

Julitta Gajewska*, Katarzyna Kubiak*

**ROLA BAKTERII CHOROBTWÓRCZYCH BYTUJĄCYCH W OSADZIE
CZYNNYM W USUWANIU FENOLU ZE ŚCIEKÓW
RAFINERYJNO-PETROCHEMICZNYCH**

**ROLE OF A PATHOGENIC BACTERIA PRESENT IN ACTIVATED
SLUDGE IN PHENOL REDUCTON PROCESSES FROM PETROLEUM
WASTEWATER**

Słowa kluczowe: ścieki petrochemiczne, osad czynny, fenol, mikroorganizmy chorobotwórcze.
Key words: petroleum wastewater, activated sludge, phenol, pathogenic microorganisms.

*In this work the capacity of pathogenic bacteria appearing in petroleum wastewater to tolerance and decomposition of its phenol compound, during work of activated sludge in bioreactor, with 90–100% efficiency were observed. The pathogenic *Pseudomonas stutzeri*, *Serratia plymuthica* and *Pasteurella pneumotropica/haemolytica* bacteria actively and effectively could tolerate and eliminate phenol from petroleum wastewater in the presence of high concentration of phenol (to 500 mg·l⁻¹).*

1. WPROWADZENIE

Mikroorganizmy wykorzystywane do biodegradacji ropopochodnych występują powszechnie w środowisku. Są izolowane z wody słodkiej, gleby, a także wody morskiej i wykazują zdolność degradacji węglowodorów [Atlas i Bartna 1973]. Mikrobiologiczna degradacja fenolu jest możliwa na czterech drogach rozpadu. Pierwsza z nich to utlenianie podstawnika metylowego benzenu do hydroksybenzoenu, kolejna to p-karboksylacja pierścieni aromatycznych do 4-hydroksy-2-metylobenzenu, trzecia droga to redukcja pierścieni prowadząca do powstania 3-metylo-2-cykloheksenu oraz hydroksylacja pierścieni do 3-mety-

* *Dr Julitta Gajewska, mgr Katarzyna Kubiak – Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, Wydział Rolnictwa i Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; tel.: 22 593 26 35; e-mail: gajewska3@wp.pl*

lokatecholu [Son Thi Thu i in. 1998]. Fenol jest związkiem powszechnie stosowanym w wielu gałęziach przemysłu. Jest on bardzo reaktywny i dlatego jest stosowany jako półprodukt do otrzymywania wielu związków organicznych. Fenol jest związkiem bardzo toksycznym i przedostając się do środowiska naturalnego stanowi poważne zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi oraz flory i fauny. Bakterie rozkładające fenol są zaliczane m.in. do rodzajów: *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. brevis*, *B. pumilis*); *Enterobacter* (*E. aerogenes*); *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Mycobacterium*, *Micrococcus* (*M. luteus*); *Pseudomonas* (*P. putida*) (Ojo 2006); *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Agrobacter*, *Xanthomonas* [Bieszkiewicz i in. 2002] oraz *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus* [Emtiazi i in. 2004].

Prawie wszystkie węglowodory mogą być rozkładane przez mikroorganizmy zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych, w stężeniach sięgających $330 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ dziennie [Błaszczuk 2002]. Na proces usuwania fenolu ze ścieków wpływa w znacznym stopniu temperatura, w jakiej zachodzi oczyszczanie; obniżenie temperatury do 13 i 20°C skutkowało 10- i 5-krotnym obniżeniem efektywności usuwania fenolu przez mikroorganizmy [Błaszczuk 1998].

2. CEL, MATERIAŁY I METODY BADAŃ

Celem pracy było zbadanie efektywności usuwania fenolu ze ścieków rafinerijno-petrochemicznych w temperaturze pokojowej (20°C), w warunkach laboratoryjnych, metodą osadu czynnego, oraz charakterystyka fizjologiczna i biochemiczna tolerancyjnych na fenol bakterii potencjalnie patogennych dla ludzi i zwierząt.

Doświadczenie polegało na zbadaniu wydajności oczyszczania ścieków rafinerijno-petrochemicznych (PKN ORLEN) metodą osadu czynnego, będącego kontynuacją wcześniejszych badań [Gajewska i Kubiak 2007; 2008]. Oczyszczanie prowadzone było w dwóch szklanych bioreaktorach (produkcji Zakładu Szklarskiego przy ul. Olimpijskiej w Warszawie), w systemie półciągłym. Doświadczenie podzielone zostało na dwie części:

- część chemiczną, obejmującą analizy przeprowadzane na ściekach dopływających oraz odpływie – ściekach oczyszczonych,
- oraz
- część mikrobiologiczną, obejmującą analizy przeprowadzane na samym osadzie czynnym, z zastosowaniem metody według Zaleskiej i Grabowskiej [2008].

Do badań otrzymano 35 l ścieków rafinerijno-petrochemicznych i 5 l osadu czynnego z PKN Orlen z Płocka, za zgodą Dyrekcji Wydziału Wodno-Ściekowego PKN Orlen.

Ścieki wymieniane były co 2 i 3 dni. Osad czynny nie podlegał wymianie. Został dodany w ilości 1 l osadu na 1 l ścieków, do bioreaktorów o pojemności 2,8 l. Regularnie przeprowadzano analizy chemiczne i mikrobiologiczne oczyszczonych ścieków oraz osadu czynnego. Oczyszczone ścieki były usuwane co 2 lub 3 dni, a na ich miejsce wprowadzano nowe ścieki, w rozcieńczeniu 3:1. Dodatkowo, w drugim bioreaktorze, w systemie półciągłym, spraw-

dzono zdolność adaptacyjną osadu czynnego do wzrastających stężeń fenolu w oczyszczanych ściekach.

Proces oczyszczania ścieków prowadzony był w szklanych bioreaktorach o wymiarach 40 cm x 20 cm, z których każdy składał się z komory napowietrzania, do której doprowadzane były ścieki rafineryjno-petrochemiczne oraz połączonego z komorą osadnika wtórnego. Ścieki w rozcieńczeniu 3:1 oczyszczane były w systemie półciągłym w reaktorze kontrolnym oraz z obciążonym nadmiernie fenolem. W komorze głównej bioreaktora, dzięki ciągłemu napowietrzaniu, ścieki ulegały mieszaniu z kłaczkami osadu czynnego, dzięki czemu zapewnione były odpowiednie warunki tlenowe oraz zapobiegało to opadaniu osadu na dno. W komorze, przy udziale mikroorganizmów tworzących osad czynny, zachodziły właściwe procesy oczyszczania wprowadzonych ścieków. W osadniku wtórnym natomiast ścieki oczyszczone oddzielane były od osadu czynnego na zasadzie jego sedymentacji.

Metody oznaczeń chemicznych. Oznaczenia zawartości fenolu w ściekach oczyszczonych (odpływ z bioreaktora) wykonywano w następujący sposób. Do cylindra Nesslera wprowadzano 10 cm³ ścieków. Cylinder uzupełniono wodą destylowaną do kreski, dodano 5 cm³ jednorodnego roztworu węglanu sodowego oraz 2 cm³ dwuazowanej p-nitroaniliny (0,69 g p-nitroaniliny rozpuszczono w 65 cm³ kwasu solnego (POCH) i dopełniono wodą destylowaną do 1 l. Roztwór dwuazowanej p-nitroaniliny przygotowano w następujący sposób. Do ok. 20 cm³ p-nitroaniliny dodano kroplami 2% azotynu sodowego, aż do zaniku żółtego zabarwienia. Intensywność zabarwienia oznaczono kolorymetrycznie po 5 minutach, przy długości fali 470 nm. Odczytany procent transmitancji z kolorymetru porównano z krzywą wzorcową. Na tej podstawie odczytano zawartość fenolu w ściekach oraz przeliczono na mg/l według wzoru:

$$\text{ilość fenolu} = (a \times 1000)/V,$$

gdzie: a – ilość fenolu odczytana z krzywej wzorcowej,

V – objętość w cm³ próby badanej.

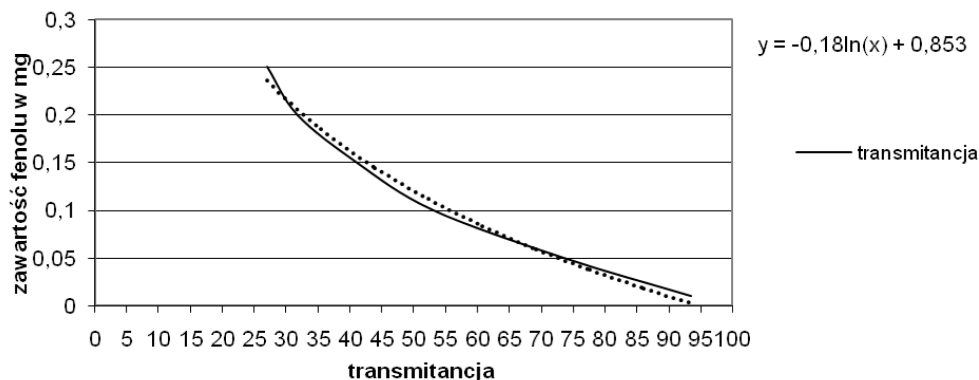
Na podstawie otrzymanych wyników obliczono stopień jego redukcji w procentach, a wyniki przedstawiono na rysunku 1.

Badania mikrobiologiczne osadu czynnego. Metody hodowli, izolacji oraz badań makro- i mikroskopowych mikroflory ścieku petrochemicznego oczyszczanego metodą osadu czynnego opisano w pracy Gajewskiej i Kubiak [2007; 2008]. W obecnej pracy przedstawiono profile biochemiczne, uzyskane na podstawie Api testów firmy bioMerieux, dla wybranych izolatów bakterii chorobotwórczych, identyfikowanych zgodnie z systematyką według Bergey's Manual of Systematic Bacteriology [2003].

3. WYNIKI BADAŃ I Dyskusja

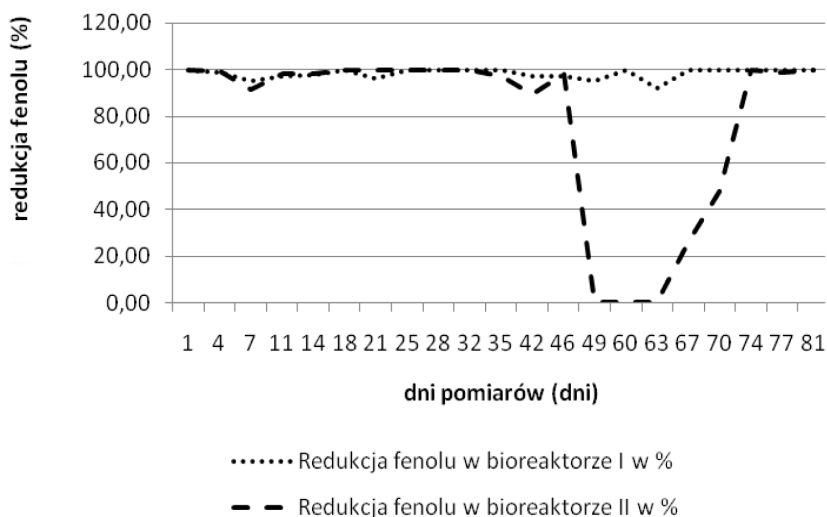
Mikroorganizmy występujące w osadzie czynnym ścieków rafineryjno-petrochemicznych charakteryzuje zdolność utylizacji fenolu, nawet w bardzo wysokich stężeniach [Bieszkiewicz i Fiutkowska 1991; Pakuła i in. 1998; Błaszczuk i in. 1998, Thu Thi Son i in. 1998].

W obecnej pracy pomiar zawartości fenolu w ściekach doprowadzanych i odprowadzanych z bioreaktora przeprowadzany był w celu obserwacji efektywności osadu czynnego w usuwaniu fenolu. Procent redukcji fenolu wyliczony został za pomocą sporządzonej krzywej wzorcowej (rys. 1).



Rys. 1. Krzywa wzorcowa transmitancji oraz procentowej zawartości fenolu w roztworach wzorcowych

Fig. 1. The transmittance standard and percentage of phenol contents lines in standard solutions



Rys. 2. Procentowa redukcja fenolu w ściekach rafinerijno-petrochemicznych, oczyszczanych przez osad czynny

Fig. 2. Percentage number of phenol reduction in petroleum wastewater purified by activated sludge

Na podstawie wyników pomiarów redukcji fenolu można wnioskować o efektywności pracy i kondycji osadu czynnego (rys. 2). Oczyszczanie ścieków w obu bioreaktorach przebiegało dość zróżnicowanie i na podstawie zebranych danych można tę część doświadczenia podzielić na dwa etapy.

W przeprowadzonym doświadczeniu początkowa zawartość fenolu w surowych ściekach, wynosząca 21,61 mg/l (rys. 2) wskazuje na małe obciążenie ścieków tym związkiem. Doświadczenie polegające na porównaniu wydajności utylizacji fenolu w dwóch bioreaktorach prowadzone było przez 81 dni. W komorze napowietrzania I proces oczyszczania zachodził w sposób niezakłócony przez cały okres trwania eksperymentu, w bioreaktorze drugim natomiast od 32 dnia doświadczenia podawany był fenol w wzrastających dawkach. Pozwoliło to zaobserwować tolerancję oraz możliwą zdolność rozkładu tego związku przez osad czynny w warunkach rosnącego stężenia fenolu. Wiadomo, że mikroorganizmy w osadzie czynnym mają zdolność przystosowywania się do fenolu w stężeniu rosnącym w podawanych ściekach [Thu Thi Son i in. 1998; Błaszczuk 1998].

Od samego początku doświadczenia redukcja fenolu zachodziła bardzo dobrze. W ciągu pierwszych 32 dni eksperymentu związek ten rozkładany był z dużą wydajnością: 95–100% (rys. 2), co świadczy o obecności w osadzie mikroorganizmów zdolnych do utylizacji związków organicznych. Maksymalną wydajność – 100% rozkładu fenolu – osiągnięto 18 dnia w obydwu bioreaktorach, najmniejszą – 91,39% – 7 dnia w bioreaktorze drugim oraz 95,33% także 7 dnia eksperymentu w bioreaktorze pierwszym (rys. 2).

Chwilowe zmniejszenie redukcji fenolu, prawdopodobnie spowodowane było spadkiem temperatury w laboratorium, co znacząco wpłynęło na pracę osadu czynnego. Obniżenie temperatury o 5°C spowodowało znaczne zmniejszenie efektywności redukcji fenolu, najmniejsze spośród otrzymanych wyników. Praca osadu uległa ustabilizowaniu i jednocześnie wykazywała najlepsze parametry w 25, 28 i 32 dniu w obydwu bioreaktorach, w drugim bioreaktorze utrzymywała się nadal.

Od 32 dnia trwania eksperymentu do komory napowietrzania drugiej ze ściekami surowymi podawano fenol (rys. 2), bioreaktor pierwszy pracował bez zmian, co pozwoliło na porównanie wydajności. Dawkowanie rozpoczęto od dawki fenolu 110 mg/l (32 dzień). Redukcja fenolu po pierwszym dociążeniu ścieków, mierzona po trzech dniach inkubacji, utrzymywała się niezmiennie na bardzo wysokim poziomie i wynosiła 97,24% (rys. 2). Według Bieszkiewicz i Fiutkowska [1991] wydajność usuwania fenolu w stężeniu 100 mg/l wynosiła 70% już po 24-godzinnej inkubacji. Błaszczuk i in. [1998] otrzymali zbliżone wyniki, testując działanie fenolu o wzrastających stężeniach. W omawianym doświadczeniu podanie kolejnej, większej dawki – 200 mg/l – spowodowało znaczne, zmniejszenie redukcji fenolu w ściekach o prawie 10% (rys. 2). Przy powtórnym podaniu takiej samej dawki 200 mg/l (35 dzień), efektywność usuwania zwiększyła się do 98,18% (rys. 2), co świadczy o adaptacji osadu czynnego do rosnących stężeń fenolu w ściekach. Podczas dalszego dociążania ścieków fenolem, do wartości 500 mg/l, zdolności adaptacyjnej nie obserwowano.

Biodegradacja fenolu zależy m.in. zarówno od stężenia fenolu dodawanego do ścieków, jak i czasu inkubacji [Pakuła i in. 1999]. Dla potwierdzenia braku adaptacji badanego osadu czynnego do stężeń powyżej 500 mg/l (46 dzień), dodano dwukrotnie fenol o stężeniu 600 mg/l (49 dzień i 60 dzień). Otrzymane wyniki wskazywały zerowy poziom redukcji fenolu. Dodatek tego związku o stężeniu 500 mg/l całkowicie hamował utylizację fenolu, co potwierdza tezę, że fenol w wysokim stężeniu podobnie jak wiele innych substancji toksycznych, powoduje zahamowanie podziału komórek i redukcję aktywności usuwania zanieczyszczeń oraz jest toksyczny dla organizmów, wykazujących wysoki stopień tolerancji na ten związek [Pakuła i in. 1999].

Zaprzestanie dociążania osadu czynnego substancjami trującymi spowodowało bardzo szybki powrót osadu do pracy, z wysoką wydajnością usuwania fenolu (rys. 2). Dane z ostatnich dni eksperymentu wskazują na wydajność bliską 100%, co świadczy o doskonałych zdolnościach osadu czynnego do odbudowywania swojej struktury i przywracania prawidłowych procesów po okresie zatrucia.

W bioreaktorze pierwszym natomiast przez cały okres trwania doświadczenia redukcja fenolu przebiegała niezakłócenie przez 81 dni hodowli. Redukcja (rys. 2) oscylowała w granicach 90–100%, co prawdopodobnie świadczyło o zdolnościach mikroorganizmów tworzących osad czynny do bioremediacji związków aromatycznych zawartych w ściekach ropopochodnych, ze skutecznością redukcji bliską 100%.

Charakterystyka wybranych izolatów bakterii. Hodowle bakterii izolowanych z osadu czynnego pobrano do oznaczenia profilu biochemicznych z użyciem testów API, co w wyniku pozwoliło na następującą identyfikację szczepów:

- *Pseudomonas stutzeri* (prawdopodobieństwo 92,7%, tab. 1),
- *Serratia plymuthica* (prawdopodobieństwo 88,85%),
- *Pasteurella pneumotropica/haemolytica* (prawdopodobieństwo 92,4%, tab. 2).

W odniesieniu do ostatniego szczepu, program komputerowy nie przedstawił jednoznacznego wyniku, biorąc natomiast pod uwagę zdolność badanych bakterii do wytwarzania β -hemolizy na agarze z odwłóknioną krwią baranią stwierdzono, że szczep ten można zidentyfikować jako *Pasteurella haemolytica* (obecnie *Mannheimia haemolytica*).

Tabela 1. Charakterystyka biochemiczna bakterii *Pseudomonas stutzeri* izolowanych z osadu czynnego ścieków rafinerijno-petrochemicznych przy użyciu testu API 20 NE

Table 1. Biochemical characteristics of *Pseudomonas stutzeri* bacteria isolated from activated sludge of petroleum wastewater by API 20 NE test

Test	Substrat	Reakcja/enzym	Wynik
			<i>Pseudomonas stutzeri</i>
NO ₃	azotan sodu	redukcja azotanów do azotynów	dodatni
TRP	L-tryptofan	wytwarzanie indolu	ujemny
GLU	D-glukoza	fermentacja	ujemny
ADH	L-arginina	dihydrolaza argininy	ujemny
URE	mocznik	ureaza	ujemny

c.d. tab. 1. na str. 328

c.d. tab. 1

ESC	eskulina cytrynian żelaza	hydroliza	ujemny
GEL	żelatyna (wołowa)	hydroliza	dodatni
PNPG	4-nitrofenylo- β Dgalaktopiranozyd	β -galaktozydaza	ujemny
GLU	D-glukoza	asymilacja	dodatni
ARA	L-arabinoza	asymilacja	dodatni
MNE	D-mannoza	asymilacja	dodatni
MAN	D-mannitol	asymilacja	dodatni
NAG	N-acetylo-glukozamina	asymilacja	ujemny
MAL	D-maltoza	asymilacja	dodatni
GNT	glukonian potasu	asymilacja	dodatni
CAP	kwas dekanowy	asymilacja	dodatni
ADI	kwas adypinowy	asymilacja	ujemny
MLT	kwas jabłkowy	asymilacja	dodatni
CIT	cytrynian trisodowy	asymilacja	dodatni
PAC	kwas fenylooctowy	asymilacja	ujemny
OX	–	oksydaza cytochromowa	dodatni

Tabela 2. Charakterystyka biochemiczna bakterii izolowanych z osadu czynnego ścieków rafinerijno-petrochemicznych przy użyciu testu API 20 E

Table 2. Biochemical characteristics of bacteria isolated from activated sludge of petroleum wastewater by API 20 E test

Test	Substrat	Reakcja/enzym	Wynik	
			<i>Pasteurella pneumotropica/haemolytica</i>	<i>Serratia plymuthica</i>
ONPG	2-nitrofenylo- β Dgalaktopiranozyd	β -galaktozydaza	dodatni	dodatni
ADH	L-arginina	dihydrolaza argininy	ujemny	ujemny
LDC	L-lizyna	dekarboksylaza lizyny	ujemny	ujemny
ODC	L-ornityna	dekarboksylaza ornityny	ujemny	ujemny
CIT	cytrynian trisodowy	wykorzystanie cytrynianu	ujemny	ujemny
H ₂ S	tiosiarczan sodowy	wytwarzanie H ₂ S	ujemny	ujemny
URE	mocznik	ureaza	ujemny	ujemny
TDA	L-tryptofan	dezamidaza tryptofanu	ujemny	ujemny
IND	L-tryptofan	wytwarzanie indolu	ujemny	ujemny
VP	pirogrońian sodu	wytwarzanie acetoiny	ujemny	ujemny
GEL	żelatyna	żelatynaza	ujemny	dodatni
GLU	D-glukoza	fermentacja/utlenianie	dodatni	dodatni
MAN	D-mannitol	fermentacja/utlenianie	ujemny	dodatni
INO	inozytol	fermentacja/utlenianie	ujemny	dodatni
SOR	D-sorbitol	fermentacja/utlenianie	ujemny	ujemny
RHA	L-ramnoza	fermentacja/utlenianie	ujemny	ujemny
SAC	D-sacharoza	fermentacja/utlenianie	ujemny	dodatni
MEL	D-melibioza	fermentacja/utlenianie	ujemny	ujemny
AMY	amigdalina	fermentacja/utlenianie	ujemny	dodatni
ARA	L-arabinoza	fermentacja/utlenianie	ujemny	dodatni

W osadzie czynnym ścieków rafineryjno-petrochemicznych zidentyfikowano oprócz bakterii tzw. środowiskowych, także bakterie potencjalnie patogenne dla ludzi i zwierząt [Gajewska i Kubiak 2007; 2008]. Bakterie *Serratia plymuthica* powodują choroby płuc, m.in. sepsę; izolowane były u ludzi z krwi oraz cewki moczowej [Horovitz i in. 1987]; należą do bakterii oportunistycznych, wywołujących choroby u ludzi i zwierząt [Vivas i in. 2000]. Zakażenie bakteriami *Pasteurella pneumotropica* powoduje letalne zapalenie płuc u myszy, szczurów, świnek morskich i chomików. Ludzie rzadko chorują, a narażone na zachorowanie są osoby o znacznie obniżonej odporności, np. po chemioterapii [Rogers i in. 1973]. *Pasteurella haemolytica* jest komensalem górnych dróg oddechowych bydła, kóz oraz innych zwierząt. Bakterie te izolowane były od osobników chorych na ostre zapalenie płuc, tzw. gorączkę owczą [Seleim 2005; Steven i in. 1995] oraz z przypadków innych chorób układu oddechowego [Urban-Chmiel 2000]. Bakterie *Pseudomonas stutzerii* odnajdywane były w próbkach klinicznych u pacjentów leczonych na sepsę wywołaną przez dwoinki zapalenia płuc [Potveliege i in. 1987]. Choć następuje znaczna redukcja toksycznego fenolu w ściekach petrochemicznych dzięki mikroorganizmom [Buck 1999], to należy pamiętać o zagrożeniach dla środowiska właśnie ze względu na obecność tych tolerancyjnych, opornych na fenol, bakterii chorobotwórczych i przeprowadzać skuteczną utylizację ścieków.

4. WNIOSKI

1. Oczyszczanie ścieków rafineryjno-petrochemicznych metodą osadu czynnego osiąga bardzo wysoką wydajność redukcji fenolu (100%).
2. Osad czynny stanowi biocenozę, której składniki współdziałają ze sobą, a zakłócenie działania któregośkolwiek z nich wpływa na efektywność pracy całego osadu czynnego.
3. Wyizolowane bakterie potencjalnie patogenne: *Pasteurella haemolytica* (obecnie *Mannheimia haemolytica*), *Serratia plymuthica* oraz *Pseudomonas stutzeri* były w osadzie czynnym zdolne do tolerowania i adaptowania się do obecności substancji toksycznych w ściekach.
4. Wzrost stężenia fenolu do 500 mg/l fenolu wpływa na stopniowe zmniejszenie efektywności degradacji zanieczyszczeń oraz na zmiany jakościowe w składzie mikroflory osadu czynnego, zakłócając pracę osadu. Koncentracja fenolu sięgająca 600 mg/l powoduje ostatecznie zatrucie osadu czynnego i zmniejszenie o 40% efektywności usuwania zanieczyszczeń.
5. Efektywność biodegradowania substancji ropopochodnych bakterii z rodzaju m.in. *Pseudomonas*, *Serratia* i *Pasteurella* zależy od wcześniejszego kontaktu i zaadaptowania się mikroorganizmów do danej substancji chemicznej w ściekach.
6. Pomimo zredukowanego poziomu fenolu w ściekach rafineryjno-petrochemicznych pozostają w nim nadal drobnoustroje chorobotwórcze, dlatego ścieki stanowią zagrożenie biologiczne i wymagają dalszego oczyszczania.

PIŚMIENNICTWO

- ATLAS R.M., BARTHA R. 1973. Abundance, distribution and oil biodegradation potential of microorganisms in Raritan Bay. *Environ. Pollution* 4: 291–300.
- BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY. 2003. Vol. One : The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria. Editor-in-chief: Garrity G.M., Boone D.R., Castenholz R.W. Ed. Springer Verlag, Berlin.
- BIESZKIEWICZ E., FIUTKOWSKA L. 1991. The effect of aromatic compounds on the work of activated sludge. *Acta Microbiol. Pol.* 40 (3–4): 177–185.
- BIESZKIEWICZ E., BOSZCZYK-MALESZAK H., WŁODARCZYK A., HOROCH M. 2002. Studies of the Effect of Inoculation of Activated Sludge with Bacteria Actively Degrading Hydrocarbons on the Biodegradation of Petroleum Products. *Acta Microbiol. Pol.* 51(3): 285–292.
- BŁASZCZYK M., PRZYTOCKA-JUSIAK M., SUSZEK A., MIELCAREK A. 1998. Microbial Degradation of Phenol in Denitrifying Conditions. *Acta Microbiol. Pol.* 47: 1: 56–75.
- BŁASZCZYK M., PRZYTOCKA-JUSIAK M., SUSZEK A., MIELCAREK A. 2002. Phenol removal in packed bed reactor under denitrifying conditions. *Acta Microbiol. Pol.* 51(1): 39–45.
- BUCK H. 1999. Osad czynny. W: *Mikroorganizmy w osadzie czynnym*. Seidel-Przywecki, Szczecin: 7–9.
- COLEMAN W.E., MUNCH J.W., STREICHER R.P., RINGHAND H.P., KNOPFLER F.C. 1984. The identification and measurement of components in gasoline, kerosene, and No. 2 fuel oil that partition into the aqueous phase after mixing. *Archiv. Environ. Contamination and Toxicology* 13: 171–178.
- EMTIAZI G., SHAKARAMI H., NAHVI I., MIRAMADIAN S.H. 2004. Utilization of petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas* sp. and transformed *Escherichia coli*. *African J. Biotechnol.* 4: 172–176.
- GAJEWSKA J., KUBIAK K. 2007. Oczyszczanie ścieków rafineryjno-petrochemicznych metodą osadu czynnego – charakterystyka mikroflory bakteryjnej. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 32: 229–233.
- GAJEWSKA J., KUBIAK K. 2008. Efektywność osadu czynnego w usuwaniu fenolu ze ścieków petrochemicznych. *Ekologia i technika* 16(5): 215–218.
- HOROWITZ H.W., NADELMAN R.B., VAN HORN K.G., WEEKES S.E., GOZBURU L., WORMSER G. P. 1987. *Serratia plymuthica* Sepsis Associated with Infection of Central Venous Catheter. *J. Clin. Microbiol.* 8: 1562–1563.
- OJO O.A. 2006. Petroleum-hydrocarbon utilization by native bacterial population from a wastewater canal Southwest Nigeria. *African J. Biotechnol.* 5 (4): 333–337.
- PAKUŁA A., BIESZKIEWICZ E., BOSZCZYK-MALESZAK H., MYCIELSKI R. 1999. Biodegradation of Phenol by Bacterial Strains from Petroleum-Refining Wastewater Purification Plant. *Acta Microbiol. Pol.* 48 (4): 373–380.

- POTVELIEGE C., JONCKHEER J., LENCLUD C., HANSEN W. 1987. *Pseudomonas stutzeri* Pneumonia and Septicemia in a Patient with Multiple Myeloma. J. Clin. Microbiol. 2: 458–459.
- ROGERS B.T., ANDERSON J.C., PALMER A.C., HENDERSON W.G. 1973. Septicaemia due to *Pasteurella pneumotropica*. J. Clinical Pathol. 26: 396–398.
- SELEIM R.S. 2005. Major pathogenic components of *Pasteurella multocida* and Mannheimia (*Pasteurella*) *haemolytica* isolated from animal origin. <http://www.priory.com/vet/pasteurella.htm>
- SON THI THU T., BŁASZCZYK M., PRZYTOCKA-JUSIAK M., MYCIELSKI R. 1998. Phenol-degrading denitrifying bacteria in wastewater sediments. Acta Microbiol. Pol. 47(1): 65–75.
- STEVEN F. P., CHIDAMBARAM M., ILLYES E.F., FROSHAUER S., WEINSTOCK G.M., REESE C. P. 1995. Antigenic and Virulence Properties of *Pasteurella haemolytica* Leukotoxin Mutants. Infection and Immunity 3:1033–1039.
- URBAN-CHMIEL R. 2000. Udział *Pasteurella haemolytica* w chorobach układu oddechowego cieląt oraz ocen wykorzystania leukotoksyny w immunoprofilaktyce syndromu oddechowego. Rozprawa doktorska. Biblioteka Główna AR w Lublinie: 10–15.
- VIVAS J., GONZALES J.A., BARBEYTO L., RODRIGUEZ L.A. 2000. Identification of Environmental *Serratia plymuthica* Strains with the New Combo Panels Type 1s. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. On-line 95 (2): 227–229.
- ZALESKAA., GRABOWSKA E. 2008. Podstawy technologii chemicznej . Nowoczesne procesy utleniania i redukcji – ozonowanie, utlenianie fotokatalityczne, reakcja Fentona – instrukcja do ćwiczeń laboratoryjnych. Wyd. Gdańsk.