

WPŁYW BIOSURFAKTANTÓW I SURFAKTANTÓW
SYNTEZYCZNYCH W OBECNOŚCI SŁABEGO POLA
ELEKTRYCZNEGO NA MIGRACJĘ BAKTERII I BIODEGRADACJĘ
ZANIECZYSZCZEŃ W GRUNCIE

KRZYSZTOF PIECHOWIAK, ANDRZEJ OLSZANOWSKI

Politechnika Poznańska, Instytut Technologii i Inżynierii Chemicznej, 60-965 Poznań pl. M. Skłodowskiej-Curie 1

Keywords: bioremediation, bacteria, migration, electric field, surfactants.

INFLUENCE OF BIOSURFACTANTS AND SYNTHETIC SURFACTANTS ON
BACTERIA MIGRATION AND CONTAMINATION BIODEGRADATION IN SOIL
UNDER THE INFLUENCE OF WEAK ELECTRIC FIELD

Many techniques of soil bioremediation enhancement have been developed recently. Two of them are application of weak electric field which induces favorable electrokinetic phenomena in the soil environment and surface active agents application which increase the biodegradation degree of poorly soluble contamination. During experiments the influence of the electric field and surfactants (biosurfactants, non-ionic and anionic surfactants) on the *Pseudomonas putida* and *Bacillus subtilis* bacteria migration in soil was determined. The intensity of the biodegradation of contamination was also estimated. The results show substantial impact of the electric field and surfactants on the intensity and direction of bacteria migration in soil as well as on the intensity of the contamination biodegradation.

S t r e s z c z e n i e

W celu podwyższenia skuteczności procesu bioremediacji gruntów stosuje się różne techniki wspomagające. Do takich technik można zaliczyć zastosowanie słabego pola elektrycznego, które wywołuje szereg korzystnych zjawisk elektrokinetycznych w gruncie oraz wykorzystanie substancji powierzchniowo-czynnych, które wpływają korzystnie na przebieg procesu biodegradacji substancji wykazujących słabą rozpuszczalność w wodzie. W badaniach określano wpływ pola elektrycznego i różnych typów surfaktantów (biosurfaktanty, niejonowe, anionowe) na migrację bakterii *Pseudomonas putida* i *Bacillus subtilis* w gruncie. W trakcie badań kontrolowano również intensywność procesu biodegradacji zanieczyszczeń. Badania wykazały istotny wpływ pola elektrycznego i surfaktantów na intensywność i kierunek migracji bakterii w gruncie oraz na intensywność procesu biodegradacji.

WSTĘP

Procesy remediacji gruntów zanieczyszczonych powinno przeprowadzać się z wykorzystaniem prostych, bezpiecznych, wydajnych oraz korzystnych ekonomicznie technologii, które pozwalają na bezpośrednie usuwanie zanieczyszczeń zarówno w strefie aeracji jak i saturacji. Jedną z szeroko stosowanych technologii pozwalających na usuwanie

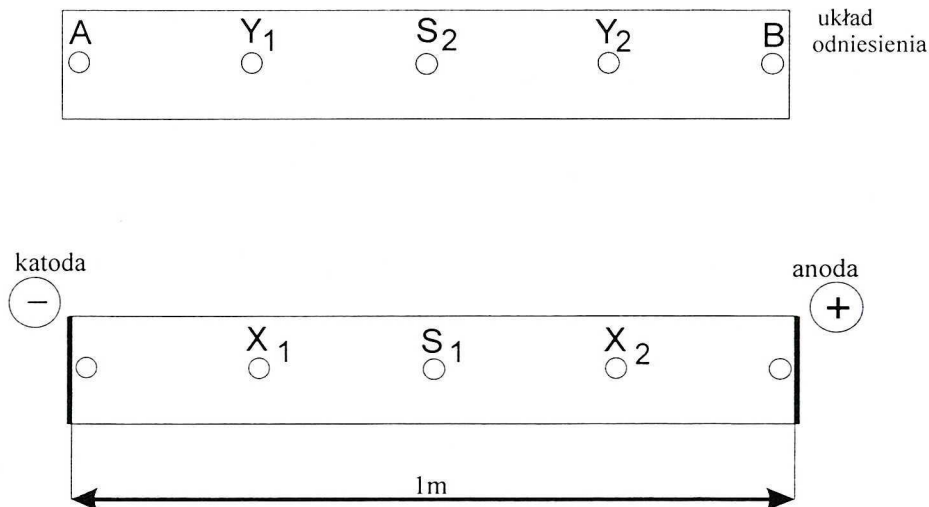
zanieczyszczeń biodegradowalnych jest technologia bioremediacji. Skuteczność tej technologii jest jednak często ograniczana przez różne czynniki zewnętrzne np.: ograniczone napowietrzenie strefy zanieczyszczonej, ograniczenie rozprzestrzeniania się bakterii wprowadzonych do oczyszczonego gruntu, odporność zanieczyszczenia na proces biodegradacji. Zastosowanie słabego pola elektrycznego może być rozpatrywane jako obiecująca perspektywa wspomagania bioremediacji. Zastosowanie słabego pola elektrycznego prądu stałego w gruncie powoduje wywołanie szeregu zjawisk wykorzystywanych w procesach remediacji gruntów [1, 5, 10, 11]. Podstawowe mechanizmy wywołujące migrację zanieczyszczeń w gruncie w polu elektrycznym to: elektromigracja, elektroosmoza i elektroforeza [2, 4, 8, 11, 12]. Jednakże ani zastosowanie elektromigracji ani elektroosmozy w przypadku oczyszczania gruntów zanieczyszczonych hydrofobowymi związkami organicznymi nie przynosi pożądanych efektów z uwagi na niską rozpuszczalność tego typu zanieczyszczeń w wodzie. Dodatkowo zanieczyszczenia hydrofobowe często adsorbują się na cząstkach gruntu, co dodatkowo zmniejsza ich ruchliwość w gruncie. Dlatego inny aspekt wykorzystania wpływu pola elektrycznego na proces rekultywacji gruntów techniką biodegradacji powinien być wzięty pod uwagę. Efektywność procesu biodegradacji zależy przede wszystkim od zdolności bakterii do przemieszczania się w gruntach do miejsc o największej koncentracji zanieczyszczeń i ich całkowitej degradacji lub przemiany w związki mniej szkodliwe. Dlatego pozytywny skutek zastosowania procesu bioremediacji zależeć będzie, między innymi, od możliwości wymuszenia ukierunkowanej migracji bakterii w oczyszczanym gruncie. W obojętnym zakresie pH, większość komórek bakteryjnych charakteryzuje się występowaniem ujemnego ładunku na powierzchni ściany komórkowej. Fakt ten pozwala przewidywać, że komórki bakteryjne będą zachowywać się w polu elektrycznym jak ładunki ujemne i migrować będą w kierunku anody na skutek elektroforezy [3, 13, 14, 15]. Wykorzystanie tego zjawiska pozwoli na wymuszenie ukierunkowanej migracji bakterii w gruncie do stref występowania zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w wodzie. Pozwoli to osiągnąć dużą wydajność procesu likwidacji zanieczyszczenia bez konieczności ich przemieszczania w gruncie. W poprzednich eksperymentach [6] badano wpływ słabego pola elektrycznego na migrację komórek bakteryjnych. W badaniach tych wykazano, że słabe pole elektryczne ma istotny wpływ na migrację komórek bakteryjnych w gruncie. W badaniach tych testowano szczepy bakteryjne *Bacillus*, *Pseudomonas* oraz *Klebsiella* oraz ich mieszaniny. Badania wykazały migrację komórek bakteryjnych w kierunku anody w polu elektrycznym, wywołaną występowaniem ujemnego ładunku elektrycznego na powierzchni ściany komórkowej bakterii. Zastosowanie słabego pola elektrycznego spowodowało również rozszerzenie strefy biodegradacji zanieczyszczenia w gruncie.

Surfaktanty mogą wspomagać proces biodegradacji zanieczyszczeń według kilku mechanizmów. Jednym z nich jest solubilizacja fazy organicznej na skutek wytworzenia miceli. Ważną rolę odgrywa zwiększona dostępność do hydrofobowej fazy organicznej w środowisku gruntowym. Jest to związane z desorpcją związków organicznych z cząstek gruntu na skutek obniżenia napięcia powierzchniowego oraz osłabienia sił kapilarnych oddziałujących w porach gruntu. Bardzo ważnym mechanizmem jest możliwość hydrofobizacji ściany komórkowej bakterii przez surfaktanty, co może ułatwiać kontakt bakterii z substancjami hydrofobowymi.

Celem obecnych badań było określenie wpływu substancji powierzchniowo-czynnych w obecności słabego pola elektrycznego na migrację bakterii w gruncie oraz na biodegradację ropopochodnych.

METODYKA EKSPERYMENTÓW

Doświadczenia przeprowadzano w dwóch rurach polietylenowych o średnicy 50 mm i długości 1 m stanowiących układ pomiarowy przedstawiony na rysunku 1.



Rys 1. Schemat układu badawczego dla badań laboratoryjnych
The schema of the laboratory system

Obie rury napełniano skażonym gruntem, o masie ok. 4 kg, pochodzącym z miejsca wycieku surowej ropy naftowej z rurociągu naftowego w pobliżu Wysypiska Odpadów Komunalnych w Suchym Lesie k/Poznań. Wykorzystywany w badaniach grunt był gruntem gliniastym o słabej przepuszczalności hydraulicznej (współczynnik filtracji $k < 10^{-7}$ m/s), pH gruntu utrzymywał się w granicach 6,2 [9]. Początkowa zawartość zanieczyszczeń w gruncie, które stanowiła surowa ropa naftowa, wynosiła 3%. Zawartość zanieczyszczenia w gruncie oznaczano metodą ekstraktu eterowego. Substancje organiczne, obecne w gruncie wykorzystywanym w badaniach, stanowiły głównie składniki zanieczyszczenia, czyli szeroki zakres substancji ropopochodnych zawierający zarówno frakcje lekkie jak i ciężkie charakterystyczne dla ropy naftowej. Wilgotność gruntu, oznaczana metodą wagową, wynosiła 12%. Do każdego z układów wprowadzano badane szczepy bakteryjne, w postaci wodnej zawiesiny, w punktach centralnych S₁ i S₂. Zawartość bakterii w wyjściowej zawiesinie wynosiła 1×10^9 kom./cm³. W eksperymentach wykorzystano szczepy bakteryjne *Pseudomonas putida* i *Bacillus subtilis*. W punktach centralnych do obu układów wprowadzano również badane surfaktanty: surfaktant niejonowy – lutensol, surfaktant anionowy – bis(2-etyloheksylo)sulfobursztynian sodowy (bursztynian sodowy) oraz biosurfaktant – preparat JBR 325 (prod. USA) zawierający mieszaninę ramnolipidów. Ilość wszystkich surfaktantów była dobrana w ten sposób, aby stanowiła ona około 0,05% masy zanieczyszczeń zawartych w gruncie. Natężenie pola elektrycznego wynosiło 5 V/m. Eksperymenty przeprowadzano w warunkach jałowych.

W trakcie trwania eksperymentu z punktów badawczych pobierano próbki gruntu do analiz mikrobiologicznych. Liczbę bakterii oznaczano metodą kolejnych rozcieńczeń

i posiewów na podłożu agarowym. Po zakończeniu eksperymentu analizowano stopnie biodegradacji skażenia metodą ekstraktu eterowego.

WYNIKI BADAŃ

W tabeli 1 przedstawiono wyniki badań migracji bakterii *Pseudomonas putida* w układzie odniesienia. Na podstawie tych wyników stwierdza się, że znaczna migracja komórek bakteryjnych miała miejsce w przypadku zastosowania środków powierzchniowo czynnych. W przypadku zastosowania surfaktantów (ramnolipidów, bursztynianu sodowego) obecność komórek bakteryjnych stwierdzono we wszystkich punktach pomiarowych najpóźniej w 4 tygodniu eksperymentu. Natomiast w eksperymencie, w którym żadnego z surfaktantów nie zastosowano, obecność komórek bakteryjnych stwierdzano jedynie w punkcie centralnym, czyli tam gdzie bakterie wprowadzono na początku eksperymentu. Wyniki badań charakteryzujących migrację komórek bakteryjnych *Pseudomonas putida* w polu elektrycznym w obecności surfaktantów przedstawiono w tabeli 2. Na podstawie tych wyników stwierdza się migrację komórek bakteryjnych we wszystkich przypadkach, zarówno w obecności surfaktantów jak i bez ich obecności. Jednakże w obecności surfaktantów migracja bakterii była bardziej intensywna, o czym świadczy zarówno krótszy czas migracji bakterii do poszczególnych punktów pomiarowych jak i ilość komórek bakteryjnych w tych punktach. Na podstawie tych samych obserwacji stwierdzono również, że praktycznie jedynym kierunkiem migracji komórek bakteryjnych była migracja w kierunku anody, w przypadku braku w układzie surfaktantu. Natomiast w przypadku obecności zarówno ramnolipidów jak i bursztynianu sodu obserwowano migrację bakterii w obu kierunkach, jednak migracja w kierunku katody była zjawiskiem uprzywilejowanym. Kolejne badania określają zachowanie się komórek bakteryjnych *Bacillus subtilis* w obecności różnych substancji powierzchniowo czynnych, niejonowego (lutensolu), biosurfaktantu (ramnolipidów) oraz anionowego (bursztynianu sodowego). W tabeli 3 przedstawiono wyniki badania migracji komórek bakteryjnych *Bacillus subtilis* w układach odniesienia a w tabeli 4 w układach pod wpływem pola elektrycznego. Na podstawie tych wyników ustalono jednolitą migrację komórek bakteryjnych w obu kierunkach w układzie odniesienia. W układach znajdujących się pod wpływem prądu elektrycznego stwierdzono intensywniejszą migrację bakterii w porównaniu z układem odniesienia. Natomiast uprzywilejowanie kierunku migracji bakterii zależy od rodzaju użytego surfaktantu. W przypadku surfaktantu niejonowego uprzywilejowanym kierunkiem jest migracja w stronę anody. W obecności biosurfaktantu stwierdzono uprzywilejowany kierunek migracji w stronę katody. Podczas, gdy obecność anionowego bursztynianu sodowego powoduje praktycznie jednolitą migrację komórek bakteryjnych w obu kierunkach. Na rysunku 2 przedstawiono porównanie stopni biodegradacji w układzie pod wpływem pola elektrycznego dla bakterii *Pseudomonas putida* bez obecności surfaktantu oraz w obecności ramnolipidu i bursztynianu sodowego. Strefa biodegradacji bez dodatku surfaktantu jest przesunięta w stronę anody natomiast zarówno ramnolipid jak i bursztynian sodu wywołały intensywniejszą biodegradację w kierunku katody. Najintensywniejszą biodegradację stwierdzono w przypadku eksperymentu bez dodatku surfaktantu (ok. 80%, 42 dni) i w obecności ramnolipidów (ok. 70%, 35 dni). Natomiast rysunek 3 przedstawia porównanie stopni biodegradacji w układzie odniesienia dla bakterii *Pseudomonas putida* bez surfaktantu oraz w obecności ramnolipidów i bursztynianu sodowego. Znaczna biodegradacja w przypadku braku surfaktantu miała miejsce

Tabela. 1. Migracja bakterii *Pseudomonas putida* w układzie odniesienia
Pseudomonas putida bacteria strain migration in the comparative system

czas, time [dni], [days]	liczba komórek bakteryjnych, number of bacteria cells [kom./g], [cells/g]														
	A			Y ₂			S ₂			Y ₁			B		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	0	0	0	0	0	0	6,4x10 ⁷	4,9x10 ⁸	5,23x10 ⁹	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	3,2x10 ⁵	2,31x10 ⁵	6,8x10 ⁷	6,2x10 ⁸	4,37x10 ⁹	0	4,2x10 ⁵	3,23x10 ⁵	0	0	0
14	0	9,2x10 ²	0	0	8,8x10 ⁵	1,30x10 ⁸	1,5x10 ⁷	2,3x10 ⁸	2,20x10 ⁹	0	6,3x10 ⁵	1,38x10 ⁸	0	3,2x10 ³	0
21	0	2,1x10 ³	0	0	2,3x10 ⁶	1,23x10 ⁷	6,0x10 ⁷	9,2x10 ⁷	2,53x10 ⁸	0	9,6x10 ⁵	3,57x10 ⁶	0	4,1x10 ³	0
28	0	1,1x10 ⁴	3,54x10 ⁶	0	8,9x10 ⁶	1,02x10 ⁸	1,4x10 ⁷	9,9x10 ⁷	2,46x10 ⁷	0	2,1x10 ⁶	1,43x10 ⁸	0	7,8x10 ³	1,38x10 ⁷
35	0	9,9x10 ⁴	6,24x10 ⁷	0	7,8x10 ⁶	6,98x10 ⁷	3,0x10 ⁷	6,7x10 ⁷	5,93x10 ⁷	0	1,0x10 ⁵	6,80x10 ⁷	0	2,4x10 ⁴	7,59x10 ⁶

- 1 – bez dodatku surfaktantu
- 2 – z dodatkiem biosurfaktantu – ramnolipidów
- 3 – z dodatkiem surfaktantu anionowego – bursztynianu sodu
- 1 – without surfactant addition
- 2 – with biosurfactant addition – ramnolipid
- 3 – with anionic surfactant addition – sodium succinate

Tabela. 2. Migracja bakterii *Pseudomonas putida* w układzie znajdującym się pod wpływem słabego pola elektrycznego
Pseudomonas putida bacteria strain migration in the system under influence of the electric field

czas, time [dni], [days]	liczba komórek bakteryjnych, number of bacteria cells [kom./g], [cells/g]														
	anoda, anode (+)			X ₂			S ₁			X ₁			katoda, cathode (-)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	0	0	0	0	0	0	4,8x10 ⁷	5,1x10 ⁸	4,32x10 ⁹	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	1,2x10 ⁶	9,31x10 ⁵	1,8x10 ⁷	1,5x10 ⁹	6,39x10 ⁹	0	1,8x10 ⁶	8,31x10 ⁶	0	0	0
14	0	7,2x10 ⁵	7,36x10 ⁶	0	2,3x10 ⁶	8,03x10 ⁶	6,0x10 ⁷	1,0x10 ⁹	8,61x10 ⁸	0	5,6x10 ⁶	2,28x10 ⁸	0	9,8x10 ⁶	1,12x10 ⁷
21	0	1,6x10 ⁶	9,53x10 ⁶	9,6x10 ⁷	2,2x10 ⁷	2,06x10 ⁷	4,0x10 ⁷	2,7x10 ⁸	3,32x10 ⁸	0	4,7x10 ⁷	1,20x10 ⁸	0	1,1x10 ⁷	8,66x10 ⁷
28	0	6,3x10 ⁶	3,23x10 ⁷	5,0x10 ⁷	3,4x10 ⁶	4,51x10 ⁷	9,0x10 ⁶	6,0x10 ⁷	4,39x10 ⁸	0	5,3x10 ⁷	3,46x10 ⁸	0	2,4x10 ⁷	2,74x10 ⁷
35	0	1,1x10 ⁷	7,34x10 ⁶	1,2x10 ⁷	8,9x10 ⁶	9,53x10 ⁶	2,0x10 ⁷	6,3x10 ⁷	1,93x10 ⁸	1,0x10 ⁷	3,0x10 ⁷	9,40x10 ⁷	0	4,5x10 ⁷	1,25x10 ⁷

- 1 – bez dodatku surfaktantu
- 2 – z dodatkiem biosurfaktantu – ramnolipidów
- 3 – z dodatkiem surfaktantu anionowego – bursztynianu sodu
- 1 – without surfactant addition
- 2 – with biosurfactant addition – ramnolipid
- 3 – with anionic surfactant addition – sodium succinate

Tabela. 3. Migracja bakterii *Bacillus subtilis* w układzie odniesienia
Bacillus subtilis bacteria strain migration in the comparative system

czas, time [dni], [days]	liczba komórek bakteryjnych, number of bacteria cells [kom./g], [cells/g]														
	A			Y ₂			S ₂			Y ₁			B		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	0	0	0	0	0	0	3,2x10 ⁹	9,3x10 ⁸	2,31x10 ⁸	0	0	0	90	0	0
7	0	0	0	1,0x10 ²	3,4x10 ⁵	9,25x10 ⁵	8,2x10 ⁸	7,4x10 ⁸	5,41x10 ⁷	2,5x10 ²	1,4x10 ⁵	1,01x10 ⁶	120	0	0
14	19	3,6x10 ²	0	2,0x10 ³	4,4x10 ⁵	4,68x10 ⁶	7,5x10 ⁸	2,5x10 ⁸	3,36x10 ⁷	4,0x10 ³	1,8x10 ⁶	3,11x10 ⁷	1,0x10 ³	6,2x10 ²	0
21	1,4x10 ³	1,1x10 ³	0	2,0x10 ⁴	5,8x10 ⁵	9,24x10 ⁷	4,3x10 ⁸	2,1x10 ⁸	2,31x10 ⁷	3,0x10 ⁴	8,5x10 ⁵	8,36x10 ⁷	7,5x10 ³	8,1x10 ³	0
28	6,0x10 ³	9,2x10 ³	7,80x10 ⁶	1,2x10 ⁵	9,8x10 ⁵	6,31x10 ⁷	1,2x10 ⁸	2,9x10 ⁷	1,38x10 ⁷	8,5x10 ⁴	9,8x10 ⁵	2,17x10 ⁷	2,0x10 ⁴	9,2x10 ⁴	4,31x10 ⁶
35	1,0x10 ⁴	8,5x10 ⁴	9,81x10 ⁶	5,4x10 ⁵	8,2x10 ⁶	2,33x10 ⁷	9,3x10 ⁷	1,7x10 ⁷	9,33x10 ⁷	3,0x10 ⁵	3,3x10 ⁶	9,51x10 ⁶	6,0x10 ⁴	7,5x10 ⁴	8,30x10 ⁶

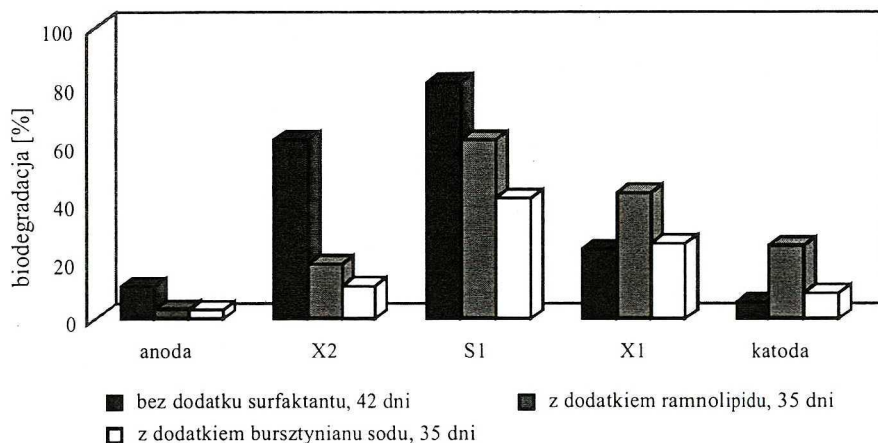
- 1 – z dodatkiem syntetycznego – lutensolu
 2 – z dodatkiem biosurfaktantu – ramnolipidu
 3 – z dodatkiem surfaktantu anionowego – bursztynianu sodu
 1 – with addition of the synthetic surfactant – lutensol
 2 – with biosurfactant addition – ramnolipid
 3 – with anionic surfactant addition – sodium succinate

Tabela. 4. Migracja bakterii *Bacillus subtilis* w układzie znajdującym się pod wpływem pola elektrycznego
Bacillus subtilis bacteria strain migration in the system under influence of the electric field

czas, time [dni], [days]	liczba komórek bakteryjnych, number of bacteria cells [kom./g], [cells/g]														
	anoda, anode (+)			X ₂			S ₁			X ₁			katoda, cathode (-)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	0	0	0	0	0	0	6,5x10 ⁹	1,47x10 ⁹	6,74x10 ⁸	0	0	0	0	0	0
7	59	0	0	6,5x10 ³	6,0x10 ⁵	7,59x10 ⁶	2,0x10 ⁹	2,3x10 ⁹	5,78x10 ⁸	7,0x10 ²	6,3x10 ⁶	7,88x10 ⁶	28	0	0
14	4,0x10 ²	3,9x10 ⁵	3,71x10 ⁷	7,0x10 ⁴	1,1x10 ⁷	1,39x10 ⁷	3,5x10 ⁸	1,0x10 ⁹	3,49x10 ⁸	5,0x10 ³	1,9x10 ⁷	1,26x10 ⁷	41	1,7x10 ⁷	1,76x10 ⁷
21	1,0x10 ⁴	3,2x10 ⁵	1,25x10 ⁷	5,0x10 ⁵	1,0x10 ⁷	1,18x10 ⁷	7,5x10 ⁸	9,0x10 ⁸	3,57x10 ⁸	4,0x10 ⁴	1,1x10 ⁸	2,53x10 ⁷	3,1x10 ³	4,4x10 ⁶	3,47x10 ⁶
28	7,0x10 ⁴	5,2x10 ⁶	3,48x10 ⁷	7,0x10 ⁶	2,2x10 ⁷	1,16x10 ⁷	3,2x10 ⁸	8,4x10 ⁸	3,05x10 ⁸	2,0x10 ⁵	1,7x10 ⁸	2,35x10 ⁷	7,5x10 ⁵	1,47x10 ⁷	3,76x10 ⁷
35	4,0x10 ⁵	6,2x10 ⁷	5,63x10 ⁷	4,0x10 ⁷	8,6x10 ⁷	1,71x10 ⁷	8,5x10 ⁷	7,0x10 ⁸	9,54x10 ⁷	8,0x10 ⁵	9,1x10 ⁷	2,40x10 ⁷	3,0x10 ⁴	2,1x10 ⁷	1,01x10 ⁶

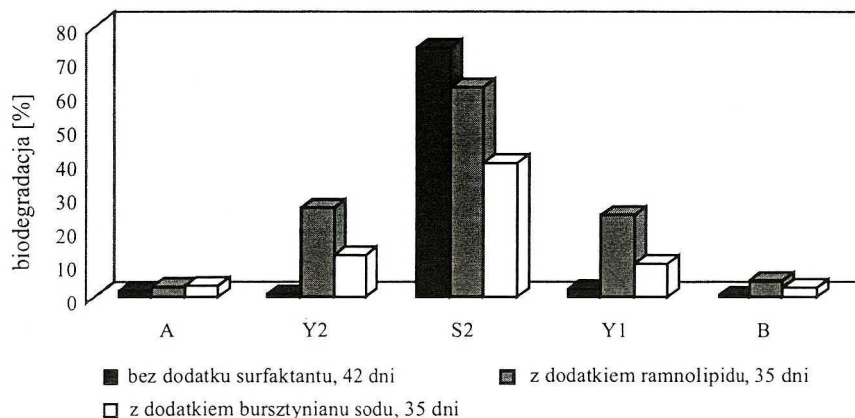
- 1 – z dodatkiem syntetycznego – lutensolu
 2 – z dodatkiem biosurfaktantu – ramnolipidu
 3 – z dodatkiem surfaktantu anionowego – bursztynianu sodu
 1 – with addition of the synthetic surfactant – lutensol
 2 – with biosurfactant addition – ramnolipid
 3 – with anionic surfactant addition – sodium succinate

jedynie w punkcie centralnym układu odniesienia. Natomiast w przypadku zastosowania surfaktantów zaawansowanie procesu biodegradacji, poza punktem centralnym układów odniesienia, było również widoczne w punktach Y_1 i Y_2 .



Rys. 2. Porównanie biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych w punktach pomiarowych układów pod wpływem pola elektrycznego dla bakterii *Pseudomonas putida*, bez dodatku surfaktantu oraz w obecności ramnolipidów i bursztynianu sodu

The comparison of the contaminant biodegradation in the sampling points of the systems under influence of the electric field for *Pseudomonas putida* bacteria strain, without surfactant addition, with rhamnolipid addition and sodium succinate addition



Rys. 3. Porównanie biodegradacji zanieczyszczeń ropopochodnych w punktach pomiarowych układów odniesienia dla bakterii *Pseudomonas putida*, bez dodatku surfaktantu oraz w obecności ramnolipidów i bursztynianu sodu

The comparison of the contaminant biodegradation in the sampling points of the comparative systems of the electric field for *Pseudomonas putida* bacteria strain, without surfactant addition, with rhamnolipid addition and sodium succinate addition

DYSKUSJA

Wyniki badań laboratoryjnych wskazują na znaczący wpływ surfaktantów na szybkość oraz kierunek migracji komórek bakteryjnych w gruncie w polu elektrycznym. Zastosowanie surfaktantów ułatwia migrację komórek bakteryjnych w gruncie. Wzrost szybkości migracji jest spowodowany najprawdopodobniej obniżeniem napięcia powierzchniowego oraz osłabieniem sił kapilarnych na skutek oddziaływania surfaktantu. W wyniku takiego oddziaływania utrudniona zostaje sorpcja komórek bakteryjnych do cząstek gruntu, dzięki czemu łatwiejsze staje się ich przemieszczanie w środowisku gruntowym [5, 7]. Rodzaj zastosowanego surfaktantu wpływa również na kierunek migracji bakterii w gruncie w polu elektrycznym. W przypadku surfaktantu niejonowego obserwowano migrację komórek bakteryjnych w kierunku anody, czyli w kierunku, w jakim migrują komórki bakteryjne w polu elektrycznym również bez dodatku surfaktantu. Natomiast oddziaływanie biosurfaktantu i surfaktantu anionowego wywoływało, w zależności od rodzaju bakterii, mniej lub bardziej znaczną migrację bakterii w kierunku przeciwnym. Ramnolipidy, z uwagi na budowę – obecność grup karboksylowych – można zaliczyć do surfaktantów anionowych i tym można próbować wyjaśnić podobne oddziaływanie bursztynianu sodowego i ramnolipidów. Mechanizm tego oddziaływania nie jest jednoznacznie wyjaśniony. Być może surfaktanty te obniżając napięcie powierzchniowe zwiększają migrację wody w gruncie, dzięki czemu intensywniejsze staje się zjawisko elektroosmozy. Ponieważ elektroosmoza wywołuje migrację roztworu gruntowego w kierunku katody, można przypuszczać, że powodować to może również wymuszenie migracji bakterii w kierunku katody. Zastosowanie tego rodzaju surfaktantów może powodować zmianę właściwości elektrokinetycznych komórek bakteryjnych, co również może mieć wpływ na ich zachowanie się w polu elektrycznym. Wiadomo, że ramnolipidy powodują zwiększoną hydrofobizację ściany komórkowej bakterii, co może mieć wpływ na zachowanie się komórki bakteryjnej w gruncie [7]. Jednoznaczne określenie wpływu różnych surfaktantów na zachowanie się bakterii w polu elektrycznym na podstawie obecnych wyników badań nie jest jeszcze możliwe. Konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych badań umożliwiających wyjaśnienie tej kwestii. Dodatek substancji powierzchniowo czynnej wpływa również na proces biodegradacji zanieczyszczenia w gruncie. W przypadku zastosowania niektórych surfaktantów obserwuje się zwiększenie stopnia oraz strefy biodegradacji zanieczyszczenia.

WNIOSKI

Podsumowując, na podstawie przeprowadzonych badań można sformułować następujące wnioski:

- surfaktanty mają znaczny wpływ na szybkość oraz kierunek migracji komórek bakteryjnych w gruncie pod wpływem pola elektrycznego,
- rodzaj zastosowanego surfaktantu wpływa na kierunek migracji bakterii w gruncie w polu elektrycznym,
- zastosowanie surfaktantów i pola elektrycznego powoduje zwiększenie intensywności oraz zasięgu biodegradacji zanieczyszczenia w gruncie.

Praca została wykonana w ramach projektu 4 T09B 116 22.

LITERATURA

- [1] Bayer M.E., J.L. Sloyer Jr.: *The electrophoretic mobility of gram-negative and gram-positive bacteria: an electrokinetic analysis*, Journal of General Microbiology, **136**, 867–874 (1990).
- [2] Betteahar M., G. Schafer, M. Baviere: *An Optimized Surfactant Formulation for the Remediation of diesel oil polluted sandy aquifers*, Environmental Science and Technology, **33**, 1269–1273 (1999).
- [3] Chilingar G.V., W.W. Loo: *Electrobioremediation of soils contaminated with hydrocarbons and metals*, Progress Report, Energy Sources, **19**, 129–146 (1997).
- [4] DeFlaun M.F., C.W. Condee: *Electrokinetic transport of bacteria*, Journal of Hazardous Materials, **55**, 263–277 (1997).
- [5] Elektorowicz M., V. Boeva: *Electrokinetic supply of nutrients in Soil Bioremediation*, Environmental Technology, **17**, 1339–1349 (1996).
- [6] Jackman S.A., G. Maini, A.K. Sharman, C.J. Knowles: *The Effects of direct electric current on the viability and metabolism of acidophilic bacteria*, Enzyme and Microbial Technology, **24**, 316–324 (1999).
- [7] Liu Z., K. Chen, K.D. Papadopoulos: *Electrokinetic movement of Escherichia coli in capillaries*, Environmental Microbiology, **1**(1), 99–102 (1999).
- [8] Olszanowski A., E. Kaczorek, K. Piechowiak: *Wpływ słabego pola elektrycznego na biodegradację ropopochodnych w gruncie*, Inżynieria Środowiska, **45**, 119–129 (2000).
- [9] Pleczyński J., E. Pluczyński: *Dokumentacja hydrogeologiczna dla rozbudowy wysypiska odpadów komunalnych. Miejscowość Suchy Las*, GEOKOM Sp. z o.o., Poznań 1993.
- [10] Probstein R.F., P.C. Renaud, A.P. Shapiro: *Preliminary studies on the removal of chemical species from saturated porous media by electroosmosis*, Physicochemical Hydrodynamics, **11**(5/6), 785–802 (1989).
- [11] Probstein R.F., R.E. Hicks: *Removal of contaminants from soils by electric fields*, Science, **260**, 498–503 (1993).
- [12] Santharam S.K., L.E. Erickson, L.T. Fan: *Modeling the role of surfactant and biodegradation in the remediation of aquifers with non-aqueous phase contaminants*, Journal of Hazardous Materials, **53**, 115–139 (1997).
- [13] Shapiro A.P., R.F. Probstein: *Removal of contaminants from saturated clay by electroosmosis*, Environmental Science and Technology, **27**(9), 283–291 (1993).
- [14] Trombly J.: *Electrochemical remediation takes to the field*, Environmental Science and Technology, **28**(6), 289A–291A (1994).
- [15] Yeung A.T., H. Cheng-non, R.M. Menon: *Physicochemical soil-contaminant interactions during electrokinetic extraction*, Journal of Hazardous Materials, **55**, 221–237 (1997).

Wpłynęło: 26 lutego 2003, zaakceptowano do druku: 24 lipca 2003.