

## BIODEGRADACJA BENZENU, TOLUENU, KSYLENÓW (BTX-ów) W WARUNKACH TLENOWYCH

ALICJA MACHNICKA, JAN SUSCHKA

Politechnika Łódzka, Filia w Bielsku-Białej, Zakład Gospodarki i Ochrony Wód,  
ul. Willowa 2, 43-309 Bielsko-Biała

Keywords: BTX, biodegradation, selection of bacteria.

### BIODEGRADATION OF BENZENE, TOLUENE AND XYLENES (BTX) IN AEROBIC CONDITIONS

Investigations showing the possibility of BTX biodegradation present in the water environment under aerobic conditions have been presented. The effects of transformation of benzene, toluene, o-xylene and p-xylene by indigenous to sewage microorganisms as well as by isolated species of bacteria like *Aeromonas sobria*, *Bacillus steareothermophilus*, *Enterobacter sakazaki*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus lentus* and the mixture of these species varied distinctively. The results and calculated degradation rates have been compared to some results given by other authors. In aerobic conditions all investigated aromates have shown to be biodegradable. The highest rate of degradation was found for indigenous to municipal sewage microorganisms.

#### Streszczenie

W pracy zaprezentowano wyniki badań dotyczące możliwości biodegradacji BTX-ów w środowisku wodnym, w warunkach tlenowych. Przedstawiono rezultaty przemian – benzenu, toluenu, o-ksylenu i p-ksylenu – dokonywanych przez bakterie kultur niezdefiniowanych, gatunki wyizolowane i populację składającą się z mieszaniny wyizolowanych gatunków *Aeromonas sobria*, *Bacillus steareothermophilus*, *Enterobacter sakazaki*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus lentus*. Przedyskutowano wyliczone wartości stałych szybkości reakcji rozkładu aromatów i porównano z wynikami innych autorów. Wysokie tempo biodegradacji charakterystyczne było dla mikroorganizmów występujących w ściekach komunalnych.

#### WPROWADZENIE

Rosnące zainteresowanie BTX-ami (BTX – Benzene, Toluene, Xylene) wynika przede wszystkim z ich ujemnego oddziaływania na jakość zasobów wodnych, szkodliwego wpływu na ekosystemy wodne oraz powodowanego tym potencjalnego zagrożenia dla człowieka, jako głównego użytkownika wód.

Środowisko wodne często bowiem ulega zanieczyszczeniu lotnymi węglowodorami aromatycznymi, pochodzącymi ze źródeł naturalnych i antropogenicznych. Również ścieki komunalne i przemysłowe są źródłem benzenu, toluenu i ksylenów, ponieważ w procesach oczyszczania ścieków jedynie część z BTX-ów uwolniona zostaje do atmosfery, część z nich ulega biodegradacji (15–90%) lub adsorpcji. Część pozostała w ściekach oczyszczanych może być dość znaczna, co w konsekwencji powoduje zanieczyszczenie odbiornika. Spośród 129 substancji uznanych przez Amerykańską Agencję Ochrony Środowiska (US EPA) za podstawowe zanieczyszczenia wód, 31 to lotne związki organiczne, w tym węglowodory aromatyczne. Większość z tych substancji znajduje się także na liście szczególnych zanieczyszczeń, przedstawionej przez Unię Europejską. Doniesienia z ostatnich lat [12] wskazują, że BTX-y uwalniane są do atmosfery także w czasie transportu ścieków, co powoduje, że negatywnie wpływają na jakość składu chemicznego troposfery, a prawdopodobnie także stratosfery (biorą udział w tworzeniu utleniaczy fotochemicznych) [7]. Ze względu na możliwość przemieszczania się na bardzo duże odległości, substancje te mają znaczenie zarówno lokalne, jak i transgraniczne.

Oprócz ujemnego wpływu na atmosferę, w istotnym stopniu decydują o toksyczności ekosystemów wodnych i glebowych, gdyż mają zdolność adsorpcji na cząstkach stałych, przez co ich stężenie w osadach i glebach może być większe niż w środowisku wodnym, z uwagi jednak na stosunkowo dobrą rozpuszczalność w wodzie niektórych z nich – w tym benzenu, toluenu i ksylenów – mogą one migrować do wód podziemnych i przedostawać się do ujęć wody pitnej.

Związki typu BTX, oprócz silnych własności toksycznych, wykazują także oddziaływanie kancerogenne i mutagenne, przez co stają się istotnym zagrożeniem dla ekosystemów i człowieka [6, 9, 13].

Zagadnieniem o dużym znaczeniu praktycznym jest możliwość biologicznej degradacji BTX-ów, zarówno w warunkach tlenowych, jak i anoksydacyjnych (przemiany BTX-ów w warunkach anoksydacyjnych przedstawiono w innej publikacji). Procesy degradacji węglowodorów aromatycznych zachodzą przy udziale właściwych gatunków bakterii występujących w środowisku przyrodniczym. Warunki tlenowe pozwalają na szybką – częściową lub całkowitą – mineralizację węglowodorów. Szlaki kataboliczne węglowodorów aromatycznych typu BTX prowadzone przez aeroby znacznie różnią się zachodzącymi reakcjami chemicznymi i powstającymi produktami [1, 2, 3, 8, 10, 11]. Związki te są następnie włączane do szlaków metabolicznych, stając się źródłem węgla i energii.

## MATERIAŁ I METODA BADAŃ

Trzy próby, o niezdefiniowanych kulturach bakteryjnych i o objętości 500 cm<sup>3</sup> każda, zawierały jedną część osadu surowego i trzy części ścieków po oczyszczeniu biologicznym. Każdą z trzech prób zaszczepiono: benzenem

w stężeniu  $1000 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ , toluenem w stężeniu  $500 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ , p-ksylenem w stężeniu  $500 \mu\text{g}/\text{dm}^3$  i o-ksylenem w stężeniu  $500 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ . Ze względu na to, że benzen występuje w ściekach w największych stężeniach spośród BTX-ów oraz chcąc mieć wyobrażenie o możliwości rozkładu użytych substratów – benzenu, toluenu, p- i o-ksylenu – zastosowano różne stężenia wybranych aromatów (odnosi się to przede wszystkim do wpływu stężenia na ewentualną szybkość rozkładu). Jako rozpuszczalnik dla aromatów zastosowano alkohol metylowy.

Procesy przemian BTX-ów w warunkach tlenowych prowadzono w erlenmajerkach w temperaturze pokojowej. W celu sprawdzenia, czy w próbach zachodzi powstawanie (synteza) aromatów, dla eksperymentu nastawiono próbę kontrolną. Zawierała ona osad surowy i ścieki po oczyszczaniu osadem czynnym w stosunku 1:4, bez dodatku aromatów. Inkubacja próby kontrolnej przebiegała w warunkach podanych powyżej.

Trzydzieści trzy próby, każda o objętości  $500 \text{ cm}^3$ , składające się z jednej części osadu surowego i z trzech części ścieków po oczyszczaniu biologicznym, poddano sterylizacji w autoklawie, w temperaturze  $112^\circ\text{C}$ , przy ciśnieniu  $150 \text{ kPa}$  w czasie 30 min. Po przeprowadzonym wyjaławianiu, każdą próbę testowano na skuteczność procesu sterylizacji, wykorzystując w tym celu agar wzbogacony.

Następnie próby szczepiono wyizolowanymi z badanych ścieków czystymi kulturami bakteryjnymi: *Aeromonas sobria*, *Bacillus steareothermophilus*, *Enterobacter sakazaki*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus lentus* oraz populacją będącą mieszaniną wymienionych gatunków bakterii. Hodowlę drobnoustrojów prowadzono w termostacie w temperaturze  $27^\circ\text{C}$ , na podłożu krwawym. Po okresie hodowlanym kolonie zmywano z pożywki roztworem soli fizjologicznej w ilości  $1 \text{ cm}^3$  i przenoszono do wysterylizowanych prób. Populację bakteryjną, będącą mieszaniną czystych kultur, otrzymano przez zmycie z podłoża każdego wyhodowanego gatunku (*A. sobria*, *B. steareothermophilus*, *E. sakazaki*, *P. aeruginosa*, *S. lentus*)  $1 \text{ cm}^3$  soli fizjologicznej i przeniesieniu zawiesiny bakteryjnej do sterylnej probówki. Po zmieszaniu zawiesin poszczególnych gatunków pobrano  $1 \text{ cm}^3$  kultury mieszanej bakterii i zaszczepiono nią próby. Przygotowany w ten sposób materiał pozostawiono na okres 9 dni w temperaturze pokojowej, celem namnożenia się drobnoustrojów. Po okresie inkubacji określono liczbę bakterii i oznaczono stężenie rozpuszczonego tlenu.

Następnie próby zaszczepiono aromatami: benzen w stężeniu  $1000 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ , toluen w stężeniu  $500 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ , p-ksylen w stężeniu  $500 \mu\text{g}/\text{dm}^3$  i o-ksylen w stężeniu  $500 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ . W celu sprawdzenia, czy zachodzą zmiany stężeń aromatów w próbach, dla eksperymentu wykonano próby kontrolne: I kontrola – zawierała ścieki zaszczepione czystą hodowlą jednego gatunku lub mieszaniną gatunków bakterii, II kontrola – zawierała wysterylizowane ścieki z dodanymi w wyżej wymienionych stężeniach BTX-ami (benzen, toluen, p- i o-ksylen).

Wszystkie próby badane w eksperymencie (również i te z kulturami niezdefiniowanymi), bezpośrednio po dodaniu aromatów, analizowano za po-

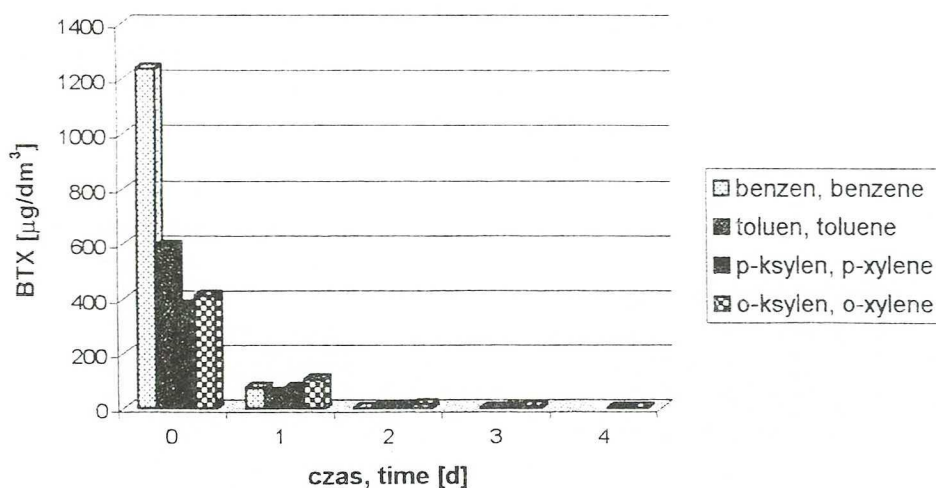
mocą chromatografii gazowej, celem stwierdzenia rzeczywistego stężenia BTX-ów w próbce. Następnie próby umieszczono w wytrząsarkach, w temperaturze pokojowej.

Do analizy zmian stężeń aromatów wykorzystano chromatograf gazowy Hewlett Packard HP 6890 series GC system, wyposażony w kolumnę kapilarną HP5 – 5% Phenyl Methyl Siloxane o długości 30 m i FID (Flame Ionization Detector). Gazem nośnym był azot ( $2,4 \text{ cm}^3/\text{min}$ ). Temperatura początkowa w przebiegu analizy wynosiła  $35^\circ\text{C}$  i wzrastała w tempie  $30^\circ\text{C}/\text{min}$  do temperatury  $200^\circ\text{C}$ . Całkowity czas oznaczenia wynosił 11,8 min.

Podczas prowadzenia badań wykonano metodą pośrednią hodowlaną oznaczenia zmiany liczby bakterii w  $1 \text{ cm}^3$  próby przed i po procesie przemian aromatów.

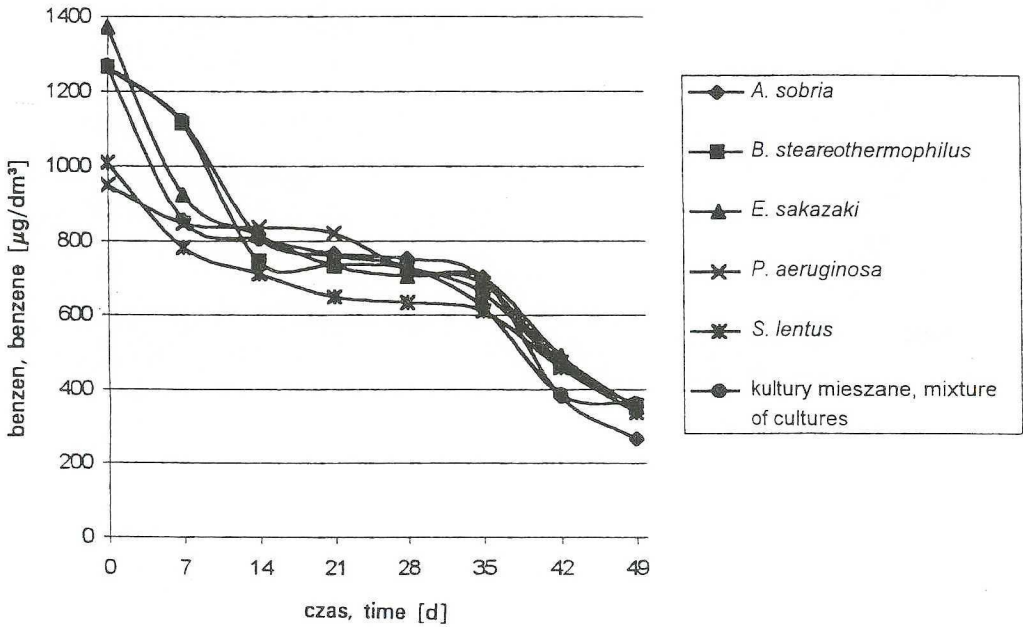
## WYNIKI

Badane populacje bakterii wykazywały aktywność w przemianach BTX-ów zachodzących w warunkach tlenowych. Szczególnie intensywną degradację aromatów przeprowadziły bakterie kultur niezdefiniowanych. Całkowity rozkład benzenu stwierdzono już w drugiej dobie, toluenu w trzeciej, a p- i o-ksylenu w czwartej dobie prowadzenia eksperymentu (Rys. 1).

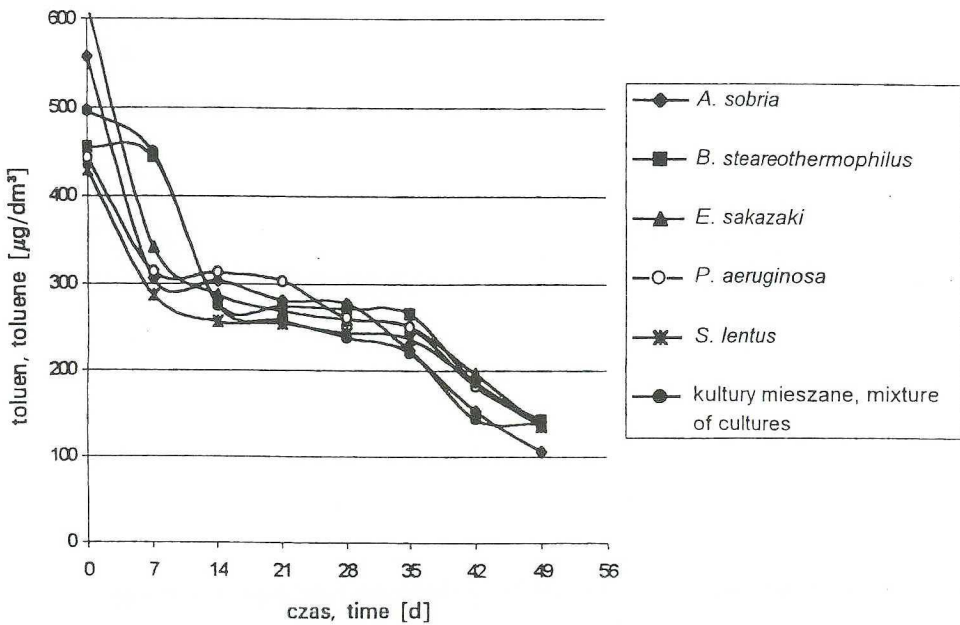


Rys. 1. Biodegradacja BTX-ów przez mikroorganizmy niezdefiniowane  
BTX biodegradation by non defined microorganisms

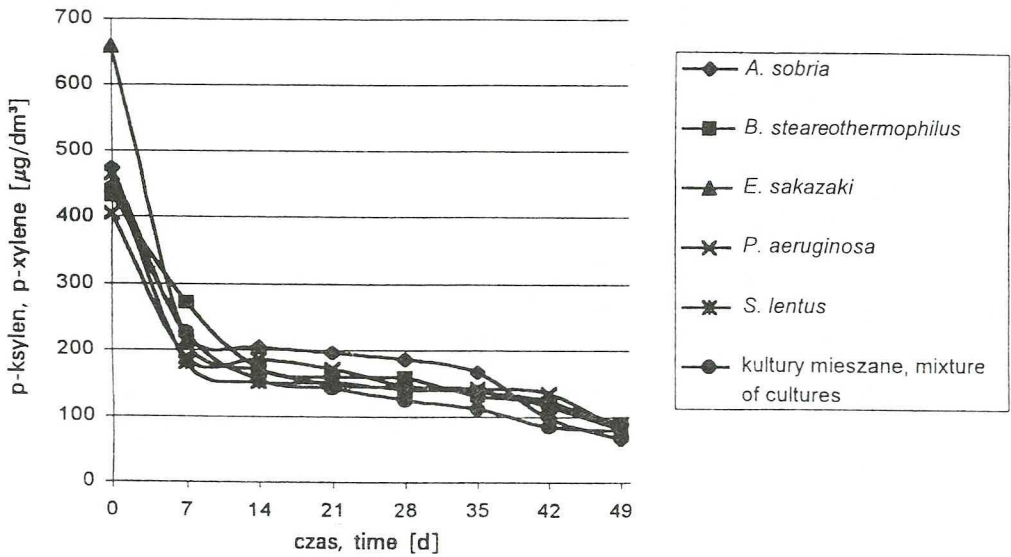
Wyizolowane gatunki *A. sobria*, *B. steareothermophilus*, *E. sakazaki*, *P. aeruginosa*, *S. lentus* oraz mieszanina wymienionych gatunków bakterii, również dokonywały biodegradacji BTX-ów w warunkach tlenowych. Jednakże charakteryzowały się różnicami w intensywności przemian w kolejnych dobach eksperymentu (Rys. 2–5).



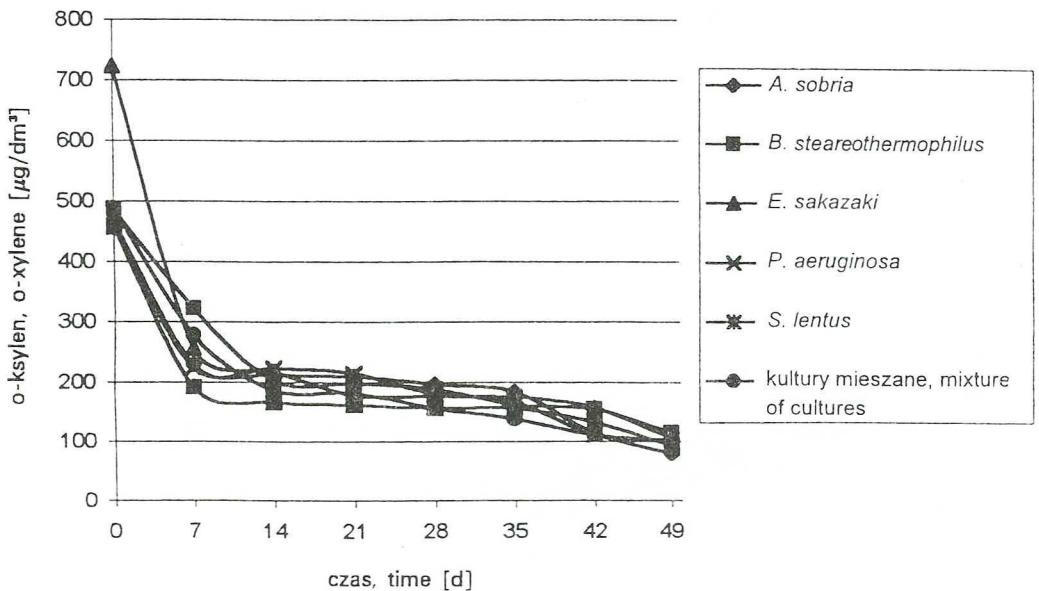
Rys. 2. Degradacja benzenu przez wyizolowane mikroorganizmy i ich mieszaninę  
Benzene biodegradation by selected microorganisms and their mixture



Rys. 3. Degradacja toluenu przez wyizolowane mikroorganizmy i ich mieszaninę  
Toluene biodegradation by selected microorganisms and their mixture



Rys. 4. Degradacja p-ksylenu przez wyizolowane mikroorganizmy i ich mieszaninę  
p-Xylene biodegradation by selected microorganisms and their mixture



Rys. 5. Degradacja o-ksylenu przez wyizolowane mikroorganizmy i ich mieszaninę  
o-Xylene biodegradation by selected microorganisms and their mixture

W przypadku benzenu i toluenu gwałtowny rozkład aromatów w pierwszych 7 dniach badań prowadziły *A. sobria*, *E. sakazaki*, *P. aeruginosa* i *S. lentus*. Natomiast *B. steareothermophilus* oraz populacja składająca się ze zmieszanych gatunków cechowała się w tym czasie tzw. lag fazą (Rys. 2 i 3). W przypadku p- i o-ksylenu nie zaobserwowano fazy adaptacji u badanych kultur

(Rys. 4 i 5). W przedziale czasowym od 7. do 35. doby rozkład BTX-ów przez badane kultury praktycznie był liniowy i mało znaczący (Rys. 2–5). Okres pomiędzy 35. a 49. dobą charakteryzował się intensyfikacją procesu biodegradacji aromatów (Rys. 2–5).

Liczba bakterii w 1 cm<sup>3</sup> uległa zmianie: dla kultur niezdefiniowanych z  $9 \cdot 10^8$  do  $8 \cdot 10^{13}$ , dla kultur mieszanych (*A. sobria*, *B. steareothermophilus*, *E. sakazaki*, *P. aeruginosa*, *S. lentus*) z  $1 \cdot 10^4$  do  $4 \cdot 10^7$ , dla populacji *A. sobria* z  $3 \cdot 10^4$  do  $2 \cdot 10^8$ , dla populacji *B. steareothermophilus* z  $7 \cdot 10^5$  do  $5 \cdot 10^7$ , dla populacji *E. sakazaki* z  $8 \cdot 10^4$  do  $7 \cdot 10^8$ , dla populacji *P. aeruginosa* z  $8 \cdot 10^5$  do  $3 \cdot 10^7$  i dla populacji *S. lentus* z  $7 \cdot 10^5$  do  $2 \cdot 10^7$ .

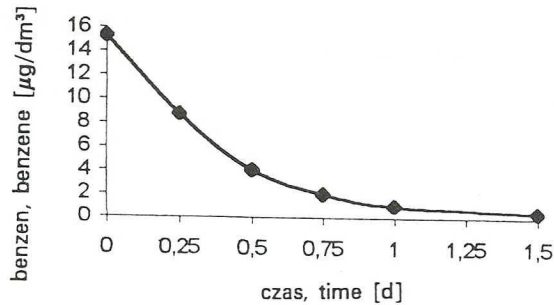
## DYSKUSJA WYNIKÓW

Analizując wyniki badań można stwierdzić, że w warunkach tlenowych populacje bakterii wykazywały aktywność w przemianach BTX-ów. Najintensywniej przemiany te prowadziły bakterie kultur niezdefiniowanych. Stopień rozkładu, a przede wszystkim wydajność uzyskana dla tej populacji bakterii, była praktycznie nieporównywalna do wydajności wyizolowanych gatunków i ich mieszaniny. Zespół bakterii niezdefiniowanych spowodował praktycznie całkowitą degradację benzenu już po 24 godzinach (Rys. 1). Natomiast wyizolowane gatunki i kultury mieszane prowadziły transformację tego aromatu zdecydowanie wolniej. Również w przypadku toluenu oraz p- i o-ksylenu przemiany przebiegały najintensywniej przy udziale bakterii kultur niezdefiniowanych, w porównaniu z degradacją prowadzoną przez wyizolowane gatunki oraz ich mieszaninę. Spośród badanych gatunków najaktywniej procesy przemian prowadziły: *E. sakazaki* i *A. sobria*. Pomimo to, że biomasa kultur niezdefiniowanych była większa od biomasy pozostałych badanych populacji, to jednak z przeprowadzonych obliczeń wynika, że gdyby skorygowano liczebność bakterii, to i tak szybkość rozkładu aromatów przez kultury niezdefiniowane byłaby największa. Można tu także wskazać na brak bezpośredniego związku pomiędzy liczebnością populacji a efektami biodegradacji, wynikający m.in. z badań własnych w warunkach anoksydacyjnych [14]. W warunkach anoksydacyjnych, pomimo większej liczebności populacji kultur niezdefiniowanych w stosunku do wyselekcjonowanych (czystych), stwierdzono ich mniejszą zdolność (szybkość) biodegradacji.

Należy więc domniemywać, że w populacji bakterii niezdefiniowanych występowały drobnoustroje cechujące się znacznie większą specyficznością w stosunku do BTX-ów, aniżeli czyste kultury, niemniej jednak prawdopodobne również jest to, że procesy transformacji BTX-ów zachodziły na drodze adaptacji enzymatycznej i/lub kometabolizmu osobniczego i substratowego.

W kontekście szybkości biodegradacji poszczególnych badanych związków (BTX-ów) należy przede wszystkim wyraźnie rozgraniczyć kinetykę — dla wyizolowanych (badanych) bakterii, ich mieszaniny oraz kultur niezdefiniowanych.

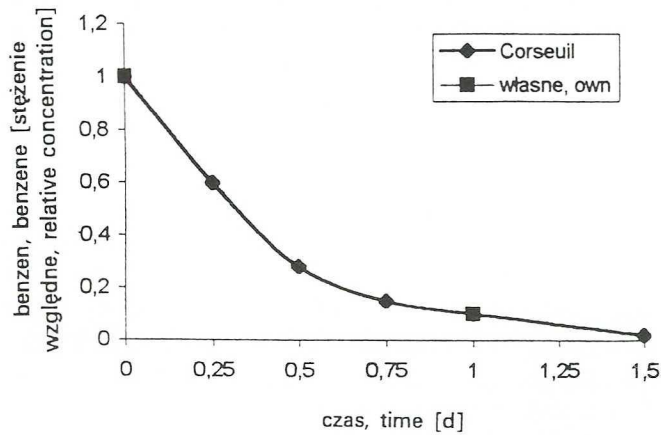
Uzyskane szybkości rozkładu badanych aromatów przez kultury niezdefiniowane dla poszczególnych związków porównywalne są z wartościami cytowanymi w literaturze. Przykładowo Corseuil i in. [5] przedstawiają pokazany poniżej wykres szybkości rozkładu benzenu przez zespół mikroorganizmów (bez fazy adaptacji).



Rys. 6. Szybkość rozkładu benzenu [5]  
Benzene degradation rate [5]

Ze względu na to, że w przeprowadzonych badaniach stosowano zupełnie inne stężenia benzenu (znacznie mniejsze), celem porównania wyników konieczne jest wprowadzenie pojęcia stężenia zastępczego:  $C_0 = C_z = 1$ .

Przedstawiając w takiej konwencji łącznie wyniki Corseuila i in. [5] oraz własne, można zauważyć dużą zbieżność szybkości rozkładu benzenu.

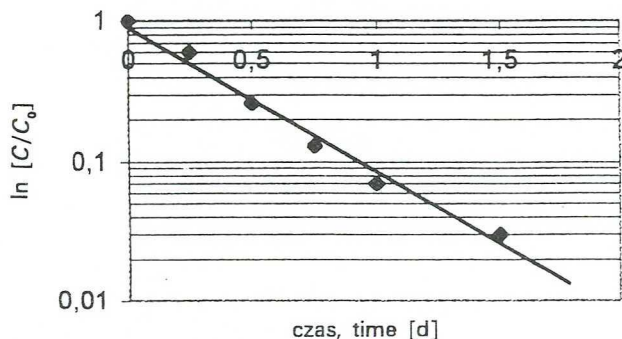


Rys. 7. Szybkość rozkładu benzenu – wyniki Corseuila i in. [5] i własne  
Benzene biodegradation rate – results given by Corseuil et al. [5] and own

Faktycznie, wyniki własne można jedynie przedstawić jako jeden punkt dla 1 doby (Rys. 1), ponieważ nie oznaczono stężeń benzenu w krótszych przedziałach czasowych.

Ujmując wyniki jako  $\ln \frac{C}{C_0} = f(t)$ , obliczyć można współczynnik szybkości reakcji  $k$  (z równania pierwszego rzędu). Wówczas  $k = 2,50 \text{ [d}^{-1}\text{]}$ .



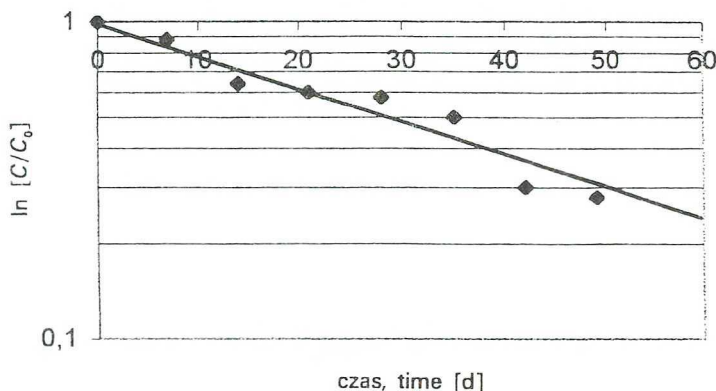


Rys. 8. Biodegradacja benzenu przez populację kultur niezdefiniowanych  
Benzene biodegradation by the population of non defined cultures

Podczas prowadzenia badań otrzymywano bardzo dużą różnorodność uzyskiwanych efektów i szybkości rozkładu węglowodorów aromatycznych w warunkach aerobowych. Przytoczono tu jednak wyniki Corseuila i in. [5], aby pokazać, że bardzo szybki rozkład benzenu nie jest odosobniony. Istnieją bowiem doniesienia mówiące o powolnym rozkładzie benzenu i występowaniu długiej lag fazy [1, 4].

Inaczej przedstawia się efektywność i szybkość biodegradacji badanych węglowodorów aromatycznych przez wyizolowane bakterie i ich mieszaninę. Przebieg zmian stężeń, przykładowo omawianego tutaj benzenu, przez poszczególne wyizolowane kultury nie jest możliwy do opisanie równaniem pierwszego rzędu (Rys. 2).

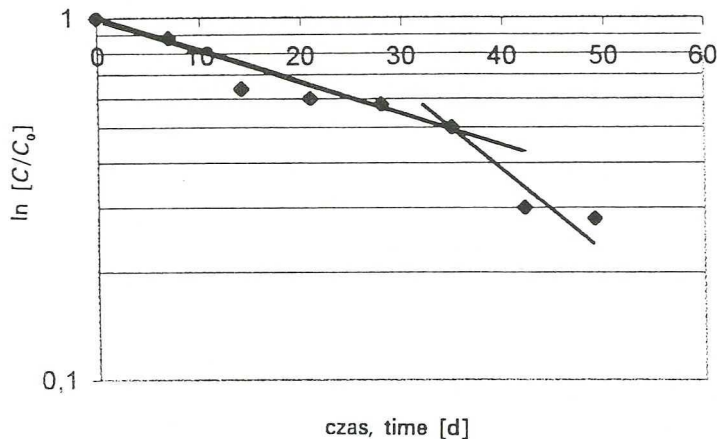
Większą szybkością rozkładu, a jednocześnie przebiegającą w sposób bardziej zbliżony do reakcji pierwszego rzędu, wykazywała się mieszanina kultur, w skład której wchodziły gatunki: *A. sobria*, *B. steareothermophilus*, *E. sakazaki*, *P. aeruginosa*, *S. lentus*. Przedstawiając wyniki jako  $\ln \frac{C}{C_0}$ , w funkcji czasu również określić można stałą (współczynnik) szybkości reakcji  $k$ .



Rys. 9. Biodegradacja benzenu przez populację kultur mieszanych  
Benzene biodegradation by a mixture of cultures

Obliczona stała  $k$  wynosi  $0,014 \text{ [d}^{-1}\text{]}$ .

W przypadku kultur mieszanych też można wyróżnić przynajmniej dwa przedziały (od 0. do 35. doby i od 35. do 49. doby).



Rys. 10. Sekwencyjna biodegradacja benzenu przez mieszaninę wyizolowanych bakterii  
Sequential biodegradation of benzene by mixture of isolated bacteria

Zagadnienie szybkości rozkładu innych badanych aromatów w warunkach tlenowych (toluenu, ksilenów) jest bardzo podobne do omawianego rozkładu benzenu.

Przedstawione rozważania wskazują na złożoność problemu i potrzeby wnikliwej interpretacji, z uwzględnieniem dotychczasowego stanu wiedzy.

## PODSUMOWANIE

1. Poszczególne badane wyizolowane kultury zachowują się podobnie, tzn. w przybliżeniu rozkładają BTX-y z podobną prędkością w całym badanym przedziale czasowym 49 dób.

2. Wyróżnić można dwie krzywe logarytmiczne – od 0. do 35. doby i od 35. do 49. doby, co wskazywać może na sekwencyjny rozkład aromatu. W pracy nie przedstawiono takiej analizy wyników m.in. z powodu nieoznaczenia produktów pośrednich i interpretacja nie ma jednoznacznych podstaw.

3. Zdecydowanie z większą szybkością prowadziły rozkład BTX-ów mikroorganizmy kultur niezdefiniowanych w stosunku do wyizolowanych gatunków i ich mieszaniny.

## OZNACZENIA SYMBOLS

$C_0$  – stężenie początkowe substratu [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ]  
initial substrate concentration [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ]

- $C$  – stężenie substratu [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ]  
 substrate concentration [ $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ ]  
 $C_z$  – stężenie zastępcze substratu  
 relative substrate concentration  
 $k$  – współczynnik szybkości reakcji [ $\text{d}^{-1}$ ]  
 biodegradation rate coefficient [ $\text{d}^{-1}$ ]  
 $t$  – czas [d]  
 time [d]

## LITERATURA

- [1] Alvarez P.J.J., T.M. Vogel: *Substrate interactions of benzene, toluene, and para-ksylene during microbial degradation by pure cultures and mixed culture aquifer slurries*, Appl. Environ. Microbiol., **57**, 2981–2985 (1991).
- [2] Bitton G.: *Bulking and foaming in activated sludge plants*, [in:] *Wastewater microbiology*, John Wiley & Sons, INC., Publication, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore 1994.
- [3] Burbach B.L., J.J. Perry: *Biodegradation and biotransformation of groundwater pollutant mixtures by Mycobacterium vaccae*, Appl. Environ. Microbiol., **59**, 1025–1029 (1993).
- [4] Corseuil H.X., W.J.J. Weber.: *Potential biomass limitations on rates of degradation of monoaromatic hydrocarbons by indigenous microbes in subsurface soils*, Wat. Res., **28**, 1415–1423 (1994).
- [5] Corseuil H.X., C.S. Hunt, R.C.F. Santos, P.J.J. Alvarez: *The influence of the gasoline oxygenate ethanol on aerobic and anaerobic BTX biodegradation*, Wat. Res., **32**, 2065–2072 (1998).
- [6] Dutkiewicz T.: *Chemia toksykologiczna*, PZWL, Warszawa 1968.
- [7] Gaffney J.S., N.A. Marley: *Peroxyacyl nitrates (PANs) their physical and chemical properties*, [in:] *The Handbook of Environmental Chemistry*, vol. 4/part B, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, 1989, 1–31.
- [8] Haigler B.E., Ch.A. Pettigrew, J.C. Spain: *Biodegradation of mixtures of substituted benzene by Pseudomonas sp. strain JS150*, Appl. Environ. Microbiol., **58**, 2237–2244 (1992).
- [9] Indulski J.A. (red): *Toluen*, Kryt. Zdrowotne Środow., **52** (1994).
- [10] Keener W.K., D.J. Arp: *Transformation of aromatic compounds by Nitrosomonas europaea*, Appl. Environ. Microbiol., **60**, 1914–1920 (1994).
- [11] Mars A.D., J. Houwing, J. Dolfing: *Degradation of toluene and trichloroethylene by Burkholderia cepacia G4 in growth-limited fed-batch culture*, Appl. Environ. Microbiol., **62**, 886–891 (1996).
- [12] Quigley J., R.L. Corsi: *Emission of VOC's from a municipal sewer*, J.Air Waste Manage. Assoc., **45**, 395–403 (1995).
- [13] Seńczuk W.: *Toksykologia*, PZWL, Warszawa 1996.
- [14] Suschka J., A. Machnicka: *Selected and mixture of cultures activity in BTX biodegradation*, Wat. Res. (in press).