

Tartu Ülikool  
Füüsika-Keemia teaduskond  
Kolloid- ja keskkonnakeemia õppetool

Jana Budašova  
ANIOONSETE PINDAKTIIVSETE AINETE KÄITUMINE ÕLIGA REOSTUNUD  
PINNASE BIOREMEDIATSIOONIS  
Magistritöö

Juhendajad: Prof. Toomas Tenno  
Doktorant Aare Selberg

Tartu 2005

Sisukord	
Sissejuhatus	3
1. KIRJANDUSLIK ÜLEVAADE	4
1.1. Pindaktiivsed ained: liigitus ja struktuur	4
1.2. Pindaktiivsete ainete üldised omadused	5
1.2.1. Mitselliteke	5
1.2.2. Solubilisatsioon	9
1.2.3. Adsorptsiooniomadused	11
1.2.4. Emulgeerimisomadused	12
1.3. Bioloogilised või looduslikud pindaktiivsed ained	14
1.4. Pindaktiivsete ainete kasutamine bioremediatsioonis	17
1.4.1. Bioremediatsiooni mõiste ja põhiprintsiibid	17
1.4.2. PAA kasutamine bioremediatsiooni soodustamiseks	20
1.5. Keskkonna reostumine PAA-tega ja selle mõju elusorganismidele	22
1.6. Pindaktiivsete ainete käitumine keskkonnas	24
1.6.1. Pindaktiivsete ainete degradatsioon	24
1.6.2. PAA käitumine reovee mudas	28
2. PRAKTILINE OSA	32
2.1 Materjalid ja meetodid	33
2.2 Analüüside tulemused ja tulemuste arutelu	40
Kokkuvõtte	49
Summary	51
Kasutatud kirjandus	53

## Sissejuhatus

Loodusliku keskkonna reostus erinevate saasteainetega on tänapäeval tõsiseks probleemiks. Inimkond areneb pidevalt ja koos sellega ka tööstus. Kasutusele on võetud paljud uued kemikaalid vaatamata sellele, et nende vastastoime keskkonnaga on veel vähe uuritud. Keskkonda sattudes võivad need ühendid avaldada elusorganismidele toksilist, mutageenset või ärritavat toimet. Teiseks probleemiks on reoainete eemaldamine looduslikust keskkonnast või keskkonna tervendamine. Reoainete eemaldamiseks püütakse välja töötada ja kasutada loodussõbralikke tehnoloogiaid. Üheks selliseks tehnoloogiaks on bioremediatsioon, mis põhineb mikroorganismide võimel lagundada reoainet nende metabolismiprotsesside käigus. Bioremediatsiooni tehnoloogiat kasutatakse laialdaselt süsivesinikega reostunud pinnase või põhjavee tervendamiseks. Naftasaadustega reostunud pinnase bioremediatsiooni soodustamiseks kasutatakse erinevaid lisaaineid, sealhulgas pindaktiivseid aineid. Need ained suurendavad vees mitte- või vähelahustuvate reoainete lahustuvust või vähendavad pindpinevust, muutes sellega reoained mikroorganismidele kergemini lagundatavaks.

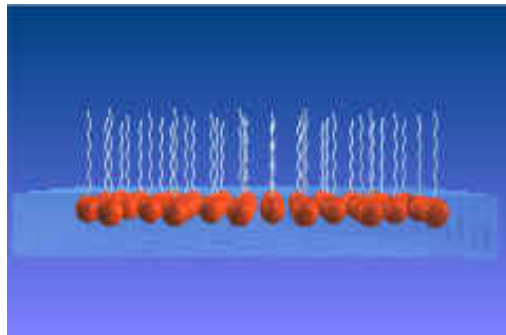
Pindaktiivsed ained degradeeruvad kergesti aeroobsetes tingimustes, kuid anaeroobsetes tingimustes on nende biodegradatsioon aeglasem. Selletõttu võib pindaktiivsete ainete kasutamine esile kutsuda sekundaarset reostust.

Antud töö eesmärgiks oli uurida anioonsete pindaktiivsete ainete käitumist õliga reostunud pinnase bioremediatsioonis. Töö käigus määrati anioonsete pindaktiivsete ainete kontsentratsioonid pinnases bioremediatsiooniprotsessi käigus ja samuti ka pinnasest väljaleostunud leovees. Pindaktiivsete ainete jaotumise uurimiseks viidi katsed läbi pinnasega täidetud kolonnides ja katse lõpus analüüsiti pinnase erinevaid fraktsioone. Reostunud pinnase bioremediatsiooni edukuse hindamiseks määrati pindaktiivsete ainete kõrval ka süsivesinike kontsentratsioonid nii pinnases kui ka leovees.

## 1. Kirjanduslik ülevaade

### 1.1. Pindaktiivsed ained: liigitus ja struktuur

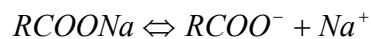
Pindaktiivsed ained (PAA) on asendatud süsivesinikud ja nende klassifitseerimine toimub süsivesiniku radikaali ja funktsionaalse rühma iseloomu järgi. PAA amfiifilne molekul koosneb mittepolaarsest süsivesinikradikaalist ja polaarset funktsionaalrühmast. Molekuli difiilne iseloom on PAA üks põhiliseks karakteristikuks. Difiilse molekuli polaarne osa on hüdrofiilne ja mittepolaarne osa on hüdrofoobne [1]. PAA-tel on tendents koguneda pinnale ja piirpinnale moodustades adsorptsioonikihi [2].



Joonis 1. PAA-te molekulite paigutumine vesi-õhk faaside piirpinnal [3].

Pindaktiivsed ained jagatakse keemilise koostise ja käitumise järgi lahuses anioonseteks, katioonseteks, amfoteerseteks ja mitteioonseteks PAA-deks. Esimesed kolm neist moodustavad ionsete pindaktiivsete ainete rühma [1].

**Anioonaktiivseteks PAA-teks (a-PAA)** nimetatakse difiilseid molekule, mis dissotsieeruvad veelahuses pindaktiivseks aniooniks ja katiooniks (metalliioon). Näiteks [1]:



Hüdrofoobne osa sisaldab tavaliselt küllastumata või küllastunud alifaatseid või alküülaromaatseid ahelaid. Hüdrofoobsus on tingitud funktsionaalsete rühmate olemasolust: - COO(H, Me), - OSO<sub>2</sub>O(H, Me), - SO<sub>3</sub>(H, Me). Katiooniks võib olla vesinik- või metalliiooni kõrval ka orgaaniline ühend.

Anioonseid pindaktiivseid aineid omakorda võib jagada kuueks rühmaks:

1. Karboksüülhappete derivaadid – seebid
2. Primaarsed ja sekundaarsed alküülsulfaadid, alküülfenüületüülsulfaadid, alküülsükloheksüületüülsulfaadid ;
3. Alküül- ja alküülarüülsulfonaadid, mono- ja dikarboksüülhappete estrite sulfonaadid;
4. Alkoholide sulfo- ja karboksüületoksülaadid, karboksüülhappete sulfoetoksülaadid, alküülfenüületüülalkoholide sulfoetoksülaadid, sulfomerivaikhappete soolad,;
5. Lämmastiku sisaldavad pindaktiivsed ained;
6. Teiste hüdrofoobsete ja hüdrofiilsete rühmatega ühendid [4].

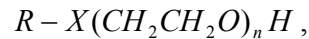
Anioonseid PAA kasutatakse nii pesemisvahendites kui ka tööstuses ja tabelis 1 on esitatud mõned a-PAA ja nende kasutamisalad.

Tabel 1. Anioonseid pindaktiivsed ained ja kasutusala [5]

Valem	Nimetus	Kasutamisaala
$RC_6H_4SO_3^-H^+(Na)$	Alküülarüülsulfonaat (LAS)	Puhastusaine pesemisvahendites, agrokeemias, tekstiili- ja tsemenditööstuses
$RCH_2OSO_3H$ $R_1R_2CHOSO_3H$	Alküül- (alkohol-) sulfaat (AS)	Villa pesuainetes, hambapastas, kosmeetikas, šampoonides, farmaatsiatoodetes, tulekustutusvahu tootmises
$R(OCH_2CH_2)_nOSO_3^-Na^+$	Eeter alküülsulfaat (AES)	Nõudepesemisvahendites, tulekustutusvahu tootmises koos teiste anioonsete ja mitteioonsete pindaktiivsete ainetega, šampoonides, tekstiiltööstuses

**Mitteioonseid pindaktiivsed ained ( m-PAA)** on difiilsed ühendid, mis ei dissotsieeru ja lahuses ioone ei moodusta. Nende difiilsus on tagatud funktsionaalsete rühmade

olemasoluga, mis omavad solvateerimisvõimet. Selliste ühendite üldine valem on järgmine:



kus R – alküül; X – vesiniku-, lämmastiku-, väävli aatom, funktsionaalne rühm – COO - ,  
- CONH, - C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O-.

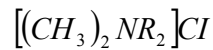
Mitteioonseid pindaktiivseid aineid võib jagada üheteistkümneks rühmaks:

1. Alkoholid (alkoholetoksülaadid) – küllastatud või küllastamata primaarsed, sekundaarsed, tsüklilised ühendid üldvalemiga RO(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>H, R-lineaarne või hargnenud süsivesinikahel (n = 1-40);
2. Karboksüülhapped – RCOO(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>H;
3. Alküülfenoolid (alküülfenooletoksülaadid) ja alküülnaftoolid – RC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>H, RC<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>H;
4. Amiinid, amiidid;
5. Merkaptaanid, sulfoonamiidid;
6. Polümeerid, etüleen- ja propüleenglükoolid;
7. Alküülatsütleenglükoolid;
8. Fosforhappe eetrid;
9. Pentaerütroetrid;
10. Glükosiidide ja rasvalkoholide, karboksüülhapete ja etüleenoksiidide kondensatsiooni produktid;
11. Räniorgaanilised PAA [4].

Mitteioonseid pindaktiivseid aineid kasutatakse põhiliselt pesemisvahendites. Samuti võivad PAA-id sisaldada pestitsiidid, värvid, kiudainete, kosmeetika ja farmaatsia tooted. Neid kasutatakse seal, kus nende piirpindade märgamisvõime, vahustamine (või vahutekke pidurdamine), emulgeerimine (või selle vähendamine), dispergeerimine või solubilisatsioon võivad suurendada protsessi saagist või kiirendada protsessi [5].

**Katioonsed PAA (k-PAA)** – dissotsieerimise korral moodustuvad pindaktiivsed katioonid ja hüdratiseeritud anioonid. Nende hüdrofiilsus on määratud positiivselt laetud heteroaatomi ja happejäägi olemasoluga molekulis ning hüdrofoobsus on tingitud alifaatsest ahelast, mis sisaldab asendajate rollis hargnenud või tsüklilisi süsivesinikstruktuure. Molekul sisaldab positiivse laengu kandjana lämmastiku-, fosfori-

või väävli aatomeid. Aniooniks võivad olla nii halogeniid- kui ka väävel- ja fosforhappe anioonid. Sellele struktuurile vastavad happede soolad ja kvaternaarsed alused. Viimaste hulka kuuluvad primaarsete, sekundaarsete ja tertsiarsete amiinide ja fosfiinide soolad. k-PAA-te üldstruktuuri võib kirjeldada valemiga [2]:



Kvaternaarsed ammooniumioonid on stabiilsed aluselises keskkonnas, lahustavad hästi vees, takistavad korrosiooni ja on üldiselt vähetoksilised. Need eelised alifaatsete amiinidega ja nende sooladega võrreldes lubavad neid laialdaselt kasutada kogujatena ehk kollektorina [6]. k-PAA-id kasutatakse tööstuses antistaatikuna, tekstiili pehmendajana, korrosiooni inhibiitoritena, metallide sadestajana, antiseptikuna [6, 7].

**Amfoteersed PAA (am-PAA)** on ühendid, mille molekul sisaldab hüdrofoobset radikaali, mis on võimeline olema kas prootoni doonoriks või aktseptoriks. Sõltuvalt pH-st võivad nad avaldada katioonsete, mitteioonsete või anioonsete PAA-te omadusi. Nende molekul sisaldab ühte või mitut happelist või aluselist rühma. Näiteks võib olla 3-atsüülaminopropaanhappe [2, 6]:

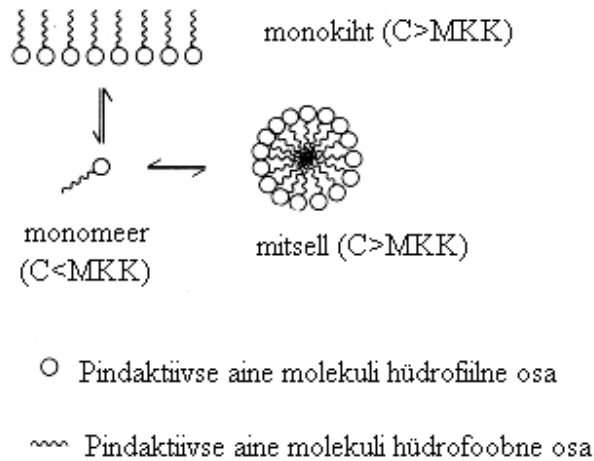


## 1.2. Pindaktiivsete ainete üldised omadused

### 1.2.1. Mitselliteke

Mitselliteke on molekulide assotsiatsooni protsess lahuse ruumalas termodünaamiliselt püsiva ja suurema osakeste moodustamisega. Mitsellide tekkimine toimub siis kui on ületatud mitselliteke kriitiline kontsentratsioon (MKK). Mitselliteke on skemaatiliselt esitatud joonisel 2. MKKi väärtus sõltub süsivesinikradikaali pikkusest ja tema hargnemisest, keskkonna soolsusest, PAA tüübist. MKK suureneb ahela hargnemisel ning hüdroksüülrühma ja kordsete sidemega fragmentide süsinikahelasse ühendamisega. Hüdrofiilse rühma polaarsuse suurendamine soodustab MKK suurenemist. Anioonsete pindaktiivsete ainete mitselliteke kriitiline kontsentratsioon määratakse metallioonide

kontsentratsiooniga, katioonsete PAA-te MKK määratakse anioonide kontsentratsiooniga. Molekulide hüdrofoobsed osad moodustavad süsivesiniktuuma (süsivesiniku pseudofaas), mis on ümbritsetud polaarsete rühmade kihiga [1].



Joonis 2. Mitselli teke pindaktiivse aine lahuses [8]

Peale mitsellide võivad pindaktiivsed ained moodustada teisi agregaatide, mille teke sõltub molekulivahelistest jõududest ja süsivesinikahelate paindlikust. Agregaadi struktuuri ennustamiseks võib kasutada karakteristikut, mis põhineb agregaadipinna puutuja nurgal. See puutenurk võib olla avaldatud kriitilise pakkimise parameetri kaudu (“critical packing parameter”) -  $v/a_0l_c$ , kus  $v$  on süsivesinikahelate hulk,  $l_c$  on ahela pikkus, mis on eeldatavasti võrdne maksimaalse ahela pikkusega ( $l_{max}$ ),  $a_0$  on funktsionaalrühma pindala. Süsivesinikahela hulka võib välja arvutada järgmise valemi järgi:

$$v = (27.4 + 26.9n)m,$$

kus  $m$  on süsivesinikahelate arv ja  $n$  on süsinike aatomite number süsinikvesinike ahelas. Süsinikvesinikahela pikkust võib arvutada järgmise valemi kaudu [9]:



$$l_{\max} = 1.5 + 1.26n$$

Eespool toodud parameetrite tüüpilised väärtused ja nendele vastavad agregaatide strukturid on järgmised:

$v/a_0l_c < 1/3$	Sfääriline mitsell
$1/3 < v/a_0l_c < 1/2$	Polüdispersed silindrilised mitsellid
$1/2 < v/a_0l_c < 1$	Põieke, painduvad kaksikkihid
$v/a_0l_c > 1$	Pöördmitseliid

Seega mitsellid võivad olla sfääri-, ellipsi-, plaadi-, silindrikujulised.

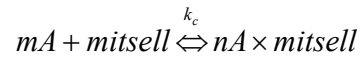
Juhul, kui PAA kontsentratsioon lahuses on mitsellitekke kriitilisest kontsentratsioonist väiksem, siis nad eksisteerivad lahuses üksikmolekulite või monomeeride kujul. Mitsellitekke kriitilise kontsentratsiooni ületamisel on konstantne monomeeride kontsentratsioon tasakaalus mitsellide kontsentratsiooniga. PAA molekulide arvu, mis moodustavad mitselli, nimetatakse agregaat arvuks. Difiilsete molekulite agregate käsitatakse kui PAA-te molekulide ja nende agregaatide ajutist assotsiatsiooni või nagu faasi üleminekut. Tavalised mitsellid tekkivad vees lahustuva PAA lisamisel vee faasi, kuid pöördmitsellid tekivad õlis lahustuva PAA lisamisel õli faasi [1, 9].

Mitsellid võivad olla erineva suurusega, nende mõõtmed vähenevad kontsentratsiooni ja monomeeride mõõtmete vähenemisel. Igat difiilset ainet võib iseloomustada sfäärilise mitselli kaudu, mille raadius on võrdne sirgeks tõmmatud alküülahela pikkusega. Ioonsete pindaktiivsete ainete agregatsiooniate langeb temperatuuri kasvamisega, kuid mitteioonsete pindaktiivsete ainete agregatsiooniate temperatuuri kasvamisega suureneb. Mitsellitekke võib suurendada komponendi kontsentratsiooni lahuses üle tema lahustuvuse [1, 7].

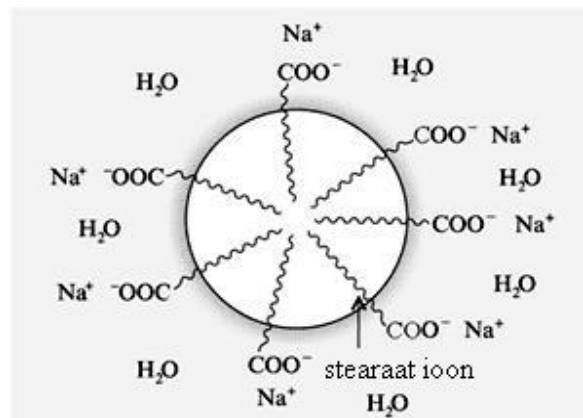
### 1.2.2. Solubilisatsioon

Solubilisatsioon on tasakaaluprotsess mille käigul toimub vees (või teises lahustis) mittelahustuvate ainete lahustumine mitsellides. Mitsellid hoiavad mittepolaarseid molekule enda sees vastastoime abil. Solubilisatsiooni nähtust esile kutsuvat mitsellikujul

esinevat PAA-d nimetatakse solubilisaatoriks. Protsessis võivad osaleda erinevad mitselli adsorptsioonitsentrid sõltuvalt solubilisaatori struktuurist. Polaarsed ühendid assotsieeruvad mittepolaarsetes keskkonnades agregaatide kujul. Aine A solubilisatsiooni tasakaaluprotsessi võib kirjeldada järgmine võrand:



Praktilist solubilisatsiooniastet hinnatakse mitsellide poolt seotud vähepolaarse lahusti (benseen, toluen) või vähelahustuva värvaine hulga järgi. Solubilisatsioon sõltub samuti mitsellide assotsiatsiooniastmest ja mitte-assotsieerunud PAA-te molekulide kontsentratsioonist [1, 4, 7, 8, 11]. Küllalt oluline on olukord, kus PAA moodustavad mitselle, mille sees on reoaine. Joonisel 3 on näidatud mittepolaarse molekuli ümbritsemine pindaktiivse ainega.



Joonis 3. Mittepolaarse osakese stabilisatsioon vees PAA abil [8]

Selliseid mitsell-reoaine kompleksi on kergem eemaldada pinnasest või veest [1, 7, 12].

### 1.2.3. Adsorptsiooniomadused

Adsorptsiooniomaduste hulka kuuluvad PAA pindpinevuse vähendamise võime, märgamis-, emulgeerimis-, vahutekitamisprotsesside mõjutamine.

**PAA –te adsorptsioon pinnasele.** Pindaktiivsed ained võivad adsorbeeruda tahketele osakestele ning adsorptsiooniaste sõltub tahkete osakeste omadustest, pindaktiivse aine struktuurist, pH-st, süsteemi temperatuurist, lahuses olevatest mineraalsetest ja bioloogilistest osakestest, solvendi iseloomust. PAA-te käitumine faaside piirpinnal määratakse näiteks elektrostaatiliste jõudude külgetõmbega, kovalentsete sidemetega, vesiniksidemetega [11].

m-PAA molekulid võivad kinnituda molekuli hüdrofoobse osaga pinnasele, jättes hüdrofiilse osa poorides oleva vee poole. Seda protsessi võib nimetada hüdrofoobseks sorptsiooniks. a-PAA võivad adsorbeerida molekuli positiivselt laetud osa kaudu savi osakestega või oksüdeeritud metallide pindadega, jättes hüdrofoobse osa poorides oleva vee poole. Seda protsessi võib nimetada ioonseks sorptsiooniks ja see on hüdrofoobsest sorptsioonist tugevam.

PAA-te adsorptsioon on üheks faktoriks mis mõjutab pinnaste adsorptsioonilisi omadusi. M. Abu-Zreig jt [13] jõudsid oma uurimuste põhjal järelduseni, et anioonsete pindaktiivsete ainete lisamine pinnasse võib põhjustada sorptsiooni ja dispersiooni suurenemist pinnases ning seeläbi pinnase hüdraulilise juhtivuse vähenemist.

**Pindpinevus.** Molekulid mingis ruumalas on ümbritsetud samade molekulidega, kuid pindkihis nad on vastastiktoimes erineva faasi molekulidega. Molekulidevahelised jõud pindkihis ei ole tasakaalustatud ja on suunatud selle faasi poole, mille vastastikune toime molekulidega on tugevam. Nende jõudude mõjusuund on suunatud selle faasi poole ja püüab faaside piirpinda vähendada. Pinnaenergia ( $G_p$ ) on neid vastastiktoimete tulemuseks ja see on määratud pinna pindala ( $S$ ) ja pindpinevuse ( $\sigma$ ) korrutisega isobaar-isotermiline tingimustes [1]:

$$G = \sigma \times S$$

Pindaktiivsete ainete amfiifilsuse tõttu kogunevad nad piirpinnale (õli-vesi) ja vähendavad seeläbi piirpinna pindpinevust. Pindpinevuse vähenemine toimub kuni pindaktiivsete ainete kontsentratsioon ei ületa mitselliteke kontsentratsiooni, MKK ületamisel toimuv suhteliselt väikesed muutused pindpinevuse vähenemises [7,14].

#### 1.2.4. Emulgeerimisomadused

Emulsiooniks nimetatakse disperseid süsteeme, mis koosnevad vähemalt kahest teineteises mittelahustuvast vedelikust. Üks vedelik on jaotunud teise vedeliku kogu ruumalas väikeste tilkade kujul. Need süsteemid on termodünaamiliselt ebapüsivad. Eristatakse kahte tüüpi emulsioone sõltuvalt dispersioonikeskkonna vedeliku iseloomust. Kui dispersioonikeskkonnaks on vesi ning disperseeritud faasiks on süsivesinikud, siis nimetatakse neid õli emulsiooniks vees (õ/v-tüüpi emulsioon). Kui dispersioonikeskkond koosneb süsivesinikest ja vesi on disperseeritud faasiks, siis nimetatakse sellist süsteemi vesi õlis (v/õ-tüüpi emulsioon). Emulsioonidel on küllaltki suur pinnaenergia, sest nad sisaldavad hästi arenenud faaside vahelist pinda, mis on tingitud dispersioonifaasi tilkade väikese diameetriga. Emulsiooni lagunemine toimub tilkade kokkuvoolumise tõttu. Pindaktiivsed ained on üheks komponendiks, mida kasutatakse teatud dispersioonifaasi kontsentratsiooniga püsiva emulsiooni moodustamiseks. Emulsiooni teke suurendab vee ja reoaine vahelist piirpinda, seda omadust kasutatakse ka reostunud pinnase remediatsioonis [1, 12].

Emulsioonide ebastabiilsuse tõttu eelistatakse mikroemulsioone. Üheks mikroemulsioonide eeliseks on mikroemulsioonide tilgakeste suurus. Tavaliste emulsioonide tilkade suurus on vahemikus 0,1 – 10 µm, mikroemulsioonide tilkade suurus on vahemikus 0,01 – 0,1 µm. Seoses sellega, et mikroemulsiooni tilgakeste suurus on väiksem, on süsteemi õhustamine piisav selleks, et kiirendada reostuse lagundamist. Väiksemate tilkade korral on ka süsteemi eripind suurem. Teiseks eeliseks on see, et mikroemulsioonide süsteemid on stabiilsed. Mikroemulsioonid jaotatakse kolmeks tüübiks: Winsor I tüüp, Winsor II tüüp ja Winsor III tüüp. Esimese tüüpi süsteem koosneb õli vees mikroemulsioonist, kusjuures vees olevad mitsellid lahustavad õli. Teise tüüpi süsteem koosneb ümberpööratud emulsioonist, see tähendab, et õlis olevad mitsellid lahustavad vett. Mikroemulsiooni keskmise faasi süsteem tekib siis, kui

pindaktiivsed ained lahustuvad õli- ja vesifaasis võrdselt. Sellel juhul PAA-d akumuleerivad õli-vesi piirpinnal, moodustades uue faasi. Winsor III tüübi mikroemulsiooni süsteem on termodünaamiliselt stabiilne ja ei lagune aja jooksul [15, 16, 17].

**Hüdrofiilne-lipofiilne balanss (HLB).** HLB on balanss molekuli hüdrofiilse ja hüdrofoobse osa vahel, näitab emulgaatori võimet jaotuda faaside vahel. HLB võib määrata järgmise valemiga:

$$HLB = \sum HLB_h - nHLB_{CH_2} + 7,$$

kus  $HLB_h$  ja  $HLB_{CH_2}$  on hüdrofiilsete ja  $CH_2$  rühmade vastastikune suhe.

Mida suurem on HLB arv, seda hüdrofiilsem on molekul. Pindaktiivsed ained, mille HLB on 13-15, omavad efektiivset pesemistoimet. Parimat märgamiseefekti omavad PAA-d HLB arvuga 7-9 [1, 7].

Mitteioonsete pindaktiivsete ainetega läbiviidud uurimused näitasid, et kõige sobilikum mitsellide moodustamiseks on HLB number 10. Samuti oli jälgitud mikroorganismide kasvu süsivesinike degradatsioonil ja polüaromaatsete süsivesinike (PAH) maksimaalset biokättesaadavust. HLB arvu teadmine on väga tähtis, sest seda võib kasutada biodegradatsiooni süsteemi välja töötamisel. PAA, mille HLB arv on suurem õliledele vajalikust HLB numbrist, solubiliseerivad õli mitsellides. Vastasel juhul jaotub PAA õlifaasis.

Bioloogiliste pindaktiivsete ainetega on olukord teisiti. Uurimused näitasid, et need ained, mille HLB väärtus on ligikaudu 4, soodustavad ja suurendavad alkaanide ja aromaatssete süsivesinike biodegradatsiooni võimet. See võib olla tingitud sellega, et bioloogilised pindaktiivsed ained on sarnased mikroorganismi rakukestaga ja väiksema HLB väärtusega ained on tugevamini adsorbeeritud mikroorganismi välis- või sisemembraanile. Sellised ained soodustavad solubiliseeritud substraadi transporti [7].

### 1.3 Bioloogilised või looduslikud pindaktiivsed ained

Eraldi võib esile tuua aineid, mida toodetakse seente ja bakterite poolt, kasutades suhkruid, alkaane ja teisi bioloogiliselt lagundatavaid jäätmeid. Terve rida mikroorganisme võivad sünteesida bioloogilisi pindaktiivseid aineid (bio-PAA). Näiteks *Pseudomonas aeruginosa* ja *Pseudomonas fluorescens*, *Torulopsis bombicola*, *Arthrobacter*, *Torulopsis petrophilum* sünteesivad glükolipiide, *Nocardia erythropolis* ja *Corynebacterium salvonicum SFC* sünteesivad neutraalseid lipiide, *Corynebacterium hydrocarboclastus* sünteesib polüsahhariid-protein kompleksi [14]. Bioloogilisi pindaktiivseid aineid iseloomustab kõrge bioloogiline lagundatavus. Selliste bioloogiliste pindaktiivsete ainete koostis ja tootmine sõltub fermendi struktuurist, pH-st, toitainete koostisest, substraadist ja temperatuurist. Need ained soodustavad substraadi lagunemist, suurendades süsivesinike solubilisatsiooni ja kokkupuutepinda mikroorganismide ja süsivesinike vahel. Bioloogilised pindaktiivsed ained võib jagada kuueks rühmaks [14 - 19]:

- Glükolipiidid
- Lipopeptiidid
- Fosfolipiidid
- Rasvhapped ja neutraalsed lipiidid
- Polüsahhariid-lipiid kompleksid
- Rakumembraani moodustajad

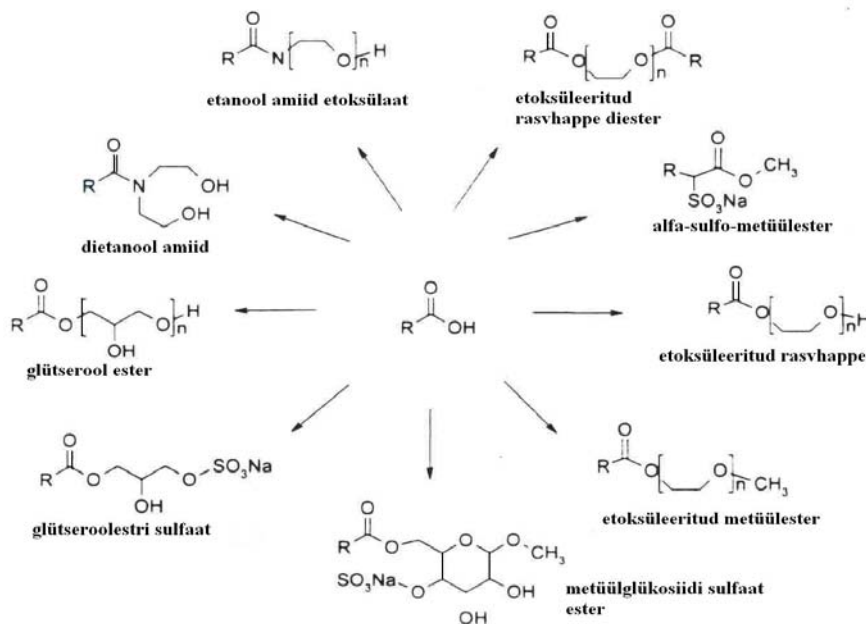
Molekuli hüdrofoobne osa koosneb näiteks pikaahelalisest rasvhapest või hüdroksürasvhapest, ja hüdrofiilse osa koostises võivad olla kas süsivesikud, aminohapped, tsüklilised peptiidid, fosfaadid, alkoholid või karboksüülhapped [19].

Bioloogilistel pindaktiivsetel ainetel on mitu eelist võrreldes keemiliselt saadud pindaktiivsega ainetega: biodegradeeritavus, üldiselt väike toksilisus, looduslikust toorainest tootmine, vastuvõetav tootmisökonoomika, efektiivsus [20].

Looduslikeks pindaktiivseteks aineteks, selle termini laiemas mõistes, võib nimetada ka selliseid aineid, millistemolekulide koostises on looduslikust toorainest saadud osa [20]. Taastuvatest allikatest keskkonnale vähem ohtlike PAA-te sünteesimise tooraineteks võivad olla süsivesikud – tselluloos, tärklis ja ligniin [21]. Looduslike PAA-te hulka

kuuluvad loodusliku päritoluga polaarse funktsionaalrühmaga pindaktiivsed ained ja loodusliku päritoluga hüdrofoobse radikaaliga ühendid. Esimese rühma esindajateks on pindaktiivsed ained, mille “polaarseks peaks” on suhkur (alküülpöglükosiidid, alküülgükamiidid) või aminohape (arginiinil, trüptofaanil põhinevad pindaktiivsed ained). Teise rühma kuuluvad pindaktiivsed ained mille hüdrofoobseks radikaaliks on rasvhape ja sterool (fütosterool etoksülaad, kolesterool) [21]. Rasvhapped ja nende derivaadid on laialdaseks uurimisobjektiks nende omaduste ja kasutamise tõttu. Rasvhapped on võimelised moodustama monokihti õhk-vee faaside piirpinnal ja tugevdada sellega pindaktiivsete ainete toimet. Nende praktilised omadused (vahu stabiilsus, mullide eksisteerimisaeg, vee aurustumisaste) sõltuvad pH-st. Uurimised näitasid, et optimaalne pH rasvhapete tehniliseks kasutamiseks on nende hapete pKa lähedal (pH ~ 7,5).

Seoses sellega, et paljud rasvhapetel baseeruvad sebid on vees vähelahustuvad ja nahka ärritava toimega, on kasutamisel erinevad rasvhapete derivaadid. Neid võib jagada anioonseteks ( rasvhappe  $\alpha$ -sulfometüülestrid, kookosõli monoglütseriidsulfaadid) ja mitteioonseteks derivaatideks. Viimaste hulka kuuluvad rasvhapete monoestrid, diestrid, etoksülaadmetüülestrid, glütseroolestrid, amiidid ja amiidetoksülaadid. Joonis 4 annab ülevaade mõnedest rasvhapete derivaatidest [21].



Joonis 4. Ülevaade mõnedest rasvhapete derivaatidest

Bioloogilisi pindaktiivseid aineid kasutatakse erinevates valdkondades ja ülevaade nendest on toodud tabelis 2.

Tabel 2. Bioloogiliste pindaktiivsete ainete kasutamine [14]

Kasutamine	Biopindaktiivsete ainete toime
Maakide kontsentreerimine Metallide kasutamine	Märgamine ja vahustamine, flotatsioon, määrimine, korrosiooni inhibeerimine nafta puurimisel
Galvanoplastika	Märgamine ja vahustamine elektrolüütilisel metalliga katmisel
Tselluloosi töötlemine ja paberi valmistamine	Vahu eemaldamine, värvi tasandamine ja dispersioon, märgamine
Värvid ja kaitsekatted, lateksvärvid	Pigmendi disperseerimine ja märgamine, emulgeerimine, lateksi stabiliseerimine
Vahad ja poleerimine	Vaha emulgeerimine, emulsiooni stabiliseerimine,
Nafta tootmine ja töötlemine	Õli emulgeerimine, tahke aine disperseerimine, puurvee reoloogiliste omaduste muutmine
Tekstiilitööstus	Märgamine, solubilisatsioon, emulgeerimine, dispersioon, värvi tasandamine, vee pehmendamine
Põllumajandus	Paakumise ennetamine, märgamine, dispersioon, emulgeerimine
Ehitus	Seostamise parandamine asfaldi, kruusa ja liiva vahel
Polümeerid	Solubilisatsioon, monomeeride emulgeerimine, märgamine
Toiduainetetööstus	Märgamine solubilisatsioon, emulgeerimine emulsioonide stabiliseerimine
Tööstuslik puhastamine	Märgamine, korrosiooni inhibeerimine

Bioloogilised pindaktiivsed ained soodustavad õlide bioremediatsiooni kõrval ka metallidega reostunud pinnase remediatsiooni. Metallide bioremediatsioon on



keerulisem, sest neid ei saa lagundada, mikroorganismid võivad muundada neid ja viia need mittetoksilisse vormi. Bio-PAA-d suurendavad metallide desorptsiooni pinnasest kompleksimoodustamise ja sorbeeritud metallidega otsese kokkupuutumise abil [22, 23]. Bioloogilised pindaktiivsed ained adsorbeeruvad vähe tahketele osakesele, on hästi biodegradeeruvad, on vähe toksilised ja sellega on tagatud nende edukas kasutamine bioremediatsioonis.

#### 1.4. Pindaktiivsete ainete kasutamine bioremediatsioonis

##### 1.4.1. Bioremediatsiooni mõiste ja põhiprintsiibid

Bioremediatsioon on reostunud pinnase või põhjavee töötlemis- või tervendamisprotsess, mille käigus kasutatakse bioloogilist materjali (bakterid, algloomad, seened, vetikad ja viirused) [24, 25]. Mikroorganismide rakkude kasvuks ja reproduktsiooniks on vajalik energia ja süsiniku allikas, toitained, vesi. Bioremediatsiooni printsiip põhineb mikroorganismide võimel lagundada orgaanilist reoainet, kasutades seda energia ja süsiniku allikaks. Metabolismi protsessi lõppproduktideks on vesi, süsinikdioksiid ja uute rakkude mass. Metabolismi all mõistetakse kõiki mikroorganismis toimuvaid biotransformatsiooni protsesse. Hapnik kasutatakse aeroobes keskkonnas elektron-aktseptorina ja orgaanilist reoainet elektron-donorina. Aeroobne bakter muudab orgaanilise ühendi süsihappegaasiks elektroni ülekandmisel reoainest hapnikuni redutseerides hapniku veeks. Anaeroobses keskkonnas käib protsess peaaegu samamoodi, kuid elektron-aktseptorina kasutatakse nitraatiooni, mangaanoksiidi, raudhüdrosiidi, sulfaatiooni. Metabolismi produktideks anaeroobses keskkonnas võivad peale uute rakkude kasvu sõltuvalt elektron-aktseptori tüübist olla gaasiline lämmastik, divesiniksulfiid, metallide redutseeritud vormid, metaan. Eristatakse *in situ* ja *ex situ* (*non-in situ*) bioremediatsiooni tehnoloogiad, mis tähendab vastavalt kohapealset ja teisaldamist vajavat töötlemist. *In situ* remediatsiooni tehnoloogia jaotatakse oma korda kavandatuks (planeeritud bioremediatsiooni süsteem) ja iseeneslikuks bioremediatsiooniks. Planeeritud bioremediatsiooni soodustamiseks kasutatakse kahte põhimeetodit: biostimulatsioon ja bioaugmentatsioon.

In-situ biostimulatsioon on bioremediatsiooni meetod, mille käigus lisatakse hapniku ja/või toitaineid tervendatavasse pinnasesse. Toitained jagatakse sõltuvalt nende vajaduse hulgast metabolismi protsessis mikro- ja makrotoitaineteks. Makrotoitainete hulka kuuluvad süsinik (C), lämmastik (N) ja fosfor (P). Nende ainete optimaalne suhe (C:N:P) on 100:10:1. Mikrotoitainete hulka kuuluvad väävel (S), kaalium (K), naatrium (Na), kaltsium (Ca), mangaan (Mn), tsink (Zn), vask (Cu), koobalt (Co), nikkel (Ni).

Bioaugmentatsioon on hapniku, toitainete ja mikroorganismide lisamine reostunud pinnasesse või põhjavette, et parandada nimetatud keskkonna bioremediatsiooni võimet [24, 26].

Iseeneslik remediatsioon (nimetatakse veel looduslikuks hajumiseks ja passiivseks remediatsiooniks) on looduslike protsesside kasutamine reostuse levikut vältimiseks reostuse allikast ja reostuse kontsentratsiooni ja kogust vähendamiseks reostunud piirkonnades. Sellisel juhul ei toimu reoainete ära viimist piirkonnast ja looduses loomulikult kulgevad protsessid vähendavad reostust või kõrvaldavad selle täielikult. Looduslik hajumine sisaldab bioloogilisi protsesse (aeroobne ja anaeroobne degradatsioon), füüsikalisi protsesse (hajumine, dispersioon, difusioon, lahustamine) ja keemilisi protsesse (sorptsioon ja keemilised reaktsioonid). Põhiliselt kasutatakse iseeneslikku remediatsiooni põhjavee puhastamiseks, kui reostusallikas on juba eemaldatud. [27-29].

Bioremediatsiooni tõhususe hindamisel tuleb arvestada erinevaid parameetreid, sõltuvalt süsteemist ja saadud andmetest. Bioremediatsiooni jälgimiseks kasutatakse:

Reostusaine analüüs. Reostusaine kontsentratsiooni vähenemine pinnase ja/või pinnasvee proovides on bioremediatsiooni toimumise kinnituseks. Juhul kui reostusaine alg- ja lõppkontsentratsiooni erinevused on väikesed, siis tuleb katse aega pikendada. Selle protsessi tulemuseks on tähtis näidata, et reostusainete kontsentratsioon töötlemise käigul väheneb [24]. Reoaine kontsentratsioon võib lisaks degradatsioonile väheneda lendumise, sorptsiooni, advektsiooni, dispersiooni või difusiooni tõttu, seepärast on tähtis kindlaks teha, kas tegemine on biodegradatsiooni või eelnimetatud protsessidega, selleks kasutatakse püsivat isotoopindikaatorit või mittelagunevat kemikaali. See meetod põhineb mittelaguneva kemikaali käitumisel. Juhul, kui jälgitakse isotoopindikaatori kontsentratsiooni vähenemine mingi ajavahemiku jooksul, see tähendab lendumise,

sorptsiooni, advektsiooni või dispersiooni protsessi kulgnemist. Püsiva isotoopindikaatori koostisosad on sarnased BTEXi keemilise koostisega ning nende hulga vähenemine mittebioloogiliste protsesside käigul peab olema proportsionaalne. Teades BTEXi vähenenud hulka mittebioloogilistes protsessides ja lahutades selle kogu BTEXi kaost, saame arvutada biodegradeeriva aine hulga [30].

Mikroorganismide aktiivsus. Mikroorganismide arvukuse kasv võib olla vaadeldud kui bioremediatsiooni stimulatsioon. Samal ajal aga tuleb arvestada seda, et mikroorganismid näitavad harva kindlasuunalist paljunemist erinevate bioloogiliste, füüsikaliste ja keemiliste tingimuste tõttu [24].

Elektron-aktseptori kontsentratsioon. Aeroobsete tingimuste korral määratakse hapniku kontsentratsioon pinnases ja hapniku kui energeetiliselt kõige kasulikuma elektronaktseptori kontsentratsiooni vähenemine näitab aktiivseid redoksreaktsioone pinnases. Kuid hapnikku tarvitatakse lisaks biokeemilistele protsessidele ka mitmetes keemilistes reaktsioonides, mis ei pruugi olla seotud reoainete lagunemisega. Seega ei ainult hapniku kontsentratsiooni vähenemise alusel hinnata bioremediatsiooni aktiivsust. Anaeroobsetes tingimustes on mikroorganismid sunnitud kasutama energeetiliselt ebasobivamaid elektronaktseptoreid: nitraatioone, sulfaatioone. Kuid ka ainuüksi nende ühendite kontsentratsiooni vähenemine ei luba kindlat bioremediatsiooni kulgemist väita.

Kõrvalproduktide kontsentratsioon. Süsihappegaasi ja metaani kontsentratsiooni suuremine osutab mikroorganismide aktiivsusele. Tavaliselt on metaani tase pinnases umbes 6 mg/l, nii et suurema metaani kontsentratsiooni korral võib eeldada anaeroobsete mikroorganismide aktiivsuse kasvumist ja biodegradatsiooni toimumist [24].

Anorgaaniliste ainete kontsentratsioon. Lahustunud raua ja mangaani kõrged kontsentratsioonid võivad osutada sadenemisprotsessidele [24].

Bioremediatsiooni tehnoloogiate valimisel tuleb arvestada rida faktoreid, millised võivad mõjutada bioremediatsiooni kulgemist. Need on reoainete omadused (lagunemine, biokättesaadavus, struktuur), toitainete olemasolu, mikroorganismide bioaktiivsus (kohapealsete mikroorganismide võime lagundada antud reoainet), pinnase omadused (pinnase poorsus, koostis, niiskus) [24].

#### 1.4.2. PAA kasutamine bioremediatsiooni soodustamiseks

Eraldi võib räägida bioloogiliste ja sünteetiliste pindaktiivsete ainete kasutamisest bioremediatsioonis. Nende mõju orgaaniliste ühenditega reostunud pinnase ja põhjavee bioremediatsioonile on küllalt uuritud [7, 12, 14, 19, 31, 32]. Hüdrofoobsed orgaanilised reoained võivad keskkonda sattudes sorbeeruda tahketele osakestele ja jääda keskkonnas mittevesifaasi vedelike kujul (NAPL). Pinnases liikudes võivad need jõuda põhjavette. Nende hulgas eristatakse veest kergemaid mittevesifaasi vedelikke (LNAPL), mis kogunevad põhjaveekihi peale, ja veest tihedamaid mittevesifaasi vedelike (DNAPL), mis omakorda akumulereuvad põhjaveekihi alla. Mõlemad lahustuvad mingil määral põhjavees ja liiguvad reostusallikast eemale, moodustades reoainete kogumeid [33]. Biodegradatsiooni kiirust ja orgaaniliste reoainete biokättesaadavust mikroorganismidele võivad limiteerida reoainete madal lahustuvus ning väike desorptsiooni kiirus pinnases olevast orgaanilisest ainest või väike lahustumiskiirus NAPL-s [18]. Kapillaarjõud piiravad DNAPL ja LNAPL mobiilsust pinnases. NAPL kogum paigutub nii, et NAPL/vesi piirpind oleks minimaalne, mille tulemusena vesi/tahke aine-süsteemis on madalaim vaba energia väärtus LNAPL ja vee pindpinevuse tõttu. PAA kasutatakse piirpinna pindpinevuse vähendamiseks, solubilisatsiooni suurendamiseks [19, 33]. Kasutusele on võetud nn pumpa-ja-töötle tehnoloogia. PAA soodustavad solubilisatsiooni ja mobilisatsiooni protsesse. Esimese protsessi puhul suureneb NAPL kontsentratsioon vees mitsellide jaotamise tõttu, väheneb ka pooride arv. Teise protsessi puhul alandatakse NAPL/vesi pindpinevust oluliselt, vähendades kapillaarjõudusid ja õlid nüüd saab ekstraheerida eraldi faasina [33, 34].

Erinevaid PAA-id võib segada teineteisega nende omaduste parandamiseks. Näiteks, mitteioonsete pindaktiivsete ainete lisamine aitab vältida anioonsete PAA-te settimist [19]. Samuti kasutatakse erinevaid lisandeid PAA-te segus selleks, et parandama biodegradatsiooni astet. Näiteks, W. Chu'i ja C. Y. Kwan'i [35] uurimuse tulemused näitasid, et orgaaniliste lahustite (atsetoon ja trietüülamiin) ja PAA-te lisamine süsteemi soodustab oluliselt pinnase pesemise protsessi, kiirendab mitsellis solubiliseeritud solvendi jaotamisprotsessi ja suurendab reoaine eemaldamist.

PAA-d kasutatakse nii õlise pinnase ja vee remediatsiooni kiirendamiseks kui ka kloreeritud orgaaniliste solventide ja polüaromaatsete süsivesinike remediatsioonis.

Anioonseid ja mitteioonseid PAA-eid kasutatakse pinnase remediatsioonis nende väiksema adsorptsiooni tõttu tahketele osakestele, kuigi anioonseid PAA-d nagu sulfonaadid on eelistatavamad kasutamiseks liivastes, poorsetes pinnastes nende väiksema adsorptsiooni tõttu neutraalse ja kõrge pH juures [19, 36]. Katioonseid PAA-id kasutatakse enamasti põhjavee remediatsioonil [19].

PAA-te valimisel bioremediatsiooni tehnoloogiates kasutamiseks tuleb arvestada pindaktiivsete ainete efektiivsust antud tingimustel, settimist, biodegradatsiooni võimet, adsorptsiooni omadusi, PAA struktuuri, pinnase omadusi, mitselliteke kontsentratsiooni, toksilisust [37]. F. Seigle-Murandi jt [38] leidsid, et mitteioonsete (Tween 80, Triton X-100) ja anioonse (SDS) pindaktiivsete ainete rakendamine suurendas fluoreeni lahustamise, kuigi samal ajal SDS (MKK lähedasel kontsentratsioonil) olemasolu lahuses inhibeeris seente kasvu, mis võib takistada bioremediatsiooni. Teised uurimused [39] näitasid aga SDS-i (SDS kontsentratsioon on MKK-st madalam) stimuleerivat mõju n-alkaanide biodegradatsioonile ja mikroorganismide kasvule (*Pseudomonas C12B*).

Laha S. jt [18] tegid kokkuvõtte pindaktiivsete ainete toimest mikroobsele degradatsioonile (tabel 3).

Kokkuvõtteks kirjanduse ülevaade alusel võib öelda, et enne PAA-te kasutamist bioremediatsiooni tehnoloogiates looduslikus keskkonnas, tuleb teostada laboratoorseid katseid, mille käigus tuleb uurida PAA-te toimet mikroorganismidele, solubilisatsiooni võimet, mikro- ja makroemulsioonide tekkimist, lisaainete toimet, mõju pinnase läbilaskvusele. PAA-te kasutamisel bioremediatsiooni tehnoloogiates on vaja arvestada pindaktiivsete ainete biodegradatsiooni võimalust, et nad ei põhjustaks keskkonna sekundaarset reostust.

Tabel 3. Pindaktiivsete ainete mõju reoainete bioloogilise lagundamisele [18]

Üldefekt	Tähelepanekud	Selgitus
+	Bakterite kasv ja n-alkaanide tarbimise kiiruse kasv	PAA-d suurendasid süsivesinike lahustumist
+	Süsivesinike degradatsiooni kiiruse suurenemine	Pindpinevuse vähenemine emulgeerimisvõime tõttu
+	PCB-de degradatsiooni kiiruse kasv ligniinsulfonaadi emulsioonis	Emulgeerimistoime ületas piirpinna pindpinevust
+	Süsivesinik degradatsiooni kiiruse suurendamine bio-PAA-te lisamisel	Pindpinevuse vähenemine
+	Mitteioonsed PAA-d stimuleerisid mikroorganismide kasvu heksadekaanil	Emulgeerimine soodustab kokkupuudet raku ja substraadi vahel
0	PAA-te olemasolu madalas kontsentratsioonis ei mõjutanud fenantreeni lagundamist	PAA sorbeerus pinnasele
0	Emulgeerimine ei mõjutanud aromaatsete ühendite biodegradatsiooni puhaskultuuri poolt	Mikroorganismid kasutavad ainult lahustunud substraadi
0	Bioemulgaatori kasutamine ei mõjutanud polüaromaatsete süsivesinike lõhustamist	Selgitust ei ole
-	Fenantreeni lagunemise inhibeerimine PAA suurtel kogustel	Võimalik bakteri-PAA vastastikune toime
-	Vähendatud efektiivsus või inhibeerimine PAA suurel kontsentratsioonil	PAA toksilisus mikroorganismidele
-	Süsivesinike lõhustamise vähenemine emulgaatoriga töödeldud õlis	PAA soodustas adsorptsiooni hüdrofoobsele pinnale
-	Toornafta biodegradatsiooni pidurdumine dispergeerivate ainete toimel	Mittetoksilised PAA-d tarvitati eelissubstraadina

### 1.5. Keskkonna reostumine PAA-tega ja selle mõju elusorganismidele

Pindaktiivsed ained on uurimisobjektiks kui bioremediatsiooni soodustamise lisaained, kuigi samal ajal võib neid käsitleda reoainetena. Õnneks lisatakse pindaktiivseid aineid bioremediatsiooni käigus pinnasele üsna väikestes kogustes.

PAA sattuvad keskkonda mitmel moel: heitveega, reoveemuda kasutamisega põllumajanduses ja PAA-te kasutamisega bioremediatsiooni soodustamiseks.

Seebipõhiste pesemisvahendite ja sünteetiliste pindaktiivsete ainete laialdane kasutamine majapidamises ja tööstuses, reovee välja voolamine reoveepuhastitest ning muda kasutamine väetisena on kutsunud esile keskkonnareostust pindaktiivsetega ainetega [40]. University of Delaware Dentel Water Resources Center andmetel sattuvad rohkem kui 100 kg anioonseid PAA ja ~ 300 kg katioonseid PAA päevas ümbritsevasse keskkonda tehastest tuleneva heitveega (90 miljonit gal/p).

Samuti mõjutab keskkonda üleminek pulbrilistelt pesemisvahenditelt vedelatele pesemisvahenditele.

1960 a. oli üheks peamiseks detergendifina kasutatavaks PAA-ks benseensulfonaadi propüleentetrameer (PT-benseen). Sellel ajal tekkis probleeme reoveepuhastamisega ja vahu tekkimisega jõgedes. Uuringud näitasid, et PT-benseen on bakterite poolt toimuvale biolagunemisele resistentne tema hargnenud alküülahela tõttu. Lõpuks selline mittebiodegradeeruv PAA keelati. Selle asemel hakati kasutama rohkem biolagunevaid PAA, näiteks alküülbenseensulfonaat ( LAS - *linear alkylbenzene sulphonates*) – üks peamisi anioonseid PAA. LAS kasutatakse rohkem kui 40% kõigist olevast PAA –st.

Teiseks laialt levinenud PAA-ks on alküülfenoolitoksülaad (APE - *alkyl phenol etoxylates*). APE kasutamine keelati seoses sellega, et tema lagunemisproduktid on palju toksilisemad, kui APE ise. APE biodegradatsiooni käigus toimub etoksüahela lühenemine alküülfenoolkarboksülaadini ja lõpus nonüül- (NP) ja oktüülfenoolini, milliste lahustuvus vees on madal ja nad adsorbeeruvad mulla osakestele. NP on 10 korda toksilisem kui oksülaadi eelkäija. NP ekstraheeritakse reoveemudast ja võib settida jõgedes. NP tekitab zooplanktoni paljunemis- ja arenemishäireid.

Lisaks eelnevale adsorbeerub suur kogus PAA-t reoveemuda osakestele ja satuvad sealt edasi juba keskkonda [41].

Erinevad uurimused näitasid, et mõned pindaktiivsed ained biodegradeeruvad hästi aeroobses keskkonnas ja vähem või üldse ei lagune anaeroobses keskkonnas [42-44].

Anaeroobsetes tingimustes töödeldud muda kasutamine põllumajanduses mulla omaduste parendamise eesmärgil võib olla pindaktiivsete ainete suure sisalduse põhjuseks mullas.

Samuti võivad pindaktiivsed ained sadestada lahusest metallide ioone ( näiteks  $\text{Ca}^{2+}$  ).

Lisaks võivad PAA soodustada teiste naftasaadustes sisalduvate reoainete lahustumist vees [40, 41].

Loom- ja inimorganismis muudavad PAA-te isegi väiksed kontsentratsioonid rakumembraanide läbilaskvust, aminohapete ja glükoosi ainevahetust, muudavad ainete metabolismiprotsesse ja võivad olla toksilisteks mikroorganismidele. Nad rikuvad tasakaalu looduslikes süsteemides, näiteks põhjustades veekogude bioproduktiivsuse vähenemist. Uurimused näitasid, et anioonsed PAA mõjutavad ensüümide aktiivsust, vähendavad respiratsioonikiirust suurtes kontsentratsioonides. Inimestel võivad pindaktiivsed ained esile kutsuda naha ja silmade ärritust [7, 19, 31, 37]. PAA-te toksiline mõju sõltub nende keemilisest struktuurist, kontsentratsioonist, keskkonna temperatuurist ja vee karedusest. Näiteks vähenes kuldkalade puhul lineaarse alküülbenseensulfonaadi LC<sub>50</sub> väärtus 15 mg LAS/l pehmes vees kuni 5.7 mg/l karedas vees [5, 37].

## 1.6. Pindaktiivsete ainete käitumine keskkonnas

### 1.6.1. Pindaktiivsete ainete degradatsioon

PAA biodegradatsioonis võib eristada primaarset degradatsiooni ja täielikku degradatsiooni. Primaarne degradatsiooni käigul toimub pindaktiivse aine molekuli struktuuri muutus, mis on piisav tema omaduste kaotamiseks.

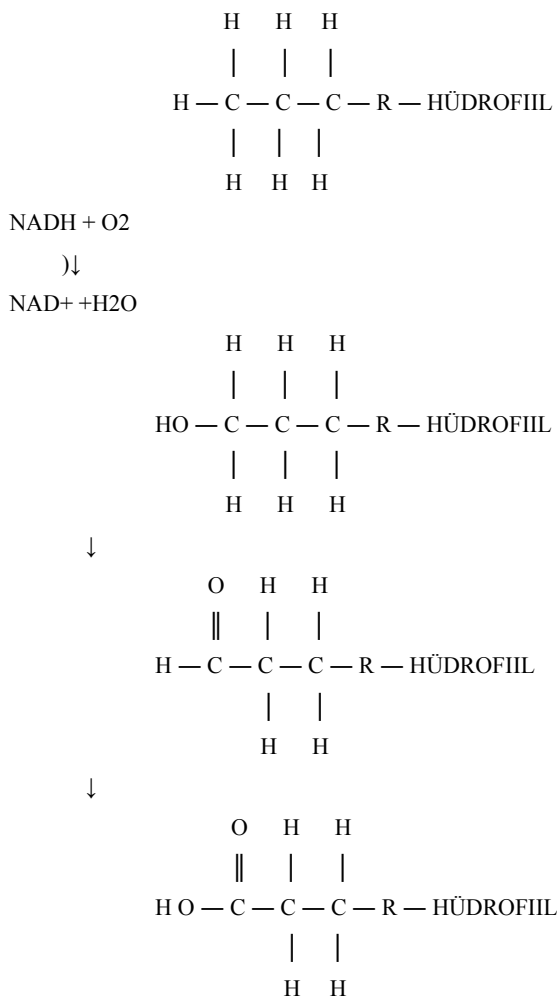
Täielik degradatsiooni tulemuseks on PAA molekuli lagunemine lihtsamateks komponentideks: CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, vesi, mineraalsoolad, biomass [41, 45]. Lineaarse alküülbenseensulfonaadi (LAS) biodegradatsioonirajad on küllalt hästi uuritud tema laiemal kasutamise tõttu. LAS on tüüpiline anioonne pindaktiivne aine ja tema näitel võib kirjeldada a-PAA-te degradatsioonirada.

LAS degradatsioonirajad sisaldavad alküülahela degradatsiooni, sulfonaatühema degradatsiooni ja benseenituumade degradatsiooni. Alküülahela degradatsioon algab terminaalsete metüülühema oksüdeerimisega ( $\omega$ -oksüdatsioon), alkoholi, aldehüüdi kaudu karboksüülhappe tekkimiseni. Reaktsiooni katalüüsitakse ensüümidega: alküülmonooksügenaas ja dehüdrogenaas. Edasi võib karboksüülhappe olla oksüdeeritud  $\beta$ -oksüdatsiooni teel, kaks süsinikufragmenti ja atsetüülCo-A sisestatakse karboksüülhappe tsükliisse. Ahela terminaalne metüülühem või sec-dimetüülühem ei lagune  $\beta$ -oksüdatsiooni teel hargnenud ahela tõttu. Seoses sellega toimub  $\alpha$ -oksüdeerimine, mille tulemuseks on ühe süsiniku aatomi eraldumine. LAS oksüdeerimise



teisel astmel toimub sulfonaatrühma lagunemine. Lagunemise lõpptulemuseks on sulfit, mis oksüdeeritakse sulfaadini [41]. Lühidalt on see kujutatud joonisel 5 ja 6.

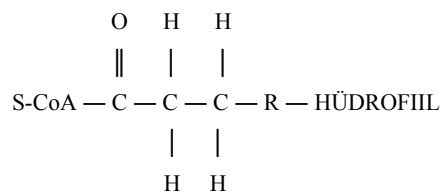
### $\omega$ - oxidation



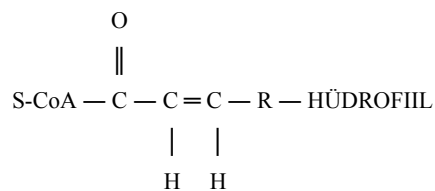
Joonis 5. Anioonse pindaktiivse aine  $\omega$ -oksüdatsiooni skeem

## $\beta$ - oxidation

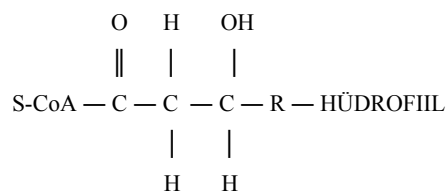
HS-CoA↓



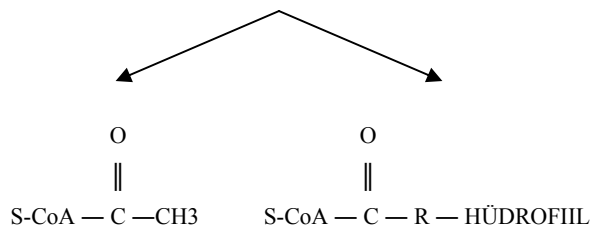
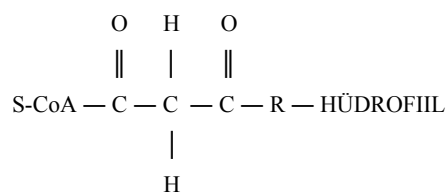
Rasvhappe dehüdrogenaas ↓



Hüdroksüatsüül hüdrolaas ↓ + H<sub>2</sub>O



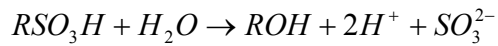
Hüdroksüatsüül dehüdrogenaas ↓



Joonis 6. Anioonse pindaktiivse aine  $\beta$ -oksüdatsiooni skeem

Samuti oli välja pakutud teine desulfoonimise mehhanism, kus toimuvad järgmised reaktsioonid:

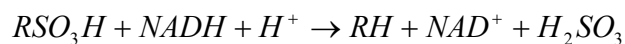
1) Hüdroolüüsiv desulfoonimine:



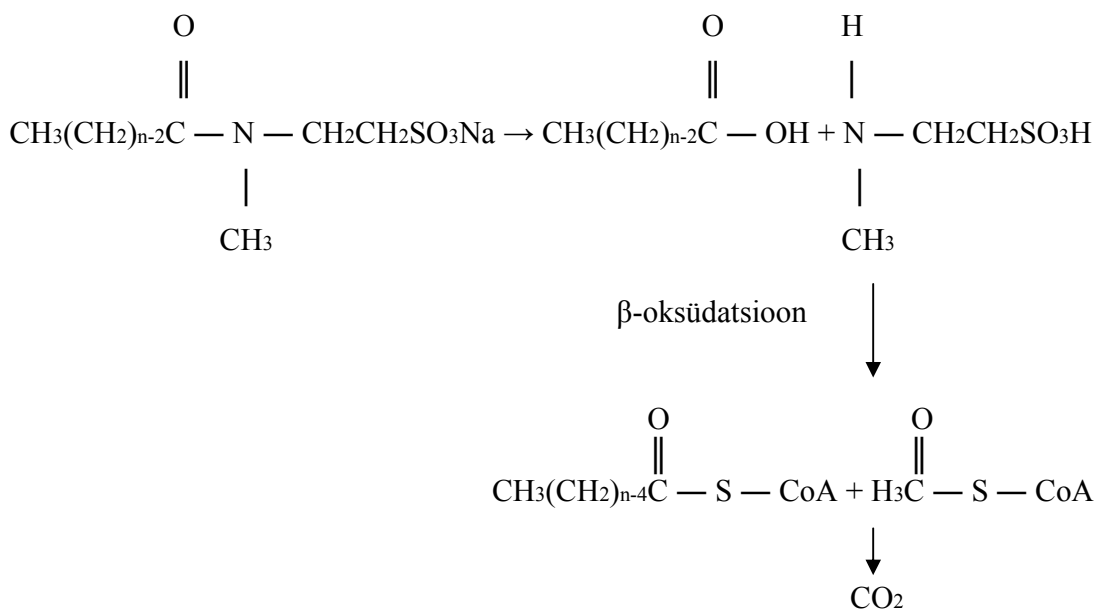
2) Monoooksügenaasi katalüüs happelistes tingimustes:



3) Redutseeriv desulfoonimine



Samuti oli jälgitud anioonse pindaktiivse aine degradatsiooni taimede juurtel elavate mikroorganismide abil. Nad suutsid vähendada a-PAA (Igepon TC-42) kontsentratsiooni degradatsiooni primaarse raja kaudu (joonis 7).



Joonis 7. Anioonse pindaktiivse aine degradatsiooniskeem [46]

Samal ajal ei lagune mitte kõik pindaktiivsed ained kiiresti ja täielikult. a-PAA-te ja m-PAA-te degradatsiooni võime sõltub nende ainete kontsentratsioonist, alküülahela pikkusest, PAA molekuli ehitusest, temperatuurist, hapniku olemasolust, mikroorganismide kohanisest. Pindaktiivsete ainete molekulid, mis sisaldavad

benseenituuma ja hargnenud süsivesinikahelat, on väiksema biodegradatsiooni potentsiaaliga. Kontsentratsiooni suurenemisel üle MKK moodustavad PAA-d mitselle, mis võib takistada PAA ja mikroorganismide vahelist kontakti ja seeläbi vähendada biodegradatsiooni võimet [45]. Bioaugmentatsioonis kasutatakse edukalt anioonseid pindaktiivseid aineid reoainete degradatsiooni kiiruse ja võime suurendamisel [39]. Biostimuleerimine ja bioaugmentatsioon suurendavad oluliselt ka pindaktiivsete ainete lagunemist, degradatsioon toimub isegi madala temperatuuri juures (10°C). Peale biostimuleerimise ja bioaugmentatsiooni toetab PAA-te degradatsiooni ka orgaaniliste reoainete olemasolu sünergeetilise efekti tõttu: PAA-d stimuleerivad mikroorganismide kasvu ja mikroorganismid omakorda utiliseerivad orgaanilist reostust kasutades seda süsiniku allikaks [47, 48].

#### 1.6.2. PAA-d reovee mudas

Paljud PAA biodegradeeruvad reoveemudas aeroobsetes tingimustes ja ei degradeeru anaeroobsetes tingimustes metaboolsete radade puudumise tõttu.

#### **Lineaarne alküülbenseensulfonaat (LAS)**

Berna uuringute andmetel adsorbeerub suur osa LAS tahketele osakestele. Eeltöötlemise järel sisaldab mudasette LAS-e kontsentratsioonides 500 – 15000 mg liitris. LAS adsorptsioon tahketele osakestele toimub peamiselt hüdrofoobse või elektrostaatilise vastastoime kaudu. Adsorptsiooniaste sõltub LAS tüübist ja alküülahela pikkusest (suurem hüdrofoobsus suurendab adsorptsiooni). Reovee iseloom mõjub samuti LAS adsorptsioonile. Veekaredus muudab LAS jaotuskoefitsienti vees. Kõrge  $\text{Ca}^{2+}$  kontsentratsiooniga vesi annab peale läbitöötlemist reoveemuda LAS kontsentratsiooniga 30-35%, aga suhteliselt pehme vesi annab LAS kontsentratsiooni 10-20%. Suur LAS kontsentratsioonid tehase reoveemudas sõltub muda töötlemise tüübist. LAS degradeerub kergesti aeroobsetes tingimustes. Alküülahela terminaalarühma oksüdatsiooni jaoks on vaja molekulaarset hapnikku ( $\omega$ -oksüdatsioon). Ahela  $\beta$ -oksüdatsioon seisneb aromaatses tuuma lõhustamises ja tulemuseks on asendatud dikarboksüülhape. Lõpus toimub benseenituuma degradatsiooni produktide desulfoonimine.  $\omega$ -oksüdatsiooni jaoks on vaja molekulaarhapnikku ja anaeroobsetes tingimustes sellist tüüpi degradatsioon ei toimu. Jansen'i uuringute andmetel olid LAS

konsentratsioonid aeroobsetes tingimustes läbitöödeldud reoveemudas 100-500mg kg kuivaine kohta ja anaeroobsetes tingimustes läbitöödeldud reoveemudas olid LAS konsentratsioonid 5000-15000 mg kg kuivaine kohta [41].

### **Seebid**

Biodegradatsioonile mõjub halvasti seepide madal lahustuvus vees ja sadenemine metallioonidega. Seebid sadenevad eriti hästi karedas vees. Naatriumseepide mineralisatsioon on 80-90%, kaltsiumseebid on vähem biodegradeerivad ja mineralisatsioon on 67%.

Seepide anaeroobne degradatsioon on tähtis faktor. Seepide degradatsiooni peamiseks lagunemisrajaks on alküülahela  $\beta$ -oksüdatsioon. Selles astmes ei ole molekulaarset hapniku vaja.

Seep biolaguneb nii aeroobsetes kui ka anaeroobsetes tingimustes [41].

### **Sekundaarsed alkaansulfonaadid (SAS – secondary alkane sulphonates)**

Nende degradatsiooni teedest on küllaltki vähe teada. Uuringud näitasid, et SAS-id degradeeruvad kergesti aeroobsetes tingimustes ja ei degradeeru anaeroobsetes tingimustes, sest molekulaarse hapniku puudumine inhibeerib primaarse alküülahela  $\omega$ -oksüdatsiooni ja oksüdeerivat desulfoonimist. SAS võib adsorbeeruda tahkete osakestele reovees ja selline muda peab olema töödeldud aeroobsetes tingimustes[41] .

### **Rasvheppete estrid (FES – fatty acid esters)**

Laguneb aeroobsetes tingimustes. Mehhanism sisaldab terminaalse alküülühma  $\omega$ -oksüdatsiooni, alküülahela  $\beta$ -oksüdatsiooni ja desulfoonimist, mille tulemuseks on lühikese ahelaga karboksüülfosfaatester.

Uuringute andmetel degradeerus anaeroobselt töödeldud FES-st 4 nädala jooksul 5% ja produktideks olid CH<sub>4</sub> ja CO<sub>2</sub>. Anaeroobselt töödeldud FES degradeerub kiiremini, anaeroobselt töödeldud reoveemudas kui seda lisada aeroobsetele mudale [41].

### **Pika ahelaga alkoholsulfaadid (AS – *fatty alcohol sulphates*)**

AS degradeeruvad hästi aeroobsetes tingimustes, uuringute andmetel 95-98% 5 päeva jooksul. Kiire degradatsioon annab võimalusi eeldama, et degradatsioon on efektiivne mikroorganismide laias diapasoonis. AS degradatsioon sisaldab sulfaatestrite sidemete lõhustamist andes anorgaanilise sulfaadi ja pika ahelaga alkoholi. Pikaahelaline alkohol oksüdeeritakse aldehüüdini ja edasi rasvhappeni, mis oksüdeeritakse  $\beta$ -oksüdatsiooni teel. AS ja tema produktid on täielikult biolagunevad. Erinevate andmete põhjal degradeerub AS anaeroobselt 88-90%. AS biodegradeerub kergesti primaarselt ja täielikult aeroobsetes ja anaeroobsetes tingimustes. Ja seetõttu on AS sattumise tõenäosus reoveemudadesse väike [41].

### **Alkoholi eetrite sulfaadid (AES – *alcohol ether sulphates*)**

AES degradeeruvad kergesti primaarselt ja lõplikult aeroobsetes tingimustes AS-ni. On andmeid AES kolme võimaliku degradatsiooni teede kohta:

- alküülahela  $\omega/\beta$ -oksüdatsioon
- sulfaatsidemete lõhustamine
- eetersidemete lõhustamine

Anaeroobne lagunemine on vähe uuritud. Tehtud uuringud aga näitasid, et sulfaat- ja eeter-sidemete lõhustamine on võimalik anaeroobsetes tingimustes. Tehti kindlaks primaarne degradatsioon ja täielik degradatsioon anaeroobsetes tingimustes, mille tulemusteks on CO<sub>2</sub> ja CH<sub>4</sub>. AES biodegradeerub aeroobsetes ja anaeroobsetes tingimustes [41].

### **Katioonsed PAA (k-PAA)**

Katioonsetel PAA-tel on positiivne laeng ja suur adsorptsioonivõime negatiivse laenguga reoveemuda pinnale. Uuringud näitasid, et 95% k-PAA adsorbeeruvad aktiivmuda tahketele osakestele. k-PAA on bioloogiliselt väga aktiivsed, mis kergesti assotsieeruvad aktiivmuda tahkete osakestega anaeroobsetes tingimustes. PAA primaarne oksüdatsioon ei toimu ilma molekulaarse hapnikuta. Sellepärast võib eeldada, et k-PAA anaeroobsetes tingimustes ei degradeeru metaboolsete radade puudumise tõttu ja/või PAA-te toksilise toime tõttu vastavatele mikroorganismitele [41].

### **Alküülfenooletoksülaadid (APE – *alkyl phenol etoxylates*)**

APE allub primaarsele degradatsioonile molekulaarhapniku olemusolul.

On tehtud uuringuid nonüülfenooletoksülaati (NPE) degradatsiooni kohta villa puhastamise muda kompostimisel. NPE degradeerus primaarselt 98% 100 päeva jooksul alküülahela  $\omega/\beta$ -oksüdatsiooni, aromaatses eetersidemete degradatsioon kaudu. Monitooringu lõpus oli määratud NP tekkimine. NP derivaadid on biodegradatsioonile küllaltki resistentsed.

Amfofiilse iseloomuse tõttu ilmutavad APE ja tema lagunemisproduktid afiinsust tahketele osakestele. APE kontsentratsioon on anaeroobselt töödeldud mudas palju kõrgem ( $900\text{-}1100\text{mg kg}^{-1}$ ) kui aeroobselt töödeldud mudas. APE degradatsioon anaeroobsetes keskkonnades on piiratud, sest molekulaarse hapniku puudumise tõttu alküülahela  $\omega$ -oksüdatsioon ei toimu. APE võib sattuda keskkonda kui kõrge APE kontsentratsiooniga muda kasutatakse põllumajanduses. Markoni aga märkas, et NP kontsentratsiooni kiiret langemist (80% degradeerus 3 päeva jooksul) pärast muda kasutamist. Saab eeldada, et NP akumulatsiooni aeroobsetes muldades ei toimu [41].

### **Rasvalkoholide etoksülaadid (AE – *fatty alcohol etoxylates*)**

AE on töödeldud nagu APE alternatiiv. Lineaarne APE on kergesti biodegradeeruv. Kravets vaatles APE üle 80% primaarset degradatsiooni 28 päeva jooksul ja hargneva ahelaga AE 40% degradatsiooni. AE akumulatsiooni aeroobsetes muldades ei toimunud. Lagunemise mehhanism sisaldab primaarset hüdrofoobse-hüdrofiilse AE jagunemist, andes hüdrofoobse süsivesiniku ja polüalkoksülaati. Hüdrofoobne ahel allub  $\omega/\beta$ -oksüdatsioonile [41].

Pindaktiivsete ainete anaeroobne degradatsioon sisaldab hüdrolüüsi, atsetogeneesi ja metanogeneesi. Nende ühendite anaeroobsel töötlemisel eralduvad biogaasid, sealhulgas süsihappegaas ja metaan. PAA-te anaeroobse degradatsiooni takistab nende kõrge kontsentratsioon ja molekuli struktuur [49, 50, 51]. Tabelis 4 on näidatud gaaside eraldamine PAA degradeerimisel anaeroobsetes tingimustes [50].

Tabel 4. Pindaktiivsete ainete anaeroobne lagunemine [50]

Ühend	Võrrand
Lineaarne alkoholetoksülaad	$C_{26}H_{54}O_9 + 8H_2O \rightarrow 8.5CO_2 + 17.5CH_4$
Fenooletoksülaad (hargnenud ahelaga)	$C_{33}H_{60}O_{11} + 12.5H_2O \rightarrow 11.75CO_2 + 21.25CH_4$
Lineaarne alkoholsulfaat (A <sub>45</sub> S)	$C_{14.5}H_{30}O_4S + 5.5H_2O \rightarrow 4.75CO_2 + 9.75CH_4 + H_2S$
Lineaarne alkoholsulfaat (A <sub>24</sub> S)	$C_{12.8}H_{26.6}O_4S + 4.65H_2O \rightarrow 4.325CO_2 + 8.475CH_4 + H_2S$
Bensoaat	$C_7H_5O_2 + 4.75H_2O \rightarrow 3.375CO_2 + 8.475CH_4 + H_2S$
Luraat	$C_{12}H_{24}O_2 + 5H_2O \rightarrow 3.5CO_2 + 8.5CH_4$

Teoreetiline arvutus (Buswell'i võrrand) näitab, et 50 ppm PAA-süsiniku anaeroobsel lagunemisel toodetakse 10 ml gaasi (CH<sub>4</sub>+CO<sub>2</sub>); gaaside jaotus on ligukaudu selline: 30-35 % CO<sub>2</sub>, 65-70% CH<sub>4</sub>, ≤5% H<sub>2</sub>S anioonsete pindaktiivsete ainete puhul



## 2. PRAKTILINE OSA

### 2.1. Materjalid ja meetodid

#### **Kemikaalid**

Bioremediatsiooni käigus töödeldi kolonnides olevat pinnast oli SR-100 lahusega (E-Tech, USA), mida turustatakse reostunud pinnaste bioremediatsiooni kiirendava preparaadina. Nimetatud preparaat sisaldas anioonseid pindaktiivseid aineid 9.18%, mis on määratud metüleensinise suhtes aktiivse ainega (MBAS – *Methylene Blue Active Substance*). Lisaks sisaldas preparaat ka toiteelemente: fosforit 0.24% ja lämmastikku 0.49%. Katsete käigus lisati pinnasele pH tõstmiseks lubjakivi ( $\text{CaCO}_3$ ) jahu, mis saadi Rakke Lubjatehasest. Analüüsiks kasutatud reaktiivid - metüleensinine, naatriumdodetsüülsulfaat (SDS), n-heksaan ja kloroform olid analüütilise puhtusega.

#### **Keemilised analüüsid**

Kolorimeetrilised meetodid on pindaktiivsete ainete analüüsis küllalt levinud [39, 42, 44, 52, 55, 56, 57]. Anioonseid pindaktiivsed ained moodustavad metüleensinise (MS) sinise värvusega ioonpaari, mis lahustub kvantitatiivselt ja selektiivselt kloroformis. Anioonsete pindaktiivsete ainete kontsentratsioonid määrati Jaapanis standardiks kasutatava anioonsete pindaktiivsete ainete määramise spektrofotomeetrilise meetodi abil, mida oli modifitseeritud Koga jt poolt [57].

200 ml destilleeritud vette lisati 1 g pinnase proovi ja segati 30 minutit, et pinnases olnud pindaktiivne aine lahustuks. Saadud lahusest võeti 10 ml proovi, mis pandi koos 5 ml metüleensinise lahuse ja 5 ml kloroformiga jaotuslehtrisse ja segati 90 sekundit. Pärast segamist jäeti jaotuslehter seisma kuni vedelikukihtide jaotumiseni. Tekkinud värviline MS-PAA-kompleks lahustus kloroformis ja ülejäänud reaktiivid jäid vesifaasi. Kloroformi lahuse optiline tihedus oli määrati spektrofotomeetriga KFK-3 laine pikkusel 654 nm. Anioonsete pindaktiivsete ainete kontsentratsioon arvutati lahuse optilise tiheduse järgi kalibratsioonigraafiku abil. Kalibratsioonigraafik tehti SDS-lahusega vastavalt Jaapani standardile. Kolonnist väljavoolanud leovees määrati anioonsete pindaktiivsete ainete kontsentratsioon analoogselt, võttes prooviks sobiva koguse leovett.

Pinnases olevad süsivesinikud ekstraheeriti heksaaniga Soxhlet-i ekstraktoris ja saadud lahuses määrati süsivesinike hulk gravimeetriliselt ning nende sisaldus avaldati heksaanis ekstraheeritava ainenä (HEM - *Hexane extractable material*) [54].

### **Pinnase iseloomustus**

Uurimustöö teostamiseks kasutati loodusliku liivast pinnast, sest poorses pinnases on suurem hapniku juurdepääs aeroobsete tingimuste loomiseks.

Eksperimendi esimene katseseeria teostati jämedateralise liivase pinnasega, mis pärines Ämari lennuväljalt ja see oli reostunud määrdeõli ja diiselkütusega. Pinnaseosakeste läbimõõt oli vahemikus 2-8 mm. Kolonni täitmise ajal eemaldati üle 10 mm läbimõõduga kivid ja taimejäänused. Ämari lennuvälja pinnas on siiani reostunud ja pinnas sisaldas naftasaadusi kuni 3800 mg HEM/kg. Respiromeetrised katsed näitasid sellise reostunud pinnase madalat bioloogilist aktiivsust [53], sest pinnase poorsus oli väike. Seoses sellega segati reostunud pinnast puhta pinnasega, et suurendada poorsust ja seeläbi saavutada kõrgem bioloogiline aktiivsus. Sellega koos vähenes ühtlasi reoainete kontsentratsioon ja süsivesinike kontsentratsioon oli katsetes kasutatud pinnases 500-600 mg HEM 1kg kuiva pinnase kohta.

Eksperimendi teises katseseerias kasutatud pinnase osakeste läbimõõdud olid vahemikus 0.2-4 mm. Kasutatud diiselõli oli lisatud kunstlikult nii, et ka siin oli süsivesinike kontsentratsioon 500-600 mg HEM 1kg kuiva pinnase kohta.

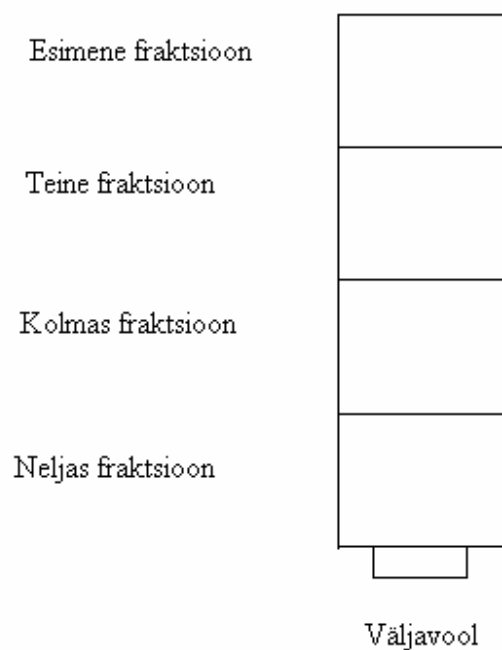
pH mõõtmiseks segati pinnaseproov 3-korda suurema ruumala destilleeritud vee või 1M KCl-lahusega ja saadud suspensiooni pH mõõdeti pH-meetriga Jenway 3320 [54] ja tulemused on esitatud tabelis 2.1.

Tabel 2.1. Erinevate kolonnide pinnase pH väärtused

Pinnas	pH <sub>KCl</sub>	pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub>
Puhas jämeteraline pinnas	8,38	6,55
Õliga reostunud jämeteraline pinnas	8,38	8,08
Õliga reostunud jämeteraline pinnas + CaCO <sub>3</sub>	9,06	8,64
Puhas peenteraline pinnas	6,29	5,80
Õliga reostatud peenteraline pinnas	6,29	5,80
Õliga reostatud peenteraline pinnas + CaCO <sub>3</sub>	9,76	7,91

### **Kolonn**

Katse teostamiseks kasutati kolonne, mis olid valmistatud läbipaistvast polüakrüültorust, sest see materjal ei adsorbeeri hüdrofoobseid orgaanilisi ühendeid. Kolonnidel olid allosas avad, mille kaudu sai välja voolata leoveed. Iga kolonn sisaldas 2,1 – 2,2 kg pinnast. Kolonnid olid katse ajal kaetud musta paberiga kaitseks valguse eest ja neid hoiti vertikaalses asendis. Katse lõpus jagati kolonnides olnud pinnas neljaks fraktsiooniks. Kolonni skeem on esitatud joonisel 2.1.



Joonis 2.1. Bioremediatsiooni uurimiseks kasutatud kolonn

## Bioremediatsioon

Bioremediatsiooni uurimiseks tehti kaks katseseeriat. Et modeleerida kolonnis looduslikke tingimusi, siis lisati igal nädalal kolonnidele 30 ml aereeritud destilleeritud vett. Vee lisamisega modeleeriti vihma ja sellega niisutati pinnast ja suurendati ka pinnases oleva vee hapniku sisaldust. Esimeses katseseerias kasutati nelja erinevat kolonni: üks oli täidetud puhta (reostumata) pinnasega, kaks kolonni oli täidetud õliga reostunud pinnasega ja ühes kolonnis kasutati õliga reostunud pinnase ja kaltsiumkarbonaadi segu, sest peeneteralise pinnase algne pH oli madal. Et saaks võrrelda jämedateralist ja peeneteralist pinnast, siis lisati ka jämedateralisele pinnasele  $\text{CaCO}_3$ , kuigi selle pinnase pH oli algselt lähedane optimaalsele. Kaltsiumkarbonaati oli lisatud pinnasele 10 mahuprotsenti. Regulaarselt võeti kolonnis oleva pinnase pinnakihi proovid ja määrati pindaktiivse aine kontsentratsioon. Katse lõpus jagati kolonnis olnud pinnas 4 fraktsiooniks ja analüüsiti iga fraktsiooni.

Esimese katseseeria kolonn **B1** oli täidetud puhta jämedateralise pinnasega. Teine kolonn **D1** oli täidetud jämedateralise õliga reostunud pinnasega ja kolmandas kolonnis **P1** kasutati jämedateralise õliga reostunud pinnase ja kaltsiumkarbonaadi segu. Kõikidele nendele kolonnidele lisati preparaati SR-100. Preparaadi kontsentraati lahjendati veega vahekorras 1:8 nii, et ta sisaldas 4% kuivainet. 80 ml lahjendatud SR-100 lahust lisati kolonnis olevale pinnasele üks kord katse alguses. Anioonsete pindaktiivsete ainete hulk oli kolonnidele lisatud lahuses kokku 918 mg. Neljas kolonn **C1** sisaldas jämedateralist õliga reostunud pinnast ja sellele kolonnile lisati 80 ml kontsentreeritumat SR-100 lahust samuti üks kord katse alguses. Anioonsete pindaktiivsete ainete hulk oli sellele kolonnile lisatud lahuses 1836 mg. Kolonnidest väljavoolanud leovesi koguti ja analüüsiti.

Teises katseseerias kasutati peeneteralist pinnast. Katse ajal oli kasutatud kolm kolonni: üks neist oli täidetud puhta loodusliku pinnasega (kolonn **B2**), teine oli täidetud õliga reostatud pinnasega (kolonn **D2**) ja kolmas õliga reostunud pinnasega, millisele oli lisatud kaltsiumkarbonaati (kolonn **P2**). Kõikidele kolonnidele lisati katse alguses 80 ml lahjendatud SR-100 lahust (sisaldas 4% kuivainet). Kuna selles katseseerias jõudis pinnakihi oleva anioonse pindaktiivse aine kontsentratsioon 35 esimese päeva jooksul langeda väga madalale, siis lisati kolonnidele veel teinegi kogus SR-100 lahjendatud lahust. Samas püüti uurida ka suurema hulga pindaktiivse aine lisamise mõju pindaktiivse

aine jaotumisele kolonnides. Selles katseseerias sisaldus kolonnidele lisatud lahuses 1836 mg anioonset pindaktiivset ainet.

Eksperimendi lõppedes võeti mõlema katse puhul pinnas kolonnist välja ja jagati neljaks mahu järgi enam-vähem võrdseks fraktsioonidele. Iga fraktsiooni kohta määrati niiskuse sisaldus, mõõdeti anioonsete pindaktiivsete ainete kontsentratsioon ja süsivesinike sisaldus.

### **Pinnase bioloogilise aktiivsuse mõõtmine**

Pinnase bioloogilise aktiivsuse mõõtmiseks kasutati OxiTop manomeetrist mõõtmissüsteemi (WTW, Saksamaa). OxiTop mõõtmissüsteem ja katsetingimused vastavad rahvusvahelistele standarditele.

Hapniku mõõtmisprotsess põhineb rõhumuutuse fikseerimisel suletud reaktsioonianumas. Orgaaniliste süsinikuühendite täielikul lagunemisel tarbivad mikroorganismid hapniku ja samas vabaneb CO<sub>2</sub>. OxiTop süsteemi puhul tarbitavad mikroorganismid oma elutegevuseks ja biodegradatsiooniks hapnikku suletud mõõtmisanumas olevast õhust. Hapniku hulk väheneb, aga vabaneva süsihappegaasi hulk seostatakse absorbendi abil ja rõhu vähenemist fikseeritakse OxiTop süsteemiga. Süsteemi mõõtmistäpsus on 1 mbar, kusjuures valitud mõõtmisperioodi jooksul tehakse 360 mõõtmist. Rõhumuutumise andmetest arvutatakse uuritava süsteemi hapnikutarve valemite 1 ja 2 abil:

$$BA = \frac{M_R(O_2)}{R \times T} \times \frac{V_{fr}}{m_{Bt}} \times p, \quad (1)$$

BA - hapnikutarve, mgO<sub>2</sub>/kg KA

M<sub>R</sub>(O<sub>2</sub>) - hapniku molaarmass, 32 000mg/mol

V<sub>fr</sub> – õhuruumala mõõtmisanumas, liitrites (L)

R – universaalne gaasikontant, 83.14 L×mbar/mol×K

T – mõõtmistemperatuur, K

m<sub>Bt</sub> - -kuivaine mass mõõtmissüsteemis, kg KA

p – rõhulangusmõõtmissüsteemis, mbar

Mõõtmissüsteemis oleva õhu ruumala arvutati järgmise valemi järgi:

$$V_{fr} = V_{ges} - V_{AC} - V_{AM} - V_{Bf}, \quad (2)$$

$V_{fr}$  on õhu ruumala mõõtmisanumas, L

$V_{ges}$  on mõõtmisanuma üldruumala, L

$V_{AG}$  on adsorbendianuma ruumala, L

$V_{AN}$  on adsorbendi ruumala, L

$V_{Bf}$  on proovi ruumala, L

Mõõtmised tuleb läbi viia aeroobsetes tingimustes, sest anaeroobsetes tingimustes eraldub ka metaan  $CH_4$ , mis ei seonu adsorbendiga ja põhjustab süsteemis rõhu suurenemist.

Temperatuuri muutumisel muutub mikroorganismide bioloogiline aktiivsus, peale selle muutub ka rõhk. Rõhu muutumist iseloomustab järgmine valem

$$P_{T_2} = P_{T_1} \times \frac{T_2}{T_1} \quad (3)$$

Selleks, et vältida temperatuuri muutumisest tingitud vigu, tuleb proove hoida konstantsel temperatuuril [53].

### **SR-100 preparaadi üldiseloostus**

Pinnaseosakestele adsorbeeritud pindaktiivsed ained on mikroorganismidele vähem biokättesaadavad ja nad biodegradeerivad seetõttu halvemini. Anioonsed pindaktiivsed ained olid valitud antud eksperimendi teostamiseks nende madalama adsorptsiooni võime tõttu pinnaseosakestele. On teada, et tavaliselt on liivase pinnase pind laetud negatiivselt ja a-PAA-te adsorptsioon sinna on küllaltki madal tõukumise tõttu.

SR-100 kasutatakse õli sisaldava pinnase bioremediatsiooni soodustamiseks. Bioremediatsiooni soodustamine või kiirendamine toimub astmeliselt:

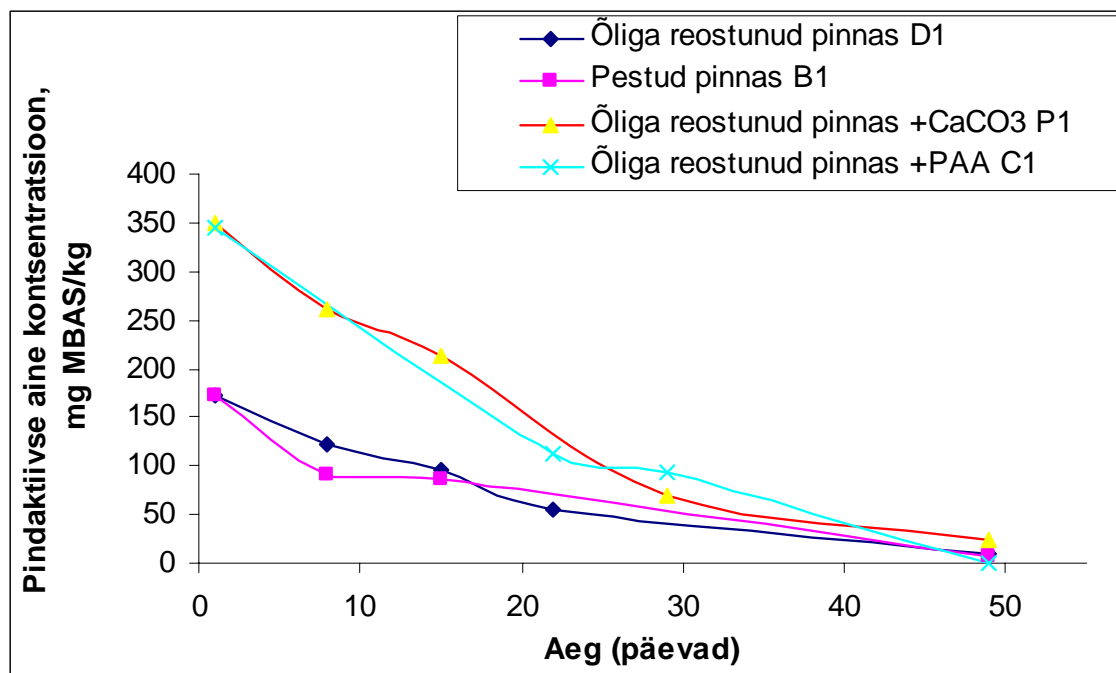
- Toimub orgaanilise reoaine desorptsioon pinnaseosakestelt, reoainete emulgeerimine ja kinnipidamine emulsiooni kujul

- Toimub biodegradatsiooni kiiruse suurenemine ja biodegradeeritava reoainete lõplik lagunemine
- Jääkreostuse kinni pidamine ja isoleerimine edaspidisest levimisest ja põhjavette sattumise vältimiseks.

SR-100 lahus ümbritseb bakterit ja tagab tema kaitsmist teiste mikroorganismide ründamise eest [58].

## 2.2. Analüüside tulemused ja tulemuste arutelu

Anioonsete pindaktiivsete ainete kontsentratsioonid kolonnide ülemistes kihtides mõõdeti regulaarselt ja saadud tulemused on esitatud joonisel 2.2.



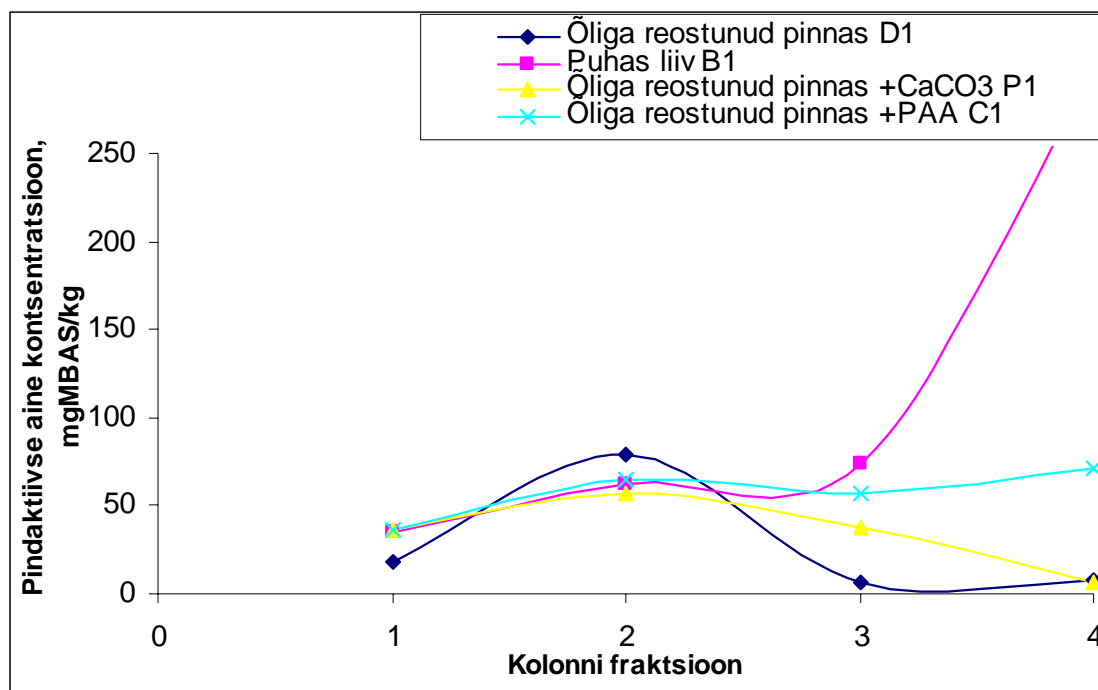
Joonis 2.2. Pindaktiivsete ainete kontsentratsioon jämedateralise pinnase kolonni pealmises kihis

Jooniselt 2.2 on näha a-PAA-te kontsentratsiooni muutumise kindlat tendentsi. Kontsentratsioonide vähenemine puhtas pinnases ja õliga reostunud pinnases on peaaegu samasugune. Samal ajal on pindaktiivsete ainete kontsentratsioonid suuremad õlise liiva ja kaltsiumkarbonaadi segus ning kaks korda kontsentreerituma SR-100 lahusega töödeldud kolonnis. On arusaadav, et viimases pinnases on pindaktiivsete ainete kontsentratsioon kaks korda suurem, sest neid oli sinna lisatud kaks korda rohkem. Õlises kaltsiumkarbonaadiga segatud pinnases võis toimuda  $Ca^{2+}$ -ioonide sadenemine a-PAA-te toimel, mis põhjustas pinnase pooride ummistumist. Samuti suurenes CaCO<sub>3</sub> pulbri lisamise tõttu pinnase eripind ja vähenesid pinnase poorid. Seega a-PAA-d



liikusid selles kolonnis alla aeglasemini võrreldes teistega kolonnidega. Mõlemal juhul aga toimub a-PAAte kontsentratsioonide vähenemine: kas biodegradatsiooni või nende leostumise tõttu.

Katse lõpus mõõdeti pindaktiivsete ainete kontsentratsioonid pinnases iga kolonni fraktsiooni kohta. Selleks, et võrrelda PAA-te liikuvuse dünaamikat, on kontsentratsioonid väljendatud mg/kg kuiva pinnase kohta. Saadus tulemused on esitatud joonisel 2.3.



Joonis 2.3. Anioonsete pindaktiivsete ainete kontsentratsioonid kolonnide erinevates fraktsioonides

Saadud andmete alusel on näha, et PAA-te leostumine ja akumulatsioon toimus B1 kolonni alumises osas. Leostumine selles kolonnis toimus mikroorganismide vähesuse tõttu. D1 kolonnis jälgiti a-PAA-te kontsentratsiooni vähenemist ja on näha, et PAA-d adsorbeerusid kolonni teises fraktsioonis. Seda nähtust võib seledada kolonni teise ja kolmanda fraktsioonide erineva niiskuse sisaldusega (Tabelid 2.2.). Kolmanda fraktsiooni pinnas oli niiskem ja tihedam, selle tõttu ta takistas PAA-te leostumist alla.

Tabel 2.2. Niiskuse sisaldused ja pH väärtused kolonni D1 erinevates osades

Fraktsioon	Niiskus ,%	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>
1 (0-13 cm)	0.11	8.00	7.14
2 (13-26 cm)	1.64	7.21	6.92
3 (26-40 cm)	2.65	7.36	7.13
4 (40-50 cm)	8.05	8.08	7.42

Massibilansi koostamisel ja a-PAA-te kontsentratsioonide arvutamisel ja võrdlemisel alg- ja lõppkontsentratsioonidega tehti järelalus, et õliga reostunud pinnast sisaldavates kolonnides oli kulgenud a-PAA-te biodegradatsioon. D1, P1 ja B1 kolonnidesse lisatud a-PAA-te hulk oli 918 mg ja katse lõppus saadud ligikaudne hulk oli vastavalt 140mg, 113 mg ja 535 mg. PAA-te biodegradatsiooni mõjutasid positiivselt pinnase poorsus ja hapniku piisava hulga olemasolu pinnaste pooride vahel. Selleks et uurida seost a-PAA-te biodegradatsiooni ja pH vahel, mõõdeti ära ka pinnase fraktsioonide pH ja tulemused on esitatud tabelites 2.2.-2.5.

Tabel 2.3. Niiskuse sisaldused ja pH väärtused kolonni C1 erinevates fraktsioonides

Fraktsioon	Niiskus ,%	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>
1 (0-13 cm)	0,29	8,45	7,76
2 (13-26 cm)	2,75	7,47	8,12
3 (26-40 cm)	3,17	8,14	8,84
4 (40-50 cm)	7,13	8,16	7,95

Tabel 2.4. Niiskuse sisaldused ja pH väärtused kolonni P1 erinevates fraktsioonides

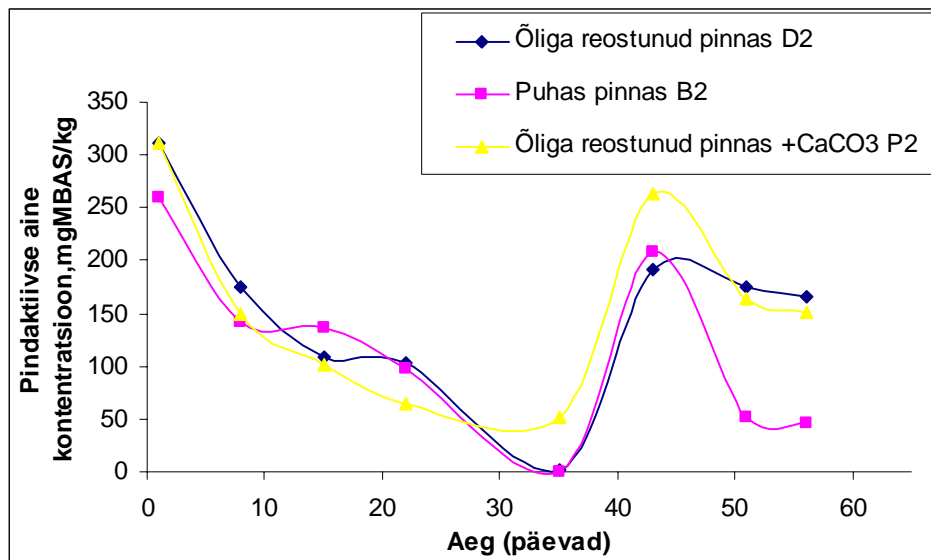
Fraktsioon	Niiskus ,%	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>
1 (0-13 cm)	0,21	8,26	8,62
2 (13-26 cm)	4,77	8,47	9,09
3 (26-40 cm)	10,20	8,87	9,49
4 (40-50 cm)	36,26	8,39	9,57

Tabel 2.5 Niiskuse sisaldused ja pH väärtused kolonni B1 erinevates fraktsioonides

Fraktsioon	Niiskus ,%	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>
1 (0-13 cm)	0,25	6,67	7,14
2 (13-26 cm)	0,44	6,56	6,92
3 (26-40 cm)	4,00	6,59	7,13
4 (40-50 cm)	9,45	6,75	7,42

Saadud tulemuste alusel ei olnud võimalik leida kindlat seost a-PAA-te degradatsiooni ja pinnase pH väärtustevahel kolonnide erinevates fraktsioonides.

Teises katseseerias jõudis pinnakihis oleva anioonse pindaktiivse aine kontsentratsioon 35 esimese päeva jooksul langeda väga madalale, siis lisati kolonnidele veel teinegi kogus SR-100 lahjendatud lahust. Samas püüti uurida ka suurema hulga pindaktiivse aine lisamise mõju pindaktiivse aine jaotumisele kolonnides. Selles katseseerias sisaldus kolonnidele lisatud lahuses 1836 mg anioonset pindaktiivset ainet. Kolonnide pinnakihis mõõdetud pindaktiivsete ainete kontsentratsioonid on esitatud joonisel 2.4.

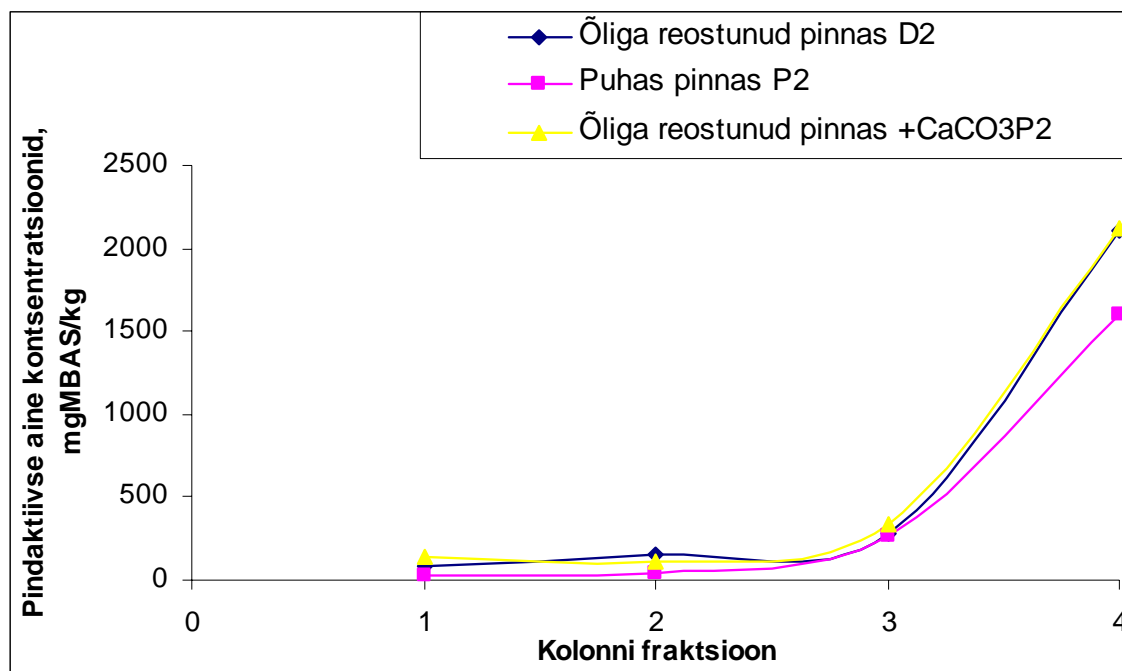


Joonis 2.4. Pindaktiivsete ainete kontsentratsioon peeneteralise pinnasega täidetud kolonnides pealmises kihis.

Ekspriimendi esimese viie nädalate jooksul erilist vahet a-PAAte kontsentratsiooni vähenemisel ei täheldatud. Pärast SR-100 lahuse teistkordset lisamist oli a-PAA-te kontsentratsioonide vähenemine puhtas pinnases kiirem võrreldes teiste pinnase kolonnidega. See näitas paremat leostumist puhtast pinnasest, sest õli ei avaldanud mõju PAA-tele.

Kahte joonist (joonis 2.3 ja 2.4) võrreldes on vaja märkida, et teises katseseerias vähenes a-PAA-te kontsentratsioon palju kiiremini kui esimeses katseseerias vaatamata sellele, et esimeses katseseerias kasutatud pinnas oli poorsem ja pinnase läbilaskvus on sel juhul suurem. Seda nähtust võib seletada sellega, et kunstlikult lisatud õli ei jõudnud adsorbeeruda pinnase osakestele ja õliga assotsieerunud a-PAA-d pesti välja.

Katse lõpus määrati pindaktiivsete ainete kontsentratsioon kolonnide erinevates fraktsioonides ja tulemused on esitatud joonisel 2.5.



Joonis 2.5. Anioonsete ainete kontsentratsioonid peeneteralise pinnasega täidetud kolonnide erinevates fraktsioonides

Jooniselt 2.5 võib näha kõikidele kolonnidele ühist muutumise tendentsi: nimelt a-PAA-te leostumist ülemistest fraktsioonidest ja kogunemist kolonnide alumistes fraktsioonides. Massibilansi koostamisel ja a-PAAte kontsentratsioonide arvutamisel ja võrdlemisel alg- ja lõppkontsentratsioonidega tehti järeldus, et pindaktiivsete ainete biodegradatsioon võis toimuda ainult kolonnide ülemistes kihtides, kus on hapniku piisavalt, aga enamus pindaktiivse aine kontsentratsiooni vähenemisest oli tingitud leostumisest. Kõikidesse kolonnidesse lisatud a-PAA-te hulk oli 1836 mg ja katse lõpus saadud hulk oli kolonnis D2 1177 mg, P2 1500 mg ja B2 1727 mg. Saadud andmete alusel võib teha järelduse, et õli lisamine kolonnidesse soodustas PAA biodegradatsiooni. Peeneteralise pinnase väikese poorsuse tõttu tekkinud hapniku vähesus oli peamine bioremediatsiooni pidurdav tegur. Pinnase tüüpide võrdlemisel oli tulemustest näha, et peeneteralises liivases pinnases toimub a-PAA-te leostumine ja kogunemine alumistesse fraktsioonidesse. See oli tingitud pinnase väiksema läbilaskvusega väiksemate pooride tõttu (tabel 2.6).

Tabel 2.6. PAA-te kontsentratsioon jämeda- ja peeneteralise õliga reostunud pinnasega täidetud kolonnide erinevates fraktsioonides

Fraktsioon kolonnis	Õliga reostunud jämedateraline pinnas	Õliga reostunud peeneteraline pinnas
1 (ülemine)	36,6(±3,6)	83,7 (±4,8)
2	64,4 (±0,2)	160,9 (±2,3)
3	57,2 (±1,3)	284,5 (±5,1)
4 (alumine)	70,7 (±5,7)	2107,6 (±16,5)

Analoogselt esimesele katseseeriale, mõõdeti pinnase niiskusesisaldus ja pH ka peeneteralise liivase pinnase erinevates fraktsioonides. Saadus tulemused on esitatud tabelites 2.7-2.9

Tabel 2.7. Niiskuse sisaldused ja pH väärtused kolonni D2 erinevates fraktsioonides

Fraktsioon	Niiskus ,%	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>
1 (0-13 cm)	0,72	8,00	7,14
2 (13-26 cm)	2,33	7,21	6,92
3 (26-40 cm)	7,80	7,36	7,13
4 (40-50 cm)	12,61	8,08	7,42

Tabel 2.8. Niiskuse sisaldused ja pH väärtused kolonni P2 erinevates fraktsioonides

Fraktsioon	Niiskus ,%	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>
1 (0-13 cm)	0,01	8,26	8,62
2 (13-26 cm)	0,50	8,47	9,09
3 (26-40 cm)	2,76	8,87	9,49
4 (40-50 cm)	14,12	8,39	9,57

Tabel 2.9. Niiskuse sisaldused ja pH väärtused kolonni B2 erinevates osades

Fraktsioon	Niiskus ,%	pH <sub>H2O</sub>	pH <sub>KCl</sub>
1 (0-13 cm)	1,89	6,67	7,14
2 (13-26 cm)	2,06	6,56	6,92
3 (26-40 cm)	8,38	6,59	7,13
4 (40-50 cm)	15,68	6,75	7,42

Ka peeneteralise liivase pinnase puhul ei olnud näha selget seost pindaktiivse aine lagunemiskiiruse ja pinnase pH vahel.

Lisaks mõõdeti pindaktiivsete ainete kontsentratsioon ka puhta pinnase proovides, mille ei olnud lisatud ei õli ega pindaktiivseid aineid ja tulemuseks saadi 3mg MBAS 1kg pinnase kohta. See näitas, et pinnases eksisteerivad mikroorganismid sünteesivad bioloogilisi pindaktiivseid aineid.

Mõned a-PAA-d võivad olla mikroorganismidele toksilised. Pinnase bioloogiline aktiivsus oli määratud selleks, et veenduda mikroorganismide kohanemises katsetes

kasutatud keskkonnaga. Tulemused näitasid, et kõikides liivatüüpides toimus hapniku tarbe suurenemine võrreldes puhta pinnasega. Tulemus näitas seda, et SR-100 ei toiminud antud bioremediatsiooni süsteemis toksilisena.

Bioremediatsiooni edukuse hindamiseks määrati ka süsivesinike kontsentratsioon paralleelselt PAAte kontsentratsioonide määramisega (Tabel 2.10). Tulemuste alusel on näha, et 60 päevase eksperimendi käigus toimus süsivesinike kontsentratsiooni vähenemine. Samas võib järeldada, et kaks kuud ei olnud piisav aeg süsivesinike täielikuks degradatsiooniks.

Tabel 2.10. Süsivesinike kontsentratsioon õlise pinnasega täidetud kolonnide erinevates fraktsioonides eksperimendi lõpus

Fraktsioon kolonnis	Õline pruun pinnas (mg HEM/kg)	Õline pruun pinnas, 2*PAA (mg HEM/kg)	Õline pruun pinnas +CaCO <sub>3</sub> (mgHEM/kg)	Õline valge pinnas (mgHEM/kg)	Õline valge pinnas + CaCO <sub>3</sub> (mg HEM/kg)
Algkontsentratsioon	495 (±34)	495	420 (±28)	697 (±47)	593 (±41)
1 (pealmine kiht)	243 (±17)	145	172 (±12)	279 (±19)	289 (±20)
2	132 (±8)	130	159 (±11)	273 (±18)	313 (±22)
3	157 (±10)	148	177 (±12)	576 (±40)	274 (±18)
4 (alumine kiht)	283 (±19)	208	180 (±13)	273 (±18)	271 (±18)

Kuna leostumine pinnasest võib kujutada ohtu põhjaveele, siis analüüsiti ka katse käigus kolonnidest välja voolanud leovesi. Esimese katseseeria korral olid väljavoolude hulgad väiksed ja neis määrati vaid pindaktiivse aine kontsentratsioon (Tabel 2.11).

Tabel 2.11. Pindaktiivsete ainete ja süsivesinike kontsentratsioon kolonnide väljavoolustes

Kolonn	Väljavoolu kuivaine (mg)	a-PAA kontsentratsioon (mg MBAS/kg)	Süsivesinike (mg HEM/kg)
Pestud jäme fraktsiooniga liiv	472	229,17 ( $\pm 16,87$ )	0
Õline jäme fraktsiooniga liiv	203	37,75 ( $\pm 6,46$ )	ND
Õline jäme fraktsiooniga liiv 2*PAA	252	39,46 ( $\pm 10,10$ )	ND
Õline jäme fraktsiooniga liiv + CaCO <sub>3</sub>	329	45,68 ( $\pm 4,54$ )	ND
Puhas peenfraktsiooniga liiv	1688	73,97 ( $\pm 15,63$ )	0
Õline peenfraktsiooniga liiv	2747	137,69 ( $\pm 24,95$ )	205
Õline peenfraktsiooniga liiv + CaCO <sub>3</sub>	1823	70,98 ( $\pm 4,48$ )	278

Tabelist võib näha, et lubjakivi lisand suurendas leovees sisalduvate süsivesinike kontsentratsiooni. Peeneteralise pinnasega täidetud kolonnidest olid väljavoolud palju suuremad, kuigi mõlemas katseseerias oli lisatud vee hulk sama. Seega soodustasid a-PAA-d leostumist peeneteralistest pinnastest. Süsivesinike biodegradatsiooni lähem uurimine ei olnud antud töö eesmärgiks.



### **Kokkuvõtte**

Pindaktiivseid aineid kasutatakse õliga reostunud pinnase bioremediatsiooni soodustamiseks. Nad soodustavad emulsiooni teket ja vähendavad pindpinevust, muutes sellega hüdrofoobseid orgaaniliseid aineid bioloogiliselt kättesaadavamaks. Pindaktiivsed ained on uurimisobjektiks kui bioremediatsiooni soodustamise lisaained, kuigi samal ajal võib neid käsitletakse ka reostusanetena.

Antud töö eesmärgiks oli uurida anioonsete pindaktiivsete ainete käitumist õliga reostunud pinnase remediatsioonis. See sisaldab anioonsete pindaktiivsete ainete kontsentratsioonide määramist pinnases ja leovees. Selleks kasutati erineva liivase pinnasega täidetud kolonne.

Praktilistest katsetest saadud tulemused näitasid, et anioonsed pindaktiivsed ained (SR-100 preparaadi koostises) võivad antud bioremediatsiooni katses biodegradeerida või leostuda pinnasest. Katsete tulemustest selgus, et anioonsete pindaktiivsete ainete biodegradatsiooni kiirus sõltub pinnase tüübist ja ainete kontsentratsioonist.

a-PAA-te kontsentratsioonid määrati regulaarselt kogu katse ulatuses pinnase kolonnide ülemises kihis. Pindaktiivse aine kõrgemad kontsentratsioonid katse alguses saadi reostunud jämedateralise pinnase ja lubjakivijahu segu jaoks. Selle põhjuseks võib olla  $Ca^{2+}$  ionide sadenemise a-PAA-te toimel, mis kutsus esile pinnase pooride hulga ja diameetri vähenemise ja selle tõttu toimus pinnasepooride ummistumine.  $CaCO_3$  pulbri lisamisel suurenes pinnase segu eripind, mis tekitas täiendava adsorptsiooni.

Anioonsete pindaktiivsete ainete kontsentratsioonid määrati kolonnide erinevates fraktsioonides. Katsetulemuste alusel arvatud pindaktiivse aine massibilanssid näitasid et toimub pinnase kolonnides a-PAA-te degradatsioon.

Peeneteralise liivaga täidetud kolonnide analüüsid näitasid, et a-PAA-te kontsentratsioon kolonnide ülemistes kihtides vähenes kiiresti võrreldes jämedateralise pinnasega täidetud kolonnidega. Samuti toimus pindaktiivsete ainete leostumine kolonni ülemistest fraktsioonidest alumistesse.

Kolonnide keskmistes faraktsioonides tekkis anaeroobne keskkond ja hapniku puudumise tõttu a-PAA-te degradeerumine oli tunduvalt aeglasem.

Nii jämedateralise kui ka peeneteralise pinnase puhul toimus a-PAA-te leostumine, mis võib tekitada põhjavee reostumise ohu. Kolonnides toimuva bioremediatsiooni kulgemise

hindamiseks määrati ka pinnases olevate süsivesinike kontsentratsioonid nii pinnases kui ka leovees. Antud töö alusel võib teha kolm põhilist järeldust:

- SR-100 preparaadis sisalduvad a-PAA-d alluvad aeroobsele biodegradatsioonile, kuid pinnases võivad tekkida kergesti anaeroobsed tingimused.
- Antud a-PAA-te biodegradatsioon sõltub nende kontsentratsioonist ja pinnase tüübist.
- Kaks kuud ei ole piisav aeg a-PAA-te ja süsivesinike täielikuks degradatsiooniks ja nende degradatsiooni piirab nende leostumine pinnase alumistesse, anaeroobsetesse kihtidesse.

## **Summary**

The aim of this work was to study the behavior of anionic surfactants in sandy soils with a low amount of organic matter. This involves the survey of both the degradation and the leaching of anionic surfactants. Anionic surfactants were chosen because of their lower adsorption on the surface of the soil particles. The soil was treated with the bioremediation agent SR-100 in the columns and the concentrations of the hydrocarbons and surfactants were determined in the different fractions of soil. The improved Spectrophotometric Method was used for the determining of anionic surfactants. Two types of sandy soil were used: coarse-grained sandy soil (a fraction about 2-8 mm) and fine sandy soil (a fraction about 0.2-2 mm) and CaCO<sub>3</sub> was added to increase soil pH.

The results of analysis showed that the initial concentration of surfactant was twice lower for the unpolluted and oil-polluted coarse-grained soils in comparison with the mixture of coarse soil and limestone powder. The columns with unpolluted or polluted coarse-grained soil had negligible difference by the concentration of surfactant in the upper layer of soil during the experiment. The higher concentration of the surfactant in the upper layer of soil in the case of mixture of soil and CaCO<sub>3</sub> can be explained by the higher specific surface of limestone powder which adsorbed the surfactant by soaking of solution of surfactant in soil.

Anionic surfactants of the second study showed a significant decrease within 24 h in the upper layer of the columns due to bacterial attacks in the first and second series of the experiment. Differences in concentration on the second day of the experiment were conditioned by the sandy soil type. Biodegradation and leaching of anionic surfactants were observed in the first series of the experiment while leaching and accumulation were observed in the second series of the experiment. It was probably conditioned by oxygen depletion and a high concentration of anionic surfactants that were used in the second series of experiment.

At the end of experiments the polluted soil contained generally the lowest amounts of surfactant but in the second fraction it was the highest in comparison with other soil columns due to the compacted layer of soil. The lower layer and the leachate of the unpolluted coarse soil contained much higher amount of the surfactant in comparison with other columns. It indicated the increased leaching of surfactant from the unpolluted

soil. The amount of surfactant was similar for the leachate from the polluted soil and mixture of soil and  $\text{CaCO}_3$

The concentrations of residual surfactant in the different fractions of the fine soil column have clear trend: the lower fraction contained more surfactant indicating the leaching of surfactant.

The time of experiments was not enough for the complete biodegradation of petroleum hydrocarbons and the reduction of the hydrocarbon concentration was about 50-70%. The analysis of residual hydrocarbons showed that concentration of hydrocarbons was different for coarse-grained and fine soil by the different porosity. It is possible to expect the adsorption of hydrocarbons on the soil particles. The dry residual of leachate had the higher concentration of hydrocarbons for the mixture of polluted soil and  $\text{CaCO}_3$ .

## Kasutatud kirjandus

1. Бухштаб, З.И., Мельник, А.П., Ковалёв, В.М.. Технологии моющих синтетических средств. *Москва, Легпромбытиздат, 1988.*
2. Talvik, A-T. *Orgaaniline keemia. 1996*
3. <http://www.cems.ou.edu/iasr/fundamental/fundamental.htm>
4. Абрамзон, А.А., Зайченко, Л.П., Файнгольд, С.И.. Поверхностно-активные вещества. *Ленинград, «Химия», 1988*
5. Hutzinger Otto. The handbook of Environmental chemistry. Antropogenic Compounds Detergents. *Volume 3, Part F. 1992*
6. Березюк, В.Г., Евтюхова, О.В., Беличенко, Ю.П., Касимов, А.М. Очистка сточных вод с применением поверхностно-активных веществ. *Москва, «Металлургия», 1987.*
7. Joseph D. Rouse, David A. Sabatini, Joseph M. Sufliata, and Jeffrey H. Harwell. Influence of Surfactants on Microbial Degradation of Organic Compounds. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 24(4): 325-370 (1994)*
8. [http://www.sigmaaldrich.com/Brands/Fluka\\_Riedel\\_Home/Bioscience/BioChemika\\_Ultra/Detergents\\_Surfactants.html](http://www.sigmaaldrich.com/Brands/Fluka_Riedel_Home/Bioscience/BioChemika_Ultra/Detergents_Surfactants.html)
9. Pashley M. R., Karaman M.E. *Applied Colloid and Surface Chemistry. 2004*
10. <http://www.chem.isu.ru/leos/base/applic5.html>
11. Somasundaran P., Huang L.. Adsorption/aggregation of surfactants and their mixtures at solid-liquid interfaces. *Colloid and Interface Science Volume 88, Issues 1-2, 11 December 2000, Pages 179-208*
12. Keddington Patrick. *Surfactant Properties, Application and Review of Effectiveness. John Wiley & Sons, Ltd, 1999.*
13. Abu-Zreig M., Rudra R. P. and Dickinson W. T.. Effect of Application of Surfactants on Hydraulic Properties of Soils. *Biosystems Engineering, volume 84, Issue 3, March 2003, Pages 363-372*
14. Kosaric, N., *Biosurfactants and Their Application for Soil Bioremediation. Food technol. Biotechnol. 39 (4) 295-304 (2001)*

15. Nissim Gart. Microemulsions as microreactors for food applications *Current Opinion in Colloid & Interface Science, Volume 8, Issue 2 , June 2003, Pages 197-211*
16. Ying Ouyang, Jong Soo Cho and Robert S. Mansell. Simulated formation and flow of microemulsions during surfactant flushing of contaminated soil. *Water Research, Volume 36, Issue 1, January 2002, Pages 33-40*
17. Sabatini David A., Knox Robert C., Harwell Jeffrey H. and Wu Bin. Integrated design of surfactant enhanced DNAPL remediation: efficient supersolubilization and gradient systems. *Journal of Contaminant Hydrology Vol. 45, Issues 1-2 , September 2000, Pages 99-121*
18. Laha, S., Liu, Z., Edwards, D., Luthy, R. Surfactant Solubilization of Phenanthrene in Soil-Aqueous Systems and its Effects on Biomineralization. *In Aquatic Chemistry: interfacial and interspecies processes. Eds. Huang, C.P., O'Melia, C.R., Morgan, J.J., Washington ACS, 1995, 341-360*
19. C.N. Mulligan, R.N. Yong, B.F. Gibbs. Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. *Engineering Geology 60 (2001) 371-380*
20. Holmberg, K., Natural surfactants. *Current Opinion in Colloid & Interface Science, 6, 2001, 148-159.*
21. Ingegärd Johansson, Martin Svensson. Surfactants based on fatty acids and other natural hydrophobes. *Current Opinion in Colloid & Interface Science, 6, 2001, 178-188.*
22. Pooja Singh and Swaranjit Singh Cameotra. Enhancement of metal bioremediation by use of microbial surfactants. *Biochemical and Biophysical Research Communications, Volume 319, Issue 2 , 25 June 2004, Pages 291-297*
23. Catherine N. Mulligan, Raymond N. Yong, Bernard F. Gibbs. Heavy metal removal from sediments by biosurfactants. *Journal of Hazardous Materials, Volume 85, Issues 1-2 , 30 July 2001, Pages 111-125*
24. Wong, J.H.C., Lim, C.H., Nolen, G.L. Design of remediation system. *CRC Press, 1997*
25. A Citizen's Guide to Bioremediation. *USEPA, EPA/542-F-96-007, April 1996, pp 1-4*

26. Venosa, A.D., Suidan, M. A., Wrenn, B., A., Strohmeier, K.L., Haines, J.R., Eberhart, B.L., King, D., Holder, E. Bioremediation of an Experimental Oil Spill on the Shoreline of Delaware Bay. *Environmental science & Technology*, 1996, 30, 1764-1775
27. Mulligan C. N, Raymond.Yong N.R. Natural attenuation of contaminated soils.*Environment International* 30 ( 2004) 587-601
28. Curtis F., Lammey J. Intrinsic remediation of a diesel fuel plume in Goose Bay, Labrador, Canada. *Environmental pollution* 103 (1998) 203-210
29. Monitored Natural Attenuation of Petroleum Hydrocarbons. *USEPA, EPA/600/F-98/021, May 1999*
30. Peet, K. Prügila nõrgvee koostisest ja looduslikust isepuhastusvõimest Pääsküla prügila näitel. Magistritöö, 2004
31. RIIS V., Brandt M., Miethe D., Babel W.. Influence of special surfactants on the microbial degradation of mineral oils. *Chemosphere* 41, 2000, 1001-1006
32. Wang Suiling and Mulligan Catherine N.. An evaluation of surfactant foam technology in remediation of contaminated soil. *Chemosphere, Volume 57, Issue 9, December 2004, Pages 1079-1089*
33. . Harwell Jeffrey H, Sabatini David A. and Knox R. C.. Surfactants for ground water remediation. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. Volume 151, Issues 1-2 , 15 June 1999, Pages 255-268*
34. Flaming Jason E., Knox Robert C., Sabatini A.David and Kibbey C. Tohren. Surfactant Effects on Residual Water and Oil Saturations in Porous Media. *Vadose Zone Journal* 2:168-176 (2003)
35. Chu W.,Kwan C.Y. Remediation of contaminated soil by a solvent/surfactant system. *Chemosphere, Volume 53, Issue 1, October 2003, Pages 9-15*
36. Dwarakanath V., Kostarelo K., Gary A. Pope, Shotts Doug and William H. Wade. Anionic surfactant remediation of soil columns contaminated by nonaqueous phase liquids. *Journal of Contaminant Hydrology, Volume 38, Issue 4, 15 June 1999, Pages 465-488*

37. Deshpande S., Shiao B. J., Wade D., Sabatini D. A. and Harwell J. H.. Surfactant selection for enhancing *ex situ* soil washing. *Water Research, Volume 33, Issue 2, February 1999, Pages 351-360*
38. Garon D., Krivobok S., Wouessidjewe D., Seigle-Murandi F.. Influence of surfactants on solubilization and fungal degradation of fluorine. *Chemosphere, Volume 47, Issue 3 , April 2002, Pages 303-309*
39. Suchanek, M., Kostal, J., Demnerova,K., Kralova, B. Use of sodium dodecyl sulphate for stimulation of biodegradation of n-alkanes without residual contamination by the surfactant. *International Biodeterioration & Biodegradation, 2000, 45, 27-33.*
40. Cserháti, T., Forgács, E., Oros, G. Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. *Environmental International, 2002, 28(5), 337-348*
41. Scott M., J., Jones M., N. The biodegradation of surfactants in the environment. *Biochemica et Biophysica Acta, 1508, 2000, 235-251.*
42. Mezzanotte, V., Castiglioni, F., Todeschini, R., Pavan, M. Study on anaerobic and aerobic degradation of different non-ionic surfactants. *Bioresource Technology, 2003, 87, 87-91.*
43. Rouse, J.D., Sabatini, D.A., Sufliata, J.M., Harwell, J.H. Influence of Surfactants on Microbial Degradation of Organic Compounds. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 1994, 24(4), 325-370.*
44. Feitkenhauer, H., Meyer, U. Anaerobic digestion of alcohol sulfate (anionic surfactant) rich wastewater – batch experiments. Part II: influence of the hydrophobic chain length. *Bioresource Technology, 2002, 82, 123-129.*
45. Abdelhafidh Dhouib, Naïma Hamad, Ilem Hassaïri and Sami Sayadi. Degradation of anionic surfactants by *Citrobacter braakii*. *Process Biochemistry Volume 38, Issue 8 , 28 March 2003, Pages 1245-1250*
46. Levine L.H., Kagie H.R., Garland J.L. Biodegradation pathway of an anionic Surfactant (Igepon TC 42) during recycling waste water through plant hydroponics for advanced life support during long-duration space missions. *Adv. Space Res., Vol. 31, No.1,pp.249-253,2003*



47. Zhang, C., Valsaraj, K.T., Constant, W.D., Roy, D. Aerobic biodegradation kinetics of four anionic and nonionic surfactants at sub- and supra-critical micelle concentrations (CMCs). *Wat. Res.*, 1999, **33**(1), 115-124.
48. Aly M.A. Abd-Allah, Srorr T.. Biodegradation of anionic surfactants in the presence of organic contaminants. *Wat. Res.*, Vol.32, No3, pp. 944-947, 1998
49. Margesin R., Schinner F. Low-temperature bioremediation of a waste water contaminated with anionic surfactants and fuel oil. *Appl. Microbial Biotachnol.* (1998) 49: 482-486
50. Feitkenhauer H., Meyer U.. Anaerobic digestion of alcohol sulfate (anionic surfactant) rich wastewater– batch experiments. Part I: influence of the surfactant concentration. *Bioresource Technology*, Volume 82, Issue 2 , April 2002, Pages 115-121
51. . Salanitro Joseph P,. Diaz Luis A. Anaerobic biodegradability testing of surfactants. *Chemosphere*, Vol.30, No.5, pp. 813-830,1995
52. García M.T., Campos E., Ribosa I, Latorre A., Sánchez-Leal J.. Anaerobic digestion of linear alkyl benzene sulfonates: Biodegradation kinetics and metabolite analysis. *Chemosphere*, In Press, Corrected Proof, Available online 7 April 2005
53. Selberg, A., Tenno, T. (2004) Evaluation of bioremediation of oil-polluted soil using the respirometric OxiTop® method. In *Proceedings of the 4th International Conference on the Establishment of Cooperation between companies and institutions in the Nordic Countries and the Countries in the Baltic Sea Region. Kalmar, Sweden, November 25-27, 2003*, 47-54.
54. Selberg, A. Õliga reostunud pinnase bioremediatsiooni uurimine. Magistritöö, Tartu, 2003.
55. Hayashi Kenshi. A Rapid determination of Sodium *Dodecyl Sulfate* with *Methylene Blue*. *Analytical Biochemistry* 67, 503-506 (1975)
56. Pradyot Patinai K, Ph. D. *Handbook of Environmental analysis*. Chemical Pollutants in Air, Water, Soil and Solid Wastes.
57. Masaaki Koga, Yasushi Yamamichi, Jasuyo Nomoto, Maki Irie, Tohifumi Tanimura and Tetsutaro Yoshinaga. *Rapid Determination of Anionic Surfactants*

*by Improved Spectrofotometric Method Using Methylene Blue.* Analytical Sciences June 1999, Vol. 15

58. SR-100 Series. Emulsifying Soil Remediation Agent and Structured Deactivation Technology. Technical Bulletin