inne bakterie.

### 1.5.2. Wzajemne oddziaływania roślin i drobnoustrojów

Najbardziej typowe przykłady bezpośredniego współżycia roślin z bakteriami stanowią symbiozy:

- bakterioryza czyli symbioza bakterii z roślinami,
- mikoryza czyli symbioza grzybów z roślinami.

#### Symbioza bakterii z roślinami – bakterioryza (rys. 1.11)

- Układy symbiotyczne najwyraźniej przejawiają się w ryzosferze, czyli strefie obejmującej powierzchnię korzeni roślin i glebę do nich przylegającą.
- Symbioza polega na osiedlaniu się drobnoustrojów właśnie w systemach korzeniowych roślin. Zarówno rośliny, jak i drobnoustroje mogą czerpać z tej współpracy liczne korzyści.
- Najbardziej typowe przykłady takiego współżycia to symbioza bakterii brodawkowych *Rhizobium* z roślinami motylkowymi.
- Bakterie symbiotyczne *Rhizobium* należą do najbardziej znanych organizmów wiążących wolny azot. *Rhizobium* jest bakterią heterotroficzną i tlenowcem. Rozwijając się wewnątrz rośliny otrzymuje od niej materiał energetyczny i węgiel potrzebny do budowy własnych komórek. Asymilowany z powietrza azot bakteria z kolei udostępnia roślinie.
- Bakterie *Rhizobium* mogą całymi latami przebywać w glebie bez jakiegokolwiek kontaktu z rośliną, korzystając z prostych węglowodanów i mannitolu jako źródła C i energii. W tych warunkach nie wykazują zdolności redukcji i wiązania azotu, pobierają go z podłoża jako azot amonowy. Gdy jednak znajdą się w pobliżu rośliny motylkowej, z którą są zdolne współżyć, wnikają do jej systemu korzeniowego i formują brodawki współuczestniczące w wiązaniu azotu atmosferycznego.
- Układ symbiotyczny wytwarza się tylko przy udziale określonych rodzajów roślin motylkowych, z odpowiadającymi im gatunkami *Rhizobium*.



Rys. 1.11. Przykład symbiozy między bakteriami a rośliną (wyka – *Vicia L.*)

#### Ryzosfera

- Ryzosfera to przykorzeniowa warstwa gleby, gdzie żyją w dużym zagęszczeniu m.in. bakterie, grzyby, pierwotniaki, nicienie, roztocze, skoczogonki, które zwykle tworzą zespół gatunków charakterystycznych dla danej rośliny

- Mikroflora ryzosfery różni się też jakościowo i ilościowo od mikroflory gleby korzeniowej. Ryzosferę zasiedla ogromna różnorodność form, ale najwięcej jest bakterii gramujemnych (*Pseudomonas*, *Achromobacter*) i denitryfikatorów, a mniej form gramodatnich (*Arthrobacter*, *Bacillus*). Organizmy te wykorzystują substancje odżywcze wydzielane przez korzenie. Zwiększonej liczebności mikroorganizmów towarzyszy podwyższona aktywność fauny glebowej, zwłaszcza tych organizmów, które żerują na korzeniach i drobnoustrojach.
- Liczebność bakterii w ryzosferze może być nawet 1000 razy większa niż poza ryzosferą. Stosunek liczby bakterii z ryzosfery do liczby ze strefy pozakorzeniowej nazywa się efektem ryzosfery i oznacza symbolem R/S.
- Drobnoustroje ryzosfery mają też duże znaczenie dla roślin. Prowadzą one stałą przemianę związków organicznych i mineralnych, które metabolizują do związków przyswajalnych dla roślin. Produkują kwasy organiczne i nieorganiczne, przyczyniają się do rozpuszczenia soli mineralnych, a także chronią roślinę przed fitopatogenami.
- Działanie niekorzystne polega na tym, że liczna i aktywna metabolicznie mikroflora odtlenia środowisko, co sprzyja rozwojowi denitryfikatorów, a nadto w tej sytuacji mogą być produkowane substancje fitotoksyczne, hamujące wzrost roślin (alkohole, antybiotyki, związki fenolowe).

### **Symbioza grzybów z roślinami – mikoryza**

W tym rodzaju współżycia obydwu symbionty odnoszą korzyść.

Mikoryza jest zjawiskiem bardzo rozpowszechnionym; obejmuje ona nie tylko korzenie drzew, krzewów, kwiatów, ale i rośliny uprawne jak zboża, a nawet ziemniaki.

Mikoryza polega na współżyciu grzybów z korzeniami roślin naczyniowych. Grzyby przerastają korzenie roślin, wnikając w ich komórki, i pobudzają ich wzrost przez wytwarzanie auksyn.

Dzięki mikoryzie roślina uzyskuje większą powierzchnię chłonną i dostęp do substancji pokarmowych rozkładanych i wchłanianych przez grzyby. Rośliny natomiast dostarczają współżyczącym z nimi grzybom składników organicznych w postaci produktów asymilacji transportowanych z liści do korzeni.

Rozróżnia się 2 typy mikoryzy:

- ektotroficzną czyli zewnętrzną,
- endotroficzną czyli wewnętrzną.

#### **Mikoryza ektotroficzna**

- Grzyb rozwija się na powierzchni korzeni rośliny, tworząc coś w rodzaju mufki, składającej się ze splecionych nitek grzybni. Zewnętrzne strzępki tej grzybni przenikają do gleby, czasem bardzo głęboko, natomiast wewnętrzne wnikają do powierzchniowych warstw miękiszu korowego korzeni, najczęściej roślin drzewiastych.
- W wyniku mikoryzy korzenie tracą włósniki oraz ulegają skróceniu, bowiem funkcje korzeni przejmuje grzyb. Ponieważ siła ssąca grzybni jest znacznie wyższa niż korzeni drzewa, zaopatrzenie rośliny w wodę i sole mineralne jest lepsze niż w przypadku braku mikoryzy.
- U roślin współżyczących z grzybami mikoryzowymi sorpcja azotu może zwiększyć się o 90%, fosforu o 20%, potasu o 75%.
- Grzyby wytwarzają też substancje stymulujące rozrost korzeni, a niektóre zdolne są do wiązania azotu.
- Grzyby mikoryzowe drzew to głównie podstawczaki - *Basidiomycetes*.

#### **Mikoryza endotroficzna**

- Mikoryza wewnętrzna występuje zazwyczaj u roślin zielnych i niektórych drzew liściastych.
- W tym typie współżycia korzeń rośliny nie różni się zewnętrznie od korzeni nietworzących mikoryzy.
- Wnętrze komórek korzenia wypełniają gęsto splecione strzępki, które są częściowo trawione przez roślinę partnera.
- Mikoryzę endotroficzną tworzą grzyby niedoskonałe *Fungi imperfecti*.

## 1.6. Bioremediacja gleb

*Co to jest bioremediacja?*

*Bioremediacja* to proces oczyszczania, w którym wykorzystywane są mikroorganizmy (drożdże, grzyby, bakterie). Przeprowadzają one rozkład substancji niebezpiecznych do mniej toksycznych lub całkowicie nietoksycznych. Mikroorganizmy wykorzystują w charakterze substratu pokarmowego związki organiczne stanowiące zanieczyszczenie środowiska. Po zdegradowaniu zanieczyszczeń populacja mikroorganizmów jest zredukowana. Obumarłe mikroorganizmy lub nieliczne ich populacje pozbawione substratu pokarmowego nie stanowią zagrożenia dla środowiska.

*Kiedy można oczyszczać glebę metodami biologicznymi?*

Celem bioremediacji jest unieszkodliwienie zanieczyszczeń organicznych do stężeń niewykrywalnych bądź poziomu dopuszczalnego według standardów i norm regulacyjnych przyjętych w poszczególnych krajach (rys. 1.12).

Kryteria decydujące o możliwości zastosowania bioremediacji do neutralizacji zanieczyszczeń są następujące:

- a) środowisko podlegające bioremediacji powinno zawierać mikroorganizmy u których zachodzą wymagane procesy kataboliczne,
- b) mikroorganizmy wykorzystywane w procesie bioremediacji powinny być zdolne do przetwarzania związków chemicznych w odpowiednim tempie i obniżać ich koncentracje do poziomu nie przekraczającego norm,
- c) metabolity powstające podczas mikrobiologicznego rozkładu nie mogą posiadać właściwości toksycznych, mutagennych czy rakotwórczych,
- d) środowisko podlegające bioremediacji nie może zawierać związków chemicznych działających toksycznie i inhibitująco na drobnoustroje przeprowadzające proces biodegradacji (w takich przypadkach należy zapewnić środki je rozcieńczające bądź unieszkodliwiające),
- e) dany związek bądź związki, które mają być usunięte w procesie bioremediacji muszą być dostępne dla mikroorganizmów a więc biodegradowalne,
- f) warunki w miejscu przeprowadzania procesu lub w bioreaktorze powinny sprzyjać rozwojowi i działalności drobnoustrojów np. dostateczna ilość składników pokarmowych, tlen lub inny elektronobiorca, sprzyjająca wilgotność, odpowiednia temperatura oraz dodatkowe źródło węgla w sytuacji, gdy biodegradacja ma zachodzić w oparciu o zjawisko kometabolizmu,
- g) koszt technologii powinien być tańszy lub porównywalny do innych technologii dotychczas opracowanych i stosowanych.

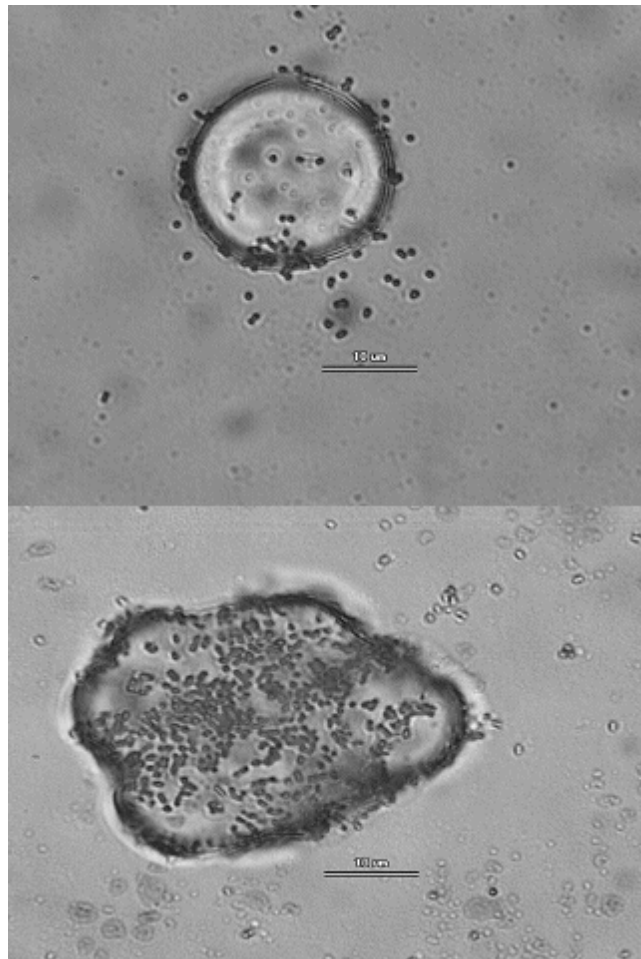


Rys. 1.12. Gleba zanieczyszczona produktami naftowymi

### 1.6.1. Mikroorganizmy wykorzystywane w procesie bioremediacji

Proces bioremediacji może być prowadzony w oparciu o mikroflorę autochtoniczną, naturalnie zasiedlającą skażony grunt lub w oparciu o szczepy pochodzące z innych środowisk bądź kolekcji odznaczające się wysoką aktywnością degradacyjną.

Mikroorganizmy wyspecjalizowane w degradowaniu poszczególnych związków są selekcionowane w laboratoriach mikrobiologicznych w oparciu o proces adaptacji lub operacji genetycznych (rys. 1.13).



Rys. 1.13. Bakterie zasiedlające kroplę oleju napędowego

Zanieczyszczenie środowiska gruntowego spowodowane jest zwykle obecnością nie jednej, ale mieszaniny wielu substancji chemicznych różniących się podatnością na biodegradację oraz toksycznością. Dlatego też konieczne jest stosowanie mieszanej kultury mikroorganizmów o zróżnicowanych możliwościach metabolicznych.

Wykorzystanie mutantów uzyskanych na drodze inżynierii genetycznej zalecane jest głównie w metodach *ex situ* gdzie nie ma niebezpieczeństwa ich przedostania do środowiska a proces podlega ścisłej kontroli.

Dobór szczepów mogących służyć do inokulacji skażonych gruntów nastęrcza jednak wiele problemów. Szczepy takie powinny oprócz wysokiej skuteczności rozkładu węglowodorów, posiadać wiele dodatkowych cech umożliwiających ich adaptację i rozwój w nowym środowisku:

- Warunkiem adaptacji inokulantów w gruncie jest brak antagonistycznych oddziaływań z naturalną mikroflorą gleby.
- Biopreparaty powinny być całkowicie bezpieczne dla człowieka i środowiska. Oznacza to, że nie mogą to być organizmy patogenne. Poza tym ważne jest, aby metabolity powstające w procesie rozkładu ksenobiotyków nie posiadały właściwości toksycznych, mutagennych czy rakotwórczych.

Szczepy zawarte w biopreparatach są przechowywane w formie liofilizatów, zamrażane bądź umieszczane w specjalnej zawieszynie. W zależności od składu biopreparaty stosowane do biologicznego oczyszczania ścieków dzielimy na: bakteryjne, enzymatyczne i bakteryjno-enzymatyczne. Zaletą tzw. preparatów mikrobiologicznych w stosunku do tzw. preparatów enzymatycznych jest fakt, że mikroorganizmy namnażają się w oczyszczanych środowiskach, zaś preparaty enzymatyczne dodawane są w określonej dawce - bez możliwości ilościowego powiększenia.

Liczebność w glebie mikroorganizmów degradujących ksenobiotyki można zwiększyć przez jej inokulację. Pozwala to na znaczne przyspieszenie i zwiększenie skuteczności procesu bioremediacji. Zaszczepienie gruntu poprzedza namnożenie mikroorganizmów w specjalnie przystosowanych bioreaktorach (rys. 1.14). Namnażane są mikroorganizmy autochtoniczne, biopreparaty handlowe lub szczepy pozyskane z kolekcji.



Rys. 1.14. Bioreaktor polowy

O efektach procesu biodegradacji węglowodorów w gruncie decyduje w dużej mierze także sposób inokulacji gruntu mikroorganizmami. Musi on zapewniać równomierne rozmieszczenie mikroorganizmów w gruncie i możliwość dotarcia do zawartego w nim substratu pokarmowego. Biopreparaty mogą być wprowadzane do gleby w postaci zawiesziny lub osadzone na nośniku stałym (immobilizowane). Powierzchniowe wprowadzanie inokulatu jest mało efektywne z uwagi na zbyt wolną migrację mikroorganizmów, szczególnie w przypadku gliniastych i ilastych gruntów. Stwierdzono, że korzystne jest zastosowanie do tego celu:

- iniekcji za pomocą urządzeń pracujących z wykorzystaniem nadciśnienia,
- immobilizacji mikroorganizmów na nośnikach stałych oraz
- pola elektromagnetycznego do przyspieszenia migracji bakterii w gruncie.

W skład biopreparatów wchodzi żywe organizmy, toteż ich stosowanie wymaga zarówno fachowego doboru jak i nadzorowania procesu oczyszczania. Prawidłowy przebieg procesów biologicznych wymaga bowiem spełnienia szeregu warunków umożliwiających optymalny wzrost i wysoką aktywność drobnoustrojów.

### **1.6.2. Stymulacja bioremediacji za pomocą substancji biogenych**

Bioremediacja jest procesem, w którym konieczne jest stworzenie mikroorganizmom optymalnych warunków wzrostu i rozwoju. Badania nad stymulowaniem aktywności mikrobiologicznej drobnoustrojów dowiodły, że zapotrzebowanie na składniki odżywcze jest specyficzne dla każdej grupy mikroorganizmów.

Obok odpowiedniego źródła węgla konieczne jest dostarczenie mikroorganizmom wymaganego źródła azotu i fosforu oraz mikroelementów. Dlatego też podstawowym warunkiem omawianego procesu biostymulacji jest korekta stężenia azotu i fosforu w glebie za pomocą dozowania nawozów mineralnych. Z reguły, poza siarczanem amonowym i fosforanem sodowym (źródła azotu i fosforu), dodaje się siarczan magnezu, węglan sodu, chlorek wapnia, siarczan magnezu, siarczan żelaza.

Ustalono, że stosunek węgla do azotu i fosforu powinien kształtować się w glebie na poziomie 10:1:0,1.

Dobór odpowiednich dawek i rodzaju substancji biogenych powinien być dostosowany do warunków istniejących w gruncie poddawanym bioremediacji. Wykazano, bowiem, że niekiedy dodatek związków azotu może hamować proces biodegradacji. Selekcja biogenów odbywa się w laboratoriach gdzie obserwuje się intensywność wzrostu mikroorganizmów glebowych w obecności różnych typów substancji biogenych. Analizowany jest wpływ różnych ich koncentracji na ilość pobieranego przez mikroorganizmy tlenu, wydzielanego ditlenku węgla oraz stopień degradacji ksenobiotyku

### **1.6.3. Klasyfikacja metod bioremediacji**

Podstawowe metody biologicznego oczyszczania można podzielić w zależności od stopnia natlenienia środowiska na:

- Tlenowe,
- Beztlenowo-tlenowe,
- Beztlenowe.

Natlenienie środowiska, w którym rozwijają się mikroorganizmy, ma istotne znaczenie dla ich wzrostu i metabolizmu. Drobnoustroje tlenowe wykorzystują tlen cząsteczkowy jako akceptor elektronów i wodoru oderwanego od substratu. Źródłem tlenu wykorzystywanego przez mikroorganizmy w procesach oddechowych może być powietrze atmosferyczne dostające się do gruntu w sposób bierny lub wymuszony (rys. 1.15-16).

Droga bierna polega na naturalnej penetracji powietrza do gruntu z atmosfery. Aktywne zwiększenie ilości dostarczanego tlenu może odbywać się poprzez mechaniczne przemieszanie powierzchniowych warstw gruntu (bronowanie, oranie itp.), wprowadzanie specjalnych perforowanych lanc wbitych bezpośrednio do gruntu lub jego napowietrzanie za pomocą pomp i dmuchaw. Ponadto wzbogacanie środowiska w tlen może odbywać się poprzez zastosowanie nadtlenu wodoru, który rozkłada się w glebie do wody i tlenu.

W warunkach beztlenowych akceptorem elektronów i wodoru oderwanego od substratu organicznego mogą być związki mineralne takie jak azotany, siarczany czy węglany. W warunkach beztlenowych rozkład mikrobiologiczny zanieczyszczeń jest wolniejszy a powstające produkty mogą mieć charakter toksyczny.



W niektórych sytuacjach na przykład przy degradacji związków chloroorganicznych stosuje się systemy mieszane beztlenowo-tlenowe. Pierwszy etap procesu odbywa się w warunkach beztlenowych, gdzie następuje dechloracja związku, etap drugi tlenowy zapewnia ostateczną degradację związku organicznego.

W zależności od stopnia zanieczyszczenia oraz charakteru rekultywowanego środowiska bioremediacja może odbywać się metodą *in situ* lub *ex situ*.

Pierwszy sposób obejmuje likwidację zanieczyszczeń bezpośrednio w miejscu ich występowania, natomiast w drugiej metodzie zanieczyszczony grunt lub wody wydobywa się i dopiero wówczas poddaje właściwym zabiegom regeneracyjnym.

Metody *ex situ* powinny być stosowane w przypadku, gdy gleba skażona jest szczególnie niebezpiecznymi substancjami. Chronią one, bowiem otaczające środowisko przed rozprzestrzenianiem zanieczyszczeń, mikroorganizmów oraz metabolitów powstających procesie biodegradacji.



Rys. 1.15. Wentylacja bierna gruntu przy użyciu perforowanych lanc



Rys. 1.16. Aktywne napowietrzanie gruntu

#### 1.6.4. Metody *in situ*

Metody *in situ* polegają głównie na biostymulacji procesu biodegradacji ropopochodnych przez wzbogacanie wód lub gruntów w pierwiastki biogenne, korektę odczynu oraz poprzez ich napowietrzanie.

##### Metody rolnicze

Należą do najpowszechniej stosowanych metod usuwania zanieczyszczeń naftowych z gruntów. Są skuteczne w odniesieniu do prawie wszystkich składników występujących w paliwach. Lżejsze produkty (np. benzyna) usuwane są przez odparowanie oraz, w mniejszym stopniu wskutek biodegradacji. W przypadku cięższych produktów (olej napędowy, nafta) znaczna część zanieczyszczenia usuwana jest wskutek biodegradacji. Metoda rolnicza może być stosowana w wielu odmianach różniących się poziomem uzbrojenia technicznego.

Odmiana najprostsza polega na rozłożeniu zanieczyszczonego gruntu cienką warstwą nieprzekraczającą 0,5 m, a następnie okresowym jej przeorywaniu bądź głębokim bronowaniem celem napowietrzania.

Stosuje się aktywizację mikroflory poprzez dostarczenie niezbędnych substancji odżywczych, stworzeniu warunków tlenowych oraz odkwaszenie gleby w razie potrzeby. Substancje odżywcze uzupełnia się, stosując nawożenie azotowe i fosforowe, a także w miarę potrzeby potasowe, natomiast glebę odkwasza się poprzez wapnowanie.

Na obszarach skażonych można także uprawiać rośliny wspomagające proces oczyszczania. Zwykle są to trawy albo rośliny motylkowe. Dokładny program nawożenia, zabiegów mechanicznych i innych opracowuje się w każdym przypadku indywidualnie.

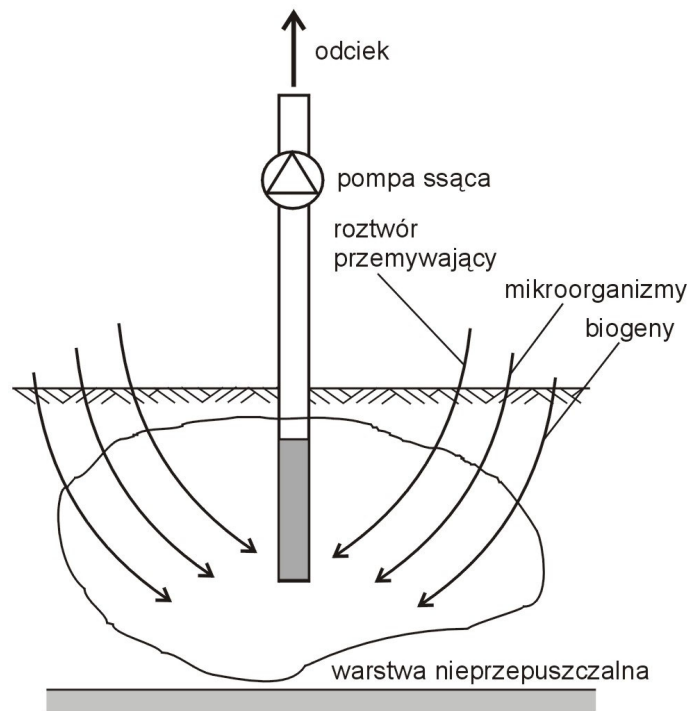
##### Bioekstrakcja

Usunięcie zanieczyszczeń z głębszych warstw gleby jest procesem bardziej skomplikowanym. Stymulacja rozwoju mikroorganizmów rozkładających ksenobiotyki jest trudniejsza do wykonania, jakkolwiek stosowane metody nie różnią się w sposób istotny. Także i w tym przypadku należy dostarczyć brakujące składniki pokarmowe, stworzyć warunki tlenowe i w razie potrzeby dokonać inokulacji gruntu mikroorganizmami aktywnie rozkładającymi zanieczyszczenia. Stosuje się zabiegi przewietrzania gleby strumieniem powietrza, przemywania jej roztworem zawierającym substancje odżywcze czy kultury aktywnych mikroorganizmów. Niezbędne są w tym celu odpowiednie urządzenia techniczne, jak pompy, studzienki czy króćce tłoczące lub zasysające, a także ekrany zapobiegające rozprzestrzenianiu się zanieczyszczeń w gruncie. Warunkiem skutecznego oczyszczania jest też odpowiednia budowa geologiczna terenu, umożliwiająca kontrolowany przepływ medium (powietrze, para wodna, roztwory).

Naturalną biodegradację przyśpiesza zastosowanie metody tzw **bioekstrakcji**. Optymalizacja procesu osiągana jest tu na drodze płukania środowiska gruntowo-wodnego za pomocą wymuszonej infiltracji wody gruntowej (bioremediacja stymulowana wodą *in situ*) oraz napowietrzania (biowentylacja gruntu). Wprowadzenie wody wraz mikroorganizmami i nutrientami stymuluje biodegradację produktów naftowych oraz przyczynia się do ich desorpcji, natomiast wtłaczanie powietrza nie tylko zwiększa desorpcję zanieczyszczeń, ale wzbogaca glebę w tlen wspomagając w ten sposób biodegradację.

##### *Bioremediacja stymulowana wodą*

Bioremediacja stymulowana wodą *in situ* ma na celu wymuszenie pionowego, a następnie poziomego przepływu wody wraz z substancjami ropopochodnymi w środowisku gruntowo-wodnym (rys. 1.17).



Rys. 1.17. Schemat procesu bioremediacji stymulowanej wodą

Metoda ta stosowana jest w przypadku oczyszczania środowiska z substancji ropopochodnych nierozpuszczalnych w wodzie zgromadzonych na powierzchni zwierciadła wody gruntowej. Polega ona na wypompowaniu wody gruntowej na powierzchnię, oczyszczeniu, natlenieniu a po wzbogaceniu w substancje odżywcze i mikroorganizmy zawróceniu do warstwy wodonośnej środowiska gruntowego.

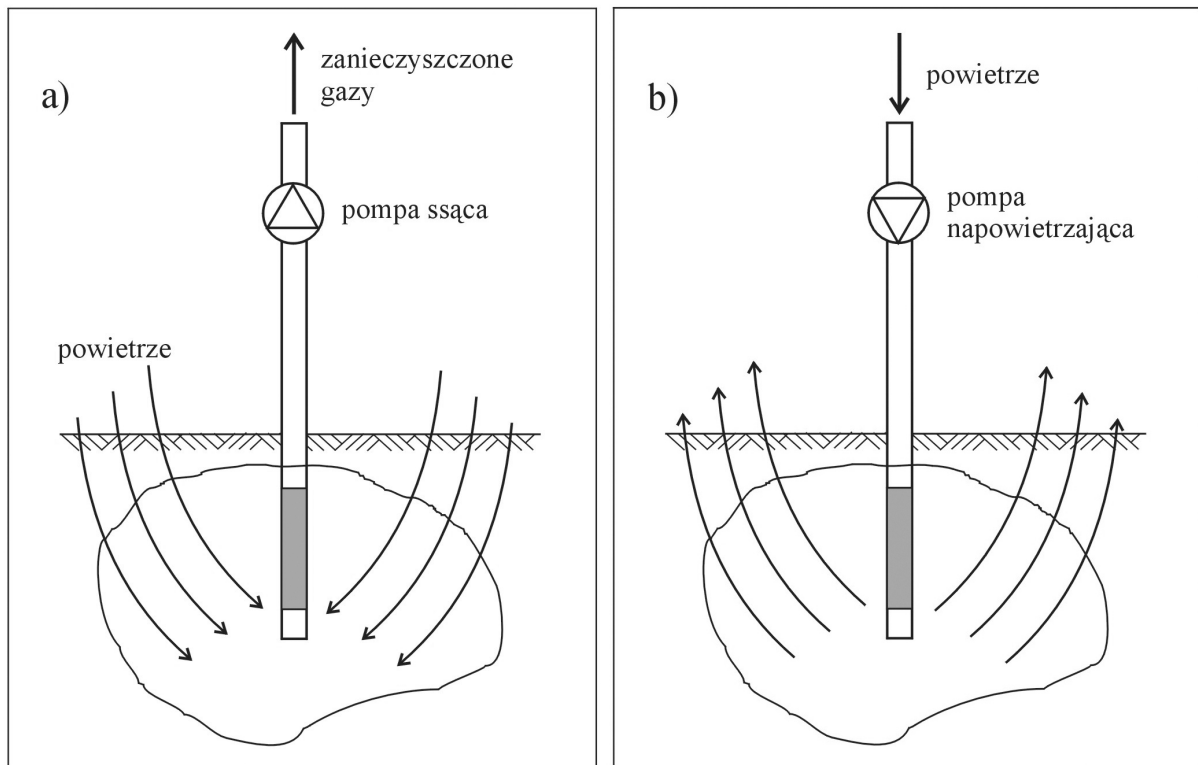
W niektórych przypadkach może być wykorzystany obieg wód podziemnych, które wypompowuje się ze studni usytuowanych w najniższych punktach układu i przesyła do bioreaktorów, w których następuje proces biodegradacji produktów naftowych, następnie ta sama woda jest zwracana do gruntu. Metoda ta jest kombinacją metod *in situ* i *ex situ* wzajemnie się uzupełniających, pozwala to na pełną optymalizację procesu.

Metoda bioremediacji stymulowanej wodą może być wspomagana obecnością substancji powierzchniowoczynnych w środowisku gruntowo-wodnym. Badania wykazały, że surfaktanty syntetyczne oraz biosurfaktanty mogą przyspieszać proces biodegradacji produktów naftowych, w szczególności ciężkich frakcji ropy naftowej. Powodują one wzrost rozpuszczalności węglowodorów oraz tworzenie się emulsji, co jest przyczyną zwiększonej mobilności produktów naftowych w środowisku gruntowo wodnym. Powodują one także wzrost powierzchni własnej, a tym samym zwiększają dostępność węglowodorów dla mikroorganizmów. Substancje powierzchniowo-czynne mogą spowodować wzrost przepuszczalności hydraulicznej środowiska gruntowego.

### Biowentylacja

Przyspieszenie naturalnych procesów biodegradacji wspomagane może być także na drodze wentylacji środowiska gruntowo-wodnego. Wentylacja (przedmuchiwanie powietrzem) sama w sobie jest metodą fizyczną i może być stosowana jako samodzielna technika oczyszczania prowadzona w celu maksymalizacji ulatniania się związków

węglowodorowych o małej masie cząsteczkowej (np. produktów na bazie benzyny lekkiej lub rozpuszczalników), przy czym w trakcie tego zabiegu w niewielkim stopniu zachodzi biodegradacja (rys. 1.18).



Rys. 1.18. Schemat procesu biowentylacji  
a) ekstrakcja powietrza gruntowego  
b) iniekcja powietrza

Proces wentylacji pozwala na usunięcie ze strefy aeracji i saturacji substancji ropopochodnych o dużej prężności par wzbogacając jednocześnie grunt w powietrze i zwiększając stopień jego natlenienia. Napowietrzanie prowadzi się w sposób bierny lub aktywny. W przypadku wentylacji biernej napowietrzanie odbywa się poprzez system rur perforowanych w sposób samoistny. Wentylacja aktywna polega na wytworzeniu podciśnienia (ekstrakcja powietrza gruntowego) lub nadciśnienia (iniekcja powietrza).

Skuteczność procesu biowentylacji środowiska gruntowo-wodnego zależy od zawartości tlenu w powietrzu gruntowym, poziomu biogenów, warunków redukcyjno-utleniających, związków powierzchniowo-czynnych, stopnia saturacji (wilgotności), pH i temperatury.

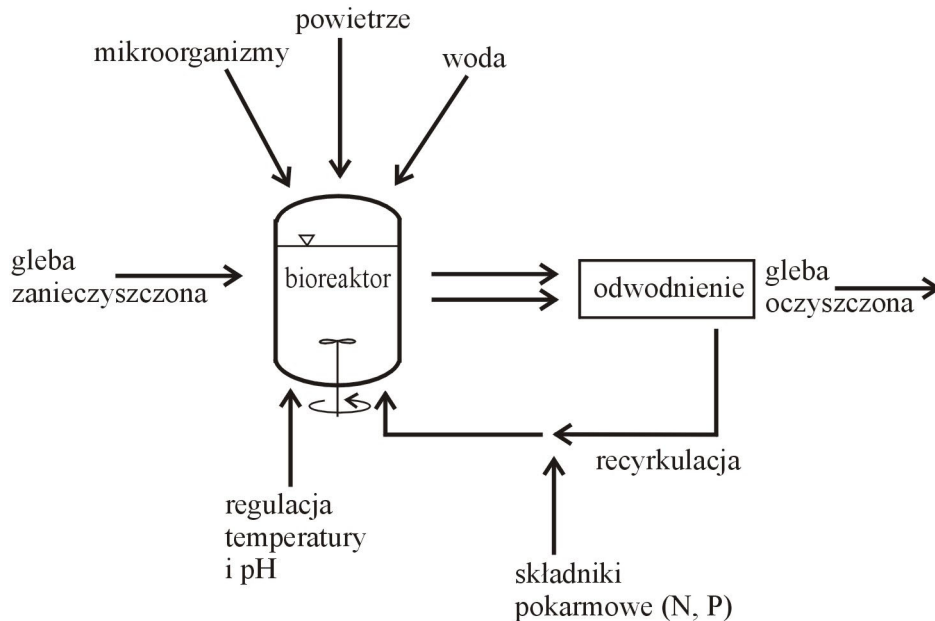
Najskuteczniejszym sposobem dostarczenia tlenu do zanieczyszczonego gruntu jest wprowadzenie go poprzez sprężone powietrze. Ozon ( $O_3$ ) jest także używany jako alternatywne źródło tlenu. Ryzyko stosowania ozonu w charakterze źródła tlenu wynika z jego toksycznych właściwości.

### 1.6.5 Metody *ex situ*

Znajdują zastosowanie wszędzie tam gdzie istnieje niebezpieczeństwo migracji toksycznych zanieczyszczeń do wód gruntowych oraz proces detoksykacji musi być przeprowadzony w krótkim przedziale czasowym.

## Metoda bioreaktorowa

Najefektywniej proces oczyszczania przebiega w specjalnie w tym celu skonstruowanych bioreaktorach (rys. 1.19). Możliwa jest w nich pełna i ciągła kontrola wszystkich parametrów, zasilanie niezbędnymi składnikami oraz natlenianie i szczepienie gleby. Koszty są jednak w tej metodzie wysokie, ze względu na duże wymagania pod względem technicznym oraz konieczność transportu dużych mas, wobec czego stosuje się ją rzadziej i dla mniejszych ilości gleby.



Rys. 1.19. Schemat bioreaktora

Spośród technologii opartych o metody *ex situ* wyróżnić należy bioreaktory lub laguny stosowane do oczyszczania zaolejonych ścieków oraz reaktory półpłynne stosowane do oczyszczania zanieczyszczonej gleby, szlamów i osadów.

Materiały stałe podlegają w tych ostatnich mieszaniu z płynem a następnie napowietrzaniu. W obu typach bioreaktorów kontrolowany jest nie tylko poziom rozpuszczonego tlenu, ale także odczyn oraz koncentracja nieorganicznych składników pokarmowych. Jest to technika zbliżona do oczyszczania ścieków miejskich metodą osadu czynnego i dająca zadowalające efekty oczyszczania.

Technika ta może być jeszcze wspomaganą poprzez zastosowanie środków powierzchniowo czynnych lub dyspersantów w celu desorpcji węglowodorów zaadsorbowanych do cząstek materiałów stałych i zwiększenia stopnia dyspersji nierozpuszczalnych w wodzie zanieczyszczeń olejowych. Środki powierzchniowo czynne używane w tego typu metodach mogą być syntetyczne bądź naturalne. Biosurfaktanty znajdują coraz częstsze zastosowanie z uwagi na fakt, że są bardziej przyjazne środowisku i łatwiej rozkładalne na drodze biologicznej.

Bioreaktory mogą być także stosowane do oczyszczania wód gruntowych. Są one jednostkami **stacjonarnymi** bądź ruchomymi zdolnymi do przemieszczania na skażonym terenie. Ułatwia to oczyszczanie i zmniejsza jego koszty.

**Bioreaktory ruchome** stosowane są do oczyszczania wód gruntowych po ich uprzednim wypompowaniu z zanieczyszczonego złoża wodonośnego lub do oczyszczania wód pochodzących z procesu przepłukiwania zanieczyszczonego gruntu.

Wyróżniamy bioreaktory ze złożem zawieszonym oraz immobilizowanym. Dobór złoża uzależniony jest przede wszystkim od typu zanieczyszczeń oraz ich koncentracji w wodzie poddawanej procesowi oczyszczania.

Immobilizowana biomasa stanowi mieszaninę wyselekcjonowanych mikroorganizmów zdolnych do biodegradacji określonych zanieczyszczeń.

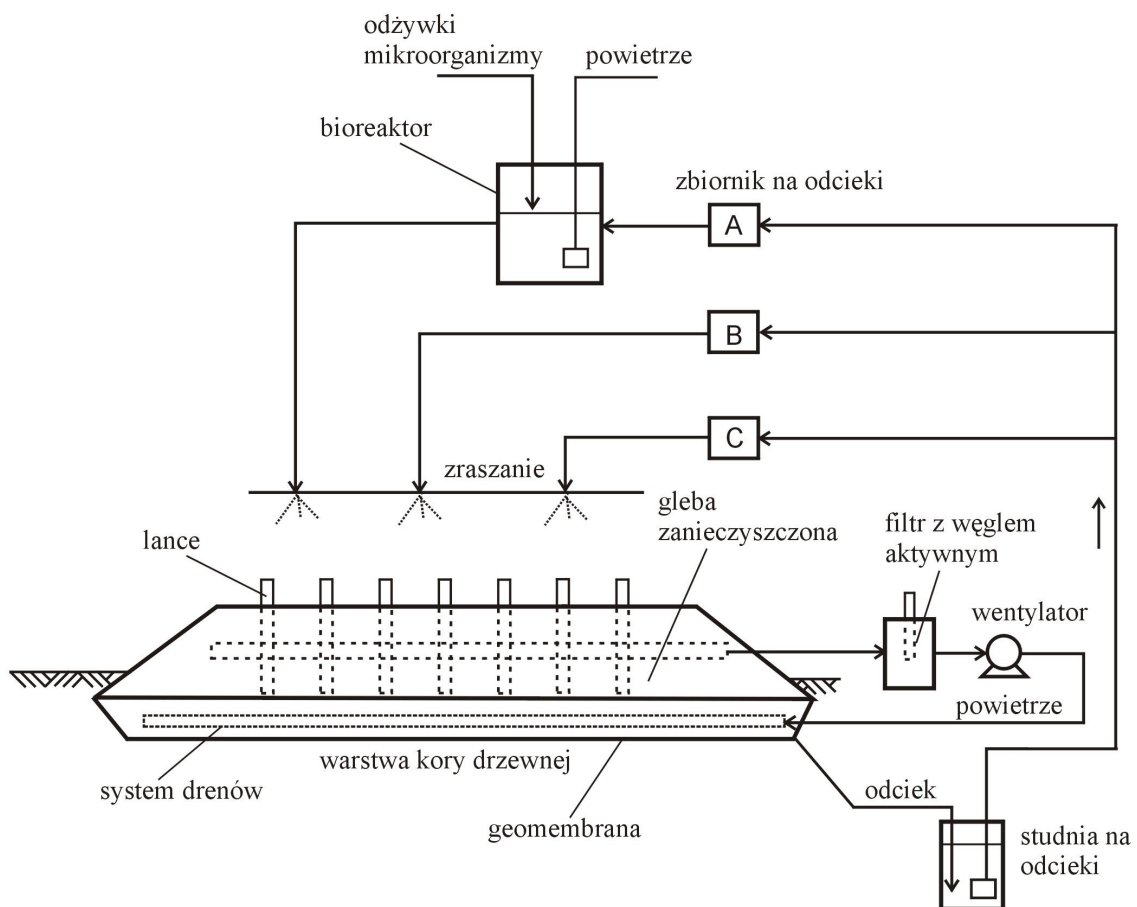
Mikroorganizmy mogą być uwięzione wewnątrz struktury nośnika (polimery naturalne jak agar, alginian, kolagen, lub polimery sztuczne, żele poliakrylamidowe, poliuretany i in.) jest to tzw. immobilizacja czynna.

Inną metodą jest immobilizacja bierna – drobnoustroje znajdują się na powierzchni materiału porowatego (jak węgiel aktywny) lub tworzą błonę biologiczną na powierzchni stałych elementów (pierścienie ceramiczne, płyty wykonane z tworzyw sztucznych, pianka poliuretanowa).

Funkcjonowanie bioreaktorów tego typu polega na przeciwnym przepływie skażonej wody i powietrza przez stałe wypełnienie zawierające immobilizowane drobnoustroje.

### Metoda pryzmowania

Polega ona na przeniesieniu skażonej gleby lub gruntu na specjalnie przygotowane miejsca, zabezpieczone przed przedostawaniem się skażeń, geomembraną i po uformowaniu pryzm (0,5–1,5 metra) poddaniu intensywnym zabiegom rekultywacyjnym (rys. 1.20–21).



Rys. 1.20. Schemat biologicznego oczyszczania gleby metodą pryzmowania



Rys. 1.21. Formowanie przyzmy z systemem drenującym

Wykopany grunt układa się w formie wydłużonej przyzmy, w płytkim izolowanym folią wykopie uzbrojonym w system drenażu i system rur powietrznych oraz wspomaga proces biodegradacji poprzez napowietrzanie oraz dodawanie substancji odżywczych i wody.

Powietrze jest wtłaczane przez system perforowanych rur połączonych z dmuchawą wywołującą podciśnienie w podłożu przyzmy. W prostszych technologiach właściwe napowietrzanie zapewnione jest poprzez mechaniczne przerzucanie.

Pryzma przykryta jest zwykle tunelem foliowym wyposażonym w system spryskiwaczy, którymi doprowadzana jest woda oraz substancje odżywcze.

W bardzo wielu opracowanych ostatnio technologiach woda cyrkuluje w obiegu zamkniętym. Odcieki z gruntu po oczyszczeniu w bioreaktorze przepompowywane są do zbiornika skąd po wzbogaceniu w substancje odżywcze i namnożone mikroorganizmy zwracane są przez system zraszaczy na przyzme.

## Pytania sprawdzające

Czy możesz wymienić typy mikroorganizmów wstępujących w glebie?  
Jaka jest rola bakterii w środowisku glebowym?  
Czy lignina jest rozkładana w glebie?  
Czy możesz omówić obieg azotu w glebie i podaj rodzaje mikroorganizmów odgrywające w nim kluczową rolę.  
Jak mikroorganizmy wpływają na żyzność gleby?  
Które typy mikroorganizmów zajmują się rozkładem materii organicznej?  
Co to jest ryzosfera?  
Jaka jest różnica między ryzosferą i mykoryzą?  
Czy możesz wyjaśnić znaczenie mykoryzy dla środowiska glebowego.  
Co decyduje o możliwości bioremediacji gruntu?  
Jakie typy mikroorganizmów wykorzystywane są w procesie bioremediacji?  
Czy możesz wyjaśnić różnice między bioremediacją metodą *in situ* i *ex situ* ?

## Streszczenie

W skład gleby wchodzi substancje mineralne i organiczne o charakterze stałym, powietrze, roztwór glebowy oraz żywe organizmy – edafon. Do najważniejszych składników edafonu glebowego należą wirusy, bakterie, grzyby i pierwotniaki. Drobnoustroje rozmnażają się i przetwarzają materię organiczną, tworząc biomasę własnych komórek oraz nagromadzają substraty niezbędne do uzupełniania zasobów próchnicy a także rozkładają i mineralizują związki organiczne, przez co włączają w ponowny obieg pierwiastki nieodzowne w produkcji roślinnej, opartej na asymilacji CO<sub>2</sub> z atmosfery. Możliwe jest oczyszczanie skażonych gleb metodami biologicznymi. Są one bardziej ekonomiczne i przyjazne środowisku.

## Glosariusz

**Edaficzny** – czynnik glebowy, charakteryzujący m.in. żyzność, wilgotność, odczyn gleby.  
**Fulwowe kwasy** – żółto-zabarwiona materia organiczna, która pozostaje w roztworze po usunięciu kwasów humusowych przez zakwaszenie.  
**Humus** – próchnica, stosunkowo trwała frakcja gleby powstała w wyniku rozkładu i humifikacji obumarłych szczątków roślinnych i zwierzęcych.  
**Substancje humusowe** – produkty dekompozycji materii organicznej w glebie, mieszanina skomplikowanych i słabo poznanych związków wysokocząsteczkowych, brązowych do czarnych, wśród których wyróżnia się kwasy huminowe i fulwowe oraz frakcję nierozpuszczalną o niejednorodnym składzie.  
**Humifikacja** – Proces biologiczno-chemiczny powstawania związków humusowych z materii organicznej.  
**Mykoryza** – symbioza roślin z grzybami.  
**Ryzosfera** – przykorzeniowa warstwa gleby, gdzie żyją w dużym zagęszczeniu m.in. mikroorganizmy, które zwykle tworzą zespoły gatunków charakterystycznych dla danej rośliny. Organizmy te wykorzystują substancje odżywcze wydzielane przez korzenie.  
**Brodawki korzeniowe** – wyrosłe brodawkowe występujące na korzeniu roślin motylkowych, powstające na skutek oddziaływania żyjących w symbiozie z tą rośliną bakterii.  
**Symbioza** – długotrwały związek partnerów należących do populacji dwóch gatunków, który może być korzystny dla jednej lub obu stron.  
**Ksenobioty** – związek obcy dla systemów biologicznych. Często w ten sposób określa się związki odporne na rozkład biologiczny lub całkowicie nierozkładalne.



## 2. Mikrobiologia wody

### Spis treści

- 2.1. Woda
- 2.2. Grupy organizmów wodnych
- 2.3. Czynniki limitujące rozwój mikroorganizmów w wodzie
- 2.4. Charakterystyka mikroorganizmów wodnych
- 2.5. Wody zanieczyszczone
- 2.6. Kryteria jakości zdrowotnej wody
- 2.7. Ścieki. Biologiczne metody oczyszczania ścieków

### Cele

Podczas studiowania tego rozdziału uzyskacie informacje na temat składu biocenozy wodnej oraz czynników ograniczających jej rozwój. Wiele uwagi poświęcone będzie mikroorganizmom mającym olbrzymi wpływ na obieg materii i energii w ekosystemach wodnych. Rozdział ten zawiera także charakterystykę mikroorganizmów zamieszkujących wody skażone oraz ocenę prowadzonych przez nie procesów. Omawia ponadto niebezpieczeństwa związane z obecnością w wodzie organizmów patogennych przenoszonych tą drogą oraz metody kontroli jakości sanitarnej wody do picia. Końcowa partia zamieszczonego tu materiału zapoznaje czytelników z biologicznymi metodami oczyszczania ścieków.

### Ukierunkowanie

W rozdziale tym na wstępie omawiane jest środowisko wodne i czynniki mające decydujący wpływ na rozwój organizmów wodnych. Następnie omawiane są mikroorganizmy zasiedlające wody. W części drugiej rozdziału zapoznać się można z wodami zanieczyszczonymi, obecnymi w tych wodach organizmami patogennymi oraz kryteriami jakości zdrowotnej wody do picia. Możliwości oczyszczenia ścieków na drodze biologicznej omawiane są na zakończenie tego rozdziału.

### Wymagana wiedza

Co możesz powiedzieć na temat chemii wody? Czy przypominasz sobie budowę komórek prokariotycznych i eukariotycznych? Co wiesz na temat ich metabolizmu? Jeśli niewiele to wróć i przeczytaj ponownie rozdziały od 1-4.

### Wskazówki i porady

Na wstępie przeczytaj krótką informację na temat wody i organizmów zasiedlających to środowisko. Jeśli masz problemy ze zrozumieniem treści dotyczącej chemii wody musisz skorzystać z odpowiednich książek w celu przypomnienia tego zagadnienia. Następnie zapoznaj się z charakterystyką organizmów wodnych. W celu właściwego zrozumienia mikrobiologicznych procesów zachodzących w wodach czystych i skażonych niezbędna jest wiedza o strukturze komórek mikroorganizmów oraz ich metabolizmie.

## 2.1. Woda

### *Co to jest woda?*

Czysta woda to bezbarwna ciecz bez smaku i zapachu, o temperaturze wrzenia 100°C i temperaturze krzepnięcia 0°C (pod ciśnieniem 760 mm Hg). Woda występująca w naturze zawiera rozpuszczone sole i gazy, szczególnie dużo woda morska i mineralna. Woda pokrywa 70% powierzchni kuli ziemskiej i stanowi najistotniejsze pod względem objętościowym siedlisko życia. Objętość wód śródlądowych szacuje się na  $7,5 \times 10^5 \text{ km}^3$ , mórz i oceanów na  $1,4 \times 10^9 \text{ km}^3$ , a lodowców i lodolodów na  $1,8 \times 10^7 \text{ km}^3$ .

Woda stanowi najważniejszy składnik żywych organizmów (70-90% masy komórek) i spełnia rolę ich środowiska życia biorąc udział w licznych reakcjach i procesach biochemicznych.

### *Jakie wody zasiedlają mikroorganizmy?*

Biotopami mikroorganizmów wodnych mogą być wody podziemne, wody powierzchniowe oraz osady dennie.

- Wody podziemne (źródła mineralne i termiczne, wody gruntowe) - z powodu oligotroficznego (ubogiego w substancje odżywcze) charakteru są z reguły zasiedlane przez nieliczną mikroflorę, mało zróżnicowaną pod względem składu gatunkowego, a roślin wyższych i zwierząt brak tu prawie zupełnie.
- Wody powierzchniowe, do których zalicza się potoki, rzeki, jeziora oraz wody morskie- zasiedla różnorodna flora i fauna. Mikroorganizmy w tych wodach są grupą bardzo zróżnicowaną. Obok typowych gatunków wodnych, występują drobnoustroje ze środowiska glebowego oraz drobnoustroje ściekowe pochodzące z zanieczyszczeń bytowo-gospodarczych i przemysłowych.
- Osady dennie to środowisko o typie przejściowym tj. glebowo-wodnym, siedlisko prawie zawsze typowo beztlenowe, w którym procesy beztlenowego rozkładu związków organicznych powodują wydzielanie do wody siarkowodoru, metanu. W osadzie dennym rozwija się zazwyczaj beztlenowa mikroflora gnilna, bakterie celulolityczne oraz liczne chemoautotrofy beztlenowe.

## 2.2. Grupy organizmów wodnych

Mikroorganizmy zasiedlają zbiorniki wód powierzchniowych we wszystkich strefach; mogą być zawieszane w wodzie w postaci drobnej, żywej zawiesiny (planktonu) lub też prowadzić życie osiadłe na przedmiotach i roślinach podwodnych (peryfiton) oraz w osadach dennych (bentos).

### 2.2.1. Plankton

Zespół organizmów biernie unoszących się w toni wodnej, które nie są w stanie przeciwstawić się ruchom mas wodnych nazywamy planktonem lub biosestonem.

Rozróżniamy:

- plankton roślinny, tj. fitoplankton;
- plankton zwierzęcy, tj. zooplankton;
- plankton pierwotniakowy;
- plankton bakteryjny, tj. bakterioplankton;
- plankton wirusowy, tj. wirioplankton.

**Fitoplankton** – to głównie mikroskopijne glony i sinice. Jest to zbiorowisko bardzo zróżnicowane pod względem systematycznym. Stanowią go głównie formy bardzo drobne poniżej 50µm. W fitoplanktonie morskim dominują okrzemki i bruzdnice natomiast w wodach słodkich złotowiciowce, kryptofity, okrzemki, bruzdnice oraz zielenice i sinice.

**Zooplankton** – to drobne organizmy zwierzęce występujące w planktonie. W wodach słodkich występują trzy grupy systematyczne: wrotki, wioślarki i widłonogi. Morski zooplankton tworzą widłonogi, szczętki, żebroplawy, osłonice, szczecioszczętki oraz niektóre ślimaki. Większość z nich to filtratory, zagęszczające za pomocą różnych mechanizmów drobne cząstki zawieszane w wodzie oraz liczne drapieżniki

**Plankton pierwotniakowy** stanowią pierwotniaki zasiedlające strefę otwartej toni wodnej. Najważniejszą rolę odgrywają fagotroficzne wiciowce i orzęski. Są one głównymi konsumentami bakterii. Większość orzęsków żywi się ponadto wiciowcami, glonami oraz mniejszymi orzęskami. Same pierwotniaki są z kolei pokarmem planktonu zwierzęcego.

Z kolei - heterotroficzny **bakterioplankton** zasiedla te strefy wód, które bogate są w związki organiczne. Liczebność bakterii w otwartej toni wodnej waha się w zakresie  $10^5$ – $10^7$  komórek w 1 ml.

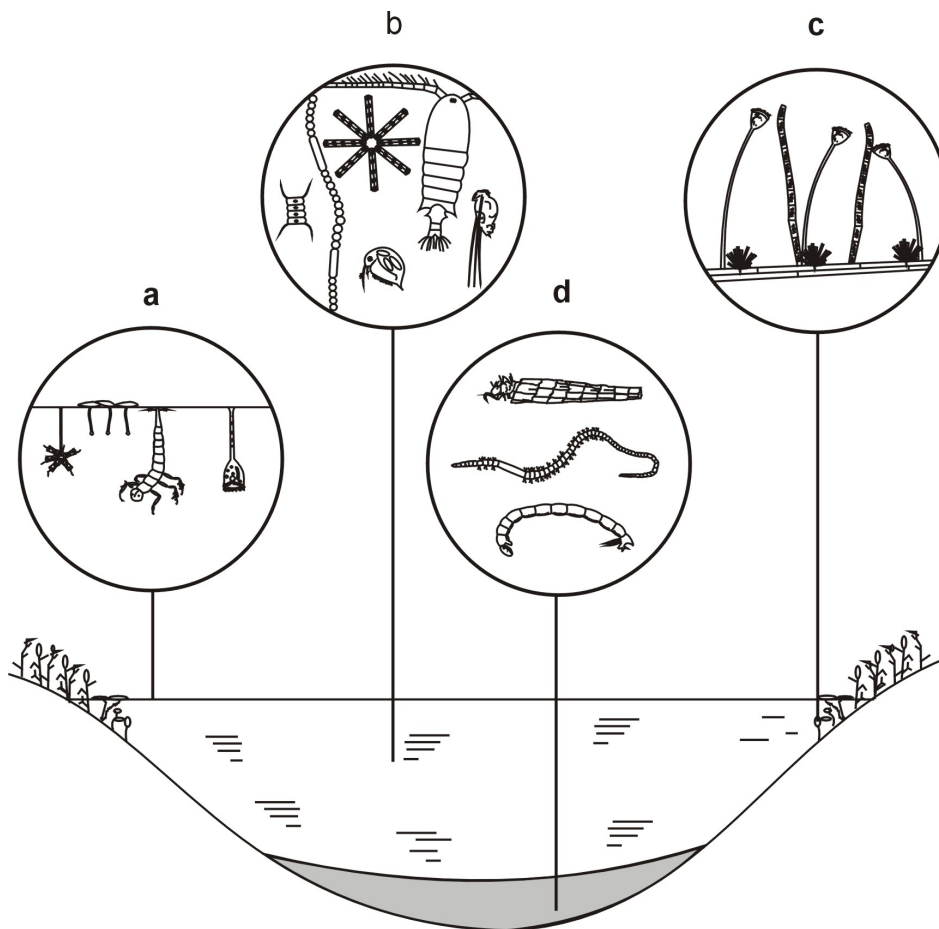
**Wirioplankton** zawiera wirusy, będące najmniejszymi składnikami planktonu. Ich liczebność może być bardzo wysoka (do  $10^8$  w 1 ml) w różnych środowiskach słono i słodkowodnych. Wirusy są bardzo ważnym obok pierwotniaków czynnikiem wpływającym na śmiertelność bakterii.

### Rozmieszczenie planktonu

Utrzymanie się w wodzie planktonu umożliwia obecność śluzowatych osłonek wokół komórek oraz obecność banieczek - wakuol gazu lub kuleczek tłuszczu wewnątrz komórek. Ilościowe i gatunkowe rozmieszczenie organizmów wodnych jest bardzo różne, tak jak różne są czynniki biotyczne i abiotyczne w poszczególnych zbiornikach wodnych: rzekach, jeziorach czy morzach.

Rozmieszczenie planktonu w wodach bieżących, płynących (np. rzekach i potokach) jest mniej więcej równomierne. Szczególnie dużą produktywność odnotowuje się w środkowym biegu, gdzie podłoże i tempo przepływu są najbardziej rozwojowi sprzyjające; w jeziorach, gdzie ruch wody jest ograniczony, stwierdza się pionowe rozmieszczenie głównie fitoplanktonu związane z uwarstwieniem (stratyfikacją) wód jeziora.

Przy bezwietrznej, spokojnej pogodzie na powierzchniowej warstewce wód, na pograniczu wody z powietrzem gromadzi się **neuston**, który poza bakteriami składa się głównie z glonów oraz **pleuston** w skład, którego wchodzi organizmy wyższe (rys. 2.1).



Rys. 2.1. Zespoły organizmów występujące organizmów jeziorze:  
a) pleuston i neuston b) plankton c) peryfiton d) bentos

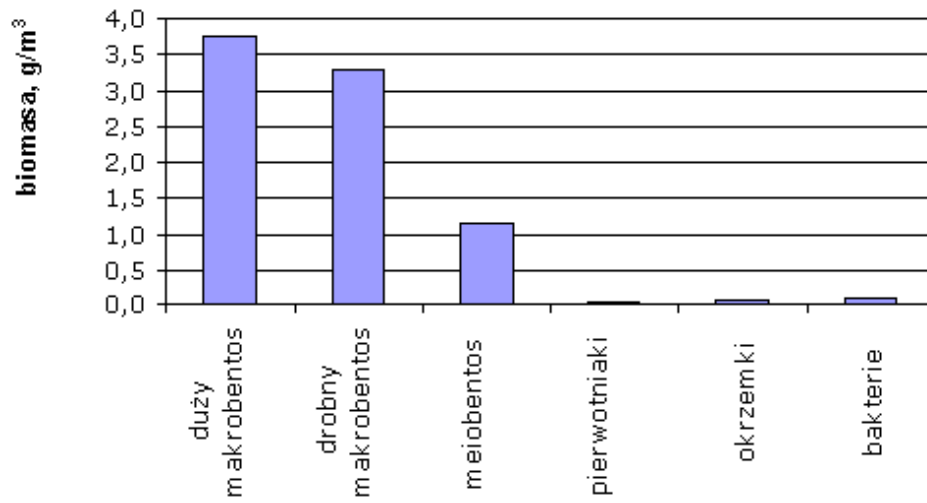
### 2.2.2. Peryfiton

Peryfiton zasiedla strefę przybrzeżną zbiorników wodnych. Jest to zespół mikroorganizmów tworzących porośla (ciemnozielony śliski nalot) na przedmiotach martwych zbiornika i na podwodnych roślinach. Są to najczęściej drobne glony – okrzemki i zieleńce oraz bakterie. Ponadto w skład peryfitonu wchodzi wiele osiadłych lub czasowo osiadłych pierwotniaków, nicieni, skąposzczetów, larw owadów, a nawet skorupiaków i wodopójek. Peryfiton ma charakter złożonej biocenozy, pomiędzy jej składnikami obserwuje się wiele zależności ekologicznych.

### 2.2.3. Bentos

Środowisko denne zasiedlane jest przez zespół organizmów zwany bentosem. Muliste dno zawiera bogactwo związków organicznych powstających z rozkładu obumarłych, opadających z wyższych warstw szczątków roślin i zwierząt. Równocześnie, zwłaszcza w wodach głębokich pozbawione jest ono roślin, które z braku światła nie znajdują w tej strefie warunków do życia. Niedobór tlenu sprzyja z kolei rozwojowi m.in. beztlenowej mikroflory gnilnej.

Wśród organizmów bentosowych najliczniej występują bakterie i grzyby (destruenci) oraz zwierzęta (detrytusofagi) (rys. 2.2). Obie grupy odpowiedzialne są za rozkład materii organicznej. Bentos zbiorników płytkich może zawierać w swym składzie również glony.



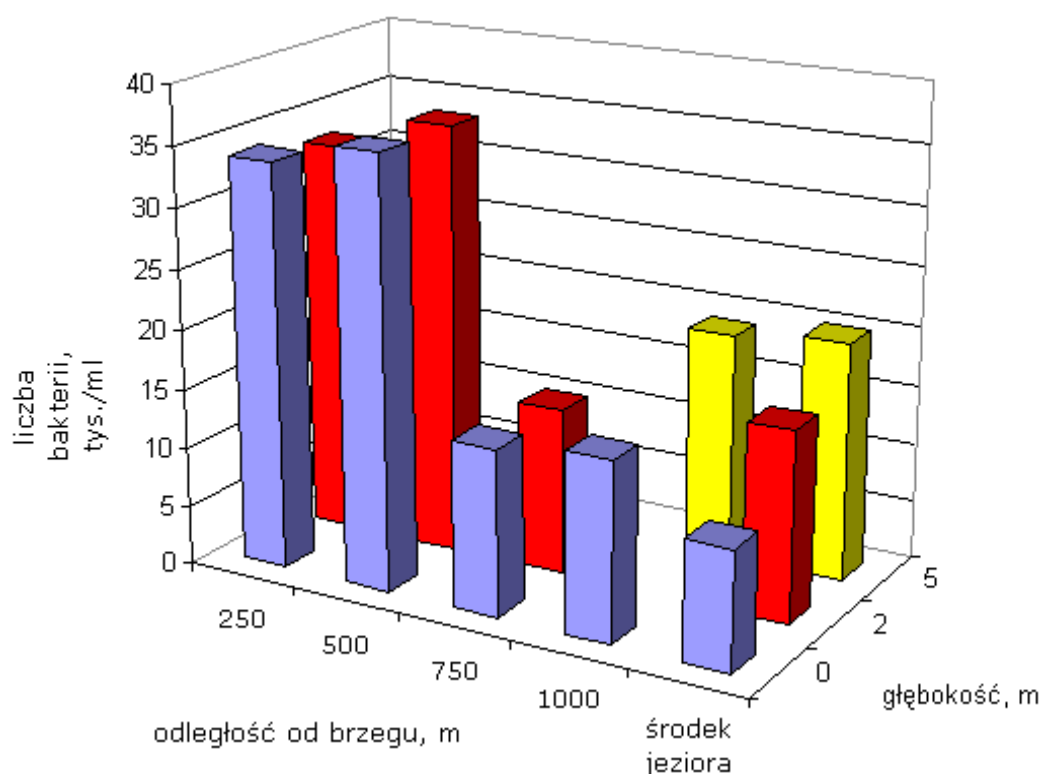
Rys. 2.2. Porównanie biomasy bakterii z biomasą innych organizmów w powierzchniowej (0,5 cm) warstwie osadów dennych (Mare 1942)

### 2.3. Czynniki limitujące rozwój mikroorganizmów w wodzie

Na rozwój mikroorganizmów w wodach wpływa bardzo dużo czynników fizycznych i chemicznych, które w różnorodny sposób ze sobą współdziałają lub też działają na siebie przeciwstawnie. Wpływają one na wielkość i skład gatunkowy populacji mikroorganizmów (rys. 2.3), na ich wygląd i procesy życiowe.

W ekosystemach wodnych można wyróżnić 2 grupy czynników mających decydujący wpływ na stosunki ilościowe i jakościowe mikroorganizmów:

- czynniki abiotyczne - do nich należą: energia świetlna, energia cieplna, odczyn wody, ruch wody, klimat oraz związki rozpuszczone i zawieszone w wodzie (martwa substancja organiczna i związki nieorganiczne oraz gazy takie jak tlen, dwutlenek węgla, metan i inne);
- czynniki biotyczne - do nich należą wszystkie organizmy żywe bytujące w wodzie - rośliny, zwierzęta i drobnoustroje i wzajemne między nimi współzależności.



Rys. 2.3. Poziome rozmieszczenie bakterii w Jeziorze Bodeńskim wg Deufela 1969

#### 2.3.1. Czynniki abiotyczne

##### Światło

Promienie światła odgrywają istotną rolę w procesie fotosyntezy. Ilość światła docierającego do różnych warstw wody zależy od pozycji słońca, przejrzystości i barwy wody oraz głębokości. Im mniejszy jest kąt padania, tym mniejsza jest strata promieni świetlnych spowodowana odbiciem

W zależności od stopnia zmętnienia wody i nasłonecznienia, biologicznie czynne promienie świetlne docierają w wodach zwykle do głębokości 10-150 m. Wody morskie są bez porównania bardziej czyste i przejrzyste od słodkich wód śródlądowych, więc światło dociera w nich znacznie głębiej. Światło penetruje wodę oceanów zwykle do głębokości ok. 150 m, tworząc strefę zwaną fotyczną, gdzie możliwa jest fotosynteza.

W związku z różnymi warunkami świetlnymi w wodzie rozwój fotoautotrofów nie jest w całej masie wody jednakowy. Wskaźnikiem naświetlenia jest często dolna granica zasięgu występowania glonów - najbujniejszy ich rozwój ma miejsce na głębokości 0,5-2 m. Większość glonów ma zdolność do zmiany i dostosowania swego zabarwienia do panujących na danej głębokości warunków świetlnych dzięki zawartości barwników, przez co glony adaptują się do różnych rodzajów promieniowania na danej głębokości.

Szkodliwy wpływ światła zaznacza się w stosunku do drobnoustrojów pozbawionych barwników. Ujemne działania wywierają zarówno promienie ultrafioletowe, jak i te o falach dłuższych. Np. światło niebieskie (długość fal 366-436) hamuje proces utleniania azotynów przez *Nitrobacter vinogradskyi*. Światło ma również wpływ na rozwój grzybów wodnych. Promienie niebieskie i zielone wywierają silniejszy wpływ hamujący niż czerwone.

### **Temperatura**

Ilość dostarczanej energii cieplnej zależy - podobnie jak przy świetle - od kąta padania promieni, a więc od pozycji słońca względem lustra wody. Dlatego też zmienia się ona w przekroju dobowym i rocznym oraz zależy od szerokości geograficznej.

Wody płynące np. rzeki mają równomierną temperaturę w całej swej masie, bowiem są stale mieszane nieustannym ruchem płynącej wody. To wodne środowisko charakteryzują jednak dobowe wahania temperatury, zwłaszcza w rzekach o małej głębokości.

W wodach stojących np. jeziorach, w których prąd wody jest bardzo słaby lub nie ma go wcale, temperatura zmienia się w cyklu rocznym. Jeziora, zwłaszcza głębokie, charakteryzuje **stratyfikacja pionowa**, czyli podział na warstwy, różniące się składem i temperaturą.

W lecie naświetlona ciepła woda przy powierzchni ma mniejszą gęstość niż ciemne, zimne wody poniżej. Różnica gęstości chroni te dwie warstwy przed mieszaniem. Warstwa ciepłej wody nazywana jest **epilimnionem**. Chłodniejsze wody poniżej zwane warstwą termokliny, czyli **metalimnionem** stają się wraz z głębokością coraz zimniejsze. Każdy metr głębokości niżej oznacza spadek temperatury o ponad 1°C. W warstwie przydennej zwanej **hypolimnionem** woda osiąga temperaturę 4°C i ma największą gęstość.

Termoklina działa jak bariera między epi- i hypolimnionem. Wody wymienionych trzech warstw nie mieszają się ze sobą przez całe lato z powodu różnic w gęstości. Woda krąży tylko w epilimnionie pod wpływem wiatru. Biogeny odżywcze obecne przy dnie jeziora nie są dostępne dla organizmów z górnych warstw wody i późnym latem warstwa powierzchniowa wykazuje deficyt substancji troficznych.

Jesienią wody powierzchniowe zaczynają się ochładzać i opadać, wypierając cieplejsze wody położone niżej. One również się ochładzają. W miarę jak postępuje wymiana wód (cyrkulacja jesienna) oraz ich mieszanie pod wpływem wiatru wody te natleniają się i równocześnie pozbywają nadmiaru, CO<sub>2</sub> przez wydzielenie go do atmosfery zwłaszcza z wody przydennej.

Lekka inwersja temperatur następuje zimą, ponieważ woda o temperaturze poniżej 4°C ma mniejszą gęstość niż woda cieplejsza i płynie ku powierzchni. Kolejne przemieszanie następuje wiosną, w miarę jak wody powierzchniowe nagrzewają się. Cały zbiornik obfituje wtedy w tlen i biogeny. Ruchy i mieszanie się wody powodują także przemieszczanie się drobnoustrojów w całym profilu.

### **Ruch wody**

Mieszanie się wód odgrywa bardzo istotną rolę zarówno w rozmieszczeniu temperatury, jak i wyrównaniu składu chemicznego wody (gazy, składniki odżywcze, substancje

wyrównujące ciśnienie osmotyczne, odczyn wody itp.). Ruch cząsteczek wody spowodowany jest:

- różnicą gęstości wywołaną niejednakową temperaturą lub zawartością związków rozpuszczonych i zawieszonych,
- wiatrami,
- różnicą w poziomie dna zbiornika (wody płynące),
- określonymi zabiegami hydrotechnicznymi.

### **Ciśnienie**

Ciśnienie jest ważnym czynnikiem ekologicznym, silnie wpływającym na życie mikroorganizmów m.in. poprzez istotny wpływ na aktywność układów enzymatycznych komórek.

W wodach ciśnienie hydrostatyczne, zwiększa się o 1 atm. na każde 10 m głębokości.

Tak, więc w głębinach mórz i niektórych jezior ma ono wysoką wartość - w większości mórz ok. 100 atm., a np. w rowach głębinowych Pacyfiku osiąga nawet 1100 atm.

Grupę drobnoustrojów głębinowych, których obecność stwierdzono nawet na głębokości 10.000 m nazwano barofilnymi. Rozwijają się one nie tylko przy wysokich ciśnieniach, ale też w niskich temperaturach (3-5° C), lecz rosną bardzo wolno. Większość bakterii słodkowodnych i glebowych nie rozwija się przy ciśnieniu przekraczającym 200 atm. (bakterie barofobne).

### **Odczyn wody**

Optymalny dla większości bakterii wodnych odczyn mieści się w zakresie pH=6,5-8,5.

Wody wielu jezior mają przeciętnie odczyn wynoszący pH=7,0; rzek - pH=7,5, a warstwy powierzchniowej mórz - pH=8,2.

Dzięki dużej zawartości węglanów ze względu na ich właściwości buforujące, pH wody zwykle nie podlega większym wahaniom. Przy silnym nasłonecznieniu i rozwoju zielonych organizmów fotosyntetyzujących, zużywających, CO<sub>2</sub>, pH może się podnieść dość znacznie.

Niektóre źródła mineralne i zbiorniki śródlądowe o dużej zawartości związków humusowych mogą mieć odczyn kwaśny. W tych warunkach zwiększa się liczebność kwasolubnych grzybów.

Stosunkowo duże zmiany odczynu obserwuje się w jeziorach eutroficznym, gdzie pH oscyluje, od 7 do 10, co ma oczywisty wpływ na skład populacji bakterii i grzybów.

### **Zasolenie**

Większość mikroorganizmów czystych jezior i rzek jest halofobna i w warunkach naturalnych nie rozwija się w wodach o zasoleniu przekraczającym 10%. Jest niewiele mikroorganizmów halotolerancyjnych, które mogą bytować także w wodach o wyższym stężeniu soli.

Morze ze względu na zasolenie stanowi odrębny biotop; przeważająca większość bakterii i grzybów żyjących w morzach jest halofilna, tzn., że ich procesy życiowe przebiegają przy dużym stężeniu soli.

Pod względem chemicznym wody morskie są roztworem soli, w skład których wchodzi wszystkie pierwiastki chemiczne w zmiennych ilościach. Główną masę soli (99%) stanowią sole pierwiastków: Cl, Na, S, Mg Ca i K.

Stężenie soli w wodzie morskiej, czyli zasolenie wynosi średnio 35‰. Zakres optymalnego zasolenia dla większości halofilnych bakterii i grzybów wynosi 25-40‰. W otwartym oceanie waha się ono pomiędzy 32-38‰, a w morzach zamkniętych (jeziorach słonych) różnicowanie jest znacznie większe. Np. Morze Kaspjskie cechuje się niską zawartością soli (1,1-1,3‰), a Morze Martwe - ma znacznie większe stężenie dochodzące do 28‰.



Skład soli rozpuszczonych w wodzie i ich udział procentowy w zasoleniu jest w przybliżeniu stały. Jeziora o wysokiej koncentracji soli są biotopami skrajnymi, a ich zespoły biotyczne ubogie są pod względem składu gatunkowego (główne mikroorganizmy to bakterie, sinice, wiciowce).

Wzrost zasolenia ma wpływ na cykl generacyjny bakterii i grzybów, na ich cechy morfologiczne i wywiera różne efekty fizjologiczne.

### **Inne substancje nieorganiczne**

Życie mikroorganizmów wodnych jest uzależnione od innych jeszcze (poza NaCl) substancji nieorganicznych, wśród których szczególną rolę spełniają nieorganiczne związki azotu i fosforu.

Obok wolnego azotu w wodach powierzchniowych występują liczne połączenia mineralne tego pierwiastka, tj. azotany, azotyny i sole amonowe.

Głony, a także bakterie heterotroficzne korzystają najchętniej z azotanów i soli amonowych. Maksymalne potrzebne do rozwoju wymagania ilościowe w odniesieniu do azotu są różne dla różnych gatunków glonów. Np. okrzemki z rodzaju *Asterionella* mogą się rozmnażać przy wysokiej koncentracji – jeszcze przy 100 µg N/l, natomiast wartość graniczna dla glonu z rodzaju *Pediastrum* wynosi tylko 2 µg N/l. Dla bakterii podobnie - ilości maksymalne są różne dla różnych gatunków.

Za najważniejszy pierwiastek limitujący rozwój glonów uważany jest fosfor. Jego ilości w wodzie są niewielkie (0,01-0,1 mg P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/l). Fosfor mineralny występuje w wodzie w postaci rozpuszczonej (ortofosforany) i w postaci soli nierozpuszczalnych - fosforanów wapnia, magnezu itp. Glony mogą gromadzić w komórkach fosfor w ilościach przekraczających ich aktualne zapotrzebowanie. Wpływ rosnącego stężenia fosforanów (poprzez wprowadzane zanieczyszczenia) odzwierciedla się w zjawisku częstych zakwitów glonów.

W oligotroficznym jeziorach i w morskich obszarach wodnych ubogich w substancje odżywcze trudno wykryć obecność jonów amonowych, azotynów, azotanów i fosforanów, ponieważ związki te, bezpośrednio po wytworzeniu, są powtórnie zużywane przez fitoplankton. W strefie fotycznej wielu mórz tropikalnych niedobór związków azotu i fosforu trwa cały rok, w klimacie umiarkowanym ulega zmianom sezonowym.

Z kolei w głębinach wielkich jezior i mórz dochodzi do mniejszego lub większego nagromadzenia azotanów i fosforanów w wyniku działalności mikroorganizmów heterotroficznych. Amoniak i azotyny są substratami energetycznymi dla bakterii nitryfikacyjnych, a związany w azotanach tlen może służyć licznym bakteriom denitryfikacyjnym do utleniania substancji organicznych w warunkach beztlenowych.

Inne związki niezbędne do życia mikroorganizmów to połączenia pierwiastków takich jak S, Mg, Ca, K, Fe, Si. Użytkowane są one do budowy struktur komórkowych i aktywacji enzymów.

### **Gazy**

W zbiornikach wodnych, oprócz soli i substancji organicznych, znajdują się również niewielkie ilości rozpuszczonych gazów. Woda ma, bowiem zdolność rozpuszczania gazów, przy czym rozpuszczalność maleje ze wzrostem temperatury i zasolenia; w wodach słodkich jest większa niż w morskich. Chodzi tu głównie o tlen, dwutlenek węgla i azot.

Podstawowym źródłem tych gazów jest atmosfera, z której gazy dyfundują do górnych warstw wody, aż do osiągnięcia poziomu nasycenia. Oprócz tego gazy rozpuszczone w wodach i osadach mogą powstawać w wyniku procesów biochemicznych. W ten sposób zostaje wydzielony tlen przez rośliny zielone w wyniku asymilacji, CO<sub>2</sub> przy oddychaniu, azot przy denitryfikacji, siarkowodor w wyniku redukcji siarczanów, a węglowodory w procesach fermentacji.

## Substancje organiczne

Stanowią one albo wydzieliny żywych komórek, albo produkty ich autolizy. Największa ilość związków organicznych wprowadzana jest do wód ze ściekami.

Związki organiczne występują w wodzie w formie rozpuszczonej lub/i tworzą w niej zawiesinę. Substancje te są przede wszystkim pożywieniem dla heterotroficznych bakterii i grzybów, mających zdolność ich rozkładu i korzystających z nich jako źródła energii. Lepsze warunki odżywiania mają drobnoustroje często na powierzchni zawiesin zwłaszcza na cząstkach detrytusu, które adsorbują substancje organiczne z wody.

Na rozwój i przemiany metaboliczne mikroorganizmów decydujący wpływ ma nie tyle całkowita ilość substancji organicznych, ile zawartość łatwo przyswajalnych związków organicznych takich jak węglowodany, kwasy organiczne, białka, tłuszcze. Ich wyczerpywanie z wody zachodzi stosunkowo szybko. Przy braku substancji organicznych liczne bakterie nie osiągają normalnej wielkości, karłowacieją, znacznie wolniej się dzielą.

## Troficzność wód powierzchniowych

Mianem troficzności określa się zasobność wód w pierwiastki biogenne oraz proste rozpuszczalne związki organiczne. Troficzność decyduje o wielkości produkcji pierwotnej i biomasy. Podstawowymi wskaźnikami troficzności wód są: koncentracja fosforu i azotu, koncentracja chlorofilu i przezroczystość wody oraz warunki tlenowe w warstwach przydennych.

Pod względem troficzności, czyli zasobności środowisk wodnych w pierwiastki biogenne wyróżnia się zbiorniki oligotroficzne - ubogie w substancje odżywcze, mezotroficzne o średniej żyzności i eutroficzne żyzne, bogate w składniki pokarmowe oraz wody przeżyźnione, hipertroficzne (tab. 1).

Zasobność w składniki pokarmowe zmienia się w powstałym zbiorniku wodnym wraz z upływem czasu oraz dopływem różnych substancji z zewnątrz. Te właśnie procesy wzrostu żyzności wody od oligotrofii poprzez mezotrofię do eutrofii i jego konsekwencje nazywa się **eutrofizacją**. Jeśli jest ona umiarkowana, a jej efekty korzystne - traktuje się ją jako użyźnianie; jeśli jest ona nadmierna, a efekty niekorzystne traktuje się ją jako zanieczyszczenie nadmiarem substancji biogennych.

Wody mało żyzne to takie, w których jest mało azotu i fosforu - chodzi bowiem głównie o te dwa pierwiastki. Wobec tego jest w nich również mało fito- i zooplanktonu, a woda jest czysta i przezroczysta. Jeżeli w wodzie żyje niewiele planktonu, to też niewiele martwych szczątków opada w głąb. Rozkład ich nie wyczerpuje zasobów tlenu w wodach głębszych.

Tabela 1. Liczba bakterii w powierzchniowej wodzie jezior w okresie letniej stagnacji (met. bezpośredniego liczenia) wg Kuźniecowa 1970

Typ zbiornika	Jezioro	Liczba bakterii tys./ml
oligotroficzny	Bajkał	50-200
	Onega	240-340
	Ładoga	100-300
mezotroficzny	Głębokie (obwód Moskiewski)	1000-1400
	Imołoże (Górny Wołoczek)	420
eutroficzny	Białe (Kosino, Obwód Moskiewski)	2200
	Czarne (j.w.)	4000
	Batorin (Białoruś)	3500-8000

Do pewnego poziomu, wzrost żyzności wody powoduje wzrost liczebności większości organizmów w wodzie, a co za tym idzie intensyfikację w niej przejawów życia.

Przy nadmiernym poziomie żyzności, wyprodukowana materia organiczna zaburza homeostazę ekosystemu. Wydzielane enzymy lityczne przez niektóre bakterie powodują rozkład innych bakterii i glonów. Korzystając z uwolnionych związków organicznych mikroorganizmy planktonowe rozwijają się szczególnie obficie. Wzmożone zużycie tlenu powoduje deficyt tlenu w wodach głębszych, a w konsekwencji rozwój mikroorganizmów beztlenowych i pojawianie się siarkowodoru i metanu. Tak, więc - wysoka żyzność to większa produkcja w zbiorniku wodnym, masowy rozwój fitoplanktonu, a zarazem mniej tlenu w wodach głębszych.

Przejawem eutrofizacji są „zakwity” spowodowane masowym namnożeniem głównie glonów w powierzchniowych warstwach wód, co pociąga za sobą zmianę zabarwienia wody, jej zmętnienie, pogorszenie jakości; w jej składzie pojawiają się związki toksyczne.

Proces naturalnej eutrofizacji przebiega bardzo powoli - do kilku tysięcy lat.

Przyspieszoną eutrofizację natomiast powoduje działalność człowieka, w wyniku, której do wód powierzchniowych przedostają się w nadmiarze związki azotu i fosforu z różnych źródeł m.in. ze ściekami komunalnymi, przemysłowymi, z obszarów pól uprawnych nawożonych nawozami fosforowymi i azotowymi. Zwiększa to istotnie stężenie biogenów, stwarzając duże możliwości rozwoju w wodzie glonów. W tak zanieczyszczonych wodach mogą dłużej przeżywać bakterie fekalne i chorobotwórcze. Na eutrofizację mają też wpływ opady atmosferyczne (suche i mokre) na terenach uprzemysłowionych z dużym poziomem zanieczyszczenia powietrza.

### **2.3.2. Czynniki biotyczne**

Między poszczególnymi członkami zespołu biologicznego zasiedlającego wody powierzchniowe istnieją wielorakie interakcje i dlatego organizmy mogą się wzajemnie w swoim rozwoju wspierać (synergizm) albo hamować (antagonizm).

#### **Konkurencja pokarmowa**

Organizmy, które najsprawniej zdobywają i pobierają pokarm w danych warunkach mogą uzyskać przewagę. Przy typowej dla danego środowiska podaży substancji odżywczych liczebność poszczególnych gatunków mikroorganizmów szybko wzrasta. Jednakże w wielu przypadkach obfite wydzielanie produktów metabolizmu o charakterze inhibitorów zmniejsza liczebność konkurentów, a nawet całkowicie ich eliminuje. Taka sytuacja występuje np. przy znacznych zmianach pH, wywołanych zakwaszeniem lub alkalizacją jak również pod wpływem substancji antybiotycznych.

#### **Współdziałanie**

W procesach odżywiania i wzrostu obserwuje się bardzo często współdziałanie mikroorganizmów. Pozwala ono na szybszy rozwój mieszanych kultur mikroorganizmów. Dzięki takiej współpracy możliwy jest rozkład wielu substancji trudnobiodegradowalnych takich jak lignina czy celuloza. Kolejne fazy degradacji tych związków prowadzone są przez inne wyspecjalizowane mikroorganizmy, co z jednej strony warunkuje ich wzrost a z drugiej strony zapobiega gromadzeniu się produktów przemiany materii.

#### **Drapieżnictwo**

Bakterie i grzyby są pokarmem dla zwierząt niższych, dlatego w niektórych zbiornikach wodnych może dojść do silnych oscylacji ich liczebności. Większość pierwotniaków odżywia się bakteriami. Stwierdzono, że ich biomasa wzrasta wraz ze wzrostem liczebności bakterii. Liczne organizmy wielokomórkowe również wykorzystują bakterie jako pokarm. Dotyczy to szczególnie zwierząt filtratorów np. gąbek. W osadach dennych pokarm dla wielu zwierząt stanowią grzyby. Sinice natomiast będące składnikami bentosu zjadane są często przez wirki, nicienie, skorupiaki i larwy owadów. Sinice planktonowe są pokarmem dla zooplanktonu, z wyjątkiem gatunków powodujących zakwity i wydzielających substancje toksyczne.

## **Pasożytnictwo**

Mikroorganizmy wód są atakowane i niszczone przez wirusy, bakterie i grzyby. Obecność bakteriofagów stwierdzono w wodach śródlądowych i morskich. Szczególnie licznie występują w ściekach i są prawdopodobnie przyczyną szybkiego ubytku bakterii w rzekach, jeziorach i wodach przybrzeżnych zanieczyszczonych ściekami.

Przyczyną ograniczenia liczebności bakterii w wodach są także przecinkowce należące do rodzaju *Bdellovibrio* prowadzące pasożytniczy tryb życia. Przytwierdzają się one do komórki gospodarza, wnikają do niej i namnażają żywiąc się jej kosztem, co prowadzi do strawienia zawartości komórki. Po rozpuszczeniu ściany komórki gospodarza przecinkowce uwalniają się i zakażają kolejne bakterie.

Pasożytnicze grzyby wodne należą do glonowców. Niektóre wykazują znaczną swoistość gatunkową i pasożytują tylko na osobnikach jednego gatunku albo gatunków blisko spokrewnionych, inne zaś zakażają organizmy należące do różnych rodzin. Pasożytnicze grzyby obu grup należą do rodzaju *Rocella* (*Chytridiales*).

## 2.4. Charakterystyka mikroorganizmów wodnych

### 2.4.1. Bakterie

Pod względem morfologicznym większość bakterii wodnych przypomina bakterie glebowe - komórki ich są kuliste, cylindryczne lub śrubowate. Spotykamy również kształt nitkowaty i stylikowy. Nitki mogą być rozgałęzione lub nie-, pojedyncze lub pogrupowane w wiązki. Bakterie wodne mogą tworzyć skupiska składające się z różnej liczby komórek o kształtach: kulistym, owalnym, gwiaździstym, płytkowym lub nitkowatym.

Większość bakterii wodnych jest ruchliwa, poruszająca się z reguły za pomocą rzęsek (np. *Vibrio*, *Pseudomonas*). Bakterie w wodzie mogą pływać wolno (plankton) albo zasiedlać stałe podłoża, przede wszystkim detrytus.

Oligotroficzne bakterie wodne wód czystych występują jako mikroformy o komórkach charakteryzujących się rozmiarami poniżej 1  $\mu\text{m}$ ., zwykle 0,4  $\mu\text{m}$ . Oligotrofy wodne dzielą się rzadko; ich cykl generacyjny trwa od kilkudziesięciu do dwustu godzin. W wodach zanieczyszczonych zdecydowaną przewagę mają bakterie zaliczane do pałeczek gram-ujemnych. Stosunek pałeczek do ziarniaków wynosi ok. 90:1. Wody czyste (potoki, rzeki) mają nieliczną mikroflorę, a stosunek pałeczek do ziarniaków wynosi 1:1,5.

Liczebność bakterii w wodzie zależy głównie od zawartości materii organicznej. W wodach czystych występują one w niewielkiej ilości a w wodach zanieczyszczonych spotyka się nawet kilka mln komórek w 1 ml wody (tab. 2).

Tabela 2. Orientacyjne ilości bakterii w wodach (płynących) o różnym stopniu zanieczyszczenia (wg Cabejszek i współprac., 1957)

Stopień zanieczyszczenia wody	Liczba bakterii na agarze zwykłym w 37°C po 24 godzinach w 1 ml	Liczba bakterii na żelatynie w 20°C po 48 godzinach w 1 ml	Miano coli na pożywce Eijkmana w 37°C po 48 godzinach
Woda niezanieczyszczona	Do 200 komórek	Do 300 kom	Powyżej 1
Woda nieznacznie zanieczyszczona	Do 1000 kom.	Do 5000 kom.	1 - 0,1
Woda wyraźnie zanieczyszczona	1000-5000 kom.	5000 - 10 000 kom.	0,1 - 0,01
Woda silnie zanieczyszczona	Powyżej 5000 kom.	Powyżej 10 000 kom.	Poniżej 0,01

Bakterie występujące w środowisku wodnym można podzielić na:

- autochtoniczne (miejscowe) stale bytujące w wodzie jakiegoś zbiornika;
- allochtoniczne (obce) przedostające się do zbiorników wodnych z gleby lub powietrza oraz wnikające do zbiorników wodnych wraz ze ściekami komunalnymi i przemysłowymi.

#### A. Bakterie autochtoniczne

Wyróżniamy wśród nich: fotoautotrofy, chemoautotrofy i chemoorganotrofy.

##### - Bakterie fotosyntetyzujące (fotoautotrofy)

Wśród autotrofów fotosyntetyzujących znajdują się bakterie purpurowe i zielone. Bakterie purpurowe z uwagi na metabolizm dzielimy na następujące grupy:

- Bakterie zielone nitkowate (*Chloroflexaceae*),
- Bakterie zielone siarkowe (*Chlorobiaceae*),
- Bakterie purpurowe siarkowe (*Chromatiaceae* i *Ectothiorhodaceae*),
- Bakterie purpurowe niesiarkowe (*Rhodospirillaceae*),
- Heliobakterie (*Heliobacteriaceae*).

Fotosynteza bakteryjna przebiega nieco odmiennie w porównaniu do fotosyntezy roślinnej. Jest to przede wszystkim proces beztlenowy i wymaga obecności zredukowanych związków mineralnych oraz nie towarzyszy jej wydzielanie tlenu, lecz powstawanie utlenionych związków nieorganicznych lub organicznych.

Barwniki asymilacyjne bakterii odznaczają się zdolnością do absorpcji światła w zakresie fal długich (podczerwieni) niepochłanianych przez rośliny zielone. Działalność fotosyntetyczną w wodach powierzchniowych prowadzą głównie glony i rośliny wyższe natomiast fotosynteza bakteryjna ma mniejsze znaczenie.

### - Bakterie chemosyntezujące (chemoautotrofy)

Chemoautotrofy czerpią energię z procesu utleniania związków nieorganicznych. W zależności od natury utlenianego substratu wyróżniamy: bakterie nitryfikacyjne, żelaziste, siarkowe i wodorowe.

- Rola **bakterii nitryfikacyjnych** w wodach polega głównie na utlenianiu jonów amonowych i azotanów a tym samym ich usuwaniu. Związki te w większych ilościach mogą być szkodliwe dla organizmów wodnych oraz zdrowia człowieka (w przypadku pobierania takiej wody do celów wodociągowych). Ponadto, wytwarzanie przez te bakterie azotanów jest podstawowym procesem dostarczającym roślinom wodnym najkorzystniejszego dla nich źródła azotu.

- **Bakterie żelaziste** rozwijają się w wodach o zawartości żelaza dwuwartościowego w zakresie 0,15-8,5 mg/dm<sup>3</sup>, a ich niekorzystny wpływ może wynikać z „obrastania” przez nie różnych przedmiotów znajdujących się w wodzie (kamienie, liście i łodygi roślin podwodnych, powierzchnie skrzelu ryb i narybku). Ujemna ich rola polega także na tym, że przyczyniają się do korozji i zarastania rur kanalizacyjnych czy wodociągowych oraz różnych konstrukcji metalowych. Najbardziej rozpowszechnione bakterie żelaziste *Leptothrix ochracea* i *Crenothrix polyspora* należą do bakterii nitkowatych, które charakteryzują się tym, że pojedyncze komórki tworzą nitki, otoczone cieńszą lub grubszą pochewką utworzoną z galaretowatej substancji. Odkładane w komórkach związki żelaza zabarwiają nitki na kolor żółty lub ciemnobrązowy. Bakterie żelaziste w wodach słodkich występują bardzo licznie. Szczególnie w wodzie studziennej i źródlanej, gdzie dostrzec można większe ich skupienia. Masowo występują niekiedy w błotnistych potokach, moczarach i stawach.

- **Bakterie siarkowe** występują głównie w wodach zawierających siarkowodor, który dla większości drobnoustrojów jest toksyczny a dla nich stanowi warunek egzystencji. Spotyka się je w źródłach mineralnych zawierających siarkowodor pochodzenia geologicznego oraz w wodach silnie zanieczyszczonych, gdzie powstaje on jako produkt beztlenowego rozkładu białek. Typowymi przedstawicielami bakterii siarkowych są: bakteria poruszająca się ruchem ślizgowym *Beggiatoa alba* oraz przytwierdzona do podłoża *Thiothrix nivea*. Formy pojedyncze bakterii siarkowych to:

- *Thiobacillus thioparus* – odkłada siarkę pochodzącą z utlenienia tiosiarczanów,
- *Thiobacillus thiooxidans* – rośnie w środowisku kwaśnym przy pH 1,0-4,0,
- *Thiobacillus ferroxidans* – oprócz tiosiarczanów i tetratianionów ma zdolność do utleniania soli żelazawych,
- *Thiobacillus denitrificans* - jest względnym beztlenowcem i wykazuje zdolność wykorzystywania azotanów jako elektronobiorców przy utlenianiu siarkowodoru. W warunkach tlenowych funkcje tę spełnia tlen.

- **Bakterie wodorowe** posiadają zdolność utleniania wodoru z wykorzystaniem tlenu cząsteczkowego jako ostatecznego akceptora elektronów. Najczęściej odżywiają się jednak heterotroficznie, na samożywny tryb życia przechodzą dopiero, gdy w środowisku pojawi się wodór. Najbardziej rozpowszechnione są gatunki należące do rodzaju *Hydrogenomonas*. Do bakterii wodorowych zaliczyć można *Micrococcus denitrificans* przeprowadzający utlenianie wodoru przy równoczesnej redukcji azotanu do azotu cząsteczkowego a także *Desulfovibrio desulfuricans* przeprowadzające utlenianie wodoru przy równoczesnej redukcji siarczanu do siarkowodoru.

### **- Bakterie heterotroficzne (chemoorganotrofy)**

Przeważająca część bakterii autochtonicznych występujących w zbiornikach wodnych to bakterie chemoorganotroficzne należące do grupy saprofitów, odżywiających się martwą materią pochodzenia roślinnego i zwierzęcego.

Do typowych bakterii utrzymujących się w całej masie wody, to jest w postaci bakterioplanktonu, należą urzęsione pałeczki Gram-ujemne, reprezentujące takie rodzaje jak: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Vibrio* i *Aeromonas*, a także Gram-dodatnie ziarniaki z rodzaju *Micrococcus*, krętki oraz bakterie spiralne z rodzaju *Spirillum*.

Na podwodnych częściach roślin wyższych, a także na podwodnych cząstkach stałych osiedlają się liczne bakterie stylikowe (np. *Caulobacter*), pochwinkowe, nitkowate, a także pączkujące (np. *Hyphomicrobium*), które tworzą perifiton.

W osadach dennych rozwijają się zazwyczaj beztlenowe bakterie gnilne, beztlenowe bakterie celulolityczne, oraz liczne chemoorganotrofy beztlenowe takie jak np. bakterie z rodzaju *Desulfovibrio*, które redukują siarczany do siarkowodoru, oraz nie mniej liczne - beztlenowe bakterie metanogenne, które redukują różne związki organiczne do metanu.

### **B. Bakterie allochtoniczne**

Wody o dużej żyzności, a także silnie zanieczyszczone wody powierzchniowe obfitują w pochodzące z zewnątrz bakterie saprofityczne i pasożytnicze wśród których najliczniej reprezentowaną grupą są Gram-ujemne pałeczki jelitowe *Escherichia coli* oraz bakterie z rodzaju *Proteus*, *Klebsiella* i *Enterobacter*, a także pałeczki z gatunku *Pseudomonas aeruginosa* oraz rodzaju *Arthrobacter* czy *Corynebacterium*.

Ponadto, do allochtonicznych bakterii wodnych należy zaliczyć Gram-dodatnie laseczki z rodzaju *Bacillus* i *Clostridium*, które są wypłukiwane z gleby. Przedostają się do zbiorników wodnych podczas silnych opadów wraz ze spływem powierzchniowym.

Źródłem bakterii chorobotwórczych (patogennych) są głównie ścieki miejskie. Do wód przedostają się także na drodze infiltracji i spływów powierzchniowych bakterie patogenne pochodzące z gleby.

Rola powietrza w zakażeniu wody jest istotna w zasięgu gęsto zaludnionych miast i okręgów przemysłowych. W zakażeniu główną rolę odgrywają bakterie zawieszane w powietrzu w postaci bioaerozoli lub pyłu bakteryjnego. Wraz z opadami przedostają się one do wód powierzchniowych.

#### **2.4.2. Grzyby wodne**

W przeciwieństwie do bakterii, które najlepiej namnażają się w wodach o odczynie od pH=6-8,0, grzyby występują głównie w wodach o odczynie wyraźnie kwaśnym, poniżej wartości 6,0.

W większości przypadków grzyby rozwijają się w wodach płytkich, na powierzchni lub tuż pod powierzchnią wody, co związane jest z faktem, że drobnoustroje te wymagają do swego wzrostu znacznych ilości tlenu.

Liczebność grzybów drożdżoidalnych w rzekach osiąga zbliżone wartości zarówno w okresie letnim jak i zimowym (tab. 3).

Stosunkowo najliczniej w środowisku wodnym reprezentowane są grzyby pleśniowe należące do typu lęgniowców (*Oomycota*) oraz do klasy sprzężniaków takie jak *Mucor* oraz *Rhizopus*. Dość często pojawiają się w wodach powierzchniowych grzyby zaliczane do typu workowców (*Ascomycota*) i to zarówno drożdże, jak i pleśnie (np. pleśnie z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*), a także grzyby mitosporowe (*Deuteromycota*)

Prawie wszystkie grzyby są heterotrofami rozkładającymi materię organiczną; w wodach żyją i saprofity i pasożyty osiedlające się na roślinach i zwierzętach wodnych. Mają bardziej zróżnicowane kształty niż bakterie i różnią się od nich większymi komórkami i skomplikowaną budową. Obok grzybów jednokomórkowych (np. drożdże) istnieje wiele form wielokomórkowych tworzących rozbudowaną grzybnię.

Grzyby nie występują na ogół w czystych wodach. Rozwijają się masowo na dnie zbiorników zanieczyszczonych ściekami (np. *Leptomitus lacteus*).

Tabela 3. Liczebność drożdży w dolnej Łabie w latach 1956/1957 (Rheinheimer 1965)

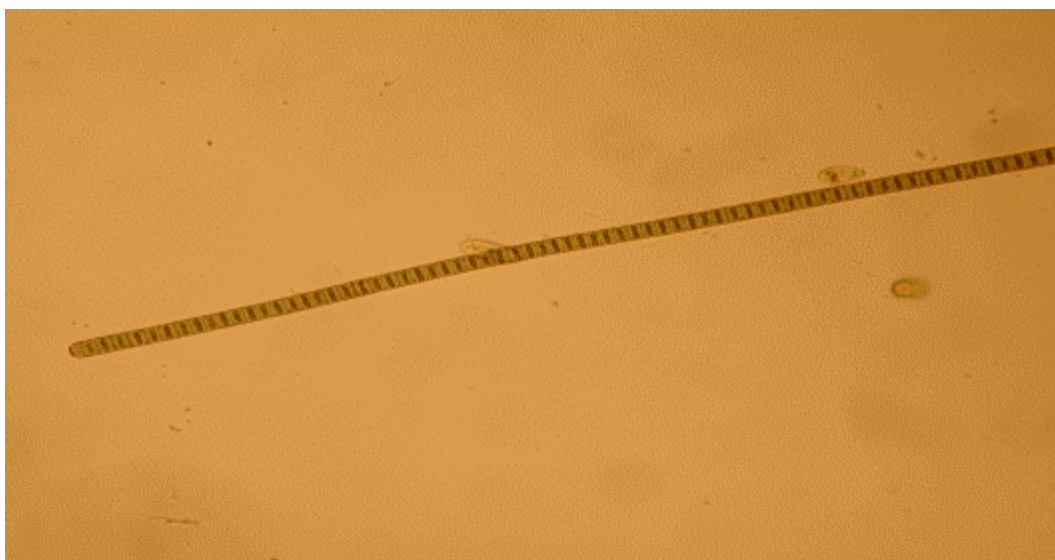
Termin poboru prób	Miejsce poboru [km biegu rzeki]						
	474	510	550	586	610	626	666
	Liczba komórek drożdży w 1 cm <sup>3</sup> wody						
Lato	42	35	20	16	14		
Zima	70	65	58	60	46		

### 2.4.3. Sinice

Sinice to grupa organizmów dawniej uważanych za glony (rys. 2.4). Obecnie zaliczane są one do królestwa *Procaryota* a w jego obrębie do podkrólestwa *Eubacteria*. Wśród nich spotykane są formy jednokomórkowe, kolonijne (luźne komórki połączone wspólną śluzową otoczką) oraz mające postać nici.

Jako organizmy prokariotyczne zawierają nukleoid zamiast wyodrębnionego jądra. W odróżnieniu od innych bakterii fotosyntetyzujących, sinice zdolne są do przeprowadzania tlenowej fotosyntezy. Zawierają chlorofil a i niekiedy maskujące go barwniki asymilacyjne: fikobiliny (fikocyjanina i allofikocyjanina) oraz fikoerytrynę. Charakterystyczne niebiesko-zielone zabarwienie sinic wynika z połączenia barw chlorofilu i fikocyjaniny.

Sinice rozmnażają się głównie wegetatywnie przez podział. Cechą charakterystyczną wielu z nich jest posiadanie wakuoli gazowych umożliwiających im przemieszczanie w toni wodnej, do miejsc o lepszym naświetleniu sprzyjającym fotosyntezie. Niektóre (*Anabaena*) zdolne są do wiązania azotu atmosferycznego, miejscem wiązania azotu są struktury zwane heterocystami. Dzięki swojej oporności na ekstremalne warunki środowiskowe są wszechobecne. Spotkać je można na pustyniach i w gorących źródłach. Sinice mogą być przyczyną zakwitów występujących w jeziorach i innych środowiskach wodnych. Niektóre z nich wydzielają toksyczne metabolity.



Rys. 2.4. Sinica z rodzaju *Oscillatoria*

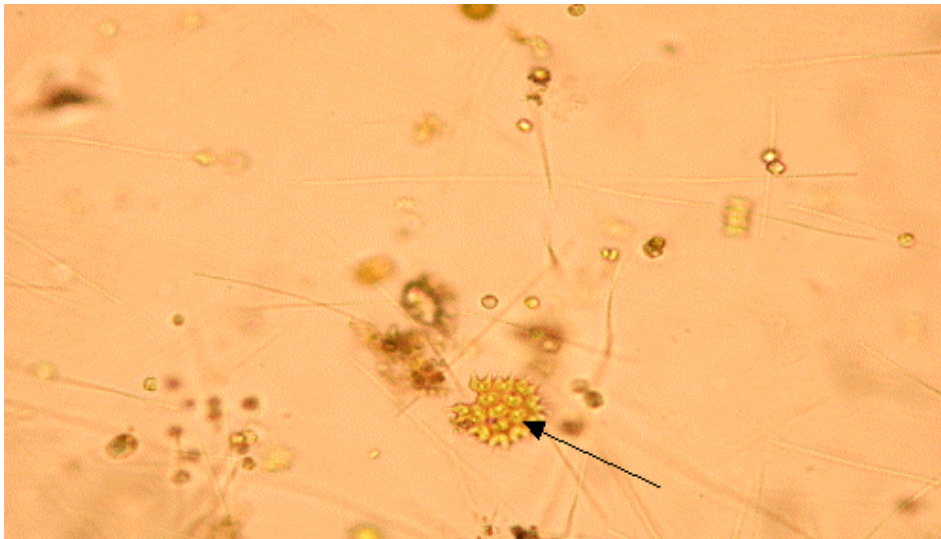


#### 2.4.4. Glony

To najprostsze, samożywne rośliny obejmujące ponad 20 tys. gatunków. Glony występują w wodach słodkich i morskich, rzadziej na lądzie. Są w wodach ważnymi producentami materii organicznej.

Żyją w postaci pojedynczych komórek lub tworzą różnego kształtu plechy (nici, kule, płytki, wielowarstwowe skupienia). Skład jakościowy i ilościowy glonów zmienia się bardzo istotnie w zależności od zawartości soli mineralnych w wodach danego zbiornika, a także w zależności od charakteru substancji stanowiących główne zanieczyszczenie zbiornika wodnego.

Dla przykładu, do charakterystycznych glonów występujących w wodach oligotroficznych należą: okrzemki z rodzaju *Asterionella*, *Tabellaria* i *Melosira*, złotowiciowce z rodzaju *Dinobryon* oraz niektóre zielenice. W wodach eutroficznych skład glonów jest zupełnie inny. Przede wszystkim wody takie zawierają tylko nieznaczne ilości okrzemek, a zamiast nich pojawiają się tobołki (*Dinophyta*) i skrętnice (*Spirogyra*).



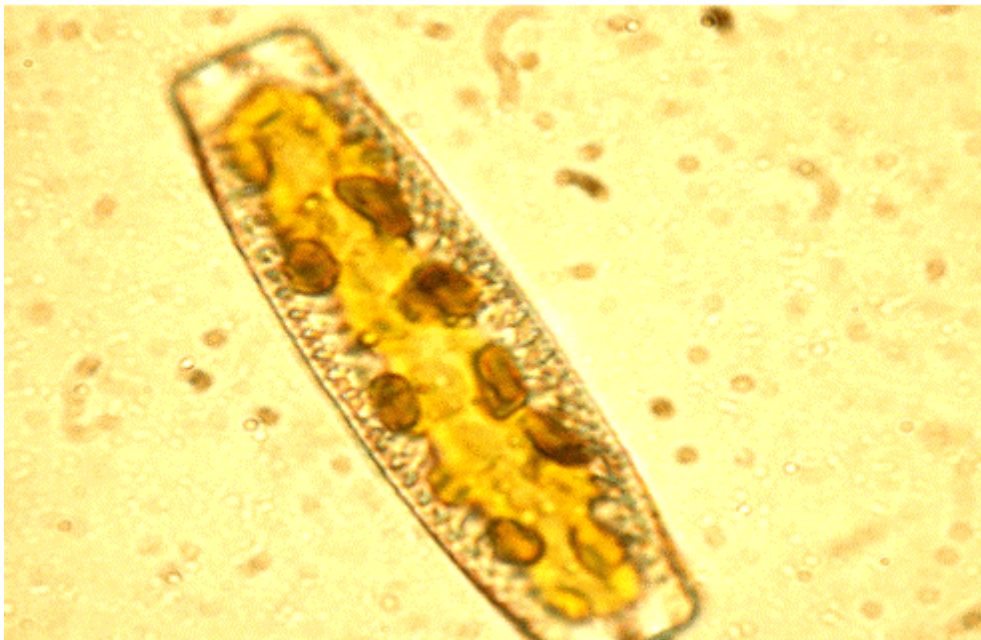
Rys. 2.5. Glony występujące w rzece Odrze w okresie jesiennym: *Pediastrum* sp.



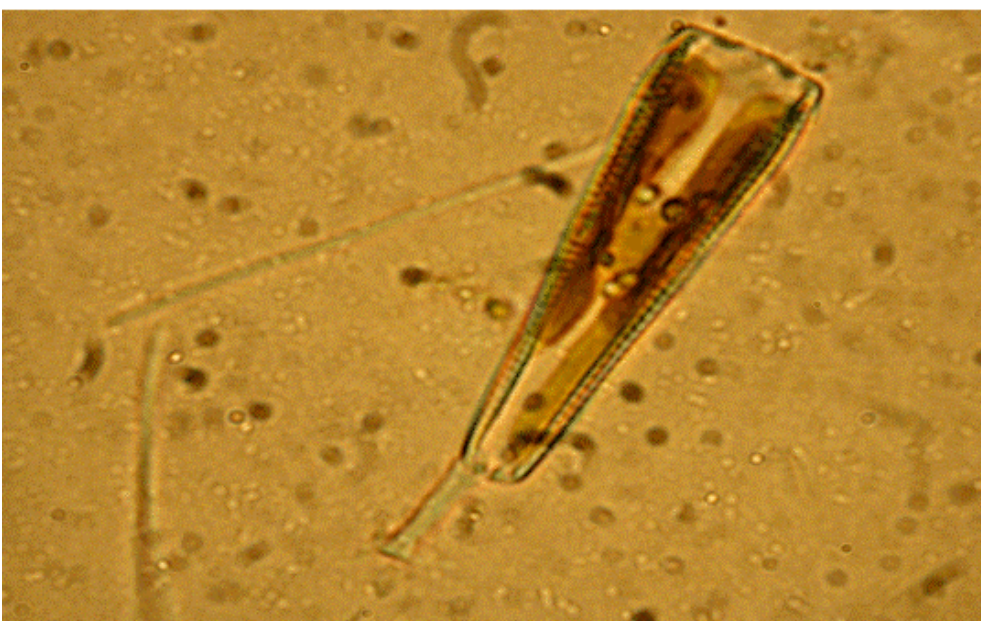
Rys. 2.6. Glony występujące w rzece Odrze w okresie jesiennym: *Scenedesmus* sp. oraz *Chlorella* (zielenice)

Głony dzielimy na następujące gromady:

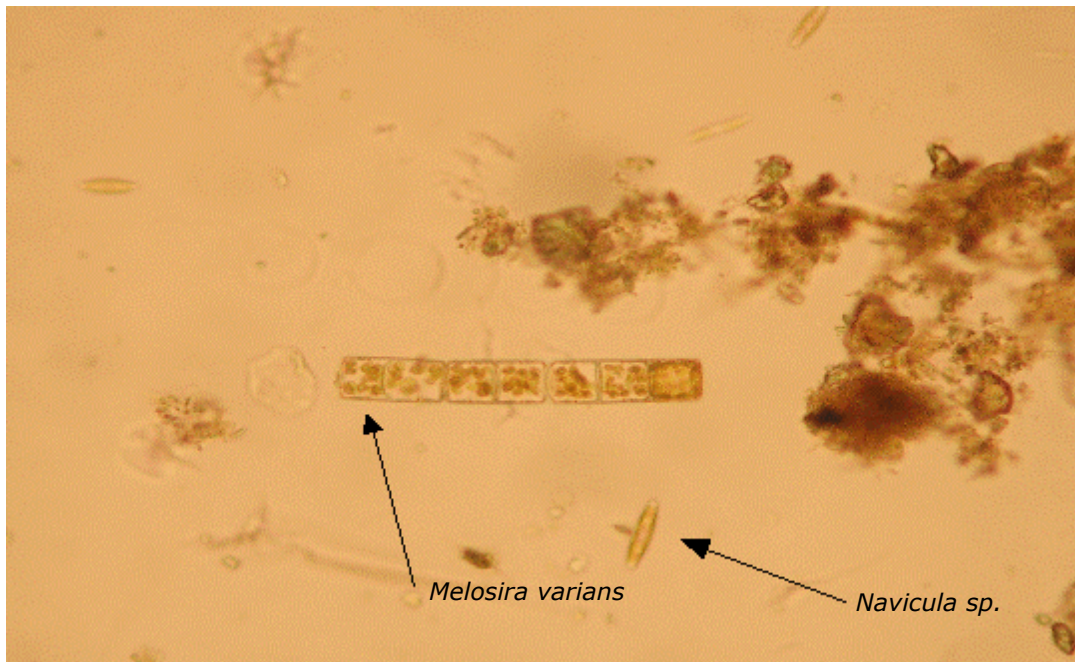
- *Chlorophyta* – zielenice (rys. 2.5-6). Zawierają chlorofil a i b, celulozową ścianę komórkową i produkują skrobię jako materiał zapasowy. Mają zróżnicowaną budowę, obok form jednokomórkowych istnieją wielokomórkowe, najczęściej nitkowate. Komórki są ruchliwe i wtedy zaopatrzone w wici lub nieruchliwe. Chromatofory różnego kształtu zabarwione są na zielono. Rozmnażają się wegetatywnie lub płciowo. Rozmnażanie wegetatywne polega na podziale komórki lub fragmentacji form nitkowatych.
- *Chrysophyta* – złocienice. W tej gromadzie glonów znajdują się ważne dla środowiska wodnego okrzemki (rys. 2.7-10). Są wszędobyłskie, występują w wodach słodkich i słonych, osadach dennych i glebie. Zawierają chlorofil a i c. Ich ściana komórkowa wzbogacona jest w krzemionkę. Produkują lipidy jako materiał zapasowy.



Rys. 2.7. Okrzemka *Epithemia* sp.

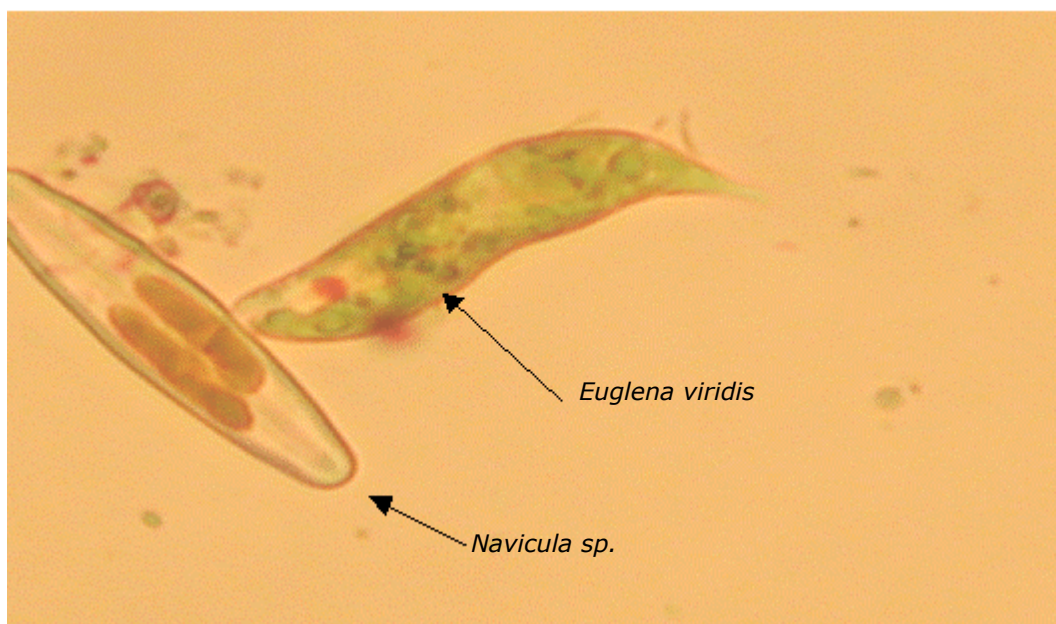


Rys. 2.8. Okrzemka *Gomphonema constrictum*.



Rys. 2.9. Okrzemki występujące w rzece Odrze:  
*Melosira varians*, *Navicula* sp.

- *Euglenophyta* – eugleniny (rys. 2.10-11). Eugleniny mają zazwyczaj kształt wydłużony. Ich komórki zaopatrzone są w wici umożliwiające czynne poruszanie się w wodzie lub poruszają się pełzając po podłożu. Komórki otoczone są miękką osłonką, zwana peryplastem lub też grubą ścianą. Chromatofory zawierają chlorofil oraz karoteny i ksantofile. W komórce występuje dobrze widoczne jądro komórkowe oraz plamka oczna tzw. stigma, która jest czuła na bodźce świetlne. Komórki euglenin tworzą cysty, czyli formy przetrwalne, które umożliwiają im przeżycie niekorzystnych warunków. Szczególnie chętnie rozwijają się w wodach o dużej zawartości związków organicznych. Istnieją też formy pasożytnicze.



Rys. 2.10. *Navicula* sp. – okrzemka, *Euglena viridis* – euglenina



Rys. 2.11. Euglenina *Euglena acus*.

- *Pyrrophyta* – tobołki. Występują przeważnie pojedynczo. Komórki otacza celulozowa ściana komórkowa, niektóre pozbawione są ściany komórkowej. Zwykle mają dwie wici za pomocą, których poruszają się. W protoplazmie występuje duże wyodrębnione jądro komórkowe oraz żółtozielone lub żółtobrunatne chromatofory. Rozmnażają się przez podział, a u niektórych gatunków stwierdzono rozród płciowy. Występują w wodach słonawych i morskich a tylko pewne gatunki w wodach słodkich. W jeziorach występuje bruzdnica *Ceratium hirundinella*, która w niektórych okresach roku może pojawiać się masowo.

Glonami charakterystycznymi dla wód morskich są:

- *Rhodophyta* – krasnorosty. Zawierają chlorofil *a* i *d* oraz inne barwniki takie jak karoteny, ksantofile oraz barwniki fikobilinowe: fikoerytryna i fikocyjanina. Wytwarzają skrobię jako materiał zapasowy. Ich ściana komórkowa jest dwuwarstwowa: wewnętrzna zbudowana jest z celulozy a zewnętrzna pektynowa. Rozmnażają się bezpłciowo przez fragmentację plechy i aplanospory, natomiast płciowo przez oogamię.
- *Phaeophyta* – brunatnice. Zawierają chlorofil *a* i *c* oraz karotenoidy i ksantofile. Materiałem zapasowym jest dla nich laminaryna ( $\beta$ -1, 3-glikan) i chrysolaminaryna, alkohol mannitol oraz tłuszcze. Ich ściana komórkowa jest także dwuwarstwowa: wewnętrzna zbudowana z celulozy a zewnętrzna pektynowa. Brunatnice to organizmy wielokomórkowe, o najwyższym wśród glonów stopniu specjalizacji plechy oraz dużym różnicowaniu anatomicznym i morfologicznym. Rozmnażają się wegetatywnie przez fragmentację plech, a także płciowo.

#### 2.4.5. Pierwotniaki wodne

Pierwotniaki żyją we wszystkich rodzajach wód, począwszy od małych deszczowych kałuż, kończąc na wodach śródlądowych, a nawet morskich. Odżywiają się heterotroficznie pobierając związki organiczne rozpuszczone w wodzie oraz w postaci stałej, a także pożerając komórki bakterii. Najliczniej występują w wodach silnie zanieczyszczonych, są także składnikiem osadu czynnego. Gdy stopień zanieczyszczenia jest bardzo wysoki, w wodach dominują bezbarwne wiciowce, natomiast, gdy stopień zanieczyszczenia jest niezbyt duży znaczną przewagę zdobywają orzęski, i to zarówno wolno pływające (np. pantofelek), jak i osiadłe (np. *Vorticella*, czyli wirzyk).

Pierwotniaki dzielimy na cztery gromady:

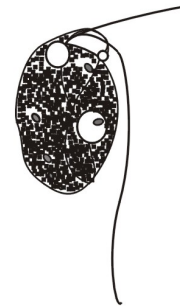
- *Flagellata* – wiciowce (rys. 2.12). Poruszają się za pomocą długich wici. Odżywiają się heterotroficznie i występują w wodach zanieczyszczonych lub w źle pracującym osadzie czynnym. Oprócz związków rozpuszczonych mogą też pobierać pokarm stały, np. bakterie lub jednokomórkowe glony. Wiciowce żyją pojedynczo lub w koloniach. Są wśród nich formy pasożytnicze. Przykładem może być pasożyt człowieka *Giardia lamblia* oraz *Trypanosoma gambiense* wiciowiec przenoszony na człowieka przez muchę Tsetse, powodujący śpiączkę afrykańską z zaburzeniami neurologicznymi.



*Chilomonas paramecium*



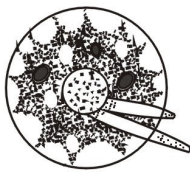
*Distigma*



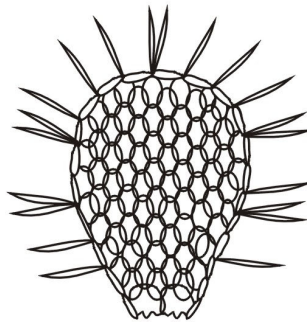
*Bodo saltans*

Rys. 2.12. Przedstawiciele wodnych wiciowców.

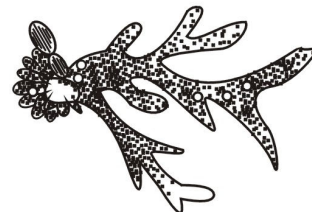
- *Rhizopoda* – korzenionózki (ameby) (rys. 2.13). Komórki poruszają się za pomocą plazmatycznych wyrostków tzw. nibynózek, które służą oprócz tego do pobierania pokarmu. Część korzenionózek ma nieustalony, zmienny kształt ciała, inne natomiast mają kształt stały, gdyż zaopatrzone są w wewnętrzny szkielecik lub otoczone zewnętrzną skorupką (promienice, słonecznice). Niektóre ameby prowadzą pasożytniczy tryb życia (*Entamoeba histolytica*).



*Arcella vulgaris*



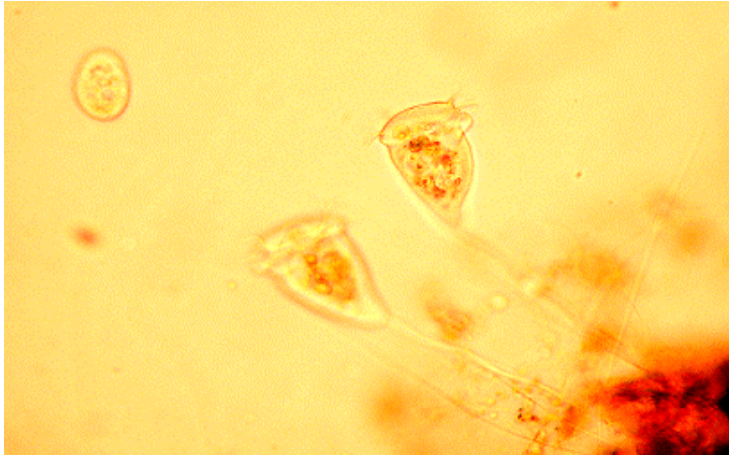
*Euglypha strigosa*



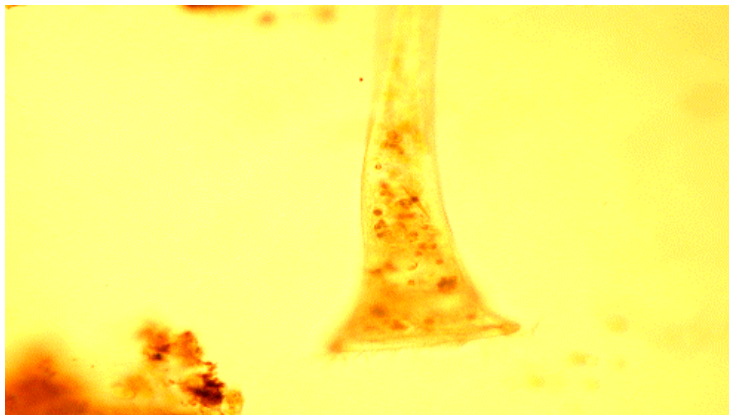
*Amoeba proteus*

Rys. 2.13. Przedstawiciele wodnych korzenionózek.

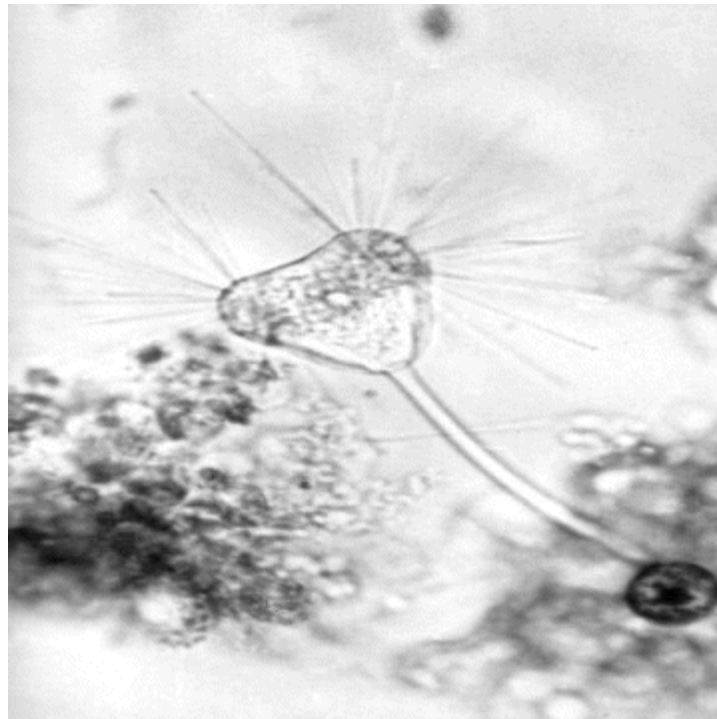
*Ciliata* – orzęski (rys. 2.14-17). Większość przedstawicieli prowadzi wolny, ruchliwy tryb życia (*Paramecium*, *Euplotes*), inne rodzaje są pełzające lub osiadłe i przyczepione do podłoża. Żywią się bakteriami i glonami oraz związkami organicznymi. Występują w dużych ilościach w wodach silnie zanieczyszczonych oraz w osadzie czynnym. Niektóre są pasożytami zwierząt i człowieka, jak na przykład *Balantidium coli* powodujący czerwonkę.



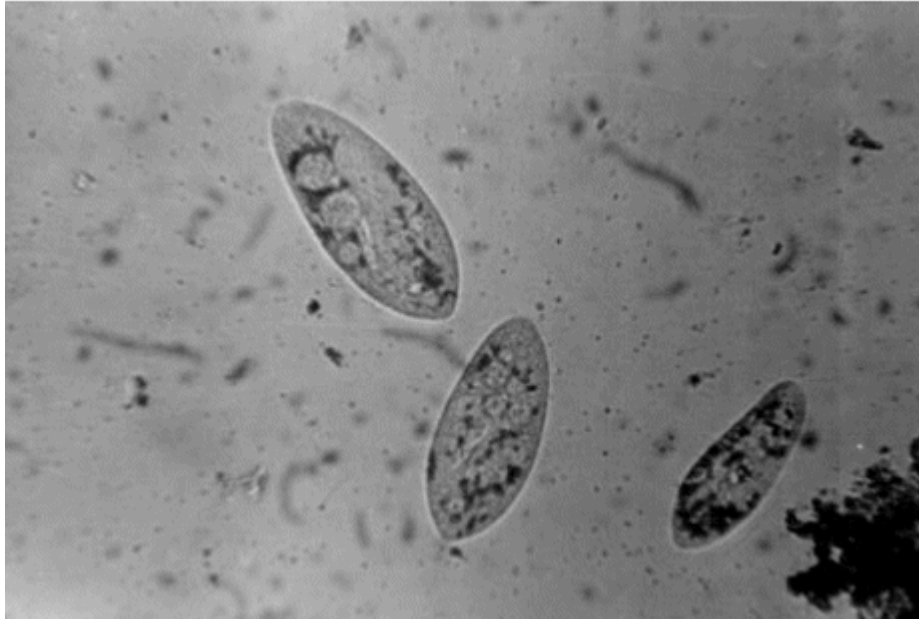
Rys. 2.14. Pierwotniaki – orzęski osiadłe *Vorticella convallaria*



Rys. 2.15. Pierwotniaki – orzęsek osiadły z rodzaju *Stentor*



Rys. 2.16. Pierwotniak – rzęsek osiadły z rodzaju *Suctoria*



Rys. 2.17. Pierwotniaki – orzęski wolnopływające z rodzaju *Paramecium*.

- *Sporozoa* – sporowce. Do tej gromady należą wyłącznie formy pasożytnicze, których przedstawicielem jest zarodek malarii - *Plasmodium malariae*. Pasożyty atakują czerwone ciała krwi. Przenosicielem zarazka jest komar widliszek.

## 2.5. Wody zanieczyszczone

### 2.5.1. Źródła i rodzaje zanieczyszczeń

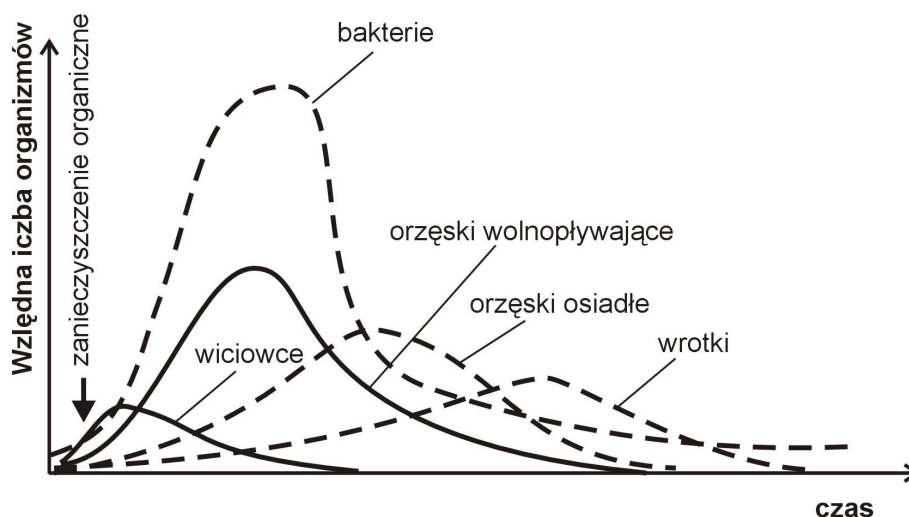
Zanieczyszczenie wód powierzchniowych następuje w wyniku odprowadzenia do nich ścieków bytowo-gospodarczych i przemysłowych, które zawierają duże ilości różnorodnych związków, oddziałujących na biocenozę zbiornika wodnego. Poza ściekami przyczyną zanieczyszczenia wód są spływy wód opadowych, spłukujące z pól nawozy i środki ochrony roślin. Zanieczyszczenia przenikają do wód również z powietrza. Są to pyły przemysłowe opadające bezpośrednio do wody lub też spłukiwane są z powierzchni zlewni przez wody deszczowe. Spośród zanieczyszczeń gazowych należy wymienić ditlenek siarki, tlenki azotu, tlenek i ditlenek węgla dostające się do wód głównie na terenach silnie uprzemysłowionych.

Część z tych związków ulega łatwo rozkładowi mikrobiologicznemu, stanowiąc źródło energii i pokarmu dla heterotroficznych drobnoustrojów, inne z kolei są odporne na ten rozkład i dodatkowo szkodliwe lub toksyczne dla drobnoustrojów. Należą tu m.in. związki cykliczne, oleje, smary, węglowodory chlorowane, pestycydy, a wśród zanieczyszczeń mineralnych - sole metali ciężkich.

### 2.5.2. Samooczyszczanie wód powierzchniowych

Samooczyszczanie obejmuje kompleksowe współdziałanie czynników biologicznych i fizyczno-chemicznych jak np. sedymentacja, adsorpcja, oksydacja, wymiana substancji lotnych między atmosferą i wodą tj. uwalnianie gazowych produktów przemiany materii do atmosfery. Decydujące jednak znaczenie mają czynniki biologiczne. W procesie samooczyszczania uczestniczą liczne organizmy, począwszy od mikroorganizmów aż po organizmy wyższe.

Bakterie i grzyby odgrywają tu rolę najistotniejszą dzięki swej zdolności do mineralizacji rozmaitych składników organicznych. W procesie samooczyszczania ulegają rozkładowi białka, cukry proste i złożone, tłuszcze, celuloza, woski, ligniny i inne. W wyniku ich mineralizacji powstają substraty wyjściowe - woda,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  i inne proste związki. W miarę postępującego samooczyszczania zmieniają się populacje działających w środowisku mikroorganizmów (rys. 2.18).



Rys. 2.18. Sukcesja mikroorganizmów w procesie samooczyszczania.

Proces samooczyszczania przebiega ze znacznym zużyciem tlenu, który jest wydatkowany podczas procesów biochemicznych. Ilość tlenu, która zostaje w określonym czasie zużyta przez wodne mikroorganizmy nosi nazwę **biochemicznego zapotrzebowania**



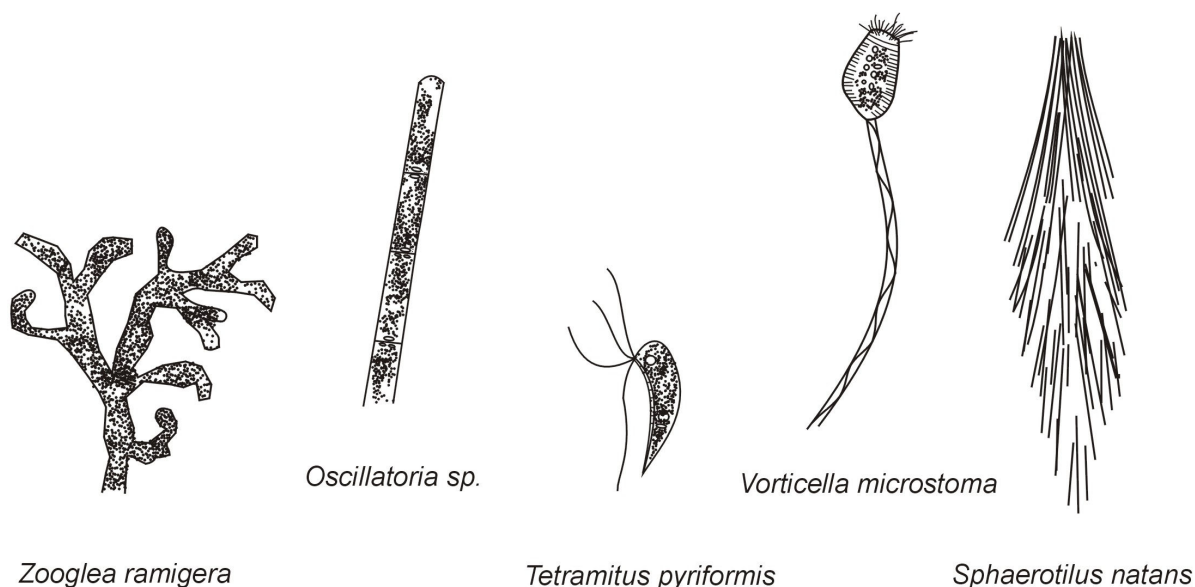
**na tlen (BZT).** Przy pomocy BZT można wyznaczyć stężenie związków organicznych rozpuszczonych w wodzie i podatnych na biologiczne utlenienie. Zrzut zanieczyszczeń do odbiornika wodnego powoduje gwałtowną zmianę warunków chemicznych, fizycznych i biologicznych. Równocześnie poniżej miejsca zrzutu rozpoczyna się proces samooczyszczania, który doprowadza do wytworzenia stref o charakterystycznym, stopniowo zmniejszającym się zanieczyszczeniu.

### **Strefy saprobowe. Samooczyszczanie wód płynących.**

Strefy o różnym stopniu zanieczyszczenia organicznego nazywa się strefami saprobowymi (z gr. sapos - gnilny). W poszczególnych strefach skład biocenoz jest inny i dopasowany do istniejących warunków. Spotyka się w nich wskaźnikowe gatunki drobnoustrojów, które zaadaptowały się do istniejących warunków i wyraźnie dominują nad innymi gatunkami.

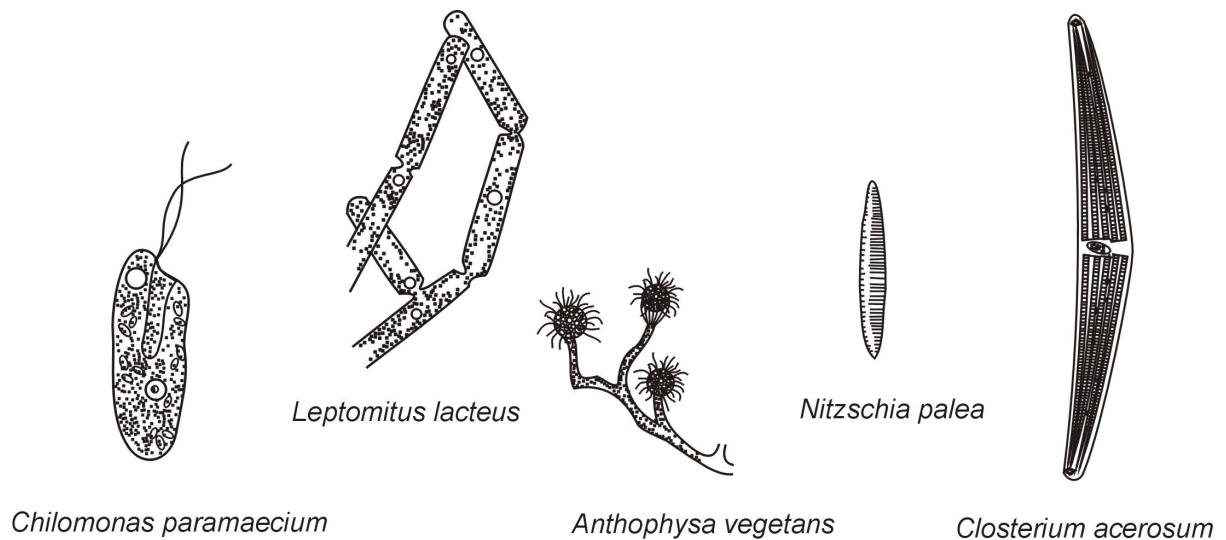
Strefy różnią się dynamiką procesów dysymilacyjnych, intensywnością poboru tlenu, wyglądem wody. Wyróżnia się 3 zasadnicze strefy saprobowe: poli-, mezo- i oligosaprobową, a wśród nich jeszcze podstrefy oznaczone literami greckimi.

**Strefa polisaprobowa** - to strefa największego zanieczyszczenia, z wodą mętną, brudnoszarą i o przykrym zapachu. Ogromne stężenie rozmaitych związków organicznych zapewnia rozwój wybranej mikroflory heterotroficznej, która przeprowadzając biodegradację zużywa duże ilości tlenu, co doprowadza do jego deficytu. W warunkach beztlenowych tworzą się gazy  $H_2S$ ,  $NH_3$ ,  $CH_4$ , azot i inne. Brak w tej strefie roślin zielonych, a z organizmów, które są w stanie przeżyć w tych warunkach dominuje bakteria *Zooglea ramigera* i nitkowata bakteria *Sphaerotilus natans*. Rozwijają się też bakterie siarkowe (jeśli jest siarkowodor), zwłaszcza z rodzaju *Beggiatoa* i *Thiothrix*; liczne są gatunki pierwotniaków. W strefie najliczniej występują destruenci (rys. 2.19).

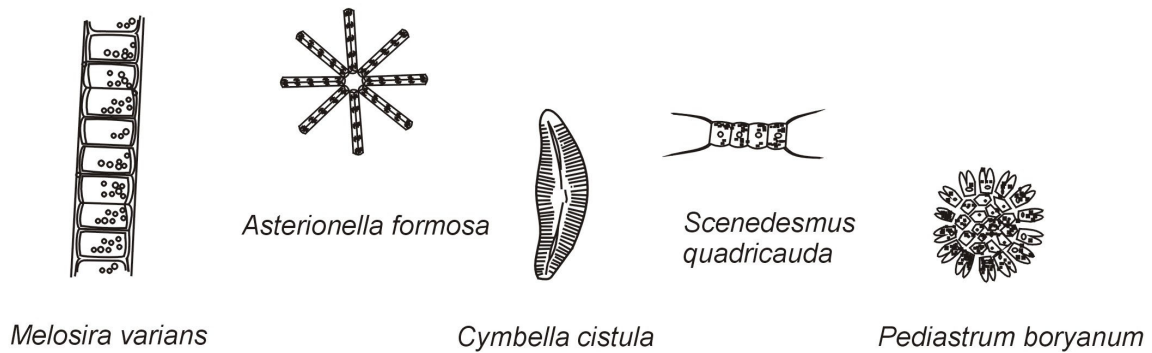


Rys. 2.19. Wybrane mikroorganizmy typowe dla strefy polisaprobowej

**W strefie mezosaprobowej** następuje dalszy intensywny rozkład związków organicznych, ale tlenu wystarcza na pokrycie pełnego zapotrzebowania. Woda staje się przezroczysta, często o barwie intensywnie zielonej od bujnie rozwijających się glonów. Zmniejsza się liczebność destrucentów. Oprócz mikroorganizmów wymienionych wyżej pojawia się grzyb ściekowy *Leptomitus lacteus*, sinice i nieliczne okrzemki oraz zielenice (rys. 2.20-21). W strefie tej kończy się mineralizacja związków organicznych, z wyjątkiem trudno rozkładalnych związków humusowych. Wyróżniamy strefę  $\alpha$ -mezosaprobową i  $\beta$ -mezosaprobową, w pierwszej dominują organizmy heterotroficzne, druga ma bardziej autotroficzny charakter.

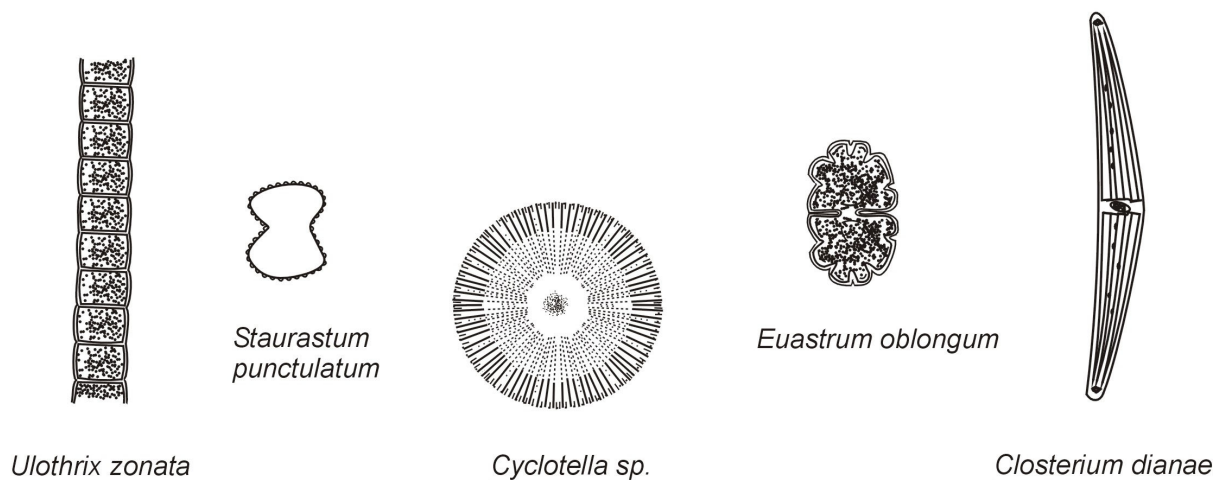


Rys. 2.20. Wybrane mikroorganizmy typowe dla strefy  $\alpha$ -mezosaprobowej.



Rys. 2.21. Wybrane mikroorganizmy typowe dla strefy  $\beta$ -mezosaprobowej.

**Strefa oligosaprobowa** to odcinek, w którym kończy się wpływ wprowadzonego zanieczyszczenia i woda wraca do stanu wody naturalnej. Woda jest przezroczysta, pozbawiona zapachu i dobrze natleniona. Strefa jest zasiedlona przez bakterie chemosyntetyzujące głównie nitryfikacyjne oraz żelaziste; w biocenozie występują nieliczne sinice, dużo okrzemek i zielenic, nieliczne pierwotniaki (rys. 2.22).



Rys. 2.22. Wybrane mikroorganizmy typowe dla strefy oligosaprobowej.

### **Samooczyszczanie wód stojących**

Inaczej przebiega proces samooczyszczania w wodach stojących; nie wykształcają się tu strefy saprobne, chociaż mechanizm usuwania zanieczyszczeń pozostaje taki sam. Zanieczyszczenia doprowadzone do wody stojącej opadają na dno, (bo ich gęstość jest większa niż wody) i tam są rozkładane.

### **Procesy mikrobiologiczne w osadach dennych**

Pomiędzy wodą a osadami dennymi zachodzi stała wymiana o charakterze skomplikowanych procesów fizycznych, chemicznych i biologicznych, która ma duże znaczenie dla zbiornika jako całości. Układ osad/woda, a więc m.in. stosunki ilościowo-jakościowe mikroorganizmów, kierunek przemian biochemicznych - mają znaczny wpływ na poziom biogenów (związków azotu, fosforu i siarki) w zbiorniku, jego użyźnianie, a więc eutrofizację.

Tlenowe procesy rozkładu składników organicznych osadów dennych przebiegają w górnych warstwach (od kilku do kilkunastu mm) i są źródłem rozpuszczalnych w wodzie soli mineralnych. Natomiast procesy beztlenowego rozkładu związków organicznych, które przebiegają poniżej, powodują wydzielanie do wody, często substancji zatruwających środowisko np.  $H_2S$ ,  $CH_4$ .

Osady denne spełniają ważną rolę w samooczyszczaniu się wód stojących, gdzie zawiesina organiczna opada na dno z powodu braku ruchu wody. Mają one szczególny wpływ na przemianę związków biogenych, które oddziałują na jakość wody.

Podstawowym czynnikiem regulującym szybkość przenikania azotu i fosforu (a także żelaza i manganu) z osadów do wody jest zawartość tlenu rozpuszczonego w warstwie przydennej. Przy zawartości rozpuszczonego tlenu poniżej  $1 \text{ mg O}_2/\text{dm}^3$  rozpoczyna się aktywna dyfuzja fosforanów do wody. Na uwolnienie fosforanów mają również wpływ: temperatura, rozkład związków organicznych, odczyn wody, potencjał oks-red.

W osadach dennych różnych zbiorników powierzchniowych szczególnie rozpowszechnione są celulolityczne bakterie tlenowe (*Sporocytophaga*, *Cytophaga*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*) oraz beztlenowe np. rodzaj *Clostridium*. Ten ostatni bierze udział m.in. w rozkładzie hemiceluloz.

W warunkach beztlenowych rozwijają się liczne bakterie gnilne (uwalniające  $H_2S$  z białek), bakterie redukujące  $SO_4^{2-}$ , denitryfikacyjne (redukujące  $NO_3^-$ ) oraz metanogenne (uwalniające  $CH_4$ ) i wodorowe.

Ponadto obficie w osadach dennych występują bakterie amonifikacyjne. Bakterie nityfikacyjne występują zwykle w niewielkich ilościach w powierzchniowych warstwach osadu, ponieważ są to wybitne tlenowce. Obecność w osadach dennych tlenowych bakterii utleniających  $CH_4$  uzależniona jest też od stężenia tlenu oraz od stężenia metanu.

### **2.5.3. Drobnoustroje chorobotwórcze przenoszone drogą wodną.**

#### **Bakterie (tab. 4)**

Do najbardziej typowych bakterii **bezwzględnie chorobotwórczych** pojawiających się w zanieczyszczonych wodach powierzchniowych należą pałeczki duru brzuszego, czyli pałeczki z gatunku *Salmonella typhi*, a także inne Gram-ujemne bakterie z rodzaju *Salmonella*, które są przyczyną różnorodnych zakażeń przewodu pokarmowego, objawiających się wymiotami i biegunką.

Nieco rzadziej w zanieczyszczonych zbiornikach wodnych występują Gram-ujemne pałeczki z rodzaju, *Shigella*, które powodują czerwonkę bakteryjną. W krajach tropikalnych, w wodach powierzchniowych często spotyka się bakterie z gatunku, *Vibrio cholerae*, czyli przecinkowce cholery.

Ponadto w wodach zanieczyszczonych spotyka się prątki gruźlicy *Mycobacterium tuberculosis* oraz krętki z rodzaju, *Leptospira*. Te ostatnie bakterie wywołują żółtaczkę bakteryjną.

Poza wymienionymi bakteriami bezwzględnie chorobotwórczymi w wodach powierzchniowych są liczne bakterie Gram-ujemne, które określa się mianem drobnoustrojów oportunistycznych, czyli **warunkowo chorobotwórczych**. Należą one do rodzajów *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Klebsiella*, *Flavobacterium*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Acinetobacter*, *Proteus* i *Providencia*. Wszystkie te pałeczki wchodzi w skład normalnej flory jelitowej i nie są w zasadzie chorobotwórcze, o ile bytują one w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt.

W pewnych przypadkach bakterie te przedostają się jednak z przewodu pokarmowego do innych narządów i wówczas mogą stać się przyczyną wielu chorób np. zapalenia układu moczowego, zapalenia dróg oddechowych, a także posocznicy, czyli uogólnionego zakażenia wszystkich narządów wewnętrznych.

### **Wirusy (tab. 5)**

Oprócz bakterii chorobotwórczych wody powierzchniowe, do których odprowadzane są ścieki bytowo-gospodarcze zawierają zawsze znaczne ilości innych drobnoustrojów chorobotwórczych np. wirusa polio, który powoduje porażenie dziecięce, czyli chorobę Heinego-Medina. Nawet w nieznacznie zanieczyszczonej wodzie rzecznej występują enterowirusy, które wywołują schorzenia jelit.

### **Pierwotniaki (tab. 6)**

Zanieczyszczona woda może być przyczyną schorzeń przewodu pokarmowego spowodowanych przez pierwotniaki. Większość pasożytniczych pierwotniaków produkuje cysty, które są w stanie przetrwać poza organizmem gospodarza w niekorzystnych warunkach środowiskowych. Gdy warunki te ulegają poprawie z cyst rozwijają się tzw. trofozoity, postacię wegetatywną występującą u człowieka.

### **Robaki pasożytnicze (tab. 7)**

Pasożyty ludzkie w zasadzie nie wchodzi w zakres badań mikrobiologicznych, jednakże wraz z innymi patogenami (wirusy, bakterie, pierwotniaki) stanowią poważne zagrożenie zdrowia człowieka. Występują w ściekach oraz mogą przedostawać się do wód z gleby na drodze spływów powierzchniowych i infiltracji. Infekcyjną postacią robaków pasożytniczych są ich jaja. Są one wydalane w ogromnej ilości na zewnątrz organizmu żywiciela z kałem i rozprzestrzeniają się przez ścieki, glebę lub żywność. Jaja robaków są bardzo odporne na działanie czynników zewnętrznych oraz trudno je wyeliminować ze ścieków poprzez chlorowanie.

Tabela 4. Zakażenia bakteryjne przenoszone drogą wodną

<b>Jednostka chorobowa</b>	<b>Rodzaj lub gatunek drobnoustroju</b>
Dur brzuszny	<i>Salmonella typhi</i>
Dur rzekomy	<i>Salmonella paratyphi</i>
Salmonellozy odzwierzęce	<i>Salmonella</i>
Czerwonka bakteryjna	<i>Shigella</i>
Cholera	<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Vibrio cholerae</i> typ eltor
Nieżyty żołądkowo-jelitowe	Enteropatogenne <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i> , <i>Aeromonas (Plesiomonas) shigelloides</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Campylobacter (Vibrio) fetus</i> subsp. <i>jejuni</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Bacillus cereus</i>
Yersinioza	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Tularemia	<i>Pasteurella (Francisella) tularensis</i>
Leptospirozy	<i>Leptospira</i>
Zakażenia skórne	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Mycobacterium (M. balnei, M. phlei, M. marinum, M. kansasii, M. fortuitum, M. chelonae, M. gorgonae)</i>
Bakteriemia, zapalenie górnych dróg oddechowych, uszu, spojówek	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas cepacia</i>
Stany gorączkowe	Gram-ujemne pałeczki wodne ( <i>Pseudomonas</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Xantomonas</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Acinetobacter</i> )
Choroba legionistów	<i>Legionella pneumophila</i>

Tabela 5. Wirusy jelitowe, które mogą być przenoszone przez wodę i choroby przez nie wywoływane

<b>Wirusy</b>	<b>Liczba typów</b>	<b>Postacie i zespoły chorobowe</b>
Poliovirus	3	Porażenia, zapalenie opon mózgowych, gorączka
ECHO	34	Zapalenie opon mózgowych, choroby układu oddechowego, wysypka, biegunka, gorączka
Coxsackie A	23	Herpangina, choroby układu oddechowego, zapalenie opon mózgowych, gorączka
Coxsackie B	6	Zapalenia mięśnia sercowego, wrodzone wady serca, wysypka, gorączka, zapalenie opon mózgowych, choroby układu oddechowego, pleurodynia
Enterowirusy	4	Zapalenie opon mózgowych i mózgu, choroby układu oddechowego, ostre krwotoczne zapalenie spojówek, gorączka
Wirus wzw A	1	Wirusowe zapalenie wątroby
Wirus Norwalk	1	Epidemiczne biegunki, gorączka
Parwowirusy	3	Towarzyszą chorobom układu oddechowego
Adenowirusy	41	Choroby układu oddechowego, zakażenia oczu, biegunki
Rotawirusy	4	Epidemiczne biegunki (głównie u dzieci)
Reowirusy	3	Choroby dróg oddechowych

Tabela 6. Choroby wywoływane przez pierwotniaki przenoszone drogą wodną.

<b>Pierwotniak chorobotwórczy</b>	<b>Choroba</b>	<b>Objawy</b>
<i>Giardia lamblia</i> (wiciowiec)	giardioza	Chroniczne biegunki, skurcze brzucha, wzdęcia, ubytek masy ciała, zmęczenie
<i>Cryptosporidium parvum</i> (sporowiec)	kryptosporidioza	Bóle brzucha, brak łaknienia, wodniste biegunki, ubytek masy ciała
<i>Entamoeba histolytica</i> (korzenionóżka)	amebioza	Od łagodnej biegunki z krwią i śluzem do postaci ostrej z biegunką, gorączką i dreszczami
<i>Acanthamoeba castellani</i> (korzenionóżka)	Pełzakowate zapalenie opon mózgowych i mózgu	Objawy ze strony centralnego układu nerwowego
<i>Naegleria gruberi</i> (korzenionóżka)	Pełzakowate zapalenie opon mózgowych i mózgu	Przedostaje się przez nos do mózgu ludzi kąpiących się, wywołuje ostre objawy zapalenia mózgu i opon mózgowych, kończące się śmiercią zakażonego osobnika
<i>Balantidium coli</i> (orzęsek)	Czerwonka balantydiowa	Krwawa biegunka z powodu owrzodzenia ścian jelita grubego, w które wwierca się orzęsek

Tabela 7. Robaki pasożytujące w organizmie w człowieku.

<b>Pasożyt</b>	<b>Objawy chorobowe</b>
Glista ludzka - <i>Ascaris lumbricoides</i> (nicienie)	Askarydoza, glistnica. Larwy pasożyta (nicienia) wywołują odczyny zapalne w różnych częściach organizmu. Niekiedy dochodzi do przerwania ciągłości pęcherzyków płucnych. Jeżeli w przewodzie pokarmowym występuje duża ilość glist może to spowodować niedrożność jelit, ich przebicie i uszkodzenie powłok brzusznych.
Włosogłówka - <i>Trichuris trichura</i> (nicienie)	Trychocefaloza choroba wywołwana przez nicienia żyjącego w jelicie grubym i ślepych człowieka. Dochodzi do zmian w błonie śluzowej jelita, a przy dużej inwazji pojawiają się znaczne ubytki błony śluzowej. Czasami może wystąpić zapalenie wyrostka robaczkowego
<i>Acanthocephala</i> (kolcogłowy)	Choroba kolcogłowa. Pasożyty żyją w jelitach przedstawicieli wszystkich gromad kręgowców. W środowisku wodnym ich żywicielami pośrednimi są najczęściej skorupiaki. Choroba objawia się stanami zapalnymi przewodu pokarmowego oraz jego mechanicznym uszkodzeniem.
<i>Taenia saginata</i> , <i>Taenia solium</i> (płazińce, tasieńce)	Pasożyty rozwijają się w gospodarzu pośrednim do momentu osiągnięcia postaci larwalnej zw. cysticerkusem i zakażają człowieka, który jest żywicielem ostatecznym. Zasiedlają przewód pokarmowy, głównie jelito cienkie człowieka, powodując nudności, chroniczną niestrawność, bóle brzucha oraz wychudzenie
<i>Schistosoma mansoni</i> (płazińce, przywry)	Schistosomatoza objawia się dolegliwościami ze strony przewodu pokarmowego, zapaleniem błony śluzowej jelita oraz marskością wątroby

## 2.6. Kryteria jakości sanitarnej wody

*Dlaczego kontrolujemy jakość sanitarną wody?*

Możliwość zakażenia ludzi przez wodę zmusza do stałej kontroli higieniczno-sanitarnej, zarówno wody przeznaczonej do picia, jak też i wody w basenach kąpielowych, a nawet w zbiornikach wód powierzchniowych. Przyczyną zakażeń są mikroorganizmy chorobotwórcze wydalone przez ludzi chorych i nosicieli (osobnicy, którzy po przebyciu choroby wydają zarazki jeszcze przez długi czas z kałem lub moczem). Zarazki występują w ściekach i w wodach powierzchniowych w znacznie mniejszych ilościach niż pozostałe drobnoustroje. Z tego też względu znacznie trudniej jest je wykryć niż występujące masowo w wodzie bakterie saprofityczne, tym bardziej, że w celu ich wykrycia konieczne jest stosowanie znacznie bardziej skomplikowanych metod diagnostycznych.

*Co to są mikroorganizmy wskaźnikowe?*

Obowiązujące normy oparte są na pośrednim wnioskowaniu o obecności mikroorganizmów chorobotwórczych na podstawie liczebności w wodzie bakterii wskaźnikowych, które stale żyją jako saprofity w przewodzie pokarmowym człowieka i zwierząt wyższych. Ich obecność w wodzie świadczy o jej zanieczyszczeniu fekalnym, a zatem również o niebezpieczeństwie zakażenia wody mikroorganizmami chorobotwórczymi.

Bakterie pełniące rolę wskaźników sanitarnych powinny spełniać następujące warunki:

- h) muszą być stale obecne w przewodzie pokarmowym człowieka, co pozwala zawsze na wykrycie kałowego zanieczyszczenia wody,
- i) do grupy organizmów wskaźnikowych powinny także należeć formy nie przetrwalnikujące, co umożliwi wykrycie świeżego fekalnego zanieczyszczenia wody,
- j) ich identyfikacja musi być możliwa przy użyciu łatwo dostępnych metod,
- k) długość życia bakterii wskaźnikowych w środowisku zewnętrznym musi być większa niż długość życia gatunków chorobotwórczych,
- l) liczebność bakterii wskaźnikowych w jelicie człowieka i kale powinna być duża;
- m) nie powinny się one rozmnażać w środowisku wodnym.

*Jakie bakterie wskaźnikowe wykorzystywane są do oceny jakości zdrowotnej wody?*

W rutynowej pracy laboratoriów, prowadzących nadzór sanitarno-epidemiologiczny, niemożliwe jest stałe badanie wody w kierunku wykrywania wszystkich drobnoustrojów chorobotwórczych i potencjalnie chorobotwórczych, które mogą w niej występować.

Dlatego też badania rutynowe koncentrują się przede wszystkim na wykrywaniu bakterii wskazujących na kałowe zanieczyszczenie wody. Do oceny jakości sanitarnej wody wykorzystywana jest mikroflora saprofityczna zasiedlająca jelito grube człowieka. Przyjęto następujące wskaźniki fekalnego zanieczyszczenia wody:

- bakterie grupy *coli*,
  - bakterie grupy *coli* typu fekalnego,
  - paciorkowce kałowe,
  - laseczki z rodzaju *Clostridium*, redukujące siarczynę
- oraz w niektórych przypadkach
- gronkowce koagulazo-dodatnie,
  - *Pseudomonas aeruginosa*.

### **Bakterie z grupy coli**

Bakterie grupy coli to przede wszystkim szczepy *Escherichia coli* oraz drobnoustroje z rodzaju *Enterobacter*, *Citrobacter* i *Klebsiella*. Wykrywane są one na podłożach z laktozą po inkubacji w temperaturze 37 °C.

Bakterie grupy coli typu kałowego (termotolerancyjne) to głównie szczepy *Escherichia coli* i tylko te nieliczne szczepy z rodzajów *Enterobacter*, *Citrobacter* i *Klebsiella*, które mają zdolność fermentacji laktozy w temperaturze 44 °C.

Obecność w badanej próbce wody bakterii grupy coli lub bakterii grupy coli typu kałowego świadczy o stosunkowo świeżym zanieczyszczeniu wody kałem, ściekami, glebą lub gnijącym materiałem roślinnym. W zasadzie dla większości rodzajów wód zalecane jest oznaczanie liczby bakterii obu grup coli.

### **Paciorkowce kałowe**

Paciorkowce kałowe charakteryzują się nieco dłuższym okresem przeżywalności w środowisku wodnym i większą opornością na środki dezynfekcyjne, niż bakterie grupy coli. Termin ten obejmuje drobnoustroje z rodzajów *Enterococcus* i *Streptococcus* należące do grupy serologicznej Lancefield D.

Stwierdzenie obecności paciorkowców kałowych w badanej próbce wody w liczbie znacznie przewyższającej liczbę bakterii grupy coli, sugerować może zanieczyszczenie wody kałem zwierzęcym lub ściekami, pochodzącymi z ferm hodowlanych.

### **Laseczki z rodzaju *Clostridium***

O starym, odległym w czasie zanieczyszczeniu kałowym może świadczyć wykrycie w badanej próbce wody bakterii redukujących siarczyny (głównie szczepy *Clostridium perfringens*); ich przetrwalniki mogą zachować żywotność przez wiele lat w niesprzyjających warunkach. Clostridia redukujące siarczyny są też bardzo dobrym wskaźnikiem prawidłowości prowadzonych procesów uzdatniania wody, takich jak koagulacja, sedymentacja i filtracja.

Przetrwalniki tych bakterii, a wraz z nimi również cysty pasożytniczych pierwotniaków (*Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*) powinny być wyeliminowane właśnie w tych etapach uzdatniania wody, gdyż są one bardzo odporne na działanie środków dezynfekcyjnych. Wykrycie bakterii z rodzaju *Clostridium* jest technicznie znacznie bardziej proste od poszukiwania pierwotniaków pasożytniczych i daje dużą pewność, że woda uzdatniona jest wolna od pierwotniaków i jaj robaków chorobotwórczych (helmintów).

### **Gronkowce**

Gronkowce wykorzystywane są głównie przy ocenie jakości sanitarnej kąpielisk. Kąpieliska bowiem są przyczyną szeregu zakażeń związanych z infekcjami dróg oddechowych, skóry i oczu. W tym przypadku analiza oparta o standardowe indykatory (*Escherichia coli*) jest niewystarczająca.

Często spotykane infekcje skóry powodowane są przez *Staphylococcus aureus*. W związku z tym, że obecność tego mikroorganizmu w wodzie wynika z aktywności człowieka, został on wybrany jako wskaźnikowy dla kąpielisk.

### ***Pseudomonas aeruginosa***

Obok wymienionych elementów analizy sanitarnej proponuje się obecnie dodatkowo wykrywanie bakterii z gatunku *Pseudomonas aeruginosa* w wodzie do picia i na potrzeby gospodarcze a także w wodzie dla zakładów kąpielowych oraz w wodach powierzchniowych. Przedstawiciele tego gatunku wyizolowano z kału ludzkiego oraz w przypadkach zakażeń organizmu – z dróg moczowych, ucha środkowego, ropiejących ran itp.



Bakterie te stanowią potencjalny czynnik chorobotwórczy dla ludzi i zwierząt. Poza tym występują one powszechnie w wodach powierzchniowych i glebie. Warto także podkreślić, że mogą one bytować w chlorowanej wodzie, gdyż odznaczają się znaczną odpornością na zabiegi dezynfekcyjne.

### **Ogólna liczebność bakterii**

W badaniach rutynowych określa się również ogólną liczbę bakterii (liczbę jednostek tworzących kolonie, w skrócie jtk. lub cfu, z ang. colony forming units) obecnych w 1 ml wody, po wykonaniu posiewu próbki na agar odżywczy i inkubacji w temperaturach 22°C przez 72 godz. (psychrofile), oraz w 37°C przez 24 godz. (mezofile).

#### *Ogólna liczebność bakterii psychrofilnych*

W niższej temperaturze rosną przede wszystkim nie chorobotwórcze bakterie wodne. Należy jednak mieć na uwadze fakt, że Gram-ujemne bakterie wodne wytwarzają lipopolisacharydy ściany komórkowej mogące działać toksycznie – tak jak endotoksyny bakterii chorobotwórczych. Z tego powodu ich liczba powinna być także monitorowana.

Ponadnormatywny wzrost ich liczebności świadczyć może między innymi, o obecności w wodzie łatwo przyswajalnych związków organicznych. Teoretycznie, obecność w wodzie 0,1 mg węgla organicznego może spowodować wzrost liczby bakterii w 1 ml do  $10^8$  jtk jednostek tworzących kolonie – (ang. cfu). Również fosfor jest czynnikiem stymulującym wzrost drobnoustrojów. Dodanie niewielkiej ilości tego pierwiastka (<50mg/l) powoduje nawet 10-krotne przyspieszenie rozwoju bakterii w wodociągach.

#### *Ogólna liczebność bakterii mezofilnych*

Ze względów zdrowotnych, bardziej niebezpieczna jest ponadnormatywna liczba bakterii rosnących w temperaturze 37°C, ponieważ mogą wśród nich być również bakterie chorobotwórcze. Duża ich liczba w badanej próbce wody, może świadczyć, między innymi, o źle przebiegających procesach uzdatniania lub zasysaniu zanieczyszczonej wody.

Zwiększenie ogólnej liczby bakterii obecnych w próbce wody może świadczyć także o namnażaniu się drobnoustrojów na wewnętrznych powierzchniach instalacji wodnych, szczególnie na złączach rur i uszczelkach oraz tworzeniu się warstwy tzw. biofilmu.

Przekroczenie dopuszczanego poziomu ogólnej liczby bakterii powinno być zawsze sygnałem do znalezienia przyczyny zanieczyszczenia i do podjęcia odpowiedniego postępowania. Niekiedy może istnieć konieczność dodatkowego chlorowania, np. wody do picia, powyżej 0,2 mg  $Cl_2/l$ . W niektórych przypadkach dopiero zmiany konstrukcyjne sieci wodociągowej i usunięcie biofilmu są w stanie skutecznie zabezpieczyć odbiorcę przed wzrostem liczebności drobnoustrojów w wodzie.

### **Kryteria jakości sanitarnej wody do picia w Polsce**

Jakość bakteriologiczna wody do picia w Polsce oceniana jest na podstawie liczebności czterech grup bakterii wskaźnikowych: bakterii z grupy coli, bakterii z grupy coli typu fekalnego, paciorkowców kałowych oraz clostridiów redukujących siarczyny. Według stosowanych w Polsce kryteriów w 100 ml wody podawanej do sieci wodociągowej nie może być ani jednej komórki bakterii z grupy coli typu fekalnego, najwyżej 2 komórki bakterii z grupy coli i 2 komórki gronkowców koagulazo–dodatnich. Podobne normy jakości wody obowiązują w Unii Europejskiej (tab. 8 i 9).

Drugim ważnym kryterium jakości wody do picia jest ogólna liczebność bakterii psychrofilnych i mezofilnych w 1 ml wody. Według stosowanych w Polsce kryteriów w wodzie do picia liczebność bakterii psychrofilnych nie powinna przekraczać 100 komórek w 1ml, natomiast bakterii mezofilnych 20 komórek w 1 ml wody (tab. 8).

Jakość bakteriologiczną wód rekreacyjnych (woda w pływalni) ocenia się na podstawie liczebności bakterii z grupy coli, bakterii z grupy coli typu fekalnego, gronkowców koagulazododatnich oraz bakterii mezofilnych. Według stosowanych w Polsce kryteriów w 100 ml wody tego typu nie może być ani jednej komórki bakterii z grupy coli, z grupy coli typu fekalnego oraz gronkowców koagulazododatnich. Liczebność bakterii mezofilnych w 1ml nie może przekraczać 100 komórek (tab. 8).

Tabela 8. Warunki, jakim powinna odpowiadać woda do picia w Polsce

Wskaźnik jakości wody	Najwyższa dopuszczalna wartość wskaźnika			
	Woda podawana do sieci		Woda w pływalni	
	Liczba bakterii	Objętość próbki [ml]	Liczba bakterii	Objętość próbki [ml]
<i>Escherichia coli</i> lub bakterie grupy coli typ kałowy (termotolerancyjne)	0	100	0	100
Bakterie grupy coli	0	100	2	100
Enterokoki (paciorkowce kałowe)	0	100	x	x
Clostridia redukujące siarczyny ( <i>Clostridium perfringens</i> )	0	100	x	x
Gronkowce koagulozo-dodatnie	x	x	2	100
Ogólna liczba bakterii w 37 °C	20	1	100	1
Ogólna liczba bakterii w 22 °C	100	1	x	x

Tabela 9. Porównanie polskich i europejskich norm jakości wody do picia.

Wskaźnik	Unia Europejska	Polska
<i>Escherichia coli</i>	0/100 ml	0/100 ml
Streptokoki fekalne	0/100 ml	0/100 ml
Clostridia redukujące siarczyny	0/100 ml	0/100 ml
Ogólna liczba bakterii mezofilnych (37 °C/24h)	20/1ml	20/1ml
Ogólna liczba bakterii psychrofilnych (22 °C/72h)	100/1ml	100/1ml

## 2.7. Ścieki. Biologiczne oczyszczanie ścieków

*Co to są ścieki?*

Ściekami nazywamy wody zanieczyszczone szkodliwymi substancjami płynnymi, stałymi lub gazowymi, które wprowadzane są do wód lub gruntu, i mogą doprowadzić do skażenia wód powierzchniowych lub podziemnych. Do ścieków zalicza się także: zużyte ciecze, roztwory, koloidy lub zawiesiny, wody skażone promieniotwórczo, wody zasolone, podgrzane wody chłodnicze, wody opadowe lub pochodzące z odwodnień, wody spłukujące z terenów zurbanizowanych i rolniczych różnego rodzaju zanieczyszczenia.

*Rodzaje ścieków*

A. Klasyfikacja ze względu na pochodzenie:

- bytowo-gospodarcze – charakteryzują się dużą zawartością zanieczyszczeń typu fekalnego, odpadków roślinnych i zwierzęcych, środków powierzchniowo-czynnych. Pochodzą z mieszkań, miejsc użyteczności publicznej i zakładów przemysłowych, stanowią poważne zagrożenie higieniczne i epidemiologiczne,
- przemysłowe (technologiczne) – powstają podczas procesów produkcyjnych i przetwórczych,
- opadowe (wody deszczowe lub roztopowe) – zawierają różnorodne zanieczyszczenia pochodzące z atmosfery (pyły, mikroorganizmy, substancje gazowe), ze spływu po powierzchni gruntu, nawierzchni ulic i placów (oleje, paliwa płynne, zanieczyszczenia mikrobiologiczne (bakterie, wirusy, grzyby), zawiesinę drobnych cząstek spływu po powierzchni gleb uprawnych i leśnych (cząstki organiczne, nawozy mineralne, środki ochrony roślin).

B. Klasyfikacja ze względu na działanie na organizmy:

- bezpośrednio szkodliwe,
- pośrednio szkodliwe (prowadzą do zmniejszenia ilości tlenu w wodzie poniżej poziomu niezbędnego do utrzymania życia organizmów wodnych).

C. Klasyfikacja ze względu na trwałość zanieczyszczenia:

- rozkładalne – substancje organiczne, podlegające przemianom chemicznym do związków prostych przy udziale mikroorganizmów,
- nierozkładalne – substancje nie ulegające przemianom chemicznym i nierozkładalne przez drobnoustroje,
- trwałe – substancje tylko w niewielkim stopniu ulegające rozkładowi biologicznemu (trudnobiodegradowalne) i pozostające w środowisku przez długi okres w niezmienionej formie.

D. Ścieki wytwarzane przez człowieka:

- miejskie i bytowo-gospodarcze – miejsce powstawania to: placówki gastronomiczne, szpitale, osiedla i domy mieszkalne, stanowią zagrożenie higieniczne i epidemiologiczne,
- rolnicze – powstają w gospodarstwach rolniczych, tuczarniach trzody chlewnej, fermach hodowlanych, na polach uprawnych intensywnie nawożonych,
- przemysłowe – powstają w procesach produkcyjnych i przetwórczych wszystkich gałęzi przemysłu, ścieki te są głównym źródłem toksyn,
- radioaktywne – powstają w zakładach naukowych, leczniczych, reaktorach atomowych, są szczególnie groźne dla otoczenia i wymagają specjalistycznych metod dezaktywacji.

*Jakie zanieczyszczenia charakteryzują ścieki miejskie?*

Ścieki charakteryzowane są przez następujące grupy zanieczyszczeń organicznych i nieorganicznych:

- substancje rozpuszczone,
- zawiesiny opadające,
- zawiesiny zawieszane w cieczy i koloidy.

Zanieczyszczenia chemiczne występujące w ściekach można podzielić na:

- rozpuszczone substancje mineralne (siarczany, chlorki, kwaśne i obojętne węglany, wapń, magnez, sól, kwasy, zasady, azotany, fosforany i in.),
- rozpuszczone gazy (tlen, siarkowodór, ditlenek węgla, azot),
- rozpuszczone substancje organiczne (białko ok. 40-60%, węglowodany ok. 25-50%, oleje i tłuszcze ok. 10%).

Inny podział charakteryzujący zanieczyszczenia w ściekach to:

- a) zanieczyszczenia fizyczne,
- b) zanieczyszczenia chemiczne; organiczne i nieorganiczne,
- c) zanieczyszczenia biologiczne.

Ad a)

Zanieczyszczenia fizyczne ścieków określają takie cechy, które można obserwować za pośrednictwem zmysłów (wzrok, węch). Do właściwości fizycznych ścieków zaliczamy: zawiesinę, mętność, barwę, zapach, temperaturę.

Ad b)

Zanieczyszczenia organiczne określają ogólnie przyjęte trzy parametry: BZT (biochemiczne zapotrzebowanie na tlen), ChZT (chemiczne zapotrzebowanie na tlen), OWO (ogólny węgiel organiczny).

BZT – określa ilość tlenu potrzebną bakteriom do utlenienia (biologicznie rozkładalnych) związków organicznych w warunkach tlenowych w temperaturze 20°C. Około 50% zanieczyszczeń utlenianych jest przez mikroorganizmy w ciągu 3 dób, przyjmuje się czas 5 dób jako reprezentatywny do wyznaczenia charakterystyki biochemicznego zapotrzebowania tlenu (BZT<sub>5</sub>).

ChZT – określa ilość tlenu potrzebną do utlenienia związków organicznych na drodze chemicznej.

OWO – określa zawartość węgla w związkach organicznych.

Ad c)

Zanieczyszczenia biologiczne to drobnoustroje (wirusy, bakterie, grzyby i pierwotniaki), jaja helmintów.

*Co to są zanieczyszczenia biogenne i jakie zagrożenia są z nimi związane?*

Zanieczyszczenia biogenne stanowią sole mineralne pierwiastków niezbędnych do rozwoju żywych organizmów. Do podstawowych zaliczamy związki azotu i fosforu. Związki te odprowadzane do rzek i jezior zwiększają ich żyzność, czyli powodują eutrofizację.

Eutrofizacja to termin określający zespół niekorzystnych objawów związanych z przeżyźnieniem (nadmiernym wzbogaceniem w składniki pokarmowe).

Ścieki miejskie zawierają fosforany z odchodów ludzkich, środków piorących, odpadów żywności, dodatków do żywności i innych produktów. Istotnym źródłem zanieczyszczeń wód fosforem są ścieki pochodzące z działalności rolniczej. Obecność fosforu w ściekach wprowadzanych do wód przy jednoczesnej obecności azotanów i ditlenku azotu powoduje intensywny rozwój glonów w wodach stojących i wolno płynących. Przyspieszoną eutrofizację uznano za zagrożenie dla zbiorników wodnych, a wynika ono z niekontrolowanego rozwoju biomasy roślinnej.

*Co to są zanieczyszczenia refrakcyjne?*

Zanieczyszczenia refrakcyjne są to zanieczyszczenia chemiczne, które nie podlegają lub podlegają jedynie w minimalnym stopniu rozkładowi biologicznemu za pośrednictwem mikroorganizmów. Niektóre z tych zanieczyszczeń wykazują cechy groźnych trucizn np. metale ciężkie, WWA (wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne), PCB (polichlorowane bifenyle), dioksyny, pestycydy, nitrozoaminy.

*Dlaczego prowadzi się oczyszczanie ścieków?*

Usuwanie zanieczyszczeń ze ścieków przemysłowych i komunalnych przed ich wprowadzeniem do odbiorników wynika z konieczności racjonalnego gospodarowania zasobami wodnymi, ochrony wód przed zanieczyszczeniami, utrzymaniem odpowiedniego stanu sanitarnego. Wprowadzenie ładunków zanieczyszczeń w zależności od właściwości cieku wodnego może powodować pogorszenie fizyczno-chemicznych i sanitarnych cech wód, aż do naruszenia równowagi biologicznej.

*Jakie są najważniejsze zadania procesu oczyszczania ścieków?*

Głównymi zadaniami procesu oczyszczania ścieków są:

- obniżenie zawartości węgla organicznego, w tym także związków trudnobiodegradowalnych oraz toksycznych, mutagennych i rakotwórczych,
- redukcja zawartości substancji biogennych: azotu i fosforu,
- usunięcie bądź inaktywacja mikroorganizmów chorobotwórczych i pasożytów.

*Jakie znamy metody oczyszczania ścieków?*

W zależności od rodzaju zanieczyszczenia, stosuje się różne metody oczyszczania ścieków przed ich wprowadzeniem do odbiorników. Metody te, dzieli się na:

- mechaniczne – w metodzie tej usuwa się jedynie części stałe oraz zanieczyszczenia nierozpuszczalne i polega ona na wykorzystaniu takich procesów jak: sedymentacja, flotacja, filtracja, rozdział i separacja w hydrocyklonach, które pozwalają na usunięcie zawiesin organicznych i mineralnych oraz ciał pływających;
- fizyczno-chemiczne – polegające na zastosowaniu procesów: koagulacji, współstrącania, sorpcji, wymiany jonowej, elektrolizy, odwróconej osmozy, ultrafiltracji;
- chemiczne – z zastosowaniem neutralizacji, utleniania i redukcji;
- biologiczne – polegające na oczyszczaniu ścieków (usuwaniu zanieczyszczeń organicznych oraz związków biogennych i niektórych refrakcyjnych) w procesie biochemicznej mineralizacji przez drobnoustroje w środowisku wodnym w sposób naturalny (np. rolnicze wykorzystanie ścieków, zraszanie pól), lub w urządzeniach (na złożach biologicznych, osadzie czynnym).

*Jakie są typowe stopnie procesu oczyszczania ścieków?*

Typowy proces oczyszczania ścieków dzieli się umownie na cztery stopnie oczyszczania:

- mechanicznego (I stopień oczyszczania),
- biologicznego (II stopień oczyszczania),
- usuwania związków biogennych (III stopień oczyszczania),
- odnowy wody (IV stopień oczyszczania).

**I stopień oczyszczania** – tzw. oczyszczanie wstępne lub mechaniczne. Zadaniem tego stopnia jest usunięcie zanieczyszczeń stałych. Etap ten traktowany jest jako przygotowanie ścieków do dalszych etapów. W pierwszym stopniu stosując proste operacje mechaniczne osiąga się usunięcie ze ścieków:

- pływających zanieczyszczeń stałych,
- zawiesin łatwo opadających,
- olejów i tłuszczów.

**II stopień oczyszczania** – obejmuje oczyszczanie biologiczne, które prowadzi do biodegradacji zanieczyszczeń organicznych (rozpuszczonych, koloidalnych i zawiesin) pozostałych po oczyszczaniu mechanicznym. Intensyfikację procesów oczyszczania osiąga się stosując: złoża biologiczne i osad czynny.

**III stopień oczyszczania** – obejmuje procesy stosowane w celu doczyszczenia ścieków. Najważniejszymi zanieczyszczeniami, które są usuwane w tym etapie to związki biogenne (związki fosforu i azotu).

Związki azotu usuwane są w procesie biologicznej nitrifikacji i denitryfikacji. Natomiast związki fosforu w procesie chemicznego strącania. Doczyszczenie ścieków w tym etapie ma za zadanie zapobiegać eutrofizacji wód.

**IV stopień oczyszczania (odnowa wody)** – procesy usuwania resztkowych zanieczyszczeń, które pozostały po poprzednich etapach oczyszczania. Odnowa wody rozumiana jest jako zespół metod oczyszczania nadających ściekom cechy wód naturalnych, które mogą służyć do zaopatrywania zakładów przemysłowych. Odnowa wody umożliwia wtórne wykorzystanie ścieków, co stanowi istotny element w gospodarowaniu zasobami wody, zwłaszcza w rejonach charakteryzujących się jej deficytem.

Układ technologiczny odnowy wody zależy od rodzaju usuwanych zanieczyszczeń oraz wymagań jakości stawianych wodzie odnowionej. Stosowanych jest kilka układów odnowy wody od najbardziej prostych, w którym dodatkowymi procesami po biologicznym oczyszczaniu ścieków może być filtracja na filtrach pośpiesznych lub cedzenie na mikrositach i dezynfekcja, po najbardziej złożone procesy fizyczno-chemiczne: koagulacja, sedymentacja, odpędzanie amoniaku, dekarbonizacja, adsorpcja, wymiana jonowa, procesy membranowe i dezynfekcja.

### 2.7.1. Biologiczne metody oczyszczania ścieków

W metodach biologicznego oczyszczania ścieków główną rolę odgrywają bakterie, tworzące w ściekach skupiska zoogealne. Metody te polegają na uruchomieniu przez drobnoustroje saprofityczne procesów enzymatycznych obejmujących częściowe utlenianie substancji organicznych (źródło węgla) zawartych w ściekach oraz ich częściowe przyswojenie przez drobnoustroje. Na skutek tych procesów następuje przyrost masy komórkowej czynnych mikroorganizmów. Mikroorganizmy rozwijają się gdy stosunek trzech podstawowych pierwiastków budujących komórki C:N:P = 100:10:1.

Procesy biologicznego oczyszczania ścieków podzielić można na naturalne i sztuczne, w zależności od tego czy proces przebiega w warunkach naturalnych wytworzonych przez przyrodę, czy jest celową działalnością człowieka i przebiega w urządzeniach sztucznych specjalnie zaprojektowanych i zbudowanych do tego celu.

Oczyszczanie biologiczne przebiegać może w warunkach tlenowych, niedoboru tlenu i beztlenowych i jest utlenianiem oraz mineralizacją związków organicznych zawartych w ściekach przy udziale mikro i makroorganizmów.

W procesie biologicznego oczyszczania ścieków zachodzą następujące zjawiska:

- rozkład substancji organicznych do CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O i NH<sub>3</sub> (w zależności od pH),
- nitrifikacja (utlenianie NH<sub>3</sub> za pomocą bakterii *Nitrosomonas* do azotynów), a następnie za pomocą bakterii *Nitrobacter* do azotanów,
- denitryfikacja (przemiana azotanów do azotu gazowego N<sub>2</sub>).

## **A. Metody naturalne**

Do naturalnych metod oczyszczania ścieków zalicza się oczyszczanie w gruncie: nawadnianie pól, łąk i lasów (metoda pól irygacyjnych i pól filtracyjnych), stawy ściekowe oraz oczyszczalnie hydrobotaniczne.

### **Oczyszczanie w gruncie**

#### *Pola nawadniane*

Biologiczne oczyszczanie w gruncie polega na nawadnianiu pól ściekami. Projektowanie nawadniania pól ma cel wyłącznie rolniczy, roczna dawka ścieków wynosi do 600 mm/a. Zawarte w ściekach substancje biogenne przyczyniają się do wzrostu plonów średnio o 20%.

Ścieki przed wprowadzeniem na pola nawadniane są oczyszczane mechanicznie (kraty, piaskownik, osadnik wstępny) i zdezynfekowane, gdyż ze względów sanitarnych, ścieki przed wylaniem muszą być pozbawione jaj robaków (helmintów). Kontrola podlega również ilość metali w nawadnianym gruncie.

Nawadnianie pól może być prowadzone wyłącznie w okresie wegetacji roślin a dawki wprowadzanych ścieków muszą być zmieniane w tym czasie. W okresie zimy ścieki oczyszczane są na polach filtracyjnych.

Ścieki wylane na pola wsiąkają w grunt i zawarte w nich zanieczyszczenia są adsorbowane na cząstkach gleby. Zaadsorbowane związki organiczne oraz mikroorganizmy tworzą po pewnym czasie mikroskopijną błonę biologiczną wokół cząstek gleby i wierzchnia warstwa gruntu działa jak filtr biologiczny. W warstwie tej zachodzą procesy mineralizacji, a produkty końcowe mineralizacji stanowią składniki nawozowe gleby.

W ten sposób można oczyścić tylko ograniczoną ilość ścieków, aby nie dopuścić do przeciążenia pola. Wówczas, bowiem dochodzi do uruchomienia procesów beztlenowych, którym towarzyszy powstawanie substancji toksycznych i uwalnianie się odorów, a wegetacja roślin jest zahamowana.

Podczas infiltracji przez grunt ścieki zostają oczyszczone i zostają odprowadzone systemem drenażowym do odbiornika.

#### *Pola irygacyjne*

Zasadniczym celem pól irygowanych (w przeciwieństwie do pól nawadnianych) jest oczyszczanie ścieków a korzyści rolnicze są zagadnieniem wtórnym. Zastosowanie ich pozwala na zwiększenie obciążenia (roczna dawka ścieków do 1 500 mm/a) i zmniejszenie obszaru, na którym oczyszczane są ścieki. Ścieki rozprowadzane są grawitacyjnie na pola irygowane po oczyszczeniu mechanicznym.

Pole irygowane to kwatera wypełniona gruntem najbardziej przepuszczalnym (najlepiej piaskiem) wyposażona w drenaż do odprowadzania oczyszczonych ścieków do odbiornika i utrzymania wód gruntowych na niskim poziomie. Kwatera zalewana jest raz na 2 miesiące ściekami do wysokości 0,2 m. Warstwa piasku wykorzystywana jest jak złożo o działaniu mechanicznym i biologicznym. Pola irygowane porasta trawa, która może być wykorzystana jako pokarm dla bydła po usunięciu jaj pasożytów i bakterii (higienizacji). W zimie ścieki nie mogą być odprowadzane na pola irygowane, tylko na pola filtracyjne.

#### *Filtry gruntowe*

Oczyszczanie w filtrach gruntowych polega na rozprowadzeniu po powierzchni gruntu ścieków, które oczyszczają się biologicznie. Najczęściej są to nawadniane pola nieuprawiane rolniczo. Brak rolniczego użytkowania umożliwia stosowanie wyższych obciążeń ładunkiem zanieczyszczeń (roczna dawka ścieków może dochodzić do

3000 mm/a) większy jest również stopień oczyszczania. Do zakładania filtrów gruntowych nadają się dobrze przepuszczalne piaszczyste gleby o średnicy ziaren 0,2-0,5 mm i miąższości warstwy 1,5-2,0 m, o niskim poziomie wód gruntowych. Pole dzieli się na poletka o powierzchni ok. 0,5 ha.

Ścieki przed wylaniem na kwatery muszą być podczyszczone metodami mechanicznymi w celu usunięcia zawieszin tłuszczowych zatykających złoża. Poletka zalewa się, co 0,5-4 dni warstwą ścieków miąższości 5-10 cm.

Ścieki przesączają się przez złoża i oczyszczone odpływają drenażem umieszczonym w gruncie. Na powierzchni gleby wytwarza się warstewka błony biologicznej, składająca się z mikroorganizmów, adsorbująca zanieczyszczenia zawarte w ściekach. Rozkład zanieczyszczeń odbywa się w warunkach tlenowych.

Na polach filtracyjnych ścieki oczyszczane są również w okresie zimowym. Zmniejsza się wówczas liczbę czynnych poletek, aby uniknąć strat, w zamian za to zwiększa się wysokość zalewu do 20-30 cm. Na powierzchni ścieków wytwarza się warstwa lodu, pod osłoną której ścieki są doprowadzane i podlegają procesowi oczyszczania z pogorszeniem jakości odpływu.

### **Stawy ściekowe**

Stawy biologiczne to zbiorniki ziemne, w których oczyszczanie biologiczne ścieków zachodzi w sposób naturalny (przy wykorzystaniu mikroorganizmów), dlatego też stosowane są w małych miejscowościach, z ilością mieszkańców nieprzekraczającą 20 000 osób.

Są to naturalne lub sztuczne zagłębienia w terenie, w których światło słoneczne dociera do dna. Ścieki przed wprowadzeniem do stawu wstępnie pozbawia się zawieszin.

Stawy ściekowe tworzą zwykle szereg złożony ze stawu: bakteryjnego, glonowego i skorupiakowego.

W stawie bakteryjnym zachodzi utlenianie związków organicznych przez bakterie, co prowadzi do ich mineralizacji, czyli przemiany w związki nieorganiczne zwane solami biogennymi.

Tak oczyszczone ścieki kierowane są do stawu glonowego, gdzie na ich bazie rozwijają się glony, przyswajające powstałe w toku biodegradacji związki mineralne. Ostateczny etap oczyszczania stanowi staw skorupiakowy, w którym rozwijają się skorupiaki: dafnie, oczliki i inne odżywiające się glonami.

Taki system oczyszczania pozwala na usunięcie ze ścieków nie tylko substancji organicznych, ale także nadmiaru biogenów, których doprowadzenie do odbiornika mogłoby spowodować przeżyźnienie tzw. eutrofizację a w konsekwencji nadmierny rozwój glonów (zakwit) i w następstwie spadek zawartości tlenu w wodzie.

Zaletą stawów jest możliwość prowadzenia w nich hodowli ryb i kaczek bez sztucznego dokarmiania a także produkcji roślinnej.

### **Oczyszczalnie hydrobotaniczne. Na czym polega idea oczyszczania hydrobotanicznego?**

Opierają się one na wykorzystaniu procesów samooczyszczania zachodzących w ekosystemach podmokłych, należą, więc do oczyszczalni typu wetland systems, czyli systemów bagiennych.

Oczyszczanie jest tu wynikiem współdziałania mikroorganizmów glebowych i roślinności bagiennej.



Mikroorganizmy rozkładają związki organiczne zawarte w ściekach do związków nieorganicznych, natomiast rośliny przyswajają powstałe związki mineralne, tworząc biomasę roślinną. Intensywna adsorpcja zanieczyszczeń na cząstkach gleby jest możliwa dzięki bardzo drobnym cząstkom mineralnym (iły) obecnym w podłożu.

W czyszczalniach tego typu wykorzystuje się roślinność oczeretową (trzcina, pałka, wierzb wiciowa) o dużych wymaganiach pokarmowych, pochłaniającą duże ilości soli mineralnych. Dzięki temu rośliny odsalają ścieki i nie dopuszczają do eutrofizacji zbiorników wodnych.

*Jakie są rodzaje oczyszczalni hydrobotanicznych?*

Wyróżnia się 3 rodzaje oczyszczalni hydrobotanicznych:

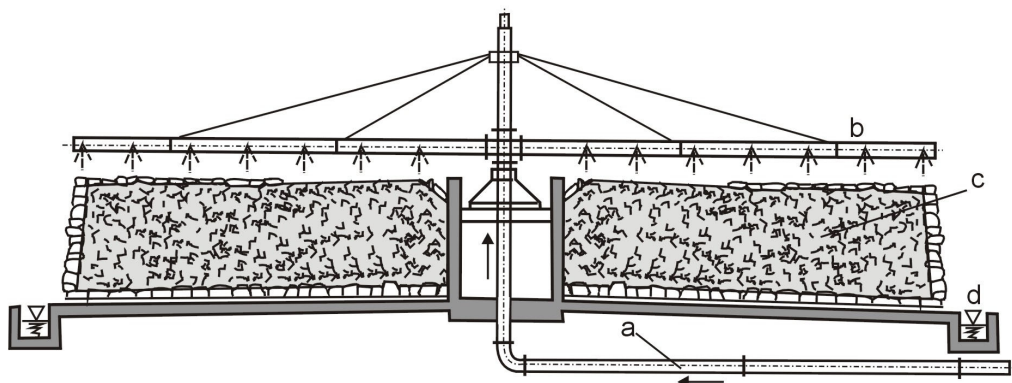
- **filtry gruntowo-roślinne** – są to złoża o przepływie poziomym (najczęściej i najdłużej stosowane), pionowym i kombinowanym; głównie piaskowe z zakorzenioną roślinnością bagienną taką jak: trzcina pospolita, pałka wodna, wierzby krzewiaste, jeżogłówka gałęziasta.
- **płytkie zbiorniki z roślinnością zakorzenioną** – są to zbiorniki wodne lub kanały o głębokości 10-50 cm, zasiedlone roślinnością bagienną i wodną taką jak: trzcina pospolita, pałka wodna, turzycyca.
- **uszczelnione zbiorniki z roślinnością pływającą** – są to stawy o głębokości 1-2 m z uszczelnionym dnem i bokami, z roślinnością pływającą - w naszych warunkach klimatycznych jest to rzęsa wodna – *Lemna minor*. Problemy eksploatacyjne to utrzymywanie równomiernego rozkładu rzęsy na powierzchni stawu, usuwanie przyrastających szybko roślin. Zimą ze względu na brak roślinności oczyszczalnia pracuje jak normalny staw.

## B. Sztuczne metody oczyszczania ścieków

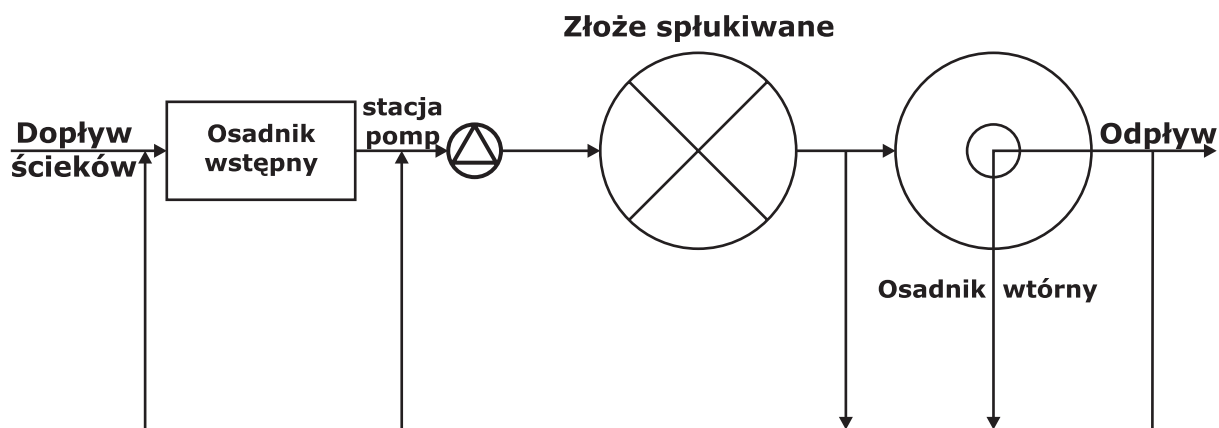
### Złoża biologiczne

Oczyszczanie ścieków na złożach biologicznych odbywa się w zbiornikach wypełnionych luźno usypanym materiałem ziarnistym i porowatym (rys. 2.23-24). Ścieki za pomocą zraszaczy są rozpryskiwane na górną powierzchnię złoża i spływają następnie przez wypełniający go materiał.

Na materiale stałym, z którego zbudowane jest złoże wytwarza się błona biologiczna stanowiąca śluzowatą warstwę złożoną z mikroorganizmów takich jak: bakterie (głównie bakterie tlenowe), pierwotniaki, grzyby. Złoże stałe to gruboziarnisty materiał porowaty: tłuczeń, koks, żużel wielkopiecowy, tuf wulkaniczny, tworzywa sztuczne i inne materiały odporne na wpływy atmosferyczne. Biomasa, która bierze udział w procesie rozkładu związków organicznych jest biomasą osiadłą na podtrzymującym materiale porowatym.



Rys. 2.23. Złoże zraszane: a) dopływ b) urządzenia zraszające c) wypełnienie złoża d) odpływ



Rys. 2.24. Schemat oczyszczania ścieków na złożach biologicznych

Praca złoża polega na stałym doprowadzaniu ścieków i ich przepływie przez złoże w kontakcie z błoną biologiczną, podczas którego zachodzi mineralizacja zanieczyszczeń na skutek tlenowego rozkładu przez mikroorganizmy i odpływ ze złoża oczyszczonego ścieku. Błona biologiczna jest początkowo utworzona z bakterii zoogloalnych produkujących śluzowate otoczki. Z czasem skład gatunkowy błony zmienia się w wyniku sukcesji. Obok bakterii pojawiają się grzyby, pierwotniaki, wrotki, pierścienice i larwy much.

Procesy życiowe mikroorganizmów są uzależnione od dopływu tlenu, a skuteczność rozkładu biologicznego w błonie zależy od szybkości odprowadzania, ditlenku węgla jako produktu rozkładu. Realizacja sprawnego procesu polega na:

- zapewnieniu kontaktu ścieków z błoną biologiczną,
- zapewnieniu odpowiedniego napowietrzenia.

W zależności od obciążenia ładunkiem organicznym wyróżniamy następujące rodzaje złożów biologicznych:

- Niskoobciążone (nitrifikacyjne) – mogą być wypełnione materiałem naturalnym lub sztucznym. Ładunek organiczny doprowadzany na złoże jest mniejszy od  $0,4 \text{ kg BZT}_5/\text{m}^3 \cdot \text{d}$ . W złożach zraszanych błona jest dobrze rozwinięta i proces biologicznego rozkładu jest prawie zupełny. W końcowej fazie oczyszczania zachodzą intensywne procesy nitrifikacji, które powodują wzrost zawartości azotanów w odpływie kierowanym do osadników wtórnych (osadnik wtórny jest to urządzenie wykorzystujące proces sedymentacji, w celu oddzielenia osadu czynnego od ścieków oczyszczonych).
- Średnioobciążone - wypełnione materiałem naturalno-syntetycznym, pracują przy obciążeniu objętości ładunkiem w granicach  $0,4-0,65 \text{ kg BZT}_5/\text{m}^3 \cdot \text{d}$ . Często stosowana jest w tych złożach recyrkulacja części ścieków oczyszczonych w celu zapewnienia odpowiedniej intensywności zraszania złoża i zapewnienia odpowiedniego stężenia ścieków doprowadzanych. Redukcja związków organicznych na tych złożach jest zadawalająca, a procesy nitrifikacji przebiegają częściowo. Nie jest konieczne wprowadzanie dodatkowych procesów oczyszczania.
- Wysokoobciążone (splukiwane) – są wypełnione materiałem naturalno-syntetycznym, obciążenie objętości złoża ładunkiem wynosi:  $0,65-1,6 \text{ kg BZT}_5/\text{m}^3 \cdot \text{d}$ . W złożach splukiwanych intensywność przepływu ścieków jest większa, lecz słabiej rozwija się błona biologiczna złożona tu prawie wyłącznie z bakterii. Przepływająca ciecz wypłukuje ze złoża zużyty i martwy materiał biologiczny, wypłukiwany materiał unoszony jest w postaci kłaczkowatego osadu. Na tego typu złożach, zachodzi jedynie częściowa mineralizacja związków organicznych a proces nitrifikacji jest tu hamowany. O częściowej mineralizacji związków organicznych świadczy niska zawartość azotanów w odpływie ze złożów. W systemach złożonych, po tego rodzaju złożach, stosuje się

doczyszczanie ścieków, ponieważ jakość oczyszczanych ścieków z reguły nie odpowiada wymaganym normom.

## Osad czynny

Proces tzw. osadu czynnego polega na oczyszczaniu ścieków przez zawieszoną bakterii wolno unoszoną, stale zawieszoną w cieczy. Polega on na wytworzeniu w objętości ścieków kłaczków o wymiarach 50-100  $\mu\text{m}$  o bardzo silnie rozwiniętej powierzchni.

Kłaczki zbudowane są z mineralnego jądra koloru brązowego lub beżowego, a na powierzchni w otoczkę śluzu zawarte są liczne bakterie z grupy heterotrofów. Metoda osadu czynnego wymaga dostarczenia tlenu, niezbędnego do bioutlenienia zanieczyszczeń organicznych. Ilość tlenu zapewniająca bakteriom odpowiednie warunki powinna wynosić  $> 0,5 \text{ mg O}_2/\text{dm}^3$ .

### Charakterystyka osadu czynnego

Osad czynny to kłaczkowata zawiesina wytwarzająca się podczas napowietrzania ścieków.

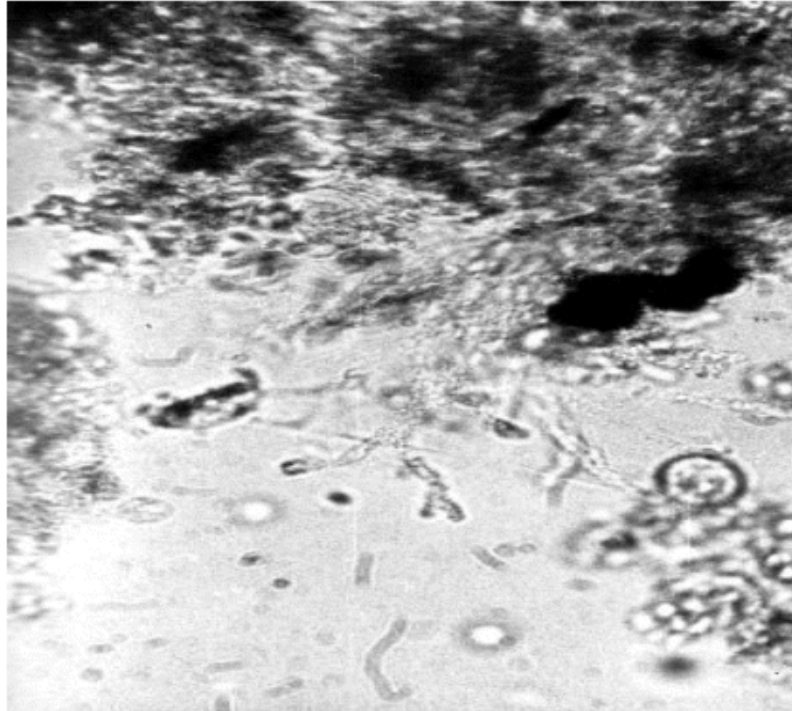
Oczyszczanie ścieków osadem czynnym polega na mineralizacji związków organicznych przeprowadzanej głównie przez bakterie, na drodze tych samych procesów biochemicznych, które zachodzą podczas samooczyszczania. Przebiega ono jednak z dużą większą szybkością. Dzieje się tak, dlatego gdyż warunki intensywnego napowietrzania wytworzone podczas przepływu ścieków przez komory napowietrzania sprzyjają intensywnemu rozwojowi mikroorganizmów rozkładających zanieczyszczenia.

W komorze napowietrzania tworzą się aglomeraty (kłaczki) składające się z heterotroficznych bakterii zlepionych śluzem (flokulacja), które utrzymywane są w ciągłym ruchu dzięki mieszaniu przez doprowadzane powietrze. Kłaczki te adsorbują zawarte w ściekach zanieczyszczenia, a mikroorganizmy znajdujące się w kłaczkach rozkładają zaadsorbowane substancje.

Osad czynny ma strukturę gąbczastą, luźną, złożoną z drobnych utworów o różnym kształcie. Biocenoza osadu czynnego składa się głównie z bakterii heterotroficznych, ale występują tu również bakterie nitryfikacyjne. Najczęściej spotykanymi gatunkami są: *Zooglea ramigera* (rys. 2.25), *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* oraz bakterie z rodzaju *Achromobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium* i *Alcaligenes*. Dobór bakterii odbywa się na drodze naturalnej. Czynnikiem selekcyjnym i kształtującym zróżnicowany jakościowo zespół bakterii, są warunki w komorze napowietrzania, zwłaszcza skład chemiczny ścieków, odczyn i warunki tlenowe.

W warunkach niekorzystnych (przeciążenie komory napowietrzania ładunkiem łatwo dostępnych substratów, wysoki deficyt tlenowy) dochodzi do przerostu utworów kłaczkowatych osadu i do tzw. pęcznienia osadu czynnego. Wyróżniamy pęcznienie włókniste i niewłókniste.

Pęcznienie włókniste spowodowane jest nadmiernym rozwojem bakterii nitkowatych (*Sphaerotilus natans*, *Beggiatoa alba* lub *Thiothrix nivea*) lub grzybów. Natomiast przyczyną pęcznienia niewłóknistego jest rozwój bakterii wydzielających nadmierne ilości śluzów zewnątrzkomórkowych.



Rys. 2.25. *Zooglea ramigera* zasiedlająca osad czynny

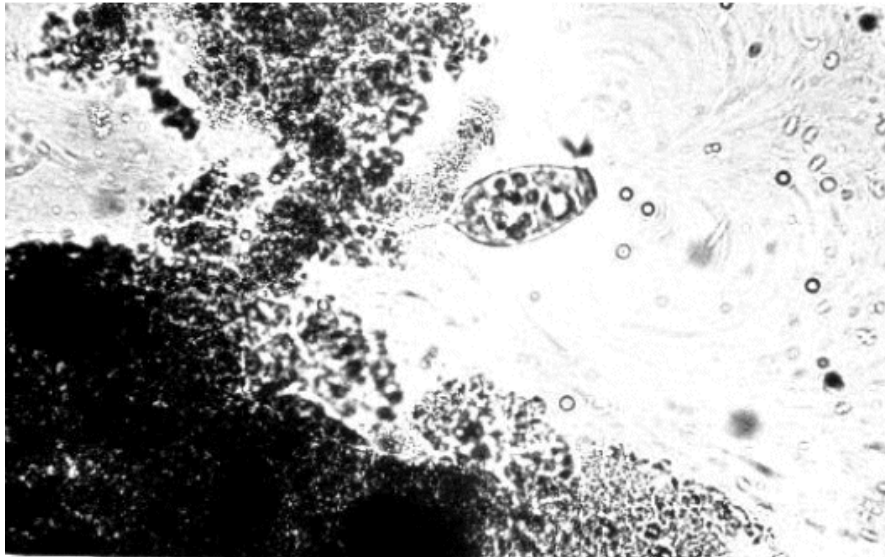
W skład biocenozy osadu czynnego obok bakterii wchodzi także pierwotniaki, nicienie i wrotki (rys. 2.26-29). Rola tych mikroorganizmów jest drugoplanowa, ale również ważna i zróżnicowana.

Pierwotniaki odżywiają się komórkami bakteryjnymi, zmuszają je do szybkiego rozmnażania, przez co stają się czynnikiem odmładzającym i uaktywniającym osad czynny. Do najczęściej występujących pierwotniaków należą: *Vorticella*, *Carchesium* i *Opercularia* oraz *Anthophysa*, *Oxytricha*, *Stylonychia* i *Lionotus*.

Między liczebnością wiciowców i orzęsków w osadzie czynnym istnieje odwrotna zależność. Podczas gdy duża liczba wiciowców wskazuje na przeciążenie osadu, to obecność orzęsków świadczy o prawidłowej pracy osadu czynnego. W toku procesu oczyszczania ścieków osadem czynnym można zaobserwować charakterystyczną sukcesję biocenozy.



Rys. 2.26. Orzęski osiadłe –*Epistylis umbellaria* bytujące w osadzie czynnym.



Rys. 2.27. Orzęsek osiadły z rodzaju *Opercularia* pobierający pokarm.



Rys. 2.28. Wrotek *Rotifer vulgaris* żerujący w osadzie czynnym.



Rys. 2.29. Nicienie – z rodzaju *Plectus* sp. bytujące w osadzie czynnym.

### Schemat procesu oczyszczania ścieków osadem czynnym (rys. 2.30)

Ścieki po mechanicznym oczyszczeniu kierowane są do komór napowietrzania (komora osadu czynnego) z osadem czynnym, czyli gęstą zawiesziną mikroorganizmów. Zawartość komory jest stale napowietrzana, co umożliwia dostarczenie wystarczającej ilości tlenu, utrzymuje osad czynny w stanie zawieszonym i zapewnia stałe mieszanie.

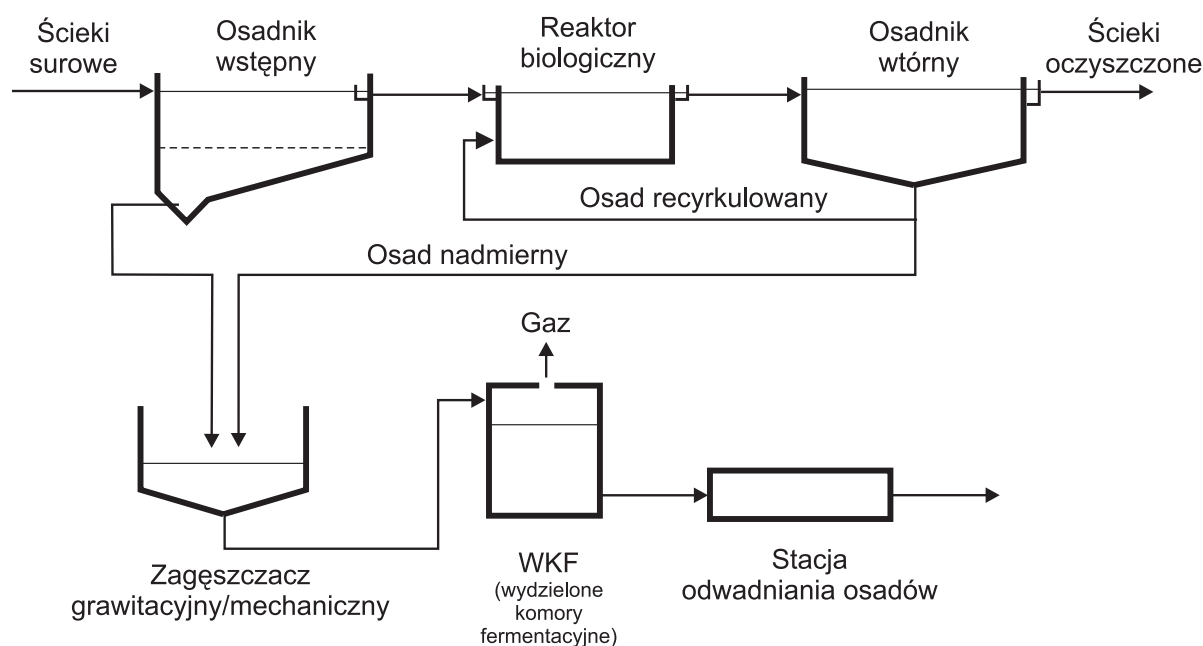
Komora napowietrzania jest urządzeniem, w którym rozwój osadu czynnego następuje w warunkach hodowli ciągłej. Pomiedzy szybkością dopływu ścieków i zawartych w nich substancji odżywczych, szybkością namnażania się bakterii, a szybkością odpływu oczyszczonych ścieków wraz z pewną ilością osadu czynnego, panuje stan równowagi.

W czasie kontaktu ścieków z osadem czynnym, zachodzące procesy rozkładu umożliwiają jednocześnie rozwój biomasy osadu czynnego.

Rozdziału oczyszczonych ścieków od osadu dokonuje się w osadniku wtórnym. W urządzeniu tym następuje sedymentacja osadu i klarowanie się oczyszczonych ścieków, które odprowadza się do odbiornika.

Osad czynny może być natomiast ponownie użyty do oczyszczania ścieków i jest wówczas recykulowany (tzw. osad powrotny – to część osadu czynnego wydzielona w osadniku wtórnym i zawracana z powrotem do komory osadu czynnego). Często jednak przed ponownym włączeniem go do procesu oczyszczania trafia do komór regeneracyjnych, w których napowietrzany jest w celu przywrócenia mu pełnej sprawności fizjologicznej.

Jeżeli osad z osadnika wtórnego nie jest zawracany do komory osadu czynnego, to wówczas jest on jako osad nadmierny usuwany i poddawany odpowiedniej przeróbce.



Rys. 2.30. Schemat oczyszczania ścieków metodą osadu czynnego

### 2.7.2. Metody chemiczne oczyszczania ścieków

Do oczyszczania ścieków przemysłowych zawierających związki organiczne, metale ciężkie i in. stosuje się fizyczno-chemiczne i chemiczne metody oczyszczania. Zalicza się do nich takie procesy, jak: neutralizacja, koagulacja, utlenianie, redukcja, sorpcja, flotacja, procesy membranowe, ekstrakcja, elektroliza i destylacja.

**Neutralizacja.** Jest procesem chemicznego zobojętniania ścieków do wymaganego pH, przy użyciu odpowiednich reagentów. W zależności od składu ścieków i rodzaju stosowanego reagenta, neutralizacji towarzyszyć może proces chemicznego strącania i współstrącania.

Neutralizację można prowadzić mieszając wzajemnie ścieki kwaśne z zasadowymi. Do neutralizacji ścieków kwaśnych najczęściej stosuje się wodorotlenki: NaOH w postaci roztworu o stężeniu 20-30%,  $\text{Ca(OH)}_2$  w postaci mleka wapiennego o stężeniu 5-15%,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  w postaci roztworu,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{MgCO}_3$ , MgO, dolomit w postaci złoża ziarnistego. Neutralizację ścieków zasadowych prowadzi się kwasami mineralnymi w postaci roztworów ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ , HCl,  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) oraz  $\text{CO}_2$  w postaci czystego gazu lub gazów spalinowych.

**Koagulacja.** Jest to proces łączenia cząstek koloidalnych oraz zawiesin w zespoły cząstek zwanych aglomeratami w wyniku, czego wytrąca się osad. Czynniki powodujące najczęściej koagulację to: dodatek roztworu elektrolitu obniżającego potencjał elektrokinetyczny, dodatek koloidów o przeciwnym znaku ładunku elektrycznego do ładunku cząstek koloidalnych, wytworzenie wodorotlenków metali, na których adsorbują się jony, koloidy i cząstki zawiesiny.

**Utlenianie** Utlenianie prowadzi się w celu usunięcia ze ścieków związków organicznych, związków nieorganicznych, mikroorganizmów. Reagentami stosowanymi w procesie utleniania są: chlor, utleniające związki chloru ( $\text{NaOCl}$ ,  $\text{Ca(OCl)}_2$ ), wapno chlorowane, ditlenek chloru), ozon.

**Redukcja.** Proces redukcji stosowany w oczyszczaniu ścieków dotyczy głównie chromu. Sole chromu (VI) są toksyczne, działają drażniąco na skórę, i rakotwórcze oraz mają właściwości bakteriobójcze. Właściwości bakteriobójcze hamują procesy samooczyszczania w wodzie.

Redukcja chromu ze stopnia utlenienia 6+ na 3+ przeprowadzana jest przez redukcję i strącanie wodorotlenku  $\text{Cr(OH)}_3$ , który należy do związków trudno rozpuszczalnych. Redukcję prowadzi się na drodze chemicznej bądź elektrochemicznej.

**Sorpcja.** Sorpcja polega na wiązaniu na powierzchni ciała stałego rozpuszczonych w cieczy substancji. W zależności od typu procesu może on mieć charakter nieodwracalny (chemisorpcja), odwracalny – adsorpcja. O charakterze procesu decyduje przewaga jednej ze składowych sił decydujących o typie sorpcji:

- sorpcja fizyczna – zachodzi w wyniku oddziaływania sił van der Waalsa,
- sorpcja chemiczna – zachodzi w wyniku działania sił walencyjnych,
- sorpcja jonowa – zachodzi między grupami jonoczynnymi w strukturze sorbentu a kationami i anionami,
- sorpcja sitowa – zachodzi na poziomie cząsteczkowym wg mechanizmu zwanego sitem molekularnym.

**Flotacja.** Proces rozdziału faz polegający na wynoszeniu ze ścieków do warstwy piany przez pęcherzyki gazu zanieczyszczeń hydrofobowych. W wyniku realizacji procesu uzyskuje się na powierzchni ścieków pianę, w której koncentracja zanieczyszczeń jest wielokrotnie wyższa niż w całej objętości ścieków.

**Procesy membranowe.** Procesy te polegają na rozdziale składników w wyniku przepływu przez warstwę porowatą przepuszczalną (membranę). Rozróżniamy następujące procesy membranowe: odwrócona osmoza, nanofiltracja, ultrafiltracja, elektrodializa.

**Ekstrakcja.** Jest procesem, który polega na przenikaniu składnika lub składników z roztworu do drugiej fazy ciekłej (rozpuszczalnika). W wyniku procesu otrzymuje się ekstrakt, czyli roztwór składnika w rozpuszczalniku. Warunkiem procesu jest występowanie dwóch faz ciekłych.

**Elektroliza.** Jest to proces, w którym energia elektryczna wywołuje zmiany chemiczne elektrolitu. W wyniku pola elektrycznego następuje ruch jonów w kierunku elektrod, na których zachodzą procesy:

- katoda  $\text{Me}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{Me}$  (redukcja),
- anoda  $\text{X}^- \rightarrow \text{X} + \text{e}^-$  (utlenianie).

**Destylacja.** Proces wykorzystujący różnicę między składem cieczy i pary w stanie równowagi.



## Pytania sprawdzające

Wymień czynniki abiotyczne ograniczające rozwój mikroorganizmów w wodzie.  
Wyjaśnij pojęcie troficzność wód powierzchniowych.  
Jaki proces nazywamy eutrofizacją?  
Omów interakcje synergistyczne zachodzące między poszczególnymi członkami grup organizmów wodnych zasiedlających wody powierzchniowe.  
Podaj, jakie rodzaje mikroorganizmów żyją w wodach.  
Jaka jest rola bakterii w środowisku wodnym?  
Omów proces samooczyszczania wód.  
Podaj typy organizmów patogennych przenoszonych drogą wodną.  
Omów kryteria jakości zdrowotnej wody obowiązujących w Polsce.  
Wyjaśnij różnice między naturalnymi i sztucznymi metodami oczyszczania ścieków.  
Omów proces oczyszczania ścieków metodą osadu czynnego.

## Streszczenie

Biotopami mikroorganizmów wodnych mogą być wody podziemne, wody powierzchniowe oraz osady denne. Rozwój mikroorganizmów w wodzie uzależniony jest od szeregu czynników chemicznych, fizycznych i biologicznych. Mikroorganizmy zasiedlają wszystkie strefy wód powierzchniowych (plankton, peryfiton, bentos). Wody zamieszkują mikroorganizmy autochtoniczne i allochtoniczne. Zanieczyszczenie wód powierzchniowych jest rezultatem wprowadzania ścieków komunalnych i przemysłowych. Samooczyszczanie wód polega na współdziałaniu szeregu procesów natury fizycznej i biochemicznej. Drogą wodną mogą być przenoszone organizmy chorobotwórcze, dlatego też konieczna jest kontrola jakości sanitarnej wody. Niebezpieczeństwo związane ze skażeniem wody jest ograniczane dzięki oczyszczaniu ścieków wprowadzanych do wód powierzchniowych.

## Glosariusz

**Tlenowce** – organizmy wymagające tlenu cząsteczkowego do procesu oddychania.  
**Beztlenowce** – organizmy, które żyją i reprodukują się w warunkach bez dostępu tlenu.  
**Osad czynny** – kłaczkowata zawiesina powstająca podczas napowietrzania ścieków lub osadów ściekowych, na skutek wzrostu mikroorganizmów (w tym bakterii zoogloalnych).  
**BZT** – Biochemiczne Zapotrzebowanie na Tlen - określa ilość tlenu potrzebną bakteriom do utlenienia biologicznie rozkładalnych związków organicznych w warunkach tlenowych w temperaturze 20°C. W procesie rozkładu bakterie wykorzystują materię organiczną w charakterze substratu pokarmowego i w ten sposób uzyskują energię.  
**Związek biodegradowalny** – związek organiczny, który może być rozłożony przez mikroorganizmy na prostsze składniki, nieuciążliwe dla środowiska.  
**Biofilm** – biologicznie czynny śluzowaty nalot składający się z różnych gatunków bakterii, glonów i pierwotniaków, powstały na ziarnach mineralnych lub innych materiałach porowatych, takich jak kamienie, metale czy drewno.  
**Mikroelementy** – pierwiastki niezbędne dla roślin, zwierząt i mikroorganizmów, w proporcjonalnie małych ilościach, konieczne dla ich życia i rozwoju. Do mikroelementów zaliczamy m.in.: Żelazo (Fe), Mangan (Mn), Cynk (Zn), Bor (B) i Molibden (Mo).  
**Organizmy patogene (chorobotwórcze)** – bakterie, wirusy czy cysty pierwotniaków, które mogą powodować choroby (tyfus, cholera, dyzenteria) w organizmie gospodarza (takiego jak np. człowiek).  
**Ścieki** – zużyte wody przez gospodarstwa domowe i zakłady przemysłowe, kierowane do oczyszczalni ścieków a także wody burzowe, wody infiltrujące z gleby oraz wody pochodzące ze spływów powierzchniowych.

### 3. Mikrobiologia powietrza

#### Spis treści

- 3.1. Powietrze jako środowisko bytowania mikroorganizmów
- 3.2. Przystosowanie mikroorganizmów do przebywania w powietrzu
- 3.3. Aerosol biologiczny
- 3.4. Mechanizmy chroniące przed wnikaniem aerozoli do płuc
- 3.5. Przeżywalność i rozprzestrzenianie mikroorganizmów w powietrzu
- 3.6. Aerosol biologiczny jako źródło zagrożeń dla człowieka
- 3.7. Główne źródła emisji bioaerozolu
- 3.8. Badanie zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza

#### Cele

Po przeczytaniu tego rozdziału powinno się rozumieć specyfikę warunków środowiskowych panujących w powietrzu i ich wpływ na przeżywalność drobnoustrojów. Bardzo ważne jest poznanie zagrożeń związanych z występowaniem aerozolu biologicznego. Należy również poznać podstawowe metody badania zanieczyszczeń mikrobiologicznych w powietrzu i wymagania stawiane jakości powietrza pod względem sanitarnym.

#### Ukierunkowanie

W prezentowanym tekście scharakteryzowano powietrze jako środowisko przebywania i przenoszenia mikroorganizmów oraz omówiono wpływ poszczególnych czynników na ich przeżywalność. Wiele uwagi poświęcono zagrożeniom związanym z wdychaniem powietrza zanieczyszczonego mikrobiologicznie i mechanizmom chroniącym układ oddechowy przed wnikaniem bioaerozolu. Wyjaśniono też, w jaki sposób można badać i oceniać stan sanitarny powietrza pod względem mikrobiologicznym.

#### Wymagana wiedza

Do pełnego zrozumienia treści rozdziału wymagana jest podstawowa wiedza z biologii z zakresu szkoły średniej i znajomość podstaw mikrobiologii ogólnej.

#### Wskazówki i porady

Student powinien przypomnieć sobie podstawowe wiadomości o bakteriach, grzybach i wirusach (morfologię, sposoby rozmnażania i wymagania środowiskowe), a także o odpowiedzi immunologicznej organizmu.

### 3.1. Powietrze jako środowisko bytowania mikroorganizmów

- Powietrze jest środowiskiem niesprzyjającym życiu mikroorganizmów, w którym nie mogą one rosnąć i dzielić się. Jest ono jedynie miejscem ich okresowego przebywania i ośrodkiem umożliwiającym przemieszczanie się.
- Między drobnoustrojami występującymi w powietrzu nie wykształca się więc sieć powiązań metabolicznych (jak np. w wodzie czy glebie), dlatego nie tworzą one mikrobiocenozy, a jedynie przypadkowy zbiór mikroorganizmów.
- Drobnoustroje dostają się do powietrza w wyniku podmuchów wiatru, porywającego je z różnych środowisk (gleby, wody, odpadów, powierzchni roślin, zwierząt i in.), bądź też są tam aktywnie wyrzucane np. podczas kichania, kaszlu, czy w procesie napowietrzania ścieków.

*Dlaczego warunki panujące w powietrzu są niekorzystne dla mikroorganizmów?*

W powietrzu działają 3 podstawowe czynniki ograniczające:

- brak wystarczającej ilości składników pokarmowych,
- częsty deficyt wody, grożący wyschnięciem,
- promieniowanie słoneczne.

Pierwszy z wymienionych czynników w sposób oczywisty uniemożliwia rozwój każdej komórki. Co prawda w powietrzu, zwłaszcza zanieczyszczonym, występują substancje organiczne, ale są to zwykle związki trudnorozkładalne i jest ich zbyt mało, by mogły służyć jako pokarm. Poza tym równocześnie działają inne niesprzyjające czynniki.

Drobnoustroje w powietrzu są ciągle narażone na wyschnięcie, a bez wody niemożliwe są jakiegokolwiek procesy życiowe. Niektóre bakterie są szczególnie wrażliwe na deficyt wody i wysuszenie działa na nie bakteriobójczo (np. drożdżki rzeżączki lub krętki kiły giną zaraz po dostaniu się do powietrza). Wiele mikroorganizmów znosi jednak dobrze deficyt wody i, choć nie mogą wtedy normalnie funkcjonować, to w stanie wysuszenia przeżywają miesiące, a nawet lata (przetrwalniki laseczek, zarodniki grzybów).

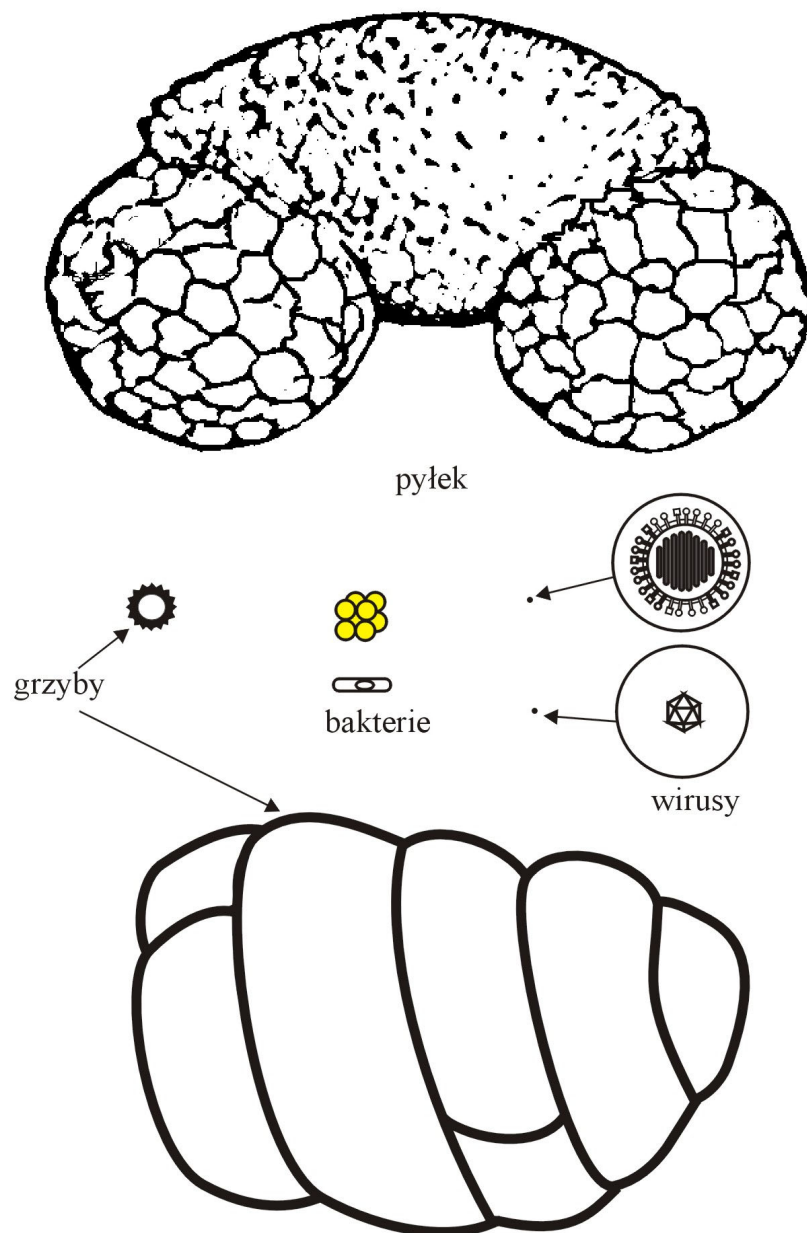
Promieniowanie słoneczne również działa szkodliwie na drobnoustroje zawieszone w powietrzu, ponieważ powoduje powstawanie mutacji i przyczynia się do wysychania komórek (w wodzie i glebie światło jest zwykle słabe lub nie ma go wcale) (patrz roz. 3.2 i 3.5).

### 3.2. Przystosowanie mikroorganizmów do przebywania w powietrzu

Jakie drobnoustroje można spotkać w powietrzu?

W powietrzu występują przede wszystkim 3 główne grupy mikroorganizmów:

- bakterie,
- grzyby,
- wirusy.



Rys. 3.1. Przykłady obiektów biologicznych spotykanych w powietrzu, z zachowaniem proporcji wielkości

Bakterie mogą występować jako formy wegetatywne lub przetrwalne, a grzyby najczęściej w formie zarodników lub jako fragmenty grzybni.

Często i licznie, zwłaszcza w sezonie wegetacyjnym, występuje w powietrzu pyłek roślin wiatropylnych (np. traw i niektórych drzew) (rys. 3.1). Poza tym można tu spotkać cysty glonów i pierwotniaków oraz drobne bezkręgowce, np. robaki, w postaci jaj lub cyst, i roztocze.

Trzeba też zauważyć, że oprócz żywych mikroorganizmów w powietrzu mogą występować ich fragmenty lub wytwory, wykazujące często aktywność toksyczną lub alergiczną (patrz roz. 3.6)

*Które drobnoustroje są najlepiej przystosowane do dłuższego przebywania w powietrzu?*

W atmosferze najdłużej mogą przebywać te formy, które ze względu na swoją budowę lub skład chemiczny są odporne na wysychanie i działanie promieniowania słonecznego.

Można je podzielić na następujące grupy:

- formy przetrwalne bakterii,
- formy wegetatywne bakterii wytwarzające barwniki karotenoidowe lub specjalne warstwy ochronne (otoczki, specjalna budowa ściany komórkowej)
- zarodniki grzybów,
- wirusy mające otoczkę.

### **Formy przetrwalne bakterii**

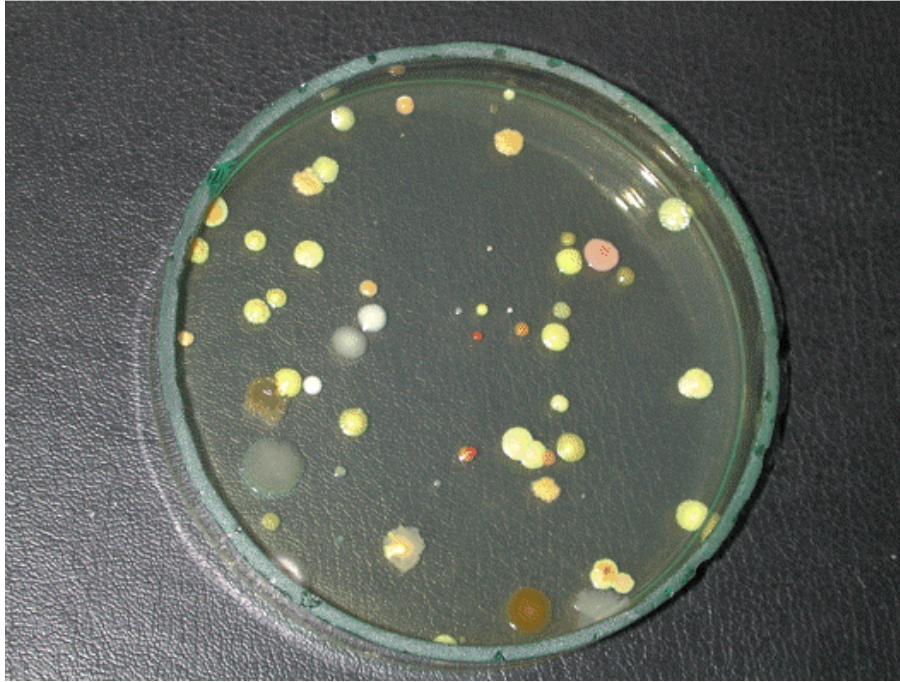
Najbardziej znaną formą przetrwalną są **endospory**, czyli przetrwalniki. Są to twory powstające wewnątrz komórki i otoczone grubą osłoną zbudowaną z kilku warstw. Dzięki nim przetrwalniki są niezwykle odporne na działanie niekorzystnych czynników środowiska. W warunkach panujących zwykle w powietrzu atmosferycznym są one w stanie zachować żywotność praktycznie przez czas nieograniczony. Produkują je tylko niektóre bakterie, głównie laseczki z rodzaju *Bacillus* i *Clostridium*. Ponieważ w jednej komórce powstaje zwykle jeden przetrwalnik, struktury te nie mogą służyć do rozmnażania.

Inny rodzaj form przetrwalnych wytwarzają promieniowce (*Actinomyces*), pospolite bakterie glebowe. Specjalne pionowo wzniesione, nitkowate komórki tzw. grzybni powietrznej tych bakterii, ulegają w końcowym odcinku fragmentacji tworząc liczne kuliste twory. Jako że sposób ich wytwarzania przypomina powstawanie tzw. konidiów u grzybów, one również nazywane są konidiami. W przeciwieństwie do endospor, konidia promieniowców służą także do reprodukcji.

Spotyka się również inne formy przetrwalne bakterii, m. in. cysty wytwarzane przez *Azotobacter* – bakterię glebową zdolną do asymilacji azotu cząsteczkowego.

### **Odporne komórki wegetatywne bakterii**

Produkcja **barwników karotenoidowych** zapewnia komórkom ochronę przed promieniowaniem słonecznym. Karotenoidy, ze względu na obecność licznych wiązań podwójnych w cząsteczce ( $-C=C-$ ), pełnią funkcję przeciwutleniaczy gdyż, jako silne reduktory, same ulegają utlenieniu przez wolne rodniki powstające pod wpływem światła. Dzięki temu chronione są przed utlenieniem ważne biologicznie makromolekuły (DNA, białka i in.). Bakterie pozbawione tych barwników zwykle giną szybko w powietrzu z powodu fotooksydacji (utleniania pod wpływem światła). Tłumaczy to, dlaczego kolonie bakterii opadłe z powietrza na otwarte płytki agarowe często są zabarwione (zdj. 3.1). Zdolność wytwarzania karotenoidów mają zwłaszcza prątki i ziarniaki.



Zdj. 3.1. Kolorowe kolonie wyrosłe z komórek bakterii opadłych z powietrza na płytkę Petriego z agarem odżywczym.

Prątki, np. znany prątek gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*), oprócz odporności na światło, wykazują też znaczną odporność na wysuszenie dzięki wyjątkowo dużej zawartości lipidów, głównie w ścianie komórkowej. Również dużą przeżywalnością w powietrzu cechują się bakterie posiadające otoczkę, np. pałeczki z rodzaju *Klebsiella*, powodujące choroby układu oddechowego.

### Zarodniki grzybów

Zarodniki (spory) są to specjalne komórki rozrodcze służące do rozmnażania bezpłciowego. Grzyby produkują zarodniki w ogromnych ilościach, np. owocnik czasznicy olbrzymiej (*Calvatia gigantea*) wytwarza astronomiczną ilość 20 000 000 000 000 (20 bilionów!) zarodników, które dostają się do powietrza i są roznoszone na duże odległości. Bardzo pospolitym typem zarodników, często spotykanym w powietrzu, są wspomniane już konidia.

**Konidia** (gr. *konia* - pył) są zarodnikami powstającymi bezpłciowo, przez podziały końcowych odcinków specjalnych strzępek. Przykładem mogą być konidia pospolitych grzybów pleśniowych: pędzłaka (*Penicillium*) i kropidlaka (*Aspergillus*) (patrz rys. 3.5). Zarodniki są też produkowane przez rośliny zarodnikowe, a więc paprocie, skrzypy i widłaki. Pyłek roślin wyższych to również rodzaj zarodników.

### Odporne wirusy

Oprócz form komórkowych, w powietrzu występują wirusy, wśród których największą odpornością charakteryzują się te, których nukleokapsyd jest otoczony osłonką np. wirus grypy. Spośród wirusów o nieosłoniętym nukleokapsydem stosunkowo dużą stabilność wykazują enterowirusy.

Oczywiście, oprócz wymienionych form szczególnie odpornych, w powietrzu występują też bardziej wrażliwe komórki i wirusy, ale ich żywotność jest dużo mniejsza. Uważa się, że spośród form wegetatywnych, bakterie gramdodatnie wykazują większą odporność niż gramujemne (zwłaszcza na wysuszenie), ze względu na grubszą ścianę komórkową. Poza tym wirusy są zwykle bardziej odporne niż bakterie.

### 3.3. Aerosol biologiczny

#### Mikroorganizmy zawieszane w powietrzu jako układ koloidalny

Drobnoustroje w powietrzu występują w postaci układu koloidalnego zwanego **aerosem biologicznym** lub bioaerosem. Każdy koloid jest układem, w którym w ośrodku rozpraszającym (dyspersyjnym) występują cząstki składnika rozproszonego o wielkości pośredniej między molekułami a cząstkami widocznymi gołym okiem. W przypadku aerosemi biologicznych ośrodkiem dyspersyjnym jest powietrze (lub inny gaz), a fazą rozproszoną - mikroorganizmy. Jednak rzadko się zdarza, by drobnoustroje występowały w powietrzu samodzielnie. Zwykle są one związane z cząstkami pyłu lub kropelkami cieczy (wody, śliny i in.), dlatego cząstki bioaerosemu często przekraczają rozmiarami same mikroorganizmy i mogą występować w postaci dwóch faz:

- fazy pyłowej (np. powstającej dzięki ruchom powietrza unoszącym kurz), lub
- fazy kropelkowej (np. powstającej w wyniku kondensacji pary wodnej lub w czasie kichania).

Cząstki pyłu są zwykle większe od kropelek i szybciej się osadzają (sedymentują). Wiąże się z tym różnica w zdolności penetracji układu oddechowego; kropelki bioaerosemu docierają do pęcherzyków płucnych, natomiast cząstki pyłu najczęściej są zatrzymywane w górnym odcinku dróg oddechowych. Poza tym liczba drobnoustrojów związanych z jedną cząstką fazy pyłowej jest większa niż w przypadku fazy kropelkowej.

#### Wielkość cząstek bioaerosemu

Średnica cząstek bioaerosemu obejmuje zakres od ok. 0,02  $\mu\text{m}$  do 100  $\mu\text{m}$ . Wielkości poszczególnych cząstek mogą się zmieniać pod wpływem czynników zewnętrznych (głównie wilgotności i temperatury) a także w wyniku łączenia się w większe agregaty. Stosując kryterium wielkości można podzielić aerosol biologiczny na:

- drobnoziarnisty (poniżej 1  $\mu\text{m}$ ),
- gruboziarnisty (powyżej 1  $\mu\text{m}$ ).

Cząstki drobnoziarniste to głównie wirusy, endospory i fragmenty komórek. Mają one własności higroskopijne i stanowią tzw. jądra kondensacji pary wodnej. Przy wysokiej wilgotności woda gromadzi się na nich tworząc fazę kropelkową. Wówczas średnica cząstek wzrasta.

Bioaerosol gruboziarnisty tworzą głównie bakterie i grzyby, zwykle połączone z pyłami lub kropelkami wody.

### 3.4. Mechanizmy chroniące przed wnikaniem aerozoli do płuc

Można wyróżnić dwa podstawowe mechanizmy usuwające aerozol z wdychanego powietrza:

- aparat śluzowo-rzęskowy,
- fagocytoza makrofagów płuc.

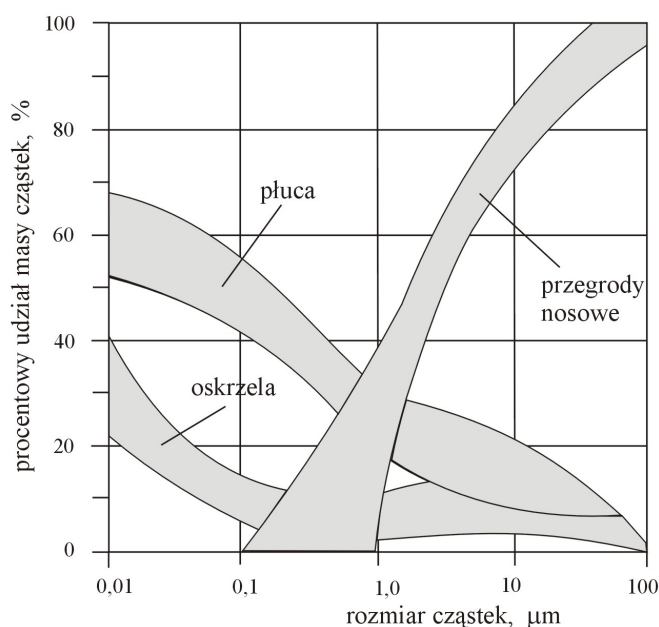
Drogi oddechowe człowieka wyścielone są nabłonkiem wielorzędowym. Nabłonek ten zbudowany jest z cylindrycznych komórek zaopatrzonych w rzęski (migawki) oraz z tzw. komórek kubkowatych wytwarzających śluz pokrywający cały nabłonek. Śluz ten ma wysoką lepkość, dzięki zawartości mucyny, oraz właściwości bakteriobójcze, które nadaje mu m.in. **lizozym** - enzym rozpuszczający ściany komórkowe bakterii gramdodatnich.

Oba typy komórek stanowią funkcjonalną całość tworząc **aparat śluzowo-rzęskowy**. Cząstki zawarte w powietrzu najpierw przyklejają się do lepkiego śluzu, a następnie są wraz z nim wymiatane przez rzęski w kierunku jamy nosowo-gardłowej, po czym albo są wydalone na zewnątrz ze śliną, np. w czasie odksztuśnięcia, albo połknięte. Opisany mechanizm jest zwykle skuteczny w stosunku do większych cząstek bioaerozolu gruboziarnistego.

Bioaerozol drobnoziarnisty często omija tę barierę i dostaje się do pęcherzyków płucnych. Wówczas może on być pochłonięty przez obecne tam makrofagi mające zdolność do fagocytozy.

Poza wyżej omówionymi, działają też inne mechanizmy ochronne, np. wyłapywanie większych cząstek aerozolu przez włoski w otworach nosowych, odruch kaszlowy, czy hamujące działanie naturalnej mikroflory błony śluzowej dróg oddechowych (tzw. interferencja bakteryjna).

Jednak wydajność tych mechanizmów nie zawsze jest wystarczająca i, szczególnie przy dużym stężeniu bioaerozolu i wysokiej inwazyjności tworzących go mikroorganizmów, może dojść do zasiedlenia przez nie dróg oddechowych i wywołania zmian chorobowych w organizmie. Poza tym mikroorganizmy tworzące bioaerozol, po opadnięciu, mogą przedostać się do organizmu drogą pokarmową (zanieczyszczone powierzchnie) lub przez skórę.



Rys. 3.2. Wpływ wielkości cząstek bioaerozolu na penetrację dróg oddechowych (wg Warycha, 1999)



Osadzanie się bioaerozolu w różnych odcinkach dróg oddechowych zależy głównie od rozmiaru cząstek oraz od siły, z jaką są wdychane. Dotyczy to w równym stopniu aerozolu niebiologicznego (pyłów, dymów, mgieł).

- Bioaerozol gruboziarnisty osadza się głównie w jamie nosowo-gardłowej (szczególnie cząstki o średnicy powyżej  $10\ \mu\text{m}$ ) i drzewie oskrzelowym, tzn. tchawicy, oskrzelach i oskrzelikach (cząstki o średnicy  $2\text{-}10\ \mu\text{m}$ ). Przy silniejszych wdechach (np. podczas wysiłku, czy kaszlu) do płuc mogą również dotrzeć cząstki większe, o średnicy ponad  $10\ \mu\text{m}$ .
- Bioaerozol drobnoziarnisty przenika natomiast głębiej, aż do pęcherzyków płucnych (cząstki o średnicy  $1\ \mu\text{m}$  i mniejszej) (rys. 3.2.).

Te cząstki, które mogą przenikać w głąb płuc (do oskrzelików i pęcherzyków płucnych) określa się mianem **frakcji respirabilnej** (łac. *respirare* - oddychać). Pojęcie to dotyczy wszelkich cząstek, nie tylko bioaerozolu. Udział frakcji respirabilnej w całości bioaerozolu jest miarą jego potencjalnej szkodliwości, ponieważ informuje o tym, jaka część bioaerozolu może przeniknąć do płuc. Dlatego przy badaniu zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza największe znaczenie mają te metody, które umożliwiają określenie wielkości frakcji respirabilnej (patrz rozdz. 3.8).

### 3.5. Przeżywalność i rozprzestrzenianie się bioaerozoli

Drobnoustroje po opuszczeniu swojego pierwotnego miejsca zasiedlenia i przedostaniu się do powietrza, są nagle poddane działaniu licznych czynników niesprzyjających przeżyciu i część z nich ginie od razu, głównie z powodu wysuszenia. Te, które przeżyją stres nagłej zmiany warunków życia, są jednak nadal poddawane ich działaniu i z czasem zamierają. Na przeżywalność mikroorganizmów w powietrzu wpływają następujące czynniki:

- odporność właściwa dla danego drobnoustroju,
- warunki meteorologiczne (m.in. wilgotność względna, temperatura, promieniowanie słoneczne),
- zanieczyszczenia powietrza,
- czas przebywania w powietrzu.

Kinetykę zamierania bioaerozolu opisuje równanie:

$$X_t = X_0^{-kt}$$

gdzie  $X_t$  oznacza stężenie mikroorganizmów po czasie  $t$  przebywania w powietrzu,  $X_0$  - stężenie początkowe, a  $k$  - **stałą zamierania**. Stała ta jest specyficzna dla konkretnego drobnoustroju i warunków środowiskowych, w jakich rozprzestrzenia się bioaerozol. Jest ona określana doświadczalnie. Podany wzór opisuje typowy proces pierwszego rzędu, charakterystyczny dla wielu zjawisk w przyrodzie. Przeżywalność drobnoustrojów w powietrzu można też wyrazić za pomocą **czasu połowicznej śmiertelności  $t_{1/2}$** , np. dla wielu bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* wynosi on ok. 8 sekund.

#### Odporność mikroorganizmów

Jest to cecha gatunkowa, zależna od morfologii i fizjologii drobnoustroju. Zagadnienie to zostało omówione w rozdziale 3.2.

#### Wilgotność względna

Zawartość wody w powietrzu to jeden z głównych czynników warunkujących przeżywalność. Przy bardzo niskiej wilgotności i wysokiej temperaturze komórkom grozi wysuszenie, natomiast wysoka wilgotność może chronić komórki przed napromieniowaniem, poprzez jego absorpcję.

Drobnoustroje różnie reagują na stopień wilgotności powietrza, choć dla większości z nich korzystniejsze warunki przetrwania stwarza wysoka wilgotność. Istotne znaczenie ma tu morfologia i biochemia struktur otaczających komórkę, które mogą zmieniać swoją konformację w zależności od ilości wody w powietrzu. Dokładny mechanizm tych zależności nie jest znany.

Dla form przetrwalnych osłoniętych grubą warstwą ochronną (np. endospor bakteryjnych), wilgotność nie ma większego znaczenia. Bakterie gramujemne i wirusy otoczone osłonką lepiej znoszą niską wilgotność powietrza, podczas gdy komórki gramodatnie (np. ziarniaki) i wirusy pozbawione osłonki (wirusy pikorna np. enterowirusy) przeciwnie, wykazują dłuższą przeżywalność przy wysokiej wilgotności.

#### Temperatura

Temperatura może działać pośrednio, poprzez zmianę wilgotności względnej powietrza (im wyższa temperatura, tym niższa wilgotność względna) lub bezpośrednio, powodując w skrajnych przypadkach wysuszenie komórek i denaturację białek (temperatury wysokie) albo krystalizację wody zawartej w komórkach (temperatury poniżej 0 °C).

Wynika z tego, że optymalne dla bioaerozolu są temperatury niskie, ale powyżej 0 °C. (według niektórych badaczy ok. 15 °C).

### **Promieniowanie słoneczne**

Promieniowanie słoneczne ma negatywny wpływ na przeżywalność bioaerozolu, zarówno jako światło widzialne, jak i promieniowanie podczerwone i ultrafioletowe (UV). Jest tak z następujących przyczyn:

- powoduje ono powstawanie mutacji,
- powoduje powstawanie wolnych rodników, które uszkadzają ważne makromolekuły,
- stwarza zagrożenie wysuszeniem.

Promienie o długości fali światła widzialnego (ok. 400-700 nm) wywołują tzw. **efekt fotodynamiczny** polegający na wytwarzaniu w komórce **wolnych rodników**, zwłaszcza ze związków porfiryńowych i z tlenu (rodniki nadtlenkowe i hydroksylowe). Powstałe rodniki wykazują silną aktywność utleniającą i mogą spowodować uszkodzenie ważnych biologicznie makromolekuł, np. DNA lub białek.

Promienie UV działają znacznie silniej na komórki niż światło widzialne, zwłaszcza promienie o długości fali 230-275 nm. Mechanizm ich działania polega na powodowaniu zmian w DNA, zarówno bezpośrednio (np. przez tworzenie dimerów tyminy i w konsekwencji mutacji), jak i pośrednio, przez tworzenie wolnych rodników, podobnie jak w przypadku światła widzialnego.

Również promieniowanie podczerwone może działać negatywnie na komórki znajdujące się w powietrzu poprzez ogrzewanie i w konsekwencji osuszanie.

### **Zanieczyszczenia powietrza**

Obecne w powietrzu zanieczyszczenia, zwłaszcza węglowodory, ozon i tlenki azotu, aktywowane promieniowaniem słonecznym (szczególnie UV) tworzą różnorodne, silnie reaktywne zanieczyszczenia wtórne, określane ogólnie jako **utleniacze fotochemiczne** (m.in. azotan peroksyacetylu – PAN). Działają one toksycznie na wszelkie formy życia, w tym i na mikroorganizmy zawieszony w powietrzu.

Natomiast nietoksyczne aerozole niebiologiczne (pyły, mgły), rozpraszają i absorbują promieniowanie słoneczne i przez to zwiększają szansę przeżycia bioaerozolu. Należy zaznaczyć, że omówione wyżej czynniki działają równocześnie i często są ze sobą powiązane, np. promieniowanie słoneczne zwiększa temperaturę, a wysoka wilgotność osłabia promieniowanie.

*Od czego zależy stężenie mikroorganizmów w powietrzu?*

O stężeniu bioaerozolu, czyli stopniu zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza, decydują m.in. następujące czynniki:

- wielkość emisji drobnoustrojów, zależna od źródła emisji,
- odległość od źródła emisji,
- prędkość wiatru,
- przeżywalność drobnoustrojów (zależna od czynników omówionych wyżej),
- opady atmosferyczne.

Wielkość emisji i skład gatunkowy emitowanego bioaerozolu zależy od źródła emisji. Różne mogą być czynniki wpływające na stężenie początkowe powstającego bioaerozolu. Np. dla komory napowietrzania biologicznej oczyszczalni ścieków są to m. in.: stężenie mikroorganizmów w ściekach i sposób ich napowietrzania.

Stężenie mikroorganizmów musi być odpowiednio duże, bo w przeciwnym razie nie dojdzie do wytworzenia się bioaerozolu. Określa to tzw. **próg emisji**, który dla ścieków wynosi  $10^3$  komórek w  $1 \text{ cm}^3$ .

Powstały bioaerazol rozprzestrzenia się podobnie jak aerazol niebiologiczny (np. pył zawieszony) z tą różnicą, że mikroorganizmy z czasem zamierają. Wiejący wiatr rozrzedza aerazol i powoduje, że jego stężenie na zawietrznej od źródła emisji spada wraz z oddalaniem się od niego.

Dodatkowymi czynnikami zmniejszającymi stężenie bioaerozolu jest grawitacja, działająca głównie na większe cząstki, i opady atmosferyczne, niekiedy radykalnie redukujące stężenie aerozolu.

### 3.6. Aerozol biologiczny jako źródło zagrożeń dla człowieka

*Jakie zagrożenia wiążą się z obecnością drobnoustrojów w powietrzu?*

Można wyróżnić następujące grupy zagrożeń:

- Choroby zakaźne: wirusowe, bakteryjne, grzybowe i pierwotniacze,
- Choroby alergiczne,
- Zatrucia (np. endotoksyny i mikotoksyny).

#### **Choroby zakaźne przenoszone drogą powietrzną**

Wrotami zakażenia dla większości mikroorganizmów chorobotwórczych unoszonych przez powietrze jest błona śluzowa układu oddechowego. Podatność na infekcje zwiększają zanieczyszczenia pyłowe i gazowe powietrza, np. SO<sub>2</sub> reaguje z wodą obecną w drogach oddechowych tworząc H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, który uszkadza ochronną warstwę śluzu. Dlatego w miejscach o silnym zanieczyszczeniu powietrza, szczególnie w czasie smogu, stwierdza się podwyższoną zachorowalność na choroby układu oddechowego.

Bioaerozol może przenosić nie tylko drobnoustroje wnikające do organizmu przez układ oddechowy. Zawieszone w powietrzu mikroorganizmy, po opadnięciu, mogą dostać się na powierzchnię skóry lub, za pośrednictwem rąk, przedostać się do układu pokarmowego (a stamtąd, z krwią, także do innych układów, np. nerwowego). Przykładem mogą tu być grzyby powodujące choroby skóry, bakterie jelitowe wywołujące choroby układu pokarmowego lub enterowirusy atakujące układ nerwowy.

#### *Choroby wirusowe*

Cząstki wirusowe po wniknięciu, wraz z wdychanym powietrzem, do układu oddechowego, namnażają się w komórkach nabłonkowych górnych i dolnych dróg oddechowych. Po namnożeniu, część wirusów pozostaje w układzie oddechowym wywołując tam różnorodne zmiany chorobowe (katar, przeziębienia, zapalenie oskrzeli, zapalenie płuc), część natomiast opuszcza układ oddechowy atakując inne organy (np. wirusy ospy wietrznej atakują skórę). Do ważniejszych chorób wirusowych należą:

- grypa (ortomyxowirusy),
- grypa rzekoma, świnka, odra, zapalenie oskrzelików i płuc u niemowląt (paramyxowirusy),
- różyczka (wirusy zbliżone do paramyxowirusów),
- choroby przeziębieniowe (rinowirusy i koronawirusy),
- krowianka i ospa prawdziwa (wirusy grupy ospy),
- ospa wietrzna (wirusy grupy opryszczki),
- pryszczycza (wirusy grupy picorna),
- zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, pleurodynia (enterowirusy),
- choroby układu pokarmowego i oddechowego (reowirusy),
- zapalenie gardła, zapalenie płuc (adenowirusy).

#### *Choroby bakteryjne*

Podobnie jak w przypadku wirusów, część bakterii dostających się do układu oddechowego może również wywoływać schorzenia innych układów. Szczególnie różnorodne postacie kliniczne przybierają zakażenia gronkowcowe (martwica skóry, zapalenie szpiku, jelit czy płuc). Często podatny grunt do rozwoju chorób bakteryjnych przygotowują choroby wirusowe, np. gronkowcowe zapalenie płuc zwykle jest poprzedzone grypą lub odrą. Do chorób bakteryjnych przenoszonych drogą powietrzną należą m.in.:

- gruźlica płuc (prątki gruźlicy *Mycobacterium tuberculosis*),
- zapalenie płuc (gronkowce, pneumokoki *Streptococcus pneumoniae*, rzadziej pałeczki *Klebsiella pneumoniae*),

- angina, płonica, zapalenie gardła (paciorkowce),
- ropne zapalenia górnych i dolnych dróg układu oddechowego i zapalenie opon mózgowych (pleomorficzne pałeczki *Haemophilus influenzae*),
- krztusiec (pałeczki *Bordetella pertussis*),
- błonica (maczugowiec błonicy *Corynebacterium diphtheriae*),
- legionelloza (pałeczki z rodzaju *Legionella*, m. in. *L. pneumophila*),
- nokardioza (tlenowe promieniowce z rodzaju *Nocardia*).

### Choroby grzybowe

Wiele potencjalnie patogennych grzybów przenoszonych przez powietrze to mikroorganizmy **geofilne**, a więc żyjące w glebie saprofity. Mają one zwykle zdolność do keratynolizy, czyli rozkładu **keratyny** - trudnorozkładalnego białka obecnego w zrogowaciałych wytworach naskórka np. we włosach, piórach, sierści czy pazurach, które często znajdują się w glebie.

Część **grzybów keratynolitycznych**, zwana **dermatofitami**, po dostaniu się na powierzchnię skóry powoduje **grzybice powierzchniowe**, czyli dermatozy, ponieważ rozkład keratyny umożliwia im penetrację struktur naskórka. Inne grzyby, po wnikięciu w głąb układu oddechowego, wywołują tzw. **grzybice głębokie** (narządowe) np. atakując płuca.

Przykładem chorób grzybowych i wywołujących je grzybów przenoszonych drogą powietrzną są:

- grzybice powierzchniowe (*Microsporum racemosum*),
- grzybice głębokie: aspergilloza (kropidlak popielaty *Aspergillus fumigatus*), kryptokokkoza (drożdżak *Cryptococcus neoformans*).

### Choroby pierwotniacze

Niektóre pierwotniaki, zdolne do wytwarzania cyst odpornych na wysychanie i promieniowanie słoneczne, mogą również zakażać człowieka drogą wziewną. Najbardziej znanym przykładem jest sporowiec *Pneumocystis carinii*, wywołujący śródmiąższowe zapalenie płuc.

Zagrożenia związane z bioaerozolem chorobotwórczym nie dotyczą tylko chorób człowieka. Ważne są również choroby zakaźne atakujące uprawiane przez człowieka rośliny, czy hodowane zwierzęta. Przykładem mogą tu być odpowiednio:

- rdza żdźbłowa – choroba zbóż wywoływana przez grzyba podstawkowego *Puccinia graminis* i
- pryszczycza – bardzo zaraźliwa choroba wirusowa zwierząt parzystokopytnych.

### Choroby alergiczne

**Alergia** to zmieniona, nadmierna reakcja organizmu na obecność pewnych substancji, zwanych **alergenami** (gr. *allos* – inny, *ergon* – działanie). Jest to w istocie reakcja immunologiczna, w której dochodzi do zbędnej produkcji przeciwciał przez limfocyty B (głównie immunoglobulin IgE i IgG) jako nadwrażliwej odpowiedzi na wnikięcie antygeny, zwanego tu alergenem. Nadmiernie wytworzone immunoglobuliny łączą się z alergenem, co powoduje m.in.:

- uwalnianie się z granulocytów i tzw. komórek tucznych, różnych związków (np. histaminy), które wywołują reakcje zapalne w postaci **astmy oskrzelowej** albo **kataru siennego**,
- tworzenie się obfitych strąków uszkadzających tkankę w miejscu ich powstania, co powoduje choroby alergiczne określane wspólną nazwą – **alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (alveolitis alergica)** (np. tzw. „płuco farmera”, czy „płuco hodowcy grzybów”).

Wiele drobnoustrojów jest alergenami. Oprócz nich, czynnikami uczulającymi są też pyłki roślin wiatropylnych (np. traw, pokrzywy, komosy), drobne pajęczaki (roztocza) oraz pył pochodzenia biologicznego, np. cząstki piór, sierści czy odchodów. Mikroorganizmy różnią się siłą działania alergizującego. Najsilniejszymi alergenami są grzyby pleśniowe, termofilne promieniowce oraz pałeczki gramujemne. Siła działania uczulającego bioaerozolu zależy jednak nie tylko od rodzaju drobnoustrojów, ale też od ich zagęszczenia.

Rodzaj reakcji alergicznych wywoływanych przez aerozol biologiczny zależy od rodzaju tworzących go alergenów oraz, w dużym stopniu, od wielkości ich cząstek, ponieważ determinuje ona stopień penetracji układu oddechowego (patrz rys. 3.2):



Zdj. 3.2. *Alternaria sp.*- zarodniki



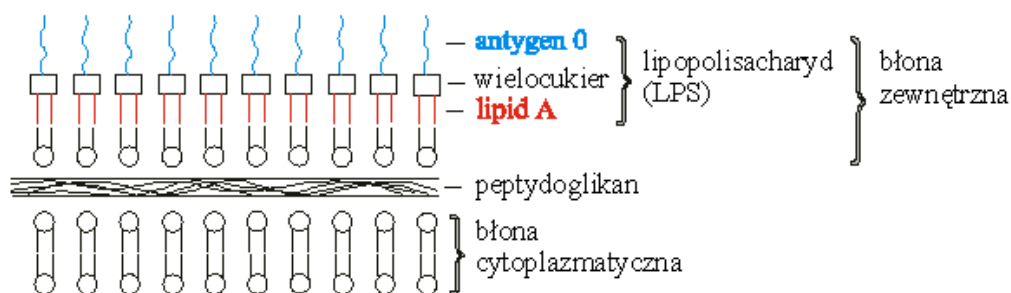
Zdj. 3.3. *Cladosporium. sp.* – trzonek konidialny (konidiofor) z konidiami

- cząstki powyżej 10  $\mu\text{m}$ , zatrzymywane w jamie nosowo-gardłowej, powodują katar sienny (np. zarodniki grzyba *Alternaria* (zdj. 3.2), pyłki traw),
- cząstki o średnicy 4-10  $\mu\text{m}$ , zatrzymywane w oskrzelach, powodują astmę oskrzelową (np. zarodniki grzyba *Cladosporium* (zdj. 3.3),
- cząstki poniżej 4  $\mu\text{m}$ , przenikające do oskrzelików i pęcherzyków płucnych, wywołują alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych, oprócz astmy oskrzelowej (zarodniki grzybów *Aspergillus* i *Penicillium*, większość bakterii, w tym termofilne promieniowce).

## Zatrucia

Zatrucia powodują toksyny produkowane przez niektóre drobnoustroje. Jako zanieczyszczenia powietrza najważniejsze są endotoksyny i mikotoksyny.

**Endotoksyny** są składnikiem ściany komórkowej bakterii gramujemnych (lipid A, fragment lipopolisacharydu LPS błony zewnętrznej) (rys. 3.3). Wykazują one działanie toksyczne i alergiczne na organizmy ssaków. Są termostabilne i zachowują aktywność biologiczną również w komórkach martwych. Po wnikięciu drogą wziewną, wywołują ostre odczyny zapalne w płucach, wysoką gorączkę i ból głowy. Mogą również powodować podrażnienie oczu. Endotoksyny są uważane za poważny czynnik zagrożenia zawodowego u osób narażonych na wdychanie pyłów organicznych, np. pyłu zbożowego (gorączka zbożowa). W pyłach tych występuje bowiem licznie niewielka pałeczka *Ervinia herbicola* wytwarzająca bardzo aktywną biologicznie endotoksynę.



Rys. 3.3. Lokalizacja endotoksyny (lipid A) w ścianie komórkowej bakterii gramujemnych

**Mikotoksyny** są produkowane przez różnorodne grzyby pleśniowe. Najbardziej znane są **aflatoksyny** wytwarzane m. in. przez kropidlaka żółtego (*Aspergillus flavus*). Związki te (jest ich kilkanaście rodzajów) wykazują silne działanie toksyczne, mutagenne, kancerogenne (rakotwórcze) i teratogenne (powodujące wady rozwojowe). Najczęściej są one przyczyną zatruc pokarmowych, ale wykazano również, że wdychanie pyłów zawierających aflatoksyny może powodować nowotwory wątroby oraz układu oddechowego.



### 3.7. Główne źródła emisji bioaerozolu

Można wyróżnić dwa podstawowe źródła bioaerozolu:

- naturalne,
- bytowe (związane z działalnością człowieka).

**Źródła naturalne** to przede wszystkim gleba i woda, z których mikroorganizmy są wynoszone przez ruchy powietrza, a także organizmy, np. grzyby emitujące olbrzymie ilości zarodników roznoszonych przez wiatr. A więc w powietrzu istnieje zawsze pewna liczba drobnoustrojów tworząca naturalne tło.

Z higienicznego punktu widzenia, ważniejsze od naturalnych są **bytowe źródła bioaerozolu**, związane z działalnością człowieka. Emisje z tych źródeł są niebezpieczne z dwóch powodów:

- mogą rozprzestrzeniać drobnoustroje patogenne (chorobotwórcze),
- często powodują silne zwiększenie liczebności mikroorganizmów w powietrzu, znacznie przekraczające naturalne tło.

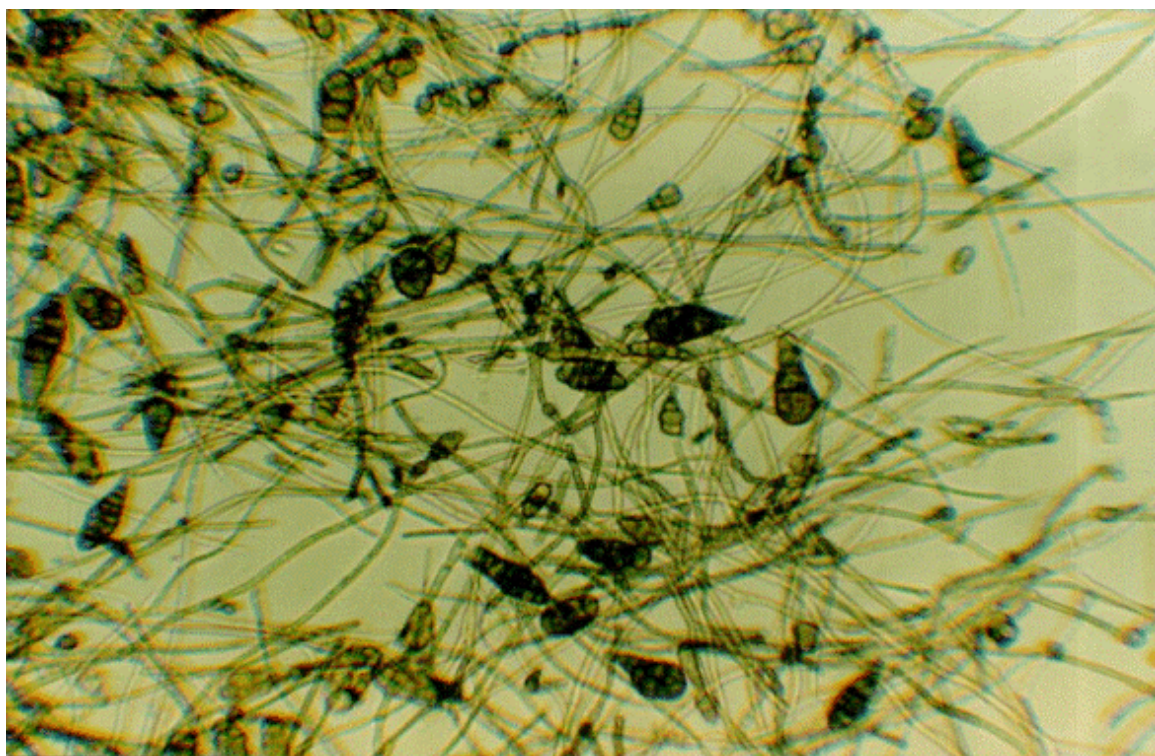
Źródła emisji aerozolu biologicznego mogą mieć charakter punktowy (np. komora napowietrzania ścieków) lub powierzchniowy (np. pole nawadniane ściekami).

Do najważniejszych źródeł bioaerozolu należą:

- rolnictwo i przemysł rolno-spożywczy,
- oczyszczanie ścieków,
- gospodarka odpadami.

#### 3.7.1. Rolnictwo i przemysł rolno-spożywczy

Pod względem wielkości emisji jest to najpoważniejsze źródło bioaerozolu, będące efektem intensyfikacji metod produkcji rolnej. Aerozol powstaje podczas wykonywania większości prac rolniczych, np. zbioru plonów, w czasie transportu, przechowywania i przerobu surowców roślinnych i zwierzęcych, oraz w pomieszczeniach hodowlanych.



Zdj. 3.4. Fragmenty grzybni i zarodniki *Alternaria* sp.

Zagrożenie dla zdrowia człowieka stwarza tu olbrzymia ilość mikroorganizmów, produktów ich rozkładu i pyłu organicznego, które działają głównie alergicznie i toksycznie. Obecność drobnoustrojów zakaźnych ma tu mniejsze znaczenie.

Do najważniejszych składników tego aerozolu należą:

- grzyby pleśniowe, m. in. tzw. grzyby przechowalniane (*Aspergillus*, *Penicillium*) i tzw. grzyby polowe (*Cladosporium* i *Alternaria* (zdj. 3.4)),
- pałeczki gramujemne, głównie z rodzaju *Ervinia*,
- promieniowce termofilne,
- pył pochodzenia biologicznego (m. in. fragmenty naskórka, pierza, cząstki wydalin i pył roślinny).

Ekspozycja na taki aerozol często powoduje przewlekłe choroby układu oddechowego, np. alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (*alveolitis allergica*). Uważa się, że szczególne zagrożenie dla zdrowia powstaje, gdy ponad 50% aerozolu należy do frakcji respirabilnej, a stężenie bioaerozolu przekracza  $10^5$  cfu/m<sup>3</sup>. Wielkość ta jest często przekraczana ponad stukrotnie (np. w chlewniach, brojlerniach czy spichrzach zbożowych).

### 3.7.2. Oczyszczanie ścieków

Wielkość emisji bioaerozolu zależy tu m. in. od składu ścieków, przepustowości oczyszczalni, metody oczyszczania i rodzaju stosowanych urządzeń technologicznych. Sprzyjające warunki do tworzenia się bioaerozolu powstają zwłaszcza przy wylewaniu ścieków, ich napowietrzaniu, mieszaniu i rozpryskiwaniu. Skład jakościowy powstałej mikroflory powietrza jest ściśle związany ze składem oczyszczanych ścieków.

W oczyszczalniach mechaniczno-biologicznych pracujących metodą osadu czynnego, największą emisję i imisję mikroorganizmów stwierdza się zwykle w części mechanicznej, do której doprowadzane są ścieki surowe (zlewnia ścieków, kraty, piaskownik) oraz w pobliżu komór napowietrzania (zwłaszcza, jeżeli stosuje się napowietrzanie powierzchniowe) i poletek osadowych.

Silną emisję bioaerozolu stwierdza się również podczas oczyszczania ścieków w gruncie (przez rozpryskiwanie na polach ścieków i osadów ściekowych) i na złożach zraszanych. W miejscach tych może dochodzić do znacznego zanieczyszczenia powietrza, przekraczającego nawet o rząd wielkości zagęszczenie stwierdzone w tle.

Do mikroorganizmów emitowanych podczas oczyszczania ścieków należą m.in.:

- bakterie jelitowe (*Enterobacteriaceae*), np. pałeczki z grupy coli, pałeczki durowe (*Salmonella*),
- bakterie hemolizujące, głównie paciorkowce (*Streptococcus*) i gronkowce (*Staphylococcus*),
- bakterie z rodzaju *Pseudomonas*,
- drożdże i grzyby drożdżopodobne z rodzajów: *Saccharomyces*, *Candida* i *Cryptococcus*,
- dermatofity z rodzaju *Microsporum* i *Trichophyton*,
- cysty pierwotniaków i jaja robaków,
- wirusy jelitowe: enterowirusy (polio, coxackie, echo, wzw A) i reowirusy.

Spośród wymienionych drobnoustrojów za najbardziej specyficzne dla bioaerozoli ściekowych uważa się bakterie jelitowe i wirusy jelitowe, gdyż zazwyczaj nie spotyka się ich w powietrzu po stronie nawietrznej oczyszczalni. Z tego powodu uważa się je za **mikroorganizmy wskaźnikowe**, pomocne w wyznaczeniu strefy oddziaływania oczyszczalni na środowisko. Poza tym w powietrzu na terenie oczyszczalni stwierdza się obecność endotoksyn, niekiedy w stężeniach znacznie przekraczających dopuszczalną normę.

Bioaerozol powstający w oczyszczalni biologicznej zwykle nie rozprzestrzenia się jednak dalej niż na kilkaset metrów, a wyraźny spadek zanieczyszczenia stwierdza się już w odległości powyżej 50 m od źródła emisji. Dlatego stanowi on zagrożenie głównie dla osób przebywających na terenie oczyszczalni.

Badania krwi pracowników narażonych na wdychanie aerozolu, wykazują zwiększony poziom przeciwciał wobec endotoksyn bakterii gramujemnych i wobec wirusów jelitowych. Opisano jednostkę chorobową określaną jako „syndrom pracowników oczyszczalni”, która prawdopodobnie ma pochodzenie wirusowe i przejawia się zniechęceniem, ogólnym osłabieniem, nieżytem błony śluzowej nosa i gorączką. Poza tym niektóre badania epidemiologiczne wskazują na zwiększenie zachorowalności na choroby jelitowe i układu oddechowego u ludzi pracujących w oczyszczalni lub zamieszkujących w jej otoczeniu, w porównaniu do populacji kontrolnej.

### 3.7.3. Gospodarka odpadami

Źródłem emisji bioaerozolu są różne formy gospodarki odpadami m. in.:

- składowanie odpadów i
- kompostownie.

#### *Składowanie odpadów*

W powietrzu wokół składowisk występują głównie pospolite w przyrodzie bakterie i grzyby saprofityczne pochodzenia glebowego i wodnego, z których część ma charakter **patogenów oportunistycznych**. Oznacza to, że w sprzyjających warunkach (osłabienie układu odpornościowego, wniknięcie do organizmu w dużej ilości) mogą one wywołać u człowieka stan chorobowy. Wśród bakterii dominują rodzaje: *Bacillus*, *Pseudomonas* i *Enterobacter*. Dwa ostatnie rodzaje to bakterie gramujemne wytwarzające endotoksyny, których obecność jest często stwierdzana w powietrzu wokół wysypisk. W najbliższym sąsiedztwie składowiska zagęszczenie mikroorganizmów często przekracza  $10^5/m^3$  powietrza. Uważa się, że na terenie wysypisk i innych tego typu obiektów komunalnych (np. kompostowni), całkowita liczba bakterii w powietrzu nie powinna przekraczać  $10^4/m^3$ , a bakterii gramujemnych  $10^3/m^3$ .

Dobrymi mikroorganizmami wskaźnikowymi oddziaływania składowisk na otoczenie są grzyby ciepłolubne (rosnące w temp.  $37^\circ C$ ) i keratynolityczne (rozkładające keratynę). Na składowisku odpadów panują sprzyjające warunki dla rozwoju tego typu grzybów, ze względu na podwyższoną wilgotność, temperaturę i liczne szczątki zawierające keratynę.

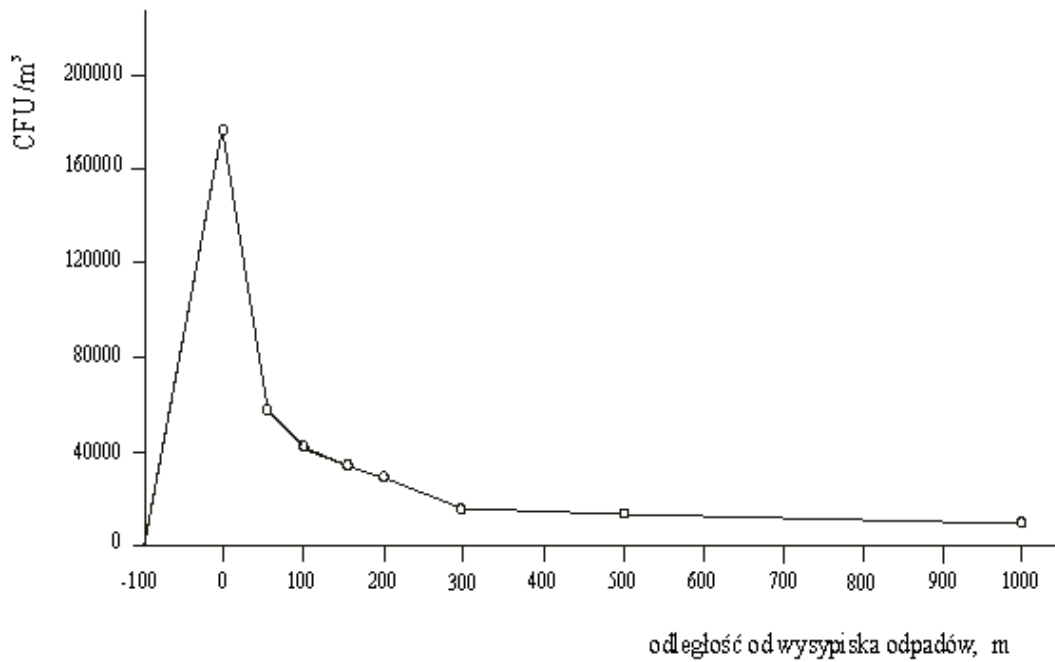
Wśród gatunków ciepłolubnych często spotyka się grzyby pleśniowe (*Alternaria alternata*, pleśniak *Mucor pusillus*, kropidlak *Aspergillus ochraceus*) oraz grzyby drożdżopodobne (*Candida sp.* i *Geotrichum candidum*). Mogą one wywoływać alergie i wytwarzać mykotoksyny (zwłaszcza pleśnie) oraz powodować grzybicę głęboką (np. kandydozy układu oddechowego).

Grzyby keratynolityczne to typowe mikroorganizmy glebowe (geofilne), do których należą liczne dermatofity, np. *Microsporum racemosum*.

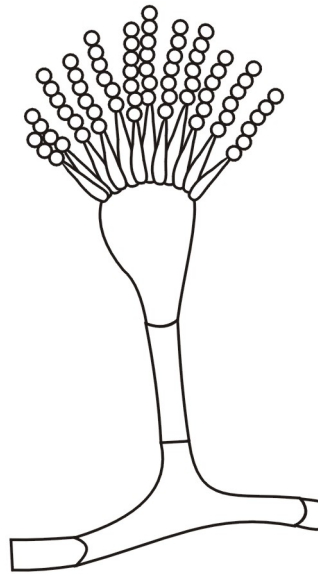
Zasięg rozprzestrzeniania się bioaerozolu emitowanego przez składowiska odpadów jest zwykle większy, niż w przypadku oczyszczalni ścieków i często przekracza 1000 m (rys. 3.4).

#### *Kompostownie*

Kompostownie również emitują duże ilości drobnoustrojów, zwłaszcza bakterii. Szczególnie duże zanieczyszczenie powietrza powstaje przy sortowaniu odpadów, gdzie zagęszczenie bakterii często przekracza  $10^5$  CFU/ $m^3$ . Są wśród nich bakterie gramujemne, potencjalnie niebezpieczne dla człowieka. Z powodu wysokich temperatur ( $65^\circ C$ - $70^\circ C$ ) wytwarzanych w trakcie kompostowania dochodzi zwykle do unieszkodliwienia tych bakterii, jednak ich endotoksyny wykazują pewien stopień termostabilności i uwolnione do powietrza mogą być powodem zatrucia.



Rys. 3.4. Stężenie bioaerozolu w pobliżu składowiska odpadów (Kulig, Ossowska-Cypryk, 1999)



Rys. 3.5. Kropidlak popielaty (*Aspergillus fumigatus*), grzyb pleśniowy będący gatunkiem wskaźnikowym dla kompostowni

Dobrym wskaźnikiem oddziaływania kompostowni na otoczenie jest pospolity w kompoście grzyb pleśniowy kropidlak popielaty (*Aspergillus fumigatus*) (rys. 3.5), którego zarodniki mogą występować w powietrzu w zagęszczeniu ponad  $10^6/\text{m}^3$ . Gatunek ten jest typowym patogenem oportunistycznym wywołującym u człowieka m.in. grzybicę kropidlakową (aspergillozę) płuc oraz alergiczne choroby układu oddechowego (np. *alveolitis allergica*).

## 3.8. Badanie zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza

### 3.8.1 Wykrywanie obecności drobnoustrojów w powietrzu

Stosowane metody można podzielić umownie na:

- mikroskopowe i
- hodowlane.

Niekiedy stosowane metody mają charakter pośredni lub używa się jednocześnie obu metod.

#### Metody mikroskopowe

Polegają one na:

- przepuszczaniu powietrza przez filtr membranowy bądź umieszczeniu na drodze zasysanego powietrza szkiełka powleczonego lepka substancją (np. wazeliną),
- barwieniu wyłapanych drobnoustrojów i
- badaniu mikroskopowym, polegającym głównie na liczeniu komórek.

Często stosuje się barwienie oranżem akrydyny i obserwację w mikroskopie fluorescencyjnym. Ostateczny wynik podaje się jako liczba drobnoustrojów w 1 m<sup>3</sup> powietrza.

Zalety metod mikroskopowych są następujące:

- możliwość wykrycia w powietrzu nie tylko żywych, ale i martwych mikroorganizmów,
- możliwość wykrycia także tych drobnoustrojów, które niechętnie wyrastają na pożywkach; dzięki temu oznaczenia liczby drobnoustrojów są zwykle przynajmniej o rząd wielkości wyższe, niż w metodach hodowlanych,
- można wykryć i zidentyfikować inne obiekty biologiczne, np.: pyłki roślin, alergogenne roztocze, nieożywiony pył organiczny (fragmenty naskórka, piór, roślin itp.).

Jednak metody te mają poważną wadę: niemożność identyfikacji gatunkowej mikroorganizmów (bakterii, grzybów, wirusów).

#### Metody hodowlane

Metody te polegają na przeniesieniu mikroorganizmów z powietrza na powierzchnię odpowiedniej pożywki. Po okresie inkubacji w optymalnej temperaturze, liczy się wyrosłe kolonie i podaje wynik jako **cfu/m<sup>3</sup>** powietrza (ang. *colony forming units* – jednostki tworzące kolonie). Jako że kolonia może powstać nie tylko z jednej, ale i z kilku połączonych komórek, w rzeczywistości w powietrzu może się znajdować więcej mikroorganizmów, niż wskazuje na to wynik wyrażony w jednostkach CFU. Poza tym, za pomocą metod hodowlanych można wykryć jedynie żywe komórki i tylko te, które są w stanie wyrosnąć na stosowanych pożywkach.

Drobnoustroje przeniesione na pożywkę wymagają żywienia, gdyż w powietrzu były poddane działaniu wielu niesprzyjających czynników (patrz roz. 3.5). Dlatego zaleca się dodawanie do pożywek takich składników jak betaina i katalaza. Betaina, czyli metylowa pochodna aminokwasu glicyny, wykorzystywana jest przez bakterie do utrzymywania równowagi osmotycznej, a jako donator grup metylowych ma duże znaczenie w procesach biosyntezy. Katalaza natomiast rozkłada szkodliwe nadtlenki wytworzone w powietrzu pod wpływem promieniowania UV.

Na oddzielną uwagę zasługują wirusy. Ich badanie różni się zasadniczo od metod stosowanych do pozostałych mikroorganizmów, ponieważ:

- mogą one rosnać jedynie w żywych komórkach, a więc wymagają użycia hodowli tkankowych (np. nabłonka tchawicy człowieka lub nerki małpy) lub, w przypadku bakteriofagów, hodowli bakteryjnych,
- Identyfikacja gatunkowa wykrytych wirusów jest żmudna i polega m. in. na wykonaniu elektroforezy lub użyciu surowic odpornościowych zawierających przeciwciała przeciwko znanym wirusom,
- niezbędne jest pobieranie dużych objętości powietrza (ponad 1000 dm<sup>3</sup>, przynajmniej o rząd wielkości więcej, niż w przypadku bakterii), ze względu na niezbyt liczne występowanie w powietrzu (dotyczy to zwłaszcza enterowirusów) i niewielki procentowy udział wirusów zdolnych do wywołania infekcji.

Po przeniesieniu pobranych wirusów na powierzchnię jednowarstwowej hodowli, wnikają one do komórek, namnażają się w nich, a po ich zniszczeniu atakują sąsiednie komórki. W efekcie wokół pierwotnych miejsc infekcji komórki pojawiają się przejaśnienia zwane **łysinkami** (ang. *plaque*) na tle niezmięnionej warstwy komórek. Dlatego, przez analogię do bakteryjnych metod hodowlanych, liczbę wykrytych wirusów podaje się jako liczbę jednostek tworzących łysinki, w skrócie **pfu/m<sup>3</sup>** (ang. *plaque forming units*). Należy podkreślić, że wykrywa się w ten sposób jedynie wirusy zdolne do infekcji zastosowanych komórek.

Można wyróżnić trzy podstawowe sposoby pobierania prób powietrza stosowane w metodach hodowlanych:

- metoda sedymentacyjna Kocha,
- metody filtracyjne (stosowane również w metodach mikroskopowych),
- metody zderzeniowe (impakcyjne).

### Metoda sedymentacyjna

Jest to najprostsza metoda i polega na opadaniu komórek z powietrza na odkryte szalki Petriego z odpowiednią pożywką. Siła grawitacji działająca na cząstki bioaerozolu ma znaczenie jedynie w stosunku do większych cząstek, natomiast mniejsze uderzają w eksponowaną pożywkę pod wpływem ruchów powietrza. Po określonym czasie ekspozycji (zwykle 10 lub 30 min.) płytki inkubuje się i liczy wyrosłe kolonie.

Zaletą tej popularnej metody jest, oprócz prostoty, jej poręczność i taniość. Można ją jednak stosować jedynie do orientacyjnego określania liczby mikroorganizmów w powietrzu, oraz do badań porównawczych, ponieważ ma ona szereg wad. Należą do nich:

- nieznaną objętość powietrza, do której należy odnieść stwierdzoną wartość cfu,
- niemożność wykrycia najdrobniejszych cząstek bioaerozolu tworzących frakcję respirabilną, która osiada bardzo wolno lub w ogóle nie ulega sedymentacji (niska wydajność),
- duża niedokładność, spowodowana przez ruchy powietrza zmieniające warunki sedymentacji.

Pierwsza z wymienionych wad jest częściowo rekompensowana stosowaniem empirycznego wzoru przeliczeniowego, opartego na założeniu, że w ciągu 5 minut na powierzchnię 100 cm<sup>2</sup> opadają komórki znajdujące się w 10 dm<sup>3</sup> powietrza. Wzór ma następującą postać:

$$x = \frac{a \cdot 5 \cdot 10^4}{\pi r^2 \cdot t}$$

gdzie: x – liczba organizmów w powietrzu (w cfu/m<sup>3</sup>),  
 a – liczba kolonii wyrosłych na płytce Petriego,  
 dr<sup>2</sup> – pole powierzchni płytki Petriego (w cm<sup>2</sup>)  
 t – czas ekspozycji (w minutach).

Aby ograniczyć zaburzenia związane z ruchami powietrza, zaleca się, aby badania prowadzić przy słabym wietrze.

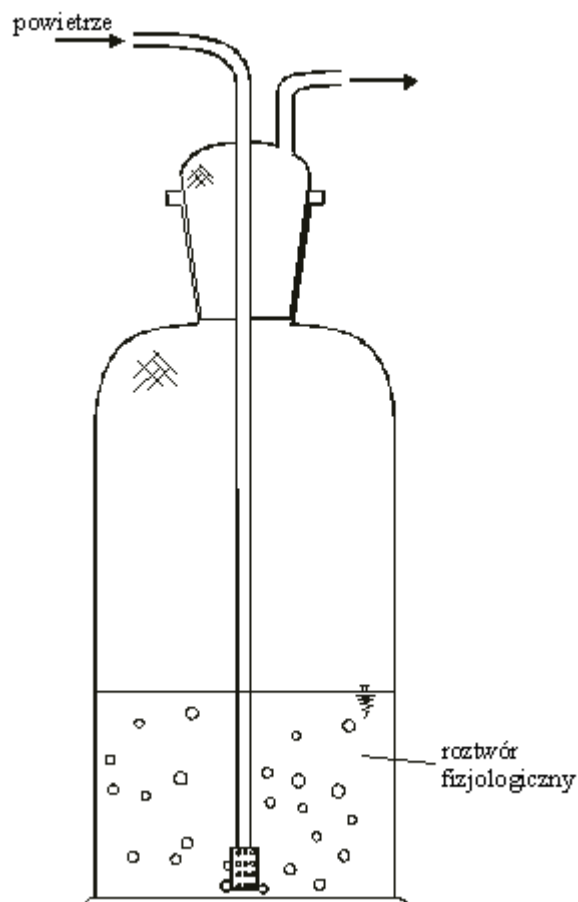
### Metody filtracyjne (aspiracyjne)

Metody te są również stosunkowo tanie i proste, ale mają dwie zasadnicze zalety w porównaniu z metodą sedymentacyjną:

- znana jest objętość badanego powietrza,
- można wykryć również drobny bioaerazol tworzący frakcję respirabilną (choć nie można określić jej wielkości).

Metody te polegają na zassaniu przez pompę (aspirator) znanej objętości powietrza, przepuszczeniu go przez sterylną substancję pochłaniającą (ciekłą lub stałą) i przeniesieniu odfiltrowanych drobnoustrojów na odpowiednią pożywkę. Po określonym czasie inkubacji liczy się wyrosłe kolonie. Najczęściej do filtracji powietrza stosuje się roztwór fizjologiczny (0,85% NaCl) lub filtry membranowe.

Filtracja przez płyny (klasyfikowana niekiedy jako metoda zderzeniowa) jest jedną z najczęściej stosowanych i wysoko cenionych technik pobierania bioaerozolu (rys. 3.6). Wynika to nie tylko z jej poręczności, ale też z dużej **wydajności**. Oznacza to zarówno dużą wydajność pobierania bioaerozolu (w tym frakcji respirabilnej), jak i znaczną przeżywalność pobranych mikroorganizmów. Metoda ta może być stosowana do badania wirusów, pod warunkiem unieszkodliwienia pozostałych drobnoustrojów (np. chloroformem) i zagęszczenia płynu przed wprowadzeniem do hodowli komórkowej.



Rys. 3.6. Płuczka z roztworem fizjologicznym jako płynem absorpcyjnym, służąca do absorpcji bioaerozolu w metodzie filtracyjnej

Filtracja przez filtry membranowe umożliwia użycie zarówno metody hodowlanej (filtry z drobnoustrojami kładzie się bezpośrednio na pożywkę lub płucze się je, a następnie posiewa), jak i mikroskopowej (filtry barwi się i ogląda pod mikroskopem). Jednak wadą tej techniki jest stosunkowo niewielka wydajność, wynikająca z oporów przepływu powietrza powstających podczas przepuszczania go przez drobne pory filtra, i mała poręczność. Dlatego nie jest ona polecana do badań mikroorganizmów, natomiast jest rutynowo stosowana w wykrywaniu endotoksyn w powietrzu (patrz roz. 3.6 i 3.8.2).

### **Metody zderzeniowe**

Polegają one na zasysaniu przez aspirator znanej objętości powietrza, które z dużą szybkością uderza w powierzchnię pożywek agarowych. Powoduje to przyklejanie się obecnych w powietrzu drobnoustrojów, które po określonym czasie inkubacji wytwarzają kolonie.

Metody zderzeniowe, zwane też impakcyjnymi (od ang. *impact* - zderzenie) są najwyżej cenionymi i coraz częściej stosowanymi metodami wykrywania mikroorganizmów w powietrzu. Ich największą zaletą jest możliwość wykrycia i określenia frakcji respirabilnej bioaerozolu, tzn. ustalenia rozkładu wielkości tworzących go cząstek. Jest to bardzo ważne, ponieważ, jak już wspomniano, od rozmiarów cząstek zależy penetracja dróg oddechowych (patrz roz. 11.4. i rys.2). Poza tym metody te nadają się do badania wirusów (wyłapane drobnoustroje wymywa się z powierzchni pożywki i po zabiciu innych mikroorganizmów chloroformem, wprowadza do hodowli komórkowej).

Wadą metod zderzeniowych jest spadek żywotności drobnoustrojów spowodowany szokiem związanym z nagłym uderzeniem o pożywkę agarową oraz możliwość zarastania pożywek w przypadku silnego zanieczyszczenia powietrza. Poza tym zwykle nie są to metody tanie.

Najbardziej znanym urządzeniem opartym na technice impakcyjnej jest **aparat Andersena**, w którym zasysane powietrze przechodzi przez sześć pionowo ustawionych sit o malejącej średnicy otworów. Poniżej każdego sita znajduje się płytką Petriego z pożywką agarową.

Prędkość przepływającego powietrza wzrasta po przejściu przez kolejne sita, co powoduje coraz większą siłę uderzenia na odpowiednie płytki. W efekcie na pierwszej pożywce osadzają się głównie najcięższe (największe) cząstki bioaerozolu, a lżejsze (mniejsze) są porywane z prądem przepływającego powietrza.

Po przejściu przez kolejne sita, z pożywką agarową zderzają się coraz mniejsze cząstki posiadające coraz większą szybkość. Dzięki temu dochodzi do rozdziału cząstek aerozolu biologicznego w zależności od ich wielkości i na użytych pożywkach wyrastają kolonie pochodzące od cząstek o określonych rozmiarach.

Ostatecznie, zliczając kolonie wyrosłe na kolejnych płytkach, można określić udział cząstek zatrzymujących się w górnych drogach oddechowych (wyżej położone płytki) i w dolnych odcinkach układu oddechowego (płytki położone niżej).

### **3.8.2. Wykrywanie toksyn i alergenów w powietrzu**

#### **Endotoksyny**

Wykrywanie endotoksyn obejmuje następujące etapy:

- filtrację powietrza przez filtr membranowy (z włókna szklanego lub pcw),
- reakcję szeregu rozcieńczeń odfiltrowanych komórek z preparatem z krwi skrzypłowca z dodatkiem substancji chromogennej,
- pomiar wytworzonej luminescencji.

**Skrzypłocznik** (*Limulus polyphemus*) jest morskim stawonogiem spokrewnionym z pajęczakami, który żyje u wybrzeży Ameryki Północnej. Znany jest m. in. z niezwykłego systemu immunologicznego. Komórki jego krwi (amebocyty) po zetknięciu ze ścianą komórkową bakterii gramujemnych (zawierającą endotoksynę) wydzielają enzym



powodujący koagulację pewnych białek krwi i powstanie skrzepu unieruchamiającego bakterie.

Aktywacja enzymu koagulującego przez endotoksynę jest reakcją bardzo czułą. W badaniach powietrza stosuje się produkowany przemysłowo lizat amebocytów skrzypłocza, określanego skrótem **LAL** (z ang. *Limulus Amoebocyte Lysate*) z dodatkiem substancji chromogennej wykazującej luminescencję w przypadku wytworzenia się skrzepu, (czyli w obecności endotoksyn). Pomiar luminescencji umożliwia ilościowe określenie zawartości endotoksyn w badanym powietrzu.

### **Inne toksyny i alergeny**

Ich wykrycie często wymaga żmudnych badań i opera się na:

- reakcjach immunologicznych z użyciem przeciwciał skierowanych przeciwko znanym antygenom (np. antygen O (rys. 3.3), alergeny),
- badaniach chromatograficznych (np. mikotoksyny).

### **3.8.3. Mikrobiologiczna ocena stanu sanitarnego powietrza**

Ocena stanu sanitarnego powietrza obejmuje aspekt ilościowy i jakościowy, i zależy od rodzaju ocenianego powietrza. Inne kryteria stosuje się do powietrza atmosferycznego, a inne do powietrza wewnątrz różnego typu pomieszczeń. Wartości bezpiecznych stężeń podawane przez różnych autorów różnią się.

Według norm przyjętych w Polsce powietrze atmosferyczne jest czyste, jeśli zagęszczenie komórek bakterii nie przekracza **1000 cfu/m<sup>3</sup>**, a grzybów **3000 cfu/m<sup>3</sup>**. Oczywiście pod warunkiem, że są to mikroorganizmy saprofityczne, a nie chorobotwórcze.

Wewnątrz pomieszczeń mieszkalnych ogólna liczba bakterii nie powinna przekraczać **2000 cfu/m<sup>3</sup>**, a grzybów **300 cfu/m<sup>3</sup>**.

Jeśli zagęszczenie mikroorganizmów przekracza podane wartości, lub w skład aerozolu wchodzi drobnoustroje niebezpieczne dla człowieka, to takie powietrze uważa się za **zanieczyszczone mikrobiologicznie**.

Dla pomieszczeń użytkowych dopuszczalne wartości graniczne zależą od ich przeznaczenia, np. na sali operacyjnej nie może być w ogóle grzybów a liczba bakterii nie może przekraczać 100 cfu/m<sup>3</sup>. Natomiast np. w chlewni dopuszcza się stężenie bakterii wynoszące 200000 cfu/m<sup>3</sup>, a grzybów 10000 cfu/m<sup>3</sup>.

Bardzo ważna z higienicznego punktu widzenia jest znajomość wielkości frakcji respirabilnej bioaerozolu. Im większy jest jej udział procentowy, tym większe zagrożenie dla zdrowia stwarza powietrze, nawet, jeśli nie ma w nim mikroorganizmów wywołujących choroby zakaźne. Wdychanie takiego powietrza może, bowiem być powodem alergii, zatruc i pylic (patrz roz. 3.7.2).

Badania jakościowe z konieczności muszą być ograniczone do mikroorganizmów wskaźnikowych (roz. 3.7.3) bowiem identyfikacja drobnoustrojów chorobotwórczych jest zwykle żmudna i droga. Gatunki wskaźnikowe same nie muszą być chorobotwórcze, ale ich występowanie wskazuje pośrednio na potencjalne zagrożenie mikroorganizmami patogennymi.

Do stosowanych w sanitarnej analizie powietrza mikroorganizmów wskaźnikowych należą m.in.:

- gronkowce hemolizujące,
- gronkowce mannitolododatnie i mannitoloujemne,
- promieniowce,
- pałeczki *Pseudomonas fluorescens*.

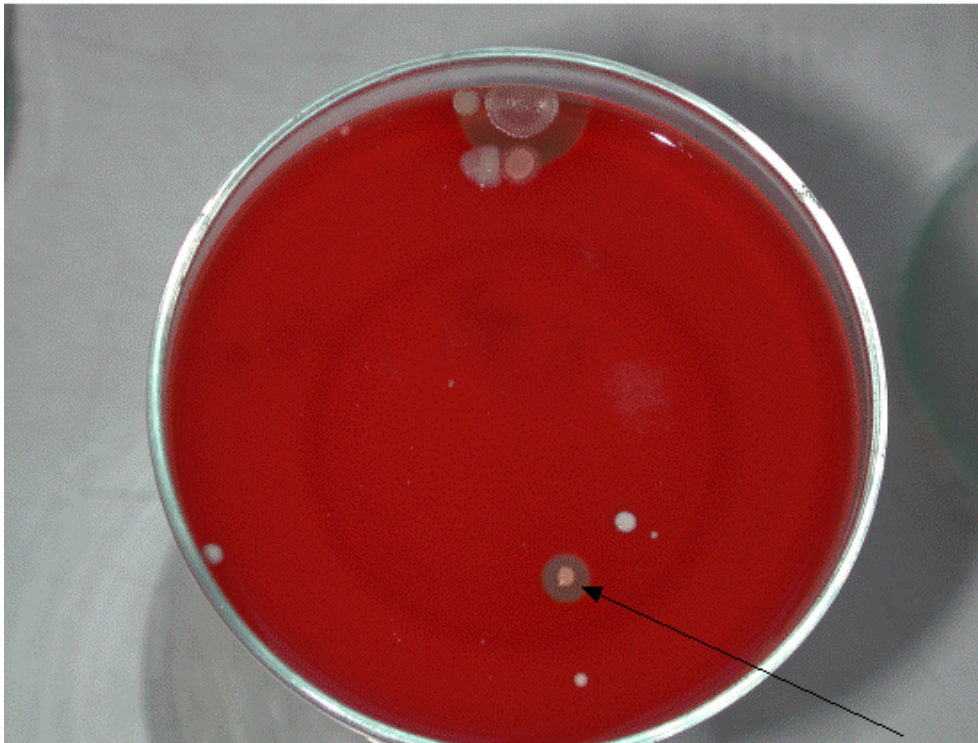
Gronkowce to jedne z najpospolitszych bakterii w przyrodzie. Nie wszystkie są chorobotwórcze, wiele z nich występuje na skórze i błonie śluzowej człowieka nie powodując chorób. Gatunki chorobotwórcze wykazują wysoką aktywność metaboliczną, dzięki której można je odróżnić od niechorobotwórczych.

Gronkowce chorobotwórcze wywołują m. in.:

- całkowitą hemolizę krwinek czerwonych (erytrocytów) na agarze z krwią i
- kwaśną fermentację mannitolu na podłożu Chapmana.

**Hemoliza** polega na rozkładzie erytrocytów przez pewne toksyny produkowane przez bakterie, co przejawia się powstawaniem charakterystycznych przejaśnień wokół kolonii (zdj. 3.5).

Podłoże Chapmana zawiera 10% NaCl, co powoduje, że wyrastają na nim głównie gronkowce, odporne na duże stężenie soli. Obecność w podłożu mannitolu (wielowodorotlenowego alkoholu) pozwala różnicować gronkowce na mannitolododatnie (zdolne do fermentacji mannitolu) i mannitoloujemne (niezdolne). Stwierdzenie hemolizy i fermentacji mannitolu zwiększa prawdopodobieństwo, że wykryte gronkowce są chorobotwórcze.



Zdj. 3.5. Kolonie bakterii na agarze z krwią. Wokół jednej z nich (u dołu) widoczna jest strefa hemolizy (strzałka)

Promieniowce to typowe bakterie glebowe. Ich obecność w powietrzu może wskazywać na środowisko glebowe jako źródło zanieczyszczenia powietrza.

Bakteria *Pseudomonas fluorescens* jest pospolitą bakterią wodną. Jej obecność w powietrzu może wskazywać na środowisko wodne jako źródło zanieczyszczenia.

Poza tym w badaniu zanieczyszczenia mikrobiologicznego powietrza wokół określonego emitora, wykorzystuje się gatunki charakterystyczne dla tego emitora (patrz roz. 3.7). Pozwala to na wyznaczenie strefy jego oddziaływania na stan sanitarny powietrza – granicę oddziaływania będzie wyznaczał obszar występowania mikroorganizmu wskaźnikowego.

## Pytania sprawdzające

Dlaczego przeżywalność mikroorganizmów w powietrzu jest większa w nocy i w dni pochmurne, niż podczas dni słonecznych?  
Wymień wszystkie formy morfologiczne, w jakich mogą występować w powietrzu bakterie i grzyby.  
Porównaj fazę pyłową i kropelkową aerozolu biologicznego.  
Wymień i omów poznane mechanizmy obronne organizmu przed wnikaniem bioaerozolu.  
Omów zależność przenikania cząstek aerozolu do dróg oddechowych od ich rozmiarów.  
Podaj przykłady.  
Wymień oddzielnie choroby bakteryjne i wirusowe przenoszone drogą powietrzną.  
Jakie zagrożenia może stwarzać aerozol biologiczny nieprzenoszący chorób zakaźnych?  
Omów dokładnie jedno z nich.  
Na czym polega działanie alergizujące i od czego zależy?  
Wymień najważniejsze źródła bytowe bioaerozolu i omów jedno z nich.  
Jakie trudności wiążą się z hodowlą drobnoustrojów pochodzących z powietrza?  
Sformułuj dwie krytyczne uwagi do sposobu przedstawiania wyników badań w jednostkach CFU.  
Których składników aerozolu biologicznego nie można wykryć metodą sedymentacyjną i dlaczego?  
Czy wzrost nielicznych kolonii (lub brak wzrostu) na pożywce agarowej świadczy o braku zagrożenia ze strony bioaerozolu? Uzasadnij odpowiedź.  
Co to są grzyby keratynolityczne i dlaczego mogą one być wskaźnikiem wpływu składowisk odpadów na stan sanitarny powietrza?  
W jaki sposób można wykryć obecność endotoksyn w powietrzu?  
W jaki sposób można wykryć wirusy w powietrzu?  
Co to są organizmy wskaźnikowe? Podaj przykłady.

## Streszczenie

Mikroorganizmy w powietrzu poddane są działaniu wielu niesprzyjających czynników, które uniemożliwiają ich rozwój. Do najważniejszych czynników ograniczających należy promieniowanie słoneczne i niska wilgotność grożąca wyschnięciem. Dłuższe przebywanie w powietrzu możliwe jest tylko dla form przetrwalnych lub wytwarzających barwniki karotenoidowe działające jako przeciwutleniacze. Drobnoustroje tworzą w powietrzu aerozol biologiczny, który rozprzestrzenia się podobnie jak zanieczyszczenia pyłowe. Penetracja układu oddechowego przez bioaerozol zależy od rozmiarów jego cząstek. Aerozol najdrobniejszy (o średnicy ok.  $1\mu\text{m}$  i mniejszej) wnikający najgłębiej, do oskrzelików i pęcherzyków płucnych, określa się mianem frakcji respirabilnej. Zagrożenia związane z aerozolem biologicznym nie ograniczają się tylko do przenoszenia mikroorganizmów powodujących choroby zakaźne. Poważne zagrożenie powodują również pyły organiczne zawierające liczne alergeny i toksyny, w tym endotoksyny produkowane przez pałeczki gramujemne (np. pył powstający podczas prac rolniczych). Metody badania zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza można podzielić na mikroskopowe i hodowlane. Najwyżej cenione są te metody, które umożliwiają określenie wielkości frakcji respirabilnej aerozolu. Ważną rolę w badaniu wpływu określonego źródła zanieczyszczeń na stan sanitarny powietrza odgrywają charakterystyczne dla danego emitora mikroorganizmy wskaźnikowe.

## Glosariusz

**Antygen** – substancja białkowa lub polisacharydowa, która po wniknięciu do organizmu pobudza go do produkcji tzw. **przeciwciał** – białek (immunoglobulin) selektywnie łączących się z antygenem i unieczyniających go (przeciwciała produkowane są przez limfocyty). Antygenami są np. mikroorganizmy, a właściwie ich struktury powierzchniowe, np. antygen O, czy endotoksyny, budujące ścianę bakterii gramujemnych. Specyficznymi antygenami są alergeny. Nazwa „antygen” jest skrótem z łacińskiego *anticorporis generator*, czyli dosłownie „generator przeciwciał”.

**Barwienie Grama** – metoda różnicowania drobnoustrojów (głównie bakterii) za pomocą barwienia ich dwoma barwnikami, zwykle fioletem krystalicznym i fuksyną. Najpierw komórki barwi się fioletem i poddaje działaniu alkoholu w celu odbarwienia. Te bakterie, które się nie odbarwią i pozostają fioletowe, określa się mianem gramodatnich. Te zaś, które się odbarwią i przyjmą drugi barwnik (fuksynę) zabarwiają się na czerwono i są określane jako gramujemne.

**Biocenoza** (mikrobiocenoza) – zespół organizmów (mikroorganizmów) zamieszkujących wspólny biotop (środowisko życia), między którymi wytwarza się sieć różnorodnych powiązań, m. in. pokarmowych. Biocenoza wraz z biotopem tworzą razem układ ekologiczny zwany ekosystemem.

**Elektroforeza** – technika rozdzielania makrocząsteczek (kwasów nukleinowych, białek) w polu elektrycznym wytworzonym między anodą i katodą. Cząsteczki obdarzone ładunkiem ujemnym wędrują do anody, a cząsteczki z ładunkiem dodatnim do katody. Rozdział zachodzi dzięki różnicom w szybkości przemieszczania się cząsteczek w zależności od ich masy, kształtu i ładunku.

**Fagocytoza** – proces pożerania drobnych cząstek (zwykle drobnoustrojów) przez komórki obrony immunologicznej organizmu (np. makrofagi).

**Immunologia** – nauka o odporności organizmu.

**Kancerogeny** – czynniki chemiczne, fizyczne i biologiczne powodujące nowotwory. Kancerogenami jest większość mutagenów, ponieważ pierwszą przyczyną procesu nowotworowego jest mutacja w genie kontrolującym podziały komórkowe.

**Kolonia** – widoczne gołym okiem zgrupowanie komórek na podłożu stałym (np. agarowym) utworzone przez komórki pochodzące z jednostki wyjściowej, którą może być jedna lub więcej komórek. Jeśli jest to jedna komórka, to wyrosła z niej kolonia jest tzw. czystym szczepem.

**Mikroorganizmy saprofityczne** – drobnoustroje odżywiające się martwą materią organiczną (w przeciwieństwie do mikroorganizmów pasożytniczych, żerujących w żywych organizmach i powodujących choroby). Bakterie i grzyby saprofityczne rozkładając szczątki organiczne przyczyniają się do obiegu materii w przyrodzie.

**Mutageny** – czynniki chemiczne, fizyczne lub biologiczne powodujące **mutacje**, czyli zmiany w strukturze DNA, przekazywane następnym pokoleniom (dziedziczne). Mutagenami są niektóre zanieczyszczenia, np. pewne węglowodory aromatyczne i ich pochodne (benzo(a)piren), a także niektóre toksyny grzybowe (aflatoksyna).

**Nukleokapsyd** - kompleks utworzony przez kwas nukleinowy wirusa i tzw. kapsyd, czyli otaczające go białka. Niektóre wirusy (np. wirusy grypy), są dodatkowo otoczone osłonką glikoproteinową.

**Teratogeny** – czynniki chemiczne lub biologiczne powodujące zaburzenia w rozwoju embrionalnym prowadzące nieraz do poważnych deformacji płodu. Teratogenne działanie mają niektóre pestycydy, toksyny grzybowe i wirusy (np. wirus różyczki w pierwszym trymestrze ciąży).

**Wolne rodniki** – nietrwałe, wysoce reaktywne formy cząsteczek, posiadające niesparowany elektron, np. rodnik nadtlenkowy  $O_2^-$ . Wolne rodniki tworzą się np. pod wpływem działania promieniowania UV. Ich wysoka reaktywność utleniająca może powodować poważne uszkodzenia struktur komórkowych. Działanie neutralizujące wolne rodniki mają tzw. przeciwutleniacze (np. karoteny, witamina C).

## Literatura

1. Alexander M., Biodegradation and bioremediation. Academic Press. A Division of Harcourt Brace & Company, 1994.
2. Atlas R.M., Petroleum Microbiology. Encyclopedia of Microbiology, Academic Press 1992
3. Bitton G.: Wastewater Microbiology. Ed. by Wiley-Liss Inc., 1994
4. Burlage R.S., Atlas R., Stahl D., Geesey G., Saylor G.: Techniques in microbial ecology. Oxford University Press 1998
5. Chmiel A.: Biotechnologia – podstawy mikrobiologiczne i biochemiczne. PWN Warszawa 1994
6. Encyklopedia biologiczna. Agencja Publicystyczno-Wydawnicza Opres, Kraków 1998
7. Gołębiowska J.: Mikrobiologia rolnicza. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Lesne Warszawa 1986
8. Grabińska - Łoniewska A. (red) Ćwiczenia laboratoryjne z mikrobiologii ogólnej. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 1999
9. Greinert A., Przewodnik do ćwiczeń z gleboznawstwa i ochrony gleb. Wyd. Politechniki Zielonogórskiej, Zielona Góra 1998
10. Kołżan B.: Biodegradacja produktów naftowych. W: Zanieczyszczenia naftowe w gruncie, pod red. J. Surygały, Oficyna Wydawnicza P Wroc., W-w 2000
11. Kotelko S., Siedlaczek L., Lachowicz T.M.: Biologia bakterii. PWN Warszawa 1977
12. Kowalik P.: Ochrona Środowiska Glebowego. PWN, Warszawa 2001
13. Klimiuk E., Łebkowska M.: Biotechnologia w ochronie środowiska PWN Warszawa 2003
14. Krzysztofik B., Ossowska - Cypryk K. Ćwiczenia laboratoryjne z mikrobiologii powietrza. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 1997
15. Kunicki-Goldfinger W.: Życie bakterii. PWN Warszawa 1989
16. Łebkowska M.: Wykorzystanie mikroorganizmów do biodegradacji produktów naftowych w środowisku glebowym. Gaz, woda i technika sanitarna, 3, 117-118, 1996.
17. Malina G., Biowentylacja (SBV) strefy aeracji zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi. Wyd. Politechniki częstochowskiej, Częstochowa 1999
18. Maier R.M., Pepper I.L., Gerba C.P.: Environmental Microbiology. Academic Press 2000
19. Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R.: Mikrobiologia PWN Warszawa 2000
20. Paluch J.: Mikrobiologia wód PWN Warszawa 1973
21. Paul E.A., Clark F.E.: Mikrobiologia i biochemia gleb Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin 2000
22. Pawlaczyk-Szpilowa M.: Ćwiczenia z mikrobiologii wody i ścieków PWN Warszawa 1980
23. Pawlaczyk-Szpilowa biologia i ekologia. Oficyna Wydawnicza politechniki Wrocławskiej Wrocław 1997
24. Rheinheimer G.: Mikrobiologia wód. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Lesne Warszawa 1987
25. Richards B.N.: Wstęp do ekologii gleby PWN Warszawa 1979
26. Roman M.: Jakość wody do picia w przepisach Unii Europejskiej i w przepisach polskich. Polskie Zrzeszenie Inżynierów i Techników sanitarnych Warszawa 2001
27. Russel S.: Drobnoustroje a życie gleby PWN Warszawa 1974
28. Salyers A.A., Whitt D.D.: Microbiology, Diversity, Disease, and the Environment. Fitzgerald Science Press, Inc. of Bethesda, MD USA 2001
29. Schlegel H.G.: Mikrobiologia ogólna PWN Warszawa 1996
30. Van Keer C.: Bioremediation. Book of lectures issued in the frame of European program TEMPUS, Project 11454, 1998