

Małgorzata KOWALSKA

*Instytut Inżynierii Wody i Ścieków
Politechnika Śląska*

USUWANIE KWASÓW HALOGENOOCETOWYCH Z WODY W BIOREAKTORZE Z ENZYMAMI NATYWNYMI – WPŁYW OBECNOŚCI WYBRANYCH HAA NA EFEKTYWNOŚĆ PROCESU

REMOVAL OF HALOACETIC ACIDS FROM WATER IN A BIOREACTOR WITH NATIVE ENZYMES – THE IMPACT OF SELECTED HAA ON THE PROCESS EFFECTIVENESS

The aim of the presented study was to determine the impact of particular haloacetic acids on the removal rate of the mixture of five HAA from water. The study included three experimental series carried out for simulated waters, in which every acid (monochloro-, dichloro-, trichloro-, monobromo- and dibromoacetic acid) was mixed with another acid (two HAA in a solution). The mixtures differed in qualitative and quantitative composition and HAA concentrations were in the range of 0.1 – 0.5 mg/dm³. The results of the study indicated that three among five investigated acids were competitive inhibitors i.e. MCAA and MBAA for DCAA, TCCA and DBAA and DCAA for TCAA and DBAA. Besides, MCAA and MBAA characterized with high removal rates regardless of the concentration of the accompanying acid in the treated mixture (feed). Additionally, the decrease of their concentration had a positive influence on the biodegradation of other investigated HAA. At higher substrate concentration the inhibiting compound (MCAA and MBAA) was unable to compete with the higher amount of the substance and the competitive inhibition did not occur. The native enzymes used in the study were isolated from Acinetobacter, Arthrobacter, Pseudomonas and Basillius strains. Those microorganisms were separated from the population mixture of the activated sludge, which was adapted to degradation of the investigated HAA. All strains of microorganisms used in the study were adapted to degradation of 5 mg/dm³ of each acid.

1. Wprowadzenie

Woda jest czynnikiem warunkującym istnienie życia na Ziemi. Systemy ochrony wody stworzone przez człowieka, mają na celu ograniczenie wpływu oddziaływania antropogenicznego na jej parametry fizyko-chemiczne, a w razie ich zmiany przywrócić pierwotnej jakości wody. W oczyszczaniu i odnowie wody stosowany jest szereg procesów fizycznych oraz

chemicznych, których zadaniem jest dostosowanie jej parametrów do celów, na jakie została przeznaczona. Woda na cele pitne musi spełniać rygorystyczne wymogi m. in. nie może zawierać w swoim składzie mikroorganizmów chorobotwórczych. Procesem mającym ograniczyć lub całkowicie usunąć je z wody jest dezynfekcja. Celem dezynfekcji jest usunięcie z wody wegetatywnych, jak i przetrwalnikowych form organizmów patogennych, a także zabezpieczenie wody przed wtórnym skażeniem tymi organizmami w sieci wodociągowej. Dezynfekcja oznacza usunięcie drobnoustrojów w takim stopniu, aby ich obecność w wodzie nie była źródłem zagrożenia dla zdrowia ludzkiego [1, 2].

Dezynfekcję można prowadzić metodami fizycznymi oraz chemicznymi. Do metod fizycznych zalicza się: gotowanie, pasteryzację, naświetlanie promieniowaniem UV, zastosowanie ultradźwięków, ultrafiltrację czy dezynfekcję promieniowaniem jonizującym. Chemiczne metody dezynfekcji polegają na wprowadzeniu do wody silnych utleniaczy takich jak: chlor i jego związki, ozon oraz rzadko brom i jod [1].

Wprowadzane do wody dezynfektanty zużywane są nie tylko na niszczenie patogenów, ale również reagują ze składnikami wody, tworząc uboczne produkty dezynfekcji, których obecność w wodzie jest niepożądana z uwagi na ich szkodliwy wpływ na konsumentów. Dlatego też dezynfekcja wody powinna być rozpatrywana nie tylko z punktu widzenia sanitarnej jakości wody, ale również z punktu widzenia wpływu ubocznych produktów dezynfekcji na jakość wody. Niemniej jednak, to mikrobiologiczne bezpieczeństwo wody przeznaczonej do spożycia traktowane jest priorytetowo w stosunku do zagrożenia wynikającego z obecności ubocznych produktów dezynfekcji. Wymagania bakteriologiczne wody przeznaczonej do spożycia mogą kolidować z wymaganiami dotyczącymi dopuszczalnych stężeń ubocznych produktów dezynfekcji oraz pozostałych środków dezynfekcyjnych. Problem ten można rozwiązać poprzez ochronę zlewni i właściwą eksploatację sieci wodociągowej, a przede wszystkim odpowiednie uzdatnianie wody w celu wysokoefektywnego usunięcia z wody substancji reagujących ze środkami dezynfekującymi i tworzących uboczne produkty dezynfekcji [3, 4].

Chlorowanie wody jest najbardziej rozpowszechnioną i najtańszą metodą dezynfekcji. Stosowanie chloru gazowego wpływa jednak na pogorszenie właściwości organoleptycznych wody oraz powoduje powstawanie wielu szkodliwych dla zdrowia ubocznych produktów dezynfekcji. Wprowadzony do wody chlor może działać na związki organiczne utleniająco lub chlorująco poprzez przyłączenie atomu chloru do cząsteczki związku organicznego. Dlatego też, stosowanie chloru w celu dezynfekcji wody prowadzi do powstawania zarówno ubocznych produktów utleniania jak i ubocznych produktów chlorowania. Przeważającą część ubocznych produktów chlorowania stanowią związki chloroorganiczne, choć chlorowanie może również prowadzić do powstawania substancji nie zawierających chloru w cząsteczce, takich jak aldehydy czy kwasy karboksylowe. Do ubocznych produktów chlorowania należą także związki bromo- i chlorobromoorganiczne, powstające na drodze utleniania bromków, oraz związki jodoorganiczne, powstające na drodze utleniania jodków [5].

Kwasy halogenooctowe (HAA) są po trihalometanach (THM) drugą grupą ubocznych produktów dezynfekcji wody, istotną z punktu widzenia zdrowotnych walorów wody do picia. Powstają one w wyniku przemian zachodzących pod wpływem działania chloru na związki organiczne występujące w wodzie, określane prekursorami HAA (głównie substancji humusowych). Ilość powstających na drodze chlorowania HAA zależy od wielu czynników, przede wszystkim od: sposobu prowadzenia dezynfekcji, rodzaju stosowanego czynnika chlorującego, stężenia chloru pozostałego, źródła wody, jej pH i temperatury, zawartości kwasów huminowych i fulwowych, stężenia RWO, zawartości bromków, czasu kontakty wody z chlorem oraz czasu przebywania wody w sieci dystrybucyjnej.

Kwasy halogenoocetowe zawierające w swojej cząsteczce atomy bromu mogą powstawać tylko wówczas, gdy w chlorowanej wodzie obecne będą jony bromkowe. Ponadto w przypadku obecności w wodzie jonów jodkowych możliwe jest tworzenie się jodowanych halogenokwasów, np. kwasu jodoocetowego [3-5]. W wodach poddawanych chlorowaniu stwierdzono występowanie dziewięciu kwasów halogenoocetowych. Do głównych przedstawicieli HAA, oznaczanych terminem HAA5 zaliczamy: kwas chloroocetowy CH_2ClCOOH (MCAA), bromoocetowy CH_2BrCOOH (MBAA), dichloroocetowy CHCl_2COOH (DCAA), trichloroocetowy (CCl_3COOH – TCAA), dibromoocetowy (CHBr_2COOH – DBAA). Ponadto w uzdatnianej wodzie obserwować można występowanie kwasów: tribromoocetowego CBr_3COOH (TBAA), bromochloroocetowego CHBrClCOOH (BCAA), dibromochloroocetowego $\text{CBr}_2\text{ClCOOH}$ (DBCAA) oraz dichlorobromoocetowego $\text{CCl}_2\text{BrCOOH}$ (DCBAA) [7].

Na skutek prowadzonych badań dowiedziono, że występujące w wodzie przeznaczonej do picia kwasy halogenoocetowe są szkodliwe dla ludzi i zwierząt.

Międzynarodowa Agencja Badania Raka (ang. IARC - International Agency for Research on Cancer) sklasyfikowała kwasy: dichloroocetowy, monobromoocetowy i dibromoocetowy do grupy 2B – substancji możliwie rakotwórczych dla człowieka, w oparciu o wystarczające dowody jego rakotwórczości dla zwierząt doświadczalnych oraz niewystarczające dowody jego rakotwórczości dla ludzi. Kwas trichloroocetowy został przyporządkowany do grupy 3 – substancji, które nie mogą być klasyfikowane pod względem działania rakotwórczego na ludzi, natomiast kwas monochloroocetowy nie został oceniony przez IARC [6]. Stwierdzono, że kwas dichloroocetowy powoduje neuropatię, zmniejszenie masy ciała oraz powstawanie nowotworów wątroby [4-7].

W związku z tym, w wielu krajach wprowadza się systematyczne pomiary zawartości kwasów halogenoocetowych w wodzie do picia, podczas trwania procesu jej uzdatniania oraz wprowadza się normy limitujące dopuszczalne stężenie HAA w wodzie pitnej.

Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska (USEPA) obecnie ustanowiła dopuszczalną wartość stężenia dla sumy pięciu kwasów HAA, tj. kwasów monochloroocetowego, dichloroocetowego, trichloroocetowego, monobromoocetowego i dibromoocetowego jako 60 mg/m^3 . Przewiduje się jednak, że w przyszłości nastąpi obniżenie tej wartości do 30 mg/m^3 , ze względu na zagrożenie zdrowia ludzi i zwierząt substancjami rakotwórczymi, za które uznano HAA.

Wytyczne Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) określają zalecane dopuszczalne stężenia w wodzie pitnej kwasu dichloroocetowego do 50 mg/m^3 i kwasu trichloroocetowego do 100 mg/m^3 [14].

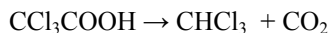
W polskich wymaganiach stawianych wodzie przeznaczonej do spożycia przez ludzi, kwasy halogenoocetowe obecnie nie są uwzględnione, choć jeszcze w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. w sprawie warunków jakim powinna odpowiadać woda do picia i na potrzeby gospodarcze (Dz.U. 2007 nr 61 poz. 417), ograniczono stężenie kwasu monochloroocetowego do 30 mg/m^3 [12].

Na podstawie wyników badań zawartości kwasów HAA w wodzie Jeziora Zegrzyńskiego, w procesie oczyszczania w Wodociągu Północnym oraz w wodzie pitnej w Warszawie, dowiedziono że zmiany procesu oczyszczania mogą spowodować zmniejszenie ilości powstających HAA. Stwierdzono, że istnieje zależność powstawania kwasów halogenoocetowych od stężeń ich organicznych prekursorów. Zaobserwowano również dużą korelację pomiędzy ilością powstających HAA, a temperaturą wody. W okresie zimy, w niskich temperaturach stężenie kwasów halogenoocetowych było bardzo małe, natomiast duże stężenia HAA wystąpiły w wysokich temperaturach wody (w miesiącach letnich).

Zaobserwowano również dużą zgodność między stężeniami kwasów halogenooctowych a stężeniami trihalometanów. Świadczy to o istnieniu tych samych powodów powstawania THM i HAA. Stwierdzono również, iż gotowanie wody nie pozwala na usunięcie kwasów halogenooctowych w tak wysokim stopniu, jak w przypadku trihalometanów.

Istnieją trzy możliwości obniżenia stężenia kwasów halogenooctowych w wodzie wodociągowej. Pierwszą z nich, uważaną za najwłaściwszy sposób obniżenia stężenia HAA, jest usuwanie ich prekursorów. Dlatego też, to właśnie dobór odpowiednich procesów jednostkowych uzdatniania wody ma znaczący wpływ na ilość generowanych HAA. Usuwanie prekursorów HAA jest jednoznaczne z usuwaniem materii organicznej, a zwłaszcza kwasów humusowych i fulwowych, które można osiągnąć na drodze: adsorpcji, koagulacji, strącania, filtracji na filtrach węglowych biologicznie czynnych, metod membranowych [5]. Drugą metodą, jest stosowanie dezynfektantów innych niż chlor. Badania prowadzone nad powstawaniem HAA w uzdatnianej wodzie wykazały, iż stosowanie dezynfektantów takich jak ozon dwutlenek chloru czy chloraminy prowadzi do powstawania znacznie niższych stężeń HAA w porównaniu do chloru [5, 13-14].

Trzecią metodą obniżania stężenia HAA w wodzie jest usuwanie już powstałych kwasów halogenooctowych. Można je efektywnie usunąć z wykorzystaniem procesu biosorpcji oraz procesu adsorpcji na granulowanym węglu aktywnym [5]. Temperatura wrzenia HAA jest bliska 200 °C, dlatego w odróżnieniu od THM nie są one usuwane z wody podczas jej gotowania. Dojlido i Zbieć przebadali możliwość usuwania HAA z wody na drodze jej gotowania. Osiągnięto zmniejszenie ilości kwasów halogenooctowych podczas gotowania: chlorooctowego o 6÷8%, dibromooctowego o 9÷13%, bromooctowego o 26÷31%, trichlorooctowego o 69÷72%. Istotny spadek nastąpił tylko w przypadku kwasu trichlorooctowego, który w trakcie gotowania rozkłada się wg reakcji:



z utworzeniem chloroformu. Dzięki przeprowadzonym badaniom można stwierdzić, że gotowanie nie pozwala na zadowalające usunięcie HAA z wody [13].

Do eliminacji kwasów halogenooctowych powstających podczas chlorowania wody można również wykorzystać właściwości enzymów występujących w organizmach żywych. Na przydatność biokatalizatorów do tych celów wpływa m.in. ich duża specyficzność działania, pozwalająca na przeprowadzenie ściśle określonych reakcji, a także naturalne pochodzenie, dzięki czemu nie wpływają one toksycznie na uzdatnianą wodę. Pomimo dość skomplikowanego wytwarzania enzymów, koszt ich zastosowania nie jest duży. Zaletą wykorzystania biokatalizatorów w procesie usuwania kwasów halogenooctowych z wody jest możliwość regulacji ich aktywności oraz szybkości prowadzonych procesów m.in. poprzez kontrolę wpływu warunków środowiskowych, do których przede wszystkim należą temperatura oraz pH.

Istnieje wiele typów cząsteczek, które są zdolne do zakłócania aktywności danego enzymu. Każda cząsteczka działająca bezpośrednio na enzym w kierunku zmniejszenia jego aktywności katalitycznej określana jest mianem inhibitora. Niektóre z nich są normalnymi metabolitami komórkowymi, które hamują dany enzym w ramach naturalnej metabolicznej kontroli odpowiedniego szlaku, inne mogą być substancjami obcymi dla organizmu, takimi jak np.: toksyny i leki (głównie antybiotyki).

Reakcja enzymatyczna może zostać zahamowana z powodu denaturacji białka enzymatycznego (np. drastyczna zmiana pH lub temperatury, obecność rozpuszczalników organicznych, soli metali ciężkich) lub pod wpływem działania związków, które nieodwracalnie wiążą się z enzymem, powodując jego inaktywację (inhibicję nieodwracalną).

Inhibicja odwracalna występuje wówczas, gdy po usunięciu inhibitora enzym odzyskuje (przynajmniej częściowo) aktywność. Zależnie od mechanizmu działania inhibitora wyróżniamy następujące typy inhibicji odwracalnej:

- Hamowanie współzawodniczące (inhibicja kompetycyjna). Nazwą tą, określa się mechanizm reakcji enzymatycznej, w którym enzym posiada pojedyncze miejsce aktywne, o które współzawodniczą substrat i inhibitor. Taki mechanizm inhibicji zwykle wynika z podobieństwa w strukturze chemicznej substratu i inhibitora. Częstotki inhibitora kompetycyjnego, utrudniając dostęp substratu do centrum katalitycznego enzymu pozornie zmniejszają powinowactwo enzymu do substratu (rośnie stała Michaelisa - K_M). Przy dużych stężeniach substratu działanie inhibitora kompetycyjnego zostaje przewyżczone, ponieważ duże stężenie substratu będzie z powodzeniem współzawodniczyć z cząsteczką inhibitora o wiązanie się w miejscu aktywnym.
- Hamowanie niewspółzawodniczące (inhibicja niekompetycyjna). Polega ona na tym, że inhibitor nie przejawia powinowactwa do miejsca aktywnego enzymu, za to może przyłączać się do kompleksu enzym-substrat. Związane jest to z tym, że konfiguracja przestrzenna kompleksu aktywnego jest inna niż enzymu. Wszystkie cząsteczki enzymu, pozostałe w środowisku reakcji wykazują niezmienną powinowactwo do substratu (stała Michaelisa pozostaje bez zmian). Efektu inhibitora niekompetycyjnego nie można przewyżczyć przez zwiększanie stężenia substratu.
- Hamowanie mieszane. W tym przypadku, inhibitor może przyłączać się zarówno do enzymu, jak i do kompleksu aktywnego enzym-substrat. Oznacza to zwykle, że enzym posiada odrębne miejsca aktywne dla substratu i odrębne dla inhibitora.
- Hamowanie częściowo współzawodniczące. W mechanizmie inhibicji mieszanej przyjmuje się, że kompleksy z udziałem inhibitora są „nieaktywne”, tzn. nie rozpadają się z wydzieleniem produktu. Jeżeli możliwy jest rozpad kompleksów, w których występuje inhibitor i wytwarzanie produktu, to mechanizm taki określa się mianem hamowania częściowo współzawodniczącego. Odpowiada on przypadkowi, gdy enzym posiada miejsca aktywne dostępne zarówno dla substratu, jak i inhibitora, przy czym inhibitor nie dezaktywuje kompleksów aktywnych z substratem [16-18].

2. Cel i zakres pracy

Badania, których wyniki przedstawiono w niniejszej pracy są kontynuacją wcześniejszych prac nad efektywnością usuwania kwasów halogenooctowych z wody w bioreaktorze z ultrafiltracyjnymi membranami enzymatycznymi (projekt badawczy N N523 452336) [15].

Ich celem było określenie wpływu obecności wybranych HAA na efektywność usuwania mieszaniny pięciu kwasów halogenooctowych z wody w bioreaktorze z enzymami natywnymi. O efektywności procesu decyduje aktywność enzymatyczna zastosowanego biokatalizatora. Praktyczne wykorzystanie wyznaczonych doświadczalnie optymalnych stężeń HAA w mieszaninie oraz wytypowanie, które z nich działają jak inhibitory pozwoli na całkowite usunięcie z wody modelowej wszystkich wybranych HAA w jednakowym czasie i stopniu. Umożliwi również prognozowanie czasu i stopnia usuwania z wody rzeczywistej (uzdatnianej) poszczególnych kwasów.

3. Enzymy

Do izolacji frakcji enzymów rozkładających kwasy halogenooctowe użyto szczepów bakterii wyodrębnionych z mieszanej populacji drobnoustrojów osadu czynnego uzyskanego na drodze transformacji osadów organicznych, po fermentacji metanowej. Adaptację drobnoustrojów prowadzono zasilając hodowlę wzrastającymi dawkami HAA.

Dominującymi w populacji rodzajami bakterii były: *Acinetobacte*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas* i *Bacillus*. Wszystkie szczepy użyte w badaniach adaptowano do degradacji 5 mg/dm³ każdego z kwasów. Frakcje enzymatyczne były izolowane metodą Hagemanna.

4. Metodyka badań

Do oznaczeń kwasów halogenooctowych zawartych w roztworach wodnych zastosowano metodę USEPA 552.2, a chromatografię GC-MS w analizie jakościowo-ilościowej otrzymanego ekstraktu.

Oznaczenie kwasów halogenooctowych polega na zakwaszeniu próbki wody do pH < 2. Dzięki temu cofa się dysocjację kwasów, co umożliwia ich ekstrakcję do rozpuszczalnika organicznego (Liquid – Liquid Extraction – LLE) niemieszającego się z wodą. Zwykle stosuje się to tego celu eter terbutylometylowy (MTBE). Ekstrakcję tak polarnych związków, jakimi są kwasy halogenooctowe wspomaga się wysalaniem. Wyekstrahowane kwasy upochadnia się do estrów metylowych, które następnie rozdzielają się stosując techniki chromatografii gazowej wykorzystując detektor wychwyty elektronów na etapie detekcji. Granice oznaczalności dla tej techniki wynoszą zwykle ok. 0,5 µg/dm³ z wyjątkiem kwasu monochlorooctowego, dla którego ta granica wynosi ok. 1 µg/dm³ [10, 11].

W niniejszej pracy, do przygotowania próby wodnej do oznaczeń kwasów halogenooctowych zastosowano metodę US EPA 552.2 [13] a chromatografię GC-MS w analizie jakościowo-ilościowej ekstraktu.

W celu wydzielenia kwasów halogenooctowych do próbki wody wprowadzano 1,5 cm³ H₂SO₄, 12 g stałego Na₂SO₄ i 3 cm³ eteru terbutylometylowego, a następnie intensywnie wytrząsano przez 5 minut w rozdzielaczu. Po rozdzieleniu frakcji organicznej pobierano 2,5 cm³ ekstraktu do szklanej probówki i dodawano 1 cm³ 10% H₂SO₄ w metanolu. Tak przygotowaną próbkę w celu upochodnienia zawartych w niej kwasów halogenooctowych inkubowano przez 30 minut w temperaturze 50°C. Po tym czasie, do roztworu dodawano 4 cm³ 10% wodnego roztworu Na₂SO₄ i przenoszono ponownie do rozdzielacza. Po rozdzieleniu, warstwę organiczną poddawano analizie GC-MS.

Tab. 1. Parametry oznaczenia chromatograficznego GC – MS

Tab. 1. Parameters of GC-MS assays

	Program temperaturowy	GC
	Objętość nastrzyku Iniektor	1 μm 210°C, <i>splitless</i>
	Gaz Przepływ	hel 1,1 ml/min
MS	Jonizacja Energia jonizacji	EI 70 eV
	Temperatura źródła jonów	200°C

Do oznaczeń wykorzystano chromatograf gazowy sprzężony z detektorem masowym (GC–MS, pułapka jonowa) model Saturn 2100 T, firmy Varian. Parametry oznaczenia chromatograficznego przedstawiono w tabeli 1. Analizę ilościową prowadzono w oparciu o metodę *FS* (*full scan*) w zakresie mas od 50 do 250 a.m.u.

Stężenie białka aktywnego oznaczono kolorymetryczną metodą Bradforda, polegającą na barwnej reakcji białka z odczynnikiem Bio-Rad-Protein-Assay. Korzystano ze spektrofotometru UV VIS Cary 50 (Varian).

Aktywność enzymatyczną stosowanego w badaniach, jako biokatalizatora kompleksu białek określano, jako ilość rozłożonych w czasie 1 godziny kwasów halogenooctowych (w milimolach kwasu). Podczas oznaczania aktywności temperatura wynosiła 25°C, a pH roztworu kwasów 2,48 (warunki optymalne prowadzenia procesu biodegradacji HAA wyznaczone we wcześniejszych badaniach) [15]. Aktywność oznaczano dla każdego z pięciu HAA. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 2.

Tab. 2. Ilość stosowanego w procesie białka aktywnego oraz jego aktywność enzymatyczna

Tab. 2. The amount of active enzyme used in the study and its enzymatic activity

Ilość białka [mg]	Aktywność wobec kwasu (T=25°C, pH=2,48) [mmol kwasu / 1h]				
	MCAA	DCAA	TCAA	MBAA	DBAA
23,8	$5,2151 \times 10^{-3}$	$5,2151 \times 10^{-3}$	$5,2150 \times 10^{-3}$	$5,2151 \times 10^{-3}$	$5,2150 \times 10^{-3}$

5. Wyniki badań

Badania nad wpływem obecności wybranych kwasów halogenoocetowych na efektywność usuwania ich mieszaniny z wody, przy zastosowaniu enzymów natywnych prowadzono w kolbach ze szlifem o pojemności 300 ml (po cztery dla każdej z trzech serii, które różniły się rodzajem i stężeniem HAA w nadawie oraz rodzajem kwasu towarzyszącego). Skład poszczególnych nadaw (wody modelowej) przedstawiono w tabelach 3 - 5. Do każdej kolby wprowadzano 100 cm³ badanej nadawy oraz dodawano po 1 cm³ zawiesiny enzymów. Kolby termostatowano przez godzinę w temperaturze 25°C. Po tym czasie w próbkach oznaczano stężenie poszczególnych kwasów i obliczono stopień biodegradacji każdego z nich.

Analizując aktywność enzymatyczną kompleksu stosowanych w badaniach enzymów (tabela 2), można się było spodziewać usuwania wszystkich pięciu kwasów halogenoocetowych na tym samym poziomie w tym samym czasie. Szacunkowa wartość stopnia usunięcia każdego z nich, po 1 godzinie biodegradacji powinna być równa ok. 57%. Tak jednak nie było. W pierwszej serii badań (tabela 3), po godzinie prowadzenia procesu biodegradacji, kiedy stężenie kwasów podstawowych i kwasów towarzyszących było jednakowe wyraźnie można było zauważyć, że w pierwszej kolejności (w najwyższym stopniu) zawsze usuwane są MCAA i MBAA. Ich stopień biodegradacji w każdym przypadku wynosił ok. 57%. Średnie stopnie usunięcia pozostałych kwasów wynosiły: 52% dla DCAA oraz 45% dla TCAA i DBAA. Otrzymane wyniki sugerowały, że MCAA i MBAA zachowują się jak inhibitory wobec pozostałych trzech kwasów, a DCAA wobec TCAA i DBAA. Aby tą tezę udowodnić, w drugiej serii badań stężenie kwasu podstawowego pozostawiono bez zmian na poziomie 1 mg/dm³, obniżono natomiast stężenie kwasu towarzyszącego do 0,75 mg/dm³. Otrzymane wyniki przedstawia tabela 4.

Tab. 3. Skład nadaw oraz stężenia HAA otrzymane podczas pierwszej serii badań nad biodegradacją kwasów halogenoocetowych przy zastosowaniu enzymów natywnych.

Tab. 3. The feed compositions and HAA concentrations obtained during the first series of the study on the biodegradation of haloacetic acids with the use of native enzymes

seria	Skład oraz stężenie nadawy	Stężenia HAA oraz ich stopień biodegradacji uzyskane po godzinie procesu			
		Kwas podstawowy		Kwas towarzyszący	
		stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]	stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]
		DBAA		kwas towarzyszący	
I	1 mg/dm ³ DBAA + 1 mg/dm ³ MBAA	0,5560	44,4	0,4350	56,5
	1 mg/dm ³ DBAA + 1 mg/dm ³ DCAA	0,5640	43,6	0,4960	50,4
	1 mg/dm ³ DBAA + 1 mg/dm ³ TCAA	0,4340	56,6	0,4330	56,7
	1 mg/dm ³ DBAA + 1 mg/dm ³ MCAA	0,5560	44,4	0,4340	56,6

seria	Skład oraz stężenie nadawy	Stężenia HAA oraz ich stopień biodegradacji uzyskane po godzinie procesu			
		Kwas podstawowy		Kwas towarzyszący	
		stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]	stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]
		TCAA		kwas towarzyszący	
I	1 mg/dm ³ TCAA + 1 mg/dm ³ MBAA	0,5670	43,3	0,4260	57,4
	1 mg/dm ³ TCAA + 1 mg/dm ³ DCAA	0,5680	43,2	0,4880	51,2
	1 mg/dm ³ TCAA + 1 mg/dm ³ DBAA	0,4380	56,2	0,4330	56,7
	1 mg/dm ³ TCAA + 1 mg/dm ³ MCAA	0,5580	44,2	0,4340	56,6
		MCAA		kwas towarzyszący	
I	1 mg/dm ³ MCAA + 1 mg/dm ³ MBAA	0,4280	57,2	0,4260	57,4
	1 mg/dm ³ MCAA + 1 mg/dm ³ DCAA	0,4260	57,4	0,5070	49,3
	1 mg/dm ³ MCAA + 1 mg/dm ³ TCAA	0,4270	57,3	0,5680	43,2
	1 mg/dm ³ MCAA + 1 mg/dm ³ DBAA	0,4240	57,6	0,5560	44,4
		MBAA		kwas towarzyszący	
I	1 mg/dm ³ MBAA + 1 mg/dm ³ MCAA	0,4280	57,2	0,4260	57,4
	1 mg/dm ³ MBAA + 1 mg/dm ³ DCAA	0,4260	57,4	0,5110	48,9
	1 mg/dm ³ MBAA + 1 mg/dm ³ TCAA	0,4280	57,2	0,5670	43,3
	1 mg/dm ³ MBAA + 1 mg/dm ³ DBAA	0,4270	57,3	0,5580	44,2
		DCAA		kwas towarzyszący	
I	1 mg/dm ³ DCAA + 1 mg/dm ³ DBAA	0,4580	54,2	0,5630	43,7
	1 mg/dm ³ DCAA + 1 mg/dm ³ TCAA	0,4590	54,1	0,5640	43,6
	1 mg/dm ³ DCAA + 1 mg/dm ³ MBAA	0,5180	49,8	0,4360	56,4
	1 mg/dm ³ DCAA + 1 mg/dm ³ MCAA	0,4990	50,1	0,4370	56,3

Tab. 4. Skład nadaw oraz stężenia HAA otrzymane podczas drugiej serii badań nad biodegradacją kwasów haloogenoocetowych przy zastosowaniu enzymów natywnych.

Tab. 4. The feed compositions and HAA concentrations obtained during the second series of the study on the biodegradation of haloacetic acids with the use of native enzymes

seria	Skład oraz stężenie nadawy	Stężenia HAA oraz ich stopień biodegradacji uzyskane po godzinie procesu			
		Kwas podstawowy		Kwas towarzyszący	
		stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]	stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]
		DBAA		kwas towarzyszący	
II	1 mg/dm ³ DBAA + 0,75 mg/dm ³ MBAA	0,5130	48,7	0,3255	56,6
	1 mg/dm ³ DBAA + 0,75 mg/dm ³ DCAA	0,5230	48,7	0,3548	52,7
	1 mg/dm ³ DBAA + 0,75 mg/dm ³ TCAA	0,4280	57,2	0,3203	57,3
	1 mg/dm ³ DBAA + 0,75 mg/dm ³ MCAA	0,5140	48,6	0,3285	56,2
		TCAA		kwas towarzyszący	
II	1 mg/dm ³ TCAA + 0,75 mg/dm ³ MBAA	0,5160	48,4	0,3240	56,8
	1 mg/dm ³ TCAA + 0,75 mg/dm ³ DCAA	0,5070	49,3	0,3473	53,7
	1 mg/dm ³ TCAA + 0,75 mg/dm ³ DBAA	0,4260	57,4	0,3210	57,2
	1 mg/dm ³ TCAA + 0,75 mg/dm ³ MCAA	0,5180	48,2	0,3248	56,7
		MCAA		kwas towarzyszący	
II	1 mg/dm ³ MCAA + 0,75 mg/dm ³ MBAA	0,4260	57,4	0,3210	57,2
	1 mg/dm ³ MCAA + 0,75 mg/dm ³ DCAA	0,4270	57,3	0,3518	53,1
	1 mg/dm ³ MCAA + 0,75 mg/dm ³ TCAA	0,4290	57,1	0,3818	49,1
	1 mg/dm ³ MCAA + 0,75 mg/dm ³ DBAA	0,4280	57,2	0,3810	49,2
		MBAA		kwas towarzyszący	
II	1 mg/dm ³ MBAA + 0,75 mg/dm ³ MCAA	0,4280	57,2	0,3218	57,1
	1 mg/dm ³ MBAA + 0,75 mg/dm ³ DCAA	0,4290	57,1	0,3510	53,2
	1 mg/dm ³ MBAA + 0,75 mg/dm ³ TCAA	0,4280	57,2	0,3818	49,1
	1 mg/dm ³ MBAA + 0,75 mg/dm ³ DBAA	0,4270	57,3	0,3795	49,4

seria	Skład oraz stężenie nadawy	Stężenia HAA oraz ich stopień biodegradacji uzyskane po godzinie procesu			
		Kwas podstawowy		Kwas towarzyszący	
		stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]	stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]
		DCAA		kwas towarzyszący	
II	1 mg/dm ³ DCAA + 0,75 mg/dm ³ MBAA	0,4740	52,3	0,3210	57,2
	1 mg/dm ³ DCAA + 0,75 mg/dm ³ MCAA	0,4720	52,8	0,3233	56,9
	1 mg/dm ³ DCAA + 0,75 mg/dm ³ TCAA	0,4390	56,7	0,3765	49,8
	1 mg/dm ³ DCAA + 0,75 mg/dm ³ DBAA	0,4390	56,7	0,3743	50,1

Zaobserwowano, że stopień usunięcia MCAA i MBAA nie zmienił, pozostał na poziomie 57% i nadal był najwyższy we wszystkich przeprowadzonych reakcjach. Na skutek obniżenia stężenia inhibitorów wzrosły natomiast stopnie biodegradacji pozostałych kwasów. W przypadku DCAA, B_d wynosił około 52%, a dla kwasów trichlorooctowego i dibromooctowego – 49%.

Tab. 5. Skład nadaw oraz stężenia HAA otrzymane podczas trzeciej serii badań nad biodegradacją kwasów halogenooctowych przy zastosowaniu enzymów natywnych.

Tab. 5. The feed compositions and HAA concentrations obtained during the third series of the study on the biodegradation of haloacetic acids with the use of native enzymes

seria	Skład oraz stężenie nadawy	Stężenia HAA oraz ich stopień biodegradacji uzyskane po godzinie procesu			
		Kwas podstawowy		Kwas towarzyszący	
		stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]	stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]
		DBAA		kwas towarzyszący	
III	1 mg/dm ³ DBAA + 0,5 mg/dm ³ MBAA	0,4780	52,2	0,2135	57,3
	1 mg/dm ³ DBAA + 0,5 mg/dm ³ DCAA	0,4580	54,2	0,2190	56,2
	1 mg/dm ³ DBAA + 0,5 mg/dm ³ TCAA	0,427	57,3	0,2130	57,4
	1 mg/dm ³ DBAA + 0,5 mg/dm ³ MCAA	0,4790	52,1	0,2130	57,4

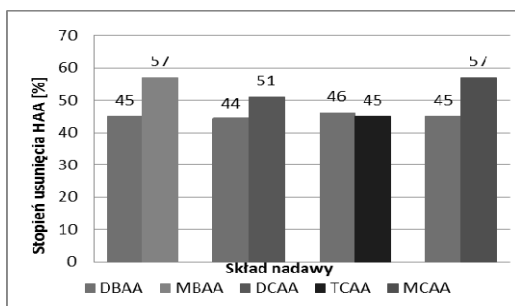
seria	Skład oraz stężenie nadawy	Stężenia HAA oraz ich stopień biodegradacji uzyskane po godzinie procesu			
		Kwas podstawowy		Kwas towarzyszący	
		stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]	stężenie [mg/dm ³]	B _d [%]
		TCAA		kwas towarzyszący	
III	1 mg/dm ³ TCAA + 0,5 mg/dm ³ MBAA	0,4770	52,3	0,2150	57,0
	1 mg/dm ³ TCAA + 0,5 mg/dm ³ DCAA	0,4590	54,1	0,2190	56,2
	1 mg/dm ³ TCAA + 0,5 mg/dm ³ DBAA	0,4250	57,5	0,2140	57,2
	1 mg/dm ³ TCAA + 0,5 mg/dm ³ MCAA	0,4790	52,1	0,2150	57,0
		MCAA		kwas towarzyszący	
III	1 mg/dm ³ MCAA + 0,5 mg/dm ³ MBAA	0,4280	57,2	0,2130	57,4
	1 mg/dm ³ MCAA + 0,5 mg/dm ³ DCAA	0,4300	57,0	0,2295	54,1
	1 mg/dm ³ MCAA + 0,5 mg/dm ³ TCAA	0,4270	57,3	0,2410	51,8
	1 mg/dm ³ MCAA + 0,5 mg/dm ³ DBAA	0,4290	57,1	0,2380	52,4
		MBAA		kwas towarzyszący	
III	1 mg/dm ³ MBAA + 0,5 mg/dm ³ MCAA	0,4300	57,0	0,2130	57,4
	1 mg/dm ³ MBAA + 0,5 mg/dm ³ DCAA	0,4270	57,3	0,2290	54,2
	1 mg/dm ³ MBAA + 0,5 mg/dm ³ TCAA	0,4280	57,2	0,0290	52,2
	1 mg/dm ³ MBAA + 0,5 mg/dm ³ DBAA	0,4300	57,0	0,2370	52,6
		DCAA		kwas towarzyszący	
III	1 mg/dm ³ DCAA + 0,5 mg/dm ³ MBAA	0,4420	55,8	0,2220	55,6
	1 mg/dm ³ DCAA + 0,5 mg/dm ³ MCAA	0,4410	55,9	0,2190	56,2
	1 mg/dm ³ DCAA + 0,5 mg/dm ³ TCAA	0,4290	57,1	0,2140	57,2
	1 mg/dm ³ DCAA + 0,5 mg/dm ³ DBAA	0,4280	57,2	0,2130	57,4

W trzeciej serii badań (tabela 5) stężenie kwasu podstawowego nadal pozostawiono bez zmian (1 mg/dm^3), natomiast stężenie kwasu towarzyszącego obniżono jeszcze bardziej - do $0,5 \text{ mg/dm}^3$. Kolejne obniżenie stężenia inhibitorów spowodowało wzrost stopnia usunięcia pozostałych kwasów. Taka zależność występuje, jeśli mamy do czynienia z inhibitorem kompetycyjnym. W trzeciej serii badań średni stopień biodegradacji DCAA kształtował się na poziomie 54%, a TCAA i DBAA na poziomie 52%. Stopień usunięcia kwasów monochlorooctowego i monobromooctowego nadal wynosił ok. 57%.

Uzyskane wyniki potwierdzają, że trzy spośród pięciu badanych kwasów są inhibitorami kompetycyjnymi – MCAA i MBAA wobec DCAA, TCAA i DBAA oraz DCAA wobec TCAA i DBAA. Kwasy MCAA i MBAA wyróżniał duży stopień usunięcia niezależnie od stężenia kwasów towarzyszących znajdujących się w nadawie. Obniżenie ich stężenia, miało korzystny wpływ na stopień biodegradacji pozostałych HAA. Przy wyższych stężeniach substratów, inhibitory (kwasy monochlorooctowy oraz monobromooctowy) współzawodniczyły o centrum aktywne biokatalizatora z większą liczbą substratów, dlatego inhibicja kompetycyjna zachodziła w mniejszym stopniu.

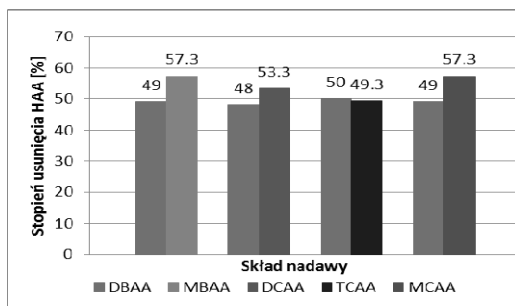
Na rysunkach 1 – 3 przedstawiono, jaki wpływ na stopień usunięcia kwasu dibromooctowego miała obecność i stężenie w nadawie MCAA, MBAA, DCAA i TCAA. Rysunek 1 obrazuje pierwszą serię badań. Widać, że po godzinie prowadzenia procesu biodegradacji stopień usunięcia kwasu dibromooctowego był najniższy i kształtował się na poziomie 44-46%. Najwyższy (57%) był stopień biodegradacji MCAA i MBAA. Kwas dibromooctowy został usunięty w 51%, a trichlorooctowy, podobnie jak DCAA w 44%. W drugiej serii badań (rys. 2), zaobserwowano wzrost stopnia usunięcia kwasu podstawowego (DBAA) do 48-50%. Nie zmienił się stopień biodegradacji MCAA i MBAA – 57%. Wzrosły również stopnie usunięcia DCAA (53%) i TCAA (49%). W trzeciej serii badań (rys. 3) stopień biodegradacji DBAA, zwiększył się jeszcze bardziej (do 52%), niezależnie od obecności kwasu towarzyszącego. Stwierdzono również wzrost stopni usunięcia DCAA (56%) i TCAA (52%). Nie zmienił się stopień usunięcia MCAA oraz MBAA - nadal był najwyższy (58%), ale różnica pomiędzy uzyskanymi wartościami stopni biodegradacji poszczególnych kwasów nie była już tak duża. Porównując uzyskane wyniki z trzech serii badań widać, że wraz ze zmniejszeniem stężenia kwasu towarzyszącego w nadawie poprawia się stopień usunięcia wszystkich kwasów halogenooctowych. Analizując wyniki serii I i III można zauważyć, że kwasy monochlorooctowy i monobromooctowy działają hamująco na stopień usunięcia kwasu dibromooctowego. Otrzymane wyniki potwierdziły przypuszczenie, że MCAA i MBAA zachowują się jak inhibitory kompetycyjne – obniżenie ich stężenia w nadawie powoduje wzrost stopnia usunięcia pozostałych substratów w reakcji enzymatycznej biodegradacji.

Rysunki 4 – 6 przedstawiają, jaki wpływ na stopień usunięcia kwasu trichlorooctowego miała obecność oraz stężenie w nadawie MCAA, MBAA, DCAA i DBAA, jako kwasów towarzyszących. Rysunek 4 obrazuje pierwszą serię badań. Po godzinie prowadzenia procesu biodegradacji, stopień usunięcia TCAA (we wszystkich kombinacjach) był najniższy i kształtował się na poziomie 44 - 45%. Najwyższy (57% i 58%) był stopień biodegradacji MCAA i MBAA. Kwas dichlorooctowy został usunięty w 52%, a dibromooctowy, podobnie jak kwas podstawowy (TCAA) w 44%. Rys. 5 przedstawia wyniki uzyskane w drugiej serii badań. (Zmniejszenie stężenia kwasu monobromooctowego w nadawie, spowodowało wzrost stopnia usunięcia TCAA o 8,9% (w stosunku do pierwszej serii badań) i jednoczesne podwyższenie stopnia biodegradacji MBAA o 1,2%. Zaobserwowano również korzystny wpływ zmniejszenia stężenia kwasu towarzyszącego, jakim w stosunku do TCAA był kwas monochlorooctowy. Stopień usunięcia w stosunku do pierwszej serii badań).



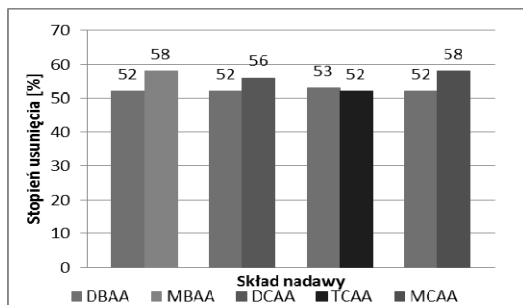
Rys. 1. Zależność stopnia usunięcia kwasu dibromooctowego od składu nadawy w I serii badań. (stężenia DBAA i kwasu towarzyszącego są takie same - 1 mg/dm^3)

Fig. 1. The dependence of the dibromoacetic acid removal rate on the feed composition (DBAA concentration - 1 mg/dm^3 , accompanying acid concentration - 1 mg/dm^3)



Rys. 2. Zależność stopnia usunięcia kwasu dibromooctowego od składu nadawy (stężenie DBAA 1 mg/dm^3 , stężenie kwasu towarzyszącego - 0.75 mg/dm^3).

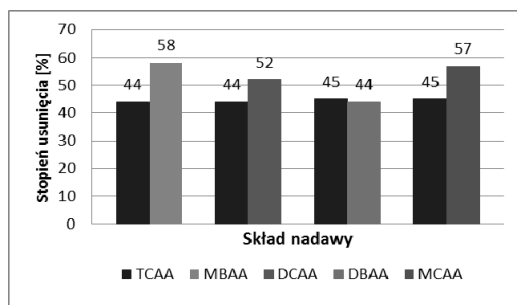
Fig. 2. The dependence of the dibromoacetic acid removal rate on the feed composition (DBAA concentration - 1 mg/dm^3 , accompanying acid concentration - 0.75 mg/dm^3)



Rys. 3. Zależność stopnia usunięcia kwasu dibromooctowego od składu nadawy (stężenie DBAA 1 mg/dm^3 , stężenie kwasu towarzyszącego - $0,5 \text{ mg/dm}^3$)

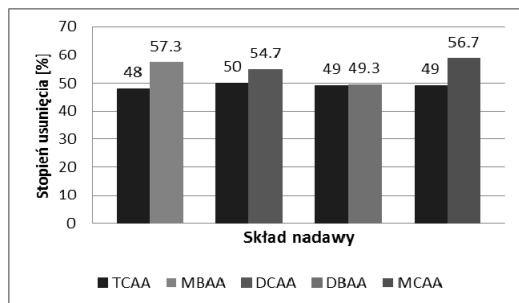
Fig. 3. The dependence of the dibromoacetic acid removal rate on the feed composition (DBAA concentration - 1 mg/dm^3 , accompanying acid concentration - 0.5 mg/dm^3)

Najefektywniej na usunięcie TCAA wpłynęło obniżenie stężenia DCAA, jako kwasu towarzyszącego. Spowodowało to nie tylko wzrost usunięcia TCAA o 6,7%, ale również korzystnie wpłynęło na stopień usunięcia DCAA z 52% w serii I do 54,7% w serii II. Kwas dibromooctowy w drugiej serii badań został usunięty w podobnej ilości jak TCAA - w 49%. Przeprowadzenie trzeciej serii badań, pozwoliło na osiągnięcie wartości stopnia biodegradacji przekraczającej 50% w przypadku wszystkich kwasów (rys. 6). Kolejne obniżenie stężenia MBAA w nadawie spowodowało wzrost stopnia usunięcia TCAA do 52%. Zmniejszenie stężenia DCAA do $0,05 \text{ g/dm}^3$ spowodowało zwiększenie stopnia usunięcia kwasu trichlorooctowego o 2%, przy równoczesnym obniżeniu stopnia biodegradacji DCAA o 1,3% w stosunku do serii II. Zaobserwowano także podwyższenie stopnia usunięcia MCAA o 2,3% (w porównaniu do serii poprzedniej), lecz zmniejszenie jego stężenia pozwoliło na usunięcie TCAA w 53%. W trzeciej serii badań kwas dibromooctowy, (jako kwas towarzyszący) został usunięty w 52% - tak samo jak TCAA.



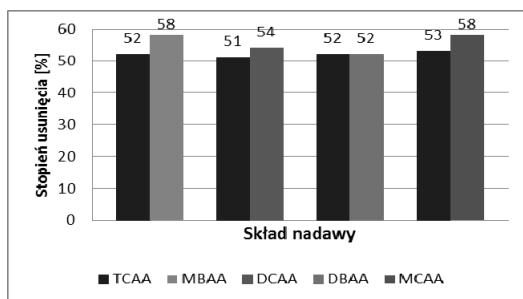
Rys. 4. Zależność stopnia usunięcia kwasu trichlorooctowego od składu nadawy w I serii badań

Fig. 4. The dependence of the trichloroacetic acid removal rate on the feed composition in the first series of examinations



Rys. 5. Zależność stopnia usunięcia kwasu trichlorooctowego od składu nadawy w II serii badań

Fig. 5. The dependence of the trichloroacetic acid removal rate on the feed composition in the second series of examinations



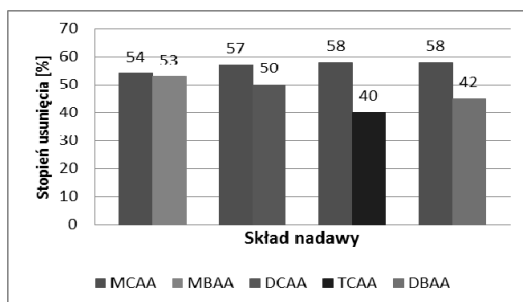
Rys. 6. Zależność stopnia usunięcia kwasu trichlorooctowego od składu nadawy w III serii badań

Fig. 6. The dependence of the trichloroacetic acid removal rate on the feed composition in the third series of examinations

Na rysunkach 7 – 9 przedstawiono, jaki wpływ na stopień usunięcia kwasu monochlorooctowego ma obecność i stężenie w nadawie MBAA, DCAA, TCAA oraz DBAA.

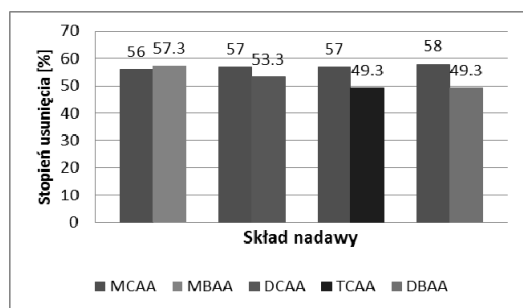
W pierwszej serii badań (rys. 7), kiedy stężenia kwasu podstawowego i towarzyszącego były sobie równe, najmniejsza różnica w stopniu usunięcia występowała pomiędzy kwasem monochlorooctowym (54%) i monobromooctowym (53%) - wynosiła ona tylko 1%, co wskazuje, że kwasy te z takim samym skutkiem walczą o zajęcie miejsca aktywnego w cząsteczce enzymu. W przypadku, kiedy w nadawie występują obok siebie MCAA i TCAA różnica ta wynosi 18%, czyli że kwas trichlorooctowy zdecydowanie przegrywa współzawodnictwo o miejsce aktywne enzymu, co odzwierciedla uzyskany stopień jego usunięcia - jedynie 40%. W obecności MCAA stopień biodegradacji DCAA wynosił 50%, a DBAA jedynie 42%, czyli niewiele więcej niż TCAA. W drugiej serii badań (rys. 8) obniżenie stężenia kwasu towarzyszącego w nadawie do $0,75 \text{ mg/dm}^3$ nie wpłynęło drastycznie na zmiany stopnia usunięcia MCAA w porównaniu z serią pierwszą. Zmniejszenie stężenia kwasu monobromooctowego spowodowało wzrost stopnia biodegradacji MCAA z 54% (uzyskanego w serii I)

do 56%. Obniżenie stopnia usunięcia MCAA o 1% (z 58 do 57%) nastąpiło po zmniejszeniu stężenia kwasu trichlorooctowego z jednoczesnym wzrostem stopnia biodegradacji TCAA z 40% do 49,3%. Zmiana stężenia kwasów towarzyszących znajdujących się w nadawie wpłynęła na zwiększenie stopnia usunięcia MBAA do 57,3%, DCAA do 55,3% oraz DBAA do 49,3%. Kolejne obniżenie stężenia kwasów towarzyszących do 0,5 mg/dm³ w nadawie podczas III serii badań (rys. 9) nie wpłynęło na zmianę stopnia usunięcia MCAA. Pozostał on na stałym poziomie 57-58%. Zaobserwowano natomiast wzrost wartości stopni biodegradacji wszystkich kwasów towarzyszących. W przypadku MBAA wynosił on 58%, DCAA – 54%, TCAA – 52% i DBAA – 50%. Znacznie zmniejszyła się różnica pomiędzy uzyskanymi wartościami stopni biodegradacji poszczególnych kwasów w porównaniu z serią I i II.



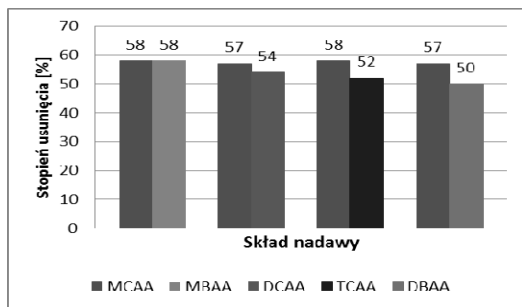
Rys. 7. Zależność stopnia usunięcia kwasu monochlorooctowego od składu nadawy w I serii badań

Fig. 7. The dependence of the monochloroacetic acid removal rate on the feed composition in the first series of examinations



Rys. 8. Zależność stopnia usunięcia kwasu monochlorooctowego od składu nadawy w II serii badań

Fig. 8. The dependence of the monochloroacetic acid removal rate on the feed composition in the second series of examinations



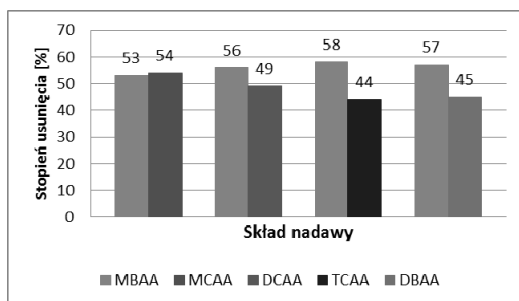
Rys. 9. Zależność stopnia usunięcia kwasu monochlorooctowego od składu nadawy w III serii badań

Fig. 9. The dependence of the trichloroacetic acid removal rate on the feed composition in the third series of examinations

Na rysunkach 10 – 12 przedstawiono, jaki wpływ na stopień usunięcia kwasu monobromooctowego ma obecność i stężenie w nadawie MCAA, DCAA, TCAA oraz DBAA. Widać wyraźnie, że w pierwszej serii badań, MBAA we wszystkich kombinacjach usuwany jest najefektywniej – za wyjątkiem przypadku, kiedy występował on w parze z MCAA. Wtedy stopień usunięcia MBAA wynosił 53%, a MCAA 54%. Najwięcej kwasu monobromooctowego (58%) usunięto, kiedy występował on w nadawie, w parze z kwasem trichlorooctowym TCAA, którego stopień biodegradacji wynosił wtedy zaledwie 44%. Podobne rezultaty uzyskano w pozostałych badaniach tej serii. MBAA był usuwany w 56 – 58%, natomiast DBAA w 45% a DCAA w 49%. Wyraźnie uwidocznił się w tej serii dominujący wpływ MBAA i MCAA o dostęp do miejsca aktywnego enzymów oraz ich inhibujący charakter. Zmniejszenie stężenia kwasu monochlorooctowego do $0,75 \text{ mg/dm}^3$ znajdującego się w nadawie razem z MBAA w drugiej serii (rysunek 11), spowodowało wzrost stopnia usunięcia tego pierwszego o 9,43% w stosunku do serii I). W pozostałych przypadkach widać wyraźny wzrost stopni biodegradacji pozostałych kwasów towarzyszących do ok. 50%. Kolejne obniżenie stężenia kwasów towarzyszących MBAA w nadawach w III serii badań (rysunek 12), spowodowało wzrost stopnia usunięcia kwasu monobromooctowego o 1 - 2% oraz wzrost stopni biodegradacji wszystkich pozostałych kwasów. Kwas dichlorooctowy usunięto w 56% (wzrost o 10,5% w porównaniu do serii 2 i o 14,3% w porównaniu z serią I). Uzyskany stopień biodegradacji kwasów trichlorooctowego i dibromooctowego był jednakowy – 52%. Porównując tą wartość z uzyskanymi w I i II serii badań stwierdzono wzrost ich B_d odpowiednio o 18,2% i 5,5%.

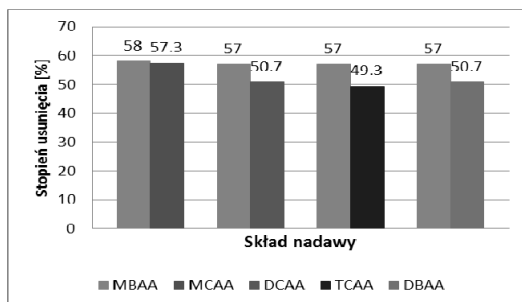
Rysunki 13 – 15 przedstawiają, jaki wpływ na stopień biodegradacji kwasu dichlorooctowego miała obecność oraz stężenie w nadawie MCAA, MBAA, TCAA i DBAA, jako kwasów towarzyszących. Rys. 13 obrazuje pierwszą serię badań. Po godzinie prowadzenia procesu biodegradacji, stopień usunięcia DCAA wynosił 52%, w przypadku, kiedy towarzyszyły mu DBAA i TCAA oraz 49%, kiedy znajdował się w kombinacji z MCAA i MBAA. W najwyższym stopniu (56% i 57%) usunięto kwasy monochlorooctowy i monobromooctowy, w najniższym: dibromooctowy (44%) oraz trichlorooctowy (44%). Wyniki uwidoczniły, że w stosunku do DBAA i TCAA kwas dichlorooctowy

działa jak inhibitor i jako pierwszy ulega biodegradacji. Natomiast w stosunku do DCAA kwasy monobromoocetowy i monochloroocetowy są inhibitorami i to one wygrywają „walkę” o dostęp do centrum aktywnego enzymów. Rys. 14 przedstawia wyniki uzyskane w drugiej serii badań, kiedy stężenie kwasów towarzyszących obniżono do 0,75 mg/dm³. Widać, że nadal w pierwszej kolejności usuwane są MBAA i MCAA, następnie DCAA i najsłabiej TCAA z DBAA. Można również zauważyć, że obniżenie stężenia inhibitorów poprawia efekt biodegradacji pozostałych kwasów. Zmniejszenie stężenia MCAA i MBAA spowodowało, że stopień biodegradacji DCAA wzrósł do 52% (o 6,1% w stosunku do serii I), a efektywność procesu w stosunku do MCAA i MBAA wynosiła 55 – 56% (nieco mniej niż w serii I). W trzeciej serii badań nad wpływem obecności kwasów towarzyszących na stopień biodegradacji kwasu dichloroocetowego (rys. 15), kiedy stężenie „towarzystwa” obniżono do 0,5 mg/dm³ jeszcze bardziej uwidoczniły się inhibitory MCAA i MBAA. Ich stopień biodegradacji nie zmienił się (56%), natomiast jeszcze bardziej wzrósł stopień biodegradacji DCAA – do 56% (o 5,8% w stosunku do serii II i 12,2 % w stosunku do serii I) oraz usuwanie DCAA zachodziło już w takim samym stopniu jak obu tych kwasów towarzyszących. W III serii badań wzrosła również efektywność usuwania kwasu trichloroocetowego i dibromoocetowego (5,47% TCAA i 12,5% DBAA) w stosunku do II serii.



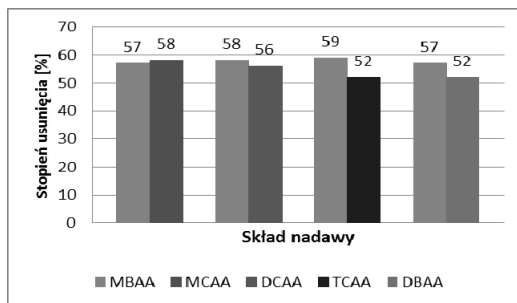
Rys. 10. Zależność stopnia usunięcia kwasu monobromoocetowego od składu nadawy w I serii badań

Fig. 10. The dependence of the monobromoacetic acid removal rate on the feed composition in the first series of examinations



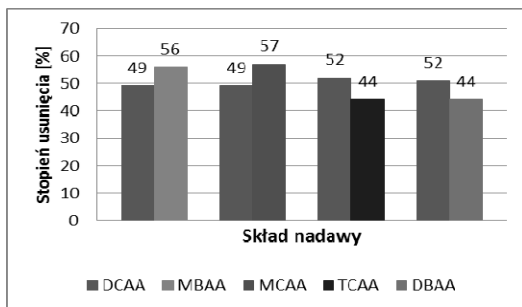
Rys. 11. Zależność stopnia usunięcia kwasu monobromooctowego od składu nadawy w II serii badań

Fig. 11. The dependence of the monobromoacetic acid removal rate on the feed composition in the second series of examinations



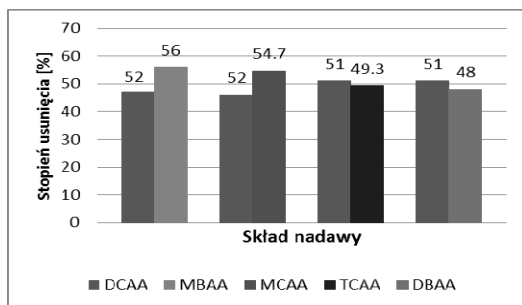
Rys. 12. Zależność stopnia usunięcia kwasu monochloroaceticznego od składu nadawy w III serii badań

Fig. 12. The dependence of the monochloroacetic acid removal rate on the feed composition in the third series of examinations



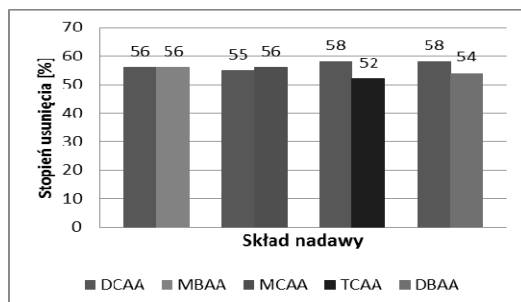
Rys. 13. Zależność stopnia usunięcia kwasu dichlorooctowego od składu nadawy w I serii badań

Fig. 13. The dependence of the dichloroacetic acid removal rate on the feed composition in the first series of examinations



Rys. 14. Zależność stopnia usunięcia kwasu dichlorooctowego od składu nadawy w II serii badań

Fig. 14. The dependence of the dichloroacetic acid removal rate on the feed composition in the second series of examinations



Rys. 15. Zależność stopnia usunięcia kwasu dichlorooctowego od składu nadawy w III serii badań

Fig. 15. The dependence of the dichloroacetic acid removal rate on the feed composition in the third series of examinations

6. Podsumowanie

Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie, że w przypadku biodegradacji mieszaniny pięciu kwasów halogenooctowych z wody (MCAA, DCAA, TCAA, MBAA i DBAA) trzy z nich, współzawodnicząc o miejsce aktywne biokatalizatora zachowują się jak inhibitory kompetycyjne. Kwasy monochlorooctowy i monobromooctowy są inhibitorami wobec trzech pozostałych, przy czym ich inhibicja w stosunku do DCAA jest słabsza niż wobec TCAA i DBAA. Kwas dichlorooctowy okazał się inhibitorem dla TCAA i DBAA. Prawidłowość ta, zachodzi zarówno w przypadku zastosowania do biodegradacji HAA enzymów natywnych (w stanie wolnym), jak i zaimobilizowanych (unieruchomionych) na membranie ultrafiltracyjnej.

Bibliografia

- [1] Batterman S., Zhang L., Wang S. Quenching of chlorination disinfection by products formation in drinking water by hydrogen peroxide. *Water Research* 2009, 34 (5) 1652-1658
- [2] Roman M. Dezynfekcja wody w świetle wytycznych Światowej Organizacji Zdrowia dotyczących jakości wody do picia. *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 1999, 6 214-218
- [3] Nawrocki J. Uboczne produkty utleniania i dezynfekcji wody *Ochrona Środowiska* 2005, 27(4) 3-12
- [4] Dojlido J. Uboczne produkty dezynfekcji wody. Monografie - Polskie Zrzeszenie Inżynierów i Techników Sanitarnych. *Wodociągi i Kanalizacja* 2002, (9) 43-49

- [5] Zbieć E., Dojlido J. Uboczne produkty dezynfekcji wody. *Ochrona Środowiska* 1999, (3) 37-44.
- [6] Agents Classified by IARC Monographs, Volumes 1-105
- [7] Dojlido J.R., Zbieć E. Kwasy halogenooctowe w wodzie do picia. *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 1998, (5) 221-225
- [8] Kowalska M., Dudziak M., Bohdziewicz J., Usuwanie kwasów halogenooctowych w zintegrowanym procesie biodegradacja – ultrafiltracja z zastosowaniem enzymatycznych membran kapilarnych, *Ochrona Środowiska*, 2011, 33 (4) 49–51
- [9] Kucharski M., Koprowicz D. Chloroacetic acids in drinking water as ozonation and disinfection chlorine by-products. *Polish Journal of Environmental Studies* 2007, 16 (2A) 150-157
- [10] Liu Y.J., Zhanga A.N., Wanga X.C. Biodegradation of phenol by using free and immobilized cells of *Acinetobacter* sp. XA05 and *Sphingomonas* sp. FG03, *Biochemical Engineering Journal* 2009, (44) 187–192
- [11] Peters R.I.B., Erkelens C., Leer E.W.B., Glan L. The analysis of halogenated acetic acids in dutch drinking water. *Water Research* 2008, 25 (4) 473-477
- [12] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 20 kwietnia 2010 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, *Dziennik Ustaw*, nr 72
- [13] Symons. M. Treatment techniques for controlling trihalomethanes in drinking water, *Journal AWWA* 1975, 47 (67) 634–642
- [14] USEPA, Determination of haloacetic acids and dalapon in drinking water by liquid-liquid extraction, derivatization and gas chromatography with electron capture detection, Method 552.2, Rev.
- [15] Kowalska M., Dudziak M., Bohdziewicz J.: Usuwanie kwasów halogenooctowych w zintegrowanym procesie biodegradacja – ultrafiltracja z zastosowaniem enzymatycznych membran kapilarnych, *Ochrona Środowiska*, 33 (4), 2011, s.49 – 51.
- [16] Szewczyk K. W.: Bilansowanie i kinetyka procesów biochemicznych, Warszawa 2005, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej.
- [17] Szewczyk K. W.: Bilanse wzrostu drobnoustrojów, *Biotechnologia*, 57(2), 2002, 15-32
- [18] Cornish-Bowden A.: Fundamentals of enzyme kinetics, London 1995, Portland Press Ltd.

