ZESZYTY NAUKOWE POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ 2000
Seria: INŻYNIERIA ŚRODOWISKA z. 45 Nr kol. 1487

Dorota RZYCHOŃ[1], Adam WORSZTYNOWICZ[1], Marcin ADAMSKI[1], Sebastian IWASZENKO[1], Krzysztof ULFIG[1], Krystyna ŁUKASIK[1], Albert TIEN[2]

[1]Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych
40-832 Katowice, ul. Kossutha 6
[2]Westinghouse Savannah River Company, Savannah River Technology Center, Environmental Biotechnology Section, Aiken, USA

BIOREMEDIACJA GLEBY ZANIECZYSZCZONEJ ROPOPOCHODNYMI W OBECNOŚCI ZWIĄZKÓW POWIERZCHNIOWO CZYNNYCH

Streszczenie. Przetestowano metodę zwiększenia efektywności prowadzenia procesu oczyszczania gleby zanieczyszczonej substancjami ropopochodnymi przy pomocy dodatku środków powierzchniowo czynnych. Wyniki uzyskane w badaniach kolumnowych i terenowych wskazują, że surfaktanty mogą istotnie zwiększyć dostępność zanieczyszczeń dla bakterii.

BIOREMEDIATION OF PETROLEUM CONTAMINATED SOIL IN PRESENCE OF A SURFACTANT

Summary. Method aimed at the increase of soil cleaning effectiveness by means of surfactant in the case of soil contaminated with petrochemical was tested. Results of the column and field research show that the surfactants can significantly increase the contaminant availability for bacteria.

WSTĘP

W wielu przypadkach niska szybkość procesu stanowi ograniczenie dla praktycznego stosowania bioremediacji do oczyszczania gleb. Powodem może być utrudniony dostęp mikroorganizmów do cząsteczek zanieczyszczeń związany z ich słabą rozpuszczalnością lub silną sorpcją na cząsteczkach gleby.

Wiele pozycji literaturowych donosi o próbach zwiększenia szybkości biodegradacji wielkocząsteczkowych węglowodorów, np. przy pomocy związków powierzchniowo czynnych [3]. Wykazano, że surfaktanty, w określonych stężeniach, zwiększają rozpuszczalność zanieczyszczeń i ich dostępność dla mikroorganizmów.

Obecność słabo rozpuszczalnych odpadów po kwaśnej rafinacji ropy naftowej w połączeniu ze znacznym udziałem frakcji gliniastej w glebie oczyszczanej metodą biopryzmy

w Rafinerii Czechowice spowodowała, że po początkowym, siedmiomiesięcznym znacznym postępie bioremediacji (50% redukcja stężeń zanieczyszczeń) jej szybkość została zahamowana, a stężenia zanieczyszczeń pozostawały na stosunkowo wysokim poziomie [4]. W związku z tym wykonano próbę stymulacji procesu bioremediacji poprzez dodatek środków powierzchniowo czynnych do materiału biopryzmy. Prace obejmowały:

- badania kolumnowe, mające na celu przetestowanie wybranych środków powierzchniowo czynnych i ich wpływu na szybkość oczyszczania gleby,
- zastosowanie najbardziej efektywnego środka powierzchniowo czynnego poprzez jego dodatek do materiału biopryzmy.

BADANIA KOLUMNOWE

Badania kolumnowe miały na celu określenie wpływu wybranych środków powierzchniowo czynnych na efektywność procesu usuwania zanieczyszczeń z gleby.

Materiały

Gleba

Badania wykonano na próbkach gleby zanieczyszczonej odpadami po kwaśnej rafinacji ropy naftowej, pobranych na terenie Rafinerii Czechowice. Typ gleby, rodzaj i wielkość zanieczyszczeń były analogiczne do materiału oczyszczanego w biopryzmie [6, 7].

Środki powierzchniowo czynne

Przetestowano dwa niejonowe środki powierzchniowo czynne produkcji Zakładów Chemicznych Rokita w Brzegu Dolnym:

Rokafenol N-8 o wzorze $C_9H_{19}C_6H_4O(CH_2CH_2O)_nH$, n=8, i

Rokanol L-4 o wzorze $C_{12}H_{25}(CH_2CH_2O)_nOH$, n=4.

Sole mineralne

Jako źródło substancji mineralnych stosowano wodny roztwór Polifoski, zawierającej 8% rozpuszczalnego N i 24% rozpuszczalnego P_2O_5.

Metody

Wyznaczanie krytycznego stężenia micelizacji (CMC)

Wielkość napięcia powierzchniowego w zależności od stężenia surfaktantu wyznaczano metodą stalagmometryczną. Stężenie, powyżej którego napięcie powierzchniowe nie wzrasta, jest wyznaczoną wartością CMC.

Analizy chemiczne i mikrobiologiczne

Próbki gleby i odcieku z kolumn były analizowane na zawartość lotnych i półlotnych związków organicznych, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, soli mineralnych, a także na aktywność mikrobiologiczną, wyrażoną stężeniem enzymu dehydrogenazy [1]. W próbkach wodnych oznaczano ponadto: pH i przewodnictwo właściwe. Analizy wykonywano zgodnie z standardowymi metodami [2]. Dane uzyskane z analitycznej kontroli procesu służą do obliczania szybkości biodegradacji WPN (ogólna zawartość węglowodorów parafinowo-naftenowych) i WWA oraz stanowią podstawę do ewentualnych modyfikacji parametrów procesowych.

Opis badań

Przygotowanie gleby

Zanieczyszczona gleba po wysuszeniu została rozdrobniona, przesiana, wymieszana ze ścinkami drewna (w stosunku objętościowym około 10:1) i umieszczona w kolumnach.

Konstrukcja kolumn

Układ doświadczalny składał się z trzech jednakowych, o średnicy 30 cm i 2 m długości, kolumn z plexiglasu, wypełnionych zanieczyszczoną glebą. W celu zapewnienia skali eksperymentu porównywalnej z biopryzmą pierwsze 20 cm każdej kolumny wypełniono warstwą dolomitu (stabilizującego odczyn pH oraz poprawiającego warunki dyfuzji powietrza), następne 110 cm zapełniono warstwą gleby. Górne 20 cm składało się z czystej gleby.

Kolumny zostały wyposażone w trzy szczelnie zamykane otwory do poboru próbek (nr 2 w górnej, nr 3 w środkowej i nr 4 w dolnej części kolumny).

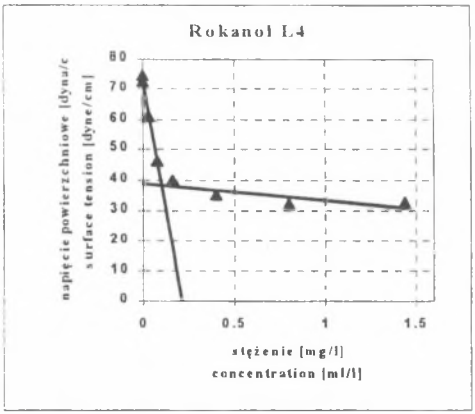
Opis doświadczenia

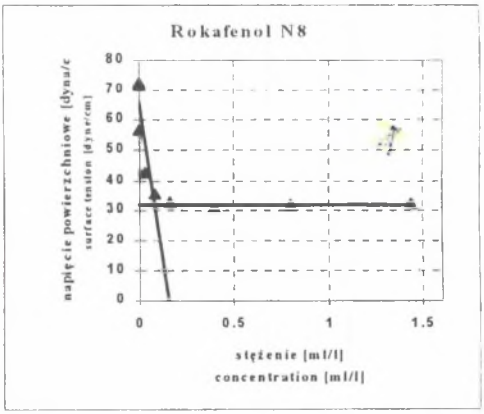
We wszystkich kolumnach stosowano system aktywnego napowietrzania poprzez tłoczenie powietrza od dołu kolumn w systemie: dwie godziny napowietrzania z szybkością 100 ml/min i dwie godziny odpoczynku, oraz nawilżanie wodą z dodatkiem nawozów. Odciek z kolumn zawracano do obiegu. Do kolumny A dodawano Rokanol L-4, do kolumny B Rokafenol N-8, a do kolumny C, która służyła jako kolumna porównawcza, nie dodawano surfaktantów. Próbki gleby i odcieku pobierano i analizowano w odstępach tygodniowych.

Omówienie wyników badań

Krytyczne stężenie micelizacji CMC

Otrzymano następujące wartości krytycznego stężenia micelizacji (rys. 1): dla Rokanolu L4 -0.16 ml/l; dla Rokafenolu N8 - 0.08 ml/l.





Rys. 1. Wyznaczenie krytycznego stężenia micelizacji
Fig. 1. Determination of critical micelle concentration

Zgodnie z sugestiami literaturowymi, do doświadczeń kolumnowych zastosowano trzykrotnie wyższe stężenia, w wysokości:

Rokanol L4 - 0,5 ml/l
Rokafenol N8 - 0,25 ml/l

Aktywność mikrobiologiczna TTC

Dane przedstawione w tabeli 1 wskazują, że po ośmiotygodniowym okresie adaptacji aktywność mikrobiologiczna wzrosła wyraźnie we wszystkich trzech kolumnach. Jednak wyraźnie zaznacza się wpływ dodatku surfaktantów na wzrost aktywności mikrobiologicznej gleby. Poziom dehydrogenazy w kolumnach z dodatkiem surfaktantu był wyższy niż w kolumnie kontrolnej.

Tabela 1

Aktywność mikrobiologiczna w kolumnach, TTC (μg TPF /g)

Czas time	Kolumna column		
tygodnie weeks	A	B	C
2	31.1	12.1	0.0
4	63.9	6.1	1.4
6	11.2	24.4	0.0
8	17.0	6.9	0.0
10	43.4	30.2	23.8
12	90.3	77.4	70.6
14	24.7	21.5	22.7
16	90.8	62.9	24.4
18	147.9	42.4	22.9
20	0.0	21.9	0.0

Zmiany stężeń węglowodorów parafinowo-naftenowych WPN

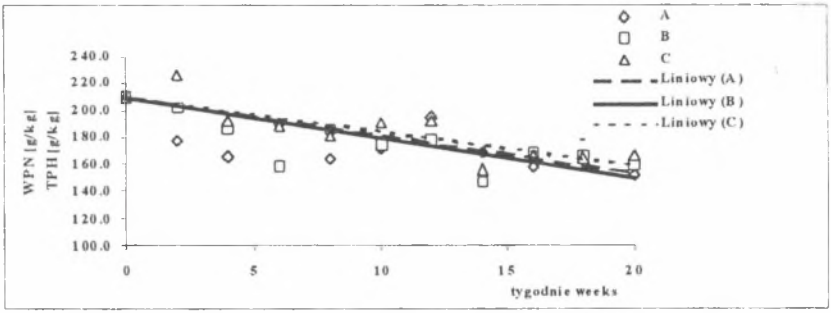
Zestawienie wyników stężeń WPN w kolumnach zamieszczono w tabeli 2.

Tabela 2

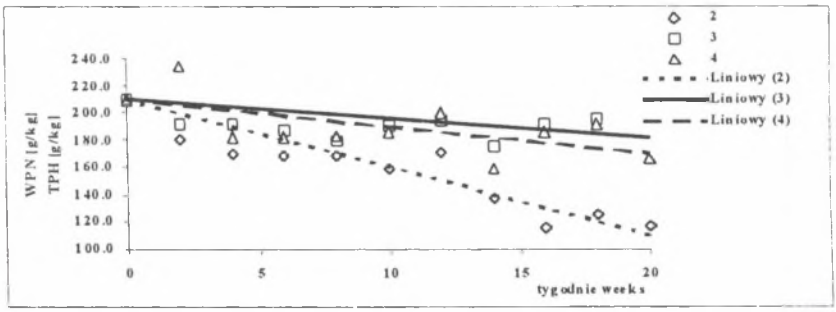
Zestawienie wyników analiz WPN w kolumnach, g/kg suchej gleby

Tygodnie weeks	Kolumna A column A			Kolumna B column B			Kolumna C column C		
	A2	A3	A4	B2	B3	B4	C2	C3	C4
0	189.6	193.0	228.4	177.6	240.1	240.5	211.4	208.8	198.1
2	189.0	156.0	186.9	172.5	190.6	242.1	179.2	227.5	272.7
4	163.0	179.3	153.8	204.6	191.3	161.4	140.7	204.5	230.7
6	179.6	189.9	199.3	158.0	189.2	130.3	167.1	180.5	216.1
8	136.2	180.1	175.7	195.6	183.4	178.3	174.5	173.8	194.1
10	170.2	175.9	168.0	138.6	189.2	194.5	168.9	207.0	196.4
12	171.2	196.3	217.2	166.0	187.8	180.7	175.4	199.0	201.9
14	155.8	161.3	189.1	138.7	166.1	135.6	115.8	199.1	152.5
16	120.7	176.2	177.0	122.1	196.5	188.4	104.2	201.6	193.5
18	129.7	207.8	207.5	145.1	183.2	169.2	100.7	195.5	197.1
20	88.3	187.2	179.8	131.1	205.9	141.6	128.8	193.5	176.8

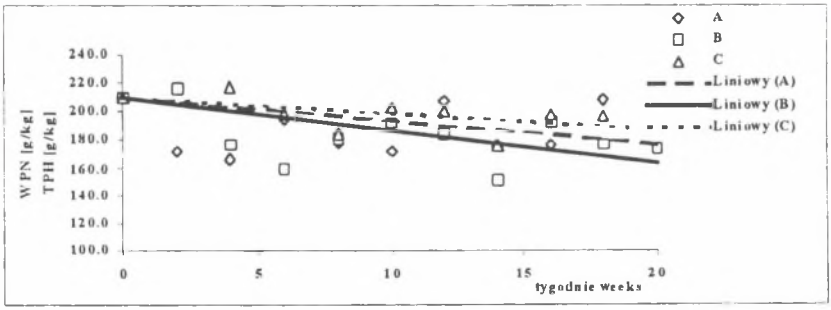
Rysunek 2a przedstawia zmiany stężeń WPN w kolumnach, przy założeniu że stężenie początkowe równe średniej z 9 wyników pomiarów wynosi 209,7 g/kg. Następne punkty reprezentują uśrednione wyniki pomiarów z trzech poziomów poszczególnych kolumn. Jak widać, różnice pomiędzy szybkościami usuwania WPN w kolumnach są praktycznie nieistotne. Jeżeli jednak porównane zostaną nie kolumny, ale poszczególne poziomy kolumn, można zauważyć, że szybkość rozkładu WPN dla poziomu 2 (najwyższa część kolumny) jest dużo wyższa niż dla dwóch następnych poziomów (rys. 2b).



Rys. 2a. Zmiany stężeń WPN w kolumnach
Fig. 2a. Overall TPH inventory changes in columns



Rys. 2b. Zmiany stężeń WPN na różnych poziomach kolumn
Fig. 2b. TPH inventory changes in various column levels



Rys. 2c. Zmiany stężeń WPN na 3 i 4 poziomie kolumn
Fig. 2c. TPH inventory changes in column levels 3 and 4

Wytłumaczenie tego zjawiska może być wielorakie – migracja zanieczyszczeń w głąb kolumn, lepsze napowietrzanie związane z bliskością powierzchni i/lub większa aktywność mikrobiologiczna wierzchniej warstwy gleby. Najprawdopodobniej mechanizm usuwania WPN na tym poziomie różni się od dwóch następnych i jest zależny od innych niż obecność surfaktantów czynników. W związku z tym, aby przeanalizować prawdopodobny wpływ surfaktantów na szybkość procesu porównano zmiany stężeń WPN tylko dla poziomów 3 i 4. Na wykresie przedstawionym na rys. 3c widać, że w takim ujęciu różnice szybkości biodegradacji w poszczególnych kolumnach są dużo bardziej wyraźne.

Obliczone dla 20-tygodniowego okresu badań średnie szybkości degradacji WPN wynoszą: dla kolumny A - 240 mg/kg dzień, dla kolumny B - 320 mg/kg dzień i dla kolumny C - 160 mg/kg dzień. Powyższe wyniki sugerują, że degradacja WPN zależy od rodzaju zastosowanego środka powierzchniowo czynnego; szybkość ubywania WPN w kolumnie B, do której dodano Rokafenolu N8 była dwukrotnie większa niż w kolumnie C, gdzie nie zastosowano dodatku surfaktantu.

Zmiany stężeń węglowodorów aromatycznych WWA

W celu stwierdzenia różnic w efektywności usuwania WPN i WWA kontrolowano zmiany stężeń obu grup tych związków. Stwierdzono, że podczas prowadzenia doświadczeń stosunek stężeń WPN do WWA w glebie pozostawał stały, co dowodzi, że są one usuwane proporcjonalnie do ich stężeń w glebie.

Podsumowanie

Wyniki badań kolumnowych sugerują, że w niektórych przypadkach środki powierzchniowo czynne mogą być użyteczne dla zwiększenia efektywności usuwania WPN z gleby zanieczyszczonej produktami kwaśnej rafinacji ropy naftowej. Rokafenol N8 został oceniony jako bardziej skuteczny i jako taki wybrany do zastosowania w warunkach terenowych.

ZASTOSOWANIE TERENOWE

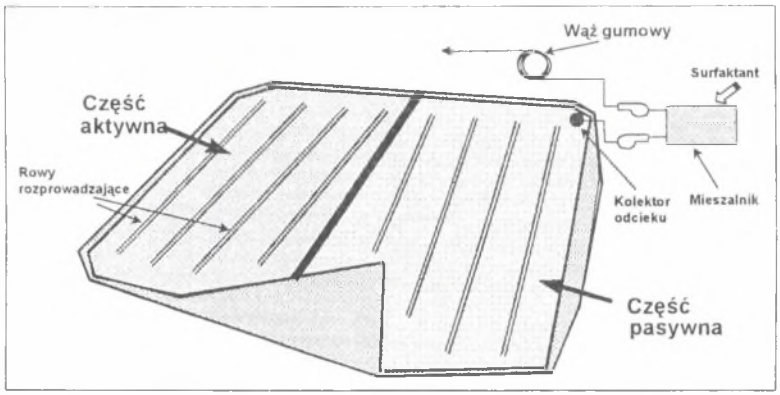
Miejsce i opis zastosowania technologii

Biopryzma została skonstruowana na terenie, zlokalizowanego na terenie Rafinerii Czechowice, składowiska obejmującego trzy bezpośrednio sąsiadujące ze sobą „doły kwasowe" pow. ok. 3,8 ha, wypełnione odpadami po zaniechanym procesie rafinacji kwasowej olejów. Materiał oczyszczany w biopryzmie stanowi zanieczyszczona gleba pozostała po opróżnieniu jednego z dołów kwasowych. Miejscem skonstruowania biopryzmy jest opróżniony dół kwasowy. Zastosowana metoda oczyszczania, opracowana we współpracy z Westinghouse Savannah River Company, USA do usunięcia szkodliwych związków węglowodorowych, wykorzystuje rodzime, żyjące w tym obszarze mikroorganizmy, głównie bakterie chemoheterotroficzne. Mikroorganizmy te spożytkowują zanieczyszczenia jako źródło węgla w syntezie biomasy oraz do produkcji energii, a istotą omawianej metody jest stymulacja tych procesów poprzez dostarczanie odpowiedniej ilości niezbędnych, poza węglem, substancji odżywczych i tlenu. Gleba była oczyszczana w dwóch wariantach sposobu napowietrzania - aktywnym i pasywnym. Szczegółowy opis konstrukcji biopryzmy został zawarty we wcześniejszych pracach [7, 4, 5].

Etapy oczyszczania gleby

Proces oczyszczania gleby był prowadzony w kilku etapach:
OC-1: Uruchomienie i rozpoczęcie napowietrzania (9/25/97 – 1/27/98)
OC-2: Napowietrzanie (2/1/98 – 4/15/98)
OC-3: Napowietrzanie + sole mineralne (4/16/98 – 6/30/98)
OC-4: Napowietrzanie + sole mineralne + zawracanie odcieku (7/1/98 – 9/29/98)
OC-5: Napowietrzanie + sole mineralne + zawracanie odcieku + surfaktant (7/4/99-9/29/99)

W roku 1999, po wykonaniu badań laboratoryjnych, w celu zintensyfikowania procesu oczyszczania zdecydowano się na dodatek do materiału biopryzmy substancji powierzchniowo czynnej – Rokafenolu N8. Odciek z biopryzmy zbierano w zbiorniku o pojemności 1,5 m^3 i mieszano z około 30 kg surfaktantu. Roztwór rozprowadzano po powierzchni biopryzmy (rys. 3).



Rys. 3. System rozprowadzania surfaktantu
Fig. 3. Surfactant application system

Dozowanie surfaktantu przeprowadzono trzynastokrotnie w czasie trzech miesięcy w lecie 1999 roku. Do obliczenia ilości i składu roztworu nawilżającego biopryzmę posłużono się danymi meteorologicznymi (wielkość opadów atmosferycznych). Sumarycznie w omawianym okresie wprowadzono 380 kg Rokafenolu N8. W pierwszej fazie eksperymentu do roztworu surfaktantu wprowadzono dodatkowo 200 kg nawozu w postaci Polifoski.

Kontrola procesu

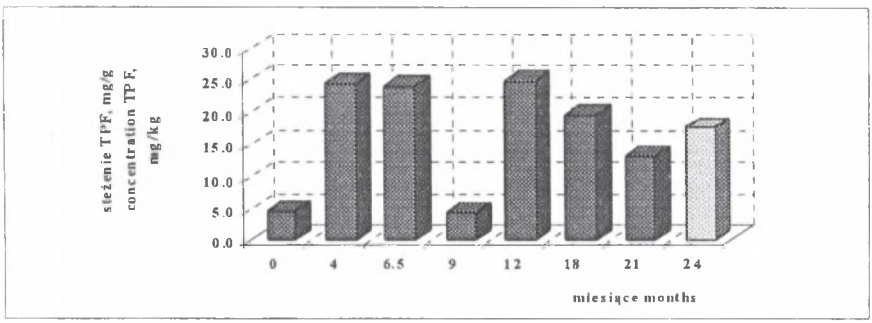
Dla kontroli procesu remediacji w pryzmie zostały zainstalowane piezometry do poboru próbek powietrza gruntowego, które analizowano na zawartość dwutlenku węgla, tlenu, metanu oraz lotnych i półlotnych związków organicznych. Próbki wody gruntowej i gruntu z pryzmy oraz wody ze zbiornika analizowano na zawartość lotnych i półlotnych związków organicznych, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, soli mineralnych, a także na aktywność mikrobiologiczną. W próbkach wodnych oznaczano ponadto: pH, tlen rozpuszczony, przewodnictwo właściwe, temperaturę oraz BZT_5 i ChZT.

Badania prowadzono w 23 punktach pomiarowych na dwóch poziomach, około 30 cm pod powierzchnią i na głębokości około 1 m. Częstość wykonywania pomiarów i poboru próbek wynosiła: temperatura i wilgotność: 2 x w miesiącu, powietrze glebowe: 2 x w miesiącu, odciek: 1 x w miesiącu; gleba: w momencie rozruchu, a następnie co 3 miesiące.

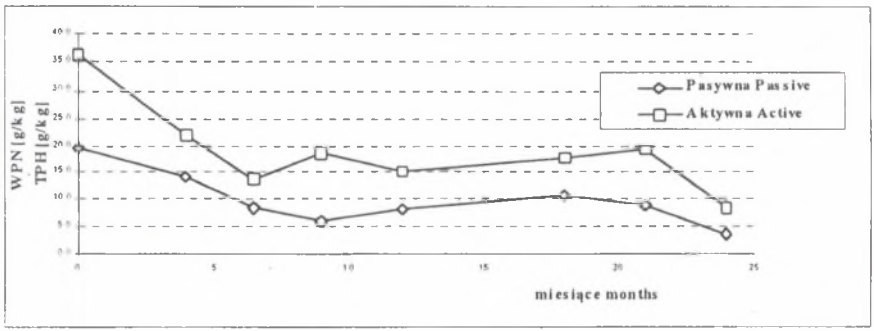
Wyniki

Ustabilizowane, po 6 miesiącach prowadzenia procesu, na niskim poziomie, szybkości biodegradacji wyraźnie wzrosły w wyniku dodatku środka powierzchniowo czynnego. Aktywność mikrobiologiczna złoża, wyrażona stężeniem enzymu dehydrogenazy, wyraźnie wzrosła w porównaniu ze stanem z początku 1998 roku (rys. 4).

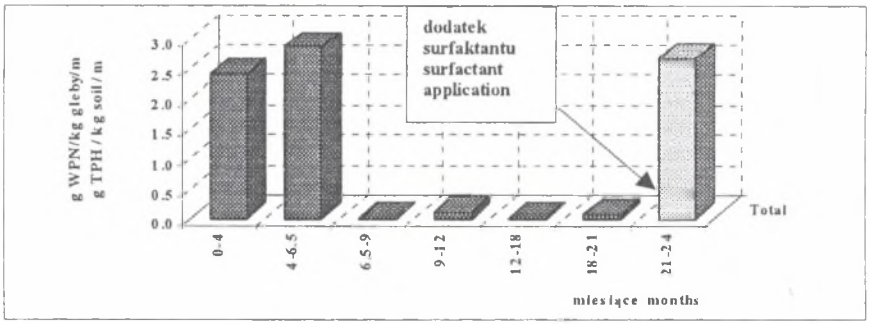
Wyniki potwierdzają, że czynnikiem limitującym proces biodegradacji na przełomie 1998 i 1999 roku była dostępność węglowodorów dla aktywnych bakterii. Dodatek surfaktantu spowodował zwiększenie tej dostępności i w konsekwencji istotny wzrost szybkości usuwania WPN (rys. 5 i 6).



Rys. 4. Zmiany średniej aktywności mikrobiologicznej materiału pryzmy w czasie
Fig. 4. Changes in TTC activity vs. time



Rys. 5. Zmiany stężeń WPN w materiale biopryzmy w czasie
Fig. 5. Changes in TPH concentations vs. Time



Rys. 6. Średnia szybkość remediacji WPN
Fig. 6. Mean TPH removal rate

Podsumowanie

Dodatek środka powierzchniowo czynnego do materiału biopryzmy spowodował, że w ciągu trzech miesięcy (OC5) blisko 44% i 61% pozostałego WPN zostało usunięte odpowiednio z pasywnej i aktywnej części biopryzmy.

Tabela 3

Postęp procesu bioremediacji

	Stan początkowy Baseline	OC1	OC2	OC3	OC4	OC5
Tony Metric Tons	148	100	68.6	68.6	66.8	28.1
Pozostałość WPN % Remaining TPH %	100	68	46	46	45	19

WNIOSKI

Badania laboratoryjne i prace terenowe nad zastosowaniem środków powierzchniowo czynnych w celu zwiększenia skuteczności procesu biodegradacji zanieczyszczeń po kwaśnej rafinacji ropy naftowej wykazały, że:

- w warunkach laboratoryjnych dodatek środków powierzchniowo czynnych poprawia dostępność zanieczyszczeń dla mikroorganizmów, co skutkuje wzrostem aktywności mikrobiologicznej i szybkości degradacji WPN w glebie,
- Rokanol N8 okazał się najbardziej skutecznym z badanych środków powierzchniowo czynnych i został wybrany do zastosowania w warunkach terenowych,
- zastosowanie dodatku środka powierzchniowo czynnego w warunkach terenowych spowodowało znaczny wzrost szybkości bioremediacji zanieczyszczeń.

LITERATURA

1. Alef, K., Nannipieri P.: *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry.* Academic Press, New York. 576 pp. 1995.
2. Altman, D. J., Hazen T. C., Tien A., Lombard K. H., Worsztynowicz A.: *Czechowice Oil Refinery Bioremediation Demonstration Test Plan. WSRC-MS-97-214.* Westinghouse Savannah River Company, Aiken, SC DOE - NITS, 1997.
3. Guha S. et al., *Biodegradation Kinetics of Phenanthrene Partitioned into the Micellar Phase of Nonionic Surfactants.* Environmental Science & Technology, 30: 605-611, 1996.
4. Tien A. J., Worsztynowicz A., Ulfig K., Altman D. J., Hazen T. C.: *Comparison of Aeration and Nutrient Amendment Strategies During Bioremediation of Petroleum Sludge Contaminated Soils From A Polish Refinery - Batch and Soil Column Studies.* 98th Annual Meeting of the American Society for Microbiology, Atlanta Ga., 1997.
5. Tien A. J., Altman D.J., Worsztynowicz A., Zacharz K., Hazen T.C.: *Technology Transfer and Development for Environmental Restoration: Joint Polish-American Cooperation.* 1998 Sigma Xi Forum Proceedings-International Cooperation in Science and Technology, November 12-13, 1998, Vancouver, British Columbia. 191-197, 1998.
6. Worsztynowicz A., Tien A., Ulfig K., Zacharz K., Adamski M., Rzychoń D.: *Soil cleaning at Czechowice Refinery.* Proceedings: Fourth International Symposium and Exhibition on Environmental Contamination in Central and Eastern Europe. Warszawa, 15-17.09. 1998.
7. Worsztynowicz A., Tien A., Rzychoń D., Ulfig K.: *Bioremediacja gruntów zanieczyszczonych ropopochodnymi w Rafinerii Czechowice.* II Międzynarodowe Seminarium Ekologiczne. Odzyskiwanie Terenów Uprzemysłowionych. Materiały konferencyjne. Siemianowice Śląskie, 14-15 maja 1998 r. pp. 140-144, 1998.

Abstract

The Institute for Ecology of Industrial Areas and the US Department of Energy have been working together to develop cost-effective environmental remediation technologies such as the demonstration of bioremediation techniques for the clean up of acidic petroleum sludge impacted soils at the Czechowice Oil Refinery in southern Poland. The waste material was composed primarily of high molecular weight aromatic hydrocarbons. A biopile design, which employed a combination of passive and active aeration in conjunction with nutrient application, was used to increase the biodegradation of the contaminants of concern.

The main objective of the Czechowice Oil Refinery Bioremediation Demonstration Project for fiscal year 1999 was to determine the effects of surfactant application on the biopile operation. A column experiment was carried out in order to select a surfactant suitable for application in the biopile. The selected surfactant was applied to the biopile and the results obtained were evaluated.

Column experiment showed that TPH removal was influenced by type of surfactant used. Average biodegradation rates were:

- in the column with Brij 30 analogue, 240 mg/kg day,
- in the column with Triton N 102 analogue, 320 mg/kg day,
- in the column with no surfactant added, 160 mg/kg day.

The addition of surfactants influenced an increase in microbial activity measured using TTC test. The lowest level of microbial activity was measured in the column, in which no surfactant was added.
The biopile application showed that, after three months of surfactant treatment, nearly 44% and 61% of the remaining TPH were respectively removed from the passively and actively aerated sections of the biopile.
Mean TPH removal rate reached a value close to those obtained during first stage of the biopile operation. These results can be treated as an indication, that in some circumstances, surfactants are able to accelerate the removal of TPH from soil contaminated with weathered acidic petroleum refining sludge. Most probably, a combination of increased microbiological activity and contaminant bioavailability is responsible for these results.

Recenzent: Prof. dr hab. Barbara Maliszewska-Kordybach