



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI



UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Irena Budnik

Politechnika Poznańska

Stypendystka projektu pt. „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

Mikrobiologiczne centralne rozszczepienie oksyetylenowanych alkoholi

Celem pracy doktorskiej o temacie *Mikrobiologiczne centralne rozszczepienie oksyetylenowanych alkoholi* jest izolacja szczepów bakteryjnych z wody rzecznej oraz sprawdzenie ich zdolności do biodegradacji niejonowego surfaktantu. Określenie mechanizmu biodegradacji modelowego niejonowego środka powierzchniowo czynnego przez wyizolowane szczepy bakteryjne, które będą zidentyfikowane na podstawie drzewa filogenetycznego. Narzędzie analityczne niezbędne w badaniach to chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrem mas.

Niewielką uwagę poświęca się monitorowaniu surfaktantów niejonowych w środowisku wodnym, pomimo faktu, że są one głównym źródłem syntetycznego węgla organicznego odprowadzanego do wód powierzchniowych, głównie z powodu dodawania ich do proszków, płynów i tabletek do prania, zastosowania w biotechnologii, etc. Producenci detergentów są zobowiązani do sprawdzenia biodegradacji każdego komponentu danego produktu. Stosowane w detergentach związki powierzchniowo czynne powinny być degradable w 80% podczas biodegradacji pierwotnej (Siviński P. 1998). Zaleca się więc serię badań przesiewowych do wstępnej selekcji, a także testy symulujące dynamiczne warunki w oczyszczalni ścieków. Pomimo tak surowych sankcji na polskim rynku pojawiają się produkty zawierające w swoim składzie słabo biodegradable surfaktanty. Z tego powodu konieczne są badania ścieżek biodegradacyjnych tych surfaktantów.

Dokładne stężenie surfaktantów niejonowych nie jest monitorowane, albo przynajmniej nie jest publikowane. Wyjątkiem jest rzeka Warta w Poznaniu gdzie NS (niejonowe surfaktanty) są monitorowane od 1990, a rezultaty są wciąż publikowane przez zespół badawczy profesora Zenona Łukaszewskiego (Szymański A. 2001).

Prognozuje się, że w ciągu najbliższych dwóch lat produkcja surfaktantów będzie się silnie rozwijać, a po tym czasie szacuje się wzrost o 3,5-4%. Spośród czterech grup surfaktantów czynnych dominują anionowe i niejonowe związki powierzchniowo czynne (NZP) stanowiąc dwie trzecie udziału w całkowitej produkcji detergentów. Spodziewany wzrost produkcji NZP wzrośnie średnio o 2,4% w 2013 roku a w kolejnych latach do 2018 roku ma osiągnąć 3-3,5%

Realizacja pracy doktorskiej pozwoli oszacować stopień biodegradacji oraz określić podstawowe metabolity procesu wybranych modelowych niejonowych związków powierzchniowo czynnych (polidispersyjnego $C_{12}E_{10}$ i homologów $C_{12}E_9$ i $C_{12}E_4$). Ważne z ekologicznego punktu jest oznaczanie stężenia okyetylenowanych alkoholi i metabolitów biodegradacji, gdyż ich toksyczność dla środowiska jest różna i wzrasta wraz ze wzrostem hydrofobowości (Sparham C. J. 2005). Toksyczność względem *Daphni* wynosi 1,3 mg/L (LD_{50}) dla liniowych $C_{12}E_9$ i 6,1mg/L dla rozgałęzionego $C_{13}E_7$ (Dorn P.B. 1993). Toksyczność względem ryb jest również większa dla liniowych etoksylatów niż dla rozgałęzionych homologów (Wong D. 1997). Toksyczność tych związków związana jest hydrofobowością, jeżeli w związku występuje długi łańcuch hydrofobowy następuje zwiększenie toksyczności (wpływ na wzrost alg). Niektóre badania wykazały, że toksyczność etoksyloowanych alkoholi zależy od cech strukturalnych. Liniowe związki okazały się szczególnie toksyczne (*Daphnia Manga*). Dlatego też, do badań wybrano homolog okyetylenowanego alkoholu zawierający dłuższy łańcuch hydrofilowy ($C_{12}E_9$) i homolog z krótszym łańcuchem okyetylenowym ($C_{12}E_4$).

Proces biodegradacji będzie prowadzony w kontrolowanych laboratoryjnych warunkach pozwalających na określenie wpływu czynników takich jak temperatura czy pH środowiska na proces biodegradacji.

Dotychczasowe badania wykazują, że głównym mechanizmem biodegradacji okyetylenowanych alkoholi jest centralne rozszczepienie w wyniku czego hydrofilowa część molekuly surfaktantu zostaje odcięta w formie poli(glikoli etylenowych). Taki przebieg biodegradacji stwierdzono dla licznych konsorcjów mikroorganizmów obecnych w wodach powierzchniowych, w ściekach i glebie. Nie ma jednak wiedzy na temat udziału poszczególnych szczepów bakteryjnych w tym procesie.

Wybranymi podczas początkowych badań niejonowymi środkami powierzchniowo czynnymi są polidispersyjny okyetylenowany alkohol "surfaktant $C_{12}E_{10}$ " i homolog okyetylenowanego dodekanolu $C_{12}E_9$ zawierający 9 grup okyetylenowych w cząsteczce.

Wyizolowano cztery szczepy bakteryjne a ich zdolność biodegradacji modelowego surfaktantu została potwierdzona w badaniach początkowych. Izolowane szczepy bakteryjne są namnażane w sterylnym środowisku, a jako *inokulum* wykorzystywane w badaniach biodegradacyjnych. Badania procesu biodegradacji są wykonywane w warunkach, gdy

związek powierzchniowo czynny jest jedynym źródłem węgla organicznego. Oprócz badanego środka powierzchniowo czynnego, dodane zostaną składniki odżywcze (mineralne).

Środek powierzchniowo czynny jak również jego metabolity są wydzielane i zatężane ze środowiska wodnego na drodze sekwencyjnej ekstrakcji octanem etylu i chloroformem. Otrzymane ekstrakty po odpowiednim przygotowaniu są analizowane techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z tandemowym spektrometrem mas z elektrorozpraszaniem jako źródłem jonizacji. Wykorzystanie tej techniki pozwala na otrzymanie wielu informacji: od określenia sumarycznego ubytku stężenia oksyetylowanego alkoholu po identyfikację pojawiających się metabolitów procesu biodegradacji. Chromatogramy jonowe wykorzystywane do identyfikacji homologów związku powierzchniowo czynnego i jego metabolitów. Widma masowe służą do identyfikacji poszczególnych pików na chromatogramach jonowych. Monitoring wielu reakcji (pary MRM) wykorzystuje do ilościowego oznaczania homologów, dla których dostępne są wzorce. Możliwości ograniczone są do homologów zawierających od 1 do 9 grup oksyetylenowych w cząsteczce (brak dostępnych wzorców analitycznych dla innych homologów).

Wyizolowane szczepy bakterie namnażane w odpowiedni sposób mogą dość szybko degradować surfaktanty rozkładając je do prostych metabolitów dużo mniej toksycznych dla środowiska naturalnego.

Wyniki badań uzyskane w trakcie realizacji pracy będą mogły być przydatne do rozwiązania problemu dużego stężenia niejonowych związków powierzchniowo czynnych w Wielkopolskich oczyszczalniach ścieków. Ponadto badania pozwolą oszacować, które z mikroorganizmów wyizolowanych z wody rzecznej najskuteczniej radzą sobie z usuwaniem (degradacją) etoksylatów, oraz jaki prawdopodobnym mechanizmem są one biodegradowane.

Wysunięcie takich wniosków z przeprowadzonych badań pozwoliłoby na opracowanie nowych technologii usuwania detergentów z wód powierzchniowych i ścieków, przez modyfikację składu osadu czynnego.

Bibliografia

Dorn P.B., Salanitro J.P., Evans S. H., Kravetz L. „Assessing the aquatic hazard of some branched and linear nonionic surfactants by biodegradation and toxicity.” *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1993: 1751-1762.

Siwiński P., Szymański A., Łukaszewski Z. „Biodegradability of Detergent Powder Surfactants in the River Water Die-Away Test.” *Polish Journal of Environmental Studies*, 1998: 251-256.

Sparham C. J., Bromilow I. D., Dean J. R. „SPE/LC/ESI/MS with phthalic anhydride derivatisation for the determination of alcohol ethoxylate surfactants in sewage influent and effluent samples.” *Journal of Chromatography A*, 2005: 39-47.

Szymański A., Wyrwas B., Jesiołowska A., Kaźmierczak S., Przybysz T., Grodecka J., Łukaszewski Z. 10/5, 2001, s. 371-377. „Surfactants in the River Warta: 1990-2000.” *Polish Journal of Environmental Studies*, 2001.

Wong D., Dorn P.B., Chai E. Y. „Acute toxicity and structure-activity relationships of nine alcohol ethoxylate surfactants to fathead minnow and *Daphnia magna*.” 1997: 1970-1976.