

VILNIAUS UNIVERSITETAS
EKOLOGIJOS IR APLINKOTYROS CENTRAS

Vytautas Eidikonis
II kurso magistrantas

**LIGNINO ATLIEKŲ PRITAIKYMAS NAFTOS PRODUKTŲ SORBCIJAI
IR DEGRADACIJAI**

Magistrinis darbas

(Ekologija)

Moksliniai vadovai:

dr. S. Grigiškis,
dr. G. Ignatavičius

VILNIUS, 2006

TURINYS

1. ĮVADAS	5
2. LITERATŪRINĖ APŽVALGA	6
2.1. Sorbentai ir jų savybės	6
2.2. Ligninų naudojimas sorbcijai	7
2.2.1. Hidrolizuotas ligninas	8
2.2.2. Modifikuotas ligninas	9
2.3. Naftos produktais užteršto grunto biologiniai valymo būdai	10
2.3.1. Biodegradacija	11
2.3.2. Biovėdinimas	13
2.3.3. Biokaupai	14
2.3.4. „Landfarmingas“	15
2.3.5. Kompostavimas	16
2.3.6. Fitoatstatymas	16
3. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI	19
4. PRIETAISAI, MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI	20
4.1. Naudota aparatūra	20
4.2. Naudotos medžiagos	20
4.3. Mitybinių terpių ir tirpalų paruošimas	21
4.3.1. „Oxoid“ mitybinė terpė	21
4.3.2. Agarizuota mineralinė terpė	21
4.3.3. Sterilus dyzelinas	21
4.3.4. 0,9 % natrio chlorido tirpalas	22
4.3.5. 0,06 % nitroamofoskos tirpalas	22
4.4. Mikroorganizmų kiekio nustatymas	22
4.4.1. Tiriamųjų mėginių praskiedimas	22
4.4.2. Praskiestų mėginių išsėjimas	23
4.4.3. Rezultatų apskaičiavimas	23
4.5. Hidrolizuoto lignino įtakos dyzelino biologiniam skaidymui grunte tyrimas	24
4.6. Baltųjų dobilų (<i>Trifolium repens L.</i>) poveikio biologiniam dyzelino skaidymui grunte tyrimas	24

4.7. Absorbcijos galios nustatymas	25
4.8. Naftos ir jos produktų kiekio nustatymas	25
4.9. Rezultatų apdorojimas	26
5. REZULTATAI	27
5.1. Hidrolizuoto lignino ir lignosilicio sorbcinių galių nustatymas	27
5.2. Hidrolizuoto lignino ir lignosilicio toksiškumo <i>Arthrobacter sp. N3</i> štamui nustatymas	28
5.3. Hidrolizuoto lignino įtaka dyzelino biologiniam skaidymui	29
5.4. Baltųjų dobilų (<i>Trifolium repens L.</i>) poveikis biologiniam dyzelino skaidymui	34
6. REZULTATŲ APTARIMAS	39
7. IŠVADOS	41
LITERATŪRA	42

TERMINAI IR APIBRĖŽIMAI

Aeracija	– vėdinimas, dirvožemio oro apykaita su atmosferos oru.
Biodegradacija	– teršalų biologinis valymas.
Bioprieinamumas	– mikroorganizmų sąveika su organiniais junginiais.
Eliuatas	– tirpalas, turintis iš adsorbento išplautų medžiagų.
Gruntas	– natūraliu ar technogeniniu būdu susidariusios purios/birios nuogulos, sudarančios daugiakomponentę sistemą iš kietų dalelių, vandens ir oro, įskaitant dirvožemį-gamtos išteklius (negyvosios gamtos komponentą).
Grunto užteršimas naftos produktais	– lengvųjų ar sunkiųjų angliavandenilių koncentracija grunte, viršijanti foninį lygį. Foninis angliavandenilių lygis: lengvųjų – 10 mg/kg s. g.(miligramų kilograme sauso grunto); sunkiųjų – 50 mg/kg s.g.
Lengvieji angliavandeniliai	– angliavandeniliai, kurių molekulėje yra nuo 6 iki 28 anglies atomų. Lengvieji angliavandeniliai skiriami į benzino eilės (C ₆ -C ₁₀) ir dyzelino eilės (C ₁₀ -C ₂₈) angliavandenilius.
Nafta	– tai aliejingas, tamsios spalvos, specifinį kvapą turintis degus skystis, kurį sudaro apie tūkstantis atskirų cheminių junginių. Pagrindinė sudedamoji dalis yra angliavandeniliai – apie 90–95 % naftos masės. Kitą dalį, apie 5–10 %, sudaro sieros, azoto, deguonies ir metalų junginiai.
Naftos produktai	– įvairių angliavandenilių mišiniai, gauti perdirbant naftą.
Sunkieji angliavandeniliai	– angliavandeniliai, kurių molekulėje yra daugiau kaip 28 anglies atomai.
Šalutinis produktas	– nepagrindinis produktas, susidarantis gamybos proceso metu.
Valymas „ex situ“	– tai toks užteršto grunto ir požeminio vandens valymo metodas, kai užteršta terpė yra išimama iš natūralios slūgsojimo vietos ir valoma specialiuose įrenginiuose.
Valymas „in situ“	– tai toks užteršto grunto ir požeminio vandens valymo metodas, kai užteršta terpė valoma jos natūralaus slūgsojimo vietoje.

1. ĮVADAS

Dauguma žmonių pasineria į kasdieninio gyvenimo rūpesčius, nekreipdami dėmesio į aplinką ir net kartais sąmoningai to nepastebėdami. Pastaraisiais metais nerimą kelia senkantys gamtiniai išteklių ir didėjantis aplinkos užterštumas, besikaupiantys teršalai ir atliekos.

Vienas iš pagrindinių organinių teršalų yra nafta ir įvairūs jos produktai (mazutas, mineraliniai tepalai, žibalas, dyzelinas ir kt.). Vis daugiau šių teršalų patenka į gruntą, vandenį ir sukelia pavojų aplinkai, žmogaus sveikatai. Tai atsitinka dėl avarijų, kai nuo bėgių nurieta cisternos, ar naftos produktai laikomi netinkamose talpose, skęstant tanklaiviams (Baltrėnas, Vaišis, 2003) ir t. t.

Lyginant su stambiomis Vakarų Europos ar Amerikos šalimis, Lietuvoje gruntas naftos produktais yra teršiamas mažiau. Deja, mes turime gana didelį sovietų armijos palikimą. Buvusiose karinėse bazėse aptinkami labai užteršti naftos produktais grunto plotai. Toks gruntas turi būti valomas, kadangi jame esantys teršalai gali skliti į aplinką garuodami ar, dar blogiau, migruodami gilyn ir užteršdami gruntinius vandenius. Todėl šiai problemai spręsti turi būti pritaikomi efektyvūs naftos produktais užteršto grunto valymo metodai. Šiuo metu plačiai pasaulyje yra taikomas biologinis grunto valymo metodas, tačiau, naudojant šį valymo metodą, ne visada yra pasiekiami norimų rezultatų, kadangi didelę įtaką grunto išvalymui turi teršalų tipas ir jų savybės bei koncentracija. Ypač didelės naftos teršalų koncentracijos apsunkina grunto valymą, nes tokios koncentracijos yra toksiškos naftą degraduojantiems mikroorganizmams (Bewley et al., 1989). Nemažą įtaką išvalymui turi ir teršalų tipas. Vieni teršalai iš grunto pašalinami greitai, kiti reikalauja ilgesnio laiko tarpo. Pvz.: lengvosios naftos frakcijos, dyzelinis kuras lengviau įsisavinamos naftą oksiduojančių mikroorganizmų nei sunkiosios frakcijos (mazutas, dervos) (Atlas, 1988).

Vis plačiau pradedamas taikyti fitoatstatymo metodas, naudojant augalus naftos teršalų pašalinimui iš grunto, kadangi šis valymo būdas reikalauja mažiau priežiūros už kitus biologinio valymo metodus (Landmeyer, 2001).

Šiuo darbu buvo siekiama sukurti naują kompleksinę užteršto naftos produktais grunto valymo technologiją, kuri apimtų biodegradaciją aktyviais naftą oksiduojančiais mikroorganizmais ir fitoatstatymą.

2. LITERATŪRINĖ APŽVALGA

2.1. Sorbentai ir jų savybės

Pasaulinės ekonomikos augimas neatsiejamai susijęs su didėjančiu naftos produktų naudojimu daugelyje veiklos sričių: transporte, šilumos, elektros gamyboje ir kt. Šių veiklų pasekoje naftos produktai neišvengiamai patenka į dirvožemį ir jį užteršia.

Naftos produktų surinkimui yra naudojami sorbentai.

Sorbentai (adsorbentai) – tai kietieji kūnai, gebantys sugerti (adsorbuoti, absorbuoti) nemažą kiekį naftos ar jos produktų. Daugelis jų pasižymi greita sorbcija ir efektyvumu (Jankevičius, Liužinas, 2003).

Pagal medžiagos kilmę naftos produktų sorbentai yra klasifikuojami į tris grupes: sintetinius, natūralius neorganinius ir natūralius organinius sorbentus.

Sintetiniai sorbentai – dirbtinės kilmės polimerinės medžiagos, kurios dažniausiai yra gaminamos iš polipropileno pluošto. Šie sorbentai pasižymi didele sorbcine galia naftos produktams. Dauguma sintetinių sorbentų savo svorio vienetu gali absorbuoti nuo 5 iki 10 svorio vienetų naftos. (Baltrėnas, Vaišis, 2003).

Natūralūs neorganiniai sorbentai. Šių sorbentų grupei priskiriami moliai, diatomitai, ceolitai, vulkaniniai pelenai, vermikulitas, pemza, ir t. t. Šios medžiagos randamos gamtoje, uolienų pavidalu. Neorganiniams sorbentams būdinga nedidelė sorbcinė galia naftos produktams.

Natūralūs organiniai sorbentai – tai perspektyviausia sorbentų rūšis naftai ar jos produktams surinkti. Šių sorbentų grupei priskiriami šiaudai, durpės, pjuvenos, medžio atliekos, kukurūzų stiebai, plunksnos, vilna, ir kitos anglies turinčios medžiagos. Natūralūs organiniai sorbentai randami gamtoje arba yra antrinė žaliava perdirbimo pramonės. Jie pasižymi didele sorbcine galia naftai ar jos produktams. Dauguma šių sorbentų savo svorio vienetu gali sugerti nuo 1 iki 10 svorio vienetų naftos (Jankevičius, Liužinas, 2003; Baltrėnas, Vaišis, 2003).

Natūralių organinių sorbentų privalumai:

- atsinaujinantys žaliavos išteklių;
- mažesnė neigiama įtaka ekosistemoms;
- mažesni grunto valymo įkainiai.

Natūralūs organiniai sorbentai yra tinkamiausi naudoti užteršto grunto valymo technologiniame procese. Jie pagerina grunto struktūrą, sumažina bendrą teršalų kiekį dirvožemyje sudarydami palankias sąlygas naftą oksiduojančių mikroorganizmų veiklai. Natūralūs organiniai sorbentai naudojami dėl šių priežasčių:

- sukaupia ir palaiko drėgmę valomajame grunte;
- praturtina gruntą biogeniniais elementais;
- pagerina grunto aeravimą (vėdinimą).

2. 2. Ligninų naudojimas sorbcijai

Ligninas yra svarbi lignoceliuliozės sudedamoji dalis, kuri susidaro fotosintezės metu. Skirtingos medžių rūšys turi skirtingą lignino kiekį: nuo 20 iki 30 proc. (Wayman, Parekh, 1990). Ligninas yra daugiafunkcinis fenolio polimeras, turintis hidroksilo, karboksilo ir karbonilo grupes. (Dizhbite et al., 1999).

Lignoceliuliozės biomasė yra naudojama kuro – etanolio gamybai, o kaip šalutinis produktas susidaro hidrolizuotas ligninas (Wayman, Parekh, 1990).

Hidrolizuotą ligniną sudaro ligninas, celiuliozė ir kiti komponentai, kurių santykis priklauso nuo lignoceliuliozės sudėtinių dalių, ir nuo hidrolizės sąlygų. Taigi, hidrolizuotas ligninas yra makromolekulinė, netirpi, turinti poringą struktūrą medžiaga, kurios savybės lemia jos naudojimą sorbcijai (Dizhbite et al., 1999).

Sorbcija – tai procesas, kurio metu vienos medžiagos sugeria kitas. Šis procesas susideda iš adsorbcijos ir absorbcijos.

Adsorbcija – tai procesas, kai kokio nors medžiaga sukimba su kieto sorbento dalelių paviršiumi.

Absorbcija – tai procesas, kurio metu medžiaga sorbuojama sorbento dalelių porų viduje (Mickienė, 1989).

Sorbcija taikoma daugelyje žmogaus ūkinės veiklos sričių: chemijos pramonėje – medžiagų gryninimui, aplinkosaugoje – dirvožemio ir vandens valymui nuo teršalų ir kt. Sorbcijos efektyvumas ir greitis priklauso nuo sorbuojamos medžiagos koncentracijos, temperatūros ir kitų sąlygų. Taip pat sorbcijos efektyvumą įtakoja pradinės sorbento savybės: poringumas, specifinis paviršiaus plotas ir kt.

2. 2. 1. Hidrolizuotas ligninas

Hidrolizuotas ligninas – šalutinis produktas susidarantis hidrolizuojant lignoceliuliozės biomasę. Hidrolizuoto lignino savybės (hidrofobiškumas, lengvumas, poringumas, specifinis paviršiaus plotas) lemia efektyvią ir greitą adsorbciją įvairiems organiniams, neorganiniams junginiams ir metalams (Dizhbite et al., 1999).

Organinių junginių adsorbcija sorbento dalelių paviršiumi priklauso nuo organinės molekulės jonizacijos potencialo verčių. Autorių (Tarasevich et al., 1995) atlikti tyrimai parodė, kad hidrolizuotas ligninas adsorbuoja organinius junginius jonizacijos potencialų srityse nuo 9 iki 11,5 eV. Todėl jis gali chemiškai sorbuoti tokius organinius junginius kaip fenolą, difenil aminą, furfurolą, benzoinę rūgštį, nitrobenzeną, aniliną, difenil oksidą ir daugelį kitų. Taip pat gali sorbuoti ir naftos teršalus. Hidrolizuotas ligninas naudojamas kaip sorbentas naftos produktų surinkimui nuo kieto paviršiaus bei kaip filtras nafta užteršto vandens valymui (Nenkova, 2004).

Hidrolizuoto lignino sorbcinė galia priklauso ne tik nuo organinių junginių jonizacijos potencialo verčių, bet ir nuo jų koncentracijos, tipo, lignino kiekio medžiagoje. Autorių (Yang, Ladisch, 1990) atlikti tyrimai su hidrolizuotu ligninu, parodė, kad hidrolizuoto lignino adsorbcijos galia įvairiems alkoholiams didėja didėjant alkoholių koncentracijai. Hidrolizuotas ligninas savo svorio vienetu gali adsorbuoti nuo 1,3 iki 2,7 tūrio vienetų butanolio, nuo 0,5 iki 0,73 tūrio vienetų etanolio. Kietos ir minkštos medienos hidrolizuotas ligninas, turintis 90 % lignino, pasižymi didesne sorbcine galia ir greičiu, nei spygliuočių medienos hidrolizuotas ligninas, turintis 51,2 % lignino (Tarasevich et al., 1995).

Hidrolizuotas ligninas gali būti naudojamas aplinkosaugos srityje, teršalams iš užteršto dirvožemio ir vandens šalinti. Autorių (Zhuang et al., 2003; Zuman, Rupp, 2002) atlikti tyrimai parodė, kad hidrolizuotas ligninas gali jungtis su sunkiųjų metalų jonais: Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Al^{3+} , Ni^{2+} ir kt. Šie metalų jonai yra imobilizuojami hidrolizuoto lignino struktūroje ir taip pašalinami iš aplinkos.

2. 2. 2. Modifikuotas ligninas

Hidrolizuotą ligniną chemiškai modifikuojant amonio junginiais susidaro nauja medžiaga – modifikuotas ligninas. Pagrindinių amino grupių įvedimas į lignino struktūrą keičia fizines ir chemines lignino savybes: iš daugiarūgštinio šis virsta daugiabaziniu, tai suteikia naujas erdves pritaikant ligniną praktiškai pramonėje, aplinkosaugoje (Zakis et al., 1991). Toks produktas pasižymi didelėmis sorbcijos galiomis įvairiems organiniams ir neorganiniams junginiams, sunkiųjų metalų jonams, dideliu specifiniu paviršiaus plotu ir kt. Modifikuoto lignino sorbcinė galia organiniams teršalams yra didesnė, lyginant su nemodifikuotu ligninu (Tarasevich et al., 1995).

Modifikuoto lignino savybės priklauso nuo pradinės hidrolizuojamos medžiagos tipo. Spygliuočių medienos hidrolizuotą ligniną modifikavus amonio druskomis, specifinis paviršiaus plotas padidėjo tris kartus, minkštos ir kietos medienos hidrolizuoto lignino specifinis paviršiaus plotas padidėjo du kartus. Specifinio paviršiaus ploto padidėjimas lemia sorbcijos galios padidėjimą įvairiems cheminiams junginiams, pvz.: nemodifikuotas ligninas savo svorio vienetu gali sugerti nuo 0,04 iki 0,12 svorio vienetų fenolio, o modifikuotas ligninas atitinkamai sugeria nuo 0,14 iki 0,2 svorio vienetų fenolio; taip pat modifikuotas ligninas sugeria apie dešimt kartų daugiau Cu^{2+} ir Cr^{3+} , lyginant su nemodifikuotu (Tarasevich et al., 1995).

2 . 3. Naftos produktais užteršto grunto biologiniai valymo būdai

Biologiniai valymo metodai yra grindžiami gyvojo pasaulio sugebėjimu panaudoti įvairius organinius junginius kaip anglies ir energijos šaltinį. Mikroorganizmai, dumbliai ir augalai gali suskaidyti, transformuoti įvairius naftos teršalus. Organizmų sugebėjimas skaidyti naftos teršalus priklauso nuo jų gaminamų specifinių fermentų. Ši natūralų apsivalymo procesą galima pagreitinti pagerinus aeraciją, parinkus optimalias pH, temperatūros, drėgmės reikšmes, pridėjus specialias mikroorganizmų rūšis.

Yra žinomos dvi pagrindinės grunto biologinio valymo technologijos:

In-situ;

Ex-situ.

Šios grunto valymo technologijos turi tiek privalumų, tiek ir trūkumų. Taikant in-situ metodą, užterštas gruntas yra valomas vietoje, jo neiškasant. Tai sumažina užteršto grunto valymo darbų kaštus, tačiau valymo procesas vyksta ilgiau ir yra sudėtingiau kontroliuojamas. Be to, išlieka didelė antrinės taršos tikimybė (Agamuthu et al., 2005, Goteborg, 2002).

Ex-situ atveju, užterštas gruntas yra iškasamas ir valomas specialiai tam pritaikytose aikštelėse. Tačiau užteršto grunto iškasimo ir transportavimo darbai brangina valymą. Vienas pagrindinių ex-situ grunto valymo būdo pranašumų prieš in-situ yra tas, kad užterštas gruntas yra greičiau išvalomas, kadangi šiuo atveju gruntą galima homogenizuoti, frakcionuoti ir maišyti, užtikrinant jo vienodumą (Agamuthu et al., 2005, Goteborg, 2002).

Visi biologiniai užteršto grunto valymo metodai yra glaudžiai susiję tarpusavyje, todėl sunku juos griežtai suskirstyti, paminėtini – biodegradacija, biovedinimas, kompostavimas, landfarmingas, fitoatstatymas.

2. 3. 1. Biodegradacija

Biodegradacija – tai procesas, kurio metu vietiniai ar papildomai įvesti mikroorganizmai suskaido organinius junginius per metabolinius kelius į medžiagas, kurias gali naudoti kiti organizmai, o galutiniai organinio junginio oksidacijos produktai yra anglies dioksidas ir vanduo. Šis procesas vadinamas mineralizacija.

Natūraliai gamtoje nėra atliekų, kadangi kiekviena medžiaga yra perdirbama. Vieni organizmai organinės medžiagos naudoja kaip anglies ir energijos šaltinį, kiti – kaip gyvenamąją vietą.

Biodegradacijos procese yra svarbus skaidomo organinio junginio bioprieinamumas. Organinis junginys netirpioje formoje, stipriai adsorbavęsis ant įvairių paviršių, yra sunkiai prieinamas mikrobui. Be to, biodegradacijai svarbus vanduo, kadangi dauguma fermentinių reakcijų vyksta vandenyje (Alexander, 1994).

Naftos angliavandenilių, kaip ir kitų organinių junginių, degradacijos greitis priklauso nuo pradinės naftos teršalų koncentracijos bei tipo, aplinkos sąlygų, mikroorganizmų kiekio užterštoje ekosistemoje. Sunkiosios naftos frakcijos (mazutas, dervos) yra sunkiau įsisavinamos naftą oksiduojančių mikroorganizmų nei lengvosios (benzinas, dyzelinas ir kt.) (Atlas, 1981).

Valant užterštą gruntą in-situ ar ex-situ naftos biodegradacijos dirvožemyje efektyvumas yra padidinamas pridendant azoto ir fosforo trąšų, jei būtina, pH reguliuojančių medžiagų, pučiant orą, parenkant mikroorganizmus, skaidančius konkretų teršalą (Atlas, 1988; Atlas, 1981).

Naftos angliavandenilius oksiduojantys mikroorganizmai (NOM) gamtoje aptinkami dirvožemyje, vandenyje, ore ir t. t., kur yra angliavandenilinė tarša. Jos šaltinis gamtoje yra naftos produktai, sintetinės medžiagos (pesticidai, herbicidai, tirpikliai) (Jankevičius, Liužinas, 2003). Be to, angliavandeniliai įeina į gyvųjų organizmų sudėtį, juos augalai ir mikroorganizmai nuolat sintetina kaip antrinius metabolitus.

Angliavandenilius oksiduojantys mikroorganizmai yra svarbi anglies apytakos cikle dalyvaujanti organizmų grupė. Šiai mikroorganizmų grupei yra priskiriami mikromicetai ir bakterijos. Tarp jų didžiąsą dalį sudaro bakterijos, kurios iš aplinkos sugeba paimti įvairius angliavandenilius ir juos suskaidyti.

Dažnai aplinkoje sutinkamos įvairių genčių (*Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Rhodococcus*) bakterijos, gebančios oksiduoti angliavandenilius. Taip pat naftos produktuose dažniausiai aptinkamos *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Mucor* genčių mikromicetų rūšys (Atlas, 1981; Jankevičius, Liužinas, 2003).

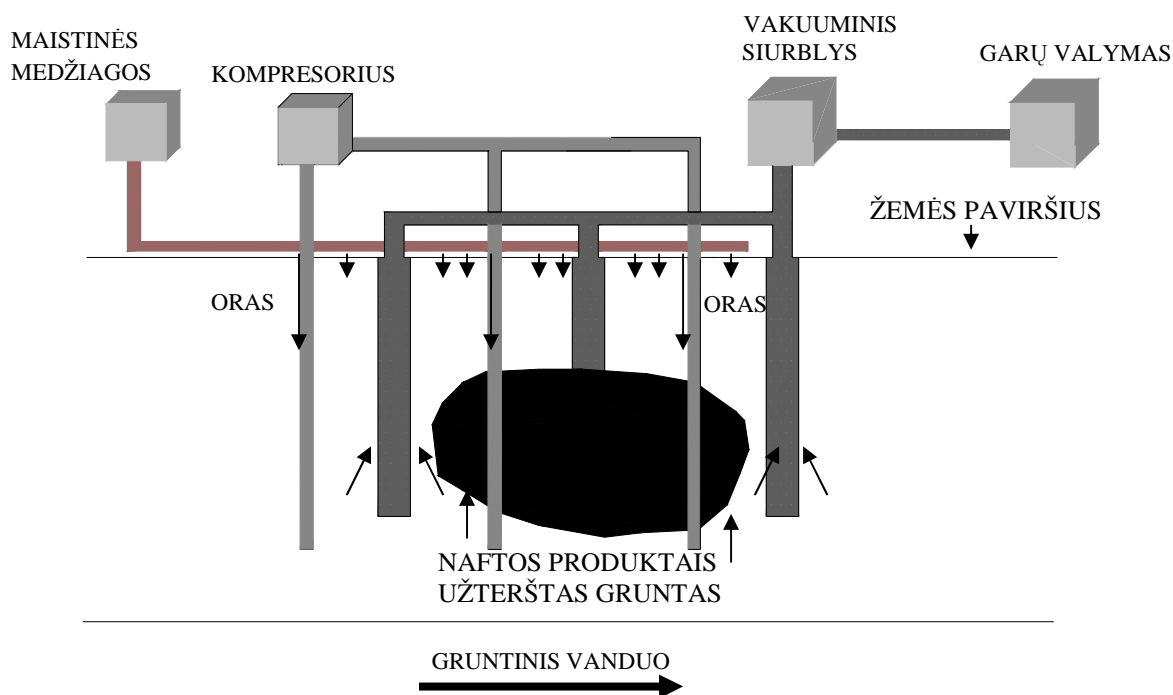
Naftą oksiduojantys mikroorganizmai, priklausomai nuo jų ląstelės sienelės sudėties, skirstomi į dvi grupes: hidrofilinius ir lipofilinius mikroorganizmus. Hidrofiliniai mikroorganizmai utilizuoja (skaido) tik tuos naftos junginius, kurie yra ištirpę vandenyje, o lipofiliniai mikroorganizmai vystosi pačioje naftos plėvelėje. Tai žymiai pagreitina grunto ar vandens apvalymą nuo naftos taršos (Jankevičius, Liužinas, 2003).

Nafta ir naftos produktai yra sudėtingas angliavandenilių kompleksas. Šiuos naftos angliavandenilius vienos mikroorganizmų gentys skaido efektyviau, nei kitos. UAB "Biocentras" iš naftos produktais užterštų vietų išskyrė daug aktyvių mikroorganizmų štamų, iš kurių geriausiai naftos teršalus degraduoja *Arthrobacter* genties štamai (Čipinytė, Grigiškis, 2000; Grigiškis ir kt., 2002).

Pagaminto NOM biopreparato naudojimas naftos teršalų valymui yra perspektyvus teršalų likvidavimo būdas.

2. 3. 2. Biovėdinimas

Biovėdinimas – technologinis procesas, taikomas naftos produktais užteršto grunto valymui in-situ atveju. Biovėdinimo technologija yra efektyvi, kai naftos produktų koncentracija grunte neviršija 25g/kg. Šio proceso metu vamzdžių pagalba oras yra pučiamas į užterštą gruntą, tokiu būdu skatinamas biologinis aerobinis teršalų skaidymas, stimuliuojant vietinių mikroorganizmų augimą. Taip pat į naftos produktais užterštą gruntą yra pilamos maistinės medžiagos. Užteršto grunto valymas gali trukti nuo 6 iki 24 mėnesių, tai priklauso nuo grunto fizinių bei cheminių savybių, teršalų tipo. Biovėdinimas dažniausiai yra taikomas lengvais naftos produktais užterštose vietose, išvalymo laipsnis siekia apie 95 % (Goteborg, 2002).

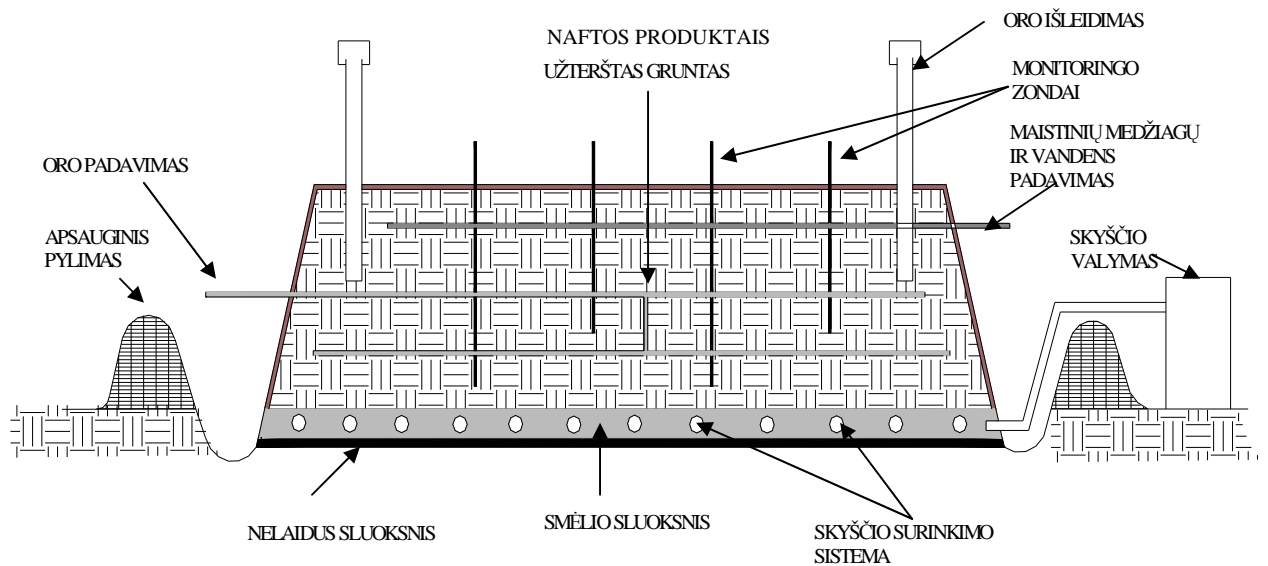


1 pav. Biovėdinimo schema.

2. 3. 3. Biokaupai

Biokaupai yra naftos teršalų valymo technologija, taikoma ex-situ atveju. Naftos produktais užterštas gruntas yra iškasamas ir vežamas į specialią aikštelę, kurioje jis supilamas į 1,5 – 2 metrų aukščio kaupus. Jei naftos produktų koncentracija grunte yra didesnė nei 50 g/kg, gruntas yra skiedžiamas švairiu gruntu, medžio atliekomis, šiaudais ir k.t.. Vietinių mikroorganizmų aktyvumas stimuliuojamas į gruntą pilant maistines medžiagas, vandenį, pučiant orą.

Taikant šią technologiją, grunto valymas iki leidžiamų grunto užterštumo naftos produktais normų, apibrėžtų normatyviniame dokumente LAND 9 – 2002, trunka 3 – 6 mėnesius (Goteborg, 2002, Pope, Matthews, 1993, Jankevičius, Liužinas, 2003).

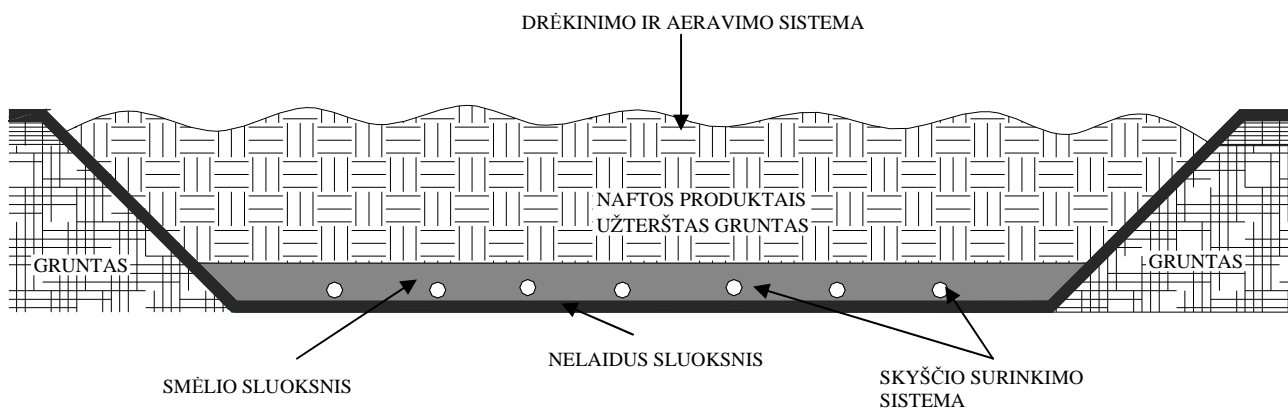


2 pav. Biokaupo schema.

2. 3. 4. “Landfarmingas”

“Landfarmingas” yra užteršto grunto valymo technologija, taikoma ex-situ atveju. Naftos produktais užterštas gruntas yra iškasamas ir vežamas į specialią aikštelę, kurioje paskleidžiamas 35 – 40 cm. storiu. Grunto užterštumas naftos produktais turi neviršyti 25 g/kg. Esant didesniau užterštumui, gruntas maišomas su inertinėmis medžiagomis (smėliu, žvyru) arba su turimu jau išvalytu gruntu. Į užterštą gruntą pilamos papildomos maistinės medžiagos bei teršalus degraduojantys mikroorganizmai. Naftos teršalus degraduojančių mikroorganizmų aktyvumas stimuliuojamas vartant, purenant užterštą gruntą. Reikalinga mikroorganizmams drėgmė susidaro lyjant. Esant nepakankamam kritulių kiekiui, gruntas drėkinamas dirbtinai.

Taikant “Landfarmingo” technologiją, naftos teršalai iš grunto pašalinami iki leidžiamų grunto užterštumo naftos produktais normų, apibrėžtų normatyviniame dokumente LAND 9 – 2002, per 3 mėnesius. (Agamuthu et al., 2005, Goteborg, 2002, Jankevičius, Liužinas, 2003).

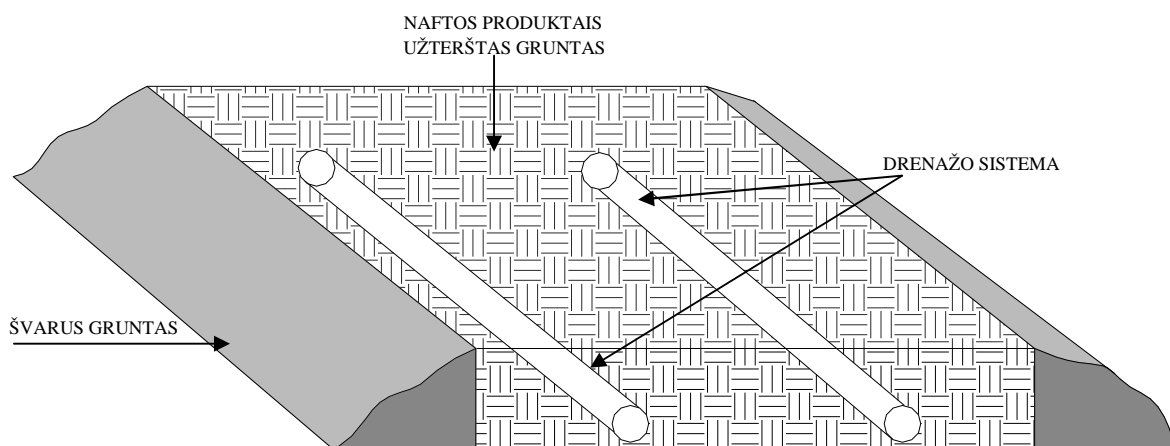


3 pav. Landfarmingo schema.

2. 3. 5. Kompostavimas

Kompostavimas – technologinis procesas, taikomas naftos produktais užteršto grunto valymui ex-situ atveju. Nafta ar jos produktais užterštas gruntas atvežamas į specialiai paruoštą aikštelę ir maišomas su kompostu tokiu santykiu, kad teršalų koncentracija grunte neviršytų 20 g/kg. Kompostas pagerina grunto aeravimą, sukaupia ir palaiko drėgmę valomajame grunte. Taip yra sudaromos palankios sąlygos vietinių mikroorganizmų veiklai. Grunto valymas iki leidžiamų grunto užterštumo naftos produktais normų, apibrėžtų normatyviniame dokumente LAND 9 – 2002, trunka 3 mėnesius (Agamuthu et al., 2005, Goteborg, 2002, Cookson, 1995).

Yra žinomi trys kompostavimo būdai: aeruojamas statinis kompostavimas, mechaniškai maišomas kompostavimas ir kompostavimas pylimuose.



4 pav. Kompostavimo schema.

2. 3. 6. Fitoatstatymas

Fitoatstatymas – teršalų valymo technologija, naudojant augalus. Šis metodas yra ekologiškas ir gali būti alternatyviai taikomas vietoj fizinių ar cheminių aplinkos apvalymo priemonių esant nedidelei taršai organiniais ar neorganiniais junginiais (Jankevičius, Liužinas, 2003).

Fitoatstatymas susideda iš kelių procesų: rizodegradacijos, fitostabilizacijos, fitoakumuliacijos, rizofiltracijos, fitodegradacijos ir fitogaravimo. Šie procesai gali vykti kartu arba individualiai. Tai priklauso nuo valomų teršalų tipo ir nuo vietinės aplinkos sąlygų (Lanmeyer, 2001).

Fitostabilizacija – procesas, kurio metu augalas adsorbuoja toksines medžiagas ant šaknų ar šaknų viduje, taip sutrukdydamas teršalams patekti į gruntinius vandenis.

Rizodegradacija vyksta rizosferoje. Šio proceso metu teršalai yra suskaidomi. Skaidymas vyksta veikiant fermentams, kuriuos gamina ir išskiria dirvos organizmai (bakterijos grybai), esantys rizosferoje (Donnelly, Fletcher, 1994).

Fitodegradacijos metu organiniai teršalai yra įsiurbiami į augalą iš dirvos, vandens, o paskui transformuojami per metabolinius procesus augalų audiniuose (Briggs et al., 1982; Newman, 1995; Schnoor, et al., 1995).

Fitogaravimo metu vandenyje tirpūs teršalai yra pašalinami iš dirvožemio per augalo lapų žioteles (Chappell, 1998).

Fitoatstatymą taikant užteršto naftos produktais grunto valymui, pagerinami įvairūs grunte vykstantys procesai: augalams išskiriant įvairias rūgštis, angliavandenius, alkoholius, padidėja dirvos mikroorganizmų populiacijų gausumas ir jų biologinis aktyvumas; pagerinamos fizikinės ir cheminės dirvožemio savybės; augalams išskiriant deguonį į rizosferą, pagerėja dirvožemio aeracija; imobilizuojami hidrofobiniai organiniai junginiai ir kai kurie sunkieji metalai; skatinamas cheminių junginių (aromatinių angliavandenilių ir kt.) kometabolinis virsmas į mažiau toksiškus metabolitus;

augalams ištraukiant perteklinį vandenį ir pakeičiant vertikalų hidraulinį gradientą, sumažinamas vertikalus teršalų judėjimas link gruntinio vandens (Chang, Carapcioglu, 1998).

Žinoma, kad naftos produktais užterštas dirvožemis yra žalingas daugeliui augalų rūšių, tačiau yra tolerantiškų augalų rūšių, kurios gali augti naftos produktais užterštame dirvožemyje ir tiesiogiai ar netiesiogiai įtakoti teršalų pašalinimą iš dirvožemio. Naftos produktų pašalinimas iš

dirvožemio priklauso nuo dirvožemio, teršalų tipo, augalo šaknų sistemos ir mikroorganizmų koncentracijos rizosferoje. Esant didesnei mikroorganizmų koncentracijai rizosferoje, teršalų degradacija pagreitinėja (Chang, 1998).

Autorių (Hou et al., 2001) atlikti tyrimai parodė, kad daugiametės svidrės (*Lomium perenne L.*) auginimas dyzelinu užterštame dirvožemyje padidino teršalų pašalinimą, pilnai susiformavus šaknų sistemai. Šie eksperimentai parodė, kad augalo šaknų kiekis lemia dyzelino sumažinimą dirvožemyje. Esant didesniai šaknų kiekiui dirvožemyje, dyzelino pašalinimo greitis padidėja.

Ankštiniams ir varpiniams augalams yra būdinga gerai išsivysčiusi šaknų sistema, todėl jie gali būti naudojami naftos produktais užteršto dirvožemio valymo technologijoje (Hou et al., 2001; Pichtel, Liskanen, 2001).

Naftos teršalų utilizacijai pagreitinti, kartu su augalais naudojamos mineralinės trąšos, kompostas, naftos angliavandenilius skaidančių mikroorganizmų kultūros. Šie priedai aktyvina fermentų, dalyvaujančių naftos angliavandenilių oksidacijoje, veiklą. Kompostas suteikia gruntui purumo, todėl geriau vystosi mikroorganizmai, augalai, paspartėja angliavandenilių skaidymas (Jankevičius, Liužinas, 2003; Vouillamoz, Milke, 2001; Palmroth, Pichtel, Puhakka, 2002).

Plačiai pasaulyje yra taikomi biologiniai užteršto naftos produktais grunto valymo metodai. Jie turi ir trūkumų, ir privalumų. Valant gruntą ex-situ būdu pasiekiami efektyvesni išvalymo rezultatai per trumpesnę laikotarpį nei valant in-situ. Teršalų degradacija pagreitinama naudojant aktyvius naftą oksiduojančius mikroorganizmus. Tačiau, ir ši valymo technologija nėra universali, ne visada pasiekiami norimų rezultatų.

Vis plačiau pradedamas taikyti fitoatstatymo metodas užteršto naftos produktais grunto valymui, naudojant augalus. Šios technologijos taikymas yra pigesnis, estetiškai patrauklesnis, reikalaujantis mažiau priežiūros už tradicinius valymo metodus (Landmeyer, 2001; Schnoor et al., 1995).

Šio darbo tikslas – sukurti kompleksinį užteršto naftos produktais grunto valymo metodą, kuris leistų efektyviai išvalyti gruntą iki leidžiamų grunto užterštumo naftos produktais normų, apibrėžtų normatyviniame dokumente LAND 9 – 2002, naudojant lignino atliekas, mikroorganizmus ir augalus.

3. DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Darbo tikslas – sukurti kompleksinį užteršto naftos produktais grunto valymo metodą, naudojant lignino atliekas, mikroorganizmus ir augalus.

Uždaviniai:

1. Nustatyti hidrolizuoto lignino ir lignosilicio sorbcines galias skirtingiems naftos produktams.
2. Ištirti hidrolizuoto lignino ir lignosilicio toksiškumą naftą oksiduojančiam *Arthrobacter sp. N3* štamui.
3. Ištirti hidrolizuoto lignino įtaką dyzelino grunte skaidymui *Arthrobacter sp. N3* štamui.
4. Ištirti baltųjų dobilų (*Trifolium repens L.*) poveikį dyzelino biodegradacijai grunte.

4. PRIETAISAI, MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI

4. 1. Naudota aparatūra

1. Naftos analizatorius "AH-1";
2. Magnetinė maišyklė "MM-5";
3. pH-metras "HI 221";
4. Termostatuojamas kratytuvas "New Brunsvvick scientific Co, USA";
5. Autoklavas "GK-100-2";
6. Laminarinis boksas;
7. Analitinės svarstyklės "KERN";
8. Precizinės svarstyklės "RADWAG";
9. Termostatas "TC-80 M 2";
10. Džiovinimo spinta.

4. 2. Naudotos medžiagos

1. Amonio chloridas (NH_4Cl);
2. Amonio hidrofosfatas ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$);
3. Amonio geležies (II) sulfatas ($(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$);
4. Etanolis, 96 % ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$);
5. Mangano(II) sulfatas (MnSO_4);
6. Kalcio chloridas (CaCl_2) bevandenis;
7. Kalio chloridas (KCl);
8. Kalio dihidrofosfatas (KH_2PO_4);
9. Kalio hidrofosfatas (K_2HPO_4);
10. Cinko acetatas ($(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$);
11. Kepimo mielių ekstraktas;
12. Kazeino hidrolizatas;
13. Druskos rūgštis, 20 % (HCl);
14. Natrio šarmas, 20 % (NaOH);
15. Anglies tetrachloridas (CCl_4);

16. Benzinas;
17. Dyzelinas;
18. Mineralinė alyva (Nigrolas) TAP – 17;
19. Nafta;
20. Panaudota mineralinė alyva M – 10 G2;
21. Pusiau sintetinė alyva (FINA) LL – Plus 10;
22. Žibalas;
23. Mikroorganizmai: *Arthrobacter sp. N3* štamai.

4. 3. Mitybinių terpių ir tirpalų paruošimas

4. 3. 1. “Oxoid” mitybinė terpė

Pasveriamą 13,0 g “Oxoid” mitybinės terpės ir ištirpinama 1 l distiliuoto vandens. Paruošta skysta terpė išpilstoma į 750 ml talpos kolbas po 100,0 ml, užkemšama vatiniiais kamščiais ir sterilinama 40 min. 121°C temperatūroje, autoklave. Agarizuota “Oxoid” mitybinė terpė ruošiama taip pat, tik papildomai įberiamas agaras (15g/l). Išsterilinta agarizuota terpė atvėsinama iki 50 – 45 °C, aseptiškai išpilstoma po 20 – 30 ml į sterilias Petri lėkšteles.

4. 3. 2. Agarizuota mineralinė terpė

Agarizuotos mineralinės terpės sudėtis, g/l: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 0,1; NH_4Cl – 0,2; K_2HPO_4 – 0,25; KH_2PO_4 – 0,25; MnSO_4 – 0,02; $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ – 0,01; CaCl_2 – 0,01; $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$ – 0,005; agaras – 20,0; vandentiekio vandens – 1 l. Visos mineralinės druskos ištirpinamos vandentiekio vandenyje eilės tvarka, po to įberiamas agaras ir pašildoma, kad pilnai jis ištirptų. Paruošta terpė sterilinama 40 min. 121 °C temperatūroje, autoklave. Terpei atvėsus iki 45 – 50 °C, aseptiškai išpilstoma po (20 – 30) ml į sterilias Petri lėkšteles.

4. 3. 3. Sterilus dyzelinas

Į 20 ml tūrio mėgintuvėlį įpilama 5 ml dyzelino, užkemšama vatiniu kamščiu ir sterilinama 15 min. (111 ± 1) °C temperatūroje, autoklave.

4. 3. 4. 0,9 % natrio chlorido tirpalas

Pasveriami 9,0 g natrio chlorido ir ištirpinama 1 l distiliuoto vandens. Tirpalas išpilstomas į 50,0 ml tūrio mėgintuvėlius ir į 250 ml tūrio kolbas atitinkamai po 9,0 ir 90,0 ml, ir sterilinama 40 min. (121 ± 1) °C temperatūroje, autoklave.

4. 3. 5. 0,06 % nitroamofoskos tirpalas

Pasveriami 0,6 g nitroamofoskos ir ištirpinama 1 l distiliuoto vandens. Tirpalo pH sureguliuojamas 20 % natrio hidroksido tirpalu iki ($7,5 \pm 0,2$). Paruoštas tirpalas išpilstomas į 250 ml talpos kolbas po 90,0 ml, ir sterilinama 30 min. (121 ± 1) °C temperatūroje, autoklave.

4. 4. Mikroorganizmų kiekio nustatymas

Mikroorganizmų kiekis sorbente buvo nustatytas Kocho metodu (Alief and Nannipieri, 1995; Pečiulis, 1994; Pimenova 1983).

4. 4. 1. Tiriamųjų mėginių praskiedimas

Mikrobinei taršai nustatyti. Į 250 ml konusinę kolbą su 90,0 ml 0,9 % sterilaus natrio chlorido tirpalo įdedama 10,0 g sorbento. Mišinys inkubuojamas 15 min. (30 ± 1) °C temperatūroje, kratytuve (200 aps./min.). Taip gaunamas $1 \cdot 10^{-1}$ sorbento praskiedimas.

Prisilaikant aseptikos reikalavimų, su pipete imama 1 ml paruoštos sorbento suspencijos ir pilama į mėgintuvėlį, kuriame yra 9,0 ml 0,9 % natrio chlorido tirpalas, gaunamas $1 \cdot 10^{-2}$ praskiedimas. Praskiedimo laipsnis priklauso nuo mikroorganizmų kiekio pavyzdyje.

Mėginių paruošimas toksiškumui nustatyti. Į 250 ml konusinę kolbą su 90,0 ml 0,06 % sterilaus nitroamofoskos tirpalo, sterilia pipete įpilama 0,3 ml sterilaus dyzelino ir pridedama 10,0 g sorbento. Mišinys inkubuojamas 20 val. (30 ± 1) °C temperatūroje, kratytuve (200 aps./min.) naftą skaidančių mikroorganizmų atgaivinimui. Taip gaunamas $1 \cdot 10^{-1}$ sorbento praskiedimas.

4. 4. 2. Praskiestų mėginių išsėjimas

Heterotrofinių mikroorganizmų kiekiui nustatyti, praskiesti sorbento mėginiai buvo išsėti į Petri lėkšteles su “Oxoid” mitybine terpe, naftą oksiduojančių – į lėkšteles su mineraline terpe ir 0,1 ml dyzelino. Sorbento suspensija buvo sėjama iš atitinkamų praskiedimų, priklausomai nuo numanomo bakterijų kiekio tiriamame pavyzdyje. Iš kiekvieno praskiedimo buvo imama po 0,1 ml sorbento suspensijos ir pilama ant atitinkamos terpės paviršiaus Petri lėkštelėse. Steriliu špateliu įtrinant, suspensija paskirstoma po visą terpės paviršių. Užsėtos lėkštelės 72 valandas inkubuojamos termostate $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ temperatūroje. Išaugusios kolonijos skaičiuojamos neatidengus lėkštelių.

4. 4. 3. Rezultatų apskaičiavimas

Mikroorganizmų ląstelių skaičius 1 g sorbento apskaičiuojamas pagal formulę:

$$M = \frac{a \cdot 10^n}{V}$$

M – mikroorganizmų ląstelių skaičius 1 g tiriamo sorbento;

a – mikroorganizmų kolonijų, išaugusių ant mitybinės ar mineralinės terpės lėkštelėse, aritmetinis vidurkis;

n – praskiedimo, iš kurio išsėta, eilės numeris;

V – į lėkštelę išsėtos suspensijos tūris, ml.

4. 5. Hidrolizuoto lignino įtakos dyzelino biologiniam skaidymui grunte tyrimas

Į 600 ml talpos indelius buvo įpilta po 50 g smėlio arba molžemio, kuriuose pradinė dyzelino koncentracija buvo 33 %, ir praskiesta švairiu smėliu ir molžemiu skirtingais santykiais: 1 : 0, 1 : 0,5, 1 : 2, 1 : 6 ir 1 : 13. Po to, pridėta atitinkamai 20, 15, 10, 5 ir 2 % hidrolizuoto lignino ir gautos atitinkamos 280; 190; 100; 45 ir 23 mg/g dyzelino koncentracijos mėginiuose. Taip pat į kiekvieną indelį pridėtas azoto ir fosforo šaltinis – nitroamofoska (0,5 % nuo bendro dyzelino kiekio mėginyje).

Biodegradacijai naudotas *Arthrobacter sp. N3* štamai, kuris buvo gautas iš UAB “Biocentras“ kultūrų muziejaus. Ši kultūra buvo auginama 20 val. 30 °C temperatūroje, kratytuve (200 aps./min.). Į grunto mėginius buvo pilama tiek kultūrinio skysčio, kad naftą oksiduojančių mikroorganizmų pradinis kiekis grunte būtų $1 \cdot 10^7 - 2 \cdot 10^7$ ląstelių/g.

Kontroliniai dyzelinu užteršti grunto mėginiai (be papildomų mikroorganizmų) buvo ruošiami taip pat kaip ir eksperimentiniai, tik nepridedant trąšų ir naftą oksiduojančių mikroorganizmų. Kontroliniuose grunto mėginiuose be hidrolizuoto lignino, dyzelino, nitroamofoskos ir *Arthrobacter sp. N3* štamo koncentracijos buvo tokios pat kaip eksperimentiniuose grunto mėginiuose.

Biologinio skaidymo metu visi grunto mėginiai buvo periodiškai maišomi, jų drėgmė palaikoma 15 – 20 % ribose. Indeliai su užterštu gruntu buvo laikomi 30 ± 2 °C temperatūroje. Dyzelino koncentracija grunte buvo nustatoma kas dvi savaites.

4. 6. Baltųjų dobilų (*Trifolium repens L.*) poveikio biologiniam dyzelino skaidymui grunte tyrimas

Į 350 ml talpos vazonėlius buvo įpilta po 150 g dyzelinu užteršto smėlio ar molžemio, kuriuose po biodegradacijos *Arthrobacter sp. N3* štamu panaudojant hidrolizuotą ligniną, likutinė teršalų koncentracija buvo apie 0,5 ir 2 %. Kontroliniai vazonėliai buvo paruošti sumaišant dyzelinu neužterštą smėlį arba molžemį su hidrolizuotu ligninu santykiu 20 : 1.

Į bandyminius ir kontrolinius vazonėlius buvo užsėti baltieji dobilai (5 sėklos/cm²) ir auginti 13 savaičių laboratorijoje, periodiškai laistant distiliuotu vandeniu.

4. 7. Absorbcijos galios nustatymas

Petri lėkštelėje atsveriamas 5,0 g sorbento, ant jo iš stiklinaitės pilama naftos ar jos produkto ir stikliniu špateliu maišoma tol, kad jie susigertų į sorbentą ir ant lėkštelės neliktų naftos pėdsakų. Pagal svorių skirtumą (sorbentas su teršalu minus pradinis sorbentas) apskaičiuojama sorbento absorbcijos galia (g/g).

4. 8. Naftos ir jos produktų kiekio nustatymas

Naftos produktai iš grunto buvo ekstrahuoti atitinkamu anglies tetrachlorido (CCl₄) tūriu. Ekstrakcija vykdoma 20 min. ant magnetinės maišyklės, 2 – 3 etapais. Toliau ekstraktas filtruojamas filtriniu popieriumi. Perfiltruotame ekstrakto esančių teršalų koncentracija buvo nustatyta infraraudonosios spektrofotometrijos metodu, išmatavus ekstraktų IR-absorbciją esant bangos skaičiui $1/\lambda = 2930 \text{ cm}^{-1}$. Matavimams naudotas naftos analizatorius AH – 1.

Teršalų kiekis grunte apskaičiuojamas pagal formulę (LAND 49-2002):

$$X = \frac{(C - C_0) \times V_1}{V_2} \times n$$

X – mineralinės naftos koncentracija, mg/kg;

C₀ – tuščiojo mėginio analizatoriaus rodmenys (mineralinės naftos koncentracija mg/kg anglies tetrachlorido);

C – mėginio eliuato (ekstrakto) analizatoriaus rodmenys (mineralinės naftos koncentracija mg/kg anglies tetrachlorido);

V₁ – ekstrakcijai sunaudotas anglies tetrachlorido kiekis, ml;

V₂ – ekstrakcijai paimtas grunto kiekis, g;

n – praskiedimų skaičius.

4. 9. Rezultatų apdorojimas

Visi tyrimai buvo kartojami tris kartus. Duomenų apdorojimui, vidurkių skaičiavimui bei grafiniam pavaizdavimui buvo panaudota Microsoft Excel statistinė programa.

5. REZULTATAI

5. 1. Hidrolizuoto lignino ir lignosilicio sorbcinių galių nustatymas

Remiantis literatūriniais duomenimis (Tarasevich et al., 2002) yra žinoma, kad ligninų atliekos pasižymi dideliu sorbciniu talpumu organinėms medžiagoms. Šiuo tyrimu buvo siekiama nustatyti hidrolizuoto lignino ir lignosilicio sorbcines galias skirtingiems naftos produktams (mineralinei, pusiau sintetinei bei panaudotai mineralinei alyvoms, dyzelinui, benzinui, žibalui ir naftai). Sorbcinės galios buvo nustatomos svoriniu metodu.

Atlikus tyrimus su hidrolizuotu ligninu, buvo nustatyta, kad hidrolizuotas ligninas geriausiai sorbavo pusiau sintetinę ir panaudotą mineralinę alyvas, o blogiausiai – benziną (1 lentelė).

Iš pateiktų 1 lentelėje rezultatų taip pat matyti, kad hidrolizuoto lignino sorbcinė galia buvo 2,5 – 3,0 karto geresnė nei lignosilicio.

1 lentelė. Hidrolizuoto lignino ir lignosilicio sorbcinė galia skirtingiems naftos produktams

Naftos produktas	Sorbcinė galia g NP/g hidrolizuoto lignino	Sorbcinė galia g NP/g lignosilicio
Mineralinė alyva (Nigrolas)	1,60 ± 0,02	0,58 ± 0,02
Pusiau sintetinė alyva (Fina)	1,62 ± 0,03	0,58 ± 0,02
Panaudota mineralinė alyva	1,62 ± 0,03	0,57 ± 0,01
Dyzelinas	1,51 ± 0,02	0,52 ± 0,02
Benzinas	1,36 ± 0,01	0,48 ± 0,01
Žibalas	1,39 ± 0,01	0,50 ± 0,01
Nafta	1,41 ± 0,03	0,53 ± 0,02

5. 2. Hidrolizuoto lignino ir lignosilicio toksiškumo *Arthrobacter sp. N3* štamui nustatymas

Biologinio grunto valymo technologijoje yra naudojamos nekenksmingos naftos angliavandenilius skaidantiems mikroorganizmams medžiagos (Jankevičius, Liužinas, 2003), todėl tyrėme hidrolizuoto lignino ir lignosilicio toksiškumą *Arthrobacter sp. N3* štamui, prieš tai nustatant jų mikrobinį užterštumą. Tyrimo rezultatai parodė, kad tiek hidrolizuotas ligninas, tiek lignosilicis labai užteršti heterotrofiniais mikroorganizmais (2 lentelė).

2 lentelė. Heterotrofinių mikroorganizmų kiekio serbente įvertinimas

Sorbentas	Heterotrofų sk./g
Hidrolizuotas ligninas	$1,8 \cdot 10^6$
Lignosilicis	$1,7 \cdot 10^7$

Mikroorganizmų kiekiui sumažinti hidrolizuotas ligninas ir lignosilicis buvo kaitinami 105 °C temperatūroje 1, 2 ir 5 val. Geriausi rezultatai gauti po kaitinimo 5 val.; hidrolizuoto lignino ir lignosilicio užterštumas mikroorganizmais sumažėjo atitinkamai šimtą ir tūkstantį kartų (3 lentelė).

3 lentelė. Mikroorganizmų kiekio kaitintame hidrolizuotame lignine ir lignosilicyje įvertinimas

Sorbentas	Heterotrofų sk. / g		
	1 val.	2 val.	5 val.
Hidrolizuotas ligninas	$3 \cdot 10^5$	$9 \cdot 10^4$	$3,1 \cdot 10^4$
Lignosilicis	$1,2 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^4$

Norėdami ištirti šių sorbentų toksiškumą *Arthrobacter sp. N3* štamui, į iškaitintą hidrolizuotą ligniną ir lignosilicį, kurių pH 6,7 ir 8,7, buvo užpilta naftą oksiduojančių *Arthrobacter sp. N3* bakterijų suspensijos, išaugintos giluminiu būdu, ir išlaikyta 5 bei 14 dienų kambario temperatūroje. Po to, *Arthrobacter sp. N3* štamo bakterijų skaičius sorbentuose buvo nustatytas išsėjant ant mineralinės terpės su dyzelinu, prieš tai jas atgaivinus nitroamofoskos tirpale. Tyrimo rezultatai pateikti 4 lentelėje.

4 lentelė. *Arthrobacter sp. N3* kiekio sorbente įvertinimas

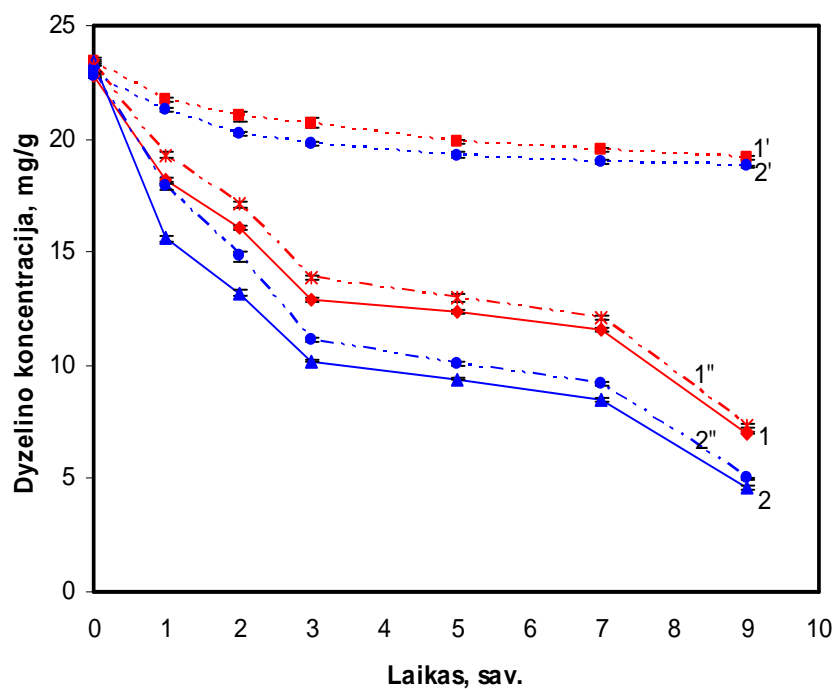
Sorbentas	Ląstelių skaičius 1 g sorbento		
	Pradinis	Po 5 dienų	Po 14 dienų
Hidrolizuotas ligninas	$2,5 \cdot 10^8$	$1,6 \cdot 10^8$	$3,2 \cdot 10^7$
Lignosilicis		$< 1 \cdot 10^5$	$< 1 \cdot 10^4$

Hidrolizuoto lignino ir lignosilicio toksiškumo tyrimai parodė, kad hidrolizuotas ligninas nėra toksiškas naftą oksiduojančiam *Arthrobacter sp. N3* štamui, o lignosilicis turėjo neigiamą poveikį bakterijų gyvybingumui, kadangi jame ląstelių skaičius po 5 ir 14 dienų sumažėjo atitinkamai tūkstantį ir dešimt tūkstančių kartų.

5. 3. Hidrolizuoto lignino įtaka dyzelino biologiniam skaidymui

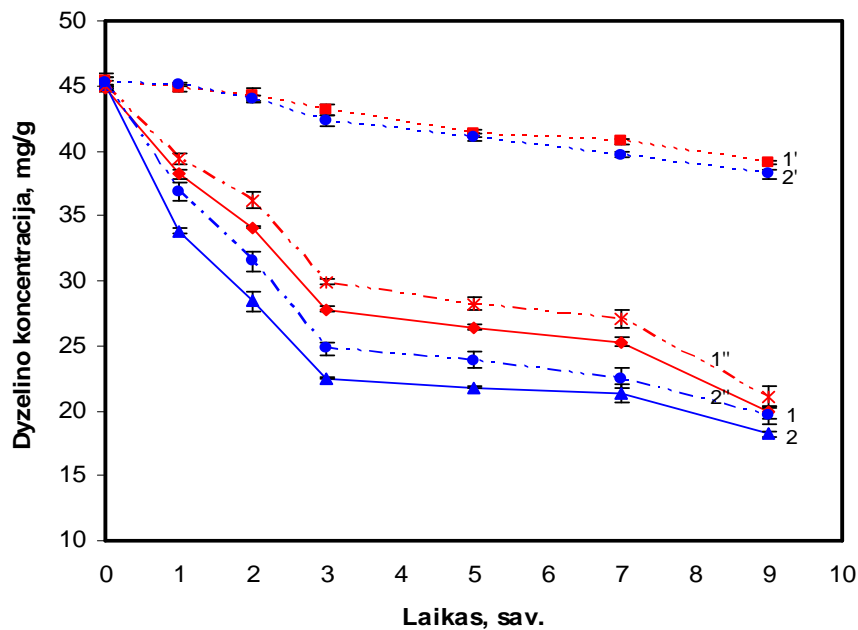
Mūsų atlikti tyrimai parodė, kad hidrolizuotas ligninas *Arthrobacter sp. N3* štamui yra netoksiškas, todėl buvo tiriama hidrolizuoto lignino įtaka biologiniam grunto valymui nuo dyzelino. Buvo svarbu iširti ir dyzelino koncentracijos bei grunto tipo įtaką *Arthrobacter sp. N3* štamo efektyvumui. Dyzelino skaidymas buvo tiriamas smėlyje ir molžemyje. Dyzelino suskaidymo *Arthrobacter sp. N3* štamu priklausomybės nuo dyzelino koncentracijos, hidrolizuoto lignino kiekio ir grunto tipo tyrimų rezultatai pateikti 5 – 9 paveiksluose.

Iš 5 – 9 paveikslų rezultatų matyti, kad hidrolizuotas ligninas turėjo teigiamą poveikį *Arthrobacter sp. N3* štamo efektyvumui skaidant dyzeliną. Nustatyta, kad didinant hidrolizuoto lignino koncentraciją, visuose grunto tipuose dyzelino skaidymo laipsnis didėjo lyginant su kontrole be hidrolizuoto lignino, tik su *Arthrobacter sp. N3* štamu.



5 pav. Dyzelino skaidymo *Arthrobacter sp. N3* štamu dinamika smėlyje (1), molžemyje (2) pridėjus 2 % hidrolizuoto lignino. 1', 2' kontrolė (be *Arthrobacter sp. N3*); 1'', 2'' kontrolė (be hidrolizuoto lignino, tik su *Arthrobacter sp. N3*).

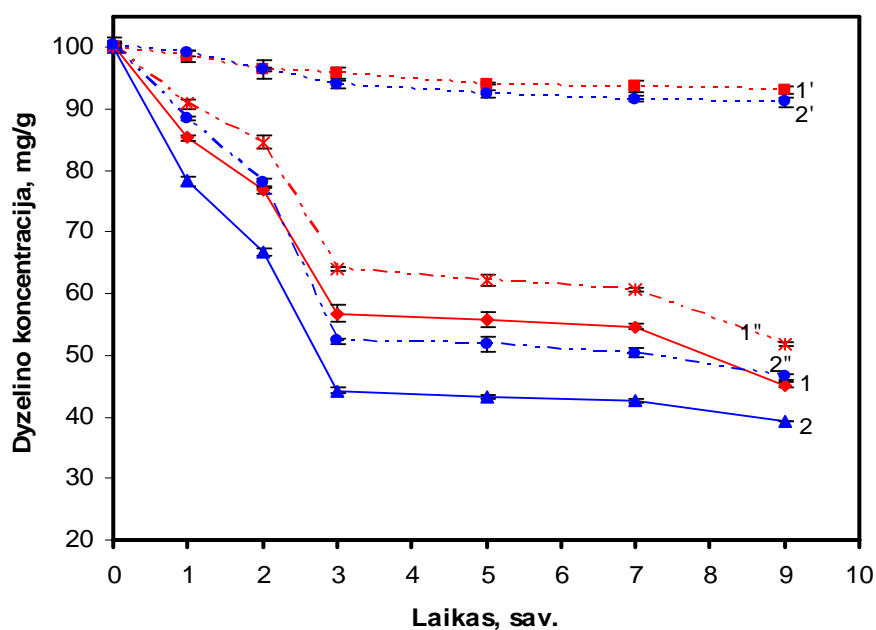
Iš 5 paveikslo dyzelino biodegradacijos kreivių matyti, kad esant nedidelei pradinei dyzelino koncentracijai *Arthrobacter sp. N3* štamas dyzeliną grunte su hidrolizuotu ligninu skaidė panašiai kaip be jo – šio proceso efektyvumas po 9 savaičių buvo tik 1,3 – 1,5 % geresnis. Taip pat nagrinėjant šį paveikslą matyti, kad *Arthrobacter sp. N3* štamas geriau dyzeliną skaidė molžemyje nei smėlyje. Nustatyta, kad po 9 biologinio skaidymo savaičių molžemyje dyzelino koncentracija nuo pradinės 23,4 mg/g nukrito iki 4,6 mg/g (suskaidė 80,3 % dyzelino), tai yra iki leidžiamų grunto užterštumo naftos produktais normų LAND 9-2002, o smėlyje suskaidė tik 69,3 % dyzelino.



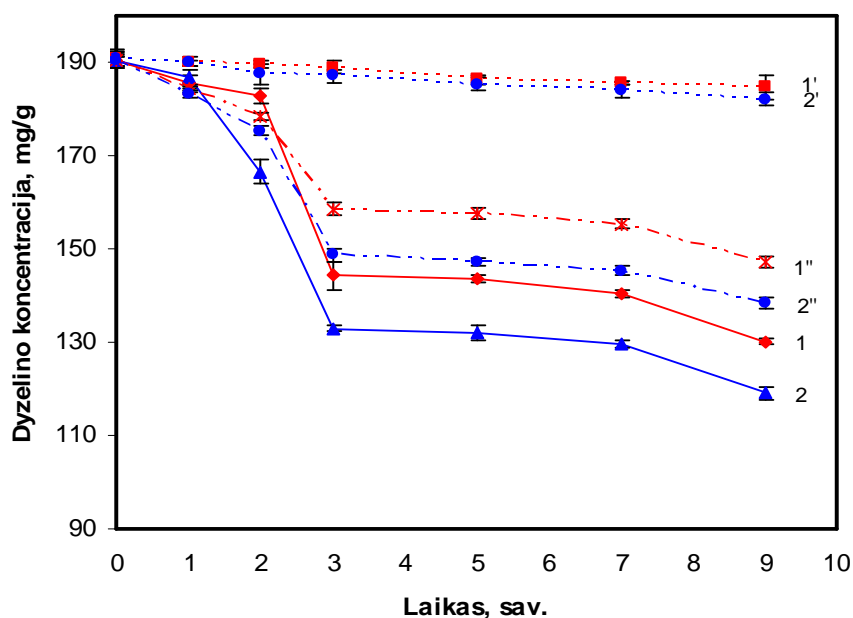
6 pav. Dyzelino skaidymo *Arthrobacter sp. N3* štamu dinamika smėlyje (1), molžemyje (2) pridėjus 5 % hidrolizuoto lignino. 1', 2' kontrolė (be *Arthrobacter sp. N3*); 1'', 2'' kontrolė (be hidrolizuoto lignino, tik su *Arthrobacter sp. N3*).

Nagrinėjant 6 paveiksle pateiktas dyzelino biologinio skaidymo kreives matyti, kad padidinus dyzelino ir hidrolizuoto lignino koncentracijas atitinkamai iki 45,1 mg/g ir 5 % grunte, *Arthrobacter sp. N3* štamas taip pat intensyviau skaidė dyzeliną grunte su ligninu. Taigi, po tokio pat biodegradacijos laikotarpio dyzelino skaidymo efektyvumas padidėjo 2,7 – 3,2 % lyginant su kontrole be hidrolizuoto lignino. Taip pat pastebėta, kad padidinus dyzelino koncentraciją grunte iki 45,1 mg/g, teršalų kiekis molžemyje ir smėlyje po 9 savaičių biologinio skaidymo sumažėjo atitinkamai iki 18,2 ir 19,9 mg/g ir viršijo leidžiamą grunto užterštumo normą (LAND 9-2002).

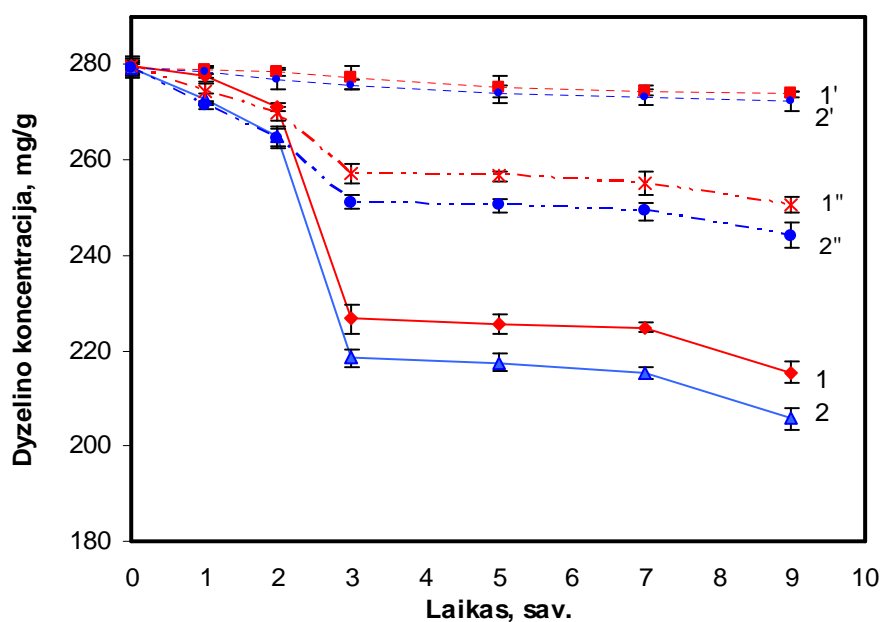
Analizuojant 7 ir 8 paveikslų dyzelino biologinio skaidymo kreives pastebėta, kad *Arthrobacter sp. N3* štamas intensyviau skaidė dyzeliną molžemyje ir smėlyje didinant hidrolizuoto lignino ir dyzelino koncentracijas grunte. Padidinus dyzelino ir hidrolizuoto lignino koncentracijas atitinkamai iki 100,0 ir 190,3 mg/g bei 10 ir 15 %, *Arthrobacter sp. N3* štamas skaidė dyzeliną atitinkamai 6,6 – 7,2 ir 9,0 – 10,1 % intensyviau, negu grunto mėginiuose be lignino.



7 pav. Dyzelino skaidymo *Arthrobacter sp. N3* štamu dinamika smėlyje (1), molžemyje (2) pridėjus 10 % hidrolizuoto lignino. 1', 2' kontrolė (be *Arthrobacter sp. N3*); 1'', 2'' kontrolė (be hidrolizuoto lignino, tik su *Arthrobacter sp. N3*).



8 pav. Dyzelino skaidymo *Arthrobacter sp. N3* štamu dinamika smėlyje (1), molžemyje (2) pridėjus 15 % hidrolizuoto lignino. 1', 2' kontrolė (be *Arthrobacter sp. N3*); 1'', 2'' kontrolė (be hidrolizuoto lignino, tik su *Arthrobacter sp. N3*).



9 pav. Dyzelino skaidymo *Arthrobacter sp. N3* štamu dinamika smėlyje (1), molžemyje (2) pridėjus 20 % hidrolizuoto lignino. 1', 2' kontrolė (be *Arthrobacter sp. N3*); 1'', 2'' kontrolė (be hidrolizuoto lignino, tik su *Arthrobacter sp. N3*).

Didžiausią įtaką dyzelino skaidymui *Arthrobacter sp. N3* štamu hidrolizuotas ligninas, pridėjus jo 20 % turėjo esant grunto užterštumui dyzelinu 279,2 mg/g (9 pav.). Kaip matyti iš pateiktų biologinio dyzelino skaidymo kreivių, esant didelei jo koncentracijai biodegradacija buvo lėtesnė tiek gruntuose su hidrolizuotu ligninu, tiek be jo. Per 9 savaites be hidrolizuoto lignino molžemyje ir smėlyje buvo suskaidyta atitinkamai 12,7 ir 10,4 % dyzelino, o su ligninu 26,3 ir 22,9 %, šiuose grunto mėginiuose biodegradacija buvo 14 – 13 % intensyvesnė nei be hidrolizuoto lignino.

Iš 5 – 9 paveiksluose pateiktų rezultatų taip pat pastebėta, kad vietiniai grunto mikroorganizmai neturėjo reikšmingos įtakos dyzelino sumažėjimui grunte. Per 9 savaites jie suskaidė tik 2 – 15 % dyzelino.

Apibendrinant gautus dyzelino skaidymo grunte *Arthrobacter sp. N3* štamu rezultatus galima teigti, kad dyzelino skaidymo efektyvumas priklausė nuo hidrolizuoto lignino koncentracijos, dyzelino kiekio ir grunto tipo.

5. 4. Baltųjų dobilų (*Trifolium repens L.*) poveikis biologiniam dyzelino skaidymui

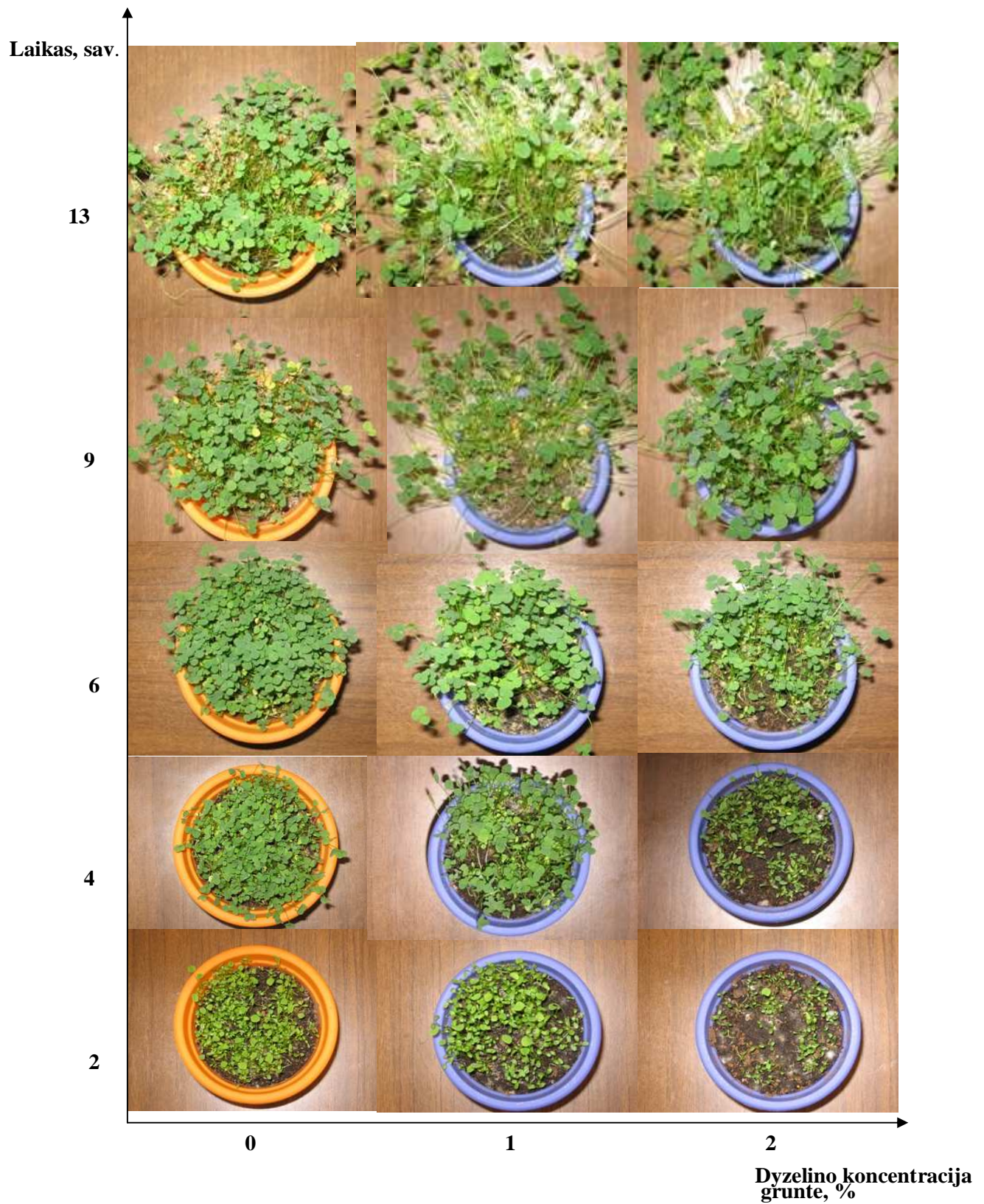
Mūsų atlikti tyrimai parodė, kad dyzelino skaidymas grunte *Arthrobacter sp. N3* štamu buvo gana efektyvus, tačiau ne visuose variantuose buvo pasiektos leidžiamos grunto užterštumo angliavandeniliais normos. Autoriai (Grigiškis ir kiti, 2002) nurodo, kad naftos angliavandenilių koncentracijos sumažinimui grunte iki leidžiamų užterštumo naftos produktais normų, reikia papildomai į gruntą inokuliuoti naftą skaidančius mikroorganizmus, nes skaidymo metu jų kiekis sumažėja, lėtėja procesai. Mes siekėme šiuo tyrimu sumažinti dyzelino koncentraciją grunte ne inokuliuojant į gruntą papildomus mikroorganizmus, o užsėjant baltuosius dobilus (*Trifolium repens L.*), tyrimų rezultatai pateikti 5 lentelėje.

5 lentelė. Dyzelino kiekis grunte po valymo *Arthrobacter sp. N3* štamu ir baltaisiais dobilais

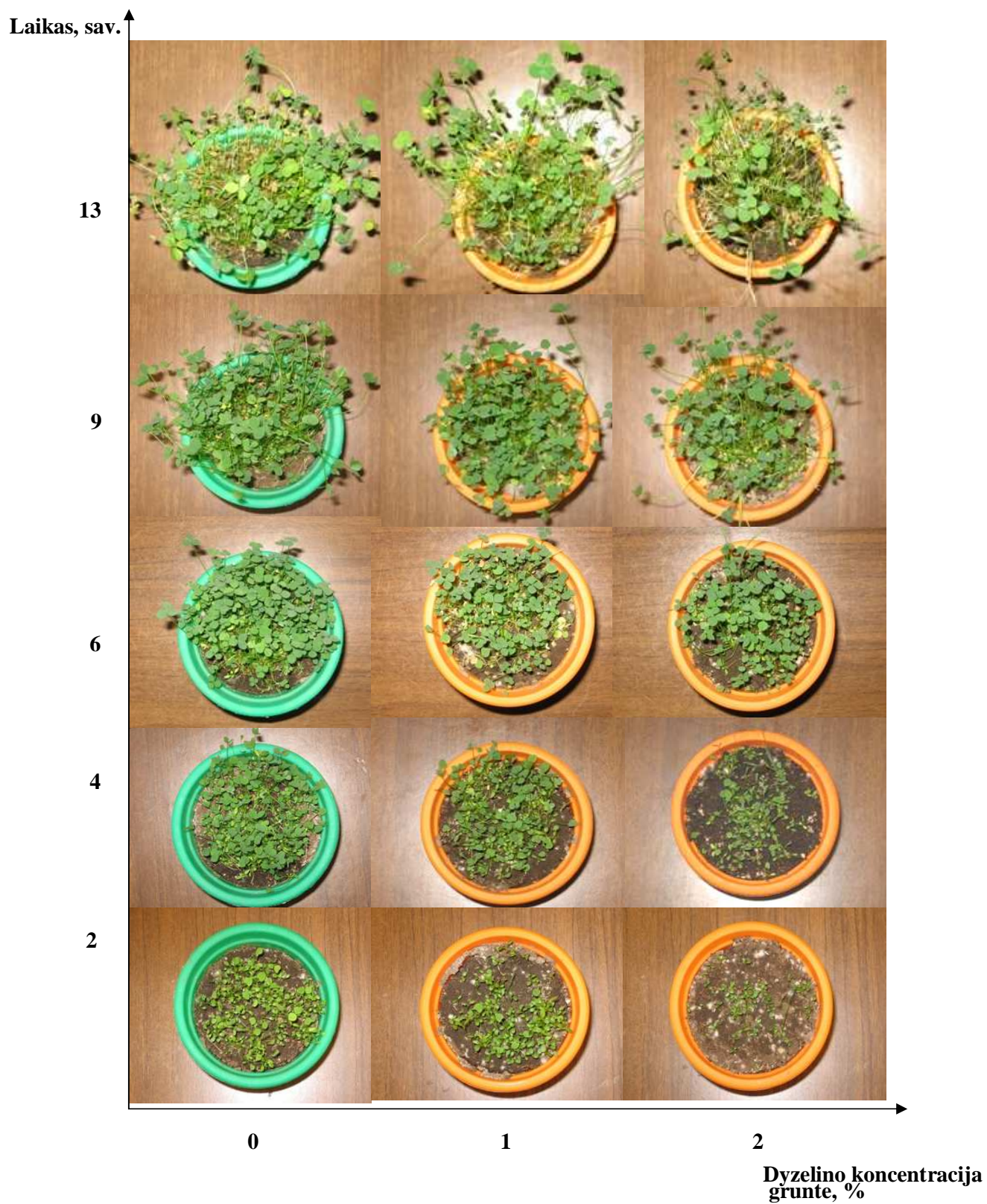
Grunto tipas	Pradinė dyzelino koncentracija, mg/g	Dyzelino koncentracija po valymo		Dyzelino suskaidymas, %
		mikroorganizmais, mg/g	mikroorganizmais ir augalais, mg/g	
Smėlis	44,8 ± 0,2	19,9 ± 0,5	8,3 ± 0,1	81,6
	22,8 ± 0,1	7,0 ± 0,1	1,9 ± 0,1	91,7
Molžemis	45,1 ± 0,3	18,2 ± 0,2	3,0 ± 0,1	93,3
	23,4 ± 0,1	4,6 ± 0,1	1,7 ± 0,1	92,6

Nagrinėjant 5 lentelėje pateiktus rezultatus pastebėta, kad po 22 savaičių valymo naftą skaidančiais mikroorganizmais ir mikroorganizmais bei augalais molžemyje dyzelino koncentracija nuo pradinių 23,4 ir 45,1 mg/g sumažėjo atitinkamai iki 1,7 ir 3,0 mg/g ir neviršijo leidžiamų grunto užterštumo naftos produktais normų (LAND 9-2002). Smėlyje per tą patį laiką dyzelino koncentracija nuo pradinės 22,8 mg/g taip pat nukrito iki leidžiamų normų, tačiau variante, kuriame pradinė dyzelino koncentracija buvo 44,8 mg/g viršijo leidžiamą grunto užterštumo lygį.

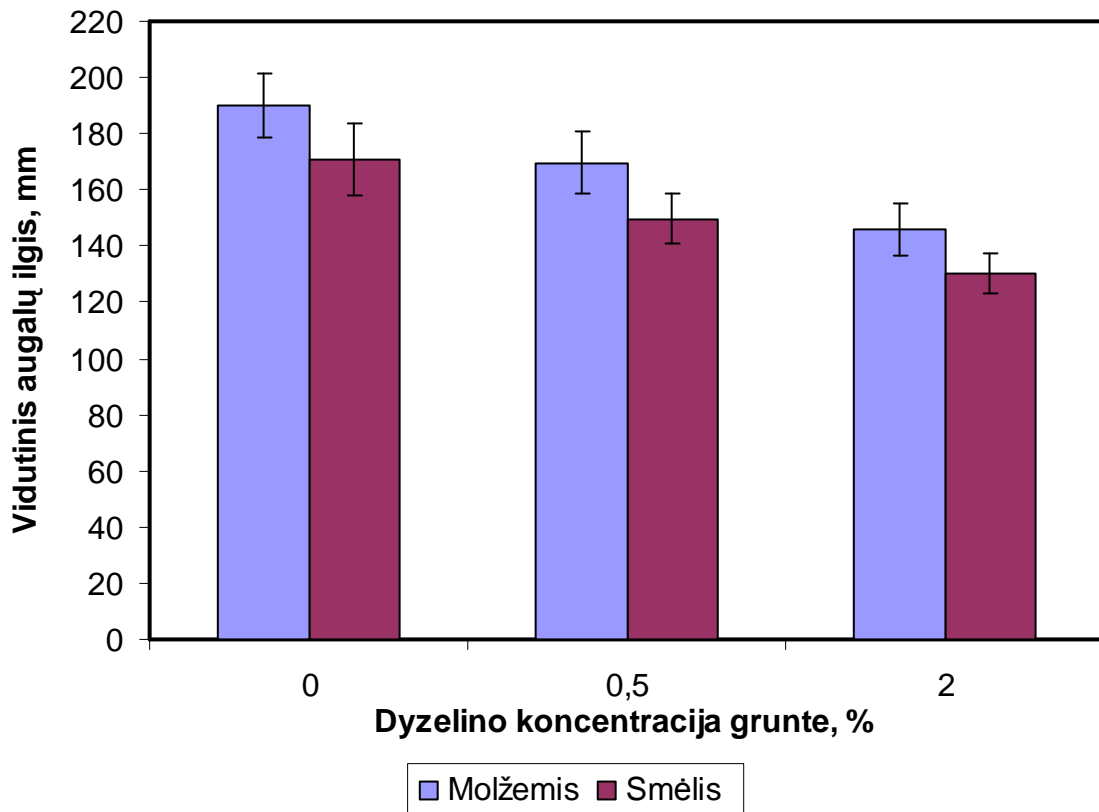
Dyzelinu užterštame dirvožemyje taip pat buvo stebimas baltųjų dobilų sėklų dygimas ir augimas. Pastebėta, kad jų dygimas ir augimas priklausė nuo dyzelino koncentracijos ir grunto tipo. Užfiksuota, kad po 2 savaičių sėklos sudugo visuose variantuose, tačiau grunto mėginiuose, kuriuose pradinė dyzelino koncentracija buvo 2 %, dygo silpniau, o ypač smėlyje, bet po 6 savaičių dydžiu beveik susilygino su augalais augusiais švariame grunte (10– 11 pav.).



10 pav. Baltųjų dobilų (*Trifolium repens L.*) augimas molžemyje, esant skirtingoms dyzelino koncentracijoms



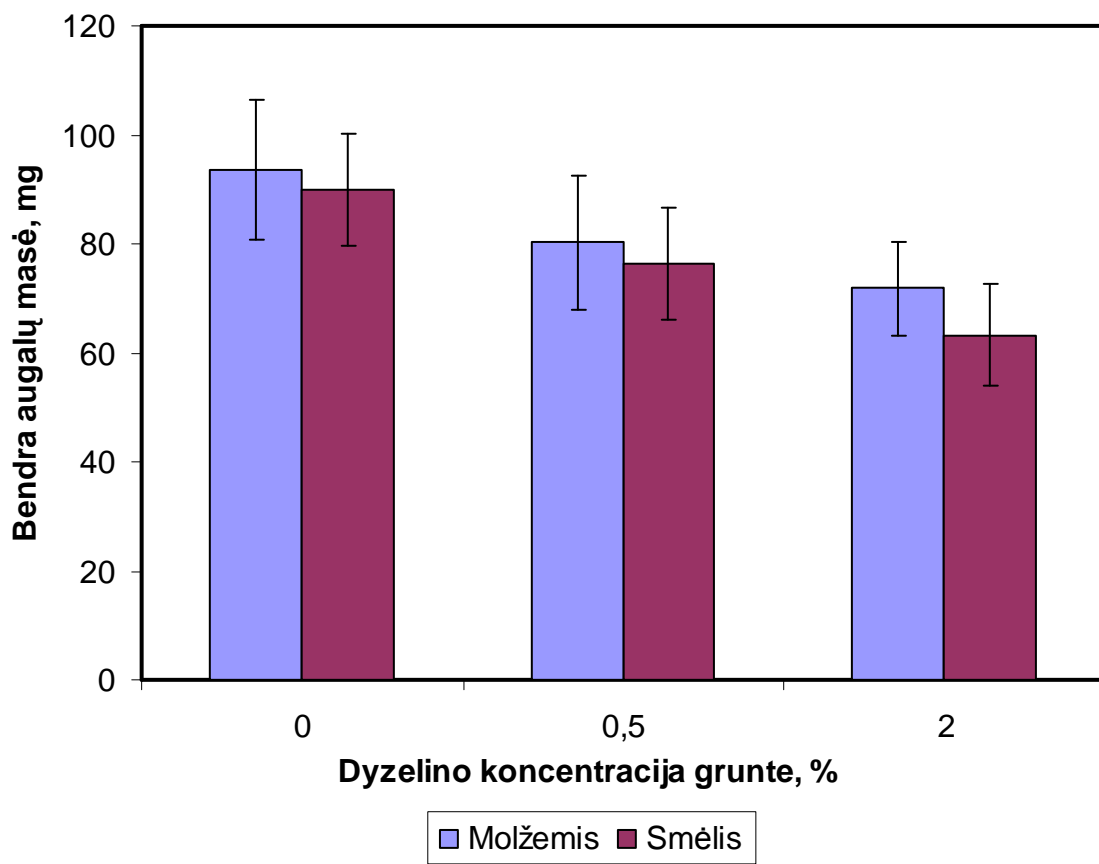
11 pav. Baltųjų dobilų (*Trifolium repens* L.) augimas smėlyje, esant skirtingoms dyzelino koncentracijoms



12 pav. Vidutinis baltųjų dobilų (*Trifolium repens L.*), augintų dyzelinu užterštame molžemyje ir smėlyje, ilgis

Taip pat, po 13 biologinio dyzelino skaidymo savaitių, buvo atlikti baltųjų dobilų morfologiniai tyrimai, (išraunant po 10 augalų iš kiekvieno varianto ir išmatuojant jų ilgį bei nustatant svorį). Rezultatai pateikti 12 – 13 paveiksluose.

Iš 12 – 13 paveiksluose pateiktų rezultatų matyti, kad augalų ilgis ir masė priklausė nuo dyzelino koncentracijos grunte ir grunto tipo. Kuo dyzelino koncentracija buvo mažesnė, tuo šie rodikliai buvo artimesni kontrolinių augalų rodikliams. Didžiausios masės ir ilgio augalai užaugo molžemyje.



13 pav. Bendra baltųjų dobilų (*Trifolium repens L.*), augintų dyzelinu užterštame molžemyje ir smėlyje, masė

6. REZULTATŲ APTARIMAS

Naftos produktais užteršto grunto valymo technologijoje naudojamų sorbentų sorbcinė galia naftos produktams bei toksiškumas angliavandenilius skaidantiems mikroorganizmams yra savybės, lemiančios jų efektyvumą. Atlikus hidrolizuoto lignino ir lignosilicio sorbcinių galių įvairiems naftos produktams tyrimus buvo nustatyta, kad hidrolizuotas ligninas savo svorio vienetu sorbuoja 1,5 svorio vienetų naftos produktų, o lignosilicis – (2,5 – 3,0) karto mažiau. Taip pat tirtas hidrolizuoto lignino ir lignosilicio poveikis angliavandenilius skaidančiam *Arthrobacter sp. N3* štamui. Tyrimai parodė, kad hidrolizuotas ligninas nėra toksiškas *Arthrobacter sp. N3* štamui, o lignosilicis neigiamai paveikė bakterijų gyvybingumą (jame ląstelių skaičius po 5 dienų sumažėjo tūkstantį kartų).

Grunto biologiniam valymui nuo naftos produktų turi didelę įtaką jų koncentracija grunte. Ypač didelės naftos teršalų koncentracijos apsunkina grunto valymą, kadangi jos yra toksiškos naftą skaidantiems mikroorganizmams (Bewley et al., 1989). Mūsų atlikti tyrimai parodė, kad didėjant dyzelino koncentracijai molžemyje ar smėlyje, dyzelino skaidymo intensyvumas *Arthrobacter sp. N3* štamui mažėjo, o ypač smėlyje. Panašūs naftos teršalų skaidymo priklausomybės nuo jų koncentracijos ir grunto tipo tyrimų rezultatai pateikti autorių (Grigiškis ir kiti, 2002; Margesin et al., 1997) darbuose.

Kadangi hidrolizuotas ligninas yra nekenksmingas *Arthrobacter sp. N3* štamui, buvo tiriama jo įtaka *Arthrobacter sp. N3* štamui efektyvumui skaidant skirtingas dyzelino koncentracijas grunte. Atlikus tyrimus paaiškėjo, kad hidrolizuotas ligninas turėjo teigiamą poveikį biologiniam dyzelino skaidymui. Nustatėme, kad didinant hidrolizuoto lignino koncentraciją, smėlio ir molžemio mėginiuose dyzelino skaidymo laipsnis didėjo lyginant su kontrole be hidrolizuoto lignino. Esant mažai pradinei dyzelino koncentracijai (23,4 mg/g grunto), *Arthrobacter sp. N3* štamui dyzeliną molžemio ir smėlio mėginiuose su hidrolizuotu ligninu skaidė panašiai kaip be jo; šis procesas buvo 1,3 – 1,5 % efektyvesnis nei gruntuose be lignino ir per 9 savaites dyzelino koncentracija sumažėjo atitinkamai iki 4,6 ir 7,0 mg/g. Didžiausia įtaka hidrolizuoto lignino dyzelino skaidymui *Arthrobacter sp. N3* štamui buvo pastebėta pridėjus jo 20 % ir esant grunto užterštumui dyzelinu 279,2 mg/g. Nors didelė dyzelino koncentracija lėtino biodegradaciją tiek gruntuose su hidrolizuotu ligninu, tiek be jo, tačiau po 9 savaičių grunto mėginiuose su hidrolizuotu ligninu buvo suskaidyta apie 14 % dyzelino daugiau nei mėginiuose be hidrolizuoto lignino. Šie tyrimai parodė, kad dyzelino

skaidymas *Arthrobacter sp. N3* štamu grunte buvo gana efektyvus, tačiau ne visuose variantuose pavyko išvalyti iki leidžiamų grunto užterštumo angliavandeniliais normų. Be to sumažėjo angliavandenilius skaidančių mikroorganizmų kiekis grunte. Todėl, norėdami paspartinti biologinio valymo procesus grunte, papildomai užsėjome baltaisiais dobilais.

Naudojant baltuosius dobilus (*Trifolium repens L.*) dyzelino skaidymui grunte su hidrolizuotu ligninu bei *Arthrobacter sp. N3* štamu, buvo pastebėtas teigiamas jų poveikis. Tyrimai parodė, kad šie augalai gali augti net esant 2 % dyzelino koncentracijai grunte ir sugeba sumažinti ją iki leidžiamų grunto užterštumo naftos produktais normų. Nustatėme, kad po 22 savaičių valymo *Arthrobacter sp. N3* štamu bei augalais molžemyje dyzelino koncentracija nuo pradinių 23,4 ir 45,1 mg/g sumažėjo atitinkamai iki 1,7 ir 3,0 mg/g, o smėlyje – nuo pradinės 22,8 mg/g – iki 1,9 mg/g. Atlikus baltųjų dobilų morfologinius tyrimus buvo nustatyta, kad augalų ilgis ir masė priklausė nuo dyzelino koncentracijos ir grunto tipo. Didinant dyzelino koncentraciją grunte, šie rodikliai mažėjo auginant dobilus tiek molžemyje, tiek smėlyje, ir tai tik patvirtino autorių (Jankevičius, Liužinas, 2003) gautus rezultatus.

Remiantis gautais tyrimų rezultatais laboratorinėmis sąlygomis buvo sukurta kompleksinė užteršto naftos produktais grunto valymo technologija, naudojant hidrolizuotą ligniną, naftą skaidantį mikroorganizmą *Arthrobacter sp. N3* ir baltuosius dobilus. Pirmo etapo metu, taikant biodegradaciją naftą skaidančiais mikroorganizmais ir naudojant hidrolizuotą ligniną, po 9 savaičių esant dyzelino koncentracijai 2,3 % smėlyje bei 2,3 ir 4,5 % molžemyje buvo pasiektas 80,3 – 59,6 % grunto išvalymas. Antrame etape, papildomai užsėjus baltuosius dobilus, po 13 savaičių dyzelino koncentracija apvalytame grunte neviršijo leidžiamų grunto užterštumo naftos produktais normų.

Ši kompleksinė grunto valymo technologija galėtų būti sėkmingai pritaikoma aplinkosaugoje valyti gruntą nuo naftos teršalų.

7. IŠVADOS

1. Nustatyta, kad hidrolizuotas ligninas savo svorio vienetu sugeria 1,5 svorio vienetų naftos produktų. Taip pat nustatyta, kad hidrolizuotas ligninas nėra toksiškas naftą oksiduojančiam *Arthrobacter sp. N3* štamui.
2. Ištirta, kad hidrolizuotas ligninas pagreitino dyzelino skaidymą grunte *Arthrobacter sp. N3* štamu. Nustatyta, kad esant nedidelėms dyzelino koncentracijoms grunte, hidrolizuotas ligninas biologinį skaidymą pagreitino nežymiai, tačiau grunto mėginiuose su 279,2 mg/g dyzelino ir 20 % hidrolizuoto lignino *Arthrobacter sp. N3* štamas dyzeliną skaidė intensyviau 13 – 14 % nei be lignino.
3. Nustatyta, kad baltieji dobilai (*Trifolium repens L.*) gali augti grunte su maksimalia (2,0 %) dyzelino koncentracija ir sugeba sumažinti jo koncentraciją iki leidžiamų grunto užterštumo normų.
4. Sukurta kompleksinė naftos produktais užteršto grunto valymo technologija. Pirmame etape, taikant biodegradaciją naftą skaidančiais mikroorganizmais ir naudojant hidrolizuotą ligniną, po 9 savaičių, esant dyzelino koncentracijai 2,3 % smėlyje bei 2,3 ir 4,5 % molžemyje, buvo pasiektas 80,3 – 59,6 % grunto išvalymas. Antrame etape, papildomai užsėjus baltuosius dobilus, po 13 savaičių dyzelino koncentracija apvalytame grunte neviršijo leidžiamų grunto užterštumo naftos produktais normų.

Dėkoju už pagalbą darbe: dr. S. Grigiškiui, dr. V. Čipinytei, dr. A. Špokienei, dr. J. Aikaitei.

LITERATŪRA

1. Adam G., Duncan H., 2003. The effect of diesel fuel on common vetch (*Vicia sativa L.*) plants. *Environmental Geochemistry*. 2003. 25. 123 – 30.
2. Agamuthu P., Peng T. Y., 2005. Bioremediation: Nature's Way to a Cleaner Environment. Malay sian Biotechnology Information Centre. 9. www.bic.org.my
3. Alexander M., 1994. Biodegradation and bioremediation. USA : Academic Press. P. 16 – 38, 41 – 68, 177 – 193.
4. Atlas R. M., 1981. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons: an Environmental Perspective. *Microbiological Reviews*. 45. 180 – 209.
5. Atlas R. M., 1988. Biodegradation of hydrocarbons in the environment. *Basic Life Science*. 45. 211 – 222.
6. Bluzmanas P., Ragavičius A., 1987. Mikrobiologija ir virusologijos pagrindai. Vilnius: Mokslas.
7. Baltrėnas P., Vaišis V., 2003. Biosorbentų iš vietinių natūralių medžiagų naudojimo Lietuvoje perspektyvos. *Mokslas ir gyvenimas*. 8 – 9.
8. Baltrėnas P., Lygis D., 1996. Aplinkosauga. Vilnius.
9. Briggs G. G., Bromilow R. H., and Evans A. A., 1982. Relationship Between Lipophilicity and Root Uptake and Translocation of Non – Ionized Chemicals by Barley. *Pesticide science*. 13. 495 – 504.
10. Chang Y. Y., Carapcioglu M. Y., 1998. Plant – enhanced subsurface bioremediation of nonvolatile hydrocarbons. *Journal of Environmental Engineering*. 124.
11. Chappell J., 1998. Phytoremediation of TCE in Groundwater Using Populus. Status report prepared for USEPA, Technology Innovation Office. February. Available at: <http://clu.in.org/products/phytotce.htm>.
12. Cookson, J.T. Jr, 1995, Bioremediation Engineering Design and Application, McGraw-Hill, Inc., New York, NY
13. Coulon F., Pelleter E., Gourhant L., Delille D., 2005. Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub – Antarctic soil. *Chemosphere*. 58. 1439 – 1448.
14. Čipinytė V., Grigiškis S., 2000. Naftą skaidančių mikroorganizmų atranka. *Cheminė technologija*. Nr. 15. Kaunas: Technologija.

15. Čipinytė V., Grigiškis S., 2000. Naftos ir jos produktų skaidymo naftą oksiduojančių mikroorganizmų asociacijomis tyrimas. Aplinkos inžinerija. Nr. 8. Vilnius: Technika.
16. Dizhbite T., Zakis G., Kizima A., Lazareva E., Rossinskaya G., Telysheva G. ir Viesturs U., 1999. Lignin – an expedient bioresource for the production of sorption – active materials. *Bioresource Technology*. 67. 221 – 228.
17. Donnelly P. K. and Fletcher J. S., 1994. Potential Use for Mycorrhizal Fungi as Bioremediation Agents. *Bioremediation Through Rhizosphere Technology*.
18. Goteborg Energi, 2002. Soil Bioremediation: In – Situ vs. Ex – situ (costs, Benefits and Effects). Report prepared by WSP.
19. Grigiškis S., Čipinytė V., Telysheva G., Baškys E., 2002. Degradation of Crude Oil and Fuel Oil (Mazut) in Soil by Arthrobacter Strains and Their Association. *Latvijas Kimijas Žurnals*. 3. 295 – 302.
20. Gunther Thomas, Dornberger Utz, Fritsche Wolfgang., 1996. Effects of regrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. Institut für Mikrobiologie.
21. Hou F. S., Milke M. W., Leung D. W., MacPherson D. J., 2001. Variations in phytoremediation performance with diesel – contaminated soil. *Environmental Technology*. 22. 215 – 222.
22. Jankevičius K., Liužinas R., 2003. *Aplinkos biologinis valymas*. Vilnius: Apyaušris.
23. Landmeyer J. E., 2001. Monitoring the Effect of Poplar Trees on Petroleum-Hydrocarbon and Chlorinated-Solvent Contaminated Ground Water. *International Journal of Phytoremediation*. 3. 61 – 85.
24. Liem L. E., Carrigan I., Blyth J., Fischer M., Henderson A. Enhanced Hydrocarbon Biodegradation in Soil Through the Addition of Humic Substances. *Mining and the Environmental III Conference*.
25. Margesen R., Shinner F., 1997. *Applied and Environmental Microbiology*. 63.
26. Mickienė A., 1989. *Koloidų chemija*. Vilnius.
27. Nenkova S., Garvanska R., Jeleu S., 2004. Fibrous – wood sorbent for elimination oil pollution. *Autex Research Journal*. 4. 157 – 163.
28. Newman A., 1995. Plant Enzymes Set for Bioremediation Field Study. *Environment Science and Technology*. 29.
29. Palmroth M. R., Pichtel J., Puhakka J. A., 2002. Phytoremediation of subarctic soil contaminated with diesel fuel. *Bioresour Technol*. 84.

30. Pečiulis J., 1994. Mikrobiologijos praktikos vadovas. Vilnius.
31. Phytotechnology Technical and Regulatory Guidance Document. 2001.
32. Pichtel J., Liskanen P., 2001. Degradation of Diesel Fuel n Rhizosphere Soil. Environmental Engineering Science. 18. 145 – 157.
33. Пименова М. Н., Гречушкина Н. Н. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. Москва: Издательство Московского университета. 1983 г. 137 – 140.
34. Pope D. F. and Matthews J. E., 1993. Environmental Regulations and Technology. Bioremediation using the land Treatment Concept. Environmental Protection Agency.
35. Schnoor J. L., Light L. A., McCutcheon S. C., Wolfe N. L. and Carriera L. H., 1995. Phytoremediation of Organic and Nutrient Contaminants. Environment Science and Technology. 29. 318 – 323.
36. Tarasevich, Yu.L, Nechaev E.A., Rudenko V.M., Ivanova Z.G. & Kats, B.M., 1995. Obtaining and properties of carbon-mineral sorbents. Kolloidn.Zhurn. 57. 240 – 246.
37. Volkering Frank, 1996. Bioavailability and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. P. 12 – 18, 91 – 116.
38. Wayman, M. & Parekh, S. R., 1990. Biotechnology of Biomass Conversion. Open University Press, Milton Keynes.
39. Yang, Y., Ladisch M. R. and Ladisch C. M., 1990. Alcohol Adsorbtion on Softwood Lignin from Aqueous Solutions. Biotechnology and Engineering. 35. 268 – 278.
40. Zakis G. F., Neiberte B. Ya. & Meksha, M. B., 1991. Amine derivatives of lignin. Khim. Drev. 4. 3 – 21.
41. Zhuang J. M., Walsh T., Lam T., 2003. A new technology for the threatment of mercury contaminated water and soils. Environmental Technology . 24. 897 – 902.
42. Zuman P., Rupp E., 2002. Lignin as Adsorbent and Detoxicant. International Journal of Environmentally Conscious Design and Manufacturing. 10.
43. LAND 9 – 2002. Grunto bei požeminio vandens užteršimo naftos produktais valymo bei taršos apribojimo reikalavimai.
44. LAND 49 – 2002. Infraraudonųjų (IR) spindulių spektrofotometrijos metodas mineralinei naftai (naftos produktams) nustatyti.

45. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Ed. by K. Alief, P. Nannipieri
Academic Press. London. 1995. 146 – 149.
46. <http://ei.cornell.edu/biodeg/>
47. <http://en.wikipedia.org/wiki/biodegradation>.
48. <http://en.wikipedia.org/wiki/phytoremediation>
49. <http://epa.gov/oust/ntbe/netberem.htm>
50. <http://toxics.usgs.gov/definitions/biodegradation.html>
51. <http://www.envirotools.org/factsheets/phytoremediation.shtml>
52. <http://www.dpr.csro.au/ourcapabilities/petroleumgeoscience/>
53. <http://www.oiltracers.com/oilbiodegradation.html>
54. <http://www.phytopet.usask.ca/>

SANTRAUKA

Darbe buvo tiriama lignino atliekų sorbcinė galia naftos produktams, jų pritaikymo biologiniam aplinkos valymui nuo naftos teršalų galimybė.

Nustatyta, kad hidrolizuotas ligninas sorbuoja įvairius naftos produktus, yra netoksiškas angliavandenilius skaidančiam *Arthrobacter sp. N3* štamui ir padidina dyzelino biologinio skaidymo grunte efektyvumą. Taip pat pastebėta, kad baltieji dobilai (*Trifolium repens L.*) gali augti net 2,0 % dyzelino užterštame grunte ir pagreitinti biologinį grunto išvalymą nuo naftos teršalų. Laboratorinėmis sąlygomis, naudojant hidrolizuotą ligniną, naftą skaidančius mikroorganizmus *Arthrobacter sp. N3* ir baltuosius dobilus buvo sukurta kompleksinė užteršto naftos produktais grunto valymo technologija. Pirmame etape, taikant biodegradaciją naftą skaidančiais mikroorganizmais ir naudojant hidrolizuotą ligniną, po 9 savaičių, esant dyzelino koncentracijai 2,3 % smėlyje bei 2,3 ir 4,5 % molžemyje, buvo pasiektas 80,3 – 59,6 % grunto išvalymas. Antrame etape, papildomai užsėjus baltuosius dobilus, po 13 savaičių dyzelino koncentracija apvalytame grunte neviršijo leidžiamų grunto užterštumo naftos produktais normų. Ši kompleksinė grunto valymo technologija galėtų būti sėkmingai pritaikoma aplinkosaugoje valyti gruntą nuo naftos teršalų.

ABSTRACT

This study investigates the sorption capacity of lignin waste for oil products and the possibility of their application for biological cleaning the environment from oil pollutants. We determined that hydrolyzed lignin showed sorption capacity for various oil products, and there was no toxic effect on oil – degrading *Arthrobacter sp. N3* strain. The results indicated that hydrolyzed lignin enhanced the biodegradation of diesel oil in clay and sand. Either the observes demonstrated that white clovers (*Trifolium repens L.*) was able to grow in soil polluted with diesel oil at concentration of 2 % and increased the level of biological clean up from oil pollutants. The complex technology of soil cleaning by using of hydrolyzed lignin, oil – degrading *Arthrobacter sp. N3* strain and white clovers (*Trifolium repens L.*) was created at laboratory conditions. At the first stage, biodegradation of diesel oil was applied using *Arthrobacter sp. N3* strain and hydrolyzed lignin, soil clean up level was 80,3 – 59,6 % after 9 weeks. At the second stage, white clovers (*Trifolium repens L.*) was used additional, the concentration of diesel oil decreased to the permitted level after 13 weeks. This technology of soil cleaning may be successful use for treatment of soil polluted by oil contaminants.