

Mikrobiální oživení zeminy po procesu termické desorpce

Petra Kubínová, Jiří Kroužek, Zuzana Honzajková

VŠCHT v Praze, Fakulta technologie ochrany prostředí, Technická 5, 166 28 Praha 6,

e-mail: petra.kubinova@vscht.cz

Souhrn

Práce je věnována účinku mikrovln na půdní mikroorganismy a hodnocení jejich vlivu na výsledný dekontaminační efekt. Experimenty mikrovlnné termické desorpce v laboratorním měřítku probíhaly s využitím reálně kontaminovaných matric. Byl sledován účinek teplotních režimů mikrovlnné termodesorpce na testovanou zeminu a její ovlivnění heterotrofních mikroorganismů po skončení procesu. Pro vzorky zeminy byla provedena vstupní a výstupní měření mikrobiální aktivity (DHA, respirační aktivita a stanovení celkového počtu heterotrofních mikroorganismů) a doprovodná analýza poklesu dekontaminace (HS-GC).

Klíčová slova: termická desorpce, mikrovlnný ohřev, dekontaminace zeminy, organické polutanty, mikrobiální aktivita, půdní heterotrofní mikroorganismy

Úvod

Termická desorpce je nespalovací sanační technologií, která se využívá zejména pro odstraňování organických polutantů (POPs, PAHs, VOCs) ze zemin či stavebních odpadů. Jedná se o fyzikálně-chemický proces řízeného ohřevu materiálu, kdy vlivem zvýšené teploty dochází k převedení kontaminantů z pevné matrice do plynného proudu. V poslední době se stává atraktivní mikrovlnný ohřev materiálu, jehož výhodou je rychlejší dosažení požadované teploty desorpce a zároveň i úspory energie. Modifikací procesu pro in-situ sanace je mikrovlnný venting nesaturované zóny horninového prostředí, kdy dochází vlivem zvýšené teploty nejen k účinnějšímu a rychlejšímu odstranění polutantů, ale i ke změnám ve struktuře zeminy, což může následně ovlivnit půdní mikroorganismy [1, 2]

Zemina je složitý systém zahrnující půdní mikrobiotu a jejich metabolické produkty, tj. půdní enzymy hrající roli v biochemických reakcích materiálové a energetické přeměny. Půdní dehydrogenázy se proto užívají jako ukazatel celkové půdní mikrobiální aktivity, protože jsou esenciální intracelulární součástí všech živých buněk a přitom se nehromadí extracelulárně v půdním prostředí. Dehydrogenázy, jakožto enzymy dýchacího řetězce, hrají významnou roli v biologické oxidaci organické hmoty přenosem vodíku z organických substrátů pro anorganické akceptory a jsou zapojeny do redukčních procesů biosyntézy. Dehydrogenázová aktivita (DHA) tedy slouží jako indikátor mikrobiologických redox-systémů, může být považován za dobře vypovídající měřítko mikrobiálních oxidačních aktivit v půdě a je také považována za úměrný biomase mikroorganismů v půdě. [3-5]

K ukazatelům mikrobiální aktivity patří rovněž respirační aktivita zeminy. Všechny skupiny mikroorganismů získávají potřebnou energii obdobným způsobem, tj. oxidace organických látek v zemině, ve kterých je kyslík hlavním akceptorem elektronů a výsledný produkt respirace je H_2O a CO_2 . Měření respirační aktivity vychází ze sledování množství vytvořeného CO_2 či úbytku O_2 . [6] K dalším ukazatelům monitorujícím mikrobiální aktivitu v zemině řadíme stanovení celkového počtu heterotrofních mikroorganismů. Oproti sledování mikrobiální aktivity je toto stanovení pouze kvantifikací biomasy, která může přispět k destrukci organických látek. V půdním edafonu se mikroorganismy téměř vždy vyskytují ve společenstvech, tedy jako tzv. smíšené kultury. Hraniční počet pro soužití mikroorganismů je 10^{18} KJ/g sušiny.

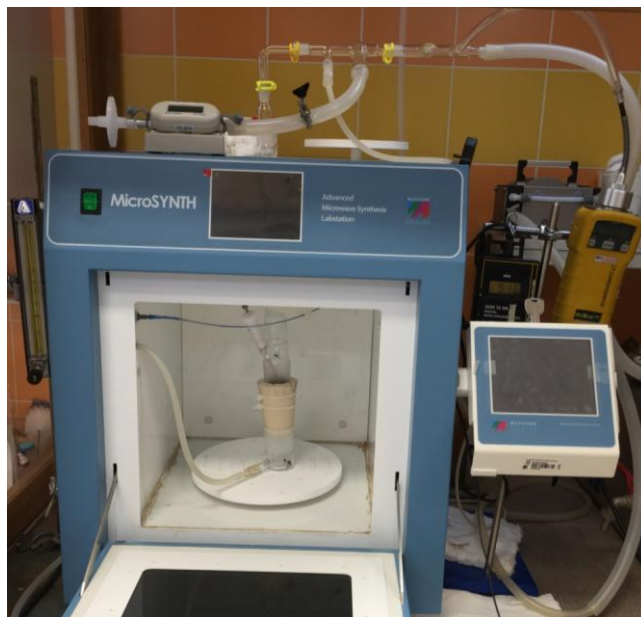
Cílem představené práce bylo sledování změn v mikrobiální aktivitě v kontaminované zemině po mikrovlnném ohřevu a souvisejícího dekontaminačního efektu v laboratorních podmínkách.

Metodika

Laboratorní experimenty ventingu mikrovlnami podporovaného ohřevu matrice probíhaly na speciálně sestavené laboratorní aparatuře (

Obr. 1). Principem testů bylo prosávání definovaného množství vzduchu vrstvou kontaminované zeminy v mírném podtlaku, kdy je zemina umístěna v kavitě mikrovlnné pece a ohřívána dle definovaného teplotního programu. Tento systém mikrovlnného ventingu zpracovával 100 g vsádky uměle homogenizovaného vzorku kontaminované zeminy umístěné ve speciální vestavbě v mikrovlnné

peci, v tenké svrchní vrstvě bylo umístěno optické teplotní čidlo propojené s generátorem mikrovln pro zpětnovazebnou regulaci. Do vestavby byl spodem přiváděn okolní vzduch přes rotametr regulující průtok na definovanou hodnotu. Vzduch byl nasáván vakuovou pumpou umístěnou na konci aparatury. Regulace průtoku vzduchu byla umožněna přísáváním okolního vzduchu za aparaturou, průtok byl kontrolován hmotnostním průtokoměrem. Tímto způsobem byla testována homogenizovaná zemina z lokality A – areál bývalého vojenského letiště, písčité zemina, kontaminant letecký petrolej; z lokality B – areál kovoobráběcího průmyslu, hlinitopísčité zemina, kontaminant těžší ropné frakce (mazací oleje). Pomocí experimentů byl porovnáván režim laboratorní teploty (20 °C bez aplikace mikrovln) a dále teploty 40, 50, 60, 70 a 90 °C. Cílová teplota byla dosažena během deseti minut s následným udržením izotermie po dobu procesu dvě hodiny. Po každém procesu byl vzorek homogenizován a jednotlivé dílčí vzorky podrobeny jednotlivým analýzám.



Obr. 1: Laboratorní aparatura mikrovlnného ventingu

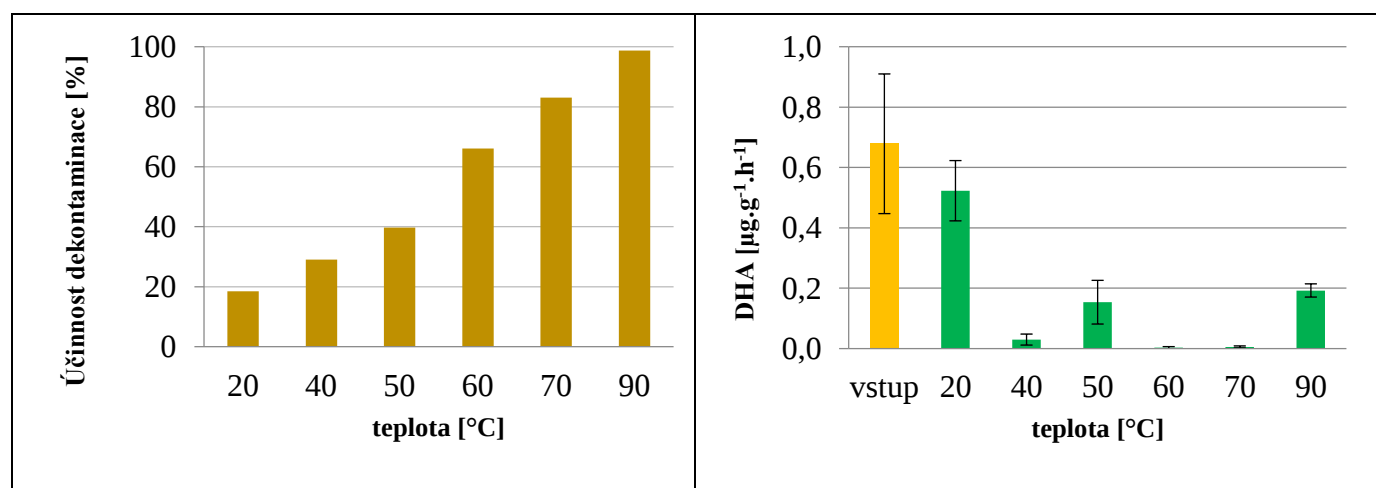
Hlavním ukazatelem o proběhlé dekontaminaci matrice z lokality A byl dosažený úbytek sumární koncentrace kontaminantů C6 – C18 měřený pomocí analýzy metanolového extraktu zeminy pomocí statické head-space a plynové chromatografie (GC/FID).

Stanovení DHA ve vzorcích po procesu ventingu mělo za úkol sledovat, zda dochází k oživení či úhynu půdních mikroorganismů, jež se mohou účastnit biodegradace ropných látek v zemině. Měření DHA v zemině bylo provedeno podle normy ČSN EN ISO 23753-1, tj. tři paralely 5 g vzorku jsou zalité 5 ml 0,5 % roztoku TTC a jeden slepý vzorek přelitý pouze 5 ml pufru. Poté probíhá inkubace 16 h při 25 °C bez přístupu světla, kdy dochází k hydrolýze TTC na výsledný produkt TPF. TPF je extrahován do acetonu, jeho obsah zanalyzován pomocí UV/VIS-spektrometrií při 485 nm, DHA je přímo úměrná koncentraci TPF v extraktu zeminy. Respirometrický postup byl založen na měření biochemické spotřeby kyslíku (BSK) ve vzorku a probíhal na přístroji OxiDirect®, v případě tuhých vzorků je postup označován AT₄. Měřicí jednotka je umístěna v termostatu vyhřívaném na 20 °C, kdy je výsledná hodnota BSK mg O₂/kg zeminy během čtyř denního měření stanovena na základě rozdílu tlaků v uzavřeném systému. Za účelem stanovení počtu heterotrofních mikroorganismů byla za přísně aseptických podmínek kultivována suspenze inokula na PCA agaru při 30 °C tři dny za aerobních podmínek roztěrovou metodou. Následně byl odečten počet narostlých kultur heterotrofních mikroorganismů v médiu.

Výsledky a diskuze

Dosažené výsledky laboratorních testů jsou graficky znázorněny na Obr. 2. Z Obr. 2 vlevo je patrné, že koncentrace kontaminantů v testované vsádce pevné matrice dle očekávání přímo úměrně klesá s rostoucí teplotou. Pro experiment o laboratorní teplotě prosávaného vzduchu se ještě jedná jen o mírný pokles původního obsahu leteckého petroleje v zemině. O významném účinku mikrovlnného ohřevu na dekontaminaci, kdy došlo k poklesu obsahu polutantů z více než 70 % proti původní

koncentraci, lze hovořit u teploty 60 °C a vyšší. Avšak kompletní dekontaminace za aplikovaných podmínek nastala až při 90 °C.



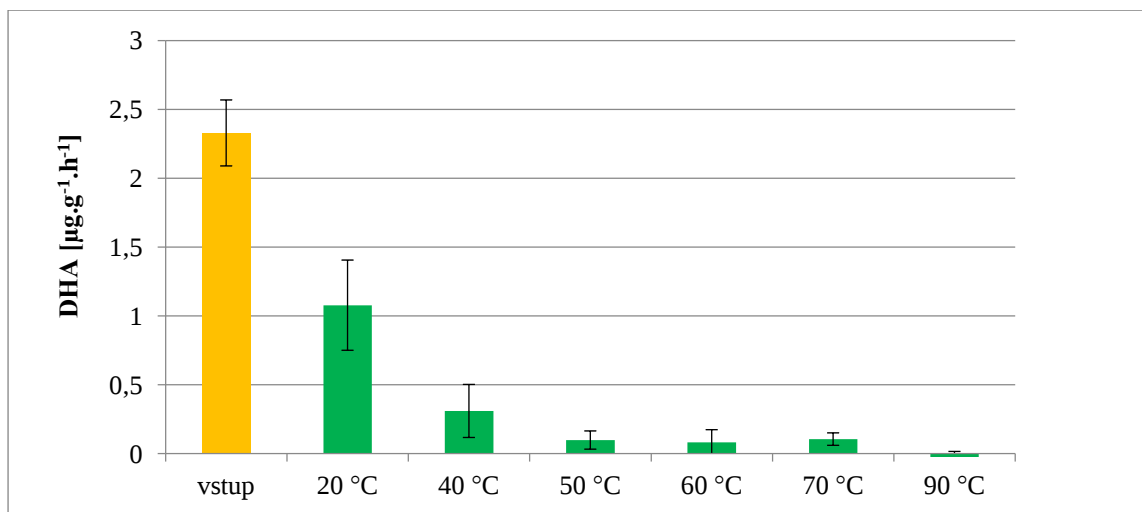
Obr. 2: Efekt teploty během mikrovlnného ventingu na účinnost dekontaminace alifatických uhlovodíků C6 – C18 ze zeminy z lokality A (vlevo) a na mikrobiální aktivitu této zeminy (vpravo)

Vpravo na Obr. 2 je vidět porovnání experimentů z hlediska mikrobiologie. Tyto výsledky jsou na jedné straně poměrně překvapivé, protože nastalo mírné snížení aktivity mikroorganismů proti původnímu stavu již při pouhém prosávání vzduchem o laboratorní teplotě, ale s ohledem na pravděpodobnou nejistotu měření, lze konstatovat, že k významné změně DHA nedošlo. Po aplikaci mikrovlnného ohřevu na teplotu 40 °C a vyšší naopak došlo k výraznému poklesu DHA, což od 60 °C již bylo očekávané, teplota 70 °C je i v literárních zdrojích uvedena jako hraniční pro přežití mikroorganismů. Překvapivý je ovšem výstup zjištěný pro teplotu 90 °C. Došlo zde v porovnání s testy za nižší teploty k částečnému znovu oživení pevné matrice. Teplota 90 °C by měla mít spíše sterilizující účinky. Je pravděpodobné, že se zde projevil efekt *hormeze*, tj. kdy působení vysoké teploty mohlo mít v důsledku příznivý účinek na mikroorganismy, které se adaptují na stresové podmínky. Důvodem však může být i odstranění kontaminace a tedy snížení toxického působení. Nelze však vyloučit, že tyto výsledky jsou důsledkem obecně poměrně nízké míry oživení této testované matrice odebrané na lokalitě A.

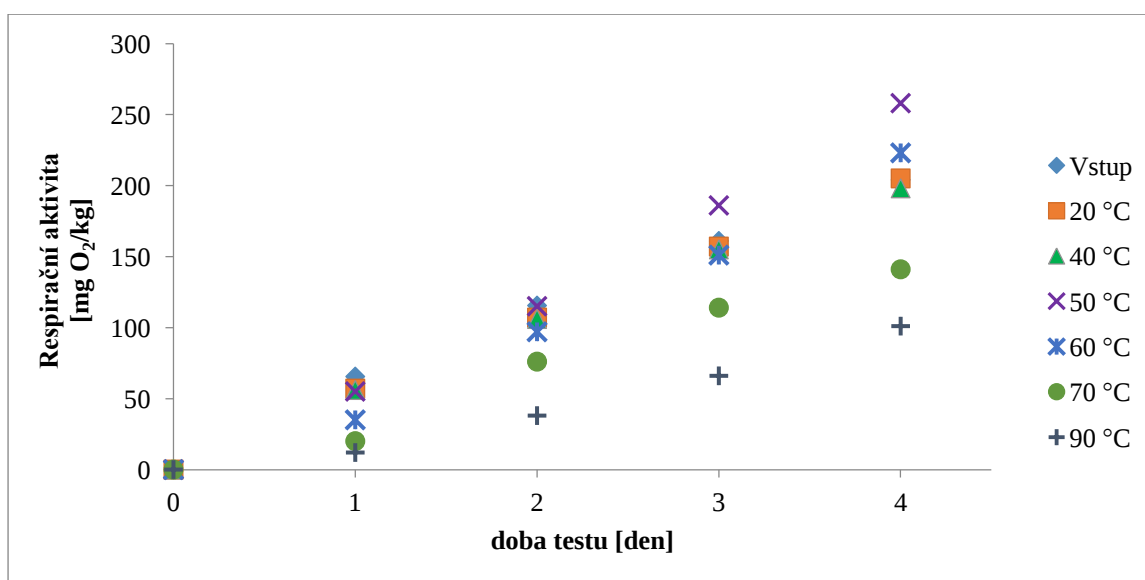
Na základě nejasných výsledků mikrobiální aktivity ve vzorcích z lokality A byl dále proveden obdobný výzkum se zeminou z lokality B, která se vyznačovala vyšší DHA a také díky obsahu těžších ropných frakcí (C10 – C40) je možné odlišit účinek mikrovlnného ohřevu od vlivu úbytku dekontaminace. Z těchto důvodů byla tedy vhodnějším simulačním nástrojem podrobnějšího porovnání vlivu mikrovlnné dekontaminace na půdní mikrobiotu.

Výsledky porovnání měření DHA ve vzorku zeminy z lokality B po procesu s různou teplotou přináší Obr. 3. V tomto případě byl negativní efekt mikrovln nezpochybnitelný. Důvodem tohoto klesajícího trendu působení mikrovln je, že mazací oleje obsahují těžší uhlovodíkové frakce, a proto dekontaminační proces vyžaduje výrazně vyšší teploty, než tomu bylo při experimentu s leteckým petrolejem. Proto je zde potlačen vliv úbytku znečištění a znázorněn pouze postupný negativní vliv mikrovln na půdní mikroorganismy.

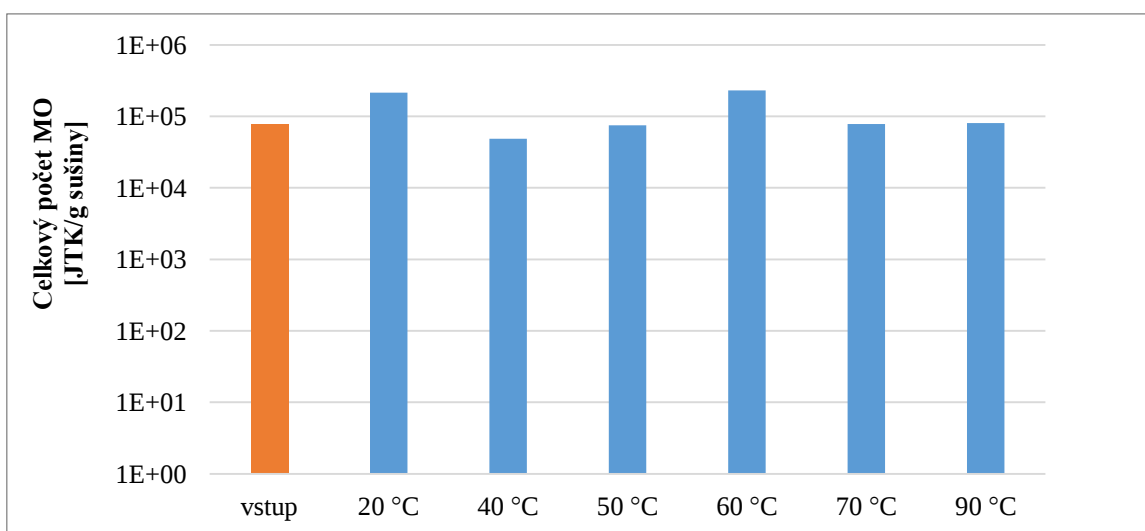
Obr. 4 shrnuje a vzájemně porovnává výsledky respirometrického měření vzorků z jednotlivých teplotních režimů mikrovlnného procesu a vstupní matrice. Výsledky porovnání respirační aktivity oproti měření DHA ukazují odlišný účinek technologie na mikrobiotu. V případě zeminy vystavené teplotě 90 °C nedošlo k tak výraznému poklesu aktivity. Mikroorganismy jsou po opětovném nastolení příznivých podmínek (vlhkost, teplota) znovu schopny se zaktivizovat. Za povšimnutí stojí zvýšení respirační aktivity po procesu s teplotou 50 °C, kdy se pravděpodobně projevil efekt *hormeze* neboli reakce organismů po zpětném nastolení běžných podmínek v podobě přípravy na kritické podmínky zvýšením své aktivity. Až do teploty 70 °C ohřev nezpůsobil zásadní ovlivnění aktivity mikrobů.



Obr. 3: Vliv teploty mikrovlnného ventingu na mikrobiální aktivitu v zemině z lokality B



Obr. 4: Vliv teploty ventingu na respirační aktivitu (AT_4) v zemině z lokality B



Obr. 5: Vliv teploty mikrovlnného ventingu na celkové počty heterotrofních mikroorganismů v zemině z lokality B

Výsledky na Obr. 5 znázorňují účinek teploty na výsledné počty kultivovatelných heterotrofních mikroorganismů, kdy výsledky znovu neodpovídají předchozím. Prakticky v tomto ukazateli nenastala významná změna. Nutno však podotknout, že nejistota měření u tohoto stanovení je výrazně vyšší, až řádově, i proto se výsledky uvádějí v logaritmickém měřítku. Tento ukazatel však zahrnuje pouze určitou část společenstev mikroflóry kultivovatelné za použitých podmínek postupu stanovení. Nicméně tyto výsledky podobně jako v případě respirometrického stanovení potvrzují poměrně silnou protektivní funkci zeminy, kdy mikroorganismy po aplikaci vysoké teploty a novém nastolení příznivých podmínek pravděpodobně poměrně rychle obnoví svojí původní vitalitu.

Rozdíl mezi dosaženými výsledky při použití různých ukazatelů, zejména mezi DHA a počty heterotrofních mikroorganismů, naznačuje, že jsou při hodnocení důležité také různé podmínky inkubace a postupu měření těchto ukazatelů. Rovněž každý ukazatel může upřednostňovat určité skupiny mikroorganismů, dehydrogenázy například zahrnují rovněž anaerobní mikroorganismy, které je také produkují, tyto enzymy se navíc mohou vyskytovat i extracelulárně. Nelze tak s jistotou dle jednoho parametru zhodnotit kompletně účinky na složitý systém mikroorganismů. Ale i z takto odlišných dosažených výsledků vyplývá, že pravděpodobně aplikace mikrovlnného ohřevu in-situ v horninovém prostředí není pro mikroorganismy letální a poměrně rychle mohou obnovit svou funkci a lze tak tuto technologii případně aplikovat v kombinaci biologickým dočištěním lokality.

Závěr

Data ze studie technologie ventingu podpořeného mikrovlnným ohřevem a jejím vlivu na heterotrofní půdní mikroorganismy potvrzují vysokou rezistenci půdních mikroorganismů vůči extrémním vnějším vlivům a zároveň poukazují na fakt, že problematika studia půdních mikroorganismů je poměrně komplikovaná a neexistuje zcela jednoznačný ukazatel.

Provedený soubor laboratorních testů naznačuje, že teplota zeminy do 100 °C, která je pro těkavé látky vysoce efektivní, není pro mikroorganismy letální, čímž ani mikrobiální procesy nejsou potlačeny. Je možné očekávat při postupném snižování teploty v zemině a jejím ovlhčování také její poměrně rychlé zpětné oživení, a tedy nelze vyloučit také příp. pokračující biodegradaci kontaminace po skončeném in-situ mikrovlnném dekontaminačním procesu. Při případné biodegradaci se ve velké míře uplatňují aerobní heterotrofní mikroorganismy, kdy kromě oxidace organické hmoty probíhají i další biochemické redoxní děje.

Do budoucna bude třeba provést další laboratorní měření pro lepší pochopení mechanismu biodegradace a nalezení optimálních podmínek k účinnému zpětnému oživení půdního edafonu.

Poděkování

Příspěvek byl připraven v rámci výzkumu realizovaného s podporou projektu „Vývoj a ověření technologie pro účely intenzifikace in-situ sanačních opatření“ (TAČR TA04020435).

Literatura

1. Agency, U.S.E.P., *A Citizen's Guide to Thermal Desorption*. Office of Solid Waste and Emergency Response (5102G), 2012.
2. Nannipieri, P., Kandeler, E., Ruggiero, P., *Enzyme Activities and Microbiological and Biochemical Processes in Soil*. In *Enzymes in the environment: Activity, ecology, and applications*. CRC Press, 2002.
3. Wolińska, A., Stępniewska, Z., *Dehydrogenase Activity in the Soil Environment*. Dehydrogenases, 2012.
4. Trevors, J., *Dehydrogenase activity in soil: a comparison between the INT and TTC assay*. *Soil Biology and Biochemistry*, 1984. **16**(6): p. 673-674.
5. Casida Jr, L., Klein, D., Santoro, T., *Soil dehydrogenase activity*. *Soil science*, 1964. **98**(6): p. 371-376.
6. Šantrůčková, H., *Respirace půdy jako ukazatel její biologické aktivity*, *Rostlinná výroba*. 1993. **39**(9): p. 769-778.