



## Wykorzystanie drobnoustrojowych surfaktantów do usuwania metali ciężkich z gleby

Katarzyna Paraszekiewicz, Jerzy Długoński

Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii,  
Instytut Mikrobiologii i Immunologii, Uniwersytet Łódzki, Łódź

### Remediation of heavy metal-contaminated soil by microbial surfactants

#### Summary

The common use of heavy metals in several industrial applications has led to their wide distribution in the wastewaters, sediments and soils. Today, due to heavy metals high toxicity and non-biodegradable nature, metal-polluted soils have become one of the serious environmental problems. Remediation technologies developed for metal – contaminated soil are based on: 1) allowing heavy metals to remain in the polluted site after decreasing their availability by solidification / stabilization processes, or 2) removing heavy metals from soil by e.g. phytoremediation or soil extraction (flushing/washing). Techniques such as *ex situ* soil washing and *in situ* soil flushing transfer heavy metals to liquid phase by desorption and solubilization. To support heavy metals' removal from soil matrix, the washing water used in these methods is usually augmented with acids, bases, chelating agents or surfactants. Biosurfactants, surface-active agents of biological origin, produced mainly by microorganisms, have gained considerable interest in environment remediation techniques due to some distinct advantages over the synthetic counterparts such as lower toxicity, higher biodegradability and high selectivity. This paper provides an overview of the application of biosurfactants for the remediation of heavy metal-contaminated soil. Promising alternative surfactant foam technology is described, too.

#### Key words:

biosurfactants, heavy metals, bioremediation, contaminated soil, surfactant foam.

#### Adres do korespondencji

Katarzyna Paraszekiewicz,  
Katedra Mikrobiologii  
Przemysłowej  
i Biotechnologii,  
Instytut Mikrobiologii  
i Immunologii,  
Uniwersytet Łódzki,  
ul. Banacha 12/16,  
90-237 Łódź.



## 1. Toksyczność metali ciężkich

Najczęściej metale ciężkie określa się jako pierwiastki metaliczne o liczbie atomowej mieszczącej się w zakresie 21-92 i gęstości większej niż  $5,0 \text{ g cm}^{-3}$  (1). Do tej grupy należą zarówno pierwiastki, które nie pełnią funkcji w przemianach metabolicznych (np. rtęć, ołów, kadm), jak i metale konieczne dla prawidłowego przebiegu procesów życiowych (m.in. miedź, cynk, kobalt, nikiel). Niezależnie od tego podziału, metale ciężkie po przekroczeniu określonego stężenia wykazują działanie toksyczne, polegające na indukcji zmian konformacyjnych w polimerach (głównie w białkach i kwasach nukleinowych), na zaburzeniu prawidłowego funkcjonowania enzymów, transportu komórkowego czy zwiększonej częstości mutacji (2,3). Do opisanych efektów ekspozycji organizmów wyższych na działanie metali ciężkich należą uszkodzenia skóry, narządów wewnętrznych (w tym szczególnie wątroby i nerek), choroby układu naczyniowego i nerwowego, anemia, a nawet zmiany nowotworowe (4,5).

Na liście priorytetowych substancji niebezpiecznych, wydanej w 2005 r., przez amerykańską agencję ATSDR (American Agency for Toxic Substances and Disease Registry) wymieniane są na 1, 2, 3 oraz 8 miejscu odpowiednio: arsen, ołów, rtęć, oraz kadm (6). Dodatkowo, ołów i rtęć (a także związki tych metali) zaklasyfikowane zostały przez US EPA (United States Environmental Protection Agency) do grupy substancji „opornych na rozkład, toksycznych i akumulowanych przez organizmy” (7). Niektóre metale ciężkie uznane zostały jako substancje o potencjalnym działaniu kancerogennym. Według wykazu opublikowanego w 2005 r. przez US EPA należą do nich: nikiel, ołów, chrom (na VI stopniu utlenienia), kadm, arsen (w postaci związków nieorganicznych) i kobalt (8).

Obecnie obserwowany wzrost skażenia środowiska metalami ciężkimi spowodowany jest przede wszystkim działalnością gospodarczą człowieka. Odpady i ścieki o wysokiej zawartości metali ciężkich produkowane są przez przemysł wydobywczy, metalurgiczny, garbarski, galwanizerski i elektrochemiczny. Źródłem metali ciężkich w środowisku jest także produkcja farb i barwników, papieru, środków ochrony roślin, tworzyw sztucznych, transport drogowy oraz procesy spalania (9-11). Podwyższona zawartość metali ciężkich w gruntach wyznaczana jest głównie na obszarach zajmowanych przez niektóre zakłady przemysłowe (np. kopalnie, huty) lub w miejscach składowania odpadów. Jednak na podstawie uzyskanych wyników z przeprowadzonych w ostatnich latach analiz wskazuje się, że problem ten staje się coraz bardziej powszechny i dotyczy obecnie także terenów sąsiadujących z kompleksami mieszkalnymi lub znajdujących się w pobliżu rezerwuarów wody pitnej.

Toksyczne działanie metali w glebie zależy tylko w niewielkim stopniu od całkowitej zawartości tych zanieczyszczeń w gruncie. Przede wszystkim jest ono determinowane biodostępnością – stężeniem jonów metali ciężkich w roztworze glebowym (12). Do czynników wpływających na biodostępność metali należy wiek i różnorodność zanieczyszczeń, a także warunki biogeochemiczne danego gruntu – fi-



zykochemiczne właściwości gleby (typ, pH, zdolność wymiany jonowej, przesiąkliwość, zawartość związków wiążących / adsorbujących metale ciężkie) oraz możliwości metaboliczne i liczebność bytujących w tym środowisku organizmów (13-16).

## 2. Zasady remediacji gleb skażonych metalami ciężkimi

W metodach stosowanych przy remediacji gruntów skażonych metalami ciężkimi wykorzystywane są dwie, przeciwstawne sobie, strategie. Pierwsza z nich polega na immobilizacji metali tzn. pozostawieniu ich w glebie, ale po uprzednim przekształceniu w związki o niskiej rozpuszczalności w wodzie, a tym samym o niskiej biodostępności. Druga grupa metod obejmuje zabiegi zwiększające mobilizację metali ciężkich, co w kolejnym etapie ułatwia ich usunięcie z gruntu np. na drodze fitoremediacji (17-19), technikami elektrokinetycznymi (20-22) lub w wyniku wymycia (ang. *soil extraction – flushing/washing*) (23-25).

Obecnie powszechnie stosowana technika polega na oddzielaniu warstwy gleby skażonej metalami ciężkimi, poddanie jej zabiegom stabilizującym zanieczyszczenia, a następnie składowanie w wydzielonym miejscu. Unieruchamianie metali ciężkich przeprowadza się np. poprzez dodanie do gruntu cementu, wapna, żużlu, apatytów, fosfogipsu lub odpadów pochodzenia biologicznego: słomy, liści, chitosanu, osadów ściekowych (26-28). Mimo prostoty wykonania, metody te są kosztowne, co wynika z wysokich opłat za transport i składowanie gleby. Dodatkowo, immobilizacja metali ciężkich uniemożliwia dalsze użytkowanie gleby, nieznana jest także długookresowa stabilność utworzonych kompleksów metali ciężkich. Z tej przyczyny wiele uwagi poświęca się opracowaniu metod remediacji polegających na zwiększeniu rozpuszczalności metali, a następnie ich usunięciu. Metale ciężkie mają tendencję do trwałego łączenia się z organicznymi i nieorganicznymi składnikami gruntu. Dlatego, w celu zwiększenia efektywności metod opartych na przepłukiwaniu gleby, woda zastępowana jest roztworami kwasów lub zasad (rozpuszczającymi organiczne składniki gleby), związków redukująco-utleniających, chelatujących (np. EDTA) czy wreszcie surfaktantów (11,29-34).

## 3. Surfaktanty i biosurfaktanty

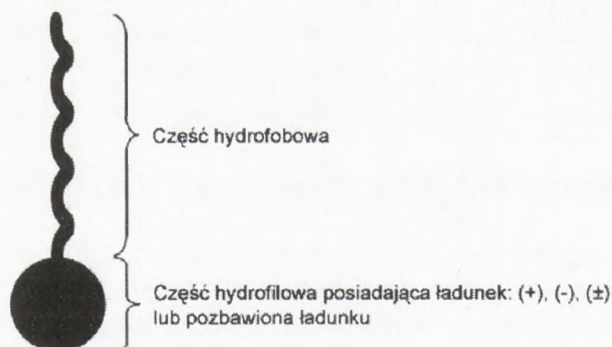
Surfaktanty to związki powierzchniowo czynne, charakteryzujące się amfifilową budową cząsteczek. Obecność zarówno części hydrofobowej, jak i hydrofilowej powoduje, że cząsteczki tych związków gromadzą się na granicy dwóch, niemieszających się faz. Do zjawisk wywoływanych przez surfaktanty należą: spadek napięcia międzyfazowego (określanego napięciem powierzchniowym w przypadku granicy między fazą płynną i gazową), generowanie oraz stabilizowanie emulsji i piany

(tab.). Surfaktanty, ze względu na ładunek części hydrofilowej dzielone są na jonowe (kationowe, anionowe i amfoteryczne) oraz niejonowe (rys. 1). Ważną cechą surfaktantów jest wartość CMC – krytycznego stężenia micelnarnego. Poniżej wartości CMC cząsteczki surfaktanta występują w postaci monomerów, natomiast powyżej tego punktu formują skupienia, które w przypadku roztworów wodnych są zorientowane częściami hydrofobowymi do środka, a grupami hydrofilowymi na zewnątrz (35,36). Zależność między stężeniem związku powierzchniowo czynnego, wartością napięcia międzyfazowego, zdolnością do rozpuszczania związków hydrofobowych, a punktem CMC przedstawiono na rysunku 2. Surfaktanty produkowane chemicznie określane są mianem syntetycznych. Charakteryzują się niską ceną i znalazły zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu. Wykazano, że niektóre z tych surfaktantów np. SDS i Triton X-100 (rys. 3) zwiększają wydajność wypłukiwania metali ciężkich i zanieczyszczeń organicznych ze środowisk glebowych (31,37,38). Jednak ze względu na dużą toksyczność i długi czas zalegania w środowisku nie zaleca się stosowania tych związków do bioremediacji gruntu (36,37,39).

Tabela

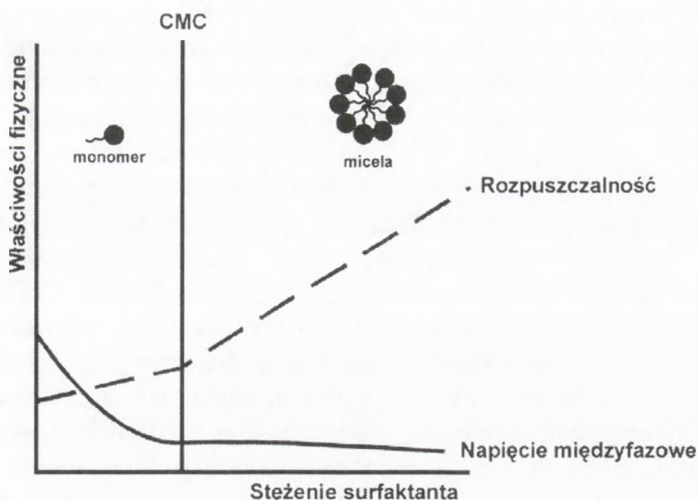
Procesy wynikające ze zdolności surfaktantów do gromadzenia się w przestrzeni międzyfazowej (39,45)

Przestrzeń międzyfazowa	Działanie surfaktantów
gaz / płyn	– obniżanie napięcia międzyfazowego (określanego w tym przypadku napięciem powierzchniowym) – pienienie – destabilizacja pian
płyn / płyn	– obniżanie napięcia międzyfazowego – stabilizacja emulsji
powierzchnia stała / płyn	– zwilżanie – koagulacja – dyspersja
powierzchnia stała / gaz	– zwilżanie – działanie antystatyczne

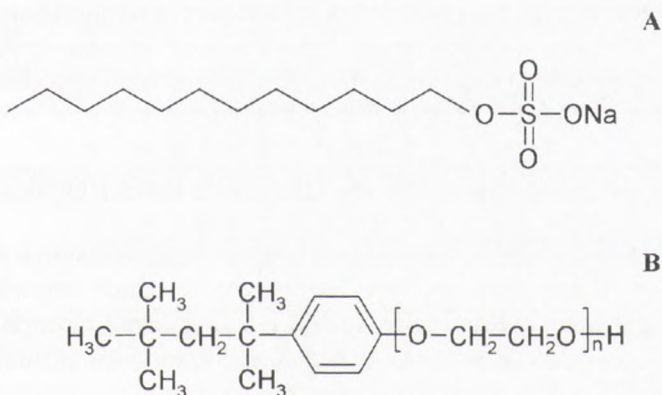


Rys. 1. Uproszczony schemat budowy monomeru surfaktanta.





Rys. 2. Schematyczne przedstawienie zależności między stężeniem surfaktanta w roztworze wodnym a napięciem międzyfazowym, zdolnością do formowania skupień (miceli) i rozpuszczania związków hydrofobowych; CMC (krytyczne stężenie micelarne) (50).



Rys. 3. Przykłady syntetycznych surfaktantów wspomagających wypłukiwanie metali ciężkich z gleby: A) SDS (dodecylosiarczan sodu); B) Triton X-100 (4-(1,1,3,3-tetrametylobutylo)fenyloksy-polietoksy-etanol), średnia wartość n dla tego związku wynosi 9,5.

Mianem biosurfaktantów określa się substancje powierzchniowo czynne pochodzenia biologicznego. Związki te wytwarzane są głównie przez drobnoustroje, choć znane są także surfaktanty roślinne i zwierzęce. Zdolność do syntezy biosurfaktantów jest szczególnie często spotykana u drobnoustrojów wykorzystujących jako źródło węgla i energii związki o niskim powinowactwie do wody,

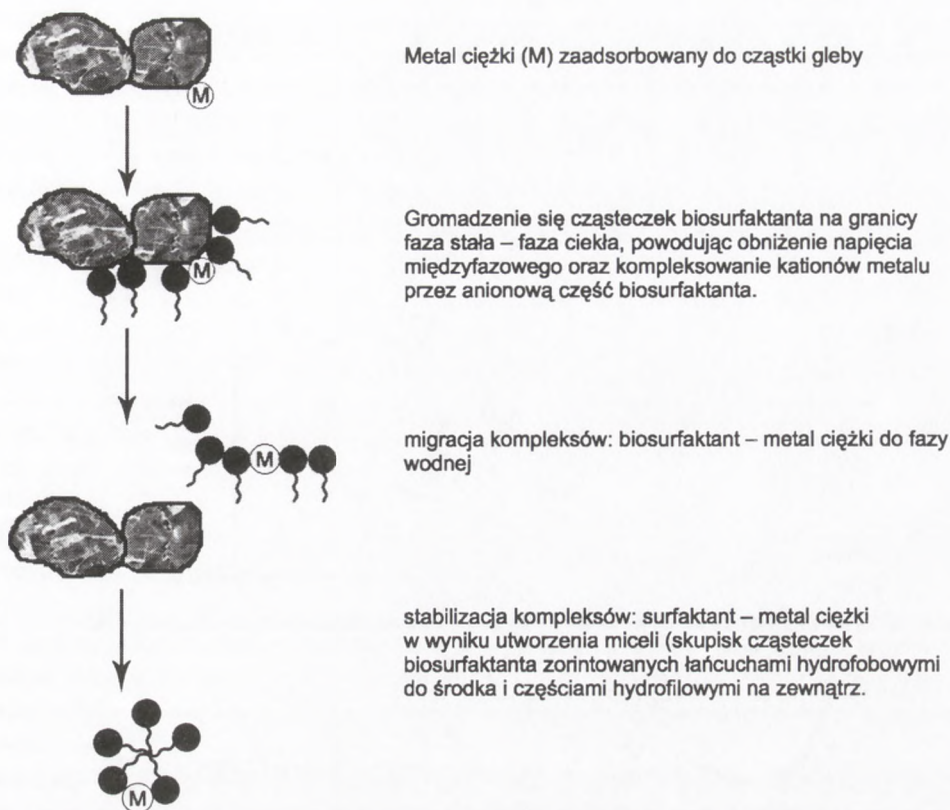
np. składniki zawarte w produktach naftowych (40-43). Domena lipofilna cząstek biosurfaktantów zazwyczaj utworzona jest z reszty kwasu tłuszczowego, niemniej jednak w niektórych przypadkach może to być fragment łańcucha peptydowego o wysokiej zawartości hydrofobowych aminokwasów (44). W skład domeny hydrofilowej może wchodzić fosforan, kwas karboksylowy, węglowodan, aminokwas, cykliczny peptyd lub alkohol. Na podstawie budowy chemicznej związku te dzielone są na: glikolipidy, lipopeptydy, lipoproteiny, kwasy tłuszczowe, fosfolipidy, biosurfaktanty złożone (np. niektóre glikolipoproteiny) oraz biosurfaktanty polimeryczne (np. składniki fimbrii i otoczek) (45,46). Często wyróżnia się także biosurfaktanty nisko- i wysokocząsteczkowe. Do pierwszej grupy należą związki o masach nie przekraczających 1500 Da, w większości silnie obniżające napięcie międzyfazowe, ale charakteryzujące się niską aktywnością emulgacyjną. Z kolei biosurfaktanty wysokocząsteczkowe są bardzo efektywnymi emulgatorami. Ich masa może dochodzić nawet do 1000 kDa – przykładem takiego surfaktanta jest emulsan, lipopolisacharyd wytwarzany przez szczep *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 ATCC 31012 (47,48). Większość biosurfaktantów ma charakter anionowy lub neutralny (49,50). Z tak dużą różnorodnością budowy biosurfaktantów wiąże się zróżnicowanie właściwości fizykochemicznych i selektywność działania. Związki te są także mniej toksyczne i szybciej ulegają biodegradacji, niż syntetyczne surfaktanty. Przyczyniło się to do opracowania szeregu technik wykorzystujących biosurfaktanty, jako czynniki wspomagające usuwanie z gleby zanieczyszczeń o charakterze hydrofobowym, głównie związków ropopochodnych (36,41,50-57).

#### 4. Wykorzystanie biosurfaktantów do eliminacji metali ciężkich z gleby

Badania nad możliwością stosowania roztworów biosurfaktantów do remediacji gruntów skażonych metalami ciężkimi rozpoczęto w latach dziewięćdziesiątych XX w. (58). W pracach z tej dziedziny stosowane są głównie biosurfaktanty niskocząsteczkowe, co wynika z dobrze opracowanych warunków produkcji i izolacji tych związków (50).

Zwiększona efektywność usuwania metali przez roztwory anionowych surfaktantów tłumaczona jest działaniem dwóch mechanizmów: desorpcji i kompleksowania (rys. 4). Cząsteczki związku powierzchniowo czynnego gromadzą się na granicy faza stała – roztwór glebowy obniżają napięcie międzyfazowe i działanie sił kapilarnych oraz biorą udział w wiązaniu metali. Procesy te wydatnie zwiększają zawartość jonów metali w roztworze glebowym. Desorpcję przyspiesza także, zachodzące w fazie wodnej, kompleksowanie kationów metali przez cząsteczki i micelle biosurfaktanta. Wiązania tworzone między kationami metalu ciężkiego, a ujemnie naładowaną częścią surfaktanta są na tyle silne, że płukanie usuwa te kompleksy w całości (11,50,58,59).

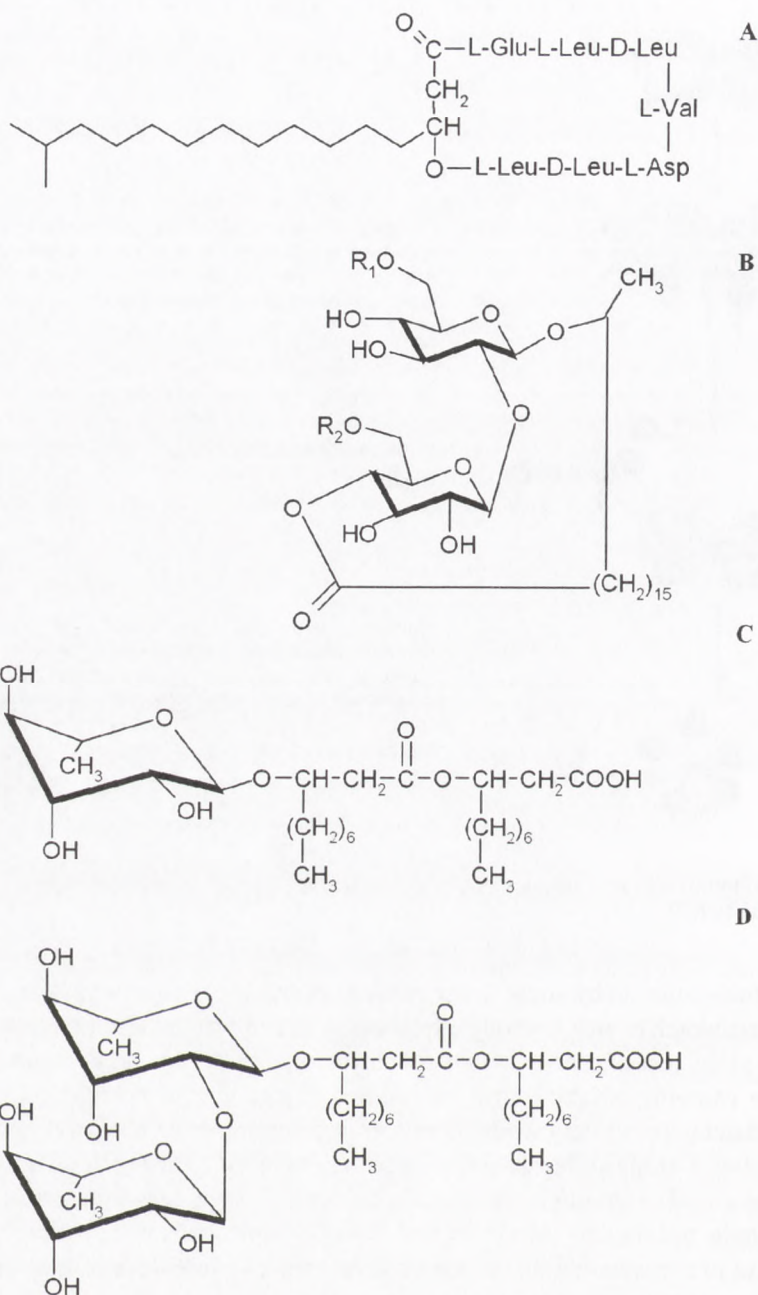




Rys. 4. Hipotetyczny przebieg desorpcji metalu ciężkiego z gleby, podczas płukania gruntu roztworem surfaktanta (50).

Przepłukiwanie gleby roztworem biosurfaktanta można prowadzić *ex situ* lub *in situ*. W warunkach *ex situ* (metody określane w literaturze jako *soil washing*) niewielka porcja gleby jest przenoszona do cementowego zbiornika, do którego dodawany jest także roztwór związku powierzchniowo czynnego. Po zakończeniu płukania, glebę oddziela się od fazy wodnej, zawierającej kompleksy biosurfaktant – metal ciężki. Kolejne etapy polegają na precypitacji związku powierzchniowo czynnego, połączone z wydzieleniem jonów metalu do wody. Z kolei w warunkach *in situ* (techniki płukania opisywane terminem *soil flushing*) wprowadzanie / odbiór roztworu surfaktanta przeprowadza się systemem dren i rowów, bezpośrednio w miejscu skażenia gleby.

Obiecujące wyniki uzyskano zwłaszcza w przypadku niskocząsteczkowych biosurfaktantów: ramnolipidów, soforolipidów i surfaktyny (rys. 5). Opracowanie warunków wydajnej syntezy ramnolipidów i soforolipidów dodatkowo zwiększyło ich dostępność i możliwości stosowania w procesach usuwania metali ciężkich z gleby. Za-



Rys. 5. Wzory strukturalne biosurfaktantów najczęściej stosowanych do usuwania metali ciężkich z gleby: A) surfaktyna (cykliczny lipopeptyd) wytwarzany przez *B. subtilis*; B) sofrorolipid (w postaci laktonu) wytwarzany przez *C. bombicola*; C) ramnolipid *P. aeruginosa* ( $C_{26}H_{48}O_9$ ) o masie molowej 504 g; D) ramnolipid *P. aeruginosa* ( $C_{32}H_{58}O_{13}$ ) o masie molowej 650 g. Przedstawione na rycinie ramnolipidy są dominującymi składnikami preparatu JBR 425, produkowanego przez Jeneil Biosurfactant Company, USA (54).



liczane do glikolipidów ramnolipidy wytwarzane są przez różne szczepy *Pseudomonas aeruginosa*, przy czym obecnie osiągnięta wydajność syntezy przekracza  $100 \text{ g l}^{-1}$  (60,61). Ramnolipidy produkowane są na skalę przemysłową m. in. przez firmę Jeneil Biosurfactant Co. (USA), oferującą mieszaninę kilku ramnolipidów o nazwie handlowej JBR 425 (62). Soforolipidy, także z klasy glikolipidów, otrzymywane są z hodowli *Candida* (dawniej *Torulopsis*) *bombicola* i *C. apicola*. Opracowano warunki pozwalające otrzymać ponad 700 g soforolipidów z 1 litra hodowli szczepu *C. bombicola* (61). Surfaktyna, zaliczana do lipopeptydów, wytwarzana jest przez szczepy *Bacillus subtilis*. Dotąd poznano kilka odmian tego biosurfaktanta różniących się składem aminokwasów budujących część cyklicznego heptapeptydu oraz długością reszty kwasu tłuszczowego, który może zawierać od 13 do 16 atomów węgla (48).

Tan i wsp. (64) wykazali, że 5 mM roztwór ramnolipidu, pochodzącego z hodowli *P. aeruginosa* ATCC 9027, wiąże kadm na poziomie  $22 \mu\text{g Cd}^{+2}/\text{mg}$  surfaktanta. Dodatek tego związku, poprzez ograniczenie toksyczności kadmu, umożliwił biodegradację naftalenu przez szczep *Burkholderia* sp. (65). Ustalono, że ramnolipidy charakteryzują się wysokim powinowactwem również do rtęci, ołowiu, miedzi i cynku. Stwierdzono, że obecność ramnolipidów w roztworach płuczących zwiększa efektywność desorpcji tych metali z cząstek gleby (66,67). Dodatkową zaletą ramnolipidów jest wyższe powinowactwo do kadmu, ołowiu i glinu, niż do organicznych składników gruntu oraz do istotnych dla żyzności gleby jonów potasu, magnezu i wapnia (68,69). Zastosowanie 10 mM roztworu ramnolipidu pozwoliło usunąć 15% ołowiu, pomimo wysokiego w tej glebie stężenia cynku i miedzi (70). Wysokie powinowactwo ramnolipidów do miedzi wykorzystano do odzysku tego metalu z odpadów. Usunięcie 50 i 40% miedzi związanej odpowiednio z węglanami i tlenkami uzyskano po sześciu dniach płukania odpadów 2% roztworem ramnolipidu (71).

Wydajność tych metod usuwania metali ciężkich zależy od szeregu czynników i wymaga wcześniejszego, eksperymentalnego dobrania warunków płukania (w tym szczególnie rodzaju i stężenia surfaktanta) do typu zanieczyszczeń i charakteru gleby. Poziom oczyszczenia zależy także od częstości przeprowadzonych ekstrakcji gruntu. Wykazano, że jednokrotne płukanie gleby 0,1% roztworem surfaktyny w 1% NaOH pozwala usunąć 25% Cu, 6% Zn i 5% Cd, natomiast 5-krotne powtórzenie tej czynności zwiększa poziom usuwania do 70% Cu, 25% Zn oraz 15% Cd (72).

Mulligan i wsp. (73) porównali zdolność różnych biosurfaktantów do desorpcji miedzi i cynku obecnych w osadach sedymentacyjnych. Przepłukiwanie gleby 0,5% roztworem ramnolipidów pozwoliło usunąć 65% Cu oraz 18% Zn, natomiast 4% roztworem soforolipidów 25% miedzi i 60% cynku. W zastosowanych warunkach najmniej wydajne okazało się użycie surfaktyny, dla której wyznaczony poziom usuwania Cu i Zn wynosił odpowiednio 15 i 6%. Wykazano, że dodatek surfaktyny, ramnolipidów lub soforolipidów w roztworze płuczającym poprawił efektywność usuwania miedzi i cynku z gleby, zawierającej dodatkowo węglowodory (72). Surfaktyna została użyta do remediacji gleby zawierającej węglowodory oraz kadm, cynk i miedź. Zastosowanie 5-krotnego płukania 0,25% roztworem surfaktanta w 1% NaOH pozwo-



liło usunąć 50% węglowodorów, 70% Cu, 14% Cd, oraz 22% Zn. Dla porównania w układzie kontrolnym, w którym do ekstrakcji gruntu użyto 1% NaOH, poziom oczyszczania wynosił jedynie: 30% węglowodorów, 20% miedzi, 1% kadmu i 11% cynku (74).

Stwierdzono, że proces desorpcji metali ciężkich może być istotnie hamowany w glebach o niskiej przewodności hydraulicznej, wysokiej heterogenności i w obecności związków silnie wiążących zanieczyszczenia. Czynnikiem, który także należy brać pod uwagę wybierając metodę przepłukiwania gleby *in situ* jest możliwość przenikania roztworu surfaktanta z uwolnionymi toksynami poza strefę oczyszczania. Jednym ze sposobów poprawiających efektywność płukania gleby w warunkach *in situ* oraz ułatwiających kontrolę procesu może być użycie biosurfaktantów w postaci piany (32).

#### 4.1. Remediacja gleb przy użyciu pian biosurfaktantów

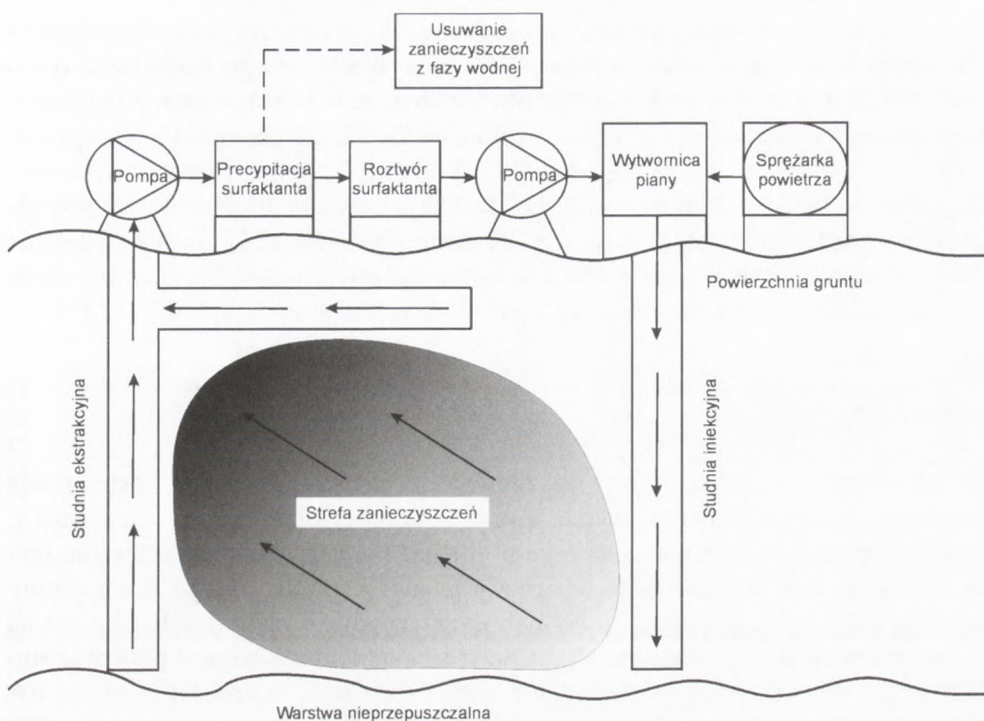
Piana stanowi dwufazowy układ, w którym ciecz występuje w postaci cieniutkich warstw, oddzielających pęcherzyki niezwiłzalnego gazu lub powietrza. Surfaktanty ułatwiają tworzenie się pian w wyniku obniżenia napięcia powierzchniowego, natomiast zwiększają trwałość takich układów poprzez adsorpcję na powierzchni pęcherzyków i podwyższenie lepkości. Ponieważ powietrze jest środowiskiem niepolarnym grupy hydrofobowe surfaktantów przenikają do fazy gazowej, natomiast grupy hydrofilowe lokują się w fazie wodnej. Orientacja przestrzenna cząsteczek surfaktantów przeciwdziała koalescencji (łączeniu się) pęcherzyków gazu i zapobiega destabilizacji piany (75). Cechą charakterystyczną piany jest bardzo niska gęstość i duże pole powierzchni, w porównaniu do masy. Na przykład piana zawierająca pęcherzyki powietrza o średnicy 1 cm i grubości warstwy płynnej  $10^{-3}$  cm<sup>3</sup> charakteryzuje się gęstością 0,003 g cm<sup>-3</sup>. Obniżona gęstość i podwyższona powierzchnia międzyfazowa piany w porównaniu do roztworu surfaktanta zapewnia bardziej efektywną penetrację przez porowate podłoże i zwiększa kontakt cząsteczek surfaktanta z zanieczyszczeniami (32). Związki powierzchniowo czynne wykazują bardzo zróżnicowaną zdolność do tworzenia pian. Dlatego możliwość wykorzystania biosurfaktanta w tej postaci, np. do remediacji gleby musi być potwierdzona odpowiednimi badaniami (74).

Do parametrów charakteryzujących pianę należy jakość i stabilność. Jakość piany ( $\eta$ ) jest mierzona objętością gazu w układzie ( $v_g$ ), przypadającą na całkowitą objętość piany ( $v_p$ ):

$$(\eta) = (v_g) / (v_p) \times 100\%$$

Z kolei stabilność (szybkość odciekania) oznacza zdolność piany do utrzymywania się w tym stanie i mierzona jest czasem półtrwania piany (31,73). Na przykład 0,5 i 1,5% roztwory dostępnej w handlu mieszaniny ramnolipidów (preparat JBR 425)





Rys. 6. Proponowany przez Wang i Mulligan (32) schemat instalacji do oczyszczania gleby *in situ*, z użyciem surfaktanta w postaci piany.

pozwoliły uzyskać piany o jakości dochodzącej do 99% i stabilności wynoszącej odpowiednio 17 i 41 minut. Wartości wymienionych parametrów piany zależały od stężenia związku powierzchniowo czynnego oraz ciśnienia wprowadzanego do układu powietrza. Na uzyskane wyniki nie miało natomiast wpływu użycie roztworów surfaktanta o pH 6,8 oraz 10 (32,76).

Stosowane w tej technice instalacje do przepłukiwania gruntu zawierają układ zapewniający tworzenie piany i wprowadzanie jej w głąb skażonej gleby. Zanieczyszczenia odbierane są systemem dren, a następnie przepompowywane do zbiornika, w którym wytrącany jest surfaktant (rys. 6). Kolejne etapy polegają na regeneracji surfaktanta (umożliwiającej użycie związku powierzchniowo czynnego w kolejnym cyklu płukania gleby) oraz na usunięciu metali ciężkich z fazy wodnej. Podwyższona efektywność odzyskiwania surowego oleju przez piany surfaktantów została potwierdzona już w latach osiemdziesiątych XX w. (77). Pozytywne wyniki uzyskano także w przypadku oczyszczania gleb zawierających trichloroetan, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne oraz pentachlorofenol (31,32,78). Obecnie trwają badania nad możliwością wykorzystania tej metody do remediacji gruntów skażonych metalami ciężkimi.

Porównano wydajność wypłukiwania kadmu i niklu z piaszczystej gleby przy użyciu roztworów: ramnolipidów (preparat JBR 425), syntetycznego surfaktanta o nazwie Triton X-100 oraz wody. Surfaktanty stosowano w postaci roztworów o różnym stężeniu i wartości pH, a także w formie piany. Piana ramnolipidów (przygotowana z 0,5% roztworu o pH 10) pozwoliła uzyskać najwyższy poziom usunięcia metali ciężkich. W układzie tym, usuwalność kadmu wzrosła, w porównaniu do płynnego roztworu biosurfaktanta, z 62 do 73% natomiast niklu z 51 do 68%. Płukanie wodą pozwoliło usunąć jedynie 18% każdego z badanych metali ciężkich. Działanie Tritonu X-100 okazało się mniej wydajne niż preparatu ramnolipidów (32,76).

## 5. Uwagi końcowe

Stosowanie biosurfaktantów do remediacji gleby ograniczone jest przede wszystkim kosztami procesu. Wynikają one m. in. z wysokiej ceny tych związków. Prace zmierzające do przełamania tego problemu skupiają się na opracowaniu tańszych podłoży hodowlanych i metod izolacji biosurfaktantów, optymalizacji warunków syntezy oraz na poszukiwaniu wydajnych szczepów produkcyjnych. Obecnie na skalę przemysłową produkowane są już niektóre ramnolipidy, soforolipidy oraz surfaktyna. Postęp w tej dziedzinie badań pozwala szacować, że do 2010 r. około 10% związków powierzchniowo czynnych zostanie zastąpionych biosurfaktantami (79). O poziomie zapotrzebowania mogą świadczyć dane dotyczące Japonii, w której roczne zużycie syntetycznych surfaktantów (tylko w środkach gospodarstwa domowego) przekracza 1 mln ton (61).

Niższe koszty remediacji gleby można osiągnąć także poprzez wielokrotne użycie tej samej porcji biosurfaktanta. Wymaga to wprowadzenia bardziej wydajnych sposobów odzyskiwania związków powierzchniowo czynnych z roztworów płuczących, np. technik ultrafiltracji. W glebach o wysokiej zawartości związków silnie adsorbujących metale, a także charakteryzujących się niską przepuszczalnością dla płynów i pian, wydajność metod płuczących jest nadal bardzo niska. Dlatego obecnie opracowywane są techniki mieszane, w których etap płukania poprzedzony jest zabiegami zwiększającymi desorpcję i dostępność metali ciężkich, np. w wyniku wprowadzenia do gleby czynników utleniających: nadmanganianu potasu, nadtlenu wodoru, ozonu (80), poddaniu gleby działaniu ultradźwięków (81) lub energii mikrofalowej (82). Prowadzone są także badania w których zmierza się do określenia wpływu geochemicznych cech gruntu na wydajność technik płuczących (83) oraz do opracowania matematycznych modeli opisujących ruch i mechanizmy działania pian w porowatych podłożach (84,85).



## Literatura

1. Hodson M. E., (2004), *Environ. Pollut.*, 129, 341-343.
2. Nies D. H., (1999), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 51, 730-750.
3. Garbisu C., Alkorta I., (2003), *Eur. J. Min. Proc. Environ. Protect.*, 13, 58-66.
4. Deckert J., (2005), *BioMetals*, 18, 475-481.
5. Florea M., Büsselberg D., (2006), *BioMetals*, 19, 419-427.
6. <http://www.atsdr.cdc.gov/cercla/05list.html>
7. [http://www.epa.gov/tri/chemical/pbt\\_chem\\_list.htm](http://www.epa.gov/tri/chemical/pbt_chem_list.htm)
8. <http://www.epa.gov/tri/chemical/carcinog.pdf>
9. <http://www.mos.gov.pl> (materiały informacyjne).
10. Klimiuk E., Łebkowska M., (2003), *Biotechnologia w ochronie środowiska*, 131-198, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
11. Singh P., Cameotra S. S., (2004), *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 319, 291-297.
12. Weber J., Karczewska A., (2004), *Geoderma*, 122, 105-107.
13. Kaasalainen M., Yli-Halla M., (2003), *Environ. Pollut.*, 126, 225-233.
14. Ślaba M., Długoński J., (2002), *Post. Mikrobiol.*, 41, 2, 167-183.
15. Długoński J., Lisowska K., Paraszkiwicz K., Ślaba M., Bernat P., (2003), *Biotechnologia*, 4, 62-68.
16. Ślaba M., Długoński J., (2003), *Biotechnologia*, 4, 101-109.
17. Alkorta I., Hernández-Allica J., Becerril J. M., Amezaga I., Albizu I., Garbisu C., (2004), *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.*, 3, 71-90.
18. LeDuc D. L., Terry N., (2005), *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 32, 514-520.
19. Yang X., Feng Y., He Z., Stoffella P. J., (2005), *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 18, 339-353.
20. Virkutyte J., Sillanpää M., Latostenmaa P., (2002), *Sci. Total Environ.*, 289, 97-121.
21. Ottosen L. M., Pedersen A. J., Ribeiro A. B., Hansen H. K., (2005), *Eng. Geol.*, 77, 317-329.
22. Giannis A., Gidarakos E., (2005), *J. Hazard. Mater.*, B123, 165-175.
23. Peters R. W., (1999), *J. Hazard. Mat.*, 66, 151-210.
24. Diels L., van der Lelie N., Bastiaens L., (2002), *Re/Views Environ. Sci. Bio/Technol.*, 1, 75-82.
25. Khan F. I., Husain T., Hejazi R., (2004), *J. Environ. Manag.*, 71, 95-122.
26. Campbell C. G., Garrido F., Illera V., García-González M. T., (2006), *Appl. Geochem.*, 21, 1030-1043.
27. Guo G., Zhou Q., Ma L. Q., (2006), *Environ. Monit. Assess.*, 116, 513-528.
28. Calace N., Campisi T., Iacondini A., Leoni M., Petronio B. M., Pietroletti M., (2005), *Environ. Pollut.*, 136, 485-492.
29. Wasay S. A., Barrington S., Tokunaga S., (2001), *Water Air Soil Pollut.*, 127, 301-314.
30. Kim Ch., Lee Y., Ong S. K., (2003), *Chemosphere*, 51, 845-853.
31. Mulligan C. N., Eftekhari F., (2003), *Eng. Geol.*, 70, 269-279.
32. Wang S., Mulligan C. N., (2004), *Chemosphere*, 57, 1079-1089.
33. Tawinteung N., Parkpian P., DeLaune R. D., Jugsujinda A., (2005), *J. Environ. Sci. Health A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.*, 40, 385-407.
34. Finžgar N., Leštan D., (2006), *Chemosphere*, 63, 1736-1743.
35. Mulligan C. N., Yong R. N., Gibbs B. F., (2001), *Eng. Geol.*, 60, 371-380.
36. Urum K., Pekdemir T., (2004), *Chemosphere*, 57, 1139-1150.
37. Cserhádi T., Forgács E., Oros G., (2002), *Environ. Int.*, 28, 337-348.
38. Shin M., Barrington S. F., Marshall W. D., Kim J. W., (2005), *Chemosphere*, 58, 735-742.
39. Banat I. M., Makkar R. S., Cameotra S. S., (2000), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 53, 495-508.
40. Długoński J., Szewczyk R., (2003), *Wykorzystanie drobnoustrojów wyodrębnionych z przepracowanych chłodziw do biodegradacji ksenobiotyków*, w: *Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych*, Materiały III Konferencji Naukowej, Wyd. PŁ, Łódź, 69-73.
41. Łebkowska M., (2004), *Biotechnologia*, 1, 64, 43-53.
42. Puntus I. F., Sakharovsky V. G., Filonov A. E., Boronin A. M., (2005), *Process Biochem.*, 40, 2643-2648.
43. Batista S. B., Mounteer A. H., Amorim F. R., Tótoła M. R., (2006), *Bioresour. Technol.*, 97, 868-875.



44. Paraszkievicz K., Kanwal A., Długoński J., (2002), *J. Biotechnol.*, 92, 287-294.
45. Desai J. D., Banat I. M., (1997), *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 61, 1, 47-64.
46. Paraszkievicz K., Długoński D., (2003), *Biotechnologia*, 63, 69-81.
47. Rosenberg E., Ron E. Z., (1999), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 52, 154-162.
48. Lang S., (2002), *Curr. Opin. Coll. Inter. Sci.*, 7, 12-20.
49. Lang S., Wagner F., (1987), *Biosurfactants and Biotechnology*, Eds. Kosaric, N., Cairns W. L., Gray N. C. C., 21-45, Marcel Dekker, New York.
50. Mulligan C. N., (2005), *Environ. Pollut.*, 133, 183-198.
51. Cameotra S. S., Bollag J. M., (2003), *CRC Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 30, 111-126.
52. Urum K., Pekdemir T., Copur M., (2004), *J. Colloid. Interface Sci.*, 276, 456-464.
53. Cubitto M. A., Morán A. C., Commendatore M., Chiarello M. N., Baldini M. D., Siñeriz F., (2004), *Bio-degradation*, 15, 281-287.
54. Urum K., Pekdemir T., Ross D., Grigson S., (2005), *Chemosphere*, 60, 334-343.
55. Kuyukina M. S., Ivshina I. B., Makaron S. O., Litvinenko L. V., Cunningham C. J., Philp J. C., (2005), *Environ. Int.*, 31, 155-161.
56. Bordas F., Lafrance P., Villemur R., (2005), *Environ. Pollut.*, 138, 69-76.
57. Urum K., Grigson S., Pekdemir T., McMenamy S., (2006), *Chemosphere*, 62, 1403-1410.
58. Mulligan C. N., Yong R. N., Gibbs B. F., (2001), *J. Hazard. Mater.*, 85, 111-125.
59. Miller R. M., (1995), *Environ. Health Perspect.*, 103 (Suppl. 1), 59-62.
60. Maier R. M., Soberon-Chávez G., (2000), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 54, 625-633.
61. Kitamoto D., Isoda H., Nakahara T., (2002), *J. Biosci. Bioeng.*, 94, 3, 187-201.
62. JENEIL Biosurfactant Co., LLC (2001), Material Safety Data Sheet for JBR425, (<http://www.biosurfactant.com/downloads/jbr425msds.pdf>).
63. Marchal R., Lemal J., Sulzer C., (1997), US Patent 5616479.
64. Tan H., Champion J. T., Artiola J. F., Brusseau M. L., Miller R. M., (1995), *Environ. Sci. Technol.*, 28, 2402-2406.
65. Sandrin T. R., Chech A. M., Maier R. M., (2000), *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 4585-4588.
66. Lang S., Wullbrandt D., (1999), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 51, 22-32.
67. Ochoa-Loza F. J., Artiola J. F., Maier R. M., (2001), *J. Environ. Qual.*, 30, 479-485.
68. Torrens J. L., Herman D. C., Miller R. M., (1998), *Environ. Sci. Technol.*, 32, 776-781.
69. Frazer L., (2000), *Environ. Health Perspect.*, 108, 320-323.
70. Neilson J. W., Artiola J. F., Maier R. M., (2003), *J. Environ. Qual.*, 32, 899-908.
71. Dahr Azma B., Mulligan C. N., (2004), *Pract. Period. Hazard. Toxic Radioact. Waste Manag.*, 8, 3, 166-172.
72. Mulligan C. N., Yong R. N., Gibbs B. F., (1999), *J. Soil Contam.*, 8, 231-254.
73. Mulligan C. N., Yong R. N., Gibbs B. F., (2001), *J. Hazard. Mater.*, 85, 111-125.
74. Mulligan C. N., Yong R. N., Gibbs B. F., (1999), *Environ. Sci. Technol.*, 33, 3812-3820.
75. Stauffer C. E., (2001), *Emulgatory*, 11-32, WNT, Warszawa.
76. Mulligan C. N., Wang S., (2006), *Eng. Geol.*, 85, 75-81.
77. Ali A., Burly R., Nutt C., (1985), *Chem. Eng. Res. Des.*, 63, 101-106.
78. Jeong S. W., Corapcioglu M. Y., Roosevelt S. E., (2000), *Environ. Sci. Technol.*, 34, 3456-3461.
79. Hester A., (2001), *Ind. Bioprocessing*, 23, 3.
80. Leštan D., Hanc A., Finžgar N., (2005), *Chemosphere*, 61, 1012-1019.
81. Kyllönen H., Pirkonen P., Hintikka V., Parvinen P., Grönroos A., Sekki H., (2004), *Ultrason. Sonochem.*, 11, 211-216.
82. Abramovitch R. R., ChangQing L., Hicks E., Sinard J., (2003), *Chemosphere*, 53, 1077-1085.
83. Kaya A., Yukselen Y., (2005), *J. Hazard. Mater.*, B120, 119-126.
84. Siddiqui S., Talabani S., Saleh S. T., Islam M. R., (2002), *J. Petrol. Sci. Engin.*, 36, 133-148.
85. Li Y., Zhang P., Zhao G. Q., Cao X. L., Wang Q. W., Wang H. Y., (2006), *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 272, 124-129.