

BIOLOŠKA RAZGRADNJA FENOLA MJEŠOVITIM I ČISTIM KULTURAMA ALGA

With Summary in English

ZIVANKA MALOSEJA, ZLATKO PAVLETIĆ i IGNAC MUNJKO

(Institut za botaniku Sveučilišta u Zagrebu)

Primljeno 7. 12. 1971.

Uvod

Površinske vode često su zagađene fenolima u većim ili manjim koncentracijama. To ipak ne sprečava da se u njima nasele alge. Tako je u nekim vodama neposredne okolice gradova Zagreba i Siska utvrđena znatna količina fenola. Prema mjerenjima V u j i Ć i Ć a i M u n j k a (1971) ta je količina iznosila između 18 $\mu\text{g/l}$ (Krka kod Brežica) i 370 $\mu\text{g/l}$ (potok Vugrovec kod ceste Zagreb — Beograd).

Još se veće koncentracije fenola mogu utvrditi u industrijskim otpadnim vodama (18.0 — 32 700,0 mg/l u 1970, utvrđenog kao minimalna i maksimalna količina u bazenu za izjednačavanje kod pogona Fenol-aceton, Organskokemijske industrije u Zagrebu). U pogonu Fenol-aceton i Olefini, Organskokemijske industrije u Zagrebu ponekad se dešava prodiranje fenola i drugih kemikalija u sustav rashladne vode, pa su u toj vodi izmjerene količine fenola od 580 mg/l, acetona 48 mg/l i benzina 60 mg/l (M u n j k o 1970a). Rashladna voda sadržava još i drugih otopljenih tvari koje znatno količinski osciliraju (Tabela 1).

Iako se u rashladnoj vodi nalaze i različite otrovne tvari, u njoj je razvijena vrlo bujna vegetacija alga (C r c et al. 1970 i M u n j k o 1970 d). Alge obrašćuju kaskade i zidove rashladnih tornjeva, a najviše su razvijene u toplijim mjesecima (travanj-rujan) bez obzira na relativno velike oscilacije kemijskih faktora. Kada u ove vode prodru veće količine fenola, alge u znatnoj mjeri ugibaju. Tada se javlja tzv. plutajući mulj koji se zadržava u razdiobnim bazenima u sloju od 5 do 10 cm. Takav se mulj postupno raspada i taloži na dno rashladnog tornja, dok jedan dio mulja odlazi protočnom rashladnom vodom u pojedine pogone, gdje može izazvati smetnje u tehnološkom procesu.

Dosad nije bilo poznato u kojim koncentracijama fenol uništava alge. S druge pak strane utvrđeno je da alge svojom nazočnošću mogu sudjelovati u mineralizaciji organskih spojeva. Tako su O r l o c z i i T o t h

Tabela 1. Prikaz oscilacija nekih kemijskih parametara u rashladnoj vodi Organsko kemijske industrije u Zagrebu. (Munjko 1970)

Table 1. Oscillations of chemical factors in the cooling water of OKI plant in Zagreb

| Kemijski parametri | Količine u mg/l minimum — maksimum |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| Fosfati, P_2O_5 | 1,0 — 12,6 |
| Sulfati, SO_4 | 19,6 — 460,0 |
| Kloridi, Cl | 12,6 — 240,0 |
| Bikromati, Cr_2O_7 | 3,0 — 31,0 |
| Utrošak $KMnO_4$ | 12,0 — 240,0 |
| Fenol | 0,0 — 580,0 |
| Aceton | 0,0 — 48,0 |
| Benzin | 0,0 — 60,0 |
| Slobodan klor (kod kloriranja) | 3,0 — 10,0 |
| M-101, Guilini | 60,0 — 100,0 |

(1966) pokazali da mineralizacija organskih tvari može nastajati posredništvom kisika koji izlučuju alge u fotosintetskim procesima. Enebo (1967) pak utvrđuje da alge normalno fotosintetiziraju u karbonatnom mediju i u isto vrijeme asimiliraju metan. Posebno su dobri rezultati postignuti sa klorokokalnim algama, kao što su *Chlorella* i *Scenedesmus*, o čemu postoji čitav niz radova. Abdullava i Gasanov (1968) primjenom ovih alga utvrđuju mogućnost pročišćavanja otpadnih voda iz domaćinstava, a Kostyajevo (1969) ispituje efekat fenola na *Scenedesmus acuminatus*. Lukina (1969) pak nalazi da je intenzitet svjetla razmjerni sa štetnim djelovanjem fenola na fotosintezu kod klorele. Dijatomejama radio je Dunn (1968), koji je na vrsti *Gomphonema parvulum* pokazao da se alga ne može koristiti ionima silicija ako su u vodi prisutni cijanidi i fenoli (2,4-dinitrofenol). Slični su se pokusi vršili i drugim algama u radovima Ronnerstranda (1961, 1968), Humenik i Hanna (1971) i dr.

Da bismo utvrdili točnije odnose koji postoje između alga i raznih koncentracija fenola, ispitali smo promjene koje nastaju u koncentraciji fenola s pomoću kultura alga.

Materijal i metodika rada

Alge su uzete sa zidova i podova razdiobnih bazena na rashladnom tornju (sl. 1) i nakon toga kultivirane kao mješovite kulture u staklenim posudama od 250 ml s rashladnom vodom i na sobnoj temperaturi. Floristički sastav ovog obraštaja objavljen je još ranije (Cretal. 1970). Rashladna voda u posudama mjenjala se svakih sedam dana. Kroz mjesec dana kultivirane alge su obrasle stijenku posude, pa se nakon toga pristupilo pokusu (sl. 2). U posude se izravno dodavala određena količina fenola na 250 ml rashladne vode. Otopine fenola kod mješovitih kultura alga su se primjenjivale u koncentracijama od 500, 1000, 1500 i 2000 mg/l. Količina preostalog fenola određena je po metodi Schmauha i Grubba (1954) nakon 14 dana, dok je bakterijska kontaminacija određivana kao broj bakterija u 1 ml (tabela 2).

Tabela 2. Biološka razgradnja fenola s pomoću mješovitih kultura alga nakon 14 dana kod sobne temperature, te broja bakterija u 1 ml i promjene pH-vrijednosti tijekom pokusa.

Table 2. Biological decomposition of phenol through mixed culture of algae at room temperature after 14 days; number of bacteria in 1 ml and pH variations during the experiment.

| Koncentracija fenola u mg/l | | Broj bakterija u 1 ml | | pH | |
|-----------------------------|--------------|-----------------------|--------------|--------------|--------------|
| prije pokusa | nakon pokusa | prije pokusa | nakon pokusa | prije pokusa | nakon pokusa |
| 500 | 13 | 970 | 3120 | 7,6 | 8,1 |
| 1000 | 83,3 | 730 | 1820 | 7,1 | 8,0 |
| 1500 | 1060,0 | 180 | 240 | 7,2 | 7,8 |
| 2000 | 2000 | 58 | 2 | 7,5 | 7,7 |

Za čiste kulture upotrijebljen je kultivirani materijal iz zbirke kultura autotrofnih organizama Češke akademije znanosti, koji nam je ustupila Š. Pelicarić iz Novog Sada.

Čiste kulture alga prenosile su se na podloge, kojima su bile dodavane otopine fenola s kompleksnim gnojivom NPK 12 : 12 : 12. (N—12%, kao NH_4NO_3 ; P—12%, kao P_2O_5 ; K—12%, kao K_2O), zbog stimuliranja rasta fotosintetskih alga. Svaki su se put količine fenola i kompleksnog gnojiva NPK 12 : 12 : 12 otapale u destiliranoj vodi. Nakon sterilizacije u autoklavu odredio se pH i fenol, po UV-spektrofotometrijskoj metodi (Schmauh i Grubb, 1954). Počelo se sa malim dozama (15 mg/l) fenola radi adaptacije alga na fenol. Na svježju kulturu alga dodavana je otopina od 10 ml koncentracije 15 mg fenola/l i nakon inkubacije od 7 dana pri sobnoj temperaturi određivana je preostala količina fenola. Primjenom UV-spektrofotometrijske metode rezultat je bio negativan zbog nedovoljne osjetljivosti metode za količine fenola ispod 1 mg/l. Stoga je trebalo sve uzorke sjediniti i količinu fenola odrediti po Emersonu sa 4-aminoantipirinom (JUS. H. Zl. 144).

Isti dan nakon određivanja preostale količine fenola sa čistim kulturama alga pripremljena je slijedeća veća koncentracija fenola (tabela 3).

Tabela 3. Količina kompleksnog gnojiva NPK 12 : 12 : 12 (N-12%, kao NH_4NO_3 ; P-12%, kao P_2O_5 ; K-12%, kao K_2O) i koncentracija fenola uz prethodno mjerjenje pH-vrijednosti za pripremu pokusa s pomoću čistih kultura alga.

Table 3. Quantity of complex NPK fertilizer 12 : 12 : 12 (N-12% as NH_4NO_3 , P-12% as P_2O_5 and K-12% as K_2O) and concentration of phenol with pH values before the preparation of experiments with pure culture of algae.

| Sadržaj u mg/l | Broj pokusa | | | | | |
|------------------|-------------|-----|-----|-----|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| Fenol | 15 | 75 | 150 | 500 | 1000 | 1500 |
| NPK 12 : 12 : 12 | 75 | 65 | 200 | 500 | 500 | 500 |
| pH -vrijednost | 7,0 | 7,1 | 6,9 | 6,6 | 7,5 | 7,5 |

Tabela 4. Biorazgradnja fenola različitih koncentracija
 Table 4. Decomposition at various concentrations of phenol

| Kultivirane alge | fenol | fenol | fenol | fenol | fenol | fenol | fenol | |
|--|-------|--------|-------|-------|-------|---------|-------|-----|
| | mg/l | pH | μg/l | pH | mg/l | pH | μg/l | pH |
| | prije | nakon | | | prije | nakon | | |
| | | 7 dana | | | | 14 dana | | |
| | | | | | | | | |
| <i>Chroococcus turgidus</i> | | | | | | | | |
| <i>Oscillatoria formosa</i> | | | | | | | | |
| <i>Nostoc entophyllum</i> | | | | | | | | |
| <i>Anabaena</i> <i>augstumalis</i> | | | | | | | | |
| <i>Nitzschia palea</i> | | | | | | | | |
| <i>Chlamydomonas</i> <i>debariana</i> <i>var. micropapillata</i> | | | | | | | | |
| <i>Chlorella vulgaris</i> <i>var. vulgaris</i> | 15 | 7,0 | 22 | 8,0 | 75 | 7,1 | 24 | 8,4 |
| <i>Scenedesmus</i> <i>quadricauda</i> | | | | | | | | |
| <i>Pediastrum duplex</i> <i>var. rugulosum</i> | | | | | | | | |
| <i>Monoraphidium</i> <i>griffithii</i> | | | | | | | | |
| <i>Crucigenia</i> <i>triangularis</i> | | | | | | | | |
| <i>Hormidium</i> <i>flaccidum</i> | | | | | | | | |
| <i>Cosmarium laeve</i> | | | | | | | | |

u čistim kulturama alga kod sobne temperature
 in pure culture of algae at room temperature

| fenol mg/l | fenol pH | fenol μg/l | fenol pH | fenol mg/l | pH | fenol μg/l | pH | fenol mg/l | pH | pH | |
|---------------|------------------|---------------|-------------|---------------|------------------|---------------|-----|---------------|-----------------|----------|-----|
| prije | nakon 14 dana | | | prije | nakon 30 dana | | | prije | nakon 7 dana | | |
| | | | | 1000 | 7,5 | 195 | 7,7 | 1500 | 7,5 | žive | 7,3 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 407 | 7,1 | 1500 | 7,5 | algicid. | 7,5 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 370 | 7,9 | 1500 | 7,5 | žive | 7,5 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 185 | 7,5 | 1500 | 7,5 | žive | 7,5 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 316 | 7,4 | 1500 | 7,5 | algicid. | 7,5 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 540 | 7,7 | 1500 | 7,5 | algicid. | 7,5 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 148 | 7,6 | 1500 | 7,5 | algicid. | 7,7 |
| 500 | 6,8 | 705 | 7,9 | 1000 | 7,5 | 1000 | 7,4 | 1500 | 7,5 | algicid. | 7,6 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 1000 | 7,4 | 1500 | 7,5 | algicid. | 7,4 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 167 | 7,5 | 1500 | 7,5 | algicid. | 7,7 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 480 | 7,4 | 1500 | 7,5 | algicid. | 7,5 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 920 | 7,1 | 1500 | 7,5 | algicid. | 7,6 |
| | | | | 1000 | 7,5 | 1000 | 7,4 | 1500 | 7,5 | algicid. | 7,4 |

Zbog malih količina uzorka fenolne vode sa čistim kulturama alga (10 ml), koje su nakon određene inkubacije sadržavale niske vrijednosti fenola (22 — 705 $\mu\text{g/l}$), nismo bili u stanju određivati fenol u svakoj pojedinoj vrsti alga, već smo ga određivali kao skupni uzorak za jedinu početnu koncentraciju fenola (tabela 4). Tek nakon dodavanja fenola od 1000 mg/l mogla se mjeriti preostala količina fenola kod čistih kultura pojedinih alga.

Rezultati

Rezultati pokusa s mješovitim kulturama alga i prisutnih bakterija u rashladnoj vodi od posebnog su značenja za normalno odvijanje tehnološkog procesa pojedinih pogona (tabela 2). Sama prisutnost fenola u rashladnoj vodi upozorava nas na tehnološku grešku u samom pogonu fenola. Fenol u rashladnoj vodi ne smije prelaziti 1000 mg/l, jer naglo dolazi do ugibanja alga, ali ne i bakterija, pa se stvara plutajući mulj. Uz to alge i bakterije iz rashladne vode koriste se polifosfatima, pa na taj način pospješuju koroziju rashladnog sustava.

Razgradnja fenola s pomoću mješovitih kultura alga uočljiva je pri koncentraciji od 500 do 1000 mg/l, a broj bakterija u 1 ml u stanovitaj se mjeri povećava. Kod 1500 mg/l fenola odvija se biološka razgradnja fenola s pomoću alga i bakterija, ali su ti metabolički procesi znatno smanjeni. Koncentracije od 2000 mg/l fenola ne pokazuju gotovo nikakve promjene, a broj bakterija se čak smanjuje, što upozorava na baktericidno djelovanje takvih koncentracija.

U isto se vrijeme i nakon inkubacije u pravilu povećava pH i pri tom su znatno veće razlike kod nižih negoli kod viših koncentracija. Jedino se kod najviše koncentracije od 2000 mg/l pH nakon inkubiranja pri sobnoj temperaturi nešto smanji (tabela 2).

Čistim kulturama alga radilo se postupnim dodavanjem sve većih koncentracija, kako bi dolazilo što manje do izražaja algicidno djelovanje fenola. Pri vrlo niskim koncentracijama nije bilo moguće izmjeriti promjene koje su nastale u čistim kulturama pojedinih vrsta alga. Tek u koncentracijama fenola od 1000 mg/l i više mogle su se mjeriti preostale količine fenola. Dobiveni rezultati nakon svih pokusa prikazani su na tabeli 4.

Dodavanjem većih koncentracija fenola razgrađivale su ga samo neke alge. To se najbolje može vidjeti dodavanjem fenola od 1000 mg/l, ali pod uvjetima malo dulje inkubacije od 30 dana, jer kod ostalih pokusa inkubacija je trajala samo 1—2 tjedna. Zelene alge, kao što su *Pediastrum duplex* var. *rugulosum*, *Cosmarium laeve* i *Scenedesmus quadricauda*, koji su inače poznati predstavnici fitoplanktona slatkovodnih stajaćica, nisu uopće izmijenili početnu koncentraciju od 1000 mg/l. S druge pak strane, najintenzivniju razgradnju fenola pokazuje također klorokokalna zelena alga *Chlorella vulgaris* var. *vulgaris*, koja se lako i vrlo brzo razvija u svim stajaćim kopnenim vodama. U kulturi ove alge s fenolom od 1000 mg/ izmjereno je nakon 30 dana inkubacije pri sobnoj temperaturi tek 148 mg/l fenola. Znatni intenzitet razgradnje pokazuje još jedna



Sl. 1. Rashladni tornjevi sa distribucionim bazenima rashladne vode u Organsko-kemijskoj industriji u Zagrebu.

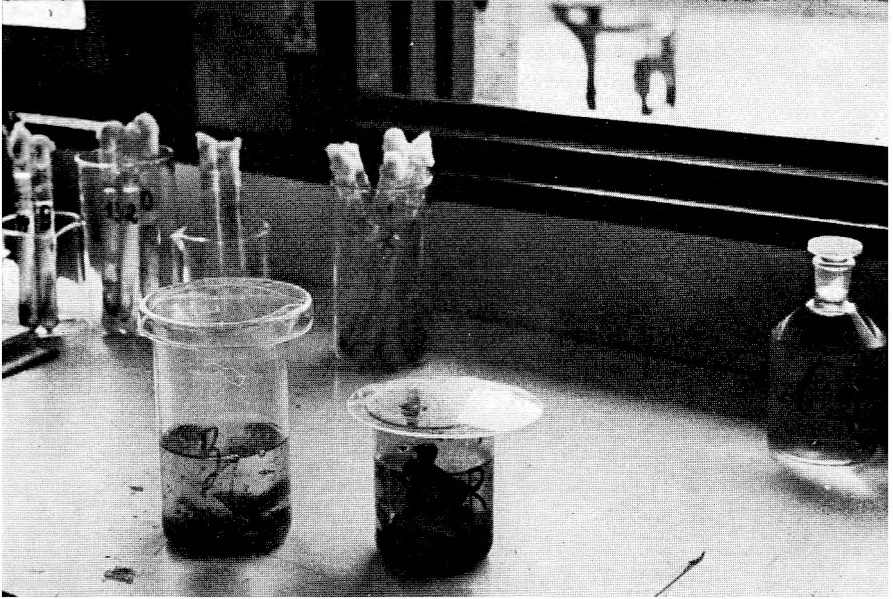
Fig. 1. Cooling towers with distributing pools of cooling water in OKI in Zagreb.

Sl. 2. Mješovite kulture alga u posudama sa rashladnom vodom. Lijevo obraštaj prije početka pokusa.

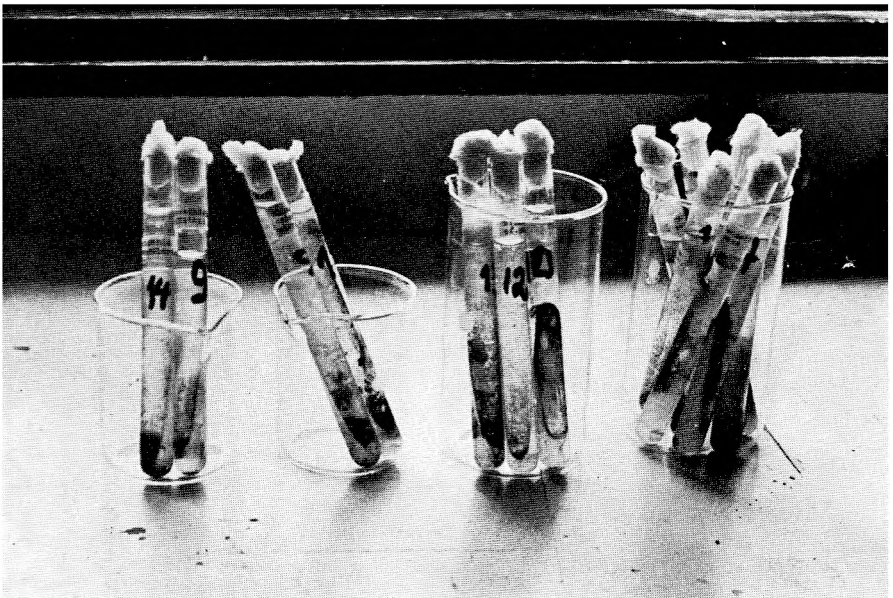
Fig. 2. Mixed cultures of Algae in vessels with cooling water. To the left overgrowth before the experiment.

Sl. 3. Epruvete sa čistim kulturama alga.

Fig. 3. Test tubes with pure culture of Algae.



Sl. 2. — Fig. 2.



Sl. 3. — Fig. 3.

zelena alga *Monoraphidium griffithii*. Ostale testirane zelene alge kao što su vrste *Hormidium flaccidum* i *Crucigenia triangularis* pokazivale su slabiju razgradnju, osobito potonja u kojoj je nakon pokusa od 1000 mg/l fenola preostalo još 920 mg/l. Općenito se može zapaziti da se u pravilu mnogo bolje razgrađuju jednostanični oblici od onih koji tvore kolonije.

To isto možemo uočiti i kod modrozelenih alga, kod kojih jednostanična vrsta *Chroococcus turgidus* razgrađuje od 1000 mg/l čak na 195 mg/l, a nitasta hormogonala *Oscillatoria formosa* razgrađuje samo oko 50% od prvobitne koncentracije fenola nakon 30 dana. Slično je i s nitastim oblikom *Nostoc entophyllum*.

Od ove opće pravilnosti zapažaju se kao izuzeci jednostanični zeleni bičaš *Chlamydomonas debaryana* var. *micropapillata*. Iako je jednostaničnih alga, također sa 50% od prvobitne koncentracije. S druge strane, nitasti oblik *Anabaena augstumalis* pokazuje znatnu razgradnju, s preostalom koncentracijom fenola od 185 mg/l.

Jedina ispitana alga kremenjašica *Nitzschia palea* pokazuje nešto bolju razgradnju fenola. Budući da su kremenjašice također jednostanične alge, mogu se uklopiti u navedenu pravilnost. Jedino treba primijetiti da testirane kulture modrozelenih i zelenih jednostaničnih alga pokazuju nešto veću sposobnost razgradnje od ispitane kremenjašice.

Najveće koncentracije od 1500 mg/l pokazuju već nakon 7 dana u većini slučajeva algicidno djelovanje. Jedino su modrozeleni alge *Chroococcus turgidus*, *Nostoc entophyllum* i *Anabaena augstumalis* i nakon 7 dana ostale žive.

Uzevši u obzir sve testove, čini se, modrozeleni alge su najotpornije na fenol od svih ispitivanih alga.

Diskusija

Ispitivanje razgradnje fenola s pomoću alga pokazalo je da su mješovite kulture znatno otpornije na fenol nego čiste kulture testiranih alga. Mješovite kulture uz prisutnost bakterija kudikamo bolje razgrađuju fenol u koncentraciji od 1000 mg/l, dok čiste kulture najčešće ugibaju na 1500 mg/l fenola. Općenito mješovite kulture alga iz rashladne vode razgrađuju fenol kroz 14 dana za 30% i više.

U čistim kulturama pri koncentraciji fenola od 15, 75, i 150 mg/l nije bilo moguće mjeriti promjene u koncentraciji za svaku posebno, ali je zapažen nagli porast biomase kultiviranih alga u epruvetama.

Pri koncentraciji fenola od 500 mg/l porast biomase stagnira, a pri 1000 mg/l ugibaju neke alge predstavnici rodova *Pediastrum*, *Cosmarium*, i *Scenedesmus*, a ostale gube pigment da bi ga pri 1500 mg/l sasvim izgubile. Od testiranih alga spomenute koncentracije fenola preživljavaju samo neki predstavnici rodova modrozelenih alga *Chroococcus*, *Nostoc* i *Anabaena*.

Moglo se primijetiti da se u nižim koncentracijama fenola podloga alkalizira (7,9—8,4 pH), dok to nije zapaženo u višim koncentracijama.

Uočljivo je također da za razgradnju fenola s pomoću čistih kultura treba kudikamo više vremena. Tek nakon 30 dana fenol u koncentraciji od 1000 mg/l pokazuje mjerljive količine razgradnje pod uvjetom sobne temperature. Pri tome sve testirane alge ne djeluju jednako. Jednosta- nični oblici razgrađuju nešto bolje od višestaničnih, a ispitivane alge pokazuju da su najotpornije neke vrste modrozelenih alga.

Z a k l j u č a k

Na osnovi provedenih ispitivanja možemo izvesti ove zaključke:

Alge mogu sudjelovati u procesima biorazgradnje fenola.

U koncentracijama od 500 mg/l one se mogu održati, dok u koncentra- cijama od 1000 mg/l mnoge alge mogu razgraditi fenol. Koncentracije od 1500 mg/l djeluju najčešće algicidno.

Mješovite kulture alga iz rashladnih postrojenja Organskokemijske industrije u Zagrebu uz prisutnost bakterija mogu znatno jače razgrađi- vati fenol od pojedinih kultiviranih alga, a te mješovite kulture alga otpornije su na fenol od čistih kultura.

Čiste kulture većine testiranih alga razgrađuju fenol u koncentraciji od 1000 mg/l kroz 30 dana pri sobnoj temperaturi. U pravilu znatno bolje razgrađuju fenol ispitane jednostanične alge nego one koje tvore kolonije ili nitaste oblike, bez obzira na njihovu sistematsku pripadnost. Naj- intenzivniju razgradnju fenola pokazala je vrsta *Chlorella vulgaris*, a najveću otpornost prema fenolu ispitane modrozeleno alge. Koncentraciju fenola od 1000 mg/l nisu razgrađivali fitoplanktonski predstavnici kop- nениh stajaćih voda *Pediastrum duplex*, *Cosmarium laeve* i *Scenedesmus quadricauda*.

Najveće koncentracije od 1500 mg/l preživjele su nakon 7 dana samo vrste *Chroococcus turgidus*, *Nostoc entophyllum* i *Anabaena augstumalis*.

L i t e r a t u r a — R e f e r e n c e s

- Abdulava, K. A., and Gasanov, M. V.*, 1968: Role of *Chlorella* and *Scenedesmus* in the purification of domestic sewage in Baku. *Wat. Pollut. Abst.* 41, Abstr. No. 835.
- Crc, Z., Pavletić, Z., Stilinović, B. i Munjko, I.* 1970: Neka ekološka ispitivanja rashladne vode petrokemijske industrije u Zagrebu. *Ekologija* 5, No. 1, 71—79.
- Dunn, J. H.*, 1968: Studies of the utilization of Silicon by diatoms. *Disser.* Abstr. 29, No. 4, 1447 B.
- Enebo, L.*, 1967: A methaneconsuming green-alga. *Acta chem. Scand.* 21, 625—632. *Wat. Poll. Abst.* 40, Abstr., No. 1600.
- Humenik, F. J. and Hanna, G. P.*, 1971: Algal-bacterial symbiosis for renewal and conservation of waste-waters nutrients. *J. Wat. Pollut. Control. Fed.* 43, 580—594. *Wat. Pollut. Abstr.* No. 740.
- Kostyaev, V. Ya.*, 1969: Effect of phenol on *Scenedesmus acuminatus*. *Chem. Abstr.* 72, No. 21. Abstr. No. 108273 s. Tr., *Inst. Biol. Vnutr. Vod. Akad. Nauk SSSR* 1969, 19, 50—3. (Russ.).

- Lukina, G.A., 1969: Effect of phenol on the photosynthesis and respiration of *Chlorella*. Chem. Abstr. 72, No. 21. Abstr. No. 107938 a. Vod. Akad. Nauk. SSSR 1969. 19, 87—89. (Russ.).
- Munjko, I., 1970 a: Ispitivanje rashladne vode. OKI — Zagreb. (Elaborat)
- Munjko, I., 1970 b: Sadašnje stanje rashladne vode i što sve treba poduzeti za vrijeme remonta. OKI — Zagreb. (Elaborat)
- Munjko, I., 1970 c: Problemi i specifičnosti kloriranja. Nar. Zdr. L. 12 (145), 12.
- Munjko, I., 1970 d: Mikroflora rashladne vode petrokemijske industrije u Zagrebu. Zaštita Materijala 18 (11), 385—390.
- Orloczi, I. and Toth, J., 1966: Sewage treatment by algae. Hidrol. Köz. 6, 265—272. Wat. Poll. Abstr. 40, Abstr. No. 1482.
- Ronnerstrand, S., 1961: Polyphenol of the oxidase system of the red alga *Furcellaria fastigiata*. Chem. Abstr. 56, Abstr. No. 2759 d. Lunds Univ. Avd. 72, No. 7, 3—15 (in English).
- Ronnerstrand, S., 1968: Polyphenols of the oxidase systems of some algae. Bot. Mar., 11, (1—4), 106—114. Chem. Abstr. 7T, No. 5, Abstr. No. 17532 t.
- Scmauh, L. J. and Grubb, H. M., 1954: Determination of phenols in waste waters by ultraviolet absorption. Anal. Chem. 26, 308.
- Vujičić, N. i Munjko, I., 1971: Pročišćavanje i kontrola otpadnih voda Tvornice plastičnih masa i kemikalija. Otpadne vode, 37—63. Jugoenergetik — Beograd.

SUMMARY

BIOLOGICAL DECOMPOSITION OF PHENOL BY MIXED AND PURE CULTURES OF ALGAE

Živanka Maloseja, Zlatko Pavletić and Ignac Munjko
(Botanical Institute of the University of Zagreb)

The tests on decomposition of phenol by means of Algae have shown that mixed cultures are considerably more resistant against phenol than pure cultures of tested Algae. Mixed cultures, with the presence of bacteria, decompose phenol much better in a 1000 mg/l concentration, while pure cultures in most cases perish at a concentration of 1500 mg/l. In general, mixed cultures of benthos Algae from cooling water decompose phenol to about 30% and more in the course of 14 days.

Under pure cultures, at the phenol concentration of 15, 75 and 150 mg/l changes could not be measured for each species separately, but a rapid growth of the biotic mass of cultivated Algae in test tubes was noticed.

At phenol concentrations of 500 mg/l, the growth of the biotic mass stagnates, whereas at 1000 mg/l some Algae — the representatives of the genus *Pediastrum*, *Cosmarium* and *Scenedesmus* — perish and the remaining start to lose pigment, which they lose totally at the concentration of 1500 mg/l at which most of them perish. Of the Algae tested at such a high concentration, only a few representatives of the genus of blue-green Algae — *Chroococcus*, *Nostoc* and *Anabaena* — have survived.

It has been observed that at low phenol concentrations the base becomes alkalized (7, 9 — 8, 4), whereas this has not been noticed at higher concentrations.

It is also apparent, that far more time is required for decomposition of phenol by pure cultures. Incubated phenol in a 1000 mg/l concentration, under room temperature conditions, showed measurable quantities of decomposition after 30 days only. Not all the tested Algae behave equally. The unicellular forms decompose somewhat better than the multicellular ones, and the Algae tested show that those belonging to the blue-green Algae variety are the most resistant against phenol.

On the basis of the examinations made, we may draw the following conclusions:

Algae can participate in processes of biological decomposition of phenol, but only at certain concentrations.

At lower concentrations, phenol can act stimulatory upon the growth of Algae at slightly higher concentrations of approximately 500 mg/l they can adapt themselves, whilst at concentrations of 1000 mg/l many of them can decompose phenol. The highest concentrations of 1500 mg/l are in most cases lethal to the Algae.

Mixed cultures of Algae from the cooling plant of OKI in Zagreb, in the presence of bacteria, can decompose phenol more efficiently than certain cultivated Algae. Likewise, mixed cultures of Algae are more resistant against phenol than pure cultures.

Under pure cultures the majority of Algae tested decompose phenol at the concentration of 1000 mg/l at room temperature within 30 days. As a rule, a considerably stronger capability of decomposing is shown by the monocellular Algae, than by the colonial and stringy forms, disregarding their systematic appurtenance. The most intense decomposition was shown by the species *Chlorella vulgaris* at the utmost resistance against phenol by the blue-green Algae. A concentration of 1000 mg/l was not decomposed by the phytoplanktonic representatives of the continental stagnant waters: *Pediastrum duplex*, *Cosmarium laeve* and *Scenedesmus quadricauda*.

The species *Chroococcus turgidus*, *Nostoc entophyllum* and *Anabaena augstumalis* were the only one to have survived after 7 days at the highest concentrations of 1500 mg/l.

Zivanka Maloseja, mr. biol. i
prof. dr. Zlatko Pavletić
Institut za botaniku Sveučilišta u Zagrebu
Marulićev trg 20
41000 Zagreb (Jugoslavija)

Ignac Munjko, mr. biol.
Laboratorij za vode kombinata OKI
Zitnjak 1
41000 Zagreb (Jugoslavija)