



Efektywność różnych dodatków w bioremediacji gruntu skażonego chloroorganicznymi środkami ochrony roślin

Tomasz Baczyński¹, Małgorzata Kryłów¹, Anna Małachowska-Jutysz², Tomasz Stobiecki³

¹Instytut Zaopatrzenia w Wodę i Ochrony Środowiska, Politechnika Krakowska, Kraków

²Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Politechnika Śląska, Gliwice

³Instytut Ochrony Roślin, Oddział Sośnicowice, Sośnicowice

Effectiveness of different amendments in bioremediation of soil contaminated with organochlorine pesticides

Summary

Bioremediation of soil contaminated with pesticides γ -HCH (lindane), DDT and p,p'-DMDT (methoxychlor) has been studied in batch tests. The treatments included different combinations of the following amendments: carbon source, reducing agent, zero-valent iron, surfactant and anaerobic biomass (methanogenic granular sludge or fermented sewage sludge). The tests seeded with both types of anaerobic biomass showed high removal of all pesticides. DDT was transformed into DDD, but accumulation of this metabolite was considerably lower than that resulting from stoichiometric reaction. Addition of a surfactant together with anaerobic biomass further enhanced the effectiveness of the process.

Key words:

bioaugmentation, bioremediation, organochlorine pesticides, reducing agent, surfactant, zero-valent iron.

Adres do korespondencji

Tomasz Baczyński,
Instytut Zaopatrzenia
w Wodę
i Ochrony Środowiska,
Politechnika Krakowska,
ul. Warszawska 24,
31-155 Kraków;
e-mail
tomaszb@vistula.wis.pk.edu.pl

biotechnologia

2 (81) 162–173 2008

1. Wstęp

W Polsce obszary gruntu poważnie skażone środkami ochrony roślin występują wokół tzw. mogilników, czyli składowisk przeterminowanych środków ochrony roślin, jak również na terenie składowisk odpadów z ich produkcji (np. składowisko Rudna-Góra w Jaworznie, (1)). We wszystkich tych przypadkach jednymi z najważniejszych zanieczyszczeń są pestycydy chloroorganiczne, takie jak DDT, izomery heksachlorocykloheksanu (HCH) czy metoksychlor (DMDT). Wynika to zarówno z ich znacznego udziału w masie składowanych odpadów (2), jak i przypisywanej im szczególnej roli w zagrożeniu środowiska – są to substancje niezwykle trwałe, zdolne do bioakumulacji.

Na podstawie analizy danych literaturowych wskazuje się na możliwość skutecznej bioremediacji gruntów zanieczyszczonych tego rodzaju pestycydami przy zastosowaniu sekwencji warunków beztlenowych i tlenowych (3-5). W fazie pierwszej, beztlenowej, substancje te są transformowane do produktów pośrednich, podatniejszych na rozkład tlenowy. Kometaboliczny charakter tych przemian wymaga zewnętrznego źródła węgla (donora elektronów), w postaci łatwo rozkładalnej substancji organicznej. You i in. (6) stwierdzili, że dodatek czynników obniżających potencjał redoks, takich jak cysteina czy siarczek sodu, przyspiesza beztlenową degradację DDT. W przypadku zanieczyszczenia gruntu izomerami HCH możliwe jest prowadzenie bioremediacji na bazie mikroflory autochtonicznej (5,7), dla innych związków konieczna okazać się może bioaugmentacja (4). Proces transformacji DDT może zostać również zintensyfikowany przez dodatek metalicznego żelaza (8).

Hydrofobowy charakter pestycydów chloroorganicznych może ograniczać ich biodostępność, a przez to i efektywność bioremediacji. Dla jej zwiększenia proponowane jest użycie środków podwyższających rozpuszczalność pestycydów w wodzie, takich jak środki powierzchniowo czynne (SPC) czy cyklodekstryny (4,6,9). Zmniejszenie biodostępności hydrofobowych związków organicznych w gruntach może być także wywołane sekwestracją – silnym wiązaniem przez matrycę gruntową, przez co z upływem czasu zwiększa się frakcja zanieczyszczenia niepodatna na degradację (10). Określenie stopnia sekwestracji może zatem pozwolić na przewidzenie potencjalnych efektów bioremediacji.

Celem wykonanych badań była ocena wpływu różnych dodatków na efektywność procesu bioremediacji gruntu zanieczyszczonego pestycydami chloroorganicznymi, prowadzonego w warunkach beztlenowych. Ponieważ badania miały charakter rozpoznawczy, skupiono się na określaniu stopnia usunięcia związków wyjściowych: izomeru γ -HCH (lindan, γ -HCH), DDT, DMDT, bez oznaczania powstających produktów pośrednich, z wyjątkiem metabolitów DDT: DDE i DDD. Oznaczanie tych metabolitów jest istotne także ze względu na to, że normy czystości gruntu (np. 13,18) odnoszą się do ogólnej sumy stężenia izomerów DDT, DDD i DDE (dalej w tekście określanej jako DDX). Dla osiągnięcia założonego celu zaplanowano wykonanie serii porcjowych testów bioremediacji, przy zastosowaniu różnych kombinacji dodatków: źródła węgla

organicznego, czynnika redukującego, SPC, żelaza metalicznego oraz zaszczepienia aktywnymi mikroorganizmami. Do zaszczepiania wykorzystano osad prefermentowany oraz granulowany osad metanogeny – biomasę charakteryzującą się wysokimi zdolnościami do prowadzenia procesów dehalogenacji związków organicznych (12).

2. Materiały i metodyka badań

Badania prowadzono na próbce gruntu pobranego w styczniu 2006 r. z terenu likwidowanego mogilnika Sepno-Radonia (woj. łódzkie). Miejsce poboru zlokalizowane było w warstwie przylegającej do dna jednej ze studni tworzących mogilnik, około 3 m pod powierzchnią terenu. Próbkę stanowiła glina zwietrzelinowa o zawartości części organicznych 2,7% oraz wilgotności 5,0% po wysuszeniu w temperaturze pokojowej. Celem ujednorodnienia przesiano ją przez sito o oczkach 2 mm. W zanieczyszczeniach dominowały pestycydy chloroorganiczne (mg/kg suchej masy [sm]): γ -HCH 0,71; izomery DDT: p,p'-2,73; o,p'-0,85; metoksychlor (p,p'-DMDT) 1,31. Metabolity DDE i DDD występowały w śladowych ilościach. Oprócz tego w próbce stwierdzono występowanie innych środków ochrony roślin, takich jak: herbicydy – pochodne fenoksykwasów, pochodne triazynowe, ditiokarbaminiany i in., jednakże w ilościach mniej istotnych z punktu widzenia zagrożenia środowiska. Ocena stopnia zanieczyszczenia na podstawie obowiązujących norm (13) wskazywała na jego względnie umiarkowany poziom, jednakże w badaniach z użyciem biotestów (14) stwierdzono bardzo wysoką toksyczność badanego gruntu, co potwierdziło potrzebę poddania go zabiegom remediacji.

Stosując metodę wyznaczania kinetyki desorpcji poprzez sekwencyjną ekstrakcję na fazie stałej (polimer Tenax TA, 20-35 mesh), zbliżoną do opisaną w pracy (11), stwierdzono, że dla badanego gruntu frakcje szybko desorbujące stanowią odpowiednio $67,9 \pm 2,1\%$; $61,9 \pm 6,2$; $71,8 \pm 12,8$ całkowitego stężenia γ -HCH; p,p'-DDT oraz metoksychloru. Wyniki takie sugerowały niski stopień sekwestracji zanieczyszczeń i ich wysoką potencjalną biodostępność.

Wykorzystany w testach metanogeny osad granulowany pochodził z reaktora beztlenowego oczyszczającego ścieki z produkcji napojów w zakładach „Hellena” w Opatówku k. Kalisza. Przed użyciem był on przepłukany wodą destylowaną oraz roztworem medium mineralnego na sicie o oczkach 0,25 mm, w celu usunięcia produktów rozkładu. Osad ten zawierał 6,7% suchej masy (sm) przy 88% udziale części organicznych. Osad prefermentowany (2,9% sm, 68% części organicznych) pobrano z komór fermentacyjnych miejskiej oczyszczalni ścieków „Kujawy” w Nowej Hucie – dzielnicy Krakowa.

Z innych dodatków, jako SPC wykorzystano preparat Tween 80 (prod. Sigma-Aldrich). Żelazo metaliczne (99,5%, Riedel-de-Haën) miało postać pylistą ($< 150 \mu\text{m}$). Mleczan sodowy (J.T. Baker, syrop 60%) był dodawany po rozcieńczeniu wodą destylowaną w proporcji od 1 do 5. Czynnikiem redukującym był siarczek sodowy dzie-

więciowodny (98%+, Sigma-Aldrich), a inhibitorem aktywności biologicznej azydek sodowy (99%, Riedel-de-Haën).

Przy ekstrakcji próbek korzystano z rozpuszczalników i odczynników do analiz śladowych: heksanu i acetonu Picograde (Promochem) oraz bezwodnego siarczanu sodowego Ultra-resi analyzed, 12-60 mesh (J. T. Baker).

2.1. Testy remediacji

Testy remediacji przeprowadzano w butelkach szklanych o objętości 160 ml, do których odważano po 3,0 g wysuszonego gruntu, a następnie dodawano 30 ml medium mineralnego (15), zawierającego bufor: fosforanowy i węglanowy, związki biogenne, mikroelementy i witaminy (pominięto oryginalnie stosowany ekstrakt drożdżowy, a siarczek sodu dodawano do medium tylko w wybranych seriach badawczych). Do wszystkich rodzajów próbek dodano 20 mM mleczanu sodowego jako źródła węgla organicznego (donora elektronów). Butelki zamykano korkami z Vitonu, zabezpieczając je kapslami aluminiowymi. Atmosferę ponad cieczą wymieniono na mieszaninę 80% N₂ i 20% CO₂ z nadciśnieniem 0,7 bara. Odczyn pH w próbkach mieścił się w zakresie 6,9-7,0.

W poszczególnych seriach stosowano następujące dodatki: osad granulowany – 1 g mokrej masy na próbkę; osad przefermentowany – 2 g mokrej masy; siarczek sodu – w stężeniu 0,24 g/dm³ medium mineralnego; żelazo metaliczne pyliste – 15 mg na próbkę; SPC Tween 80 – w stężeniu 0,5 M (655 mg/dm³), odpowiadającym wg (9) 20-krotności krytycznego stężenia micelizacji.

Przygotowano w sumie 10 serii próbek, obejmujących różne kombinacje dodatków: serię kontrolną z dodatkiem inhibitora aktywności biologicznej – 20 mM NaN₃ (C); serię bez dodatków (S); z siarczkiem sodu (SR); z dodatkiem SPC (SD); z dodatkiem żelaza (SZ); z zaszczepieniem beztlenowym osadem granulowanym (G); z osadem granulowanym i siarczkiem sodu (GR); z osadem granulowanym i SPC (GD), z osadem przefermentowanym (F) oraz z osadem przefermentowanym i SPC (FD).

Inkubację prowadzono przez trzy tygodnie bez dostępu światła, w temperaturze 30°C, wstrząsając butelki ręcznie raz w tygodniu w celu wymieszania zawartości. Próbki analizowano całościowo, w trzykrotnym powtórzeniu, na początku i końcu doświadczenia. Monitorowano w nich stężenie: γ -HCH; izomerów o,p'- i p,p'-DDT wraz z odpowiadającymi im metabolitami DDD oraz DDE, oraz p,p'-DMDT. Mierzono także potencjał redoks, używając miernika pH/Oxi-340i (WTW) z elektrodą Polyplast ORP (Hamilton).

2.2. Ekstrakcja próbek

Do ekstrakcji próbkę sączono przez sączek papierowy, pozostawiając odsączony grunt na sączku do następnego dnia w celu wyschnięcia. Do przesączu dodawa-

no wzorzec wewnętrzny – 70 µl roztworu dekachlorobifenylu w mieszaninie heksan/toluen (80/20% obj.) o stężeniu 100 µg/ml, a następnie ekstrahowano go poprzez 15-minutowe wytrząsanie z porcją 16 ml heksanu, użytego uprzednio do przemycia każdej butelki. Grunt poddawano ekstrakcji razem z sącziem, według zmodyfikowanej metody Wang i in. (16). Metoda ta została zweryfikowana przez autorów dla próbek gruntu z dodatkiem wzorców pestycydów: izomerów HCH, p,p'-DDT, -DDD, -DDE i -DMDT; próbek środowiskowych zanieczyszczonego gruntu oraz gruntu referencyjnego CRM804 (LGC Promochem). Podczas weryfikacji uzyskano współczynniki odzysku podobne jak dla ekstrakcji mieszaniną heksan/aceton w aparacie Soxhleta (metoda EPA 3540C). Grunt wraz z sącziem umieszczano w 40 ml ciemnej fiołce, do której dodawano 16 ml mieszaniny heksanu/acetonu (50/50% obj.) oraz wzorzec wewnętrzny (jak dla przesączu). Fiolkę szczelnie zamykano zakrętką z uszczelką z warstwą teflonu, po czym ogrzewano ją przez 4 h w łaźni wodnej w temperaturze 70°C. Po ostudzeniu pobierano ok. 4 ml ekstraktu do probówki wirówkowej zawierającej ok. 0,5 g bezwodnego siarczanu sodowego, po czym oddzielano zawiesinę przez 5-minutowe odwirowanie (7000 obr/min).

Ekstrakty rozcieńczano heksanem w takim stopniu by przewidywane stężenie badanych związków odpowiadało zakresowi kalibracji analizy chromatograficznej. Dalsze oczyszczanie ekstraktów przed analizą nie było konieczne.

Oddzielnie przygotowywano także próbki wzorca wewnętrznego, rozcieńczając go odpowiednią porcją heksanu i mieszaniny heksanu/acetonu. Próbki te analizowano równolegle z odpowiadającymi im ekstraktami, korygując otrzymane wyniki zgodnie z współczynnikiem odzysku wzorca wewnętrznego. Opisana procedura ekstrakcji i analizy zastosowana do próbek testowych z dodatkiem wzorców pestycydów dała odzysk wynoszący: γ -HCH 96±1%, p,p'-DDE 92±2%, p,p'-DDD 103±3%, p,p'-DDT 103±4%, p,p'-DMDT 104±3%.

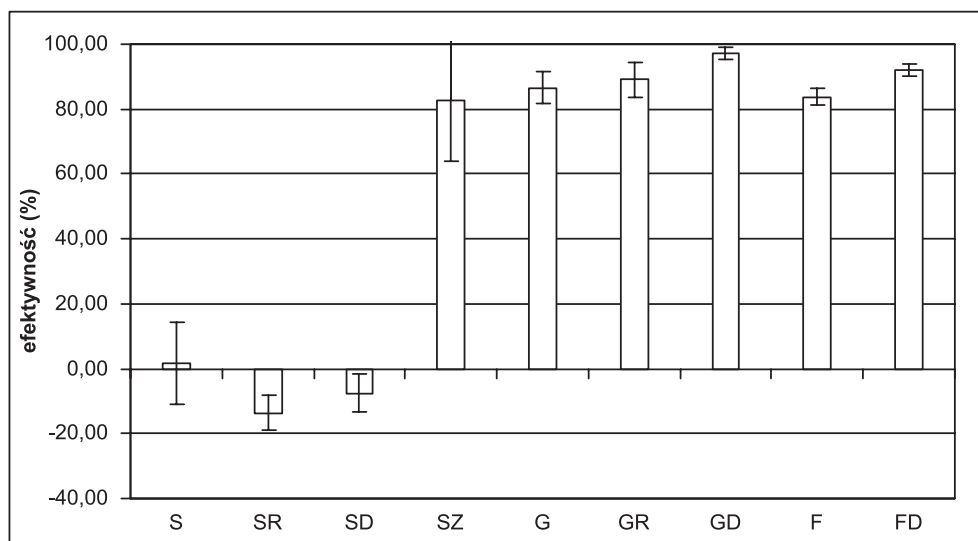
2.3. Analizy chromatograficzne

Analizy wykonywano na chromatografie gazowym MEGA (Carlo Erba), wyposażonym w kolumnę kapilarną Rtx 5 60 m × 0,32 mm × 0,25 µm z prekolumną 5 m × 0,32 mm oraz detektor ECD. Nastrzyk 1 µl ekstraktu wykonywano metodą splitless (210°C) z zastosowaniem wkładki Uniliner (Restek). Gazem nośnym był wódór pod ciśnieniem 100 kPa. Program temperaturowy: od 120°C, wzrost 5°C/min do 270°C, zatrzymanie przez 10 minut. Kalibrację wielopunktową wykonywano przed każdą serią analiz, używając wzorców zewnętrznych o stężeniach od 20 do 120 ng/ml.

3. Wyniki

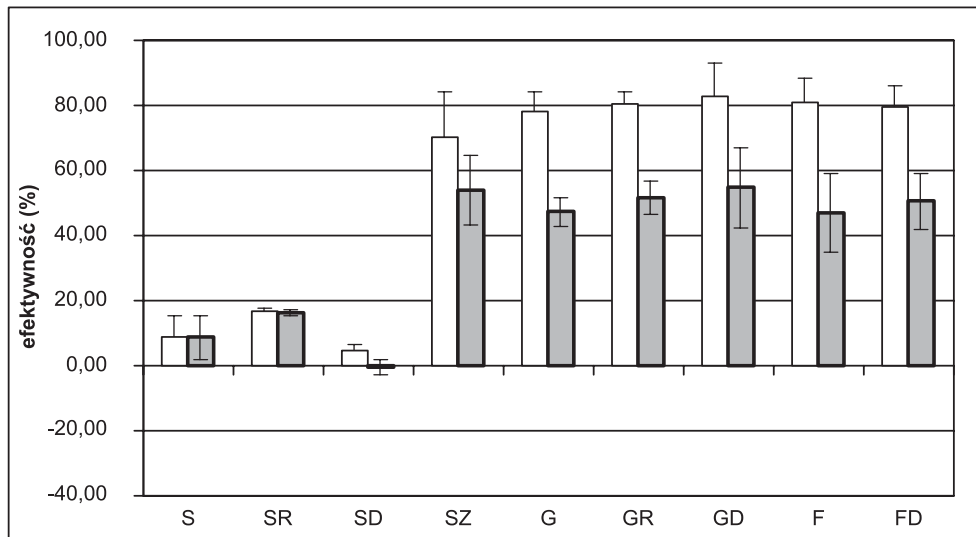
Wyniki testów remediacji zaprezentowano na rysunkach 1-3, jako wartości średnie procentowego zmniejszenia stężenia badanych związków w poszczególnych seriach badawczych w porównaniu do ich średniego stężenia w serii kontrolnej (C) pod koniec doświadczenia. Na rysunku 2 przedstawiono także zmniejszenie stężenia DDX, w tym przypadku sumy izomerów o,p'- i p,p'- DDT i DDD, ponieważ w żadnej z serii nie stwierdzono występowania DDE. Wyniki podano w odniesieniu do stężenia molowego z uwagi na stechiometryczny charakter przemiany DDT do DDD.

W seriach S (grunt bez dodatków) oraz SD (grunt + SPC) zmiany stężenia poszczególnych związków w porównaniu z serią kontrolną były niewielkie. Wynikały one prawdopodobnie z niejednorodności rozkładu zanieczyszczeń w badanym gruncie, za czym przemawia wielkość zakresu rozrzutu wyników porównywalna z wielkością tych zmian, a także fakt zarejestrowania w niektórych przypadkach nawet wzrostu stężenia w porównaniu z serią kontrolną (rys. 1). Większe różnice zaobserwowano tylko dla serii SR (grunt + Na₂S), gdzie stężenie DDT (suma izomerów) oraz p,p'-DMDT (metoksychloru) zmniejszyło się o odpowiednio 17 oraz 21%. Nie stwierdzono tu jednak obecności żadnych metabolitów DDT, przez co wystąpienie jego biodegradacji jest wątpliwe.

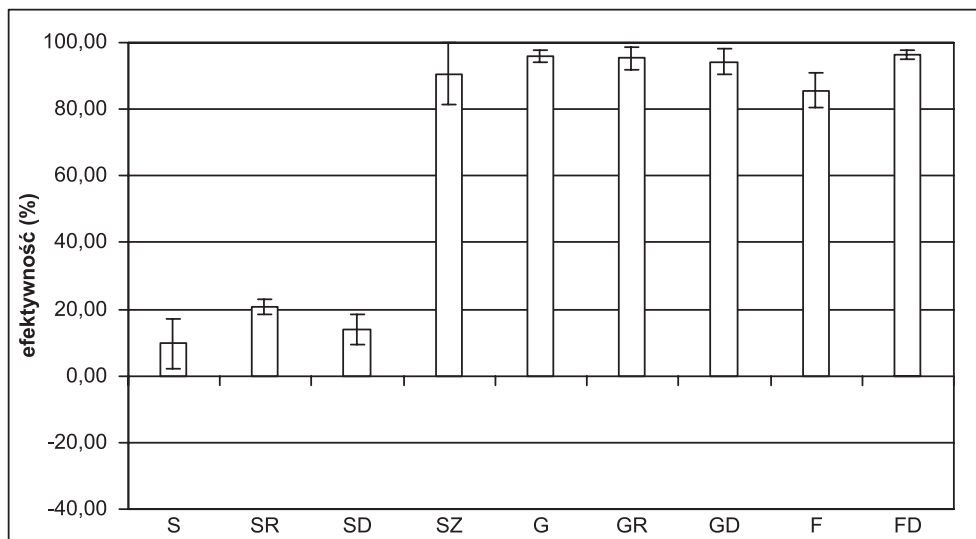


Rys. 1. Średnia efektywność usuwania γ -HCH w poszczególnych seriach.

Oznaczenia: S – seria bez dodatków; SR – z siarczkiem sodu; SD – z dodatkiem SPC; SZ – z dodatkiem żelaza; G – z zaszczerpieniem beztlenowym osadem granulowanym; GR – z osadem granulowanym i siarczkiem sodu; GD – z osadem granulowanym i SPC; F – z osadem prefermentowanym; FD – z osadem prefermentowanym i SPC. Słupki błędów odpowiadają odchyleniu standardowemu wyników.



Rys. 2. Średnia efektywność usuwania DDT (suma izomerów o,p' i p,p'; pola białe) oraz DDX – sumy DDT i metabolitu DDD (suma izomerów, pola zakropkowane) w poszczególnych seriach. Oznaczenia jak na rys. 1.



Rys. 3. Średnia efektywność usuwania p,p'-DMDT w poszczególnych seriach. Oznaczenia jak na rys. 1.

W serii SZ (grunt z dodatkiem żelaza) stwierdzono natomiast znaczny ubytek badanych związków: stężenie γ -HCH zmniejszyło się średnio o 83%, sumy izomerów DDT o 70%, a p,p'-DMDT o 91%. Pojawiły się także metabolity DDT – odpowiednie izomery DDD, choć w ilości daleko mniejszej niż wynikająca z przemiany stechiometrycznej, odpowiadającej jedynie 23% usuniętego DDT. Nie wykryto metabolitu DDE. W rezultacie w serii tej stwierdzono wysoką efektywność usunięcia ogólnej sumy DDT i jego pochodnych (DDX), wynoszącą 54%. Należy jednak podkreślić fakt znacznego rozrzutu wyników pomiędzy poszczególnymi próbkami.

Zaszczepienie aktywną biomasą beztlenową w postaci osadu granulowanego (seria G) spowodowała także usunięcie większości badanych pestycydów. Usunięto 87% γ -HCH, 78% DDT oraz 96% p,p'-DMDT. Również i tu stwierdzono powstawanie wyłącznie DDD jako metabolitu DDT, także w ilości istotnie mniejszej od stechiometrycznej, co w efekcie dało 47% zmniejszenie stężenia DDX. Wyniki uzyskane dla zaszczepienia osadem prefermentowanym (seria F) były porównywalne, przy nieco mniejszej efektywności w przypadku p,p'-DMDT (86%).

Dodatek związku redukującego Na_2S wraz z osadem granulowanym (GR) nie przyniósł żadnej istotnej zmiany rezultatów w porównaniu z uzyskanymi dla serii z samym tylko osadem. Różnice efektywności mieściły się w zakresach odchylenia standardowego wyników.

Zastosowanie SPC wraz z biomasą przyniosło zauważalną poprawę wyników usuwania dla γ -HCH zarówno w serii z osadem granulowanym (GD – wzrost do 97% w porównaniu z 87% dla serii G) jak i osadem prefermentowanym (FD – wzrost do 92% wobec 84% dla serii F). Zwiększona została także efektywność usuwania p,p'-DMDT dla osadu prefermentowanego – do 96%. Zaobserwowano również w obu przypadkach niewielkie zmniejszenie powstających ilości metabolitu DDD, lecz wynikające z tego przyrosty efektywności usuwania DDX były nieznaczne w porównaniu z zakresem rozrzutu rezultatów.

Potencjał redoks, mierzony pod koniec doświadczenia, dla gruntu bez dodatków (seria S) oraz dla gruntu z dodatkiem SPC (SD) niewiele różnił się od serii kontrolnej C, wynosząc średnio +55 (S) i +31 (SD) mV wobec +69 mV (C). Dodatek samego czynnika redukującego (siarczku sodu) zmniejszył go w serii SR do wartości średniej -127 mV, przy jeszcze niższej wartości dla serii z dodatkiem żelaza (SZ): -242 mV. Niskie wartości potencjału redoks stwierdzono także w seriach z aktywną biomasą: -255 mV dla serii z osadem granulowanym (G) oraz -286 mV dla serii z osadem prefermentowanym (F). Obecność różnych dodatków w seriach z oboma rodzajami osadów nie wpływała znacząco na wartość tego parametru.

4. Dyskusja wyników

Rezultaty testów remediacji na bazie mikroflory autochtonicznej (S, SR, SD) należy ocenić jako negatywne. Pomimo obecności różnych dodatków stymulujących

proces biodegradacji pestycydów (donor elektronów, czynnik redukujący, SPC) w żadnej z tych serii nie stwierdzono jego wystąpienia. Przyczyną tego mógł być jednak zbyt krótki czas inkubacji, niewystarczający dla rozwoju mikroorganizmów zdolnych do rozkładu badanych związków. We wcześniejszych doświadczeniach (17), w testach z tą samą próbką gruntu i dodatkiem czynnika redukującego, po upływie szesnastu tygodni inkubacji w temperaturze pokojowej stwierdzono znaczny spadek stężenia γ -HCH; p,p'-DDT i p,p'-DMDT. Opóźnienie procesu biodegradacji (faza lag) wynosiło od 4 do 8 tygodni. Jednakże usunięty p,p'-DDT był transformowany jedynie do p,p'-DDD, który jest także substancją niebezpieczną i jest uwzględniany w normach czystości gruntu (np. 13,18). Wydaje się zatem, że bioremediacja badanego gruntu na bazie rodzimej mikroflory będzie nieskuteczna i konieczne jest stosowanie bioaugmentacji.

Istotnie, w próbkach z dodatkiem aktywnej biomasy – osadu granulowanego (G) i przefermentowanego (F) stwierdzono duże usunięcie badanych pestycydów. W źródłach literaturowych potwierdza się możliwość biodegradacji badanych związków w tego rodzaju warunkach. Izomery HCH mogą ulegać przekształceniu poprzez produkty pośrednie, takie jak: pentachlorocykloheksan, tetrachlorocykloheksen, tri- i dichlorobenzeny do chlorobenzenu (9) oraz benzenu (19). W warunkach beztlenowych DDT jest transformowany drogą reduktywnego odchlorowania do DDD, a następnie poprzez szereg metabolitów pośrednich do produktu końcowego – dichlorobenzofenonu (4). W przypadku DMDT, będącego pochodną DDT, w literaturze zawartych jest niewiele doniesień, jednakże na ich podstawie można stwierdzić, że jego biodegradacja będzie w pewnym stopniu analogiczna do rozkładu DDT – w warunkach beztlenowych powstają głównie: dechlorowany DMDT, czyli DMDD, oraz mono- i dihydroksy (demetylowane) pochodne DMDT i DMDD (20).

W świetle tych danych bardzo istotny jest fakt, że w prezentowanych badaniach znajdowano metabolit DDD w ilościach stechiometrycznie mniejszych niż odpowiadające usuniętemu DDT – potwierdza to występowanie dalszej transformacji tego związku, jak również skutkuje obniżeniem ogólnej sumy stężenia izomerów DDT i ich pochodnych DDD i DDE (DDX), będącej wskaźnikiem czystości gruntu (np. 13,18). Należy podkreślić, że w żadnej z wykonanych serii badawczych nie zaobserwowano powstawania DDE, związku o bardzo dużej trwałości w gruntach, trudno podatnego na degradację (4).

Cornelissen i in. (21), podczas prób bioremediacji gruntów zawierających WWA, stwierdzili istnienie korelacji pomiędzy efektywnością usuwania zanieczyszczeń a wielkością ich frakcji szybko desorbujących, wyznaczonych w testach ekstrakcji na fazie stałej Tenax TA. Ilości usuniętych związków były zazwyczaj nieco większe od tych frakcji, na podstawie czego wysnuto wniosek, że biodostępna (a zatem biodegradowalna) jest nie tylko frakcja szybko desorbująca, ale także część frakcji wolno desorbującej. Pozostała część substancji pozostaje niebiodostępna i jako taka nie jest rozkładana. Podobne obserwacje poczyniono w omawianych doświadczeniach.

Ilości usuniętego γ -HCH; p,p'-DDT i p,p'-DMDT w seriach z aktywną biomasą G i F były istotnie większe niż frakcje szybko desorbujące tych substancji określone metodą ekstrakcji na fazie stałej. Jest zatem prawdopodobne, że w testach tych uzyskiwano usunięcie zdecydowanej większości lub nawet całości biodostępnych zanieczyszczeń. W takiej sytuacji poprawa efektywności mogła być osiągnięta tylko poprzez zwiększenie ich biodostępności.

Dodatek czynnika redukującego (siarczku sodu) do prób z osadem granulowanym nie podniósł stopnia usuwania pestycydów, w przeciwieństwie do wyników uzyskanych przez You i in. (6). Przyczyną tego, poza brakiem oddziaływania na biodostępność zanieczyszczeń, może być także stosunkowo nieduży wpływ tego dodatku na potencjał redoks, który i tak był bardzo niski na skutek obecności fermentującej biomasy. Natomiast zauważalny efekt wywołał dodatek SPC, co jest zgodne z obserwacjami dokonanymi przez Walters i Aitken (22). Stwierdzili oni, że dodatek niejonowego SPC istotnie przyspieszał rozkład DDT w zanieczyszczonym gruncie, przy równocześnie zmniejszonej akumulacji metabolitu DDD. SPC może powodować zwiększenie biodostępności zanieczyszczeń, zarówno poprzez podwyższenie ich pozornej rozpuszczalności w wodzie, jak również poprzez możliwość uwolnienia części zanieczyszczeń zasekwestrowanych w gruncie na skutek oddziaływania SPC z materią organiczną gruntu. Zjawisko takie opisywane było np. przez Cuypers i in. (23) dla osadów zanieczyszczonych WWA.

Żelazo metaliczne jest zdolne do abiotycznego redukcyjnego dechlorowania wielu związków organicznych. Dla DDT właściwość ta została zbadana przez Sayles i in. (24). Wykazali oni powstawanie produktów pośrednich podobnych do powstających w procesie biodegradacji beztlenowej, jak również możliwość dechlorowania metabolitu DDE. Dodatek metalicznego żelaza znacząco przyspieszył transformację DDT i związków pochodnych w zanieczyszczonych nimi osadach dennych (8). Dużą efektywność usuwania pestycydów chlorowanych w serii SZ można wobec tego przypisać wpływowi żelaza metalicznego. Była ona niewiele niższa lub porównywalna do efektów uzyskiwanych w seriach z aktywną biomasą (G i F). Co więcej, w serii tej stwierdzono najniższą z wszystkich akumulację metabolitu DDD. Było to prawdopodobnie wynikiem użycia znacznego nadmiaru żelaza w stosunku do ilości zanieczyszczeń, co jest zgodne z warunkami i obserwacjami poczynionymi w cytowanych publikacjach. Przykładowo, Eggen i Majcherczyk (8) zastosowali żelazo w stosunku 1,6 μmol DDT/g Fe. W omawianych badaniach własnych wartość ta wynosiła 1,9 μmol DDT/g Fe, choć należy pamiętać, że w odróżnieniu od badań cytowanych w użytym gruncie obecne były także inne związki chlorowane mogące wchodzić w reakcję z żelazem. W obecnie prowadzonych doświadczeniach, wykonywanych wg analogicznej metody dla gruntu w którym stężenie badanych pestycydów jest wielokrotnie większe, dawka żelaza 15 mg na próbkę była o wiele mniej efektywna. Zatem skuteczna bioremediacja w przypadku silnie zanieczyszczonych gruntów prawdopodobnie wymagałaby użycia bardzo dużych ilości żelaza – powstaje pytanie czy możliwych do zastosowania w praktyce z punktu widzenia technicznego czy ekonomicznego.

5. Podsumowanie i wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że skuteczna bioremediacja gruntu skażonego chlorowanymi pestycydami, takimi jak γ -HCH, DDT i DMDT, wymaga bioaugmentacji mikroorganizmami zdolnymi do rozkładu tego rodzaju zanieczyszczeń. Ich źródłem może być biomasa z procesów fermentacji metanowej – w postaci osadu granulowanego lub przefermentowanego osadu ściekowego. Możliwe jest uzyskanie znacznego stopnia usunięcia związków wyjściowych, jak również zmniejszonej akumulacji pierwotnego metabolitu DDT – DDD. Efektywność takiego procesu może być dodatkowo zwiększona przez zastosowanie dodatku środka powierzchniowo czynnego. Zbędne jest natomiast użycie czynników zmniejszających potencjał redoks, ponieważ same osady beztlenowe powodują jego duże obniżenie.

Dodatek żelaza metalicznego w postaci pylistej daje podobny stopień usuwania rozważanych pestycydów jak aktywna biomasa beztlenowa, lecz prawdopodobnie może być ono stosowane efektywnie do remediacji gruntów tylko w przypadku niskiego stopnia zanieczyszczenia, ze względu na wymagane wysokie dawki.

Charakter powstających potencjalnych produktów pośrednich degradacji badanych pestycydów, jak też ograniczona efektywność usuwania w przypadku sumy DDT i jego metabolitów (uwzględnianej w normach czystości gruntu), wskazują na konieczność uzupełnienia procesu bioremediacji o fazę degradacji w warunkach tlenowych oraz dalsze poszukiwanie metod intensyfikujących zachodzące przemiany.

Badania wykonano w ramach projektu 3 T09D 049 28, finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

Literatura

1. KPWKS, *Krajowy program wdrażania konwencji sztokholmskiej*, (2004), Projekt GF/POL/01/004, Warszawa.
2. Czaplicki E., Podgórska B., Rogalińska M., (1996), *Chlorinated hydrocarbons contents in toms in Poland*, Materiały konferencji "4th forum HCH and unwanted pesticides" 15-16 stycznia 1996, Poznań.
3. Fogel S., Lancione R. L., Sewall A. E., (1982), *Appl. Environ. Microbiol.*, 44 (1), 113-120.
4. Foght J., April T., Biggar K., Aislabie J., (2001), *Bioremediation Journal.*, 5 (3), 225-246.
5. Langenhoff A. A. M., Staps J. J. M., Pijls C., Alphenaar A., Zwiep G., Rijnaarts H. H. M., (2002), *Water, Air and Soil Pollution: Focus*, 2 (3), 171-181.
6. You G., Sayles G. D., Kupferle M. J., Kim I. S., Bishop P. L., (1996), *Chemosphere*, 32 (11), 2269-2284.
7. Middeldorp P. J. M., van Doesburg W., Schraa G., Stams A. J. M., (2005), *Biodegradation*, 16 (3), 283-290.
8. Eggen T., Majcherczyk A., (2006), *Chemosphere*, 62 (7), 1116-1125.
9. Quintero J. C., Moreira M. T., Lema J. M., Feijoo G., (2006), *Chemosphere*, 63 (6), 1005-1013.
10. Semple K. T., Moriss A. W. J., Paton G. I., (2003), *European Journal of Soil Science*, 54, 809-818.
11. Cornelissen G., Noort van P. C. M., Govers H. A. J., (1997), *Environ. Toxicol. Chem.*, 16, 1351-1357.
12. Eekert M. H. A., Schraa G., (2001), *Wat. Sci. Technol.*, 44 (8), 49-56.
13. RMŚ – Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 9 września 2002 (2002), *Standardy jakości gleby oraz standardy jakości ziemi*, (Dz. U. z 2002 r., nr 165, poz. 1359).

14. Małachowska-Jutsz A., Kalka J., Chromy D., Baczyński T., (2007), *Inżynieria i Ochrona Środowiska* (w druku).
15. Holliger C., Schraa G., Stams A. J. M., Zehnder A. J. B., (1993), *Appl. Environ. Microbiol.*, 59 (9), 2991-2997.
16. Wang X., White J. C., Gent M. P. N., Ianucci-Berger W., Eitzer B. D., Mattina M. I., (2004), *Int. J. Phytoremediation*, 6 (4), 363-385.
17. Baczyński T., (2007), *Możliwości bioremediacji gruntów zanieczyszczonych pestycydami chloroorganicznymi*, Materiały konferencji PZiTS „Rekultywacja i rewitalizacja terenów zdegradowanych”, Poznań.
18. VROM – *Netherlands Ministry of Housing, Spatial Planning and the Environment*, (2000), The circular on target values and intervention values for soil remediation.
19. Eekert M. H. A., Ras N. J. P., Mentink G. H., Rijnaarts H. H. M., Stams A. J. M., Field J. A., Schraa G., (1998), *Environ. Sci. Technol.*, 32, 3299-3304.
20. Muir D. C. G., Yarechewski A. L., (1984), *J. Environ. Sci. Health: B*, 19, 271-296.
21. Cornelissen G., Rigterink H., Ferdinandy M. M. A., Noort van P. C. M., (1998), *Environ. Sci. Technol.*, 32, 966-970.
22. Walters G. W., Aitken M. D., (2001), *Wat. Env. Res.*, 73 (1) 15-23.
23. Cuypers C., Pankras T., Grotenhuis T., Rulkens W., (2002), *Chemosphere*, 46 (8), 1235-1245.
24. Sayles G. D., You G., Wang M., Kupferle M. J., (1997), *Environ. Sci. Technol.*, 31, 3448-3454.